

剑尾鱼卵子发生的组织学观察

温茹淑^① 曾德莉^① 方展强^②

① 嘉应学院生命科学学院 广东 梅州 514015; ② 华南师范大学生命科学学院 广州 510631

摘要:应用光学显微镜对卵胎生硬骨鱼类剑尾鱼(*Xiphophorus helleri*)卵巢的组织结构进行了观察。结果显示,剑尾鱼卵子的发育过程可划分为6个时相。I时相的卵母细胞呈原始分化状态,细胞外具一层细胞质膜。II时相卵母细胞外不仅具有质膜,而且还包绕一层滤泡细胞。III时相和IV时相的卵母细胞分化明显,胞质内开始积累脂滴和卵黄颗粒。V时相为成熟卵子,卵子的卵膜极薄,胞质内含有丰富的脂滴和卵黄。VI时相卵母细胞进入退化期,滤泡细胞从卵周向中央突入,卵黄被完全吸收,滤泡细胞自身也变得肥大。结果表明,剑尾鱼卵巢中卵母细胞的发育是不同步的。

关键词:剑尾鱼;卵子发生;组织结构

中图分类号:Q954 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2012)06-85-07

Histological Studies on the Oogenesis of *Xiphophorus helleri*

WEN Ru-Shu^① ZENG De-Li^① FANG Zhan-Qiang^②

① *College of Life Sciences, Jiaying University, Meizhou, Guangdong 514015;*

② *College of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China*

Abstract:The ovary structure of ovoviviparous teleost, Swordtail Fish (*Xiphophorus helleri*), was observed using optical microscopy. Swordtail Fish egg development process was divided into six phases. Phase I oocyte was in a primitive differentiation state, with clear plasma membrane. Phase II oocyte was surrounded by a layer of follicular cells. Phase III and IV oocytes differentiated significantly, with accumulated lipid droplets and yolk granules in the cytoplasm. Phase V oocyte was a mature egg, with very thin egg membrane and rich lipid droplets and yolk in the cytoplasm. Phase VI oocyte entered the degradation stage, with protrusion of the follicular cells into the central oocyte, and yolk absorption. Follicular cells became hypertrophy. The results show that the oocyte development is not synchronous in the ovary of Swordtail Fish.

Key words: *Xiphophorus helleri*; Oogenesis; Histology structure

剑尾鱼(*Xiphophorus helleri*)隶属于鲈形目花鲈科(Poeciliidae)胎鲈属。近年来珠江水产研究所对其进行了纯化培养,由于对某些农药、重金属敏感,近年被开发作为水环境污染“活检测器”的理想实验鱼^[1-6]。有关其生物学特性已有较详细的报道^[7]。对各种器官组织及内部结构的研究方面,曾见对其肝、鳃的组织学及超微结构的观察^[8-9],其他资料尚缺乏。

近些年来国内学者对不同鱼类的卵巢进行了细致的研究,关于硬骨鱼类卵巢组织学和形

态学的研究已有较多的报道^[10-11]。但这些研究多集中在卵生、体外受精类型的硬骨鱼类^[12-22]。对卵胎生、体内受精鱼类的研究则较少^[23-26]。剑尾鱼属卵胎生、体内受精鱼类,但国内尚未见有关其卵子发育的组织结构研究。

基金项目 2008年梅州市科学技术局、嘉应学院联合自然科学基金项目(No.08KJ23);

第一作者介绍 温茹淑,女,副教授;研究方向:水生生态生理;E-mail:wrs@jyu.edu.cn.

收稿日期:2012-07-12,修回日期:2012-08-29

卵巢作为鱼类繁殖活动的器官,具有其重要的意义,本研究通过对雌性剑尾鱼卵子发育的组织学研究,以期对剑尾鱼的繁殖生物学提供基础资料,为进一步调控剑尾鱼的生殖活动,提高剑尾鱼的繁殖性能和生产水平,为剑尾鱼的实验动物化提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验用鱼 实验用剑尾鱼由珠江水产研究所李凯彬工程师惠赠,是珠江水产研究所同批孵化的性成熟雌性个体,共 40 尾,体长为 (6.35 ± 0.50) cm,体重为 (1.6 ± 0.6) g。

1.2 形态学观察 将雌性剑尾鱼置于解剖盘中,解剖并观察卵巢的外形特征,对其形态特征进行描述并拍照。然后将其保存在 5% 的福尔马林液(含 0.65% NaCl)中,以备重复观察和进一步的描述。

1.3 组织学观察 活体取卵巢进行常规石蜡切片,用 Bouin 液固定 24 h,经各级乙醇冲洗、脱水,经二甲苯透明,54 ~ 56℃ 石蜡包埋,制成 7 μm 切片, H. E 染色,中性树胶封片。置 Nikon Eclipse 50i 显微镜进行显微观察,用 Nikon DS Fi1 摄像头进行拍照。

2 结果

剑尾鱼只有一个卵巢,为被卵巢型,有被膜包裹,卵巢位于鳔和肾腹面,成熟卵巢占据了腹腔的大部分体积,剑尾鱼卵母细胞发育和时相的划分采用苏联学者 Мейен^[27] 的分期法,根据卵母细胞原生质的生长和卵黄的发育,将卵母细胞划分为 6 个时相,发育成熟卵巢的横切面可见 I ~ VI 时相的各级卵母细胞(图版 I:1)。

2.1 I 时相 I 时相的卵母细胞处于卵原细胞阶段,该类细胞一般位于卵巢内生殖上皮及附近的基质中,是卵巢中体积最小的卵细胞。卵原细胞呈卵圆形,胞质较少,胞径 5.5 ~ 20.5 μm ;核大,略偏于细胞一侧,呈圆球形,核径 2.6 ~ 10.8 μm (图版 I:2)。卵原细胞经过若干次有丝分裂后,最后一代发育成卵母细胞。

2.2 II 时相 II 时相卵母细胞进入小生长期,

由卵原细胞过渡为初级卵母细胞,体积增大,胞质增多,呈不规则形,胞径 31.9 ~ 71.9 μm ;胞核呈圆形,中位,核径 14.1 ~ 29.8 μm ;在核膜边缘可见有数个至多个核仁排布,胞质染色较浅(图版 I:2,3)。在卵母细胞外包绕着单层呈梭形的滤泡细胞,这是 II 时相卵母细胞的象征(图版 I:4)。

2.3 III 时相 III 时相卵母细胞进入大生长期,为营养物质的积累时期,卵径迅速增大,胞径 89.4 ~ 216.7 μm ;核径 28.1 ~ 38.4 μm ,核仁数也增多,胞质的嗜碱性减弱,开始出现许多空泡。卵母细胞体积继续增大,胞质中充满卵黄泡,越靠近核区越密集,并且相互愈合成较大的卵黄泡,卵黄泡中尚无卵黄物质的积累(图版 I:5,6)。该时期,滤泡细胞逐渐变厚,最终由梭形变成立方形,并且排列密集,细胞之间界限清楚,此时的滤泡细胞体积达到整个卵母细胞发育阶段中的最大值(图版 I:7)。

2.4 IV 时相 随着卵细胞的发育,进入 IV 时相的卵母细胞胞质内的卵黄颗粒逐渐增多,油小滴由内向外扩增为数层并逐渐融合成较大的油滴。卵黄颗粒和油小滴逐渐由边缘向核区集中并有相互融合的趋势(图版 I:8)。该时相的卵母细胞基本达到最大,胞径 236.7 ~ 456.8 μm ;核径 58.3 ~ 61.4 μm 。胞质内卵黄粒向细胞中心集结,体积逐渐增大,胞内大部分面积逐渐被卵黄颗粒占据,同时油小滴合并成更大的油球,位于细胞中央,随后随着卵黄体积的增大而被挤迫分布于卵母细胞的边缘,细胞核被挤至边缘(图版 II:1,2)。此时,滤泡细胞呈立方形排列(图版 II:3)。

2.5 V 时相 V 时相为成熟卵子,此时卵母细胞已充分发育,体积达到最大值,胞径 580 ~ 780 μm ;胞质内卵黄融合成胶状匀质块,被染成深红色,油滴位于卵母细胞周边,形成油滴层(图版 II:4)。该时相细胞核已经偏移至动物极。滤泡细胞退化,由立方形变成梭形(图版 II:5)。此时的卵膜变得很薄,成不规则的波浪形,以增大卵母细胞面积,初级卵母细胞经成熟分裂转为次级卵母细胞。这时的卵子如果受

精,将进一步在卵巢中发育成胚胎。

2.6 VI时相 VI时相为退化的卵母细胞时期。成熟卵母细胞没有受精而逐步退化,滤泡细胞由外向内进入卵母细胞中央并分化和吞噬卵黄物质,胞质内卵黄颗粒被滤泡细胞逐渐吸收而消失,滤泡细胞则变得肥大(图版 II:6)。在 VI 时相,脱落下来的滤泡细胞也逐渐被消化吸收。

3 讨论

3.1 剑尾鱼卵巢的特点 绝大多数硬骨鱼类都有一对呈囊状的卵巢,而几乎所有的卵胎生鱼类则只有一个卵巢^[27],与大多数胎生鱼类一样,剑尾鱼也只有一个卵巢,成熟卵巢体积几乎占满整个腹腔,剑尾鱼的卵巢为被卵巢型,外有一层腹膜包围。在卵巢的背部和腹部都各有一条卵巢系膜。剑尾鱼的卵巢有丰富的血管,在怀胎卵巢中充满大量的卵巢液,但并没有胎盘结构。因为卵子的体积很大,体内发育保证了仔鱼的成活,从而怀卵量减少,通常只十几粒到几十粒成熟卵。这与卵胎生鱼类褐菖鲉 (*Sebastes marmoratus*)^[23]、任氏鲙 (*Jenynsia lineate*)^[28]、食蚊鱼 (*Gambusia affinis*)^[25] 和孔雀鱼 (*Poecilia reticulata*)^[26] 的卵巢结构相似。

3.2 剑尾鱼卵巢卵母细胞发育的特点 卵子的发生与一般硬骨鱼类相似,除了都必须经历增殖期、生长期和成熟期外,在其滤泡膜的形成以及卵黄颗粒等营养物质的积累等方面,都有一定的共性。但在不同鱼类中也存在着一些不同点,显示出鱼类卵子发生具有物种的特点。

3.2.1 油球、卵黄颗粒出现的时间和位置 剑尾鱼卵母细胞从 I 时相发育到 II 时相,细胞体积逐渐增大,直至被覆一层滤泡膜而标志卵母细胞小生长期的结束。在剑尾鱼卵母细胞进入大生长期(即 III 时相)时,明显的特征是卵母细胞边缘内开始出现油滴和卵黄颗粒,这与一般的硬骨鱼类相似。而一些鱼类卵母细胞的油滴在还处于小生长期(即 II 时相)时就已出现,如银鲳 (*Stromateoides argenteus*)^[29]。研究表明硬骨鱼类中多数鱼的卵黄发生在靠近细胞核周围的细胞质,后向卵膜边缘生长^[22]。而剑尾鱼卵

母细胞中的卵黄颗粒,是在靠近质膜的胞质内首先出现,然后逐步向中央扩散,并与油滴相互融合,这与食蚊鱼^[10,24]、乌鳢 (*Ophicephalus argus*)^[19] 的卵黄发生相似。剑尾鱼卵黄颗粒的增长可一直延续到 IV 时相结束,此时成熟卵子的卵黄已充满卵母细胞的细胞质,卵黄是卵母细胞的主要成分,也是其胚胎发育和胚后发育的主要能源。成熟卵母细胞的卵膜变得很薄,这是适应卵子在母体内发育的结果,这一特点与同为卵胎生的食蚊鱼^[24] 相似。

3.2.2 滤泡细胞发育的特点 在剑尾鱼卵母细胞发育早期,分散在卵母细胞外的滤泡细胞连成单层细胞层将卵母细胞包住,此时的滤泡细胞呈梭形。待卵母细胞发育至 III 时相,滤泡细胞由梭形变成立方形,且排列紧凑。包绕在成熟期卵母细胞周边的滤泡细胞开始退化,由立方形回复至扁平。这表明剑尾鱼滤泡细胞的变化与卵黄物质的堆积是密切相关的。滤泡细胞具有分生、增殖作用,在卵细胞退化时能生出大量的吞噬细胞,具有退化吸收功能,卵母细胞成熟排卵前,滤泡细胞的功能趋于结束^[10,24-25]。

3.3 剑尾鱼的产卵类型 根据卵巢中卵母细胞的发育状况,卵巢发育可分为完全同步型、部分同步型、不同步型^[30],产卵类型可分为一次产卵型、多次产卵型^[31]。根据对剑尾鱼卵巢切片的观察分析,在第 III 至第 VI 期卵巢中,均有 II 时相的卵母细胞;在第 IV 期卵巢中也有一定数量 III 时相的卵母细胞;在第 V 期卵巢中,卵母细胞发育已基本同步,仅具有少量 III 时相和 IV 时相的卵母细胞;在怀胎期卵巢中除了正在发育的胚胎外还有相当数量的 III、IV、V 时相卵母细胞。因此可认为,剑尾鱼卵母细胞的发育是不同步的。剑尾鱼在一个生殖期内可多次产卵怀胎,属于短期多次产卵类型的鱼类。

4 结论

剑尾鱼只有一个卵巢,卵母细胞划分为 6 个时相。I 时相的卵母细胞呈原始分化状态,细胞外具一层细胞质膜;II 时相卵母细胞外不

仅具有质膜,而且还包绕一层滤泡细胞;Ⅲ和Ⅳ时相的卵母细胞分化明显,出现脂滴和卵黄颗粒;Ⅴ时相为成熟卵子,卵子的卵膜极薄,其内含有丰富的脂滴和卵黄;Ⅵ时相为退化卵母细胞。滤泡细胞从卵周向中央突入,卵黄被吸收完全而消失,滤泡细胞自身也变得肥大。剑尾鱼卵巢中卵母细胞的发育是不同步的,剑尾鱼在一个生殖期内可多次产卵怀胎,属于短期多次产卵类型的鱼类。

参 考 文 献

- [1] 方展强,张凤君,郑文彪,等.多氯联苯对剑尾鱼 Na^+/K^+ -ATPase 活性的影响. *水产学报*,2004,28(1): 89-92.
- [2] 方展强,张凤君,郑文彪,等.多氯联苯对剑尾鱼超氧化物歧化酶活性的影响. *中国实验动物学报*,2004,12(2): 96-99.
- [3] 卢玲,沈英娃.酚类、烷基苯类、硝基苯类化合物和环境水样对剑尾鱼和稀有鮡鲫的急性毒性. *环境科学研究*,2002,15(4): 57-59.
- [4] 王春风,方展强.汞和硒对剑尾鱼的急性毒性及其安全浓度评价. *环境科学与技术*,2005,28(2): 32-34.
- [5] 方展强,王春风.硒对汞致剑尾鱼肝氧化损伤的拮抗作用. *安全与环境学报*,2004,4(5): 3-6.
- [6] 庞世勋,魏素莉,赖子尼,等.三种菊酯类农药对剑尾鱼、罗非鱼的毒性研究. *淡水渔业*,2004,34(4): 15-16.
- [7] 黄志斌,吴淑勤,石存斌,等.剑尾鱼的若干生物学特性研究. *中国水产科学*,2000,7(3): 107-109.
- [8] 方展强,邱玫,王春风.剑尾鱼鳃结构的光镜、扫描和透射电镜观察. *电子显微学报*,2004,23(5): 553-559.
- [9] 方展强,林敏朝.剑尾鱼肝脏结构的光镜和透射电镜观察. *电子显微学报*,2006,25(3): 265-270.
- [10] 张贤芳,张耀光,王志坚.硬骨鱼类的卵巢发育和卵子发生研究综述. *海南师范学院学报: 自然科学版*,2006,19(1): 70-74,78.
- [11] 张立飞,杨万喜.硬骨鱼类卵子发生研究及其应用前景. *浙江大学学报: 理学版*,2003,30(2): 210-214,222.
- [12] 石大康.大眼鲈鱼 (*Siniperca kneri*) 卵巢发育的组织学研究. *广西水产科技*,1991,(4): 1-5.
- [13] 倪海儿,杜立勤.东海鳊卵巢发育的组织学观察. *水产学报*,2001,25(4): 318-324.
- [14] 徐剑,邹佩贞,温彩燕,等.光倒刺鲃卵巢发育的初步研究. *动物学杂志*,2004,39(4): 7-10.
- [15] 方静,何敏,杜仲君,等.齐口裂腹鱼卵巢发育的组织学研究. *四川农业大学学报*,2007,25(1): 88-93.
- [16] 龚启祥,曹克驹,曾嶷.香鱼卵巢发育的组织学研究. *水产学报*,1982,6(3): 221-234.
- [17] 黄道明,林永泰,万成炎,等.鲂成熟卵巢发育的组织学观察. *水利渔业*,1997,(2): 3-7.
- [18] 张耀光,谢小军.南方鲇卵巢滤泡细胞和卵膜生成的组织学研究. *动物学研究*,1995,16(2): 166-172.
- [19] 岳朝霞,高书堂,邓凤姣,等.乌鳢卵巢发育的组织学研究. *武汉大学学报: 自然科学版*,1996,42(2): 225-232.
- [20] 何德奎,陈毅峰,蔡斌.纳木措裸鲤性腺发育的组织学研究. *水生生物学报*,2001,25(1): 1-13.
- [21] 何德奎,陈毅峰,陈自明,等.色林措裸鲤性腺发育的组织学研究. *水产学报*,2001,25(2): 97-102.
- [22] 龚启祥,倪海儿,李伦平,等.东海银鲱卵巢周年变化的组织学观察. *水产学报*,1989,13(4): 316-325.
- [23] 林丹军,尤永隆.卵胎生硬骨鱼褐菖鲉卵巢的周期发育研究. *动物学研究*,2000,21(4): 269-274.
- [24] 刘灼见,高书堂,邓青.食蚊鱼的性腺发育及性周期研究. *武汉大学学报: 自然科学版*,1996,42(4): 488-493.
- [25] 王志坚,罗虹,张耀光.食蚊鱼卵子发生的组织学观察. *重庆师范大学学报: 自然科学版*,2008,25(3): 8-12.
- [26] 熊正.孔雀鱼生殖生物学研究. 厦门: 厦门大学硕士学位论文,2008.
- [27] Мейей В А. К вопросу о гоповом никде измеппейй яичнков костить I рвб. *Изв АНСССР Сер Биоп*, 1939,3: 389.
- [28] Nagahama Y. The functional morphology of teleost gonads // Hoar W S, Randall D J, Donaldson E M. *Fish Physiology*. Vol. IXA. New York: Academic Press, 1983: 223-389.
- [29] Schindler J F, de Virus U. Ovarian structural specializations facilitate aplacental matrotrophy in *Jenynsia lineata* (Cyprinodontiformes, Osteichthyes). *Journal of Morphology*, 1988, 198(3): 331-339.
- [30] 林浩然.鱼类生理学. 广州: 广东高等教育出版社, 1999: 185-188.
- [31] 刘筠.中国养殖鱼类繁殖生理学. 北京: 农业出版社, 1993: 20-73.

图版 I 说明

1. 示卵巢内各时相卵母细胞($\times 40$); 2. 示 I 时相和 II 时相卵母细胞($\times 400$); 3. 示 II 时相卵母细胞($\times 400$); 4. 示 II 时相卵母细胞外的单层滤泡细胞($\times 1\ 000$); 5. 示 III 时相卵母细胞($\times 200$); 6. 示 III 时相卵母细胞($\times 100$); 7. 示 III 时相卵母细胞外的滤泡细胞($\times 1\ 000$); 8. 示 IV 时相卵母细胞($\times 200$)。

Explanation of Plate I

1. Showing the oocyte in each phase ($\times 40$); 2. Showing the oocyte in phase I and phase II ($\times 400$); 3. Showing the oocyte in phase II ($\times 400$); 4. Showing the follicle cells circumvolution of the oocyte in the phase II ($\times 1\ 000$); 5. Showing the oocyte in phase III ($\times 200$); 6. Showing the oocyte in phase III ($\times 100$); 7. Showing the follicle cells circumvolution of the oocyte in phase III ($\times 1\ 000$); 8. Showing the phase IV oocyte ($\times 200$).

图版 II 说明

1. 示 IV 时相卵母细胞($\times 100$); 2. 示 IV 时相卵母细胞($\times 100$); 3. 示 IV 时相卵母细胞外的滤泡细胞($\times 1\ 000$); 4. 示 V 时相成熟卵母细胞($\times 100$); 5. 示 V 时相卵母细胞外的滤泡细胞($\times 1\ 000$); 6. 示 VI 时相退化的卵母细胞($\times 100$)。

Explanation of Plate II

1. Showing the oocyte in phase IV ($\times 100$); 2. Showing the oocyte in phase IV ($\times 100$); 3. Showing the follicle cells circumvolution of the oocyte in phase IV ($\times 1\ 000$); 4. Showing the mature oocyte in phase V ($\times 100$); 5. Showing the follicle cells circumvolution of the oocyte in phase V ($\times 1\ 000$); 6. Showing the degenerated oocyte in phase VI ($\times 100$).

F: 滤泡细胞; I: I 时相卵母细胞; II: II 时相卵母细胞; III: III 时相卵母细胞; IV: IV 时相卵母细胞; V: V 时相卵母细胞; VI: VI 时相卵母细胞。

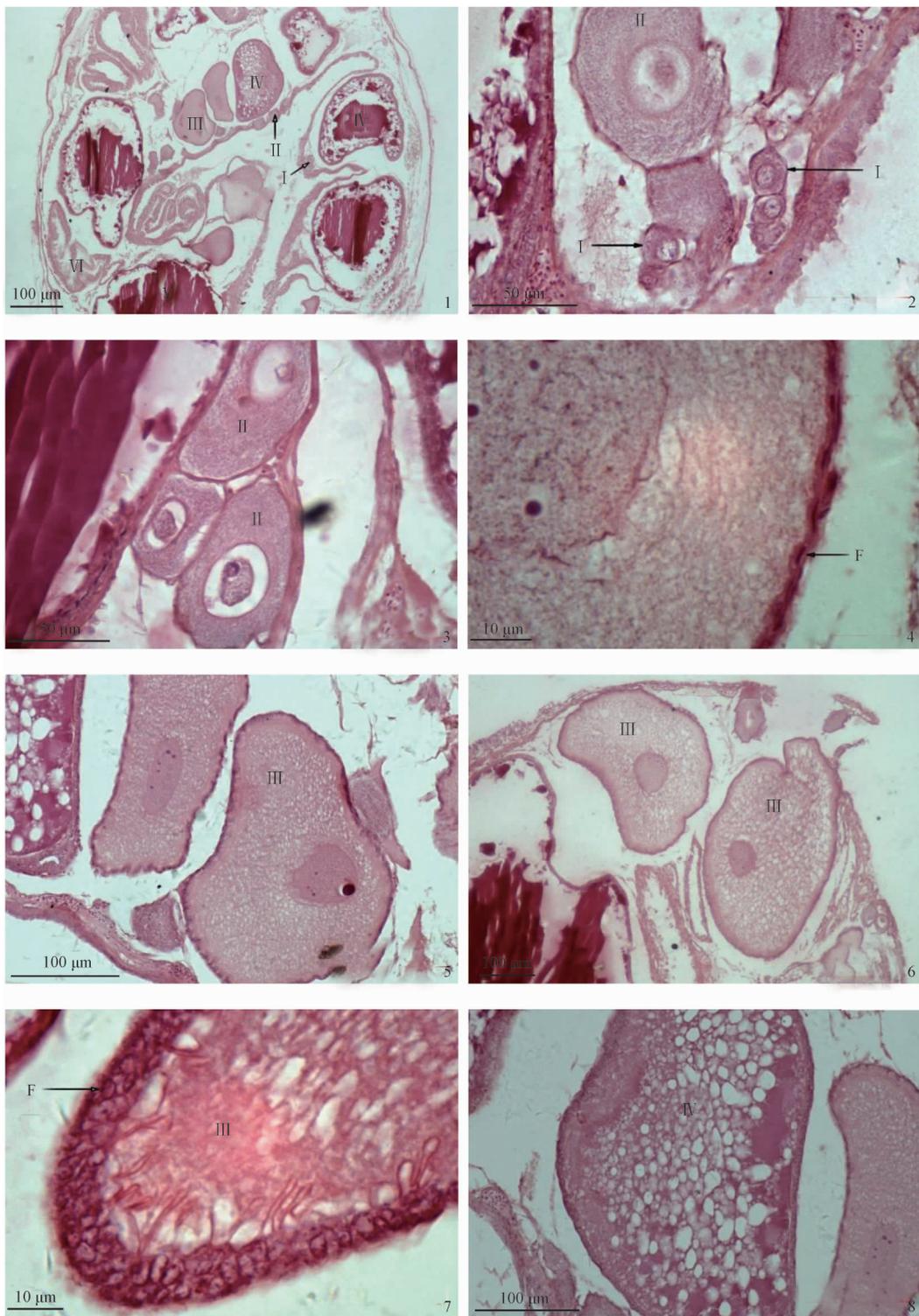
F: Follicle cells; I: The oocyte in phase I; II: The oocyte in phase II; III: The oocyte in phase III; IV: The oocyte in phase IV; V: The oocyte in phase V; VI: The oocyte in phase VI.

温茹淑等: 剑尾鱼卵子发生的组织学观察

图版 I

WEN Ru-Shu *et al.*: Histological Studies on the Oogenesis of *Xiphophorus helleri*

Plate I



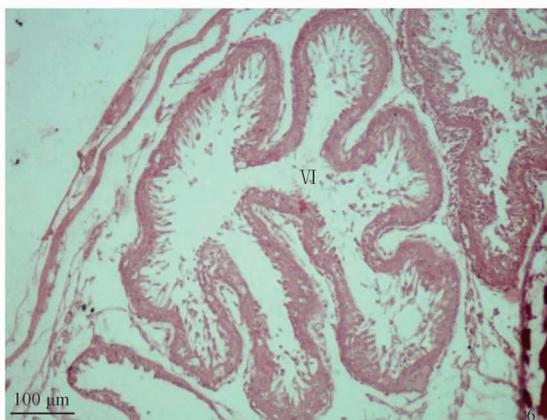
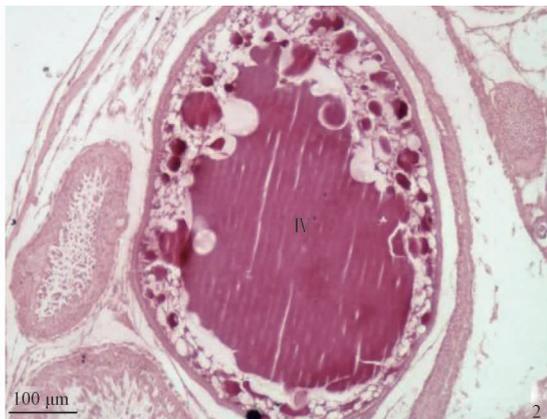
图版说明见文后

温茹淑等:剑尾鱼卵子发生的组织学观察

图版 II

WEN Ru-Shu *et al.* : Histological Studies on the Oogenesis of *Xiphophorus helleri*

Plate II



图版说明见文后