

石鲮仔、幼鱼性腺发育的组织学观察

王文君, 王开顺, 邵明瑜, 张全启, 张志峰

(中国海洋大学 海洋生物遗传学与种质工程实验室, 山东 青岛 266003)

摘要:利用组织学方法对人工培育的石鲮 (*Kareius bicoloratus* Basiewsky) 仔、幼鱼性腺发育进行研究。结果表明, 性腺的发育与体长密切相关。刚孵化石鲮的原生殖细胞数目为2个, 孵化3 d数目增至8个, 之后经过迁移, 至孵化9 d到达生殖嵴。在全长为7.2~8.5 mm (孵化9~11 d) 的仔鱼中, 性腺原基中的体细胞迅速增殖并包围原生殖细胞, 后者在全长10~15 mm (孵化后10~35 d) 的仔幼鱼中增殖成为生殖干细胞。原始性腺在全长15~30 mm (孵化40~60 d) 的幼鱼中逐渐发育完善, 呈细线状, 位于腹腔后部中肾管下方紧贴体壁。雌性性腺最早在全长32.5 mm (孵化66 d) 的个体中出现分化特征, 至全长89~102 mm 时雌性性腺特征完全分化。雄性性腺的分化较雌性性腺晚, 最早在全长为91 mm 的幼鱼中开始, 至全长为114~118 mm 时雄性性腺分化特征已经十分明显。[中国水产科学, 2007, 14 (5): 843-848]

关键词:石鲮; 原生殖细胞; 性腺发育; 组织学

中图分类号: S917

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2007)05-0843-06

鱼类的性腺主要来自体腔膜的体细胞和生殖细胞构成。多数硬骨鱼类的性腺在发生初期, 先形成一个性别尚未分化的中性性腺, 进而再分别分化为精巢和卵巢, 如斑点叉尾 (*Ictalurus punctatus*)^[1]、褐牙鲈 (*Paralichthys olivaceus*)^[2]、莫桑比克罗非鱼 (*Oreochromis mossambicus*)^[3] 等属于此种方式; 也有部分鱼类先发育成类似卵巢的性腺, 然后一半数量的个体向雌性分化, 而另一半的个体则向雄性分化, 如 (*Phoxinus laevis*)^[4]、斑马鱼 (*Brachydanio rerio*)^[5] 属于这种方式。鱼类原始性腺的分化方向往往具有不稳定性, 除了受内在的基因和激素的调控外, 还受外源激素和环境因素等的影响^[1,6-10], 因此开展鱼类性腺分化的研究, 将有助于对鱼类种群的性别进行调控。

鲮鱼中, 目前已在褐牙鲈、漠斑牙鲈 (*Paralichthys lethostigma*)、条斑星鲮 (*Verasper moseri*)^[9]、庸鲮 (*Hippoglossus hippoglossus*)^[12] 中进行了性腺分化的研究, 已有的结果表明, 性腺分化在不同种类中有一定的差别, 尤其是性腺分化的时间差别明显^[2,9,11-12]。

石鲮 (*Kareius bicoloratus* Basiewsky) 属鲮形目 (*Pleuronectiformes*), 鲮科 (*Pleuronectidae*), 为低温性底栖鱼类, 其肉质鲜嫩, 营养丰富, 耐低温能力强,

是中国北方地区重要的养殖对象。Uehara 等^[13]报道, 雌性石鲮的生长速度远远超过雄鱼, 因此在养殖群体中提高雌鱼的数量可有效的提高养殖效益。本研究以室内育苗的石鲮仔幼鱼为研究材料, 对其性腺的发生和分化过程进行研究, 旨在为今后对其进行性别调控提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

实验所用的石鲮仔、幼鱼取自山东省华新海大海洋生物股份有限公司。取材从刚孵化的仔鱼开始, 孵化5 d 内每天取样2次, 孵化5 d 后每天取样1次, 孵化1个月每周取样1次, 样本全长范围为1.6~267 mm。

1.2 方法

各期样本于 Bouin's 液中固定24 h, 其中全长小于80 mm 的仔鱼直接固定, 全长介于80~110 mm 的幼鱼剪去头尾后固定, 全长大于110 mm 的幼鱼则采用活体解剖, 取出性腺固定。常规石蜡包埋, 美国AO轮式切片机做连续切片 (全长小于15 mm 的仔幼鱼整体包埋后连续切片, 全长介于15~80 mm 的幼鱼取性腺所在的部位做连续切片, 全长大于80 mm 的幼鱼仅对性腺进行连续切片), 切片厚度

收稿日期: 2006-11-14; 修订日期: 2006-12-28.

基金项目: 国家863计划项目 (2003AA603130).

作者简介: 王文君 (1982-), 男, 硕士生, 主要从事海洋动物发育生物学研究. E-mail: wangwenjun19822005@yahoo.com.cn

通讯作者: 张志峰. Tel: 0532-82031647; E-mail: zzfp107@ouc.edu.cn

5 μm , HE 染色, Olympus BH-2 显微镜下观察并拍照记录。

2 结果与分析

2.1 原始性腺的发生

连续切片观察发现, 石鲮原生殖细胞在刚孵化的仔鱼中数目为 2 个, 位于中肾管与背肠系膜之间(图版 I-1), 其以大的细胞体以及透明而大的细胞核为特征, 与周围的体细胞明显区别开来。孵化 3 d 内, 原生殖细胞在原处分裂, 数目增至 8 个后便不再增加(图版 I-2)。至孵化 9 d 左右原生殖细胞分别迁移至身体两侧的生殖嵴处, 构成 2 个性腺原基(图版 I-3)。

孵化 9~11 d, 全长 7.2~8.5 mm 的仔鱼中, 可见性腺原基中体细胞迅速增殖并包围迁移而来的原生殖细胞, 此阶段性腺原基位于腹腔后部中肾管下方, 左右各一, 其中的原生殖细胞未见增多(图版 I-4, 5)。孵化后 10~35 d, 全长 10~15 mm 的仔、幼鱼中, 由于体细胞的增殖, 性腺原基呈细长的带状紧贴腹腔后部体壁的两侧, 此阶段原生殖细胞增殖并成为生殖干细胞, 中央核仁比原生殖细胞的更大而明显, 每一个性腺原基的横切面上均可见 1 个生殖干细胞, 生殖干细胞总数有所增加(图版 I-6)。孵化后 40~60 d 全长 15~30 mm 的幼鱼, 性腺原基明显增粗但长度变化不大, 其中可见生殖干细胞快速增殖, 横切面上一般可见多个生殖干细胞, 此时原始性腺基本形成(图版 I-7)。

2.2 卵巢的分化和发育

最早在孵化后 66 d, 全长为 32.5 mm 的幼鱼中观察到其性腺增生端发生扭转并向另一端伸长, 出现向雌性性腺卵巢腔分化的迹象(图版 I-8)。之后性腺继续增生, 在 89~102 mm 的幼鱼, 卵巢腔逐渐形成(图版 I-9)。此阶段伴随着卵巢小叶和产卵板的形成以及卵原细胞沿产卵板排列, 偶见卵母细胞, 卵巢的特征已十分明显, 其外由一层结缔组织包围, 其中的卵原细胞多分布于卵巢小叶的周边, 分裂旺盛(图版 I-10)。伴随个体生长, 卵巢继续发育, 全长大于 150 mm 的幼鱼卵巢中基本由卵母细胞填充, 仅在局部可见少量卵原细胞(图版 I-11)。卵母细胞胞体较卵原细胞明显增大, 核大, 核仁多个分布于核周, 胞质弱嗜碱性, 偶见卵黄核发生。

2.3 精巢的分化和发育

雄性性腺分化特征出现较晚, 全长 60~85 mm

的雄性性腺内部结缔组织较同期雌性性腺更为疏松, 输精小管(通向输精管的小管)开始形成, 并偶见精原细胞(图版 I-12)。在全长 91 mm 的幼鱼中观察到精巢分化的典型特征出现, 即: 精原细胞(胞质强嗜碱性, 核大但着色浅, 核仁 1 个)成簇状排列, 开始形成壶腹(精巢的基本构成单位, 类似辐射型精巢的精小叶)的雏形, 性腺内部开始形成输精管, 结缔组织进一步疏松(图版 I-13)。至 114~118 mm 时壶腹已基本形成, 且偶见支持细胞, 精巢的特征十分明显(图版 I-14), 此时精巢呈细线状, 直径小于 1 mm, 处于性腺发育的 I 期。全长大于 150 mm 的雄鱼精巢已经处于 II 期, 其中精原细胞排列成束, 壶腹腔细小或实心, 结缔组织隔膜不发达(图版 I-15)。

3 讨论

3.1 性腺分化开始的特征

性腺分化开始的特征, 目前有 2 个观点。一是性细胞在将要分化为雌鱼和雄鱼的性腺中数量不同; 另一为卵巢腔开始形成可作为卵巢分化开始的标志。Yamamoto^[14]通过对青鳉 (*Oryzias latipes*) 的研究得出, 该鱼刚孵化时便可以根据性细胞数量的不同区分雌雄, 雌性的性细胞数量要比雄鱼多, 且卵巢中的性细胞分裂起始时间也比精巢中的早。Nakamura 等^[15-16]在对莫桑比克罗非鱼和其他多种鱼类的研究中也得出同样的结论。本研究发现, 石鲮雌性和雄性性腺的生殖细胞数量并没有很大的区别, 由此将卵巢腔的形成作为性腺分化开始的标志, 这与目前在多数鲆鲽鱼类的研究结果是类似的^[2, 11]。

3.2 性腺分化的方式

硬骨鱼类的性腺分化方式总的来说可分为 2 大类: 一类是所有的个体都先发育成类似卵巢的性腺, 然后一半数目的个体向雄性分化而另一半的个体则向雌性分化, 这类鱼的性腺在性别未分化阶段主要由卵原细胞构成, 随着性别分化的开始, 半数个体的性腺中卵原细胞开始衰退并逐渐消失, 同时伴随着雄性精巢基质组织的形成, 最终这部分鱼类完全分化为雄性, 其他的则分化为雌性, 在这种分化方式的鱼类中可见到许多兼具两性的个体^[4-5]; 另一类的分化方式是先形成一个中性的或者没有分化的原始性腺, 然后不同的个体分别向雄性或雌性分化^[1], 斑点叉尾鮰和多数鲆鲽鱼类等都属于这种分化方式。本实验证实石鲮的性腺分化方式属于后者。

3.3 卵巢腔的形成方式

有关卵巢腔的形成方式目前认为有3种,一是性腺体细胞向两端增生、伸长,然后再分别向另一端扭曲、延伸,最终两端互相接触并愈合,共同构成卵巢腔,斑点叉尾鮰卵巢腔的形成属于此种方式^[1]。另外两种卵巢腔的形成方式都是由性腺的一端增生并向另一端延伸,直至与另一端愈合。二者的区别在于延伸起始端不同,一种是从近体壁端开始增生,如鲫(*Carassius auratus*);另一种是由远端开始增生延伸,如食蚊鱼(*Gambusia affinis*)^[16]。本实验观察到,石鲮卵巢腔的形成方式是由性腺的近体壁端开始增生并向远端延伸,直至与另一端愈合,完成卵巢腔的形成,属于第2种卵巢腔形成方式。

3.4 性腺分化开始的时间

已证明多数鱼类性腺分化程度与体长密切相关^[1-2]。本实验在石鲮中也观察到了同样的性腺分化规律,因此本研究把体长作为石鲮性腺分化和发育程度的主要参考指标。

不同种类的鱼出现性腺分化的时间差别很大,单以鲮鱼为例,其雌雄性腺分化时间便因种类不同有明显的差别。Lee等^[2]报道褐牙鲮在全长为15~30 mm的幼鱼中出现卵巢腔,而在庸鲮和漠斑牙鲮中则分别是在全长38 mm和75~100 mm的幼鱼中出现卵巢腔^[6,12]。本实验中石鲮的雌性性腺卵巢腔雏形最早在全长32 mm的幼鱼中发生,但完全分化的卵巢腔在全长为89~102 mm的幼鱼中才形成。

石鲮雄性开始分化的时间要比雌性分化的时间晚,全长为32.5 mm的雌性即开始性分化,而雄鱼直到全长为91 mm时才开始,这点与其他很多鱼类尤其是鲮鱼都相同。Hendry等^[12]报道庸鲮是在全长为38 mm时开始卵巢腔的形成,而雄性性腺的分化在74 mm时才可见明显分化特征。Luckenbach等^[6]报道漠斑牙鲮在全长为75 mm时开始卵巢腔的形成,而雄性性腺的分化则在全长大于100 mm时才可见明显分化特征。

对性腺分化起始时间的确定,将为人们研究动物的性腺分化和调控等提供可靠的依据。

致谢:感谢山东省华新海大海洋生物股份有限公司为本研究全力提供实验所需的材料。

参考文献:

[1] Patino R, Davis K B, Schoore J E. Sex differentiation of channel

catfish gonads: normal development and effects of temperature [J]. J Exp Zool, 1996, 276: 209-218.

[2] Lee Y D, Lee T Y. Sex differentiation and development of the gonad in the flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel) [J]. Bull Mar Res Inst Cheju Natl Univ, 1990, 14: 61-86.

[3] 陈玉琳, 胡秀敏, 朱雅珠, 莫桑比克罗非鱼幼鱼的性腺发育与分化 [J]. 水产学报, 1980, 4 (4): 313-318.

[4] Bullough W S. A study of sex reversal in the minnow (*Phoxinus laevis* L.) [J]. J Exp Zool, 1940, 85: 475-501.

[5] Takahashi H. Juvenile hermaphroditism in the zebrafish, *Brachydanio rerio* [J]. Bull Fac Fish Hokkaido Univ, 1977, 28: 57-65.

[6] Luckenbach J A, Godwin J, Daniels H V, et al. Gonadal differentiation and effects of temperature on sex determination in southern flounder (*Paralichthys lethostigma*) [J]. Aquaculture, 2003, 216: 315-327.

[7] Blazquez M, Zanuy S, Carillo M, et al. Effects of rearing temperature on sex differentiation in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) [J]. J Exp Zool, 1998, 281: 207-216.

[8] Blazquez M, Felipe A, Zanuy S, et al. Critical period of androgen-inducible sex differentiation in a teleost fish, the European sea bass [J]. J Fish Biol, 2001, 58: 342-358.

[9] Goto R, Mori T, Kawamata K, et al. Effects of temperature on gonadal sex determination in barfin flounder *Verasper moseri* [J]. Fisheries Sci, 1999, 65: 884-887.

[10] Pferrer F, Donaldson E M. Gonadal differentiation in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, after a single treatment with androgen or estrogen at different stages during ontogenesis [J]. Aquaculture, 1989, 77: 251-262.

[11] Yamamoto E. Studies on sex-manipulation and production of cloned populations in hirame, *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel) [J]. Bull Tottori Pref Fish Exp Sta, 1995, 34: 1-145.

[12] Hendry C I, Martin-Robichaud D J, Benfey T J. Gonadal sex differentiation in Atlantic halibut [J]. J Fish Biol, 2002, 60: 1431-1442.

[13] Uehara S, Shimizu M. Age and growth of stone flounder *Kareius bicoloratus* in Tokyo Bay, Japan [J]. Fisheries Sci, 1996, 62: 897-901.

[14] Yamamoto T. Artificial induction of functional sex-reversal in genotypic females of the medaka (*Oryzias latipes*) [J]. J Exp Zool, 1958, 137: 227-260.

[15] Nakamura M, Takahashi H. Gonadal sex differentiation in *Tilapia mossambica* with special regard to the time of estrogen treatment effective in inducing feminization of genetic fishes [J]. Bull Fac Fish Hokkaido Univ, 1973, 24: 1-23.

[16] Nakamura M. Morphological and experimental studies on sex differentiation of the gonad in several teleost fishes [D]. Hokkaido: Hokkaido Univ, 1978. 1-174.

Histological observation on gonadal development of fries and juveniles in *Kareius bicoloratus* Basiewsky

WANG Wen-jun, WANG Kai-shun, SHAO Ming-yu, ZHANG Quan-qi, ZHANG Zhi-feng

(Laboratory of Marine Genetics and Breeding, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: As a benthonic cold water fish, the stone flounder (*Kareius bicoloratus* Basiewsky) is an important cultured species in north China. In this study a histological process of gonadal development was investigated in *K. bicoloratus* fries and juveniles reared after hatchery, which was expected to provide helpful information on sex control during aquaculture. The results showed that gonad development was closely related to body length. In newly hatched fries primordial germ cells (PGCs) proliferated from 2 cells to 8 cells at 3-day-after-hatching (DAH), then migrated and reached the germinal ridge at 9 DAH. In fries at 7.2 – 8.5 mm total length (TL) (9 – 11 DAH) the somatic cells proliferated rapidly and surrounded PGCs to organize the gonad rudiment, where PGCs proliferated and became germ stem cells in 10 – 15 mm-TL individuals (10 – 35 DAH). Filamentous primordial gonad formed gradually in 15 – 30 mm-TL juveniles (40 – 60 DAH), which was located in the posterior end of the abdominal cavity just beneath the mesonephric ducts closing to the body wall. Ovarian cavity, an early sign of female sex differentiation, was first observed in a 32.5 mm-TL juvenile (66 DAH), and the ovarian characteristics were full possessed in 89 – 102 mm-TL female juveniles. The differentiation of testis occurred in 91 mm-TL juveniles and finished in 114 – 118 mm-TL male juveniles, which was later than that of ovary. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14 (5): 843 – 848]

Key words: *Kareius bicoloratus* Basiewsky; primordial germ cells; gonadal development; histology

Corresponding author: ZHANG Zhi-feng. E-mail: zzfp107@ouc.edu.cn

欢迎订阅 2008 年《齐鲁渔业》(月刊)

《齐鲁渔业》1984 年创刊,为海洋与水产科技期刊,邮发代号 24 – 78。国际国内统一刊号:ISSN1001 – 151X CN37 – 1017 /S。办刊宗旨:面向科技,面向生产,面向海洋与水产养殖及渔船民。指导海洋与渔业工作,促进海洋与渔业科技进步,为振兴海洋与渔业科技服务,为“海上山东”建设和全国渔业生产服务。携手海洋与水产界同仁共筑致富金桥。

主要栏目:专家讲座、名特优水产、无公害养殖、海淡水养殖、苗种培育、病害防治、饲料肥料、捕捞技术、保鲜加工、渔船渔机、资源环境、科技推广、渔业经济、发展探讨、信息集粹等。

《齐鲁渔业》是中国水产类核心期刊,是联合国水科学和渔业情报系统 (ASFIS) 和《水科学与渔业文摘》(ASFA) 长期固定收录刊物,并被国内数家检索性期刊收录。

《齐鲁渔业》为月刊,大 16 开 60 页,每期定价 4.00 元,全年定价 48.00 元。国内外公开发行,欢迎到当地邮局订阅(邮局服务热线 11185)。也可向本社直接订阅,请勿忘邮编和详细地址。

地 址: (264006) 烟台市经济技术开发区长江路 216 号山东海洋科技大厦 10 楼

电 话: (0535) 6958901 6958905

传 真: (0535) 6958900

电子信箱: qiluyuye@126.com

联系人: 张静 王治宇

图版说明

1:刚孵化仔鱼的横切;2:孵化 3 d 后仔鱼的横切;3:孵化 9 d 后仔鱼的横切;4:7.2 mm 仔鱼的横切;5:8.5 mm 仔鱼的平切;6:10 mm 仔鱼的平切,插图 10 mm 仔鱼的横切;7:22 mm 幼鱼的平切,插图 22 mm 幼鱼的横切;8:32.5 mm 幼鱼的横切,箭头示性腺扭转;9:89 mm 幼鱼性腺的横切,箭头示卵巢小叶;10:102 mm 幼鱼卵巢的横切,插图 102 mm 幼鱼卵巢的局部放大;11:150 mm 幼鱼卵巢的横切;12:85 mm 幼鱼精巢的横切,插图 85 mm 幼鱼精巢的局部放大;13:91 mm 幼鱼精巢的横切,示壶腹开始形成;14:118 mm 幼鱼精巢的横切,示典型壶腹;15:151 mm 幼鱼精巢的横切,示 II 期精巢。

DM: 背肠系膜;DNT: 背神经管;G: 中肠;GRI: 生殖嵴;GRU: 性腺原基;GSC: 生殖干细胞;M: 中胚层;MD: 中肾管;N: 脊索;OC: 卵巢腔;Og: 卵原细胞;Oo: 卵母细胞;PG: 原始性腺;PGC: 原生殖细胞;SC: 体细胞;Sg: 精原细胞;T: 输精小管;TA: 精巢壶腹;YN: 卵黄核。

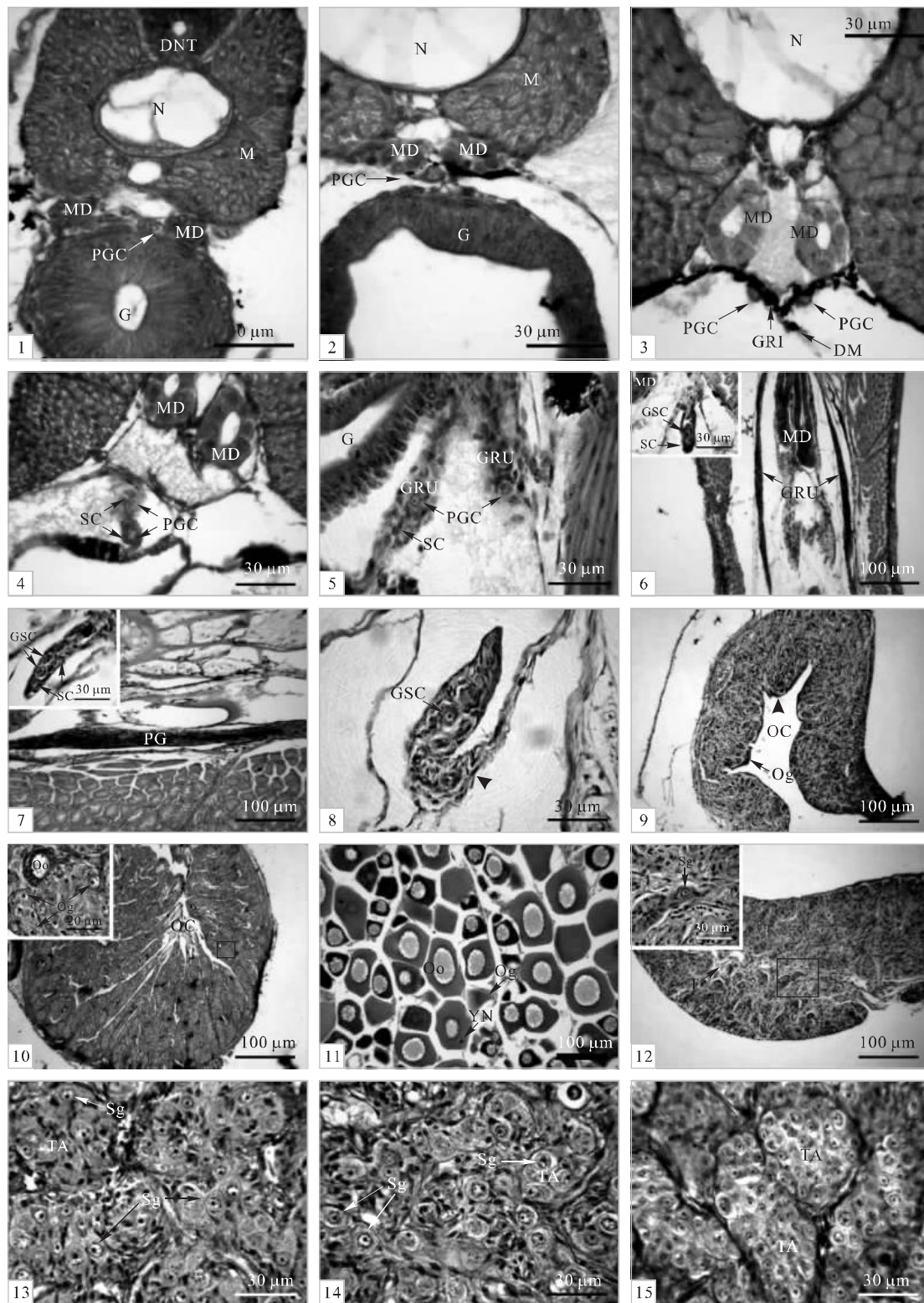
Plate Explanation

1: Cross-section in a newly hatched fry; 2: Cross-section in a 3-day-after-hatching (DAH) fry; 3: Cross-section in a 9-DAH fry; 4: Cross-section in a 7.2 mm-total-length (TL) fry; 5: Frontal-section in a 8.5 mm-TL fry; 6: Frontal-section of a 10 mm-TL fry, insert is cross-section in a 10 mm-TL fry; 7: Frontal-section in a 22 mm-TL juvenile, insert is cross-section in a 22 mm-TL juvenile; 8: Cross-section in a 32.5 mm-TL juvenile, arrow head shows the torsion of ovary; 9: Cross-section of a gonad in a 89 mm-TL juvenile, arrow head shows the ovarian lobule; 10: Cross-section of an ovary in a 102 mm-TL juvenile, insert is the part magnification; 11: Cross-section of a ovary in a 150 mm-TL juvenile; 12: Cross-section of a testis in a 85 mm-TL juvenile, insert is the part magnification; 13: Cross-section of a testis in a 91 mm-TL juvenile shows the ampullae began to form; 14: Cross-section of a testis in a 118 mm-TL juvenile shows the typical ampullae; 15: Cross-section of a testis in a 151 mm-TL juvenile shows the testis at stage II.

DM: dorsal mesentery; DNT: dorsal neural tube; G: gut; GRI: germinal ridge; GRU: gonad rudiment; GSC: germ stem cell; M: mesoderm; MD: mesonephric duct; N: notochord; OC: ovarian cavity; Og: oogonium; Oo: oocytes; PG: primordial gonad; PGC: primordial germ cell; SC: somatic cells; Sg: spermatogonium; T: tubule leading to the sperm duct; TA: testicular ampullae; YN: yolk nucleus.

王文君等:石鲈仔、幼鱼性腺发育的组织学观察

WANG Wen-jun et al: Histological observation on gonadal development of fries and juveniles in *Kareius bicoloratus* Basiewsky



图版 I Plate I

(图版说明见文末 Explanation of plate at the end of the text)