

# 黑斑口虾蛄的卵巢组织学研究\*

王春琳 蒋霞敏 赵青松 徐琼 徐云锋

(宁波大学海洋与水产系 宁波 315211)

**摘要:**通过对黑斑口虾蛄的卵巢组织切片观察,结果表明,卵细胞的发育分卵原细胞期(I期)、卵黄形成前期卵母细胞(II期)、卵黄形成期卵母细胞(III期)、成熟期卵细胞(IV期);在卵黄形成前期和卵黄形成期卵母细胞对应的卵巢左右两叶各有一“S”形的增殖中心。

**关键词:**黑斑口虾蛄;卵细胞;卵巢

中图分类号:Q954 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2001)04-06-04

## Studies on the Ovarian Histology of *Oratosquilla kemp*

WANG Chun-Lin JIANG Xia-Min ZHAO Qing-Song XU Qiong XU Yun-Feng

(Department of Marine and Fisheries of Ningbo University Ningbo 315211, China)

**Abstract:** Through the observation of histological slices of the ovary of *Oratosquilla kemp*, the conclusion are: the developmental processes of oocyte can be divided into four stages, i. e growth stage, yolk-formation prestage, yolk-formation stage and maturing stage. There is a multiplication center with “S” form both on left and right lobes of the ovary during second stage and third stage.

**Key words:** *Oratosquilla kemp*; Ovary cell; Ovary

黑斑口虾蛄(*Oratosquilla kemp*)隶属于甲壳纲、口足目、虾蛄科、口虾蛄属,其氨基酸含量丰富,味道鲜美,是沿海群众喜食的水产品之一。随着海洋经济鱼虾资源的减少,开发利用黑斑口虾蛄资源的经济意义显得越来越大。

对于虾蛄类的研究,国内外学者做了许多工作,但基本上集中于口虾蛄。国外主要是日本学者 T. Hamano 等<sup>[1-5]</sup>对口虾蛄的繁殖习性等做了较多的研究。国内主要是本文作者<sup>[6]</sup>对口虾蛄的生物学及其开发利用做了一些研究;邓景耀等<sup>[7]</sup>及王波等<sup>[8]</sup>对其生物学也做了一定的研究。对黑斑口虾蛄的研究比较少,本文作者<sup>[9,10]</sup>曾对其进行过育肥暂养和人工养殖试验,取得了成功。虾蛄养殖的发展,必然要依赖于人工育苗。摸清卵巢的发育规律,是人工繁育成功的前提之一。为了弄清黑斑口虾蛄的繁育规律,对其卵巢进行组织学的研究是必要的。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 样本于1998年11月至1999年5月采自宁波大世界水产品农贸市场,据调查,其货源主要来自象山港与三门湾一带,共获样本330尾。

**1.2 方法** 样本获得后立即进行数据测量,描述记录卵巢的形态变化。取部分卵巢用 Bouin 氏液固定,常规石蜡切片,成熟的卵巢用二氧六环代替二甲苯进行诱导透明,切片厚度为 8 μm;苏木精-伊红染色,制片后用 Olympus (F-

\* 浙江省科委(No. 102042),宁波市科委(No. 9800003,0011024)项目资助;

第一作者介绍 王春琳,男,35岁,副教授;研究方向:甲壳类繁殖生物学及增殖技术;E-mail: chunling@pub.cnbn.net

收稿日期:1999-12-01, 修回日期:2000-12-30

35A型)显微镜摄影,目微尺测量切片上的卵细胞、细胞核及核仁的大小。

切小块较成熟的卵巢,迅速用0.1 mol/L、pH 7.2磷酸缓冲液配制的戊二醛和1%锇酸双重固定,进行常规包埋、超薄切片、染色,再用HITACHI H-600A透射电镜观察并拍片。

相关的计算公式:

$$\text{卵巢成熟系数} = \text{卵巢重} / \text{体重} \times 100\%$$

$$\text{核质比} = V_{\text{核}} / (V_{\text{细胞}} - V_{\text{核}})$$

## 2 结果

**2.1 黑斑口虾蛄卵巢的形态特征** 黑斑口虾蛄的卵巢有1对,左右对称,两个卵巢基本愈合,仅由一隔膜相间,位于围心窝之下。随着发育,卵巢向前可延伸至胃部后端,向后可延伸至尾节末端。成熟的卵巢呈桔黄色,充满了整个背部;在每一体节交接处卵巢两侧各有一凹陷,呈现波浪状;在第6胸节处,左右卵巢各发出一条输卵管弯向腹面,分别开口于该节腹甲上的一对产卵孔(图1)。

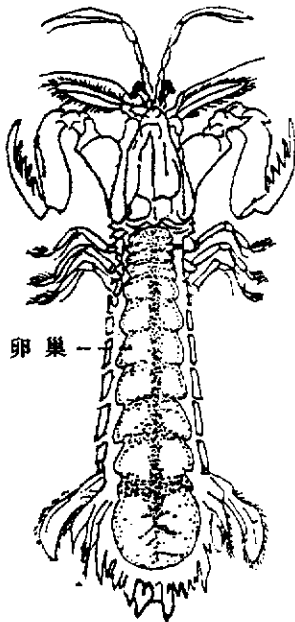


图1 黑斑口虾蛄的卵巢

据观察,黑斑口虾蛄的交配季节在水温高于15℃的秋末或翌年春季。交配后,雌性虾蛄在第6至第8胸节腹面出现了白色“王”字形结

构,其颜色随卵巢成熟日趋乳白色。交配时,卵巢发育一般在I~II期。交配后的卵巢发育呈爆发性,在正常水温范围(15~30℃)内,水温越高,发育越快。

**2.2 黑斑口虾蛄卵细胞的发育分期及对应卵巢变化** 卵巢组织的变化,除了外形、大小与颜色等能直接观察到以外,其内部的变化主要靠卵细胞的变化来判断;卵巢发育分期,则以在卵巢切面中面积居最高比例的卵母细胞的时相来确定。黑斑口虾蛄的卵属多黄卵。根据卵细胞生长、发育规律,卵黄的形成、积累和成熟过程,参照山崎诚<sup>[4]</sup>对口虾蛄卵的描述,把黑斑口虾蛄的卵子发育分为IV期。

**I期(卵原细胞期):**细胞呈不规则圆形或椭圆形,一般附于生殖上皮或生殖上皮附近的卵巢基质中。其外包一层细胞膜,卵细胞平均短径为18.5 μm(13~25 μm),平均长径为25.3 μm(21.6~28.3 μm)。细胞质呈嗜碱性,H.E染色后呈浅紫色,核膜清晰,核位于细胞中央,平均核径为9.2 μm,平均核仁大小为3.3 μm,核质比为0.088(图2,3;图版I:1)。该期对应的卵巢呈透明线状,粘附于消化道之上,无色素分布。解剖后可见侧育管明显地排列在卵巢左右。卵巢成熟系数为4.0%。

**II期(卵黄形成前期卵母细胞):**卵细胞呈长圆形或多角形,卵细胞体积增长迅速,并渐移向卵巢基质中,卵细胞平均长径为124.7 μm,平均短径为80.6 μm。细胞质嗜碱性明显减弱,并在细胞质中开始出现少量被伊红染成浅红色的细小卵黄物质。卵细胞核居中,呈圆形,核径平均39.1 μm,核仁平均为11.5 μm,核质比为0.067(图2,3)。另外还发现呈腔管状的结缔组织伸向卵母细胞,且卵母细胞的外周有滤泡细胞,这可能与卵黄的形成有关。至于滤泡细胞与卵子的发育生长的相关性,有待进一步研究(图版I:1)。该期对应的卵巢开始发育,向两侧扩大呈带状,颜色呈灰黄色趋向浅黄色。卵巢中有一个明显的“S”形增殖中心区,卵巢背面近中央分布少量弥散状黑色素点,卵巢两侧略凹陷,切片观察左右两叶卵巢同步发育,卵巢成

熟系数达 9.1%。

Ⅲ期(卵黄形成期卵母细胞):卵细胞呈多角形,电镜下清晰可见许多卵黄颗粒和皮层颗粒(图版 I:6)。由于卵黄物质的不断积累,细胞体积显著增大,而核相对缩小,核膜渐趋模糊,核仁和核物质渐融为一体,染色体最终解体。根据组织切片中细胞质、卵黄及核等的变化,又把此期分为前、中、后三阶段,前期卵细胞长径平均为 154.0  $\mu\text{m}$ ,短径平均为 117.2  $\mu\text{m}$ ,核径平均为 32.8  $\mu\text{m}$ ,核仁平均为 9.4  $\mu\text{m}$ ,核质比为 0.016。细胞质中原生质相互连接成“网状连络”<sup>[6]</sup>,卵黄颗粒存在于“网状连络”之间,细胞外排列了一层滤泡细胞,呈椭圆形。中期卵细胞长径平均为 231.3  $\mu\text{m}$ ,短径平均为 170.8  $\mu\text{m}$ ;细胞质中卵黄大量积累,掩盖了“网状连络”,核相对于整个卵细胞明显缩小,核径平均为 39.6  $\mu\text{m}$ ,核仁平均为 10.9  $\mu\text{m}$ ,核质比 0.003。滤泡细胞随卵母细胞变大而伸长,呈长梭形。后期的卵细胞内卵黄开始结集成块,堆积充满于细胞质中,卵细胞长径平均为 257.2  $\mu\text{m}$ ,短径平均为 189.7  $\mu\text{m}$ ;而细胞核直径平均为 41.4  $\mu\text{m}$ ,核仁平均为 11.7  $\mu\text{m}$ ,核质比仍为 0.003。细胞间隙增大(图 2,3;图版 I:2~4)。该期对应的卵巢发育最快,向后延伸至尾节,两侧凹陷显著,呈波浪状。随着卵黄不断沉积,颜色由淡黄色趋向橙黄色,黑色素沉积呈“一”字形排列于卵巢背面中央,卵巢内“S”形区域逐渐退化,解剖镜下可见清晰的卵粒,卵巢成熟系数为 12.1%。

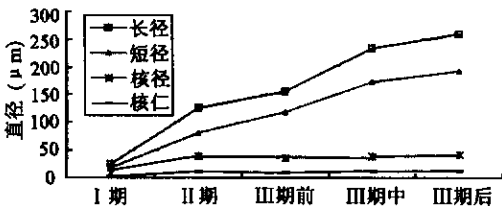


图 2 黑斑口虾蛄卵巢发育与卵细胞、细胞核、核仁直径的关系

Ⅳ期(成熟期卵母细胞):卵细胞呈多角形,卵黄充满卵细胞,细胞体积达最大,卵径在 350

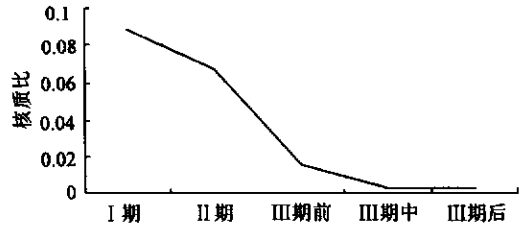


图 3 黑斑口虾蛄卵巢发育与卵细胞核质比的关系

$\mu\text{m}$ 以上,核膜消失(图版 I:5)。该期对应的卵巢极度膨大,侧盲管被覆盖,刺破卵巢,卵子自动散开。卵巢成熟系数为 18.7%。

### 3 讨论

3.1 黑斑口虾蛄多黄卵的石蜡切片技术 在制作黑斑口虾蛄成熟卵巢的石蜡切片时,按常规方法出现不同程度的组织块脆化崩裂和切片的破碎脱落现象。上官步敏等<sup>[11]</sup>用叔丁醇代替酒精、二甲苯进行脱水和透明,成功地制作了锯缘青蟹的后期卵巢切片。作者参照芮菊生等<sup>[12]</sup>对石蜡切片的论述,对其卵巢制片多次进行改进,得出了较好的诱导透明方法。以二氧六环代替二甲苯脱水与诱导过程为:30%酒精→50%酒精→70%酒精→80%酒精→90%酒精→95%酒精→100%酒精→1/2 100%酒精 + 1/2 二氧六环→二氧六环→1/2 二氧六环 + 1/2 石蜡→石蜡。脱蜡时仍用二甲苯效果较好。此过程可作为多黄卵石蜡切片制作的参考。

3.2 虾蛄的“王”字形结构 雌性虾蛄在交配后出现的乳白色“王”字形结构,由于国内外学者所观察的时间不同,所以有不同的看法。日本学者山崎诚<sup>[4]</sup>认为是胶质腺,国内学者邓景耀<sup>[7]</sup>认为是雌性的贮精沟,而堵南山<sup>[13]</sup>认为是粘合腺。本文作者根据涂片、组织切片、超薄切片的观察结果,倾向于“王”字形结构为腺体,但有待于今后验证。

### 3.3 黑斑口虾蛄滤泡细胞的来源、功能及退化

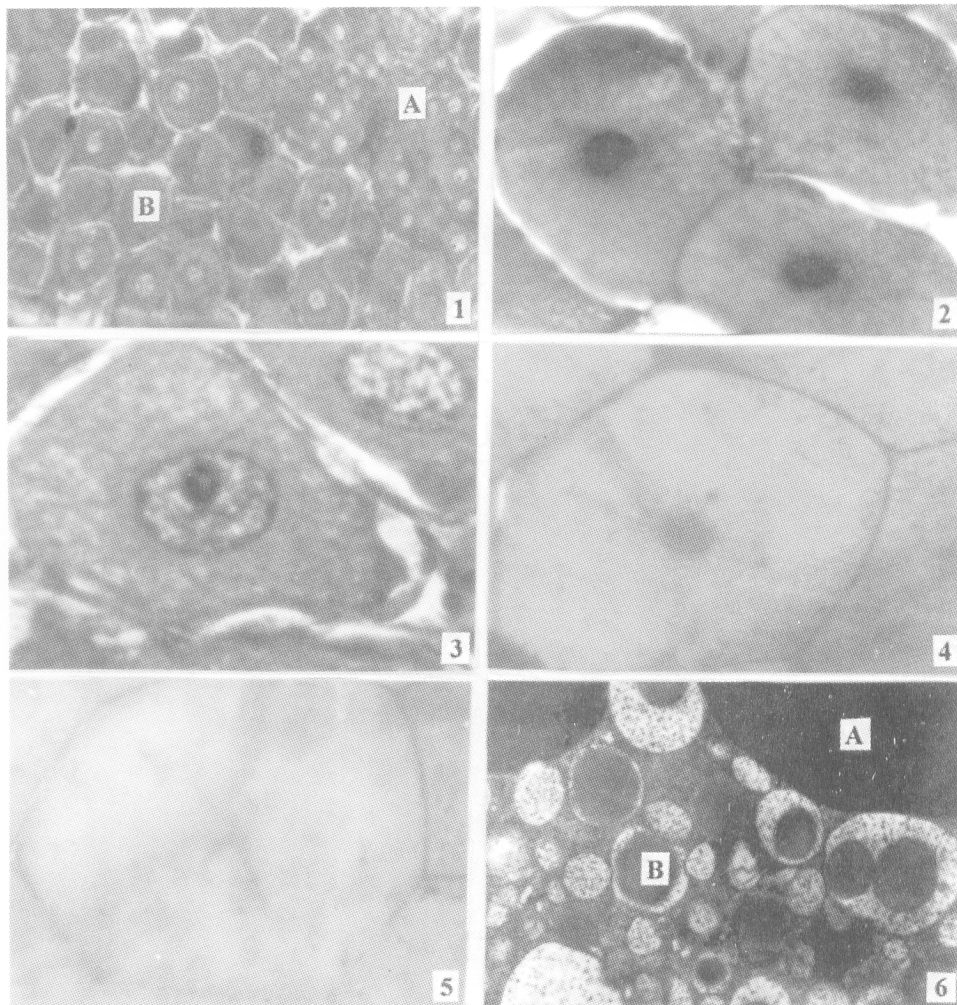
在观察切片时,注意到在Ⅱ期卵巢中,有一些伸入至卵巢内部的结缔组织细胞逐渐把卵母细胞包围起来。因而作者认为,卵母细胞与滤泡细胞不是同源的,前者由生殖上皮细胞分生发育而来,后者由伸入卵巢内部的结缔组织细胞

分生肥厚而成,前者属性细胞,以后能产至体外,后者为体细胞,将留在卵巢内。围在卵母细胞周围的滤泡细胞,主要是为了保护卵母细胞的发育,供应其发育所需要的营养物质,滤泡细胞的这些生理功能正是结缔组织所固有的。

致谢 在实验过程中,浙江大学生命科学学院杨万喜、卢建平教授对作者进行过指导与帮助;成文后,中科院海洋所王永良教授提出了修改意见;在本项目鉴定时,中科院黄海所赵法箴院士、上海水产大学梁象秋教授和浙江大学蔡如星教授提出了指导意见;在稿件修改时,得到了宁波大学朱冬发博士的帮助,在此一并表示感谢!

## 参 考 文 献

- [1] Hamano, T., S. Matsuura. Egg laying and egg mass nursing behaviour in the Japanese mantis shrimp. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1984, 50(12): 1969 ~ 1973.
- [2] Hamano, T., S. Matsuura. Egg size, duration of incubation, and larval development of the Japanese mantis shrimp in the laboratory. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1987, 53(1): 23 ~ 39.
- [3] Hamano, T. Mating behaviour of *Oratosquilla oratoria*. *J. Crust. Biol.*, 1988, 8(2): 239 ~ 244.
- [4] 山崎诚, 富士昭. シヤコ *Oratosquilla oratoria* (De Huan) の生殖周期の研究. 西海区水产研究报告, 1988(57): 86 ~ 98.
- [5] 山崎诚. シヤユの生物生产过程ヶ开ボロ生态学的研究. 西海区水产研究报告, 1988(66): 69 ~ 100.
- [6] 梅文骥, 王春琳, 徐善良等. 浙江沿海虾蛄生物学及其开发利用研究(专辑). 浙江水产学院学报, 1996, 15(1): 1 ~ 85.
- [7] 邓景耀, 程济生. 渤海虾蛄渔业生物学研究. 见: 中国甲壳动物学会编. 甲壳动物学论文集(第三集). 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1992. 36 ~ 44.
- [8] 王波, 张锡烈, 孙丕喜. 口虾蛄的生物学特征及其人工苗种生产技术. 黄渤海海洋, 1998, 16(2): 64 ~ 73.
- [9] 王春琳, 郑春静, 施祥元等. 黑斑口虾蛄育肥暂养的初步研究. 见: 苏永全编. 虾类的健康养殖. 北京: 海洋出版社, 1998. 240 ~ 243.
- [10] 蒋覆敏, 王春琳, 赵青松等. 虾蛄的人工养殖技术研究. 东海海洋, 1999, 17(2): 47 ~ 50.
- [11] 上官步敏, 刘正琮, 李少菁. 锯缘青蟹卵巢的组织学研究. 动物学报, 1991, 15(2): 96 ~ 103.
- [12] 芮菊生. 组织切片技术. 北京: 人民教育出版社, 1982. 40 ~ 60.
- [13] 堵南山. 甲壳动物学(下册). 北京: 科学出版社, 1993. 384 ~ 386.



1. 黑斑口虾蛄卵子发育 I、II 期  $\times 200$ ; A: 卵原细胞, B: 卵黄形成前期卵母细胞; 2. 黑斑口虾蛄卵子发育 III 期前期  $\times 240$ ; 3. 黑斑口虾蛄卵子发育 III 期中期  $\times 240$ ; 4. 黑斑口虾蛄卵子发育 III 期后期  $\times 240$ ; 5. 黑斑口虾蛄卵子发育 IV 期  $\times 160$ ; 6. 黑斑口虾蛄卵黄形成期卵母细胞中期  $\times 8000$ ; A: 卵黄, B: 皮层颗粒