

隆线蚤孤雌生殖系统的组织学^{*}

张明凤^{①②} 赵云龙^{①**} 杨志彪^① 曾 错^①

(^①华东师范大学生命科学学院 上海 200062; ^②福建师范大学生物工程学院 福州 350007)

摘要: 隆线蚤孤雌生殖系统由一对卵巢、一对输卵管和一对雌性生殖孔组成。卵巢长管状,管壁由结缔组织膜和单层上皮细胞构成,末端渐细为一短小的输卵管,输卵管末端为雌性生殖孔。卵子的发生是由生发区细胞向卵巢内增殖分化,不同成熟度的生殖细胞在管腔内排列成生殖带。根据卵母细胞细胞核的大小及卵黄的累积情况等,将卵子的发生划分为三个时期:卵原细胞、卵母细胞和成熟卵子,其中卵母细胞的发生又可细分为三个时期:前期、中期和后期。后期的卵母细胞含较多的卵黄颗粒,最后成为成熟卵子,排入孵育囊内形成夏卵。隆线蚤孤雌生殖的卵巢发育要经历五个幼龄期,不同的龄期,卵巢的形态结构不同。至第五幼龄,卵巢已基本发育成熟,准备排卵进入第一成龄。

关键词: 隆线蚤;孤雌生殖;雌性生殖系统;组织学

中图分类号: Q959 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2004)04-68-05

Histology of the Female Reproductive System in Parthenogene of *Daphnia* (*Ctenodaphnia*) *carinata*

ZHANG Ming-Feng^{①②} ZHAO Yun-Long^① YANG Zhi-Biao^① ZENG Cuo^①

(^① School of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062;

^② Bioengineering College, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China)

Abstract: The female reproductive system of parthenogene in *Daphnia* (*Ctenodaphnia*) *carinata* was consisted of a pair of ovaries, oviducts and female gonopores. The ovary was tube-shaped and its wall was composed of connective tissue and a layer of epithelial cells. The end of ovary, which got smaller, was a female gonopore. The germinal cells at different mature levels lined in the lumen to form reproductive zone. According to the nuclear size and the vitelline accumulation, oogenesis might be divided into three stages: oogonium, oocyte and mature ovum. The genesis of oocyte also could be divided into three stages: primal, middle and final. At the final stage, the oocyte contained many globules, then developed to mature parthenogenetic ovum and finally moved to the female's brood pouch. The ovarian development could be divided into five instars. In different instars, the morphology and structure of ovary were different. When the parthenogenetic female of *D. carinata* reached the fifth instar, the ovary had developed maturely and the female was ready to enter the first adult stage.

Key words: *Daphnia* (*Ctenodaphnia*) *carinata*; Parthenogene; Female reproductive system; Histology

枝角类(*Cladocera*)是一类低等小型甲壳动物,作为一种优质天然饵料,研究其生长、发育和繁殖以进行规模化培养,对淡水养殖业意义重大。在枝角类种群生长、繁殖、发育及环境评价等方面,已有不少报道^[1-4]。但在生殖生物学方面,国内外学者多着眼于休眠卵及卵鞍的亚显微结构研究^[5,6],而对雌性枝角类生殖系统的结构和发育则少有报道。本文研究了淡水枝角类的

常见种——隆线蚤 [*Daphnia* (*Ctenodaphnia*) *carinata*] 孤雌

* 高等学校博士点基金(No. 20010269002)资助;

** 通讯作者, E-mail: ylzha@bio.ecnu.edu.cn;

第一作者介绍 张明凤,女,27岁,博士;研究方向:水生动物生态及发育生物学;E-mail: biozmf@163.com.

收稿日期:2004-01-16,修回日期:2004-05-10

蚤生殖系统的组织学结构和卵子发生的动态过程,为进一步了解枝角类的生殖生物学以及种群遗传学提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源及培养 隆线蚤蚤种于2003年2月购于上海市大渡河路花鸟市场。鉴定后,取生长状况良好的孤雌蚤室温培养,饲以枝角类培养液^[7](土壤10.0 g、兔子粪便1.5 g和青菜2.0 g混合,加入1000 ml水煮过滤)。根据水质状况定期更换培养液。

1.2 方法 取刚出生的孤雌蚤置于1 ml的培养液中单独培养,记录每只幼蚤每次蜕皮的时间。在光镜下观察各个龄期蚤体的外形和生殖腺的结构,并取每个龄期若干头活体固定于Bouin's液中,常规石蜡包埋与连续切片,切片厚度6 μm ,Ehrlich氏苏木精-伊红对比染色,日产Olympus BH-2显微镜下观察和拍照。

2 结果

2.1 生殖系统的形态结构 隆线蚤孤雌蚤的生殖系统由一对卵巢、一对输卵管和一对雌性生殖孔组成。卵巢左右对称,始于心脏中央处,并列于中肠两侧,呈长管状,至蚤体后腹部渐细为输卵管,输卵管仅为短小的一段,末端开口为雌性生殖孔。

成熟孤雌蚤的卵巢主要由卵巢壁和各时期的生殖细胞组成,其内还分布有结缔组织、肌丝和血窦。卵巢壁由结缔组织膜和单层上皮细胞构成,卵巢壁随着卵巢的发育和卵细胞体积的增大逐渐变薄。生殖细胞的生发区位于管状卵巢的后半段,生殖细胞从这里发生并被挤向卵巢的前端,在前移的过程中卵母细胞不断吸收营养增大,长成卵母细胞。而后卵母细胞由圆形伸长为椭圆形,核内物质分裂成数块,此时已经是卵母细胞中期。中期的卵母细胞在卵巢内继续移动,吸收营养长成成熟的卵子,最后通过输卵管和雌性生殖孔排入孵育囊内。卵母细胞是在卵巢内缓慢移动并且逐渐成熟的。输卵管呈短管状,是卵巢壁的延伸,管壁也是由结缔组织膜和单层上皮细胞构成的。

2.2 卵子的发生 隆线蚤孤雌蚤卵子发生经历卵原细胞增殖生长、卵母细胞发育长大、卵黄累积,直至成熟。根据卵母细胞质及核的形态大小、卵黄的累积情况,将卵子发生分为三个阶段。

2.2.1 卵原细胞 卵原细胞位于管状卵巢的后半段,细胞卵圆形,长约8~13 μm ,宽约6~8 μm 。细胞质少而透明,染色较均匀,呈嗜碱性,无卵黄颗粒。核质高度浓缩为一个大的圆球,直径约4~7 μm ,位于核区的中

部,核质染色深且均匀,染色质少而分散,核仁不明显,核质比约0.503(图版I:1)。

2.2.2 卵母细胞 卵原细胞逐渐增殖长大为卵母细胞,卵母细胞经过成熟分裂逐渐长大为成熟的卵子。根据卵母细胞核物质的变化及卵黄合成的不同时期,将卵母细胞的发育分成三个阶段:前期、中期和后期。

前期:细胞呈卵圆形或略呈椭圆形,长约14~24 μm ,宽约13~24 μm 。细胞质逐渐增厚,染色较均匀,呈嗜碱性,无卵黄颗粒。核高度浓缩为一个大的圆球,直径约4~8 μm ,位于核区的中部,核质染色较深,染色质呈颗粒状分布,核仁不明显,核质比约0.353(图版I:2)。

中期:细胞开始由卵圆形逐渐拉长呈长圆形,核也由圆球形逐渐纵向拉伸。根据细胞和核的形态变化,可将中期细分为三个时期:中I期、中II期和中III期。

中I期:细胞开始纵向拉伸,整个细胞呈长圆形或者扁圆形,长约29~38 μm ,宽约18~22 μm 。细胞质层增厚且呈颗粒状分布,嗜碱性,由不含卵黄颗粒向含少量的卵黄颗粒过度。核开始纵向拉长,呈不规则的长条形,部分已分裂,核区呈现出弥散状,核物质染色深,染色质浓缩成颗粒状,核仁不明显,核质比约0.229(图版I:3)。

中II期:细胞外形呈不规则的长圆形,个体比中I期的卵母细胞大,长约31~40 μm ,宽约18~30 μm 。细胞质厚且颗粒状分布,有些嗜酸性,已开始积累卵黄颗粒。此期的细胞核已分裂成数块,核区物质呈现出弥散状,核仁消失,核质比约0.239(图版I:4)。

中III期:此期的卵母细胞个体较中I期和中II期小,呈不规则的长圆形,长约29~38 μm ,宽约20~28 μm 。细胞质层厚且呈颗粒状分布,染色不太均匀,呈现出一定的嗜酸性。核物质高度浓缩成不规则的形状,边缘有些弥散,核质染色较深,呈红褐色,核仁无法看到,核质比约0.175(图版I:5)。

后期:卵母细胞继续增大,细胞大而圆,长约38~44 μm ,宽约28~30 μm 。细胞质中大颗粒卵黄逐渐增多,呈嗜酸性。细胞核高度浓缩呈大而圆的球形,直径约12~13 μm ,核质染色深,呈红褐色,核仁不明显,核质比约0.200,核内有少量浅红色的圆形球滴,为脂肪滴(图版I:6)。

2.2.3 成熟卵子 成熟卵子的形态和后期的卵母细胞极为相似,但个体更大,长约54~56 μm ,宽约28~36 μm 。细胞质内聚集有大量的卵黄颗粒,嗜酸性。核物质高度浓缩呈球形,直径约14 μm ,染色深,内有许多小的脂肪滴,核质比约0.179。发育成熟的卵母细胞将通

过输卵管直接排入孵育囊中(图版 I:7)。

2.3 性腺发育 隆线蚤孤雌蚤自出生到性成熟(第一龄)需经历五个幼龄期,刚从孵育囊中孵化出来的幼体为第一幼龄,以后每蜕一次皮增加一龄。在室温(20~25℃)下,大约1~2 d蜕皮一次,从第一幼龄到第一龄约需5~6 d。隆线蚤孤雌蚤各个幼龄期蚤体大小见表1。

隆线蚤一出世即第一幼龄,其卵巢已初步成型,密

布着许多个体较大的卵原细胞。到第二幼龄,卵巢逐渐增大,卵原细胞成团集中在卵巢的后半段,卵巢前半段均为前期的卵母细胞。到第三幼龄,除卵原细胞和前期的卵母细胞外,还可见纵向伸长、核物质分裂成数块的中期的卵母细胞,主要位于卵巢的前段。第四幼龄时,出现后期的卵母细胞,也主要位于卵巢的前段。到第五幼龄,卵巢已基本发育成熟,在卵巢前端已有成熟的卵子出现,此时蚤体准备排卵,进入第一龄。

表1 隆线蚤孤雌蚤各个幼龄期蚤体大小及生殖细胞发生过程(单位:mm)

| | 第一龄 | 第二龄 | 第三龄 | 第四龄 | 第五龄 |
|------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| 体长 | 0.638 ± 0.052 | 0.784 ± 0.080 | 0.942 ± 0.081 | 1.104 ± 0.063 | 1.237 ± 0.058 |
| 体宽 | 0.344 ± 0.034 | 0.417 ± 0.039 | 0.522 ± 0.054 | 0.648 ± 0.036 | 0.661 ± 0.033 |
| 生殖细胞 | 卵原细胞 | 卵母细胞前期 | 卵母细胞中期 | 卵母细胞后期 | 成熟卵子 |

3 讨论

3.1 卵巢的结构特点 枝角类是甲壳动物演化谱系中相对原始的一个分支,其形态特征在诸多方面都显示出原始性,其雌性生殖系统也是如此。隆线蚤孤雌蚤的卵巢呈一条简单的管道状,没有卵巢壁突出物将其分区,生殖细胞仅按一定规律布满卵巢。卵巢壁由疏松结缔组织膜和单层上皮细胞构成,生殖细胞发生在卵巢后半段的一定区域。输卵管极短,仅由一小管以雌性生殖孔通往孵育囊内。相比之下,高等甲壳动物的雌性生殖系统趋于复杂,如:罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)^[8]就有明显的结构和功能分化。

3.2 生殖细胞的分布规律和成熟过程 虾、蟹类一般是由内生殖上皮产生大量卵原细胞,随后发育的卵母细胞逐渐被推向卵巢外周^[9-11]。隆线蚤则不同,其孤雌蚤的生殖细胞在卵巢分布有一定规律,卵母细胞的移动也具一定规则。根据各时期卵母细胞在卵巢内的特定分布(图版 I:8),推断可能是由卵巢后半段外壁的一个小区域内产生大量卵原细胞,它们边吸收营养生长边不断被挤向卵巢的前端,在前移的过程中不断长大成熟。最后待所有的卵子发育成熟后,经输卵管排入孵育囊内。

卵母细胞在卵巢以前移的方式逐渐发育成熟可能是枝角类生殖方式上的一种适应。由于枝角类的卵巢仅为一长管,没有较大的空腔供卵母细胞同时大量发生,这样边移动边成熟的方式,避免了生殖细胞在卵巢内拥挤、无序,提高了生殖效率。另外枝角类卵子在卵巢移动,能充分吸收营养物质,积累足够的卵黄物质,以供胚胎发育。何松久等^[12]、施心路等^[13]的实验证明大型蚤和微齿喜马拉雅低额蚤的夏卵排卵3小时之后

自孵育囊取出能在外界水中100%孵化为活的幼蚤,这可能与卵子在卵巢内积累了丰富的养料有关。

3.3 生殖细胞的成熟分裂 由于枝角类孤雌生殖个体排入孵育囊内的卵子不需经过受精就能直接发育成新个体,因此其生殖细胞的成熟分裂也不同于其它有性生殖个体。对于枝角类孤雌蚤卵母细胞的两次成熟分裂,目前还有争议。Bacci等^[14]在研究蚤状蚤雌性生殖细胞发生过程中染色体的变化后,认为枝角类的雌性生殖细胞经历第一成熟分裂为核内减数分裂,二价体分开,但细胞不分裂,因此分裂后的染色体数没有减半,仍是二倍体,此次分裂没有释放出第一极体。蒋燮治等^[15]在其著作中描述的成熟分裂是在孵育囊内,卵细胞经过一次均等分裂,卵子一分为二,没有说明有否极体产生。此次对隆线蚤孤雌蚤卵巢组织学研究发现,在卵母细胞中期其核物质分裂成数块,但核膜未见分裂,可能与Bacci等描述的核内减数分裂有关联,即同源染色体分开,但细胞不分裂,因此染色体数目没有减半。关于枝角类孤雌生殖个体成熟分裂过程具体如何还有待于借助染色体分离和电镜技术进一步证实。

致谢 本文得到华东师范大学99级本科生文哲、唐文俊两位同学的大力协作,在此深表感谢!

参 考 文 献

- [1] Hebert P D N. The population biology of *Daphnia* (Crustacea: Daphniidae). *Biological Reviews*, 1978, **53**: 387~426.
- [2] Martinez-Jeronimo F, Villasenor R, Rios G, et al. Effect of food type and concentration on the survival, longevity and reproduction of *Daphnia magna*. *Hydrobiologia*, 1994, **287** (2): 207~214.

- [3] Khmeleva N N, Golubev A P, Kidava A. Growth and reproduction of *Daphnia magna* under changing photoperiod and temperature conditions. *Doklady Akademii Nauk Belarusi*, 1995, 39(3): 71 ~ 74.
- [4] Brown D, Croudace C P, Williams N J, et al. The effect of phthalate ester plasticisers tested as surfactant stabilised dispersions on the reproduction of the *Daphnia magna*. *Chemosphere*, 1998, 36(6): 1 367 ~ 1 379.
- [5] 堵南山, 李逸平. 隆线蚤卵鞍的超微结构. 动物学报, 1990, 36(4): 341 ~ 344.
- [6] 堵南山, 李逸平. 若干种枝角类卵鞍表面亚显微结构的比较研究. 水生生物学报, 1992, 16(4): 331 ~ 334.
- [7] 堵南山, 赖伟, 邓雪怀等. 隆线蚤生长与生殖力. 华东师范大学学报(自然科学版), 1983, 1: 58 ~ 91.
- [8] 赵云龙, 彭欣夏, 李祥. 罗氏沼虾雌性生殖系统的组织学研究. 华东师范大学学报(自然科学版), 1998, 3: 81 ~ 85.
- [9] 王桂忠, 李少菁, 朱东发. 东方扁虾卵巢和滤泡结构的研究. 海洋学报, 2002, 24(5): 107 ~ 114.
- [10] 顾志敏, 何林岗. 中华绒螯蟹卵巢发育周期的组织学细胞学观察. 海洋与湖沼, 1997, 28(2): 138 ~ 145.
- [11] 邓道贵, 高建国. 粗糙沼虾卵巢发育的组织学. 动物学杂志, 2002, 37(5): 59 ~ 61.
- [12] 何松久, 杨春荣, 史新柏. 大型蚤夏卵孵化问题的讨论. 哈尔滨师范学院学报(自然科学版), 1964, 2: 215 ~ 226.
- [13] 施心路, 史新柏. 微齿喜马拉雅低额蚤的生殖与发育. 动物学报, 1996, 42(3): 287 ~ 296.
- [14] Bacci G, Cognetti G, Vaccari A. Endomeiosis and sex determination in *Daphnia pulex*. *Experientia*, 1961, 17: 505 ~ 506.
- [15] 蒋夔治, 堵南山编著. 中国动物志: 节肢动物门甲壳纲淡水枝角类. 北京: 科学出版社, 1979, 1 ~ 297.

图 版 说 明

1. 生殖细胞发生区内的卵原细胞, 横切面(OG) $\times 1\,000$; 2. 卵母细胞初期, 横切面(OCp) $\times 1\,000$; 3. 卵母细胞中期 I, 横切面(OCm I) $\times 1\,000$; 4. 卵母细胞中期 II, 横切面(OCm II) $\times 1\,000$; 5. 卵母细胞中期 III, 横切面(OCm III) $\times 1\,000$; 6. 卵母细胞后期, 横切面(OCf) $\times 400$; 7. 即将排入卵育囊内的成熟卵子, 横切面(OV) $\times 1\,000$; 8. 成熟卵巢整体纵切, 内分布各时期卵母细胞, 纵切面 $\times 200$

张明凤等:隆线蚤孤雌生殖系统的组织学

图版 I

ZHANG Ming-Feng *et al.*: Histology of the Female Reproductive System in
Parthenogene of *Daphnia* (*Ctenodaphnia*) *carinata*

Plate I

