

# 黄颡鱼性腺分化的组织学观察

尹洪滨 贾中贺 姚道霞 孙中武 于波 孙德志

( 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所 哈尔滨 150070; 东北林业大学生命科学学院 哈尔滨 150040; 黑龙江省肇东市东发渔业有限公司 肇东 151121; 西北民族大学 兰州 730030)

**摘要:** 运用组织学方法,观察黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 性腺分化过程。结果表明,在水温 ( $20 \pm 1$ ) 条件下,卵巢分化时间明显早于精巢。卵巢分化最早发生于孵出后 13 d 左右,其主要标志为原始性腺横切面上出现一个组织突起,进而形成卵巢腔;精巢分化的最早标志为精小叶和输精管的形成,开始于孵出后 55 d。在发育早期,雌性生殖细胞的活动及分化明显早于雄性生殖细胞。孵出后 25 d,卵原细胞开始通过有丝分裂快速增殖,孵出后 34 d 左右进入成熟分裂阶段;精原细胞在孵出后 55 d 时才开始大量增殖,成熟分裂最早发生于孵出后 64 d。

**关键词:** 黄颡鱼; 性腺分化; 组织学方法

**中图分类号:** Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2008)06-103-06

## Sex Differentiation in *Pelteobagrus fulvidraco*

YIN Hong-Bin JIA Zhong-He YAO Dao-Xia SUN Zhong-Wu YU Bo SUN De-Zhi

( Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070; College of Life Sciences, Northeast Forestry University, Harbin 150040; Dongfa Fishery Corporation, Zhaodong, Heilongjiang 151121; Northwest University for Nationalities, Lanzhou 730030, China)

**Abstract:** Histological methods were used to observe the sex differentiation of *Pelteobagrus fulvidraco*. It was shown that ovary differentiated before spermary under temperature of ( $20 \pm 1$ ). The anatomical indication of ovarian differentiation was the formation of ovarian cavity. Ovary began to form 13 days after hatching. The anatomical indication of spermary differentiation was the formation of spermatiduct and seminiferous lobule, and spermary appeared 55 days after hatching. In the early period of development, germ cell division in the female was earlier than that in the male. The mitosis of oogonia appeared 25 days after hatching and the spermatogonia proliferated 55 days after hatching. Besides, the meiosis of oogonia appeared 34 days after hatching while the meiosis of spermatogonia began 64 days after hatching.

**Key words:** *Pelteobagrus fulvidraco*; Sex differentiation; Histological methods

黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 俗名嘎牙子,隶属鲇形目(Siluriformes)鲿科(Bagridae)黄颡鱼属<sup>[1]</sup>,是我国重要的小型经济鱼类。在黑龙江省内主要分布于黑龙江、嫩江、松花江和牡丹江等水域。到目前为止,公开发表的有关黄颡鱼的研究论文近百篇,有关黄颡鱼性腺结构及发育的研究也有数篇<sup>[2~4]</sup>,但对黄颡鱼性别分化的过程及雌雄性别分化特点尚未见报道。

性腺发生及分化发育规律的研究对于调控鱼类的繁殖性能,提高其种质特性,开发和利用优良的品种资源具有重要意义。因此这方面研究资

---

基金项目 农业部公益性行业科研专项(No. 200803055),国家技术基础条件平台建设项目(No. 2006DKA30470-005);

第一作者介绍 尹洪滨,女,研究员;研究方向:鱼类细胞生物学;E-mail: hongbinyns@yahoo.com.cn。

收稿日期:2008-05-19,修回日期:2008-09-08

料的缺乏将有碍于黄颡鱼遗传育种工作的进一步发展。本研究通过对黄颡鱼仔鱼性腺分化过程的组织学观察,初步确定其性分化时间和雌雄性别分化的特点,为黄颡鱼性别的判断提供依据,也为进一步进行黄颡鱼遗传育种奠定基础。

## 1 材料与方法

**1.1 实验材料** 实验用黄颡鱼仔鱼通过人工授精、孵化获得。黄颡鱼亲鱼于2005年6月(黄颡鱼产卵期)采于黑龙江省肇东市东发渔业有限公司。

**1.2 实验方法** 选出健康的性成熟亲鱼,注射催产药物后,暂放于实验鱼池内,水温( $23 \pm 1$ )。待到亲鱼发情,人工干法授精,胚胎孵化温度为( $25 \pm 1$ )。出膜后仔鱼用( $20 \pm 1$ )水温培育,投喂饵料。共孵化鱼苗3批,进行重复实验。

鱼苗孵化后从4d开始至70d,每隔3d取样一次,每次取样10尾。测量体重(精确至0.01g)和体长(精确至0.1mm)。去掉头部和尾部后固定在Bouin's液中。固定好的样品用梯度酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋。切片厚度 $6 \sim 8 \mu\text{m}$ ,H.E染色,中性树胶封片,Olympus显微观察并摄影。通过组织学观察判断黄颡鱼性别分化时间。

## 2 结果

**2.1 原始性腺** 孵出后4d的黄颡鱼仔鱼横切片中可观察到在肾管下方与肠管之间的体腔膜基部左、右各有1个组织突起(图版:1),并有1个细胞存在组织突起中。细胞变形为椭圆形,但仍具早期原始生殖细胞(PGCs)的典型特征,体积大,直径 $7 \sim 9 \mu\text{m}$ ,胞质着色较浅,核大且透亮,约占细胞体积的 $1/2 \sim 2/3$ ,核内有1个被染成深蓝色的核仁(图版:2),这一组织突起称为原始性腺。孵出后7d,黄颡鱼的原始性腺大小没有太大变化,只是PGCs数目增至2个(图版:3)。孵出后10d,原始性腺的大小开始发生变化,一部分黄颡鱼的原始性腺发育较

快,体细胞开始迅速增殖,原始性腺体积增大,横切面呈棒形,内部的PGCs仍旧为 $1 \sim 2$ 个(图版:4)。

## 2.2 性腺分化

**2.2.1 卵巢分化** 孵出后13d,发育较快的那部分原始性腺形态发生变化,在原始性腺横切面背侧体细胞增殖,开始出现一个组织突起。组织突起的形成,标志着卵巢解剖学上分化的开始。此时性腺原基内的PGCs数目仍旧没有明显增加(图版:1)。

孵出后16d,发育较快的那部分原始性腺内的PGCs开始通过有丝分裂迅速增殖,细胞数目增加,原始性腺腹面有向背面组织突起弯曲的趋势(图版:2)。组织突起内的体细胞迅速增殖,使组织突起不断伸长,至孵出后19d,有的组织突起继续生长,即将与腹面的性腺组织融合(图版:3),原始的卵巢腔形成。卵巢腔的形成是卵巢分化过程中一个重要的解剖学标志。

孵出后25d的性腺中可见PGCs正通过有丝分裂进行增殖,数目显著增加。在生殖上皮及附近的基质中出现时相卵原细胞。时相卵原细胞呈圆形,胞质较少,嗜碱性,被染成浅紫色。核较大,呈圆球形,染色较浅,核径 $10 \sim 12 \mu\text{m}$ ,卵径 $18 \sim 20 \mu\text{m}$ (图版:4)。孵出后28d,可见时相卵原细胞进行有丝分裂增殖,细胞数目显著增加(图版:5)。时相卵原细胞最大的特点就是进行频繁的有丝分裂,以增加未来卵母细胞的数量。

孵出后34d,黄颡鱼卵巢内的卵原细胞停止有丝分裂,过渡到细胞质与核的增长而进入小生长阶段。此时卵巢内除了时相卵原细胞外,还出现大量时相卵母细胞。时相卵母细胞体积明显大于卵原细胞,呈卵圆形,胞质嗜碱性,被苏木精染成蓝紫色,核内出现 $5 \sim 12$ 个核仁,核径 $25 \sim 35 \mu\text{m}$ ,卵径 $35 \sim 50 \mu\text{m}$ (图版:6)。时相卵母细胞的出现标志着卵巢细胞学上分化的开始。

**2.2.2 精巢分化** 黄颡鱼精巢的分化时期比卵巢要晚,其主要特征为精小叶及输出管的形

成以及生殖细胞的分裂。黄颡鱼孵出后很长一段时间,有一部分原始性腺内的 PGCs 数目很少,细胞的有丝分裂长期处于相对静止的状态(图版 :7),这些性腺之后发育成精巢。直至孵出后 40 d,切片中可观察到精原细胞不定向地分散于间质细胞之间,精原细胞体积较 PGCs 小,直径 5~7 μm,呈圆形或卵圆形,细胞核位于中央,核内有一个着色很深的核仁(图版 :8)。

孵出后 55 d,精原细胞通过有丝分裂大量增殖,细胞数目显著增加,充满整个精巢,并且成团成簇分布,形成精小叶的雏形,不同的精小叶由间质组织分隔开。此时,在精巢横切面靠近体腔膜的部位出现明显的输出管(图版 :9)。输出管和精小叶的形成标志着精巢解剖学水平上的分化。

孵出后 64 d,精巢内的精原细胞停止有丝分裂,进入减数分裂期,卵巢内开始出现初级精母细胞。初级精母细胞比精原细胞小,细胞质兼色性,基本不着色,核嗜碱性强,染色很深,没有明显的核仁。初级精母细胞的出现标志着精巢进入细胞水平上的分化(图版 :10)。

### 3 讨论

#### 3.1 黄颡鱼性分化时间

关于鱼类的性分化时间,不同种的鱼类之间存在一定差异。青鳉 (*Oryzias latipes*)<sup>[5]</sup>的性分化发生在孵化期;黄鳍 (*Monopterus albus*)<sup>[6]</sup>和鲢鱼 (*Hypophthalmichthys molitrix*)的性分化发生在孵化后 15~40 d 之间<sup>[7]</sup>;大西洋鲑 (*Salmo salar*)<sup>[8]</sup>的性分化发生在孵化后的 40~60 d;而泰山螭霖鱼 (*Varicorhinus macrolepis*)<sup>[9]</sup>与半滑舌鲷 (*Areliscus semilaevis*)<sup>[10]</sup>则在孵出 60 d 以后才出现性分化。此外,同种鱼类不同性别之间性分化时间也有不同,有很大一部分鱼类,卵巢分化要早于精巢分化。半滑舌鲷<sup>[10]</sup>孵出后 62 d 时发育成为卵巢的性腺迅速增大变宽,开始卵巢的分化,孵出后 120 d 形成明显的卵巢腔,开始了细胞学的分化;而在孵出后 100 d 时才形成输精管原基,开始精巢的分化,细胞学的分化则开始于孵出

后 150 d 左右。也有一些鱼类,卵巢分化要比精巢分化晚。黑脊倒刺鲃 (*Spinibarbus caldwelli*)<sup>\*</sup>孵出后 28 d 时未分化性腺中的 PGCs 发育成精原细胞,孵出后 32 d 精巢明显分化;而直到孵出后 42 d,才观察到向着卵巢分化的早期卵巢,在孵出后 90 d 的幼鱼中观察到明显分化的卵巢。

本研究中黄颡鱼雌性性腺分化时间早于雄性,在孵出后 13 d 时出现卵巢分化的趋势,至孵出后 19 d,卵巢腔开始形成,这一时间比南方鲇 (*Silurus meridionalis*)<sup>[11]</sup>要晚,但是却早于革胡子鲇 (*Clarias leather*)<sup>[12]</sup>和非洲鲇 (*C. gariepinus*)<sup>[13]</sup>。虽然卵巢腔的形成时间较南方鲇晚,但是生殖细胞的成熟分裂却早于南方鲇,在孵出后 34 d 时即出现时相卵母细胞,开始进入成熟分裂时期。黄颡鱼精巢分化时间与非洲鲇<sup>[13]</sup>基本一致,始于孵出后 40 d 左右。至孵出后 55 d,精小叶和输精管形成,标志着精巢解剖学上分化的完成,雄性生殖细胞的成熟分裂发生在孵出后 64 d 左右。

不同种的鱼类之间,性腺分化时间存在着差异;同种鱼的雌、雄性腺分化时间同样存在着差异。性腺分化是受基因调节控制的,性腺分化时间的差异表明不同种鱼类生殖发育的进程是不同的,也与雌雄个体不同的生理学功能有着密切的关系。

#### 3.2 黄颡鱼性分化的标志

##### 3.2.1 解剖学上的分化

卵巢腔的形成是判断性腺向卵巢分化的一个重要而可靠的解剖学标志。但在不同的鱼类,初始卵巢腔的形态、形成时间和方式各不相同。Nakamura 等<sup>[14]</sup>的研究发现杜父鱼属 (*Cottus*) 和罗非鱼属 (*Oreochromis*) 鱼类卵巢腔的形成是生殖腺的外侧面上下各形成一个组织突,两个突起向下向上延伸,在侧面融合而形成卵巢腔;青鳉<sup>[15]</sup>卵巢腔的形成是性腺向体腔后壁拉伸,其边沿与体腔后壁融合形成卵巢腔;泰山螭霖鱼<sup>[9]</sup>未分

\* 苏敏. 黑脊倒刺鲃胚胎、幼鱼的发育及原始生殖细胞的起源、迁移和分化的研究. 福州: 福建师范大学硕士学位论文, 2003.

化性腺的基部首先出现由上皮细胞形成的纵裂小腔,之后生殖腺内的裂隙形成小的卵巢腔;南方鲇<sup>[11]</sup>卵巢腔的形成方式是在生殖褶腹面形成两个纵向的组织突,两个组织突伸长,向腹面方向靠拢,融合在一起而形成卵巢腔,或者一侧的组织突生长较快,向另一侧弯曲生长,越过生殖腺的腹中线与另一侧的组织突融合而形成卵巢腔。黄颡鱼卵巢分化的方式与南方鲇类似,但又不完全相同。孵出后 13 d,黄颡鱼原始性腺的背部出现一个组织突起,组织突起不断伸长,形成原始性腺的一个分支,同时原始性腺也向组织突起靠拢,最后融合在一起形成原始的卵巢腔。

在雌、雄异体的分化型鱼类中,发育中的精巢生殖细胞和体细胞在卵巢分化后相当长的时间里处于休止状态,故精巢的分化过程难以清晰地分辨。以此可以推断,没有形成卵巢的个体更有可能要发育为雄性。目前的研究多以输精管原基的出现作为精巢分化的最早标志。另一解剖学标志是精小叶的形成。黄颡鱼仔鱼在孵出后 55 d 时,精原细胞充满整个性腺,并且成团成簇分布,形成精小叶的雏形,同时在性腺靠近体腔膜的部位出现明显的输精管,标志着精巢分化的开始。这一研究结果与半滑舌鳎<sup>[10]</sup>和南方鲇<sup>[11]</sup>的精巢分化过程类似。

**3.2.2 细胞学上的分化** 尽管生殖腺解剖学的分化可以作为性腺雌雄判别很好的依据,但细胞学上的分化依然是性别判断最可靠的依据。细胞学上的分化指的是性原细胞通过成熟分裂产生性母细胞的过程。本研究中孵出后 34 d 的黄颡鱼卵巢内出现 时相卵母细胞,卵巢开始了细胞学上的分化;而孵出后 64 d 时,精巢内出现初级精母细胞,这标志着雄性生殖细胞进入成熟分裂阶段,精巢开始了细胞学上的分化。

其实,性腺中生殖细胞的活动并非只在成熟分裂时才发生分化,雌雄生殖腺中的生殖细胞在早期的有丝分裂活动中就显示出了巨大的差别。青鳉刚孵化出膜时,其雌雄性腺中生殖细胞的数目就有不同,在注定要发育成卵巢的

性腺中生殖细胞的数目比注定要发育成精巢的性腺中生殖细胞要多,而且卵巢中生殖细胞的有丝分裂和成熟分裂所发生的时间都要比精巢中的生殖细胞早<sup>[14]</sup>。本研究也发现黄颡鱼早期雌雄性腺中生殖细胞数目增加的时期明显不同,卵原细胞有丝分裂发生在孵出后 28 d,而精原细胞则发生在孵出后 50 d 以后;在发育早期,同一日龄的仔鱼中原生殖细胞的数目差异显著,雌性生殖细胞的活动和分化明显先于雄性。

**3.3 结论** 本研究通过对黄颡鱼性腺分化的组织学观察得出结论:黄颡鱼性分化最早发生于孵出后 13 d 左右;雌、雄性别分化具有很大差异性,雌性分化明显早于雄性。解剖学上分化的标志为卵巢腔的出现和精小叶及输精管的形成,分别发生于孵出后 19 d 和 55 d 左右;细胞学上分化的标志主要是雌性和雄性生殖细胞的成熟分裂,分别发生在孵出后 34 d 和 64 d 左右。此外,原生殖细胞有丝分裂的时间和数目变化也可作为黄颡鱼性分化的一个标志。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] 张觉民. 黑龙江省鱼类志. 哈尔滨: 黑龙江科技出版社, 1995, 200 ~ 202.
- [ 2 ] 陈伟兴, 范兆廷, 杨洁. 黄颡鱼性腺的组织学观察. 东北农业大学学报, 2006, 37(2): 194 ~ 198.
- [ 3 ] 刘文彬, 张轩杰. 黄颡鱼精巢发育和周年变化及精子的发生与形成. 湖南师范大学自然科学学报, 2004, 27(1): 66 ~ 70.
- [ 4 ] 刘文彬, 张轩杰. 黄颡鱼的卵巢发育和周年变化. 湖南师范大学自然科学学报, 2003, 26(2): 73 ~ 78.
- [ 5 ] Hamaguchi S. A light and electron-microscopic study on the migration of priordial germ cells in teleost, *Oryzias latipes*. *Cell Tissue Res*, 1982, 227: 139 ~ 151.
- [ 6 ] 张小雪, 董元凯. 黄鳍性腺发生与分化的研究. 水利渔业, 1994, 73(5): 54.
- [ 7 ] 潘光碧, 邹世平, 邹桂伟等. 鲢的性分化及性转技术的初步研究. 上海水产大学学报, 2005, 14(2): 127 ~ 132.
- [ 8 ] 赵维信, Harache Y, 刘丽燕. 大西洋鲑性腺分化及热休克的影响. 水产学杂志, 1994, 7(2): 1 ~ 3.
- [ 9 ] 宋卉, 王树迎, 彭克美. 泰山螭霖鱼原始生殖细胞的发生及性腺分化规律的研究. 动物医学进展, 2005, 26(12): 62 ~ 67.

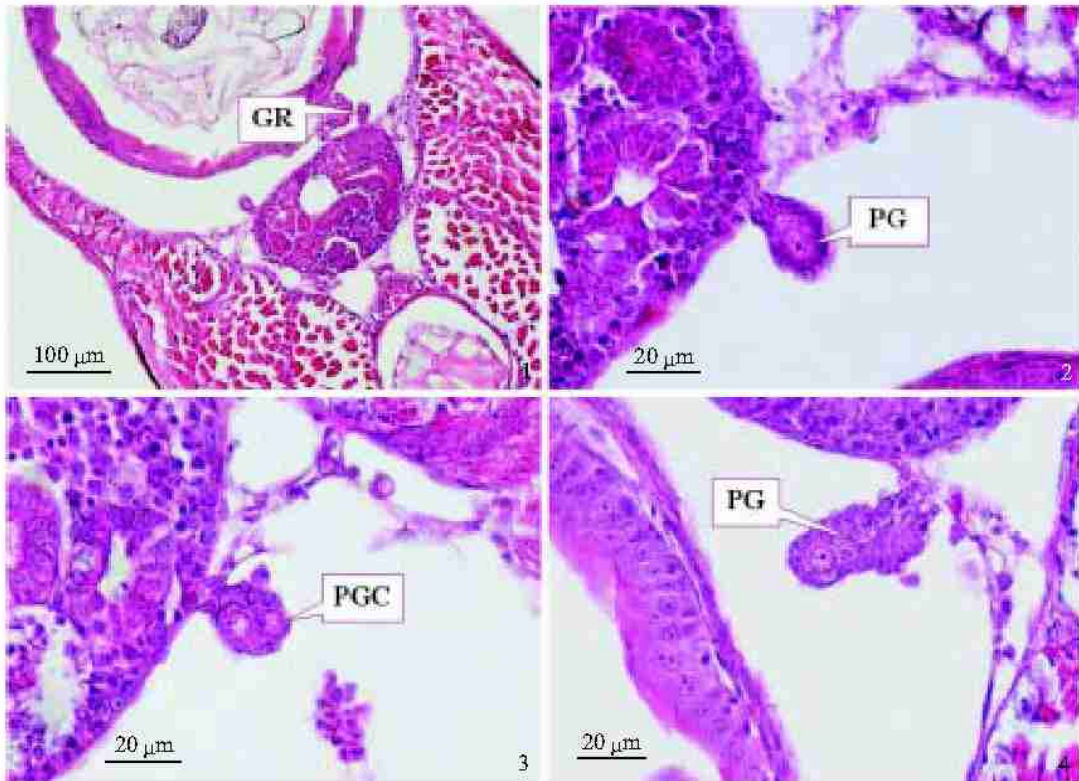
- [10] 马学坤, 柳学周, 温海深等. 半滑舌鲷性腺分化的组织学观察. 海洋水产研究, 2006, 27(2): 55 ~ 61.
- [11] 张修月, 焦保卫, 吴天利等. 南方鲇性腺分化的组织学观察. 动物学杂志, 2005, 40(1): 41 ~ 48.
- [12] 林光华, 熊敬维. 革胡子鲇卵巢在第一性周期内的分化与发育研究. 动物学研究, 1995, 16(4): 365 ~ 372.
- [13] Van Den Hurk R, Richter C J J, Janssen-Dommerholt J. Effects of 17 -methyltestosterone and 11 -hydroxyarrostenedione on gonad differentiation in the African Catfish, *Clarias gariepinus*. *Aquaculture*, 1989, 83: 179 ~ 191.
- [14] Nakamura M, Kobayashi T, Chang X T, et al. Gonadal sex differentiation in teleost. *J Exp Zool*, 1998, 281: 362 ~ 372.
- [15] Onitake K. Morphological studies of normal sex-differentiation and induced sex-reversal process of gonads in the medaka, *Oryzias latipes*. *Annot Zool Jap*, 1972, 45: 159 ~ 169.

### 尹洪滨等:黄颡鱼性腺分化的组织学观察

图版

YIN Hong-Bin et al.: Sex Differentiation in *Pelteobagrus fulvidraco*

Plate



#### 黄颡鱼原始性腺发育

1. 孵出后 4 d, 示组织突起 (GR); 2. 孵出后 4 d, 示原始性腺 (PG); 3. 孵出后 7 d, 示 2 个原始生殖细胞 (PGC); 4. 孵出后 10 d, 示体积增大的原始性腺 (PG)。

#### Primary gonad development in *Pelteobagrus fulvidraco*

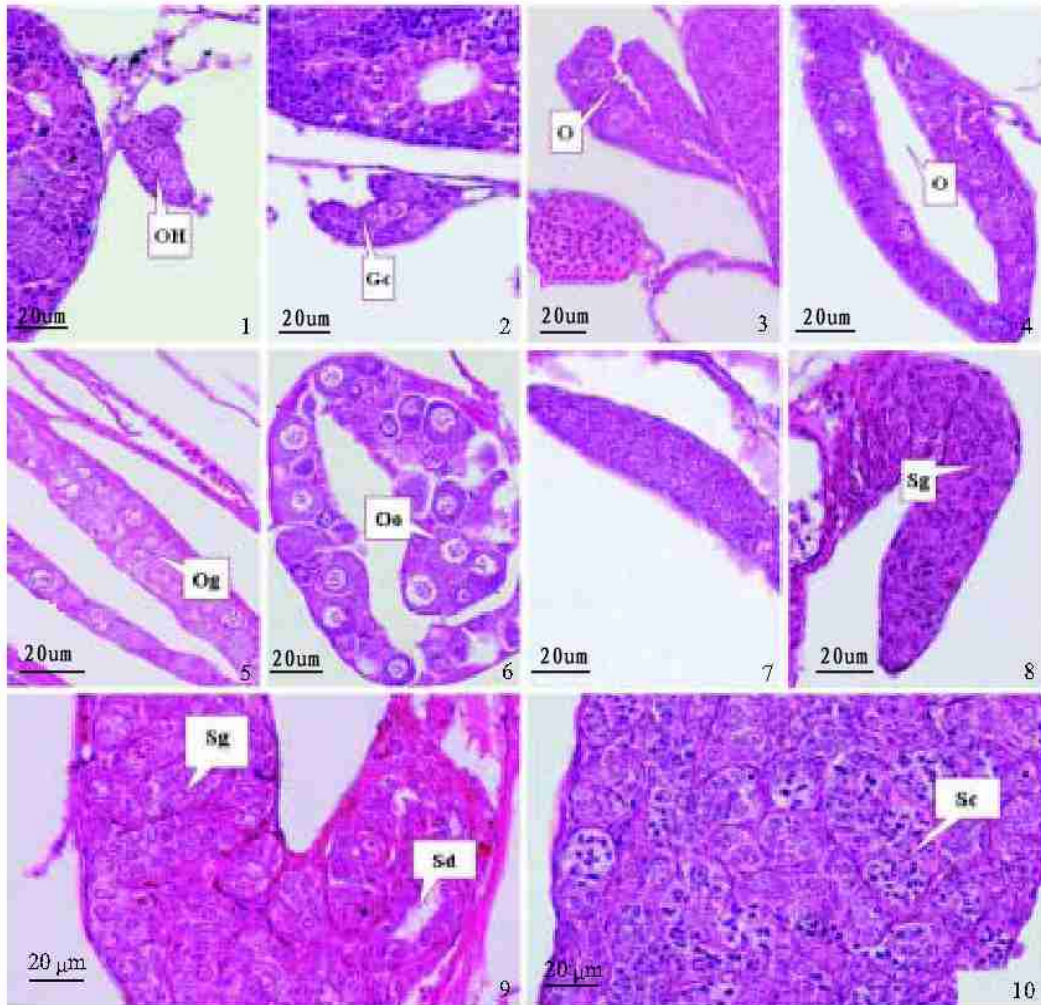
1. Genital ridges (GR) 4 days after hatching; 2. Primary gonad (PG) structure 4 days after hatching; 3. Gonad structure 7 days after hatching, showing two PGC in the genital ridge; 4. Growing primary gonad (PG) 10 days after hatching.

## 尹洪滨等:黄颡鱼性腺分化的组织学观察

图版

YIN Hong-Bin *et al.*: Sex Differentiation in *Pelteobagrus fulvidraco*

Plate



## 黄颡鱼卵巢、精巢分化

1. 孵出后 13 d, 示生殖嵴柄部出现组织突(OH); 2. 孵出后 16 d, 示弯曲的性腺(Gc); 3. 孵出后 19 d, 示卵巢腔(OC)即将形成; 4. 孵出后 25 d, 示卵巢腔(OC); 5. 孵出后 28 d, 示有丝分裂的卵原细胞(Og); 6. 孵出后 34 d, 示初级卵母细胞(Oo); 7. 孵出后 37 d, 示原始性腺; 8. 孵出后 40 d, 示精原细胞(Sg); 9. 孵出后 55 d, 示精原细胞(Sg)及输精管(Sd); 10. 孵出后 64 d, 示初级精母细胞(Sc)。

Ovary differentiation in *Pelteobagrus fulvidraco*

1. Gonad structure 13 days after hatching, showing organic heave (OH) at the petiole of genital ridge; 2. Curving gonad structure (Gc) 16 days after hatching; 3. Gonad structure 19 days after hatching, showing the formation of primary ovarian cavity (OC); 4. Gonad structure 25 days after hatching, showing the primary ovarian cavity (OC); 5. Gonad structure 28 days after hatching, showing the splitting oogonia (Og); 6. Gonad structure 34 days after hatching, showing the oocytes (Oo); 7. Gonad structure 37 days after hatching; 8. Gonad structure 40 days after hatching, showing the spermatogonia (Sg); 9. Gonad structure 55 days after hatching, showing many spermatogonia (Sg) and the spermaduct (Sd); 10. Gonad structure 55 days after hatching, showing primary spermocytes (Sc).