

# 长毛对虾卵子发生的研究

## I. 卵子发生过程\*

洪水根 林加涵 陈细法 倪子绵 朱燕\*\*  
(厦 门 大 学)

**摘要** 本文叙述了长毛对虾卵子发生的过程及发生过程中卵细胞内部构造的变化。根据细胞的大小、核仁的形态、卵黄粒的有无、粘液泡的出现及卵母细胞与滤泡细胞的关系,长毛对虾的卵子发生可以划分为卵原细胞、卵黄发生前的和卵黄发生的卵母细胞三个时期。

卵原细胞直径约  $20\mu\text{m}$ ,核大而圆,核仁较为疏松,一至数个;细胞质空虚透明,呈嗜酸性。卵黄发生前的卵母细胞大小在  $20-40\mu\text{m}$  之间;核仁数量多,紧贴核内膜围成一圈;细胞质细密,细胞器发达,数量丰富,表现强的嗜碱性,靠近核外膜的细胞质部分出现核仁外排物。卵黄发生的卵母细胞直径约  $40-300\mu\text{m}$ ;细胞质形成并积累一定数量的卵黄粒,皮质部分出现粘液泡,卵母细胞外围有一层滤泡细胞。本文还讨论了卵子发生与性腺成熟的关系,卵子发生各期细胞的变化及其意义。

长毛对虾 *Penaeus penicillatus* 具有很高的经济价值,是水产养殖的重要种类。有关对虾胚胎发育、幼体发育及人工养殖方面的研究已有不少报道<sup>[1,2,4,5,10]</sup>,但对作为胚胎发育重要环节的生殖细胞发生却研究甚少。国内外学者虽然也研究对虾雌体性腺的发育,并根据性腺色泽变化及组织切片观察加以分期<sup>[1,5,10]</sup>,但却未曾涉及卵子发生的详细过程及其内部结构的变化。为弥补这方面工作的不足,我们进行了这项研究工作。本文是本课题的第一部分,报道长毛对虾卵子发生的形态学变化。

## 一、材料和方法

试验用材料系取自厦门海区捕捞的不同成熟度的雌虾的卵巢,进行如下光学显微方面处理。

用 Hollande-Bouin 固定液, H·E 染色作一般细胞形态观察。用 DaFano 硝酸银浸染法显示高尔基体。用 Helly 固定液、Altmann 染色法显示线粒体。

电镜样品,用 3.8% 戊二醛固定三小时,  $0.1\text{mol/L}$  (pH 为 7.2) 磷酸缓冲液洗涤三次, 1%  $\text{OsO}_4$  (四氧化锇) 后固定二小时,酒精系列脱水, 618<sup>#</sup> 环氧树脂包埋,超薄切片经醋酸铀和枸橼酸铅双重染色, JEM-100CXII 透射电镜观察、摄影。

\* 本文承蒙汪德耀教授热情指导,谨此致谢。

\*\* 南京药学院。

收稿日期: 1987年3月18日。

## 二、观察与结果

### 1. 卵子发生的分期

根据细胞的大小、核仁的形态、卵黄粒的有无、粘液泡(亦称周边体)的出现及卵母细胞与滤泡细胞的关系,长毛对虾卵子发生可划分为卵原细胞、卵黄发生前的和卵黄发生的卵母细胞三个时期。

(1) 卵原细胞 长毛对虾的卵巢由许多卵室及中央管组成(图版 I: 2-EC, CT)。卵管壁周缘由生殖上皮组成。生殖上皮中含有两种形态、大小各不相同的细胞,其中较大的一种逐渐发育为卵原细胞,而较小的一种则分化为滤泡细胞(图版 I: 1-O<sub>0</sub>, FC)。

卵原细胞直径约 20 $\mu\text{m}$ , 形态不规则,核大而圆,位于细胞中央。核内有一至数个较为疏松的核仁(图版 I:3-N<sub>0</sub>),一般位于近核的中央位置,很少紧贴着核内膜的边缘。细胞质在 H·E 染色中为酸性染料伊红所染,表现嗜酸性(图版 I:3-O<sub>0</sub>)。在电镜下,卵原细胞的细胞器不发达,线粒体、高尔基体、核糖体数量少,细胞质为大量内质网囊腔所充满,电子密度低(图版 I:1-O<sub>0</sub>; 图版 II: 8-O<sub>0</sub>)。在发育程度低的性腺中,主要由生殖上皮和卵原细胞组成。随着细胞增殖,卵原细胞逐渐沿中央管移向卵室,发育为卵母细胞。卵母细胞的发育明显地分为卵黄发生前的和卵黄发生的卵母细胞两个阶段。

(2) 卵黄发生前的卵母细胞 此期细胞为不等的多边形,大小在 20—40 $\mu\text{m}$  之间。核大而圆,位于近细胞中央。核仁呈大小不等的致密颗粒,数量很多,紧贴核内膜围成一圈(图版 I:4, 空心箭头所指;图版 II:9-N<sub>0</sub>)。有的核仁表现为两性核仁,即在 H·E 染色中同一个核仁,一部分被伊红所染,呈嗜酸性;一部分为碱性染料苏木精所染,呈嗜碱性。有的核仁形成环状核仁(图版 II:9, 箭头所指)。细胞质为苏木精所染,表现很强的嗜碱性(图版 I:4-O<sub>p</sub>)。这个时期卵母细胞的另一特点是,在靠近核外膜的细胞质出现许多电子密度与核仁一样的物质,称为核仁外排物(图版 II:9-NE, 10-NE)。这时期的细胞排列紧密,仅在相邻细胞间隙中,偶而可见一或数个滤泡细胞散落其中(图版 I:4, 细箭头所指;图版 II:9-FC)。此期卵母细胞主要存在于卵巢中央管、卵室的入口部分及中央。在成熟度较低的性腺中,其卵室边缘也主要由该发育阶段的卵母细胞所组成。

(3) 卵黄发生的卵母细胞 此期细胞近于球形,大小在 40—300 $\mu\text{m}$  之间。核由圆形变为较不规则的形状,核膜向细胞质伸出伪足状的突起,增加核质之间的接触面积。核仁数目逐渐减少,由致密颗粒状变为松散的无定形的细网结构(图版 II:11-N<sub>0</sub>)。这时期细胞最大特点是细胞质形成并积累一定数量的卵黄粒,细胞体积迅速增加;滤泡细胞从四周向卵母细胞包绕,形成一圈完整的滤泡细胞层,并逐渐向卵黄发生期的卵母细胞逼近(图版 I:4-FC)。卵黄发生后期,卵母细胞达到最后体积时,卵质的外周部分出现一圈呈辐射排列的长椭圆形的粘液泡(图版 I:5-MV; 图版 III: 15-MV),滤泡细胞退化萎缩为一薄层,紧贴在卵母细胞外周(图版 I:5-FC; 图版 III:15-FC)。此期细胞主要存在于卵室边缘。在成熟的性腺中,卵巢大部分由卵黄发生的卵母细胞组成。

### 2. 卵子发生中细胞内部的变化

(1) 线粒体 长毛对虾卵原细胞中线粒体数量少,结构简单,线粒体嵴短而少(图版 I:1-M)。早期卵母细胞,线粒体数量增加,嵴也增多、加长,线粒体主要分布在核仁外

排出物周围(图版 I:6-M;图版 II:10-M)。进入卵黄发生期的卵母细胞,线粒体数量迅速增加,随着卵黄粒的出现,可观察到一部分线粒体,基质逐渐蛋白质化,电子密度愈来愈高,最后整个线粒体演变为卵黄粒。图版 III:12 中的箭头所指,为由线粒体演变而成的卵黄粒中所残存的线粒体嵴。

(2) 高尔基体 利用 DaFano 浸染法,可观察到长毛对虾的卵原细胞及早期卵母细胞中高尔基体数量少,集中在核的一端,成一帽状(图版 I:7-G)。而后,高尔基体围绕核呈环状分布。随着卵母细胞的发育,高尔基体扩散到整个卵质中。在电镜下,可观察到卵母细胞中充满大量的高尔基液泡(图版 III:14-GV)。在卵黄发生期间,高尔基液泡逐渐沉积蛋白质,形成卵黄粒。图版 III:14 箭头示卵黄蛋白正在高尔基液泡沉积。

(3) 内质网和核糖体 卵原细胞最大特点是细胞质含有许多形状不规则的平滑型内质网囊腔(图版 II:8-SER),电子密度很低。另外,细胞质中核糖体数量很少,因此呈嗜酸性。进入卵黄发生前的卵母细胞,内质网不发达,仅见少量的内质网膜囊分散在细胞质中(图版 II:9,10 粗箭头所指)。与此相反,核糖体数量很丰富,细胞质大部分为游离的核糖体颗粒所充满(图版 II:10-R),故切面细密、均质,在 H·E 染色中表现很强的嗜碱性。卵黄发生初期,细胞质又出现很多形状不规则的粗糙型内质网(图版 III:13-RER)以及平滑型内质网(图版 III:12-SER)。卵黄发生期间,蛋白质逐渐在内质网膜囊浓缩沉淀,形成卵黄粒(图版 III:13,箭头所指及 Y)。卵黄发生后期,内质网膜囊和核糖体数量减少。

### 3. 卵黄粒的形成

根据电镜观察可以看出,长毛对虾卵母细胞中卵黄粒的形成有多种途径,可能与线粒体、高尔基体、内质网等细胞器有关。卵黄粒形成的详细过程,见另文报道<sup>1)</sup>。

## 三、讨 论

### 1 卵子发生分期与性腺发育分期的关系

根据颜色深浅和体积大小并结合组织学切片观察,可以将对虾雌体性腺的发育分为发育前期、发育早期、发育期、成熟前期、成熟期和枯竭期六个期<sup>1,2)</sup>。实际上,这种划分只是相对的。因为对虾性腺中的卵母细胞的发育并不同步。在性腺的各个发育期中,并非只有一种类型的细胞存在,而是同时存在不同发育阶段的卵细胞(图版 I:2-O<sub>o</sub>, O<sub>p</sub>, O<sub>v</sub>),只是它们在性腺不同的发育期中所占的比例不同而已。本文研究认为,性腺发育的各个时期对应于卵子发生各期的细胞,有以下关系:发育前的性腺主要由生殖上皮及由其分化的卵原细胞组成(图版 I:1-GE, O<sub>o</sub>)。发育早期的性腺除了存在生殖上皮和卵原细胞以外,还出现了相当数量的卵黄发生前的卵母细胞,因此从外观上看性腺呈半透明样,白浊至淡灰色。发育期的性腺,其中卵巢中央管含有卵原细胞(图版 I:2-O<sub>o</sub>),卵室中央部分含有卵黄发生前的卵母细胞(图版 I:2-O<sub>p</sub>),而卵室周缘部分却出现卵黄发生的卵母细胞(图版 I:2-O<sub>v</sub>);这时期的卵母细胞的卵质已出现卵黄粒,滤泡细胞虽已形成一圈滤泡细胞层,但尚未紧贴附于卵母细胞外缘(图版 I:4-O<sub>v</sub>, FC),因此,即使在外观上卵黄粒已隐约可见,卵母细胞也彼此仍不能分离。成熟前期和成熟期的性腺,主要由卵黄发生的卵

1) 洪水根等,1986。长毛对虾卵子发生的研究 II. 长毛对虾的卵黄发生。(待发表)

母细胞组成;这时期,卵黄发生已经完成,卵黄粒粗大而圆,滤泡细胞已萎缩成一薄层附着在卵母细胞外围(图版 I:5;图版 III:15-FC),所以从外观上看卵粒清晰,性腺丰满,产卵活动开始。枯竭期的性腺,发育完全的卵母细胞已经排出,故性腺开始萎缩;但由于还残留一些尚未完成卵黄发生的卵母细胞并在继续发育,为此其外观仍显微黄色。

## 2. 卵子发生中细胞内部变化与代谢的关系

卵原细胞的最大特点是细胞质呈嗜酸性(图版 I:3-O<sub>1</sub>)。从超微结构来看,细胞质大部分为不规则的内质网所充满,电子密度低,其余的细胞器不发达,线粒体、高尔基体、核糖体数量很少(图版 II:8-O<sub>1</sub>)。此时期细胞质对显示蛋白质的汞溴酚蓝表现弱阳性反应,对显示 RNA 的 Brachet 反应则表现阴性结果<sup>1)</sup>。这表明,此时期的细胞有代谢活性的细胞组分不多,因而其合成活性也必然很低。在这个阶段的细胞生长非常微弱,甚至难于觉察,卵原细胞通过分裂增加细胞数目<sup>7)</sup>。

进入卵黄发生前的卵母细胞阶段,细胞质变为嗜碱性。在电镜下,细胞质为大量的核糖体颗粒所充满(图版 II:10-R),线粒体数量迅速增加,而内质网膜囊数量减少。众所周知,核糖体是蛋白质合成的重要场所<sup>8)</sup>,核糖体数量的大量出现表明卵母细胞蛋白质合成旺盛。这与此期卵母细胞的蛋白质反应增强的结果是一致的<sup>1)</sup>。Brachet 和 Ficq 利用放射自显影术证实,这个时期的卵母细胞中,标记的氨基酸向蛋白质的渗入与细胞质的嗜碱性有平行的增长<sup>6)</sup>。与此同时,大量的线粒体的出现也为卵母细胞增强的合成代谢活动提供能量<sup>9)</sup>。此期细胞的另一个特点是核仁数量增加,有的形成两性核仁,有的形成环状核仁(图版 II:9,箭头所指);核膜向细胞质伸出伪足样的突起;靠近核外膜的细胞质部分出现核仁外排物(图版 II:9,10-NE);这都反映了核质之间强烈的物质交换。C. Azevedo 等以 <sup>3</sup>H-尿嘧啶作标记物证明,环状核仁合成 RNA 的活性比致密颗粒的核仁高得多<sup>10)</sup>。R. Kessel 则认为,核仁外排物的出现是 RNA 合成旺盛的标志<sup>11)</sup>。这些现象说明,卵黄发生前的卵母细胞已为后一阶段卵黄发生的卵母细胞形成和积累卵黄粒的活动,积极准备物质条件<sup>12)</sup>。

进入卵黄发生的初期,卵母细胞中各种细胞器最为丰富,卵质为线粒体、高尔基体液泡、内质网囊腔所充满(图版 III:12-14)。这是卵母细胞代谢最为活跃的时期,表现在卵质中形成和积累数量很多的卵黄粒,细胞体积迅速增长,在短的时期内即达到最大体积。卵黄发生完成后,卵质中细胞器减少,核仁退化为细网状(图版 II:11-N<sub>0</sub>);粘液泡在卵母细胞外周部分出现;滤泡细胞萎缩退化为一薄层附在卵母细胞外围,这说明卵细胞已完成发育的过程(图版 III:15-MV,FC)。

## 3. 滤泡细胞与卵细胞发育的关系

长毛对虾的卵子发生是属于滤泡型的,也就是说,卵细胞发育所需要的营养与滤泡细胞的供应有关。滤泡细胞与卵原细胞同样由生殖上皮分化形成。早期卵母细胞,仅有一个或几个滤泡细胞在卵母细胞的有限部分出现(图版 II:9-FC)。随着卵细胞的发育,滤泡细胞数量迅速增加,逐渐从四周把卵细胞包围起来(图版 I:4-FC),形成一层滤泡细胞层。在卵黄发生期间,滤泡细胞粗糙型内质网很发达,因而推测可合成大量的卵黄蛋白,

1) 洪水根等,1986。长毛对虾卵子发生的研究 III. 长毛对虾卵子发生的细胞化学。(待发表)

输送给卵母细胞作为形成卵黄粒的原料<sup>1)</sup>。卵黄发生后期, 卵母细胞达到最后体积时, 滤泡细胞退化萎缩为一薄层, 紧贴在卵母细胞外缘(图版 I:5; 图版 III: 15-FC)。当对虾性成熟后, 卵子排入水中, 滤泡细胞层脱落, 由卵子外周部分的粘液泡分泌形成胶质层作为卵子的卵膜<sup>[2]</sup>。

### 参 考 文 献

- [1] 上海水产学院, 1981。组织胚胎学。农业出版社, 279—292 页。
- [2] 曲漱惠等, 1981。动物胚胎学。高等教育出版社, 84—94 页。
- [3] 汪德耀等, 1987。普通细胞生物学。上海科学技术出版社, 139—152 页。
- [4] 吴尚歙等, 1964。对虾提早产卵和室内培养幼苗的研究。海洋科学集刊 1: 181—190。
- [5] 厦门水产学院养殖系虾蟹组, 1978。对虾。农业出版社, 22—50 页。
- [6] 布拉舍, J., 1960。发育的生物化学。严绍颐等译, 1964。科学出版社, 8—9 页。
- [7] 瑞温, C., 1961。卵子发生。李汝祺等译, 1965。科学出版社, 108—111 页。
- [8] Azevedo, C., et al., 1980. Evolution of nucleoli in the course of oogenesis in a viviparous teleost (*Xiphophorus helleri*). *Biol. Cellulaire*. 38: 43—46.
- [9] Gonse, P. H., 1957. Lovogénèse Chez *Phascolosoma vulgare* III. Respiration exogène et endogène de l'ovocyte. Effet de l'eau de mer. *Biochim. et Biophys. Acta*. 2: 267.
- [10] Hudinaga, M., 1942. Reproduction, development and rearing of the *Penaeus japonicus* Bate. *Jap. Jour. Zool.* 10(1): 305—389.
- [11] Kessel, R., 1981. Origin, differentiation and possible function role of annulate lamellae during spermatogenesis in *Drosophila melanogaster*. *J. Ultrastruct. Res.* 75: 72—96.
- [12] Masao Oka et al., 1965. Studies on *Penaeus orientalis* Kishinouge II. Morphological classification of the ovarian eggs and the maturity of ovary. *Sci. Rept. Nagasaki Univ. Fish.* 18: 30—40.
- [13] Zerbib, C., 1980. Ultrastructural observation of oogenesis in the crustacea amphipoda *Orchesia gammarellus* (Pallas). *Tissue and Cell*. 12(1): 47—62.

1) 洪水根等, 1986。长毛对虾卵子发生的研究 IV. 长毛对虾滤泡细胞与卵子发生的关系。(待发表)

**STUDIES ON OOGENESIS IN PRAWN *PENAEUS*  
*PENICILLATUS* I. STAGES OF OOGENESIS IN  
*PENAEUS PENICILLATUS***

Hong Shuigen, Lin Jiahan, Chen Xifa and Ni Zimian, Zhu Yan

(Xiamen University)

**ABSTRACT**

This paper describes the stages and the changes of cytological structures of gonad during the oogenesis in *Penaeus penicillatus*.

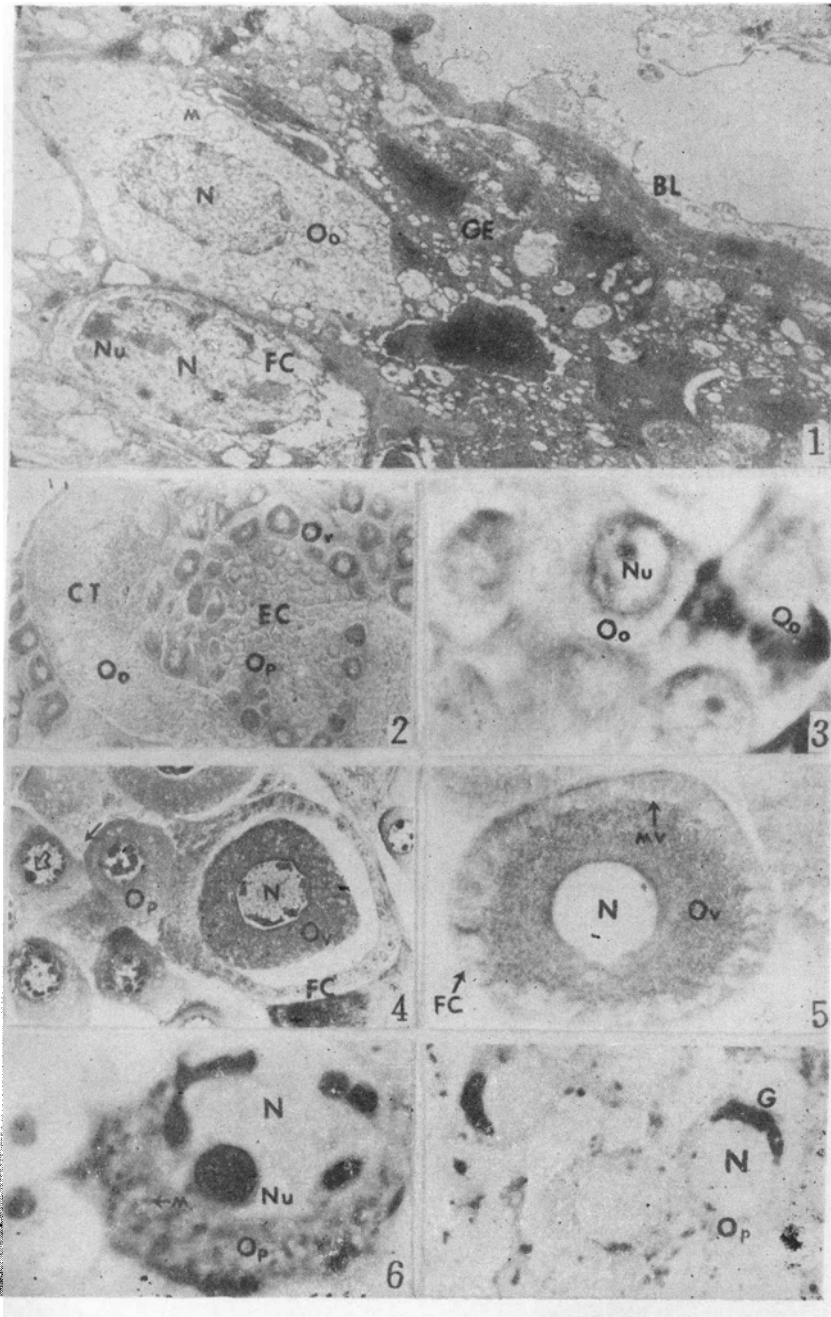
Based on the size of the cells, the shape of the nucleoli, the existence of the yolk bodies, the emergence of mucous vesicles and relationship between the oocytes and the follicle cells, oogenesis in *Penaeus penicillatus* can be divided into three stages: oogonia, provitellogenic oocytes and vitellogenic oocytes stages.

Oogonium is about 20  $\mu\text{m}$  in diameter. Its nucleus big and round in shape. Nucleoli more loose in texture. one or several nucleoli in a nucleus. Its ooplasm is transparent, vacant and shows acidophilia.

Provitellogenic oocyte is about 20—40  $\mu\text{m}$  in diameter. More nucleoli in its nucleus. Nucleoli closely attached to inner nuclear membrane and arranged in ring. Its ooplasm is dense and shows strongly basophilia. The exudates of the nucleoli appeared in ooplasm near the outer nuclear membrane.

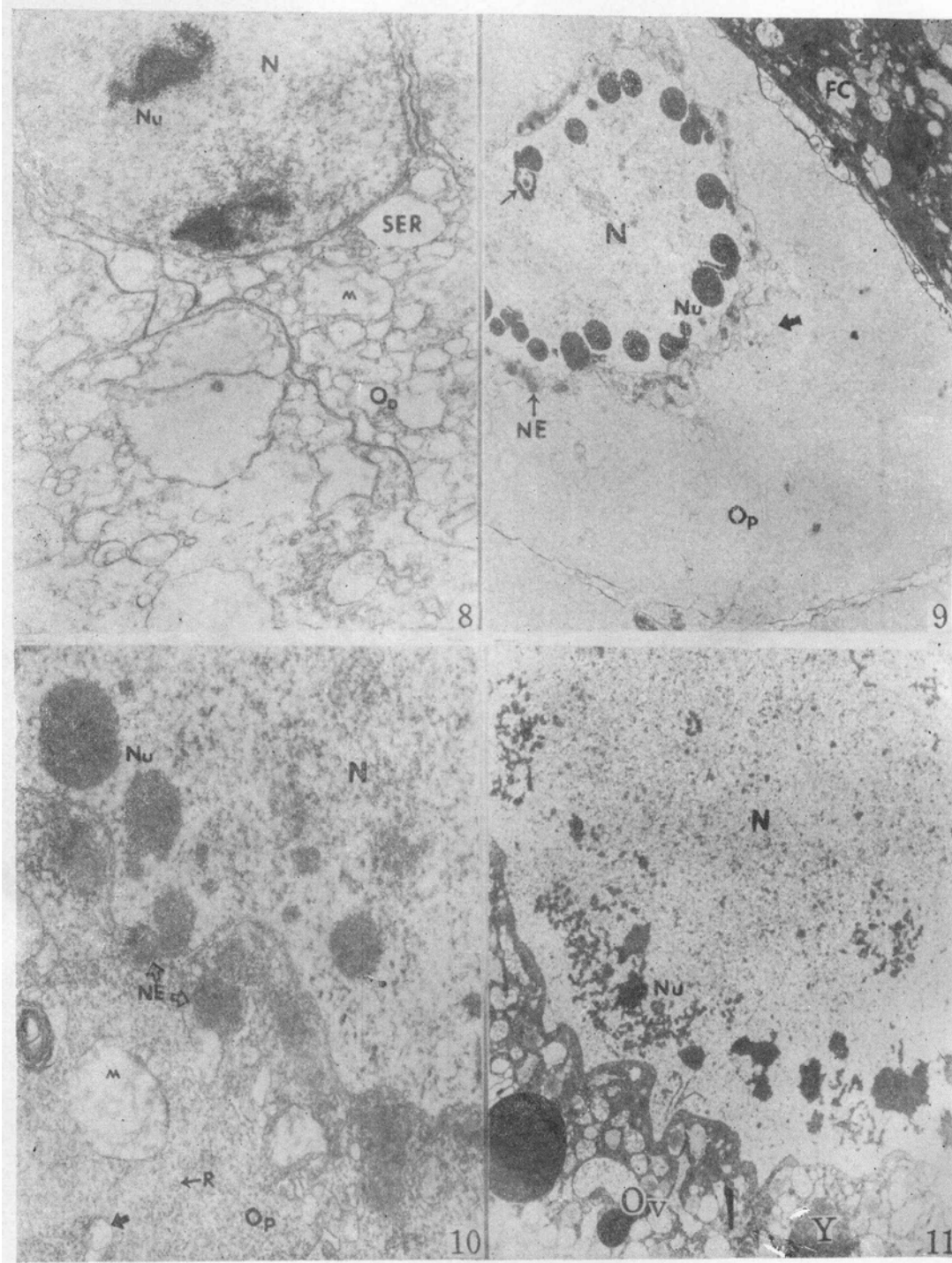
Vitellogenic oocyte is about 40—300  $\mu\text{m}$  in diameter. Many yolk bodies formed and accumulated in its ooplasm. Mucous vesicles appeared in cortex of ooplasm. The oocyte is surrounded by a layer of follicle cells.

The relationship between oogenesis and maturity of sex gland, the cytological changes and their significance in oogenesis of *P. penicillatus* were also discussed.



图版 I 说明 Plate I Illustration

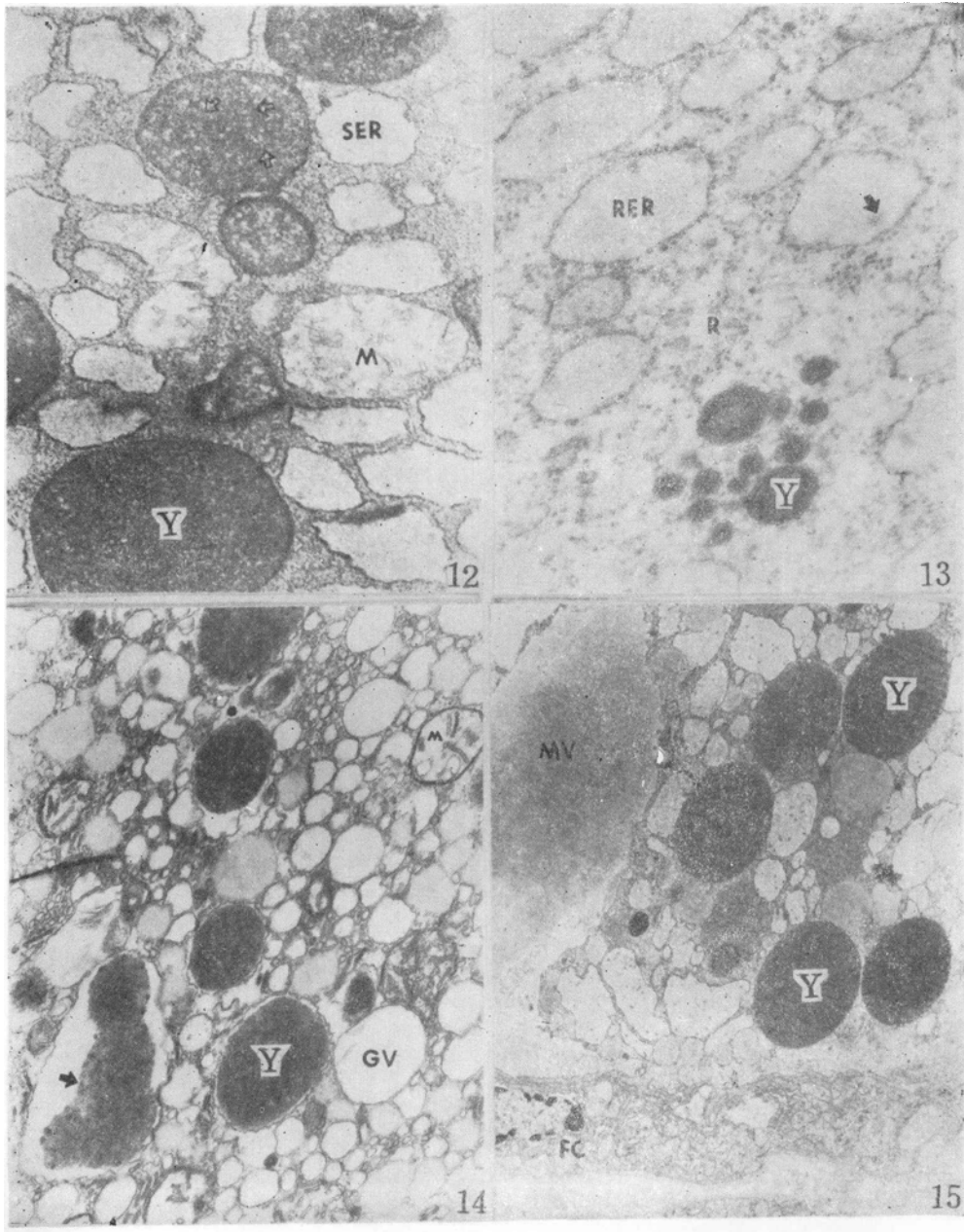
1. 长毛对虾生殖上皮的一部分, 示早期的卵原细胞 ( $O_o$ )、滤泡细胞(FC)及生殖上皮细胞(GE), 基膜(BL), 7300 $\times$ ; 2. 性腺的一部分, 示中央管(CT)和卵室(EC), 40 $\times$ ; 3. 卵原细胞( $O_o$ ), 1005 $\times$ ; 4. 卵黄发生前的卵母细胞( $O_p$ )和卵黄发生的卵母细胞( $O_o$ ), 201 $\times$ ; 5. 卵黄发生的卵母细胞, 示粘液泡(MV), 201 $\times$ ; 6. 卵黄发生前的卵母细胞, 示线粒体(M), 1005 $\times$ ; 7. 卵黄发生前的卵母细胞, 示高尔基体(G), 402 $\times$ 。



图版 II 说明 Plate illustration

8. 卵原细胞, 示细胞质大部分为内质网(SER)膜囊充满, 10800 $\times$ ; 9. 卵黄发生前的卵母细胞, 示核仁(Nu)紧贴核内膜排列成圈, 核外膜的细胞质部分出现核仁外排物 (NE), 2850 $\times$ ; 10. 卵黄发生前的卵母细胞一部分, 示紧靠核外膜出现核仁外排物 (NE), 游离的核糖体(R)非常丰富, 15000 $\times$ ; 11. 卵黄发生的卵母细胞一部分, 示核仁退化成线团状, 卵质出现卵黄粒 (Y), 5400 $\times$ 。





图版 III 说明 Plate III Illustration

12,13,14,15.各为卵黄发生的卵母细胞的一部分: 12.示线粒体(M)及由它演变而成的卵黄粒(Y),Y中尚有嵴的残余痕迹(箭头所指),21000 $\times$ ; 13.示卵质出现大量粗糙型内质网膜囊(RER),部分的RER膜囊中已出现蛋白质沉淀(箭头所指),21900 $\times$ ; 14.示卵质大量的高尔基液泡(GV)及正在GV中形成的卵黄粒(箭头所指),28500 $\times$ ; 15.示卵母细胞完成卵黄发生后,细胞皮质部分出现粘液泡(MV),滤泡细胞(FC)萎缩为一薄层紧贴卵母细胞外缘,5400 $\times$ 。