

青岛文昌鱼的繁殖生物学——I. 卵巢 和卵母细胞发育的观察*

宋裕昌 许梅青

(中国科学院海洋研究所)

关键词 繁殖生物学, 卵母细胞, 卵巢, 文昌鱼

提要 对青岛文昌鱼卵巢和卵母细胞的发育作了周期性的观察。结果表明, 青岛文昌鱼的卵巢和卵的发育, 在繁殖季节前并不同步, 早在第一年的12月就有卵黄生成期晚期的卵母细胞, 而在第二年的6—7月达到成熟、产卵。文章还提出在沙子口的青岛文昌鱼可能有着季节性迁移的习性。

素有“活化石”之称的文昌鱼, 由于它在进化系统中的特殊生物学位置, 其卵、胚胎、乃至成体, 都是研究和教学的重要材料。我国文昌鱼盛产于厦门、青岛、烟台、海南岛, 近期在北部湾、山东省日照市沿海亦有发现。据金德祥(1984)报道, 厦门文昌鱼年产量曾达57t之多, 但因集美海堤的修筑, 白氏文昌鱼的生态环境被破坏。据调查: 1965年为35t, 1970年为1t, 1975年基本上已没有捕捞渔业, 仅剩一小块沙地尚有零星可捕获, 国外的矛形文昌鱼也出现类似情况, 这就提出了如何保护“活化石”文昌鱼的问题以及人工繁殖文昌鱼的设想。在1988年由林业部、农业部拟定, 国务院批准发布实施《国家重点保护野生动物名录》中, 文昌鱼被列为160个种种类的二级重点保护对象之一。

目前对文昌鱼的繁殖生物学问题, 了解不多, 金德祥^[1]对厦门文昌鱼有过调查; Webb^[2]对 *B. nigeriense webb* 的生活史进行了研究, 并提出拉各斯礁湖的文昌鱼种群由8—10月拉各斯海内产卵的文昌鱼种群迁移而来的说法。Cowden^[3], Guraya^[4](1967, 1968, 1972, 1983), Wickstead^[5], Reverberi (1966, 1971, 1972) 对

矛形文昌鱼卵的组成、结构作了许多研究工作; 自从1936年, 张玺等肯定青岛文昌鱼为厦门白氏文昌鱼的变种、陆鼎臣在烟台发现文昌鱼的幼体与青岛文昌鱼相似以来, 周才武(1956)对中国产文昌鱼作了比较。近年来, 每年均有许多国内外学者前来参加青岛文昌鱼的各项研究工作, 由于青岛文昌鱼的研究和需求越来越大, 加之青岛沿海环境污染问题, 进一步了解青岛文昌鱼有关繁殖生物学也提到日程上来了。我们对青岛文昌鱼的繁殖生物学研究, 拟分三部分: (1)雌性生殖腺; (2)雄性生殖腺; (3)雌雄性比、生殖环境和产卵。本文为第一部分的研究结果。

一、材料和方法

青岛文昌鱼 *Branchiostoma belcheri tsi-ngtaoensis* Tchang et Koo 来自青岛市沙子口青岛东风船厂附近海域, 水深约9m。我们先后从1983年7月—1984年6月以及1985年7

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第1580号。谨以此文的发表悼念长期从事青岛文昌鱼研究工作的吴尚黉教授, 本文曾由吴教授审阅。

月—1986年7月,两年内每隔一月,定时采集,并用体长3—5cm的个体检查性腺数量(每次随机取样50条),取其卵巢部分做石蜡连续切片,检查卵子的发育(Bouin海水固定液固定),部分标本用戊二醛/甲醛预固定,锇酸后固定,乙醇系列脱水 Epon-812 包埋, LKB IV 型超薄切片机作半薄切片,甲苯胺蓝染色,光镜检查。在第二个年份,我们统计了小文昌鱼的数量。

二、结 果

1. 卵子的发育

按照 Cowden^[9] 对矛形文昌鱼卵母细胞的发育分期,青岛文昌鱼卵母细胞的发育可分为三期:生卵黄前期、卵黄生成期和成熟期。由于卵黄生成期时间较长,而且前、后阶段形态亦有所不同,故此阶段又分成早、晚两期。它们在发育时与青岛季节、卵子数量关系见表1。

表 1 青岛文昌鱼在不同月份发育的卵母细胞数量
Tab. 1 The number of developed oocytes of *Amphioxus* in different month

卵母 细胞 数量 (个)	发育 阶段	卵黄生成期			成熟期
		卵黄前期	早期	晚期	
月份(月)					
7		+			+++
8		++			
9		++++			
10		+++	++		
11		+++	+++		
12		++	+++	+	
1		++	+++	++	
2		++	++	++	
3		++	++	+++	
4		+	++	+++	
5		+	+	+++	
6		+	+	+++	+++

7—8月,文昌鱼刚排过卵或精,从外形上难于区分雌雄。切片观察表明:在围鳃腔壁和肌节腔衬里之间的系膜上,有一赘形实体,有的

已变为囊状,细胞直径约 $8\mu\text{m}$,体积小而密度大,它和周围结缔组织紧密相连,此时为卵母细胞卵黄前期的最初形态。

在未产完卵的文昌鱼切片上,可见新生卵巢和老的卵巢(退化)同侧并存的现象。退化卵母细胞的特征是:整个卵外有结缔组织纤维包围着(图6和7),或多个卵母细胞一起被包围,其中有的卵黄已相互合并,皮质泡之间已相互沟通。新生卵巢体积小,偏于一侧。

9月,文昌鱼雌体腹壁有比雄体略深的黄色的小点,集聚成圆盘状,并按肌节分布。切片上可见紧贴系膜的成囊状薄层纤维膜和许多排列呈索状的卵母细胞,间有较大圆形卵母细胞夹杂,细胞质呈浅嗜碱性,内有颗粒状细胞质,细胞直径 $23\mu\text{m}$,核直径约 $15\mu\text{m}$,占细胞直径一半以上,具红色核仁,核质具网状结构。(图1)。

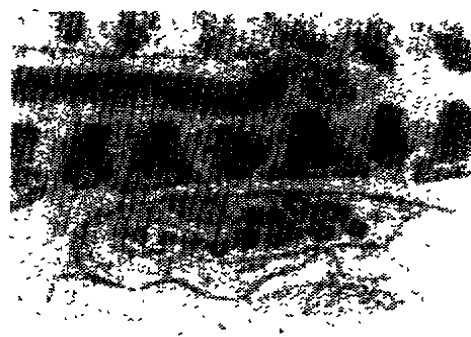


图 1. 青岛文昌鱼九月时卵巢的横切面 $\times 40$

10月,肉眼已明显见卵黄堆积,卵巢体积增大,按肌节整齐排列,在解剖镜下可见,前、后端处的卵巢发育不如中段好,前、后端的卵巢多被挤于角落,较小;在同一卵巢内,周围的卵比中间的卵先进行卵黄沉积。切片观察表明,卵巢由结缔组织分隔成许多卵巢,在卵巢相连的褶曲处,卵母细胞体积迅速增大,成梨形,胞质呈强嗜碱性,核移向卵巢壁一侧(此侧为卵的动物极),核仁周围核质也较致密,此时卵母细胞直径达 $34\mu\text{m}$,核的直径为 $18\mu\text{m}$ 左右。当细胞核仁呈环状时,卵母细胞体积更大,直径达

60 μm , 卵黄沉积, 胞质嗜碱性减弱, 这样的卵母细胞进入了卵黄生成早期形态。(图 2)

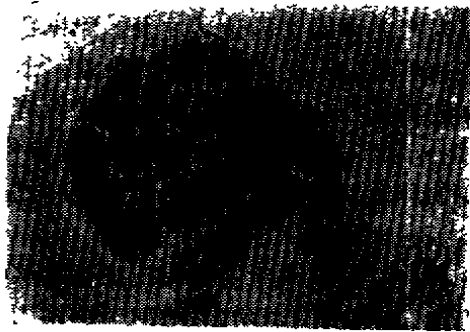


图 2. 十月时一侧卵巢的横切面 $\times 33$

11 月, 卵巢左、右两侧迅速发育, 结果在腹面会合 (图 3), 卵母细胞的卵黄进一步沉积, 细胞核的核膜呈锯齿形, 并变宽, 核仁液泡化, 核膜周围集中嗜碱物质, 但胞质呈强嗜酸性。此时卵巢内主要为卵黄生成早期和卵黄前期的卵子。

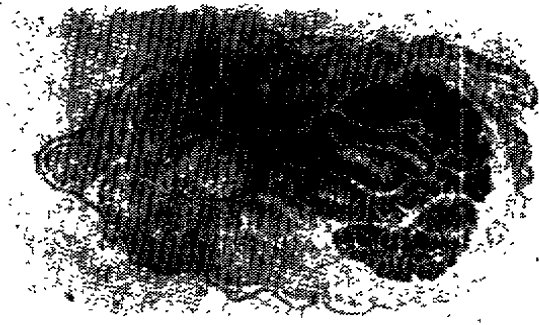


图 3. 十一月文昌鱼整体横切面 $\times 40$

12—2 月, 切片表明在卵巢的褶曲处, 卵母细胞逐渐转变为卵黄生成晚期。此时皮质泡集中于卵膜周围, 核膜开始不清楚, 但核仁明显。在半薄切片上, 可见细胞质中存在许多原生质小岛, 每个小岛内有微丝相连 (其亚微结构另文发表)。

3—5 月, 卵巢越来越丰满, 随着时间的推移, 前期卵母细胞越来越少, 卵黄生成晚期的卵母细胞越来越多, 卵黄粒的电镜照片表明卵黄已达“复合卵黄阶段” (宋裕昌等, 1986)。

6 月, 绝大部分卵母细胞已达卵黄生成晚

期 (图 4 和 6, 7)。解剖镜下可见卵巢排列似玉米穗, 左、右两侧卵巢呈镶嵌排列, 其卵子呈梨形, 细胞直径达 110 μm , 核径达 36 μm , 色浅。从下旬开始, 完全成熟, 排卵时卵巢壁破裂 (图 5), 卵子从围鳃腔排出体外。成熟卵在水中呈球形, 细胞直径达 120 μm , 周围有皮质泡, 植物极比动物极更富于线粒体和卵黄粒 (另文发表)。在解剖镜下, 动物极端透亮。当排卵近结束时, 可见一些未成熟卵随着结缔组织 (白色絮状物) 一起排出。在实验室里文昌鱼自然产卵可延长到 7 月上旬结束, 在外海, 卵子几乎在几天之内迅速排空。

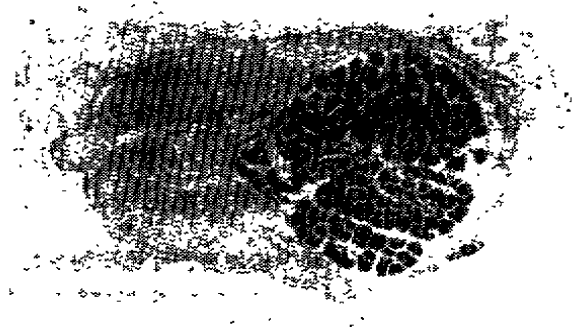


图 4. 六月时即将成熟的文昌鱼整体横切面 $\times 8$

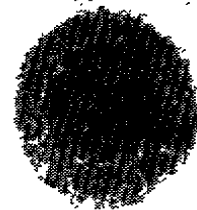


图 5. 成熟未受精卵的切片, 周围有许多皮质泡 $\times 100$

2. 青岛文昌鱼左、右两侧卵巢的数量

1986 年 2 月—6 月, 我们统计了青岛文昌鱼左、右两侧卵巢个数及平均数, 结果见表 2。

表 2 说明, 青岛文昌鱼雌性生殖腺个数在

身体两侧是不相等的,通常右侧比左侧多2个,但每次统计,均有例外,极少数左侧个数多于右侧。



图6. 8月时文昌鱼退化卵巢,卵外结缔组织包围,卵黄合并 $\times 22$



图7. 产卵文昌鱼卵巢内残余的卵 $\times 100$

表2 青岛文昌鱼左、右卵巢的数量

Tab. 2 The number of left and right side in the ovary of *Amphioxus*

月份(月)						平均
	2	3	4	5	6	
卵巢数量(个)						
体侧						
左	24.58	24.60	24.88	25.18	25.65	24.98
右	26.70	27.37	26.82	27.30	27.69	27.17

3. 小文昌鱼(体长1.2—1.5cm)的数量

从1985年开始,我们集中注意计数小文昌鱼,但是仅在10月捡到一条1.4cm、11月捡到一条1.5cm的小鱼,以后再也没有得到。截止1988年,在专门为搜集小文昌鱼作封片用时,尽管采集了成万条以上的文昌鱼,也没有得到它。

三、讨 论

Brachet (1950), Reven (1961) 提出将文昌鱼卵母细胞的发育分为三个时期。Cowden (1963) 首次用细胞化学方法研究矛形文昌鱼卵巢内的卵子在生长和分化过程中的核质关系,详细阐明了卵母细胞三个时期的特点,此后,相继被 Guraya (1967, 1968, 1972, 1983), Reverberi 等 (1966, 1971, 1972), Wickstead (1975) 引用。本文也采用 Cowden 传统的分期法,但本实验观察到卵母细胞的卵黄生成期,在文昌鱼的生长中具相当长时期,形态上,前、后期胞质有较大的差异,故又分为早、晚卵黄生成期。

对白氏文昌鱼的性腺发育,Chin (1941)已进行了叙述。青岛文昌鱼属厦门白氏文昌鱼的变种,我们的观察表明,青岛文昌鱼,同一种群,卵巢发育并不同步;同一个体,中部的卵巢发育要比两端好;在同一个卵巢内,卵子的发育也不同步。未成熟的卵子在排卵快结束时排出体外。这些事实与 Wickstead (1975) 的叙述颇为一致。厦门文昌鱼每年能几次产卵,而青岛文昌鱼全年只能产一次,这可能与青岛的海水温度较低有关。

青岛文昌鱼卵巢内的卵,有的在第一季的12月,就有卵黄生成期晚期的卵母细胞出现(大量出现在3月以后),外海种群在6月几天之内就迅速变成成熟卵。因此设想若提高水温 and 增加营养,青岛文昌鱼有可能提前产卵。同时,在我们的实验室内,鱼缸中临近产卵的文昌鱼,当温度升高时,雄鱼大量排精,接着雌鱼也有不少产卵的。这说明,温度对青岛文昌鱼的排卵可能起着重要的作用。

根据我们在文昌鱼产卵季节(6—7月)的

观察,大约 3cm 左右的个体就能排卵。按照金德祥对厦门文昌鱼的生长速度推算,青岛文昌鱼开始性成熟的时间,大约是出生以后一年左右。这个时间跟厦门文昌鱼的性成熟时间相当吻合,但是从整个鱼获量来说,一龄鱼占有比例不大,大多为二龄鱼,体长 4cm 左右。

Webb (1958) 观察了拉各斯湾和礁湖地区的文昌鱼 *B. nigeriense*, 认为拉各斯礁湖文昌鱼种群由 8—10 月拉各斯海内产卵的文昌鱼迁移而来。我们在沙子口定点采集的青岛文昌鱼,一般在 3cm 以上, 尽管我们每次采集数量极多, 也很难找到小文昌鱼。根据金德祥对厦门文昌鱼生长的记录, 推测青岛文昌鱼在 6—7 月产卵, 那么在 11—12 月就能找到大批小文昌鱼, 但事实上却极难找到。因为文昌鱼在孵化后, 尚有一段浮游期, 我们可以推测在沙子口青岛东风船厂附近海域的文昌鱼有可能类似于拉各斯礁湖文昌鱼的情况, 具有迁移习性。至于它们从何地而来, 本地孵游幼虫流到什么地方, 都有待进一步研究。

Wickstead 认为, 鳃口属右比左多 1 或 2 个性腺, 即右:左=28:27; 金德祥认为厦门文昌鱼右:左=27:25; 周才武(1958)比较海南、厦

门、青岛和烟台的文昌鱼性腺, 认为生殖腺随地理位置由南向北递增。作者比较了张玺、周才武以及其它作者的记录, 观察到在不同季节, 发育是不相同的, 只有在接近排卵季节时, 头、尾两端的卵巢才迅速发育, 处于中段的肌节, 有的因血管破坏而缺少卵巢。我们认为, 卵巢的数目主要是和左、右两边的肌节数以及营养状况这两个因素有关。

主要参考文献

- [1] 金德祥, 1957. 文昌鱼. 福建人民出版社, 35—46.
- [2] 周才武, 1958. 中国文昌鱼的比较研究. 山东大学学报 1:162—204.
- [3] Cowden, R. R., 1963. Cytochemical studies of oocyte growth in the lancelet. *Branchiostoma caribaeum*. *Z. Zellforsch.* 60: 399—408.
- [4] Guraya, S. S., 1983. Reproductive Biology of Invertebrates. Cephalochordata. Vol. I: Oogenesis, Oviposition, and Oosorption. John Wiley & Sons Ltd. pp. 735—752.
- [5] Webb, J. E., 1958. The ecology of Lagos lagoon. III. The life-history of *Branchiostoma nigeriense* Webb. *Phil. Trans. Roy. Soc. London, Ser. B.* 241: 393—419.
- [6] Wickstead, J. H., 1975. Chordata: Acrania (*Cephalochordata*) In: *Reproduction of Marine Invertebrates*, Vol. III. Entoprocts and Lesser Coelomates. Academic press. New York. pp. 283—319.

REPRODUCTION BIOLOGY OF AMPHIOXUS—I. OBSERVATION OF DEVELOPMENT PROCESS OF OVARY AND OOCYTES*

Song Yuchang and Xu Meiqing
(Institute of Oceanology, Academia Sinica)

Key Words Reproductive biology, Oocytes, Ovary, Amphioxus

Abstract

The observation and statistics of histology were carried out on the development of the egg and ovary of the *Branchiostoma belcheri*. The results show that the oocyte are not in the same stage before reproductive season. There are oocytes of late vitellogenic stage in December, but the oocyte is mature and spawned in June-July the next year. The paper also presents the possible migration of the *Amphioxus*.

* Contribution No. 1580 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.