

海洋鱼类卵壳亚微结构的研究*

杨东莱 季祥荣 查海峰 张明君

(中国科学院海洋研究所)

在现代生物科学中,应用生物卵壳亚微结构的物种特异性进行分类研究已成为可行性现实。在海洋生物学研究中,曾发现海胆类未受精的卵壳层颗粒中即存在着明显的物种特异性差别(Lönning, 1967)。很多学者通过对鱼类卵细胞发生期间的亚微结构及卵壳形成的研究,证实在鱼类卵壳结构中亦存在特异性的种间差异,并认为这些差异与分类学、生物学及其区系分布有密切关系(Müller & Sterba, 1963; Yamamoto, 1963; Götting, 1966; Anderson, 1967; Flügel, 1967)。目前我国对鱼类卵壳(Egg chorin)结构的研究还鲜为人知,本文亦是首次通过对 12 种海洋经济鱼类受精卵的卵壳结构差别的探讨,为进行鱼类系统分类和系统发育研究提供科学依据。

一、材料与方 法

受精卵标本多系 1990—1993 年(5—10 月)在渤海和黄海拖网捕获,部分种类是在青岛附近沿海进行人工育苗过程中采得。所获鱼卵均在现场以磷酸缓冲液(pH 为 7.2—7.4)配制 2.5%浓度的戊二醛溶液,或以过滤海水配制 10%浓度的福尔马林溶液进行预固定,然后带回室内进行筛选、分种鉴定和显微镜形态测量,置于 4.0℃冰箱内保藏。

透射电子显微镜(TEM)样品系选用原肠期开始发育之前的卵子,依常规方法制作。预固定的标本先经磷酸缓冲液充分清洗、除污,再以 2%浓度的氧化锍进行后固定 1—2 h,经用 30%—100%的乙醇系列脱水和丙酮置换后进入 EPON 812 包埋,以 LKB NOVA 切片机进行超薄切片,再经醋酸铀、柠檬酸铅双重染色,以 H-50C 型 TME 观察、照相,以 0.02mm 单位的工程卡尺测量,再换算成 μm 表示。

二、研究结果

12 种鱼卵隶属于 10 科鱼类,其中 11 种是分离浮性卵,皆具有单一油球,卵径和油球径种间多有交叉。除鲱科和鳀科鱼卵的卵黄有泡沫状龟裂结构外,其余种类卵黄皆为均匀结构。假睛东方鲀鱼卵是其中仅有的一种粘着沉性卵,亦是唯一的多油球卵。

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 2418 号。

本课题为国家基金资助项目,38970126 号。

孙继仁教授、谢嘉琳、王 军同志曾参加短期工作,尹学明同志洗印图片,一并致谢。

收稿日期: 1993 年 12 月 2 日。

表 1 12 种鱼类受精卵的卵壳厚度

种 类	卵径 (mm)	油球径 (mm)	卵壳厚度 (μm)	外壳层 (μm)		内 壳 层 (μm)		
				厚	上/下 层厚	厚	分层数	分 层 厚 (外内)
鲱科 Clupeidae								
斑鲱 <i>Clupanodon punctatus</i>	1.09—1.62	0.11—0.22	2.299	0.245	0.105 0.140	2.034	7	1) 0.690, 2) 0.400, 3) 0.302, 4) 0.30, 5) 0.210, 6) 0.212, 7) 0.210
青鳞 <i>Harengula zunasi</i>	1.40—1.88	0.08—0.13	1.429	0.381	0.071 0.311	1.048	4	1) 0.190, 2) 0.256, 3) 0.284, 4) 0.320
鲱科 Engraulidae								
赤鼻梭鲱 <i>Thrissa kammalensis</i>	1.06—1.32	0.13—0.18	2.058	0.809	0.217 0.592	1.248	3	1) 0.191, 2) 0.472, 3) 0.586
鲱科 Mugilidae								
鲷鱼 <i>Liza haematocheila</i>	0.83—1.09	0.38—0.51	4.756	0.578	0.160 0.418	4.178	8	1) 0.550, 2) 0.500, 3) 0.463, 4) 0.540, 5) 0.580, 6) 0.614, 7) 0.542, 8) 0.518
脂科 Serranidae								
花鲈 <i>Lateolabrax japonicus</i>	1.22—1.45	0.29—0.39	6.238	0.931	0.427 0.504	5.307	7.5	1) 0.633, 2) 0.568, 3) 0.641, 4) 0.710, 5) 0.824, 6) 0.945, 7) 1.00
石首鱼科 Sciaenidae								
小黄鱼 <i>Pseudosciaena polyactis</i>	1.10—1.62	0.43—0.53	4.592	0.940	0.104 0.836	3.652	11	1) 0.280, 2—8) 0.308—0.335, 9—11) 0.410—0.420
鲷科 Sparidae								
真鲷 <i>Pagrosomus major</i>	0.95—1.11	0.22—0.27	3.193	0.691	0.069 0.622	2.502	9	1) 0.207, 2) 0.260, 3) 0.262, 4) 0.250, 5) 0.265, 6) 0.254, 7) 0.412, 8) 0.328, 9) 0.318
黑鲷 <i>Sparus macrocephalus</i>	0.83—0.93	0.21—0.23	3.493	1.167	0.284 0.883	2.327	7	1) 0.336, 2) 0.327, 3) 0.323, 4) 0.323, 5) 0.315, 6) 0.363, 7) 0.343
石鲈科 Pomadasysidae								
斜带髯鲷 <i>Haplogenyx nitens</i>	0.95	0.21—0.22	2.815	0.687	0.083 0.603	2.128	5	1) 0.318, 2) 0.457, 3) 0.573, 4) 0.512, 5) 0.341
带鱼科 Trichiuridae								
小带鱼 <i>Euplegrogrammus musicus</i>	1.85—2.13	0.41—0.45	8.906	0.823	0.469 0.354	8.083	8	1) 0.483, 2—4—6) 1.33—1.512—1.094, 7—8) 0.574—0.343
牙鲆科 Paralichthyidae								
牙鲆 <i>Paralichthys olivaceus</i>	0.86—1.10	0.15—0.22	3.448	1.072	0.490 0.582	2.376	4	1) 0.578, 2) 0.670, 3) 0.602, 4) 0.502
鲱科 Tetraodontidae								
假睛东方鲀 <i>Fugu pseudommus</i>	1.05—1.07	0.01—0.05	0.743	0.302		0.442	1	

根据 TEM 观察,不同电子密度反差显示出这些种类的卵壳皆是由原纤维组织形成的带状结构,组成内、外两部分壳层。外壳层又分上、下两层(外上层和外下层),卵表面的卵膜孔(Egg membrane pore)管道则常见于该层;内壳层由若干分层组成,分层厚度不一。这些鱼卵的壳厚和分层层数及其厚度均因种而异(表 1)。

从表 1 可以看出,斑鲷、青鲷与赤鼻棱鲷虽然不是同科鱼类,但是这 3 种的卵径皆偏大,油球均小,且皆有龟裂结构的卵黄,以及卵壳很薄等,说明它们之间有着较近的亲缘关系。斑鲷和青鲷的卵径尤为偏大,壳原纤维较细,外壳层较内壳层显著薄,表明两者隶属同一鱼科的亲属关系。然而斑鲷的内壳层分层较青鲷多,由外向内逐层减薄,后者卵壳最薄,内壳层分层向内逐层增厚,从而又表现出两者的物种特异性差别(图版 I:1,2)。赤鼻棱鲷的卵径为中小型,壳原纤维呈棉絮状,类似同科的鲷鱼 *Engraulis japonicus*,但是,赤鼻棱鲷卵壳的原纤维为竖排圆弧形,组织异常疏松,颇似隆头鱼科 Labridae 中的一种锯盖鱼 *Ctenolabrus rupestris* 及鲷科 Pleuronectidae 的欧洲黄盖鲷 *Limanda limanda* 卵的壳纤维,然而这两种鱼的卵壳较厚,内壳分层多,且没有泡沫状龟裂结构的卵黄和油球,显然赤鼻棱鲷与它们的亲缘关系比同科的鲷鱼远得多。但是赤鼻棱鲷的卵壳薄,内层原纤维形态不同,分层少,3层的厚度由外向内逐层增厚,这些则是本种的特异性(图版 I:3)。

鲷鱼卵的油球大而卵径小,这是该科鱼类卵子的主要特征。该种卵壳厚,原纤维细,比较均匀,内壳层分层多,各层厚度基本相同(图版 I:4)。

花鲈、小黄鱼、真鲷、黑鲷、斜带髯鲷和小带鱼皆隶属于鲈形目 Perciformes 的不同鱼科,其鱼卵形态结构的种间差异及近似程度不一。花鲈鱼卵中等大,油球中等偏大;小黄鱼的卵径中等偏大,油球也大。以上两种不同科鱼类的卵壳和外壳层皆比较厚,内壳分层多,小黄鱼分层多达 11 层,唯各分层的厚度较薄;花鲈分 7.5 层,各分层较厚,卵壳表面有短绒毛状结构(图版 I:5,6)。

真鲷、黑鲷与斜带髯鲷是两个不同科的种类,但 3 种鱼卵和油球皆小,并且相象,卵壳及其内壳厚度亦相接近。不同的是,真鲷和黑鲷的卵壳及其内壳的各分层厚度更较接近,且分层数多,说明这两种鱼类的亲缘关系较近。但是真鲷的卵壳和外壳层皆薄于黑鲷,内壳分层较多,向内逐层有所增厚(图版 II:1),这种卵壳结构与日本广岛水产试验场的 *Pagrus major* 的卵壳基本相同,说明这两个区域的真鲷是属于同一区系的同一种群。黑鲷外壳层显著厚,内壳层分层略少,分层比较均匀,可见两种鱼卵的种间特异性差异亦较明显(图版 II:2)。斜带髯鲷的卵径、油球和外壳层的结构皆与真鲷鱼卵非常相象,唯其内壳层分层少(图版 II:3),因此它与真鲷之间亦可能存在着某种程度的亲缘关系。

小带鱼的卵径和油球皆大,这是带鱼科卵子的共同特征之一。在几种鱼卵中该种卵壳最厚,内壳分 8 层,而中间 2—6 分层各厚 $1.0\mu\text{m}$ 以上(图版 II:4),显然它与其他诸种鱼类亲属关系皆远。

牙鲆的卵径、油球和卵壳,以及内、外壳层厚度均与黑鲷鱼卵十分接近,唯其内壳分 4 层,中间两层各厚于内、外分层(图版 II:5)。

据报道,在与牙鲆属同一类群(鲆形目 Pleuronectiformes)的鲆鱼科 Pleuronectidae 中,绝大多种类的受精卵均无油球,这是与牙鲆科鱼卵构造上的主要区别。生活于大西洋

的欧洲黄盖鲽 *Limanda limanda* 等3种鲽鱼的卵壳皆比牙鲆卵壳薄 ($2.5\mu\text{m}$), 唯鲽鱼 *Pleuronectes platessa* 的卵壳厚 ($15.5\mu\text{m}$), 然而内壳分层皆多, 说明牙鲆卵与同一类群中的其他鱼类卵壳之间的特异性差别比与其分类地位很远的另一类群 (鲈形目 Perciformes) 的鲷科鱼类的差异还大。

假睛东方鲀以粘着沉性卵特有的形态构造而与众不同, 该种卵小, 卵黄结构细, 油球多而甚小; 微观卵壳很厚, 但亚微测定仅有 $0.74\mu\text{m}$, 内、外壳没有分层, 各只有一层形成; 壳外包裹着一层较厚的粘质, 壳外所见到的空泡结构可能是在进行分离时被撕的粘质形成的管状 (依卵膜孔成形) 丝体切面 (图版 II:6)。

通过上述12种鱼卵的卵径与油球大小的初步比较, 仅概括出了各科鱼卵共同的基本特征, 而不同的卵壳厚度及分层, 特别是内壳层的分层结构差别所显示出的种间特异性异常明显, 当然个别种间亦显现很多的相似性, 如牙鲆与黑鲷在系统分类中是两大不同类群的鱼类, 但在胚胎发育早期阶段则有诸多的形态相象现象存在, 这种异常现象有待进一步研究。

参 考 文 献

- 成庆泰, 郑葆珊等, 1987, 中国鱼类系统检索, 科学出版社, 334—492。
 沙学坤等, 1986, 赤眼梭卵子和仔、稚鱼的形态观察, 海洋与湖沼, 17(5): 386—393。
 平井明夫, 山本正, 1986, カタクチイシの発生卵門, 日本鱼类学杂志, 33(1): 62—66。
 细川合子, 伏见撤等, 1981, マタイの卵表面の电子显微镜观察, 日本鱼类学杂志, 27(4): 339—342。
 Anderson, E., 1967, Cortical alveoli formation and vitellogenesis during oocyte differentiation in the pipefish, *Syngnathus fuscus*, and the killifish, *Fundulus heteroclitus*, *J. Morph.*, 125:23—60。
 Flügel, H. J., 1967, Licht- und elektronenmikroskopische untersuchungen en Oozyten und Eierne iniger Knochenfische, *Z. zellforsch, mikrosk, Anat*, 83:82—116。
 Götting, K. J., 1966, Zur Feinstruktur der Oocyten mariner Teleosteer, *Helgoländer wiss, Meeresunters*, 13:118—170。
 Hagström, E. and Lönning, S., 1968, Electron microscopic studies of unfertilized and fertilized eggs from marine teleosts, *Sarsia*, 33:73—80。
 Hensley, D. A. and Ahlstrom, E. H., 1984, Pleuronectiformes: Relationships, *Contributions*, 22:133—150。
 Kobayshi, W., 1982, The fine structure and amino acid composition of the envelop of the chum salmon egg, *J. Fac. Sci (Ser. VI, Zoo.)*, 23:1—12。
 Lönning, S., 1967, Studies of the ultrastructure of sea urchin eggs and the changes induced at insemination, *Sarsia*, 30:31—48。
 ————1972, Compative electron microscopic studies of teleostean eggs with special reverence to the chorion, *Sarsia*, 49:41—48。
 Müller, H. & G. Sterba, 1963, Elektronenmikroskopische Untersuchungen über Bildung und Struktur der Eihüllen bei Knochenfischen II. Die Eihüllen jüngerer und älterer Oozyten von *Cynolebias belotti* Steindachner (Cyprinodontidae), *Zool. Jb., Abt. Anat. u. Ontog*, 80:469—488。
 Yamamoto, M., 1963, Electron microscopy of fish developmemt II. Oocyte-follicle cell relationship and formation of the chorion in *Oryzias latipes*, *J. Fac. Sci. Univ. Tokyo Sect., II*, 10:123—128。

STUDY ON THE ULTRASTRUCTURE OF THE CHORION FROM MARINE FISHES*

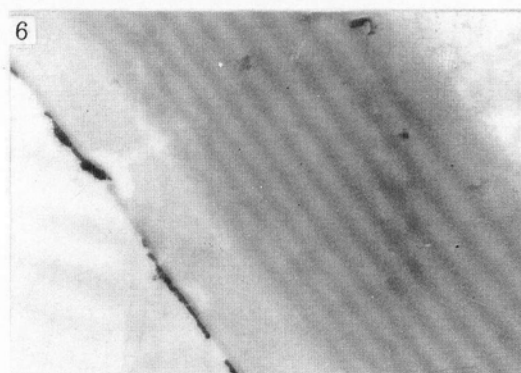
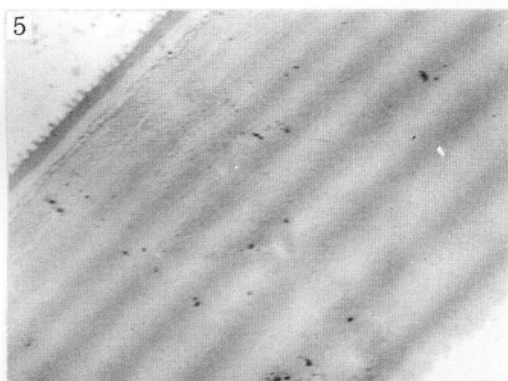
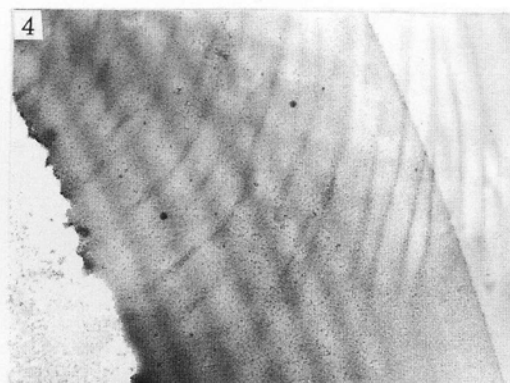
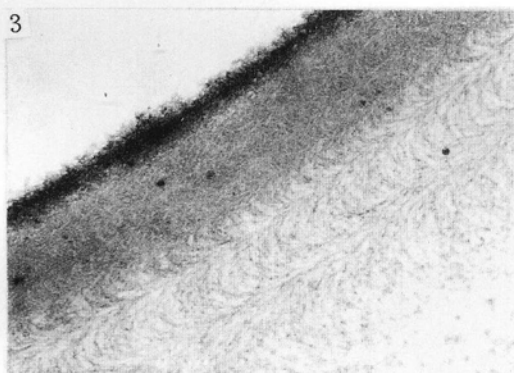
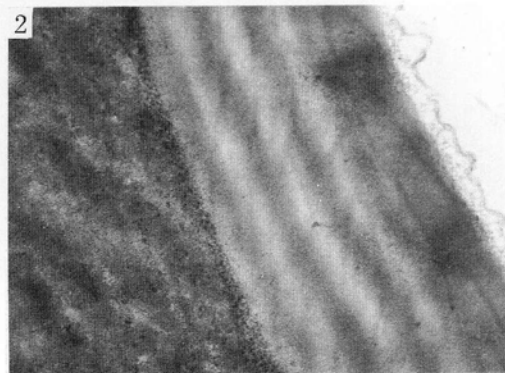
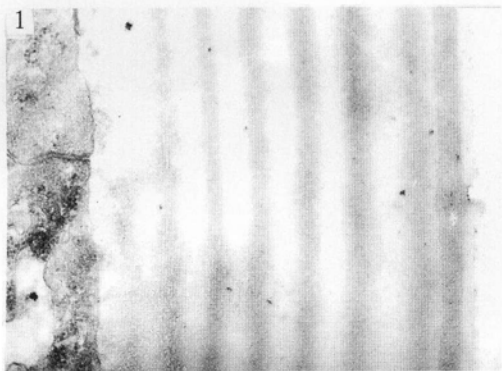
Yang Donglai, Ji Xiangrong, Cha Haifeng and Chang Mingjun
(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences)

ABSTRACT

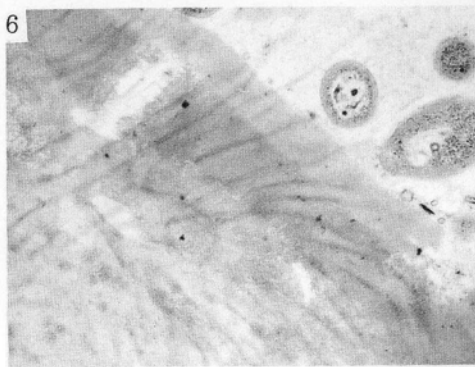
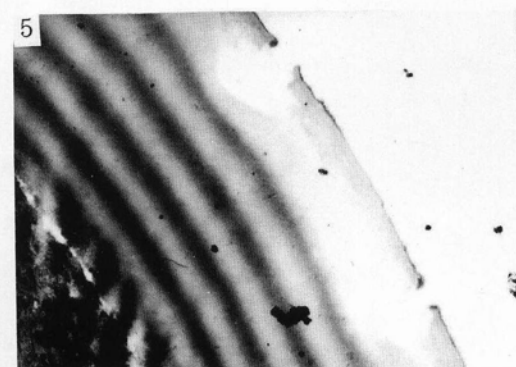
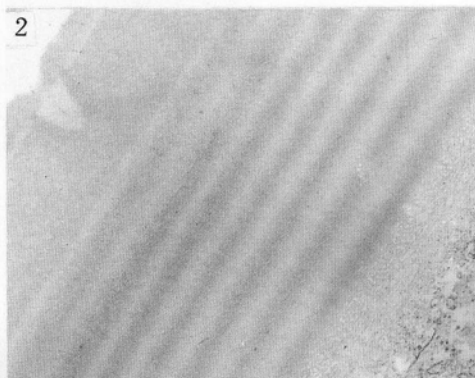
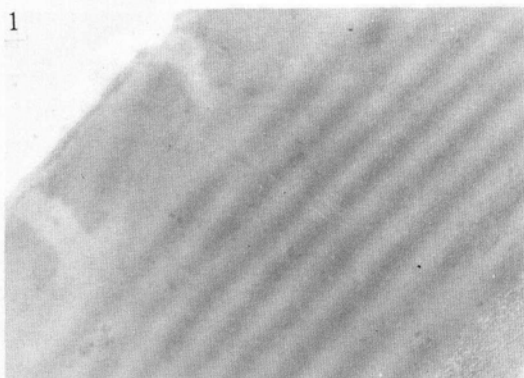
Naturally fertilized eggs collected from the Bohai Sea and the Yellow Sea and artificially fertilized eggs were observed under TEM, 12 species were selected from the samples for comparative study of their chorion structure. The difference of chorion thickness and division of chorion layers show the species specific difference of fish eggs.

Among the 12 species fish eggs, only the *Fugu pseudomus* is viscose demersal egg. Its chorion is the thinnest ($0.74\mu\text{m}$), divided into two layers. The sticky layer on the outer surface of the chorion protects the chorion. All the other 11 species are isolated pelagic eggs. The chorions of *Clupanodon punctatus*, *Harengula zunasi* and *Thrisa kammalensis* are the thinnest, about $1.43\text{--}2.33\mu\text{m}$. The former two's chorions fibrillar are of fine texture. The later's is of very loose, cotton fibre-like. The division of the inner chorion and the thickness are all different. *Liza haematocheila*, *Lateolabrax japonicus*, *Pseudosciaena polyactis*, *Pagrosomus major*, *Sparus macrocephalus*, *Hapalogenys nitens*, *Eupleurogrammus muticus* and *Paralichthys olivaceus* all have chorion thickness of about $3.0\mu\text{m}$. *E. muticus*' chorion is the thickest one $8.9\mu\text{m}$. *P. polyactis*' chorion has the most number (11) of layers. The other species are different in the thickness of the inner and outer layers of chorion. *P. major*'s is $3.19\mu\text{m}$ thick. The inner part of the chorion divided into 9 layers like that of the *Pagrus major* in the Hiroshima Prefectural Fisheries Experimental Station, mapan. Evidently they are the same fauna and one species. *P. olivaceus*' chorion is $3.45\mu\text{m}$ thick. The outer layer of the chorion is $1.07\mu\text{m}$ thick. The inner layer is $2.38\mu\text{m}$ thick and similar with that of *S. macrocephalus* and different only in the structure of the inner dividing part.

* Contribution. No. 2418. from the Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences.



1. 斑鲹 *Clupanodon punctatus* 21000 $\times$; 2. 青鳞 *Harengula zunasi* 21000 $\times$; 3. 赤鼻稜鯷 *Thrissa kammalensis* 21000 $\times$; 4. 鲛鱼 *Liza haematocheila* 10000 $\times$; 5. 花鲈 *Lateolabrax japonicus* 9000 $\times$; 6. 小黄鱼 *Pseudosciaena polyactis* 10000 $\times$



1. 真鲷 *Pagrosomus major* 18000 $\times$; 2. 黑鲷 *Sparus macrocephalus* 15000 $\times$; 3. 斜带髯鲷 *Halalogenys nitens* 15000 $\times$; 4. 小带鱼 *Eupleurogrammus muticus* 7000 $\times$; 5. 牙鲆 *Paralichthys olivaceus* 10000 $\times$; 6. 假睛东方鲀 *Fugu pseudommus* 21000 $\times$