

九孔生殖腺成熟之組織學研究

曾萬年 · 林芳郁

國立臺灣大學、理學院、動物學系

緒 言

九孔, *Haliotis diversicolor supertexta* Lischke 是臺灣北部、東部岩礁地帶重要經濟貝類之一。因為其價格昂貴及民間大量收購天然幼貝予以蓄養, 於是漁民下水作業時不論大小一律捕捉, 使得九孔之產量愈來愈少及漁獲物小型化, 而嚴重地影響到九孔之資源。因此要想維護九孔資源, 除了限制漁民捕獲外, 必須積極設法進行人工繁殖, 以解決民間九孔蓄養之種苗來源問題及予以放流增加天然之生產。而九孔生殖腺成熟之研究乃進行人工繁殖之起步工作。

有關海產經濟貝類生殖腺成熟方面之研究很多¹⁻⁷, 但關於本種者則尚屬少見。因此在農復會、漁業組九孔養殖推廣計劃下, 筆者負責有關九孔生物學方面之調查。本報告乃從組織學的觀點來研究其生殖細胞之成長及生殖腺成熟之季節性變化, 以便確知其成熟狀態, 俾供今後人工繁殖之參考。

材料與方法

本報告所使用之九孔標本是從1975年4月至1976年3月於臺北縣、三貂角附近的岩礁地帶潛水採集而來, 共採得標本732個, 其殼長頻度分布如表一所示。每次均先測定其殼長、秤其重量及殼重, 並記錄生殖腺之顏色。然後分別橫切其生殖腺固定於 Bouin's solution, 做成 4-7 μ 厚之石臘切片, 以 Mayer 氏的蘇木精——伊紅染色 (H & E), 供作組織學之觀察。

結 果

(一)、精細胞的成長：

① 精原細胞 (Spermatogonia) (Plate 1, Fig. 1.)

精巢內最原始的生殖細胞, 由胚上皮 (Germinal epithelium) 所形成。周年均可見。細胞呈橢圓形或圓形, 細胞質很薄不易染色。細胞核徑約 5-7 μ , 核內可見核仁及顆粒狀之染色質。

② 初級精母細胞 (Primary spermatocyte) (Plate 1, Fig. 2)

細胞質不明顯。細胞核呈嗜鹼性。核徑約 4-5 μ 。核仁消失, 染色質呈放射狀。第一次成熟分裂 (first maturation division), 有配對 (Synapse) 的現象, 染色絲集於核膜的一端¹。

③ 次級精母細胞 (Secondary spermatocyte) (Plate 1, Fig. 3)

次級精母細胞出現的時間很短, 於初級精母細胞羣中或精細胞中可以找到。核徑約 3 μ , 染

Table 1. The abalone collected in this study

Date collected	Sample size	Shell length (cm)							
		2.0-2.9	3.0-3.9	4.0-4.9	5.0-5.9	6.0-6.9	7.0-7.9	8.0-8.9	9.0-9.9
1975-Apr. 13,15,28	70	1	2	5	17	23	14	6	2
May 12,19,21,24,31	79		6	10	26	21	11	5	
June 3,9,16,23	48				4	11	24	9	
July 3,9,18,31	126			5	8	66	44	3	
Aug. 4,12,25	124		3	22	23	45	28	2	1
Sept. 9,16,28	87		3	13	3	30	27	10	1
Oct. 14,27	50		5	8	7	18	10	2	
Nov. 12	25				4	15	4	2	
Dec. 25	28				14	3	7	4	
1976-Jan. 4	15					2	7	6	
Feb. 5	41		1	14	18	8			
Mar. 7,9,14	39	3	13	11	3	2	2	1	4
Total	732	4	33	88	127	244	178	50	8

色質濃縮而核呈強嗜鹼性。

再經過第二次成熟分裂 (Secondary maturation division)，形成精細胞。

④ 精細胞 (Spermatid) (Plate 1, Fig. 4)

細胞球形，核徑約 2μ ，為強嗜鹼性。核內染色質次第向兩端移動，細胞變形，而形成精子。

⑤ 精子 (Sperm) (Plate 1, Fig. 4)

由精細胞變態而成，長約 4μ (不含尾部)。其前端為呈嗜酸性的圓錐狀之穿孔體 (Acrosome)，接着為長圓柱形的本體 (Nucleus)，呈強嗜鹼性。新鮮成熟精巢的塗片 (Smear) 尚可看到會動的尾部。Young, et al (1970)⁴，曾對 Red abalone 之精子構造加以詳細之描繪，本種之精子與之相似。

(二)、卵細胞的成長

① 卵原細胞 (Oogonium) (Plate 2, Fig. 1)

卵原細胞由胚上皮 (Germinal epithelium) 所形成，周年可見。其細胞質薄，細胞核徑約 $3\sim 4\mu$ ，核內可見小型的核仁。細胞呈弱嗜鹼性。

② 染色仁期 (Chromatin-nucleolus stage) (Plate 2, Fig. 2)

卵細胞進入成長期，有一層很薄的細胞質，卵徑在 10μ 左右。核內可見強鹼性的球形核仁及絲狀的染色質絲 (Chromatin-thread)。

③ 無卵黃期 (Yolkless stage) (plate 2, Fig. 3)

由於細胞急速成長，其細胞質比前期卵細胞之細胞質有明顯地增多，為嗜鹼性。細胞核為圓形，內有一大型強嗜鹼性的核仁。細胞直徑約 50μ ，核徑約 20μ 。

④ 油球期 (Oil drop stage) (Plate 2, Fig. 3)

細胞質內有油球的堆積，在 H & E 染色下，呈現許多小空泡。細胞質呈顆粒狀，為強嗜鹼性。細胞核和前期者大致相同。細胞直徑 $50-90\mu$ 。

⑤ 初級卵黃球期 (Primary yolk globule stage) (Plate 2, Fig. 4)

細胞呈洋梨形，細胞質內的卵黃球開始形成，且逐漸增多分散於油球間，細胞比前期者大。

⑥ 次級卵黃球期 (Secondary yolk globule stage) (Plate 2, Fig. 5)

細胞質內卵黃球繼續增多，卵細胞增大，細胞互相擠壓而呈多角形，原生質膜 (Plasma membrane)，外圍有一層嗜酸性膜 (Eosinophilic membrane) 出現。卵徑約 160μ 。同時卵細胞周圍出現膠質層 (gelatinous Coating)，形成保護作用。

⑦ 成熟期 (Mature stage) (Plate 2, Fig. 6)

成熟的卵呈球形，卵徑約 180μ 。卵黃球及油球的量與前期卵母細胞者差不多。但嗜酸性膜可以明顯地分為兩層，內層為卵黃膜 (Vitelline membrane)，外層為絨毛膜 (Chorionic membrane)。其以非常細的原生質連於小索 (Trabeculae) 上，或游離於卵巢腔中⁴。當卵排到海水中後，卵黃膜與絨毛膜間會積水，空間增大而更明顯。

(二)、精巢之成熟

根據精細胞之成長，將精巢分為以下 5 個成熟階段：

① 復元期 (Recovery stage) (Plate 3, Fig. 1)

此期僅見精原細胞附着於纏繞狀結締組織之小管 (Tubule of connective tissue) 上。初期的精原細胞數目不多。生殖腺很薄，內部呈現很多空腔 (lumen)，生殖腺尚無顏色出現，性別斷定困難。以後不斷地行有絲分裂，其數目漸增。

② 前成熟期 (Premature stage) (Plate 3, Fig. 2)

此期除了精原細胞外，尚可見初級及次級精母細胞及少數精細胞，精巢逐漸增厚，外觀呈現淡黃色，而能辨別雌雄。

③ 成熟期 (Mature stage) (Plate 3, Fig. 3)

精子的數目逐漸增多，精巢變厚，生殖腺外壁 (Integument) 變薄，整個精巢外觀呈現乳白色。

④ 排精期 (Spawning stage) (Plate 3, Fig. 4)

精巢內精細胞、精子數目比成熟期時多，約占 80% 以上，處在隨時可以排精的情況，環境激變時，就有排精現象。

⑤ 排精末期 (Spent stage) (Plate 3, Fig. 5)

精巢內可見精原細胞及未放出的精子。此時結締組織之小管因精子的放出，有扭曲的現象，同時精巢變薄，精巢壁皺縮。精巢外觀之乳白色，也分佈不均勻。

(三)、卵巢之成熟

根據卵細胞之成長，將卵巢分為以下 5 個成熟階段：

① 復元期 (Recovery stage) (Plate 4, Fig. 1)

此時卵巢內可見卵原期，染色仁期，無卵黃期及油球期等四期的卵細胞，附着於呈扭曲狀的結締組織之小索 (Trabeculae) 上。卵原細胞繼續在分裂，且新形成的無卵黃期細胞呈葡萄狀。卵巢外觀尚無色彩，雌雄判定困難。

② 前成熟期 (Premature stage) (Plate 4, Fig. 2)

這時除了前四期的卵外，尚可見呈洋梨形的初級卵黃球期卵，從小索上分枝出來。由於細胞的逐漸增長，卵巢的厚度漸增。卵巢外觀逐漸呈現綠色，而能判定雌雄。

③ 成熟期 (Mature stage) (Plate 4, Fig. 3)

卵巢內有次級卵黃球期的卵出現，且數目增加，與初級卵黃球期卵充滿於腔內。細胞互相擠壓而呈現不規則形狀，卵巢厚度顯著增加。卵巢外觀呈現深綠色。

④ 排卵期 (Spawning stage) (Plate 4, Fig. 4)

可見成熟卵分佈於次級卵黃球細胞間，大多近於消化腺處，呈游離狀，受到刺激就可排出體外。卵巢壁厚可達 3.5mm。卵巢外觀呈現紅棕色。

⑤ 排卵末期 (Spent stage) (plate 4, Fig. 5)

卵巢內部成為空虛狀態，小索也因卵的排出而呈皺褶，但仍可見油球期以前各期的卵及正在萎退 (Atretic) 的次級卵黃球期卵及成熟卵。

(五) 生殖腺成熟之季節性變化

將所採集到的 732 個九孔除去未達成熟殼長之個體外⁹，依上述結果(三)、(四)之標準，分別定其生殖腺之成熟階級，按月份、分雌雄，作成頻度分布圖。以便了解九孔生殖腺成熟之季節性變化。

精巢成熟之季節性變化，如圖一所示。4~5 月時，大部分九孔為成熟期。6~12 月為放精期，次年的一月為放精末期，2~3 月為復元期及前成熟期。由此可見雄貝之復元期很短，成熟期及放精期很長。

卵巢成熟之季節性變化，亦如圖一所示。4~5 月大部分九孔為復元期，6~7 月為前成熟期，8 月為成熟期，同時有一部分進入排卵期，9~11 月為排卵盛期，12~1 月為排卵末期，2~3 月為復元期。

討 論

九孔為雌雄異體，隨着生殖細胞之成長，生殖腺的外觀在不同時期，呈現不同的色彩。復元期，雌雄生殖腺尚未發達，從生殖腺外表分不出性別。但在成熟期，雄性生殖腺外觀呈現乳白色，而雌性生殖腺為深綠色。排卵期的雌性生殖腺則為紅棕色，排卵末期的雌性生殖腺則為深灰色。因此大體上從生殖腺外觀，可以判斷其成熟度，至於其呈色原因，則有往今後進一步之研究。

卵巢內一年四季皆存在着有卵原期、染色仁期、無卵黃期及油球期等四期的卵細胞。初級卵黃球期的卵，4 月開始形成。次級卵黃球期的卵，約於 6 月開始形成，至 8 月最多，此月的平均水溫為 28°C，為全年最高溫，9 月以後溫度次第下降 (Table 2)。接着很快變成成熟卵，而進入排卵狀態。

Table 2. Mean monthly sea surface temperature in the coastal area near the Santiachiao, Taipei Prefecture Taiwan.

Month	1975 Mar.	Apr.	May	June	July	Aug.	Sept.	Oct.	Nov.	Dec.	1976 Jan.	Feb.
Temp. °C	17.7	21.0	23.3	24.5	27.9	28.0	27.6	25.8	23.6	19.1	17.8	17.1

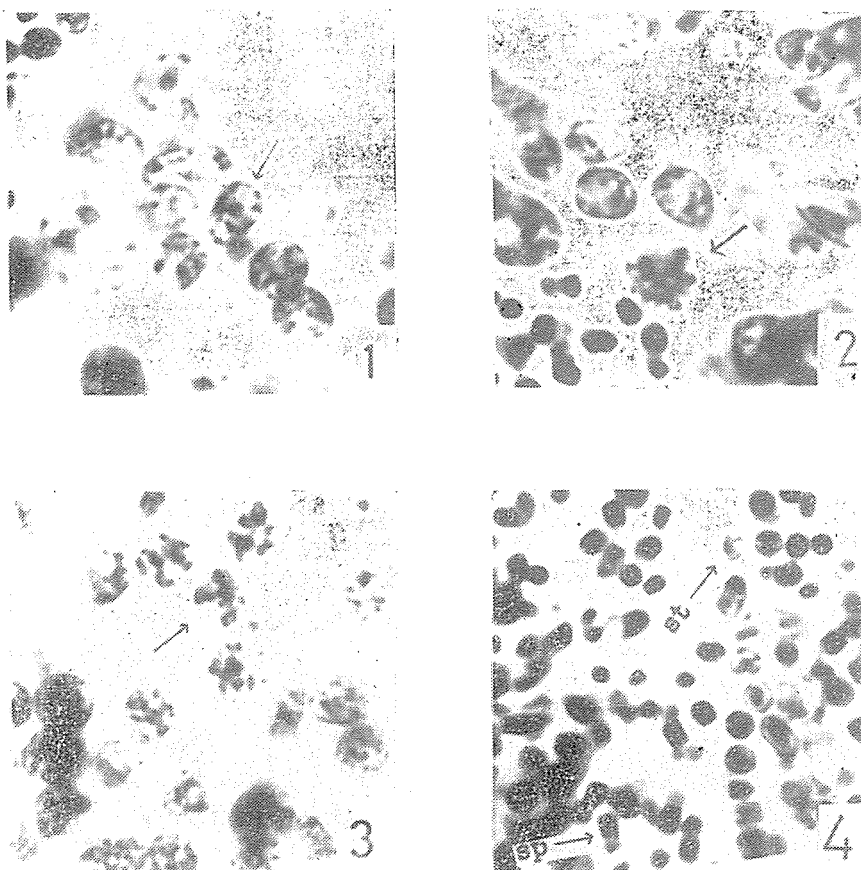


Plate 1. Stage of Spermatogenesis

Fixed in Bouin's fluid and stained with Mayer's hematoxylin.

All figures are of same magnification at 2000x

Fig. 1. Spermatogonium

Fig. 2. Primary spermatocyte

Fig. 3. Secondary spermatocyte

Fig. 4. Spermatid (st), Sperm (sp)

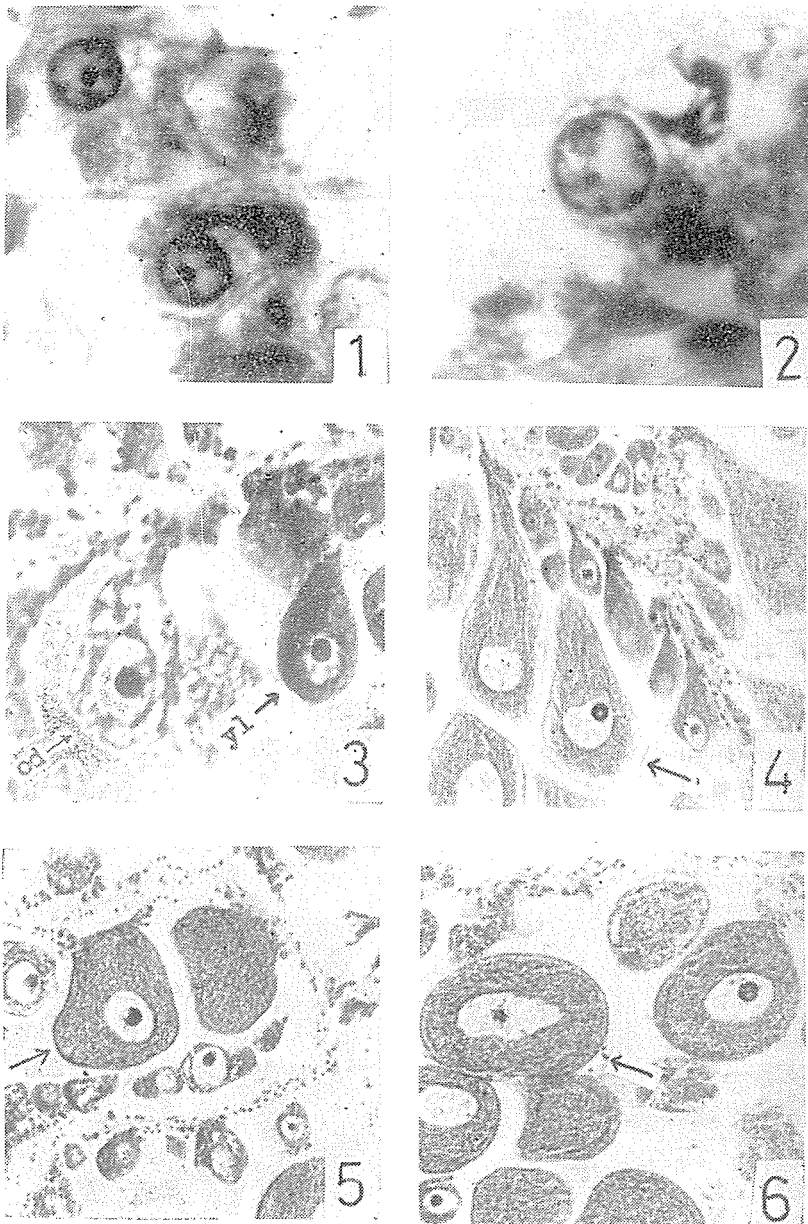


Plate 2. Stage of Oogenesis

Fixed in Bouin's fluid and stained with Mayer's hematoxylin.

Fig. 1. Oogonium 2000 x

Fig. 2. Chromatin-nucleolus stage 2000 x

Fig. 3. Yolkless stage (yl) 970 x, Oil drop stage (od) 970 x

Fig. 4. Primary yolk globule stage 115 x

Fig. 5. Secondary yolk globule stage 115 x

Fig. 6. Mature stage 115 x

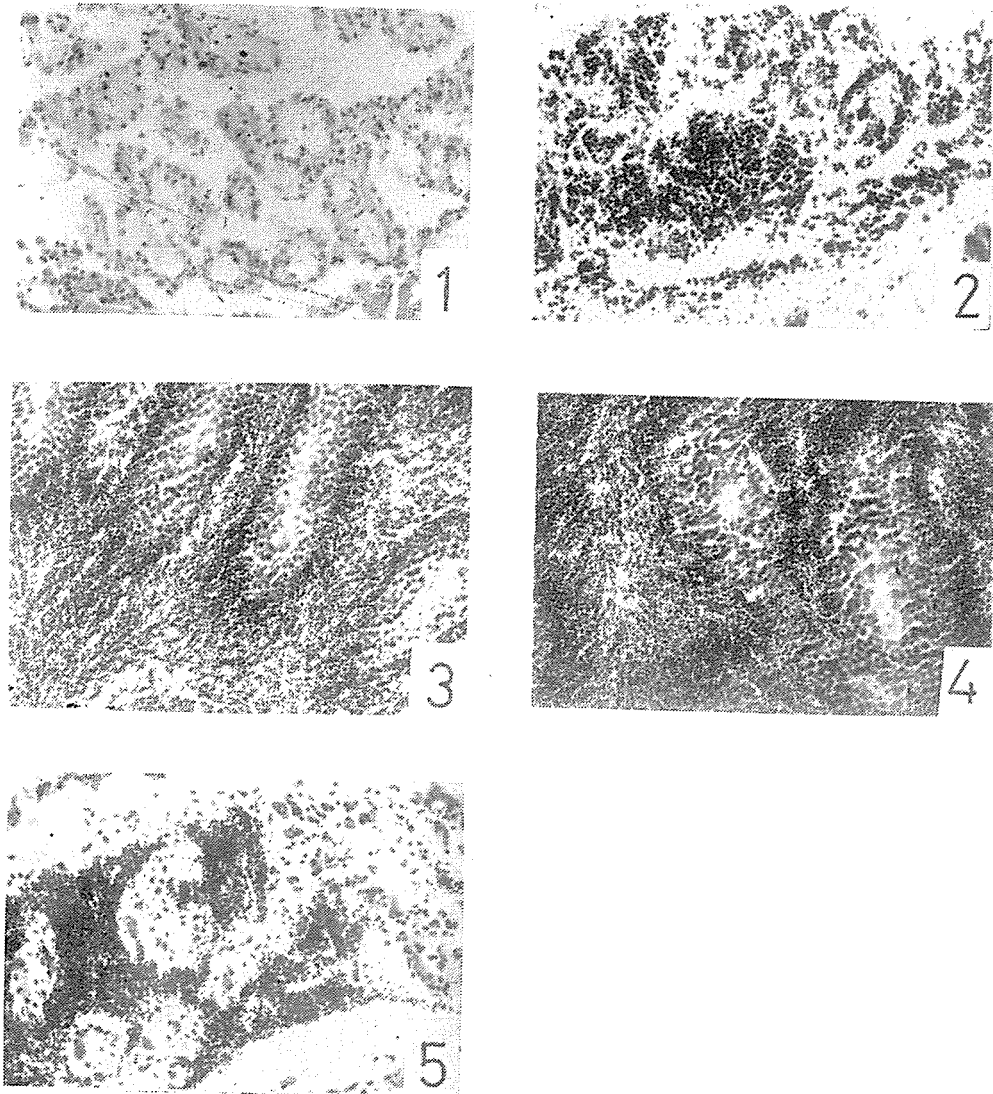


Plate 3. The maturation of the testis.

Fixed in Bouin's fluid and stained with Mayer's hematoxylin.

All figures are of same magnification at 340x

Fig. 1. Recovery stage, collected on March 9.

Fig. 2. Premature stage, collected on April 15.

Fig. 3. Mature stage, collected on June 23.

Fig. 4. Spawning stage, collected on September 9.

Fig. 5. Spent stage, collected on January 4.

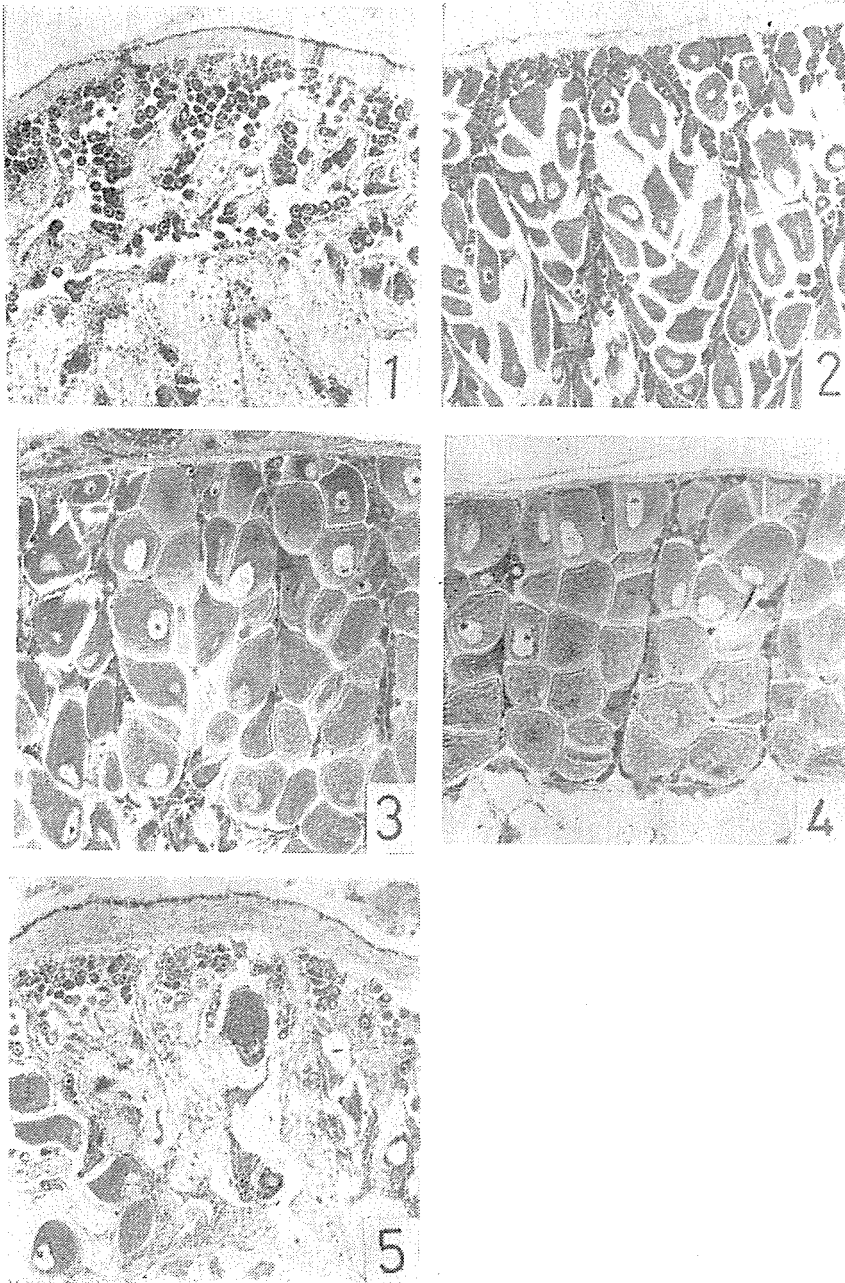


Plate 4. The maturation of the ovary.
 Fixed in Bouin's fluid and stained with Mayer's hematoxylin.
 All figures are of same magnification at 100x
 Fig. 1. Recovery stage, collected on April 13.
 Fig. 2. Premature stage, collected on May 24.
 Fig. 3. Mature stage, collected on June 23.
 Fig. 4. Spawning stage, collected on June 23.
 Fig. 5. Spent stage, collected on January 4.

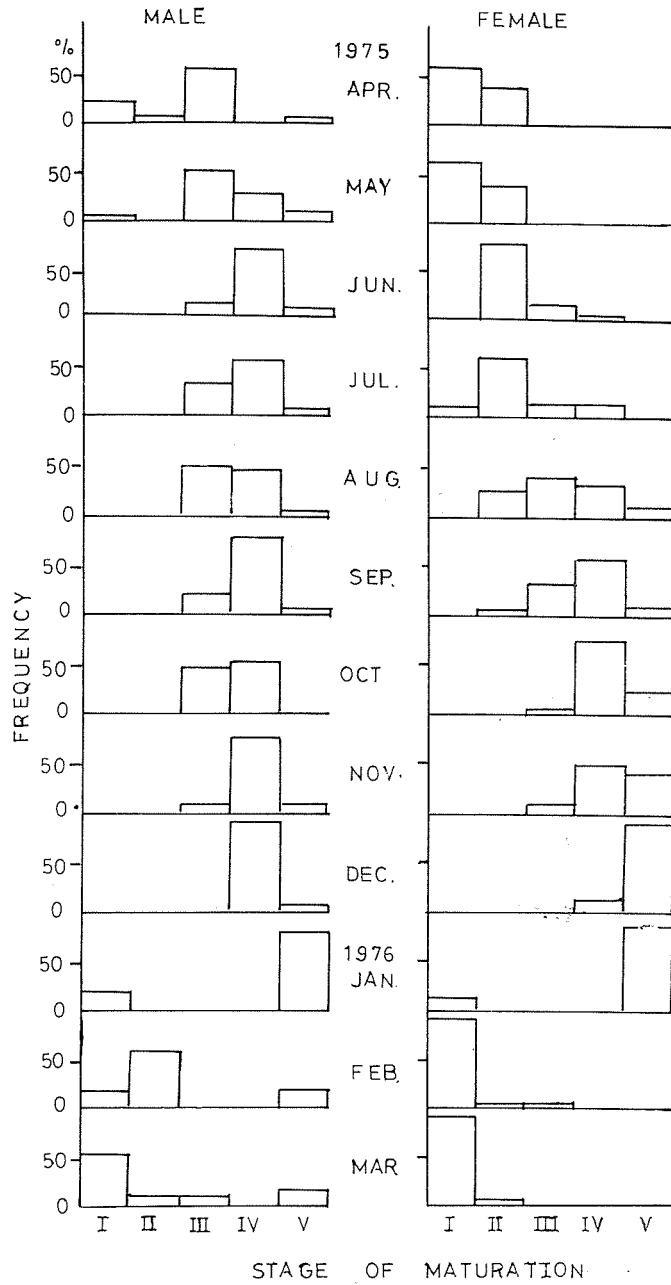


Fig. 1. Monthly frequency distribution of maturity in the male and female abalone. I-V indicate the stage of recovery, premature, mature, spawning and spent respectively.

11月成熟卵開時萎退。到了12月，卵巢內成熟卵消失殆盡，隔年的1~2月，卵巢內又只剩下油球期以前的卵。由此可見，卵細胞之成長與海水溫度之變化有很密切的關係。即卵細胞隨着水溫上升而成長，水溫達到最高時，達成熟狀態，而開始排卵。進入冬季，水溫下降時，未排完的卵，則萎縮退化，而呈休止狀態。此外成熟卵出現的月份並不長（8~11月），而且個體間之成熟變異很大（圖一）。換言之，可供採卵的月份短，而且在成熟月份中，仍然有不少未達成熟之個體，此種現象，加藤等⁵也曾發現過，而認為是受棲息環境中海藻量之影響。此點在進行採卵前，選擇供試之母貝，應特別注意。

精巢成熟期比卵巢為長。4月時，精巢內即有精子產生，5月以後，隨着水溫上升，精子數目逐漸增多，至12月，仍然有精子存在。以後水溫降低，除了少部份個體精巢中尚殘留有少數精子外，大部份個體精子退化而剩下精原期的細胞。可見精子的活動期間與卵細胞者略有差異，原因待查。

摘 要

本報告是有關九孔，*Haliotis diversicolor supertexta* Lischke，精細胞及卵細胞之成長，以及雌雄生殖腺成熟之季節性變化的研究。其結果如下所述：

1. 精細胞之成長，依其成長過程細胞之變化，分為五期：精原細胞，初級精母細胞，次級精母細胞，精細胞及精子。
2. 卵細胞之成長，依油球、卵黃球之堆積，細胞外膜之變化等特徵，依序可分為：卵原細胞，染色仁期，無卵黃期、油球期、初級卵黃球期、次級卵黃球期及成熟期。
3. 生殖腺成熟過程，分為五期：復元期、前成熟期、成熟期、排卵（精）期及排卵（精）末期。
4. 排卵大多發生於8月至11月，而排精較長，為6月至12月。

謝 辭

本文之完成，曾得農復會漁業組九孔養殖推廣計劃（75-A31-0-889）補助。研究期間承蒙臺大動物系主任黃仲嘉博士之鼓勵與指導，黃火煉博士提供寶貴意見，梁潤生教授，毛化副教授及林瑞萍副教授等多方賜助，臺大海洋研究所徐榜文先生協助採集標本，及助理許金鳳小姐之製作切片等，因是有成，謹此一併誌最深之謝忱。

參 考 文 獻

1. 富田恭司（1967）：禮文島産エゾアワビの卵巢の成熟。北水試報 7：1~7。
2. 富田恭司（1968）：禮文島産エゾアワビの精巢の成熟。北水試報 9：56~61。
3. Newman, G.G. (1967): Reproduction of the South African abalone, *Haliotis midae*. *Division of Sea Fisheries Investigational Report* 64: 1~24.
4. Young, J.S., and DeMartini J.D. (1970): The reproductive cycle, gonadal histology, and gametogenesis of the red abalone, *Haliotis rufescens* (Swainson) *Calif. Fish and Game* 55(4): 298-309.

5. 加藤淳一、佐藤善雄 (1975) : 秋田縣戸賀灣におけるクロアワビの生殖巢の成熟について。水産増殖21(3) : 85—91.
6. Dinamani, P. (1974) : Reproductive cycle and gonadal changes in the New Zealand rock oyster, *Crassostrea glomerata*. N. Z. *Journal of Marine and Freshwater Research* 8 (1): 39-65.
7. Lee, B.D., Lee, T.Y., CHIN, P. (1973) : Studies on the propagation of abalones. *Publ. Mar. Lab. Busan Fish. Coll.* 6 : 39-52.
8. Lee, T.Y. (1974) : Gametogenesis and reproductive cycle of abalone. *Publ. Mar. Lab. Busan Fish. Coll.* 7 : 21-50.
9. 曾萬年 (1976) : 臺灣產九孔貝生殖生態之研究。臺灣水產學會刊, 5 (1), 印刷中。

**HISTOLOGICAL STUDIES ON THE GONADAL
MATURATION OF THE ABALONE, *HALIOTIS
DIVERSICOLOR SUPERTEXTA* LISCHKE**

Wann-nian Tzeng and Fang-yuh Lin

Department of Zoology, College of Science, National Taiwan University.

SUMMARY

The abalone, *Haliotis diversicolor supertexta* Lischke, were sampled monthly from Santiochiaonear in the northeastern Taiwan from April 1975 to March 1976.

The growth of the germ cells and the maturation of the gonads was studied by the histological method and results obtained are summarized as follows:

1. The spermatogenesis can be divided into 5 stages: Spermatogonium, Primary spermatocyte, Secondary spermatocyte, Spermatid and Sperm.
2. The oogenesis can be divided into 7 stages: Oogonium, Chromatin-nucleolus stage, Yolkless stage, Oil-drop stage, Primary yolk globule stage, Secondary yolk globule stage, and Mature stage.
3. The maturation of the gonad can be divided into 5 stages: Recovery stage, Premature stage, Mature stage, Spawning stage, and Spent stage.
4. The spawning season occurs from August to November in the female and from June to December in the male for most members of the abalone.

