

文章编号: 1674-5566(2010)04-0452-05

池养三角帆蚌卵巢发育与卵子发生的组织学研究

潘彬斌¹, 李家乐^{1,2}, 白志毅¹

(1. 上海海洋大学省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306;
2. 上海市高校水产养殖学 E 研究院, 上海 201306)

摘要: 通过石蜡切片技术与苏木精-伊红染色的组织学方法, 研究了池塘养殖条件下 3 龄三角帆蚌亲蚌卵巢发育及卵细胞发生过程的组织学特征。其亲蚌卵巢发育经历了 5 个时期: 2 月为增殖期, 3 月为生长期, 4 月开始进入成熟期, 4 月至 11 月为排放期, 12 月至 1 月为休止期。三角帆蚌卵子发生也经历了 5 个时期: 卵原细胞期、生长初期、生长中期、生长后期和成熟卵母细胞期。三角帆蚌卵细胞发育不同步, 分批成熟、分批排放。卵子发生初期, 未观察到明显的卵柄结构; 卵子发生中期, 卵母细胞核中有一显著大核仁, 但没有观察到小核仁。

关键词: 三角帆蚌; 卵巢发育; 卵子发生; 组织学

中图分类号: S 917 **文献标识码:** A

Histological study on ovarian development and Oogenesis of *Hyriopsis cumingii* cultured in the pond

PAN Bin-bin¹, LI Jia-le^{1,2}, BAI Zhi-yi¹

(1. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources Shanghai Ocean University
Ministry of Education Shanghai 201306, China;
2. Aquaculture Division, E-Institute of Shanghai Universities Shanghai 201306, China)

Abstract: By means of histological section and H. E. dyeing the histological characters were studied in the process of the ovarian development and Oogenesis of *Hyriopsis cumingii*. The mussels were cultured in the pond which could be used to reproduce. The ovarian development of *Hyriopsis cumingii* could be divided into five stages: proliferating period in February, growing stage in March, maturing stage started in April, spawning stage during April to November, resting stage during December to January. The oogenesis of *Hyriopsis cumingii* could be also divided into five stages: oogonia, early vitellogenic oocytes, vitellogenic oocytes, late vitellogenic oocytes, and mature oocytes. The oocytes matured and spawned in different time. In the early time of oogenesis, the yolk stalk was not observed obviously. A big nucleolus was observed in the middle time of oogenesis, but no small nucleolus was observed.

Key words: *Hyriopsis cumingii*; ovary development; oogenesis; histological study

收稿日期: 2009-12-10

基金项目: 973 计划前期研究专项项目 (2009CB126001); 国家自然科学基金 (30871923); 上海市科委地方院校能力建设项目

(08390510400); 上海市教育发展基金会晨光计划项目 (2008GG56)

作者简介: 潘彬斌 (1983-), 男, 硕士研究生, 专业方向为水产动物种质资源与种苗工程。E-mail: bbpam@163.com

通讯作者: 李家乐, E-mail: jll@shou.edu.cn

我国是世界淡水珍珠主产国,目前淡水珍珠年产量达 1600 多吨,占世界淡水珍珠总产量的 95%以上^[1]。培育如此多的淡水珍珠需要大量的育珠蚌,三角帆蚌 (*Hyriopsis cumingii*)则是当前我国培育淡水珍珠的主要育珠蚌,在 20 世纪 80 年代三角帆蚌的人工繁殖取得了突破,从而满足了对育珠母蚌的大量需求。池塘培育三角帆蚌亲蚌是三角帆蚌人工繁殖的重要环节,了解和掌握池塘养殖条件下三角帆蚌性腺发育规律对育珠蚌种苗繁殖有重要意义,但对三角帆蚌性腺发育规律的研究尚未见报道。另一方面,国外对淡水蚌类配子发生的研究有过较多报道^[2-4],国内也对少数经济蚌类进行过相关研究^[5-7],但对三角帆蚌配子发生的研究较少且不全面^[8-9]。本试验通过在池塘中养殖三角帆蚌亲蚌,并利用组织学方法对三角帆蚌雌蚌的性腺发育和生殖细胞发生进行了系统的研究,从而为了解三角帆蚌生殖规律,促进其全人工繁殖和杂交选育等提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 亲蚌培育

浙江金华威旺养殖新技术有限公司淡水珍珠蚌良种繁育基地 2005 年 5 月繁育的稚蚌经 3 年养殖后于 2008 年 5 月底,随机选取 600 只雌性三角帆蚌亲蚌,放养规格为 40 cm × 40 cm × 8 cm,网箱中,放养密度为 10 只,将网箱吊养在池塘中培育,吊养水深为 40~70 cm。2008 年 6 月至 2009 年 6 月每月定期取样 2 次,每次随机取 20 只亲蚌带回实验室。

1.2 组织学观察

将取回的亲蚌活体解剖,取不同部位的性腺组织于 Bouin 氏液中固定,梯度酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,切片(厚度 6 μm),H-E 染色,显微观察并拍照。性腺发育和卵子发生分期方法参照蔡英亚^[10]。

2 结果

2.1 卵巢形态结构

三角帆蚌卵巢被包裹于整个内脏团内。切片观察表明三角帆蚌卵巢属滤泡型,由滤泡、生殖管、生殖导管 3 部分组成,其中滤泡是产生生

殖细胞的场所,呈囊泡状,由滤泡壁和滤泡腔组成,由生殖管末端膨大而形成(图版 I-1)。

2.2 卵巢发育

根据卵巢的外观形态和内部滤泡、卵细胞的发育程度,可将卵巢发育分为以下 5 个时期。

(1)增殖期。2 月,卵巢进入增殖期,卵巢体积逐渐增大。切片观察卵巢内部,滤泡大量增殖,但个体较小,形状不规则。滤泡腔空间小,滤泡壁上原始生殖细胞大量增生开始发育成卵原细胞,少数卵原细胞较大(图版 I-2)。

(2)生长期。3 月,卵巢发育进入生长期,卵巢逐渐饱满,颜色开始微黄。切片观察卵巢内部,与增殖期比较,滤泡、滤泡腔和卵母细胞体积均明显增大。此期滤泡内卵母细胞逐渐增多,同时卵母细胞内卵黄物质开始大量积累、细胞核显著发育、细胞膜逐渐清晰(图版 I-3)。

(3)成熟期。4 月,卵巢成熟,一直持续到 11 月仍能观察到有成熟卵巢。成熟期的卵巢饱满,颜色微黄。卵巢内挤满滤泡,滤泡间基本没有结缔组织,滤泡体积达到最大。滤泡内充满椭圆形成熟卵母细胞,胞质中积累了大量卵黄物质(图版 I-4)。同一滤泡中生殖细胞发育不同步,靠近滤泡壁有少量卵原细胞未发育,靠近滤泡腔内的卵母细胞则大部分发育成熟。同一卵巢不同位置发育也不同步,在成熟期的卵巢中,大部分位置的卵巢已发育成熟,但亦有少量部位的卵巢发育程度较低,仍处于生长期甚至增殖期。

(4)排放期。4 月卵巢开始排放卵子,一直到 11 月卵巢处于排放期。切片观察卵巢内部,成熟后的卵母细胞通过与滤泡相连的生殖管排放。由于成熟卵的排放,滤泡出现大小不等的空腔(图版 I-5),少数滤泡由于卵母细胞一次性大量排放,滤泡壁受到了严重破坏。

(5)休止期。12 月至 1 月为休止期,卵巢萎缩。切片观察卵巢内部,滤泡萎缩,滤泡间结缔组织开始增生,此期滤泡为一个仅有滤泡壁的空腔,少数滤泡内残留少量未成熟卵细胞(图版 I-6)。

2.3 卵子的发生

根据切片观察的结果,三角帆蚌卵子发生可分为以下几个时期。

(1)卵原细胞期。卵原细胞紧贴滤泡壁生殖上皮,细胞形状不规则,多呈长条形或椭圆形,细

胞核较大,胞质很少,几乎不可见,细胞核占卵原细胞体积的绝大部分。随着卵原细胞的发育,其胞体逐渐向滤泡腔一侧生长,细胞体积不断增大,形状逐渐接近椭圆形(图版Ⅱ-1)。

(2)生长初期。卵原细胞进入滤泡腔中成为初级卵母细胞,此时细胞质中卵黄开始积累,胞质嗜酸性增强,卵膜开始形成,细胞核位于胞质一端(图版Ⅱ-2)。

(3)生长中期。卵母细胞体积进一步增大,卵黄物质大量积累,细胞质嗜酸性加强,核质染色较深且不均匀,核内有空泡。胞体卵膜逐渐清晰,形状变得更规则,多呈梨形(图版Ⅱ-3)。

(4)生长后期。卵膜清晰,胞体形状较规则,多呈椭圆形。细胞核一端突出(图版Ⅳ-4)。部分细胞核分裂成大小两个核(图版Ⅱ-5)。

(5)成熟卵母细胞期。发育成熟的卵母细胞多呈圆形,胞质内已积累大量卵黄物质,胞质体积占细胞体积达到最大。细胞核在细胞中央,核内染色均匀(图版Ⅱ-6)。

3 讨论

三角帆蚌卵巢的发育过程同绢丝丽蚌(*Lamprotula fibrosa*)^[11]、褶纹冠蚌(*Cristaria plicata*)^[12]和池蝶蚌(*Hyriopsis schlegelii*)^[13]等淡水蚌类以及文蛤(*Meretrix meretrix*)^[14]、毛蚶(*Scapharca subcrenata*)^[15]等海水双壳类的卵巢发育过程较为相似,都经历了增殖期、生长期、成熟期、排放期和休止期5个时期。三角帆蚌4月进入成熟期,4月至11月为排放期。淡水蚌类中,绢丝丽蚌9月为成熟期,10月进入排放期,10月至翌年1月中旬为繁殖期^[11];褶纹冠蚌排放期从秋季9月延续至次年4月^[12],池蝶蚌有两个产卵高峰,春季产卵从4月上旬持续到6月下旬,9、10月进行秋繁^[13]。三角帆蚌和池蝶蚌的排放期较为接近,这也是两者的优良杂交种——康乐蚌[池蝶蚌(♀)×三角帆蚌(♂)]^[16]得以培育成功的一个重要原因。另外,褶纹冠蚌也是我国重要的育珠蚌,具有生长快,繁殖周期短等优点,但所育珍珠质量较三角帆蚌稍差,三角帆蚌育珠效果好,但生长缓慢,若能将三角帆蚌和褶纹冠蚌杂交,得到生长快,育珠效果好的优势杂交种,可能为我国淡水珍珠养殖提供又一个良种。张元培^[17]在1973年,通过人工诱导受精技术,将三角

帆蚌(♀)和褶纹冠蚌(♂)杂交获得了子一代杂交蚌,并用杂交蚌进行了育珠试验,显现了较多育珠的优良性状。但可能由于技术上的问题,到目前并未得到广泛推广。本试验观察了池塘养殖条件下三角帆蚌的性腺发育规律,如能结合池塘养殖条件下褶纹冠蚌的性腺发育规律研究将为两者的杂交育种提供重要的基础资料。

三角帆蚌卵巢发育存在不同步性,卵细胞分批成熟,分批排放,表明三角帆蚌属于多次排卵类型,一般认为三角帆蚌在排放期可排卵5~6次^[18]。在淡水蚌类中,褶纹冠蚌和池蝶蚌也属于多次产卵类型^[12-13],绢丝丽蚌卵细胞为一次产卵类型^[11]。

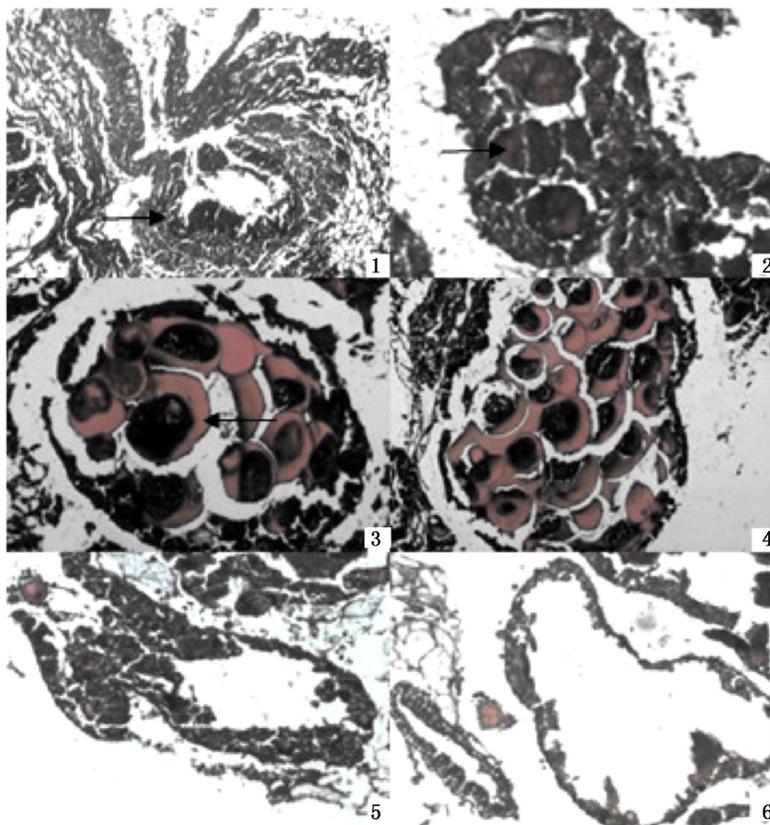
三角帆蚌在卵原细胞期未观察到明显的卵柄结构。椭圆背角无齿蚌(*Anodonta woodiana elliptica*)^[5]、绢丝丽蚌^[7]在卵原细胞初期出现了卵柄结构,在卵子发育的后期消失,而国外的一种淡水蚌 *Ruditapes decussatus*^[2]、合浦珠母贝(*Pinctada fucata martensii*)^[6]和栉孔扇贝(*Chlamys Farreri*)^[19]等海水双壳类的性腺发育过程中,卵柄一直连接着生殖细胞和滤泡壁基底面,直到卵母细胞成熟后才消失。

本实验观察到三角帆蚌卵母细胞的细胞核中有一较大浅染核仁,结构疏松,染色质比较明显,似乎有很活跃的功能。卵子发生过程中的双核仁结构已在多种贝类中发现^[20-22],但本实验中只观察到大核仁,未观察到明显的小核仁。

参考文献:

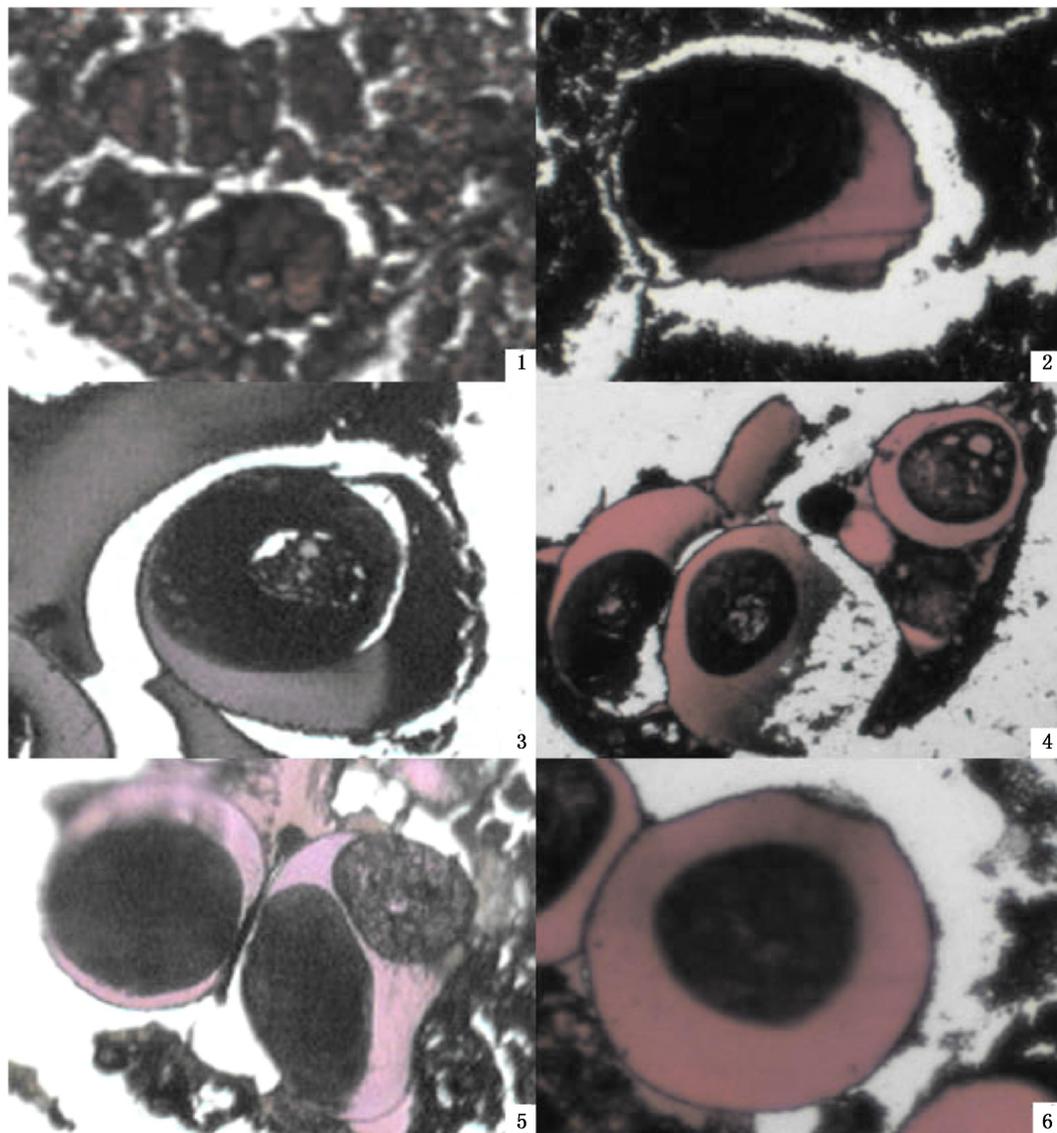
- [1] 李家乐. 淡水养殖珍珠蚌种质资源利用与保护[J]. 科学养鱼, 2007, 6: 1-2.
- [2] Delgado M, A Perez Canacho. Histological study of the gonadal development of *Ruditapes decussatus* (L.) (Mollusca: Bivalvia) and its relationship with available food [J]. Sci Mar 2005, 69: 87-97.
- [3] Chung E Y, D K Ryou. Gametogenesis and sexual maturation of the surf clam *Maetra veneriformis* on the west coast of Korea [J]. Malacologia 2000, 42: 149-163.
- [4] Cek S H Sereflihan. Certain reproductive characteristics of the freshwater mussel *Unio terminalis delicatus* (Lea 1863), in Golbasi Lake Turkey [J]. Aquacult Res 2006, 37: 1305-1315.
- [5] 陈竟春, 石安静. 椭圆背角无齿蚌卵子发生的研究[J]. 四川大学学报. 自然科学版, 2002, 39(3): 546-551. <http://www.cnki.net>
- [6] 沈亦平. 合浦珠母贝的配子发生[J]. 动物学报, 1992, 38(2): 113-119.

- [7] 龚世园, 朱子义, 张训蒲, 等. 绢丝丽蚌的配子发生 [J]. 水产学报, 1998, 22(1): 81—84.
- [8] 弭忠祥, 赵小帆, 王秀珍. 三角帆蚌卵子超微结构的研究 [J]. 电子显微学报, 2005, 24(4): 431—431.
- [9] 郭延平, 谈奇坤. 三角帆蚌精子的发生 [J]. 动物学杂志, 2002, 37(1): 2—4.
- [10] 蔡英亚, 张英, 魏若飞. 贝类学概论 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1982.
- [11] 朱子义, 龚世园, 张训蒲, 等. 绢丝丽蚌的繁殖习性研究 [J]. 华中农业大学学报, 1997, 16(4): 374—379.
- [12] 田津方, 魏青山. 武汉南湖褶纹冠蚌性腺发育与繁殖周期 [J]. 华中农业大学学报, 1993, 12(2): 190—196.
- [13] 余颖. 池蝶蚌性腺、生殖细胞发生及胚胎发育观察 [D]. 南昌: 南昌大学, 2008.
- [14] 林志华, 单乐州. 文蛤的性腺发育和生殖周期 [J]. 水产学报, 2004, 28(5): 510—514.
- [15] 阎斌伦, 许星鸿, 郑家声. 毛蚶的性腺发育和生殖周期 [J]. 海洋湖沼通报, 2005, (4): 92—98.
- [16] 李家乐, 白志毅. 淡水养殖新品种——康乐蚌 [J]. 中国水产, 2007, (10): 44—45.
- [17] 张元培. 三角帆蚌 (*Hyriopsis cumingii*) ♀ × 褶纹冠蚌 (*Cristaria plicata*) ♂ 的 F₁ 代育珠性状 [J]. 湖南水产科技, 1982, (4): 21—24.
- [18] 张根芳, 方爱萍, 李家乐, 等. 淡水蚌类繁殖生物学研究进展 [J]. 水产学报, 2005, 29(4): 560—564.
- [19] 廖承义, 徐应馥, 王远隆. 栉孔扇贝的生殖周期 [J]. 水产学报, 1983, 7(1): 1—13.
- [20] Azevedo C. Fine Structure and cytochemistry of the oocyte nucleolus in the mollusk *Helcion pellucidus* (Prosobranchia) [J]. *J Ultrastr Res* 1984, 89: 1—11.
- [21] Bonina M T. Differences of the nucleolus in 2 species of *Amyclina* [J]. *Experientia*, 1978, 34(10): 1284—1285.
- [22] Bolognari A. Characteristic of the nucleolini observed under the electron microscope [J]. *Experientia* 1976, 32(6): 699—701.



图版 I Plate I

1. 性腺结构, 箭头示生殖管末端膨大形成滤泡, ×40; 2. 卵巢增殖期形态, 箭头示卵原细胞, ×40; 3. 卵巢生长期形态, 箭头示卵母细胞, ×40; 4. 卵巢成熟期形态, ×40; 5. 卵巢排放期形态, ×40; 6. 卵巢休止期纵切面形态, ×40.



图版 II Plate II

1. 卵原细胞期, $\times 40$; 2. 生长初期, $\times 40$; 3. 生长中期, $\times 40$; 4. 生长后期, $\times 40$; 5. 生长后期, $\times 40$; 6. 成熟卵母细胞, $\times 40$ 。