

瘤背石磺产卵前后生殖系统的组织学变化

吴旭干 胡 冰 杨筱珍 成永旭

(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及上海市高校水产养殖学 E 研究院, 上海 201303)

摘要:瘤背石磺 (*Onchidium struma*) 是雌雄同体、异体交配的腹足纲贝类, 其生殖系统较为复杂, 通过解剖学和组织切片技术对成体瘤背石磺的生殖系统及产卵前后的组织学变化进行了系统的研究。结果表明: (1) 雄性生殖系统主要由阴茎囊、阴茎、雄性附性腺、两性腺 (早期主要产生精子) 和储精囊等部分组成, 而雌性生殖系统则由两性腺 (后期主要产生卵子)、生殖细胞输送管、蛋白腺、黏液腺、受精囊和阴道等组成; (2) 雄性生殖系统的组织学结构在产卵前后变化较小, 但两性腺、卵蛋白腺和黏液腺的组织学在产卵前后变化显著; (3) 产卵后的两性腺由于成熟卵子的排放, 整体结构松散, 部分腺泡中有少量未排出的成熟卵细胞和卵黄合成早期的卵母细胞; (4) 产卵前的卵蛋白腺中含有许多强嗜碱性的小颗粒 (组织学结构类似于卵鞘中的胚胎外周蛋白), 产卵后腺体中的颗粒相对较大, 且呈嗜酸性; (5) 产卵前的黏液腺中存在嗜碱性区、嗜酸性区和混杂区三种区域, 但是产卵前黏液腺以嗜酸性细胞为主, 而产卵后的黏液腺中以嗜碱性细胞区域为主, 且分泌管道中有一些嗜碱性物质。由此可见, 卵蛋白腺的主要功能是分泌卵蛋白包裹受精卵形成卵外周蛋白层, 而黏液腺则在产卵过程中分泌黏液物质形成卵鞘结构及链状的卵带。

关键词:瘤背石磺; 产卵; 生殖系统; 组织学; 卵蛋白腺; 黏液腺

中图分类号: S963.7 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2009)06-1038-08

瘤背石磺 (*Onchidium struma*) 隶属于软体动物门 (Mollusca) 腹足纲 (Gastropoda) 肺螺亚纲 (Pulmonata) 柄眼目 (Stylommatophora) 石磺科 (Onchidiidae), 主要分布于我国江、浙、沪沿海咸淡水交汇处的潮间带高潮区, 是一种具有重要营养价值和药用价值的经济贝类^[1]。近年来, 由于环境污染和人为滥捕, 瘤背石磺的自然资源量正在迅速下降, 迫切地开展瘤背石磺的人工增殖, 以满足市场需求^[2-4]。但是, 由于瘤背石磺的生殖系统较为复杂^[5], 与腹足纲的泥螺 (*Bullacta exarata*) 和毛线嵌螺 (*Cymatium pileare*) 等存在较大的差异^[6,7], 迄今为止, 人类对其生殖系统的认识极为有限, 且有些结论存在较大的争议^[4,5,9], 这在一定程度上阻碍了其人工繁殖技术的提高^[10]。

尽管自 20 世纪 80 年代以来, 国内外学者已对瘤背石磺的繁殖生物学和生殖系统进行了一些研究, 如生殖行为^[12]、性腺发育^[5,13]、繁殖过程^[10]、生

殖系统的组织学^[5,9]和生殖系统的生化组成^[4,10]。本实验室经过数年的研究, 已初步探明了其生殖系统的组成^[4], 明确了两性腺 (瘤背石磺的精子 and 卵子均由两性腺产生, 没有单独的精巢和卵巢, 所以称为两性腺^[13]) 的功能及其发育规律^[4,13], 但是对于其他生殖附腺体的准确功能尚不清楚。鉴于此, 本文通过跟踪采样产卵前后的瘤背石磺亲本, 系统研究和比较了产卵前后生殖系统的组织学变化, 旨在进一步探讨生殖系统各腺体在产卵过程中的功能, 为深入开展其繁殖生物学研究及人工繁殖提供基础资料和理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料和养殖管理 所有实验用成体瘤背石磺于 2007 年 6 月 15 日至 20 日采自上海崇明岛北支芦苇滩涂湿地 (N31°38', E121°41'), 根据吴旭干等^[1]的方法挑选性腺发育接近成熟的个体 120 只

收稿日期: 2009-01-21; 修订日期: 2009-07-20

基金项目: 上海市科技兴农重点攻关项目 (沪农科攻字 2005D4-3); 上海市科委基础研究重点项目 (Na 04JC14067); 上海市教委水产养殖 E 研究院建设项目 (E03009) 资助

作者简介: 吴旭干 (1978—), 男, 汉族, 江苏盐城人; 讲师; 主要从事水产动物营养与繁殖生物学研究。E-mail: xgwu@shou.edu.cn

通讯作者: 成永旭, E-mail: yxcheng@shou.edu.cn; Tel: 021-61900417

用于实验,将所有个体随机放入 3只 200 L (0.75 m ×0.48 m ×0.60 m)的塑料水族箱中(每箱 40只亲本石磺),箱底铺 15 cm细土,中间形成一个凹潭,凹潭中间始终保持 5 cm的水,每日用盐度为 15的海水泼洒于细土上,保持水族箱内湿度接近于 100%。每日下午投喂螺旋藻粉、酵母粉和面粉等饵料,投喂量约为亲本总体重的 2%—5%,根据前一天摄食情况调整当日投喂量,使得饵料略有剩余。投喂前清除粪便和残饵,并换取适量新鲜海水和细土,以保持亲本石磺良好的生长环境,每日观察和记录各组亲本摄食、产卵和死亡情况。

1.2 实验采样和解剖

产卵前的成熟个体 所有亲本暂养一周后,根据滕炜鸣等^[11]的方法挑选卵巢发育成熟的个体 10只用于解剖,成熟个体的主要特征为两性腺指数在 1.4%—2.0%之间,卵蛋白腺为粉红色,两性腺呈黄褐色,此时蛋白腺食指突与拇指突明显。根据吴旭干等^[11]的方法准确取出肝胰腺、两性腺、卵蛋白腺、雄性附性腺和黏液腺。

产卵后的个体 每日观察亲本产卵情况,一旦发现正在产卵的瘤背石磺个体,立即移入到塑料产卵箱中(长 ×宽 ×高:36 cm ×24 cm ×11 cm),箱底铺 3—5 cm的细土,每箱放入 1只产卵个体,每 12h观察一次产卵情况,产卵通常持续 2—3d,一旦产卵结束后立即取出石磺进行称重和解剖,解剖方法同上,共跟踪解剖了 9只产卵后的亲本。同时取少量刚产的卵带用于活体拍照和组织学研究。

1.3 组织切片 采用 Bouin's液对瘤背石磺产卵前后的各种组织及胚胎进行固定,酒精梯度脱水,二甲苯透明,石蜡包埋(56—58),Leica RM2016型切片连续切片,切片厚度 5.0—7.0 μm, H.E 染色,中性树胶封片。采用 Olympus BH-2显微镜观察拍照,并对切片进行各项指标的统计,产卵前后的每种组织各重复 3—5个样品。

2 结 果

2.1 瘤背石磺生殖系统组成

瘤背石磺是雌雄同体、异体交配的软体动物。雄性生殖系统由阴茎囊、阴茎、雄性附性腺、两性腺(早期主要产生精子)和储精囊等部分组成,而雌性生殖系统则由两性腺(后期主要产生卵子)、生殖细胞输送管、蛋白腺、黏液腺、受精囊和阴道等组成(图 1)。雄性生殖系统较雌性生殖系统简单,阴茎囊位于头部,有储存阴茎的作用。阴茎囊一侧与雄

性附性腺相连,另一侧通过输精管同两性腺输送管相连。瘤背石磺的性腺为两性腺,既可产生精子也可产生卵子,10 g以下的幼体石磺两性腺中主要产生精子细胞,然后储存于储精囊中供交配时排给异体石磺,而 10 g以上的石磺两性腺主要产生不同发育阶段的卵母细胞。黏液腺为乳白色,中央为生殖细胞输送管,黏液腺的后半部分为肥胖螺旋结构。卵蛋白腺体积较大,通常为粉红色,将两性腺和黏液腺包裹在中间,卵蛋白腺中有管道与生殖细胞输送管相连(图版 -1)。

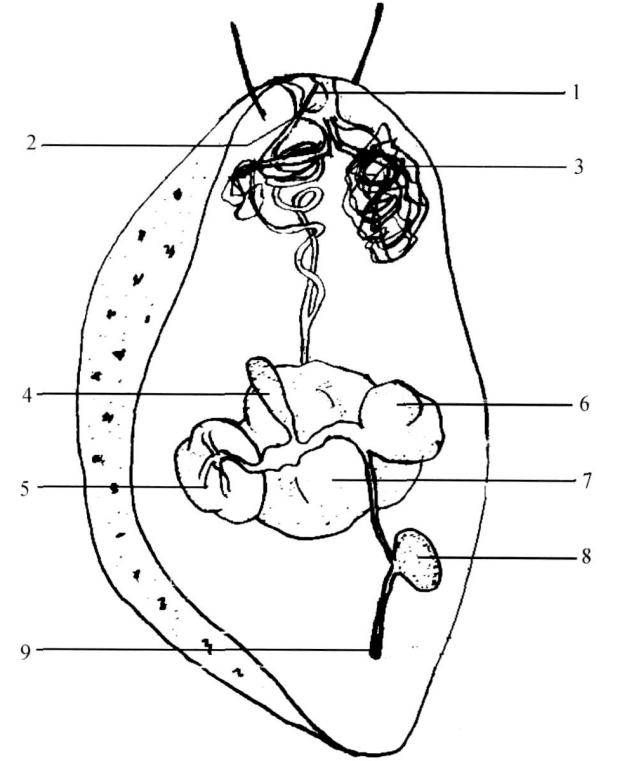


图 1 瘤背石磺生殖系统模式图
Fig. 1 Sketch of reproductive organs of *Onchidium struma*
1. 阴茎; 2. 阴茎囊; 3. 雄性附性腺; 4. 储精囊; 5. 两性腺;
6. 黏液腺; 7. 卵蛋白腺; 8. 受精囊; 9. 阴道
1. Penis; 2. Penial sac; 3. Male prostate; 4. Sperm bursa;
5. Digenetic gonad; 6. Mucous gland; 7. Egg albumen gland;
8. Fertilization chamber; 9. Vagina

两性腺中产生的精子和成熟卵母细胞通过生殖细胞输送管运输到储精囊和受精囊。成体瘤背石磺的储精囊明显,产卵前后外观和组织学无显著变化,内部均充满了大量精子(图版 -2)。交配前瘤背石磺的受精囊较小,解剖时很难发现,但交配后体积迅速膨胀,组织切片发现受精囊中充满了大量成熟卵母细胞或受精卵,其形态与两性腺中的成熟卵母细胞非常相似。受精囊中的受精卵直径为 $(58.85 \pm 3.88) \mu\text{m}$ (图版 -3),这与刚排出体外的胚胎中受

精卵的直径 (62.33 ± 7.15) μm 基本相同, 统计学结果表明无显著差异 ($P > 0.05$) (图版 -4, 5)。

2.2 产卵前后雄性生殖系统的变化

瘤背石磺雄性副性腺由一条细长的白色管道盘曲缠绕而成, 展开后长度为体长的 3 倍多, 管道近阴茎囊段较细, 远离阴茎囊端相对较粗, 雄性附性腺最后通入阴茎囊, 非交配时阴茎位于阴茎囊中 (图 1)。雄性附性腺的管壁外层为柱状上皮细胞, 细胞核清晰可见, 然后中间为一层环肌层, 靠管腔的内壁为纤毛层, 这可能有利于在交配时输送分泌物, 刺激雌雄交配 (图版 -6)。雄性附性腺的组织学结果表明, 产卵前管腔中通常存在许多嗜碱性物质 (图版 -7, 8), 而产卵后管腔中的嗜碱性物质较少 (图版 -9, 10)。阴茎囊中的阴茎在产卵前后并无显著的变化, 阴茎的横切结果表明, 产卵前后阴茎中的管道中均不存在嗜酸性和嗜碱性物质 (图版 -11, 12), 推测其管道的主要功能是交配时输送精子, 因此产卵过程中可能阴茎的组织学并无显著变化。

2.3 瘤背石磺产卵前后两性腺组织学变化

两性腺组织学结果表明, 产卵前两性腺中存在大量的近成熟卵母细胞, 这些细胞具有较大的细胞核, 核仁明显且偏于一侧, 细胞质呈嗜酸性。这些近成熟的卵细胞慢慢脱离腺泡的基膜向腺泡腔中间移动 (图版 -1)。产卵前的两腺泡中偶而可见少量处于小生长期的卵细胞和精细胞。产卵后的两性腺由于成熟卵子的排放, 结构松散, 腺泡中有少量未排出的成熟卵细胞和卵黄合成早期的卵母细胞 (图版 -2)。但是, 就位于两性腺边缘的腺泡而言, 产卵前后并没有明显差别, 这些腺泡中均可见大量外源性卵母细胞 (图版 -3)。因此, 可以肯定, 瘤背石磺两性腺中的不同腺泡中的卵母细胞发育并不同步, 推测认为两性腺中央部分的腺泡通常发育较快, 故最先产卵, 产卵后这些腺泡便逐渐退化消失; 产卵后, 位于两性腺边缘腺泡中的卵母细胞迅速生长发育, 为下一次的产卵作准备。

2.4 瘤背石磺产卵前后卵蛋白腺的组织学变化

瘤背石磺的卵蛋白腺体积较大, 由许多相似的单元组成。组织学结果表明, 产卵前卵蛋白腺中含有许多强嗜碱性的颗粒, 这些颗粒没有细胞结构, 中间有许多空隙, 他们可能为卵蛋白腺的分泌物, 具有流体的倾向 (图版 -4)。产卵后腺体中的主要为嗜酸性颗粒, 不同单元之间界线清晰, 界线间存在一些嗜碱性物质, 与产卵前相比, 产卵后卵蛋白腺中的颗粒显著大于产卵前腺体中的颗粒, 且颗粒间的间隙

变小 (图版 -5)。

2.5 瘤背石磺产卵前后黏液腺的组织学观察变化

组织学结果表明, 产卵前的黏液腺可分为三种区域, 嗜碱性区、嗜酸性区 (图版 -6) 和混杂区 (图版 -7)。混杂区中嗜酸性细胞和嗜碱性细胞交错分布, 其中嗜酸性细胞存在多核现象, 且发现嗜酸性细胞大于嗜碱性细胞, 推测认为混杂区是嗜酸性细胞向嗜碱性细胞转化的中间状态。产卵前的黏液腺中以嗜酸性区域为主, 这些区域中存在许多管道, 管道的上皮细胞具有长而致密的纤毛 (图版 -8), 这可能有利于黏液腺分泌物的运输。此外, 产卵前的黏液腺中部分区域已经开始转变为弱嗜碱性 (图版 -9)。产卵后的黏液腺中以嗜碱性细胞为主, 嗜酸性细胞零散分布于其中 (图版 -10), 有些区域均为嗜碱性细胞, 且管道中存在一些嗜碱性物质 (图版 -11); 同时, 也有发现部分区域均为嗜酸性较强的细胞, 这些区域中细胞较小, 管道中的纤毛尚未完全形成 (图版 -12), 这些区域可能为正在发育中的黏液腺分泌细胞, 可为下一次产卵提供必要条件。

3 讨论

3.1 瘤背石磺生殖系统的组成及功能

瘤背石磺是雌雄同体的腹足纲动物, 生殖系统极为复杂, 雄性与雌性生殖系统既互相区别又互相联系。首先瘤背石磺的两性腺既可产生精子又可产生卵子, 但两者产生的时间并不同步, 10 g 以下的幼体石磺主要产生精子细胞, 然后储存于储精囊中供交配时排给异体, 而 10 g 以上的石磺两性腺中主要产生不同发育阶段的卵母细胞, 18 g 以上的亲本两性腺中才可能含有大量成熟卵子^[13], 此时两性腺腺泡中的精子很少。本研究中发现同一腺泡中的卵母细胞发育基本同步, 但是不同腺泡中的卵母细胞所处发育阶段相差较大, 这为瘤背石磺的多次产卵提供了物质基础。

先前的研究发现两性腺通过生殖细胞输送管与储精囊相连, 并且生殖细胞输送管道上有管道与阴茎囊相连接^[5, 9], 这说明大规模瘤背石磺交配时输入给异体的精子可能主要来源于储精囊, 类似的结构在腹足纲的泥螺 (*Bullacta exarata*)^[7]、福寿螺 (*Pomacea canaliculata*)^[14] 和扁虫 (*Platyhedyle denudata*)^[15] 中也有发现。滕炜鸣等^[10] 研究表明瘤背石磺通常在交配后一周左右产卵, 但是并不能确定受精囊的精子究竟来源于自体还是异体^[16]。由于

瘤背石磺生殖细胞输送管和阴茎囊之间有管道相连^[9],且瘤背石磺通常仅在交配后才能产卵,作者分析如果瘤背石磺是自体受精,则不需要交配就可产卵,因此,作者认为瘤背石磺可能为异体受精。吴杨平等^[9]将储精囊命名为“支囊”,并推测认为储精囊中的精子来源于异体交配,但是胡冰等^[13]的研究表明,成体瘤背石磺交配前的储精囊中已经存在大量精子,此外储精囊紧靠两性腺,离雌性生殖孔(阴道)的距离较远,且阴道直接和受精囊相连。因此,本研究不支持“储精囊中的精子来自于异体交配”的结论。

先前的研究将卵蛋白腺命名为“卵黄腺”,并推测认为这种腺体主要在两性腺发育过程中为卵母细胞提供脂类营养,促进性腺发育^[5,9]。本课题组最近的一系列的研究并不支持以上结论,其理由如下:

(1)产卵前卵蛋白腺中的脂肪含量仅为4%左右,而蛋白质含量高达80%左右^[4,11],故卵蛋白腺不可能是生殖细胞发育的主要脂肪来源;(2)瘤背石磺性腺发育过程中卵蛋白腺指数并没有出现下降,相反,卵蛋白腺指数随着性腺指数的升高而显著升高^[13],因此,没有证据表明卵蛋白腺在卵母细胞发育过程中为之提供营养物质^[4];(3)两性腺通过生殖细胞输送管与受精囊相连,从两性腺中游离出来的卵子已经发育成熟,其形态和大小与受精囊中的成熟卵基本相似^[13],故卵蛋白腺不可能在成熟卵子运输到受精囊的过程中提供卵黄物质,促进其进一步发育成熟;(4)比较受精囊中的受精卵和产卵后的卵荚可以发现,产卵后的胚胎出现了卵外周蛋白,且这种卵外周蛋白的组织学结构和产卵前的卵蛋白腺较为接近,此外,卵蛋白腺指数仅在产卵后出现显著下降^[4]。因此,作者认为卵蛋白腺的主要功能是在排卵过程中分泌卵蛋白包裹在受精卵周围,为胚胎发育提供营养物质,类似的腺体在腹足纲的其他动物中也存在^[17-19]。

本研究结果表明黏液腺产卵前分泌作用较弱,管道中未见大量分泌液,而产卵后的黏液腺中可见大量嗜碱性分泌细胞,管道中存在一些碱性分泌物,先前的研究也表明产卵后黏液腺指数和水分含量均显著升高^[4],因此可以推断这些黏液主要在产卵过程中起作用。关于腹足纲软体动物黏液腺早在1964年就有研究报道,当时将其命名为“卵鞘腺(Capsule gland)”,认为其功能主要是分泌黏液包裹胚胎形成卵鞘^[14],此后的研究者认为这些黏液的功能不仅是形成卵鞘膜,而且参与连接形成链状的

卵带,因此将其命名为“黏液腺(Mucous gland)”^[15,19,20]。瘤背石磺产出体外的胚胎即为单链状的卵带^[10],因此推测瘤背石磺的黏液腺的主要功能为在胚胎排出体外的过程中形成卵鞘膜及单链状的卵带。

3.2 瘤背石磺的动态生殖机制

瘤背石磺是雌雄同体、异体交配的软体动物,其生殖机制较雌雄异体的软体动物更为复杂^[6,15],尽管两性腺的同一腺泡中既可产生精子也可产生卵子,但是两者产生的时间并不相同,精子的产生主要为10 g以下的幼体石磺,10—18 g两性腺中存在较多的不同发育阶段的卵母细胞,直到18 g以上个体才可在其腺泡中发现成熟卵细胞^[13]。在雌雄同体的软体动物中,雄体先熟的现象比较普遍,此后随着性腺的不断发育,腺泡内的雄性生殖细胞有被雌性生殖细胞取代的趋向^[21,22]。尽管大个体的瘤背石磺(18 g以上)两性腺的腺泡中精子较少,但是储精囊中储存的大量精子可供交配使用,因此大于6 g的瘤背石磺均可充当雄体进行交配,故有研究^[16]报道的“交配时大个体在前,小个体之后的交配规律”可能有待商榷。然而通常体重大于10 g的瘤背石磺两性腺中才可发现成熟的卵母细胞,因此10 g以上的个体才可能充当雌体^[13],本实验室先前的野外和室内实验均证实了这一推断^[10,12]。

尽管先前的研究对瘤背石磺的交配和产卵过程进行了一些描述^[10-12,16],但是由于其生殖系统的复杂性和特殊性,妨碍了人们对其生殖过程的深入探讨,所以至今尚不能确定生殖附腺体(卵蛋白腺和黏液腺)的准确功能和生殖过程,有些研究结果和推论存在很大的争议^[4,5,9,23]。结合本研究及本实验室先前的繁殖生物学基础研究工作^[4,5,10-13],现对瘤背石磺的生殖过程简述如下:瘤背石磺交配时,精子从储精囊输送到阴茎,然后通过阴茎注入到异体的阴道内,精子由阴道游入受精囊内。雌体的成熟卵子由两性腺的腺泡进入生殖细胞输送管,最后进入受精囊与精子相遇而受精。此后,卵蛋白腺分泌大量的卵蛋白物质注入受精囊包裹受精卵而形成卵荚状的胚胎结构。最后在排卵过程中,黏液腺分泌大量黏液类物质包裹胚胎外周形成卵鞘膜和卵带,从而形成完整的单链状的卵带结构排出体外。

参考文献:

- [1] Wu X G, Teng W M, Tang B P, et al. Lipid class and fatty acid

- composition of adult *Onchidium struma* [J]. *Journal of Fishery Science of China*, 2008, **15** (3): 431—438 [吴旭干, 滕炜鸣, 唐伯平, 等. 成体瘤背石磺脂类和脂肪酸组成的研究. 中国水产科学, 2008, **15** (3): 431—438]
- [2] Wu X G, Tang B P, Teng W M, et al. Effect of four diets on reproductive performance of broodstock *Onchidium struma* [J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2008, **17** (2): 164—169 [吴旭干, 唐伯平, 滕炜鸣, 等. 四种饵料对瘤背石磺生殖性能的影响. 上海水产大学学报, 2008, **17** (2): 164—169].
- [3] Wu X G, Liu F P, Tang B P, et al. Study on the heavy metal content and its evaluation in the different tissues of adult *Onchidium struma* [J]. *Marine Fisheries*, 2007, **29** (4): 319—324 [吴旭干, 刘富平, 唐伯平, 等. 成体瘤背石磺不同组织中的重金属含量及其评价. 海洋渔业, 2007, **29** (4): 319—324]
- [4] Wu X G, Cheng Y X, Tang B P, et al. Changes on lipid class and fatty acid composition of pre- and post spawning *Onchidium struma* [J]. *Acta Zoologica Sinica*, 2007, **53** (6): 1089—1100 [吴旭干, 成永旭, 唐伯平, 等. 瘤背石磺产卵前后体内的脂类和脂肪酸组成的变化. 动物学报, 2007, **53** (6): 1089—1100]
- [5] Wang J Q, Cheng Y X, Wu X G, et al. Reproductive system and gonadal development of *Onchidium struma* [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2006, **40** (1): 19—26 [王金庆, 成永旭, 吴旭干, 等. 瘤背石磺的生殖系统和性腺发育. 动物学杂志, 2006, **41** (1): 19—26]
- [6] Yu H, Wang Y N, Wang G L, et al. Histology of the reproductive system in *Bullacta exarata* [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2003, **38** (4): 5—9 [於宏, 王一农, 王国良, 等. 泥螺生殖系统的组织学. 动物学杂志, 2003, **38** (4): 5—9]
- [7] Ying X P, Chen N, Hua E C, et al. Histological studies on the reproductive system of *Bullacta exarata* [J]. *Journal of East Sea*, 2002, **20** (3): 24—31 [应雪萍, 陈鸟, 华恩宠, 等. 泥螺生殖系统的组织学研究. 东海海洋, 2002, **20** (3): 24—31]
- [8] Zhou Y C, Chen G H, Su Y Q. Anatomy and histology of the reproductive system of *Cymatium pileare* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2000, **24** (5): 393—400 [周永灿, 陈国华, 苏永全. 毛嵌线螺生殖系统的解剖学和组织学研究. 水产学报, 2000, **24** (5): 393—400]
- [9] Wu Y P, Shen H D, Dai X X, et al. Studies of histology of reproductive system of *Onchidium* sp. [J]. *Journal of Fishery Science of China*, 2007, **14** (7): 17—23 [吴杨平, 沈和定, 代欣欣, 等. 石磺生殖系统的组织学研究. 中国水产科学, 2007, **14** (7): 17—23]
- [10] Teng W M, Wu X G, Tang B P, et al. The study of ecological reproduction of *Onchidium struma* in wetland [J]. *Marine Fisheries*, 2007, **29** (3): 214—220 [滕炜鸣, 吴旭干, 唐伯平, 等. 瘤背石磺滩涂生态繁殖的初步研究. 海洋渔业, 2007, **29** (3): 214—220]
- [11] Teng W M. Studies on biochemical composition changes and reproductive technology of *Onchidium struma* [D]. Master thesis, Shanghai Fisheries University, Shanghai. 2007 [滕炜鸣. 瘤背石磺繁殖技术及其生化组成的变化研究. 硕士学位论文, 上海水产大学, 上海. 2007]
- [12] Wang J Q, Cheng Y X, Wu X G, et al. Morphological characteristics, living habits and reproductive behavior of *Onchidium struma* [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2005, **40** (1): 32—40 [王金庆, 成永旭, 吴旭干, 等. 瘤背石磺的形态、习性和生殖行为. 动物学杂志, 2005, **40** (1): 32—40]
- [13] Hu B, Yang X Z, Wu X G, et al. Development of gonad in different body weights of *Onchidium struma* [J]. *Zoological Research*, 2008, **29** (2): 145—151 [胡冰, 杨筱珍, 吴旭干, 等. 不同体重规格瘤背石磺两性腺发育规律的研究. 动物学研究, 2008, **29** (2): 145—151]
- [14] Andrews E B. The functional anatomy and histology of the reproductive system of some pilid gastropod mollusks [J]. *Proceedings of the Malacological Society*, 1964, **36**: 121—140
- [15] Růžek IM, Altmöderb A, Schrödlc M. Computer-based 3D anatomical reconstruction and systematic placement of the mesopammic gastropoda *platyhedyle denudata* Salvini-Plawen, 1973 (Opisthobranchia, Sacoglossa) [J]. *Organisms, Diversity & Evolution*, 2008, **8**: 358—367
- [16] Shen H D, Chen H C, Chen X L, et al. Experimental study on the reproductive biology of *Onchidium* sp. [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2006, **30** (6): 753—760 [沈和定, 陈汉春, 陈贤龙, 等. 石磺繁殖生物学的实验研究. 水产学报, 2006, **30** (6): 753—760]
- [17] Painter S D, Kalman V K, Nagle G T, et al. The anatomy and functional morphology of the large hermaphroditic duct of three species of Aplysia, with special reference to the atrial gland [J]. *Journal of Morphology*, 1985, **186**: 167—194
- [18] Susswein A J, Nagle G T. Peptide and protein pheromones in mollusks [J]. *Peptides*, 2004, **25**: 1523—1530
- [19] Pal P. Fine structure of reproductive glands in two primitive marine pulmonates Basommatophora: Siphonariidae [J]. *Acta Zoologica*, 2007, **88**: 145—152
- [20] Deshpande U D, Nagabhushanam R. Annual reproductive cycle of the marine pulmonate, *Onchidium verruculatum* (Cuvier) and its control by environmental factors [J]. *Indian Journal of Marine Sciences*, 1983, **12** (2): 122—124
- [21] Wang M F, Yu X Y, Liu Y, et al. Study on hermaphrodites and self-fertilization of the pearl oyster *Pinctada martensii* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2006, **30** (4): 420—424 [王梅芳, 余祥勇, 刘永, 等. 马氏珠母贝雌雄同体和自体受精的研究. 水生生物学报, 2006, **30** (4): 420—424]
- [22] Yu F F, Yu X Y, Wang M F, et al. Sex reversal phenomena in bivalves and its mechanism [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2007, **31** (4): 576—580 [于非非, 余祥勇, 王梅芳, 等. 双壳类的性转换现象及其机理探讨. 水生生物学报, 2007, **31** (4): 576—580]
- [23] Smith A J, Kenny R. Reproduction and development of *Onchidium damelii* Semper, 1882 [J]. *Journal of the Malacological Society of Australia*, 1987, **8**: 37—39

THE HISTOLOGICAL CHANGES OF REPRODUCTIVE SYSTEM BETWEEN PRE-AND POST SPAWNING ONCHIDIUM STRUMA

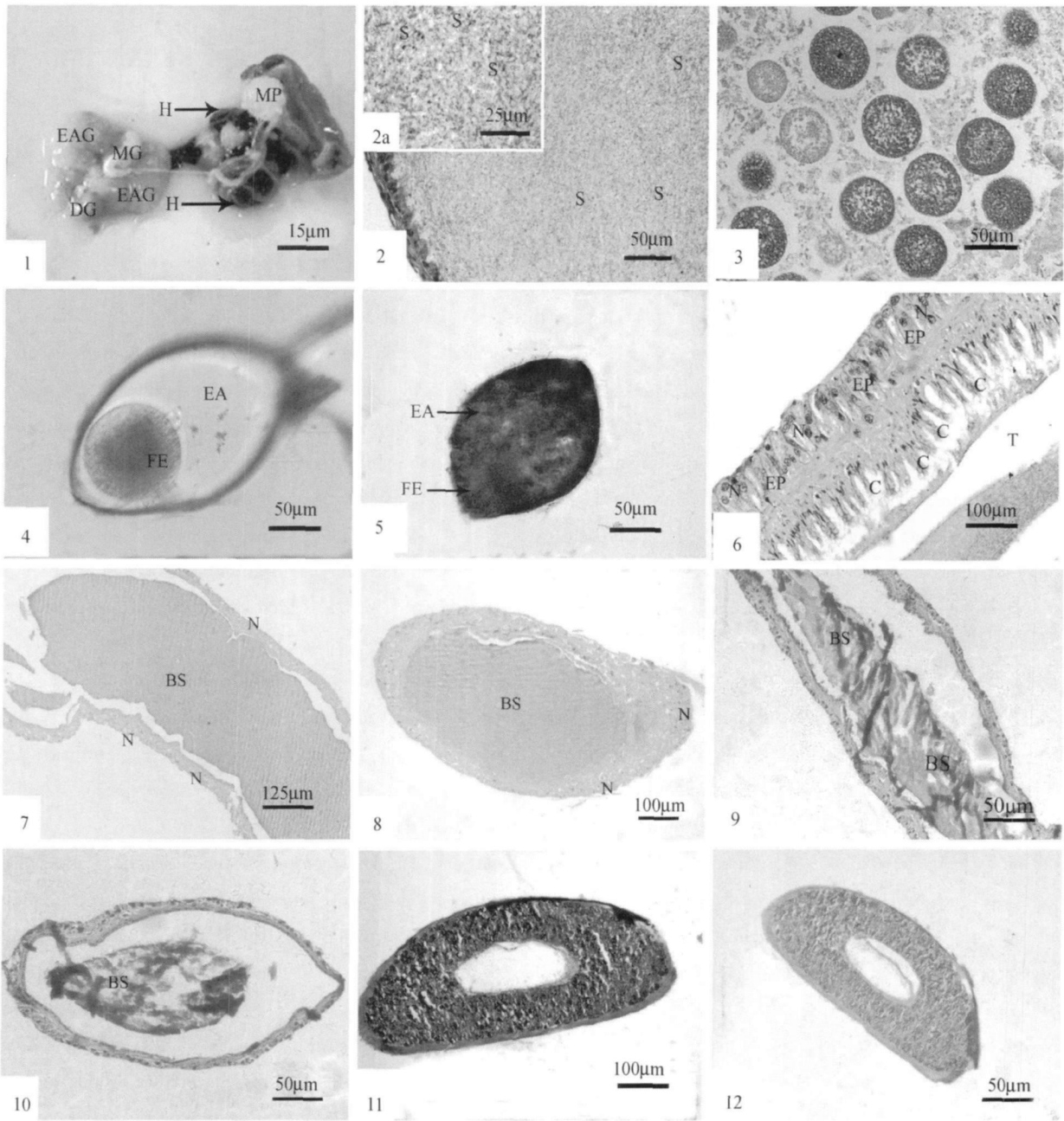
WU Xu-Gan, HU Bing, YANG Xiao-Zhen and CHENG Yong-Xu

(Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources and Aquaculture Division, E-Institute of Shanghai Universities, Shanghai Ocean University, Ministry of Education, Shanghai 201303, China)

Abstract: *Onchidium struma* is a very important mollusk with high nutritional and pharomic value, which distribute on the mudflats of the intertidal zone of China, especially in Jiangsu, Shanghai and Zhejiang Province. Although there is an increasing demand for the aquaculture of this species, the reliable hatchery technology has not been established in China because of its complicated reproductive system and unclear early life history. Therefore, it is very urgent to understand its reproductive system and spawning process, unfortunately, only two available studies have been conducted to study the composition of its reproductive system, and no publication could be found on the histological changes of reproductive system during the spawning process of *O. struma*. So, the present experiments were conducted to investigate the histological changes of reproductive system between pre- and post spawning *O. struma*. After that, the composition and function of reproduction system (gonads and accessory sex organs) were further discussed in this paper, which should provide valuable information to understand reproductive process and improve hatchery technology of *O. struma*.

The results indicated that: (1) The male reproductive system included penis, penial sac, male prostate, digenetic gonad (mainly produce sperm in early stage of gonad development) and sperm bursa, while female reproductive system was consisted of digenetic gonad (mainly produce mature oocytes in late stage of gonad development), gametal transportation tract, egg albumen gland, mucous gland, fertilization chamber and vagina; (2) Although there was no significant difference of male reproductive system between pre- and post spawning *O. struma*, the significant differences could be found on the digenetic gland, egg albumen gland and mucous gland; (3) After spawning, the digenetic gland became loose while the un-spawned mature oocyte and the early previtellogenic oocyte were found in some follicles; (4) Before spawning, the egg albumen gland consisted of many small basophilic granules which structure was very similar to the outer albumen of the embryo of *O. struma*. However, after spawning, the egg albumen gland contained bigger acidophilic granules than those before spawning; (5) Before spawning, there were acidophilic, basophilic and mixed area in the histological section of mucous gland while the basophilic area were dominant in the post-spawning mucous gland and the basophilic substance could be found in its secretion tube. In conclusion, these results suggested that the egg albumen gland could secrete protein to pack fertilization egg, and then to form egg albumen while the mucous gland generated mucus to encapsule and link embryo.

Key words: *Onchidium struma*; Spawning; Reproductive system; Histology; Egg albumen gland; Mucous gland



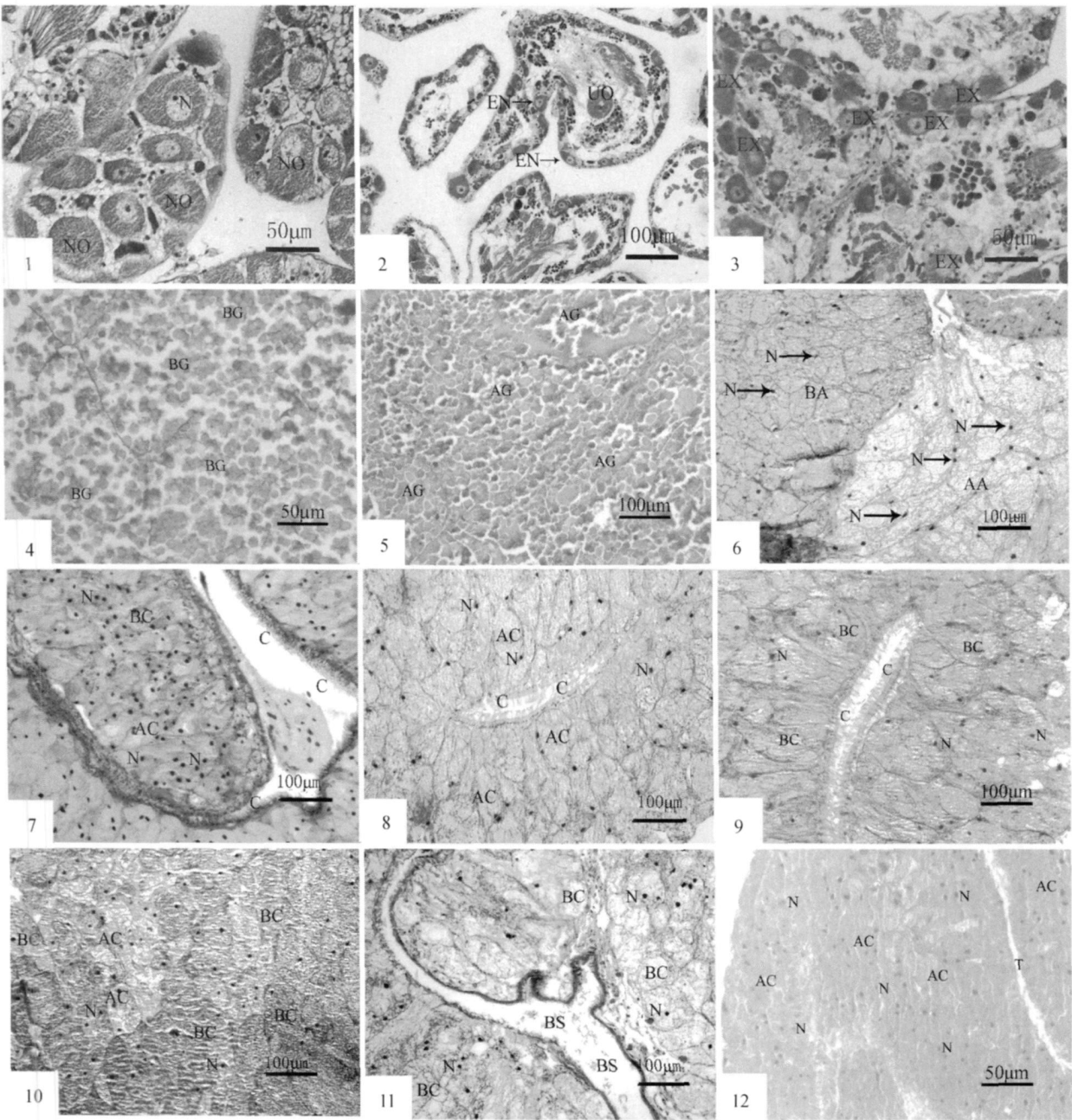
图版 Plate

1. 生殖系统活体照片；2. 储精囊切片，2a示精子；3. 受精囊切片；4. 胚胎活体照片；5. 胚胎组织学切片；6. 雄性附性腺纵切，示柱状上皮细胞和纤毛；7. 产卵前雄性附性腺纵切；8. 产卵前雄性附性腺横切；9. 产卵后雄性附性腺纵切；10. 产卵后雄性附性腺横切；11. 产卵前阴茎横切；12. 产卵后阴茎横切

1. The vivisection of reproductive system; 2. The histological section of sperm bursa, 2a. the section of sperm; 3. The histological section of fertilization chamber; 4. The vivisection of embryo; 5. The histological section of embryo; 6. The longitudinal section of male prostate, showing epithelium and cilia; 7. The longitudinal section of pre-spawning male prostate; 8. The horizontal section of pre-spawning male prostate; 9. The longitudinal section of post-spawning male prostate; 10. The horizontal section of post-spawning male prostate; 11. The horizontal section of pre-spawning penis; 12. The horizontal section of post-spawning penis

DG:两性腺；EAG:卵蛋白腺；MG:黏液腺；H:肝胰腺；MP:雄性副性腺；S:精子；FE:受精卵；EA:卵外周蛋白；EP:柱状上皮细胞；N:细胞核；C:纤毛；T:管道；BS:嗜碱性物质

DG: Digenetic gonad; EAG: Egg albumen gland; MG: Mucous gland; H: Hepatopancreas; MP: Male prostate; S: Sperm; FE: Fertilization egg; EA: Egg albumen; EP: Epithelium; N: Nucleolus; C: Cilia; T: Tube; BS: Basophilic substance



图版 Plate

1. 产卵前两性腺; 2. 排卵后两性腺; 3. 正在发育的两性腺腺泡; 4. 产卵前的卵蛋白腺; 5. 产卵后的蛋白腺; 6. 产卵前黏液腺, 示嗜碱性和嗜酸性区域; 7. 产卵前黏液腺, 示嗜碱性和嗜酸性混杂区; 8. 产卵前黏液腺, 示嗜酸性区域及中部管道; 9. 产卵前黏液腺, 示弱嗜碱性区域和细胞; 10. 产卵后黏液腺, 示嗜碱性细胞和嗜酸性细胞; 11. 产卵后黏液腺, 示嗜碱性细胞和管道; 12. 产卵后黏液腺, 示早期嗜酸性细胞及管道

1. The histological section of pre-spawning digenetic gland; 2. The histological section of post-spawning digenetic gland; 3. The histological section of follicle with developing oocyte; 4. The histological section of pre-spawning egg albumen gland; 5. The histological section of post-spawning egg albumen gland; 6. The histological section of pre-spawning mucous gland, showing acidophilic and basophilic area; 7. The histological section of pre-spawning mucous gland, showing mixed area with acidophilic and basophilic cells; 8. The histological section of pre-spawning mucous gland, showing acidophilic area and central tube; 9. The histological section of pre-spawning mucous gland, showing light basophilic area and cells; 10. The histological section of post-spawning mucous gland, showing acidophilic and basophilic cells; 11. The histological section of post-spawning mucous gland, showing basophilic cells and tube; 12. The histological section of post-spawning mucous gland, showing early stage acidophilic cells and tube

NO: 近成熟卵母细胞; UO: 未排出的成熟卵母细胞; EN: 内源卵黄合成期的卵母细胞; EX: 外源卵黄合成期的卵母细胞; BG: 嗜碱性颗粒; AG: 嗜酸性颗粒; AA: 嗜酸性区域; BA: 嗜碱性区域; MA: 嗜酸性和碱性混杂区; N: 细胞核; T: 管道; C: 纤毛; AC: 嗜酸性细胞; BC: 嗜碱性细胞; BS: 嗜碱性物质

NO: Nearly-mature oocyte; UO: Un-spawned mature oocyte; EN: Endogenous vitellogenic oocyte; EX: Exogenous vitellogenic oocyte; BG: Basophilic granule; AG: Acidophilic granule; AA: Acidophilic area; BA: Basophilic area; MA: Mixed area with acidophilic and basophilic cells; N: Nucleolus; T: Tube; C: Cilia; AC: Acidophilic cell; BC: Basophilic cell; BS: Basophilic substance