

DOI: 10.3724/SP.J.1035.2010.00913

## 斗嫁蠣卵子发生和雌性性腺组织学研究

余祥勇<sup>1</sup> 王梅芳<sup>1</sup> 曹新云<sup>2</sup> 吴灶和<sup>1</sup>

(1. 广东海洋大学水产学院, 湛江 524025; 2. 珠海万山区海洋与渔业局, 珠海 519005)

**摘要:** 通过组织切片和活细胞涂片对斗嫁蠣*Cellana grata* (Gould)性腺和生殖细胞进行观察, 研究雌性性腺特征及不同发育阶段雌性生殖细胞的形态特点与分布状况。观察与分析表明: (1)斗嫁蠣雌性滤泡由卵原细胞及不同发育时期的初级卵母细胞填充, 成熟的初级卵母细胞位居滤泡腔中央区域; (2)性细胞发育不同步, 属分批产卵类型; (3)卵子发生中, 细胞、核及核仁大小变化的总体趋势是随着发育进程而逐渐增大, 常见1—2个核仁; (4)卵质的酸碱特性变化与卵黄的出现相关; (5)成熟卵母细胞大小约为(120—140)  $\mu\text{m} \times 150 \mu\text{m}$ , 外被约5—12  $\mu\text{m}$  厚的胶质膜; (6)胶质膜的均一性、厚度、酸碱性随卵发育而变化, 胶质膜与卵膜之间出现间隙可以作为卵开始成熟的标志, 而胶质膜由嗜酸性转化为嗜碱性可以作为卵成熟即将排放的标志。

**关键词:** 斗嫁蠣; 卵子发生; 雌性性腺; 胶质膜

中图分类号: Q132.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2010)05-0913-09

斗嫁蠣 *Cellana grata* (Gould), 隶属于软体动物门(Mollusca)、腹足纲(Gastropoda)、前鳃亚纲(Prosobranchia)、原始腹足目(Archaeogastropoda)、帽贝总科(Patellacea)、帽贝科(Patellidae)<sup>[1]</sup>, 帽贝科种类不多但分布很广, 从南北两极到赤道的海岸带上都有, 栖息在潮间带岩石上或岩缝中, 以岩石上附生的藻类或大型藻类碎屑为食物。帽贝生态位狭窄, 对环境敏感, 由于食物与环境等原因, 有的物种已成为最早灭绝的无脊椎动物<sup>[2]</sup>, 生态学家因此将帽贝作为研究环境变化的对象。

国内外有关帽贝的研究主要在生态习性、种群资源等方面, 如研究南极帽贝的种群分布图式<sup>[3]</sup>、种群资源结构<sup>[4]</sup>、生理生化过程<sup>[5,6]</sup>及重金属污染与富集等<sup>[7,8]</sup>。这些研究从不同侧面叙述了南极帽贝对环境压力(包括人类活动施加的压力)的反应。国外对帽贝类生物繁殖生物学方面的研究也有报道<sup>[9-11]</sup>。我国对本土帽贝的研究主要集中在对蠣属的生态、资源的研究<sup>[12-14]</sup>, 除此以外, 帽贝的生长、繁殖、营养等也开始受到研究者的关注<sup>[15-18]</sup>。

斗嫁蠣在广东东西部沿海广泛分布, 俗称“将军帽”, 因其味美而为大众喜食, 食用需求主要靠采捕天然贝来满足。目前因人类活动造成的环境变化及过度采捕, 原本较丰富的野生资源已受到严重破坏。斗嫁蠣是具有较大开发前景的小型经济贝类, 对其进行保护和开展人工增养殖十分必要, 但目前在繁殖生物学基础方面, 除了仅有的一篇对同属物种嫁蠣精巢的研究外<sup>[16]</sup>, 有关斗嫁蠣性腺的发育及生殖细胞的发生、人工繁殖等方面的研究未见报道。因此开展斗嫁蠣性腺组织结构和生殖细胞发生的研究, 了解其发育规律, 可丰富其繁殖生物学内容, 为这一具有开发潜力的海产动物的增养殖提供一些基础资料, 对帽贝类濒危物种的人工繁育及多样性保护也有重要意义。

### 1 材料与方法

斗嫁蠣为珠海担杆镇外伶仃岛附近海域采捕的野生个体, 贝龄1—3龄, 体长1.8—4 cm。取性腺组织于Bouin's液中固定, 石蜡包埋, 切片厚6—8  $\mu\text{m}$ ,

收稿日期: 2008-12-07; 修订日期: 2009-09-26

基金项目: 国家科技支撑计划项目2007BAD29B03; 珠海万山区海洋与渔业局项目(B04034)资助

作者简介: 余祥勇(1966—), 男, 湖北武汉人; 教授, 博士; 主要从事贝类遗传育种及养殖。E-mail: yuxyong@tom.com; topearly@126.com

通讯作者: 吴灶和, E-mail: wuzh@gdou.edu.cn

Ehrlich 苏木精—伊红染色, Olympus 显微镜观察并拍照。另用吸管吸取成熟性腺中的性细胞于玻片上, 直接置于 Motic 显微电光镜系统下观察并拍照。

鉴于生殖细胞在滤泡内的生长发育因相互挤压, 细胞的形态多非正圆形, 所以在测量细胞和细胞核的大小时, 均采用短径×长径的方法来表示。

## 2 结 果

### 2.1 性腺特征

性腺外观特征 斗嫁蟖生殖腺位于腹足的背面, 内脏团的腹面, 性成熟时, 雌性生殖腺为橘红色、暗红色或浓绿色, 性腺与内脏团间隔明显, 外观近似扁椭圆形。有的个体成熟性腺的分支可伸入足中, 在腹面观察足时, 可隐约看到足中显现出成熟性腺的颜色, 呈树枝状或辐射状分布; 还有的个体饱满的性腺明显突出, 在腹面略将足拨起, 即可显现性腺, 若去掉贝壳, 背面观可见内脏团一侧有突出的饱满性腺(图版 I -1—3)

性腺组织学特征 切片观察可见, 斗嫁蟖成熟性腺几乎都由充满细胞的滤泡组成。滤泡呈泡囊状, 由滤泡壁和滤泡腔两部分构成, 扁平滤泡细胞分布在滤泡最外缘, 卵原细胞分布于滤泡膜上并在此发育, 成熟后进入滤泡腔中, 由于大量生殖细胞填充在滤泡腔中, 故滤泡腔隙通常不明显(图版 I -4、5)。

成熟雌性性腺切片中, 滤泡大小不均一、泡状

结构不规则, 滤泡膜界限较模糊, 但均由大小不等的不同发育时期的初级卵母细胞填充, 通常卵原细胞或发育早期、体积较小的初级卵母细胞贴伏于滤泡膜上, 而发育后期体积较大的、梨形的初级卵母细胞突入滤泡腔中, 以一小柄与滤泡膜相连(图版 I -4、图版 I -2); 圆形或多边形的成熟初级卵母细胞则占据滤泡腔中央区域。滤泡膜中的滤泡细胞轮廓不清晰, 但核明显, 长椭圆形( $2.5 \mu\text{m} \times 6 \mu\text{m}$ ), 弱嗜碱性呈浅紫色(图版 I -6、7)。

观察还发现斗嫁蟖的性腺组织具有非同步性发育的特征。在雌性性腺切片中, 同一滤泡中的初级卵母细胞发育程度有差异, 而不同部位滤泡的组织学特征也有所不同, 如图版 I -4 与 I -5 为同一性腺不同部位的切片图, 前者滤泡内含大量卵母细胞, 无明显腔隙, 为生长期滤泡, 而后者滤泡含一定量的成熟初级卵母细胞, 腔隙较明显, 应为成熟排放期的滤泡。有时在切片中可见许多长短不等的胶质膜片段或形成不完整的非规则形囊状结构, 为排卵后的组织特征。这种滤泡及卵母细胞发育的不同步现象暗示斗嫁蟖自然状态下可能是分批排卵的。

### 2.2 卵子的发生

2.2.1 各期卵细胞形态特征 根据卵子发生的程序, 将不同发育阶段的卵细胞按形态等特征划分为以下 5 个期(表 1)。

卵原细胞 紧贴于滤泡基膜分布, 胞体呈卵圆形, 长轴与滤泡壁膜平行, 胞质嫌色或染成较浅

表 1 不同发育时期卵细胞的形态特征  
Tab. 1 The characteristics of oocyte in the different development phase

发育时期 Development phase	卵原细胞 Oogoniums	转化期卵母细胞 Change into primary oocytes	无卵黄卵母细胞 Yolkless oocyte	卵黄生成期卵母细胞 Yolk-formation oocyte	成熟期卵母细胞 Matured oocyte
胞体直径 Plasm diameter(μm)	7×(8—10)	(11—15)×(13—17)	(13—27)×(18—47)	(30—48)×(38—67)	(120—140)×150
核径 Nuclei diameter(μm)	5—6	8—9	(10—15)×(10—20)	(15—24)×(20—26)	45×63
核仁直径 Nucleolus diameter(μm)	0.5—1	1—2	4—8	8—12	1.2—1.5
核仁数量(个) Number nucleolus	1	1	1—2	1—2	多个
胶膜厚度 Thickness of jelly coat(μm)	—	—	—	3	5—12
胞质酸碱性 Acidic-basic property of oocytoplasma	嗜中性 Neutrophilic	嗜中性 Neutrophilic	嗜碱性 Basophilic	嗜酸性 Eosinophilic	嗜酸性 Eosinophilic
核的形态 Shape of nucleolus	卵圆形、弱嗜碱性 Oval and weakly basophilic	圆形、强嗜碱性 Oval and strong basophilic	透亮的生发泡 Germinal vesicle	透亮的生发泡 Germinal vesicle	不规则形、嗜酸性 Polygon eosinophilic

粉色, 质膜轮廓不清。核膜清晰, 染色质凝集, 分布不均匀, 核质嫌色或着浅兰色较胞质略深。通常有1个小核仁, (图版 I -6)。在性腺发育早期的滤泡中, 卵原细胞的数目较多, 在泡壁上较易发现。

**转化期初级卵母细胞** 由卵原细胞向初级卵母细胞过渡的细胞, 其显著的特点是核增大、染色质丝显现且着较深的兰紫色。胞体略增大, 呈圆形或椭圆形, 胞质仍为嫌色。核仁1个或不明显(图版 I -6)。

**无卵黄初级卵母细胞** 为开始积累胞质的小生长期初级卵母细胞, 其显著的变化是核逐渐变得几乎不着色、透亮、空泡状, 呈椭圆形或圆形, 即转化成生发泡, 核内可见浅染的松散分布的染色质(丝), 有1—2个深染的较大的核仁。胞质染成兰紫色, 胞体呈椭圆形、三角形或不规则形等多种形状。细胞向滤泡腔中突入, 但每个胞体约1/3的部分仍贴附于滤泡膜上(图版 I -4、7, 图版 II -1、2)。

**卵黄形成期初级卵母细胞** 为大生长期的初级卵母细胞, 在开始累积卵黄的初期, 卵母细胞的胞体形状仍多为不规则形, 胞径约(30—32)  $\mu\text{m} \times 38 \mu\text{m}$ 。卵黄物质多为呈红色的小颗粒状物, 在胞质中分布较均匀, 故卵质呈紫红色。生发泡透亮、椭圆形(15—18)  $\mu\text{m} \times 20 \mu\text{m}$ , 染色质部分凝集于核膜边缘。核仁1—2个, 体大染色深(图版 II -1)。

随卵黄的进一步积累, 细胞体积进一步增大, 并由卵黄形成初期的不规则形逐渐变为卵圆形(图版 II -2), 直径约为48  $\mu\text{m} \times (55—67) \mu\text{m}$ 。生发泡也逐渐增大, 约24  $\mu\text{m} \times 26 \mu\text{m}$ , 占据卵母细胞中央, 着色很浅。生发泡内仍可见1—2个较大的核仁。

在该时期的初级卵母细胞外周, 可观察到较为明显的胶质膜, 其为均质胶状、呈粉红色, 厚约2.5—3.5  $\mu\text{m}$ , 紧紧包裹在初级卵母细胞外, 与呈兰紫色的质膜容易区分(图版 II -2)。

**成熟期卵母细胞** 完成了生长成熟的初级卵母细胞体积可增大至(120—140)  $\mu\text{m} \times 150 \mu\text{m}$ , 卵圆形胞体内充满了大量卵黄颗粒, 使卵质呈红色。生发泡可达45  $\mu\text{m}$ 以上, 但透明度渐渐降低, 渐渐染成浅粉色。多数生发泡偏位并呈不规则形, 其膜凹凸不平、着色很浅, 轮廓不清楚。核仁逐渐解体, 核区内出现大小不等的数个深染点状小体(1.2—1.5  $\mu\text{m}$ ), 或为1个大的圆形核仁和数个深染点状小体, 红色的胶质膜增厚, 与质膜界限清楚, 还可观察到

胶质膜与质膜间出现狭窄的间隙, 随间隙的增大(7—8.5  $\mu\text{m}$ ), 胶质膜着色渐渐由红色转为兰紫色, 且由均质结构渐渐呈现出类似柱形排列的纹状结构, 并胶质膜外缘嗜碱性强于内缘(图版 II -3、4)。其后胶质膜破裂, 成熟卵逸出。成熟卵为发育停留在第一次成熟分裂前中期的初级卵母细胞。

直接涂于玻片上的成熟卵母细胞, 镜下观察多呈卵圆形, 少量为梨形, 卵径可达150  $\mu\text{m} \times 160 \mu\text{m}$ (不包括半透明的胶质膜), 生发泡透亮、可达70  $\mu\text{m} \times 80 \mu\text{m}$ 。卵胞体因含较多卵黄, 透光性差, 故易与半透明的胶质膜和卵中的生发泡区分开来。

**退化卵子** 成熟的卵母细胞大部分排出体外, 但经常会有少量卵子滞留于滤泡腔内, 逐步退化。其胞体常呈椭圆形或多边形, 卵黄颗粒逐渐融合, 染色较成熟卵母细胞深。生发泡着色, 不再透亮, 位于胞体中央, 核区不规则, 核质染色加深, 最后核与胞体着色相近, 核膜不清楚, 核、质难以分辨。卵外周的胶质膜为非均质的纹状结构, 其外缘呈兰紫色, 有扁平强嗜碱性颗粒状物分布。胶质膜破裂或未破裂, 与卵母细胞间有较大的间隙(约10  $\mu\text{m}$ )(图版 II -5)。

## 2.2.2 卵子发生过程中生殖细胞变化趋势及原由分析

**细胞的大小与形态变化** 卵子发生的前期, 生殖细胞是渐渐增大, 从卵原细胞经转化、小生长期后形成无卵黄初级卵母细胞, 而卵子发生后期即进入大生长期后, 胞体体积迅速增大, 至成熟的初级卵母细胞体积增到最大, 主要因大量卵黄颗粒的快速积累而致。不断变大的细胞, 其形态因受滤泡空间的限制而发生变化, 从小型卵圆形的卵原细胞到三角形、不规则形的初级卵母细胞(卵黄形成前后), 再变成卵圆形或多边形的成熟的初级卵母细胞。

**卵质的酸碱性变化** 随着卵子的发生, 卵质由嗜碱性逐渐向嗜酸性过渡。在卵原细胞和转化期卵细胞, 胞质嫌色基本属于嗜中性, 进入小生长期后因细胞质的大量积累而使卵母细胞呈现出嗜碱性, 这缘于核仁颗粒物质的外排及胞质中核糖体的剧增。当进入大生长期时, 随着卵黄的积累卵质由嗜碱性的兰紫色经紫红色过渡到嗜酸性的红色, 发育到成熟初级卵母细胞时卵质的嗜酸性最强, 这是卵黄中如碱性蛋白等多种嗜酸性物质积累的缘故。卵质酸碱性的变化表明卵子在发生过程中积累了多种

不同的物质,如 RNA、蛋白质、脂肪等,为下一步的发育做好了准备。

**核的变化** 核大小的总体变化趋势是随着卵的发育而逐渐增大,这与较高强度的物质合成状态相适应。核着色的显著变化发生在无卵黄初级卵母细胞期,由兰紫色的核逐渐转化成透亮的生发泡(约 10  $\mu\text{m}$  开始透亮),这是因为核内着色的染色体其 DNA 双螺旋结构解旋形成松散的单链,并随核体积的扩大单链进一步分散,使核区着色由浅变透亮。这一着色上的变化伴随着 DNA 单链经翻译、合成大量各类 RNA,随即进入储备大量 RNA 等物质的生长长期即无卵黄初级卵母细胞期。透亮的核可持续到早期的成熟初级卵母细胞,晚期的成熟初级卵母细胞生发泡透明度降低,染成浅粉色。随后核区染色加深,最后核与胞体着色相近,核、质难以分辨。生发泡透明度的降低表明翻译合成状态的降低,当核重新着色时表明合成基本停止,卵细胞成熟。核的形态在卵子发生的大部分时期为卵圆形或圆形,有明显核膜并居中分布,为细胞分裂间期的核相,而当进入成熟卵母细胞发育期时,生发泡开始偏位,随后核膜凹凸不平,核轮廓不清晰,核区不规则形,即进入第一次成熟分裂前中期相。

可以看出,在卵子发生过程中,核的表现非常活跃,生发泡透亮与否,是卵原细胞是否转化为初级卵母细胞的指标之一。生发泡开始偏位、核膜凹凸不平、核区染色加深则意味着卵细胞进入了成熟期。

**核仁大小与数量变化** 随着卵子的发生,核仁由小变大,卵黄形成后期的初级卵母细胞中可达 10  $\mu\text{m}$  左右,与大量合成 RNA、蛋白质等相适应,核仁伴随生发泡的变大而增长。生长期初级卵母细胞中常见 1—2 个较大的球形核仁。成熟的初级卵母细胞中核仁开始解体,形成大小不等的数个点状小体,这预示着卵黄等物质的积累过程已结束。

**胶质膜的变化** 卵子的发生进入卵黄形成期时才能观察到较为明显的胶质膜,并随着卵母细胞的进一步发育而逐渐增厚。其结构从均质胶状逐渐变成非均质的纹状结构,并由嗜酸性转为嗜碱性。胶质膜刚出现时紧紧包裹在初级卵母细胞外,随卵细胞的发育渐渐与卵母细胞膜间出现间隙。即胶质膜随卵细胞的发生从无到有,从薄到厚,由嗜酸性向嗜碱性过渡,与质膜间的间隙从无到有,从小到大。

可以看出在卵子发生过程中,生殖细胞不仅仅

是体积增大,更在结构、酸碱性等诸多方面产生了一系列复杂的变化。

### 3 讨 论

#### 3.1 两种制片方法观察结果的差异

斗嫁蠣卵子发生过程中,卵细胞在诸多方面发生了变化,其细胞及核的大小、形态、着色上的变化趋势与其他贝类卵子发生过程中的变化趋势<sup>[19-23]</sup>基本一致。

斗嫁蠣成熟的初级卵母细胞用切片和涂片两种方法观察时,其大小存在差异,切片的卵径最大可达 140  $\mu\text{m} \times 150 \mu\text{m}$ ,若再减去 10  $\mu\text{m}$  左右的胶质膜的厚度,则卵本身的大小约为 130  $\mu\text{m} \times 140 \mu\text{m}$ ;而涂片的卵径可达 150  $\mu\text{m} \times 160 \mu\text{m}$ (不包括半透明的胶质膜)。这种差异在刘永峰<sup>[24]</sup>比较鲍鱼成熟卵母细胞切片和自然排放 2 种卵的大小时也存在,他认为是由于成熟卵母细胞脱离滤泡后在排放过程中蓄积营养而使卵体积进一步增大。但若考虑到卵子的排放是一个短暂的过程,在这有限的时间内蓄积大量营养而使卵径迅速增加 20  $\mu\text{m}$  左右即卵体积迅速增大 40%—50% 的可能性是较小的。我们认为这种差异可能只是两种制片方法的不同造成的,涂在玻片上的游离卵因受重力的影响会略向四周扩展,使球形成为扁平卵圆形,卵径因而较切片观察到的卵径(球形卵)要大。同时我们还观察到涂片卵的生发泡的直径(70  $\mu\text{m} \times 80 \mu\text{m}$ )也相应地大于切片卵生发泡的直径(45  $\mu\text{m} \times 63 \mu\text{m}$ ),即观察到的游离卵细胞直径增大的同时胞内的一些结构如生发泡的直径也会相应地增大,这从侧面也支持细胞直径的变化可能只是两种制片方法的不同造成的。

#### 3.2 胶质膜的结构变化

关于胶质膜,孙振兴等<sup>[25]</sup>对与斗嫁蠣分类地位接近的鲍鱼进行电镜观察,发现胶膜内有许多电子密度很低、分布稀疏的纤维状细丝,但这种结构在光镜下通常会被判断为均质。也有相关研究报道都认为鲍鱼的胶质膜是均质无结构的胶质<sup>[24,25]</sup>。然而斗嫁蠣胶质膜随卵细胞的发生在光镜下观察,呈现由均质渐渐出现柱形纹状结构的不均一性变化,这在原始腹足类未见相似的报道。这种变化的原因及其意义有待进一步探讨。John Buckland-Nicks, et al.<sup>[11]</sup>在对帽贝科生物 *Tectura testudinalis* 的受精过程进行电镜观察时,认为卵外被有一层间隔规则的

不连续的胶质膜, 这些间隔是由许多微绒毛(卵质膜形成的)突入其中而形成的。这表明帽贝科的生物可能都具有类似的胶质膜结构。

卵子的发生进入卵黄形成期时才能观察到较为明显的胶质膜, 并随着卵母细胞的发育而逐渐增厚。其结构从均质胶状逐渐变成非均质的纹状结构, 并由嗜酸性转为嗜碱性。从切片观察的结果分析, 胶质膜与卵之间间隙的出现是卵开始成熟的标志之一, 而胶质膜酸碱性的改变是卵成熟即将排放的标志之一。

成熟性腺切片中可观察到外被胶质膜的成熟卵母细胞及残留的胶质膜片段或囊(图版 II -6)。从性腺中挑取的卵细胞涂片观察时均包被有半透明的胶质膜, 说明成熟卵在自然排放时胶质膜才破裂并残留在滤泡腔中。这一现象提示我们, 在人工育苗中若解剖取卵, 由于获得的成熟卵外还包有胶质膜, 应考虑胶质膜的存在对卵受精的影响。应进行必要的处理使胶质膜溶解或破裂, 释放出卵子而利于受精。

### 3.3 雌性性腺的组织学特征

我们在人工繁殖时发现, 利用变温诱导刺激斗嫁蠣可使其分批排放精卵。这意味着在自然状态下斗嫁蠣的精卵也可能是分批成熟、分批排放的, 这一推论与雌雄性腺切片观察的结果相吻合<sup>[30]</sup>。斗嫁蠣的性腺组织发育不同步, 滤泡中可以观察到各不同发育时期的生殖细胞, 且在数量上均占一定的比例, 而且不同部位的滤泡组织学特征也不一致, 从这些特征判断斗嫁蠣是分批排放精卵的。

斗嫁蠣与鲍鱼的分类地位较近, 同属于原始腹足目, 而与双壳类分类地位较远, 但已有的研究资料显示, 原始腹足目与双壳类在生殖习性如产卵方式和幼虫发育等方面较为相似<sup>[26]</sup>, 那么性腺在外观及显微结构方面是否也与双壳类相似? 观察比较表明, 原始腹足目与双壳类的性腺在外观形态方面有差异: 斗嫁蠣、嫁蠣和鲍鱼等原始腹足目的性腺与其他组织有明显的分割, 相对独立存在, 而双壳类的性腺常与外套膜、消化盲囊等组织镶嵌<sup>[16,24,27-29]</sup>。而在微细结构方面, 腹足类与双壳类相似, 即性腺主要由滤泡组成。滤泡呈泡囊状, 包括滤泡壁和滤泡腔两部分, 生殖细胞分布于滤泡壁上并在此发育, 成熟后进入滤泡腔中。斗嫁蠣性腺结构的这种特点也为海产腹足类与双壳类微细结构相似的普遍性提供了进一步的证据。

### 致谢:

本院蔡英亚教授对标本进行了鉴定, 2008 届研究生骆大鹏、王佃涛参加了图片整理工作, 特此致谢。

### 参考文献:

- [1] Cai Y Y, Xie S H. Seashells of Guangdong [M]. Shantou: Shantou University Press. 2006, 59—64 [蔡英亚, 谢绍河. 广东的海贝. 汕头: 汕头大学出版社. 2006, 59—64]
- [2] Carlton J T, et al. The first historical extinction of a marine invertebrate in an ocean basin: The demise of the eelgrass limpet *Lottia alveus* [J]. *The Biological Bulletin*, 1991, **180**(1): 72—80
- [3] Jiang N Q, Shen J, Xu R M, et al. Studies on population ecology of the limpet *Nacella concinna* in the intertidal zone of fildes Peninsula, Antarctic-Spatial Distribution Patterns [J]. *Oceanologia Et Limnologia Sinica*, 2000, **31**(5): 511—517 [蒋南青, 沈静, 徐汝梅, 等. 南极菲尔德斯半岛潮间带南极帽贝的种群生态学研究—空间分布图式. 海洋与湖沼, 2000, **31**(5): 511—517]
- [4] Tang S M. Comparisons of population structure of Antarctic limpet (*Nacella concinna*) on the east and west coasts of southern fildes Peninsula [J]. *Chinese Journal of Polar Research*, 2006, **18**(3): 197—205 [唐森铭. 南极菲尔德斯半岛两侧南极帽贝种群结构比较分析. 极地研究, 2006, **18**(3): 197—205]
- [5] Dawn K P, Paul A T, Lloyd S P. Effect of sperm concentration and sperm aging on fertilization success in the Antarctic soft-shelled clam *Latemula elliptica* and the Antarctic limpet *Nacella concinna* [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2001, **215**: 191—200
- [6] Robertson R F, El-haj A J, Clarke A, et al. The effects of temperature on metabolic rate and protein synthesis following a meal in the isopod *Glyptonotus antarcticus* Eights [J]. *Polar Biology*, 2001, **24**(9): 677—686
- [7] de Moreno J E A, Gerpe M S, Moreno V J, et al. Heavy metals in Antarctic organisms [J]. *Polar Biology*, 1997, **17**(2): 131—140
- [8] Ahn I Y, Kyung H o Chung, Heeseon J Choi. Influence of glacial runoff on baseline metal accumulation in the Antarctic limpet *Nacella concinna* from King George Island [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2004, **49**(12): 119—127
- [9] McCarthy M, Woosnam P, Culloty S C. Histological investigation of the reproductive cycles of the limpets *Patella vulgata* and *Patella ulyssiponensis* [J]. *Marine Biology*, 2008, **153**(5): 871—877
- [10] Hodgson A N, Le Quesne W J F, Hawkins S J, et al. Factors affecting fertilization success in two species of patellid limpet (*Mollusca: Gastropoda*) and development of fertilization

- kinetics models [J]. *Marine Biology*, 2007, **150**: 415—426
- [11] John B N, Brent H. Spermiogenesis and sperm structure in relation to early events of fertilization in the limpet *Tectura testudinalis* (Muller, 1776) [J]. *The Biological Bulletin*, 1997, **193**: 306—319
- [12] Wang Z Z, Wu C W, Liu Z Y. Preliminary study on the ecological, habits and characteristics of *Cellana toreuma* (Reeve) in the north of Zhejiang Coastal Area [J]. *Journal of Zhejiang Ocean University* (Natural Science), 2001, **20**(1): 7—13 [王志铮, 吴常文, 刘祖毅. 浙江北部沿海嫁蠣 *Cellana toreuma* (Reeve)生态习性的初步研究. 浙江海洋学院学报, 2001, **20**(1): 7—13]
- [13] Wang Y N, Zhou Y F, Ding L F, et al. Mollusca resource in the sea shore of Inter-tide Zone, Wenlin City Shitang Town, Zhejiang Province [J]. *Journal of Ningbo University*, 2003, **16**(1): 40—43 [王一农, 周友富, 丁理法, 等. 浙江温岭石塘沿海岛屿的潮间带贝类资源. 宁波大学学报, 2003, **16**(1): 40—43]
- [14] Liang C Y, Zhang H H, Wu J F, et al. Main animals of economic value in Rocky zone of Guiling Island [J]. *Journal of Zhanjiang Ocean University*, 2000, **20**(3): 71—74 [梁超愉, 张汉华, 吴进锋, 等. 龟龄岛礁滩的主要经济动物. 湛江海洋大学学报, 2000, **20**(3): 71—74]
- [15] Wang Z Z, Wu C W. Study on the age and growth of *Cellana toreuma* (Reeve) in the north of Zhejiang Coastal Area [J]. *Journal of Zhejiang Ocean University* (Natural Science), 2000, **19**(4): 316—323, 326 [王志铮, 吴常文. 浙北沿海嫁蠣 *Cellana toreuma* (Reeve)年龄与生长的研究. 浙江海洋学院学报, 2000, **19**(4): 316—323, 326]
- [16] Yu H W, Li T W, Su X R, et al. Histological observation on the testis in *Cellana toreuma* (Reeve) [J]. *Fisheries Science*, 2004, **23**(3): 13—15 [余红卫, 李太武, 苏秀榕, 等. 嫁蠣精巢的组织学研究. 水产科学, 2004, **23**(3): 13—15]
- [17] Zhang Y P. An analysis on nutritive compositions in meat of *Cellana toreuma* [J]. *Journal of Zhejiang Ocean University*, 2002, **21**(1): 38—40, 50 [张永普. 嫁蠣肉营养成分的分析. 浙江海洋学院学报, 2002, **21**(1): 38—40, 50]
- [18] Wang X A, Fu G F. The microscopical structure of the center nervous ganglia of *Cellana toreuma* [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 1998, **33**(4): 11—13 [王晓安, 傅更锋. 嫁蠣螺神经系统结构的初步研究. 动物学杂志, 1998, **33**(4): 11—13]
- [19] Shen Y P, Ma L J, Zhang X Y, et al. Gametogenesis of *Pinctada martensii* Dunker [J]. *Acta Zoologica Sinica*, 1992, **38**(2): 113—116 [沈亦平, 马丽君, 张锡元, 等. 合浦珠母贝的配子发生. 动物学报, 1992, **38**(2): 113—116]
- [20] Wang M F, Yu X Y, Wang R C. Gametogenesis in *Atrina pectinata* Linnaeus (Mollusca, Bivalvia) [J]. *Journal of Ocean University of Qingdao* (Natural Science), 2000, **30**(3): 441—446 [王梅芳, 余祥勇, 王如才. 柄江珧生殖细胞的发生. 青岛海洋大学学报(自然科学版), 2000, **30**(3): 441—446]
- [21] Lin Z H, Shan L Z, Chai X L, et al. Study on the gonad development and reproductive cycle of *Meretrix meretrix* Linnaeus [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2004, **28**(5): 510—514 [林志华, 单乐州, 柴雪良, 等. 文蛤的性腺发育和生殖周期. 水产学报, 2004, **28**(5): 510—514]
- [22] Ying X P. Study on the ultrastructural of oogenesis of *Bullocka exarata* [J]. *Developmental & Reproductive Biology*, 2002, **11**(1): 29—36 [应雪萍. 泥螺卵子发生的超微结构研究. 发育与生殖生物学报, 2002, **11**(1): 29—36]
- [23] Zhou Y C, Chen G H, Su Y J. Anatomy and histology of the reproductive system of *Cymatium pileare* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2000, **24**(5): 393—398 [周永灿, 陈国华, 苏永金. 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—398]
- [24] Liu Y F, Liu Y X, Sui X L, et al. A study on reproductive cycle of disk abalone (*Haliotis discus hainanensis*) in Da Lian Coast [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1985, **9**(4): 311—319 [刘永峰, 刘永襄, 隋锡林, 等. 大连海区皱纹盘鲍生殖周期的研究. 水产学报, 1985, **9**(4): 311—319.]
- [25] Sun Z X, Wang R C, Jiang M, et al. Morphology and ultrastructure of egg of *Haliotis discus hainanensis* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 1997, **4**(1): 68—74 [孙振兴, 王如才, 姜明, 等. 皱纹盘鲍卵的形态与超显微结构. 中国水产科学, 1997, **4**(1): 68—74]
- [26] Lou Y D. *Histology and Embryology* [M]. Beijing: Agriculture Press. 1999, 239—247 [楼允东. 组织胚胎学. 北京: 农业出版社. 1999, 239—247]
- [27] 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]
- [28] Yang Y C, Li F X. The study on the reproductive cycle of *Hiatalula acuta* [J]. *Tropic Oceanology*, 1994, **13**(2): 61—67 [杨耀聪, 李复雪. 尖紫蛤生殖周期的研究. 热带海洋, 1994, **13**(2): 61—67]
- [29] Wang M F, Yu X Y, Ye F L. The gonad development of *Pinna (Atrina) pectinata* in Beibu gulf and adjoining coast [J]. *Guangxi Sciences*, 2000, **7**(2): 140—143, 157 [王梅芳, 余祥勇, 叶富良. 北部湾及附近海域柄江珧性腺发育研究. 广西科学, 2000, **7**(2): 140—143, 157]
- [30] Wang M F, Cao X Y, Yu F F, et al. The spermatogenesis and male gonadal histology of *Cellana grata* (Gould) [J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2009, **31**(6): 142—150 [王梅芳, 曹新云, 于菲菲, 等. 斗嫁蠣精子发生及雄性性腺组织学研究. 海洋学报, 2009, **31**(6): 142—150]

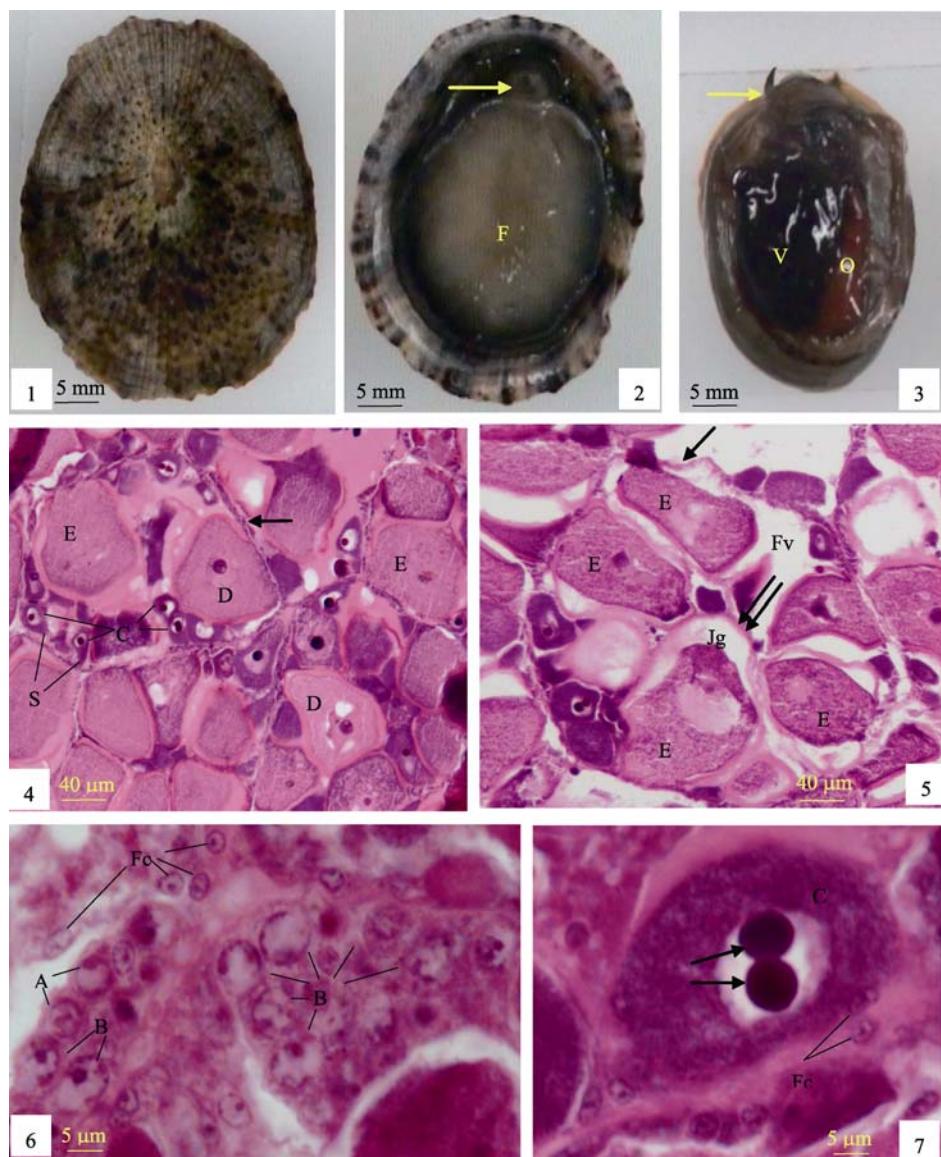
## THE OOGENESIS AND FEMALE GONADAL HISTOLOGY OF *CELLANA GRATA* (GOULD)

YU Xiang-Yong<sup>1</sup>, WANG Mei-Fang<sup>1</sup>, CAO Xin-Yun<sup>2</sup> and WU Zao-He<sup>1</sup>

(1. *Fishery College, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025*; 2. *Oceanic and Fishery Administraition, Wanshan District, Zhuhai 519005*)

**Abstract:** The gonad and gametocyte of *Cellana grata* (Gould) were observed under microscope by puncture and historical section to study the characteristic of female gonad and the morphology and distribution of oogametes at different developing stages. The results showed that: (1) the female folliculus of *C. grata* were composed of oogoniums and oocytes at different developing stages, and matured oogametes were located around the central region of follicle; (2) The development of gametocytes was asynchronous and spawning came up on successive type. (3) The gametocytes and its nuclei and nucleolus tended to enlarge during the oogenesis with the maturity of the gonad, and 1—2 nucleolus appeared. (4) Characteristic of acido- and baso-philic of oocytoplasm changed with coming up of oocytoyolk. (5) Matured egg were in range of about (120—140)  $\mu\text{m} \times 150 \mu\text{m}$  in size, which were rounded by an jelly coat with thickness 5—12  $\mu\text{m}$ . (6) The uniformity and acidity of jelly coat were changeable according to the developing stages of gametocyte. It was the signal of oogoniums becoming mature that gaps appeared between jelly coat and the oocyte membrane; and it was another signal of oogoniums being matured and went to spawn that acidophilic of the oogoniums transformed to basophilic.

**Key words:** *Cellana grata* (Gould); Oogenesis; Female gonad; Jelly coat



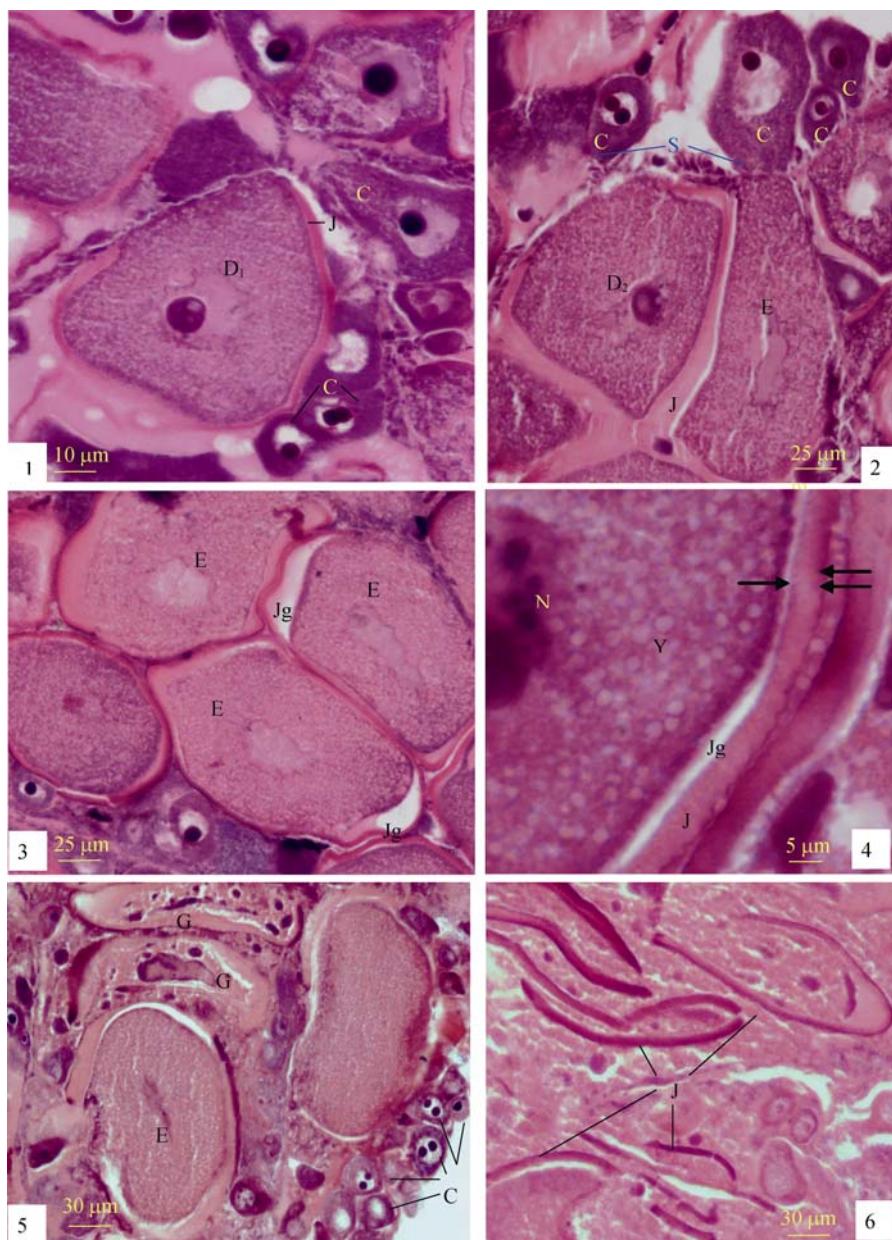
图版 I Plate I

1. 斗嫁蠣背面观; 2. 斗嫁蠣腹面观, ↑示头部, F 示足(可隐约观察到橘红色的性腺); 3. 斗嫁蠣去壳背面观, 示暗红色的雌性性腺(O), ↑示头部触角, V 示内脏团; 4. 5. 同一雌性性腺不同部位的滤泡, 示滤泡发育不同步, ↑示滤泡膜, ↑↑示胶质膜; 6. 示卵原细胞(A)和转化期的初级卵母细胞(B); 7. 示无卵黄初级卵母细胞, ↑示核仁

1. The back view of *Cellana grata*; 2. The ventral aspect view of *Cellana grata*, ↑show head, F show foot; 3. The back view shellless of *Cellana grata*, “O” show bolarious female gonad, ↑ show antenna of the head, V show visceral mass; 4, 5. The folliculi in different part of gonad development different phase. ↑show follicular membrane, ↑↑show Jelly coat; 6. show oogonium(A)and change into primary oocyte(B); 7. show yolkless oocyte. ↑show nucleoli

A. 卵原细胞; B. 转化期初级卵母细胞; C. 无卵黄初级卵母细胞; D. 卵黄形成期初级卵母细胞; E. 成熟期卵母细胞; Fc. 滤泡细胞; Fv. 滤泡腔; Jg. 胶质膜与卵细胞间的间隙; S. 卵柄

A. oogonium; B. change into primary oocytes; C. yolkless oocyte; D. yolk-formation oocyte; E. ovium; Fc. follicle cell; Fv. follicular cavity; Jg. the gap between jelly coat and oocyte membrane; S. egg stem



图版II 雌性性腺切片 Plate II Section of female gonad

1. 卵黄形成初期卵母细胞(D1); 2. 卵黄形成后期卵母细胞(D2)及胶质膜(J); 3. 成熟期卵母细胞(E)及胶质膜与卵细胞间的间隙(Jg); 4. 成熟卵母细胞局部放大图,示胶质膜(Jm)及胶质膜与卵细胞间的间隙(Jg),↑示胶质膜的内缘,↑↑示胶质膜外缘; 5. 退化卵子(G); 6. 排卵后残留的胶质膜片段

1. Show Early yolk-formation oocyte (D1); 2. Show Late yolk-formation oocyte (D2) and Jelly coat(J); 3. Show Mature egg (E) and the gap between jelly coat and oocyte membrane(Jg); 4. Enlarge of mature egg, show Jelly coat and gap. ↑show endo-border of Jelly coat, ↑↑show outer-border of Jelly coat; 5. Show degenerative oocyte(G); 6. The remaining fragments of Jelly coat after Spawning

C. 无卵黄卵母细胞; D. 卵黄形成期卵母细胞; E. 成熟卵母细胞; Fv. 滤泡腔; Fm. 滤泡膜; J. 胶质膜; Jg. 胶质膜与卵细胞间的间隙; N. 核区; S. 卵柄; Y. 卵黄颗粒

C. yolkless oocyte; D. yolk-formation oocyte; E. mature egg; G. degenerative oocyte; J. jelly coat; Jg. the gap between jelly coat and oocyte membrane; N. nuclear area; S. egg stem; Y. yolk