

平疣桑椹石磺生殖系统结构及精子储存场所

钱 静 沈和定* 管 菊

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

摘要: 雌雄同体贝类精子的储存和利用规律一直是国内外贝类生物学研究的难点之一, 本文利用活体解剖、显微观察、组织切片和扫描电镜技术, 综合研究了平疣桑椹石磺 (*Platevindex mortoni*) 的生殖系统及精子储存场所。结果显示, 其生殖系统包括生殖器本部、雌性生殖部分和雄性生殖部分。生殖器本部由两性腺、两性输送管、蛋白腺、黏液腺、支囊组成; 雌性生殖部分包括输卵管、受精囊、阴道, 位于身体中后方体腔内; 雄性生殖部分包括输精管、刺激器、阴茎、阴茎鞘和阴茎牵引肌, 位于身体前端右侧体腔内; 其阴茎有阴茎鞘, 阴茎表面布满倒刺。平疣桑椹石磺阴茎为直线状, 无雄性附属腺。未交配的性成熟个体支囊内充满细长精子, 受精囊内无精子; 而交配后充当雌性个体的支囊内均为细长的自体精子, 受精囊内有大量活力较强的粗短精子, 其支囊为自体精子的存储场所, 而受精囊为异体精子的存储场所。其精子储运情况为: 两性腺内精子成熟后暂存于支囊, 交配时通过输精管运输至阴茎, 由阴茎输送精子至对方的阴道, 异体精子进入受精囊内存储待用。

关键词: 平疣桑椹石磺; 生殖系统; 精子储存

中图分类号: S917.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2015) 04-600-07

Reproductive System and Sperm Storage of Systellommatophoran Slug *Platevindex mortoni*

QIAN Jing SHEN He-Ding* GUAN Ju

Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education,
Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: Clarification of sperm transport, storage and utilization in hermaphrodite gastropoda has always been one of the difficult task for mollusk biology research in the world. With vivisection, microscopic observation, tissue section and scanning electron microscopy (SEM) technology, comprehensive study of the reproductive system and sperm storage place was conducted in *Platevindex mortoni* Onchidiidae Pulmonata. The reproductive system is mainly composed of hermaphroditic gland, albumen gland, mucous gland, female reproductive system and male reproductive system. The female reproductive system consists of oviduct, spermatheca and vagina, and the male reproductive system includes vas deferens, seminal vesicle and penis.

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 41276157, 30972259), 上海高校水产学一流学科建设项目;

* 通讯作者, E-mail: hdshen@shou.edu.cn;

第一作者介绍 钱静, 女, 硕士研究生; 研究方向: 海洋生物学; E-mail: qj8023@126.com。

收稿日期: 2014-09-21, 修回日期: 2015-01-18 DOI: 10.13859/j.cjz.201504012

Onchidium struma has a spiral penis with accessory penial gland while the *P. mortoni* has a straight penis without any accessory gland. Their seminal vesicles of un-copulation individuals are full of slender spermatozoa, while the spermatheca does not contain any spermatozoon. The result shows that the mature own-spermatozoa are stored in seminal vesicle. For copulated individuals which act as a female role, their spermatheca is full of moving stubby spermatozoa, showing that the spermatheca is the place where donor-spermatozoa are stored. Vas deferens and male mating organ were observed in detail, and the transportation route of spermatozoa was also analyzed. The mature spermatozoa are transferred by hermaphrodite duct from hermaphroditic gland to seminal vesicle, then conveyed via vas deferens to penis. During the copulation, penis transports the spermatozoa to the vagina, and finally spermatozoa enter spermatheca for reservation.

Key words: *Platevindex mortoni*; Reproductive system; Sperm storage

石磺科贝类隶属软体动物门 (Mollusca) 腹足纲 (Gastropoda) 肺螺亚纲 (Pulmonata) 缩眼目 (Systellommatophora) 石磺科 (Onchidiidae), 是介于海洋和陆地过渡带的生物。我国石磺资源十分丰富, 主要分布于江浙沪、福建以及海南沿海滩涂潮间带高潮区 (吴杨平等 2008)。石磺为雌雄同体, 异体交配的贝类, 其生殖系统复杂, 与腹足纲其他贝类存在较大差异 (吴旭干等 2009)。国外对石磺科贝类的繁殖生物学已有相关研究 (Smith et al. 1987, Jensen 1992, Hyman 1999), 国内石磺繁殖生物学研究主要集中于瘤背石磺 (*Onchidium struma*) 的研究 (王金庆等 2005a, b, 沈和定等 2006, 王金庆等 2006, 胡冰等 2008, 吴杨平等 2009, 金春华等 2010, 沈永龙等 2013), 其他种类的研究未见报道。由于石磺交配行为复杂, 个体在交配过程中既可充当雄性也可充当雌性, 交配后客体的精子去向与存储成为研究热点与难点, 关于石磺的自体精子储存以及交配后异体精子的存储位置的研究结果较为混乱, 一直存在较大争议 (段晓伟等 2007, 吴杨平等 2009), 雌雄同体贝类精子的储存和利用规律一直是国内外贝类生物学研究的难点之一。

本文以平疣桑椹石磺 (*Platevindex mortoni*) 为研究对象, 对其生殖系统的各部分结构进行了系统研究, 以补充其生殖生物学的

相关知识, 并与瘤背石磺相关研究结果进行比较, 为石磺科贝类分类提供基础资料; 另外, 深入研究平疣桑椹石磺精子产生后的存储场所, 为完善石磺科贝类交配机制研究进行有益尝试, 也能为其人工育苗和增养殖工作的顺利开展提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料的采集与暂养

实验所用平疣桑椹石磺 2013 年 5 月采自广东湛江, 放入大塑料箱中暂养, 箱底铺一层盐度为 15 的海水浸泡过的底泥, 底土厚度约为 10 cm。箱口用纱网封住, 每日投喂玉米粉并清理粪便, 喷洒适量海水或自来水以保持湿度。取出 10 只分别放入 10 个小玻璃缸中单独暂养, 避免交配, 保证其体内精子均为自体精子。

1.2 生殖系统结构及自体精子存储位置

单独暂养的 10 只石磺中挑选性成熟但未进行过交配的个体, 解剖、分析其生殖系统形态结构与分布, 进行生物绘图; 在尼康体视镜下观察各组织内精子形态结构并确定自体精子的存储位置。

1.3 雄性生殖部分及精子运输途径

发现正在交配的石磺, 迅速将其分开, 剪断充当雄性个体的阴茎和输精管, 分别放入 Bouin's 液中常温固定 24 h, 酒精梯度脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 连续切片, H.E 染色,

中性树胶封片, 尼康电光学显微镜下观察拍摄; 扫描电镜观察阴茎结构。解剖充当雌性个体的石磺, 显微观察其受精囊。交配结束后的石磺分别隔离暂养, 一部分立即解剖, 另一部分暂养 1、3、5 d 后解剖。通过解剖镜、组织切片观察生殖管道内精子有无及形态, 推断自体 and 异体精子的储存场所。

2 结果

2.1 平疣桑椹石磺生殖系统的组成

平疣桑椹石磺为雌雄同体贝类, 生殖系统包括生殖器本部、雌性生殖部分和雄性生殖部分。

2.1.1 生殖器本部 生殖器本部包括两性腺、蛋白腺、黏液腺、两性输送管和支囊(图1a)。两性腺呈黄褐色, 通过两性输送管与外部相连, 两性输送管在两性腺内部分化为3条细管, 各细管再继续分化为3个支细管延伸到两性腺囊泡内, 分别收集、输送生殖细胞。蛋白腺呈乳白色, 内部包裹生殖输送管, 末端呈粗螺旋管状。

黏液腺呈粉红色, 大而不规则。支囊的一端为盲管, 另一端通过两性输送管与两性腺和蛋白腺相连, 性成熟个体支囊饱满, 内部充满精子。

2.1.2 雌性生殖部分 雌性生殖部分包括输卵管、受精囊、阴道和雌性生殖孔。输卵管从蛋白腺末端的粗螺旋中伸出, 连接受精囊, 其后为阴道, 通往雌性生殖孔, 阴道为内部波浪状弯曲的管道。

2.1.3 雄性生殖部分 雄性生殖部分包括输精管、刺激器、阴茎、阴茎鞘和阴茎牵引肌, 无雄性附属腺。输精管前段包裹在蛋白腺内, 后段从蛋白腺的粗螺旋状末端伸出, 由于输精管极细, 解剖镜下才能看清其后端于雌性生殖孔附近进入体壁肌肉组织内, 横切面观察到体壁内的输精管位于生殖沟下面(图1b), 前行至身体前端雄性生殖孔附近肌肉组织后进入体腔, 细长盘曲的输精管与阴茎相连(图1c)。

2.2 精子存储位置

解剖单独暂养的10只性腺发育成熟但未进

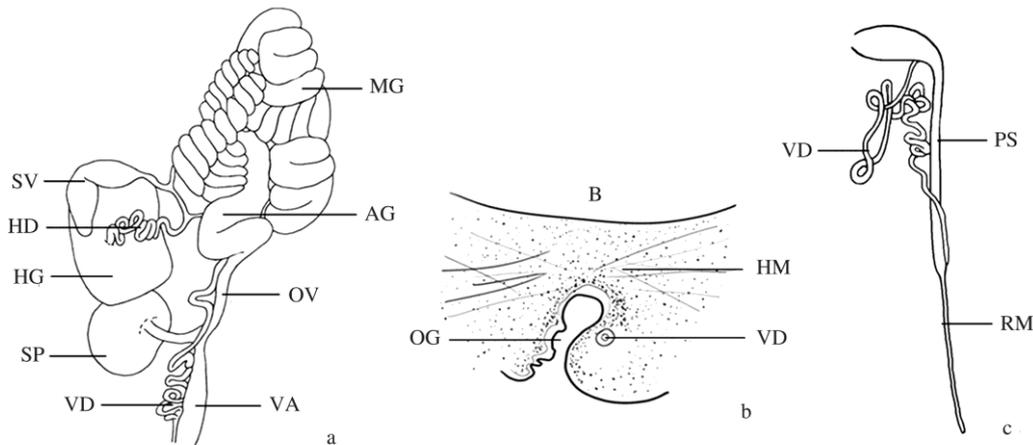


图1 平疣桑椹石磺生殖系统示意图

Fig. 1 The reproductive system of *Platevindex mortoni*

a. 生殖器本部及雌性生殖系统; b. 体壁横切示肌肉内输精管; c. 雄性生殖系统部分的阴茎和输精管。

a. The hermaphroditic reproductive system; b. The vas deferens and oviposition groove; c. The male reproductive system.

AG 蛋白腺; B. 体腔; HD. 两性输送管; HG. 两性腺; HM. 肌肉组织; MG. 黏液腺; OG. 生殖沟; OV. 输卵管; PS. 阴茎鞘; RM. 阴茎牵引肌; SP. 受精囊; SV. 支囊; VA. 阴道; VD. 输精管。

AG. Albumen gland; B. Body cavity; HD. Hermaphroditic duct; HG. Hermaphroditic gland; HM. Hyponotal musculature; MG. Mucous gland; OG. Oviposition groove; OV. Oviduct; PS. Penial sheath; RM. Retractor muscle; SP. Spermatheca; SV. Seminal vesicle; VA. Vagina; VD. Vas deferens.

行交配的平疣桑椹石磺个体, 发现其两性腺内精子数量多, 发育中的精子头部聚集在一起, 长度不断增加, 尾部呈囊泡状, 吉姆萨染色后呈蓝色(图2a), 成熟后精子变得细长, 头部聚集成精子束, 尾部囊泡褪去(图2b)。支囊饱满, 内部充满细长精子, 遇水则自动散开, 运动能力较弱(图2c)。受精囊小, 内含暗红色颗粒物, 无精子。可推测出平疣桑椹石磺自体精子成熟后主要存储于支囊而非受精囊。

解剖正在交配的石磺, 充当雄性个体的两性腺和支囊内均有大量细长精子, 阴茎内未见

精子, 与阴茎相连的远端输精管内有少量游动精子, 随纤毛微弱摆动。充当雌性个体受精囊内有少量粗短精子, 运动能力较强(图2d), 可推断受精囊为异体精子存储场所。解剖交配结束几天后的平疣桑椹石磺, 充当雄性个体的支囊中精子数量少, 受精囊内无精子。充当雌性个体的受精囊饱满, 光镜下可见大量游动的粗短状精子, 与交配刚结束时受体受精囊内精子形态无明显差异, 推测交配后进入受体受精囊内已是粗短状精子。

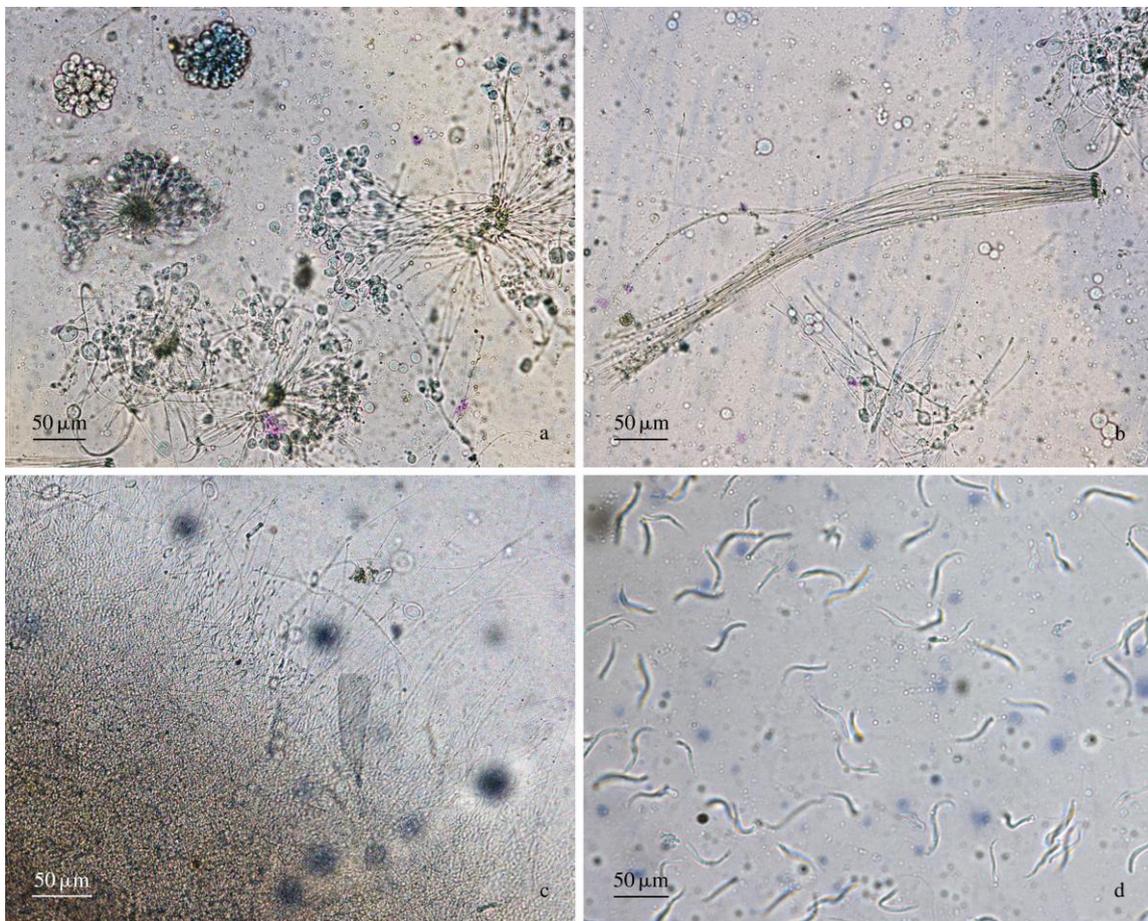


图 2 平疣桑椹石磺精子不同发育时期的形态

Fig. 2 Different maturity spermatozoa of *Platevindex mortoni*

a. 两性腺内不同发育程度的精子形态; b. 两性腺内细长精子束; c. 支囊内精子形态; d. 受精囊内的异体精子形态。

a. Different maturity spermatozoa in hermaphrodite gland; b. Slender spermatozoa in hermaphrodite gland; c. Spermatozoa of *Platevindex mortoni* in seminal vesicle; d. The moving stubby spermatozoa in spermatheca.

2.3 精子储存场所

解剖平疣桑椹石磺生殖系统，显微观察生殖输送管道，结合两性腺、支囊及受精囊内精子形态，可推测出精子的大致储运过程。石磺交配时，支囊内的精子经两性输送管继续前行进入被蛋白腺包裹的输精管，输精管在雌性生殖孔附近伸入体壁肌肉组织，在身体右前端雄性生殖孔附近伸入体腔，细长盘曲的输精管向后延伸，在阴茎牵引肌端部连接阴茎（图1b，图3a，b）。阴茎外部为一层厚厚的组织，称为阴茎鞘，阴茎与输精管连接处由阴茎牵引肌固定于体内（图1c，图3b），阴茎前端内部充满阴茎刺（图3c，d）。阴茎鞘内为一层由单层扁平细胞构成的黏膜层；阴茎较细，包裹于黏膜层内，与黏膜层之间有间隙（图3e，g）；输精管内有大量纤毛，排列整齐（图3f），纤毛的摆动可以促进精子运动。交配时阴茎伸出体外，头部翻出，伸入对方的雌性生殖孔内。阴茎上的倒刺（图3h）便于阴茎更好地固定在雌性生殖孔内以完成几个小时以上的交配行为。

3 讨论

3.1 平疣桑椹石磺生殖系统与瘤背石磺生殖系统的差异

平疣桑椹石磺与瘤背石磺在生殖器本部和雌性生殖部分无结构上的明显差异，仅各部分外形大小有所不同，但雄性生殖部分却有明显差异。平疣桑椹石磺无附属腺结构，而瘤背石磺附属腺发达，平疣桑椹石磺阴茎为直线状，阴茎上倒刺粗短，而瘤背石磺阴茎为螺旋状，阴茎上倒刺细长（张坤霞 2013）。这些差异可为石磺的分类提供依据。

3.2 雌雄生殖细胞发育场所

石磺两性腺基本组成单位滤泡也称囊泡（段晓伟等 2007）或腺泡（吴旭干等 2009）。关于精卵发育场所有不同看法，段晓伟等（2007）认为瘤背石磺两性腺内的单个滤泡不具有两重功能，而胡冰等（2008）认为瘤背石磺两性腺内的滤泡属于混合型。吴杨平等

（2010）指出，精卵产生于同一个滤泡。Deshpande等（1983）对石磺（*O. verruculatum*）的性腺研究发现，精子和卵子产生于同一滤泡，但发育并不同步。平疣桑椹石磺两性腺组织切片的同一个滤泡内同时存在次级精母细胞、精子细胞和正在发育的卵细胞（钱静等 2014），支持“石磺生殖细胞为滤泡混合型”的结论。

3.3 自体精子存储场所

吴杨平等（2009）认为，两性腺内精子成熟后由两性管运行到支囊，支囊开口处的纤毛将自体精子挡在支囊外，精子继续前行至受精囊后到达阴道，出阴道后顺着身体右侧生殖沟运行至身体前端流入体内汇入阴茎。指出两性管和收集管是自体精子的直接存储场所而受精囊是自体精子的间接存储场所。王金庆等（2006）也认为受精囊内的精子为自体精子，异体交配输入精子的可能性很小。沈和定等（2006）和滕炜鸣等（2007）研究发现，瘤背石磺通常在交配后1周左右产卵，但无法确定受精囊的精子究竟来源于自体还是异体。本研究解剖未交配的平疣桑椹石磺性成熟个体发现，两性腺内存在不同发育程度的精子，支囊饱满，充满细长精子，而受精囊内未发现精子；可见平疣桑椹石磺支囊也为自体精子的存储场所。其自体精子存储场所与胡冰等（2008）、吴旭干等（2009）和陈美英等（2010）在瘤背石磺中的研究结果相似。

3.4 交配过程中精子的运输途径

关于雌雄同体石磺科贝类交配时客体精子的存储场所及利用有不同的解释和推断。段晓伟等（2007）认为，交配中充当雄性的客体，将精子束运输到充当雌性的主体的两性腺囊泡内阻止卵细胞发育，吸收其营养继续发育。等待卵子成熟后，精卵同时由囊泡排出，在蛋白腺前端的生殖输送管内完成受精，此时精子发育成为粗短的棒状精子；蛋白腺分泌蛋白质包围受精卵，管壁纤毛的运动继续将受精卵推向生殖孔。吴杨平等（2009）认为交配后精子运行至受体的支囊内继续发育，待卵子成熟后一



图 3 平疣桑椹石磺雄性生殖部分

Fig. 3 Male part reproductive system of *Platevindex mortoni*

a. 示阴茎、阴茎鞘、牵引肌和输精管 (10×4); b. 阴茎与输精管连接处 (10×10); c. 阴茎前端 (10×10); d. 阴茎内倒刺结 (转下页)

(接上页) 构 (10 × 20); e. 阴茎横切, 示阴茎和阴茎鞘 (10 × 20); f. 输精管横切 (10 × 20); g. 扫描电镜下阴茎与阴茎鞘形态; h. 翻出后阴茎上倒刺电镜照片。

a. Show penis, penial sheath, retractor muscle and vas deferens (10 × 4); b. The junction of penis and vas deferens (10 × 10); c. The front end of penis (10 × 10); d. The agnail inside penis (10 × 20); e. The crosscutting of penis (10 × 20); f. The crosscutting of vas deferens (10 × 4); g. The penis and penial sheath under the scanning electron microscopy; h. Showing the agnail outside penis.

P. 阴茎; PS. 阴茎鞘; RM. 阴茎牵引肌; VD. 输精管。P. Penis; PS. Penial sheath; RM. Retractor muscle; VD. Vas deferens.

起运输至受精囊内受精。吴旭干等 (2009) 推断精子从支囊运行到阴茎, 然后通过阴茎注入到异体的阴道内, 由阴道游入受精囊内, 与陈美英等 (2010) 研究结果相似; 但均未说明精子具体的储运场所及如何进入充当雌性个体的受精囊内。吴杨平等 (2009) 认为瘤背石磺精子是由阴道流出体外, 通过生殖沟运输至身体前端进入远端输精管。

平疣桑椹石磺交配过程中精子的储存和利用规律: 两性腺内精子成熟后通过两性输送管运输至支囊内存储, 待石磺交配时, 支囊内精子通过两性管进入输精管, 输精管在雌性生殖孔附近进入体壁肌肉组织于身体前端的雄性生殖孔附近伸入体腔, 细长盘曲的输精管向后延伸, 在阴茎牵引肌端部连接阴茎; 交配时阴茎伸出体外, 头部翻出、伸入对方的雌性生殖孔内将精子输送至对方的受精囊内。阴茎上的倒刺便于阴茎更好地固定在雌性生殖孔内以完成几个小时以上的交配行为。

本研究观察到交配中客体的精子在支囊内为细长状, 而交配后到达受体受精囊内却变成短棒状, 未能准确地观察到精子在运输过程中的变态过程, 暂无法确定是在输精管中开始变态还是进入受体的阴道后开始变态。精子的具体变态过程仍需更深入研究。

参 考 文 献

- Deshpande U D, Nagabhushanam R. 1983. Seasonal changes in the biochemical composition of the chiton *Chiton iatricus* (Polyplacophora: Mollusca) and the marine pulmonate *Onchidium verruculatum* (Gastropoda: Mollusca) in relation to their reproductive cycles. *Marine Biology*, 72(3): 227–234.
- Hyman I T. 1999. A comparison of two onchidiid species (Mollusca, Pulmonata). *Molluscan Research*, 20(1): 61–72.
- Jensen K R. 1992. Anatomy of *Onchidium hongkongensis*, Britton, 1984. Hong Kong: Hong Kong University Press, 705–722.
- Smith A, Kenny R. 1987. Reproduction and development of *Onchidium damelii* Semper, 1882. *Journal of the Malacological Society of Australia*, 8(1): 37–39.
- 陈美英, 李建榜, 黄克蚤, 等. 2010. 瘤背石磺的生殖系统结构特点及生殖周期研究. *四川动物*, 29(3): 426–431.
- 段晓伟, 赵云龙, 曾错, 等. 2007. 交配对瘤背石磺两性囊及其相关器官发育与变化的作用. *水产学报*, 31 (增刊): 80–87.
- 胡冰, 杨筱珍, 吴旭干, 等. 2008. 不同体重瘤背石磺性腺发育规律. *动物学研究*, 29(2): 145–151.
- 金春华, 郑忠明, 华建权, 等. 2010. 瘤背石磺人工繁育关键技术的研究. *水产科学*, 29(10): 597–600.
- 钱静, 沈和定, 王成暖. 2014. 平疣桑椹石磺精子结构观察. *生物学杂志*, 31(5): 41–44.
- 沈和定, 陈汉春, 陈贤龙, 等. 2006. 石磺繁殖生物学的实验研究. *水产学报*, 30(6): 753–760.
- 沈永龙, 黄金田, 戈贤平, 等. 2013. 不同孵化方式、培育密度和附着基对瘤背石磺人工繁育的影响. *海洋科学*, 37(3): 109–116.
- 滕炜鸣, 吴旭干, 唐伯平, 等. 2007. 瘤背石磺滩涂生态繁殖的初步研究. *海洋渔业*, 29(3): 214–220.
- 王金庆, 成永旭, 吴旭干. 2005a. 瘤背石磺的胚胎和幼虫发育. *上海水产大学学报*, 14(2): 108–115.
- 王金庆, 成永旭, 吴旭干, 等. 2005b. 瘤背石磺的形态、习性和生殖行为. *动物学杂志*, 40(1): 32–40.
- 王金庆, 成永旭, 吴旭干, 等. 2006. 瘤背石磺的生殖系统和性腺发育. *动物学杂志*, 41(1): 19–26.
- 吴旭干, 胡冰, 杨筱珍, 等. 2009. 瘤背石磺产卵前后生殖系统的组织学变化. *水生生物学报*, 33(6): 1038–1045.
- 吴杨平, 沈和定. 2008. 石磺繁殖生物学研究进展. *水产科技情报*, 35(3): 143–147.
- 吴杨平, 沈和定. 2010. 瘤背石磺两性腺周年发育规律的研究. *南方水产科学*, 6(4): 64–71.
- 吴杨平, 沈和定, 代欣欣, 等. 2007. 石磺生殖系统的组织学研究. *中国水产科学*, 14(7): 17–23.
- 吴杨平, 沈和定, 吴永宁. 2009. 石磺精子利用规律的初步研究. *热带海洋学报*, 28(1): 67–73.
- 张坤霞. 2013. 我国石磺科形态结构再描述及同工酶分析. 上海: 上海海洋大学硕士学位论文, 22–23.