

# 背瘤丽蚌胚胎发育的初步研究

张根芳 许式见 方爱萍

( 金华职业技术学院生物工程学院 金华 321007; 金华市九色珍珠研究所 金华 321017;  
金华市威旺养殖新技术有限公司 金华 321017)

**摘要:** 用显微技术研究了背瘤丽蚌 (*Lamprotula leai*) 胚胎发育和钩介幼虫结构。结果表明, 背瘤丽蚌卵为均黄卵, 受精卵分布在雌蚌内、外鳃腔中进行胚胎发育; 胚胎发育同步; 胚胎发育过程包括受精卵、卵裂期、囊胚期、原肠期、膜内钩介幼虫期和钩介幼虫期; 卵裂为螺旋不等完全卵裂; 未受精的成熟卵在鳃腔内退化; 胚胎发育期与胚胎、外鳃和内鳃颜色相关; 怀卵母蚌胚胎在外界环境变化时容易全部流产。分析认为背瘤丽蚌胚胎发育期的繁殖特征可指导人工苗种生产。

**关键词:** 背瘤丽蚌; 胚胎发育; 钩介幼虫

**中图分类号:** Q132.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2009)04-96-06

## Preliminary Study on the Embryonic Development of *Lamprotula leai*

ZHANG Gen-Fang XU Shi-Jian FANG Ai-Ping

( Department of Animal Engineering, Jinhua College of Profession and Technology, Jinhua 321007;  
Jinhua Jewel Pearl Institute, Jinhua 321017; Jinhua Wellwant New Aquaculture Technology Co. Ltd., Jinhua 321017, China)

**Abstract:** The characteristics of embryonic development and glochidia structure were observed in *Lamprotula leai* by means of light microscopy. The results showed that the isolecithal fertilized eggs developed synchronously in the inner and outer gill of the female. The embryonic development of *L. leai* could be divided into 6 stages: oosperm, cleavage, blastocyst, gastrulae, glochidia in membrane and glochidia. The cleavage was holoblastic and spiral. The unfertilized egg degenerated in the gill. There were relations between different stages of the embryonic development and the colours of the embryo and the inner and outer gill of the mother. All embryos would expel from the gill when the environment of mussel had changed. The data on embryonic development character could be used for guiding artificial breeding of *L. leai*.

**Key words:** *Lamprotula leai*; Embryonic development; Glochidia

大多数淡水蚌类精、卵在鳃腔内受精, 发育到钩介幼虫, 排入水中。成熟钩介幼虫需要寄生到鱼体表(主要在鳃上)进一步发育成稚蚌后脱入到水底, 然后生长成幼蚌、成蚌。由于淡水蚌类寄生变态发育的特殊性, 目前有关淡水蚌类繁殖生物学研究的资料较少<sup>[1]</sup>。在胚胎发育方面, 我国学者先后对背角无齿蚌 (*Anodonta woodiana woodiana*)<sup>[2]</sup>、绢丝丽蚌 (*Lamprotula fibrosa*)<sup>[3]</sup>、三角帆蚌 (*Hyriopsis cumingii*)<sup>[4]</sup>、池蝶蚌 (*H. schlegelii*)<sup>[5]</sup> 的胚胎发育过程进行过观察

分析。

背瘤丽蚌 (*L. leai*) 隶属于软体动物门瓣鳃纲真瓣鳃目蚌科丽蚌属, 是我国特有的淡水经济贝类, 分布地区较广, 因贝壳珍珠层厚而被广泛应用于生产珠核, 培育有核珍珠, 经济价值较高<sup>[6]</sup>。由于环境破坏和资源过度开发, 背瘤丽

基金项目 金华市技术创新项目 (2005-1-206);

第一作者介绍 张根芳, 男, 教授; 研究方向: 淡水珍珠技术研究; E-mail: fishman666@163.com。

收稿日期: 2008-12-22, 修回日期: 2009-05-05

蛙资源量已急剧下降,目前已被列为安徽省一级保护水生野生动物和湖北省二级保护动物<sup>[7]</sup>。近年来背瘤丽蛙的人工保护、增殖逐步得到重视。国内学者对背瘤丽蛙的生长特性、性腺发育及资源状况展开了研究,但背瘤丽蛙胚胎发育过程的研究尚未见报道。背瘤丽蛙胚胎发育的显微观察研究,不仅可以丰富丽蛙繁殖生物学内容,也能为背瘤丽蛙人工苗种生产、育珠技术研究和资源增殖工作的及时开展奠定基础。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 背瘤丽蛙从天然湖泊采集后,在浙江省金华市威旺公司试验基地人工养殖3年。2008年2~6月,选用壳长8 cm以上、闭壳肌关闭迅速、喷水有力的健康蛙做亲蛙用于实验胚胎的采集。

### 1.2 方法

**1.2.1 亲蛙的配组及培育** 实验用亲蛙共500只于2008年2月进行雌雄鉴别,在外壳上做好标记。放养时,按1:1雌雄比例装在网箱里,每只网箱装10只,吊养于水面30~35 cm处,网箱与网箱间距1 m,池塘面积约300 m<sup>2</sup>。培育池不施肥,水质清爽,保持透明度40~50 cm, DO 4.0 mg/L, pH 6.5~8.0, NH<sub>3</sub>-N 0.5 mg/L, NO<sub>2</sub>-N 0.2 mg/L。培育期间水温为15~21℃。

**1.2.2 胚胎发育观察** 2008年3~5月,定期取背瘤丽蛙10只,用开口器打开贝壳少许,用注射器刺破鳃,吸取适量的胚胎,涂抹在载玻片上,置于显微镜下观察,记录胚胎发育各期特征,用数码相机拍照。在吸取胚胎的同时观察鳃的外形、颜色等特征,比较胚胎发育与鳃特征的关系。

**1.2.3 胚胎大小的测量和数据统计** 目微尺测量各期胚胎大小,每次测量30个。测得数据用SPSS 12.0软件进行统计分析,对不同特征分别以平均值±标准差表示。

## 2 结果

**2.1 受精卵** 受精卵在雌蛙的鳃水管中呈片

状排列,进行胚胎发育。受精卵为球形,卵黄颗粒致密均匀,卵膜吸水膨胀后与卵黄之间有很大的卵周隙(图版:1)。此期卵径为(210.8 ± 10.5) μm,卵膜直径为(234.5 ± 13.5) μm × (258.4 ± 12.4) μm,卵膜厚为2.3 μm。卵膜直径在胚胎发育的全过程中变化不显著。未受精的卵在鳃腔中逐渐退化(图版:2)。

**2.2 卵裂期** 受精卵卵裂方式为螺旋不等完全卵裂。动物极隆起开始第一次卵裂,卵子纵裂成两个大小完全不等的分裂球,为2细胞期(图版:3)。第二次卵裂也是纵分裂,形成三个大小相似的小分裂球和一个较大的分裂球,为4细胞期(图版:4)。第三次卵裂为横分裂,小分裂球数目增多,堆积在大分裂球上面,分裂球堆积使胚胎呈椭球形,形成8细胞期(图版:5)、16细胞期(图版:6)和32细胞期(图版:7)。继续分裂为桑葚期(图版:8),分裂球呈螺旋状排列。

**2.3 囊胚期** 桑葚期胚胎进一步分裂,大分裂球已不明显,全部分裂球包围在囊胚腔周围,胚胎发育到囊胚期(图版:9)。

**2.4 原肠期** 原肠作用方式为内陷法。胚胎一端的分裂球开始逐渐内卷,并使此端变得平直,胚胎发育到原肠早期,胚胎直径为(146.3 ± 8.6) μm(图版:10)。分裂球继续内卷,同时胚胎平直端形成原壳,为原肠中期(图版:11)。原壳在形成的过程中开始外包胚胎,同时分裂球内卷,经过内卷和外包的共同作用,逐渐形成一个近半椭圆形的两片原壳,同时闭壳肌、内幼虫足丝、刚毛等结构逐渐形成,胚胎发育到原肠晚期(图版:12,13)。

**2.5 膜内钩介幼虫期** 当原壳完全包裹胚体后,胚胎即发育到膜内钩介幼虫期。膜内钩介幼虫早期内幼虫足丝、闭壳肌、刚毛等结构进一步发育,外幼虫足丝和壳腹缘膜状结构尚未形成,两壳不能自由张合,铰合部长(126.8 ± 8.5)

文立华. 洞庭湖区背瘤丽蛙的生物学特性及驯养技术研究. 长沙:湖南农业大学硕士学位论文,2005,13~23.

凌高. 背瘤丽蛙保护生物学初步研究. 南昌:南昌大学硕士学位论文,2005,11~30.

$\mu\text{m}$ ,壳长(195  $\pm$  5.4)  $\mu\text{m}$ ,壳高(224.3  $\pm$  14.2)  $\mu\text{m}$  (图版 :14)。膜内钩介幼虫进一步发育,到膜内钩介幼虫晚期,外幼虫足丝和壳腹缘膜状结构逐渐形成,显微观察可见到两壳有节奏地张合(图版 :15)。

**2.6 钩介幼虫期** 膜内钩介幼虫发育成熟后,在一定条件下,卵膜破裂,幼虫破膜而出,为钩介幼虫期。钩介幼虫侧面观半椭圆形,背部由铰合齿韧带相连。壳长(204.8  $\pm$  6.5)  $\mu\text{m}$ ,壳高(243.8  $\pm$  10.2)  $\mu\text{m}$ ,铰合部长(131.6  $\pm$  5.6)  $\mu\text{m}$ 。无壳钩,两壳腹缘中央各有一内褶的膜状结构。闭壳肌着生在两壳之间,司两壳开闭功能。内幼虫足丝为 1.5 环,宽(29.3  $\pm$  3.5)  $\mu\text{m}$ ,紧贴在右壳内表面<sup>[8]</sup>。外幼虫足丝自钩介幼虫前端的足丝窝伸出,成细长的丝状物,宽 2.5  $\mu\text{m}$ ,自然伸出时,其长度可达壳长的 20 倍(图版 :16, 17)。外幼虫足丝相互缠绕,使大量钩介幼虫联系在一起。

**2.7 胚胎发育期的外表特征** 背瘤丽蚌育儿囊由内外四片鳃瓣构成,属于外鳃类的四生型<sup>[9]</sup>。未怀卵时,内外鳃干瘪;怀卵时,内外鳃膨大饱满,形成“育儿囊”。胚胎同步发育,分散在育儿囊内,无胶质索。随着胚胎发育的进程,胚胎、内外鳃颜色逐渐加深(表 1)。

表 1 背瘤丽蚌胚胎不同发育时期的  
胚胎及内、外鳃颜色

Table 1 Colours of embryo and gill at different stages of the embryonic development

阶段 Stage	胚胎颜色 Colour of embryo	内鳃颜色 Colour of inner gill	外鳃颜色 Colour of outer gill
受精卵 Oosperm	乳白	黄	淡黄
卵裂期 Cleavage	乳白	黄	淡黄
囊胚期 Blastocyst	乳白	黄	淡黄
原肠期 Gastrulation	淡黄	黄	黄
膜内钩介幼虫期 Gochidia in membrane	黄	棕黄	黄

怀卵母蚌对外界环境变化较为敏感,阴干、开壳查蚌等刺激均容易导致各时期的胚胎全部流产。将流产过的亲蚌于 4 月 25 日重新挂回

池塘中培育,隔 15 d 后查蚌,未发现怀卵母蚌,6 月 25 日查得怀卵母蚌,但该母蚌育儿囊怀卵量少,鳃干瘪,未发现成熟钩介幼虫。经初步试验观察,在天然淡水中,受精卵、卵裂期、囊胚期以及原肠期胚胎均不能正常发育,且出现细胞吸水膨胀破裂、细胞间隙模糊、卵周隙缩小现象(图版 :18),最后崩裂。原肠中期以后的各期胚胎均能在天然淡水中成活发育,但不能发育到钩介幼虫。膜内钩介幼虫的卵膜在外界条件刺激下易破裂(图版 :19,20)。

### 3 讨论

**3.1 胚胎发育的分期** 有报道将绢丝丽蚌胚胎发育分为受精卵、卵裂期、原肠期和钩介幼虫期<sup>[3]</sup>。三角帆蚌的胚胎发育被类似地划分为受精卵、卵裂期、原肠期和膜内钩介幼虫期 4 个时期<sup>[4]</sup>。本研究表明,背瘤丽蚌的胚胎发育过程与三角帆蚌<sup>[4]</sup>和绢丝丽蚌<sup>[3]</sup>相似,但根据背瘤丽蚌原壳、闭壳肌等内部器官形成过程,可以进一步将原肠期分为早、中、晚三期:胚胎分裂球内卷到原壳形成前为原肠早期;原壳和闭壳肌等内部器官开始形成为原肠中期;原壳基本形成时为原肠晚期;原壳完全形成后即进入膜内钩介幼虫期。

**3.2 胚胎流产** 背瘤丽蚌胚胎在外界环境变化时容易发生流产现象,这一特性与猪耳丽蚌(*L. rochechouarti*)<sup>[10]</sup>、佛耳丽蚌(*L. mansuyi*)<sup>[11]</sup>和刻裂丽蚌(*L. scripta*)<sup>[12]</sup>相似,而不同于绢丝丽蚌<sup>[3]</sup>、背角无齿蚌<sup>[2]</sup>和褶纹冠蚌(*Cristaria plicata*)<sup>[6]</sup>胚胎的不易流产性。Aldridge 认为肿胀珠蚌(*Unio tumidus*)胚胎在不利环境下容易流产是个体的一种生存策略。肿胀珠蚌寿命高达 22 年以上,怀卵母蚌耗氧率显著低于其他蚌,在低氧下胚胎流产,增强了母蚌的耗氧率,使母蚌得以生存,等待下次怀卵<sup>[13]</sup>。由于背瘤丽蚌母蚌胚胎容易流产,本研究未能探明胚胎发育时序。背瘤丽蚌胚胎易流产的机理及胚胎发育时序仍有待研究。

**3.3 胚胎体外培养** 背瘤丽蚌同其他蚌科物种一样,受精卵在鳃腔育儿囊内完成胚胎发育。

该繁殖特性可省略育苗中人工胚胎孵化一环节,节省了淡水蚌类育苗的成本,但同时给人工选育增加了困难。胚胎体外培养技术是实现淡水蚌类多倍体等人工选育的基础,但迄今为止尚未成功。余颖等用自配的平衡盐溶液成功地将池蝶蚌的胚胎培育到囊胚期,但未获得钩介幼虫<sup>[5]</sup>。深入研究鳃腔育儿囊的胚胎学机理对实现胚胎体外培养具有重要意义<sup>[1,14]</sup>。国外有学者认为育儿囊能为胚胎发育提供部分营养物质,抵抗外界不良环境(如渗透压、污染物和 pH 等)的影响,以及在适宜的环境条件下排放成熟钩介幼虫<sup>[15]</sup>。背瘤丽蚌从受精卵到原肠早期各期胚胎在天然淡水中均不能成活,而原肠中期以后的胚胎虽能在天然淡水中成活发育,但均不能发育到钩介幼虫,说明背瘤丽蚌鳃腔育儿囊对维持胚胎渗透压稳定具有重要意义。至于背瘤丽蚌育儿囊的胚胎学机理及胚胎体外培养技术还有待研究。

**3.4 胚胎发育期的繁殖特征可以指导人工育苗** 根据怀卵母蚌容易流产的实际情况,在人工育苗生产中,配组水面不宜太大,吊养时要有一定深度,避免经常查蚌,使得亲蚌有相对稳定的环境。人工采苗时,无须杀死母蚌,可以用阴干刺激法,获得成熟钩介幼虫。背瘤丽蚌鳃颜色随着胚胎发育的进程而逐渐加深,根据鳃的颜色可判断胚胎发育进程。在繁殖季节,根据发育进程的个体差异,开壳检查胚胎发育会造成未成熟的母蚌流产。当查到外鳃呈黄色、内鳃棕黄色,表明胚胎已发育成熟,此时若用探针的尖端在孕育鳃刺挑出少许钩介幼虫,挑出的钩介幼虫能粘连成链丝者,应及时用于采苗。

## 参 考 文 献

[1] 张根芳,方爱萍,李家乐.淡水蚌类繁殖生物学研究进

展.水产学报,2005,29(4):560~564.

- [2] 石安静.背角无齿蚌生殖细胞及钩介幼虫的扫描电镜观察.动物学杂志,1995,30(1):10~14.
- [3] 杨学芬,龚世园,张训蒲等.绢丝丽蚌胚胎发育的研究.水生生物学报,1999,23(4):359~365.
- [4] 王宏,白志毅,李家乐等.三角帆蚌胚胎在外鳃育儿囊内形态变化初步研究.上海水产大学学报,2007,16(3):219~224.
- [5] 余颖,洪一江,邱齐骏等.池蝶蚌胚胎发育与繁殖季节性腺的观察.动物学杂志,2008,43(3):102~107.
- [6] 刘月英,张文珍,王跃先等.中国经济动物志——淡水软体动物.北京:科学出版社,1979,68~132.
- [7] 朱胜英,张忱.黄泥湖丽蚌资源调查初报.安徽农业科学,2000,28(1):101~103.
- [8] Hoggarth M A. Determination of anterior-posterior orientation of glochidia by the examination of glochidial valves present within the umbos of juvenile *Unionid* clams (Mollusca: Bivalvia). *Ohio J Sci*, 1987, 87(3):93~95.
- [9] 吴小平,梁彦岭,王洪铸.蚌科钩介幼虫的比较形态学研究.四个种幼虫的形态.水生生物学报,1999,23(2):141~145.
- [10] 舒凤,吴小平.猪耳丽蚌的生物学研究.曲阜师范大学学报,2005,31(1):85~87.
- [11] 甘西.佛耳丽蚌的生物学研究.江西水产科技,1996,4:17~23.
- [12] 王玉凤,魏青山.刻裂丽蚌的繁殖生物学.华中农业大学学报,1994,13(2):170~174.
- [13] Aldridge D C, Mcivor A L. Gill evacuation and release of glochidia by *Unio pictorum* and *Unio tumidus* (Bivalvia: Unionidae) under thermal and hypoxic stress. *J Moll Stud*, 2003, 69:55~59.
- [14] 张根芳,王旦旦,方爱萍等.三角帆蚌怀卵期外侧瓣鳃结构初步研究.上海水产大学学报,2006,15(4):419~424.
- [15] Schwartz M L, Dimock R V. Ultrastructural evidence for nutritional exchange between brooding unionid mussels and their glochidia larvae. *Invertebrate Biology*, 2001, 120(3):227~236.

## 图 版 说 明

### 背瘤丽蚌胚胎发育的显微结构 ×100

1. 受精卵,示卵膜、卵周隙与第二极体; 2. 未受精已退化的成熟卵; 3. 2 细胞期; 4. 4 细胞期; 5. 8 细胞期; 6. 16 细胞期; 7. 32 细胞期; 8. 桑葚期; 9. 囊胚期; 10. 原肠早期; 11. 原肠中期,示原壳; 12. 原肠晚期,示铰合部、闭壳肌、内幼虫足丝; 13. 原肠晚期,原壳包被大部分胚胎; 14. 膜内钩介幼虫早期,示刚毛; 15. 膜内钩介幼虫晚期,示膜状结构与外幼虫足丝; 16. 钩介幼虫侧面观; 17. 钩介幼虫正面观; 18. 天然淡水中的囊胚,示细胞间隙模糊、组织膨胀与卵周隙缩小; 19. 卵膜破裂的膜内钩介幼虫; 20. 破裂的卵膜。

### Explanation of Plate

#### Microstructure of Embryonic Development of *Lamprotula leai* ×100

1. Fertilized egg, showing egg envelope, perivitelline space and the second polar body; 2. Unfertilized and degenerated mature egg; 3. 2-cell stage; 4. 4-cell stage; 5. 8-cell stage; 6. 16-cell stage; 7. 32-cell stage; 8. Morula stage; 9. Blastula stage; 10. Early-gastrula stage; 11. Middle-gastrula stage, showing protoconch; 12. late-gastrula stage, showing hinge, adductor muscle and inner byssus; 13. late-gastrula stage, a great part of embryo was incubated by the shell; 14. Early glochidia in membrane stage, showing setae; 15. Late glochidia in membrane stage, showing membrane structure and outer byssus; 16. Lateral view of glochidia; 17. Frontal view of glochidia; 18. Blastula embryo was immersed in freshwater, showing faint intercellular space, swollen tissue and reduced perivitelline space; 19. Glochidia in membrane, showing egg envelope broken down; 20. Broken egg envelope.

AM. 闭壳肌; EE. 卵膜; HG. 铰合部; IB. 内幼虫足丝; MS. 膜状结构; OB. 外幼虫足丝; PB<sub>2</sub>. 第二极体; PC. 原壳; PS. 卵周隙; ST. 刚毛。

AM. Adductor muscle; EE. Egg envelope; HG. Hinge; IB. Inner byssus; MS. Membrane structure; OB. Outer byssus; PB<sub>2</sub>. The second polar body; PC. Protoconch; PS. Perivitelline space; ST. Setae.

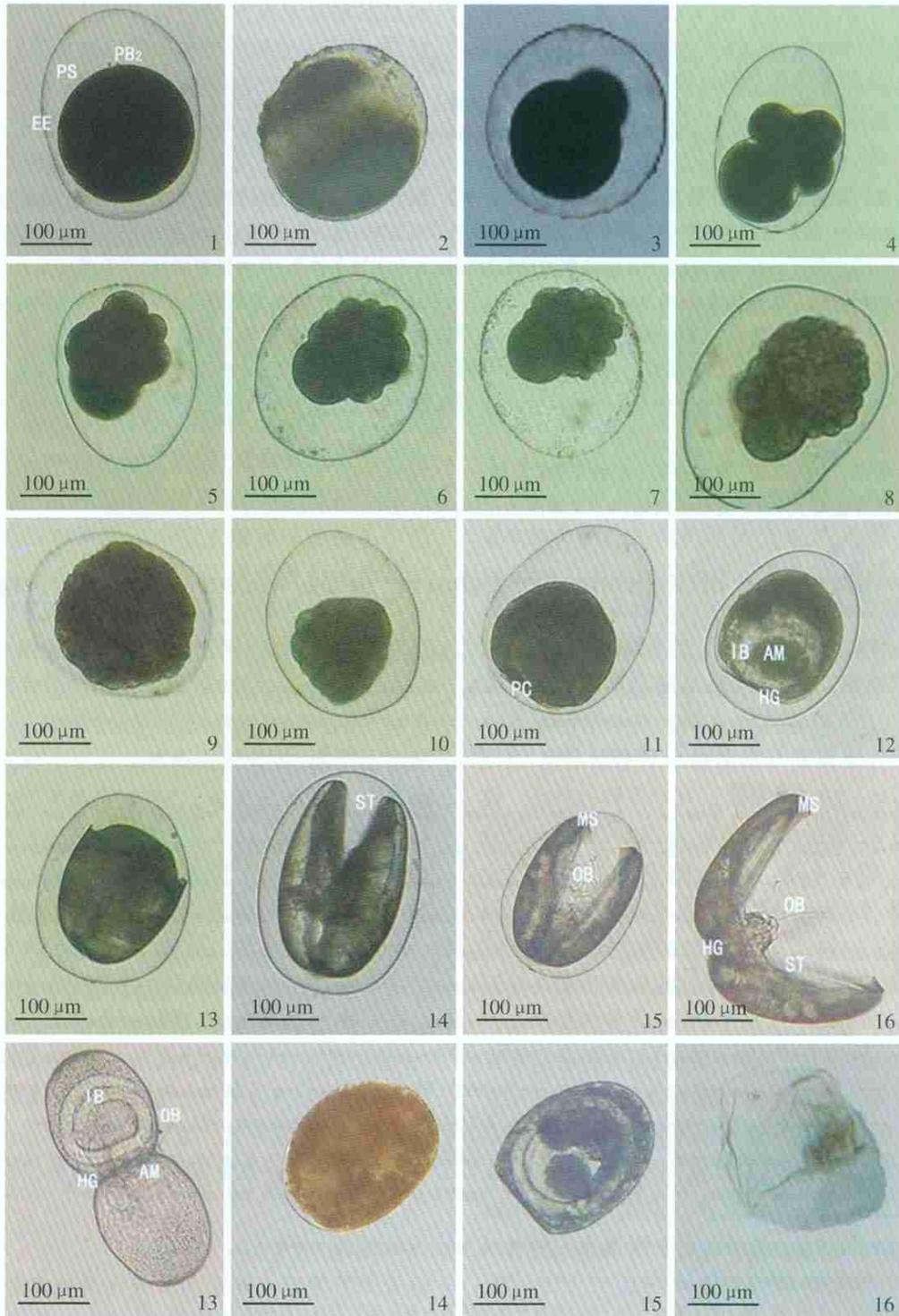
张根芳等:背瘤丽蚌胚胎发育的初步研究

图版

ZHANG Gen-Fang *et al.*: Preliminary Study on the Embryonic Development

of *Lamprotula lei*

Plate



图版说明见文后