

# 瘤背石磺的生殖系统和性腺发育

王金庆 成永旭\* 吴旭干 陈石林 王宗凯 滕炜鸣

(上海水产大学生命科学与技术学院 农业部种质资源与养殖生态重点开放实验室 上海 200090)

**摘要:** 2003年5~8月对瘤背石磺(*Onchidium struma*)的生殖系统结构和性腺发育进行了组织学研究。瘤背石磺生殖器包括两性腺、卵黄腺、蛋白腺。两性腺具有外管和内管,两管相连后通入蛋白腺,内管分支为收集管与腺泡相通。蛋白腺包括腺体部和分泌物两部分,中央为生殖输送管,蛋白腺具食指突和拇指突。性腺腺泡包括精子期腺泡、卵子期腺泡、精卵同泡和排空期腺泡4种类型。本文还对卵黄腺、受精囊、雄性交接器等结构进行了组织学观察,分析了精子和卵子的发育过程、运输路径。

**关键词:** 瘤背石磺;生殖系统;组织学;性腺

中图分类号:Q492 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2006)01-19-08

## Reproductive System and Gonadal Development of *Onchidium struma*

WANG Jin-Qing CHENG Yong-Xu WU Xu-Gan CHEN Shi-Lin WANG Zong-Kai TENG Wei-Ming

(Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Aquaculture Ecology of the Ministry of Agriculture, College of Aqua-life Science and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

**Abstract:** Histological characters of reproductive system and gonadal development of *Onchidium struma* were studied by using samples collected during May to August, 2003. Results show that genital organs of *O. struma* are composed of digenetic gonad, vitelline gland, and albumen gland. Digenetic gonad has inner duct and exterior duct exporting gametes. The two ducts join into albumen gland, and inner duct branches off to gonad follicle. Albumen gland includes gland itself and secretions and has two protuberances like forefinger and thumb respectively, between which gamete duct is in the center. There are 4 types of gonadal follicles at sperm developing stage, ova developing stage, synchronous sperm and ova developing stage, and degeneration stage, respectively. Histological characters of spermatheca, male mating organ and vitelline gland, etc were observed in detail, and developmental process and transportation route of spermatozoa and ova were also analyzed.

**Key words:** *Onchidium struma*; Reproductive system; Histology; Gonad

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),是我国本土特有的种类,作为一种具有重要营养医用和基础研究价值的物种,迫切要求开展该种类的人工养殖开发以满足市场的需求。目前,在崇明滩涂已经出现了大面积圈网围养石磺的粗放养殖基地,但是因受限于对其繁殖生物学基本资料的匮乏,一直不能从根本上解决在人工养殖过程中遇到的一些难

题,严重影响了对该资源的全人工养殖开发。生殖系统的结构特点和性腺发育知识是人

基金项目 上海市科委基础研究重点项目(No. 04JC14067),上海市农委重点攻关项目(沪农科攻字2005D4-3),上海市重点学科建设项目(No. Y1101),江苏省滩涂生物资源与环境保护重点建设实验室开放基金资助课题(No. JLCBE052002);

\* 通讯作者, E-mail: yxcheng@shfu.edu.cn;

第一作者介绍 王金庆,男,复旦大学生命科学学院博士研究生,研究方向:生物入侵生态学, E-mail: jinqwang@163.com。

收稿日期:2005-07-07, 修回日期:2005-12-01

工育苗的基础,然而关于石磺种类生殖系统组织学的研究资料十分缺乏,王金庆等初步分析了瘤背石磺生殖系统的基本结构<sup>[1]</sup>,Deshpande 等对沃氏石磺(*O. verruculatum*)两性腺的腺泡组织发育进行了报道<sup>[2]</sup>,Nanaware 等研究了受精囊的组织结构和内含物成分<sup>[3]</sup>。本文在生殖系统的组织结构、生殖细胞的产生运输过程、性腺的发育特征等方面进行了研究。

### 1 材料与方法

瘤背石磺于 2003 年 5 月采自崇明县北支大兴垦区潮间带滩涂(E121°51', N31°35'),体重 5~20.0 g,体长 4~8.0 cm,放置实验室塑料缸内饲养。在 2003 年 5~8 月的生殖高峰季节解剖 32 只性成熟前后的石磺样本,解剖镜下观察生殖器官的结构特征,将观察到的结果进行生物绘图。性腺各器官放入 Bouin's 液中固定 24.0 h,之后梯度酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋(56~58℃)连续切片,厚度 6~7.0 μm,HE 染色,树脂封片,用 Olympus 显微镜拍摄组织学照片,分析得出性腺腺泡的发育规律。

### 2 结果

**2.1 生殖系统构造** 瘤背石磺是雌雄同体、异体交配的卵生动物,生殖系统包括生殖器官和雌、雄交接器三部分。

**2.1.1 生殖器官和雌性交接器** 生殖器官由生殖腺、蛋白腺、卵黄腺三部分组成,位于内脏团的后方,肛门腔的前方。生殖腺是生殖管上皮向外突起形成,基本构成单位是腺泡,腺泡既可以产生精子也可以产生卵子,故生殖腺又称为两性腺,在成熟时为黄褐色。两性腺有外管和内管与蛋白腺相连(图 1),内管分支为三条弯曲的收集管,收集管继续分支通往每个腺泡;外管为整个两性腺表膜引出的小管,生殖季节该小管充盈,末端骤然变细与内管连接,之后一起通入蛋白腺。外管和内管功能均为收集跌落到腺泡外的生殖细胞进入蛋白腺,两者之间的功能差异尚不清楚。在解剖过程中内管大多完全充满精子束(图版 I:1)数量巨大,精子受到

外源物质(如水分)激发会开始摆动。

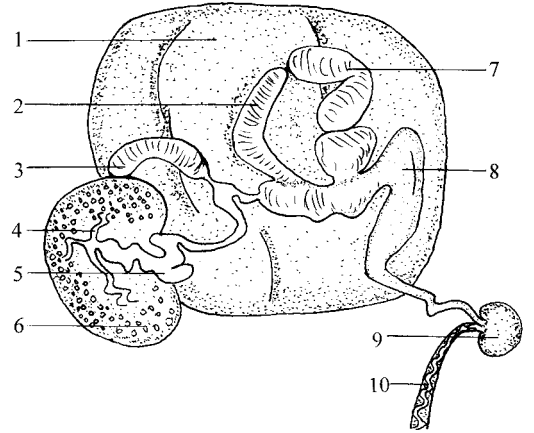


图 1 瘤背石磺的生殖腺和雌性交接器

Fig.1 Genital organs and female mating organs

- 1. 卵黄腺; 2. 食指突; 3. 外管; 4. 收集管;
- 5. 内管; 6. 两性腺; 7. 拇指突;
- 8. 肥胖螺旋结构; 9. 受精囊; 10. 阴道。
- 1. vitelline gland; 2. forefinger-like protuberance;
- 3. exterior duct; 4. collecting duct; 5. inner duct;
- 6. digenetic gland; 7. thumb-like protuberance;
- 8. bulky helix; 9. spermatheca; 10. vagina.

从蛋白腺外观来看,前半部分主要结构类似食指和拇指形态,称为食指突和拇指突(图 1),后半部分为肥胖螺旋结构。肥胖螺旋结构逐渐变细与受精囊相连。蛋白腺乳白色,中央为生殖细胞输送管,管壁由单层高柱状纤毛上皮构成(图版 I:2,3),上皮细胞细长,细胞核位于具纤毛一侧,纤毛非常发达,通过纤毛的摆动输送精子和卵子进入受精囊;蛋白腺组织学切片显示腺体内部较为一致,分化为明显的两个宽阔区域,HE 染色分别呈现红色、蓝色,红色区域是由扁球性腺体细胞围成的管道(图版 I:4),为分泌部,蓝色区域为分泌部分泌的嗜碱性的长条纤维状物质,包围着中央生殖输送管(图版 I:2),生殖细胞输送管道只存在于蓝色区域,由蓝色嗜碱性分泌物包被,分泌物可能对内含的精子、卵子及受精过程具有重要的生理作用。

卵黄腺活体为粉红色,富含大量的脂滴(图版 I:5),将两性腺和蛋白腺包埋在其中,推测

主要作用是供应卵子和精子发育所需的脂类物质。本实验用的 Bouin's 液不能将富含脂肪的卵黄腺固定,进行石蜡切片的时候容易碎裂。雌性交接器包括阴道和受精囊,阴道内部为弯曲管道。受精囊是精卵结合的位置,囊壁由假复层柱状上皮细胞、结缔组织、肌肉组成,以及囊表层和囊腔内含物,内含物包括生殖细胞营养和激活物质,在不同的时期内含物中会有卵子、精子、卵囊和卵囊自发连接而成的单条卵带,这些组分可以单独存在,也可以同时存在于受精囊中,王金庆等对卵囊的结构进行了详细描述<sup>[4]</sup>。

**2.1.2 雄性交接器** 雄性交接器包括交接囊、固定器和刺激器,刺激器连接雄性附性腺<sup>[1]</sup>。雄性附性腺为细长的白色盲管折叠盘绕而成,性成熟时非常发达,展开后长度为体长的3倍还多,雄性附性腺末端先变细、后变粗通入交接囊,开口于刺激器,刺激器是几丁质的细长的针状结构<sup>[1]</sup>。组织观察表明,附性腺盲管的中部管壁平滑,管壁内层为环肌,外层为大分泌细胞堆积,核大,圆球形,内部充满嗜碱性腺液,而在管末端,内壁多嵴和凹陷,刺激器的输出物为嗜碱性颗粒,类似盲管中发育成熟期的物质。

固定器为螺旋状软骨质结构,富有韧性和弹性,外面包绕纵平滑肌结构的外管(图版 I:8)。固定器管壁内部由多边形石榴状细胞紧密无序的堆积而成,细胞核大,功能类似哺乳动物的软骨细胞,固定器内腔壁为单层柱状细胞整齐的排列而成,管腔内有许多纤毛状物质。固定器外管前端连接交接囊,前段为宽螺旋状,中段为稍细的密螺旋状,再向体后为直管,末端悬挂在体后端右侧的体壁上,通入体壁后可能与血管相连,固定器外管上有橙黄色管缠绕,橙黄色管前端中止于交接囊腹侧,后端在靠近固定器外管末端约5 mm处通入固定器;橙黄色管横切显示管腔为多角形截面,腔内物质与固定器内腔物质类似(图版 I:7),管壁为单层高柱状纤毛上皮,纤毛朝向管腔一侧,细胞核靠近管外壁,外层是环肌。在交配时交接囊外翻,伸出固定器和刺激器。

**2.2 性腺腺泡发育规律** 整个腺泡在初始时期为发育一致的上皮组织形态,在不同时期腺泡的发育趋势不同,表现为4种情况(1)精子发育腺泡(图版 II:1)(2)卵子发育腺泡(图版 II:2)(3)精卵同步发育腺泡(图版 II:3)(4)衰退期腺泡(图版 II:4)。其中第三种腺泡为性腺中最普遍的情况,整个繁殖季节内表现为雄性先熟,之后雌雄同步发育,后期卵子排空后腺泡中精子重新占据优势,但整个腺泡生殖细胞退化消亡。

**2.2.1 精子的发生** 在精子发生期,自腺泡的表层到腺泡中央,生精细胞依次发育为精原细胞、初级精母细胞、次级精母细胞和精子细胞,或是夹杂在卵细胞间隙或是独自与支持细胞聚集在一起构成上皮状态(图版 II:6)。精原细胞和精母细胞直径较小,精原细胞只有7  $\mu\text{m}$ ,核质界限模糊,初级精母细胞分裂为次级精母细胞时细胞直径增大,达到15  $\mu\text{m}$ ,精子细胞核区深色,质区透明,之后变为精子。精子或是头部在一个平面排布,或是头部集结围成圆、尾部放射状排列。腺泡实质为收集小管的盲管末端,为结缔组织所包被,管壁内的上皮细胞即分化为生殖细胞,通过收集小管进入蛋白腺中贮存。收集小管管壁纤毛发达,随着纤毛的节律性摆动精子被大批量运输到蛋白腺。瘤背石磺的精子全长为430  $\mu\text{m}$ ,头部小呈弯月形,长约5  $\mu\text{m}$ , $\Phi$ 0.2  $\mu\text{m}$ ;尾段细长,呈波浪形弯曲。精子多数尾部盘绕在一起,头部摆动前进,活动能力较差,数量相当巨大。

**2.2.2 卵子的发生** 腺泡上皮的成卵细胞很小,约为15  $\mu\text{m}$ ,之后发育为初级卵母细胞(30  $\mu\text{m}$ ),核大,细胞质卵黄少,也称为无卵黄卵母细胞,初级卵母细胞和成卵细胞核区及胞质比例相等。初级卵母细胞吸收营养,细胞直径达到75  $\mu\text{m}$ ,卵黄大量增加,由于细胞的挤压,形状成为多边形、球形或者是椭球形,胞质超过细胞核,核区依然非常明显。继而,卵母细胞发育为卵细胞,细胞大小没有很大变化,但核区不再明显。卵细胞跌落到腺泡中央,进入收集小管。腺泡内过剩的未及时排出的卵子营养被其余卵

细胞吸收,开始退化变小,成为圆球形(图版 II: 5)。

卵子和精子同处于收集小管内,卵子为大量精子包围,切片显示,卵子在收集小管内能够开始减数分裂,可以看到两极的中心粒上放射状的纺锤丝(图版 I 16)。卵子圆球状  $\Phi$  75 ~ 88  $\mu\text{m}$ ,核大 37.5  $\mu\text{m}$ ,嗜碱性。

### 3 讨论

**3.1 两性腺和生殖细胞的运输** 石磺是雌雄同体、异体交配的繁殖方式<sup>[1,2,5-8]</sup>,在繁殖季节的不同时期两性腺腺泡可以产生精子或者卵子。而比较进化的种类,如多角海牛,精子和卵子分别由精泡和卵泡产生<sup>[9]</sup>。沃氏石磺发育表现为雄性首先成熟,在生殖高峰时期雌雄发育是同步的,后期精子发生占优势,但表现为生殖细胞的退化<sup>[2]</sup>。石磺和泥螺很相似,均为雄性先熟,精卵由两性腺产生,是比较原始的雌雄同体的种类。

在两性腺外表面和每个腺泡的中央都有导管连接,随后汇集到蛋白腺内的中央生殖输送管道。两性腺的腺泡中生殖细胞发育成熟之后,可以通过腺泡中央的内管输出,但腺泡上皮此时易破裂,必然有大量的生殖细胞会跌落到腺泡以外的两性腺的组织间隙,仅通过内管的输送是不够的,外管可能起到收集两性腺内腺泡外的配子的作用。外管和内管最后连通,也足以说明两者之间仅存在上述差别。解剖时多数情况下两个管道内存在大量精子,也可以存在卵子并且进行分裂。在受精囊内也存在精子、卵子、受精卵以及发育雏形的卵带<sup>[1,3]</sup>。受精囊内的精子是从自身的生殖输送管排入的,异体交配输入精子的可能性很小<sup>[1]</sup>。Smith 报道石磺交配表现为偶然相遇的结果而没有特殊的行为模式<sup>[10]</sup>,所以石磺虽然异体交配,却很可能是自体受精。众所周知,生物交配是为了增加基因的交流,Deshpande 曾指出雄性先熟可以让幼体迅速参与交配,从而让种群获得最大的基因变化<sup>[2]</sup>;所有资料都认为石磺是异体交配、异体受精\*,但并未进行深入探讨。从进化

角度看,如果石磺是自体受精,那么异体交配是没有意义的,在枝角类中存在有性生殖和孤雌生殖互相转换的情况,这是由环境状况决定的<sup>[11]</sup>。石磺的繁殖方式可能具有相似的情况。

**3.2 附属腺营养和性腺发育** 海洋潮间带生物中许多种类在生殖腺和体细胞中贮存生物能量,在生命循环的不同阶段使用,所以生物在不良的环境条件下仍然能成功的生存和繁殖,而在生殖循环期间的营养贮存和利用的模式主要决定于生殖方式<sup>[6]</sup>。石磺的附属性别器官贮存有糖原、碳水化合物主要是保证额外的胚胎液体的分泌,不同的附属性别器官对卵子的形成提供不同的物质<sup>[6]</sup>。瘤背石磺的附属性腺较多,包括卵黄腺、蛋白腺和雄性附性腺;卵黄腺主要含有脂肪,由于紧贴两性腺,可能主要是为两性腺发育和生殖细胞的成熟提供营养;蛋白腺包绕生殖输送管,生殖管道腔上皮游离面均具有纤毛,从而利于生殖细胞的运输;蛋白腺存在食指突和拇指突,在蛋白腺内存在嗜酸性的红色区域和嗜碱性的蓝色区域,嗜酸性区域为腺体部,嗜碱性区域主要是腺体部的分泌物,位于生殖管壁外部对受精作用和精子激活具有重要作用。雄性附性腺分泌物注入受精囊,对受精卵和胚胎发育提供营养,因雄性交接器不具有输精作用,本文将螺旋形交接器称为固定器,而与王金庆 2005 年的研究不同<sup>[1]</sup>。

Deshpande 将卵子发育分为无卵黄生成卵母细胞、卵黄生成卵母细胞、卵黄生成后卵母细胞和退化的卵子,并按照各种卵母细胞在腺泡中所占的比例将其分为 4 期,对精子则是通过组织切片特征进行分类<sup>[2]</sup>。本文采用 Deshpande 的方法对卵子发育进行分析,而对精子发育则根据组织学资料<sup>[12,13]</sup>辨认了精原细胞、初级精母细胞、分裂象、次级精母细胞、精子细胞和精子的特征,将腺泡发育分为精子期、卵子期、精卵混合期以及排空期。石磺精子长度极长,为蛤仔的 7 倍还多<sup>[14]</sup>,Healy<sup>[15]</sup>采用电镜观察了石磺精子的超微结构,指出其结构与基眼目的菊花螺

\* saudiarancomworld.com/issue/199103/in\_ham\_s\_way.htm.

属精子最相似。限于采样时间局限于在繁殖盛期的 6~7 月内,不能很好地分析性腺发育规律,进一步弄清石磺的生殖规律还有待于更深入细致的研究工作。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] 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.
- [ 2 ] Deshpande U D, Nagabhushanam R. Annual reproductive cycle of the marine pulmonate, *Onchidium verruculatum* (Cuvier) and its control by environmental factors. *Indian Journal of Marine Sciences*, 1983, 12(2):122~124.
- [ 3 ] Nanaware S G, Gonjari G R. Studies on the reproductive physiology of molluscs: 6. Histochemical observations on the mucosubstances of spermatheca of marine slug *Onchidium verruculatum* (Cuv.). *Comparative Physiology and Ecology*, 1989, 14(3):149~154.
- [ 4 ] 王金庆,成永旭,吴旭干.瘤背石磺的胚胎和幼虫发育.上海水产大学学报,2005,14(2):108~115.
- [ 5 ] 黄金田,沈伯平,王资生.瘤背石磺的生态习性观察.海洋渔业,2004,26(2):103~109.
- [ 6 ] Deshpande U D, Nagabhushanam R. 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*, 1982, 72(3):227~234.

- [ 7 ] Deshpande U D, Nagabhushanam R, Hanumante M M. Reproduction ecology of the marine pulmonate, *Onchidium verruculatum*. *Hydrobiologia*, 1980, 71(1-2):83~85
- [ 8 ] 邱立言.苏沪沿海瘤背石磺的形态和习性.动物学杂志,1991,26(3):33~36.
- [ 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.
- [ 10 ] Smith A, Kenny R. Reproduction and development of *Onchidium damelii* Semper, 1882. *Malac Soc Aust*, 1987(8):37~39.
- [ 11 ] 陈明耀主编.生物饵料培养.北京:中国农业出版社,1990,10.
- [ 12 ] 齐易祥.实用组织学与胚胎学(第三版).安徽:中国科学技术大学出版社,1993.
- [ 13 ] 楼允东主编.组织胚胎学(第二版).北京:中国农业出版社,1996,192~193.
- [ 14 ] 齐秋贞.菲律宾蛤仔的生活史.水产学报,1987,11(2):111~118.
- [ 15 ] Healy J M. Electron microscopic observations on the spermatozoa of a marine "pulmonate" slug, *Onchidium damelii* (Gastropoda, Onchidiacea). *J Submicrosc Cytol*, 1986, 18(3):587~594.

## 图版 I 说明

1. 内管管壁和管内精子的状态×1 000; 2. 蛋白腺内生殖输送管整体结构,管壁外侧为碱性的分泌物×200; 3. 蛋白腺内生殖输送管管壁,管壁细胞为单层柱状纤毛上皮×400; 4. 蛋白腺内扁球形腺细胞构成的折叠管状腺体,细胞核位于细胞的一侧×200; 5. 卵黄腺活体显微照片,显示含有大量脂肪滴×400; 6. 收集管中的卵子被大量精子包围,卵子开始减数分裂,位于两极的放射状纺锤丝清晰可见×1 000; 7. 固定器外黄管横切,管腔切面为多角形×100; 8. 固定器纵切,管壁为多边形石榴状细胞堆积×400。

## Explanation of Plate I

1. The wall of inner duct and spermic morphology in the duct×1 000; 2. The gamete duct in center of albumen gland, out of the wall is alkaline secretion×200; 3. The wall of the gamete duct is simple columnar ciliated epithelium×400; 4. Albumen gland is folded secretory tubule made of flat global cells, nucleolus locate in the side of cells×200; 5. Microphotograph of vivisected vitelline gland, showing abundant fatty granule×400; 6. Ova surrounded by abundant spermatozoa are in meiosis, spermatozoa into ova cause reaction of it, polar centrioles and emitting fiber can be seen×1 000; 7. The yellow tube of mating organ, showing cross section of tubule cavities are polygon; 8. Vertical section mating organ, showing the wall of organs is piled up by cells like megranate seeds×400.

## 图版 II 说明

1. 精子发育期腺泡  $\times 400$  ; 2. 卵子发育期的腺泡  $\times 400$  ; 3. 精卵同步发育期腺泡  $\times 800$  ; 4. 已经排空的腺泡 , 但精子依然在腺泡中占优势  $\times 100$  ; 5. 精子的发生  $\times 800$  ; 6. 卵子的发生  $\times 800$ 。

Sg. 精原细胞 ; PS. 初级精母细胞 ; M. 初级精母细胞分裂象 ; SS. 次级精母细胞 ; Sp. 精子细胞 ; S. 精子 ; VO. 卵黄生成的卵子 ; Ob. 成卵细胞 ; AO. 无卵黄生成卵母细胞 ; VO. 卵黄生成的卵子 ; PO. 卵黄生成后卵母细胞 ; DO. 正在退化的卵母细胞。

## Explanation of Plate II

1. The follicle of spermatozoa developing stage  $\times 400$  ; 2. The follicle of ova developing stage  $\times 400$  ; 3. The follicle of synchronization developing stages of spermatozoa and ova  $\times 800$  ; 4. The follicle of degeneration stage , but spermatozoa dominates  $\times 100$  ; 5. Spermatogenesis  $\times 800$  ; 6. Oogonium  $\times 800$ .

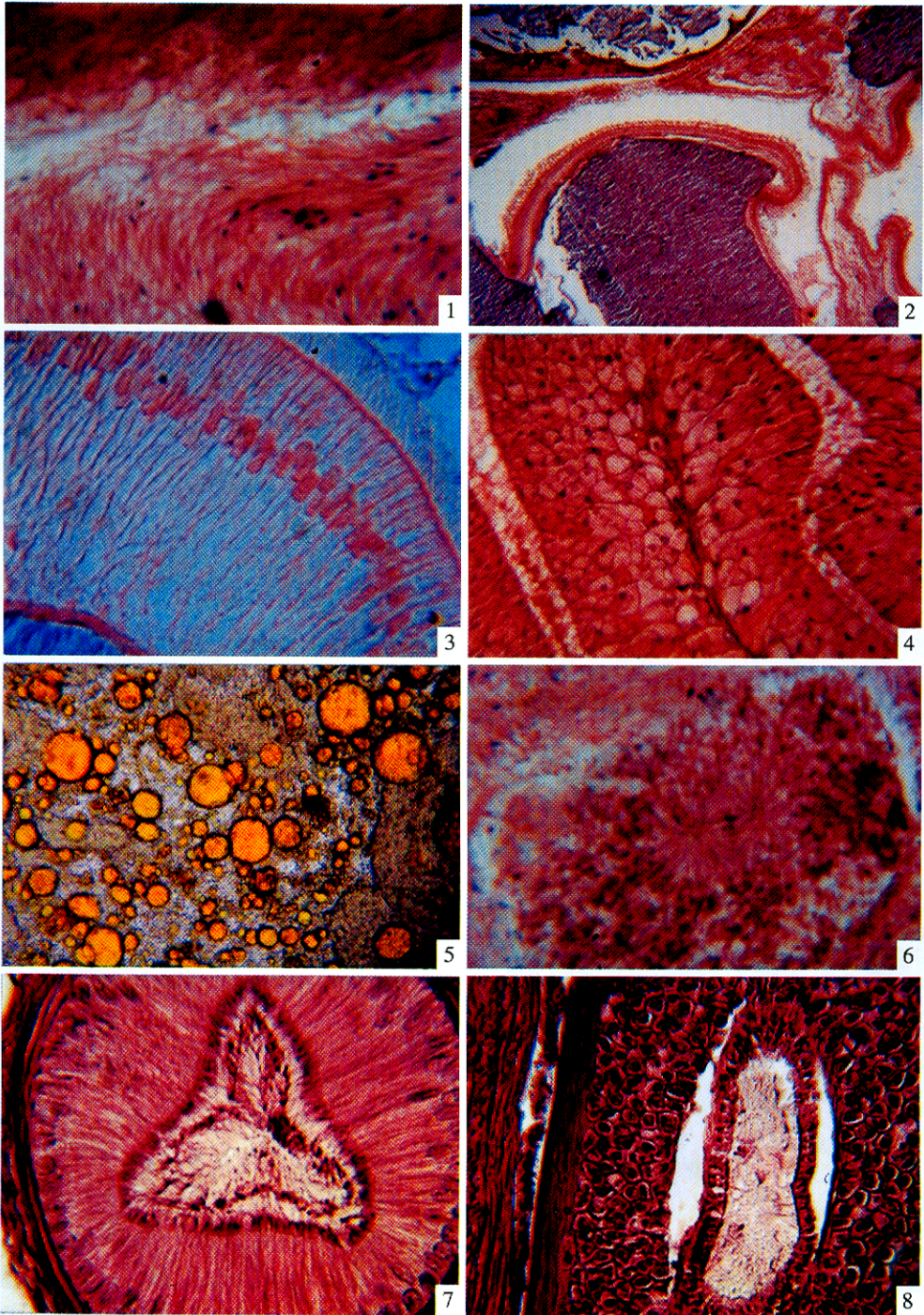
Sg : spermatogonium ; PS : primary spermatocyte ; M : primary spermatocyte metaphases ; SS : secondary spermatocyte ; Sp : spermatium ; S : spermatozoa ; VO : vitellogenic ova ; Ob : ooblast ; AO : avitellogenic oocytes ; VO : vitellogenic ova ; PO : postvitellogenic ova ; DO : degenerating ova.

王金庆等:瘤背石磺的生殖系统和性腺发育

图版 I

WANG Jin-Qing *et al.*: Reproductive System and Gonadal Development  
of *Onchidium struma*

Plate I



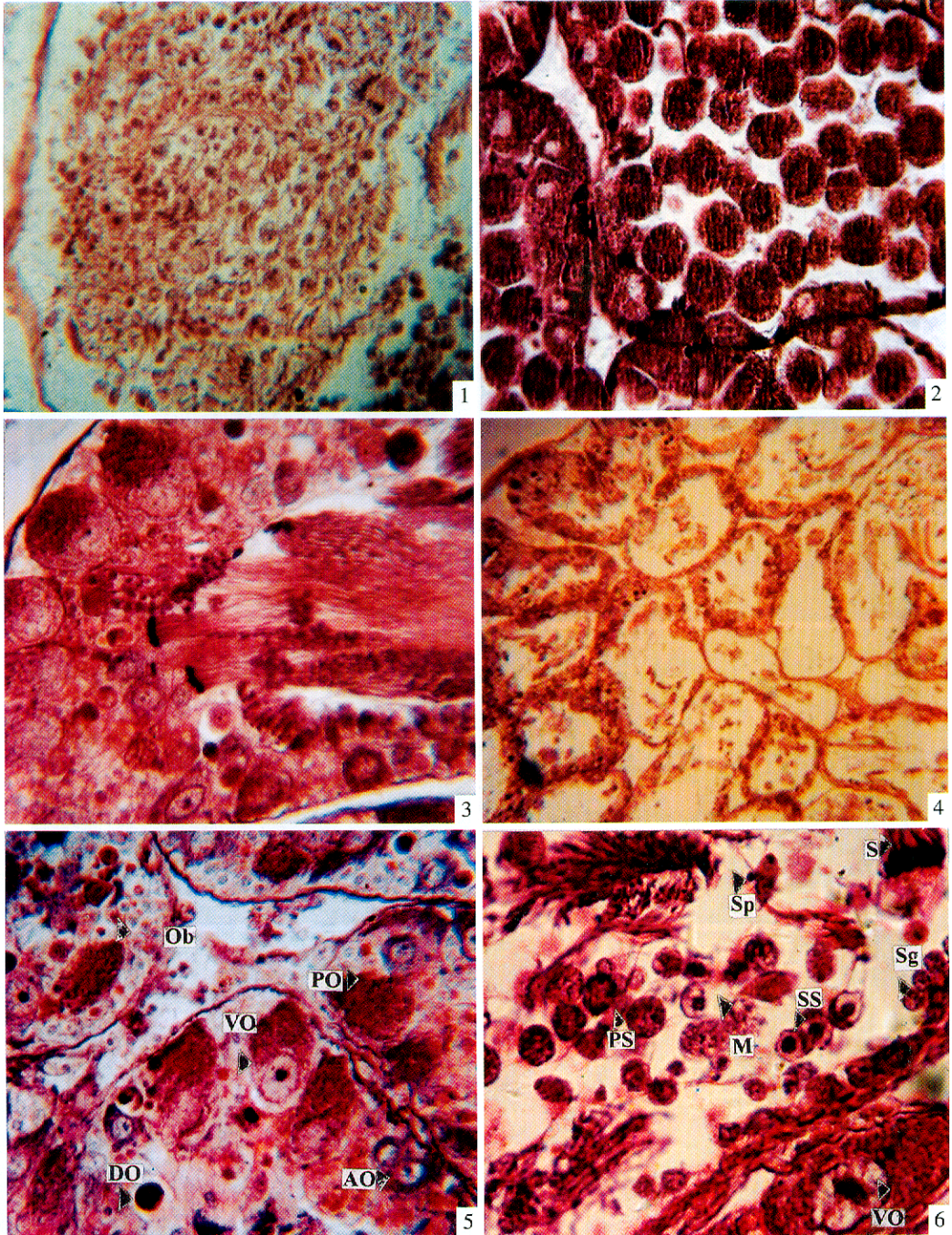
图版说明见文后

王金庆等:瘤背石磺的生殖系统和性腺发育

图版 II

WANG Jin-Qing *et al.* : Reproductive System and Gonadal Development  
of *Onchidium struma*

Plate II



图版说明见文后