

文章编号: 1004-7271(2006)04-0419-06

## 三角帆蚌怀卵期外侧瓣鳃结构初步研究

张根芳<sup>1</sup>, 王旦旦<sup>2</sup>, 方爱萍<sup>2</sup>, 李家乐<sup>3</sup>

(1. 金华职业技术学院生物工程学院, 浙江 金华 321007;

2. 金华市威旺养殖新技术公司, 浙江 金华 321017;

3. 上海水产大学农业部水产种质资源与养殖生态重点开放实验室, 上海 200090)

**摘要** 对怀卵期三角帆蚌的外侧瓣鳃分别从水平、横、纵等三个方向作组织切片, 利用光镜观察其组织形态结构。结果显示, 在怀卵期外侧瓣鳃增至  $(2\ 876.77 \pm 123.58)\ \mu\text{m}$ , 两鳃小瓣之间被鳃间隔分成许多鳃小腔, 其宽度为  $(474.06 \pm 32.01)\ \mu\text{m}$  (纵切)  $(410.74 \pm 70.69)\ \mu\text{m}$  (水平切)。瓣间隔的厚度为  $(244.92 \pm 17.23)\ \mu\text{m}$  (纵切)  $(288.80 \pm 35.16)\ \mu\text{m}$  (水平切)。从横切面观察, 瓣间隔又由横向隔板组成瓣间隔孔, 隔板宽度为  $(309.2 \pm 50.56)\ \mu\text{m}$ , 两隔板间的孔宽度为  $(365.22 \pm 37.74)\ \mu\text{m}$ 。鳃小腔通过瓣间隔孔而互相连通, 从而形成鳃腔育儿囊。同时还观察到: 在胚胎发育初期, 受精卵被粘液状物质包裹, 随着孵化的进行包裹物逐渐消失。

**关键词** 三角帆蚌; 鳃腔育儿囊; 鳃小瓣; 受精卵

中图分类号 S 917 文献标识码: A

## Preliminary study on outside lamina structure of *Hyriopsis cumingii* during egg-bearing period

ZHANG Gen-fang<sup>1</sup>, WANG Dan-dan<sup>2</sup>, FANG Ai-ping<sup>2</sup>, LI Jia-le<sup>3</sup>

(1. Dept. of Animal Engineering, Jinhua College of Profession and Technology, Jinhua 321007 China;

2. Jinhua WELLWANT New Aquaculture Tech. Co., Lt., Jinhua 321017 China;

3. The Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Aquacultural Ecology Certificated by Ministry of Agriculture, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

**Abstract:** The outside laminae of *Hyriopsis cumingii* were cut during egg-bearing period into three sections: horizontal, cross and vertical sections and the structures of its organization were observed through microscope. The result shows that the outside lamina during reproduction increased to  $(2\ 876.77 \pm 123.58)\ \mu\text{m}$  and two lamellae were separated by the interlamellae junction into lots of small gill cavities with the width of  $(474.06 \pm 32.01)\ \mu\text{m}$  in vertical direction and  $(410.74 \pm 70.69)\ \mu\text{m}$  in horizontal direction. The thickness of the interlamellae junction is  $(244.92 \pm 17.23)\ \mu\text{m}$  in vertical direction and  $(288.80 \pm 35.16)\ \mu\text{m}$  in horizontal direction. Observed from the cross section, it was found that the interlamellae junction holes were formed by the crosswise partition boards of the interlamellae junction, with the width of  $(309.2 \pm 50.56)\ \mu\text{m}$ . The hole width between two partition boards was  $(365.22 \pm 37.74)\ \mu\text{m}$ . The small gill cavities were connected by the interlamellae junction hole, and thus the gill cavity where the pouch would be nurtured was formed. Simultaneously, it was also observed that during the primitive

收稿日期 2006-05-16

基金项目 浙江省自然科学基金(Y304397); 上海市科委基础重点项目(03JC14063); 上海市重点学科建设项目(Y1101)

作者简介: 张根芳(1962-), 男, 浙江金华人, 教授, 主要从事河蚌育珠和蚌病防治技术的研究。Tel: 0579-2065738, E-mail: info@

wwpearl.com.cn

通讯作者: 李家乐, E-mail: jlli@shfu.edu.cn

period of embryonic development, the zygote was covered by some sticky substance which gradually disappeared with the process of hatching.

**Key words** : *Hyriopsis cumingii*; the gill cavity to nurture the pouch; lamellae; zygote

三角帆蚌卵子在母蚌鳃腔内完成受精和胚胎发育,到了钩介幼虫期则寄生到鱼体,最终发育成幼蚌潜入水底自由生活<sup>[1]</sup>。淡水育珠蚌人工繁殖(实际是钩介幼虫人工采集)生产已有几十年历史,因多年来的近亲繁殖,多次留种,导致品种退化,已严重影响到珍珠的产量和质量<sup>[2]</sup>。随着淡水育珠业的发展,蚌种选育工作迫在眉睫。淡水蚌类繁殖生物学研究已有一些报导<sup>[3-10]</sup>,早期研究主要从三角帆蚌的一般器官组织学开始<sup>[11]</sup>,如对褶纹冠蚌鳃和鳃组织的电镜观察<sup>[12,13]</sup>。此后,对钩介幼虫的比较形态学研究和受精细胞学观察<sup>[14-16]</sup>,已经涉及到形态学和繁殖生物学内容。但是对三角帆蚌鳃腔作为“育儿囊”在繁殖期的解剖学和组织结构研究还未见文献报导。

三角帆蚌的鳃由两对片状瓣鳃组成,通过对雌蚌外侧瓣鳃在繁殖期的组织结构研究,进一步探索鳃腔“育儿囊”繁殖生物学作用,是揭示蚌类“鳃腔育儿”机理的第一步。它所提供的蚌类繁殖生物学基础资料,可为珍珠蚌体外人工授精、胚胎发育技术研究奠定基础,对实现三角帆蚌全人工繁殖具有重要意义。

## 1 材料与方法

### 1.1 怀卵的三角帆蚌采集

从威旺公司生产基地采集成熟、怀卵的5个三角帆蚌母蚌样品。将取回的怀卵母蚌用开口器将蚌壳张开,再用开口塞插入两蚌壳间,使其呈开口状态,然后将其放在已配置好的10%的甲醛溶液内,浸泡2 d。

### 1.2 鳃组织固定、切片

取出经固定的怀卵母蚌于解剖盘内,用经过消毒的解剖刀小心地将外套膜与蚌壳分开,最终将内脏团与蚌壳分离。然后用解剖刀与镊子将其内脏团与鳃瓣分离。取下瓣鳃,并将外鳃切成1 cm见方,放在已配制好的Bouin's液内。组织切片由金华市中医院病理科协助,在切片的过程中,将每一瓣鳃分别按横向、纵向、水平三个方向进行切片(厚度为3~5  $\mu\text{m}$ ),H.E染色,光镜观察。

## 2 结果

### 2.1 外鳃增厚、鳃小瓣厚度基本不变

三角帆蚌有两个外鳃,每个鳃瓣由内、外鳃小瓣(lamellae)构成,并在腹缘愈合,背缘外小瓣与外套膜相连构成鳃上腔(suprabranchial chamber)。鳃小瓣内腔被瓣间隔分成许多鳃小腔(鳃水管),怀卵鳃的空腔中充满受精卵(图版-1)。在阳光下观察,肉眼可见受精卵充满瓣间隔的小腔,此时整个外鳃厚度增至 $(2\ 876.77 \pm 123.58) \mu\text{m}$ ,其颜色较未怀卵鳃小瓣颜色略浅。对鳃小瓣而言纵向切片和横向切片在鳃小腔处测量鳃小瓣的厚度是基本一致的,为 $(247.48 \pm 12.98) \mu\text{m}$ 。

### 2.2 两丝间隔之间的空隙形成了入鳃水孔

鳃小瓣表面由一列列凸起的鳃丝构成(图版-2),鳃丝的平均宽度为 $(38.44 \pm 2.50) \mu\text{m}$ ,鳃丝间距为 $(31.73 \pm 2.68) \mu\text{m}$ 。两列鳃丝之间每隔一定距离有一丝间隔(图版-3)相连接,其表皮主要由单层柱状上皮细胞组成,内部填充结缔组织构成,并内含血管或血窦。丝间隔在水平方向排列整齐,相邻两丝间隔的距离为 $(291.2 \pm 31.50) \mu\text{m}$ (表1)。

表 1 瓣鳃、鳃小瓣和鳃丝的测量统计结果

Tab.1 Measure and statistics to lamina, lamellae and branchial filaments

组织名称	测量次数					平均值 ( $\mu\text{m}$ )	标准差 SD
	L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>	L <sub>3</sub>	L <sub>4</sub>	L <sub>5</sub>		
外鳃厚度	2 892.9	2 691.4	3 046.0	-	-	2 876.77	123.58
两丝间隔的距离	259.7	322.7	-	-	-	291.20	31.50
鳃丝间距	36.8	28.0	32.0	30.1	-	31.73	2.68
鳃小瓣的厚度(水平)	226.3	248.0	279.4	242.6	241.1	247.48	12.98
鳃丝宽度	40.3	41.2	38.5	32.2	40.0	38.44	2.50

从鳃小瓣表面纵向连续切片,笔者首次发现入鳃水孔实际上是丝间隔与丝间隔之间的空隙(图版-4),入鳃水孔的大小变化虽然较大,但基本呈长方形(120~125×30~60  $\mu\text{m}$ ),鳃水孔也可以从水平切片和横切片中观察到。

### 2.3 瓣间隔的特殊结构使一个个鳃小腔相互连通

鳃小瓣之间的整个鳃腔即通常所指的“育儿囊”,它由鳃间隔分成一个个的鳃小腔(有人称鳃水管),其宽度分别为(474.06±32.01)  $\mu\text{m}$ (纵切片观察值)(410.74±70.69)  $\mu\text{m}$ (水平切片观察值)。参见表2。

表 2 鳃小腔、瓣间隔和卵的测量统计

Tab.2 Measure and statistics to small gill cavities interlamellae junction and egg

组织名称	测量次数					平均值 ( $\mu\text{m}$ )	标准差 SD
	L <sub>1</sub>	L <sub>2</sub>	L <sub>3</sub>	L <sub>4</sub>	L <sub>5</sub>		
瓣间隔厚(纵切)	288.0	237.9	227.1	232.0	239.6	244.92	17.23
瓣间隔厚(水平)	263.8	279.2	235.5	353.0	312.5	288.80	35.16
瓣间隔孔宽(横切)	458.6	366.2	331.5	344.9	324.9	365.22	37.74
瓣间隔厚(横切)	394.6	283.0	233.9	284.3	350.2	309.20	50.56
瓣间隔宽(纵切)	394.7	478.4	473.4	492.1	531.7	474.06	32.01
鳃小腔宽(水平)	457.1	376.5	311.9	541.1	367.1	410.74	70.69
卵径	124.8	148.8	144.2	134.5	143.6	139.18	7.62

瓣间隔(图版-5 6)主要由单层柱状上皮组成,从纵向切片观察它将鳃腔分成每个宽 474  $\mu\text{m}$  的鳃小腔,瓣间隔的厚度为(244.92±17.23)  $\mu\text{m}$ (纵切片)(288.80±35.16)  $\mu\text{m}$ (水平切片)。瓣间隔厚度的 2~2.5 倍是鳃小腔的宽度。

从横向连续切片中,首次观察到瓣间隔孔的存在(图版-1)。鳃小腔之间并不是完全被隔断的。可观察到在瓣间隔部位,表现出从上到下的隔板结构,其宽度一般为(309.2±50.56)  $\mu\text{m}$ 。两隔板间的孔宽度在(365.22±37.74)  $\mu\text{m}$ 。瓣间隔孔的存在就使各鳃小腔之间相通了。根据观察到的这些结构,笔者模拟了鳃腔结构模式图,如图 1 所示。

### 2.4 鳃腔内不同发育期的受精卵

三角帆蚌鳃腔内的受精卵(图版-7 8),直径在(139.18±7.62)  $\mu\text{m}$ (表 2),同时可以观察到在发育之初,瓣间隔的柱状上皮细胞向卵细胞趋升,呈包裹之势,并有粘液细胞参与,使卵周围包裹一层粘液状物,等受精卵发育至多细胞或原肠期时,瓣间隔的上皮细胞恢复正常,卵周围的粘液状物也逐渐消失。

## 3 讨论

瓣鳃纲蚌科的淡水蚌类,其受精卵在鳃腔内进行胚胎发育,钩介幼虫又通过鱼体寄生才变态为稚蚌,这种繁殖方式在动物界独一无二。蚌的外鳃有三种功能:①呼吸;②滤食;③受精卵的发育场所(育儿囊)。

本研究通过连续切片首次发现在怀卵期三角帆蚌外鳃瓣有瓣间隔这一特殊结构,鳃腔被瓣间隔分割成一个个的小间,整个鳃腔又是相通的。而且,在瓣间隔孔中同样可以观察到受精卵的存在

(图版 5)。鳃小腔之间通过瓣间隔孔连成一个完整的鳃腔,在发育上是一个整体。因此,将其称为“鳃小腔”比“鳃水管”更合适。鳃腔的这一特殊结构,具有深刻的胚胎学意义。它的存在使鳃腔一直保持水流畅通,受精卵在其中发育能够保证充足的氧供给。

通过连续切片观察还发现,母蚌在繁殖期间鳃腔扩大,使鳃瓣加厚,而鳃小瓣的长度、表面的鳃丝基本不变。

在鳃小腔中,受精卵按一定方式排列,并被粘液状物质包裹,同时观察到瓣间隔的上皮细胞有明显向受精卵包围的倾向,但在受精卵发育到囊胚期后这些现象基本消失(图版-5.2)。卵周围的粘液状物很可能就象脊椎动物的卵壳和羊水一样,可以给卵的发育提供一个稳定的环境。是否还可以提供其它生物活性物质或胚胎发育的必要物质?尚有待于相关研究的证实。而这一问题的揭示,正是实现淡水蚌类真正意义上的人工繁殖所必须。

同样吴小平等<sup>[14]</sup>认为,圆顶珠蚌(*Unio douglasiae* Gray)中国尖脊蚌(*Acuticosta chinensis* Lea)的育儿囊中有胶质索,受精卵进入鳃水管后按一定

方式排列,并与鳃上皮细胞分泌的粘液粘合在一起,粘液硬化后形成“米粒”大小的胶质结构。但至少三角帆蚌的卵是无规则排列的,黏液状物和受精卵陷入上皮细胞的现象,其具体作用还有待研究。

Richard 等<sup>[17]</sup>曾报道无齿蚌在繁殖期间每个鳃水管被分隔成两个小的次级水管和一个大的孵化室,分隔很规则。本次研究观察发现三角帆蚌的鳃腔由瓣间隔分隔成许多鳃小腔,这种分隔也很有规律。同时,从鳃腔中卵的布局观察,母蚌在怀卵期间水流可以畅通。但是,在胚胎发育期间,育儿囊除提供水流和氧气以外,是否提供其他的必须物质和信息还有待进一步研究。

邓道贵曾报道<sup>[13]</sup>褶纹冠蚌外鳃除了具有发达的鳃水管外,鳃丝中还具有十分发达的小水管系统。这些小水管一方面增大了水流与鳃丝接触面积,有利于鳃更有效呼吸;另一方面在繁殖期间由于鳃水管大部分已形成孵化室,鳃瓣能利于他们为自己提供氧气。本研究没有发现三角帆蚌小水管系统的存在,是否两种蚌存在不同?还有待于进一步的研究。

由于不同的研究者观察鳃小瓣的鳃丝、鳃孔、鳃上腔、瓣间隔和丝间隔等结构,其测量的参数都有较大的变化。本次研究表明不同大小的个体,怀卵数量多少等都会导致差异存在。怀卵前后上述结构参数的变化,如果没有一定的统计学数据都是不能肯定的。在本次观察的实验中我们通过大量切片观察三角帆蚌怀卵期鳃的组织结构,其目的就是通过这些研究了解鳃腔育儿囊的组织结构,为珍珠蚌的真正人工繁殖打下基础。

#### 参考文献:

- [1] 刘月英,张文珍,王跃先,等. 中国经济动物志—淡水软体动物[M]. 北京:科学出版社,1979. 68-132.
- [2] 张根芳,方爱萍. 浙江省淡水珍珠产业化发展思考[J]. 中国渔业经济研究,2003,10(3):7-9.
- [3] 朱子义,龚世园,张训蒲,等. 绢丝丽蚌的繁殖习性研究[J]. 华中农业大学学报,1997,16(4):374-379.
- [4] 王玉凤,魏青山. 洞穴丽蚌的繁殖生物学[A]. 中国动物学会成立60周年纪念文集[C]. 北京:中国科学技术出版社,1994. 492-495.
- [5] 王玉凤,魏青山. 刻裂丽蚌的繁殖生物学[J]. 华中农业大学学报,1994,13(2):170-174.
- [6] 傅彩虹. 圆顶珠蚌育儿囊及钩介幼虫的研究[A]. 中国动物学会成立60周年纪念文集[C]. 北京:中国科学技术出版社,1994. 12

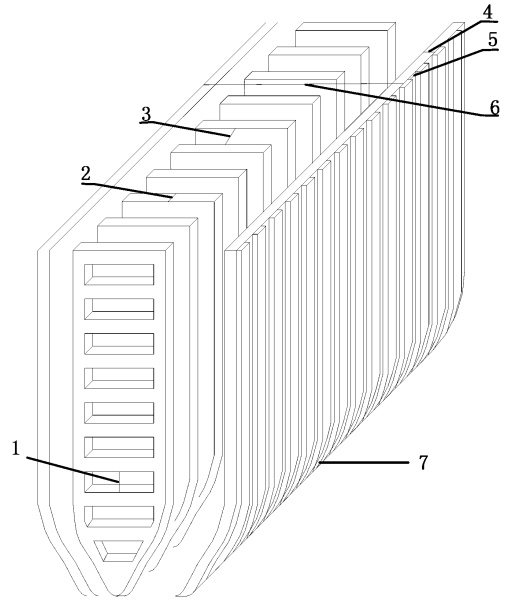


图 1 三角帆蚌外侧瓣鳃的结构模式

Fig.1 Structure model of outside lamina of *Hyriopsis cumingii*

- 1.孔宽度 2.瓣间隔厚度 3.瓣间隔的距离 4.鳃小瓣厚度;
- 5.相邻两丝间隔的距离 6.外鳃厚度 7.入鳃水孔近似长方形。

- 15.

- [ 7 ] Mark H H , Paul W P . Prehistoric and modern freshwater mussel ( bivalvia : unionoidea ) faunas of the Tennessee River : Alabama , Kentucky , and Tennessee [ J ] . Regulated Rivers : Research & Management , 1999 , 15 ( 1 - 3 ) : 25 - 42 .
- [ 8 ] Araujo R , Ramos M A . Status and conservation of the giant European freshwater pearl mussel ( *Margaritifera auricularia* ) ( Spengler , 1793 ) ( Bivalvia : Unionoidea [ J ] . Biological Conservation , 2000 , 96 ( 2 ) : 233 - 239 .
- [ 9 ] Hastie L C , Cosgrove P J , Ellis N , et al . The threat of climate change to freshwater pearl mussel populations [ J ] . Ambio [ Ambio ] , 2003 , 32 ( 1 ) : 40 - 46 .
- [ 10 ] Focarelli R , Renieri T , Rosati F . Polarized site of sperm entrance in the egg of a freshwater Bivalve *Unio elongatulus* [ J ] . Dev Biol , 1988 , 127 : 443 - 451 .
- [ 11 ] 蒋桂珍 , 邢 华 . 三角帆蚌的部分器官组织学初步观察 [ J ] . 鱼病简讯 , 1988 , 3 - 4 : 98 - 99 .
- [ 12 ] 欧阳珊 , 吴小平 , 舒凤月 , 等 . 淡水瓣鳃类鳃的扫描电镜观察 [ J ] . 南昌大学学报 ( 理科版 ) , 2000 , 24 ( 2 ) : 188 - 191 .
- [ 13 ] 邓道贵 , 李瑞之 . 褶纹冠蚌鳃的组织学和扫描电镜观察 [ J ] . 水产学报 , 2002 , 26 ( 4 ) : 301 - 306 .
- [ 14 ] 吴小平 , 梁彦龄 , 王洪铸 , 等 . 蚌科钩介幼虫比较形态学研究 I . 四个种幼虫形态 [ J ] . 水生生物学报 , 1999 , 23 ( 2 ) : 141 - 145 .
- [ 15 ] 吴小平 , 梁彦龄 , 王洪铸 , 等 . 蚌科钩介幼虫的比较形态学研究 II . 六个种幼虫的形态 [ J ] . 水生生物学报 , 2000 , 4 ( 3 ) : 252 - 256 .
- [ 16 ] 陈竟春 , 石安静 . 椭圆背角无齿蚌卵子发生的研究 [ J ] . 四川大学学报 ( 自然科学版 ) , 2002 , 39 ( 3 ) : 546 - 551 .
- [ 17 ] Richard P E , Dietz T H , Silverman H . Structure of the gill during reproduction in the unionids *Anodonta grandis* , *Ligumia subrostrata* and *Craunulina parva texasensis* [ J ] . Can J Zool , 1991 , 69 : 1744 - 17 .

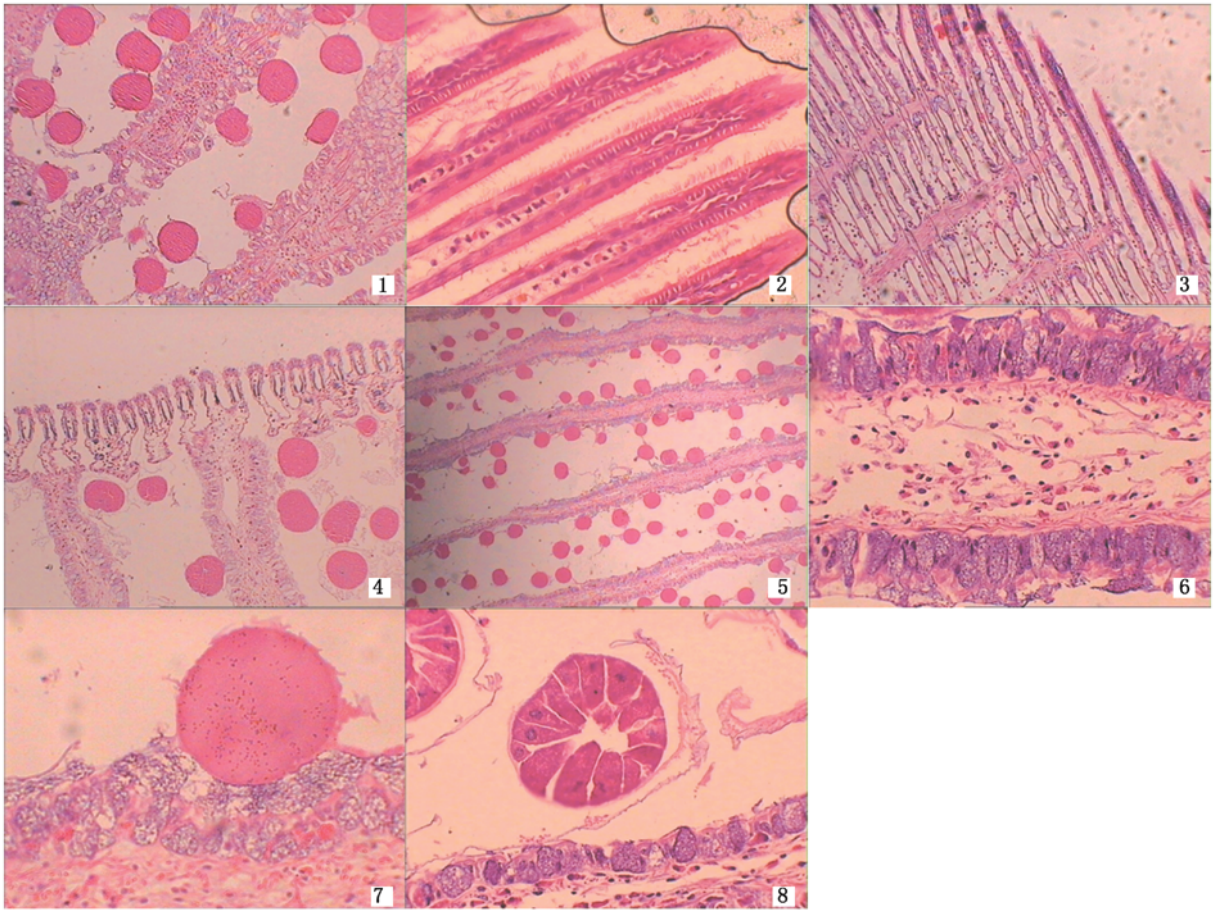
## 欢迎订阅 2007 年《中国水产科学》

《中国水产科学》是中国水产科学研究院主办的国家级学术期刊,主要报道水产生物学基础研究、水产生物病害及其防治、水产生物营养及饲料、渔业生态保护及渔业水域环境保护、水产品保鲜与加工综合利用、水产资源、海淡水捕捞、水产养殖与增殖以及渔船、渔业机械与仪器等方面的最新进展、最新成果、最新技术和方法。主要服务对象是科研、教学、科技管理人员以及大专院校师生。是反映水产科研创新成果的窗口和培养人才的园地。它面向水产业,为水产业的持续发展和水产经济建设服务。

本刊为双月刊, A4 开本, 每期 176 页, 单月出版, 国内外公开发行。国内定价 20 元/期, 全年 120 元 ( 含邮费 )。邮发代号 : 18 - 250 , 国内统一刊号 : CN11 - 3446/S , 国际标准刊号 : ISSN1005 - 8737 , 国外代号 4639Q。全国各地邮电局 ( 所 ) 办理订阅手续 ( 可破季订阅 )。漏订或补订当年和过期期刊, 请直接向编辑部订阅。

《中国水产科学》1994 - 2003 年光盘 ( ISBN 7 - 89995 - 232 - 8/S·004 ) 已经出版发行, 每套定价 150 元。需要购买光盘的读者, 请将款通过邮局直接寄到编辑部, 款到寄盘, 同时开正式报销发票。欢迎广大读者与编辑部直接联系购买事宜。

编辑部地址 : 北京市丰台区青塔村 150 号, 邮政编码 : 100039, 联系电话 : 010 - 68673921 , 传真 : 010 - 68673931 , E-mail : jfishok@publica.bj.cninfo.net



图版 三角帆蚌怀卵期外侧瓣鳃结构

Plate Outside lamina structure of *Hyriopsis cumingii* during egg-bearing period

1. 瓣间隔孔(横切)×100; 2. 鳃丝(纵切)×400; 3. 丝间隔(纵切)×100; 4. 鳃水孔(水平切)×100; 5. 鳃小腔和瓣间隔(纵切)×400; 6. 瓣间隔厚度(纵切)×400; 7. 嵌入瓣间隔的受精卵(纵切)×400 8. 囊胚(纵切)×400