

文章编号: 1004 - 7271(2007)04 - 0394 - 05

· 研究简报 ·

三角帆蚌钩介幼虫寄宿阶段 形态变化的初步研究

王 宏^{1,2}, 李家乐¹, 汪桂玲¹, 张根芳³, 谢 楠¹

(1. 上海水产大学生命科学与技术学院, 上海 200090; 2. 锦州医学院畜牧兽医学院, 辽宁 锦州 121001;
3. 金华职业技术学院生物工程学院, 浙江 金华 321007)

摘 要:应用显微镜和扫描电子显微镜对三角帆蚌钩介幼虫不同发育阶段即排入水中未附着阶段、附着于宿主鱼体(黄颡鱼)阶段及从宿主鱼体脱落后阶段的形态变化进行了观察。结果表明:三角帆蚌钩介幼虫不同发育阶段壳高、壳长及铰合部增长速度有差异。钩介幼虫未附着阶段腹面有钩,附着阶段侧面观半椭圆型,壳腹缘无钩,有稍突出的嵴和两片与腹缘相连的薄翼,嵴和翼表面分布小而密的棘刺,未形成大而粗壮的钩;在此阶段幼虫足丝消失,内部器官逐渐形成。

关键词:三角帆蚌; 宿主鱼; 钩介幼虫; 寄宿

中图分类号: S 966. 22 文献标识码: A

Preliminary studies on morphological change of the glochidia of *Hyriopsis cumingii* in stage of parasiting

WANG Hong^{1,2}, LI Jia-le¹, WANG Gui-ling¹, ZHANG Gen-fang³, XIE Nan¹

(1. College of Aqua-life Science and Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China;

2. College of Animal Science and Veterinary Medicine, Jinzhou Medical College, Jinzhou 121001, China;

3. Jinhua College of Profession and Technology, Jinhua 321007, China)

Abstract: The variation of morphology about the glochidia of *Hyriopsis cumingii* which went into the water parasitized in the gill of fish (yellow catfish) falled off the host fish was observed through optical microscope and scanning electron microscope. The results showed: the growth rate of the length and height of the shell and length of the intertwisting part were different. Under the scanning electron microscope, the glochidia of *Hyriopsis cumingii* had hook in the belly during the water, but the hook disappeared in the host fish. The glochidia had a little ridge and two thin wing which linked with the edge of belly, thick and little thornies were distributed over the ridge and wings. The silk of the feet of the glochidia disappeared and the interior apparatus formed gradually.

Key words: *Hyriopsis cumingii*; host-fishes; glochidia; parasitize

收稿日期: 2006-09-04

基金项目: 农业部农业结构调整重大技术研究专项项目(06-05-05B); 上海市曙光跟踪项目(06GG12); 上海市水产养殖重点学科建设项目(Y1101)

作者简介: 王 宏(1970-), 男, 辽宁锦州人, 在职硕士研究生, 专业方向为水产动物物种质资源与种苗工程, E-mail: jzwangh@163.com

通讯作者: 李家乐, Tel: 021-65710216, E-mail: jlli@shfu.edu.cn

三角帆蚌(*Hyriopsis cumingii* Lea)是我国特有种,其培育的珍珠珠质细腻、光滑、色泽鲜艳,质量佳,已成为我国最主要的淡水育珠蚌。由于珍珠产业的快速发展,三角帆蚌被过度利用,自然资源日益减少,现在主要靠人工培育的种苗供应生产所需。钩介幼虫是淡水蚌类特有的幼虫,钩介幼虫期是蚌类人工育苗过程中的一个重要阶段^[1]。三角帆蚌在繁殖季节,受精卵在由鳃水管特化而成的育儿囊中发育成钩介幼虫,幼虫成熟后排出体外,并寄生在鱼的鳃或鳍上,经变态后脱离寄主成为幼蚌,开始营独立生活^[2]。钩介幼虫的形态特征及发育过程中的许多特性是系统地研究三角帆蚌繁殖生物学的基础。前人曾研究过三角帆蚌精子的形态及超微结构^[3-4],并且对三角帆蚌及与其他蚌类钩介幼虫进行过形态比较^[5-9],但对三角帆蚌钩介幼虫的整个发育过程尚无系统的研究。本文研究了三角帆蚌钩介幼虫不同发育阶段即排入水中未附着阶段、附着于宿主鱼体阶段及从宿主鱼体脱落后阶段的形态变化,为我国三角帆蚌全人工繁殖、新品种培育及种质资源保护提供理论依据^[10-12]。

1 材料与方法

1.1 实验材料

三角帆蚌:取自浙江省诸暨市王家井珍珠养殖场;宿主鱼:为黄颡鱼,规格 30~35 尾/kg,由市场购入。

1.2 实验方法

1.2.1 钩介幼虫取样及观察

实验在 2006 年 4 月进行,实验期间水温 23~24 °C,气温 21~28 °C。

从池塘中取成熟三角帆蚌亲蚌 20 个,阴干 2 h,放入大盆中,加水并搅动,20 min 后,其钩介幼虫大量排入水中,将亲蚌取出,并捞出上层粘液。然后加入准备好的黄颡鱼,进行附着,20 min 后,将附有三角帆蚌钩介幼虫的黄颡鱼放入培育池中进行培养。

钩介幼虫排入水中和从鱼体上脱落后,用显微镜观察活体的活动情况,测量其壳长(平行于铰合部的最大长度)、壳高(垂直于铰合部的最大高度)、铰合部长度。固定后,显微镜及扫描电镜观察并照相(每次测量 30 个)。

钩介幼虫寄生于宿主鱼体后,每天从鱼鳃上取部分附有钩介幼虫的鳃丝,显微镜下观察,测量壳长、壳高、铰合部长。固定后,显微镜及扫描电镜观察并照相(每次测量 30 个)。

钩介幼虫指数(Gin)、最大变异率按照下式计算:

钩介幼虫指数 = 壳长 × 壳高

最大变异率 = (最大值 - 最少值) / 最少值 × 100%

1.2.2 扫描电镜样品制备

取钩介幼虫经 0.65% 生理盐水冲洗,2.5% 戊二醛固定,0.1 M 磷酸缓冲液清洗三次,酒精梯度脱水(30% - 50% - 70% - 80% - 90% - 100%,100% 的酒精脱水 3 次),无水丙酮脱水 3 次,临界点干燥喷金,JSM-300 扫描电子显微镜观察并照相。

2 结果

三角帆蚌成熟钩介幼虫发育划分为三个阶段,即排入水中未附着阶段、附着于宿主鱼体阶段(共 7 d)及从宿主鱼体脱落后阶段,显微镜下观察活体的活动情况,测量其壳长、壳高、铰合部长度,测量结果(如表 1)。

2.1 排入水中未附着的钩介幼虫形态

钩介幼虫形态的模式图如图版-1,此阶段钩介幼虫从三角帆蚌鳃腔中排出^[13],平均壳长为 218.27 ± 6.4 μm,平均壳高为 268.41 ± 6.6 μm,平均铰合部长为 148.12 ± 8.25 μm,钩介幼虫指数为 0.058

6,而壳高/壳长是1.230,壳长大于壳高(表1)。成熟钩介幼虫从亲蚌鳃的育儿囊排入水中,显微镜下观察,绝大部分已破膜,呈褐色,半透明,侧面观半椭圆形,左右两壳对称,背部由铰合韧带相连,铰合部平直,两壳腹缘有棘刺,闭壳肌着生在两壳之间,壳内外套膜组织中有幼虫丝(Larval thread),幼虫丝一端紧贴左壳内表面,绕闭壳肌腱2~3圈,称内幼虫丝,而后幼虫丝变细向外套腔突出成细长的丝状物,称外幼虫丝。扫描电镜下观察,壳内侧附有外套膜组织,其表面凹凸明显,壳腹缘有稍突起的嵴和两片与腹缘相连的薄翼,嵴和翼表面分布有小而密的棘刺,未形成大而粗壮的钩(图版-2和图版-3)。

2.2 附着于宿主鱼体的钩介幼虫形态

钩介幼虫附着于宿主鱼体的发育时间为7d,其外型变化不大,仍然是半椭圆形。钩介幼虫的大小,从壳长、壳高、铰合部长度看,无显著变化。其中壳长从开始的 $229.77 \pm 7.72 \mu\text{m}$ 增至 $238.46 \pm 7.62 \mu\text{m}$;壳高稍有减少,第一天为 $264.00 \pm 7.23 \mu\text{m}$,第七天时为 $261.92 \pm 5.58 \mu\text{m}$;铰合部长没有增加,从开始的 $150.83 \pm 8.83 \mu\text{m}$ 减至 $146.56 \pm 4.63 \mu\text{m}$ 。而钩介幼虫指数稍有增加,壳高/壳长则逐渐变小。壳颜色加深,内部颜色加深(图版4-10)。

表1 钩介幼虫形态参数

Tab. 1 The morphology parameter of glochidium

发育阶段	壳长(μm)	壳高(μm)	铰合部长(μm)	钩介幼虫指数	壳高/壳长	
未附着阶段	218.27 ± 6.4	268.41 ± 6.6	148.12 ± 8.25	0.0586	1.230	
附着阶段	第一天	229.77 ± 7.72	264.00 ± 7.23	150.83 ± 8.83	0.0607	1.149
	第二天	230.18 ± 6.90	260.82 ± 6.38	145.59 ± 6.86	0.0603	1.133
	第三天	237.04 ± 6.65	262.20 ± 5.73	141.73 ± 6.21	0.0629	1.106
	第四天	234.32 ± 5.28	265.65 ± 5.66	146.28 ± 5.84	0.0622	1.134
	第五天	239.4 ± 6.82	263.86 ± 6.70	147.94 ± 5.02	0.0632	1.102
	第六天	236.94 ± 6.62	262.89 ± 4.91	149.32 ± 7.36	0.0623	1.109
	第七天	238.46 ± 7.62	261.92 ± 5.58	146.56 ± 4.63	0.0623	1.098
脱落后阶段	334.37 ± 8.83	332.30 ± 7.92	159.67 ± 6.21	-	0.994	

2.3 从宿主鱼体脱落后第一天稚蚌的形态

脱落后的稚蚌的生长速度较寄宿阶段明显快,无论壳长、壳高还是铰合部均有较明显增长,其壳长为 $334.37 \pm 8.83 \mu\text{m}$,壳高为 $332.30 \pm 7.92 \mu\text{m}$,铰合部长为 $159.67 \pm 6.21 \mu\text{m}$ 。而壳高/壳长进一步减小。显微镜下可观察斧足伸出,并吸附底质运动,壳厚显著增加。在钩介幼虫壳的边缘生长出几圈贝壳,壳仍是半透明状,其内脏器官可观察到(图版-11)。

3 讨论

根据壳钩的有无,钩介幼虫可分为三类:无钩型,有钩型,斧头型。本研究观察到附着前的三角帆蚌钩介幼虫腹面有齿状的钩,为有钩型;附着后侧面观为半椭圆形,无钩,属于无钩型。但不同的学者研究结果有所不同,吴小平等曾报道三角帆蚌的钩介幼虫近椭圆形,腹缘无壳钩,和丽蚌属种类类似,而舒凤月等报道三角帆蚌钩介幼虫侧面观为三角形,钩介幼虫具壳钩,锚形,游离端尖细,壳钩由一个坚硬的嵴和两片。从本次研究的结果来看,与吴小平等的研究结果相同,舒凤月等的不同。绢丝丽蚌的钩介幼虫呈亚三角形,有壳钩和足丝^[14],圆背角无齿蚌也有壳钩,钩具有帮助附着在寄主上的作用^[15-16]。从本研究看,三角帆蚌钩介幼虫在寄生前期为有钩型,主要是便于附着;附着后,钩消失,成为无钩型,这是对寄生生活的一种适应。

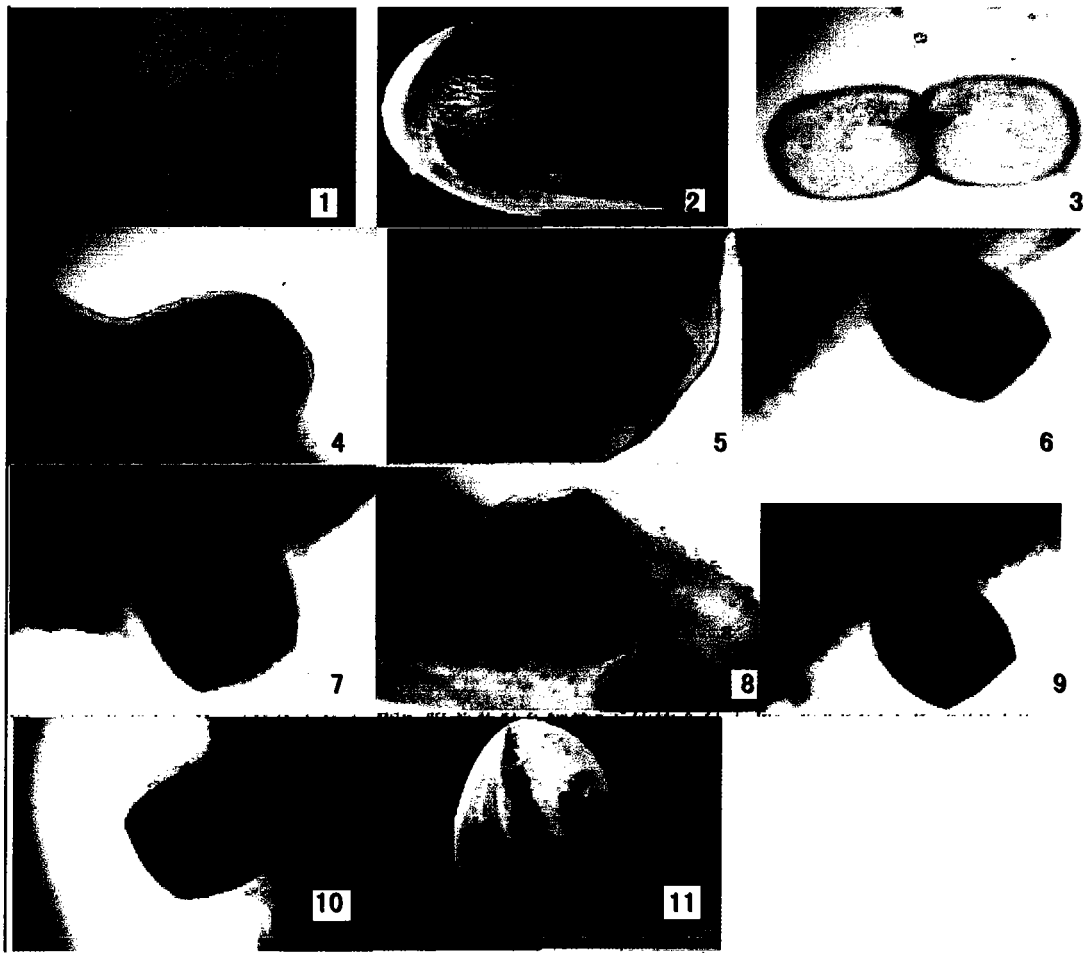
以前,Davis根据钩介幼虫指数将钩介幼虫分为3类:小型($Gin < 0.036$)、中型(平均 $Gin = 0.047$)、大型(平均 $Gin = 0.100$)^[17]。本次研究结果表明,三角帆蚌钩介幼虫指数在0.06左右,应为中型,与鱼尾楔蚌的钩介幼虫指数相似。以后的研究认为,不同地理分布的同一种钩介幼虫,其大小可能存在差异,仅凭钩介幼虫指数并不能充分说明钩介幼虫的形态参数。Pekkannen和Hoggarth将钩介幼虫壳长

与壳高的比值作为钩介幼虫的一个形态参数,相对于钩介幼虫指数来说,壳长与壳高的比值在属中比较稳定,并且,处在不同区域的同一种类,尽管钩介幼虫指数存在明显差别,但其壳长与壳高的关系是一致的^[18-19]。从表1的数据,计算出三角帆蚌寄生阶段钩介幼虫指数最大变异率为 $(0.0632 - 0.0603) / 0.0603 = 4.8\%$,壳长与壳高比值最大变异率为 $(1.149 - 1.098) / 1.098 = 0.46\%$,表明壳长与壳高这个指标比较稳定。另外,从表1还可以看出,三角帆蚌钩介幼虫附着于宿主鱼鳃后,壳长和铰合部增加不显著,壳高减小不明显,这与圆背角无齿蚌和刻裂丽蚌的情况类似^[20]。说明其在附着过程中,可能只是吸收鱼鳃上的营养,使内脏器官发育完成,而钩介幼虫的大小无显著变化。

从本次研究结果可以看出,在水温 $23\text{ }^{\circ}\text{C} \sim 24\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时,附着于黄颡鱼鱼鳃的三角帆蚌钩介幼虫只要经7 d发育成稚贝脱落于水中,比圆背角无齿蚌钩介幼虫发育时间13 d要短^[15],这可能与培育圆背角无齿蚌钩介幼虫的水温低 $(19 \pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$ 有关。钩介幼虫脱落后壳长、壳高、壳厚增加显著,内脏器官逐渐发育完成,有斧足能伸出,使稚贝运动。作者认为钩介幼虫外壳发育为成蚌的壳顶。在钩介幼虫的外壳基础上,继续生长形成新的贝壳。但其壳长、壳高生长很显著,铰合部生长不显著。钩介幼虫附着时间与水温,宿主鱼健康程度等因素有关。

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和前景[J]. 水产学报,2005,29(4):560-564.
- [2] Kat P W. Parasitism and the Unionacea (Bivalvia) [J]. Biol Rev,1984,59:189-207.
- [3] 弭忠祥,王大威,王国夫,等. 三角帆蚌精子超微结构的观察[J]. 电子显微学报,2002,21(5):578-579.
- [4] 郭延平,谈奇坤,陈士超. 三角帆蚌精子的形态及超微结构[J]. 动物学杂志,2002,37(2):10-13.
- [5] 魏青山,傅彩红,等. 珠蚌科六种蚌的钩介幼虫形态比较研究[J]. 水生生物学报,1994,18(4):303-309.
- [6] 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.
- [7] 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. 六个种的形态的比较研究[J]. 水生生物学报,2000,4(3):252-256.
- [8] 舒凤月,吴小平. 蚌科两种蚌钩介幼虫形态的比较研究[J]. 山东科学,2005,18(1):14-16.
- [9] 舒凤月,吴小平. 钩介幼虫壳表面结构的扫描电镜观察[J]. 生命科学研究,2005,9(1):73-76.
- [10] 刘月英,张文珍. 中国经济动物志-淡水软体动物[M]. 北京:科学出版社,1979.
- [11] 钱荣华,李家乐,董志国,等. 中国五大湖三角帆蚌形态差异分析[J]. 海洋与湖沼,2003,34(4):436-443.
- [12] Wang Guiling, wang Jianjun, Li Jiale. Preliminary study on applicability of microsatellite primers developed from the *Crassostrea gigas* for genomic analysis of the *Hyriopsis cumingii* [J]. Journal of Fisheries of China,2006,30(1):1-6.
- [13] 张根芳,王且且,方爱萍,等. 三角帆蚌怀卵期外侧瓣鳃结构研究[J]. 上海水产大学学报,2006,15(4):336-341.
- [14] 朱子义,龚世园. 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.
- [15] 闻海波,徐钢春,华丹. 圆背角无齿蚌寄生变态发育的初步观察[J]. 上海水产大学学报,2006,15(2):252-255.
- [16] 石安静. 背角无齿蚌生殖细胞及钩介幼虫的扫描电镜观察[J]. 动物学杂志,1995,30(1):10-13.
- [17] Davis G M. Genetic relationships among recent Unionacea (Bivalvia) of North America [J]. Malacol, 1981, 20(2): 217-253.
- [18] Pekkarinen M. Description of the Unionacean glochidia in Finland [J]. Arch Hydrobiol, 1995,134:379-391.
- [19] Hoggarth M A. Gaunt A S. Mechanics of glochidial attachment (Mollusca: Bivalvia: Unionidae) [J]. Journal of Morphology, 1988,198:71-81.
- [20] 王玉凤,魏青山,彭宇. 刻裂丽蚌钩介幼虫对寄主鱼的选择[J]. 华东师范大学学报(自然科学版),2001,35(1):72-76.



图版 三角帆蚌钩介幼虫寄宿阶段形态变化情况

Plate morphological change of the glochidia of *Hyriopsis cumingii*
in stage of parasiting

1. 钩介幼虫的一般形态; 2. 未附着钩介幼虫—测扫描电镜图; 3. 三角帆蚌未附着钩介幼虫;
4-10. 附着黄颡鱼鳃1-7天的钩介幼虫形态; 11. 脱落第1天的稚贝