

岩虫的性腺发育和生殖周期

于海志, 朱丽岩, 郑家声

(中国海洋大学 生命科学与技术学部, 海洋生命学院, 山东 青岛 266003)

摘要:根据性腺发育的组织切片观察, 岩虫(*Marphysa sanguinea*)性腺发育可分为增生期、成熟期、排放期和休止期4个阶段。通过连续两年每月对岩虫性腺组织切片观察可以确定, 在山东省乳山海区的岩虫性腺发育为1年1个周期。12月至翌年6月为增生期; 7~8月为成熟期; 7月下旬至8月为排放期; 9~11月为休止期, 其中7月下旬至8月中旬为繁殖盛期。岩虫的性腺起源于体腔腹面生殖上皮。生殖细胞发生时不出现滋养细胞。除休止期外, 生殖细胞持续发生, 成熟时多次排放。雄性生殖细胞形成合胞体(syncytium), 精子为原始类型。雌性生殖细胞不形成合胞体, 卵母细胞在发育的早期阶段, 卵黄发生期间从卵巢(生殖上皮)排入体腔中, 并在体腔中发育。卵细胞成熟时, 有卵外膜, 结构复杂。

关键词:岩虫; 性腺发育; 生殖周期

中图分类号:Q959.192 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-8737-(2005)06-0669-06

岩虫(*Marphysa sanguinea*)隶属于环节动物门(Annelida)、多毛纲(Polychaeta)、矾沙蚕科(Eunicidae)、岩虫属(*Marphysa*)。栖息于潮间带、潮下带的泥沙、砾石底质。由于其行底栖生活, 在摄食利用沉积有机质的同时, 对底质进行翻耕, 增加透气性, 促进底质中有害物质氧化分解, 起到改善底质结构和生态环境的作用, 尤其对于有机质沉积丰富、污染较重地区效果更佳。在水产养殖中, 饲喂鲜活多毛类生物可以促进亲本的性腺发育。岩虫个大体肥, 俗称扁食, 由于其不易死亡、好动、多血、腥味重, 在日本被作为最珍贵的海洋游钓饵料之一^[1], 因此出口经济效益也很高。近年来市场上对岩虫的需求有增无减, 但由于过度捕捞, 岩虫资源环境遭受严重破坏导致资源量降低, 因而使得其价格越来越高。为保护生态环境和岩虫资源, 开展岩虫的增殖养殖已势在必行。国内外对多毛类的繁殖生物学研究较多, 但有关岩虫的报道甚少^[2-4], 目前已经开展的研究主要集中于分类和养殖方法^[1, 5-6], 而关于其性腺发育和生殖周期方面的研究尚未见报道。本实验通过研究岩虫性腺发育和生殖周期, 旨在了解其性腺发育机理及影响性腺发育的因素, 从而为岩虫的人工繁殖和增殖提供理论基础。

1 材料与方法

本实验所用岩虫采自山东省乳山市乳山湾。自2001年8月至2003年9月, 每月取1次, 每次至少取样20条。

光镜观察: 取岩虫的中部和中后部, 材料经Bouin's液固定, 石蜡包埋, 切片厚度7 μm , HE染色, Olympus BH-2显微镜观察、照相。

透射电镜观察: 解剖岩虫成熟雌雄活体, 取不同发育时期的卵子和精子合胞体, 用3%戊二醛和1%锇酸双固定, 梯度乙醇脱水, Epon812环氧树脂包埋。LKB-Nova超薄切片机切片, 醋酸铀和柠檬酸铅双重染色, 日立H-700透射电子显微镜观察并照相。半薄切片(厚1 μm), 0.1%甲苯胺蓝染色用以定位和光镜观察。

2 结果与分析

2.1 雌雄个体形态

岩虫雌雄异体, 非成熟季节外观上无法辨别雌雄。雌性个体在未完全成熟时为褐绿色, 成熟时体表为茶褐色, 排出的成熟卵子为茶褐色, 不成熟卵为绿色。雄性个体成熟时暗玉红色。

收稿日期: 2004-12-24; 修订日期: 2005-04-18。

基金项目: 国家“863”高技术研究发展计划项目(2001AA649040)。

作者简介: 于海志(1970-)男, 硕士研究生, 从事海洋无脊椎动物发育生物学研究。

通讯作者: 朱丽岩, E-mail: lyzhu@mail.cc.edu.cn

2.2 性腺发育分期

根据连续两年性腺发育的组织切片观察,岩虫的性腺发育大致分为增生期、成熟期、排放期、休止期4个时期。

2.2.1 增生期 发育时间从12月至翌年6月,根据性腺发育情况又可分为增生早期、中期和后期。

(1)增生早期:本期发育时间从12月开始至翌年4月。12月(平均水温 6.5°C)性腺开始发育,雄性个体生殖上皮分化形成单个圆形或卵圆形的精原细胞紧贴生殖上皮或包围在血管周围。精原细胞不断分裂,逐渐形成由2个、4个、8个以至多个细胞组成的精母细胞合胞体(syncytium)游离到体腔中(切面中以含30个细胞以下的合胞体为主)(图版I-1)。雌性个体生殖上皮分化形成卵原细胞,圆形或卵圆形,大小和精原细胞接近。在卵原细胞的外周可见细胞体积逐渐增大,胞质中出现了卵黄颗粒,并逐渐游离至体腔中,此即初级卵母细胞。但由于水温偏低,发育速度缓慢(图版I-2),所以1~2月份(平均水温 3.25°C)精巢和卵巢发育基本停止。

(2)增生中期:3~4月份(平均水温 6.5°C)随着水温回升,精、卵原细胞又开始增生,雄性体腔中游离的精母细胞合胞体逐渐增多,体积逐渐变大(切面中含30个细胞以上的合胞体明显增多)(图版I-3),雌性体腔中游离的初级卵母细胞也逐渐增多,体积逐渐变大,细胞中的卵黄颗粒增多(图版I-4)。

(3)增生后期:发育时间从5月(平均水温 14°C)到6月(平均水温 19.4°C)。从5月开始随着水温急剧上升,岩虫性腺迅速发育,雄性个体内大部分合胞体都接近或达到最大体积,合胞体数量激增,几乎充满整个体腔,合胞体主要由精母细胞和精子细胞组成(图版I-5)。雌性个体内圆形或卵圆形的初级卵母细胞充满整个体腔,细胞平均直径在 $62\mu\text{m}$,核位于中央,核直径约为 $23\mu\text{m}$ 。卵黄颗粒大而密集(图版I-6)。

2.2.2 成熟期 发育时间从7月到8月(7月份平均水温 23°C ,8月份平均水温 26°C)。

雄性个体7月份可见到生殖细胞充满两侧体腔和疣足基部。位于体腔背部合胞体的发育速度明显要比腹部的快。精子细胞合胞体进一步分化为游离精子,游离精子逐渐增多,合胞体逐渐减少(图版I-7)。雌性个体体腔内的初级卵母细胞进一步发育成熟,细胞达到全年最大体积,平均直径可达

$170\mu\text{m}$,核偏向细胞的一侧,直径为 $90\mu\text{m}$ (图版I-8)。半薄切片的光镜观察发现,卵黄颗粒密集,大小不一,密度达全年最大,最大的卵黄颗粒接近 $10\mu\text{m}\times 8\mu\text{m}$ (图版I-9)。

2.2.3 排放期 发育时间从7月下旬至8月份(平均水温 $25\sim 26^{\circ}\text{C}$),与成熟期重合。

水温达到 23°C ,岩虫开始进入排放期。7月底,与7月上旬相比,雄性个体由于精子排放,体腔内游离精子数量明显减少,8月份更趋减少,9月中旬的切片中绝大多数以残存合胞体形式存在,很少见到游离的精子(图版II-1)。雌性个体从7月下旬开始陆续分批排卵,至9月上旬体腔中卵细胞已基本排空(图版II-2)。雌、雄性个体仍然可以见到刚刚发生的生殖细胞,岩虫无专门生殖管,肾管位于身体的背部兼具生殖管的功能(图版II-3)。

2.2.4 休止期 9~11月(平均水温: 9°C , 24°C ;10月, 19°C ;11月, 14°C),雄性个体内找不到游离的精子,不能进一步发育的合胞体逐步退化和被吸收,体腔变空。雌性个体内卵细胞已排空,仅有极少数没有发育的卵原细胞和未排出的退化的卵细胞,核固缩,染色深,结构不清晰(图版II-2)。

2.3 生殖细胞的发生

2.3.1 光镜观察结果

(1)雄性:精巢起源于体腔腹面的生殖上皮,除头部和尾部少数体节外,多数体节都有发生,两侧对称。精巢由精原细胞的干细胞和正在进行分裂增殖的精原细胞组成。

精原细胞:由生殖上皮产生,紧贴生殖上皮或包围在生殖上皮的血管周围,开始形成时为单个细胞,细胞圆形或椭圆形,直径 $5\mu\text{m}$ 。HE染色染成深蓝色,异染色质丰富。精原细胞具有很强的分裂增殖能力,由同一精原细胞分裂而来的细胞共同组成一个合胞体。形成合胞体后,离开生殖上皮,游离于体腔中(图版I-1),并在体腔中发育。

精母细胞:连续观察测定了从12月至翌年3、4月份的含不同细胞数目的合胞体内的细胞直径,发现精母细胞大小、体积变化不大,直径都在 $5\mu\text{m}$ 左右。因为细胞小,光镜下结构不清楚,精母细胞是否有初级、次级之分,尚需进一步研究,但明显可见精母细胞的胞质比精原细胞丰富(图版II-4)。

精子细胞:精子细胞直径略比精原细胞和精母细胞小,约 $4\mu\text{m}$,核染色深,核质比高于精母细胞(图版II-5)。

精子:精子全长 $31.5\sim 35\mu\text{m}$,可分为头部和尾部,头部长约 $3.5\mu\text{m}$,宽约 $2.5\mu\text{m}$ 。核圆形或稍椭圆,染色质高度浓缩、深染,核前端有锥形顶体,光镜下呈透明状,核后有6个球形线粒体,尾部长度为头长的8~9倍,长 $28.0\sim 31.5\mu\text{m}$ 。

(2)雌性:卵巢与精巢的起源和发生位置相同,卵巢由卵原细胞的干细胞和正在发育的卵原细胞组成。

卵原细胞:由生殖上皮产生,体积较小,直径约为 $5\mu\text{m}$,紧贴生殖上皮及血管周围分布,核异染色质丰富,深染,核质比高(图版I-2)。

初级卵母细胞:位于卵原细胞外侧,经小生长期后,细胞体积有所增加,核质比逐渐降低,核透亮,异染色质少,胞质中开始出现嗜伊红的卵黄颗粒,这是与卵原细胞最大的区别。初级卵母细胞期在卵子发生中持续时间最长,直径 $40\sim 170\mu\text{m}$ 。随着细胞体积增大,卵黄颗粒逐渐增加(图版I-2)。

接近成熟的卵:肉眼观察为茶褐色,平均直径约 $170\mu\text{m}$,从半薄切片观察,可见透亮的细胞核已移向一侧。卵内均布大小不等的油球,卵黄颗粒密度达到最大,具卵外膜,厚度约为 $3\mu\text{m}$ (图版I-9)。

2.3.2 电镜观察结果

(1)精子:合胞体时期,合胞体内的生殖细胞通过细胞质突起和细胞间桥交连在一起形成一个集合体,电镜下可见精母细胞的核电子密度较高,胞质较丰富,各种细胞器均存在(图版II-4)。随着发育的进行,到精子细胞时依然可见细胞间桥和互相交连的细胞质突起,与精母细胞不同,精子细胞核的染色质进一步浓缩,核质比进一步升高(图版II-5)。观察显示,在精子发育过程中,线粒体要逐渐向精子细胞预定后端移动,而顶体最后到了精子头部核的前端(图II-7)。部分胞质丢失,核染色质高度浓缩。到精子形成晚期,线粒体移至核的后部,围绕中心粒分布。一部分细胞质和由远端中心粒延伸形成的轴丝构成精子的尾部。精子细胞分化形成精子后体积进一步减小。

岩虫的精子为原始类型(primitive type)^[4],具鞭毛,长度可达 $31.5\sim 35\mu\text{m}$ (图版II-6)。成熟精子纵切可以观察到,头部椭圆形,由顶体、顶体下腔、细胞核和线粒体组成,尾部由质膜和轴丝构成,横切面具有典型的“9+2”微管结构。

精子过线粒体部位横切,可见到互相垂直的近端中心粒和远端中心粒,周围有6个线粒体,线粒体

具辐状的嵴,未发生变形(图版II-8)。

(2)卵:卵细胞内可见有电子致密度高、大小不一的卵黄颗粒和电子致密度低、大小不太规则的脂滴和丰富的核糖体。在接近卵膜处可见电子致密度高的皮层颗粒。质膜外有一层约 $3\mu\text{m}$ 厚的结构较复杂的卵外膜,卵外膜表面可见排列整齐的微绒毛,高约 $0.125\mu\text{m}$,微绒毛内侧有一层电子致密层,厚度约为 $0.4\mu\text{m}$,再内层为一厚度为 $2.4\mu\text{m}$ 的纤维状交织层,电子密度较低,交织层中有一些电子致密度高的螺旋结构从卵质膜开始一直伸至卵表面,似形成一通道(图版II-9)。

3 讨论

雄性岩虫与绝大多数多毛类雄性相似,在生殖细胞发生过程中形成合胞体,并且在精子发生的早期合胞体就游离到体腔中。形成合胞体的原因主要是由于这些细胞分裂过于迅速,还未等完全分开,又开始进行分裂。合胞体内细胞的细胞质突起相互勾连,细胞间通过胞间桥互相连通。这种胞间桥从分裂的精原细胞开始到精子细胞都有发现,起到了使影响精子发生的激素和营养物质互相沟通的作用,这也有助于解释同一精子合胞体发育的严格同步性。

岩虫精子具简单的帽状锥形顶体,核圆形或稍长,线粒体未发生变化,中部短,具典型鞭毛,体外受精,精子在受精前不储存及没有储精囊和受精囊,符合I型精子特征,所以确定为原始类型^[4]。

本实验观察精卵发育盛期与浙江舟山周剑^[1]和日本山口县今井利为^[2]报道的不同,可能与海拔等因素,特别是水温有关系,是否与地理亚种有关尚需进一步研究。

与多齿围沙蚕不同,岩虫生殖细胞发生过程中没有出现滋养细胞^[9],早期的原始生殖细胞从生殖上皮的小血管中吸收营养,可以发现发生部位血管丰富。生殖细胞游离到体腔后,营养来自体腔液。

与多齿围沙蚕裂体生殖、生殖后个体死亡不同^[7],岩虫生殖细胞由肾管排出,个体为多年生。

在进行单独卵子发生或具滤泡的卵子发生的多毛类中,卵从生殖上皮排入体腔时所处的情况有3类^[3]:1)在减数分裂开始之前或在减数分裂开始时;2)在减数分裂前期或在卵黄发生前;3)在卵黄发生期间或在卵黄发生完成之后。岩虫属于第3类,卵原细胞的增殖与早期减数分裂同时发生,在卵黄

发生期间,初级卵母细胞从生殖上皮释放至体腔,并在体腔中进一步发育。在整个繁殖季节都可见卵原细胞的增殖。

从组织切片中观察到体腔背部与腹部的精、卵发育不同步,背部先成熟,腹部后成熟,背部成熟的精子,密度也有明显变化,因此推断岩虫在生殖季节有多次排放现象。

参考文献:

- [1] 周 剑,陈雪昌,林增善,等.岩虫 *Marphysa sanguinea* 的人工育苗[J].浙江水产学院学报,1996,15(3):197-200.
- [2] 今井利昌.岩虫的产卵与初期形态 *Marphysa sanguinea* (MONTAGU)[J].水产增刊,1975(231):97-101.
- [3] Adiyodi K G, Adiyodi R G. Reproductive Biology of Invertebrates Volume I: Oogenesis, Oviposition, and Oosorption[M]. New York: John Wiley & Sons Ltd, 1983. 357-421.
- [4] Adiyodi K G, Adiyodi R G. Reproductive Biology of Invertebrates Volume: Spermatogenesis and Sperm Function[M]. New York: John Wiley & Sons Ltd, 1983. 321-342.
- [5] 林增善,周 剑.岩虫在室内越冬试验[J].海洋水产科技,1995(1):18-19.
- [6] 林增善,周 剑,余海波.岩虫不同密度与不同投喂量饲养效果观察[J].海洋水产科技,1994(2):23-25.
- [7] 杜荣斌.多齿围沙蚕 (*Perinereis nuntia* Savigny) 人工养殖条件下其体培育生态条件和繁殖生物学研究[D].青岛:中国海洋大学,2004.

Development of sex gonad and reproduction cycle of *Marphysa sanguinea*

YU Hai-zhi, ZHU Li-yan, ZHENG Jia-sheng

(College of Marine Life Science, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

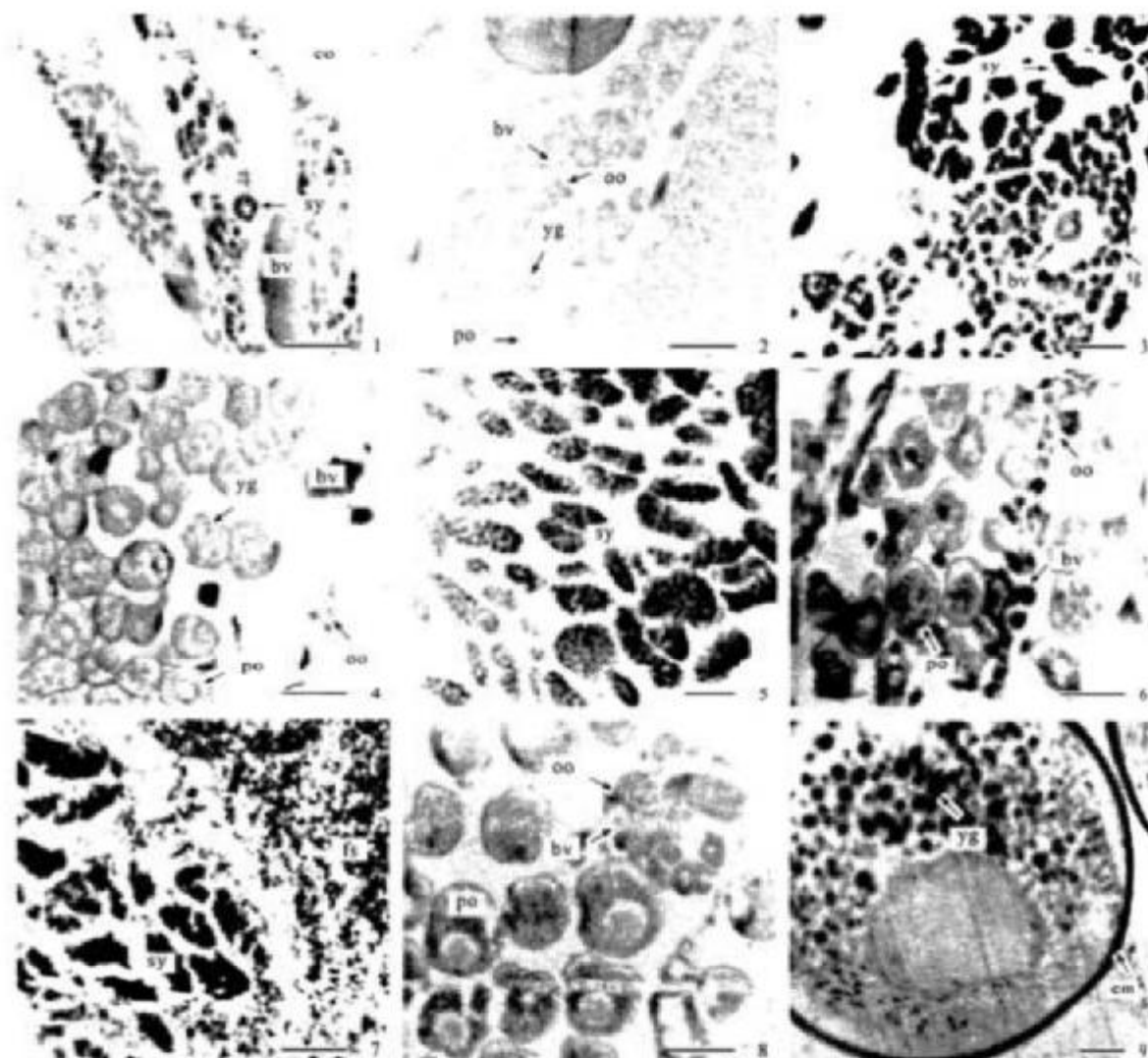
Abstract: According to the condition of the sex gonad development, the sex gonad development of *Marphysa sanguinea* can be divided into the following four stages: proliferating and growing stage, maturing stage, spawning stage, and resting stage. By observing the changes of sex gonad on histological sections, it is considered that the sex gonad development of *Marphysa sanguinea* has only one cycle in a year in Rushan area, Shandong Province. The proliferating and growing stage is from December to the next year's June, maturing stage from July to August, spawning stage from the last ten days of July to August, resting stage from September to November and the reproduction peak from the last ten days of July to the middle ten days of August. The sex gonad of *Marphysa sanguinea* originates from ventral germinal epithelium. No nurse cells are found during its gametogenesis. The germ cells are successively produced except at the resting stage and are released in several times during maturing stage. The male germ cells form syncytium. *Marphysa sanguinea*'s spermatozoon belongs to primitive type and has flagellum and six mitochondria. The oocytes are released from the germinal epithelia into the coelom at a relatively early stage of development during vitellogenesis. The mature ootid has the outer membrane with complex structure.

Key words: *Marphysa sanguinea*; sex gonad development; reproductive cycle

Corresponding author: ZHU Li-yan. E-mail: lyzhu@ouc.edu.cn

于海志等:岩虫的性腺发育和生殖周期

YU Hai-zhi et al: Development of sex gonad and reproduction cycle of *Marphysa sanguinea*



图版 I

1: 雄性增生早期(横切, bar = 50 μm). 2: 雌性增生早期(横切, bar = 50 μm). 3: 雄性增生中期(横切, bar = 10 μm). 4: 雌性增生中期(横切, bar = 50 μm). 5: 雄性增生后期(横切, bar = 10 μm). 6: 雌性增生后期(横切, bar = 50 μm). 7: 雄性成熟期(横切, bar = 50 μm). 8: 雌性成熟期(横切, bar = 50 μm). 9: 成熟卵 (bar = 10 μm).

bv - 血管, co - 体腔, em - 卵外膜, fs - 游离精子, oo - 卵原细胞, po - 初级卵母细胞, sg - 精原细胞, sy - 合胞体, yg - 卵黄颗粒.

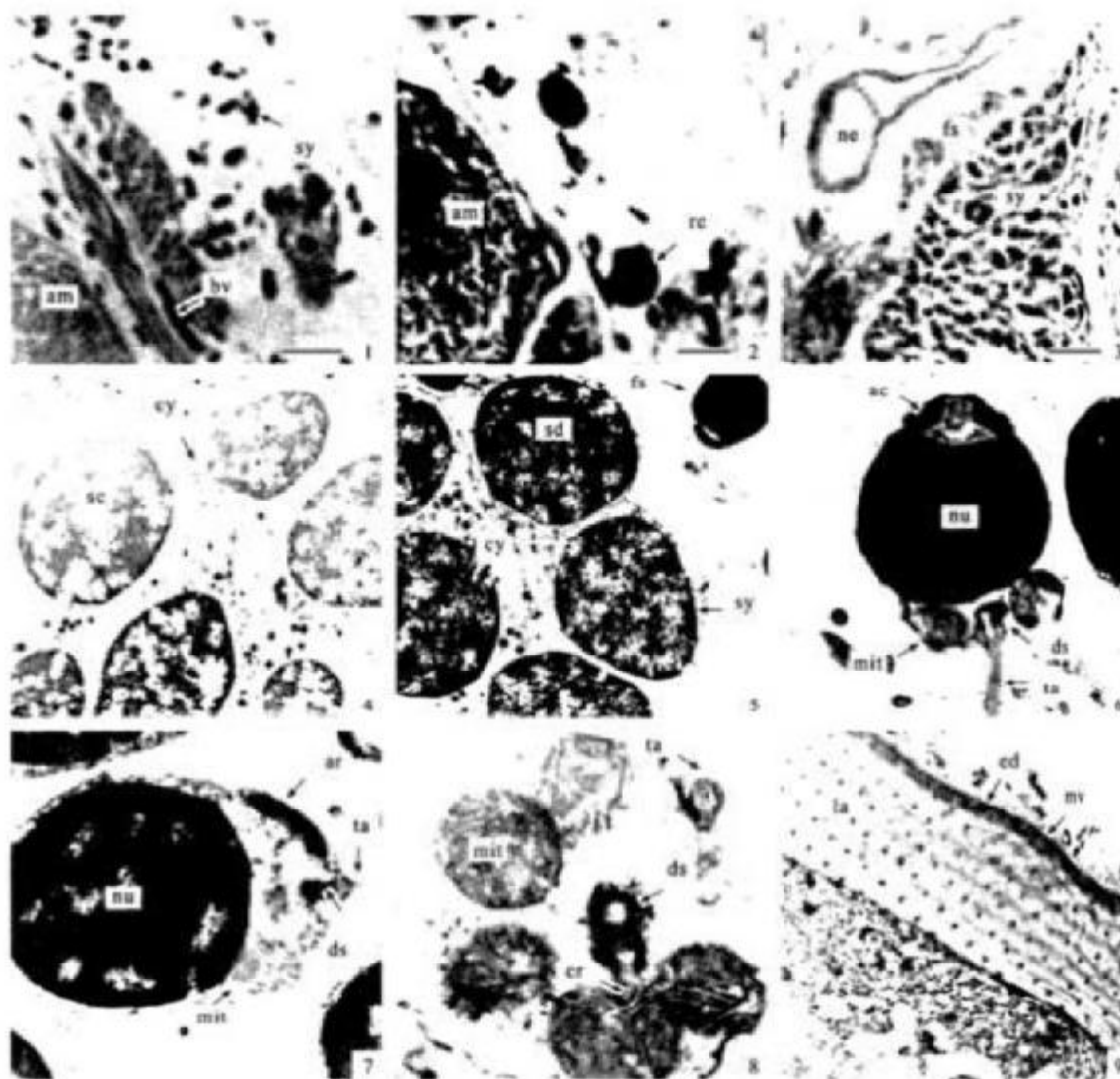
Plate I

1: The early proliferating and growing stage of male (cross section, bar = 50 μm). 2: The early proliferating and growing stage of female (cross section, bar = 50 μm). 3: The middle proliferating and growing stage of male (cross section, bar = 50 μm). 4: The middle proliferating and growing stage of female (cross section, bar = 50 μm). 5: The late proliferating and growing stage of male (cross section, bar = 10 μm). 6: The late proliferating and growing stage of female (cross section, bar = 50 μm). 7: Maturation stage of male (cross section, bar = 50 μm). 8: Maturation stage of female (cross section, bar = 50 μm). 9: Mature egg (bar = 10 μm).

bv - blood vessel, co - coelom, em - egg membrane, fs - free sperm, oo - oogonia, po - primary oocyte, sg - spermatogonium, sy - syncytium, yg - yolk granules.

于海志等:岩虫的性腺发育和生殖周期

YU Hai-zhi et al: Development of sex gonad and reproduction cycle of *Marphysa sanguinea*



图版 II

1: 雄性排放期(横切, bar = 50 μm). 2: 雌性休止期(横切, bar = 50 μm). 3: 雄性过肾管(横切, bar = 50 μm). 4: 合胞体横切, 示发育中的精母细胞(×4 000). 5: 合胞体横切示发育中的精子细胞(×5 000). 6: 精子纵切(×12 000). 7: 正在形成中的精子(纵切, ×15 000). 8: 精子头后过线粒体(横切, ×30 000). 9: 成熟卵细胞(×5 000).

ac-顶体, am-腹部纵肌, ar-顶体原基, bv-血管, co-体腔, cr-精, cy-细胞质桥, ds-远端中心粒, ed-电子致密层, em-卵外膜, fd-脂滴, fs-游离精子, la-纤维交层, mit-线粒体, mv-微绒毛, ne-肾管, nu-细胞核, oo-卵原细胞, po-初级卵母细胞, re-残余卵, sc-精母细胞, sd-精子细胞, sg-精原细胞, sy-合胞体, ta-尾部, yg-卵黄颗粒.

Plate II

1: Spawning stage of male (cross section, bar = 50 μm). 2: Resting stage of female (cross section, bar = 50 μm). 3: Cross section of male through the nephridium (bar = 50 μm). 4: Cross section of syncytium (×4 000), showing the spermatocyte was developing. 5: Cross section of syncytium (×5 000), showing the spermatid was developing. 6: Longitudinal section of the sperm (×12 000). 7: The sperm was forming (×15 000, longitudinal section), showing mitochondrion and acrosome rudiment. 8: Cross section of the sperm through mitochondria (×30 000). 9: Mature egg (×5 000).

ac-acrosome, am-abdominal muscle, ar-acrosome rudiment, bv-blood vessel, co-coelom, cr-critae, cy-cytoplasmic bridge, ds-distal centriole, ed-electronic density layer, em-egg membrane, fd-fat drop, fs-free sperm, la-layer with cross fibres, mit-mitochondrion, mv-microvilli, ne-nephridium, nu-nuclei, oo-oogonia, po-primary oocyte, re-residual egg, sc-spermatocyte, sd-spermatid, sg-spermatogonium, sy-syncytium, ta-tail, yg-yolk granules.