

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2014.01098

三角帆蚌内脏团不同部位插核育珠对珍珠囊形成的影响

李文娟¹, 黄凯¹, 李倩¹, 祁晓翔¹, 尚朝¹, 周子睿¹, 付元帅¹, 施志仪^{1,2}

1. 上海海洋大学, 农业部水产种质资源与养殖生态重点开放实验室, 上海 201306;

2. 上海市高校水产养殖学 E-研究院, 上海海洋大学, 上海 201306

摘要: 对三角帆蚌(*Hyriopsis comingii*)内脏团不同部位进行插核, 研究各组珍珠囊形成、结构以及珍珠质沉积的差异, 从而确定出有利于珍珠形成的插核核位。实验选取内脏团 5 个部位(I: 斧足内脏团前端; II: 斧足内脏团中部; III: 近生殖腺部; IV: 近胃部; V: 近肾部)进行插核, 并分别在插核后第 20、50、90、150 天(thd)采集内脏团插核部位进行组织固定, 利用石蜡切片、HE 染色研究不同插核部位珍珠囊结构及珍珠质沉积情况。结果表明: (1) 插核施术后 20 d, II 组插核位点最早形成单层低柱状上皮细胞, 为次生珍珠囊; (2) 插核施术后 50 d, I、II、III 组均形成了珍珠囊上皮细胞, 而 IV、V 组插核位点未出现类似的柱状细胞。其中 II、III 组珍珠囊上皮细胞前端含有大量体积较大的颗粒物; (3) 插核施术后 90 d, I、III 组珍珠囊细胞间出现大量细胞间隙, I、II 组珍珠囊表皮细胞具有多核现象的细胞数量增多, 且 II、III 组上皮细胞中颗粒物数量增多, 而 IV、V 组插核位点形成了复层扁平上皮细胞; (4) 插核施术后 150 d, I、III 组珍珠囊内表皮细胞间隙变少。II 组珍珠囊上皮细胞游离端存在大量的微绒毛, 其与 III 组相似, 珍珠囊上皮细胞细胞核明显增多, 颗粒物减少。该时期, IV 组在插核位点上形成了不连续的低柱细胞、V 组插核位点仍未出现珍珠囊细胞。(5) 三角帆蚌在插核术后养殖 150 d 后, I、II、III 组珠核表面出现明显的珍珠质沉积, II、III 组珍珠质沉积均匀, I 组不均匀, 并且 II 组沉积的珍珠层厚度($0.85\text{ mm}\pm 0.06\text{ mm}$)显著大于 I、III 组($0.62\text{ mm}\pm 0.07\text{ mm}$, $0.56\text{ mm}\pm 0.03\text{ mm}$), 而 IV、V 组珠核表面没有珍珠质沉积。研究结果表明, 三角帆蚌内脏团不同插核部位珍珠囊上皮细胞的形成存在明显差异, 斧足-内脏团前端、斧足-内脏团中部以及近生殖腺部插核能形成完整的珍珠囊结构并沉积珍珠质, 其中斧足-内脏团中部插核更有利于珍珠的生长。本研究旨在为淡水珍珠贝的内脏团育珠研究工作提供实践基础和理论依据。

关键词: 三角帆蚌; 内脏团插核; 珍珠囊; 珍珠质

中图分类号: S968

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2014)06-1098-09

淡水贝类传统外套膜小片育珠, 时间长, 颗粒小, 且珍珠质量受插核人员工艺的影响较大^[1-2], 一定程度上制约了中国淡水珍珠的产业的发展。研究表明, 淡水贝类的内脏团组织在生理和空间上均存在育珠的可能性^[3-4]。因此, 开展淡水贝类内脏团育珠研究, 将有助于提高淡水珍珠的培育技术。

20 世纪 70 年代, 中国大陆的研究者展开了淡

水贝内脏团育珠插核部位选择的相关研究。江苏吴县水产科学研究所首次报道了采用三角帆蚌(*Hyriopsis comingii*)和皱纹冠蚌(*Cristaria plicata*), 在唇瓣下方(肝下部)进行内脏团有核珍珠的培育, 但留核率低, 死亡率高^[5]。随后, 吴宗文等^[6]发现在三角帆蚌和皱纹冠蚌的内脏团斧足下方两侧生殖腺处植核较难; 童文彪等^[7]研究发现三角帆蚌内脏团斧足前端和后端的上方可作为插核部位,

收稿日期: 2014-06-13; 修订日期: 2014-08-24.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(31201991); 上海市优青项目(ssc11004); 教育部博士点基金项目(20123104120003); 上海市高校知识服务平台项目(ZF1206).

作者简介: 李文娟, 讲师, 主要从事水生生物分子及细胞生物学研究. E-mail: wjli@shou.edu.cn

通信作者: 施志仪, 教授, 博士生导师, 主要从事水生动物生物技术研究. E-mail: zyshi@shou.edu.cn

并指出斧足后端稍上方留核率高。张元培等^[8]指出池蝶蚌(*Hyriopsis schlegeli*)与三角帆蚌相仿的插核核位, 即内脏团唇瓣下方肝下部、内脏团背侧的围心腔下方, 手术死亡率高, 而采用斧足前端的稍上方和斧足后端的稍上方的插核易产生污珠、素珠, 且脱核率很高。由于淡水贝类内脏团有核珍珠培育技术不完善, 至今培育有核珍珠未见规模化生产, 因此淡水贝内脏团育珠的研究工作仍是较为重要的研究课题之一^[2, 9]。

与外套膜组织育珠一样, 内脏团珍珠的形成也是依赖于珍珠囊组织的分泌作用。一般认为, 珍珠囊是细胞小片与受体组织相互作用, 在珠核周围逐渐形成的囊状结构, 其细胞可以紧贴珠核分泌珍珠质, 进而形成珍珠^[10-11]。作为分泌珍珠质并促使珍珠形成的组织, 珍珠囊细胞的组成和形态无论是在生理上还是结构上都与外套膜上皮细胞相似, 对珍珠的形成和生长起着关键作用^[11-12]。研究表明, 不同的插核核位对珍珠表型性状等有显著地影响^[2, 13], 但对不同插核核位珍珠囊的形成和结构未见报道。

本研究通过对中国主要淡水育珠贝—三角帆蚌进行了内脏团内 5 个不同部位的插核手术, 通过组织染色、显微观察技术, 从珍珠囊形成以及珍珠质沉积角度研究三角帆蚌内脏团不同插核部位育珠过程, 进而选出有利于珍珠形成的插核核位, 为三角帆蚌内脏团培育珍珠提供了理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验选用体格均一、健康的 2 龄三角帆蚌, 其均购自金华市三角帆蚌养殖厂, 体质量(72.9 ± 4.13) g, 壳长(11.78 ± 1.06) cm。插核所用珠核为贝壳珠, 购自江西鄱湖珍珠核工艺有限责任公司, 直径(5.01 ± 0.02) mm。

150 只三角帆蚌随机分成 5 组, 每组 30 只, 每组设 5 个重复, 每个重复 6 只。所有三角帆蚌吊养于室内循环水族箱内, 吊养深度 20~30 cm, 实验期间连续充气, 自然光照, 每周换 1 次水, 水温保持在(22.5 ± 1.7) °C, 并以等量的普通小球藻(*Ch-*

lorella vulgaris)及豆浆投喂, 每天 1 次。

1.2 组织样品的制备与观察

实验设 5 个插核组, 每个插核部位对应 1 个插核组。所有插核组均采用正方形外套膜小片紧贴珠核的方法^[9]在内脏团 5 个位点分别插核: I (斧足内脏团前端)、II (斧足内脏团中部)、III (近生殖腺部)、IV (近胃部)、V (近肾部), 所有实验三角帆蚌放置于同一环境下养殖。实验期为 150 d, 在插核后第 20、50、90、150 天(thd), 于每实验组的重复组取 3 只蚌进行解剖。取具有插核部位的内脏团组织, 长宽各约 10 cm, 连带珠核放入 10% 中性甲醛固定液中进行组织固定。取出珠核后经石蜡切片, HE 染色^[14], 采用 Nikon Ci-E 生物显微镜观察不同插核部位珍珠囊组织形态结构。同时, 采用游标卡尺测量插核后 90、120、150 d 珍珠质沉积厚度, 以及覆盖程度, 分析珍珠质沉积情况。

1.3 数据处理与分析

实验数值表示为平均值 \pm 标准误 ($\bar{x} \pm SE$), 数据采用 SAS 软件 GLM 程序的单因子方差分析 (SAS 6.12, 1996), 不同组间显著性分析采用 Duncan 多重比较, 显著水平为 $P=0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 三角帆蚌不同插核部位术后 20 d 的组织形态观察

从插核施术后 20 d 插核核位组织切片显微观测发现, II 组在插核位点上出现了单层柱状上皮样包被细胞, 而其他各组在插核核位均未出现类似的包被层(图 1), 紧贴珠核一层细胞为肌细胞。图 1II-B 所示, II 组紧贴珠核面形成了一层不连续的单层低柱状上皮细胞, 为次生珍珠囊, 其下方与肌组织紧密相连, 其间夹杂结缔组织。

2.2 三角帆蚌不同插核部位术后 50 d 的组织形态观察

图 2 显示, 插核施术后 50 d, I、II、III 组在插核的位点处均出现了明显的包被层(图 2I-A、2II-A、2III-A 箭头所指处), 其 HE 染色较深, 与周围组织有明显分区, 其下方与大量的结缔组织形成连接。将这 3 组包被层显微放大观察, 发现 3

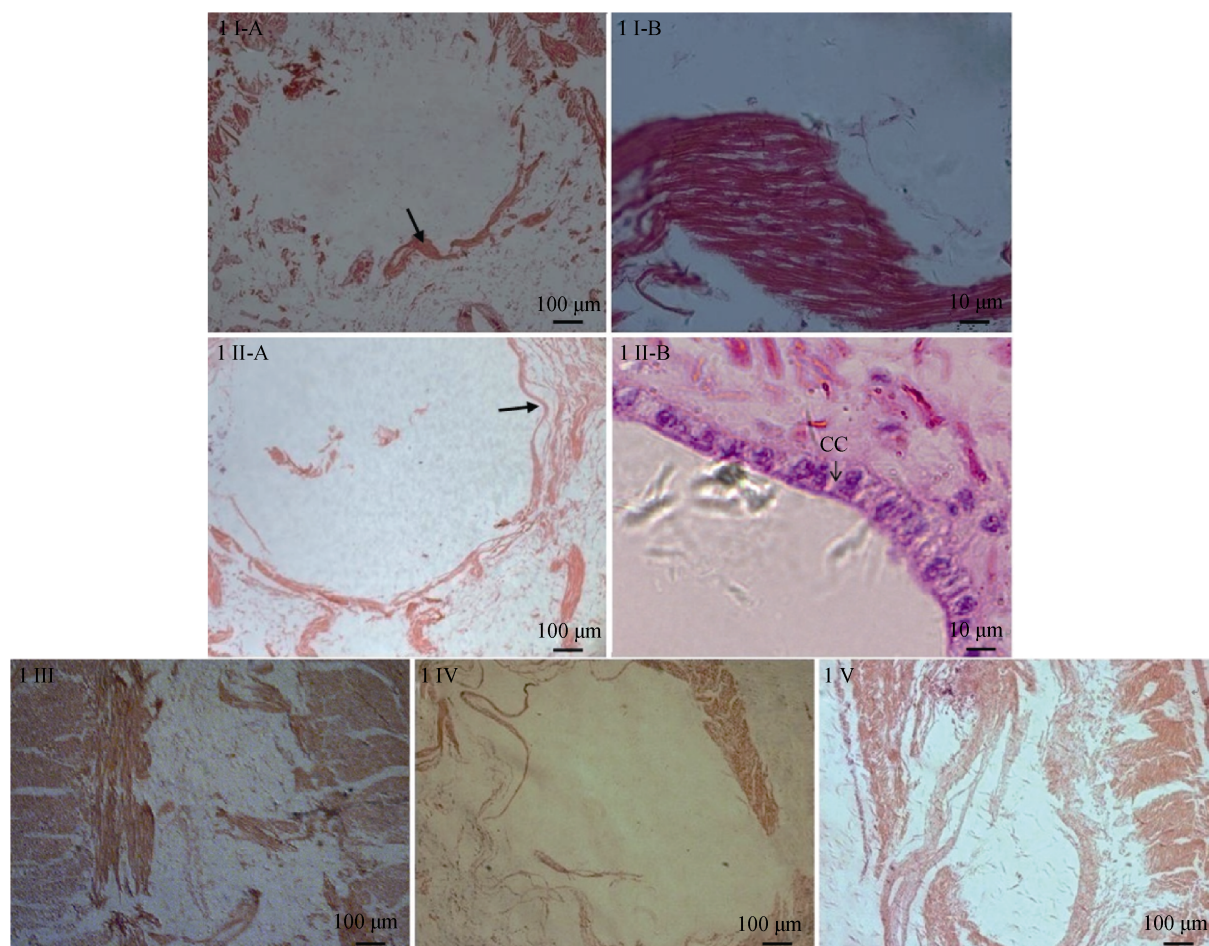


图 1 三角帆蚌插核术后 20 d 不同插核部位组织形态观察

I、II、III、IV、V 对应各插核组; -B 分别是对应-A 组的放大图(黑色箭头所指); CC: 单层柱状上皮细胞。

Fig. 1 Morphologic observation of the different tissue sites with inserting-nucleus 20thd in *Hyriopsis comingii*
I, II, III, IV and V refer different treatment groups; -B is enlarged view of corresponding group -A, respectively (black arrow);
CC: simple columnar epithelium cell.

组包被层均由大量紧密连接的单层高柱状细胞构成,其细胞长轴与珠核垂直,细胞核多偏离中心,位于基底面,是珍珠囊初步形成时期。

从图 2I-B、2II-B、2III-B 可以看出,3 组中 III 组珍珠囊的柱状细胞最高,II 组其次,显著大于实验 I 组($P < 0.05$)。该时期,3 组珍珠囊细胞游离面均存在大量的微绒毛结构。II 组微绒毛在该时期呈短而较为密集状,III 组微绒毛结构呈长短共同存在的密集状,而 I 组微绒毛结构短且稀疏。此外,该时期 I、II、III 组的珍珠囊柱状细胞中均夹杂了少量的黏液细胞(胞质染色较浅,细胞核位于一侧),其中 I 组中含量最多,II 组反之。此外,II、III 组柱状细胞中后部含有大量的体积较大的

颗粒状物,在显微镜下折射率较高,呈形状不规则的亮点状,特别是 II 组颗粒物最多。

插核施术后 50 d,IV、V 组的组织切片显示见图 3,结果表明该时期 IV、V 组插核位点未形成完整的包被层,从而形成珍珠囊。其中,IV 组插核位点的包绕组织为不连续分布的结缔组织和少量肌纤维,V 组为薄的复层扁平上皮组织。

2.3 三角帆蚌不同插核部位术后 90 d 的组织形态观察

插核施术 90 d,I、II、III 组珍珠囊进一步发育。如图 4 所示,该时期 I、II、III 组珍珠囊基底部的由结缔组织构成的基底层增厚(3I-A、3II-A、3III-A),3 组珍珠囊厚度差异不明显($P > 0.05$),柱

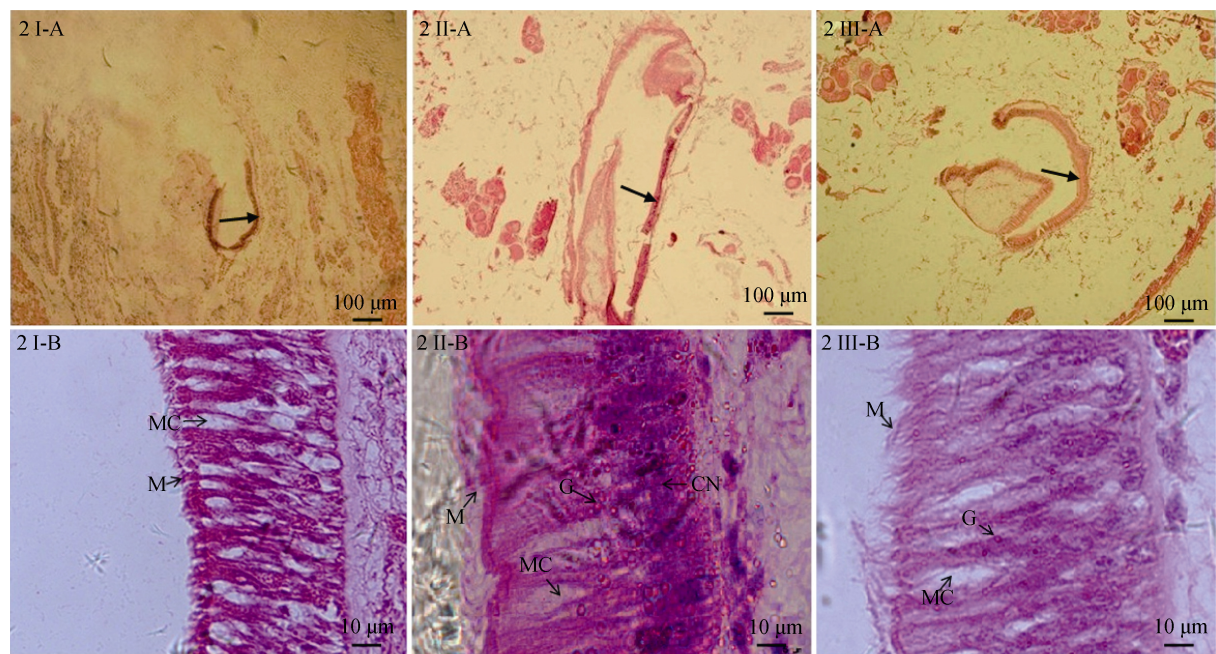


图 2 三角帆蚌插核术后 50 d I、II、III 组插核部位组织形态观察
I、II、III 对应各插核组；-B 分别是对应组-A 的放大图(黑色箭头所指)；M：微绒毛；G：颗粒物；MC 黏液细胞；CN：细胞核；
箭头示插核处包被层。

Fig. 2 Morphologic observation of the I, II, III groups with inserting-nucleus 50thd in *Hyriopsis comingii*
I, II and III refer different treatment groups; -B is enlarged view of corresponding group -A, respectively (black arrow);
M: microvillus; G: granular matter; MC: mucous cells; CN: cell nucleus; arrow shows enveloping layer.

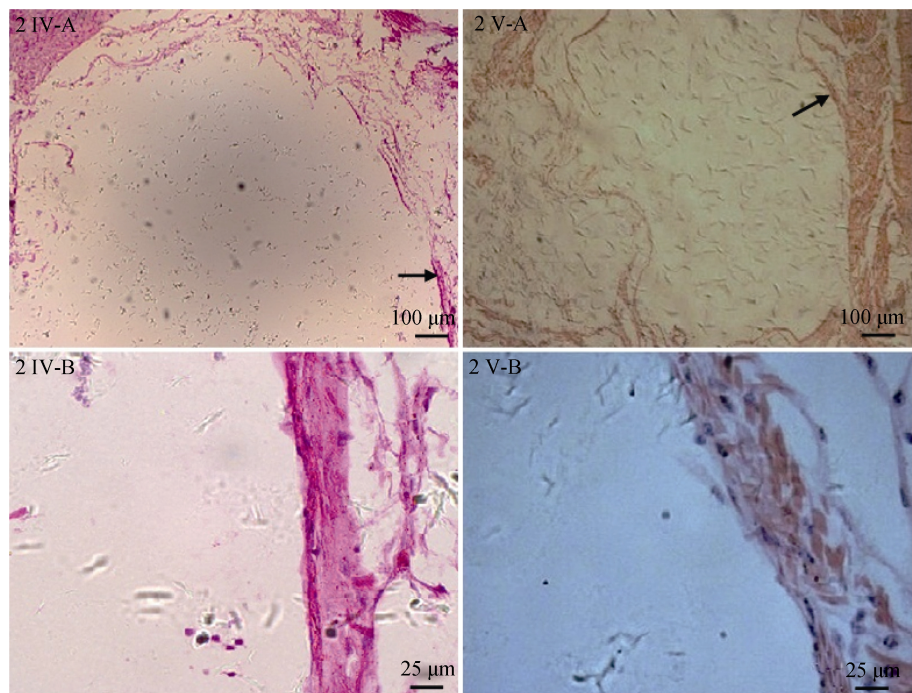


图 3 三角帆蚌插核术后 50thd IV、V 组插核部位组织形态观察
IV、V 对应各插核组；-B 分别是对应组-A 的放大图(黑色箭头所指)。
Fig. 3 Morphologic observation of the IV and V groups with inserting-nucleus 50thd in *Hyriopsis comingii*
IV and V refer different treatment groups; -B is enlarged view of corresponding group -A, respectively (black arrow).

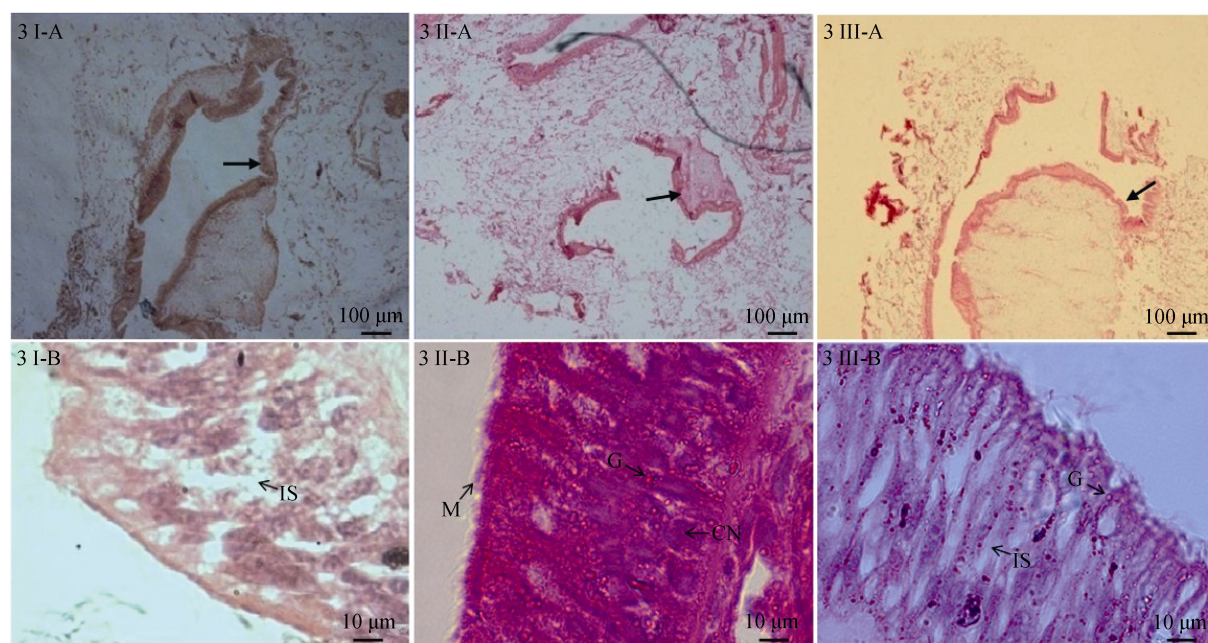


图 4 三角帆蚌插核术后 90 d I、II、III 组插核部位组织形态观察

I、II、III 对应各插核组; -B 分别是对应组-A 的放大图(黑色箭头所指); M: 微绒毛; G: 颗粒物; CN: 细胞核; IS: 细胞间隙。

Fig. 4 Morphologic observation of the I, II and III groups with inserting-nucleus 90 thd in *Hyriopsis comingsii*

I, II and III refer different treatment groups; -B is enlarged view of corresponding group -A, respectively (black arrow);

M: microvillus; G: granular matter; CN: cell nucleus; IS: intercellular space.

状上皮细胞的微绒毛结构在 I、III 组中发生了退化, 均呈现短小稀疏状, 仅 II 组微绒毛结构进一步发育, 明显比其他两组密集(3I-B、3II-B、3III-B)。3 组珍珠囊切片中, 柱状上皮细胞的细胞核长轴仍与细胞平行, 但其排列从珍珠囊细胞底部向游离面错落伸展。其中, I、III 组柱状上皮细胞出现大量细胞间隙, 细胞核大, 核质松散, 而 II 组柱状细胞排列紧密, 细胞间隙较少, 细胞核质较凝聚(染色深)。与插核后 50 d 相比, II、III 组上皮细胞中后端大颗粒物数量减少, 而大量的颗粒物分布在珍珠囊上皮细胞的前端。IV、V 组插核后 90 d, 紧贴珠核位点均形成了一层与珠核平行的扁平上皮细胞, 且 V 组较 IV 组上皮层厚(图 5)。

2.4 三角帆蚌不同插核部位术后 150 d 的组织形态观察

插核施术后 150 d, I、II、III 组珍珠囊形态结构如图 6 所示。该时期, 3 组珍珠囊上皮细胞的细胞核由底部向细胞游离面伸展、错落排列的趋势更加明显, 单位面积细胞核的数目较 90 thd 显

著增多($P<0.05$)(4I-B、4II-B、4III-B)。II、III 组珍珠囊进一步发育, 珍珠囊厚度显著高于 I 组($P<0.05$), 而 I 组珍珠囊具有衰退的趋势(4I-B、4II-B、4III-B)。I 组珍珠囊结构高度较术后 90 d 显著下降 ($P<0.05$), 其细胞间隙明显减少, 细胞核凝集, 体积变小。反之, II、III 两组珍珠囊结构细胞高度增大, 细胞核质松散(4I-B、4II-B、4III-B), 前期的颗粒状物质显著减少。与实验 I 组相似, 实验 III 组珍珠囊柱状细胞间的细胞间隙较施术后 90 d 明显缩小, 而实验 II 反之, 其上皮细胞间细胞间隙明显增加, 分泌腔较小, 且游离面微绒毛分布密集。

施术后 150 d, 和前期相似, 实验 IV、V 组先前形成的薄层扁平细胞进一步增厚, 其下与大量的结缔组织相连, 推测该结构主要起隔离保护机体功能(图 7)。

2.5 三角帆蚌不同插核组珍珠质沉积分析

如图 8, 插核施术后 50 d, I、II、III 插核组均出现了白色碳酸钙晶体沉积, 沉积量小, 且不均匀, 出现部分珠核裸露现象。到插核后 90 d 时, 3

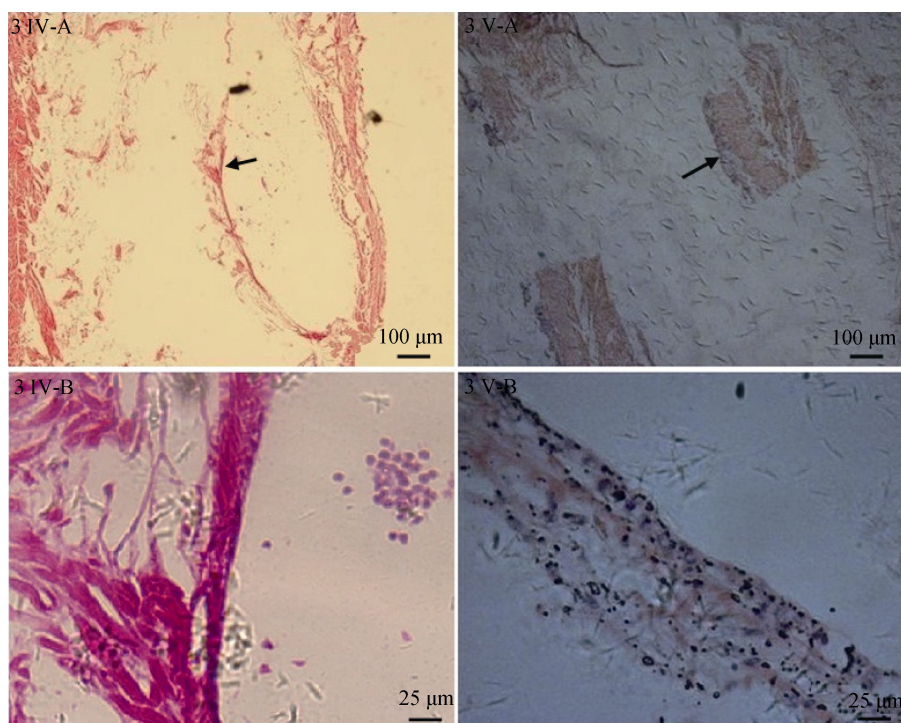


图 5 三角帆蚌插核术后 90 d IV、V 组插核部位组织形态观察

IV、V 组对应各插核组; -B 分别是对应-A 组的放大图(黑色箭头所指).

Fig. 5 Morphologic observation of IV and V groups with inserting-nucleus 90 thd in *Hyriopsis comingii*
IV and V refer different treatment groups; -B is enlarged view of corresponding group -A, respectively (black arrow)

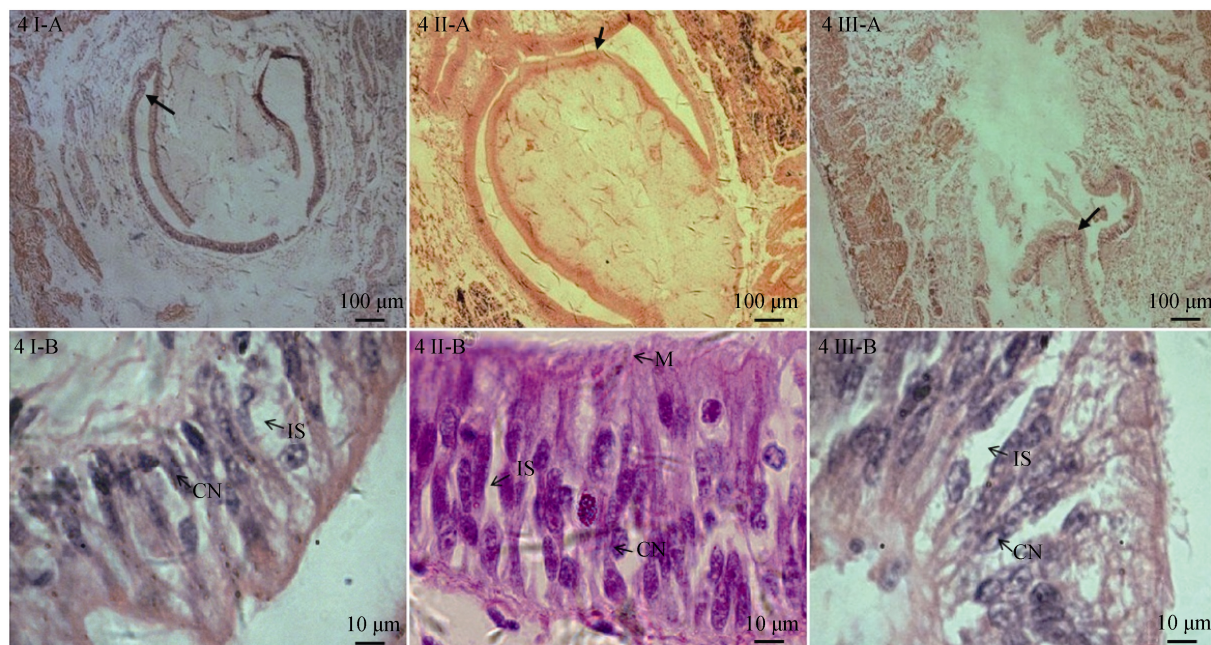


图 6 三角帆蚌插核术后 150 d I、II、III 组插核部位组织形态观察

I、II、III 对应各插核组; -B 分别是对应组-A 的放大图(黑色箭头所指); M: 微绒毛; CN: 细胞核; IS: 细胞间隙.

Fig. 6 Morphologic observation of the I, II and III groups with inserting-nucleus 150 thd in *Hyriopsis comingii*
I, II, and III refer different treatment groups; -B is enlarged view of corresponding group -A, respectively (black arrow);
M: microvillus; CN: cell nucleus; IS: intercellular space.

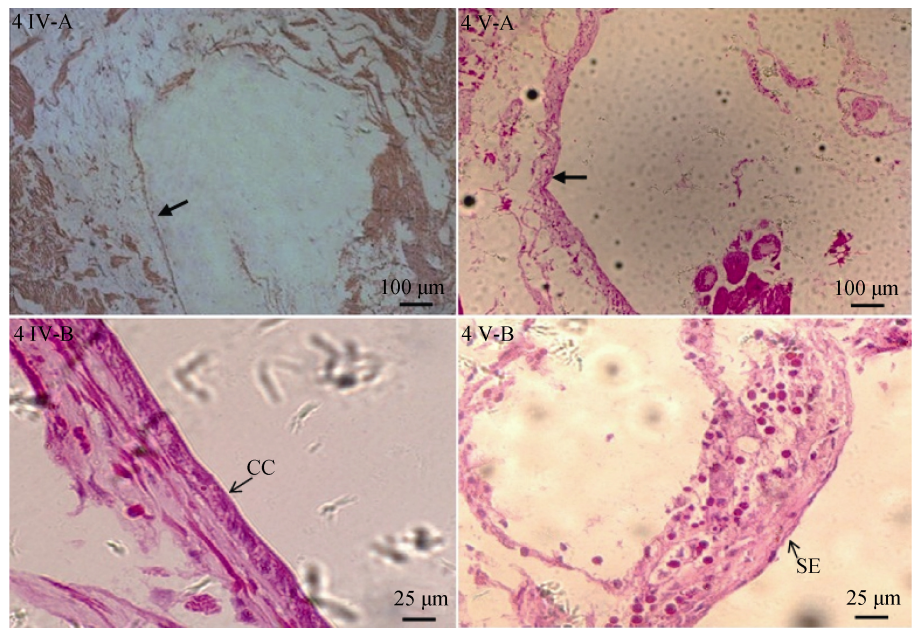


图 7 三角帆蚌插核术后 150 d IV、V 组插核部位组织形态观察

IV、V 对应各插核组; -B 分别是对应-A 组的放大图(黑色箭头所指); SE: 扁平细胞.

Fig. 7 Morphologic observation of IV and V groups with inserting-nucleus 150 thd in *Hyriopsis comingii*
IV and V refer different treatment groups; -B is enlarged view of corresponding group -A, respectively (black arrow); SE: squamous cells

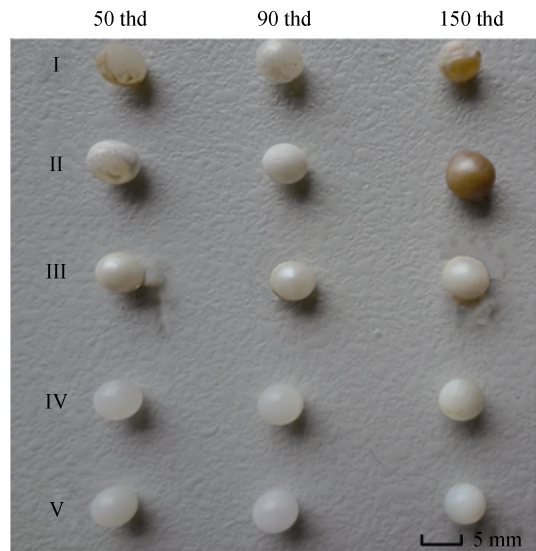


图 8 内脏团不同插核部位珍珠质沉积状态

Fig. 8 The status of nacre deposition of different treatment groups in viscera mass.

个插核组珠核外被 CaCO_3 晶体完整覆盖, 但均未出现明显的珍珠质光泽。150 thd 时, I、II、III 插核组珠核外晶体沉积显著增厚, 分别为 (0.62 ± 0.07) mm、 (0.85 ± 0.06) mm、 (0.56 ± 0.03) mm, 其中 II 厚度显著大于其他两组 ($P < 0.05$), 且沉积均

匀, 并具有明显的珍珠质光泽。实验组 IV、V 在整个实验期没有珍珠质沉积。

3 讨论

内脏团作为培育正圆大珍珠的潜在部位, 具有体积较大, 位点多等特点, 可形成珍珠光泽好、颗粒大、形状圆的优质珍珠^[3, 5, 9]。近年来对内脏团可供选择的插核核位的研究已被相继报道^[2-4, 9, 13], 但并未对每个核位的优劣进行比较。本文通过比较不同部位施术后珍珠囊形成以及珍珠质沉积, 选出最有利于珍珠形成的插核核位。

本研究结果表明插核后 20 d, 斧足中部(II 组)插核最早形成一层排列不规则、不连续的柱状上皮细胞。石安静等^[15]研究表明, 这一层不太整齐的上皮细胞, 是育珠蚌“次生珍珠囊”的上皮细胞, 形态为矮柱状, 与本研究结果一致。本研究表明斧足中部插核后 20 d 最早形成不连续的次生珍珠囊, 可见插核后 20 d 内, II 组珍珠囊发育最快, 已经形成了初期的次生珍珠囊, 而其余 4 组紧贴珠核一侧的, 仍是大量的结缔组织和肌肉纤维, 并没有形成与珍珠囊有关的上皮细胞。

本研究发现,插核后 50 d, II、III 组珍珠囊柱状细胞中前部含有大量体积较大的颗粒状物质,是珍珠囊细胞分泌物。有文献^[16]表明,这种颗粒体由膜所包围,内含有许多电子密度较大的小颗粒,并主要分布于其周边区域,这些大颗粒在细胞的中下部积累了足够的物质以后,经运输到达细胞的游离端,穿越细胞膜而进入到珍珠囊腔。这些颗粒体可能正是有珍珠囊表皮细胞合成。研究表明,柱状细胞能向珍珠囊腔分泌蛋白质、硫酸化黏多糖和大量的中性黏多糖,这些均与 CaCO_3 霏石结晶的形成生长有关^[17-18]。焦钰等^[14]研究也认为,术后 50 d 表皮细胞已经具备了稳定的分泌功能。这个时期珍珠囊细胞间已经形成了少量黏液细胞,表明珍珠囊的分泌方式更加多样化,Keith 等^[19]认为该黏液细胞分泌的物质是参与钙化的重要成分。

插核后 90 d, I、II、III 组珍珠囊上皮细胞的特征暗示了珍珠囊上皮细胞在这个时期更加活跃,各种功能进一步加强。石安静等^[20]研究发现,外套膜外表皮细胞间存在大量间隙,这些间隙是该分泌的一种重要通道。本实验中 I、III 组珍珠囊上皮细胞间同样具有大量的间隙,这些间隙与外套膜外表皮细胞间隙功能相同,是有机物质分泌的重要通道。邱安东等^[16]研究发现,大颗粒分泌也是珍珠囊表皮细胞物质分泌的特殊形式,与珍珠质的分泌有关,其分泌物具有高电子密度,表明其富含带电荷的阴离子基团,而这种细胞间隙同样是富含阴离子基团物质的重要渠道。比较插核后 50 d 时 II、III 组细胞显微图,发现这个时期珍珠囊上皮细胞中后端那些体积较大的颗粒物质大大减少,这些颗粒物质可能在上皮细胞间隙形成后,分泌方式变成间隙分泌^[20]。

此外,微绒毛是珍珠囊表皮细胞的一种重要分泌渠道,该结构与细胞的分泌吸收功能密不可分^[16]。插核施术后 50 d 微绒毛结构就在 I、II、III 组珍珠囊上皮细胞被观察到,表明其珍珠囊细胞已经具有分泌功能,并且 II、III 组具有较好的分泌能力。插核后 150 d, II 组珍珠囊上皮细胞游离端存在大量微绒毛,细胞间隙数量增多,说明 II

组在这个时期正值珍珠质分泌旺盛期。研究认为珍珠囊细胞的分泌具有区段性和节律性^[16, 21], I、III 组细胞微绒毛、细胞间隙及颗粒物等的变化从细胞显微结构上也证实了这一点。

细胞核的数目和形态体现了细胞生物学活性^[22]。本研究首次发现插核后期 (90 thd、150 thd) 珍珠囊上皮细胞核的排列、单位面积数量、核质的形态较早期发生了明显的变化,表明珍珠囊发育已经进入成熟阶段,其表皮细胞的细胞核处于高度转录活性状态^[22],可以提供更多的活性物质用于珍珠的形成和生长。目前,对于珍珠囊形成的微观结构长期跟踪的报道较少,仅焦钰等^[14]2010 年研究表明在插核后 60 d 已形成具有分泌珍珠质功能的扁平状珍珠囊表皮细胞(这与我们的研究结果一致),但未延续到插核后 90~150 d,其珍珠囊上皮细胞核数目的增加形成的是多核细胞还是假复层柱状细胞尚不清楚,故插核后期的珍珠囊显微结构有待于进一步研究。

IV 组和 V 组在整个实验期,插核部位未形成珍珠囊细胞,仅形成了扁平细胞。插核后期推测可能因为插核导致的伤害,机体活力一直较低,扁平细胞无法进一步演化为矮柱状细胞,没有形成珍珠囊。结合珍珠质沉积的结果来看,斧足内脏团前端、斧足内脏团中部以及近生殖腺部有利于珍珠形成,这与各部位术后珍珠囊形成情况相对应。其中,斧足-内脏团中部插核组在五个部位中最好,珍珠质沉积最为均匀,珍珠层形成速度加快。因此,斧足-内脏团前端、斧足-内脏团中部以及近生殖腺部可作为插核育珠部位,斧足内脏团中部为三角帆蚌内脏团珍珠培育的最佳插核核位。本研究为实施淡水珍珠贝内脏团插核育珠提供了理论基础。

参考文献:

- [1] 徐毛喜. 探讨中国淡水珍珠产业可持续发展措施[J]. 科学养鱼, 2012(2): 4-6.
- [2] 黄凯, 施志仪, 李文娟, 等. 三角帆蚌内脏团不同插核部位对机体生理代谢的影响[J]. 水生生物学报, 2013(6): 1085-1093.
- [3] 施志仪, 谢先中, 何秀娟. 三角帆蚌内脏团珍珠培育部位

- 的生物性状研究[J]. 生物技术通报, 2008(3): 178-181, 189.
- [4] 邵晓阳, 黄惟灏, 林景雄, 等. 三角帆蚌内脏团与外套膜钙盐分布的组织化学研究[J]. 青岛海洋大学学报: 自然科学版, 1999(3): 144-149.
- [5] 吴县水产局珍珠组. 河蚌育珠[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1979: 44-58.
- [6] 吴宗文, 曾和期, 江述秋. 珍珠养殖[M]. 成都: 四川人民出版社, 1981: 51-52.
- [7] 童文彪, 陈国英, 邢廷胜. 河蚌育珠新技术[M]. 合肥: 安徽科学技术出版社, 1995: 35.
- [8] 张元培, 韩德举. 名优珍珠养殖及饰品加工[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 112-113.
- [9] 王卓锋. 三角帆蚌内脏团培育圆形有核珍珠实验[J]. 中国水产, 2008(6): 50-51.
- [10] 石安静, 张矛, 吴中文, 等. 三角帆蚌珍珠囊形成的研究[J]. 水产学报, 1985(3): 247-253.
- [11] 邱安东, 石安静, 孙奇志. 三角帆蚌珍珠囊的超微结构研究[J]. 四川大学学报: 自然科学版, 1999(6): 1111-1115.
- [12] 杜晓东, 何海平, 吴熙载. 褶纹冠蚌珍珠囊发育的研究[J]. 水生生物学报, 1991, 15(3): 228-233.
- [13] 蒙钊美, 张勤奋, 李有宁, 等. 黑珠母贝的核位解剖及其插核育珠初步研究[J]. 中国水产科学, 1994(1): 25-30.
- [14] 焦钰, 师尚丽, 杜晓东, 逯云召, 王庆恒. 马氏珠母贝珍珠囊发育的组织和组织化学研究[J]. 广东海洋大学学报, 2010(4): 7-10.
- [15] 石安静, 吴中文. 三种淡水育珠河蚌外套膜酶的组织化学研究[J]. 水产科学, 1985, 4(2): 3-8.
- [16] 邱安东, 石安静. 三角帆蚌珍珠囊细胞的分泌活动[J]. 水产学报, 1999, 23(2): 115-121.
- [17] 石安静, 张矛, 吴中文, 等. 三角帆蚌珍珠囊形成的研究[J]. 水产学报, 1985, 9(3): 247-252.
- [18] 杜晓东, 许国领. 褶纹冠蚌珍珠囊发育的超微结构观察[J]. 水产学报, 1990, 14(3): 212-218.
- [19] Keith J, Stockwell S, Remillard K, et al. Comparative analysis of macromolecules in mollusc shells[J]. Comp Biochem Physiol, 1993, 105B: 487-496.
- [20] 石安静, 曾家玉. 河蚌外套膜的扫描电镜观察[J]. 水产学报, 1991, 15(1): 68-71.
- [21] Beirao P S, Nascimento J H M. Sodium and calcium-dependent mechanisms in the action potential of the secretory epithelium of a clam mantle[J]. J Exp Biol, 1989, 145: 395-402.
- [22] 王金发. 细胞生物学[M]. 北京: 科学出版社, 2003: 461-549.

Effects of different tissue sites insert-nucleus on pearl-sac formation in visceral mass of *Hyriopsis cumingii*

LI Wenjuan¹, HUANG Kai¹, LI Qian¹, QI Xiaoxiang¹, SHANG Chao¹, ZHOU Zirui¹, FU Yuanshuai¹, SHI Zhiyi^{1,2}

1. Key Laboratory of Aquatic Genetic Researches and Aquacultural Ecology, Ministry of Agriculture, Shanghai 201306, China;

2. Aquaculture Division, E-Institute of Shanghai Universities, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: In order to probe the feasibility of culturing insert-nucleus pearl in visceral mass of freshwater oyster, the different sites of visceral mass were inserted with nucleus in *Hyriopsis cumingii*. The morphology, formation and nacre deposition of the pearl sac or insert-nucleus positions were observed after inserting nucleus to confirm inserting-nucleus sites of beneficial pearl formation. The 5 locations in visceral mass were chosen (I: front foot-visceral mass, II: middle foot-visceral mass, III: near reproduction gland, IV: near stomach, V: near kidney), and mussel was inserted nucleus at these locations. The pearl sac of *Hyriopsis cumingii* was sampled in the days of 20th, 50th, 90th, and 150th (thd) with operating nucleus, respectively. Then, the formation and pearl formation were observed by the methods of HE staining and paraffin section. To group II, low columnar simple-epithelial cells were formed firstly in 20 thd after inserting nucleus, which was secondary pearl sac. Postoperative 50 thd, similar pearl sac epithelial cells were formed at inserting nucleus positions of groups I, II and III, while they was not been detected at these positions of group IV or V. The large granular matter was found at epithelial cells front of groups II and III. Postoperative 90 thd, a large number of intercellular spaces were observed at pearl sac of groups I and III. Epidermal cells with multi-nucleus were increased in groups I and II, and the numbers of granular matter of were increased in epithelial cells of groups II and III. But, the stratified squamous epithelium cells were formed in operating positions of groups IV and V. Postoperative 150 thd, intercellular spaces were decreased in pearl sec of groups I and III. Amass of microvillus were found at epithelial cell free-end of pearl sac in group II. Meanwhile, cell nucleuses were increasing and granular matter were decreasing in groups II or III compared to 90 thd. As the same time, discontinuous low columnar cells in treatment IV were found, but these did not appear in group V. The *Hyriopsis cumingii* were breed with inserting nucleus. The nacre was obvious on the inserted-nucleus surface in groups I, II or III at postoperative 50 thd, 90 thd, and 150 thd. The results indicated the depositional nacre was evenly distributed for groups II and III, but group I did not. The thickness of pearls lay in group II ($0.85\text{ mm}\pm 0.06\text{ mm}$) significantly increased than them in groups I and III ($P<0.05$; $0.62\text{ mm}\pm 0.07\text{ mm}$, $0.56\text{ mm}\pm 0.03\text{ mm}$). Otherwise, there wasn't nacre deposition on the nucleus surface of groups IV and V. This study confirmed that the formation of the pearl sac epithelial cells existed obviously difference by inserting nucleus in different position of *Hyriopsis cumingii*. The complete pearl sac structure could be formed at different sites for front foot-visceral mass, middle foot-visceral mass, near reproduction gland, and then the nacre were deposited. Furthermore, inserting nucleus in middle foot-visceral mass was conducive to pearl growth. This research provided the practical and theoretical foundation for cultivating freshwater pearl in visceral mass.

Key words: *Hyriopsis cumingii*; insert-nucleus in visceral mass; pearl sac; nacre

Corresponding author: SHI Zhiyi. E-mail: zyshi@shou.edu.cn

《中国水产科学》征稿简则

《中国水产科学》以反映水产科学领域的最新进展、最新成果、最新技术和方法为办刊方向,主要刊载水产科学基础研究、水产生物病害与防治、水产生物营养与饲料、渔业生态和水域环境保护、水产养殖与增殖、水产资源、海淡水捕捞以及水产品保鲜、加工与综合利用等方面的研究论文,少量刊载综述和学术动态、书讯等。对于国家级、省部级基金项目资助的较高水平研究论文优先录用,尤其欢迎中外合作以及国外基金资助的研究成果与论文。

总体要求与说明

1. 本刊只接受原始论文。署名作者应为主要参加研究的人员,能够对研究内容及结果负责。

2. 对于国家重大、重点项目及基金项目有突破性进展、重要理论发现等方面的研究成果和论文,本刊承诺将在最短时间予以优先发表。

3. 提交论文时,请通过本刊网上投稿系统进行投稿及进行稿件信息查询。自 2011 年起,本编辑部只受理通过网上投稿系统的投来的稿件。

4. 本刊对来稿有删改权,必要时返回作者修改并清稿;未录用的稿件一律退还作者。论文发表后,其著作权归作者所有。论文发表前清样将返回作者校核与确认。论文一经发表,文责由作者自负,编辑版权归本刊所有;本刊将酌付稿酬,并赠送 1~2 份当期期刊和 20 份论文单行本。

5. 来稿被正式录用后,根据实际排版页数收取作者版面费,加急发表酌情加收部分费用。

6. 凡在本刊发表的论文,均视为已获得作者著作权的使用许可(包括各种介质的使用许可),本刊有权将所出版的刊物加入各相关网络、数据库,或制成光盘版。作者著作权的使用费包括在稿酬中,不再另外支付,作者如有异议,请务必在投稿时声明。

写作要求

1. 全文 请用 word 文档格式排版:正文汉字体为 5 号宋体,外文字母及符号为 5 号 Times New Roman 体;大小写、正斜体、上下角标、数字和易混淆的字母必须书写清楚,拉丁文生物学名的属、种名为斜体,定名人用正体,拉丁学名在文中首次出现时不能缩写。

2. 页首信息 作者排序与作者单位要明确、没有争议,基金项目要注明立项主管单位(如科技部)、项目名称及编号;应提供第一作者姓名、出生年月、性别、职称、学位、研究方向及 E-mail 地址;注明通讯作者姓名与联系方式。详细准确的联系方式(电话、手机号等)可另行注明,以便编辑部与作者联系方便。

3. 摘要 应为独立完整的、第 3 人称的报道性短文,中文摘要要求 400~600 字,包括料背景、研究方法、研究目的、主要结果和结论;英文摘要要求大摘要,除上述信息外,还应包括研究背景以及讨论中的重要信息,不少于 600 个英文单词。

4. 正文主体 至少应包括 4 个独立部分,即前言、材料与方法、结果、讨论。必要时应有结论部分。

5. 图 应有自明性,必要时应有图注解符号含义、

注明实验参数。图题信息要完整,图片应提供 tif 格式电子文本。照片图应清晰,并提供 JPG 格式文件(黑白照片分辨率不低于 600 dpi,彩色照片分辨率不低于 300 dpi)。欢迎高清晰度、质量好的彩色照片。图中文字内容要求中、英文双语。

6. 表 要求采用三线表,表中尽量不使用竖线和斜线,必要时可适当添加线段。表题信息要完整。表自明性要强,必要时应用注解。表中各栏目文字内容及注解要求中、英文双语。图表重复时,提倡留表删图。

7. 关键词 3~8 个,中、英文要对应,尽量选取能反映论文主题的、规范的名词术语。

8. 参考文献 按中国国家标准化管理委员会于 2005 年 10 月 01 日发布的 GB/T7714-2005《文后参考文献著录规则》著录,采用顺序编码制,即按其在正文中出现顺序连续编码,在正文中以中括号标注于引用处右上角。西文人名、西文刊名中,缩写点一律省略代以空格,人名按姓前名后排列。每条文献的题名后请注明文献类型:期刊论文[J],专著[M],论文集[C],报纸文章[N],学位论文[D],报告[R],标准[S],专利[P],类型不明的文献[Z]。公开发行的专著、论文集、报告集等必须注明出版地与出版社。例:

[期刊] 序号 作者(不超过 3 人者全部写出,超过者只写前 3 名,后加“等”或“et al.”作者之间用逗号间隔). 文题[J]. 期刊名,年,卷(期): 起止页码。

[书籍]序号 作者. 书名[M]. 译者. 版次(第 1 版不写). 出版地: 出版单位(国外出版单位可用标准缩写不加缩写点), 出版年: 起止页码。

[论文集] 序号 作者. 题名[C]//主编. 论文集名. 出版地: 出版者, 出版年. 起止页码。

[学位论文] 序号 作者. 题名[D]. 保存地点: 保存单位, 年份. 起止页码。

[电子文献] 序号 主要责任者. 电子文献题名. 电子文献的出处或可获得地址,发表或更新日期/引用日期(任选)。

9. 斜体的使用 量符号一般用斜体字母(pH 例外)表示,如速度 V 、长度 L 、时间 t ;物种拉丁学,如 *Acipenser sinensis*;限制酶局部名称,如 *Eco* RI、*Hind* I、*Bam* HI。

10. 量单位与量名称 一律按国家技术监督局 1993 年 12 月 27 日发布的 GB3100~3102-93 号标准《量和单位》中规定的外文字母书写,使用要规范,如 g/L(mL)、mol/L(不用 M)、hm²(不用亩)等。量名称应使用标准化名称,例如,根据混合物的具体情况使用“质量分数”、“体积分数”或“质量浓度”,而不能使用已废弃的“重量百分数”、“体积百分比浓度”等。

网上投稿网址: www.fishscichina.com

编辑部通讯地址

北京市丰台区永定路南青塔村 150 号《中国水产科学》编辑部,邮编 100039

电话: (010) 68673921, 68693131; 传真: (010) 68673931

E-mail: zgscckx@cafs.ac.cn; jfishok@163.com