

海胆和海参的四环素标记

孙 松 廖玉麟
(中国科学院海洋研究所)

近年来,我国的水产养殖事业蓬勃发展,海参作为海珍品养殖对象日益受到人们的重视,海胆的人工养殖也正在探索中。但对海参和海胆生物学方面的研究却报道得很少,特别是标记方法和生物学方面的资料更少。本文仅介绍一种新的棘皮动物标记法——四环素法,并且通过对标记部位的测量来计算其生长。

从50年代中期开始,人们就发现四环素能够固着在骨骼上,到60年代,许多资料都证实了四环素能够在哺乳动物的骨骼和牙质上固着。由于四环素在紫外线照射下能够发出明亮的荧光,所以给检测带来了方便。Kobayashi 和 Taki^[1]于1969年首次成功地利用四环素对海胆进行了标记,用来研究海胆壳的生长过程。J. S. Pearse 和 V. B. Pearse^[2]于1975年利用四环素标记海胆壳来研究海胆壳上的生长带。Ebert^[1]于1977年利用四环素对海胆进行标记,以分析海胆种群的变化,并于1978^[2]年用此法对热带的黑海参 *Holothuria atra* 进行了生长方面的研究。下面将标记的方法作一简介。

海胆的标记 首先准备好标记用的盐酸四环素晶体,将其溶于适量的海水中,浓度一般为每 ml 海水中溶解 10mg 四环素。可用少量的海胆标本进行剂量试验,通常每 10g 海胆用 1—2mg 药品,把配好的药品从围口部直接注射到海胆体内即可。多数情况下,每 10g 海胆注射 1mg 四环素即足以使胆壳带上明显的标记。注射后的海胆放回自然界或进行人工培养,3—4天后,可取少数海胆进行检查,以确认标记效果和色

彩。标记的时间最好是1—3月和8—10月,6个月。

标记检测 从标记过的海胆壳上纵向和横向各切下一片骨板(如图1所示),用蒸馏水冲洗后,再放入95%的乙醇中漂洗,将其晾干。晾干后的骨板用异丁烯酸进行包埋,然后再磨至20—50 μ 厚,制成纵向、横向切片,在紫外线(300—350nm)照射下,用荧光显微镜进行检查,被标记过的海胆发出明亮的荧光。要注意自然荧光和四环素荧光的区别,有些无机物和有机物也会发出荧光,但一般为乳白色,而四环素荧光具有其特征性的金黄色。

海参的标记 海参除在体壁中含有大量微小骨片外,其咽部还有一个由许多较大骨板组成的石灰环,海参的标记就是利用其石灰环来进行的。

把1g盐酸四环素溶解在100ml的海水中,配成可注射的溶液。盐酸四环素对温度和pH均很敏感,温度和pH越高,越易发生分解,所以最好是随配随用。配好的药品用注射器注入海参体内,注射的部位无严格要求。一般每个海参只需0.2ml注射液即可。标记的时间要选择在海参生长快的季节,因为只有正在生长的海参才能吸收四环素。如果海参在注射后的一段时间内没有生长,则标记无效。

标记检测 将海参解剖,取出其中的石灰环,用5%的次氯酸钠溶液进行处理,以便去掉有机组织,然后用蒸馏水冲洗,晾干。利用荧光显微镜(或解剖镜)在紫外线照射下进行观察,被标记过的海参石灰环骨板应有明显的荧光。

利用显微(解剖)镜上的目微尺对石灰环上的间辐板进行测量,测出其原始大小(发光部分)和最终大小两组数据,每个海参测量2—4块间辐板,取其平均数。根据测量得来的数据,应用 Brody-Bertalanffy 方程式 $P_t = P_{\infty}(1 - be^{-Kt})$, 可求出海参的生长方程。上式中, P_t 表示在时间 t 时海参骨板的长度; P_{∞} 表示骨板的最大渐近长度; K 为 Brody 生长系数; t 表示时间; 参数 $b = (P_{\infty} - P_0)/P_{\infty}$; P_0 代表一个刚附着时的海参之骨板长度。参数 P_{∞} 和 K 可从 Ford-walford 回归线的斜率和截距求得。

下面是 Ebert (1978)^[2] 对热带的黑海参 *Holothuria atra* 进行计算的实例;图2是根据间辐板的测量

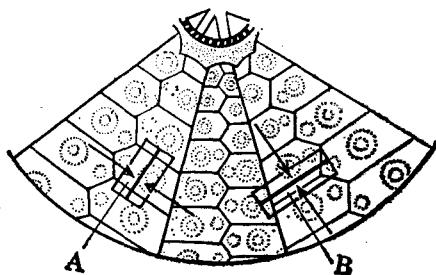


图1 海胆骨板的取样方法
A—纵向; B—横向; 箭头表示磨片的方向

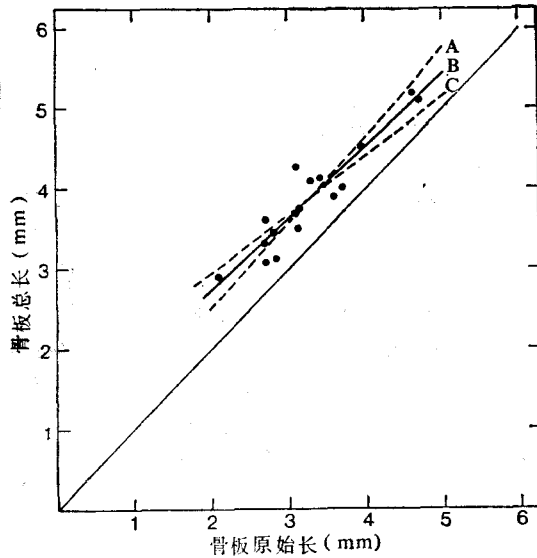


图2 被标记过的黑海参石灰环上的间辐板总长对应于原始长的回归图
虚线A和C为斜率的95%置信限；对角线表示生长为零数据所做的 Ford-walford 回归图。

回归线的参数和95%置信限为：斜率 $=0.893 \pm 0.165$ ；截距 $=0.095 \pm 0.053\text{cm}$ 。截距为 0.06cm 时，斜率 1.0 位于95%置信限内。利用图2中的回归线B，生长方程参数的估计值为

$$K = 0.106, P_{\infty} = 0.891\text{cm}.$$

骨板的生长方程为： $P_t = 0.891(1 - be^{-0.106t})$ ，其中P为骨板的长度(cm)；t为时间(a)。Ebert曾使 $P_0 = 0.0\text{cm}$ ，故 $b = 1.0$ 。实际上刚刚附着的海参骨板的长度大概为 0.001cm ，所以 $b = 0.999$ 。令 $b = 1.0$ ，对曲线的位置无显著的影响。若斜率为 0.728 (95%置信下限)，截距为 0.148cm ，将有 $K = 0.317$ ， $P_{\infty} = 0.542$ 。

当 Ford-walford 回归线的斜率大于1时，参数K将取负值，方程则不存在渐近值。尽管如此，Brody-Bertalanffy 方程仍可应用，但要写成

$$P_t = \frac{c(1 - be^{-Kt})}{1 - e^{-K}}$$

其中c为y截距， e^{-K} 为 Ford-walford 回归线的斜率。图2中95%置信上限的回归系数为 1.058 ，所以 $K = -0.056$ ， $c = 0.042$ 。截距为1时，生长方程为 $P_t = 0.06t$ 。

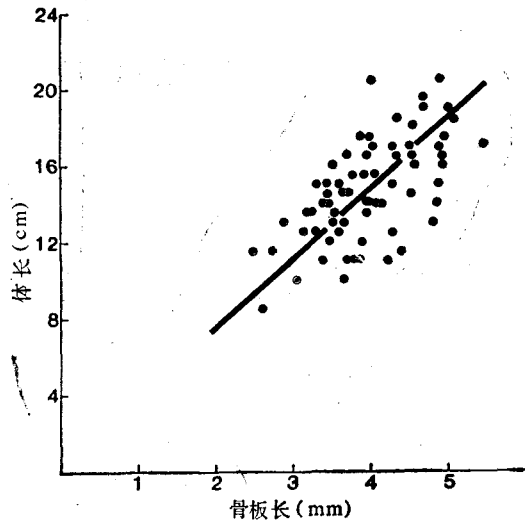


图3 黑海参骨板长对体长的回归图

通过建立体长与骨板长之间的关系，可用海参体长来表示其生长。图3是在野外测量的68个海参的体长与骨板长之间的关系图，该回归线之截距为0。若L为体长(单位：cm)；P为骨板长(单位：cm)；在斜率95%的置信区间，上述关系式为： $L = 36.35 (\pm 1.30)P$ 。

另外，可在实验室内找出湿重与骨板长之间的关系，以使用重量来表示其生长。

参考文献

- [1] Ebert, T. A., 1977. An experimental analysis of sea urchin dynamics and community interactions on a rock jetty. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 27:1-22.
- [2] ————1978. Growth and size of the tropical sea cucumber *Holothuria (Halodeima) atra* Jäger at Enewetak Atoll, Marshall Islands. *Paci Sci.* 32:183-191.
- [3] Kobayashi, S. and J. Taki, 1969. Calcification in sea urchins. I. A tetracycline investigation of growth of the mature test in *Strongylocentrotus intermedius*. *Calc. Tiss. Res.* 4:210-223.
- [4] Pearse, J. S. and V. B. Pearse, 1975. Growth zones in the echinoid skeleton. *Am. Zool.* 15: 731-753.