

# 菲律宾蛤仔性腺发育生物学零度的研究

梁 峻<sup>1</sup>, 闫喜武<sup>1</sup>, 李 霞<sup>1</sup>, 张国范<sup>2</sup>

(1.大连水产学院, 辽宁 大连 116023; 2.中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071)

**摘要:** 分别于 2004 年、2005 年, 对取自大连、福建自然海区的菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)进行室内人工控温促熟直至自然排放精、卵, 观察并记录日平均水温及精、卵排放时间, 根据积温公式  $K=H(T-t)$  拟合升温曲线, 计算得出大连、福建菲律宾蛤仔性腺发育的生物学零度分别为 6.774, 10.990℃; 此外, 定期取样, 常规组织学切片观察, 以人工促熟条件下有 50% 个体性腺发育进入增殖期时的水温做为生物学零度对计算结果进行验证。结果表明, 人工促熟条件下大连、福建菲律宾蛤仔有 50% 个体性腺发育进入增殖期时的日平均水温分别为 7.0, 10.1℃, 通过组织学研究方法证明了计算结果的准确性。研究还表明南北方不同海区菲律宾蛤仔性腺发育生物学零度是有差异的。

**关键词:** 菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*); 不同海区; 生物学零度; 组织学  
**中图分类号:** Q418; S968.31 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3096(2007)09-0067-06

生物学零度是繁殖生物学研究领域的重要指标, 对其的研究不仅可以深入认识生物的繁殖特性, 还可以进一步认识生物繁殖行为与环境温度的关系, 从而实现对生物产卵的人工预报。目前国内外对双壳贝类性腺发育的生物学零度已报道的种类有牡蛎(*Ostrea virginica*)<sup>[1, 2]</sup>、鲍(*Haliotis discus hannai*)<sup>[3]</sup>、贻贝(*Mytilus edulis*)<sup>[4]</sup>、海湾扇贝(*Argopecten irradians*)<sup>[5]</sup>、西施舌(*Coelomactra antiquate*)<sup>[6]</sup>等, 所采用的研究方法也比较多<sup>[5-8]</sup>, 但在人工促熟条件下通过组织学手段确定生物学零度的方法国内外未见报道。本实验根据组织学观察, 利用积温公式, 拟合线性升温曲线, 用数理统计对菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)人工促熟产卵实验进行生物学零度的计算, 并通过组织学方法进行验证, 以期对菲律宾蛤仔人工繁育产卵期的准确预报提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

实验所用菲律宾蛤仔均为 2 龄个体, 从福建莆田取回样本共 1 118 个, 每 500 g 为 65 个, 平均壳长×壳高为(3.06 cm±0.19 cm)×(2.19 cm±0.12 cm), 取样时海区自然水温 10℃; 由大连渤海湾取回样本共 1 986

个, 每 500 g 为 82 个, 平均壳长×壳高为(2.84 cm±0.23 cm)×(2.07 cm±0.11 cm), 取样时海区自然水温 1℃。培育用水为沙滤自然海水, 促熟密度为 155 个/m<sup>3</sup>。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 生物学零度计算方法

将自然海区性腺尚未开始发育的菲律宾蛤仔取回在室内开始控温促熟直至自然排放精、卵, 记录室内人工促熟过程中的日平均水温, 根据积温公式  $K=H(T-t)$ <sup>[4]</sup>通过两次实验拟合线性升温曲线  $L_1, L_2$ , 其中  $K$  表示积温,  $H$  表示产卵时间,  $T$  表示生境水温,  $t$  表示生物学零度,  $h_1, h_2$  为达到生物学零度时的促熟时间, 利用积温  $K$  值相同即  $S_1=S_2$  (图 1、图 2), 计算得出生物学零度。两次实验人工促熟过程中实施相同的投饵、清污等管理措施。

收稿日期: 2007-06-13; 修回日期: 2007-07-11

基金项目: 中国科学院知识创新工程项目 (ZKCX2-211); 国家 863 计划资助项目 (2005AA603610)

作者简介: 梁峻 (1979-), 男, 天津人, 博士研究生, 从事贝类遗传育种研究, E-mail: liangjun79216@163.com; 张国范, 通讯作者, E-mail: gzfzhang@ms.qdio.ac.cn

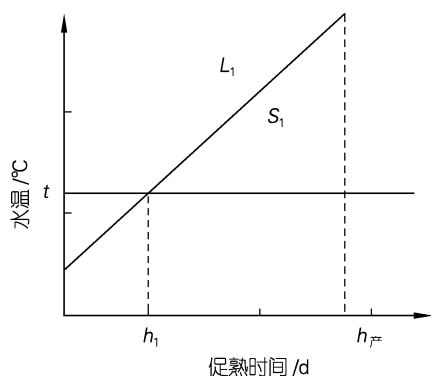


图1 第一次试验的积温

Fig.1 The effective accumulated temperature of experiment 1

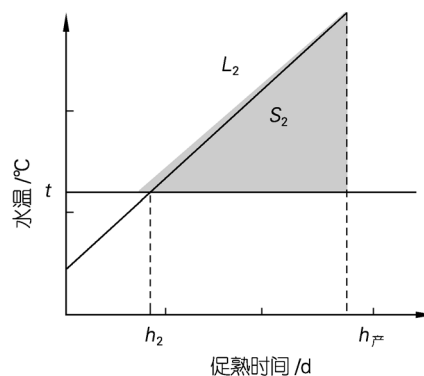


图2 第二次试验的积温

Fig.2 The effective accumulated temperature of experiment 2

### 1.2.2 组织学观察方法

在人工促熟过程中的前 25 d 每隔 5 d 取样一次，之后每隔 3 d 取样一次直至自然排放精、卵为止。每次取雌雄蛤仔各 5 个，解剖取其性腺，Bouin's 液固定。常规石蜡切片<sup>[8]</sup>，切片厚 5 μm，H-E 染色，olympus 光学显微镜观察和照相，利用组织学方法判断性腺开

始发育的起始温度——生物学零度。

## 2 结果

### 2.1 大连菲律宾蛤仔生物学零度计算

于 2004 年、2005 年促熟的两批亲贝从促熟到产卵分别历时 45 和 35 d，水温变化见图 3。

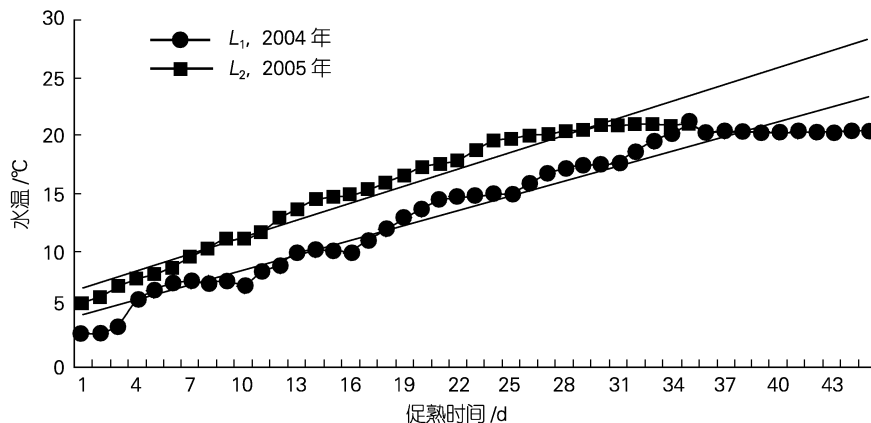


图3 大连菲律宾蛤仔 2004 年和 2005 年促熟实验水温变化

Fig.3 Change of water temperature of *Ruditapes philippinarum* from Dalian in 2004 and 2005

根据日平均水温拟合两个实验的升温曲线分别为  $L_1$  和  $L_2$  (图 3)。

$$L_1: Y=0.4255X+4.0982, R^2=0.9562 \quad (1)$$

$$L_2: Y=0.4867X+6.4361, R^2=0.9591 \quad (2)$$

根据积温公式，由数理统计计算得出大连菲律宾

蛤仔性腺发育的生物学零度为 6.774 °C。

### 2.2 福建菲律宾蛤仔生物学零度计算

于 2004 年和 2005 年促熟的两批亲贝从促熟到产卵分别历时 45 和 39 d，水温变化见图 4。

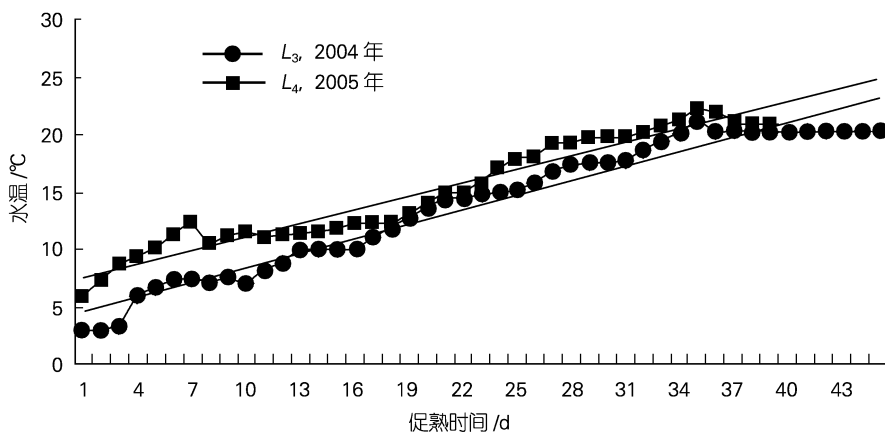


图4 福建菲律宾蛤仔2004年和2005年促熟实验水温变化

Fig.4 Change of water temperature of *Ruditapes philippinarum* from Fujian in 2004 and 2005

根据每日的平均水温拟合两个实验的升温曲线分别为  $L_3$  和  $L_4$  (图4)。

$$L_3: Y=0.4255X+4.0982, R^2=0.9562 \quad (3)$$

$$L_4: Y=0.3974X+7.0726, R^2=0.9436 \quad (4)$$

根据积温公式,由数理统计计算得出福建菲律宾蛤仔性腺发育的生物学零度为  $10.990^{\circ}\text{C}$ 。

### 2.3 组织学方法研究大连菲律宾蛤仔生物学零度

根据组织学观察,大连菲律宾蛤仔从自然水温  $1^{\circ}\text{C}$  的海区取回时滤泡内生殖细胞已排尽,呈一大空腔,滤泡壁仅为单层扁平细胞组成。雌性个体滤泡上皮可观察到卵原细胞。滤泡因排空而呈萎缩退化,滤泡壁呈破损状(图 5-1); 雄性个体滤泡上零星分布少量的精原细胞,个别滤泡能见到少量残存的精子(图 5-3),性腺仍没有开始发育,处于休止期。当升温促熟至  $7.0^{\circ}\text{C}$  时发现有多于  $1/2$  个体滤泡腔仍为空腔,大小不一。滤泡壁开始增厚,壁上的生殖细胞处在活跃分裂期,不断从滤泡壁分裂增殖,雌性个体滤泡壁上出现一不连续的单层卵原细胞,并在卵原细胞之间逐渐出现一些少数卵黄形成前期的初级卵母细胞(图 5-2); 雄性个体滤泡壁上开始出现精原细胞和少数初级精

母细胞。精原细胞呈圆形或三角形,紧贴滤泡壁,不断向滤泡腔分化形成精母细胞。至本期末,滤泡壁已由 2~3 层细胞组成(图 5-4),性腺发育进入增殖期,可认为大连地区菲律宾蛤仔性腺发育的生物学零度在  $7.0^{\circ}\text{C}$  附近,与计算结果  $6.774^{\circ}\text{C}$  基本吻合。

### 2.4 组织学方法研究福建菲律宾蛤仔生物学零度

根据组织学观察,福建菲律宾蛤仔从自然水温  $10^{\circ}\text{C}$  的海区取回时雌性个体滤泡腔中有部分处于退化状态的初级卵母细胞被分解吸收,滤泡壁上可见卵原细胞。部分滤泡腔出现中空,生殖细胞退化自溶,滤泡腔逐渐空虚呈不规则状(图 6-1); 雄性个体滤泡腔内仍有较多杂乱分布的精子,滤泡壁上只偶尔分布少量的精原细胞(图 6-3)。绝大多数生殖细胞在退化,只有少量精原细胞处在增殖状态。促熟第 14 天当日平均水温达到  $10.1^{\circ}\text{C}$  时,发现有多于  $1/2$  个体进入增殖期(图 6-2, 6-4),具体特征与大连菲律宾蛤仔增殖期特点相似,性腺开始发育,可认为福建地区菲律宾蛤仔性腺发育的生物学零度在  $10.1^{\circ}\text{C}$  附近,与计算结果  $10.990^{\circ}\text{C}$  基本符合。

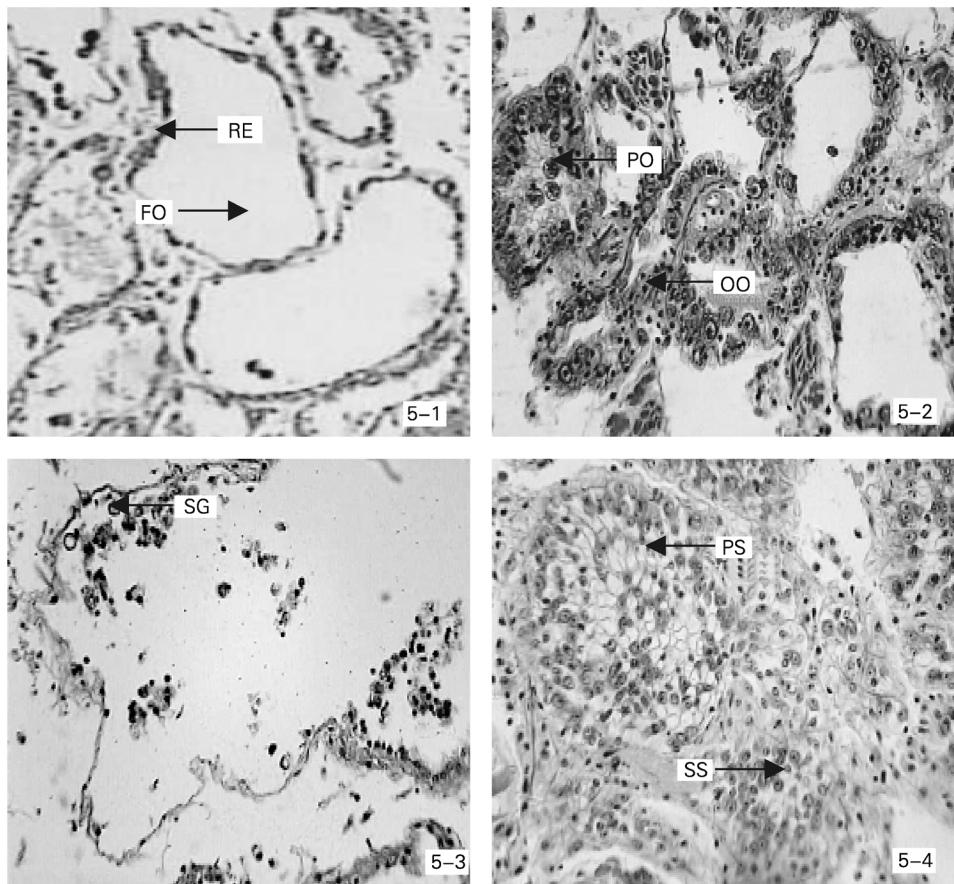


图5 大连菲律宾蛤仔性腺发育起始阶段

Fig.5 The beginning stage of gonad development of *Ruditapes philippinarum* from Dalian

5-1.雌性休止期(×400); 5-2.雌性增殖期(×400); 5-3.雄性休止期(×400); 5-4.雄性增殖期(×400); RE: 生殖上皮; FO: 滤泡; OO: 卵原细胞; POI: 卵黄形成前期的初级卵母细胞; SG: 精原细胞; PS: 初级精母细胞; SS: 次级精母细胞  
5-1. Resting period of female(×400); 5-2. Multiplication period of female(×400); 5-3. Resting period of male(×400); 5-4. Multiplication period of male(×400); RE: reproduction epithelium; FO: follicle; OO: oocyte; POI: primary oocyte in initial stage of yolk formation; SG: spermatogonia; PS: primary spermatocyte; SS: secondary spermatocyte

### 3 讨论

#### 3.1 确定不同地域菲律宾蛤仔生物学零度的意义

温度是影响海洋无脊椎动物生殖周期的重要因素,掌握其性腺发育零点温度和性成熟有效积温,有助于在工厂化苗种培育中,通过调节生境温度的方法,促进或推迟性腺的成熟,改变其精、卵排放期。因此,研究菲律宾蛤仔性腺发育的零点温度在理论和育苗生产上都有重要意义。

此外,由于实验材料的地理种群习性的差异,不同地域菲律宾蛤仔生物学零度、性腺发育分期等繁殖生物学特性有所不同,通过南北方不同地理群体生物学零度等繁殖生物学特性的比较,在苗种生产中不同月份选取性腺发育合适的亲贝进行人工控温促熟或催产,避免盲目升温促熟,节省生产运作成本,保证全年有尽可能多的月份可以从育苗生产,满足苗种供应需求。

#### 3.2 生物学零度的确定方法

生物学零度是生物性腺发育的起始温度,毕庶万<sup>[7]</sup>

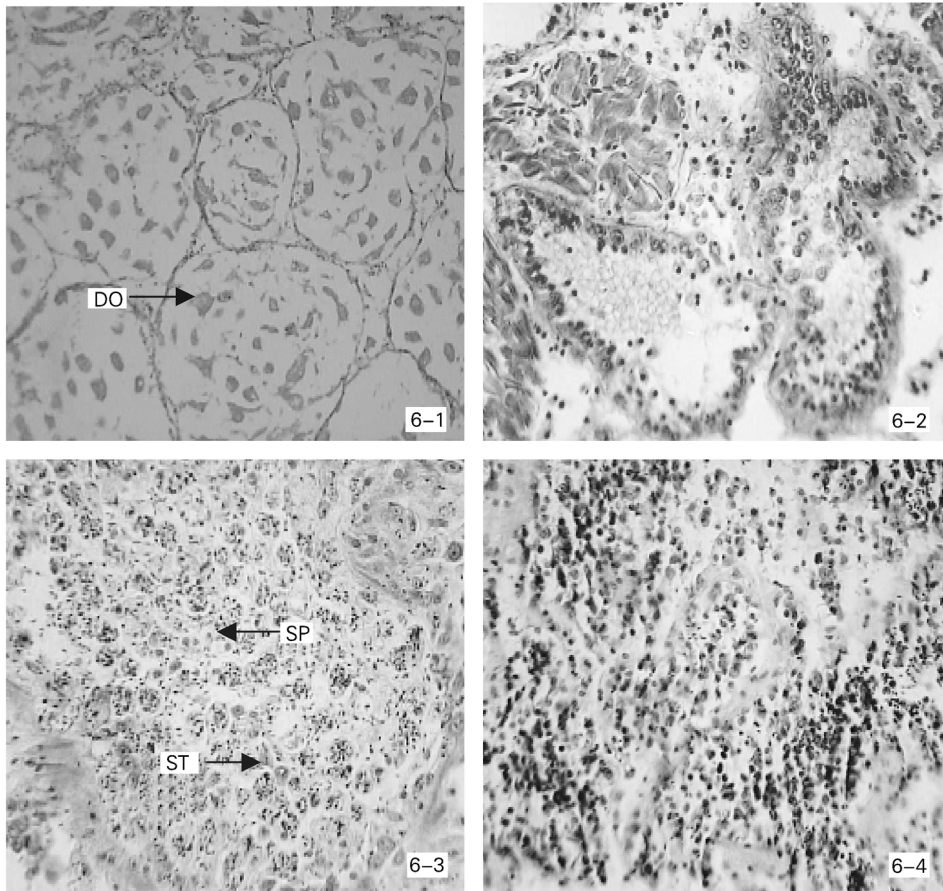


图 6 福建菲律宾蛤仔性腺发育的起始阶段

Fig.6 The beginning stage of gonad development of *Ruditapes philippinarum* from Fujian

6-1.雌性生殖后期( $\times 400$ ); 6-2.雌性增殖期( $\times 400$ ); 6-3.雄性生殖后期( $\times 400$ ); 6-4.雄性增殖期( $\times 400$ ); DO: 退化的初级卵母细胞; ST: 精细胞; SP: 精子  
6-1.Degenerating period of female( $\times 400$ ); 6-2.Multiplication period of female( $\times 400$ ); 6-3.Degenerating period of male( $\times 400$ ); 6-4.Multiplication period of male( $\times 400$ ); DO: Degenerating oocyte; ST: spermatid; SP: sperm

运用二点法、最小二乘法和电动记数式积温仪测积温3种方法,对海湾扇贝生物学零度进行测定;周纬<sup>[5]</sup>、刘德经等<sup>[6]</sup>通过室内调温,根据 $K=H(T-t)$ 有效积温公式,利用线性函数规律,探讨海湾扇贝、西施舌生殖腺发育生物学零度,而李超<sup>[9]</sup>认为上述方法求得的 $K$ 和 $t$ 值由于将原始数据进行了变换,得到的估值对于变换后的数据是最佳估值但对于原始数据来说不是最优的,这种变换从统计学上来讲并不完全等价。作者根据 $K=H(T-t)$ 积温公式,利用线性函数规律计算出生物学零度,再通过人工控温下组织切片观察性腺发

育,研究发现此种方法比较科学合理。从性腺尚未发育开始采用合理的升温梯度人工控温,连续观察菲律宾蛤仔的性腺发育,对于数目超过1/2个体发育到增殖期,确定为性腺开始发育的时间,有一定的说服力。

### 3.3 大连、福建菲律宾蛤仔生物学零度的比较

作者根据积温公式,利用线性函数规律计算出生物学零度再通过人工控温条件下组织学观察性腺发育验证得出大连、福建菲律宾蛤仔生物学零度分别为 $6.774\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和 $10.990\text{ }^{\circ}\text{C}$ 。由于在大连、福建地区取样时都是选择在同一海区,并且在保证样本数量的同时

还考虑到了同一种群中个体大小和个体生理上的差异,所以可以确保试验结果的准确性。此外,对于不同海区菲律宾蛤仔种群自然条件下性腺发育与水温的关系也有报道,齐秋贞<sup>[10]</sup>认为福建菲律宾蛤仔在1~3月(12.9~10.2~12.7℃)时性腺开始发育,这说明该地区菲律宾蛤仔的生物学零度应该在10.2~12.9℃之间,根据吴耀泉<sup>[11]</sup>对胶州湾菲律宾蛤仔的研究结果——3~4月自然水温回升到9.5℃时的滤泡发育完整,性腺已开始发育,胶州湾菲律宾蛤仔的生物学零度应低于9.5℃。综上所述,试验结果所得大连、福建菲律宾蛤仔性腺发育生物学零度有差异是正常的。

参考文献:

- [1] Loosanoff V L, Davis H C. Temperature requirements for maturation of gonads of Northern oyster[J]. **Biology Bulletin**, 1952, 103: 80-96.
- [2] Loosanoff V L. Spawning of *Ostrea virginica* at low temperature[J]. **Science**, 1939, 89(2304): 177-178.
- [3] 菊地省吾, 浮永久. アワビ属の采卵技术に関する研究[J]. 东北区水产研究所研究报告, 1974, 33: 69-78.
- [4] 何义朝, 张福绥. 贝类学论文集(第一辑)[M]. 北京: 科学出版社, 1983.133-144.
- [5] 周玮. 海湾扇贝性腺发育的生物学零度[J]. 水产学报, 1991, 15(1): 82-84.
- [6] 刘德经, 黄天华, 肖思祺, 等. 西施舌生殖腺发育生物学零度和有效积温的初步研究[J]. 特产研究, 2002, 1: 33-35.
- [7] 毕庶万, 徐宗发, 于光缚, 等. 海湾扇贝控温育苗采卵时间的预报方法[J]. 海洋与湖沼, 1996, 1(27): 93-97.
- [8] 芮菊生, 杜懋琴, 陈海明, 等. 组织切片技术[M]. 北京: 高等教育出版社, 1984.
- [9] 李超. 昆虫发育起点温度估值的一种新方法[J]. 生态学报, 1985, 5(2): 154-162.
- [10] 齐秋贞. 菲律宾蛤仔的生活史[J]. 水产学报, 1987, 11(2): 111-118.
- [11] 吴耀泉. 菲律宾蛤仔生物学与资源[A]. 刘瑞玉. 胶州湾生态学及生物资源[C]. 北京: 科学出版社, 1992.339-351.

## Biological zero point of gonad development of *Ruditapes philippinarum*

LIANG Jun<sup>1</sup>, YAN Xi-wu<sup>1</sup>, LI Xia<sup>1</sup>, ZHANG Guo-fan<sup>2</sup>

(1. Dalian fisheries University, Dalian 116023, China; 2. Institute of Oceanology, the Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Received: Jun., 13, 2007

**Key words:** *Ruditapes philippinarum*; different region; biological zero point; histology

**Abstract:** We have conducted an artificial promoting nature experiment on *Ruditapes philippinarum* from Dalian and Fujian province in artificial condition in 2004 and 2005; observed and recorded the average daily temperature and the laying of egg and sperm. Thereby, with the mathematical statistics methods and formula  $K = H(T-t)$  thermal sum beneficial, it is indicated that the biological zero point for the gonad development of *Ruditapes philippinarum* from Dalian is 6.774℃, and that from Fujian province is 10.990℃. The histological observation demonstrates that the average water temperature for half of *Ruditapes philippinarum* from Dalian and Fujian to enter into multiplication period is 7.0℃ and 10.1℃, respectively. Therefore, it is verified from the experiment that the biological zero points for the gonad development of *Ruditapes philippinarum* from the north and south sea areas are different.

(本文编辑: 刘珊珊)