

温度和盐度分别对尖紫蛤胚胎发育的影响

黄 洋^{1,2}, 黄海立^{1,2}, 吕广焯², 刘志刚²

(1. 广东海洋大学 海洋高新科技园, 广东 湛江 524025; 2. 广东海洋大学 广东高校海产经济无脊椎动物健康养殖工程研究中心, 广东 湛江 524025)

摘要: 在水温 17~32 °C (盐度 16)、盐度 2~23(水温 27 °C)的范围内采用渐变法进行温、盐度对尖紫蛤 (*Soletellina acuta* Cai et Zhuang)胚胎发育的影响试验。结果是: (1)孵化水温 27 °C, 盐度 17, 历时 980 min 左右尖紫蛤胚胎发育至直线较合期; (2)尖紫蛤胚胎发育适宜温度范围为 23.1~31.2 °C, 最适温度范围为 25.0~29.9 °C, 在适宜温度范围内, 孵化水温(x)与孵化时间(y)存在着多项式函数关系: $y = 3.6111x^2 - 224.28x + 4393.6 (R^2 = 0.9882)$; (3)尖紫蛤胚胎发育的最低和最高临界盐度分别为 8 和 23, 适宜盐度范围 11~20, 最适宜的盐度范围 14~17; (4)温度或盐度超过其适宜范围时, 孵化率明显下降或幼虫畸形率明显增大。研究结果补充了对尖紫蛤胚胎发育生境因子的需求认识, 对开展尖紫蛤人工繁育提供一定的理论依据。

关键词: 尖紫蛤(*Soletellina acuta* Cai et Zhuang); 胚胎发育; 温度; 盐度

中图分类号: S968.33

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2011)10-0117-06

尖紫蛤 (*Soletellina acuta* Cai et Zhuang)俗称“沙螺”或“西施舌”^[1], 隶属软体动物门、瓣鳃纲、帘蛤目、紫云蛤科(Rsammobiidae), 分布于我国福建和广东沿海, 生活在河口咸、淡水交汇处^[2], 尤以广东省吴川市鉴江河口咸、淡水交汇处产量最多, 最高年产量达 5 万 kg^[3]。其生活在河口河床、滩涂从低潮线附近直至 2~3 m 深的水域营潜沙生活, 在江河入海的内湾繁殖生长。尖紫蛤肉嫩味美, 营养价值高, 据分析蛤肉干含蛋白质 58.65%, 糖类 5.31%, 脂类 8.75%^[4], 且有药用功效。20 世纪 90 年代以来, 由于在鉴江河口咸、淡水交汇处过度采捕和水质污染, 90 年代后期, 尖紫蛤自然资源濒临灭绝^[4]。积极开展其生物学及增养殖研究是恢复其自然生物量, 保护河口重要经济品种和海洋生物多样性的有效途径之一。

目前, 国外关于尖紫蛤人工育苗和增养殖的研究内容尚未见报道。国内关于尖紫蛤的报道仅限于蔡英亚等^[1-2,5]进行了广东鉴江尖紫蛤的生态调查, 和尖紫蛤滩涂(中、低潮区)人工养殖试验; 杨耀聪等^[4]采用组织切片方法研究报道了福建省尖紫蛤的繁殖期; 符韶等^[3]进行尖紫蛤的人工育苗试验。但关于尖紫蛤胚胎发育的资料国内外未见有报道, 水温和盐度直接影响到胚胎发育的速度和质量(孵化率和畸形率)。因此, 进行尖紫蛤胚胎发育的研究, 可为尖

紫蛤人工繁育和增养殖研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验在广东海洋大学东海岛海洋生物研究基地进行。亲贝采自广西山口镇洗米河口, 利用塑料筐铺沙悬空流水法促熟培育。待亲贝性腺成熟后进行催产, 水温 26.3 °C, 盐度 17。挑选个体大、性腺饱满并开始排放的雌雄亲贝各一个分别放入装有过滤海水的塑料桶中排放 5 min, 然后混合受精并记录时间, 混合后 10 min 用清洁海水洗卵去除多余的精子作为实验材料, 洗卵和分卵过程在 10 min 内完成。

1.2 实验方法

1.2.1 尖紫蛤胚胎发育的观察

在水温 27 °C、盐度 17 的环境下, 从精卵混合后每隔 5 min 用吸管吸取受精卵或胚胎置于载玻片上, 在显微镜下观察卵子的受精及胚胎发育情况, 记录不同胚胎发育阶段的发育时间、胚体大小及特点, 并对不同胚胎发育阶段的胚体进行拍照, 胚胎发育观察至直线较合期。

收稿日期: 2011-08-01; 修回日期: 2011-09-22

基金项目: 广东省海洋科技攻关与研发项目(A2009005-037b)

作者简介: 黄洋(1981-), 男, 河南许昌人, 助理研究员, 主要从事海产动物增养殖研究, 电话: 0759-2382237, E-mail: zjouhy@163.com

1.2.2 温度实验

温度实验设 6 个梯度,依次为 17, 20, 23, 26, 29, 32 °C, 实验海水盐度调节至 16, pH 为 8.2, 光照强度约 500 ~ 1 000 lx。受精卵在容积为 1 000 mL 的烧杯中进行孵化实验, 密度为 10 个/mL, 每个温度梯度设有 3 个平行组。为了减少温差的刺激, 各试验组水温均从 26 °C 开始, 按每 5 min 升或降 1 °C 达到各自设定的试验水温。试验过程不充气, 每隔 10 min 用玻璃棒搅动一次保证水体中充足的溶氧。

1.2.3 盐度实验

盐度实验设 8 个梯度,依次为 2, 5, 8, 11, 14, 17, 20, 23, 温度保持在 27 °C。pH 为 8.2, 光照强度约 500 ~ 1 000 lx。受精卵在容积为 1 000 mL 的烧杯中进行孵化实验, 密度为 10 个/mL, 每个盐度梯度设有 3 个平行组。为了减少盐度变化的刺激, 各试验组盐度均从 16 开始, 按每 3 min 升或降 1 达到各自设定的试验盐度。试验过程不充气, 每隔 10 min 用玻璃棒搅动一次保证水体中充足的溶氧。

1.2.4 实验用水的处理

海水从海区直接抽取, 淡水采用地下井水, 试验组用水由盐度 31 的自然海水添加地下井水配制,

所有实验用水均经过 0.45 μm 微孔滤膜过滤。温度试验控温装置采用白色泡沫箱、500 W 石英加热管、1 000 W 电子继电器、0~50°C 水银触点温度计(±0.1°C)组成, 所有温度计均经过严格校正, 低温端用冰袋降温及超温报警装置。盐度实验组使用误差 ±0.5°C 的恒温水槽控制水温。

1.2.5 评价方法与主要观测指标

以孵化率不低于 60% 作为胚胎发育适宜温、盐度范围的衡量指标; 以孵化率不低于 80% 作为其最适温、盐度范围的衡量指标。孵化时间: 从受精卵开始发育到直线较合期幼虫所经历的时间。孵化率: 胚体发育到直线较合期幼虫与受精卵总数的比率。幼虫畸形率: 畸形幼虫与直线较合期幼虫总数的比率。

1.2.6 数据处理

采用 spss13.0 统计处理软件对实验数据进行处理和分析。

2 结果

2.1 尖紫蛤胚胎发育进程

结果见表 1 和图 1, 尖紫蛤精卵接触后即行受精, 受精卵产生一层透明的受精膜, 卵核模糊。在孵化水

表 1 尖紫蛤胚胎发育进程

Tab. 1 Embryonic development of *Soletellina acuta* Cai et Zhuang

发育阶段	发育时间 (min)	胚体大小 (μm)	主要特征
精卵混合	0	—	卵呈椭圆形或梨形
受精卵	5	60 ~ 70	正圆形, 卵子的细胞核逐渐消失(胚泡破裂), 并出现受精膜
第一极体出现	30	—	动物极上有 1 个极体
第二极体出现	50	—	动物极上有 2 个极体
2 细胞期	65	65×65~70	出现少量真正 2 细胞, 约 10%~20%, 2 个分裂球, 不等大, 胚体拉长
4 细胞期	90	65×65~70	出现真正的 4 细胞, 约 10%~20%, 细胞不等大, 以受精卵状细胞为主
8 细胞期	110	69×71	8 个分裂球, 不等大
16 细胞期	125	59×78	16 个分裂球, 不等大
桑椹期	210	60×65	胚体外包卵膜, 桑椹状, 细胞界限不清晰
囊胚期	280	65×70	胚体外表细胞生出短纤毛, 上浮于水体中
原肠期	340	65×70	胚体圆形, 口凹明显, 表面密生纤毛
担轮幼虫期	430	65×75	胚体拉长, 具有顶鞭毛及口前纤毛轮, 无卵膜, 开始定向运动
面盘初期	710	70×75	胚体扁平, 面盘形成, 壳腺开始分泌第一原壳, 消化器官开始形成, 不规则的曲线运动
直线较合期	980	75×95	胚体被完全包在“D”形壳内, 卵黄非常丰富; 胃肠发育完全, 逐渐开始摄食

注: 孵化水温 27 °C, 盐度 17, “—”表示未测量

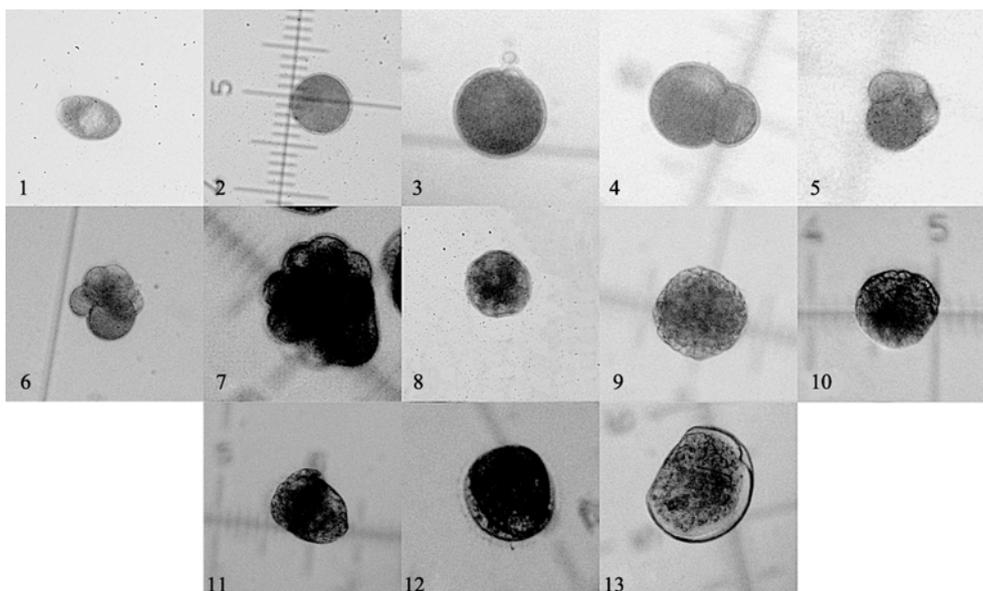


图 1 尖紫蛤胚胎发育各期的形态

Fig. 1 Embryonic development of *Soletellina acuta* Cai et Zhuang in each stage

1. 卵子; 2. 受精卵; 3. 第二极体出现; 4. 2 细胞期; 5. 4 细胞期; 6. 8 细胞期; 7. 16 细胞期; 8. 桑椹期; 9. 囊胚期; 10. 原肠胚期; 11. 担轮幼虫期; 12. 面盘幼虫初期; 13. 直线绞合期

1. egg; 2. oosperm; 3. second polar body; 4. two-cell stage; 5. four-cell stage; 6. eight-cell stage; 7. sixteen-cell stage; 8. morula stage; 9. blastula stage; 10. gastrula stage; 11. trochophore stage; 12. early veliger stage; 13. veliger stage

温 27 °C，盐度 17 条件下，受精后 30 min，在卵子动物极出现第一极体随后出现第二极体。受精后 65 min 开始第一次分割成为 2 细胞期，以后继续分割经过 4 细胞期、8 细胞期、16 细胞期、32 细胞期，经 6 次分裂胚体呈桑椹状，到达桑椹期。卵裂继续，至受精后 280 min 左右进入囊胚期，胚体发育成为圆球形，周生长出细小纤毛，开始在水中做顺时针旋转，运动缓慢 4s/圈，运动螺径 250 μm 左右，上浮于水体中，有集群习性。胚体继续发育，至受精后 430 min 左右胚体长出一纤毛环，中央具鞭毛束，称为

担轮幼虫，以 600 μm 直径作不规则的圆周运动，部分做直线运动，游动迅速。历时 710 min 左右，胚体开始分泌原壳，消化系统开始分化，运动器官面盘已具雏形，此时为面盘初期幼虫。历时 980 min 左右，胚体的面盘、摄食消化器官完全形成，贝壳完全覆盖身体，绞合部平直，卵黄颗粒丰富，称为直线绞合期幼虫。

2.2 温度对尖紫蛤胚胎发育的影响

表 2 和图 2 是不同温度下尖紫蛤的孵化时间跟

表 2 不同温度下尖紫蛤胚胎发育的情况

Tab. 2 Embryonic development of *Soletellina acuta* Cai et Zhuang in different temperatures

温度 (°C)	孵化时间 (min)	孵化率 (%)	畸形率 (%)	胚胎发育观察情况
17	—	0	0	进入原肠期前陆续死亡
20	—	0	0	进入原肠期前后陆续死亡
23	1150	62.52±2.49 ^b	23.46±3.74 ^b	发育极不同步，活力较差
26	990	86.73±3.09 ^c	5.77±1.29 ^a	发育同步，活力正常
29	940	83.63±2.40 ^c	8.87±2.06 ^a	发育比较同步，活力正常
32	910	55.29±3.71 ^a	30.04±4.12 ^c	部分发育不完整，活力比较差，个别不运动
35	—	0	0	进入原肠期前后陆续死亡

注：盐度 16，表中同一列不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)，相同小写字母表示无显著差异 ($P > 0.05$)，“—”表示胚体不能正常发育

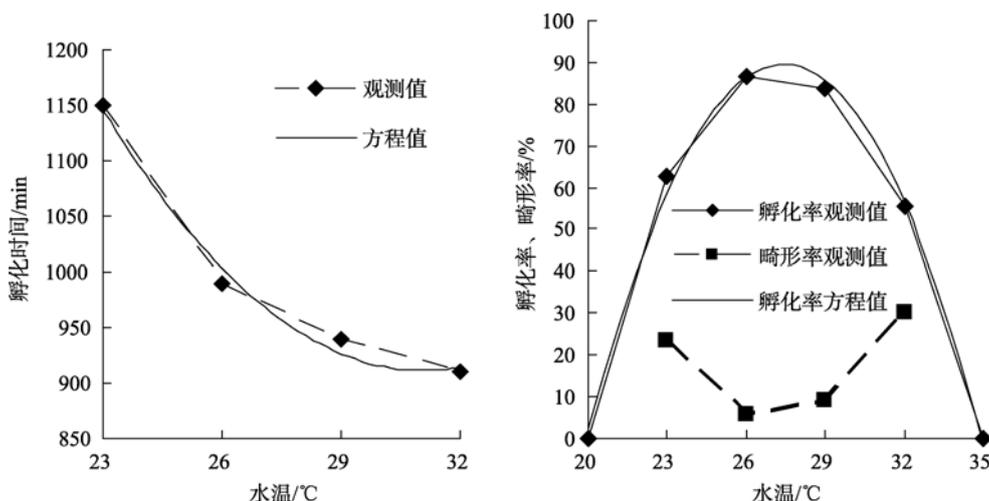


图 2 盐度为 16 时尖紫蛤胚胎孵化时间、孵化率和畸形率与水温的关系

Fig. 2 Relationship between temperature and the incubation duration, the percentage of hatching and abnormal larvae of *Soletellina acuta* Cai et Zhuang in 16 degree salinity

孵化率情况。由表 2 可见, 水温低于 20 °C 和高于 35 °C 的实验组胚胎发育至原肠期前后陆续死亡, 17 °C 实验组绝大部分胚胎发育至 8 细胞期便停止了发育; 水温在 23 ~ 32 °C 之间胚胎均能发育到直线较合期幼虫。水温为 23 °C 的实验组, 孵化时间最长 1 150 min, 孵化率达到 62.52 %, 畸形率为 23.36%; 水温为 32 °C 的实验组, 孵化时间最短 910 min, 但孵化率只有 55.29 %, 畸形率高过 23 °C 组, 幼虫运动迟缓; 26 °C 和 29 °C 实验组孵化时间比较接近, 孵化率差别不大, 无显著差异($P>0.05$), 分别是 86.73 % 和 83.63 %, 畸形率都低于 10 %。尖紫蛤的胚胎发育在适宜温度范围内, 孵化水温(x)与孵化时间(y)存在着多项式函数

关系: $y = 3.6111x^2 - 224.28x + 4393.6 (R^2 = 0.9882)$ 。孵化水温(x)与孵化率(y)间存在着多项式函数关系: $y = -1.5858x^2 + 86.982x - 1103.1 (R^2 = 0.9963)$ (图 2)。由此可以推算出, 尖紫蛤胚胎发育适宜温度范围在 23.1~31.2 °C (孵化率在 60 % 以上), 尖紫蛤胚胎发育最适温度范围在 25.0~29.9 °C (孵化率在 80 % 以上)。

2.3 盐度对尖紫蛤胚胎发育的影响

表 3 和图 3 是不同盐度下尖紫蛤的孵化时间和孵化率情况。盐度为 2 的实验组大部分胚胎在 2 细胞期和 4 细胞期便停止了发育, 少数发育至 8 和 16 细胞期停止了发育, 在原肠期前便全部死亡; 盐度

表 3 不同盐度下尖紫蛤胚胎发育的情况

Tab. 3 Embryos development of *Soletellina acuta* Cai et Zhuang in different salinities

盐度	孵化时间 (min)	孵化率 (%)	畸形率 (%)	胚胎发育观察情况
2	—	0	0	进入原肠期前已经陆续死亡
5	—	0	0	进入原肠期陆续死亡, 极少数发育至担轮幼虫期
8	1150	20.59±1.88 ^a	71.30±5.31 ^c	只有个别可以发育到直线较合期, 孵出后活力差
11	995	80.58±1.74 ^b	13.67±3.24 ^b	发育不同步, 幼虫孵出后活力正常
14	995	85.17±3.83 ^{bc}	8.61±1.89 ^a	幼虫孵出后活力正常, 发育较为同步
17	980	88.73±2.29 ^c	5.61±1.09 ^{ab}	孵出后活力正常, 发育最为同步, 畸形率较低
20	1010	82.58±3.59 ^b	14.71±3.69 ^b	幼虫孵出后活力正常, 畸形率较高, 发育不同步
23	1140	22.48±3.06 ^a	68.10±4.84 ^c	幼虫孵出后多为畸形, 活力差, 有的甚至不运动, 发育不同步
26	—	0	0	进入原肠期陆续死亡, 极少数发育至担轮幼虫期

注: 孵化水温为 27 °C, 表中同一列不同小写字母表示差异显著($P<0.05$), 相同小写字母表示无显著差异($P>0.05$), “—”表示胚体不能正常发育

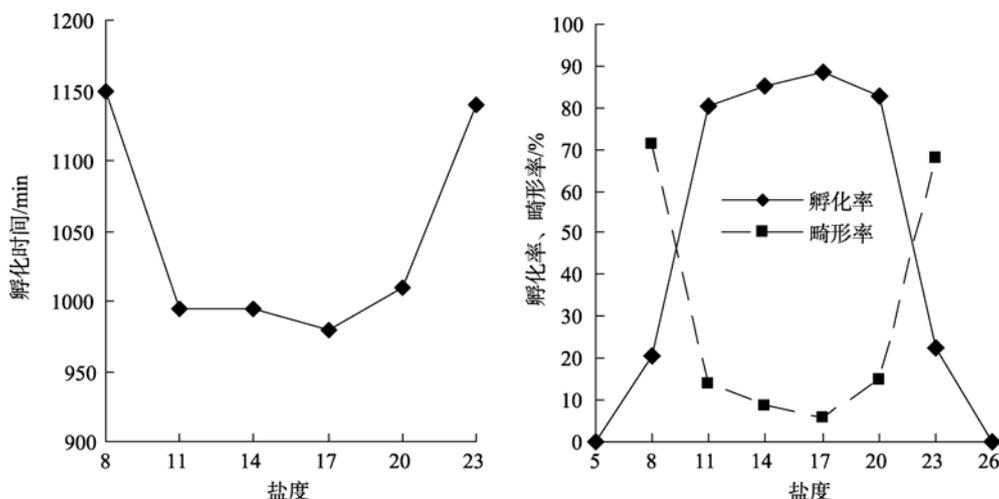


图3 温度为27℃时尖紫蛤胚胎孵化时间、孵化率和畸形率与盐度的关系

Fig. 3 Relationship between salinity and the incubation duration, the percentage of hatching and abnormal larvae of *Solatella acuta* Cai et Zhuang in 27°C Ambient temperature

为5和26的实验组胚胎虽然能发育到原肠期但不能发育到面盘幼虫初期；当盐度为8和23时孵化时间非常接近，分别为1150 min和1140 min，胚胎能发育到直线较合期，但孵化率非常低分别为20.59%和22.48%，幼虫活力很差，畸形率非常高达71.61%和67.59%，因此尖紫蛤胚胎发育的最低和最高临界盐度为8和23。

盐度为11~20的实验组孵化时间无显著差异($P>0.05$)，在1000 min左右，盐度为14~17的实验组孵化率无显著差异($P>0.05$)，都达到80%以上，孵化出来的幼虫活力正常，而且畸形率小于10%，差异不显著；盐度为11和20的实验组虽然孵化率超过80%，但是其畸形率偏高超过10%，故可认为盐度11~20为尖紫蛤胚胎发育适宜的盐度范围，14~17为尖紫蛤胚胎发育的最适宜的盐度范围。

3 讨论

温度和盐度是影响海洋贝类幼虫生长的两个重要的环境因素^[6]，因其容易测量和调节而引起生态学家的关注。林瑞才^[7]等学者进行温度和盐度对海湾扇贝幼虫附着变态影响的研究后发现，在不同盐度下，幼虫附着变态的适宜温度不同，反之亦然，但也有学者认为，只有温度和盐度或其中之一接近极限范围时，温度和盐度相结合才显示出明显的相互关系，反之，当温度或者盐度处于安全范围时，没有明显的关系^[8]。本研究将温度或盐度控制在适宜的条件下，研究尖紫蛤胚胎对单一因子的耐受范围。关于温度和盐度对该种类胚胎发育的互作效应，有待后续

研究。

从实验结果可以看出：温度、盐度既影响尖紫蛤胚胎发育的孵化率又影响其发育速度；尖紫蛤胚胎发育的适宜温度范围为23.1~31.2℃，适宜盐度范围为11~20，表明尖紫蛤孵化的盐度范围比较宽，其所需的温度比较高；温度超过其适宜范围时，孵化率明显下降或幼虫畸形率明显增大，即：在一定范围内，提高温度可缩短孵化时间，但进一步提高了温度引起畸形分割^[9-12]，产生败育；温度低于适温下限，胚胎发育则产生滞留^[13]。

目前，国内对尖紫蛤的研究还不多，因此对其进行人工催产技术、胚胎发育以及最适饵料等方面的研究尤为重要。在温度试验中知道，其胚胎发育需要较高的温度，一方面，尖紫蛤属于热带、亚热带种，但温度过高(高于33℃)，其发育就停止，尖紫蛤繁殖季节在9~11月，最高温的7~8月并不是其繁殖期^[3]，也与此相符。在7、8月暂养期间，室外的温度曾经处于35℃以上，结果发现尖紫蛤钻出到沙面上，两贝壳打开，活力变差，还出现陆续死亡现象。所以从温度实验32℃的实验组里也能知道，胚胎虽能够孵化出来，但只有个别是能够发育到直线较合幼虫。在盐度试验中，盐度低于8的实验组胚胎不能正常发育，在亲贝采集地进行资源调查时发现，退潮时在尖紫蛤自然分布区盐度有时只有3，远远低于尖紫蛤胚胎发育所需的盐度；尖紫蛤属于潜沙贝类，并没有迁移的习性，稚贝和成贝对盐度的适应性会不会更强有待进一步的研究。

参考文献:

- [1] 蔡英亚, 邓陈茂, 刘志刚. 广东鉴江尖紫蛤的生态调查[J]. 湛江水产学院学报, 1992, 12(1): 7-11.
- [2] 蔡英亚, 庄启谦. 紫云蛤科一新种[J]. 热带海洋, 1985, 4(3): 64-65.
- [3] 符韶, 蔡英亚, 邓陈茂, 等. 尖紫蛤的人工育苗[J]. 湛江海洋大学学报, 2000, 20(1): 15-17.
- [4] 杨耀聪, 李复雪. 尖紫蛤生殖周期的研究[J]. 热带海洋, 1994, 13(2): 61-67.
- [5] 蔡英亚, 邓陈茂, 符韶. 西施舌的人工养殖[J]. 中国水产(台), 2002, 592: 50-52.
- [6] 包永波, 尤仲杰. 几种环境因子对海洋贝类幼虫生长的影响[J]. 水产科学, 2004, 23(12): 39-40.
- [7] 林瑞才, 陈敏. 温度和盐度对海湾扇贝幼虫附着及变态的影响[J]. 台湾海峡, 1989, 8(1): 60-67.
- [8] 刘建勇, 卓健辉. 温度和盐度对方斑东风螺胚胎发育的影响[J]. 湛江海洋大学学报, 2005, 25(1): 3-4.
- [9] 陈文龙, 刘德经, 许万竹. 西施舌人工育苗的初步研究[J]. 水产学报, 1966, 3(2): 130-138.
- [10] 林笔水, 吴天明. 温度和盐度对缢蛏浮游幼虫发育的影响[J]. 生态学报, 1984, 4(4): 385-392.
- [11] 何义朝, 张福绥. 贻贝胚胎发育的有效温度范围的变化[C]// 中国贝类学会. 贝类学论文集(2). 北京: 科学出版社, 1986: 89-93.
- [12] 谢玉坎, 张偲, 陈国和, 等. 温度变化影响大珠母贝幼虫的发育[J]. 热带海洋研究, 1988, 3: 131-133.
- [13] 刘德经, 陈杰明. 西施舌早期胚胎发育温度效应的研究[J]. 动物学杂志, 1998, 33(2): 2-3.

Respective effects of temperature and salinity on embryonic development of *Soletellina acuta* Cai et Zhuang

HUANG Yang^{1,2}, HUANG Hai-li^{1,2}, LÜ Guang-xuan², LIU Zhi-gang²

(1. Zhanjiang Center for Marine Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, China; 2. Guangdong Higher Educational Institution Tropical Marine Invertebrates Culture Engineering Research Center, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, China)

Received: Aug., 1, 2011

Key words: *Soletellina acuta* Cai et Zhuang; embryonic development; temperature; salinity

Abstract: Embryonic development of *Soletellina acuta* Cai et Zhuang were observed at 17~32°C (salinity 16) and at salinities of 2~23 (water temperature 27°C). The results showed that: (1) The embryonic development of *Soletellina acuta* Cai et Zhuang to veliger lasted about 980 min at 27°C, salinity 17; (2) the range of suitable temperature for the embryonic development was 22.1~31.2°C, and the range of the optimum temperature was 25.0~29.9°C. At the suitable temperature, incubation temperature (x) and incubation time (y) existed polynomial function: $y = 3.6111x^2 - 224.28x + 4393.6 (R^2 = 0.9882)$, increasing temperature leading to development rate increase; (3) the minimum and maximum salinities for the embryonic development of *Soletellina acuta* Cai et Zhuang were 8 and 23, respectively. The range of suitable salinity for the embryonic development was 11~20 and the range of the optimum salinity was 14~17; (4) Outside the range of suitable temperature or salinity, the hatching rate decreased or the percentage of abnormal larvae increased significantly. The result complements the knowledge of requirement for the embryonic development of *Soletellina acuta* Cai et Zhuang and provides theoretic support for artificial breed of *Soletellina acuta* Cai et Zhuang.

(本文编辑: 刘珊珊)