

双齿围沙蚕的胚胎发育与纤毛虫病害

盖珊珊¹, 于道德², 王其翔², 王 悠¹

(1. 中国海洋大学, 山东 青岛 266003; 2. 山东省海水养殖研究所, 山东 青岛 266002)

摘要: 双齿围沙蚕(*Perinereis aibuhitensis*)亲体为 2010 年半人工育苗的苗种, 人工培育至异沙蚕体后进行集中催产、人工授精, 受精卵经过消毒后, 孵化至囊胚期, 收集入水泥池进行中间培育, 经 3 d 孵化至 3 刚节幼体再次收集, 放入土池进行幼虫培育。卵子受精后, 定期(早期每隔 1 h, 囊胚期后每隔 3 h)取受精卵, 置于 OLYMPUS - CX31 显微镜进行活体观察并进行拍照。结果表明, 在双齿围沙蚕的胚胎发育过程中, 出现了与已有结论不符的特殊现象, 例如油球与胚胎发育的关系, 胚胎的高温孵化。而且, 在孵化期, 一种寄生纤毛虫导致沙蚕胚胎及出膜 3 刚节疣足幼体的大量死亡, 其病害机理有待进一步研究。

关键词: 双齿围沙蚕(*Perinereis aibuhitensis*); 胚胎发育; 病害

中图分类号: S963.2

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2012)02-0007-04

双齿围沙蚕(*Perinereis aibuhitensis*)属于环节动物门(Annelids), 多毛纲(Polychaete), 游行多毛目(Erannalia), 沙蚕科(Nereidae), 围沙蚕属(*Perinereis*), 体呈长蠕虫形, 具有许多环节。沙蚕属滩涂生物中的优势种, 自然资源量泥滩(34 g/m²)大于泥沙滩(15.4 g/m²)大于沙滩(2.8 g/m²), 是中国近海生态系统中底栖群落的重要物种, 具有较高的经济价值和生态价值^[1]。沙蚕因是一种营养价值极高(蛋白质含量高达 68%)的底栖无脊椎海洋生物, 是人工育苗和养殖的优质活体天然饵料, 也是餐桌上的美味海鲜品, 又是生产海洋药物的主要原料^[2]。对沙蚕、缢蛏、拖鲑鱼胴体和花蟹蟹肉 4 种亲虾饵料的蛋白质分析表明, 这 4 种作为亲虾饵料都是优良蛋白源, 基本能满足斑节对虾亲虾的生长和性腺发育要求, 其中沙蚕是最好的蛋白源。在甲壳类的繁育中, 投喂沙蚕, 对青蟹、对虾等不仅有促熟作用, 而且能提高怀卵量; 沙蚕较高的抗坏血酸和 -生育酚含量, 对凡纳滨对虾的性腺成熟和提高受精卵质量有更好的促进效果^[3]。沙蚕的食用性和药用性也较高: 沙蚕体内含有大量人体所需要的氨基酸、微量元素和维生素, 尤其富含纤维蛋白溶解酶、纤溶酶原激活物、胶原酶等 3 种酶系, 是预防高血压、动脉硬化和消除疲劳的有效保健食品, 沙蚕体内所含的沙蚕激酶具有治疗脑血栓、心肌梗塞等血栓性疾病的功能, 所含有大量的不饱和脂肪酸不仅具有增强免疫力、提高记忆力的功效,

还具有抗血栓、防止动脉硬化的作用^[4]; 在中国南方及国外一些地区有将沙蚕做为食品的习俗^[5]; 市场上也出现了用沙蚕毒素类开发的农药和杀虫剂等; 沙蚕含丰富的蛋白质, 是鱼、虾、蟹等优质饵料; 沙蚕是优质钓饵, 被称为“万能钓饵”^[6]。近年来, 由于受到环境污染、人为过量采捕等原因, 双齿围沙蚕的野生群体日益减少。

本研究对双齿围沙蚕的早期发育过程和关键期进行观察描述, 为双齿围沙蚕的人工繁育和野生种群恢复提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 亲体来源

沙蚕亲体于 2011 年 8 月 12~18 日采自利津县双瀛水产苗种有限责任公司, 亲蚕为 2010 年半人工育苗的苗种, 经人工培育至异沙蚕体。

1.2 实验方法

将收集到的异沙蚕体进行集中消毒、催产、人工授精, 然后收集受精卵进行消毒, 受精卵孵化至

收稿日期: 2011-04-15; 修回日期: 2011-06-23

基金项目: 海洋公益性行业科研专项经费项目(200805069); 海洋公益性行业科研专项经费项目(201105007)

作者简介: 盖珊珊(1985-), 女, 硕士研究生, 研究方向为海洋生物学, 电话: 0532-82031640, E-mail: ge_gss@163.com; 王悠, 通信作者, 教授, 主要从事生态毒理学研究, E-mail: wangyou@ouc.edu.cn

囊胚期时将其收集、投入水泥池进行中间培育, 经 3 d 孵化至 3 刚节幼体再次收集, 然后投入土池进行幼体培育。

1.3 观察方法

卵子受精后, 定期(早期每隔 1 h, 囊胚期后每隔 3 h)取受精卵, 置于 OLYMPUS - CX31 显微镜下进行活体观察并进行拍照。根据胚胎早期发育的特征, 定期取样固定于 10% 甲醛溶液和 bouin's 液中, 供后期的观察和组织学研究备用。

2 结果

2.1 未受精卵

双齿围沙蚕成熟卵子为浅绿色(源于卵黄的颜色), 近圆球形, 沉性卵, 具黏性, 多油球, 富含小油球滴, 油球数量约在 15~30 个不等。卵裂方式为螺旋型不等全裂式, 卵径为 175~210 μm 。

2.2 卵裂期

双齿围沙蚕卵子受精后卵膜举起, 形成围卵腔, 随着发育的进行, 围卵腔逐渐变大, 卵裂方式是螺旋型不等全裂式。第 1 次卵裂为纵裂, 分裂成大小不等的 2 个细胞, 即二细胞期(图 1 A), 也有的 2 个细胞大小相似, 但这属于小概率事件(图 1 B)。第 2 次分裂也是纵裂, 分裂向与第 1 次分裂向垂直, 分裂成大小不等的 4 个分裂球, 即四细胞期(图 1 C), 此

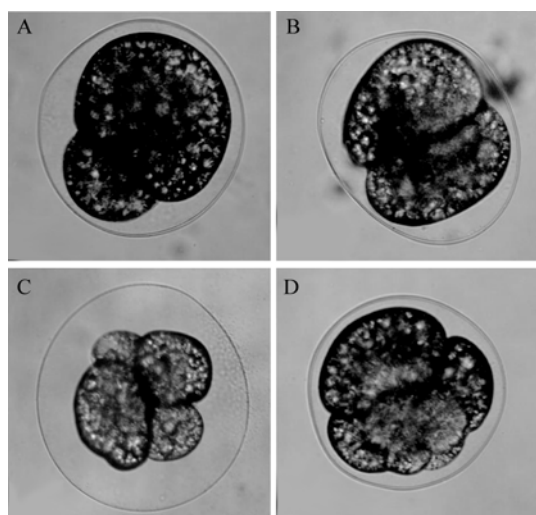


图 1 沙蚕胚胎发育

Fig. 1 Embryonic development of *Perinereis aibuhitensis*
A. 二细胞期(不等分裂); B. 二细胞期(等分裂, 属于不等分裂的特殊类型); C. 四细胞期; D. 八细胞期
A. 2-cell stage(unequal cleavage); B. 2-cell stage(equal cleavage, the special mode of equal cleavage); C. 4-cell stage; D. 8-cell stage

时的裂球大小差异仍然不是很大。第 3 次分裂后形成 8 个细胞, 即八细胞期(图 1 D), 直至此时期裂球的大小差异开始显著。

2.3 多细胞、囊胚与原肠期

八细胞期以后, 细胞分裂速度明显加快, 细胞数目迅速增加, 在显微镜下, 细胞相互重叠, 很难数清楚细胞数目, 且不同胚胎多细胞的形态各异(图 2 A, B)。胚胎经过多次卵裂发育至囊胚期, 囊胚期时四周分裂球由于数目较少, 界线尚清楚, 中央相对模糊, 呈实心球状, 胚胎变大, 外围细胞已经与卵膜接触, 呈圆形(图 2 C)。经过进一步发育, 胚胎发育至原肠期, 胚胎开始变小, 质地变得致密, 呈方形, 为胚胎下一步生理模式的形成做准备(图 2 D)。

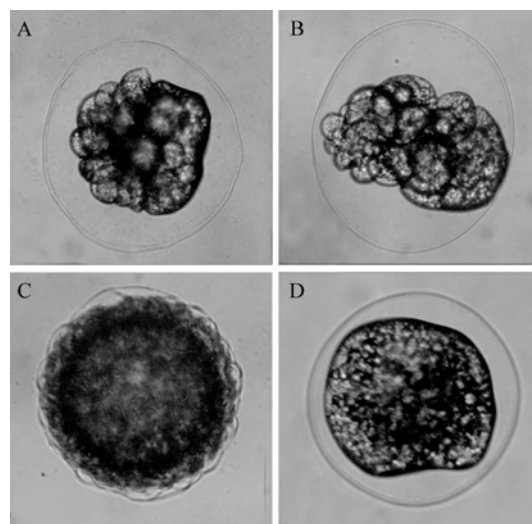


图 2 沙蚕胚胎发育

Fig. 2 Embryonic development of *P. aibuhitensis*
A. 多细胞期; B. 多细胞期(示不同形态); C. 囊胚期; D. 原肠期
A. Multi-cell stage; B. multi-cell stage(showing the different morph); C. blastula stage; D. gastrula stage

2.4 担轮幼虫期

受精后约 24 h 左右胚胎发育至前担轮幼虫前期, 胚胎开始在膜内旋转, 方向不定, 初期速度很慢, 约 90 s 旋转 1 周, 后期速度变快, 最快每秒旋转 1 周。胚胎有所变长(图 3 A)。发育至前担轮幼虫后期, 胚胎在身体的不同部位出现肌肉收缩运动, 胚胎进一步拉长为椭圆形, 并且出现颜色分层现象, 为幼虫锥形的形成做准备(图 3 B)。

后担轮幼虫的最大特点是顶部、侧部长出纤毛轮, 在顶纤毛轮位置出现红色环斑, 在高倍镜下观察, 可见一对淡黄色眼点出现, 胚胎开始具有幼虫

雏形(图 3C)。随着胚胎的进一步发育, 胚胎进一步拉长, 体侧出现 3 对刚毛, 此时, 由于尚未出膜, 故称为膜内三刚节幼虫(图 3 D)。

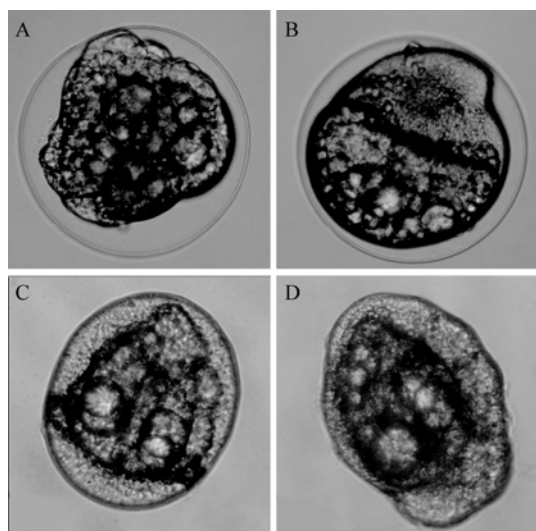


图 3 沙蚕胚胎发育

Fig. 3 The embryonic development of *P. aibuhitensis*

A.前担轮幼虫前期; B.前担轮幼虫后期; C.后担轮幼虫; D.膜内三刚节幼虫

A.Early protochophore stage; B.late protochophore stage; C.trochophore stage; D.unhatching 3- chaetae nectochaete

2.5 孵化期

随着发育的进行以及纤毛及刚毛的不停摆动, 胚胎进入孵化期, 从卵膜内孵出后的胚胎称为三刚节疣足幼虫, 消化道隐约可见, 但仍没有与外界相通。幼体头顶有 1 对触手突起, 依靠纤毛在水中游动, 尚不能进行摄食, 依靠体内的卵黄物质以及油球提供能量(图 4 A,B)。三刚节疣足幼虫的发育时期较之前几个时期较长, 约经过 1 d 的时间发育完善, 此时疣足明显, 每只疣足上具有的刚毛皆超过 10 根, 色素环消失, 围口节、第 1 对触须与口前叶触手清晰可辨, 2 对浅棕色眼点不明显, 肛节拉长, 幼体发育进入摄食期(图 4 C)。由于实验条件限制, 本实验观察到该时期结束, 后期有待进一步观察。

3 讨论

3.1 孵化过程中纤毛类敌害作用

胚胎在孵化至第 2 天, 出现纤毛虫大量繁殖(图 4 D), 导致沙蚕胚胎和出膜后的三刚节疣足幼虫大量死亡。关于纤毛虫的鉴定及与胚胎发育过程的关系、病害机理等有待进一步研究。

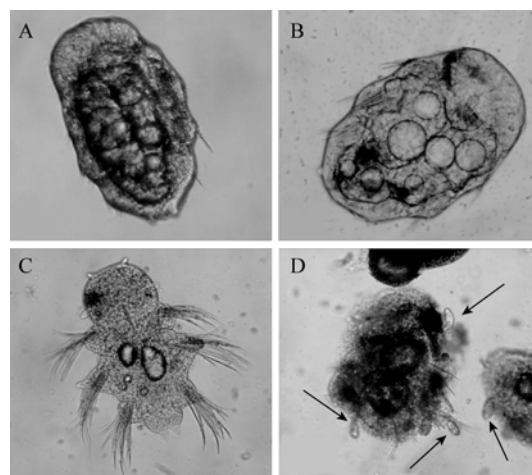


图 4 沙蚕胚胎发育

Fig. 4 Embryonic development of *P. aibuhitensis*

A.初孵三刚节疣足幼虫; B.三刚节疣足幼虫前期(示油球数量和大小); C.成熟三刚节疣足幼虫; D.盾纤毛类纤毛虫蚕食沙蚕胚胎(箭头示纤毛虫)

A.Newly hatched 3- chaetae nectochaete stage; B.early 3- chaetae nectochaete stage(showing the number of oil globules and morph); C.late early 3- chaetae nectochaete stage; D.pathogenic ciliate(arrow showing ciliate)

3.2 油球(oil globule, oil droplets)与胚胎发育的关系

根据柳敏海等^[7]的实验报道, 双齿围沙蚕胚胎发育至 8 细胞, 油球开始集中, 且发育至担轮幼虫期, 油球集中为 2~5 个。但是本实验观察的结果并非如此, 如图 2 D, 在原肠期, 沙蚕胚胎体内的油球数量仍然很多, 而且在体内分散分布。通过压片法观察, 发育至三刚节疣足幼虫前期的沙蚕体内尚存 7 个油球(图 4 B)。本实验分析认为, 油球的融合过程(数量的减少)与胚胎发育的时期关系不大, 是细胞分裂、分化和迁徙过程的随意性事件。另外, 柳敏海等^[7]认为沙蚕的油球为胚胎和未摄食的幼体在快速的细胞分裂过程中提供了腺嘌呤核苷酸, 从而保证了整个发育的顺利进行。而作者认为, 油球起作用的时期要晚一些, 因为在胚胎发育过程中, 由于融合的缘故导致油球数量减少, 但是油球总体积变化不大。另外, 根据鱼类胚胎发育过程, 初孵仔鱼的油球与受精卵相比, 并未发生变化, 因为整个胚胎发育过程是由卵黄囊提供能量, 而后仔鱼进入混合营养期, 油球才逐步发挥作用。沙蚕与鱼类截然不同的发育模式众所周知, 但是油球的作用以及开始作用的时期是否与鱼类具有相同或类似的模式还需要进一步研究。

3.3 高温孵化

张耀光等^[8]对胚胎和胚后发育与温度的关系进行了研究,认为高温下的胚胎剧烈活动引起耗氧量的激增,以及高温条件下水中的含氧量可能不能满足孵化要求,且高温会导致一些酶活性的丧失或被抑制,从而造成新陈代谢的紊乱,导致胚胎在原肠胚的延滞。本实验证实了在 25℃ 高温下,沙蚕胚胎仍然可以正常发育。双齿围沙蚕作为潮间带优势种类,在自然界,其胚胎的发育必然要经历各种环境因子的剧烈变化,例如:潮汐的涨落,浅海水温的变化,洋流引起的海水盐度的变化。因此沙蚕的胚胎具有较高的抗逆性,包括温度,盐度等的变化。通过实验来进一步确定双齿围沙蚕对温度,盐度等环境因子的抗性以及适应范围,对人工苗种生产具有重要的指导意义。

本实验发现双齿围沙蚕(*P. aibuhitensis*)的胚胎早期发育过程中的特殊现象,例如:胚胎体内油球的融合与胚胎发育的关系,胚胎和胚后发育与温度的关系,均与以往的实验结论不同。其中,胚胎孵化过程中纤毛虫的蚕食,也是影响其成活率的关键因素,其病害机理和防治方法还需要进一步的观察和

研究。

参考文献:

- [1] 顾晓英,蒋霞敏,郑忠明,等. 双齿围沙蚕的生物学特征和开发利用现状[J]. 现代渔业信息, 2002, 17(8): 33-34.
- [2] 陈祖辉,张洪欣,石志梅,等. 沙蚕综合利用系列产品技术开发研究[J]. 河北渔业, 2006, 13(1): 11-13.
- [3] 杜少波,胡超群,沈琪,等. 凡纳滨对虾亲虾常用天然饵料营养成分的比较研究[J]. 热带海洋学报, 2005, 24(1): 50-59.
- [4] 时冬晴,叶建生. 沙蚕的养殖方式及其应用开发现状[J]. 河北渔业, 2006, 10: 44-46.
- [5] 吴建新,召营泽,李信书. 双齿围沙蚕的早期发育[J]. 生物学通报, 2005, 40(6): 19-20.
- [6] 蒋霞敏,柳敏海. 沙蚕科的研究进展[J]. 海洋科学, 2008, 32(4): 82-86.
- [7] 柳敏海,蒋霞敏,张永靖. 双齿围沙蚕胚胎及幼体发育的研究[J]. 海洋水产研究, 2005, 26(2): 13-17.
- [8] 张耀光,何学福. 长吻鮠胚胎和胚后发育与温度的关系[J]. 水产学报, 1991, 15(2): 172-176.

Embryonic development of and disease of infusorium in *Perinereis aibuhitensis*

GAI Shan-shan¹, YU Dao-de², WANG Qi-xiang², WANG You¹

(1. Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Mariculture Institute of Shandong Province, Qingdao 266002, China)

Received: Apr., 15, 2011

Key words: *Perinereis aibuhitensis*; embryonic development; pathogeny

Abstract: The mature *Perinereis aibuhitensis* came from the semi-artificial cultured populations in 2010. During July and August, 2011, some of the cultured populations was matured into heteronereis. Though the heteronereis can reproduce under artificial conditions when both male and female individuals (30~50) are pooled into one plastic basket, we used artificial fertilizing methods in order to obtain synchronously ontogenetic embryos, then to facilitate the following larvae-culturing regimes. After disinfection, the fertilizing eggs were transferred into cement pond for middle culture. When the embryo developed into the ontogenetic stage of 3- chaetae nectochaete on day 3 post fertilization, the larvae were collected from cement pond, and put into mud pond for last cultivation. The early ontogeny of *P. aibuhitensis* was observed under Olympus -cx31 microscope. The typical characteristic images were taken using charge-coupled device (CCD) and SONY H-50 camera. There were some phenomena different from previous reports, including numbers of oil globules vs embryonic development, temperature vs embryonic development. One of pathogenic ciliate species emerged during the early development and resulted in mass death of embryo and larvae of *P. aibuhitensis*.

(本文编辑:梁德海)