

菲律宾蛤仔室内催产研究*

——阴干、氨海水和性诱导法

齐秋贞 林笔水 吴天明 许瑞安 杨明月

(国家海洋局第三海洋研究所)

提 要

本文初步探索菲律宾蛤仔在室内催产方法和步骤: 即将性腺成熟的亲蛤阴干、后用氨海水浸泡, 再以氨海水加雌性腺稀释液诱导亲蛤排放精卵。

试验结果是: 阴干时间 1/2 至 24 小时都可以催产, 一般应控制在 16 小时内。氨海水催产有效浓度为 0.00015 N 至 0.00225 N, 以 0.00075 N 氨海水, 浸泡 14 小时效果最好。0.00075 N 氨海水加雌性腺稀释液(适宜浓度为 25 至 150 毫克/升)联合诱导, 催产成功率达 96.2%。

用本文催产方法特点是: 潜伏期短, 一般在 30 分钟内; 催产率高, 在海区产卵高峰期, 室内催产率 72-100%; 排卵量大, 多数在 76 万粒/个以上; 受精率、孵化率和 D 形面盘幼体出现率均接近 100%, 并能在室内条件下正常发育变态, 培育到稚贝。

前 言

菲律宾蛤仔 *Ruditapes philippinarum* (Adams et Reeve) 俗称花蛤, 是我国沿海习见种类和养殖对象^[1-5]。在水产养殖业中, 存在苗种不足问题。本研究企图通过对花蛤繁殖生物学, 生理学研究, 为杂色蛤仔人工育苗工厂化提供一些科学依据。

这方面的研究, 国内外都进行过一些工作。国外, 相良顺一郎(1958)^[7]用氢氧化铵注射蛤仔的生殖腺诱发排放精卵。Loosanoff 等(1963)^[10]综合了有关双壳类的培养研究, 报导过用升温或升温加精、卵悬浮液诱发半叉蛤(*Tapes semidecussata*), 用氨海水浸泡帘蛤(*Mercenaria mercenaria*)的成熟卵等等, 都能达到部份人工受精并变态, 但百分率低。国内对蛤仔研究的有: 厦门大学海洋系等单位⁽¹⁾用变温, 阴干结合流水刺激, 在室外获得大批受精卵, 并培养到稚贝; 张云飞(1978)⁽²⁾用 0.01—0.03% 氨海水浸泡卵, 获得人工受精卵。

* 黄翔铃同志参加部分工作, 特此致谢。

(1) 厦门大学海洋系海洋生物教研室。杂色蛤仔土池人工育苗初步研究(待发表)。

(2) 张云飞, 1978。杂色蛤仔的繁殖习性与胚胎发育。水产科技: 1:1-3。

上述表明,国内外已经采用几种方法进行催产,但孵化率及达到稚贝的成活率都不高,而且潜伏期波动幅度大(2至20小时)。所以探讨其它的催产方法,还是必要的。近两年来,我们在室内用阴干、氨海水及性诱导法,获得较佳结果。

试验材料

亲贝:多数取自福建省晋江县东石贝类养殖场,处于产卵高峰期的二龄贝。部份取自福清县东营和长乐县江田。

培养器皿和水质:用口径24厘米培养缸,水量2至3升。天然海水、水温15至25°C、比重1.019至1.021、酸碱度8.0至8.3、溶解氧5毫升/升左右,自然光照。

氨海水:用分析纯氢氧化铵、加天然海水配制。

性腺稀释液:用吸管吸取成熟雌或雄亲贝性腺液,按需要量用过滤海水稀释。

$$\text{性腺液浓度} = \frac{\text{吸取前亲贝重} - \text{吸取后亲贝重}}{\text{海水量}} \text{ [毫克/升]}$$

试验内容与结果

催产实验的一般程序:将性腺成熟的亲蛤放于室内阴干,再用氨海水浸泡,最后以氨海水和性物质结合诱导。按此诱导程序首先分别进行阴干时间、氨海水浓度和性物质(种类与浓度)三项单因子试验,求得各项因子最适宜的时间和浓度,再以最适浓度和时间进行多因子联合诱导。

(一) 单因子催产

1. 阴干时间

分为1/2、2、4、8、12、16、20、24小时八组。采用同一时间离水,按阴干时间分别以0.00075*N*氨海水浸泡后诱导。实验结果见图1。

此结果表明,阴干时间从1/2至24小时都可以催产,以半小时催产率最高。催产时气温在20°C以上,阴干时间长,易导致亲蛤出现异常现象。因此,应控制在16小时以内。

2. 氨海水浓度及浸泡时间

(1) 氨海水浓度 分别为空白对照、0.00015*N* (0.001%)、0.00075*N* (0.005%)、0.00150*N* (0.01%)、0.00225*N* (0.015%)、0.00300*N* (0.02%) 和 0.00450*N* (0.03%) 七组。

各浓度组中亲蛤的反应:在14小时内0至0.00075*N*氨海水,亲蛤活动正常;0.00150至0.00225*N*氨海水,最初30分钟多数亲蛤都伸出足部与水管,1小时后个别亲蛤水管收缩反应缓慢,14小时后多数壳口微开,闭壳与伸缩反应迟钝,有的死亡;0.00300至0.00450*N*氨海水,最初30分钟多数伸出足部与水管不停地转动,40分钟后,露于壳外

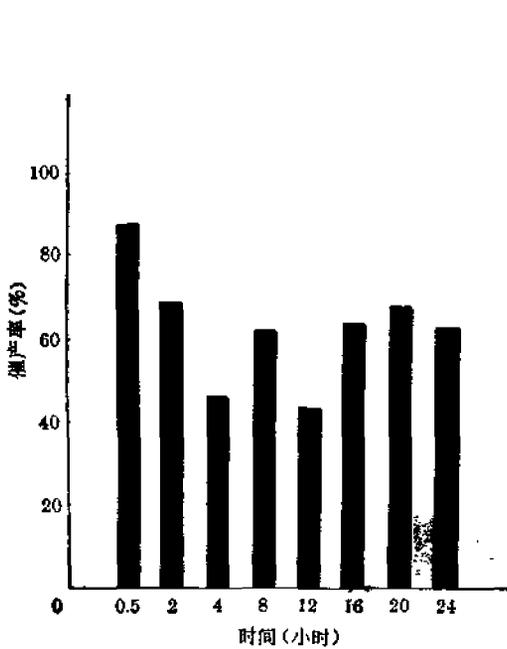


图1 阴干时间与催产率关系

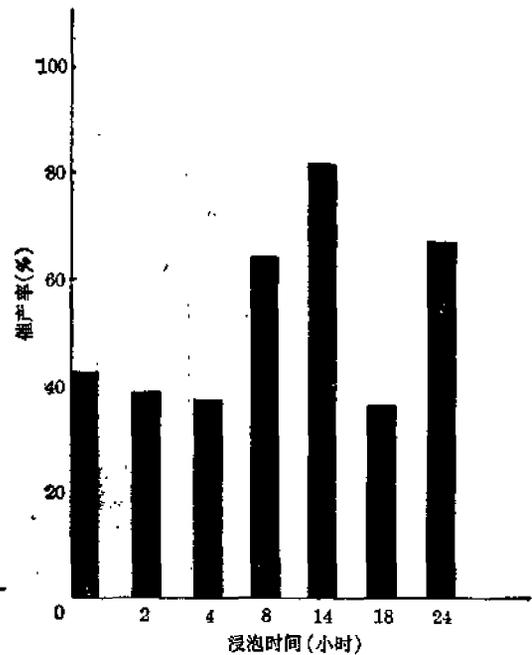


图2 氨海水浸泡时间与催产效果

的水管枯萎下垂,少数个体壳紧闭,50至70分钟个别亲蛤产生断足或断水管现象,2小时后壳口粘有白色成团的排泄物,闭壳反应很差,14小时出现死亡。各组催产效果见表1。

表1 不同浓度氨海水催产效果

催产率 批数	氨水浓度 (N)						
	0	0.00015	0.00075	0.00150	0.00225	0.00300	0.00450
1	0	0	82.1	48.7	5.0	/	0
2	0	60.0	30.0	0	0	0	0
3	0	5.0	50.0	0	0	0	0

结果表明,氨海水浓度0.00015—0.00225*N*都可以催产,而最佳浓度为0.00075*N*。

(2) 氨海水浸泡时间分为0、2、4、8、14、18、24小时七组。氨海水浓度为0.00075*N*。结果见图2。

结果表明,性腺成熟的亲蛤用0.00075*N*氨海水浸泡,从0至24小时对催产都起作用。以浸泡14小时效果最好,8小时次之。由于浸泡时间长,亲蛤会出现毒性效应,因此浸泡时间不宜超过14小时。

3. 性物质的种类与浓度

(1) 不同性物质的诱导 实验结果如图3所示。

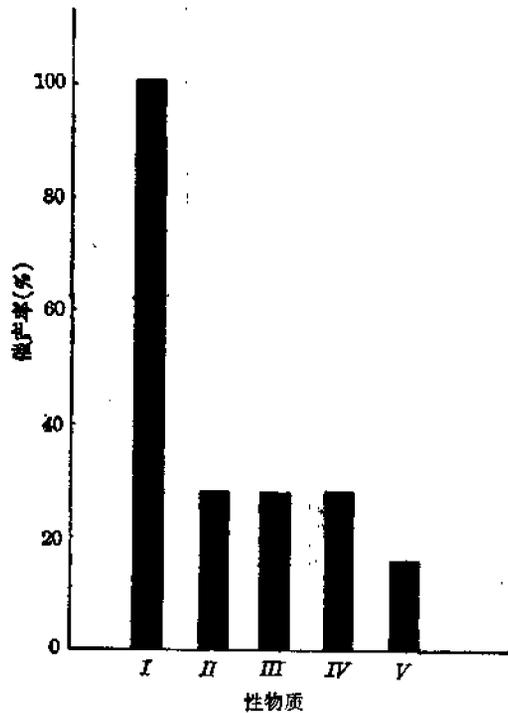


图3 不同性物质诱导效果

I. 雌性腺稀释液(130至250毫克/升); II. 雄性腺稀释液(120至200毫克/升); III. 刚排放雌、雄性产物混合液(1升); IV. 移入正产卵的雌蛤(1至2个); V. 移入正排精的雄蛤(1至2个)。

为了进一步比较雌、雄性腺诱导效果,将雄性腺诱导不出的亲蛤移放于含有雌性腺稀释液的氨海水(0.00075N)中作重诱导(表2)。

从实验结果(图3,表2)说明,应用上述五种性物质均能诱导亲蛤排放精卵,以雌性腺

表2 重诱导效应

批数	组别	潜伏期(分钟)	催产率(%)
I	1		0
	2		0
II	1	7	35.0
	2	15	25.0
III		32	75.0
IV		14	77.8

稀释液诱导效果最好。根据78年10月至11月采用0.00075N氨海水和雌性腺稀释液诱导80缸次中,仅3次催产不出,催产成功率达96.2%;采用0.00150N氨海水与雌性腺诱导31缸次中,3次催产不成,催产成功率达90.3%。

第一批催产效果最差,原因是海区亲蛤成批排放精卵,本实验用亲蛤性腺仍处于恢复阶段。从剖取性腺镜检,79个亲蛤性腺饱满的个体仅8个,占10.1%,产后个体10个,占12.7%,而成熟期^[2]个体61个,占77.2%。

(2) 雌性腺浓度 实验结果如图4所示。

结果表明,雌性腺浓度从25至250毫克/升均能诱发亲蛤排放,以25至50毫克/升浓度诱导效果较好。当用量超过150毫克/升,对水质影响较大;水体呈白色混浊,一搅动,水面就出现泡沫,因此雌性腺加量不宜多。

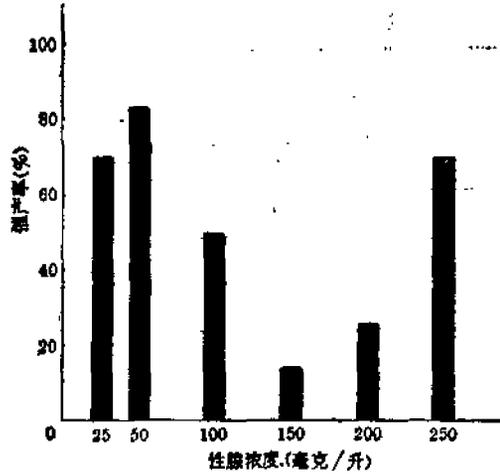


图 4 雌性腺浓度与诱导效果

(二) 多因子联合催产

根据上述三项试验结果, 选用较适宜的浓度和时间进行四批催产试验。结果见表 3。

表 3 菲律宾蛤仔室内人工催产

(阴干→0.00075N 氨海水浸泡→氨海水加雌性腺)

批数	组别	潜伏期 (分钟)	第一个 排放的 亲蛤	催产率 (%)	排 卵 量 (粒/个)	受精率 (%)	孵化率 (%)	D 形面盘 幼虫出现 率(%)	亲 蛤 长×高(毫米)
I	1	35	♂	45	11×10^5	100		98.3	26×17 至 28×19 平均 26.6×18
	2	49	♂	40	9×10^5	100			23×15 至 27×18 平均 25×17
II	1	17	♂	84	8×10^5	100	100	100	26×18 至 31×22 平均 29×20
	2	12	♀	90	7×10^5	100	100	92.0	26×20 至 35×23 平均 29×20
III	1	16	♂	100	8×10^5	100	100	100	27×19 至 33×23 平均 29×19
	2	13	♂	72	4×10^5	100	100	95.8	26×17 至 33×22 平均 28.6×19
IV		10	♂	85	5×10^5	100	100	100	25×18 至 35×25 平均 29×20

水温 21°—23℃, 比重 1.020—1.021, 晴天

为了扩大试验, 进行室内水族箱[150×50×30(厘米³)]催产试验。盛 135—150 升氨海水(0.00075N), 放进 3 至 8 斤亲蛤, 浸泡 4 小时, 然后倒入正排放的亲蛤作诱导。试验结果见表 4。

结果(表 3、4)说明, 用阴干 0.00075N 氨海水及雌性腺结合诱导有以下几个特点:

- (1) 潜伏期短, 10 至 49 分钟, 一般在 30 分钟内。
- (2) 催产率高, 40 至 100%。在海区产卵高峰期, 室内催产率为 72 至 100%, 且潜伏期在 20 分钟内。

表4 水族箱催产试验

批数	组别	亲蛤用量(斤)*	排卵量(粒)
I		4.5	11×10^7
II	1	8.0	3×10^7
	2	3.0	3×10^7
III	1	5.0	3×10^7
	2	4.5	2×10^7

* 每斤约125个

(6) 第一个排放的多数为雄蛤,而雌蛤较少。

总而言之,诱导亲蛤排放获得受精卵能在室内条件下正常发育变态,培育到幼贝。此催产法在中型水体也适用。

讨 论

1. 氨海水对催产的作用

Loosanoff 和 Davis、相良顺一郎、宫崎一老、张云飞等认为帘蛤类蛤仔属剖取卵,胚泡仍清晰难以进行人工受精。产出的卵,胚泡溶解才能受精。李嘉泳等认为前者是形态上成熟卵,后者是生理上成熟卵^[2]。

如何促使卵从形态成熟转为生理成熟? 这个问题极为引人重视,且方法繁多,有物理刺激和化学刺激。用氨海水处理卵或氨海水和性诱导亲贝排放精、卵,仅是化学刺激法之一。

首先,从用 0.00075N 氨海水浸泡卵或亲蛤经阴干、0.00075N 氨海水和雌性腺结合诱导,观察五种卵的形态特征:(1)剖取自然卵,呈圆形、也有近似梨形。卵核(即胚泡^[2])清晰,边缘界线呈锯齿状,约占卵的 1/2—1/3。有一层明显的次级卵膜。(2)诱导前(亲蛤经氨海水浸泡 2 至 14 小时),卵形态特征近似于自然卵,只是胚泡呈有规则圆形或半圆形。(3)诱导后,产出卵呈圆形,且胚泡消失,极个别有卵核痕迹。(4)雌蛤刚开始产,就剖取卵,形态特征多数与产出卵相似。(5)自然卵浸于氨海水,最初几分钟形态与自然卵相似,随后卵形逐渐变为椭圆或圆形,有些卵的胚泡由清晰变为模糊。

从五种卵形态结构的变化说明:(1)花蛤卵具有形态上成熟和生理上成熟之区分。(2)从雌蛤经氨海水浸泡,诱导前卵与诱导后产出卵或刚开始产就剖取的卵,形态上有明显变化。说明花蛤卵细胞要达到生理上成熟才会排放,而且胚泡是在卵巢内溶解。(3)从离体成熟卵经氨海水浸泡会引起形态结构变化,表明氨海水能促使卵往生理上成熟转化。因此,用上述催产方法能得到满意结果。我们实验结果与 Loosanoff 和 Davis 看法基本上一致。我们又进一步观察到,胚泡从清晰到溶解的变化过程,是在产卵前 10 至 30 分钟。

第二,从亲蛤仅阴干与 0.00075N 氨海水浸泡,会诱导排放精卵。在刮台风与雷雨前闷热天气或阴雨天,曾四次出现亲蛤经氨海水浸泡(2 至 14 小时)会排放精卵。此外,

(3) 排卵量大,亲蛤个体(长×高)为 25×17 至 29×20 毫米,平均排卵量 4×10^5 至 11×10^5 粒/个,而多数排卵量为 7×10^5 粒/个以上。

(4) 受精率为 100%。

(5) 孵化率和 D 形面盘幼虫出现率均接近 100%。从受精卵以不同密度培育比较来看,卵洗得干净,且密度适宜, D 形幼虫出现率接近 100%。

当亲蛤性腺成熟度非常好,一剖开贝壳,有些精、卵会自动流出。镜检性腺,自然卵已有少数出现胚泡消溶,而亲蛤经氨海水浸泡2小时后,绝大多数卵胚泡消溶。这说明,氨海水浸泡会诱导大量排放。这两种特殊情况,遇到机会不多,所以一般要用氨海水与雌性腺结合诱导。此试验过程中,空白对照(即亲蛤经阴干和天然海水浸泡的)从未见到排放。即使卵成熟度已达到胚泡消溶,也是如此。因此,胚泡消溶仅是雌蛤产卵的先决条件和内在因素。它还要外界条件(如加入氢氧化铵和性腺或温、盐度变化,流动海水等)刺激,才会导致亲蛤排放精卵。

第三,雌性腺诱导与氨海水和雌性腺结合诱导的比较试验(见表5)

表5 雌性腺与氨海水和雌性腺结合诱导比较

批数	组别	浸泡处理法	诱导法	潜伏期 (分钟)	催产率 (%)	排放状况	排放持续 时间 (分钟)
I	1	海水浸泡14小时	雌性腺	31	13.3	呈丝线状	1
	2	/	雌性腺		0	0	0
	3	0.0015N氨海水浸14小时	氨海水加雌性腺	19	60.0	呈烟雾状	
	4	/	同上	30	58.7		
II	1	海水浸4小时	雌性腺		0	0	
	2	0.0015N氨海水浸4小时	氨海水加雌性腺	24	60.0	呈烟雾状	37
	3	/	将II组重诱导(氨海水加雌性腺)	28	86.7	同上	47

从上述三项试验结果都说明,适宜浓度氨海水能促使产卵期亲蛤性细胞进一步成熟,甚至诱导排放,而外加雌性腺稀释液主要起着诱发作用。相良顺一郎实验结果是,产卵期蛤仔用0.001至0.01N氨海水处理,催产无效。这虽与品种、产区的不同有一定关系,更主要原因可能是氨水浓度偏高,再者氨海水要与雌性腺结合诱导,催产效果才理想。

2. 氨海水的毒性作用

实验结果,氨海水浓度超过0.00225N不仅催产无效,且短时间内出现毒性效应。以催产效果较好的氨海水浓度0.00075N,浸泡时间也不得超过14小时,在这个期限内,亲蛤经海区或室内饲养,毒性可以排除(见表6)。

3. 关于性诱导

在海洋贝类中异性诱导现象很常见。在自然海区往往是雄蛤先排精,随之周围亲蛤陆续排放。因此,当采用氨海水诱导不出时,就选用氨海水和雌性腺结合诱导。实验中,有效诱导100缸次中,雄蛤第一个排精占66%,而雌蛤第一个产卵占34%;若以亲蛤性腺饱满度与成熟度都很好的六批试验,有效诱导43缸,雄蛤最先排精占76.7%,而雌蛤先产卵占24.3%;同样用雄性腺和氨海水结合诱导,有效诱导3次中,2次是雌蛤先产卵,一次是雄蛤先排精;还观察到用雌性腺和氨海水诱导,最初连续5至6个排放都是雌蛤。上述表明,性诱导中,第一个排放的亲蛤总是异性占2/3,从这现象来看,有异性诱导作用。

表6 亲蛤室内育肥试验

组别	饵料		育肥情况〔增(减)重个数/总数〕				
	种类	密度 (万个/毫升)	第一周		第二周		
			增重率(%)	减重率(%)	增重率(%)	减重率(%)	
I	催产过海区*	三角褐指藻	80	75.0	/	50.0	25
	催产过海区			61.0	16.5	77.5	11
II	催产过海区	三角褐指藻加异胶藻	25+25	57.1	/	85.7	/
	催产过海区			73.5	10.5	67.0	11

* 海区: 即亲蛤从海区取来饲养, 以作对照

那为什么还存在着 1/3 同性个体先排放, 甚至最初几个都是同性亲蛤呢? 这问题有待进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] 山东海洋学院、上海水产学院合编, 1962. 水产动物胚胎学, 20-24 页. 农业出版社。
- [2] 李嘉泳、邹仁林, 1962. 胶州湾两种习见帘蛤的生殖周期. 山东海洋学院学报, 1: 43-64.
- [3] 庄启谦, 1964. 中国近海帘蛤科的研究. 海洋学集刊, 5: 43.
- [4] 丘清华, 1959. 杂色蛤仔的形态习性和养殖法. 动物学杂志, 11: 511-517.
- [5] 张玺、齐钟彦等, 1962. 中国经济动物志, 海产软体动物, 151-155 页. 科学出版社。
- [6] 聂宗庆, 1965. 双壳类幼虫培养研究的进展. 国外水产, 3: 13-17.
- [7] 相良顺一郎, 1958. NH_4OH による二枚貝の产卵诱发. 日本水产学会志, 23(9): 505-510.
- [8] 宫崎一老, 1957. 水产学集成, 433-443 页. 东京大学出版会。
- [9] 宫崎一老, 1962. 二枚貝の浮游幼貝(Veliger)の识别について. 日本水产学会志, 28(10): 955-966.
- [10] Loosanoff V. L. & Davis H. C., 1963. Rearing of Bivalve Mollusks. *Advances in marine biology*, 1: 20-113.

EXPERIMENTS ON IN-DOOR INDUCED BREEDING OF *Ruditapes philippinarum*

Qi Qiuzheng, Lin Bishui, Wu Tianting, Xu Ruian and Yang Mingyue

(Third Institute of Oceanography, National Bureau of Oceanography)

Abstract

The method and steps of in-door induced breeding of *Ruditapes philippinarum* is described in this paper: The sex-matured parent clams should be air-dried for a period and then soaked in ammonia seawater by adding with diluted solution of female sexual glands for inducing spawning

The results obtained from the experiments are as follows: Spawning could be successful with 1/2—24 hours of air-drying. Generally, the optimum period of air-drying should be controlled within 16 hours. The range of effective concentration of

ammonia and seawater for inducing was 0.00015—0.00225*N*. The best results are obtained from the parent clams soaked in 0.00075*N* of ammonia and seawater with addition of female sexual gland solution at a concentration of 25—150 mg/L for 14 hours. The success rate reaches to 96.2%.

The characteristics for the method described above are: short cryptic period, usually within 30 minutes, high spawning rate about 72—100% during the natural spawning season high fertility. The rates of fertilization, incubation and the development of larvae into the veliger stage nearly reach to 100% and they can normally develop into spats under in-door conditions.