

用过氧化氢诱导泥蚶和缢蛏排卵试验*

郑 郭 煦

(福建省水产研究所)

泥蚶 (*Arca granosa*) 和缢蛏 (*Sinonovacula constricta*) 系海产的底栖软体动物, 全国沿海均有分布, 为我国和日本特有的养殖和捕捞的食用种类。

近年来, 由于海洋渔业资源量呈现下降趋势, 发展海洋生物增殖的优越性已受到许多海洋国家的普遍重视, 人们对于海产双壳类的诱导产卵问题亦日益关注。国内外关于鲍鱼、贻贝、扇贝和杂色蛤仔等软体动物催产方面的资料屡见不鲜^[3,5]。美国莫尔斯和日本田中弥太郎 (1978) 先后采用过氧化氢诱导鲍鱼产卵^[5,7]。蔡友义 (1981) 曾用过氧化氢配合降温刺激、再以流水刺激的物理化学结合方法促使泥蚶产卵。然而单一使用化学药品诱导泥蚶和缢蛏排放精、卵的研究, 却仍属少见。为了探索操作简易、适于生产应用的有效催产方法, 作者于1982年和1983年蚶、蛏的繁殖季节, 采用过氧化氢对泥蚶和缢蛏进行了诱导繁殖的研究。兹将试验结果作简要介绍, 供有关单位进一步研究时

参考。

材料与方法

本试验采用的亲贝系取自福建云霄县漳江湾海涂中。在其繁殖期间, 通过随机抽样解剖观察, 选择雌雄性别明显(卵巢呈桔红色、精巢呈乳白色)、生殖腺较成熟(卵粒在水中分散、呈圆形)、个体健壮的2—3龄泥蚶和1龄缢蛏亲贝为研究对象。

采用化学纯30%过氧化氢(均系浙江临安化工二厂、1982年第二季度出品)作为刺激诱发剂。试验之前, 用蒸馏水稀释为1%浓度的过氧化氢(简称 H_2O_2 , 下同)溶液, 再以新鲜过滤海水按照泥蚶和缢蛏诱产试验所需的浓度范围, 配制成不同含量的 H_2O_2 海水溶液。

泥蚶诱产试验采用的 H_2O_2 浓度(单位:%),

* 本试验承我所陈文龙、何连金和云霄县水产局吴卓诚、方火顺、方银标等同志多方协助, 特此致谢。

先后分为 0.01、0.05、0.1、0.5、1、2、3、4、5 及 10 等 10 个不同剂量组。每次试验系取其中的 3—5 个剂量组(视各次诱产的效果而定),并以配制 H₂O₂ 海水溶液所用的同一批新鲜过滤海水,作为无添加 H₂O₂ 试剂的空白海水对照组。在整个试验过程中,亲蚌的浸泡刺激时间计有 0.5、1、1.5、2、2.5、3 及 4 小时。溢蛞诱产所用的 H₂O₂ 浓度则有 0.5、1、1.5、2、3、5、10、15ppm 等 8 个不同剂量组;其刺激时间为 0.5、1、1.5、2、2.5 和 3 小时不等。每次试验用贝系来自同一块蛞埕或蛞埕海涂上采集的同一批亲贝,经新鲜过滤海水洗净后备用。

试验时,将一定数量亲贝分别放入各个盛有 2—3 公升不同剂量的 H₂O₂ 海水溶液和盛有同体积的无添加 H₂O₂ 之过滤海水的搪瓷盆(直径 31 厘米、深 10 厘米)中浸泡。随后,各组按试验所需的不同刺激时间而分批取出部份亲贝,用过滤海水冲洗 3—4 次,再分别移入各个长方形(130 厘米×40 厘米×20 厘米)瓷砖水槽的静水中待产。每个剂量组的不同刺激时间的亲贝,系在每个剂量组水槽内再搁置若干个搪瓷盆,并控制其水位(6—8 厘米)而暂时分隔。试验贝的诱产反应效果系每隔半小时检查一次,并记录雌雄亲体的排放个体数。试验终结时,对各组亲贝作性腺解剖观察,并对其诱导排放性细胞所需时间和排放个体百分率进行比较分析。

亲贝经诱导刺激自行排放的精卵,用实体显微镜进行观察。待卵受精后,清理剩余精子和其它杂物。经几个小时孵化培育,所得担轮幼虫移入育苗池培养。对其胚胎发育过程及幼体生长速度亦作了定期观测。

结 果

一、过氧化氢对泥蛞的诱导排卵效果

1982 年泥蛞繁殖期间,先后进行六次 H₂O₂ 诱产试验。在 9 月 19 日—10 月 11 日,海水比重为 1.013—1.014、水温 24.5—26.5℃ 的条件下,过氧化氢剂量为 0.01—3‰ 试验组皆显示出很强的诱导排卵作用,泥蛞亲体排放百分率平

均为 85.0—96.6% (见表 1)。当 H₂O₂ 浓度在 4‰ 以上时,亲体急骤收缩,双壳紧闭,其结果未发现排放效应。不添加 H₂O₂ 的海水对照组亲贝亦皆无排卵现象。

表 1 H₂O₂ 对泥蛞排放性细胞的诱导效果 (1982)

H ₂ O ₂ 浓度 (%)	刺激时间 (小时)	效应时间 (小时)	试验个数	排放个数	平均排放率 (%)
0.01	1	4—8	10	9	86.7
	2	4—8	10	10	
	3	7—9	10	7	
0.05	1	4—9	10	10	96.6
	2	4—9	10	9	
	3	7—9	10	10	
0.1	1	4—8	10	8	86.7
	2	4—9	10	9	
	3	7—9	10	9	
0.5	1	4—8	10	10	93.3
	2	4—8	10	8	
	3	6—9	10	10	
1.0	1	4—7	10	10	90.0
	2	5—8	10	9	
	3	5—9	10	8	
2.0	1	6—8	10	10	93.3
	2	5—7	10	10	
	3	5—9	10	8	
3.0	1	5—8	10	10	85.0
	2	6—8	10	7.5	
	3	5—8	10	8	
4.0	1	0	10	0	0
	2	0	10	0	
	3	0	10	0	
海水	1	0	10	0	0
	2	0	10	0	
	3	0	10	0	

* 效应时间: 系自诱导刺激开始,至各个亲体出现排放精卵的时间。

H₂O₂ 刺激时间不同,其亲贝排放率有所差异。就其亲体排放效应的强烈程度而言,应以刺激时间 1 小时者为最著,雌雄亲体生殖腺的成熟性细胞几乎全部排完。正如表 1 所示,其百分之百排放率的出现次数在 7 个有效剂量组中(4‰ 组 and 海水对照组除外)占 71.4%,而刺激时间 2 小时、3 小时者则均为 28.5%;依次

表 2 H₂O₂(3‰) 不同刺激时间对亲蚶排放效应的影响 (1982.9.17)

试验开始时间		9:00	水温 26±1℃		比重 1.013	
刺激时间(小时)		0.5	1.0	1.5	2.0	2.5
雌雄贝排放个数 不同时间	14:00	—	—	—	—	—
	14:30	—	♂1	♂1	♂1	—
	15:00	♂1	♀1	♂1	♂1♀1	♂1♀1
	15:30	—	♂2♀1	♂2♀2	♂1	♂1♀1
	16:00	—	♂1♀1	♂1	♀1	♀1
	16:30	—	♀2	♂1♀1	♀1	♂1
	17:00	—	—	—	—	♀1
20:30 (排放个数/总个数)		1/10	9/10	9/10	6/10	7/10

2 小时的排放率为 90% 者占 42.8%；3 小时的 80% 者占 42.8%，故 2 及 3 小时的诱导刺激效果为次之。刺激时间为 0.5 小时者，除个别亲贝有排放反应外(如表 2)，多数亲体均未发现排放效应。

为了验证此法诱产效果的重现性，于 1983 年 9 月 21—22 日在试验条件与 1982 年相似的情况下，采用同样的 H₂O₂ 处理方法，对泥蚶再进行两次诱导产卵试验。试验水温为 27.5±1℃、比重 1.014，所用的 H₂O₂ 剂量为 0.01—0.5‰，刺激时间分别为 1—1.5 小时和 2 小时，其结果各剂量组皆呈现出明显的排放效应(表 3)。有排放性产物的亲贝个体百分率达 83.3—

96.7%；其效应时间仅为 3.5—6 小时，这可能与水温有关。

试验表明，1983 年海水理化因素(如水温等)虽因年度不同而有所波动，但在 H₂O₂ 有效剂量和刺激时间范围内，单一使用 H₂O₂ 诱产方法仍可促使 80% 以上亲蚶排精产卵。不添加 H₂O₂ 诱发剂的海水对照组，其雌雄亲贝均未排放性细胞。这与繁殖盛期将成批亲蚶(20 公斤)移至室内水泥池的静水中暂养 3—7 天亦皆未排卵的观察结果是相一致的。这也许是由于亲贝处于室内无软泥底质的静水环境，与其长期适应海涂栖所的自然生态条件(如潮汐、风浪、海流、光照、水位差等)有较大的差异所致。因而若无借助人工方法诱导刺激，即使是性腺发育较成熟的亲贝，也可能因其生殖环境因素的改变，导致性腺未能达到最终成熟而出现滞产的现象。究竟何因，尚有待于进一步研究。

二、过氧化氢对缢蛏的诱产效果

采用 H₂O₂ 作为诱产剂对缢蛏室内人工催产的初步试验结果见表 4。1982 年 11 月 4—9 日，在海水比重为 1.014—1.017、水温 23±0.5℃、酸碱度 7.6 的条件下，采用 0.5—15ppm 等 8 种不同剂量的 H₂O₂ 海水溶液，对缢蛏进行三次诱产试验。浸泡刺激时间 1.0—1.5 小时、

表 3 H₂O₂ 对泥蚶诱导排放效果 (1983)

H ₂ O ₂ 浓度(‰)	0.01		0.05		0.1		0.5		海水	
	1—1.5	2	1—1.5	2	1—1.5	2	1—1.5	2	1—1.5	2
刺激时间(hr.)	1—1.5	2	1—1.5	2	1—1.5	2	1—1.5	2	1—1.5	2
效应时间(hr.)	5—6	5—6	5—6	5—6	3.5—6	5—6	3.5—6	4—6	0	0
试验贝个数	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
排放个体数	26	25	29	28	28	27	27	28	0	0
亲贝排放率(%)	86.7	83.3	96.7	93.3	93.3	90.0	90.0	93.3	0	0
排放率平均值	85.0		95.0		91.6		91.6		0	

表 4 H₂O₂ 对缢蛏排放精卵的诱导效果

年 份	1982 年 11 月						1983 年 11 月			
	0.5	1.0		1.5	2.0	海 水	1.0	1.0	1.0	海 水
H ₂ O ₂ 浓度(ppm)	0.5	1.0	1.5	1.5	1.5	1.0	1.5	2.0	2.5	2.0
刺激时间(小时)	1.5	1.0	1.5	1.5	1.5	1.0	1.5	2.0	2.5	2.0
效应时间(小时)	0	9—12	9—11	8—11	0	0	0	11—12	19—21	19—21
试验贝个数	30	30	30	30	30	30	30	20	20	20
排放个数	0	♂7♀8	♂9♀7.8	♂11♀7	0	0	0	♂4♀7	♂5♀7.6	♂6♀4
排放率(%)	0	50	56	60	0	0	0	55	63	50

四、 H_2O_2 诱产的泥蚶和缢蛏受精卵胚胎发育

泥蚶经 H_2O_2 诱发排放的精卵，具有生存和受精能力，它们能在过滤海水中自行授精。据抽样镜检结果，其受精率达 93% 以上，并未发现畸形胚胎。在海水比重 1.014—1.016、水温 25.0—26.8℃、酸碱度 7.3—7.8 的情况下，经 6—7 小时培育，受精卵发育到担轮幼虫期（表 5）；又过 10 小时即进入 D 型幼虫阶段；经约 5 天的培养，幼虫壳顶隆起，个体显著增大，其平均体长为 128 微米，体高 105 微米；第 10—11 天开始变态，幼虫平均体长为 156 微米，体高 132 微米；随后幼虫即陆续下沉附着，足部外伸，匍匐爬行，开始营底栖生活，稚贝体长 165—173 微米，体高 139—144 微米。再经 40 天的人工培育，即进入蚶苗期，其个体长度可增至 1056 微米，体高 732 微米。

在育苗用水的理化因子、饵料品种及管理方法相似的情况下，单一使用 H_2O_2 诱产与循环水催产的泥蚶受精卵的胚胎发育所需时间并无多大差异。两者均为 5—6 天发育到壳顶幼虫期；前者幼虫浮游期为 11 天，后者须 14 天由浮游期转入营底栖生活。 H_2O_2 诱产的泥蚶幼体生长曲线，是与循环水催产的大致相似。正如图 2 所示，受精卵发育至第 2 天，前者幼虫平均体长为 102 微米，后者为 100 微米；自第 5 天后，两者生长曲线有所差异，前者的生长速率近乎是直线上升，后者则显示出较大的弯曲弧度；至第 37 天，前者稚贝的平均体长为 396 微米，最大个体达 528 微米，后者平均体长则为 286 微米，最大个体 432 微米。研究结果表明，采用单一的 H_2O_2 化学诱产方法，对泥蚶受精卵的胚胎发育及其幼体生长速度并无任何不良影响。

通过 H_2O_2 诱产的缢蛏精卵能在海水中自行受精，其受精率达 86%。受精卵经 20 小时的一系列胚胎发育，变成 D 型幼虫。第 3 天后，浮游幼体逐渐长大，两壳包围整个身体，壳顶明显突出。第 7 天幼体面盘逐渐退化，足部发达，此时由于身体增重，不适于浮游生活而沉降水

底，若遇适宜底质即以足丝附着，并开始掘穴而居，营管栖的生活方式。培育至第 12 天，已附着的缢蛏稚贝可增长为 192—250 微米。从表 5 所示结果中看出，自亲蛏产卵受精，一直发育到下沉附着所需时间，与循环水催产所得受精卵的胚胎发育速度并无明显差异。实验证明，用 H_2O_2 诱产所得的缢蛏受精卵进行室内人工培育结果，受精卵能够正常发育变态成稚贝。

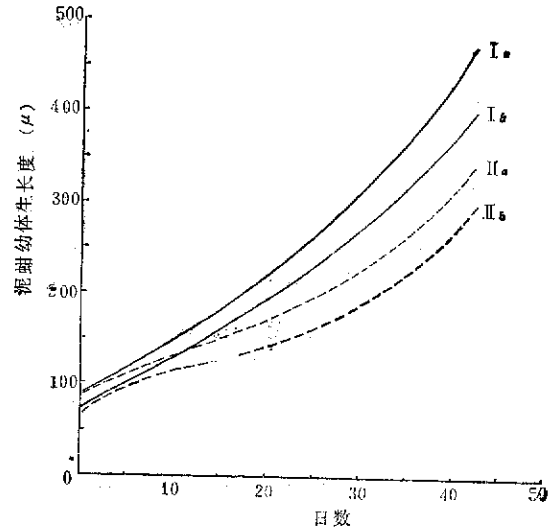


图 2 H_2O_2 诱产与循环水催产的泥蚶幼体生长量比较
I: H_2O_2 诱产 II: 循环水催产
a——体长 b——体高

讨 论

1. 本试验单一使用 H_2O_2 诱导泥蚶和缢蛏排卵，可获得较满意的催产效果，特别是对泥蚶的诱产效果尤为显著。采用 0.01—3‰ 浓度的 H_2O_2 海水溶液对泥蚶诱导刺激 1—2 小时，均能有效地促使亲贝排精产卵。但若 H_2O_2 浓度提高到 4‰ 以上时，亲蚶则出现不同程度的抑制反应，其双壳紧闭，体表色素退淡，由于强烈的化学性刺激，导致亲体急剧收缩，足部常被自身双壳所夹持而损伤出血。故若采用非适度的刺激剂量，将会引起亲蚶排放的抑制效应。从实际应用角度来看， H_2O_2 有效剂量应以 0.05—0.1‰ 浓度为较佳。

在 H_2O_2 有效剂量和刺激时间范围内，剂量的大小与刺激时间的长短，对泥蚶的排放反

应速度虽有所影响,然而却未显著影响亲蚌排放个体的百分率(表1)。据亲体解剖观察结果,各试验组亲蚌排放个体数的波动变化,主要是由于亲蚌性腺成熟度的个体差异所致。

2. H_2O_2 对缢蛏的诱导排放效应,若与泥蚶相比却有所不同。 H_2O_2 诱导缢蛏产卵的有效浓度范围较为狭窄,而且剂量亦明显偏低,仅为 1.0—1.5ppm 就能诱发其排精产卵(表4)。实验表明,缢蛏接受外界 H_2O_2 的化学诱导刺激比泥蚶较为敏感。从形态学上来看,缢蛏双壳关闭时,前后端均有开口而未能完全覆盖整个机体,其足部、进出水管及部份的外套膜是经常直接与外界海水相接触。当 H_2O_2 海水溶液浸泡处理时,缢蛏不能像泥蚶那样紧密地封闭双壳而暂时躲避,因而其机体所承受的外界化学刺激强度是比泥蚶大得多。倘若 H_2O_2 浓度增至 3ppm 以上时,即会导致缢蛏裸露部份严重损伤,并出现一系列异常的生理反应,甚至有个别亲贝引起死亡。这可能由于 H_2O_2 对生物有机体具有腐蚀性的缘故。

3. 众所周知,泥蚶也和贻贝、鲍鱼等贝类一样,在繁殖期用解剖法取得的卵子是不能受精的。原来它不同于某些贝类(如牡蛎等)在卵核开始分裂前后就能受精,而必须等待其自然成熟产卵,或用人工刺激方法促使亲贝自行产卵,才能获得受精卵。由此可见, H_2O_2 对于泥蚶亲贝是具有诱导其性腺达到最终成熟和排卵的效能,在亲体自行产卵受精过程中,起着重要的促熟作用和催产作用。

实验证明 H_2O_2 诱发剂及其诱产技术是有效的。对于泥蚶性细胞的生存能力和受精能力无任何不良影响,其诱产所得的成熟卵和精子在海水中可自行受精,并能正常发育变态成稚贝。在缢蛏诱产试验中,亦同样证实了这一结论。

4. 过氧化氢系澄清无色的液体,易与水混合,它是一种强氧化剂。美国莫尔斯等曾通过红鲍的催产试验,证明了 H_2O_2 的作用是能直接提高脂肪酸环氧酶催化反应的速率,而大量形成前列腺素的前体——前列腺素桥过氧化物,此时 H_2O_2 是该反应的基质(供氧体)^[5]。在泥蚶和缢蛏的精卵巢中亦含有一定的环氧酶,因而在适宜的水质条件下,单一使用 H_2O_2 进行诱导刺激,可获得较满意的诱产效果。这是 H_2O_2 诱产机制的可能解释,至于泥蚶和缢蛏排放精、卵的生理机制仍有待于进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 王中元, 1960 几种养殖贝类的生活习性及其生态因子。中国水产。(8): 34—35。
- [2] 杨金耀, 1959 蚶苗培育。中国水产。(17): 19—20。
- [3] 楼允东, 1975 综述人工诱导贻贝产卵的一些方法。上海市水产研究所《水产科技情报》。(2): 18—21。
- [4] 潘星光, 1959 缢蛏形态的研讨。动物学杂志。(7): 306—312。
- [5] 聂宗庆, 1982 鲍鱼增殖养殖研究的新进展。全国海珍品增殖材料汇编。国家水产总局养殖公司编印。68—76页。
- [6] 魏利平, 1984 泥蚶的养殖。海洋渔业。(1): 36—37。
- [7] 田中弥太郎, 1978 過酸化水素添加によるアワビの産卵誘発。东海区水研报。(96): 93—101。
- [8] 相良順一郎, 1958 NH_4OH に対する二枚貝の産卵誘発。《日本水産学会誌》。23(9): 505—510。