

鲎人工授精试验的初步观察*

吴翊钦 梁平

刘玉良

吴伟洪

(福建医学院电子显微镜室)

(福建医学院生物学教研室)

(厦门市鲎试剂厂)

摘要 本文报告东方鲎的人工授精实验,共进行四次,均获得成功,受精率达95%以上,经49—59天孵育出幼鲎。文中较详细地介绍了人工授精的方法及注意事项,并对鲎胚的发育过程做简单介绍。

东方鲎 (*Tachyplesus tridentatus*), 又名中国鲎,属暖水性节肢动物,主要分布于日本南部沿岸及我国长江口以南沿海。每年夏季成对游到高潮线附近的沙滩上产卵,行体外受精。

鲎的人工授精试验及其胚胎发育,国外均有报道^[1-3]。国内仅王渊源等报道中国鲎的胚后发育^[4]。未见人工授精的有关资料。本文共进行了四次鲎的人工授精试验,均获成功,受精率达95%以上。鉴于目前我国鲎资源有逐年减少的趋势,本试验对于试行鲎的人工放养以补充鲎资源具有一定意义。报道如下。

(一) 材料和方法 试验鲎是厦门沿海捕获的东方鲎。人工授精的方法主要参照関口晃一的经验^[2],现介绍如下。

1. 检查精子和卵 选用生活力强的雌雄成鲎一对,用海水洗净,在雄鲎的生殖孔侧缘,用注射器抽取少量精液,以等量海水稀释并混合均匀,滴于载玻片上,置显微镜下观察($\times 400$),确认有游泳的精子。在雌鲎盖板后侧和生殖孔相通的输卵管处,用手挤压,观察有成熟的卵排出。上述雌雄鲎便可留用。

2. 采卵与采精 在雌鲎的头胸部附肢基部两侧做数处切口,让体液流出,再将雌鲎冲洗,切开头胸部腹面周缘软外皮,将卵取出,置于盛有

海水的大烧杯内,反复添加海水冲洗,直至海水变清为止,并把混杂其中的内脏碎片清除干净。采精与采卵同时或稍晚进行,用手术刀切开雄鲎步足基部侧缘,流出的体液即混有精液,用盛有海水的烧杯受之,迅速轻微搅拌,均匀混合。

3. 授精 把洗净的卵平均摊在预先放在盛有海水的塑料盘的塑料网上。将雄鲎的体液以纱布过滤,除去血凝块,滤过液滴撒在鲎卵上,静置1小时,更换新鲜海水,授精即完成。每次授精试验用卵约为8000个,雄鲎体液量为300毫升,以等量新鲜海水稀释。

从第2天起,每天早晚换新鲜海水两次,直至幼鲎孵出。试验期间,室内水温从22℃,逐渐升高至30℃。为了便于观察,受精卵可用Oka氏汗体染色^[2]。

(二) 结果 四次人工授精试验,均获得成功,受精率达95%以上。从授精到第一龄幼虫孵出约需49—59天。整个胚胎发育过程中其外形变化有以下几个阶段。

1. 胚盘的形成 受精后的第2—3天,在解剖镜下($\times 10$ 或20),透过卵外壳,可见卵黄块

* 福建医学院研究生林娜和郭仁威参加部分试验工作。

表面有一些不规则的沟裂,第12天胚盘形成。随后,胚盘逐渐扩大呈椭圆形。

2. 体肢和附肢原基的形成 椭圆形的盘状结构,在受精后第14—16天发育成体节。第17天,可见小点状的附肢原基,成对排列在盘状结构的中轴两侧,先后共出现六对附肢原基。

3. 脱壳 受精后第22—23天,包裹在卵外表的卵壳开始破裂,其裂口不断扩大,但仍暂时附着在内卵膜表面。随着胚卵不断增大,卵壳也不断脱落(图1)。

4. 蜕皮 在内卵膜中进行。第一次蜕皮在卵壳破裂前2—3天开始,而第二次蜕皮通常和卵壳破裂的时间相一致。这两次蜕皮都不是整个胚胎蜕皮。第30—31天,第三次蜕皮,这次的整个胚胎蜕皮。蜕皮后的胚胎在卵膜内作翻转运动,头胸部与腹部分界相当明显,肢体更加活动。第三次蜕皮后约经过两周或更多时间,开始第四次蜕皮,胚体变扁平,体积增大,充满卵膜,此时胚胎不易作翻转运动,但肢体活动更加频繁。第四次蜕皮后2—3天,胚胎出内卵膜孵化成为第一龄幼虫(图2)。



图1 受精后第26天的卵 壳全部破裂,内卵膜中的
胚可见附肢

图2 孵化后第7天的幼蟹

刚孵出的幼虫即可以背朝下姿势在水中游泳,并多数聚集伏栖底部。

(三) 讨论 蟹属于节肢动物门有螯肢亚门肢口纲剑尾目,是一种被称为活化石的古老动物,在近四亿年的漫长过程中,其形态几乎没

有变化。现在仅存三属五种。据认为只有美洲蟹 (*Limulus polyphemus*) 和东方蟹两种的变形细胞可制备有生物活性的蟹试剂。

蟹可作为美味佳肴,又是生产蟹试剂的原料,我国东南沿海虽有较丰富的蟹源,但由于连年大量捕捞,使成蟹到岸边交配繁殖的机会大大减少,故近年来蟹的产量显著下降。长此以往,将有绝灭的可能。用人工方法,向大海放养幼蟹,以补充蟹种群个体数是值得一试的措施,而蟹的人工授精则是蟹放养的首要环节。由于蟹的生长非常缓慢,据估计,受精卵孵出到成熟,要经过15年,因此蟹的放养问题值得重视,并应尽早地实施。

东方蟹为季节性较强的海洋动物,每年夏季从深海游向沿岸沙滩,挖穴产卵繁殖后代,所以人工授精试验在本地区选在6—7月进行为宜,过早则海水温度偏低,影响其发育;过迟则误过蟹的繁殖旺季。试验期间室内的水温从25—30℃较宜。

欲求得多量的雄蟹精液,以便提高受精率,采精的部位应选在生殖腺处,流出的体液以纱布网过滤,去除血凝块。掌握未受精卵具有乳白色水泡状的形态,随时清除变灰黑的卵。

试验全过程,均要勤换新鲜海水,每天两次,而且水量要足够。卵不宜铺得过密,在换水时,要防止卵聚集成堆。同一批受精卵,孵化时间长短不一,一般相差10—12天左右。

至于第一龄幼虫的饲养、幼蟹何时放养等问题,有待今后在实践中进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] 王渊原等 1984 幼蟹发育的初步观察 海洋科学 3: 47—48。
- [2] 関口晃一 1984 カラガニの生物学 第1版 128—133 Science House 东京。
- [3] Sekiguchi K 1973 A normal plate of the development of the Japanese Horse-shoe Crab, *Tachypleus tridentatus*. *Sci. Rep. Tokyo Kyushu Daigaku Sect. B*, 15: 153—162.