

## 2-4 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: 即先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 0.00015N 至 0.00225N, 以 0.00075N 氨海水, 浸泡 14 小时效果最好。0.00075N 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<sup>[3-5]</sup>。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)<sup>[7]</sup>用氢氧化铵注射蛤仔的生殖腺诱发排放精卵。Loosanoff 等(1963)<sup>[10]</sup>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<sup>(1)</sup>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)<sup>(2)</sup>用 0.01—0.03% 氨海水浸泡卵, 获得人工受精卵。

\* 黄翔玲同志参加部分工作, 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。三年来,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0.00075N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、0.00015N (0.001%)、0.00075N (0.005%)、0.00150N (0.01%)、0.00225N (0.015%)、0.00300N (0.02%) 和 0.00450N (0.03%) 七组。

各浓度组中亲蛤的反应:在14小时内0至0.00075N氨海水,亲蛤活动正常;0.00150至0.00225N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;0.003至0.00450N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

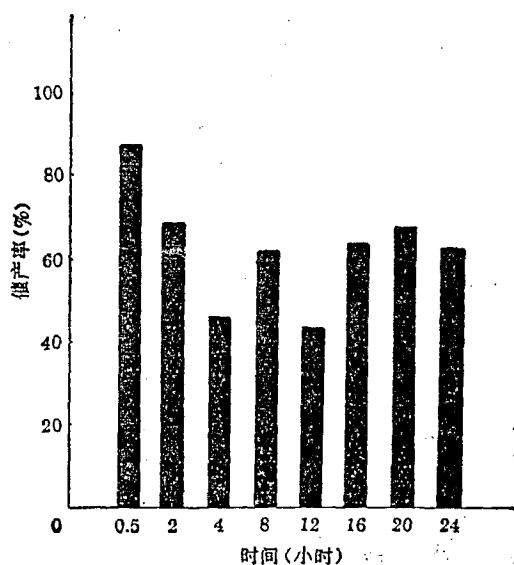


图1 阴干时间与催产率关系

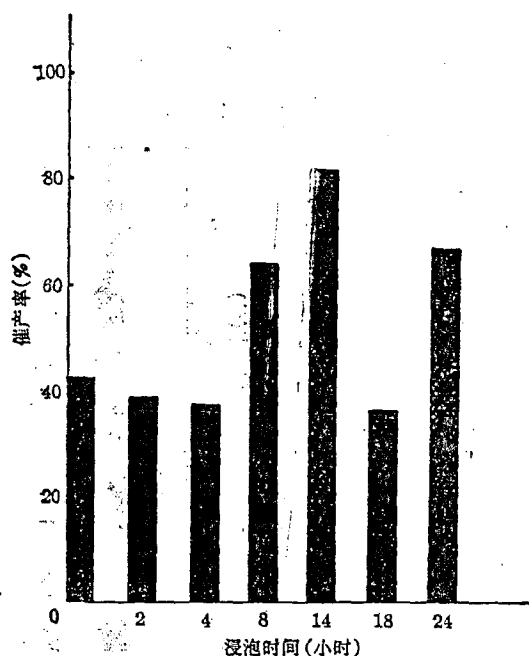


图2 氨海水浸泡时间与催产效果

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<br>(%)<br>批数 | 氨水浓度<br>(N) | 0 | 0.00015 | 0.00075 | 0.00150 | 0.00225 | 0.00300 | 0.00450 |
|------------------|-------------|---|---------|---------|---------|---------|---------|---------|
| 1                | 0           | 0 | 0       | 82.1    | 43.7    | 5.0     | /       | 0       |
| 2                | 0           | 0 | 60.0    | 30.0    | 0       | 0       | 0       | 0       |
| 3                | 0           | 0 | 5.0     | 50.0    | 0       | 0       | 0       | 0       |

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

(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 0.00075N。结果见图 2。

结果表明,性腺成熟的亲蛤用 0.00075N 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。

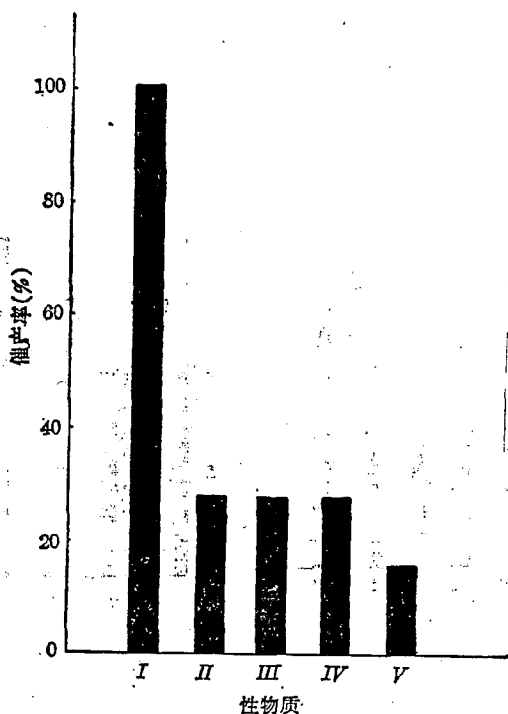


图3 不同性物质诱导效果

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<br>(分钟) | 催产率<br>(%) |
|-----|----|-------------|------------|
| 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<sup>[2]</sup>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。

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      | $11 \times 10^7$ |
| II  | 1   | 8.0      | $3 \times 10^7$  |
|     | 2   | 3.0      | $3 \times 10^7$  |
| III | 1   | 5.0      | $3 \times 10^7$  |
|     | 2   | 4.5      | $2 \times 10^7$  |

\* 每斤约125个

(3) 排卵量大, 亲蛤个体(长高)为  $25 \times 17$  至  $29 \times 20$  毫米, 平均卵量  $4 \times 10^5$  至  $11 \times 10^5$  粒/个, 而多排卵量为  $7 \times 10^5$  粒/个以上。

(4) 受精率为 100%。

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

(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。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, 泡仍清晰难以进行人工受精。产出的卵, 胚泡消溶才能受精。李嘉泳等认为前者是形上成熟卵, 后者是生理上成熟卵<sup>[2]</sup>。

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)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(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别。(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消溶。(3) 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 看法基上一致。我们又进一步观察到, 胚泡从清晰到消溶的变化过程, 是在产卵前 10 至 30 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

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<br>(分钟) | 催产率<br>(%) | 排放状况 | 排放持续<br>时间<br>(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 <sub>2</sub> 组重诱导(氨海水加雌性腺) | 23          | 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 23.3%;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   | 密 度<br>(万个/毫升) | 育肥情况[增(减)重个数/总数] |        |        |        |
|-----|------|----------------|------------------|--------|--------|--------|
|     |      |                | 第 一 周            |        | 第 二 周  |        |
|     |      |                | 增重率(%)           | 减重率(%) | 增重率(%) | 减重率(%) |
| I   | 催产过  | 三角褐指藻          | 75.0             | /      | 50.0   | 25     |
|     | 海 区* |                | 61.0             | 16.5   | 77.5   | 11     |
| II  | 催产过  | 三角褐指藻加异胶藻      | 57.1             | /      | 85.7   | /      |
|     | 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.  $\text{NH}_4\text{OH}$  による二枚貝の産卵誘発. 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 Tianming, 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 spat under in-door conditions.