

几种环境因子对合浦珠母贝精子激活的影响

苏天凤 喻达辉 江世贵

(南海水产研究所增殖室, 广州 51030)

摘要 观察了几种环境因子对合浦珠母贝精子激活的影响。NH₄⁺是合浦珠母贝精子激活的关键因子。用氨海水激活解剖出的合浦珠母贝精子时, 其pH为9.0—11.5, 其中pH为9.5—10.0时精子激活率最高。pH9.5时, 精子激活的最适盐度为15—45, 最适盐度为30左右。合浦珠母贝精子对温度的适应性强, 在15—40℃内精子激活率都很高。

关键词 合浦珠母贝 精子 环境因子 激活

保护海洋生物多样性, 特别是保护好海洋动物种质资源, 是海洋可持续发展前提之一。研究不同环境因子对精子激活的影响, 在此基础上进行精子超低温保存是种质保存的重要内容。目前国内外对鱼类精子生物学的研究已有诸多报道, 但有关环境因子对贝类精子激活的研究报道较少。作者在进行合浦珠母贝 *pinctada fucata* (Gould) 精子的超低温保存过程中, 观察了水温、酸碱度、盐度及无机盐类的各种离子对合浦珠母贝精子激活的影响, 结果如下。

1 材料与方法

1.1 精子材料

实验用合浦珠母贝分别于1996年8月12日、10月29日、12月23日、1997年4月14日和1998年2月16日购自深圳大亚湾东山珍珠场, 运回后在水族箱吊养, 人工海水盐度30—35, 水温为16—29℃, 定期排污、换水。

1.2 激活溶液

不同pH的氨海水: 将自然海水(盐度33)分别用氨水和氢氧化钠调节pH为8.0、8.5、9.0、9.5、10.0、10.5、11.0、11.5共8个梯度, 储于滴瓶中备用。其中pH为10.0以下用自然海水(盐度33)配制, pH10.0以上用无钙镁离子BSS(盐度33)配制。

不同盐度的氨海水: 将自然海水浓缩至盐度45, 然后分别用双蒸水稀释为45、40、35、30、25、20、15、10, 共8个盐度组, 用氨水调节pH至9.5, 储于滴瓶中备用。

不同温度的氨海水: 将pH为10.0, S为30的氨海水放入冰箱过夜, 温度为0℃时采用水浴加热升高温度, 每升高5℃做1次激活实验, 实验最高温度为55℃。

NaCl、KCl、MgCl₂、CaCl₂、NaNO₃、KNO₃溶液: 用双蒸水分别配成浓度为1%、2%、3%、4%和5%的溶液储于滴瓶中备用。

1.3 精子活力观察

实验贝用解剖刀切断闭壳肌,取性腺丰满、色泽乳白者用于活力观察。观察方法参见区又君。^[9]

2 结 果

2.1 不同 pH 的氨海水对合浦珠母贝精子的激活影响

在 pH 为 8.0 的天然海水中,解剖取出的合浦珠母贝精子不被激活;用 NaOH 调节 pH 的天然海水对解剖得到的合浦珠母贝精子也无明显的激活作用。用 NH_4OH 调节 pH 的天然海水对解剖所得的合浦珠母贝精子则有明显的激活作用。pH 的变化对合浦珠母贝精子激活率与活力的影响见图 1。从图 1 可看出,在 pH 为 8.5 时只有少量精子激活,但没有快速运动,只在原地摆动。在 pH 为 9.0—11.0 范围内精子的激活率与活力都相当高,达 80% 以上,在 pH 为 9.0—10.5 范围内有较高活力, pH 为 9.0 时总动时间最长, pH 为 10.0 时激烈运动时间最长,激活率也最高。

2.2 不同盐度的氨海水对合浦珠母贝精子的激活影响

蒸馏水不能激活合浦珠母贝精子,即使在盐度 10 的氨海水中合浦珠母贝精子也几乎不被激活,只有极少量精子在原地摆动,在盐度 15 时激活率达 5% 左右,可见少量精子作端动状运动。盐度 20—25 激活率明显上升,达 80% 以上(见图 2),活力也明显增大,在盐度 30—35 精子活力达到最大,激活率最高达到 90%,盐度高于 40 则精子活力显著下降。

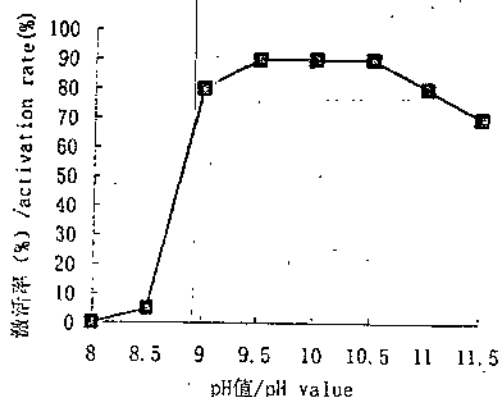


图1 氨海水 pH 对合浦珠母贝精子激活率的影响
Fig.1 Effect of pH of ammonia sea water on activation rate of sperm of *P. fucata*

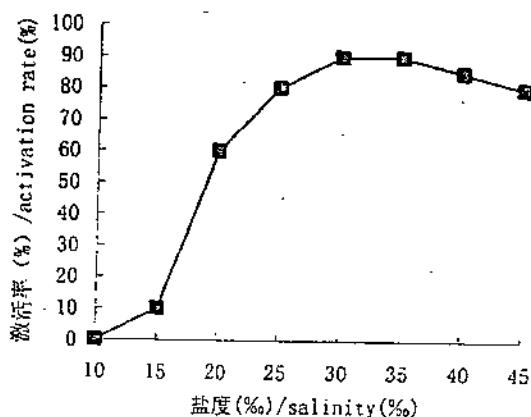


图2 盐度对合浦珠母贝精子激活率的影响 (pH 9.5)
Fig.2 Effect of salinity on activation rate of sperm of *P. fucata*

2.3 温度对合浦珠母贝精子激活的影响

合浦珠母贝精子对温度的适应能力相当强,激活溶液的温度在 0—55℃ 均能激活。15—40℃ 范围内激活率相当高,其中 20—35℃ 内激活率在 85% 以上。

2.4 Na^+ 、 K^+ 、 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 、 NH_4^+ 等几种主要离子对合浦珠母贝精子激活的影响

用蒸馏水配制的1—5%的NaCl、KCl、MgCl₂、CaCl₂、NaNO₃和KNO₃溶液对解剖出的合浦珠母贝精子进行激活试验,发现精子都不被激活。将上述溶液用氨水调pH至10.5后再进行试验,发现NaCl、KCl、NaNO₃和KNO₃可以激活精子,表明Na⁺、Cl⁻、K⁺、NO₃⁻对合浦珠母贝精子具有激活作用(结果见表1)。从表1可知,NaCl+NH₄OH、KCl+NH₄OH的激活效果最好,NaNO₃+NH₄OH、KNO₃+NH₄OH的激活效果次之,表明Cl⁻的激活作用比NO₃⁻强。

表1 不同浓度的盐溶液对合浦珠母贝精子的激活情况

激活剂	不同盐溶液浓度下精子激活情况				
	1.0%	2.0%	3.0%	4.0%	5.0%
NaCl+NH ₄ OH	+	+++	+++	++	+
NaNO ₃ +NH ₄ OH	+	++	++	++	+
KCl+NH ₄ OH	+	+++	+++	+++	+++
KNO ₃ +NH ₄ OH	—	+	+	+	+
MgCl ₂ +NH ₄ OH	—	—	—	—	—
CaCl ₂ +NH ₄ OH	—	—	—	—	—

* 用氨水调节溶液的pH达10.5—10.7;—表示精子不被激活;+表示精子少量激活;++表示精子半数激活;+++表示精子大量激活。

3 讨论

不同水生动物的精子生理特性不同。脊椎动物的鱼类,无论淡水鱼还是海水鱼,无论自然产出还是解剖获得的成熟精子,遇到其生存的环境就能被激活而受精。无脊椎动物的贝类则不然。某些种类蛤蜊、凹线蛤蜊、牡蛎等通过解剖法获得的成熟精子可以激活,具有受精能力,而另一些种类如合浦珠母贝,直接用解剖方法很难获得具有受精能力的精子。达类型精子必须自然排放或使用物理、化学的方法诱使其排放,抑或利用化学物质激活解剖所得精子,其精子才具活力。也就是说,这类精子的产出前还有一个熟化过程。对于合浦珠母贝精子来说,NH₄⁺是促进精子成熟的重要因子。

目前,合浦珠母贝人工育苗的生产普遍采用氨海水刺激精子来提高受精率。为了探讨NH₄⁺是否为唯一促进精子成熟的离子,我们分别提高海水中的几种主要离子浓度来进行激活试验。没加氨水的NaCl、KCl、MgCl₂、CaCl₂、NaNO₃、KNO₃溶液均不能激活精子,经氨水调pH后,NaCl、KCl、NaNO₃、KNO₃溶液才可以激活精子。NH₄⁺是迄今我们发现的促进精子成熟的唯一的阳离子。这里还有一个疑问,就是经氨水调节后,pH也发生了变化,是否pH的提高而激活了精子呢?实际上,在没有NH₄⁺的前提下,用氢氧化钠调节pH的海水在相当大的范围内不能激活合浦珠母贝精子,这就说明了在合

浦珠母贝精子激活过程中, NH_4^+ 起着决定性的作用。另外, 我们在其他实验中, 还观察到 HCG 对解剖出的合浦珠母贝精子有促进成熟的作用。这说明 NH_4^+ 不是促进合浦珠母贝精子体外成熟的唯一物质。 NH_4OH 的作用, 不仅仅是调节 pH, 更主要是刺激了合浦珠母贝精子在体外熟化的某个环节, 从而引起了精子一系列生理生化反应, 促进了合浦珠母贝精子的成熟。

此外, 目前合浦珠母贝人工育苗采用氨海水浓度为 0.4—0.6%, 其 pH 在 10 左右。实验结果表明, pH 在 9—10 之间精子活力最强, 说明生产中所用浓度基本上是合适的, 欲达到最佳效果, 还可降低 pH, 即减小氨水浓度, 这样既可提高受精率, 又可节省材料。

参考文献

- 1 大连水产学院主编. 贝类养殖学. 北京: 农业出版社, 1980
- 2 金启增等编著. 珍珠贝的种苗生物学. 北京: 海洋出版社, 1992
- 3 喻达辉、陈竞春等. 盐度及 pH 对合浦珠母贝精子生理活性的影响. 南海水产研究, 1997, (14): 39
- 4 区又君, 李加儿. 黑鲷精子在不同环境中的活力. 中国水产科学研究院学报, 1991, 4 (1): 18—26

1999 年省厅级渔业科技奖拟奖项目评出

一等奖: (1 项)

鲂鱼的引种驯化、人工繁殖和养殖技术研究 华南师范大学等 赵俊等

二等奖: (5 项)

欧洲鳗海水养殖试验研究 饶平县黄冈镇水产技术推广站等 沈克光等

几种重要海水养殖品种的精子激活与活力研究

水科院南海水产研究所

江世贵等

月鳢繁殖培育与养殖技术 茂名市水产科学研究所等

黄翹楚等

建鲤人工繁殖育苗及养殖推广 肇庆市水产科学研究所

谢俊刚等

河口近岸鱼类池养生物学与驯饲养技术 东莞市水产研究所

张邦杰等

三等奖: (4 项)

小体积高密度网箱养鱼 广东省水产技术推广总站等

阮传樑等

外海拖网渔业开发技术的研究与推广 茂名市海洋研究所等

梁康成等

黄肚仔鱼冷冻鱼糜制品生产工艺的研究

茂名市水产综合加工厂

梁康成等

围垦区大面积海水推塘生态高效养殖 汕头市水产研究所等

赖学大等

(柯 继)