

文章编号: 1674-5566(2009)02-0248-04

· 研究简报 ·

九孔鲍的极体释放和第一次卵裂 与水温的关系

严正凜

(集美大学水产学院, 福建省高校水产科学技术与食品安全重点实验室, 福建 厦门 361021)

摘要:九孔鲍受精卵的第一极体、第二极体以及第一次卵裂的出现时间与水温有关。试验采用同一批卵子, 在同一水温下, 分别对同一次授精获得的第一极体、第二极体和第一次卵裂出现的时间进行三次以上观察, 将得到的数值作为该试验样品的数值, 并得出相关的关系式: (1)九孔鲍受精卵第一极体的出现时间与水温的关系: $Y_1 = 2.53026 + 0.02111T$; (2)第二极体的出现时间与水温的关系: $Y_2 = 19.00407 - 0.18001T$; (3)第一次卵裂的出现时间与水温的关系: $Y_3 = 40.6291 - 0.31581T$ 。研究和掌握它们之间的关系, 对于开展九孔鲍染色体组操作技术研究提供基础资料, 特别是对多倍体育种具有非常重要的意义。

关键词:九孔鲍; 第一极体; 第二极体; 第一次卵裂; 水温

中图分类号: S 968.31 文献标识码: A

Relationship between water temperature and release of polar body and first cleavage of *Haliotis diversicolor aquatilis*

YAN Zheng-lin

(The Key Laboratory of Science and Technology for Aquaculture and Food Safety, Fisheries College Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: The release time of first polar body, second polar body and the start time of first cleavage about *Haliotis diversicolor aquatilis*'s oospem are related to the water temperature. The experiment takes the observed value of the emerging time of first polar body, second polar body and first cleavage about the same batch of germ cell under the same water temperature above three times as the value of this experimental sample and figure out the equation: (1). Relations between water temperature and release time of *Haliotis diversicolor aquatilis*'s first polar body: $Y_1 = 2.53026 + 0.02111T$; (2). Relations between water temperature and release time of second polar body: $Y_2 = 19.00407 - 0.18001T$; (3). Relations between water temperature and start time of first cleavage: $Y_3 = 40.6291 - 0.31581T$. Studies and grasps on the relations between them provide the basic data for chromosome group operation technique research, especially have the extremely vital significance to the polyploid breeding.

Key words: *Haliotis diversicolor aquatilis*; first polar body; second polar body; first cleavage; water temperature

收稿日期: 2008-02-24

基金项目: 福建省厦门市科技计划项目 (3502Z20055027)

作者简介: 严正凜 (1955-), 男, 福建仙游人, 研究员, 主要从事海水经济动物繁殖及鲍多倍体育种技术研究, E-mail: yanzl@jmu.edu.cn

九孔鲍 (*Haliotis diversicolor aquatilis*) 是杂色鲍 (*H. diversicolor diversicolor*) 的一个亚种, 主要分布于我国台湾以及日本中南部的部分沿海水域, 适应于温度及盐度较高的水环境, 夏季也生长良好。虽其体型较小且价格不及我国北方的皱纹盘鲍 (*H. discus hanna i*), 但因其具有生长快、养殖周期短、摄食旺盛、对饲料要求低, 对高水温适应力强、度夏死亡率低等优点, 已发展成为我国南方地区最主要养殖贝类之一^[1]。近年, 我国南方福建与广东的部分沿海地市自引进该种鲍后, 产量迅速发展达到逾千吨, 一跃而占至全国养鲍总产量的 2/3 以上。该种鲍生长迅速, 壳长 1.5 cm 左右的苗种经 6~8 个月养殖即可达商品规格 (5 cm 以上), 养殖生产周期比皱纹盘鲍可缩短 12~24 个月^[2]。

但是, 近年来, 我国南方地区九孔鲍育苗连续出现严重脱板和剥离后暴发性死亡等现象, 致使九孔鲍育苗量大幅度减少, 苗种奇缺, 价格不断上涨^[3], 已严重制约我国南方地区鲍养殖业的发展。究其原因, 九孔鲍种质退化和养殖生态环境恶化是该疾病的主要原因。可通过选择育种和多倍体育种来改良和优化九孔鲍种质。众所周知, 所有生物的胚胎发育都与温度密切相关。了解和掌握九孔鲍的极体释放和第一次卵裂与水温的关系, 为开展九孔鲍多倍体育种提供基础研究资料。

1 材料和方法

1.1 试验材料

1.1.1 亲鲍来源

试验用亲鲍先后来自福建省惠安县泉峰水产综合开发有限公司养鲍场人工养殖的九孔鲍成鲍 300 个 (壳长 5.0~6.0 cm), 雌雄个体数量比为 5:1。在集美大学水产学院海水试验场进行试验。

1.1.2 亲鲍的培育和促熟

养殖池为室内水泥池, 大小为 2.40 m × 1.60 m × 1.20 m (长 × 宽 × 高), 共 2 口; 采用室内全暗光箱笼流水立体养殖, 箱笼大小为 0.385 m × 0.30 m × 0.125 m (长 × 宽 × 高)。每个箱笼放养成鲍 15~18 个, 每 3 个箱笼相叠立为 1 串, 共 6 串 (18 箱), 每口水池放置 3 串箱笼。

雌雄亲鲍分开培育, 以防止互相刺激而流产。亲鲍培养期间主要投喂干海带 (*Laminaria japonica*)、新鲜江蓠 (*Gracilaria* sp.) 等, 投喂方法: 将饵料洗净, 浸泡, 切细, 于每天傍晚投喂, 次日早晨把残饵捞尽, 每日投饵量根据前日残饵量而定, 以略有剩余为宜。

用砂滤海水, 以流水形式培育, 每池每日流量达 300%~500% 左右。每口水池放置 3 个气石充气。在整个养殖试验期间, 水温在 20.2℃~28.7℃ 之间, 海水密度为 1.021 kg/L 以上。

1.1.3 亲鲍的挑选

挑选健壮无伤, 生殖腺覆盖角质器官的大部分、雌雄颜色鲜明、外观丰满的个体作为亲鲍。按雌雄 5:1 的比例选用亲鲍。

1.1.4 亲鲍催产

雌、雄亲鲍分开进行催产。催产方法采用阴干、流水和适度的紫外线照射海水结合刺激。具体步骤: 把雌雄亲鲍分别阴干 1.0~1.5 h 放入催产桶中, 雄鲍先催产 6 个, 其余的暂养备用, 每隔 3.0 h 放入 1 个雄鲍。每间隔 2.0 h 换入预先用紫外线照射消毒 (220 V、40 W, 4 条紫外线灯照射 400 L 海水 6 h) 的过滤海水, 直至产卵, 再换过滤的控温自然海水。温度控制大体上以试验温度为基准, 以免精卵受精时温差变化过大。一般雄鲍先产精, 大约在同一时间, 雌鲍也开始产卵。

1.2 试验方法

1.2.1 人工授精

用玻璃容器分别收集产出的卵子和精子, 严禁精子污染, 并置于预先设定的同一控温水体中 (控温水体较大, 约 10 L 以免温度变动)。授精时, 从玻璃容器中取少量卵子放入玻璃烧杯中, 加入精子后, 开始计算时间和测定水温, 并不断轻轻搅动, 以使精卵迅速结合, 水体约 10 mL。取受精卵分别在 3 台显微镜下观察, 记录受精卵最早出现第一极体、第二极体和第一次卵裂的时间, 并测定玻璃杯中的实际

水温。该水温视为试验水温,因其水体很小,与显微镜下观察的受精卵所处的温度是一致的。试验是以受精卵将要出现微凹形时的时间作为第一次卵裂时间。试验温度在 20.2~28.7℃之间。同一温度下,三次以上的观察数值的平均值作为该试验样品的数值。

试验温度为实际测定的温度,因此没有相对的时间间隔。本试验第一极体、第二极体和第一次卵裂出现的时间均是同一批的卵子在同一水温下,分别同一次授精获得的数据。

1.2.2 数据整理

获得试验数据列表,并用 SAS统计软件对第一极体、第二极体和第一次卵裂出现的时间与水温的关系进行归纳。

2 结果

2.1 九孔鲍受精卵第一极体、第二极体和第一次卵裂出现时间

在不同水温下,观察九孔鲍受精卵的第一极体、第二极体的释放时间以及第一次卵裂的出现时间,为直观起见,按水温高低依次排列,见表 1。

表 1 水温在 20.2~28.7℃时,九孔鲍第一极体、第二极体和第一次卵裂的出现时间
Tab 1 The start time of first polar body, second polar body and first cleavage about *Halotis diversicolor aquatilis* between 20.2—28.7℃.

| 水温 /℃ | 第一极体 (PB1) 出现时间 (m in) | 第二极体 (PB2) 出现时间 (m in) | 第一次卵裂 开始时间 (m in) |
|-------|---------------------------|---------------------------|----------------------|
| 20.2 | 2.833 | 13.667 | 35.367 |
| 20.5 | 3.083 | 17.333 | 37.117 |
| 21.2 | 2.667 | 13.333 | 29.367 |
| 24.8 | 2.750 | 15.733 | 29.850 |
| 25.8 | 3.033 | 14.383 | 33.183 |
| 26.0 | 3.100 | 14.550 | 33.817 |
| 26.0 | 3.283 | 17.750 | 33.667 |
| 26.2 | 3.667 | 14.033 | 33.383 |
| 26.3 | 3.333 | 14.300 | 32.083 |
| 26.4 | 3.133 | 13.750 | 31.667 |
| 26.4 | 3.217 | 14.783 | 32.867 |
| 26.4 | 3.400 | 15.867 | 33.300 |
| 26.5 | 3.100 | 14.117 | 32.933 |
| 26.6 | 3.267 | 14.400 | 32.667 |
| 27.0 | 2.933 | 13.433 | 32.800 |
| 27.0 | 3.300 | 13.950 | 32.617 |
| 27.4 | 3.333 | 13.167 | 30.267 |
| 27.5 | 2.667 | 13.667 | 32.333 |
| 27.8 | 2.483 | 12.600 | 30.017 |
| 27.8 | 3.017 | 13.667 | 30.667 |
| 28.0 | 2.933 | 13.600 | 30.967 |
| 28.0 | 3.533 | 14.083 | 31.683 |
| 28.2 | 3.033 | 12.333 | 30.067 |
| 28.2 | 3.667 | 13.117 | 32.083 |
| 28.7 | 2.317 | 15.600 | 34.167 |

2.2 水温与九孔鲍受精卵第一极体、第二极体和第一次卵裂的关系

通过以上图表数据,用 SAS统计软件对九孔鲍第一极体、第二极体和第一次卵裂出现的时间进行计算,得到如下结果。

九孔鲍受精卵第一极体的出现时间大约在 3m in左右,从上表中可以得出,其表达式为:

$$Y_1 = 2.53026 + 0.02111T; R=0.892 \quad (1)$$

(其中, Y_1 表示第一极体的出现时间, T 表示某一温度, R 表示可信度)。

九孔鲍受精卵第二极体的出现时间大约在 14 m in左右,从上表中可以得出,其表达式为:

$$Y_2 = 19.00407 - 0.18001T; R=0.924 \quad (2)$$

(其中, Y_2 表示第二极体的出现时间, T 表示某一温度, R 表示可信度)。

九孔鲍受精卵第一次卵裂的出现时间大约在 32 min 左右,从上表中可以得出,其表达式为:

$$Y_3 = 40.6291 - 0.31581T; R = 0.916 \quad (3)$$

(其中, Y_3 表示第一次卵裂的出现时间, T 表示某一温度, R 表示可信度)。

3 讨论

3.1 多倍体诱导的三个参数

长期以来,我国鲍类只是进行单一的野生品种的养殖,很多养殖品种一直处于野生状态。长期近亲繁育、累代养殖,导致了近交衰退,种质逐年下降,表现为生长缓慢、经济性状下降、抗逆性降低等等。再加上病害的发生、养殖海区环境恶化等因素,致使近些年几种重要的养殖鲍类均发生了大规模的死亡事件,造成巨大经济损失^[4]。如何获得生长快速、经济性状较好、抗病能力强、抗逆性好的优良品种成为实现养鲍业增产、增效的关键^[5]。而多倍体育种则成为提高鲍种质的关键,尤其是三倍体育种可改良鲍的种质,可促进鲍产业的不断发展。在开展多倍体育种中,诱导的起始时间、强度、持续时间是多倍体诱导的三个重要参数。如何进行三个诱导参数的最佳组合,是提高多倍体倍化率的关键技术之一。所谓诱导的起始时间,就是抑制受精卵第一极体,第一极体和第二极体,第二极体,第一次卵裂开始出现的时间。因此,了解和掌握不同水温下,极体释放和第一次卵裂出现时间,对于多倍体诱导育种,提高多倍体倍化率,具有十分重要的意义。

3.2 其它鲍的极体释放及卵裂出现的时间

有关皱纹盘鲍、盘鲍、杂色鲍、耳鲍 (*Halotis asinine*)等胚胎发育的研究,早已有报道,但都是对其在一定的温度范围内出现的各个形态特征和时间进行描述,均未见其在某一温度点上的研究^[6]。如属于与九孔鲍同一物种的不同亚种杂色鲍在 23.7~28.5℃、盐度 32.8~34.5,第一极体和第二极体释放的时间分别为 15.0~18.0 min 和 24.0~29.0 min,第一次卵裂出现的时间为 28.0~35.0 min^[6]。另外,耳鲍在海水质量密度 1.024,水温 28.0℃的条件下,第一极体和第二极体释放的时间分别为 10 min(占受精卵的 70%)和 20 min(占受精卵的 30%),第一次卵裂出现的时间为 30 min(占受精卵的 60%)^[7]。这种观察方法与本试验以最早出现的时间作为极体释放及卵裂出现的时间是不同的。

3.3 其它因子对九孔鲍极体释放和卵裂出现时间的影响

确保良好的、稳定的受精环境,如合适的水温、盐度、光照、pH、卵子的密度等对于九孔鲍极体释放和卵裂出现时间也有影响。实践表明,精子的活力对批量精卵的同步受精和同步发育有十分重要的影响。此外,还与亲鲍性腺发育程度、催产方法及其强度有关^[8]。受精时间的不同对九孔鲍生长发育以及变态、匍匐及其稚鲍的生长等一系列与之有关问题的影响,有待进一步地观察研究。

集美大学水产学院渔科 2002级王华星同学做了部分试验,在此表示感谢。

参考文献:

- [1] 张明,李世英,孙功辉,等.九孔鲍人工育苗试验[J].水产科学,1999,18(2):15-7.
- [2] 冯显遼,王绍琰.九孔鲍胚胎发育过程及工厂化育苗技术[J].中国水产,1998,(9):30-31.
- [3] 陈弘成.九孔鲍之人工繁殖[J].中国水产(台),1979,(314):3-9.
- [4] 蔡珠金.九孔鲍人工育苗技术探讨[J].福建水产,2005,(8):31-34.
- [5] 徐晓津.九孔鲍的育苗和养殖技术[J].水产养殖,2000,(5):16-18.
- [6] 吕军仪,陈志胜,吴金英,等.杂色鲍的胚胎发育[J].动物学报,2001,47(3):317-323.
- [7] 黄勃,邓中日,王小兵,等.中国海耳鲍胚胎发育[J].海洋科学,2007,31(4):68-72.
- [8] Kudo Masahiro, Arai Katsutoshi, Fujino Kazuo et al. Triploidization of *Halotis diversicolor diversicolor* by Cold Shock[J]. Nippon Suisan Gakkaishi 1991, 57(7): 1263-1267.