

文章编号:1005-8737(2001)03-0010-05

几种因子对中国鲎胚胎和幼体发育的影响

王德祥, 苏永全, 王 军, 梁军荣

(厦门大学 海洋学系, 福建 厦门 361005)

摘要:以人工授精所获得的中国鲎胚胎及其幼体为实验材料, 研究了授精后的静置时间、温度、盐度、重金属等对中国鲎胚胎和三叶幼体发育的影响。结果表明, 在试验范围内, 授精后静置时间 1 min 即可, 不必长达 1 h; 中国鲎胚胎发育的最适温度为 28℃, 最适盐度 20; 中国鲎三叶幼体发育的最适温度为 30℃, 最适盐度 30~35; 4 种重金属离子对中国鲎胚胎发育的毒性效应表现为 $Pb^{2+} > Zn^{2+} > Cu^{2+} \approx Cd^{2+}$; 中国鲎三叶幼体比胚胎更容易受重金属污染而影响其正常生长发育。

关键词:中国鲎; 胚胎发育; 三叶幼体; 环境因子

中国分类号:Q959.225

文献标识码:A

中国鲎 (*Tachypleus tridentatus*) 又名三齿鲎、东方鲎, 是地球上为数不多的“活化石”^[1], 现存种主要分布于亚洲东南海域, 在我国主要分布于乍浦(浙江)以南海域, 其中以福建、广东沿海的数量最多, 个体最大^[2]。目前由于人类的捕杀、自然海区环境的恶化以及中国鲎自身的繁殖特性导致鲎资源的严重衰减。迄今为止, 除少数学者对中国鲎胚胎发育作初步观察外^[1,3,~5], 有关中国鲎的研究多见于鲎试剂的生产和临床运用。为了更好地保护中国鲎资源, 我们对中国鲎胚胎发育¹⁾及胚胎发育过程中生化成分变化^[6]等进行了系统全面的研究, 本文着重阐述授精后静置时间、温度、盐度和重金属等因子对中国鲎胚胎及幼体发育的影响, 旨在较全面地了解中国鲎的胚胎及幼体发育与外界因子的关系。

1 材料与方法

1.1 材料来源

从厦门水产品市场购得性腺发育成熟的中国鲎, 雌性平均重 2.9 kg 雄性平均重 2.1 kg。

收稿日期: 2000-09-25

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39670147)

作者简介: 王德祥(1975-), 男, 厦门大学硕士生; 王 军, 通讯作者, Tel: 0592-2181589, E-mail: xmsyq@public.xm.fj.cn

1) 王德祥. 中国鲎的胚胎发育[J]. 动物学杂志(待刊).

1.2 人工授精

按 Koichi 的方法, 剖鲎取精、卵, 将激活的精子与卵子混合后, 根据实验的时间再去去除坏卵及多余的精子^[7], 从而获得受精卵。

1.3 溶液的配制

1.3.1 不同盐度海水的配制 参照文献[7]方法, 取新鲜沙滤海水^[8], 添加蒸馏水或粗盐配制成盐度为 15、20、25、30、35 不同盐度的海水。

1.3.2 海区中常见重金属污染液的配制 以渔业水域水质标准 $Zn \leq 0.1$ mg/L、 $Pb \leq 0.1$ mg/L、 $Cu \leq 0.01$ mg/L、 $Cd \leq 0.005$ mg/L^[9]为指标, 用新鲜海水将 $ZnSO_4$ 、 $Pb(NO_3)_2$ 、 $CuSO_4$ 和 $CdCl_2$ 分别配成渔业水域标准浓度 0.5、2、4、8、16 倍(胚胎试验); 0.5、1、2、4 倍(幼体试验)的试验用液。

1.4 温度组的设置

以 4℃ 为组距, 设置温度分别为 20、24、28、32℃ 的 4 个恒温水浴箱, 温度偏差 ± 0.5 ℃。材料均取自同 1 对亲鲎, 每组均设有 1 个平行组(下同)。

1.5 授精后静置时间的设置

以 Koichi^[7]提出的鲎人工授精过程中, 授精后静置时间需 1 h 为依据, 设置了 2 组不同间距的授精后静置时间试验: 分别用 2 组亲鲎。

(1) 一组以 10 min 为间距, 设置授精后静置时

间为 10、20、30、40、50、60 min 共 6 个时间组;

(2)另一组以 1 min 为间距,设置授精后静置时间为 1、2...8、9 min 共 9 个时间组。

1.6 胚胎和幼体发育的试验观察

将受精卵置于恒温水箱中进行孵化,在显微镜下观察并记录卵的发育情况。

1.7 卵径的测量

使 OLYMPUS BH-2 生物显微镜,在 2 倍物镜下用经过台微尺校正过的目微尺测量卵的直径。

2 结果

2.1 授精后的静置时间对中国鲎胚胎发育的影响

间距为 10 min 的受精试验表明:随着授精后静置时间的延长,胚胎的孵化率呈上升的趋势,各组的孵化率分别为 6.00%、4.72%、8.98%、13.86%、14.29% 和 14.85%。

为了进一步了解授精后静置时间对中国鲎受精卵孵化率的影响,在以 10 min 为间距的试验基础上,以 1 min 为间距进行了 9 个时间组的试验,获得

了孵化率分别为 43.86%、61.46%、37.65%、65.60%、41.83%、70.55%、36.84%、47.33% 和 37.98% 的试验结果,未呈现孵化率随授精后静置时间的延长而提高的趋势,表明进行中国鲎人工授精时,延长授精后静置时间对受精卵孵化率无明显影响的促进作用。

2.2 温度对中国鲎胚胎及幼体发育的影响

在盐度 21~26,温度 20~32℃ 条件下,中国鲎胚胎均可正常发育。从胚胎发育至三叶幼体所需的时间来看(表 1),在试验温度范围内,温度变化对胚胎发育速度有明显的影响($P < 0.05$),表现为胚胎发育速度随温度的升高而加快,32℃ 组胚胎发育速度最快,只需 47.5 d;28℃ 组胚胎发育速度略慢于 32℃ 组,需 55.3 d,但明显快于 20℃ 的 97.9 d 和 24℃ 组的 139.6 d。在孵化率上则以 28℃ 组的孵化率最高。综合考虑不同温度组胚胎发育的时间和孵化率,可以认为温度 28℃ 是本实验中中国鲎胚胎发育的最适温度。

表 1 温度对中国鲎胚胎及幼体发育的影响

Table 1 Influences of temperature on development of *T. tridentatus* embryo and larvae

温度/℃ Temperature	受精卵至三叶幼体发育时间/d Duration from fertilization to trilobita	孵化率/% Hatching rate	三叶幼体发育时间/d Average duration from trilobita to larvae	成活率/% Survival rate
20	97.9 ± 8.5	14.14	215 d 内不发育*	92
24	139.6 ± 9.7	8.50	215 d 内不发育	90
28	55.3 ± 5.2	20.0	190 ± 14.1	90
32	47.5 ± 5.3	8.0	105 ± 10.3	92

* No development happened within 215 d.

温度对三叶幼体发育速度同样有显著的影响($P < 0.05$),24℃ 以下的三叶幼体在试验时间的 215 d 内(1998 年 10 月 2 日至 1999 年 5 月 9 日)均无发育,可见中国鲎三叶幼体发育所需的温度高于胚胎发育温度。

2.3 盐度对中国鲎胚胎及幼体发育的影响

室温下,中国鲎胚胎在盐度 10~35 范围内有一定数量的胚胎能正常发育至三叶幼体。盐度为 20、25 时胚胎发育速度相应较快;孵化率则以盐度 25 组最高,盐度 10 组最低。胚胎直径以盐度 20 组略大,盐度 35 组最小,表明盐度 10~15 对中国鲎胚胎发育速度的影响不显著($P > 0.05$);盐度 20~35 对

中国鲎胚胎发育有显著的影响($P < 0.05$)(表 2)。综合 3 项指标,在本试验范围内,盐度 25 是中国鲎胚胎发育的最适盐度。

盐度对幼体发育的影响如表 3 所示。盐度高低与三叶幼体发育至 1 龄幼鲎所需时间之间没有明显相关关系($R^2 = 0.0036$),盐度为 20 时三叶幼体平均用 84 d 全部完成蜕壳进入 1 龄幼鲎,盐度 10、25、35 组的幼体蜕变成幼鲎平均 92 d。从不同盐度组全部个体的整体发育速度来看,盐度 35 组的幼体发育速度较为一致,盐度为 10 和 20 的低盐组中个体发育速度相差较大。相比较而言,本试验范围内盐度 30~35 是三叶幼体发育的适宜盐度。

表 2 盐度对胚胎发育速度、卵径和孵化率的影响

Table 2 Influences of salinity on the embryo developmental speed and hatching rate

项目 Item	盐度 Salinity					
	10	15	20	25	30	35
受精卵至三叶幼体发育时间/d Average duration from fertilization to trilobita	53.4±8.2	53.9±4.9	49.0±4.2	53.1±4.8	59.6±3.7	67.5±7.2
胚胎平均直径*/mm Average diameter of embryo	5.00±0.21	5.03±0.22	5.20±0.09	5.16±0.09	5.16±0.13	4.74±0.20
孵化率/% Hatching rate	8.67	14.50	10.30	17.00	14.84	15.00

* 发育至第 4 次蜕皮时的胚胎直径。The embryo diameter at the 4th time of sloughing inside the embryo.

表 3 盐度对幼体发育速度的影响

Table 3 Influences of salinity on the developmental speed of larvae

项目 Item	盐度 Salinity				
	15	20	25	30	35
三叶幼体至幼鲞的发育时间/d Average duration from trilobita to larvae	91.6±11.3	84.1±10.6	92.0±7.0	85.9±7.0	91.4±4.0

2.4 重金属离子对中国鲎胚胎及幼体发育的影响

试验表明, Pb、Zn、Cu、Cd 离子的质量浓度小于或等于渔业水域水质标准的 4 倍(即分别为 0.4、0.4、0.04 和 0.02 mg/L)时, 4 种重金属对中国鲎胚胎发育均无明显影响($P>0.05$)。重金属大于或等于渔业水域水质标准 8 倍时, Cd 和 Cu 离子对中国鲎胚胎发育的影响不显著($P>0.05$), 但 Zn 和 Pb 离子的质量浓度对胚胎发育速度有显著的影响($P<0.05$)。随 Zn 和 Pb 离子质量浓度的增高, 胚胎卵径变小, 发育速度下降(表 4)。以胚胎畸形率和孵化率为指标, 4 种重金属离子对中国鲎胚胎发育的毒性效应表现为 $Pb^{2+} > Zn^{2+} > Cu^{2+} \approx Cd^{2+}$ 。

重金属离子对中国鲎幼体发育的影响较明显(表 5)。除 Cu 离子组质量浓度 1 倍、2 倍于渔业水质标准浓度的试验组影响不显著外($P>0.05$), 其余各组均有显著影响($P<0.05$)。在蜕皮率上, 当 Cu、Zn、Cd 离子的质量浓度等于渔业水质标准时, 各重金属离子组的中国鲎幼体蜕皮率均表现为最大值, 随重金属离子质量浓度的增加, 蜕皮率呈下降的趋势。Pb 离子的质量浓度变化与幼体蜕皮率变化之间无明显关系。在三叶幼体发育速度上, 各组重金属离子浓度与三叶幼体发育速度之间未呈现出规律性的变化。

3 讨论

从中国鲎授精后静置时间的试验结果可以看出, 中国鲎成熟的卵子和精子在 1 min 内可以完成

受精, 即人工授精过程中精卵混均后静置时间在 10 min 以内即可, 不必长达 1 h 之久, 这为后续的采样与观察节约了大量的时间。2 组不同间距授精后静置时间的试验在受精率上的明显差别是由 2 组试验亲鲞的精子与卵子的成熟度不同所致。

与中国鲎胚胎相比, 其三叶幼体对环境重金属离子浓度变化较为敏感是因为: 胚胎期的胚体外包裹着 1 层卵膜, 而重金属离子通过生物膜是依靠后者的主动运输过程^[10], 卵膜能够有选择地减少对胚体发育不利的重金属元素的吸收, 以减缓环境重金属离子对胚胎的毒害作用, 使卵膜内外产生一定的重金属离子浓度差。破膜而出的三叶幼体不仅失去了这一层保护膜, 更重要的是其营养方式从内源性转向了外源性, 外界环境中的重金属可以直接通过摄食进入体内, 使得三叶幼体比胚胎更易受到重金属的污染而影响其发育。从统计结果可以看出, 不论在胚胎还是幼体发育时间上, 在 Cu 离子组试验中, 个体间发育速度相对较整齐。这与 Cu 是鲎血液中的重要成分并承担氧气运输的生理功能有关。

中国鲎胚胎及幼体在盐度为 15~35 的环境均能正常发育, 可见中国鲎胚胎及幼体对盐度适应范围较广。这种广盐性除了与卵膜和胚体自身的调节机制有关外, 同时也是自然选择的结果, 由于中国鲎的运动能力相对较弱, 当环境条件有较大的变化时, 它们无法快速避开不利的环境, 在适者生存的长期演化过程中, 现存的中国鲎具备了有利于其种族繁衍生存的广盐性和抗逆性。

参考文献:

- [1] 蔡心一, 林琼武, 黄健裕, 等. 中国鲎的生殖习性和早期胚胎发育[J]. 海洋学报, 1984, 6(5): 663-671.
- [2] 徐友茂, 陈祥才. 珍稀海产动物—鲎[J]. 福建水产, 1985, 26(4): 59-64.
- [3] 王渊源, 郑宝金. 幼鲎发育的初步报告[J]. 海洋科学, 1984, 3: 47-48.
- [4] 吴端钦, 陈连云, 陈文列. 中国鲎早期胚胎发育的光镜和电镜观察[J]. 电子显微学报, 1994, 13(5): 352.
- [5] 廖永岩, 洪水根. 中国鲎人工授精育苗的初步研究[J]. 湛江海洋大学学报, 1997, 17(2): 23-26.
- [6] 梁军荣, 王 军, 苏永全, 等. 中国鲎胚胎发育过程主要生化成分分析[J]. 中国水产科学, 2000, 7(2): 113-115.
- [7] Koichi S. Biology of Horseshoe Crab[M]. Tokyo: Sciencehouse Co Ltd, 1988.
- [8] 张嘉萌. 对虾养成技术[M]. 北京: 海洋出版社, 1991. 179.
- [9] 张宏陶. 生活饮用水标准检测方法注解[M]. 重庆: 重庆大学出版社, 1993. 68-154.
- [10] 汪壁仁, 薛绍白. 细胞生物学[M]. 北京: 北京师范大学出版社, 1990. 81-96.

Influence of environmental factors on development of embryo and larvae in *Tachypleus tridentatus*

WANG De-xiang, SU Yong-quan, WANG Jun, LIANG Jun-rong

(Department of Oceanography, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: The influences of temperature, salinity, heavy metal ions and the standstill time after artificial insemination were analyzed on the development of embryo and larvae in *Tachypleus tridentatus*. The results show that: ① ten minutes of standstill after insemination is enough for the normal development of embryo; ② the optimum temperature and salinity for the development of embryo were 28℃ and 20, respectively, and for the trilobite larvae were 30℃ and 30~35; ③ the toxic effects of the 4 metal ions on the embryo were as follows: $Pb^{2+} > Zn^{2+} > Cu^{2+} \approx Cd^{2+}$; ④ the larvae were more sensitive to the pollution of metal ions than the embryo, thereby their development was more easily affected.

Key words: *Tachypleus tridentatus*; embryo development; trilobite larvae; environmental factor

征订《简明中国水产养殖百科全书》

由原中国水产科学研究院钱志林院长、中国工程院赵法箴院士作序, 著名水产信息专家陆忠康先生主编, 国内 39 个水产大专院校、科研院所的近百位知名水产增养殖专家共同编著, 集学术性与实用性于一体的大型工具书《简明中国水产养殖百科全书》已由中国农业出版社正式出版。

该书全面而系统地介绍了我国水产增养殖的生产技术和科研成果, 重点介绍了主要增养殖对象的实用繁殖技术、饲养方法和经验, 集中反映了我国水产养殖技术的先进水平。全书共 21 篇 92 章, 200 多万字。该书可供有关领导、水产科技生产人员、大中专院校师生、养殖专业户等使用参考。该书定价: 135.00 元, 邮购请与中国农业出版社读者服务部联系。

地址: 北京市朝阳区农展馆北路 2 号 中国农业出版社读者服务部

邮政编码: 100026 电话: (010) 65083260, 64191582