

刺参精子浓度及卵 持续时间对受精的影响*

隋锡林 尚林宝 胡庆明 陈 远 苏鹤声

(辽宁省海洋水产研究所)

在进行刺参 *Apostichopus japonicus* (Selenka) 人工育苗时, 目前多采用亲参自然产卵、排精而获取受精卵。在高温季节, 如亲参排出的精卵过多, 会引起水质的败坏, 致使受精卵不能正常孵化。因此, 研究精子浓度对卵受精与孵化的影响; 研究卵排出后其持续时间对受精、孵化的影响等将对完善刺参育苗工艺、搞好受精、孵化提供重要依据。

菊地等^[1,2]在研究鲍 *Haliotis discus Hannai* Ino 的采卵技术时, 研究了精子浓度及卵持续时间与温度的关系。二岛^[4]研究了过氧化氢对精子的影响。但刺参精子浓度和卵持续时间以及温度等对卵受精、孵化的影响尚未见报道。作者对上述问题进行了试验, 现将初步试验结果报道如下。

一、材料与方法

试验用亲参6月末入室内蓄养池蓄养。采卵方法: 采用阴干、流水冲击及升温度等综合刺激诱导产卵; 另外也采用蓄养亲参自然产卵、排精而获取受精卵。无论采用哪种方法, 对产卵、排精的个体要及时、分别拣出并立即用已备好的干净海水将其冲洗干净(海水温差不得超过 $\pm 2^{\circ}\text{C}$, 冲洗刺激不要太强)。然后将雌、雄个体分别放入圆玻璃缸中(海水容量为17升), 分别搜集精卵。

从卵排出时开始计算卵的持续时间。待产卵缸中的雌参产卵基本结束时(需1—2个小时)统计卵的收容密度, 并将所收容的卵用于受精试验。精子的收容方法与卵的收容方法相同。

卵受精1小时后在显微镜或显微投影仪下统计受精率。为试验精子浓度对水质的影响, 受精后均不洗卵。受精卵发育至小耳状幼虫时统计孵化率(约在受精后40—48个小时)。

精子的计数方法是将被收容的精液搅匀后用Lugol Eosin固定液固定后, 用血球计数板进行定量。

二、试验结果

试验于1984年7月11日、7月19日、8月17日分别进行, 三次试验结果如下。

1. 精子数量对卵受精能力影响的试验

试验用海水温度为 $18-19^{\circ}\text{C}$ 。试验用精子数量为3万个/ml—300万个/ml, 即平均每个卵周围的精子数为500—800000个, 各试验组用卵量均为5000个。卵受精后, 镜检结果各试验组受精率均为99—100%, 受精卵至小耳状幼虫的孵化率为71.6—97.6%(表1)。

卵持续时间受精能力的试验结果表明, 在水温为 $18-19^{\circ}\text{C}$ 时, 在卵排出后的2, 3, 4及13个小时后分别进行受精, 使用精子数量均为10万个/ml, 使用卵量均5000个(试验均在100ml玻璃杯中进行)。

镜检结果是各组的受精率均为100%。孵化率为80—90%。受精卵至小耳状幼虫的发育均未见异常。各试验组无明显差异。

2. 海水温度对受精能力影响的试验

本试验的目的是试验海水温度对受精能力

* 本文承蒙中国科学院海洋研究所廖玉麟先生审阅、修改, 特此致谢。

表 1 不同精子数量对卵受精的影响*

精子数量 (万个 /ml)	用卵密度 (个/ml)	用卵总量 (个)	平均每个 卵周围的 精子数 (个)	受精率 (%)	孵化率 (%)
3	63	5000	500	100	97.6
6	63	5000	1000	99.9	95.2
12	63	5000	2000	100	90.0
24	57	5000	4000	100	93.5
50	54	5000	10000	100	71.6
90	45	5000	20000	100	89.1
135	35	5000	40000	100	92.1
200	21	5000	100000	100	81.6
300	4	5000	800000	100	86.1

* 产卵缸卵的收容密度为130个/ml; 精子的收容密度为300万个/ml。

的影响。试验海水温度为24—25℃, 试验容器均用容水量为100ml的玻璃杯。试验用精子的数量为0.25万个/ml—1000万个/ml, 用卵量各试验组均为5000个, 即50个/ml或250个/cm²。用上述精子数量分别进行受精试验。试验结果见表2。

表 2 水温高时不同精子数量对卵受精的影响*

精子数量 (万个/ml)	平均每个卵周 围的精子数 (个)	用卵总量 (个)	受精率 (%)
0.25	50	5000	70
0.50	100	5000	83
1.00	200	5000	80
2.00	400	5000	83
5.00	1000	5000	97
50.00	10000	5000	84
200.00	40000	5000	92
500.00	100000	5000	98
1000.00	200000	5000	98

* 本次试验的卵系经人工刺激而获得。产卵缸卵的收容密度为2000个/ml; 精子的收容密度为1000万个/ml。

表2的结果表明, 在卵排出1小时后进行受精, 卵受精后各组的受精率分别为70—98%。精子浓度低于2万个/ml时, 受精率降低为70%以下。

用本次试验所获的卵子排卵后的1、2、3个小时分别进行受精, 精子数量均为10万个/ml, 卵的用量均为5000个(100ml水中)。试验结果是: 卵排出后1个小时的受精率为93%; 卵排出后2小时的受精率为91%; 卵排出后3个小时已腐败, 不能受精。

3. 降低用卵密度对受精、孵化影响的试验

本试验将试验2的用卵量减半, 试验在卵密度降低时, 用与试验2相同数量的精子分别进行受精, 试验结果见示意图及表3。

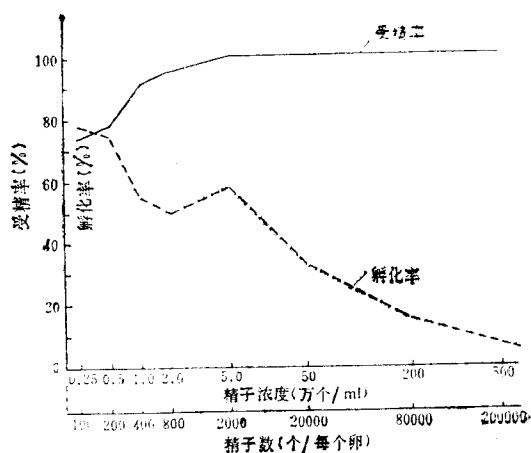
表 3 卵排出后不同持续时间受精、孵化率*

卵排出后的 持续时间 (小时)	精子数量 (万个/ ml)	用卵 总量 (个)	卵孵化时 用水量 (ml)	受精率 (%)	孵化率 (%)
1	10	2500	100	100	60
2	10	2500	100	100	37
3	10	2500	100	62	5
5	10	2500	100	37	0

* 产卵缸卵的收容密度为650个/ml。

从示意图可见, 采用与试验2相同的精子数量, 在卵用量减半的情况下, 各试验组的受精率与试验2基本相同, 但孵化率则随着精子数量的增加而降低。

表3的结果表明, 在水温为24—25℃, 卵的收容密度为650个/ml时, 在卵排出后2个小时进行受精, 受精率虽可达100%, 但孵化



不同精子数量对卵受精孵化影响的示意图

率已降为37%。卵排出后超过3个小时, 受精率显著降低, 孵化率已降到5%, 几乎不能孵化。在水温24—25℃时, 卵的收容密度超过650个/ml时, 卵排出后, 其持续时间超过2个小时后, 卵易腐败。

试验结果表明, 卵的受精不仅与精子数量有关, 并且与卵的收容密度及水温有密切关系。

三、讨论与小结

1. 在水温24—25℃时, 卵排出1个小时后, 分别用0.25万个/ml—1000万个/ml的精子, 即平均每个卵周围有50—200,000个的精子进行受精, 受精率为70—100%。精子数量在5万个/ml以下, 即平均每个卵周围的精子数低于1000个时, 受精率为90%以下。精子数量低于2万个/ml时, 受精率明显降低, 这与菊地等试验的精子密度低于1.5万个/ml时, 其受精率为50%的结果相似^[1]。但菊地等的试验认为, 当精子数量超过200万个/ml时, 会造成卵的卵膜溶失^[1], 而刺参当精子数量达到1000万个/ml时, 尚未发现对卵受精的不良影响。

2. 卵排出后, 其持续时间的受精能力, 受卵的收容密度及水温的影响, 尤与水温关系密切。本试验的结果表明, 用相同的精子数量10

万个/ml分别进行受精, 在水温为18—19℃时, 卵的收容密度为130个/ml, 卵排出后, 持续时间可长达13个小时, 卵的受精与孵化率均未受影响; 而在水温为24—25℃时, 卵的收容密度为650个/ml, 卵排出后, 持续时间超过2个小时, 受精率及孵化率显著下降, 在3个小时时, 受精率为62%, 而孵化率仅为5%, 几乎不能孵化。

3. 本试验在受精后均未洗卵, 在水温为24—25℃时, 过量的精子会加速孵化水的腐败, 影响受精卵的孵化, 即精子数量越大, 孵化率越低(见附图)。因此, 在育苗时, 洗去多余的精子, 无疑是提高孵化率的重要条件。

参 考 文 献

- [1] 菊地等, 1974. アワビ属の采卵技術に関する研究, 第3报, 精虫濃度と受精率の关系. 东北水研研究报告第34号: 67—71.
- [2] 菊地等, 1974. アワビ属の采卵技術に関する研究, 第4报, 生殖素の受精能力の持続時間と温度との关系. 东北水研研究报告第34号: 73—75.
- [3] 西川信良, 1979. アワビ増養殖の手引. 北海道アワビ漁業振興協議会. 33—36.
- [4] 二島賢二, 1981. 酸化水素によるクロアワビの産卵誘発效果. 栽培技研10(2): 29—34.

EFFECTS OF THE SPERM DENSITY OF SEA-CUCUMBER *APOSTICHONUS JAPONICUS* (SELENKA) AND THE DURATION OF FERTILITY OF SPAWNED EGGS ON THE FERTILIZATION

Sui Xilin, Shang Linbao, Hu Qingming, Chen Yuan and Su Hesheng
(Research Institute of Marine Fisheries, Liaoning Prov.)

Abstract

The paper deals with the effects of the sperm density of sea-cucumber and the duration of fertility of spawned eggs on the fertilization.