温度对管角螺 Hemifusus tuba (Gmelin)胚胎发育的影响

杜涛¹,罗杰²,刘楚吾²,陈加辉²

(1. 广东海洋大学 海洋高新科技园, 广东 湛江 524025; 2. 广东海洋大学 水产学院, 广东 湛江 524025)

摘要:在 pH8.1~8.3、盐度 27.5~29.5 的条件下,进行了不同温度对管角螺 Hemifusus tuba(Gmelin)胚胎发育影响的试验。结果表明,管角螺的卵子在发育过程中分为正常卵和败育卵;其胚胎发育过程属直接发生型;孵化率达 80%以上的海水温度范围为 22.1~31.2 ℃;正常发育的胚胎 5~9 d 能完全消耗卵囊内的败育卵并变为自身发育的营养物质,12~18 d 形成稚螺雏形,29~38 d 胚胎完成发育,形成稚螺。

关键词: 管角螺; 温度; 卵囊; 胚胎发育

中图分类号: S968.33 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2010)06-0044-06

管角螺 Hemifusus tuba(Gmelin)隶属软体动物门、腹足纲、蛾螺超科、盔螺科,广东又名"响螺",主要分布在我国的东、南沿海,尤以南海诸岛海域居多,生活在近海约 10 m 的泥沙或泥质的海底^[1],是浅海较大型的经济腹足类。其软体部肥大、肉嫩、味道鲜美而且营养丰富,具极高的经济价值。但由于过度采捕,我国沿海管角螺资源受到严重破坏,产量日益下降并趋于枯竭。因此,研究管角螺的繁殖生物学、人工育苗及养殖技术,对保护管角螺自然资源以及增加名贵新品种养殖具有重要意义。

目前,国内对管角螺的研究主要集中在能量代谢^[2-4]、分子生物学^[5,6]、营养成分分析^[7,8]、繁殖生物学以及人工育苗和养殖技术^[9-15]方面,其中人工育苗技术已有很大的突破。罗杰等^[16]研究了盐度对管角螺胚胎发育和孵化率的影响。但温度对管角螺胚胎发育及对孵化率的影响,尚未见详细的研究报道。而水温和盐度是水生动物在自然水体分布状况的主要决定因子,影响着水生动物的生长和繁殖,尤其对胚胎发育,直接影响到胚胎发育的速度和质量(孵化率)。因此,研究温度对管角螺胚胎发育及孵化的影响,可为管角螺繁殖生物学和人工育苗研究提供详细的基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料和设备条件

1.1.1 亲螺培育及卵囊选择

从自然海区采捕的管角螺, 挑选体质量 300 g、 壳高 18 cm 以上、贝壳完整、足部收缩有力的管角 螺作为亲螺。亲螺的强化培育在湛江市硇州岛宜人 海珍养殖场进行。培育池底铺约 5 cm 厚的细砂, 投 喂贝类、蟹和鱼肉等饵料。每天下午排干池水清理 残饵和池底,并注入新鲜海水。约经过 25d 的强化培育,亲螺成熟并产出卵囊。

亲螺在产卵囊过程中,需持续数小时甚至更长时间才能产完,而且不同亲螺间卵囊的大小(高度和宽度)以及卵囊内卵子的数量均有差异。因此,实验时选择同一母螺所产、卵囊大小接近(从柄部量起,卵囊的平均高度和宽度分别为 3.62 cm、1.96 cm)、卵子数量较为一致的卵囊作为实验材料。

1.1.2 实验用水

实验用水为港湾内的海水, pH 8.1~8.3, 盐度 27.5~29.5, 水温 27.8~29.4 , 经沉淀、细砂过滤后使用。

1.1.3 实验设备

实验用 1 000 mL 的烧杯、1 000 W 电子继电器、电触点水银温度计、500 W 石英加热管, 低温端用冰袋降温及超温报警装置。

1.2 实验方法

1.2.1 温度对管角螺胚胎发育的影响

在实验室内设置 10、13、16、19、22、25、28、31、33、36 共 10 个温度试验组,每个试验组设 2 个平行组。把刚产下的卵囊用小刀轻轻地从池底刮下,选择大小、卵子数量较为一致的卵囊移入盛有800 mL 海水的烧杯,每个烧杯放置 3 块卵囊,为了让卵囊在水中的状态与自然状态一致(管角螺所产的卵囊通过其柄附着在池底、硬物上,呈自然直立状

收稿日期: 2009-10-08; 修回日期: 2010-03-01

基金项目: 广东省科技计划资助项目(2005B33201011)

作者简介: 杜涛(1968-), 男, 辽宁抚顺人, 高级工程师, 从事水产经济动物增养殖研究, E-mail: zjhddutao@163.com; 罗杰, 通信作者, E-mail: luoj@gdou.edu.cn

态),把卵囊的柄部固定在杯底,卵囊在水中始终处于直立状态。把烧杯放到各试验温度的水浴中,光照为室内自然光,光照强度约500~1000 lx。为了减少温差的刺激,各试验组水温均从常温开始,按每2h升或降1 达到各自设定的试验水温。

实验过程连续充气,每 2d 换相同温度的海水50%,每隔 3d 全换水一次。每天观察、记录卵囊外表颜色的变化、卵囊内正常卵发育的数量、胚胎发育的进程及各个温度梯度下稚螺开始从卵囊爬出的时间,统计各卵囊孵出稚螺的数量。

1.2.2 适宜温度范围和最适温度范围的确定

管角螺卵囊内的卵子可分为正常卵和败育卵(即未受精的卵、多精受精卵以及在发生初期停止发育的卵)^[11,17]。以卵囊颜色的变化、卵囊内正常发育卵的数量、胚胎发育到稚螺雏形的时间、稚螺出膜时间以及数量作为衡量适宜温度范围和最适温度范围的指标。每个卵囊有正常卵和败育卵之分,而且败育卵数量不同,本实验以孵出的稚螺数与正常发育卵数的比率作为孵化率。

胚胎完成发育: 是指受精卵在卵囊内正常发育 直至形成稚螺, 并从卵膜孔爬出。

1.3 数据处理

采用 spss11.5 统计处理软件对实验数据进行处理和分析。

2 实验结果与分析

2.1 不同温度下卵囊颜色变化和胚胎发育 的观察

管角螺刚产出的卵囊呈淡黄色、半透明,卵囊内的卵粒清晰可见;卵囊外形上宽下窄,带有一柄,依靠此柄附在池底或硬物上(图 1-2、图 1-3);卵囊边缘光滑,靠近顶部有一近圆形的小孔,为稚螺爬出的通道;卵子呈球形,悬浮在卵囊内的蛋白质基质中(图 1-3)。

在 10、13、16、19、22、25、28、31、33 和 36 10 个不同温度梯度下, 卵囊颜色变化和胚胎发育进 程结果见表 1。

2.2 温度对正常卵发育数量、胚胎发育速 度和孵化率的影响

10、13 ℃温度组,第 3 天卵囊外表颜色变淡,受精卵停止发育、溶解,卵囊内充满原生动物。16 ℃温度组,第 4 天卵囊外表颜色变淡,第 10 天有正常卵

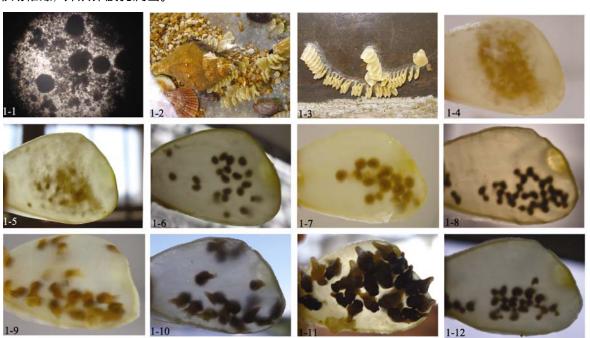


图 1 卵囊内的胚胎发育

Fig. 1 Embryonic development in the egg capsula

1-1.卵囊内不发育的卵子逐渐溶解; 1-2.产出的卵囊附在池底上; 1-3.产出的卵囊附在池壁上; 1-4.刚产出的卵囊; 1-5.发育正常的卵变大; 1-6.卵囊内败育卵已消失, 剩下发育的胚胎; 1-7.胚胎发育呈锥形; 1-8.胚胎发育呈亚铃状; 1-9.胚胎发育至稚螺雏形; 1-10.胚胎发育成稚螺; 1-11.即将出膜的稚螺; 1-12.附在卵囊表面的出膜稚螺

1-1. the agenesis eggs gradually dissolved; 1-2. oocysts adhere to bottom of the tank; 1-3. oocysts adhere to sidewall of the tank; 1-4. the spawning oocysts; 1-5. well-balanced eggs enlarging; 1-6. the agenesis eggs dissolved, eggs was developing; 1-7. taper-shape embryo; 1-8. dumbbell-shape embryo; 1-9. embryonic form of juvenile; 1-10. juvenile; 1-11. hatching juvenile; 1-12. hatching juvenile adhere to oocysts

表 1 温度对管角螺卵囊和胚胎发育的影响

Tab. 1 Influence of temperature on developments of oocysts and embryo Hemifusus tuba

温度(℃)	观察结果
10~13	第3天卵囊由淡黄色慢慢变淡, 卵囊外表皮层脱落, 未发现有正常卵发育, 无法区分败
10~13	育卵; 第5天镜检卵囊内充满原生动物(图 1-1)。
16	第4天卵囊颜色变淡,第10天个别卵子能正常发育,第13天正常发育卵数量增多,败
10	育卵还未完全消失; 第 18 天少部分发育的胚胎内陷呈哑铃状, 最后停止发育。
19	卵囊外表颜色变化不明显,第9天部分正常卵发育变大(图 1-5);第 12 天卵囊内的败育
1)	卵还未完全消失; 第16 天部分正常卵发育内陷呈哑铃状, 第20 天发育至稚螺雏形(图1-9)。
	卵囊颜色无明显变化;第 9 天大部分卵能够发育变大,第 12 天卵囊内的败育卵全部消
22	失(图 1-6),正常卵发育呈锥形(图 1-7),第 14 天胚胎发育至哑铃状,第 18 天部分胚胎发育
	成稚螺雏形。
25	第3天卵囊颜色无变化;第7天卵囊内的正常卵发育变大,与败育卵能明显区分;第9
23	天败育卵基本消失; 第 13 天胚胎全部发育成哑铃状, 第 15 天发育至稚螺雏形。
28	第 3 天卵囊的颜色没有变化;第 6 天正常卵发育变大,第 7 天卵囊内蛋白质基质中的
20	败育卵完全消失; 第 11 天胚胎成哑铃状, 第 13 天发育变态为稚螺雏形。
31	卵囊颜色无变化;第5天正常卵发育变大,能清楚区别正常卵和败育卵,第6天败育卵
51	消失; 第 10 天胚胎发育呈哑铃状, 第 12 天发育至稚螺雏形。
33	卵囊颜色无显著变化; 第 5 天有正常卵发育变大, 第 6 天败育卵消失; 第 12 天有部分
33	胚胎发育成稚螺雏形,小部分胚胎停止发育。
36	卵囊外表颜色无明显变化,第 5 天受精卵发育至正常卵便停止发育;第 10 天显微镜检
30	查卵子全部溶解。

表 2 各温度下正常卵发育数量及发育成稚螺数量

Tab. 2 The numbers of developmental normal eggs and juveniles at various temperatures

温度 ()	每个卵囊正常发育卵的数量(个)			每个卵囊发育成稚螺的数量(个)			孵化率
	A 组	B 组	平均数	A 组	B组	平均数	(%)
10	0	0	0	0	0	0	0
13	0	0	0	0	0	0	0
16	27	23	8.3 ± 2.16	0	0	0	0
19	40	38	13±2.61	15	17	5.3±1.21	42 ^a
22	84	79	27.2±4.07	61	59	20 ± 2.97	73.97 ^b
25	72	82	25.7±4.46	68	67	22.5±4.13	88.66 ^{cd}
28	76	77	25.5±4.23	67	72	23.2±4.71	90.67 ^{cd}
31	69	83	25.3±4.68	63	78	23.5±4.18	92.91 ^d
33	70	90	26.7±5.35	61	68	21.5±3.02	82.7 ^{bc}
36	65	79	23.7±4	0	0	0	0

注: 表中同一列不同小写字母表示差异显著(P<0.05), 相同小写字母表示无显著差异(P>0.05)

发育变大,但最后停止发育,卵囊内的败育卵一直 未消失。各温度下每组卵囊内受精卵发育至正常卵 的数量见表 2。

19~36℃温度组,卵囊外表颜色无变化; 19、22 ℃ 两组第 9 天正常卵变大,发育至稚螺雏形分别需要 20、18 天,稚螺出膜时间分别为 41 和 38 d(图 2),而且孵化率较低,只有 40.8%和 73.4%(图 3)。25、28 和 31 ℃三组,发育最快的 31 ℃第 5 天正常卵变大,

第 6 天败育卵消失, 第 12 天发育至稚螺雏形; 三个温度组稚螺出膜时间分别为 34、31 和 29 d; 孵化率差别不大, 分别为 93.1%、91.7%和 90.4%(图 3)。

33℃组,第5天正常卵发育变大,第6天败育卵消失,12 d 大部分胚胎发育成稚螺雏形,但少部分胚胎停止发育,随后溶解;稚螺29 d 出膜(图 1-12),孵化率为81.6%(图 3)。36℃组内的受精卵第5天能发育为正常卵,随后便停止发育,到第10天显微镜检

查卵子全部溶解。

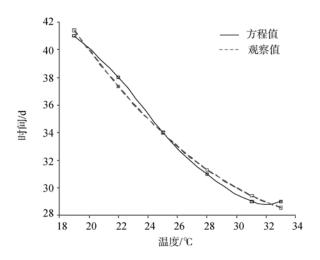


图 2 不同温度下稚螺出膜时间

Fig. 2 Hatching times of juveniles of *Hemifusus tuba* (Gmelin) at various temperatures

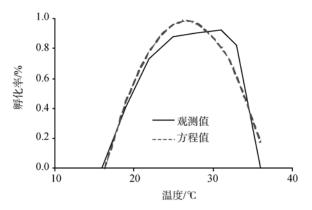


图 3 不同温度下正常卵的孵化率(%)

Fig. 3 Hatching rates of normal eggs of *Hemifusus tuba* (Gmelin) at various temperatures

上述结果经统计分析可得出: 管角螺的胚胎发育在适宜温度范围内, 孵化的温度(x)与稚螺出膜时间(y)存在着多项式函数关系 $(y=84.2885-3.0307\ x+0.0407x^2,\ r^2=0.9910);$ 同样, 管角螺胚胎发育的孵化温度(x)与孵化率(y)也存在着多项式函数关系 $(y=-5.552\ 8+0.490\ 8x-0.009\ 2x^2,\ r^2=0.9030)$ 。由此可以推算出,在 $22.1\sim31.2$ 范围内正常卵的孵化率在 80%以上, 稚螺出膜时间为 $29\sim37\ d$; 而正常卵的孵化率达到 95%以上, 则孵化的水温范围为 $24.6\sim28.8$ $^{\circ}$ 、 稚螺出膜时间为 $31\sim35\ d$ 。

3 讨论

3.1 温度对管角螺胚胎发育的影响

生物的适温特性是物种在生态环境的作用下,

长期选择、进化的结果,表现出种类的特异性。不同的贝类都有特定的适温范围,当温度超出其耐受范围时,代谢就会受到抑制,甚至导致死亡。

国外许多学者[18-20]在研究贝类的胚胎发育时曾 注意到,软体动物胚胎发育时的最适温、盐条件及忍 受极限是由产卵前亲体生殖腺发育时的条件决定的, 而且胚胎正常发育所要求的条件比其变态后存活的 条件范围要窄。从实验结果来看, 在盐度、pH 等其 他条件一致的情况下, 温度对管角螺胚胎发育有明 显影响。温度为 10、13 ℃两组, 管角螺卵囊颜色变 化较为明显, 几天内由淡黄色慢慢变为淡白色, 受 精卵不能正常发育, 卵囊内的卵粒逐渐溶解; 较高 温度的 36 ℃组、第 5 天胚胎皆正常发育, 但随着实 验的进行、由于温度的累计效应、胚胎发育受到抑 制而最终全部溶解。在适宜温度范围 22.1~31.2 ℃, 随着温度的升高其稚螺出膜时间缩短, 其孵化率可 达80%以上。从实验结果可知,管角螺胚胎发育的适 宜温度范围较宽(在19.4~33.9 范围内, 其正常卵的 孵化率均可达到 50%以上), 与管角螺栖息的环境密 切相关。管角螺栖息在浅海的泥质或沙质海底, 受陆 地和雨水的影响较大, 温度和盐度等生态因子处于 不断变化中,造成管角螺适温范围较广,但变化剧 烈时, 会严重影响到管角螺的繁殖、发育和生长。从 作者几年的采样及渔民采捕管角螺情况来看, 成螺 基本栖息在环境相对稳定的海区, 在此环境下产卵、 孵化, 才能顺利保证子代的繁衍。

3.2 管角螺胚胎发育的特点

管角螺属于高等腹足类,具有特殊的交接器,生殖方式与方斑东风螺(Babylonia areolate)、毛嵌线螺(Cymatium Pileare)及脉红螺(Parana vanosa)的生殖方式相似:均是雌雄交配受精,受精卵产出体外,同时受精卵在产出体外过程中由输卵管分泌一种胶状物质,形成卵囊把受精卵包藏起来,卵子在卵囊内发育,属于体内受精和体外发育的生殖方式。管角螺与其他腹足类的差异主要在胚胎发育过程及护幼行为上:管角螺胚胎发育过程均在卵囊内进行,不经浮游阶段而直接发育变态为稚螺,属直接发生型[1];而方斑东风螺、毛嵌线螺和脉红螺的胚胎发育均在水中经浮游幼虫阶段,然后经过一系列变态发育直至稚螺^[21~23]。管角螺产卵后,便离开没有对卵囊进行孵育,而嵌线螺科的毛嵌线螺产卵后并不离开卵群,而是持续静伏在卵群的开口上进行孵育,直

至其中的幼虫离开卵囊, 孵育的作用主要是受精卵以及早期幼虫正常发育; 其次, 可以保护卵群, 使之免受其他敌害生物的侵食^[22]。

管角螺同一亲螺产出的卵囊大小有差别,但卵囊大小与所含卵子数量无一定的关系,这一结果与林志华等的研究结果相一致[11]。管角螺的卵子悬浮在卵囊内的蛋白基质中,可分为正常卵和败育卵(即未受精的卵、多精受精的卵以及在发生初期停止发育的卵),正常卵不仅能利用蛋白质基质、而且能够利用败育卵作为自身的营养物质供胚胎发育,直至稚螺爬出卵囊[11,17]。而毛嵌线螺在受精卵和幼虫发育各阶段,在中期面盘幼虫期以前主要由卵黄提供营养;在中期面盘期以后,卵黄已消耗殆尽,幼虫的营养则主要由卵黄中包裹黏稠状蛋白腺液提供[221],这与管角螺胚胎发育的营养来源较为相像。

参考文献:

- [1] 蔡英亚,张英,魏若飞.贝类学概论[M].修正版.上海:上海科学技术出版社,1995.203-245.
- [2] 罗杰, 刘楚吾, 李锋, 等. 盐度及规格对管角螺耗氧率和排氨率的影响[J]. 海洋科学, 2008, **32**(5): 46-50.
- [3] 罗杰, 刘楚吾, 李锋, 等. 管角螺窒息点及昼夜代谢 规律[J]. 应用生态学报, 2008, **19**(9): 2092-2096.
- [4] 罗杰, 刘楚吾, 李锋, 等. 温度对管角螺 *Hemifusus tuba*(Gelin)耗氧率和排氨率的影响[J]. 广东海洋大学 学报, 2008, **28**(1): 85-88.
- [5] 曹伏君,李长玲,罗杰,等.管角螺、细角螺的核型研究[J].广东海洋大学学报,2008,**28**(1):15-18.
- [6] 梁海鹰,曹伏君,伍泽妹,等.管角螺不同组织同工 酶的研究[J].广东海洋大学学报,2007,**27**(6):22-26.
- [7] 朱爱意, 赵向炯, 杨运琪. 东极海区管角螺软体部的营养成分分析[J]. 南方水产, 2008, **4**(2): 64-69.
- [8] 迟淑艳, 周歧存, 周健斌,等. 华南沿海 5 种养殖贝类营养成分的比较分析[J]. 水产科学, 2007, **26**(2): 81-85.
- [9] 潘英, 庞有萍, 罗福广, 等. 管角螺的繁殖生物学[J].

- 水产学报, 2008, 3(2): 217-222.
- [10] 潘英,陈锋华,庞有萍,等. 管角螺的生物学特性及养殖[J]. 水产科学,2008, **27**(1): 24-26.
- [11] 林志华 王铁杆 夏彩国. 管角螺生态及繁殖习性观察[J]. 海洋科学, 1998, **22**(5): 11-12.
- [12] 潘英,陈锋华,李斌,等. 管角螺对几种环境因子的耐受性试验[J]. 水产科学,2008,**27**(11):566-569.
- [13] 张正道. 管角螺的人工育苗. 科学养鱼, 2001, 4: 25.
- [14] 陆珠润,蒋霞敏,段雪梅,等.不同温度、底质和饵料对管角螺孵化和稚、幼螺生长的影响[J]. 南方 水产,2009,5(3):10-14.
- [15] 潘英, 王强哲, 庞有萍, 等. 管角螺全人工育苗试验 [J]. 水产科技情报, 2007, **34**(2): 84-85.
- [16] 罗杰, 刘楚吾, 黄翔鹄. 盐度对管角螺卵囊胚胎发育的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2007, 27(3): 24-28.
- [17] 楼允东. 组织胚胎学 [M]. 第 2 版. 北京: 农业出版 社, 1999. 223-225.
- [18] Cain Y. The combined effects of temperature and salinity on embryos and larvae of clam *Rangia cuneata*[J].
 Mar Biol, 1973, 21: 1-6.
- [19] Calabrese A. Individual and combined of salinity and temperature on embryos and larvae of the coot clam *Mulinia lateralis*[J]. Biol Bull Mar Lab Woods Mole, 1969, 137: 417-428.
- [20] Stickey A P. Salinity, temperature and food requirements of soft-shell clam larvae in laboratory culture[J].
 Ecology, 1964, 45: 283-291.
- [21] 罗杰, 杜涛, 刘楚吾. 酸碱度、盐度对方斑东风螺卵囊孵化率和不同饵料对幼虫生长发育、存活的影响[J]. 海洋科学, 2004, **28**(6): 5-9.
- [22] 周永灿,陈国华,潘金培. 毛嵌线螺的研究 . 繁殖及幼虫特征[J]. 海洋学报,2000, **22**(2): 97-105.
- [23] 魏利平, 邱盛尧, 王宝钢, 等. 脉红螺繁殖生物学的研究[J]. 水产学报, 1999, **23**(2): 150-155.

Influence of temperature on embryo development of *Hemi-fusus tuba*(Gmelin)

DU Tao¹, LUO Jie², LIU Chu-wu², CHEN Jia-hui²

(1. Zhanjiang Center for Aarine Technology, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, China; 2. Fisheries College, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, China)

Received: Oct., 8, 2009

Key words: Hemifusus tuba(Gmelin); temperatures; oocysts; embryonic development

Abstract: Experiments on influence of temperature on the embryo development of *Hemifusus tuba* were carried out under conditions where pH was int the range of 8.1 to 8.3 and salinity was in the range of 27.5 to 29.5. The eggs of *H. tuba* developed into normal or agenesis eggs, and its embryonic development belongs to the direct development process. At 22.1 to 31.2 , the hatching rate of embryo was over 80%.. Normal embryo was able to consume and absorb the nutrition of agenesis eggs in 5 to 9 days; the juvenile appeared in an embryonic form in 12 to 18 days; and the juveniles appeared in 29 to 38 days.

(本文编辑: 张培新)

(上接第38页)

Extraction of YC-2 from Sinonovacula constricta and its antioxidant activity

ZHAO Yan-jing¹, PEI Bo¹, HU Hong², WANG Ying³

(1. Jiangsu Key Laboratory of Marine Biotechnology, Huaihai Institute of Technology, Lianyungang 222005, China; 2. LianYunGang Higher Vocational Technical College of Traditional Chinese Medicine, Lianyungang 222005, China; 3. China Pharmaceutical University, Nanjing 210009, China)

Received: Jul., 30, 2009

Key words: Sinonovacula constricta; protein; separation and purification; antioxidant activity

Abstract: Protein YC-2 was isolated from *Sinonovacula constricta* by water extraction, ammonia sulphate precipitation (80% saturation), ion exchange chromatography, and gel chromatography, and concentrated by freeze drying. SDS-PAGE and the thiobarbituric acid (TBA) method were used to identify various components and their antioxidant activities in *Sinonovacula constricta* extracxts. We found that YC-2, a dimeric proteins with a 61 ku large subunit and a 45 ku small subunit, had a high oxidation resistance, the removal rate on • OH being 99.7 % at 0.627 g/L.

(本文编辑: 康亦兼)