

环境因子变化对泥蚶精子活力的影响

竺俊全¹, 丁理法², 焦海峰¹, 王跃斌¹

(1. 宁波大学 生命科学与生物工程学院, 浙江 宁波 315211; 2. 温岭市水产技术推广站, 浙江 温岭 316100)

摘要:研究了 pH、盐度及温度对泥蚶 (*Tegillarca granosa*) 精子的激活及运动情况的影响。结果表明, 泥蚶精子激活及运动的较适宜环境条件为: pH 7~9.5、盐度 15~35、水温 25~35; 最适环境条件为: pH 8.5、盐度 25、水温 30。分析表明, 泥蚶精子激活与运动的适宜环境条件与泥蚶的生态栖息环境、繁殖条件相统一。

关键词:泥蚶 (*Tegillarca granosa*); 精子; 激活; pH; 盐度; 温度

中图分类号: Q336 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3096(2006)02-0065-04

有关鱼、贝类精子活力的研究已有不少报道^[1~8]。体外受精的鱼、贝类精子在精巢或精浆中一般不活动, 只有当精子释放到适宜的外界水环境中才能被激活, 精子活力受 pH、水温、渗透压、离子等外界环境因子的调节和影响^[9], 不同种类动物精子激活与正常生理活动所需的适宜环境条件不同。泥蚶 (*Tegillarca granosa*) 是中国沿海的主要经济贝类之一, 是山东、浙江、福建和广东等省的主要增养殖对象。该贝的人工育苗已规模化, 养殖苗种主要以人工育成苗为主。由于水环境的各种理化因子对体外受精的鱼、贝类精子的激活率与活力有显著的影响^[1~5], 从而影响其受精效果及受精卵的质量。因此, 探明环境因子变化与泥蚶精子活力的关系, 对苗种生产中人工催产的最佳环境条件选择、获得优质受精卵、生产优质蚶苗具有一定的指导意义。作者报道海水 pH、盐度及温度的变化对泥蚶精子的激活及运动情况的影响。

1 材料和方法

1.1 实验用贝来源

实验用泥蚶于 2002 年 7 月采自于象山港滩涂养殖的性腺发育成熟的 3 龄贝, 体质量 7~8 g。样品采集后立即带回宁波大学实验室, 供采精用。

1.2 采精

将样品贝洗净, 用干毛巾擦干外表, 从绞合部打开贝壳, 观察性腺发育的成熟度情况, 取性腺发育充分成熟的雄贝(精巢丰满、刺破精巢能流出乳白色精液者)的精液用于实验。

1.3 环境因子设定

1.3.1 pH 梯度

用 0.1 mol/L 的盐酸或氢氧化钠调节自然海水

的 pH 值, 配置 pH 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5, 10.0, 10.5, 11.0 共 16 个梯度的激活液, 储存于滴瓶中备用。

1.3.2 盐度梯度

在自然海水中加粗盐, 使海水盐度上升至 45, 经澄清、脱脂棉过滤后使用。用蒸馏水调节盐度, 配制盐度 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 共 8 个梯度的激活液(调节 pH 至 8.5), 储存于滴瓶中备用。

1.3.3 温度梯度

将激活液(pH 为 8.5, 盐度为 25)以及玻片等实验器具一起放在冰箱或热水浴中调节温度, 设置 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45 共 9 个温度梯度, 立即进行精子的激活实验, 观察瞬时激活率。

使用空调器控制室温 25, 并使激活液以及实验器具的温度均达到相应的温度, 以观察 pH、盐度变化对精子激活的影响。本试验用自然海水(砂滤水)的盐度为 25, pH 为 8.1。

1.4 精子激活率与活力观察

用注射针吸取精液少许于安培瓶中, 注入适量激活液快速混匀, 然后立即吸取少许滴于载玻片上, 在光镜下观察。激活率以显微镜下同视野中的活动精子百分比表示。活力以激烈运动时间与总运动时间表示, 激烈运动(快速涡动)时间是指从精液与激活液相混合开始, 到约 70% 运动精子转入缓慢运动为止的时间; 总运动时间是指从精液与激活液相混合开

收稿日期: 2004-03-20; 修回日期: 2004-06-20

基金项目: 宁波市青年科学基金资助项目(02J20102-18)

作者简介: 竺俊全(1964-), 男, 副教授, 浙江嵊州人, 主要从事海产动物繁育与养殖生物学研究, E-mail: zjq999@mail.nbptt.zj.cn

始,到视野中约 90% 的精子停止运动为止的时间。为减少实验误差,每观察一次更换样品贝,文中所得实验数据都是重复 3 次观察的平均值。

2 结果

2.1 pH 对泥蚶精子激活率与活力的影响

在温度为 25℃、盐度 25 条件下,pH 对泥蚶精子激活率与活力的影响见图 1。从图 1 可见,pH 为 3.5 时无法激活精子。pH 4.0~10.0 范围内,精子激活

率都在 54% 以上。从 pH 4.0 上升到 8.5 阶段,精子激活率逐渐提高、运动时间逐渐延长,至 pH 8.5 时,精子激活率、总运动时间及激烈运动时间均达最大值,分别为 98%、62 min 及 44 min。pH 7.0~9.5 范围内,精子激活率达 90% 以上,精子激烈运动时间达 30 min 以上、总运动时间达 45 min 以上。pH 大于 8.5 时,精子激活率逐渐下降,运动时间缩短,pH 9.5 以上时,精子激活率急剧下降,运动时间迅速缩短,至 pH 为 11.0 时精子激活率仅 2%。

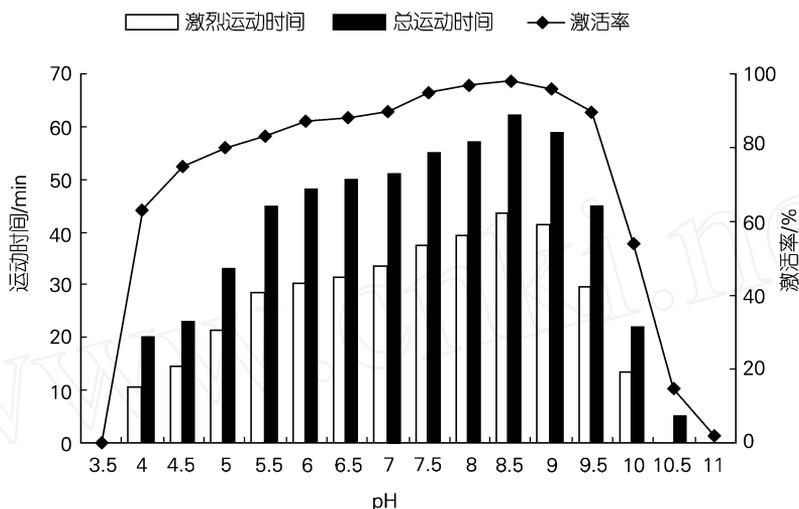


图 1 pH 对泥蚶精子激活的影响

Fig. 1 Effect of pH on activation of spermatozoa from *Tegillarca granosa*

2.2 盐度对泥蚶精子激活率与活力的影响

在温度为 25℃、pH 8.5 的条件下,泥蚶精子在不同盐度中的激活率与活力见图 2。在盐度 10.0~45.0 范围内都有不同比例的精子被激活。在盐度 15~35 范围内,精子激活率大于 82%,在盐度 20~30 范围内,精子激活率大于 92%,其中盐度 25 时,精子激活率最高、运动时间最长。精子在低盐度(10~15)条件下比高盐度(40~45)条件下的激活率要高,运动时间要长。

2.3 温度对泥蚶精子激活率的影响

在盐度 25、pH 8.5 条件下,温度对泥蚶精子瞬时激活率的影响见图 3。由图可知,泥蚶精子在 5~45℃ 温度范围内均能被激活,其中 15~35℃ 时精子瞬时激活率达 81% 以上;25~35℃ 时,精子瞬时激活率达 93% 以上;30℃ 时,精子瞬时激活率高达

98%;高于 35℃ 或低于 15℃ 时,精子瞬时激活率均明显下降。

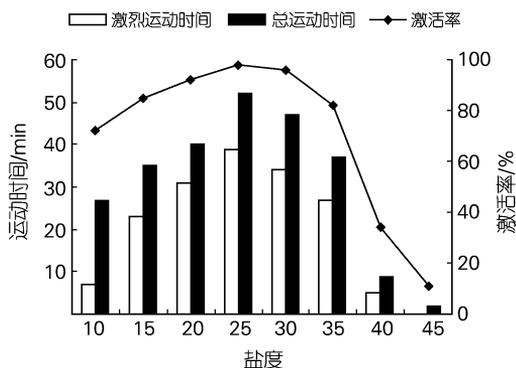


图 2 盐度对泥蚶精子激活的影响

Fig. 2 Effect of salinity on activation of spermatozoa from *Tegillarca granosa*

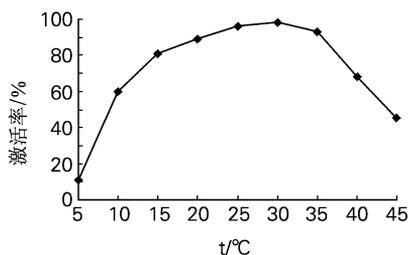


图3 温度对泥蚶精子激活的影响

Fig. 3 Effect of temperature on activation of spermatozoa from *Tegillarca granosa*

3 讨论

3.1 精子对 pH 的适应性

泥蚶喜栖息于风浪小、潮流通畅、有淡水注入的内湾及河口附近的中低潮区,栖息环境属咸淡水区域,pH 值变化比外海要大,因此,泥蚶对 pH 变化的适应能力较强,对较低 pH 的适应力较好。本实验结果表明,泥蚶精子在 pH 5.0~9.5 范围内,激活率 80% 以上,精子激活的较适 pH 为 7.0~9.5(激活率达 90% 以上)。可见,泥蚶精子对 pH 的适应范围较广,这可能与泥蚶栖息环境的 pH 值变化较大有一定关系。

3.2 精子的适盐性与环境盐度之间的关系

泥蚶是适应于潮间带底栖生活的广盐性贝类,成蚶在盐度 10.4~32.5 的海水中均能正常生长,生长繁殖的最适盐度范围为 21.0~25.5^[10]。本实验结果表明,泥蚶精子在盐度 10.0~35.0 范围内具有较高的激活率与较长的运动时间,这与泥蚶对盐度的适应范围较广、对低盐的适应能力较强相关;泥蚶精子在盐度 25 时,激活率最高、运动时间最持久,这与泥蚶生长繁殖的适宜盐度相一致。合浦珠母贝 (*Pinctada martensii*) 精子在盐度 10 条件下几乎不被激活,盐度 15 时激活率仅 5%,盐度 25~45 范围内激活率达 80% 以上,盐度 30 时激活率最高^[4],可见,合浦珠母贝精子对低盐的适应性比泥蚶差,对高盐的适应性比泥蚶好,精子激活和运动的适宜盐度范围值比泥蚶要高,这与合浦珠母贝是一种外海性贝类,适盐范围偏高(19.2~36.7)是相关的^[10]。有关精子的适盐性与环境盐度之间的关系在鲷科 (Sparidae) 鱼类^[2]及中华乌塘鳢 (*Bostrichthys sinensis*)^[3]中有详细报道,真鲷 (*Pagrosomus major*)、黑鲷 (*Sparus macrocephalus*)、平鲷 (*Rhabdosargus sarba*) 和黄鳍鲷 (*Sparus latus*) 精子激活所需的最低盐度与

各自栖息的环境盐度相关,精子激活所需的最适盐度与 4 种鱼各自的繁殖盐度密切相关;中华乌塘鳢精子对盐度的适应范围广,精子激活的适宜盐度为 5~15,与该种鱼喜栖息于低盐度水域的生活习性密切相关。在海洋鱼、贝类人工繁殖中,选择适宜的盐度条件,有利于提高受精率。

3.3 精子激活的适宜温度及其与繁殖水温之间的关系

泥蚶繁殖季节精子排放期的自然水温在 23~33 之间^[10],这与本实验精子激活的较适宜温度(25~35)基本一致。合浦珠母贝繁殖盛期的自然水温为 25~29^[10],受精和胚胎发育的最适水温为 27~29^[10],与精子激活的最适温度(25~30)相一致^[5];南海区真鲷、黑鲷、平鲷和黄鳍鲷繁殖时的海水温度通常在 17~20,这与它们精子激活所需的适宜温度相一致,也与它们自然繁殖时的水温基本相同^[2]。可见,海洋鱼、贝类精子激活的适宜温度与其繁殖适温是相一致的。

3.4 泥蚶精子激活与运动的最适环境条件

精子的激活条件影响受精率及孵化率。从本实验结果(图 1~3)分析,初步得出泥蚶精子激活与运动的最适环境条件为:pH 8.5、盐度 25、水温 30,可作为工厂化育苗生产中人工催产的最佳水环境因子的选择与调控参考。

参考文献:

- [1] 李家儿,区又君,江世贵.环境因子变化对平鲷精子活力的影响[J].动物学杂志,1996,31(3):6-9.
- [2] 江世贵,李加儿,区又君,等.四种鲷科鱼类的精子激活条件与其生态习性的关系[J].生态学报,2000,20(3):468-473.
- [3] 江世贵,苏天凤,喻达辉,等.中华乌塘鳢精子的生物学特性及其超低温保存[J].水产学报,2000,24(2):119-122.
- [4] 喻达辉,陈竞春,苏天凤,等.合浦珠母贝精子的实验生物学初步研究[J].热带海洋,1998,17(3):83-87.
- [5] 蔡云川,林黑着,吴开畅,等.解剖采集的珠母贝精子的激活条件[J].中国水产科学,2001,8(4):9-12.
- [6] Koya Y, Munehara H, Takano K. Effects of extracellular environments on the motility of spermatozoa in several marine sculpins with internal gametic association[J]. *Comp Biochem Physiol*, 1993, 106A(1):25-29.
- [7] Billard R, Cosson M P. Some problems related to the assessment of sperm motility in fresh water fish[J]. *J Exp Zool*, 1992, 261:122-131.
- [8] Au D W T, Chiang M W L, Wu R S S. Effects of cad-

- mium and phenol on motility and ultrastructure of sea urchin and mussel spermatozoa[J]. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2000, **38**:455-463.
- [9] 邓岳松,林浩然. 鱼类精子活力研究进展[J]. 生命科学 研究,1999, **3**(4):271-278.
- [10] 王如才,王昭萍,张建中. 海水贝类养殖学[M]. 青岛: 青岛海洋大学出版社,1998. 212-223.

Effects of environmental factors on spermatozoa motility of *Tegillarca granosa*

ZHU Jun-quan¹, DING Li-fa², JIAO Hai-feng¹, WANG Yue-bin¹

(1. Faculty of Life Science and Biological Engineering, Ningbo University, Ningbo 315211, China; 2. Technology Extend Eenter of Fishery, Wenling 317500, China)

Received: Mar., 20, 2004

Key words: *Tegillarca granosa*; spermatozoa; activation; pH; salinity; temperature

Abstract: The activation rate and motility of spermatozoa of *Tegillarca granosa* were observed at different levels of pH, salinity and temperature. The results show that the suitable activating and vitalizing condition for spermatozoa is: pH 7 ~ 9.5, salinity 15 ~ 35, temperature 25 ~ 35 ; while the optimum condition is: pH 8.5, salinity 25, temperature 30 . It is analyzed that the suitable activating and vitalizing condition for spermatozoa of *T. granosa* harmonizes with their ecological inhabiting and propagating condition.

(本文编辑:张培新)