

文章编号:1000 - 0615(2004)05 - 0510 - 05

文蛤的性腺发育和生殖周期

林志华^{1,4}, 单乐州¹, 柴雪良¹, 应雪萍²
杨星星³, 张永普², 方 军¹, 王如才⁴

(1. 浙江省海洋水产养殖研究所, 浙江 温州 325005; 2. 温州师范学院, 浙江 温州 325027;
3. 温州市海洋与渔业局, 浙江 温州 325000; 4. 中国海洋大学, 山东 青岛 266003)

摘要:应用组织学方法对浙南池塘养殖的文蛤的性腺发育、生殖周期和肥满度进行了周年变化的研究。结果表明,文蛤的性腺发育具有典型双壳贝类特征,性腺发育过程可分为增殖期、生长期、成熟期、排放期、休止期 5 个时期,并对上述 5 期的宏观肉眼观察特征及微观切片观察特征进行了描述。浙南池塘养殖的文蛤性腺发育过程以 1 年为 1 个周期,成熟排放期在 5 月下旬至 8 月中旬,水温 21.8~31.0,繁殖盛期为 6 月下旬至 7 月下旬,水温为 25.0~30.0。月平均肥满度最高为 6 月份的 8.84%,最低为 1 月份的 3.21%。论文还讨论了 1 龄文蛤性腺发育、文蛤性腺成熟和排放与积温的关系。

关键词:文蛤;性腺发育;生殖周期;肥满度

中图分类号:S917

文献标识码:A

Study on the gonad development and reproductive cycle of *Meretrix meretrix* Linnaeus

LIN Zhi-hua^{1,4}, SHAN Le-zhou¹, CHAI Xue-liang¹, YING Xue-ping²
YANG Xing-xing³, ZHANG Yong-pu², FANG Jun¹, WANG Ru-cai⁴

(1. Zhejiang Mariculture Research Institute, Wenzhou 325005, China;

2. Wenzhou Normal College, Wenzhou 325027, China;

3. Wenzhou Ocean and Fisheries Bureau, Wenzhou 325000 China;

4. Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: The productive biology of hard clam (*Meretrix meretrix* Linnaeus) cultured in South Zhejiang was studied by means of histological section in this paper. The reproductive cycle, fatness, gonad development, breeding season of *M. meretrix* cultured in south Zhejiang are described. The reproductive cycle of *M. meretrix* was divided into 5 stages: proliferation stage, growing stage, maturation stage, breeding stage and suspensive stage. The spawning season was from late May to mid-August (21.8 - 31.0), and the peak of spawning occurred from late June to late July when the temperature was about 25 - 30. The highest index of fatness on average was about 8.84% in June, and the lowest was about 3.21% in January. The sexual maturity at 1 year old *M. meretrix* was found. The relationship of full maturation and spawning with accumulated temperature is discussed in this paper.

Key words: *Meretrix meretrix*; gonad development; reproductive cycle; fatness

收稿日期:2003-10-20

资助项目:国家 863 计划(2002AA603014)和浙江省科技厅重大科技攻关项目(991102332)

作者简介:林志华(1965-),男,浙江瑞安人,研究员,博士研究生,从事贝类遗传育种及养殖技术研究。E-mail:zhizhua9988@126.com

文蛤 (*Meretrix meretrix* Linneus) 是一种栖息在潮间带及浅海泥砂底质的埋栖型双壳类软体动物,其营养丰富,肉味鲜美,俗称天下第一鲜。由于养殖效益显著,近年来发展迅速,已成为滩涂贝类养殖的一个新的经济增长点。迄今为止文蛤增殖养殖所需的苗种绝大部分来源于天然苗种,由于过度采捕及环境恶化等因素,文蛤自然苗种资源丰富不稳,制约了文蛤养殖业的发展,所以人工育苗势在必行。林志华等自 1997 年开始文蛤人工繁殖的研究工作,通过几年努力,在文蛤工厂化育苗技术方面获得了突破性进展,达到规模化苗种生产的要求^[1]。王维德^[2]、矫举昌等^[3]、刘忠颖等^[4]、陈冲等^[5]、魏利平等^[6]、吴洪喜等^[7]、陈远等^[8]先后对文蛤人工育苗和幼虫生态作过研究,上述文献对文蛤繁殖生物学也有一些零星的、简单的描述。应雪萍^[9]曾对文蛤的卵母细胞超微结构作了研究,但未见文蛤性腺发育的相关报道。本文利用组织学方法对浙南池塘养殖的文蛤的性腺发育规律、生殖周期等生殖生物学特征进行了研究,旨在为文蛤的人工育苗技术研究提供基础资料。

1 材料和方法

实验用蛤为浙江海洋水产养殖研究所于 2000 年夏季人工培育的苗种,在平阳县墨城养殖场的土塘里铺砂养成,于 2001 年 6 月 22 号随机选取成贝在 4.0m × 2.5m × 1.2m 底部铺砂的水泥池中继续培养,砂层厚 20cm,培养密度 30 ind · m⁻²。培养用水为砂滤海水(盐度为 18.6 ~ 29.5),培养水温为自然水温(7 ~ 30 °C),控制水位 80cm,微充气,日换水 80%,以金藻、角毛藻、扁藻和三角褐指藻为饵,混合投喂,每次投喂量(5 ~ 10) × 10⁴ cell · mL⁻¹,每日 2 次。

从 2001 年 6 月 30 日至 8 月 6 日每隔 7d 左右从大到小依次随机取文蛤 10 个为 1 组,测量称重后解剖观察性腺发育情况,共取样 6 组文蛤,肉眼观察发现 7 月 15 日、7 月 21 日的 2 组文蛤性腺发育相对较好。将这 2 组标本切取不同部位的性腺,用 Carnoy 氏液固定,石蜡包埋,切片厚 7μm,HE 染色,光学显微镜观察、拍照。

从 2002 年 1 月至 2003 年 1 月,每月上旬取样 1 次,其中 5 ~ 7 月每次月取样 2 次。每次随机取样品 20 ~ 30 个作生物学测定,测量壳长、壳高、体

重。剖开后将体部与壳分开,放于 60 ~ 70 °C 烤箱中恒温 24h 后,用电子天平(精确度 0.001g)分别称出软体干重和贝壳干重,算出肥满度(干肉重/干壳重 × 100%)。另外再取 10 ~ 15 个标本切取不同部位的性腺,用 Carnoy 氏固定液,石蜡包埋,切片厚 7μm,HE 染色,光学显微镜观察、拍照。

2 结果

文蛤性腺属滤泡型,具双壳贝类基本特征,由滤泡、生殖管、生殖输管 3 部分组成,性腺位于足上方,内脏团两侧,其中滤泡是产生生殖细胞的场所,呈囊泡状,由滤泡壁和滤泡腔组成。

2.1 性腺组织学分期及其外部特征

2.1.1 增殖期

性腺开始形成,在内脏团表面用肉眼隐约能看见 1 层很薄的黄色性腺,主要分布于消化腺的两侧,肉眼观察雌雄不可分辨。本期时间 1 月上旬至 3 月底,水温 7.8 ~ 16.2 °C。切片观察,雌性:一般 1 月份性腺开始发育,滤泡逐渐形成,呈狭长带状、椭圆状等,滤泡腔为一中空腔分布于内脏团两侧,随着发育的继续,滤泡壁开始增厚,并出现附着于滤泡壁上的卵原细胞(图版-1)。雄性:1 月份滤泡开始出现,狭长带状,随着水温回升,滤泡生殖上皮的生殖细胞开始增殖,出现精原细胞和初级精母细胞(图版-7)。

2.1.2 生长期

性腺不断增大,并向腹部扩展,逐渐覆盖整个内脏团,肉眼观察性腺比上一期明显,雌雄个体仍不可分辨。时间 4 月初至 5 月中旬,水温 13.0 ~ 21.8 °C。切片观察,雌性:滤泡数量增加,分布范围增广,滤泡内卵原细胞继续分裂增殖,卵母细胞数量急剧增多,呈梨形或长形等不规则形状,部分具短柄附着于滤泡腔壁上,整个滤泡腔空隙逐渐变少(图版-2)。雄性:滤泡数量增加,体积增大,泡腔空隙逐渐缩小,各期精细胞约占滤泡截面积的 50% 以上(图版-8)。

2.1.3 成熟期

个体开始显得肥硕丰满,性腺遮盖整个内脏团,并延伸至足基部,雌雄性腺颜色相差较大,雌性为乳白色,雄性为淡黄色。此时刺破生殖腺,可见卵子或精液流出,一遇海水即散开。时间从 5 月中旬至 7 月底,水温 20.0 ~ 25.8 °C。切片观察,雌性:性腺包被整个内脏团,卵巢为全年最丰满

期,其中卵母细胞的卵柄多数断裂,离开滤泡壁跌入滤泡腔,腔内充满了成熟的卵母细胞,以椭圆形为多。卵母细胞大小相对上期而言显得更为均匀,平均约为 $90 \times 70 \mu\text{m}$,细胞核径 $38 \mu\text{m}$,核仁径 $14 \mu\text{m}$ (图版-3,6)。雄性:本期精巢达全年最丰满阶段,滤泡腔中充满了不同发育时期的精细胞,呈明显辐射状排列的精子充满滤泡腔的中央,且着色深,圆形的头部直径约 $1.5 \mu\text{m}$ 。精母细胞分布于滤泡腔壁,着色浅,直径约 $4 \mu\text{m}$ 。镜检精子活力强,此时精子已具受精能力(图版-9,12)。

2.1.4 排放期

文蛤在一个生殖季节里可产卵多次,成熟排放后性腺饱满度下降,显得松弛,性腺可再次饱满而排放,但饱满度不如成熟期,肉眼可明显将排放期和成熟期区分。本期时间从5月下旬直至8月中旬,水温 $21.8 \sim 30.0$ 。切片观察,雌性:成熟期后,由于大量成熟卵子的排放,滤泡开始出现大小不等的空腔。滤泡中残留少量成熟的卵子,而滤泡壁尚有较多卵原细胞及卵母细胞,1个滤泡中卵母细胞发育不同步,其中卵原细胞及初级卵母细胞可继续发育成为次级卵母细胞,15~30d后可再次成熟排放,一般2次排放后,残存的卵母细胞和少量成熟卵子将逐渐退化吸收(图版-4)。雄性:随着精子的排放,滤泡开始出现大小不等的辐射状空腔,精子数量减少,而精母细胞再次发育,迅速再次出现精子,从而出现间歇持续排精现象,成熟期和排放期分界并不明显(图版-10)。

2.1.5 休止期

软体部分消瘦,雌雄不能分辨,内脏表面透明,呈水泡状,看不到性腺分布。8月下旬至12月底,水温 $33.5 \sim 11.20$ 。切片观察,雌性:成熟卵子大量排放后,滤泡渐变为一大空腔,形状不规则,滤泡壁变薄并开始萎缩退化,本期初,滤泡内仍可见处于被吸收状态的个别未产出的卵母细胞及卵原细胞,本期末,结缔组织大量增生,滤泡消失,性腺发育完成1个周期(图版-5)。雄性:精子排尽后,滤泡成为一空腔,残留的各期精细胞也逐渐退化、吸收,滤泡也逐渐缩小,减少直至消失,结缔组织增生,性腺发育完成1个周期(图版-11)。

2.2 生殖周期

根据近几年的人工繁殖实践和2002年1月至2003年1月文蛤周年切片标本的显微观察表明,浙南池塘的文蛤每年1个生殖周期,在1个繁

殖季节可产卵多次,在1个生殖周期中同龄间雌雄性腺发育基本同步,雄性发育略快。在繁殖季节根据性腺的不同颜色可明显区分雌雄,其余时间肉眼难以区分雌雄。周年文蛤肥满度和海水平均温度的月变化如图1。

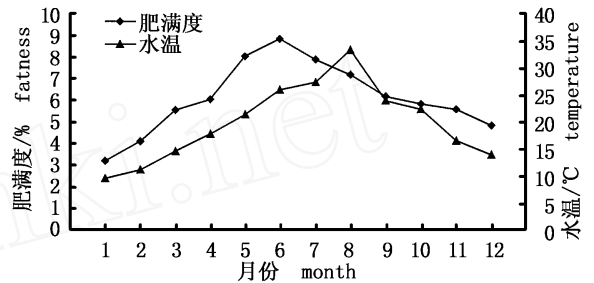


图1 文蛤肥满度和海水平均温度的月变化(2002年01~12)

Fig.1 The monthly change of fatness index of *Meretrix meretrix* and average temperature of sea water (2002 - 01 - 12)

根据图1,经单因素方差分析表明肥满度周年变化具有显著的差异 ($F_{11,228} = 632.1, P < 0.01$),其中5、6月份最高(Tukey检验比较表明这两个月无显著差异)。分析文蛤的生殖周期为:1月至3月底,水温 $7.8 \sim 16.2$,文蛤的性腺处于增殖期,1月肥满度为全年最低为3.21,其后肥满度月平均值逐渐增大。4月初至5月中旬,水温 $13.0 \sim 21.8$,文蛤的性腺处于生长期,肥满度为6.04~8.60%。从5月下旬开始,性腺进入成熟期,6月肥满度为全年最高达8.84%,随后即进入排放期直至8月中旬,水温 $21.8 \sim 31.0$ 。8月下旬以后至12月,性腺处于休目期,肥满度也逐月下降。

根据近年来开展的文蛤人工育苗试验结果,人工培育成熟的文蛤繁殖以1年为1个周期,繁殖产卵水温 $25.0 \sim 31.0$,一般在6月下旬至7月下旬,繁殖期可大量产卵多次^[1],和上述的文蛤性腺组织学分析及肥满度和海水水温周年变化相符。

3 讨论

3.1 关于1龄文蛤性腺发育

一般认为文蛤2龄性成熟^[10],但近年来对人工苗种的养殖生长情况进行跟踪调查,在文蛤自然繁殖期,通过解剖、肉眼观察发现,在养殖条件

良好的池塘里,1龄的文蛤也有性腺发育及个别性成熟的现象。2001年7月15日和7月21日对1龄文蛤性腺进行切片分析,全部个体均出现滤泡,不同个体的滤泡内生殖细胞发育程度不同,其中雄性个体性腺发育较早且个别达到成熟期。达到成熟期的最小雄性个体壳长1.926cm,体重1.706g,但1龄雌性文蛤性腺发育能否达到成熟期,以及雌雄成熟个体能否自然排放精子和卵子并结合形成受精卵等问题有待于进一步研究。

3.2 文蛤性腺成熟和排放

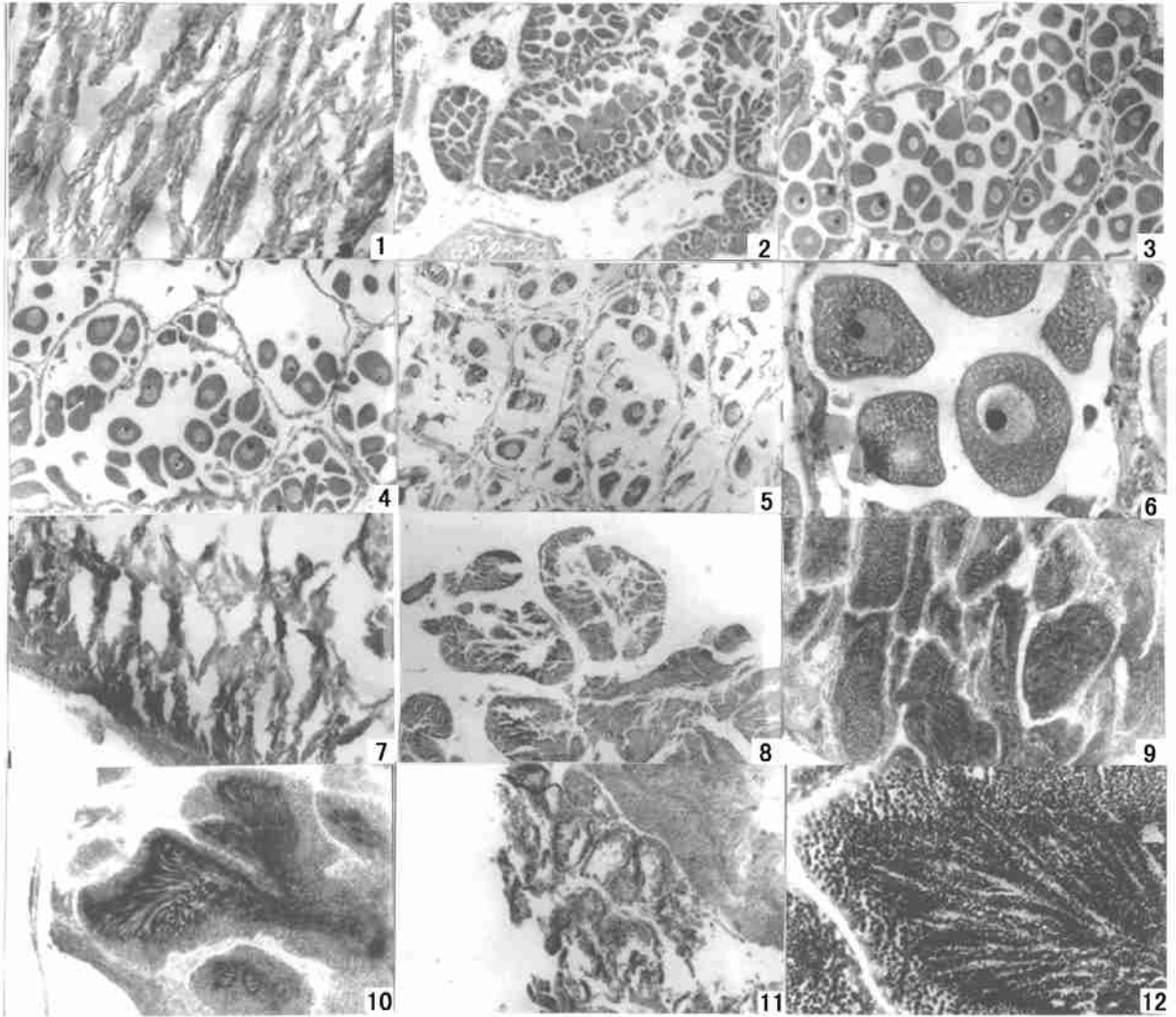
文蛤性腺组织切片实验结果表明,文蛤的性腺发育和生殖周期规律与我国常见的双壳类如泥蚶^[11]、彩虹明樱蛤^[12]、等边浅蛤^[13]基本相似;不同个体文蛤性腺发育不同步;同一个体的性腺,不同的滤泡发育不同步,同一滤泡中不同生殖细胞发育也不同步,其性腺发育是陆续成熟分批排放,在繁殖期内个别个体少量排放始终存在,同批文蛤在人工培养条件下通过人工促熟可有2次比较集中的排放过程。

3.3 文蛤培育积温和产卵

对文蛤采贝培育池每天的水温进行测量统计,从2002年1月5日取样切片发现性腺开始发育,至6月9日第1次产卵的总积温为1936.5。贝类性腺发育与水温密切相关,采用升温的方法可以使性腺加快发育而提前产卵,同样通过升温可使文蛤提前产卵。上述积温的测定对文蛤育苗生产时间的安排有一定的指导意义。

参考文献:

- [1] Lin Z H, Chai X L, Fang J, et al. Large scale artificial breeding of hard clam *Meretrix meretrix* Linnaeus [J]. J Shanghai Fish Univ, 2002, 11(3): 242 - 248. [林志华, 柴雪良, 方军, 等. 文蛤工厂化育苗技术研究[J]. 上海水产大学学报, 2002, 11(3): 242 - 248.]
- [2] Wang W D. Preliminary study on artificial breeding of *Meretrix meretrix* [J]. Chinese Journal of Zoology, 1980, (4): 1 - 4. [王维德. 文蛤人工育苗初步研究[J]. 动物学杂志, 1980, (4): 1 - 4.]
- [3] Jiao J C, Liu H Y, Wang R C. Preliminary report on semi-artificial seed production [J]. Marine Science, 1985, (6): 41 - 44. [矫举昌, 刘洪耀, 王如才. 文蛤半人工育苗试验初步报告[J]. 海洋科学, 1985, (6): 41 - 44.]
- [4] Liu Z Y, Sui X L, Lin F. Effect on growth of post-larval of *Meretrix meretrix* in different cultivation density [J]. J Dalian Fish Univ, 1999, 14(2): 86 - 89. [刘忠颖, 隋锡林, 林福. 文蛤稚贝期不同培养密度对生长的影响[J]. 大连水产学院学报, 1999, 14(2): 86 - 98.]
- [5] Chen C, Wang Z S, Sui X L. Effect of salinity on hatching rate and larval survival rate of *Meretrix meretrix* [J]. Marine Science, 1999, (3): 56 - 58. [陈冲, 王志松, 隋锡林. 盐度对文蛤孵化及幼体存活和生长的影响[J]. 海洋科学, 1999, (3): 56 - 58.]
- [6] Wei L P, Xu Z F. Studies on artificial breeding of *Meretrix meretrix* [J]. Shandong Fisheries, 1996, 13(4): 15 - 18. [魏利平, 徐宗法. 文蛤人工育苗技术研究[J]. 齐鲁渔业, 1996, 13(4): 15 - 18.]
- [7] Wu H X, Cai Z F. Trial on large scale artificial breeding of *Meretrix meretrix* [J]. Trans Oceanol Limnol, 1998, (3): 57 - 63. [吴洪喜, 蔡志飞. 文蛤工厂化育苗试验[J]. 海洋湖沼通报, 1998, (3): 57 - 63.]
- [8] Chen Y, Chen C. Studies on large scale artificial breeding of *Meretrix meretrix* [J]. J Dalian Fish Univ, 1998, 13(2): 73 - 78. [陈远, 陈冲. 文蛤工厂化育苗技术研究[J]. 大连水产学院学报, 1998, 13(2): 73 - 78.]
- [9] Ying X P. Ultrastructure of vitellogenic oocytes in *Meretrix meretrix* [J]. J Fish Sci China, 2002, 9(2): 125 - 128. [应雪萍. 文蛤卵母细胞卵黄发生过程细胞器的变化[J]. 中国水产科学, 2002, 9(2): 125 - 128.]
- [10] Wang R C, Wang Z P, Zhang J Z. Marine molluscan aquaculture [M]. Issued by Qingdao Ocean University 1993. 322 - 323. [王如才, 王昭萍, 张建中. 海水贝类养殖[M]. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1993. 322 - 323.]
- [11] Zheng J S, Wang M L, Wang Z Y, et al. Gonad development and reproductive cycle of *Tegillarca granosa* Linnaeus [J]. J Qingdao Ocean Univ, 25(4): 503 - 510. [郑家声, 王梅林, 王志勇, 等. 泥蚶的性腺发育和生殖周期[J]. 青岛海洋大学学报, 1995, 25(4): 503 - 510.]
- [12] You Z J, Wang Y N, Lv C H. Preliminary studies on the reproductive cycle of *Moerella iridescens* (Benson) [A]. Transactions of the Chinese Society of Malacology (5 - 6), 1995, 111 - 117. [尤仲杰, 王一农, 吕朝晖. 彩虹明樱蛤生殖周期的初步研究[A]. 贝类论文集(第5-6辑), 1995, 111 - 117.]
- [13] You Z J, Wang Y N, Ye X H, et al. Reproductive cycle of *Gomphina ceneriformis* [J]. Journal of Oceanography in Taiwan Strait, 1991, 10(4): 356 - 362. [尤仲杰, 王一农, 叶雄会, 等. 等边浅蛤的繁殖周期[J]. 台湾海峡, 1991, 10(4): 356 - 362.]



图版 Plate

1. 雌性性腺增殖期(×100); 2. 雌性性腺生长期(×100); 3. 雌性性腺成熟期(×100); 4. 雌性性腺排放期(×100); 5. 雌性性腺休止期(×100); 6. 成熟期卵子(×400); 7. 雄性性腺增殖期(×100); 8. 雄性性腺生长期(×100); 9. 雄性性腺成熟期(×100); 10. 雄性性腺排放期(×100); 11. 雄性性腺休止期(×100); 12. 成熟期精子(×400)

1. proliferation stage of female gonad(×100); 2. increasing stage of female gonad(×100); 3. maturation stage of female gonad(×100); 4. breeding stage of female gonad(×100); 5. suspensive stage of female gonad(×100); 6. mature eggs(×400); 7. proliferation stage of male gonad(×100); 8. increasing stage of male gonad(×100); 9. maturation stage of male gonad(×100); 10. breeding stage of male gonad(×100); 11. suspensive stage of male gonad(×100); 12. mature sperms(×400)