

大连紫海胆人工育苗的初步研究

廖承义

邱铁凯

(山东海洋学院)

(山东省荣城县海珍品基地)

提要 本文报道了有关海胆人工育苗的方法,并对大连紫海胆幼虫的生长发育和变态作了详细描述。大连紫海胆的幼虫可分为,棱柱幼虫、二腕长腕幼虫、四腕长腕幼虫、六腕长腕幼虫和八腕长腕幼虫五个时期。在山东省荣城湮岛海区,大连紫海胆的育苗时间为7—8月。在水温为23—24°C时,自受精卵发育至变态成幼海胆的时间大约需要19—20天。幼虫的饵料以角毛藻为最佳,而幼海胆的饵料早期为底栖硅藻,后期以石莼较为合适。

主题词 大连紫海胆,人工育苗,幼虫

大连紫海胆(*Strongylocentrotus nudus*)与马粪海胆(*Hemicentrotus pulcherrimus*)都是海胆类中具有较高经济价值的种类。它的生殖腺营养极为丰富,是加工名贵食品海胆酱(云丹)的原料^[6,5]。此外还可提取二十烷酸($C_{20}H_{40}COOH$)等贵重药物^[6]。过去海胆的加工主要依靠捕捞自然资源,随着生产的发展,其自然资源已远远不能满足人民生活的需要。因此,如何进行其资源增殖已成为开发利用海胆的重要课题。

有关海胆类发育生物学的研究已有较长的历史^[2],但过去主要集中在受精机制,实验胚胎学,分子胚胎学等基础理论研究上^[1,8,9],近来在海胆幼虫的变态方面也有部份专题报导^[7,8]。随着资源增殖的需要,海胆人工育苗方面的研究也正在逐步开展,据报导日本有关栽培渔业中心已对红海胆,马粪海胆等进行了苗种生产的研究,并已获得了一定数量的幼海胆^[6]。

在我国有关海胆人工育苗的研究有本文作者对马粪海胆^[6]和隋锡林等对大连紫海胆育苗的初步报导^[4]。为了进一步探讨海胆人工育苗过程中的有关生物学问题,我们在马粪海胆育苗成功的基础上又对大连紫海胆的育苗作了中间试验,所得结果可为今后工厂化人工育苗提供参考。

材料和 方法

大连紫海胆在山东省荣城县湮岛沿海的繁殖季节约在7—8月。在此期间采捕成熟个体先在室内暂养1—2天,或立即进行诱导产卵。诱导产卵的方法是先将在海水中冲洗干净,然后自口极围口膜处注射0.5M的氯化钾1—2毫升。注射后立即置于盛有过滤新鲜海水的塑料盆中。一般经0.5—3分钟即可见成熟的生殖细胞自生殖孔处排出。当生殖细胞刚开始排出时,立即将雌雄个体分开,分别置于不同的塑料盆中让其继续排放。当雌性个体排卵结束后,即将海胆取出,并吸取一定量的精液进行人工授精。授精后约十

分钟进行洗卵1—2次,以除去多余的精子。然后倒入容量为1.5立方水体的园形玻璃钢水槽中进行孵化。在水温为23°C,比重为1.021的海水中,受精卵经24小时发育成为棱柱幼虫。这时即可将幼虫移至水体为4—5立方米的水泥池中进行培养。培养幼虫的水泥池,事先在池底铺设一层大小为1公分左右的砂砾,在砂砾表面应附有底栖硅藻以利于将来幼虫的变态沉落。幼虫的培养密度在早期以1—2个/毫升为宜,后期以0.5个/毫升为宜。

浮游幼虫时期的饵料主要为角毛藻(*Chaetoceros muelleri*),每天投喂2次,饵料密度为3000—5000个细胞/毫升。

为了保持培养水体的洁净,每天换水2次,每次换水1/5—1/4(当幼虫变态为幼海胆后,加大换水量,每次换水1/3—1/2)。待幼虫发育至八腕长腕幼虫后期,前庭复合体(或称海胆基)(Vestibular complex)出现,棘钳和棘也已生出,这表明幼虫将开始变态,此时应立即投放附着器材,附着器材采用塑料板,板上预先附上一定数量的底栖硅藻。幼虫变态形成幼海胆后主要以底栖硅藻为饵料,当发育至壳径为1毫米左右时即可投喂石莼(*Ulva*)或羊栖菜(*Sargassum fusi forme*)等大型藻类。

试验结果

1. 产卵,受精和孵化 经注射氯化钾后的成熟个体一般在0.5—3分钟内即可排精或产卵,排出的精子呈乳白色,卵子为玉白略带淡黄色,因此它与马粪海胆卵子的色泽(橙红色)完全不同,当解剖观察成熟的生殖腺时,雌雄二者的颜色也比较相似。

卵子刚产出时呈绒线状,不久在水中自行散开并缓慢的沉入水底。有时也可见刚产出的卵子呈团块状,这种卵一般为不成熟的卵。成熟的卵子外形圆而表面光滑,直径为110—130 μ ,受精后0.5—1分钟即可见受精膜举起,围卵间隙较大,其宽度在16 μ 左右,包括受精膜在内的卵子直径约为162 μ 。受精卵经水洗后倒入玻璃钢水槽中进行孵化时,其卵子的密度以单层平铺于水槽底部为宜。如果卵子相互重叠,密度过大,会影响孵化率和胚胎的正常发育。

受精卵在水温为23—24°C下约经10小时出膜孵化,刚孵化时的胚胎处于囊胚阶段,一般均浮于水的上层,未受精卵和发育不正常的卵则下沉在水槽的底部。

2. 早期胚胎发生 受精卵在海水比重为1.021,水温为23—24°C下发育,约经1小时开始第一次分裂,受精后5小时30分形成一典型的圆形有腔囊胚,并在膜内不断转动,10小时后囊胚出膜孵化(见表1)。受精后15小时胚胎发育进入原肠胚时期。这时囊胚的植物极一端变扁平并逐渐向内陷入。在内陷的顶端及其两侧均有许多较大的细胞为初级间叶细胞。二侧的间叶细胞比较集中并在原肠早期已开始分泌形成二个三射骨针的原基。此时原肠胚高为180—195 μ ,宽为162—178 μ 。受精后17小时进入原肠中期,此时原肠内陷的深度约占胚体总长的二分之一。受精后19小时,进入原肠晚期,此时内陷的深度几乎已达原囊胚的全长。

3. 幼虫的生长发育

(1) 棱柱幼虫 (Frism larva) 受精后约24小时发育成棱柱幼虫,体长为211—

227 μ 。此时幼虫的口叶(Oral lobe)突出, 前端呈弧形。幼虫左右二侧的三射骨针已发育长大, 其中一枝伸向幼虫的后端, 另一枝伸至幼虫的前端(将来形成口后腕的地方), 左右二枝以横肢相连接(横肢一开始呈八字形后来变成一字形)。此时消化系统尚未发育完全, 因此幼虫并不摄食, 一般多上浮于水的中上层, 并有较强的趋光性。受精后约 30 小时, 幼虫口叶的前端从原来的弧形逐渐变成一平面形, 同时在相对面的左右二侧突出一对肉芽状的幼虫腕, 即口后腕, 伸入腕内的骨针称口后针。此时在口叶的两侧也有一对骨针, 即前侧针。从侧面观整个骨针的支架形似我国古代的戟, 其长杆为口后针及其相连的反口肢骨针, 长杆头上月牙状的利刃则为前侧针。由于在棱柱幼虫后期已生出一对腕, 此时一般统称为早期长腕幼虫^[2], 但按外形结构在大连紫海胆此时的幼虫以称为二腕长腕幼虫更为确切, 幼虫从此时起开始摄食。棱柱幼虫所经历的时间约为 6 小时, 二腕长腕幼虫所经历的时间约为 12 小时。

表 1 海胆胚胎发育速度的比较

Table 1 Comparison of developmental rate of the sea urchin

发育阶段 Developmental stage	种 名 Species	
	大连紫海胆 Strongylocentrotus nudus	马粪海胆 Hemicentrotus pulcherrimus
	水温 23—24℃ Water temperature	水温 14—17℃ Water temperature
	发育时间 Developmental time	
2细胞 2-cell stage	受精后 1 小时 Time after fertilization 1 hr.	受精后 2 小时 Time after fertilization 2 hr.
4细胞 4-cell stage	1:30	3:30
8细胞 8-cell stage	2:0	4:30
16细胞 16-cell stage	2:40	5:0
囊胚 Blastula stage	5:30	15:0
囊胚自卵膜中孵出 Blastula hatches from egg membrane	10:0	22:0
原肠胚 Gastrula stage	15:0	26:0
棱柱幼虫 Prism larva	24:0	43:0
四腕长腕幼虫 Four-arm pluteus larva	42:0	66:0
八腕长腕幼虫 Eight-arm pluteus larva	6—7天	9—10天
变态成幼海胆 Metamorphosis into young urchin	19—20天	28—29天

(2) 四腕长腕幼虫(Four-arm pluteus larva) 形成二腕长腕幼虫后,在口叶二侧的前缘又生出一对前侧腕,幼虫的体长(以身体的末端至口后腕顶端的长度为准)一开始约为 374μ ,最后可增至 488μ 左右。幼虫的体宽(以幼虫腕基部的左右为准)最初为 182μ ,最后可达 211μ 左右。在四腕长腕幼虫期,口后腕的长度大大超过前侧腕,二者的比例约为 2:1。幼虫的胃较大呈圆囊状,其饱满程度可作为鉴别生长发育是否正常的标志。四腕长腕幼虫所经历的时间为 3 天左右。受精后第 5 天在前侧腕和口后腕之间又生出一对后背腕。至此,幼虫已有明显的三对腕,因此可以称为六腕长腕幼虫,此期经历的时间约为 2 天。

(3) 八腕长腕幼虫(Eight-arm pluteus larva) 受精后的第六天,在幼虫前侧针的内侧生出一个呈“U”字形的骨针即口前针,但此时尚未见口前腕生出。至受精后第七天从前侧腕的内侧突出一对口前腕,至此幼虫的四对腕全部形成,幼虫的体长从一开始的 600μ 左右逐渐增至 750μ 左右,其宽度从 325μ 增至约 405μ 。当口前腕生出不久,在接近幼虫腕基部的部分纤毛带成水平方向(以幼虫的主轴为准),突出于身体的表面形成两条半环形的纤毛带,称前肩片(*Anterior epaulettes*),同时在幼虫的后端以同样方式形成两条半环形的纤毛带,称后肩片,其排列方向是在幼虫的左右两侧。八腕长腕幼虫是发育经历时间最长的幼虫期(图 1),大约需要经 13 天才能变态形成幼海胆。

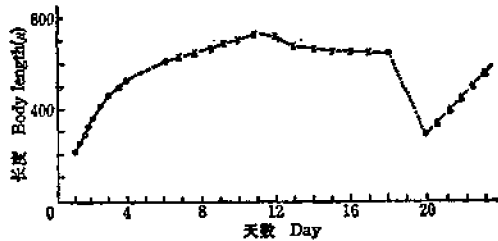


图 1 大连紫海胆幼虫的发育

Fig. 1 Development of larvae of *Strongylocentrotus nudus*

- | | | | |
|-------|------------------------------|-----|--------------------------------|
| ○—○ | 二腕长腕幼虫 Two-arm pluteus larva | ●—● | 四腕长腕幼虫 Four-arm pluteus larva |
| — | 六腕长腕幼虫 Six-arm pluteus larva | x—x | 八腕长腕幼虫 Eight-arm pluteus larva |
| | 变 态 Metamorphosis | ▲—▲ | 幼 海 胆 Young urchin |

4. 幼虫的变态 受精后第十一天左右,幼虫的体长和体宽达最大值,并在幼虫的左侧面出现前庭复合体。在此后的发育过程中体长一般不再增长,相反有逐渐缩短的趋势(图 1),这是因为将来成体各器官结构的发生基本上都是由前庭复合体经过一系列复杂的变化而形成的。由于前庭复合体的逐渐发育长大,挤压了原来的幼虫胃,最后前庭复合体几乎占据了原幼虫胃体积的二分之一左右。前庭复合体的出现是幼虫开始变态的主要标志,在变态过程中,幼虫左侧圆盘状的前庭顶壁间步带区生出许多小棘,同时在幼虫的右侧接近口后腕和后背腕的基部处生出二个棘钳(Pedicellaria),不久在幼虫身体末端的中央又生出一个棘钳,三个棘钳的位置呈三足鼎立。各幼虫腕原先为向前伸出,当口前腕形成后,其它各幼虫腕呈辐射状向外伸展,直至棘钳生出后各幼虫腕又重新向中间靠拢恢复原来的位置。不久管足冲破前庭壁伸出体外。随着一系列成体器官在前庭复合体中

的发生, 约在受精后 17—20 天, 幼虫的身体逐渐向左侧倾倒, 原有的幼虫腕也逐渐消失, 腕的消失过程与马粪海胆的相同^[5]。

据观察, 自管足伸出前庭体壁至变态成幼海胆只需 1—2 天的时间, 刚变态的幼海胆其外形是不规则的, 以后逐渐变成圆形。

5. 幼海胆 变态刚结束的幼海胆直径在 300 μ 左右。此时在反口面有三个呈三足鼎立的棘锚, 并有刚脱落的幼虫腕骨针残留在身体表面。此时体表的棘分为二种, 一种是比较短的棘(长约 130 μ)其顶端分叉(2—4 叉)称幼体棘, 另一种为较长的棘(长约 195 μ), 其顶端不分叉, 称成体棘。在口面变态刚结束的幼海胆有初级管足 5 个。变态后第三天幼海胆的直径可达 490 μ 左右, 此时成体棘很长, 约 260 μ , 而幼体棘的长度与变态刚结束时相比几乎没有增长。幼海胆在生长至 1 毫米左右时, 反口面的五块生殖板和眼板已明显可见。幼海胆经培养 60 天, 最大个体的直径可达 5 毫米。一般个体为 2—3 毫米。

讨 论

1. 试验结果证明马粪海胆人工育苗的方法同样也适用于大连紫海胆的育苗, 特别是幼虫对饵料的适应范围二者是完全一致的, 因此作为一般海产经济动物育苗中所经常采用的一些单胞藻如扁藻(*Platymonas* sp.), 小球藻(*Chlorella* sp.), 三角褐指藻(*Phaeodactylum tricoratum*), 新月菱形藻(*Nitzschia closterium*) 等均不适合作为海胆幼虫的饵料^[5], 如 1985 年 8 月中旬由于气候等原因角毛藻未能大量繁殖, 幼虫饵料缺乏, 在此情况下我们在二个培养池中改喂扁藻, 结果幼虫发育不正常, 不久大量死亡。过去许多学者都认为从受精卵发育至早期四腕长腕幼虫比较容易, 但自四腕长腕幼虫发育成八腕长腕幼虫则比较困难^[1], 我们认为其中的主要原因在饵料, 试验结果证明角毛藻是最合适的饵料之一, 这与 Guillard and Ryther 用 14 种单胞藻在阿巴海胆(*Arbacia punctulata*)幼虫中的实验^[7], 和伊东义信在红海胆, 马粪海胆和紫海胆等幼虫中的实验^[6], 以及作者用 7 种单胞藻在马粪海胆幼虫中所作的实验结果都是基本一致的, 即投喂角毛藻的海胆幼虫发育最快, 变态率最高。

2. 大连紫海胆在发生过程中的特点是, 在原肠刚开始内陷时由初级间叶细胞分泌形成的三射骨针已经形成, 以内陷方式形成的原肠, 形如棒锤, 其深度可达囊胚的全长。在多数海胆类中, 当棱柱幼虫后期口后腕生出时统称早期长腕幼虫。根据大连紫海胆的发育特点, 我们认为这一时期的幼虫称为二腕长腕幼虫比较合适。因为此时幼虫的口叶前端已从原来的弧形变成了平面形, 于是口叶对面的口后腕就显得更为突出。此外在四腕长腕幼虫后接着生出的只有一对后背腕, 而口前腕的生出比其它海胆类为晚。因此, 我们认为应把这一时期的幼虫称为六腕长腕幼虫比较合适。根据发育的先后这四对腕的发生顺序分别是口后腕, 前侧腕, 后背腕, 最迟的是口前腕。

3. 以注射氯化钾来获得海胆成熟的精, 卵是一种简便可靠的方法。在雄性个体, 凡在繁殖季节内经注射后几乎百分之百的能排精, 但雌性个体则不能。根据解剖观察其原因之一是有的个体性腺已不太饱满即已部份排过卵, 也有的性腺饱满未排过卵, 这些个体

可能是由于注射的量不合适。但当注射量过大时可见一些不成熟的卵也随着排出,因此对雌性个体注射氯化钾的量应视个体的大小来决定。

4. 海胆幼虫的变态和沉落需要一定的底质条件,底质上生长细菌和底栖硅藻是促进变态的重要条件^[6]。因此在幼虫变态前投放的附着器材必需预先附有硅藻,但附着的器材以何种材料最为合适还有待进一步研究。

5. 幼虫变态形成幼海胆后,其饵料主要为底栖硅藻。当海胆长大至1毫米左右即可投喂多细胞的大型藻类,据伊东义信报告^[6]以羊栖菜较合适,我们试验的结果,石莼比羊栖菜更适用于幼海胆,同时石莼分布较广,沿海各地均有分布,而羊栖菜在北方的分布则有一定的区域性。

参 考 文 献

- [1] 于豪建译,1982。发育生物学中的形态模式和实验,78—95。人民教育出版社。
- [2] 曲漱惠等,1980。动物胚胎学,151—178。人民教育出版社。
- [3] 张凤淑等,1967。中国的海胆。生物学通报,7:18—24。
- [4] 隋锡林等,1981。大连紫海胆人工育苗初报。水产科技情报,2:4—6。
- [5] 廖承义,1985。马粪海胆人工育苗的初步研究。山东海洋学院学报,15(4):71—81。
- [6] 伊东义信,1982。ウニの种苗生产とその増养殖。养殖,3:44—49。
- [7] Fu-Shiang Chia and Mary E. Rice, 1978. Settlement and metamorphosis of marine invertebrate larva, 219—234. ELSEVIER, NEW YORK
- [8] Gross paul *et al.*, 1972. The sea urchin developmental biology, 224—234. Mss. Information corporation
- [9] Horstadius, S., 1973. Experimental embryology of echinoderms, 134—151. Oxford University press

A PRELIMINARY STUDY ON THE ARTIFICIAL REARING OF THE LARVAE AND JUVENILES OF THE PURPLE SEA URCHIN

Liao Chengyi

(Shandong College of Oceanology)

Qio Tiekai

(Rongcheng Sea Rearing Station of Shandong Province)

ABSTRACT In Rongcheng county, Shandong province, the best time for artificial rearing of larvae and juveniles of the purple sea urchin *Strongylocentrotus nudus* has been found to be from July to August.

The fertilized eggs develop into young urchins for 19—20 days at 23—24°C. The larvae show preference to certain algae for food, among which *Chaetoceros mulleri* is found to be the best in use. And ulva is found to be the best food for young urchins.

The duration of early embryonic development stages is summarized as follows:

Time after fertilization	Developmental stage
1 hr.	2-cell stage
1 hr. 30 min.	4-cell stage
2 hr.	8-cell stage
2 hr. 40 min	16-cell stage
5 hr. 30 min	blastula stage
10 hr.	blastula hatches from egg membrane
15 hr.	gastrula stage
24 hr.	prism larva
30 hr.	two-arm pluteus larva
2d.	four-arm pluteus larva
5 d.	six-arm pluteus larva
7 d.	eight-arm pluteus larva
19—20 d.	metamorphosis into young urchin

KEY WORDS *Strongylocentrotus nudus*, Artificial rearing of the larvae and juveniles, Larva