

广西茅尾海的香港巨牡蛎 (*Crassostrea hongkongensis*) 在不同养殖区的性腺发育变化*

於 锋^{1#} 罗 帮^{2#} 陈雪芬¹ 李琼珍^{2①} 王 嫣^{1①}

(1. 教育部热带生物资源重点实验室 海南大学海洋学院 海口 570228;

2. 广西壮族自治区水产科学研究院 南宁 530021)

摘要 为探究香港巨牡蛎(*Crassostrea hongkongensis*)的繁殖特性以及春季死亡原因,采用肉眼观察、活体镜检和组织切片方法研究了茅尾海沙井的香港巨牡蛎苗种吊养于大风江黄场的 1 龄牡蛎的性腺发育周年变化,并建立了快速判断香港巨牡蛎性腺发育程度的方法。对比分析了吊养在茅尾海沙井、大风江入海口内的黄场和入海口外的鑫丰场的 2 龄牡蛎性腺发育的启动和发展过程。结果显示,广西茅尾海的香港巨牡蛎每年只有 1 个繁殖周期,性腺发育过程可划分为未分化期(1-3 月)、分化期(4 月)、成熟排放期(5-10 月)及休止期(11-12 月) 4 个阶段;1 龄和 2 龄牡蛎的性腺发育基本同步;大风江入海口外的牡蛎的性腺发育较入海口内的牡蛎提前约 15 d,而比茅尾海内海的牡蛎提前约 30 d,入海口外的牡蛎的性腺 4 月即发育到成熟排放期,冬季饵料的丰富程度和温度、盐度等因素可能是造成这种差异的原因。研究还发现,高温少雨天气下,海水盐度高,抑制了牡蛎性细胞的排放,导致入海口外侧吊养牡蛎的大规模死亡,濒临死亡的牡蛎性腺处于退化和崩解状态。鉴于此,认为 4 月初即需密切监测吊养于入海口外的牡蛎性腺的发育状况和天气状况,及时收获性腺饱满的牡蛎,或将吊养牡蛎的蚝排放置在河流入海口内区域过冬。

关键词 香港巨牡蛎; 组织切片; 性腺发育; 盐度; 温度

中图分类号 S917.4 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2016)03-0134-09

香港巨牡蛎(*Crassostrea hongkongensis*)为双壳纲(Bivalvia)、牡蛎科(Ostreidae)软体动物,其软体部为白色,生长迅速,是我国南方重要的养殖种类之一,(王海艳, 2004)¹⁾。香港巨牡蛎曾长期被误认为是“近江牡蛎”(*Crassostrea rivularis*, Gould 1861),其现名由 Lam 等(2003)通过分子系统学和形态学分析重新确定。Wang 等(2004)与王海艳等(2007)利用形态分析和

DNA 证据,证明华南沿海的“白肉蚝”为香港巨牡蛎。

广西钦州的茅尾海牡蛎养殖基地是中国最大的牡蛎天然采苗区,其海域面积合计 2340.1 km²,最高年产苗种约 1000 亿粒(钟方杰, 2013)²⁾。香港巨牡蛎为茅尾海采苗区的优势种,其幼虫和稚贝数量占比超过 97.5%(钟方杰, 2013²⁾; 宋忠魁等, 2010),因其肉质鲜美、营养丰富,形成了特色地标品牌“钦州大蚝”。

* 广西社会公益研究项目(GXIF-2014-005)、现代农业产业技术体系建设专项项目(CARS-48)、国家自然科学基金(31060354)和海南大学研究生优秀学位论文培育计划资助。

共同第一作者; 於 锋, E-mail: 249137506@qq.com; 罗 帮, E-mail: 76959887@qq.com

① 通讯作者: 王 嫣, 教授, E-mail: wy2005@163.com; 李琼珍, 副研究员, E-mail: 310687878@qq.com

收稿日期: 2015-05-13, 收修改稿日期: 2015-06-06

1) 王海艳. 中国近海常见牡蛎分子系统演化和分类的研究. 中国科学院海洋研究所博士研究生学位论文, 2004, 36-38

2) 钟方杰. 广西茅尾海香港巨牡蛎半人工采苗技术研究. 广西大学硕士研究生学位论文, 2013, 1-42

其苗种不仅在广西茅尾海和大风江入海口等处大量养殖,而且输送到广东、福建和海南等地,对南方牡蛎养殖产业有重要贡献(苏天凤, 2006)。尽管每年的5–9月,在茅尾海均可用附苗器采到天然牡蛎幼苗,但附苗的速度和苗种的质量在不同的时间差别很大(钟方杰等, 2014)。2008年前后,茅尾海的香港巨牡蛎自然苗种数量出现骤减,养殖户便从广东珠海引进苗种。随后的两年中,引进的养殖牡蛎也出现大量死亡现象。

为探明香港巨牡蛎的性腺发育规律和繁殖特性,了解野生和幼苗种群的遗传结构及其变迁规律,并掌握不同海区养殖牡蛎的性腺发育速度的差异,本研究将肉眼观察、活体镜检和组织切片技术相结合,对广西主要采苗区和养殖区的香港巨牡蛎的性腺发育周年变化进行研究,同时建立了肉眼快速判断牡蛎性腺发育程度的方法,并对茅尾海沙井和大风江入海口内外吊养的牡蛎性腺发育的启动和发展过程进行比较,以期为香港巨牡蛎的生产实践和资源动态研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

2012年6月从茅尾海沙井采集牡蛎苗种后吊养于大

风江入海口内黄场(HH: N21°39'14.15", E108°52'6.49", 图1)。2013年7月–2014年6月,每月随机取样10个,进行性腺发育观察和组织切片。

2011年8月采自茅尾海沙井的同一批牡蛎苗种,分别吊养于茅尾海沙井(MS: N21°49'57.85", E108°32'41.56")、黄场(HH: N21°39'14.15", E108°52'6.49")和大风江入海口外鑫丰牡蛎养殖场(XF: N21°36'15.83", E108°52'28.14")(图1)。2014年1–6月,每月随机取样10个,进行性腺发育观察和组织切片,比较不同养殖区域间性腺发育差异。

1.2 方法

将牡蛎样品进行标号和测量,测量其壳长、壳宽、壳高,称量壳重、肉重,肉眼观察性腺发育情况,并用数码相机拍照。

去壳,取软体部,用 Bouin's 液固定。从固定的内脏囊后背侧和后腹侧分别切取包括左右外套膜在内的软体部组织块,经系列浓度酒精脱水、石蜡包埋、4–6 μm 切片、HE 染色后,光学显微镜(Leica DMA2500 或 OLYMPUS IX71)观察并拍照。结合肉眼观察和组织切片分析,对牡蛎的性腺周年变化进行分期,统计每月各期性腺所占比例,确定香港巨牡蛎的产卵排精高峰,并对比分析3个不同地区吊养牡蛎性腺发育启动和过程的差异。

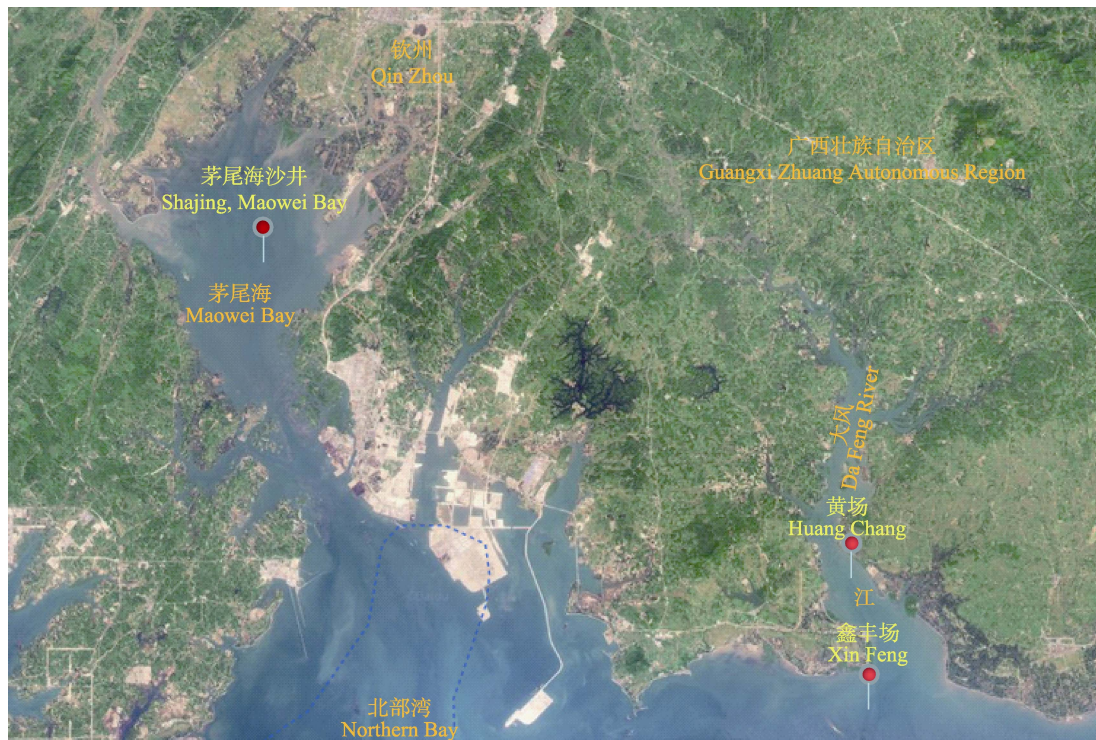


图1 牡蛎样本采集地点

Fig.1 Sampling sites of *Crassostrea hongkongensis*

细胞测量:将牡蛎样品逐个切片,选取所需部位各一张切片,用显微镜附带软件(Leica: LAS V3.7 或 OLYMPUS: Image-Pro Plus 7.0C)在 10×40 放大倍数下随机测量每种细胞 30 个,分别测量单个细胞及其细胞核的长轴和短轴,取其均值进行统计分析。

将盐度(电导率)和温度记录仪(DST-CT, 冰岛 Star-Oddi 公司)放置在茅尾海沙井(MS)水面下 0.5 m 水深,记录 2014 年全年茅尾海海水温度和盐度的变化,将每月数据汇总,取平均值作图。而在大风江黄场则于 2014 年 2-7 月每月测量温度和盐度 2 d,作为参照。

2 结果

2.1 香港巨牡蛎性腺发育分期

2.1.1 未分化期(I) 性腺刚刚开始发育,肉眼隐约可见在内脏团表面有一层很薄的白色半透明的性腺组织,主要分布于消化腺背部两侧。外套膜半透明,深色消化腺清晰可见(图 2-1)。此时用牙签或细镊子取半透明处组织,显微镜下检测不到生殖细胞。切片观察,在外套膜和消化腺之间是一层染色浅淡的结缔组织,其中不均匀地分布有索状和带状的生殖腺滤泡,不能分辨雌雄(图 2-2)。滤泡细胞直径为(6.43±0.94) μm,滤泡细胞核直径为(4.11±0.67) μm(表 1)。

2.1.2 性分化期(II) 性腺不断加厚,区域增大。肉眼观察呈乳白色或淡黄色,并向腹面扩展,覆盖内脏团的 1/3 以上。深色消化腺仅局部隐约可见(图 2-4)。以牙签取少量性腺组织在显微镜下观察,可见呈梨形的卵母细胞。组织切片显示,雌雄性腺分化,滤泡数量增多,体积增大,呈圆形或椭圆形,从性腺外膜向

内伸展,滤泡间结缔组织减少。雌性滤泡内卵原细胞(直径 18.16±4.77 μm,细胞核直径 10.53±3.38 μm)分裂增殖,形成卵母细胞(直径 30.52±8.73 μm,细胞核直径 17.53±5.64 μm),多呈倒梨形,具短柄,附着于滤泡腔壁,细胞质中有稀疏的细小颗粒(图 2-5)。雄性滤泡中体积最大的精原细胞(直径 3.86±0.61 μm)位于滤泡边缘,向内分别是较小的初级精母细胞(直径 2.64±0.24 μm)和精子细胞(直径 2.00±0.13 μm)(图 2-6)。

2.1.3 成熟排放期(III) 性腺进一步发育,乳白色或淡黄色的性腺厚地覆盖了整个内脏团,肥满、具光泽且富有弹性。性腺表面叶脉状生殖导管清晰可见,分支越来越细密和清晰(图 2-7),稍加挤压,精子或卵母细胞可从泄殖孔流出,此时若以毛细管扎入性腺组织,可虹吸出生殖细胞。置海水中于显微镜下可见精子涌动,具很强活力。卵母细胞增大,呈多角形。组织切片观察,可进一步将性腺分为成熟期和排放期。成熟期整个性腺由充满生殖细胞的滤泡组成,滤泡充盈饱满相互挤压呈不规则多角形。卵母细胞发育基本同步(直径 33.35±9.72 μm,细胞核直径 19.61±4.37 μm)。雌性滤泡中,卵母细胞进一步发育,卵柄断裂,卵母细胞进入滤泡腔内,胚泡消失,启动减数分裂 I(Kennedy *et al*, 1964)。此时卵黄颗粒变大增多,聚集呈泡沫状(图 2-8),雄性滤泡精原细胞(直径 4.14±0.74 μm)和精母细胞(直径 2.92±0.46 μm)层变薄,界限变模糊。滤泡内充满成熟精子,精子(直径 1.55±0.12 μm)聚集成束,沿排出通道密集排列(图 2-9)。排放期由于成熟滤泡中卵母细胞或精子的排放,部分滤泡腔出现大小不等的空腔。雌性滤泡明显缩

表 1 牡蛎各时期细胞及细胞核平均直径

Tab.1 Average diameter of cells and nucleus of *C. hongkongensis* at different stage (μm)

细胞类型 Cell types	未分化期 I Indifferent stage	性分化期 II Sexual differentiation stage	成熟排放期 III Mature and spawn stage	休止期 IV Resting stage
滤泡细胞 Follicular cell	6.43±0.94 ^a	—	—	4.74±1.59 ^b
滤泡细胞核 Nuclear of follicular cell	4.11±0.67 ^a	—	—	2.77±0.84 ^b
卵原细胞 Oogonium	—	18.16±4.77	19.61±8.18	—
卵原细胞核 Nuclear of oogonium	—	10.53±3.38	10.01±2.70	—
初级卵母细胞 Primary oocyte	—	30.52±8.73	33.35±9.72	—
初级卵母细胞核 Nuclear of primary oocyte	—	17.53±5.64	19.61±4.37	—
精原细胞 Spermatogonium	—	3.86±0.61	4.14±0.74	—
初级精母细胞 Primary spermatocyte	—	2.64±0.24	2.92±0.46	—
精子细胞 Spermatid	—	2.00±0.13	2.17±0.70	—
精子 Sperm	—	—	1.55±0.12	1.53±0.12

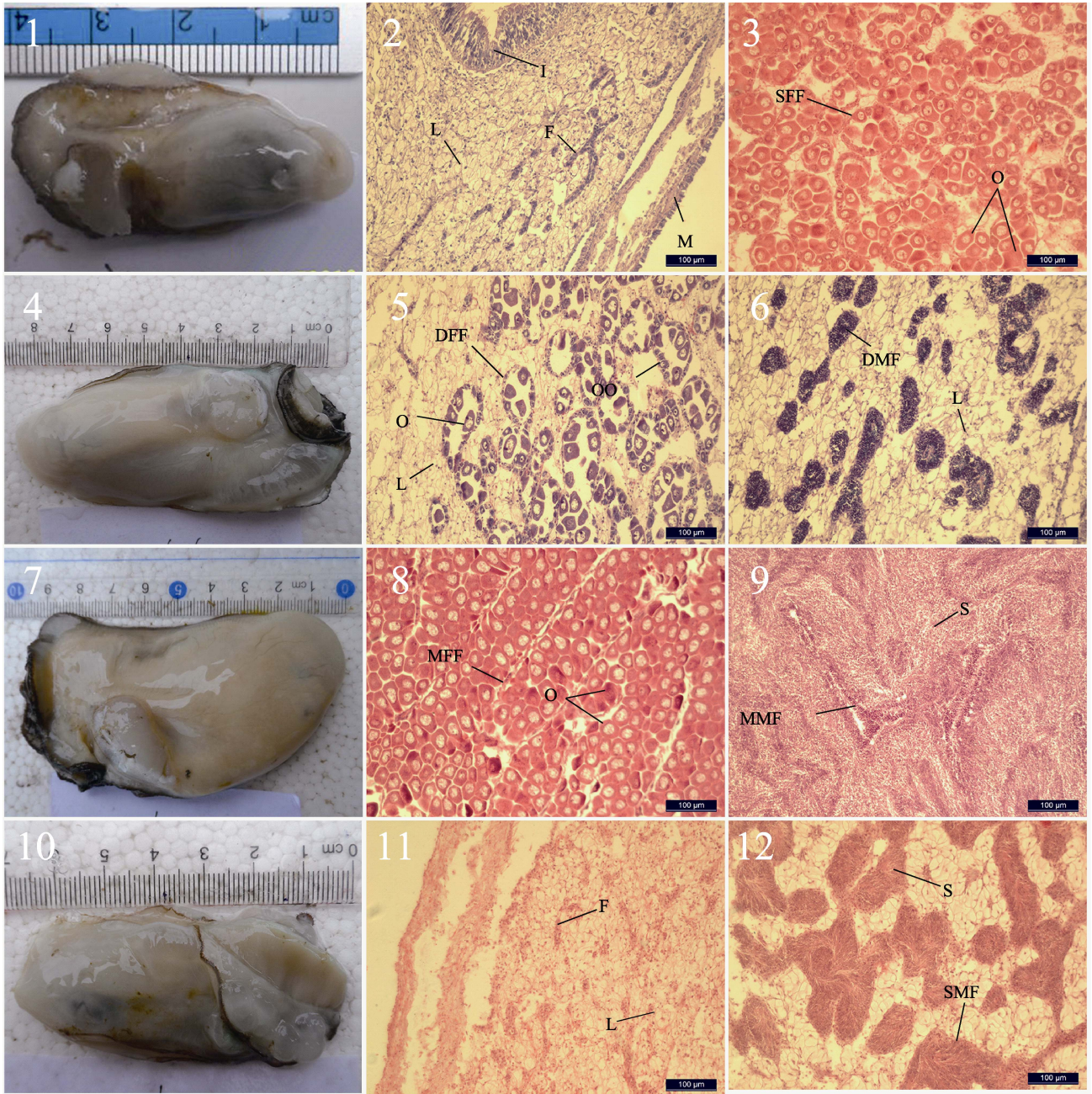


图 2 牡蛎性腺的周年变化

Fig.2 Annual changes of the gonads of *C. hongkongensis*

性腺外观: 1. 未分化期; 4. 性分化期; 7. 成熟排放期; 10. 休止期

性腺组织切片: 2. 未分化期; 5. 性分化期卵巢; 6. 性分化期精巢; 8. 成熟卵巢; 9. 成熟精巢;

3. 排放中的卵巢; 12. 排放中的精巢; 11. 休止期

DFF: 发育中的雌性滤泡; DMF: 发育中的雄性滤泡; F: 滤泡; I: 肠道; L: 间质组织; M: 外套膜; MFF: 成熟雌性滤泡;

MMF: 成熟雄性滤泡; O: 初级卵母细胞; S: 精子; SFF: 排放时的雌性滤泡; SMF: 排放时的雄性滤泡

Gonad appearance: 1. undifferentiated stage; 4. differentiation stage; 7. mature and discharging stage; 10. resting stage

Gonad histological section: 2. undifferentiated stage; 5. female follicle in differentiation stage; 6. male follicle;

8. mature female follicle; 9. mature male follicle; 3. spawning female follicle; 12. spawning male follicle;

11. resting stage

DFF: developing female follicle; DMF: developing male follicle; F: follicle; I: intestine; L: leydig tissue;

M: mantle; MFF: mature female follicle; MMF: mature male follicle; O: primary oocyte; S: sperm;

SFF: spawning female follicle; SMF: spawning male follicle;

小,滤泡间结缔组织增多,卵原细胞(直径 $19.61 \pm 8.18 \mu\text{m}$, 细胞核直径 $10.01 \pm 2.70 \mu\text{m}$)明显,可见少量初级卵母细胞(图 2-3)。排放的雄性滤泡中排出通道清晰可见,周围仍有稀疏的精子(图 2-12)。

2.1.4 休止期Ⅳ 性腺萎缩直至消失,软体部表面透明,呈水泡状,内脏团十分明显(图 2-10)。以牙签取性腺部组织在显微镜下看不到生殖细胞。组织切片显示,滤泡萎缩退化,壁变薄,形状不规则。个别滤泡内可观察到极少量的性细胞。血淋巴组织入侵滤泡,滤泡间被结缔组织填充。滤泡细胞(直径 $4.74 \pm 1.59 \mu\text{m}$, 细胞核直径 $2.77 \pm 0.84 \mu\text{m}$),显著小于未分化期滤泡细胞($P < 0.05$) (图 2-11)。

2.2 生殖周期

香港巨牡蛎性腺发育各时期所占比例见图 3。1-3 月,香港巨牡蛎的性腺处于未分化期,性别无法分辨。3 月底-4 月中为性分化期,此时雌雄性腺可辨。4 月下旬-5 月,性腺迅速成熟,进入成熟排放期,这一阶段可一直持续至 10 月。11-12 月,牡蛎生殖腺萎缩至消失,进入休止期。

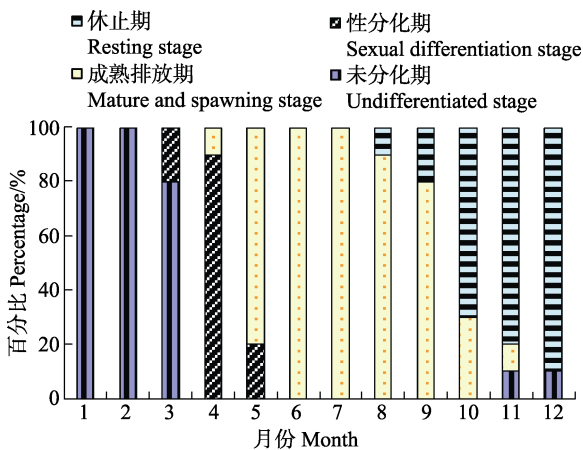


图 3 2013 年 7 月-2014 年 6 月大风江黄场牡蛎不同性腺发育时期的百分比

Fig.3 Percentage of different developmental stages of *C. hongkongensis* in the Huang hatchery of Dafeng River from July 2013 to June 2014

2013 年 7 月-2014 年 6 月,周年性腺的切片观察显示,香港巨牡蛎每年有 1 个生殖周期,繁殖期为 5-10 月。在 1 个生殖周期中,1 龄、2 龄牡蛎的性腺发育基本同步,雄性发育略快。在实际观察中,牡蛎个体在繁殖季节可多次产卵排精,部分排放期的牡蛎性腺为半透明,呈分散和松软状态,与性分化期的性腺透明度低、结构紧实不同。从排放至性腺再次充盈,间隔时间短,仅需 7 d 左右。

2.3 不同地点香港巨牡蛎性腺发育的差异

香港巨牡蛎的主要育苗区是茅尾海沙井(MS),该处周年温度盐度变化趋势都有连续的监控(图 4、图 5)。茅尾海为钦州内海,面积约 135 km^2 ,东西径最长(15 km),南北径最长(17 km),距北部湾的连通峡口仅 5 km,且其外分布多个岛屿,影响内外海水的交换。其东、北和西面分别由两条钦江支流和茅岭江注入。因此,其盐度取决于涨潮时海水的涌入和钦江注入的淡水量,其周年盐度变化幅度为 0-24,变化剧烈。黄场(HH)位于大风江入海口上游,周年盐度比较平稳(10-14),只在 4 月高温少雨季节,盐度有时会增加到 20。性腺组织切片显示(图 6),大风江入海口外的 XF 牡蛎性腺发育比入海口内 HH 和茅尾海内海 MS 提前。XF 牡蛎性腺发育比 MS 的提前 30 d 左右,而 HH 比 MS 提前 15 d 左右。

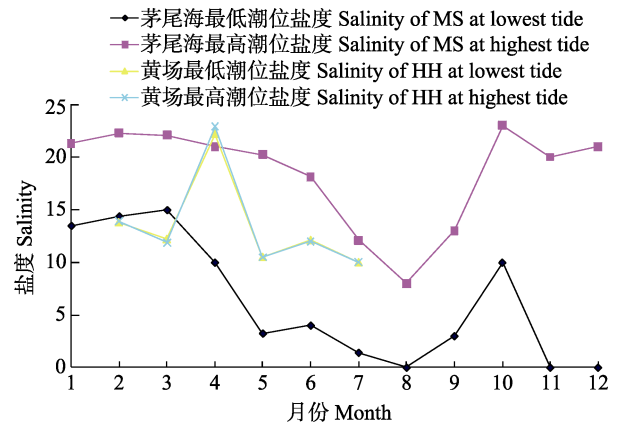


图 4 2013-2014 年茅尾海沙井与大风江黄场盐度变化趋势

Fig.4 Variation of salinity in the Shajing of Maowei Bay and Huang hatchery of Dafeng River during 2013-2014

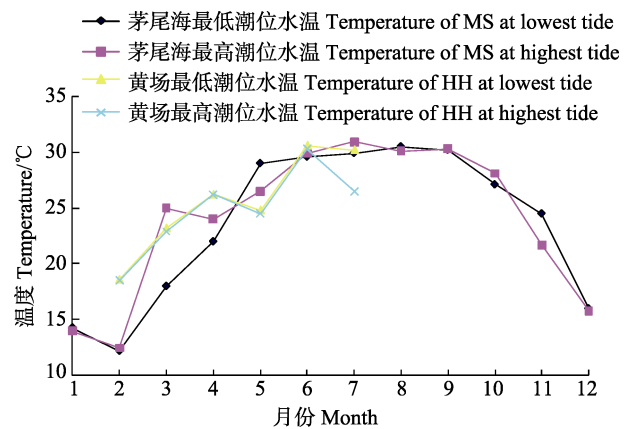


图 5 2013-2014 年广西茅尾海沙井与大风江黄场温度变化趋势

Fig.5 Variation of temperature in the Shajing of Maowei Bay and Huang hatchery of Dafeng River during 2013-2014

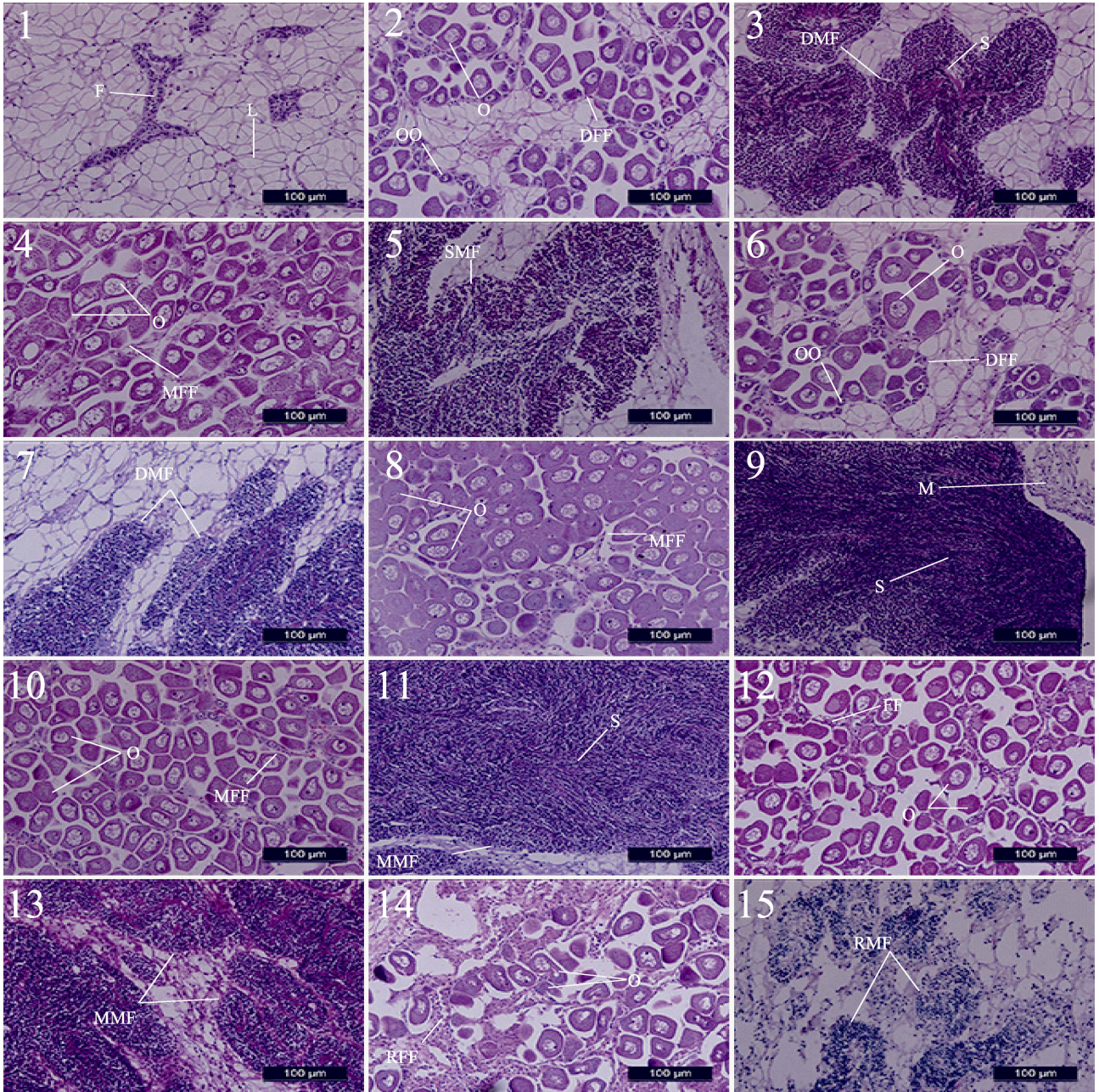


图 6 不同吊养地点牡蛎性腺组织切片示性腺发育的差异

Fig.6 Histological section of gonad of *C. hongkongensis* from different locations, showing the different developmental stages

MS: 1. 4月未分化期; 2. 5月卵巢; 3. 5月精巢; 4. 6月卵巢; 5. 6月精巢

HH: 6. 4月卵巢; 7. 4月精巢; 8. 5月卵巢; 9. 5月精巢; 10. 6月卵巢; 11. 6月精巢

XF: 12. 4月卵巢; 13. 4月精巢; 14. 5月卵巢; 15. 5月精巢

DFF: 发育中的雌性滤泡; DMF: 发育中的雄性滤泡; F: 滤泡; L: 间质组织; M: 外套膜; MFF: 成熟雌性滤泡;

MMF: 成熟雄性滤泡; O: 初级卵母细胞; OO: 卵原细胞; RFF: 退化的雌性滤泡; RMF: 退化的雄性滤泡;

S: 精子; SFF: 排放时的雌性滤泡; SMF: 排放时的雄性滤泡

MS: 1. gonads in April; 2. female follicle in May; 3. male follicle in May; 4. female follicle in June; 5. male follicle in June

HH: 6. female follicle in April; 7. male follicle in April; 8. female follicle in May; 9. male follicle in May;

10. female follicle in June; 11. male follicle in June

XF: 12. female follicle in April; 13. male follicle in April; 14. female follicle in May; 15. male follicle in May

DFF: developing female follicle; DMF: developing male follicle; F: follicle; L: leydig tissue; M: mantle; MFF: mature female follicle; MMF: mature male follicle; O: primary oocyte; OO: oogonium; RFF: regressive female follicle; RMF: regressive male follicle; S: sperm; SFF: spawning female follicle; SMF: spawning male follicle

2.3.1 茅尾海内海 MS 与大风江入海口内侧 HH 香港巨牡蛎的性腺发育比较 MS 牡蛎性腺至 4 月仍处于未分化期, 性腺难分雌雄(图 6-1), 而 HH 牡蛎性腺 1-3 月为未分化期, 4 月进入性分化期, 雌雄滤泡发育并逐渐延展(图 6-6、7), 因此, HH 牡蛎性腺发育比 MS 提前 15 d 左右。5 月 MS 牡蛎雌雄性腺迅速发育, 接近或达到成熟期。雌性滤泡成熟, 卵母细胞与卵原细胞或未成熟卵母细胞并存(图 6-2), 而雄性滤泡之间结缔组织明显, 滤泡内成熟的精子清晰可见(图 6-3), HH 牡蛎雌性滤泡内可见大量饱满的初级卵母细胞(图 6-8), 雄性滤泡中充满成熟精子(图 6-9)。6 月, MS 牡蛎卵巢饱满, 雌性滤泡中充满成熟的卵母细胞(图 6-4), 精巢中饱满与排空的雄性滤泡共存, 后者只剩下精原和精母细胞层, 中央有少量间质细胞(图 6-5), 而 HH 牡蛎性腺同样处于成熟排放期, 雌雄滤泡中充塞着成熟的卵母细胞(图 6-10)和成熟精子(图 6-11), 雄性滤泡界限模糊, 精原和精母细胞层薄。

2.3.2 大风江入海口外 XF 香港巨牡蛎的性腺发育特点 虽然 XF 牡蛎的性腺在 1-3 月取样时均处于未分化期, 但 4 月迅速发育至成熟排放期。雌、雄性腺的滤泡饱满(图 6-12、13), 有的雄性滤泡边缘精原细胞和精母细胞层不明显, 整个滤泡充满精子细胞和精子, 显示出精子排放受抑制现象(图 6-13)。5 月, 雌雄性腺出现不同程度的退化和崩解: 卵巢局部滤泡中有大量体小、核圆且染色深的细胞入侵, 类似正常性腺排放期后入侵雌性滤泡的血细胞(Kennedy *et al.*, 1996)。同时可见卵母细胞变形、融解, 细胞核膜皱缩、塌陷(图 6-14)。精巢中, 原来椭圆形切面的雄性滤泡结构不完整, 间质细胞增生, 与精子细胞和精子间杂排列(图 6-15), 呈现异常排放状态。由于 2014 年 5 月起, XF 牡蛎大量死亡, 导致 6 月样本缺失。而 6 月 XF 的其他存活牡蛎, 被检者均为雌性。

2.3.3 温度与香港巨牡蛎性腺发育的关系 就 HH 性腺发育的周年变化而言, 牡蛎性腺发育的启动与水温的升高关系密切。1-3 月平均水温低于 23℃(图 5), 但处于快速回升阶段, 牡蛎性腺处于未分化期。随着 4-5 月水温持续升至 25℃以上, 牡蛎性腺开始分化并迅速发育至成熟排放期。同样, 1-4 月茅尾海平均水温持续升高, 但低于 25℃(图 5), MS 牡蛎性腺处于未分化期。至 5 月平均水温快速升至 27.5℃, MS 的牡蛎性腺发育也快速接近或达到成熟期。因此, 平均水温达到 25℃是牡蛎性腺发育启动和快速进入成熟

期的标志性环境因子。从图 5 可见, 大风江 HH 虽然因温度监测密度低而呈现出较大的波动幅度, 但变化趋势与茅尾海相同。平均水温在 6-9 月维持在 30℃高位, 之后开始下降, 至 10 月中旬降至 27.5℃, 之后进入 11 月即降至 25℃以下。香港巨牡蛎性腺的排放期持续至 10 月, 11 月后进入休止期。因此, 推测其性腺进入和维持成熟排放期的环境温度在 25℃以上。

3 讨论

3.1 香港巨牡蛎性腺发育的特点及其对群体遗传结构的影响

根据牡蛎性腺在繁殖季节成熟与排放期相重叠而呈多次排放的特点, 从肉眼可快速准确观察判断的角度出发, 将香港巨牡蛎性腺发育分为 4 个时期, 这与其他双壳贝类如近江牡蛎(*Crassostrea ariakensis*) (杜玄, 2009)¹⁾、菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*) (李霞等, 2007)、文蛤(*Meretrix meretrix*) (林志华等, 2004)、日月贝(*Amusium laurenti*) (Penchaszadeh *et al.*, 2000) 等基于组织切片观察, 将性腺发育划分为增殖期、生长期、成熟期、排放期和休止期 5 个时期略有不同。本研究主要是着眼于在生产现场快速准确判读牡蛎的性腺发育状况为目的, 便于采苗和收贝。

在实际观察中, 进入繁殖季节的牡蛎个体性腺发育的速度极快, 从开始性分化到进入成熟排放期的过程不足 30 d, 性分化期很短。同时, 性腺排放高峰至性腺再次饱满的时间间隔也很短, 可能只需 7 d。这一特性一方面显示牡蛎极强的繁殖力, 另一方面会使更多参与繁殖的牡蛎个体在变化的环境条件中, 以多次机会使自己的后代得以存活。因此, 对整个茅尾海区来说, 这一特性将增加牡蛎有效群体的大小(Li *et al.*, 1998; He *et al.*, 2012), 增强牡蛎群体遗传结构随时间的稳定性(Hedgecock *et al.*, 2011)。

3.2 影响香港巨牡蛎性腺发育的主要因素

香港巨牡蛎性腺的发育与海水温度有密切关系。虽然限于设备原因, 大风江 HH 和 XF 尚缺少连续的海水温度监测数据, 但周期性的测量数据显示 HH 与 MS 温度变化趋势一致。因此, 推断平均水温 25℃是牡蛎性腺保持活跃的成熟排放期的温度下限。这与许多研究(毕庶万等, 1996; 廖承义等, 1983; 曾志南等, 1991)证实海洋双壳贝类栖息环境的水温波动与它们

1) 杜玄. 福建沿海巨蚌属牡蛎的主要种类及其分布和近江牡蛎性腺发育的研究. 国家海洋局第三海洋研究所硕士研究生学位论文, 2009, 36-43

的性腺发育有密切的关系相一致。而 HH 与 XF 分别位于大风江入海口的内外, 相距不过 5 km, 推测两地海水温度差异很小, XF 的盐度或高于 HH 且相对稳定。但 XF 牡蛎性腺发育明显早于 HH, 说明影响香港巨牡蛎性腺发育的因素不仅是温度。

钦州地区通常 4 月高温少雨, 进入 5 月后降雨增加, 海水盐度降低, 并持续至 8 月, 9 月后降水逐渐减少, 这也体现在茅尾海沙井周年最低潮位海水盐度变化趋势上。5 月海水的平均盐度迅速降低, 诱发性腺成熟牡蛎的第一波排放高峰。这与钟方杰(2013)¹⁾通过检测茅尾海牡蛎幼虫密度所得到的结论基本一致。因此, 6 月初适宜投放采苗器。

事实上, 牡蛎性腺的发育除与海水温度、盐度密切相关外, 还受饵料、水环境和亲本密度等多重因子的综合影响(王如才等, 2008)。大风江入海口外的 XF 牡蛎性腺的发育早于茅尾海内海 MS 约 30 d, 早于大风江入海口内 HH 约 15 d。由于三地邻近, 平均水温的差异非常小, 不宜简单地以有效积温来解释(周玮, 1991)。XF 地处入海口, 冬季海水搅动剧烈, 营养盐丰富, 浮游生物相对较多。XF 牡蛎性腺发育的提前, 应与其摄食饵料更充足有关。因此, 相较于茅尾海内海和大风江入海口内, 鑫丰场更适宜于吊养牡蛎过冬。

3.3 入海口外侧养殖区牡蛎春季的死亡

2014 年 5 月, 香港巨牡蛎在北部湾近海、江河入海口外侧养殖区, 包括鑫丰场, 吊养的牡蛎开始出现大量死亡(近 60%的死亡率), 而这种发生在江河入海口外侧养殖区春季牡蛎大批死亡的现象, 过去也时有发生, 却少有研究。2014 年 XF 牡蛎性腺发育快, 4 月已进入成熟排放期, 而此时, 恰逢钦州高温少雨, 大风江入海口区盐度居高不下(高达 23)。降雨的缺乏使香港巨牡蛎精卵的排放受到抑制, 进而性腺出现过熟和退化形变, 这可能是造成该养殖区牡蛎大量死亡的主要原因。检测 6 月鑫丰场存活牡蛎, 发现几乎全为雌性。这可能与两方面因素有关, 一是繁殖盛期, 牡蛎雄性性腺逆转为雌性, 群体中雌性比例远高于雄性(李霞, 2005); 另一方面, 可能与雄性性腺的发育略提前于雌性而遭遇的性腺过熟压力更大有关。海洋双壳贝类中雄性性腺先成熟比较普遍(王子臣等, 1984; 尤仲杰等, 1991; 吴洪流等, 2002), 在性腺组织切片观察中, 发现雄性性腺退化和崩解状态确实比雌性性腺更严重。因此, 入海口外侧养殖区虽然适宜于牡蛎吊养过冬, 但在春天, 却需要密切监测牡蛎性腺的发育和海水盐度的变化, 一旦性腺进入成熟期, 则需及时

收获和卖出牡蛎, 以获得较高的经济效益。若春季没有收获, 则需将吊养牡蛎的蚝排移往河流入海口内过冬, 以避免牡蛎性腺在少雨的春季成熟, 排放受到抑制而大规模死亡所造成的经济损失。

参 考 文 献

- 王子臣, 刘吉明, 朱岸, 等. 鸭绿江口中国蛤蚧生物学初步研究. 水产学报, 1984, 8(1): 33-44
- 王如才, 王昭萍. 海水贝类养殖学. 青岛: 中国海洋大学出版社, 2008, 91
- 王海艳, 郭希明, 刘晓, 等. 中国近海“近江牡蛎”的分类和订名. 海洋科学, 2007, 31(9): 85-86
- 尤仲杰, 王一农, 叶雄会, 等. 等边浅蛤 *Gomphina veneriformis* 的繁殖周期. 台湾海峡, 1991, 10(4): 356-362
- 毕庶万, 徐宗发. 海湾扇贝控温育苗采卵时间的预报方法. 海洋与湖沼, 1996, 27(1): 93-97
- 苏天凤. 华南沿海养殖近江牡蛎的分类研究. 南方水产, 2006, 2(6): 72-75
- 李霞. 水产动物组织胚胎学. 北京: 中国农业出版社, 2005, 262-268
- 李霞, 梁峻, 闫喜武, 等. 人工控温促熟条件下不同海域菲律宾蛤仔的性腺发育. 水产学报, 2007, 31(6): 853-859
- 吴洪流, 王红勇, 王珺. 波纹巴非蛤性腺发育分期的研究. 海南大学学报(自然科学版), 2002, 20(1): 41-47
- 宋志魁, 蔡小辉, 童童, 等. 广西茅尾海常见牡蛎的分子鉴定. 海洋科学, 2010, 34(8): 11-16
- 林志华, 单乐州, 柴雪良, 等. 文蛤的性腺发育和生殖周期. 水产学报, 2004, 28(5): 510-514.
- 周玮. 海湾扇贝性腺发育的生物学零度. 水产学报, 1991, 15(1): 82-84
- 钟方杰, 严雪瑜, 高扬, 等. 广西茅尾海牡蛎天然种苗种类鉴定和群体组成的初步分析. 海洋科学, 2014, 38(3): 91-97
- 曾志南, 李复雪. 青蛤的繁殖周期. 热带海洋学报, 1991, 10(1): 86-91
- 廖承义, 徐应馥, 王远隆. 栉孔扇贝的生殖周期. 水产学报, 1983, 7(1): 1-13
- He Y, Ford SE, Bushek D, et al. Effective population sizes of eastern oyster *Crassostrea virginica* (Gmelin) populations in Delaware Bay, USA. J Mar Res, 2012, 70(2-3): 357-379
- Hedgecock D, Pudovkin AI. Sweepstakes reproductive success in highly fecund marine fish and shellfish: a review and commentary. Bull Mar Sci, 2011, 87(4): 971-1002
- Kennedy AV, Battle HI. Cycle changes in the gonad of the American oyster, *Crassostrea virginica* (Gmelin). Can J Zool, 1964, 42(2): 305-321
- Kennedy VS, Newell RIE, Eble AE. The Eastern Oyster *Crassostrea virginica*. Maryland Sea Grant College, 1996, 335-364

1) 钟方杰. 广西茅尾海香港巨牡蛎半人工采苗技术研究. 广西大学硕士研究生学位论文, 2013, 1-42

- Lam K, Morton B. Mitochondrial DNA and morphological identification of a new species of *Crassostrea* (Bivalvia: Ostreidae) cultured for centuries in the Pearl River Delta, Hong Kong, China. *Aquaculture*, 2003, 228(1): 1–13
- Li G, Hedgecock D. Genetic heterogeneity, detected by PCR-SSCP, among samples of larval Pacific oysters (*Crassostrea gigas*) supports the hypothesis of large variance in reproductive success. *Can J Fish Aquat Sci*, 1998, 55(4): 1025–1033
- Penchaszadeh PE, Paredes C, Salaya JJ. Reproductive cycle of the south American scallop *Amusium laurenti* (Gmelin, 1791) (Bivalvia, Pectinidae). *Aquacult Int*, 2000, 8(2–3): 227–235
- Wang HY, Guo XM, Zhang GF, *et al.* Classification of Jinjiang oysters *Crassostrea rivularis* (Gould, 1861) from China, based on morphology and phylogenetic analysis. *Aquaculture*, 2004, 242(1): 137–155

(编辑 冯小花)

Gonad Development of Oyster (*Crassostrea hongkongensis*) at Different Cultural Sites in Maowei Bay, Guangxi, China

YU Feng^{1#}, LUO Bang^{2#}, CHEN Xuefen¹, LI Qiongzen^{2①}, WANG Yan^{1①}

(1. Key Laboratory of Tropical Biological Resources of Ministry of Education, Ocean College, Hainan University, Haikou 570228; 2. Guangxi Academy of Fishery Sciences, Nanning 530021)

Abstract The oyster *Crassostrea hongkongensis* is the main aquaculture species along south China coast and has an important economic value. The Maowei Bay adjacent to Qinzhou of Guangxi Province has been the largest natural oyster seed field, and oysters originating from this area are named after the place (Qinzhou oyster). The estuary of the Dafeng River is a major aquaculture site for Qinzhou oyster in Guangxi Province. Due to the promotion of the deepwater-raft-hanging-culture mode, massive death of oysters has occurred frequently in spring since 2008 and resulted in the rapid drop in the amount of oyster seeds in the Maowei Bay. In this study we explored the reproductive cycle of oyster gonad development and investigated the causes of the massive death, using one-year old oysters from the estuary of Dafeng River (HH, whose larva came from the Maowei Bay). We developed a method for rapid identifying the developmental stage of oyster gonad with the combination of naked-eye observation, biopsy and histological analysis. We also compared the gonad development of two-year old oysters from inside (HH) and outside (XF) of the estuary of the Dafeng River and from the Maowei Bay (MS). We found that Qinzhou oysters had only one breeding cycle each year which can be divided into 4 gonad developmental stages: the undifferentiated stage from January to March, the differentiation stage in April when the gender became distinguishable, the mature and discharging stage from May to October when the oysters spawned repeatedly, and the resting stage from November to December during which the gonads atrophied and disappeared. Gonad development of XF oysters started half a month earlier than HH oysters and one month earlier than MS oysters. In 2014 it was observed that the gonad of XF oysters developed into mature stage in April. The variation might be caused by differences in temperature, salinity and food abundance. Moreover, in overly hot and dry weather the gonad discharge was inhibited probably by high salinity, which may explain the massive death in the high salinity area. Therefore, we recommend close monitoring on the gonad development and seawater salinity in spring. The oysters should be harvested or transported to the inner estuary immediately after they mature, so as to avoid the massive death caused by scarce rainfall.

Key words *Crassostrea hongkongensis*; Histological study; Gonad development; Salinity; Temperature

① Corresponding author: WANG Yan, E-mail: wy2005@163.com; LI Qiongzen, E-mail: 310687878@qq.com