

# 莱州湾海域小刀蛭(*Cultellus attenuatus*) 繁殖生物学研究\*

姜 绪<sup>1</sup> 韦秀梅<sup>1</sup> 冯艳微<sup>1</sup> 韩慧宗<sup>1</sup> 王 圣<sup>1</sup>  
刘相全<sup>1①</sup> 童 潼<sup>2</sup>

(1. 山东省海洋资源与环境研究院 山东省海洋生态修复重点实验室 烟台 264006;  
2. 广西壮族自治区海洋研究所 广西海洋生物技术重点实验室 北海 536000)

**摘要** 2013年4月–2014年3月, 采用组织学和实验生态学方法研究了山东莱州湾海域小刀蛭(*Cultellus attenuatus*)的性腺发育、生殖周期、胚胎及幼虫发育。结果显示, 在繁殖季节, 小刀蛭性别可通过性腺颜色区分, 雌性为白色, 雄性为黄色; 1个生殖周期为1年, 性腺发育经历增殖期、生长期、成熟期、排放期和休止期5个阶段; 莱州湾繁殖期为6月中旬–7月上旬。小刀蛭受精卵卵径为50–55 μm, 在水温26℃、盐度28的条件下, 经24 h发育至D形幼虫, 10 d后幼虫发育变态为稚贝。对莱州湾小刀蛭繁殖生物学的研究, 可为该海域小刀蛭的人工育苗和增养殖提供科学依据。

**关键词** 小刀蛭; 繁殖生物学; 性腺发育; 胚胎及幼虫发育

**中图分类号** S968.3 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2017)06-0107-05

小刀蛭(*Cultellus attenuatus*)隶属软体动物门(Mollusca)、双壳纲(Bivalvia)、帘蛤目(Veneroidea)、刀蛭科(Cultellidae)(徐凤山, 1997), 生活在数米至数十米水深的浅海中, 其底质一般为泥或泥沙, 在我国南北海区均有分布(高爱根等, 2005a、b; 吴斌等, 2014)。小刀蛭因其味道鲜美且营养价值高, 受到消费者的青睐, 具有较高的经济价值。

近年来, 受近海人类活动增加、捕捞强度过大及海洋环境恶化等因素的影响, 小刀蛭野生资源锐减且规格降低, 为有效保护小刀蛭资源, 同时满足市场消费需要, 开展其人工育苗工作势在必行。目前, 国内外已有小刀蛭相关报道, 如徐加涛等(2013)报道了小刀蛭的营养学价值; 曾国权等(2010)分析了小刀蛭群

体内同工酶的遗传变异; 陈丽梅等(2005)、孟学平等(2008)对小刀蛭部分 DNA 序列进行了分析; 王亚(2012)<sup>1</sup>对舟山地区小刀蛭的性腺、胚胎及幼体发育进行了研究。但关于我国北方地区小刀蛭的繁殖习性尚未见报道。本研究对我国北方莱州湾海域小刀蛭的性腺发育规律以及胚胎幼虫的发育过程进行了研究, 以期为我国小刀蛭的人工育苗提供科学依据。

## 1 材料与方法

实验用小刀蛭于2013年4月–2014年3月在山东莱州湾海域采集。

性腺发育观察: 实验期间, 每月采集1次样品, 而在5、6、7月每10 d采样1次。每次采集的样品

\* 山东省属科研单位专项经费项目“小刀蛭苗种规模化培育技术研究”鲁财教指[2013]96号和广西海洋生物技术重点实验室开放基金课题(GLMBT-201504)共同资助 [This work was supported by Large-Scale Rearing Techniques of *Cultellus attenuatus* breeding, and Open Research Fund Program of Guangxi Key Laboratory of Marine Biotechnology (GLMBT-201504)].  
姜 绪, E-mail: jiangjili01@163.com

① 通讯作者: 刘相全, 副研究员, E-mail: lxq6808@163.com

收稿日期: 2016-09-20, 收修改稿日期: 2016-10-26

1) Wang Y. Studies on development of gonads, embryos and youngs of *Phaxas attenuatus* (Bivalvia, Mollusca). Master's Thesis of Ningbo University, 2012 [王亚. 小刀蛭性腺、胚胎及幼体发育研究. 宁波大学硕士研究生学位论文, 2012]

取 10 只进行解剖, 观察小刀蛭性腺发育情况; 另取 10 只样品分离其生殖腺, 波恩试液固定, 石蜡包埋, 切片厚度约为 6  $\mu\text{m}$ , 经苏木精-伊红染色, 显微镜下观察并拍照。

胚胎及幼虫发育观察: 6 月初, 筛选个体完整、外壳无破损的健康小刀蛭个体作为亲本, 放入车间内暂养, 暂养期间投喂小球藻 (*Chlorella* sp.) 和金藻 (*Chrysophyta*), 选取海泥为底质, 后采用阴干、流水和升温相结合的方式刺激亲蛭产卵。产卵后, 取样品连续观察, 记录小刀蛭胚胎及幼虫发育过程。

## 2 结果

### 2.1 小刀蛭宏观性腺发育分期

经解剖发现, 小刀蛭为雌雄异体, 性腺由滤泡、生殖管和生殖输送管三部分构成。同时, 经观察性腺颜色、形状及内脏团覆盖率等, 将小刀蛭性腺发育分为增殖期、生长期、成熟期、排放期和休止期。

增殖期: 从外观上无法分辨雌雄, 解剖后观察发现, 内脏团表面有一层很薄的性腺。

生长期: 可从外观上分辨雌雄, 雌性性腺呈白色, 雄性性腺则呈黄色, 絮状物包围内脏团, 并向足部延伸生长。

成熟期: 性腺丰满, 覆盖内脏团, 足内部厚度增加, 性腺颜色已清晰可见。

排放期: 性腺发育至全年最丰满时期, 排放前, 絮状物质延伸到足基部, 解剖后有大量白色(雌性)或黄色(雄性)液体流出; 排放后, 足部呈透明状, 无法分辨雌雄。

休止期: 个体消瘦, 已无法观察到絮状物质, 足部呈透明状, 无法分辨雌雄。

### 2.2 小刀蛭性腺组织学发育分期

增殖期: 小刀蛭雌雄分化开始, 滤泡开始形成, 呈狭长带状、椭圆状等不规则状, 滤泡体积较小, 滤泡间存在结缔组织。配子刚开始发育, 其中, 雌性滤泡壁上出现卵原细胞, 雄性滤泡壁上出现精原细胞, 并逐渐有精母细胞形成(图 1-a 和图 2-a)。本阶段发育时间为 3 月。

生长期: 滤泡间结缔组织逐渐减小, 滤泡数量增加, 体积增大。雌性滤泡腔内卵原细胞逐渐分化, 未成熟卵子形状不规则, 具有卵柄, 并向滤泡腔中央延伸, 已有少量脱离滤泡腔壁, 成熟卵子出现; 雄性滤泡腔内, 精原细胞不断分化, 腔内精原细胞至精子各阶段形态均能观察到, 出现少量成熟精子(图 1-b 和图 2-b)。本阶段发育时间为 4 月。

成熟期: 滤泡间的空隙基本消失, 且滤泡发育至最饱满的时期。雌性滤泡腔内充盈大量成熟卵子, 相互挤压, 卵子呈现出多种形状; 雄性滤泡腔被大量成熟的精母细胞和精子充满(图 1-c 和图 2-c)。本阶段发

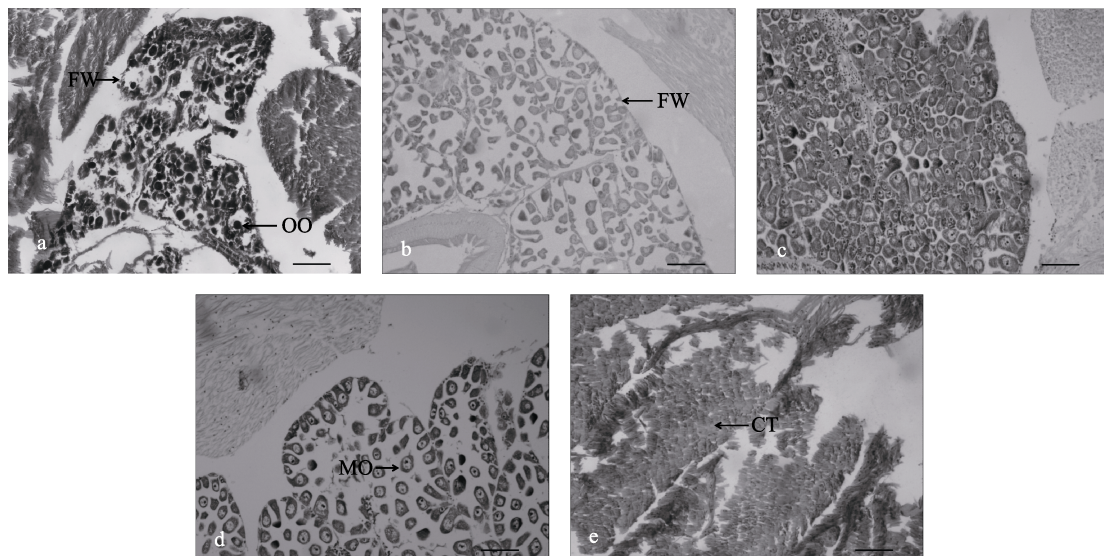


图 1 小刀蛭卵巢不同发育期的组织切片(100 $\times$ )

Fig.1 Histological changes in the ovary of *C. attenuates* at different developmental stage (100 $\times$ )

a: 增殖期; b: 生长期; c: 成熟期; d: 排放期; e: 休止期

CT: 结缔组织; FW: 滤泡壁; OO: 卵原细胞; MO: 成熟卵子

a: Proliferation stage; b: Increasing stage; c: Maturation stage; d: Breeding stage; e: Suspensive stage  
CT: Connective tissue; FW: Follicle wall; OO: Oogonium; MO: Mature oocyte

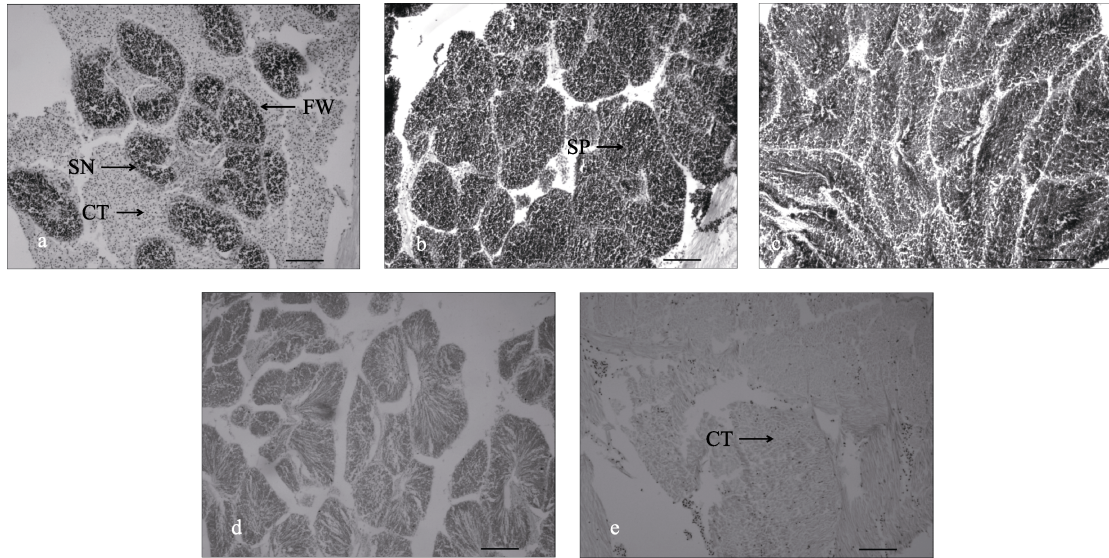


图 2 小刀蛭精巢不同发育期的组织切片(100×)

Fig.2 Histological changes in the testicle of *C. attenuatus* at different developmental stage (100×)

a: 增殖期; b: 生长期; c: 成熟期; d: 排放期; e: 休止期

CT: 结缔组织; FW: 滤泡壁; SN: 精原细胞; SP: 成熟精子

a: Proliferation stage; b: Increasing stage; c: Maturation stage; d: Breeding stage; e: Suspensive stage

CT: Connective tissue; FW: Follicle wall; SN: Spermatogonia; SP: Sperm

育时间为 5 月-6 月上旬。

排放期: 由于成熟卵子和精子的大量排放, 滤泡腔内卵子和精子数量减少, 滤泡腔萎缩, 并出现大量空隙, 部分滤泡腔壁破裂。雌性滤泡腔内仍有部分卵母细胞和成熟卵子; 雄性滤泡腔内仍存在精母细胞和成熟精子(图 1-d 和图 2-d)。本阶段发育时间为 6 月中旬-7 月上旬。

休止期: 滤泡萎缩甚至消失, 结缔组织已占据整个性腺, 雌雄已无法分辨(图 1-e 和图 2-e)。本阶段发育时间为 7 月中旬-翌年 2 月。

### 2.3 小刀蛭胚胎及幼虫发育

小刀蛭受精卵为沉性卵, 在温度为 26℃、盐度 28 的条件下, 发育过程如表 1 所示。从表 1 可以看出, 受精卵经 3 h 45 min 进入囊胚期, 此时胚胎已可缓缓转动; 随后进入原肠期, 胚胎可小范围旋转涌动; 在 8 h 45 min 后发育至担轮幼虫; 24 h 后进入 D 形幼虫发育阶段; 2 d 后进入壳顶幼虫前期阶段; 在发育 8-9 d 后, 幼虫发育至壳顶后期。

### 3 讨论

小刀蛭的性腺发育周期与缢蛭(*Sinonovacula constricta*) (闫红伟等, 2009)、大竹蛭(*Solen grandis* Dunker) (肖国强等, 2009)、硬壳蛤(*Mercenaria*

表 1 小刀蛭的胚胎和幼虫发育

Tab.1 Developmental stages of embryo and larvae of *C. attenuatus*

发育时期 Developmental stages	发育时间 Developmental time
2 细胞 2-cell	40 min
4 细胞 4-cell	50 min
8 细胞 8-cell	1 h 10 min
16 细胞 16-cell	1 h 35 min
32 细胞 32-cell	1 h 55 min
桑葚期 Morula stage	2 h 50 min
囊胚期 Blastula stage	3 h 45 min
原肠期 Gastrula stage	5 h 15 min
担轮幼虫 Trochophore	8 h 45 min
D 形幼虫 D larva	24 h
壳顶前期 Pre-shell stage	2 d
壳顶后期 Post-shell stage	8-9 d

*mercenaria*) (林志华等, 2005)等埋栖型双壳贝类相似, 性腺的周年变化经历增殖期、生长期、成熟期、排放期和休止期 5 个时期。小刀蛭为雌雄异体贝类, 统计 240 只样品发现, 其雌雄比例约为 1 : 1。同时, 通过对性腺切片及形态学观察发现, 小刀蛭在莱州湾海域的繁殖时间为 6 月中旬-7 月上旬, 6 月中旬时性腺发育成熟, 滤泡腔内已充满成熟的卵子和精子, 已具备明显的排放特征; 在大潮发生后或海水环境发生



剧烈变化后(如降雨导致海水盐度降低等),小刀蛭受到刺激,大规模产卵。而在7月中旬取样后,小刀蛭足部呈透明状,切片观察仅有少量卵细胞残留,滤泡已逐步被结缔组织覆盖。王亚(2012)<sup>1)</sup>对舟山地区小刀蛭性腺发育的研究中发现,舟山地区小刀蛭的繁殖季节为7-9月,且能分批排放,显示南方与北方小刀蛭繁殖习性的差异。白胡木吉力图等(2008)对青蛤(*Cyclina sinensis*)的研究中发现,青蛤在山东乳山湾的繁殖期为6-9月,而在福建漳浦县地区的繁殖期则在9-11月。不同海区,同种贝类存在不同的繁殖时间,可能是受到内源性因素(如种群基因差异)和外源性因素(如水温、饵料)等因素的共同影响。

本研究通过对小刀蛭性腺组织切片和形态学的观察,掌握了小刀蛭的繁殖规律,并初步开展了小刀蛭的人工育苗工作。6月初,采捕小刀蛭亲本进行暂养,在6月中旬时出现自然排放。观察幼虫发育过程发现,受精卵卵径为50-55 μm, D形幼虫壳长约90 μm,壳高约为60 μm,壳顶后期幼虫壳长约200 μm、壳高约170 μm。在10 d时,观察到少量幼虫盘脱落,转入底栖生活,依靠足移动,进入匍匐幼虫阶段,之后单水管形成,进入附着稚贝时期。本研究的幼虫生长速度与王亚(2012)<sup>1)</sup>的研究结果基本一致。

经过人工育苗实验,发现以下问题应予以重视:(1)小刀蛭外壳较脆弱,受到冲击或挤压易断裂而造成损伤,采集亲贝时需注意;(2)暂养过程中,应选择适宜的底质且要经常更换。本实验采用海泥作为底质,期间为避免底质板结或环境恶化,及时更换底质,小刀蛭成活率可达70%以上,效果较好;(3)采用阴干、流水和升温刺激相结合的方式,并未产生较好的催产效果。催产完成后继续培养,2 d后小刀蛭亲贝仍可继续排放。这些问题需在今后育苗工作中进一步探索。

实验观察发现,小刀蛭耐干露能力较强。在20℃室内温度条件下,干露12 h后放入水中仍可恢复活力;而在干露24 h后,其外壳张开,足伸出,刺激后仍有反应,但反应缓慢,放入水中无法恢复活力。明确小刀蛭的耐干露能力,对种贝的运输具有重要意义。

小刀蛭市场需求量不断增加,但其野生资源锐减,个体趋小。研究小刀蛭的性腺发育周期,解决苗种培育的关键问题,可为小刀蛭资源恢复和增养殖奠定基础。

## 参 考 文 献

- Bai Hu-mu-ji-li-tu, Ma RH, Gao YM, *et al.* The gonadal development and reproductive cycle of clam *Cyclina sinensis* in coastal Dalian. *Journal of Dalian Ocean University*, 2008, 23(3): 196-199 [白胡木吉力图, 马汝河, 高悦勉, 等. 大连海区青蛤的性腺发育和生殖周期. 大连海洋大学学报, 2008, 23(3): 196-199]
- Chen LM, Kong XY, Yu ZN, *et al.* Sequence comparison and phylogenetic analysis of mtDNA 16S rRNA and COI gene fragments in three species of razor shell. *Marine Sciences*, 2005, 29(8): 27-32 [陈丽梅, 孔晓瑜, 喻子牛, 等. 3种蛭类线粒体16S rRNA和COI基因片段的序列比较及其系统学初步研究. 海洋科学, 2005, 29(8): 27-32]
- Gao AG, Chen QZ, Hu XG, *et al.* Ecological characteristics on macrobenthos of net-cage cultural areas in the Xiangshan Bay. *Acta Oceanologica Sinica*, 2005b, 4(27): 108-113 [高爱根, 陈全震, 胡锡钢, 等. 象山港网箱养鱼区大型底栖生物生态特征. 海洋学报, 2005b, 4(27): 108-113]
- Gao AG, Yang JY, Zeng JN. The shellfish distribution in Sanmen Bay, Zhejiang. *Marine Sciences*, 2005a, 29(8): 42-46 [高爱根, 杨俊毅, 曾江宁. 浙江三门湾贝类分布特征. 海洋科学, 2005a, 29(8): 42-46]
- Lin ZH, Shan LZ, Chai XL, *et al.* The reproductive biology of hard clam *Mercenaria mercenaria* (Linnaeus, 1758). *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2005, 36(5): 430-436 [林志华, 单乐洲, 柴雪良, 等. 硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria*)繁殖生物学研究. 海洋与湖沼, 2005, 36(5): 430-436]
- Meng XP, Zhang B, Mao SQ. Sequencing analysis on ITS2 Loci in five species of razor shell. *Biotechnology Bulletin*, 2008(3): 182-185 [孟学平, 张波, 冒树泉. 五种不同蛭类ITS2核苷酸序列分析. 生物技术通报, 2008(3): 182-185]
- Wu B, Song JM, Li XG. Characteristics of benthic macroinvertebrate community structure and its coupling relationships with environment factors in Huanghe estuary. *Acta Oceanologica Sinica*, 2014, 36(4): 62-72 [吴斌, 宋金明, 李学刚. 黄河口大型底栖动物群落结构特征及其与环境因子的耦合分析. 海洋学报, 2014, 36(4): 62-72]
- Xiao GQ, Chai XL, Shao YQ, *et al.* The reproductive biology of *Solen grandis* Dunker. *Marine Sciences*, 2009, 33(10): 21-25 [肖国强, 柴雪良, 邵艳卿, 等. 大竹蛭的繁殖生物学. 海洋科学, 2009, 33(10): 21-25]
- Xu FS. *The bivalvia mollusca in China seas*. Beijing: Science Press, 1997, 188 [徐凤山. 中国海双壳类软体动物. 北京: 科学出版社, 1997, 188]
- Xu JT, Xu GC, Xu XH, *et al.* Analysis of nutrition composition of edible parts of *Cultellus attenuatus* Dunker. *Food Science*,

1) Wang Y. Studies on development of gonads, embryos and youngs of *Phaxas attenuatus* (Bivalvia, Mollusca). Master's Thesis of Ningbo University, 2012 [王亚. 小刀蛭性腺、胚胎及幼体发育研究. 宁波大学硕士研究生学位论文, 2012]

- 2013, 34(17): 263–267 [徐加涛, 徐国成, 许星鸿, 等. 小刀蛭软体部营养成分分析及评价. 食品科学, 2013, 34(17): 263–267]
- Yan HW, Li Q, Kong LF, *et al.* Reproductive cycle of the razor clam *Sinonovacula constricta* (Lamark) along the coast of Shandong Province. *Periodical of Ocean University of China (Natural Science)*, 2009(S1): 343–346 [闫红伟, 李琪, 孔令锋, 等. 山东沿海缢蛭的繁殖生物学研究. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2009(S1): 343–346]
- Zeng GQ, Fang J, Jia SJ, *et al.* Biochemical genetic analysis of eight isozymes in intra-populations of razor clam *Cultellus attenuates*. *Fisheries Science*, 2010, 29(11): 669–673 [曾国权, 方军, 贾守菊, 等. 小刀蛭群体内同工酶的生化遗传分析. 水产科学, 2010, 29(11): 669–673]

(编辑 冯小花)

## The Reproductive Biology of *Cultellus attenuatus* in the Laizhou Bay

JIANG Xu<sup>1</sup>, WEI Xiumei<sup>1</sup>, FENG Yanwei<sup>1</sup>, HAN Huizong<sup>1</sup>,  
WANG Sheng<sup>1</sup>, LIU Xiangquan<sup>1</sup>①, TONG Tong<sup>2</sup>

(1. Shandong Provincial Key Laboratory of Marine Ecology Restoration, Shandong Marine Resource and Environment Research Institute, Yantai 264006; 2. Guangxi Institute of Oceanology, Key Laboratory of Marine Biotechnology of Guangxi, Beihai 536000)

**Abstract** *Cultellus attenuatus* is a commercially valuable species that is widely distributed in the north and south coastal waters of China. In this study, we applied histological sectioning and experimental ecology methods to study the reproductive biology of *C. attenuatus* including the reproductive cycle, gonadal development, breeding season, embryonic development and larval development. Experimental subjects were collected from the Laizhou Bay of Shandong Province in the North China. *C. attenuatus* were sampled three times per month from May to July, and was sampled once a month in the rest months from April 2013 to March 2014. The results showed that *C. attenuatus* was dioecious, and that the sex could be identified with the colors of mature gonads that were white and yellow for the female and the male gonads respectively. The reproductive cycle of *C. attenuatus* was one year. The gonad of *C. attenuatus* was composed of the follicle, gonaduct and gonadial tube. The gonadal development could be divided into five stages, which were the proliferation stage in March, the increasing stage in April, the mature stage from May to early June, the breeding stage from mid-June to early July, and the suspension stage from mid-July to February of the next year. Its breeding season was between mid-June and early July when the water temperature was 22.0–26.6°C. The diameters of fertilized eggs were 50–55 μm. Hatching and the larval culture were conducted with aeration at a stable temperature and salinity. At 26°C and salinity 28, the D-shaped larvae were hatched in 24 hours to the size of 90 μm×60 μm. Since Day 10, the larvae began to settle down and developed into the post larvae, and metamorphosis was completed. It was found that the *C. attenuatus* had high tolerance to air exposure. No mortality occurred when the razor shells were exposed to air at 20°C for 12 h. Our study provided useful information for the artificial breeding of *C. attenuatus*.

**Key words** *Cultellus attenuates*; Reproductive biology; Gonadal development; Embryo and larvae development

① Corresponding author: LIU Xiangquan, E-mail: lxq6808@163.com