

doi: 10.3969/j.issn.2095-0780.2017.04.014

· 研究简报 ·

疣吻沙蚕胚胎发育观察及盐度对其孵化的影响

段薛辉¹, 刘文生², 许爱娣³, 徐慈浩¹, 何庆棠³, 肖锐媛¹, 潘 淦^{1,3}

(1. 华南师范大学生命科学学院, 广东 广州 510631; 2. 华南农业大学海洋学院, 广东 广州 510642;

3. 广州市金洋水产养殖有限公司, 广东 广州 511447)

摘要: 采用显微镜观察了疣吻沙蚕(*Tylorrhynchus heterochaeta*)胚胎发育不同时期特征, 并依据疣吻沙蚕人工孵化经验设置6个盐度梯度组(A: 0, B: 5, C: 10, D: 13, E: 15, F: 20), 每组3个平行, 研究了盐度对疣吻沙蚕受精率和孵化率的影响。结果表明, 疣吻沙蚕胚胎发育可分为受精卵、卵裂期、囊胚期、原肠期、前担轮幼虫期、后担轮幼虫期、膜内三刚节疣足幼虫期和三刚节疣足幼虫期8个时期; 盐度对疣吻沙蚕孵化影响显著($P < 0.05$), C组受精率和孵化率最高, 与其他组存在显著差异($P < 0.05$)。适宜受精的盐度范围为10~13, 最适孵化的盐度为10。

关键词: 疣吻沙蚕; 胚胎发育; 盐度; 受精率; 孵化率

中图分类号: S 961.2⁺3

文献标志码: A

文章编号: 2095-0780-(2017)04-0115-07

Observation on embryonic development of *Tylorrhynchus heterochaeta* and effect of salinity on their hatching

DUAN Xuehui¹, LIU Wensheng², XU Aiyu³, XU Cihao¹, HE Qingtang³, XIAO Ruiyuan¹, PAN Gan^{1,3}

(1. College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China;

2. College of Marine Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;

3. Guangzhou Jinyang Aquaculture Co. Ltd., Guangzhou 511447, China)

Abstract: We observed the embryonic development of *Tylorrhynchus heterochaeta* and investigated the effect of salinity on their fertilization and hatching rate. In an artificial incubation experiment, the fertilized eggs were hatched in six groups (each group with 3 parallels) at different salinities (A: 0, B: 5, C: 10, D: 13, E: 15, F: 20). The results show: 1) The embryonic development of *T. heterochaeta* could be divided into eight stages, including zygote, cleavage, blastula, gastrula, early trochophore, late trochophore, three setiger nectochaete (unhatch) and three setiger nectochaete (hatch). 2) The hatching rate was significantly affected by different salinities. The highest fertilization and hatching rate were observed in Group C, significantly different from those in the other groups ($P < 0.05$). The suitable salinity range for the fertilization was 10~13, and the optimum hatching salinity was 10.

Key words: *Tylorrhynchus heterochaeta*; embryonic development; salinity; fertilization rate; hatching rate

疣吻沙蚕(*Tylorrhynchus heterochaeta*)隶属环节动物门、多毛纲、游走目、沙蚕科、疣吻沙蚕属。在中国主要产于

广东、广西和福建等省区, 在广东和广西一带俗称禾虫, 福建则称其为流蜆。其生存环境通常为咸淡水交汇的沿海、

收稿日期: 2016-07-20; 修回日期: 2016-09-25

资助项目: 广东省教育部产学研结合项目(2011B090500009); 国家海洋经济创新发展区域示范专项(GD2012-A02-017); 广东省海洋渔业科技推广专项科技攻关与研发项目(A201201E05); 广东省海洋科技发展专项(A201501B06)

作者简介: 段薛辉(1991-), 男, 硕士研究生, 从事水产动物种质资源与遗传育种研究。E-mail: 1196975388@qq.com

通信作者: 潘 淦(1966-), 男, 硕士, 副教授, 从事水产动物种质资源与遗传育种研究。E-mail: pg2829@sina.com

河口的稻田及浅滩淤泥沙质土,属杂食性动物^[1]。疣吻沙蚕体细长稍扁,体长为30~90 mm,体宽为4~8 mm,约有64 体节。属雌雄异体,行异体受精。雌雄体色不同,雄体以红色为主,间有乳白色,雌体为青绿色或褐绿色。达到性成熟的疣吻沙蚕称为异沙蚕体(Heteronereis),具有群浮和“婚舞”的自然繁殖习性^[2],且异沙蚕体比未成熟的成虫平均体长缩短一半左右。疣吻沙蚕味道鲜美,营养丰富,备受消费者青睐,对其增养殖具有较好的经济效益。国内外对疣吻沙蚕研究报道较少,在国外主要对疣吻沙蚕的血红蛋白结构和氨基酸序列进行研究^[3-4];USHAKOVA 和 SARANTCHOVA^[5]研究了盐度对绿沙蚕(*Nereis virens*)受精卵和胚胎发育的影响,认为在盐度14~45 范围内,绿沙蚕毛幼虫变态率的差异不显著。中国已有关于疣吻沙蚕的繁殖生物学^[6]、人工育苗关键技术^[1]、增养殖模式与关键技术^[7]以及底栖动物群落结构与多样性^[8-9]的研究。吴玉刚等^[10]分析与评价了疣吻沙蚕的营养成分,发现疣吻沙蚕含高蛋白、高脂肪且氨基酸种类齐全,具有良好的经济前景。马定昌等^[11]系统研究了疣吻沙蚕的组织结构。然而,目前尚未见到疣吻沙蚕胚胎发育观察及盐度对孵化影响的研究报道。

文章观察了疣吻沙蚕胚胎发育各个阶段的特征,记录疣吻沙蚕胚胎发育图像数据,同时,观察盐度对其胚胎发育的影响,确定疣吻沙蚕孵化的最适盐度,为提高人工繁育的受精率和孵化率提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

疣吻沙蚕异沙蚕体来自广州市金洋水产养殖有限公司中山市现代渔业博览园(禾虫人工养殖基地),于2015 年10 月至11 月取样,挑选体色鲜艳、身体肥嫩、体腔充满生殖细胞、活动有力、没有伤残、体质量约3 g 的异沙蚕体作为实验材料。

实验用水处理:先加30 mg·L⁻¹漂白粉消毒,曝气1 周以上,待余氯散尽后用300 目筛绢过滤实验用水,使用前检测余氯、氨氮和亚硝酸盐是否超标,保证用水清洁、无毒,符合水产育苗使用水质标准。

不同盐度育苗用水人工配制方法按质量比为1 200:500:80:32:16:4:2:1 分别称取日晒盐、硫酸镁、氯化钙、氯化钾、硼酸、小苏打、溴化钾、乙二胺四乙酸(EDTA)后溶于曝气1 周的育苗用水,根据需要配制不同盐度值。

1.2 实验方法

1.2.1 胚胎发育观察 在温度(28±1)℃、pH 为7.5 的条件下,将处理过盐度10 的育苗用水放入3 个200 L 白色塑料桶中,达到容积的2/3,进行均匀增氧,保持每分钟充氧量达到总水体1.5%。人工授精过程为挑选同一批雌雄比为3:1 的异沙蚕体,将人工挤压得到的精卵混合在同一脸盆内(规格:32 cm×32 cm×11 cm,事先装有2/3 体积、盐

度为10 的育苗用水),混匀后移入200 L 桶中孵化,0.5 h 后进行洗卵,孵化前期每日换水1/3,并间断性轻柔搅底。定期取受精卵在显微镜(BRESSER LCD,北京泰克汇光科技有限公司)下观察(早期每隔1 h,囊胚期后每3 h 观察1 次),按时记录疣吻沙蚕胚胎发育的各期图像、受精率、孵化率和孵化时间。采样时停止充气,均匀搅拌容器内物质,在3 个塑料桶中随机抽取1 mL 水样,并在1 mL 水样中各自取1 滴于显微镜下计数,取平均值。以受精膜举起和第一极体排出作为受精标志,统计受精率,以三刚节疣足幼虫个数作为孵化结果统计孵化率。

1.2.2 盐度对孵化的影响 采用同一批异沙蚕体进行人工授精、孵化,保持温度(28±1)℃、pH 为7.5,设置6 个盐度梯度,分别为A 组(0)、B 组(5)、C 组(10)、D 组(13)、E 组(15)、F 组(20),每个盐度梯度设置3 个平行组,孵化容器采用200 L 白色塑料桶,育苗用水达到2/3 体积,最初孵化卵密度为(603.33±20.548)个·mL⁻¹,在精卵混合于不同盐度组30 min 后使用显微镜观察受精状态,记录各组受精率,胚胎发育过程定期取样在显微镜下观察发育状态,孵化至三刚节疣足幼虫期记录各组孵化率。

1.3 数据处理

受精率(%) = 受精卵个数/总卵细胞个数×100

孵化率(%) = 三刚节幼体数/受精卵个数×100

实验数据均用SPSS 18.0 软件进行LSD Duncan 分析处理;相关图片使用Photoshop CS6 进行编辑处理。

2 结果与分析

2.1 胚胎发育各阶段的特征

挑选达到性成熟的雌雄异沙蚕体进行人工授精。在肉眼观察下,雄体的精液呈乳白色,雌体的卵子呈深绿色、绿色或浅绿色,且具有较强黏性,排入水体后很快沉入水底。精子与卵子混合授精后一般会沉在水体底部且颜色为绿色,用胶头吸管吸取受精卵时,互相黏连形成一条绿色丝带,但在胚胎发育后期,黏性越来越弱,颜色也逐渐变成灰白色。在水温(28±1)℃、盐度10、pH 7.5 环境条件下,疣吻沙蚕胚胎发育至三刚节疣足幼虫,历时长达46 h,在不同发育阶段,受精卵的内部形态和外部形态都有所不同,以下为疣吻沙蚕胚胎发育各时期的特征。

2.1.1 受精卵 疣吻沙蚕成熟卵子未受精时呈圆形或椭圆形,没有围卵腔,富含卵黄颗粒,由于卵黄密度大,油球密度小,卵黄上边覆盖着小油球滴,油球呈透明空泡状、大小不一,数量约40 个(图1-1)。卵子受精30 min 后,卵膜逐渐膨大,形成围卵腔,且围卵腔随着胚胎发育逐渐增大,油球不断向上集中,能观察到的卵黄比例逐渐增大(图1-2)。

2.1.2 卵裂期 2 细胞期:疣吻沙蚕卵裂属螺旋型不等全裂。受精2 h 后开始第一次经裂,分割成大小不等的卵裂球,卵黄颗粒和油球分配至两卵裂球中,油球数量不

等，大卵裂球的油球数量约为 12 个，小卵裂球约为 7 个，随着胚胎发育时间延长，小油球不断合并为大油球，此发育过程胚胎细胞总体积与未受精卵的体积相接近(图 1-3)。

4 细胞期：受精 3 h 后，细胞开始第二次经裂，进入 4 细胞期，形成 4 个大小不等但相差不大的卵裂球，卵裂球中的卵黄仍可清楚观察，胚胎细胞动物极处油球逐渐合并，每个卵裂球包含 1 个大油球，或有 2 个油球(图 1-4)。

多细胞期：胚胎发育至第 4 小时进行纬裂，进入 8 细胞期，动物极的 4 个卵裂球小，植物极的 4 个卵裂球大，且上下卵裂球彼此以 45°角螺旋错开，为螺旋型卵裂，方向为右旋，油球数量保持 3~5 个(图 1-5)。8 细胞期后分裂速度加快，每隔 30 min 分裂 1 次，细胞相互重叠，形状大小各异，在显微镜下很难数清卵裂球数目。进入 16 细胞期，细胞体积和前期相近，卵裂球之间的轮廓比较清晰(图 1-6)。进入多细胞期，位于整个胚胎细胞上边的动物极细胞体积越来越小，下边的植物极细胞相对较大，所有卵裂球整体充满胚胎细胞卵膜，具有 3~4 个油球(图 1-7)。

2.1.3 囊胚期 胚胎发育至第 15 小时后进入囊胚期，无囊胚腔结构形成，属于实心囊胚。动物极的小卵裂球重叠较多，卵裂球间的界限相对模糊，植物极的大卵裂球间界限相对清晰。与卵膜接触的卵裂球呈大块状，卵膜内空隙逐渐被填满，油球数量 3~4 个，囊胚期的细胞总体积与受精卵的体积相差不大(图 1-8)。

2.1.4 原肠期 胚胎发育至第 18 小时进入原肠期，采用外包法形成原肠。上层动物极卵裂球体积很小，分裂速度快，表面积增大，含少量卵黄，无油球，有向下方延伸的趋势，植物极卵裂球体积较大，分裂速度慢，紧贴卵膜，含有较多卵黄，有油球，有被包围的趋势。原肠期细胞总体积变小，致密呈不规则方形，油球 3~4 个且大小不一(图 1-9、1-10)。

2.1.5 前担轮幼虫期 胚胎发育至第 24 小时进入前担轮幼虫期。胚体拉长成椭圆形，整体呈褐色，胚胎逐渐长

出顶纤毛束、原担轮、后担轮和端担轮，当只出现顶纤毛束时，胚体呈现原地或固定点附近旋转，运动速度较慢约 $90\text{ s}\cdot\text{r}^{-1}$ (图 1-11)；出现原担轮、后担轮和端担轮后，运动剧烈且频繁，除了快速旋转翻滚外，还在立体空间无方向乱撞，旋转速度约 $1\sim2\text{ s}\cdot\text{r}^{-1}$ (图 1-12)。

2.1.6 后担轮幼虫期 胚胎发育至后担轮幼虫期后，胚体进一步拉伸呈椭圆形，逐步接近疣足幼虫外形，内部器官分化成形，可观察到 1 对褐色的眼点，胚体肌肉开始做收缩运动，具有卵黄和 3~4 个大油球(图 1-13)。

2.1.7 膜内三刚节疣足幼虫期 胚胎发育至膜内三刚节疣足幼虫期，胚体进一步拉长，头部和身体分化明显，呈两侧对称。细胞膜空隙增大且局部凹陷，纤毛轮逐渐退化成疣足上的刚毛，肌肉收缩运动越来越强烈和频繁，可见肛门突，具有 2~3 个大油球，由于尚未出膜，故称为膜内三刚节疣足幼虫(图 1-14)。

2.1.8 三刚节疣足幼虫期 胚胎发育至第 46 小时，膜内三刚节疣足幼虫破膜，进入三刚节疣足幼虫期。疣足幼虫分节明显，眼点增大，头部呈三角形，头顶具有 1 对触手突起，疣足明显且每个疣足上具有 10 根左右刚毛，使用刚毛在水中游动，肌肉运动明显，消化道隐约可见，但与外界尚未相通，不能开口进食，此时油球体积整体在逐渐缩小(图 1-15、1-16)。

2.2 盐度对孵化的影响

盐度对疣吻沙蚕的孵化影响很大(表 1)。当盐度为 10 时，C 组的受精率和孵化率最高，C、D 两组之间受精率差异不显著，但明显高于另外四组($P<0.05$)，盐度为 0 和 20 时受精率不足五成，盐度越接近生产孵化经验的盐度值，受精率越高。而 C 组孵化率与其他五组都存在显著差异($P<0.05$)，B、D、E 三组次之，但与 A、F 组之间存在显著差异($P<0.05$)。盐度偏离 10 越多受精率和孵化率越低，在淡水环境下不能进行孵化，胚胎发育前期基本死亡。在显微镜观察下，处于低盐度环境的受精卵出现吸水而卵膜胀破现象(图 2-4、2-5)；在高盐度环境下受精卵则出现脱水(图 2-6、2-7)，且有大量纤毛虫滋生(图 2-8)。

表 1 盐度对疣吻沙蚕胚胎发育的影响

Tab. 1 Effect of salinity on embryonic development

| 组别 group | 盐度 salinity | 受精率/% fertility rate | 孵化率/% hatching rate |
|----------|-------------|----------------------|------------------------|
| A | 0 | 34.33 ± 4.041^a | 0.00 ± 0.000^a |
| B | 5 | 67.33 ± 6.429^b | 37.67 ± 2.517^c |
| C | 10 | 85.00 ± 5.000^c | 64.67 ± 4.163^d |
| D | 13 | 82.33 ± 2.517^c | 34.33 ± 2.082^{bc} |
| E | 15 | 72.67 ± 3.055^b | 30.67 ± 1.155^b |
| F | 20 | 40.00 ± 2.000^a | 3.00 ± 2.646^a |

注：同一列数据中具有不同上标表示差异显著($P<0.05$)。

Note: Data in the same column with different superscripts indicate significant difference ($P<0.05$).

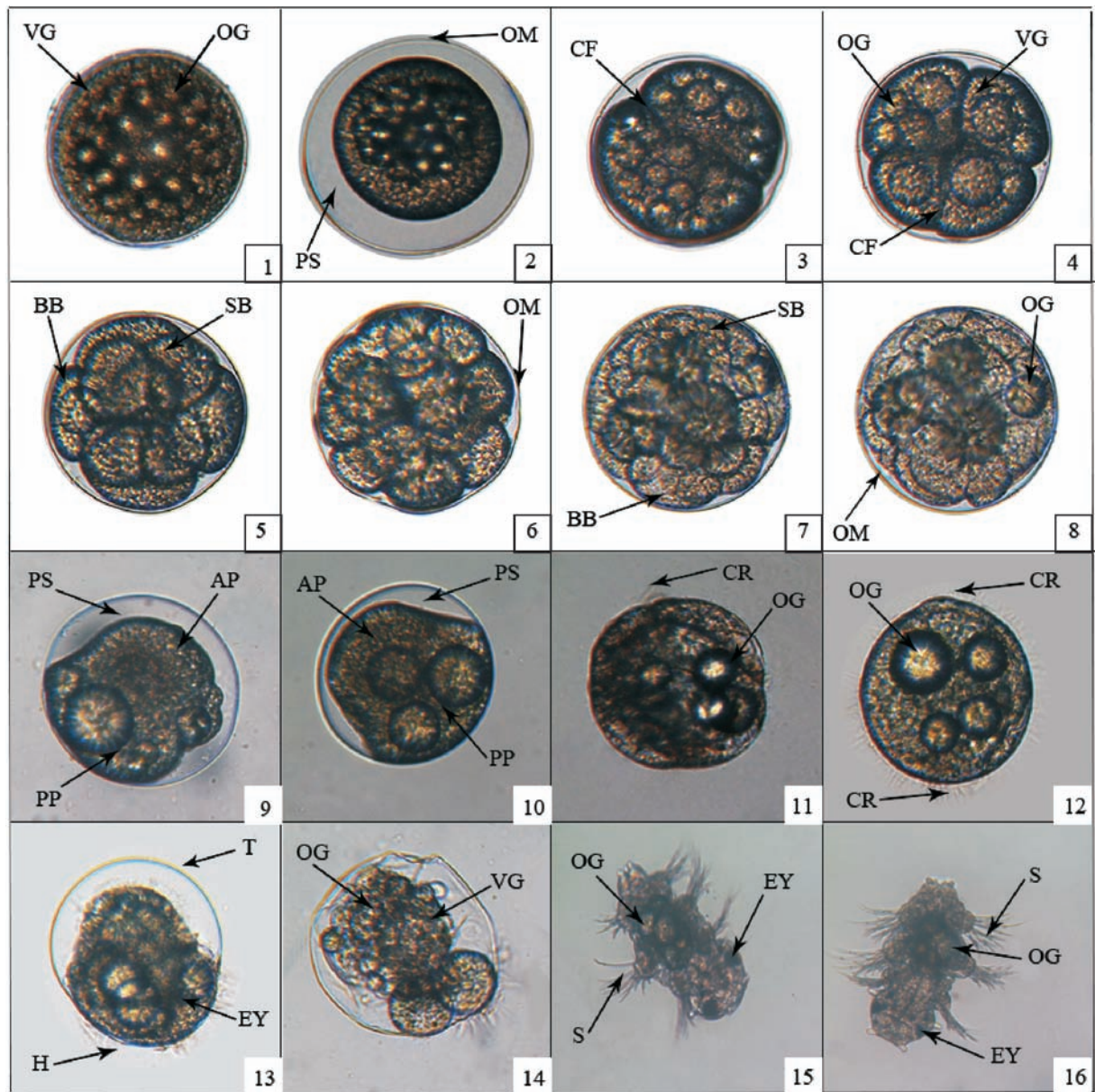


图1 疣吻沙蚕胚胎发育(顶视图)

1. 卵细胞; 2. 受精卵; 3. 2细胞期; 4. 4细胞期; 5. 8细胞期; 6. 16细胞期; 7. 多细胞期; 8. 囊胚期; 9~10. 原肠期; 11~12. 前担轮幼虫期; 13. 后担轮幼虫期; 14. 膜内三刚节疣足幼虫; 15~16. 三刚节疣足幼虫; VG. 卵黄颗粒; OG. 油球; PS. 围卵腔; CF. 分裂沟; BB. 大分裂球; SB. 小分裂球; OM. 卵膜; AP. 动物极; PP. 植物极; CR. 纤毛环; T. 尾部; H. 头部; S. 刚毛; EY. 眼点

Fig. 1 Embryonic development of *T. heterochaeta* (top surface photo)

1. egg cell; 2. fertilized eggs; 3. two-cell stage; 4. four-cell stage; 5. eight-cell stage; 6. sixteen-cell stage; 7. multi-cell stage; 8. blastula stage; 9~10. gastrula stage; 11~12. early trochophore stage; 13. later trochophore stage; 14. three setiger nectochaete stage, unhatched; 15~16. three setiger nectochaete stage, hatch; VG. vitellus grain; OG. oil globule; PS. perivitelline space; CF. cleavage furrow; BB. big blastomere; SB. small blastomere; OM. oolemma; AP. animal pole; PP. vegetal pole; CR. ciliary; T. tail; H. head; S. seta; EY. eye

3 讨论

3.1 疣吻沙蚕胚胎发育的特点

疣吻沙蚕的胚胎发育是其生活史中的一个重要环节,

观察疣吻沙蚕胚胎发育各时期特点,可为人工育苗提供理论基础,优化人工繁殖的关键技术。有关疣吻沙蚕的研究报道较少,对胚胎发育的研究更少见到。陈兴汉^[12]认为疣吻沙蚕在生活史、繁殖生理等方面类似于双齿围沙蚕(*Peri-*

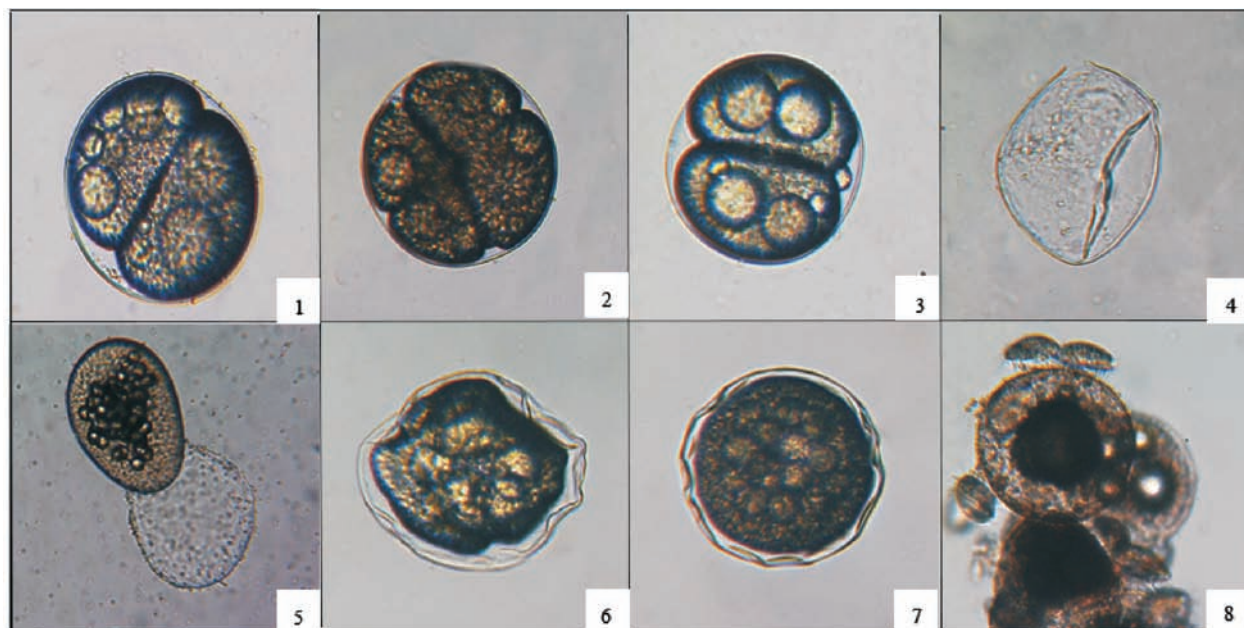


图2 胚胎发育异常的细胞(顶视图)

1. 两分裂球相等; 2. 四分裂球相等; 3. 2细胞期具有7个油球; 4~5. 细胞膜胀破; 6~7. 细胞膜皱缩; 8. 纤毛虫

Fig. 2 Cell and ciliate of abnormal embryonic development (top surface photo)

1. two divided spheres are equal; 2. four divided apheres are equal; 3. seven oil balls at two-cell stage; 4~5. membrane bursting; 6~7. membrane shrinkage; 8. ciliate

nereis aibuhitensis), 生活史可分为10个阶段: 生殖个体、配子、受精卵、卵裂、囊胚、原肠胚、担轮幼虫、后担轮幼虫、疣足幼虫及非生殖个体。此研究中, 疣吻沙蚕胚胎发育各阶段囊括于上述生活史, 与双齿围沙蚕胚胎发育相似, 与沙蚕科其他种类也存在很多相同之处。如盖珊珊等^[13]将双齿围沙蚕胚胎发育划分为受精卵、卵裂期、多细胞期、囊胚期、原肠期、前担轮幼虫期、后担轮幼虫期、膜内三刚节疣足幼虫期及初孵三刚节疣足幼虫期, 笔者的分期结果与其基本一致; 与吴建新等^[14]、洪秀云和谭克非^[15]对双齿围沙蚕胚胎发育分期结果也基本相同, 但后者分期中无囊胚期阶段; 与杜荣斌等^[16]对多齿围沙蚕(*P. nuntia savigny*)胚胎发育划分中前期分期相同, 但其后期划分为膜内游毛幼虫及出膜阶段; 与曾忠汉等^[17]等对腺带刺沙蚕(*Neanthes glandicincta*)的胚胎发育划分中前期分期相同, 但其最后一期为孵化期; 黄凤鹏和丘建文^[18]将日本刺沙蚕(*N. japonica*)胚胎发育划分为受精卵、第一极体、第一次分裂、多细胞期、囊胚期、原肠期、前担轮幼虫期、后担轮幼虫期、三刚节幼虫期, 前期分期更仔细, 后期无膜内三刚节疣足幼虫期。疣吻沙蚕胚胎发育的分期与沙蚕科其他种类基本大同小异, 不同之处与研究者的观察到的胚胎发育现象以及研究者对每个时期细分程度不同有关。另外, 在疣吻沙蚕胚胎发育观察中, 发现异沙蚕体的卵细胞有深绿色、绿色和浅绿色3种, 初步认为与卵细胞的成熟度有关, 而对于产生这种现象的最终原因以及不同颜色

卵对受精孵化是否有影响还需要进一步研究。

在胚胎发育至2细胞期和4细胞期出现少量的异常分裂细胞, 如2细胞期2个卵裂球大小体积相等, 4细胞期4个卵裂球大小体积相等, 均属于不等分裂的特殊类型(图2-1、2-2), 此类异常细胞在胚胎发育至囊胚期均死亡, 初步推测与卵黄营养物质在卵裂球中含量发生改变有关, 造成胚胎发育过程中部分卵裂细胞破损、死亡, 而破损、死亡的卵裂球具有“毒性作用”, 会影响其他正常卵裂球的继续卵裂^[19]。另外, 油球在疣吻沙蚕胚胎发育中的作用没有相关报道, 而在双齿围沙蚕研究中, HOEGER等^[20-22]认为油球具有储存高浓度一磷酸腺苷(AMP)和二磷酸腺苷(ADP)的能力, 但不会抑制新陈代谢; 柳敏海等^[23]认为油球富含腺嘌呤核苷酸, 在胚胎发育细胞快速分裂过程中提供相关营养, 确保胚胎发育的顺利进行。当第3次分裂后形成8细胞时期时, 油球开始集中。但在此实验的观察结果中, 疣吻沙蚕胚胎发育在第一次分裂成2细胞期时, 油球开始大量融合, 数量明显降低为受精卵时期的一半左右, 在4细胞期油球数量缩减为3~5个, 之后数量维持稳定; 有些在2细胞期油球数量保持在7个左右(图2-3), 说明在胚胎发育过程中, 油球的融合是随意发生, 但总体积大小保持不变, 关于油球在胚胎发育阶段是否为个体发育提供营养还需要进一步研究。

3.2 盐度对疣吻沙蚕孵化的影响

盐度对疣吻沙蚕育苗孵化影响很大, 非适宜盐度值可

导致孵化率降低、胚胎畸形和死亡。此研究结果表明,疣吻沙蚕受精率和孵化率最高时的盐度为10,在盐度0~20内都能受精,盐度5~15内能孵化出三刚节疣足幼虫,孵化过程对盐度的适应范围较广,但受盐度的影响较大。盐度对不同水生动物的孵化影响不同,盐度过高或过低导致渗透压失衡,阻碍胚胎发育过程中物质交换,孵化率降低^[24-26]。多齿围沙蚕在盐度为25~32范围胚胎能正常发育,低于20或高于35,胚胎发育至多细胞期死亡或不发育^[27];双齿围沙蚕在盐度为20的环境中,受精率和孵化率最高,盐度为5的实验组受精率最低^[28]。红罗非鱼(*Oreochromis* sp.)在盐度0~65内都能孵化^[29];尼罗罗非鱼(*O. niloticus*)在盐度15~20内可孵化,但孵化率低^[30];罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)母虾抱卵量随盐度升高而降低^[31];墨吉明对虾(*Fenneropenaeus merguensis*)胚胎发育对盐度适应范围较广,最适盐度为25~35^[32];黄姑鱼(*Nibea albiflora*)最适孵化盐度为25,盐度低于15受精卵均未孵化,高于45畸死率为100%^[33]。不同水生动物胚胎发育与孵化对盐度都有不同要求,且受盐度影响较大。另外,盐度过低导致细胞吸水胀破,受精卵黏性较强沉在底部,容易缺氧死亡,降低孵化率;盐度过高胚胎细胞皱缩且育苗水体容易滋生纤毛虫。

4 小结

疣吻沙蚕的胚胎发育类似于双齿围沙蚕的胚胎发育,可分为受精卵、卵裂期、囊胚期、原肠期、前担轮幼虫期、后担轮幼虫期、膜内三刚节疣足幼虫期和三刚节疣足幼虫期8个时期。

盐度对疣吻沙蚕的孵化影响很大,盐度过低,细胞吸水胀破,受精卵黏性变强,容易沉底导致缺氧死亡;盐度过高,细胞皱缩且易滋生纤毛虫。在实际生产应用中,育苗水盐度为10时可获得最大的受精率和孵化率。

参考文献:

- [1] 陈兴汉. 疣吻沙蚕人工育苗关键技术探讨[J]. 海洋与渔业, 2014(5): 64-66.
- [2] 陈兴汉. 疣吻沙蚕增殖模式与关键技术要点(上)[J]. 科学养鱼, 2014(9): 40-41.
- [3] GREEN B N, SUZUKI T, GOTOH T, et al. Electrospray ionization mass spectrometric determination of the complete polypeptide chain composition of *Tylorhynchus heterochaetus* hemoglobin [J]. J Biol Chem, 1995, 270(31): 18209-18211.
- [4] SUZUKI T, GOTOH T. The complete amino acid sequence of giant multisubunit hemoglobin from the polychaete *Tylorhynchus heterochaetus* [J]. J Biol Chem, 1986, 261(20): 9257-9267.
- [5] USHAKOVA O O, SARANTCHOVA O L. The influence of salinity on fertilization and larval development of *Nereisvirens* (Polychaeta, Nereidae) from the White Sea [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 2004, 30(2): 129-139.
- [6] 陈兴汉. 疣吻沙蚕繁殖生物学探讨[J]. 海洋与渔业, 2014(8): 44.
- [7] 陈兴汉. 疣吻沙蚕增殖模式与关键技术要点(下)[J]. 科学养鱼, 2014(10): 41-41.
- [8] 张世海, 张瑞雷, 王丽卿, 等. 上海市淀山湖底栖动物群落结构及水质评价[J]. 四川动物, 2010, 29(3): 452-458.
- [9] 胡成业, 水玉跃, 田阔, 等. 瓯江口树排沙湿地不同生境大型底栖动物群落多样性研究[J]. 海洋与湖沼, 2016, 47(2): 422-427.
- [10] 吴玉刚, 庞存枫, 温山鸿, 等. 疣吻沙蚕营养成分分析与评价[J]. 水利渔业, 2006, 26(3): 86-88.
- [11] 马定昌, 叶柳荷, 许爱娉, 等. 疣吻沙蚕组织学的初步研究[J]. 南方水产科学, 2014, 10(4): 58-63.
- [12] 陈兴汉. 疣吻沙蚕(禾虫)繁殖生物学探讨[N]. 中国渔业报, 2014-11-24(B03).
- [13] 盖珊珊, 于道德, 王其翔, 等. 双齿围沙蚕的胚胎发育与纤毛虫病[J]. 海洋科学, 2012, 36(2): 7-10.
- [14] 吴建新, 邵营泽, 李信书. 双齿围沙蚕的早期发育[J]. 生物学通报, 2005, 40(6): 19-20.
- [15] 洪秀云, 谭克非. 双齿围沙蚕的研究——生活史及异沙蚕体形态研究[J]. 水产学报, 1982, 6(2): 165-171.
- [16] 杜荣斌, 刘红梅, 郑家声, 等. 人工养殖条件下多齿围沙蚕亲体培育和繁殖生物学的初步研究[J]. 海洋科学, 2009, 33(11): 37-43.
- [17] 曾忠汉, 杨森林, 王子贤. 腺带刺沙蚕的早期发育[J]. 热带海洋, 1995, 14(2): 83-88.
- [18] 黄凤鹏, 丘建文. 日本刺沙蚕 *Neanthes japonica* (Izuka) 大规模育苗的初步研究[J]. 黄渤海海洋, 2001, 19(4): 76-80.
- [19] DGAR D H. A quantitative analysis of the impact of cryopreservation on the implantation potential of human early cleavage stage embryos [J]. Hum Reprod, 2000, 15(1): 175-179.
- [20] HOEGER U, DUNN J F, MAERKER C. Adenylate compartmentation and storage in coelomic cells of the polychaete *Nereis virens*. [J]. J Exp Biol, 1995, 198(10): 2079-2085.
- [21] HOEGER U, MAERKER C, GEIER G. Adenylate storage, metabolism and utilization in coelomic cells of the polychaete *Nereis virens* (Annelida, Polychaeta) [J]. Experientia, 1996, 52(5): 481-486.
- [22] HOEGER U, REBSCHER N, GEIER G. Metabolite supply in oocytes of *Nereis virens*; role of nucleosides [J]. Hydrobiologia, 1999, 402: 163-174.
- [23] 柳敏海, 蒋霞敏, 张永靖. 双齿围沙蚕胚胎及幼体发育的研究[J]. 海洋水产研究, 2005, 26(2): 13-17.
- [24] 许晓娟, 李加儿, 区又君. 盐度对卵形鲳鲹胚胎发育和早期仔鱼的影响[J]. 南方水产, 2009, 5(6): 31-35.
- [25] 陈昆慈, 朱新平, 杜合军, 等. 温度和盐度对宝石鲈胚胎发育的影响[J]. 中国水产科学, 2007, 14(6): 1032-1037.
- [26] 柴学军, 孙敏, 许源剑. 温度和盐度对日本黄姑鱼胚胎发育的影响[J]. 南方水产科学, 2011, 7(5): 43-49.
- [27] 杜荣斌, 王勇强, 刘红梅, 等. 多齿围沙蚕胚胎及游毛幼虫发育条件的研究[J]. 渔业科学进展, 2009, 30(5): 47-50.

- [28] 李达. 不同环境条件对双齿围沙蚕 (*Perinereis aibuhitensis*) 幼体发育的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014: 9-12.
- [29] OCA R M D, ROMÁN-REYES J C, ALANIZ-GONZALEZ A, et al. Effect of salinity on three tilapia (*Oreochromis* sp.) strains: hatching rate, length and yolk sac size[J]. Int J Aquacult Sci, 2015, 6(1): 96-106.
- [30] FRIDMAN S, BRON J, RANA K. Influence of salinity on embryogenesis, survival, growth and oxygen consumption in embryos and yolk-sac larvae of the Nile tilapia[J]. Aquaculture, 2012, 334: 182-190.
- [31] YEN P T, BART A N. Salinity effects on reproduction of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* (de Man)[J]. Aquaculture, 2008, 280(1): 124-128.
- [32] 杨世平, 王成桂, 黄海立, 等. 环境温度和盐度对墨吉明对虾 (*Fenneropenaeus merguensis*) 胚胎发育的影响[J]. 海洋与湖沼, 2014, 45(4): 817-822.
- [33] 詹炜, 楼宝, 耿智, 等. 水温和盐度对黄姑鱼受精卵孵化的影响[J]. 水生态学杂志, 2012, 33(1): 71-74.