

文章编号: 1674 - 5566(2011)06 - 0838 - 07

青蚶人工育苗的初步研究

张 鹏^{1,2}, 黄贤克^{1,2}, 王铁杆^{1,2}, 林少珍¹, 张立宁¹

(1. 浙江省海洋水产养殖研究所, 浙江 温州 325005; 2. 浙江省近岸水域生物资源开发与保护重点实验室, 浙江 温州 325005)

摘 要: 2009 - 2010 年, 进行了青蚶繁殖习性的观察和人工育苗的初步研究, 揭示了青蚶繁殖和胚胎发育的过程。本实验筛选了受精卵孵化、幼虫生长和稚贝附着的适宜环境条件。浙南沿海青蚶的自然繁殖盛期是每年的 6 - 7 月, 水温为 24 ~ 28 ℃。受精卵发育的适宜温度为 24 ~ 28 ℃, 盐度为 22 ~ 26, 在适宜条件下经过 18 h 左右发育至 D 形幼虫。幼虫生长发育的最适宜温度为 24 ~ 28 ℃, 最适宜盐度为 26; 幼虫的前期培育饵料以球等鞭金藻为宜; 经 10 ~ 12 d 培育幼虫进入变态附着期。质地坚硬表面粗糙的水泥砖较适合稚贝的附着和生长。

近年来由于人们对野生贝类的需求量越来越大, 加上常年的滥采乱挖和环境污染, 致使浙江洞头海域的青蚶自然资源数量日趋减少。为了保护青蚶资源, 开展相关的增养殖技术探索, 对其人工育苗及养殖试验的研究十分必要。

青蚶 (*Barbatia virescens*) 隶属于软体动物门 (Mollusca) 双壳纲 (Bivalvia) 列齿目 (Taxodonta) 蚶科 (Arcidae), 为卵生型双壳贝类, 雌雄异体, 体外受精。青蚶贝壳近长方形, 中部稍压缩, 前方较窄, 后方较膨胀; 壳顶凸出, 前、后端圆, 后端背侧有时略呈棱角; 具有放射肋 (图 1)。壳面淡绿色、黄白色、淡黄绿色, 有光泽, 铰合部中央较狭, 后部特别宽; 铰合齿低、稀, 中央者细小, 后部粗大, 足丝片状。闭壳肌痕正圆形, 前闭壳肌痕小, 后者大。为暖水种, 生活在中、低潮区, 以足丝固着在岩石缝内或洞穴中^[1]。

研究亮点: 关于青蚶人工育苗及其相关研究尚未见报道。本文首次开展了青蚶人工育苗技术的探索性研究, 试图摸清其人工繁育的生态条件和海区不同增养殖模式, 为今后青蚶人工育苗技术的进步和增养殖业的发展提供技术基础。

关键词: 青蚶; 人工育苗; 胚胎发育; 环境因子

中图分类号: S 968.3

文献标志码: A

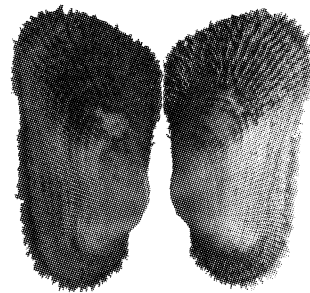


图 1 青蚶成体

Fig. 1 Adult of *Barbatia virescens*

1 材料与方法

1.1 育苗设施

育苗室内有 1 个亲贝培育池, 1 个产卵池, 2 个幼虫孵化池, 2 个幼虫培育池, 4 个稚贝培育池,

收稿日期: 2011-04-24 修回日期: 2011-08-19

基金项目: 温州市科技特派员项目 (X2009T007)

作者简介: 张 鹏 (1982—), 男, 硕士研究生, 研究方向为海洋生物生理生态学。E-mail: zhangpeng20011918@163.com

通讯作者: 王铁杆, E-mail: wtg605@163.com

4 个饵料培育池,规格为 6.0 m × 4.0 m × 1.2 m。育苗所用海水经过暗沉淀和砂滤处理。

1.2 亲贝促熟培育

亲贝于 2009 年 5 月份采自温州市洞头县胜利岙岩礁上(27°51'44.84"N,121°10'59.70"E),规格为:湿重(10.303 ± 4.910)g,壳高(22.023 ± 3.300)mm,壳长(39.751 ± 4.955)mm,壳厚(18.299 ± 4.206)mm。

采集的亲贝经过 1×10^{-5} g/mL 的 KMnO_4 消毒处理 5 min,冲洗干净后放置鲍鱼笼中培养,水深 1 m,盐度 24 ~ 28,水温 26 ~ 28 °C。每日投喂足量的扁藻、角毛藻、金藻等。隔天 100% 换水,及时清理死贝、残饵和粪便。

1.3 亲贝的催产和孵化

亲贝培育过程中,每隔 2 ~ 3 d 观察其性腺发育程度,作为选择育苗时间的依据。将发育成熟的青蚶亲贝,经过 1×10^{-5} g/mL 的 KMnO_4 消毒处理 5 min,冲洗干净后放置通风处阴干刺激 12 ~ 16 h,放入海水中流水刺激,使用海水为二级砂滤海水并经 1 000 目滤袋过滤。随时观察精卵的排放情况,防止精子过量,控制卵子的密度,及时移走亲贝,追加海水时,及时添加 5×10^{-6} g/mL EDTA 钠盐和 1×10^{-6} g/mL 的畜用青霉素。受精卵密度控制在每毫升 10 ~ 20 个。

1.4 胚胎发育的温度、盐度试验

在 1 L 的烧杯中,对青蚶胚胎发育进行盐度、温度试验,盐度梯度为 18、22、26 和 30;温度梯度为 16、20、24、28、32 和 36 °C;观察各梯度下胚胎发育的存活率和孵化率(受精卵实验密度每毫升 15 个左右),试验周期 20 h。青蚶胚胎存活率(R_1)和孵化率(H)计算公式^[2]如下:

$$R_1 = (d_1 + d_2) / d_0 \times 100\% \quad (1)$$

$$H = d_2 / d_0 \times 100\% \quad (2)$$

式中: d_0 为实验开始时的受精卵数; d_1 为实验结束时的胚胎个数; d_2 为实验结束时的 D 形幼虫个数。

1.5 幼虫培育

当胚胎发育至直线铰合幼虫(D 形幼虫)后,利用 400 目的筛绢网袋收集正常的、上浮能力强的 D 形幼虫,从孵化池移入幼虫培育池中进行培育。培育用水为二级砂滤海水并经 1 000 目滤袋过滤。培育海水中加入 5×10^{-6} g/mL 的 EDTA 钠盐和 1×10^{-6} g/mL 的畜用青霉素。幼体密度

控制在每毫升 8 ~ 10 个。

幼虫培育前期投喂球等鞭金藻,日投喂量 1 ~ 2 万细胞/mL,逐步增加浓度。壳顶幼虫后期,加投角毛藻、亚心形扁藻等,并根据幼虫肠胃饱满度调节投喂量及投喂次数。观察、测量和记录幼虫活力、生长、摄食、密度等情况。

1.6 幼虫培育的温度、盐度及饵料试验

在 1 L 的烧杯中,对青蚶幼虫进行盐度、温度及饵料试验,盐度梯度为 18、22、26、30、34 和 38;温度梯度为 16、20、24、28、32 和 36 °C;饵料种类为:金藻、小球藻、扁藻和角毛藻,饵料密度为每毫升 10 万个。观察各梯度下存活率和生长率[幼虫规格大小为(112.34 ± 2.45) μm × (86.78 ± 2.13) μm、密度为每毫升 15 个左右],试验周期 15 d。青蚶幼虫存活率(R_2)和生长率(G)计算公式^[2]如下:

$$R_2 = n_1 / n_0 \times 100\% \quad (3)$$

式中: n_1 为试验结束时幼虫个数; n_0 为试验开始时幼虫个数。

$$G = (l_1 - l_0) / t \quad (4)$$

式中: l_1 为试验结束时幼虫壳长; l_0 为试验开始时幼虫壳长; t 为试验周期。

1.7 稚贝的培育

待幼虫都变态成稚贝后,应及时加大饵料投喂量。为适应稚贝生长,适时在育苗池内加入一些经过消毒处理的附着基(尼龙绳、水泥砖、牡蛎壳和黑色橡胶绳)。在 50 L 的塑料方桶中进行青蚶稚贝附着和生长试验,观察不同附着基对稚贝附着率和生长率的影响,试验周期为 15 d。

2 结果和分析

2.1 繁殖习性初步观察

根据观察,青蚶在浙南海区每年繁殖一次,自然繁殖盛期在每年的 6 月下旬至 7 月上旬,此时海水温度一般为 24 ~ 28 °C。青蚶为雌雄异体,生殖腺位于足基部,成熟度好时几乎覆盖整个内脏团,成熟期生殖腺重量可占整个软体部重量的 30% ~ 40% 以上。雌雄性腺发育基本同步,亲贝性腺充分成熟时,雌性腺呈橘红色,用解剖针挑穿后,流动性好,显微镜下观察,卵颗粒清晰,核质均匀,具有明显的细胞膜;雄性腺呈乳白色或淡黄色,显微镜下观察,精子具有较强的游动力。

2.2 产卵

试验发现,在繁殖季节从野外采集到的青蚶,在未经过强化培养促熟的情况下,也能顺利排放精卵;在经过强化培养后可以更进一步促进亲贝的成熟度,滤泡腔内的成熟生殖细胞数量明显增加。通常选择在通风处阴干刺激 12~16 h,然后放入海水中流水刺激,1~2 h 后雄性个体首先排放精液,在水中呈乳白色烟雾状;雌性个体产出的卵子呈橘红色细颗粒状,大小均匀,在水中散开。经观察,青蚶亲贝一般在午后进行精卵排放。

2.3 胚胎发育

青蚶成熟卵的直径约 60 μm ,在温度 26~28 $^{\circ}\text{C}$ 和盐度 24~28 条件下,精卵在海水中受精发育。受精卵产生极体,进行第一次分裂,后经 2, 4, 8, 16, 32 多细胞期进入囊胚期、原肠期,而后进入担轮幼虫期和 D 型幼虫期,胚胎发育各期形态见图版 I,胚胎发育至各期所需时间见表 1。

表 1 青蚶胚胎发育至各期所需时间
Tab.1 Time-table of the embryonic development of *Barbatia virescens*

发育期	受精后时间
第 1 极体	8 min
第 2 极体	20 min
2 细胞期	50 min
4 细胞期	1 h 10 min
8 细胞期	1 h 25 min
16 细胞期	2 h 30 min
32 细胞期	3 h 1 min
囊胚期	4 h 30 min
原肠期	6 h 20 min
担轮幼虫期	9 h
D 型幼虫期	18 h

不同盐度对青蚶胚胎发育的影响如图 2 所示,盐度 18 时,胚胎发育缓慢,存活率和孵化率明显低于盐度 22 和 26 试验组,盐度为 30 的试验组,胚胎发育速度较缓慢,大部分处于不发育状态,试验结束时大部分的胚胎出现了死亡现象,存活率和孵化率为最低。由此可知,青蚶胚胎发育适宜的盐度范围是 22~26。

不同温度对青蚶胚胎存活率和孵化率的试验结果如图 3 示,在 16 $^{\circ}\text{C}$ 至 28 $^{\circ}\text{C}$ 之间,随着温度的升高,胚胎存活率和孵化率也随之升高,且胚胎发育速度也随之加快;当温度超过 32 $^{\circ}\text{C}$ 时,胚

胎的存活率和孵化率呈现下降趋势;36 $^{\circ}\text{C}$ 时,胚胎难以承受高温,全部死亡。16、20、32 $^{\circ}\text{C}$ 下的胚胎成活率和孵化率都明显低于 24 $^{\circ}\text{C}$ 和 28 $^{\circ}\text{C}$,因此,24~28 $^{\circ}\text{C}$ 是青蚶胚胎发育的适宜温度。

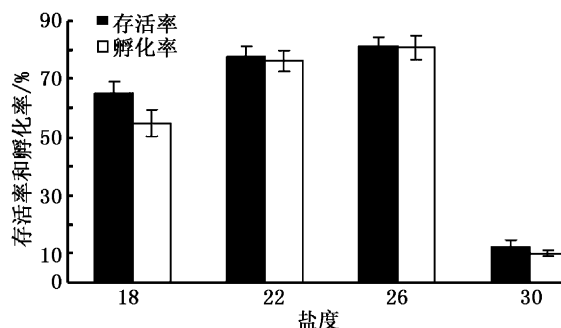


图 2 盐度对青蚶胚胎存活率和孵化率的影响

Fig. 2 The effect of salinity on embryo survival rate and hatching rate

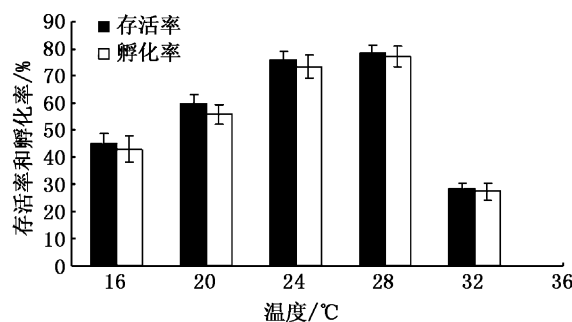


图 3 温度对青蚶胚胎存活率和孵化率的影响

Fig. 3 The effect of temperature on embryo survival rate and hatching rate

2.4 幼虫培育

青蚶初孵 D 形幼虫大小为(100~110) μm × (80~90) μm 。浮游幼虫前期(1~6 d)生长速度较慢,日增长 5~7 μm ;壳长达到 190 μm 以上后,进入壳顶幼虫期,生长速度稍有加快,日增长达到 8~12 μm ;随着生长,幼虫个体间大小差异分化明显。幼虫浮游期一般在 10~12 d 左右,当幼虫达到 250 μm × 180 μm 时,可看到有足伸缩,进入变态期,此时面盘萎缩,游动仍十分灵活,也有个别在底部爬行。规格超过 350 μm × 210 μm ,多数进入匍匐期,之后 6~7 d 便可附着在基质上。附着后,平均日生长达到 20 μm 以上。

2.4.1 幼虫对盐度的要求

盐度对幼虫生长的影响,结果如图 4 示,盐度 26 组的存活率和生长率明显大于其它试验

组,盐度升高至 34 时,存活率和生长率明显呈下降趋势,盐度 38 时,幼虫全部死亡。因此,盐度 26 最适合幼虫生长。

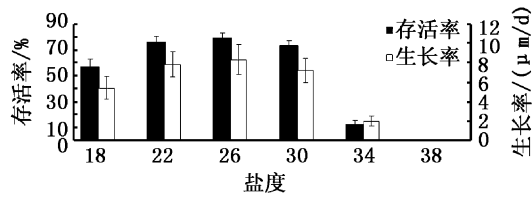


图 4 盐度对幼虫存活率和生长率的影响

Fig. 4 The effect of salinity on larval survival rate and growth rate

2.4.2 幼虫对温度的要求

温度对幼虫生长的影响,结果如图 5 示,24 °C 和 28 °C 组的存活率和生长率明显高于其它组,36 °C 组幼虫难以忍受,全部死亡。说明幼虫适宜温度为 24 ~ 28 °C。

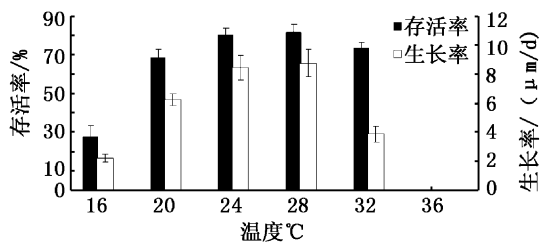


图 5 温度对幼虫存活率和生长率的影响

Fig. 5 The effect of water temperature on larval survival rate and growth rate

2.4.3 幼虫对饵料的要求

单胞藻饵料对幼虫生长影响的结果,如图 6 示,投喂球等鞭金藻的试验组的存活率和生长率明显快于其他组,投喂角毛藻实验组次之,小球藻和亚心形扁藻组生长缓慢,存活率也低于其他组。因此,就单一饵料来说,金藻比较适合幼虫的培育。

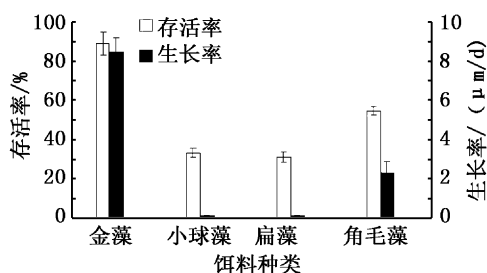


图 6 饵料对幼虫存活率和生长率的影响

Fig. 6 The effect of different algae species on larval survival rate and growth rate

2.5 稚贝培育

2.5.1 稚贝对附着基的要求

不同附着基对稚贝附着率和生长率的影响的试验结果如图 7 所示,经过 15 d 的培育,水泥砖实验组的稚贝附着率和生长率最高,其次为牡蛎壳、尼龙绳,黑色橡胶绳为最低;且稚贝喜欢扎堆附着,很少见单独附着的个体,多附着在缝隙和凹凸不平处。因此,质地坚硬表面粗糙的水泥砖较适合稚贝的附着和生长,附着效果如图版 II 所示。

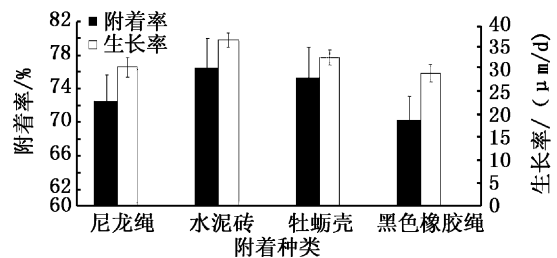


图 7 青蚶稚贝对不同附着基的选择及生长

Fig. 7 The selection of settlement substratum and growth

2.5.2 稚贝海区试养

为了进一步探索合适的增殖模式,先后将附于不同附着基上的青蚶进行了海区吊养实验。结果发现,无论何种附着模式,都出现了大量的稚贝脱落现象,脱落比例都超过 90%;个别稚贝附在缝隙得以保存,但也被大量污物覆盖,生长缓慢。因此,海区养殖有待进一步探索。

3 问题和讨论

3.1 蚶科育苗的研究比较

蚶科贝类作为我国一类重要的养殖贝类,其主要的养殖种类有泥蚶 (*Tegillarca granosa*)、毛蚶 (*Scapharca subcrenata*) 和魁蚶 (*Scapharca broughtonii*)^[3];其他种类如橄榄蚶 (*Estellarca olivacea*)^[4]、古蚶 (*Anadara antiquate*)^[5] 等也有相关的人工育苗研究。国内关于青蚶的报道大部分限于一些调查^[6],也有关于青蚶精子的生殖进化特征^[7]和青蚶精子超微结构^[8]研究,关于青蚶的人工育苗及其相关的研究还未报道。比较发现,虽然青蚶成体在外形特征上与其他蚶类有所不同,但是就其繁殖生物学而言,差异不大,受精卵到稚贝的各期形态基本一致。

3.2 亲贝的选择、暂养和促熟排放

青蚶的性腺发育与大多数海水双壳类的性腺发育过程较为相似,都经历了增殖期、生长期、成熟期、排放期和休止期5个时期^[10]。育苗过程中发现,青蚶亲贝,随着个体的增大,贝壳的厚度增加,内腔体积相对减小,因而造成肥满度和性腺指数相对下降的现象,因此,在挑选亲贝时,并不一定是越大越好。另外,个体大的亲贝往往有豆蟹寄生的情况,也是影响亲贝肥满度的不可忽视因素,因此,亲贝暂养时应及时捡掉被豆蟹寄生的个体。亲贝的干露时间一般为12~16 h,且在涨潮时间前后排放,为一次性排放。

3.3 浮游期及其生长

青蚶幼虫浮游期与泥蚶(浮游期10 d左右)、魁蚶、橄榄蚶^[10]等基本相仿。幼虫前期生长较慢,日均生长不到5 μm ,中后期生长速度略有加快。随着幼虫个体的增大,会出现个体大小不均匀的现象,所以,需要及时地对幼虫进行分选,以保持不同大小的幼虫均衡快速生长。

3.4 稚、幼贝培育关键

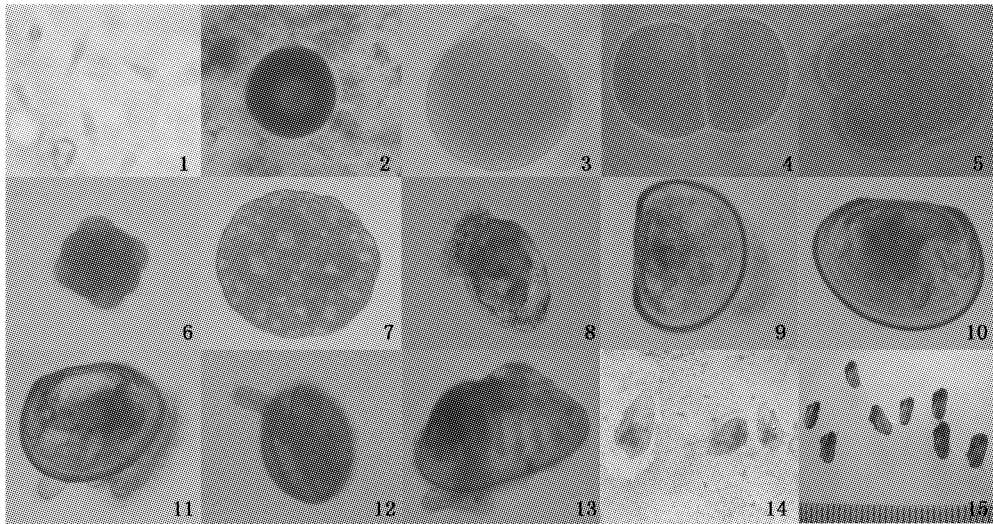
一般在蚶的发育过程中,都会有分泌丝状物营附着生活的阶段,但是,在稚贝发育到一定大小之后足丝的分泌能力逐步丧失,而潜入泥沙中生活^[10]。然而,青蚶始终都具有分泌足丝的能力,营附着生活,且具有不同于贻贝的独特的片状足丝。当环境不适的情况下,青蚶具有自断足丝,再次附着的能力,因此,附着基的选择至关重要。试验结果显示,具有粗糙表面,且较硬的水泥砖和牡蛎壳更适合稚贝附着,说明这两种附着

基更接近其自然界的岩石缝隙。然而,无论哪种人工基质在海区养殖试验中,稚贝的脱落都比较严重,说明青蚶的人工养殖模式还需要进一步摸索和研究。

本研究只是对青蚶的人工繁育进行了初步的研究,并对其稚贝进行了不同的附着模式的海区试养,但距离生产要求还有差距,还需要更进一步的研究来进行完善。

参考文献:

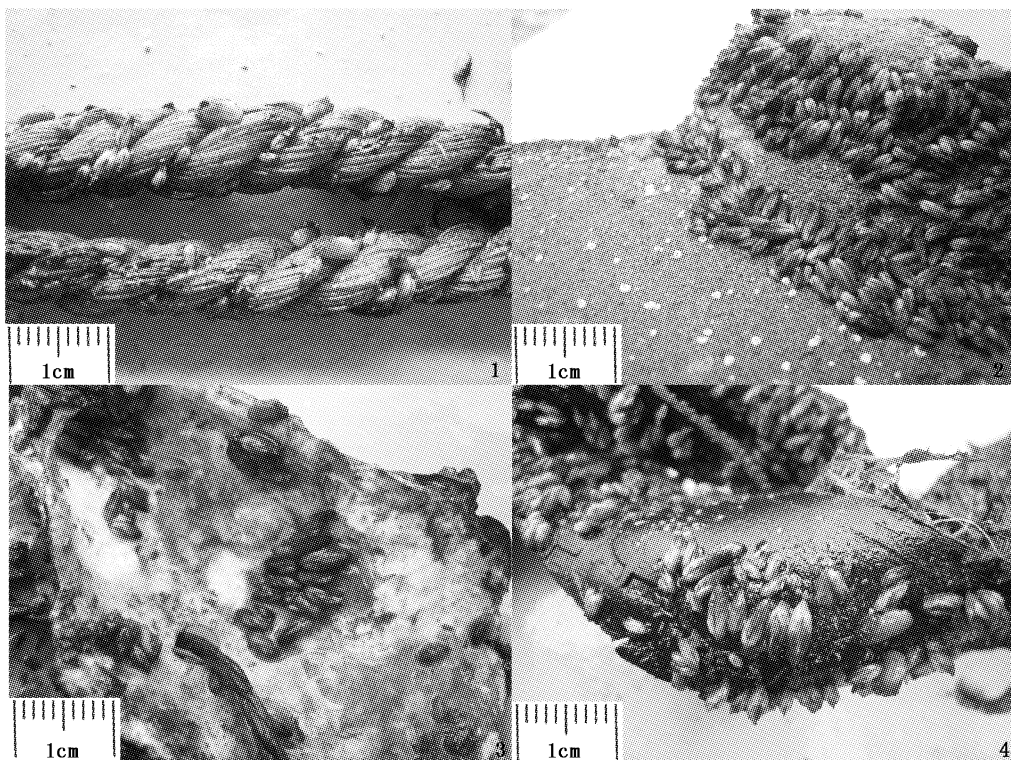
- [1] 董聿茂,蔡如星,黄惟灏,等. 杭州动物志(软体动物)[M]. 杭州:浙江科学技术出版社,1991:157.
- [2] 刘广丰,沈和定,陈慧,等. 不同微藻对缢蛏稚贝摄食和生长的影响[J]. 上海海洋大学学报,2009,18(6): 708-714.
- [3] 王如才,王昭萍,张建中. 海水贝类养殖学[M]. 青岛:青岛海洋大学出版社,1993: 275-296.
- [4] 张炯明,肖国强,柴雪良,等. 橄榄蚶人工育苗技术[J]. 科学养鱼,2008(9): 25-27.
- [5] 陈傅晓,谭围,曾关琼,等. 古蚶的生物学特性及人工育苗技术[J]. 科学养鱼,2010(12): 39-40.
- [6] 张永谱,单乐州. 浙江洞头列岛双壳类软体动物区系研究[J]. 动物学杂志,1994,29(1): 8-28.
- [7] 竺俊全,杨万喜,张海琪. 青蚶精子的生殖进化特征[J]. 浙江大学学报,2003,30(6): 681-686.
- [8] 竺俊全,杨万喜. 毛蚶与青蚶精子超微结构及其所反映的蚶科进化关系[J]. 动物学研究,2004,25(1): 57-62.
- [9] 潘彬斌,李家乐,白志毅. 池养三角帆蚌卵巢发育与卵子发生的组织学研究[J]. 上海海洋大学学报,2010,19(4): 452-456.
- [10] 富惠光,李豫红,元春营,等. 贝类标准化生产技术[M]. 北京:中国农业大学出版社,2003: 83-118.



图版 I 青蚶胚胎发育

Plate I The embryonic development of *Barbatia virescens* (Reeve)

1. 精子(400×); 2. 卵子(400×); 3. 受精卵第一极体(400×); 4. 二细胞期(400×); 5. 四细胞期(400×); 6. 多细胞期(400×); 7. 囊胚期(400×); 8. 担轮幼虫期(400×); 9. D形面盘幼虫(400×); 10. 壳顶幼虫(200×); 11、12. 刚进入变态期的稚贝(100×); 13. 稚贝(40×); 14. 具有附着能力的稚贝(10×); 15. 二年龄幼贝(0.5×)。



图版 II 不同附着基情况下青蚶附着效果

Plate II The effect of settlement substratum of the juvenile mollusk

Study on the technique of artificial reproduction and nursing of *Barbatia virescens*

ZHANG Peng^{1,2}, HUANG Xian-ke^{1,2}, WANG Tie-gan^{1,2}, LIN Shao-zhen¹, ZHANG Li-ning¹

(1. Zhejiang Mariculture Research Institute, Wenzhou 325005, Zhejiang, China; 2. Zhejiang Key Laboratory of Exploitation and Preservation of Coastal Bio-resource, Wenzhou 325005, Zhejiang, China)

Abstract: The primary observation on propagation and study on artificial reproduction of *Barbatia virescens* were performed from 2009 to 2010, which revealed the processes of propagation and embryonic development. The feasible environmental conditions for hatching, larval growth and settlement of young shellfish were selected via experiments. The natural breeding season of *Barbatia virescens* in the south of Zhejiang Province is from June to July, when water temperature is 24 – 28 °C. The ranges of suitable temperature and salinity in hatching were 24 – 28 °C and 22 – 26 respectively, and the initial D-stage veliger appeared about 18 h after fertilization. In D-stage larvae, the feasible temperature range was 24 – 28 °C, feasible salinity was 26 in larval growth, and the dainty food was *Isochrysis galbana*. After about 10 – 12 days rearing, the larvae develop to the stage of metamorphosis. The hard cement brick with rough surface was suitable for attaching and growth.

Key words: *Barbatia virescens*; artificial reproduction and nursing; embryonic development; environmental factors