



日本海神蛤人工繁殖及早期生长发育

霍忠明, 赵雯, 肖友翔, 车宗豪, 刘括, 闫喜武*

(大连海洋大学水产与生命学院, 辽宁省贝类良种繁育工程技术研究中心, 辽宁大连 116023)

摘要: 为探究日本海神蛤规模化人工苗种繁育的可行性, 在国内首次开展了日本海神蛤人工繁殖及早期生长发育研究。结果显示, 日本海神蛤繁殖盛期为5月和10月, 单次产卵量为300~500万粒/个, 卵径为75~85 μm。春季人工将水温升至18.6~19 °C, 6~9日龄和15~18日龄幼虫生长缓慢, 壳长生长速率仅为1~3 μm/d。其他各日龄幼虫壳长生长速率为9~15 μm/d。日本海神蛤变态后再经过30~40 d培育, 平均壳长可达(4.94±0.93) mm, 稚贝壳长生长速率为50~167 μm/d, 平均苗种产量为2 695粒/m³。秋季水温17.4~13.2 °C条件下, 日本海神蛤幼虫相对春季生长发育较慢, 经过148 d的培育, 稚贝平均壳长可达(2.88±0.47) mm, 平均苗种产量为6 666粒/m³, 再经室外池塘中间育成后生长为平均壳长(13.22±2.39) mm的幼贝。通过比较发现, 在我国北方秋季可培育出适于底播养殖的大规格苗种, 且培育成本较低。本研究为我国日本海神蛤苗种繁育、高效养殖及资源修复提供了科学依据。

关键词: 日本海神蛤; 人工繁殖; 幼虫; 稚贝; 生长发育

中图分类号: S 961.2

文献标志码: A

海神蛤 (*Panopea*) 属软体动物门 (Molluscas) 双壳纲 (Bivalvia) 海螂目 (Myoida) 缝栖蛤科 (Hiatellidae) 海神蛤属 (*Panopea*), 是世界上最大的埋栖型贝类, 从潮间带至水深110 m均有分布, 体质量可达3.2 kg, 水管伸展后长约1 m, 5~10龄为快速生长期。据记载海神蛤属寿命可长达168年^[1], 因此也被称为海洋气候变化研究的活化石。目前已报道的海神蛤共有5个经济种类, 分别为高雅海神蛤 (*P. abrupta*)、球形海神蛤 (*P. globosa*)、阿根廷海神蛤 (*P. abbreviata*)、新西兰海神蛤 (*P. zealandica*) 和日本海神蛤 (*P. japonica*)。在中国市场上, 海神蛤为高价值贝类, 因其水管肥大粗壮宛如象拔, 因而得名“象拔蚌”。全球年产量约5 000 t, 中国占世界消费市场的90%

以上, 价值人民币30亿元, 全部依赖进口。

日本海神蛤成体壳长一般为8~15 cm, 鲜重200~600 g^[2], 分布于我国黄海北部、朝鲜半岛和日本北海道海域, 喜栖息于潮间带至50 m的泥沙底, 埋栖深度为30~40 cm^[3]。目前, 我国日本海神蛤资源几近枯竭, 主要依靠朝鲜进口。其水管略带金黄色, 肉质堪比加拿大温哥华出产的高雅海神蛤。此外, 日本海神蛤的牛磺酸含量高, 每100 g水管干样品中牛磺酸含量为2.97 g, 约是菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*)、文蛤 (*Meretrix meretrix*)、长牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 等贝类的5~9倍^[4], 深受消费者喜爱, 市场潜力巨大。

海神蛤繁殖发育研究始于20世纪70年代, 其中研究最早、最为系统的种类是高雅海神蛤。

收稿日期: 2020-05-25 修回日期: 2020-06-26

资助项目: 国家重点研发计划(2018YFD0901404; 2019YFD0900704); 国家贝类产业技术体系专项(CARS-49); 辽宁省“兴辽英才计划项目”(XLYC1807271); 大连市支持高层次人才创新创业项目(2017RQ062)

第一作者: 霍忠明(照片), 从事贝类遗传育种与繁殖方面研究, E-mail: huozm@dlou.edu.cn

通信作者: 闫喜武, E-mail: yanxiwu@dlou.edu.cn



Goodwin^[5-8]及 Anderson^[9]开展了高雅海神蛤的地理分布、栖息环境、繁殖、生长发育、温度盐度适应性及种群分布研究,为高雅海神蛤苗种繁育与资源养护奠定了基础。我国魏振华等^[10]对高雅海神蛤进行引种和人工苗种繁育研究,并在我国山东和辽宁沿海进行试养。近年来,国内外学者相继开展了高雅海神蛤性腺发育、饵料种类及遗传多样性分析等研究^[11-14]。此外, Gribben 等^[15]和 Aragón-Noriega 等^[16]分别报道了新西兰海神蛤和球形海神蛤繁殖生物学。Lee 等^[2]和 Nam 等^[17]在实验室条件下于春季(5月)开展了日本海神蛤繁殖发育的研究。Huo 等^[18]开展了不同环境因子对日本海神蛤早期生长发育影响的研究。

日本海神蛤与高雅海神蛤、球形海神蛤、新西兰海神蛤在地理分布、繁殖周期和生活习性方面存在较大差异^[4,16,19]。因此,日本海神蛤人工繁殖方法也有别于其他3种海神蛤。有关日本海神蛤人工繁殖及早期生长发育研究在国内未见报道。本研究在国内首次开展了日本海神蛤春季及秋季大规模人工繁育实验,并进行了日本海神蛤2个季节的生长发育比较,以期为我国日本海神蛤苗种繁育、高效养殖及资源修复提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 春季人工苗种繁育实验

亲贝的选择和暂养 选择壳长 10 cm 以上,壳形规整、无损伤,水管收缩有力的日本海神蛤,于 2015 年 5 月下旬由朝鲜罗津市运往大连獐子岛原良种场,在 20 m³ 水泥池中暂养。亲贝培育水温 8.0~10.0 °C,盐度 32,密度 1~2 个/m³,培育期间连续充气。饵料以球等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*) 为主,搭配小球藻 (*Chlorella* sp.),每日投饵 4~6 次,日投饵量为 (2~8) × 10⁴ 个/mL,投饵量以 4 h 内吃完为宜。每天全量换水 1 次。

日本海神蛤亲贝的外部形态及内部解剖图见图 1。使用电子游标卡尺测量亲贝的壳长、壳高及壳宽,精确至 0.01 mm。使用电子天平称量亲贝的鲜重、水管重及性腺重,精确至 0.01 g。使用显微镜鉴定解剖后日本海神蛤性别。

催产和孵化 经 12~15 d 室内暂养,自然

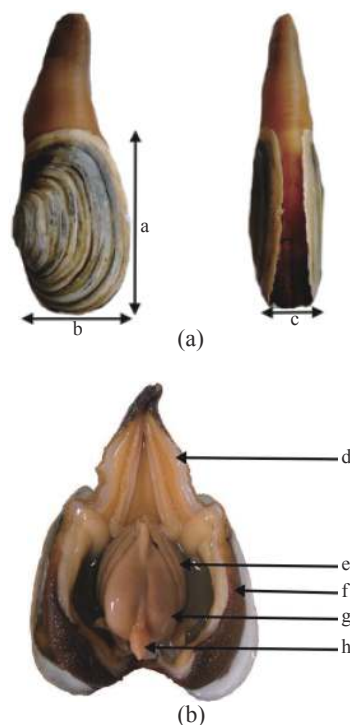


图 1 日本海神蛤外部形态 (a) 及内部解剖图 (b)

a. 壳长, b. 壳高, c. 壳宽, d. 水管, e. 鳃, f. 外套膜, g. 性腺, h. 足

Fig. 1 External view (a) and anatomy (b) of *P. japonica*

a. shell length, b. shell height, c. shell width, d. siphon, e. gill, f. mantle, g. gonad, h. foot

水温升至 12.0~13.0 °C 时亲贝性腺发育成熟,此时将水温升温至 16.0~18.0 °C 进行催产,亲贝排精、产卵可持续 2~6 h。受精卵孵化密度为 20 个/mL,水温为 18.0~19.0 °C,盐度 32,连续充气。

幼虫培育 受精卵经 36 h 孵化发育为 D 形幼虫,用 300 目的筛绢网进行选育,在 20 m³ 水泥池中进行培育。人工将培育水温升至 18.6~19.0 °C, pH 为 8.0~8.2,盐度为 32,光照强度 2 000 lx 以内。幼虫密度为 5~10 个/mL,随着幼虫生长至下潜前逐渐调整为 2~4 个/mL。每天半量换水 1~2 次,每 5~7 天倒池 1 次。幼虫下潜后停止倒池,此时可加大换水量,每天至少全量换水 1 次。饵料以球等鞭金藻为主,以新月菱形藻 (*Nitzschia closterium*) 和小球藻为辅,每日投饵 3~6 次,投喂量为 2 000~6 000 个/mL。

幼虫出足后,将幼虫移至铺有海砂的 20 m³ 水泥池中,作为附着基的海砂先使用含有二氧化氯海水浸泡 36 h,再用砂滤海水清洗浸泡

3 d。

稚贝培育 幼虫下潜后饵料量可增加至 $(0.8\sim 1.2)\times 10^4$ 个/mL, 稚贝培育 10~15 d 后饵料可逐渐增加至 2.5×10^4 个/mL, 每日投喂 4 次, 视摄食情况逐渐增减饵料。稚贝培育期间环境条件同“幼虫培育”。每天半量换水 1 次, 每 3~5 天全量换水 1 次。

1.2 秋季人工苗种繁育实验

亲贝暂养、催产及孵化 日本海神蛤亲贝选择标准与暂养条件同“春季人工苗种繁育实验”。亲贝培育水温为 17.0~18.0 °C, 盐度 28~33, 密度 1 个/m³, 培育期间连续充气。饵料为浓缩的新月菱形藻, 每日投饵 3~4 次, 日投饵量为 $(0.8\sim 1.0)\times 10^4$ 个/mL, 每天全量换水 1 次。

经 4~10 d 暂养, 亲贝自然产卵, 亲贝排精、产卵持续 2~6 h。受精卵孵化密度为 0.5~1.0 个/mL, 室内自然水温为 17.0~18.0 °C, 盐度 28~33, 连续充气。

幼虫及稚贝培育 受精卵经 36~40 h 孵化为 D 形幼虫, 在 30 m³ 水泥池中进行幼虫培育。室内培育水温为 18.2~14.0 °C, pH 为 7.5~8.0, 盐度为 38~33。幼虫及稚贝培育管理同“幼虫培育”和“稚贝培育”。幼虫阶段饵料为浓缩新月菱形藻、小球藻及球等鞭金藻。幼虫阶段, 每日投饵 3~4 次, 投喂量为 500~1 500 个/mL。本次足面盘幼虫直接附着在水泥池底部, 不铺设沙泥等附着基。稚贝阶段, 饵料以浓缩新月菱形藻为主, 每日投饵 3~4 次, 投喂量增加至 1 000~3 000 个/mL。

池塘中间培育 5 月初, 将日本海神蛤苗种从室内培育车间转移至盘锦二界沟室外池塘, 池塘水温为 17.6~20.9 °C, pH 8.5~8.8, 盐度 28~30。将苗种装入铺有细砂的网框中, 网框规格为 49 cm×36 cm×15 cm, 网框四周留有直径为 5 mm 的网眼以增加透水性, 网框加盖防除敌害。每个网框中放入 2 000 个日本海神蛤稚贝, 稚贝规

格为 3~5 mm, 将网框沉降至池塘底部进行日本海神蛤苗种中间育成。在晴天按常规方法施入单胞藻、无机营养盐或经过发酵后的有机肥来培养日本海神蛤所需的饵料生物。每 5~7 d, 视水质肥瘦情况补充生物肥或氨基酸藻类营养素, 调节水色及其透明度。

1.3 测量及观察

使用显微镜 (OLYMPUS CX23) 观察不同时期日本海神蛤幼虫发育情况, 记录发育时间, 并对不同发育阶段的幼虫和稚贝进行拍照。使用目微尺测量受精卵卵径、幼虫及稚贝的壳长及壳高, 并统计幼虫的存活率和变态率以及稚贝的存活率。

1.4 数据分析

采用软件 Excel 作图并进行数据处理。

2 结果

2.1 春季人工苗种繁育实验

亲贝规格与雌雄比例 日本海神蛤的形态、雌雄比例及产卵量见表 1。结果表明, 亲贝壳长 10 cm 的日本海神蛤雌雄比为 1.2 : 1。日本海神蛤性腺成熟后可多次产卵, 单次产卵量为 (300~500) 万粒/个。

早期胚胎发育观察 日本海神蛤排精、产卵不同步, 雄性排放精子 0.5~1.0 h 后雌性开始产卵。日本海神蛤早期胚胎发育时间见表 2。早期胚胎发育观察结果显示, 卵在未受精情况下多数呈圆球状, 少数呈梨形, 卵质均匀呈暗黑色, 卵径为 75~85 μm。在水温 18.6~19.0 °C, 盐度 32, pH 8.0~8.2 的条件下, 精子附卵后 5~10 min 发生顶体反应, 入卵后受精膜举起形成受精卵, 受精率为 $89.6\%\pm 3.21\%$ (图版 I -1)。受精卵经过减数分裂释放第一极体和第二极体, 受精卵横向被拉长, 由于卵质流动在植物极形成极叶,

表 1 日本海神蛤亲贝规格、雌雄比例及产卵量 (样本数, $n=30$)

Tab. 1 Size, sex ratio and fecundity of the parent *P. japonica* (samples, $n=30$)

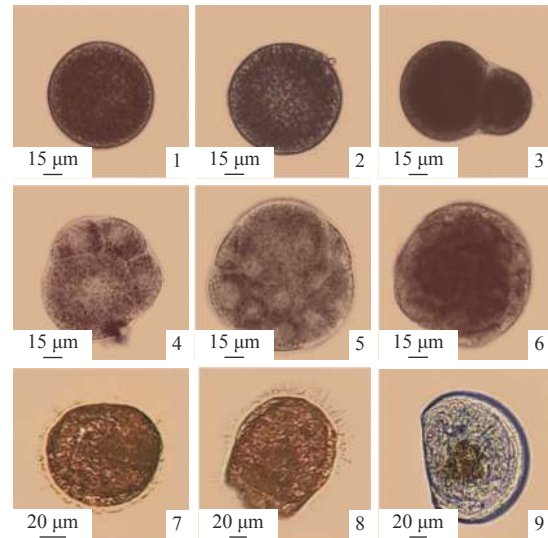
采样时间 sampling time	年龄 age	亲贝指标 parent clams size							
		壳长/mm shell length	壳高/mm shell height	壳宽/mm shell width	体质量/(g/个) body mass	水管重/(g/个) siphon weight	软体部重/(g/个) soft-body weight	雌雄比例 (雌:雄) sex ratio	单次产卵量/ (万粒/个) fecundity
2015-05	5	113.15±5.94	58.08±5.86	71.83±3.80	379.38±59.13	26.17±8.21	47.10±9.00	1.2 : 1	300~500
2019-10	5	108.44±10.73	57.48±6.22	71.18±7.26	348.22±80.32	16.75±5.66	53.29±8.88	1.2 : 1	300~500

表 2 日本海神蛤胚胎发育时间

Tab. 2 Development stage of <i>P. japonica</i>		
发育阶段	developmental stage	时间 time
第一极体	first polar body	20~25 min
第二极体	second polar body	30~35 min
2细胞期	two-cells stage	1 h 40 min
4细胞期	four-cells stage	3 h 5 min
8细胞期	eight-cells stage	5 h 15 min
16细胞期	sixteen-cells stage	6 h 10 min
桑葚期	morula stage	8 h 10 min
囊胚期	blastula stage	14 h
原肠期	primary intestinal stage	18 h 30 min
担轮幼虫	trochophore	30 h
D形幼虫	D larvae	36 h

受精卵纵向发生自缢，形成明显的卵裂沟，将卵细胞分成大小不等的卵裂球，形成 2 细胞期，之后仍以不等全裂的卵裂方式进行第二次和第三次卵裂，分别形成 4 细胞期和 8 细胞期，之后开始进行螺旋卵裂逐渐发育为 16 细胞期、32 细胞期，再经分裂胚胎呈桑椹状，到达桑椹期 (图版 I -2~5)。至受精后 14 h，胚胎发育成椭圆球形，周围细胞长出细小纤毛，开始在水中做顺时针旋转，为囊胚期 (图版 I -6, 7)。发育至受精后 30 h，胚胎长出一纤毛环，中央具鞭毛束，称为担轮幼虫，这时幼虫上浮水面 (图版 I -8)。受精后 36 h，胚胎开始分泌原壳逐渐覆盖身体，消化系统逐渐分化形成，并形成运动器官面盘，直线铰合部平直，此时为 D 形幼虫，或称直线铰合幼虫 (图版 I -9)。

日本海神蛤幼虫及稚贝培育 日本海神



图版 I 日本海神蛤胚胎发育

1. 受精卵; 2. 第一极体; 3. 2 细胞期; 4. 4 细胞期; 5. 16 细胞期; 6~7. 囊胚期; 8. 担轮幼虫; 9. D 形幼虫

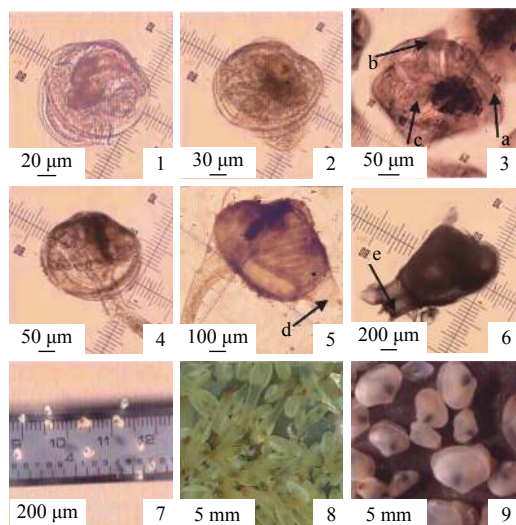
Plate I Embryo development of *P. japonica*

1. fertilized egg; 2. first polar body; 3. two-cells stage; 4. Four-cells stage; 5. sixteen-cells stage; 6-7. blastula stage; 8. trochophore; 9. D larvae

蛤幼虫及稚贝的生长发育情况见表 3。随着生长壳顶逐渐隆起，生长至 9 日龄为 $(201.88 \pm 4.86) \mu\text{m} \times (160.68 \pm 3.83) \mu\text{m}$ ，进入壳顶中期 (图版 II -1, 2)。18~21 日龄幼虫开始逐渐出足下潜形成足面盘幼虫，平均壳长为 $(316.17 \pm 24.02) \mu\text{m}$ (图版 II -3, 图 2)。在幼虫培育阶段，幼虫的壳长及壳高的平均日生长为 9~15 μm ，但 6~9 日龄和 15~18 日龄幼虫生长缓慢，壳长及壳高的生长速率仅为 1~3 $\mu\text{m}/\text{d}$ 。幼虫培育期间的存活率为 $13.4\% \pm 1.52\%$ ，变态率为 $29.8\% \pm 4.82\%$ (图 3)。在日本海神蛤幼虫变态阶段并未观察到眼点。日本海神蛤足面盘幼虫时期已出现鳃原基，并逐渐发育为完整的鳃耙，

表 3 日本海神蛤春、秋季早期繁育生长发育时间及规格 (样本数, $n=30$)Tab. 3 Early development stages of *P. japonica* in the spring and autumn artificial breeding (samples, $n=30$)

发育阶段 developmental stage	春季繁育实验 spring artificial breeding		秋季繁育实验 autumn artificial breeding	
	发育时间/d time	平均壳长/ μm shell length	发育时间/d time	平均壳长/ μm shell length
D形幼虫 D larvae	1.5	120.19 \pm 4.86	1.6	120.70 \pm 6.81
壳顶幼虫 umbo-larvae	9	201.88 \pm 4.86	20	175.45 \pm 11.20
足面盘幼虫 pediveliger larvae	21	316.17 \pm 24.02	32	268.70 \pm 20.90
单水管稚贝 single-siphon juvenile	31	606.76 \pm 33.84	64	581.70 \pm 83.35
双水管稚贝 double-siphon juvenile	38	1268.33 \pm 89.62	97	1286.50 \pm 137.45



图版 II 日本海神蛤幼虫及稚贝早期发育

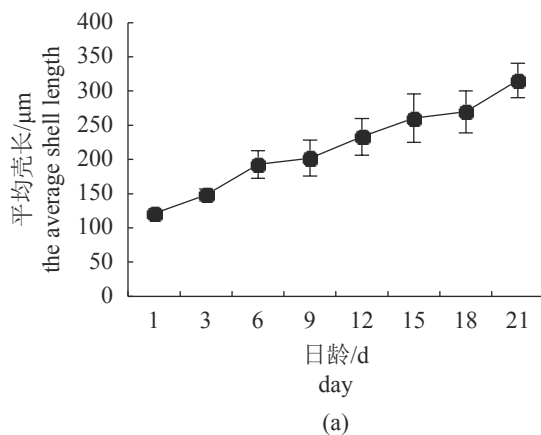
1、2. 壳顶幼虫; 3. 足面盘幼虫; 4. 变态稚贝; 5. 单水管稚贝; 6. 双水管稚贝; 7-9. 幼贝; a. 面盘, b. 足, c. 鳃, d. 水管, es. 出水管

Plate II Early development of larva and juvenile of *P. japonica*

1, 2. umbo-larvae; 3. pediveliger larvae; 4. metamorphosis juvenile; 5. single-siphon juvenile; 6. double-siphon juvenile; 7-9. juveniles; a. velum, b. foot, c. gill, d. siphon, e. exhalent siphon

此时的幼虫既具有面盘可以在水中浮游, 又具有鳃和足可以下潜生活。

日本海神蛤幼虫变态后, 进入快速生长期, 平均壳长生长速率约为 $50 \mu\text{m}/\text{d}$, 生长至 30 日龄平均壳长 (606.76 ± 33.84) μm , 发育至单水管稚贝 (图版 II -5)。生长至 38 日龄平均壳长 ($1\ 268.33 \pm$



89.62) μm 发育至双水管稚贝 (图版 II -6), 单水管稚贝到双水管稚贝阶段壳长生长速率为 $83 \mu\text{m}/\text{d}$ 。经过 60 d 的培育, 日本海神蛤平均壳长可达到 (4.94 ± 0.93) mm (图 4), 双水管稚贝以后壳长生长速率为 $167 \mu\text{m}/\text{d}$, 稚贝存活率为 $40.6\% \pm 1.95\%$ (图 3)。

幼虫及稚贝的壳长始终大于壳高。D 形幼虫壳高壳长比值为 0.75, 之后壳高壳长比值逐渐增大。发育至单水管稚贝时壳高壳长比值达到最大为 0.88, 之后比值下降, 壳高壳长比值为 0.71 (图 5)。

本次日本海神蛤苗种繁育实验水体共 100 m^3 , 平均出苗量为 $2\ 695$ 粒/ m^3 。

2.2 秋季人工苗种繁育实验

日本海神蛤幼虫及稚贝培育 在幼虫培育阶段, 室内自然水温由 17.4°C 逐渐降为 13.2°C , 幼虫的壳长生长速率为 $5\sim 8 \mu\text{m}/\text{d}$, 壳高生长速率为 $2\sim 4 \mu\text{m}/\text{d}$ (图 6), 在 20~29 日龄, 幼虫生长较为缓慢, 不同个体生长速度差异较大, 幼虫存活率为 $70.6\% \pm 5.46\%$ 。D 形幼虫经过 32 d 培育发育为足面盘幼虫, 开始附着变态, 变态率为 $59.2\% \pm 3.35\%$ (图 3)。

日本海神蛤稚贝室内培育水温为 $12.8\sim 14.0^\circ\text{C}$, 稚贝壳长生长速率为 $18\sim 55 \mu\text{m}/\text{d}$, 壳高生长速率为 $9\sim 31 \mu\text{m}/\text{d}$, 64 日龄后发育为单水管稚贝, 平均壳长×壳高为 (581.70 ± 83.35) $\mu\text{m} \times$ (466.00 ± 54.76) μm 。97 日龄发育至双水管稚贝。经过 148 d 培

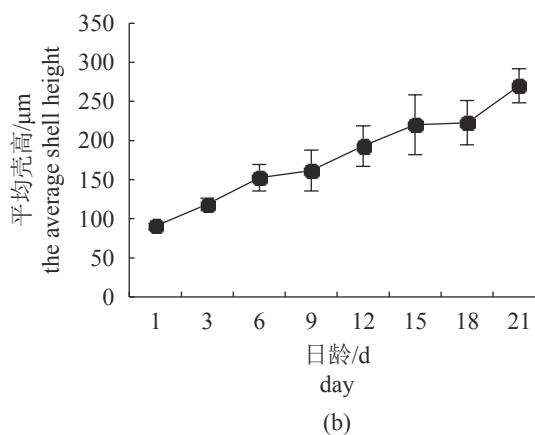


图 2 日本海神蛤春季繁育幼虫壳长 (a) 及壳高 (b)

(a) 壳长; (b) 壳高; 样本数, $n=30$; 下同

Fig. 2 Larval growth on shell length (a) and shell height (b) of *P. japonica* in the spring artificial breeding

(a) shell length; (b) shell height; samples, $n=30$; the same below

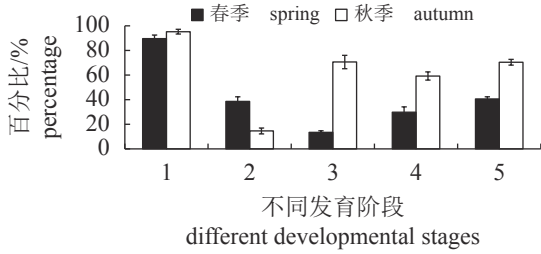


图 3 日本海神蛤春季和秋季繁育受精率、孵化率、幼虫存活率、变态率及稚贝存活率

1. 受精率; 2. 孵化率; 3. 幼虫存活率; 4. 变态率; 5. 稚贝存活率

Fig. 3 Fertilization rate, hatching rate, larval survival rate, metamorphosis rate and juvenile survival rate of *P. japonica* in the spring and autumn artificial breeding

1. fertilization rate; 2. hatching rate; 3. larval survival rate; 4. metamorphosis rate; 5. juvenile survival rate

育, 日本海神蛤平均壳长×壳高达到 (2 879.46±474.41) μm×(2 016.49±323.50) μm (图 7), 稚贝存活率为 70.40%±2.30%(图 3)。本次日本海神蛤秋季苗种繁育实验共 150 m³, 平均出苗量为 6 666 粒/m³。

幼虫及稚贝的壳长始终大于壳高。D 形幼虫壳高壳长比值为 0.77, 之后比值逐渐增大。发育至 32 日龄足面盘幼虫时壳高壳长比值达到最大为 0.89, 之后比值逐渐下降至 0.70(图 5)。

日本海神蛤稚贝经 30 d 室外池塘中间培育后, 壳长、壳高、壳宽及鲜重分别为 (13.00±2.26) mm、(8.56±1.33) mm、(5.19±1.17) mm 和 (0.46±0.21) g, 存活率为 25.00%±5.00%。

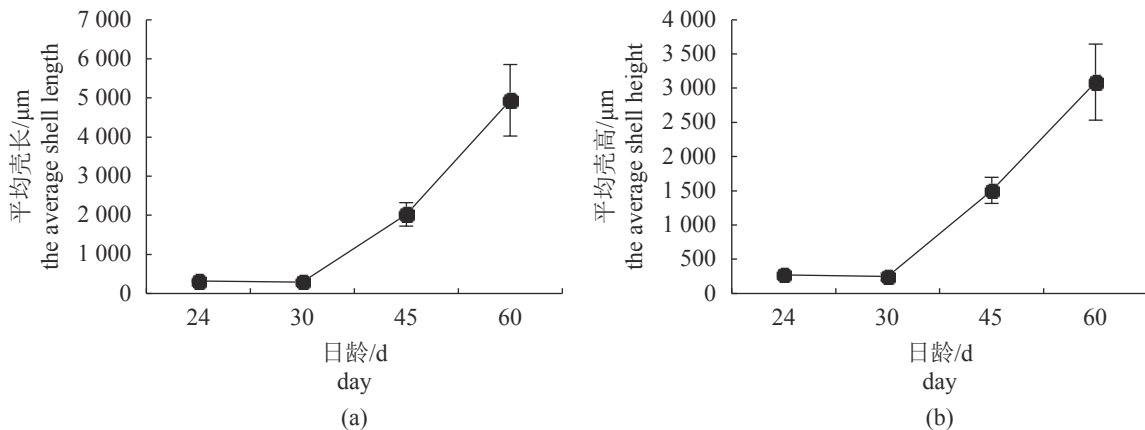


图 4 日本海神蛤春季繁育稚贝壳长及壳高

Fig. 4 Juvenile growth of shell length (a) and shell height (b) of *P. japonica* in the spring artificial breeding

3 讨论

3.1 海神蛤亲贝雌雄比例及繁殖期

海神蛤雌雄比例与年龄和规格有关。不同年龄、不同规格的雌性比例不同。海神蛤第一次性成熟时大都发育为雄性, 在翌年有部分雄性发生性逆转, 转化为雌性^[20]。Strathman^[21]报道了高雅海神蛤的雄性性成熟年龄为 3 龄, 在 4 龄时, 部分雄性逐渐转变为雌性。Campbell 等^[11]发现高雅海神蛤的小型个体中出现雄性比例较大, 雌性个体数量随着体长的增长而增加。Gribben 等^[20]研究发现, 新西兰海神蛤在 3 龄以后有 76% 为雄性, 雌性性腺发育缓慢。Campbell 等^[11]报道了阿根廷海神蛤的生物学最小型雄性体长为 51.2~54.5 mm, 雌性为 57.1~59.3 mm。不同体长的阿根廷海神蛤性比不同, 小个体中的雄性比例居多, 90 mm 以下的雄性居多(雄性和雌性比为 57.8 : 28.7), 90 mm 以上的雄性与雌性比近于 1 : 1。雄性个体死亡率比雌性个体大, 可能是由于在雄性转变为雌性的过程中出现死亡。因此, 在日本海神蛤人工苗种繁育过程中, 应注意对亲贝规格的选择。本研究中, 日本海神蛤的亲贝壳长为 10 cm 以上, 雌雄比例为 1.2 : 1。在 5 月底运至獐子岛良种场后经人工解剖发现, 雄性和雌性个体性腺颜色不同, 雄性为乳白色, 雌性为浅黄色, 精卵遇水即散开。显微镜观察精子游动, 卵呈圆形, 卵质均匀, 说明精卵进入成熟期。李莹^[4]对日本海神蛤周年性腺发育观察发现, 每年 5 月和 10 月为日本海神蛤

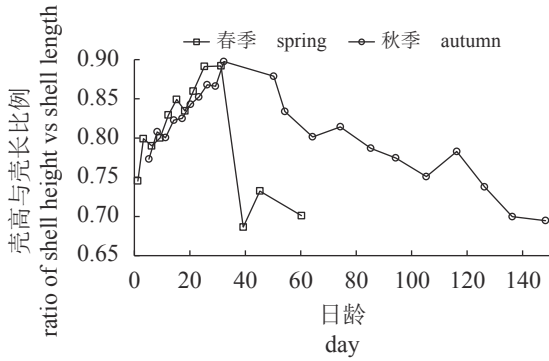


图5 日本海神春季和秋季繁育幼虫及稚贝的壳高壳长比值随日龄变化
Fig. 5 Changes of ratio between shell height and shell length of larvae, juveniles of *P. japonica* with days in the spring and autumn artificial breeding

繁殖盛期。

3.2 日本海神蛤早期发育

日本海神蛤卵裂方式与其他双壳纲贝类相似^[22], 即2细胞期至8细胞期先进行不完全卵裂, 发育至16细胞期后进行螺旋卵裂, 逐渐发育为D形幼虫。

温度对贝类受精卵孵化有显著影响, 水温过低会使胚胎发育停滞, 水温过高会抑制胚胎发育, 甚至出现畸形。在本研究中, 日本海神蛤孵化水温为19.0℃, 受精卵经过36h发育为D形幼虫。而Nam等^[17]对日本海神蛤研究发现, 在水温19℃时日本海神蛤幼虫经过27h即发育为D形幼虫, 这可能与亲贝性腺发育的成熟度

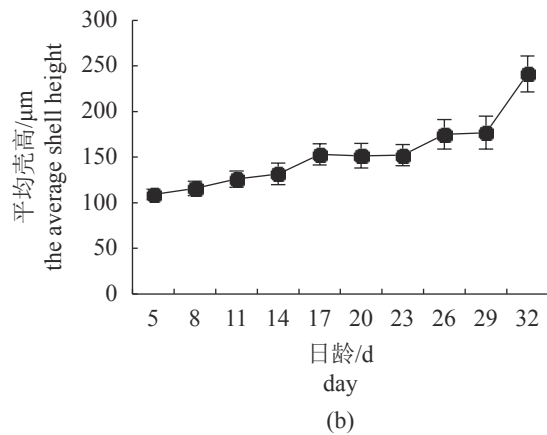
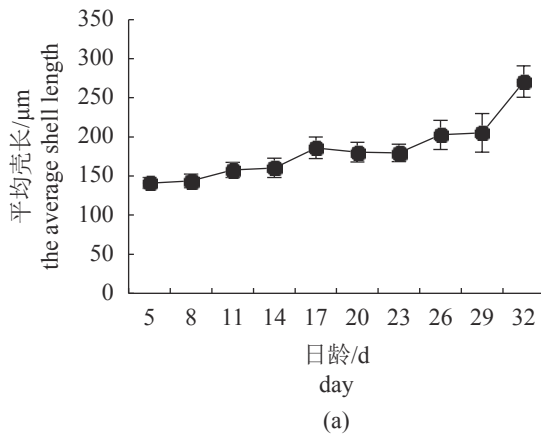


图6 日本海神蛤秋季繁育幼虫壳长(a)及壳高(b)
Fig. 6 Larval growth of shell length (a) and shell height (b) of geoduck clam *P. japonica* in the autumn artificial breeding

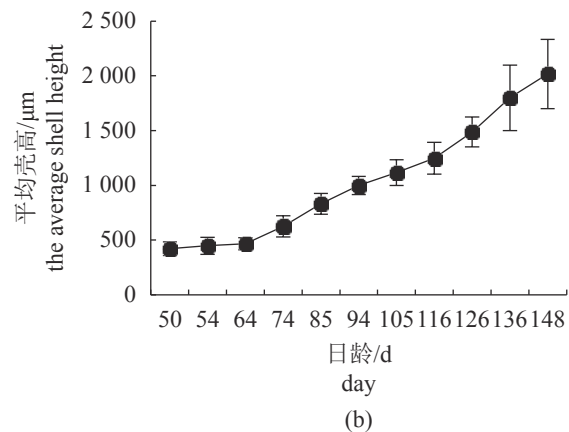
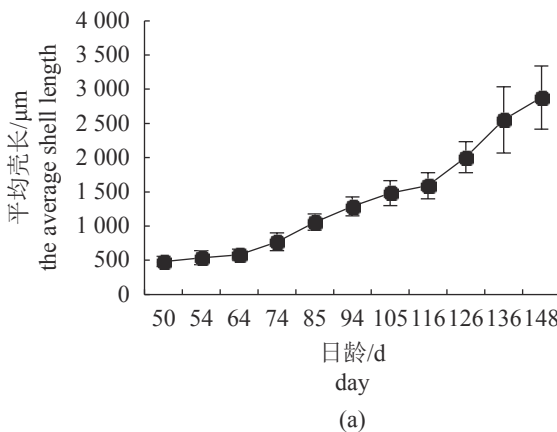


图7 日本海神蛤秋季苗种繁育稚贝壳长(a)及壳高(b)
Fig. 7 Juvenile growth of shell length (a) and shell height (b) of *P. japonica* in the autumn artificial breeding

及不同海区水质条件等差异有关。随着水温的降低,其胚胎发育时间逐渐延长。Lee等^[2]研究结果显示,日本海神蛤受精卵在水温为8、11、14及17℃时孵化为D形幼虫的时间分别为122.6、72、62.4和42.7h。刘明坤等^[14]发现,在水温11、13和16℃时,高雅海神蛤受精卵发育至D形幼虫的时间分别为83、60和46h。综上所述,日本海神蛤胚胎发育最适水温为16.0~19.0℃。在日常孵化管理中应结合显微镜观察,准确掌握日本海神蛤受精卵孵化时间并及时选优。

有关高雅海神蛤早期发育研究表明,高雅海神蛤卵径约为82μm,D形幼虫大小为122μm,幼虫在17.0℃时经过25~30d培育,在14.0℃时经过47d培育可达到出足下潜的规格350μm。Gribben等^[20]报道了新西兰海神蛤卵径为70μm,在水温17.0℃受精卵12h可发育为担轮幼虫,24h发育为D形幼虫。D形幼虫的壳长为105.3μm,经过16d的培育壳长可达到247μm的下潜规格。本研究中,日本海神蛤的卵径为75~85μm,D形幼虫的平均壳长为120μm。在春季水温为19.0℃时经过18~21d培育,幼虫开始逐渐出足下潜,秋季室内自然水温17.4~13.2℃,经过32d培育幼虫开始出足下潜,足面盘幼虫壳长规格为286~316μm。这与Lee等^[2]报道的日本海神蛤幼虫在水温11.0℃时需经过36d发育为稚贝的结果相近。日本海神蛤D形幼虫大小及出足下潜规格与高雅海神蛤相近,2个时期的规格比新西兰海神蛤大;幼虫浮游时间略长于新西兰海神蛤,比高雅海神蛤略短。值得注意的是,在本研究中并未发现日本海神蛤在壳顶幼虫后期出现眼点,这与附着型贝类不同,后者在壳顶幼虫后期出现眼点,出现靴状足,脱掉面盘再逐渐生长出鳃完成变态。日本海神蛤鳃原基在足面盘幼虫时期就已出现,并逐渐发育为鳃,此时的幼虫既具有面盘可以在水中浮游摄食,又具有鳃和足可以下潜摄食生活,这种特殊的发育过程能够提高日本海神蛤幼虫在变态阶段对环境的适应能力。

日本海神蛤幼虫变态为稚贝后进入快速生长期,在春季水温19.0℃时,经过31d的培育可发育至单水管稚贝,38d后发育为双水管稚贝。由于秋季水温由17.2℃逐渐自然下降到13.2℃,秋季稚贝比春季稚贝生长速度慢,单水管稚贝

和双水管稚贝出现的时期分别延后了33和59d。

3.3 环境因子对日本海神蛤生长发育的影响

近年来,日本海神蛤在国内海鲜市场日益畅销,其苗种繁育技术研究也备受关注。Huo等^[18]在不同环境因子对日本海神蛤幼虫生长发育影响的研究中发现,等鞭金藻与新月菱形藻按体积比2:1投喂,幼虫生长快,存活率高;当盐度低于25时,日本海神蛤幼虫不能正常存活。肖友翔^[23]研究发现,日本海神蛤幼虫在纯沙底质的变态率高于泥底质,稚贝在粒径为200~300μm纯沙的底质中生长最快,稚贝适宜生活的底质含沙量在50%以上。王晔^[24]开展了pH、氨态氮及亚硝酸盐氮对日本海神蛤幼虫及稚贝生长发育的影响研究,结果表明,日本海神蛤苗种培育适宜pH范围为8.0~8.4,亚硝酸盐氮和非离子氨分别为0.8和0.025mg/L以下为宜。

本研究在国内首次开展了日本海神蛤春季和秋季人工繁殖及早期生长发育比较实验。春季苗种培育水温为19.0℃,盐度为32,pH为8.0,稚贝在粒径为250μm的细砂中经过60d的培育,日本海神蛤苗种壳长达约5mm,平均出苗量为2695粒/m³。秋季苗种繁育水温17.4~13.2℃,盐度28~33,pH为7.5~8.0,在幼虫期投喂浓缩新月菱形藻,苗种出足变态后直接附着在水泥池底部。经过148d的培育,日本海神蛤苗种壳长达约3mm,平均出苗量为6666粒/m³。对比春、秋季室内人工苗种繁育发现,春季苗种繁育的幼虫存活率和变态率低于秋季。这可能与培育水温相关,Huo等^[18]报道了日本海神蛤幼虫在13~19℃时均可存活,在水温13℃时存活率较高,但生长缓慢。当水温达到22℃时,幼虫存活率逐渐降低,至12日龄时全部死亡。因此,在室内人工苗种繁育过程中,可根据实际情况合理控制水温,以提高单位水体出苗量。

3.4 日本海神蛤规模化苗种繁育探讨

通过近5年实验发现,日本海神蛤在我国北方海域规模化苗种繁育的关键因素是安全度夏。在我国北方海域8月自然海水水温达到22.0℃以上时,日本海神蛤稚贝出现活力下降,存活率逐渐降低等现象,因此应在夏季高温期来临前完成日本海神蛤苗种规模化生产,将培育的

大规模苗种在适宜海区进行底播养殖。本研究根据日本海神蛤繁殖生物学特点, 对 5 月和 10 月的日本海神蛤人工繁殖及早期生长发育进行了比较, 发现秋季 10 月上旬进行日本海神蛤规模化苗种繁育可培育出适于底播养殖的大规格苗种, 苗种培育成本较低。本研究发现, 在我国北方海域日本海神蛤苗种于 5 月下旬培育至 8 月高温季节来临前, 平均壳长可生长至 (4.94 ± 0.93) mm, 此时苗种无法在室内车间或室外池塘安全度夏, 这种规格苗种在 8 月进行海区底播养殖存活率低, 增加了养殖风险。另外从苗种繁育成本分析, 由于我国北方 5 月下旬海水温较低 ($10.0 \sim 13.0$ °C), 需使用升温海水 ($18.6 \sim 19.0$ °C) 进行日本海神蛤苗种培育, 随着自然水温逐渐升高可改为常温海水, 因此, 在春季 5 月进行日本海神蛤规模化苗种繁育成本也较高。相比之下, 我国北方海域秋季 10 月上旬自然水温约为 $18.0 \sim 20.0$ °C, 正是日本海神蛤繁殖的适宜水温, 苗种经过常温培育后, 可在北方室内车间低温环境越冬, 能够节约一定的成本。本研究于 5 月初将室内培育的苗种转移至北方室外池塘再进行 1 个月中间培育, 可获得平均壳长 (13.22 ± 2.39) mm 的大规格底播苗种。在以后的秋季日本海神蛤规模化苗种繁育中, 可尝试在早春 4 月初将苗种转移至池塘进行中间育成, 可获得更大规格的底播养殖苗种, 可使日本海神蛤养殖存活率得到保障, 降低养殖风险。

参考文献 (References):

- [1] Bureau D, Hajas W, Surry N W, *et al.* Age, size structure and growth parameters of geoducks (*Panopea abrupta*, Conrad 1849) from 34 locations in British Columbia sampled between 1993 and 2000[R]. Canadian Technical Report of Fisheries and Aquatic Sciences, No. 2413, 2002.
- [2] Lee C S, Baik K K, Hong K E. Ecological studies on the habitat of geoduck clam, *Panopea japonica*[J]. Journal of Aquaculture, 1998, 11(1): 105-111.
- [3] 齐钟彦, 马绣同, 王祯瑞, 等. 黄渤海的软体动物 [M]. 北京: 农业出版社, 1989: 228-229.
- Qi Z Y, Ma X T, Wang Z R, *et al.* Mollusca of Huanghai and Bohai[M]. Beijing: Agriculture Press, 1989: 228-229(in Chinese).
- [4] 李莹. 日本海神蛤 *Panopea japonica* 性腺发育、营养成分周年变化及遗传多样性研究 [D]. 大连: 大连海洋大学, 2019.
- Li Y. Gonad development, annual variation of nutrients, transcriptome analysis and genetic diversity of *Panopea japonica*[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2019(in Chinese).
- [5] Goodwin L. Effects of salinity and temperature on embryos of the geoduck clam (*Panopea generosa*)[J]. Proc. Natl. Shellfish Assoc., 1973, 63: 93-95.
- [6] Goodwin L. Observations on spawning and growth of subtidal geoducks (*Panopea generosa*, Gould)[J]. Proceedings of the National Shellfisheries Association, 1976, 65: 49-58.
- [7] Goodwin L. Some effects of subtidal geoduck (*Panopea generosa*) harvest on a small experimental plot in Puget Sound[J]. WA. Wash Dept. Fish Progress Rep., 1978, 66: 21.
- [8] Goodwin L, Shaul W, Budd C. Larval development of the geoduck clam (*Panopea generosa*, Gould)[J]. Proceedings of the National Shellfisheries Association, 1979, 69: 73-76.
- [9] Anderson A M. Spawning, growth and spatial distribution of the geoduck clam, *Panopea generosa* Gould, in Hood Canal, Washington[D]. Washington: University of Washington, 1971: 113.
- [10] 魏振华, 魏利平. 象拔蚌引种及人工育苗技术[J]. 齐鲁渔业, 2004, 21(8): 4-7.
- Wei Z H, Wei L P. Studies on artificial introduction and reproduction of the Pacific geoduck *Panopea abrupta*[J]. Shandong Fisheries, 2004, 21(8): 4-7(in Chinese).
- [11] Campbell A, Ming M D. Maturity and growth of the Pacific geoduck clam, *Panopea abrupta*, in Southern British Columbia, Canada[J]. Journal of Shellfish Research, 2003, 22(1): 85-90.
- [12] Van Koevinge M A H. Molecular population genetics of British Columbia Geoduck Clams, *Panopea abrupta*, based on mitochondrial DNA sequences[D]. Canada: Simon Fraser University, 1998.
- [13] Vadopalas B, Bentzen P. Isolation and characterization of di- and tetranucleotide microsatellite loci in geoduck clams, *Panopea abrupta*[J]. Molecular Ecology, 2000, 9(9): 1435-1436.

- [14] 刘明坤, 王昌勃, 孔令锋, 等. 象拔蚌人工育苗技术研究[J]. 海洋科学, 2013, 37(8): 103-106.
Liu M K, Wang C B, Kong L F, *et al.* Studies on artificial reproduction of the Pacific geoduck *Panopea generosa*[J]. Marine Sciences, 2013, 37(8): 103-106(in Chinese).
- [15] Gribben P E, Hay B E. Larval development of the New Zealand geoduck *Panopea zelandica* (Bivalvia: Hiatellidae)[J]. New Zealand Journal of Marine & Freshwater Research, 2003, 37(2): 231-239.
- [16] Aragón-Noriega, Eugenio Alberto, Calderon-Aguilera L E, Pérez-Valencia, Sergio Alejandro. Modeling growth of the cortes geoduck, *Panopea globosa*, from unexploited and exploited beds in the Northern Gulf of California[J]. *Journal of Shellfish Research*, 2015, 34(1): 119-127.
- [17] Nam M M, Lee C, Kim M, *et al.* Development and growth in fertilized eggs and larvae of the Japanese geoduck, *Panopea japonica* reared in the laboratory[J]. *The Korean Journal of Malacology*, 2014, 30(4): 303-309.
- [18] Huo Z M, Guan H W, Rbbani M G, *et al.* Effects of environmental factors on growth, survival, and metamorphosis of geoduck clam (*Panopea japonica* A. Adams, 1850) larvae[J]. *Aquaculture Reports*, 2017, 8: 31-38.
- [19] Aragón-Noriega A, Chávez-Villalba J, Gribben P, *et al.* Morphometric relationships, gametogenic development and spawning of the geoduck clam *Panopea globosa* (Bivalvia: Hiatellidae) in the central Gulf of California[J]. *Journal of Shellfish Research*, 2007, 26(2): 423-431.
- [20] Gribben P E, Creese R G. Protandry in the New Zealand geoduck, *Panopea zelandica* (Mollusca, Bivalvia)[J]. *Invertebrate Reproduction & Development*, 2003, 44(2-3): 119-129.
- [21] Strathmann M F. Reproduction and development of marine invertebrates of the Northern Pacific Coast[M]. Seattle: University of Washington Press, 1987.
- [22] 沈亦平, 姜海波, 刘汀, 等. 合浦珠母贝卵子成熟的细胞学观察[J]. 武汉大学学报(自然科学版), 1993(5): 111-116.
Shen Y P, Jiang H B, Liu T, *et al.* Cytology of egg maturation of pearl oyster *Pinctada martensii* dunker[J]. *Journal of Wuhan University (Natural Science Edition)*, 1993(5): 111-116(in Chinese).
- [23] 肖友翔. 环境因子对日本海神蛤早期生长发育的影响 [D]. 大连: 大连海洋大学, 2016.
Xiao Y X. Effects of environmental factors on early growth and development of *Panopea japonica*[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2016(in Chinese).
- [24] 王晔. pH、氨态氮和亚硝酸态氮对日本海神蛤 *Panopea japonica* 早期发育和生长的影响 [D]. 大连: 大连海洋大学, 2016.
Wang Y. Effects of pH, ammonia nitrogen and nitrite nitrogen on early development and growth of *Panopea japonica*[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2016(in Chinese).

Artificial breeding, early growth and development of *Panopea japonica*

HUO Zhongming, ZHAO Wen, XIAO Youxiang, CHE Zonghao, LIU Kuo, YAN Xiwu*

(Engineering Research Center of Shellfish Culture and Breeding in Liaoning Province, College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China)

Abstract: The geoduck clam *Panopea japonica* is of high commercial potential. Currently, its sales in China account for over 90% of its global sales and all the geoduck clams sold in the Chinese market are imported from Sea of Japan. However, artificial breeding of *P. japonica* on a large scale is rarely reported. This study for the first time tried artificial breeding of the geoduck clam *P. japonica* in an indoor hatchery in spring and autumn. Growth and development of the artificially bred *P. japonica* in the two different seasons were compared as well. The results showed that for the parental *P. japonica*, the reproduction peak period was observed in May and October, with a single spawning amount of $(3 \times 10^6) - (5 \times 10^6)$ eggs/female and an egg diameter of 75-85 μm . In spring, when the water temperature was raised to 18.6-19.0 $^{\circ}\text{C}$, the lowest growth rate was observed in 6-9 days old and 15-18 days old individuals, with a daily growth rate of shell length at 1-3 $\mu\text{m}/\text{day}$. For the larvae at other growth stages, average growth rate of shell length was 9-15 $\mu\text{m}/\text{day}$. After 30-40 days' cultivation, *P. japonica* developed into the juvenile stage and the average shell length reached (4.94 ± 0.93) mm. For juveniles, the average growth rate of shell length was 50-167 $\mu\text{m}/\text{day}$. In spring, average production was 2 695 spat/ m^3 . Fertilization rate, hatching rate, larval survival rate, metamorphosis rate and juvenile survival rate of *P. japonica* artificially cultivated in spring were 89.60% \pm 3.21%, 38.60% \pm 3.77%, 13.40% \pm 1.52%, 29.80% \pm 4.82% and 40.60% \pm 1.74%, respectively. In autumn, the water temperature was from 17.4 $^{\circ}\text{C}$ to 13.2 $^{\circ}\text{C}$. Growth and development of larval *P. japonica* were relatively slow and after 148 days' cultivation, average shell length of the juveniles reached (2.88 ± 0.47) mm and average production was 6 666 spats/ m^3 . Fertilization rate, hatching rate, larval survival rate, metamorphosis rate and juvenile survival rate of *P. japonica* artificially cultivated in autumn were 95.20% \pm 1.92%, 14.60% \pm 2.41%, 70.60% \pm 5.46%, 59.20% \pm 3.35% and 70.40% \pm 2.30%, respectively. Then the spat was transferred to outside pool for further cultivation, which could eventually reach (13.22 ± 2.39) mm. In comparing the growth and development of the artificially bred *P. japonica* in spring and autumn in Northern China, large size seeds suitable for bottom sowing could be produced in autumn at a relatively low cost. This study has provided a scientific basis for larval breeding, high-efficient cultivation and resource restoration of *P. japonica* in China.

Key words: *Panopea japonica*; artificial breeding; larval; juvenile; growth

Corresponding author: YAN Xiwu. E-mail: yanxiwu@dloou.edu.cn

Funding projects: Chinese Ministry of Science and Technology through the National Key Research and Development Program of China (2018YFD0901400; 2019YFD0900704); China Agriculture Research System (CARS-49); Liaoning Revitalization Talents Program (XLYC1807271); Dalian High Level Talent Innovation Support Program (2017RQ062)