

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2017.16002

人工蓄养斧文蛤的生殖周期及早期发育

邵艳卿^{1,2}, 张炯明^{1,2}, 方军^{1,2}, 肖国强^{1,2}, 滕爽爽^{1,2}, 柴雪良^{1,2}

1. 浙江省海洋水产养殖研究所, 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;

2. 中国水产科学研究院 海洋贝类工程技术研究中心, 浙江 温州 325005

摘要: 为了探讨斧文蛤(*Meretrix lamarkii* Deshayes)的繁殖规律和胚胎发育过程, 自 2012 年 1 月至 2013 年 1 月, 每月采集样品, 采用组织学方法对浙南海区移养的斧文蛤性腺发育、生殖周期和性成熟率周年变化进行了研究, 并结合室内人工育苗试验对其胚胎发育过程进行了显微观察。结果表明, 该地区斧文蛤的性腺发育以 1 年为 1 个周期, 可分为增殖期、生长期、成熟期、排放期和休止期 5 个时期, 雌雄性比约为 1:1, 性腺发育时间基本同步, 均始于 2 月, 随着水温的升高而发育, 大部分个体在 6 月至 7 月发育成熟, 7 月下旬至 8 月底是繁殖盛期, 可用阴干加流水刺激方法诱导其排放精卵, 受精卵在水温 29℃、盐度 28、pH 7.8~8.5 条件下, 经 16~20 h 孵化成 D 形幼虫, 壳长为 100~110 μm, 浮游幼虫经 5~6 d 培育进入匍匐幼虫期, 壳长约 200 μm, 最后发育变态为稚贝。本研究为斧文蛤的人工繁育、养殖开发以及种质资源保护提供了基础资料。

关键词: 斧文蛤; 性腺发育; 繁殖周期; 胚胎发育

中图分类号: S968

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2017)01-0082-09

斧文蛤(*Meretrix lamarkii* Deshayes)隶属双壳纲(Bivalvia), 帘蛤科(Veneridae), 文蛤属, 分布于中国台湾和广东以南至海南三亚沿海, 日本房总以南, 常埋栖于潮下带至水深 20 m 左右的砂质海底^[1]。斧文蛤成体个体大, 肉味鲜美, 营养丰富, 深受群众喜爱, 是我国东南沿海一带经济价值较高、具有广阔养殖开发前景的贝类。斧文蛤历来依靠采捕自然资源以满足国内市场需求, 但是近些年来, 由于滥采乱捕加上无繁殖保护措施等因素影响, 其自然资源急剧减少并濒临枯竭, 然而市场需求却在不断增加。因此, 开展斧文蛤野生资源的保护和人工增养殖工作已迫在眉睫。

目前关于斧文蛤人工育苗、增养殖的研究报道国内外均十分匮乏, 仅有本课题组开展斧文蛤人工繁育试验的报道^[2], 本课题组虽已成功培育出一定规模的人工苗种, 但苗种年产量还不稳定, 不能达到规模化繁育, 在斧文蛤增养殖过程

中, 种苗紧缺问题还比较突出。目前国内外对斧文蛤的研究主要集中在系统分类学^[3-5]、分子标记筛选与群体遗传^[6-7]、营养^[8]和受精生物学^[9]等方面, 而有关繁殖生物学方面的研究尚未见报道。本研究利用组织学切片方法对浙南海区移养的斧文蛤性腺发育和生殖周期进行了周年研究, 并结合室内人工育苗试验对其胚胎发育过程进行了显微观察, 以期为斧文蛤的规模化人工繁育、养殖开发及其种质资源保护提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 试验样品

实验用亲贝于 2011 年 5 月初从浙江苍南县渔寮后槽海区(N27°12', E120°31')采集, 壳长 3.2~8.0 cm, 平均壳长(5.1±1.0) cm, 湿重 5.7~33.5 g。样品鲜活运回后在浙江省海洋水产养殖研究所清江试验场进行人工蓄养。

收稿日期: 2016-01-04; 修订日期: 2016-07-15.

基金项目: 国家海洋公益性行业科研专项子任务(201205021-5); 国家水产种质资源平台项目(2015DKA30470); 温州市科技项目(S20110006).

作者简介: 邵艳卿(1979-), 女, 高级工程师, 从事海洋贝类种质资源与遗传育种. E-mail: amshao@126.com

通信作者: 柴雪良, 研究员, 研究方向为贝类遗传育种. E-mail: cxl-5888@163.com

1.2 人工蓄养方法

本试验于2011—2013年在清江试验场进行。选取无机械损伤的个体,用砂滤海水冲洗干净,均匀撒播于铺有20 cm厚细砂的水泥池(长4.0 m×宽2.5 m×深1.2 m)中继续培育,培养密度 $1\sim 2\text{ kg/m}^2$,培养用水为自然砂滤海水(盐度为15~30),水温为自然水温(7~30℃),控制水位80 cm,日换水80%,微充气。饵料以人工培养的单胞藻为主,如金藻(*Isochrysis* sp.)、角毛藻(*Chaetocercs* sp.)、扁藻(*Platymoas* sp.)、小硅藻等,每日1~2次。不同季节,根据单胞藻培育的难易程度,投喂不同的饵料,其中11—4月,以小硅藻为主,附以角毛藻、扁藻等;4—8月,以金藻为主,附以角毛藻、扁藻等;8—11月,以角毛藻为主,附以扁藻、金藻等。

1.3 组织学分析

从2012年1月至2013年1月,每月取样1次,现场测水温,每次采集样品10~20个,其中5—9月每月各采样2次。参考林志华等^[10]的方法对采集样品进行形态指标测量、解剖、观察并切取性腺组织,用波恩氏液(Bouin)固定,石蜡包埋,切片(厚7 μm),苏木精-伊红(HE)染色, Olympus光学显微镜观察、拍照,辨别雌雄、性腺发育状况并分期。

1.4 性成熟率(R)的计算^[11]

同一个月份的斧文蛤样品,个体之间的性腺发育和产卵程度并不完全相同,故以R值(性成熟率)表示群体性腺的发育变化,其公式为:

$$R = (n_1\text{I} + n_2\text{II} + n_3\text{III} + n_4\text{IV} + n_5\text{V})/N$$

式中, N 为观察总个数; $n_1\sim n_5$ 代表各性腺发育期的个体数; I~V 为性腺发育各期, 规定 I=2/5, II=3/5, III=4/5, IV=5/5, V=1/5。

1.5 胚胎发育观察

取性腺发育成熟的亲贝。人工催产受精试验在浙江清江基地室内水泥池中进行,利用海洋贝类幼虫常规培育方法^[12]进行室内培育,保持孵化密度在10个/mL内,连续充气,连续取样镜检观察胚胎发育过程并拍照。发育至D形幼虫后,日换水量100%,适当投喂金藻,每日镜检观察测量幼虫生长发育及变态情况并拍照。

2 结果与分析

2.1 斧文蛤的繁殖方式及性比

斧文蛤繁殖方式为卵生型,体外受精,雌雄异体,在繁殖成熟季节,性腺从消化腺外侧表面一直延伸至足基部,雄性生殖腺呈乳白色,雌性呈浅黄色。在周年采集的200个斧文蛤样品中,最大壳长82.5 mm,最小为32.5 mm,平均壳长 $(51.41\pm 10.20)\text{ mm}$;雌性占45.5%,雄性占43%,不能辨别雌雄的个体主要出现在12月和1月,占11.5%,未发现雌雄同体个体。在本研究中,雌雄性比约为1.058:1,两者在总数量上不存在显著差异。

2.2 斧文蛤的性腺发育

根据生殖细胞的发育规律以及处于不同发育期的生殖细胞在滤泡中所占的比例,将斧文蛤的性腺发育划分为以下5个时期:

I期(增殖期):性腺开始形成,后期可隐约见一层很薄的性腺,主要分布于消化腺的外侧表面。切片显示,雌性:滤泡大小不等,形状不规则,壁上有一层不连续的卵原细胞,并在卵原细胞之间逐渐出现少量卵黄形成前期的初级卵母细胞,此期滤泡腔基本还是一个空腔,卵原细胞直径从约10 μm增至20 μm,核直径从7 μm增至11 μm,核仁明显,一般位于核周缘,直径从3.0 μm增至3.5 μm(图1 a-b)。雄性:滤泡出现,滤泡间分布大量结缔组织,滤泡壁薄,染色浅,主要由不连续单层精原细胞和少数初级精母细胞组成,至本期末,滤泡壁增厚,滤泡腔内出现次级精母细胞和部分网状组织(图2 a-b)。

II期(生长期):在内脏团表面能看见明显的性腺覆盖,比上一期明显。切片观察,雌性:滤泡腔空隙逐渐缩小,壁上基本已挤满生长中后期的卵母细胞,多呈长梭形或倒梨形等不规则形状,一端已明显凸向泡腔,形成明显的卵柄;到此期末,在滤泡腔内开始出现部分成熟的卵母细胞,此期较大的卵母细胞大小已达约62.5 μm,核直径约30 μm,核仁明显,直径约8 μm(图1 c-d)。雄性:滤泡体积增大,数目增多,泡腔内空隙逐渐缩小,生殖细胞沿滤泡壁排成数层,滤泡内可

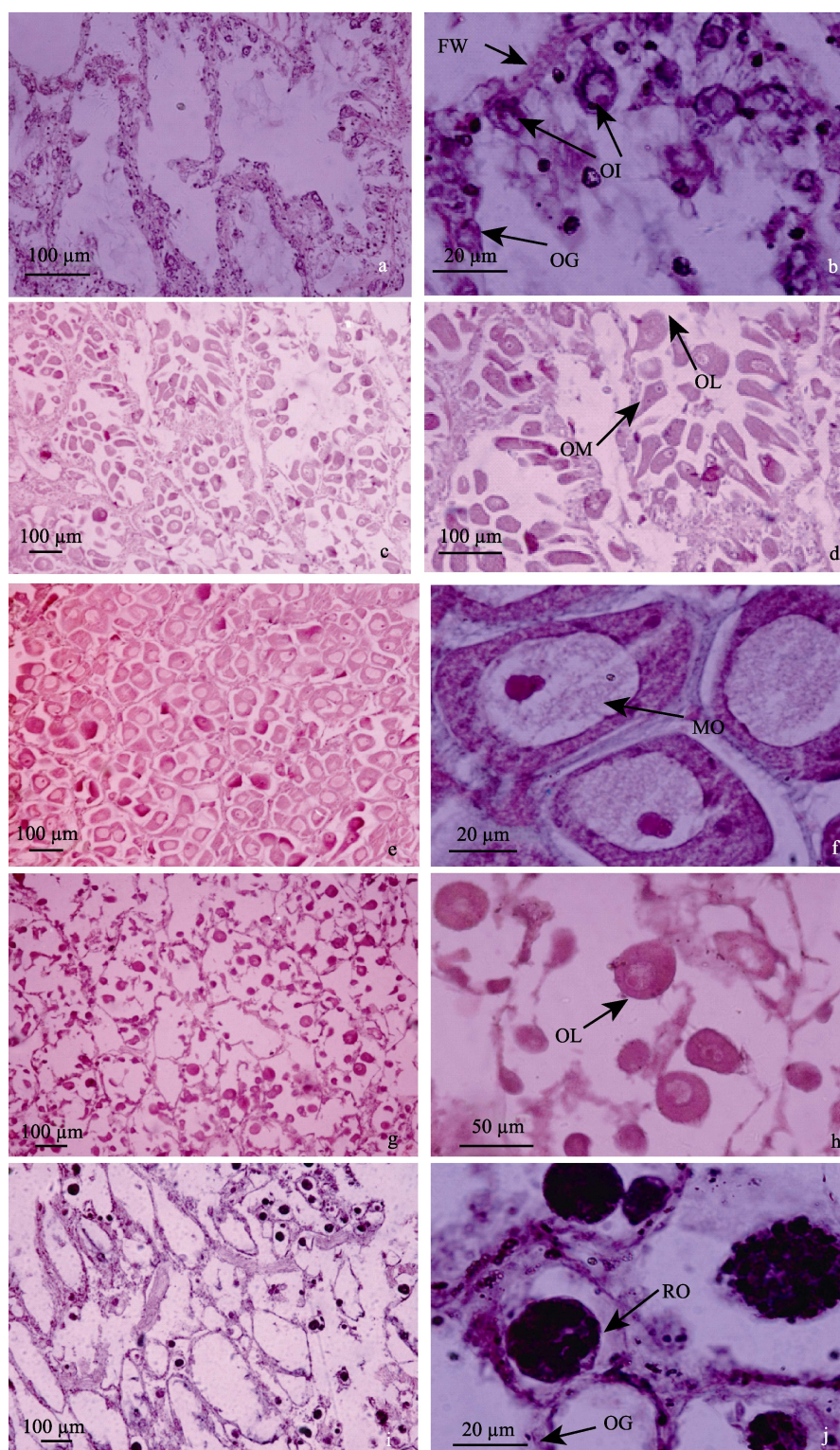


图 1 斧文蛤卵巢不同时期的组织切片

a-b. 增殖期; c-d. 生长期; e-f. 成熟期; g-h. 排放期; i-j. 休止期; FW: 滤泡壁; OG: 卵原细胞; OI: 生长初期卵母细胞; OM: 生长中期卵母细胞; OL: 生长后期卵母细胞; MO: 成熟卵细胞; RO: 残留卵子。

Fig. 1 Histological section of different gonadal development stages in *Meretrix lamarkii*

a-b. Proliferating stage; c-d. Growing stage; e-f. Ripe stage; g-h. Spawning stage; i-j. Resting stage. FW: follicle wall; OG: oogonium; OI: oocyte in initial phase of growth; OM: oocyte in metaphase of growth; OL: oocyte in later phase of growth; MO: mature oocyte; RO: residual oocyte.

见从精原细胞至精子各个不同发育阶段的生殖细胞, 精子头部朝向滤泡壁, 尾部朝向滤泡腔, 且染色加深(图 2 c-d)。

III 期(成熟期): 性腺外观肥满, 完全覆盖整个内脏团, 并延伸到足基部, 一般雌性性腺颜色为浅黄色, 雄性为乳白色; 此时刺破性腺, 可见卵子或精液流出, 一遇水即可散开, 水中卵子呈明显颗粒状, 精液呈乳白浑浊。切片观察, 雌性: 滤泡为全年最丰满时期, 滤泡腔扩张至最大状态, 腔内充满大量形状不规则的成熟卵, 以椭圆形居多, 泡壁变薄, 壁上还生长着部分以卵柄连接着的卵母细胞, 此期滤泡内成熟卵占总数的 70%~

80%, 卵细胞直径约为 80 μm , 核径约 42 μm , 核仁径约 11 μm (图 1 e-f)。雄性: 滤泡内精细胞和精子拥挤成簇, 密集呈辐射状排列, 着色很深, 泡腔内无空隙, 壁上新生的精原细胞形成减少(图 2 e-f)。

IV 期(排放期): 性腺外观饱满度下降, 出现褶皱; 性腺可再次饱满, 但已不如成熟期。切片观察, 雌性: 滤泡腔中仅残留少量卵, 而壁上尚有较多卵原细胞及卵母细胞, 有些滤泡腔中尚有较多成熟卵尚未排放; 有些滤泡壁薄, 因排放而破裂(图 1 g-h)。雄性: 滤泡内开始出现大小不等的空腔, 不同滤泡中存留的精子数量差异较大, 有

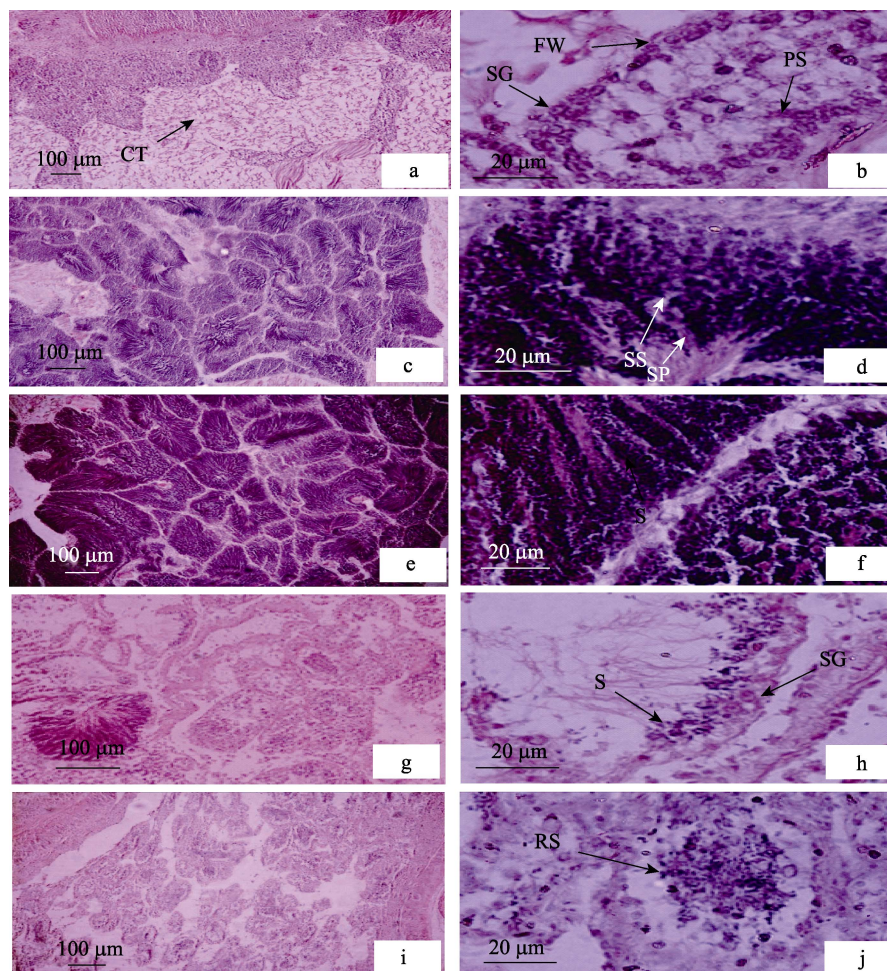


图 2 斧文蛤精巢不同时期的组织切片

a-b. 增殖期; c-d. 生长期; e-f. 成熟期; g-h. 排放期; i-j. 休止期; CT: 结缔组织; FW: 滤泡壁; SG: 精原细胞; PS: 初级精母细胞; SS: 次级精母细胞; SP: 精细胞; S: 精子; RS: 残留精子。

Fig. 2 Histological section of different spermary development stages in *Meretrix lamarkii*

a-b. Proliferating stage; c-d. Growing stage; e-f. Maturing stage; g-h. Spawning stage; i-j. Resting stage.

CT: connective tissue; FW: follicle wall; SG: spermatogonium; PS: primary spermatocyte;

SS: secondary spermatocyte; SP: spermatid; S: sperm; RS: residual sperm.

些滤泡壁仍有较多精母细胞、精细胞,可再次发育成精子,从而出现间歇排精现象(图 2 g-h)。

V 期(休止期): 性腺饱满度进一步下降, 颜色黯淡。切片观察发现: 不同个体间滤泡差异较大, 本期初, 有些个体滤泡内还充满大量未排放的成熟精(卵)子, 有些个体滤泡壁上还有带卵柄的卵母细胞, 但都由于不能继续发育, 已经开始萎缩或破裂, 处于被吸收状态, 切片着色较深(图 1 i-j); 到末期, 滤泡间结缔组织大量增生, 滤泡腔逐渐空虚缩小呈不规则状, 雄性滤泡内仍有较多杂乱分布的精子, 壁上零散分布少量的精原细胞(图 2 i-j)。

2.3 斧文蛤的生殖周期

根据近两年的人工繁育实践和性腺切片周年观察结果, 斧文蛤在浙江繁殖周期为 1 年, 在一个繁殖季节可多次产卵, 雌雄性腺发育基本同步。斧文蛤的性腺发育始于 2 月, 2 月底有 62.5% 的个体处于增殖期(图 3)。4—5 月主要为配子生长期, 5 月中旬有 90% 的个体处于生长期, 并有部分个体(10%)性腺开始发育成熟, 6 月初至 7 月底为成熟期, 性腺发育成熟的个体占 70%~80% 以上。配子的排放始于 6 月下旬, 7 月下旬到 8 月底为配子集中排放期, 随着卵(精)子的排放, 从 9 月份开始进入休止期的斧文蛤个体数

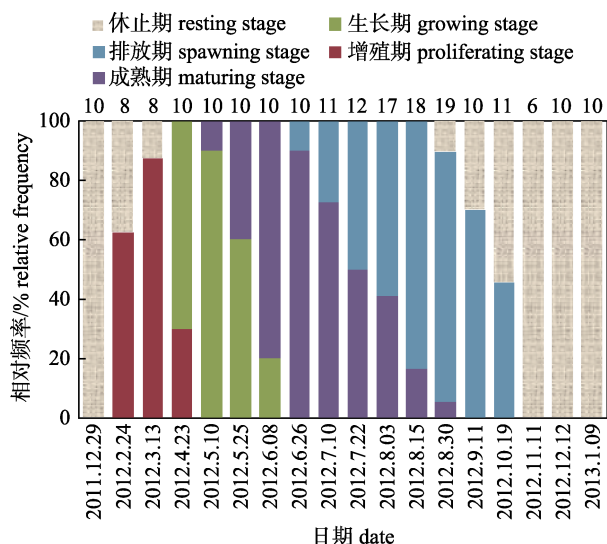


图 3 斧文蛤性腺发育时期的周年变化

Fig. 3 Relative frequency of stages in the reproductive cycle of *Meretrix lamarkii*

量不断增加, 至翌年 1 月结束, 随后进入下一个繁殖周期。

图 4 显示了斧文蛤采样水温 and 性成熟率的周年变化。2—3 月, 水温 7.6~12.4℃, 此阶段群体的性成熟率(R 值)在 32.5%~37.5%, 斧文蛤性腺处于增殖期, 其后水温和性成熟率都逐渐增大; 4 月至 5 月底, 水温为 16.8~22.4℃, 斧文蛤的性腺迅速增长, 性成熟率为 54%~68%, 处于生长期; 从 6 月下旬开始, 性成熟率 R 值都在 80% 以上, 7 月底、8 月性成熟率 R 值为全年最高, 达到 90% 以上, 这段时间正是斧文蛤的繁殖盛期, 平均水温 28℃ 以上; 进入 9 月中旬以后水温和 R 值都开始显著下降, 持续至翌年 1 月。

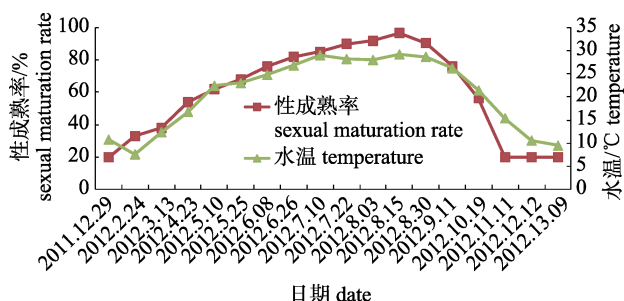


图 4 斧文蛤的性成熟率与水温的周年变化

Fig. 4 Monthly variations in sexual maturation rate in *Meretrix lamarkii* and water temperature

2.4 胚胎及幼虫发育

斧文蛤性腺成熟后, 可用阴干加流水的方法诱导其排放精卵, 受精卵在海水中呈球形, 为沉性卵(图 5A)。在水温 26~30℃、盐度 25~30、pH 为 7.8~8.5 条件下胚胎可以正常发育。精子入卵后启动卵子的成熟分裂, 在水温 29℃、盐度 28 条件下, 受精后 10~20 min, 形成第一极体(图 5B); 受精后 40~50 min, 进行第一次卵裂, 将卵细胞分割成 2 个大小不等的卵裂球, 进入了二细胞期(图 5C); 12 h 后发育到担轮幼虫期(图 5G); 16~20 h 后, 面盘形成, 进入 D 型幼虫期(图 5H), 平均壳长为 100~110 μm。

进入 D 形幼虫期, 开始投喂金藻进行幼虫培育, 采用贝类幼虫常规培育方法^[12], 培育至第 3 天左右, 壳顶趋于明显, 进入壳顶幼虫期(图 5I); 当幼虫长至壳长约 200 μm(第 5~6 天)时, 取样能

观察到部分个体有足伸缩, 匍匐爬行, 开始进入附着变态阶段, 投附着基让其附着, 然后转入底栖生活(图 5J)(表 1)。

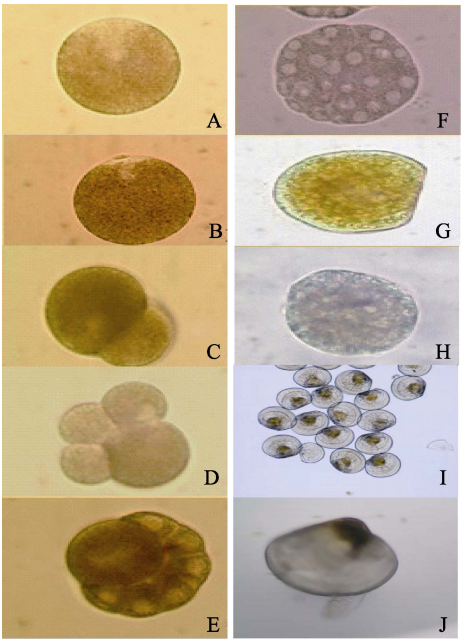


图 5 斧文蛤的胚胎及幼虫发育
A. 受精卵; B. 第一极体; C. 二细胞期; D. 四细胞期; E. 多细胞期; F. 囊胚期; G. 担轮幼虫期; H. D 型幼虫(面盘幼虫); I. 壳顶幼虫; J. 匍匐幼虫。
Fig. 5 Embryo and larvae development of *Meretrix lamarkii*
A. Fertilized eggs; B. First polar body; C. 2 cells stage; D. 4 cells stage; E. Multi-cell stage; F. Blastula stage; G. Trochophore stage; H. D-sharp larvae (veliger larvae); I. Umbo larvae; J. Creeping larvae.

表 1 斧文蛤的胚胎及幼虫发育
Tab. 1 The development stages of embryo and larvae of *Meretrix lamarkii*

发育时期 developmental stage	受精后时间 time after fertilization
受精 fertilization	
第一极体 the first polar body	20 min
二细胞期 2 cells stage	50 min
四细胞期 4 cells stage	1 h 30 min
八细胞期 8 cells stage	1 h 50 min
十六细胞期 16 cells stage	2 h 10 min
多细胞期 multi-cells stage	2 h 30 min
囊胚期 blastula stage	3 h 20 min
担轮幼虫期 trochophore stage	12 h
D 形幼虫期 D-shaped larvae stage	16–20 h
壳顶幼虫期 umbo-veliger stage	2–3 d
匍匐幼虫 creeping larvae	6–7 d

3 讨论

3.1 斧文蛤的繁殖期及其影响因素

通过性腺切片周年观察发现, 浙江苍南海区移养的斧文蛤性腺发育具有明显的分期, 且一年为一个繁殖周期, 这与庄启谦等^[13]所报道的帘蛤科的种类大多具有在一年内规律性的生殖周期, 呈现出一个或两个生殖峰期相一致; 海洋贝类的繁育周期受到许多外部和内部因素的共同影响, 国内外诸多学者的研究结果都表明, 温度是影响贝类繁殖活动的一个最重要的环境因素, 其既可直接影响贝类新陈代谢的速率, 也可间接影响贝类生存繁殖所需食物的丰度^[14–20]。斧文蛤属滤食性贝类, 亚热带–热带分布种, 在浙江地区其性腺发育与水温变化密切相关。研究表明, 斧文蛤性成熟率的周年变化与水温的周年变化相一致。当水温由最低值(7.6℃)开始回升时, 配子开始发育, 性成熟率开始增大; 在养殖水域水温达 24.8℃时, 斧文蛤性腺开始发育成熟; 当水温超过 26℃, 性成熟率增至最高, 即进入到繁殖盛期(夏季 7 月下旬至 8 月)。相似的现象见于黄河三角洲的青蛤(*Cyclina sinensis*)^[19]和山东魁蚶(*Scapharca broughtonii*)^[20]。此后, 10 月至翌年 1 月, 随着温度的急剧下降, 性腺开始进入休止阶段。由此可见, 在浙江地区移养的斧文蛤繁殖盛期在 7—8 月, 水温为 26–30℃, 期间温度高, 阳光充足, 比较适合饵料单细胞藻类(如金藻和角毛藻)的培养, 斧文蛤属滤食性贝类, 以海水中浮游植物为食, 这就保证了其幼虫孵化的适宜温度和丰富的食物来源, 利于斧文蛤规模化人工育苗的顺利开展。

除水温外, 饵料、盐度、光照等因素对贝类的繁殖周期也会有一定的影响, 如在本研究中就发现, 人工蓄养斧文蛤的成熟性腺的丰满度和一致性明显好于自然海区的斧文蛤, 这可能跟饵料的丰富度有关, 饵料对斧文蛤生殖周期的具体影响有待于进一步研究探讨。总之, 通过人工移养促熟, 可使斧文蛤成贝性腺发育成熟, 用于人工繁育, 这将促进斧文蛤的人工放流和养殖业的发展, 为人工繁殖提供稳定的成熟亲贝, 有利于扩大规模。

本研究通过切片观察还发现,不同个体间性腺发育差异较大,在刚排放完成熟卵子的个体性腺切片上可观察到不同个体间或同一个体不同滤泡间都存在差异,有的已排空开始逐渐退化,有的在滤泡壁上还有较多卵母细胞,像文蛤、泥蚶等贝类一样,在人工培养条件下经过一段时间的人工促熟可再次成熟,但是成熟的卵(精)子质量已不如第一批。因此,在进行斧文蛤人工育苗时,应抓住第一次成熟排放高峰。

另外,在本研究所取样品中,未发现斧文蛤性腺雌雄同体现象,其性比接近 1:1,在数量上不存在显著差异,但在规格上却发现存在一定差异,小规格斧文蛤(壳长 30~40 mm)以雄性居多,而大规格(壳长 60 mm 以上)则是雌性多于雄性,并且相比中间规格,两者中部分个体的性腺发育相对较差。笔者认为这可能跟斧文蛤的年龄有关。Shin 等^[21]在调查韩国沿海缢蛭(*Sinonovacula constricta*)和等边浅蛤(*Gomphina veneriformis*)的性比时发现,两种贝类小个体雄性占多数,雌性则随着规格和年龄的增大而增加,他们据此推测缢蛭和等边浅蛤可能是潜在的雄性先熟种类;Peharda 等^[22]对诺亚魁蛤(*Arca noae*)也有相似的报道。在本研究中发现,斧文蛤的两性性腺发育基本同步,只有个别雄性个体有性腺发育较早现象,但其是否属于雄性先熟的贝类以及性比分布随年龄增长的变化规律等问题还有待于进一步深入研究。

3.2 斧文蛤胚胎、幼虫的发育特点

在本研究中,斧文蛤的胚胎和幼虫发育过程与常见的文蛤(*Meretrix meretrix*)^[12]、青蛤^[23]、皱肋文蛤(*Meretrix lyrata*)^[24]和偏顶蛤(*Modiolus*

modiolus)^[25]等双壳贝类的早期发育相似,但是在各期具体发育时间、卵径和幼虫大小上还是有许多不同(表 2)。斧文蛤卵径约 80 μm,要比泥蚶(*Tegillarca granosa*)^[12](60 μm)卵径大,比青蛤(94~98 μm)小,与皱肋文蛤(80 μm)、文蛤(60~90 μm)、菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)^[12](74~78 μm)相近。同时,研究发现,斧文蛤从 D 形幼虫(100~110 μm)发育至早期稚贝(约 200 μm)时,其壳长变化范围和浮游期时间与文蛤、皱肋文蛤基本相一致,这可能因为他们同属于文蛤属,其早期胚胎和幼虫个体发育差异相对较小。

许多研究表明,温度和盐度是影响海洋贝类胚胎、幼虫生长的两个重要的环境因素^[23-28]。宁军号等^[25]研究发现,在 15~20℃ 条件下,偏顶蛤幼虫畸形率较低且能够较快发育,并且高温组的长速较快,但是一旦超过 25℃,就会使幼虫活力明显下降,畸形率、死亡率升高,最终导致败育。陈冲等^[26]报道在盐度低于 11.7 和高于 39.1 情况下,文蛤胚胎发育受到制约,只能发育至原肠期甚至 4~16 细胞期,但是随着胚胎内器官逐步发育完善,表现出对盐度耐受力逐渐增强的趋势。以上相似的现象也在其他贝类如青蛤^[23]、泥蚶^[27]、栉孔扇贝^[28]中有所报道,温度、盐度既影响胚胎和幼体的发育质量又影响其发育速度,只要在适宜的温盐范围内,其发育质量好、发育速度快,一旦超出其上下限值,就会导致畸形率、死亡率明显增大或者滞育。在本研究中发现,斧文蛤在水温 29℃、盐度 28 条件下胚胎、幼虫可以正常发育,但是其在较低盐度(盐度<25)时后期容易出现幼虫大批沉苗死亡情况,与文蛤(孵化期适盐范围 17.3~33.9;浮游

表 2 几种双壳类幼虫特征的比较
Tab. 2 Larvae characteristic comparison of several species of Bivalvia

种类 species	卵径/μm diameter of egg	D 形幼虫/μm D-shaped larva	浮游天数/d days of floating period	匍匐幼虫/μm creeping larvae
斧文蛤 <i>Meretrix lamarckii</i>	~80	100~110	5~6	200
文蛤 <i>Meretrix meretrix</i> ^[12]	60~90	126	6	216
皱肋文蛤 <i>Meretrix lyrata</i> ^[24]	80	108~113	6~7	181~211
青蛤 <i>Cyclina sinensis</i> ^[23]	94~98	110~115	5	160~170
泥蚶 <i>Tegillarca granosa</i> ^[12]	60	83	13~14	168.7
菲律宾蛤仔 <i>Ruditapes philippinarum</i> ^[12]	74~78	—	9~10	175~180
偏顶蛤 <i>Modiolus modiolus</i> ^[25]	78~86	100~109	20	240~270

幼体适盐范围 9.2~29.3)相比较, 斧文蛤幼虫的耐低盐能力相对较差, 分析这可能跟其亲体所栖息的自然生态环境有关^[25]。斧文蛤各发育阶段的具体适温、适盐范围还有待于进一步详细系统地研究。

参考文献:

- [1] Zhang S P. Atlas of Marine Mollusks in China[M]. Beijing: China Ocean Press, 2008. [张素萍. 中国海洋贝类图鉴[M]. 北京: 海洋出版社, 2008.]
- [2] Zhang J M, Xiao G Q, Shao Y Q, et al. *Meretrix lamarkii* artificial breeding technology test[C]//Chinese Animal Society, Chinese Society for Oceanology and Limnology. The Ninth Congress of the Shellfish and the Fifteenth Academic Conference Abstracts, 2011, 163: 138. [张炯明, 肖国强, 邵艳卿, 等. 斧文蛤(*Meretrix lamarkii*)人工繁育技术试验[C]//中国动物学会. 中国海洋湖沼学会贝类学分会第九次会员代表大会暨第十五次学术讨论会会议摘要集, 2011, 163: 138.]
- [3] Pan B P, Wu Q, Zhang S P, et al. Molecular phylogeny of *Meretrix* (Mollusca: Bivalvia) based on 16S rRNA genes and ITS1 sequences[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2006, 37(4): 342–347. [潘宝平, 吴琪, 张素萍, 等. 文蛤属(*Meretrix*)16S rRNA 基因及 ITS1 序列的系统学分析[J]. 海洋与湖沼, 2006, 37(4): 342–347.]
- [4] Chen A H, Li Z X, Feng G N. Phylogenetic relations of the genus *Meretrix* (Mollusca Veneridae) based on mitochondrial *COI* gene sequences[J]. Zool Res, 2009, 30(3): 233–239.
- [5] Zhang S P, Wang H X, Xu F S. Taxonomic study on *Meretrix* (Bivalvia, Veneridae) from China seas[J]. Acta Zootaxonomica Sinica, 2012, 37(3): 473–479. [张素萍, 王鸿霞, 徐凤山. 中国近海文蛤属(双壳纲, 帘蛤科)的系统分类研究[J]. 动物分类学报, 2012, 37(3): 473–479.]
- [6] Liu B, Teng S S, Chai X L, et al. Characterization of 28 polymorphic SSR loci from *Meretrix lamarkii* Deshayes[J]. Conserv Genet Res, 2014, 6(1): 13–15.
- [7] Teng S S, Fang J, Jin W H, et al. Analysis of genetic diversity in four different *Meretrix lamarkii* geographical populations using microsatellite markers[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2015, 22(3): 580–587. [滕爽爽, 方军, 金文辉, 等. 4 个斧文蛤群体微卫星标记的遗传多样性分析[J]. 中国水产科学, 2015, 22(3): 580–587.]
- [8] Yu H, Zhang J M, Zhang W, et al. Nutrition analysis and comparison of meats from *Meretrix meretrix* and *Meretrix lamarkii*[J]. Journal of Ningbo University: Natural Science & Engineering Edition, 2015, 28(4): 7–10. [余海, 张炯明, 张问, 等. 短文蛤和斧文蛤肉的营养成分分析与比较[J]. 宁波大学学报: 理工版, 2015, 28(4): 7–10.]
- [9] Dong Y H, Lin Z H, Yao H H. Studies on ultrastructure of spermatozoon and cytological change of nuclear behavior on fertilization in *Meretrix lamarkii*[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(3): 356–364. [董迎辉, 林志华, 姚韩韩. 斧文蛤精子超微结构与受精过程的细胞学变化[J]. 水产学报, 2011, 35(3): 356–364.]
- [10] Lin Z H, Shan L Z, Chai X L, et al. Study on the gonad development and reproductive cycle of *Meretrix meretrix* Linnaeus[J]. Journal of Fisheries of China, 2004, 28(5): 510–514. [林志华, 单乐州, 柴雪良, 等. 文蛤的性腺发育和生殖周期[J]. 水产学报, 2004, 28(5): 510–514.]
- [11] Zeng Z N, Li F X. The study on reproductive cycle of *Cyclina sinensis*[J]. Tropic Oceanology, 1991, 10(1): 86–92. [曾志南, 李富雪. 青蛤的繁殖周期[J]. 热带海洋, 1991, 10(1): 86–92.]
- [12] Wang R C, Wang Z P. Science of Marine Shellfish Culture[M]. Qingdao: Ocean University of China Press, 2008. [王如才, 王昭萍. 海水贝类养殖学[M]. 青岛: 中国海洋大学出版社, 2008.]
- [13] Zhuang Q Q. Fauna sinica, Mollusca, Bivalve, Veneridae[M]. Beijing: Science Press, 2001. [庄启谦. 中国动物志软体动物门双壳纲帘蛤科[M]. 北京: 科学出版社, 2001.]
- [14] Liao C Y, Xu Y F, Wang Y L. Reproductive cycle of the scallop *Chlamys farreri* (Jones et Etpreston) at Qingdao[J]. Journal of Fisheries of China, 1983, 7(1): 1–13. [廖承义, 徐应馥, 王远隆. 栉孔扇贝的生殖周期[J]. 水产学报, 1983, 7(1): 1–13.]
- [15] Li Q, Liu W G, Shirasu K, et al. Reproductive cycle and biochemical composition of the Zhe oyster *Crassostrea plicatula* Gmelin in an eastern coastal bay of China[J]. Aquaculture, 2006, 261: 752–759.
- [16] Cao F J, Liu Y, Zhang C F, et al. Studies on the sex gonad development and reproductive cycle of *Lutraria sieboldii*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2012, 43(5): 976–982. [曹伏君, 刘永, 张春芳, 等. 施氏獾蛤(*Lutraria sieboldii*)性腺发育和生殖周期的研究[J]. 海洋与湖沼, 2012, 43(5): 976–982.]
- [17] Serpil S, Aynur L. Gametogenic cycle and biochemical composition of the transplanted carpet shell clam *Tapes decussatus*, Linnaeus 1758 in Sufa (Homa) Lagoon, Izmir, Turkey[J]. Aquaculture, 2009, 293: 81–88.
- [18] Ning J H, Chang Y Q, Song J, et al. Gonadal development and the reproductive cycle of *Modiolus modiolus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2015, 22(3): 469–477. [宁军号, 常亚青, 宋坚, 等. 偏顶蛤的性腺发育和生殖周期[J]. 中国水产科学, 2015, 22(3): 469–477.]
- [19] Ke Q Z, Li Q, Chen C J, et al. The reproductive biology of the venus clam, *Cyclina sinensis* Gmelin, from the Yellow River delta[J]. Periodical of Ocean University of China, 2010, 40(Suppl.): 99–104. [柯巧珍, 李琪, 陈常杰, 等. 黄河三角洲青蛤的繁殖生物学研究[J]. 中国海洋大学学报, 2010, 40(增刊): 99–104.]
- [20] Ruan F T, Gao S, Li L, et al. Gonad development and biochemical composition in the ark shell *Scapharca broughtonii* from coast of Shandong Peninsula[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(1): 47–55. [阮飞腾, 高森, 李莉, 等. 山东沿海魁蚶繁殖周期与生化成分的周年变化[J]. 水产学报, 2014, 38(1): 47–55.]
- [21] Shin Y K, Park J J, Choi J S, et al. Indirect evidence on sex reversal of *Sinonovacula constricta* (Bivalvia: Euheterodonta) and *Gomphina veneriformis* (Bivalvia: Veneridae)[J]. Dev

- Reprod, 2014, 18(2): 73–78.
- [22] Peharda M, Mladineo I, Bolotin J, et al. The reproductive cycle and potential protandric development of the Noah's ark shell, *Arca noae* L.: implications for aquaculture[J]. Aquaculture, 2006, 252(2–4): 317–327.
- [23] Wang D L, Xu S L, You Z J, et al. The effects of temperature and salinity on the incubation of *Cyclina sinensis* and survival, growth and metamorphosis of *C. sinensis* larvae and juveniles[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2005, 29(5): 495–501. [王丹丽, 徐善良, 尤仲杰, 等. 温度和盐度对青蛤孵化及幼虫、稚贝存活与生长变态的影响[J]. 水生生物学报, 2005, 29(5): 495–501.]
- [24] Li Z M, Qian J H, Liu Z G, et al. Development of embryo, larvae and spat of *Meretrix lyrata*[J]. Marine Science, 2015, 39(7): 52–59. [栗志民, 钱佳慧, 刘志刚, 等. 皱肋文蛤胚胎、幼虫及稚贝的发育[J]. 海洋科学, 2015, 39(7): 52–59.]
- [25] Ning J H, Pang Y L, Song J, et al. Development of embryo and larva of *Modiolus modiolus* and effects of temperature on growth and development of the pelagic larva[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2016, 22(2): 196–203. [宁军号, 庞云龙, 宋坚, 等. 偏顶蛤胚胎和幼虫发育及温度对其浮游幼虫生长和发育的影响[J]. 中国水产科学, 2016, 22(2): 196–203.]
- [26] Chen C, Wang Z S, Sui X L. Effects of salinity on incubation and growth and survival of *Meretrix meretrix* spat[J]. Marine Science, 1999(3): 16–18. [陈冲, 王志松, 随锡林. 盐度对文蛤孵化及幼体存活和生长的影响[J]. 海洋科学, 1999(3): 16–18.]
- [27] You Z J, Xu S L, Bian P J, et al. The effects of sea water temperature and salinity on the growth and survival of *Te-gillarca granosa* larvae and juveniles[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2001, 23(6): 108–113. [尤仲杰, 徐善良, 边平江, 等. 海水温度和盐度对泥蚶幼虫和稚贝生长及存活的影响[J]. 海洋学报, 2001, 23(6): 108–113.]
- [28] Liang Y B, Zhang F S. Effects of temperature/salinity on development of embryos and larvae of scallop *Chlamys farreri*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2008, 39(4): 334–340. [梁玉波, 张福绥. 温度、盐度对栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*) 胚胎和幼虫的影响[J]. 海洋与湖沼, 2008, 39(4): 334–340.]

Reproductive cycle and early development of *Meretrix lamarkii* (Veneroida: Veneridae) under artificial conditions

SHAO Yanqing^{1,2}, ZHANG Jiongming^{1,2}, FANG Jun^{1,2}, XIAO Guoqiang^{1,2}, TENG Shuangshuang^{1,2}, CHAI Xueliang^{1,2}

1. Zhejiang Mariculture Research Institute, Zhejiang Key Lab of Exploitation and Preservation of Coastal Bio-Resource, Wenzhou 325005, China;

2. Engineering Research Center for Marine Bivalves, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wenzhou 325005, China

Abstract: The benthic marine bivalve, *Meretrix lamarkii*, is a commercially caught species and is exploited in many southern coastal cities of China, where it is sold by wet weight. However, efficient and effective management strategies are needed for a sustainable supply of this wild resource, and an understanding of reproductive biology and the fishery is required. The aim of this study was: (1) characterize *M. lamarkii* gonadal morphology and histology; (2) describe the main gametogenic events and link them to maturation stage, and (3) characterize spawning, eggs, and newly hatched veliger larvae. Samples were collected monthly from January 2012 to January 2013 from Cangnan Bay, south of Zhejiang Province, China. Routine histological techniques were used to characterize the gonadal development stages. The results show that the clam is characterized by typical gonadal development of bivalves, and the reproductive cycle was divided into proliferation, growing, maturation, breeding, and suspensive stages. Gonadal maturation of clams from the South Zhejiang coast was completed over 1 year. The spawning season occurred from early June to mid-September, and peak spawning occurred from early July to mid-August, when water temperature was 24.8–29.4°C. This clam is dioecious, and gametes of both sexes are released at about the same time. The female to male ratio was 1 : 1. Spawning was induced by shade-drying or running seawater. Embryos developed in salinity of 28 and temperature of 29°C. The D-shaped larvae hatched after 16–20 hours at 29°C. The larvae developed into post-larvae and completed metamorphosis into spat after 5–6 days, with a mean shell length of 200 µm.

Key words: *Meretrix lamarkii*; gonad development; reproductive cycle; embryo development

Corresponding author: CHAI Xueliang. E-mail: cxl-5888@163.com