

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2017.16280

钝缀锦蛤繁殖周期和胚胎发育

巫旗生¹, 文字^{1,2}, 曾志南¹, 王晓清², 宁岳¹, 祁剑飞¹, 罗娟¹, 贾圆圆¹

1. 福建省水产研究所, 福建省海洋生物增殖与高值化利用重点实验室, 福建省海洋生物资源开发利用协同创新中心, 福建 厦门 361013;

2. 湖南农业大学 动物科学技术学院, 湖南 长沙 410128

摘要: 2013 年 8 月至 2014 年 7 月, 采用组织学和实验生态学方法对钝缀锦蛤(*Tapes conspersus*)的性腺发育、生殖周期、肥满度、胚胎和幼虫发育进行了研究。结果显示, 钝缀锦蛤性腺发育以 1 年为 1 个周期, 性腺发育过程可分为增殖期、生长期、成熟期、排放期和休止期 5 个时期; 繁殖期在每年 10 月至翌年 3 月, 繁殖盛期为 3 月、10 月和 11 月(水温 20.3~24.6℃), 分批产卵。8 月肥满度最高, 为 33.43%; 4 月最低, 为 18.31%。钝缀锦蛤卵径为 70~80 μm; 在水温 24~26℃、盐度 28~32 条件下, 受精卵经 16 h 左右发育为 D 形幼虫; 初孵 D 形幼虫大小为 90~110 μm, 浮游幼虫经 7~8 d 培育进入附着变态期, 此时壳长为 210~230 μm, 再经 4~5 d 发育变态为稚贝。本研究为钝缀锦蛤的人工繁育及种质资源保护和利用提供了基础资料。

关键词: 钝缀锦蛤; 繁殖周期; 性腺发育; 肥满度; 胚胎发育

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2017)03-0488-09

钝缀锦蛤(*Tapes conspersus*)俗称沙包, 隶属软体动物门(Mollusca)、瓣鳃纲(Lamellibranchia)、帘蛤目(Veneroida)、帘蛤科(Veneridae), 是一种大型热带、亚热带海洋经济贝类。钝缀锦蛤主要分布于西南太平洋, 如中国、日本、菲律宾、印度、印度尼西亚、澳大利亚和新西兰等国家的沿海地区^[1]。中国常见于东海、南海及台湾海峡等, 其中广西和海南沿海拥有一定数量的钝缀锦蛤野生群体。钝缀锦蛤主要栖息于潮间带中、低潮区至潮下带及浅海 3~15 cm 的泥沙底质中, 营埋栖生活, 在潮间带下部珊瑚块和碎石泥沙中亦有栖息。钝缀锦蛤具有个体大、生长快、品质优、适应性广和抗污能力强等优点, 目前市场价格达 30~60 元/kg, 是一种经济价值较高的海洋经济贝类。

钝缀锦蛤作为一种新的海水贝类养殖品种, 具有较高的经济价值及养殖发展前景。目前, 国内对钝缀锦蛤的研究报道主要集中在形态分类^[1-2]、

生态习性^[3]、寄生生物^[4]、分子分类^[5-9]以及重金属污染^[10]和腹泻毒素^[11]等方面; 国外对钝缀锦蛤的研究主要是在养殖生态等方面, 如 Nell 等^[12-13]报道了二倍体和三倍体的钝缀锦蛤在生长速度上无显著差异, 认为钝缀锦蛤可作为一种潜在的海水养殖新品种, 并开展钝缀锦蛤的不同盐度生态实验, 认为其最适盐度为 30~40; Paterson 等^[14]开展了不同养殖方式和底质类型对钝缀锦蛤生长和存活的影响实验。本研究对钝缀锦蛤的繁殖周期、胚胎和幼虫发育进行了详细观察, 旨在为钝缀锦蛤的人工繁育、养殖及种质资源保护和利用提供参考资料。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用 2~3 龄钝缀锦蛤是 2013 年 7 月从广西北部湾自然海区采集的野生个体, 共 80 kg, 从中

收稿日期: 2016-09-19; 修订日期: 2016-12-02.

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项(nycytx-47); 福建省种业创新与产业化工程项目(2014s1477-9); 福建省属公益类科研院所基本科研专项(2015R1003-13); 福建省海洋生物增殖与高值化利用重点实验室项目(2015fjscq03).

作者简介: 巫旗生(1984-), 男, 助理研究员, 硕士, 专业方向为海水贝类遗传育种. E-mail: wqsljwjx@163.com

通信作者: 曾志南, 研究员. E-mail: xmzzn@sina.com

挑选活力好、壳形完整、无损伤的个体置于水泥池进行强化培育。2013年8月至2014年7月逐月选取20个个体作为实验材料,共解剖240个个体,其中雌性117个,占48.75%;雄性123个,占51.25%;雌雄个体外形无差异,雌雄比例接近1:1。平均体重为 (135.77 ± 20.75) g,平均壳长为 (83.46 ± 4.45) mm,平均壳高为 (58.19 ± 3.44) mm,平均壳宽为 (40.89 ± 1.80) mm。

1.2 方法

1.2.1 亲贝培育 亲贝暂养于 $6.0 \text{ m} \times 7.5 \text{ m} \times 2.0 \text{ m}$ 底部铺沙的室外水泥池,沙层厚30 cm,培养密度为5~8个/ m^2 。亲贝培育期间以投喂充足的等边金藻(*Isochrysis zhanjiangensis*)、小球藻(*Chlorella vulgaris*)和扁藻(*Platymonas subcordiformis*)为主,辅以螺旋藻粉、池塘藻水等。每日全池换水1次,同时检查亲贝的存活状况,连续充气增氧。

1.2.2 样本测量 每个月从强化培育的亲贝中随机选取20个个体,形态特征(壳长、壳高、壳宽)采用游标卡尺测量(精确度0.02 mm),体重和软体部重量采用电子天平称量(精确度0.01 g)。肥满度公式为:肥满度=软体部重量/体重 $\times 100\%$ 。

1.2.3 组织切片制作与观察 每个月随机选取20个钝缀锦蛤,切取其性腺组织的不同部位,用Bouin's液固定24~36 h,70%酒精保存。固定后的性腺组织依次经过70%、80%、95%和100%(两次)酒精脱水,二甲苯透明,石蜡渗透包埋。组织切片厚度为4~6 μm ,37℃烤片,爱氏苏木精-伊红(H-E)染色,中性树脂封片,用Leica生物显微镜观察并拍照。

1.2.4 胚胎发育观察 从强化培育池中挑选100个性腺饱满、活力好、无损伤的亲贝进行人工催产。采用阴干-氨海水诱导产卵,阴干3 h,0.1%氨海水2 h。受精卵孵化过程连续微充气,受精卵孵化密度为5~10个/mL,镜检、拍照记录胚胎发育过程。

1.2.5 幼虫培育与观察 受精卵发育至D形幼虫时,严格控制幼虫培育密度(3~5个/mL)。投喂生物饵料为等边金藻、牟氏角毛藻(*Chaetoceros muelleri*)和小球藻,壳顶幼虫后期加投扁藻,每天早晚各投喂1次。2~3 d换水1次,换水量为水

体50%。镜检、拍照记录幼虫培育过程。

2 结果与分析

2.1 繁殖方式及性腺形态特征

钝缀锦蛤属于卵生型贝类,雌雄异体,雌雄比例接近1:1,体外受精,成熟的性腺覆盖整个软体部,并延伸至足的基部。生殖腺成熟时可通过肉眼分辨雌雄,雌性性腺呈乳白色,雄性性腺呈橘黄色。

2.2 性腺外部形态特征及其组织学分期

钝缀锦蛤性腺属滤泡型,位于足部上方及内脏团两侧,呈树枝状分枝或葡萄状分支,其性腺结构同其他双壳贝类相似,主要由滤泡、生殖管、生殖输送管构成,其中滤泡主要是由滤泡壁和滤泡腔组成,滤泡中的生殖上皮是生殖细胞产生的主要场所。根据钝缀锦蛤性腺组织切片周年观察以及外部形态特征,按照Ivell^[15]、林志华等^[16]和宁军号等^[17]的划分方法将钝缀锦蛤的性腺发育过程分为5个时期:增殖期、生长期、成熟期、排放期和休止期。

2.2.1 增殖期 生殖腺开始增殖,形成一层很薄、颜色很浅的性腺,无法从生殖腺颜色上辨别雌雄。生殖腺中滤泡开始出现,呈不规则的狭长带状或扁长的椭圆状,数量不断上升,体积慢慢增大。雌性个体滤泡壁慢慢变厚,生殖上皮中生殖原细胞不断分裂增殖,逐渐出现少量的初级卵母细胞(图1a)。雄性个体滤泡壁上分布有少量的精原细胞,并逐渐产生少量的精母细胞(图2a)。此期从5月上旬至6月下旬,水温为23.9~28.4℃。

2.2.2 生长期 生殖腺继续增殖,逐渐覆盖整个软体部,此期性腺比上一期明显,雌雄仍不可分辨。生殖腺中滤泡数量增多,滤泡壁增厚,体积增大,分布范围变大。雌性个体滤泡内卵原细胞数量继续增加,滤泡壁上挤满大量卵母细胞,大多数卵母细胞一端已明显突向滤泡腔,体积变大,呈梨形或长圆形等形态;一部分卵母细胞开始向滤泡中间移动,卵细胞明显增大,有些卵子成熟,脱离滤泡壁,进入滤泡腔中,形成少量的成熟卵细胞(图1b)。雄性个体滤泡内精原细胞大量分裂增殖和快速分化,滤泡腔内的精细胞大量分布,

个别精细胞已变态为成熟精子, 此期可观察到滤泡内分布的精原细胞至精子的各个不同发育阶段的生殖细胞(图 2b)。此期从 7 月上旬至 7 月下旬, 水温为 28.4~32.0℃。

2.2.3 成熟期 生殖腺扩展到腹缘, 并延伸至足的基部, 生殖腺颜色明显, 卵巢呈乳白色, 精巢呈橘黄色。生殖腺基本被滤泡组织所占据, 且滤泡间几乎无空隙, 滤泡腔内充满生殖细胞。雌性个体滤泡腔中充满成熟卵子和卵母细胞, 卵子的核膜、核仁明显, 滤泡壁上仍有少量带卵柄的未成熟卵细胞(图 1c)。雄性个体滤泡内充满精细胞和变态的精子, 呈菊花状或辐射状密集排列, 精子头部朝向滤泡壁, 而尾部向着滤泡腔中央, 滤泡壁上精原细胞增殖开始减少(图 2c)。此期从 8 月上旬至 10 月上旬以及 12 月上旬至翌年 2 月下旬, 水温分别为 24.6~32.1℃和 15.0~16.5℃。

2.2.4 排放期 生殖腺丰满、肥硕并覆盖整个软体部, 表面分布有许多的生殖管。生殖腺中滤泡因成熟生殖细胞的排放逐渐出现大小不等的空腔, 且空腔体积慢慢变大, 滤泡壁开始变薄, 有些滤泡壁因精卵的排放而破裂。雌性个体滤泡内仍留有卵黄形成前期和后期的卵母细胞和少数未产出

的成熟卵子, 将逐渐自溶或退化被吸收; 滤泡开始萎缩, 滤泡之间结缔组织逐渐增多(图 1d)。雄性个体滤泡中呈放射状排列的精子显著减少, 滤泡内仍有精母细胞、精细胞和精子等不同发育时期的生殖细胞(图 2d)。此期包括 10 月至 11 月(生物学秋)以及翌年 3 月(生物学春), 水温为 20.3~24.6℃。

2.2.5 休止期 生殖腺开始消瘦, 软体部表面变得透明, 几乎没有性腺分布, 体质消瘦, 不能分辨雌雄。生殖腺中滤泡慢慢变为大空腔, 形状不规则, 滤泡间空隙逐渐加大, 滤泡壁变薄并开始萎缩。此时滤泡内仍可见有少量生殖细胞, 结缔组织大量增生并充满滤泡间的空隙, 滤泡开始萎缩退化直至消失, 性腺发育完成了 1 个周年变化(图 1e, 图 2e)。此期从 4 月上旬至 4 月下旬, 水温为 17.4~22.4℃。

2.3 钝缀锦蛤肥满度的周年变化

钝缀锦蛤每年 1 个生殖周期, 2 个繁殖高峰期, 2 龄即达性成熟, 分批产卵。雌雄性腺发育基本同步, 雄性发育稍快, 成熟精巢呈橘黄色, 卵巢呈乳白色。如图 3 所示, 钝缀锦蛤肥满度的周年变化与性腺发育的组织学变化密切相关。从 5 月开

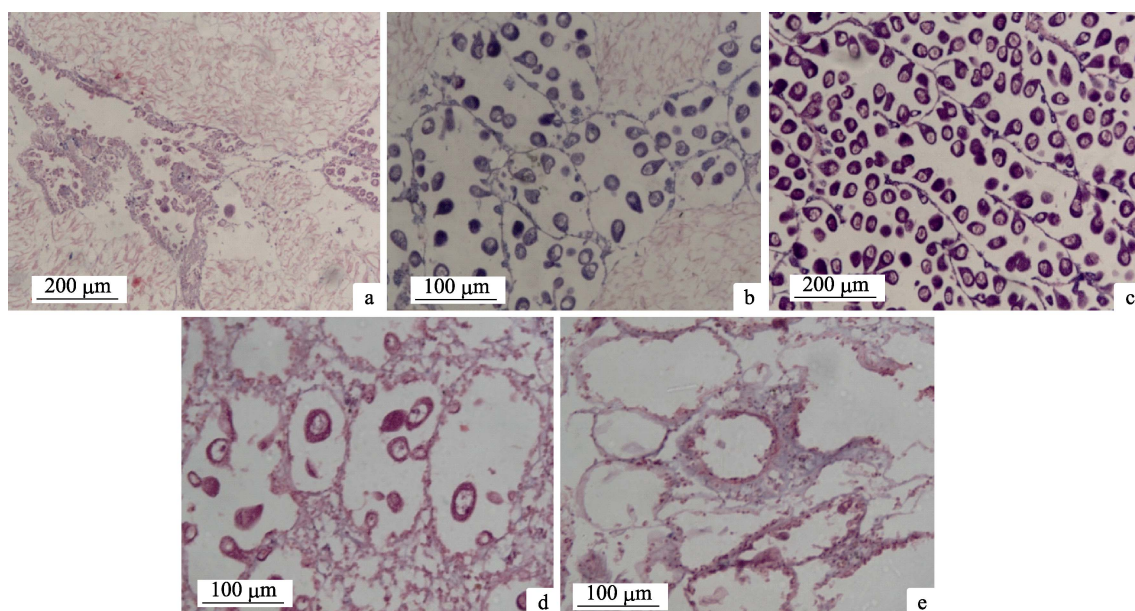


图 1 钝缀锦蛤卵巢不同发育时期的组织切片

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

Fig. 1 Histological section of different gonadal development stages in *Tapes conspersus*

a. Proliferating stage; b. Growing stage; c. Maturing stage; d. Spawning stage; e. Resting stage.

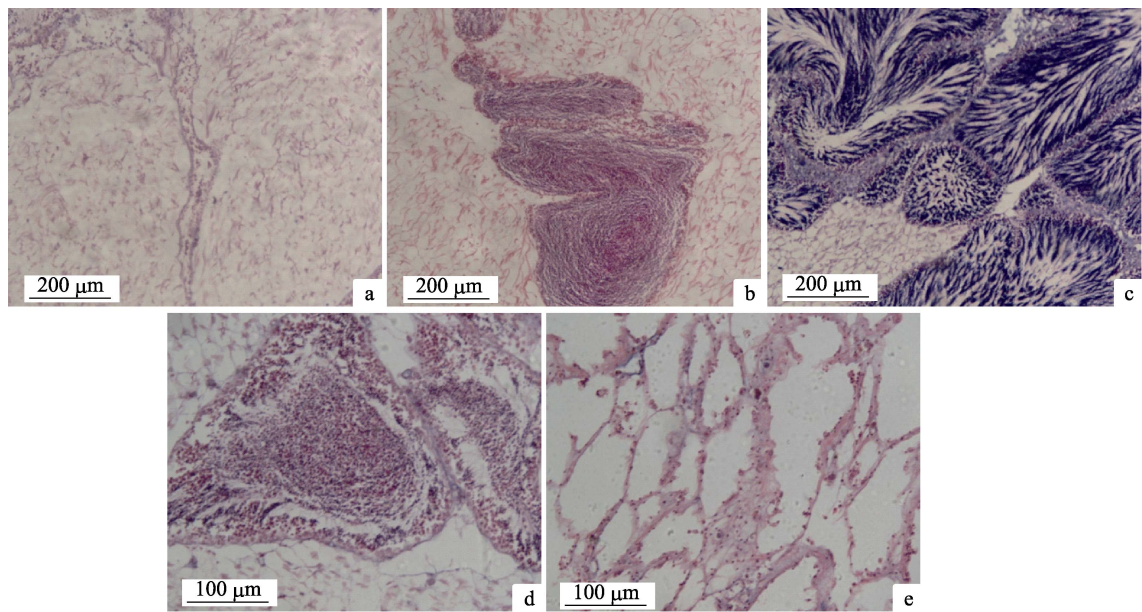


图 2 钝缀锦蛤精巢不同发育时期的组织切片

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

Fig. 2 Histological section of different spermary development stages in *Tapes conspersus*
a. Proliferating stage; b. Growing stage; c. Maturing stage; d. Spawning stage; e. Resting stage.

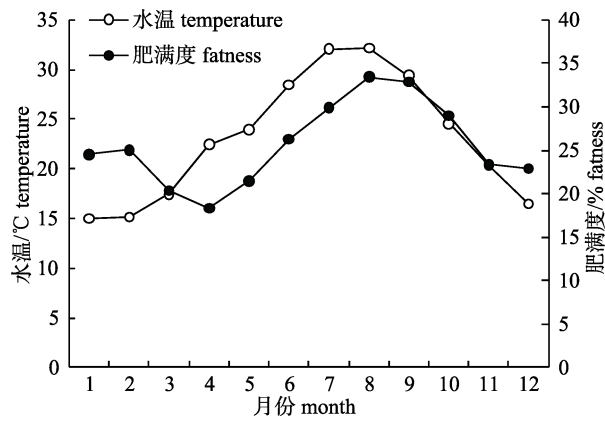


图 3 钝缀锦蛤肥满度与水温的月变化

Fig. 3 Monthly change curves of the fatness and water temperature in *Tapes conspersus*

始, 肥满度随水温的升高逐渐增大, 到 8 月肥满度达到最大值(33.43%), 此阶段为钝缀锦蛤的性腺发育积累足够的营养物质。从 9 月开始, 肥满度随水温的降低开始逐渐下降, 10 月至 11 月下降幅度最大, 此阶段为钝缀锦蛤性腺的第一次排放期; 次年 1 月至 2 月肥满度出现短暂小幅回升, 但 3 月肥满度又开始下降, 直至 4 月降到最低值(18.31%), 此阶段为钝缀锦蛤性腺从第二次排放期进入休止期。

2.4 胚胎和幼虫发育

钝缀锦蛤性腺成熟后, 采用阴干和氨水刺激、诱导亲贝精和卵的排放。在水温 24~26℃、盐度 28~32 条件下, 钝缀锦蛤的胚胎发育如表 1 和图 4 所示。钝缀锦蛤受精卵(图 4a)在海水中呈球形, 核仁明显, 卵径为 70~80 μm。受精后 15 min 受精卵释放出第一极体(图 4b), 再经过 10 min 后释放第二极体。受精后 45 min 受精卵开始第一次卵裂, 形成两个大小不等的细胞, 进入 2 细胞期(图 4c); 再经 25 min 开始第 2 次卵裂, 分裂成一大三小 4 个细胞, 进入 4 细胞期(图 4d); 此后 20 min、1 h 和 1 h 30 min, 先后进行 3~5 次卵裂, 分别进入 8 细胞期(图 4e)、16 细胞期(图 4f)和 32 细胞期(图 4g)。受精卵经约 3 h 20 min 发育至桑椹期(图 4h); 4 h 10 min 发育至囊胚期(图 4i), 囊胚呈圆球形, 胚体表面分化出细小纤毛, 开始在水中旋转游动上浮; 4 h 40 min 发育至原肠期(图 4j)。受精卵历经 6 h 30 min 发育至担轮幼虫期(图 4k), 胚体顶端长有纤毛束, 中央具有 1~2 根长鞭毛, 在水中直线游动; 16 h 后幼虫面盘形成, 进入 D 形幼虫期(图 4l), 幼虫的长鞭毛逐渐退化消失, 幼体形成两片透明的半圆形幼虫壳, 两壳在背部直

表 1 钝缀锦蛤不同胚胎发育阶段的发生时间
Tab. 1 Developmental timetable of embryos of *Tapes conspersus*

发育时期 developing stage	发育时间/(h:min) developing time	大小/ μm size	温度/ $^{\circ}\text{C}$ temperature	盐度 salinity
受精卵 fertilized egg	0:00	EM: 70~80	25~26	30~31
第一极体 the first polar body	0:15	EM: 70~80	25~26	30~31
2 细胞期 2 cell stage	0:45	EM: 70~80	25~26	30~31
4 细胞期 4 cell stage	1:10	EM: 70~80	25~26	30~31
8 细胞期 8 cell stage	1:30	EM: 70~80	25~26	30~31
16 细胞期 16 cell stage	2:10	EM: 70~80	25~26	30~31
32 细胞期 32 cell stage	2:40	EM: 70~80	25~26	30~31
桑椹期 mulberry stage	3:20	EM: 70~80	25~26	30~31
囊胚期 blastula stage	4:10	EM: 70~80	25~26	30~31
原肠期 gastrulae stage	4:40	EM: 70~80	25~26	30~31
担轮幼虫期 trochophore stage	6:30	SL: 80~90	25~26	30~31
D 形幼虫 D-larvae stage	16:00	SL: 90~110	25~26	30~31
早期壳顶幼虫 early umbo-veliger stage	3 d	SL: 120~150	24~25	30~31
中期壳顶幼虫 middle umbo-veliger stage	5 d	SL: 160~200	24~25	31~32
匍匐幼虫 creeping larva stage	8 d	SL: 210~230	24~25	31~32
稚贝 juvenile stage	13 d	SL: 400~500	24~26	29~30

注: EM 代表卵径, SL 代表幼体壳长。
Notes: EM indicates egg diameter; SL indicates shell length of larva.

线铰合成 D 形, 其消化道逐渐形成。

受精后 3 d 幼虫发育至早期壳顶幼虫(图 4m), 幼虫壳的背部中央处微微隆起形成壳顶; 5 d 发育至中期壳顶幼虫(图 4n), 壳顶隆起明显; 8 d 发育至匍匐幼虫(图 4o), 面盘开始退化, 幼虫的足呈棒状, 能自由伸缩, 幼虫利用足匍匐爬行, 此时幼虫进入附着变态阶段。幼虫变态后再经 5 d 左右发育至稚贝(图 4p), 此时水管开始形成, 逐渐由单水管发育至双水管, 开始转变为底栖生活。

3 讨论

3.1 钝缀锦蛤性腺发育分期

采用组织学方法对双壳贝类性腺发育进行研究, 可以观察到生殖细胞的发育情况、卵径的大小以及滤泡中不同发育时期生殖细胞所占的比例等, 从而掌握双壳贝类性腺发育规律、生殖周期以及繁殖季节^[17]。目前, 双壳贝类性腺发育分期主要划分为 4 期(增殖期、成熟期、排放期和休止期)^[18-19]、5 期(增殖期、生长期、成熟期、排放期和休止期)^[15-17, 20-23]或 6 期(形成期、增殖期、成熟期、排放期、耗尽期和休止期)^[24-26]。刘相全等^[19]

将中国蛤蜊(*Mactra chinensis*)性腺发育分为 4 期, 而杨林等^[24]则将中国蛤蜊分为 6 期, 因此不同种类双壳贝类或不同区域分布的贝类性腺发育分期也不尽相同^[27]。

双壳贝类的性腺发育成熟时期并不一定预示着繁殖期到来, 还需要满足一定环境条件才能迅速完成繁殖过程^[21]。性腺发育组织切片观察发现, 8 月初钝缀锦蛤雌性性腺已发育至成熟期, 一直持续到次年 3 月底, 周年均有一定比例的雄性个体处于成熟期; 钝缀锦蛤成熟期长达 8 个月之久, 繁殖高峰期有 2 次, 第一次出现 10 月至 11 月(生物学秋), 第二次出现在翌年 3 月(生物学春), 繁殖水温为 20.3~24.6 $^{\circ}\text{C}$, 这与刘慧玲^[4]对钝缀锦蛤和赵志江等^[21]对波纹巴非蛤(*Paphia Undulata*)的性腺发育研究结果一致。双壳贝类两性性腺同时达到成熟期并同时排放精卵是繁殖成功的重要基础^[28], 钝缀锦蛤性腺发育研究结果发现, 雌雄性腺同时发育至成熟期(8 月至翌年 3 月), 但还需满足一定的环境条件(温度、盐度等)才能到达排放期(10 月至 11 月和翌年 3 月), 宁军号等^[17]对偏顶蛤(*Modiolus modiolus*)和鹿瑶等^[26]对薄片镜蛤

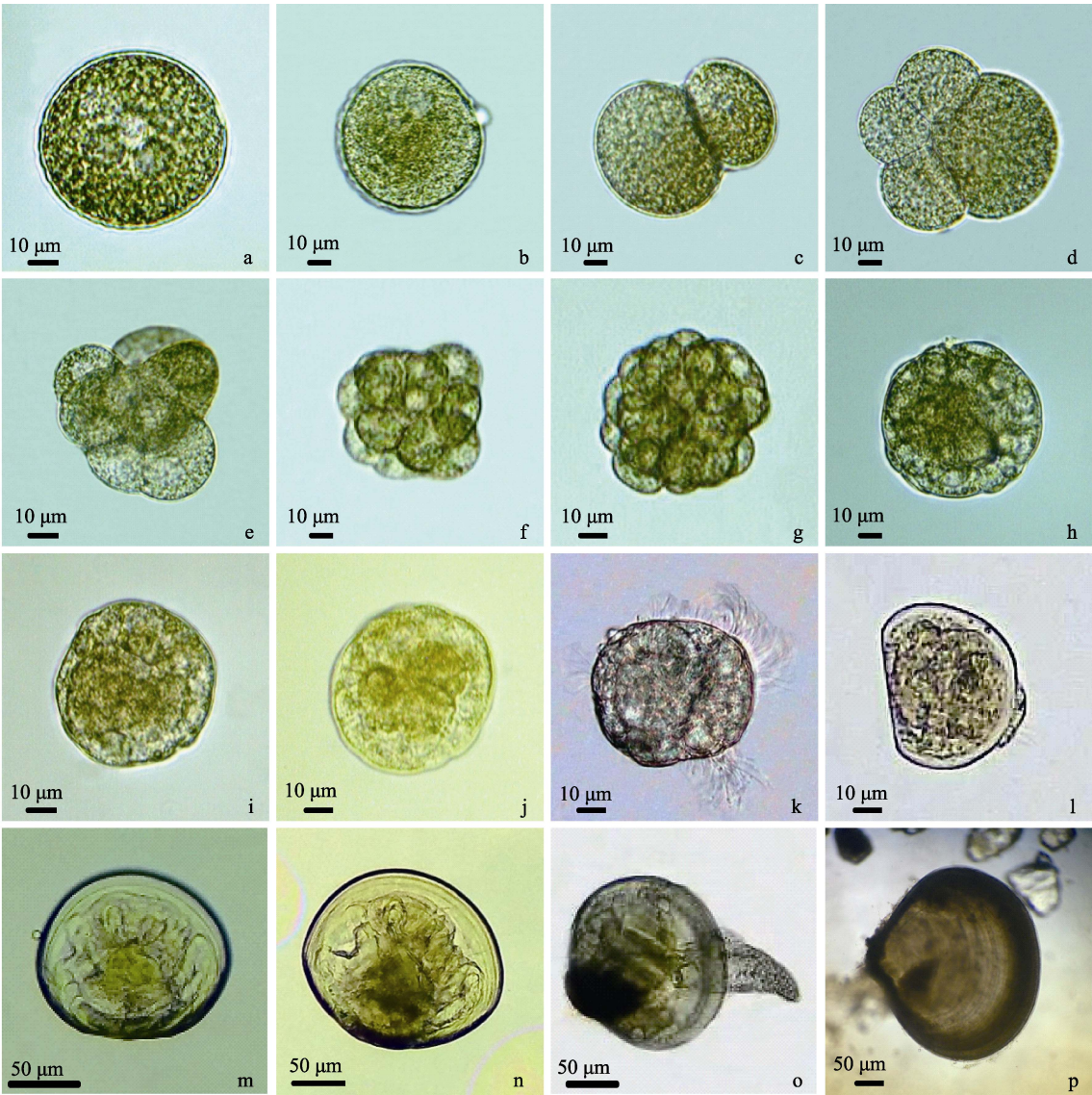


图 4 钝缀锦蛤胚胎发育

a. 受精卵; b. 释放极体; c. 2 细胞期; d. 4 细胞期; e. 8 细胞期; f. 16 细胞期; g. 32 细胞期; h. 桑葚期;
i. 囊胚期; j. 原肠期; k. 担轮幼虫; l. D 形幼虫; m. 早期壳顶幼虫; n. 中期壳顶幼虫; o. 匍匐幼虫; p. 稚贝。

Fig. 4 Embryonic development of *Tapes conspersus*

a. Fertilized egg; b. Release of polar body; c. 2 cells; d. 4 cells; e. 8 cells; f. 16 cells; g. 32 cells; h. Mulberry; i. Blastula; j. Gastrulae; k. Trochophore; l. D larvae; m. Early umbo-veliger; n. Middle-stage umbo-veliger; o. Creeping larvae; p. Juvenile.

(*Dosinia corrugata*)的研究也得到相似的结论。

3.2 钝缀锦蛤肥满度的周年变化

肥满度变化反映双壳贝类的生殖活动，通常作为判定双壳贝类成熟度的重要繁殖生物学依据之一^[29-30]。肥满度观察结果表明，整年都可发现生殖腺饱满的钝缀锦蛤个体，即使在休止期(4 月)，也可观察到生殖腺饱满的个体，这与波纹巴非蛤^[21]的研究结果相似。钝缀锦蛤肥满度从性腺增殖期开始增大，成熟期达到最高值(8 月)，精卵排放

后显著降低，持续下降至最低值(翌年 4 月)，直至下一个生殖周期的开始。

3.3 钝缀锦蛤胚胎和幼虫发育

钝缀锦蛤雌雄异体，一般 2 龄性成熟，成熟性腺布满整个软体部，并延伸到足的基部。雌性成熟生殖腺呈乳白色，雄性成熟生殖腺呈橘黄色。钝缀锦蛤胚胎和幼虫发育过程和大多数双壳贝类^[31-38]相似，主要分为早期胚胎发育期、担轮幼虫期、面盘幼虫期和稚贝期。

胚胎发育观察发现, 钝缀锦蛤受精卵在受精后 15 min 即释放第一极体, 这与菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)^[31]研究结果相一致, 比皱肋文蛤(*Meretrix lyrata*)^[32]、尖紫蛤(*Soletellina acuta* Cai et Zhuang)^[33]释放快, 但比青蛤(*Cyclina sinensis* (Gmelin))^[34]、硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria*)^[35]要慢; 钝缀锦蛤受精卵第一次、第二次卵裂为不等全裂, 从第三次卵裂开始为螺旋卵裂。在水温 25~26℃、盐度 30~31 的条件下, 钝缀锦蛤从受精发育至担轮幼虫和 D 形幼虫分别用时 6.5 h 和 16 h, 与皱肋文蛤^[32](水温 28.5~30℃)和青蛤^[34](水温 28℃)发育时间相近, 比硬壳蛤^[35](水温 26℃)、中国蛤蜊^[19](水温 25℃)和施氏獭蛤(*Lutraria sieboldii*)^[36](水温 25℃)发育速度快。胚胎发育观察结果表明, 钝缀锦蛤早期胚胎发育速度较快, 受精后 20 h 即可开口摄食饵料生物。钝缀锦蛤从 D 形幼虫发育到匍匐幼虫期历时 8 d, 足的自由伸缩是其附着变态的标志, 无“眼点”出现, 幼虫再经过 4~5 d 的匍匐期变态为早期稚贝。钝缀锦蛤的幼虫发育速度与菲律宾蛤仔^[31]、皱肋文蛤^[32]、硬壳蛤^[35]和中国蛤蜊^[36]等相近, 比偏顶蛤^[37]、厚壳蛤^[38]快, 但比青蛤^[34]慢。幼虫发育观察结果表明, 钝缀锦蛤虽与青蛤、菲律宾蛤仔、硬壳蛤和皱肋文蛤同属帘蛤科贝类, 在胚胎和幼虫发育过程中形态变化相似, 但发育速度稍有区别, 这与其所生活的自然生态环境密切相关。

参考文献:

- [1] Zhuang Q Q. Fauna Sinica, Mollusca, Bivalvia, Veneridae[M]. Beijing: Science Press, 2001: 63–64. [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: 63–64.]
- [2] Yang W, Cai Y Y, Kuang X M, et al. Color Atlas of Economic Mollusca from the South China Sea[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2013: 232–233. [杨文, 蔡英亚, 卞雪梅, 等. 中国南海经济贝类原色图谱[M]. 北京: 中国农业出版社, 2013: 232–233.]
- [3] Huang Y, Du T, Yang S P. Preliminary studies on ecological habit of *Tapes dorsatus*[J]. Fisheries Science, 2008, 27(4): 175–178. [黄洋, 杜涛, 杨世平. 钝缀锦蛤生态习性的初步研究[J]. 水产科学, 2008, 27(4): 175–178.]
- [4] Liu H L. The pea crab, *Pinnotheres excussus*, and the effects on the clam, *Tapes dorsatus*[D]. Guangzhou: Sun Yat-sen University, 2007. [刘慧玲. 胀腹豆蟹(*Pinnotheres excussus*)及其对宿主钝缀锦蛤(*Tapes dorsatus*)的影响[D]. 广州: 中山大学, 2007.]
- [5] Pan H T, Yuan Y, Wu Q, et al. Molecular phylogeny of tapetinae (Mollusca, Bivalvia) based on mtDNA sequence[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2008, 39(3): 284–290. [潘鹤婷, 袁媛, 吴琪, 等. 缀锦蛤亚科(Tapetinae)贝类线粒体 DNA 序列的系统学分析[J]. 海洋与湖沼, 2008, 39(3): 284–290.]
- [6] Chen J, Li Q, Kong L F, et al. COI-based DNA barcoding in tapetinae species (Mollusca, Bivalvia, Veneridae) along the coast of China[J]. Zoological Research, 2010, 31(4): 345–352. [陈军, 李琪, 孔令峰, 等. 基于 COI 序列的 DNA 条形码在中国沿海缀锦蛤亚科贝类中的应用分析[J]. 动物学研究, 2010, 31(4): 345–352.]
- [7] Cheng H L, Zhou M C, Chen D Q, et al. Phylogenetic analysis of Veneridae (Mollusca: Bivalvia) based on mitochondrial 16S rDNA[J]. Fisheries Science, 2012, 31(11): 657–662. [程汉良, 周旻纯, 陈冬勤, 等. 基于 16S rDNA 序列的帘蛤科贝类分子系统发育研究[J]. 水产科学, 2012, 31(11): 657–662.]
- [8] Zhao T, Wu Q, Pan B P. Molecular phylogeny of veneridae (Mollusca, Bivalvia) based on 16S rRNA sequences[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2013, 44(6): 1500–1505. [赵婷, 吴琪, 潘宝平. 我国重要帘蛤科(Veneridae)贝类的 16S rRNA 序列系统学分析[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(6): 1500–1505.]
- [9] Cheng H L, Peng Y X, Dong Z G, et al. Phylogenetic analysis of Veneridae (Mollusca: Bivalvia) based on the mitochondrial cytochrome oxidase subunit I gene fragment[J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(9): 2744–2753. [程汉良, 彭永兴, 董志国, 等. 基于线粒体细胞色素 C 氧化酶亚基 I 基因序列的帘蛤科贝类分子系统发育研究[J]. 生态学报, 2013, 33(9): 2744–2753.]
- [10] Du K M. Investigation and assessment on heavy metals in industrial shellfish collected from the coast areas of Hainan, China[D]. Guangzhou: Ji'nan University, 2013. [杜克梅. 海南省近岸海域主要经济贝类重金属污染调查与评价[D]. 广州: 暨南大学, 2013.]
- [11] Zhang F. Investigation of diarrhetic shellfish poisoning in coastal waters of China[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2007. [张芳. 我国沿海腹泻性贝毒的研究[D]. 大连: 大连海洋大学, 2007.]
- [12] Nell J A, O'Connor W A, Hand R E, et al. Hatchery production of diploid and triploid clams, *Tapes dorsatus* (Lamarck 1818): a potential new species for aquaculture[J]. Aquaculture, 1995, 130(4): 389–394.
- [13] Nell J A, Paterson K J. Salinity studies on the clams *Katelysia rhytiphora* (Lamy) and *Tapes dorsatus* (Lamarck)[J]. Aquac Res, 1997, 28(2): 115–119.

- [14] Paterson K J, Nell J A. Effect of different growing techniques and substrate types on the growth and survival of the clams *Tapes dorsatus* (Lamarck) and *Katelysia rhytiphora* (Lamy)[J]. *Aquac Res*, 1997, 28(9): 707–715.
- [15] Ivell R. The biology and ecology of a brackish lagoon bivalve, *Cerastoderma glaucum* Bruguiere, in an English lagoon, the widewater, Sussex[J]. *J Moll Stud*, 1979, 45: 383–400.
- [16] Lin Z H, Shan L Z, Chai X L, et al. The reproductive biology of hard clam *Mercenaria mercenaria* (Linnaeus, 1758)[J]. *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[J]. 海洋与湖沼, 2005, 36(5): 430–436.]
- [17] 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.]
- [18] Wang R C, Wang Z P, Zhang J Z, et al. *Science of Marine Shellfish Culture*[M]. Qingdao: China Ocean University Press, 2008: 232–233. [王如才, 王昭萍, 张建中, 等. 海水贝类养殖学[M]. 青岛: 中国海洋大学出版社, 2008: 232–233.]
- [19] Liu X Q, Fang J G, Bao Z M, et al. A preliminary study on the reproductive biology of *Macra chinensis* Philippi[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2007, 37(1): 89–92. [刘相全, 方建光, 包振民, 等. 中国蛤蜊繁殖生物学的初步研究[J]. 中国海洋大学学报, 2007, 37(1): 89–92.]
- [20] 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, 李复雪. 青蛤的繁殖周期[J]. 热带海洋, 1991, 10(1): 86–92.]
- [21] Zhao Z J, Li F X, Ke C H. Studies on the sex gonad development and reproductive cycle of clam *Paphia Undulata*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1991, 15(1): 1–8. [赵志江, 李复雪, 柯才焕. 波纹巴非蛤的性腺发育和生殖周期[J]. 水产学报, 1991, 15(1): 1–8.]
- [22] 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, 单乐洲, 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.]
- [23] 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. 施氏獭蛤(*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.]
- [24] Yang L, Li Q, Yan H W, et al. Reproductive characteristics of clam (*Macra chinensis*) along coast of Shandong Province[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2010, 17(3): 514–520. [杨林, 李琪, 闫红伟, 等. 山东沿海中国蛤蜊的繁殖生物学特性[J]. 中国水产科学, 2010, 17(3): 514–520.]
- [25] Ke Q Z, Li Q, Yan H W, et al. Annual observation on the reproduction of surf clam (*Macra veneriformis*) inhabiting the north coast of Shandong peninsula[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2012, 42(11): 28–34. [柯巧珍, 李琪, 闫红伟, 等. 山东北部沿海四角蛤蜊性腺发育年周期研究[J]. 中国海洋大学学报, 2012, 42(11): 28–34.]
- [26] Lu Y, Liu H, Nie H T, et al. Reproductive cycle of clam *Dosinia corrugata* along coast of Liaoning Province[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2015, 30(6): 647–652. [鹿瑶, 刘辉, 聂鸿涛, 等. 辽宁沿海薄片镜蛤的繁殖周期研究[J]. 大连海洋大学学报, 2015, 30(6): 647–652.]
- [27] Li X, Liang J, Yan X W, et al. The relationship between water temperature and periodic variation of histology with gonad development of Manila clam *Ruditapes philippinarum* in different regions[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2007, 31(6): 853–859. [李霞, 梁峻, 闫喜武, 等. 人工控温促熟条件下不同海域菲律宾蛤仔的性腺发育[J]. 水产学报, 2007, 31(6): 853–859.]
- [28] O'Connor W A, Heasman M P. Spawning induction and fertilisation in the doughboy scallop *Chlamys* (*Mimachlamys*) *asperima*[J]. *Aquaculture*, 1995, 136: 117–129.
- [29] Drummond L, Mulcahy M, Culloty S. The reproductive biology of the manila clam, *Ruditapes philippinarum*, from the North-West of Ireland[J]. *Aquaculture*, 2006, 254: 326–340.
- [30] Kim S K, Rosenthal H, Clemmesen C, et al. Various methods to determine the gonadal development and spawning season of the purplish Washington clam, *Saxidomus purpuratus*(Sowerby)[J]. *J Appl Ichthy*, 2005, 21(2): 101–106.
- [31] Bi K, Bao Z M, Huang X T, et al. Cytological observations on fertilization and early embryonic development in *Ruditapes philippinarum*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2005, 28(6): 623–627. [毕克, 包振民, 黄晓婷, 等. 菲律宾蛤仔受精及早期胚胎发育过程的细胞学观察[J]. 水产学报, 2005, 28(6): 623–627.]
- [32] Li Z M, Qian J H, Liu Z G, et al. Development of embryo, larvae and spat of *Meretrix lyrata*[J]. *Marine Sciences*, 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.]
- [33] Huang Y, Huang H L, Lyu G X, et al. Respective effects of temperature and salinity on embryonic development of *Soletellina acuta* Cai et Zhuang[J]. *Marine Sciences*, 2011, 35(10): 117–122. [黄洋, 黄海立, 吕广焯, 等. 温度和盐度分别对尖紫蛤胚胎发育的影响[J]. 海洋科学, 2011, 35(10): 117–122.]
- [34] Shen B P, Sun Y K, Yu Y S. Biology of embryonic development of *Cyclina sinensis* (Gmelin)[J]. *Modern Fisheries In-*

- formation, 2007, 22(4): 28–30. [沈保平, 孙益奎, 于业绍. 青蛤 *Cyclina sinensis* (Gmelin) 胚胎发育生物学[J]. 现代渔业信息, 2007, 22(4): 28–30.]
- [35] Chang Y Q, Song J, Wang G D, et al. Seeds breeding of hard clam *Mercenaria mercenaria*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2002, 9(1): 43–47. [常亚青, 宋坚, 王国栋, 等. 硬壳蛤的人工育苗技术[J]. 中国水产科学, 2002, 9(1): 43–47.]
- [36] Jiao Z Y, Liu Y, Zhang C F. Fusion cleavage and observation on the embryo development of *Lutraria sieboldii* Reeve[J]. Zoological Research, 2010, 31(4): 408–414. [焦宗垚, 刘永, 张春芳. 施氏獭蛤融合卵裂及其胚胎发育过程观察[J]. 动物学研究, 2010, 31(4): 408–414.]
- [37] 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, 2015, 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, 2015, 22(2): 196–203.]
- [38] Yang J L, Li S H, Liu Z W, et al. Primary study on neuronal development of the embryo and early larvae of the mussel *Mytilus coruscus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(4): 512–519. [杨金龙, 李树恒, 刘志伟, 等. 厚壳贻贝胚胎和早期幼虫神经系统发育的初步研究[J]. 水产学报, 2013, 37(4): 512–519.]

The reproductive cycle and embryonic development of the bivalve mollusk *Tapes conspersus*

WU Qisheng¹, WEN Yu^{1,2}, ZENG Zhinan¹, WANG Xiaoqing², NING Yue¹, QI Jianfei¹, LUO Juan¹, JIA Yuanyuan¹

1. Key Laboratory of Cultivation and High-Value Utilization of Marine Organisms in Fujian Province, Fujian Collaborative Innovation Center for Exploitation and Utilization of Marine Biological Resources, Fisheries Research Institute of Fujian, Xiamen 361013, China;
2. College of Animal Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China

Abstract: The marine bivalve mollusk *Tapes conspersus* is mainly distributed in tropical and subtropical waters of the southwestern Pacific Ocean, including coastal areas of China, Japan, Philippines, India, Indonesia, Australia and New Zealand. The species is relatively new to shellfish mariculture, having potentially high economic value and good prospects for development. This study used biological productivity methods to investigate the species' reproductive cycle, gonad development, fatness, breeding season, embryo development and larval development in the period from August 2013 to July 2014. In the examination of its breeding cycle, the gonadogenesis of *T. conspersus* presented a unimodal gametogenic cycle, with one spawning season annually. The gonad development of the species could be divided into five stages: proliferating stage, growing stage, maturing stage, spawning stage and resting stage. This shellfish's mode of reproduction is oviparity, with a slightly greater gonad development among males than female. The species displays gonochorism, with a female to male ratio of 1 : 1. The spawning season was recorded as from October to March. Peaks in spawning occurred in March, October and November, at water temperatures of 20.3–24.6°C. Fatness peaked at 33.43% in August, and the lowest measure of fatness was in April at ~18.31%. The cultivation of embryos and larvae revealed demersal, elliptically shaped eggs, and the egg diameter ranged from 70 to 80 μm. Under the conditions of water temperatures of 24–26°C and salinities of 28–32, the fertilized eggs developed into D-shaped larvae, 90–110 μm in length, within 16 hours of hatching. After 7–8 days, the D-shaped larvae then developed into late-umbo larvae, 210–230 μm in length. Thereafter, the late-umbo larvae developed into juvenile mollusks within 4–5 days. These observations provide a foundation for the artificial breeding and protection of genetic resources of *T. conspersus*.

Key words: *Tapes conspersus*; reproductive cycle; gonad development; fatness; embryo development

Corresponding author: ZENG Zhinan. E-mail: xmzzn@sina.com