

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20220907002

<http://www.yykxjz.cn/>

孙云超, 羊玉梅, 刘春胜, 杨毅, 王爱民, 顾志峰. 橘色海菊蛤人工繁育技术研究. 渔业科学进展, 2024, 45(1): 194–201
SUN Y C, YANG Y M, LIU C S, YANG Y, WANG A M, GU Z F. Artificial breeding of *Spondylus aurantius*. Progress in Fishery Sciences, 2024, 45(1): 194–201

橘色海菊蛤人工繁育技术研究^{*}

孙云超¹ 羊玉梅¹ 刘春胜^{1,2,3①} 杨毅^{1,3} 王爱民^{1,2} 顾志峰^{1,3}

(1. 海南大学海洋学院 海南 海口 507228; 2. 海南大学南海海洋资源利用国家重点实验室
海南 海口 507228; 3. 海南大学三亚南繁研究院 海南 三亚 572019)

摘要 本研究以野生橘色海菊蛤(*Spondylus aurantius*)为材料, 观察了橘色海菊蛤的亲体催熟、胚胎及稚贝的发育过程, 比较了不同温度条件下胚胎发育速度及不同材质和采苗深度对海菊蛤附着效果的影响。结果显示, 野生橘色海菊蛤在养殖池经自然催熟后性腺饱满, 发育成熟; 采用“晾干+流水+高温”刺激获得了橘色海菊蛤优质精卵, 并成功完成了受精; 受精卵通过不均等卵裂, 依次发育为多细胞卵裂期、囊胚、担轮幼虫、D形幼虫、壳顶幼虫、匍匐幼虫和稚贝, 累计耗时25~27 d。受精卵在温度为28 °C和32 °C时均可发育至稚贝, 且在水温为32 °C时, 胚胎各个阶段发育速度均快于28 °C。室内不同水层采苗结果显示, 底层采苗器附着密度要显著高于上层($P<0.05$); 不同附着基材质附着密度结果显示, 室内采苗阶段黑蝶贝壳附着效果最好, 而后依次为海菊蛤壳>牡蛎壳>混凝土饼>黑色遮阳网>绿色聚乙烯网片。在自然海区养殖30 d后, 海菊蛤壳和牡蛎壳附着及生长效果最优。本研究首次成功开展了橘色海菊蛤人工繁育, 获得了其胚胎和稚贝发育规律, 研究结果可为该物种在南海人工规模化养殖提供支撑。

关键词 橘色海菊蛤; 人工繁育; 胚胎发育; 稚贝; 附着基

中图分类号 Q954 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2024)01-0194-08

橘色海菊蛤(*Spondylus aurantius*)主要分布于我国广东、海南以及菲律宾等暖水性海域(王晓宁, 2011)。海菊蛤属固着型贝类, 常栖息于浅海和潮间带附近的礁石和珊瑚上, 其从幼虫变态固着后便终生不再移动(王鹏等, 2014)。海菊蛤闭壳肌肥大, 味道鲜美, 是一种不可多得的美食, 其外壳亦可作为观赏品, 因此, 是当地渔民重要的采捕贝类之一。

我国是贝类养殖大国, 2021年海水贝类养殖产量为1500多万吨, 其中, 牡蛎(Ostreidae)、扇贝(Pectinidae)、蛤(Veneridae)等是主要养殖品种, 占贝类养殖总产量的78.23% (张国范等, 2020; 农业农村

部渔业渔政管理局等, 2022)。与之相比, 海南省贝类养殖产量仅为2万吨, 且多以方斑东风螺(*Babylonia areolata*)等肉食性螺类为主, 滤食性双壳贝类种类仅有牡蛎、扇贝及蚶(Arcidae)等少数种类, 因此, 急需开发新的品种来推动海南贝类养殖产业的发展(潘英等, 2021; Zhang et al, 2021; 农业农村部渔业渔政管理局等, 2022)。

尽管我国已在贝类人工繁育方面取得了巨大成就, 且已建立了完善的人工促熟、催产及孵化等技术体系(Zheng et al, 2003; 周丽青等, 2020; 褚洪永等, 2022)。然而, 截至目前, 未有关于海菊蛤胚胎发育

* 国家重点研发计划(2022YFD2401305)和海南省重点研发计划(ZDYF2023XDNY032)共同资助。孙云超,
Yiyyiziwei1@outlook.com

①通信作者: 刘春胜, 教授, E-mail: lcs5113@163.com

收稿日期: 2022-09-07, 收修改稿日期: 2022-10-13

和人工繁育的报道。基于此,本研究以海南岛常见海菊蛤——橘色海菊蛤为研究对象,收集野生亲体,拟开展其人工促熟、胚胎及稚贝发育观察、附着基选择等相关研究,建立橘色海菊蛤人工繁育技术,为后续开展该物种在南海人工规模化养殖提供支撑。

1 材料与方法

1.1 亲本收集及育肥

2022年4月,在海南省三亚市三亚湾采集壳长为 (12.00 ± 1.25) cm、体重为 (100.00 ± 5.04) g的野生橘色海菊蛤100只,清理外壳上的所有附着物,剪掉棘刺,运输到海南省文昌市某养殖场半封闭遮光养殖池(9 m³)中暂养催熟。暂养期间,采用“持续充气+微流水”形式进行培养,水流量为2 m³/d,每日投喂新鲜培养的微拟球藻(*Nannochloropsis* sp.),同时,适当添加螺旋藻粉。观察橘色海菊蛤性腺成熟程度,待性腺发育成熟后,挑选性腺发育饱满个体进行催产(图1)。亲体育肥期间,所有海水均经过砂滤池过滤,水温为27~29℃,pH为8.0~8.2,盐度为31~33。

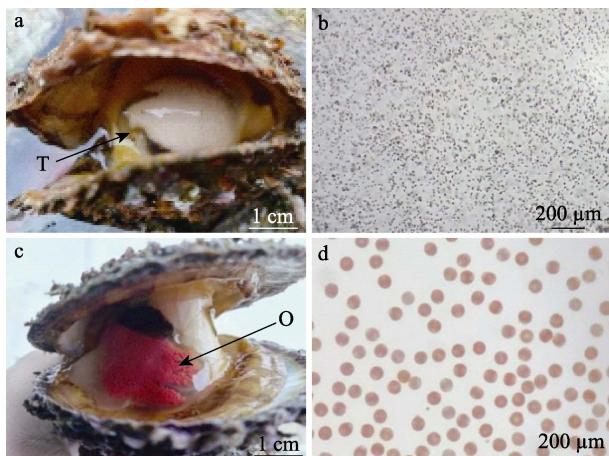


图1 橘色海菊蛤生殖腺
Fig.1 Gonads of *S. aurantius*

a: 雄性; b: 精子; c: 雌性; d: 卵子
T: 精巢; O: 卵巢。
a: Male; b: Sperms; c: Female; d: Eggs
T: Showed testis; O: Showed ovary.

1.2 催产受精

催产方法采用“晾干+流水+高温”刺激法,即午后将橘色海菊蛤从养殖池中捞出阴干2 h,再将海菊蛤放入100 L的塑料盆中进行流水刺激3 h,流水温度为28℃。待流水刺激后,将雌雄海菊蛤(雄性15只,雌性26只)分别转移至2个海水水温为32℃的水槽

(1 m³)中(采用加热棒控温),进行高温刺激。待产卵排精后,将适量含有精子的海水与卵子混合,实时取样并观察是否受精。待受精后0.5 h,将海菊蛤亲本取出,同时,使用350目筛绢收集约一半受精卵,转移至水温为28℃水槽中,剩余受精卵养殖于32℃海水中,微充气。

1.3 胚胎及幼体培养

受精卵发育到D形幼虫时,使用350目筛绢过滤,将28℃和32℃组D形虫转移至体积为10 m³的养殖池中,幼虫密度控制在1 ind./mL,微充气。其中,28℃组为自然水温,32℃组采用电热棒控温。2 d后投喂食用酵母和微拟球藻作开口饵料;发育至壳顶后期时,采用微流水培养,每日08:00关闭流水投喂藻类,3 h后打开流水。养殖水体中,pH为8.0~8.2,盐度为31~33,封闭遮光培养。

1.4 附着基选择

胚胎发育至壳顶后期开始进入附着变态阶段。本研究选用混凝土饼、黑蝶贝壳、海菊蛤壳、牡蛎壳、绿色聚乙烯网片和黑色遮阳网共6种类型附着基。其中,混凝土饼、黑蝶贝壳、海菊蛤壳、牡蛎壳等中央处打小孔,分别使用长为2 m的黑色胶丝绳穿起,在距水面0~0.5、0.5~1、1~1.5 m之间各穿2个;绿色聚乙烯网片、黑色遮阳网等材质直接裁剪为1.5 m²。将附着基用高压水枪清洗干净,放入养殖池等待附着。

1.5 稚贝培养

当幼虫发育为稚贝并固着于附着基上后,再继续培养14 d。待稚贝生长至壳长为 (2.25 ± 0.01) mm后,将其转移至海南三亚市蜈支洲海洋牧场海域,进行海上吊养(水面下5 m)。运输前1 d停止投喂藻类,水流量增加至2 m³/d,以增强其环境适应性。蜈支洲海域水温为27.8~29.5℃,pH为8.2,盐度为34.3。

1.6 观察方法

1.6.1 胚胎及稚贝发育观察 本研究以精卵混合作为起始时间,自受精至囊胚期每间隔10 min取样观察1次,囊胚期至D形虫期每间隔30 min取样1次,D形虫期至稚贝每天取样1次。每次随机取样3份,每份样本观察超过20个胚胎,当超过半数进入到下一个时期时即定为一个阶段。实验采用江南DN-10B显微镜与江南JSZ5B体视镜观察胚胎及稚贝发育过程,使用ScopeImage 9.0软件拍照记录胚胎尺寸。

1.6.2 不同材质附着基及水深对海菊蛤附着的影响

幼虫发育至稚贝后,取出不同材质的附着基,数

出 0~0.5、0.5~1、1~1.5 m 之间的附着个数，计算附着密度。实验数据以平均值±标准差(Mean±SD)表示，采用 Excel 和 DPS 软件进行作图和数据处理，不同材质附着基和采苗深度的显著性分析采用双因素方差分析(two-way ANOVA)， $P<0.05$ 为显著性水平。

2 结果

2.1 催产受精

橘色海菊蛤为雌雄异体，雄性生殖腺为乳白色，雌性为橘红色。催产初期，其精卵尚未完全充满整个生殖腺，显微观察发现，内部卵子大部分未发育成熟。待室内育肥 30 d 后，橘色海菊蛤发育成熟，个体性腺饱满，包裹住大部分内脏团，精巢和卵巢内部充满成熟精子和卵子。对雌雄性别的橘色海菊蛤取样解剖

性腺，观察发现精子非常活跃，卵子发育成熟度高，呈橘红色(图 1)。

经过“晾干+流水+高温”刺激后，雌性橘色海菊蛤于 19:50 开始产卵，具体表现为双壳开闭使外套腔内的海水迅速流动，带动卵子喷射而出，肉眼可见颗粒状；10 min 后，雄性橘色海菊蛤开始排精，精子颜色呈乳白色，排出时呈烟雾状，随后逐渐扩散开。雌雄橘色海菊蛤产卵排精完成后水体呈乳白色，表面有白色粘稠漂浮物及泡沫，取出亲本，持续通入微小的 O_2 。

2.2 胚胎及稚贝发育

2.2.1 卵裂发育 橘色海菊蛤的受精卵呈圆球状，橘红色，卵径为 (130.1 ± 0.3) μm (图 2a)。在水温为 28 °C 时，受精卵经过 25 min 后出现第 1 极体(表 1)；

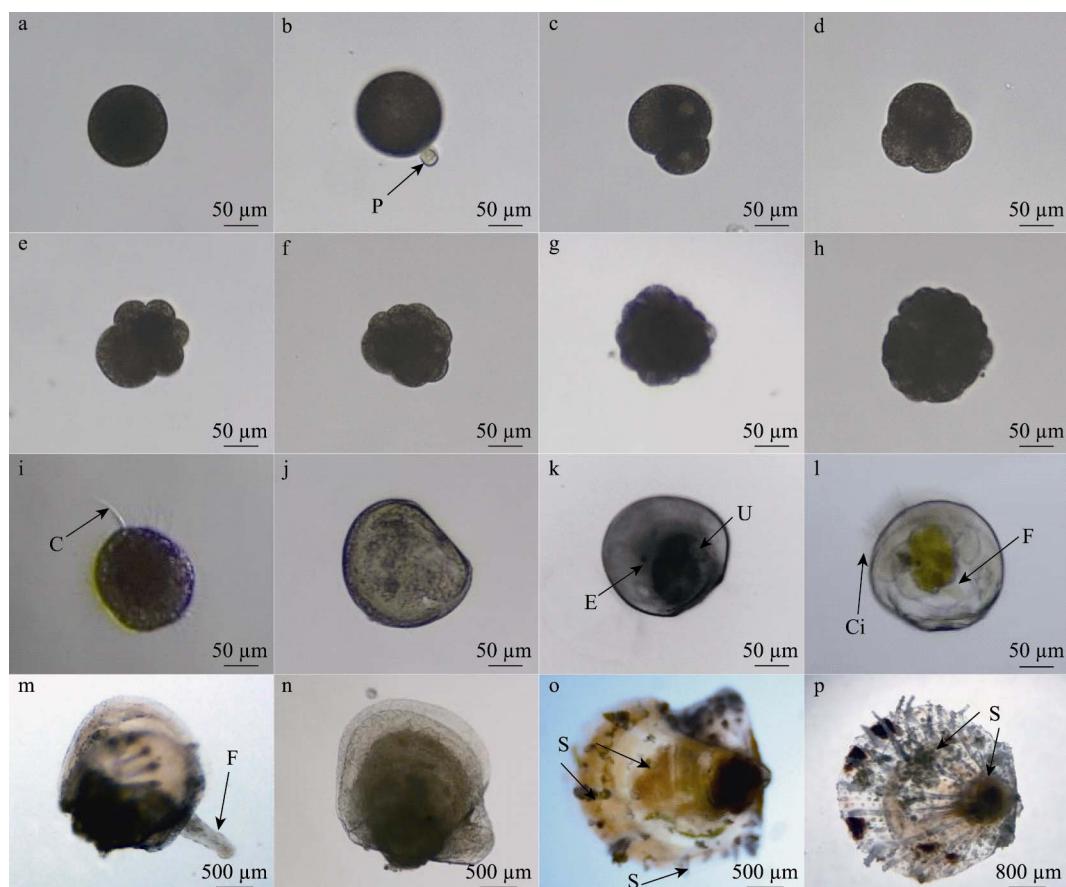


图 2 橘色海菊蛤各胚胎发育及稚贝阶段
Fig.2 Embryonic development and juvenile stage of *S. aurantius*

- a: 受精卵；b: 第 1 极体释放期；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: 囊胚期；i: 担轮幼虫期；j: D 形幼虫期；k: 壳顶幼虫期；l: 壳顶后期；m: 匍匐期；n: 稚贝；o: 稚贝(出现棘刺)；p: 稚贝(棘刺生长约 1 mm)；P: 极体；C: 纤毛；U: 壳顶；E: 眼点；Ci: 纤毛环；F: 足；H: 棘刺。
- a: Fertilized egg; b: The first polar body stage; c: 2-cell stage; d: 4-cell stage; e: 8-cell stage; f: 16-cell stage; g: 32-cell stage; h: Blastula stage; i: Trochophore stage; j: D-shaped larvae stage; k: Umbo larvae stage; l: Late umbo larvae stage; m: Pediveliger stage; n: Juvenile stage; o: Juvenile stage (spines appearance); p: Juvenile stage (spine growing to 1 mm); P: Showed polar body; C: Showed cilia; U: Showed umbo; E: Showed eye; Ci: Showed ciliary band; F: Showed foot; S: Showed spines.

此时, 卵细胞颜色仍然为橘红色, 卵径为 $(131.2\pm0.2)\text{ }\mu\text{m}$ (图 2b)。大约经过 95 min 后, 受精卵发生首次分裂, 发育成为 2 细胞(表 1)。胚胎为不均等分裂, 颜色由橘红色逐渐变为黑褐色, 卵径大小无明显变化(图 2c)。之后, 胚胎大约每间隔 30 min 发生 1 次分裂, 依次为 4 细胞、8 细胞、16 细胞、32 细胞、多细胞(图 2d~g; 表 1), 均为不均等分裂。受精 5 h 后, 胚胎发育到囊胚期(表 1)。由许多小细胞组成的球状体, 此时, 胚胎四周生短小密集的纤毛, 促使胚胎做旋转运动(图 2h)。在水温为 32 °C 时, 受精卵经过 20 min 后出现第 1 极体, 80 min 后发生首次分裂, 4 h 后发育到囊胚期。

2.2.2 幼体发育 在水温为 28 °C 时, 受精卵经过 12 h 发育后变为担轮幼虫(图 2i, 表 1)。此时, 胚胎呈椭圆形, 细胞加厚, 四周纤毛中有一根粗大的纤毛。28 h 后至 D 形虫阶段(图 2j)。胚胎两侧发育出透明的半圆形幼虫壳, 半圆的圆弧部位长有纤毛, 应激时纤毛会立即收缩回壳内。2 d 后饲喂食用酵母和微拟球藻; 发育 7 d 后, 胚胎进入壳顶幼虫期(表 1), 此时, 胚胎两侧中央部位明显的隆起形成幼虫的壳顶, 在鳃的基部形成一对眼点(图 2k), 壳色透明; 11 d 后胚胎进入壳顶幼虫后期(表 1), 可明显观察到幼虫的足部开始形成, 游动速度缓慢(图 2l)。15 d 后胚胎发育成匍匐幼虫(表 1), 此时幼虫的足可自由伸缩, 具有匍

匐机能, 纤毛逐渐退化, 壳色素逐步加深, 由透明色逐渐变为浅橙色(图 2m)。而水温为 32 °C 时, 受精卵经过 10 h 后发育为担轮幼虫, 各个发育阶段均比水温 28 °C 时提前。

2.2.3 附着变态发育 胚胎在水温为 28 °C 时发育 27 d 后成为稚贝, 而水温为 32 °C 时胚胎只需 25 d 也发育成稚贝(表 1)。此时, 幼虫已完成变态过程, 从营浮游生活变为固着底栖生活。稚贝的左壳明显比右壳大, 左壳分泌胶质固定在物体上, 眼点逐渐退化, 壳色加深(图 2n)。

2.2.4 稚贝发育 大部分稚贝完成固着后, 继续在池中培养 2 周(受精后 41 d), 稚贝的右壳表面生长出明显的棘刺, 壳体变厚, 壳色变为橘黄色(图 2o)。壳高约为 $(2.83\pm0.01)\text{ mm}$, 壳长约为 $(2.25\pm0.01)\text{ mm}$ 。受精后 71 d, 天然海区中海菊蛤右壳上棘刺已生长至 1 mm 长, 贝壳上放射性条纹清晰可见, 壳色为橘红色, 有明显的色素斑点, 此时壳高为 $(3.92\pm0.01)\text{ mm}$, 壳长为 $(3.86\pm0.01)\text{ mm}$ (图 2p)。

2.3 不同材质附着基

不同类型附着基及不同水深的附着结果见图 3。从图 3 可以看出, 幼虫在不同类型附着基上附着密度不同, 随着水深的增加, 附着密度也增加。黑蝶贝壳的附着密度相对较好, 绿色聚乙烯网片的附着效果最

表 1 不同水温下橘色海菊蛤受精卵胚胎发育时序

Tab.1 Developmental sequence of embryos in *S. aurantius* at different water temperatures

发育阶段 Developmental stage	28 °C		32 °C	
	间隔时间 Interval time	累计时间 Total time	间隔时间 Interval time	累计时间 Total time
受精卵 Fertilized egg	0	0	0	0
第 1 极体释放期 The first polar body stage	25 min	25 min	20 min	20 min
2 细胞期 2-cell stage	95 min	2 h	80 min	1.7 h
4 细胞期 4-cell stage	30 min	2.5 h	18 min	2 h
8 细胞期 8-cell stage	30 min	3 h	30 min	2.5 h
16 细胞期 16-cell stage	30 min	3.5 h	30 min	3 h
32 细胞期 32-cell stage	30 min	4 h	30 min	3.5 h
囊胚期 Blastula stage	1 h	5 h	30 min	4 h
担轮幼虫期 Trochophore stage	7 h	12 h	6 h	10 h
D 形幼虫期 D-shaped larvae stage	16 h	28 h	15 h	25 h
壳顶幼虫期 Umbo larvae stage	5.8 d	7 d	5 d	6 d
壳顶后期 Late umbo larvae stage	4 d	11 d	4 d	10 d
匍匐期 Pediveliger stage	4 d	15 d	4 d	14 d
稚贝 Juvenile stage	12 d	27 d	11 d	25 d

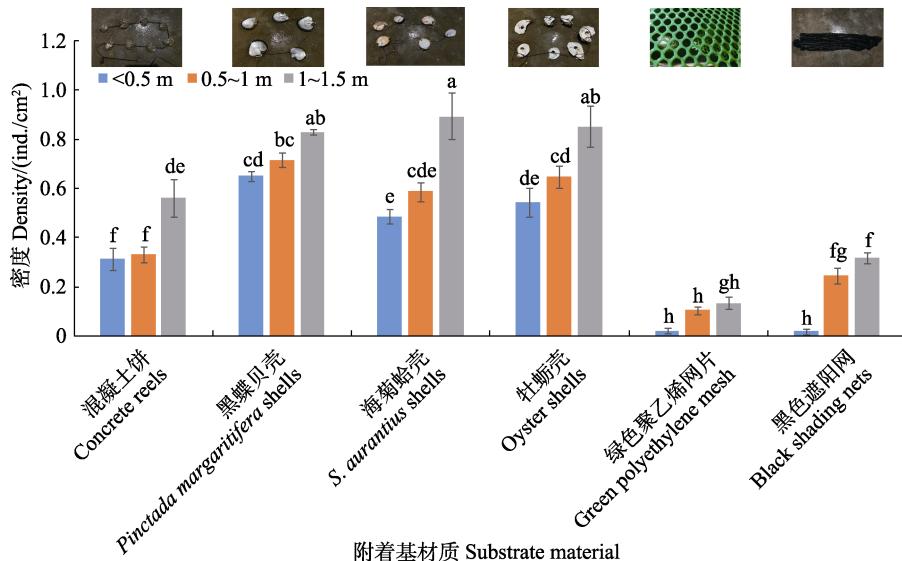


图3 不同附着基类型和水深条件下橘色海菊蛤附着密度

Fig.3 Density of *S. aurantius* under different substrates and water depths

不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

Different letters indicate significant difference ($P<0.05$).

不理想，黑蝶贝壳、海菊蛤壳、牡蛎壳的粗糙面和光滑面附着密度相同，但在蜈支洲海域养殖 30 d 后，附着在光滑面上稚贝有部分脱落。在水深为 1~1.5 m 处海菊蛤壳的附着密度最大为(0.89±0.09) ind./cm²，水深在 0~0.5 m 处绿色聚乙烯网片和黑色遮阳网的附着密度最小为(0.02±0) ind./cm²。

3 讨论

3.1 繁殖特点及亲本催熟

贝苗质量的好坏及产量与亲贝的性腺发育程度有着密切的关系，选择性腺发育度好的亲贝能有效地提高育苗的质量。在贝类繁育过程中，亲本的选则及催熟是培养幼苗的关键，而影响性腺发育的因素有温度、饵料、繁育季节等(刘洋等, 2020; 常亚青等, 2002)。本研究在水温为 27~29 °C，采用“持续充气+微流水”条件下，橘色海菊蛤性腺能够发育成熟，且精卵活力强，这与长牡蛎(*Crassostrea gigas*) (褚洪永等, 2022)和菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*) (闫喜武, 2005)采用方法类似。在饵料选择方面，本研究以新鲜培养的微拟球藻为主，辅以螺旋藻粉，取得理想效果。亲本能否成功被催熟与繁育季节有很大的关系，柯巧珍等(2010)研究发现，黄河三角洲青蛤(*Cyclina sinensis*)繁殖季节在 6~9 月；姜绪等(2017)对莱州湾海域小刀蛏(*Cultellus attenuatus*)行为学研究发现，其繁殖季节在 6~7 月。本研究通过观察解剖与催熟排卵

发现，橘色海菊蛤性腺发育成熟期大概在 4~7 月，在该时期本实验同一批橘色海菊蛤共成功催产 4 次，精卵质量均极高。

3.2 橘色海菊蛤早期发育过程及与温度的相关性

橘色海菊蛤为体外受精，发育过程经历了受精卵、卵裂、囊胚期、单轮幼虫、D 形幼虫、附着变态和稚贝等阶段。橘色海菊蛤在胚胎发育阶段与牡蛎、扇贝等双壳贝类类似，但存有一些差异。相似之处是三者的卵裂均是不均等分裂，胚胎发育阶段相同，属于卵生型。不同之处在于它们的受精卵卵径大小不同，长牡蛎受精卵卵径为(51.8±0.6) μm，海湾扇贝(*Argopecten irradians*)受精卵卵径为(63.4±3.7) μm，而本研究的橘色海菊蛤受精卵卵径为(130.1±0.3) μm，远大于长牡蛎(褚洪永等, 2022)和海湾扇贝(郑怀平等, 2003)；三者的受精卵颜色不同，海菊蛤受精卵颜色为橘红色，牡蛎为乳白色，不同扇贝种类受精卵颜色各异。受精卵颜色的不同与生长遗传、生理特性、生存环境有关。周丽青等(2006)研究发现，栉孔扇贝受精卵颜色的深浅可能与 RNA 和磷脂的含量有一定的关系。

与其他贝类相比，橘色海菊蛤发育至固着生活的稚贝后，其右壳上很快生长出棘刺，且海上养殖 30 d 后，其棘刺迅速生长至 1 mm。双壳贝类运动能力较弱，如牡蛎及本研究涉及的橘色海菊蛤等固着后终生不再移动，因此其只能依靠坚硬外壳进行防御(王如才等, 2008)。相比于牡蛎，橘色海菊蛤生长的棘刺或许

是其应对敌害生物进化出的一种防御机制。

胚胎发育过程中受到许多环境因子的影响, 温度是影响胚胎发育速度最重要的因子(Hicks *et al.*, 2002)。温度过高或过低会使胚胎发育缓慢、受精卵裂解、滞育、畸形等现象, 在适宜的温度范围内胚胎发育速度会随着温度的升高而加快。本研究中, 在水温为28℃和32℃时, 受精卵均可发育到稚贝, 且水温为32℃时, 胚胎发育各个时期的发育速度都要比水温为28℃快, 这一结果与西施舌(*Coelomactra antiquata*)等贝类类似(27℃下胚胎发育较21℃快)(刘德经等, 1998)。进一步比较发现, 在高温(32℃)条件下, 橘色海菊蛤死亡率增高, 因此, 28℃是橘色海菊蛤较适宜的胚胎发育培养温度。

3.3 不同附着基及水深对橘色海菊蛤附着效率的影响

双壳贝类的幼虫变态过程至关重要, 也是幼虫从浮游生活到底栖生活的一个重要转变(Yan *et al.*, 2005)。橘色海菊蛤是固着型的海洋贝类, 目前, 固着型贝类(如牡蛎等)采苗主要选用牡蛎壳、扇贝壳, 效果较为理想。本研究所选用的6种不同类型附着基的附着效果有明显的差异, 其中, 黑蝶贝壳相对最好, 牡蛎壳和海菊蛤壳次之, 可能是黑蝶贝壳面积较大, 且高密度养殖中容易附苗的原因。但在运往三亚蜈支洲海域养殖30 d后发现, 黑蝶贝壳与海菊蛤壳、牡蛎壳的光滑面上附着的海菊蛤早已有部分脱落, 而牡蛎壳和海菊蛤壳的粗糙面生长良好, 无脱落现象发生, 可能运输容易引起贝壳上附苗的脱落, 加上海域相比养殖池中环境更加复杂, 暗流涌动, 而橘色海菊蛤尚小, 因此更容易造成光滑面附苗的脱落。相比之下, 牡蛎壳、海菊蛤壳的粗糙面多不规则, 贝苗附着更加稳定, 也易于躲避天敌; 混凝土饼附着密度相对海菊蛤壳要少, 这与Soniat等(1991)研究结果相同。胡新宇(2020)研究表明, 在混凝土中掺杂一些钙质材料的诱导剂对牡蛎幼虫的附着变态有促进作用, 而天然贝壳的主要材质是CaCO₃, 表明幼苗更喜欢在天然贝壳上附着。绿色聚乙烯网片和黑色遮阳网附着效率低, 是因为这类材质具有网孔, 且表面光滑, 在水体中水流作用力下使得海菊蛤不易于固定附着。

本研究中, 附着基下层幼苗附着密度要好于上层, 这可能是幼苗避光引起的, 贝苗的培育采用封闭遮光的环境, 因此, 在养殖池中, 池底深部会比上面的幼苗多, 另一方面可能是壳顶幼虫不断生长体重慢慢增加, 游泳能力减弱而逐渐沉入水底, 因此随着水深的增加附着密度增加。

4 结论

本研究开展了橘色海菊蛤亲本催熟、胚胎及稚贝各发育阶段观察、附着基及不同附着水深效果评估, 海上幼贝培育等, 实现了橘色海菊蛤室内人工繁育和海上养殖, 为该物种的规模化人工繁育以及海上养殖奠定了基础。

参 考 文 献

- Bureau of Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China fishery statistical yearbook 2022. Beijing: China Agriculture Press, 2022 [农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 2022 中国渔业统计年鉴. 北京: 中国农业出版社, 2022]
- CHANG Y Q, SONG J, WANG G D, *et al.* Seeds breeding of hard clam *Mercenaria mercenaria*. 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. 中国水产科学, 2002, 9(1): 43–47]
- CHU H Y, ZHANG L, ZHAO Q, *et al.* Study on artificial breeding and farming of *Crassostrea gigas* in Beibu Gulf and Laizhou Bay. Fisheries Science, 2022, 41(6): 1–12 [褚洪永, 张岚, 赵强, 等. 长牡蛎北部湾和莱州湾室内人工育苗及养成比较研究. 水产科学, 2022, 41(6): 1–12]
- HICKS D W, MCMAHON R F. Respiratory responses to temperature and hypoxia in the nonindigenous brown mussel, *Perna perna* (Bivalvia: Mytilidae), from the Gulf of Mexico. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2002, 277(1): 61–78
- HU X Y. Experimental study on marine concrete inducing oyster settlement. Master's Thesis of Harbin Engineering University, 2020 [胡新宇. 海工混凝土诱导牡蛎附着试验研究. 哈尔滨工程大学硕士学位论文, 2020]
- JIANG X, WEI X M, FENG Y W, *et al.* The reproductive biology of *Cultellus attenuatus* in Laizhou Bay. Progress in Fishery Sciences, 2017, 38(6): 107–111 [姜绪, 韦秀梅, 冯艳微, 等. 莱州湾海域小刀蛏繁殖生物学研究. 渔业科学进展, 2017, 38(6): 107–111]
- KE Q Z, LI Q, CHEN C J, *et al.* The reproductive biology of the venus clam, *Cucina sinensis* Gmelin, from the yellow river delta. Journal of Ocean University of China, 2010, 40(S1): 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. 中国海洋大学学报, 2010, 40(S1): 99–104]
- LIU D J, CHEN J M. A study of the temperature effect on early embryonic development of the *Coelomactra antiquata*. Chinese Journal of Zoology, 1998, 32(2): 2–4 [刘德经, 陈杰明. 西施舌早期胚胎发育温度效应的研究. 动物学杂志, 1998, 32(2): 2–4]

- LIU Y, YU R H, ZHANG Z, et al. Effects of different pH on embryo development and larval growth of bay scallop (*Argopecten irradians*). *Progress in Fishery Sciences*, 2020, 41(6): 108–114 [刘洋, 于瑞海, 张哲, 等. 不同 pH 对海湾扇贝胚胎发育及幼虫生长发育的影响. 渔业科学进展, 2020, 41(6): 108–114]
- PAN Y, LI J M, HUANG W D, et al. Analysis of current situations, existing problems of oyster industry and its developmental suggestions in Guangxi. *Journal of Southern Agriculture*, 2021, 52(9): 2608–2618 [潘英, 李坚明, 黄伟德, 等. 广西牡蛎产业现状分析及发展策略. 南方农业学报, 2021, 52(9): 2608–2618]
- SONIAT T M, BROADHURST R, HAYWOOD I E L. Alternatives to clamshell as cultch for oysters, and the use of gypsum for the production of cultch less oysters. *Journal of Shellfish Research*, 1991, 10: 405–410
- WANG P, CHEN J M, LIU W. Major aquatic organisms in Hainan. Beijing: China Ocean Press, 2014 [王鹏, 陈积明, 刘维. 海南主要水生生物. 北京: 海洋出版社, 2014]
- WANG R C, WANG Z P. Science of marine shellfish culture. Qingdao: China ocean university press, 2008 [王如才, 王昭萍. 海水贝类养殖学. 青岛: 中国海洋大学出版社, 2008]
- WANG X N. Cloning and expression of genes in *Pinctada maxima*, *Pinctada margarifera* and *Spondylus*. Master's Thesis of Shanghai Ocean University, 2011 [王晓宁. 大珠母贝、珠母贝和草莓海菊蛤基因克隆与表达分析. 上海海洋大学硕士学位论文, 2011]
- YAN X W, ZHANG G F, YANG F. Effects of diet, stocking density, and environmental factors on growth, survival, and metamorphosis of Manila clam *Ruditapes philippinarum* larvae. *Aquaculture*, 2005, 253(1): 350–358
- YAN X W. The culture biology and technology and selective breeding in Manila clam, *Ruditapes philippinarum*. Doctoral Dissertation of Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2005 [闫喜武. 菲律宾蛤仔养殖生物学、养殖技术与品种选育. 中国科学院海洋研究所博士研究生学位论文, 2005]
- ZHANG G F, LI L, QUE H Y. An evolution of oyster mariculture industry in China: New knowledge, variety and product. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2020, 51(4): 740–749 [张国范, 李莉, 阙华勇. 中国牡蛎产业的嬗变——新认知、新品种和新产品. 海洋与湖沼, 2020, 51(4): 740–749]
- ZHANG X Z, YE B C, GU Z F, et al. Comparison in growth, feeding, and metabolism between a fast-growing selective strain and a cultured population of pearl oyster (*Pinctada fucata martensii*). *Frontiers in Marine Science*, 2021, 8: 770702
- ZHENG H P, ZHANG G F, LIU X, et al. Establishment of different shell color lines of bayscallop *Argopecten irradians* Lamarck and their development. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2003, 34(6): 632–639 [郑怀平, 张国范, 刘晓, 等. 不同贝壳颜色海湾扇贝(*Argopecten irradians*)家系的建立及生长发育研究. 海洋与湖沼, 2003, 34(6): 632–639]
- ZHOU L Q, YANG A G, LIU Z H, et al. Comparison of phospholipid and nucleic acid content in scallop *Chlamys farreri* eggs and their early embryos with two colors. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2006, 13(5): 745–748 [周丽青, 杨爱国, 刘志鸿, 等. 两种颜色栉孔扇贝卵及其早期胚胎磷脂和核酸含量的比较. 中国水产科学, 2006, 13(5): 745–748]
- ZHOU L Q, ZHAO D, WU Z, et al. Molecular mechanism of sex differentiation in major economic bivalves. *Progress in Fishery Sciences*, 2020, 41(5): 194–202 [周丽青, 赵丹, 吴宙, 等. 主要经济双壳贝类性别分化的分子机制概述. 渔业科学进展, 2020, 41(5): 194–202]

(编辑 陈 辉)

Artificial Breeding of *Spondylus aurantius*

SUN Yunchao¹, YANG Yumei¹, LIU Chunsheng^{1,2,3①}, YANG Yi^{1,3}, WANG Aimin^{1,2}, GU Zhifeng^{1,3}

(1. Ocean College, Hainan University, Haikou 507228, China; 2. State Key Laboratory of Marine Resource Utilization in South China Sea, Hainan University, Haikou 507228, China;
3. Sanya Nanfan Research Institute, Hainan University, Sanya 572019, China)

Abstract *Spondylus aurantius*, a member of the Mollusca phylum, Bivalvia class, Pterioida order, and Spondylidae family, is an important economic marine bivalve species that is widely distributed along the warm-water coastal region in Guangdong and Hainan Province in China, and the Philippines. As an

① Corresponding author: LIU Chunsheng, E-mail: lcs5113@163.com

important marine commercial bivalve, wild *S. aurantius* individuals are often captured by local fishermen for their large adductor muscle, which makes delicious seafood, and for their beautiful shells, which are used for displays.

According to the China Fishery Statistical Yearbook for 2022, the annual production of cultured mollusks exceeded 15 million tons, with oysters, scallops, and clams accounting for 78.23% of the total aquaculture yield. In southeast coastal provinces, such as Guangdong, Guangxi, and Hainan, the most common cultured mollusks include Hong Kong oysters (*Crassostrea hongkongensis*), Suminoe oysters (*Crassostrea ariakensis*), pearl oysters (*Pinctada fucata martensii*), and noble scallops (*Chlamys nobilis*). Generally, Hong Kong and Suminoe oysters cannot tolerate high salinity conditions and are often cultured near estuaries; the *P. f. martensii* industry is rapidly declining because of high mortality rates and nucleus rejection after transplantation in the process of pearl production; and noble scallop rearing, which is primarily practiced in net cages, and a considerable amount of labor is required to clean attachments. Therefore, there is an urgent need to investigate the cultivation of new bivalve species that can adapt to coastal areas with high temperatures and high salinity.

Though *S. aurantius* is traditionally regarded as an edible mollusk, few studies have reported the artificial breeding of this species. In this study, wild adult *S. aurantius* with shell length of (12.00 ± 1.25) cm and wet body weight of (100.00 ± 5.04) g were selected as the research subjects to artificially ripen mature individuals, observe and compare the development of the embryo and juveniles at different temperatures (28°C and 32°C), and study the effects of different substrates and water depths on the adhesion efficiency of juveniles. Our results were as follows: (1) Under artificial conditions, adult *S. aurantius* gonads could continue to develop and mature, with testes and ovaries filled with milky spermatozoa and orange eggs, respectively; (2) The method of “dry in the shade + flowing water + high temperature” successfully induced spawning and fertilization of *S. aurantius*; (3) The diameters of fertilized eggs were (130.1 ± 0.3) μm , and the first unequal cleavage was observed 95 min after fertilization. These eggs then developed into multicellular stages (cleavage occurred at approximately 30-min intervals), blastula (after 4–5 h of fertilization), trophophore (after 10–12 h of fertilization), D-shaped larvae (after 25–28 h of fertilization), umbo larvae (after 6–7 d of fertilization), pediveliger (after 14–15 d of fertilization), and juvenile (after 25–27 h of fertilization); (4) Fertilized eggs could develop into the juvenile stage at both 28°C and 32°C ; however, the survival rates of fertilized eggs under higher temperatures were lower than those cultured at 28°C , although the speed of *S. aurantius* embryonic development at 32°C was higher than that at lower temperatures; (5) The density of juvenile *S. aurantius* in deep water (1–1.5 m depth) was evidently higher than that in shallow water (0–0.5 m depth) in an indoor seedling pond ($P<0.05$); (6) Furthermore, the densities of juvenile *S. aurantius* were highest on the surfaces of *Pinctada margaritifera* shells, followed by *S. aurantius* shells > oyster shells > concrete reels > black shading nets > green polyethylene mesh sheets under indoor conditions, while the densities and growth rate of juvenile *S. aurantius* attached itself and oyster shells were better after one month culture in the natural coastal area of Wuzhizhou Island, Sanya. In this study, embryonic development in *S. aurantius* was observed for the first time. Furthermore, the breeding technology of *S. aurantius*, including the induction of gonadal maturation and spawning, the incubation of fertilized eggs, and the selection of substrates, was established for the first time under artificial conditions, which could contribute to the future large-scale breeding and cultivation of this species.

Key words *Spondylus aurantius*; Artificial breeding; Embryonic development; Juvenile stage; Substrate