

香港巨牡蛎北方人工育苗技术的研究^①

于瑞海^{②*} 马培振^{*} 王昭萍^{*} 陈洪发^{*} 余忠明^{**} 刘 剑^{***}

(^{*} 中国海洋大学 青岛 266003)

(^{**} 深圳市嘉灿生物科技有限公司 深圳 518104)

(^{***} 莱州海益苗业有限公司 烟台 261400)

摘 要 为使在南方进行适于在高温、低盐海区生长的香港巨牡蛎的育苗摆脱受气候影响和技术、设施条件限制造成出苗量极低的困境,研究并推出了在北方夏季进行香港巨牡蛎人工育苗技术。该技术通过强化亲贝营养和 25℃ 以上高温促熟培育,来满足在北方进行香港巨牡蛎人工育苗的条件,并在不同盐度(15‰、20‰、25‰、30‰)和温度(18 ~ 21℃、25 ~ 28℃)下观察香港巨牡蛎性腺发育;通过合理控制幼虫密度(前期 8 ~ 10 个/ml,后期 4 ~ 5 个/ml),严把饵料质量关(投喂新鲜无污染的单胞藻),科学换水与充气,及时分级筛选幼虫等,克服了香港巨牡蛎南方育苗成功率低的技术难题,使育苗生产顺利进行。开展了牡蛎壳和栉孔扇贝壳两种附着基的采苗试验,选出了比较理想的采苗方法——牡蛎壳采苗,该方法提高了稚贝的附着变态率,其附着变态率达 50% 以上,促进了稚贝的生长和成活。育出了 5mm 以上的稚贝,单位水体出苗量在 15×10^4 粒/m³ 以上。

关键词 香港巨牡蛎, 人工育苗, 高温期, 采苗, 盐度

0 引 言

香港巨牡蛎(*Crassostrea hongkongensis*)是有 700 多年养殖历史的高温低盐种,生长于近河口或附近有淡水注入的海区,其壳质坚厚,软体部为白色,外套膜多为黑色,具有色泽美观、肉质鲜美的特点,是我国南方海区特有经济贝类,市场价格比长牡蛎等其他牡蛎高 1 ~ 2 倍,市场前景广阔^[1,2]。目前,我国香港巨牡蛎的苗种生产主要以半人工采苗为主,但野生苗种易受季节和气候影响,苗种供应不稳定,限制了香港巨牡蛎养殖业的发展。另外,香港巨牡蛎人工育苗还受到了育苗技术、设施和条件的限制,造成育苗成功率和育苗出苗量极低,达不到生产性育苗的水平,满足不了养殖单位对苗种的日益增大的需求。本文分析了香港巨牡蛎南方育苗的技术难题,认为利用北方夏季高温期开发香港巨牡蛎北方育苗的方式是解决难题的关键,这种方式可以克服香港巨牡蛎自然苗生长速度慢、养殖周期长的问题。

2013 年 6-8 月,我们在山东莱州海益苗业进行了香港巨牡蛎北方人工育苗技术研究工作,突破了育苗技术中一些技术问题,取得了香港巨牡蛎北方人工育苗的成功。

1 材料与 方法

1.1 材料

1.1.1 香港巨牡蛎种贝

亲贝系采于深圳市养殖海区 2 ~ 3 龄贝,壳高大小为 10 ~ 16 cm,共 500 个。

1.1.2 育苗设施

400m³ 育苗车间,池子大小为 20m³,共 20 个,香港巨牡蛎附着基种类主要有牡蛎壳和扇贝壳。

1.2 香港巨牡蛎人工育苗技术措施和方法

1.2.1 亲贝选择和促熟培育

亲贝的成熟度是衡量人工育苗成功的首要指标。香港巨牡蛎繁殖盛期在深圳沿海一般在 5 ~ 6 月份,但在北方需要在夏季高温期,此时,香港巨牡

① 广东省省部省级产学研项目(2012B091000102)和深圳产学研项目(CXY201106270024A)资助。
② 男,1964 年生,硕士,教授级高工;研究方向:贝类养殖与育种技术研究;联系人,E-mail: yuruihai@ouc.edu.cn
(收稿日期:2014-09-02)

蛎亲贝培育时间常需 20 多天,且水温要在 25℃ 以上。因此,香港巨牡蛎应首先清除壳表的附着物,经洗刷后放入室内水泥池中蓄养,采用浮动网箱进行亲贝促熟培育,6 月底开始进行育苗。

(1) 亲贝蓄养期间管理技术措施:

水温:入池后在 25 ~ 28℃ 下培育待产。亲贝蓄养密度:60 个/m³。

饵料:饵料种类以小新月菱形藻、青岛大扁藻为主,淀粉、螺旋藻代用饵料为辅,每天投喂 6 ~ 8 次,日投喂量由 20 × 10⁴ cell/d,逐渐增至 30 × 10⁴ cell/d。

换水:每天换水 2 ~ 3 次,每次换水量为培育水体的 1/3,每 3 天移池 1 次。

管理:及时挑出死贝,定期每毫升加入 (1 ~ 2) × 10⁻⁶ 个抗菌素抑菌。

(2) 不同盐度和温度下香港巨牡蛎亲贝促熟培育效果比较:在亲贝促熟培育过程中,在不同盐度 (15‰, 20‰, 25‰, 30‰) 和不同温度 (18 ~ 21℃, 25 ~ 28℃), 从肥满度、精子活力和卵子成熟度方面,各进行了 20 天的亲贝促熟效果的比较研究,实验设重复组。肥满度 = 软体部重量/总重量。

1.2.2 诱导精卵排放及洗卵

(1) 产卵诱导:

人工诱导香港巨牡蛎排卵排精主要采用了 2 种方法:

阴干、流水刺激法:把经促熟性腺发育好的亲贝先经 5 ~ 6h 的阴干,再经 0.5 ~ 1h 流水刺激后,直接放入事先准备好的海水中,经 1 ~ 2h 的适应期后,亲贝能自行排放精、卵,亲贝排放率为 90% 以上。

通过解剖法获取精、卵:将成熟的香港巨牡蛎亲贝洗刷干净后,剖去右壳,露出软体部。在显微镜下鉴别区分雌、雄,雌、雄贝要严格分开放置,然后挑出发育好的个体使用。将成熟的雌性卵巢逐个剥离并搅碎,先用 80 目、200 目的筛绢过滤,去除大的组织碎片,再用 500 目筛绢滤洗,去除组织液等,清洗干净的卵子加入过滤海水,在 26℃ 下浸泡备用。雄贝精子剥离后用 500 目筛绢过滤后,制成精液备用。

(2) 受精及洗卵:

受精:香港巨牡蛎采取人工诱导方法自然排放精、卵,排放时一般雄的先排放,排放时呈白色烟雾状;雌的排放较雄的晚 0.5 ~ 1h,呈颗粒状。在充气或搅动条件下,水中精、卵自行受精。

人工解剖取精卵时,采用人工受精方式受精,因已控制精子数量,因此不需要洗卵。

洗卵:自然排放过程中,因精子过多,则需进行洗卵。洗卵方法是:受精后静置 30 ~ 40min,待卵下沉,将中上层海水用 300 目滤鼓虹吸轻轻排出,去除多余的精液和劣质的卵,然后再加入新鲜的海水,受精卵经上述方法洗卵 2 或 3 次,进行孵化发育。

在孵化方面,进行了 26℃ 水温下 15‰、20‰、25‰、30‰ 不同盐度下的受精率和孵化率对比研究实验,以确定最佳孵化效果。

1.2.3 幼虫培育

(1) 幼虫培育密度:前期应控制在 8 ~ 10 粒/ml, 250μm 后为 4 ~ 5 粒/ml。

(2) 换水及移池:幼虫刚入池时,保持水深 100cm,第 1 天采用逐渐加水至满池,以后改为换水。换水方法为:用滤鼓换水,所用筛绢规格视幼虫大小而定。

换水量为每天换水 2 或 3 次,每次更换 1/4 ~ 1/3 倍水体。每 4 ~ 5 天移池 1 次,移池可更好地改善幼虫的水环境,淘汰死亡和不健康的幼虫,除去幼虫的粪便和粘液。

在培育池中微量充气,不仅能增加海水溶氧量和满足幼虫的耗氧需要,而且能使培育的水处于流动状态,使幼虫和饵料分布较均匀。

(3) 饵料:香港巨牡蛎幼虫发育到 D 形时就开始摄食。饵料是幼虫生长发育的物质基础,关系到幼虫培育的成败。在幼虫培育前期,投喂的饵料以等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*)、叉鞭金藻 (*Dicrateria zhanjiangensis*) 为主,扁藻 (*Platymonas subcordiformis*) 为辅;在幼虫培育后期主要投喂扁藻和角毛藻 (*Chaetoceros calcitrans*),金藻为辅。在培育幼虫前期,投喂量可少点,应控制在 0.5 × 10⁴ ~ 4 × 10⁴ 个细胞/ml;在培育后期,适当添加扁藻,一般投喂量为 4 × 10⁴ ~ 6 × 10⁴ 个细胞/ml。投喂量应根据从池中取出幼虫在显微镜下检查胃肠饱满度之后再确定。

(4) 幼虫管理:

(i) 每天检查测量幼虫的生长和发育情况,隔 3 天取样详细测量大小,到投附着基为止。

(ii) 每天早晚各检查一次胃肠饱满程度,定期测量池水的水温、盐度、溶解氧、酸碱度、氨氮,并做好记录,发现问题及时处理。

(iii) 培育条件如下:水温为 25 ~ 30℃;盐度为 25‰ ~ 32‰。

1.2.4 附着基的投放及采收

当幼虫达到 300μm 以上时,50% 以上幼虫出现

眼点,即开始准备投放附着基,进行采苗。

(1)附着基种类选择及处理: 主要选择牡蛎壳和栉孔扇贝壳附着基穿成串,牡蛎壳每串 80 片,栉孔扇贝壳每串 100 片经稀盐酸浸泡、洗刷干净即可以投放。

(2)采苗密度: 采苗时眼点幼虫密度为 3 或 4 个/mL。

(3)附着基投放量: 栉孔扇贝壳按 5000 个/m³ 投放,牡蛎壳按 3000 个/m³ 投放。

(4)采苗后的管理: 在投上附着基幼虫未附着前,除了加大换水外,其它培育管理措施跟后期浮游幼虫管理一样。幼虫全附着后到出池前,其管理技术措施如下:

培育水温: 因在 7~9 月份随自然海水温度而变,一般 25~30℃。

盐度: 在 7~9 月因雨水较多,一般在 25‰~32‰。

换水: 采用大换水培育,每天换 1 倍水体的量程,分 2 次。

饵料: 附着变态后的饵料主要以扁藻和小球藻为主,角毛藻和金藻为辅;投喂量为 15×10⁴~20×10⁴ 个细胞(ml·d),分 6~8 次投喂。

施药: 因香港巨牡蛎培育时水温高,微生物易繁殖,因此,在投放后连续施 3 天 2ppm 的抗菌素等抗菌素抑菌。

附着变态率: 附着到贝壳上的稚贝总数与采苗时的眼点幼虫总数之比。贝壳附苗数是附着在每片贝壳上的总稚贝数的平均数。

2 结果

2.1 亲贝的促熟培育情况

2.1.1 不同盐度和温度下亲贝促熟效果比较

在水温 18~21℃ 条件下,经过 20 天促熟培育(投饵和其他管理完全相同),盐度 15‰、20‰、25‰、30‰对应的成熟情况如图 1 所示,解剖镜检观察,4 个盐度组的性腺不饱满,精子活力差,成熟的卵子较少。

从图 1 可看出,不同盐度对亲贝的发育影响有差异,其中盐度 15‰~20‰与 25‰~30‰($P < 0.01$)之间的差异明显,而 15‰和 20‰($P > 0.1$),25‰和 30‰($P > 0.1$)之间的差异不明显。

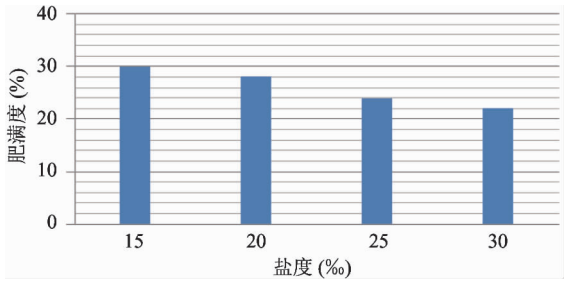


图 1 在 18~21℃ 水温下不同盐度促熟效果的比较

在水温 25~28℃ 条件下,在盐度 15‰、20‰、25‰、30‰下,经过 20 天促熟培育(投饵和其他管理完全相同),其成熟情况如图 2 所示。

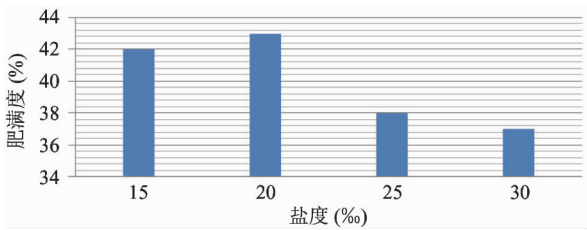


图 2 在 25~28℃ 水温下不同盐度促熟效果的比较

从图 2 可看出,不同盐度对亲贝的发育影响有差异,其中 15‰~20‰与 25‰~30‰($P < 0.01$)之间的差异明显,而 15‰和 20‰($P > 0.1$),25‰和 30‰($P > 0.1$)之间的差异不明显。解剖镜检观察,4 个盐度组性腺饱满的精子活力强,成熟的卵子在 50% 以上。

2.1.2 亲贝的促熟培育结果

亲贝经过近 2 个月室外土池培育和室内 15 天促熟培育逐渐成熟,解剖后可用肉眼观察性腺是否饱满,如成熟的雌雄性均为乳白色,性腺包围整个内脏团且饱满。也可借助显微镜检查生殖细胞,成熟的卵子呈圆球形,成熟的精子活力好,运动活泼。至此说明种贝已经成熟,可以准备产卵。详见表 1。

表 1 2013 年亲贝入池时间及培养情况表

亲贝入池 时间	亲贝数量 (个)	蓄养水体 (m ³)	亲贝蓄养 时间(天)	蓄养成活率 (%)
2013.05.10	400	20	45	80

2.2 香港巨牡蛎孵化情况和选优

2.2.1 不同盐度下受精、孵化效果比较

在 26℃ 水温下,盐度 15‰、20‰、25‰、30‰ 的受精、孵化情况见表 2。

表 2 不同盐度下香港巨牡蛎受精率、孵化率比较

盐 度 (‰)	15	20	25	30
受精率 (%)	96	95	91	86
孵化率 (%)	90	90	85	80

从表 2 可看出,受精率在盐度为 15‰~25‰时都在90%以上,其中在15‰时最高为96%;孵化率

在盐度 15‰和 20‰之间差异不显著 ($P > 0.5$), 25‰和 30‰之间差异显著 ($P < 0.01$)。

2.2.2 香港巨牡蛎生产性孵化及选优情况

在水温为 26℃、盐度为 30‰的自然海水中,香港巨牡蛎生产性产卵、受精、孵化情况如表 3 所示。

当幼虫发育到“D”形面盘幼虫时,立即选优。选优采用300目拖网法和虹吸法,将D形幼虫收集

表 3 2013 年香港巨牡蛎产卵、受精、孵化情况表

入池时间	种贝数量 (个)	种贝壳高 (cm)	产卵总量 (亿粒)	受精率 (%)	D 幼孵化率 (%)	选幼量 (亿粒)
2013.7.15	320	12	14.0	90.0	85	10.2

置于育苗池中进行培育。能否提高受精卵的孵化率,选出更多正常而健壮的幼虫,是生产性育苗成败的关键之一。

2.3 幼虫生长情况

2013 年香港巨牡蛎幼虫生长情况见图 3。共测量 15 次,而成活率是以开始的密度和投附着基时密度比较计算的,2013 年为 80%。整个育苗期间水质变化情况见表 4。

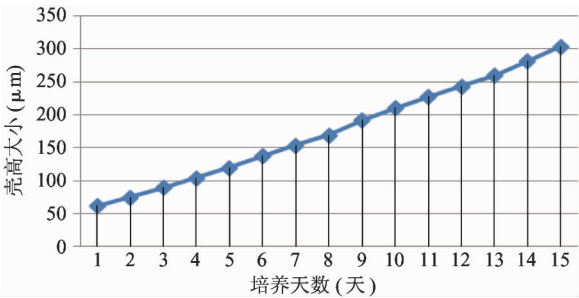


图 3 香港巨牡蛎幼虫生长发育情况

表 4 幼虫培育期间的水质情况表

测量指标	水温 (℃)	盐度 (‰)	溶解氧 (mg/L)	pH	氨氮 (μg/L)
数值范围	25~30	25~32	5~6	8.0~8.2	25~58

2.4 采苗情况

经过幼虫 15 天的培育,当眼点幼虫出现比率达到 50% 以上时,开始投放贝壳附着基,并进行了牡蛎壳和栉孔扇贝壳附着基实验,其结果见表 5。

综合研究表明:牡蛎壳附着基采苗眼点幼虫的变态率最高,为 52%,单壳平均附苗最多,每壳附 58 粒;其次为栉孔扇贝壳附着基变态率为 35%,单壳

平均附苗为 32 粒。2013 年共获得附着变态大小 1mm 以上的牡蛎苗 3.2 亿粒,成功实现了香港巨牡蛎北方育苗。

表 5 2013 年眼点幼虫附着变态情况表

牡蛎壳附着基		栉孔扇贝壳附着基	
附着变态率 (%)	每壳附苗数 (粒)	附着变态率 (%)	每壳附苗数 (粒)
52	58	35	32

3 分析与讨论

3.1 香港巨牡蛎亲贝北方海区的促熟培育的探讨

香港巨牡蛎是一种适合低盐、高温海域养殖贝类,对其进行的不同温度、盐度下促熟培育效果的比较实验表明,在 21℃ 以下温度条件下,香港巨牡蛎的性腺发育较慢,要满足性腺发育的温度条件,必须在 25℃ 以上,在这样的温度下,性腺发育较快,精子活力强。香港巨牡蛎不能按北方太平洋牡蛎温度较低(21℃ 以下)的育苗方式进行,在高温、低盐度的条件下,更有利于香港巨牡蛎的性腺发育,因此,香港巨牡蛎在北方育苗时,满足性腺发育的条件是温度必须达到 25℃ 以上,盐度是影响性腺发育的次要因素。本实验与廖文崇、薛凌展、张其中、林丽华等在盐度与温度研究结果一致^[3-6]。

3.2 不同盐度条件下对受精、孵化情况的影响

在香港巨牡蛎卵子受精及受精卵孵化过程中发现,低盐度环境下精子活力强,受精率高于高盐的受精率,本实验中也得到验证。在低盐度下的孵化率也高于高盐度下的孵化率,在盐度 25‰以下受精率和孵化率都较高,和北方长牡蛎人工育苗相比正

好相反。盐度对受精卵的发育影响差异显著,与薛凌展的盐度研究结果一致^[4]。

3.3 不同附着基附着效果比较

目前牡蛎的采苗北方主要以扇贝壳为主,牡蛎壳为辅。从附苗效果上看,牡蛎壳附着变态率最高,出苗量最多,栉孔扇贝壳次之。但牡蛎壳重,北方大规模育苗需要量很大,工作量很大,一般北方育苗以栉孔扇贝壳为主^[7,8]。

3.4 实现北方突破人工育苗,南方进行养殖新模式

本实验结果显示,在夏季的高温期进行香港巨牡蛎北方育苗是可行的。北方育苗场在 8-9 月份多闲置,因此可以充分利用北方夏季高温期进行香港巨牡蛎规模化人工育苗,克服南方香港巨牡蛎繁殖季节的高温 and 雨季带来的人工育苗过程中受育苗设施不完善、饵料不易培养、育苗条件差的影响,解决育苗成功率低的问题,同时解决南方香港巨牡蛎养殖的苗种主要依赖于人工采苗的苗种的问题,形成香港巨牡蛎北方进行人工育苗,附着变态后南方进行养殖的模式,实现育种和遗传改良^[7,9,10]。

参考文献

[1] 王如才,王昭萍主编. 海水贝类养殖学. 青岛:中国海洋大学出版社,2008

[2] 张玺,谢玉坎. 近江牡蛎的养殖. 北京:科学出版社,1959. 14-37

[3] 廖文崇,朱长波,张汉华等. 水温对香港巨牡蛎摄食和代谢的影响. 广东农业科学, 2011,(1):7-11

[4] 薛凌展,阙华勇,张国范等. 盐度对近江牡蛎幼虫生长及存活的影响, 海洋科学, 2007,31(9):73-77

[5] 张其中,邱马银,吴信忠. 休克诱导近江牡蛎对高温的耐受性. 生态科学,2005,24(1):35-37

[6] 林丽华,廖文崇,谢健文等. 盐度对香港巨牡蛎摄食和代谢的影响, 广东农业科技, 2012,(11):10-14

[7] 王清印,李健,刘萍等. 牡蛎的遗传改良技术, 海水养殖生物的细胞工程育种. 北京:海洋出版社, 2007. 208-222

[8] 蔡英亚,刘志刚,何水养. 近江牡蛎的人工育苗. 海洋科学, 1989, (1):53-56

[9] 廖文崇,朱长波,张汉华. 体规格对香港巨牡蛎摄食和代谢的影响. 中国渔业质量与标准,2011,1(3):41-45

[10] 张跃环,王昭萍,闫喜武等. 香港巨牡蛎和长牡蛎幼虫及稚贝的表型性状. 生态学报,2012,32(4):1105-1114

Study on artificial breeding of *Crassostrea hongkongensis* in northern China

Yu Ruihai *, Ma Peizhen *, Wang Zhaoping *, Chen Hongfa *, She Zhongming **, Liu Jian ***

(* Ocean University of China, Qingdao 266003)

(** Jiacan Bio-Technology Limited, Shenzhen 518104)

(*** Yantai Haiyi Seeds Co. , Ltd, Yantai 261400)

Abstract

To resolve the difficulty of the breeding of *Crassostrea hongkongensis* growing in high temperature, low salinity seawater in Southern China caused by climate influences and limitations of techniques and facilities, the artificial breeding of *Crassostrea hongkongensis* in the high temperature period of Northern China was conducted, and a practicable breeding method was put forward. The method takes the measures of inducing mature such as improvement of the nutrient at a temperature of 25℃ or more, to develop the sexual gland nutrient and meet the requirements of the artificial breeding in Northern China. And it studies the effect of developing the gonad at the salinity of 15‰, 20‰, 25‰, 30‰) and the temperature of 18 ~ 21℃ and 25 ~ 28℃. To solve the problem of low success ratio of *C. hongkongensis* artificial breeding in Southern China and guarantee seed production, the method takes the technical measures as follows: keep the larva density sensible (8 ~ 10 mid/mL at earlier stage, 4 ~ 5 mid/mL at the later stage); exercise strict food control, making the food fresh and without any pollution; change water and inflate scientifically, and make the classification of larvae in time. The seedling collection test on the two adherence bases of oyster shell and chlamys shell was conducted, and the results showed the collection method using oyster shells was bether than the chlamys shell method. Oyster shells could improve the settlement, metamorphosis, growth and survival of juvenile mollusk better than chlamys shells. The seedlings of 5mm in length or more were obtained, with the production of more than 150,000 mid/m³.

Key words: *Crassostrea hongkongensis*, artificial breeding, high temperature period, collection of seedling, salinity