

硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria*)繁殖生物学研究*

林志华 单乐洲 柴雪良 应雪萍 方军 张炯明 张永普

(浙江省海洋水产养殖研究所 温州 325005; 中国海洋大学 青岛 266003)

(浙江省海洋水产养殖研究所 温州 325005)

(温州师范学院 温州 325027)

摘要 采用组织学和实验生态学方法对浙江引种养殖的硬壳蛤的性腺发育、生殖周期、胚胎发育、幼虫和稚贝培育进行了研究。结果表明,浙江养殖的硬壳蛤性腺发育过程以1年为1个周期,可分为增殖期、生长期、成熟期、排放期、休止期5个阶段;繁殖期在4月下旬至6月下旬,水温19.0—28.2℃,可大批产卵二次;肥满度最高为7.11%(6月份),最低为3.68%(1月份);水温20—22℃时,D形幼虫孵出时间约为20h,浮游幼虫经9—10天培育进入变态附着期,10—11天发育变态为稚贝。研究还发现,硬壳蛤的精子在光学显微镜下观察呈牛角形或较直的长三角形,与常见的双壳类软体动物的精子形态明显不同。文中还讨论了性腺发育与积温的关系,指出性腺发育成熟的积温和有效积温大约为1800℃和600℃。

关键词 硬壳蛤,繁殖生物学,繁殖周期,性腺发育,肥满度,胚胎发育

中图分类号 S968.3

硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria*)俗名北方帘蛤(north quahog)、硬壳蛤(hard clam, hard shell clam),属于瓣鳃纲(Lamellibranchia)、帘蛤目(Veneroida)、帘蛤科(Veneridae)、硬壳蛤属(*Mercenaria*),外形近似文蛤,呈三角卵圆形,前端圆,后端略突出;壳后缘青色,壳顶区为淡黄色,壳缘部为褐色或黑青色,壳面生长线明显。硬壳蛤原产地为北美大西洋沿岸,北起圣劳伦斯湾(Gulf of St. Lawrence),南至墨西哥湾(Gulf of Mexico),从潮间带至水深15m的海底都有分布(Menzel, 1970, 1971);硬壳蛤对环境适应性强,耐温、耐盐范围广(Ansoll, 1968; Rice *et al.*, 1992; 林志华等, 2002a; 文海翔等, 2004);营养丰富,肉质鲜美,深受欧美西方人的青睐,是美国消费市场最受欢迎的经济贝类,市场价格高达5—10美元/kg,历来是美国新英格兰地区、新泽西、弗吉尼亚、北卡罗来纳和佛罗里达的主要渔业品种。自上世纪60年代起,各地硬壳蛤养殖有较大发展(Hunter *et al.*, 1985),国内最早于1997年由中国科学院海洋研究所张福绥院士从美国引进硬壳蛤(张

涛等, 2003),浙江省海洋水产养殖研究所和大连市水产局也分别于1998和2000年引进该贝(林志华等, 2002a; 常亚青等, 2002),并开展了人工育苗和养殖等初步试验研究。本文主要介绍了利用组织学切片等方法研究浙江引种养殖的硬壳蛤在当地繁殖生物学规律,旨在为今后开展硬壳蛤全人工养殖开发推广提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1999年实验用硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria*)亲贝是1998年从美国新泽西州 Biosphere 贝类育苗场引进的当年培育苗种经6个月内室水池培养而成,2000—2002年亲贝系由1999年人工繁育的苗种经池塘养殖而成;选取壳表光滑,生长线明显,无机械损伤的个体作为亲贝,平均壳长50—60mm。选择人工培养的金藻(*Isochrysis* sp.)、角毛藻(*Chaetoceros* sp.)、扁藻(*Platymonas* sp.)、三角褐指藻(*Phaeodactylum tricornutum*)为饵料。

* 浙江省科技厅重点资助项目,0111021014号;浙江省重大招标项目,021102540号。林志华,研究员,博士研究生,
E-mail: zhihua9988@126.com

收稿日期:2004-04-11, 收修改稿日期:2004-06-28

© 1994-2012 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. <http://www.cnki.net>

1.2 方法

亲贝在 $4.0\text{m} \times 2.5\text{m} \times 1.2\text{m}$ 底部铺砂的水泥池中培养, 砂层厚 20cm, 培养密度为 10 只/ m^2 。培养用水为自然砂滤海水(盐度为 18.6—29.5, 水温为 7.0—30.0℃), 水位为 80cm, 微充气, 日换水 80%; 混合投喂金藻、角毛藻、扁藻、三角褐指藻, 每次投喂量 5 万—10 万 cells/ml, 每日 2 次。2002 年 1 月—2003 年 1 月, 每月上旬取样 1 次, 其中 3—6 月每月取样 2 次, 每次随机取样品 20—30 个作生物学测定, 记录壳长、壳高、体重数据, 然后剖开将软体部与壳分开, 放置于 60—70℃烘箱中恒温 24h 后, 用电子天平(精确度 0.0001g)分别称出软体干重和贝壳干重, 算出肥满度(干肉重/干壳重 $\times 100\%$)。另外再取 10—15 个样品切取不同部位的性腺, 用 Carnoy 氏液固定, 石蜡包埋, 切片厚 $7\mu\text{m}$, H. E 染色, 光学显微镜观察、拍照。受精卵孵化密度为 5 个/ml, 连续充气, 镜检、拍照记录胚胎发育过程; D 形幼虫后, 培育密度为 1—2 个/ml, 日换水量为 50%—100%, 适当投饵, 每日测量观察、拍照记录幼虫生长发育及变态情况。

2 结果

硬壳蛤性腺属滤泡型, 具双壳类基本特征, 由滤泡、生殖管、生殖输管 3 部分组成, 性腺位于足上方、内脏团两侧, 其中滤泡是产生生殖细胞的场所, 呈囊泡状, 由滤泡和滤泡腔组成。

2.1 性腺组织学观察分期及其宏观特征

2.1.1 增殖期 性腺开始形成, 在内脏团表面能看见一层很薄的淡黄色性腺, 主要分布于背部消化腺两侧, 雌雄不可分辨。此期从 1 月上旬—2 月下旬, 水温为 7.8—13.0℃。切片观察:

雌性 1 月份滤泡逐渐形成, 呈狭长带状、椭圆状等, 滤泡腔为一中空腔分布于内脏团两侧, 随着发育的继续, 滤泡壁开始增厚, 并出现附着于滤泡壁上的卵原细胞(图 1a)。

雄性 1 月份滤泡开始出现, 狹长带状, 随着水温回升, 滤泡生殖上皮的生殖细胞开始增殖, 出现精原细胞和初级精母细胞(图 2a)。

2.1.2 生长期 性腺不断增大, 逐渐覆盖整个内脏团, 肉眼观察性腺比上一期明显, 雌雄个体仍不可分辨。此期从 3 月初至 4 月中旬, 培养水温为 13.0—19.0℃。切片观察:

雌性 滤泡数量增加, 分布范围增广, 滤泡内卵原细胞继续分裂增殖, 卵母细胞数量急剧增多, 呈梨形或长形等不规则形状, 部分具短柄附着于滤泡腔壁上, 整个滤泡腔空隙逐渐变少, 各期卵细胞约占滤泡截面积的 50% 以上, 不同发育时期的卵细胞在滤泡中分层明显, 从滤泡壁到中央, 卵细胞明显增大。此期较大的卵母细胞大小为 $60\mu\text{m} \times 45\mu\text{m}$, 细胞核直径为 $35\mu\text{m}$, 核仁直径约为 $8\mu\text{m}$ (图 1b)。

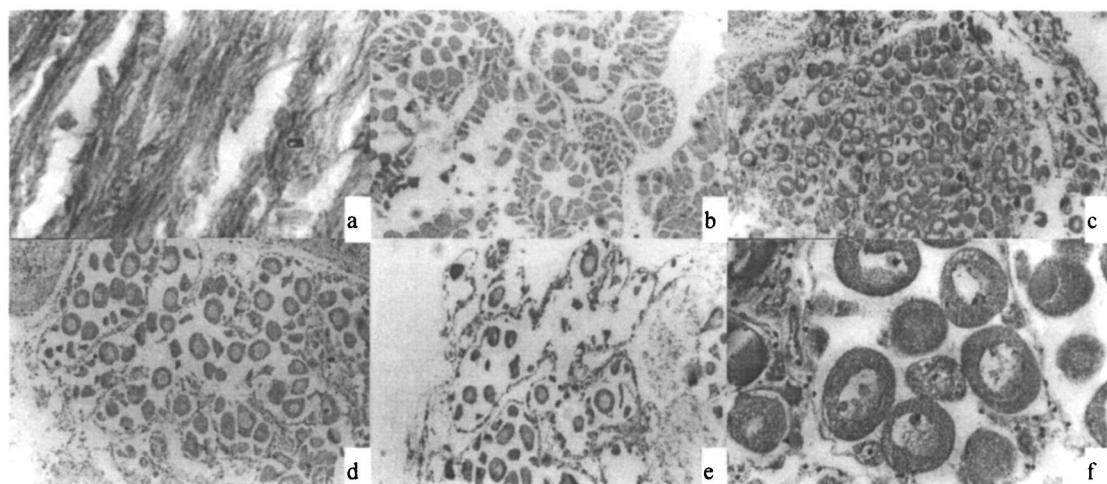


图 1 硬壳蛤卵巢周年变化的组织切片

Fig. 1 Annual change shown by histological sections of ovary of *M. mercenaria*

- a. 增殖期($100\times$); b. 生长期($100\times$); c. 成熟期($100\times$); d. 排放期($100\times$);
- e. 休止期($100\times$); f. 成熟卵子($400\times$)

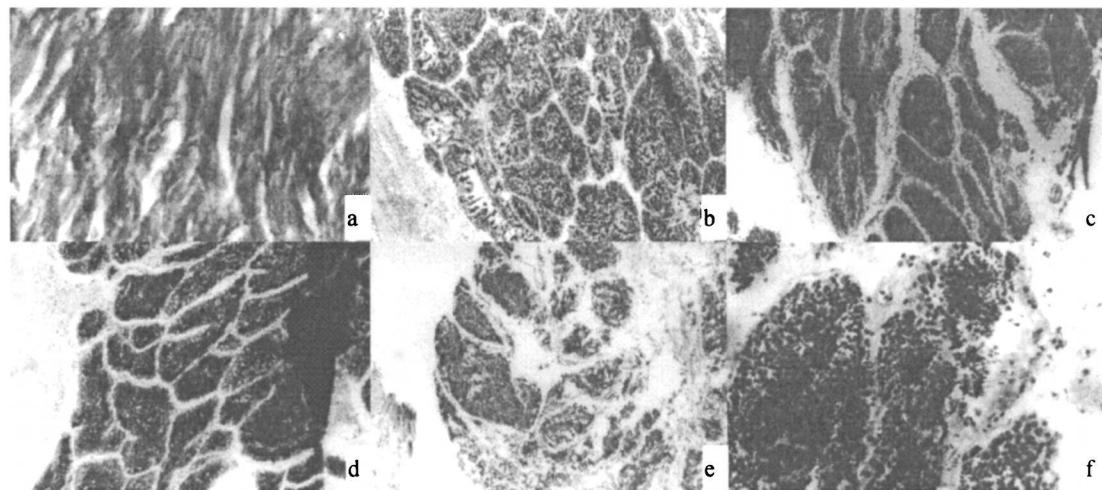


图 2 硬壳蛤精巢周年变化的组织切片

Fig. 2 Annual change shown by histological sections of testes of *M. mercenaria*

- a. 增殖期(100 \times)；b. 生长期(100 \times)；c. 成熟期(100 \times)；d. 排放期(100 \times)；
- e. 休止期(100 \times)；f. 成熟精子(400 \times)

雄性 滤泡数量增加, 体积增大, 随着水温的升高, 滤泡腔空隙逐渐缩小, 各期精细胞约占滤泡截面积的50%以上, 一般仅在滤泡中央为空隙(图2b)。

2.1.3 成熟期 性腺饱满遮盖整个内脏团, 并延伸至足基部, 性腺颜色乳白色或淡黄色, 雌雄不可分, 如刺破生殖腺, 可见卵或精液流出, 一遇海水即散开, 肉眼可见颗粒状的卵或云雾状精液。此期从4月下旬开始, 性腺进入成熟期, 直至6月中旬, 水温为19.0—26.2℃。切片观察:

雌性 性腺包被整个内脏团, 卵巢为全年最丰满期, 其中卵母细胞的卵柄多数断裂, 离开滤泡壁跌入滤泡腔, 腔内充满了成熟的卵母细胞, 形状较规则, 以圆形和椭圆形为多。卵母细胞大小相对上期而言显得更均匀, 仅在滤泡壁有少量较小的卵母细胞和卵原细胞。滤泡中的卵母细胞大小平均约为60 $\mu\text{m} \times 50\mu\text{m}$, 细胞核和细胞质染色区分较上期明显, 细胞核径为38 μm , 核仁偏位明显, 核仁径为8 μm (图1c)。

雄性 本期精巢达全年最丰满阶段, 各期生精细胞分化明显, 滤泡壁上为圆球形的精母细胞, 直径约为8 μm , 精子充满滤泡腔的中央, 精子为鞭毛型, 头部呈牛角形或较直的长三角形, 长约5 μm , 底部宽约1.5 μm , 精子头部朝向滤泡壁, 尾部朝滤泡腔。涂片镜检精子活跃, 此时精子已具受精能力(图2c)。

2.1.4 排放期 硬壳蛤在一个生殖季节里可

产卵多次, 成熟排放后性腺饱满度下降, 显得松弛, 性腺可再次饱满而排放, 但饱满度不如成熟期, 肉眼可明显将排放期和成熟期区分。此期从5月初至6月下旬, 水温为19.0—28.2℃。切片观察:

雌性 成熟期后, 由于大量成熟卵子的排放, 滤泡内开始出现大小不等的空腔。滤泡中残留少量成熟卵子, 而滤泡壁尚有较多卵原细胞及卵母细胞, 一个滤泡中卵细胞发育不同步, 其中卵原细胞及卵母细胞可继续发育成为成熟的卵细胞, 15—30天后可再次成熟排放, 一般2次排放后, 残存的卵母细胞和少量成熟卵子将逐渐退化吸收(图1d,f)。

雄性 随着精子的排放, 滤泡开始出现大小不等的辐射状空腔, 精子数量减少, 而精母细胞再次发育, 迅速再次出现精子, 从而出现间歇持续排精现象, 成熟期和排放期分界并不明显(图2d,f)。

2.1.5 休止期 软体部分消瘦, 雌雄不能分辨, 内脏表面透明, 呈水泡状, 看不到性腺分布。此期从7月初至次年1月, 水温为29.5—7.8℃。切片观察:

雌性 成熟卵子大量排放后, 滤泡渐变一大空腔, 形状不规则, 滤泡壁变薄并开始萎缩退化, 本期初, 滤泡内仍可见处于被吸收状态的个别未产出的卵及卵原细胞; 本期末结缔组织大量增生, 滤泡消失, 性腺发育完成一个周期(图1e)。

雄性 精子排尽后, 滤泡成为空腔, 残留的

各期精细胞也逐渐退化、吸收,滤泡也逐渐缩小,减少直至消失,结缔组织增生,性腺发育完成一个周期(图2e)。

2.2 生殖周期与肥满度

综合人工繁殖实验和硬壳蛤周年组织切片显微观察结果,浙江养殖的硬壳蛤每年为1个生殖周期,在1个繁殖季节可产卵约2次,1龄即能性成熟。在1个生殖周期中同龄间雌雄性腺发育基本同步,雄性发育略快。1月至2月下旬培养水温为7.8—13.0℃,性腺处于增殖期,1月份肥满度为3.68%全年最低;3月初至4月中旬,培养水温为13.0—19.0℃,性腺处于生长期,肥满度为3.90%—4.11%;从4月下旬开始,性腺进入成熟期,随后即进入排放期直至6月下旬,水温为19.0—28.2℃,肥满度为全年最高5.83%—7.61%;壳长35—50mm的成熟雌性个体产卵量为50万—500万粒,平均个体产卵量为215.4万粒;从7月初至次年1月,性腺处于休止期,肥满度为3.68%—5.06%。性腺发育与水温、肥满度的关系如图3所示。

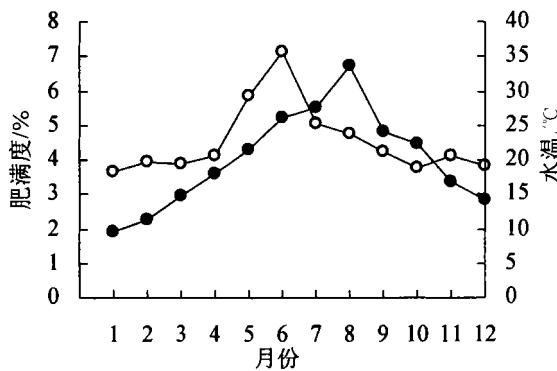


图3 2002年硬壳蛤肥满度与水温的关系

Fig. 3 The relationship of water temperature and

fatness of *M. mercenaria* in 2002

—○—肥满度, —●—水温

2.3 性成熟和积温的关系

从性腺发育的组织学观察可初步确定性腺发育的起始水温为8℃,表1记录了2001—2003年间,人工培育的硬壳蛤亲贝产卵时间和总积温,测算出平均有效积温为601.3℃。

2.4 胚胎发育

阴干刺激可诱导成熟亲贝排放精卵,受精卵于海水中呈球形,卵径为70—80μm,为沉性卵。在水温为20℃、海水盐度为25、pH为8.1的条件下,胚胎发育过程如表2所示。14h发育成担轮

幼虫,运动转为直线运动;18h后进入早期面盘幼虫,游动活泼;20h后进入D形幼虫期,直线绞合部明显。各期形态见图4a—f所示。

表1 硬壳蛤成熟产卵与积温的关系

Tab. 1 The relationship of spawning of hard clam with accumulated temperature

年份	产卵时间(月.日)	总积温(℃)	有效积温(℃)
2001	05.10	1745.5	613.5
2002	05.16	1854.0	632.0
2003	05.05	1730.5	558.5

表2 硬壳蛤胚胎发育过程(水温为20℃)

Tab. 2 Hard clam's embryo development stage($T=20^{\circ}\text{C}$)

胚胎发育阶段	时间	壳长(μm) × 壳高(μm)
受精		—
第一极体	30min	—
第二极体	50min	—
二细胞期	1h10min	—
四细胞期	1h55min	—
八细胞期	2h30min	—
十六细胞期	3h30min	—
多细胞期	4h30min	—
原肠胚	10h	—
担轮幼虫	14h	92.7 × 77.7
早期面盘幼虫	18h	95 × 79
D形幼虫	20h	100 × 80

2.5 幼虫发育及变态

在水温为20—22℃,海水盐度为25、pH为8.1及投喂金藻的条件下,幼虫发育过程如表3所示。D形幼虫经6—8h后,消化道初具雏形,但胃肠区颜色不明显,仍依靠卵黄营养;16h后开口摄食,胃肠区明显,此时壳长日增长10—15μm;2—3天后幼虫壳顶稍微隆起,近似椭圆形,为壳顶幼虫初期(图4g);5—6天,壳顶趋明显,进入壳顶幼虫中期(图4g);壳顶初、中期幼虫生长较迅速,壳长日增长15—20μm;当幼虫长至200μm × 180μm(第7—8天)时,进入壳顶幼虫后期,即附着变态前期,生长减慢,能观察到少数个

体有足伸缩, 面盘尚存; 幼虫生长至 $210\mu\text{m}$ (第 9—10 天), 足伸缩频繁, 面盘开始脱落, 眼点清晰

可见, 为附着变态阶段, 而后转入营底栖生活的稚贝期, 见图 4h。

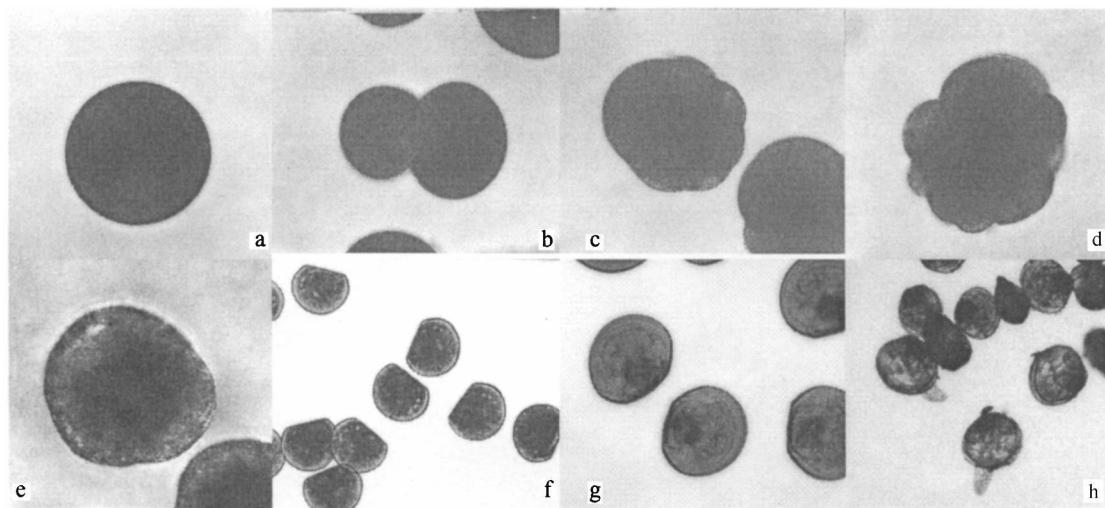


图 4 硬壳蛤胚胎形态图

Fig. 4 Development of embryo *M. mercenaria*

a. 受精卵($600\times$) ; b. 2 细胞($600\times$) ; c. 8 细胞($600\times$) ; d. 多细胞($600\times$) ; e. 担轮幼虫($600\times$) ; f. D 形幼虫($150\times$) ; g. 壳顶幼虫($150\times$) ; h. 初附稚贝($60\times$)

表 3 硬壳蛤幼虫发育过程(水温为 $20\text{--}22^\circ\text{C}$)

Tab. 3 Development stage of larvae and post-larvae of hard clam ($T=20\text{--}22^\circ\text{C}$)

发育阶段	时间(d)	壳长(μm) \times 壳高(μm)
D型幼虫	-2	100 \times 80
壳顶初期幼虫	2—3	120 \times 90
壳顶中期幼虫	5—6	175 \times 140
壳顶后期幼虫	7—8	200 \times 180
变态期	9—10	220 \times 210
稚贝	10—11	240 \times 220

3 讨论与结语

3.1 实验结果表明, 硬壳蛤的性腺发育和生殖周期规律与我国常见的双壳类如泥蚶(郑家声等, 1995)、等边浅蛤(尤仲杰等, 1991)相似, 与 Keck 等(1975)报道的硬壳蛤性腺发育周期基本一致; 取材样品统计的雌雄性比约为 1:1, 与 Bricelj 等(1981)和 Heffernan 等(1988)报道一致。但实验样品均取材于 2—3 龄的成贝, 未对 1 龄以下的幼贝取材观察, Kraeuter 等(2001)描述的雌雄同体现象, 没在本实验中观察发现。

3.2 双壳类软体动物的精子多为鞭毛型, 在电子显微镜下观察, 精子头部精核多呈圆形, 精子头部

顶体部分的形状变化较大, 多数呈或长或宽的倒 V 字形, 如泥蚶(孙慧玲等, 2000); 而缢蛏的精子头部顶体部分又细又长(刘正宗等, 1990)。虽然双壳类软体动物的精子形态各不相同, 但在一般的光学显微镜下其精子均呈圆形或类似圆形, 但硬壳蛤的精子在光学显微镜下观察呈牛角形或较直的长三角形, 这是非常特别的, 有待于进一步研究其超微结构。

3.3 贝类性腺发育与水温密切相关, 采用升温的方法可以使性腺加快发育而提前产卵, 如文蛤(林志华等, 2002b)、鲍(聂宗庆, 1989)、硬壳蛤(常亚青等, 2002)的人工育苗常采用人工升温方法培育亲贝。统计三年来硬壳蛤亲贝培育成熟的积温和有效积温, 结果有所差异, 原因分析主要与人工诱导产卵时间和强化培育的条件(包括培育密度、亲贝大小、饵料种类和数量等)有关, 本文报道的 1800°C 左右的硬壳蛤亲贝培育成熟的积温与常亚青等(2002)报道的积温 3200°C 相差较大, 是否与南北气候条件的差异有关, 需作进一步研究, 但上述研究结果对当地硬壳蛤育苗生产时间的安排无疑是具有指导意义的。

3.4 研究发现, 在自然水温、盐度等条件下, 浙江引种养殖的硬壳蛤能够完成繁殖周期和胚胎发育等过程, 每年 4 月下旬进入繁殖期, 繁殖期内可大

量产卵2次,产卵高峰在5月中下旬,6月下旬产卵繁殖结束,1年1个繁殖季节,与Heffernan等(1988)报道的在美国佐治亚洲的硬壳蛤每年有春、秋、冬三个产卵繁殖季节明显不同,是否与养殖或栖息地的自然水温相关,还需作进一步深入研究。控制水温20—22℃,硬壳蛤受精卵经20h孵化为D形幼虫,水温偏低则孵化时间延长;硬壳蛤D形幼虫壳长平均日增长10—15μm,2—3天发育为壳顶初期幼虫,5—6天进入壳顶中期幼虫,壳顶初、中期幼虫壳长日增长15—20μm,生长较快,7—8天进入壳顶后期幼虫,第9—10天进入附着变态阶段,转入稚贝期营底栖生活,靠足爬行钻潜。本实验观察到的硬壳蛤胚胎发育和幼虫生长速度快于常亚青等(2002)的报道,说明硬壳蛤在浙江引种养殖具有较好的适应性。

参 考 文 献

- 尤仲杰,王一农,叶雄会等,1991. 等边浅蛤的繁殖周期. 台湾海峡,10(4): 356—362 [You Z J, Wang Y N, Ye X H et al, 1991. Reproductive cycle of *Gomphina ceneriformis*. Journal of Oceanography in Taiwan Strait, 10(4): 356—362]
- 文海翔,张 涛,杨红生等,2004. 温度对硬壳蛤*Mercenaria mercenaria* (Linnaeus, 1758) 呼吸排泄的影响. 海洋与湖沼,35(6): 549—554 [Wen H X, Zhang T, Yang H S et al, 2004. Effect of temperature on respiration and excretion of hard clam *Mercenaria mercenaria* (Linnaeus, 1758). Oceanologia et Limnologia Sinica, 35(6): 549—554]
- 刘正宗,上官步敏,许振祖,1990. 缘蛭精子发生的超微结构研究. 厦门大学学报(自然科学版), 29(1): 81—84 [Liu Z Z, Shangguan B M, Xu Z Z, 1990. On the ultrastructural features of spermatogenesis of Razor clam *Sinonovacula constricta* Lamarck. J Xiamen Univ, 29(1): 81—84]
- 孙慧玲,方建光,王清印等,2000. 泥蚶精子的超微结构. 水产学报, 24(4): 297—301 [Sun H L, Fang J G, Wang Q Y et al, 2000. Ultrastructure of the spermatozoon of *Tegillarca granosa*. J Fisheries China, 24(4): 297—301]
- 林志华,柴雪良,方 军等,2002a. 硬壳蛤对环境因子适应性试验. 宁波大学学报, 15(1): 19—22 [Lin Z H, Chai X L, Fang J et al, 2002a. An aptitude test on the environmental habits of *Mercenaria mercenaria*. J Ningbo Univ, 15(1): 19—22]
- 林志华,柴雪良,方 军等,2002b. 文蛤工厂化育苗技术. 上海水产大学学报, 11(3): 242—247 [Lin Z H, Chai X L, Fang J et al, 2002b. Large scale artificial breeding of hard clam *Meretrix meretrix* Linneus. J Shanghai Fish Univ, 11(3): 242—247]
- 郑家声,王梅林,王志勇等,1995. 泥蚶的性腺发育和生殖周期. 青岛海洋大学学报, 25(4): 503—510 [Zheng J S, Wang M L, Wang Z Y et al, 1995. Gonad development and reproductive cycle of *Tegillarca granosa* Linnaeus. J Qingdao Ocean Univ, 25(4): 503—510]
- 聂宗庆,1989. 鲍的养殖与增殖. 北京:农业出版社, 1—228
- 常亚青,宋 坚,王国栋等,2002. 硬壳蛤的人工育苗技术. 中国水产科学, 9(1): 43—47 [Chang Y Q, Song J, Wang G D et al, 2002. Seeds breeding of hard clam *Mercenaria mercenaria*. J Fishery Sci China, 9(1): 43—47]
- Ansell A D, 1968. The rate of growth of the hard clam *Mercenaria mercenaria* throughout the geographical range. Journal du conseil International pour l'Exploration de la Mer, 31: 346—409
- Bricelj V M, Malouf R E, 1981. Aspects of reproduction of hard clams, *Mercenaria mercenaria*, in Great South Bay, New York. J Shellfish Res, 1: 109
- Heffernan P B, Walker R L, Carr J L, 1988. The reproductive cycle of the hard clam, *Mercenaria mercenaria*, in Wassaw Sound, Georgia. J Shellfish Res, 7: 208—212
- Hunter J V, Brown E E, 1985. Crustacean and Mollusk Aquaculture in the United States. The AVI Publishing Company INC, 275—304
- Keck R T, Maurer D, Lind H A, 1975. A Comparative Study of the Hard Clam Gonad Developmental Cycle. Biol Bull Mar Biol Lab, Woods Hole, 148: 243—258
- Kraeuter J N, Castagna M, 2001. Biology of the Hard Clam. Amsterdam: Elsevier Science B V, 221—255
- Menzel R W, 1970. The species and distribution of quahog clams *Mercenaria*. Proc Natl Shellfish Assoc, 50: 8 (abstract)
- Menzel R W, 1971. Quahog clam and their possible mariculture. Proc World Maric Soc, 2: 23—36
- Rice M A, Pechenik J A, 1992. A review of the factors influencing the growth of the northern quahog, *Mercenaria mercenaria* (Linnaeus, 1758). J Shellfish Res, 11(2): 279—287

THE REPRODUCTIVE BIOLOGY OF HARD CLAM *MERCENARIA* *MERCENARIA* (LINNAEUS, 1758)

LIN Zhi-Hua, SHAN Le-Zhou¹, CHAI Xue-Liang¹, YING Xue-Ping⁻⁻, FANG Jun⁻,
ZHANG Jiong-Ming⁻, ZHANG Yong-Pu⁻⁻

(Zhejiang Mariculture Research Institute, Wenzhou, 325005; Ocean University of China, Qingdao, 266003)

¹(Zhejiang Mariculture Research Institute, Wenzhou, 325005)

⁻⁻(Wenzhou Normal College, Wenzhou, 325027)

Abstract Hard clam *Mercenaria mercenaria* is a commercially valued species that naturally lives along the north American Atlantic coast. In 1997, it was introduced into China as a candidate for aquaculture. Since then, scientists have conducted many researches on its habitation, ecological physiology, metabolism, artificial breeding and strain development. In this paper, the reproductive biology of hard clam *M. mercenaria* was studied with histological section and experimental ecology, including its reproductive cycle, fatness, gonadal development, breeding season, embryo development, larvae and post-larvae development.

All our experiments were conducted in the Field Station of Zhejiang Mariculture Research Institute (ZMRI), located in Yueqing Bay, Zhejiang Province, southern China (28°N). *M. mercenaria* seeds were originally introduced in 1998 from the Haskin Shelffish Research Laboratory, Rutgers University, New Jersey, the United States, and planted in an earth pond in the station. Sampling twice a month during March to June and once a month in the rest months from January 2002 to January 2003. Shell size, weight and fatness were measured. Gonad tissues were fixed with Carnoy's solution, and tissue sections were stained with H. E solution. Spawning was induced by water flow after being shade-exposed shock for 12 hours. Hatching with aeration and larvae cultured under a stable temperature and salinity. The results showed that a complete annual reproductive cycle of *M. mercenaria*, cultured in the inshore of Zhejiang Province. The gonad of *M. mercenaria* could be classified into follicular gland consisted of follicular, gonaduct and gonadal tube, in basic trait of them. And the gonadal development is divided into five stages: proliferation stage from early January to later February in water temperature of $7.8\text{--}13.0^{\circ}\text{C}$; enhancement stage under $13.0\text{--}19.0^{\circ}\text{C}$ from early March to mid April; mature stage under $19.0\text{--}26.2^{\circ}\text{C}$ from later April to mid June; breeding stage under $19.0\text{--}28.2^{\circ}\text{C}$ from early May to later June, and suspension stage under $29.5\text{--}7.8^{\circ}\text{C}$ from early July to December. Its breeding season is from the end of April to June ($19.5\text{--}25.8^{\circ}\text{C}$) and twice mass spawning in a year. The highest fatness was 7.11% in June, and the lowest fatness was 3.68% in January.

Under $20\text{--}22^{\circ}\text{C}$ of water temperature and 25 of salinity, D-shaped larval was hatched after 20 hours to $100\mu\text{m} \times 80\mu\text{m}$ in size. The larvae were fed with high quality of a species of *Isochrypis*. After 2—3 days, the D-shaped larvae developed into early umbo larvae stage to $120\mu\text{m} \times 90\mu\text{m}$ in size, in 5th to 6th day, developed into mid-umbo larvae stage in a size of $175\mu\text{m} \times 140\mu\text{m}$, in 9th to 10th days, developed into late-umbo larvae and metamorphosis stage to $220\mu\text{m} \times 210\mu\text{m}$. Since 11th day, the larval began to settle down and developed into post-larval, and metamorphosis was completed into spat.

It was observed that the sperms of *M. mercenaria* were in elongated triangle or horn-shaped under light microscope, very different from that of other common bivalve species. Study on relationship of gonadal development to maturation with accumulated temperature. It was indicated that the accumulated temperature and effective accumulated temperature were about 1800°C and 600°C respectively.

Key words *Mercenaria mercenaria*, Reproductive biology, Reproductive cycle, Fatness, Gonadal development, Embryo development, Histological section