

文章编号: 1004-2490(2020)03-0315-09

底物大小对牡蛎幼虫附着的诱导效应

范瑞良¹, 李楠楠¹, 王桃妮^{1,2}, 孙兆跃^{1,2}, 修玉娜^{1,2}, 全为民¹

(1. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 农业农村部东海渔业资源开发
重点实验室, 上海 200090; 2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 为探讨底物大小对牡蛎幼虫附着的诱导效应, 设计底物大小和实验环境(室内和野外)的双因子随机区组实验, 检验3种规格实验底物(A: 5 cm长×5 cm宽×3 cm厚; B: 10 cm长×10 cm宽×3 cm厚; C: 15 cm长×15 cm宽×3 cm厚, 以下简称A、B、C)、实验环境以及他们之间的互作对牡蛎幼虫(室内实验: 长牡蛎 *Crassostrea gigas*; 野外实验: 熊本牡蛎 *C. sikamea*)附着效果(密度和壳高)的影响。附着实验结果显示, 室内实验A组附着稚贝的平均密度和平均壳高分别为1.06个·cm⁻²和14.10 mm, B组为5.60个·cm⁻²和8.69 mm, C组为12.01个·cm⁻²和4.44 mm; 野外实验A组附着稚贝的平均密度和壳高分别为2.41个·cm⁻²和17.83 mm, B组为4.65个·cm⁻²和11.61 mm, C组为6.90个·cm⁻²和7.43 mm。单因子方差分析结果表明, 室内和野外实验中底物大小均显著影响附着稚贝的密度($P < 0.001$), 即底物越大, 稚贝附着密度越高, 但壳高则相反, 稚贝壳高和密度之间呈显著负相关; 室内和野外的实验环境对附着稚贝密度影响不显著($P > 0.05$), 对壳高影响显著($P < 0.05$)。双因子方差分析结果表明, 实验环境和底物大小的交互作用对附着稚贝密度影响显著($P < 0.05$), 对壳高影响不显著($P > 0.05$)。研究结果表明, 在牡蛎礁生态修复中, 选择适合的底物大小能显著提高牡蛎附着效果。

关键词: 底物大小; 生态修复; 附着; 壳高

中图分类号: Q 143 **文献标志码:** A

牡蛎是一类具有群聚性的双壳类软体动物^[1], 广泛分布于温带河口和滨海区, 如长牡蛎(*Crassostrea gigas*)分布于中国北方沿岸, 熊本牡蛎(*C. sikamea*)主要在江苏以南沿海^[2], 能大量聚集生长形成牡蛎礁(oyster reef)。牡蛎礁具有净化水体^[3]、维持生物多样性^[4]、提供鱼类栖息地^[5-8]、能量耦合^[9]、防止海岸线侵蚀^[10]和碳汇^[11]等生态功能。由于过度捕捞、环境污染和病害浸染等, 过去100多年来全球牡蛎礁分布面积约下降85%^[12-13]。此后, 为恢复牡蛎礁生境及其提供的生态服务价值, 美国、澳大利亚和中国等地陆续成功开展了许多牡蛎礁恢复项目^[6,8,10,14-15]。牡蛎的生长需要硬质的附着基, 因此建造适合于牡蛎幼虫附着的栖息生境(礁

体)是牡蛎礁恢复的重点。国内外牡蛎礁恢复项目中最常用的底物材料是牡蛎壳, 但由于其数量不足, 筛选适合于牡蛎幼虫附着生长的替代底物成为牡蛎礁恢复中迫切需要解决的关键技术之一^[10]。

附着底物的物理和化学性质显著影响海洋无脊椎动物幼虫的附着和生长发育^[16-17], 其中底物大小的影响颇受关注。如FUCHS等^[18]的野外实验发现: 美洲牡蛎(*C. virginica*)幼虫更喜欢附着于长度较短的底物上。JEFFERY^[19]于野外实验中发现: 藤壶(*Balanus*)幼虫单位附着量随着底物变大依次减少(直径: 6 cm < 3 cm < 1.5 cm)。LILLIS等^[20]发现: 鹅卵石大小对美洲龙虾(*Homarus americanus*)幼虫的附着无显著影响。

收稿日期: 2019-04-10

基金项目: 中央级公益性科研院所(中国水产科学研究院东海水产研究所)基本业务费项目(2015M01)

作者简介: 范瑞良(1990—), 男, 河北邢台人, 科研助理, 主要从事海洋生态修复研究。E-mail: Ruiliangfan@163.com

通信作者: 全为民, 研究员。E-mail: quanweim@163.com

实践表明,底物大小对海洋无脊椎动物幼虫附着的影响不一。然而,有关底物大小对牡蛎幼虫附着的影响鲜有报道。

熊本牡蛎虽然在我国有自然分布,但目前还没有规模化人工养殖^[21]。因此,室内实验动物为长牡蛎,室外实验动物是熊本牡蛎。基于以往的研究结果和野外观察,本研究提出如下假设:在低牡蛎幼虫补充下,牡蛎幼虫附着密度与其底物大小呈现正相关,即随着底物变大,稚贝附着密度逐步增加。据此,本研究通过设计室内实验和野外实验比较 3 种规格实验底物(A:5 cm 长×5 cm 宽×3 cm 厚;B:10 cm 长×10 cm 宽×3 cm 厚;C:15 cm 长×15 cm 宽×3 cm 厚,以下分别简称 A、B、C)上牡蛎稚贝附着量,以期确认室内和野外自然条件下底物大小、两种实验环境及他们之间的交互作用对牡蛎幼虫的诱导效果。研究结果将对牡蛎礁修复中替代底物大小的筛选和牡蛎养殖均具有重要的理论和现实意义。

1 材料与方法

1.1 实验材料

室内实验于 2016 年 5 月 7 日至 2016 年 6 月 23 日在山东省莱州市国燕水产育苗场(山东莱州虎头崖镇西原村)内完成。实验生物为长牡蛎的幼虫,自受精卵开始培育 20 d 左右至具足面盘幼虫(pediveliger)阶段时,将实验底物置于附苗池中开展附着实验。

野外实验于 2018 年 7 月 19 日至 2018 年 8 月 19 日在浙江省宁波市奉化区莼湖象山港牡蛎养殖区内完成,实验生物为处于具足面盘阶段的熊本牡蛎幼虫。在幼虫附着高峰期(每年 7 月 20 日左右)将底物吊挂于潮间带筏架上开展野外附着实验。

1.2 实验设计

室内和野外实验均采用单因子随机区组设计,实验均设定 3 个底物大小处理组,各个底物

大小处理组之间互为对照。每个底物大小处理组设置 10 个重复,室内和野外实验分别总计 3 个处理组合和 30 个实验底物。

实验底物为河沙和水泥按比例混合制作的混凝土模块(表 1)。每种原料经粉碎后过 80 目网筛备用。

1.3 实验方法

室内实验:在育苗车间准备一个低幼虫丰度($1 \sim 2$ 个· mL^{-1})附苗池,其上架设 6 根竹竿,随机选取 10 个实验底物吊挂于竹杆上,使实验底物位于水面下 50 cm 处,相邻实验底物相距 15 cm,相邻竹杆间相距 20 cm。实验期间,将沙滤后加热与未加热海水混合,保持实验池中的水温维持在 24℃ 左右(范围为 23.2~24.6℃)、海水盐度范围为 26.5~27.2,每天于 1:00、5:00、9:00、13:00、17:00、21:00 各投饵 1 次,投饵量由育苗场管理人员根据幼虫生长状况而定,饵料为金藻,每天于 7:00 和 19:00 各换水 1 次,换水量为附苗池总容量的 1/2,每天光照时间约为 8 h,光照强度为 100 lx 左右,幼虫附着期间充气培养等条件均与育苗车间保持一致。

3 d 后,将两个附苗池中的实验底物移置养殖池暂养,直至附着稚贝清晰可见为止(约 1 个月),用单反相机对每个实验底物表面进行拍照,在电脑上计数,随机选取 20 个附着稚贝,用 Photoshop 7.0 测量壳高。自牡蛎受精卵至实验结束共持续 48 d 左右,实验期间,每天不定期观察幼虫生长状况。

野外实验:在熊本牡蛎幼虫处于具足面盘幼虫时,于 2018 年 7 月 19 日将底物吊挂在搭建的竹竿筏架上,底物位于筏架下 50 cm 处,其随涨落潮的露干、淹没和饵料等情况与野生牡蛎一致,期间不定期观察附着情况,待附着稚贝清晰可见为止(约 1 个月)。在此期间,实验海域白天海水温度范围为 29.9~30.2℃,盐度范围为 23.7~25.7。

表 1 实验基质组成成分及大小

Tab. 1 Chemical composition and sizes of the experimental substrates

底物大小/cm Substrate size	处理组 Treatment	重量比/% Weight ratio	
		河沙 River sand	水泥 Cement
5×5×3	A	88	12
10×10×3	B	88	12
15×15×3	C	88	12

考虑到实验结果的一致性,仅统计实验底物正面附着稚贝的密度和壳高来显示牡蛎幼虫的附着效果。

1.4 数据处理

将每块实验底物上附着的稚贝数量换算成稚贝的密度,统计每种实验底物上附着牡蛎稚贝的平均密度(个·cm⁻²)和平均壳高(mm)。实验数据经过以10为底的对数函数处理后,用SPSS 19.0中的Kolmogorov-Smirnov(以下简称K-S)正态检验对数据进行正态性检验($P>0.05$,表2),符合正态分布。处理后数据采用SPSS 19.0统计软件进行方差分析,使用LSD法进行后检验, $P<0.05$ 时差异显著, $P<0.01$ 时差异极其显著;室内和野外实验中分别从3个处理组中随机选取10个密度值及与其对应的壳高,总计30组数据,使用Excel 2013绘制密度与壳高的相关性分析图,并采用SPSS 19.0中的Pearson进行相关性分析;采用Sigmaplot 10.0软件绘制折线图。

表2 K-S正态检验结果

Tab.2 K-S results of normal test		
实验环境 Experimental enviroment	参数 Item	P
室内实验 Laboratory experiment	密度 Density	0.200
	壳高 Shell height	0.070
野外实验 Field experiment	密度 Density	0.055
	壳高 Shell height	0.200

注: $P>0.05$ 时,表示室内和野外实验中底物大小对应的密度和壳高结果呈正态分布
Note: $P>0.05$ means that desity and shell height corresponding to substrate size in laboratory and field experiments are normally distributed

2 结果与分析

2.1 底物大小对附着稚贝密度的影响

单因子方差分析结果表明:无论室内实验还是野外实验,底物大小对附着稚贝密度的影响均极其显著(表3, $P=0.000$)。

底物大小对附着稚贝密度的影响结果如图1所示。室内和野外实验中,A、B、C 3个处理组间差异极其显著(图1, $P<0.01$),3个处理组实验底物上的附着稚贝密度高低顺序为: $C>B>A$ 。室内实验附着稚贝的平均密度分别为A组1.06个·cm⁻²,B组5.60个·cm⁻²,C组12.01个·cm⁻²;野外实验附着稚贝的平均密度分别为2.41个·cm⁻²,B组4.65个·cm⁻²,C组6.90个·cm⁻²。

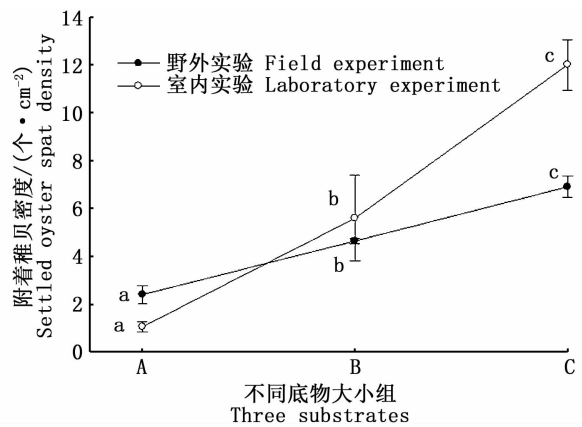


图1 室内实验和野外实验中3种实验底物上牡蛎稚贝密度的比较

Fig.1 Comparison of oyster spat density on three substrates in laboratory and field experiments ($n=10$)

注:不同字母显示在不同大小底物间有显著性差异($P<0.05$)
Note: Different letters show significant differences among substrates of different sizes ($P<0.05$)

2.2 底物大小对附着稚贝壳高的影响

单因子方差分析结果表明:无论室内还是野外实验,实验底物大小对附着稚贝壳高的影响都极其显著(表4, $P=0.000$);

底物大小对附着稚贝壳高的影响结果如图2所示,室内和野外实验中,3个实验底物处理组间差异极其显著(图2, $P<0.01$),附着稚贝壳高大

表3 底物大小对附着稚贝密度影响的单因素方差分析结果

Tab.3 One-way ANOVA results of the effect of substrate sizes on settled oyster spat density					
实验环境 Experimental enviroment		df	SS	F	P
室内实验 Laboratory experiment	组间 Inter-group	2	1.984	20.125	0.000
	组内 Intra-group	18	0.099		
野外实验 Field experiment	组间 Inter-group	2	0.430	27.661	0.000
	组内 Intra-group	18	0.016		

小顺序为:A>B>C。室内实验附着稚贝的平均壳高分别为 A 组 14.10 mm,B 组 8.69 mm,C 组 4.44 mm;野外实验附着稚贝的壳高分别为 A 组 17.83 mm,B 组 11.61 mm,C 组 7.43 mm。

2.3 室内和野外实验附着结果的比较

双因子方差分析结果表明(表 5,表 6):2 因子交互作用对附着稚贝密度影响显著($P < 0.05$),对壳高影响不显著($P > 0.05$);室内和野外的实验环境对附着稚贝密度影响不显著($P > 0.05$),对壳高影响显著($P < 0.05$),且野外实验壳高显著大于室内实验的($P = 0.000$)。

2.4 牡蛎稚贝密度与壳高之间的相关性

Pearson 相关性分析结果表明:室内实验和野外实验中牡蛎稚贝密度与壳高相关性很强,且为负相关。其中,室内实验为极强相关性(表 7, $r = -0.840$);野外实验为强相关性(表 7, $r = -0.726$)。

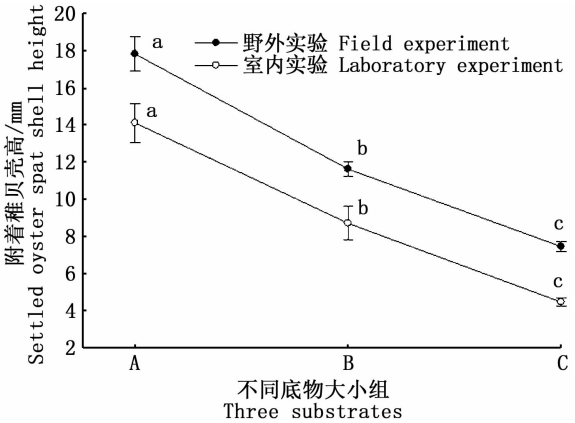


图 2 室内实验和野外实验 3 种实验底物上牡蛎稚贝壳高的比较

Fig. 2 Comparison of settled oyster spat shell height on three substrates in laboratory and field experiments

注:不同字母显示在不同大小底物间有显著性差异($P < 0.05$)

Note: Different letters show significant differences among substrates of different sizes ($P < 0.05$)

表 4 底物大小对附着稚贝壳高影响的单因素方差分析结果

Tab.4 One-way ANOVA results of the effect of substrate sizes on the shell height of settled oyster spat

实验环境 Experimental enviroment		df	SS	F	P
室内实验 Laboratory experimrnt	组间 Inter-group	2	0.360	29.651	0.000
	组内 Intra-group	18	0.012		
野外实验 Field experiment	组间 Inter-group	2	0.270	104.686	0.000
	组内 Intra-group	18	0.003		

表 5 室内和野外实验稚贝附着密度的双因子方差分析结果

Tab.5 Two-way ANOVA results of settled oyster spat density in laboratory and field experiments

	df	SS	F	P
环境 Environment	1	0.058	1.012	0.321
底物大小 Substrate size	2	2.177	38.143	0.000
环境×底物大小 Environment×substrate size	2	0.338	5.922	0.006
误差 Error	36	0.057		
总计 Total	42			

表 6 室内和野外实验稚贝附着壳高的双因子方差分析结果

Tab.6 Two-way ANOVA results of settled shell height of oyster spat in laboratory and field experiments

	df	SS	F	P
环境 Environment	1	0.258	35.609	0.000
底物大小 Substrate size	2	0.630	87.106	0.000
环境×底物大小 Environment×substrate size	2	0.011	1.554	0.225
误差 Error	37	0.007		
总计 Total	43			

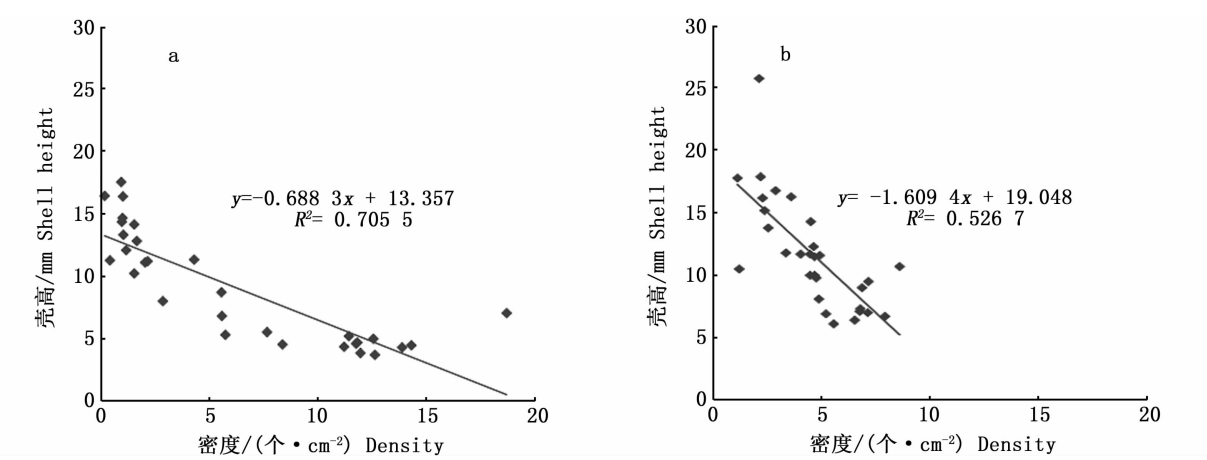


图3 室内(a)和野外(b)实验中牡蛎稚贝密度与壳高的相关性分析图

Fig.3 Analysis of the correlation between shell height and density of oyster spat in laboratory (a) and field experiments (b)

表7 室内实验和野外实验中密度与壳高的 Pearson 相关性分析

Tab.7 Pearson correlation analysis of density and shell height in laboratory and field experiments

实验环境 Experimental enviroment	<i>r</i>	<i>P</i>
室内实验 Laboratory experiment	-0.840	<0.01
野外实验 Field experiment	-0.726	<0.01

注: $0.8 < |r| \leq 1$ 为极强相关; $0.6 < |r| \leq 0.8$ 为强相关; $0.4 < |r| \leq 0.6$ 为中等程度相关; $0.2 < |r| \leq 0.4$ 为弱相关; $0 \leq |r| \leq 0.2$ 为极弱相关或不相关^[22]

Note: $0.8 < |r| \leq 1$ is extremely correlated; $0.6 < |r| \leq 0.8$ is strongly correlated; $0.4 < |r| \leq 0.6$ is moderately correlated; $0.2 < |r| \leq 0.4$ is weakly correlated; $0 \leq |r| \leq 0.2$ is extremely weakly correlated or uncorrelated^[22]

3 讨论

3.1 底物大小对附着稚贝密度的影响

本研究结果表明,底物大小显著影响牡蛎稚贝附着密度,即底物越大,稚贝附着密度越高。主要机制是底物越大,幼虫接触机会越大,一旦有幼虫附着,就会释放化学物质诱导其他的幼虫同伴来此聚集附着^[23-24]。如王国栋等^[24]发现具有更多附着面积的多层结构附着底物对菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)、青蛤(*Cyclina sinensis*)和硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria*)的附苗效果显著高于细砂的结果解释了这种可能。LILLIS等^[19]研究发现鹅卵石大小对美洲龙虾幼虫附着的影响不显著。ADAMIAK-BURD等^[25]发现水蛭幼虫更易附着于尺寸较小的底物上。这可能是由于物种间的差异。欧微龙等^[26]的研究表明2种规格的底物大小对叶片山海绵的附着量差异不显著,其可能是2种底物的有效附着面积均能够满足叶片山海绵的生长,为本研究的设

计思路提供了方向,并为本实验结果提供了解释的空间。FUCHS等^[17]野外研究发现在长度较短的底物上美洲牡蛎稚贝附着量较多,与本实验研究结果不同。可能是由于实验海区的幼虫丰度远少于室内养殖的。大多数牡蛎幼虫会附着在邻近的优势底物上,大底物虽然增加了幼虫接触的可能性,但降低了底物上的单位稚贝附着量。室内实验A处理组的附着稚贝密度低于野外实验可能是由于室内实验暂养时海水中没有幼虫,而野外实验中一直有幼虫再次附着到底物上。本研究的结果是基于低幼虫密度的环境,如果幼虫密度高时,这种底物大小对幼虫附着的诱导效应会显著降低。

3.2 附着稚贝壳高和密度的相关性

附着稚贝壳高与密度呈负相关。很多研究与本实验结果类似,如杜美荣^[27]研究发现底栖硅藻处理组附着底物上栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)稚贝附着量明显多于常规方法处理组,稚贝壳高结果却与附着量相反。陈璐等^[28]研究发现密鳞

牡蛎 (*Ostrea enselamellosa*) 幼虫高丰度 (3 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 和 4 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$) 处理组底物上稚贝的附着效果优于低丰度处理组 (1 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 和 2 个 $\cdot \text{mL}^{-1}$), 生长速度却明显慢于低丰度处理组。因为随着稚贝附着密度的增大, 食物、空间竞争压力增大, 导致个体生长发育缓慢。野外实验中附着稚贝密度低于其在室内实验的密度、壳高却高于室内实验也可能是这个原因导致的。后期幼虫附着密度等外界条件可能会造成壳高的差异, 所以, 底物大小与后期壳高之间直接相关性不大。密度是牡蛎稚贝生长的关键因素之一, 贝壳生长还与盐度、温度等环境条件密切相关, 如王涛等^[29]的盐度实验结果显示, 盐度 15、20 和 25 组中熊本牡蛎稚贝壳高显著高于盐度 35 和 40 组; 温度实验结果显示, 稚贝壳高在温度 28 $^{\circ}\text{C}$ 组显著高于温度 16 $^{\circ}\text{C}$ 、20 $^{\circ}\text{C}$ 、24 $^{\circ}\text{C}$ 和 32 $^{\circ}\text{C}$ 组。饶科等^[30]研究发现, 当 pH 为 8.1 ~ 7.0 时, 近江牡蛎 (*C. ariakensis*) 的钙化率随着 pH 的下降而显著下降。

3.3 室内和野外实验结果的比较

通过室内和野外实验的对比, 我们发现实验环境对附着稚贝密度影响不显著, 而其与底物大小的交互作用对密度影响显著, 可能是由于牡蛎幼虫对附着底物的选择性优于环境条件的差异。实验环境对附着稚贝壳高影响显著, 这个可能有两种原因, 一种是幼虫丰度的不同, 导致附着密度的不同, 从而影响稚贝壳高^[28]; 另一种是野外实验的环境更适宜牡蛎的生长。两种因子的交互作用对壳高影响不显著, 可能是环境条件差异对壳高的影响大于底物大小 (或稚贝密度) 对其的影响。

3.4 小结

本研究表明, 在低幼虫密度下, 底物大小与牡蛎稚贝附着密度呈现显著的正相关。因此, 在牡蛎礁生态修复中, 底物大小是必须特别考虑的因子之一, 选择适合规格的底物可显著提高礁体上牡蛎幼虫附着量, 从而影响牡蛎礁生态修复的效果。

本实验仅证明底物大小对牡蛎幼虫附着影响显著, 并未验证幼虫附着的最适底物规格, 仍需下一步进行研究。

致谢: 感谢育苗场工作人员在实验期间提供的帮

助, 杨杰青等在论文写作中给予的指导。

参考文献:

- [1] 陈德金. 不同固着基、金属离子 (K^+ 、 Cu^{2+}) 及 L-DOPA、NE 对香港巨牡蛎眼点幼虫固着变态影响的研究 [D]. 南宁: 广西大学, 2014.
CHEN D J. Studies on the effects of different fixation groups, metal ions (K^+ , Cu^{2+}) and L-DOPA, NE on the fixation metamorphosis of eye-spot larvae of giant oyster in Hong Kong [D]. Nanning: Guangxi University, 2014.
- [2] 滕爽爽, 李 琪, 李金蓉. 长牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 与熊本牡蛎 (*C. sikamea*) 杂交的受精细胞学观察及子一代的生长比较 [J]. 海洋与湖沼, 2010, 41(6): 914–922.
TENG S S, LI Q, LI J R. Cytological observations of nuclear behavior and comparative growth of the hybrids between *Crassostrea gigas* and *C. sikamea* [J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 2010, 41(6), 914–922.
- [3] 全为民, 张锦平, 平仙隐, 等. 巨牡蛎对长江口环境的净化功能及其生态服务价值 [J]. 应用生态学报, 2007, 18(4): 871–876.
QUAN W M, ZHANG J P, PING X Y, et al. The purification function and ecological service value of *Crassostrea sp* in Yangtze Estuary [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2007, 18(4): 871–876.
- [4] 全为民, 安传光, 马春艳, 等. 江苏小庙洪牡蛎礁大型底栖动物多样性及群落结构 [J]. 海洋与湖沼, 2012(5): 992–1000.
QUAN W M, AN C G, MA C Y, et al. Biodiversity and community structure of benthic macroinvertebrates on the Xiaomiaohong oyster reef in Jiangsu Province, China [J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 2012(5): 992–1000.
- [5] COEN L D, LUCKENBACH M W, BREITBURG D L. The role of oyster reefs as essential fish habitat: A review of current knowledge and some new perspectives [J]. Transactions of the American Entomological Society, 1999(22): 438–454.
- [6] QUAN W M, HUMPHRIES, A T, SHEN X Q, et al. Oyster and associated benthic macrofaunal development on a created intertidal oyster (*Crassostrea ariakensis*) reef in the Yangtze River Estuary, China [J]. Journal of Shellfish Research, 2012, 31(3): 599–610.

- [7] QUAN W M, ZHENG L, LI B J, *et al.* Habitat values for artificial oyster (*Crassostrea ariakensis*) reefs compared with natural shallow-water habitats in Changjiang River Estuary [J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2013, 31(5): 957 – 969.
- [8] QUAN W M, ZHU J X, NI Y, *et al.* Faunal utilization of constructed intertidal oyster (*Crassostrea rivularis*) reef in the Yangtze River Estuary, China [J]. Ecological Engineering, 2009, 35(10): 1466 – 1475.
- [9] 全为民, 沈新强, 罗民波, 等. 河口地区牡蛎礁的生态功能及恢复措施 [J]. 生态学杂志, 2006, 25(10): 1234 – 1239.
- QUAN W M, SHEN X Q, LUO M B, *et al.* Ecological function and restoration measures of oyster reef in estuaries [J]. Chinese Journal of Ecology, 2006, 25(10): 1234 – 1239.
- [10] BRUMBAUGH R D, COEN L D. Contemporary approaches for small-scale oyster reef restoration to address substrate versus recruitment limitation: A review and comments relevant for the Olympia oyster, *Ostrea lurida* Carpenter 1864 [J]. Journal of Shellfish Research, 2009, 28(1): 147 – 161.
- [11] 沈新强, 全为民, 袁 骐. 长江口牡蛎礁恢复及碳汇潜力评估 [J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(10): 2119 – 2123.
- SHEN X Q, QUAN W M, YUAN Q. Restoration and assessment of carbon sink potential for aintertidal oyster reef in the Yangtze River Estuary, China [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2011, 30(10): 2119 – 2123.
- [12] BECK M W, BRUMBAUGH R D, AIROLDI L, *et al.* Oyster reefs at risk and recommendations for conservation, restoration, and management [J]. Bioceience, 2011, 61(2): 107 – 116.
- [13] JACKSON J B C, KIRBY M X, BERGER W H, *et al.* Historical overfishing and the recent collapse of coastal ecosystems [J]. Science, 2001, 293(5530): 629 – 637.
- [14] 全为民, 周为峰, 马春艳, 等. 江苏海门蛎蛎山牡蛎礁生态现状评价 [J]. 生态学报, 2016(23): 7749 – 7757.
- QUAN W M, ZHOU W F, MA C Y. Ecological status of a natural intertidal oyster reef in Haimen County, Jiangsu Province [J]. Acta Ecologica Sinica, 2016(23): 7749 – 7757.
- [15] MANN R, POWELL E N. Why oyster restoration goals in the Chesapeake Bay are not and probably cannot be achieved? [J]. Journal of Shellfish Research, 2007(26): 905 – 917.
- [16] 张 涛. 海洋无脊椎动物幼虫附着变态研究进展 I. 影响因子 [J]. 海洋科学, 2000(1): 25 – 29.
- ZHANG T. Advancements in research on settlement and metamorphosis of marine invertebrate I. Factors [J]. Marine Science, 2000(1): 25 – 29.
- [17] 柯才煊, 冯丹青. 海洋底栖动物浮游幼体附着和变态的研究 [J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2006, 45(z2): 77 – 82.
- KE C H, FENG D Q. Researches on larval settlement and metamorphosis of marine benthos [J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 2006, 45(z2): 77 – 82.
- [18] FUCHS H L, REIDENBACH M A. Biophysical constraints on optimal patch lengths for settlement of a reef-building bivalve [J]. PLOS ONE, 2013, 8(8): e71506.
- [19] JEFFERY C J. Settlement in different-sized patches by the gregarious intertidal barnacle *Chamaesipho tasmanica* Foster and Anderson in New South Wales [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2000, 252(1): 15 – 26.
- [20] LILLIS A, SNELGROVE P. Near-bottom hydrodynamic effects on postlarval settlement in the American lobster *Homarus americanus* [J]. Marine Ecology Progress Series, 2010(401): 161 – 172.
- [21] 吕晓燕. 熊本牡蛎人工繁育与长牡蛎单体苗种培育技术研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
- LV X Y. Studies on the techniques of artificial reproduction of the *Crassostrea sikamae* and cultivation of the cultchless spat of *Crassostrea gigas* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2013.
- [22] 林萍珍, 薛娇美, 杨 蓓, 等. 基于 Pearson 相关系数的癌症患者创伤后成长与心理适应相关性的 Meta 分析 [J]. 山东大学学报(医学版), 2017(9): 115 – 126.
- LIN P Z, XUE J M, YANG B, *et al.* Correlation between posttraumatic growth and psychological adjustment of cancer survivors based on Pearson correlation coefficient: a Meta-analysis [J]. Journal of Shandong University(Health Science), 2017(9): 115 – 126.
- [23] 秦传新, 董双林, 牛宇峰, 等. 不同类型附着基对刺参生长和存活的影响 [J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2009(3): 392 – 396.
- QIN C X, DONG S L, NIU Y F, *et al.* Effects of

- shelter type on the growth and survival rate of sea cucumber, *Apostichopus japonicus* Selenka, in earthen pond [J]. Periodical of Ocean University of China, 2009(3): 392–396.
- [24] 王国栋, 常亚青, 付 强, 等. 3 种滩涂贝类稚贝附着基和多层附苗技术的初步研究[J]. 大连水产学院学报, 2003(2): 104–108.
- WANG G D, CHANG Y Q, FU Q, *et al.* Studies on settlement substrata and poly-layer spatfall technics of three species of clams [J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2003(2): 104–108.
- [25] ADAMIAK-BURD Ź, JABLONSKA-BARNA I, BIELECKI A, *et al.* Settlement preferences of leeches (Clitellata; Hirudinida) for different artificial substrates[J]. Hydrobiologia, 2015, 758(1): 275–286.
- [26] 欧徽龙, 王德祥, 龚 琳, 等. 3 种环境因素对叶片山海绵海区移植效果的影响[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2013(4): 574–578.
- OU H L, WANG D X, GONG L, *et al.* The influence of environmental facts on growth rate of an explanted marine sponge *Mycale phyllophila* [J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 2013(4): 574–578.
- [27] 杜美荣. 栉孔扇贝春苗繁育与扇贝幼虫高效附着技术的初步研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009.
- DU M R. Preliminary studies on the techniques of spring seed production of *Chlamys farreri* and new treatment method for inducing the settlement of eye-spot larvae [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2009.
- [28] 陈 璐, 李 琪, 王庆志, 等. 密鳞牡蛎的人工繁育[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2011, 41(3): 43–46.
- CHEN L, LI Q, WANG Q Z, *et al.* Techniques of artificial breeding of the oyster *Ostrea denselamellosa* [J]. Periodical of Ocean University of China, 2011, 41(3): 43–46.
- [29] 王 涛, 李 琪. 不同盐度和温度对熊本牡蛎(*Crassostrea sikamea*)稚贝生长与存活的影响[J]. 海洋与湖沼, 2017, 48(2): 297–302.
- WANG T, LI Q. Effects of salinity and temperature on growth and survival of juvenile of Kumamoto oyster (*Crassostrea sikamea*) [J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 2017, 48(2): 297–302.
- [30] 饶 科, 黄明坚, 章逃平, 等. 盐度与 pH 对 3 种南方贝类呼吸率和钙化率的影响[J]. 水生态学杂志, 2014, 35(4): 74–80.
- RAO K, HUANG M J, ZHANG T P, *et al.* Effects of salinity and pH on respiration and calcification of three kinds of shellfish in Southern China[J]. Journal of Hydroecology, 2014, 35(4): 74–80.

Effects of substrate size on the settlement of oyster larvae: Evidence from laboratory and field experiments

FAN Ruiliang^{1,2}, LI Nannan¹, WANG Taoni¹, SUN Zhaoyue¹, XIU Yuna¹, QUAN Weimin¹

(1. Key Laboratory of East China Sea and Marine Fishery Resources Exploitation and Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China; 2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: In order to study whether the substrate size and experimental environment could affect oyster spat settlement, we designed experiments to examine the effects (density and shell height) of three kinds of substrates, experimental environment and their interaction on oyster larvae with two-factor randomized manner. Larval experiments are mostly about the screening of substrates and inducers. There are few reports about the effects of substrate size on the settlement of oyster larvae. The substrates were concrete modules made by mixing river sand and cement in a ratio of 88:12 after grinding. Laboratory experiments were conducted by Pacific oyster *Crassostrea gigas* larvae from fertilized eggs to pediveliger larvae in the seeding farm. Ten substrates of each size were randomly selected and hung on bamboo poles for experiments. The field experiment used Kumamoto oyster *Crassostrea sikamea* larvae, conducted experiment of settlement on the bamboo raft built in oyster culture area of Xiangshan Harbor. During the experiment, salinity, temperature, water change and feeding were measured to ensure the stability of the experimental environment and the settlement of oyster was observed until it could be counted clearly. The substrates were photographed and counted with a DSLR camera in both laboratory and field experiments. Twenty spats were randomly selected and the shell height was measured with Photoshop 7.0. The experimental results of settlement demonstrated that the average density and shell height of settled oyster spats in group A,B,C of the laboratory experiment were 1.06 ind · cm⁻² and 14.10 mm, 5.60 ind · cm⁻² and 8.69 mm, 12.01 ind · cm⁻² and 4.44 mm respectively. In the field experiment, the average density and shell height of settled oyster spats in group A,B,C were 2.41 ind · cm⁻² and 17.83 mm, 4.65 ind · cm⁻² and 11.61 mm, 6.90 ind · cm⁻² and 7.43 mm respectively. Results of one-way ANOVA showed that substrate size affected the density significantly ($P < 0.001$). The larger the substrate, the higher the density of oyster spats. However, the opposite was for the shell height. There was a significant negative correlation between the density and shell height of oyster spats. The environment of laboratory and field experiments had no significant effects on the density of oyster spat ($P > 0.05$), but had significant effects on shell height ($P < 0.05$). The results of two-factor ANOVA showed that the interaction between experimental environment and substrate size had significant effects on the density of oyster spat ($P < 0.05$), but not on the shell height ($P > 0.05$). It indicated that choosing suitable substrate size could significantly improve the settlement density of oyster larvae in the ecological restoration of oyster reefs. The results have important theoretical and practical significance on the selection of substrate size and oyster culture in oyster reef restoration.

Keywords: substrate size; ecological restoration; settlement; shell height