

温度和盐度对羊鲍胚胎发育及幼虫发育的影响

丁敬敬, 胡亚强, 黄勃*, 张懿丹,
杨湘勤, 袁超, 俞小鹏
(海南大学海洋学院, 海南海口 570228)

摘要: 为探究水温和盐度对羊鲍胚胎发育和幼虫发育的影响, 以人工驯化后的野生羊鲍为实验材料, 采用温度、盐度单一和双因子组合方法设计实验。结果表明, 羊鲍孵化率和成活率受温度、盐度影响显著, 28℃时, 胚胎发育时间最短, 孵化率最高, 26℃时, 幼虫发育时间最短, 成活率最高。胚胎发育适宜温度为24~28℃, 最适温度为26~28℃。盐度为24时, 羊鲍胚胎发育和幼虫发育时间最短, 孵化率和成活率最低; 盐度分别为30和32时, 孵化率和成活率最高。胚胎发育和幼虫发育的适宜盐度为28~32, 最适盐度为30~32。温度盐度交互作用对羊鲍孵化率影响差异不显著, 对成活率影响差异显著。通过响应曲面模型优化, 得出温度为24.61℃, 盐度为32时, 孵化率和成活率均达到最大值, 分别为95.32%和81.20%, 满意度为0.848。研究表明, 羊鲍胚胎发育和幼虫发育对温度、盐度的敏感性不同, 对高温高盐的耐受性强于低温低盐。

关键词: 羊鲍; 温度; 盐度; 孵化率; 成活率; 响应曲面

中图分类号: S 968.3

文献标志码: A

羊鲍(*Haliotis ovina*)是一种海产经济贝类, 隶属于软体动物门(Mollusca), 腹足纲(Gastropoda), 前鳃亚纲(Prosobranchia), 原始腹足目(Archaeogastropoda), 鲍科(Haliotidae), 鲍属(*Haliotis*)。身体呈卵圆形, 生活于低潮线附近的岩礁石缝间, 分布在我国热带海域。羊鲍肉质鲜美, 营养价值极高, 但目前天然产量极少, 价格昂贵, 因此进行人工养殖是满足需求的重要途径。目前国内外学者主要对羊鲍的基因遗传多样性^[1-3]、精巢显微结构等方面进行了研究^[4], 而与繁殖相关的研究较少。加之近年来因过度捕捞和气候变化, 野生羊鲍数量不断下降, 因此积极开展人工养殖研究具有重要意义。

温度和盐度对鲍胚胎发育、生长繁殖等有着直接影响, 研究胚胎发育和幼虫发育与水体环境的关系, 是开展海洋生物繁殖的基础^[5-9]。关

于羊鲍胚胎发育、幼虫发育的适宜温度和盐度至今未见报道, 研究温度和盐度对羊鲍胚胎和幼虫发育的影响, 对提高育苗成活率有重要意义, 更有助于早日实现羊鲍的规模化人工繁殖。

1 材料与方法

1.1 受精卵的采集

亲鲍筛选自体长大于6 cm的野生成体鲍(采自海南三亚半山半岛海区, 坐标: 109°48'E, 18°21'N), 经人工驯养和催熟, 采集前再次筛选性腺良好的作为种鲍, 总数量24只, 雌雄比例为5:1。将亲鲍阴干1 h后, 放入紫外线消毒过的海水中, 升高海水温度, 待亲鲍排放精、卵后, 镜检并进行人工授精, 收集受精卵^[6]。催产温度控制在27~29℃, 盐度控制在28.0~31.0。

收稿日期: 2015-10-09 修回日期: 2016-03-04

资助项目: 国家“八六三”高技术研究发展计划(2012AA10A412-8); GEF项目(RITFKYXY2015-86); 国家海洋公益项目(201105008-7); 中医药行业科研专项(201207002-03); 海南省重点研发项目(SQ2016XDNY0199); 教育部海南大学中西部计划学科重点领域建设项目(ZXBJH-XK006)

通信作者: 黄勃, E-mail: huangbohbo1@163.com

1.2 不同温度、盐度下单一影响实验

采用恒温加热棒控制水温,用温度计监测水温,每天记录3次,水体温度从18~32℃,每2℃为1个梯度,共设置8个实验组,每个组别设置3个平行实验,为减少温差刺激,采取每10 min升高或降低2℃的方法达到目的水温。盐度范围22~36,每2为1个梯度,共设置8个实验组,每个组别设置3个平行实验。高盐度采用海水水晶进行调节,低盐度采用过滤后的自然海水与消毒、曝气处理后的地下井水混合配制达到目的盐度,误差控制在±0.5以内。

1.3 温度和盐度组合影响实验

以上述实验结果为基础,设置4个温度(20、24、28和32℃)和4个盐度(20、24、28和32)梯度进行交互作用实验,共16组次,每个实验设置3个平行。

1.4 实验管理

上述实验均在实验室中开展,采用具有水体过滤和充氧功能的方形玻璃缸为孵化容器,规格为30 cm×20 cm×15 cm。玻璃缸的下方铺设厚度为1 mm的聚乙烯膜,以便匍匐幼虫附着。各实验组培育密度控制在10个/mL左右,幼虫每天投饵4次,饵料选用净化后的底栖硅藻。胚胎发育时期每4 h全换水1次,幼虫发育时期每2 d全换水1次[水体采用过滤的天然海水,自然光照,海水盐度为30.12±0.78,水温为(28.35±0.28)℃,pH为7.98~8.21,溶解氧为(9.44~10.15) mg/L]。受精卵形成后,每隔10 min取样1次,16细胞期后,每隔40 min取样1次,桑椹期后,每隔60 min取样1次,观察并记录胚胎及幼虫发育情况。

1.5 数据计算与统计分析

以孵化率不低于60%作为胚胎发育适宜温度、盐度范围衡量指标,以孵化率不低于70%作为胚胎发育最适温、盐度范围衡量指标;以成活率不低于40%作为幼虫发育适宜温度、盐度范围衡量指标,以成活率不低于40%作为幼虫发育最适温度、盐度范围衡量指标。

胚胎发育时间:从受精卵开始至担轮幼体完全孵出所需时间;

孵化率:初期面盘幼体与受精卵总数的比率;

成活率:完成幼体发育的稚鲍与受精卵总数

的比率;

温度系数 Q^{10} :温度升高10℃时胚胎发育速率加快的倍数,计算公式:

$$Q^{10} = \left(\frac{H_0}{H_a} \right)^{10/(T_a - T_0)}$$

式中 H_0 和 H_a 分别表示温度 T_0 和 T_a 的孵化时间,结果接近于2为胚胎发育最适温度^[10]。

采用SPSS19.0、Design-Expert 8.0、Origin 7.5和Excel对实验数据进行统计分析,制作图表并对变化趋势作相应回归分析。

2 结果

2.1 温度对羊鲍胚胎和幼虫发育的影响

受精卵以卵裂进行至2细胞期为判断标准。定时用光学显微镜观察,确定各阶段发育时间^[11]。水温对羊鲍胚胎发育和幼虫发育时间影响较大(表1),随着温度升高,胚胎发育和幼虫发育所需时间变短,但水温分别超过28和26℃时,胚胎发育和幼虫发育所需时间变长。水温为28℃时胚胎发育时间最短、孵化率最高;水温为26℃时,幼虫发育时间最短、成活率最高。平均温度为18℃的实验组,胚胎发育停滞,无法进行正常孵化和变态。

水温对羊鲍孵化率和成活率影响显著($P<0.01$) (图1),随着水温的升高,孵化率和成活率先升高后降低,分别在水温为28和26℃时达到最高值。对水温(T ,℃)、孵化率、成活率进行拟合和回归性分析,得到拟合公式:

$$\text{孵化率}(\%) = -1.34T^2 + 69.11T - 820.08 (R^2 = 0.928, P < 0.01)$$

$$\text{成活率}(\%) = -0.90T^2 + 46.71T - 556.40 (R^2 = 0.861, P < 0.01)$$

综合以上各个指标,羊鲍胚胎发育适宜温度为24~28℃,最适温度为26~28℃;羊鲍幼虫发育适宜温度为26~30℃,最适温度为26~28℃。

2.2 羊鲍胚胎发育温度系数

为进一步判定羊鲍胚胎发育最适温度,以 Q^{10} 值来定量表示某一温度范围内温度变化对羊鲍发育速率的影响。羊鲍在24.03~28.31℃内的 Q^{10} 接近于2。

2.3 盐度对羊鲍胚胎和幼虫发育的影响

盐度对羊鲍的胚胎发育和幼虫发育时间有显

表 1 不同温度下羊鲍胚胎孵化和幼虫发育情况

Tab. 1 The embryonic development and larvae development at different water temperature					
水温/℃	temperature	胚胎发育时间/h	孵化率/%	幼虫发育时间/h	成活率/%
		time of embryonic development	hatching rate	time of larvae development	survival rate
18		—	0	—	0
20		33.7±5.1	20.5±1.9	596.2±6.8	13.8±2.2
22		27.5±3.6	45.4±4.6	537.5±9.2	35.2±3.8
24		22.8±4.2	69.6±6.5	491.3±10.3	36.5±1.8
26		19.8±1.8	72.3±5.3	324.4±6.7	58.7±2.0
28		17.0±6.4	76.5±3.5	384.8±5.9	51.3±5.6
30		23.1±3.8	59.6±4.2	373.2±5.4	47.3±4.2
32		25.0±2.6	13.9±1.2	390.6±9.3	10.2±4.5

注：-，未检测出，下同
Notes: -, not detected, the same below

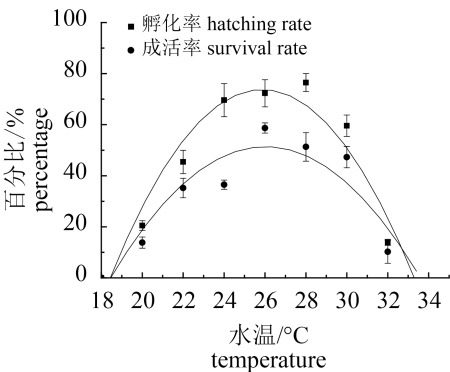


图 1 水温对羊鲍孵化率以及成活率的影响
Fig. 1 The influence of water temperature on hatching rate and the survival rate

著影响(表2)，随着盐度升高，胚胎发育时间先增加后降低，幼虫发育时间则一直增加。盐度为24

时，羊鲍胚胎发育时间和幼虫发育时间最短，孵化率和成活率最低。盐度低至22的实验组，羊鲍受精卵沉于水体底部导致无法正常孵化，在2细胞期时容易死亡，发育到单轮幼虫时期时，胚胎全部死亡无法进行后续的幼虫发育；而盐度高达36时，受精卵浮在水面上无法孵化。

盐度与羊鲍发育孵化率和成活率具有显著相关性($P<0.01$)(图2)，随着盐度升高，孵化率和成活率先升高后降低，分别在盐度为30和32时达到最高值。对水温、孵化率、成活率进行拟合和回归性分析，得到拟合公式：

孵化率(%)= $-1.57S^2+92.16S-1274.49$ ($R^2=0.947$, $P<0.01$)

成活率(%)= $-1.11S^2+65.07S-898.87$ ($R^2=0.885$, $P<0.01$)

表 2 不同盐度下羊鲍胚胎发育和幼虫发育情况

Tab. 2 The embryonic development and larvae development at different salinity				
盐度	胚胎发育时间/h	孵化率/%	幼虫发育时间/h	成活率/%
salinity	time of embryonic development	hatching rate	time of larvae development	survival rate
22	—	0	—	0
24	15.1±11.3	22.5±2.0	288.7±13.2	17.9±3.7
26	15.6±6.7	52.7±1.7	292.5±15.1	35.6±1.7
28	15.8±9.4	69.5±2.4	307.2±12.8	47.7±2.8
30	17.0±6.4	76.5±3.5	324.4±6.7	51.3±5.6
32	16.2±5.2	76.3±2.8	335.5±9.8	61.3±6.7
34	17.3±8.5	37.1±1.4	338.0±9.3	20.3±3.4
36	—	0	—	0

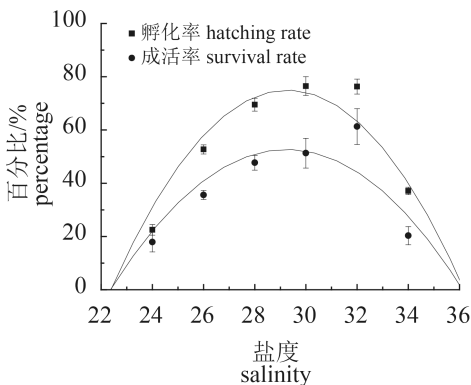


图 2 盐度对羊鲍孵化率以及成活率的影响

Fig. 2 The influence of water salinity on hatching rate and the survival rate

综合考虑发育速率、孵化率和成活率，羊鲍胚胎发育的适宜盐度为28~32，最适盐度为30~32；幼虫发育适宜盐度为28~32，最适盐度为30~32。

2.4 温度、盐度对羊鲍胚胎和幼虫发育的联合影响

温度盐度交互作用对羊鲍胚胎发育孵化率影响差异不显著($P>0.05$)，温度和盐度单因子的影响差异显著($P<0.01$)(表3)。在温度24~28℃，盐度28~32，孵化率均较高。在低温低盐范围内，羊鲍的孵化率最低，高温高盐则相对较高。当保持温度为最佳条件不变时，随着盐度升高，羊鲍的孵化率呈先升高后下降的趋势；当保持盐度为最佳条件不变时，随着温度升高，孵化率同样先升高后降低(图3-a)。温度和盐度单因子($P<0.01$)以及二者的交互作用($P<0.05$)对羊鲍幼虫发育成活率影响差异均显著(表3)。较高值同样出现在温度24~28℃，盐度28~32。高温低盐时，成活率最低。当保持温度为最佳条件不变时，随着盐度的升高，成活率一直上升；当保持盐度为最佳条件不变时，随着温度的升高，羊鲍

成活率呈现先升高后降低的趋势(图3-b)。对羊鲍孵化率和成活率进行响应曲面优化，结果显示，当温度为24.61℃，盐度为32时，孵化率和成活率均达到最大值，分别为95.32%和81.20%，满意度为0.848。

3 讨论

3.1 水温对羊鲍发育的影响

确定胚胎发育及幼虫发育的适宜水温是羊鲍人工育苗的关键参数^[11]。羊鲍的发育受温度影响与以下2种情况有关：一是通过影响生长发育过程中酶的活性，从而影响生命活动。一定范围内，水温越高，酶的活性越强，贝类生长速率越快；但温度过高时，酶的活性降低甚至变性失活，所以生长速率变慢。在实验水温范围内，羊鲍的胚胎发育速率和幼虫发育速率，均呈现先增后减的趋势。这与尖紫蛤(*Soletellina acuta*)^[8]、琴文蛤(*Meretrix lyrata*)^[9]等整体变化趋势一致，最适温度与同属暖水型鲍的杂色鲍(*H. diversicolor*)(最适温度：26~27℃)结果一致，与属于冷水型鲍的皱纹盘鲍(*H. discus hannai*)(最适温度：15~22℃)结果相差较远^[11]。二是通过影响能量收支平衡进而影响到贝类的生长和存活^[12]，温度越高越有利于能量的积累。在适宜温度范围内，羊鲍胚胎发育速率和幼虫发育速率均逐渐加快。无论是暖水型的九孔鲍，还是冷水型的皱纹盘鲍，在其生长的适宜温度范围内，都随着温度的升高，生长速率加快^[11]。

当温度的影响超过羊鲍自身调节能力时，如高于30℃，羊鲍代谢强度加大，能量消耗大于能量积累；或者低于适宜温度，代谢活动降低，生长速率减慢，能量积累慢。羊鲍主要生活在南海潮间带区域，属于热带种。实验温度降低至20℃时，羊鲍需要大量能量抵御低温环

表 3 温度和盐度对羊鲍孵化率、存活率方差分析

Tab. 3 Analysis of variance for effects of temperature and salinity on hatching rate and survival rate

变异来源 source of variation	孵化率 hatching rate				成活率 survival rate			
	自由度 df	均方 mean square	F值 F value	P值 P value	均方 mean square	F值 F value	P值 P value	
温度 temperture	3	411.98	15.92	<0.01	2027.88	58.73	<0.01	
盐度 salinity	3	236.18	9.12	<0.01	569.1	16.48	<0.01	
温度×盐度 temperture×salinity	9	57.06	2.21	0.3022	252.35	7.31	0.0478	
误差 error	32	38.85			41.44			

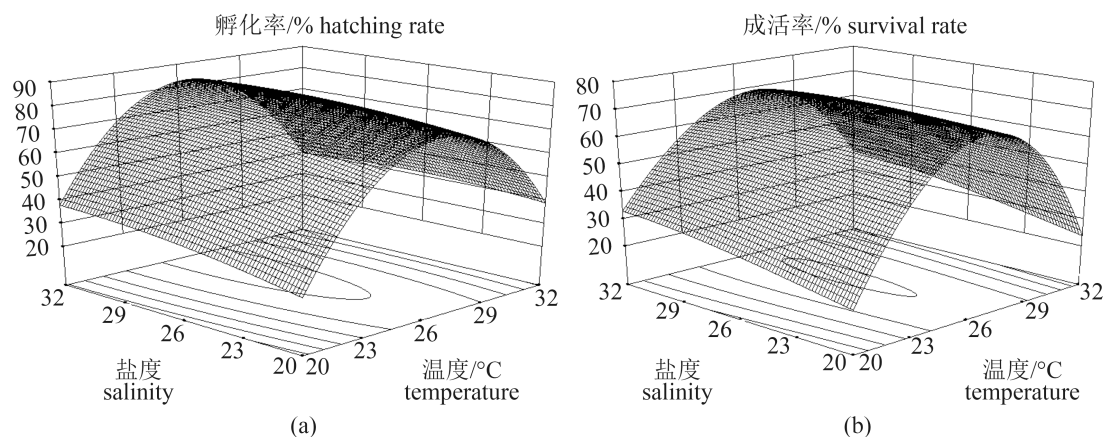


图3 盐度和温度对羊鲍孵化率、成活率影响的响应曲面

Fig. 3 Response surface for the effects of salinity and temperature

境, 用于生长的能量较少。20 °C时发育速率、孵化率和成活率均明显低于30 °C时, 因此, 羊鲍对高温的耐受性强于低温。

3.2 盐度对羊鲍发育的影响

盐度是影响贝类发育的主要生态因子, 其主要通过渗透压对贝类发育产生影响, 过高和过低会造成受精卵膜与周围介质之间正常的物质交换, 从而导致孵化率降低^[13]。羊鲍属于狭盐性种类, 在盐度为28~32的小范围内, 羊鲍孵化率和成活率较高, 且变化平稳, 这一结果与同属于狭盐性种类的九孔鲍(*H. diversicolor supertexta*) (适宜盐度: 30~34)相似^[14], 而与广盐性的皱肋文蛤(适宜盐度: 17.1~33.4)差别较大^[9]。盐度低于24时, 受精卵不需要调节渗透压, 大部分能量用于生长发育, 因此发育速率快, 但外界物质无法进入卵膜, 能量积累少, 孵化率和成活率低。盐度高于34时, 外界物质不断进入卵膜, 大量能量用于调节渗透压, 因此发育速率慢, 但受精卵和幼虫渗透压调节能力差, 大量水分流失, 造成孵化率和成活率低。高盐度时的孵化率和成活率高于低盐度, 因此羊鲍对高盐的耐受性强于低盐。

此外, 盐度可能对受精卵在水体中的分布产生影响^[15], 观察发现, 盐度低于28的实验组, 受精卵沉积在水体的底部, 无法得到足够的氧气, 胚胎发育无法进行, 容易在2细胞期死亡, 其孵化率明显偏低。而盐度高于34的实验组, 受精卵漂浮在水体表层, 受精卵与水体接触不充分, 无法进行正常物质交换, 受精卵分裂异常, 孵化率降低。仅在盐度为28~32的实验组受精卵悬浮在水体中, 发育良好。这与柴学军等^[10]对日

本黄姑鱼(*Nibea japonica*)胚胎发育研究的结论一致, 因此在进行羊鲍人工育苗的过程中需要严格控制好培育水体的盐度。

3.3 温度和盐度对羊鲍胚胎和幼虫发育的联合影响

胚胎发育孵化率方面, 温度较盐度对羊鲍的影响更显著, 而温度与盐度的组合没有显著影响。可能是温度通过影响酶活性来调节贝类生长发育, 而盐度通过渗透压调节来影响贝类活动, 胚胎发育期的贝类尚未发育成熟, 因此盐度的影响相对来说较弱, 温度成为胚胎发育时期的主要影响因子。幼虫成活率方面, 温度、盐度单因素及其联合都具有显著影响, 且随着胚胎发育逐渐成熟, 其联合影响越来越明显, 可能与温度升降影响羊鲍体内的酶活性, 进而影响离子交换有关, 加之盐度通过渗透压协同调节而参与幼虫的生命活动^[16], 故温、盐度的变化在幼虫的发育过程中起着重要作用。这与栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)、海湾扇贝(*Argopecten irradians*)等贝类实验结果基本一致^[17]。在温度、盐度胁迫条件下, 对生物生长发育影响的分子机理的研究已有报道^[18], 如尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)、海滨锦葵(*Kosteletzkya virginica*)在温度、盐度胁迫条件下, 甲基化水平的研究^[19-20]。DNA甲基化能引起染色质结构、DNA构象、DNA稳定性及DNA与蛋白质相互作用方式的改变, 从而控制基因表达。羊鲍胚胎和幼虫生长死亡是否与DNA甲基化有关, 值得进一步研究。

参考文献:

- [1] 杨文杰, 黄勃, 王仁恩, 等. 海南不同地理群体羊鲍18S rDNA的克隆与序列分析[J]. 安徽农业科学, 2012,

- 40(20): 10370-10373.
- Yang W J, Huang B, Wang R E, *et al.* Cloning and sequence analysis of *Haliotis ovina* 18S rDNA in the different geographical populations of Hainan[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2012, 40(20): 10370-10373(in Chinese).
- [2] 张桂玲, 黎中宝, 谢德华. 羊鲍野生群体遗传多样性与分化的研究[J]. 海洋科学, 2011, 35(3): 12-16.
- Zhang G L, Li Z B, Xie D H. Genetic diversity and differentiation of three wild populations of *Haliotis ovina*[J]. Marine Sciences, 2011, 35(3): 12-16(in Chinese).
- [3] Klinbunga S, Amparyup P, Leelatanawit R, *et al.* Species identification of the tropical abalone (*Haliotis asinina*, *Haliotis ovina*, and *Haliotis varia*) in Thailand using RAPD and SCAR markers[J]. Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 2004, 37(2): 213-222.
- [4] 罗安, 黄勃. 羊鲍精巢显微结构的研究[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(31): 15279-15280, 15282.
- Luo A, Huang B. Study on the microstructure of spermary of *Haliotis ovina* gmelin[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2012, 40(31): 15279-15280, 15282(in Chinese).
- [5] 黄勃, 邓中日, 王小兵, 等. 中国海耳鲍胚胎发育特征[J]. 海洋科学, 2007, 31(4): 68-72.
- Huang B, Deng Z R, Wang X B, *et al.* Embryonic development of abalone (*Haliotis asinina* Linnaeus) in the Chinese seas[J]. Marine Sciences, 2007, 31(4): 68-72(in Chinese).
- [6] 顾勇杰, 严正凛. 鲍健康育苗模式的研究[J]. 集美大学学报(自然科学版), 2011, 16(3): 167-171.
- Gu Y J, Yan Z L. Healthy larval breeding mode of abalone[J]. Journal of Jimei University (Natural Science), 2011, 16(3): 167-171(in Chinese).
- [7] 包振民, 万俊芬, 王继业, 等. 海洋经济贝类育种研究进展[J]. 青岛海洋大学学报, 2002, 32(4): 567-573.
- Bao Z M, Wan J F, Wang J Y, *et al.* Advance in the studies on marine economic shellfish breeding[J]. Journal of Ocean University of Qingdao, 2002, 32(4): 567-573(in Chinese).
- [8] 黄洋, 黄海立, 吕广煊, 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.
- Huang Y, Huang H L, Lü 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(in Chinese).
- [9] 栗志民, 刘志刚, 姚茹, 等. 温度和盐度对皱肋文蛤幼贝存活与生长的影响[J]. 生态学报, 2010, 30(13): 3406-3413.
- Li Z M, Liu Z G, Yao R, *et al.* Effect of temperature and salinity on the survival and growth of *Meretrix lyrata* juveniles[J]. Acta Ecologica Sinica, 2010, 30(13): 3406-3413(in Chinese).
- [10] 柴学军, 孙敏, 许源剑. 温度和盐度对日本黄姑鱼胚胎发育的影响[J]. 南方水产科学, 2011, 7(5): 43-49.
- Chai X J, Sun M, Xu Y J. Effects of temperature and salinity on embryonic development of *Nibea japonica*[J]. South China Fisheries Science, 2011, 7(5): 43-49(in Chinese).
- [11] 聂宗庆, 王素平. 鲍养殖实用技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000: 57-62.
- Nie Z Q, Wang S P. Practical Technology of Abalone[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000: 57-62(in Chinese).
- [12] Peehenik A J. Reproduction of Marine Invertebrates[M]. New York: Academic Press, 1987: 551-608.
- [13] 阎希柱, 王桂忠, 李少菁. 盐度对九孔鲍能量收支的影响[J]. 生态学杂志, 2009, 28(8): 1520-1524.
- Yan X Z, Wang G Z, Li S J. Effects of water salinity on energy budget of *Haliotis diversicolor aquatilis*[J]. Chinese Journal of Ecology, 2009, 28(8): 1520-1524(in Chinese).
- [14] 林伟, 杨治国. 盐度对九孔鲍胚胎发育及幼体附着率的影响[J]. 现代渔业信息, 2009, 24(11): 21-22, 27.
- Lin W, Yang Z G. Effects of salinity on embryonic development and larva settlement of *Haliotis diversicolor supertexta*[J]. Modern Fisheries Information, 2009, 24(11): 21-22, 27(in Chinese).
- [15] Peterait C, Hinrichsen H H, Voss R, *et al.* The influence of different salinity conditions on egg buoyancy and development and yolk sac larval survival and morphometric traits of Baltic Sea sprat (*Sprattus sprattus balticus* Schneider)[J]. Scientia Marina, 2009, 73(Suppl.1): 59-72.
- [16] 强俊, 徐跑, 何杰, 等. 温度与盐度对吉富品系尼罗罗非鱼仔鱼生长与存活的联合影响[J]. 中国水产科学, 2011, 18(6): 1299-1307.

- Qiang J, Xu P, He J, *et al.* Combined effects of temperature and salinity on growth and survival of (GIFT) Nile tilapia larvae (*Oreochromis niloticus*)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 18(6): 1299-1307(in Chinese).
- [17] 梁玉波, 张福绥. 温度、盐度对栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)胚胎和幼虫的影响[J]. 海洋与湖沼, 2008, 39(4): 334-340.
- Liang Y B, Zhang F S. Effects of temperature/salinity on development of embryos and larvae of scallop *Chlamys farreri*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2008, 39(4): 334-340(in Chinese).
- [18] Laird P W. The power and the promise of DNA methylation markers[J]. Nature Reviews Cancer, 2003, 3(4): 253-266.
- [19] 朱华平, 卢迈新, 黄樟翰, 等. 低温对罗非鱼基因组 DNA 甲基化的影响[J]. 水产学报, 2013, 37(10): 1460-1467.
- Zhu H P, Lu M X, Huang Z H, *et al.* Effect of low temperature on genomic DNA methylation in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(10): 1460-1467(in Chinese).
- [20] 郭予琦, 田曾元, 闫道良, 等. 海滨锦葵早期盐胁迫应答基因表达[J]. 武汉大学学报(理学版), 2009, 55(3): 340-347.
- Guo Y Q, Tian Z Y, Yan D L, *et al.* Gene expression of *Kosteletzkya virginica* in response to salt stress at early stage[J]. Journal of Wuhan University (Natural Science Edition), 2009, 55(3): 340-347(in Chinese).

Effects of temperature and salinity on embryonic and larval development of *Haliotis ovina*

DING Jingjing, HU Yaqiang, HUANG Bo*, ZHANG Yidan,
YANG Xiangqin, YUAN Chao, YU Xiaopeng
(College of Oceanography, Hainan University, Haikou 570228, China)

Abstract: In order to investigate the effect of temperature and salinity on *Haliotis ovina* embryonic and larval development in Wenchang Hainan during November to December, 2013, we used the artificial domestication of wild *H. ovina* as experimental material, and single or double factor combination method with the temperature and salinity to design the experiment. The results showed that: the hatching rate and the survival rate of *H. ovina* were significantly affected by temperature and salinity. When the temperature was 28 °C, the embryonic development time was the shortest and the hatching rate was the highest. When the temperature was 26 °C, the larval development time was the shortest and the survival rate was the highest. The range of suitable temperature for embryonic development was 24–28 °C, and the optimal temperature was 26–28 °C. The range of suitable temperature for larval development was 26–30°C, and the optimal temperature was 26–28 °C. When the salinity was 24, the embryonic development time and the larval development time were the shortest but the hatching rate and the survival rate were the lowest. The hatching rate and the survival rate were the highest at 30 and 32, respectively. The range of suitable salinity for embryonic development and larval development was 28–32, and the optimal salinity was 30–32. There was no significant effect of temperature and salinity interaction experiments on the hatching rate, but there was significant effect on the survival rate. Based on the response surface model, the hatching rate and the survival rate reached the maximum (95.32%, 81.20%) when the 2-factor combination was 24.61 °C and 32, with the desirability value being 0.848. The studies indicated that the *H. ovina* embryonic development and larval development had different sensitivity to different temperature and salinity, The high temperature and high salinity were better tolerated than the low temperature and low salinity.

Key words: *Haliotis ovina*; temperature; salinity; hatching rate; survival rate; response surface

Corresponding author: HUANG Bo. E-mail: huangbohbo1@163.com

Funding projects: National High Technology Research and Development Program of China (2012AA10A412-8); Global Environment Facility Foundation (RITFKYXY2015-86); The State Oceanic Administration Public Welfare Project (201105008-7); Traditional Chinese Medicine Research Project (201207002-03); Key Research and Development Projects of Hainan Province (SQ2016XDNY0199); Midwestern construction projects in Hainan University (ZXBJH-XK006)