

ICS 65.150
CCS B50

DB46

海 南 省 地 方 标 准

DB 46/T 512—2020

合浦珠母贝人工繁育技术规程

Guidelines for Pinctada fucata artificial breeding and seedling technique

2020 - 11 - 16 发布

2020 - 12 - 15 实施

海南省市场监督管理局 发布

前 言

本文件按 GB/T 1.1-2020 给出的规则起草。

本文件由原海南省海洋与渔业厅提出，由海南省农业农村厅归口。

本文件起草单位：中国水产科学研究院南海水产研究所热带水产研究开发中心、中国水产科学研究院南海水产研究所、三亚热带水产研究院。

本文件主要起草人：陈明强、李有宁、王雨、邓正华、于刚、陈旭、吴开畅、赵旺、魏海军、方伟。

合浦珠母贝人工繁育技术规程

1 范围

本文件规定了合浦珠母贝（*Pinctada fucata* Gould）人工繁育环境条件、亲贝、饵料培养、繁育、贝苗及运输等要求。

本文件适用于合浦珠母贝的人工繁育技术。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中，注日期的引用文件，仅该日期对应的版本适用于本文件。不注日期的引用文件，其最新版本（包括所有的修改单）适用于本文件。

- GB 11607 渔业水质标准
- NY 5052 无公害食品 海水养殖用水水质
- NY 5362 无公害食品 海水养殖产地环境条件
- SC/T 2072 马氏珠母贝 亲贝和苗种
- SC/T 9103 海水养殖水排放要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

合浦珠母贝 *Pinctada fucata*

合浦珠母贝又称马氏珠母贝（*Pinctada martensii* Dunker），在动物分类学地位上属于软体动物门（Mollusca）、瓣鳃纲（Lamellibranchia）、翼形亚纲（Pterimorphia）、珍珠贝目（Pterioida）、珍珠贝科（Pteriidae）、珠母贝属（*Pinctada*），属于暖水性贝类，分布于热带、亚热带的太平洋和印度洋沿岸，我国主要分布于海南、广东、广西及台湾等省沿海一带海域，是海水珍珠贝类中培育珍珠的主要贝种。

3.2

亲贝 Brood stocks

天然海区生长或人工养殖的成贝壳长 ≥ 6 cm 达到性腺成熟的个体。

3.3

壳长 Shell length

壳前端至壳后端的最大直线距离。

3.4

壳高 Shell height

壳顶至腹缘的最大距离。

3.5

D型幼虫 D type larva

又称初期面盘幼虫或直线铰合幼虫，由壳腺分泌形成的两片贝壳包裹了全身，侧面观如英文字母D。

3.6

壳顶幼虫 Shell top larva

D型幼虫经过一段时间的发育，铰合线开始向背部隆起，形成壳顶的幼虫。

3.7

眼点幼虫 Eye point larva

在壳顶幼虫后期，幼虫足的基部出现的一对黑褐色腺体的眼点。

3.8

稚贝 Juvenile shell fish

幼虫向幼贝过渡的一个发育阶段，主要特征是面盘完全退化，钙质的贝壳形成，用鳃呼吸，足部发达，营附着生活。

3.9

规格合格率 Specification Qualification Rate

达到规格的苗种数量占苗种总数的百分比。

4 环境条件

4.1 育苗场环境

育苗场应选择在避风防潮条件好，周边无工业和生活污染源，取水方便、电力保证、交通便利等沿海地方建造。海水养殖底质应符合 NY 5362 的规定。

4.2 水质要求

水质符合 GB 11607 、NY 5052 的规定，苗种繁育水环境要求见表 1。

表 1 苗种繁育水环境要求

项目	水温 (℃)	盐度 (‰)	溶解氧 (mg/L)	pH	光照强度 (Lx)
亲贝培育	25~29	25~35	≥5	7.8~8.5	3000~5000
幼虫培育	25~29	25~35	≥5	7.8~8.5	300~500

表 1 (续)

项目	水温 (°C)	盐度 (‰)	溶解氧 (mg/L)	pH	光照强度 (Lx)
稚贝培育	25~29	25~34	≥5	7.5~8.5	300~500
苗种培育	25~29	24~35	≥5	7.5~8.5	500~1000

4.3 育苗设施

4.3.1 育苗场设施

育苗场面积为 6 亩以上，配备育苗室、沉淀池、过滤池、贮水池、育苗池、供水系统、饵料培养设备、采苗器等。

4.3.2 育苗室

包括亲贝蓄养池、孵化池和育苗池，形状为方形或长方形，池的上方设进水口，池底部设排水口，配备充气、增氧系统。育苗室设施要求见表 2。

表 2 育苗室设施要求

项目	体积 (m ³ /ind)	水深 (m)
蓄养池	1~3	1.0~1.5
孵化池	1~3	1.0~1.5
育苗池	10~30	1.0~1.5

4.3.3 沉淀池

沉淀池的体积为孵化池和育苗池体积的3倍及以上。

4.3.4 过滤池

过滤池形状为方形或长方形，池内铺设有碎石和砂子等过滤材料，具体要求见表 3。

表 3 过滤池的材料要求

层次	材料	孔径大小 (mm)	厚度 (cm)
1	细砂	≤0.1	80~100
2	筛绢网布	0.1	0.1~0.2
3	粗砂	2~3	20~40
4	筛绢网布	1	0.2~0.3
5	碎石	15~20	10~20
6	筛绢网布	2	0.2~0.3
7	筛板	20~25	5~8

4.3.5 贮水池

位置高于育苗池，形状为方形或长方形，建设容积是孵化池和育苗池体积的2倍及以上。

4.3.6 附属设备

包括抽水泵、发电机组、控温设备和水管等。水管选用塑料管或PVC管为宜，忌用金属的水管。

4.3.7 饵料培养设施及设备

包括藻种培养室、室内外培养池等。藻种的培养室要求通风条件好，光线充足，温度可控性好；室内外培养设施有水泥池、玻璃钢桶、塑料桶、专用培养塑料袋等，饵料培养池面积为育苗池总面积的50%以上。室内设备应有常用的培养仪器、显微镜和解剖镜等。

5 亲贝

5.1 亲贝来源

采捕自然海区的野生亲贝或采用原（良）种场选育的亲贝。

5.2 亲贝质量要求

亲贝质量应符合 SC/T 2072 的要求。

5.3 亲贝培育

5.3.1 海区培育

采用直径35 cm~40 cm的锥形笼或双圈笼，以25 只/笼装笼吊养在水深1.5 m~2.0 m的海区养殖培育，亲贝应符合SC/T 2072要求。

5.3.2 室内培育

在室内蓄养池培育，以20 只/笼吊养水深60 cm~70 cm，离池底10 cm~15 cm，放养密度为每立方水体放养150 只。投喂饵料以扁藻为主，金藻及硅藻为辅，日投饵量为 5×10^4 cell/mL~ 6×10^4 cell/mL，每2 d洗池与换水一次，连续充气。水质应符合GB 11607 、NY 5052的要求。

6 饵料培养

6.1 主要种类

等鞭金藻、叉鞭金藻、绿色巴夫藻、扁藻及小球藻等单细胞藻类。

6.2 藻种保存

藻种宜放在试管或三角烧瓶中，置于光照培养箱内保存，光照强度为5000 Lx~10000 Lx。

6.3 设施、设备消毒

所有需要的设施、设备中的容器、工具等都要经过消毒，消毒方法采用 5 mg/L 高锰酸钾水溶液浸泡 5 min，再用经臭氧处理的消毒海水冲洗 2~3 次；或用 100 mg/L~300 mg/L 漂白粉（含有效氯 25%~35%）水溶液浸泡 30 min，再用经臭氧处理的消毒海水冲洗 3~4 次。

6.4 培养液的配制

根据保存的藻类选择适宜的培养液，主要藻类的培养液配方见表 4。

表 4 金藻与扁藻常用培养液配方

金藻常用培养液配方			扁藻常用培养液配方		
成分	单位	含量	成分	单位	含量
NaNO ₃	g	0.06	NaNO ₃	g	0.05
K ₂ HPO ₄	g	0.004	KH ₂ PO ₄	g	0.005
FeC ₆ H ₅ O ₇	mg	0.5	FeC ₆ H ₅ O ₇ (1%溶液)	mL	0.2
维生素 B ₁	g	0.1~0.5	维生素 B ₁	mg	200
维生素 B ₁₂	mg	0.5~1.5	维生素 B ₁₂	μg	200
NaHCO ₃	g	1	—	—	—
pH		7.8~8.4	pH		7.5~8.5
海水	mL	1000	海水	mL	1000

注：表中培养液配方适用于其它单细胞藻类培养的参考值。

6.5 接种

接种前要对藻种进行检查，方法是用吸管吸取 1 滴藻种于载玻片上，放在显微镜下观察，其藻体健壮、活力强、无病者移入培养液中培养，培养液使用见表 4。

扁藻的藻种浓度为 3×10^5 cell/mL~ 4×10^5 cell/mL，一、二级培养的比例为 1:2~1:5，生产性培养 1:5~1:20。金藻的藻种浓度为 2.5×10^6 cell/mL 以上，一、二级培养的比例为 1:3~1:5。

单细胞藻类经过 7 d 左右的一级培养可转入二级培养，生产性培养 5 d~7 d 可用于饵料投喂。

6.6 一级培养

一级培养在 500 mL~3000 mL 三角烧瓶中进行。三角烧瓶应经 120 °C 以上高温消毒 30 min，培养液和扩种用海水应煮沸消毒。

6.7 二级培养

二级培养在容积为 50 L~100 L 的白色塑料桶或尼龙袋中进行。培养用海水经次氯酸钠溶液（含有效氯 8%） 150 mL/m^3 ~ 200 mL/m^3 消毒，10 h~12 h 后，用硫代硫酸钠（Na₂S₂O₃）约 35 g/m^3 中和。

6.8 生产性培养

生产性培养在面积为 20 m^2 ~ 40 m^2 的饵料培养池中进行，蓄水高度为 80 cm~100 cm。营养盐可采用化学纯或工业纯级别。氮肥可选用尿素（CON₂H₄）或硝酸钠（NaNO₃），使用量分别为 50 g/m^3 或 44 g/m^3 ；磷肥选用磷酸二氢钾（KH₂PO₄），用量为 4.4 g/m^3 。

6.9 日常管理

每天用显微镜对藻类生长情况观察与检查，检查培养液和藻类的颜色变化情况、有无沉淀、附壁现象及病虫害污染等，发现藻类出现颜色异常、混浊、沉淀、水表面出现菌膜，表明被污染或死亡，应及时排放处理。

接种、一级培养阶段，每天上、下午要摇动三角烧瓶 1 次；二级培养、生产性培养阶段要保障昼夜不停地充气。阴天与雨天光照不足时，要用日光灯照明调节光照，光照强度为 2000 Lx~6000 Lx，并做好防止雨水及灰尘进入藻池中；当 pH 值变化升高或降低时，可用 1N 的 HCL 或 NaOH 来调节。

7 人工繁育

7.1 准备工作

繁育前对所有要用的水池进行消毒处理与清洗干净。采用 10 mg/L 高锰酸钾溶液浸泡水池或淋洒池壁几遍，或用 100 mg/L~300 mg/L 漂白粉溶液浸泡水池或淋洒池壁，30 min 后再用过滤海水冲洗干净。

7.2 人工授精

7.2.1 采用诱导法人工授精

人工诱导催产方法包括阴干刺激法和变温刺激法，促使亲贝排放精卵而受精；

阴干刺激法：挑选雄、雌贝清洗干净，雄雌比例为 1:3 或 1:4，置于阴凉处阴干 1 h~2 h，然后放入装有过滤海水的孵化池中，受刺激的亲贝即能排精产卵而受精，海水温度为 25 °C~29 °C。

变温刺激法：通过对海水温度进行升温和降温，每次升降水温温差为 2 °C~3 °C，以刺激亲贝排精和放卵而受精。如在水温 24 °C 时，升温 2 °C~3 °C，处理 30 min，再移回产卵池中，1 h 后亲贝自然排放精卵；在亲贝培育的水温 25 °C~29 °C 时，升温 2 °C~3 °C 并保持 0.5 h，然后换入海水，接着再重复一次，以刺激亲贝排精和放卵而受精。

7.2.2 采用解剖法人工授精

挑选成熟的雌贝和雄贝，用解剖刀切断闭壳肌，使生殖腺裸露，用消毒脱脂药棉擦去体液，然后用消毒过的吸管刺穿生殖腺表皮组织抽取精、卵，分别置于盛有少量过滤海水的烧杯中。先把卵液倒入配好氨浓度为 0.05‰~0.06‰的海水中，用玻璃棒搅动，5 min~6 min 后倒入精液，再用玻璃棒轻轻搅动。20 min~30 min 后镜检，如卵子极体出现，表明已受精，即可换过滤海水。30 min~40 min 后再换水 1 次~2 次。

7.2.3 胚胎发育

在水温 25 °C~29 °C 的条件下，合浦珠母贝胚胎发育过程见附录 A。

7.3 幼虫培育

7.3.1 培育密度

浮游幼虫进入D型幼虫期，计算幼虫数量，按培养水体 1 个/mL~3 个/mL 的密度移入育苗池中培养，移入育苗池前应预先灌注 1/3 左右的过滤海水，温差不超过 2 ℃。

7.3.2 加水

幼虫移入育苗池后的1 d~3 d，每天加水为总容量的1/4左右，以水池的预定水量为止。注意进水温与育苗池水温的温差变化，不能超过3 ℃。

7.3.3 换水

第4 d~5 d开始换水，每天排水1/3。换水时先排水后进水，也可进、排水同时进行，要连续充气。9:00以前完成换水。随着幼虫的生长换水量也逐渐增加，从初期换水量约1/3到壳顶中后期增至1/2，变态期达2/3以上。当幼虫附着稳定后可改用经沉淀的海水进行培育。

7.3.4 饵料投喂

幼虫移入育苗池后第 2 d 开始投喂饵料，日投饵量见表 5。

表 5 幼虫不同发育阶段日投饵量

发育阶段	单位	金藻	扁藻
D形幼虫期	cell/mL	200~500	300~500
壳顶幼虫初期	cell/mL	600~1000	500~1000
壳顶幼虫中期	cell/mL	600~1000	1000~1500
壳顶幼虫后期	cell/mL	600~1000	1500~2000
稚贝期	cell/mL	2000~3000	3000~4000

注：表内数字为参考用量，在实际操作中，可根据具体情况进行调整。

7.3.5 采苗器

7.3.5.1 采苗器种类

采苗器的种类有聚氯乙烯塑料板（规格 30 cm×30 cm，厚 0.6 mm）、遮阳网布（规格 30 cm×30 cm，或以育苗池大小而定）和聚乙烯胶丝网片（40 mm/条）。可以选用以上一种或几种采苗器同时使用。

7.3.5.2 采苗器投放

采苗器投放前要清洗干净，用 5 mg/L 高锰酸钾溶液浸泡 30 min 消毒，再用过滤海水冲洗干净。当眼点幼虫总量达 20%左右时，在换水前投放采苗器或边换水投放。先投放池底，2 d~3 d 后在水池中间吊放，分批进行。采苗器投放后，要增加充气、换水量和投饵量及检查附着量。幼虫量密度大于 2×10^6 ind/m³ 时，应迁移部分采苗器到其它育苗池疏养，促使幼虫生长。

7.3.6 日常管理

育苗期间管理主要检查幼虫生长发育与活动情况、幼虫密度、有无出现脱苗死亡情况、投饵与摄食情况及敌害生物等；暴风雨天气，可停止换水，保障昼夜不停地充气增氧；幼虫生长出现突发性的下沉，可采取每天换水2次或5 d~7 d倒池洗苗并换移育苗池。

7.4 稚贝培育

7.4.1 培育密度

稚贝培育密度为 1×10^6 ind/m²，随着个体的生长而逐渐降低，7 d~10 d疏减培养密度50%。

7.4.2 换水

每天换水量为3/4或全部，换水时排水和加水同时进行，保持池水平衡，并连续充气。

7.4.3 投饵

每天投饵2次~3次，换水后1 h内进行，日投饵量见表5。

7.4.4 日常管理

稚贝培育管理除做好换水工作外，还要检查生长发育情况、投饵与摄食情况等，注意充气增氧；暴雨天气，可停止换水，保障昼夜不停地充气增氧。

7.5 尾水排放

尾水排放按SC/T 9103的规定执行。

8 贝苗

8.1 规格与质量

贝苗出苗时壳长、壳高与规格合格率，应符合SC/T 2072的规定要求。

8.2 贝苗采收

塑料板和池壁及池底的贝苗，可用海绵轻轻抹下；遮阳网布和胶丝网片上附着的贝苗，可用薄竹片或刀片刮下或直接装入贝苗笼内移往海区养殖。

9 运输

9.1 贝苗充氧运输

用双层聚乙烯薄膜袋装入四分之一过滤海水，每袋放入贝苗2.0万只~2.5万只，然后充氧打包装。第一次充氧后压出气体，第二次充氧后扎紧袋口，装入泡沫箱中。泡沫箱内加冰袋或用封口袋装入冰块（冰袋及冰块用旧报纸包裹），再用胶带封箱。温度23℃~25℃，运输时间10 h以内，途中防止日晒。

9.2 贝苗水车充氧运输

用活水车充氧运输。将贝苗装入筛绢网袋中，浸泡在装有海水的水柜中运输。水温 23 ℃～26 ℃，运输时间宜在 12 h 以内，放养地的水温温差 ≤ 3 ℃。途中防止日晒，保持温度在安全范围内。水质应符合 GB 11607 和 NY 5052 要求。

附 录 A
(资料性附录)
合浦珠母贝胚胎发育过程

表A.1给出了合浦珠母贝胚胎发育的过程。

表A.1 合浦珠母贝胚胎发育的过程

发育期	发育时间(受精后时间)	壳高 x 壳长(微米)
第一极体出现	25 分钟	48×48
4 细胞期	1 小时 20 分	54×48
8 细胞期	1 小时 30 分	54×50
16 细胞期	2 小时 10 分	52×50
桑椹期	3 小时 8 分	48×52
囊胚期	4 小时 10 分	50×57
担轮幼虫期	4 小时 50 分	48×66
D 型幼虫期	21 小时	64×72
壳顶初期	8 天	97×102
壳顶期	17 天	204×210
眼点期	21 天	212×220
变态期	24 天	221×232
附着贝苗	26~27 天	238×246

注：合浦珠母贝胚胎发育过程（水温25℃-29℃）