

# 底物中钙赋存形态对太平洋牡蛎 (*Crassostrea gigas*)幼虫附着的诱导效应\*

范瑞良<sup>1,2</sup> 晁敏<sup>1</sup> 任国平<sup>3</sup> 全为民<sup>1</sup>

(1. 中国水产科学研究院东海水产研究所 农业部东海及远洋渔业资源开发利用重点实验室 上海 200090;  
2. 上海海洋大学海洋科学学院 上海 201306; 3. 山东省莱州市国燕水产育苗场 莱州 261400)

**摘要** 为探讨底物中钙赋存形态对牡蛎幼虫附着的诱导效应,本研究设计 3 因子随机区组实验,检验实验底物钙含量、钙赋存形态及海水中牡蛎幼虫丰度对实验底物上太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)稚贝附着效果(密度和壳高)的影响。结果表明,在 3 个因子中,实验底物钙含量对附着稚贝密度和壳高的影响不显著( $P>0.05$ ),而其它 2 个因子(钙赋存形态和海水中牡蛎幼虫丰度)均显著影响着实验底物上附着牡蛎稚贝的密度和壳高( $P<0.05$ )。在相同的牡蛎浮游幼虫丰度下,3 种钙形态底物对牡蛎幼虫附着的诱导能力大小顺序为:有机钙>碳酸钙=硫酸钙( $P<0.05$ );壳高的结果却恰恰相反。在同样的钙形态底物中,高牡蛎幼虫丰度下牡蛎稚贝附着量均显著高于低幼虫丰度的处理组( $P<0.05$ )。

**关键词** 牡蛎礁;生态恢复;贝类;丰度;壳高

中图分类号 S968.3 doi: 10.11693/hyh20160500100

牡蛎礁是一种特殊的海洋生境,具有净化水体(全为民等, 2007)、维持生物多样性(全为民等, 2012)、提供鱼类栖息地(Coen *et al.*, 1999; Quan *et al.*, 2009, 2012, 2013)、防止海岸线侵蚀(Brumbaugh *et al.*, 2009)和碳汇(沈新强等, 2011)等生态功能。由于过度捕捞、环境污染和病害浸染等原因,过去 100 多年来全球牡蛎礁分布面积约下降 85% (Jackson *et al.*, 2001; Beck *et al.*, 2011)。为恢复牡蛎礁生境及其提供的生态服务价值,自从 20 世纪 90 年代开始,美国在大西洋及墨西哥湾沿岸陆续开展了一系列的牡蛎礁恢复项目(Mann *et al.*, 2007; Brumbaugh *et al.*, 2009)。实践证明,人工恢复的牡蛎礁发挥了自然牡蛎礁同等的生态功能(Luckenbach *et al.*, 2003; Rodney *et al.*, 2006; Schulte *et al.*, 2009)。牡蛎是生长于硬底物上的双壳类软体动物,建造适合于牡蛎幼虫附着的底物(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,但由于牡蛎壳数量不足,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(Brumbaugh *et al.*, 2009)。

底物的化学元素组成显著影响着牡蛎幼虫的附着及变态发育,特别是底物中的钙元素是牡蛎幼虫附着的主要诱因之一,如自然的含钙底物(石灰石、贻贝壳、蛤蜊壳和石膏)上附着牡蛎稚贝数量显著高于其它底物(如砂石、轮胎、玻璃纤维和不锈钢等)。如 Tamburri 等(2008)发现:相对于人工底物(玻璃纤维、PVC 和不锈钢),近江牡蛎(*Crassostrea ariakensis*)的幼虫偏好附着于自然底物(贝壳)上。Soniati 等(2005)通过野外实验发现:在相同的环境条件下,石灰石(主要化学成分为  $\text{CaCO}_3$ )上附着的牡蛎稚贝数量显著高于砂石(主要化学成分为  $\text{SiO}_2$ )。Haywood 等(1995)发现:石灰石、文蛤壳和石膏(主要化学成分为  $\text{CaSO}_4$ )等底物对牡蛎幼虫附着的诱导效果显著高于碎石砂砾、废弃路基碎料和砂石。然而至目前为止,国际上很少有研究比较不同钙赋存形态对牡蛎幼虫附着的

\* 中央级公益性科研院所(东海水产研究所)基本业务费项目, 2014G01 号, 2015M01 号; 国家公益性行业(农业)科研专项经费项目, 201303047 号。范瑞良, E-mail: 772322682@qq.com

通讯作者: 全为民, 研究员, E-mail: quanweim@163.com

收稿日期: 2016-05-05, 收修改稿日期: 2016-08-19

诱导效应。

基于以往的研究结果,本研究提出如下假设:碳酸钙对于牡蛎幼虫附着的诱导能力大于硫酸钙和有机钙。据此,作者通过设计室内实验检验 3 种钙赋存形态(硫酸钙、有机钙和碳酸钙)实验底物上牡蛎幼虫附着效果,以此探明牡蛎幼虫对不同赋存形态钙的喜好。本研究对于牡蛎礁恢复中替代底物材料的筛选、以及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

本实验于 2015 年 5 月 24 日—7 月 2 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。实验生物为太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)的幼

虫,自受精卵开始培育 20d 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。

### 1.2 实验设计

本实验采用三因素(海水中牡蛎幼虫丰度、实验底物中钙赋存形态、实验底物中钙含量)随机区组设计,实验设定 2 个牡蛎幼虫丰度处理组(1 和 7—8 ind/mL), 2 个钙含量处理组和 3 个钙赋存形态处理组(表 1), 各种底物类型互为对照, 每个处理组设置 10 个重复, 总计 12 个处理组合和 120 个实验底物。

实验底物为钙材料、河沙和水泥混合的混凝土模块(10cm 长×10cm 宽×3cm 厚)。其中,硫酸钙为石膏粉,有机钙为牛骨粉,碳酸钙为钙粉。每种原料经粉碎后过 80 目网筛后备用。

表 1 实验底物组成成分  
Tab.1 The chemical compositions of the experimental substrates

钙赋存形态	钙含量	重量比(%)		
		钙材料	河沙	水泥
硫酸钙	低含量组	10	74	16
	高含量组	60	24	16
有机钙	低含量组	10	74	16
	高含量组	60	24	16
碳酸钙	低含量组	10	74	16
	高含量组	60	24	16

### 1.3 实验方法

在育苗车间准备高低幼虫丰度附苗池各 1 个, 每个附苗池 6 根竹竿, 随机选取 10 个实验底物吊挂于竹竿上, 使实验底物位于水面下 50cm 处, 相邻实验底物相距 15cm, 相邻竹杆间相距 20cm。实验期间, 实验池中的水温约为 24、海水盐度约为 27, 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 8h, 强度为普通日光灯的照明强度, 幼虫附着期间充气培养等条件均与育苗车间保持一致。

3d 后, 将两个附苗池中实验底物移置养殖池中暂养, 直至附着稚贝清晰可见为止(约半个月), 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 Photoshop7.0 软件测量壳高。自牡蛎受精卵至实验结束共持续 40d 左右, 实验期间, 每天不定期观察幼虫生长状况。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数量换算成稚贝的密度, 统计不同实验底物上附着牡蛎稚贝的密度(个/cm<sup>2</sup>)和平均壳高(mm)。实验数据经过以 10 为底的对数函数处理后, 采用 SPSS 19.0 统计软件进行 3 因子方差分析, 使用 LSD 进行后检验,  $P < 0.05$  时差异显著, 采用 SigmaPlot 10.0 软件绘制折线图。

## 2 结果

### 2.1 三因子对附着牡蛎稚贝密度和壳高的影响

3 因子方差分析结果表明(表 2, 表 3): 3 因子交互作用、2 因子交互作用和底物钙含量对附着稚贝密度和壳高的影响均不显著(表 2, 表 3,  $P > 0.05$ ), 而底物钙形态和海水中牡蛎幼虫丰度均显著影响着实验底物上附着牡蛎稚贝的密度和壳高(表 2, 表 3,  $P < 0.05$ )。

### 2.2 钙赋存形态及浮游幼虫丰度对附着稚贝密度的影响

钙赋存形态和幼虫丰度对实验底物附着稚贝密

表 2 实验底物上附着牡蛎稚贝密度的 3 因子方差分析结果

Tab.2 3-way ANOVA results of density of oyster spat settled on substrates

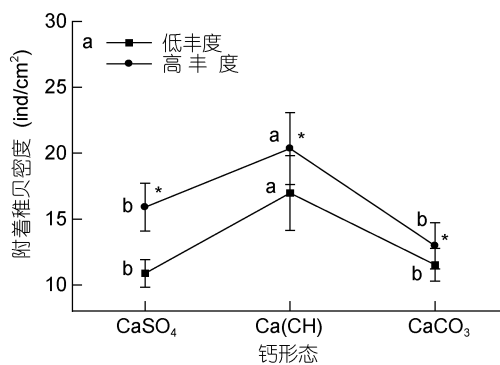
来源	SS	df	F	P
钙含量	0.045	1	1.510	0.222
钙形态	0.315	2	10.517	0.000
幼虫丰度	0.193	1	6.468	0.012
钙含量×钙形态	0.024	2	0.819	0.444
钙含量×幼虫丰度	0.002	1	0.052	0.820
钙形态×幼虫丰度	0.014	2	0.465	0.630
钙含量×钙形态×幼虫丰度	0.020	2	0.661	0.518
误差	0.030	105		
总计		117		

表 3 实验底物上附着牡蛎稚贝壳高的 3 因子方差分析结果

Tab.3 3-way ANOVA results of shell height of oyster spat settled on substrates

来源	SS	df	F	P
钙含量	0.006	1	1.416	0.237
钙形态	0.031	2	6.947	0.002
幼虫丰度	0.076	1	17.109	0.000
钙含量×钙形态	0.008	2	1.749	0.180
钙含量×幼虫丰度	0.005	1	1.086	0.300
钙形态×幼虫丰度	0.010	2	2.178	0.119
钙含量×钙形态×幼虫丰度	0.004	2	0.855	0.429
误差	0.004	88		
总计		100		

度的影响如图 1 所示, 在相同的浮游牡蛎幼虫丰度情况下, 有机钙底物对牡蛎幼虫附着的诱导效果明显好于碳酸钙与硫酸钙底物(图 1,  $P < 0.05$ ), 后两者间差



异不显著(图 1,  $P > 0.05$ )。

在低钙含量组中, 高浮游幼虫丰度下实验底物上牡蛎稚贝密度均显著高于低幼虫丰度处理组(表 4, 图 1a,  $P < 0.05$ ), 但在高钙含量中, 两个幼虫丰度处理组间差异不显著(表 5, 图 1b,  $P > 0.05$ )。

表 4 低钙含量下, 钙赋存形态及浮游幼虫丰度对实验底物附着稚贝密度的影响

Tab.4 Effect of calcium form and planktic larvae abundance on spat density in substrate under low calcium concentration

来源	SS	df	F	P
钙形态	0.157	2	5.168	0.009
幼虫丰度	0.116	1	3.814	0.056
钙形态×幼虫丰度	0.017	2	0.559	0.575
误差	0.030	53		
总计		59		

表 5 高钙含量下, 钙赋存形态及浮游幼虫丰度对实验底物附着稚贝密度的影响

Tab.5 Effect of calcium form and planktic larvae abundance on spat density in substrate under high calcium concentration

来源	SS	df	F	P
钙形态	0.182	2	6.176	0.004
幼虫丰度	0.079	1	2.700	0.106
钙形态×幼虫丰度	0.016	2	0.558	0.576
误差	0.029	52		
总计		58		

### 2.3 钙赋存形态及浮游幼虫丰度对附着稚贝壳高的影响

钙赋存形态和幼虫丰度对实验底物上附着稚贝壳高的影响如图 2 所示。其结果与密度恰好相反: 在

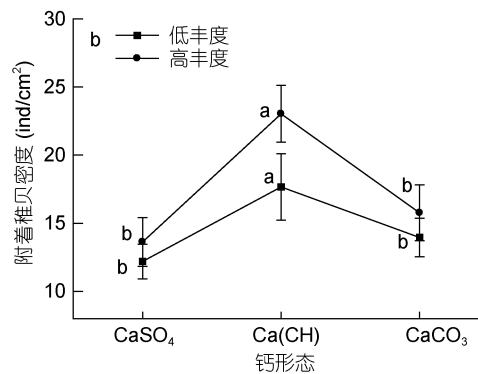


图 1 低钙(a)和高钙(b)含量下, 钙赋存形态及浮游幼虫丰度对实验底物上附着稚贝密度的影响( $n=10$ )

Fig.1 Effect of calcium form and planktic larvae abundance on spat density in the experimental substrates under low (a) and high (b) calcium concentrations ( $n=10$ )

注: 不同字母显示在不同钙形态底物间有显著性差异( $P < 0.05$ ); \*表示在不同浮游幼虫丰度间有差异性显著( $P < 0.05$ )

低钙含量下, 碳酸钙与硫酸钙实验底物上附着稚贝的壳高相似, 没有显著性差异(图 2a,  $P>0.05$ ), 然而, 两个处理组稚贝的平均壳高均显著大于有机钙实验底物(图 2a,  $P<0.05$ ), 且钙形态和幼虫丰度之间呈现显著的互作效应(表 6,  $F=3.286$ ,  $P=0.030$ ); 在高钙含

量下, 不同钙形态底物之间稚贝壳高没有显著性差异(表 7, 图 2b,  $P>0.05$ )。

在相同钙形态底物中, 高浮游幼虫丰度实验组中附着稚贝的平均壳高均显著小于低幼虫丰度处理组(表 6, 表 7, 图 2,  $P<0.05$ )。

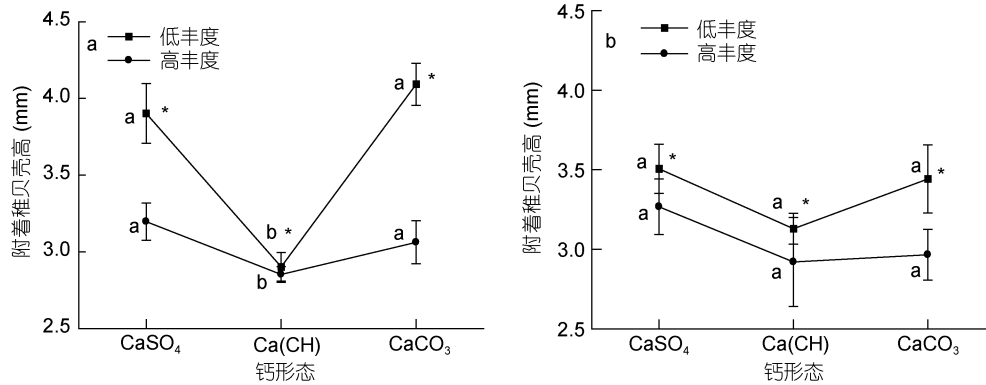


图 2 低钙(a)和高钙(b)含量下, 钙形态及浮游幼虫丰度对实验底物上附着稚贝壳高的影响

Fig2 Effect of calcium form and planktic larvae abundance on spat shell height under low (a) and high (b) calcium concentrations

表 6 低钙含量下, 钙形态及浮游幼虫丰度对实验底物附着稚贝壳高的影响

Tab.6 Effect of calcium form and planktic larvae abundance on spat shell height under low calcium concentration

来源	SS	df	F	P
钙形态	0.029	2	9.471	0.000
幼虫丰度	0.058	1	19.079	0.000
钙形态×幼虫丰度	0.012	2	3.826	0.030
误差	0.003	43		
总计		49		

表 7 高钙含量下, 钙形态及浮游幼虫丰度对实验底物附着稚贝壳高的影响

Tab.7 Effect of calcium form and planktic larvae abundance on spat shell height under high calcium concentration

来源	SS	df	F	P
钙形态	0.008	2	1.434	0.249
幼虫丰度	0.022	1	3.777	0.058
钙形态×幼虫丰度	0.001	2	0.208	0.813
误差	0.006	45		
总计		51		

### 3 讨论

#### 3.1 钙含量对牡蛎幼虫附着的诱导效应

牡蛎幼虫通常偏好附着于含钙的底物上, 本研究首次发现, 两种钙含量(高钙和低钙含量)实验底物中附着牡蛎稚贝的密度和壳高均没有显著性差异。相

当多的研究也发现(Soniat *et al*, 1991; Brumbaugh, 2000; Greene *et al*, 2005): 牡蛎壳、其它贝壳(文蛤壳)和石灰石等底物钙含量不同, 但它们对牡蛎幼虫具有相似的诱导能力。底物中钙含量与其对牡蛎幼虫附着的诱导能力之间的关系仍有待进一步研究。国内以前的研究主要探讨海水中钙浓度对贝类幼虫附着的影响。祁剑飞等(2013)发现海水中 10—25mmol/L Ca<sup>2+</sup>浓度中, 浓度为 20mmol/L 时, Ca<sup>2+</sup>对葡萄牙牡蛎幼虫附着变态的诱导效果最好。刘文彪(2006)的实验结果也表明 5—25mmol/L Ca<sup>2+</sup>浓度的海水中, Ca<sup>2+</sup>浓度为 20mmol/L 时, 西施舌幼虫附着率和变态率最高。基于以上结果, 我们推断底物中也存在一个最适的钙含量, 该浓度下的底物对牡蛎幼虫的诱导能力最大。

#### 3.2 钙赋存形态对牡蛎幼虫附着的诱导效应

本研究发现, 有机钙实验底物上附着牡蛎稚贝的密度显著高于硫酸钙与碳酸钙实验底物, 表明有机钙对牡蛎幼虫的诱导效应显著大于两种无机钙底物。有关其机制可能有两种解释: 一种为直接诱导效应, 即有机钙底物能直接促使牡蛎幼虫的附着; 另一种为间接诱导效应, 即有机钙底物更有利于底物上生物膜(biofilm)的发育, 而生物膜上的细菌群落所释放的有机化合物可加快牡蛎幼虫的附着(Lam *et al*, 2005; 柯才焕等, 2006; 杨金龙等, 2012, 2013)。目前, 很难通过实验区分这两种机制的诱导效应。本研究牡蛎幼虫附着的实验周期仅为 3 天, 而 3 天时间内生物

膜仅处于初步发育阶段, 距离其发育成为成熟的生物膜仍有待时日, 因此我们推断: 有机钙主要通过直接效应(底物化学元素组成)诱导牡蛎幼虫的附着。

碳酸钙与硫酸钙对牡蛎幼虫附着的诱导效果基本相似, 与 Haywood 等(1995)和 Soniat 等(1991)室内实验中石灰石和石膏两种实验底物对牡蛎幼虫附着诱导效应的结果一致, 却与其野外实验的结果不同, 这可能与室内实验可控性强, 而野外海域实验的盐度、温度等实验条件的不可控性有关。

### 3.3 幼虫丰度对牡蛎稚贝附着量的影响

高霄龙等(2016)发现养殖丰度为 8ind/mL 的毛蚶幼虫的附着密度显著高于丰度为 2ind/mL 的处理组。Brumbaugh(2000)发现野外实验中拉菲特河(牡蛎丰度为 328ind/m<sup>2</sup>)的附着稚贝密度(53ind/m<sup>2</sup>)高于伊丽莎白河(牡蛎丰度为 149ind/m<sup>2</sup>)附着稚贝密度(15ind/m<sup>2</sup>), 这是由于高丰度牡蛎可以提高其受精率, 增加附着牡蛎幼虫的丰度, 从而提高附着稚贝密度, 与本实验研究结果一致。因此, 海水中牡蛎幼虫丰度显著影响着底物上附着牡蛎稚贝的密度、甚至也影响着牡蛎种群的建立及礁体恢复的成功。

### 3.4 牡蛎稚贝附着量与其壳高之间的关系

本研究发现, 附着牡蛎稚贝的密度与其平均壳高之间呈现负相关。杜美荣(2009)发现底栖硅藻处理组附着基上栉孔扇贝的附着效果优于常规方法处理组, 但稚贝壳长小于常规方法处理组, 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。陈璐等(2011)对密鳞牡蛎人工繁育实验中 3ind/mL 和 4ind/mL 组附着基上稚贝的生长速度明显慢于 1ind/mL 和 2ind/mL 组的研究结果也证明了这一点。因此, 在实际的牡蛎礁恢复和牡蛎养殖当中, 需要掌握适宜的附苗量或稚贝密度, 过高的附着量会导致较高的死亡率, 最终会影响牡蛎礁的恢复效果和牡蛎养殖产量。

## 4 结论与意义

本研究结果表明, 钙赋存形态和海水中牡蛎幼虫丰度显著影响实验底物上牡蛎稚贝附着量, 其中有机钙对牡蛎幼虫附着的诱导效应明显好于碳酸钙和硫酸钙底物; 而钙含量对牡蛎幼虫的附着没有显著性影响。研究结果可为牡蛎礁恢复中的替代底物筛选以及牡蛎养殖提供理论支撑。未来需要进一步从微生物膜细菌群落结构和特征衍生物化合物的角度探讨含钙底物对牡蛎幼虫附着的诱导机制。

致谢 感谢育苗场全体工作人员在实验期间提供的帮助, 杨杰青、唐盟等在论文写作中给予的指导, 谨致谢忱。

## 参 考 文 献

- 全为民, 安传光, 马春艳等, 2012. 江苏小庙洪牡蛎礁大型底栖动物多样性及群落结构. 海洋与湖沼, 43(5): 992—1000
- 全为民, 张锦平, 平仙隐等, 2007. 巨牡蛎对长江口环境的净化功能及其生态服务价值. 应用生态学报, 18(4): 871—876
- 刘文彪, 2006. 西施舌幼虫附着变态影响因子及化学诱导. 福州: 福建师范大学硕士学位论文
- 祁剑飞, 曾志南, 宋传福等, 2013. 几种阳离子对葡萄牙牡蛎幼虫附着和变态的影响. 福建水产, 35(1): 27—31
- 杜美荣, 2009. 栉孔扇贝春苗繁育与扇贝幼虫高效附着技术的初步研究. 青岛: 中国海洋大学硕士学位论文
- 杨金龙, 王 冲, 顾忠旗等, 2012. 微生物膜对海洋无脊椎动物幼体附着变态的影响研究. 海洋科学, 36(8): 116—121
- 杨金龙, 慎慎晶, 王 冲等, 2013. 微生物膜对厚壳贻贝稚贝附着的影响. 水产学报, 37(6): 904—909
- 沈新强, 全为民, 袁 骐, 2011. 长江口牡蛎礁恢复及碳汇潜力评估. 农业环境科学学报, 30(10): 2119—2123
- 陈 璐, 李 琪, 王庆志等, 2011. 密鳞牡蛎的人工繁育. 中国海洋大学学报, 41(3): 43—46, 60
- 柯才煊, 冯丹青, 2006. 海洋底栖动物浮游幼体附着和变态的研究. 厦门大学学报(自然科学版), 45(S2): 77—82
- 高霄龙, 李 莉, 孔令锋等, 2016. 养殖密度对毛蚶幼虫生长及存活的影响. 中国水产科学, 23(1): 233—240
- Beck M W, Brumbaugh R D, Airoidi L *et al*, 2011. Oyster reefs at risk and recommendations for conservation, restoration, and management. *BioScience*, 61(2): 107—116
- Brumbaugh R D, 2000. An analysis of limestone marl as a settlement substrate for oysters in Chesapeake Bay. Report to the Virginia Marine Resources Commission. Norfolk, Virginia: Chesapeake Bay Foundation
- Brumbaugh R D, Coen L D, 2009. 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 Shellfish Res*, 28(1): 147—161
- Coen L D, Luckenbach M W, Breitberg D L, 1999. The role of oyster reefs as essential fish habitat: a review of current knowledge and some new perspectives. *Am Fish Soc Sym*, 22: 438—454
- Greene J K, Grizzle R E, 2005. Oyster (*Crassostrea virginica* Gmelin) restoration studies in the Great Bay estuary, New Hampshire. Final Report for NOAA award number: NA03NOS4200060
- Haywood III E L, Soniat T M, Broadhurst III R C, 1995. Alternatives to Clam and oyster shell as cultch for eastern oysters. In: Luckenbach M W, Mann R, Wesson J eds. *Oyster Reef Habitat Restoration: A Synopsis and synthesis of Approaches*. Gloucester Point, VA: VIMS Press, 295—304
- Jackson J B C, Kirby M X, Berger W H *et al*, 2001. Historical

- overfishing and the recent collapse of coastal ecosystems. *Science*, 293(5530): 629—637
- Luckenbach M W, Coen L D, 2003. Oyster reef habitat restoration: a review of restoration approaches and an agenda for the future. *J Shellfish Res*, 22(1): 341
- Lam C, Harder T, Qian P Y, 2005. Induction of larval settlement in the polychaete *Hydroides elegans* by extracellular polymers of benthic diatoms. *Mar Ecol Prog Ser*, 286: 145—154
- Mann R, Powell E N, 2007. Why oyster restoration goals in the Chesapeake Bay are not and probably cannot be achieved. *J Shellfish Res*, 26(4): 905—917
- Quan W M, Humphries A T, Shen X Q *et al*, 2012. Oyster and associated benthic macrofaunal development on a created intertidal oyster (*Crassostrea ariakensis*) reef in the Yangtze River estuary, China. *J Shellfish Res*, 31(3): 599—610
- Quan W M, Zheng L, Li B J *et al*, 2013. Habitat values for artificial oyster (*Crassostrea ariakensis*) reefs compared with natural shallow-water habitats in Changjiang River estuary. *Chin J Oceanol Limnol*, 31(5): 957—969
- Quan W M, Zhu J X, Ni Y *et al*, 2009. Faunal utilization of constructed intertidal oyster (*Crassostrea rivularis*) reef in the Yangtze River estuary, China. *Ecol Eng*, 35(10): 1466—1475
- Rodney W S, Paynter K T, 2006. Comparisons of macrofaunal assemblages on restored and non-restored oyster reefs in mesohaline regions of Chesapeake Bay in Maryland. *J Exp Mar Biol Ecol*, 335(1): 39—51
- Schulte D M, Burke R P, Lipcius R N, 2009. Unprecedented restoration of a native oyster metapopulation. *Science*, 325(5944): 1124—1128
- Soniat T M, Broadhurst R C, Haywood III E L, 1991. Alternatives to clamshell as cultch for oysters, and the use of gypsum for the production of cultchless oysters. *J Shellfish Res*, 10: 405—410
- Soniat T M, Burton G M, 2005. A comparison of the effectiveness of sandstone and limestone as cultch for oysters, *Crassostrea virginica*. *J Shellfish Res*, 24(2): 483—485
- Tamburri M N, Luckenbach M W, Breitburg D L *et al*, 2008. Settlement of *Crassostrea ariakensis* larvae: effects of substrate, biofilms, sediment and adult chemical cues. *J Shellfish Res*, 27(3): 601—608

## EFFECT OF CALCIUM FORM IN SUBSTRATE AND LARVAE ABUNDANCE IN SEAWATER ON SPAT SETTLEMENT OF PACIFIC OYSTER *CRASSOSTREA GIGAS*

FAN Rui-Liang<sup>1,2</sup>, CHAO Min<sup>1</sup>, REN Guo-Ping<sup>3</sup>, QUAN Wei-Min<sup>1</sup>

(1. Ministry of Agriculture's Key Laboratory of East China Sea and Marine Fishery Resources Exploitation and Utilization, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China; 2. College of Marine Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Guoyan Breeding Farm in Laizhou City, Shandong Province, Laizhou 261400, China)

**Abstract** To understand whether calcium in different forms in substrate of artificial reefs could affect oyster spat settlement, we designed an experiment with calcium in different forms and concentrations, and oyster larvae abundances in seawater in three-factor randomized manner. The density and shell height of spats attached onto substrate were measured. Results show that calcium concentration (10%, 60%) showed no significant effect on the density and shell height ( $P > 0.05$ ). However, both calcium forms and planktic larvae abundance affected significantly the density and shell height of settled oyster spat in substrate ( $P < 0.05$ ). The order of impact of three calcium forms on the settlement was organic calcium > carbonate calcium = sulfate calcium in an identical oyster larvae abundance in seawater, while for the shell height, the order was opposite. The density of oyster spat settled was greater in high abundance of oyster larvae than in low abundance ( $P < 0.05$ ) regardless of calcium forms. Therefore, organic calcium could induce the settlement of oyster larvae significantly.

**Key words** oyster reef; restoration; shellfish; shell height; abundance