

The Combined Effects of Temperature and Salinity on Insemination Rate and Incubation Rate of *Pinctada martensii*

Shiwei Fu^{1*}, Hui Wang², Xiaozhen Sun²

¹Yunnan Academy of Fishery Sciences, Kunming

²Fisheries College, Guangdong Ocean University, Zhanjiang

Email: *fsw_03@163.com

Received: Oct. 20th, 2014; revised: Nov. 21st, 2014; accepted: Dec. 1st, 2014

Copyright © 2014 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

Abstract

The quadratic regression orthogonal combination design was used to investigate the effects of different combinations of temperature and salinity on insemination rate and incubation rate of *Pinctada martensii* (Dunker). It quantified the effect of each environmental factor, and the precise mathematical model was built. The results showed that in the process of insemination and incubation, the influence of temperature on insemination rate and incubation rate in 24 hours was greater than salinity; there was no interaction effect between the two factors ($P > 0.05$).

Keywords

Pinctada martensii (dunker), Orthogonal Combination Quadratic Regression, Environmental Factor, Insemination rate, Incubation rate.

温度和盐度对马氏珠母贝受精率和孵化率的联合效应

符世伟^{1*}, 王 辉², 孙晓真²

¹云南省渔业科学研究院, 昆明

²广东海洋大学, 水产学院, 湛江

Email: *fsw_03@163.com

*通讯作者。

收稿日期：2014年10月20日；修回日期：2014年11月21日；录用日期：2014年12月1日

摘要

采用二次回归正交组合设计，对不同温度和盐度组合中马氏珠母贝的受精率和孵化率进行了研究，量化了各环境因子对马氏珠母贝的受精率、孵化率的影响，并建立了精确的数学模型。试验结果表明：在马氏珠母贝受精和孵化过程中，温度对受精率以及24 h孵化率的影响比盐度稍大，两因子间不存在交互效应($P > 0.05$)。

关键词

马氏珠母贝，二次回归正交组合设计，环境因子，受精率，孵化率

1. 引言

马氏珠母贝(*Pinctada martensii* Dunker)又称合浦珠母贝，是目前我国人工海水珍珠育珠的主要珍珠贝，海水珍珠养殖已成为广东、广西和海南沿海部分地区的支柱产业之一。我国自1965年成功地开展马氏珠母贝的人工育苗以来，在单一环境因子及多因子对马氏珠母贝人工育苗方面有不少研究[1]-[7]。在多因子对受精、孵化及稚贝生长存活方面，喻达辉等[8]-[10]研究了海水中离子对马氏珠母贝精子激活机制和离子选择性并对马氏珠母贝精子的实验生物学进行研究；沈亦平等[11]对马氏珠母贝配子发生和受精进行了细胞学观察；朱晓闻[12]研究了温度、盐度、pH对马氏珠母贝稚贝生理学特征的联合效应；邓云翠[13]等研究了 Cd^{2+} 与 Zn^{2+} 的联合效应对马氏珠母贝受精率的影响；王辉等[14]研究了温度和盐度对马氏珠母贝精子激活率及活力的影响，但未对其受精和孵化的影响以及各环境因素之间是否存在交互作用进行进一步研究。

贝类生活与周围环境也密切相关，环境因素的优劣，能加速阻碍贝类的生长和存亡。如水温的高低不但影响了贝类幼虫的新陈代谢的强弱，还影响了饵料生物的繁殖与生长，也影响了酸碱度的变化等，这就间接地影响了贝类的生长[15]-[26]。盐度的高低则直接影响成贝的生长和幼体发育[25]-[35]。盐度不适导致幼虫死亡的主要原因是海水渗透压的改变超出了自身调节能力所致，贝类体内的组织和细胞要消耗大量的能量来调节渗透压。渗透压的改变不仅会降低动物的代谢速率，同时也会影响代谢过程的效率。

本研究通过二次回归组合正交设计，考察在不同温度和盐度下马氏珠母贝人工受精和胚胎发育的情况，并建立起对应的数学模型，研究结果将从理论上更好的指导马氏珠母贝的人工育苗。

2. 材料与方法

2.1. 实验材料

生物学材料：本试验所采用的亲贝来源于雷州市流沙镇，为同一批亲贝，在亲贝池中暂养，性腺饱满，活力较好。

实验设备：恒温加热棒、气泵、显微镜、血球计数板、胶头滴管、比重计、温度计、大烧杯、100 L白桶、海盐等。

2.2. 实验方法

2.2.1. 实验方案设计

本试验拟设定两个因子：温度和盐度，并采用二次回归组合正交设计考察对马氏贝受精率和孵化率

的影响。二次回归组合正交设计方案如表 1~表 2。

2.2.2. 实验准备

按照所设计的梯度组合，分别在 22 只 100 L 白桶中配置好相应温度和盐度的海水，投入气石充气备用。以调整好温度和盐度的海水来配置人工受精过程中活化精卵所用的氨海水，浓度为万分之 1.5，现配现用。实验分 22 个组，每组分别挑选性腺饱满的成熟雌贝 2 个和雄贝 1 个，备用。

2.2.3. 实验步骤

1) 解剖：解剖雌贝，将分离出来的性腺用双层纱布包裹住，放入盛有 500 ml 配置好温度盐度的氨海水的大烧杯中，将性腺剪碎，滤出的卵液与氨海水混合均匀。取样计数后继续活化 3~5 min。其中取卵以血球计数板计算单位体积卵数，再通过密度体积关系求出烧杯中的总卵数，取 3 次求平均值。

2) 活化：在活化卵子的同时解剖雄贝，剪破其性腺，有乳白色精液流出，用胶头滴管吸取少量精液置于 250 ml 配置好温度和盐度的氨海水的大烧杯中，混合均匀，活化 3~5 min。

3) 受精：将活化后的精卵倒入 1 L 的大烧杯中，搅拌均匀，充分受精。整个受精过程中大烧杯放入相应温度的白桶中水浴，以保证整个人工受精都在实验所需的温度下进行。每 30~40 min 换水洗卵一次。受精一段时间后，受精卵下沉，在水体中形成明显的分层。不成熟的未受精卵和多余的精子悬浮在上层(镜检发现，虽然卵子在氨水的刺激下大部分变为圆形，但未出现受精的标志：第一极体。而下层的卵子大

Table 1. Level of factors

表 1. 因素水平表

因素	温度(°C)	盐度(‰)
记号	x_1	x_2
零水平	26	29
间隔	7	6
上水平	33	35
下水平	19	23
上星号臂	34	36
下星号臂	18	22

Table 2. Combination of factors level

表 2. 试验因子水平组合表

试验号	温度(°C)	盐度(‰)
1	33	35
2	33	23
3	19	35
4	19	23
5	34	29
6	18	29
7	26	36
8	26	22
9	26	29
10	26	29
11	26	29

部分受精，出现第一极体)，用吸管小心地将上层的液体虹吸出，再加入同一温度和盐度的海水，静置。三次洗卵后可将大部分未受精卵、多余精子和氨水洗去，以保证孵化过程环境适宜。洗卵结束后分别取样镜检计数，通过密度体积关系求出受精卵的总量，取 3 次求平均值，再通过公式计算出各组合中马氏珠母贝精卵的受精率。受精率的计算公式为：

$$\text{受精率}(\%) = \frac{\text{受精卵数}}{\text{总卵数}} \times 100\%$$

4) 洗卵：洗卵结束后，分别将各组受精卵倒入 100 L 的白桶中，控制好温度和盐度，充气使水面呈微波状，24 h 后取样计数。在适宜温度和盐度(26℃, 29‰)的情况下，马氏珠母贝受精卵发育到 D 型幼虫需要 19~24 h，本实验以 24 h 为标准。取样计数方法为：先将充气量加大，并搅动水体，待水体中幼虫趋于均匀分布后，用小烧杯在白桶中不同部位取样 3 次，每次量取 100 ml 海水，滴入少量甲醛溶液，轻轻搅拌均匀以固定和杀死 D 型幼虫。静置 3~5 h 后可观察到幼虫沉淀到烧杯的底部，小心吸去上清液，用滴管吸取底部沉淀在显微镜下计数，再根据公式求出孵化率。孵化率的计算公式为：

$$\text{孵化率}(\%) = \frac{\text{D型幼虫数}}{\text{受精卵数}} \times 100\%$$

2.2.4. 数据处理与统计分析

试验数据由 SAS8.2 中的调用 GLM 模块处理。显著性水平设为 $\alpha = 0.05$ 。

3. 结果

3.1. 温度和盐度对受精率的影响

试验分析结果如下。

根据表 3 可以得到数学模型的具体形式。

$$y = 64.3848 - 11.4519x_1 - 0.5854x_2 - 1.6x_1x_2 - 22.3226x_1^2 - 41.9746x_2^2$$

其中 y 为马氏珠母贝受精率的理论估计值， a 为各项的偏回归系数。

失拟即回归模型选择不当造成的误差，进行失拟检验可验证回归模型选择是否恰当[36]。根据表 4 可知，由于失拟 $F < F_{-crit}$ ，是不显著的($P > 0.05$)，说明回归模型的拟合度较高。通过表 5 可知，由于表中 $F > F_{-crit}$ ，说明回归方程在 $\alpha = 0.05$ 水平上显著。

得到总的回归方程后，根据表 6 对各项回归系数的检验可知， x_1 、 x_2 与 x_1x_2 的回归系数的 F 均小于 F_{-crit} ，是不显著的($P > 0.05$)； x_1^2 的 F 大于 6.6079 但小于 16.2582，说明其在 $\alpha = 0.05$ 水平上显著($P < 0.05$)； x_2^2 的 $F > F_{0.01}$ ，是极显著的($P < 0.01$)。将各不显著项剔除，可以得到温度和盐度影响马氏珠母贝受精率的数学模型最终形式

$$y = 64.3848 - 22.3226x_1^2 - 41.9746x_2^2$$

3.2. 温度和盐度对孵化率的影响

试验分析结果如下。

根据表 7 可以得到数学模型的具体形式

$$y = 9.4342 - 1.5828x_1 - 0.1013x_2 - 0.025x_1x_2 - 3.6287x_1^2 - 5.8882x_2^2$$

其中 y 为马氏珠母贝受精卵孵化率的理论估计值， a 为各项的偏回归系数。

失拟即回归模型选择不当造成的误差，进行失拟检验可验证回归模型选择是否恰当。根据表 8 可

Table 3. Calculation of orthogonal combination quadratic regression
表 3. 二次回归组合正交计算

试验号	x_0	x_1	x_2	x_1x_2	$x'_1 = x_1^2 - \frac{6.633}{11}$	$x'_2 = x_2^2 - \frac{6.633}{11}$
1	1	1	1	1	0.3970	0.3970
2	1	1	-1	-1	0.3970	0.3970
3	1	-1	1	-1	0.3970	0.3970
4	1	-1	-1	1	0.3970	0.3970
5	1	1.1474	0	0	0.7136	-0.6030
6	1	-1.1474	0	0	0.7136	-0.6030
7	1	0	1.1474	0	-0.6030	0.7136
8	1	0	-1.1474	0	-0.6030	0.7136
9	1	0	0	0	-0.6030	-0.6030
10	1	0	0	0	-0.6030	-0.6030
11	1	0	0	0	-0.6030	-0.6030
B_j	281.7500	-75.9634	-3.8833	-6.4000	-77.4163	-145.5711
d_j	11.0000	6.6332	6.6332	4.0000	3.4681	3.4681
b_j	25.6136	-11.4519	-0.5854	-1.6000	-22.3226	-41.9746
Q_j		869.9271	2.2735	10.2400	1728.1307	6110.2897

注：表中 B_j 表示自变量与因变量乘积和， d_j 表示自变量平方和， b_j 表示偏回归系数， Q_j 表示偏回归平方和，下同。

Table 4. Analysis of variance for lack of fit test of model
表 4. 模型失拟检验方差分析

变异来源	SSR	df	MS	F	F-crit
失拟	629.9982	3	209.9994	11.7384	19.1643
纯误差	35.7800	2	17.8900		99.1662
总和	665.78				

注： $F-crit$ 表示临界值，分别为 5% 和 1% 显著水平，下同。

Table 5. Analysis of variance for regression model
表 5. 回归模型方差分析

变异来源	SSR	df	MS	F	F-crit
回归	8720.8609	5	1744.1722	13.0987**	5.0503
离回归	665.7782	5	133.1556		10.9670
总和	9386.6391	10	938.6639		

*表示差异显著($p < 0.05$)，**表示差异极显著($P < 0.01$)，下同。

知，由于失拟 $F < F-crit$ ，是不显著的($P > 0.05$)，说明回归模型的拟合度较高。通过表 9 可知，由于表中 $F > F-crit$ ，说明回归方程在 $\alpha = 0.05$ 水平上显著。

得到总的回归方程后，根据表 10 对各项回归系数的检验可知， x_1 、 x_2 与 x_1x_2 的回归系数的 F 均小于

Table 6. Test of regression coefficient

表 6. 回归系数检验

变异来源	SS	df	MS	F	F-crit
b_1	869.9271	1	869.9271	6.5332	
b_2	2.2735	1	2.2735	0.0171	6.6079
b_{12}	10.2400	1	10.2400	0.0769	16.2582
b_1'	1728.1307	1	1728.1307	12.9783*	
b_2'	6110.2897	1	6110.2897	45.8883**	

Table 7. Calculation of orthogonal combination quadratic regression

表 7. 二次回归组合正交计算

试验号	x_0	x_1	x_2	x_1x_2	$x_1' = x_1^2 - \frac{6.633}{11}$	$x_2' = x_2^2 - \frac{6.633}{11}$
1	1	1	1	1	0.3970	0.3970
2	1	1	-1	-1	0.3970	0.3970
3	1	-1	1	-1	0.3970	0.3970
4	1	-1	-1	1	0.3970	0.3970
5	1	1.1474	0	0	0.7136	-0.6030
6	1	-1.1474	0	0	0.7136	-0.6030
7	1	0	1.1474	0	-0.6030	0.7136
8	1	0	-1.1474	0	-0.6030	0.7136
9	1	0	0	0	-0.6030	-0.6030
10	1	0	0	0	-0.6030	-0.6030
11	1	0	0	0	-0.6030	-0.6030
B_j	40.6500	-10.4994	-0.6721	0.1000	-12.5806	-20.4145
d_j	11.0000	6.6332	6.6332	4.0000	3.4670	3.4670
b_j	3.6955	-1.5828	-0.1013	0.0250	-3.6287	-5.8882
Q_j		16.6189	0.0681	0.0025	45.6509	120.2054

Table 8. Analysis of variance for lack of fit test of model

表 8. 模型失拟检验方差分析

变异来源	SS	df	MS	F	F-crit
失拟	21.4799	3	7.1600	5.9501	19.1643
纯误差	2.4067	2	1.2033		99.1662
总和	23.8866	5			

F -crit, 是不显著的($P > 0.05$); x_1' 的 F 大于 6.6079 小于 16.2582, 说明其在 $\alpha = 0.05$ 水平上显著($P < 0.05$); x_2' 的 $F > F_{0.01}$, 是极显著的($P < 0.01$)。将各不显著项剔除, 可以得到温度和盐度影响马氏珠母贝受精卵孵化率的数学模型最终形式

Table 9. Analysis of variance for regression model
表 9. 回归模型方差分析

变异来源	SSR	df	MS	F	F-crit
回 归	182.5458	5	36.5092	7.6422*	5.0503
离回归	23.8865	5	4.7773		10.9670
总 和	206.4323	10			

Table 10. Test of regression coefficient
表 10. 回归系数检验

变异来源	SS	df	MS	F	F-crit
b_1	16.6189	1	16.6189	3.4787	
b_2	0.0681	1	0.0681	0.0143	6.6079
b_{12}	0.0025	1	0.0025	0.0005	16.2582
b_1'	45.6509	1	45.6509	9.5558*	
b_2'	120.2054	1	120.2054	25.1618**	

$$y = 9.4342 - 3.6287x_1^2 - 5.8882x_2^2$$

4. 讨论

生物对环境因素的变化是有一定范围，假如接近或超过这个范围的界限，这些因素就成了限制生物生活的因素。各种因素应当保持在生物生活的适当范围内，如果某种因素超过了生物的适应界限，这个因素便成了生物生存的决定性因素。目前看来，从单因素试验到多因素试验的研究是必然的趋势，而多因素试验处理组合数目随着因素数及每个因素的水平数增加而成指数增长。正交回归设计可以很好的处理多因素试验中的问题，它利用数理统计学观点，应用正交性原理，对多因素同时进行考察，既保证试验提供丰富的信息，又使试验数不过于庞大。关于马氏珠母贝的生长温度、盐度和饵料的研究已有报道，但对各因子之间的内在关系的研究较少。本研究通过二次回归组合正交设计，考察了在不同温度和盐度下马氏珠母贝人工受精和胚胎发育的情况，并建立起了对应的数学模型。

通常，贝类在最适温度下精卵受精与受精卵发育的速度最快，随着温度向高温和低温两端的迁移受精及孵化的时间相应会延长[37]。马氏珠母贝在 26℃ 时由受精卵发育到 D 型幼虫最快仅要 19 h 左右，随着温度的升高和降低，发育到 D 型幼虫的时间可延长到 30~40 h 以上[6]。本试验分析的是 24 h 孵化率，由于对各组采样计数的时间一致，均为 24 h 取样计数，考虑到高温组和低温组受精和发育的时间延长，故实际受精率和孵化率会有一定的提高。在试验中发现，较低温度下的卵子受精率比较低，而在胚胎发育过程中，在适温范围以上时，出现畸形发育或很快死亡；在适温范围以下时，出现停止进一步发育的现象。通常在适温范围以内，即使相差几度，发育速度也有显著的差异，而且在发育初期对温度的适应范围较窄，随着发育的进行，适应范围愈来愈广[37]。在较低和较高盐度下，卵子大部分不能受精，极少数的受精卵发育也不正常，出现如细胞分裂畸形，卵膜皱缩，卵膜破裂等情况，主要是因为精卵和胚胎调节渗透压的机制还不健全。通过对不同温度和盐度下马氏珠母贝受精率与孵化率的回归分析可以发现，在受精和胚胎发育过程中，温度和盐度之间的互作效应并不明显，未达到显著水平($P > 0.05$)。从两个因子的回归系数检验来看，温度对受精和孵化的影响要略大于盐度。王辉[14]也指出，温度的一次效应对马

氏珠母贝精子的激活和活力极显著, 温度和盐度的互作效应对精子激活率和活力的影响不显著, 这与本实验的结果是相吻合的。

在马氏珠母贝贝苗的实际生产过程中, 还有温度、盐度、酸碱度、溶氧、饵料和光照等环境因子影响着育苗效果。除温度和盐度以外的其他环境因子对马氏珠母贝受精和孵化的影响也有待进一步研究。

参考文献 (References)

- [1] 张才学 (2005) 马氏珠母贝人工育苗的若干关键技术. *水产科技情报*, **3**, 102-104.
- [2] 何庆权, 周永坤 (2000) 合浦珠母贝优质贝苗培育的技术措施. *中国水产*, **2**, 34-35.
- [3] 吴剑波, 周运和 (2002) 马氏珠母贝在不同条件下育苗效果的比较. *中国水产*, **12**, 86-87.
- [4] 梁飞龙 (1998) 马氏珠母贝人工育苗水质控制技术的探讨. *湛江海洋大学学报*, **2**, 81-83.
- [5] 邓远球, 邓陈茂, 黄海立 (2002) 马氏珠母贝人工育苗稳产、高产技术. *水产养殖*, **2**, 28-29.
- [6] 魏利平, 周学家, 马明正, 等 (1997) 马氏珠母贝北移控温育苗技术研究. *水产学报*, **21**(增刊), 49-55.
- [7] 喻达辉, 江世贵, 苏天凤, 等 (1999) 海水主要离子在合浦珠母贝精子激活中的作用. *海洋学报*, **6**, 134-137.
- [8] 喻达辉, 陈竞春, 苏天凤, 等 (1998) 合浦珠母贝精子的实验生物学初步研究. *热带海洋*, **1**, 83-87.
- [9] 喻达辉, 江世贵, 陈竞春, 等 (1999) 合浦珠母贝精子激活的离子选择性. *中国水产科学*, **3**, 101-120.
- [10] 沈亦平, 刘汀, 姜海波, 等 (1993) 合浦珠母贝受精细胞学观察. *武汉大学学报(自然科学版)*, **5**, 115-120.
- [11] 朱晓闻 (2012) 温度、盐度、pH 对马氏珠母贝稚贝生理学特征的联合效应研究. 硕士论文, 广东海洋大学, 湛江.
- [12] 邓云翠, 王辉, 李艳红, 朱晓闻, 罗明明, 王亚男 (2012) Cd^{2+} 与 Zn^{2+} 的联合效应对马氏珠母贝 (*Pinctada martensii*) 受精率的影响. *海洋与湖沼*, **2**, 323-328.
- [13] 王辉, 罗明明, 朱晓闻, 吕文刚, 李艳红, 王亚男, 刘志刚 (2011) 温度和盐度对马氏珠母贝精子激活率及活力的影响. *海洋科学*, **10**, 57-63.
- [14] 尤仲杰, 徐善良, 边平江, 陈坚 (2001) 海水温度和盐度对泥蚶幼虫和稚贝生长及存活的影响. *海洋学报*, **6**, 108-133.
- [15] 尤仲杰, 陆彤霞, 马斌, 陈清建 (2003) 温度对墨西哥湾扇贝幼虫和稚贝生长与存活的影响. *水产科学*, **1**, 8-10.
- [16] 尤仲杰, 陆彤霞, 马斌, 陈清建 (2003) 盐度对墨西哥湾扇贝幼虫和稚贝生长与存活的影响. *动物学杂志*, **3**, 58-60.
- [17] 李霞, 赵匠 (1997) 菲律宾蛤仔幼虫的生长速度和水温的关系. *吉林林学院学报*, **13**, 227-229.
- [18] 顾晓英, 尤仲杰, 王一农 (1998) 几种环境因子对彩虹樱蛤不同发育阶段的影响. *东海海洋*, **3**, 40-47.
- [19] 蔡德泉, 李健 (1997) 太平洋牡蛎室内控温育苗技术. *海洋湖沼通报*, **2**, 59-63.
- [20] 尤仲杰, 王一农, 丁伟, 徐海军 (1994) 几种环境因子对不同发育阶段的泥螺 (*Bullacta exarata*) 的影响. *浙江水产学院学报*, **2**, 79-851.
- [21] 何义朝, 张福绥, 李宝泉 (1999) 温度对墨西哥湾扇贝胚胎和幼虫发育的影响. *海洋与湖沼*, **3**, 284-289.
- [22] 孙虎山, 许高君, 王为纲, 王宜艳 (1997) 温度对紫彩血蛤胚胎和幼虫发育的影响. *海洋与湖沼通报*, **2**, 54-58.
- [23] 王伟定, 于谨兰, 许文军 (1997) 温度和培养密度对室内养殖鲍苗生长的影响. *浙江水产学院学报*, **3**, 183-185.
- [24] 刘德经, 张克存, 黄德尧, 李晓鹏 (2001) 西施舌幼虫及稚贝致死温度初步研究. *动物学杂志*, **1**, 29-31.
- [25] 李世英, 鲁男, 蒋双, 毕远溥, 王乘东 (1999) 温度、盐度对滑顶薄壳鸟蛤面盘幼虫存活和生长的影响. *大连水产学院学报*, **2**, 66-69.
- [26] 林笔水, 吴天明 (1984) 温度、盐度对缢蛏浮游幼虫发育的影响. *生态学报*, **4**, 385-392.
- [27] 王军, 王志松, 董颖, 周泓, 刘忠颖, 李大成 (2003) 盐度对菲律宾蛤仔浮游幼体存活和生长的影响. *水产科学*, **2**, 12-14.
- [28] 孙虎山, 许高君, 王为纲, 刘焕禹 (1998) 盐度对紫彩血蛤胚胎和幼虫发育的影响. *齐鲁渔业*, **3**, 8-11.
- [29] 高如承, 齐秋贞, 黄雪琴, 邱文仁 (1995) 盐度对西施舌 *Coelomastra antiquate* (Spengler) 幼虫和贝苗生长发育的影响. *福建师范大学学报(自然科学版)*, **3**, 82-88.

- [30] 庄凌峰, 翁笑艳, 陈德富, 等 (1997) 直度对岐脊加夫蛤幼虫与稚贝的影响. *福建师范大学学报(自然科学版)*, **3**, 81-85.
- [31] 何义朝, 张福绥 (1990) 盐度对海湾扇贝不同发育阶段的影响. *海洋与湖沼*, **3**, 197-204.
- [32] 郑怀平, 柯才焕, 周时强, 李复雪 (2001) 盐度对波部东风螺幼虫存活、生长及变态的影响. *台湾海峡*, **2**, 218-223.
- [33] 王军, 王志松, 董颖, 李大成, 刘忠颖 (2003) 盐度对脉红螺卵袋幼体的孵出及浮游幼体存活和生长的影响. *水产科学*, **5**, 9-11.
- [34] 陈冲, 王志松, 随锡林 (1999) 盐度对文蛤孵化及幼体存活和生长的影响. *海洋科学*, **3**, 16-18.
- [35] 刘海涛 (1992) 盐度对大连湾牡蛎胚胎发育及幼虫生长的影响. *水产学报*, **1**, 32-39.
- [36] 徐中儒 (1988) 农业最优回归设计. 黑龙江科学技术出版社, 哈尔滨.
- [37] 包永波, 尤仲杰 (2004) 几种环境因子对海洋贝类幼虫生长的影响. *水产科学*, **12**, 39-41.