

不同单胞藻饵料培养九孔鲍早期稚贝的研究

郭峰, 柯才焕, 周时强

(厦门大学 海洋系 近海海洋环境科学国家重点实验室, 福建 厦门 361005)

摘要:以单种培养的6种底栖硅藻和具有底栖习性的亚心形扁藻(*Platymonas* sp.)为饵料,培养九孔鲍(*Haliotis diversicolor supertexta*)受精后12 d的早期稚贝并观察其生长和存活,培养期为28 d,目的是筛选能维持早期稚贝高存活率和生长率的藻种。实验结果表明,培养稚贝成活率最高的3个藻种由大到小依次是爪哇曲壳藻亚缢变种(*Achnanthes javanica* var.)、流水双眉藻(*Amphora fluminensis*)和亚历山大菱形藻(*Nitzschia alexandrina*),使稚贝生长最快的3个藻种由大到小依次是流水双眉藻、爪哇曲壳藻亚缢变种和亚历山大菱形藻。研究结果揭示了适宜的底栖硅藻种类对鲍早期稚贝阶段生长和存活的重要性。个体小或者胞外产物量大的藻类很可能对九孔鲍早期稚贝的培养是有利的。[中国水产科学, 2007, 14(2): 263-269]

关键词:九孔鲍; 稚贝; 底栖硅藻; 亚心形扁藻; 生长; 存活

中图分类号:S968.31

文献标识码:A

文章编号:1005-8737-(2007)02-0263-07

九孔鲍(*Haliotis diversicolor supertexta*)是中国南方最为重要的养殖鲍种。近年来,在九孔鲍育苗过程中出现40日龄内的早期稚贝板上暴发性死亡现象,俗称“脱板”,给育苗与养殖业造成巨大的损失。经分析,有自然海水水质和种质等原因,也有育苗技术方面的原因。其中给板上稚贝提供适宜的底栖硅藻是重要的技术环节之一。

底栖单胞藻(Benthic unicellular algae)特别是底栖硅藻(Benthic diatom)是鲍稚贝在能够摄食大型藻类前的主要饵料,硅藻的质与量对第一呼吸孔形成前后的稚贝的生长和存活关系重大^[1]。在种苗培育时期,通常以在采苗器上自然生长的底栖硅藻作为稚贝的开口饵料。对于稚贝的摄食习性、对底栖硅藻的摄食选择性和硅藻的饵料价值的研究尚不多见^[2],在国内近乎空白。

本实验以6种单种培养的底栖硅藻和具有底栖习性的亚心形扁藻喂养受精后12 d的九孔鲍早期稚贝至40 d,研究不同种藻类对于九孔鲍稚贝生长和存活的影响,从而筛选出既能够提高稚贝存活率,又能保持稚贝较快生长速度的藻种,期望对九孔鲍人工育苗技术的改进提供有益的经验。

1 材料与方法

1.1 稚贝与硅藻来源

实验用九孔鲍亲贝经紫外照射催产后获得活力较好的精卵,人工授精后经若干次洗卵培养至浮游幼体阶段投入半吨桶中培养,以长有混合底栖硅藻的薄膜为基底,待幼体附着变态后每2天全量换水1次,培养至12 d取稚贝进行实验。

实验所用6种底栖硅藻和亚心形扁藻来自厦门海域、海南琼海鲍育苗场与东山亲营鲍鱼养殖场,经透射电镜鉴定分别为矮小卵形藻(*Cocconeis diminuta*),分散菱形藻(*Nitzschia dissipata*),亚历山大菱形藻(*Nitzschia alexandrina*),缢缩菱形藻(*Nitzschia constricta*),流水双眉藻(*Amphora fluminensis*)和爪哇曲壳藻亚缢变种(*Achnanthes javanica* var.),另分离出一种具有较强沉底特性的亚心形扁藻(*Platymonas* sp.)。所有藻种经分离纯化后在f/2培养液中单种培养。藻种的基本特征见表1。

1.2 藻膜的制备

在加入稚贝前3 d将供实验的7种藻由藻种瓶接入实验培养皿中,接种量根据不同藻细胞的大小而定,根据血球计数板计数定量。培养皿置于光照

收稿日期:2006-03-27; 修订日期:2006-08-26.

基金项目:福建省自然科学基金(B0310002).

作者简介:郭峰(1980-),男,硕士研究生,从事生物粘膜与九孔鲍幼体和稚贝的生态关系研究. E-mail: fengguo@xmu.edu.cn

通讯作者:柯才焕. E-mail: chke@jingxian.xmu.edu.cn; Tel: 0592-2187420; Fax: 0592-2187420.

培养箱内,不添加营养盐,每天换水1次。

1.3 实验条件与分组

实验在光照培养箱内进行,条件控制为:温度 $(26 \pm 1)^\circ\text{C}$,盐度 30 ± 2 ,光强 $(2\,800 \pm 200)\text{ lx}$,光照周期 12L:12D。实验容器为 90 mm 培养皿,实验海水均为添加 $5\text{ }\mu\text{g/mL}$ 青霉素与链霉素的 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 孔径膜滤过海水,每培养皿中海水量为 30 mL,每天换水1次,实验期间每隔 5 d 重新接种1次藻类以保证饵料充足,实验初始藻类密度及接种藻类浓度如表2所示。每个实验藻种设5个平行组,另设置不添加任何藻类的对照组。

1.4 稚贝的转移

将附有稚贝的藻膜切成 $1\sim 2\text{ dm}^2$ 的小块,放入含有 2% 乙醇的海水中,不断震荡使稚贝脱落,然后尽快用大滴管将其转移至筛网上,约取 50 只稚贝固定在 4% 甲醛溶液中,经显微镜下随机测量 30 个个体,实验所用稚贝的初始壳长为 $(592 \pm 52)\text{ }\mu\text{m}$,其余稚贝经 $0.22\text{ }\mu\text{m}$ 膜滤海水洗涤 3~5 次后移入培养皿

中,每个培养皿加入 10~15 只稚贝,2 h 后将由于损伤或活力较差而死亡的稚贝弃除,换水并加入新鲜海水,置于光照培养箱内,并在 12 h 后再次移出死亡稚贝。转移造成的总死亡率不高于 15%。

1.5 数据观测

实验指标为稚贝的存活率与壳长。存活率以肉眼观察计算,即附着于皿内的稚贝认定为存活稚贝。壳长测量方法如下:将稚贝于 LAIKA 显微镜 4×10 倍镜下使用 Canon 数码相机拍照,并以台微尺作为参照,将数码照片传入电脑中,在电脑屏幕上以刻度尺测量并转化为实际长度。实验实际测量时间为幼体加入后的第 0、5、12、17、22、28 天,实验结束时将所有稚贝使用 4% 的甲醛溶液固定后测量其壳长。

1.6 数据处理

实验数据均以平均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{X} \pm \text{SD}$) 表示,经 SPSS 11.0 软件中 one-way ANOVA Bonferroni 统计方法进行方差分析。当 $P < 0.05$ 时认为差异显著。

表1 实验组藻种的基本特征

Tab.1 Main characters of the algae in the experiment

$n = 10; \bar{X} \pm \text{SD}$

藻种 Species of algae	细胞长度 / μm Cell length	细胞形态 Cell shape	生长方式 Growing mode	附着强度 Attaching strength	运动能力 Motility	是否叠层 Folded or not
矮小卵形藻 <i>Cocconeis diminuta</i>	9.1 ± 0.4	椭圆形 Ellipse	紧贴底部 Cling to bottom	强 Strong	一般 Normal	否 No
分散菱形藻 <i>Nitzschia dissipata</i>	18.5 ± 0.3	舟形 Boat	紧贴底部 Cling to bottom	强 Strong	强 Strong	是 Yes
亚历山大菱形藻 <i>Nitzschia alexandrina</i>	6.9 ± 0.3	舟形 Boat	紧贴底部 Cling to bottom	一般 Normal	一般 Normal	否 No
缢缩菱形藻 <i>Nitzschia constricta</i>	11.1 ± 0.7	花生形 Peanut	紧贴底部 Cling to bottom	一般 Normal	强 Strong	是 Yes
爪哇曲壳藻亚缢变种 <i>Achnanthes javanica</i> var.	37.3 ± 4.8	近长方形 Near rectangle	成串生长 Being cluster	一般 Normal	无 No	否 No
流水双眉藻 <i>Amphora fluminensis</i>	10.9 ± 0.4	双半月形 Two lune shape	紧贴底部 Cling to bottom	一般 Normal	一般 Normal	否 No
亚心形扁藻 <i>Platymonas</i> sp.	14.4 ± 2.1	心形 Heart	半浮游 Semi-planktonic	弱 Weak	很强 Very strong	否 No

表2 实验藻种初始平均密度与实验中接种藻类密度

Tab.2 Mean density of each alga at the beginning of experiment and supplementary concentration during the experiment

指标 Parameters	矮小卵形藻 <i>C. diminuta</i>	分散菱形藻 <i>N. dissipata</i>	亚历山大菱形藻 <i>N. alexandrina</i>	缢缩菱形藻 <i>N. constricta</i>	爪哇曲壳藻亚缢变种 <i>Ac. javanica</i> var.	流水双眉藻 <i>Am. fluminensis</i>	亚心形扁藻 <i>Platymonas</i> sp.
平均密度 / cm^2 Average density	1.7×10^5	1.3×10^5	5.4×10^5	2.3×10^5	7.8×10^3	2.1×10^5	9.4×10^4
补充密度 /mL Supplemental concentration	5×10^4	2×10^4	1×10^5	5×10^4	2×10^3	5×10^4	5×10^4

2 结果与分析

2.1 稚贝存活率

不同藻种培养的稚贝在实验 28 d 内的存活率变

化如图 1 所示,其中,对照组与缢缩菱形藻组稚贝在实验开始后 12 d 时全部死亡,亚心形扁藻组在实验开始的前 5 d 显示出高死亡率,其余组的存活率随时间的变化表现较平稳,特别是在培养 12 h 以后。

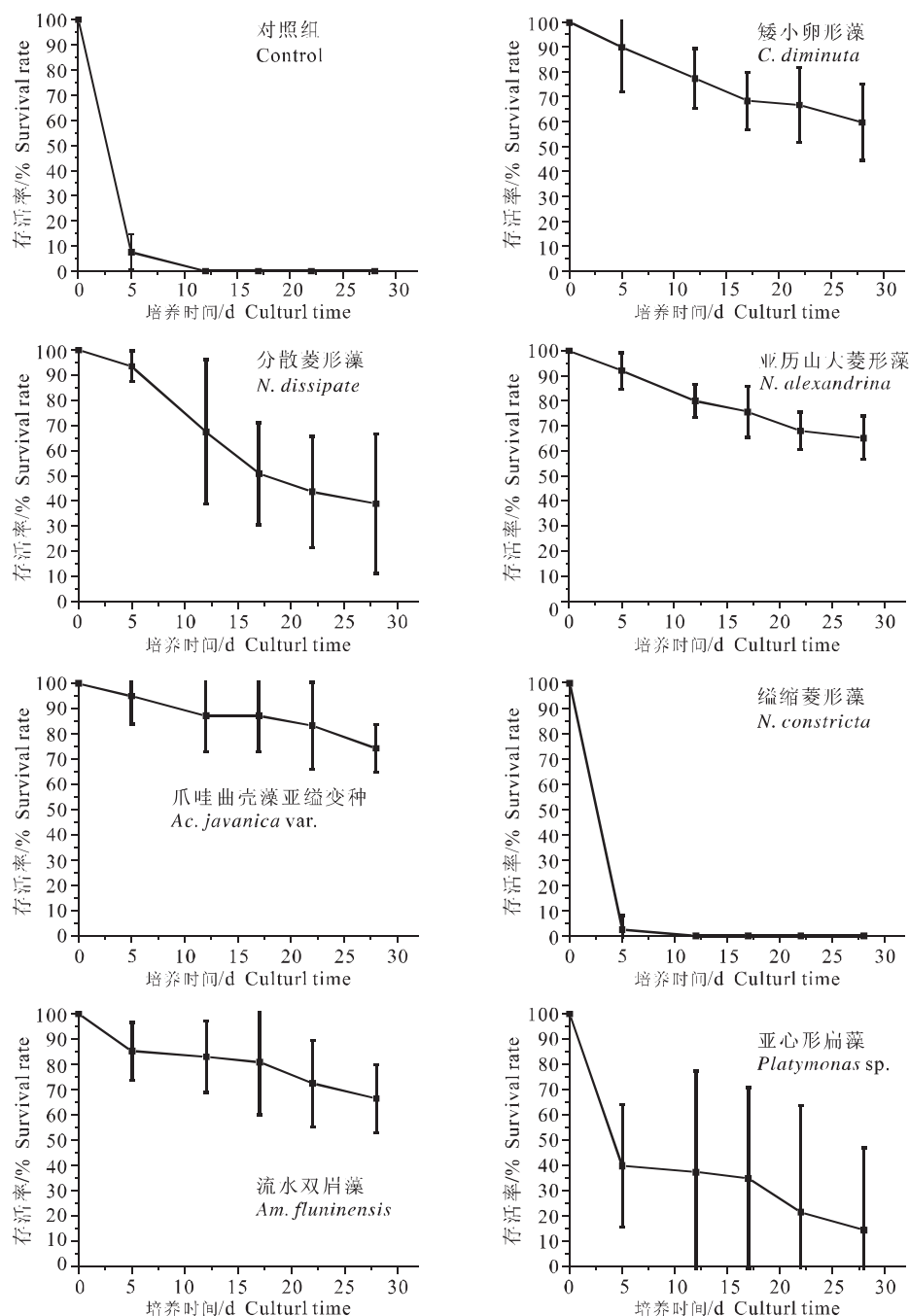


图 1 投喂不同单胞藻对稚贝存活率的影响

Fig.1 Effects of feeding with different algae on survival rate of *H. diversicolor supertexta* postlarva

不同藻种培养稚贝 28 d 后的最终存活率如图 2 所示,除空白对照组与缢缩菱形藻组稚贝在 12 d 时

全部死亡外,其他实验组稚贝存活率最高的为爪哇曲壳藻亚缢变种 (74.3%),最低的为亚心形扁藻

(14.4%)。除分散菱形藻外所有实验组存活率均显著高于存活率最低的亚心形扁藻组 ($P < 0.05$)。

2.2 稚贝壳长变化与平均生长率

不同藻种培养下,稚贝壳长动态变化如图3所示。其中,空白对照组与缢缩菱形藻组稚贝在12 d时全部死亡,数据只记录到5 d。各种藻类培养的稚贝壳长差异明显,实验结束时流水双眉藻培养的稚贝平均壳长已接近3 mm,而分散菱形藻和亚心形扁藻中的稚贝未达到1.5 mm。不同藻种培养下,稚贝壳长日均生长率如图4所示,其中稚贝壳长生长最快的藻种是流水双眉藻 ($79.9 \mu\text{m}/\text{d}$),生长最慢的两种为分散菱形藻 ($29.7 \mu\text{m}/\text{d}$)和亚心形扁藻 ($27.3 \mu\text{m}/\text{d}$)。稚贝在流水双眉藻、爪哇曲壳藻亚缢变种和亚历山大菱形藻3种藻中生长率均显著高于在分散菱形藻和亚心形扁藻两种藻中的生长率 ($P < 0.05$)。

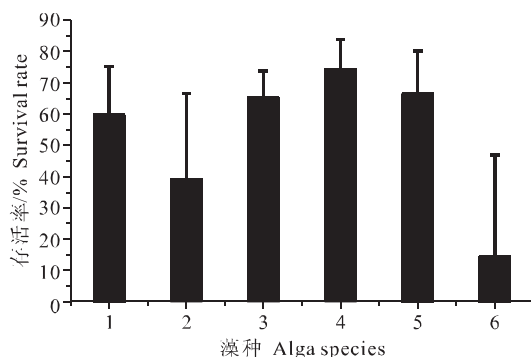


图2 不同单胞藻培养稚贝的最终存活率(28 d)

1:矮小卵形藻;2:分散菱形藻;3:亚历山大菱形藻;4:爪哇曲壳藻亚缢变种;5:流水双眉藻;6:亚心形扁藻。

注:空白组与缢缩菱形藻实验组于实验12 d全部死亡,所以未列出。

Fig.2 Final survival rate of postlarvae fed with different alga species (28 d)

1: *C. diminuta*; 2: *N. dissipata*; 3: *N. alexandrina*; 4: *Ac. Javanica* var.; 5: *Am. fluminensis*; 6: *Platymonas* sp.

Note: Results of control and *N. constricta* are not shown here because postlarvae in the two treatments died within 12 d.

3 讨论

3.1 不同藻种对稚贝存活率的影响

从存活率动态结果看,空白组与缢缩菱形藻组于实验12 d内稚贝全部死亡。研究表明稚贝在壳长小于600~800 μm 时,主要依赖于卵黄营养^[4-5],此间通常认为稚贝并不需利用硅藻细胞提供营养,因此稚贝能在较长一段时间不摄食也能维持存活。实验

稚贝(12 d)壳长大于600 μm 时,其卵黄营养来源已基本消耗殆尽,幼体能量来源完全依赖摄食,因此在不含硅藻的基底上不能维持较长存活时间。对于缢缩菱形藻组的稚贝死亡,很可能是由于这种硅藻非常容易老化引起的,老化时表现为细胞杂和成团,大部分细胞失去附着能力,悬浮在底部水层中,有时硅藻甚至将稚贝包起来阻碍其运动。大部分实验组藻种在实验前期(0~12 d)比后期(13~28 d)存活率下降快,这是由于稚贝食性转变引起的,这一点在亚心形扁藻组表现较为明显。因为稚贝由原来的贯食底栖硅藻转变为摄食绿藻,一时不易适应,摄食下降或完全不摄食,导致死亡率在前期较高,而后随着对饵料的适应,死亡率明显下降。

实验最终存活率数据表明,存活率较高的4种硅藻除爪哇曲壳藻亚缢变种细胞体积较大以外,其余藻种均为细胞长度10 μm 左右的小型底栖硅藻,它们的共性是细胞不易成团、运动能力差以及贴近底部附着,尽管它们产生的高存活率与稚贝的食性选择关系密切,但这些共性也显示出稚贝在较稳定的微生态环境中较易存活。而存活率最高的爪哇曲壳藻亚缢变种,与其他藻明显不同,是以胶质柄附着在基底上成串生长的,除了繁殖时细胞脱落至底部外,其余时间细胞均脱离基底,其胞外分泌物(EPS)蛋白质含量也较高(18%左右),分泌量较大^[6],这种固着不运动的硅藻为稚贝生存提供了最为稳定的微生态环境。

3.2 不同藻种对稚贝生长的影响

实验结果显示,生长较好的实验组,在实验前期的生长速率通常较高,而到后期则出现略微的停滞,这一方面是因为后期壳长增加需要摄食更多的食物;另一方面尽管实验中定期补充饵料藻种,但到稚贝个体壳长超过1.5 mm后,由于实验器皿空间限制,饵料量仍显不足。

将图4与图2对比发现,生长率与存活率由大到小的排列顺序除前3种藻顺序有所出入外,其余均为相同。据此推测,能使稚贝快速生长的优质饵料藻类对于其存活也十分有利。使稚贝生长率最高的两种硅藻,即流水双眉藻与亚历山大菱形藻,它们均为小型硅藻,适口性较好,而且能形成非常高的密度,其细胞附着基底的强度一般,易于稚贝舔食,从而使得稚贝有高生长率。而爪哇曲壳藻亚缢变种是一种中型偏大的硅藻,稚贝在壳长1 mm前似乎完全不能利用,而且其在基底的细胞只占少数。由此

推测,在壳长较小时,稚贝可能以藻类分泌的大量胞外分泌物 **EPS** 为主要食物,而这些多聚物上通常也有微生物附着^[7]。待其壳长较大时,开始摄食并利用藻细胞,兼而摄食 **EPS**, 尽管能摄食到的细胞较

少,但由于藻细胞个体很大,能提供很高的食物量。有研究表明长柄曲壳藻 (*Achnanthes lonipes*) 同样面积下能提供比卵形藻多 7 倍体积的食物^[4], 稚贝摄食效率可大大提高。

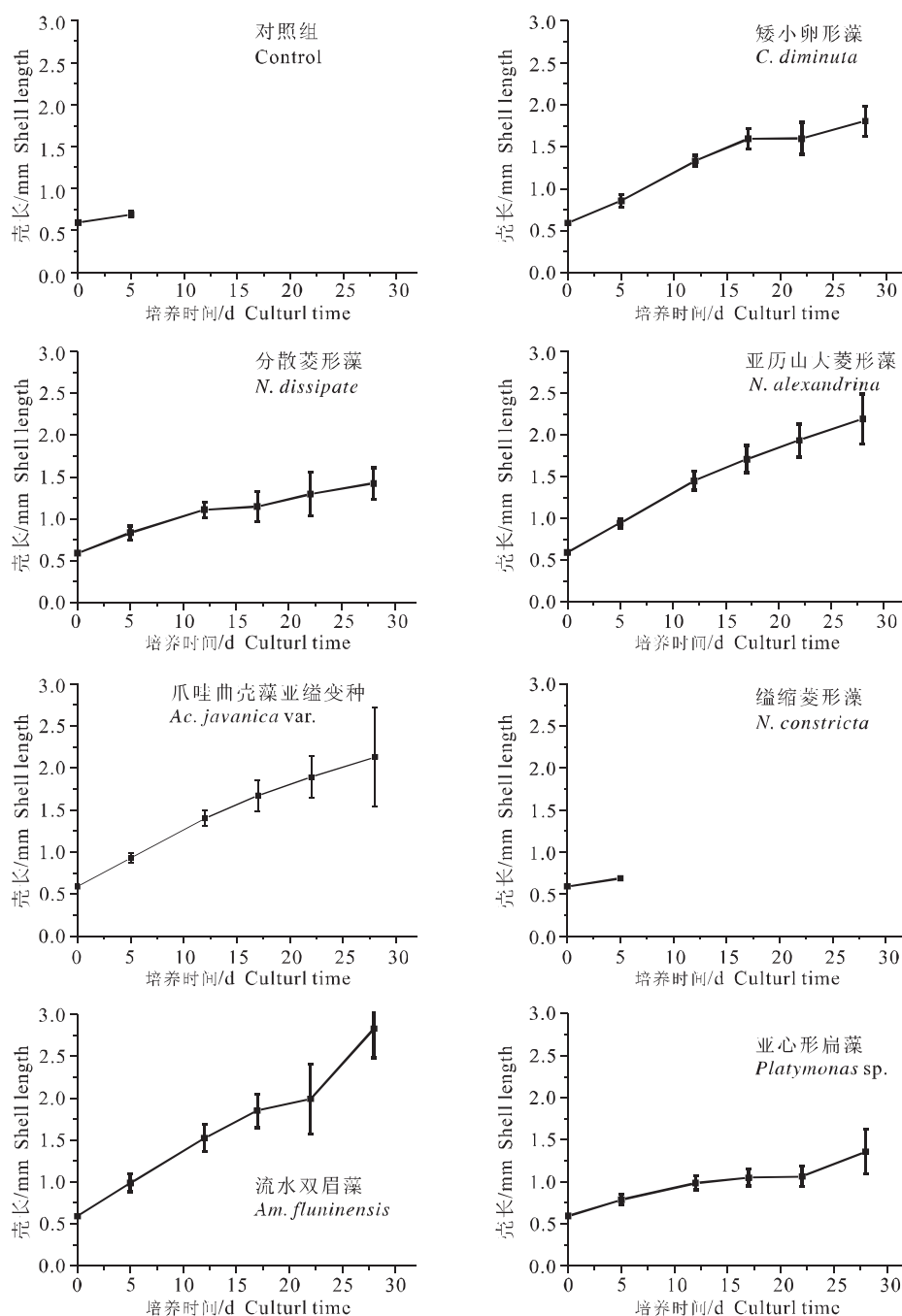


图3 在不同单胞藻中培养稚贝对其壳长生长的影响

注: 由于空白对照组与缢缩菱形藻实验组稚贝在 12 d 全部死亡, 所以其壳长只测量到 5 d。

Fig.3 Effects of feeding with different algae to postlarvae shell length

Note: Results of control and *N. constricta* groups are only given till day 5 because postlarvae in both treatments died within 12 d.

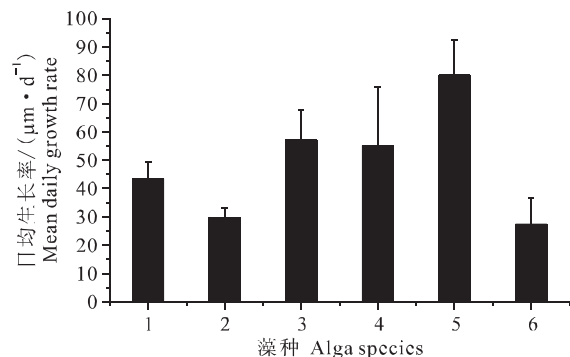


图4 不同底栖单胞藻培养稚贝的生长率(28 d)

1:矮小卵形藻;2:分散菱形藻;3:亚历山大菱形藻;4:爪哇曲壳藻亚缢变种;5:流水双眉藻;6:亚心形扁藻

注:空白组与缢缩菱形藻实验组于实验12 d全部死亡,所以未列出。

Fig.4 Growth rate of postlarvae fed with different alga species (28 d)

1: *C. diminuta*; 2: *N. dissipata*; 3: *N. alexandrina*; 4: *Ac. Javanica* var.; 5: *Am. fluminensis*; 6: *Platymonas* sp.

Note: Results of control and *N. constricta* are not shown here because postlarvae in both treatments died within 12 d.

矮小卵形藻饲喂组不论生长率还是存活率效果都一般,对于卵形藻属的 *Cocconeis scutellum* var. *parva* 等种类,日本学者的研究较为深入^[8-9],研究结果表明,卵形藻尽管对皱纹盘鲍幼体附着和变态很有利,但不能被刚附着变态后不久的稚贝(壳长<600 μm)所摄食,因为卵形藻与基底的黏附力很强,幼体无力将其舔下。

使用有底栖习性的绿藻——亚心形扁藻来培养鲍稚贝的报道很少,本次实验尽管显示其培养效果不佳,但证实了它是能够被稚贝摄食的。实验观察也

发现,亚心形扁藻实验组中,实验个体通常较小,不喜运动,表明以其单独培养稚贝是不可行的,但可能作为补充饵料添加,改善稚贝营养结构和生态条件。

参考文献:

- [1] 聂宗庆,王素平. 鲍育苗生物学研究新进展[J]. 湛江海洋大学学报, 2002, 22: 78-82.
- [2] Kawamura T, Takami H. Analysis of feeding and growth rate of newly metamorphosed abalone *Haliotis discus hannai* fed on four species of benthic diatom[J]. Fish Sci, 1995, 61: 357-358.
- [3] Kawamura T, Saïdo T, Takami H, et al. Dietary value of benthic diatoms for the growth of post-larval abalone *Haliotis discus hannai* [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1995, 194: 189-199.
- [4] Robert R, Kawamura T, Takami H. Diatom for abalone culture: a workshop for abalone farmers[J]. Cawthron Report, 2000, 547: 1-28.
- [5] Martinez-ponce D R, Searcy-Bernal R. Grazing rate of red abalone (*Haliotis rufescens*) postlarvae feeding on the benthic diatom *Navicula incerta* [J]. J Shellfish Res, 1998, 17 (3): 627-630.
- [6] 王立志,黄世玉,程兆第. 三种海洋硅藻胞外多聚物形态、微细结构及组成的初步研究[J]. 海洋与湖沼, 2004, 35: 273-278.
- [7] Kawamura T, Robert R D, Takami H. A review of the feeding and growth rate of postlarvae abalone[J]. J Shellfish Res, 1998, 17 (3): 615-625.
- [8] Kawamura T, Kikuchi S. Effects of benthic diatoms on settlement and metamorphosis of abalone larvae[J]. Suisanzoshoku, 1992, 40: 403-409.
- [9] Takami H, Kawamura T, Yamashita Y. Survival and growth rate of post-larval abalone *Haliotis discus hannai* fed conspecific trail mucus and/or benthic diatom *Cocconeis scutellum* var. *parva*[J]. Aquaculture, 1997, 152: 129-138.

Postlarva rearing of abalone *Haliotis diversicolor supertexta* with different unicellular algae species

GUO Feng, KE Cai-huan, ZHOU Shi-qiang

(Department of Oceanography, State Key Laboratory of Marine Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: *Haliotis diversicolor supertexta* was one of the most important economic mollusca in south China. Because of high mortality of this specie in their postlarval phase, which almost destroyed its seedling breeding, it is an urge to study the postlarval feeding ecology for its culture. In this study, six species of benthic diatom and *Platymonas* sp. with depositing habitat were assayed to evaluate their food value for the postlarvae of *Haliotis diversicolor supertexta*. Survival rate and growth of 12-day-age postlarvae were recorded continuously by rearing with the seven species algae for 28 d. The high survival rates of postlarvae of *Haliotis diversicolor supertexta* were found in the treatments of *Achnanthes javanica* var., *Amphora fluminensis* and *Nitzschia alexandrina* with the relative potency progressively weaker in order. On the other hand, postlarvae of *Haliotis diversicolor supertexta* grew fast in the treatments of *Amphora fluminensis*, *Achnanthes javanica* var. and *Nitzschia alexandrina* with the relative potency progressively weaker in order. The results of present work suggests that rearing with appropriate marine benthic diatom species be important to growth and survival of abalone postlarvae. Algae with small size or high extracellular polymers production should be good to postlarvae culture of *Haliotis diversicolor supertexta*. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14 (2): 263 – 269]

Key words: *Haliotis diversicolor supertexta*; postlarva; benthic diatom; *Platymonas subcordiformis*.; growth; survival