

塔玛亚历山大藻对黑褐新糠虾存活、生长以及种群繁殖的影响

谭志军, 颜 天, 周名江, 李 钧, 于仁诚, 王云峰

(中国科学院海洋研究所海洋生态与环境重点实验室, 青岛 266071)

摘要:通过塔玛亚历山大藻(*Alexandrium tamarense*)对黑褐新糠虾(*Neomysis awatschensis*)的急性和慢性毒性作用研究,发现塔玛亚历山大藻对黑褐新糠虾的存活、生殖、生长等有不不利影响,影响程度随塔玛亚历山大藻藻细胞密度的增加而增加。在 96h 急性毒性实验中,塔玛亚历山大藻对黑褐新糠虾的半致死密度为 7 000cells/ml,去藻过滤液中糠虾的死亡率为 25%。在 62 d 的慢性毒性实验中,密度为 900cells/ml 的塔玛亚历山大藻对黑褐新糠虾的繁殖有严重影响,在此影响下的实验组亲虾产幼虾总数只有 27 尾,仅为对照组产幼虾数目的 16.4%;其总产幼虾天数、日最高产幼数分别只有对照的 32%、41%,其初次产虾日期也推迟了 3d,并出现了 3 次生殖中断。塔玛亚历山大藻对黑褐新糠虾亲虾的存活、生长也有一定的影响,处在密度为 900cells/ml 塔玛亚历山大藻中的黑褐新糠虾亲虾的存活率只有对照的 63%,糠虾亲虾的体长和体重分别为对照组亲虾的 95.6%和 81.9%,但差异尚不显著($P>0.05$)。

关键词:塔玛亚历山大藻; 黑褐新糠虾; 存活; 生长; 种群繁殖

The Effects of *Alexandrium tamarense* on Survival, Growth and Reproduction of *Neomysis awatschensis*

TAN Zhi-Jun, YAN Tian, ZHOU Ming-Jiang, LI Jun, YU Ren-Cheng, WANG Yun-Feng

(Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Science, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China). *Acta Ecologica Sinica*, 2002, 22(10): 1635~1639.

Abstract: The effects of dinoflagellate *Alexandrium tamarense* on Mysid *Neomysis awatschensis* were studied using acute and chronic tests. The results showed that *A. tamarense* could affect the survival, growth and reproduction of *N. awatschensis*, and the effects increased with the algal concentration. In acute experiment, the mortality rate in 9 000cells/ml *A. tamarense* was 55%, over 10% shrimps died in 900cells/ml *A. tamarense*, and 96hLC50 of *N. awatschensis* was 7 000cells/ml. There were 25% *N. awatschensis* which died in the cell-free filtrate after 96 hour exposure. The acute results also showed that the cell-free filtrate of *A. tamarense* could effect survival rate of *N. awatschensis* significantly in a short time. Chronic experiment (62days) showed that *A. tamarense* could affect the total juvenile population of *N. awatschensis*. The total numbers of juveniles produced were only 106, 32 and 27 in algal concentrations of 90, 450, 900 cells/ml, respectively, while 164 juveniles were released in the control group during the period. The first releasing time, total releasing days, reproductive of break the parent mysids and the highest number of juveniles per day were also influenced significantly by this toxic dinoflagellate. In concentration of 900 cells/ml, the first releasing day was prolonged for 3 days compared with the control; the total releasing days was 9, while it was 28 in control; the adult shrimps had 3 reproductive breaks

基金项目:国家重点基础研究资助项目(2001CB409700); 国家自然科学基金资助项目(20177023, 49906007, 39950001, 40076030); 中国科学院知识创新工程资助项目(KZCX2-206); 院长基金资助项目; 山东省科技攻关资助项目(012110115)

收稿日期:2002-06-01

作者简介:谭志军(1978~),男,山东鄄城人,硕士,主要从事海洋生态毒理研究。E-mail: tanzhijun@ms.qdio.ac.cn

during the reproduction period. The highest number of juveniles produced per day was 7 at this concentration, while it was 17 in control. It was also found that *A. tamarense* can affect the survival and growth of the adult mysid; in 900cells/ml *A. tamarense*, the mortality rate of *N. awatschensis* was 37%. The length and weight of adult shrimps were 95.6% and 81.9% respectively of those of the control, but the difference was not significant ($P>0.05$). The harming mechanism of *A. tamarense* to *N. awatschensis* needs further exploring.

Key words: *A. tamarense*; *N. awatschensis*; survival; growth; reproduction

文章编号:1000-0933(2002)10-1635-05 中图分类号:Q938.8,Q958.8,X503-2 文献标识码:A

有毒赤潮甲藻塔玛亚历山大藻(*Alexandrium tamarense* Balech)是一种典型的麻痹性贝毒(PSP, Paralytic Shellfish Poison)产毒藻,它所产生的毒素通过食物链在贝类等食用海洋生物中累积,从而威胁着人类的生命安全。近来发现该藻也能影响海洋生物的生命活动,因此它对海洋生态系统的危害引起了重视。研究表明这种藻在我国南方和北方海域都有分布^[1~3]。在我国,虾等甲壳类生物是重要的海产养殖品种,近年来其养殖也受到了这种甲藻赤潮的威胁。1989年在台湾,一次塔玛亚历山大藻赤潮曾引起当地养殖草虾(*Penaeus monodon*)的大量死亡^[4],1994年厦门海域对虾养殖池中发生的一起由塔玛亚历山大藻引起的赤潮事件中,几天内池内对虾全部死亡^[3],然而该藻对甲壳类生物的危害机制,尤其是在低密度下对甲壳类生物生长和繁殖的影响如何还不清楚。黑褐新糠虾(*Neomysis awatschensis*)是广泛分布于我国沿海的一种小型虾类,多生活于近岸水域,为广温广盐种,与对虾亲缘关系较接近^[5],已在实验室内多年连续培养成功,是一种很好的可用于海洋污染物毒性研究的海洋标准实验生物^[6]。因此选择黑褐新糠虾为实验对象,研究了塔玛亚历山大藻对其急性和慢性毒性影响,以期了解该藻赤潮可能对我国虾类养殖业和自然资源带来的危害,为赤潮监测和预警提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

塔玛亚历山大藻(*Alexandrium tamarense*)ATHK藻株由暨南大学提供。实验室2L三角烧瓶内以f/2培养液单种培养,温度 $20\pm 1\text{C}$,光照3000lx,光暗比12h:12h。选用指数生长期中期(密度约为9000cells/ml)的藻液用于实验。实验前,取藻样以鲁哥氏液固定后,用1.5ml计数框在显微镜下计数。

黑褐新糠虾(*Neomysis awatschensis*),1995年采集于胶州湾西海岸,在中国科学院海洋研究所海水实验室内多年多代连续培养。

实验海水为实验室管道海水(取自青岛太平角,无污染历史)经沙滤、沉淀和脱脂棉过滤。

1.2 方法

1.2.1 急性毒性和毒性来源实验 将密度为9000cells/ml塔玛亚历山大藻藻液用 20μ 筛绢过滤,得到藻细胞和去藻过滤液。将收集到的藻细胞用新鲜海水重新悬浮,浓缩到原来密度的5倍左右,然后用海水稀释配制成藻细胞密度为900cells/ml,4500cells/ml,9000cells/ml的实验液,去藻过滤液经镜检无藻细胞后也用于实验,实验海水作为对照,每个密度设两个重复。实验时先向烧杯中加入30ml海水,选取 5 ± 1 日龄、健康活泼幼虾随机放入各烧杯,每杯10尾,然后向各烧杯加入实验液800ml。实验温度为 $23\pm 1\text{C}$,盐度为33,实验共进行96h,48h换一次处理液,每24h适量投喂卤虫幼体,吸取死虾和杯底污物,并记录24h、48h、72h、96h时糠虾的死亡数。

1.2.2 慢性毒性实验 实验设3个密度:90cells/ml、450cells/ml、900cells/ml和海水对照,每种密度有4个重复,每烧杯中藻液1000ml。实验时先向各烧杯加800ml海水,选取 5 ± 1 日龄、健康活泼幼虾随机放入各烧杯,每杯15尾,然后将亚历山大藻藻液(约9000cells/ml)按照所设密度加入到各烧杯中,最后用海水补充到1000ml。实验期间,温度用WMSK-401型控温仪恒温水浴控制在 $25\pm 1\text{C}$,每日适量投喂卤虫,吸取杯底污物并计数,每两天换一次实验液,并记录死亡数。当糠虾开始产幼虾后,每24h记录亲虾死亡数和每个烧杯中所产幼虾个数,实验结束时,用毫米刻度尺测量每尾亲虾体长(自眼柄基部到尾肢外肢的末

端,刚毛不记),并称量各组亲虾的总湿重。

1.3 数据处理与分析

1.3.1 急性毒性实验 根据实验所得数据,将 96h 时黑褐新糠虾存活率和塔玛亚历山大藻细胞密度作图,并进行回归分析,根据回归曲线方程计算半致死密度,即 96h LC_{50} 。

1.3.2 慢性毒性实验 (1)记录每组黑褐新糠虾开始产虾的日期,亲虾开始生殖后每天产幼虾数目,统计每实验组产幼虾总数、间断次数和生殖天数等,比较塔玛亚历山大藻处理组间以及处理组与对照组间在黑褐新糠虾种群繁殖上的差异。(2)将各组亲虾的体长和平均体重与对照组进行 t 检验,分析塔玛亚历山大藻对黑褐新糠虾生长的影响。

2 结果

2.1 急性毒性实验

2.1.1 细胞悬浮液和去藻过滤液的急性毒性实验

(96h) 在急性毒性实验中,主要研究了塔玛亚历山大藻细胞悬浮液和去藻过滤液在 96h 内对黑褐新糠虾存活的影响以及 96h 时的半致死密度,结果见图 1。

从图中可以看出,塔玛亚历山大藻细胞悬浮液对黑褐新糠虾存活的影响是十分明显的,糠虾的存活率随藻细胞密度的增加而下降,在低密度下(约 900 cells/ml)糠虾 96h 的存活率为 85%,而高密度下(约 9 000cells/ml)糠虾的存活率仅为 45%,塔玛亚历山大藻对糠虾的 96h 半致死密度(96h LC_{50})约为 7 000 cells/ml。去藻过滤液对糠虾的存活也有一定的影响,96h 时糠虾的存活率为 75%。

2.2 慢性毒性实验(62d)

2.2.1 慢性毒性实验进行了 62d,实验结束时亲虾的存活率、长度和重量的结果见图 2。

由图可见,在长期慢性毒性作用下,即使低密度的塔玛亚历山大藻藻液对糠虾的存活也有十分明显的影响,实验进行到 62d 结束时,在 90cells/ml 中糠虾的存活率为 70%,900cells/ml 中则为 63%,与对照相组比都有显著差异($P < 0.05$)。塔玛亚历山大藻藻液对糠虾的生长也有一定的影响,与对照相比,糠虾亲虾的体长和体重均有不同程度的下降趋势,分别为对照组亲虾的 95.6%和 81.9%,但差异尚不明显($P > 0.05$)。

2.2.2 塔玛亚历山大藻对黑褐新糠虾种群繁殖的影响 各实验组每天所产幼虾数目如图 3 所示,塔玛亚历山大藻对糠虾种群繁殖的影响见表 1。

从以上结果可以看出,塔玛亚历山大藻对黑褐新糠虾的生殖力的影响是十分明显的。从整个种群来说,在实验进行到 62d 结束时,对照组糠虾产幼虾总数为 164 尾,而 90、450、900 cells/ml 密度组在实验结束时产幼虾分别为 106、32、27 尾,分别为对照组的 65%、20%和 16%;实验组糠虾在生殖期间的首次产虾时间及产虾天数都劣于数据,900 cells/ml 密度组的首次产虾日期与对照组相比推迟 3d,总的产虾时间为 9d,仅为对照组的 32%;生殖期间实验组糠虾的生殖出现间断现象;90、450、900 cells/ml 密度组的生殖中断

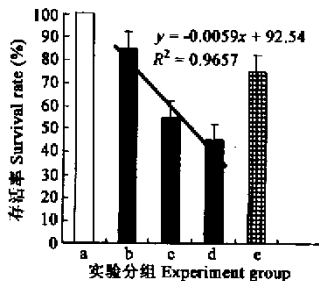


图 1 96h 内塔玛亚历山大藻细胞悬浮液及去藻过滤液对黑褐新糠虾存活的影响

Fig. 1 The effects of re-suspended *A. tamarensis* cells and its cell-free filtrate on the survival of *N. awatschensis* within 96h exposure

a 对照 Control, b 900 cells/ml, c 450 cells/ml, d 9 000 Cells/ml, e 去藻过滤液 Cell-free filtrate

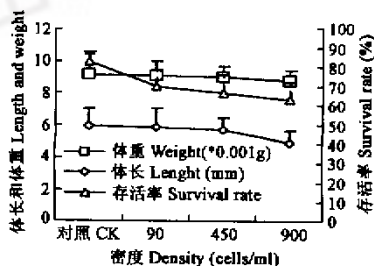


图 2 塔玛亚历山大藻对黑褐新糠虾亲虾存活和生长的影响

Fig. 2 The effects of *A. tamarensis* on survival rate and growth of the parent *N. awatschensis*

次数分别为 2、2、3 次,并且总的间隔时间随塔玛亚历山大藻的密度的增高而延长,而对照为 0。另外,在生殖期间,不同实验组的最高日产幼量也不相同,最高日产幼虾数目与塔玛亚历山大藻的密度成反比。看来塔玛亚历山大藻可以推迟黑褐新糠虾的生殖,减少其生殖周期中的生殖天数,还可以打乱糠虾的生殖规律,使其生殖出现不连续性。因此,塔玛亚历山大藻能减少黑褐新糠虾的后代数量,造成其种群的衰退。

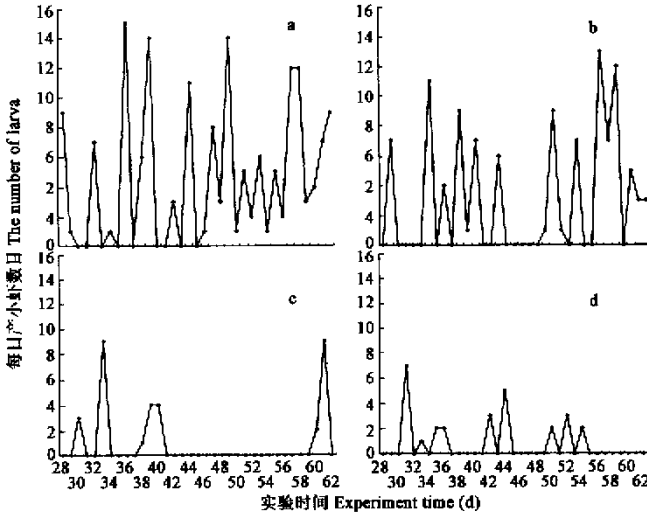


图 3 生殖期间各密度组中每天所产幼虾数量

Fig. 3 The number of the *N. awatschensis* juveniles of each concentration in each day during the reproduction period

a. 对照 Control; b. 90cells/ml; c. 450cells/ml; d. 900cells/ml

3 讨论

3.1 实验结果表明,塔玛亚历山大藻藻细胞和去藻过滤液对黑褐新糠虾有急性致死作用,这与 SU 研究的塔玛亚历山大藻对草虾 *Penaeus monodon* 影响的结果相一致, SU 将 10 尾草虾放入 5L 含有密度为 10000cells/ml 塔玛亚历山大藻的虾池海水中,发现 12h 之后已有 9 尾死亡,另一尾也处于垂死状态;放入过滤液与海水比为 1:0、1:1、1:3 的混合液中的草虾分别在 1.5h、3h、9h 出现垂死症状^[4]。而 1994 年在厦门地区虾塘发生的由塔玛亚历山大藻引起的

赤潮,几天内使虾池内对虾就全部死亡了^[3],可见,塔玛亚历山大藻对虾类生物有急性致死作用,塔玛亚历山大藻赤潮能直接威胁虾类养殖业和其自然资源。

3.2 实验结果表明塔玛亚历山大藻中糠虾的体长和体重都低于对照组,但影响尚不显著,可能是因为实验进行到 62d 时糠虾的生长期已过,若在其生长期,这种差异可能会明显一些。在同类研究中,Edward 发现褐潮(brown tide)期间成年雌性纺锤水蚤 *Acartia tonsa* 的体长由未发生赤潮时的 0.75mm 降低到 0.6mm^[7],而纤毛虫 *Strombidinopsis* sp. 的生长也受到褐潮藻 *Pyrenomonas salina* 的影响^[8],可见,有毒有害赤潮藻对海洋动物生长存在着不利影响。

3.3 在本文研究中,塔玛亚历山大藻对甲壳类生物黑褐新糠虾 *N. awatschensi* 种群繁殖有明显影响。国

表 1 塔玛亚历山大藻对黑褐新糠虾种群繁殖的影响

Table 1 The effects of *A. tamarensis* on the reproduction

<i>N. awatschensis</i>					
密度 Density (Cells/ml)	所产幼 虾总数 (Total num.)	首次产 虾时间 (第几天) First time	总产虾 天数(d) Total days	生殖中 断次数 Breaks times	日最高产 幼虾数 Highest num. per day
对照 CK	164	28	28	0	17
90	106	29	18	2	13
450	32	30	7	2	9
900	27	31	9	3	7

外同类研究主要应用桡足类生物进行的,如 Jörg 分别用有毒亚历山大藻 *Alexandrium lusitanicum* 和无毒藻 *Rhodomonas baltica* 喂养克氏纺锤水蚤 *Acartia clausi*, 喂食有毒亚历山大藻的克氏纺锤水蚤其产卵量明显低于无毒藻组^[9]。Delgado 等发现赤潮藻 *Gyrodinium corsicum* 对纺锤水蚤 *Acartia grani* 也有影响,在藻细胞密度 $\geq 3 \times 10^6$ cells/ml 时,纺锤水蚤的生殖力下降^[10]。因此,有毒有害赤潮藻能对海洋生态系统食物链的重要一环——浮游动物的种群数量的产生影响,而这种生态效应将可能导致赤潮发生海域生产力和自然资源的破坏。

3.4 有毒赤潮藻对上述浮游动物和甲壳类生物的致毒机制尚不明确,Jörg 认为,石房蛤毒素不像一些抑制性毒素对克氏纺锤水蚤摄食产生影响,但大量地摄入石房蛤毒素,可能对消化产生不良影响或增加克氏纺锤水蚤为了排毒而必须付出的能量,最后导致用来产卵的能量减少而使产卵量降低^[9]。Delgado 则认为这种影响是由藻和桡足类生物的直接接触造成的^[10]。而塔玛亚历山大藻对黑褐新糠虾的致死效应很可能是上述几种途径的综合作用,作者以前的研究中,该塔玛亚历山大藻能产生抑制贝类胚胎发育的未知毒素^[11],该毒素是否对黑褐新糠虾也具有毒性作用,其作用机制如何还有待进一步研究。

参考文献

- [1] Qian S B(钱树本), Wang X Q(王筱庆), Chen G W(陈国蔚). Phytoplankton in Jiaozhou Bay. *Journal of Ocean College of Shandong*(in Chinese)(山东海洋学院学报),1983, **13**(1) :39~55.
- [2] Li R(李瑞香), Xia B(夏滨). Two toxic dinoflagellates in Jiaozhou bay——*Alexandrium tamarense* and *Alexandrium catenella*. In: Zhu M(朱明远) ed. *Proceedings of the second meeting of Chinese committee of SCOR-IOC workshop group*(in Chinese). Qingdao: Qingdao Press, 1995. 36~41.
- [3] Lin Y S(林元烧). Red tide caused by a marine toxic dinoflagellate, *Alexandrium tamarense* (Lebour) Baleon, in shrimp ponds in Xiamen. *Taiwan Strait*(in Chinese)(台湾海峡), 1996, **15**(1) :16~18.
- [4] Huei-meet SU, I-chiu Liao, Young-meng Chiang. Mass mortality of prawn caused by *Alexandrium* blooming in a culture pond in southern Taiwan. In: Smayda, T. J. and Shimizu, Y. Eds. *Toxic Phytoplankton Blooms in the sea*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B. V., 1993. 329~333.
- [5] Zhen Y(郑严). Biology study of *Neomysis awatschensis* I. Population and reproduction. *Oceanologia et Limnologia Sinica*(in Chinese)(海洋与湖沼),1982, **13**(1) :67~77.
- [6] Yan T(颜天). Acute and chronic toxicity of triphenyltin to *Neomysis awatschensis*. *Oceanologia et Limnologia Sinica*(in Chinese)(海洋与湖沼), 2000, **31**(5) :485~489.
- [7] Edward J Buskey, Dean A Stockwell. Effects of a persistent "brown tide" on zooplankton populations in the laguyna madre of south Texas. In: Smayda, T. J. and Shimizu, Y. Eds. *Toxic Phytoplankton Blooms in the sea*. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B. V., 1993. 659~666.
- [8] Edward J Buskey, Cammie J Hyatt. Effect of the Texas(USA)'brown tide' alga on planktonic grazers. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 1995, **126** :285~292.
- [9] Jörg Dutz. Repression of fecundity in the neritic copepod *Acartia clausi* exposed to the toxic dinoflagellate *Alexandrium lusitanicum*: relationship between feeding and egg production. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 1998, **175**: 97~107.
- [10] Delgado M, Alcaraz M. Interaction between red tide microalga and herbivorous zooplankton: the noxious effects of *Gyrodinium corsicum* (Dinophyceae) on *Acartia grani* (Copepoda:Calanoida). *J. Plan. Res.*, 1999, **121**(12) : 2361~2371.
- [11] Yan T(颜天), Zhou J M(周名江), Fu M(傅萌), et al. Inhibition of egg hatching success and larvae survival of the Scallop, *Chlamys farreri*, associated with exposure to cells and cell fragments of the dinoflagellate *Alexandrium tamarense*. *Toxicon*, 2001, **39**(8) :1239~1244.