

低温和饥饿对华贵栉孔扇贝幼虫生长和存活的影响

孙泽伟, 郑怀平*, 张 涛, 刘合露, 李远友, 陈伟洲

(汕头大学广东省海洋生物技术重点实验室 汕头 515063)

摘要:为了弄清我国南方低温季节能否利用自然水温进行华贵栉孔扇贝人工育苗以及饵料缺乏对幼虫的影响,于2008年10月上旬和11月下旬,分别在水温25.5—28.0℃和18.2—22.5℃条件下,研究了低温和饥饿对幼虫生长、存活的影响。实验分两次设置常温、低温和饥饿3个组进行。结果表明,低温情况下,幼虫摄食较少,活力差、绝大部分沉入水底,生长缓慢,发育迟缓,但存活率仍较高;饥饿不但抑制幼虫的生长和发育,同时也显著地降低幼虫的存活率。此外,低温和饥饿的结合会加剧对幼虫生长、发育、存活等的抑制作用。这些结果说明在我国南方水温低于23℃的季节利用自然水温已不适合进行华贵栉孔扇贝苗种生产。

关键词:华贵栉孔扇贝;幼虫;低温;饥饿;生长;存活

Effects of low temperature and starvation on larval growth and survival of noble scallop *Chlamys nobilis* Reeve

SUN Zewei, ZHENG Huaiping*, ZHANG Tao, LIU Helu, LI Yuanyou, CHEN Weizhou

Guangdong Key Laboratory of Marine Biotechnology, Shantou University, Shantou 515063, China

Abstract: In order to test whether ambient seawater with low temperature and food availability during the late Autumn and Winter seasons is suitable for artificial seed production of noble scallop *Chlamys nobilis* Reeve in southern China, studies were conducted to investigate the effects of low temperature and starvation on larval growth and survival of this species at temperatures of 25.5—28.0℃ and 18.2—22.5℃ in early October and late November, 2008. Three test groups were set up: (1) larvae were reared under normal temperature (25.5—28.0℃) and fed with enough food, (2) larvae were reared under low temperature (18.2—22.5℃) and fed with enough food, and (3) larvae were reared under low temperature (18.2—22.5℃) and unfed. The results showed that larvae fed less, active worse, grew and developed slower under lower temperature than those under normal temperature, but there was no significant difference in larval survival between low and normal temperature groups. Starvation, however, not only significantly affected larval growth and development, but also significantly affected larval survival. When treated with the combination of low temperature and starvation, larvae displayed less survival, slower growth and development than those only under starvation. The present results may suggest that it should be unsuitable to use natural seawater for reproducing artificial seeds of noble scallop when ambient seawater temperature was lower than 23℃ in southern China.

Key Words: *Chlamys nobilis* Reeve; larvae; low temperature; starvation; growth; survival

华贵栉孔扇贝(*Chlamys nobilis* Reeve)为暖水性双壳类软体动物,自然分布于中国、日本及印尼等地,在我国,主要分布于广东、广西、海南等南部沿海。华贵栉孔扇贝以营养丰富、味道鲜美、肉质细嫩而著称。其闭壳肌干制品俗称“干贝”,是著名的海产八珍之一。华贵栉孔扇贝也是一种优良的海水养殖贝类,具有生长快、

基金项目:广东省海洋渔业科技推广专项资助项目(A200899E03)

收稿日期:2009-03-23; **修订日期:**2009-06-16

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: hpzheng@stu.edu.cn

养殖周期短、经济效益高等特点。自 20 世纪 70 年代末以来,华贵栉孔扇贝在我国南方开始人工养殖,80 年代中后期发展成为南方沿海重要的海水养殖种类之一。

华贵栉孔扇贝的人工苗种繁育技术研究始于 20 世纪 70 年代末^[1],在幼虫培育工艺^[2-4]、幼虫的摄食^[5]与食性^[6]、饵料种类^[7]、幼虫附着变态^[8]等方面已有较多报道,但温度、盐度等环境因子只有少数研究^[9],而饥饿对幼虫的影响一直没有报道。

华贵栉孔扇贝繁殖期为 4—11 月份,可多次排卵,理论上人工育苗可在不同季节开展。华贵栉孔扇贝人工育苗通常在 25℃ 以上进行^[2-3],但在 11 月上旬到翌年的 5 月上旬,粤东海域海水温度一般都低于 23℃。我国南方一般不进行人工升温育苗,在水温低于 23℃ 情况下能否开展华贵栉孔扇贝自然水温育苗一直没有报道。

本实验针对低温和饥饿对华贵栉孔扇贝幼虫存活、生长的影响开展研究,以期为该种贝类健康苗种培育提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用华贵栉孔扇贝亲贝为广东省南澳岛海区养殖的 1 龄贝。在平均水温 (26.5 ± 0.8)℃ (25.5—28.0℃) 的 10 月上旬和 (20.2 ± 1.2)℃ (18.2—22.5℃) 的 11 月下旬,挑选性腺成熟雌、雄个体,清除外壳附着物后,利用郑怀平等专利方法^[10]诱导性腺成熟的雌雄亲贝分别产卵、排精,人工授精后获得受精卵,自然水温下孵化获得 D 形幼虫。幼虫饵料为用 Walne 培养液在实验室内培养的湛江叉边金藻 (*Dicratelia zhanjiangensis*)。

1.2 实验方法

1.2.1 实验设计和处理

实验分为常温组、低温组和饥饿组 3 个实验组,每组设 3 个重复。常温组的水温为 (26.5 ± 0.8)℃ (25.5—28.0℃)、低温组与饥饿组的水温均为 (20.2 ± 1.2)℃ (18.2—22.5℃)。无论常温还是低温均是自然水温,常温组实验在 10 月上旬进行,低温组实验在 11 月下旬进行。常温组和低温组幼虫在孵化后就投喂饵料,饥饿组幼虫始终不投喂饵料。实验水体均为 10L,幼虫初始密度均设置为 3—4 个/ml。

常温组和低温组所用海水只经过砂滤,饥饿组所用海水则经过砂滤后再经过 0.45μm 微孔滤膜过滤,海水盐度均为 32。

常温组幼虫的投饵次数和投饵量随幼虫日龄的增长而增加:投饵次数由每日 2 次增加到 4 次和 6 次,投饵量由每日每毫升水体的 5 千个单细胞藻增加到 2 万和 4 万。低温组幼虫投饵次数和投饵量虽然也随幼虫日龄的增长而增加,但由于水温低、摄食少,投饵次数和投饵量均相应地小于常温组,投饵次数由每日 2 次增加到 3 次,投饵量由每日每毫升水体的 5 千个单细胞藻增加到 2 万。

所有实验组,每天都全换水 1 次。常温组和低温组用砂滤海水更换,饥饿组则始终用 0.45μm 膜滤海水更换。

1.2.2 实验观察和数据测量

每天定时取样在显微镜下观察幼虫摄食、活动、形态变化及卵黄吸收等情况。

所有实验组在幼虫孵化的当天(0 日龄)均随机取 90 个幼虫测量壳长。对于常温组,由于在 12 日龄时已有部分幼虫附着,因此本实验只对其 3 日龄、6 日龄和 9 日龄的重复组幼虫进行定量和壳长测量;对于低温组和饥饿组,由于 15 日龄时,饥饿组一个重复组的幼虫已完全死亡,因此本实验只对 1 日龄、2 日龄、3 日龄、6 日龄、9 日龄、12 日龄、15 日龄进行定量,但没有测定 15 日龄幼虫的壳长。所取幼虫都是用 1% 碘液固定后在显微镜下计数并用目微尺测量其壳长,每个重复组每次随机测量 30 个幼虫。

通过日龄和壳长间的回归获得幼虫日生长速度;通过各日龄存活幼虫数与 0 日龄幼虫数间的比较计算各日龄幼虫的存活率。

1.2.3 数据处理

3 个实验组同一日龄壳长、存活率及 3 个实验组日生长速度的比较均使用单因素方差分析(ANOVA)。

低温组和饥饿组间的所有分析使用的都是 t 检验。

为了增加数据是正态性和方差齐性,在进行方差分析前,壳长被转化为自然对数、存活率被转化为反正弦函数。所有的统计分析都是用 SAS8.0 分析软件完成,显著性设定 $P < 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 幼虫摄食、运动、形态变化、卵黄吸收等观察

显微镜下观察发现,常温组幼虫在投饵 10—15min 后,胃内就充满金黄色的食物团;所有个体的卵黄在 24h 内完全消失;9 日龄幼虫就有眼点出现。低温组幼虫在投饵 30min 后,胃内只有少量的食物;所有个体的卵黄在 24h 后仍全部存在;幼虫生长缓慢,15d 时所有幼虫均未出现眼点;从活动情况看,常温组幼虫活力好并集中在水体的中上层,而低温组幼虫活力差,绝大部分沉入水底;饥饿组幼虫情况与低温组差别不大,只是幼虫胃内没有食物颗粒,并且在 15 日龄时有一个重复组的幼虫已没有存活个体。这些结果说明低温和饥饿对幼虫的存活、生长及发育均有影响。

2.1 低温、饥饿对幼虫存活的影响

图 1 是 3 个实验组幼虫在不同日龄时的存活率。由于 12 日龄时,常温组的幼虫已有部分附着,因此该组的幼虫存活率不再统计。所有日龄的常温组幼虫存活率和低温组幼虫存活率均没有显著差异 ($P > 0.05$),但所有日龄的饥饿组幼虫存活率均显著地低于常温组和低温组 ($P < 0.05$)。由于常温组和低温组没有显著的差异,这种组间差异可以归为饥饿的影响,并且从图 1 中能够发现,随着饥饿时间的延长,这种差异变得更加明显。

2.2 低温、饥饿对幼虫生长的影响

从表 1 中可以看出,3、6、9 日龄幼虫的壳长及日生长速度均是常温组最大、低温组次之、饥饿组最小;从表 2 的方差分析结果可以看出,3 个组之间的差异达到极显著水平 ($P < 0.001$),这些结果不但说明低温和饥饿都能够单独地抑制幼虫的生长,而且低温和饥饿具有交互作用。此外,从表 2 中还能够发现,第 0 天、第 1 天和第 2 天的幼虫壳长在低温组和饥饿组之间没有显著差异 ($P > 0.05$),说明短时间的饥饿对幼虫的生长没有显著的影响。但随着饥饿时间的延长,饥饿效应开始显现,自第 3 天开始,饥饿组幼虫的壳长显著地小于低温组幼虫的壳长 ($P < 0.05$),并且差异越来越大。从表 2 中进一步能够发现,低温组幼虫的壳长在第 6 天后才几乎不再增长,而饥饿组幼虫的壳长在饥饿第 2 天就不再增长,进一步说明了低温和饥饿具有交互作用。

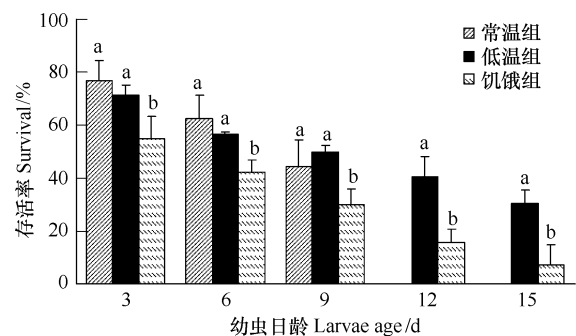


图 1 3 个实验组幼虫在不同日龄的存活率比较

Fig. 1 Comparison of larval survival among three experimental groups at different ages

同一日龄时,柱头上字母相同者,表示实验组间差异不显著 ($P > 0.05$)

表 1 3 个实验组幼虫壳长/ (μm)、生长速度/ ($\mu\text{m}/\text{d}$) 比较

Table 1 Comparisons of shell length/ (μm) and growth rate/ ($\mu\text{m}/\text{d}$) among three experimental groups

实验组 Group	壳长 Shell length/ μm							生长速度 Growth rate /($\mu\text{m}/\text{d}$)
	0d	1d	2d	3d	6d	9d	12d	
常温组 Constant temp	99.2 ^a	—	—	121.8 ^a	159.2 ^a	178.8 ^a	—	9.20 ^a
(标准差, SD)	(3.2)			(8.7)	(22.1)	(24.9)		(1.78)
低温组 Low temp	98.6 ^a	100.2 ^a	102.3 ^a	104.8 ^b	106.1 ^b	106.5 ^b	107.0 ^a	0.83 ^b
(标准差, SD)	(2.2)	(2.5)	(2.8)	(4.5)	(4.7)	(5.6)	(4.8)	(0.12)
饥饿组 Starved	98.6 ^a	99.3 ^a	101.5 ^a	101.0 ^c	101.3 ^c	101.0 ^c	101.7 ^b	0.25 ^c
(标准差, SD)	(2.2)	(3.4)	(3.0)	(4.5)	(2.8)	(4.0)	(3.3)	(0.13)

同一列内,平均值有相同上标字母者,表示差异不显著 ($P > 0.05$)

表 2 3 个实验组幼虫壳长、生长速度的方差分析

Table 2 Analyses of variance for shell length and growth rate among three experimental groups

项目 Item	方差来源 Source	自由度 df	均方 MS	F	P
壳长 Shell length					
0 日龄 Day 0	实验组	2	0.00020536	1.55	> 0.05
	误差	267	0.00013233		
1 日龄 Day 1	实验组	1	0.00070336	3.75	> 0.05
	误差	178	0.00018767		
2 日龄 Day 2	实验组	1	0.00050310	3.36	> 0.05
	误差	178	0.00014974		
3 日龄 Day 3	实验组	2	0.16196814	305.56	< 0.001
	误差	267	0.00053007		
6 日龄 Day 6	实验组	2	1.00277870	640.39	< 0.001
	误差	267	0.00156588		
9 日龄 Day 9	实验组	2	1.62952558	954.93	< 0.001
	误差	267	0.00170643		
12 日龄 Day 12	实验组	1	0.02133893	74.33	< 0.001
	误差	178	0.00028710		
生长速度 Growth rate	实验组	2	75.2537333	70.48	< 0.001
	误差	6	0.00028710		

3 讨论

绝大多数海洋双壳贝类在变为底栖生活之前,都会经历一个浮游幼虫期^[11],这时期的幼虫对环境因子极为敏感,水温、盐度、饵料及幼虫密度等都会对它们的存活、生长及变态产生影响^[12]。因此,控制好环境条件是海产双壳贝类苗种培育成功的基础。

3.1 温度对幼虫生长、存活的影响

水温是影响海洋贝类幼虫生长和存活的最重要生态因子之一^[13],这在海产贝类中已有许多报道^[14-21]。所有研究都表明,贝类幼虫在适宜的温度下不但生长快、发育好而且存活率也比较高,但在低温条件下,幼虫不但生长受阻、发育变慢而且存活率也显著降低。

华贵栉孔扇贝幼虫培育的水温通常在 25℃ 以上^[1-3]。在这样的温度下,幼虫日平均生长速度大于 10 μm, 9—10 日龄幼虫即可出现眼点。由于本实验常温组的幼虫培养水温一直在 25℃ 以上,因此实验结果也与这些研究结果相类似。低温组幼虫由于一直在 23℃ 以下培育,尽管存活率与常温组的没有显著差异,但生长速度却显著降低,低温对幼虫生长产生了显著的抑制作用。这一结果说明我国南方在海水温度低于 23℃ 时已不适合开展华贵栉孔扇贝育苗工作。

3.2 饥饿对幼虫生长、存活的影响

自然界中,由于环境改变、季节更替以及食物分布在时空上的不均匀性,动物经常在其生命周期中面临食物资源的短缺而受到饥饿胁迫。海洋中的大多数贝类幼虫,在自然条件下多数时间也经常处于食物短缺或不足的状态^[21]。然而,对营浮游生活的贝类幼虫来说,由于刚孵化时体内充满了卵黄颗粒,短时间的食物缺乏对它们的生长、存活影响不显著,表现出具有一定耐受饥饿的能力^[22]。本实验中饥饿组在幼虫孵化后 48h 内的生长、存活和低温组没有显著的差异也说明了这一点,这在其他贝类中也有类似的报道^[22-23]。随着饥饿时间的延长,幼虫的生长速度显著地变慢、存活率也显著地降低,饥饿效应极为明显。从生理角度考虑,蛋白质主要用于体组织的更新、修复、维持及幼虫生长,脂肪、碳水化合物等主要用于提供能量。随着饥饿时间的延长,这些营养物质消耗过多,并且得不到补充,从而造成机体损伤、能量缺乏,以至于幼虫生长变慢、发育受阻及死亡增多。而当饥饿时间超过幼虫耐受饥饿的不可逆点(PNR)^[22]时,幼虫体内蛋白质的破坏超过有机体

能够修补的阈值,幼虫必然全部死亡。因此,目前的结果表明,在华贵栉孔扇贝育苗生产中,及时提供充足的饵料对提高幼虫的生长速度和存活率是非常重要的。

致谢:汕头大学刘文华教授对本文写作给予帮助,特此致谢。

References:

- [1] Wen D Q, Lu H C. Primary study on reproducing artificial seeds of noble scallop. Journal of Zhanjiang Ocean University, 1980, 2: 44-49.
- [2] Zhang D. Study on reproducing artificial seeds of noble scallop. Marine Fishery, 1982, 2: 67-70.
- [3] Jin Q Z, Guo C L, Hu J X, Xu C M. Study on high production of reproducing artificial seeds in noble scallop. Journal of Tropical Oceanography, 1991, 10 (3): 8-15.
- [4] Jin Q Z, Guo C L, Li H, Xu C M. High production process of reproducing artificial seeds in noble scallop//Jin Q Z, ed. Reproductive and Cultural Biology of Noble Scallop. Beijing: Science Press, 1996: 1-10.
- [5] Li H, Jin Q Z, Guo C L. Study on feeding rate and rhythm of larvae in noble scallop//Jin Q Z, ed. Reproductive and Cultural Biology of Noble Scallop. Beijing: Science Press, 1996: 36-48.
- [6] Chen B Y, Cai Y Y, Chen D J. Study on larval feeding of noble scallop. Journal of Xiamen University, 1985, 24 (3): 387-394.
- [7] Zhang S F, Deng Y W, Wang Q H, Du X D. Larval growth and survival in huagui scallop *Chlamys nobilis* fed different diets. Fisheries Science, 2008, 27 (4): 184-186.
- [8] Ke C H, Sun Z W, Zhou S Q, Li F X. Chemical induction of settlement and metamorphosis of *Chlamys nobilis*. Marine Science, 2000, 24 (12): 5-7, 8.
- [9] Xun C M, Jin Q Z, Hu J X, Guo C L. Change of ambient factors for rearing seeds of noble scallop//Jin Q Z, ed. Reproductive and Cultural Biology of Noble Scallop. Beijing: Science Press, 1996: 16-21.
- [10] Zheng H P, Li Y Y, Sun Z W, Zhang T, Liu H L. A method to induce the Noble scallop *Chlamys nobilis* (Reeve) quickly releasing eggs at all-weather. China Patent, 2009, No: 200910037040.2.
- [11] Bayne B L, Newell R C. Physiological energetics of marine molluscs//by Saleuddin A S M and Wilbur K M, eds. The Mollusca. vol. 4, Physiology. Part 1. Academic Press, New York, 1983: 407-515.
- [12] Crisp D J. Factors influencing the settlement of marine invertebrate larvae//by Grant P T and Mackie A M, eds. Chemoreception in Marine Organisms. Academic Press, New York, 1974: 177-263.
- [13] Bayne B L. Physiological ecology of marine molluscan larvae. The mollusca, 1983, 3:299-343.
- [14] His E, Robert R, Dinet A. Combined effects of temperature and salinity on fed and starved larvae of the Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis* and the Japanese oyster *Crassostrea gigas*. Marine Biology, 1989, 100: 455-463.
- [15] Abdel-Hamid M E, Mona M H, Khalil AM. Effects of temperature, food and food concentrations on the growth of the larvae and spat of the edible oyster *Crassostrea gigas* (Thunberg). Journal of the Marine Biological Association of India, 1992, 34 (1-2): 195-202.
- [16] He Y C, Zhang F S, Li B Q. Effect of temperature on embryo and larval development of the scallop *Argopecten irradians concentricus* Say. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1999, 30 (3): 284-289.
- [17] You Z J, Xun S L, Bian J P, Chen J. The effect of sea water temperature and salinity on the growth and survival of *Tegillarca granosa* larvae and juveniles. Acta Oceanologica Sinica, 2001, 23 (6): 108-113.
- [18] Wang D L, Xun S L, You Z J, Lin S Z. The effects of temperature and salinity on the incubation of *Cyclina sinensis* and survival, growth and metamorphosis of *C. sinensis* larvae and juveniles. ActaHydrobiologia Sinica, 2005, 29 (5): 495-501.
- [19] Verween A, Vincx M, Degraer S. The effect of temperature and salinity on the survival of *Mytilopsis leucophaeata* larvae (Mollusca, Bivalvia): The search for environmental limits. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2007, 348 (1-2): 111-120.
- [20] Rico-Villa B, Pouvreau S, Robert R. Influence of food density and temperature on ingestion, growth and settlement of Pacific oyster larvae, *Crassostrea gigas*. Aquaculture, 2009, 287 (3-4): 395-401.
- [21] Thorson G. Reproductive and larval ecology of marine bottom invertebrates. Biological Reviews, 1950, 25: 1-45.
- [22] Zheng H P, Ke C H, Zhou S Q, Li F X. Effects of starvation on larval growth, survival and metamorphosis of Ivory shell *Babylonia formosae habei* Altena and Gittenberger *et al.*, 1981 (Neogastropoda: Buccinidae). Aquaculture, 2005, 243: 357-366.
- [23] Effects of starvation and refeeding on larval growth, survival, and metamorphosis of clam *Cyclina sinensis*. Acta Ecologia Sinica, 2008, 28 (5): 2502-2509.

参考文献:

- [1] 翁德全, 卢和成. 华贵栉孔扇贝人工育苗的初步研究. 湛江水产学院学报, 1980, 2: 44-49.

- [2] 张丹. 华贵栉孔扇贝人工育苗试验. 海洋渔业, 1982, 2: 67-70.
- [3] 金启增, 郭澄联, 胡建兴, 罗伟. 华贵栉孔扇贝生产性育苗高产试验. 热带海洋, 1991, 10 (3): 8-15.
- [4] 金启增, 郭澄联, 黎辉, 徐春梅. 华贵栉孔扇贝高产人工育苗的工艺流程//金启增主编. 华贵栉孔扇贝育苗与增养殖生物学. 北京: 科学出版社, 1996: 1-10.
- [5] 黎辉, 金启增, 郭澄联, 徐春梅. 华贵栉孔扇贝幼虫和幼苗摄食率及摄食节律研究//金启增. 华贵栉孔扇贝育苗与增养殖生物学. 北京: 科学出版社, 1996: 36-48.
- [6] 陈柏云, 蔡友义, 陈德敬. 华贵栉孔扇贝浮游幼虫食性的研究. 厦门大学学报, 1985, 24 (3): 387-394.
- [7] 张善发, 邓岳文, 王庆恒, 杜晓东. 几种饵料对华贵栉孔扇贝浮游幼虫生长和成活率的影响. 水产科学, 2008, 27 (4): 184-186.
- [8] 柯才焕, 孙泽伟, 周时强, 李复雪. 华贵栉孔扇贝幼体附着和变态的化学诱导. 海洋科学, 2000, 24 (12): 5-7, 8.
- [9] 徐梅春, 金启增, 胡建兴, 郭澄联. 华贵栉孔扇贝育苗水体的环境动态//金启增. 华贵栉孔扇贝育苗与增养殖生物学. 北京: 科学出版社, 1996: 16-21.
- [10] 郑怀平, 李远友, 孙泽伟, 张涛, 刘合露. 一种全天候诱导华贵栉孔扇贝快速排卵的方法. 中国发明专利, 2009, 专利申请号: 200910037040. 2.
- [16] 何义朝, 张福绥, 李宝泉. 温度对墨西哥湾扇贝胚胎和幼发育的影响. 海洋与湖沼, 1999, 30 (3): 284-289.
- [17] 尤仲杰, 徐善良, 边平江, 陈坚. 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, 2001, 23 (6): 108-113.
- [18] 王丹丽, 徐善良, 尤仲杰, 林少珍. 温度和盐度对青蛤孵化及幼虫、稚贝存活与生长变态的影响. 水生生物学报, 2005, 29 (5): 495-501.
- [23] 杨凤, 张跃环, 闫喜武, 张国范. 饥饿和再投喂对青蛤 (*Cyclina sinensis*) 幼虫生长、存活及变态的影响. 生态学报, 2008, 28 (5): 2502-2509.