



塔玛亚历山大藻对墨西哥湾扇贝幼体发育的影响*

THE EFFECT OF *Alexandrium tamarense* ON DEVELOPMENT OF *Argopecten irradians concentricus* LARVAE

傅 萌 颜 天 李 钧 于仁诚 周名江

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

关键词 塔玛亚历山大藻,墨西哥湾扇贝,幼体,影响

塔玛亚历山大藻是一种能产生麻痹性贝毒的有毒甲藻,它所引发的赤潮在世界各地多有发生,对海水养殖业和人们的生命安全造成很大的威胁^[3]。有毒赤潮发生时,贝类起一种媒介的作用,可将有毒藻产生的毒素累积在体内,沿食物链转移给高营养级生物和人,使之中毒^[4]。已有研究表明有毒藻对贝类本身的生命活动也会产生不利影响,但这些工作多数是围绕着贝类成体展开的,对幼体发育阶段的研究报道甚少。本文以墨西哥湾扇贝 (*Argopecten irradians concentricus*) 的 D 形幼虫、眼点幼虫、稚贝和仔贝为对象,研究了塔玛亚历山大藻对扇贝幼体发育阶段(早期 D 形幼虫阶段,眼点幼虫至稚贝阶段,仔贝阶段)的影响,以期对海洋生态系统的保护和海洋经济贝类的“洁净”生产提供一些科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用幼虫取自青岛中国科学院海洋研究所贝

类生物实验组;实验用仔贝取自青岛西部沿海金沙滩水产开发有限公司。实验用海水是从胶州湾外青岛太平角引入中科院海洋所水族楼的无污染管道海水,使用前经沉淀沙滤和脱脂棉过滤,再经高温消毒并充分暴气使之达到氧饱和。

实验用塔玛亚历山大藻藻种 (*Alexandrium tamarense*) 由暨南大学提供,为 ATHK 品系。培养条件:非无菌培养,f/2 培养基;温度 20 ± 0.5 °C;光照 3 000 lx;光暗比 12 : 12。实验用藻取自指数生长期。

实验海水温度用 WMSK401 型和 WMZK01 型控温仪恒温水浴控制。海水盐度通过加蒸馏水调节,用

* 国家自然科学基金重大基金资助项目 39790110 号;国家自然科学基金资助项目 49576301 号;九五攻关课题 92202 号;国家重点基金资助项目 39630060 号;中国科学院海洋研究所调查研究报告第 3707 号。

本工作得到了中国科学院海洋所张福绥院士、何义朝研究员及张涛博士的热情指导与帮助,谨致谢忱。

收稿日期:1999-03-24;修回日期:1999-06-25

ATAGO手持式盐度计测定,仔贝实验直接取用经无污染管道沉淀沙滤过的海水。实验用 $d=60\text{ mm}$ 规格的培养皿作培养容器。用 Olympus 显微镜和 Reichert Austria 解剖镜观察。仔贝实验用容器为 $1\ 000\text{ ml}$ 烧杯。

1.2 方法

扇贝早期发育观察方面的实验参照匡世焕 1992 年的方法。取指数生长期的塔玛亚历山大藻经 $20\text{ }\mu\text{m}$ 筛绢过滤浓缩,用 0.5 ml 的计数框计数。实验分 6 组: 1 个对照组和 5 个实验组;实验组藻密度分别是 $0, 500, 1\ 000, 3\ 000, 5\ 000, 10\ 000$ 个/ ml ;每组 3 个平行容器放入恒温水浴预热。实验条件下,藻的生活状况良好。

1.2.1 塔玛亚历山大藻对墨西哥湾扇贝早期 D 形幼虫的影响实验 将水浴缸周围罩上黑布,造成黑暗环境。取刚孵化不久的墨西哥湾扇贝早期 D 形幼虫,在解剖镜下挑取活力强的个体平均分配到各实验容器中 (60 只/皿),并另取样固定测其大小。以球等鞭金藻为饵料,日投饵量为 $20\ 000\text{ cells/ml}$ 。观察记录 48 h 内不同密度梯度下幼虫的沉底率和死亡率。沉底率是指活力不强的个体占总个体数的比例。衡量个体活力不强的方法是:轻晃幼虫,使其集中于培养皿的中部,解剖镜下观察, 5 min 为限,如 5 min 后幼虫仍沉底不动则视其为活力不强。实验海水温度控制在 $26\text{ }^{\circ}\text{C}$,海水盐度调节至 $30\sim 31$ 。

1.2.2 塔玛亚历山大藻对墨西哥湾扇贝眼点幼虫的影响实验 将水浴缸周围罩上黑布,造成黑暗环境。取眼点幼虫,在解剖镜下挑取活力强的个体平均分配到各实验容器中 (40 只/皿),并另取样固定测其大小及眼点幼虫所占比例。每 48 h 彻底换水及藻液,以球等鞭金藻为饵料,日投饵量约 $50\ 000\text{ cells/ml}$ 。每 48 h 观察不同容器中幼虫的变态及存活情况。实验期间不投附着基。实验结束时,对变态后稚贝的个体大小进行测量。实验海水温度控制为 $23\text{ }^{\circ}\text{C}$,海水盐度调节至 $30\sim 31$ 。

1.2.3 塔玛亚历山大藻对墨西哥湾扇贝仔贝的影响实验 扇贝仔贝的爬升附着实验参照刘红 1993 年的方法。用 $1\ 000\text{ ml}$ 的大烧杯作培养容器,每杯 20 只 贝 (平均壳高 5 mm)。取指数生长期的塔玛亚历山大藻经 $20\text{ }\mu\text{m}$ 筛绢过滤浓缩,用 0.5 ml 的计

数框计数,配置出两个平行组。1 个对照,4 个实验藻密度梯度。为了保证藻细胞长时间悬浮,每个密度是分 4 次投喂形成的。假设藻细胞不被摄食,则最终可达到的密度分别是 $0, 600, 1\ 200, 1\ 800, 2\ 400$ 个/ ml 。定期对仔贝的爬升附着情况进行观测并对结果进行统计。仔贝实验直接取用经无污染管道沉淀沙滤过的海水。温度为 $24\text{ }^{\circ}\text{C}$,盐度为 32 。

2 结果

2.1 塔玛亚历山大藻对墨西哥湾扇贝早期 D 形幼虫的影响

对墨西哥湾扇贝的早期 D 形幼虫 (壳长 $\times$ 壳高 = $110\text{ }\mu\text{m} \times 90\text{ }\mu\text{m}$) 进行了短期急性影响实验。第 2, 5, 24, 48 h 观察结果表明,各实验密度组幼虫的存活均未受到影响,死亡率为零;但高密度组 ($10\ 000$ 个/ ml) 幼虫的游泳能力受到抑制,表现为沉底率高于其他密度组,如图 1 所示。

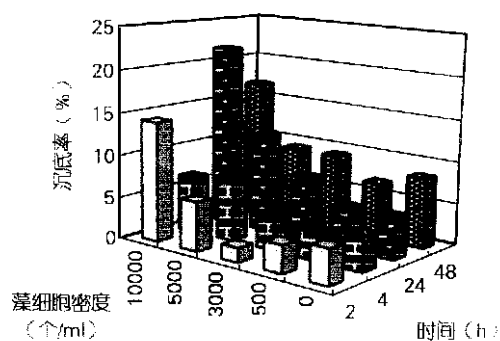


图 1 塔玛亚历山大藻对墨西哥湾扇贝早期 D 形幼虫 48 h 内沉底率的影响

2.2 塔玛亚历山大藻对墨西哥湾扇贝眼点幼虫的存活及变态的影响

对墨西哥湾扇贝眼点幼虫 (壳长 $\times$ 壳高 = $190\text{ }\mu\text{m} \times 180\text{ }\mu\text{m}$,眼点幼虫的比例: 70%) 14 d 的影响实验表明,各实验密度组的死亡率和变态率与对照组相比无显著性差别 ($P > 0.01$),值得注意的是,低密度组 (500 个/ ml) 的变态率明显高于对照组 (约为对照组的两倍),如表 1 所示。附着变态后稚贝个体的相对大小率 (实验密度组个体的平均大小/对照组个体的平均大小) 显著降低 ($\text{EC}_{50} = 5\ 200$ 个/ ml),如图 2 所

示。

表 1 塔玛亚历山大藻对墨西哥湾扇贝眼点幼虫存活和变态的影响

藻细胞密度 (个/ml)	0	500	1 000	3 000	5 000	10 000
死亡率 (%)	40	59	48	41	48	59
T 检验	各实验组与对照组相比无显著的负面影响 ($P>0.01$)					
变态率 (%)	20	38 ¹⁾	24	25	29	19
T 检验	各实验组与对照组相比无显著的负面影响 ($P>0.01$)					

1) 低密度组眼点幼虫的变态率约为对照组的两倍(见讨论 3.3)。

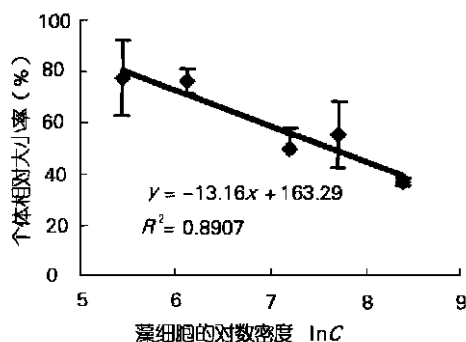


图 2 暴露于不同藻密度的墨西哥湾扇贝的眼点幼虫变态后个体相对大小的比较

2.3 塔玛亚历山大藻对墨西哥湾扇贝仔贝爬升附着的影响

1 h 的实验观测表明,有毒藻对仔贝的爬升能力有明显的抑制作用,分别表现在对爬升率的影响(1 h EC_{50} = 1 100 个/ml)和对爬升高度的影响如图 3、4 所示;作用 5 h 后仔贝的附着率与对照组相比显著性降低如表 2 所示。

3 讨论

3.1 本实验结果显示,塔玛亚历山大藻能对墨西哥湾扇贝的幼体发育产生不利影响。另外,在对栉孔扇贝受精卵孵化影响的实验中还发现,塔玛亚历山大藻能显著抑制栉孔扇贝受精卵的孵化。类似的作用在其它赤潮藻种中也有发现。例如:Granmo 等 1988 年的实验报道,在 1 700 个/ml 的藻 (*Chrysocentrum polylepis* Manton et Park) 密度下,约有 80 % 的紫贻贝

(*Mytilus edulis* L.) 卵不能受精;在 6 800 个/ml 的藻密度下,受精卵细胞几乎 100 % 解体。而对于扇贝的稚贝 (Postlarvae) 和仔贝 (Juvenile), 也有相关报道。Denn 等发现,有毒赤潮甲藻 (*Gyrodinium* CF. *Aureolum*, strain Tinduff) 具有抑制作用。1 500 个/ml 的藻密度下,稚贝 (Postlarvae) 实验中,96 h 的死亡率为 92 %。另一组针对仔贝的实验,20 d 的死亡率为 26 %。而且还发现仔贝的生长线出现畸形现象^[2]。

表 2 塔玛亚历山大藻对墨西哥湾扇贝仔贝附着的影响

藻细胞密度 (个/ml)	0	600	1 200	1 800	2 400
1 h 的附着率 (%)	88	98	88	90	95
T 检验	各实验组与对照组相比无显著性差别 ($P>0.01$)				
5 h 的附着率 (%)	93	85	80	83	83
T 检验	各实验组与对照组相比显著性降低 ($P<0.01$)				

3.2 麻痹性贝毒产生于藻细胞内部。对栉孔扇贝的实验中,作者推测塔玛亚历山大藻对受精卵孵化的抑制作用可能是由藻细胞表面的物质引起。在本实验中,作者发现由于藻细胞相对较大 ($> 20 \mu m$),幼虫不能摄食。观察死亡个体,还发现其面盘周围粘着了相当多的藻细胞,且胃的颜色很淡,说明几乎没有摄食,因此作者推测对幼体(仔贝除外)发育的影响也是藻细胞表面物质的作用。而仔贝(壳高 5 cm)能够摄食塔玛亚历山大藻(实验观察为真粪),因此藻细胞内有毒物质的抑制作用也应被考虑在内。Bagoien 等用两种能产生麻痹性贝毒的甲藻 (*Alexandrium minutum* Halleim, *Gyrodinium catenatum* Graham) 对一种桡足类浮游动物 (*Eutima acutifrons*) 进行实验发现,虽然这种浮游动物尝了几个甲藻细胞后,避开不再摄食,但有毒甲藻对其无节幼体的抑制作用还是非常强的。所以他推测是这种甲藻分泌的胞外毒素或其他产物在起作用^[1]。Simonson 等认为塔玛亚历山大藻 (*A. tamarense*) 的溶血作用是由非麻痹性贝毒物质引起的^[5]。

3.3 幼体发育是种群顺利繁衍的重要环节。水体中,受精卵的孵化,浮游性幼虫的生长、变态、附着,整个一个周期只有 20 d 左右的时间。这期间,水质环境的优劣对于扇贝的长成关系重大。由本实验结果可

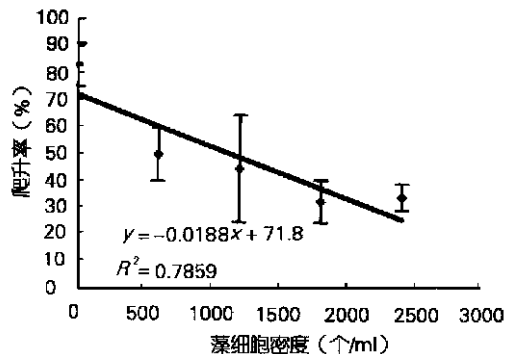


图3 塔玛亚历山大藻对墨西哥湾扇贝仔贝爬升率的影响

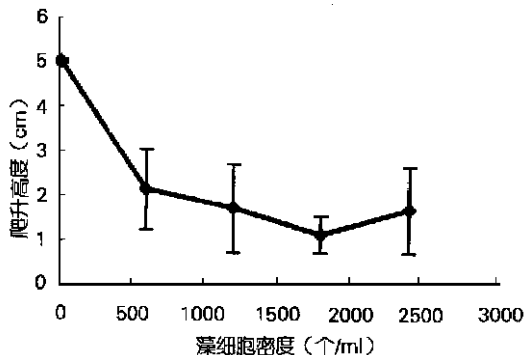


图4 塔玛亚历山大藻对墨西哥湾扇贝仔贝爬升高度的影响

知,塔玛亚历山大藻对墨西哥湾扇贝幼体发育的各阶段生命活动均能产生不利影响。因此在自然界贝类繁

殖期,它所引发的赤潮很有可能影响贝类的幼体发育,使其种群数量下降,给生态系统带来不良后果。

4 结论

塔玛亚历山大藻能抑制墨西哥湾扇贝早期D形幼虫的游泳能力;对D形幼虫的生长产生影响,使长成的稚贝个体较小;而且它还能抑制仔贝的爬升附着能力。总之,塔玛亚历山大藻对墨西哥湾扇贝幼体发育的各阶段均产生了不利影响。

参考文献

- 1 Bagoien, E. *et al.*. *Marine Biology*, 1996, 126: 361 ~ 369
 - 2 Denn, E. *et al.*. Effects of *Gyrodinium* CF. *Aureolum* on *Pecten maximus* (post larvae, juveniles and adults). In: Enda, Graneli *et al.* eds.. *Toxic Marine Phytoplankton*, London: Science Publishing Co., Inc., 1990. 132 ~ 136
 - 3 Hallegraeff, G. M. *et al.*. Harmful algal blooms: a global overview. In: Hallegraeff, G. M. *et al.* eds.. *Manual on Harmful Marine Microalgae*. Paris: IOC Manuals and Guides, UNESCO, 1995. 1 ~ 18
 - 4 Shumway, S. E. *et al.*. Management of shellfish resources. In: Hallegraeff, G. M. *et al.* eds.. *Manual on Harmful Marine Microalgae*. Paris: IOC Manuals and Guides, UNESCO, 1995. 433 ~ 448
 - 5 Simonsen, S. *et al.*. Haemolytic activity of *Alexandrium tamense* cells. In: Lassus, P. *et al.* eds.. *Harmful marine algal blooms*, New York: Lavoisier Publishing, 1995. 513 ~ 517
- (本文编辑:张培新)