

利用排水称重法测定、 分析不同海区牡蛎的贝壳密度*

竺奇慧^{1,2} 张瑞^{1,2} 纪鹏^{1,2} 许飞¹ 李莉¹ 张国范¹

(1. 海洋生态养殖技术国家地方联合工程实验室 中国科学院海洋研究所 青岛 266071;

2. 中国科学院大学 北京 100049)

提要 不规则物体体积测量的传统方法有排液法、称重法和排气法等, 不仅操作繁琐, 而且准确度及精确度低。本文首次提出了排水称重法, 利用该方法能够更加简单、快速、准确地测量出物体的体积和质量。用此法对不同海区 26 个采样点的 1100 个牡蛎贝壳密度进行了测定分析, 结果表明: 大部分牡蛎的左壳密度显著小于右壳密度($P < 0.05$); 对于不同海区间牡蛎, 贝壳密度存在极显著的差异($P < 0.001$); 分布海区相近的牡蛎间, 壳的密度也趋于相近; 受环境压力相对较大的潮间带上部的牡蛎, 贝壳密度也相对较大。本研究为剖析牡蛎贝壳形成机制以及温度、盐度和海洋酸化等环境因素对牡蛎贝壳形成的影响等研究提供了实验数据和参考。

关键词 排水称重法; 贝壳体积; 贝壳密度; 牡蛎

中图分类号 S917.4 doi: 10.11693/hyhz20131200209

牡蛎是一种营养价值和经济价值都较高的贝类, 在我国已经有 2000 多年的养殖历史。它们呈世界性分布, 各临海国家和地区几乎都产牡蛎, 也是目前我国乃至全球产量最大的经济贝类(王如才等, 2008)。作为滤食性贝类, 牡蛎主要分布在潮间带, 营固着和群聚生活, 是海洋生态系统的重要成员, 对其生活的内湾和近海水域环境起重要调控作用。海洋酸化是指由于吸收大气中过量二氧化碳(CO_2)而导致的海水逐渐变酸的现象。调查显示, 大多数中低纬度陆架海近岸海域表层 CO_2 分压明显高于海区中部区域(薛亮等, 2011), 也就是说, 相对其他海洋区域而言, 牡蛎所生活的近岸海域是最先也是最容易受到海洋酸化影响的海域。而牡蛎在贝壳形成的过程中, 能将饵料中摄取的有机碳以无机碳酸钙的形式固化, 从而为减少温室效应以及海洋酸化作出积极贡献。

贝壳的形成是一个有机和无机分子之间相互识

别的过程, 即有机分子控制无机凝聚态纳米结构材料形成的过程(Berman *et al*, 1993)。同时, 贝壳也是牡蛎抵抗外界环境变化和保护自身安全的第一道防线, 例如贝类在遭遇低盐等渗透压压力的胁迫时, 它们首先启动的是闭壳反应, 以隔绝软体部与环境的交流(Hoyaux *et al*, 1976)。而牡蛎所处的潮间带, 由于介于海陆之间, 交替露空和浸水, 对所处的生物在温度、盐度、缺氧等环境因素适应性上有较高的要求。因此, 贝壳的硬度、厚度及密度等物理性质与牡蛎适应潮间带恶劣环境之间有很大的相关性, 但是国内外却鲜见与之相关的研究报道。Zhang 等(2012)从基因组及转录组的角度分析了牡蛎贝壳形成的机制, 对于牡蛎贝壳研究奠定了重要的组学基础; 有研究者还发现了一些与长牡蛎贝壳形成相关的基因和蛋白(Wang *et al*, 2013; Song *et al*, 2014)。除此之外, 不同海区的饵料结构、水温变化、盐度变化以及潮汐海

*国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目, 2010CB126402 号; 国家自然科学基金重点基金, 40730845 号; 国家高技术研究发展计划(863 计划), 2012AA10A405 号; 贝类产业技术体系, CARS-48 号; 泰山攀登计划。竺奇慧, 博士研究生, E-mail: zqhpp@sina.com

通讯作者: 张国范, 博士生导师, 研究员, E-mail: gfzhang@qdio.ac.cn

收稿日期: 2013-12-24, 收修改稿日期: 2014-02-25

浪等环境因素也会作用于牡蛎的贝壳生长, 可能会影响牡蛎贝壳的密度。为此, 本研究采用排水称重法对来自于不同海区 26 个站点的 1100 个样品进行了测定分析, 旨在初步解析环境效应对牡蛎贝壳密度的影响, 为牡蛎贝壳形成机制以及温度、盐度和海洋酸化等环境因素对牡蛎贝壳形成的影响等研究提供实验数据和参考。

1 材料与方法

1.1 材料

本研究对不同海区牡蛎的贝壳密度进行了测量及比较分析, 样品取自国内 22 个不同海域(图 1), 以及 4 个国外血统牡蛎群体: 23 号来自日本、24 号来自韩国、25 号来自加拿大、26 号来自南非, 它们均为引种国内后的选育群体。

国内取样点以渤海近岸及黄海近岸为主, 少量分布在东海近岸以及南海近岸。巨牡蛎属在中国沿海的分布具有区域性(王海艳, 2004), 通过鉴定, 我们确认 1 至 19 号取样点所取牡蛎均为长牡蛎(*Crassostrea gigas*), 20 至 22 号取样点所取为葡萄牙牡蛎(*Crassostrea angulata*)。而国外血统的牡蛎均为人工养殖的长牡蛎,

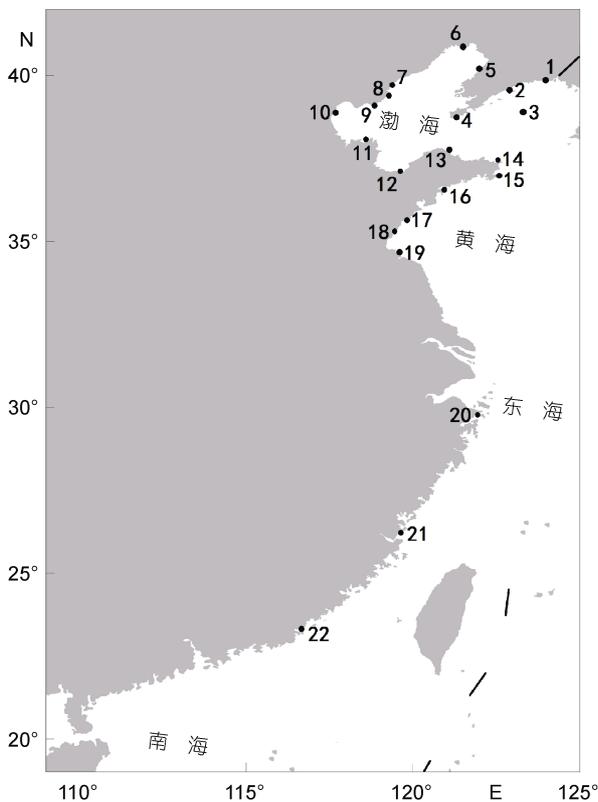


图 1 国内取样点分布图

Fig.1 The sampling sites of this study

与野生牡蛎相比, 其受到的环境压力相对较弱。根据牡蛎在潮间带的垂直分布, 取样点 2、6、13 号以及 20 号的牡蛎均取自潮间带上部。

1.2 方法

1.2.1 壳形态指数 在清除贝壳表面附着的生物和污物后, 先对牡蛎的壳长(L)、壳高(H)、壳宽(W)等形态相关参数进行测量, 其中壳长、壳高、壳宽参照蔡英亚等(1995)的定义。根据许飞等(2007)报道的方法, 计算牡蛎壳形态指数(SMI 值, shell morphological index), 用如下公式计算: $SMI=L \times W/H^2$ 。SMI 值相对较大的牡蛎, 其形态更接近圆形; 而 SMI 值相对较小的牡蛎, 其体形较为狭长。

1.2.2 排水称重法 在对牡蛎的形态相关参数进行测量后, 解剖牡蛎, 去除软体部。最后用排水称重法对牡蛎贝壳进行测量, 操作步骤如下:

(1) 准备量程 600g、精度 0.01g 的电子天平一台, 盛有蒸馏水的 500mL 烧杯一只, 镊子和记号笔, 以及待测的贝壳;

(2) 用记号笔在镊子夹物端以上 2cm 左右处划一条标线;

(3) 将烧杯置于电子天平上, 镊子伸入液面至步骤(2)所划标线处, 镊子必须悬于水中不触壁, 打开天平并调零(图 2a);

(4) 如图 2b 所示, 用镊子夹贝壳伸入液面至步骤(2)所划标线处, 镊子以及贝壳必须悬于水中不触壁, 待电子天平稳定后记录读数 m (单位: g), 该读数 m 的值即等于贝壳体积 V (单位: cm^3)(此步骤的原理见本文讨论部分);

(5) 如图 2c 所示, 放开镊子, 让贝壳沉至底部, 镊子的位置保持伸入液面至标线不变, 待电子天平稳定后记录读数 M (单位: g), 该读数 M 即为贝壳质量;

(6) 根据步骤(4)记录的贝壳体积 V 和步骤(5)记录的贝壳质量 M , 计算密度 $\rho=M/V$ 。

其中步骤(1)中所述电子天平可以是较为常见的量程为 500g 及以上、精度为 0.1g 或 0.01g 的电子天平, 烧杯的大小根据待测贝壳大小选择, 可以是 100mL 至 500mL 不等, 加入的水量以能够完全淹没贝壳但不溢出为度, 镊子是普通 10cm 左右长的铁质镊子, 记号笔是油性防水笔。

1.3 数据处理

测量结果用 Excel 软件及 R 语言软件进行分析和作图, 其中 R 语言部分参照汤银才(2008)以及薛毅等(2006)介绍的方法。除贝壳密度计算、密度均值及标

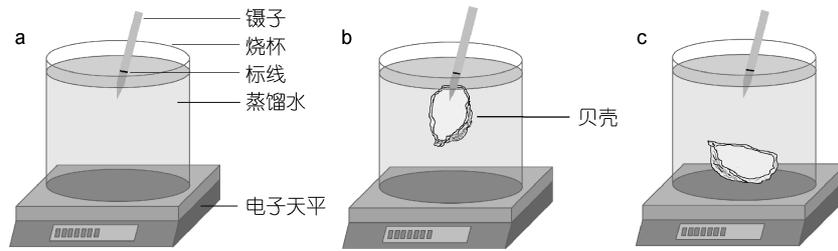


图 2 排水称重法操作示意图

Fig.2 Instructions of draining-weighing method

a. 归零值设置; b. 测量体积; c. 测量质量

准差计算等常规计算外,对不同取样点的每只牡蛎,利用配对样本 t 检验方法分析左右贝壳间的密度差异;对不同取样点间的牡蛎贝壳密度,用单因素方差分析法分析差异显著性,再利用多重 t 检验方法,对各取样点间的均值进行多重比较,并用 Bonferroni 方法校正 P 值。

为了分析牡蛎外形是否影响贝壳的密度,对不同取样点牡蛎的贝壳形态参数与贝壳总密度之间又进行了相关系数分析。相关系数的取值范围为 -1 至 $+1$ 之间(R 表示相关系数),相关系数的绝对值 $|R|$ 越接近于 1 ,表示两变量间的相关关系越密切;越接近于

0 ,表示相关关系越弱;若 $|R|=1$,则表示两个变量完全相关,正数为正相关,负数为负相关; $R=0$ 则表示完全不相相关(李彦萍等,2003)。

2 结果

2.1 牡蛎贝壳形态指数分析

各取样点牡蛎的壳长、壳高、壳宽等参数测量结果如表 1 所示,大部分取样点的牡蛎其 SMI 值在 0.19 至 0.28 之间;而 18 和 22 号取样点的牡蛎 SMI 值相对较大,牡蛎形态较圆;取样点 10、11 和 23 号的牡蛎 SMI 值较小,牡蛎形态较狭长。

表 1 不同取样点牡蛎形态参数测量结果

Tab.1 Morphological parameters of oysters shells from different sampling sites

| 取样地点 | 样本数量 | 壳高(mm) | 壳长(mm) | 壳宽(mm) | SMI 值 |
|------|------|----------------|--------------|--------------|-------------|
| 1 | 55 | 55.99 ± 10.81 | 35.64 ± 8.31 | 22.43 ± 5.62 | 0.26 ± 0.08 |
| 2 | 46 | 44.31 ± 7.22 | 27.36 ± 3.63 | 14.39 ± 3.34 | 0.21 ± 0.05 |
| 3 | 50 | 67.23 ± 9.85 | 43.42 ± 5.58 | 24.94 ± 6.36 | 0.25 ± 0.09 |
| 4 | 45 | 57.60 ± 9.08 | 35.65 ± 6.77 | 22.13 ± 3.94 | 0.25 ± 0.08 |
| 5 | 55 | 59.07 ± 10.34 | 36.28 ± 8.63 | 25.44 ± 4.63 | 0.27 ± 0.07 |
| 6 | 75 | 47.39 ± 6.30 | 30.87 ± 4.99 | 18.01 ± 2.89 | 0.25 ± 0.07 |
| 7 | 16 | 42.17 ± 10.43 | 34.16 ± 5.07 | 13.31 ± 2.21 | 0.27 ± 0.10 |
| 8 | 48 | 67.11 ± 10.44 | 41.57 ± 9.89 | 24.28 ± 4.66 | 0.23 ± 0.08 |
| 9 | 60 | 82.36 ± 18.68 | 43.92 ± 9.43 | 28.92 ± 6.80 | 0.20 ± 0.08 |
| 10 | 14 | 110.39 ± 19.92 | 54.74 ± 9.62 | 28.48 ± 4.04 | 0.13 ± 0.02 |
| 11 | 60 | 86.02 ± 23.50 | 37.67 ± 7.27 | 22.54 ± 4.14 | 0.14 ± 0.07 |
| 12 | 48 | 63.20 ± 9.67 | 35.60 ± 5.21 | 20.59 ± 4.05 | 0.19 ± 0.07 |
| 13 | 41 | 48.86 ± 6.64 | 32.64 ± 5.47 | 15.54 ± 3.06 | 0.22 ± 0.08 |
| 14 | 40 | 54.50 ± 7.78 | 31.53 ± 4.63 | 19.16 ± 5.18 | 0.21 ± 0.08 |
| 15 | 42 | 66.47 ± 9.99 | 37.80 ± 6.94 | 22.90 ± 3.72 | 0.21 ± 0.07 |
| 16 | 25 | 85.43 ± 14.05 | 51.77 ± 6.92 | 31.15 ± 5.86 | 0.23 ± 0.08 |
| 17 | 38 | 69.72 ± 10.13 | 42.73 ± 6.83 | 23.10 ± 3.65 | 0.21 ± 0.07 |
| 18 | 38 | 37.65 ± 4.56 | 25.84 ± 4.67 | 16.55 ± 3.03 | 0.31 ± 0.08 |
| 19 | 35 | 33.03 ± 4.64 | 20.49 ± 3.95 | 13.08 ± 2.59 | 0.25 ± 0.08 |
| 20 | 40 | 47.96 ± 9.70 | 29.93 ± 6.26 | 18.75 ± 3.78 | 0.27 ± 0.12 |
| 21 | 50 | 46.21 ± 7.40 | 32.02 ± 5.14 | 18.20 ± 2.78 | 0.28 ± 0.08 |
| 22 | 42 | 62.01 ± 10.16 | 42.25 ± 6.62 | 26.69 ± 5.44 | 0.31 ± 0.10 |
| 23 | 25 | 91.25 ± 12.59 | 49.56 ± 7.33 | 25.94 ± 4.04 | 0.16 ± 0.04 |
| 24 | 32 | 66.43 ± 13.48 | 38.84 ± 8.48 | 21.93 ± 3.57 | 0.21 ± 0.07 |
| 25 | 63 | 74.09 ± 6.76 | 53.00 ± 5.60 | 24.30 ± 3.22 | 0.22 ± 0.06 |
| 26 | 17 | 73.18 ± 21.54 | 39.32 ± 8.48 | 23.01 ± 4.77 | 0.19 ± 0.08 |

SMI: 牡蛎壳形态指数

2.2 不同海区牡蛎的贝壳密度

不同取样点牡蛎的贝壳密度测量结果见表 2。对左壳密度与右壳密度进行比较分析, 发现对于大部分取样点的牡蛎, 左壳与右壳之间的密度差异在统计上是显著 ($P < 0.05$) 甚至极显著 ($P < 0.01$) 的, 且从均值上反映出左壳密度小于右壳 (配对样本单尾 t 检验 $P < 0.001$); 仅三个取样点牡蛎的左右壳密度差异不显著。牡蛎的左壳一般稍大, 用于固着在岩礁等固形物上, 而右壳朝外。相对于左壳而言, 右壳需要承受更多的海浪冲击等环境压力, 这可能是导致牡蛎左壳密度小于右壳密度的原因。

表 2 不同取样点牡蛎贝壳密度均值

Tab.2 Shell density of oysters from different sampling sites

| 取样地点 | 左壳密度 (g/cm ³) | 右壳密度 (g/cm ³) | 贝壳总密度 (g/cm ³) | 左右壳密度差异显著性 |
|------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|------------|
| 1 | 1.89 ± 0.25 | 2.15 ± 0.28 | 1.97 ± 0.24 | c |
| 2 | 2.20 ± 0.11 | 2.42 ± 0.13 | 2.28 ± 0.10 | c |
| 3 | 2.17 ± 0.15 | 2.37 ± 0.26 | 2.23 ± 0.14 | c |
| 4 | 2.17 ± 0.13 | 2.35 ± 0.14 | 2.22 ± 0.12 | c |
| 5 | 2.01 ± 0.23 | 2.14 ± 0.27 | 2.05 ± 0.23 | b |
| 6 | 2.13 ± 0.15 | 2.32 ± 0.19 | 2.19 ± 0.15 | c |
| 7 | 1.95 ± 0.18 | 2.24 ± 0.31 | 2.07 ± 0.19 | b |
| 8 | 2.12 ± 0.12 | 2.36 ± 0.18 | 2.20 ± 0.11 | c |
| 9 | 1.88 ± 0.18 | 2.01 ± 0.18 | 1.93 ± 0.16 | c |
| 10 | 1.88 ± 0.13 | 2.00 ± 0.16 | 1.92 ± 0.13 | a |
| 11 | 1.92 ± 0.22 | 2.11 ± 0.31 | 1.97 ± 0.21 | c |
| 12 | 2.03 ± 0.16 | 2.23 ± 0.20 | 2.09 ± 0.14 | c |
| 13 | 2.09 ± 0.16 | 2.43 ± 0.28 | 2.20 ± 0.15 | c |
| 14 | 2.05 ± 0.14 | 2.38 ± 0.21 | 2.14 ± 0.14 | c |
| 15 | 1.92 ± 0.24 | 2.03 ± 0.23 | 1.96 ± 0.21 | b |
| 16 | 1.98 ± 0.15 | 2.11 ± 0.23 | 2.03 ± 0.16 | a |
| 17 | 1.96 ± 0.25 | 2.22 ± 0.20 | 2.05 ± 0.21 | c |
| 18 | 1.99 ± 0.36 | 2.12 ± 0.27 | 2.02 ± 0.22 | - |
| 19 | 1.99 ± 0.19 | 2.26 ± 0.29 | 2.07 ± 0.16 | c |
| 20 | 2.24 ± 0.14 | 2.48 ± 0.19 | 2.31 ± 0.13 | c |
| 21 | 1.68 ± 0.25 | 1.97 ± 0.37 | 1.76 ± 0.24 | c |
| 22 | 1.63 ± 0.30 | 1.64 ± 0.34 | 1.62 ± 0.29 | - |
| 23 | 1.80 ± 0.26 | 1.99 ± 0.31 | 1.85 ± 0.23 | a |
| 24 | 1.89 ± 0.16 | 2.09 ± 0.15 | 1.96 ± 0.14 | c |
| 25 | 1.70 ± 0.44 | 1.95 ± 0.26 | 1.77 ± 0.30 | c |
| 26 | 2.11 ± 0.16 | 2.28 ± 0.43 | 2.14 ± 0.15 | - |

“-”表示无显著性差异 ($P > 0.05$), “a”表示 $0.01 < P < 0.05$, “b”表示 $0.001 < P < 0.01$, “c”表示 $P < 0.001$ 。

对于不同取样点间牡蛎贝壳密度的差异, 我们分别对左壳密度、右壳密度以及贝壳总密度在 26 个取样点间共 1100 只牡蛎进行了单因素方差分析, 发现三者的 P 值均小于 0.001, 即各取样点间三者的差异都是极显著的。再对各取样点间的均值进行多重比较, 结果见图 3。26 组样本间一共进行了 351 组比较,

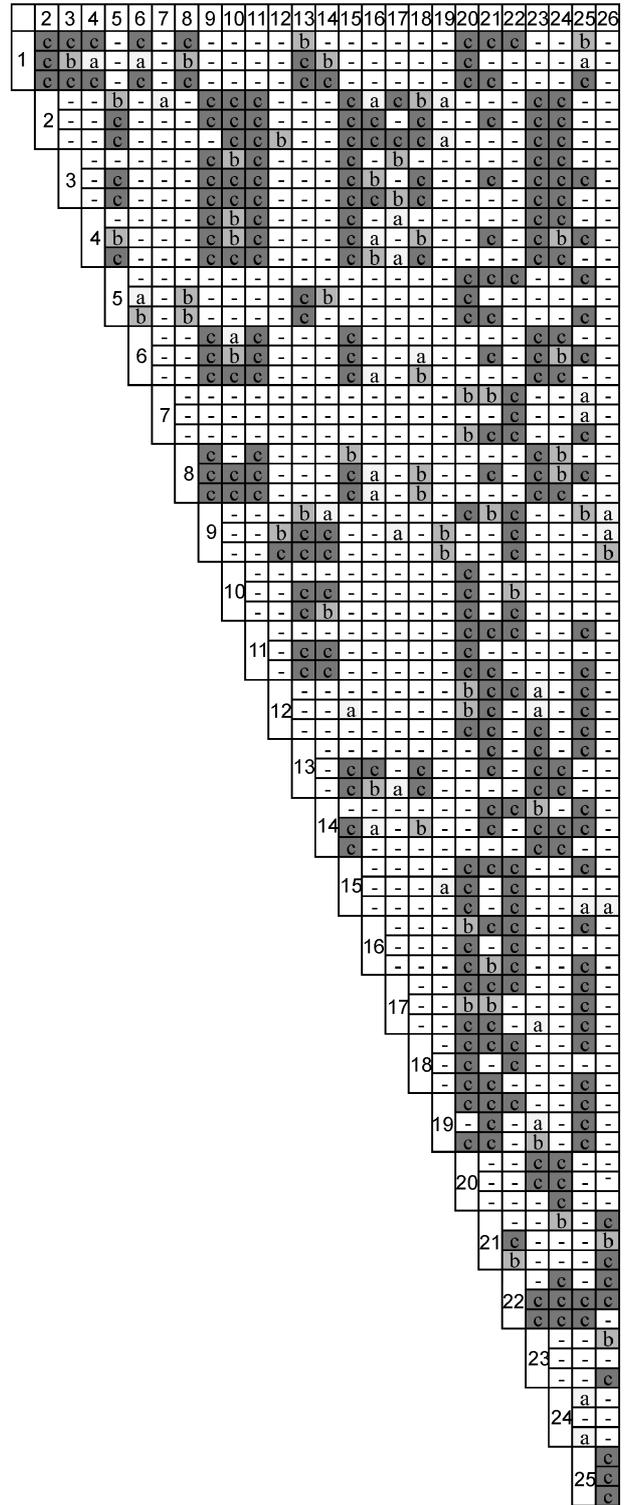


图 3 不同取样点间牡蛎贝壳密度均值的差异显著性
Fig.3 The significance of difference in density of oyster shells among sampling sites

图中每一行分三小行, 从上至下分别为左壳密度、右壳密度以及贝壳总密度在不同海区之间的差异显著性; 灰色表示不同的差异显著性; “-”表示无显著性差异 ($P > 0.05$), “a”表示 $0.01 < P < 0.05$, “b”表示 $0.001 < P < 0.01$, “c”表示 $P < 0.001$ 。

每组又有左壳密度、右壳密度及贝壳总密度 3 个比较, 即一共比较 1053 次。其中 $0.01 < P < 0.05$ 的比较有 34 次, $0.001 < P < 0.01$ 的比较有 56 次, $P < 0.001$ 的比较有 262 次, 即出现显著差异共 352 次, 占全部比较的 33.43%。而在 351 组比较中, 每组三个比较结果显著性不完全一致的有 119 组, 完全一致的有 232 组(占 65.91%)。

虽然牡蛎的左壳密度一般小于右壳, 对于不同海区间的牡蛎群体, 左壳密度差异、右壳密度差异以

及贝壳总密度差异三者相比, 变化趋势是相似的(图 4)。而地理位置相近的海区间的牡蛎群体间, 壳密度也有相近趋势。例如, 取样点 2 号、3 号及 4 号密度相近, 7 号与 8 号密度相近, 9 号、10 号及 11 号密度相近, 而它们之间的地理位置也相对较近。图 3 的差异显著性分析, 也佐证了两者间这一联系。推测因为相近水域有相似的水温变化、饵料结构, 牡蛎基因的差异也相对较小。

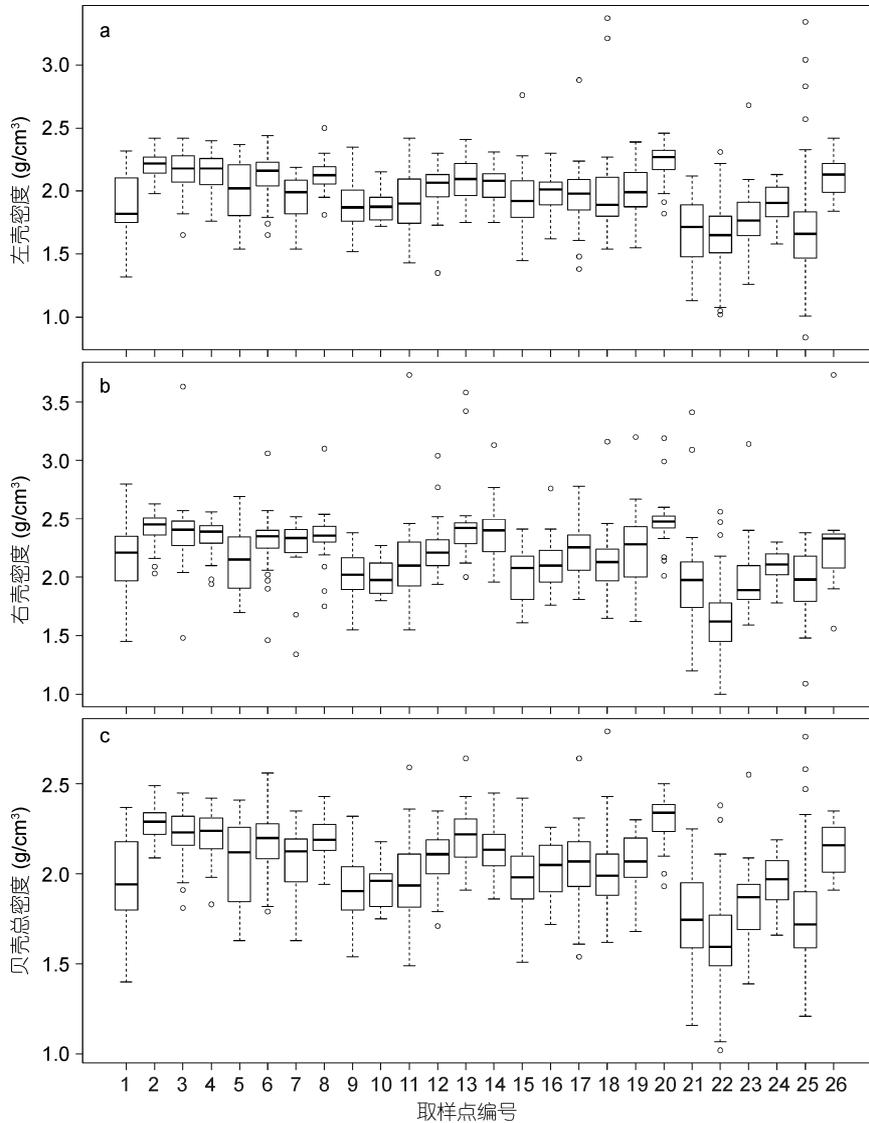


图 4 不同取样点牡蛎的左壳(a)、右壳(b)及左右壳总和(c)的密度分布箱线图

Fig. 4 Box plot of oysters left-shell (a), right-shell (b) and all-shells (c) density in different sampling sites

相对于养殖牡蛎以及潮间带中下部所取牡蛎, 取自潮间带上部的牡蛎密度相对较大。本研究中, 取样点 2、6、13 号及 20 号的牡蛎取自潮间带的上部, 相比其他组, 它们的贝壳密度显著较大。而比较取样点

20、21 号及 22 号的牡蛎, 它们均为葡萄牙牡蛎, 但是在潮间带上部生长的 20 号取样点牡蛎拥有相对较大的贝壳密度。一般认为, 处于潮间带的上部的牡蛎, 会经受较长时间的海浪冲击, 暴露在空气中的时间

也相对较长,这也导致它们所摄食的饵料较少,且温度、盐度等环境因子的变化在四季之间甚至一日之内都非常剧烈。潮间带上部这种恶劣的生长环境,足以导致贝壳生长缓慢,从而使生物和非生物物质在贝壳内慢慢累积,这可能是它们的贝壳密度相对较大的原因。

对于不同取样点牡蛎的贝壳形态参数与贝壳总密度之间相关系数的分析结果见表 3。对于大部分取样点的牡蛎,贝壳形态参数与贝壳总密度之间的相关性很弱($|R| < 0.4$); 仅少数几个取样点的牡蛎,某些形态参数与贝壳总密度有显著相关($|R| > 0.6$); 而 SMI 值在大部分取样点的牡蛎中与贝壳总密度都相关性很弱,说明牡蛎外形长或圆与贝壳密度的大小基本没有关系。

表 3 不同取样点牡蛎的贝壳形态参数与贝壳总密度相关系数

Tab.3 The correlation coefficient between shell morphological parameters and density of all oysters shells in different sites

| 取样地点 | 与贝壳总密度相关系数 | | | |
|------|------------|-------|-------|-------|
| | 壳高 | 壳长 | 壳宽 | SMI 值 |
| 1 | 0.47 | 0.65 | 0.35 | 0.14 |
| 2 | 0.28 | 0.06 | 0.13 | -0.21 |
| 3 | -0.18 | -0.14 | -0.23 | -0.06 |
| 4 | 0.09 | 0.07 | 0.00 | -0.02 |
| 5 | 0.60 | 0.78 | 0.25 | 0.01 |
| 6 | 0.08 | 0.09 | -0.37 | -0.27 |
| 7 | -0.62 | -0.18 | -0.80 | 0.26 |
| 8 | 0.14 | 0.30 | -0.10 | -0.04 |
| 9 | -0.12 | -0.08 | -0.04 | 0.13 |
| 10 | -0.04 | 0.13 | 0.14 | 0.20 |
| 11 | -0.56 | -0.14 | -0.18 | 0.59 |
| 12 | -0.01 | 0.18 | -0.29 | -0.08 |
| 13 | 0.09 | 0.10 | -0.17 | -0.15 |
| 14 | 0.01 | 0.08 | 0.26 | 0.28 |
| 15 | -0.04 | 0.19 | 0.11 | 0.25 |
| 16 | 0.20 | 0.12 | 0.10 | -0.12 |
| 17 | -0.40 | 0.10 | -0.24 | 0.33 |
| 18 | 0.16 | 0.30 | -0.02 | 0.06 |
| 19 | -0.11 | 0.00 | -0.19 | -0.03 |
| 20 | -0.11 | -0.18 | -0.04 | 0.02 |
| 21 | -0.25 | -0.12 | -0.03 | 0.19 |
| 22 | -0.31 | -0.36 | -0.48 | -0.18 |
| 23 | -0.18 | -0.06 | 0.03 | 0.16 |
| 24 | -0.27 | -0.17 | -0.11 | 0.16 |
| 25 | -0.01 | 0.00 | -0.41 | -0.20 |
| 26 | -0.54 | -0.38 | -0.04 | 0.47 |

3 讨论

3.1 排水称重法的原理

本研究首次提出了采用排水称重法测量贝壳的质量和体积。在该方法的步骤(2)中用记号笔在镊子夹物端以上 2cm 左右处划一条标线,且后续步骤中镊子均伸入液面至此标线处,这样可以使每次伸入液面下镊子的体积基本一致,以尽量消除该部分体积的变化对测量准确度的影响。而步骤(3)和(4)中均提及镊子或贝壳必须悬于水中不触壁,这是为了不使镊子或贝壳的重力直接作用于烧杯而影响测量的准确度。

由于步骤(4)中(图 2b)贝壳没有触壁,故所测得的质量 m 等于液面升高的水的质量,根据密度公式,该液面升高的水的体积 $v = \rho \times m$,而蒸馏水的密度 ρ 在常温下为 1.0g/cm^3 ,故有 $v = m$; 而根据阿基米德定律,该液面升高的水的体积 v 即等于所测的贝壳体积 V ,于是有 $V = v = m$,故得出 m 的值等于贝壳体积 V 的值。

贝壳在步骤(5)中(图 2c)沉入水底,其重量直接作用于烧杯底部。若将所有烧杯内各物体考虑为一个整体系统,与步骤(3)比较,此时该系统中只增加了贝壳的重量。水作用于贝壳的浮力及贝壳对水的反作用力,均属于该系统内部的力,而对于烧杯外的电子天平而言,只增加了贝壳的重力,故读数 M 即为贝壳质量。

3.2 排水称重法的优势

牡蛎壳形极不规则且壳表粗糙,各种环境因子比如风浪冲击、其他生物的固着或附着以及固着物的形状和种类,都会影响到牡蛎贝壳形状(王如才等, 2008)。传统的不规则物体的体积测量方法有排液法、称重法和排气法等(迟善武, 1996),而测量牡蛎贝壳体积一般用排水法和称重法(许飞等, 2007)。

其中排水法是在量筒中加入蒸馏水并记录水位刻度,将贝壳浸没于水中,再次读取水位刻度,两个水位刻度差即贝壳体积。该方法中,误差主要源于操作者对牡蛎浸没前后量筒中的水位进行读数时的人为误差和由于量筒刻度不够精细所带来的误差,这种误差的绝对值随量筒的量程增大而增加。由于量筒相对烧杯来说是细长型容器,口径较小,所以牡蛎的壳尺寸决定了使用量筒的量程,比如 500mL 的量筒只能适用于壳长小于 4.5cm 的牡蛎。又由于量筒的刻度不够精细,比如 500mL 的量筒最小刻度为 10mL,而牡蛎贝壳的体积一般小于 10cm^3 ,故贝壳体积测量

值只能是估计数,系统误差较大。

称重法是在烧杯中加入蒸馏水至足够浸没贝壳,并标记水位刻度,再测出4个数据:空烧杯的质量(W_0)、空烧杯加牡蛎贝壳的质量(W_1)、空烧杯加水至标记水位处后的总质量(W_2)、以及空烧杯内放入牡蛎贝壳,然后加水至标记水位处后的总质量(W_3)。把4个数值代入公式
$$V = \frac{(W_2 - W_0) - (W_3 - W_1)}{\rho_0}$$
 计算贝壳体积。这种方法的误差主要也来源于操作者对烧杯中水位的辨别,由于烧杯内径较大,所以标定水位时的误差也较大;且对于体积较小的牡蛎贝壳,排水所造成的液面上升不明显,测量准确度低。

相比这两种方法,本研究提出的排水称重法更加简单、快速而准确,其优点有:操作简单,一次操作即可以准确得到牡蛎贝壳的体积,且无需如称重法中所述的繁琐计算步骤;测量结果准确,该方法中人工标定的过程只涉及控制镊子伸入液面的高度,不易出现大误差;适用于所有牡蛎贝壳的测量,即使对小体积的牡蛎贝壳也能进行准确测量。

双壳贝类中常用肥满指数(也称条件指数)作为育种的重要指标,它是指肉质部的肥瘦程度(张福绥等,1986),可以用来确定适宜的采收时期、进行采苗预报,并对其开展增养殖工作具有重要指导意义。而牡蛎一般以软体部干质量与壳腔容积的比值计算肥满度(Massapina *et al.*, 1999; Huang *et al.*, 2006)。利用排水称重法,可以方便快捷地测量和计算出牡蛎的壳腔容积,只需测量牡蛎个体体积及其贝壳体积,两者相减即为壳腔容积。

3.3 贝壳密度与环境效应关系

生物与其所处环境总是相互影响、密不可分的,尤其是对于像牡蛎这样营固着生活的物种,其环境效应更不可忽视。在物理因子方面,有研究表明牡蛎的生长效率在20°C左右最高(周一兵等,2000),在此温度下所摄入的能量用于生长的部分最高,而较快的生长速度可能会引起牡蛎在贝壳上的积累减少,导致贝壳密度相对较小;另一个影响牡蛎贝壳密度的显而易见的因素是海浪冲击,在受到海浪冲击较严重的海域,牡蛎往往需要更坚硬的外壳保护自己。在化学因子方面,海水的pH值是对牡蛎贝壳密度影响较大的因素。海洋酸化所导致最严重的结果是破坏碳酸盐在水中的电离平衡,使海水中的碳酸根离子(CO_3^{2-})浓度降低,引起海洋中碳酸盐的不断溶解,这将影响具有碳酸钙外壳的贝类的生物矿化过程。已

有的许多研究表明,海洋pH值降低对海湾扇贝、文蛤、栉孔扇贝及马氏珠母贝等多种贝类的贝壳形成过程有显著的影响(Talmage *et al.*, 2010; 何盛毅等, 2011; Van Colen *et al.*, 2012)。在生物因子方面,牡蛎饲料的种类与数量会影响贝壳的生长;而牡蛎所处海域如捕食牡蛎、寄生于牡蛎的敌害生物也会影响牡蛎贝壳密度的大小。

不同海区间牡蛎的贝壳密度的差异以及相同海区牡蛎的左右壳密度差异,是牡蛎适应环境的结果。一方面,在全球变暖、海洋酸化等恶劣环境因子日益加重的背景下,牡蛎无论是内在生理还是外在贝壳都遭受到更加严峻的环境压力;另一方面,环境给予牡蛎的选择压力,迫使牡蛎调整自身,以适应环境。因此,不同海区的牡蛎贝壳密度的差异,是牡蛎基因层面的遗传特性以及环境因子如温度、盐度以及饵料等综合作用的结果,也是牡蛎适应性进化的外在表现。

致谢 本研究样本的采集、解剖和测量等工作量较大,华中科技大学王梦娜同学全程参与了贝壳密度的测量工作,中国海洋大学的李琪教授提供了韩国和日本血统的牡蛎样本,本实验室其他同仁参与了牡蛎的解剖,在此一并感谢。

参 考 文 献

- 王如才,王昭萍,2008. 海水贝类养殖学. 青岛:中国海洋大学出版社,116—140
- 王海艳,2004. 中国近海常见牡蛎分子系统演化和分类的研究. 青岛:中国科学院海洋研究所博士学位论文,39—99
- 汤银才,2008. R语言与统计分析. 北京:高等教育出版社,226—239
- 许飞,刘晓,张国范,2007. 牡蛎壳腔容积的两种测量方法比较. 海洋科学,31(7):15—19
- 李彦萍,杨红霞,2003. 非参数统计中相关系数的计算及其应用. 山西农业大学学报,23(4):363—366
- 何盛毅,林传旭,何毛贤等,2011. 海洋酸化对马氏珠母贝胚胎和早期幼虫发育的影响. 生态学杂志,30(4):747—751
- 迟善武,1996. 一种实现小体积测量的精确方法. 化工自动化及仪表,23(2):44—47
- 张福绥,何义朝,刘祥生等,1986. 胶州湾贻贝肥满度的研究. 中国贝类学会. 贝类学论文集. 北京:科学出版社,2:80—88
- 周一兵,宋坚等,2000. 不同温度下太平洋牡蛎三倍体和二倍体生物能量学比较. 水产学报,24(6):504—509
- 蔡英亚,张英,魏若飞,1995. 贝类学概论(第二版). 上海:上海科学技术出版社,28—31
- 薛亮,张龙军,2011. 北黄海夏季 $p\text{CO}_2$ 分布及海-气 CO_2 通量. 中国海洋大学学报,41(12):22—29

- 薛毅, 陈立萍, 2006. 统计建模与 R 软件. 北京: 清华大学出版社, 144—151
- Berman A, Hanson J, Leiserowitz L *et al*, 1993. Biological control of crystal texture: a widespread strategy for adapting crystal properties to function. *Science*, 259(5096): 776—779
- Hoyaux J, Gilles R, Jeuniaux C *et al*, 1976. Osmoregulation in molluscs of the intertidal zone. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 53(4): 361—365
- Huang S C, Hsieh H L, Chen C P, 2006. Effects of the winter Monsoon on the growth, mortality, and metabolism of adult oysters in Kinmen Island, Taiwan. *Aquaculture*, 251(2—4): 256—270
- Massapina C, Joaquim S, Matias D *et al*, 1999. Oocyte and embryo quality in *Crassostrea gigas* (Portuguese strain) during a spawning period in Algarve, South Portugal. *Aquatic Living Resources*, 12 (5): 327—333
- Song X R, Wang X T, Li L *et al*, 2014. Identification two novel nacrein-like proteins involved in the shell formation of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Molecular Biology Reports*, 41(7): 4273—4278
- Talmage S C, Gobler C J, 2010. Effects of past, present, and future ocean carbon dioxide concentrations on the growth and survival of larval shellfish. *Proceedings of the National Academy of the Sciences of the United States of America*, 107(40): 17246—17251
- Van Colen C, Debusschere E, Braeckman U *et al*, 2012. The early life history of the clam *Macoma balthica* in a high CO₂ world. *PLoS One*, 7(9): e44655
- Wang X, Song X, Wang T *et al*, 2013. Evolution and functional analysis of the Pif97 gene of the Pacific oyster *Crassostrea gigas*. *Current Zoology*, 59(1): 109—115
- Zhang G, Fang X, Guo X *et al*, 2012. The oyster genome reveals stress adaptation and complexity of shell formation. *Nature*, 490(7418): 49—54

MEASUREMENT AND ANALYSIS OF SHELL DENSITY OF OYSTERS FROM DIFFERENT AREAS IN DRAINING-WEIGHING METHOD

ZHU Qi-Hui^{1,2}, ZHANG Rui^{1,2}, JI Peng^{1,2}, XU Fei¹, LI Li¹, ZHANG Guo-Fan¹

(1. National & Local Joint Engineering Laboratory of Ecological Mariculture, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China)

Abstract Conventional methods for determining the volume of an irregular-shaped object include liquid or gas draining and weighing. These methods are complicated to operate, and low in precision. In this study, we described a novel draining-weighing method, with which the volume and weight of an irregular-shaped object can be easily and quickly measured in high precision. We measured and analyzed the shell density in the new method for 1100 oysters collected in 26 different sea areas. The result illustrates that the density of the left shell seemed greater ($P < 0.05$) than that of the right half. The shell density showed significant differences among different sea areas. For any of the sea areas, the greater the distance in-between, the closer of the shell density produced. In addition, oysters from upper intertidal zone under harsh environmental stress presented greater shell density.

Key words draining-weighing method; shell volume; shell density; oyster