

盐度对近江牡蛎幼虫生长及存活的影响

薛凌展^{1,2}, 阙华勇¹, 张国范¹, 杨笑波³, 方彰胜³, 高如承²

(1. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071; 2. 福建师范大学 生命科学学院, 福建 福州 350108; 3. 广东省水产学校, 广东 广州 510320)

摘要: 采用室内培育手段, 研究了盐度对近江牡蛎 (*Crassostrea rivularis*) 幼虫生长及存活的影响。将人工授精孵育的面盘幼虫分别置于盐度依次为 16, 25, 30 的砂滤海水中培育至眼点幼虫。每隔一天检测各盐度组幼虫的壳长、壳高和存活数量。结果表明, 16 盐度组的幼虫生长最快, 25 盐度组次之, 30 盐度组最慢。从受精后第 14 天开始, 16 盐度组幼虫的生长显著快于 30 盐度组 ($P < 0.05$)。在整个浮游幼虫阶段, 高盐度组幼虫的存活率低于低盐度组, 其中 30 盐度组的存活率最低。16 和 25 盐度组在幼虫出现眼点之前均出现大量死亡现象, 而 30 盐度组并没有出现大量死亡现象。上述结果说明, 近江牡蛎幼虫经过高盐驯化, 对高盐环境的抗性具有一定的提高。

关键词: 近江牡蛎 (*Crassostrea rivularis*); 幼虫; 耐高盐性; 生长; 存活

中图分类号: S917 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3096 (2007)09-0073-05

近江牡蛎 (*Crassostrea rivularis*) 味道鲜美, 营养丰富, 深受人民群众的喜爱, 是中国南方主要经济贝类和中国传统的出口海产品。近江牡蛎属广盐性种类, 适宜盐度范围为 5~25, 最适盐度范围 10~20, 对低盐度有较强的抗性, 但对高盐度的耐受性弱, 适宜栖息在河口咸淡水环境^[1]。在夏季若逢久旱无雨, 处于高水温、高盐度等环境下的近江牡蛎等贝类因免疫力迅速下降, 易爆发各种疾病造成大规模死亡^[2,3]。近些年在广东、广西等近江牡蛎主要养殖区, 冬季因雨水稀少等原因导致河流入海径流大幅下降时, 频繁发生近江牡蛎大规模死亡, 导致严重的经济损失。冬季近江牡蛎的死亡呈现离河口越远, 死亡率越高的特点, 导致死亡的主要原因与养殖海区的海水盐度升高有密切关系。目前未见有关盐度对近江牡蛎生长及存活影响的报道。作者初步研究了盐度对近江牡蛎幼虫生长及存活的影响, 为以后近江牡蛎的养殖以及选育耐高盐性近江牡蛎奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料来源

近江牡蛎亲贝为人工养殖 2~3 龄的成贝, 取自

广东省阳江市程村海区。

1.2 实验方法

1.2.1 亲贝管理

从海上取回性腺发育较好的亲贝, 置于实验室内培育 2 周, 促进亲贝性腺的进一步成熟。每天投喂扁藻 (*Platymonas* sp.) 4 次, 每日换水, 水温为 28℃, 盐度为 20。

1.2.2 人工授精

选择性腺发育良好的亲贝, 解剖取精子和卵子进行人工授精。精卵比例控制在一个卵子周围有 4~5 个精子, 受精和孵化过程中水温控制在 28~29℃。

收稿日期: 2007-06-25; 修回日期: 2007-07-12

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30471326); 国家自然科学基金青岛市联合资助项目 (05-2-P-1); 山东省博士基金项目 (2005BS07002); 广东省科技计划项目 (2005B20301009); 广东省重大科技兴海项目 (B200500A05)

作者简介: 薛凌展 (1981-), 男, 福建莆田人, 硕士研究生, 研究方向: 养殖生物学, E-mail: xlz5872@163.com; 阙华勇, 通讯作者, 研究员, 主要从事海洋生物技术研究

48 h 后统计各组的 D 形幼虫数量, 测算孵化率, 最后将幼虫三等分, 分别放在不同盐度的海水中进行培养。本实验设 3 个盐度梯度, 分别为 16, 25, 30, 盐度提前 1 d 用海水素配置。实验重复 2 次。

1.2.3 幼虫的检测

幼虫培育期间每 2 d 取 1 次样, 测量幼虫的壳长壳高, 并统计各组幼虫密度, 计算存活率, 持续观测至眼点幼虫阶段。眼点幼虫判断标准: 以幼虫足基部出现明显的黑色眼点为标志。

1.2.4 幼虫的管理

在实验期间, 换水 2 次/d, 根据幼虫的生长, 更换筛绢规格。所用海水经砂滤和紫外线照射处理。近江牡蛎幼虫前期投喂球等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*) 3 000~6 000 个/mL, 后期补充投喂扁藻 (*Platymonas* sp.) 1 000~13 000 个/mL, 3 次/d。

1.2.5 数据处理

实验数据采用 SPSS 11.5 统计软件处理。

2 结果

2.1 受精率和孵化率

两批试验的受精率和孵化率均不高, 平均受精率为 63.9%, 平均孵化率为 61.15%, 两批之间的受精率和孵化率差异不显著 ($P < 0.05$)。

2.2 幼虫的生长

通过观察幼虫的壳长与壳高 (图 1、图 2), 发现受精后第 2 天到第 16 天幼虫生长缓慢, 不同盐度组之间的生长速度差异不显著 ($P > 0.05$), 第 16 天到第 24 天, 16 和 25 盐度组的生长速度明显加快, 而 30 盐度组的幼虫还处于缓慢生长期, 30 组的生长速度显著慢于 16 组 ($P < 0.05$), 25 和 16 盐度组幼虫的生长速度差异不显著 ($P > 0.05$)。

此外, 3 个盐度组间幼虫的日平均生长速度差异不显著 ($P > 0.05$), 除了第二批 30 盐度组的壳宽, 见表 1。

2.3 幼虫的存活

受精后前 8 d, 3 组的幼虫存活率急剧下降, 其中 30 盐度组的幼虫存活数量下降最快, 第 10 天时幼虫数量仅剩下 65 000 个, 但不同盐度组间的幼虫数量变化差异不显著 ($P < 0.05$), 见图 3。

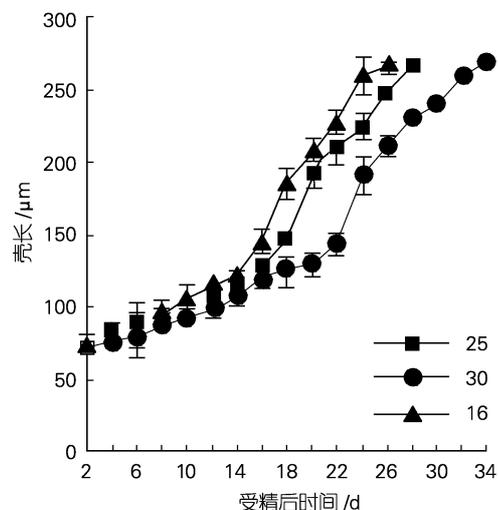


图 1 不同盐度下近江牡蛎幼虫壳长的变化

Fig.1 The variation of shell length of *Crassostrea rivularis* larvae cultured under various salinities

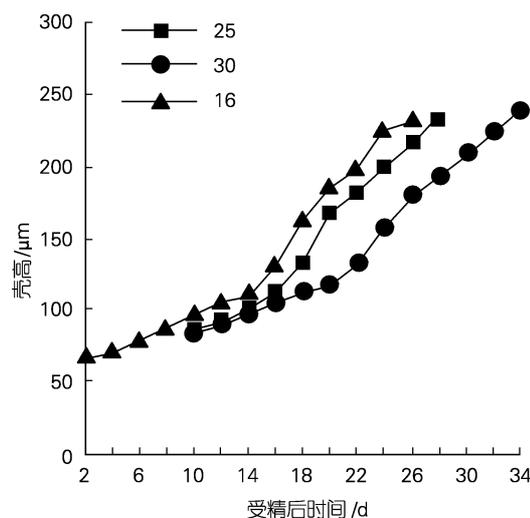


图 2 不同盐度下近江牡蛎幼虫壳高的变化

Fig.2 The variation of shell height of *Crassostrea rivularis* larvae cultured under various salinities

表 1 不同盐度幼虫日平均生长速度的比较

Tab.1 Daily average growth rate of *Crassostrea rivularis* larvae under different salinity conditions

盐度	壳长 (μm)		壳高 (μm)	
	第一批	第二批	第一批	第二批
16	17.9±15.3	16.5±9.5	15.3±12.7	13.8±10.1
25	14.9±12.1	15.0±10.3	12.8±10.3	13.4±8.6
30	13.2±12.0	12.5±10.7	10.8±7.9	10.9±7.0*

注: *表示差异显著 ($P < 0.05$)

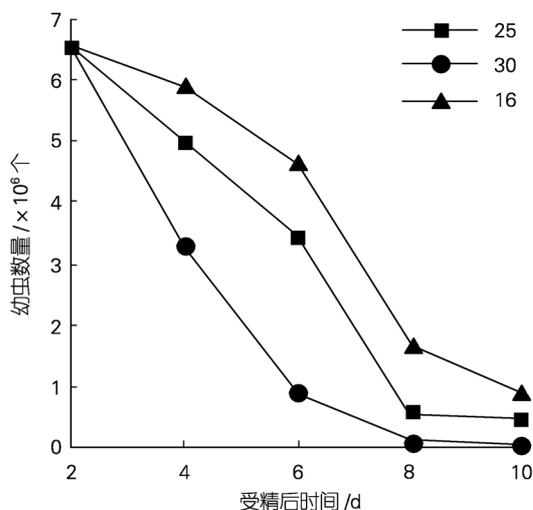


图 3 近江牡蛎浮游幼虫前期数量的变化情况

Fig.3 The change of the number of larvae of *Crassostrea rivularis* during the early pelagic stage

从受精后第 10 天开始, 25 盐度组幼虫的存活率接近 16 组, 两组差异不显著 ($P > 0.05$), 而 30 盐度组幼虫则始终保持低存活率, 与 16 和 25 组差异显著 ($P < 0.05$), 见图 4。

在眼点幼虫出现之前, 16 和 25 盐度组均出现大量死亡现象 (图 5)。虽然 30 盐度组幼虫一直保持较低的存活率, 但是其幼虫数量变化不大, 在眼点出现之前并没有出现大规模死亡。25, 30, 16 盐度组的幼虫在出现眼点幼虫时的存活率分别是: 0.053%, 0.005%, 0.457%。

2.4 眼点幼虫出现的时间

3 个盐度组的幼虫都相继发育至眼点幼虫。在两

次实验中, 16 盐度组的幼虫发育最快, 在受精后 25 d 左右开始出现眼点幼虫; 30 组的幼虫发育比较慢, 两批实验分别在受精后 32 d 和 34 d 出现眼点幼虫 (表 2)。

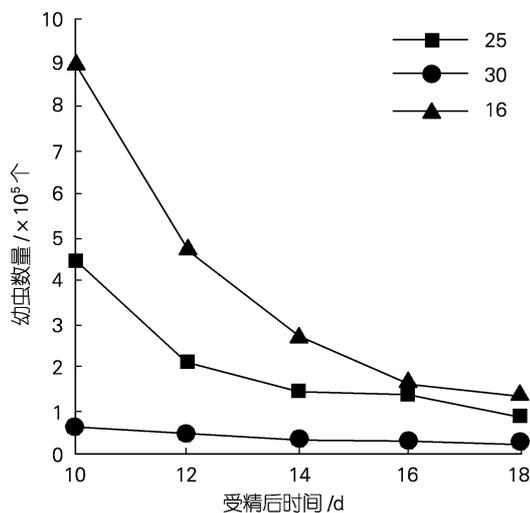


图 4 近江牡蛎浮游幼虫中期数量的变化情况

Fig.4 The change of the number of *Crassostrea rivularis* larvae during the mid pelagic stage

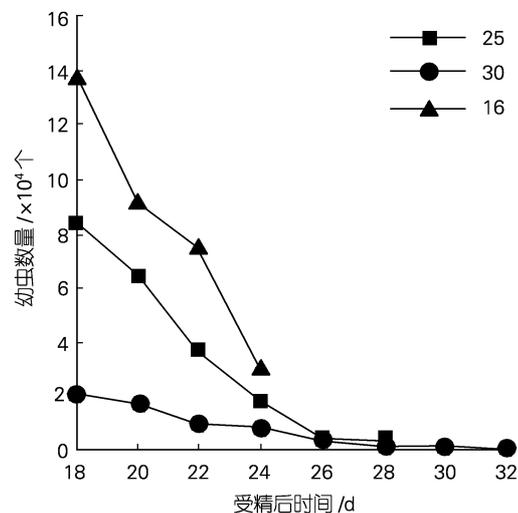


图 5 近江牡蛎浮游幼虫后期数量的变化情况

Fig.5 The change of the number of *Crassostrea rivularis* larvae during the later pelagic stage

表 2 近江牡蛎眼点幼虫出现的时间

Tab. 2 Period of time for eyed larvae appearance in

盐度	眼点幼虫出现时间(d)	
	第一批	第二批
16	24	26
25	28	28
30	32	34

3 讨论

在受精后的前 8 d, 3 个盐度组的幼虫均生长缓慢, 三者的生长速度差异不显著 ($P < 0.05$)。经过一段时间的调整适应, 至受精后第 20 天, 16 和 25 盐度组的幼虫相继进入了快速生长阶段, 而 30 盐度组的幼虫生长速度仍比较慢。从第 22 天开始 30 盐度组的幼虫发育速度才逐渐加快。这可能与高盐胁迫的强度有关。有研究表明, 高盐环境中的对虾幼虫, 新陈代谢的大部分能量用于维持渗透压调节, 而用于维持免疫系统及机体生长的能量减少了, 从而导致免疫力下降、生长放慢或停止^[4]。而马洪明等^[5]通过盐度骤降的方法研究盐度变化对栉孔扇贝血细胞、血浆蛋白以及相关酶活的变化情况, 结果表明盐度突然变化导致栉孔扇贝抗病力指标明显下降, 盐度变化的幅度越大, 抗病力指标的恢复期越长。因此近江牡蛎幼虫在 30 盐度组生长慢, 比 25 盐度组需要更长的时间调节渗透压。

在受精后的的前 8 d, 3 个盐度组的幼虫均出现了大量死亡的现象, 其中 30 盐度组的幼虫数量急速下降, 这主要是精卵质量不佳以及幼虫对高盐环境的不适所致。从受精后第 10 天开始, 30 盐度组幼虫的存活率虽较低, 但幼虫数量日趋稳定。由于水质的恶化, 16 和 25 盐度组幼虫在眼点出现前均出现大量死亡, 而 30 盐度组的幼虫并没有发生。这暗示了经过一段时间高盐驯化的近江牡蛎幼虫, 其抗逆性具有一定的提高。何义朝等^[6]对墨西哥湾扇贝稚贝盐度适应性的研究表明, 高盐环境对稚贝存活、生长、体质量增长的影响小于低盐环境。结合本文的结果, 说明了幼虫对高盐耐受性还有一定的潜力, 有待于进一步挖掘。在贝类和虾类都有利用短时盐度胁迫测试来评价幼虫质量和抗逆性的报道^[7-9]。通过短时的环境胁迫测试, 存活率高的幼虫在其后的一段发育和生长过

程中具有优势, 对逆性环境的总体耐受力得到提高^[10], 但是目前为止还没有确切的证据来阐明幼虫抗逆性的提高与盐度胁迫之间的确切关系。通常认为近江牡蛎适应低盐的环境, 但是本实验的两个高盐组的幼虫相继发育至眼点幼虫, 初步说明了近江牡蛎幼虫经过驯化, 具有在盐度达 30 环境下生长发育的潜力。

贝类对盐度的耐受力与渗透调节能力、营养状况和遗传变异(包括抗逆基因的表达)有关, 其中渗透调节能力直接决定了贝类适合生长的环境。尤仲杰等^[11]研究发现, 墨西哥湾扇贝幼虫和稚贝在不适宜的盐度下, 其围心腔压力增大, 心跳减慢, 对外界的刺激反应迟钝等。处于这种状态下的幼虫抵抗力下降, 代谢缓慢或停止, 易死亡。因此研究贝类的渗透压调节机制对提高某些贝类的抗盐能力具有重要的意义。

研究表明, 近江牡蛎幼虫对高盐环境的抗性具有一定的可塑性, 但目前还不清楚这种耐高盐性源自遗传变异还是生理调节的适应现象, 前者机制是开展耐高盐牡蛎的基础。对牡蛎生长、存活和抗病力等性状的选择育种研究都取得了显著的进展^[12, 13], 但迄今还没有选育耐高盐性贝类的研究报告。未来有必要开展近江牡蛎耐高盐性状的遗传学分析, 为选育耐高盐近江牡蛎奠定基础。

参考文献:

- [1] 谢忠明. 海水经济贝类养殖技术[M]. 北京:中国农业出版社, 2003. 557-578.
- [2] 张其中, 邱马银, 吴信忠. 休克诱导近江牡蛎对高温的耐受性[J]. 生态科学, 2005, 24(1): 35-37.
- [3] Lacoste A. Stress-induced immune changes in the oyster *Crassostrea gigas*[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2002, 26: 1-9.
- [4] Li E, Chen L Q, Zeng C, et al. Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at different salinities[J]. *Aquaculture*, 2007, 265: 385-390.
- [5] 马洪明, 刘晓伟, 麦康森, 等. 盐度突降对栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*)抗病力指标的影响[J]. 高技术通讯, 2006, 16(7): 746-751.
- [6] 何义朝, 张福绥, 王萍, 等. 墨西哥湾扇贝稚贝对盐度的耐受力[J]. 海洋学报, 1999, 21(4): 87-91.
- [7] Malagoli D, Casarini L, Sacchi S, et al. Stress and immune response in the mussel *Mytilus galloprovincialis*[J]. *Fish &*

- Shellfish Immunology*, 2007, 23: 171-177.
- [8] Alvarez A, Racotta I, Arjona O, *et al.* Salinity stress test as a predictor of survival during growout in Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. *Aquaculture*, 2004, 237: 237-249.
- [9] Filippov A A, Komendantov A Y. The salinity tolerance of benthic invertebrates of the Aral Sea[J]. *International Journal of Salt Lake Research (Historical Archive)*, 1996, 4: 251-263.
- [10] Palacios E, Racotta I S. Salinity stress test and its relation to future performance and different physiological responses in shrimp postlarvae[J]. *Aquaculture*, 2007, 268: 123-135.
- [11] 尤仲杰, 陆彤霞, 马斌, 等. 盐度对墨西哥湾扇贝幼虫和稚贝生长和存活的影响[J]. *动物学杂志*, 2003, 38(3): 58-60.
- [12] Sheridan A K. Genetic improvement of oyster production-a critique[J]. *Aquaculture*, 1997, 153: 165-179.
- [13] 阙华勇. 牡蛎的遗传改良技术[A]. 王清印, 李健, 刘萍, 等. 海水养殖生物的细胞工程育种[C]. 北京: 海洋出版社, 2007. 208-222.

The effect of salinity on growth and survival of *Crassostrea rivularis* larvae

XUE Ling-zhan^{1,2}, QUE Hua-yong¹, ZHANG Guo-fan¹, YANG Xiao-bo³, FANG Zhang-sheng³, GAO Ru-cheng²

(1. Institute of Oceanology, the Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. College of Life Sciences, the Fujian Normal University, Fuzhou 350108, China; 3. Guangdong Aquaculture School, Guangzhou 510320, China)

Received: Jun., 25, 2007

Key words: Jinjiang oyster (*Crassostrea rivularis*); larvae; resistance to high salinity; growth; survival

Abstract: The effect of salinity on growth and survival of the Jinjiang oyster (*Crassostrea rivularis*) was revealed using indoor culture method. Artificial insemination was made to produce D larvae of Jinjiang oyster, which was divided into 3 aliquots. Filtered seawater with salinities of 16, 25 and 30 was prepared to test the performance of oyster larvae till the eyed larvae stage. Shell length and height, as well as amount of survivors were recorded every other day. The fastest larval growth was found in 16 group, followed by 25 and 30 groups. Larvae in 16 group grew significantly faster than that of 30 group ($P < 0.05$) since 14 days post-fertilization. Larval survival of high salinity was generally lower compared to lower salinity groups. Mass mortality occurred in 16 and 25 groups prior to the eyed larvae stage while larvae in 30 group maintained stable survival. These results suggested that larval resistance to high salinity was somewhat enhanced in Jinjiang oyster following the domestication procedure.

(本文编辑: 刘珊珊)