

# 三疣梭子蟹溞状 I 期幼体的饥饿实验

崔阔鹏, 马 姓

(中国海洋大学 海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003)

**摘要:**通过观察不同饥饿胁迫处理对三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)溞状 I 期幼体变态和发育的影响,研究了其“营养储存饱和点”(the point of reserve saturation, PRS)和“不可恢复点”(the point of no return, PNR)现象的发生情况。结果表明:以轮虫为饵料,三疣梭子蟹溞状 I 期幼体( $Z_1$ )在前期投喂后期饥饿的条件下,随着前期摄食时间的增加,幼体变态率和发育速度呈上升趋势,50%营养储存饱和点( $PRS_{50}$ )出现在 47.5 h,100%营养储存饱和点( $PRS_{100}$ )出现在 72 h;在前期饥饿后期投喂的条件下,随着前期饥饿时间的增加,幼体变态率和发育速度呈下降趋势,50%不可恢复点( $PNR_{50}$ )出现在 39 h,100%不可恢复点( $PNR_{100}$ )出现在 56 h。

**关键词:**三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*); 溞状 I 期幼体; 饥饿; PRS; PNR

中图分类号:Q175

文献标识码:A

文章编号:1000-3096(2009)08-0040-04

目前国内针对三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)的基础研究虽然已不少,但有关其幼体阶段“营养贮存饱和点”(the point of reserve saturation, PRS)和“不可恢复点”(the point of no return, PNR)现象的研究还未见报道。PRS 是指幼体摄食一段时间后,即使不摄食也能变态到下一幼体阶段的时间点。PNR 是指幼体饥饿一段时间后,即使再予以投喂,也不能正常发育和蜕皮变态的时间点<sup>[1]</sup>。这两个时间的长度可以反映幼体对食物的依赖程度。PRS 和 PNR 现象经过大量的研究证明广泛存在于十足目尤其是短尾类的幼体阶段<sup>[1~8]</sup>。目前国内外已有对褐虾(*Crangon affinis*)<sup>[1]</sup>、锯缘青蟹(*Scylla serrata*)<sup>[2]</sup>、中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)<sup>[3]</sup>、日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus*)<sup>[4]</sup>、波纹龙虾(*Panulirus homarus*)<sup>[5]</sup>、中国龙虾(*Panulirus stimpsoni*)<sup>[6]</sup>、罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)<sup>[7]</sup>等经济虾蟹类由饥饿引起 PRS 和 PNR 现象的报道,在其他种类生物如鱼类的黄鲷(*Dentex tumifrons*)、黄盖鲽(*Pseudopleuronectes yokohamae*)、花尾胡椒鲷(*Plectorhinchus cinctus*)、浅色黄姑鱼(*Nibea coibor*)、半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)和腹足类的蛾螺(*Buccinidae*)中相同或相似的现象也有报道<sup>[9~14]</sup>。在甲壳类动物幼体变态发育过程中,蜕皮过程是关键阶段,包括复杂的生理结构和功能的变化。而 PRS 和 PNR 现象的发生,则与这些变化有密切的关系,研究三疣梭子蟹幼体 PRS 和 PNR 现象有助于了解其幼体发育与环境食物条件的关系。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

实验所用三疣梭子蟹初孵的  $Z_1$  幼体,取自山东省文登市水产综合育苗实验基地,游动活泼,趋光性

好。实验所用的海水均经 0.22  $\mu\text{m}$  滤膜过滤。饵料为该实验基地培育的轮虫。

### 1.2 实验方法

#### 1.2.1 三疣梭子蟹幼体 PRS 实验

##### 1.2.1.1 实验设置

设 3 个处理组和 1 个对照组,各组设 4 个平行,分组如下:

$F_{24}$ 组:前 24 h 投喂轮虫,后 72 h 饥饿处理; $F_{48}$ 组:前 48 h 投喂轮虫,后 48 h 饥饿处理; $F_{72}$ 组:前 72 h 投喂轮虫,后 24 h 饥饿处理; $F_{96}$ 组:对照组,投喂 96 h 后停止投喂。

##### 1.2.1.2 幼体选取与分装

根据有效积温预测亲蟹孵化日期,在预计孵化的当天夜间 23:00 开始,每小时观察亲蟹 1 次。当发现有幼体孵化,利用烧杯和 80 目筛网滤取幼体,当网片上有足量的幼体后,再用烧杯取池水将网上的幼体冲入 10 L 塑料桶中备用。用吸管吸取游动活泼,趋光好的幼体,放入盛有 180 mL 过滤海水的实验杯中,20 只/杯,水温( $22.5 \pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ 。全部分装完毕后,统一投喂轮虫,轮虫密度为 7~8 个/mL。

##### 1.2.1.3 日常管理

静水培养,不换水;水浴控温在( $22.5 \pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ ;投喂阶段实验杯内轮虫密度为 7~8 个/mL。以实验分装幼体操作结束后统一投喂轮虫的时间为起始点,按实验设计,将达到持续投喂时间处理组的幼体用吸管吸出置于 80 目筛网上,用过滤海水( $22.5^{\circ}\text{C}$ )

收稿日期:2008-12-20;修回日期:2009-02-21

基金项目:国家科技支撑计划项目(2006BAD09A01)

作者简介:崔阔鹏(1983-),男,辽宁本溪人,硕士研究生,从事养殖生态研究, E-mail: 3pz007@163.com;马姓,通信作者,教授,电话:0532-82032041, E-mail: mashen@ouc.edu.cn

清洗 2 次,转入盛有 180 mL 过滤海水的饥饿处理杯中继续培养。幼体全部死亡后实验结束。

1.2.2 三疣梭子蟹幼体 PNR 实验

1.2.2.1 实验设置

设 7 个处理组和 1 个对照组,各设 3 个平行,分组如下:

- S<sub>0</sub>组:对照组,持续投喂;S<sub>08</sub>组:饥饿 8 h 后投喂;
- S<sub>16</sub>组:饥饿 16 h 后投喂;S<sub>24</sub>组:饥饿 24 h 后投喂;
- S<sub>32</sub>组:饥饿 32 h 后投喂;S<sub>40</sub>组:饥饿 40 h 后投喂;
- S<sub>48</sub>组:饥饿 48 h 后投喂;S<sub>56</sub>组:饥饿 56 h 后投喂。

1.2.2.2 幼体选取与分装

根据有效积温预测亲蟹孵化日期,在预计孵化的当天夜间 21:00 将一只亲蟹放入盛有砂滤海水的玻璃钢桶中(22℃),23:00 开始,每 1 小时观察亲蟹 1 次,其他操作同 PRS 实验。

1.2.2.3 日常管理

以发现有幼体孵化的时间为起始点,按照实验设计,向达到持续饥饿时间处理组的幼体投喂轮虫,其他日常管理操作同 PRS 实验。

1.2.3 实验指标及数据处理

实验的指标有变态率、50%和 100%幼体变态时间(h)、饥饿处理后幼体存活时间(d)、净发育时间(h),

净延迟时间(h),饥饿时间与发育延迟时间比值,Z<sub>II</sub>幼体头胸甲长度(额棘尖端与背棘尖端的直线距离,mm)

$$\text{变态率} = \frac{Z_{II} \text{ 幼体数量}}{Z_I \text{ 幼体投放数量}} \times 100\%$$

净发育时间(h)=变态总用时-饥饿时间  
发育延迟时间(h)=净发育时间-对照组净发育时间

数据处理利用 SPSS 软件对各处理组幼体变态率和 Z<sub>I</sub>幼体头胸甲长进行方差分析和多重比较(LSD)。

2 实验结果

2.1 PRS 实验

PRS 实验结果如表 1 所示。数据表明,PRS<sub>50</sub>点出现在 47.5 h,PRS<sub>100</sub>点出现在 72 h;除 F<sub>72</sub>组与对照组差异不显著外,其他各处理组 Z<sub>I</sub>幼体变态率差异显著(P<0.05);各组变态率的标准差依次由大到小,表明摄食越充足,幼体个体差异对变态的影响越小;随着前期持续投喂时间的延长,Z<sub>I</sub>幼体发育速度明显加快;各组 50%和 100%幼体变态时间的差均为 10 h,提示蜕皮速度是定值;各组 Z<sub>II</sub>幼体头胸甲长度差异显著(P<0.05),表明蜕皮前的摄食情况影响蜕皮后的个体大小。

表 1 PRS 实验结果

Tab. 1 The results of PRS experiment

组别	平均变态率 (%)	50%幼体变态时间(h)	100%幼体变态时间(h)	饥饿处理后幼体存活时间(d)	Z <sub>II</sub> 幼体头胸甲长 (mm)
F <sub>24</sub> 组	0 <sup>a</sup>	—	—	5	—
F <sub>48</sub> 组	50.83±11.96 <sup>b</sup>	110	120	4	1.42±0.057 <sup>a</sup>
F <sub>72</sub> 组	83.18±7.06 <sup>c</sup>	80	90	4	1.62±0.057 <sup>b</sup>
F <sub>96</sub> 组	88.20±3.28 <sup>c</sup>	80	90	7	1.75±0.038 <sup>c</sup>

注:相同字母代表相同项目的数据经方差分析和多重比较差异不显著,下同

2.2 PNR 实验

PNR 实验结果如表 2 所示。数据表明,PNR<sub>50</sub>时间点 在 39 h,PNR<sub>100</sub>时间点 在 56 h;多重比较各组变态率,差异显著(P<0.05),饥饿 8 h 足以引起变态率的下降,饥饿超过 32 h,变态率下降速度和发育

延迟程度都大幅增加;饥饿胁迫时间越长,Z<sub>I</sub>幼体变态为 Z<sub>II</sub>幼体所用时间也越长,发育延迟的程度与饥饿胁迫时间正相关;随着饥饿胁迫时间的延长,Z<sub>II</sub>幼体头胸甲长度有先升后降的趋势,S<sub>08</sub>和 S<sub>16</sub>组幼体出现类似补偿生长的现象。

表 2 PNR 实验结果

Tab. 2 The results of PNR experiment

组别	平均变态率 (%)	净发育时间 (h)	发育延迟时间 (h)	饥饿时间与发育延迟时间比值	Z <sub>II</sub> 幼体头胸甲长 (mm)
S <sub>00</sub> 组	100±0.00 <sup>a</sup>	96	0	—	1.659±0.023 <sup>ab</sup>
S <sub>08</sub> 组	94.86±1.21 <sup>b</sup>	112	16	2	1.694±0.022 <sup>a</sup>
S <sub>16</sub> 组	89.77±1.53 <sup>c</sup>	128	32	2	1.685±0.041 <sup>ab</sup>
S <sub>24</sub> 组	85.70±2.52 <sup>cd</sup>	144	48	2	1.631±0.009 <sup>bc</sup>
S <sub>32</sub> 组	80.91±0.85 <sup>d</sup>	184	88	2.75	1.620±0.033 <sup>bc</sup>
S <sub>40</sub> 组	51.47±5.89 <sup>e</sup>	200	104	2.6	1.578±0.025 <sup>c</sup>
S <sub>48</sub> 组	32.93±1.25 <sup>f</sup>	240	144	3	1.516±0.007 <sup>d</sup>
S <sub>56</sub> 组	0 <sup>g</sup>	—	—	—	—

### 3 讨论

#### 3.1 营养储存饱和点阈值和变态条件对幼体存活的影响

营养贮存饱和点(PRS)是由 Anger 和 Dawirs 首先提出来的<sup>[1]</sup>,现在这种现象已经被证明广泛存在于十足类幼体中,本次实验证明三疣梭子蟹幼体也存在 PRS 现象。

Anger<sup>[1]</sup>的理论认为如果幼体在 PRS<sub>0</sub> 和 PRS<sub>50</sub> 间停止摄食,它们的发育将停滞在蜕皮前期 D 的 D<sub>3</sub>~D<sub>4</sub> 期或蜕皮期 E,多数情况下会出现不能蜕皮和蜕皮半途死亡的现象。若幼体的投喂直至 D<sub>0</sub> 期以后才停止,则对于大多数种类来说,存活率与一直予以投喂的对照组相似。本次实验结果验证了 Anger 的理论,F<sub>48</sub> 组中都观察到有个体在蜕皮过程中死亡,而 F<sub>72</sub> 组与对照组差异不显著的结果证明了跨越 D<sub>0</sub> 阈值后幼体变态不受食物的限制。在从 PRS<sub>0</sub> 到 PRS<sub>50</sub> 的阶段,幼体由没有变态能力到 50% 幼体到达营养贮存饱和点是一个质的变化,分析认为三疣梭子蟹 Z<sub>1</sub> 幼体开始摄食的前 48 h 是一个关键阶段,这一阶段大约对应着甲壳类蜕皮周期的蜕皮间期 C 到蜕皮前期 D<sub>0</sub>,当前期营养储存超过 D<sub>0</sub> 阈值后,幼体就获得变态到下一阶段幼体的能力,而蜕皮的速度和摄食量无关。

本次 PRS 实验停止投喂后,各组幼体的死亡顺序依次是 F<sub>48</sub> 组、F<sub>72</sub> 组、F<sub>24</sub> 组、F<sub>96</sub> 组。F<sub>48</sub> 组和 F<sub>72</sub> 组幼体对饥饿耐受力最差,可能是因为该组幼体前期摄食量虽然超过变态所需的阈值量,但是超过的程度有限,不足以应对变态过程引起体内生理结构等各个方面的剧烈变化,变态后急需食物,所以该组幼体在饥饿条件下死亡最快。F<sub>24</sub> 组幼体虽然摄食时间短,但由于没有引发变态过程,体内生理结构等各个方面没有太大变化,所以比 F<sub>48</sub> 组和 F<sub>72</sub> 组幼体存活时间长。F<sub>96</sub> 组(对照组)幼体在变态后有 6 h 的摄食时间,表明幼体变态后及时摄食,会明显提高对饥饿胁迫的耐受时间。这个现象对育苗生产有一定的指导意义,即在甲壳类幼体蜕皮后,一定要保证及时充足的饵料供应以保证幼体在经历变态的巨大生理变化后顺利恢复,如遇到饵料暂时缺乏或者其他不适条件,应适量减少投喂,抑制幼体变态,否则变态后幼体存活率将大大下降。

#### 3.2 饥饿胁迫引起短尾类幼体“不可恢复点”的可能原因

不可恢复点(PNR)在很多虾蟹类、鱼类以及少数其他种类生物中已有很多研究<sup>[1~14]</sup>。有关的研究表明对刚孵化或者刚蜕皮的幼体,无论是否有饵料,

蜕皮周期循环都会开始直到 C 期,在 A 期时幼体一般只摄入水和矿物质,在 B 期时的发育也基本上不需要饵料,A、B 两期大约占幼体的发育期长的 1/10。在进入 C 期后,幼体如不能从外界摄入饵料,虽然部分的发育过程(如几丁质的合成,表皮的形成等)也能够开始,但最终不能完成。因此,幼体发育会停留在 C 期直到死亡。所以,在幼体进入 C 期后,饥饿的时间越长,幼体所需要的额外摄食时间就会越长,以弥补饥饿期的代谢消耗。如果饥饿时间超过“不可恢复点(PNR)”,即使再给予投喂,幼体也不会正常蜕皮<sup>[1]</sup>。对于不能正常蜕皮的原因,有关的研究<sup>[1~14]</sup>认为是一定时间的饥饿导致幼体失去捕食能力,或者即使有捕食能力但消化系统已经丧失功能,不能消化食物获取能量,再或者其他重要的组织结构已经被破坏,虽然幼体暂时不死亡,但机体损伤已经不能用后期摄食来弥补等等。

目前国内还没有三疣梭子蟹各期幼体 PNR 现象的报道。根据本次 PNR 实验的观察,在恢复投喂后没有成功变态的幼体中,幼体死亡前主要经过三个阶段:第一阶段,Z<sub>1</sub> 幼体表面洁净,游动活跃,可以认为其具备捕食能力;第二阶段,Z<sub>1</sub> 幼体基本不游动,挂脏严重,但显微镜检查发现肠胃保持蠕动;第三阶段,幼体濒临死亡,镜检发现其体内已经有较大的原生动植物在活动。根据以上现象分析,推测导致恢复投喂后幼体也不能正常蜕皮变态的原因是长时间饥饿导致幼体某些重要结构如消化腺细胞受到不可逆损伤,幼体即使能捕食也不能从食物中获得能量,即某些重要生理系统受损。

黄良敏等<sup>[11,12]</sup>在饥饿对鱼类生长发育影响的研究中,报道了在短暂饥饿胁迫后,投喂等量饲料,饥饿处理组鱼类发育速度高于对照组,出现补偿生长现象。本次 PNR 实验,饥饿胁迫 8 h 和 16 h 组出现类似补偿生长的情况,其 Z<sub>11</sub> 幼体头胸甲长度有增加趋势。各处理组饥饿时间与发育延迟时间的比值,在饥饿 8 h 到 24 h 期间均为 2,超过 32 h 其比值迅速增大,提示饥饿对幼体发育影响程度的增加趋势在一定时间内是平稳增加的。根据以上情况,推测幼体在持续饥饿的情况下,有一定程度的自我保护调节机制。

#### 3.3 饵料的影响

这次实验中仅采用了轮虫一种饵料,由于投喂不同饵料对三疣梭子蟹幼体发育有明显影响<sup>[15]</sup>,其他种类饵料对三疣梭子蟹幼体 PRS 和 PNR 点变化的影响,有待进一步研究。另外本次实验仅仅观察了三疣梭子蟹 Z<sub>1</sub> 幼体,其他阶段幼体的 PRS 和 PNR 的范围还有待测定。

参考文献:

- [1] Klaus Anger. The Biology of Decapod Crustacean Larvae [M]. Netherlands: A A alkema Publisher, 2001. 101-107.
- [2] 李少菁, 曾朝曙. 饥饿对锯缘青蟹 (*Scylla serrata*) 幼体存活与发育的影响 [J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2001, **40**(3): 782-788.
- [3] 刘健晖, 金春华, 李爱芬. 饥饿对中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 幼体发育的影响 [J]. 生态科学, 2005, **24**(1): 15-17.
- [4] 李静, 马牲. 饥饿对日本囊对虾幼体发育、摄食及存活的影响 [J]. 海洋湖沼通报, 2005, 2: 61-65.
- [5] 纪德华, 陈昌生, 周海荣, 等. 波纹龙虾早期叶状幼体摄食与饥饿的研究 [J]. 集美大学学报(自然科学版), 2004, **9**(1): 11-16.
- [6] 陈昌生, 陈政强, 胡家才, 等. 饥饿对中国龙虾叶状幼体 I 期发育、摄食及存活的影响 [J]. 海洋学报, 2001, **23**(3): 105-111.
- [7] 陈刚, 张健东. 罗氏沼虾幼体摄食和饥饿的初步研究 [J]. 湛江水产学院学报, 1996, **16**(2): 37-40.
- [8] 王克行, 吴琴瑟, 纪成林, 等. 虾蟹类增殖学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1997. 291-293.
- [9] 夏连军, 施兆鸿, 陆建学. 黄鲷仔鱼饥饿试验及不可逆点的确定 [J]. 海洋渔业, 2004, **26**(4): 286-290.
- [10] 周勤, 王迎春, 苏锦祥. 温度对黄盖鲮仔鱼生长、发育、摄食及 PNR 的影响 [J]. 中国水产科学, 1998, **5**(1): 30-37.
- [11] 黄良敏, 谢仰杰, 邓书品, 等. 延迟投饵对花尾胡椒鲷仔鱼摄食、生长和存活的影响 [J]. 集美大学学报(自然科学版), 2003, **8**(2): 130-133.
- [12] 黄良敏, 谢仰杰, 张光后, 等. 延迟投饵对浅色黄姑鱼仔鱼摄食、生长和存活的影响 [J]. 大连水产学院学报, 2005, **20**(4): 300-303.
- [13] Zhuang Zhimeng, Wan Ruijing, Chen Shengping, *et al.* Feeding and growth of the tonguefish *Cynoglossus semilaevis* larvae [J]. *Acta Zoologica Sinica*, 2005, **51**(6): 1 023-1 233.
- [14] Zheng Huaiping, Ke Caihuan, Zhou Shiqiang, *et al.* Effects of starvation on larval growth, survival and metamorphosis of Ivory shell *Babylonia formosae* ha-bei Altena *et al.* 1981 (Neogastropoda: Buccinidae) [J]. *Aquaculture*, 2005, 243: 357-366.
- [15] 许波, 李昕, 刘宝权, 等. 三疣梭子蟹开口饵料探讨 [J]. 水产科学, 2000, **19**(3): 32.

## Starvation experiments with the larvae of *Portunus trituberculatus* in zoea stage I

CUI Kuo-peng, MA Shen

(The Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Received: Dec. , 20, 2008

Key words: *Portunus trituberculatus*; zoea larvae stage I; starvation; PRS; PNR

**Abstract:** The effects of starvation on development and survival of the larvae of *Portunus trituberculatus* in zoea stage I ( $Z_1$ ) were investigated in the experiments. The results of Point of Reserve Saturation (PRS) experiment showed that the durations of both development and molting of the  $Z_1$  larvae were shortened with the initial feeding periods extended. The point of PRS<sub>50</sub> reached when 50% of the larvae molted successfully with the initial feeding periods lasted 47.5 hours. After maintaining the initial feeding for 72 hours, most of the  $Z_1$  larvae molted successfully and the point of PRS<sub>100</sub> was indicated. The results of Point of No Return (PNR) experiment showed that the durations of the point of PRS<sub>100</sub> indicated both development and mortality of the  $Z_1$  larvae increased with the initial starvation periods extended. There were 50% of the larvae lost their ability to molt after refeeding performance with the initial starvation for 39 hours which indicated the point of PNR<sub>50</sub>. All the  $Z_1$  larvae lost their ability to molt when suffered from the initial starvation for 56 hours, which was the point of PNR<sub>100</sub> for the  $Z_1$  larvae of *P. trituberculatus*.

(本文编辑:康亦兼)