

桑沟湾养殖生态系统微食物环对长牡蛎 (*Crassostrea gigas*)碳需求的贡献*

杜美荣^{1,2} 李凤雪^{1,2} 方建光^{1,2} 高亚平^{1,2}
房景辉^{1,2} 蒋增杰^{1,2} 王同勇³

(1. 农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室 山东省渔业资源与生态环境重点实验室 中国水产科学研究院
黄海水产研究所 青岛 266071; 2. 青岛海洋科学与技术国家实验室 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室
青岛 266000; 3. 威海市文登区水产技术推广站 威海 264400)

摘要 采用海域大规模调查和模拟现场流水法测定了桑沟湾海域微食物环主要组分生物(微微型浮游生物、微型鞭毛虫和纤毛虫)在桑沟湾的季节分布和对长牡蛎食物来源的贡献。对桑沟湾海域浮游生物现存量的调查结果显示: 微食物环生物丰度和生物量以冬季最低($P < 0.05$)。微食物环组成生物的生物量以微型鞭毛虫最大, 占 51.69%(无色体微型鞭毛虫 HNF 贡献 37.31%, 有色体微型鞭毛虫 PNF 贡献 14.38%), 其次是异养细菌(39.03%), 纤毛虫和微微型真核浮游生物贡献较小, 分别为 2.31%和 0.66%。使用模拟现场流水法, 测定了长牡蛎对浮游生物的摄食, 其清滤率变化范围为 0.26—3.50L/(g·h), 随着粒径的增大, 长牡蛎对浮游生物的清滤率增加。长牡蛎对不同浮游生物的清滤率由大到小依次为: $2\mu\text{m}$ 以上有色体浮游生物>纤毛虫> $2\mu\text{m}$ 以下有色体浮游生物>无色体微型鞭毛虫>异养细菌, 长牡蛎对 $2\mu\text{m}$ 以上有色体浮游生物碳截留最大($289.20 \pm 62.36\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$), 其次是无色体微型鞭毛虫, 异养细菌和纤毛虫。传统的对于贝类食物来源的测定忽略了异养细菌、HNF 以及纤毛虫, 对微食物环框架的研究得出三种生物对长牡蛎的碳贡献为 $1563.58\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{d})$ (17.94%), 指示原生动(异养鞭毛虫和纤毛虫)在长牡蛎的食谱组成中的地位不可忽视。异养细菌除了参与微食物环, 还能被长牡蛎直接或者间接的摄食, 成为长牡蛎的食物来源之一。本文结果为长牡蛎的养殖容量评估和微食物环生物对养殖生态系统的贡献分析提供了重要的数据支撑。

关键词 微食物环; 微微型浮游生物; 原生动物; 纤毛虫; 长牡蛎; 碳需求

中图分类号 S968.3; Q958.885.3 doi: 10.11693/hyhz20190500087

我国是水产养殖大国, 鱼、虾、贝、藻等均有养殖, 据农业农村部渔业渔政管理局等(2018)统计, 滤食性贝类占 66.10%, 是沿海养殖的重要种类之一。长牡蛎(*Crassostrea gigas*)在中国南北沿海均有分布, 属于广温、广盐性贝类, 具有多年的养殖基础。由于无需投饵, 因此养殖海域饵料生物的供应情况是直接影响牡蛎养殖的关键因素(陈辰等, 2013)。养殖生

态系统存在经典食物链和微食物环(microbial loop)(Azam *et al*, 1983), 在微食物环内, 生物粒径分为 3 个部分(pico-, 0.2— $2\mu\text{m}$; nano-, 2— $20\mu\text{m}$ 和 micro-, 20— $200\mu\text{m}$), 主要代表生物为微微型浮游生物(0.2— $2\mu\text{m}$), 微型鞭毛虫(Nanoflagellates, NF, 2— $20\mu\text{m}$)和纤毛虫(Ciliates, 20— $200\mu\text{m}$), 我国在这方面的研究也取得了一定成果(潘科, 2006; 乐凤凤等,

* 科技部政府间合作项目资助, 2016YFE0112600 号; 国家自然科学基金面上项目, 41676147 号; 青岛海洋科学与技术试点国家实验室海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室渔业科技青年人才计划项目, 2018-MFS-T13 号; 国家贝类产业技术体系养殖容量评估与管理岗位, CARS-49 号。杜美荣, 博士, 助理研究员, E-mail: dumr@ysfri.ac.cn

通信作者: 蒋增杰, 研究员, 博士生导师, E-mail: jiangzj@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2019-05-07, 收修改稿日期: 2019-07-08

2011; 丰美萍, 2014; 郭术津等, 2015)。研究表明, 微食物环是扇贝重要的旁路食物来源补充, 微型浮游生物、微型鞭毛虫和纤毛虫在扇贝养殖生态系统中担负着重要的生态功能(Jiang *et al.*, 2017)。桑沟湾是我国北方大型的贝藻养殖区, 近年来针对桑沟湾海域开展了大量深入细致的调查和研究, 对海域基础理化因子、贝、藻养殖容量等均有研究(方建光等, 1996a, b; 匡世焕等, 1996; 陆家昌, 2015), 但尚无微食物环生物对长牡蛎碳需求贡献的相关研究。本文对桑沟湾海域微食物环生物丰度和生物量开展了年度调查, 采用现场模拟流水法对长牡蛎对微食物环生物的滤食和截留进行了测定, 以期为深入研究长牡蛎的食谱组成及各组分生物对其的饵料贡献数据支撑, 也为准确评估桑沟湾长牡蛎的养殖容量提供科学依据, 保障桑沟湾长牡蛎养殖的健康可持续发展。

1 材料与方法

1.1 实验地点

桑沟湾位于山东省荣成市, 三面环陆, 东临黄海。南北宽约 11.5km, 东西宽约 7.5km, 总面积约 140km², 湾内平均水深 7.5m, 最深处 21m。桑沟湾是我国北方重要的海水养殖区域, 以海带(*Laminaria japonica*)、龙须菜(*Gracilaria lemaneiformis*)、栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)、长牡蛎(*Crassostrea gigas*)为主要养殖品种。整个桑沟湾西侧为贝类养殖区, 东侧湾外为海带养殖区, 中间区域为贝藻混养区(如图 1 所示)。

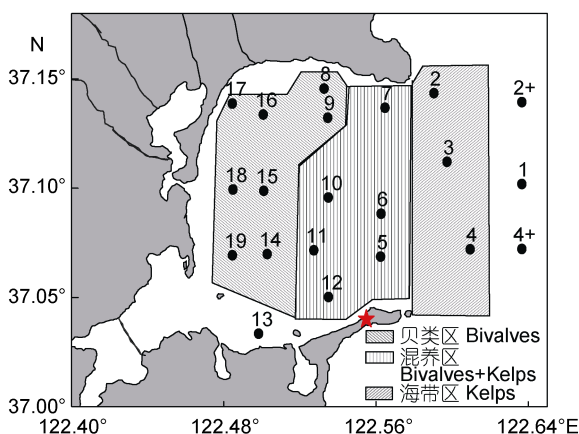


图 1 桑沟湾海域调查站位

Fig.1 Sampling stations in Sanggou Bay

1.2 实验设置、样品获取和分析

1.2.1 海域调查 本实验于 2017 年 7 月、2017 年 11 月、2018 年 1 月和 2018 年 4 月开展了四次海域调查, 全湾共设置 21 个采样站位, 站位分布如图 1 所示, 每个站位的调查参数包括, 水温、盐度、透明度、叶绿素 *a* (chl *a*)、微型浮游生物(聚球藻、微型真核浮游生物和异养细菌)、微型鞭毛虫和纤毛虫。具体取样方法如下:

水温、盐度使用 YSI Pro plus 现场测定。透明度采用透明度板测定。对海域现存 chl *a* 采取分级测定, 测定方法为分光光度计法: 使用 5L Niskin 采水器采集水样, 然后准确量取 1L 水样过依次过滤于孔径 2μm 和孔径 0.45μm 的醋酸纤维素膜, 滤膜用锡纸包裹后冷冻保存待测(-20°C)。滤膜使用 90%的丙酮避光低温萃取 24h, 离心后使用分光光度计测定上清液分别在 630、646、663、750nm 下的吸光度值, 使用以下公式计算水样中的 chl *a*。

$$\text{chl } a \text{ (}\mu\text{L)} = (11.64(D_{663} D_{750}) - 2.16(D_{645} - D_{750}) + 0.10(D_{630} - D_{750})) \times V_1 / V, \quad (1)$$

式中: V —水样体积(L); D —相应波长下的吸光度值; V_1 —提取液定容后的体积

初级生产力的计算采用 chl *a* 进行估算, 公式为:

$$P = P_s \cdot E \cdot D / 2$$

$$P_s = C_a \cdot Q, \quad (2)$$

其中, P 为以 chl *a* 估算的初级生产力(mg/(m²·d)), P_s 为表层水中浮游植物的潜在生产力, E 为真光层的深度(m)(取透明度的 3 倍), D 为日照时数(h), C_a 为表层 chl *a* 浓度, Q 为同化系数, 使用经验值 3.7(王俊等, 2002)。

微型浮游生物的测定采用流式细胞仪法, 准确移取 4mL 水样于已灭菌的 5mL 冻存管内, 立即加入多聚甲醛进行固定, 使其终浓度为 1%, 然后迅速放入液氮中冷冻, 测试时, 将样品于室温融化后, 取 1mL 样品上样至 FACS Calibur 流式细胞仪进行检测, 激发光 488nm。检测过程中使用 2μm 黄绿色荧光微球(polyseienes, 美国)作为标准内参。聚球藻(*Synechococcus*, SYN)含有藻红素和叶绿素, 于 685nm 处发射红色荧光, 560—590nm 处发射橙色荧光, 微型真核浮游生物(picoeukaryotes, PEUK)仅含叶绿素, 只能发出红色荧光, 由此区分聚球藻和微型真核浮游植物。异养细菌(heterotrophic prokaryotes, HP)不含荧光基团, 需要使用染料染色后进行测定。取 495μL 水样加入 5μL SYBR Green-I 染色剂, 暗处

染色 15min 后上机检测其丰度。微小型浮游生物的丰度使用碳转换系数转换为生物量, 其转换系数见表 1。

微型鞭毛虫(2—20 μm)的水样取样时首先使用 20 μm 筛绢过滤, 然后准确移取水样 50mL 于灭菌的离心管中, 立即加入提前冰浴的 25%戊二醛溶液固定, 终浓度为 0.5% (V/V)。回到实验室将水样过滤 20mL 到黑膜(饱和苏丹黑染色的核孔膜, 孔径 0.22 μm), 待滤杯中水样剩余约 1mL 时, 关闭负压, 加入荧光染料 4', 6-二脒基-2-苯基吡啶(终浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$), 混匀染色 10min 后滤干剩余液体。并制作成玻片于 Lecia DM4500 荧光显微镜镜检并计数。在紫外激发光下观察和计算每个视域下的总微型鞭毛虫(NF)的数量, 显微镜计数视域不少于 20 个, 以保证至少检测到 100 个鞭毛虫。使用公式计算鞭毛虫丰

度。同时使用软件测量鞭毛虫细胞的长径(a)和短径(b)。通过含色素体微型鞭毛虫(pigmented nanoflagellates, PNF, 自养和混合营养鞭毛虫)和异养微型鞭毛虫(heterotrophic nanoflagellates, HNF)这两个类群的变化来探讨微型鞭毛虫群落的营养结构变化。根据以下公式计算微型鞭毛虫的体积, 并使用碳转换系数计算鞭毛虫的生物量(表 1)。

鞭毛虫丰度(cell/L)=每个视域鞭毛虫数量平均值 \times 黑膜有效过滤面积/(每个视域面积 \times 过滤体积)

$$V=\pi b^2 a/6 \text{ (其中 } a: \text{长径, } b: \text{短径)}$$

纤毛虫的取样: 现场采集水样 1L 使用卢戈氏液固定后, 带回实验室浓缩后在倒置显微镜下进行纤毛虫的计数。并逐一测量纤毛虫的尺寸, 计算每个纤毛虫的体积, 使用体积碳转换系数计算生物量(表 1)。

表 1 不同浮游生物的碳转换系数
Tab.1 Carbon conversion factor of different planktons

参数	种类	碳转换系数
叶绿素浓度 chl a	chl $a > 2\mu\text{m}$	50 $\mu\text{gC}/\mu\text{g}$ (Jiang <i>et al.</i> , 2017)
	chl $a < 2\mu\text{m}$	82 $\mu\text{gC}/\mu\text{g}$ (Jiang <i>et al.</i> , 2017)
微小型浮游生物(0.2—2 μm)Picoplankton	聚球藻	120 gC/cell (赵苑, 2010)
	微小型真核浮游植物	239 fgC/cell (赵苑, 2010)
	异养细菌	20 fgC/cell (赵苑, 2010)
微型鞭毛虫(2—20 μm)Nanoflagellates		220 $\text{fg}/\mu\text{m}^3$ (陆家昌, 2015)
纤毛虫(20—200 μm)Ciliates		0.19 $\text{pg}/\mu\text{m}^3$ (于莹等, 2013)

1.2.2 现场流水实验 实验在桑沟湾南侧楮岛海域开展(图 1 中标星的位置), 实验时间为 2018 年 6 月份。采用模拟现场流水法, 在近岸搭建流水槽系统(Jiang *et al.*, 2017), 实验使用水槽 12 个, 其中 4 个对照组(不放养殖生物), 8 个处理组(每个流水槽放 1 个长牡蛎)。长牡蛎在室内流水槽暂养驯化 48h, 水流流速控制为 200—300 mL/min 。挑选摄食、排便正常的长牡蛎开始实验。

待流速稳定后实验开始, 每隔 4h 后进行微小型浮游生物、微型鞭毛虫、纤毛虫和 chl a 分级样品的取样, 连续取样 3 次, 分别在 8:00、12:00、16:00 取样, 避免夜间取样, 防止摄食节律对实验造成影响。实验结束测定贝类壳高、壳长、软体部干重。长牡蛎规格为: 平均壳高: (14.19 \pm 1.86)mm, 平均湿重: (214.5 \pm 38.88)g, 软体部干重(2.01 \pm 0.71)g。根据处理组、空白对照出水口微小型浮游生物、鞭毛虫、纤毛虫的数量、生物量计算贝类的清滤率以及对不同浮游生物的截留率等摄食生理参数。其中所需公式如下:

$$\text{清滤率 } CR_w=(C_1-C_0)/C_1 \times F/DW$$

$$\text{碳截留效率 } RR=CB \times CR_w, \quad (3)$$

其中: C_1 为对照组出水口浓度, C_0 为处理组出水口浓度, F 为流速(L/h), DW 为长牡蛎软体部干重(g), CB 为对应生物碳含量($\mu\text{gC}/\text{L}$)。

桑沟湾的颗粒态初级生产力使用 6 月份桑沟湾海域调查的 Chl a 和透明度依据以上公式计算。使用光和有机碳细胞外释放比例(PER, 23.1%)(刘诚刚, 2012)反推计算总初级生产力和溶解态处理生产力。根据现场实验中对照组的 $>2\mu\text{m}$ 和 $<2\mu\text{m}$ 生物的生物量数据计算其在颗粒态初级生产力中贡献的比例。以现场实验对照组 $>2\mu\text{m}$ 以下生物量为 $<2\mu\text{m}$ 微小型浮游生物(聚球藻, 微小型真核浮游生物和其他可贡献叶绿素的生物)贡献。 $>2\mu\text{m}$ chl a 、聚球藻、微小型真核浮游生物、异养细菌、微型鞭毛虫和纤毛虫对牡蛎的食物日贡献分别依据牡蛎对其碳摄食率计算。依据以上计算方式绘制桑沟湾海区碳硫途径图。

1.3 数据分析

不同季节 chl *a* 浓度、微微型浮游生物、微型鞭毛虫和纤毛虫丰度的差异比较采用单因素方差分析, 统计使用 SPSS 19.0 软件。 $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果

2.1 桑沟湾微食物环生物丰度和生物量年度变化

实验对桑沟湾全年不同季节的微微型浮游生物、微型鞭毛虫和纤毛虫调查结果显示, 三种浮游生物

丰度和生物量, 全年皆以冬季最低($P < 0.05$)。针对微微型浮游生物而言, 丰度和生物量均以夏季最高($P < 0.05$)。其中, 丰度和生物量均为 HP 贡献最大($P < 0.01$)(图 2)。

微型鞭毛虫丰度春夏季相仿, 差异不显著, 高于秋季和冬季。其生物量春季显著高于其他 3 个季节, 夏秋季差异不显著。就微型鞭毛虫的种类组成丰度而言, 全年主要以 HNF 为主, 显著大于 PNF($P < 0.05$), 不同种类生物量除夏季 HNF 和 PNF 生物量相当, 春、秋、冬季仍然以 HNF 为主, 显著大于 PNF 生物量(图 3)。

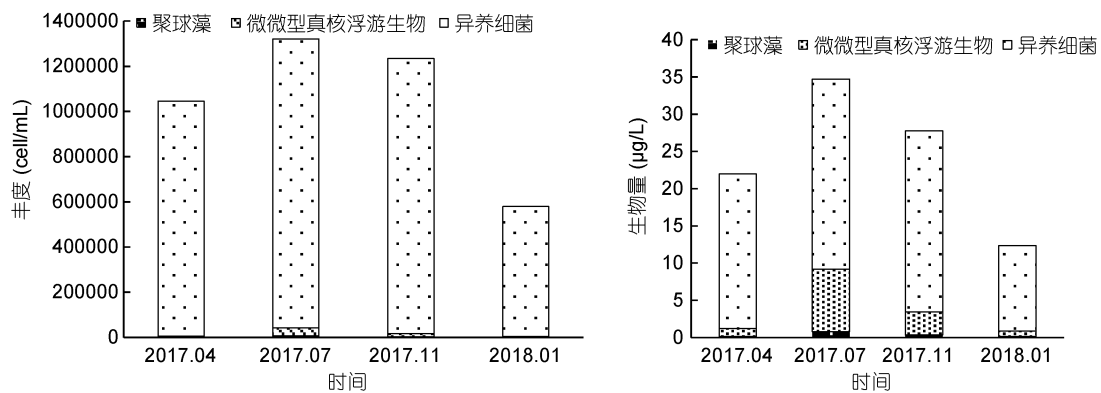


图 2 桑沟湾海域微微型浮游生物丰度和生物量的季节变化

Fig.2 The seasonal distribution of picoplankton abundance and biomass in the Sanggou Bay

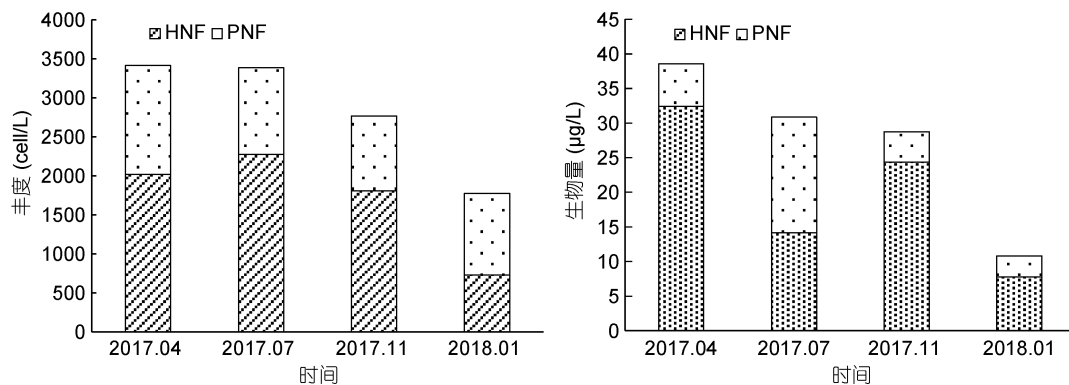


图 3 桑沟湾海域微型鞭毛虫丰度和生物量的季节变化

Fig.3 The seasonal distribution of nanoflagellates abundance and biomass in the Sanggou Bay

纤毛虫的丰度和生物量皆为春、夏、秋季三个季节较高, 组间差异不显著, 均高于冬季($P < 0.05$)。主要以无壳纤毛虫为主($P < 0.05$)(图 4)。

对桑沟湾全年的浮游生物生物量分析表明, 组成微食物环的三大类浮游生物中, 微型鞭毛虫贡献最大, 占 51.69%(HNF 贡献 37.31%, PNF 贡献 14.38%); 微微型浮游生物的贡献次之(45.97%), 其中异养细菌

贡献了 39.03%的生物量; 纤毛虫贡献较小, 仅为 2.31%(表 2)。

2.2 长牡蛎对微食物环生物的截留

对实验期间海水基础数据分析表明, 自然海水中浮游植物主要以 $2\mu\text{m}$ 以上的微型和小型浮游植物为主, 其 chl *a* 极显著大于微微型浮游植物($P < 0.01$)。以 chl *a* 换算成碳, 小型和微型浮游植物碳总和占

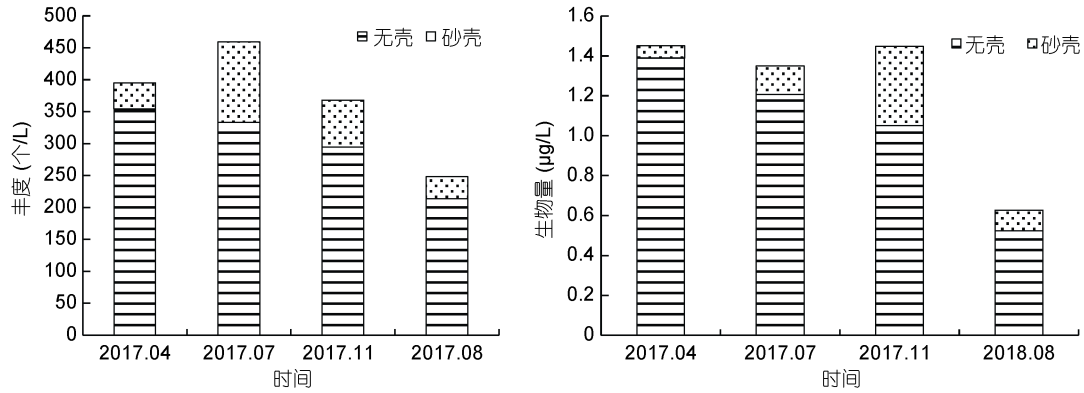


图 4 桑沟湾纤毛虫丰度和生物量的季节变化

Fig.4 The seasonal distribution of ciliates abundance and biomass in the Sanggou Bay

表 2 桑沟湾海域不同类型浮游生物年平均生物量组成

Tab.2 Annual average biomass composition of different types of plankton in Sanggou Bay

浮游生物的种类	生物量全年平均值(µgC/L)	平均贡献率(%)	平均贡献率(%)	
微型浮游生物	微型真核	3.31±2.53	6.28±5.71	45.97
	数据范围	0.74—8.38	1.41—15.90	
	聚球藻	0.35±0.32	0.78±0.60	
	数据范围	0.11—0.80	0.05—0.47	
微型鞭毛虫	异养细菌	20.57±6.37	39.03±12.09	51.69
	数据范围	11.51—25.58	21.84—48.56	
	HNF	19.66±10.91	37.31±20.69	
	数据范围	7.75—32.41	14.71—61.50	
纤毛虫	PNF	7.58±6.22	14.38±11.80	2.31
	数据范围	3.06—16.72	5.80—31.73	
	纤毛虫	1.22±0.40	2.31±0.75	
	数据范围	0.63—1.45	1.19—2.76	

82.95%，微型浮游植物占 17.05%。从丰度来看，微型浮游生物和微型鞭毛虫是主要组成，数量分别为 $(35.59±9.6)×10^8$ cell/L 和 $(3.17±0.59)×10^6$ cell/L。微食物环生物总碳贡献为 105.85µgC/L，其中，HP 是主要贡献者(69.41%)，其次是 NF(16.90%)(表 3)。

使用模拟现场流水法，测定了长牡蛎对浮游生物的摄食，其清滤率变化范围为 0.26—3.50L/(g·h)，

随着粒径的增大，长牡蛎对浮游生物的清滤率增加。长牡蛎对不同浮游生物的清滤率由大到小依次为： $2µm$ 以上有色素体浮游生物>纤毛虫> $2µm$ 以下有色素体浮游生物>无色素体微型鞭毛虫>异养细菌，长牡蛎对 $2µm$ 以上有色素体浮游生物碳截留最大 [$289.20±62.36µg/(g·h)$]，其次是无色素体微型鞭毛虫、异养细菌和纤毛虫。

表 3 长牡蛎对不同粒径的浮游生物的碳截留效率

Tab.3 Clearance rates of *Crassostrea gigas* for each species plankton in the Sanggou Bay

参数	对照组丰度	对照组生物量 (以碳计)(µgC/L)	处理组丰度	清滤率 [L/(g·h)]	碳截留率 [µg/(g·h)]
chl $a>2µm$ (µg/L)	2.37±0.53	118.30±11.20	1.78±0.29	2.45±0.53	289.20±62.36
chl $a<2µm$ (µg/L)	0.30±0.05	24.31±4.26	0.18±0.06	1.83±0.05	44.60±1.30
微型真核(cell/L)	$(45.9±0.40)×10^6$	10.97±0.93	$(39.30±0.05)×10^6$	0.59±0.15	6.47±1.75
聚球藻(cell/L)	$(42.6±0.80)×10^6$	5.11±0.97	$(40.40±0.60)×10^6$	0.43±0.17	2.24±0.88
异养细菌(cell/L)	$(34.7±9.60)×10^8$	69.41±19.36	$(27.00±11.80)×10^8$	0.26±0.15	18.06±4.07
微型鞭毛虫(cell/L)	有色素体鞭毛虫	$(1.33±0.23)×10^6$	$(0.74±0.18)×10^6$	1.25±0.32	14.92±2.78
	无色素体鞭毛虫	$(1.84±0.35)×10^6$	$(1.03±0.38)×10^6$	1.73±0.43	38.37±3.67
纤毛虫(cell/L)	$(1.65±0.46)×10^3$	2.46±0.83	$(1.13±0.27)×10^3$	3.50±1.46	8.63±3.61

2.3 桑沟湾长牡蛎养殖区碳的物质流动

为了更好地理解浮游生物对长牡蛎食物来源的贡献,以现场摄食实验为基础绘制了桑沟湾长牡蛎养殖区碳流途径图(图 5),基于 6 月份大面调查的 chl *a* 和透明度依据 1.2.1 中初级生产力的计算方法计算桑沟湾 6 月份的颗粒态初级生产力为 169.71mg/(m²·d),使用光和有机碳细胞外释放比例(PER, 23.1%)(刘诚刚, 2012)反推计算总初级生产力(222.13mg/(m²·d)),微型浮游生物中有叶绿素的生物(PEUK 和 SYN)为颗粒态光和有机产物贡献了 13.36%, PEUK 贡献了其中的 45.13%, SYN 贡献了其中的 21.02%,其他未知部分贡献了 33.85%。有 52.42mg/(m²·d)的溶解有机物释放,并被 HP 利用,通过直接被长牡蛎摄食或者经过原生动物的食物链传递到长牡蛎。长牡蛎从浮游生物获取的总碳为 8713.4μg/(g·d)。其中微型和小型浮游植物贡献了 76.53%,无色素体微型鞭毛虫和纤毛虫共贡献了 12.97%,其次是微型浮游生物(7.37%)。

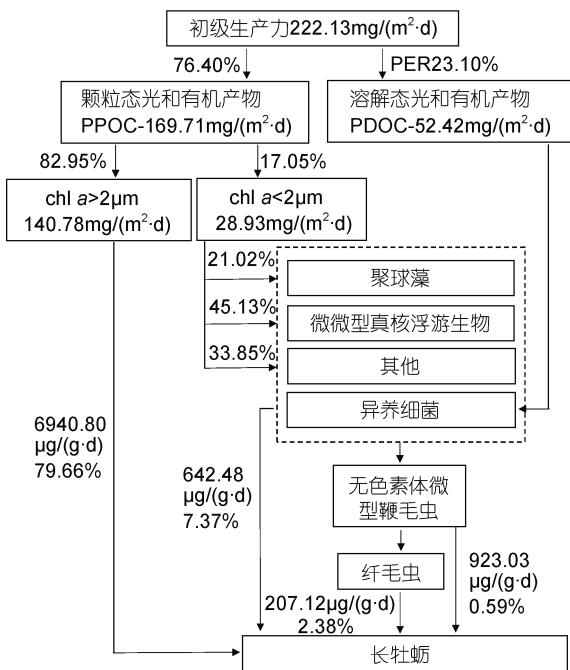


图 5 桑沟湾长牡蛎养殖区碳的物质流动

Fig.5 A tentative carbon flow schematic diagram in spring 2018 in the Sanggou Bay

3 讨论

传统食物链认为,海水中的浮游植物通过光合作用固定初级生产力,被滤食性贝类摄食后向较高的营养级传递(Jacobs *et al*, 2015)。近年来,随着海洋

微生物观测技术与手段的不断进步,微型浮游生物(HP, SYN和PEUK)在海洋生态系统中担负的重要作用引起了人们的关注。海洋是全球最大的有机碳库,其中的碳大部分为溶解态(dissolved organic carbon, DOC, 占海洋有机碳含量的80%—95%),主要来源为植物光合作用释放、动物排泄、粪便分解和摄食释放等。在黄海海域,浮游植物释放的光合溶解有机物(photosynthetically produced dissolved organic carbon, PDOC)占总初级生产力平均为23.1%(PER)(刘诚刚, 2012)。桑沟湾是我国北方大型的贝藻养殖区,年产海带53万吨(荣成市科技局统计数据),占我国海带产量的23.79%(农业农村部渔业渔政管理局等, 2018),主要养殖贝类(栉孔扇贝,长牡蛎和鲍等)年产量总和13万吨。贝、藻的养殖活动贡献了大量的溶解有机碳,桑沟湾POC的年平均浓度为0.55mg/L, DOC年平均浓度为2.03mg/L(为POC的3.69倍(夏斌等, 2013))。溶解有机物虽无法直接进入传统食物链,但可被异养细菌(HP)利用,并通过HP(微型浮游生物)→浮游动物(微型鞭毛虫和纤毛虫等)→桡足类的微食物环(microbial loop)途径向上一级食物链传递。

长牡蛎为滤食性生物,其鳃的鳃丝间隔很大程度上决定了其能够摄食的饵料粒径,不同贝类对颗粒物的截留率不同,地中海贻贝(*Geukensia demissa*)、大西洋浪蛤(*Spisula solidissima*)、硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria*)能完全截留4μm以上的颗粒物,而对4μm以下的颗粒物截留率仅为35%—70%。拥有较小侧纤毛的维吉尼亚美东牡蛎(*Crassostrea virginica*)能完全截留5μm以上的颗粒物,而2μm以下的颗粒物只能截留50%(Riisgård, 1988; Evan Ward *et al*, 2004),虽然截留率较低,但2μm以下的微型浮游生物在通过微食物环帮助离开食物链的溶解有机物(DOC)再次进入食物网过程中肩负了重要的桥梁作用(蒋增杰等, 2015; Jiang *et al*, 2017)。对法国Takapoto Atoll泻湖的调查发现,初级生产力主要由2μm以下的微型浮游生物贡献,但是该湖的主要养殖生物珍珠贝(*Pinctada margaritifera*)的生长和产量却十分可观,摄食实验表明,珍珠贝的主要食物来源为原生动物,能量沿着DOC→微型浮游生物→原生动物→珍珠贝物的途径传递,微食物环在其中肩负重要作用,2μm以下的微型浮游生物产生的初级生产力支撑了原生动物的生物量从而保证了珍珠贝的食物来源(Loret *et al*, 2000)。除了被间接摄食外,异养细菌粒径虽小,但是依然有被摄食的机会。本文的研究中,

海域现存微微型浮游生物可提供的生物量十分可观,年平均可达 $24.23\mu\text{gC/L}$ (贡献率45.97%),虽然清滤率较低,但异养细菌碳截留依然可以达到 $18.06\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})(7.37\%)$,除了异养细菌丰度较高、生物量较大的“菌海战术”以外,还与细菌有可能附着于粒径较大的浮游生物形成“聚合体”并借助牡蛎鳃表面纤毛以及黏液被贝类间接摄食有关(Ward *et al.*, 1993; Kach *et al.*, 2008)。

本文对微微型浮游生物的结果表明生物量夏、秋季最高,冬春季较低,全年分布皆为异养细菌贡献最大,超过90%,这与赵燕楚等(2018)的结果一致。桑沟湾的海带收获时间从每年的4月中旬开始,到7月底结束,这期间从湾内到湾外,水温呈降低趋势(Jiang *et al.*, 2017),因此海带的收获也是从湾内开始逐渐向外,直至7月底收获到湾口位置。PEUK和SYN为光合自养浮游生物,其丰度和生物量受光照和营养盐影响,桑沟湾大面积的大型藻养殖压制了营养盐水平,相应地压制了微微型真核浮游生物和聚球藻的丰度和生物量,从4月中旬开始的海带收获释放了桑沟湾内营养盐的压力(徐东会等, 2017),给予了PEUK和SYN足够的机会进行生长和繁殖,使得4月和7月丰度和生物量逐渐提升。

本文对长牡蛎对浮游生物的碳截留研究表明微型和小型浮游植物为长牡蛎的主要食物来源,其次是原生动物,微微型浮游生物贡献较小,微食物环贡献率为20.34%。这低于蒋增杰等对栉孔扇贝的研究结果,原生动物为栉孔扇贝的碳来源贡献了48.78%,微食物环贡献58.45%(Jiang *et al.*, 2017)。本文与Jiang等(2017)和Fournier等(2012)研究结果不同的是,对长牡蛎的食物贡献最大的是 $2\mu\text{m}$ 以上的浮游植物,而非微型鞭毛虫,由于季节不同,浮游生物的优势类群有别,浮游生物之间复杂的捕食-被捕食者之间的关系也影响了浮游生物的群落结构,本研究中实验期间微型鞭毛虫的丰度和生物量 $[(3.17\pm 0.59)\times 10^6\text{cell/L}, (17.9\pm 3.93)\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})]$ 为蒋增杰等实验期间生物量的28.57% $[(6.20\pm 2.22)\times 10^6\text{cell/L}, (63.72\pm 12.37)\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})]$,导致碳截留率较低。本实验中,长牡蛎对不同粒径的清滤率遵循粒径越大,清滤率越高的规律:纤毛虫>微型鞭毛虫>微微型浮游生物,这与蒋增杰等对栉孔扇贝的现场摄食实验结果一致(Jiang *et al.*, 2017)。

传统的对贝类滤水、摄食实验需要的参数有 chl *a*、颗粒有机物(POM)、颗粒有机碳(POC)等(王俊等, 2000, 2004; 张继红等, 2006)。匡世焕等用 POM 和 chl

a 分别计算栉孔扇贝的滤水率和同化率,结果表明基于 POM 测出的滤水率大于基于 chl *a* 计算出来的滤水率。除了孔径的差异外(POM: $1.2\mu\text{m}$, chl *a*: $0.45\mu\text{m}$),也与膜上的截留物有关, POM 的浓度受海况和风浪的影响较大,不如 chl *a* 稳定(匡世焕等, 1996),而 chl *a* 只测定了有色素体的浮游生物却忽略了大部分无色素体的异养浮游生物,造成对贝类食物来源的计算并不全面。在浮游生物类群中,贡献 chl *a* 的有 SYN、PEUK 和 PNF,其中忽略了异养细菌、HNF 以及纤毛虫等,在桑沟湾海域全年调查结果中,这三种生物的碳贡献约占浮游生物总碳的 78.67%,长牡蛎对三种生物的碳截留为 $1563.58\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{d})$ (17.94%),数量可观,不可忽视。受工作量和篇幅限制,因 6 月份是海区浮游生物数量和种类相对较高的季节,本文仅分析并列明了 6 月份桑沟湾扇贝养殖区的碳流途径图,因不同季节海区微食物环组成,浮游生物数量等有较大差别,本文的碳流途径并不适用于其他季节,其他月份的实验有待于进一步开展现场实验进行分析。

4 结论

(1) 桑沟湾海域浮游生物生物量以 $2\mu\text{m}$ 以上浮游生物最高,其次是异养细菌。长牡蛎对 $2\mu\text{m}$ 以上浮游生物的截留最高($289.20\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$),其次是微型鞭毛虫($53.29\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$),然后是微微型浮游生物($26.77\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$)。

(2) 传统的对于贝类食物来源的测定方法忽略了异养细菌、HNF 以及纤毛虫,对 6 月份桑沟湾海域微食物环框架分析得出 3 种微食物环生物对长牡蛎的碳贡献为 $1563.58\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{d})$ (17.94%),指示原生动物在长牡蛎的食谱组成中的地位不可忽视。异养细菌除了参与微食物环,还能被长牡蛎直接或者间接的摄食,成为长牡蛎的食物来源之一(由于现场摄食实验于 6 月份开展,故以上数据仅代表 6 月份的水平)。

参 考 文 献

- 于莹,张武昌,蒋增杰等, 2013. 桑沟湾浮游纤毛虫丰度和生物量分布的季节变化. 海洋学报, 35(3): 215—224
- 丰美萍, 2014. 砂壳纤毛虫分类和几个海区的分布研究. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所)博士学位论文, 106—107
- 王俊,李洪志, 2002. 渤海近岸叶绿素和初级生产力研究. 海洋水产研究, 23(1): 23—28
- 王俊,姜祖辉,张波等, 2000. 太平洋牡蛎同化率的研究. 应用生态学报, 11(3): 441—444
- 王俊,姜祖辉,唐启升, 2004. 栉孔扇贝生理能量学研究.

- 海洋水产研究, 25(3): 46—53
- 方建光, 匡世焕, 孙慧玲等, 1996a. 桑沟湾栉孔扇贝养殖容量的研究. 海洋水产研究, 17(2): 18—31
- 方建光, 孙慧玲, 匡世焕等, 1996b. 桑沟湾海带养殖容量的研究. 海洋水产研究, 17(2): 7—17
- 乐凤凤, 刘诚刚, 郝 翎等, 2011. 2009 年春季南海聚球藻生长率、被摄食死亡率及其与环境因子的关系. 海洋学研究, 29(1): 34—41
- 匡世焕, 方建光, 孙慧玲等, 1996. 桑沟湾栉孔扇贝不同季节滤水率和同化率的比较. 海洋与湖沼, 27(2): 194—199
- 刘诚刚, 2012. 中国近海浮游植物光合溶解有机碳生产研究. 青岛: 中国海洋大学博士学位论文, 85—87
- 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会编制, 2018. 中国渔业统计年鉴 2018. 北京: 中国农业出版社
- 张继红, 方建光, 2006. 栉孔扇贝对春季桑沟湾颗粒有机物的摄食压力. 水产学报, 30(2): 277—280
- 陆家昌, 2015. 桑沟湾微型鞭毛虫的生态学研究. 厦门: 厦门大学博士学位论文, 119—121
- 陈 辰, 李 琪, 慕翠敏, 2013. 乳山牡蛎养殖海域水质状况季节分析与评价. 海洋湖沼通报, (1): 38—44
- 赵 苑, 2010. 黄海和东海微型浮游生物分布研究. 青岛: 中国海洋大学博士学位论文, 123—124
- 赵燕楚, 赵 丽, 张武昌等, 2018. 桑沟湾微型浮游生物丰度和生物量分布的季节变化. 海洋科学, 42(5): 145—154
- 夏 斌, 陈碧鹃, 崔 毅等, 2013. 夏季桑沟湾养殖水域有机碳的平面分布特征及其来源分析. 渔业科学进展, 34(1): 44—49
- 徐东会, 陈碧鹃, 江 涛等, 2017. 桑沟湾养殖海域营养盐时空分布特征及富营养化评价. 渔业科学进展, 38(3): 1—11
- 郭术津, 丰美萍, 张瑞峰等, 2015. 2012 年 6 月份桑沟湾褐潮期间浮游植物和浮游纤毛虫群落结构特征. 海洋科学, 39(12): 56—64
- 蒋增杰, 杜美荣, 姜 绪等, 2015. 獐子岛海域浮游植物的粒径结构及碳流途径. 渔业科学进展, 36(4): 35—43
- 潘 科, 2006. 海洋异养鞭毛虫摄食与生长的实验生态学研究. 厦门: 厦门大学硕士学位论文, 62—63
- Azam F, Fenchel T, Field J G *et al*, 1983. The ecological role of water-column microbes in the sea. *Marine Ecology Progress*, 10: 257—263
- Evan Ward J, Shumway S E, 2004. Separating the grain from the chaff: particle selection in suspension- and deposit-feeding bivalves. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 300(1—2): 83—130
- Fournier J, Dupuy C, Bouvy M *et al*, 2012. Pearl oysters *Pinctada margaritifera* grazing on natural plankton in Ahe atoll lagoon (Tuamotu Archipelago, French Polynesia). *Marine Pollution Bulletin*, 65(10—12): 490—499
- Jacobs P, Riegman R, van der Meer J, 2015. Impact of the blue mussel *Mytilus edulis* on the microbial food web in the western Wadden Sea, The Netherlands. *Marine Ecology Progress Series*, 527(3): 119—131
- Jiang Z J, Du M R, Fang J H *et al*, 2017. Size fraction of phytoplankton and the contribution of natural plankton to the carbon source of Zhikong scallop *Chlamys farreri* in mariculture ecosystem of the Sanggou Bay. *Acta Oceanologica Sinica*, 36(10): 97—105
- Kach D J, Ward J E, 2008. The role of marine aggregates in the ingestion of picoplankton-size particles by suspension-feeding molluscs. *Marine Biology*, 153(5): 797—805
- Loret P, Le Gall S, Dupuy C *et al*, 2000. Heterotrophic protists as a trophic link between picocyanobacteria and the pearl oyster *Pinctada margaritifera* in the Takapoto lagoon (Tuamotu Archipelago, French Polynesia). *Aquatic Microbial Ecology*, 22(3): 215—226
- Riisgård H U, 1988. Efficiency of particle retention and filtration rate in 6 species of Northeast American bivalves. *Marine Ecology Progress Series*, 45: 217—223
- Ward J E, MacDonald B A, Thompson R J *et al*, 1993. Mechanisms of suspension feeding in bivalves: Resolution of current controversies by means of endoscopy. *Limnology and Oceanography*, 38(2): 265—272

CONTRIBUTION OF MICROBIAL LOOP TO CARBON DEMAND OF *CRASSOSTREA GIGAS* IN SANGGOU BAY AQUACULTURE ECOSYSTEM

DU Mei-Rong^{1,2}, LI Feng-Xue^{1,2}, FANG Jian-Guang^{1,2}, GAO Ya-Ping^{1,2},
FANG Jing-Hui^{1,2}, JIANG Zeng-Jie^{1,2}, WANG Tong-Yong³

(1. Key Laboratory for Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Shandong Provincial Key Laboratory of Fishery Resources and Eco-Environment, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Qingdao 266071, China; 2. Function Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266000, China; 3. Weihai Wendeng Fishery Technology Extension Station, Weihai 264400, China)

Abstract We studied the biomass of microbial loop and seasonal distribution of different-sized plankton (picoplankton, nanoflagellates, and ciliates) and their contribution to the food sources of *Crassostrea gigas* in Sanggou Bay, Shandong, China, using data of cruise investigation and *in-situ* experiments. Results show that the abundance and biomass of all-sized plankton were the lowest in winter ($P < 0.05$), specifically, nanoflagellates 51.69% (heterotrophic microflagellates 37.31% and pigmented nanoflagellates 14.38%), heterotrophic bacteria 39.03%, ciliates 2.31%, and picoeukaryote 0.66%. The feeding rate of *C. gigas* to different-sized plankton was measured by flow-through seawater system. The clearance rates of *C. gigas* on plankton ranged 0.26—3.50L/(g·h), and increased with the size, in the decedent order of pigmented plankton ($>2\mu\text{m}$) > ciliates > pigmented plankton ($<2\mu\text{m}$) > heterotrophic nanoflagellates > heterotrophic bacteria. Pigmented plankton ($>2\mu\text{m}$) contributed the most to the diet of *C. gigas* and followed in turn by heterotrophic nanoflagellates, ciliates, and heterotrophic bacteria. Traditional measurements of shellfish food sources neglected heterotrophic bacteria, heterotrophic nanoflagellates, and ciliates. Studies on the microloop showed that the carbon contribution of the three organisms above to *C. gigas* was 1563.58 $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{d})$ (17.94%). The result indicates that the role of protozoa in the food composition of *C. gigas* is important. Heterotrophic bacteria not only participate in the microloop, but also can be directly or indirectly ingested by *C. gigas*. The results provide important data for assessing the aquaculture capacity of *C. gigas* and analyzing the contribution of microbial loop to aquaculture ecosystem.

Key words microbial loop; picoplankton; protist; ciliates; Pacific oyster (*Crassostrea gigas*); carbon retention