

文章编号: 1004-7271(2007)06-0602-06

· 研究简报 ·

## 文蛤对四种单胞藻的表观消化状况及同化率

冉 福, 沈和定, 吕 凇, 曹 灏

(上海水产大学农业部水产种质资源与养殖生态重点开放实验室, 上海 200090)

**摘 要:**水温 22 ℃ 下, 显微观察了文蛤对塔玛亚历山大藻及海水小球藻, 等鞭金藻和青岛大扁藻的表观消化状况, 以灰化法测定了文蛤对四种单胞藻的同化率。结果表明, 低浓度时文蛤对四种藻类的表观消化状况优于高浓度组; 文蛤对海水小球藻、等鞭金藻和青岛大扁藻的同化率随着藻类浓度的升高而降低, 其同化率变化范围分别为 87.9% ~ 67.4%、83.4% ~ 58.7% 和 67.5% ~ 37.9%。当塔玛亚历山大藻浓度低于  $5.0 \times 10^3$  cell/mL 时, 文蛤不会产生假粪, 该藻能够被文蛤摄食。藻浓度在  $1.0 \times 10^3$  cell/mL 到  $3.0 \times 10^3$  cell/mL 时, 文蛤对该藻的同化率从 81.8% 降至 52.3%,  $4.0 \times 10^3$  cell/mL 组的同化率升高至 67.6%, 藻浓度升高至  $5.0 \times 10^3$  cell/mL 时同化率又降至 52.4%, 塔玛亚历山大藻  $3.0 \times 10^3$  cell/mL 浓度组是一个分界点, 同化率最低, 大于这一浓度时, 同化率又呈上升趋势。

**关键词:**文蛤; 塔玛亚历山大藻; 表观消化状况; 同化率

中图分类号: S 968.3

文献标识码: A

## Apparent digestion and absorption efficiency of four kinds of microalgae by hard clam *Meretrix meretrix* (Rumphius)

RAN Fu, SHEN He-ding, LV Lin, CAO Hao

(Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Aquacultural Ecosystem Certificated by the Ministry of Agriculture, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

**Abstract:** The absorption efficiency (AE) of hard clam [*Meretrix meretrix* (Rumphius)] on *Alexandrium tamarense* and other three kinds of microalgae (marine *Chlorella* sp., *Isochrysis galbana*, *Platymonas helgolandica*) was determined through the proportion of ash weight method, meanwhile, the apparent digestion of microalgae was observed with photomicrography, under water temperature 22 ℃. The results showed that the apparent digestion in lower density was better than that of higher density. The AE was correlated negatively with the concentration of algae except *A. tamarense*. When pseudofeces were not produced, the range of AE on marine *Chlorella* sp., *Isochrysis galbana*, *Platymonas halgolandica* were 87.9% - 67.4%, 83.4% - 58.7% and 67.5% - 37.9%. The clams didn't produce pseudofeces at the density of *A. tamarense* below 5 000 cell/mL. Furthermore, the AE of hard clam ranged from 81.8% to 51.3% in a concentration of *Alexandrium tamarense* from  $1.0 \times 10^3$  cell/mL to  $3.0 \times 10^3$  cell/mL. The AE in the concentration of  $4.0 \times 10^3$  cell/mL increased to 67.6%. Then it decreased to 52.4%, when the concentration became  $5.0 \times 10^3$  cell/mL. It was considered that the concentration of  $3.0 \times 10^3$  cell/mL was a watershed, over which the filter feeding activity of hard clam

收稿日期: 2006-09-18

基金项目: 上海市教委发展基金项目(科03-125); 上海市重点学科建设项目(Y1101)

作者简介: 冉 福(1981-), 男, 重庆万州人, 硕士研究生, 专业方向为海洋生物学。E-mail: kkn9909@etang.com

通讯作者: 沈和定, Tel: 021-65710362, E-mail: hdshen@shfu.edu.cn

will be greatly disturbed as the ingestion rate in the concentration of  $4.0 \times 10^3$  cell/mL and  $5.0 \times 10^3$  cell/mL decreased suddenly, while the absorption efficiency increased simultaneously.

**Key words:** clam; *Alexandrium tamarense*; apparent digestion; absorption efficiency (AE)

滤食性贝类通过滤食作用摄取水体中的颗粒有机物如浮游藻类、有机碎屑、细菌等,通过假粪、粪便和排泄作用把废物排入海中,对生物沉积有重要作用<sup>[1]</sup>。在有毒赤潮的发生时,由于贝类对其毒性不敏感,通过摄食代谢累积毒素,对人类的健康造成潜在的危害<sup>[2-3]</sup>。Jakson 等指出为了加快贝类净化的进程需要评价贝类生理状态尤其是胃肠结构和摄食活动对净化效果的影响<sup>[4]</sup>,因此,研究贝类的摄食生理对贝类净化效果的影响具有重要的理论和实际意义。有关双壳贝类的滤除率研究比较多,赵俊梅等研究了3种滤食性贝类对塔玛亚历山大藻的滤除率和摄食率<sup>[5]</sup>,沈和定等研究了毛蚶对5种单胞藻的滤除率,认为投喂高浓度的不易被贝类消化的藻类可能有助于贝类净化<sup>[6]</sup>。而贝类同化率的资料比较缺乏,双壳贝类对塔玛亚历山大藻的同化率研究国内还未见报道。以文蛤 [*Meretrix meretrix* (Rumphius)] 和麻痹性贝毒 (paralytic shellfish poisoning, PSP) 产毒藻塔玛亚历山大藻 (*Alexandrium tamarense*) 为试验对象,以其它3种饵料藻为对比,测定了滤食性贝类对赤潮藻类和饵料藻的表现消化状况及同化率,为研究 PSP 在双壳贝类体内的累积规律、净化去毒技术提供基础资料。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

所用文蛤购于上海市图门路农贸市场,原产地江苏省启东市,个体均重 17.95 g。挑选无损伤,活力好的个体,洗净贝壳表面后用过滤海水充气驯养,每天投喂单胞藻。

塔玛亚历山大藻 ATHK 藻株由中国科学院海洋研究所邹景忠研究员提供。海水小球藻 (marine *Chlorella* sp.)、等鞭金藻 (*Isochrysis galbana*) 和青岛大扁藻 (*Platymonas helgolandica*) 由上海水产大学海洋生物实验室提供。各种单胞藻均用 1/2 培养液培养,培养温度 20 °C,光照 3 000 lx,光暗周期比 12D: 12D。藻类培养用海水经 0.22 μm 孔径滤膜过滤后高温杀菌消毒。

试验用海水由比重为 1.090 的浓缩海水调配而成,盐度 30。

### 1.2 试验方法

暂养 7 d 后的文蛤,试验前 48 h 停食,养于 1 000 mL 的大烧杯内备用。试验时随机选取一定数量的文蛤于 250 mL 的烧杯中进行试验,每个烧杯内放置 1 个文蛤,水浴控制试验温度为 22 °C,经预试验后,在不产生假粪的藻类浓度内每种藻类设 5 个浓度组 (表 1),每组设 3 个平行,考虑到贝类染毒和净化技术研究中的实际需要,因此没有设置低浓度组。试验时将文蛤放入不同藻类浓度的各个烧杯中让其滤食 0.5 h 后转移至干净的过滤海水中,使其排便并收集 8h 内的粪便于 GF/C 滤纸 (whatman, 孔径 1.2 μm) 上,以便测定粪便中的总颗粒物 (TPM) 和颗粒态有机物 (POM)。

### 1.3 测定及计算方法

总颗粒物 (TPM) 和颗粒态有机物 (POM) 的测定方法是:将 GF/C 滤纸在 450 °C 下灼烧至恒重记其重量为  $W_0$ ,以 GF/C 滤纸抽取一定量的含有不同藻类的海水,用 0.5 mol/L 甲酸铵 (约 10 mL) 洗涤载有粪便和藻类的滤纸两次,以洗去盐分,然后放入烘箱内,65 °C 下烘 48 h 后用 TG328A 电光分析天平精确称重至 0.1 mg ( $W_{65}$ ),再放入马福炉中 450 °C 灼烧 4 h 后称重 ( $W_{450}$ )。颗粒态有机物重 ( $W_{POM}$ ) 和总颗粒物重 ( $W_{TOP}$ ) 分别为:  $W_{POM} = W_{65} - W_{450}$ ,  $W_{TPM} = W_{65} - W_0$ 。

同化率 (AE),指贝类通过消化系统吸收的物质占其摄食量的比例 (%),用 Conover<sup>[7]</sup> 提出的公式计算:  $AE = (F - E) / [(1 - E) \times F] \times 100$

F —— 饵料中有机物的百分含量 (POM/TPM)

E —— 粪便中有机物的百分含量 (POM/TPM)。

## 1.4 数据分析

数据统计均用 SAS 软件进行处理,所有试验数据作单因素方差分析和  $t$  检验法统计分析。

## 2 试验结果

### 2.1 文蛤对四种单胞藻的表观消化状况分析

塔玛亚历山大藻浓度为  $1.0 \times 10^3$  cell/mL 时,藻细胞几乎完全被消化,粪便中仅见一些细胞碎片和极少量完整的藻细胞(图版-1)。当塔玛亚历山大藻浓度为  $5.0 \times 10^3$  cell/mL 时,粪便中含有大量细胞碎片,同时未消化的完整藻细胞数量更多,说明该浓度下文蛤的消化率较低(图版-2、图版-3)。

海水小球藻浓度为  $1.0 \times 10^5$  cell/mL 时,大部分的海水小球藻被消化,粪便中的藻细胞破裂不成形,仅剩一些细胞碎片和个别完整细胞(图版-4)。当藻浓度上升至  $5.0 \times 10^5$  cell/mL 时,粪便中未消化的完整藻细胞数量明显增加(图版-5)。

等鞭金藻浓度为  $1.0 \times 10^5$  cell/mL 时,文蛤对该藻的消化状况良好,图中仅剩少量呈黄褐色的完整藻细胞,大部分藻细胞都已破碎(图版-6)。当其浓度为  $5.0 \times 10^5$  cell/mL 时,粪便中则有大量完整藻细胞(图版-7)。

青岛大扁藻浓度为  $1.0 \times 10^4$  cell/mL 时,大部分的青岛大扁藻被消化,粪便中的细胞破裂不成形,可见大量细胞碎片,尚有部分细胞完好(图版-8)。青岛大扁藻浓度为  $5.0 \times 10^4$  cell/mL 时,粪便中大量完整的藻细胞清晰可见(图版-9)。

### 2.2 文蛤对四种单胞藻的同化率

文蛤对不同浓度的各种藻类的同化率见表 1,经方差分析,藻类浓度能显著影响文蛤的同化率,除塔玛亚历山大藻外,文蛤对其它三种藻的同化率都是随着藻类浓度的升高而降低。

#### 2.2.1 文蛤对塔玛亚历山大藻的同化率

文蛤对塔玛亚历山大藻的同化率波动较大。在  $1.0 \times 10^3$  cell/mL 到  $3.0 \times 10^3$  cell/mL 的浓度之间,同化率呈直线下降。当藻细胞浓度为  $4.0 \times 10^3$  cell/mL 时,同化率升高至 67.6% 与  $2.0 \times 10^3$  cell/mL 时的同化率相当(67.9%),藻浓度为  $5.0 \times 10^3$  cell/mL 时其同化率又下降至 52.4%,但仍略高于  $3.0 \times 10^3$  cell/mL 时的同化率(52.3%)(图 1)。

#### 2.2.2 文蛤对海水小球藻的同化率

在本试验设置浓度中,文蛤对海水小球藻的同化率随着藻类浓度的升高而下降,从 87.9% 平缓下降至 67.4%,具体如图 2。

#### 2.2.3 文蛤对等鞭金藻的同化率

在  $1.0 \times 10^5$  cell/mL ~  $4.0 \times 10^5$  cell/mL 浓度间,文蛤对等鞭金藻的同化率从 83.4% 迅速减少至 60.2%,而后其同化率下降趋缓,总的看来其同化率随着等鞭金藻浓度的增加而减小,具体如图 3。

#### 2.2.4 文蛤对青岛大扁藻的同化率

青岛大扁藻浓度在  $1.0 \times 10^4$  cell/mL ~  $2.0 \times 10^4$  cell/mL 时,文蛤对该藻的同化率变化不大,当浓度超过  $2.0 \times 10^4$  cell/mL 后,同化率迅速下降,总体来看其同化率不高,试验中的最大同化率仅 67.5%,具

表 1 文蛤对四种单胞藻的同化率  
Tab.1 The absorption efficiency of four kinds of microalgae by hard clam

藻类	浓度 (cell/mL)	同化率
塔玛亚历山大藻	$1.0 \times 10^3$	$0.818 \pm 0.42^a$
	$2.0 \times 10^3$	$0.679 \pm 0.013^b$
	$3.0 \times 10^3$	$0.523 \pm 0.027^b$
	$4.0 \times 10^3$	$0.676 \pm 0.057^c$
	$5.0 \times 10^3$	$0.524 \pm 0.022^d$
海水小球藻	$1.0 \times 10^5$	$0.879 \pm 0.053^a$
	$2.0 \times 10^5$	$0.804 \pm 0.072^b$
	$3.0 \times 10^5$	$0.734 \pm 0.031^c$
	$4.0 \times 10^5$	$0.702 \pm 0.022^{cd}$
	$5.0 \times 10^5$	$0.674 \pm 0.019^d$
等鞭金藻	$1.0 \times 10^5$	$0.834 \pm 0.066^a$
	$2.0 \times 10^5$	$0.784 \pm 0.075^{ab}$
	$3.0 \times 10^5$	$0.704 \pm 0.031^b$
	$4.0 \times 10^5$	$0.602 \pm 0.027^c$
	$5.0 \times 10^5$	$0.587 \pm 0.017^c$
青岛大扁藻	$1.0 \times 10^4$	$0.675 \pm 0.013^a$
	$2.0 \times 10^4$	$0.6466 \pm 0.04^a$
	$3.0 \times 10^4$	$0.507 \pm 0.084^b$
	$4.0 \times 10^4$	$0.419 \pm 0.079^{bc}$
	$5.0 \times 10^4$	$0.379 \pm 0.022^c$

注:同一组间右上角标有不同英文字母的表示差异显著( $P < 0.05$ )

体见图 4。以上试验结果表明,除塔玛亚历山大藻外,文蛤对其他三种藻类的同化率随着藻类浓度的升高而降低。

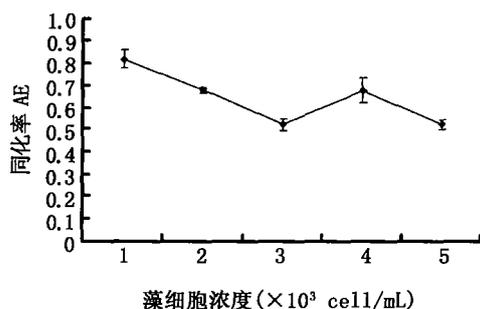


图 1 文蛤对塔玛亚历山大藻的同化率

Fig.1 The absorption efficiency of *Alexandrium tamarense* by hard clam

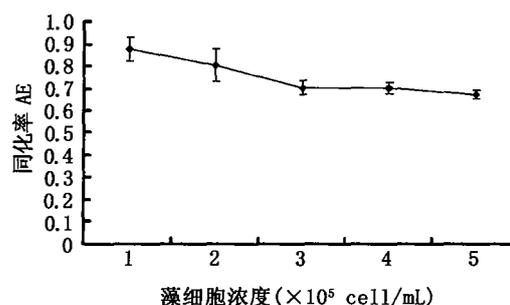


图 2 文蛤对海水小球藻的同化率

Fig.2 The absorption efficiency of marine *Chlorella* sp. by hard clam

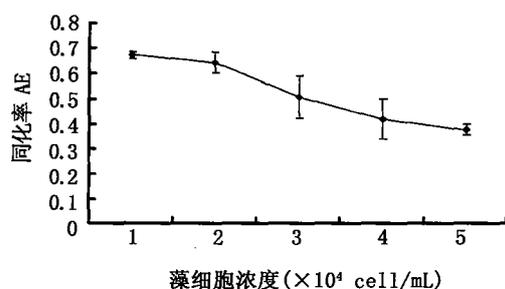


图 3 文蛤对青岛大扁藻的同化率

Fig.3 The absorption efficiency of *Platymonas helgolandica* by hard clam

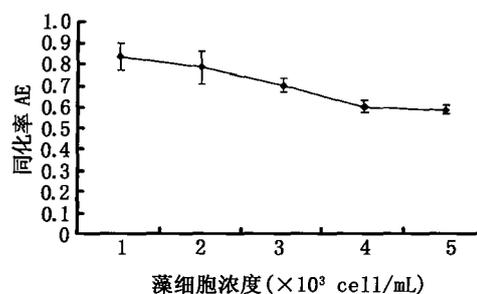


图 4 文蛤对等鞭金藻的同化率

Fig.4 The absorption efficiency of *Isochrysis galbana* by hard clam

### 3 讨论

#### 3.1 文蛤的假粪

贝类的滤食是在粘液纤毛作用和水动力学作用两种互补机制下进行的<sup>[8-9]</sup>。在一定条件下,例如饵料浓度过高或者饵料不适口等,藻细胞进入鳃后不进入消化道而是通过简单的黏液包裹后立即排出体外,这就是贝类的假粪。

假粪一般呈絮状、片状或团状,而真粪则成很规则的丝状;而且假粪韧性不如真粪,较小的外力作用就会使其破碎;另外,由于假粪是没有经过消化道的饵料与粘液的混合物,所以,一方面其产生时间较真粪早,一般在文蛤开口摄食后 10~15 min 产生,另一方面其中完整的藻细胞大多数都是活的。这要求在试验设计时将每种藻类的浓度控制在产生假粪的阈值以下。

另外试验中发现当塔玛亚历山大藻的浓度在  $5.0 \times 10^3$  cell/mL 以下时,文蛤滤食过程中不会产生假粪,也就是说,当浓度较低的情况下,文蛤能够摄食塔玛亚历山大藻。Li<sup>[10]</sup>在研究华贵栉孔扇贝和菲律宾蛤仔对塔玛亚历山大藻摄食过程中也发现两种贝类对毒藻无选择性。朱明远等<sup>[11]</sup>在研究栉孔扇贝对塔玛亚历山大藻的摄食时也未发现扇贝的不适现象,因此推断其原因可能是环境条件改变所致。

#### 3.2 文蛤对三种饵料单胞藻的同化率

贝类的同化率受多种因子的影响,例如水温、盐度、饵料密度、摄食量等,而贝类本身大小对于同化率的影响则不明显。

本试验中文蛤对三种饵料藻的同化率与藻类浓度都呈现出负相关关系。王俊等对栉孔扇贝和太平洋牡蛎的研究中也得到相同的结果<sup>[1,12]</sup>。Jespersen 等<sup>[13]</sup>对贻贝 *Mytilus edulis* 的研究中提出其原因是在一定藻类浓度下,贝类的消化能力是一定的,较低浓度的藻类能在贝类消化道内得到充分消化,随着藻类浓度升高,贝类对其消化状况渐差,即同化率减小。

### 3.3 文蛤对塔玛亚历山大藻的同化率

众所周知,塔玛亚历山大藻所产毒素主要是麻痹性贝毒(PSP),贝类对 PSP 的耐受能力极强,才使得毒素在其体内不断累积,早期的观点是 PSP 对贝类不会产生影响。随着研究的不断深入,发现塔玛亚历山大藻对贝类的孵化率、幼体的存活率、成体的生理活动会产生一定的负面影响<sup>[14-16]</sup>。

文蛤对塔玛亚历山大藻的同化率并非简单地随着藻类浓度增加而降低,当藻浓度为  $4.0 \times 10^3$  cell/mL 时,文蛤对其的同化率突然上升,其后又下降。究其原因,应该是在此浓度下,塔玛亚历山大藻对文蛤的摄食生理影响较大,使得文蛤的摄食量减少。根据 Navarro 对贻贝 (*Mytilus galloprovincialis*) 的研究,双壳贝类的同化率(AE)与摄食量(I)存在如下关系:  $AE = e^{-bI}$ ,由此可以看出贝类的同化率随着其摄食量增加而降低<sup>[17]</sup>。因此本试验中,当塔玛亚历山大藻浓度为  $4.0 \times 10^3$  cell/mL 时,文蛤的同化率不降反升。由此推断, $4.0 \times 10^3$  cell/mL 的塔玛亚历山大藻浓度从文蛤的生理影响上来说,可能是一个转折点,低于此浓度时,文蛤并未表现出不适现象;高于此浓度时,尽管文蛤仍会滤食并不产生假粪,但实验发现  $4.0 \times 10^3$  cell/mL 和  $5.0 \times 10^3$  cell/mL 浓度组文蛤的粪便要少于其它几组,推断其原因可能是通过减少摄食量而度过较高浓度塔玛亚历山大藻所造成的不利环境。周名江等<sup>[15]</sup>的研究中发现塔玛亚历山大藻对紫贻贝 (*Mytilus edulis*) 的滤水率影响的最低效应密度为  $4.4 \times 10^3$  cell/mL,当藻类浓度高于  $4.4 \times 10^3$  cell/mL 时,紫贻贝的滤水率将会随着藻类浓度的增加而减小,这与本试验结果相当接近。

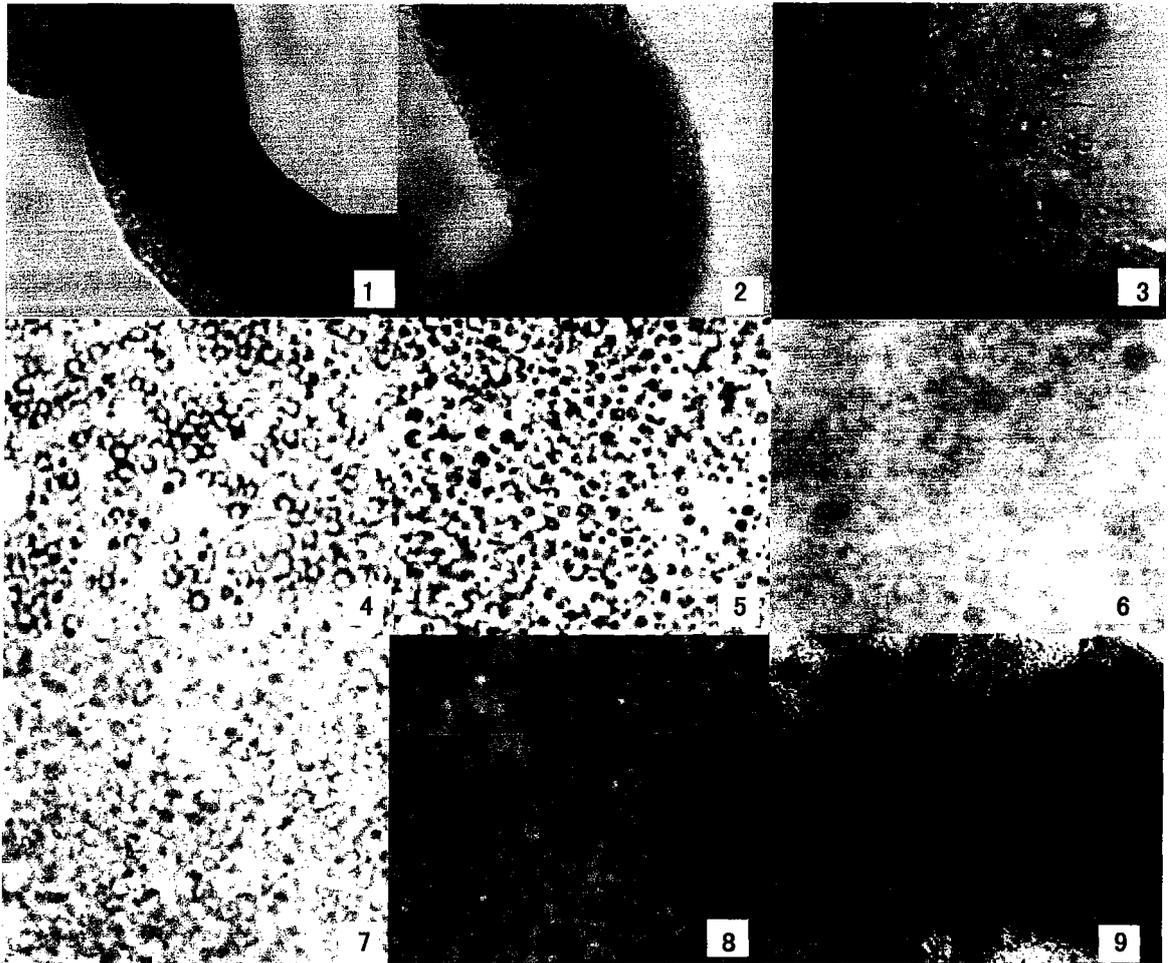
同化率可以很直观地反映出该贝对有毒藻的敏感性,Shumway 认为这类指标更能指示随后毒素累积情况,毒藻敏感度较低的贝相较于敏感度高的贝毒素累积速率更高,而排毒速率则比后者低<sup>[18]</sup>。与扇贝相比,文蛤对塔玛亚历山大藻更加敏感,因此其毒素累积能力并不强<sup>[11,18]</sup>。聂利华等<sup>[19]</sup>的调查结果也表明扇贝的毒素累积能力较强。

### 参考文献:

- [1] 王俊,姜祖辉,唐启升. 栉孔扇贝的滤食率与同化率[J]. 中国水产科学,2001,8(4):27-31.
- [2] 陈宁庆. 实用生物毒素学[M]. 北京:中国科学技术出版社,2001:559-568.
- [3] 郑淑贞,林晓. 麻痹性贝毒[J]. 广州化学,1995,2,39-43.
- [4] Jackson K L, Ogburn K M. Review of depuration and its role in shellfish quality assurance[M]. NSW Fisheries Final Series,1999,13.
- [5] 赵俊梅,方建光,包振民,等. 3种滤食性贝类对塔玛亚历山大藻的摄食研究[J]. 海洋水产研究,2004,25(4):17-22.
- [6] 沈和定,张饮江,卢华春,等. 毛蚶对单胞藻的滤除率、选择性和消化状况[J]. 上海水产大学学报,2006,15(2):195-200.
- [7] Conover R J. Assimilation of organic matter by zooplankton[J]. Limnol Oceanogr,1996,11:338-354.
- [8] 董波,薛钦昭,李军. 滤食性贝类摄食生理的研究进展[J]. 海洋科学,2000,24(7):31-34.
- [9] 包永波,尤仲杰. 海洋滤食性贝类摄食率影响因子研究现状[J]. 海洋水产研究,2006,27(1):76-80.
- [10] Li S C, Wang W X, Hsieh D P H. Feeding and absorption of toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* by two marine bivalves from the South China Sea[J]. Marine Biology,2001,139:617-624.
- [11] 朱明远,邹迎麟,吴荣军,等. 栉孔扇贝体内麻痹性贝毒的累积与排出过程研究[J]. 海洋学报,2003,25(2):75-83.
- [12] 王俊,姜祖辉,张波,等. 太平洋牡蛎同化率的研究[J]. 应用生态学报,2000,11(3):441-444.
- [13] Jespersen H, Olsen K. Bioenergetics in vetiger larvae of *Mytilus edulis* L[J]. Ophelia,1982,21(1):101-113.
- [14] 傅萌,颜天. 塔玛亚历山大藻对墨西哥湾扇贝幼体发育的影响[J]. 海洋科学,2000,24(3):8-11.
- [15] 周名江,颜天,傅萌,等. 塔玛亚历山大藻对海产双壳贝类生命活动的影响[J]. 海洋学报,2004,26(2):81-86.
- [16] Shumway S E, Cucci T L. The effects of the toxic dinoflagellate *Protogonyaulax tamarensis* on feeding and behavior of bivalve mollusks[J]. Aquatic Toxicol,1987,10:9-27.
- [17] Navarro E, Iglesias J I P, Camacho A P, et al. The effect of diets of phytoplankton and suspended bottom material on feeding and absorption of raft mussels (*Mytilus galloprovincialis* Lmk) [J]. J Exp Mar Biol Ecol,1996,198:175-189.
- [18] Choi M C, Hsieh D P H, Lam P K S, et al. Field depuration and biotransformation of paralytic shellfish toxins in scallop *Chlamys nobilis* and

green-lipped mussel *Perna viridis* [J]. *Marine Biology*, 2003, 143: 927 - 934.

[19] 聂利华, 江天久, 杨维东, 等. 麻痹性贝毒在广州市售经济贝类中污染状况分析 [J]. *卫生研究*, 2005, 34(1): 92 - 94.



图版 文蛤对四种单胞藻的表现消化状况

Plate The digestion of hard clam [*Meretrix meretrix* (Rumphius)]  
on four kinds of microalgae in feces

1. 塔玛亚历山大藻 ( $1.0 \times 10^3$  cell/mL,  $\times 100$ ); 2. 塔玛亚历山大藻 ( $5.0 \times 10^3$  cell/mL,  $\times 150$ ); 3. 塔玛亚历山大藻 ( $5.0 \times 10^3$  cell/mL,  $\times 150$ ); 4. 海水小球藻 ( $1.0 \times 10^5$  cell/mL,  $\times 400$ ); 5. 海水小球藻 ( $5.0 \times 10^5$  cell/mL,  $\times 200$ ); 6. 等鞭金藻 ( $1.0 \times 10^5$  cell/mL,  $\times 200$ ); 7. 等鞭金藻 ( $5.0 \times 10^5$  cell/mL,  $\times 200$ ); 8. 青岛大扁藻 ( $1.0 \times 10^4$  cell/mL,  $\times 200$ ); 9. 青岛大扁藻 ( $1.0 \times 10^4$  cell/mL,  $\times 200$ )