

塔玛亚历山大藻对褶皱臂尾轮虫实验种群动态的影响^{*}周立红^{1* * 王 大 志²}

(集美大学水产学院, 水产生物技术研究所 福建厦门 361021)

(厦门大学环境科学研究中心, 海洋环境科学教育部重点实验室 福建厦门 361005)

摘 要 采用单个体培养方法研究有毒赤潮藻塔玛亚历山大藻 (*Alexandrium tamarense*) 的细胞再悬浮液、细胞破碎液及其与亚心形扁藻 (*Platymonas subcordiformis*) 的混合藻液对褶皱臂尾轮虫 (*Brachionus plicatilis*) 实验种群动态的影响。结果表明, 塔玛亚历山大藻及其细胞破碎液延缓了褶皱臂尾轮虫的生长发育, 使轮虫的生殖前期延长, 生殖期及寿命缩短, 特定年龄出生率降低, 产卵量减少, 从而导致轮虫生殖力下降, 种群增长受阻。其中以塔玛亚历山大藻细胞再悬浮液对轮虫的影响最为显著, r_m 仅为 0.1832 d^{-1} 。图 1 表 2 参 18

关键词 褶皱臂尾轮虫; 塔玛亚历山大藻; 亚心形扁藻; 种群动态

CLC Q 178.1

EFFECT OF ALEXANDRIUM TAMARENSE ON POPULATION DYNAMICS OF BRACHIONUS PLICATILIS^{*}

ZHOU Lihong^{1* * & WANG Dazhi²}

(Fisheries College, Institute of Fishery Biotechnology, Jinji University, Xiamen 361021, Fujian, China)

(Key laboratory of Marine Environmental Science, Ministry of Education, Environmental Science Research Center, Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian, China)

Abstract The effect of a toxic dinoflagellate, *Alexandrium tamarense* (strain ATHK) on the experimental population dynamics of the individual cultured rotifer *Brachionus plicatilis* was studied. The experiment is divided into four treatments by culturing the rotifer in sand-filtered seawater with *Platymonas subcordiformis* as control, in sand-filtered seawater with *A. tamarense* cells as re-suspended treatment, in sand-filtered seawater with *P. subcordiformis* and broken *A. tamarense* as broken cells treatment, and in sand-filtered seawater with *P. subcordiformis* and *A. tamarense* as mixed cells treatment. The results showed that *A. tamarense* and its broken cells retarded the growth and development of *B. plicatilis* by prolonging its reproductive prophase, shortening its reproduction and life expectancy, reducing its natality in certain ages and decreasing the amount of spawned eggs. In all cases, the re-suspended *A. tamarense* cells produced the most significant adverse effect on the rotifer with the least r_m (0.1832 d^{-1}). Fig 1, Tab 2 Ref 18

Keywords *Brachionus plicatilis*; *Alexandrium tamarense*; *Platymonas subcordiformis*; population dynamics

CLC Q 178.1

赤潮是当今人类面临的一个严峻的环境问题。近年来, 随着赤潮发生频率的增加、范围的扩大以及危害的加剧, 这一问题已引起人们高度重视。目前有关赤潮的研究十分活跃, 而赤潮对海洋生物和生态系统的危害效应及其机制已成研究热点。如蒲新明等^[1]报道了海洋中赤潮藻与浮游动物的相互作用; 邢小丽等^[2]报道有些赤潮藻能抑制桡足类卵的产生及孵化, 甚至可能导致幼体畸形等; 郑天凌等^[3,4]研究了海洋赤潮生物与细菌的生态关系; 一些研究还表明, 赤潮藻, 特别是那些有毒赤潮藻可抑制贝类、虾及桡足类等海洋生物的生长发育, 直接杀死幼体或成体, 引起种群衰退, 从而影响到海洋生态系统的稳定^[5-9]。该领域内虽已开展较多的工作, 但有关有毒赤潮藻对轮虫种群动态影响的研究还不多, 其中王丽平等^[10]研究了

塔玛亚历山大藻 (*Alexandrium tamarense*) 对褶皱臂尾轮虫 (*Brachionus plicatilis*) 种群动态的影响。褶皱臂尾轮虫 (*B. plicatilis*) 分布极广, 是许多海洋鱼类和甲壳动物幼体的重要饵料, 在海洋生态系统中占有极其重要的地位^[11]。此外, 由于轮虫具有生命力强、繁殖迅速、营养丰富、大小适宜以及容易培养等特点, 目前已被广泛应用在多种海洋有鳍鱼类和甲壳动物幼体的培育中^[12]。本研究采用单个体培养的方法, 就有毒赤潮藻塔玛亚历山大藻对褶皱臂尾轮虫的产卵量、胚胎发育时间、生殖期长短、寿命等进行详细研究, 并计算出内禀增长率 (r_m)、周限增长率 (λ) 等种群增长参数以探讨实验种群受影响的程度, 以期揭示有毒赤潮可能对海洋食物链中初级消费者的影响, 为全面分析赤潮危害提供依据。

收稿日期: 2004-08-19 接受日期: 2004-11-01

^{*} 教育部骨干教师基金项目、集美大学基金项目 (C50209) 资助 Supported by the Core Teacher Program of the Ministry of Education of China and the Research Foundation of Jinji University

^{**} 通讯作者, Corresponding author (E-mail: lhzhou@jnu.edu.cn)

1 材料与方法

1.1 实验材料

褶皱臂尾轮虫取自集美大学水产学院海水试验养殖场, 实验前在实验室预培养 7 d 预培养期间投喂指数生长期的亚心

形扁藻 (*Platymanas subcordiformis*), 预实验及正式实验均在自然光照、室温 (23 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 下进行。实验用塔玛亚历山大藻藻种由中科院海洋所提供, 为 ATHK 品系, 毒力为 1.174×10^{-6} STX eq. cell $^{-1}$ [10]。藻类培养采用 f/2 培养基, 培养温度 (20 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$, 光照强度 3 000 lx, 光暗周期为 12:12。实验用藻取自指数生长期, 实验用海水经沙滤, 盐度 31。

1.2 实验方法

将携带非需精卵的轮虫单个培养于称量瓶 (40 mm \times 25 mm) 中, 培养水体为 5 mL。每间隔 1 ~ 2 h 于解剖镜下镜检卵的孵化情况, 待幼体孵出后去除亲体开始实验。实验期间, 每隔 2 h 检查 1 次, 记录轮虫产第 1 枚卵的时间、产卵数、幼体孵化时间、幼体数等, 并去除幼体; 每 2 d 更换 1 次培养液。实验共设 4 组 (表 1), 每组设 12 个重复, 实验至全部个体死亡为止。

1.3 参数及计算方法

有关褶皱臂尾轮虫主要发育阶段的划分及生命表的计算与编制参考席貽龙 [13] 及《动物生态学》等 [14] 的方法。

2 结果

2.1 轮虫在不同实验水体中主要发育阶段的历时和产卵量

表 1 不同实验溶液中褶皱臂尾轮虫各发育阶段的历时和产卵量

Table 1 Developmental stages of and eggs spawned by *B. plicatilis* in different culture mediums

时间及各种比率 Time and rates	CK	再悬浮液组 Re-suspended cells	破碎液组 Broken cells	混合藻组 Mixed cells
生殖前期 Reproductive prophase (t/h)	32.36 \pm 10.72	87.50 \pm 17.65	54.11 \pm 12.29	54.89 \pm 12.99
生殖后期 Post-reproductive period (t/h)	68.18 \pm 29.68	36.00 \pm 25.74	29.38 \pm 20.85	23.78 \pm 14.04
胚胎发育 Embryonic period (t/h)	30.00 \pm 4.41	34.27 \pm 11.97	31.00 \pm 12.52	25.44 \pm 6.46
平均寿命 Mean lifespan (t/h)	269.55 \pm 35.40	207.92 \pm 41.21	181.80 \pm 70.15	157.83 \pm 77.84
生殖期 Reproductive period (t/h)	167.00 \pm 30.17	85.83 \pm 37.19	124.25 \pm 66.29	104.22 \pm 64.39
产卵数 Number of eggs (N)	25.82 \pm 3.55	3.25 \pm 1.14	5.67 \pm 2.69	4.89 \pm 1.83
幼体数 Number of larvae (N)	24.36 \pm 2.91	2.75 \pm 1.42	4.89 \pm 2.41	4.56 \pm 1.42
孵化率 Egg hatching rate (r%)	94.37 \pm 5.69	84.62 \pm 31.87	86.27 \pm 14.20	93.19 \pm 12.50
最小世代 Shortest generation period (t/h)	62.36 \pm 7.90	121.64 \pm 24.49	85.11 \pm 11.96	80.33 \pm 15.30
生殖前期/平均寿命 Reproductive prophase/mean lifespan	0.12	0.42	0.30	0.35
生殖期/平均寿命 Reproductive period/mean lifespan	0.62	0.41	0.68	0.66

对照组: 指数期的亚心形扁藻加入新鲜沙滤海水, 使扁藻密度 $n = 10\,000\ \text{mL}^{-1}$; 再悬浮液组: 指数增长期的塔玛亚历山大藻孔径 $10\ \mu\text{m}$ 的筛绢过滤, 将藻细胞再悬浮于新鲜沙滤海水中, 使其密度 $n = 10\,000\ \text{mL}^{-1}$; 破碎液组: 再悬浮细胞在冰浴中用 JY92-11 型超声波细胞粉碎机破碎, 将亚心形扁藻加入该破碎液, 使两种藻密度均为 $n = 10\,000\ \text{mL}^{-1}$ 的实验溶液; 混合藻组: 亚心形扁藻加入塔玛亚历山大藻再悬浮液中, 使两种藻细胞密度均为 $n = 10\,000\ \text{mL}^{-1}$ 。CK group *P. subcordiformis* were inoculated in fresh sand-filtered seawater at the density (n) of $10\,000\ \text{mL}^{-1}$; Re-suspended cells the cells of *A. tamarensis* filtered with mesh (size $10\ \mu\text{m}$) were re-suspended in the fresh sand-filtered seawater at the density of $10\,000\ \text{mL}^{-1}$; Broken cells *P. subcordiformis* were inoculated in fresh sand-filtered seawater that included cells of *A. tamarensis* having been broken by ultrasonic cell broken machine and both of their densities were $10\,000\ \text{mL}^{-1}$; Mixed cells *P. subcordiformis* were inoculated in the re-suspended cells of *A. tamarensis* and both of their densities were $10\,000\ \text{mL}^{-1}$ 。

2.2 不同实验组中轮虫的特定年龄存活率 (l_x) 和出生率 (m_x)

图 1-A、1-B 为不同实验组中轮虫特定年龄出生率 (每雌产雌数) 及存活率的变化。对照组轮虫出生率明显高于实验组, 出生率最大值 (平均每雌产雌率) 对照组是再悬浮液组的 10.33 倍、破碎液组的 9.84 倍、混合藻组的 4.77 倍。而各组出生率最大值出现时间并不一致, 混合藻组与对照组较为接近, 再悬浮液组的生育高峰期则比对照组延后 2 d。另外, 对照组的生育高峰延续时间也较长。实验组轮虫存活率下降的时间比对

表 1 为培养于不同实验水体中的轮虫各主要发育阶段的历时及一生中平均产卵量等参数。应用 SAS 统计软件对数据进行方差分析, 结果表明, 除了胚胎发育历时及孵化率外, 各处理组轮虫的生殖前期、寿命、生殖期、生殖后期、最小世代以及产卵数等与对照组均具有显著差异 (各实验组与对照组数据间 $P < F$ 的几率均低于 0.001)。多重比较 (Duncan 法) [15] 结果显示, 培养于再悬浮液、破碎液以及混合藻组的轮虫, 其生殖前期历时分别为对照组的 2.7、1.67 和 1.7 倍; 培养于再悬浮液中的轮虫其生殖前期明显长于破碎液组及混合藻组 ($P < 0.01$), 而后两组间则无显著差异 ($P > 0.05$); 3 个处理组的轮虫生殖期、生殖后期及平均寿命都比对照组的轮虫短 ($P < 0.001$); 培养于再悬浮液中轮虫的最小世代历时达 121.64 h, 明显长于其他各组 (62.36 h ~ 85.11 h), 而另两个处理组间则无显著差异 ($P > 0.05$); 轮虫产卵量以对照组最高, 再悬浮液组最低, 后者与破碎液组轮虫产卵量差异显著 ($P < 0.01$), 但与混合藻液组无显著差异 ($P > 0.05$)。各处理组轮虫胚胎发育历时和卵的孵化率所受影响不显著 ($P > 0.05$)。生殖前期与平均寿命的比值对照组最低, 再悬浮液组最高; 而生殖期与平均寿命的比值则是再悬浮液组最低。

对照组提前, 一般在 d 4 开始存活率明显下降, 而对照组则要到 d 8 才下降, 而且前者下降速率也较大。

2.3 轮虫的种群增长力参数

根据不同时间内轮虫的存活率和出生率编制其生命表, 种群增长参数如内禀增长率 (r_m)、周限增长率 (λ)、净生殖率 (R_0) 和世代时间 (T) 列于表 2 其中对照组 (扁藻组) 轮虫的内禀增长率、周限增长率及净生殖率都是最大, 破碎液组次之, 而再悬浮液组则最小; 世代时间则反之。

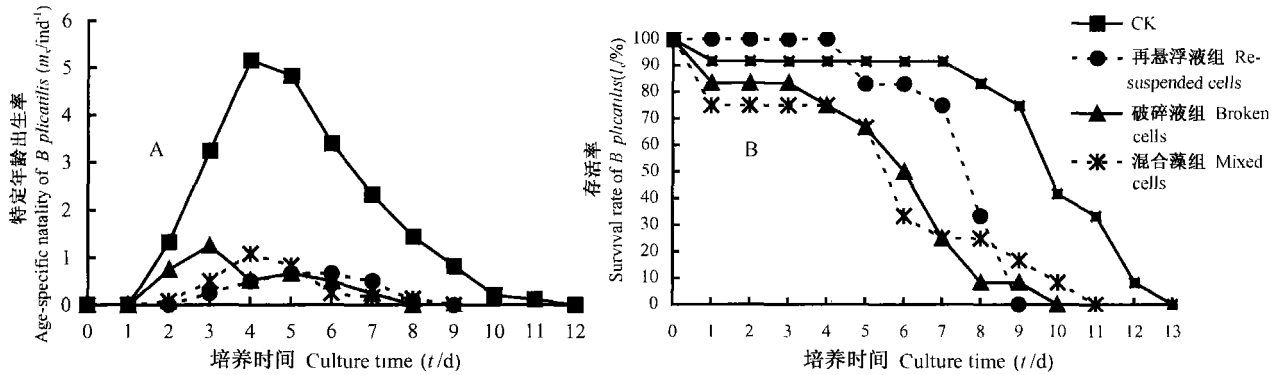


图 1 不同实验溶液中褶皱臂尾轮虫的特定年龄出生率 (A) 和存活率 (B)

Fig 1 Age-specific natality (A) and survival rate (B) of *B. plicatilis* in different culture mediums

表 2 各培养溶液中轮虫的种群增长参数

Table 2 Parameters of population growth of *B. plicatilis* in different culture mediums

组别 Group	r_m / d^{-1}	λ / d^{-1}	R_0 / ind^{-1}	T / d
CK	0.7590	2.1361	23.3265	4.1499
再悬浮液组 Re-suspended cells	0.1832	1.2011	2.6616	5.3437
破碎液组 Broken cells	0.3154	1.3708	3.9417	4.3489
混合藻组 Mixed cells	0.2446	1.2771	3.0417	4.5480

r_m : 内禀增长率 Intrinsic rate of increase; λ : 固限增长率 Finite rate of increase; R_0 : 净生殖率 Net reproductive rate; T : Generation time

3 讨论

各种处理的塔玛亚历山大藻对轮虫胚胎发育时间及孵化率无明显差异,这说明该藻毒素不能透过轮虫卵膜进入卵内。而根据颜天等^[5]对扇贝卵的孵化实验表明,塔玛亚历山大藻再悬浮液及藻壳液均能明显降低卵的孵化率。这种差异可能是由两种卵的卵膜结构及通透性不同造成的,轮虫产的卵是非需精卵而扇贝卵则必须经过精卵结合才能发育。此外,比较破碎液组与混合藻组结果发现,各项指标均无明显差异,也说明藻在活体状态或破碎后释出内含物时对褶皱臂尾轮虫的毒害情况相近。颜天等^[5]通过研究塔玛亚历山大藻对墨西哥湾扇贝幼体发育的影响,推测该藻对贝类受精卵孵化的抑制作用可能是由塔玛亚历山大藻藻细胞表面的物质或是释放在水中的有毒物质而非其内含物麻痹性贝毒(PSP)所引起的。本研究的结果支持这一观点。在塔玛亚历山大藻被破碎而释放出内含的PSP时,其毒性并未比活体状态时高,显示致毒源可能并非来自细胞内含物。

3个处理组中培养的轮虫生殖前期都明显长于对照组,生殖前期占最小世代的比例是对照组的2.48~3.51倍。生殖前期时间的增加,以及占平均寿命比例的增高,意味着实验组的轮虫发育延滞、性成熟所需时间长,这将延缓种群的增长。从表1还可看出,生殖期占平均寿命的比例在对照组与破碎液组及混合藻组之间并无明显区别,但是两实验组轮虫的生殖期却缩短了,仅为对照组的74.40%和62.41%。比较产卵数发现,破碎液组及混合藻组分别只有对照组的21.95%和18.94%,这可能意味着实验组轮虫繁殖能力的下降并不仅仅因为进行生殖的时间缩短了,还可能因为生殖生理方面受到抑制。这一点也可从对照组及实验组特定年龄出生率的差异可以印证,对照组轮虫出生率在任何年龄都明显高于实验组,而各组出生率最大值出现时间也并不一致,对照组的生育高峰期延续时间也较

长。这些最终将影响到整个轮虫的种群增长。

轮虫摄食饲料的最大直径为22~30 μm ,尤以15 μm 以下为理想^[9]。本研究中测定塔玛亚历山大藻细胞近似球形,长略大于宽,细胞长20~42 μm ,宽18~40 μm ,作为轮虫的饲料可能偏大。实验中发现,培养于再悬浮液中的轮虫只能少量摄食塔玛亚历山大藻细胞,其身体呈透明状,内含物少且呈红褐色,而其他各组轮虫内含物则呈扁藻的绿色,这表明塔玛亚历山大藻并非该种轮虫的适口饲料。王丽平等^[10]研究也发现,褶皱臂尾轮虫对塔玛亚历山大藻的摄食率很低。而本研究还发现,破碎液组及混合液组的轮虫消化道内有较多扁藻,但仍然表现出轮虫明显发育延缓、生殖期缩短、产卵量下降等情况,这表明亚历山大藻及其破碎液影响了轮虫对亚心形扁藻的吸收和利用,进而影响到轮虫的生长发育,这可能与藻毒素的作用直接有关。根据周立红等^[16]的研究,各种含有塔玛亚历山大藻成分的实验溶液均能在短时间内造成亚心形扁藻形态改变,主要表现在失去运动器官——鞭毛,及细胞壁与细胞膜之间间隙加大形成胞囊。这就必然造成水层中游动的扁藻细胞数量减少,使得轮虫对其的摄食不便,这可能导致轮虫的生长发育间接受到影响。根据王丽平等^[10]的研究,加了塔玛亚历山大藻的轮虫种群死亡率比起饥饿组的轮虫要高得多,因此认为除了饥饿外,藻细胞对轮虫也有一定毒害作用。本研究结果也支持这一观点。再悬浮液组与混合藻组的结果表明,两者在所研究的各指标上或是没有差异,或是后者优于前者,这说明尽管塔玛亚历山大藻毒素对轮虫有不利影响,但合适的饲料在一定程度上能降低这种影响。王丽平等^[10]还报道:只有活的塔玛亚历山大藻细胞才对褶皱臂尾轮虫具有毒害作用,而藻细胞培养液滤液、藻细胞内容物、藻细胞碎片等均不能导致该种轮虫死亡,其推测是因为二者在运动中碰撞导致轮虫机械损伤或生理机能紊乱,也可能碰撞刺激塔玛亚历山大藻释放对轮虫有害的物质。但本研究却发现,细胞破碎液同样对该轮虫有负面影响,至

于是那些细胞组分在起作用还有待进一步研究。

根据 Pourriot的研究^[17], 种群的增殖速率不仅与其净生殖率有关, 而且与胚胎发育速率、生命的早期阶段历时以及存活率等均有关。本研究发现, 在各种群增长参数中以 R_0 改变最大, 对照组是实验组的 5.92~8.76倍, 而世代时间受影响最小。这与陈艳等^[18]用微囊藻毒素对同种轮虫所做的研究结果类似。在 3 个实验组中以塔玛亚历山大藻再悬浮液对褶皱臂尾轮虫种群的增长影响最大, 具有最低的内禀增长率, 这说明在该藻形成的赤潮过程中, 海洋中这种重要的饵料生物会受到严重影响, 危害机理可能是塔玛亚历山大藻产生的化感物质对轮虫生长发育直接进行抑制以及通过抑制轮虫的饵料——扁藻使其缺乏足够的食物。至于毒性及饥饿导致的负面影响哪一个更为主要则有待于进一步研究。有毒赤潮藻对于植食性浮游动物(如轮虫)种群增长的不利影响有可能造成物质和能量在食物链间传递和流动的障碍, 最终可能影响生态系统的平衡, 并危害渔业资源, 这是今后很值得研究的一个课题。

References

- 1 Pu XM (蒲新明), Sun S (孙松). Interactions between red-tide algae and zooplankton. *Mar Sci* (海洋科学), 2002, **26** (11): 14~17
- 2 Xing XL (邢小丽), Gao YH (高亚辉), Lin RC (林荣澄). Advances of research on effects of red tide algae on the feeding, egg production and hatching of copepods. *J Oceanography Taiwan Strait* (台湾海峡), 2003, **22** (3): 369~376
- 3 Zheng TL (郑天凌), Tian Y (田蕴), Su JQ (苏建强), Wang YL (王艳丽), Lian YW (连玉武), Hong HS (洪华生). Study on the ecological relationship between a red-tide causative alga and three strains of bacteria isolated from Xiamen Harbor. *Acta Ecol Sin* (生态学报), 2002, **22** (12): 2063~2070
- 4 Xu JS (徐金森), Zheng TL (郑天凌), Chen X (陈霞), Lian YW (连玉武). Co-culture of red tide algae *Alexandrium tamarense* (Lebour) Balech with bacteria and its micro-ecological effects. *Chin J Appl Environ Biol* (应用与环境生物学报), 2002, **8** (2): 111~114
- 5 Yan T (颜天), Zhou MJ (周名江), Fu M (傅萌), Wang YF (王云峰), Yu RC (于仁诚), Li J (李钧). Inhibition of egg hatching success and larvae survival of the scallop *Chlamys farreri* associated with exposure to cells and cell fragments of the dinoflagellate *Alexandrium tamarense*. *Toxicon*, 2001, **39** (8): 1239~1244
- 6 Shumway SE, Cucci TL. The effects of the toxic dinoflagellate *Protogonyaulax tamarensis* on feeding and behavior of bivalve mollusks *Auatic Toxicol*, 1987, **10**: 7~9
- 7 Gramo A, Havenhand J, Magnusson K, Svane I. Effects of the planktonic flagellate *Chrysochromulina polyplepis* Manónt et Park on fertilization and early development of the ascidian *Ciona intestinalis* (L.) and the blue mussel *Mytilus edulis* L. *Exp Mar Biol Ecol*, 1988, **124**: 65~71
- 8 Lush GJ, Hallegraeff GM. High toxicity of the red dinoflagellate *Alexandrium minutum* to the brine shrimp *Artemia salina*. In: Yasumoto T, Oshima Y, Fukuyo Y eds. *Harmful Algal Blooms*. Paris: UNESCO, 1996: 389~392
- 9 Tumer JT, Tester P, Hansen PJ. Interactions between toxic marine phytoplankton and metazoan and protistan grazers. In: Anderson DM, Cembella AD, Hallegraeff GM eds. *Physiology of Harmful Algal Blooms*, 1998: 453~474
- 10 Wang LP (王丽平), Yan T (颜天), Tan ZJ (谭志军), Zhou MJ (周名江). *Alexandrium tamarense* and *Prorocentrum donghaiense* on rotifer *Brachionus plicatilis* population. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), 2003, **14** (7): 1151~1155
- 11 陈明耀. 生物饵料培养. 北京: 中国农业出版社, 1995: 25~28, 93~108
- 12 吕明毅译. 轮虫生物学与大量培养问题的研究. 养鱼世界(台湾), 1991 (1): 75~90
- 13 Xi YL (席贻龙), Huang XF (黄祥飞). Effect of temperature on the experimental population dynamics of *Brachionus urceolaris*. *Oceanol et Limnol Sin* (海洋与湖沼), 2000, **31** (1): 23~27
- 14 华东师范大学, 北京师范大学, 复旦大学, 中山大学. 动物生态学. 北京: 高等教育出版社, 1981: 127~153
- 15 杜荣馨. 生物统计学. 北京: 高等教育出版社, 1999: 117~132
- 16 Zhou IH (周立红), Wang DZ (王大志). Effects of toxic dinoflagellate *Alexandrium tamarense* on two unicellular algae. *J Oceanography Taiwan Strait* (台湾海峡), 2004, **23** (1): 43~50
- 17 Pourriot R. Les rotifers-biology. *Aquaculture*, 1986, **5**: 201~221
- 18 Chen Y (陈艳), Wang JQ (王金秋), Wang Y (王阳), Yu SZ (俞顺章). Toxicity and population growth effects of microcystin on the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Chin Environ Sci* (中国环境科学), 2002, **22** (3): 198~201