

3 种环境因素对叶片山海绵海区移植效果的影响

欧徽龙,王德祥*,龚琳,陈军,丁少雄

(厦门大学海洋与地球学院,福建 厦门 361102)

摘要: 海绵动物是重要的药源生物,由于自然海区生物量较少,限制了它的开发以及应用,海绵的人工增殖被认为是最有效解决海绵药源供给的途径.本研究以福建沿海广泛分布的山海绵属(*Mycale*)的种类为研究对象进行了初步的海区增殖研究.叶片山海绵(*Mycale phyllophila*)属于寻常海绵纲(Demospongiae),繁骨海绵目(Poecilosclerida),山海绵科(Mycalidae),山海绵属.研究了养殖深度,海水流速,附着基大小等 3 种因素对叶片山海绵在自然海区生长速度的影响.结果显示,不同移植环境中叶片山海绵成活率均为 100%,且都具有较快的生长速度.最快的生长速度出现在水深 2.0 m,流速较缓,附着基面积为 75 cm²的实验组,2 个月平均增长率达 472.1%.环境因子的多重方差分析结果显示,水深和流速对叶片山海绵的生长速度影响显著($p < 0.05$),较浅的水深、较缓的水流更有利于叶片山海绵的生长.叶片山海绵未全部覆盖附着基前,附着基的大小对叶片山海绵生长速度的影响不显著.

关键词: 叶片山海绵;水深;流速;附着基;生长速度

中图分类号:Q 33;Q 959.12

文献标志码:A

文章编号:0438-0479(2013)04-0574-05

海绵动物是最简单的多细胞动物,营固着生活,一般附着在固体表面,比如石头,珊瑚石和贝壳等^[1].海绵动物形态多变,种类繁多,分布也较为广泛,从淡水到海水,从潮间带到深海都存在海绵动物生长的迹象.过去几十年的研究中,人们发现海绵及其共生的微生物能够生产出许多新奇的生物活性化合物,根据功能的不同,可以分为抗菌、抗炎、抗肿瘤、抗病毒等化合物.这些化合物在生物制药和临床医学上都具有很重要的作用^[2],因此海绵动物被认为是最具有发掘生物活性物质潜力的一类动物^[2-4].

相对于其他一些海洋生物而言,海绵在自然海区的生物量较少,并且分布较为分散,大范围的采集必然导致严重的生态灾难,因此,如何解决海绵药源生物的供给问题,是各国科学家研究的重点^[3].另一方面,多数海绵种类体内生物活性物质的含量十分有限^[1],例如 200 g 产于新西兰的海绵 *Mycale hentscheli* 只能提取获得 1.7 mg 的山海绵酰胺(mycalamide)^[5].虽然某些化合物能够采用人工合成的方法进行批量生产,但

是源于海绵的化合物的结构大都比较复杂,化学合成困难,并且成本比较昂贵,利用化学合成的方法来得到目标活性化合物的可行性并不高^[6].因此,如何获得大量的海绵生物量解决药源供给,是药用海绵产业化急需解决的问题.对海绵进行人工养殖是目前获得大量海绵的有效方法,也是有望能够替代采集野生海绵种类的方法^[3].清晰了解影响海绵生长的环境因子是成功开展海绵增殖的重要前提,这些因素包括水温、光照、饵料以及季节变化等^[7].

我们对具有重要药用前景的山海绵属(*Mycale*)种类进行了生长特性的研究.主要研究叶片山海绵(*Mycale phyllophila*)的挂养水深、水流的流速以及海绵附着基的面积对生长速度的影响.

1 材料和方法

1.1 叶片山海绵的采集与切割

海区挂养实验所用到的叶片山海绵采自福建漳浦自然海区渔排.在 16 °C 保持充气的条件下经 2 h 运送到课题组的海上实验基地.使用无菌手术刀将叶片山海绵切割成大约为 15 cm³的组织块,尼龙扎带将叶片山海绵固着在带孔的 PVC 网片上,PVC 网片固定在灌满水泥的 PVC 水管组成的框架上,悬挂入水中.实验使用的叶片山海绵组织块均取自同一株成体叶片山

收稿日期:2013-03-20

基金项目:中央高校基本科研业务费专项(2010121034);福建省自然科学基金项目(2011J01245)

* 通信作者:dxwang@xmu.edu.cn

海绵,切割时保证每块组织块至少两面具有未受损的表皮.

1.2 实验分组

根据实验设定养殖深度、水流速度和附着基大小等 3 个实验参数,将实验叶片山海绵分成 8 个组,每个组 3 个平行样.样品挂养深度分别为水下 0.5 和 2 m,海区海水透明度为 1.5 m;网箱内以及网箱间水道作为不同流速实验组;附着基为网格状的 PVC 网,大小分别为 9 cm×15.5 cm 和 6 cm×12.5 cm.各实验组参数见表 1.选择叶片山海绵生长旺盛的 6—7 月份开展实验,即 2011 年 5 月 31 日开始,到 2011 年 7 月 31 日结束,为期 2 个月.

叶片山海绵生长状况测量:由于电子秤、天平都无法在晃动海面正常工作,因此只能通过间接法获得叶片山海绵生物量的数据.本研究参考沈铭辉等发明的“养殖海绵生物量的测量方法以及装置”所提供的方法测定叶片山海绵的体积,每隔 20 d 测定一次.具体方法如下:为了避免叶片山海绵离水时空气顺着叶片山海绵的水沟系统进入叶片山海绵组织块,导致叶片山海绵生长受限甚至死亡,测定前在水下轻微晃动或振动待测的叶片山海绵块,促使叶片山海绵主动关闭出水孔,约 10~20 s 后将待测叶片山海绵提出水面,当叶片山海绵表面滴下水滴的间隔大于 2 s 时,认为表面多余的水已经可以忽略不计,干露滴水的时间一般在 5~8 s,之后将叶片山海绵浸入盛满海水的容器

内测量溢出海水的体积.

1.3 数据分析方法

采用 SPSS 软件 17.0 版对数据进行分析.将不同时期的叶片山海绵体积增长作为群体内部变量,水深、流速和附着基作为因子变量进行重复方差分析.采用 Excel 软件 2007 版对数据进行作图分析.

2 结 果

2.1 叶片山海绵组织体积增长率

从表 1 中可以看出,所挂养的叶片山海绵在挂养期间都具有比较大的增长率,最大的体积增长率出现在深度为 2 m,流速较缓且附着基大小为 75 cm² 的实验组,62 d 的平均增长率达到 472.1%.

2.2 各因素的影响

2.2.1 环境因素的多重方差分析

通过方差分析检验可知所有实验的叶片山海绵的体积都具有极显著性的增长($p < 0.01$).通过表 2 的因素间的效应检验,可以看出各深度之间的叶片山海绵生长具有显著性的差异($F = 6.042, p = 0.026$),即深度对叶片山海绵的生长具有显著性影响;不同平均流速之间叶片山海绵生长也具有显著性的差异($F = 7.955, p = 0.012$),附着基的大小对叶片山海绵生长速度影响不显著($F = 0.431, p = 0.521$).

表 1 叶片山海绵组织体积增长情况

Tab.1 Growth rate of sponge *M. phyllophila* explants

深度	流速	附着基	体积/mL				体积增长率/%
			初始体积	第 21 天	第 41 天	第 62 天	
1	2	1	14.7±2.5	18.2±3.0	28.0±4.9	64.7±9.0	344.8±53.4
2	2	2	17.5±3.1	19.3±1.3	26.2±4.5	87.3±16.9	400.0±44.7
1	2	2	16.5±1.3	20.7±4.9	30.8±4.6	94.7±22.0	472.1±108.1
2	2	1	19.5±1.7	24.2±2.8	36.2±2.1	105.7±19.1	439.0±52.1
1	1	1	13.5±2.8	16.3±3.1	21.0±6.6	58.2±22.0	325.8±133.2
2	1	2	13.5±2.2	18.2±3.8	23.7±7.1	72.0±21.7	430.7±122.7
1	1	2	10.5±1.3	13.7±1.5	22.0±3.6	54.3±20.6	411.3±147.3
2	1	1	15.5±2.6	20.3±4.2	31.3±4.3	85.0±31.4	440.5±130.9

1) 深度 1 表示叶片山海绵挂养深度 2.0 m,深度 2 表示叶片山海绵挂养深度为 0.5 m;
 2) 流速 1 表示叶片山海绵挂养在网外,水流速度相对较快,流速 2 表示叶片山海绵挂养在网内,水流速度较慢,并且流速 1 与流速 2 的比值为 2.42:1.(流速相对值的测定参考欧徽龙等的相对流速测定方法及装置);
 3) 附着基大小 1 表示叶片山海绵附着基大小为 9×15.5=139.5 cm²,附着基 2 表示叶片山海绵附着基大小为 6×12.5=75 cm².

表 2 因素间的效应检验
Tab. 2 The effected test between factors

源	df	均方	F	p
截距	1	116120.682	541.153	0.000
深度	1	1296.540	6.042	0.026
流速	1	1706.907	7.955	0.012
附着基大小	1	92.434	0.431	0.521
深度×速度	1	47.040	0.219	0.646
深度×附着基	1	738.150	3.440	0.082
速度×附着基	1	116.600	0.543	0.472
深度×速度×附着基	1	294.700	1.373	0.258
误差	16	214.580		

1) 采用的是一般线性模型的重复度量检验,数据进行了平均数的转换;

2) $p < 0.05$ 表示具有显著性差异; $p < 0.01$ 表示具有极显著差异.

2.2.2 环境因素的影响

1) 养殖深度的影响

随着海区移植时间的增加,各深度叶片山海绵的体积都具有比较快的增长 ($p < 0.05$) (图 1). 在第 41 天之前,各深度叶片山海绵增长量基本上一致,但是在第 41 天之后,不同深度之间的影响差别就呈现出来,到第 62 天的时候,叶片山海绵个体相对于最初的体积都具有显著性的增长. 表层养殖的叶片山海绵生长速度高于较深养殖的叶片山海绵生长速度.

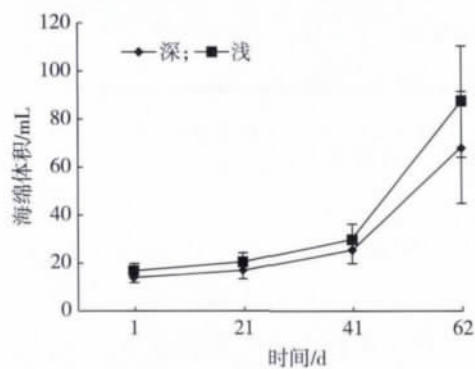


图 1 养殖深度对叶片山海绵生长速度的影响
Fig. 1 The influence of breeding depth on sponge *M. phyllophila* growth rates

2) 海水流速的影响

从图 2 上可以看出,随着养殖时间的增加,各水流流速中叶片山海绵的体积都具有比较大的变化 ($p < 0.05$) (图 2). 在第 41 天之前,水流流速之间的增长率不具有显著的差异,但是在第 41 天之后,水流流速之

间的影响差别就呈现出来了,到移植第 62 天时,叶片山海绵个体相对于最初的体积都具有显著性的增长. 生长在水流相对比较缓区域的叶片山海绵体积增长得更加快速.

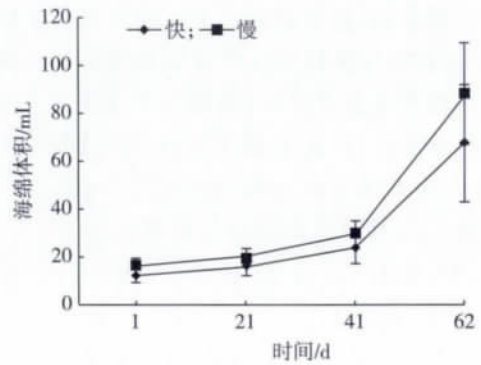


图 2 水流流速对叶片山海绵体积的影响
Fig. 2 The influence of flow rates on sponge *M. phyllophila* growth rates

3) 附着基大小的影响

从图 3 上可以看出,随着养殖时间的增加,不同大小附着基下叶片山海绵的体积都具有比较大的体积变化,到第 62 天的时候,叶片山海绵体积显著大于最初的体积 ($p < 0.05$). 但是大小 2 种规格的附着基下叶片山海绵的体积变化并没有显著性的差别,在整个养殖时间内都具有相对同步的变化趋势. 因此,在短期的养殖时间内,附着基对叶片山海绵生长的影响不显著.

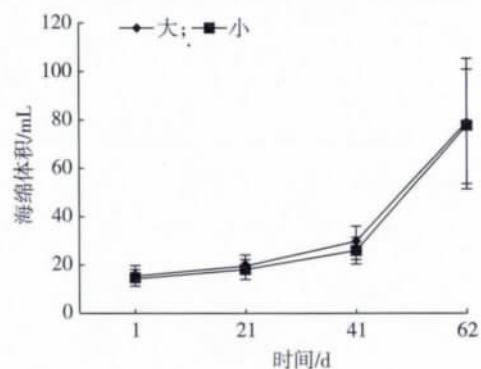


图 3 附着基大小对叶片山海绵体积的影响
Fig. 3 The influence of substrate sizes on sponge *M. phyllophila* growth rates

3 讨论

海绵移植的方式,国外已经做了一些尝试. 海绵的基本挂养方式主要有以下几种形式:采用网袋将海绵装在网袋里面挂养、直接使用尼龙绳将海绵钻孔挂养

和使用尼龙绳绑住整个海绵组织块挂养^[2]. de Caralt 等^[8]研究了海绵 *Dysidea avara* 在自然环境下养殖的情况,使用穿绳子挂养方式下,70 d 海绵的成活率为 38%,6 个月后的平均生长率只有 40%;使用网袋挂养时成活率达到 70%,6 个月后的平均生长率为(166.75 ± 34.62)%. 本实验所使用的方法不同于以往,是采用具有孔洞的 PVC 板作为海绵挂养的附着基来对叶片山海绵进行挂养. 通过整个实验的结果可以证明采用这种方式对叶片山海绵挂养是可行的,并且具有比较好的效果. 所有的叶片山海绵在 2 个月的挂养期内都有超过 200% 的生长率,生长最好的叶片山海绵出现在深度为 2 m,流速较缓且附着基大小为 75 cm² 的实验组,叶片山海绵的体积 62 d 的平均增长率高达到 472.1%. 附着基的大小对叶片山海绵短期内的生长的影响效果不明显.

海绵的摄食方式主要是通过水流的作用带来食物. 水流将食物带入海绵特有的水沟系统,海绵组织通过鞭毛的摆动滤食水体中的物质. 因此,水流速度对于海绵的摄食具有比较大的影响. 本实验结果表明,在 2 个月的实验周期内,在水流比较慢的条件下,叶片山海绵具有比较好的增长. 原因可能是由于过快的水流叶片山对海绵的水沟系统具有一定程度的影响,影响叶片山海绵的摄食情况,从而影响到叶片山海绵的生长. Duckworth 等^[9]对海绵 *Raspailia agminatu* 进行海区挂养环境因子影响的研究,结果显示高水流条件下该种海绵的存活率只有 56%,相对于较缓水流条件下的实验组表现出很低的水平. 分析其可能原因是由于高水流条件下,对海绵的干扰程度大,不利于海绵的生长.

在挂养深度的实验中,设置了 2 个深度分别为 0.5 和 2.0 m 的深度. 由于实验是在人工设施上进行,叶片山海绵的移植深度不随潮汐的变化. 设置这 2 个深度是出于现场的海水透明度考虑的. 该海区海水的透明度长期处于 1.5 m 左右. 因此 0.5 m 处的叶片山海绵实验组具有较高的光照强度. 2 个深度相差不大,因此水温的变化不明显,温度对叶片山海绵生长的影响可以忽略不计. 实验组之间的差别主要是由于光照强度引起. 叶片山海绵动物体内常有微型生物共生的现象,这些微型生物有古细菌、细菌、蓝藻细菌和微型藻类^[10]. 藻类的生长能够进行光合作用,能够给海绵提供一定的营养物质. Duckworth 等^[7]对温带寻常海绵纲的海绵 *Latrunculia wellingtonensis* 和 *Polymastix croceus* 进行了环境影响因子的研究. 研究结果显示,水深 5 米的实验组海绵相对于水深 10 米的实验组

具有更好的生长状况. 分析其原因可能是由于光照条件的不同影响海绵共生生物的生长状况. 在光照起主要作用的时候,挂养海绵给海绵共生的藻类提供了相对好的光照强度,因此海绵生长可能更有优势. 有些深海海绵种类在光照极弱的深海也能够正常的生长,影响它生长的因子主要是营养盐的浓度以及体内共生细菌的代谢活动. 深层水域中营养盐含量相对很高,给海绵提供了充足的营养来源. 所以对于深海海绵而言,这也许就是在无光的条件下也能够生长得很好的原因所在.

海绵是营固着生活的多细胞动物,对于附着基的材质具有一定的选择性,本实验所使用的 PVC 材质的附着基并不被叶片山海绵所排斥,所养殖的叶片山海绵都具有比较好的生长. 短期的挂养叶片山海绵实验并不能判断出附着基大小对叶片山海绵生长具有影响. 本实验所提供的 2 种附着基型号的大小在实验期间都能够给叶片山海绵生长提供一定的空间,不成为叶长山海绵生长的限制因素. 因此认为也许只有附着基的空间不能够满足叶片山海绵生长的情况之下,附着基的大小才会对叶片山海绵的生长具有一定的影响,这还需要后续实验进行验证.

本年度实验周期为 2 个月,后期由于篮子鱼等敌害生物的日趋繁盛,开放区域移植的叶片山海绵遭到严重破坏,实验被迫停止. 实验结果表明水流的速度,养殖的深度都会对叶片山海绵的生长速度产生一定的影响. 海区内对山海绵属的种类进行移植挂养的效果良好,不仅能够获得很高的存活率,也能保证挂养叶片山海绵具有很高的生长率. 因此,在海区内进行叶片山海绵养殖具有比较高的可行性. 当然,移植条件的进一步优化还需要更多的实验进行验证.

参考文献:

- [1] Osinga R, de Beukelaer P B, Meijer E M, et al. Growth of the sponge *Pseudosuberites* (aff.) *andrewsi* in a closed system[J]. *Journal of Bacteriology*, 1999, 70: 155-161.
- [2] Duckworth A R, Battershill C N. Developing farming structures for the production of biologically active sponge metabolites[J]. *Aquaculture*, 2003, 217: 139-156.
- [3] Carballo J L, Yanez B, Zubia E, et al. Culture of explants from the sponge *Mycale cecilia* to obtain bioactive mycalazal-type metabolites[J]. *Mar Biotechnol* (NY), 2010, 12(5): 516-25.
- [4] van Soest R W M, van Kempen T M G, Braekman J C. Sponges in time and space[M]. Rotterdam: AA Balkema, 1994: 395-400.

- [5] Perry N B, Blunt J W, Munro M H G. Mycalamide A, an antiviral compound from a New Zealand sponge of the genus *Mycale*[J]. J Am Chem Soc, 1988, 110: 4850-4851.
- [6] de Caralt S, Uriz M J, Wijffels R H. Cell culture from sponges: pluripotency and immortality[J]. Trends Biotechnol, 2007, 25(10): 467-71.
- [7] Duckworth A R, Battershill C N, Schiel D R. Effects of depth and water flow on growth, survival and bioactivity of two temperate sponges cultured in different seasons [J]. Aquaculture, 2004, 242(1/2/3/4): 237-250.
- [8] de Caralt S, Sanchez-Fontenla J, Uriz M J, et al. In situ aquaculture methods for *Dysidea avara* (Demospongiae, Porifera) in the northwestern Mediterranean [J]. Marine Drugs, 2010, 8(6): 1731-42.
- [9] Duckworth A R, Battershill C N, Bergquist P R. Influence of explant procedures and environmental factors on culture success of three sponges[J]. Aquaculture, 1997, 156: 251-267.
- [10] Lee Y K, Lee J H, Lee H K. Microbial symbiosis in marine sponges[J]. The Journal of Microbiology, 2001, 39(4): 254-264.

The Influence of Environmental Facts on Growth Rate of an Explanted Marine Sponge *Mycale phyllophila*

OU Hui-long, WANG De-xiang*, GONG Lin, CHEN Jun, DING Shao-xiong

(College of Ocean & Earth Science, Xiamen University, Xiamen 361102, China)

Abstract: Marine sponges are a diverse taxon of benthic aquatic animals of great biopharmaceutical importance. However, the lack of sufficient supply of sponge biomass restricts their preclinical and clinical application. *In situ* sponge aquaculture is nowadays one of the most reliable methods to supply of biomass for drug development. In this study, we focus on the aquaculture of the sponge *Mycale phyllophila*, which has a potential usage for biological medicine and commonly distributed along the southeastern of China coast. Culture efficiency were evaluated by determine of sponge survival and growth rates under different aquacultural factors, such as culture depths, water flow rates and explant sizes. The survival rates of explants were achieved 100% in all experimental groups. Relatively fast growth rates also were achieved, among which, the fastest group reached a growth rate of 472.1% after 60 days' culture. Deeper culture depths and slower water flow is more conducive to the growth of the sponge. No significant difference of growth rates were detected among groups with different explant sizes.

Key words: *Mycale phyllophila*; depth; flow rate; substrate size; growth rate