

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20180316001

http://www.yykxjz.cn/

王晓芹, Samuel P.S. Rastrick, 吴亚林, 房景辉, 杜美荣, 高亚平, 蔺凡, 姜妮妮, 李凤雪, 王军威, 张义涛, 方建光, 蒋增杰. 海水酸化胁迫对紫贻贝能量分配的影响. 渔业科学进展, 2019, 40(3): 21–30

Wang XQ, Rastrick SPS, Wu YL, Fang JH, Du MR, Gao YP, Lin F, Jiang WW, Li FX, Wang JW, Zhang YT, Fang JG, Jiang ZJ. Impact of seawater acidification on the energy budget of *Mytilus galloprovincialis*. Progress in Fishery Sciences, 2019, 40(3): 21–30

海水酸化胁迫对紫贻贝能量分配的影响*

王晓芹^{1,2} Samuel P.S. Rastrick⁵ 吴亚林^{1,2} 房景辉^{2,3}
杜美荣^{2,3} 高亚平^{2,3} 蔺凡^{2,3} 姜妮妮² 李凤雪^{1,2}
王军威⁴ 张义涛⁴ 方建光^{2,3} 蒋增杰^{2,3①}

(1. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306; 2. 农业农村部海洋渔业可持续发展重点实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071; 3. 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 青岛 266071; 4. 荣成楮岛水产有限公司 荣成 264312; 5. 挪威海洋研究所 卑尔根 5817)

摘要 2016 年 5~6 月在山东桑沟湾楮岛海区, 采用野外围隔和现场流水相结合的方法, 以紫贻贝(*Mytilus galloprovincialis*)为研究对象, 以 pH 为 8.0 作为对照组, 探讨了酸化胁迫(pH=7.7)对其能量分配的影响。结果显示, 短期(10 d)海水酸化胁迫下, 紫贻贝的滤水率、同化效率、氧氮比显著下降($P<0.05$), 排氮率极显著增加($P<0.01$), 耗氧率无显著差异($P>0.05$); 中期(30 d)海水酸化胁迫下, 紫贻贝的滤水率和氧氮比显著下降($P<0.05$), 而同化效率、耗氧率、排氮率显著升高($P<0.05$)。能量收支的结果显示, 短期(10 d)酸化胁迫下, 紫贻贝的摄食能和吸收能显著降低($P<0.05$), 呼吸能无显著差异($P>0.05$), 排泄能显著增加($P<0.05$), 生长余力极显著降低($P<0.01$); 中期(30 d)海水酸化胁迫下, 摄食能降低($P<0.05$), 吸收能、呼吸能、排泄能、生长余力显著升高($P<0.05$)。氧氮比的结果显示, 在海水酸化胁迫下, 氧氮比的波动范围为 14.28~20.46, 贝类体内的供能物质由脂肪和碳水化合物逐渐向蛋白质过渡。研究结果为揭示紫贻贝应对海水酸化胁迫的生理响应提供了基础数据。

关键词 海洋酸化; 紫贻贝; 摄食; 代谢; 桑沟湾

中图分类号 S967 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2019)03-0021-10

自工业革命以来, 人类活动排放至大气中 CO_2 含量快速升高, 从而使海洋中 CO_2 溶解吸收量迅速增加, 最终引发了严重的海洋环境问题——海水酸化。在政府间气候变化专门委员会(IPCC)报道中发现, 海

洋表面的 pH 与工业革命前相比, 在 2000 年已经下降 0.1 个单位; 据预测, 到 2100 年将下降 0.3~0.5 个单位; 到 2300 年将会下降 0.8~1.4 个单位(Caldeira *et al.*, 2005)。海洋表面 pH 的下降会引起海水中 H^+ 含

* 青岛海洋科学与技术国家实验室主任基金(QNLM201707)、中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金国际合作项目(20603022017019)和国家贝类产业技术体系养殖容量评估与管理岗位(CARS-49)共同资助 [This work was supported by Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology (QNLM201707), the International Cooperation Project of the Special Scientific Funds for Central Non-Profit Research Institutes (20603022017019), and Modern Agro-Industry Technology Research System (CARS-49)]. 王晓芹, E-mail: 13589349936@163.com

① 通讯作者: 蒋增杰, 研究员, E-mail: jiangzj@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2018-03-16, 收修改稿日期: 2018-04-28

量增多, CO_3^{2-} 减少, 尤其碳酸盐饱和度的下降, 从而对生态系统造成影响(Ferrari *et al*, 2011)。近年来, 海水酸化是国际研究的热门领域之一, 在权威期刊已经有多篇关于海水酸化对海洋生物, 尤其是钙化生物影响的报道(Fabry *et al*, 2008; Feely *et al*, 2004; Doney *et al*, 2009)。作为海洋中主要的钙化生物, 海水酸化对贝类的研究引起了科研工作者的关注, 主要涉及贝类的早期发育、钙化机制、生理能量、免疫调节方面(Talmage *et al*, 2010; Green *et al*, 2004; Wang *et al*, 2015; Michaelidis *et al*, 2005)。Talmage 等(2010)研究表明, 海水酸化(CO_2 浓度为 650×10^{-6})会导致硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria*)、海湾扇贝(*Argopecten irradians*)、美洲牡蛎(*Crassostrea virginica*)幼虫的变态、生长和存活都受到一定程度的负面影响。Timmins-Schiffman 等(2013)发现, 海水酸化会使太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)受精后的幼体发育延缓。

紫贻贝(*Mytilus galloprovincialis*)又称“淡菜”, 是我国黄海、渤海重要的海水经济贝类。据中国渔业统计年鉴(2016)报道, 贻贝海水养殖面积达 4.5万 hm^2 , 产量为 87.8万 t , 占贝类海水养殖总产量的 6.2% , 在贝类海水养殖总产量中位居第 4 位。海水酸化的变化将会对贻贝的矿化、生长和生理过程造成不同程度的影响。Gazeau 等(2007)研究发现, 海水酸化(CO_2 浓度约为 740×10^{-6})会导致紫贻贝的钙化率下降至 25% 。钙化过程的改变可能会进一步影响贝类的其他生理过程, 如能量转化、代谢和繁殖(王有基等, 2014)的过程。据 Navarro 等(2013)研究发现, 海水酸化(CO_2 浓度约为 1200×10^{-6})会导致智利蓝贻贝(*Mytilus chilensis*)摄食率和吸收效率显著降低, 从而引起贝类的吸收能量转化为生长能量大大降低。因此, 探究海水酸化对贻贝能量分配的影响对于研究贝类酸化的耐受能力是至关重要的。目前, 多数研究的酸化系统都是在实验室内进行模拟, 为了更好地获得海水酸化对紫贻贝生理活动影响的相关信息, 本研究采用野外围隔和现场流水相结合的实验方法, 研究了海水酸化对紫贻贝摄食吸收和代谢的影响, 探讨了酸化胁迫对紫贻贝能量分配的情况, 研究结果对于深入认识紫贻贝应对海水酸化胁迫的生理代谢机制提供了基础数据。

1 材料与方法

1.1 实验地点的选择

实验地点位于山东省荣成市桑沟湾楮岛海域半

封闭的船舶避风港湾($37^\circ 02' 38.3'' \text{N}$, $122^\circ 33' 30.3'' \text{E}$), 该港湾为长方形, 长为 150m , 宽为 100m , 水深约为 5m , 潮差 $\leq 2.0 \text{m}$ 。通过湾北面约 10m 的口门与外海相通, 外海的潮汐过程驱动湾内外的海水交换。

1.2 实验材料

实验所用紫贻贝于 2016 年 5 月 10 日采自山东省荣成市桑沟湾近海养殖区, 采集时选取长势健康且形态一致的紫贻贝, 采集后使用自然海水清洗贝壳表面附着物, 暂养于双层实验池内($0.8 \text{m} \times 0.5 \text{m} \times 0.5 \text{m}$), 置于楮岛码头海区内长方形金属框的网箱内($2.0 \text{m} \times 2.0 \text{m} \times 1.0 \text{m}$), 暂养 72h 后用于后续酸化实验。

1.3 模拟酸化实验系统的搭建与生物驯化

设置 2 个海水 pH 处理组。pH 为 8.0 组(桑沟湾楮岛海区自然海水 pH)和 pH 为 7.7 组(根据 IPCC 预测的 22 世纪末期海洋 pH)。pH 为 8.0 组, 在网箱内通过充入干净的空气进行控制; pH 为 7.7 组, 通过控制 CO_2 和空气的流量获得 CO_2 与空气的饱和气体, 以便得到目标 pH 的酸化海水。酸化实验的搭建见图 1 (专利号 201611109362.X)。

暂养结束后, 挑选健康、形态一致的紫贻贝进行标号后称量, 分配到各个双层实验池中。pH 为 8.0 组和 pH 为 7.7 组各分配 45 枚贻贝[壳长为 $(54.22 \pm 4.68) \text{mm}$]。每个处理组 3 个重复, 每个重复 15 枚贻贝。选取 9 枚贻贝在实验开始的第 10 天和第 30 天测定其滤水率、同化效率、耗氧率和排氨率、壳高、壳长、壳宽和湿重。

实验在 2016 年 5~6 月进行, 持续时间为 30d 。实验期间, 每天 08:00、12:00 和 18:00 测量海水的温度(T)、盐度(S)、溶解氧(DO)、pH 和总碱度(TA), 观察紫贻贝的生长情况。实验过程中没有紫贻贝死亡。海水的温度、盐度、DO 和 pH 等水质参数采用便携式水质分析仪(YSI 公司, Professional Plus, 美国)进行测定, TA 采用自动电位滴定仪(848MPT, 瑞士)测定。海水中无机碳体系各组分, 利用的海水 CO_2 系统计算公式软件($\text{CO}_2_SYS_XLS_v2.1$), 通过海水中的温度、盐度、pH、TA 计算得出海水无机碳体系中碳酸氢根离子浓度(HCO_3^-)、碳酸根离子浓度 CO_3^{2-} 、 CO_2 分压($p\text{CO}_2$)、方解石饱和度(Ω_{calc})和文石饱和度(Ω_{arag})等参数。

1.4 现场流水实验

1.4.1 实验设计与搭建 实验用的流水装置搭建在桑沟湾楮岛码头, 实验用水直接取自码头内的海

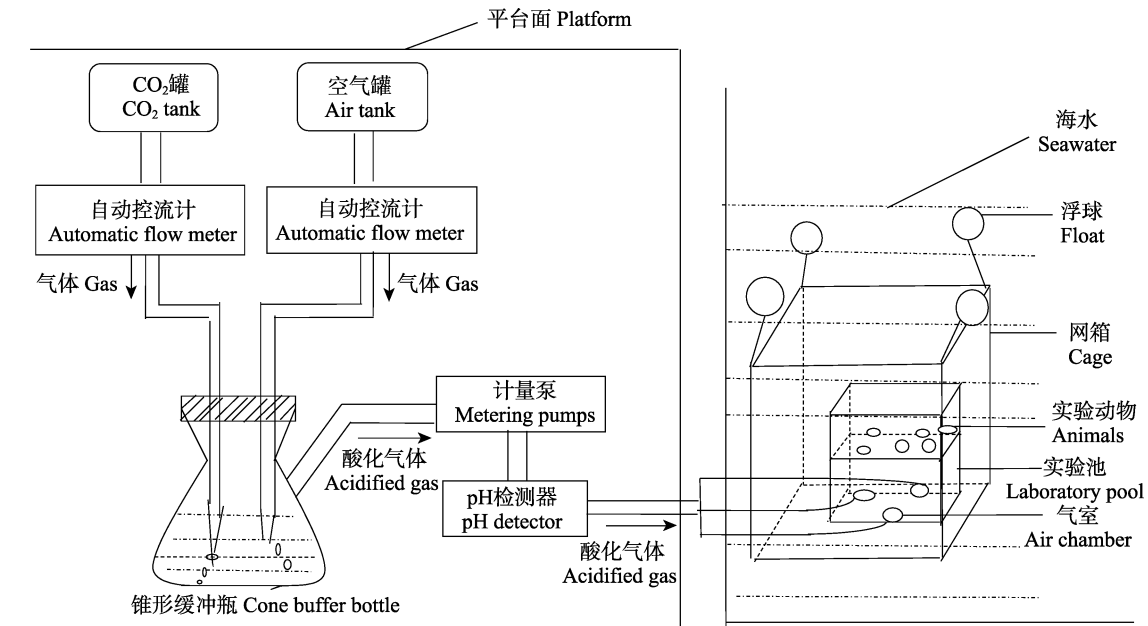


图 1 酸化实验系统

Fig.1 The seawater acidification experimental system

水。实验流水集装箱(1.5 m×1.0 m×0.8 m)内设 1 个进水口, 利用水泵接于楮岛码头内的水箱(1.5 m×1.5 m×1.5 m); 1 个流水口, 通过分流管接于码头上的流水槽(0.3 m×0.2 m×0.1 m); 1 个溢水口, 集装箱内的水面始终保持在一个固定平面。实验开始时, 水箱内充入利用 CO₂ 和空气预先配好的 pH 为 7.7 的酸化海水, 或是直接充入 200 目筛绢过滤好的自然海水, 利用水泵, 水流从水箱→集装箱→流水槽不断地流出。实验期间, 集装箱始终保持流水状态。采用 YSI-556 型溶氧仪测定水温、盐度、DO。

1.4.2 实验方法 滤水实验测定方法 将紫贻贝分别放入流水槽中适应 1 h, 水流流速控制在 200 ml/min 范围内, 以 3 个不放贻贝的流水槽作为空白组。实验持续 3 h, 每隔 1 h 从流水槽出水口接水样 100 ml, 利用便携式颗粒计数器 PAMAS (测定粒径范围 2~200 μm, S4031GO, 德国)测定水样瓶中水体颗粒物数量。另外, 从空白组的流水槽接水样 1000 ml, 利用预先灼烧并称重的 GF/C 玻璃纤维滤膜(孔径为 1.2 μm, 450℃灼烧 4 h, 重量保存至小数点后 5 位)收集水样中悬浮颗粒物浓度(TPM), 抽滤后的 GF/C 膜用锡纸包好, 并放入-20℃冰箱保存。

耗氧排氨实验测定方法 在集装箱中放置 12 个透明玻璃密封槽(∅0.15 m×0.1 m), 其中, 3 个不放紫贻贝的密封槽作为空白组。槽内设有 1 个带有阀门的进水管、出水管, 密封槽进水管利用分流装置接入至进水泵。紫贻贝放入密封罐, 在流水的条件下适应 1 h。耗氧实验开始时, 关闭槽内的进水泵, 静水环

境下驯化 2 h, 依次用手持溶氧仪(Vernier ODO-BTA, 德国)测定密封槽内的溶解氧含量。实验结束后, 取 100 ml 海水用于氨氮(NH₄⁺-N)测定。

粪便的收集 将紫贻贝放入透明的聚乙烯水管(∅0.1 m×0.3 m)内, 两端固定 20 μm 的筛绢, 放置在实验海区的网箱内, 实验持续 24 h。实验结束后, 利用预先灼烧的 GF/C 玻璃纤维滤膜收集贻贝的粪便, 用铝箔纸包好, 并放入-20℃冰箱保存。

实验过程中, 采集和保存的水样按照《海洋调查规范》(GB/T12763-2007)进行测定。实验结束后, 分离紫贻贝软组织, 在 60℃烘干至恒重后, 称其重量并记录。回到实验室后, 将 GF/C 玻璃纤维滤膜收集的水样和粪便样品, 先用 60℃烘干至恒重称其重量(W₆₀), 测其样品的总干重(TPM), 之后在 450℃条件下, 用马弗炉煅烧 4 h 后称重(W₄₅₀), 计算样品的无灰分重量(POM), 预先灼烧的 GF/C 玻璃纤维滤膜重量(W₀)。样品的总干重(W_{TPM})和样品无灰分重量(W_{POM})的计算公式:

$$W_{POM}=W_{60}-W_{450}; W_{TPM}=W_{60}-W_0$$

1.4.3 各参数的测定方法

滤水率(Clearance rate, CR, L/h·g)=FR(L/h)×(C₁-C₀)/C₁/W

式中, FR 为流水槽的流速, C₁、C₀ 分别为实验组和空白组实验水体中颗粒物数量。

同化效率(Absorption efficiency, AE, %)=(F-E)/[(1-E)F] (Conover, 1966)

式中, F 为颗粒物无灰分干重/食物总干重; E 为粪便无灰分干重/粪便总干重。

耗氧率(Respiration rate, RR, $\mu\text{mol}/\text{h}\cdot\text{g}$)= $[C_{i0}-C_t]\times V_r\times 60/(t_1-t_0)/W$

式中, t_1 、 t_0 分别为实验开始与结束时间; C_{i0} 、 C_t 为空白组和实验结束时贻贝组中溶解氧浓度; V_r 为密封槽的体积; W 为贝类的软组织干重。

排氮率(Ammonia excretion rate, AER, $\mu\text{mol}/\text{h}\cdot\text{g}$)= $[C_{i0}-C_t]\times(V/1000)\times 1/t/W$

式中, C_{i0} 、 C_t 分别为贻贝组与空白组氨氮浓度; V 为密封槽的体积; t 为驯化时间; W 为贝类的软组织干重。

组织干重标准化

$$Y_s=(W_s/W_e)^b\times Y_e$$

式中, Y_s 是生物软组织干重标准化后的生理参数; W_s 是标准重量(1 g); W_e 为测得的动物的组织干重; Y_e 是未标准化的生理参数; b 为 0.67(Wang *et al*, 2015)。

生长余力(SFG)

$$P=A-(R+U)$$

$$A=C\times AE$$

$$C=CR_{\max}(\text{L}/\text{h}\cdot\text{g})\times\text{POM}(\text{mg}/\text{L})\times 23(\text{J}/\text{mg})$$

(Slobodkin *et al*, 1961; Widdows *et al*, 1979)

式中, C 为摄食能(Ingested energy), 食物的能量转换系数为 23 J/mg; A 为吸收能(Absorbed energy); R 为耗氧能(Respired energy), 其能量转换系数为 0.456 J/ μmol ; U 为排泄能(Excreted energy), 其能量转化系数为 0.349 J/h。

氧氮比(O/N)为呼吸氧原子数与排出氨态氮原子数之比, 计算公式:

$$\text{O}/\text{N}=(\text{RR}/16)/(\text{ER}/14)$$

1.5 数据分析

采用 Excel 2007 和 SPSS 16.0 软件进行数据的整理和方差分析。实验结果采用平均数 \pm 标准差(Mean \pm SD)表示, 采用 t 检验进行显著性差异分析, $P<0.05$ 为差异显著, $P<0.01$ 为差异极显著。

2 结果

2.1 实验水环境的变化

2.1.1 海水水环境参数的变化情况 2016 年 5~6 月野外围隔实验海区水环境参数的日均变化情况见表 1。从表 1 可以看出, 在实验过程中, 温度、盐度、DO 的变化比较稳定, 无显著差异($P>0.05$)。实验海区海水温度波动范围为 17~21 $^{\circ}\text{C}$; 盐度的波动范围为 31.5~32.5; DO 的变化范围为 5.7~6.2 mg/L; 自然海水 pH 的变化范围为 7.96 \pm 0.48, 实验组海水 pH 的变化范围为 7.68 \pm 0.43。

2.1.2 海水总碱度和无机碳体系各组分的时空变化

实验过程中, 实验海水的 TA、 HCO_3^- 、 CO_3^{2-} 、 $p\text{CO}_2$ 、 Ω_{calc} 和 Ω_{arag} 变化见表 2。从表 2 可以看出, 各无机碳参数在海水中的变化范围分别为 2047.48~2219.97 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 、1912.29~2108.96 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 、46.47~119.69 $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 、604.4~1459.94 μatm 、1.13~2.93、0.73~1.88。海水中的 TA 和 HCO_3^- 浓度的变化相似, 无显著差异($P>0.05$)。在不同的酸化条件下, 海水中的 CO_3^{2-} 、 $p\text{CO}_2$ 、 Ω_{calc} 和 Ω_{arag} 浓度有显著差异($P<0.05$); 而 pH 为 8.0 组中的 CO_3^{2-} 、 Ω_{calc} 和 Ω_{arag} 显著高于酸化海水 pH 为 7.7 组, pH 为 8.0 组自然海水中的 $p\text{CO}_2$ 显著低于酸化海水 pH 为 7.7 组。

表 1 水环境参数的日均变化情况

Tab.1 The daily values of chemical factors of seawater

分组 Groups	pH	温度 Temperature($^{\circ}\text{C}$)	溶解氧 Dissolved oxygen (mg/L)	盐度 Salinity
pH8.0 组	7.96 \pm 0.48 ^a	19.09 \pm 1.95 ^a	6.03 \pm 0.13 ^a	32.07 \pm 0.48 ^a
pH7.7 组	7.68 \pm 0.43 ^b	18.95 \pm 1.99 ^a	5.89 \pm 0.14 ^a	32.08 \pm 0.43 ^a

注: 同一列不同字母为差异性显著($P<0.05$), 下同

Note: Values in the same line with different superscript indicate significant difference from each other ($P<0.05$), the same as below

表 2 海水无机碳体系各组分浓度

Tab.2 Concentration of carbonate system paramaters in the seawater

分组 Groups	总碱度 TA($\mu\text{mol}/\text{kg}$)	碳酸氢根离子浓度 HCO_3^- ($\mu\text{mol}/\text{kg}$)	碳酸根离子浓度 CO_3^{2-} ($\mu\text{mol}/\text{kg}$)	CO_2 分压 $p\text{CO}_2$ (μatm)	方解石饱和度 Ω_{calc}	文石饱和度 Ω_{arag}
pH8.0 组	2081.88 \pm 34.40 ^a	1950.93 \pm 38.64 ^a	106.79 \pm 12.90 ^a	625.40 \pm 21 ^a	2.61 \pm 0.32 ^a	1.68 \pm 0.20 ^a
pH7.7 组	2169.69 \pm 50.28 ^a	2060.67 \pm 48.29 ^a	58.77 \pm 12.30 ^b	1432.94 \pm 27 ^b	1.43 \pm 0.30 ^b	0.92 \pm 0.19 ^b

2.2 海水酸化胁迫对紫贻贝滤水率和同化效率的影响

海水酸化胁迫对桑沟湾海域紫贻贝滤水率和同化效率的影响见图 2。从图 2A 可以看出, 在酸化胁迫下, 第 10 天和第 30 天紫贻贝的滤水率分别为(8.30±0.31)、(6.40±0.24) L/h·g, 相比于自然海水组, 分别下降了 31.05%和 23.58%, 差异显著($F=10.20, P<0.05$; $F=9.50, P<0.05$)。

从图 2B 可以看出, 紫贻贝的同化效率受酸化胁迫和酸化时间的影响。在酸化第 10 天, 同化效率的平均值为 44.44%, 与自然海水组相比, 下降极显著($F=40.67, P<0.01$); 在酸化第 30 天, 同化效率的平均值为 61.20%, 与自然海水组相比, 显著增加($F=14.67, P<0.05$)。

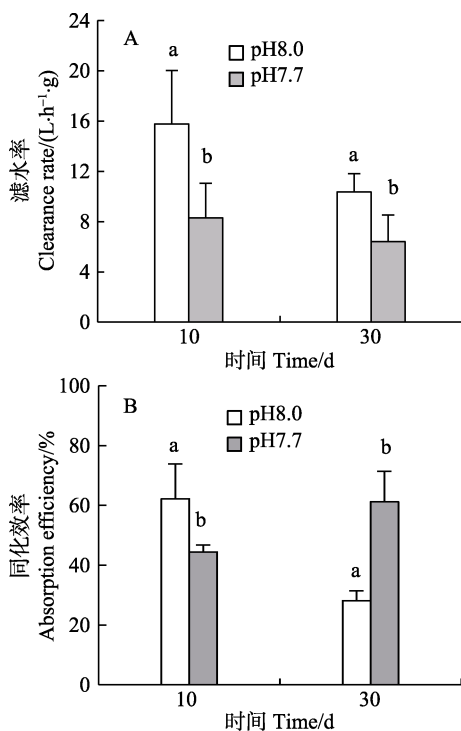


图 2 不同酸化和时间处理下紫贻贝滤水率(A)和同化效率(B)的变化

Fig.2 The clearance rate (A) and absorption efficiency (B) of *M. galloprovincialis* at the different pH and experiment time

图中相同时段内标有的不同字母的数据之间差异显著($P<0.05$), 下同

Data with different letters for the same time mean significant differences from each other ($P<0.05$), the same as below

2.3 海水酸化胁迫对紫贻贝代谢生理的影响

海水酸化胁迫对紫贻贝 RR 和 AER 影响见图 3。从图 3A、图 3B 可以看出, 紫贻贝受海水胁迫后, 其 RR 和 AER 变化规律非常相似, 均随着酸化时间呈上升趋势。显著性 t 检验分析结果显示, 在酸化第 10 天,

RR 增加, 但不显著($F=1.36, P>0.05$); AER 显著增加($F=27.68, P<0.05$); 在酸化第 30 天, RR 显著增加($F=12.86, P<0.05$), AER 增加极显著($F=33.29, P<0.01$)。

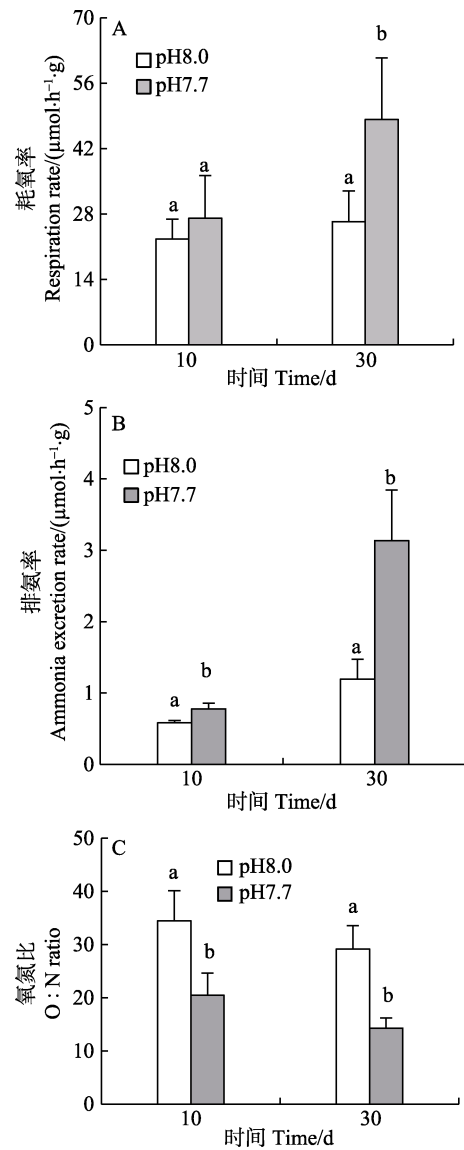


图 3 不同酸化和时间处理下紫贻贝耗氧率(A)、排氨率(B)和氧氮比(O/N)的变化

Fig.3 The respiration rate (A), ammonia excretion rate (B) and O/N ratio (C) of *M. galloprovincialis* at the different pH and experiment time

从图 3C 可以看出, 紫贻贝 O/N 随酸化胁迫时间的延长而减少。在酸化胁迫下, 第 10 天和第 30 天紫贻贝的 O/N 的平均值分别为 20.50 和 14.28, 与自然海水组相比, 显著下降($F=17.08, P<0.05$; $F=55.25, P<0.01$)。

2.4 海水酸化胁迫对紫贻贝能量收支的影响

在海水酸化胁迫下, 对紫贻贝能量收支的各项参数进行计算, 结果见表 3。从表 3 可以看出, 在短期

酸化胁迫 10 d 后,紫贻贝的摄食能和吸收能显著降低($F=14.02, P<0.05; F=21.22, P<0.05$),呼吸能无显著差异($F=2.23, P>0.05$),排泄能显著增加($F=5.62, P<0.05$),经计算单位软体部干重生长余力极显著降低($F=120.88, P<0.01$) (图 4)。在中期酸化胁迫(30 d)

后,紫贻贝的摄食能显著降低($F=12.09, P<0.05$),吸收能增加极显著($F=32.48, P<0.01$),呼吸能和排泄能显著升高($F=7.48, P<0.05; F=16.43, P<0.05$),呼吸能和排泄能共占总摄食能的 12.84%,生长余力极显著增加($F=179.94, P<0.01$) (图 4)。

表 3 海水酸化胁迫对紫贻贝能量收支的影响

Tab.3 Impact of seawater acidification on the energy budget of *M. galloprovincialis* (Mean±SD)

时间 Time (d)	分组 Group	滤水率 CR (L/h·g)	摄食能 Consumption energy (J/h·g)	同化效率 AE (%)	吸收能 A (J/h·g)	呼吸能 R (J/h·g)	排泄能 U (J/h·g)	生长余力 SFG (J/h·g)
10	pH8.0	15.79±4.26 ^a	186.85±68.03 ^a	62.20±11.65 ^a	116.20±42.31 ^a	10.95±2.51 ^a	0.23±0.04 ^a	105.23±18.79 ^a
	pH7.7	8.29±2.76 ^b	79.41±17.67 ^b	44.44±2.34 ^b	35.28±7.85 ^b	13.03±2.33 ^a	0.28±0.04 ^b	21.97±3.79 ^b
30	pH8.0	10.36±1.45 ^a	119.05±26.37 ^a	28.11±3.32 ^a	33.47±7.41 ^a	12.03±2.99 ^a	0.43±0.23 ^a	21.01±7.73 ^a
	pH7.7	6.41±2.11 ^b	145.28±37.07 ^b	61.20±10.18 ^b	88.91±22.69 ^b	17.65±3.48 ^b	1.01±0.30 ^b	70.26±7.36 ^b

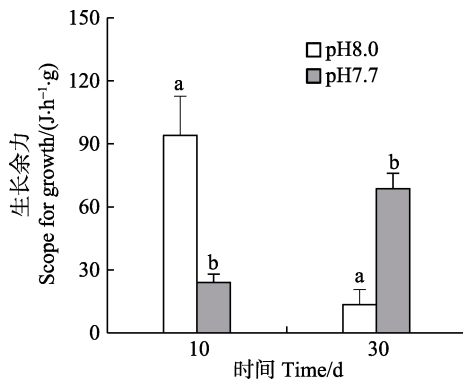


图 4 不同酸化条件不同处理时间下紫贻贝生长余力的变化

Fig.4 The SFG of *M. galloprovincialis* at the different pH and experiment time

3 讨论

3.1 海水酸化对紫贻贝摄食生理的影响

滤水率是研究贝类摄食生理的重要参数(Riisgård, 1991),它的大小直接受到生物所处环境的理化因子的影响(匡世煊等, 1996; 张继红等, 2005)。Fernández-Reiriz 等(2012)、Wang 等(2015)、Sui 等(2016)研究发现,海水酸化对滤食性贝类滤水率的影响因种类而异,厚壳贻贝(*Mytilus coruscus*)、紫贻贝的幼贝在海水酸化条件下,其滤水率未受影响。Liu 等(2012)对处于海水酸化下合浦珠母贝(*Pinctada fucata*)的代谢生理进行研究发现,合浦珠母贝的滤水率在酸化条件下显著增加。但更多的研究表明,海水酸化胁迫会导致滤水率显著降低, Liu 等(2012)在同一酸化条件下对栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)和贻贝(*Mytilus*

edulis)滤水率的研究发现,2种海洋贝类的滤水率均显著降低。Fernández-Reiriz 等(2012)研究发现,槽蛤仔(*Ruditapes decussatus*)的滤水率受到酸化胁迫的显著抑制。这与本研究结果相似,在海水酸化 pH 为 7.7 的条件下,紫贻贝滤水率均显著降低(图 2A),并随酸化时间加长,紫贻贝第 10 天滤水率的平均值高于第 30 天。Navarro 等(2013)研究发现,酸化时间对智利蓝贻贝摄食活动也具有重要的影响,贻贝(CO_2 浓度约为 750×10^{-6})在酸化海水中酸化 35 d 后,其摄食活性显著低于实验开始阶段(0 d)。从贝类的摄食行为中观察发现,在 $\text{pH} \leq 7.0$ 的海水酸化下,太平洋牡蛎、食用牡蛎(*Ostrea edulis*)和紫贻贝这 3 种海洋贝类均表现为贝壳持续张开,行为活动极度不活泼,呈现一种极近“麻痹状态”,生长受到抑制,死亡率增加(Bamber *et al.*, 1990)。

贝类同化效率对海水酸化同样敏感。Wang 等(2015)在室内模拟 pH 为 7.7 的海水酸化研究显示,海水酸化对厚壳贻贝的同化效率几乎没有产生影响。但 Fernández-Reiriz 等(2011、2012)在 $\text{pH}=\Delta-0.4$ 的酸化条件下酸化 78 d 后发现,槽蛤仔幼体同化效率显著降低,但是,紫贻贝幼体同化效率却显著增加,说明酸化对海洋贝类的影响具有明显的种属特异性。而本研究发现,紫贻贝在同一酸化条件下,同化效率在第 10 天下降,在 30 d 时增加(图 2B)。出现这一现象的原因可能是因为短期酸化胁迫会显著影响贝类消化系统,但是,在长期的酸化环境下,紫贻贝逐渐适应这一环境,通过调节自身的营养吸收能力来抵消这种酸化的不利环境(Wang *et al.*, 2015)。Areekijserree 等(2004)研究发现,贝类体内某些消化吸收酶如淀粉酶、

肽酶、葡萄糖苷酶在 pH 较低时,其活性会显著增加,机体通过提高某些营养消化酶的活性,促进营养的吸收利用,使机体免受酸化损伤。这种现象对于紫贻贝这一物种应对酸化胁迫是非常有利的生存策略,但更深层次的生理机制方面的研究还有待进一步研究。

3.2 海水酸化对紫贻贝代谢生理的影响

RR 和 AER 是研究贝类代谢中最广泛的指标。研究发现,海水酸化会对 RR 和 AER 产生不同程度的影响(Thomsen *et al.*, 2010; Fernández-Reiriz *et al.*, 2012; Wang *et al.*, 2015; Sui *et al.*, 2016; Hu *et al.*, 2017)。一方面,酸化时间会对贝类的代谢产生影响。厚壳贻贝在酸化处理 3 d,其 RR 和 AER 几乎没有产生影响,但利用相似的实验方法酸化 14 d 后发现,酸化会显著降低贻贝的 RR 和 AER (Wang *et al.*, 2015; Sui *et al.*, 2016)。另一方面,海洋酸化对贝类代谢的影响具有明显的种属特异性。Fernández-Reiriz 等(2011)在长期的酸化研究中发现,槽蛤仔的 RR 显著下降,AER 显著增加,而在紫贻贝中,虽然 AER 的变化一样,但对 RR 却几乎没有影响。本研究发现,在海水酸化胁迫条件下,紫贻贝的 RR 和 AER 都显著升高(图 3A、图 3B)。Lannig 等(2010)认为,酸化会影响贝类细胞内离子浓度(H^+ 、 CO_3^{2-} 、 HCO_3^- 、 Ca^{2+} 和 Mg^{2+})的变化,贝类通过提高代谢速率来维持细胞内酸碱离子的稳定。

O/N 是表示生物利用代谢底物的一个重要指标,反映有机生物在特定的环境状态下体内脂肪、糖类和蛋白质代谢的比例关系(Ruyet *et al.*, 2004; 姜妮妮等, 2017)。另外,O/N 值的高低可以作为生物体适应环境压力的指标之一(Widdows *et al.*, 1971)。当生物体以蛋白质代谢为主时,O/N 值约为 7.0~9.3;当生物以脂肪和碳水化合物代谢为主时,O/N 值通常高于 24 (Mayzaud *et al.*, 1973)。本研究中,紫贻贝受到酸化处理后的 O/N 值变化波动范围为 14.28~20.46,显著低于对照组($P < 0.05$,图 3C),说明在海水酸化胁迫下,紫贻贝的供能物质由脂肪和碳水化合物逐渐向蛋白质过渡。

3.3 海水酸化对紫贻贝能量分配的影响

在环境压力下,生长余力是估算生物整体生理状态的一个重要能量指标。研究发现,通过海水酸化对贝类摄食能、吸收能、呼吸能和排泄能等生理过程的研究,可以反映出海水酸化对海洋贝类的生长余力的影响(Berge *et al.*, 2006; Fernández-Reiriz *et al.*, 2011; Sanders *et al.*, 2013; Range *et al.*, 2014)。在受到海水酸化胁迫后,贝类生长余力的降低,常常伴随着摄食能

和吸收能的减少、呼吸能和排泄能的增加、蛋白质的降解等过程,这已经在紫贻贝(Thomsen *et al.*, 2010; Fernández-Reiriz *et al.*, 2011)、厚壳贻贝(Wang *et al.*, 2015)、槽蛤仔(Fernández-Reiriz *et al.*, 2012)、长牡蛎(Lannig *et al.*, 2010)中发现。在本研究中,在短期酸化胁迫 10 d,紫贻贝降低摄食、吸收能量,增加呼吸代谢能量消耗,最终导致贝类生长的能量减少,生长下降(表 3)。这与 Thomsen 等(2010)研究结果相一致,贝类往往会通过增加能量的需求和氮损失的协同作用来应对海水酸化胁迫的压力。Fernández-Reiriz 等(2011)研究发现,酸化胁迫导致槽蛤仔滤水、摄食降低,引起能量吸收的减少,氮代谢增加,生长变慢。本研究发现,紫贻贝在短期酸化 10 d,生长余力与对照组相比下降了 28.65%(图 4)。这与 Miller 等(2009)关于美洲牡蛎的研究结果一致。Navarro 等(2013)研究发现,智利蓝贻贝幼贝在 CO_2 中浓度约为 750×10^{-6} 、 CO_2 高浓度约为 1200×10^{-6} 的酸化海水中,生长率显著下降,分别下降 13%和 28%。在这一情况下,假设贻贝在正常海水(CO_2 浓度约为 380×10^{-6})中,其组织产量为 42120 kg/month,在中、高 CO_2 浓度的海水中处理后,其产量将分别减少 5500、12000 kg/month。这种现象说明在海水酸化中,贝类生长的降低,不仅会对贝类的健康产生危害,更严重的是这将会对贝类的养殖产业产生不可估量的损失。但值得注意的是,随着酸化胁迫延长至 30 d 后,紫贻贝的生长余力显著增加,与自然海水相比,增加了 30.70%,这种现象可能与长时间酸化胁迫后,紫贻贝同化效率和吸收能的增加有关,尽管贝类的呼吸能和排泄能显著增加,但代谢能仅占摄食能的 12.84%,所以,吸收能的显著增加是造成贝类生长余力显著增加的主要原因(表 3、图 4)。另外,Fernández-Reiriz 等(2012)通过相同的酸化条件,利用 CO_2 气体进行室内酸化模拟 78 d 后发现,紫贻贝稚贝同化效率的增加,吸收能增加,引起生长余力增加,这与本研究结果相一致。在长期酸化下,紫贻贝生长余力的增加,为以后抗逆品种的选育提供了很好的思路。需要指出的是,因实验场地、天气等原因,本研究仅持续了 30 d,对紫贻贝而言,在长期(半年以上)酸化条件下,是否能够通过稳定的高吸收效率来输送足够的生长能维持生长,尚需要长期尺度的海水酸化实验进行证实。

参 考 文 献

Areekijseree M, Engkagul A, Kovitvadhi U, *et al.* Temperature and pH characteristics of amylase and proteinase of adult

- freshwater pearl mussel, *Hyriopsis (Hyriopsis) bialatus* Simpson 1900. *Aquaculture*, 2004, 234(1): 575–587
- Bamber RN. The effects of acidic seawater on three species of lamellibranch mollusk. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1990, 143(3): 181–191
- Berge JA, Bjerkeng B, Pettersen O, *et al.* Effects of increased sea water concentrations of CO₂ on growth of the bivalve *Mytilus edulis* L.. *Chemosphere*, 2006, 62(4): 681–687
- Caldeira K, Wickett ME. Ocean model predictions of chemistry changes from carbon dioxide emissions to the atmosphere and ocean. *Journal of Geophysical Research Oceans*, 2005, 110(9): doi:10.1029/2004JC002671
- Conover RJ. Assimilation of organic matter by zooplankton. *Limnology and Oceanography*, 1966, 11(3): 338–345
- Department of Agriculture, Fisheries Bureau. China fishery statistics yearbook. Beijing: China Agricultural Press, 2017 [农业部渔业局. 中国渔业统计年鉴. 北京: 中国农业出版社, 2017]
- Doney SC, Lima I, Moore JK, *et al.* Skill metrics for confronting global upper ocean ecosystem-biogeochemistry models against field and remote sensing data. *Journal of Marine Systems*, 2009, 76(1–2): 95–112
- Fabry VJ. Ocean science. Marine calcifiers in a high-CO₂ ocean. *Science*, 2008, 320(5879): 1020–1022
- Feely RA, Sabine CL, Lee K, *et al.* Impact of anthropogenic CO₂ on the CaCO₃ system in the oceans. *Science*, 2004, 305(5682): 362–366
- Fernández-Reiriz MJ, Range P, Álvarez-Salgado XA, *et al.* Physiological energetics of juvenile clams *Ruditapes decussatus* in a high CO₂ coastal ocean. *Marine Ecology Progress*, 2011, 433: 97–105
- Fernández-Reiriz MJ, Range P, Álvarez-Salgado XA, *et al.* Tolerance of juvenile *Mytilus galloprovincialis* to experimental seawater acidification. *Marine Ecology Progress*, 2012, 454(2): 65–74
- Ferrari MC, McCormick MI, Munday PL, *et al.* Putting prey and predator into the CO₂ equation—qualitative and quantitative effects of ocean acidification on predator-prey interactions. *Ecology Letters*, 2011, 14(11): 1143–1148
- Gazeau F, Quiblier C, Jansen JM. *et al.* Impact of elevated CO₂ on shellfish calcification. *Geophysical Research Letters*, 2007, 34(7): L07603
- Green MA, Jones ME, Boudreau CL, *et al.* Dissolution mortality of juvenile bivalves in coastal marine deposits. *Limnology and Oceanography*, 2004, 49(3): 727–734
- Hu M, Lin D, Shang Y, *et al.* CO₂-induced pH reduction increases physiological toxicity of nano-TiO₂ in the mussel *Mytilus coruscus*. *Scientific Reports*, 2017, 7
- Jiang WW, Fang JG, Li JQ, *et al.* Effects of temperature change on physiological and biochemical activities of *Haliotis discus hannai* Ino. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2017, 24(2): 220–230 [姜娓娓, 方建光, 李加琦, 等. 温度胁迫对皱纹盘鲍生理和生化活动的影响. *中国水产科学*, 2017, 24(2): 220–230]
- Liu WG, He MX. Effects of ocean acidification on the metabolic rates of three species of bivalve from southern coast of China. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2012, 30(2): 206–211
- Kuang SH, Fang JG, Sun HL, *et al.* Seasonal variation of filtration rate and assimilation efficiency of scallop *Chlamys farreri* in Sanggou Bay. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 1996, 27(2): 194–199 [匡世焕, 方建光. 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*, 1996, 27(2): 194–199]
- Lannig G, Eilers S, Pörtner HO, *et al.* Impact of ocean acidification on energy metabolism of oyster, *Crassostrea gigas*—changes in metabolic pathways and thermal response. *Marine Drugs*, 2010, 8(8): 2318–2339
- Mayzaud P. Respiration and nitrogen excretion of zooplankton. II. Studies of the metabolic characteristics of starved animals. *Marine Biology*, 1973, 21(1): 19–28
- Michaelidis B, Ouzounis C, Palaras A, *et al.* Effects of long-term moderate hypercapnia on acid–base balance and growth rate in marine mussels *Mytilus galloprovincialis*. *Marine Ecology Progress*, 2005, 293(1): 109–118
- Miller AW, Reynolds AC, Sobrino C, *et al.* Shellfish face uncertain future in high CO₂ world: Influence of acidification on oyster larvae calcification and growth in estuaries. *PLoS One*, 2009, 4(5): e5661
- Navarro JM, Torres R, Acuña K, *et al.* Impact of medium-term exposure to elevated pCO₂ levels on the physiological energetics of the mussel *Mytilus chilensis*. *Chemosphere*, 2013, 90(3): 1242–1248
- Range P, Chícharo MA, Ben-Hamadou R, *et al.* Impacts of CO₂-induced seawater acidification on coastal Mediterranean bivalves and interactions with other climatic stressors. *Regional Environmental Change*, 2014, 14(1): 19–30
- Riisgård HU. Suspension feeding in the polychaete *Nereis diversicolor*. *Marine Ecology Progress*, 1991, 70(1): 29–37
- Ruyet PL, Mahé K, Bayon NL, *et al.* Effects of temperature on growth and metabolism in a Mediterranean population of European sea bass, *Dicentrarchus labrax*. *Aquaculture*, 2004, 237(1): 269–280
- Sanders MB, Bean TP, Hutchinson TH, *et al.* Juvenile king

- scallop, *Pecten maximus*, is potentially tolerant to low levels of ocean acidification when food is unrestricted. *PLoS One*, 2013, 8(9): e74118
- Slobodkin LB, Richman S. Calories/gm. in species of animals. *Nature*, 1961, 191(4785): 299–299
- Sui Y, Kong H, Huang X, *et al.* Combined effects of short-term exposure to elevated CO₂, and decreased O₂, on the physiology and energy budget of the thick shell mussel *Mytilus coruscus*. *Chemosphere*, 2016, 155: 207–216
- Talmage SC, Gobler CJ. Effects of past, present, and future ocean carbon dioxide concentrations on the growth and survival of larval shellfish. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2010, 107(40): 17246–17251
- Timmins-Schiffman E, O'Donnell MJ, Friedman CS, *et al.* Elevated pCO₂, causes developmental delay in early larval Pacific oysters, *Crassostrea gigas*. *Marine Biology*, 2013, 160(8): 1973–1982
- Thomsen J, Melzner F. Moderate seawater acidification does not elicit long-term metabolic depression in the blue mussel *Mytilus edulis*. *Marine Biology*, 2010, 157(12): 2667–2676
- Wang YJ, Li LS, Li QZ, *et al.* Research progress on eco-physiological responses of shellfish under ocean acidification and global warming. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(13): 3499–3508 [王有基, 李丽莎, 李琼珍, 等. 海洋酸化和全球变暖对贝类生理生态的影响研究进展. *生态学报*, 2014, 34(13): 3499–3508]
- Wang YJ, Li LS, Hu MH, *et al.* Physiological energetics of the thick shell mussel *Mytilus coruscus*, exposed to seawater acidification and thermal stress. *Science of the Total Environment*, 2015, 514: 261–272
- Widdows J, Bayne BL. Temperature acclimation of *Mytilus edulis* with reference to its energy budget. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 1971, 51(04): 827
- Widdows J, Bayne BL, Livingstone DR, *et al.* Physiological and biochemical responses of bivalve molluscs to exposure to air. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 1979, 62(2): 301–308
- Zhang JH, Fang JG, Sun S, *et al.* Clearance rate, ingestion rate and absorption efficiency of cultivated clam *Ruditapes philippinarum* in Jiaozhou Bay, China. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2005, 36(6): 548–555 [张继红, 方建光, 孙松, 等. 胶州湾养殖菲律宾蛤仔的清滤率、摄食率、吸收效率的研究. *海洋与湖沼*, 2005, 36(6): 548–555]

(编辑 陈严)

Impact of Seawater Acidification on the Energy Budget of *Mytilus galloprovincialis*

WANG Xiaoqin^{1,2}, Samuel P.S. Rastrick⁵, WU Yalin^{1,2}, FANG Jinghui^{2,3}, DU Meirong^{2,3},
GAO Yaping^{2,3}, LIN Fan^{2,3}, JIANG Weiwei², LI Fengxue^{1,2}, WANG Junwei⁴,
ZHANG Yitao⁴, FANG Jianguang^{2,3}, JIANG Zengjie^{2,3}^①

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306; 2. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071; 3. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266071; 4. Rongcheng Chudao Aquaculture Corporation, Rongcheng 264312; 5. Institute of Marine Research in Norway, Bergen 5817)

Abstract The effect of seawater acidification on the energy budget of the mussel *Mytilus galloprovincialis* was studied using a combined *in situ* mesocosm and flow-through chambers approach in Sanggou Bay from May to June, 2016. The experimental groups of mussels were acclimated to different experimental pH values obtained by elevating seawater CO₂ concentrations. Clearance rates, absorption efficiency, respiration rates, ammonia excretion rates, and O/N ratios of *M. galloprovincialis* were measured after 10 and 30 days of treatment. The results showed that the clearance rates, O/N ratios, and absorption efficiency of *M. galloprovincialis* were reduced significantly after 10 days of exposure to acidified seawater (pH 7.7) ($P < 0.05$), whereas the rates of ammonia excretion were increased significantly ($P < 0.01$). The respiration rates in acidified and ambient seawater did not show significant difference ($P > 0.05$). However, after 30 days of exposure to acidified seawater, significantly increased absorption efficiency, respiration rates, and ammonia excretion rates ($P < 0.05$), and significantly reduced clearance rates and O/N ratios were observed ($P < 0.05$). Energy budget analysis showed that a 10-day exposure to acidified seawater resulted in significantly reduced ingestion energy, absorbed energy, and scope for growth ($P < 0.05$), but a significant increase in excreted energy ($P < 0.05$), whereas a 30-day exposure to acidified seawater resulted in significant reduction in ingestion energy ($P < 0.05$), but a significant increment in absorbed energy, respiration energy, excreted energy, and scope for growth ($P < 0.05$). The average values of O/N ratios ranged from 14.28 to 20.46 in all the experiments, suggesting that the energy source changed gradually from fats and carbohydrates to proteins under low pH conditions. These data provide theoretical insights into the possible mechanisms underlying the impact of seawater acidification on the physiological responses of mussels.

Key words Seawater acidification; *Mytilus galloprovincialis*; Feeding; Metabolism; Sanggou Bay

① Corresponding author: JIANG Zengjie, E-mail: jiangzj@ysfri.ac.cn