

厚壳贻贝的钙化和呼吸对海洋酸化的响应

章恒, 赵晟, 朱爱意 (浙江海洋学院海洋科学与技术学院, 国家海水养殖设施工程技术研究中心, 浙江舟山 316022)

摘要 模拟了未来海洋酸化环境, 采用碱度异常技术 (Alkalinity anomaly technique) 对生活在酸化海水中的厚壳贻贝的钙化率和呼吸率进行了测定。结果表明, 厚壳贻贝的钙化和呼吸活动在酸化环境中发生显著变化, 随着酸性程度的增加而骤降。当海水 pH 为 7.80 时, 钙化率下降约 43%, 随后在 pH 7.20 时降至 0。当海水酸碱度趋于中性时, 呼吸率和耗氧率分别下降 23.5% 和 11.0%, 此时呼吸熵也明显变化。这些变化对厚壳贻贝而言是一个潜在的致命威胁。

关键词 海洋酸化; 厚壳贻贝; 钙化; 呼吸

中图分类号 S968.3; Q143 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)24-104-02

2003 年,《自然》杂志首次对“海洋酸化”(Ocean acidification, OA)进行了详细描述^[1]。海洋酸化是指大气中过量的二氧化碳溶入海水中, 将海洋整体酸性水平提升的一种现象。科研人员通过不懈努力地研究证实, 每年人类生产生活排放大约 71 亿 t 的碳, 被释放到大气中的碳约占总量的二分之一, 海洋吸收了其中约 1/3 的碳^[2]。溶解在海水中的 CO₂ 会与水分子发生反应, 生成 H₂CO₃, 而 H₂CO₃ 再解离出 H⁺ 和 HCO₃⁻ (有时也产生少量的 CO₃²⁻), 造成 H⁺ 浓度升高, 致使水体中 pH 下降, 进而导致海水酸化^[3]。国外科学家已经对全球海洋表层水体 pH 的变化历程进行了较为全面地阐述, 并且预测了其未来发展^[4]。

自工业革命以来, 日益严重的全球海洋环境问题愈加凸显。据科学家估计, 目前海洋表层的 pH 与 19 世纪末相比降低了 0.1 个单位, 预计 100 年以后降至 7.6 左右, 海水中 H⁺ 浓度是现在的 3 倍^[5], 越发恶劣的海水环境对生态系统的多样性和物种的保护带来了前所未有的困难。科学家发现, 意大利的有孔虫类在受酸化影响严重的那不勒斯附近海域生存艰难, 目前 24 种有孔虫类中已经灭绝 20 种, 仅有 4 种还生活在该海域。海洋生物尤其是类似于双壳贝类等钙化生物的生存正处在海洋酸化巨大的威胁中。

厚壳贻贝 (*Mytilus coruscus*) 是全世界最重要经济贝类之一, 我国浙江、福建等沿海地区早已推行厚壳贻贝规模化和工厂化养殖。目前, 日益严重的海洋酸化问题很可能威胁厚壳贻贝的生存, 进而对其养殖业的发展产生巨大影响。但是, 目前国内尚未见到关于厚壳贻贝的生理活动对海洋酸化条件适应性的研究报道。笔者探讨了厚壳贻贝的钙化和呼吸活动在酸化环境里的变化以及其应对海洋酸化的生理调节。

1 材料与方法

1.1 试验原理 国外研究中碱度异常技术的应用已经十分成熟, 珊瑚、贝类等海洋钙化生物的钙化速率的测定都会使用到这项技术。这项技术的主要试验依据来自于封闭水环境中总碱度 (TA) 的变化, 培养在密封环境中的钙化生物发生钙化反应, 会引起水体 TA 的变化, 这种变化可用来估算钙

化速率。海水养殖贝类的钙化反应式为: $\text{Ca}^{2+} + 2\text{HCO}_3^- = \text{CaCO}_3 + \text{H}_2\text{O} + \text{CO}_2$ 。每生成 1 mol 的 CaCO₃, 会消耗 2 mol 的 HCO₃⁻, TA 就会降低 2 mol。但是, 贝类呼吸释放的 CO₂ 在水体中还要发生反应: $\text{CO}_2 + \text{CO}_3^{2-} + \text{H}_2\text{O} = 2\text{HCO}_3^-$, 消耗 1 mol 的 CO₃²⁻, 生成 2 mol 的 HCO₃⁻, 因而不会改变水体的 TA。贝类在进行排泄活动, 使水体中的氮盐和磷盐浓度有所增加, 这会导致水体 TA 发生一些细微的变化, 但在计算过程中这些微小变化是可以直接忽略掉的。因此, 厚壳贻贝的钙化速率 G 可以用公式 (1) 表示:

$$G = (TA_i - TA_f) \times V \times 2^{-1} \times W^{-1} \times t^{-1} \quad (1)$$

式中, G 代表厚壳贻贝的钙化率 (μmol/(g·h)FW); TA_i 和 TA_f 分别表示测定前后海水的 TA (μmol/L); V、W 和 t 分别表示封闭体积的大小 (L)、试验用厚壳贻贝的鲜重 (g) 和测定的时间 (h)。

钙化导致水体中溶解无机碳 (DIC) 含量下降; 但是呼吸作用释放的 CO₂ 在水体中反应生成 HCO₃⁻, 水体中的 DIC 浓度因而增加。由此可见, 水体中的 DIC 含量的变化是钙化和呼吸协同作用的结果。水体 DIC 变化值可以用以下公式表示:

$$\Delta \text{DIC} = \Delta \text{DIC}_R - \Delta \text{DIC}_C = \text{DIC}_f - \text{DIC}_i \quad (2)$$

式中, ΔDIC 表示水体 DIC 的净变化量; ΔDIC_R 和 ΔDIC_C 分别表示呼吸和钙化引起的 DIC 变化, DIC_i 和 DIC_f 分别表示培养前后水体的 DIC 含量。同时, ΔDIC_C 可表示为:

$$\Delta \text{DIC}_C = (TA_i - TA_f) \times 2^{-1} \quad (3)$$

由此推导出 CO₂ 呼吸率 R_c (μmol/(g·h)FW) 的表达式为:

$$R_c = \Delta \text{DIC}_R \times V \times W^{-1} \times t^{-1} = (2\Delta \text{DIC} + TA_i - TA_f) \times V \times 2^{-1} \times W^{-1} \times t^{-1} \quad (4)$$

1.2 试验材料 试验材料采用浮筏养殖的厚壳贻贝, 采自东极庙子湖岛贻贝筏式养殖区 (30°11′1.15″N, 122°41′2.56″E)。采集的样品要做好保温措施, 务必在 4 h 内带回实验室。试验前先对样品进行预处理, 主要清除贻贝表面附着物和污物, 然后采用半静水法饲养 5 d。在饲养过程中保持水温为 (25 ± 1) °C, 盐度为 30.0‰, pH 为 8.10 ± 0.01。试验所用厚壳贻贝选取壳高 4 ~ 5 cm、湿重 25 g 左右的个体, 共 130 只。

1.3 试验方法 设置 8.10、7.80、7.50、7.20、7.00 等不同 pH 梯度的试验海水, 使用前在静置 1 d。试验时, 首先测定

基金项目 国家科技部科技支撑计划项目 (2012BAB16B02); 国家海洋局海洋公益性行业科研专项项目 (201305009-3)。

作者简介 章恒 (1988-), 男, 安徽宣城人, 硕士研究生, 研究方向: 海洋生物生理生态。

收稿日期 2015-06-30

各梯度海水的溶解氧(DO),再从各梯度海水中分别虹吸水样 100 ml,用于测定海水中溶解无机碳(DIC)浓度和总碱度(TA)。虹吸的水样先经过孔径为 0.65 μm 的酸化纤维滤膜进行抽滤,然后测定其 DIC 和 TA,尽量避免试验指标在非试验状态下的变化。将这 3 个指标分别测定 3 次,计算其平均值,作为试验海水的初始值。试验中将各梯度海水设置 5 个平行和 1 个对照,具体操作如下:向 5 L 密封瓶中注满试验海水,每个密封瓶中放入 4 个后壳贻贝,对照组不放贻贝,先使贻贝在瓶中适应试验海水环境,0.5 h 后将瓶全部密封,静置培养 2 h 后测定其 DO、DIC 和 TA。整个试验过程中,应始终保持室温恒定。

1.4 数据统计与分析 在计算试验前后各指标参数变化时应当减去对照组试验前后相应参数的变化。然后,通过试验指标分别计算厚壳贻贝不同 pH 下的钙化率 G 和呼吸率 R_c ,同时计算其耗氧率 R_o 和呼吸熵 RQ 。使用 SPSS18.0 统计软件对试验数据进行单因素方差分析(ANOVA), $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

试验前各组试验海水的 DO 都处于饱和状态,以保证厚壳贻贝的呼吸作用正常进行。钙化作用会导致水体 TA 有所变化,变化范围为 $-30 \sim 20 \mu\text{mol/L}$;DIC 在呼吸和钙化的共同作用下得以升高,上升幅度在 $120 \sim 180 \mu\text{mol/L}$ 。封闭小水体环境试验的优点是可以提高钙化率测定的精准度,但是其缺点也很明显,就是不能避免由呼吸作用而引起 pH 下降。

测定了厚壳贻贝在不同 pH 条件下的钙化率 G 、二氧化碳呼出率 R_c 、耗氧率 R_o 、以及呼吸熵 RQ 。由表 2 可知,酸化对厚壳贻贝 G 、 R_c 和 R_o 的影响极显著,而其对 RQ 有显著影响, RQ 在 pH 7.20 ~ 8.10 范围内没有明显变化,只在 pH 7.00 显著降低。从图 1 ~ 2 可以看出,厚壳贻贝的钙化率 G 与 pH 之间的相关系数最高,呈负线性相关,相关方程为: $G = 0.541\text{pH} - 3.946 (R^2 = 0.926, P < 0.01)$,而 R_c 、 R_o 与 pH 的曲线关系不显著,但也随着 pH 的下降而降低。从图 1 ~ 2 可以看出,随着酸性程度的逐渐增强, G 、 R_c 、 R_o 均出现不同程度的下降,特别是 G 出现大幅下降,在 pH 为 7.80 时下降

表 2 不同 pH 下厚壳贻贝的钙化率和呼吸率 $\bar{x} \pm SD$

pH	钙化率 $G // \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{h})\text{FW}$	呼吸率 $R_c // \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{h})\text{FW}$	耗氧率 $R_o // \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{h})$	呼吸熵 RQ
8.07	$0.42 \pm 0.03\text{a}$	$2.34 \pm 0.14\text{a}$	$2.65 \pm 0.04\text{a}$	$0.88 \pm 0.04\text{a}$
7.79	$0.24 \pm 0.03\text{b}$	$2.28 \pm 0.10\text{a}$	$2.58 \pm 0.03\text{b}$	$0.89 \pm 0.04\text{a}$
7.48	$0.21 \pm 0.04\text{b}$	$2.16 \pm 0.10\text{b}$	$2.50 \pm 0.04\text{b}$	$0.88 \pm 0.05\text{a}$
7.19	$0.04 \pm 0.06\text{c}$	$2.05 \pm 0.04\text{b}$	$2.41 \pm 0.06\text{c}$	$0.85 \pm 0.03\text{a}$
6.98	$-0.20 \pm 0.04\text{d}$	$1.79 \pm 0.10\text{c}$	$2.36 \pm 0.02\text{c}$	$0.76 \pm 0.04\text{b}$

注:同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)。

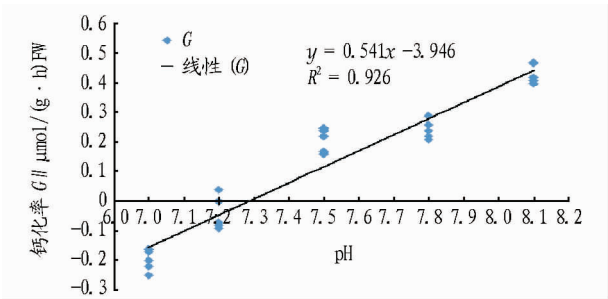


图 1 厚壳贻贝在不同 pH 下的钙化率

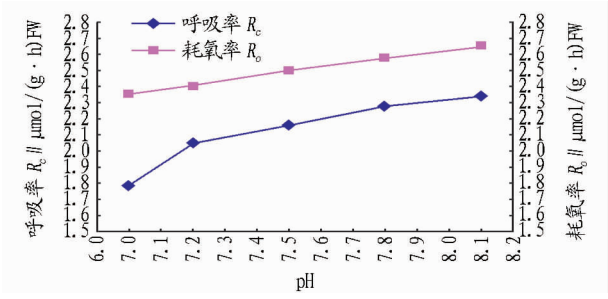


图 2 厚壳贻贝在不同 pH 下的呼吸率和耗氧率

约 43%;当 pH 接近 7.20 时, G 降低为 0,但当 pH 小于 7.20 时 G 则变为负值。

3 讨论

3.1 海洋酸化对厚壳贻贝钙化的影响 该试验结果表明厚壳贻贝的钙化率随着 pH 的下降而出现不同程度降低。当

pH 为 7.2 时,厚壳贻贝的钙化率趋近于 0,此时不再产生贝壳;随着 pH 的持续下降,钙化率出现负值,贝壳将出现溶解现象,这对厚壳贻贝的生存是致命的。据报道,栉孔扇贝的钙化率随着酸化加剧而降低,当 pH 下降到 7.9 时其钙化率下降 33%;当 pH 继续下降至 7.3 时,钙化率趋近于 0。2009 年,Miller 等^[6]发现海洋酸化对不同贝类钙化作用的影响有所区别,在 pH 7.7 ~ 8.1 范围内,美洲牡蛎(*Crassostrea virginica*)幼虫的贝壳面积减少 16%,钙质在贝壳中所占比例下降了近一半;然而,近江牡蛎(*Crassostrea ariakensis*)的钙化活动仍能正常进行,并没有受到明显抑制。海洋酸化严重影响贝类生物的钙化作用。科学家发现,海洋酸化作用减少了东方牡蛎的贝壳覆盖面积,并且使珍珠牡蛎(*Pinctada fucata*)的贝壳更加脆弱。因此,未来海洋酸化将导致海水中 CaCO_3 的饱和度减小和石灰岩溶解度增大,使得上层海水累积更多的超额钙。科学界已经达成一种共识,他们认为 Ca^{2+} 浓度在正常海水环境中十分稳定,其变化不会超过 1.5% 且要远大于 CO_3^{2-} 浓度,所以海水中 CO_3^{2-} 浓度对于 CaCO_3 饱和度有决定性的作用,但是相关研究的论证并不充分;目前已有学者研究证实,海水中 Ca^{2+} 浓度增大具有 CO_3^{2-} 对钙化作用类似的影响,因此证明海水中的 Ca^{2+} 和 CO_3^{2-} 的离子浓度积是控制生物钙化速率大小的主要因素,而 pH、 CO_3^{2-} 或游离 CO_2 某个单一因素是无法决定钙化率的变化。因此,深入研究海 (下转第 124 页)

3 小结

(1)大理剑川的养殖虹鳟鱼条件、环境都比较优越,养出的虹鳟鱼体态均匀,光泽亮丽,是虹鳟鱼爱好者的理想选择。

(2)由于绝大多数检测项目均符合国家绿色标准,所以在制定云南省地方标准时应当适当调高标准,使整个标准更加严格,以彰显高原特色农产品的特点。

(3)由于云南省矿物质含量较高,所以在淡水鱼养殖中

(上接第 105 页)

水中 Ca^{2+} 的精细行为及其在生物地球化学循环中的作用机制,将有助于对贝类生物为应对未来海洋酸化的具体生理调节过程的研究。

目前已证实珊瑚、有孔虫类、翼足类、以及双壳贝类等类群的钙化率均在海洋酸化的作用下有所下降。尽管大多数研究已证实海洋酸化会削弱海洋生物的钙化作用,但是也有些科学家发现一定程度内的酸化将会增强某些类群的钙化。例如,Wood 等^[7]发现蛇尾虫(*Amphiura filiformis*)的钙化作用也能随着酸化加剧而增强。研究表明,在一定范围内酸化海水中生长的蓝蟹(*Callinectes sapidus*)和东方巨对虾(*Penaeus plebejus*)的钙化率相对有所升高。

3.2 海洋酸化对厚壳贻贝呼吸的影响 该研究表明,厚壳贻贝的呼吸率随着酸化加剧而降低。在 pH7.80~8.10 范围内,厚壳贻贝的呼吸率没有显著变化,说明厚壳贻贝的呼吸作用对酸化环境具有一定的适应能力,呼吸活动受酸化影响不大。当 pH 为 7.0 时,呼吸率和耗氧率显著降低,分别下降 23.5% 和 11.0%,说明酸化程度的剧烈变化对厚壳贻贝的呼吸作用会产生负面影响。2012 年,Liu 等^[8]发现翡翠贻贝(*Perna viridis*)和合浦珠母贝(*Pinctada fucata*)在 pH 7.4~8.1 试验海水环境里,呼吸率并没有显著变化。张明亮等^[9]研究表明栉孔扇贝的呼吸率在同样条件下随着 pH 的下降而显著降低。呼吸的减弱会影响贝类代谢的速度,从而导致其生长缓慢,不利于其正常生长发育。在 pH7.20~8.10 范围内,厚壳贻贝的代谢底物主要是碳水化合物,呼吸熵没有显著差异,证明在此区间酸化对厚壳贻贝的能量代谢方式没有显著影响。当 pH 为 7.0 时,能量代谢方式有显著变化,厚壳贻贝代谢底物转变为蛋白质,这将危害到其生存。研究表明,海湾扇贝(*Argopecten irradians*)、文蛤(*Mercenaria mercenaria*)和东方牡蛎(*Crassostrea virginica*)的相关生理指标会随着海水 CO_2 分压的增加而降低,如成活率、繁殖率和生长速度等。海湾扇贝培养 36 d 后,在 250、390 和 1 500 mg/L 的 CO_2 分压的海水环境中其存活率分别仅有 74%、43% 和 5.4%。此外,在 pH 为 7.00 时,厚壳贻贝的呼吸熵与其他试验组有显著差异,此时其能量代谢方式发生改变,代谢底物转换成蛋白质。这必将导致厚壳贻贝将分解更多的肌肉组织用于代谢,显然对其健康生长有害无益。

海洋生物的呼吸作用随着酸化加剧会显著下降,导致这

应当注意重金属污染问题,特别是养殖水体要严格检测。

参考文献

- [1] 苏科巧,陶亮,黄艾祥.乳扇保鲜技术研究[J].中国乳品工业,2015(1): 21-23.
- [2] 肖蓉,徐昆龙.实用动物性食品卫生检验技术[M].昆明:云南科技出版社,2002.
- [3] 周德庆,朱文慧,张瑞玲,等.中华人民共和国农业行业标准:绿色食品 鱼:NYT842-2012[S].北京:中国农业出版社,2012.

种现象的原因可能在于控制海洋生物呼吸活动的相关酶的活性受到酸化的影响而降低,以及与其能量代谢相关的神经系统兴奋被抑制。活动性越强的海洋生物对海水 pH 的变化越敏感。海洋生物会采取一系列措施来挽救低 pH 对呼吸作用带来的消极影响,这些措施包括催快呼吸频率、扩大呼吸深度、对耗氧率先升后降以及一系列复杂的生理调节机制。在酸化环境中生活前期,海洋生物的高耗氧率会伤害到鳃区毛细血管,使毛细血管长期处于超负荷工作状态,抑制了水体中的溶氧通过呼吸作用进入生物体内。因此,海洋生物不得不最大限度地扩张呼吸容量,才能保证机体正常的气体循环和能量代谢,以应对恶劣的环境条件。增加呼吸容量只是为了弥补鳃气体交换能力下降而导致的生物机体供氧不足的一种举措。

海洋酸化正在不遗余力地改变着海水化学组分和结构。当未来海水 pH 下降到 7.2 时,厚壳贻贝将不再产生贝壳,呼吸作用大幅下降,厚壳贻贝的生存将面临严重的威胁,厚壳贻贝养殖业也会因此而遭受巨大的损失。因此,今后针对海洋酸化研究,特别要注重从分子水平上解释贝类生物对海洋酸化的响应机理,为海洋贝类养殖水体的调控提供依据,在避免不必要的经济损失的同时,为预测未来海洋酸化、海洋生态系统的变化和采取应对措施提供科学参考。

参考文献

- [1] CALDEIRA K, WICKETT M E. Oceanography: Anthropogenic carbon and ocean pH[J]. Nature, 2003, 425(6956): 365.
- [2] HEN Q H, PENG H J. Ecological impact of ocean acidification[J]. Science & Technology Review, 2009, 27(19): 108-111.
- [3] RAVEN J A. Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide[M]. London, UK: Royal Society, 2005.
- [4] 胡伟,肖瑜,彭雪妍,等.海洋酸化研究进展[J].水科学与工程, 2011(1): 19-21.
- [5] European Science Foundation. Impacts of ocean acidification [J]. Science Policy Briefing, 2009, 37: 1-12.
- [6] MILLER A W, REYNOLDS A C, SOBRINO C, et al. Shellfish Face Uncertain Future in High CO_2 World: Influence of Acidification on Oyster Larvae Calcification and Growth in Estuaries[J]. PLoS ONE, 2009, 4(5): 1-8.
- [7] WOOD H L, SPICER J I, WIDDICOMBE S. Ocean acidification may increase calcification rates, but at a cost[J]. Proc Roy Soc, 2008, 275: 1767-1773.
- [8] LIU W G, HE M X. Effects of ocean acidification on the metabolic rates of three species of bivalve from southern coast of China[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2012, 30: 206-211.
- [9] 张明亮,邹健,方建光,等.海洋酸化对栉孔扇贝钙化、呼吸以及能量代谢的影响[J].渔业科学进展, 2011, 32(4): 48-54.