

文章编号: 1000-0615(2018)08-1209-11

DOI: 10.11964/jfc.20171111043

温度和溶解氧对仿刺参存活、代谢及运动能力的影响

周晓梦¹, 张秀梅^{1,2*}, 李文涛¹

(1. 中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003;

2. 青岛海洋科学与技术国家实验室, 海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东 青岛 266072)

摘要: 为探究温度和溶解氧(DO)对仿刺参存活、代谢及运动能力的影响, 采用实验生态学方法, 测定了水温为15 °C、DO浓度为(1.0±0.1) mg/L低氧胁迫条件下大规格仿刺参[(39.35±0.40)g]单位时间内的移动距离和体表面积的变化; 测算了水温15 °C(适宜温度)、20 °C和25 °C条件下, 2种规格[大(32.70±4.46) g、小(10.31±2.03) g]仿刺参在(1.0±0.1) mg/L低氧胁迫下的半致死时间(LT₅₀), 比较分析了3个温度水平(15、20及25 °C)和3个DO水平[(1.0±0.1)、(3.0±0.1)及6.5 mg/L(正常DO含量)]交互作用下2种规格仿刺参的呼吸代谢强度。结果显示, 水温15 °C、(1.0±0.1) mg/L低氧胁迫下, 随胁迫时间的增加, 仿刺参运动速度总体呈现降低趋势, 至胁迫72 h全部死亡; 体表面积呈先增大后减小的趋势, 整个胁迫期间, 身体均处于伸长状态, 至死亡仍显著高于对照组。(1.0±0.1) mg/L低氧胁迫时, 水温15 °C条件下大规格仿刺参半致死时间(LT₅₀)为54.0 h, 小规格为44.7 h; 水温20 °C条件下大规格仿刺参LT₅₀为48.9 h, 小规格为39.3 h; 水温25 °C条件下大规格仿刺参LT₅₀为33.4 h, 小规格为28.9 h。15 °C组大小2种规格仿刺参的半致死时间均高于对应的20 °C和25 °C组, 且大规格个体的低氧耐受能力高于小规格个体。相对于20 °C和25 °C组, 在3个DO水平下, 15 °C组2种规格仿刺参的呼吸代谢均最为活跃, 但与15 °C常氧组相比, (1.0±0.1) mg/L低氧胁迫时仿刺参的呼吸代谢强度均受到明显抑制。研究表明, 低氧胁迫下, 仿刺参可能会通过拉长身体增加体表面积来增加氧气摄入量, 并以减少运动、降低代谢强度等策略来应对低氧环境, 延长存活时间。

关键词: 仿刺参; 温度; 溶解氧; 运动; 体表面积; 半致死时间; 代谢

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

仿刺参(*Apostichopus japonicus*)在中国主要分布于黄、渤海沿岸的辽宁、山东及江苏北部浅海水域^[1], 增养殖模式主要有底播增殖、池塘养殖和围堰养殖等, 各地还因地制宜地发展了海上沉笼养殖(如福建霞浦的仿刺参笼养)、浅海围网养殖、工厂化养殖等多种养殖模式。

近几年夏季高温期, 山东半岛多地的近岸海域先后出现仿刺参大面积死亡现象, 究其主要原因是海区出现缺氧水层所致^[2]。溶解氧(DO)含量是水生的重要限制性环境因子, 也是衡量水体环境质量的重要指标之一。国内外关

于DO含量对水生动物影响的研究主要集中在生长^[3-4]、发育^[5-7]、行为^[8-10]、代谢^[11-12]和抗氧化能力^[13-14]等方面, 其中鱼类相关的研究较多, 甲壳动物的研究主要集中在虾类, 软体动物多集中在贝类, 而DO对仿刺参影响的相关报道较少。钱圆^[15]和郑慧等^[16]分别研究了不同DO条件下仿刺参的生理生态学响应机制和非特异性免疫酶活性; 李根瑞等^[17]研究了低氧胁迫对仿刺参氧化应激指标的影响。仿刺参是典型的温带种类, 当夏季水温升高到一定范围时, 仿刺参摄食停止、活动减少、消化道退化、代谢降低, 逐渐

收稿日期: 2017-11-11 修回日期: 2018-01-15

资助项目: 国家海洋公益性行业科研专项(201405010); 青岛海洋科学与技术国家实验室鳌山科技创新计划项目(2015ASKJ02)

通信作者: 张秀梅, E-mail: xiumei1227@163.com

进入“夏眠”状态,这是仿刺参经过长期进化形成的一种生态学适应^[18]。目前,有关温度对仿刺参影响的研究有很多,主要集中在温度对仿刺参运动行为^[19]、生长^[20-21]、代谢^[22-23]、抗氧化能力^[24-25]及分子调控机制的研究。温度和DO作为2种重要的限制性环境因子,若同时超过适宜范围,将会严重威胁仿刺参的生存,导致大面积死亡。而迄今未见有关低氧胁迫对仿刺参运动能力以及温度和DO交互作用对其存活和代谢影响的相关报道。

本实验以山东半岛人工鱼礁区夏季仿刺参大面积死亡为背景,研究了低氧胁迫对仿刺参运动能力以及温度和DO交互作用对仿刺参半致死时间、呼吸代谢的影响,以探究仿刺参对低氧环境的行为与生理响应,为其浅海底播增殖和池塘养殖提供预警预报参数。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

实验用仿刺参于2016年9月(水温25℃)、2017年4月(水温15℃)和2017年7月(水温20℃)分3批购自胶南琅琊青岛英豪集团。15℃组所用大规格仿刺参湿重(35.77±4.34)g,小规格仿刺参湿重(10.57±2.00)g;20℃组所用大规格仿刺参湿重(30.66±3.96)g,小规格仿刺参湿重(9.23±1.78)g;25℃组所用大规格仿刺参湿重(31.68±3.29)g,小规格仿刺参湿重(11.12±1.82)g。仿刺参运回后在中国海洋大学循环水养殖系统中暂养10d。暂养期间水温分别保持在(15.0±0.5)、(20.0±0.5)和(25.0±0.5)℃,盐度30左右。暂养水槽上方以日光灯为光源,每日8:00—18:00保持水槽照度在0.9 μmol/(m²·s)左右,光照周期10L:14D。每天17:00过量投喂自制颗粒饲料(市售人工配合饲料与灭菌海泥按1:5的比例加水混合,烘干制成)1次。每天清污换水 $\frac{1}{3} \sim \frac{1}{2}$,24h连续充气。

1.2 实验方法

低氧胁迫对仿刺参运动能力和体表面积变化的影响 设1个DO即(1.0±0.1)mg/L,选取平均体质量为(39.35±0.40)g的健康有活力的大规格仿刺参为对象。实验在45cm×24cm×29cm的玻璃缸中进行。于缸的5个面绘制网格线(网格大小为4cm×4cm),分别从缸的上方、前面及侧面放置摄像头进行三维度录像观察。观察对象为1头

仿刺参,对照组和胁迫组实验各重复3次,每次更换1头新的实验个体。以6h为间隔,选取低氧胁迫后0~72h的13个时间节点,分析三维录像资料,计算仿刺参单位时间内的移动距离。选取低氧胁迫后0.5、18、36、54和72h的5个时间点,分析比较低氧胁迫下仿刺参体表面积的变化。以常氧条件(即各温度条件所对应的不充氧气的水体自然溶解氧含量,通常为6~7mg/L)作为对照,每组实验设3个重复。

低氧海水的制备:向装满海水的玻璃缸中充入高纯氮气,每10min用YSI-DO200A便携式DO仪测定水体中DO,当水体DO降低到1mg/L时,停止充氮气,用保鲜膜密封口。

实验开始前仿刺参禁食48h,待排出肠道内粪便,用DTC-1100型电子天平称取仿刺参湿重。实验期间72h持续光照,水温15℃,不投喂,12h向玻璃缸中充氮气1次,以使DO维持在(1.0±0.1)mg/L。

温度和低氧胁迫对仿刺参半致死时间的急性实验 本实验设置3个温度梯度,分别为15、20和25℃,分别对应1个DO即(1.0±0.1)mg/L。实验在25L白色方形塑料桶中进行。大规格组设置3个平行,每桶放置10头仿刺参,共30头;小规格组设2个平行,每桶放置20头仿刺参,共40头。先调整实验水体DO到预设浓度,再放入仿刺参开始实验。自低氧胁迫开始,每1h观察1次,从第1只仿刺参开始死亡后,每0.5h观察1次,并记录仿刺参死亡数量和时间。

低氧海水的制备同“低氧胁迫对仿刺参运动能力和体表面积变化影响的实验”。根据预实验结果,15、20和25℃3个处理组分别于每12h、每18h和每24h更换相应温度和DO的海水1次,以保证水体氨氮维持在正常水平。实验开始前,仿刺参禁食48h。

温度和溶解氧对仿刺参昼夜代谢的影响 本实验设置9个不同温度和DO的组合条件,即3个温度梯度(15℃、20℃和25℃)×3个DO[(1.0±0.1)mg/L、(3.0±0.1)mg/L和正常氧含量(6.5mg/L左右)](为方便表达,下文DO分别以1、3mg/L和常氧浓度指代)。实验采用改进的静水法,于2000mL锥形瓶中进行,水浴控温,并以保鲜膜封口。实验开始前,仿刺参禁食48h。大规格每瓶3头,小规格每瓶8头,空白呼吸瓶不放仿刺参,每组设置3个平行。实验进行4h,昼

代谢实验于12:00进行, 夜代谢实验于20:00进行。水样中DO采用改进的Winkler法^[26]测定, 氨氮含量用次溴酸盐氧化法^[27]测定。

1.3 数据分析

单位时间内移动距离(distance moved per unit time) 录像分析计算所选取的1 h内仿刺参移动的总距离。单位时间内移动距离是指在所选取的胁迫时间点的1 h内, 仿刺参运动轨迹(即移动距离)的长度。

体表面积(body surface area) 运用ImageJ对三维录像与拍照图像进行分析, 获得制作模型所需的主要参数, 并用SolidWorks软件作图, 根据模型求得仿刺参在各时间段的体表面积。

半致死时间(LT₅₀) 根据死亡率与概率单位转换关系表将死亡率换算成概率单位^[28], 与胁迫时间的对数值拟合, 得到反应时间同死亡率的线性表达式(1)。根据该表达式反推出(1.0±0.1) mg/L低氧胁迫下仿刺参的半致死时间。

$$y = a \cdot \lg x + b \tag{1}$$

式中, y 为概率单位; x 为每头仿刺参死亡的时间(h); a 为回归方程直线的斜率; b 为回归方程直线的截距。

仿刺参单位体质量耗氧率OCR[oxygen consumption rate, $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$]^[15]的计算公式:

$$OCR = (DC_0 - DC_1) V/W / (T_1 - T_0) \tag{2}$$

式中, DC_0 和 DC_1 分别为实验结束时空白呼吸瓶中和代谢瓶中的DO($\mu\text{g}/\text{L}$), V 为呼吸瓶的体积(L), W 为实验仿刺参的湿重(g), T_0 和 T_1 分别为实验开始和结束时间(h)。

仿刺参排氨率AER[ammonia-N excretion rate, $\mu\text{g}/(\text{g}\cdot\text{h})$]^[15]的计算公式:

$$AER = (N_1 - N_0) V / (W \cdot t) \tag{3}$$

式中, N_0 、 N_1 分别为实验初始、结束时对照瓶中 NH_4^+ -N含量($\mu\text{g}/\text{L}$), t 为实验持续时间。

利用分析软件SPSS 19.0对数据进行统计分析。数据以平均值±标准误表示, 运动和体表面积实验数据结果采用单因素方差分析(One-Way ANOVA), 并对运动和体表面积的数据进行Pearson相关性分析, 代谢实验数据采用双因素方差分析(Two-Way ANOVA), $P < 0.05$ 表示有显著性差异。利用 t 检验和Duncan多重范围检验分别比较不同实验数据之间的差异性。其中, 半致死时

间实验不做统计分析。

2 结果

2.1 低氧胁迫对仿刺参运动能力和体表面积变化的影响

单位时间内移动距离 常氧对照组大规格仿刺参各单位时间内移动距离显著高于低氧胁迫组($P < 0.05$), 1 mg/L低氧胁迫0、6、60 h时, 仿刺参的移动距离显著高于其他胁迫时间节点($P < 0.05$), 随胁迫时间的增加, 运动速度总体呈现降低趋势, 胁迫60 h时移动距离出现一个较高值, 直至胁迫72 h全部死亡(图1)。根据仿刺参遭受低氧胁迫时的响应状态, 依次分为5个时期: 活动下降期、抑制期、应激反应期、濒死期和死亡。

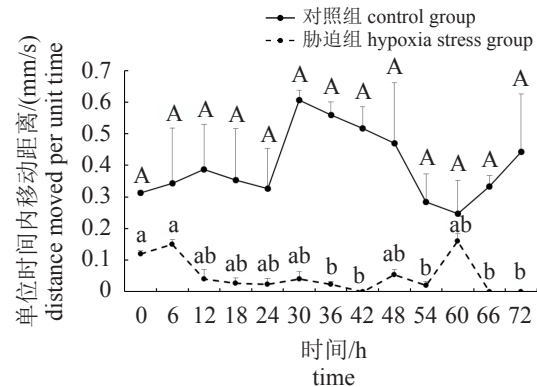


图1 1 mg/L低氧胁迫下大规格仿刺参单位时间内移动距离的变化

不同大写字母代表对照组间差异显著($P < 0.05$), 不同小写字母代表胁迫组间差异显著($P < 0.05$)

Fig. 1 Changes in the distance moved per unit time with big-size *A. japonicus* exposed to 1 mg/L hypoxia

Different capital letters represent significant difference among control groups ($P < 0.05$), different small letters represent significant difference among hypoxia stress groups ($P < 0.05$)

体表面积 随低氧胁迫时间的增加, 仿刺参体表面积呈先增大后减小的趋势, 且整个胁迫期间, 身体均处于伸长状态, 显著高于对照组($P < 0.05$)(图2)。其中, 在1 mg/L低氧胁迫54 h时, 3头仿刺参的平均体表面积达到最大, 为12 507.71 mm^2 , 显著高于对照组($P < 0.05$), 是对照组(8 058.77 mm^2)的1.55倍。胁迫72 h时, 仿刺参已死亡, 身体较对照组仍处于拉长状态, 此时3头仿刺参平均体表面积(10 495.93 mm^2)仍显著高于常氧对照组($P < 0.05$), 是其1.30倍。对单位时间

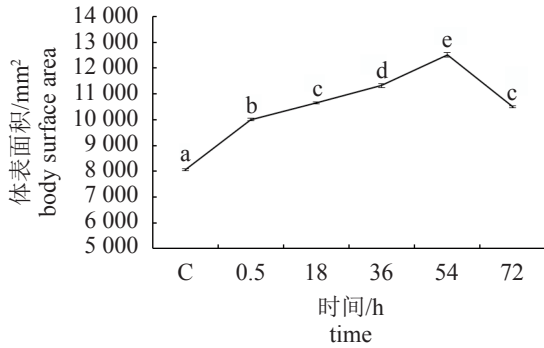


图2 1 mg/L低氧胁迫下大规格仿刺参平均体表面积的变化

C. 对照。不同小写字母代表差异显著 ($P < 0.05$)

Fig. 2 Changes in the mean body surface area with big-size *A. japonicus* exposed to 1 mg/L hypoxia

C. the control group. Different small letters represent significant difference ($P < 0.05$)

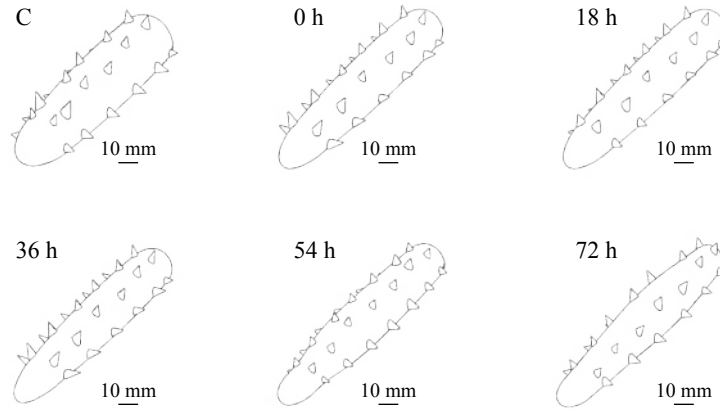


图3 1 mg/L低氧胁迫下大规格仿刺参体型变化模式图(以仿刺参1为例)

Fig. 3 Changes with time in the body size with big-size *A. japonicus* exposed to 1 mg/L hypoxia (take the one for example)

于对应的20 °C和25 °C组, 且大规格个体对低氧的耐受能力高于小规格个体(表1)。

2.3 温度和DO交互作用对仿刺参昼夜代谢的影响

常氧条件下, 15 °C组大规格仿刺参的昼耗氧率显著高于25 °C ($P < 0.05$), 当DO为1 mg/L时, 3个温度组间昼耗氧率无显著性差异 ($P > 0.05$), 均处于较低水平; 当DO为常氧和1 mg/L时, 15 °C组大规格仿刺参的夜耗氧率均显著高于20 °C和25 °C组 ($P < 0.05$), 且夜间耗氧率总体高于白天(图4)。3个DO下, 15 °C组大规格仿刺参的昼排氮率均显著高于20 °C和25 °C组 ($P < 0.05$), 其中DO为3 mg/L时, 20 °C组大规格仿刺参的昼排氮率显著高于25 °C组 ($P < 0.05$); 当DO为常氧和

内移动距离和体表面积的数据进行Pearson相关性分析可知, 二者存在显著的负相关性, r 值为-0.850。利用SolidWorks软件制作了1 mg/L低氧胁迫下仿刺参1随胁迫时间的体型变化模式图(图3, 均以上下二等角轴测视角排列)。

2.2 温度和低氧胁迫对仿刺参半致死时间的影响

基于时间—反应法^[29]评估了不同温度条件下1 mg/L低氧胁迫对大、小2种规格仿刺参的半致死时间。水温15 °C时, 大规格组的 LT_{50} 为54.0 h; 小规格组的 LT_{50} 为44.7 h。水温20 °C时, 大、小规格组的 LT_{50} 分别为48.9、39.3 h。水温25 °C时, 大、小规格组的 LT_{50} 分为33.4、28.9 h。15 °C组大、小2种规格仿刺参的半致死时间均高

表1 三个温度水平1 mg/L低氧胁迫下2种规格仿刺参的半致死时间

Tab. 1 Median lethal time of two sizes *A. japonicus* exposed to three levels of temperature and 1 mg/L hypoxia

| 水温/°C water temperature | LT_{50} 值/h median lethal time | |
|----------------------------|-------------------------------------|-------------------|
| | 大规格 large-size | 小规格 small-size |
| 15 | 54.0 | 44.7 |
| 20 | 48.9 | 39.3 |
| 25 | 33.4 | 28.9 |

3 mg/L时, 3个温度组间大规格仿刺参的夜排氮率均差异显著 ($P < 0.05$), 并随温度升高, 排氮率下降。DO为1 mg/L时, 15 °C组大规格仿刺参的

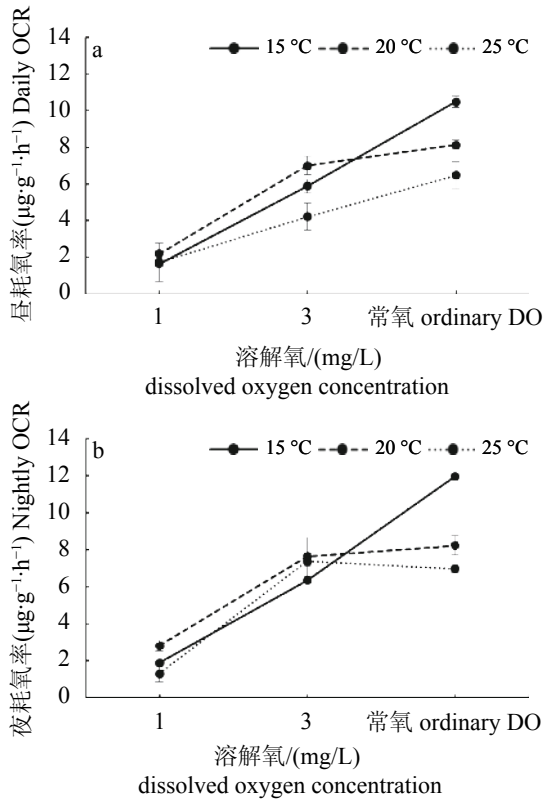


图4 温度和DO对大规格仿刺参昼(a)夜(b)耗氧率的影响

Fig. 4 Effect of hypoxia on day (a) and night (b) oxygen consumption rate of large-size *A. japonicus*

夜排氨率显著高于20 °C和25 °C组($P<0.05$)(图5)。

常氧条件下, 20 °C组小规格仿刺参昼耗氧率与15 °C组无显著性差异($P>0.05$), 但显著高于25 °C组($P<0.05$)。DO为3 mg/L时, 15 °C和20 °C组小规格仿刺参的昼耗氧率均显著高于25 °C组($P<0.05$)(图6)。DO为1 mg/L时, 20 °C组的昼耗氧率显著高于25 °C组($P<0.05$), 而与15 °C组无显著差异($P>0.05$); DO为常氧和3 mg/L时, 15 °C组小规格仿刺参的夜耗氧率均显著高于20 °C和25 °C组($P<0.05$), 而20 °C和25 °C组间无显著性差异($P>0.05$)。DO为1 mg/L时, 20 °C组夜耗氧率显著高于15 °C和25 °C组($P<0.05$)。3个DO下, 15 °C组小规格仿刺参的昼排氨率均显著高于20 °C和25 °C组($P<0.05$), 而20 °C和25 °C组间无显著性差异($P>0.05$); 常氧条件下, 各温度组小规格仿刺参的夜排氨率间均无显著性差异($P>0.05$)。DO为1 mg/L和3 mg/L时, 15 °C组小规格仿刺参的昼排氨率均显著高于20 °C和25 °C组($P<0.05$), 而20 °C和25 °C组间无显著性差异($P>0.05$)(图7)。

经双因素方差分析可知, 温度对大、小2种

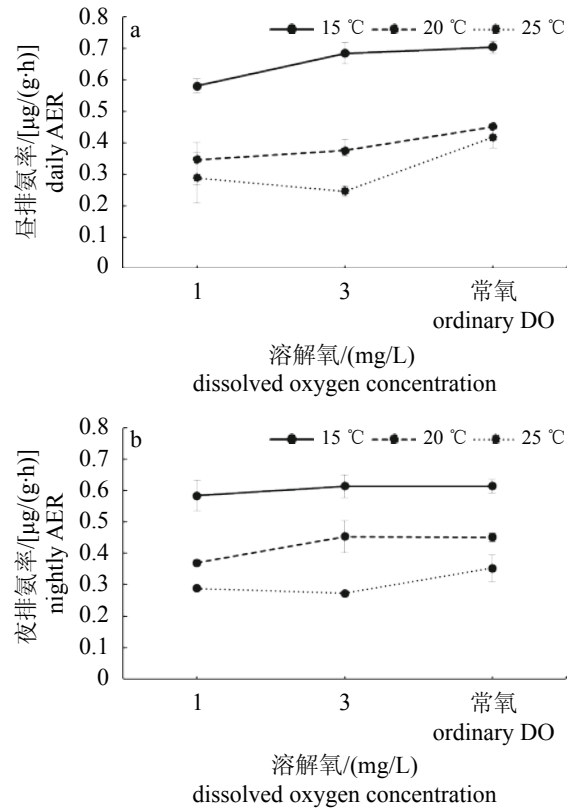


图5 温度和DO对大规格仿刺参昼(a)夜(b)排氨率的影响

Fig. 5 Effect of hypoxia on day (a) and night (b) ammonia-N excretion rate of large-size *A. japonicus*

规格仿刺参的排氨率均存在显著性影响($P<0.05$), 而对大、小2种规格仿刺参的耗氧率均无显著性影响($P>0.05$); DO对大、小2种规格仿刺参的耗氧率均有显著性影响($P<0.05$), 而对大、小2种规格仿刺参的排氨率均无显著性影响($P>0.05$)。温度与DO的交互作用对大、小2种规格仿刺参的耗氧率和排氨率均存在显著性影响($P<0.05$)。

相对于20 °C和25 °C组, 3个DO水平下, 15 °C组2种规格仿刺参的代谢均最为活跃, 但在15 °C、1 mg/L DO下, 仿刺参代谢强度同样受到抑制。总的来说, 仿刺参夜间呼吸代谢强度高于白天, 且小规格个体的呼吸代谢强度高于大规格个体。

3 讨论

3.1 低氧胁迫对仿刺参形态及运动能力的影响

自然环境中的仿刺参具有昼伏夜出的运动行为节律。本实验1虽然设定了72 h持续光照条件, 但常氧对照组的仿刺参也随实验时间的延长出现了相应运动节律的变化。1 mg/L低氧胁迫

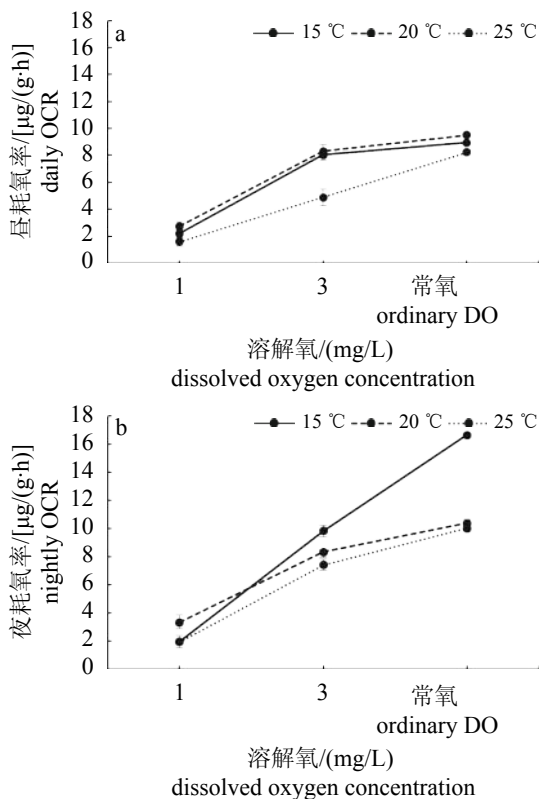


图6 温度和DO对小规格仿刺参昼(a)夜(b)耗氧率的影响

Fig. 6 Effect of hypoxia on day (a) and night (b) oxygen consumption rate of small-size *A. japonicus*

下, 仿刺参的移动距离显著降低, 直至胁迫72 h全部死亡, 处于胁迫应激状态的仿刺参运动节律亦变得不明显。本研究将其应对低氧胁迫的响应状态依次分为活动下降期、抑制期、应激反应期、濒死期和死亡5个时期。付世建等^[30]研究发现锦鲤(*Carassius auratus*)的临界游泳速度(U_{crit})和活跃代谢率(AMR)均随着DO含量的下降呈下降趋势, 表明锦鲤通过降低 U_{crit} 和AMR来应对低氧环境。仿刺参同样通过降低运动量来抑制代谢强度, 这也是其应对低氧环境的一种适应性策略。

仿刺参体呈圆筒状, 背面略拱起, 腹面较平, 在水中的形状相对规则, 这为本研究利用SolidWorks软件绘制其模型提供了便利。据观察, 仿刺参口咽周围有20个触手, 腹面管足约200~300个, 胁迫过程中, 其口部触手和腹面管足也会伸长。本研究模型为忽略口部触手和管足而得到的简化模型, 但由于触手和管足所占面积较大, 计算面积时不可忽略, 经实际测量计算后已在各胁迫时段的结果中分别进行了校

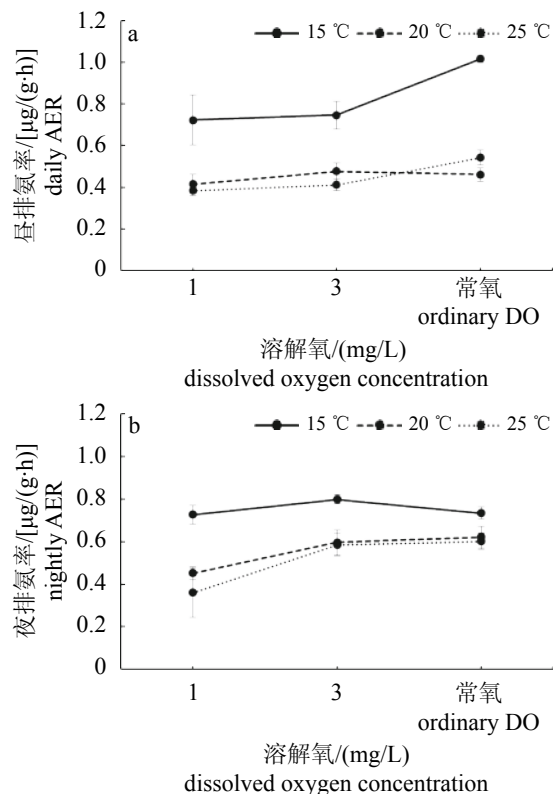


图7 温度和DO对小规格仿刺参昼(a)夜(b)排氨率的影响

Fig. 7 Effect of hypoxia on day (a) and night (b) ammonia-N excretion rate of small-size *A. japonicus*

正。实验发现, 随胁迫时间延长, 仿刺参体表面积呈先增大后减小的趋势, 且整个胁迫期间, 其身体均处于伸长状态, 直至缺氧死亡仍显著高于对照组。

仿刺参具有双重气体交换系统, 可通过体表和呼吸树进行呼吸^[31]。Sabourin等^[32]研究发现, 切除内脏与脏器完整的真五角瓜参(*Eupentacm quinquesemita*)相比, 其耗氧率并无显著区别, 由此说明海参并非主要依赖呼吸树进行呼吸, 切除内脏后可由体表进行呼吸。亦有研究表明, 水温8.5~13.5 °C条件下, 仿刺参体表呼吸所占比例为39%~52%, 水温为18.5 °C时急剧增加至60%~90%, 水温继续升高该比例则变化不大^[33]。钱圆^[15]采用腹腔注射0.35 mol/L KCl溶液刺激仿刺参吐脏的方法, 研究了不同温度(10、15、20、25和30 °C)下, 仿刺参的全呼吸和体表呼吸, 结果表明体表呼吸所占比例随水温升高而增加, 在10~15 °C时占全呼吸的50%~60%, 在20 °C时急剧增加, 高达80%左右。本实验仿刺参在遭受低氧胁迫后也有部分排脏现象, 推测本实验3个温

度条件(15、20和25 °C)下仿刺参的呼吸方式主要为体表呼吸, 因此在遭受1 mg/L的低氧胁迫时, 通过身体拉长增加其体表面积的方式提高体表呼吸摄入的氧气量, 以维持其在低氧胁迫下的代谢水平, 延长存活时间, 这可能也是仿刺参应对低氧环境的一种适应策略。

3.2 温度和低氧胁迫对仿刺参存活的影响

研究发现, 环节动物、棘皮动物和刺胞动物等海洋底栖动物低氧耐受力较强^[34]。王延明等^[35]对长江口及其邻近海区底栖生物调查表明, 多毛类和棘皮动物对低氧区的适应能力较强, Pihl等^[36]发现在DO≤2 mg/L的水体, 大多数生物选择逃离躲避, 活动能力较弱的底栖动物则面临死亡。而半致死率是研究动物对各种生态因子耐受极限的重要生理生态学指标^[37], 但有关温度和低氧胁迫对仿刺参半致死时间影响的研究甚少。

关于仿刺参死亡的判定对本实验结果有重要的影响。仿刺参在遭受低氧胁迫时会出现丧失附着能力、腹面向上、对轻微刺激无反应等窒息昏迷现象, 即一种“假死”的麻痹状态。本实验发现将这些肉眼判断为“死亡”的仿刺参取出放入常氧海水中, 几小时后又可“复活”。而较常见的判断方法是以仿刺参部分或全身发白溃烂, 最后化皮作为其死亡标准, 但此时仿刺参可能已死亡一段时间。因此, 为提高实验结果的可信度, 本实验将低氧胁迫后的仿刺参取出置于常氧条件下恢复6 h以判定其是否死亡。观察结果表明, 各温度组中, 大规格仿刺参的半致死时间均长于小规格个体。Eerkes-Medrano等^[38]研究发现, 与成体相比, 10种岩礁潮间带无脊椎动物的早期幼体均对缺氧的感知更敏感, 且缺氧耐受能力更弱。由此说明, 低氧胁迫可能对生物幼体的影响更显著。

温度是影响水产动物生理健康水平的重要环境因子。众多研究表明, 水温升高进入夏眠状态的仿刺参, 代谢水平降低^[39-41]、免疫防御能力下降^[24, 42-43], 发病率和死亡率随之增加。本实验中, 大、小2种规格仿刺参的低氧半致死时间随温度升高而缩短。25 °C条件下, 大规格个体进入夏眠状态, 其LT₅₀较15 °C(适宜存活水温)缩短了38.22%, 小规格个体虽未进入夏眠状态, 但其LT₅₀缩短了35.45%。由此可见, 高温会导致仿刺参低氧耐受能力大幅降低。

3.3 温度和溶解氧交互作用对仿刺参代谢水平的影响

呼吸和排泄是生物代谢的基本生理活动, 也是生物能量学研究的重要内容。呼吸的强弱常用耗氧率(OCR)来表示。仿刺参的排泄物包括氨、尿素和尿酸, 其中氨占总排泄量的70%^[40], 因此用排氨率代表排泄量。

研究表明, 相同温度下, DO对大、小2种规格仿刺参耗氧率的影响高于排氨率。DO为1 mg/L和3 mg/L间的昼夜排氨率差异不大, 而昼夜耗氧率随DO降低呈显著下降。推测低氧胁迫时仿刺参从周围环境中可摄取的氧气量降低, 直接抑制了其呼吸, 从而使耗氧率显著下降。孟学平等^[44]通过对西施舌(*Coelomactra antiquata*)耗氧率和排氨率的研究发现, 当西施舌不再呼吸时仍有少量N排放, 表明N代谢比氧代谢有滞后现象。本研究的呼吸代谢实验每次仅进行4 h, 加之排氨率的变化存在滞后性, 这或许是仿刺参耗氧率和排氨率随DO降低变化趋势不一致的原因所在。

相对于20和25 °C组, 3个DO水平下, 15 °C组2种规格仿刺参的代谢均最为活跃, 这与陈勇等^[19]的研究结果一致。但在15 °C、1 mg/L DO下, 仿刺参代谢强度同样受到抑制, 显著低于15 °C常氧对照组。与常氧组相比, 1 mg/L低氧胁迫组大、小2种规格仿刺参的昼夜代谢水平均显著降低且小规格个体的呼吸代谢强度均高于大规格个体。Webster等^[45]研究发现, 紫海胆(*Strongylocentrotus purpuratus*)单位个体耗氧率随个体增大而降低。多项研究亦表明, 仿刺参的体质量与耗氧量间关系密切^[15, 22]。

研究表明, 仿刺参对DO变化的感知力较强, 水体DO的降低能很快影响其他行为及生理代谢水平的变化。同时, 仿刺参又是一种低氧耐受能力较强的物种, 在水温适宜、DO较低的水体环境中仍能长时间存活; 但若遭遇夏季高温、DO持续下降时(如水温≥25 °C, DO为1~2mg/L), 短时间内将引发其大量窒息死亡。因此, 夏季高温期应加强水体环境的在线监测, 以为能改善养殖水域的低氧环境提供预警信息。

参考文献:

- [1] 廖玉麟. 中国动物志棘皮动物门海参纲[M]. 北京: 科学出版社, 1997.

- Liao Y L. Fauna Sinica, Echinoderm Animal, Holothuroidea[M]. Beijing: Science Press, 1997 (in Chinese).
- [2] 刘国山, 蔡星媛, 佟飞, 等. 威海双岛湾人工鱼礁区刺参大面积死亡原因初探[J]. 渔业信息与战略, 2014, 29(2): 122-129.
- Liu G S, Cai X Y, Tong F, *et al.* Investigation of massive death of sea cucumber in artificial reef zone of Shuangdao Bay, Weihai[J]. Fishery Information & Strategy, 2014, 29(2): 122-129(in Chinese).
- [3] Pichavant K, Person-Le-Ruyet J, Le Bayon N, *et al.* Comparative effects of long-term hypoxia on growth, feeding and oxygen consumption in juvenile turbot and European sea bass[J]. *Journal of Fish Biology*, 2001, 59(4): 875-883.
- [4] 韦柳枝. 低溶解氧对中国明对虾生长的影响及其机制的实验研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010.
- Wei L Z. Effects of low dissolved oxygen on the growth of Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis* and the mechanism[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2010 (in Chinese).
- [5] 王宏田, 张培军. 环境因子对海产鱼类受精卵及早期仔鱼发育的影响[J]. 海洋科学, 1998(4): 50-52.
- Wang H T, Zhang P J. Effects of environmental conditions on fertilized eggs and early larva of marine fishes[J]. Marine Sciences, 1998(4): 50-52(in Chinese).
- [6] Siikavuopio S I, Dale T, Mortensen A, *et al.* Effects of hypoxia on feed intake and gonad growth in the green sea urchin, *Strongylocentrotus droebachiensis*[J]. *Aquaculture*, 2007, 266(1-4): 112-116.
- [7] Shang E H H, Yu R M K, Wu R S S. Hypoxia affects sex differentiation and development, leading to a male-dominated population in zebrafish (*Danio rerio*)[J]. *Environmental Science & Technology*, 2006, 40(9): 3118-3122.
- [8] 赵文文, 曹振东, 付世建. 溶氧水平对鳊鱼、中华倒刺鲃幼鱼游泳能力的影响[J]. *水生生物学报*, 2013, 37(2): 314-320.
- Zhao W W, Cao Z D, Fu S J. The effects of dissolved oxygen level on the swimming performances of juvenile *Parabramis pekinensis* and *Spinibarbus sinensis*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2013, 37(2): 314-320(in Chinese).
- [9] Wu R S S, Lam P K S, Wan K L. Tolerance to, and avoidance of, hypoxia by the penaeid shrimp (*Metapenaeus ensis*)[J]. *Environmental Pollution*, 2002, 118(3): 351-355.
- [10] Bell G W, Eggleston D B, Wolcott T G. Behavioral responses of free-ranging blue crabs to episodic hypoxia. I. Movement[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2003, 259: 215-225.
- [11] 张文斌, 吕振波, 张莹, 等. 缺氧胁迫对菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 生理代谢的影响[J]. 生态学杂志, 2014, 33(9): 2448-2453.
- Zhang W B, Lü Z B, Zhang Y, *et al.* Influence of hypoxia stress on physiological metabolism of *Ruditapes philippinarum*[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2014, 33(9): 2448-2453(in Chinese).
- [12] 徐海军, 凌去非, 李倩, 等. 六种淡水贝类耗氧率的初步研究[J]. 水产养殖, 2010, 31(1): 1-4.
- Xu H J, Ling Q F, Li Q, *et al.* Initial research of oxygen consumption rate of six freshwater shellfishes[J]. *Journal of Aquaculture*, 2010, 31(1): 1-4(in Chinese).
- [13] 吴志昊, 尤锋, 王英芳, 等. 低氧和高氧对大菱鲆幼鱼红细胞核异常及氧化抗氧化平衡的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2011, 20(6): 808-813.
- Wu Z H, You F, Wang Y F, *et al.* The effects of hypoxia and hyperoxia on nucleus anomaly, SOD, CAT activities and MDA content in juvenile turbot *Scophthalmus maximus*[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2011, 20(6): 808-813(in Chinese).
- [14] Parrilla-Taylor D P, Zenteno-Savín T. Antioxidant enzyme activities in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in response to environmental hypoxia and reoxygenation[J]. *Aquaculture*, 2011, 318(3-4): 379-383.
- [15] 钱圆. 刺参对不同溶氧水平和干露的生理生态学响应及其机理研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011.
- Qian Y. Experimental studies on different dissolved oxygen levels and exposure in air under different temperature in sea cucumber, *Apostichopus japonicus*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2011 (in Chinese).
- [16] 郑慧, 李彬, 荣小军, 等. 盐度和溶解氧对刺参非特异性免疫酶活性的影响[J]. *渔业科学进展*, 2014, 35(1): 118-124.
- Zheng H, Li B, Rong X J, *et al.* Effects of salinity and dissolved oxygen variation on the non-specific immune response of *Apostichopus japonicus*[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2014, 35(1): 118-124(in Chinese).
- [17] 李根瑞, 任利华, 孙国华, 等. 低溶氧胁迫对刺参 (*Apostichopus japonicus*) 氧化应激指标的影响[J]. 渔业

- 科学进展, 2016, 37(5): 133-139.
- Li G R, Ren L H, Sun G H, *et al.* Effects of hypoxic stress on oxidative stress indices in *Apostichopus japonicus*[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2016, 37(5): 133-139(in Chinese).
- [18] 杨红生, 周毅, 张涛. 刺参生物学-理论与实践[M]. 北京: 科学出版社, 2014.
- Yang H S, Zhou Y, Zhang T. *Biology in Sea Cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) -Theory and Practice*[M]. Beijing: Science Press, 2014 (in Chinese).
- [19] 潘洋. 刺参运动节律行为的数量化研究[D]. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所), 2015.
- Pan Y. *Quantitative research on motor behavioral rhythms of sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka)*[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2015 (in Chinese).
- [20] 陈勇, 高峰, 刘国山, 等. 温度、盐度和光照周期对刺参生长及行为的影响[J]. *水产学报*, 2007, 31(5): 687-691.
- Chen Y, Gao F, Liu G S, *et al.* The effects of temperature, salinity and light cycle on the growth and behavior of *Apostichopus japonicus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2007, 31(5): 687-691(in Chinese).
- [21] 董云伟, 董双林, 田相利, 等. 不同水温对刺参幼参生长、呼吸及体组成的影响[J]. *中国水产科学*, 2005, 12(1): 33-37.
- Dong Y W, Dong S L, Tian X L, *et al.* Effects of water temperature on growth, respiration and body composition of young sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2005, 12(1): 33-37(in Chinese).
- [22] 包杰, 姜宏波, 田相利, 等. 温度和盐度对红刺参(*Apostichopus japonicus*)耗氧率与排氨率的影响[J]. *渔业科学进展*, 2015, 36(4): 116-121.
- Bao J, Jiang H B, Tian X L, *et al.* Effects of temperature and salinity on oxygen consumption rate and ammonia-N excretion rate of red *Apostichopus japonicus* (Selenka) [J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2015, 36(4): 116-121(in Chinese).
- [23] 李宝泉, 杨红生, 张涛, 等. 温度和体重对刺参呼吸和排泄的影响[J]. *海洋与湖沼*, 2002, 33(2): 182-187.
- Li B Q, Yang H S, Zhang T, *et al.* Effect of temperature on respiration and excretion of sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2002, 33(2): 182-187(in Chinese).
- [24] 丁原刚, 潘鲁青, 王林. 温度变化对刺参免疫防御和抗氧化指标的影响[J]. *海洋湖沼通报*, 2016(3): 91-99.
- Ding Y G, Pan L Q, Wang L. Effect of temperature on immune and antioxidant parameters of *Apostichopus japonicus*[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2016(3): 91-99(in Chinese).
- [25] 纪婷婷. 刺参(*Apostichopus japonicus*)对温度变化的生态生理学响应机制[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009.
- Ji T T. *Ecological and physiological mechanisms on temperature change in sea cucumber, *Apostichopus japonicus**[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2009 (in Chinese).
- [26] 雷衍之. 养殖水环境化学实验[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006.
- Lei Y Z. *Chemistry Experiments on Aquaculture Water Environment*[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2006 (in Chinese).
- [27] 包杰, 姜宏波, 董双林, 等. 红刺参和青刺参耗氧率与排氨率的比较研究[J]. *水产学报*, 2013, 37(11): 1689-1696.
- Bao J, Jiang H B, Dong S L, *et al.* Comparison of oxygen consumption rate and ammonia-N excretion rate between green type and red type *Apostichopus japonicus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2013, 37(11): 1689-1696(in Chinese).
- [28] 张亦然, 杜秋成, 王远铭, 等. 总溶解气体过饱和和含沙水体对齐口裂腹鱼影响的实验研究[J]. *水利学报*, 2014, 45(9): 1029-1037.
- Zhang Y R, Du Q C, Wang Y M, *et al.* Effects of TDG supersaturated water with sediment on juvenile *Schizothorax prenanti*[J]. *Journal of Hydraulic Engineering*, 2014, 45(9): 1029-1037(in Chinese).
- [29] 徐镜波, 李铸衡, 李爽. 基于时间-反应法评估半数死亡时间[J]. *东北师大学报(自然科学版)*, 2014, 46(1): 135-138.
- Xu J B, Li Z H, Li S. Based on time-response approach to evaluate the median lethal time[J]. *Journal of Northeast Normal University (Natural Science Edition)*, 2014, 46(1): 135-138(in Chinese).
- [30] 付世建, 李秀明, 赵文文, 等. 不同溶氧水平下锦鲤的运动和代谢适应对策[J]. *重庆师范大学学报(自然科学版)*, 2010, 27(3): 14-18, 26.
- Fu S J, Li X M, Zhao W W, *et al.* The locomotive and

- metabolic strategies of goldfish under different dissolved oxygen level[J]. *Journal of Chongqing Normal University (Natural Science)*, 2010, 27(3): 14-18, 26(in Chinese).
- [31] 邢坤. 刺参生态增殖原理与关键技术[D]. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所), 2009.
Xing K. Principle and key technology on ecological enhancement of the sea cucumber, *Apostichopus japonicus* (Selenka)[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2009 (in Chinese).
- [32] Sabourin T D, Stickle W B. Effects of salinity on respiration and nitrogen excretion in two species of echinoderms[J]. *Marine Biology*, 1981, 65(1): 91-99.
- [33] 宋宗岩. 刺参养殖与溶解氧的关系分析[J]. *水产养殖*, 2009(12): 15-16.
Song Z Y. Sea cucumber breeding and dissolved oxygen analysis[J]. *Journal of Aquaculture*, 2009(12): 15-16(in Chinese).
- [34] 王国善. 海月水母响应环境低氧的分子机制研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014.
Wang G S. The research on the molecular mechanisms of hypoxia response in *Aurelia* sp. 1[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2014 (in Chinese).
- [35] 王延明, 李道季, 方涛, 等. 长江口及邻近海域底栖生物分布及与低氧区的关系研究[J]. *海洋环境科学*, 2008, 27(2): 139-143, 164.
Wang Y M, Li D J, Fang T, *et al.* Study on relation of distribution of benthos and hypoxia in Yangtze River Estuary and adjacent sea[J]. *Marine Environmental Science*, 2008, 27(2): 139-143, 164(in Chinese).
- [36] Pihl L, Baden S P, Diaz R J. Effects of periodic hypoxia on distribution of demersal fish and crustaceans[J]. *Marine Biology*, 1991, 108(3): 349-360.
- [37] 曹振东, 谢小军. 温度对南方鲉饥饿仔鱼的半致死时间及其体质量和体长变化的影响[J]. *西南师范大学学报(自然科学版)*, 2002, 27(5): 746-750.
Cao Z D, Xie X J. Effects of temperature on the time of half-mortality, body weight and length in the southern catfish, *Silurus meridionalis*, at starvation[J]. *Journal of Southwest China Normal University (Natural Science Edition)*, 2002, 27(5): 746-750(in Chinese).
- [38] Eerkes-Medrano D, Menge B A, Sislak C, *et al.* Contrasting effects of hypoxic conditions on survivorship of planktonic larvae of rocky intertidal invertebrates[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2013, 478: 139-151.
- [39] Ji T T, Dong Y W, Dong S L. Growth and physiological responses in the sea cucumber, *Apostichopus japonicus* Selenka: aestivation and temperature[J]. *Aquaculture*, 2008, 283(1-4): 180-187.
- [40] Yang H S, Zhou Y, Zhang T, *et al.* Metabolic characteristics of sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) during aestivation[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2006, 330(2): 505-510.
- [41] 包杰. 环境因子对青刺参和棘刺参(*Apostichopus japonicus*)代谢与生长及其机制的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2008.
Bao J. Effects and mechanism of environment on growth of green and red sea cucumber, *Apostichopus japonicus*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2008 (in Chinese).
- [42] Wang F Y, Yang H S, Gabr H R, *et al.* Immune condition of *Apostichopus japonicus* during aestivation[J]. *Aquaculture*, 2008, 285(1-4): 238-243.
- [43] 杨宁, 王文琪, 姜令绪, 等. 水温对刺参消化酶和免疫酶活力的影响[J]. *海洋科学*, 2014, 38(11): 56-59.
Yang N, Wang W Q, Jiang L X, *et al.* Effects of water temperature on activities of digestive enzymes and immune enzymes in *Apostichopus japonicus*[J]. *Marine Sciences*, 2014, 38(11): 56-59(in Chinese).
- [44] 孟学平, 董志国, 程汉良, 等. 西施舌的耗氧率与排氨率研究[J]. *应用生态学报*, 2005, 16(12): 2435-2438.
Meng X P, Dong Z G, Cheng H L, *et al.* Oxygen consumption and ammonia-N excretion rates of *Coelomactra antiquata*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16(12): 2435-2438(in Chinese).
- [45] Webster S K, Giese A C. Oxygen consumption of the purple sea urchin with special reference to the reproductive cycle[J]. *The Biological Bulletin*, 1975, 148(1): 165-180.

Effects of temperature and dissolved oxygen on the survival, activity and the adaptation strategy of metabolism in sea cucumber (*Apostichopus japonicus*)

ZHOU Xiaomeng¹, ZHANG Xiumei^{1,2*}, LI Wentao¹

(1. Key Laboratory of Mariculture, Ocean University of China, Ministry of Education, Qingdao 266003, China;

2. Functional Laboratory of Marine Fisheries Science and Food Production Process, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266072, China)

Abstract: Experimental ecological method was used to examine the changes in the distance moved per unit time and in the body surface area of the sea cucumber *Apostichopus japonicus* [with a body weight of (39.35±0.40)g] after they were shifted to an environment with a temperature of 15 °C and a DO concentration of 1 mg/L. The median lethal time (LT₅₀) of *A. japonicus* cucumber of two sizes [large-size: with a body weight of (32.70±4.46) g; small-size: with a body weight of (10.31±2.03) g] under hypoxia (1 mg/L) and three different temperatures (15 °C, 20 °C and 25 °C with 15 °C as the optimum temperature) was also investigated. The diurnal metabolism in the *A. japonicus* of two sizes at different temperature (15 °C, 20 °C and 25 °C) and different DO levels [1, 3 and 6.5 mg/L (normoxia)] were also investigated to evaluate the effect of temperature and dissolved oxygen on the survival, metabolism and athletic ability of *A. japonicus*. The results showed that first, when they were placed at a temperature of 15 °C and a DO concentration of 1 mg/L, the movement speed of *A. japonicus* was decreased gradually and finally all died at 72 h. The body surface area of *A. japonicus* increased first and then declined, and during the whole hypoxia period, the body of sea cucumber was elongated, higher than those in the control group. At the DO concentration of 1 mg/L, the LT₅₀ for the large and small-size *A. japonicus* was 54.0 h and 44.7 h, respectively, at the temperature of 15 °C, higher than those at the temperature of 20 °C (48.9 h and 39.3 h, respectively) and those at the temperature of 25 °C, (33.4 h and 28.9 h, respectively). The tolerance to low oxygen in the large-size *A. japonicus* was higher than the small-size one. Compared with those at the temperature of 20 °C and 25 °C, the two sizes of *A. japonicus* at the temperature of 15 °C were the most active at three DO levels. But compared with those at 15 °C and normoxia, the metabolic intensity of *A. japonicus* was also restrained at the DO concentration of 1 mg/L. Our analysis has shown that under hypoxia stress, *A. japonicus* might employ some strategy such as elongating body to increase the body surface area to increase O₂ intake, decreasing movement speed and reducing metabolic intensity to cope with hypoxia and hence the survival time was prolonged.

Key words: *Apostichopus japonicus*; temperature; DO; movement; body surface area; median lethal time; metabolism

Corresponding author: ZHANG Xiumei. E-mail: xiumei1227@163.com

Funding projects: Public Science and Technology Research Funds Projects of Ocean (201405010); Scientific and Technological Innovation Project Financially Supported by Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology (2015ASKJ02)