

海洋酸化对马氏珠母贝受精及早期发育的影响

刘文广, 林坚士

(中国科学院 南海海洋研究所, 中国科学院 海洋生物资源可持续利用重点实验室, 广东 广州 510301)

摘要: 自 2010 年 7 月 1 日至 3 日, 在 pH 值为 8.1、7.7 和 7.4 条件下研究了海洋酸化对马氏珠母贝 (*Pinctada martensii* Dunker) 受精及早期发育的影响。结果显示, 海洋酸化对不同 pH 值下马氏珠母贝的受精率无显著影响。pH 8.1、pH 7.7 和 pH 7.4 试验组幼虫的壳长、壳高的值逐渐增大, pH 8.1 组幼虫的壳长、壳高的值大于同期其他两组的值, 且在实验的第 24、36、48 小时与其他两组同期幼虫的壳长、壳高的值差异显著, 这表明海洋酸化显著影响马氏珠母贝幼虫的生长。实验期间, pH 8.1 试验组幼虫的存活率和畸形率没有显著变化, 而 pH 7.7 和 pH 7.4 组幼虫的存活率显著低于 pH 8.1 组。pH 7.4 组幼虫的畸形率显著高于同期 pH 8.1 和 pH 7.7 组幼虫的畸形率, 表明在海洋酸化的环境中幼虫的发育受到影响。本文将为海洋酸化的相关研究提供基础数据。

关键词: 海洋酸化; 马氏珠母贝 (*Pinctada martensii* Dunker); 受精; 发育

中图分类号: S917.4

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2012)04-0019-05

工业革命以来, 化石燃料燃烧等人类活动向大气中排放了大量的 CO₂ 等温室气体, 导致大气中 CO₂ 浓度持续上升, 由此引起的全球气候逐渐变暖已成为当今人类面临的最重要的环境问题之一^[1]。世界气象组织(WMO)与联合国环境规划署(UNEP)建立的政府间气候变化专门委员会(IPCC)发表的研究报告称大气中的 CO₂ 浓度已经由工业革命前的 280 ppm 上升到 2007 年的 385 ppm^[2]。海洋是一个巨大的碳库, 在全球碳循环中起着非常重要的作用, 自工业革命以来, 海洋已经吸收了人类活动所排放 CO₂ 总量的 1/3 以上, 对缓解全球变暖起了重要的作用^[3]。海洋中的 CO₂ 系统主要以碳酸氢根离子存在, 并与海水中的碳酸、CO₂ (溶解态)、CO₂ (气态)及碳酸根离子维系着一连串的化学平衡, 形成碳酸盐缓冲体系。更多的 CO₂ 溶解于海水中与海水发生反应, 产生大量碳酸盐和氢离子, 导致海洋碳酸盐化学平衡体系改变和表层海水 pH 值降低, 酸性增强^[4-5]。CO₂ 浓度增加还将导致海水中 CO₃²⁻ 浓度减少、碳酸盐矿物过饱和程度降低和溶解度增加以及饱和度等于 1 的碳酸盐矿物饱和深度变浅, 海洋上层适合钙质生物生存的空间会越来越小^[5]。海水的这些变化将会影响很多生物物种, 扰乱海洋食物链, 打破海洋生态系统的平衡, 引起另一个严重的环境问题“海洋酸化”^[6]。2003 年, “海洋酸化”问题第一次在《Nature》

上被提出来, 随后引起了科学界的广泛关注, 成为当今国际海洋科学研究前沿领域的重要内容^[7-8]。

海水中 CO₂ 浓度增加导致海洋的平均 pH 值从工业化前的 8.2 降低到了目前的 8.1。pH 值是在对数层面上进行测算的, 衡量的是水中氢离子的数量, 0.1 个单位的降低意味着氢离子增加了 30%。如果不采取 CO₂ 减排措施, 预计到 2100 年, 大气中 CO₂ 浓度将达到 750 ppm, 由此引起的海洋平均 pH 值下降可能达 0.3 ~ 0.4; 到 2300 年, 大气中 CO₂ 浓度将达到 1900×10⁻⁶, 引起海洋 pH 值下降可能高达 0.7, 幅度会超过过去 3 亿年间的变化(降低 0.6), 后果会类似于地球历史上如陨石打击或灾难性的甲烷水合物排放那样的偶发灾难性事件^[7-8]。

海洋贝类分布广泛, 数量巨大, 种类繁多, 是海洋食物网的重要组成部分, 在海洋生态系统中具有极其重要的作用, 对海洋物质循环及能量流动起着不可估量的作用, 另一方面, 很多种类与人类关系密切, 是人类重要的食物来源, 具有显著的经济价值^[9-10]。海洋贝类在幼虫阶段对外界环境的变化比较

收稿日期: 2011-07-15; 修回日期: 2011-11-25

基金项目: 国家自然科学基金项目(41006090); 中国科学院知识创新工程重要方向性项目(KZCXZ-YW-Q07-03); NSFC-广东联合基金项目(U0831001); 广东省科技计划项目(2008A020100004)

作者简介: 刘文广(1979-), 男, 助理研究员, 从事贝类生理学研究, E-mail: wg-liu@163.com

敏感, 而幼虫的生长及存活情况对种群的可持续发展非常重要^[11]。鉴于海洋贝类幼虫的重要性, 探明海洋酸化对海洋贝类幼虫的影响尤为关键。但迄今为止中国关于海洋酸化对海洋贝类幼虫影响的研究尚未见详细报道。

马氏珠母贝(*Pinctada martensii* Dunker)又称合浦珠母贝, 主要分布在中国广东、广西、海南、福建东山以及日本沿海^[12]。其所产珍珠产量占中国整个海水珍珠产量的 95% 以上, 具有极高的经济价值, 还有重要的生态意义^[13]。作者开展了海洋酸化对马氏珠母贝受精及幼虫生长、存活影响等的研究, 为海洋酸化对海洋生物影响的研究积累资料, 同时为国家制定相关的环境保护政策提供了基础数据和科学依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

2010 年 6 月 28 日从广东省深圳市大亚湾海区养殖的马氏珠母贝中挑选性腺成熟, 贝体健康的个体作为亲贝[壳长(5.31 ± 0.33) cm; 壳高(5.58 ± 0.30) cm; 质量(2.48 ± 0.39) g], 入池促熟。

1.2 CO₂ 酸化海水的制备

根据预测, 大气中 CO₂ 浓度在 2100 年和 2300 年将分别达到 750ppm 和 1900ppm, 由此导致海洋的平均 pH 值分别下降约 0.4 和 0.7^[7-8]。本研究拟设置 7.7 和 7.4 两个 pH 值梯度。构建 CO₂ 充气系统, 将高纯 CO₂ 分别通入容量为 10 L 盛有海水的水族箱中, 制备成不同 pH 值的 CO₂ 酸化海水, 以正常海水为对照组(pH 值约为 8.1)^[14]。用 pH 计监测每个水族箱中 pH 值的变动情况, 每天测定各水族箱中 pH 值 3 次, 以保持各试验组 pH 值的稳定。

1.3 实验设计

实验设三个组: pH8.1、pH7.7 和 pH7.4, 每组设 5 个重复。7 月 1 日在水温为 27℃, 盐度为 31.50‰, pH 分别为 8.1、7.7 和 7.4 的条件下解剖取精卵进行受精, 观察受精情况。在实验的第 24 小时在每个试验组取等量 D 形幼虫作为实验材料, 分别放置在 pH8.1、pH7.7 和 pH7.4 条件下, 每组设 5 个重复。观察各组幼虫生长、存活及畸形情况, 幼虫培养容器为 1 L 的玻璃烧杯, 幼虫初始培养密度均为 2~3 个/mL。

1.4 幼虫测量

实验的第 2、4、8、24、36、48 小时从每组中取等量海水, 用 4% 甲醛固定, 在显微镜下观察第 2、4、8 小时受精情况, 统计受精率。在显微镜下用目微尺测量第 24、36、48 小时幼虫的壳长和壳高; 观察并记录幼虫的密度、畸形情况等, 每组每次测量 50 个幼虫。

1.5 数据分析

存活率 R_S 的计算公式为:

$$R_S = 100 \times d_1/d_0^{[11]}$$

式中, d_1 代表各时间点幼虫的密度; d_0 代表实验初始时幼虫的密度。畸形率为某一时期畸形个体数占测量总个体数的百分率。

数据统计分析采用 SPSS 13.0 软件处理, 对不同组别幼虫在同一时间点的壳长、壳高、存活率、畸形率等数据作单因素方差分析 (ANOVA), 用 post hoc Turkey 多重比较法分析其同一时间点在不同组别间的差异显著性。

2 结果

在不同 pH 条件下马氏珠母贝的受精率见图 1。从图 1 可以看出, 在 pH 为 8.1 的海水中马氏珠母贝的受精率自实验开始逐渐升高, 在实验的第 8 小时达到(82.55 ± 6.09)%。在由 CO₂ 酸化的 pH 为 7.7 的海水中马氏珠母贝的受精率缓慢升高, 其变化范围是 77.60 ± 3.59 ~ 78.65 ± 5.15。在由 CO₂ 酸化的 pH 为 7.4 的海水中马氏珠母贝受精率的变化趋势与其他组别的变化趋势相似, 但其值小于同期其他组受精率的值。在同一时间点下, 不同 pH 下马氏珠母贝的受精率差异不显著。

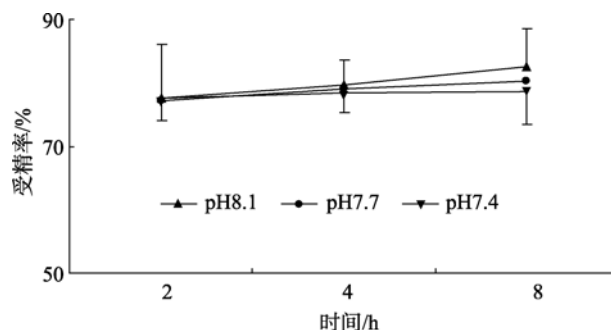


图 1 马氏珠母贝在不同程度 CO₂ 酸化海水中的受精率
Fig. 1 Fertilization rates in control (pH 8.1) and low pH (pH 7.7 and pH 7.4) seawater of *Pinctada martensii*

由图 2 可见, 各组幼虫壳长的值在实验期间均逐渐升高, pH 8.1 试验组幼虫的壳长大于同期其他两组幼虫壳长的值, 而 pH 7.4 试验组幼虫的壳长小于同期其他两组幼虫壳长的值。pH 为 7.7 和 7.4 条件下生长的马氏珠母贝幼虫壳长在第 24、36、48 小时与 pH 8.1 海水中生长的马氏珠母贝幼虫壳长差异显著。

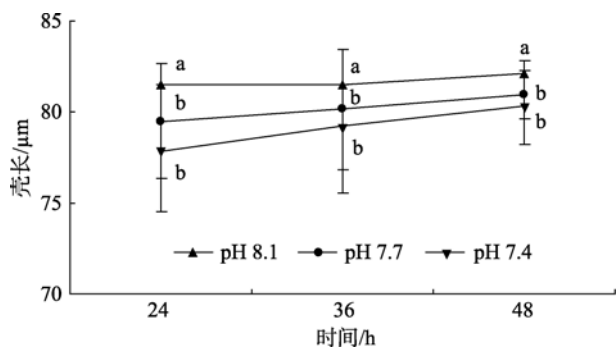


图 2 不同程度 CO₂ 酸化海水中壳长的变化

Fig. 2 Variation of the shell lengths in control (pH 8.1) and low pH (pH 7.7 and 7.4) seawater

各组幼虫壳高的变化趋势与壳长的变化趋势相似。由图 3 可以看出 pH 8.1 海水中幼虫壳高在实验的第 48 小时为(65.85 ± 0.74)μm。pH 7.7 海水中幼虫壳高的变化范围是(63.16 ± 3.17) μm ~ (64.66 ± 1.33) μm。pH 7.4 及 7.7 海水中幼虫壳高小于同期 pH 8.1 海水中幼虫的壳高。在实验的第 24、36、48 小时, pH 7.7 和 7.4 海水中幼虫壳高与 pH 8.1 海水中幼虫的壳高差异显著。

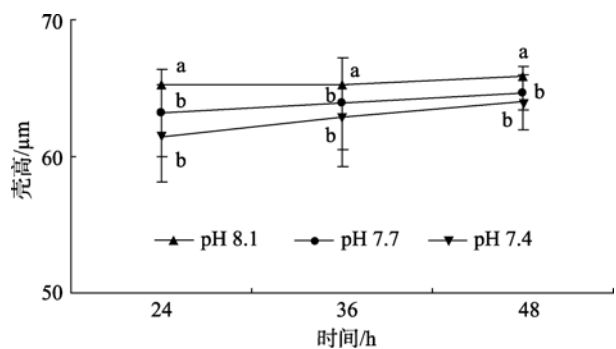


图 3 不同程度 CO₂ 酸化海水中壳高的变化

Fig. 3 Variation of the shell heights in control (pH 8.1) and low pH (pH 7.7 and 7.4) seawater

各组幼虫的存活率均在实验的第 24 小时呈现最大值(图 4)。在 pH 8.1 海水中, 幼虫的存活率在实验的第 24~48 小时期间没有变化。在 pH 7.7 海水中, 幼虫的存活率缓慢下降, 在实验的 36~48 小时期间与

同期 pH 8.1 海水中幼虫的存活率差异不显著。在 pH 7.4 海水中, 幼虫的存活率在第 36~48 小时期间比其他两组幼虫的存活率低, 在实验的第 36、48 小时与其他两组幼虫的存活率差异显著。

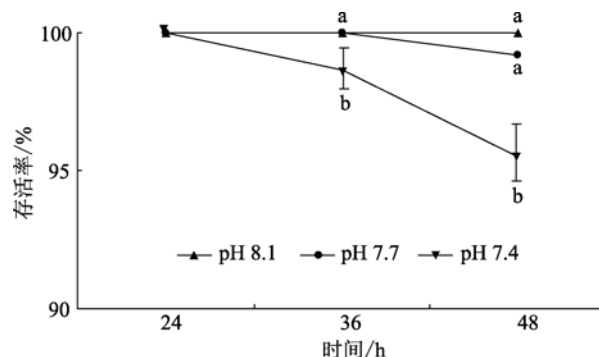


图 4 幼虫在不同程度 CO₂ 酸化海水中存活率的变化

Fig. 4 Variation of the survival rates in control (pH 8.1) and low pH (pH 7.7 and 7.4) seawater

pH 8.1 海水中的幼虫在实验期间无畸形个体出现(图 5)。pH 7.7 海水中幼虫畸形率的变化范围为 0~(1.86 ± 0.34)%, 在实验的第 36、48 小时与 pH 8.1 海水中幼虫的畸形率差异显著。pH 7.4 海水中幼虫的畸形率在实验的第 48 小时达到最大值 ((2.41 ± 0.21)%)。pH 7.4 海水中幼虫的畸形率在第 24~48 小时期间高于同期其他两组幼虫的畸形率, 且与同期其他两组幼虫差异显著。

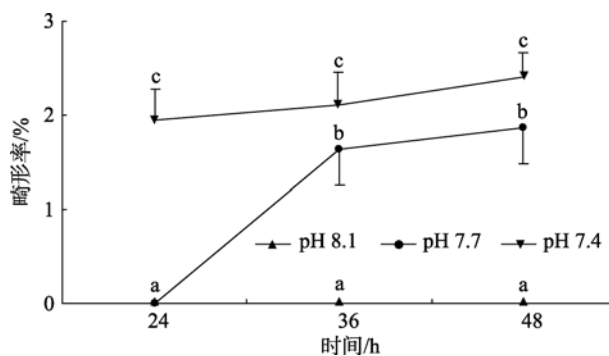


图 5 幼虫在不同程度 CO₂ 酸化海水中畸形率的变化

Fig. 5 Variation of the deformity rates in control (pH 8.1) and low pH (pH 7.7 and 7.4) seawater

3 讨论

本研究是国内第一次探讨海洋酸化对海洋贝类受精的影响, 实验结果显示海水酸化至 pH 7.4 对马氏珠母贝的受精率没有显著影响。Havenhand 等^[14] 研究发现海水酸化对长牡蛎(*Crassostrea gigas*)精子

的活力和受精没有影响。Kurihara 等^[15](研究显示长牡蛎的受精率在 CO₂ 酸化的海水中下降。Frommell 等^[16]研究表明 CO₂ 引起的海水 pH 下降对波罗的海鳕鱼精子的活力没有显著影响。Havenhand 等^[17]研究发现紫海胆(*Heliocidaris erythrogramma*)在 CO₂ 酸化的海水中受精率下降。Kurihara 等^[18]认为不同程度的海洋酸化对不同种的贝类以及相同种贝类不同群体的影响是不同的。这种现象可能是由于不同种贝类遗传水平的差异所引起的其对 CO₂ 耐受能力的不同。

从试验的结果来看, 虽然 pH 7.7 和 pH 7.4 海水中的马氏珠母贝幼虫均能发育, 但其受海洋酸化的影响程度却有明显的变化, pH 7.7 和 pH 7.4 组的生长显著慢于 pH 8.1 组, 这说明幼虫的生理机能发生了改变。马氏珠母贝幼虫的骨骼是由碳酸钙构成的, 作者推测幼虫生长变慢是由于在低 pH 值下碳酸钙同化率下降。这与 Kurihara 等^[15]在长牡蛎幼虫中的研究结果一致。Miller 等^[19]报道, 美洲牡蛎在 pH 7.7 条件下培养 96 h 至 30 d, 生长速度显著下降, 然而同样条件下培养的近江牡蛎生长速度没有显著变化。

随着发育时间的延长, pH 7.4 组幼虫对酸化海水的耐受性逐渐下降, 表现为其生长速度下降的同时, 畸形率和死亡率显著升高。Kurihara 等^[18]报道在无脊椎动物中 1000 ppm CO₂ 酸化的海水使胚胎发育的时间延长, 从而降低这些种类胚胎的生存能力。就酸化海水与幼虫的生长发育和存活关系来看, 海水酸化至少有两方面的作用: (1)通过影响幼虫生理代谢过程中的能量收支, 从而影响幼虫的生长存活。低 pH 环境中的幼虫, 新陈代谢的大部分能量用于维持渗透压调节等, 而用于维持生长的能量减少了, 从而导致生长放慢或停止; (2)通过改变幼虫生命活动中酶的活性, 影响代谢率, 从而影响幼虫的生长发育。因为随着发育的进行, 细胞增殖逐渐加快, 而酸化环境促使代谢过程中的酶活性下降, 因此用于抵抗外界环境的能量减少, 导致幼虫死亡^[10]。摄食是被海洋酸化影响的重要生理代谢因子之一。众所周知, 食物是否充足显著影响无脊椎动物的生长存活及幼虫的竞争力。因此海洋酸化对摄食的影响可以很好的解释其对生长, 存活和其他需要能量的生理代谢过程如钙化等的影响^[8]。Dupont 等^[20]报道低 pH 值下棘皮类动物幼虫的摄食率显著低于对照组。据 Kurihara 等^[21]对 pH 值与海胆幼虫之间的影响关系的研究, 低 pH 值海水中海胆幼虫小于对照组, 而个

体小的幼虫摄食几率小于个体大的幼虫, 更容易受到饥饿困扰。因此, CO₂ 通过影响幼虫食物的获得情况来降低其环境适应性。关于海洋酸化对马氏珠母贝生长发育影响的机制有待进一步研究。

综上所述, 海洋酸化对马氏珠母贝幼虫的生长发育有显著的影响, 这种对幼虫群体的干扰将极大改变成年群体的数量, 因此我们观察到的海洋酸化对马氏珠母贝幼虫的影响将会对其种群动态及生态系统的功能产生潜在的影响。鉴于海洋贝类在海洋生态系统中的重要地位及其显著的经济价值。需开展更进一步的研究来揭示不同种贝类在遗传及生理等水平上对海洋酸化的响应及适应情况。

参考文献:

- [1] Houghton J T, Ding Y, Griggs D J, et al. The Scientific Basis In PICC Third Assessment Report[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2001: 944.
- [2] Solomon S, Qin D, Manning M, et al. The physical science basis. Contribution of working group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change[M]. Cambridge: Cambridge University Press, 2007.
- [3] Sabine L C, Feely R A, Gruber N, et al. The oceanic sink for anthropogenic CO₂ [J]. Nature, 2004, 305: 367-371.
- [4] Feely R A, Sabine C L, Lee K, et al. Impact of anthropogenic CO₂ on the CaCO₃ system in the oceans [J]. Science, 2004, 305:362-366.
- [5] Raven J, Caldeira K, Elderfield H, et al. Ocean acidification due to increasing atmospheric carbon dioxide[J]. Cardiff: Clyvedon Press, 2005.
- [6] Guinotte J M, Fabry V J. Ocean acidification and its potential effects on marine ecosystems [J]. Ann NY Acad Sci, 2008, 1134: 320-42.
- [7] Caldeira K, Wickett M E. Anthropogenic carbon and ocean pH [J]. Nature, 2003, 425: 365.
- [8] Doney S C, Fabry V J, Feely R A. Ocean acidification: the other CO₂ problem [J]. Annu Rev Mar Sci, 2009, 1: 169-192.
- [9] 王如才, 王昭萍, 张建中. 海水贝类养殖学[M]. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1993.
- [10] Dupont S, Thorndyke M. Impact of CO₂-driven ocean acidification on invertebrates early life-history-What we know, what we need to know and what we can do[J].

- Biogeosciences Discuss, 2009, 6: 3109-3131.
- [11] Kurihara H. Effects of CO₂-driven ocean acidification on the early developmental stages of invertebrates [J]. Mar Ecol Prog Ser, 2008, 373: 275-284.
- [12] 何毛贤, 史兼华, 林岳光, 等. 马氏珠母贝选育子一代生长特性研究[J]. 热带海洋学报, 2006, 25: 19-22.
- [13] 金启增, 郭澄联, 胡建兴. 珍珠贝种苗生物学[M]. 北京: 海洋出版社, 1992.
- [14] Havenhand J N, Schlegel P. Near-future levels of ocean acidification do not affect sperm motility and fertilization kinetics in the oyster *Crassostrea gigas* [J]. Biogeosciences Discuss, 2009, 6: 4573-4586.
- [15] Kurihara H, Kato S, Ishimatsu A. Effects of increased seawater pCO₂ on the early development of the oyster *Crassostrea gigas* [J]. Aquat Bio, 2007, 1: 91-98.
- [16] Frommell A Y, Stiebens V, Clemmesen C, et al. Effect of ocean acidification on marine fish sperm (Baltic cod: *Gadus morhua*) [J]. Biogeosciences Discuss, 2010, 7: 5859-5872.
- [17] Havenhand J N, Buttler F R, Thorndyke M C, et al. Near-future levels of ocean acidification reduce fertilization success in a sea urchin [J]. Curr Biol, 2008, 18: 651-652.
- [18] Kurihara H. Effects of CO₂-driven ocean acidification on the early developmental stages of invertebrates [J]. Mar Ecol Prog Ser, 2008, 373: 275-284.
- [19] Miller A W, Reynolds A C, Sobrino C, et al. Shellfish face uncertain future in high CO₂ world: influence of acidification on oyster larvae calcification and growth in estuaries [J]. Plos One, 2009, 4: 1-8.
- [20] Dupont S, Thorndyke M. Ocean acidification and its impact on the early life-history stages of marine animals[C]//Impact of Acidification on Biological, Chemical and Physical Systems in the Mediterranean and Black Seas. CIESM Mongraph, 2008: 36.
- [21] Kurihara H, Shirayama Y. Effects of increased atmospheric CO₂ on sea urchin early development [J]. Mar Ecol Prog Ser, 2004, 274: 161-169.

Effect of ocean acidification on fertilization and early development of the pearl oyster *Pinctada martensii* Dunker

LIU Wen-guang, LIN Jian-shi

(Key Laboratory of Marine Bio-resources Sustainable Utilization, South China Sea Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301, China)

Received: Jul., 15, 2011

Key words: ocean acidification; *Pinctada martensii*; fertilization; development

Abstract: Effects of ocean acidification on fertilization and early development of *Pinctada martensii* were investigated at pH 8.1, 7.7 and 7.4 from July 1 to July 3 in 2010. The results indicated that CO₂-driven ocean acidification had no significant effect on fertilization. The shell lengths and heights in the groups of pH 8.1, 7.7 and 7.4 increased gradually, and showed significant differences between the group of pH 8.1 and the other two groups. This indicated that ocean acidification influenced the growth of *P. martensii*. During the experiment, the survival rate and the rate of abnormal larvae showed no significant difference in the pH 8.1 group. The survival rates in the pH 7.7 and 7.4 group were significantly lower than that in the pH 8.1 group. The rate of abnormal larvae in the pH 7.4 group was significantly higher than those in the other two groups. The development of the larvae was influenced by ocean acidification. The study provided basic information for exploring the effect of ocean acidification on growth and development of pearl oyster.

(本文编辑: 梁德海)