

不同盐度对文蛤(*Meretrix meretrix*)呼吸代谢及体内酶活性的影响

白奕天¹, 丁天扬¹, 李东东^{1,2}, 聂鸿涛^{1,2}, 闫喜武^{1,2}

(1. 大连海洋大学 水产与生命学院, 辽宁 大连 116023; 2. 大连海洋大学, 辽宁省贝类良种繁育工程技术研究中心, 辽宁 大连 116023)

摘要: 为研究不同盐度对文蛤呼吸代谢的影响, 本实验设置 5 个盐度(‰)梯度(11、18、25、32、39), 检测不同盐度对文蛤(*Meretrix meretrix*)耗氧和排氨的影响, 以及文蛤的外套膜、鳃、肝胰腺三种组织中乳酸脱氢酶和 Na⁺/K⁺-ATP 酶活性的变化。结果表明: 随着盐度的不断升高, 文蛤耗氧率先升后降再升, 在盐度 18 时达到最大值; 排氨率先升后降, 在盐度 32 时达到最大值。随着盐度不断升高和胁迫时间延长, 文蛤的肝胰腺中乳酸脱氢酶活力总体呈先升高后下降再升高的趋势($P < 0.05$), 酶活力在盐度 39 时为最高; 随着盐度不断升高和胁迫时间延长, 文蛤的外套膜中 Na⁺/K⁺-ATP 酶活力总体呈先下降再升高后下降的趋势($P < 0.05$), 在盐度 32 时为最高; 文蛤的外套膜和鳃中乳酸脱氢酶活力以及鳃和肝胰腺中 Na⁺/K⁺-ATP 酶活力受盐度影响不显著($P > 0.05$), 酶活力变化也多呈现“W”形的变化趋势。研究结果为文蛤的人工养殖提供参考。

关键词: 文蛤(*Meretrix meretrix*); 盐度; 耗氧率; 排氨率; 乳酸脱氢酶; Na⁺/K⁺-ATP 酶

中图分类号: S917 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2018)06-0123-09

DOI: 10.11759/hyxx20160817002

文蛤(*Meretrix meretrix*)隶属于软体动物门(Mollusca), 瓣鳃纲(Lamellibranchia), 异齿亚纲(Heterodonta), 帘蛤目(Veneroidea), 帘蛤科(Veneridae), 文蛤属(*Meretrix*), 是我国重要的滩涂经济贝类^[1]。作为埋栖性贝类, 文蛤生活在河口、沿岸潮间带沙滩或浅海细沙底质中, 肉质鲜美、经济价值高、市场前景好, 素有“天下第一鲜”的美称^[2]。文蛤属广温广盐性贝类, 我国沿海均有分布, 其中辽河口、江苏南部沿海、渤海湾、北海湾及台湾西海岸一带资源丰富^[3]。近年来, 由于大范围采捕造成生态环境恶化, 文蛤资源严重匮乏。因此文蛤相关增养殖和育苗技术研发已引起专家学者的高度重视^[4]。

盐度是影响水生动物生长和存活的重要生态因子之一。盐度通过影响水生动物机体渗透调节耗能、消化酶和抗氧化酶活力大小和免疫相关因子含量等指标, 直接影响其生存、发育、生长和繁殖等行为^[4-9]。因此, 研究盐度对文蛤生理生化的影响, 已成为探讨文蛤呼吸代谢活力的重要内容之一。贝类耗氧率、排氨率及氧氮比的测定, 可以作为评估外界环境对贝类生理状态影响的重要指标^[10]。贝类种类不同, 代谢规律也有所不同。关于双壳贝类耗氧率和排氨率

的研究较多^[11-14], 但关于文蛤盐度突变条件下耗氧率和排氨率的研究还未见报道。

乳酸脱氢酶(LDH)是糖酵解中一种重要的酶, 催化丙酮酸和乳酸互相转化^[15]。乳酸脱氢酶是无氧代谢调控酶, 其活性大小反映无氧代谢能力的强弱^[16]。因此, 研究盐度对文蛤呼吸代谢酶的影响对于进一步分析和解释不同盐度下文蛤呼吸代谢的生理机制具有重要意义。本实验探究了盐度突变对文蛤呼吸代谢及体内酶活性的影响, 旨在丰富基础研究资料, 为文蛤的人工驯化和养殖提供理论依据。

收稿日期: 2018-02-07; 修回日期: 2018-04-04

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项(CARS-49); 辽宁省教育厅科学技术研究项目(QL201703); 大连市青年科技之星项目(2016RQ065)资助

[Foundation: the Grants from the Modern Agro-industry Technology Research System, No.CARS-49; Science and Technology Research Project of Liaoning Education Department, No. QL201703; Dalian high level talent innovation support program (Dalian Youth Science and Technology Star Project Support Program), No.2016RQ065]

作者简介: 白奕天(1997-), 男, 江苏徐州人, 本科生, 研究方向: 贝类遗传育种与增养殖技术研究, E-mail: 897803995@qq.com; 聂鸿涛, 通信作者, 博士, 副研究员, 研究方向: 贝类遗传育种与增养殖技术研究, E-mail: htnie@dlou.edu.cn

1 材料与方 法

1.1 实验材料

文蛤采捕于大连庄河海区,规格:壳长为(49.49±4.91) mm,运回实验室后,挑选健康、活力强的个体在塑料水槽中暂养 10 d。所用海水采自大连市黑石礁海区,暂养期间用水质分析仪来测定海水的盐度和 pH,盐度 32±2,水温(19±2)°C, pH 7.5~8.0,每天投喂螺旋藻 2~3 次,连续充气,每天换水 1 次。

1.2 实验分组

盐度设定 5 个盐度梯度: 11、18、25、32、39,其中盐度 32 组为对照组。不同盐度海水由充分曝气的自来水和处理过的海水按一定比例配制,高盐组使用海水晶和自然海水按一定比例配置,实验过程中各盐度梯度组海水盐度几乎没有变化。

1.3 实验方法

1.3.1 盐度突变对文蛤乳酸脱氢酶和 Na⁺/K⁺-ATP 酶活性的影响

暂养结束后选取 150 只健康状态良好的文蛤放到 5 个盐度梯度中,每个水槽放置 30 只文蛤,每个梯度 3 个平行实验组,水温 19°C。实验开始后,前 3 d 不投饵,第 4 天投饵 1 次,以保证实验过程中文蛤不会因饥饿死亡而影响实验结果,第 4 天投饵前换水 1 次,第 5 天换水 1 次。

分别于 3、6、12、24、48 h 从每个水槽中随机选取 3 只个体,采集其外套膜、鳃和肝胰腺样本,制作组织匀浆,测定乳酸脱氢酶活性和 Na⁺/K⁺-ATP 酶活性。

取组织样时,在冰浴下剖开双壳,取出其组织,用垫滤纸的电子天平称重后用预冷的生理盐水(0.9%)洗净,然后在冰水浴下用玻璃匀浆器匀浆,用生理盐水 10 倍稀释后,于 4°C、4000 r/min 离心 10 min,取适量的上清液进行实验。将余下的上清液在-80°C 的冰箱中储存备用。

乳酸脱氢酶和 Na⁺/K⁺-ATP 酶活力测定采用南京建成生物工程研究所有限公司生产的试剂盒进行检测,相应操作参照说明书进行。不同盐度下文蛤各组织中总蛋白测定用考马斯亮蓝试剂盒(南京建成)进行。

1.3.2 盐度突变对文蛤耗氧率和排氨率的影响

此实验与“1.3.2”实验同步进行。文蛤组织取样

完成后,将剩余文蛤继续放置在各盐度梯度下胁迫至 7 d。然后,分别取规格一致的文蛤各 3 个放入呼吸瓶中,当每个呼吸瓶中伸出水管的文蛤大于 1 个计时实验开始,实验持续 3 h。以不放文蛤的呼吸瓶作为对照,全部实验设 3 个重复。根据始末溶氧变化和氨氮浓度的变化计算耗氧率(OCR, mg/(g·h))和排氨率(AER, mg/(g·h))。实验结束后,用游标卡尺测量文蛤的规格(壳长、壳高),并称其鲜重,之后用解剖刀将肉与壳分开,在 70°C 烘箱中烘干,24 h 后称干质量。按以下方法计算耗氧率和排氨率:

$$OCR=(D_0-D_t) \times V/W \times t$$

式中,OCR 为单位体重耗氧率(mg/(g·h)), D_0 和 D_t 为实验空白对照组和实验组水中溶氧的含量(mg/L), V 为呼吸瓶容积(L), W 为干肉质量(g), t 为实验持续时间(h)。

$$AER=[(N_t-N_0) \times V]/W \times t$$

式中,AER 为单位体重排氨率(mg/(g·h)), N_0 和 N_t 分别为实验空白对照组和实验组水中氨氮的浓度(mg/L)。 V 为呼吸瓶容积(L), W 为干肉质量(g), t 为实验持续时间(h)^[17]。

$$O/N=(OCR/16)/(AER/14)$$

式中,O/N 为文蛤耗氧率和排氨率之间的比值;OCR 为单位体重耗氧率[mg/(g·h)];AER 为单位体重排氨率[mg/(g·h)]。按照《海洋监测规范》^[17]用碘量法测定养殖水中的溶解氧,用次溴酸钠氧化法测定水中的氨态氮。

1.4 数据处理

统计结果用平均值±标准误(mean±SE)表示,经 Excel 2010 整理绘图,采用 SPSS 20.0 中的单因素方差分析(one-way ANOVA),对数据进行统计分析和 Duncan 法多重比较,显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 盐度对文蛤耗氧率和排氨率的影响

2.1.1 盐度对文蛤耗氧率的影响

随着盐度的升高,文蛤耗氧率的变化趋势如图 1 所示。随着盐度的升高,耗氧率呈先升高再下降后升高的趋势,当盐度为 18 时,其耗氧率到达最大值为 3.200 mg/(g·h)。耗氧率变化范围为 1.203~3.200 mg/(g·h)。多重比较统计检验表明各组之间差异不显著 ($P > 0.05$),在设定盐度范围内,盐度对文蛤的耗氧率无显著影响。各处理组(11、18、25、39)的耗氧率均高于对照组 32,但差异不显著 ($P > 0.05$),分别是对照组耗氧率的 1.06 倍、2.66 倍、2.05 倍、1.58 倍。

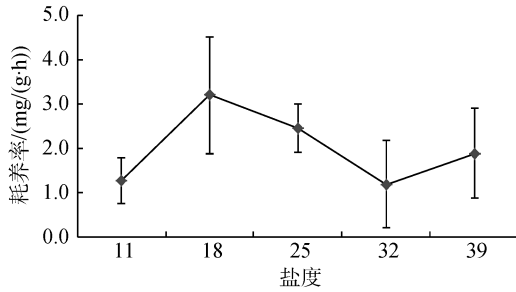


图 1 盐度对文蛤耗氧率的影响

Fig. 1 The effects of salinity on oxygen consumption rates of *M. meretrix*

2.1.2 盐度对文蛤排氨率的影响

随着盐度的升高, 文蛤排氨率的变化趋势如图 2 所示。随着盐度的升高, 排氨率呈先升高后下降的趋势, 当盐度为 32 时, 其排氨率到达最大值为 0.580 mg/(g·h)。耗氧率变化范围为 0.316~0.580 mg/(g·h)。多重比较统计检验表明各组之间差异不显著 ($P>0.05$), 在设定盐度范围内, 盐度对文蛤的排氨率无显著影响。各处理组(11、18、25、39)的排氨率均低于对照组 32, 但差异不显著($P>0.05$), 分别是对照组耗氧率的 0.54 倍、0.65 倍、0.71 倍和 0.58 倍。

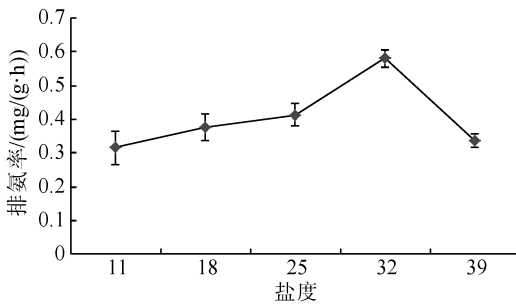


图 2 盐度对文蛤排氨率的影响

Fig. 2 The effects of salinity on ammonia excretion rates of *M. meretrix*

2.1.3 盐度对文蛤 O : N 的影响

盐度对文蛤 O : N 的影响如表 1 所示, 随着盐度的增加, O : N 值先增加后减小再增加, 在 1.815~7.433 之间变化, 到盐度为 18 时达到最大值, 为 7.433。各处理组(11、18、25、39)的 O : N 均高于对照组 32, 但差异不显著($P>0.05$), 分别是对照组耗氧率的 1.96 倍、4.10 倍、2.87 倍和 2.71 倍。

表 1 文蛤的耗氧率、排氨率及两者之间的比值

Tab. 1 The oxygen consumption rates, ammonia excretion rates and the O : N of *M. meretrix*

盐度	耗养率/ (mg/(g·h))	排氨率/ (mg/(g·h))	O : N
11	1.284±0.510 ^a	0.316±0.050 ^a	3.559
18	3.200±1.315 ^a	0.377±0.041 ^a	7.433
25	2.462±0.540 ^a	0.413±0.032 ^a	5.212
32	1.203±0.993 ^a	0.580±0.026 ^a	1.815
39	1.896±1.006 ^a	0.337±0.021 ^a	4.927

2.2 盐度对文蛤乳酸脱氢酶活力的影响

2.2.1 盐度对外套膜中乳酸脱氢酶活力的影响

由图 3 可知, 除 12 h 和 24 h 时间点外, 在同一时间点, 文蛤的外套膜中乳酸脱氢酶的活力均在盐度 32 时为最高, 在 6 h 时间点, 盐度 32 对照组显著高于其他各处理组($P<0.05$)。在 12 h 和 24 h 时间点酶活力在 39 盐度时为最高。在 6 h 时间点, 盐度 32 时的酶活力与其他各组差异显著($P<0.05$)。除 6 h 时间点外, 在同一时间点, 盐度 32 对照组的酶活力与各处理组差异不显著($P>0.05$)。在盐度为 11, 3 h 时间点的酶活力与其他各组差异显著($P<0.05$)。

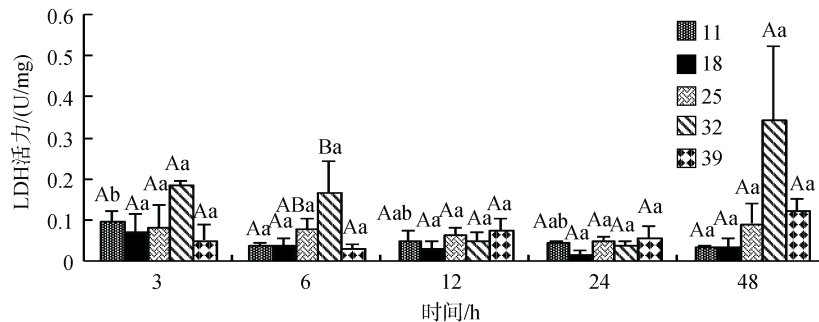


图 3 盐度对文蛤外套膜中乳酸脱氢酶活力的影响

Fig. 3 Effects of salinity on the activity of LDH in mantle of *M. meretrix*

小写字母表示同一盐度不同时间点之间显著性比较, 字母不同表示差异性显著($P<0.05$); 大写字母表示同一时间点不同盐度之间显著性比较, 字母不同表示差异性显著($P<0.05$)。下同

Different lowercase letters mean significant differences among groups at different time points of the same salinity ($P<0.05$); Different uppercase letters indicate significant differences among groups at different salinity

2.2.2 盐度对鳃中乳酸脱氢酶活力的影响

由图 4 可知, 在 6 h 和 48 h 时间点, 文蛤的鳃中乳酸脱氢酶的活力在盐度 32 时为最高, 在 6 h 时间点, 盐度 32 对照组的酶活力与其他各组差异显著, 显著高于其他各处理组($P < 0.05$)。在 12 h 和 24 h 时间

点, 酶活力在盐度 11 时为最高。除 6 h 时间点外, 在同一时间点, 32 对照组的酶活力与各处理组差异不显著($P > 0.05$)。在盐度 18 和 25, 酶活力在 24 h 时为最高。在盐度 32 和 39, 酶活力在 3 h 时为最高。在盐度 11 的 12 h 时间点, 酶活力与其他各组差异显著($P < 0.05$)。

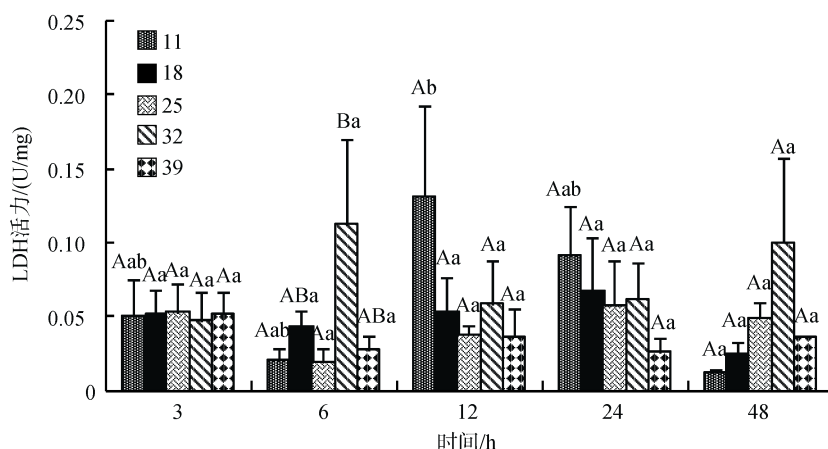


图 4 盐度对文蛤鳃中乳酸脱氢酶活力的影响

Fig. 4 Effects of salinity on the activity of LDH in gills of *M. meretrix*

2.2.3 盐度对肝胰腺中乳酸脱氢酶活力的影响

由图 5 可知, 在 48 h 时间点, 文蛤的肝胰腺中乳酸脱氢酶的活力随盐度的升高呈先升高后下降再升高的趋势, 酶活力在 39 盐度时为最高, 显著高于其他各组($P < 0.05$)。在同一时间点, 32 对照组的酶活力与各处理组差异不显著($P > 0.05$)。盐度 32, 酶活力随

胁迫时间的延长呈先升高后下降的趋势, 在 6 h 时酶活力为最高。在盐度 25 和 39, 酶活力随胁迫时间的延长呈先升高后下降再升高的趋势, 在 48 h 时为最高。在盐度 25 的 6、48 h 和盐度 32 的 6 h 以及盐度 39 的 48 h 时间点, 酶活力与其他各组差异显著($P < 0.05$)。

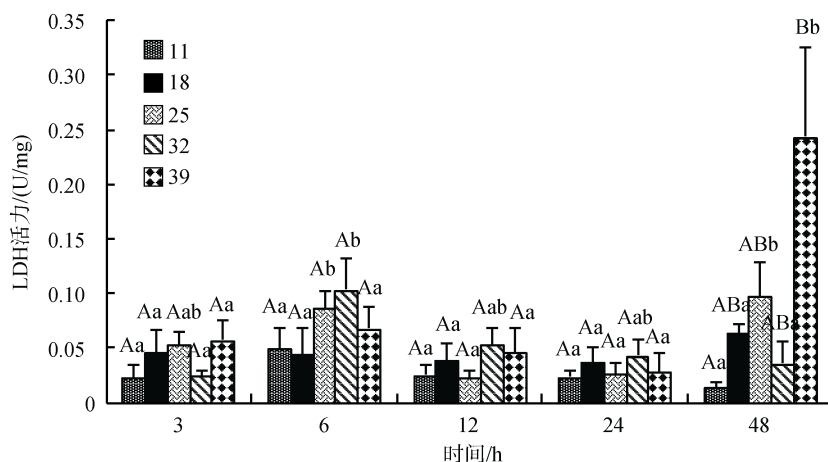


图 5 盐度对文蛤肝胰腺中乳酸脱氢酶活力的影响

Fig. 5 Effects of salinity on the activity of LDH in hepatopancreas of *M. meretrix*

2.3 盐度对文蛤 Na^+/K^+ -ATP 酶活力的影响

2.3.1 盐度对外套膜中 Na^+/K^+ -ATP 酶活力的影响

由图 6 可知, 在 12 h 时间点, 随盐度的升高文蛤

的外套膜中 Na^+/K^+ -ATP 酶的活力呈先下降再升高的趋势, 在盐度 11 时为最高。在 48 h 时间点, 随盐度的升高酶活力呈先下降再升高后下降的趋势, 在盐

度 32 对照组时为最高, 显著高于其他各处理组 ($P < 0.05$)。在 12 h 时间点, 盐度为 11 时的酶活力与其他各组差异显著 ($P < 0.05$)。除 48 h 时间点外, 在同一时间点, 32 对照组的酶活力与各处理组差异不显著 ($P > 0.05$)。盐度 18 和 39 的酶活力随胁迫时间的延

长呈先升高后下降的趋势, 在 6 h 时最高。在盐度 25, 酶活力随胁迫时间的延长呈下降的趋势, 在 3 h 时为最高。在盐度 18, 24 h 时间点和在盐度 25, 24 h 时间点以及在盐度 39, 24 h 时间点的酶活力与其他各组差异显著 ($P < 0.05$)。

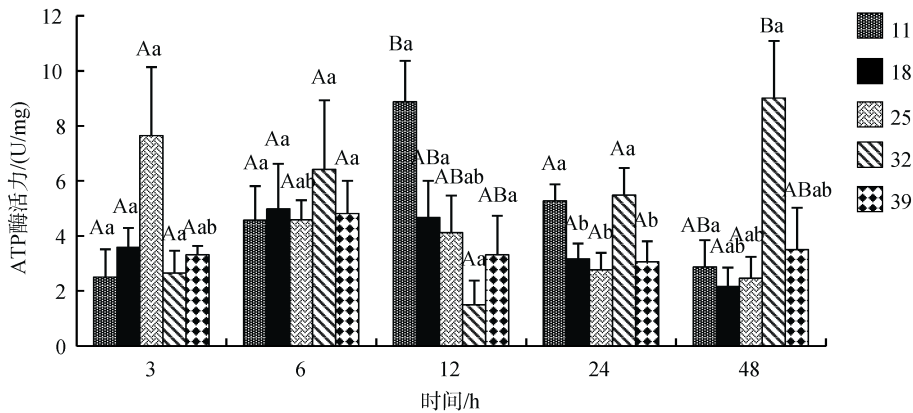


图 6 盐度对外套膜中 Na^+/K^+ -ATP 酶活力的影响
Fig. 6 Effects of salinity on the activity of ATP in mantle of *M. meretrix*

2.3.2 盐度对鳃中 Na^+/K^+ -ATP 酶活力的影响

由图 7 可知, 在 12 h 和 48 h 时间点, 文蛤的鳃中 Na^+/K^+ -ATP 酶的活力随盐度的升高呈先下降后升高的趋势, 分别在盐度 32 和在盐度 11 酶活力最高。在 12 h 时间点, 盐度为 11 时的酶活力和在 48 h 时间点, 盐度为 32 时的酶活力与其他各组差异显著 ($P < 0.05$)。除 48 h 时间点外, 在同一时间点, 32 对照

组的酶活力与各处理组差异不显著 ($P > 0.05$)。在盐度 18, 酶活力随胁迫时间的延长呈先升高再下降后升高的趋势, 在 24 h 时酶活力最高。在盐度 25, 酶活力随胁迫时间的延长呈先升高后下降的趋势, 在 12 h 时酶活力最高。在盐度 18, 24 h 时间点和在盐度 25, 24 h 时间点以及盐度 39, 24 h 时间点的酶活力与其他各组差异显著 ($P < 0.05$)。

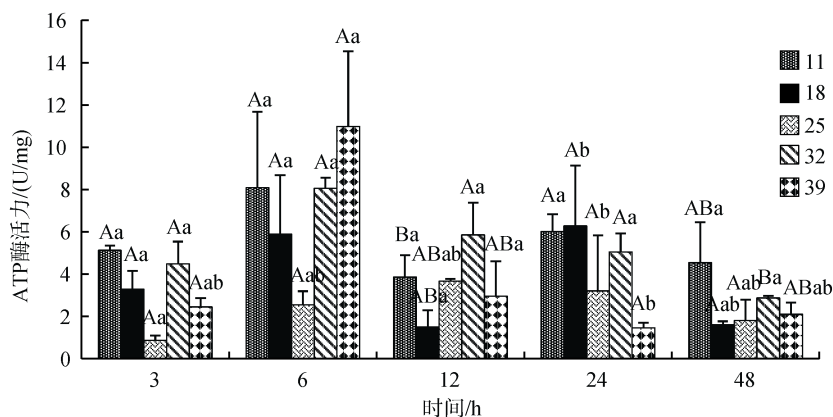


图 7 盐度对鳃中 Na^+/K^+ -ATP 酶活力的影响
Fig. 7 Effects of salinity on the activity of ATP in gills of *M. meretrix*

2.3.3 盐度对肝胰腺中 Na^+/K^+ -ATP 酶活力的影响

由图 8 可知, 在 12 h 时间点, 文蛤的肝胰腺中 Na^+/K^+ -ATP 酶的活力随盐度的升高呈先下降后升高再下降的趋势, 盐度 11 的酶活力为最高。在 24 h 和

48 h 时间点, 随盐度的升高酶活力呈先升高再下降的趋势, 在 18 盐度时为最高。在 12 h 时间点, 盐度为 11 时的酶活力和在 24 h 时间点, 盐度为 18 时的酶活力与其他各组差异显著 ($P < 0.05$)。在同一时间点,

32 对照组的酶活力与各处理组差异不显著($P>0.05$)。在盐度 32, 酶活力随胁迫时间的延长呈先下降后升

高再下降的趋势, 在 3 h 时酶活力最高, 显著高于其他各组($P<0.05$)。

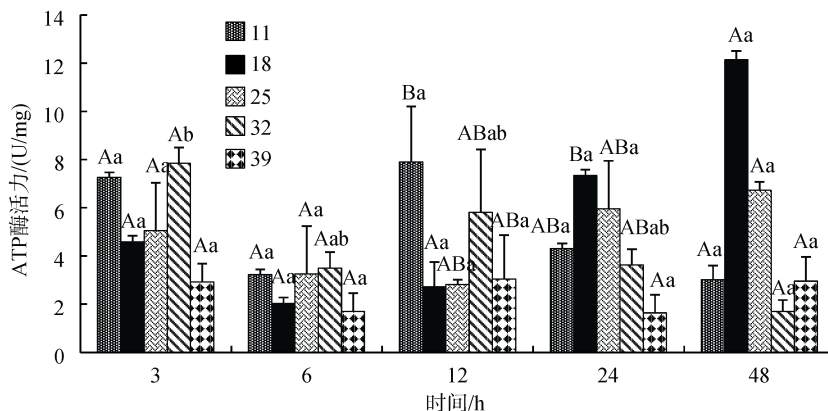


图 8 盐度对肝胰腺中 Na^+/K^+ -ATP 酶活力的影响

Fig. 8 Effects of salinity on the activity of ATP in hepatopancreas of *M. meretrix*

3 讨论

3.1 盐度对文蛤耗养率和排氨率的影响

盐度是影响海洋贝类分布及其生理代谢的重要环境因子之一。王盛青等^[4]的研究发现, 文蛤在盐度渐变的条件下, 耗氧率和排氨率均随盐度的增加呈先升高后下降趋势, 且均在盐度为 23 时最高。本文结果与之不同(图 1、2), 可能是盐度变化的方式不同造成的。Navarro^[18]研究发现, 当盐度在 18~30 范围内加勒比贻贝(*Choromytilus chorus*)的耗氧率随盐度降低而下降, 在 15~18 时则会部分或全部关闭贝壳现象, 而在本实验中的盐度 11 的实验组的海水中的文蛤中也出现了部分关闭贝壳的现象, 与 Navarro 的加勒比贻贝实验类似, 说明在面临低盐度胁迫时, 文蛤采取闭壳的方式应对胁迫^[3], 且代谢率较低。

外界环境因子的变化, 往往能对贝类的能量代谢以及物质选择带来影响。O : N 比值表示生物体内蛋白质与脂肪、碳水化合物分解代谢的比例, 可以作为生物适应环境压力的指标之一^[19]。通过 O : N 值能够估计贝类代谢中能源物质的化学本质以及贝类能量消耗情况^[20]。Mayzald^[21]指出, 如果机体消耗的能量完全由蛋白质提供, O : N 值约为 7。Ikeda^[22]证实, 如果机体完全由蛋白质和脂肪氧化供能, O : N 值约为 24。Conover 等^[23]认为, 如果机体耗能主要由脂肪或碳水化合物提供, O : N 值将大于 24, 甚至无穷大。本实验中在设置的盐度范围内, 其 O : N 值范围为 1.815~7.433(表 1), 平均值为 4.58, 实验表明文蛤的蛋白质代谢率较高, 且当盐度为 18 时, O : N

值平均值为 7.433, 说明此时是主要由蛋白质供能。

3.2 盐度对文蛤乳酸脱氢酶活力的影响

研究表明, 不适宜的盐度会降低海洋贝类对不良环境的抵抗能力、食物的消化吸收效率, 严重影响机体的生长和存活^[24-26]。而贝类病害的爆发也与盐度的变化有直接关系, 可能与盐度胁迫导致贝类免疫能力下降有关^[27]。当外界环境中的盐度发生变化时, 多数广盐性水生动物自身拥有较强的机体调节能力, 可通过调整渗透压等方式保持内环境的稳定。但是这种生理调控能力也是有限的, 超过耐受限度则会造成身体机能紊乱甚至威胁生命。有些贝类可通过收缩或膨胀细胞, 通过细胞吸水或失水引起体质量变化, 从而引起渗透压改变^[28]。

本文文蛤外套膜、鳃、肝胰腺中乳酸脱氢酶活力均有变化(图 3、4、5), 但变化量存在差异。对照组中, 外套膜中酶活力最高, 而鳃和肝胰腺中最低。文蛤肝胰腺中的乳酸脱氢酶基本在盐度较高、胁迫时间延长的情况下酶活力高。但酶活力变化有部分呈现“W”形的变化趋势, 说明乳酸脱氢酶被激活具有组织器官特异性和时序性^[29]。在盐度从 32~39 的升高过程中, 随着渗透压的不断增大, 文蛤的 LDH 活力逐渐下降, 无氧代谢受到一定程度的阻碍, 使得进入 TCA 循环的丙酮酸含量增加, TCA 循环加速, 为机体提供更多的能量以适应环境的变化。可以推测, 在靠近等渗点的条件下, 有氧呼吸占主要部分, 无氧呼吸只是起辅助作用, 这种机制可以为机体提供更多的能量, 以适应环境的变化^[30-31]。

3.3 盐度对文蛤 Na⁺/K⁺-ATP 酶活力的影响

ATP 酶是一类膜结合蛋白酶, 其中 Na⁺/K⁺-ATP 酶是 Na⁺/K⁺泵的主要组分, 其作用是参与细胞内外 Na⁺、K⁺的主动跨膜转运, 维持细胞内外正常的离子梯度^[29]。本研究中, 文蛤鳃和肝胰腺中的 Na⁺/K⁺-ATP 酶随盐度升高酶活力多呈先升高后下降趋势(图 7、8), 但酶活力变化有部分也呈现“W”形的变化趋势。而文蛤的外套膜、鳃和肝胰腺中的酶活力变化趋势并不完全相同, 这表明 Na⁺/K⁺-ATP 酶具有组织器官特异性^[32]。在应对时间上, 不同组织间酶活力下降与恢复时间存在差异, 表明具有时序性。且在盐度较低的情况下, 酶活力受盐度胁迫抑制越强, 推测超过文蛤对盐度的耐受性, 造成机体紊乱。

参考文献:

[1] 赵莎莎, 刘晨晨, 杨最芳, 等. 文蛤的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(9): 2617-2618.
Zhao Shasha, Liu Chenchen, Yang Zuifang, et al. Progress in Researches on *Meretrix meretrix* Linnaeus[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2014, 42(9): 2617-2618.

[2] 杨晋, 陶宁萍, 王锡昌. 文蛤的营养成分及其对风味的影响[J]. 中国食物与营养, 2007(5): 43-45.
Yang Jin, Tao Ningping, Wang Xichang. Nutritional Components of Clam Meat and its Effect on Flavor[J]. Food and Nutrition in China, 2007(5): 43-45.

[3] 魏伟. 环境胁迫对文蛤摄食和代谢的影响研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2016.
Wei Wei. Study on feeding and metabolism of *Meretrix meretrix* under environmental stress[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2016.

[4] 王盛青, 尤宏争, 邵蓬, 等. 温度和盐度对文蛤耗氧率、排氨率、滤食率的影响[J]. 经济动物学报, 2016, 20(2): 69-73.
Wang Shengqing, You Hongzheng, Shao Peng, et al. Effect of Temperature and Salinity on Oxygen Consumption Rate, Ammonia Excretion Rates and Ingestion Rate of *Meretrix meretrix*[J]. Journal of Economic Animal, 2016, 20(2): 69-73.

[5] 路允良, 王芳, 赵卓英, 等. 盐度对三疣梭子蟹生长、蜕壳及能量利用的影响[J]. 中国水产科学, 2012, 19(2): 271-278.
Lu Yunliang, Wang Fang, Zhao Zhuoying, et al. Effects of salinity on growth, molt and energy utilization of juvenile swimming crab *Portunus trituberculatus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2012, 19(2): 271-278.

[6] 沈永龙. 盐度对瘤背石磺体组成、消化生理及渗透压

调节的影响[D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
Shen Yonglong. Effects of salinities on body composition digestive physiology and osmoregulation of *Onchidium Struma*[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2014.

[7] Partridge G J, Jenkins G I. The effect of salinity on growth and survival of juvenile black bream (*Acanthopagrus butcheri*)[J]. Aquaculture, 2002, 210(1/4): 219-230.

[8] 路允良, 王芳, 董双林, 等. 盐度对三疣梭子蟹成熟前后呼吸代谢的影响[J]. 水产学报, 2012, 36(9): 1393-1397.
Lu Yunliang, Wang Fang, Dong Shuanlin, et al. Effects of salinity on the respiratory metabolism of pre-and post-maturity swimming crab (*Portunus trituberculatus*)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2012, 36(9): 1393-1397.

[9] 孙学亮, 郭永军, 华旭峰, 等. 盐度胁迫对饲喂不同蛋白饲料的革胡子鲶血清生化指标的影响[J]. 经济动物学报, 2016, 20(3): 145-151.
Sun Xueliang, Guo Yongjun, Hua Xufeng, et al. Effect of Salinity Stress on Blood Index of *Clarias* Fed Different Protein Feeds[J]. Journal of Economic Animal, 2016, 20(3): 145-151.

[10] 刘勇, 施坤涛, 张少华, 等. 双壳贝类呼吸代谢的研究进展[J]. 南方水产, 2007, 3(4): 65-69.
Liu Yong, Shi Kuntao, Zhang Shaohua, et al. Advancement of respiratory metabolism study in bivalve mollusks[J]. South China Fisheries Science, 2007, 3(4): 65-69.

[11] 王芳, 董双林, 李德尚. 菲律宾蛤仔和栉孔扇贝的呼吸与排泄研究[J]. 水产学报, 1997, 21(3): 252-257.
Wang Fang, Dong Shuanglin, Li Deshang. Studies on respiration and excretion of *Ruditapes philippinarum* and *Chlamys farreri*[J]. Journal of Fisheries of China, 1997, 21(3): 252-257.

[12] 郭海燕, 王昭萍, 于瑞海, 等. 温度、盐度对大西洋浪蛤耗氧率和排氨率的影响[J]. 中国海洋大学学报, 2007, 37: 185-188.
Guo Haiyan, Wang Zhaoping, Yu Ruihai, et al. Effects of temperature and salinity on the oxygen consumption and Ammonia excretion rate of *Spisula solidissima*[J]. Periodical of Ocean University of China, 2007, 37: 185-188.

[13] 张媛, 方建光, 毛玉泽, 等. 温度和盐度对橄榄蚶耗氧率和排氨率的影响[J]. 中国水产科学, 2007, 14(4): 690-694.
Zhang Yuan, Fang Jianguang, Mao Yuze, et al. Effects of temperature and salinity on oxygen consumption rate and ammonia excretion rate of clam *Estellarca olivacea*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14(4): 690-

- 694.
- [14] Tang B, Liu B, Yang H, et al. Oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Meretrix meretrix* in different temperature and salinity[J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2005, 23(4): 469-474.
- [15] 赵亚华. 生物化学与分子生物学实验技术教程[M]. 北京: 高等教育出版社, 2005.
Zhao Yahua. Biochemistry and molecular biology laboratory course[M]. Beijing: Higher Education Press, 2005.
- [16] Zakhartsev M, Johansen T, Pörtner H O, et al. Effects of temperature acclimation on lactate dehydrogenase of cod (*Gadus morhua*): genetic, kinetic and thermodynamic aspects[J]. Journal of Experimental Biology, 2004, 207(1): 95-112.
- [17] 海洋监测规范[S]. GB 17378.7-2007, 中国标准出版社. Code of practice for marine monitoring technology[S]. GB 17378.7-2007, Standards Press of China.
- [18] Navarro J M. The effect of salinity on the physiological ecology of *Choromytilus chorus* (Molina, 1782) (Bivalvia: Mytilidae)[J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1988, 122: 19-33.
- [19] Nie H T, Chen P, Huo Z M, et al. Effects of temperature and salinity on oxygen consumption and ammonia excretion in different colour strains of the Manila clam, *Ruditapes philippinarum*[J]. Aquaculture Research, 2017, 48(6): 2778-2786.
- [20] 郝振林, 丁君, 贲月, 等. 高温对虾夷扇贝存活率、耗氧率和排氨率的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2013, 28(2): 138-142.
Hao Zhenlin, Ding Jun, Fen Yue, et al. Effect of high temperature on survival, oxygen consumption and ammonia-N excretion in Yesso scallop *Mizuhopecten yessoensis*[J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2013, 28(2): 138-142.
- [21] Mayzald P. Respiration and nitrogen excretion of zooplankton: IV. The influence of starvation on the metabolism and biochemical composition of some species[J]. Marine Biology, 1976, 37(1): 47-58.
- [22] Ikeda T. Nutrition ecology of marine zooplankton[J]. Memoirs of the Faculty of Fisheries Hokkaido University, 1974, 22(1): 71-77.
- [23] Conover R J, Corner E D S. Respiration and nitrogen excretion by some marine zooplankton in relation to their life cycles[J]. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 1968, 48: 49-75.
- [24] Berger V J, Kharazova A D. Mechanisms of salinity adaptations in marine mollusks[J]. Hydrobiologia, 1997, 355: 115-126.
- [25] 林志华, 柴雪良, 方军, 等. 硬壳蛤对环境因子适应性实验[J]. 宁波大学学报: 自然科学版, 2002, 15(1): 19-22.
Lin Zhihua, Chai Xueliang, Fang Jun, et al. An Aptitude Test on the Environmental Habits of *Mercenaria mercenaria*[J]. Journal of Ningbo University (Natural Science & Engineering Edition), 2002, 15(1): 19-22.
- [26] Forcucci D, Lawrence J M. Effect of low salinity on the activity, feeding, growth and absorption efficiency of *Luidia clathrata* (Echinodermata: Asteroidea)[J]. Marine Biology, 1986, 92: 315-321.
- [27] 阎希柱, 王桂忠, 李少菁. 盐度对九孔鲍能量收支的影响[J]. 生态学杂志, 2009, 28(8): 1520-1524.
Yan Xizhu, Wang Guizhong, Li Shaojing. Effects of water salinity on energy budget of *Haliotis diversicolor aquatilis*[J]. Chinese Journal of Ecology, 2009, 28(8): 1520-1524.
- [28] 杨淞, 钟敬仁, 赵柳兰, 等. 盐度胁迫对入侵生物福寿螺的急性毒性效应[J]. 华南农业大学学报, 2015, 36(5): 31-35.
Yang Song, Zhong Jingren, Zhao Liulan, et al. Acute toxicity effects of salinity stress on the invasive golden apple snails[J]. Journal of South China Agricultural University, 2015, 36(5): 31-35.
- [29] 张广明, 吴彪, 杨爱国, 等. 盐度胁迫对魁蚶耐受性及体内酶活性的影响[J]. 鲁东大学学报(自然科学版), 2017, 33(2): 159-163.
Zhang Guangming, Wu Biao, Yang Aiguo, et al. Influence of Low Salinity Challenge on Survival and Enzyme Activities in *Scapharca broughtonii*[J]. Ludong University Journal (Natural Science Edition), 2017, 33(2): 159-163.
- [30] 尤仲杰, 陆彤霞, 马斌, 等. 几种环境因子对墨西哥湾扇贝幼虫和稚贝生长与存活的影响[J]. 热带海洋学报, 2003, 22(3): 22-29.
You Zhongjie, Lu Tongxia, Ma Bin, et al. Influences of Some Environmental Factors on Growth and Survival of *Argopecten irradians concentricus* larvae and juveniles[J]. Journal of Tropical Oceanography, 2003, 22(3): 22-29.
- [31] Hutchinson S, Hawkins L E. Quantification of the physiology responses of the European flat oyster *Ostrea edulis* L. to temperature and salinity [J]. J Moll Stud, 1992, 58: 215-226.
- [32] 杨宇晴, 余德光, 谢骏, 等. 急性盐度胁迫对斜带石斑鱼 Na^+/K^+ -ATP 酶及血清应激指标的影响[J]. 热带海洋学报, 2010, 29(4): 160-164.
Yang Yuqing, Yu Deguang, Xie Jun, et al. Effects of acute salinity stress on Na^+/K^+ -ATPase activity and plasma indicators of *Epinephelus coioides*[J]. Journal of Tropical Oceanography, 2010, 29(4): 160-164.

Effects of different salinity on respiratory metabolism and enzyme activities of *Meretrix meretrix*

BAI Yi-tian¹, DING Tian-yang¹, LI Dong-dong^{1, 2}, NIE Hong-tao^{1, 2}, YAN Xi-wu^{1, 2}

(1. College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China; 2. Engineering Research Center of Shellfish Culture and Breeding in Liaoning Province, Dalian 116023, China)

Received: Feb.7, 2018

Key words: *Meretrix meretrix*; acute salinity change; oxygen consumption rate; ammonia excretion rate; lactate dehydrogenase (LDH); Na⁺/K⁺-ATPase

Abstract: In order to study the effects of salinity on the respiratory metabolism of *Meretrix meretrix*, five salinity gradients (11‰, 18‰, 25‰, 32‰, and 39‰) were set up to investigate the effects of acute salinity change on the oxygen consumption and ammonia excretion of *M. meretrix*, and the activity of lactate dehydrogenase (LDH) and Na⁺/K⁺-ATPase in the mantle, gills and hepatopancreas of *M. meretrix*. The results showed that with the increase of salinity, the oxygen consumption rate was firstly increased, then decreased and then increased, and the maximum value reached at salinity of 18, and the ammonia excretion rate was first increased and then decreased, and the maximum reached at salinity of 32. As the salinity increases and the time of stress is prolonged, the activity of LDH in the hepatopancreas of *M. meretrix* was increased firstly, then decreased and then increased ($P < 0.05$), and the enzyme activity was highest in 39 salinity. With the increase of salinity and the prolongation of stress time, the ATP activity in the mantle of *M. meretrix* was decreased firstly, then increased and then decreased ($P < 0.05$), which was highest at 32 salinity. The activity of LDH in mantle and gills and the ATP activity in gills and hepatopancreas of *M. meretrix* were not significantly affected by salinity ($P > 0.05$). The change of enzyme activity also showed the trend of “W” shape. The results provided a reference for the artificial culture technique of *M. meretrix*.

(本文编辑: 康亦兼)