

缢蛏(*Sinonovacula constricta*)心率 Arrhenius 拐点 温度(ABT)及其与生长性状相关和通径分析*

胡凌威^{1,2} 孙长森^{2,3①} 董迎辉^{1,2} 林志华^{2,3}

(1. 浙江万里学院生物与环境学院 宁波 315100; 2. 浙江万里学院 浙江省水产种质资源高效利用技术研究重点实验室 宁波 315100; 3. 浙江万里学院宁海海洋生物种业研究院 宁海 315604)

摘要 运用一种无损伤性的生物心跳参数红外监测方法,记录分析了 96 只缢蛏个体在 22—38 °C 温度变化范围内波形特征和心率数据,依据阿伦尼乌斯方程直线拟合求得每个个体心率的阿伦尼乌斯拐点温度(Arrhenius break temperatures, ABT)指标,并进一步分析了缢蛏心率 ABT 与其生长性状的相关关系。结果表明:缢蛏心跳在温度上升过程中不断变化,22—34 °C 范围内可采集获得心脏搏动的稳定波形,且心跳速度在前期呈现随温度的上升而加快,到后期随温度上升而减弱,平均心率 31 °C 达峰值为 33.65 BMP,同时缢蛏个体之间的心率差异明显,22 °C 时个体间差异最大,范围在 13.90—27.95 BMP,平均心率为 19.66 BMP,变异系数达 14.06%,26—31 °C 时个体间的差异相对较小,但变异系数也均在 8.5%以上;缢蛏所有个体中心率 ABT 最小值为 29.74 °C,最大值 31.86,平均值为 31.02 °C。建立了缢蛏心率 ABT 受生长性状影响的最优回归方程。壳宽对缢蛏心率 ABT 的直接负作用最强,直接通径系数为-0.689 5,而壳长对心率 ABT 直接通径系数尽管只有为 0.395 9,但它还通过壳高、壳宽间接发挥作用(间接通径系数分别为 0.221 8, -0.194 1),因而总的的影响最大(相关系数为 0.423 6)。

关键词 缢蛏(*Sinonovacula constricta*); 心率 ABT; 生长性状; 逐步回归; 通径分析

中图分类号 Q955; Q789; S968.3 **doi:** 10.11693/hyh20210200039

温度是影响贝类生长发育重要的环境因子(许友卿等, 2012)。近年来,在贝类养殖过程中因夏季高温诱发的大规模死亡现象越来越普遍,高温适应或耐受能力已成为贝类遗传改良的重要育种目标性状(王庆志等, 2014; 王金鹏, 2016; 邢强, 2016; 陈楠, 2016)。目前用来衡量贝类高温耐受能力的方法通常是在一定高温水平下存活或死亡情况来评定(Pernet *et al.*, 2007; Kvingedal *et al.*, 2010),操作方法简单易行,但因顾忌过高温会对贝类产生不可恢复的影响,因此这种方法在贝类耐高温新品种选育中总体实施效果一般。也有研究者通过酶活(Chapple *et al.*, 1998;

Hamdoun *et al.*, 2003)、脂质动力学和生理反应(Park *et al.*, 2007)以及热休克蛋白表达(Widdows, 1973; Nickerson *et al.*, 1989)来研究贝类对高温的生理响应,这些方法费时费力,且需要杀死贝类个体本身,在贝类普遍缺乏稳定近交系的情况下无法在贝类育种实践中应用。

众所周知,贝类心脏跳动的频率与振幅和机体血液循环量有直接关系,心脏跳动强,频率快,血液的循环量大,新陈代谢旺盛(Depledge *et al.*, 1990)。已有研究表明,无脊椎动物的心率可以通过捕获红外信号的方法被准确测得,该方法高效稳定,且对贝类

*财政部和农业农村部:国家现代农业产业技术体系资助, CARS-49 号;宁波市“科技创新 2025”重大专项, 2019B10005 号;浙江省属高校基本科研业务费专项资金资助, SC1032080180480 号;国家海洋水产种质资源库项目。胡凌威, 硕士研究生, E-mail: 644098528@qq.com

通信作者:孙长森, 博士, 副教授, E-mail: changsen_1977@hotmail.com

收稿日期: 2021-02-06, 收修改稿日期: 2021-03-19

生物体无损伤。根据阿伦尼乌斯方程(Arrhenius 方程),在一定温度范围内随着温度的上升,新陈代谢加快,心率加快;当温度超过其耐受范围,则随着温度的上升,心率减慢,这个拐点温度称为阿伦尼乌斯拐点温度(Arrhenius break temperatures, ABT) (Bakhmet *et al.*, 2009)。目前,心率 ABT 已成为贝类耐温性状的重要评测指标,在帽贝(Dong *et al.*, 2015)、扇贝(Xing *et al.*, 2016, 2019)、鲍(Chen *et al.*, 2016)等贝类耐温能力评价和遗传改良中实现了初步应用。

缢蛏(*Sinonovacula constricta*)是我国四大传统养殖贝类之一(董迎辉等, 2012), 2019 年养殖产量达 86.9 万 t, 产值超过 200 亿元, 具有重要的经济价值(农业农村部渔业渔政管理局等, 2020)。近年来, 受全球气候变暖的影响, 夏季极端高温水平一再被突破, 且高温持续时间有延长的趋势, 以致滩涂和池塘养殖区缢蛏死亡情况不断加重, 给缢蛏养殖产业的发展造成了严重威胁。因此, 建立缢蛏稳定、无损伤的耐高温测评技术指标应用于耐高温性状的遗传改良和新品种培育变得尤为迫切。本研究拟建立基于生物心跳参数红外监测的缢蛏心率测评方法, 分析缢蛏不同个体间心率的变异情况, 以及随温度变化的规律, 计算获得缢蛏个体高温耐受力指标 ABT, 进一步分析心率 ABT 与生长性状的关系, 为缢蛏耐高温新品种的选育提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用材料为缢蛏(*Sinonovacula constricta*)“甬乐 1 号”新品种 14 月龄贝, 平均壳长(53.56±3.78) mm, 活体取自浙江万里学院贝类育种咸祥试验基地, 清洗干净并剔除破损个体后运回实验室, 在 5 个规格为 60 cm×50 cm×40 cm 循环水养殖箱内进行暂养, 控制的暂养条件为: 海水盐度 20、温度 20 °C、pH 8.0 左右, 连续通气。暂养过程中及时剔除死亡和活力不佳的缢蛏个体, 每天保障全换水 1 次, 定时投喂饵料 2 次, 经 7 d 暂养后选用壳体无损伤、活力良好的缢蛏个体用于后续心跳测定实验。

1.2 实验方法

1.2.1 缢蛏心跳监测设备及连接 心跳监测设备主要部件包括红外传感器 Infrared Sensors (CNY-70) 和心跳信号放大器 Heartbeat Monitor Amplifier (AMP-03U) (购自葡萄牙 Newshift®公司)、PowerLab

8/35 八通道研究型高速记录主机(含 LabChart Pro 专业版, 澳大利亚 ADInstruments 生产, 购自埃德仪器国际贸易(上海)有限公司)、蓝丁胶(Blu-tag) (购自澳大利亚 BOSTIK 公司)。红外传感器探头一端用蓝丁胶固定在缢蛏心脏对应的壳表面, 另一端以 RJ11 连接方式接入信号放大器, 信号放大器和 PowerLab 8/35 八通道研究型高速记录主机两端均以 BNC 连接方式相互连接, PowerLab 8/35 八通道研究型高速记录主机以 USB 连接方式接入电脑, 利用内置软件(LabChart Version 8.0)获取心跳的有关参数。

1.2.2 升温控温装置和心跳参数测定 升温设备为 HWS-28 电热恒温水浴锅(购自上海一恒科学仪器有限公司, 分辨率为 0.1 °C)。水浴锅内放置一个 40 cm×25 cm×10 cm 玻璃水族箱, 水族箱内注入盐度 20 的海水(液面高度 6 cm 左右), 水浴锅内注入纯水高度 8 cm 左右。

每次实验随机选取 8 只生长状况良好的缢蛏, 在每个个体心脏壳表位置用蓝丁胶固定到红外传感器探头上, 一起放入上述的玻璃水族箱后连续充气, 待每只缢蛏的水管和斧足充分舒展后开始升温, 升温区间为 22—38 °C, 每次升温 1 °C, 待温度稳定 10 min 后记录该水温条件下典型波形图和心率参数, 尔后再进行后续升温以及波形图、心率数据采集。前后共进行 12 次实验, 对 96 只缢蛏在不同温度下的心跳的波形图和心跳数据进行了采集, 每次实验前还对每只缢蛏的生长性状测定, 包括壳长(mm)、壳高(mm)、壳宽(mm)、活体重(g)等。

1.3 数据分析

将每只缢蛏个体心率数据转化为以自然数为底的对数, 同时将温度转化为 1000/K (绝对温度)的形式。然后在阿伦尼乌斯方程 Arrhenius 曲线上推测拐点的两侧, 将心率与温度数据进行线性拟合, 两个方程交点的横坐标对应的温度即为该缢蛏个体的 ABT 值(Bakhmet *et al.*, 2009; 陈楠, 2016)。

利用 Excel 2016 软件对不同温度水平下 96 个缢蛏个体的心率数据进行最大值、最小值、平均数、标准差和变异系数等有关特征值进行计算, 分析心率随温度变化的动态规律以及个体间的变异; 利用 SPSS22.0 对缢蛏心率 ABT 数据进行正态性检验, 计算其与生长性状的相关系数, 并采用逐步回归和通径分析方法对缢蛏心率 ABT 受其壳长、壳高、壳宽和活体重等生长性状影响情况进行分析。

2 结果与分析

2.1 不同温度下缙蛭心跳监测的波形特征

图 1 为一只缙蛭个体在 22、27、32、35、38 °C 等五个不同水温条件下心跳监测获得的波形谱。从图 1 可以看出, 22 °C 时, 缙蛭心脏搏动规律, 周期明显, 图中缙蛭个体的心率为 21.15 BMP; 当温度升至 27、32 °C 时, 缙蛭心跳随着温度升高不断加快, 但心脏搏动仍表现正常, 周期稳定, 两个温度条件下缙蛭个体的心率为 24.12 BMP; 当温度达到 35、38 °C 时, 缙蛭心跳随着温度升高不断减慢, 且心脏搏动很难维持在稳定水平, 周期时不时发生了波动。从波形曲线可以看出, 缙蛭心跳可以分为两种波形, 一种是窄而

高、单一峰的心室波形, 另一种为宽而低、连续的心耳波形, 缙蛭一个心跳周期由一次心室的收缩和连续两次心耳的收缩所构成。

2.2 缙蛭心率变异及 ABT 估算

升温过程中 96 只缙蛭个体心率变异的特征值见表 1。由表 1 数据可知, 在升温前期缙蛭心跳随着温度的升高而逐渐变快, 到后期缙蛭心跳随着温度的升高而逐渐减弱, 96 个个体 22 °C 时心率平均值为 19.66 BMP, 而后随温度上升心率值逐渐变大, 31 °C 时平均心率达峰值为 33.66 BMP, 在 32 °C 以后心率平均值开始下降, 34 °C 监测到稳定心率的平均值为 29.19 BMP, 35 °C 以后心跳进一步变慢且难以稳定。

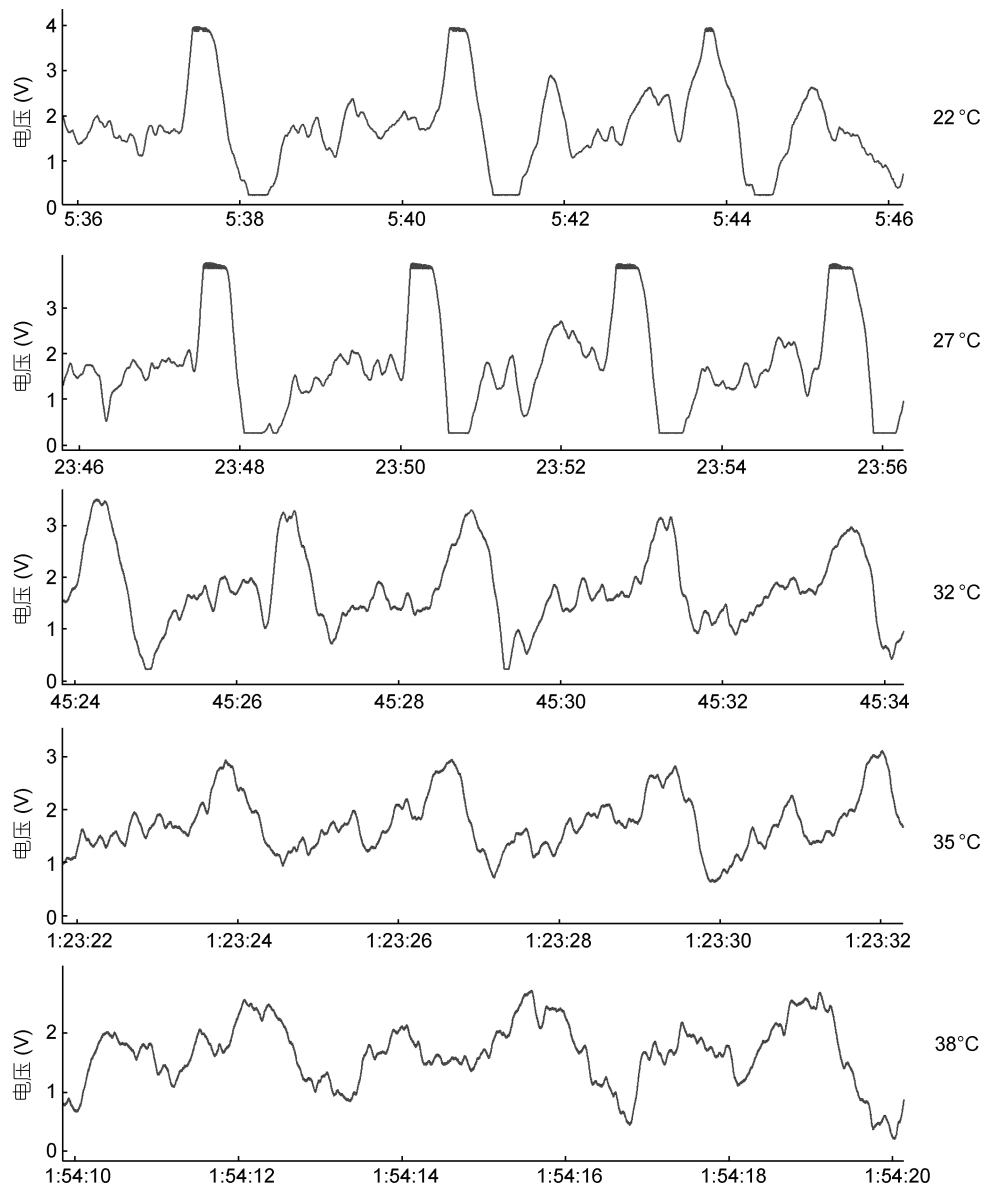


图 1 缙蛭心跳波形与温度关系图

Fig.1 Relationship between heartbeat waveform and temperature in *S. constricta*

表 1 升温过程中缢蛭个体间心率变异特征

Tab.1 Heart rate variability among 96 individuals at different temperatures in *S. constricta*

温度(°C)	最小值(BMP)	最大值(BMP)	平均值(BMP)	标准差(BMP)	变异系数(%)
22	13.90	27.95	19.66	2.76	14.06
23	15.35	28.70	21.43	2.57	12.00
24	18.81	29.83	23.29	2.46	10.57
25	19.35	31.03	25.02	2.55	10.20
26	21.66	31.98	26.68	2.53	9.49
27	22.83	32.46	27.76	2.38	8.56
28	23.63	34.70	29.20	2.58	8.82
29	23.91	36.47	30.88	2.64	8.56
30	24.78	38.47	32.21	2.83	8.79
31	26.29	39.59	33.65	2.97	8.82
32	24.29	39.35	32.38	3.48	10.74
33	22.50	38.86	30.72	3.84	12.50
34	19.18	35.81	29.19	3.85	13.18

35—38 无法监测到稳定心率

同时我们也观察到缢蛭心率在个体之间的变异非常大,如在 22、34 °C 时,心率的变幅分别为 13.90—27.95 BMP、19.18—35.81 BMP,变异系数分别达 14.06%和 13.18%,只有在 26—31 °C 温度范围内,变异系数在 10%以下,但也均超过了 8.5%。

依据阿伦尼乌斯方程(Arrhenius 方程),对温度和心率进行数据转换后,以心率出现拐点前后的数据分别拟合 $\ln(\text{BMP})$ 依 $1000/K$ 两个线性回归方程,它们的交点所对应的温度即为缢蛭心率的 ABT,如图 2 所示。通过计算分别获得 96 只缢蛭个体心率 ABT,最小值为 29.74 °C,最大值为 31.86 °C,平均值为 31.02 °C。

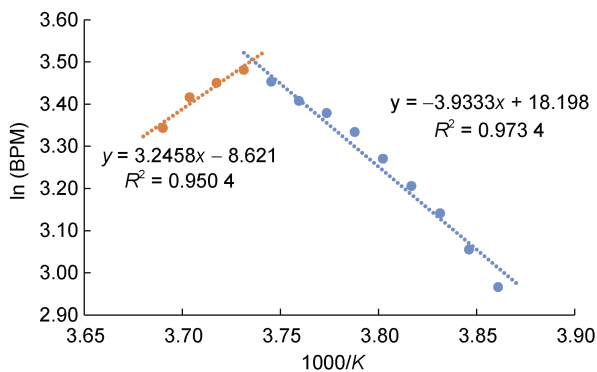


图 2 缢蛭 12 号个体 ABT 指标估算的示意图

Fig.2 Diagram of ABT estimation for the individual No.12 of *S. constricta*

2.3 缢蛭心率 ABT 与生长性状的相关和回归分析
观察变量分布的正态性是进行统计分析的前提,

以往的研究表明贝类壳长、壳高、壳宽和活体重等生长性状数据符合统计分析的这一要求。本研究对 96 个缢蛭个体的心率 ABT 数值进行频率分布、正态性趋势进行分析,结果见图 3。从图 3 结果可以看出,缢蛭的心率 ABT 也比较符合正态分布,进一步采用 Kolmogorov-Smirnova 方法进行统计测验,其 P 值为 0.200 (>0.05),表明该类数据也符合正态分布。

缢蛭心率 ABT 与生长性状的相关系数见表 2,从表中结果可以看出,缢蛭心率 ABT 与壳长、壳高、活体重等 3 个生长性状具有不同程度的正相关关系,其中与壳长的相关系数达到 0.423 6,显示为极显著的正相关,而与壳宽性状呈负相关关系,相关系数为 -0.321 9,同样达到了极显著性水平。

采用逐步回归统计分析方法,建立了缢蛭心率依据生长性状变化的最优回归方程:

$$Y = 29.777 + 0.042X_1 + 0.104X_2 - 0.209X_3, R^2 = 0.453, F = 11.847^{**}, \quad (1)$$

该方程表明,在 4 个生长性状中,活体重对缢蛭心率 ABT 没有显著影响,在回归分析中被剔除;壳长、壳高、壳宽等 3 个体尺性状对缢蛭心率 ABT 的变化具有不同程度的影响,回归关系达到了极显著水平($F=11.847^{**}$),其中壳长每增加 1 个单位,心率 ABT 增加 0.042 个单位,壳高每增加一个单位,心率 ABT 增加 0.104 个单位,而壳宽每增加一个单位,缢蛭心率 ABT 减少 0.209 个单位。回归方程的决定系数 $R^2=0.453$,说明缢蛭心率 ABT 除了受体尺性状的影响,可能还受到遗传等其他因素的影响。

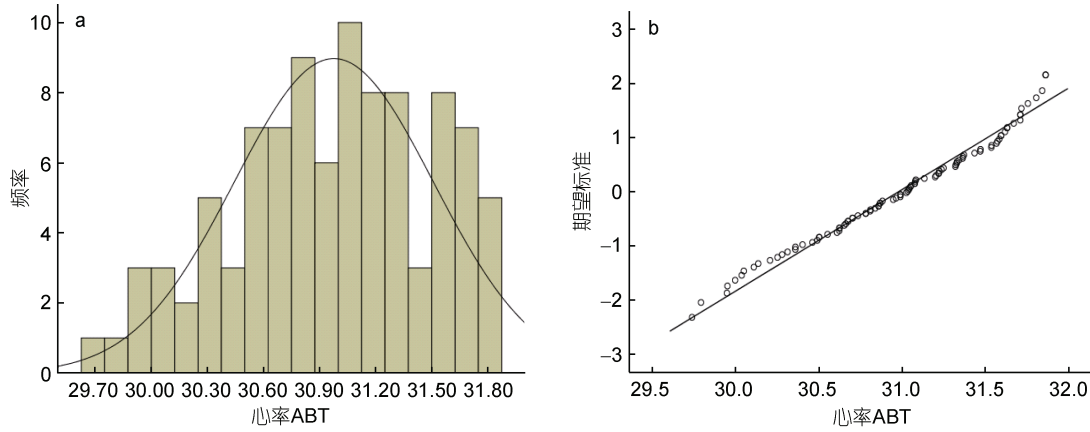


图 3 缢蛏心率 ABT 数据分布的正态性检测

Fig.3 Normality detection of ABT data distribution of heart rate in *S. constricta*

注: a. 频率分布图; b. Q-Q 图

表 2 缢蛏心率 ABT 指标与生长性状的相关系数

Tab.2 The related coefficient between heart rate ABT and growth traits of *S. constricta*

性状	壳长(X_1)	壳高(X_2)	壳宽(X_3)	活体重(X_4)
壳高(X_2)	0.569 8**	—	—	—
壳宽(X_3)	0.281 5**	0.657 9**	—	—
活体重(X_4)	0.568 9**	0.895 7**	0.728 4**	—
ABT(Y)	0.423 6**	0.161 3	-0.321 9**	0.090 0

注: $r_{0.05, 94} = 0.200 6$, $r_{0.01, 96} = 0.261 7$

2.4 缢蛏心率 ABT 与体尺性状间的通径分析

由 SPSS 22.0 计算得到缢蛏壳长、壳高、壳宽等 3 个体尺性状对心率 ABT 的直接通径系数分别为 0.395 9、0.389 3 和 -0.689 5, 由于 3 个体尺性状彼此相关, 因此某一体尺性状还通过另外两个体尺性状间接影响缢蛏心率 ABT, 它们对心率 ABT 作用的通径关系见图 4。

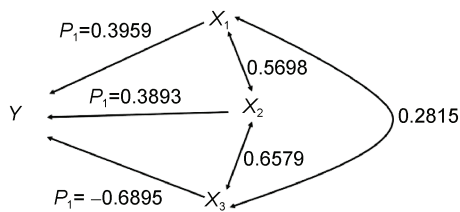


图 4 缢蛏体尺性状与心率 ABT 通径关系图

Fig.4 The path relationship between body size and heart rate ABT of *S. constricta*

进一步计算并整理间接通径分析的结果列于表 3 中, 从表 3 数据可知缢蛏 3 个体尺性状中对心率 ABT 总的影晌中, 壳长最大, 其次为壳宽(总的相关系数为 0.423 6、-0.321 9), 而直接影响中, 壳宽的直接作用最大, 直接通径系数为 -0.689 5, 然后是壳长、壳高, 直接通径系数分别为 0.395 9 和 0.389 3。壳高性状通

过壳宽性状来影响心率 ABT 的作用最大, 间接通径系数为 -0.453 6, 其次是壳宽通过壳高性状对心率 ABT 变化影响, 间接通径系数为 0.256 1, 而壳长和壳宽性状通过彼此作用, 进而影响心率 ABT 的变化最弱, 间接通径系数分别为 -0.194 1 和 0.111 4。

3 讨论

3.1 贝类抗逆性状传统测评方法及其不足

贝类养殖生产过程中, 因自然条件变化或人为因素影响常常受到许多不良生存环境的胁迫, 如高温、低氧、高氨氮等, 给贝类养殖业的稳定增产带来了严重威胁。因此, 近年来贝类育种从早期单纯关注生长性状的遗传改良逐步转变为更加注重抗逆性能提升的思路上来, 在这样的背景下促进了贝类有关抗逆性状评测方法的研究。然而, 目前贝类抗逆性状的评估指标仍然更多地集中于死亡率(Wright *et al*, 1993; Laing *et al*, 1996; Compton *et al*, 2007)、酶活力(An *et al*, 2010; Kvingedal *et al*, 2010)、基因表达(Chapple *et al*, 1998; Hamdoun *et al*, 2003; Park *et al*, 2007)等, 这些方法多需要牺牲贝类活体样本, 且费时费力, 较难在获取抗逆性评价的同时留取性能优良的贝类个体, 大大降低了贝类抗逆材料积累和新品种选育的效率。

表 3 缢蛭体尺性状对心率 ABT 影响的通径分析
Tab.3 The path analysis between heart rate ABT and body size of *S. constricta*

性状	直接作用	间接作用			总相关系数
		壳长 X_1 (mm)	壳高 X_2 (mm)	壳宽 X_3 (mm)	
壳长 X_1 (mm)	0.395 9	—	0.221 8	-0.194 1	0.423 6
壳高 X_2 (mm)	0.389 3	0.225 6	—	-0.453 6	0.161 3
壳宽 X_3 (mm)	-0.689 5	0.111 4	0.256 1	—	-0.321 9

3.2 心跳参数在贝类抗逆性状定量测评中应用与实践

心跳参数的无损测定方法由 Depledge 等(1990)发明,而后经 Chelazzi 等(1999)改进,逐步应用到了贝类抗逆性能分析中。Curtis 等(2000)研究了铜离子胁迫条件下紫贻贝心跳参数的变化规律, Bakhmet 等(2005, 2009)分析了紫贻贝在盐度变化、油污污染等胁迫条件下心率变化的动态特征, Dong 等(2011)研究了帽贝心跳参数对温度变化的响应, 这些研究工作均表明心跳参数可以在不损伤贝类的情况下较好地指示个体的活力水平, 对贝类抗逆性状是一种比较有效和可靠的评价指标。近年来, 国内学者将心跳参数应用到扇贝(Xing *et al.*, 2016, 2019)、鲍(林思恒等, 2016; Chen *et al.*, 2016)等重要养殖贝类抗逆性状评价和遗传改良工作中, 推动和引领了我国贝类育种技术的发展。

3.3 缢蛭心跳参数对温度的响应

缢蛭心跳参数的动态特征和变异规律研究结果表明, 22—34 °C 范围内可采集获得缢蛭心脏搏动的稳定波形, 心率总体上随温度上升呈现规律性变化, 表现为在一定的温度阈值水平以下缢蛭心率随温度的上升而增大, 超过一定的温度阈值即随温度的上升而减少, 平均心率 31 °C 达峰值为 33.66 BMP。不同缢蛭个体之间的心率差异明显, 22 °C 时心率最小值为 13.90 BMP, 最大值为 27.95 BMP, 平均心率为 19.66 BMP, 差异水平最高, 变异系数达 14.06%, 26—31 °C 的中间温度个体间的心率差异相对较小, 但变异系数也均在 8.5%以上; 用阿伦尼乌斯方程可以很好地实现线性拟合并求得每个缢蛭个体的心率 ABT, 所有缢蛭个体中心率 ABT 最小值为 29.74 °C, 最大值为 31.86 °C, 平均值为 31.02 °C。

3.4 缢蛭耐高温品种选育的策略

在我国, 缢蛭是浙江、福建等南方沿海省份重要的经济贝类, 养殖过程中大多要经历夏季高温的考验。据了解, 缢蛭的养殖成活率普遍不足 50%, 其死亡和淘汰主要集中在夏季高温一两个月内。因此, 将

心跳参数引入缢蛭温度适应性性状定量评价, 并据之开展耐高温育种材料筛选和新品种培育非常迫切。在缢蛭耐高温性状的遗传改良过程中, 心率 ABT 可以作为该性状的评测指标, ABT 值高的个体、家系或种群应加以优先保存和利用。本文还研究了缢蛭心率 ABT 与壳长、壳高、壳宽和活体重的相关关系, 建立了心率 ABT 受生长性状影响的最优回归方程, 并进行了通径分析, 结果显示缢蛭壳长对心率 ABT 的总体影响最大, 而壳宽直接的负作用最强, 在缢蛭耐高温新品种选育的过程可以同时关注壳形的选择, 相对扁长的缢蛭个体可能具有更好的耐高温潜力。

4 结论

本文将生物心跳参数红外监测技术应用于缢蛭温度耐受性状定量测定研究, 结果显示在 22—34 °C 范围内可以获得缢蛭心跳的稳定波形, 且符合在升温前期随温度升高心跳加快(心率值变大), 达到一定温度后随温度上升心跳减慢(心率值减少)的特征, 适合运用阿伦尼乌斯方程进行线性拟合求取心率 ABT。进一步统计分析表明, 心率 ABT 在不同缢蛭个体间变异明显, 是其温度耐受性状一种理想的测评指标, 可在缢蛭耐高温新品培育过程中加以利用。同时, 缢蛭心率 ABT 也不同程度地受到其壳长、壳宽等体尺性状的影响, 在缢蛭耐高温性状的遗传改良中可兼顾壳形的选择以提高育种的效率。

参 考 文 献

- 王庆志, 李石磊, 付成东等, 2014. 虾夷扇贝耐高温育种家系的建立与早期筛查. 水产学报, 38(3): 371—377
- 王金鹏, 2016. 牡蛎生长与高温耐受性状的遗传解析. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所)博士学位论文
- 邢强, 2016. 扇贝耐热性与贝壳生长动态检测指标体系的建立及应用. 青岛: 中国海洋大学博士学位论文
- 许友卿, 吴卫君, 蒋伟明等, 2012. 温度对贝类免疫系统的影响及其机理研究进展. 水产科学, 31(3): 176—180
- 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会, 2020. 2020 中国渔业统计年鉴. 北京: 中国农业出版社

- 陈楠, 2016. 基于心率测评的鲍对高温耐受性的研究. 厦门: 厦门大学博士学位论文
- 林思恒, 吴富村, 张国范, 2016. 高温胁迫下皱纹盘鲍不同养殖群体心率变化比较. 海洋科学, 40(11): 84—90
- 董迎辉, 姚韩韩, 张佩云等, 2012. 缢蛏受精和早期卵裂过程的细胞学变化观察. 水产学报, 36(9): 1400—1409
- An M I, Choi C Y, 2010. Activity of antioxidant enzymes and physiological responses in ark shell, *Scapharca broughtonii*, exposed to thermal and osmotic stress: effects on hemolymph and biochemical parameters. Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 155(1): 34—42
- Bakhmet I N, Berger V J, Khalaman V V, 2005. The effect of salinity change on the heart rate of *Mytilus edulis* specimens from different ecological zones. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 318(2): 121—126
- Bakhmet I N, Fokina N N, Nefedova Z A *et al*, 2009. Physiological-biochemical properties of blue mussel *Mytilus edulis* adaptation to oil contamination. Environmental Monitoring and Assessment, 155(1—4): 581—591
- Chapple J P, Smerdon G R, Berry R J *et al*, 1998. Seasonal changes in stress-70 protein levels reflect thermal tolerance in the marine bivalve *Mytilus edulis* L. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 229(1): 53—68
- Chelazzi G, Williams G A, Gray D R, 1999. Field and laboratory measurement of heart rate in a tropical limpet, *Cellana grata*. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 79(4): 749—751
- Chen N, Luo X, Gu Y T *et al*, 2016. Assessment of the thermal tolerance of abalone based on cardiac performance in *Haliotis discus hannai*, *H. gigantea* and their interspecific hybrid. Aquaculture, 465: 258—264
- Compton T J, Rijkenberg M J A, Drent J *et al*, 2007. Thermal tolerance ranges and climate variability: a comparison between bivalves from differing climates. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 352(1): 200—211
- Curtis T M, Williamson R, Depledge M H, 2000. Simultaneous, long-term monitoring of valve and cardiac activity in the blue mussel *Mytilus edulis* exposed to copper. Marine Biology, 136(5): 837—846
- Depledge M H, Andersen B B, 1990. A computer-aided physiological monitoring system for continuous, long-term recording of cardiac activity in selected invertebrates. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology, 96(4): 473—477
- Dong Y W, Han G D, Ganmanee M *et al*, 2015. Latitudinal variability of physiological responses to heat stress of the intertidal limpet *Cellana toreuma* along the Asian coast. Marine Ecology Progress Series, 529: 107—119
- Dong Y W, Williams G A, 2011. Variations in cardiac performance and heat shock protein expression to thermal stress in two differently zoned limpets on a tropical rocky shore. Marine Biology, 158: 1223—1231
- Hamdoun A M, Cheney D P, Cherr G N, 2003. Phenotypic plasticity of HSP70 and HSP70 gene expression in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*): implications for thermal limits and induction of thermal tolerance. Biological Bulletin, 252(2): 160—169
- Kvingedal R, Evans B S, Lind C E *et al*, 2010. Population and family growth response to different rearing location, heritability estimates and genotype \times environment interaction in the silver-lip pearl oyster (*Pinctada maxima*). Aquaculture, 304(1/4): 1—6
- Laing I, Child A R, 1996. Comparative tolerance of small juvenile palourdes (*Tapes decussatus* L.) and Manila clams (*Tapes philippinarum* Adams & Reeve) to low temperature. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 195(2): 267—285
- Nickerson D M, Facey D E, Grossman G D, 1989. Estimating physiological thresholds with continuous two-phase regression. Physiological Zoology, 62(4): 866—887
- Park H, Ahn I Y, Lee H E, 2007. Expression of heat shock protein 70 in the thermally stressed Antarctic clam *Laternula elliptica*. Cell Stress & Chaperones, 12(3): 275—282
- Pernet F, Tremblay R, Comeau L *et al*, 2007. Temperature adaptation in two bivalve species from different thermal habitats: energetics and remodelling of membrane lipids. Journal of Experimental Biology, 210(Pt 17): 2999—3014
- Widdows J, 1973. Effect of temperature and food on the heart beat, ventilation rate and oxygen uptake of *Mytilus edulis*. Marine Biology, 20(4): 269—276
- Wright D A, Kennedy V S, Roosenburg W H *et al*, 1983. Temperature tolerance of embryos and larvae of five bivalve species under simulated power plant entrainment conditions: a synthesis. Marine Biology, 77(3): 271—278
- Xing Q, Li Y P, Guo H B *et al*, 2016. Cardiac performance: a thermal tolerance indicator in scallops. Marine Biology, 163(12): 244
- Xing Q, Zhang L L, Li Y Q *et al*, 2019. Development of novel cardiac indices and assessment of factors affecting cardiac activity in a bivalve mollusc *Chlamys farreri*. Frontiers in Physiology, 10: 293

CORRELATION AND REGRESSION ANALYSIS BETWEEN THE ARRHENIUS BREAK TEMPERATURES (ABT) OF HEART RATE AND GROWTH TRAITS OF *SINONOVACULA CONSTRICTA*

HU Ling-Wei^{1,2}, SUN Chang-Sen^{2,3}, DONG Ying-Hui^{1,2}, LIN Zhi-Hua^{2,3}

(1. Zhejiang Wanli University, College of Biological & Environmental Sciences, Ningbo 315100, China; 2. Zhejiang Key Laboratory of Aquatic Germplasm Resources, Zhejiang Wanli University, Ningbo 315100, China; 3. Ninghai Institute of Mariculture Breeding and Seed Industry, Zhejiang Wanli University, Ninghai 315604, China)

Abstract In this study, by intact infrared monitoring of the biological heartbeat parameters, the waveform characteristics and heart rate data of 96 individuals of bivalve *Sinonovacula constricta* were recorded and analyzed in a temperature range of 22—38 °C. According to the Arrhenius equation, the Arrhenius break temperatures (ABT) of each individual heart rate were obtained by linear fitting, and the relationship between heart rate ABT and growth traits was revealed. Results show that the heart rate of *S. constricta* constantly changed during temperature rising, and the stable waveform of heart beat occurred in the range of 22—34 °C. The heart rate increased with the temperature rising in the early stage, and decreased with the temperature rising in the late stage. The average heart rate reached the peak value of 33.66 BMP at 31 °C. In addition, the differences of heart rate among individuals were obvious, and the most significant differences were found at 22 °C (ranged from 13.90 to 27.95 BMP); the coefficient of variation was up to 14.06%. The differences among individuals were relatively small at 26—31 °C, but the coefficients of variation were all more than 8.5%. The minimum ABT value was 29.74 °C, the maximum was 31.86 among all individuals, and the average value was 31.02 °C. The multiple regression equation between ABT with growth traits in *S. constricta* was built. The direct path coefficient of shell width on heart rate ABT was -0.689 5, while that of shell length was only 0.395 9; although it was small, it plays an indirect role via shell height and shell width (with the indirect path coefficients of 0.221 8 and -0.194 1, respectively), thus the total effect was the most significant (with the correlation coefficient of 0.423 6).

Key words *Sinonovacula constricta*; heart rate ABT; growth traits; stepwise regression; path analysis