

高温下不同盐度对刺参幼参和 1 龄参呼吸排泄的影响

薛素燕¹, 方建光¹, 毛玉泽¹, 张继红¹, 张媛²

(1. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071; 2. 上海海洋大学, 上海 200090)

摘要: 在实验室中模拟研究了高温 (25.3 ~ 26.5 °C) 条件下, 不同盐度对刺参 (*Apostichopus japonicus*) 幼参和 1 龄刺参呼吸排泄的影响。根据对盐度的耐受性不同, 分别将体质量为 (0.03 ± 0.002) g 的幼参暴露于盐度梯度为 20、23、26、30、35 的水体中, 体质量为 (22.73 ± 9.46) g 的 1 龄刺参暴露于盐度梯度为 16、20、25、30、35 的水体中进行盐度变化对其呼吸排泄的影响实验, 测定其耗氧率和排氨率。结果表明, 盐度变化对刺参的呼吸排泄影响显著 ($P < 0.05$)。幼参在 23 ~ 30 盐度、1 龄参 20 ~ 30 盐度范围内, 耗氧率 [R_{O_2} , mg/(g · h)] 和排氨率 [R_{NH_3} , μmol/(g · h)] 随着盐度的升高而降低, 当盐度升高至 35 时, 两者都明显升高 (以盐度 30 为对照), 当盐度降至 20 (幼参)、16 (1 龄参) 时, 刺参耗氧率和排氨率均降低。盐度对刺参 O : N 比值的影响不显著 ($P > 0.05$), 各盐度条件下, 2 种规格刺参的 O : N 比值平均在 14 左右, 表明本实验条件下该刺参代谢所需要的能量主要由脂肪和碳水化合物提供。从呼吸和排泄的角度来看, 在本实验高温 (25.3 ~ 26.5 °C) 条件下, 幼参在 23 ~ 35 盐度、1 龄参 20 ~ 35 盐度范围内具有较好的渗透压调节能力, 而幼参在 20 盐度、1 龄参在 16 盐度下代谢功能较弱。 [中国水产科学, 2009, 16 (6): 975-980]

关键词: 刺参; 盐度; 呼吸; 排泄

中图分类号: Q91

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2009)06-0975-06

盐度是影响海洋无脊椎动物生理生态学最重要的环境因子之一。研究海洋无脊椎动物对盐度变化反应的特点, 找出其最适盐度, 使其更多的能量用于生长, 可提高生长率和食物转化效率。因此研究盐度对海洋无脊椎动物能量收支的影响具有重要的理论和实践意义。

刺参 (*Apostichopus japonicus*) 属棘皮动物门 (Echinodermata)、海参纲 (Holothuroidea), 是一种营底栖碎屑食性的海洋生物, 主要以底质中的有机质、某些细菌和原生动物为食^[1-2]。近年来, 较多养虾池塘被改造用于养殖刺参^[3]。在池塘养殖过程中, 常会遇到因淡水注入或干旱而导致的养殖水体盐度急剧变化, 为刺参带来胁迫反应, 产生能量代谢变化。目前国内外有关盐度对刺参能量学影响的研究较

少, 袁秀堂等^[4]研究了水温 15 °C 时盐度对刺参呼吸排泄的影响, 而夏季刺参保苗期间, 盐度变化范围较大, 可能对刺参的生理代谢产生较大影响, 因此研究较高温度条件下, 盐度变化对刺参呼吸排泄的影响对于刺参的养殖生产具有重要指导作用。

了解高温期间盐度变化对刺参能量代谢的影响, 为评估在不同盐度下刺参的活动对生态系统的影响以及今后开展刺参多营养层次的综合养殖提供基础生物学资料。

1 材料与方法

1.1 材料

实验刺参取自青岛红岛蛤原良种开发有限公

收稿日期: 2009-04-26; 修订日期: 2009-05-05.

基金项目: 国家 863 计划项目 (筏式养殖工程设施及生态养殖技术 2006AA100304, 浅海网箱养殖区多元生物修复技术 2006AA10Z414); 国家科技支撑计划项目 (海珍品底播增殖技术集成与示范 2006BAD09A09); 国家 973 计划项目 (近海食物生产过程的人类影响与可持续生产模式 2006CB400608).

作者简介: 薛素燕 (1980-), 女, 硕士. 主要从事水产养殖生态学研究. E-mail: xuesy@ysfri.ac.cn

通讯作者: 方建光. E-mail: fangjg@ysfri.ac.cn

司,幼参体质量为 (0.03 ± 0.002) g,1龄刺参体质量为 (22.73 ± 9.46) g。

1.2 方法

实验于2006年7月在青岛红岛蛤原良种有限公司实验室内进行。暂养水体盐度30.5,温度 $25.3 \sim 26.5$ °C, pH 8.2~8.4。实验开始前,按照刺参个体大小分别放入5个容积为75 L或4 L的PVC水箱中暂养。幼参设5个盐度水平分别为20、23、26、30、35,1龄参的盐度梯度设为16、20、25、30、35。盐度变化分2种方式进行:(1)每天升降盐度1~2,直至达到实验要求的盐度,待刺参适应2~3 d后进行实验;(2)突然升降到实验要求的盐度进行实验。实验共进行15 d。

实验用水采用盐度为30.5的砂滤海水与充分暴晒的自来水或粗海盐调配而成,并经脱脂棉过滤,用YSI-556便携式水质检测仪测定与校对。实验过程中,每天换水1次,换水量为 $1/3 \sim 1/2$ 。实验用水的总氨氮小于0.1 mg/L,溶解氧大于5 mg/L, pH为8.2~8.4。

将蓄养的刺参取出放入相同盐度的1 000 mL锥形瓶中测定代谢率。幼参每瓶放7个,1龄参每瓶放1个,每组设置3个重复,同时设置1个空白呼吸瓶(不放刺参)作为对照。放入实验刺参,用塑料薄膜密封,幼参和1龄参的实验时间分别为10 h和2 h。分别采用Winkler滴定法和次溴酸钠氧化法测定实验前后水体中溶解氧(DO)和氨氮($\text{NH}_4\text{-N}$)浓度,根据DO和 $\text{NH}_4\text{-N}$ 浓度变化计算耗氧率和排氨率。

1.3 数据计算

耗氧率以单位体质量耗氧率 R_{wr} [Weight specific respiration rate, $\text{mg}/(\text{g} \cdot \text{h})$]表示,其计算公式为:

$$R_{wr} = (C_0 - C_1) (V_i - V_0) / W (T_1 - T_0)$$

式中, C_0 为实验结束时对照瓶中溶氧的浓度(mg/L), C_1 为实验结束时代谢瓶中溶氧的浓度(mg/L), V_i 是各呼吸瓶的容积(mL), V_0 是实验刺参的体积(mL,排水法测得), W 是实验刺参的湿重(g), T_0 和 T_1 分别为刺参实验开始和结束时间。

排氨率以单位体质量排氨率 R_{we} [Weight specific excretion rate, $\mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{h})$]表示,其计算公式为:

$$R_{we} = (N_1 - N_0) (V_i - V_0) / W (T_1 - T_0)$$

式中, N_0 为实验结束时对照瓶中氨氮的浓度(mg/L), N_1 为实验结束时代谢瓶中氨氮的浓度(mg/L), V_i 是各呼吸瓶的容积(mL), V_0 是实验刺参的体积(mL,排水法测得), W 是实验刺参的湿重(g), T_0 和 T_1 分别为刺参实验开始和结束时间。

氧氮比值用公式 $R_{O:N} = R_{wr} / (16 \times 1000) / R_{we}$ 计算。

1.4 统计分析

采用SPSS10.0软件包对数据进行统计分析。对数据进行双因子方差分析并进行S-N-K多重比较,以 $P < 0.05$ 作为不同处理之间显著差异的标志。数值表示方式为平均值 \pm 标准偏差($\bar{x} \pm \text{SD}$)。

2 结果与分析

2.1 刺参耗氧率与盐度的关系

盐度急剧改变或逐渐改变对幼参和1龄刺参的耗氧率都有显著影响($P < 0.01$),而其变化的方式对刺参耗氧率的影响差异不显著($P > 0.05$)。

在本实验设置的盐度范围内,幼参和1龄参的耗氧率总体变化规律一致,都是随盐度的升高先升、后降、再升高,只是出现低值的盐度不同。盐度急剧改变和逐渐改变时幼参 R_w 在盐度20和30下出现低值,其中最低值都出现在盐度30,分别为 $0.0386 \text{ mg}/(\text{g} \cdot \text{h})$ 和 $0.0412 \text{ mg}/(\text{g} \cdot \text{h})$ (图1);与幼参变化规律相似,1龄参 R_{wr} 都在盐度16和30出现低值,最低值出现在盐度16,分别为 $0.0132 \text{ mg}/(\text{g} \cdot \text{h})$ 和 $0.0138 \text{ mg}/(\text{g} \cdot \text{h})$ (图2)。

2.2 刺参排氨率与盐度的关系

盐度变化对幼参和1龄参排氨率(R_{we})的影响与 R_{wr} 相似,即在本实验设置的盐度范围内,刺参的排氨率先升高、后降低、再升高。盐度急剧改变和逐渐改变时幼参 R_{we} 的2个低值出现在盐度20和30,其中最低值都在盐度30,分别为 $0.1753 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{h})$ 和 $0.1656 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{h})$ (图3);1龄参 R_{we} 的2个低值在盐度16和30,最低值都在盐度16,分别为 $0.0479 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{h})$ 和 $0.0542 \mu\text{mol}/(\text{g} \cdot \text{h})$ (图4)。方差分析表明,盐度变化对幼参和1龄刺参的排氨

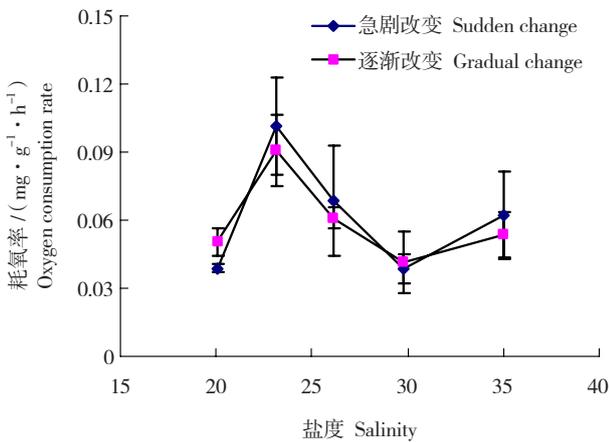


图1 盐度改变对幼参耗氧率的影响

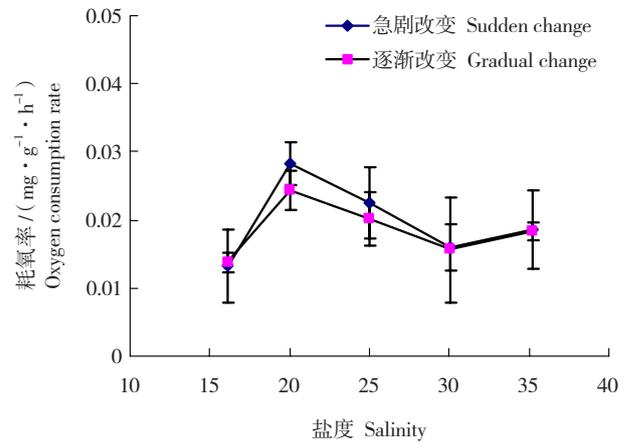
Fig. 1 Effects of sudden and gradual changes of salinity on oxygen consumption rate of juvenile *A. japonicus*

图2 盐度改变对1龄参耗氧率的影响

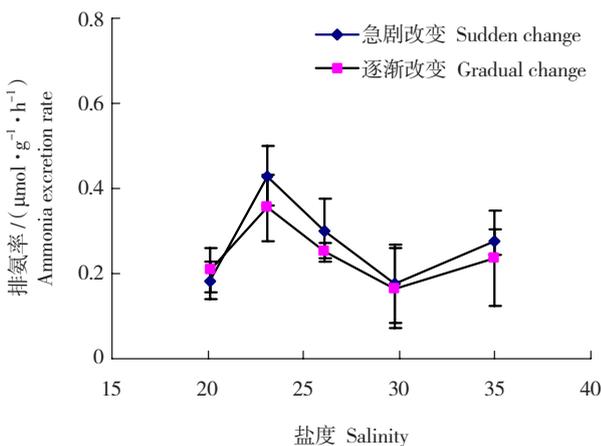
Fig. 2 Effects of sudden and gradual changes of salinity on oxygen consumption rate of one-year-old *A. japonicus*

图3 盐度改变对幼参排氨率的影响

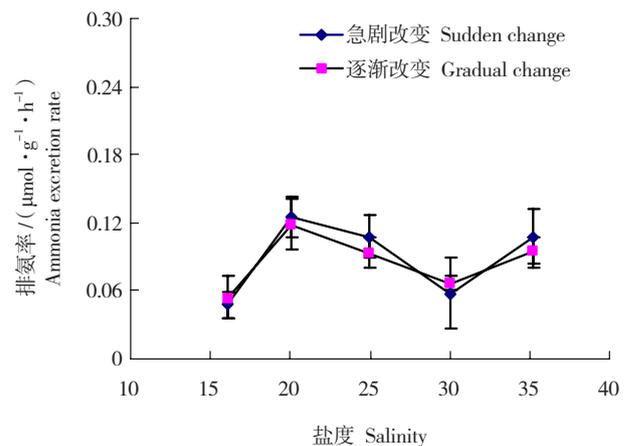
Fig. 3 Effects of sudden and gradual changes of salinity on ammonia excretion rate of juvenile *A. japonicus*

图4 盐度改变对1龄参排氨率的影响

Fig. 4 Effects of sudden and gradual changes of salinity on ammonia excretion rate of one-year-old *A. japonicus*

率都有显著影响($P < 0.05$),而其变化的方式对排氨率的影响差异不显著($P > 0.05$)。

2.3 盐度对刺参O:N比值的影响

生物体的代谢底物主要有蛋白质、脂肪和碳水化合物,氨氮主要是氨基酸和核酸的代谢产物。由于代谢底物不同代谢产物也发生变化。O:N比值是指呼吸氧原子数与排出氨态氮原子数之比,它显示了生物体内不同营养物质被利用的情况。本实验各盐度条件下,2种规格刺参的O:N比值平均在14左右(表1),盐度变化对刺参O:N比值的影响差异不显著($P > 0.05$)。

3 讨论

3.1 盐度对刺参耗氧率的影响

刺参适盐范围为18~39,成参的最低耐受的盐度为16,幼参最低耐受的盐度为18^[5]。据此,本实验设置的盐度梯度都在刺参耐受范围内。结果表明,在高温25.3~26.5℃条件下,盐度30对照组刺参的单位体质量耗氧率较低,而当盐度升高到35或降低至23(幼参)、20(1龄参)时,其耗氧率均上升,这与袁秀堂等研究的结果相似。袁秀堂等^[4]研究发现,在水温15℃条件下,刺参单位体质量耗氧率在盐

表1 盐度改变对幼参和1龄参O:N比值的影响
Tab.1 O:N ratios of juvenile and one year old *A. japonicus* at various salinities

盐度 Salinity	盐度急剧改变 Suddenly changed		盐度 Salinity	盐度逐渐改变 Gradually changed	
	幼参 Juvenile n=21	1龄参 One year old n=3		幼参 Juvenile n=21	1龄参 One year old n=3
20	13.85±2.04	14.42±1.33	16	14.42±2.01	14.31±2.16
23	14.76±1.78	13.84±2.02	20	14.14±1.78	13.78±1.86
26	14.26±2.21	14.05±3.42	25	13.52±1.25	13.41±2.03
30	13.76±2.73	14.66±1.57	30	14.36±2.13	15.17±1.78
35	14.08±1.32	14.26±2.36	35	13.87±1.51	13.74±1.55

度 22~31.5 范围内随着盐度的升高而降低,在盐度 31.5 最低,当盐度升高至 36 时刺参单位体质量耗氧率明显升高。

水生动物处于等渗点时,耗氧率最低,可能是因为此时的动物用于渗透压调节的耗能最少^[4]。根据本实验结果推断,盐度 30 可能或最接近于刺参的体液等渗点,因此与其他实验盐度处理相比,代谢水平低,耗氧率小;低于或高于此盐度,代谢率升高,耗氧率增大。本实验中还发现,当盐度降至 20 (幼参)、16 (1 龄参) 时,刺参单位体质量耗氧率出现最低峰值。Choe^[6] 认为刺参的夏眠临界温度为 24.5℃。虽然在本实验高温条件下(25.3~26.5℃) 1 龄参和幼参并没有进入夏眠,但摄食和活动明显减弱。推断可能由于水温较高,同时处于或接近耐受的盐度下限,由于受到温度、盐度双重胁迫,导致其代谢功能减弱。

3.2 盐度对刺参排氨率的影响

许多报道指出盐度影响棘皮动物的排泄。多数研究认为,盐度改变会导致棘皮动物排氨率的升高^[4,7-9]。本实验研究结果表明,刺参的单位体质量排氨率在盐度 30 下较低,当盐度升高到 35 或降低至 23 (幼参)、20 (1 龄参) 时,其单位体质量排氨率均上升,与其他多数研究结果相似。Talbot 等^[7] 研究海蛇尾(*Ophiophragmlzs filograneus*) 时发现,盐度从 22 降低到 16 时,单位体质量排氨率在整个 10 周的实验期间内均升高,盐度从 22 上升到 30 时,其单位体质量排氨率升高,但差异并不显著。袁秀堂等^[4]

研究报道,在水温 15℃ 条件下,刺参的单位体质量排氨率在盐度 31.5 最低,当盐度升高至 36 和降低至 22 时,单位体质量排氨率均升高。然而也有一些研究结果不同,海星(*Leptasterias hexactis*) 的单位体质量排氨率不受外界环境盐度的影响^[8]。Sabourin 等^[9] 研究表明,当把海参(*E. quinquesemita*) 逐步从纯海水驯化至 50% 海水后,尿素和氨基酸的排泄率增加,而氨氮的排泄率则降低。

棘皮动物氨氮的排泄随着细胞内渗透压调节过程而改变^[10];细胞内游离氨基酸水平的改变与渗透压调节密切相关^[11-14],可通过游离氨基酸的排出或合成来调节体内的渗透压^[15]。低盐度胁迫下,棘皮动物排氨率的升高被认为是在细胞内渗透压调节期间,游离氨基酸的分解作用导致了氨氮排泄量的净增加^[11]。刺参分布区域的盐度范围为 28~34^[16]。在此盐度范围内,刺参对盐度变化的适应能力较强,维持渗透压调节所消耗的能量较少;而在此范围之外,盐度胁迫带来的渗透压调节需要较多游离氨基酸分解,导致了其排氨率的升高。然而本实验的刺参可能身处高温、盐度双重胁迫,当盐度降至 20 (幼参)、16 (1 龄参),刺参的单位体质量排氨率明显降低,代谢功能减弱。

3.3 盐度与刺参O:N比值的关系

O:N 比值表示生物体内蛋白质与脂肪和碳水化合物分解代谢的比率,表示在整个代谢中蛋白质的相对贡献,可以用来评估生物对营养物质的利用特性^[17],是动物呼吸排泄的一个重要生理指标。理

论上, O : N 比值较高(大于 10),说明生物体以脂肪和碳水化合物代谢为主; O : N 比值较低(小于 10),则说明生物体以蛋白质代谢为主^[18]。由表 1 可以看出,幼参和 1 龄参的 O : N 比值在盐度急剧改变和逐渐改变下没有显著差异($P>0.05$),且 O : N 比值平均在 14 左右,说明本实验条件下刺参代谢所需要的能量是由脂肪和碳水化合物提供。诸多学者发现,海参(*E. quinquesemita*)和海胆(*S. droebachiensis*)的 O : N 比值不受盐度变化的影响^[19-20]。袁秀堂等^[4]研究表明,在水温 15℃条件下,盐度对刺参 O : N 比值的影响没有显著差异。由此可以推断,盐度变化对刺参 O : N 比值的影响较小。

本实验水温 25.3~26.5℃超出了刺参的夏眠临界温度,然而幼参和 1 龄刺参在此温度下没有进入夏眠,仍然能够摄食和活动,但明显减弱。在实验期间,盐度从正常水平 30.5 升高或降低至设定盐度,虽然没有影响到刺参的存活,但对刺参的呼吸、代谢产生了显著的影响。从呼吸和排泄的角度来看,在本实验高温(25.3~26.5℃)条件下,幼参在 23~35 盐度、1 龄参在 20~35 盐度范围内具有较好的渗透压调节能力,而幼参在 20 盐度、1 龄参在 16 盐度下代谢功能较弱。根据能量学分析结果,由于呼吸和代谢活动的变化,会有部分能量损失(以最佳的盐度 30 为对照),从而影响刺参的生长速度。因此,在刺参保苗、暂养阶段,应该尽量避免盐度的大幅度改变。

参考文献:

- [1] 杨红生,周毅,王健等. 烟台四十里湾栉孔扇贝、海带和刺参负荷力的模拟测定[J]. 中国水产科学,2001,7(4): 27-31.
- [2] Kang K H, Kwon J Y, Kim Y M. A beneficial coculture: charm abalone *Haliotis discus Hannai* and sea cucumber *Stichopus japonicus* [J]. *Aquaculture*,2003,216: 87-93.
- [3] Chen J X. Present status and prospects of sea cucumber industry in China [M]. In: *advances in sea cucumber aquaculture and management*. Rome: FAO,2004: 25-38.
- [4] 袁秀堂,杨红生,周毅,等. 盐度对刺参(*Apostichopus japonicus*)呼吸和排泄的影响[J]. 海洋与湖沼,2006,37(4): 348-354.
- [5] 肖培华,谭福伟,唐永新,等. 刺参对较低盐度的适应试验[J]. 齐鲁渔业,2004,21(6): 20-21.
- [6] Choe S. Study of sea cucumber: morphology, ecology and propagation of sea cucumber [J]. Tokyo: Kaibundou Publishing House, Japan, 1963: 133-138.
- [7] Talbot T D, Lawrence J M. The Effect of salinity on respiration, excretion, regeneration and production in *Ophiophragmus lograneus* (Echinodermata: Ophiuroidea) [J]. *J Exp Mar Biol Ecol*,2002,275: 1-14.
- [8] Shirley T C, Stickle W B. Responses of *Leptasterias hexactis* (Echinodermata: Asteroidea) to low salinity II. Nitrogen Metabolism. Respiration and Energy Budget [J]. *Mar Biol*,1982,69: 155-163.
- [9] Sabourin T D, Stickle W B. Effect of salinity on respiration and nitrogen excretion in two species of Echinoderms [J]. *Mar Biol*,1981,65: 91-99.
- [10] Lawrence J M, Lane J M. The Utilization of nutrients by postmetamorphic echinoderms [J]. In: *Echinoderm Nutrition*, A.A. Balkema Publishers, Rotterdam, Netherlands, 1982: 331-371.
- [11] Emerson D N. Influence of salinity on ammonia excretion rates and tissue constituents of euryhaline invertebrates [J]. *Comp Biochem Physiol*,1969,29A: 1115-1133.
- [12] Ellington W J, Lawrence J M. Coelomic fluid volume regulation and isosmotic intracellular regulation by *Luidia clathrata* (Echinodermata: Asteroidea) in response to hyposmotic stress [J]. *Boil Bull Mar Boil Lab Woods Hole*,1974,146: 20-31.
- [13] Diehl W J. Osmoregulation in echinoderms [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1986,84A: 199-205.
- [14] Binyon J. The effects of diluted seawater upon podial tissues of the starfish *Asterias rubbens* L [J]. *Comp Biochem Physiol*,1972,41A: 1-6.
- [15] Farmer L and Reeve M R. Role of the amino acid pool of the copepod *Acartia tonsa* in adjustment to salinity change [J]. *Mar Biol*,1978,48: 311-316.
- [16] 隋锡林. 海参增养殖[M]. 北京: 农业出版社,1988.
- [17] Bayne B L, Widdows J. Physiological ecology of two populations of *Mytilus edulis* L [J]. *Oecologia*,1978,37: 137-162.
- [18] 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): 182-186.
- [19] Stickle W B, Shirley T C, Sabourin T D. Patterns of nitrogen excretion in four species of echinoderms as a function of salinity [J]. In: *Proc Inter Echinoderm Conf.*A.A. Balkema Publishers, Rotterdam, Netherlands, 1982: 371-377.
- [20] Sabourin T D, Stickle W B. Effect of salinity on respiration and nitrogen excretion in two species of Echinoderms [J]. *Mar Biol*,1981, 65: 91-99.

Effects of salinity on the respiration and ammonia excretion of sea cucumber *Apostichopus japonicus* under high temperature

XUE Su-yan¹, FANG Jian-guang¹, MAO Yu-ze¹, ZHANG Ji-hong¹, ZHANG Yuan²

(1.Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China; 2.Shanghai Ocean University, Shanghai 200090, China)

Abstract: Effects of salinity on the respiration and ammonia excretion of *A. japonicus* between the temperature of 25.3–26.5 °C were studied in the laboratory. The animals were divided into two size groups with body weight of (0.03±0.002) g and (22.73±9.46) g respectively. Because of different salinity tolerance of the animals, the trail was set up with five salinity gradients (20,23,26,30,35 for juveniles and 16,20,25,30,35 for bigger ones) on a series of sudden and gradual salinity changes. The weight specific respiration rate [Rwr, mg/(g·h)] and the weight specific excretion rate [Rwe, μmol/(g·h)] were determined in order to investigate the impact of salinity changes on the respiration and ammonia excretion of *A. japonicus*. Results showed that the respiration and ammonia excretion were significantly affected by the salinity changes ($P<0.05$). At the salinity of 30, the animals respired and excreted at a low level. The respiration rate and ammonia excretion rate increased significantly at higher salinity of 35 and at lower salinity of 23 for the juvenile group or 20 for the one year old group. The salinity had no significant impacts on the ratio of O:N ($P>0.05$). The values of O:N ratios were 14.21 ± 2.37 (mean±SD), which indicated that the sea cucumbers in the experiment mainly utilized carbohydrate and lipid as their energy sources. Results indicated that the sea cucumbers in the optimum salinity range have the ability of osmoregulation at temperature of 25.3–26.5 °C while metabolic function weakened at the critical salinity. [Journal of Fishery Sciences of China, 2009, 16 (6): 975–980]

Key words: *Apostichopus japonicus*; salinity; respiration; ammonia excretion

Corresponding author: FANG Jian-guang. E-mail: fangjg@ysfri.com