



三种扇贝种间血液生理指标比较及热胁迫对栉孔扇贝血液生理指标的影响

崔 畅¹, 杨祖晶¹, 窦 峥¹, 陆 维¹, 邢 强^{1,2},
黄晓婷^{1,2*}, 胡景杰^{1,3}, 包振民^{1,2,3}

(1. 中国海洋大学海洋生命学院, 海洋生物遗传学与育种教育部重点实验室, 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 266237;

3. 中国海洋大学三亚海洋研究院, 热带海洋生物种质资源开发与种业工程实验室, 海南 三亚 572000)

摘要: 为了比较 3 种扇贝血液中的 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 和 Cl^- 浓度, 血氧 (pO_2) 和血二氧化碳 (pCO_2) 气体分压及血液酸碱度 (pH) 的差异情况, 实验利用血气分析仪对栉孔扇贝、虾夷扇贝和海湾扇贝的血液生理指标进行测定。结果显示, 扇贝的血液生理指标呈现显著的物种差异, 其中栉孔扇贝血液的 K^+ 浓度 $[(15.74 \pm 1.47) \text{ mmol/L}]$ 、 Na^+ 浓度 $[(388.07 \pm 11.38) \text{ mmol/L}]$ 、 Cl^- 浓度 $[(462.43 \pm 6.88) \text{ mmol/L}]$ 和 pO_2 $[(140.13 \pm 15.35) \text{ mmHg}]$ 最高。此外, 栉孔扇贝和虾夷扇贝的 Ca^{2+} 浓度和 pCO_2 含量较高, 而海湾扇贝的 pH 最高。对相同月龄不同大小栉孔扇贝血液指标进行比较, 发现栉孔扇贝的血液 pH 值与其壳高呈正相关 ($r=0.611$), 而生理指标与壳高呈负相关。随着温度的升高, 栉孔扇贝血液的 Ca^{2+} 浓度显著增加, 而 pO_2 显著下降, K^+ 、 Na^+ 和 Cl^- 浓度先升高后恢复到初始水平, 而 pH 和 pCO_2 保持相对稳定。研究结果为贝类血液生理研究提供参考, 也为贝类生理状态的评估提供了一种新的思路与方法。

关键词: 扇贝; 栉孔扇贝; 血液; 离子浓度; 气体分压; 酸碱平衡; 热胁迫

中图分类号: Q 955; S 968.3

文献标志码: A

血液生理分析是指通过物理、化学方法, 对人或动物血液中的各种物质进行检测, 常见的血液生理指标包括 (K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 、 Cl^- 、血氧分压 (partial pressure of oxygen, pO_2)、血二氧化碳分压 (partial pressure of carbon dioxide, pCO_2) 和血液酸碱度 (pH) 等^[1]。随着医学上检验自动化的发展, 目前所有的血液生理指标检测基本都通过仪器完成, 如血气电解质分析仪, 血液细胞分析仪等, 具有自动化、高效、高通量、节约样品等优点。

血液生理在医学中发挥了重要的应用。动脉

血气分析 (arterial blood gas, ABG) 作为一种成熟的临床医学诊断技术, 可以有效地检测患者的血氧含量及酸碱平衡状态, 为重症肺炎或呼吸道疾病的治疗提供参照^[2]。此外, 研究表明血液生理指标广泛应用在动物的生理和病理的检测。例如, Tvedten 等^[3]通过分析牛 (*Bos taurus*) 的尾骨血 pO_2 来判断静脉血是否受到动脉血污染。李志英^[4]通过监测肺腺瘤病羊 (*Ovis aries*) 在治疗过程中静脉血的 K^+ 浓度及 pO_2 随治疗时间的变化来反映其体内氧气的供应状态。在对异育银鲫 (*Carassius*

收稿日期: 2021-11-22 修回日期: 2022-01-20

资助项目: 国家重点研发计划 (2018YFD0900304); 国家现代农业产业技术体系专项; 三亚崖州湾科技城管理局专项 (SKJC-KJ-2019KY01)

第一作者: 崔畅 (照片), 从事扇贝血液生理与携氧蛋白研究, E-mail: cuichang2019@139.com

通信作者: 黄晓婷, 从事贝类遗传育种与逆境生物学研究, E-mail: xthuang@ouc.edu.cn



auratus gibelio) 的研究中, 血液中 K^+ 浓度的异常升高可以作为其处于亚硝酸盐中毒状态的指标^[5]。同时, 血液生理指标在揭示外界环境条件变化对动物生理状态影响中发挥重要作用。李静^[6]测量热应激条件下肉鸡 (*Gallus gallus*) 的血液 pO_2 、 pCO_2 和 pH 来反映其体内酸碱平衡状态。Zit-tier 等^[7]的研究表明, 在温度和酸化共同胁迫下, 蜘蛛蟹 (*Hysa araneus*) 血液的 pCO_2 升高而 pH 降低, 导致其活动能力下降。马金武^[8]在对三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) 的盐度胁迫研究中发现, 高盐度组 K^+ 浓度先上升再下降, 而 Na^+ 和 Cl^- 浓度先下降后恢复稳定, 表明这几种离子在三疣梭子蟹体内渗透压调节过程中起重要作用。对澳洲扇贝 (*Pecten fumatus*) 的研究发现, 地震勘探时声波的反复刺激会导致扇贝血液中的 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 和 Cl^- 显著下降, 破坏血液的离子平衡, 对扇贝循环功能造成负面影响^[5]。

扇贝属于软体动物门 (Mollusca) 双壳纲 (Bivalvia), 是我国重要的海水养殖贝类, 具有极高的经济价值。据《2020 年中国渔业统计年鉴》统计, 2019 年我国扇贝的总产量为 182 万 t, 养殖面积达 41 万 hm^2 。我国主要的经济扇贝种类为栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*)、虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*) 和海湾扇贝 (*Argopecten irradians*) 等。扇贝生活史复杂, 生长发育过程中易受外界环境变化的影响^[9], 有研究表明, 夏季持续高温会严重影响扇贝的生长发育, 甚至造成大规模死亡^[10]。优良品种的选育是扇贝产业可持续发展的重要基础, 但目前尚未有能够检测扇贝生理状态与抗逆能力的有效方法。血液生理指标作为一种医学和兽医学常用的检测手段, 能够反映生物的生理状态, 具有检测快速、高通量等优势。本研究通过血气分析仪测定 3 种主养扇贝的血液生理指标、不同大小栉孔扇贝的血液生理指标及其在梯度升温过程中的指标变化, 比较扇贝种间血液生理指标的差异以及扇贝体尺性状与血液生理指标的相关性, 分析高温胁迫对栉孔扇贝血液生理指标的影响, 为扇贝个体的生理状态检测开拓新的思路。

1 材料与方法

1.1 实验材料

三种扇贝种间血液生理指标比较 选取大小相似的栉孔扇贝 (壳高 42.55~56.12 mm)、虾夷扇贝 (壳高 46.05~64.83 mm)、海湾扇贝 (壳高

43.33~58.72 mm) 各 30 只, 样本分别取自山东青岛崂山养殖区 (2019 年 6 月)、山东蓬莱北隍城养殖区 (2019 年 6 月) 和山东烟台莱州湾养殖区 (2018 年 10 月)。所有扇贝样本取回实验室暂养 1 周, 暂养温度分别为栉孔扇贝 20 $^{\circ}C$ 、虾夷扇贝 18 $^{\circ}C$ 、海湾扇贝 20 $^{\circ}C$, 与取材时海区温度保持一致, 之后进行血液生理指标的测定。实验所用海水取自青岛近海, 海水盐度为 30, pH 为 8.0。暂养期间贝类饵料为小新月菱形藻 (*Nitzschia closterium*) (大连健洋生物科技有限公司), 每日投喂 2 次, 投喂浓度为 10^6 个/mL。

栉孔扇贝血液生理指标与壳高性状相关性分析 选取 12 月龄不同大小的栉孔扇贝 100 只 (壳高 31.43~68.50 mm), 样本于 2019 年 6 月取自山东青岛崂山养殖区, 扇贝样本取回实验室后置于 21 $^{\circ}C$ 海水中, 暂养 1 周后进行血液生理指标的测定。其他实验室暂养条件同“三种扇贝种间血液生理指标比较”。

梯度升温胁迫对栉孔扇贝血液生理指标的影响 选取 120 只大小相近的 18 月龄栉孔扇贝 (壳高 52.13~70.46 mm), 样本于 2020 年 10 月取自山东青岛崂山养殖区, 实验室暂养期间温度为 21 $^{\circ}C$, 与养殖海区保持一致, 暂养 1 周后进行实验, 将所有扇贝随机分配于 3 个 100 L 实验缸中, 每缸放置 40 只。温度胁迫实验自暂养温度 21 $^{\circ}C$ (对照组) 缓慢升温, 每 24 小时升高 1 $^{\circ}C$, 升温过程在 1 h 内完成, 升温完成后保持该温度至下次升温过程开始 (约 23 h), 重复梯度升温过程直至温度达到 32 $^{\circ}C$ 。海水加热及温度的保持由加热棒实现。栉孔扇贝在每个温度下胁迫 12 h 后, 随机选取 6 只进行血液生理指标的测定。

1.2 扇贝血液生理指标的测定

实验所用仪器为血气电解质分析仪 PL2000 (南京普朗医疗设备公司)。在开始取样前启动血气分析仪, 将仪器进行两点定标, 定标通过后仪器处于正常工作状态, 启动测量模式。将待测扇贝样本置于干净实验台, 用纸巾擦拭表面去除海水, 约 1 min 后扇贝自然开壳暴露出闭壳肌。使用消毒的医用手术刀片在扇贝闭壳肌正中央横切一个约 5 mm 的切口, 用 2.5 mL 一次性注射器吸取约 1.5 mL 血淋巴液至 2 mL 离心管, 置于冰上等待检测。扇贝血淋巴样品上样量约为 200 μL , 每个样品的测量时间约为 3 min。实验过程中操作人员严格遵守实验动物相关伦理规范。

1.3 数据分析

扇贝的血液生理指标以平均值 $\pm$ 标准差 (mean $\pm$ SD) 表示, 使用 SPSS 20.0 软件对血液生理指标数据进行分析, 使用 One-Way ANOVA 分析及 Tukey 氏法检验不同实验组间数值的差异, 显著差异定义为 $P<0.05$, 使用线性回归模型对数据进行拟合, 使用 GraphPad 8.0 软件作图, 使用 Pearson 相关系数 r 来表示 2 个变量 X 和 Y 之间的相关性, r 的取值范围为 $-1<r<1$, 当 $r>0$ 时 2 个变量呈正相关, 当 $r<0$ 时 2 个变量呈负相关, 当 $|r|\leq 0.3$ 时为弱相关, $0.3<|r|\leq 0.5$ 为中等程度相关, $0.5<|r|\leq 0.7$ 为强相关, $|r|>0.7$ 为极强相关, 相关性的显著性分析定义为 $P<0.05$ [11]。

2 结果

2.1 3 种扇贝的血液生理指标

血液中的 K^+ 浓度分别为栉孔扇贝 (15.74 ± 1.47) mmol/L、虾夷扇贝 (14.57 ± 1.32) mmol/L、海湾扇贝 (12.79 ± 1.70) mmol/L。单因素方差分析表明, 栉孔扇贝的 K^+ 浓度显著高于虾夷扇贝, 而二者都显著高于海湾扇贝 ($P<0.05$)。栉孔扇贝的 Na^+ 浓度为 (388.07 ± 11.38) mmol/L, 而虾夷扇贝和海湾扇贝分别为 (378.31 ± 7.96) 和 (366.30 ± 20.85) mmol/L, 3 种扇贝之间差异显著 ($P<0.05$) (图 1)。在 Ca^{2+} 浓度方面, 栉孔扇贝 [(8.62 ± 0.69) mmol/L] 和虾夷扇贝 [(8.66 ± 0.52) mmol/L] 显著高于海湾扇

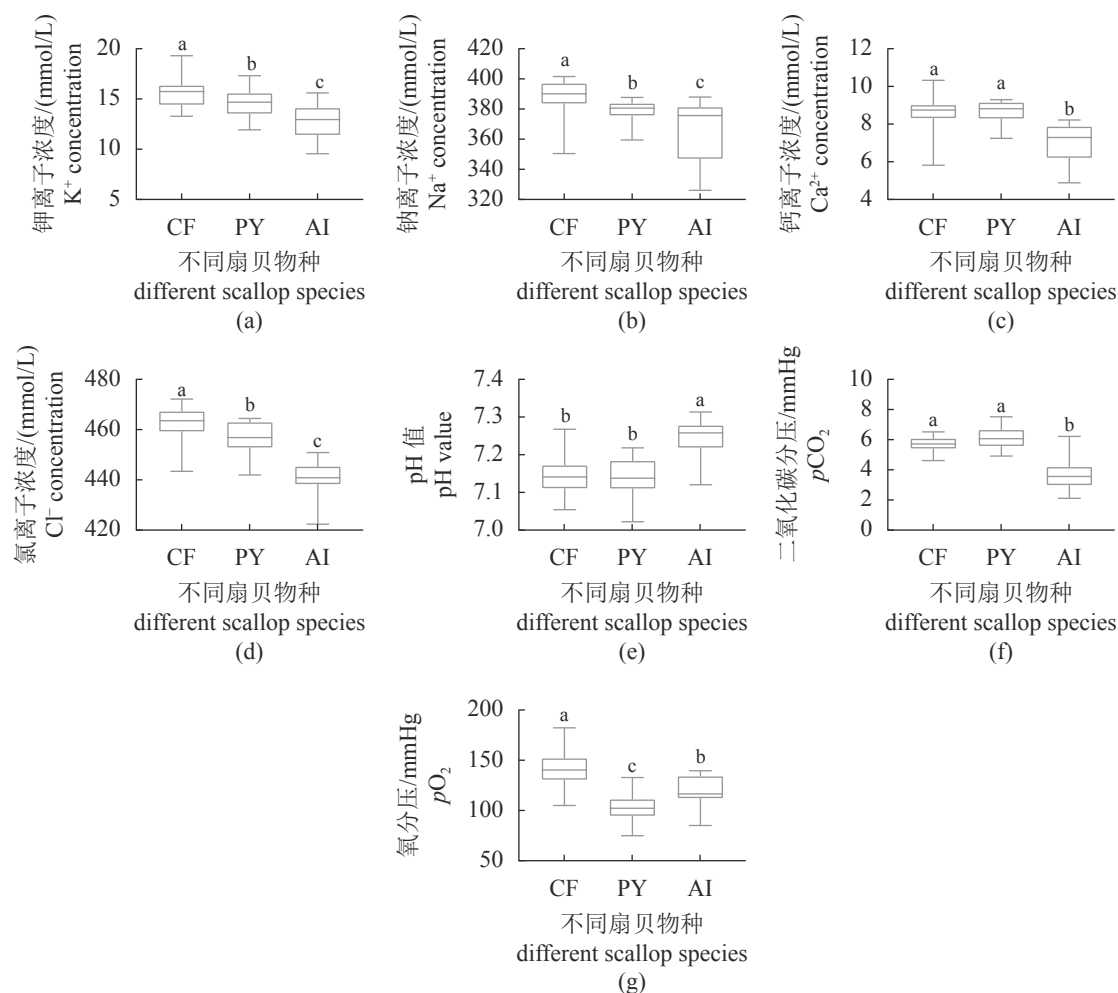


图 1 3 种扇贝的血液生理指标

(a) K^+ 浓度, (b) Na^+ 浓度, (c) Ca^{2+} 浓度, (d) Cl^- 浓度, (e) pH 值, (f) 二氧化碳分压, (g) 氧分压, 下同; CF. 栉孔扇贝, PY. 虾夷扇贝, AI. 海湾扇贝; 不同字母表示不同扇贝种类间存在显著差异 ($P<0.05$)。

Fig. 1 Blood physiological parameters of the three species of scallops

(a) K^+ concentration, (b) Na^+ concentration, (c) Ca^{2+} concentration, (d) Cl^- concentration, (e) pH value, (f) pCO_2 , (g) pO_2 , the same below; CF. *C. farreri*, PY. *P. yessoensis*, AI. *A. irradians*; different letters indicate that there are significant differences between different scallop species ($P<0.05$).

贝 $[(7.05 \pm 0.91) \text{ mmol/L}]$ 。3 种扇贝 Cl^- 浓度从高到低依次为栉孔扇贝 $(462.43 \pm 6.88) \text{ mmol/L}$ 、虾夷扇贝 $(456.46 \pm 5.99) \text{ mmol/L}$ 和海湾扇贝 $(439.62 \pm 7.95) \text{ mmol/L}$, 且不同种类间差异显著 ($P < 0.05$)。

在血气分压方面, 栉孔扇贝的 $p\text{CO}_2$ 和 $p\text{O}_2$ 分别为 (5.66 ± 0.45) 和 $(140.13 \pm 15.35) \text{ mmHg}$, 虾夷扇贝分别为 (6.05 ± 0.63) 和 $(103.17 \pm 13.92) \text{ mmHg}$, 而海湾扇贝分别为 (3.65 ± 0.92) 和 $(118.31 \pm 13.98) \text{ mmHg}$ 。单因素方差分析表明, 栉孔扇贝和虾夷扇贝的 $p\text{CO}_2$ 显著高于海湾扇贝, 而栉孔扇贝的 $p\text{O}_2$ 显著高于虾夷扇贝和海湾扇贝 ($P < 0.05$)。

栉孔扇贝血液 pH 为 7.15 ± 0.04 , 而虾夷扇贝和海湾扇贝分别为 7.14 ± 0.05 和 7.23 ± 0.05 , 其中海湾扇贝的 pH 显著高于另外两种扇贝 ($P < 0.05$)。

2.2 栉孔扇贝血液生理指标与壳高性状的相关性

栉孔扇贝血液的 K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 和 Cl^- 浓度以及 $p\text{O}_2$ 均与其壳高呈显著负相关 ($r < 0$, $P < 0.05$), 其中 $p\text{O}_2$ 与壳高为极强相关 ($r = -0.81$), K^+ ($r = -0.70$) 和 Cl^- ($r = -0.52$) 与壳高为强相关, Ca^{2+} ($r = -0.38$) 与壳高呈中等程度相关, 而 Na^+ ($r = -0.24$) 与壳高呈弱相关。pH 与壳高呈显著正相关, 且相关性较高 ($r = 0.611$, $p < 0.05$), 而 $p\text{CO}_2$ ($r = -0.07$, $P = 0.47$) 与壳高无显著相关性 (图 2)。

2.3 梯度升温对栉孔扇贝血液生理指标的影响

随着温度升高, 在 23°C 时栉孔扇贝血液的 K^+ 浓度达到最高值, 与 21°C 时差异显著, 之后随温度升高而逐渐恢复至对照组水平。栉孔扇贝血液的 Na^+ 浓度随温度升高表现出先升高后下降再升高的波动过程, 在 25 和 28°C 显著高于对照水平, 在 26 和 27°C 下降, 29°C 后恢复至起始浓度。栉孔扇贝血液的 Ca^{2+} 浓度随着温度升高而呈现缓慢升高的趋势, 在 28 、 29 以及 32°C 时显著高于 21°C 对照组 ($P < 0.05$)。栉孔扇贝血液的 Cl^- 浓度变化趋势与 Na^+ 类似, 呈现出先升高后降低再升高的情况。栉孔扇贝血液的 $p\text{CO}_2$ 与 pH 值在梯度升温过程中随着温度升高有所波动, 但均与对照组无显著差异。栉孔扇贝血液的 $p\text{O}_2$ 随温度升高持续下降, 在 26°C 时显著低于 21°C 对照组 ($P < 0.05$), 最后 32°C 时 $(67.85 \pm 8.95) \text{ mmHg}$ 极显著低于 21°C 对照组 ($P < 0.01$) (图 3)。

综上所述, 栉孔扇贝血液中的 K^+ 浓度在梯度升温胁迫开始时立刻上升, 然后随着温度升高缓

慢下降, 最后恢复至初始水平, Na^+ 、 Cl^- 浓度随温度升高呈现先升高, 在 26 和 27°C 降低后又再次升高, 后恢复至与对照组 21°C 下的同一水平。 Ca^{2+} 浓度持续升高, 自 28°C 开始显著高于对照组。pH 和 $p\text{CO}_2$ 随温度升高变化不明显, 但 $p\text{O}_2$ 随温度升高持续降低, 从 26°C 开始显著低于对照组。

3 讨论

本研究利用血气分析仪对 3 种扇贝的血液生理指标进行了测定。结果显示, 扇贝种间血液生理指标差异显著, 例如栉孔扇贝的血液生理指标 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 和 $p\text{O}_2$ 均显著高于虾夷扇贝。郝杰华等^[12] 的研究表明, 在相同温度下, 属于冷水种的虾夷扇贝, 其心率、血液流速、低氧环境耐受能力等指标均低于暖水性种类栉孔扇贝。本研究中虾夷扇贝血液中的 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 和 $p\text{O}_2$ 显著低于栉孔扇贝, 可能与冷水物种虾夷扇贝血液循环速率慢导致物质交换和氧气运输相对缓慢有关。海湾扇贝原产于美国大西洋沿岸和墨西哥湾沿岸, 适温范围较广, 在 10°C 以下生长缓慢, 在 $18 \sim 28^\circ\text{C}$ 生长速率较快, 与栉孔扇贝的自然分布和生活习性存在较大差异^[9]。Zhu 等^[13] 和 Xing 等^[14] 的研究表明, 在 20°C 左右栉孔扇贝的心率高于海湾扇贝, 心率可以影响血液循环、物质交换等过程, 海湾扇贝各生理指标均显著低于栉孔扇贝, 可能与其较低的循环速率有关。另外, Abele 等^[15] 发现, 贝类外套膜内腔液的 $p\text{O}_2$ 低于海水 $p\text{O}_2$, 与其代谢率呈正相关, 并且不同软体动物的外套膜内腔液 $p\text{O}_2$ 均不相同。在本研究中, 3 种扇贝的血液 $p\text{O}_2$ 差异显著, 且均低于海水的氧分压 $(160.28 \pm 9.96) \text{ mmHg}$, 同时也发现了 3 种扇贝的外套膜内腔液 $p\text{O}_2$ 与血液 $p\text{O}_2$ 相似, 这表明外套膜内腔液 $p\text{O}_2$ 可作为扇贝物种鉴定的参考指标之一。

Furgal 等^[16] 关于海兔 (*Aplysia californica*) 心脏的研究表明, 心率与呼吸能力存在正相关。Xing 等^[14] 的研究表明, 随着栉孔扇贝壳高增加, 其心率呈下降的趋势, 同时心脏的振幅随着壳高的增加而增大, 表明较大个体的扇贝心率低, 但心脏单次泵血能力强于小个体扇贝。在本研究中, K^+ 、 Na^+ 、 Ca^{2+} 和 Cl^- 浓度及 $p\text{O}_2$ 分压与壳高呈负相关, 可能与体型大, 血液循环速率变慢导致其物质交换能力相对缓慢有关。栗志民等^[17] 在对企鹅珍珠贝 (*Pteria penguin*) 的研究中发现, 体型小的个体比体型大的个体具有更高的呼吸速率。高振

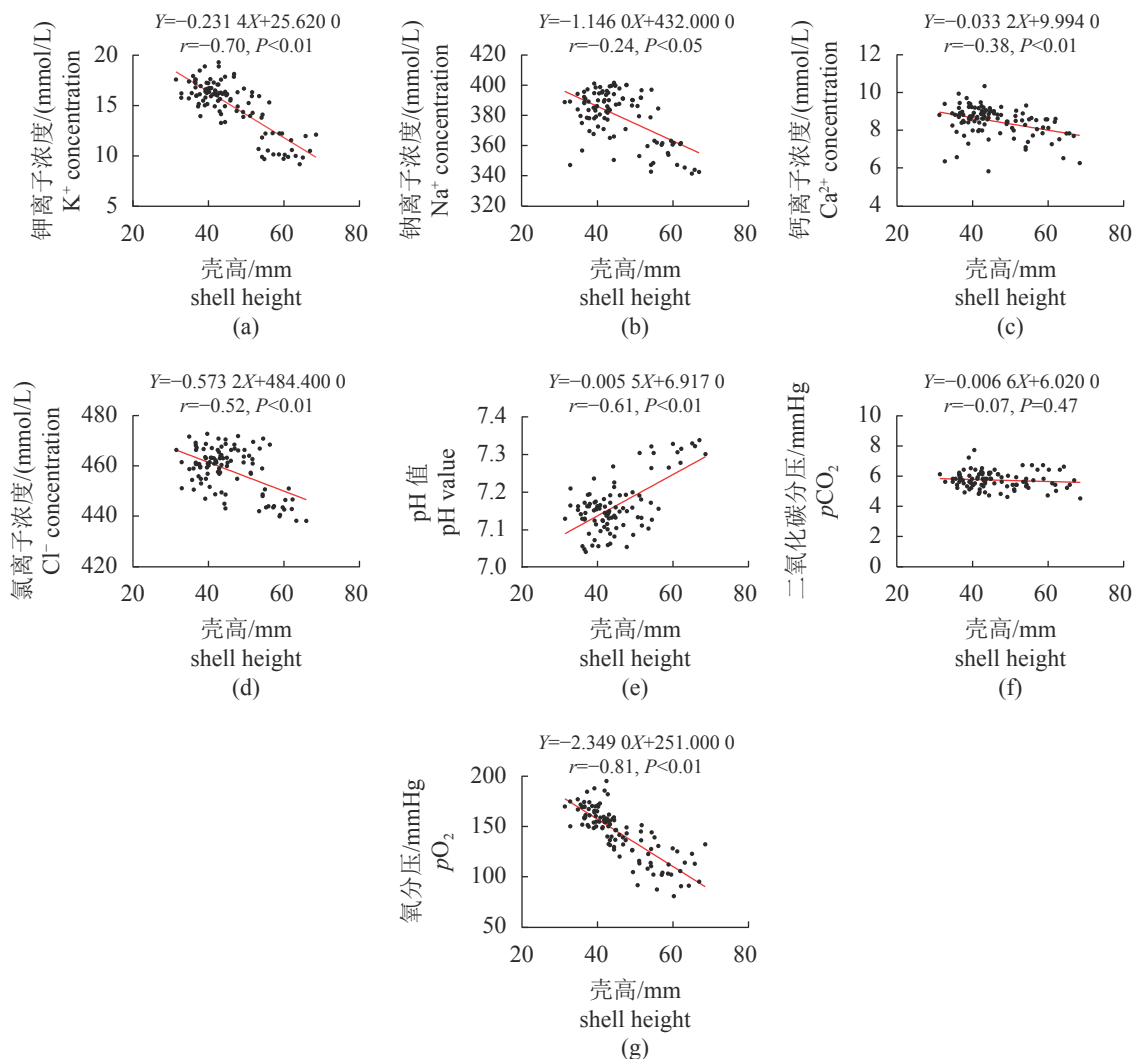


图2 栉孔扇贝血液生理指标与壳高性状的相关性

X 为扇贝壳高, Y 为扇贝血液生理指标, r 为线性拟合的相关系数, P 为线性拟合的显著性检验值, 红色线段为拟合直线。

Fig. 2 Correlation between blood physiological parameters and shell height of *C. farreri*

X is shell height, Y is blood physiological parameter, r is the correlation coefficient of linear fitting, P is the significance of linear fitting, red line is the fitting line.

银等^[18]在对虾夷扇贝的研究中也发现, 相同养殖条件下, 体型大的虾夷扇贝呼吸速率低于体型小的个体, 贝类单位体重耗氧率与个体大小成反比, 小规格虾夷扇贝的代谢率较高, 说明小规格的扇贝代谢作用较强。在本研究中, 栉孔扇贝大个体血液中的 pO_2 低于小个体, 说明小个体扇贝血液中的氧气含量更高, 暗示了小个体扇贝氧气代谢高于大个体扇贝。在对静水椎实螺 (*Lymnaea stagnalis*) 的研究中发现, 随着饵料的摄入, 动物由饥饿状态变为饱食状态, 其体内血淋巴的 pH 值随之降低。与饥饿状态相比, 饱食状态下动物呼吸活动增加而摄食活动下降是导致其 pH 发生变化的主要原因, 进一步研究发现, 静水椎实螺血淋

巴酸碱平衡的调控可以通过呼吸与消化活动相关的神经元进行介导^[19]。本研究中随着扇贝体型增大, 血液中的 pH 增加, 而 pCO_2 下降, 可能由于体型较大的扇贝个体饵料需求量大, 在实验室相同饵料条件下, 体型较大的个体仍处于饥饿状态, 而体型较小的扇贝已达到饱食状态, 其呼吸活动增加导致血液 pH 值下降而 pCO_2 上升。

在梯度升温实验中, 栉孔扇贝血液生理指标呈现出明显的波动, 其中 Ca^{2+} 呈现逐渐升高的趋势。 Ca^{2+} 是血液中常见的组分, 其浓度与动物的心肌收缩密切相关, 血液中 Ca^{2+} 浓度的增加能促进动物血液循环加快^[20]。在 Jensen 等^[21]的研究中, 血钙的升高与肌肉的收缩功能有关, Ca^{2+} 能增强

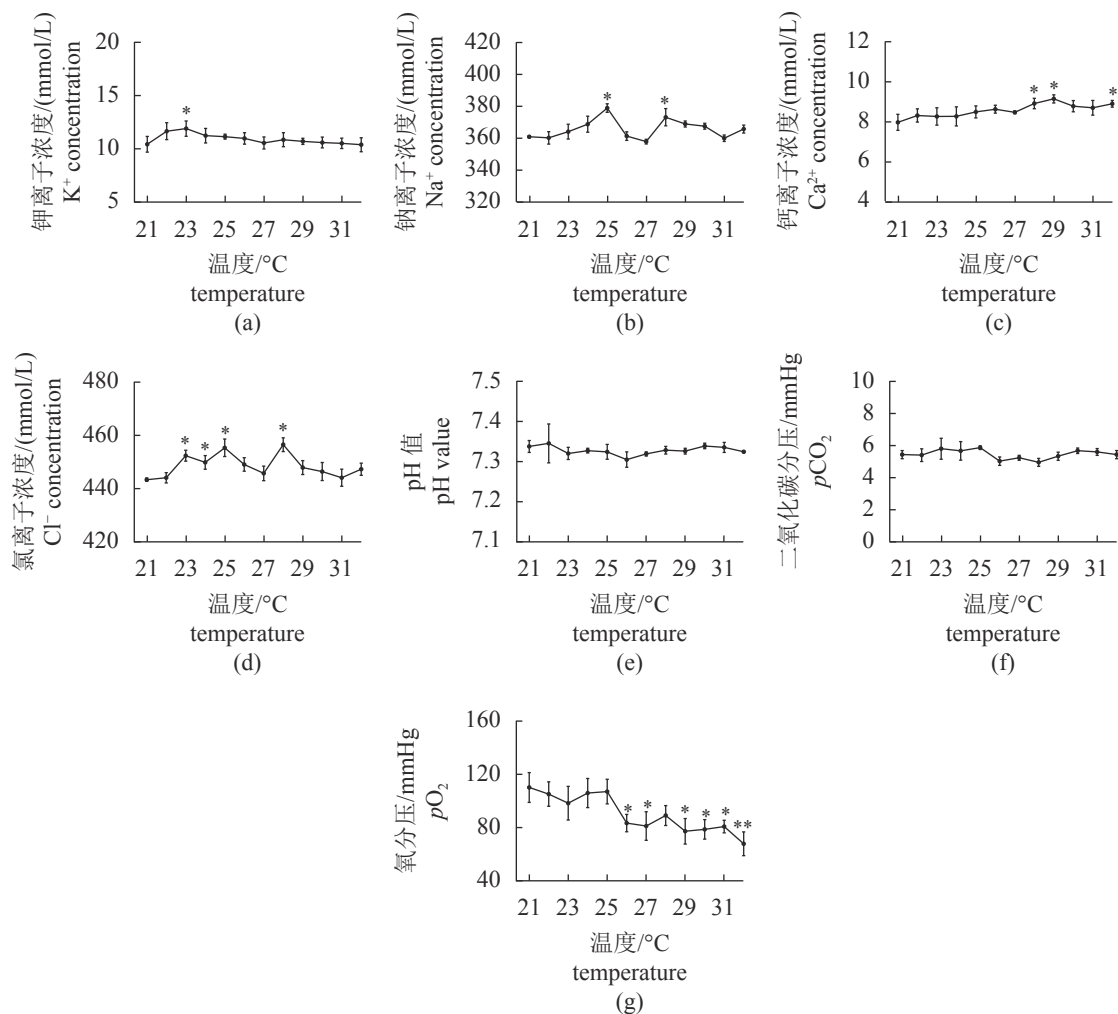


图3 不同温度下栉孔扇贝的血液生理指标

Fig. 3 Blood physiological parameters of *C. farreri* at different temperatures

*, $P < 0.05$; **, $P < 0.01$.

心肌和神经传导系统的兴奋性, 而由 Ca^{2+} 组成的 Ca^{2+} -ATP 酶又是心肌收缩的主要调节因子^[22]。Vagner 等^[23] 关于鱼类心脏的研究表明, 在低温时, 鱼类心脏的收缩较多地依赖于细胞内 Ca^{2+} 的调控, 而在高温时则更多地受到细胞外 Ca^{2+} 的调控。因此, 通过 Ca^{2+} 浓度的升高来提高心肌搏动的频率, 增加心脏泵送血液的能力, 从而加快血液循环速率, 可能是扇贝应对高温胁迫的一种生理机制。 Na^+ 和 K^+ 是激活 Na^+ - K^+ -ATP 酶的关键离子, Wang 等^[24] 在关于温度胁迫暗纹东方鲀 (*Takifugu obscurus*) 幼鱼的研究中发现, Na^+ - K^+ -ATP 酶活性在 25 °C 胁迫组和 31 °C 胁迫组显著高于 19 °C 对照组, 表明高温会增加 Na^+ - K^+ -ATP 酶活性。在本实验中, 温度胁迫后栉孔扇贝血液 K^+ 和 Na^+ 浓度的升高, 可能与高温诱导 Na^+ - K^+ -ATP 酶活性的增加有关, 是

扇贝高温胁迫的应答机制之一。

张文广等^[25] 关于血细胞的研究发现, 血液中的 CO_2 会形成 $\text{HCO}_3^-/\text{H}_2\text{CO}_3$ 缓冲对, 用于维持血液的酸碱平衡。血液 $p\text{CO}_2$ 与 pH 密切相关^[26], 在梯度升温过程中, 栉孔扇贝血液 $p\text{CO}_2$ 和 pH 保持稳定, 暗示扇贝具有维持 $p\text{CO}_2$ 和 pH 稳定的能力。据张秀霞等^[27] 的研究, 扇贝血细胞主要分为透明细胞、小颗粒细胞和大颗粒细胞, 其中透明细胞具有分化成颗粒细胞的能力, 而颗粒细胞具有较强的吞噬作用, 在贝类的免疫中起重要作用。研究表明, 环境的变化会影响血细胞的功能, 进一步影响贝类的生存和免疫功能。例如 Chen 等^[28] 将栉孔扇贝从 23 °C 转移到 28 °C 进行 72 h 的胁迫实验, 结果表明, 温度胁迫导致扇贝血细胞吞噬活性下降, ROS 含量上升。在曹善茂等^[29] 的研究

中, 高温胁迫同样会使扇贝的超氧化物歧化酶和过氧化物酶的活性增加, 这与温度升高引起耗氧增加, 进而导致 ROS 产量增加的研究结果一致。本研究中温度胁迫后扇贝血液中 pO_2 的下降, 可能是由于耗氧量增加导致血液中更多的 O_2 供应至组织中, 造成血液中 O_2 含量下降。Schalkhauser 等^[30] 对欧洲大扇贝 (*P. maximus*) 的实验表明, 20 °C 胁迫组的 pO_2 显著低于 10 °C 对照组, 这与本研究在栉孔扇贝梯度升温实验中得到的结果一致, 暗示高温胁迫导致扇贝血液中的 pO_2 下降, 可能与其他组织在胁迫过程中耗氧量的增加有关。

4 结论

本研究对 3 种扇贝血液生理指标进行了检测, 发现扇贝血液生理指标在种间存在显著差异, 可作为扇贝物种鉴定的参考指标。栉孔扇贝壳高与血液 K^+ 、 Na^+ 、 Cl^- 浓度和 pO_2 呈负相关, 而与血液 pH 呈正相关。在梯度升温过程中, 栉孔扇贝血液中 Ca^{2+} 浓度显著增加而 pO_2 显著下降, K^+ 、 Na^+ 和 Cl^- 浓度先升高后恢复至初始水平, pH 和 pCO_2 保持相对稳定。研究结果为贝类血液生理研究奠定了基础, 也为扇贝生理状态的评估提供了一种新的思路与方法。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Hughes J, Bardell D. Determination of reference intervals for equine arterial blood-gas, acid-base and electrolyte analysis[J]. *Veterinary Anaesthesia and Analgesia*, 2019, 46(6): 765-771.
- [2] Nemec M. Interpretation of arterial blood gas analysis[J]. *Praxis*, 2019, 108(4): 269-277.
- [3] Tvedten H, Kopcica M, Haines C. Mixed venous and arterial blood in bovine coccygeal vessel samples for blood gas analysis[J]. *Veterinary Clinical Pathology*, 2000, 29(1): 4-6.
- [4] 李志英. 绵羊肺腺瘤病毒人工感染羊重要病理生理指标的检测 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2011.
Li Z Y. Detection of important pathophysiologic indexes on artificially infected cases with sheep pulmonary adenomatosis virus[D]. Hohhot: Inner Mongolia Agricultural University, 2011 (in Chinese).
- [5] 高明辉. VC、VE 对亚硝酸盐胁迫下异育银鲫血液指标及抗氧化能力的影响 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2008.
- [6] 李静. 37 °C 持续热应激对肉鸡血流动力学和酸碱平衡的影响 [D]. 北京: 中国农业大学, 2004.
Li J. The effects of 37°C constant heat-stress on the hemodynamics and acid-base balance in broiler chickens[D]. Beijing: China Agricultural University, 2004 (in Chinese).
- [7] Zittier Z M C, Hirse T, Pörtner H O. The synergistic effects of increasing temperature and CO_2 levels on activity capacity and acid-base balance in the spider crab, *Hyas araneus*[J]. *Marine Biology*, 2013, 160(8): 2049-2062.
- [8] 马金武. 三疣梭子蟹不同盐度下血淋巴理化指标分析及 Na^+/H^+ -exchanger 和 V-ATPase 基因的克隆和功能研究 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2016.
Ma J W. Physicochemical index analysis of haemolymph and cloning and functional study of Na^+/H^+ -exchanger and V-ATPase genes in swimming crab (*Portunus trituberculatus*) under different salinity[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2016 (in Chinese).
- [9] 王如才, 王昭萍. 海水贝类养殖学 [M]. 青岛: 中国海洋大学出版社, 2008.
Wang R C, Wang Z P. Science of marine shellfish culture[M]. Qingdao: China Ocean University Press, 2008 (in Chinese).
- [10] 邓登, 麦康森, 李晓明, 等. 栉孔扇贝夏季大规模死亡的神经网络预测模型[J]. 水产学报, 2009, 33(3): 438-444.
Deng D, Mai K S, Li X M, et al. Prediction model (ANN) for massive death of scallop *Chlamys farreri* in summer[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2009, 33(3): 438-444 (in Chinese).
- [11] Rovetta A. Raiders of the lost correlation: a guide on using pearson and spearman coefficients to detect hidden correlations in medical sciences[J]. *Cureus*, 2020, 12(11): e11794.
- [12] 郝杰华, 许强, 汝少国, 等. 使用多普勒超声成像比较栉孔扇贝与虾夷扇贝循环生理特征[J]. 海洋与湖沼, 2016, 47(1): 29-35.
Hao J H, Xu Q, Ru S G, et al. Application of digital ultrasound imaging to compare the circulation physiology between *Chlamys farreri* and *Patinopectenus yessoensis*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2016,

- 47(1): 29-35 (in Chinese).
- [13] Zhu X H, Liu P P, Hou X J, *et al.* Genome-wide association study reveals *PC4* as the candidate gene for thermal tolerance in bay scallop (*Argopecten irradians irradians*)[J]. *Frontiers in Genetics*, 2021, 12: 650045.
- [14] Xing Q, Zhang L L, Li Y Q, *et al.* Development of novel cardiac indices and assessment of factors affecting cardiac activity in a bivalve mollusc *Chlamys farreri*[J]. *Frontiers in Physiology*, 2019, 10: 293.
- [15] Abele D, Kruppe M, Philipp E E R, *et al.* Mantle cavity water oxygen partial pressure (PO_2) in marine molluscs aligns with lifestyle[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2010, 67(6): 977-986.
- [16] Furgal S M, Brownell P H. Ganglionic circulation and its effects on neurons controlling cardiovascular functions in *Aplysia californica*[J]. *Journal of Experimental Zoology*, 1987, 244(3): 347-363.
- [17] 栗志民, 刘志刚, 谢丽, 等. 企鹅珍珠贝耗氧率和排氨率的研究[J]. *海洋学报*, 2009, 31(6): 129-135.
- Li Z M, Liu Z G, Xie L, *et al.* Oxygen consumption and ammonia-N excretion rates of *Pteria penguin*[J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2009, 31(6): 129-135 (in Chinese).
- [18] 高振锟, 张继红, 李敏, 等. 温度波动对不同规格虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*) 生理和免疫指标的影响[J]. *渔业科学进展*, 2017, 38(3): 148-154.
- Gao G K, Zhang J H, Li M, *et al.* Effects of temperature fluctuation on physiological and immune parameters of scallop (*Patinopecten yessoensis*)[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2017, 38(3): 148-154 (in Chinese).
- [19] Sidorov A V, Polyanina I P. Acid-base balance modulates respiratory and alimentary behavior of the mollusc *Lymnaea stagnalis*[J]. *Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology*, 2003, 39(5): 555-561.
- [20] 陈曦. 益气活血方基于钙稳态调节对心肌梗死大鼠心律失常防治作用的研究 [D]. 北京: 北京中医药大学, 2020.
- Chen X. Study on the prevention and treatment of arrhythmia in rats with myocardial infarction based on calcium homeostasis regulation by Yiqi Huoxue Recipe[D]. Beijing: Beijing University of Chinese Medicine, 2020 (in Chinese).
- [21] Jensen A M L, Sørensen T L M, Olesen C, *et al.* Modulatory and catalytic modes of ATP binding by the calcium pump[J]. *The EMBO Journal*, 2006, 25(11): 2305-2314.
- [22] Sitsel A, De Raeymaecker J, Drachmann N D, *et al.* Structures of the heart specific SERCA2a Ca^{2+} -ATPase[J]. *The EMBO Journal*, 2019, 38(5): e100020.
- [23] Vagner M, Pante E, Viricel A, *et al.* Ocean warming combined with lower omega-3 nutritional availability impairs the cardio-respiratory function of a marine fish[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2019, 222(8): jeb187179.
- [24] Wang J, Hou X Y, Xue X F, *et al.* Interactive effects of temperature and salinity on the survival, oxidative stress, and Na^+ - K^+ -ATPase activity of newly hatched obscure puffer (*Takifugu obscurus*) larvae[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2019, 45(1): 93-103.
- [25] 张文广, 陈发云, 李建英, 等. 血液中的缓冲体系及其对人体健康的影响[J]. *化学世界*, 2018, 59(11): 774-778.
- Zhang W G, Chen F Y, Li J Y, *et al.* Buffer systems in blood and their influence on human health[J]. *Chemical World*, 2018, 59(11): 774-778 (in Chinese).
- [26] Grundler W, Weil M H, Rackow E C. Arteriovenous carbon dioxide and pH gradients during cardiac arrest[J]. *Circulation*, 1986, 74(5): 1071-1074.
- [27] 张秀霞, 王冬梅, 李军涛, 等. 流式细胞术在贝类血细胞研究中的应用进展[J]. *水产学杂志*, 2021, 34(3): 83-90.
- Zhang X X, Wang D M, Li J T, *et al.* Application perspectives of flow cytometry in researches on shellfish haemocytes[J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2021, 34(3): 83-90 (in Chinese).
- [28] Chen M, Yang H S, Delaporte M, *et al.* Immune condition of *Chlamys farreri* in response to acute temperature challenge[J]. *Aquaculture*, 2007, 271(1-4): 479-487.
- [29] 曹善茂, 王潇, 刘钢, 等. 温度胁迫对岩扇贝幼贝抗氧化酶活力的影响[J]. *大连海洋大学学报*, 2018, 33(2): 223-227.
- Cao S M, Wang X, Liu G, *et al.* Effects of water temperature on antioxidant enzyme activity of juvenile rock scallop *Crassadoma gigantea*[J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2018, 33(2): 223-227 (in Chinese).
- [30] Schalkhauser B, Bock C, Pörtner H O, *et al.* Escape performance of temperate king scallop, *Pecten maximus* under ocean warming and acidification[J]. *Marine Biology*, 2014, 161(12): 2819-2829.

Comparison of blood physiological parameters between three species of scallops and the effect of heat stress on blood physiological parameters in *Chlamys farreri*

CUI Chang¹, YANG Zujing¹, DOU Zheng¹, LU Wei¹, XING Qiang^{1,2},
HUANG Xiaoting^{1,2*}, HU Jingjie^{1,3}, BAO Zhenmin^{1,2,3}

(1. MOE Key Laboratory of Marine Genetics and Breeding, College of Marine Life Sciences,
Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao),
Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao 266237, China;

3. Tropical Marine Biological Germplasm Resources Development and Seed Industry Engineering Laboratory,
Sanya Oceanographic Institution, Ocean University of China, Sanya 572000, China)

Abstract: Blood physiological parameters reflect the acid-base balance status and oxygen supply of organism by the ion concentration and partial pressure of gas in blood, and play an important role in the animal physiology and pathology. In order to compare three scallop species in terms of blood concentrations of K^+ , Na^+ , Ca^{2+} and Cl^- , partial blood pressures of O_2 (pO_2) and CO_2 (pCO_2), and blood acidity (pH), a blood gas analyzer was used to measure the blood physiological parameters of *Chlamys farreri*, *Patinopekten yessoensis* and *Argopecten irradians*. The results revealed that there were significant differences in blood physiological parameters between different species of scallops. Specifically, the values of K^+ [(15.74±1.47) mmol/L], Na^+ [(388.07±11.38) mmol/L], Cl^- concentrations [(462.43±6.88) mmol/L] and pO_2 [(140.13±15.35) mmHg] were higher in the blood of *C. farreri* than other two scallops. The values of Ca^{2+} and pCO_2 of *P. yessoensis* and *C. farreri* were higher than those of *A. irradians*, and the pH of *A. irradians* was highest among the three scallops. In addition, the blood pH of *C. farreri* was significantly positively correlated with shell height ($r=0.611$, $P<0.05$), while other physiological parameters were negatively correlated with it. With the increase of temperature, the concentration of Ca^{2+} increased significantly in the blood of *C. farreri* while pO_2 decreased significantly. During the temperature change, the concentrations of K^+ , Na^+ and Cl^- in *C. farreri* increased firstly and then recovered to the initial levels, while the values of pH and pCO_2 remained relatively stable. The results provide basic information for blood physiology research and a new approach to the assessment of the physiological states of bivalves.

Key words: scallop; *Chlamys farreri*; blood; ion concentration; partial pressure of gases; acid-base balance; heat stress

Corresponding author: HUANG Xiaoting. E-mail: xthuang@ouc.edu.cn

Funding projects: National Key R & D Program of China (2018YFD0900304); China Agriculture Research System of MOF and MARA; the Project of Sanya Yazhouwan Science and Technology City Management Foundation (SKJC-KJ-2019KY01)