

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20171221002

http://www.yykxjz.cn/

任中华, 宋俊杰, 刘永叶, 曹亮. 辽东湾4种海洋生物的热耐受性研究. 渔业科学进展, 2018, 39(3): 01-10
Ren ZH, Song JJ, Liu YY, Cao L. An experimental study on the thermal tolerance of four marine species in Liaodong Bay. Progress in Fishery Sciences, 2018, 39(3): 01-10

辽东湾 4 种海洋生物的热耐受性研究*

任中华^{1,3} 宋俊杰^{1,3} 刘永叶^{4①} 曹亮^{1,2}

- (1. 中国科学院海洋研究所海洋生态与环境科学重点实验室 青岛 266071;
2. 青岛海洋科学与技术国家实验室海洋生态与环境科学功能实验室 青岛 266071;
3. 中国科学院大学 北京 100049; 4. 环境保护部核与辐射安全中心 北京 100082)

摘要 本研究采用动态温升实验方法,以矛尾鰕虎鱼(*Chaeturichthys stigmatias*)、许氏平鲈(*Sebastes schlegeli*)、口虾蛄(*Oratosquilla oratoria*)和日本蟳(*Charybdis japonica*)为研究对象,研究了5个基础水温(8.0、14.0、18.0、24.0和28.0℃)和9个温升速率(0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、6.0、9.0、12.0和15.0℃/h)下4种海洋生物的半致死温度(Lethal temperature of 50%, LT₅₀)。结果显示,基础水温和温升速率均能显著($P < 0.05$)影响实验生物的LT₅₀。特定温升速率下实验生物LT₅₀与基础水温呈正相关,即各个实验生物的LT₅₀随着基础水温的升高而升高。温升速率对实验生物LT₅₀的影响因基础水温和物种而异。本研究在动态温升实验中结合使用不同基础水温和多个温升速率,构建了海洋生物重要的热耐受性评价指标LT₅₀,可广泛应用于海洋生物的热耐受性评价。

关键词 海洋生物; 动态温升实验; 半致死温度(LT₅₀); 基础水温; 温升速率
中图分类号 Q142.8 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2018)03-0001-10

近年来,我国海滨地区的多座大型核电厂将其循环冷却水(温排水)直接排入环境水体,使受纳海域的水温升高,而排水口的水温可升高8℃~12℃(Bamber, 1995),造成局部海域热污染。温度升高不仅改变了受纳海域的理化性质,而且影响海洋生物的繁殖和发育,严重时会影响生物的生长和存活,造成大范围海域内生物消失,威胁着该海域的物种多样性,对近海生态系统结构与功能产生深刻的负面效应(Gooseff *et al*, 2005)。温排水对近岸海域生态环境及海洋生物产生的热污染已引起人们的普遍关注,成为热(核)电厂工程建设规划和环境评价中考虑的首要问题之一(陈全震等, 2004)。开展海洋生物热耐受性研究,查明海洋生物温度适应能力,能更科学地认识温排水对

海洋生物和海洋生态环境的热效应。

海洋生物热耐受性研究始于国外学者Carter (1887)对鱼类温度适应能力及可塑性等方面的研究。其后,许多学者对海洋生物热耐受性研究方法进行了评价和改进(Hutchison, 1961; Kilgour *et al*, 1986; Beitingger *et al*, 2000)。生物热耐受性实验是热生物学研究领域的普遍方法,包括动态温升实验和静态实验2种:前者是以一定的升温速率对水体进行持续加热,观察实验过程中受试生物因温升受到热刺激而发生的行为反应,评价指标主要是最大临界温度(Critical temperature maximum, CTMax)(Becker *et al*, 1979; Fangué *et al*, 2003; Selong *et al*, 2001);后者是将生物体从某一适应温度突然暴露于实验温度,统计一定时

* 国家科技重大专项(2013ZX06002001)资助[This work was supported by the Major Project of National Science and Technology (2013ZX06002001)]. 任中华, E-mail: rzh8875548861@163.com

① 通讯作者: 刘永叶, 高级工程师, E-mail: liuyongye@chinansc.cn

收稿日期: 2017-12-21, 收修改稿日期: 2018-01-17

间内实验生物的存活情况,评价指标为高起始致死温度(Upper incipient lethal temperature, UILT₅₀) (江志兵等, 2008; 廖一波等, 2008; Kivivuori *et al*, 1996)。静态实验能直接反映实验生物的死亡率与温度之间的关系,但所用实验生物较多,周期较长(Bennett *et al*, 1997);而动态实验与自然水域条件相似,设计简单,所需实验生物较少,能够较快地获取数据,尤其适用于对濒危物种的耐热性研究(Ospina *et al*, 2004)。在海洋生物热耐受性研究中,运用动态实验评价指标更符合海水温度变化的现状,能客观的反应实验生物的热耐受力。半致死温度(Lethal temperature of 50%, LT₅₀)建立在CTMax 基础之上,定义为在特定基础水温下以一定的温升速率加热直到实验生物出现 50%死亡率时的温度。CTMax 以实验生物丧失逃避致死环境能力作为端点(Cox, 1974),而 LT₅₀ 以实验生物 50%死亡率为端点,更能反映热冲击下海洋生物的热耐受特征,是对海洋生物热耐受性评价指标的有效补充。

辽东湾位于渤海北部,周年平均水温为 14.8℃,最高值出现在 8 月(28.8℃),最低值出现在 12 月(-2.1℃);周年盐度变化为 29.2~31.2。该海域生物资源丰富,是我国重要渔场之一,主要经济渔业生物有矛尾鰕虎鱼(*Chaeturichthys stigmatias*)、梭鱼(*Liza haematocheila*)、大泷六线鱼(*Hexagrammos otakii*)、许氏平鲷(*Sebastes schlegeli*)、口虾蛄(*Oratosquilla oratoria*)、日本蟳(*Charybdis japonica*)和三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)等。辽东湾东侧海域沿岸的大型核电站将大量循环冷却水排入该海域,对生态环境和海洋生物产生重大潜在威胁。本研究以辽东湾的重要经济鱼类(矛尾鰕虎鱼和许氏平鲷)和甲壳类(口虾蛄和日本蟳)为研究对象,采用动态温升实验方法,研究不同基础水温和温升速率对 4 种实验生物 LT₅₀ 的影响,以期揭示海洋生物的热耐受能力及其对温度的适应性,为海洋生物热耐受性评价提供重要参数,也为核电站温排水的环境影响评价方法的构建及其排放控制标准的建立和完善提供科学依据和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用矛尾鰕虎鱼、许氏平鲷、口虾蛄和日本蟳均为 1 龄内幼体,取自辽东湾东部自然水域。考虑到不同适应水温对实验生物热耐受性的影响,实验分别在冬季、春季和夏季进行,实验生物获取时的海水温度分别为 8.0℃(冬季)、14.0℃~18.0℃(春季)、24.0℃~

28.0℃(夏季),实验生物规格见表 1。实验开始前,在基础水温(表 1)下驯化 3~7 d,然后选取大小均匀、活动能力强的个体进行实验。

1.2 实验方法

1.2.1 实验条件 实验在 150 L 水体的水槽内进行,实验用水取自辽东湾东部自然海域,盐度为 28.2~30.2, pH 为 8.1~8.2。实验过程中充气,光照为自然光照条件。各水槽水温由精密控温仪(温控范围为 0~90℃,感温灵敏度为 0.1℃,韩国 A-MI 211H;钛加热棒为 100~2000 W,德国 Armaturenbau)控制。实验期间,定时用水银温度计测定核对水槽内水温。

1.2.2 动态温升实验 本实验是在持续升温条件下研究海洋生物的热耐受特征。基础水温根据各实验季节自然海水的平均水温设置为 8.0℃(冬季)、14.0℃和 18.0℃(春季)、24.0℃和 28.0℃(夏季)。各基础水温下均设置 9 个温升速率梯度:0.5、1.0、2.0、3.0、4.0、6.0、9.0、12.0、15.0℃/h,每个温度处理设 3 个平行组,内置生物个体的数量见表 1,采用多物种混合实验方式。以基础水温为起始温度,按照设定温升速率对水体进行持续升温,同时,记录受试生物死亡数量,记录死亡数量达到总数一半时的水温,该水温为 LT₅₀。实验过程中,以生物鳃盖(鱼类)停止运动,碰触无反应等定义为生物个体死亡(Becker *et al*, 1979)。

1.3 数据处理

数据统计结果表示为平均值±标准差(Mean±SD),对数据进行正态分布检验(Kolmogorov-Smirnov test)和方差齐性检验(Levene test)。在满足正态分布和方差齐性条件下,进行方差分析(ANOVA)和多重比较(Duncan test)。对动态温升实验中各实验生物的 LT₅₀ 值进行可重复双因素方差分析(Two-way ANOVA),分析温升速率和基础水温对实验生物 LT₅₀ 的影响。以上分析均在 IBM SPSS Statistics 22.0 上进行,显著性水平设为 $P=0.05$ 。

2 结果

双因素方差分析结果显示,基础水温和温升速率显著($P<0.05$)影响 4 种实验生物 LT₅₀(表 2)。各温升速率处理组中,4 种实验生物的 LT₅₀ 随着基础水温的升高呈显著升高趋势($P<0.05$),且在同一温升速率下各基础水温间的 LT₅₀ 存在显著差异($P<0.05$)。而温升速率对各实验生物 LT₅₀ 的影响因基础水温和物种而异(图 1~图 5)。

表 1 4 种实验生物的规格
Tab.1 Sizes of four experimental animals

物种 Species	基础水温 Acclimation temperature (°C)	体长或头胸甲长 Body or carapace length (mm)	体重 Body weight (g)	数量 Number (ind.)
矛尾鰕虎鱼 <i>C. stigmatias</i>	8	111.8 ± 16.0	25.2 ± 6.9	10
	14	176.2 ± 11.6	32.8 ± 4.2	10
	18	176.2 ± 11.6	32.8 ± 4.2	10
	24	141.6 ± 15.2	37.8 ± 6.2	10
	28	141.6 ± 15.2	37.8 ± 6.2	10
许氏平鲉 <i>S. schlegeli</i>	8	68.7 ± 19.2	17.8 ± 7.9	10
	14	119.6 ± 8.1	32.8 ± 10.1	10
	18	119.6 ± 8.1	32.8 ± 10.1	10
	24	121.8 ± 9.2	33.6 ± 9.4	10
	28	121.8 ± 9.2	33.6 ± 9.4	10
口虾蛄 <i>O. oratoria</i>	8	118.7 ± 8.6	31.3 ± 9.1	8
	14	158.5 ± 10.7	33.7 ± 5.9	8
	18	158.5 ± 10.7	33.7 ± 5.9	8
	24	125.1 ± 11.4	24.2 ± 4.8	8
	28	125.1 ± 11.4	24.2 ± 4.8	8
日本蟳 <i>C. japonica</i>	8	7.7 ± 2.3	20.6 ± 3.7	8
	14	9.0 ± 3.1	20.1 ± 3.0	8
	18	9.0 ± 3.1	20.1 ± 3.0	8
	24	8.6 ± 2.1	19.7 ± 2.3	8
	28	8.6 ± 2.1	19.7 ± 2.3	8

表 2 基础水温和温升速率对 4 种实验生物 LT₅₀ 的影响的显著性分析

Tab.2 ANOVA results of the interaction of acclimation temperature and heating rate on the LT₅₀ of four experimental species

物种 Species	影响因素 Factor	方差 SS	自由度 df	均方差 MS	统计量 F	显著性 P
许氏平鲉 <i>S. schlegeli</i>	基础水温 Acclimation temperature	243.323	4.000	60.831	745.203	0
	温升速率 Temperature-rising rate	27.323	8.000	3.415	41.839	0
	交互作用 Interaction	43.212	32.000	1.350	16.543	0
矛尾鰕虎鱼 <i>C. stigmatias</i>	基础水温 Acclimation temperature	339.679	4.000	84.920	807.904	0
	温升速率 Temperature-rising rate	16.468	8.000	2.059	19.584	0
	交互作用 Interaction	33.992	32.000	1.062	10.106	0
口虾蛄 <i>O. oratoria</i>	基础水温 Acclimation temperature	848.659	4.000	212.165	1282.105	0
	温升速率 Temperature-rising rate	25.102	8.000	3.138	18.962	0
	交互作用 Interaction	21.440	32.000	0.670	4.049	0
日本蟳 <i>C. japonica</i>	基础水温 Acclimation temperature	191.823	4.000	47.956	450.523	0
	温升速率 Temperature-rising rate	24.930	8.000	3.116	29.276	0
	交互作用 Interaction	64.076	32.000	2.002	18.811	0

在基础水温为 8.0°C 时, 许氏平鲉、矛尾鰕虎鱼和口虾蛄的 LT₅₀ 随温升速率的增大而显著降低 ($P < 0.05$) (图 1)。在低温升速率为 0.5°C/h 时, 3 种实验生物的 LT₅₀ 均显著高于其他温升速率(1.0~15.0°C/h) 下的 LT₅₀ ($P < 0.05$), 且 3 种实验生物的 LT₅₀ 最大值均出现在温升速率最小的 0.5°C/h 处理组, 分别为 31.9°C、35.6°C 和 30.6°C; 而 LT₅₀ 最小值分别为 30.4°C(2.0°C/h)、

33.5°C (12.0°C/h) 和 29.1°C(1.0°C/h)。许氏平鲉 LT₅₀ 在温升速率为 2.0~15.0°C/h 范围内差异不显著, 变化范围为 30.4°C~30.9°C; 口虾蛄 LT₅₀ 在温升速率为 1.0~15.0°C/h 范围内差异不显著, 变化范围为 29.1°C~30.3°C。各温升速率处理组中, 日本蟳的 LT₅₀ 均高于其他 3 种实验生物, 且当温升速率 ≤ 4.0°C/h 时, 日本蟳 LT₅₀ 差异不显著, 而当温升速率 ≥ 5.0°C/h 时,

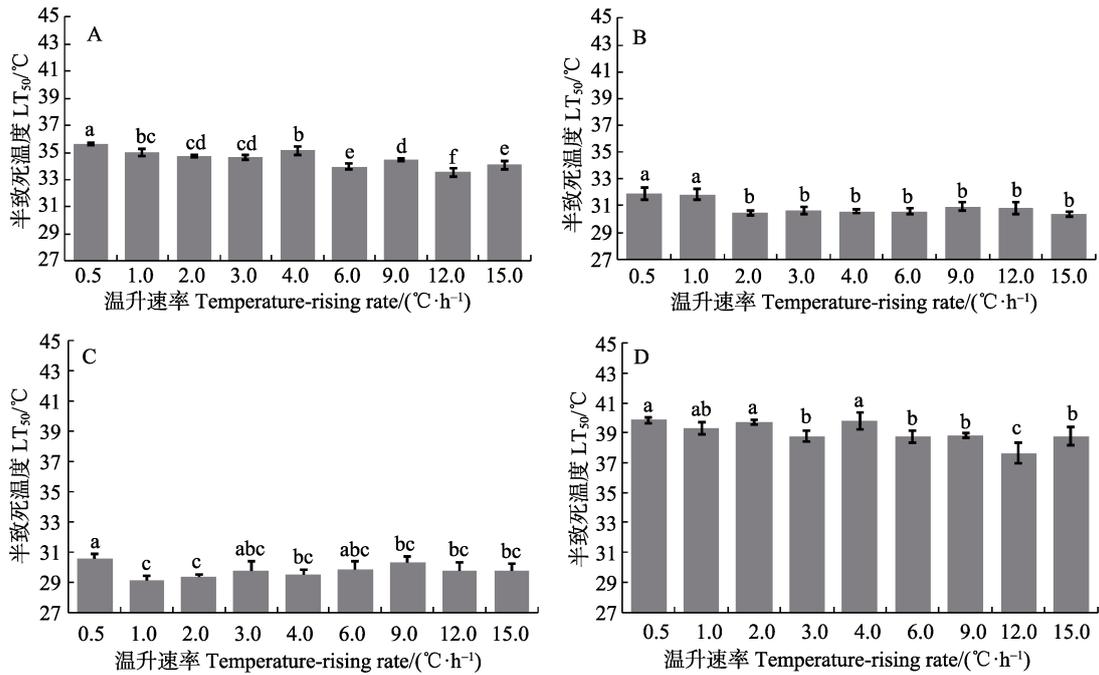


图 1 8.0°C 基础水温不同温升速率下 4 种实验生物的 LT_{50}

Fig.1 LT_{50} of four experimental species acclimated at 8.0°C at different heating rates

A: 矛尾鰕虎鱼; B: 许氏平鲉; C: 口虾蛄; D: 日本蟳。下同

A: *C. stigmatias*; B: *S. schlegeli*; C: *O. oratoria*; D: *C. japonica*. The same as below

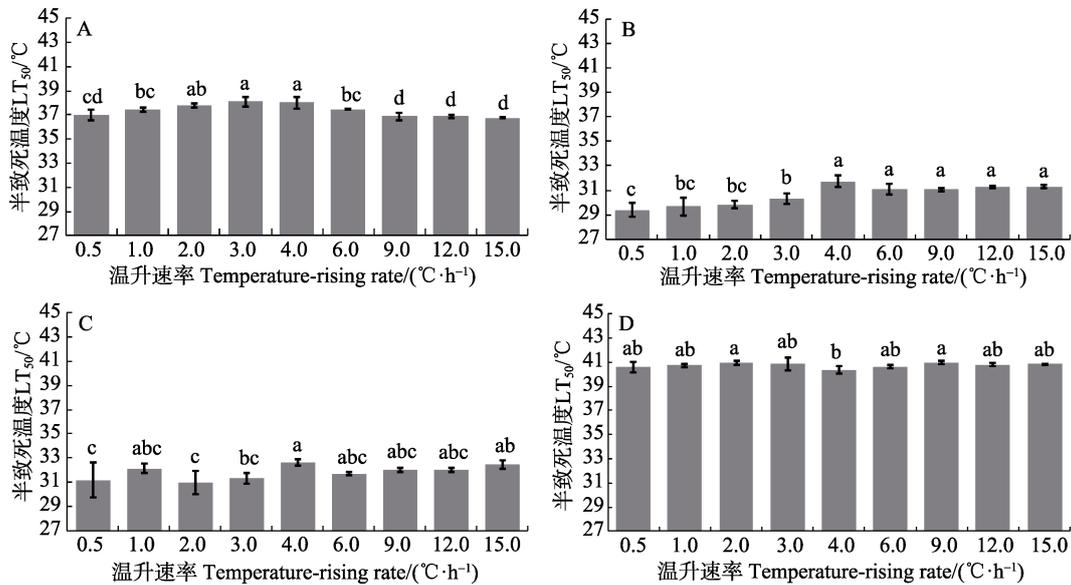


图 2 14.0°C 基础水温不同温升速率下 4 种实验生物的 LT_{50}

Fig.2 LT_{50} of four experimental species acclimated at 14.0°C at different heating rates

日本蟳 LT_{50} 显著降低 ($P < 0.05$)。日本蟳 LT_{50} 最大值出现在温升速率 0.5°C/h 处理组, 为 39.9°C; 最小值则出现在 12.0°C/h 处理组, 为 37.6°C。

在基础水温 14.0°C 时, 许氏平鲉和口虾蛄的 LT_{50} 随温升速率的增大而显著升高 ($P < 0.05$) (图 2), 且均在温升速率 4.0°C/h 处理组达到最大值, 分别为 31.7°C 和 32.6°C; 而 LT_{50} 最低值分别为 29.4°C (0.5°C/h) 和

31.0°C (2.0°C/h)。许氏平鲉和口虾蛄 LT_{50} 在温升速率为 4.0~15.0°C/h 范围内, 组间差异不显著, 变化范围分别为 31.1°C~31.7°C 和 31.7°C~32.6°C。矛尾鰕虎鱼 LT_{50} 随温升速率增大先升高后降低, 在温升速率 4.0°C/h 处理组达到最大值 (38.1°C); 在温升速率 6.0~15.0°C/h 范围内, 组间差异不显著, LT_{50} 最小值出现在 15.0°C/h 处理组, 为 32.5°C。相比其他 3 种实验生物, 日本

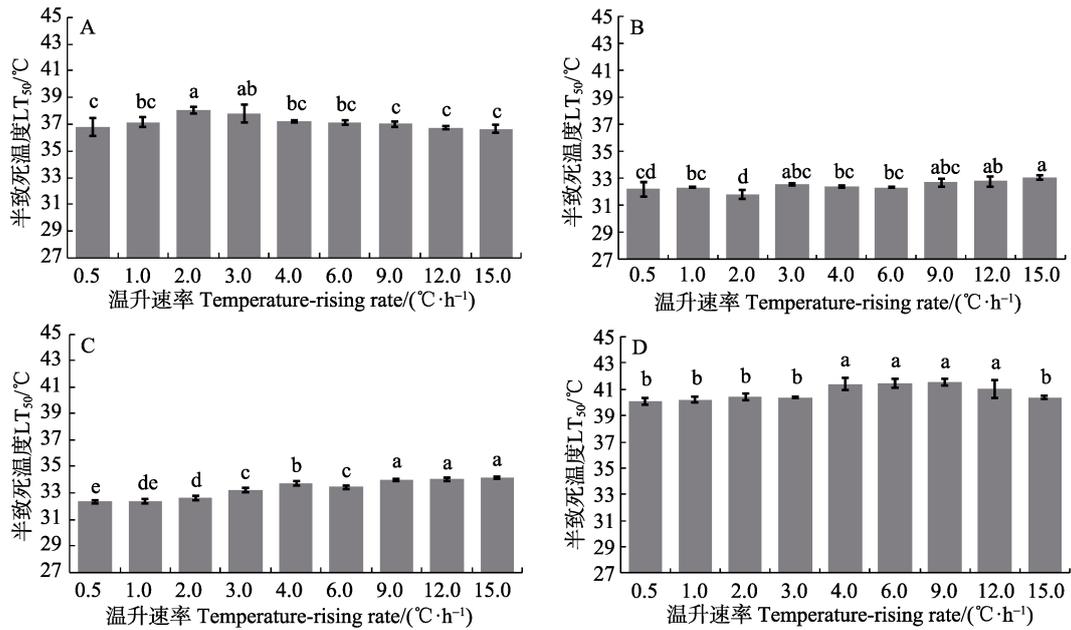


图 3 18.0°C 基础水温不同温升速率下 4 种实验生物的 LT₅₀

Fig.3 LT₅₀ of four experimental species acclimated at 18.0°C at different heating rates

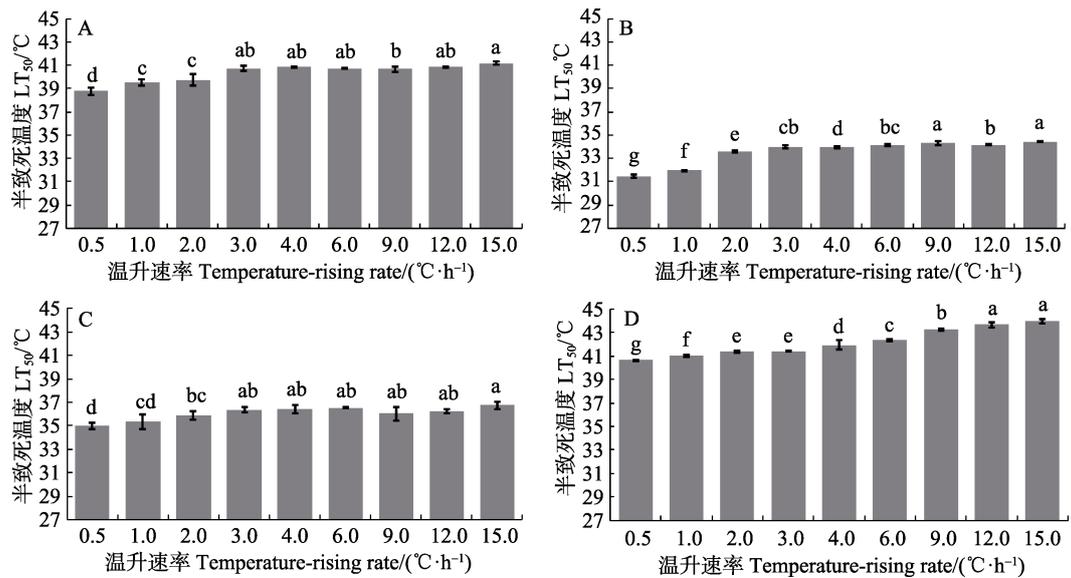


图 4 24.0°C 基础水温不同温升速率下 4 种实验生物的 LT₅₀

Fig.4 LT₅₀ of four experimental species acclimated at 24.0°C at different heating rates

蛄 LT₅₀ 变化有所不同, 各温升速率下 LT₅₀ 变化较小 (40.4°C~41.0°C), 组间差异不显著, 最大值出现在 9.0°C/h 处理组, 为 41.0°C, 而最小值出现在 4.0°C/h 处理组, 为 40.4°C。

在基础水温为 18.0°C 时, 许氏平鲈和口虾蛄的 LT₅₀ 变化趋势相似, 均随温升速率的增大而显著升高 ($P < 0.05$) (图 3); 高温升速率 (9.0~15.0°C/h) 处理组 LT₅₀ 显著高于低温升速率 (0.5~2.0°C/h) 处理组的 LT₅₀ ($P < 0.05$)。许氏平鲈和口虾蛄的 LT₅₀ 最大值均出现在 15.0°C/h 处理组, 分别为 33.1°C 和 34.1°C; 而 LT₅₀ 最小

值分别为 31.8°C (2.0°C/h) 和 32.3°C (0.5°C/h)。矛尾鰕虎鱼 LT₅₀ 随温升速率的增大先升高后降低, 在 2.0°C/h 处理组达到最大值 (38.1°C), 而最小值为 36.6°C (15.0°C/h), 其 LT₅₀ 在 4.0~15.0°C/h 范围内组间差异不显著, 变化范围为 36.6°C~37.2°C。日本蛄 LT₅₀ 变化趋势与矛尾鰕虎鱼类似, 随温升速率的增大先升高后降低, LT₅₀ 最大值为 41.5°C (9.0°C/h), 而最小值为 40.1°C (0.5°C/h)。温升速率 4.0~12.0°C/h 范围内, 日本蛄 LT₅₀ 组间差异不显著, 但其 LT₅₀ 显著高于其他温升速率下的 LT₅₀ ($P < 0.05$)。

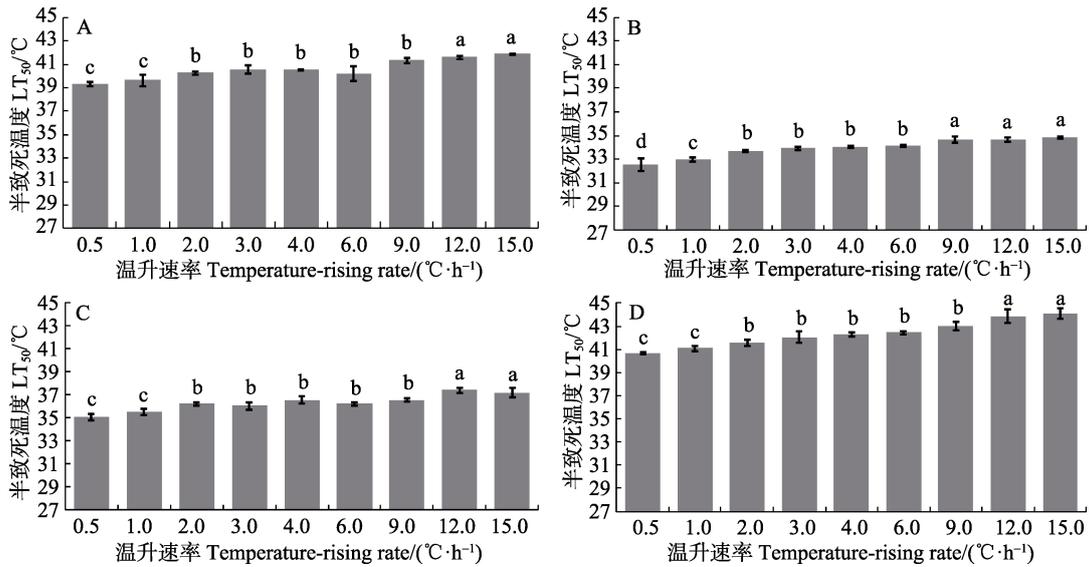


图5 28.0°C基础水温不同温升速率下实验生物的LT₅₀

Fig.5 LT₅₀ of four experimental species acclimated at 28.0°C at different heating rates

在基础水温为 24.0°C 时, 4 种实验生物 LT₅₀ 均随温升速率的增大而显著升高 ($P < 0.05$) (图 4), 高温升速率 (9.0~15.0°C/h) 处理组 LT₅₀ 显著高于低温升速率 (0.5~1.0°C/h) 下的 LT₅₀ ($P < 0.05$)。矛尾鰕虎鱼、许氏平鲉、口虾蛄和日本蟳的 LT₅₀ 最大值均出现在 15.0°C/h 处理组, 分别为 41.2°C、34.4°C、36.7°C 和 44.0°C; 而最小值均出现在 0.5°C/h 处理组, 分别为 38.8°C、31.5°C、35.0°C 和 40.6°C。矛尾鰕虎鱼和口虾蛄 LT₅₀ 在 3.0~15.0°C/h 范围内, 组间差异不显著, 但其 LT₅₀ 显著高于 0.5~2.0°C/h 处理组的 LT₅₀ ($P < 0.05$)。许氏平鲉 LT₅₀ 在温升速率 3.0~15.0°C/h 范围内变化较小, 为 34.0°C~34.4°C, 显著高于 0.5~1.0°C/h 处理组的 LT₅₀ ($P < 0.05$)。日本蟳 LT₅₀ 在各个温升速率处理组差异显著 ($P < 0.05$), 其变化范围为 40.6°C~44.0°C。

与基础水温为 24.0°C 时的 4 种实验生物的 LT₅₀ 变化类似, 在基础水温 28.0°C 下, 4 种实验生物 LT₅₀ 均随温升速率的增大而显著升高 (图 5) ($P < 0.05$), 高温升速率 (12.0~15.0°C/h) 处理组 LT₅₀ 显著高于低温升速率 (0.5~1.0°C/h) 下的 LT₅₀ ($P < 0.05$)。除口虾蛄外, 矛尾鰕虎鱼、许氏平鲉和日本蟳的 LT₅₀ 最大值均出现在温升速率 15.0°C/h 处理组, 分别为 41.9°C、34.8°C 和 44.1°C; 矛尾鰕虎鱼、许氏平鲉、口虾蛄和日本蟳最小值均出现在 0.5°C/h 处理组, 分别为 39.3°C、32.5°C、35.1°C 和 40.6°C。矛尾鰕虎鱼、口虾蛄和日本蟳 LT₅₀ 在温升速率为 2.0~9.0°C/h 范围内组间差异不显著, 但其 LT₅₀ 显著高于 0.5~1.0°C/h ($P < 0.05$), 而显著低于 12.0~15.0°C/h 处理组 ($P < 0.05$)。许氏平鲉 LT₅₀ 在温升速率 2.0~6.0°C/h 处理组, 组间差异不显著, 其 LT₅₀ 显著高于 0.5~1.0°C/h

处理组 ($P < 0.05$), 而显著低于 9.0~15.0°C/h 处理组 ($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 海洋生物热耐受性评价指标比较

目前, 海洋生物热耐受性评价指标主要集中于动态温升实验方法的 CTMax 和 UILT₅₀。CTMax 是以特定温升速率 (如 1.0°C/h) 持续升温, 直至海洋生物出现临界特征, 以此时的温度为最大临界温度。Cox (1974) 定义鱼类此临界特征为机体活动失去平衡, 失去逃离高温致死环境的能力, 并将导致鱼很快死亡。目前, 学者们大都认同 Cox 的说法。

本研究使用 LT₅₀ 就是建立在 CTMax 基础之上, 定义为特定温升速率时实验生物达到 CTMax 后继续升温, 直至出现 50% 死亡率时的温度值。而 UILT₅₀ 是将实验生物从适应的水温突然暴露于一系列实验水温, 实验过程中, 水温保持恒定, 计算实验时段内受试生物出现半数死亡时的温度值。目前一般采用高温暴露 24 h 的 50% 致死量温度来计算 UILT₅₀ (江志兵等, 2010)。本研究中使用的热耐受指标 LT₅₀ 以受试生物的 50% 死亡率作为端点, 相较于静态实验需要的实验生物较少, 经济性较强; 能直接观察实验生物从实验开始直至 50% 个体死亡的整个过程, 通过测量水温能直接得到 LT₅₀ 值, 快速获取数据; 该研究方法更接近自然条件, 符合温排水排放造成局部海域水温缓慢升高的现状。但动态温升实验方法的缺点是实验时的温升速率未形成统一的标准, 而过慢或过快的升温

都有可能对实验生物的热耐受性评价产生一定的影响(Ospina *et al*, 2004)。而静态实验将各种因素考虑进去,通过数理统计的方法计算 UILT₅₀,能直观地反映实验生物的死亡率与温度之间的关系;但静态实验需要实验生物较多,实验持续时间较长(Bennett *et al*, 1997);UILT₅₀在数理统计上是在有限的时间内(如24 h)统计某一生物在无限时间内死亡半数的温度值(陈全震等, 2004),需要借助于统计分析方法计算得出,获取数据较慢且存在一定误差。因此,动态实验方法相比静态实验具有经济性、周期短、科学性等优点。LT₅₀作为动态实验中与UILT₅₀所对应的指标可以广泛应用于海洋生物的热耐受性评价中。

3.2 基础水温和温升速率对海洋生物热耐受性的影响

生物热耐受能力受多种因素的制约,而基础水温和温升速率被认为是生物热耐受性实验中的重要影响因素。

海洋动物作为变温动物,其种群结构、生长和繁殖均受到环境温度的影响(于欢欢等, 2014; 钱佳慧等, 2015),在适温范围内,适度的温升能提高海洋动物的摄食能力,促进其性成熟,加速生长。在耐温范围内,海洋动物可以被驯化,如超出其耐受范围的限度,就会引起机体机能的损害,甚至造成其死亡。本研究特定温升速率下,4种实验生物的LT₅₀均随基础水温和温升速率的增大而显著升高($P<0.05$)。口虾蛄在基础水温为8.0℃时,温升速率分别为1.0、3.0、6.0和12.0℃/h时的LT₅₀分别为29.1℃、29.8℃、29.8℃和29.7℃;基础水温为18.0℃,相应温升速率下的LT₅₀分别为32.4℃、33.22℃、33.4℃和34.0℃;而当基础水温为28℃时,LT₅₀相应变为35.5℃、36.1℃、36.2℃和37.4℃。上述研究结果表明,基础水温显著影响实验生物的热耐受能力($P<0.05$),生物的热耐受能力随基础水温升高而增强。这与黄鳍结鱼(*Tor putitora*)、条纹狼鲈(*Morone saxatilis*)和虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)等(Currie *et al*, 1998; Cook *et al*, 2006; Akhtar *et al*, 2013)的热耐受指标的变化趋势一致。类似地,蔡泽平等(1999)研究大亚湾3种经济鱼类,黑鲷(*Sparus macrocephalus*)、平鲷(*Rhadbosargus sarba*)和细鳞鲷(*Therapon jarbua*)在25.0℃、28.0℃、30.0℃和33.0℃基础水温时的热耐受能力,3种鱼耐受性指标均随基础水温升高而升高,热耐受能力增强。王云松等(2008)研究了10.0℃、20.0℃、30.0℃基础水温时温升速率为1.0℃/h的南方鲇(*Silurus meridionalis*)幼鱼的热耐受性特征,CTMax和最大致死温度(Lethal temperature of 100%, LT₁₀₀)等动态实验热耐受性指标均随驯化温度的升高而升高。付康康等

(2015)以18.0℃/h温升速率分别在基础水温为15.0℃、20.0℃、25.0℃下对高体鳊鲂(*Rhodeus ocellatus*)进行动态温升实验,所得到的研究结果也与本研究一致。

在动态温升研究中,除了基础水温外,温升速率也是影响实验生物热耐受能力的重要因素。一般而言,缓慢升温可以给予实验生物充分的时间适应环境,增强其热耐受能力;而升温速率过快,可能会对实验生物产生热冲击(Barker *et al*, 1981; Hutchison *et al*, 1985),对机体造成损伤,加速其死亡。在本研究中,温升速率对受试生物热耐受能力的影响表现为种间和种内的差异性。例如,14.0℃基础水温时,许氏平鲷和口虾蛄的LT₅₀均随温升速率的增大而显著升高($P<0.05$);矛尾鰕虎鱼的LT₅₀呈先升高后降低趋势;而日本鳎的LT₅₀没有显著变化。在8.0℃和18.0℃基础水温时,4种实验生物LT₅₀随温升速率的升高变化趋势也因物种而异。Vinagre等(2015)研究了桡足类、虾类和鱼类在不同温升速率(1.0℃/min、1.0℃/30 min和1.0℃/h)CTMax的变化,结果显示,桡足类CTMax随着温升速率的减小显著升高($P<0.05$),虾类CTMax显著降低($P<0.05$),而鱼类无显著变化。在本研究中,同一实验生物在不同温升速率下的LT₅₀变化也不尽相同。单因素方差分析表明,组间差异显著($P<0.05$),这说明同种生物在不同温升速率下热耐受能力存在显著差异($P<0.05$)。例如,基础水温为18.0℃时,矛尾鰕虎鱼LT₅₀在温升速率为0.5~2.0℃/h区间内显著($P<0.05$)升高,在2.0~3.0℃/h区间内达到最大值,而在4.0~15.0℃/h区间内显著($P<0.05$)降低。在其他基础水温下,同种实验生物也有类似结果。Mora等(2006)研究了24.0℃基础水温时,汉氏棘胎鳎(*Acanthemblemaria hancocki*)在5个温升速率(60.0℃/h、1.0℃/h、1.0℃/12 h、1.0℃/24 h和1.0℃/48 h)下CTMax的变化,结果显示,CTMax在温升速率为1.0℃/h、1.0℃/12 h、1.0℃/24 h和1.0℃/48 h时显著升高($P<0.05$),而在60.0℃/h温升速率下显著降低($P<0.05$)。除此之外,Elliott等(1995)和窦硕增等(2017)的研究结果也与本研究一致,即在特定基础水温下,生物对温度的变化和影响的适应能力也因物种和温升速率而异。鉴于温升速率变化会对海洋生物的热耐受性评价造成影响,有学者建议统一温升速率标准。目前,水生生物的热耐受性评价中,温升速率的选择标准大致倾向于2种观点:一种是1.0℃/min(Hernández *et al*, 2002; Rajaguru, 2002; Dent *et al*, 2003),另一种是1.0℃/d(汪锡钧等, 1994; Thyrel *et al*, 1999; Reash *et al*, 2000)。前一种主要反映海洋生物短期突然暴露的半致死温度,而后者升温速率较慢可使生物体有充裕时

间对变化的环境温度调节适应,能更客观地反映出生物本身的热忍耐力。较低的温升速率使海洋生物能尽快适应水温的变化,提高其热耐受能力;过高的温升速率又对生物体造成热冲击,损伤机体机能,无法反映生物体的热耐受能力。因此,在海洋生物热耐受性动态温升实验中设置单个温升速率不能体现生物真正的耐温能力,应结合作种、季节变化等现实条件设置多个合理的温升速率,使动态实验热耐受性指标更具有科学意义和生态学意义(窦硕增等,2017)。

3.3 影响水生动物热耐受性的其他因子

除了基础水温和温升速率之外,生物的热耐受性受很多因素影响,如生活方式、栖息地环境因子、暴露时间、实验生物规格等均能对生物的热耐受性评价产生一定的影响。生物的热耐受能力是物种在生态环境作用下,长期选择、进化的结果,不同生物体对环境温度的耐受范围各不相同(Pörtner, 2001、2002),这与生物的生活方式和栖息地的温度变化紧密相连。生活于环境温度变化较大(广温性)的生物比生活于温度比较稳定(狭温性)的生物适应的温度范围更广(Cossins *et al.*, 1987),热耐受能力更强。如本研究的实验生物日本鳎,在各基础水温、温升速率下,其LT₅₀值均显著高于其他3种实验生物($P < 0.05$) (图1~图5)。日本鳎属于广温广盐型分布种,广泛分布于我国各海区(梁象秋等,1996),对高、低温的适应范围广。同一基础水温、温升速率下,随着暴露时间的延长,实验生物热耐受能力有显著变化。马胜伟等(2005)以大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)、鲢鱼(*Miichthys miiuy*)、黑鲷(*Sparus microcephalus*)和鲮鱼(*Mugil cephalus*)为实验生物,从基础水温为28.5℃开始,以0.5℃/h温升速率逐步升温到34.0℃、36.0℃和38.0℃,大黄鱼在34.0℃实验组的24、48、72和96h死亡率分别为10%、20%、30%和90%;鲢鱼在34.0℃实验组的同时间段死亡率分别为0、70%、80%和90%;其他实验生物在不同实验组的死亡率也有类似变化,即在特定基础水温和温升速率下,暴露时间越长,生物体热耐受能力越弱。此外,生物热耐受性实验中受试生物的体型、规格是否统一对生物热耐受性评价也有重要影响(Becker *et al.*, 1979; Lutterschmidt *et al.*, 1997; Ospina *et al.*, 2004)。不同生活阶段的实验生物耐热性不同,生物幼体对水温影响的反应较敏感,逃避能力较弱,用其进行热耐受性实验更能体现其本身热耐受能力的变化;体型较大个体相比较小个体的热耐受能力更强。除此之外,在生物热耐受性相关研究过程中,实验条件因子、营养状况以及化学毒素等都

会对研究结果造成一定影响(Baker *et al.*, 1996; Beitinger *et al.*, 2000; Manush *et al.*, 2004)。因此,进行水生生物热耐受性实验时,实验生物的体型、规格以及其他实验条件因子是否统一显得尤为重要。

参 考 文 献

- Akhtar MS, Pal AK, Sahu NP, *et al.* Thermal tolerance, oxygen consumption and haemato-biochemical variables of *Tor putitora* juveniles acclimated to five temperatures. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2013, 39(6): 1387-1398
- Baker SC, Heidinger RC. Upper lethal temperature tolerance of fingerling black crappie. *Journal of Fish Biology*, 1996, 48(6): 1123-1129
- Bamber RN. The influence of rising background temperature on the effects of marine thermal effluents. *Journal of Thermal Biology*, 1995, 20(1-2): 105-110
- Barker SL, Townsend DW, Hacunda JS. Mortalities of Atlantic hearing, *Clupea h. harengus*, smooth flounder, *Liopsetta putnami*, and rainbow smelt, *Osmerus mordax*, larvae expose to acute thermal shock. *Fishery Bulletin*, 1981, 79(1): 198-200
- Becker CD, Genoway RG. Evaluation of the critical thermal maximum for determining thermal tolerance of freshwater fish. *Environmental Biology of Fishes*, 1979, 4(3): 245-256
- Beitinger TL, Bennett WA, Mccauley RW. Temperature tolerances of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature. *Environmental Biology of Fishes*, 2000, 58(3): 237-275
- Bennett WA, Beitinger TL. Temperature tolerance of the sheepshead minnow, *Cyprinodon variegatus*. *Copeia*, 1997, 1997(1): 77-87
- Cai ZP, Chen HR, Jin QZ, *et al.* Influence of thermal power effluent on three species of fishes in Daya Bay. *Tropic Oceanology*, 1999, 18(2): 11-19 [蔡泽平, 陈浩如, 金启增, 等. 热废水对大亚湾三种经济鱼类热效应的研究. *热带海洋*, 1999, 18(2): 11-19]
- Carter WA. Temperature in relation to fish. *Nature*, 1887, 36: 213-214
- Chen QZ, Zeng JN, Gao AG, *et al.* Advances in study of temperature of thermal tolerance of fishes. *Journal of Fisheries of China*, 2004, 28(5): 562-567 [陈全震, 曾江宁, 高爱根, 等. 鱼类热忍温度研究进展. *水产学报*, 2004, 28(5): 562-567]
- Cook AM, Duston J, Bradford RG. Thermal tolerance of a northern population of striped bass *Morone saxatilis*. *Journal of Fish Biology*, 2006, 69(5): 1482-1490
- Cossins AR, Bowler K. *Temperature biology of animals*. London, England: Chapman and Hall, 1987
- Cox DK. Effects of the three heating rates on the critical thermal maximum of bluegill. In: Gibbons JW, Sharitz RR (eds). *Thermal Ecology AEC Symposium Series*. Springfield VA,

- USA: National Technical Information Service, 1974, 158–163
- Currie RJ, Bennett WA, Beitinger TL. Critical thermal minima and maxima of three freshwater game-fish species acclimated to constant temperatures. *Environmental Biology of Fishes*, 1998, 51(2): 187–200
- Dent L, Lutterschmidt WI. Comparative thermal physiology of two sympatric sunfishes (Centrarchidae: Perciformes) with a discussion of microhabitat utilization. *Journal of Thermal Biology*, 2003, 28(1): 67–74
- Dou SZ, Nan O, Cao L, *et al.* A comparative study of the thermal tolerance of four common fish species in Shidao Bay, the Yellow Sea. *Marine Sciences*, 2017, 41(9): 56–64 [窦硕增, 南鸥, 曹亮, 等. 石岛湾四种常见鱼类的热耐受性比较研究. *海洋科学*, 2017, 41(9): 56–64]
- Elliott JM, Elliott JA. The effect of the rate of the temperature increase on the critical thermal maximum for parr of Atlantic salmon and brown trout. *Journal of Fish Biology*, 1995, 47(5): 917–919
- Fangue NA, Bennett WA. Thermal tolerance responses of laboratory-acclimated and seasonally acclimatized Atlantic stingray, *Dasyatis sabina*. *Copeia*, 2003, 2003(2): 315–325
- Fu KK, Cao ZD, Fu SJ. Effects of acclimation temperature on thermal tolerance and hypoxia tolerance in *Rhodeus ocellatus*. *Chinese Journal of Ecology*, 2015, 34(6): 1586–1590 [付康康, 曹振东, 付世建. 温度驯化对高体鳊鲃热耐受及低氧耐受能力的影响. *生态学杂志*, 2015, 34(6): 1586–1590]
- Gooseff MN, Strzepek K, Chapra SC. Modeling the potential effects of climate change on water temperature downstream of a shallow reservoir, lower madison river, MT. *Climatic Change*, 2005, 68(3): 331–353
- Hernández RM, Bückle RLF. Temperature tolerance polygon of *Poecilia sphenops* Valenciennes (Pisces: Poeciliidae). *Journal of Thermal Biology*, 2002, 27(1): 1–5
- Hutchison VH, Murphy K. Behavioral thermoregulation in the salamander *Necturus maculosus* after heat shock. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 1985, 82(2): 391–394
- Hutchison VH. Critical thermal maxima in salamanders. *Physiological Zoology*, 1961, 34(2): 92–125
- Jiang ZB, Zeng JN, Chen QZ, *et al.* Effect of heating rate on the upper incipient lethal temperature for copepods. *Journal of Tropical Oceanography*, 2010, 29(3): 87–92 [江志兵, 曾江宁, 陈全震, 等. 不同升温速率对桡足类高起始致死温度的影响. *热带海洋学报*, 2010, 29(3): 87–92]
- Jiang ZB, Zeng JN, Chen QZ, *et al.* Effects of residual heat and chlorine in cooling water from coastal power plant on *Calanus sinicus*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(6): 1401–1406 [江志兵, 曾江宁, 陈全震, 等. 滨海电厂冷却水余热和余氯对中华哲水蚤的影响. *应用生态学报*, 2008, 19(6): 1401–1406]
- Kilgour DM, Mccauley RW. Reconciling the two methods of measuring upper lethal temperatures in fishes. *Environmental Biology of Fishes*, 1986, 17(4): 281–290
- Kivivuori LA, Laheds EO. How to measure the thermal death of *Daphnia*? A comparison of different heat tests and effects of heat injury. *Journal of Thermal Biology*, 1996, 21(5–6): 305–311
- Liang XQ, Fang JZ, Yang HQ. *Hydrobiology*. Beijing: China Agriculture Press, 1996 [梁象秋, 方纪祖, 杨和荃. *水生生物学*. 北京: 中国农业出版社, 1996]
- Liao YB, Chen QZ, Zeng JN, *et al.* Thermal tolerance of some marine copepods. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(2): 449–452 [廖一波, 陈全震, 曾江宁, 等. 海洋桡足类的热耐受性. *应用生态学报*, 2008, 19(2): 449–452]
- Lutterschmidt WI, Hutchison VH. The critical thermal maximum: History and critique. *Canadian Journal of Zoology*, 1997, 75(10): 1561–1574
- Ma SW, Shen AL, Shen XQ. Acute lethal effect of water temperatures on inhomogeneous fishes. *Marine Fisheries*, 2005, 27(4): 298–303 [马胜伟, 沈盎绿, 沈新强. 水温对不同鱼类的急性致死效应. *海洋渔业*, 2005, 27(4): 298–303]
- Manush SM, Pal AK, Chatterjee N, *et al.* Thermal tolerance and oxygen consumption of *Macrobrachium rosenbergii* acclimated to three temperatures. *Journal of Thermal Biology*, 2004, 29(1): 15–19
- Mora C, Maya MF. Effect of the rate of temperature increase of the dynamic method on the heat tolerance of fishes. *Journal of Thermal Biology*, 2006, 31(4): 337–341
- Ospina AF, Mora C. Effect of body size on reef fish tolerance to extreme low and high temperatures. *Environmental Biology of Fishes*, 2004, 70(4): 339–343
- Pörtner HO. Climate change and temperature-dependent biogeography: Oxygen limitation of thermal tolerance in animals. *Naturwissenschaften*, 2001, 88(4): 137–146
- Pörtner HO. Climate variations and the physiological basis of temperature dependent biogeography: Systemic to molecular hierarchy of thermal tolerance in animals. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 2002, 132(4): 739–761
- Qian JH, Li ZM, Ye N, *et al.* Combined effects of temperature and salinity on the growth and survival of *Fenneropenaeus meiguensis*. *Progress in Fishery Sciences*, 2015, 36(3): 62–67 [钱佳慧, 栗志民, 叶宁, 等. 温度和盐度对墨吉明对虾(*Fenneropenaeus meiguensis*)生长与存活的联合效应. *渔业科学进展*, 2015, 36(3): 62–67]
- Rajaguru S. Critical thermal maximum of seven estuarine fishes. *Journal of Thermal Biology*, 2002, 27(2): 125–128
- Reash RJ, Seegert GL, Goodfellow WL. Experimentally-derived upper thermal tolerances for redbreast suckers: Revised 316(A) variance conditions at two generating facilities in Ohio. *Environmental Science and Policy*, 2000, 3(Suppl 1): 191–196
- Selongo JH, McMahon TE, Zale AV, *et al.* Effect of temperature on growth and survival of bull trout, with application of an improved method for determining thermal tolerance in fishes. *Transactions of the American Fisheries Society*, 2001,

- 130(6): 1026–1037
- Thyrel M, Berglund I, Larsson S, *et al.* Upper thermal limits for feeding and growth of 0+ Arctic charr. *Journal of Fish Biology*, 1999, 55(1): 199–210
- Vinagre C, Leal I, Mendonça V, *et al.* Effect of warming rate on the critical thermal maxima of crabs, shrimp and fish. *Journal of Thermal Biology*, 2015, 47: 19–25
- Wang XJ, Wu DA. Studies on the criteria of water temperature for major cultured freshwater fishes. *Journal of Fisheries of China*, 1994, 18(2): 93–100 [汪锡钧, 吴定安. 几种主要淡水鱼类温度基准值的研究. *水产学报*, 1994, 18(2): 93–100]
- Wang YS, Cao ZD, Fu SJ, *et al.* Thermal tolerance of juvenile *Silurus meridionalis* Chen. *Chinese Journal of Ecology*, 2008, 27(12): 2136–2140 [王云松, 曹振东, 付世建, 等. 南方鲇幼鱼的热耐受特征. *生态学杂志*, 2008, 27(12): 2136–2140]
- Yu HH, Li YL, Chen C, *et al.* The effects of temperature on the embryonic development and the larval activity of *F₁ Epinephelus moara (♀) × E. septemfasciatus (♂)*. *Progress in Fishery Sciences*, 2014, 35(5): 109–114 [于欢欢, 李炎璐, 陈超, 等. 温度对云纹石斑鱼(*Epinephelus moara*)(♀)×七带石斑鱼(*Epinephelus septemfasciatus*)(♂)杂交 *F₁* 胚胎发育和仔鱼活力的影响. *渔业科学进展*, 2014, 35(5): 109–114]

(编辑 马瑰艳)

An Experimental Study on Thermal Tolerance of Four Marine Species in Liaodong Bay

REN Zhonghua^{1,3}, SONG Junjie^{1,3}, LIU Yongye^{4①}, CAO Liang^{1,2}

(1. Key Laboratory of Marine Ecology and Environmental Sciences, Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071; 2. Laboratory for Marine Ecology and Environmental Science, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071; 3. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049; 4. Nuclear and Radiation Safety Center, Ministry of Environmental Protection, Beijing 100082)

Abstract In recent years, global warming and the release of hot wastewater from nuclear power plants have caused the temperature of sea water to rise, leading to severe thermal pollution of the oceans. Marine ecosystems and the survival of marine life face huge challenges from ocean warming. Research on the thermal tolerance of marine organisms will help us to understand the heat tolerance of different marine species and determine how to control thermal discharge from nuclear power plants. This study investigated the heat tolerance of four marine species (*Chaeturichthys stigmatias*, *Sebastes schlegeli*, *Oratosquilla oratoria*, and *Charybdis japonica*) in Liaodong Bay using a dynamic temperature-rising test. The lethal temperature of 50% (LT_{50}) was assessed at five acclimation temperatures (8.0°C, 14.0°C, 18.0°C, 24.0°C, 28.0°C) and nine temperature-rising rates (0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 6.0, 9.0, 12.0, 15.0°C/h) to evaluate heat tolerance. The results showed that both the acclimation temperature and temperature-rising rate significantly affected the LT_{50} value of the experimental animals ($P < 0.05$). The LT_{50} values were significantly positively correlated with the acclimation temperature ($P < 0.05$), while the effects of the temperature-rising rate varied with acclimation temperature in a species-dependent manner. In this study, the dynamic temperature-rising test included a higher number of acclimation temperatures and temperature-rising rates than used in previous studies, and we established the LT_{50} value as an important indicator for evaluating the heat tolerance of marine species. These results suggest that as an evaluated index, LT_{50} comprehensively reflects the heat tolerance of experimental species, which is of scientific and ecological significance and could be widely used in the assessment of heat tolerance.

Key words Marine species; Dynamic temperature-rising test; Lethal temperature of 50% (LT_{50}); Acclimation temperature; Temperature-rising rate

① Corresponding author: LIU Yongye, E-mail: liuyongye@chinansc.cn