

文章编号: 1674-5566(2024)05-1120-12

DOI: 10.12024/jsou.20231204363

不同低盐驯化方式对缢蛏行为及生理的影响

杨 栋¹, 韩雨婷¹, 高葛琪¹, 王 杰², 牛东红^{1,3}

(1. 上海海洋大学 水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306; 2. 三门东航水产育苗科技有限公司, 浙江 三门 317100; 3. 上海海洋大学 水产动物遗传育种中心上海市协同创新中心, 上海 201306)

摘要: 为研究缢蛏(*Sinonovacula constricta*)最适的低盐驯化方式, 首先设置盐度0、1、2、3、5等5个梯度测定低盐半致死盐度, 获得缢蛏96 h低盐半致死盐度为2.005。以此盐度为驯化目标盐度, 设置A、B、C 3种不同驯化方式(A组: 等速驯化; B组: 交替驯化; C组: 梯度驯化)对缢蛏进行盐度16到2的低盐驯化处理, 驯化到目标盐度后再进行4 d的适应期; 记录3种驯化方式下的存活率、潜泥率, 检测各组的耗氧率、排氨率, 测定超氧化物歧化酶(SOD)活性、丙二醛(MDA)含量。结果表明, 驯化到盐度2时C组缢蛏存活率(88%)及潜泥率(90%)显著大于A、B组; C组的耗氧率和排氨率均显著高于A、B组; 超氧化物歧化酶(SOD)活性在驯化到盐度4时达到峰值, 且C组显著高于A、B组; 丙二醛(MDA)含量在驯化到盐度2时达到峰值, 且C组显著低于A、B组。综上所述, 梯度驯化(C)组的低盐驯化方式更有益于缢蛏的低盐养殖。本研究结果为我国内陆低盐水域海水贝类养殖品种的开发提供了重要参考。

关键词: 缢蛏; 驯化; 低盐; 行为; 生理

中图分类号: S 968.31 **文献标志码:** A

我国有大面积的盐碱地及盐碱水域, 其中盐碱地总面积高达 $9.9 \times 10^7 \text{ hm}^2$, 低洼盐碱水约 $4.6 \times 10^7 \text{ hm}^2$ ^[1]。内陆盐碱水的盐度为1~15, 而大部分的盐碱水体盐度为0.5~5^[2]。为综合利用这部分盐碱水域, 对一些耐低盐性能较强的品种已经开展了盐碱水养殖, 如耐盐鲷鱼类^[3]、虾蟹类^[4-5]等。目前凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)、罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*)、鲮鱼(*Liza haematocheila*)等已经成功实现在内陆盐碱水中规模化养殖^[6-7]。然而对于海水贝类的内陆盐碱水养殖鲜有报道。有研究^[8]表明, 低盐环境会使海水贝类体内积累大量氧自由基, 从而改变体内超氧化物歧化酶的活性及丙二醛的含量。盐度的降低会直接破坏海水贝类的渗透生理平衡^[9], 在盐胁迫下机体会利用更多的能量进行渗透调节以维持细胞内外的离子平衡, 使细胞质保持高渗状态防止细胞损伤^[10]。

驯化在水产养殖业中往往理解为可以使养

殖对象更能抵抗逆性环境的一种方式^[11]。在水产动物中关于盐度驯化的研究已经有很多, 如凡纳滨对虾^[12]、鲑鱼(*Salmonidae*)^[13]、大鳞鲃鱼(*Luciobarbus capito*)^[14]等。对于水产动物盐度驯化方式的选取主要有等速驯化^[15]、阶段驯化^[16]、递进驯化^[17]。如凡纳滨对虾的低盐驯化研究已经相对成熟, 经过长期对驯化方式的优化, 凡纳滨对虾的驯化过程目前主要采用前快、中稳、后慢的分段驯化方式^[18-19]。在对大鳞鲃鱼的盐度驯化研究中发现, 驯化组的血浆渗透压比未驯化组更早恢复, 并且抗氧化酶的波动幅度显著小于未驯化组^[20]。西杂鲟(西伯利亚鲟♀×施氏鲟♂)(*Acipenser baerii*♀×*A. schrenckii*♂)幼鱼在经过15 d的低盐驯化后鳃组织的 Na^+/K^+ -ATPase活性显著升高, 表明低盐驯化提高了西杂鲟幼鱼的耐低盐性能^[21]。故在水产动物的养殖过程中进行驯化可以使其具有更强的抗逆能力。

缢蛏(*Sinonovacula constricta*)俗称蛏子, 隶属

收稿日期: 2023-12-05 修回日期: 2024-04-05

基金项目: 国家重点研发计划(2023YFD2401002); 国家自然科学基金(32373118)

作者简介: 杨 栋(1998—), 男, 硕士研究生, 研究方向为贝类种质资源与遗传育种。E-mail: 360215345@qq.com

通信作者: 牛东红, E-mail: dhniu@shou.edu.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

于双壳纲(Bivalve)帘蛤目(Veneroidea)竹蛏科(Solenida),是典型的滩涂埋栖双壳贝类,同时也是我国四大海水养殖贝类之一^[22],养殖周期短,广泛分布于河口地区,具有较强的低盐适应能力。目前关于海水贝类驯化的研究较为少见,因此本研究在有泥条件下,对缢蛏进行3种不同方式的低盐驯化实验,探究不同的低盐驯化方式对缢蛏行为、生理的影响,为缢蛏在内陆盐碱水养殖提供重要参考。

1 材料与方

1.1 实验材料

实验所用缢蛏取自浙江省台州市三门县,壳长(3.52±0.35) cm,体质量(4.12±0.21) g。暂养于200 L的水箱中。每天定时换水,换水量为暂养水体的1/2,投喂牟氏角毛藻(*Chaetoceros muelleri*)。暂养期间的水体溶氧为6.15~7.59 mg/L,盐度为16,温度为(23.00±0.15)°C,pH为7.8±0.11。实验前48 h和实验期间停止投喂,在体积为5 L的聚乙烯塑料水箱(38 cm×28 cm×20 cm)中进行。所用海泥取自三门湾滩涂,海泥运回实验室后用淡水浸泡,待海泥中的盐分洗净后用100目筛绢网过滤,将最后不含盐分的泥土用于实验。

1.2 实验方法

1.2.1 半致死盐度的测定

设计5个盐度梯度(0、1、2、3、5)进行缢蛏低盐半致死盐度测定实验。每个梯度设置3个平行,每个平行30粒缢蛏。实验水体提前充氧曝气,整个实验历时96 h,水温(24.00±0.36)°C。实验开始后每隔2 h记录死亡情况。对所得数据进行回归分析,利用概率单位法求得缢蛏96 h的低盐半致死盐度。

1.2.2 驯化实验设计

低盐驯化实验分为A、B、C3组,每组采用不同的驯化方式。A组(等速驯化):盐度每天下降2;B组(交替驯化):盐度在第1、3天下降6,第2、4天上升2,第5、7、9天下降2,第6、8天上升1,第10、12、14天下降1,第11、13天上升0.5;C组(梯度驯化):盐度在第1~3天每2天下降5,第4~7天每2天下降1,第8~14天每2天下降0.5,见表1。实验组在驯化期完成后再进行4 d的适应期。每个驯化组设置3个平行,每个平行30粒缢蛏。3个驯化组均在有泥条件下进行驯化实验,底泥厚度为15 cm。A组在第5、6、7天,B组在第3、9、14天,C组在第3、6、14天及各组适应期的48、72、96 h记录存活率,检测耗氧率、排氨率,采集鳃、肝胰腺、斧足、水管组织,放入液氮速冻,保存在-80 °C超低温冰箱中。

表1 不同驯化组的盐度变化
Tab. 1 Salinity changes in different domesticated groups

组别 Group	0 d	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	10 d	11 d	12 d	13 d	14 d
A组	16	14	12	10	8	6	4	2							
B组	16	10	12	6	8	6	7	5	6	4	3	3.5	2.5	3	2
C组	16	11	11	6	5	5	4	4	3.5	3.5	3	3	2.5	2.5	2

1.2.3 存活率和潜泥率的测定

缢蛏死亡的特征为闭壳肌失去作用,触摸刺激软体部位无反应,双壳无闭合动作。驯化到盐度2后将存活缢蛏挖出并重新放入养殖盆中记录其潜泥时间并计算潜泥率。潜泥实验设置时长30 min,每隔5 min记录一次各驯化组缢蛏的潜泥个数,缢蛏成功潜泥的标准:斧足开始挖掘到水管完全进入泥面。

存活率计算公式:

$$L=N_1/N_0 \times 100\% \quad (1)$$

式中:L为存活率,%;N₁为实验组中缢蛏存活个

数;N₀为实验组中缢蛏个体总数。

潜泥率计算公式:

$$S=M_1/M_0 \times 100\% \quad (2)$$

式中:S为潜泥率,%;M₁为实验组中缢蛏成功潜泥个数;M₀为实验组中缢蛏个体总数。

1.2.4 耗氧率和排氨率的测定

各驯化组缢蛏在驯化到盐度6、4、2及适应期的48、72、96 h检测耗氧率和排氨率。随机选取5粒驯化缢蛏放入碘量瓶,水体体积为500 mL,水体盐度为所测试缢蛏对应的养殖盐度,用塑料薄膜封口,实验持续时间为2 h。设置

3个平行和1个空白对照(不放缢蛭)。采用的仪器为便携式LH-M900(luheng-mettler900)水质检测仪,测定氨氮含量使用的量程为0~5 mg/L,波长420 nm。溶解氧含量的测定波长选用470 nm。采用碘量法测定水体中溶解氧的含量,纳氏试剂分光光度法测定水体中氨氮的含量。耗氧率计算公式:

$$OR = [(DO_0 - DO_t) \times V] / (W \times t) \quad (3)$$

式中:OR为单位湿重耗氧率,mg/(g·h);DO₀和DO_t分别为实验开始和实验结束时实验水体中溶解氧含量,mg/L;V为锥形瓶中水的体积,L;W为实验缢蛭的总湿重,g;t为实验持续时间,h。排氨率计算公式:

$$R_N = [(N_t - N_0) \times V] / (W \times t) \quad (4)$$

式中: R_N 为单位湿重排氨率,mg/(g·h); N_0 和 N_t 为实验开始和实验结束时实验水体中氨氮的浓度,mg/L;V为锥形瓶中水的体积,L;W为实验缢蛭的总湿重,g;t为实验持续时间,h。

1.2.5 超氧化物歧化酶活性和丙二醛含量的测定

从-80℃超低温冰箱中取出缢蛭的鳃、胰腺、斧足、水管等组织进行SOD(Superoxide dismutase)酶活性、MDA(Malondialdehyde)含量

的测定。SOD酶活试剂盒和MDA含量试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司。组织取出后加入相应提取液,然后进行冰浴匀浆,8 000 g,4℃离心10 min,取上清置于冰上待测,具体的测定方法按说明书进行,使用Spectra Max ABS plus全波长酶标仪(96孔)测量吸光度。

1.3 数据处理

采用SPSS软件(IBMSPSS STATISTICS 23.0, USA)进行统计分析,所有数据均经单因素方差分析(One-way ANOVA),利用Duncan's检验进行多重比较,以 $P < 0.05$ 作为差异显著水平, $P < 0.01$ 作为差异极显著水平。使用Origin 2022软件制图。

2 结果

2.1 缢蛭96 h低盐半致死盐度

实验过程中对缢蛭的存活状态实时观测,并记录死亡情况(表2)。盐度0养殖的缢蛭在12至24 h内全部死亡,盐度1养殖的缢蛭在12至36 h内全部死亡。盐度2、盐度3、盐度5养殖的缢蛭96 h内均没有全部死亡。根据低盐胁迫下的致死分布数据,利用回归分析得到96 h缢蛭低盐半致死盐度(LC₅₀)为2.005。

表2 缢蛭低盐胁迫下的死亡情况
Tab. 2 Death of *S. constricta* under low salt stress

时间 Time	盐度0 Salinity 0			盐度1 Salinity 1			盐度2 Salinity 2			盐度3 Salinity 3			盐度5 Salinity 5		
6 h	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12 h	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
24 h	30	30	30	30	29	29	5	6	2	0	1	0	0	0	0
36 h	0	0	0	0	1	1	1	1	2	0	0	1	0	3	0
48 h	0	0	0	0	0	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0
60 h	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0
72 h	0	0	0	0	0	0	1	3	1	0	0	0	0	0	0
96 h	0	0	0	0	0	0	5	9	5	0	0	1	0	0	0
死亡总数 Total deaths	30	30	30	30	30	30	12	19	13	0	3	2	0	3	0

2.2 缢蛭驯化期间存活率与潜泥率

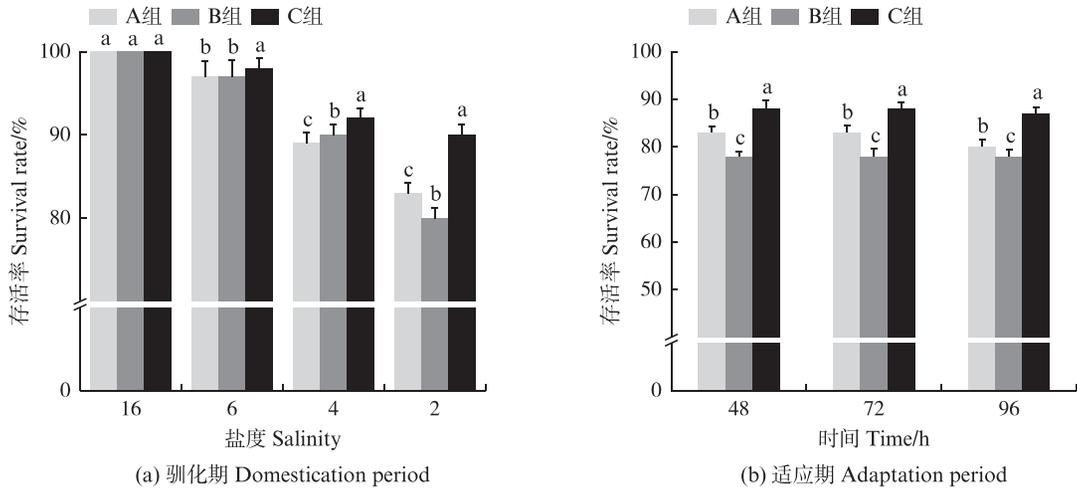
驯化到盐度6时,A组与B组之间无显著性差异($P > 0.05$),C组与A、B组之间存在显著性差异($P < 0.05$)。盐度4时,A、B、C3组之间存在显著性差异($P < 0.05$),存活率由高到低分别为C组、B组、A组。盐度2时,3组之间存在显著性差异($P < 0.05$),C组存活率为90%,A组存活率为

83%,B组存活率为80%(图1a)。盐度2适应48 h后,A、B、C3组的存活率分别为83%、78%、88%,适应72 h后各组存活率与48 h相同,适应96 h后C组存活率最高为87%,B组存活率为78%,A组存活率为80%(图1b)。

潜泥实验开始5 min后,各组缢蛭的潜泥率均在20%以下。整个潜泥过程中C组的潜泥率

始终高于 A、B 组。在 30 min 时 C 组的潜泥率 (90%) 显著高于 A 组 (83%) 和 B 组 (80%) ($P <$

0.05), 见图 2。

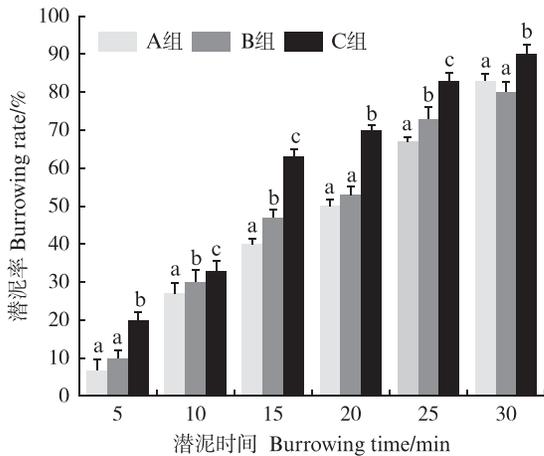


不同字母表示相同盐度下不同驯化组之间存在显著差异 ($P < 0.05$)。

Different letters indicated significant difference between different domestication groups at the same salinity ($P < 0.05$).

图 1 不同驯化方式下缢蛏在驯化期和适应期的存活率

Fig. 1 Survival rate of *S. constricta* during domestication and adaptation period under different domestication methods



不同字母表示相同盐度下不同驯化组之间存在显著差异 ($P < 0.05$)。

Different letters indicated significant difference between different domestication groups at the same salinity ($P < 0.05$).

图 2 不同驯化方式下缢蛏潜泥率

Fig. 2 Burrowing rate of *S. constricta* under different domestication methods

2.3 缢蛏驯化期间耗氧率和排氨率

3 个驯化组的耗氧率均先上升后下降, 驯化到盐度 6 时, A、B 两组与 C 组之间差异性显著 ($P < 0.05$)。在整个驯化期各组的耗氧率呈现上升的趋势。盐度 2 时达到峰值, 并且各组之间存在显著性差异 ($P < 0.05$), 此时 C 组耗氧率大于 B

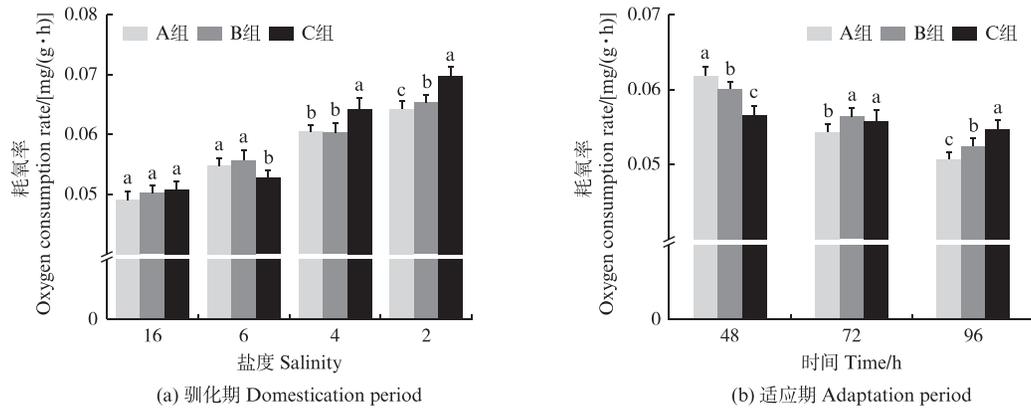
组, A 组耗氧率最小 (图 3a)。适应期 C 组在 48 h 后耗氧率变化趋于平稳 (图 3b)。

各组缢蛏的排氨率先升高后降低。盐度 16 和盐度 6 时各组之间无显著性差异 ($P > 0.05$), 盐度 2 时排氨率达到峰值。此时排氨率由大到小为 C 组、A 组、B 组。在整个驯化过程中 C 组的排氨率始终大于 A 组和 B 组 (图 4)。

2.4 缢蛏驯化期间超氧化物歧化酶活性、丙二醛含量

缢蛏各组织 SOD 活性在适应期 48 h 时达到最大值, 此时各组织 SOD 活性由大到小分别为肝胰腺、鳃、水管、斧足。A、B、C 3 组的 SOD 活性在驯化期先上升后下降, 在适应期呈下降趋势, 其中 C 组的下降趋势较为平缓。盐度 4 时各驯化组差异性显著 ($P < 0.05$), C 组活性最高。盐度 2 时 3 个驯化组各组织 SOD 活性均低于盐度 4 时 SOD 活性 (图 5)。

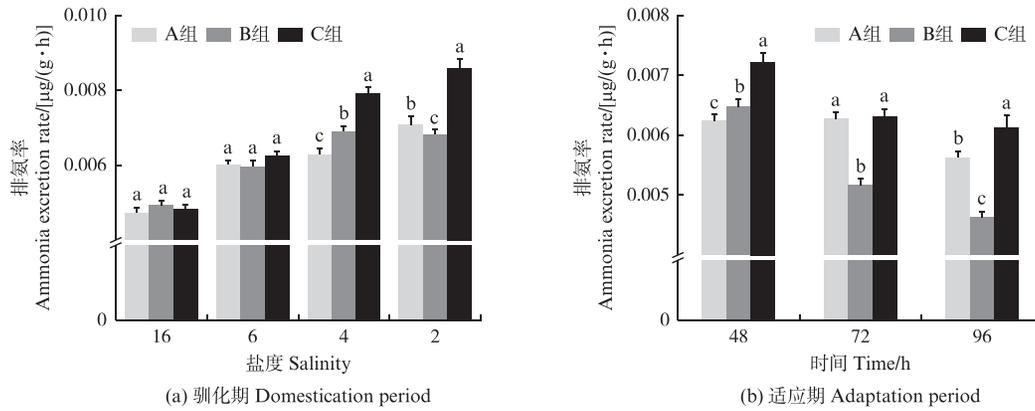
在胁迫过程中, 3 个驯化组各组织 MDA 含量变化趋势均先上升后下降。在盐度 16 和盐度 6 条件下各组之间无显著性差异 ($P > 0.05$), 在盐度 2 时各组 MDA 含量达到最大值。在适应期 48 h, C 组 MDA 含量显著低于 A、B 组 ($P < 0.05$), 见图 6。



不同字母表示相同盐度下不同驯化组之间存在显著差异 ($P < 0.05$)。
Different letters indicated significant difference between different domestication groups at the same salinity ($P < 0.05$).

图3 不同驯化方式下缢蛏在驯化期和适应期的耗氧率

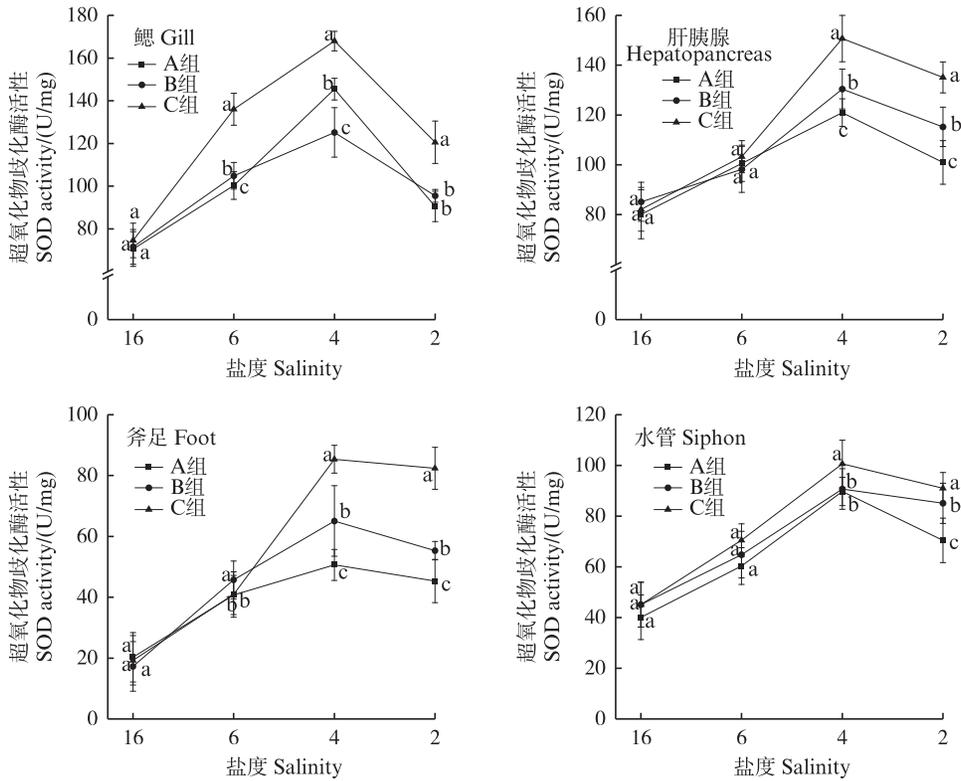
Fig. 3 Oxygen consumption rate of *S. constricta* during domestication and adaptation period under different domestication methods



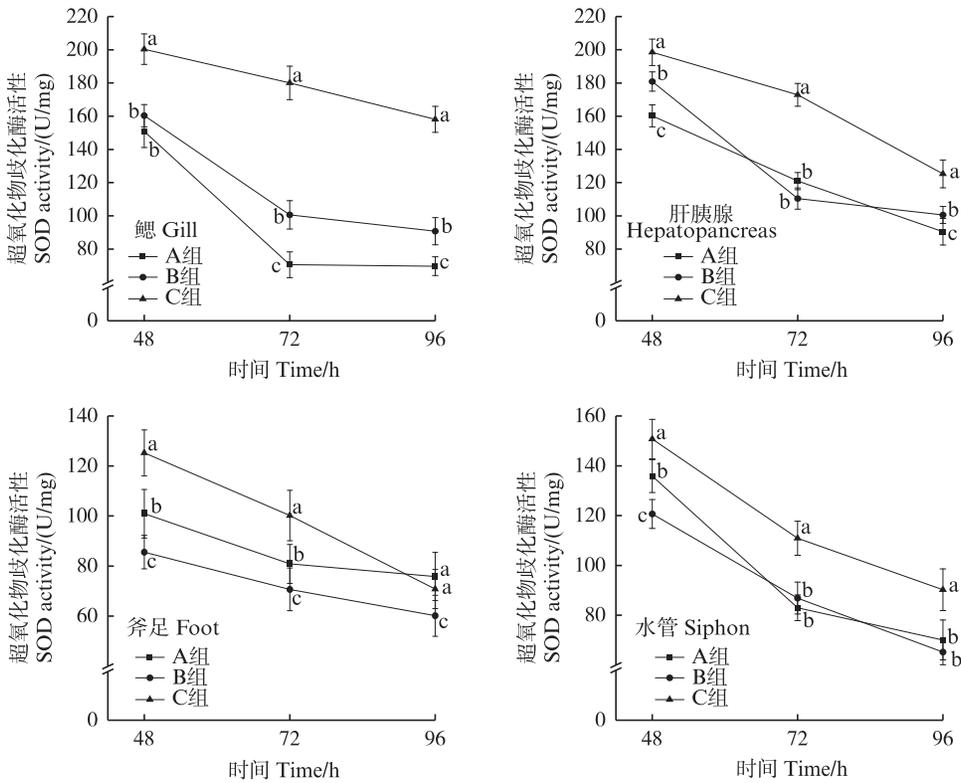
不同字母表示相同盐度下不同驯化组之间存在显著差异 ($P < 0.05$)。
Different letters indicated significant difference between different domestication groups at the same salinity ($P < 0.05$).

图4 不同驯化方式下缢蛏在驯化期和适应期的排氨率

Fig. 4 Ammonia excretion rate of *S. constricta* during domestication and adaptation period under different domestication methods



(a) 驯化期 Domestication period



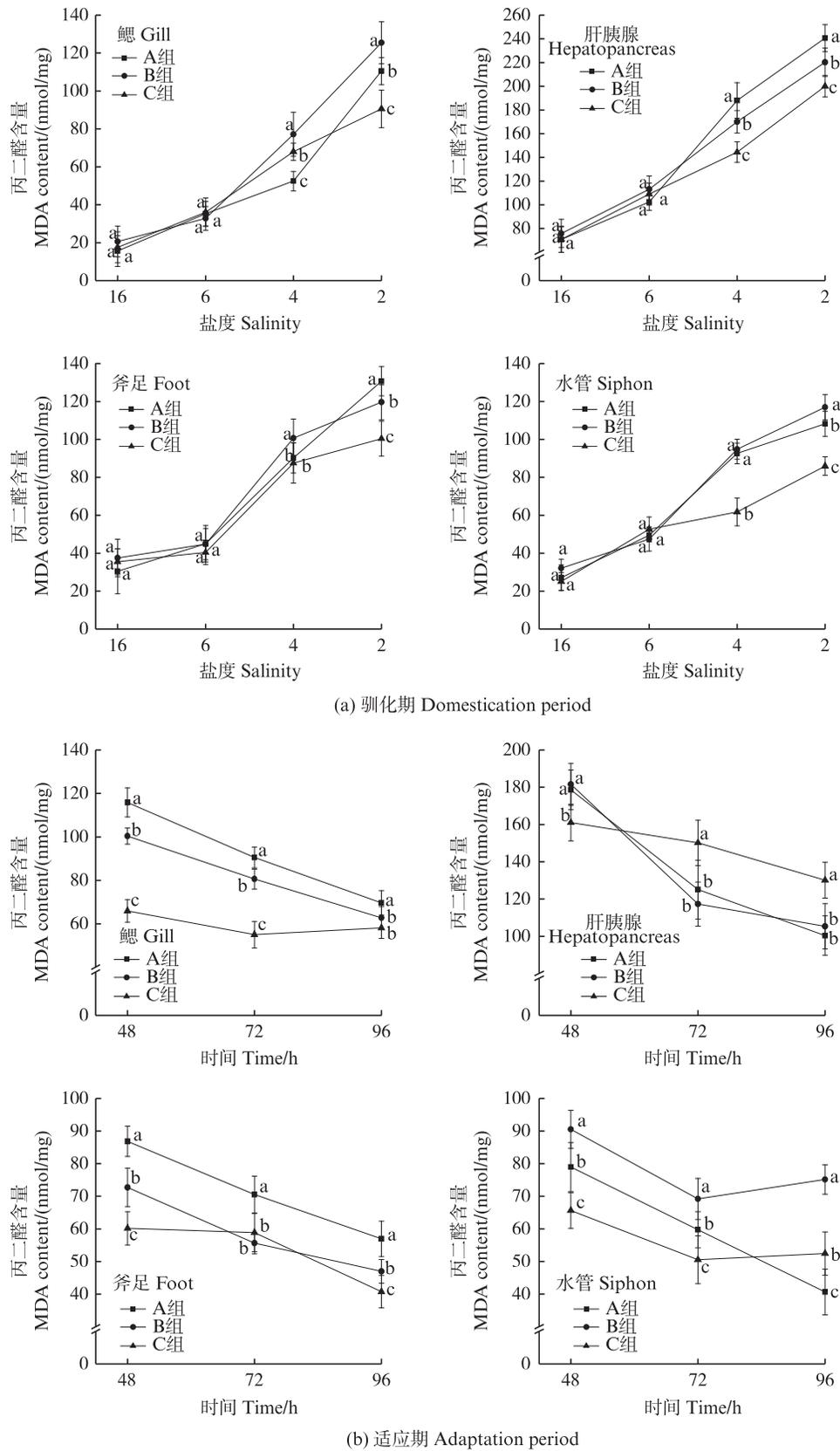
(b) 适应期 Adaptation period

不同字母表示相同盐度下不同驯化组之间存在显著差异 ($P < 0.05$)。

Different letters indicated significant difference between different domestication groups at the same salinity ($P < 0.05$).

图5 不同驯化方式下缢蛏在驯化期和适应期的SOD活性

Fig. 5 SOD activity of *S. constricta* during domestication and adaptation period under different domestication methods



不同字母表示相同盐度下不同驯化组之间存在显著差异 ($P < 0.05$)。

Different letters indicated significant difference between different domestication groups at the same salinity ($P < 0.05$).

图6 不同驯化方式下缢蛏在驯化期和适应期的MDA含量

Fig. 6 MDA content of *S. constricta* during domestication and adaptation period under different domestication methods

3 讨论

3.1 缢蛏半致死盐度

半致死盐度是在盐度胁迫实验中使受试水产动物半数死亡的盐度,可以在一定程度上判断所测试对象的盐度耐受性。本研究测得缢蛏(壳长 3.5 cm)的低盐半致死盐度为 2.005,而彭茂潇等^[23]测得缢蛏(壳长 4 cm)的低盐半致死盐度为 1.25。RUAN 等^[24]研究得到缢蛏 168 h 低盐半致死盐度为 3.5。说明相同物种胁迫时间越长低盐半致死盐度越大,并且不同规格缢蛏的低盐半致死盐度不同,缢蛏规格越大其耐低盐能力越强。研究表明,魁蚶(*Scapharca broughtonii*) 96 h 低盐半致死盐度为 14.89^[25],钝缢锦蛤(*Tapes dorsatus*) 96 h 低盐半致死盐度为 16.02^[26],葡萄牙牡蛎(*Crassostrea angulata*) 96 h 低盐半致死盐度为 11.09^[27]。相同的胁迫时间如果低盐半致死盐度越小则说明对低盐的耐受能力越强。本研究中缢蛏 96 h 低盐半致死盐度为 2.005,远小于魁蚶、钝缢锦蛤、葡萄牙牡蛎,表明缢蛏较其他贝类而言具有更好的低盐耐受性,更适宜低盐养殖。

3.2 不同驯化方式对缢蛏存活率和潜泥率的影响

低渗环境会直接影响贝类的渗透压从而改变其生理状态。当环境盐度低于贝类所适应的盐度时其存活率会显著降低^[28]。外界盐度改变时,贝类使用更多的能量进行渗透压的调节,即用于生长的能量就会相对减少^[29]。利用驯化的方式可提高缢蛏渗透调节的能力,使其更适应低渗环境^[30]。对魁蚶稚贝进行低盐梯度驯化后,有利于其应对低盐胁迫提高稚贝存活率^[31]。本研究中缢蛏的存活率随着盐度的降低而降低,实验结束时梯度驯化组的缢蛏存活率显著高于另外两组,表明梯度驯化方式更利于提高缢蛏在低渗环境中的耐受能力。

目前关于盐度对贝类潜泥行为影响的研究较多。贝类潜泥能力强弱可直接反映其在低盐胁迫后的受损程度。四角蛤蜊(*Macrura veneriformis*)在面临低盐胁迫时其潜泥率会随盐度的下降而降低,盐度降到 6.7 时潜泥率仅为 30%^[32]。黄晓婷等^[33]研究了低盐胁迫下侏儒蛤(*Mulinia lateralis*)的潜泥行为,发现随着胁迫时

间的延长其受到的影响也逐渐减弱。本研究中梯度驯化组缢蛏的潜泥率始终大于等速驯化组与交替驯化组,30 min 后其潜泥率达到 90%。表明梯度驯化组缢蛏较另外两组有更高的活性。潜泥率结果与存活率结果一致,均说明采用梯度驯化模式可显著提高缢蛏的低盐耐受能力。

3.3 不同驯化方式下缢蛏耗氧排氨的变化

低盐胁迫会使贝类通过调节耗氧排氨来应对外界的低渗环境^[34]。贝类在受到低盐胁迫时会流失大量的钠离子,出现排水保盐的状况,因此贝类需要从水中吸收钠离子,这一行为需通过提高自身的耗氧排氨来激活^[35]。研究^[36]表明扇贝在受到逆性环境胁迫时其耗氧率会显著升高。在对钝缢锦蛤(*Tapes dorsatus*)^[37]的研究中发现耗氧率和排氨率越高其代谢反应越活跃,抗低盐能力越强。曹国荣等^[38]研究里氏拟石磺(*Paraoncidium reevesii*)发现在高盐度和低盐度之间存在一个盐度点,当盐度超过此点时,其耗氧率和排氨率开始下降。本研究中驯化到盐度 2 时以及适应期 96 h 梯度驯化组缢蛏耗氧率与排氨率均呈现较高的状态,且 3 个驯化组中缢蛏的耗氧率与排氨率均呈先上升后下降的趋势,这表明在驯化过程中梯度驯化组缢蛏的生理代谢反应更为活跃,表现出更强的低盐适应能力。

3.4 不同驯化方式对缢蛏抗氧化酶的影响

当双壳贝类在遇到盐度胁迫时,其体内会积累大量的活性氧自由基(ROS)^[39]。过多的 ROS 会攻击贝类的生物膜结构,致使机体内部分代谢反应失衡进而影响贝类的正常生长。为应对 ROS 对细胞的侵害,机体内存在一系列的调节机制去清除或减少体内的 ROS^[40]。SOD 存在于细胞中,属于内源性抗氧化酶的一种,主要作用为催化细胞中积累的超氧阴离子和氢离子转化为 H₂O₂ 和 O₂,H₂O₂ 对机体的损伤程度远小于 ROS。最后由过氧化氢酶催化 H₂O₂ 转化为 H₂O 和 O² 排出体外。生物体通过这种无害的方式将过多积累的 ROS 清除,并使 ROS 生成与清除处于动态平衡状态,有效制止了 ROS 对机体的损害^[8]。

本研究中,对 3 个驯化组缢蛏的鳃、肝胰腺、斧足、水管 4 个组织 SOD 活性检测发现,鳃组织中 SOD 活性显著高于肝胰腺、水管、斧足,表明缢蛏面临低盐胁迫时产生的抗氧化反应主要在鳃组

织中进行。在驯化过程中SOD活性均呈现先升高后下降的趋势,且梯度驯化组缢蛭的SOD活性高于另外两组。对华贵栉孔扇贝(*Chlamys nobilis*)的研究发现,SOD易受盐度的影响,仅在适宜的盐度范围SOD才会升高,过低盐度反而会抑制SOD活性^[41]。叶博等^[42]在研究盐度胁迫对不同群体的缢蛭抗氧化酶活性影响时,发现SOD活性变化先升高后下降。这与本研究结果一致,较高的SOD活性说明梯度驯化组缢蛭表现出更积极的抗氧化反应,以清除过多的ROS。

丙二醛(MDA)在体外影响线粒体呼吸链复合物及线粒体内关键酶活性,因而测定MDA含量可以反映机体脂质过氧化的程度,间接反映细胞的损伤程度^[43-44]。研究^[45]表明MDA含量的变化与抗氧化酶对ROS的清除能力有关。在对岩牡蛎(*Crassostrea nippona*)的研究中发现,当盐度变化时MDA含量呈现先上升后下降的趋势^[46]。本研究中,不同驯化组MDA含量变化在驯化期上升、适应期下降,且梯度驯化组MDA含量显著低于另外两组。表明梯度驯化组缢蛭受到的氧化损伤程度最小,进一步证实了梯度驯化模式可提升缢蛭的耐低盐能力。

综上所述,本文探究了缢蛭在有泥条件下的低盐驯化方法。通过测定存活率、潜泥率、呼吸代谢、抗氧化酶活性等指标,表明缢蛭经过不同驯化处理之后具有不同的低盐适应能力。在3种驯化方式中,梯度驯化组的驯化方式更适用于缢蛭的低盐驯化,本研究为实现缢蛭在内陆盐碱水中的养殖提供了重要参考。

参考文献:

- [1] 张颖. 水产养殖治理盐碱地现状调查及对策研究——以甘肃省景泰县为例[D]. 兰州: 兰州大学, 2021.
ZHANG Y. Status investigation and countermeasure of aquaculture in saline-alkali land restoration-taking Jingtai county of Gansu province as an example [D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2021.
- [2] 徐伟, 耿龙武, 姜海峰, 等. 浅析盐碱水域的鱼类养殖开发利用[J]. 水产学杂志, 2015, 28(4): 44-47.
XU W, GENG L W, JIANG H F, et al. A review of development and utilization of fish culture in saline-alkaline water[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2015, 28(4): 44-47.
- [3] 逯冠政, 么宗利, 来琦芳, 等. 高盐碱环境下大口黑鲈幼鱼生长性能、血液生理指标与质构特征研究[J]. 渔业科学进展, 2022, 43(4): 1-11.
LU G Z, ME Z L, LAI Q F, et al. Growth performance, blood parameters, and texture characteristics of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*) exposed to highly saline-alkaline water [J]. Progress in Fishery Sciences, 2022, 43(4): 1-11.
- [4] 黄经献, 赵炳然, 张传涛, 等. 拟穴青蟹北方地区室内越冬技术研究[J]. 科学养鱼, 2021, 37(3): 61-62.
HANG J X, ZHAO B R, ZHANG C T, et al. Study on indoor wintering technology in northern region of *Scylla paramamosain* [J]. Scientific Fish Farming, 2021, 37(3): 61-62.
- [5] 赵一杰, 冯伟业, 吴桃, 等. 黄河盐碱水域精养池塘不同密度南美白对虾养殖试验[J]. 科学养鱼, 2023(2): 35-36.
ZHAO Y J, FENG W Y, WU T, et al. Experiment on culture of *Penaeus vannamei* at different densities in intensive ponds in saline-alkali waters of the Yellow River [J]. Scientific Fish Farming, 2023(2): 35-36.
- [6] 徐文龙, 汪惠庆, 李月红. 国内外盐碱水域分布及水产养殖应用[J]. 中国水产, 2021, 64(7): 50-53.
XU W L, WANG H Q, LI Y H. Distribution and aquaculture application of saline alkali water at home and abroad[J]. China Fisheries, 2021, 64(7): 50-53.
- [7] 秦桢, 李吉涛, 李明栋, 等. 盐碱水环境对脊尾白虾基因组DNA甲基化的影响[J]. 渔业科学进展, 2022, 43(4): 33-50.
QIN Z, LI J T, LI M D, et al. Effects of saline-alkaline water environment on DNA methylation of *Exopalaemon carinicauda* [J]. Progress in Fishery Sciences, 2022, 43(4): 33-50.
- [8] 王怡, 胡婉彬, 李家祥, 等. 急性盐度胁迫对紫石房蛤(*Saxidomus purpurata*)鳃组织结构及4种酶活性的影响[J]. 中国农业科技导报, 2016, 18(5): 178-186.
WANG Y, HU W B, LI J X, et al. Effects of acute salinity stress on gill structure and four enzyme activities in *Saxidomus purpurata* [J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2016, 18(5): 178-186.
- [9] 徐娴, 何琳, 林志华, 等. 盐度胁迫下缢蛭渗透压变化及V-ATPase H基因的表达分析[J]. 动物学杂志, 2020, 55(5): 606-613.
XU X, HE L, LIN Z H, et al. Effects of salinity stress on V-ATPase H expression, enzyme activity and osmotic pressure in *Sinonovacula constricta* [J]. Chinese Journal of Zoology, 2020, 55(5): 606-613.
- [10] BARRETT N J, THYRRING J, HARPER E M, et al. Molecular responses to thermal and osmotic stress in arctic intertidal mussels (*Mytilus edulis*): the limits of resilience [J]. Genes, 2022, 13(1): 155.
- [11] SEKIGUCHI Y, BENJAMIN C L, LEE E C, et al. Effects of heat acclimation following heat acclimatization on whole

- body heat exchange in trained endurance athletes [J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2022, 19(11): 6412.
- [12] REN S J, PRENTIS P, MATHER P B, et al. Genetic parameters for growth and survival traits in a base population of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) developed from domesticated strains in China [J]. Aquaculture, 2020, 523: 735148.
- [13] FIELD A L. Becoming Salmon: aquaculture and the domestication of a fish. Marianne Elisabeth lien. Berkeley, CA: University of California Press, 2015 [J]. Anthropology of Work Review, 2016, 37(2): 113-114.
- [14] 李海涛,赵志刚,徐伟,等. 盐度驯化对大鳞鲃幼鱼生理生化和抗氧化免疫的影响[J/OL]. 水产学报:1-11[2024-04-22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1283.S.20230209.1504.002.html>.
- LI H T, ZHAO Z G, XU W, et al. Effects of salinity acclimation on physiology and biochemistry and antioxidant immunity of juvenile *Luciobarbus capito* [J/OL]. Journal of Fisheries of China: 1-11 [2024-04-22]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1283.S.20230209.1504.002.html>.
- [15] ABRORI M, SOEGIANTO A, WINARNI D. Survival, osmoregulatory and hemocyte changes in *Litopenaeus vannamei* postlarvae acclimated to different intervals of salinity reduction [J]. Aquaculture Reports, 2022, 25: 101222.
- [16] XIONG Y H, HUANG M, ZHOU Y G, et al. Growth, osmoregulation and energy budget of rainbow and steelhead trout under different salinity acclimation methods and the best transition size of steelhead trout [J]. Aquaculture Research, 2020, 51(6): 2369-2378.
- [17] MCGRAW W J, SCARPA J. Mortality of freshwater-acclimated *Litopenaeus vannamei* associated with acclimation rate, habituation period, and ionic challenge [J]. Aquaculture, 2004, 236(1/4): 285-296.
- [18] 蔡海瑞. 南美白对虾淡水养殖技术总结[J]. 农村·农业·农民, 2020, 35(7B): 60-61.
- CAI H R. Summarization of freshwater culture techniques for *Penaeus australis* [J]. Nongcun Nongyongmin, 2020, 35(7): 60-61.
- [19] 周翠婷. 南美白对虾淡水养殖技术[J]. 农家参谋, 2022, 40(4): 159-161.
- ZHOU C T. Techniques of freshwater culture for *Penaeus australis* [J]. The Farmers Consultant, 2022, 40(4): 159-161.
- [20] 李海涛,徐伟,赵志刚,等. 碱度驯化对大鳞鲃幼鱼血液生理生化及肝脏抗氧化系统的影响[J]. 渔业科学进展, 2022, 43(4): 12-21.
- LI H T, XU W, ZHAO Z G, et al. Effects of alkalinity acclimation on blood physiology and biochemistry and liver antioxidant system of juvenile *Luciobarbus capito* [J]. Progress in Fishery Sciences, 2022, 43(4): 12-21.
- [21] 陈会琴,胡青,孔令富,等. 低盐驯化对西杂鲟幼鱼生长发育的影响[J]. 淡水渔业, 2023, 53(2): 50-60.
- CHEN H Q, HU Q, KONG L F, et al. The effects of low-salt domestication on the growth and development of juvenile hybrid sturgeon (*Acipenser baerii* ♀ × *A. schrenckii* ♂) [J]. Freshwater Fisheries, 2023, 53(2): 50-60.
- [22] 丁红兵,李浩宇,陈义华,等. 高盐对缢蛏生长存活、Na⁺/K⁺-ATPase活性及能量代谢相关指标的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2022, 31(4): 831-838.
- DING H B, LI H Y, CHEN Y H, et al. Effects of high salinity on growth and survival, Na⁺/K⁺-ATPase activity and energy metabolism related indexes of *Sinonovacula constricta* [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2022, 31(4): 831-838.
- [23] 彭茂潇. 缢蛏对内陆水域重要水环境因子耐受性研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.
- PENG M X. Study on tolerance of Chinese razor clam (*Sinonovacula constricta*) to important water environmental factors in inland waters [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020.
- [24] RUAN W B, DONG Y H, LIN Z H, et al. Molecular characterization of aquaporins genes from the razor clam *Sinonovacula constricta* and their potential role in salinity tolerance [J]. Fishes, 2022, 7(2): 69.
- [25] 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 G M, WU B, YANG A G, et al. Influence of low salinity challenge on survival and enzyme activities in *Scapharca broughtonii* [J]. Journal of Ludong University (Natural Science Edition), 2017, 33(2): 159-163.
- [26] 张柯馨,曹楚烟,刘志刚,等. 钝缀锦蛤(*Tapes dorsatus*)稚贝的温度和盐度耐受性研究[J]. 海洋学报, 2022, 44(4): 57-64.
- ZHANG K X, CAO C T, LIU Z G, et al. Study on temperature and salinity tolerance of *tapes dorsatus* juveniles [J]. Haiyang Xuebao, 2022, 44(4): 57-64.
- [27] 展建强,蔡廷柱,郭希瑞,等. 温度和盐度对三倍体葡萄牙牡蛎(*Crassostrea angulata*)稚贝生长和存活的影响[J]. 海洋与湖沼, 2023, 54(4): 1158-1164.
- ZHAN J Q, CAI T Z, GUO X R, et al. Effects of temperature and salinity on growth and survival of triploid *Crassostrea angulata* juveniles [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2023, 54(4): 1158-1164.
- [28] WANG N L, YANG J Q, ZHANG H K, et al. Differential responses to low salinity on gene expression, physiological and biochemical indexes between the golden and brown noble scallops *Chlamys nobilis* [J]. Aquaculture Research, 2020, 51(1): 316-325.
- [29] 税春,张海明,施永海,等. 盐度对梭鱼幼鱼生长、渗透

- 生理和体成分组成的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2015, 30(6): 634-640.
- SHUI C, ZHANG H M, SHI Y H, et al. Effects of salinity on growth, osmophysiology and body composition of juvenile soiuy *Liza haematocheila* [J]. Journal of Dalian Ocean University, 2015, 30(6): 634-640.
- [30] 王新星, 杜鑫鑫, 杨栋, 等. 不同低盐驯化方式对缢蛭生存、生理代谢及抗氧化水平的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2023, 32(4): 708-715.
- WANG X X, DU X X, YANG D, et al. Effects of different hyposaline acclimation methods on survival, physiological metabolism and antioxidant levels of *Sinonovacula constricta* [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2023, 32(4): 708-715.
- [31] 蔡星媛, 张秀梅, 田璐, 等. 盐度胁迫对魁蚶稚贝血淋巴渗透压及鳃Na⁺/K⁺-ATP酶活力的影响[J]. 南方水产科学, 2015, 11(2): 12-19.
- CAI X Y, ZHANG X M, TIAN L, et al. Effect of salinity stress on hemolymph osmolality and gill Na⁺/K⁺-ATPase activity of juvenile ark shell (*Anadara broughtonii*) [J]. South China Fisheries Science, 2015, 11(2): 12-19.
- [32] NAKAMURA Y, HASHIZUME K, KOYAMA K, et al. Effects of salinity on sand burrowing activity, feeding and growth of the clams *Macra veneriformis*, *Ruditapes philippinarum* and *Meretrix lusoria* [J]. Journal of Shellfish Research, 2009, 24(4): 1053-1059.
- [33] 黄晓婷, 杨祖晶, 王浩, 等. 侏儒蛤潜沙行为研究[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2020, 50(9): 64-71.
- HUANG X T, YANG Z J, WANG H, et al. A study on burrowing behavior of *Mulinia lateralis* [J]. Periodical of Ocean University of China, 2020, 50(9): 64-71.
- [34] 刘建勇, 陈园媛, 曹伏君, 等. 盐度对不同规格九孔鲍耗氧量和排氨率的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2019, 39(5): 129-134.
- LIU J Y, CHEN Y Y, CAO F J, et al. Effects of salinity on oxygen consumption rate and ammonia excretion rate of different size in *Haliotis diversicolor supertexta* [J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2019, 39(5): 129-134.
- [35] BOULLOT F, CASTREC J, BIDAULT A, et al. Molecular characterization of voltage-gated sodium channels and their relations with paralytic shellfish toxin bioaccumulation in the pacific oyster *Crassostrea gigas* [J]. Marine Drugs, 2017, 15(1): 21.
- [36] 佐藤恭成, 榊昌文, 李跃. 氨对扇贝的半致死浓度[J]. 水产科学, 1991, 11(2): 42-44.
- ZUO T G C, SHEN C W, LI Y. Semi-lethal concentration of ammonia on scallops [J]. Fisheries Science, 1991, 11(2): 42-44.
- [37] 陆莉莉, 喻达辉, 李雷旭, 等. 温度、盐度和pH对钝缢锦蛤耗氧率和排氨率的影响[J]. 海洋科学, 2022, 46(10): 113-121.
- LU L L, YU D H, LI L X, et al. Effect of temperature, salinity, and PH on the oxygen consumption rate and the ammonia excretion rate of *Tapes dorsatus* [J]. Marine Sciences, 2022, 46(10): 113-121.
- [38] 曹国荣, 钟秋平, 许莉丽, 等. 温度和盐度对里氏拟石磺排氨率和耗氧率的影响[J]. 北部湾大学学报, 2021, 36(6): 1-5.
- CAO G R, ZHONG Q P, XU L L, et al. Influence of temperature and salinity on *Paraoncidium Reevesii*' s Ammonia excretion rate and oxygen consumption rate [J]. Journal of Beibu Gulf University, 2021, 36(6): 1-5.
- [39] GOSTUYKHINA O L, ANDREENKO T I. Superoxide dismutase and catalase activities in tissues of the black sea bivalve mollusks *Cerastoderma glaucum* (Bruguière, 1789), *Anadara kagoshimensis* (Tokunaga, 1906) and *Mytilus galloprovincialis* lam. as related to adaptation to their habitats [J]. Journal of Evolutionary Biochemistry and Physiology, 2020, 56(3): 113-124.
- [40] YOON S J, CHIN B S, PARK G S, et al. Physiological response of parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*) and bivalve (*Gomphina melanaegis*) by lowing water temperature exposure [J]. Journal of Fisheries and Marine Sciences Education, 2016, 28(1): 1-13.
- [41] 钱佳慧, 栗志民, 申玉春, 等. 温度和盐度对华贵栉孔扇贝抗氧化酶活性的联合效应研究[J]. 南方水产科学, 2015, 11(6): 49-57.
- QIAN J H, LI Z M, SHEN Y C, et al. Synergistic effect of temperature and salinity on antioxidant enzymes activities of *Chlamys nobilis* [J]. South China Fisheries Science, 2015, 11(6): 49-57.
- [42] 叶博. 缢蛭三个群体在不同盐度应激下的响应机制 [D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.
- YE B. Response mechanism of three populations of *Sinonovacula constricta* under different salinity stress [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020.
- [43] SIFI K, SOLTANI N. Seasonal changes of two biomarkers of oxidative stress (LDH, MDA) in the edible mollusc *Donax trunculus* (Mollusca: Bivalvia) from the Gulf of Annaba (Algeria): correlation with carbohydrate and lipid contents [J]. Molluscan Research, 2019, 39(1): 44-52.
- [44] OĞUL Y, GÜR F, GÜR B, et al. Decreased Na⁺/K⁺ pump activity in the erythrocyte membrane due to malondialdehyde in rheumatoid arthritis: an in vivo and in silico study [J]. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 2022, 100(10): 968-982.
- [45] DOMINGUEZ M, TAKEMURA A, TSUCHIYA M. Effects of changes in environmental factors on the non-specific immune response of *Nile tilapia*, *Oreochromis niloticus* L. [J]. Aquaculture Research, 2005, 36(4): 391-397.
- [46] 胡益鸣, 李琪, 刘士凯, 等. 温度和盐度急性胁迫对岩牡蛎存活及免疫指标的影响[J]. 中国水产科学, 2020,

27(3): 286-294.

HU Y M, LI Q, LIU S K, et al. Effects of acute temperature and salinity stress on the survival and immune

indexes of *Iwagaki oysters*, *Crassostrea nippona* [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2020, 27(3): 286-294.

Behavioral and physiological responses of *Sinonovacula constricta* to different low-salt domestication patterns

YANG Dong¹, HAN Yuting¹, GAO Geqi¹, WANG Jie², NIU Donghong^{1,3}

(1. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Sanmen Eastern Fisheries Limited, Sanmen 317100, Zhejiang, China; 3. Shanghai Collaborative Innovation for Aquatic Animal Genetics and Breeding, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: In order to study the optimal low salt acclimation method of *Sinonovacula constricta*, the low salt semi-lethal salinity was set by 5 gradients of salinity 0, 1, 2, 3 and 5, and the low salt semi-lethal salinity was 2.005 at 96 h. With this salinity as the target salinity, three different domestication methods A, B and C were set (Group A: equal-velocity domestication; Group B: alternate domestication; Group C: gradient acclimation). The *S. constricta* were acclimated with low salinity from 16 to 2, and then acclimated to the target salinity for 4 days. The survival rate and submerged sludge rate of three acclimation methods were recorded. Oxygen consumption rate and ammonia emission rate of each group were detected. Superoxide dismutase (SOD) activity and Malondialdehyde (MDA) content were determined. The results showed that the survival rate (88%) and submerged mud rate (90%) of *S. constricta* in group C were significantly higher than those in groups A and B when acclimated to salinity 2. The oxygen consumption rate and ammonia emission rate of group C were significantly higher than those of groups A and B. Superoxide dismutase (SOD) activity reached its peak at salinity 4, and group C was significantly higher than groups A and B. Malondialdehyde (MDA) content reached its peak when acclimated to salinity 2, and was significantly lower in group C than in groups A and B. In conclusion, the low salt acclimation method of gradient acclimation (C) group is more beneficial to low salt culture of *S. constricta*. The results of this study provide an important reference for the development of Marine shellfish aquaculture species in China's inland low-salt waters.

Key words: *Sinonovacula constricta*; domestication; low salt; behavior; physiology