

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2012.00138

悬沙胁迫下熊本牡蛎的损伤及恢复

李云, 沈盎绿

中国水产科学研究院 东海水产研究所, 上海 200090

摘要: 首先将熊本牡蛎(*Crassostrea sikamea*)暴露于不同质量浓度(0、50、100、500、1000 和 5000 mg/L)悬沙中 15 d 后, 再将受试牡蛎转移到干净海水中恢复培养 15 d, 观察牡蛎的存活率, 检测鳃丝中 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性变化、鳃细胞 DNA 损伤情况和肌肉中 RNA/DNA 比率变化, 探讨悬沙对牡蛎的影响。结果表明, 悬沙暴露试验后, 本研究所设悬沙浓度对牡蛎存活率几乎无影响, 但当悬沙质量浓度 ≥ 500 mg/L 时, 鳃丝中 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶、SOD 和 CAT 活性开始显著降低, 鳃细胞中开始检测到明显的 DNA 损伤, 反映牡蛎生长状况的 RNA/DNA 比率也较对照组明显减小($P < 0.05$)。这些受损牡蛎经干净海水培养 15 d 后, 检测的生理生化指标虽有一定程度的恢复, 但仍未恢复到对照组和低浓度悬沙组的水平。可见, 较高水平的悬沙胁迫对牡蛎并没有产生致命的影响, 依据常规的生态毒理学指标如存活率并不能得出有效的评价结果, 但分子细胞水平上的各指标就能比较灵敏地反映悬沙胁迫的影响。

关键词: 悬沙; 熊本牡蛎; 酶活性; DNA 损伤; RNA/DNA 比率

中图分类号: S93

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2012)01-0138-07

近年来, 各类涉海工程日益增多, 施工产生的悬沙以及风暴潮导致的海底沉积物再悬浮等均会造成局部海域悬沙浓度急剧增加。增加的悬沙不仅对该海域海水的物理、化学性质产生影响, 还会对水体中海洋生物的摄食、生长、繁殖甚至存活造成严重影响^[1-3]。长江口疏浚弃土悬沙含量达到 3 g/L 持续 96 h 时, 微绿球藻(*Nannochloropsis oculata*)和牟氏角毛藻(*Chaetoceros muelleri*)生长速率降低 20%~30%^[4]。褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*)培养液中加入 7~9 mg/ml 弃土悬沙时, 其种群内禀增长率显著降低^[5]。悬沙对鱼类的影响研究最为广泛和深入, 根据其影响程度可分为致死效应、亚致死效应和行为影响 3 类或 14 个等级^[3, 6-7]。然而, 悬沙对蟹类、虾类和贝类影响的研究则相对较少。王云龙等^[8]指出悬沙会推迟中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)幼体蜕皮变态。李云等^[9]发现悬沙浓度高于 500 mg/L 影响日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus*)仔虾摄食, 导致

其增重率下降。沈盎绿等^[10]报道高浓度悬沙胁迫下褶牡蛎(*Crassostrea plicatula*)鳃丝中超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性显著降低。且以往的研究多注重海洋生物对悬沙胁迫的响应, 很少考虑由于工程竣工或悬沙随海流扩散和沉降, 悬沙胁迫压力消失以后受损生物的恢复情况。

牡蛎为世界性的广布种类, 也是中国沿海最为常见的一种贝类, 在海洋生物中具有一定的代表性, 是国内外生物检测首选的指标种^[11]。本研究拟通过悬沙胁迫下牡蛎的损伤试验, 然后将受试牡蛎再转移至干净海水中的恢复试验, 探讨悬沙对牡蛎的影响, 以期为海洋渔业资源环境评价和管理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验所用牡蛎于 2010 年 5 月初采集自宁波市象山县东湾附近海岸退潮后裸露的礁石上, 经

收稿日期: 2011-05-13; 修订日期: 2011-07-12.

基金项目: 国家重点基础研究发展规划项目(2010CB429005); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(中国水产科学研究院东海水产研究所)资助项目(2008M13)

作者简介: 李云(1979-), 男, 博士, 主要从事渔业生态环境研究. E-mail: salixly@yahoo.com.cn

鉴定为熊本牡蛎(*Crassostrea sikamea*)。采集的牡蛎洗净剔除体表的沙泥和附着物后,在自然光照和室温下驯养 5 d,挑选大小接近(壳长 4.0~4.5 cm,壳宽 1.5~2.0 cm,体质量 5.20~5.30 g)、健康的个体用于试验。

制备悬沙的底泥由长江口深水航道工程建设单位提供。实验前,采用 LS 粒度仪分析悬沙粒径组成,冷原子荧光法测定汞(Hg)和砷(As)含量,原子吸收法测定铜(Cu)、锌(Zn)、铅(Pb)和镉(Cd)含量。

1.2 实验装置

试验装置由本课题组设计并已申请获得专利^[12]。主要由特制水箱、内胆、潜水泵和加热棒等组成(图 1)。特制水箱有效容积为 10 L,纵截面呈梯形,有一个斜面可以削弱泥沙沉降,整个材料由透明有机玻璃制成。内胆有效容积为 2 L,呈长方体,顶部往外延伸 0.5 cm,便于内胆挂在水箱里,材料主要由不锈钢网片构成,网目根据受试生物个体大小而定。在水箱侧面放置一个微型潜水泵,冲力最大的一个出口朝下,这样可以充分搅动泥沙。在水箱底部放置一个加热棒,便于控制水温。

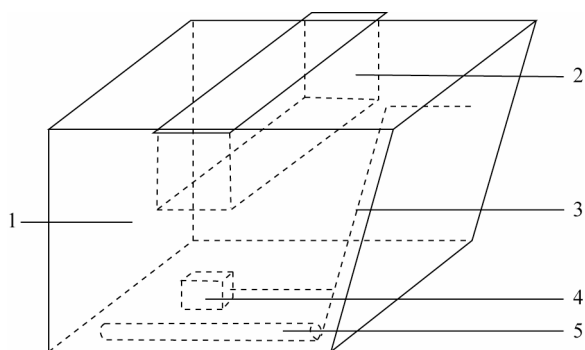


图 1 试验装置示意图

1. 特制水箱; 2. 内胆; 3. 电线; 4. 微型潜水泵; 5. 加热棒。

Fig. 1 Sketch map of experimental equipment

1. Water tank; 2. Inside shell; 3. Electrical wire; 4. Mini submersible pump; 5. Heating rod.

1.3 实验设计

试验所用砂滤自然海水盐度为 22,实验期间水温变化为 20~23℃,pH 为 7.96~8.04,溶解氧(DO)为 8.02~8.20 mg/L。首先进行悬沙暴露实验,周期为 15 d。悬沙浓度梯度分别设为 0(空白对照)、50、100、500、1000 和 5000 mg/L,每个浓

度设 3 个平行组,每组受试牡蛎 20 只。日换水 2 次,每次只需将内胆轻轻提起,放入另一个预先准备好的水箱中,换水后投喂扁藻(*Platymonas* sp.),密度约 10^4 cells/mL。每天观察牡蛎的死亡情况,及时清除死亡个体。15 d 时每组随机采取 5 只牡蛎,解剖分离出鳃和肌肉,双蒸水洗净后置于冻存管中液氮保存至测定。然后将各组中剩余的牡蛎分别转移至干净海水中进行恢复实验,周期也为 15 d。期间的换水和投饵,以及实验结束时采样均与暴露试验相同。

1.4 鳃丝中酶活性测定

牡蛎鳃丝中 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶、超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性检测均采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒,具体测定方法按说明书进行。 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶活性单位为 $\mu\text{mol}(\text{Pi})/(\text{mg} \cdot \text{h})$,SOD 和 CAT 活性单位为 $\text{U}/\text{mg}(\text{prot})$ 。

1.5 肌肉中 RNA/DNA 比率测定

参照 Buckley 等^[13]的方法提取牡蛎肌肉中核酸和核糖核酸,用 751 型分光光度计测定 A_{260} 值,并计算 RNA 和 DNA 含量,求出 RNA/DNA 比率。

1.6 鳃细胞 DNA 损伤测定

参照 Tse 等^[14]的方法制备牡蛎鳃丝单细胞悬液进行彗星试验(Comet Assay),彗星细胞采用 Kinetic Imaging Comet 4.0 软件分析,分析指标除拖尾率(Comet cell rate)外,还依据 Lee 等^[15]的定义选取尾长(Tail length)和尾矩(Tail moment)。

1.7 数据分析

所有数据以 3 个平行组数据的平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm \text{SD}$)表示,通过 SPSS 13.0 软件进行处理,采用单因素方差分析(one-way ANOVA)和 Duncan 比较法检验各处理组间差异,差异显著度为 0.05。

2 结果与分析

2.1 悬沙的粒径和重金属含量

实验所用悬沙中,砂(粒径 63~250 μm)占 37.3%,泥沙(粒径 4~63 μm)占 49.9%,黏土(粒径 $< 4 \mu\text{m}$)占 12.8%。重金属 Cu、Zn、Pb、Cd、Hg 和 As 含量如表 1 所示。由表 1 可见,制备悬沙的底泥中重金属含量均符合国家一类沉积物标准,不会对受试生物产生毒害作用。

表 1 制备悬沙的底泥中重金属含量
Tab. 1 Heavy metal content of experimental suspended sediment

数据来源 data source	Cu	Zn	Pb	Cd	Hg	As
本研究 this study	17.02	43.70	5.26	0.18	0.10	6.92
标准 ^a standard	35.0	150.0	60.0	0.50	0.20	20.0

注: ^a海洋沉积物质量标准(GB18668-2002).

Note: ^aStandard of marine sediment quality (GB18668-2002).

2.2 悬沙胁迫下牡蛎的存活率

悬沙暴露实验结束后解剖熊本牡蛎发现,随着悬沙处理浓度的增加,黏附在牡蛎鳃丝上的泥沙颗粒也增多,从解剖生物学的角度来看,悬沙处理已经对牡蛎的正常生理状况产生了一定的影响。但悬沙对牡蛎的存活率(图 2)却无显著影响($P>0.05$)。

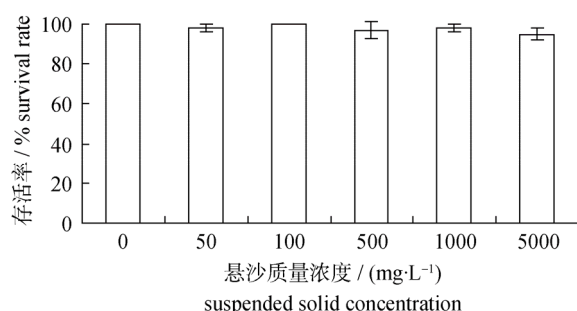


图 2 不同悬沙浓度组中 15 d 时熊本牡蛎存活率

Fig. 2 Survival rate of *Crassostrea sikamea* after 15 days of exposure to suspended solids

2.3 牡蛎鳃丝中酶活性变化

从悬沙暴露实验结束后熊本牡蛎鳃丝中 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶、SOD 和 CAT 活性变化(图 3)可以看出,对照组和低浓度(<500 mg/L)悬沙组酶活性几无变化,悬沙质量浓度达 500 mg/L 时, CAT 和 SOD 酶活性开始显著降低($P<0.05$),当浓度增至 1000 mg/L 时,酶活性降低幅度变缓。方差分析表明,高浓度(1000 mg/L 和 5000 mg/L)悬沙组间酶活性差异不显著($P>0.05$),但与对照组和低浓度悬沙组间差异显著($P<0.05$)。

受试牡蛎经 15 d 的恢复实验后,对照组和低浓度(<500 mg/L)悬沙组 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶、SOD 和 CAT 活性无明显变化,浓度 ≥ 500 mg/L 悬沙组酶活性均有一定程度的上升,但仍未恢复到对照组

和低浓度(<500 mg/L)悬沙组的水平。高浓度(1000 和 5000 mg/L)悬沙组与对照组和低浓度悬沙组之间酶活性仍差异显著($P<0.05$, 图 3)。

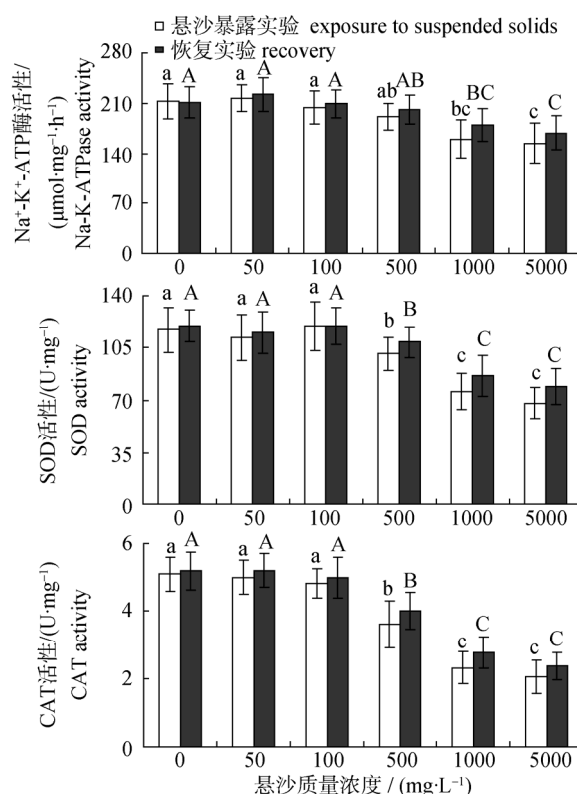


图 3 牡蛎鳃丝中 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ 酶、SOD 和 CAT 活性变化
不同小写字母表示悬沙暴露实验组间差异显著($P<0.05$). 不同大写字母表示恢复实验组间差异显著($P<0.05$).

Fig. 3 Changes in $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$ ase, SOD and CAT activity in gill filaments of *Crassostrea sikamea*
Different small letters donate significant difference between groups in suspended solid exposure trial($P<0.05$).
Different capital letters donate significant difference between groups in recovery trial($P<0.05$).

2.4 牡蛎肌肉中 RNA/DNA 比率变化

由图 4 可见,悬沙暴露实验结束后,对照组和低浓度(<500 mg/L)悬沙组熊本牡蛎肌肉中 RNA/DNA 比率均 >2.80 ,各组间差异不明显($P>0.05$)。500、1000 和 5000 mg/L 悬沙组 RNA/DNA 比率逐渐减小,分别是 2.34、2.04 和 1.73,与对照组和低浓度悬沙组间差异显著($P<0.05$)。受试牡蛎经 15 d 的恢复实验后,质量浓度 ≥ 500 mg/L 悬沙组 RNA/DNA 比率虽有一定程度的上升,但仍未恢复到对照组和低浓度悬沙组的水平,与对照组和低浓度悬沙组间仍差异显著($P<0.05$)。

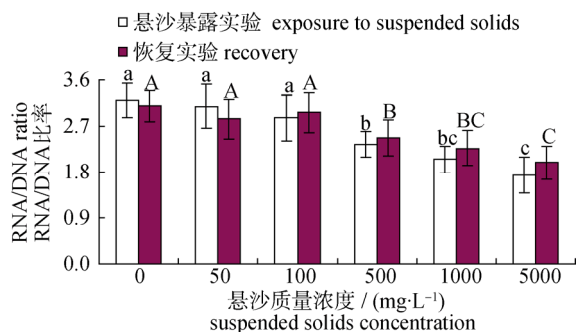


图 4 牡蛎肌肉中 RNA/DNA 比率变化

不同小写字母表示悬沙暴露实验组间差异显著($P < 0.05$). 不同大写字母表示恢复实验组间差异显著($P < 0.05$).

Fig. 4 Changes in RNA/DNA ratio in muscles of *Crassostrea sikamea*

Different small letters donate significant difference between groups in suspended solid exposure trial($P < 0.05$). Different capital letters donate significant difference between groups in recovery trial($P < 0.05$).

2.5 牡蛎鳃细胞 DNA 损伤

彗星实验结果(图 5)显示, 正常细胞中绝大部分的 DNA 都集中在细胞核内, 经电泳和染色后, 在荧光显微镜下细胞核的 DNA 呈一致密的圆形。而 DNA 受到损伤后 DNA 链会发生断裂, 产生大小不一的 DNA 断链碎片, 在电场的作用下 DNA 的断链碎片会向阳极迁移, 由于不同大小的断链碎片迁移的速度不同, 因此就产生像彗星一样的图像, 即彗星细胞。彗星细胞的拖尾率、尾长和尾矩随 DNA 损伤程度不同而不同。

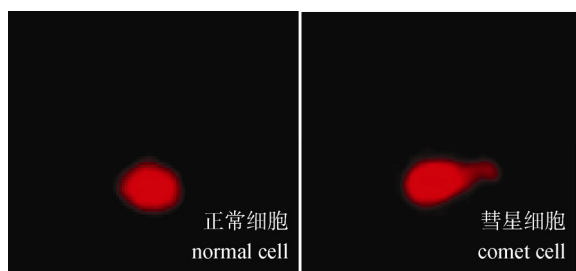


图 5 彗星实验的典型细胞图

Fig. 5 Typical cells of the comet assay

由图 6 可见, 悬沙暴露实验结束后, 对照组和低浓度(< 500 mg/L)悬沙组 DNA 损伤各指标(拖尾率、尾长和尾矩)变化不明显($P > 0.05$)。500、1000 和 5000 mg/L 悬沙组各指标逐步上升。高浓度(1000 和 5000 mg/L)悬沙组与对照组和低浓度悬沙组间各指标差异显著($P < 0.05$)。受试牡蛎经

15 d 的恢复实验后, 质量浓度 ≥ 500 mg/L 悬沙组拖尾率、尾长和尾矩虽有一定程度的下降, 但仍未恢复到对照组和低浓度悬沙组的水平。1000 和 5000 mg/L 悬沙组与对照组和低浓度悬沙组间各指标仍差异显著($P < 0.05$)。

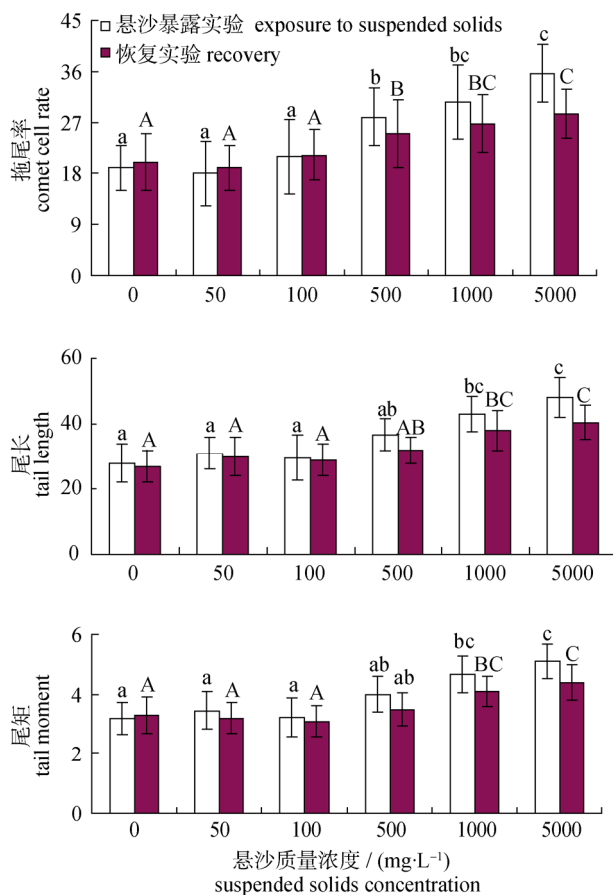


图 6 牡蛎鳃细胞的拖尾率、尾长和尾矩变化

不同小写字母表示悬沙暴露实验组间差异显著($P < 0.05$). 不同大写字母表示恢复实验组间差异显著($P < 0.05$).

Fig. 6 Changes in comet cell rate, tail length and tail moment in cells isolated from gills of *Crassostrea sikamea*

Different letter shows significant difference ($P < 0.05$). Different small letters donate significant difference between groups in suspended solid exposure trial($P < 0.05$). Different capital letters donate significant difference between groups in recovery trial($P < 0.05$).

3 讨论

3.1 影响牡蛎生长的环境因子

影响牡蛎生长的环境因子很多。经不同海区调查证实, 牡蛎的快速生长都是发生在叶绿素 a 浓度和颗粒有机物(POM)含量高、水温较高和盐

度超过 20 的海区^[16]。如果盐度过高(>33)或过低(<20),即使在年最高水温和饵料丰度最高的时期,牡蛎的生长率也可能较低^[16]。Wallace 等^[17]研究指出,不同水深的冰岛栉孔扇贝(*Chlamys islandica*)的生长差异主要是由水体颗粒无机物(PIM)和 POM 之比所决定, PIM 对其生长具有负效应。重金属铜、锌、铅、镉和多环芳烃(PAHs)等会显著影响牡蛎鳃和消化腺组织的保护酶系统活力^[18-19]。有机锡化合物三丁基锡(TBT)和环境激素壬基酚(NP)等会导致牡蛎鳃细胞和血淋巴细胞的 DNA 损伤^[20-21]。此外,水流、水深、饵料生物结构和浓度等因素对牡蛎的生长也具有显著的影响^[22]。然而,在本实验中,按时足量投喂饵料,海水温度和盐度均适宜受试牡蛎生长。制备悬沙的底泥质量良好,悬沙中重金属铜、锌、铅、镉、汞和砷含量均达到了海洋沉积物质量的第一类标准(表 1),该标准适用于海洋渔业水域、海水养殖区。因此,悬沙浓度及暴露持续时间是本研究中影响牡蛎生长的主要因子。

3.2 悬沙胁迫下牡蛎的损伤

熊本牡蛎属于滤食性贝类,进食时水流直接进入鳃腔,由鳃再将食物滤出送入口腔。因鳃直接与水流接触,当水体中悬沙浓度过高时,鳃在滤食过程中极易因黏附泥沙颗粒而出现磨损,导致呼吸及滤食功能下降,从而影响正常生理功能甚至死亡。马明辉等^[23]指出,底泥悬浮物对虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*)的 72 h 急性致死效应不强,但高浓度悬浮物对其具有很强的慢性致死作用。Cheung 等^[24]证实,不同粒径范围的悬沙引起翡翠贻贝(*Perna viridis*)鳃物理损伤的程度和部位不同。可见,悬浮颗粒物对贝类鳃的损伤程度与颗粒物浓度和粒径有直接关系。在本研究中,悬沙暴露实验结束后,浓度高至 5000 mg/L 的悬沙对熊本牡蛎存活率亦无显著影响(图 2),但通过解剖发现,鳃丝上黏附的泥沙颗粒随悬沙处理浓度的增加而明显增多,说明悬沙处理已经对牡蛎的正常生理状况产生了一定的影响,这种影响通过鳃丝中酶活性的变化(图 3)、肌肉中 RNA/DNA

比率变化(图 4)和鳃细胞 DNA 损伤(图 6)得以证实。当悬沙质量浓度达 500 mg/L 时,鳃丝中 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶、SOD 和 CAT 活性开始显著降低($P < 0.05$),鳃细胞中开始检测到明显的 DNA 损伤,反映牡蛎生长状况的肌肉 RNA/DNA 比率也明显减小。RNA/DNA 比率是一个能精确地反映生物新陈代谢活动的指标,生物的生长与 RNA/DNA 比率之间具有密切的正相关性^[9, 25]。肌肉中 RNA/DNA 比率减小说明高浓度悬沙能抑制牡蛎的生长,其原因可能是由于水体中增加的悬沙含量会明显增加牡蛎假粪的产量和能量的消耗,减少牡蛎对食物的摄食^[26]。在高浓度悬浮颗粒物情况下,通过调节摄食率,降低滤水率可防止颗粒物过多地滞留于鳃上,这也是牡蛎对不良环境条件的一种反应^[27]。

3.3 悬沙胁迫消失后牡蛎的恢复

在自然水体中,由于涉水工程的竣工、风暴潮的停止,以及水流的扩散作用、泥沙颗粒的沉降作用,悬沙对水生生物的胁迫压力会逐渐消失。在悬沙胁迫压力消失以后,目前关于受损生物恢复情况的研究还很少。Tse 等^[14]报道,10 d 的悬沙暴露会导致斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)幼鱼肝脏细胞的 DNA 损伤,但受损的幼鱼转移至清洁海水中 10 d 后, DNA 损伤能恢复至对照组水平。然而,本研究结果显示,浓度 ≥ 500 mg/L 悬沙组中的受损牡蛎经 15 d 的恢复实验后,鳃丝中 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶、SOD 和 CAT 活性(图 3)和鳃细胞的 DNA 损伤(图 6)虽有一定程度的恢复,但仍未恢复到对照组和低浓度悬沙组的水平。这与 Shin 等^[28]的研究结果相一致,在高浓度悬沙(1 200 mg/L)中鳃丝受损的翡翠贻贝(*Perna viridis*)转移至干净海水中 14 d 后亦无明显的恢复。这种鳃损伤的不完全恢复,Shin 等^[28]认为会影响牡蛎的摄食率,最终抑制牡蛎的生长,而本研究中肌肉 RNA/DNA 比率的变化(图 4)正说明了这种相关性。

3.4 分子生态毒理学指标在环境胁迫研究中的应用

本实验发现,较高水平的悬沙胁迫对牡蛎并没有产生致命的影响,依据常规的生态毒理学指

标如存活率(图 2)并不能得出有效的评价结果, 但通过检测牡蛎鳃丝中 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶、SOD 和 CAT 活性、鳃细胞 DNA 损伤和肌肉中 RNA/DNA 比率的变化, 就能比较灵敏地反映悬沙胁迫的影响。不少研究已经证实, 参与离子平衡、能量代谢、物质运送和氧化磷酸化等重要生理生化过程的 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATP}$ 酶, 以及机体抗氧化防御酶系统中的 SOD 和 CAT 对外界不利因素的胁迫敏感性很强, 已成为环境毒理评价、生理功能检测和污染生物指示的重要生物酶^[10, 19, 29]。而 DNA 损伤和 RNA/DNA 比率作为生物标记物也开始引入了环境污染对水生生物的毒理学评估体系中^[9, 14]。当前, 中国现行的为防止和控制渔业水域水质污染而制定的《渔业水质标准》(GB11607-89)中关于“悬浮物质”一项, 其标准值仅通过一段描述性文字表述, 即“人为增加的量不得超过 10 mg/L, 而且悬浮物质沉积于底部后, 不得对鱼、虾、贝类产生有害的影响”。依据该描述, 环评工作者在评估悬浮物造成的渔业资源损失时难于给出一个让人信服的答案。本研究结果说明, 熊本牡蛎具有较高的悬沙耐受能力, 悬沙浓度高至 5000 mg/L 对其存活率也无显著影响。此外, 其他研究结果如近江牡蛎(*Crassostrea rivularis*) 96 h 底泥悬浮物半致死浓度为 627.17 mg/L^[30], 96 h 急性毒性实验中十六烷基三甲基溴化铵(HDTMA)有机改性黏土和聚氯化铝(PAC)无机改性黏土对太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)稚贝的半致死浓度分别为 4 620 mg/L 和 2 670 mg/L^[31]。上述的浓度值均远远超出《渔业水质标准》中悬浮物的上限值。由此可见, 如果在实际工作中采用诸如存活率、半致死浓度这样的常规生态毒理学指标, 将会低估悬浮物造成的渔业资源损失。而且, 如果工作中只注重死亡的个体而忽略受损个体亦将进一步低估损失。本实验结果说明, 高浓度悬沙组中的受损牡蛎是难于恢复至正常水平的, 这将限制牡蛎的生长, 降低其对疾病的免疫力从而可能导致死亡^[32]。因此, 今后应进一步加强悬浮物造成的受损生物的恢复生理学研究, 加强分子生态毒理学指标在环境胁迫中的应用, 以期为海洋渔业资源环境评价和管理提供更多的科学依据。

参考文献:

- [1] Bilotta G S, Brazier R E. Understanding the influence of suspended solids on water quality and aquatic biota[J]. Water Res, 2008, 42: 2849-2861.
- [2] Newcombe C P. Effects of suspended sediments on aquatic ecosystems[J]. N Am J Fish Manag, 1991, 11: 72-82.
- [3] 白雪梅, 徐兆礼. 底泥悬浮物对水生生物的影响[J]. 上海水产大学学报, 2000, 9(1): 65-68.
- [4] 徐兆礼, 易翠萍, 沈新强, 等. 长江口疏浚弃土悬沙对 2 种浮游植物生长的影响[J]. 中国水产科学, 1999, 6 (5): 33-36.
- [5] 王金秋, 徐兆礼, 石椿, 等. 长江口疏浚弃土悬沙对褶皱纹尾轮虫的影响[J]. 应用生态学报, 2002, 13(7): 871-874.
- [6] Lake R G, Hinch S G. Acute effects of suspended sediment angularity on juvenile Coho salmon[J]. Can J Fish Aquat Sci, 1999, 56 (5): 862-867.
- [7] DFO. Effects of sediment on fish and their habitat [R]. DFO Pacific region habitat status report, 2000/01.
- [8] 王云龙, 成永旭, 徐兆礼, 等. 长江口疏浚土悬沙对中华绒螯蟹幼体发育和发育的影响[J]. 中国水产科学, 1999, 6(5): 20-23.
- [9] 李云, 沈盎绿, 徐兆礼. 悬沙胁迫下日本囊对虾仔虾的生长和 DNA 损伤[J]. 中国水产科学, 2011, 18(5): 1-7.
- [10] 沈盎绿, 马胜伟, 陈亚瞿. 褶牡蛎对悬沙胁迫的生理响应研究[J]. 上海环境科学, 2007, 26(1): 27-30.
- [11] 熊何健, 马英, 汪琳, 等. 紫外辐射诱导牡蛎细胞 DNA 损伤的单细胞凝胶电泳检测[J]. 云南民族大学学报: (自然科学版), 2010, 19(6): 400-403.
- [12] 沈盎绿, 李云, 沈新强. 一种悬沙对海洋动物幼体毒理试验装置[P]. 实用新型专利, No. 200920209624.9, 2010.
- [13] Buckley L J, Bulow F J. Techniques for the estimation of RNA, DNA, and protein in fish[C]// The Age and Growth of Fish. Ames, IA: Iowa State University Press, 1987: 345-354.
- [14] Tse C Y, Chan K M, Wong C K. DNA damage as a biomarker for assessing the effects of suspended solids on the orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*[J]. Fish Physiol Biochem, 2010, 36(2): 141-146.
- [15] Lee R F, Steinert S. Use of the single cell gel electrophoresis/comet assay for detecting DNA damage in aquatic (marine and freshwater) animals[J]. Mut Res, 2003, 544: 43-64.
- [16] Brown J R, Hartwick E B. Influences of temperature, salinity and available food upon suspended culture of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*. I. Absolute and allometric growth [J]. Aquaculture, 1988, 70(3): 231-251.
- [17] Wallace J C, Reinsnes T G. The significance of various environmental parameters for growth of the Iceland scallop, *Chlamys islandica* (Pectinidae), in hanging culture[J]. Aquaculture, 1985, 44(3): 229-242.
- [18] 江天久, 牛涛. 重金属 Cu^{2+} , Pb^{2+} 和 Zn^{2+} 胁迫对近江牡蛎(*Crassostrea rivularis*)SOD 活性影响研究[J]. 生态环境,

- 2006, 15(2): 289–294.
- [19] 张培玉, 唐学玺, 董双林. 蕙对太平洋牡蛎不同组织抗氧化酶活性差异性影响与膜脂质过氧化研究[J]. 海洋环境科学, 2007, 26(5): 434–437.
- [20] 李兴暖, 韩雅莉, 邓瑞鹏, 等. 三丁基锡对牡蛎鳃细胞 DNA 损伤的研究[J]. 水生生物学报, 2005, 29(3): 336–339.
- [21] 李正炎, 卫东. 壬基酚对牡蛎血淋巴细胞的 DNA 损伤[J]. 癌变·畸变·突变, 2006, 18(6): 469–471.
- [22] 周光正, 牟绍敦. 环境因子对太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)生长的影响[J]. 海洋湖沼通报, 1998(2): 44–48.
- [23] 马明辉, 宫强, 刘述锡, 等. 悬浮物对虾夷扇贝致死效应的研究[J]. 海洋环境科学, 2004, 23(3): 46–48.
- [24] Cheung S G, Shin P K S. Size effects of suspended particles on gill damage in green-lipped mussel *Perna viridis*[J]. Mar Pollut Bull, 2005, 51: 801–810.
- [25] Bulow F J. RNA/DNA ratios as indicator of recent growth rates of a fish[J]. J Fish Res Board Can, 1970, 27: 2343–2349.
- [26] Ellis J, Cummings V, Hewitt J, et al. Determining effects of suspended sediment on condition of a suspension feeding bivalve(*Atrina zelandica*): Results of a survey, a laboratory experiment and a field transplant experiment[J]. J Exp Mar Biol Ecol, 2002, 267(2): 147–174.
- [27] Navarro E, Lglesias J I P, Ortega M M. Natural sediment as a food source for the cockle *Cerastoderma edule* (L.): Effect of variable particle concentration on feeding, digestion and the scope for growth[J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1992, 156(1): 69–87.
- [28] Shin P K S, Yau F N, Chow S H, et al. Responses of the green-lipped mussel *Perna viridis* (L.) to suspended solids[J]. Mar Pollut Bull, 2002, 45: 157–162.
- [29] 柳旭东, 王际英, 张利民, 等. 影响水产动物 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATP 酶活力的水环境因素[J]. 水产科学, 2009, 28(3): 171–175.
- [30] 叶健欣, 杨锋, 李兰涛, 等. 湛江港区底泥悬浮物对近江牡蛎的毒害效应[J]. 广东海洋大学学报, 2010, 30(6): 91–94.
- [31] 高咏卉, 俞志明, 宋秀贤, 等. 改性粘土絮凝法对太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)稚贝的影响[J]. 海洋通报, 2007, 26(3): 53–60.
- [32] Leverone G R. Growth and survival of caged adult bay scallops (*Argopecten irradians concentricus*) in Tampa Bay with respect to levels of turbidity, suspended solids and chlorophyll *a*[J]. Florida Sci, 1995, 58: 216–227.

Damage and recovery in the Kumamoto oyster *Crassostrea sikamea* stressed by suspended solids

LI Yun, SHEN Anglu

East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Shanghai 200090, China

Abstract: We evaluated the effects of suspended solids on the survival and physiology of the Kumamoto oyster, *Crassostrea sikamea*. The oysters were exposed to 0, 50, 100, 500, 1 000, or 5 000 mg/L suspended solids (SS) for 15 d then returned to clean seawater, without SS, for 15 d. We monitored survival and measured $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase, SOD, CAT, and DNA damage in the gills and the RNA/DNA ratio in the muscle tissue. There was no difference in survival among the groups after 15 d. $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase, SOD, and CAT activity and the RNA/DNA ratio were significantly lower in the groups exposed to ≥ 500 mg/L SS after 15 d. Furthermore, there were obvious signs of DNA damage in these groups. We observed some recovery in these indices following transfer to clean seawater. However, recovery was incomplete and levels did not return to those of the controls. Our results suggest that these physiological and biochemical indices may be more sensitive than survival as indicators of exposure to increased SS in *C. sikamea*.

Key words: *Crassostrea sikamea*; suspended solids; enzyme activity; DNA damage; RNA/DNA ratio