

DOI: 10.5846/stxb202003060430

王雷, 彭赛君, 董志军. 海洋酸化和铜离子胁迫对海月水母碟状幼体的影响. 生态学报, 2021, 41(4): 1634-1644.

Wang L, Peng S J, Dong Z J. Effects of ocean acidification and copper ions on the ephyrae of moon jellyfish *Aurelia coerulea*. Acta Ecologica Sinica, 2021, 41(4): 1634-1644.

海洋酸化和铜离子胁迫对海月水母碟状幼体的影响

王 雷^{1,2}, 彭赛君^{1,2}, 董志军^{1,3,*}

1 中国科学院烟台海岸带研究所牟平海岸带环境综合试验站, 烟台 264003

2 中国科学院大学, 北京 100049

3 中国科学院海洋大科学中心, 青岛 266071

摘要: 海洋酸化和重金属污染作为全球性海洋环境问题, 均影响海洋生物的生存和生态系统的健康。海月水母是近岸海域常见的胶质性浮游动物, 其生长发育和种群数量易受到海洋环境变化的影响。研究海月水母碟状幼体对海洋酸化 (pH 8.1 和 pH 7.6) 和 Cu^{2+} (0、10 $\mu\text{g/L}$ 和 25 $\mu\text{g/L}$) 胁迫的生理响应, 从氧化应激酶和酸碱平衡相关酶活性、呼吸、运动和生长等方面探究海洋酸化和铜污染对海月水母碟状幼体的综合影响。研究发现, 经过 16 d 的暴露期后 Cu^{2+} 对海月水母碟状幼体产生较强的毒性效应, 抑制 Ca^{2+} -ATP 酶和过氧化氢酶活性, 造成超氧化物歧化酶活性和呼吸代谢速率异常升高、收缩频率降低、生长速度减慢。正常 pH, 25 $\mu\text{g/L}$ 铜暴露处理的超氧化物歧化酶活性和呼吸率最高, 收缩频率和伞部直径最小。随着铜暴露浓度的增加, 海洋酸化可以缓解 Cu^{2+} 对海月水母呼吸率和生长的影响, 但对 Ca^{2+} -ATP 酶和过氧化氢酶活性具有协同抑制作用。确定了海洋酸化和 Cu^{2+} 对海月水母的不同生理影响, 这种差异影响可能会导致未来海洋生物多样性和生态系统的改变。

关键词: 海月水母; 碟状幼体; 海洋酸化; 铜离子; 生理响应

Effects of ocean acidification and copper ions on the ephyrae of moon jellyfish *Aurelia coerulea*

WANG Lei^{1,2}, PENG Saijun^{1,2}, DONG Zhijun^{1,3,*}

1 Muping Coastal Environment Research Station, Yantai Institute of Coastal Zone Research, Chinese Academy of Sciences, Yantai 264003, China

2 University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China

3 Center for Ocean Mega-Science, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China

Abstract: Ocean acidification and heavy metal pollution are two global marine environmental problems, both of which have influences on the survival of marine organisms and the health of ecosystems. As a widely distributed gelatinous zooplankton in the ocean, *Aurelia coerulea* plays an important role in biogeochemical cycle of important elements, such as carbon, nitrogen, and phosphorus. Many previous studies have reported the growth and population abundance of *A. coerulea* are susceptible to changes of the marine environment. In this study, the physiological response of *A. coerulea* ephyrae to ocean acidification (pH 8.1 and pH 7.6) and Cu^{2+} (0, 10 $\mu\text{g/L}$ and 25 $\mu\text{g/L}$) stress was analyzed by measuring the activities of physiological metabolic enzymes including catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD), Ca^{2+} -ATPase, as well as respiration rates, pulsation rates and bell diameter of *A. coerulea*. The results showed that ocean acidification and Cu^{2+} stress had different effects on physiological indices of *A. coerulea* ephyrae. Cu^{2+} exposure can significantly inhibit the activities of CAT and Ca^{2+} -ATPase, as well as the pulsation rates and growth rate of *A. coerulea* ephyrae. Besides, Cu^{2+} exposure can also lead to a significant increase in SOD activity and respiratory rate. While copper pollution might affect the swimming behavior of

基金项目: 国家自然科学基金项目 (41876138); 中国科学院科研仪器设备研制项目 (YJKYYQ20180047); 烟台市重点研发计划 (2018ZHG073)

收稿日期: 2020-03-06; **网络出版日期:** 2020-12-24

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: zjdong@yic.ac.cn

A. coerulea, leading to the significant decline in their predation ability and ontogeny. Furthermore, a negative correlation was observed between the bell diameter and Cu^{2+} concentration. Seawater acidification had an inhibitory effect on activity of CAT, SOD, and Ca^{2+} -ATPase, as well as growth of *A. coerulea* ephyrae, and promoted its respiration. However, when *A. coerulea* ephyrae were exposed to co-exposure of seawater acidification and Cu^{2+} , there were significant antagonistic effect between seawater acidification and Cu^{2+} on the growth and respiration of *A. coerulea* ephyrae. Our study indicates that the adaptability of *A. coerulea* ephyrae to copper pollution is enhanced with the background of ocean acidification. The different physiological effects of ocean acidification and Cu^{2+} on *A. coerulea* identified in current study may lead to changes in marine biodiversity and ecosystems in the future.

Key Words: *Aurelia coerulea*; ephyrae; ocean acidification; copper ion; physiological response

海洋酸化是继“温室效应”之后又一因 CO_2 过量排放而引起的全球性环境问题^[1]。工业革命以来,海洋吸收了大约 1/3 的人类排放 CO_2 量,已造成海水 pH 下降 0.1^[2]。国外研究者预计 2100 年表层海水 pH 将下降 0.3—0.4 个单位^[3],至 2300 年可能下降 0.77^[4]。近年来我国近岸海域季节性海水酸化问题严重,2011 年秋季黄海海域底层 pH 降至 7.79—7.90,渤海海域则仅为 7.64—7.68^[5]。海洋酸化导致海水化学环境改变,会影响海洋生物的基因表达、能量代谢和细胞应激等生理活动,进而影响海洋生物发育、繁殖、生物钙化等生命过程^[6-13]。同时,工业废水、城市污水及农业生产中使用的含 Cu^{2+} 肥料和杀虫剂等通江河径流汇入近海,导致一些沿海地区海水铜含量超标^[14-16]。铜作为分布最广泛的环境污染物,近岸海域 Cu^{2+} 浓度受陆源输入和人为污染源影响而变化非常大,在我国辽东湾北部海域 Cu^{2+} 最高浓度可达 25.55 $\mu\text{g/L}$ ^[17],锦州湾海域海水 Cu^{2+} 含量为 0.73—13.2 $\mu\text{g/L}$ ^[18],而渤海湾海域则在 0.38—2755 $\mu\text{g/L}$ 之间^[19]。铜也是生命体一种必需微量元素,与生物体内 30 多种酶氧化还原催化酶和分子氧载体功能的有关^[20]。但高浓度 Cu^{2+} 可造成水生动物抗氧化系统损伤、组织结构发生病理变化和遗传毒性作用,引起海洋生物严重的组织损伤甚至死亡^[21-23]。

海洋酸化可能改变重金属在水环境的形态,促进 Cu^{2+} 等金属离子从沉积物或岩石中迁移至海水中,从而提高 Cu^{2+} 在海水环境的浓度水平和水生生物体的生物利用率^[24-25]。Richards 等^[26]通过模型预测 2100 年海洋 pH 值(7.845)条件下,平均 Cu^{2+} 浓度将增加 115%。海洋酸化还会通过改变 pH 敏感金属的生物效应和潜在毒性间接影响海洋生物种群,有研究发现,铜污染结合海洋酸化、低氧和升温等应激源将导致海葵和珊瑚等海洋生物更严重的氧化应激效应,抑制生物体金属离子酶活性,降低海洋生物对环境胁迫的耐受性^[27-28]。Marques 等^[29]研究发现, Cu^{2+} 和海水酸化造成有孔虫 *Amphistegina gibbosa* 的 Ca^{2+} -ATP 酶活性受到严重抑制,生长速率显著降低,白化率更高。

水母作为海洋中一类重要的胶质性浮游动物,在碳、氮、磷等元素的生物地球化学循环中扮演重要角色,并在维持海洋生态系统能量流动和物质循环过程中起到重要作用^[30]。海月水母 (*Aurelia coerulea* von Lendenfeld, 1884) 是我国近海常见大型水母之一,其暴发给人类社会活动和海洋生态系统带来许多负面影响^[31-33]。海月水母具有典型的世代交替现象^[34],包括无性繁殖的营底栖生活的螅状幼体阶段和有性繁殖的营浮游生活的水母体阶段。国内外研究者进行了大量研究探索温度、盐度、pH、重金属等环境因素对海月水母生活史早期阶段的影响,以预测未来海洋环境变化下海月水母种群变动趋势^[35-43]。

海月水母碟状幼体为浮游阶段水母体的幼体形态,每只螅状幼体在横裂期间可产生多达 20—30 个碟状幼体^[44]。钵水母是海洋毒理学研究最多的刺胞动物之一,常用指标例如出芽繁殖、横裂繁殖、碟状幼体形态和收缩频率等^[45]。海月水母具有多种无性繁殖方式,繁殖速度较快,可以通过横裂繁殖获得体型和发育阶段一致的碟状幼体;碟状幼体的生长速度较快,生长率、收缩频率等易受到环境因素的影响。因此,海月水母也被认为是环境毒理学的潜在模式生物和海洋环境污染监测的重要指示物种^[45-47]。

过去 10 年间,研究者开展了海洋酸化对不同水母的影响研究,如:Kikkawa 等^[48]发现,海月水母 *Aurelia*

sp. 碟状幼体在 pH 6.896 海水中暴露 96 h 后发育畸形, pH 6.366 时停止发育。Winans 等^[47] 研究则表明, 海洋酸化条件 (pH 7.5 和 7.3) 对海月水母 (*Aurelia labiata*) 螭状幼体和碟状幼体的生存或无性繁殖没有显著影响, 但酸化海水会抑制碟状幼体平衡石发育。与其他刺胞动物相比, 代谢率较高的立方水母更容易受到海洋酸化影响^[49]。Boco 等^[50] 发现 2300 μCO_2 (即 pH 7.5) 海洋酸化条件对立方水母目 *Carybdea xaymacana* 水母阶段具有严重毒性影响, 暴露于酸化海水 12 h 后 *C. xaymacana* 死亡率显著增加。但海洋酸化与重金属两种环境压力对水母胁迫效应的研究仍处于空白。碟状幼体作为海月水母生长阶段初期, 主要栖息于近岸河口区域, 其生长发育易受到环境胁迫影响, 了解海月水母碟状幼体在海洋酸化和 Cu^{2+} 胁迫下的生理变化, 可以有效预测未来海月水母种群变动。本研究设置两个 pH 水平 (pH 8.1 和 pH 7.6) 和 3 个 Cu^{2+} 浓度水平 (0、10 $\mu\text{g/L}$ 和 25 $\mu\text{g/L}$), 通过测定抗氧化酶过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD) 及离子转运酶 Ca^{2+} -ATP 酶活性、呼吸率、收缩频率和伞部直径等生理指标, 分析海月水母碟状幼体在海洋酸化和 Cu^{2+} 胁迫下的生理响应。这些结果旨在了解海洋酸化和 Cu^{2+} 对海月水母碟状幼体生理代谢和生长发育等过程的差异影响, 有助于预测未来环境条件下生物多样性和其他生态进程的变化趋势。本研究结果将为评估全球和区域海洋环境问题对海洋生物的影响以及海洋环境监测提供理论基础和技术支撑。

1 材料与方法

1.1 海月水母碟状幼体收集

海月水母成体 2019 年 9 月采集于烟台市养马岛附近海域 (37°26'43"N, 121°34'25"E), 运回牟平海岸带环境综合试验站的水母养殖实验室收集海月水母浮浪幼虫。浮浪幼虫发育为螭状幼体后, 喂食孵化卤虫 (*Artemia franciscana*) 1 日龄幼虫。螭状幼体生长至 16 触手后, 将培养温度从 15℃ 降至 10℃ 刺激螭状幼体横裂^[51]。螭状幼体在 10℃ 下 4—5 周后停止喂食, 开始进行横裂。为获得大致相同发育阶段的碟状幼体, 前 12 d 释放的碟状幼体不用于实验, 仅选择个体健康、形状良好、大小一致的 1 日龄碟状幼体进行实验。

1.2 实验设置

海水酸化水平参照政府间气候变化专门委员会 (IPCC) 模型预测 RCP 8.5 情景下 2100 年海水 pH 值 (7.6), 通过气体流量控制系统调节空气- CO_2 混合气体的比例和进气量, 实现海水酸化条件^[52]。 Cu^{2+} 浓度参照中华人民共和国海水水质标准 (二类海水 $\text{Cu}^{2+} \leq 10 \mu\text{g/L}$) 以及渤海近岸海域环境相关浓度 (辽东湾北部海水 Cu^{2+} 最高值 25.5 $\mu\text{g/L}$) 设定, 通过添加 CuCl_2 溶液实现海水的 Cu^{2+} 暴露浓度。

暴露实验包括两个 pH 水平 (pH 8.1 和 pH 7.6) 和 3 个铜暴露浓度 (0、10 $\mu\text{g/L}$ 和 25 $\mu\text{g/L}$) 共 6 个处理组, 每个处理设置 3 个 300 L 水族箱进行实验海水预处理。每个水族箱通过水泵连接 10 L 的 U 型水母缸, 实验海水以 40 mL/min 流速通过水母缸, 保证水母缸 25 min 左右更新一次海水。每个水母缸碟状幼体实验数目为 100 只。实验海水经过沙缸过滤和紫外线杀菌处理, 温度控制在 22℃。暴露实验共进行 16 d, 期间每天向水母缸中定时投饵卤虫 1 日龄无节幼体 10 mL (50 只/mL)。

每天使用 NBS 标准溶液校准的 pH 电极监测实验水体 pH, 使用 YSI 仪测定温度、盐度和溶解氧 (DO)。每周从水族箱中收集水样, 使用自动电位滴定仪测定水体总碱度 (TA)。根据 TA 值和测量参数 (温度、盐度和 pH 值), 利用 CO_2 SYS 软件计算海水碳酸盐化学的其他相关参数^[53]。每周更换一次海水, 更换海水后将 pH 和 Cu^{2+} 浓度调节为设置条件。实验结束时测定海月水母的呼吸率、收缩频率和伞径, 液氮保存组织样本进行酶活测定。

1.3 抗氧化酶和离子转运酶活性

采用南京建成生物工程研究所试剂盒, 分别对保存样品的过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD) 和 Ca^{2+} -ATP 酶的活力水平进行检测, 同时采用考马斯亮蓝法测定匀浆液的蛋白质浓度。

称量 0.2 g 左右的海月水母组织 ($n=6$), 按照匀浆稀释 5 倍的比例加入一定量的匀浆介质 (0.9% 生理盐水), 低温匀浆后离心 10 min (2500 rpm, 4℃), 收集上清液分装待测。CAT、SOD 和 Ca^{2+} -ATP 酶活力的测定参

照相关说明书进行,组织总蛋白浓度的测定采用考马斯亮蓝法。酶活性测定单位为 U/mg 蛋白,其中 1 U 代表单位质量蛋白在单位时间内吸光度的变化;蛋白浓度的测定单位为 mg/mL 组织匀浆。

1.4 呼吸率

根据 Pettersen 等(2017)的方法^[54],在暴露实验结束后采用 SensorDish Reader PreSens 连接 24 通道微孔板测定海月水母碟状幼体的呼吸率,测定前使用空气饱和水和 2% 亚硫酸钠缓冲液校准传感器。测定时每个水母缸随机选择 10 只海月水母,每只单独放入含 0.2 μm 膜过滤海水的 12 孔板中,记录 2 h 的氧含量变化值。为消除生物环境应激效应等影响,测定期前 1 小时数据舍弃。呼吸率的测定在恒温培养箱 22℃ 黑暗中进行,测定结果为微孔板中氧含量变化值 MO 。利用如下公式计算呼吸率(Respiration rates):

$$\text{Respiration rates} = (M_jO - M_cO) / WW$$

式中, M_jO 为水母测定孔氧含量变化值, M_cO 为背景空白孔氧含量变化值, WW 为测定水母湿重。

1.5 收缩频率

根据 Alguero-Muniz 等(2016)的方法^[43],在暴露实验结束后对每个处理组的海月水母收缩频率进行测定。每个水母缸随机选择 10 只海月水母碟状幼体放置在 12 孔板中,使用体视显微镜连接电脑软件 OPT Pro 摄像 3 min,记录每只海月水母的收缩次数(p)。利用如下公式计算收缩率(Pulsation rates):

$$\text{Pulsation rates} = p / (t_1 - t_0)$$

式中, p 为 t_0 至 t_1 时间内的收缩次数。

1.6 伞部直径

根据 Heins 等(2018)的方法^[55],在暴露实验开始前和结束时使用体视显微镜连接电脑拍摄软件 OPT Pro,拍照测量碟状幼体的伞部直径。每个水母缸随机取 10 只实验个体,放置在含 2 mm 高度海水的培养皿中进行拍照测量。

1.7 数据分析

实验数据利用 SPSS 22.0 软件进行双因素方差分析(ANOVA),检验不同处理间均值的显著性,显著性水平定义为 $P < 0.05$;使用单因素方差分析分别对正常 pH 水平和酸化 pH 水平下不同浓度 Cu^{2+} 处理组数据进行显著性分析;使用 Tukey(方差齐性)检验,比较相同 Cu^{2+} 浓度处理下,正常 pH 海水组和酸化海水组的差异。实验结果以平均值 $\pm$ 标准差(Mean $\pm$ SD)表示。

2 结果

本实验通过充入 CO_2 气体模拟海洋酸化环境,通过添加 CuCl_2 溶液模拟近海铜污染环境。表 1 总结了海月水母暴露实验海水温度、盐度、pH 以及其他碳酸盐化学参数。酸化海水处理的 pH 条件控制在预期海水酸化水平附近(± 0.02)。实验过程中,海水温度均保持在 22℃ 左右,盐度在 31 左右。

表 1 海月水母暴露期间相关海水化学参数

Table 1 Measured and calculated carbonate chemistry parameters of seawater for the exposure experiment of *A. coerulea* ephyrae

处理 Treatment	实测酸碱度 pH	盐度 Salinity	温度 Temperature/°C	总碱度 Total alkalinity/ ($\mu\text{mol/kg}$)	二氧化碳分压 $p\text{CO}_2$ / (μatm)
pH 8.1+ Cu^{2+} 0 $\mu\text{g/L}$	8.09 $\pm$ 0.01	31.50 $\pm$ 0.15	22.02 $\pm$ 0.18	2555.60 $\pm$ 14.56	586.84 $\pm$ 3.43
pH 8.1+ Cu^{2+} 10 $\mu\text{g/L}$	8.09 $\pm$ 0.02	31.50 $\pm$ 0.27	22.05 $\pm$ 0.20	2562.30 $\pm$ 14.32	588.42 $\pm$ 3.38
pH 8.1+ Cu^{2+} 25 $\mu\text{g/L}$	8.09 $\pm$ 0.02	31.51 $\pm$ 0.06	22.04 $\pm$ 0.23	2565.02 $\pm$ 14.32	589.06 $\pm$ 3.38
pH 7.6+ Cu^{2+} 0 $\mu\text{g/L}$	7.60 $\pm$ 0.01	31.50 $\pm$ 0.40	22.00 $\pm$ 0.42	2603.37 $\pm$ 17.17	2073.59 $\pm$ 13.80
pH 7.6+ Cu^{2+} 10 $\mu\text{g/L}$	7.60 $\pm$ 0.02	31.50 $\pm$ 0.45	22.02 $\pm$ 0.37	2552.91 $\pm$ 15.83	2033.02 $\pm$ 4.68
pH 7.6+ Cu^{2+} 25 $\mu\text{g/L}$	7.60 $\pm$ 0.02	31.50 $\pm$ 0.22	22.07 $\pm$ 0.45	2565.69 $\pm$ 15.40	2043.29 $\pm$ 8.43

2.1 抗氧化酶和离子转运酶活性

在海水酸化和 Cu^{2+} 暴露 16 d 后,海月水母碟状幼体的 CAT 活性随着海水 pH 降低和 Cu^{2+} 浓度增加呈现降低趋势。在 0 $\mu\text{g/L}$ Cu^{2+} 条件下,酸化海水组和正常海水组 CAT 活性差异极显著,但加入 Cu^{2+} 后酸化对 CAT 活性影响不显著。在两个 pH 水平下,10 $\mu\text{g/L}$ 和 25 $\mu\text{g/L}$ Cu^{2+} 处理组的 CAT 活性显著低于 0 $\mu\text{g/L}$ Cu^{2+} 处理组。根据表 2,海水酸化和 Cu^{2+} 暴露对 CAT 活性具有极显著交互作用 ($P < 0.01$) (图 1)。

暴露 16 d 后,海月水母碟状幼体的 SOD 活性随 Cu^{2+} 浓度升高呈现显著增加趋势 ($P < 0.01$),酸化对 SOD 活性影响不显著。在两个 pH 水平下,25 $\mu\text{g/L}$ Cu^{2+} 处理组的 SOD 活性显著高于 0 $\mu\text{g/L}$ 和 10 $\mu\text{g/L}$ Cu^{2+} 处理组,但 0 和 10 $\mu\text{g/L}$ 两个 Cu^{2+} 处理组之间的差异性不显著 (图 2)。

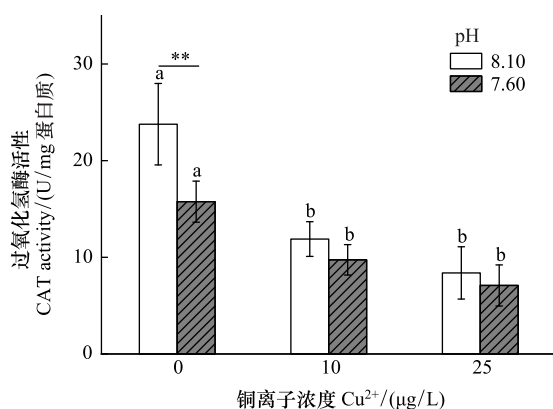


图 1 海水酸化和 Cu^{2+} 暴露下海月水母的 CAT 活性

Fig. 1 CAT activities of *A. coerulea ephyrae* after elevated $p\text{CO}_2$ and/or Cu^{2+} exposure

CAT: 过氧化氢酶 Catalase; 不同字母表示相同的 pH 处理下,不同浓度的 Cu^{2+} 处理之间存在显著性 ($P < 0.05$); 星号 (*) 表示相同浓度的 Cu^{2+} 处理下,正常 pH 与酸化 pH 之间存在差异 ($** P < 0.01$)

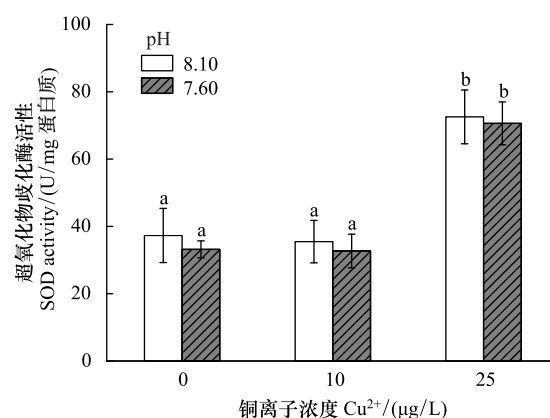


图 2 海水酸化和 Cu^{2+} 暴露下海月水母的 SOD 活性

Fig. 2 SOD activities of *A. coerulea ephyrae* after elevated $p\text{CO}_2$ and/or Cu^{2+} exposure

SOD: 超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase; 不同字母表示相同的 pH 处理下,不同浓度的 Cu^{2+} 处理之间存在显著性 ($P < 0.05$)

随着 pH 降低和 Cu^{2+} 浓度增加,海月水母 Ca^{2+} -ATP 酶活性呈现显著降低的趋势。0 和 10 $\mu\text{g/L}$ Cu^{2+} 条件下,酸化对 Ca^{2+} -ATP 酶活性具有显著抑制作用。在两个 pH 水平下,10 $\mu\text{g/L}$ 和 25 $\mu\text{g/L}$ Cu^{2+} 处理组的 Ca^{2+} -ATP 酶活性较 0 $\mu\text{g/L}$ Cu^{2+} 处理组显著降低。根据表 2,海洋酸化和 Cu^{2+} 暴露对 Ca^{2+} -ATP 酶具有显著的交互作用 ($P < 0.05$) (图 3)。

表 2 双因素方差分析:海水酸化和 Cu^{2+} 胁迫对海月水母碟状幼体的影响

Table 2 Two-way ANOVA: Effects of ocean acidification and Cu^{2+} on the *A. coerulea ephyrae*

生理指标 Physiological index	海水酸化 Seawater acidification	铜离子 Cu^{2+}	海水酸化和铜离子 Seawater acidification and Cu^{2+}
过氧化氢酶 Catalase (CAT)	$F(1,36) = 19.79$ $P < 0.001$	$F(2,36) = 70.65$ $P < 0.001$	$F(2,36) = 6.05$ $P = 0.006$
超氧化物歧化酶 Superoxide dismutase (SOD)	$F(1,36) = 1.95$ $P = 0.173$	$F(2,36) = 136.40$ $P < 0.001$	$F(2,36) = 0.09$ $P = 0.912$
Ca^{2+} -ATP 酶 Ca^{2+} -ATPase	$F(1,36) = 130.48$ $P < 0.001$	$F(2,36) = 152.03$ $P < 0.001$	$F(2,36) = 23.21$ $P < 0.001$
呼吸率 Respiration rates	$F(1,36) = 18.05$ $P < 0.001$	$F(2,36) = 42.27$ $P < 0.001$	$F(2,36) = 26.45$ $P < 0.001$
收缩频率 Pulsation rates	$F(1,48) = 2.52$ $P = 0.120$	$F(2,48) = 19.42$ $P < 0.001$	$F(2,48) = 0.59$ $P = 0.561$
伞部直径 Bell diameter	$F(1,60) = 26.67$ $P < 0.001$	$F(2,60) = 293.67$ $P < 0.001$	$F(2,60) = 122.10$ $P < 0.001$

2.2 呼吸率

海水酸化和 Cu^{2+} 暴露对海月水母碟状幼体呼吸率具有显著影响 ($P < 0.01$)。当 Cu^{2+} 浓度为 $0 \mu\text{g/L}$ 时,酸化海水组呼吸率较正常 pH 海水组显著升高,但在 $10 \mu\text{g/L}$ 和 $25 \mu\text{g/L}$ Cu^{2+} 时,正常 pH 海水组呼吸率明显高于酸化海水组。在正常 pH 海水中,海月水母的呼吸率随 Cu^{2+} 浓度增加呈现显著增加趋势,但酸化海水组的呼吸率随 Cu^{2+} 浓度增加先升高后降低。根据双因素方差分析,海水酸化和 Cu^{2+} 对海月水母的呼吸率均具有显著的促进作用,两者存在显著的交互作用 ($P < 0.01$) (图 4)。

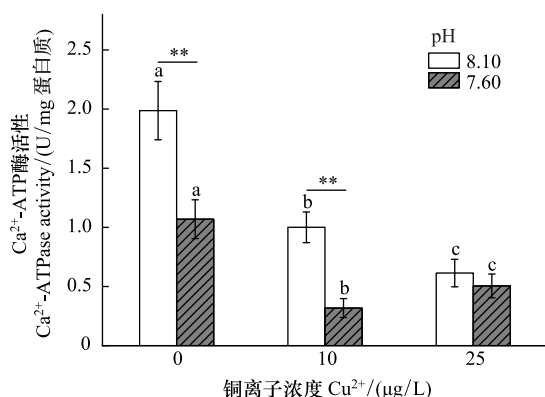


图3 海水酸化和 Cu^{2+} 暴露下海月水母的 Ca^{2+} -ATP 酶活性

Fig. 3 Ca^{2+} -ATPase activities of *A. coerulea* ephyrae after elevated $p\text{CO}_2$ and/or Cu^{2+} exposure

不同字母表示相同的 pH 处理下,不同浓度的 Cu^{2+} 处理之间存在显著性 ($P < 0.05$);星号 (*) 表示相同浓度的 Cu^{2+} 处理下,正常 pH 与酸化 pH 之间存在差异 (** $P < 0.01$)

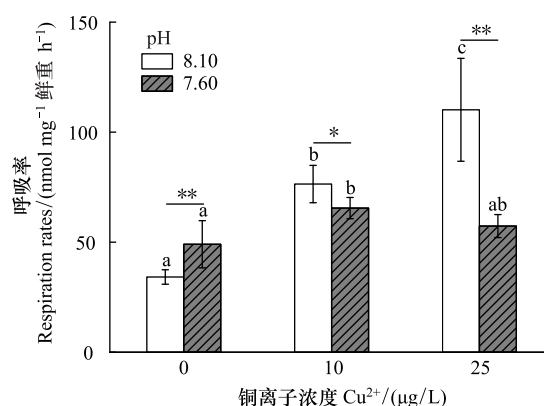


图4 海水酸化和 Cu^{2+} 暴露下海月水母的呼吸率

Fig. 4 Respiration rates of *A. coerulea* ephyrae after elevated $p\text{CO}_2$ and/or Cu^{2+} exposure

不同字母表示相同的 pH 处理下,不同浓度的 Cu^{2+} 处理之间存在显著性 ($P < 0.05$);星号 (*) 表示相同浓度的 Cu^{2+} 处理下,正常 pH 与酸化 pH 之间存在差异 (* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$)

2.3 收缩频率

海水酸化和 Cu^{2+} 暴露对海月水母碟状幼体收缩频率的影响如图 5 所示。暴露 16 d 后,在相同的 Cu^{2+} 浓度处理下,酸化对海月水母收缩频率没有显著性影响。随着 Cu^{2+} 暴露浓度的增加,海月水母收缩频率均呈现显著降低的趋势,25 $\mu\text{g/L}$ Cu^{2+} 处理组的收缩率显著低于 0 和 10 $\mu\text{g/L}$ Cu^{2+} 处理组。Two-way ANOVA 分析表明,海水酸化和 Cu^{2+} 对收缩频率影响的交互作用不显著 ($P > 0.05$)。

2.4 伞部直径

图 6 为不同海水 pH 和 Cu^{2+} 浓度下的海月水母碟状幼体伞部直径。碟状体初始伞径为 $(3.51 \pm 0.2) \text{mm}$,各处理组之间碟状体初始伞径不存在显著性差异 ($P > 0.05$)。暴露 16 d 后,海月水母伞部直径随 Cu^{2+} 浓度增加呈现显著降低趋势,25 $\mu\text{g/L}$ Cu^{2+} 处理组的水母伞部直径显著小于 0 $\mu\text{g/L}$ Cu^{2+} 处理组。根据体视显微镜拍摄的暴露 16 d 后碟状幼体图像显示(图 7), Cu^{2+} 严重影响碟状幼体的生长,并导致发育畸形。不同 Cu^{2+} 浓度下,酸化对海月水母生长的影响不一致,0 $\mu\text{g/L}$ Cu^{2+} 浓度时,正常 pH 海水组的水母伞径显著大于酸化海水组;但加入 Cu^{2+} 后,正常 pH 海水组的水母伞径明显小于酸化海水组。海水酸化和铜暴露对海月水母碟状幼体的生长均具有显著影响 ($P < 0.01$),两者存在显著拮抗作用 ($P < 0.01$)。

3 讨论

本研究首次探究了海月水母碟状幼体对海洋酸化和 Cu^{2+} 两种环境胁迫因子的生理响应,从抗氧化酶和离子转运酶活性、呼吸、运动以及生长等方面探究两种胁迫因子在不同浓度下对海月水母的综合影响。研究表明,海月水母对两种环境胁迫因子敏感性不同,单独 Cu^{2+} 暴露比单独酸化暴露的胁迫效应更严重,这

与 Siddiqui 等^[28]在海洋酸化和 Cu^{2+} 对珊瑚生理影响的研究一致。本研究发现海水酸化与 Cu^{2+} 对海月水母呼吸率和生长具有拮抗作用,海水酸化可缓解 Cu^{2+} 对海月水母碟状幼体的毒性影响。Lewis 等^[56]也报道了类似现象,海胆 *Paracentrotus lividus* 体内的酸碱调节机制可在酸化条件下 (pH 7.7) 增加细胞外碳酸氢盐水平,保护性地对抗 Cu^{2+} 毒性,减轻 Cu^{2+} 暴露引起的 DNA 损伤。Larsen 等^[57]在对大西洋鳕鱼 (*Gadus morhua*) 研究中也提出酸化对 Cu^{2+} 毒性的保护作用,游离 Cu^{2+} 将与 HCO_3^{2-} 形成一系列络合物,升高的碳酸氢盐水平可以降低海水游离 Cu^{2+} 的比例,从而减少铜毒性对生物造成的损害。

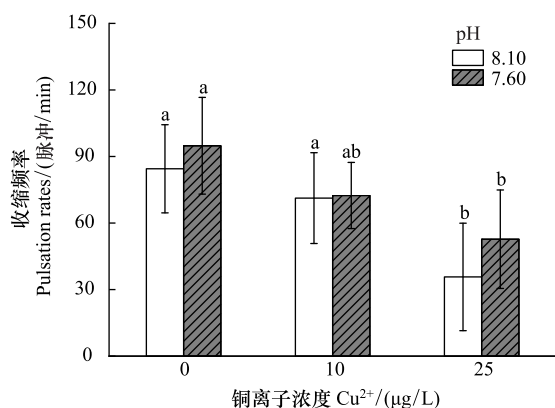


图5 海水酸化和 Cu^{2+} 暴露下海月水母的收缩频率

Fig. 5 Pulsation rates of *A. coerulea* ephyrae after elevated $p\text{CO}_2$ and/or Cu^{2+} exposure

不同字母表示相同的 pH 处理下,不同浓度的 Cu^{2+} 处理之间存在显著性 ($P < 0.05$)

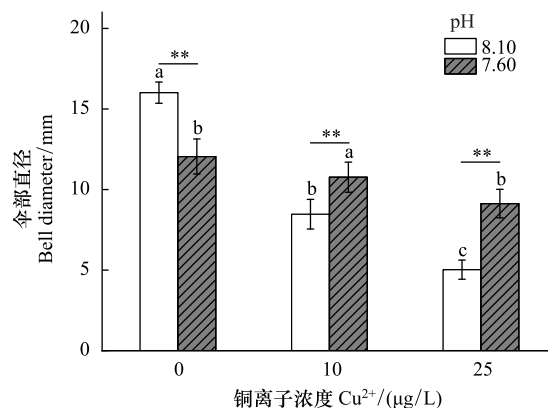


图6 海水酸化和 Cu^{2+} 暴露下海月水母的伞部直径

Fig. 6 Bell diameter of *A. coerulea* ephyrae after elevated $p\text{CO}_2$ and/or Cu^{2+} exposure

不同字母表示相同的 pH 处理下,不同浓度的 Cu^{2+} 处理之间存在显著性 ($P < 0.05$); 星号 (*) 表示相同浓度的 Cu^{2+} 处理下,正常 pH 与酸化 pH 之间存在差异 (** $P < 0.01$)

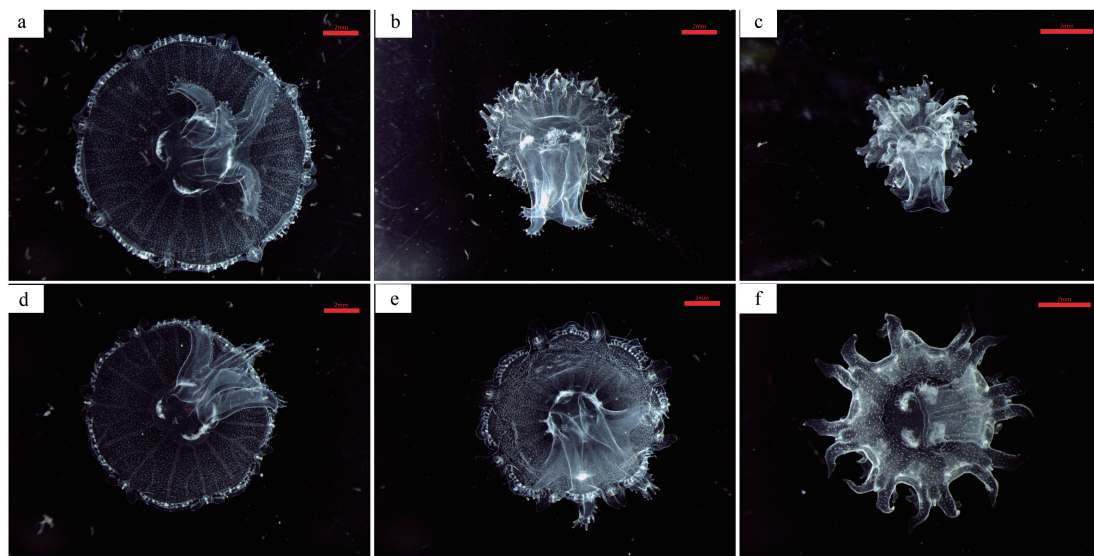


图7 海水酸化和 Cu^{2+} 暴露下的海月水母碟状幼体

Fig. 7 *A. coerulea* ephyrae after elevated $p\text{CO}_2$ and/or Cu^{2+} exposure

在 0 $\mu\text{g/L}$ (a)、10 $\mu\text{g/L}$ (b) 和 25 $\mu\text{g/L}$ (c) Cu^{2+} 浓度下,正常 pH 海水组的碟状幼体;0 $\mu\text{g/L}$ (d)、10 $\mu\text{g/L}$ (e) 和 25 $\mu\text{g/L}$ (f) Cu^{2+} 浓度下,酸化 pH 海水组的碟状幼体。比例尺:2 mm

3.1 海洋酸化和 Cu^{2+} 对海月水母抗氧化酶和离子转运酶的影响

本研究表明,海洋酸化和 Cu^{2+} 胁迫对海月水母抗氧化酶 CAT 和 SOD 以及离子转运酶 Ca^{2+} -ATP 酶活性具

有显著影响。CAT 活性随着 Cu^{2+} 浓度的增加而降低, SOD 活性随着 Cu^{2+} 浓度增加而增加, 表明 Cu^{2+} 可能引起海月水母较强的氧化应激效应, 但会抑制 CAT 的活性。海水酸化对 CAT 活性也具有显著抑制作用。任虹等^[58]研究重金属污染物对文蛤 (*Meretrix meretrix*) 金属酶类发现, 当 Cu^{2+} 浓度高于 $5 \mu\text{mol/L}$ 时对 CAT 的抑制效果显著。其他研究也发现, 栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*) 内脏团组织的 CAT 活性随着 Cu^{2+} 浓度增加, 表现出“抑制-诱导-抑制”的规律, 但整体表现为降低趋势, 重金属对 CAT 的抑制作用可能由于 Cu^{2+} 干扰酶分子铁卟啉环中 Fe^{2+} 的结合而抑制其活性^[59]。Siddiqui 等^[28]研究表明, 随着 $p\text{CO}_2$ 增加, 海葵 *Exaiptasia pallida* 的 CAT、谷胱甘肽过氧化物酶 (GPx) 和谷胱甘肽还原酶 (GR) 活性显著降低。

Ca^{2+} -ATP 酶是 Ca^{2+} 激活的 Mg^{2+} 依赖性 ATP 酶, 负责生物体钙的主动转运和维持细胞 pH 稳定^[60]。 Ca^{2+} -ATP 酶作为一种离子转运蛋白, 也被认为是易受到环境干扰的敏感生物标志物^[29]。许多重金属对珊瑚、贻贝和海胆等钙化生物的 ATP 酶活性具有抑制作用, 通过氧化应激条件诱导膜损伤, 重金属离子可以导致膜结合的 ATP 酶活性受损^[61-62]。有研究表明, 暴露于含 Cu^{2+} 海水的珊瑚以及在高 Cu^{2+} 浓度海域采集的有孔虫的 Ca^{2+} -ATP 酶活性较低^[23]。本研究结果也显示, 海洋酸化和 Cu^{2+} 均对 Ca^{2+} -ATP 酶活性具有较强的抑制效应。以往研究发现, 低 pH 条件下水螅幼体横裂释放出的碟状幼体平衡石明显较小^[47]。海水酸化或重金属条件下, 海月水母的 Ca^{2+} -ATP 酶活性降低, 可能影响水母体内钙的吸收和平衡石等钙质结构的形成。作为水母感受器官感觉棍的重要组成部分, 平衡石的损伤或缺失将导致水母生长畸形和游泳行为不规律^[47]。

3.2 海洋酸化和 Cu^{2+} 对海月水母呼吸率的影响

呼吸率是海洋生物代谢活动的直接指标, 浮游动物的呼吸率主要受环境温度和生物体重影响, 还受生物的活力水平、环境深度和 O_2 分压及物种特异性行为的影响^[54, 63-65]。本研究表明, 正常 pH 海水条件下, 海月水母呼吸率随 Cu^{2+} 浓度的升高呈现显著升高趋势; 而在酸化海水中, 呼吸率随 Cu^{2+} 浓度先升高后降低。结果表明铜暴露造成海月水母机体代谢水平升高, 但酸化可能减缓 Cu^{2+} 对水母体的毒性应激效应。Catarino 等^[65]研究表明, 低温及低 pH (7.7 和 7.4) 暴露导致海胆 *Paracentrotus lividus* 呼吸率显著升高。也有研究发现, 在 Cu^{2+} 暴露环境中, 草鱼 (*Ctenopharyngodon idella*) 幼鱼有氧代谢增加 37.48%, 同时草鱼幼鱼的游泳能力也受到影响, 游泳效率降低^[66]。当外界环境发生变化时, 生物体可能需要通过离子调节等生理过程以适应环境变化, 而生物消耗体内储存能量应对环境变化的生存策略, 可能是导致机体代谢率升高的原因之一。

3.3 海洋酸化和 Cu^{2+} 对海月水母收缩频率的影响

收缩行为是海月水母碟状幼体的主要运动方式, 碟状幼体通过收缩缘叶进行游动, 捕获猎物 and 躲避天敌等^[48]。本研究表明, 海月水母的收缩频率随着铜暴露浓度的增加逐渐降低, 正常 pH 海水、 $25 \mu\text{g/L}$ Cu^{2+} 暴露处理海月水母的收缩频率最低。Tills 等^[46]研究发现, 在 pH 7.6 酸化条件下暴露 7 天后, 海月水母 (*A. aurita*) 碟状幼体收缩率显著降低, 收缩周期更长。但本研究中, 在 $0 \mu\text{g/L}$ Cu^{2+} 条件下, 正常 pH 海水组海月水母收缩频率显著小于酸化海水处理组。可能原因是水母受到海水阻力随着伞部直径增加而增大, 导致水母收缩频率降低。海月水母碟状幼体不同生长阶段收缩频率的变化, 需要进一步研究。在 $10 \mu\text{g/L}$ 和 $20 \mu\text{g/L}$ Cu^{2+} 浓度下, 酸化海水组碟状幼体的收缩频率高于正常 pH 海水组, 这可能表明海水酸化可以缓解 Cu^{2+} 对海月水母碟状幼体收缩率的影响。之前的研究表明, 水母对海洋酸化具有较高的耐受性, 长期海洋酸化模拟实验发现 pH 值对海月水母无致命毒性影响^[67]。Kikkawa 等^[48]研究发现, 海月水母 (*Aurelia* sp) 碟状幼体在暴露于 5,000 μatm $p\text{CO}_2$ 酸化条件时收缩频率才出现降低趋势。

3.4 海洋酸化和 Cu^{2+} 对海月水母生长的影响

本研究表明, 海水酸化和 Cu^{2+} 暴露对碟状幼体的生长具有显著抑制作用。暴露 16 d 后, 正常 pH 海水和 $0 \mu\text{g/L}$ Cu^{2+} 的海月水母生长状况最好, 该处理组中海月水母的平均伞径最大。当 pH 降低或加入 Cu^{2+} 后, 所有处理的海月水母生长发育均显示出负面影响, 高浓度的 Cu^{2+} 还会导致海月水母严重畸形。有研究表明, 水体中过量的 Cu^{2+} 会对鱼类的鳃片造成损伤, 引起鳃片上皮细胞肿胀、变形和严重增生, 最终导致鱼类缺氧死亡^[68], 其他研究也报道了有孔虫和贝类等生物 Cu^{2+} 暴露后出现脂质囊泡增殖和组织损伤等细胞学异常现

象^[69-71]。有研究表明短期暴露于酸化海水或锌、镉等重金属污染物会极大地影响水母毒素的生物活性,造成水母毒素的溶血性降低^[70]。此外, Morabito 等^[72]还发现重金属或海水酸化暴露下,夜光游水母 (*Pelagia noctiluca*) 离体刺细胞的离子通道和共转运蛋白活性降低,极大影响水母刺丝囊反应;低 pH 条件下细胞膜水渗透性降低,刺细胞释放过程延长甚至失去释放能力。含有毒素的刺细胞对于刺胞动物的捕食和生存至关重要,刺细胞损伤将影响水母的捕食行为,最终影响其能量摄入以及生长发育。

工业革命以来,人类活动造成的海洋环境变化速度正在加剧,这导致了水母暴发、赤潮、浒苔暴发等海洋生物灾害事件频繁发生,给人类生产生活和海洋生态系统多样性造成严重威胁。因此,利用生物评估模型预测海洋生物在未来海洋环境下的生理代谢变化和种群趋势具有重要意义。作为新兴的环境监测方法,生物评估模型中的生物化学(例如免疫应激有关的酶)和生理(例如生长率和收缩频率)变化等生物标记物可以比物理和化学监测手段更为直观地反映海洋生物受到环境污染的影响。

4 结论

海水酸化和 Cu^{2+} 暴露共同影响海月水母生活史早期阶段碟状幼体的生理代谢和生长发育。在实验设置水平下,海水酸化和 Cu^{2+} 对海月水母碟状幼体 CAT、 Ca^{2+} -ATP 酶活性具有抑制作用,造成 SOD 活性升高,引起免疫应激效应;呼吸率则表现出 Cu^{2+} 促进效应,海洋酸化和 Cu^{2+} 暴露下水母需要将更多的能量用于抵御逆境,但海洋酸化和 Cu^{2+} 表现为拮抗效应,酸化可以缓解 Cu^{2+} 对呼吸率的刺激作用;在 Cu^{2+} 暴露下,海月水母的收缩频率显著降低,这可能导致海月水母捕食能力下降;海月水母碟状幼体的生长也受到海水酸化和 Cu^{2+} 的抑制,伞径长度随 pH 降低和 Cu^{2+} 浓度增加而减小。

参考文献 (References):

- [1] 贺仕昌, 张远辉, 陈立奇, 林奇, 李伟. 海洋酸化研究进展. 海洋科学, 2014, 38(6): 85-93.
- [2] Sabine C L, Feely R A, Gruber N, Key R M, Lee K, Bullister J L, Wanninkhof R, Wong C S, Wallace D W R, Tilbrook B, Millero F J, Peng T H, Kozyr A, Ono T, Rios A F. The oceanic sink for anthropogenic CO_2 . Science, 2004, 305(5682): 367-371.
- [3] Orr J C, Fabry V J, Aumont O, Bopp L, Doney S C, Feely R A, Gnanadesikan A, Gruber N, Ishida A, Joos F, Key R M, Lindsay K, Maier-Reimer E, Matear R, Monfray P, Mouchet A, Najjar R G, Plattner G K, Rodgers K B, Sabine C L, Sarmiento J L, Schlitzer R, Slater R D, Totterdell I J, Weirig M F, Yamanaka Y, Yool A. Anthropogenic ocean acidification over the twenty-first century and its impact on calcifying organisms. Nature, 2005, 437(7059): 681-686.
- [4] Caldeira K, Wickett M E. Ocean model predictions of chemistry changes from carbon dioxide emissions to the atmosphere and ocean. Journal of Geophysical Research: Oceans, 2005, 110(C9): C09S04.
- [5] Evans T G, Chan F, Menge B A, Hofmann G E. Transcriptomic responses to ocean acidification in larval sea urchins from a naturally variable pH environment. Molecular Ecology, 2013, 22(6): 1609-1625.
- [6] 徐雪梅, 吴金浩, 刘鹏飞. 中国海洋酸化及生态效应的研究进展. 水产科学, 2016, 35(6): 735-740.
- [7] 赵信国, 刘广绪. 海洋酸化对海洋无脊椎动物的影响研究进展. 生态学报, 2015, 35(7): 2388-2398.
- [8] Xu D, Wang D S, Li B, Fan X, Zhang X W, Ye N H, Wang Y T, Mou S L, Zhuang Z M. Effects of CO_2 and seawater acidification on the early stages of *Saccharina japonica* development. Environmental Science & Technology, 2015, 49(6): 3548-3556.
- [9] Lesniewski T J, Gambill M, Holst S, Peck M A, Alguero-Muñoz M, Haunost M, Malzahn A M, Boersma M. Effects of food and CO_2 on growth dynamics of polyps of two scyphozoan species (*Cyanea capillata* and *Chrysaora hysoscella*). Marine Biology, 2015, 162(6): 1371-1382.
- [10] 董冰冰, 黄荣莲, 王庆恒, 郑哲, 焦钰, 邓岳文, 杜晓东. 海洋酸化对马氏珠母贝珍珠层形成的影响. 海洋科学, 2015, 39(8): 39-46.
- [11] 王有基, 李丽莎, 李琼珍, 吕为群. 海洋酸化和全球变暖对贝类生理生态的影响研究进展. 生态学报, 2014, 34(13): 3499-3508.
- [12] 王晓杰, 宋佳坤, 范纯新, 张旭光, 郭弘艺. 海洋酸化对鱼类感觉和行为影响的研究进展. 生态毒理学报, 2015, 10(6): 13-20.
- [13] 蒋国萍. 海洋酸化条件下重金属 Cd^{2+} 、 Hg^{2+} 对斧文蛤生态毒理效应研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2016.
- [14] Jones R. Environmental contamination associated with a marine landfill ('seafill') beside a coral reef. Marine Pollution Bulletin, 2010, 60(11): 1993-2006.
- [15] Wang S, Xu X, Sun Y, Liu J, Li H. Heavy metal pollution in coastal areas of South China: a review. Marine Pollution Bulletin, 2013, 76(1-2): 7-15.
- [16] Voulvoulis N, Scrimshaw M D, Lester J N. Occurrence of four biocides utilized in antifouling paints, as alternatives to organotin compounds, in waters and sediments of a commercial estuary in the UK. Marine Pollution Bulletin, 2000, 40(11): 938-946.
- [17] Gao X L, Zhou F X, Chen C T A. Pollution status of the Bohai Sea: an overview of the environmental quality assessment related trace metals.

- Environment International, 2014, 62: 12-30.
- [18] Wan L, Wang N B, Li Q B, Sun B, Zhou Z C, Xue K, Ma Z Q, Tian J, Song L. Distribution of dissolved metals in seawater of Jinzhou Bay, China. Environmental Toxicology and Chemistry, 2008, 27(1): 43-48.
- [19] Xu L, Wang T Y, Ni K, Liu S J, Wang P, Xie S W, Meng J, Zheng X Q, Lu Y L. Metals contamination along the watershed and estuarine areas of southern Bohai Sea, China. Marine Pollution Bulletin, 2013, 74(1): 453-463.
- [20] 韦晓慧. 海洋酸化条件下铜、镉对日本虎斑猛水蚤 (*Tigriopus japonicus*) 发育、繁殖和超氧化物歧化酶活性的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
- [21] Lewis C, Clemow K, Holt W V. Metal contamination increases the sensitivity of larvae but not gametes to ocean acidification in the polychaete *Pomatoceros lamarckii* (Quatrefages). Marine Biology, 2013, 160(8): 2089-2101.
- [22] Banc-Prandi G, Fine M. Copper enrichment reduces thermal tolerance of the highly resistant Red Sea coral *Stylophora pistillata*. Coral Reefs, 2019, 38(2): 285-296.
- [23] Huang X Z, Jiang X Y, Sun M, Dupont S, Huang W, Hu M H, Li Q Z, Wang Y J. Effects of copper on hemocyte parameters in the estuarine oyster *Crassostrea rivularis* under low pH conditions. Aquatic Toxicology, 2018, 203: 61-68.
- [24] Nielson C, Hird C, Lewis C. Ocean acidification buffers the physiological responses of the king ragworm *Alitta virens* to the common pollutant copper. Aquatic Toxicology, 2019, 212: 120-127.
- [25] 韦晓慧, 慕芳红, 孙艳桃, 曹志泉. 海洋酸化条件下铜、镉对日本虎斑猛水蚤的急性毒性效应. 生态学报, 2014, 34(14): 3879-3884.
- [26] Richards R, Chaloupka M, Sanò M, Tomlinson R. Modelling the effects of 'coastal' acidification on copper speciation. Ecological Modelling, 2011, 222(19): 3559-3567.
- [27] Bielmyer-Fraser G K, Patel P, Capo T, Grosell M. Physiological responses of corals to ocean acidification and copper exposure. Marine Pollution Bulletin, 2018, 133: 781-790.
- [28] Siddiqui S, Bielmyer-Fraser G K. Responses of the sea anemone, *Exaiptasia pallida*, to ocean acidification conditions and copper exposure. Aquatic Toxicology, 2015, 167: 228-239.
- [29] Marques J A, De Barros Marangoni L F, Bianchini A. Combined effects of sea water acidification and copper exposure on the symbiont-bearing foraminifer *Amphistegina gibbosa*. Coral Reefs, 2017, 36(2): 489-501.
- [30] 张芳. 黄海胶质浮游动物水母类研究[D]. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所), 2008.
- [31] Dong Z J. Blooms of the moon jellyfish *Aurelia*; causes, consequences and controls//Sheppard C, ed. World Seas: An Environmental Evaluation. Amsterdam: Academic Press, 2019: 163-171.
- [32] Dong Z J, Liu D Y, Keesing J K. Jellyfish blooms in China: dominant species, causes and consequences. Marine Pollution Bulletin, 2010, 60(7): 954-963.
- [33] Purcell J E, Baxter E J, Fuentes V L. Jellyfish as products and problems of aquaculture // Allan G, Burnell G eds. Advances in Aquaculture Hatchery Technology. Sawston: Woodhead Publishing, 2014: 404-430.
- [34] 郑凤英, 陈四清, 倪佳. 海月水母的生物学特征及其爆发. 海洋科学进展, 2010, 28(1): 126-132.
- [35] 付瑶, 董志军, 刘东艳. 海月水母无性生殖的影响因子. 生态科学, 2012, 31(3): 335-339.
- [36] 付志璐, 董婧, 孙明, 赵云. 温度、盐度对黄海北部海月水母碟状幼体生长的影响. 水产科学, 2011, 30(4): 221-224.
- [37] 葛建龙, 孟乾, 陈四清, 刘琨, 刘长琳, 谭杰, 边力. 氨氮对海月水母钵状体和碟状体的急性及慢性毒性作用. 海洋与湖沼, 2018, 49(4): 809-814.
- [38] 孙明, 柴雨, 董婧, 付志璐, 刘治更, 林建齐, 王佳晗. 环境因子对海月水母钵状体存活与繁殖的影响. 生态学报, 2017, 37(4): 1309-1317.
- [39] 王彦涛. 海月水母 (*Aurelia* sp. 1) 生活史关键过程研究[D]. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所), 2013.
- [40] 孙婷婷, 董志军, 梁丽琨. 盐度对海月水母幼体行为、附着和无性生殖的影响. 应用海洋学学报, 2018, 37(1): 53-59.
- [41] Dong Z J, Wang L, Liu Q Q, Sun T T. Effects of salinity and temperature on the recruitment of *Aurelia coerulea* planulae. Marine Biology Research, 2018, 14(5): 454-461.
- [42] Purcell J E, Bondyale-Juez D R, Romero-Kutzner V, Martínez I, Caprioli R, Tames-Espinosa M, Almunia J, Alonso E, Packard T T, Gómez M. Food supply effects on the asexual reproduction and respiratory metabolism of *Aurelia aurita* polyps. Hydrobiologia, 2019, 846: 135-146.
- [43] Algueró-Muñiz M, Meunier C L, Holst S, Alvarez-Fernandez S, Boersma M. Withstanding multiple stressors: ephyrae of the moon jellyfish (*Aurelia aurita*, Scyphozoa) in a high-temperature, high-CO₂ and low-oxygen environment. Marine Biology, 2016, 163(9): 185.
- [44] Arai M N. A Functional Biology of Scyphozoa. London: Chapman & Hall, 1997.
- [45] Faimali M, Garaventa F, Piazza V, Costa E, Greco G, Mazzola V, Beltrandi M, Bongiovanni E, Lavorano S, Gnane G. Ephyra jellyfish as a new model for ecotoxicological bioassays. Marine Environmental Research, 2014, 93: 93-101.
- [46] Tills O, Sun X, Rundle S D, Heimbach T, Gibson T, Cartwright A, Palmer M, Rudin-Bitterli T, Spicer J I. Reduced pH affects pulsing behaviour and body size in ephyrae of the moon jellyfish, *Aurelia aurita*. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2016, 480: 54-61.
- [47] Winans A K, Purcell J E. Effects of pH on asexual reproduction and statolith formation of the scyphozoan, *Aurelia labiata*. Hydrobiologia, 2010, 645(1): 39-52.
- [48] Kikkawa T, Minowa Y, Nakamura Y, Kita J, Ishimatsu A. Swimming inhibition by elevated pCO₂ in ephyrae of the scyphozoan jellyfish, *Aurelia*.

- Plankton and Benthos Research, 2010, 5(3): 119-122.
- [49] Klein S G, Pitt K A, Rathjen K A, Seymour J E. Irukandji jellyfish polyps exhibit tolerance to interacting climate change stressors. *Global Change Biology*, 2014, 20(1): 28-37.
- [50] Boco S R, Pitt K A, Melvin S D. Extreme, but not moderate climate scenarios, impart sublethal effects on polyps of the Irukandji jellyfish, *Carukia barnesi*. *Science of the Total Environment*, 2019, 685: 471-479.
- [51] Widmer C L. How to Keep Jellyfish in Aquariums: An Introductory Guide for Maintaining Healthy. Arizona: Wheatmark, 2008: 212-212.
- [52] 刘辉, 赵建民, 王清. 一种海洋酸化和低氧模拟装置及其控制方法. 中国, 108241394A. 2018-07-03.
- [53] Pelletier G, Lewis E, Wallace D. CO₂ Sys. xls: a calculator for the CO₂ system in seawater for microsoft excel/VBA. Olympia (Washington): Washington State Department of Ecology, 2007.
- [54] Pettersen A K, White C R, Bryson-Richardson R J, Marshall D J. Does the cost of development scale allometrically with offspring size? *Functional Ecology*, 2018, 32(3): 762-772.
- [55] Heins A, Sötje I, Holst S. Assessment of investigation techniques for scyphozoan statoliths, with focus on early development of the jellyfish *Sanderia malayensis*. *Marine Ecology Progress Series*, 2018, 591: 37-56.
- [56] Lewis C, Ellis R P, Vernon E, Elliot K, Newbatt S, Wilson R W. Ocean acidification increases copper toxicity differentially in two key marine invertebrates with distinct acid-base responses. *Scientific Reports*, 2016, 6(1): 21554.
- [57] Larsen B K, Pörtner H O, Jensen F B. Extra-and intracellular acid-base balance and ionic regulation in cod (*Gadus morhua*) during combined and isolated exposures to hypercapnia and copper. *Marine Biology*, 1997, 128(2): 337-346.
- [58] 任虹, 李强, 李婷. 重金属污染物对文蛤金属酶类的影响. *中国渔业质量与标准*, 2014, 4(4): 7-12.
- [59] 王凡, 赵元凤, 吕景才, 刘长发. 铜污染对扇贝内脏团抗氧化酶活性的影响. *水产科学*, 2008, 27(12): 622-624.
- [60] Al-Horani F A, Al-Moghrabi S M, De Beer D. The mechanism of calcification and its relation to photosynthesis and respiration in the scleractinian coral *Galaxea fascicularis*. *Marine Biology*, 2003, 142(3): 419-426.
- [61] Jorge M B, Loro V L, Bianchini A, Wood C M, Gillis P L. Mortality, bioaccumulation and physiological responses in juvenile freshwater mussels (*Lampsilis silquoidea*) chronically exposed to copper. *Aquatic Toxicology*, 2013, 126: 137-147.
- [62] Tellis M S, Lauer M M, Nadella S, Bianchini A, Wood C M. Sublethal mechanisms of Pb and Zn toxicity to the purple sea urchin (*Strongylocentrotus purpuratus*) during early development. *Aquatic Toxicology*, 2014, 146: 220-229.
- [63] Teuber L, Kiko R, Séguin F, Auel H. Respiration rates of tropical Atlantic copepods in relation to the oxygen minimum zone. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2013, 448: 28-36.
- [64] Höhn D P, Lucas C H, Thatje S. Respiratory response to temperature of three populations of *Aurelia aurita* polyps in northern Europe. *PLoS One*, 2017, 12(5): e0177913.
- [65] Catarino A I, Bauwens M, Dubois P. Acid-base balance and metabolic response of the sea urchin *Paracentrotus lividus* to different seawater pH and temperatures. *Environmental Science and Pollution Research*, 2012, 19(6): 2344-2353.
- [66] 袁喜, 黄应平, 靖锦杰, 蒋清, 胥焘, 涂志英, 李为民. 铜暴露对草鱼幼鱼代谢行为的影响. *农业环境科学学报*, 2016, 35(2): 261-265.
- [67] Treible L M, Pitt K A, Klein S G, Condon R H. Exposure to elevated pCO₂ does not exacerbate reproductive suppression of *Aurelia aurita* jellyfish polyps in low oxygen environments. *Marine Ecology Progress Series*, 2018, 591: 129-139.
- [68] Morabito R, Dossena S, La Spada G, Marino A. Heavy metals affect nematocysts discharge response and biological activity of crude venom in the jellyfish *Pelagia noctiluca* (Cnidaria, Scyphozoa). *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2014, 34(2): 244-254.
- [69] Cao R W, Zhang T Y, Li X, Zhao Y T, Wang Q, Yang D L, Qu Y, Liu H, Dong Z J, Zhao J M. Seawater acidification increases copper toxicity: a multi-biomarker approach with a key marine invertebrate, the Pacific Oyster *Crassostrea gigas*. *Aquatic Toxicology*, 2019, 210: 167-178.
- [70] Le Cadre V, Debenay J P. Morphological and cytological responses of *Ammonia* (Foraminifera) to copper contamination: implication for the use of foraminifera as bioindicators of pollution. *Environmental Pollution*, 2006, 143(2): 304-317.
- [71] Morabito R, Marino A, La Spada G. Heavy metals affect regulatory volume decrease (RVD) in nematocytes isolated from the jellyfish *Pelagia noctiluca*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2013, 165(2): 199-206.
- [72] Morabito R, Marino A, Lauf P K, Adragna N C, La Spada G. Sea water acidification affects osmotic swelling, regulatory volume decrease and discharge in nematocytes of the jellyfish *Pelagia noctiluca*. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 2013, 32(1): 77-85.