

长牡蛎呼吸、排泄及钙化的日节律研究

任黎华^{1,2,3} 张继红³ 方建光^{3*} 唐启升³ 刘毅³ 杜美荣³

(¹中国科学院海洋研究所,青岛 266071)

(²中国科学院大学,北京 100049)

(³农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所 碳汇渔业实验室,青岛 266071)

摘要 通过室内实验与海区现场实验相结合的方法,研究了10℃、18℃及20℃下3种不同规格(壳高:S:2.5cm; M:5.5cm; B:6.8cm)的长牡蛎耗氧率、排氨率及钙化率的日变化。实验结果表明,长牡蛎的代谢有一定节律性,其中,呼吸表现为昼夜节律,在水温10℃时为夜高昼低,夜间的耗氧率比白天平均高0.07 mg/ind·h;水温20℃时,室内实验的呼吸率无明显节律。而现场实验则表现为昼高夜低,白天比夜间高0.08 mg/ind·h。排氨率与耗氧率变化不一致,白天和夜间分别有相近的变化趋势,可能是受到潮汐节律的影响;长牡蛎的钙化则表现出复杂的变化,不同时间段间有显著差异($P<0.05$),但没有明显的节律性。在进行牡蛎生理实验时,要避免取短时间的生理指标计算其代谢水平,应选择不同时段进行重复实验。

关键词 长牡蛎 呼吸 排泄 钙化 日节律

中图分类号 S917.4 **文献识别码** A **文章编号** 1000-7075(2013)01-0075-07

The diurnal rhythm of respiration, excretion and calcification in oyster *Crassostrea gigas*

REN Li-hua^{1,2,3} ZHANG Ji-hong³ FANG Jian-guang^{3*}
TANG Qi-sheng³ LIU Yi³ DU Mei-rong³

(¹Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071)

(²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049)

(³Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Carbon-Sink Fisheries Laboratory, Qingdao 266071)

ABSTRACT The diurnal rhythm of respiration, excretion and calcification of *Crassostrea gigas* at three sizes(shell height: Small: 2.5 cm; Middle: 5.5 cm; Big: 6.8 cm) were studied in laboratory control (at 10℃ and 20℃) and an experimental farming area(at 18℃). A rhythm was found for the metabolism of oysters. Oxygen consumption (OR) showed a diurnal rhythm, with higher OR at night at 10℃ in the experimental containers, and a reversed rhythm was found at 18℃ in the sea area. The difference in OR between day and night was 0.07~0.08 mg/

国家自然科学基金(41276172)资助

* 通讯作者。E-mail: fangjg@ysfri.ac.cn

收稿日期:2012-11-14;接受日期:2013-01-08

作者简介:任黎华(1987-),男,在读博士研究生,主要从事养殖生态研究。E-mail: renlihua5@163.com, Tel: 18764296186

ind⁻¹·h under either situations. Meanwhile, OR at 20°C was stable. The NH₃ excretion rate showed the same trend at day and night, which was different with the OR rate. It was considered that excretion of *C. gigas* may be affected by tidal rhythm. Calcification did not show an obvious rhythm, but it was significantly different between time periods ($P<0.05$). Reasons for the difference in metabolism rhythm was discussed in this paper. It is suggested that calculating the level of metabolism by physiological indices gathered in a short interval should be avoided, and replicates at different time periods are needed.

KEY WORDS *Crassostrea gigas* Respiration Excretion Calcification
Diurnal rhythm

牡蛎是世界范围的养殖种类,也是我国主要的养殖贝类之一。在过去的20年中,牡蛎养殖业发展迅速,养殖规模大幅上升,到2010年,我国海水养殖牡蛎产量已达364万t,占海水养殖贝类总产量的24.6% (渔业统计年鉴 2011)。其中长牡蛎 *Crassostrea gigas* 于20世纪80年代初从日本引入我国,80年代末在我国北部沿海大面积养殖,是我国双壳贝类养殖中规模大、产量高的养殖品种之一。

呼吸、排泄及钙化是双壳贝类重要的生理生态学特征,其中,呼吸和排泄作为长牡蛎个体能量收支重要组成部分,也是反应其生理状态的主要指标。而随着全球环境问题与气候问题逐渐突出,近海与海岸带受到大气CO₂浓度升高与海洋酸化的严重影响(Nellemann *et al.* 2009),近海养殖贝类的钙化能力受到严峻挑战的同时,也得到了广泛的关注。在目前的大多数研究中,由于考虑到牡蛎滤水率较强(匡世焕等 1996;王俊等 2005;王吉桥等 2006),呼吸、排泄及钙化的实验多集中在短时间(2~4h)内完成(方军等 2004;毛玉泽等 2005),许多牡蛎生理模型的建立也是如此(Beiras *et al.* 1995; Ren *et al.* 2008),对牡蛎代谢日节律的研究报道较少。

由于室内实验不能很好地模拟养殖海区实际的环境条件,包括饵料组成、水压、光照以及潮汐作用等物理环境特征,研究人员在研究贝类生理过程中,越来越重视现场研究的方法(Kuang *et al.* 1997;周毅等 2003;张继红等 2005)。本研究通过室内实验与养殖区现场实验互为对比的方法,对牡蛎代谢的日节律进行研究,以期为相关的牡蛎生理生态学研究提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 实验条件

室内实验通过循环流水设备控温,分为两个温度梯度,分别为10±0.3°C、20±0.3°C,海水盐度31.29±0.03。实验用海水为近海砂滤海水,水槽体积为50 cm×45 cm×45 cm,控制水循环速度为1.2 L/min,每个水槽分别放置长牡蛎15只,实验过程中不投喂。现场实验于山东荣成桑沟湾养殖海域进行,实验用水采用现场海水,水温18±0.6°C,海水盐度30.91±0.05。

1.2 实验贝类

室内实验用长牡蛎均采自山东荣成楮岛水产有限公司,从牡蛎养殖海区取得后,于保温盒中加冰块控温,4 h内带回实验室,清除贝壳上的附着生物,选择适宜规格的长牡蛎放于循环水槽中暂养。实验用长牡蛎分为3种规格,S:壳高2.43±0.39 cm,湿重2.52±0.96 g;M:壳高5.47±0.45 cm,湿重23.14±7.08 g;B:壳高6.89±0.83 cm,湿重42.63±3.13 g。

养殖区现场实验是从养殖绳上选取规格与室内实验规格相近的长牡蛎进行实验,具体的生物学数据如下:S:壳高2.42±0.52 cm,湿重2.45±0.16 g;M:壳高5.23±0.74 cm,湿重20.43±5.81 g;B:壳高6.79±0.21 cm,湿重41.68±1.47 g。

1.3 实验操作

室内实验于2012年5月1日13:00~5月2日17:00之间进行,长牡蛎在水槽内暂养7d,充分适应实验环境,采用1L的聚乙烯广口瓶,以保鲜膜封口,采用循环水槽水浴,每瓶放置长牡蛎1只,设3个空白对照组,各规格设3个平行组,实验每2 h进行1次,中间操作20 min,持续26 h。

养殖区现场实验于2012年5月27日17:00~28日19:00期间进行,采用1L的广口玻璃瓶,装满海水后,4个未放置牡蛎的瓶子作为对照,其他瓶中各放置牡蛎1个,每个规格设3个平行。封口后,挂于距海面2.5m的水下。其他实验方法同室内实验。

采用YSI ProPlus电极测定对照组和实验组初始及实验结束时的温度、盐度、溶解氧浓度。另外,实验前后,分别取水样100ml,加HgCl₂后,于置冰的保温盒中保存,带回实验室测定氨氮浓度(NH₄⁺-N)、亚硝酸盐浓度(NO₂⁻-N)、pH以及总碱度(TA)。氨氮、亚硝酸盐测定采用次溴酸钠氧化法,方法严格按照《海洋监测规范》的要求进行,所用仪器为7530型分光光度计。TA测定使用Metrohm公司生产的自动滴定仪,采用自动电位滴定法测定,滴定过程由ROSS玻璃电极监控,TA数值由计算机程序自动计算得到,测量相对标准偏差为±2 μmol/L。

1.4 计算方法与统计分析

各项指标通过以下公式计算:

$$\text{耗氧率 (OR)} = [(DO_0 - DO_t - \Delta DO) \times V] / t$$

$$\text{排氨率 (NR)} = [(N_t - N_0 - \Delta N) \times V] / t$$

$$\text{钙化率 (GR)} = [(TA_t - TA_0 - \Delta TA) / 2 \times V] / t$$

式中,DO₀和DO_t分别为实验开始和结束时海水中DO含量(mg/L),N₀和N_t分别为实验开始和结束时海水中氨氮浓度(μmol/L),TA₀和TA_t分别为实验开始和结束时海水中总碱度(μmol/L),Δ值为空白瓶中DO、N及TA的变化值,V为实验用容器的体积(L),t为实验持续时间(h)。

其中,钙化率的计算中,扣除了牡蛎排泄氨氮造成的TA变化,公式参考国内外常用的钙化速率计算公式(Boucher et al. 1993; Gattuso et al. 1998; Gazeau et al. 2007)。

数据以平均值±标准差(X±SD)表示,采用SPSS 17.0统计软件进行统计学分析,ANOVA单因子方差分析检验组内差异,P<0.05视为差异显著,P<0.01为差异极其显著。

2 实验结果

2.1 长牡蛎的耗氧率

实验测得长牡蛎的耗氧率如图1所示,黑色虚线为该时间段的平均值,用以显示其变化趋势。

长牡蛎在各温度下的单位个体耗氧率都遵循随规格变大而增高的规律。长牡蛎的耗氧率日变化趋势在10℃、18℃幅度相对较大,在20℃则较为平缓。不同水温下,各规格组长牡蛎的平均耗氧率见表1。

ANOVA单因子方差分析显示,S10、M10与B10各时间段组内差异显著(P<0.05)。S10组与M10组出现一致的变化趋势,B10除在02:10时间段出现一个低值,其耗氧率的变化与其他两组也相对一致。

S20、M20组内没有显著差异(P>0.05),长牡蛎耗氧率在1个日周期中相对稳定;B20组内差异极显著

表1 不同水温下各规格组长牡蛎的平均耗氧率

Table 1 Average OR of each sized *C. gigas* under different water temperature (mg/ind·h)

温度 Temperature(℃)	规格 Size		
	S	M	B
10	0.13±0.06	0.32±0.07	0.31±0.10
20	0.31±0.06	1.12±0.05	1.53±0.04
18	0.08±0.04	0.19±0.05	0.59±0.16

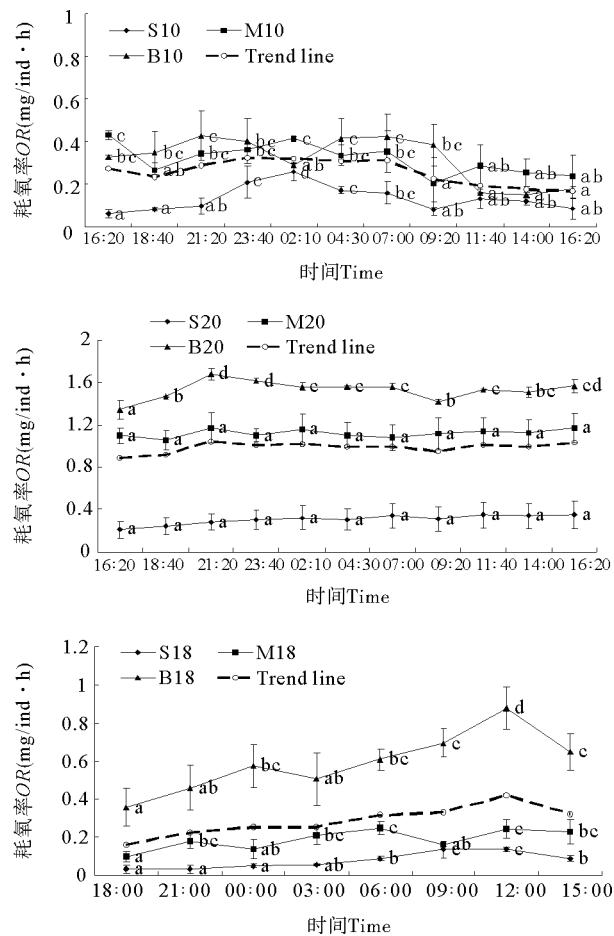
($P<0.01$), 21:20时间段出现耗氧率最高值, 显著高于其他时间段($P<0.01$), 除09:20时间段外, 02:10~16:40间长牡蛎耗氧率也相对稳定, 各时间段组均无显著差异($P>0.05$)。

S18、M18、B18组内均存在显著差异($P<0.05$), 3个规格组从03:00时间段出现耗氧率上升的趋势, 12:00时间段出现一个显著高于其他各组($P<0.05$)值后开始下降。

从昼夜变化的趋势来看, 水温10℃条件下, 长牡蛎在夜间(18:40~翌日07:00)耗氧率均高于白天, 按平均值计算, 夜间长牡蛎耗氧率平均高出约0.07 mg/ind·h; 水温20℃时, 长牡蛎的耗氧率在全天相对稳定; 现场实验结果为长牡蛎耗氧率白天(06:00~15:00)高于夜间, 平均高出约0.08 mg/ind·h。

2.2 长牡蛎的排氨率

实验测得长牡蛎的排氨率如图2所示。

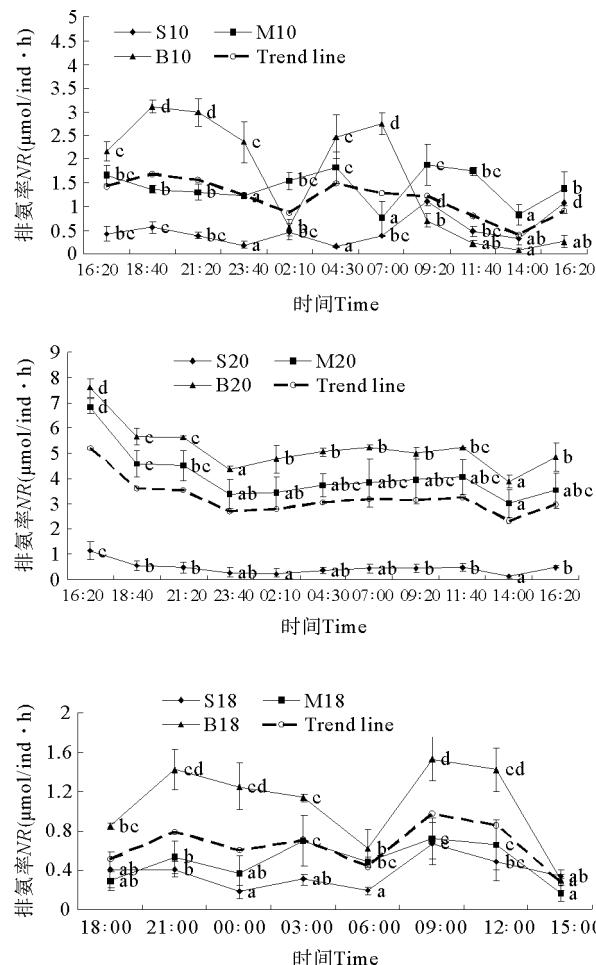


注: 图例中S, M及B分别为规格小、中、大, 10、20及18为水温, 虚线表示总变化趋势。同一规格组的线上相同英文字母的表示差异不显著($P>0.05$)

Note: Letter S, M and B refer to the size small, middle and big. 10, 20 and 18 is water temperature. Dotted line shows the change trend. Lines in the same size with the same letter indicate no significant difference ($P>0.05$)

图1 不同温度下长牡蛎耗氧率的日变化

Fig. 1 OR change of *C. gigas* during one day



注: 图例中S, M及B分别为规格小、中、大, 10、20及18为水温, 虚线表示总变化趋势。同一规格组的线上相同英文字母的表示差异不显著($P>0.05$)

Note: Letter S, M and B refer to the size small, middle and big. 10, 20 and 18 is water temperature. Dotted line shows the change trend. Lines in the same size with the same letter indicate no significant difference ($P>0.05$)

图2 长牡蛎排氨率的日变化

Fig. 2 NR change of *C. gigas* during one day

从图2可以看出,长牡蛎的排氨率在1d中的变化较大,不同水温下,各规格组长牡蛎的平均排氨率见表2。

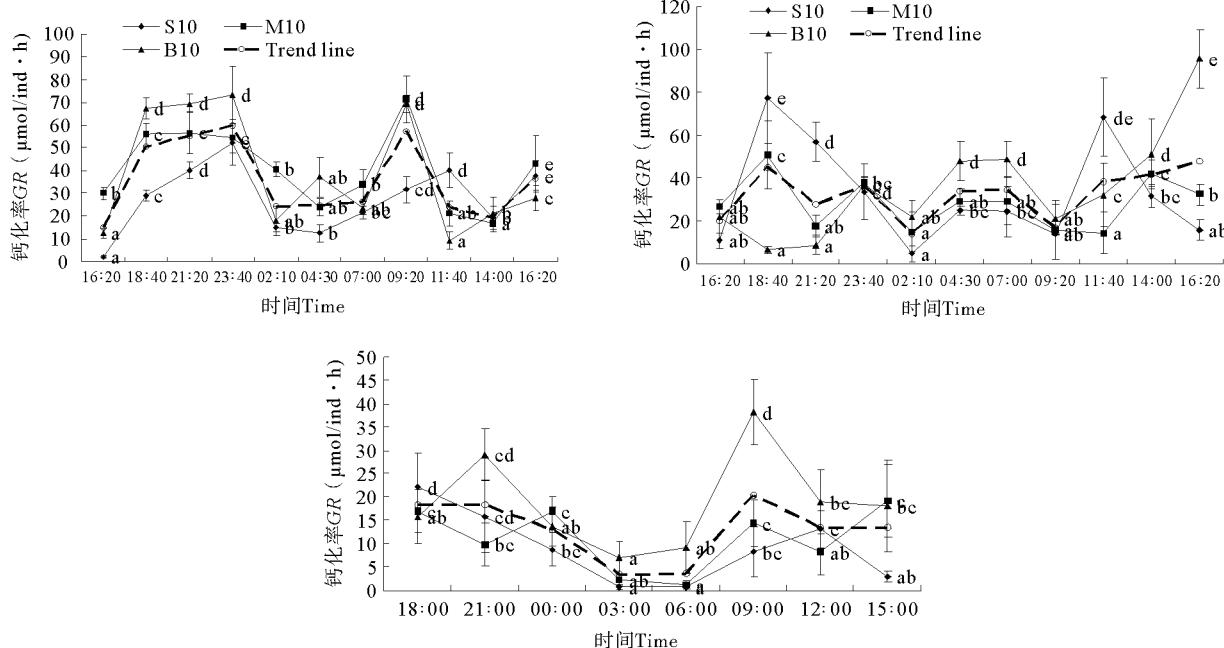
ANOVA单因子方差分析显示,各规格长牡蛎排氨率在不同温度组内均存在显著差异($P<0.05$)。在10℃实验组中,S10组与M10组的排氨率变化趋势相近,B10组的排氨率在02:10时间段,11:40~16:20时间段出现低值。20℃实验组排氨率在23:40~翌日11:40之外的时间段也出现较大变化,3个规格均在16:20时间段出现最高值,14:00出现最低值,均与其他时间段差异显著($P<0.05$)。

现场实验中,长牡蛎的排氨率S组与M组随时间的变化趋势相近,高值与低值的出现点基本相同。B组排氨率变化曲线呈M型,在21:00~翌日03:00与09:00~12:00时间段出现显著高值($P<0.05$)。

长牡蛎排氨率的昼夜变化趋势表现为:10℃水温时,长牡蛎在夜间(18:40~翌日07:00)与白天出现两个相同的先降低后上升的趋势,两条趋势线的低值点分别为02:10与14:00时间段;水温20℃时,除第一个16:20排氨率处于很高的水平外,白天与夜间的排氨率也呈现逐渐降低后升高的变化,趋势线低值点为23:40~翌日02:10与14:00时间段;现场实验则表明,长牡蛎的排氨率在昼夜体现出两个先上升后下降的趋势,低值点为06:00与15:00~18:00时间段。

2.3 长牡蛎的钙化率

实验测得长牡蛎的钙化率如图3所示。



注:图例中S,M及B分别为规格小、中、大,10、20及18为水温,虚线表示总变化趋势

同一规格组的线上相同英文字母的表示差异不显著($P>0.05$)

Note: Letter S, M and B refer to the size small, middle and big. 10, 20 and 18 is water temperature. Dotted line shows the change trend.

Lines in the same size with the same letter indicate no significant difference ($P>0.05$)

图3 长牡蛎钙化率的日变化

Fig. 3 GR change of *C. gigas* during one day

表2 不同水温下各规格组长牡蛎的平均排氨率

Table 2 Average NR of each sized *C. gigas* under different water temperature ($\mu\text{mol}/\text{ind} \cdot \text{h}$)

温度 Temperature(°C)	规格 Size		
	S	M	B
10	0.50±0.32	1.41±0.38	1.61±1.23
20	0.47±0.26	4.09±1.03	5.22±0.94
18	0.38±0.16	0.50±0.20	1.07±0.44

长牡蛎钙化率的日变化如图3所示。不同规格的长牡蛎在各实验条件下的钙化率变化趋势相近。不同水温下,各规格组长牡蛎的平均排氨率见表3。

ANOVA单因子方差分析显示,排氨率在各规格与温度组内均存在极显著差异($P<0.01$)。10℃实验组中,长牡蛎钙化率在实验开始后的2 h后出现明显升高($P<0.05$),在02:10时间段回落到一个较低值。此外,在09:20与16:40时间段又出现显著高值($P<0.05$)。

现场实验的长牡蛎钙化率低于室内实验组,各规格组均在03:00~06:00时间段出现显著低值($P<0.05$)。

室内实验的长牡蛎在10℃与20℃水温下钙化率变化较为复杂,没有明显的昼夜节律,而从现场实验来看,长牡蛎的钙化率则表现为夜间(18:00~翌日06:00)逐渐降低、白天逐渐升高的趋势。

3 讨论

水生动物昼夜节律的研究多集中在鱼类(王春芳等 2001;曾令清等 2007;孙砚胜等 2012;Hove *et al.* 1997; Biswas *et al.* 2002)。甲壳动物也有部分的相关研究(李少菁等 2000;周文宗等 2007)。贝类的昼夜节律研究虽然相对较少,但研究结果均表明贝类存在着生理代谢的昼夜变化。常亚青等(1998)在皱纹盘鲍 *Haliotis discus* Hannai Ino 耗氧率昼夜变化的研究中指出,皱纹盘鲍的耗氧率有明显的日变化。吴桂汉等(2002)测定了菲律宾蛤仔 *Ruditapes philippinarum* 摄食的昼夜节律,证明其摄食率变化明显。

实验结果表明,长牡蛎的呼吸、排泄和钙化在1个日周期内会产生显著的变化。从实验结果来看,各温度组下的长牡蛎耗氧率、排氨率与钙化率的变化趋势总体相近,但不同温度条件下变化趋势则并不一致。从长牡蛎耗氧率的结果来看,10℃水温组与现场实验表现出不同的昼夜节律,说明长牡蛎的生理节律可能并不是一成不变的,其代谢情况会受到外界因素的影响,或者随环境变化而产生相应的改变。而结合耗氧率与排氨率的实验结果来看,长牡蛎的呼吸与排泄并不体现为同步的升高或者降低,这可能与其代谢方式有关。此前的研究中,通常将耗氧率作为动物新陈代谢活动规律的主要反映(Modlin *et al.* 1997),从实验结果来看,昼夜变化中长牡蛎的排泄并不与其代谢水平直接相关。长牡蛎的钙化与其代谢活动不同,并没有明显的节律性。

长牡蛎在不同时间段的耗氧率、排氨率与钙化率变化显著,因此,以短时间内的代谢指标来代替其在某环境条件下的代谢状况可能会造成一定的偏差。从长牡蛎耗氧率结果看,20℃水温条件下,S组和M组长牡蛎的耗氧率在各时间段均没有显著差异,然而在B组中,耗氧率平均值为1.53 mg/ind·h,与时间段02:10~16:20(09:20时间段除外)的耗氧率处于相近水平。但在10℃水温组与现场实验中,长牡蛎的耗氧率、排氨率与钙化率在各时间段间差异很大,以平均值确定实验时间段的方法并不准确。以水温10℃下S组长牡蛎的耗氧率为例,平均耗氧率为0.13 mg/ind·h(表1),而以耗氧率的最高值与最低值计算,分别为0.26与0.06 mg/ind·h,最高值达到平均值的2倍,而最低值则不足平均值的一半,若以平均值确定时间段为04:30~07:00,并不适用于其他规格组。贝类的呼吸、排泄和钙化率的测定通常采用静水和流水的方法,在一段时间内进行测定(王俊等 1999;范德朋等 2002;徐巧情等 2005;常亚青等 1998;张明亮等 2011),考虑到贝类自身的代谢节律,这些生理指标的测定应该在多个时间段进行,测得的指标才能更接近于贝类代谢的平均值。

有关牡蛎摄食受日节律的影响,在Brain(1971)的研究中得出以下结论,07:00~19:00时间段,牡蛎内收肌的活动比夜晚更加频繁,在白天每小时有1~5次的内收活动,与Brown(1954)的结论一致,但是,从本研究的结果来看,内收运动的频率并不与牡蛎代谢活动相一致,这可能与长牡蛎的代谢方式有关。对比Brain(1971)对牡蛎外套腔液体、胃部液体的pH值变化情况可以发现,牡蛎的代谢方式可能为累积型,并不是随贝壳的开合而持续进行。而牡蛎胃液的黏稠度、晶状体体积及pH的变化则表明,牡蛎受到潮汐节律的影响较大。

表3 不同水温下各规格组长牡蛎的平均排氨率

Table 3 Average GR of each sized *C. gigas* under different water temperature ($\mu\text{mol}/\text{ind} \cdot \text{h}$)

温度 Temperature(℃)	规格 Size		
	S	M	B
10	29.1±17.0	44.6±21.9	39.8±25.3
20	32.9±24.2	28.2±11.9	35.7±25.1
18	9.1±7.7	11.1±6.8	18.7±10.3

实验存在着一些问题,一是人为扰动对长牡蛎造成的生理影响,二是室内实验与现场实验的实验结果差距较大,一方面可能由于现场实验的长牡蛎未经过暂养,直接用于实验;另一方面,也可能受到室内海水的影响,实验过程中发现,实验海水的氨氮本底值,高于现场海水,可能是影响实验结果的一个原因。相关的研究还有待进一步实验验证。

参 考 文 献

- 常亚青,王子臣.1998.皱纹盘鲍的个体能量收支.应用生态学报,9(5):511-516
- 范德朋,潘鲁青,马牲,董双林.2002.温度对缢蛏耗氧率和排氨率的影响.青岛海洋大学学报,32(1):56-62
- 方军,柴雪良,张炯明,陆荣茂.2004.太平洋牡蛎摄食生理和能量收支的研究.浙江海水养殖,32:1-6
- 国家技术监督局.1991.海洋调查规范(GB12763).北京:标准出版社,6-91
- 匡世焕,孙慧玲,李峰,方建光.1996.野生和养殖牡蛎种群的比较摄食生理研究.海洋水产研究,17(2):87-94
- 李少菁,汤鸿,王桂忠.2000.锯缘青蟹幼体消化酶活力昼夜节律的实验研究.厦门大学学报,39(6):831-836
- 毛玉泽,周毅,杨红生,袁秀堂,文海翔,王如才.2005.长牡蛎代谢率的季节变化及其与夏季死亡关系的探讨.海洋与湖沼,36(5):445-451
- 孙砚胜,张秀倩,史东杰,孙向军,魏东,梁拥军.2012.宝石鲈摄食节律和日摄食率的初步研究.水产科学,31(1):28-31
- 王春芳,谢从新,马俊.2001.黄颡鱼早期发育阶段的摄食节律及日摄食率.水产学杂志,14(2):66-68
- 王吉桥,于晓明,郝玉冰,张蒲龙,杨涛,刘海金.2012.4种滤食性贝类滤水率的测定.水产科学,31(1):28-31
- 王俊,姜祖辉,陈瑞盛.2005.太平洋牡蛎生物沉积作用的研究.水产学报,29(3):344-349
- 王俊,姜祖辉,张波,孙耀,唐启升.1999.栉孔扇贝能量收支的研究.海洋水产研究,20(2):71-75
- 吴桂汉,陈品健,江瑞胜,杨圣云,沈锦兰.2002.盐度和昼夜节律对菲律宾蛤仔摄食率的影响.台湾海峡,21(1):72-77
- 许巧情,刘俊,黄华伟.2005.温度对橄榄蛏蚌耗氧率和排氨率的影响.湛江海洋大学学报,25(1):57-63
- 曾令清,付世建,曹振东.2007.南方鮰幼鱼标准代谢的昼夜节律.水产科学,26(10):539-542
- 张明亮,刘学光,方建光,邹健,李斌,张继红.2011.盐度变化对栉孔扇贝钙化与呼吸的影响.渔业现代化,38(6):1-10
- 张继红,方建光,孙松,赵俊梅.2005.胶州湾养殖菲律宾蛤仔的清滤率、摄食率、吸收效率的研究.海洋与湖沼,36(6):584-554
- 周文宗,赵风兰.2007.克氏原螯虾摄食节律的研究.水产科学,26(5):271-274
- 周毅,杨红生,毛玉泽.2003.桑沟湾栉孔扇贝生物沉积的现场测定.动物学杂志,4:40-44
- Beiras R,Perez A,Albentosa M.1995.Short-term and long-term alterations in the energy budget of young oyster *Ostrea edulis* L. in response to temperature change . Journal of Experiment Marine Biology and Ecology 186:221-236
- Biswas AK,Endo M,Takeuchi T.2002.Effect of different photoperiod cycles on metabolic rate and energy loss of both fed and unfed young tilapia *Oreochromis niloticus*:Part 1 . Fisheries Science 68:465-477
- Brain M.1971.The diurnal rhythm and tidal rhythm of feeding and digestion in *Ostrea edulis* . Biol J Linn Soc 3:329-344
- Boucher R,Boucher G.1993. Respiratory quotient and calcification of *Nautilus macromphalus* (Cephalopoda: Nautiloidea) . Marine Biology 117:629-633
- Brown FA.1954. Persistent activity rhythms in the oyster . Am J Physiol 178:510-514
- Gattuso JP,Frankignoulle M,Bourgeois I,Buddemeier RW.1998. Effect of calcium carbonate saturation of seawater on coral calcification . Global and Planetary Change 18:37-46
- Gazeau F,Quiblier C,Jansen JM and 3 others.2007. Impacts of elevated CO₂ on shellfish calcification. Geophysical Research Letters 34:L07603. doi:10.1029/2006GL 028554
- Hove JR,Moss SA.1997. Effect of MS-222 on response to light and rate of metabolism of the little skate *Raja erinacea* . Marine Biology 128:579-583
- Kuang S,Fang J,Sun H.1997. Seasonal studies of filtration rate and absorption efficiency in the scallop *Chlamys farreri* . J Shell Res 16:39-45
- Modlin RF,Froelich AJ.1997. Influence of temperature, salinity, and weight on the oxygen consumption of *Americanysis bahia* (Mysidacea) . J Crust Biol 17(1):21-26
- Nellemann C,Corcoran E,Duarte CM and 4 others. 2009. Blue Carbon[R/OL]. A rapid response assessment. united nations environment programme GRID-Arendal
- Ren JS,Schiel DR.2008. A dynamic energy budget model: parameterization and application to the Pacific oyster *Cassostrea gigas* in New Zealand waters . Journal of Experiment Marine Biology and Ecology 361:42-48