

南方养殖鲍优选群体杂合子一代热耐受性分析

曹明睿, 陈政强, 李元跃, 陈融斌, 张婷婷

(集美大学水产学院, 福建 厦门 361021)

[摘要] 以同月龄的南方鲍普通养殖群体(皱纹盘鲍)种苗为对照,采用动态法和静态法研究南方养殖鲍优选群体杂合(δ 亲本(西氏鲍♀×皱纹盘鲍♂)×♀亲本(绿鲍♀×皱纹盘鲍♂))子一代种苗的热耐受性,并对其肝胰腺超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、酸性磷酸酶(ACP)和溶菌酶(LZM)的热胁迫响应情况进行考察。实验结果表明:南方养殖鲍优选群体杂合子一代种苗的高起始致死温度为 $(33.36 \pm 0.03)^\circ\text{C}$,略高于对照组的 $(33.13 \pm 0.02)^\circ\text{C}$;当初始水温分别为21.0、24.0、27.0℃时,南方养殖鲍优选群体杂合子一代种苗的最大临界温度分别达到 (30.27 ± 0.45) 、 (32.57 ± 0.31) 、 $(33.07 \pm 0.25)^\circ\text{C}$,显著高于对照组的 (28.80 ± 0.36) 、 (30.87 ± 0.40) 、 $(31.67 \pm 0.32)^\circ\text{C}$;持续升温环境下,南方养殖鲍优选群体杂合子一代种苗的热耐受指数高达 $(1918.75 \pm 208.11)^\circ\text{C}\cdot\text{h}$,远高于对照组的 $(922.56 \pm 138.18)^\circ\text{C}\cdot\text{h}$;高温胁迫下,南方养殖鲍优选群体杂合子一代种苗的肝胰腺酶SOD、CAT、ACP、LZM活性分别从 (9.02 ± 0.45) U/mg提升至 (21.96 ± 2.02) U/mg、从 (7.22 ± 0.77) U/mg提升至 (11.07 ± 1.40) U/mg、从 (63.38 ± 5.48) U/mg提升至 (175.12 ± 18.30) U/mg、从 (42.45 ± 4.87) U/mg提升至 (112.71 ± 7.47) U/mg,与对照组相比较,其肝胰腺酶SOD、CAT、ACP、LZM具有更好的热胁迫响应效果和高温适应性。

[关键词] 南方养殖鲍;优选群体;高起始致死温度;最大临界温度;热耐受性;肝胰腺酶

[中图分类号] S 948

Thermotolerance of the Selected Abalone Population's First Generation of Heterozygotes Cultured in the South of China

CAO Mingrui, CHEN Zhengqiang, LI Yuanyue, CHEN Rongbin, ZHANG Tingting

(Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: Using the seedlings of *Haliotis discus hannai* as a control, the thermotolerance of the first generation of heterozygous seedlings (male parents (*Haliotis sieboldii* ♀ × *Haliotis discus hannai* ♂) × female parents (*Haliotis fulgens* ♀ × *Haliotis discus hannai* ♂)) of the selected abalone population (SAPFGH) was studied by dynamic and static methods, and the activity expression of hepatopancreatic superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), acid phosphatase (ACP) and lysozyme (LZM) in response to thermal stress were investigated. The results showed that the upper initial lethal temperature 168 h UILT₅₀ of the selected abalone population's first generation of heterozygous seedlings cultured in the south of China was $(33.36 \pm 0.03)^\circ\text{C}$, which was slightly higher than $(33.13 \pm 0.02)^\circ\text{C}$ of the control experimental animals. When the initial water temperature was 21.0 °C, 24.0 °C and 27.0 °C, the critical temperature maximum (CTM) of the seedlings

[收稿日期] 2022-04-15

[基金项目] 福建省科技计划项目(2019Y6002)

[作者简介] 曹明睿(1995—),男,硕士生,从事海水养殖方向研究。通信作者:陈政强(1967—),男,博士,副教授,从事海洋水产养殖技术研究。E-mail:zhqchen999@163.com

<http://xuebaobangong.jmu.edu.cn/zkb>

reached $(30.27 \pm 0.45) ^\circ\text{C}$, $(32.57 \pm 0.31) ^\circ\text{C}$ and $(33.07 \pm 0.25) ^\circ\text{C}$ respectively. Under the same conditions, its value was significantly higher than that of the control experimental animals at $(28.80 \pm 0.36) ^\circ\text{C}$, $(30.87 \pm 0.40) ^\circ\text{C}$ and $(31.67 \pm 0.32) ^\circ\text{C}$. Under the condition of initial temperature rising slowly at $24.0 ^\circ\text{C}$, the upper thermal tolerance index (UTT) of the SAPFGH seedlings was as high as $(1918.75 \pm 208.11) ^\circ\text{C} \cdot \text{h}$, which was much higher than $(922.56 \pm 138.18) ^\circ\text{C} \cdot \text{h}$ in the control animals. The activities of hepatopancreatic enzymes (SOD, CAT, ACP and LZM) of the SAPFGH seedlings after experiencing high temperature stress of $26.0\text{--}32.0 ^\circ\text{C}$ for 2 hours and returning to the initial temperature environment of $24.0 ^\circ\text{C}$ can be increased from $(9.02 \pm 0.45) \text{ U/mg}$ to $(21.96 \pm 2.02) \text{ U/mg}$, from $(7.22 \pm 0.77) \text{ U/mg}$ to $(11.07 \pm 1.40) \text{ U/mg}$, from $(63.38 \pm 5.48) \text{ U/mg}$ to $(175.12 \pm 18.30) \text{ U/mg}$, and from $(42.45 \pm 4.87) \text{ U/mg}$ to $(112.71 \pm 7.47) \text{ U/mg}$, respectively, compared with the control experimental animals, the hepatopancreatic enzymes (SOD, CAT, ACP and LZM) have better response effect to thermal stress and high temperature adaptability.

Keywords: abalone cultured in the south of China; abalone selected population; critical temperature maximum; upper initial lethal temperature; upper thermal tolerance index; hepatopancreatic enzymes

0 引言

鲍是海味珍品,自古以来就与海参、干贝、鱼翅等共享“海产八珍”的美誉。鲍,具有口感鲜美、营养丰富等特点,不仅其软体部富含蛋白、多糖,鲍壳还富含石决明、活性钙,具有保肝、明目等药用价值,因此,民间素有“一口鲍一口金”之说^[1-3]。我国是鲍渔业产量最大的国家,约占世界鲍养殖渔业总产量的八成以上,且我国养殖鲍产量的 79.86% 又来自福建省^[4]。以福建为主体的南方鲍养殖产业集群主要开展皱纹盘鲍等温水性种类养殖,它们原产于我国北方沿海水域,对南方夏季高温环境适应性差。针对南方鲍养殖渡夏难的问题,产业与学术界有不少探讨与实践。总体而言,主要包括 3 个方面的解决思路:1) 为了克服渡夏难关,鲍养殖业经营者通过采取浅海深水吊养、人工降温养殖、将鲍种苗送回北方原产地渡夏等方法规避夏季高死亡;2) 利用当地循环水育苗厂的低温海水,进行南方养殖鲍渡夏养殖;3) 通过引种、选择育种、杂交育种等途径谋求提升养殖鲍的耐高温能力。其中,培育并推广南方养殖鲍耐高温种苗,提升南方养殖鲍的耐高温能力,始终是学术和产业界共同关注的焦点问题^[5]。国内学者先后开展过鲍耐高温种苗的选育、培育工作,并取得相应的研究成果^[6-8]。本文从产业角度出发,通过优选种鲍—亲鲍驯养—健康种苗培育,获取南方养殖鲍优选群体杂合子一代种苗,并与皱纹盘鲍普通养殖群体相比较,进行热耐受性能评价,以期揭示它们之间的差异性,为进一步选育耐高温性状优良的鲍新品种提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 实验动物

本实验动物——南方养殖鲍优选群体杂合子一代(简称“杂优群体”)系漳州市鹏丰水产科技有限公司东山鲍种苗繁育基地 2019 年 11 月开始繁育并逐渐优选出来的优良鲍种苗培育群体,它们由西盘鲍♂亲本(西氏鲍 *Halotis sieboldii* ♀ × 皱纹盘鲍 *Halotis discus hannai* ♂) × 绿盘鲍♀亲本(绿鲍 *Halotis fulgens* ♀ × 皱纹盘鲍 *Halotis discus hannai* ♂) 杂交而来。对照实验动物——皱纹盘鲍普通养殖群体(简称“普通群体”)繁育的种苗为市售商品种苗。实验动物和对照实验动物均为当地培育的 7 月龄鲍种苗。其中:杂优群体平均壳长为 $(36.65 \pm 2.56) \text{ mm}$, 平均体重为 $(6.26 \pm 1.26) \text{ g}$; 普通群体平均壳长为 $(27.45 \pm 1.67) \text{ mm}$, 平均体重为 $(2.85 \pm 0.43) \text{ g}$ 。在实验开始前,上述 2 个鲍养殖群体种苗在试验场同等环境和饲养条件下暂养 15 d, 以促其适应环境、恢复体能。鲍种苗暂养环境为持续充气的流动水体、环境水温 $(24.0 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$ 、盐度 33、pH 值 7.8, 每日饲以洗净的新鲜江

藻碎段,隔日吸底清污一次。

1.2 杂优群体种苗热耐受性相关指标的测定

1.2.1 高起始致死温度测定

从暂养的实验动物中随机抽取450只实验鲍随机分成15个实验组,每组30只。分别放入水温为32.0、32.5、33.0、33.5、34.0℃高温的100 L养殖水体中,每个温度设3组。历经2 h高温胁迫之后,重新回到初始温度下蓄养,连续观察7 d (168 h),并记录各组鲍的存活情况。以对照实验动物为对照组,重复上述实验。

1.2.2 最大临界温度测定

分别将水体温度缓慢变化至21.0、24.0、27.0℃,每个水温设3个实验组,每组30只实验鲍,实验组水体200 L。驯化适应14 d后,以每8 h升1.0℃的升温速度将环境温度逐渐提升,观察鲍的反应,并以半数个体腹足肌无力吸附,躯体从附着基上脱落作为临界点,该临界点的环境温度即为该实验鲍群体的最大临界温度。每个温度都设对照组3组。

1.2.3 热耐受指数测定

设置3个实验组,每组220 L水体30个个体。在环境初始温度24.0℃下蓄养适应14 d,然后以每天升1.0℃的升温速度将鲍蓄养水体温度缓慢提升至30.0℃,继而以每2 d升1.0℃的升温速度提升水温,当出现个体死亡时停止升温并维持鲍开始死亡时的蓄养水体温度,待该种鲍个体全部死亡后继续升温,并记录相应时长,当鲍全部死亡时停止实验。设对照组3组。

引用热耐受指数 U (upper thermal tolerance, UTT)^[9-10] 作为衡量南方养殖鲍优良种苗耐高温能力的指标。计算公式为: $U = \sum_{i=1}^k (T_i - T_0)$ 。其中: T_i 为第 i 小时的温度 (℃); T_0 为初始温度 (24℃); k 为存活时间 (h)。

1.3 杂优群体种苗生理生化指标的测定

1.3.1 直接暴露高温胁迫实验

在养殖水体温度分别为26.0、28.0、30.0、32.0℃的环境条件下,各设置3个实验组,每组水体100 L,个体30个,高温胁迫2 h之后,重新回到初始温度环境条件下蓄养2 h,之后依次从各实验组中随机取出3只鲍,取肝胰腺组织用于测定超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、溶菌酶 (LZM)、酸性磷酸酶 (ACP) 活性。设对照组3组。

1.3.2 酶活性测定

将杂优群体鲍的肝胰腺组织切成碎块置于玻璃匀浆器中,向玻璃匀浆器中加入0.01 mol/L的PBS缓冲液,冰浴匀浆,匀浆液以4℃、10 000 × g 离心30 min,取上清液于-80℃保存备用。每3只实验鲍肝胰腺检测样混合为一体用于相关检测。SOD、CAT、ACP和LZM活性及蛋白质含量测定皆采用南京建成生物工程研究所生产销售的检验试剂盒,并依照相关说明书确立检验操作规程。

1.4 数据处理

用SPSS 25软件对实验数据进行统计分析,各数据以平均值±标准偏差 (Means ± SD) 表示。采用Kaplan-Meier法进行生存分析,利用Log Rank方法对各群体鲍实验动物的总体生存时间分布进行差异比较,其余实验数据则通过单因素方差分析 (one-way ANOVA) 和多重比较分析方法进行分析, $P < 0.05$ 视为差异显著, $P < 0.01$ 视为差异极显著。此外,采用最小二乘法通过GraphPad Prism 8软件对各实验数据进行曲线拟合、变量间函数分析并制作图表。

2 结果与分析

2.1 杂优群体种苗高起始致死温度 (168 h UILT₅₀)

实验结果表明:养殖水体温度上升至32.5℃,在此温度下胁迫2 h之后返回24.0℃初始温度环

境下蓄养,此时,无论是杂优群体还是普通群体,南方养殖鲍种苗在 168 h 内都有个体死亡现象出现;而当胁迫温度上升至 34.0 °C 之后,前述 2 个群体的鲍种苗则完全不能存活;在 32.5 ~ 33.5 °C 胁迫温度范围内,随着温度升高鲍种苗存活率急剧下降(见图 1)。由此可见,32.0 °C 是南方养殖鲍种苗的高温胁迫亚致死温度,34.0 °C 以上温度是其直接致死温度,高起始致死温度 168 h UILT₅₀ 则介于 32.5 °C 到 34.0 °C 之间。虽然,杂优群体与普通群体一样,在 32.5 ~ 33.5 °C,存活率都随着胁迫温度升高而急剧下降,但是,前者存活率还是显著高于后者 ($P < 0.05$)。

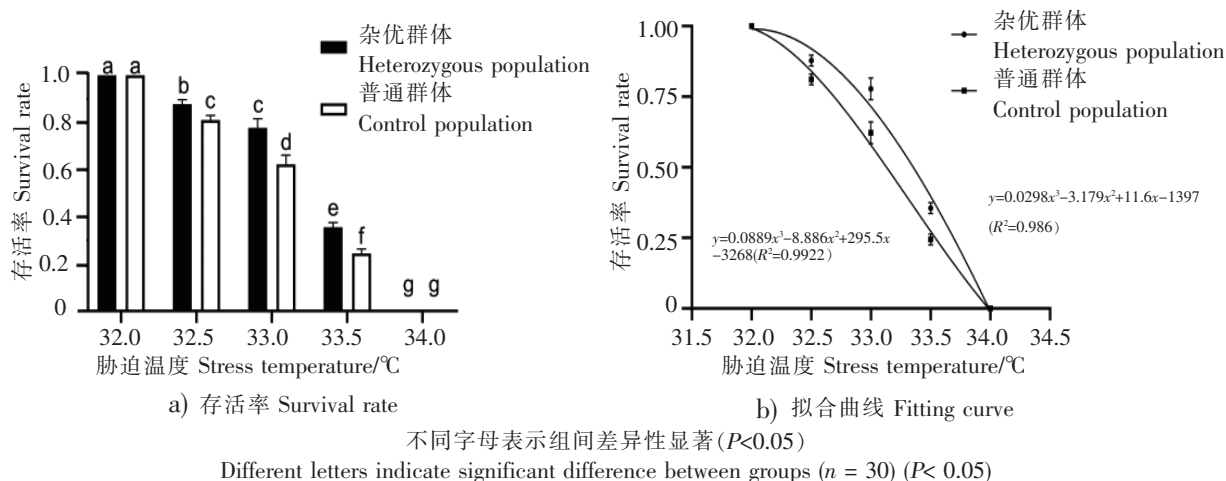


图 1 高温胁迫 2 h 后不同鲍种苗群体存活情况
Fig.1 Survival of different abalone seedling populations after 2 hours of high temperature stress

对 2 个群体在高温胁迫后的存活率数据散点图进行曲线拟合和回归分析后可见,在环境温度骤然升高的情况下高温胁迫 2 h,杂优群体种苗的热耐受性高于普通群体种苗。杂优群体种苗对高温胁迫的适应性(热耐受性)多项式函数为

$$y = 0.0298x^3 - 3.173x^2 + 111.6x - 1297 \quad (R^2 = 0.99),$$

而普通群体种苗的热耐受性多项式函数为

$$y = 0.0889x^3 - 8.886x^2 + 295.5x - 3268 \quad (R^2 = 0.99)。$$

依据上述函数求得杂优群体和普通群体种苗的高起始致死温度分别为 $(33.36 \pm 0.03)^\circ\text{C}$ 和 $(33.13 \pm 0.02)^\circ\text{C}$,杂优群体种苗的高起始致死温度 168 h UILT₅₀ 显著高于普通群体种苗 ($P < 0.05$)。

2.2 杂优群体种苗最大临界温度

实验结果表明:在养殖水体温度分别为 21.0, 24.0, 27.0 °C 情况下,无论是杂优群体还是普通群体,种苗最大临界温度均随水体温度的上升而升高(见图 2)。其中杂优群体种苗的最大临界温度依次为 (30.27 ± 0.45) , (32.57 ± 0.31) , $(33.07 \pm 0.25)^\circ\text{C}$,普通群体种苗的最大临界温度依次为 (28.80 ± 0.36) , (30.87 ± 0.40) , $(31.67 \pm 0.32)^\circ\text{C}$ 。可见在相同养殖水温下,前者的最大临界温度均显著大于后者 ($P < 0.05$)。

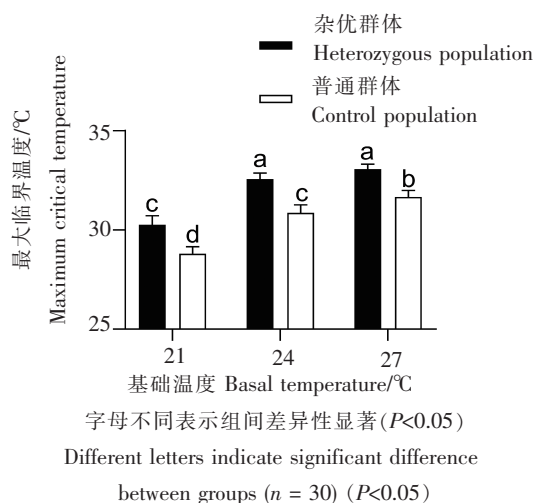


图 2 不同基础温度下的南方养殖鲍种苗最大临界温度
Fig.2 Maximum critical temperatures of the two cultured abalone seedling populations under different basal temperatures

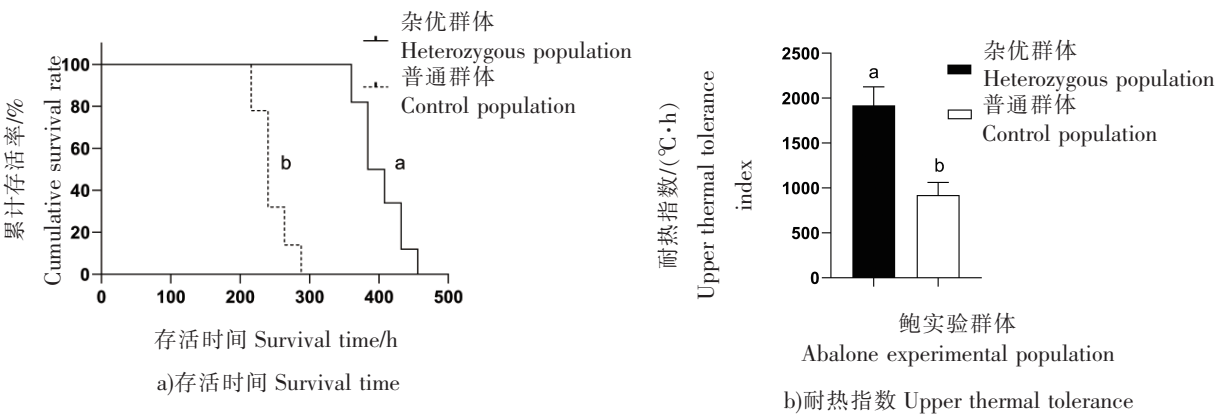
2.3 杂优群体种苗耐热指数

实验结果表明: 以每天升 1.0 ℃ 的升温速度将南方养殖鲍种苗蓄养环境温度由 24.0 ℃ 提升至 30.0 ℃ 后, 接着以每 2 d 升 1.0 ℃ 的升温速度继续提升水温, 当养殖水体温度上升至 31.5 ℃ (216 h) 时, 普通群体种苗开始出现个体死亡现象, 50% 个体死亡大约发生在升温后 240 h, 100% 个体死亡发生在升温后 288 h, 由此估算普通群体种苗平均个体死亡发生时间为 245.76 h, 耐热指数 (UTT) 为 $(922.56 \pm 138.18) \text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{h}$ 。

实验同等条件下, 杂优群体种苗开始出现个体死亡现象发生在升温后 360 h, 此时环境水温为 32.5 ℃, 半数个体死亡现象发生在升温后 384 h, 全部个体死亡发生在升温后 456 h, 估算平均个体死亡发生时间为 402.72 h, 耐热指数为 $(1918.75 \pm 208.11) \text{ }^{\circ}\text{C} \cdot \text{h}$ (见表 1、图 3)。经过 Log Rank 检验, 两个南方养殖鲍种苗群体的耐热指数和生存时间差异极显著 ($P < 0.01$)。

表 1 高温胁迫下南方养殖鲍种苗的生存时间
Tab.1 Survival time duration of abalone seedlings under high temperature stress

鲍实验动物类群 Abalone groups	估计平均值 Mean/h	估计中位数 Mid-value/h
杂优群体 Heterozygous population	402.72 ± 4.46	384.00 ± 7.07
普通群体 Control population	245.76 ± 3.26	240.00 ± 3.44



字母 a、b 表示两组间差异显著 ($P < 0.05$)
The letters a and b in the figure indicate that there are significant differences between the two groups of data ($P < 0.05$)

图 3 高温胁迫下南方养殖鲍种苗的存活时间与耐热指数
Fig.3 Survival time duration and heat tolerance index of the two cultured abalone populations under high temperature stress

2.4 高温胁迫下杂优群体种苗 SOD、CAT、ACP、LZM 活性

实验结果表明: 在水温 26.0 ~ 32.0 ℃ 范围内, 经历 2 h 高温胁迫并返回 24.0 ℃ 初始温度环境后的杂优群体种苗的肝胰腺 SOD、CAT、ACP、LZM 活性, 分别从 $(9.02 \pm 0.45) \text{ U/mg}$ 提升至 $(21.96 \pm 2.02) \text{ U/mg}$ 、从 $(7.22 \pm 0.77) \text{ U/mg}$ 提升至 $(11.07 \pm 1.40) \text{ U/mg}$ 、从 $(63.38 \pm 5.48) \text{ U/mg}$ 提升至 $(175.12 \pm 18.30) \text{ U/mg}$ 、从 $(42.45 \pm 4.87) \text{ U/mg}$ 提升至 $(112.71 \pm 7.47) \text{ U/mg}$, 酶活性呈现随胁迫温度升高而升高的变化趋势, 峰值皆出现在 32.0 ℃ 高温胁迫实验组。而普通群体种苗的肝胰腺 SOD、CAT、ACP、LZM 活性则分别从 $(9.02 \pm 0.49) \text{ U/mg}$ 提升至 $(14.61 \pm 1.39) \text{ U/mg}$ 、从 $(6.75 \pm 0.56) \text{ U/mg}$ 提升至 $(9.67 \pm 0.78) \text{ U/mg}$ 、从 $(55.88 \pm 9.48) \text{ U/mg}$ 提升至 $(124.05 \pm 10.20) \text{ U/mg}$,

从 (38.64 ± 7.13) U/mg 提升至 (81.74 ± 8.81) U/mg, 除了 LZM 活性之外, 其余峰值均出现在 $30.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 高温胁迫组, 详见图 4。

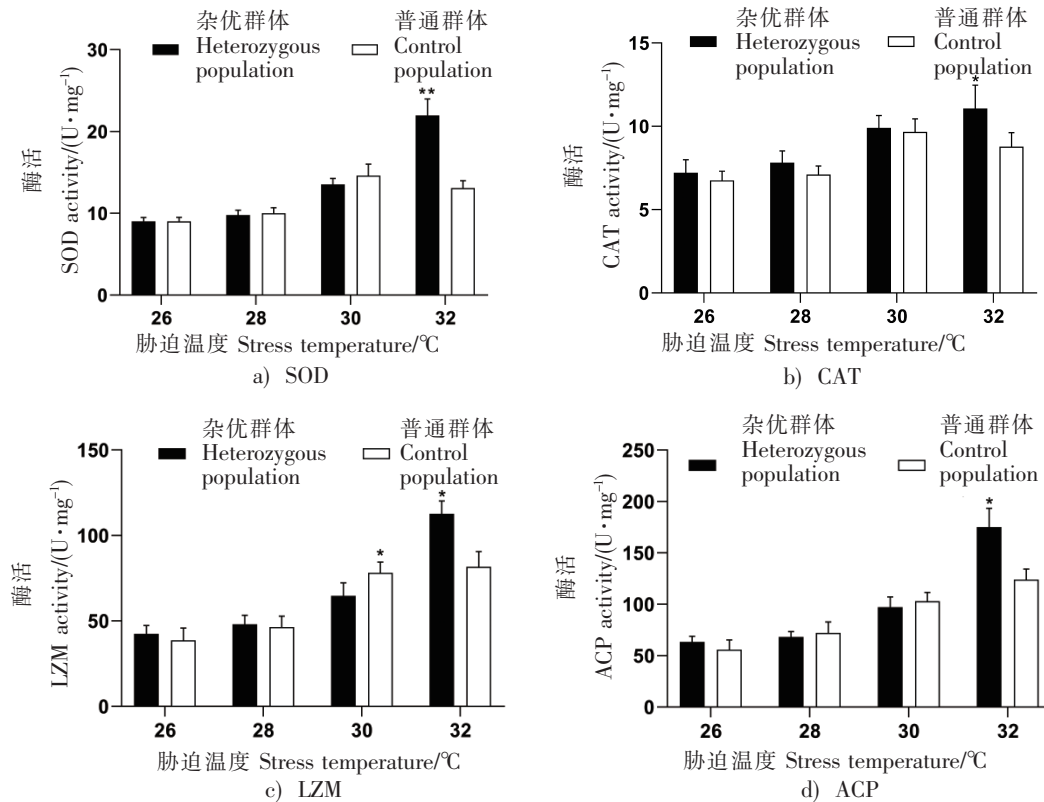


图 4 不同温度胁迫下南方养殖鲍种苗肝胰腺匀浆液 SOD、CAT、ACP 和 LZM 活性变化

Fig.4 Changes of SOD,CAT,ACP and LZM activities in hepatopancreatic homogenate of the cultured abalone seedlings under different temperature stress

3 讨论

3.1 杂优群体种苗的热耐受性

评价生物的热耐受性通常可采用动态法 (dynamic method) 和静态法 (static method) 进行量化分析^[11]。前者以最大临界温度为指标, 可为实验生物提供较长的适应时间, 更加真实地模拟实验生物在自然或养殖环境中遇到的温度胁迫^[12-13]; 后者以高起始致死温度为指标将实验动物从适应环境直接暴露于实验温度下, 具有操作简单、所需个体少、获取数据快捷的特点, 广泛应用于耐热性检测分析实验^[14]。

本文结合动态法和静态法分析南方养殖鲍优选群体杂合子一代 (杂优群体) 和皱纹盘鲍普通养殖群体 (普通群体) 种苗的热耐受性, 从实验结果看: 杂优群体种苗的高起始致死温度 (168 h UILT_{50}) 为 $(33.36 \pm 0.03)^{\circ}\text{C}$, 略高于普通群体种苗的 $(33.13 \pm 0.02)^{\circ}\text{C}$, 而在养殖水体温度分别为 21.0 , 24.0 , $27.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 情况下杂优群体种苗的最大临界温度依次达到 (30.27 ± 0.45) , (32.57 ± 0.31) , $(33.07 \pm 0.25)^{\circ}\text{C}$, 同等条件下皆显著高于相同月龄的普通群体种苗最大临界温度 (28.80 ± 0.36) , (30.87 ± 0.40) , $(31.67 \pm 0.32)^{\circ}\text{C}$, 显而易见, 杂优群体种苗的热耐受性明显优于相同月龄的普通群体种苗。水生动物热耐受性既体现在承受的热胁迫温度方面又体现在高温暴露时间方面, 还反映在生理反应与后效应上。UTT 值评价方法融合热胁迫温度和高温暴露时间两方面要素进行量化分析, 可在另

一个层面上揭示水生动物的热耐受性^[15]。本实验结果显示:杂优群体种苗热耐受指数 UTT 达到 $(1918.75 \pm 208.11)^\circ\text{C} \cdot \text{h}$, 远高于普通群体种苗的 $(922.56 \pm 138.18)^\circ\text{C} \cdot \text{h}$ ($P < 0.01$), 此外, 同等升温条件下杂优群体的半数个体死亡时间和平均个体死亡时间也都显著高于普通群体 (见表 1、图 3), 这些数据进一步支持了与相同月龄的普通群体种苗相比杂优群体种苗具有明显热耐受性优势的结论。

水生生物的热耐受性受其遗传禀赋、生长发育阶段、生理及健康状况等多方面因素影响。本研究的实验动物为 7 月龄的南方鲍不同养殖群体种苗, 它们的个体大小有显著差异, 显然, 根据既有实验数据无法研判同等个体大小的杂优群体与普通群体种苗热耐受性的差异。刘志刚等^[16]报道指出, 处于同一生长阶段的不同壳长墨西哥湾扇贝 (*Argopecten irradians concentricus* Say) 具有相同的耐热性, 同属软体动物的鲍种苗是否存在相同或相似现象, 有待进一步考证。

本研究发现, 无论是杂优群体还是普通群体, 其最大临界温度均随着基础水温的上升而升高, 这一变化趋势与南鸥报道的结果^[17]是一致的。谢数涛等^[18]发现, 对凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 预先进行热休克处理能够显著提升其热耐受性和拮抗对虾白斑综合症能力。张其中等^[19]发现, 对近江牡蛎 (*Crassostrea rivularis*) 预先经受亚致死温度热休克后, 可极显著地增强其对致死温度的耐受性。可见, 适度的亚致死温度胁迫驯化有助于提升水生生物的热耐受性, 甚至提升水生生物的生理机能和拮抗疾病能力。

选择育种是获取优良养殖品种的传统方法, 通过定向选择具有优良热耐受性的群体并经累代培育, 可获得具有遗传性状稳定的品系。王青林^[20]的研究结果表明, 在一定温度刺激下选择的刺参 (*Apostichopus japonicus*) 群体具有更强的热耐受性。赵欢等^[21]的报道指出, 通过高温定向选择的刺参群体子一代种苗的热耐受性高于野生群体, 且定向选育的耐温性状存在遗传的可能性。根据上述报道, 结合本文的实验结果, 推测: 通过种鲍驯化适应获得的热耐性是可遗传的。

3.2 高温胁迫下杂优群体种苗的热响应

当生物体处于胁迫状态, 其机体内将产生大量活性氧自由基 (ROS), 并激活抗氧化防御系统^[22]。机体的抗氧化系统随着超氧化物歧化酶 (SOD) 的激活而启动, SOD 酶能够通过歧化反应将超氧阴离子 (O_2^-) 转化为 H_2O_2 和 O_2 ; 而后过氧化氢酶 (CAT) 被激活, 将 H_2O_2 转化为 H_2O 和 O_2 , 因此, SOD 酶和 CAT 酶在清除体内过量的活性氧自由基维持机体稳态方面起着重要的作用^[23-25]。肝胰腺是贝类重要的抗氧化防御器官。动态监测肝胰腺中 SOD 和 CAT 酶的活性变化对判断生物体在环境胁迫中的氧化损伤情况, 评估其抗逆性能力具有十分重要的指导意义^[26-27]。

本实验结果表明: 在 $26.0 \sim 32.0^\circ\text{C}$ 胁迫温度范围内, 杂优群体种苗不仅肝胰腺 SOD 和 CAT 活性水平高于普通群体, 而且随着水温的上涨其活性水平亦逐渐升高, 并在 32.0°C 胁迫温度下达到峰值, 而同为 7 月龄的南方鲍普通养殖群体种苗 SOD 和 CAT 活性峰值出现在 30.0°C 胁迫温度下 (参见图 4、图 5)。这反映出南方养殖鲍种苗抗氧化能力随着胁迫温度升高而提升, 杂优群体 7 月龄种苗在 32.0°C 高温胁迫下仍然具有较好的抗氧化能力, 而普通群体种苗在 32.0°C 则出现抗氧化能力下滑现象。

酸性磷酸酶 (ACP) 在海洋软体动物的免疫防御中直接参与磷酸基团的代谢和转移, 是机体内重要的代谢调控酶; 同时酸性磷酸酶也是溶酶体的标志性酶类, 能够破坏或清除入侵机体的外来异物, 对机体起到免疫防御的作用^[28]。当机体处于胁迫状态时, 其体内的 ACP 活性将会不同程度地增加以调节机体来适应逆境环境, 降低环境胁迫给机体带来的损伤^[29]。除此之外, 溶菌酶 (LZM) 也是生物体溶酶体酶的重要组成部分, 是衡量机体非特异性免疫性能的重要指标之一^[30]。

Langston 等^[31]发现, 在一定温度范围内, 大西洋庸蝶 (*Hippoglossus hippoglossus* L.) 的溶菌酶活性随温度升高而增加。贾艳丽等^[32]研究表明, 随着温度的上升皱纹盘鲍能够调整 ACP、SOD、LZM 等抗氧化酶和溶菌防御酶的活性以拮抗高温胁迫带来的影响。在 $26.0 \sim 32.0^\circ\text{C}$ 胁迫温度范围内, 南方养殖鲍 7 月龄种苗受到高温胁迫之后肝胰腺 ACP 和 LZM 活性变化趋势 (参见图 4、图 5), 本文结

果与文献 [29–31] 描述相仿, 这说明杂优群体种苗较普通群体种苗的肝胰腺酶具有更好的溶菌防御活性和高温适应性。

吴丹华等^[33]的研究结果表明: 三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) 受到轻度的环境胁迫时, 其机体的 SOD 酶和 CAT 酶活性会升高以维持体内活性氧代谢平衡, 而当生物体受到重度或者长时间环境胁迫时, 其抗氧化酶活性反而会降低。王天神等^[34]也报道, 克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 在临界温度范围内其 LSM 活性随着温度的升高而增加, 但当温度超过其临界温度时, 机体的免疫因子活性就会受到抑制。从本实验结果看, 南方鲍普通群体 7 月龄种苗肝胰腺 SOD、CAT、ACP 活性峰值皆出现在 30.0 °C 胁迫温度下, 似有用 30.0 °C 以上温度胁迫其肝胰腺抗氧化酶和磷酸化水解酶活性表达“不堪重负”的趋向, 但是, 由于其他抗氧化和水解酶活性表达的热响应情况并未明了, 难以藉此下定论。

致谢: 漳州鹏丰水产科技有限公司为本课题研究提供所有实验动物、实验场所和工作便利, 在此表达真诚谢意。

[参 考 文 献]

- [1] CAIN T D. The combined effects of temperature and salinity on embryos and larvae of the clam *Rangia cuneata*[J]. Marine Biology, 1973, 21(1): 1-6.
- [2] 罗晓航. PEF 结合酶法提取鲍鱼脏器粗多糖及其抗氧化活性研究[D]. 福州: 福建农林大学, 2012.
- [3] 殷红玲, 杨静峰, 李冬梅, 等. 酶法提取鲍鱼多糖的研究[J]. 食品与发酵工业, 2006(12): 158-160.
- [4] 农业农村部渔业渔政管理局. 2021 中国渔业统计年鉴[M]. 北京: 中国农业出版社, 2021.
- [5] 游伟伟, 骆轩, 柯才焕. 鲍的遗传育种研究进展[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2021, 60(2): 417-424.
- [6] 游伟伟, 骆轩, 王德祥, 等. “东优 1 号”杂色鲍及其亲本群体的形态特征和养殖性能比较[J]. 水产学报, 2010, 34(12): 1837-1843.
- [7] 梁爽, 骆轩, 游伟伟, 等. 温度骤变对皱纹盘鲍与西氏鲍及其杂交群体的热休克蛋白表达影响[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2013, 52(5): 697-702.
- [8] 骆轩, 游伟伟, 柯才焕, 等. 西氏鲍与盘鲍杂交育苗的初步研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2006, 45(5): 602-605.
- [9] 韩奋杰, 张伟杰, 王中, 等. 中间球海胆与马粪海胆杂交后代幼胆期耐热性研究[J]. 大连海洋大学学报, 2019, 34(6): 811-816.
- [10] CNAANI A, GALL G, HULATA G. Cold tolerance of tilapia species and hybrids[J]. Aquaculture International, 2000, 8(4): 289-298.
- [11] BEITINGER T L, BENNETT W A, MCCAULEY R W. Temperature tolerances of North American freshwater fishes exposed to dynamic changes in temperature[J]. Environmental Biology of Fishes, 2000, 58(3): 237-275.
- [12] MORA C, OSPÍNA A. Tolerance to high temperatures and potential impact of sea warming on reef fishes of Gorgona Island (tropical eastern Pacific)[J]. Marine Biology, 2001, 139(4): 765-769.
- [13] MORA C, MAYA M F. Effect of the rate of temperature increase of the dynamic method on the heat tolerance of fishes[J]. Journal of Thermal Biology, 2006, 31(4): 337-341.
- [14] HUTCHISON W I L V. The critical thermal maximum: history and critique[J]. Revue Canadienne De Zoologie, 1997, 75(10): 1561-1574.
- [15] AIJUN M A, WANG X, HUANG Z, et al. Estimation of genetic parameters for upper thermal tolerance and growth-related traits in turbot *Scophthalmus maximus* using the Bayesian method based on Gibbs sampling[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2018, 37(6): 40-46.
- [16] 刘志刚, 王辉, 栗志民, 等. 墨西哥湾扇贝高起始致死温度的研究[J]. 中国水产科学, 2007, 14(5): 778-785.
- [17] 南鸥. 石岛湾常见游泳动物的热耐受性研究[D]. 青岛: 中国科学院大学(中国科学院海洋研究所), 2017.
- [18] 谢数涛, 吴任, 许忠能, 等. 亚致死温度热休克对凡纳滨对虾的保护作用[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2005, 44

- (6):87-89.
- [19] 张其中,邱马银,吴信忠,等. 热休克诱导近江牡蛎对高温的耐受性[J]. 生态科学,2005,24(1):35-37.
- [20] 王青林. 温度驯化对刺参(*Apostichopus japonicus*)生长及耐热性的影响及生理生态学机制[D]. 青岛:中国海洋大学,2012.
- [21] 赵欢,刘石林,杨红生,等. 刺参高温定向选育群体子一代耐温性状的分析[J]. 海洋科学,2014,38(9):1-6.
- [22] LIVINGSTONE D R, LIPS F, MARTINEZ P G, et al. Antioxidant enzymes in the digestive gland of the common mussel *Mytilus edulis* [J]. Marine Biology, 1992, 112(2):265-276.
- [23] DOWNS C A, FAUTH J E, WOODLEY C M. Assessing the health of grass shrimp (*Palaeomonetes pugio*) exposed to natural and anthropogenic stressors: a molecular biomarker system[J]. Marine Biotechnology, 2001, 3(4):380-397.
- [24] NAGALAKSHMI N, PRASAD M N V. Copper-induced oxidative stress in *Scenedesmus bijugatus*: protective role of free radical scavengers[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 1998, 61(5):623-628.
- [25] WESELAKE R J, CHESNEY S L, PETKAU A, et al. Purification of human copper, zinc superoxide dismutase by copper chelate affinity chromatography[J]. Analytical Biochemistry, 1986, 155(1):193-197.
- [26] DONAGHY L, LAMBERT C, CHOI K S, et al. Hemocytes of the carpet shell clam (*Ruditapes decussatus*) and the Manila clam (*Ruditapes philippinarum*): current knowledge and future prospects[J]. Aquaculture, 2009, 297(1/2/3/4):10-24.
- [27] WANG F, YANG H, FEI G, et al. Effects of acute temperature or salinity stress on the immune response in sea cucumber, *Apostichopus japonicus* [J]. Comparative Biochemistry & Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2008, 151(4):491-498.
- [28] YOKOTA Y, NAKANO E N. Comparative studies on particulate acid phosphatases in sea urchin eggs[J]. Comparative Biochemistry and Physiology B: Comparative Biochemistry, 1982, 71(4):563-567.
- [29] 许友卿,吴卫君,蒋伟明,等. 温度对贝类免疫系统的影响及其机理研究进展[J]. 水产科学,2012,31(3):176-180.
- [30] MÖCK A, PETERS G. Lysozyme activity in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum), stressed by handling, transport and water pollution[J]. Journal of Fish Biology, 1990, 37(6):873-885.
- [31] LANGSTON A L, HOARE R, STEFANSSON M, et al. The effect of temperature on non-specific defence parameters of three strains of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2002, 12(1):61-76.
- [32] 贾艳丽,王江勇,孙敬锋. 高温胁迫对皱纹盘鲍幼鲍免疫因子的影响[J]. 海洋科学进展,2015,33(3):367-373.
- [33] 吴丹华,郑萍萍,张玉玉,等. 温度胁迫对三疣梭子蟹血清中非特异性免疫因子的影响[J]. 大连海洋大学学报,2010,25(4):370-375.
- [34] 王天神,周鑫,赵朝阳,等. 不同温度条件下克氏原螯虾免疫酶活性变化[J]. 江苏农业科学,2012,40(12):239-241.

(责任编辑 朱雪莲 英文审校 黄力行)