

文章编号: 1000-0615(2019)03-0573-11

DOI: 10.11964/jfc.20171111061

温度对魁蚶能量代谢及抗氧化酶活性的影响

薛素燕^{1,2}, 王金叶³, 李加琦^{1,2}, 丁敬坤¹, 李阳¹,
徐涵¹, 毛玉泽^{1,2*}, 方建光¹

1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 农业农村部海洋渔业可持续发展重点实验室, 山东省渔业资源与生态环境重点实验室, 山东青岛 266071;
2. 青岛海洋科学与技术国家实验室, 海洋生态与环境科学功能实验室, 山东青岛 266071;
3. 青岛农业大学海洋科学与工程学院, 山东青岛 266109)

摘要: 采用实验生态学方法, 研究了魁蚶能量代谢及抗氧化酶活性对不同温度水平(20、23、26和29 °C)的响应。结果显示, 魁蚶的摄食率和排粪率都随着温度的升高而降低, 单因素方差分析表明, 温度显著影响魁蚶摄食率, 而对排粪率的影响不显著。魁蚶耗氧率和排氨率随温度的升高呈先增高后降低的趋势, 均显著受温度影响。通过建立能量收支方程, 发现温度影响魁蚶的能量分配, 20 °C魁蚶呼吸能占13.71%、排泄能占1.89%、排粪能占22.94%、生长能占61.47%, 但是超过20 °C, 摄食能显著减少, 生长余力甚至出现负值。方差分析表明, 温度对魁蚶的摄食能和生长余力均具有显著影响。魁蚶外套膜、鳃和肝胰腺的抗氧化酶活性分别在实验开始后的0、4、8、12、24、48和72 h取样检测, 在20~29 °C, 魁蚶体内的T-AOC呈先升高后降低的趋势, 且29 °C温度下的T-AOC均低于其他温度组。短期内的高温刺激能够促使SOD和CAT活性升高, 但超过24 h其组织中的SOD和CAT活性降低, 其中鳃和肝胰腺的SOD和CAT活性受温度影响显著, 而外套膜受温度影响不显著。GST活性在4~12 h内随着温度升高而显著升高, 而在24 h后, 尤其当温度升至29 °C时, GST活性显著下降。本研究推测, 高温对魁蚶的能量代谢及免疫能力造成严重的影响, 导致机体抗氧化能力下降, 这可能是夏季魁蚶死亡率较高的一个重要原因。研究表明, 魁蚶的适宜温度狭窄, 建议在魁蚶养殖生产中, 水温应低于23 °C, 超过26 °C会导致机体大量的能量消耗。

关键词: 魁蚶; 温度; 能量代谢; 抗氧化酶活性

中图分类号: S 968.3

文献标志码: A

温度是影响水生变温动物生理活动最重要的环境因子之一^[1-2]。贝类是一种体温调节能力极弱的变温动物, 其体温主要依赖于周围环境温度。一般而言, 温度升高能够促进贝类的生长发育, 但当温度超过一定限度时, 会影响其生长, 甚至引发死亡^[3]。例如, 盖扇贝(*Aequipecten opercularis*)在高温胁迫下, 机体代谢强度增加,

活性氧自由基也会增加, 机体氧化损伤加剧, 其摄食、代谢和免疫均受到严重影响, 在无病原感染引发炎症反应的情况下导致极高死亡率^[4-6]。

魁蚶(*Scapharca broughtonii*)为大型冷水性双壳贝类, 主要分布于日本、朝鲜半岛和中国渤海、黄海等近海(水深8~35 m)的软泥底。因其肉质鲜美、营养丰富, 深受国内外市场的欢迎,

收稿日期: 2017-11-20 修回日期: 2018-03-29

资助项目: 国家基金委-山东省联合基金项目(U1606404); 青岛海洋科学与技术国家实验室海洋生态与环境科学功能实验室创新团队项目(LMEES-CTSP-2018-4); 中国水产科学研究院黄海水产研究所基本科研业务费专项(20603022017002); 政府间国际科技创新合作重点专项(2016YFE0112600)

通信作者: 毛玉泽, E-mail: maoyz@ysfri.ac.cn

是我国重要的出口水产品之一。但由于过度捕捞和生境破坏等因素, 魁蚶自然资源减少, 难以满足市场需求^[7]。近年来, 魁蚶的人工增养殖和资源修复工作逐渐受到重视, 但夏季死亡率较高, 不仅阻碍产业的发展, 同时给经营者带来巨大的经济损失。有研究认为, 贝类在夏季死亡率增高可能与海水温度过高有关^[8-9], 魁蚶的最适生长温度为20℃^[10]。目前, 对魁蚶的研究主要集中在人工育苗与养殖技术^[11]、遗传学^[12]、繁殖生物学^[13]等方面, 夏季高温对其生理代谢的胁迫影响尚不清楚。本研究从能量代谢及抗氧化酶活性角度, 探讨了魁蚶对温度变化的响应机制, 丰富了双壳贝类能量学和生理学的研究

资料, 为魁蚶增养殖技术提供理论依据和实践指导。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

实验所用魁蚶(2龄贝, 表1)取自课题组在青岛崂山湾增养殖实验贝类, 清洁壳表污物和附着生物, 选择体长为(4.25±0.19) cm的个体若干, 置于整理箱中暂养14 d, 暂养水温(17.3±1.2)℃, 每天全量换水1次, 连续充气, 并投喂螺旋藻(*Spirulina princeps*)液2次。实验所用海水经砂滤沉淀后储存备用, 海水pH为8.14±0.13, 盐度33.15±0.26。

表 1 魁蚶生物学数据

Tab. 1 Biological characteristics of *S. broughtonii* (mean±SD, n=48)

壳长/mm shell length	壳高/mm shell height	湿体质量/g wet body weight	软组织干质量/g dry weight of soft tissue	壳干质量/g dry weight of shell	肥满度/% condition index
42.17±1.96	32.19±1.77	19.63±2.68	0.87±0.19	8.53±1.18	10.22±1.25

注: 肥满度=(软组织干质量/壳干质量)×100%

Notes: condition index=(dry weight of soft tissue/dry weight of shell)×100%

1.2 实验设计

据前期调查, 魁蚶养殖海域夏季表层水温为23~26℃, 局部区域高达29℃, 因此, 本实验使用方形水槽(长50 cm、宽30 cm、高20 cm)设置4个温度梯度为20(对照)、23、26和29℃, 每个温度处理设置4个平行, 每个平行30只魁蚶, 利用加热棒调节温度, 以2℃/h的速率提升至目标温度。

1.3 摄食率和排粪率的测定

摄食实验在方形缸(长20 cm、宽15 cm、高10 cm)中进行。每个方形缸中放5只魁蚶, 2 L海水, 水中溶解氧保持在5 mg/L以上, 待魁蚶适应10 min后, 投入初始浓度为5 mg/L的螺旋藻液, 并保证螺旋藻在水中悬浮均匀。摄食实验的水环境与各处理水槽的水环境相同。各处理组设置4个重复, 2个空白对照组(无实验对象), 实验时间为2 h。实验结束后将魁蚶取出, 用游标卡尺测量魁蚶的规格(壳长、壳高), 并称量其鲜重, 之后用解剖刀将肉与壳分开, 分别以铝箔纸包封, 60℃烘干48 h至恒重, 分析天平称重。测定实验前后水体中螺旋藻的质量, 收集实验后魁蚶的粪便, 计算魁蚶的摄食率[IR, mg/(g·h)]和排粪率[FER, mg/(g·h)]。

$$IR = V(C_0 - C_t) / (N \times t \times W)$$

式中, V 为实验海水体积(mL), C_0 、 C_t 分别为实验开始和结束时的饵料浓度(mg/L), N 为实验魁蚶数量, t 为实验时间(h), W 为干肉质量(g)。

$$FER = IR \times (1 - AE)$$

式中, IR 为摄食率, AE 为同化率。

$$AE = (F - E) / [(1 - E) \times F] \times 100\%$$

式中, $F=(POM/TPM)$ 为饵料中有机质的干重比例, $E=(POM/TPM)$ 为粪便中有机质的干重比例, POM 为颗粒有机物含量, TPM 为总颗粒物含量。

1.4 耗氧率和排氮率的测定

实验开始前停食24 h, 将3只生存状态良好、规格一致的魁蚶(表1)放入3 L呼吸瓶中, 实验持续2 h。每组实验呼吸瓶的水环境与各处理水槽中水环境相同, 以不加魁蚶的呼吸瓶作为对照, 实验设4个重复组, 2个对照组。放入魁蚶待其适应10 min后作为实验起始时间, 根据始末溶解氧(DO)和氨氮(NH₄-N)浓度的变化计算耗氧率(OR)和排氮率(NR)。在实验结束后, 用游标卡尺测量魁蚶的规格(壳长、壳高), 并称其鲜重, 之后用解剖刀将肉与壳分开, 在60℃烘箱中烘干, 48 h后称重干壳质量和干肉质量。按以下方

法计算耗氧率和排氨率:

$$OR[\text{mg}/(\text{g}\cdot\text{h})] = (D_0 - D_t) \times V / (16 \times W \times t)$$

式中, OR 为单位体质量耗氧率, DO_0 和 DO_t 分别为实验空白对照组和实验组水中溶解氧的含量(mg/L), V 为呼吸瓶容积(L), W 为干肉质量(g), t 为实验持续时间(h), 16为氧原子的摩尔质量(g/mol)。

$$NR[\text{mg}/(\text{g}\cdot\text{h})] = [(N_t - N_0) \times V] / (1000 \times W \times t)$$

式中, NR 为单位体质量排氨率, N_0 和 N_t 分别为实验空白对照组和实验组水中氨氮的浓度(mg/L), V 为呼吸瓶容积(L), W 为干肉质量(g), t 为实验持续时间(h)。

$$Q_{10} = (M_2/M_1)^{10/(t_2-t_1)}$$

式中, Q_{10} 为温度对贝类代谢的影响强度, M_1 和 M_2 分别为实验温度(t_1)和实验温度(t_2)时魁蚶的代谢率 OR 或 NR 。

$$O : N = (OR/16) / (NR/14)$$

式中, $O : N$ 为魁蚶耗氧率和排氨率之间的比值。

采用smarTROLL-MP测定实验海水中的溶解氧, 采用次溴酸钠氧化法测定水中的氨态氮。

1.5 能量测定

贝类能量收支方程:

$$C[\text{J}/(\text{g}\cdot\text{h})] = G + R + U + F^{[14]}$$

式中, C 为摄食能, G 为生长能, R 为呼吸能, U 为排泄能, F 为排粪能。通过该公式可获得生长能: $G[\text{J}/(\text{g}\cdot\text{h})]=C-F-U-R$ 。

生长余力(SFG)为动物摄取的食物能量与其消耗及损失的能量之差, 用来预测供生长和再生产的剩余能量。

$$SFG[\text{J}/(\text{g}\cdot\text{h})] = A - (R + U)$$

式中, $A[\text{J}/(\text{g}\cdot\text{h})]$ 为吸收能($A=C-F$)。

本研究中进行能量预算时使用如下能量转换因子: 1 mg POM=20.78 J; 1 mg O_2 =14.24 J; 1 mg NH_4-N =24.87 J。

1.6 酶活性测定

在实验开始后的0、6、12、24、48和72 h从各处理组随机取魁蚶3只, 迅速解剖外套膜、鳃和肝胰腺3个组织, 经液氮速冻后 -80°C 保存, 用于酶活性测定。超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽-硫-转移酶(GST)和总抗氧化能力(T-AOC)等免疫酶活性的测定按照试剂

盒(南京建成生物工程研究所)说明书步骤操作, 采用BCA法测定蛋白浓度。

1.7 数据分析

使用Excel 2013和SPSS 18.0软件进行数据分析和作图, 采用单因素方差(One-Way ANOVA)进行数据分析, 不同处理组间采用Turkey方法进行多重比较, $P<0.05$ 作为不同处理间差异显著标准。

2 结果

2.1 魁蚶的摄食率和排粪率

温度对魁蚶摄食率的影响存在显著影响($P<0.05$)。在水温 $20\sim 29^\circ\text{C}$, 魁蚶摄食率随温度的升高而减少(图1), 在温度 20°C 时达到最大值 $8.27\text{ mg}/(\text{g}\cdot\text{h})$, 且与其他温度组均差异显著($P<0.05$), 29°C 时摄食率最小, 为 $2.32\text{ mg}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 。

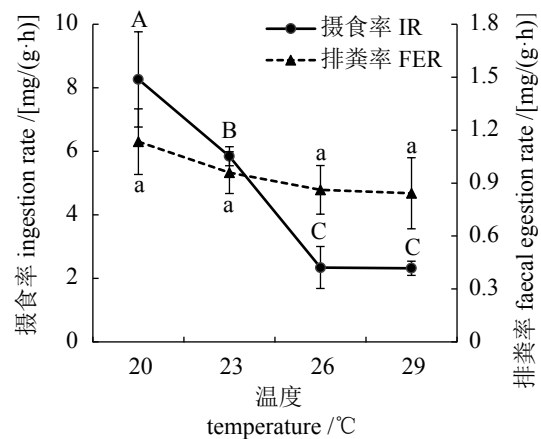


图1 不同温度对魁蚶摄食率和排粪率的影响

不同字母表示组间差异显著($P<0.05$), 下同

Fig. 1 Effects of temperature on the ingestion rate and faecal egestion rate of *S. broughtonii*

Different letters indicate significant difference among treatments ($P<0.05$), the same below

温度对魁蚶排粪率的影响差异不显著($P>0.05$)。在水温 $20\sim 29^\circ\text{C}$, 魁蚶排粪率随温度的升高而减少(图1), 在温度 20°C 时达到最大值 $1.14\text{ mg}/(\text{g}\cdot\text{h})$, 29°C 时排粪率最小, 为 $0.84\text{ mg}/(\text{g}\cdot\text{h})$ 。

2.2 不同温度下魁蚶的耗氧率和排氨率

温度对魁蚶耗氧率存在显著性影响($P<0.05$), 在水温 $20\sim 29^\circ\text{C}$, 魁蚶耗氧率随温度的升高呈先增高后降低的变化趋势(图2)。在温度 26°C 时耗

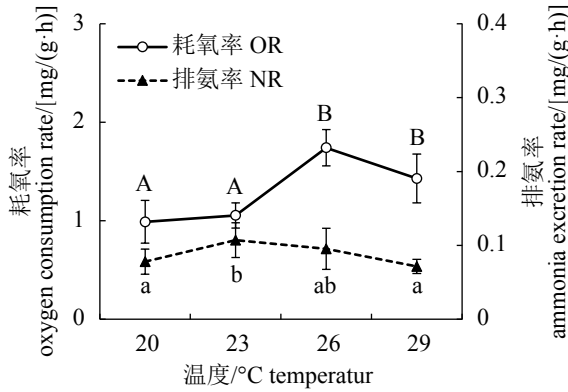


图2 不同温度对魁蚶耗氧率和排氨率的影响
Fig. 2 Effects of temperature on the oxygen consumption rate and the ammonia excretion rate of *S. broughtonii*

氧率达到最大值1.74 mg/(g·h)，与20 °C和23 °C温度组均差异显著($P < 0.05$)。当温度继续升高至29 °C时，耗氧率下降为1.43 mg/(g·h)，与26 °C温度组差异不显著($P > 0.05$)。

温度对魁蚶排氨率存在显著性影响($P < 0.05$)，在水温20~29 °C，魁蚶排氨率随温度的升高也呈先增高后降低的变化趋势(图2)。在温度23 °C时排氨率达到最大值0.11 mg/(g·h)，当温度升高至29 °C时，排氨率显著下降为0.07 mg/(g·h)。

2.3 不同温度下魁蚶的氧氮比(O : N)变化

魁蚶呼吸排泄的O : N比值在水温20~29 °C随温度的升高而增大，其比值为9.38~18.38 (图3)。方差分析表明，20和23 °C处理组O : N差异不显著，26和29 °C处理组O : N差异不显著，而20 °C、23 °C与26 °C、29 °C处理组间的O : N具有显著差异($P < 0.05$)。

2.4 不同温度对魁蚶代谢率的影响强度

魁蚶耗氧率 Q_{10} 在23~26 °C最大，为5.31；在

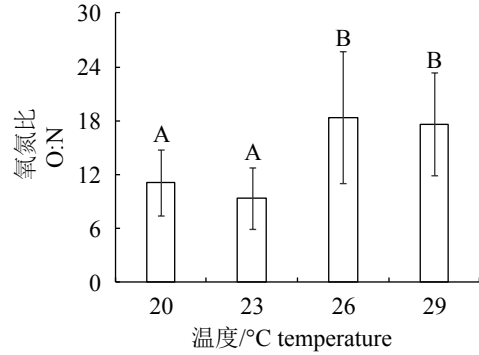


图3 不同温度对魁蚶O : N的影响

Fig. 3 Effects of temperature on O : N of *S. broughtonii*

26~29 °C最小，为0.52 (表2)。魁蚶排氨率 Q_{10} 在20~23 °C最大，为2.88，在26~29 °C最小，为0.38。

2.5 不同温度对魁蚶能量收支的影响

随着温度的增加，魁蚶的摄食能、排粪能和生长余力逐渐减少，而呼吸能和排泄能呈先增加后减少的变化趋势(表3)。方差分析表明，温度对魁蚶的摄食能、呼吸能和生长余力的影响均具有显著差异($P < 0.05$)。

不同温度下魁蚶的能量收支方程见表4。

2.6 不同温度对魁蚶抗氧化酶活性的影响

在20~29 °C，T-AOC随温度的升高呈先升后

表2 水温对魁蚶代谢率的影响

Tab. 2 The effect of temperature on metabolism rate of *S. broughtonii*

温度/°C temperature	耗氧率 Q_{10} Q_{10} of oxygen consumption rate	排氨率 Q_{10} Q_{10} of ammonia excretion rate
20-23	1.24	2.88
23-26	5.31	0.68
26-29	0.52	0.38

表3 魁蚶在不同温度下的能量收支

Tab. 3 Energy budget of *S. broughtonii* at different temperatures

温度/°C temperature	摄食能(C) consumption energy	呼吸能(R) respiration energy	排泄能(U) excretion energy	排粪能(F) fecal energy	生长余力(SFG) scope for growth
20	102.83±26.42 ^a	14.10±3.08 ^a	1.94±0.42 ^a	23.59±3.86 ^a	63.20±10.82 ^a
23	31.55±10.08 ^b	15.02±1.82 ^a	2.66±0.58 ^a	19.95±2.46 ^a	-6.08±7.13 ^b
26	12.57±4.63 ^{bc}	24.80±2.62 ^b	2.37±0.70 ^a	17.90±2.87 ^a	-32.50±4.89 ^c
29	4.11±1.38 ^{cd}	20.36±3.53 ^{ab}	1.78±0.24 ^a	17.51±4.18 ^a	-35.54±2.46 ^c

注：同一行中不同字母表示组间差异显著($P < 0.05$)

Notes: different letters in the same row indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$)

表4 不同温度下魁蚶的能量收支方程

Tab. 4 Energy budget equation of *S. broughtonii* at different temperatures

温度/°C temperature	能量收支方程 energy budget equation
20	100C=13.71R+1.89U+22.94F+61.47G
23	100C=47.61R+8.44U+63.21F-19.26G
26	100C=197.33R+18.87U+142.44F-258.64G
29	100C=495.72R+43.31U+426.29F-865.33G

降的趋势。外套膜T-AOC在12~24 h活性相对较高, 48 h后, 除26 °C处理组外, 其他温度组T-AOC下降明显, 不同温度对外套膜T-AOC的影响在8和48 h差异显著($P<0.05$); 随着时间的延长, 不同温度下鳃的T-AOC在4 h略微升高后下降, 24 h后又呈逐渐上升的趋势, 其中23 °C处理组在48~72 h上升程度明显高于其他各组, 不同温度对鳃中T-AOC的影响在12和72 h存在显著性差异($P<0.05$); 不同温度对肝胰腺T-AOC的影响在12 h差异显著($P<0.05$), 4~12 h期间内T-AOC活性逐渐降低, 在24 h各温度组T-AOC均降到了最低值, 之后逐渐上升, 其中26 °C处理组上升最为明显, 但与其他各处理组并无明显差异($P>0.05$)。虽然T-AOC在不同组织中活性变化趋势及程度存在一定差别, 但29 °C温度下的T-AOC均低于其他温度组(图4-a)。

在20~29 °C, SOD和CAT活性随温度的升高呈先升后降的趋势。不同温度对鳃和肝胰腺的SOD和CAT活性在4、8、12、72 h时差异显著($P<0.05$), 而对外套膜的SOD和CAT活性影响不显著($P>0.05$)。各温度条件下外套膜SOD活性在12 h达到最大值后迅速下降, 但72 h的SOD活性仍高于对照组; 鳃中SOD活性在实验8 h达到最大值, 72 h的SOD活性低于对照组; 肝胰腺中, 4~72 h期间内SOD活性维持相对较高的水平, 其中, 23 °C条件下的SOD值在12 h时明显高于其他温度组。外套膜CAT活性在20~26 °C温度下12 h达到最大值, 而29 °C温度胁迫8 h即达到最大值, 且明显低于20~26 °C的CAT最大值; 肝胰腺CAT活性在29 °C处理组12~48 h维持较高的水平; 鳃CAT活性呈现一定规律的波浪变化, 且在29 °C处理组8~72 h期间的CAT活性明显低于其他温度组(图4-b, c)。

在20~29 °C, GST活性在4~72 h均差异显著

($P<0.05$)。在4~12 h, GST活性随着温度升高而显著升高, 其中外套膜和鳃的GST活性在29 °C温度下12 h达到最高, 肝胰腺的GST活性在23 °C温度下12 h达到最高。而在24 h, GST活性在3个组织中均呈现显著下降, 48~72 h, 外套膜中各温度组GST活性逐渐增加, 鳃和肝胰腺中GST显著增加后又降低。24~72 h期间内3个组织的GST活性均以29 °C最低(图4-d)。

3 讨论

3.1 温度对魁蚶摄食率的影响

有研究表明, 温度与贝类鳃上侧纤毛的摆动在一定温度范围内呈正相关, 温度升高使纤毛的摆动频率加快, 从而使贝类滤水率增加, 因此认为, 在一定温度范围内双壳贝类的摄食率随着温度的增加而升高^[15], 但当温度过高(超过适宜温度)时, 摄食率显著降低^[16]。本研究表明, 魁蚶的摄食率在20~29 °C呈逐渐降低趋势。在最适温度20 °C下, 魁蚶各组织器官的活动性能最高, 体内新陈代谢等化学反应速度最快, 摄食率最高, 当温度超过20 °C时, 魁蚶的摄食率下降, 29 °C下尤其明显, 仅为20 °C摄食率的4%。有学者认为, 温度过高导致贝类基础代谢增加, 降低了摄食器官的活性, 从而导致贝类摄食率下降^[17-18]。

3.2 温度对魁蚶呼吸代谢的影响

温度是影响贝类代谢率的重要环境因素, 对贝类耗氧率和排氨率有显著影响^[19-20]。在适宜温度范围内, 贝类代谢率随着温度的升高而增加, 超出其适温范围则出现代谢异常^[21-22]。本研究得到了类似的结果, 魁蚶的耗氧率和排氨率在20~29 °C都随着温度升高呈先增高后降低的变化趋势, 其中, 耗氧率在26 °C达到最大值、排氨率在23 °C达到最大值后开始降低, 这有可能是魁蚶在代谢过程中热敏感调节的一种保护机制, 为防止在高温环境下的过度代谢, 这也与郝振林等^[23]对虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*)的研究, 何苗等^[24]对缢蛏(*Sinonovacula constricta*)的研究结果相似。

据研究表明, 双壳贝类的 Q_{10} 值一般为1.0~2.5, 平均为2.0^[25-26], 从本研究的结果分析, 在温度20~29 °C魁蚶耗氧率的 Q_{10} 值为0.63~4.76, 平均值为2.24。与聂鸿涛等^[27]的研究结果比较, 菲律

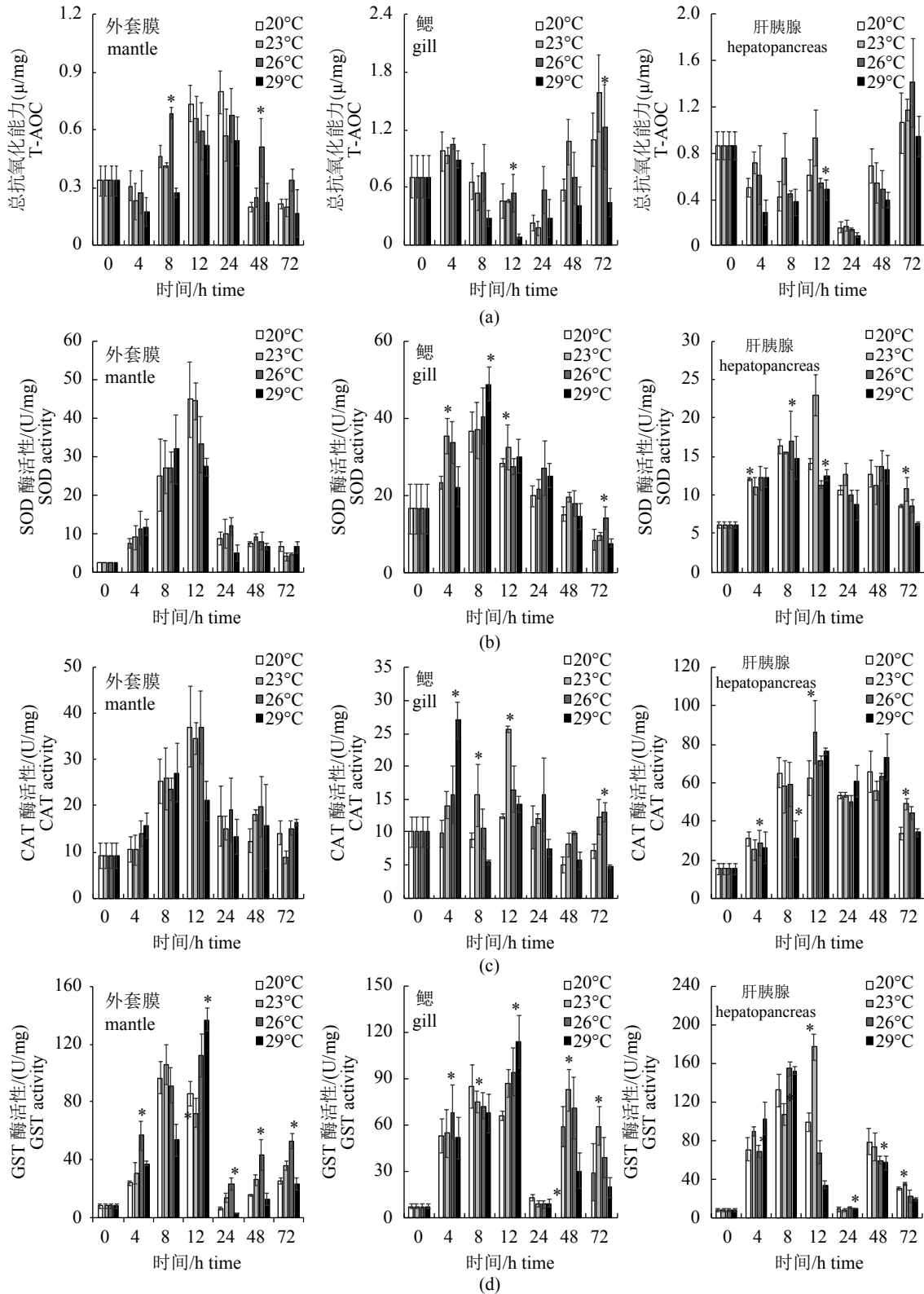


图4 不同温度对魁蚶外套膜、鳃、肝胰腺T-AOC (a)、SOD (b)、CAT (c)和GST (d)的影响

* 组间差异显著($P < 0.05$)

Fig. 4 Effects of different temperatures on T-AOC (a), SOD (b), CAT (c) and GST (d) in mantle, gill and hepatopancreas of *S. broughtonii*

* indicate significant difference among treatments ($P < 0.05$)

宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)的 Q_{10} 值为1.93, 魁蚶的 Q_{10} 值相对较大, 这说明魁蚶对温度的敏感性相对较强, 适宜温度范围狭窄。

O : N可以反映动物在特定状态下体内的蛋白质、糖类和脂肪代谢的比例关系^[28], 是动物利用能源物质配比的一个重要指标。如果机体消耗的能量完全由蛋白质提供, O : N值约为7^[29]; 如果机体完全由蛋白质和脂肪氧化供能, O : N值约为24^[30]; 如果机体耗能主要由脂肪或碳水化合物提供, O : N值将大于24, 甚至无穷大^[31]。本实验在不同温度处理下, 魁蚶的O : N值在9.46~18.67, 说明在本实验温度范围内由蛋白质和脂肪供能。温度超过23 °C, O : N值略有增加, 推测魁蚶可能更快地增加耗氧率来应对高温环境的胁迫。

3.3 温度对魁蚶能量收支的影响

根据海洋贝类能量收支对温度的反应, 一般可分为3种模式^[32]: ①随着温度的升高, 代谢率的增加快于滤食率, 打破了原有的能量收支平衡, 但是贝类的生理状态能够完全适应温度的变化, 升级到一个新的能量收支平衡(如贻贝 *Mytilus edulis*); ②代谢率和滤食率都随着温度升高而增加, 代谢率能适应这种变化而滤食率不能被调节, 导致由于温度的变化而产生短期能量收支平衡紊乱, 但这种紊乱因最终生长余力的增加而被抵消(如履螺 *Crepidula* spp.); ③代谢率和滤食率平行增加或减少, 贝类本身不能对温度变化作出相应调节和任何弥补措施, 导致贝类在温度变化过程中出现能量缺乏, 最终导致死亡(如牡蛎 *Crassostrea* spp.)。从本实验魁蚶不同温度下的能量分配结果可以看出, 魁蚶的各能量随温度升高而减少, 其能量收支模式应属于第3种, 而且温度对魁蚶的能量收支影响十分显著。

贝类的能量分配中, 各部分的能量占比范围不同。呼吸能占摄食能的13%~34%, 排泄能占比一般小于10%, 排粪能占比将近25%~63%左右, 生长能则会达到9%~32%^[18]。而本研究表明, 20 °C下魁蚶的呼吸能占13.71%, 排泄能占1.89%, 排粪能占22.94%, 生长能占61.47%, 能量主要用于生长, 但温度超过20 °C, 魁蚶摄食能显著减少, 生长余力甚至出现负值。这与菲律宾宾蛤仔相似, 当温度升高至适宜温度之外时,

蛤仔会作出生理调整降低其滤食率, 而代谢率却随温度升高急剧增加, 导致能量减少, 继而造成长余力持续减少^[33]。

3.4 温度对魁蚶抗氧化酶活性的影响

T-AOC水平的高低能够反应机体抗氧化酶系统和非酶促系统对外界刺激的总的应激能力^[34], 是衡量机体抗氧化系统功能状态的综合性指标^[35]。本实验中, 随着胁迫时间的延长, 外套膜、鳃和肝胰腺3个组织29 °C处理组的T-AOC均显著低于其他温度组, 说明29 °C时细胞的抗氧化酶系统相关酶已受到氧自由基损伤。然而, 实验进行24 h后, 与对照相比T-AOC水平依然较高, 推测, 魁蚶体内除抗氧化酶系统外还可能还存在抗氧化分子介导的抗氧化保护机制。

SOD和CAT是生物体内重要的抗氧化酶, 具有清除和平衡细胞内活性氧自由基的作用^[36-37]。SOD将代谢或外界刺激产生的有毒物质氧自由基分解成过氧化氢, 再由CAT将过氧化氢还原成氧分子和水, 从而维持细胞和机体的正常生理活动^[38]。本研究中, 短期内的高温刺激能够促使SOD和CAT活性升高, 但超过24 h其组织中的SOD和CAT活性显著降低。Downs等^[39]认为, 高温胁迫会使魁蚶体内的活性氧自由基水平升高, 随着胁迫时间的持续, 体内的氧自由基不断积累, 抗氧化酶活性不足以抑制细胞内的氧化损伤, 而且因机体代谢紊乱及电子供体NADPH供给能力的降低, 导致抗氧化分子再生障碍, 体内抗氧化反应降低, 氧自由基的积累又影响了抗氧化酶的结构与活性, 最终导致机体抗氧化能力下降。

GST及其同功酶具有清除代谢脂质过氧化物的作用^[40], 高温胁迫易促使机体的脂质氧化, GST活性升高, 说明开始清除活性氧分子, 可以有效应对脂质氧化物对机体的胁迫^[41]。本实验中, 在8~12 h温度20~29 °CGST活性升高, 说明魁蚶在高温胁迫时产生了活性氧, 导致较高的抗氧化应激, 而24 h后, 尤其当温度升至29 °C时, GST活性显著下降, 说明高温使得机体的耐受性受到了影响, 机体细胞受损, 抵御氧化胁迫的能力下降, 无法继续发挥消除氧化脂质的作用。

综上所述, 魁蚶的摄食率、呼吸代谢及酶活性受温度影响较大, 对温度的敏感性较强, 适

宜温度范围狭窄。研究表明,在实际生产中,魁蚶的养殖温度应低于23℃,超过26℃会导致耗氧明显增加,摄食率下降,负增重现象明显。

参考文献:

- [1] Somero G N. Thermal physiology and vertical zonation of intertidal animals: optima, limits, and costs of living[J]. *Integrative and Comparative Biology*, 2002, 42(4): 780-789.
- [2] 王青林,董云伟,董双林,等. 高温刺激对刺参浮游期幼体存活率及Hsp70表达量的影响[J]. 中国海洋大学学报, 2011, 41(3): 47-51.
Wang Q L, Dong Y W, Dong S L, *et al.* Effects of heat-shock in pelagic stages on survival and Hsp70 expression of juvenile sea cucumber, *Apostichopus japonicus* Selenka[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2011, 41(3): 47-51(in Chinese).
- [3] 贲月,郝振林,丁君,等. 高温对虾夷扇贝体腔液免疫酶活力的影响[J]. 水产学报, 2013, 37(6): 858-863.
Ben Y, Hao Z L, Ding J, *et al.* Effects of high temperature on the immuno-enzymetic activity in coelomic fluid of *Mizuhopecten yessoensis*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2013, 37(6): 858-863(in Chinese).
- [4] Monari M, Matozzo V, Foschi J, *et al.* Effects of high temperatures on functional responses of haemocytes in the clam *Chamelea gallina*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2007, 22(1-2): 98-114.
- [5] Malham S K, Cotter E, O'Keeffe S, *et al.* Summer mortality of the Pacific oyster, *Crassostrea gigas*, in the Irish sea: the influence of temperature and nutrients on health and survival[J]. *Aquaculture*, 2009, 287(1-2): 128-138.
- [6] Strahl J, Abele D. Cell turnover in tissues of the long-lived ocean quahog *Arctica islandica* and the short-lived scallop *Aequipecten opercularis*[J]. *Marine Biology*, 2010, 157(6): 1283-1292.
- [7] 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(in Chinese).
- [8] 宋林生,苏建国,崔朝霞,等. 中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)幼蟹上岸病的免疫学研究[J]. 海洋与湖泊, 2002, 33(6): 657-662.
Song L S, Su J G, Cui Z X, *et al.* Immunological studies on the disembarkation syndrome of juvenile Chinese mitten-handed crab *Eriocheir sinensis*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2002, 33(6): 657-662(in Chinese).
- [9] Fearman J, Moltschaniwskij N A. Warmer temperatures reduce rates of gametogenesis in temperate mussels, *Mytilus galloprovincialis*[J]. *Aquaculture*, 2010, 305(1-4): 20-25.
- [10] 周珊珊,张秀梅,蔡星媛,等. 温度对魁蚶稚贝潜沙能力及对多棘海盘车捕食魁蚶稚贝能力的影响[J]. 水产学报, 2014, 38(9): 1439-1446.
Zhou S S, Zhang X M, Cai X Y, *et al.* Effects of temperature on burrowing ability of juvenile ark shell (*Anadara broughtonii*) and predation rate on juvenile ark shell by sea star (*Asterias amurensis*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2014, 38(9): 1439-1446(in Chinese).
- [11] 邹琰,郑永允,邱兆星,等. 魁蚶亲贝促熟与健康苗种培育技术[J]. 水产科技情报, 2010, 37(2): 95-98.
Zou Y, Zheng Y Y, Qiu Z X, *et al.* Technology on maturation inducement and healthy seed rearing of *Scapharca broughtonii*[J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2010, 37(2): 95-98(in Chinese).
- [12] Li J J, Li Q. Isolation and characterization of twelve novel microsatellite loci in the ark shell *Scapharca broughtonii*[J]. *Conservation Genetics*, 2007, 9(4): 1055-1057.
- [13] 阮飞腾,高森,李莉,等. 山东沿海魁蚶繁殖周期与生化成分的周年变化[J]. 水产学报, 2014, 38(1): 47-55.
Ruan F T, Gao S, Li L, *et al.* Gonad development and biochemical composition in the ark shell *Scapharca broughtonii* from coast of Shandong Peninsula[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2014, 38(1): 47-55(in Chinese).
- [14] Carfoot T H. *Animal Energetics*[M]. New York: Academic Press, 1987: 407-515.
- [15] Jørgensen C B, Larsen P S, Riisgård H U. Effects of temperature on the mussel pump[J]. *Marine Ecology Progress Series*, 1990, 64: 89-97.
- [16] Winter J E. A review on the knowledge of suspension-feeding in lamellibranchiate bivalves, with special reference to artificial aquaculture systems[J]. *Aquac-*

- culture, 1978, 13(1): 1-33.
- [17] Gruffydd L D, Beaumont A R. A method for rearing *Pecten maximus* larvae in the laboratory[J]. *Marine Biology*, 1972, 15(4): 350-355.
- [18] 潘鲁青, 范德朋, 马甦, 等. 环境因子对缢蛏滤水率的影响[J]. 水产学报, 2002, 26(3): 226-230.
Pan L Q, Fan D P, Ma S, *et al.* Influence of environmental factors on the filtration rate of *Sinonovacula constricta*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2002, 26(3): 226-230(in Chinese).
- [19] 孟学平, 董志国, 程汉良, 等. 西施舌的耗氧率与排氨率研究[J]. 应用生态学报, 2005, 16(12): 2435-2438.
Meng X P, Dong Z G, Cheng H L, *et al.* Oxygen consumption and ammonia-N excretion rates of *Coelomactra antiquata*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2005, 16(12): 2435-2438(in Chinese).
- [20] 徐东, 张继红, 王文琪, 等. 温度变化对虾夷扇贝耗氧率和排氨率的影响[J]. 中国水产科学, 2010, 17(5): 1101-1106.
Xu D, Zhang J H, Wang W Q, *et al.* Effects of temperature elevation on oxygen consumption rate and ammonia excretion rate of *Patinopecten yessoensis*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2010, 17(5): 1101-1106(in Chinese).
- [21] 杨红生, 张涛, 王萍, 等. 温度对墨西哥湾扇贝耗氧率及排泄率的影响[J]. 海洋学报, 1998, 20(4): 91-96.
Yang H S, Zhang T, Wang P, *et al.* Effects of temperature on oxygen consumption and ammonia-N excretion of the Southern Bay scallop *Argopecten irradians concentricus*[J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 1998, 20(4): 91-96(in Chinese).
- [22] 柴雪良, 方军, 林志华, 等. 温度对美国硬壳蛤滤食率、耗氧率和排氨率的影响[J]. 海洋科学, 2005, 29(8): 33-36.
Chai X L, Fang J, Lin Z H, *et al.* Effects of temperature on filtration, oxygen consumption and ammonia excretion of *Mercenaria mercenaria*[J]. *Marine Sciences*, 2005, 29(8): 33-36(in Chinese).
- [23] 郝振林, 唐雪娇, 丁君, 等. 不同高温水平对虾夷扇贝存活率、耗氧率和体腔液免疫酶活力的影响[J]. 生态学杂志, 2014, 33(6): 1580-1586.
Hao Z L, Tang X J, Ding J, *et al.* Survival rate, oxygen consumption rate and immune enzymatic activity of *Mizuhopecten yessoensis* at high temperature[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2014, 33(6): 1580-1586(in Chinese).
- [24] 何苗, 来琦芳, 么宗利, 等. pH、温度对缢蛏碳收支的影响[J]. 生态学杂志, 2017, 36(4): 1014-1019.
He M, Lai Q F, Yao Z L, *et al.* Effects of pH and temperature on carbon budget of *Sinonovacula constricta*[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2017, 36(4): 1014-1019(in Chinese).
- [25] Clarke B C, Griffiths C L. Ecological energetics of mussels *Choromytilus meridionalis* under simulated intertidal rock pool conditions[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1990, 137(1): 63-77.
- [26] Wilbur A E, Hilbish T J. Physiological energetics of the ribbed mussel *Geukensia demissa* (Dillwyn) in response to increased temperature[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1989, 131(2): 161-170.
- [27] 聂鸿涛, 霍忠明, 侯晓琳, 等. 温度和盐度突变对菲律宾蛤仔斑马蛤耗氧率和排氨率的影响[J]. 水生生物学报, 2017, 41(1): 121-126.
Nie H T, Huo Z M, Hou X L, *et al.* Comparison study on the effect of temperature and salinity on oxygen consumption and ammonia excretion in zebra strain and wild *Ruditapes philippinarum*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2017, 41(1): 121-126(in Chinese).
- [28] Ruyet J P L, Mahé K, Le Bayon N, *et al.* Effects of temperature on growth and metabolism in a Mediterranean population of European sea bass, *Dicentrarchus labrax*[J]. *Aquaculture*, 2004, 237(1-4): 269-280.
- [29] Mayzaud P. Respiration and nitrogen excretion of zooplankton. IV. The influence of starvation on the metabolism and the biochemical composition of some species[J]. *Marine Biology*, 1976, 37(1): 47-58.
- [30] Ikeda T. Nutrition ecology of marine zooplankton[J]. *Memoirs of the Faculty of Fisheries Hokkaido University*, 1974, 22(1): 1-97.
- [31] Conover R J, Corner E D S. Respiration and nitrogen excretion by some marine zooplankton in relation to their life cycles[J]. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 1968, 48(1): 49-75.
- [32] Widdows J, Bayne B L. Temperature acclimation of *Mytilus edulis* with reference to its energy budget[J]. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 2017, 51(4): 827-843.

- [33] 董波. 菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)生理能量学的研究[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2000: 51-52.
Dong B. Studies on the physiological energetics of manila clam, *Ruditapes philippinarum*[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2000: 51-52(in Chinese).
- [34] 胡俊茹, 王安利, 曹俊明. 维生素E和硒互作对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)抗氧化系统的调节作用[J]. 海洋与湖沼, 2010, 41(1): 68-74.
Hu J R, Wang A L, Cao J M. Effects of dietary vitamin e and selenium on the antioxidant system of shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2010, 41(1): 68-74(in Chinese).
- [35] 吴伟, 聂凤琴, 瞿建宏, 等. 2,2', 4,4'-四溴联苯醚对鲫鱼离体肝脏组织的氧化胁迫[J]. 农业环境科学学报, 2009, 28(5): 1005-1009.
Wu W, Nie F Q, Qu J H, *et al.* Oxidative stress of Tetrabromodiphenyl ether to the liver of *Carassius auratus*. in Vitro[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(5): 1005-1009(in Chinese).
- [36] 孙虎山, 李光友. 栉孔扇贝血淋巴中超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性及其性质的研究[J]. 海洋与湖沼, 2000, 31(3): 259-265.
Sun H S, Li G Y. Activities and properties of superoxide dismutase and catalase in the haemolymph of *Chlamys farreri*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2000, 31(3): 259-265(in Chinese).
- [37] 王妤, 庄平, 章龙珍, 等. 盐度对点篮子鱼的存活、生长及抗氧化防御系统的影响[J]. 水产学报, 2011, 35(1): 66-73.
Wang Y, Zhuang P, Zhang L Z, *et al.* Effects of salinity on survival, growth and antioxidant defense system of *Siganus guttatus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(1): 66-73(in Chinese).
- [38] 徐冬冬, 楼宝, 詹炜, 等. 高温胁迫对褐牙鲈生长及肝脏抗氧化酶活性的影响[J]. 水产学报, 2010, 34(7): 1099-1105.
Xu D D, Lou B, Zhan W, *et al.* Effect of high temperature stress on growth performance and activities of antioxidant enzymes in liver of olive flounder *Paralichthys olivaceus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2010, 34(7): 1099-1105(in Chinese).
- [39] 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.
- [40] Fang Y Z, Yang S, Wu G Y. Free radicals, antioxidants, and nutrition[J]. *Nutrition*, 2002, 18(10): 872-879.
- [41] 尹飞, 孙鹏, 彭士明, 等. 低盐度胁迫对银鲳幼鱼肝脏抗氧化酶、鳃和肾脏ATP酶活力的影响[J]. 应用生态学报, 2011, 22(4): 1059-1066.
Yin F, Sun P, Peng S M, *et al.* Effects of low salinity stress on the antioxidant enzyme activities in juvenile *Pampus argenteus* liver and the APTase activities in its gill and kidney[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2011, 22(4): 1059-1066(in Chinese).

Effects of temperature on energy metabolism and antioxidant enzyme activities of *Scapharca broughtonii*

XUE Suyan^{1,2}, WANG Jinye³, LI Jiaqi^{1,2}, DING Jingkun¹, LI Yang¹,
XU Han¹, MAO Yuze^{1,2*}, FANG Jianguang¹

(1. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Shandong Provincial Key Laboratory of Fishery Resources and Eco-environment, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences,

Ministry of Agriculture, Qingdao 266071, China;

2. Laboratory for Marine Ecology and Environmental Science,

Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071, China;

3. College of Marine Science and Engineering, Qingdao Agriculture University, Qingdao 266109, China)

Abstract: The energy metabolism and antioxidant enzyme activities of *Scapharca broughtonii* at different temperature levels (20, 23, 26 and 29 °C) were studied in the laboratory. The results showed that the ingestion rate and the faecal egestion rate of *S. broughtonii* decreased with the increase of temperature. One-way ANOVA showed that temperature significantly affected the ingestion rate of *S. broughtonii*, but had no significant effect on the faecal egestion rate. The oxygen consumption rate and the ammonia excretion rate of *S. broughtonii* first increased and then decreased with the increase of temperature. Through the energy balance equation, we found that the temperature affected the energy allocation of *S. broughtonii*. Under the condition of 20 °C, the energy of respiration was accounting for 13.71%, 1.89% in excretion, 22.94% in defecation, and 61.47% in growth. However, when the temperature was above 20 °C, the ingested energy could be significantly decreased. Even negative growth occurred. The analysis of variance showed that the temperature had significant differences on the feeding capacity and growth capacity of *S. broughtonii*. The activities of antioxidant enzymes in the mantle membrane, gill and hepatopancreas of *S. broughtonii* were sampled and tested at 0, 4, 8, 12, 24, 48 and 72 h after the treatments of temperature. In the range of 20–29 °C, the activity of T-AOC first increased and then decreased, and it was significantly lower at 29 °C than those at any other temperature groups. The results suggested that the short-term high-temperature stimulation promoted the activities of SOD and CAT, but decreased them beyond 24 h. The activities of SOD and CAT in gill and hepatopancreas were significantly affected by temperature, however, they were not significantly affected by temperature in mantle membrane. GST activity increased significantly with the increase of temperature within 4–12 h, but decreased significantly beyond 24 h, especially when the temperature rose to 29 °C. Our studies have speculated that high temperature may lead to the reduction of antioxidant capacity in the organism, which has a serious impact on the energy metabolism and immune capacity of *S. broughtonii*. This may be an important reason for high death rate of *S. broughtonii* in summer. All the results suggest that the temperature for the actual production of *S. broughtonii* should be maintained below 23 °C. It will generate a large amount of energy consumption of *S. broughtonii* if the temperature exceeds 26 °C.

Key words: *Scapharca broughtonii*; temperature; energy metabolism; antioxidant enzyme activity

Corresponding author: MAO Yuze. E-mail: maoyz@ysfri.ac.cn

Funding projects: NSFC-Shandong Joint Fund for Marine Ecology and Environmental Sciences (U1606404); Creative Team Project of the Laboratory for Marine Ecology and Environmental Science, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology (LMEES-CTSP-2018-4); Central Public-interest Scientific Institution Basal Research Fund, YSFRI, CAFS (20603022017002); International Science & Technology Cooperation Program of China (2016YFE0112600)