

三角帆蚌在高温胁迫下对不同紫色土的适应性



梅 静, 杨清麟, 唐晓琪, 刘 炆, 李艳红, 余小波, 吴正理*
西南大学水产学院, 淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室, 渔业资源环境
研究中心, 重庆 400715

第一作者: 梅静, 从事水产微生物与
免疫研究, E-mail:
meijing200416@163.com



通信作者: 吴正理, 从事水产微生物
与免疫研究, E-mail:
zh20140202@swu.edu.cn

资助项目: 重庆市研究生科研创新项目
(CYS23236); 重庆市自然科学基金 (CS
TB2022NSCQ-MSX0305); 重庆市生态
渔业产业技术体系 (CQMAITS202315)

收稿日期: 2023-07-24
修回日期: 2024-01-22

文章编号:
1000-0615(2025)06-069615-13
中图分类号: S 966.22
文献标志码: A

作者声明本文无利益冲突

©《水产学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)
Copyright © Editorial Office of Journal of
Fisheries of China (CC BY-NC-ND 4.0)

摘要:

【目的】探究不同底泥对三角帆蚌抗高温胁迫的影响。

【方法】实验以三种不同紫色土, 即飞仙关组 (S1)、沙溪庙组 (S2) 和
遂宁组 (S3) 为底泥分别构建养殖系统并进行为期 28 d 的三角帆蚌的养
殖实验, 同时定期检测不同养殖系统的水质指标 [氨氮 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$)、亚
硝态氮 ($\text{NO}_2^-\text{-N}$)、硝态氮 ($\text{NO}_3^-\text{-N}$)、总氮 (TN)、总磷 (TP)、活性磷
(AP)、化学需氧量 (COD)、总硬度 (TH)]。养殖结束后, 将不同养殖系统中的
三角帆蚌分别暴露于常温 (23 °C) 和高温 (33 °C) 条件下, 分别在暴露
6 h 和 12 h 测定其血淋巴抗氧化酶 [超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢
酶 (CAT)]、免疫相关酶 [碱性磷酸酶 (AKP)、溶菌酶 (LZM)] 活性及
 H_2O_2 水平, 同时分析肝胰腺免疫相关基因 (*IAP*、*IL-17*、*HSP70*) 的表达。

【结果】在三角帆蚌养殖实验中, 三种养殖系统中水质指标的变化情
况存在差异, 以 S3 紫色土为底泥构建的养殖系统水体中 TP 和 AP 含
量较高 (峰值达 1.13 mg/L) 且 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度较低 (峰值仅 0.12 mg/L), 更
利于养殖动物的生长和健康。在高温胁迫后, S3 紫色土养殖三角帆蚌
的 SOD、CAT 活性升高至对照组的 1.2~2.0 倍, *IAP*、*IL-17* 和 *HSP70*
基因的表达量较对照组显著上调 1.2~13.0 倍, 高温适应能力最强。

【结论】不同底泥养殖对三角帆蚌抵抗高温胁迫的适应性排序为 S3 >
S1 > S2。这一结果将有助于深入理解养殖底泥对水产动物抗高温能力
的影响。

关键词: 三角帆蚌; 紫色土; 水体理化; 高温胁迫

水产养殖是最高效的动物蛋白生产方式之一, 为全球约三分之一
的人口提供了优质蛋白源, 在改善人类营养和健康方面发挥着重要作用^[1-2]。中国是最大的水产养殖国, 水产品总量连续多年保持世界第一^[3], 其中淡水养殖的产量及其对水产品供应的贡献更大^[4]。而在淡水养殖中, 池塘养殖又占据重要地位, 其产量占淡水养殖总量的 70% 以上^[5], 是我国内陆主要的水产养殖模式。

西南地区作为我国重要的池塘养殖区域, 池塘水域面积大, 养殖
品种丰富, 为中国淡水养殖业做出了重要贡献^[6-7]。然而, 西南地区属
于典型的山地丘陵区, 地形复杂, 耕地高度破碎化, 农业生产效率低



下。已有研究表明, 未来消费者对谷类、豆类等主食的需求量将减少, 而对水产品、畜产品的需求量将大幅增加^[8]。由于水产养殖的经济效益远高于粮食收益, 西南地区原有的耕地陆续被改造为养殖池塘, 特别是“新土地改革”推出农村土地流转改革方案后, 耕地转化为养殖池塘逐渐成为土地改造中最突出的方式^[9]。西南地区的主要土壤类型为紫色土, 该地区发展的池塘养殖也多以紫色土为底泥^[10]。紫色土是我国重要的土壤资源, 其丰富的矿质营养为农林牧渔业提供了良好的土壤条件^[11]。

温度是影响贝类生存的重要环境因素之一。高温造成的应激会导致贝类体内的自由基代谢异常, 损害细胞和组织的正常生理功能和免疫防御功能。此外, 高温会影响养殖水体中氨氮和溶解氧等理化因子, 导致水生生物的抵抗力降低^[12-13]。在高温环境下, 贝类通过调节免疫相关基因的表达以提高其对热应激的耐受性, 通过调节抗氧化相关酶活性来维持氧化还原稳态^[14], 保护细胞免受氧化损伤, 从而降低高温胁迫造成的危害。据报道, 长牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 暴露于高温环境下, 其参与能量代谢和抗凋亡的相关基因被激活以维持基本的生命活动^[15]。三角帆蚌在高温胁迫下产生氧化应激, 其体内超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT) 等抗氧化酶活性升高以增强机体的防御能力^[16]。由此可见, 高温会影响贝类的免疫状态, 导致各种免疫反应的发生, 通过了解贝类免疫系统如何响应外界温度的变化, 能够为贝类的环境适应性研究提供新的思路和方法。近年来, 随着贝类养殖产业在我国西南地区的兴起和发展, 诸多养殖基地面临着极端高温天气的挑战。然而目前关于将紫色土作为养殖底泥, 探究其对贝类抗高温胁迫效应方面的研究较为匮乏。

三角帆蚌是中国特有的淡水育珠蚌, 其珍珠产量占我国淡水珍珠总产量的 80% 以上^[17]。同时, 三角帆蚌也是一种高效的滤食性贝类, 能够在一定程度上净化水质^[18]和控制水体富营养化^[19]。据报道, 三角帆蚌养殖存在种质退化、育珠期缩短、抗逆性下降、苗种量不足等问题^[20-21], 且近年来全球气候变暖和极端高温天气频率增加, 夏季高温致使三角帆蚌大规模死亡的现象时有发生, 经济损失较为惨重。因此,

开展对三角帆蚌抗高温能力影响因素的探究将有效指导改进高温环境下的养殖措施, 有助于贝类养殖业的可持续发展。

本实验室前期探究了紫色土对三角帆蚌代谢与免疫的影响, 发现以不同紫色土为底泥养殖的三角帆蚌在代谢和免疫功能方面发生了显著变化^[22]。本研究将进一步探讨这三种紫色土对三角帆蚌抗高温能力的影响, 通过测定高温胁迫下三角帆蚌的酶活性和免疫相关基因的表达, 评估不同紫色土在三角帆蚌温度耐受方面的潜在调控作用, 为西南地区更好地发展三角帆蚌养殖提供理论依据和参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

土壤底泥 在重庆市开州区、璧山区和潼南区分别采集了 3 种发源于不同地层的紫色土, 即飞仙关组 (S1) 泥岩风化物发育的紫色土、沙溪庙组 (S2) 泥岩风化物发育的紫色土和遂宁组 (S3) 泥岩风化物发育的紫色土。前期实验分析 3 种紫色土的 pH 分别为 8.10 ± 0.20 、 7.80 ± 0.10 和 8.70 ± 0.10 , 总磷 (TP)、总钾和有效钾含量以 S2 紫色土中较低, 以 S3 紫色土中较高, 且 S3 紫色土的总氮 (TN) 和碱解氮在 3 种土壤中含量最低。在常量和微量养分比较中发现, S2 紫色土的常量养分总量最低, S3 紫色土的微量养分总量最低。前期关于土壤基本理化性质的研究表明, 3 种紫色土在有机质、常量养分以及微量养分方面均有显著差异, 具体数据参考 Yang 等^[22]的研究结果。取土壤时, 先刨去表层土, 挖取风化而未经耕作的 0~20 cm 土壤, 除去非土壤杂质, 过筛、风干后保存备用。每种紫色土取 3 份平行样, 共 9 份样品。

三角帆蚌 本研究所用的三角帆蚌为 1 龄蚌, 体长 (8.2 ± 0.3) cm, 体重 (49.3 ± 4.2) g, 来自国家贝类产业体系重庆综合试验站大洪湖核心示范基地。将三角帆蚌的表面附着物清除后置于水族箱中暂养, 用小球藻 (*Chlorella* sp., 藻种编号为 FACHB-5) 进行投喂, 每天更换约 1/3 体积的水, 暂养 1 周确认蚌体健康无病后开始实验。本研究获得了西南大学实验动物管理和使用伦理委员会批准 (SWU_LAC-2022100375), 实验过程中操作人员严格遵守西南大学伦理规

范, 并按照西南大学伦理委员会制定的规章制度执行。

1.2 养殖水体理化性质的测定

将风干后的 3 种紫色土 S1、S2、S3 (土粒直径 < 2 cm) 作为底泥, 放置于 9 个水族箱中 (圆柱体水族箱底面直径 50 cm、高 1.5 m, 参照 Nimrat 等^[23] 的方法, 以土水体积比 1 : 5 的比例进行覆水, 土层厚 20 cm, 覆水 100 cm), 以 3 种土壤底泥为对照设置 3 种养殖系统 (T1、T2、T3), 每种养殖系统设置 3 个平行。在每个水族箱的水表层下 50 cm 处使用吊网吊养 50 只三角帆蚌, 每天饲喂 2 次 (将三角帆蚌提出放入 5.6×10^5 个/mL 的小球藻液中浸泡 1 h), 养殖 28 d, 养殖过程中不间断充氧, 温度控制在 $(23.0 \pm 1.0)^\circ\text{C}$, 每周换 1 次水, 换水量约为 1/3。

在 0、7、14、21 和 28 d 共 5 个时间点采集水样并测定其理化性质。参考《水化学实验指导》^[24], 氨氮 ($\text{NH}_4^+\text{-N}$) 含量的测定采用纳氏试剂光度法, 亚硝态氮 ($\text{NO}_2^-\text{-N}$) 含量的测定采用分子吸收分光光度法, 硝态氮 ($\text{NO}_3^-\text{-N}$) 含量的测定采用紫外分光光度法, TN 含量的测定采用碱性过硫酸钾消解紫外分光光度法, TP 和活性磷 (AP) 含量的测定采用钼酸铵紫外分光光度法, 化学需氧量 (COD) 的测定采用碱性高锰酸钾法, 总硬度 (TH) 的测定采用 EDTA 络合滴定法。

1.3 高温胁迫实验

在含有不同底泥的养殖系统中对三角帆蚌进行适应性养殖 28 d 后, 将同种养殖系统 3 个平行水族箱中的三角帆蚌混合, 各选取 60 只进行高温胁迫实验。将每种养殖系统中选取的 60 只三角帆蚌分为 3 个平行组, 再将每个平行组

的 20 只蚌平均放入 2 个只含有 10 L 曝气水的水族箱中。一个水族箱作为对照组继续保持水温为 23°C (T1-C、T2-C 和 T3-C), 另一个水族箱作为实验组进行 33°C 的高温处理 (T1-E、T2-E 和 T3-E), 分别在 0、6 和 12 h 采集 3 种养殖系统的对照组和实验组三角帆蚌, 检测血淋巴抗氧化酶活性和肝胰腺免疫相关基因的表达。

1.4 血淋巴采集及酶活性指标的测定

每个实验组和对照组取 3 只活体蚌, 打开蚌壳, 用预冷的 1 mL 注射器从心脏抽取血淋巴, 于冰上放置 30 min 后 4°C 、3 500 r/min 离心 10 min, 收集上清液, 放入 -80°C 冰箱中保存备用。血淋巴碱性磷酸酶 (AKP)、SOD、CAT、溶菌酶 (LZM) 活性和 H_2O_2 浓度均采用由上海优选生物科技有限公司生产的商业试剂盒进行测定。

1.5 RNA 的提取和 cDNA 的合成

利用 TRIzol 法提取三角帆蚌肝胰腺的总 RNA, 通过 0.1% 琼脂糖凝胶电泳测定总核糖核酸的完整性, 使用超微量分光光度计检测其浓度。用 Hifair® III 1st Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR (gDNA digester plus) [翌圣生物科技 (上海) 股份有限公司] 合成 cDNA。选用基因延伸因子基因 (*EF1 α*) 为内参基因, 选取免疫相关基因凋亡抑制因子 (*IAP*)、白细胞介素 17 (*IL-17*) 与热休克蛋白 70 (*HSP70*) 进行实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 的测定 (表 1)。

1.6 数据分析

以 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法^[25] 计算基因相对表达量, 用平均值 $\pm$ 标准误 (mean $\pm$ SE) 表示。利用 GraphPad Prism 9 软件对参数进行主成分分析 (PCA) 和图

表 1 RT-qPCR 所用引物序列

Tab. 1 Primer sequences used for RT-qPCR analysis

基因名称 gene ID	引物序列(5'-3') primer sequences (5'-3')	引物长度/bp primer length	退火温度/ $^\circ\text{C}$ T_m
<i>EF1α-F</i>	GGAACCTTCCAGGCAGACTGTGC	23	59.84
<i>EF1α-R</i>	TCAAAACGGGCGCAGAAAT	21	60.05
<i>IAP-F</i>	ATTCCATCCAAGTGCCTCAAGA	22	56.14
<i>IAP-R</i>	GTTTCTACTGCGGAGGTGGG	20	58.62
<i>IL-17-F</i>	CCATCACAGATCCTCAACG	19	56.05
<i>IL-17-R</i>	CGCAAGTGTATCCAACAGCAA	21	55.82
<i>HSP70-F</i>	GGTGTGCCCCAGATTGAAGTA	21	60.00
<i>HSP70-R</i>	TGACACGGTCTCTGTTT	20	59.62

片绘制, 用 SPSS 25.0 软件进行单因素方差分析, 利用 Tukey 氏检验进行多重比较, $P < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果

2.1 三种底泥养殖水体水质指标的变化特征

以 S1、S2、S3 紫色土为底泥的 3 种养殖系统中水体理化指标的变化结果显示, 3 种养殖系统水体中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度均在第 7 天升至最高, T1 为 0.30 mg/L, T2 为 0.54 mg/L, T3 为 0.54 mg/L, 随后立即下降, T1 的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度处于较低水平 (图 1-a)。T3 养殖系统的 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度相对较低 (峰值为 0.12 mg/L), 且下降速率较 T1 和 T2 快 (图 1-b), 表明 T3 养殖系统能更快地完成 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 的转化。3 种养殖系统水体中 TN 浓度均呈上升趋势 (图 1-d), T1 和 T3 养殖系统的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度也逐渐增加 (图 1-c), 第 28 天, T1 和 T3 的 TN 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度均显著高于 T2 (T1 为 17.35 mg/L、0.57 mg/L, T2 为 12.78 mg/L、0.49 mg/L, T3 为 18.39 mg/L、0.61 mg/L, $P < 0.05$)。水体中的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 因土壤底泥的氮素释放和微生物硝化作用不断累积, 而 T2 养殖系统的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 浓度却在养殖后期显著下降, 影响水体的生态平衡。

T1 和 T3 养殖系统的 AP 浓度具有相似的变化趋势, 且在第 0、7 和 21 天显著高于 T2 (图 1-e)。TP 浓度总体呈上升的趋势, 且保持 $\text{T3} > \text{T1} > \text{T2}$ (图 1-f), 结果表明, 以 S3 紫色土为底泥更能满足三角帆蚌对磷的需求。

养殖过程水体中有机物的积累导致 COD 增加, 第 7 天, T2 (5.31 mg/L) 养殖系统的 COD 显著高于 T1 (3.81 mg/L) 和 T3 (4.09 mg/L) (图 1-g), 导致水体中的溶解氧含量降低, 对养殖三角帆蚌的生长和免疫产生影响。从底泥进入水体中的钙、镁离子被三角帆蚌和藻类利用, 使 TH 呈现下降的趋势 (图 1-h), 3 种养殖系统的 TH 无显著差异。

2.2 三种底泥养殖三角帆蚌在高温胁迫下免疫学指标的急性变化

三角帆蚌血淋巴 AKP 的测定结果显示, T1-E 和 T2-E 组三角帆蚌的 AKP 活性随暴露时间逐渐降低 (图 2-a, b), 在 12 h 显著低于对照组 ($P < 0.05$), 而 T3-E 组 AKP 活性在 12 h 升高

(图 2-c), 且高于 T1 和 T2 实验组, 表明以 S3 紫色土为底泥养殖的三角帆蚌具有较强的免疫防御能力。

三角帆蚌血淋巴 SOD 的测定结果显示, T1-E 组三角帆蚌的 SOD 活性随时间呈上升趋势 (图 3-a), 12 h 的酶活性 (24.43 U/mL) 极显著高于 T1-C 组 (10.70 U/mL) ($P < 0.01$)。T2-E 和 T3-E 组的 SOD 活性变化趋势相似 (图 3-b, c), 但 T3-E 组 (28.03 U/mL) 在 6 h 的酶活性显著高于对照组 (14.64 U/mL) ($P < 0.05$), 表明 T3 组三角帆蚌能迅速响应高温胁迫, 在 6 h 其血淋巴 SOD 活性明显升高且高于 T1 和 T2 组。

三角帆蚌血淋巴 CAT 的测定结果显示, 高温胁迫 6 h 时, T1-E 组三角帆蚌的 CAT 活性降低 (图 4-a), 而 T2-E 和 T3-E 组分别升高至对照组的 3.2 倍和 1.2 倍, 表明 T2/T3 组三角帆蚌可能通过快速上调 CAT 活性以增强抗氧化防御能力。随着胁迫时间延长至 12 h, T2-E 和 T3-E 组的 CAT 活性逐渐回落至与对照组无显著差异的水平。

三角帆蚌血淋巴 H_2O_2 浓度的测定结果显示, T1-E 组 H_2O_2 浓度在 6 h 降低 (图 5-a), 且显著低于对照组 ($P < 0.05$), 与 T3-E 组的趋势相反 (图 5-c)。T2-C 组的 H_2O_2 浓度随时间呈下降趋势 (图 5-b), 在 6 h 和 12 h 显著 ($P < 0.05$) 或极显著 ($P < 0.01$) 低于 T2-E 组 H_2O_2 水平。T3-E 组在 6 h (11.82 U/mL) 的 H_2O_2 浓度显著高于对照组 (8.19 U/mL) ($P < 0.05$), 整体呈先升高后下降趋势, 提示该组个体可能具有更强的氧化应激响应能力和环境适应能力。

三角帆蚌血淋巴 LZM 的测定结果显示, T2 与 T3 组的 LZM 活性均随着暴露时间先降低后升高 (图 6-b, c), T1 组的 LZM 活性随时间逐渐降低 (图 6-a)。3 种养殖系统中, 高温胁迫与常温暴露的三角帆蚌 LZM 活性均无显著差异 ($P > 0.05$)。

2.3 三种底泥养殖三角帆蚌在高温胁迫下免疫相关基因的表达

高温胁迫 6 和 12 h 的三角帆蚌肝胰腺中 *IAP*、*IL-17*、*HSP70* 表达结果显示, 高温胁迫 6 h 与对照组相比, T1-E 组和 T3-E 组三角帆蚌的 *IAP* 基因分别上调至对照组的 1.2 倍和 3.6 倍, 而 T2-E 组的表达量极显著下调 ($P < 0.01$) (图 7-a)。高温胁迫 12 h, T1-E 组 *IAP* 基因表达量降

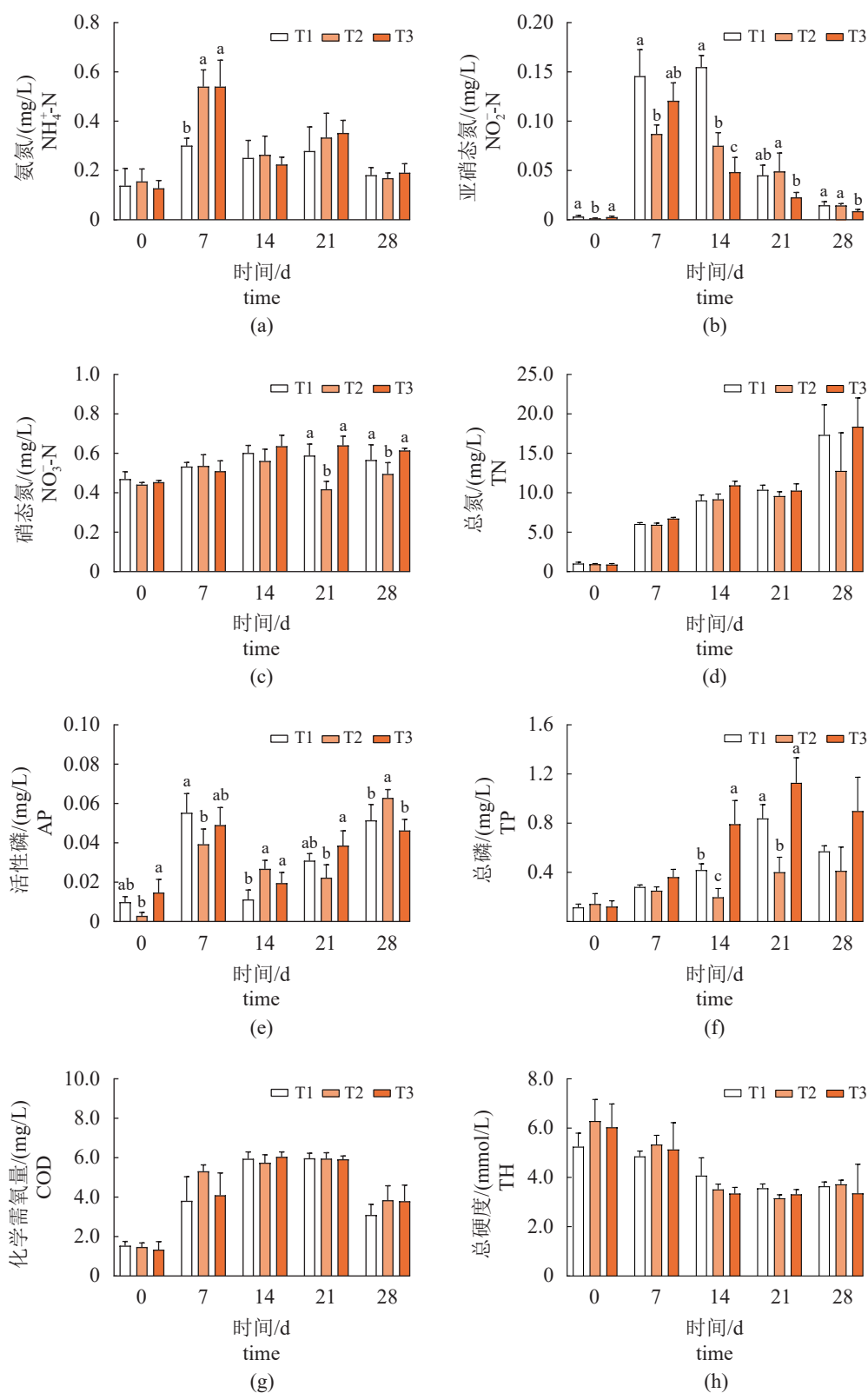


图1 三种养殖系统中水体理化指标的动态变化

不同小写字母表示相同时间点组间差异显著 ($P < 0.05$)。

Fig. 1 Dynamic variations of physicochemical parameters in three aquaculture systems

Different lowercase letters indicate significant difference between groups at the same time point ($P < 0.05$).

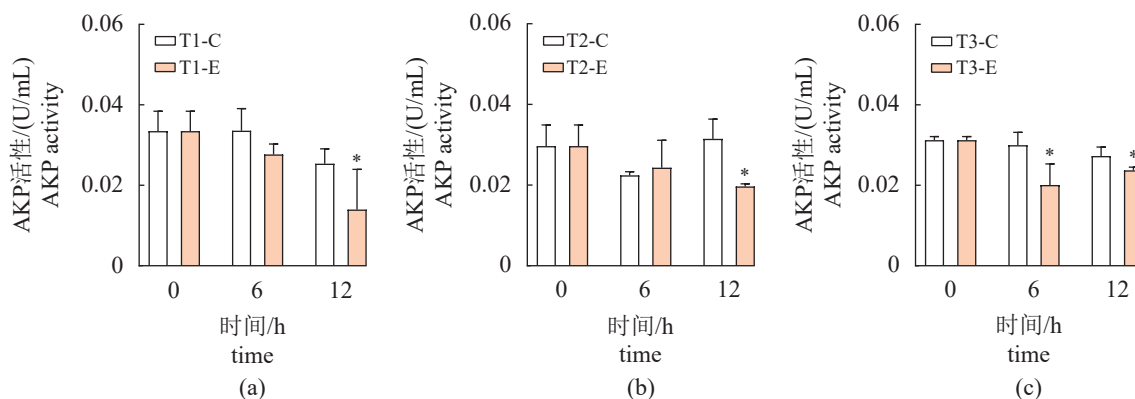


图2 高温胁迫下12 h内三角帆蚌血淋巴 AKP 活性的变化

(a) T1, (b) T2, (c) T3; “*”表示差异显著 ($P<0.05$); C. 对照组, E. 实验组, 下同。

Fig. 2 Activities of serum AKP in *H. cuningii* during 12 hours under high-temperature stress

(a) T1, (b) T2, (c) T3; “*” indicate significant difference ($P<0.05$); C. control group, E. experimental group, the same below.

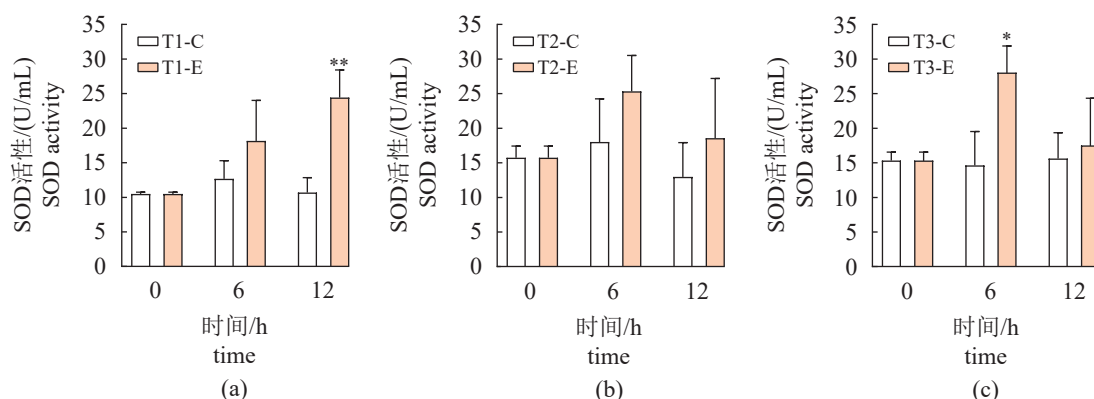


图3 高温胁迫下12 h内三角帆蚌血淋巴 SOD 活性的变化

“***”表示差异极显著 ($P<0.01$); 下同。

Fig. 3 Activities of serum SOD in *H. cuningii* during 12 hours under high-temperature stress

“***” indicates extreme significant difference ($P<0.01$); the same below.

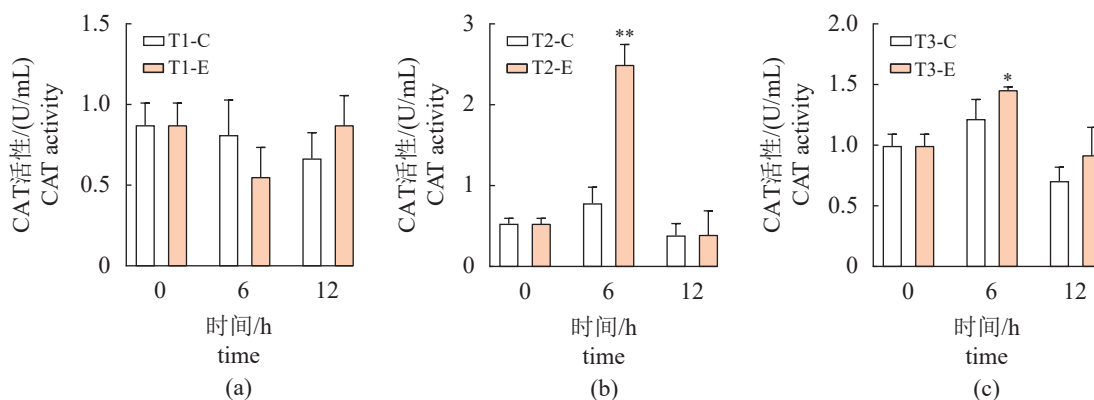


图4 高温胁迫下12 h内三角帆蚌血淋巴 CAT 活性的变化

Fig. 4 Activities of serum CAT in *H. cuningii* during 12 hours under high-temperature stress

低, T2-E 组的表达量显著高于对照组 ($P<0.05$), 综合分析发现, 在常温养殖条件下, T1 与 T2 组三角帆蚌的 *IAP* 基因表达量较高, 可能是由

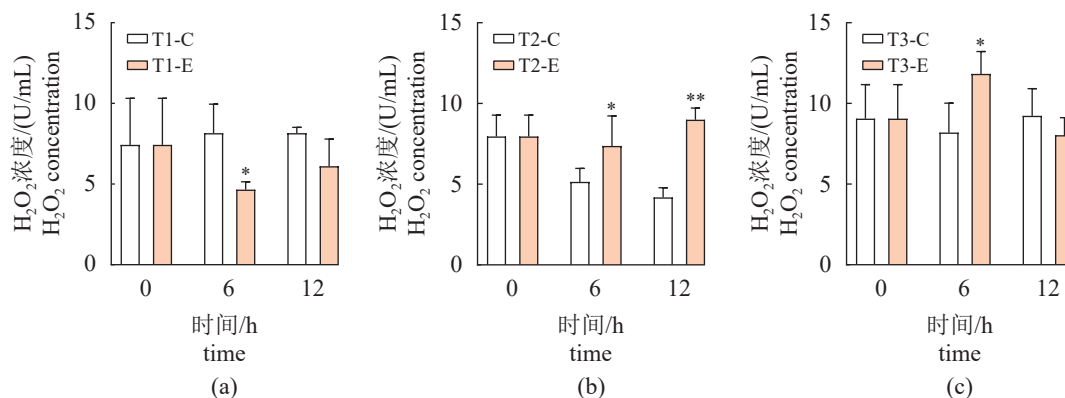
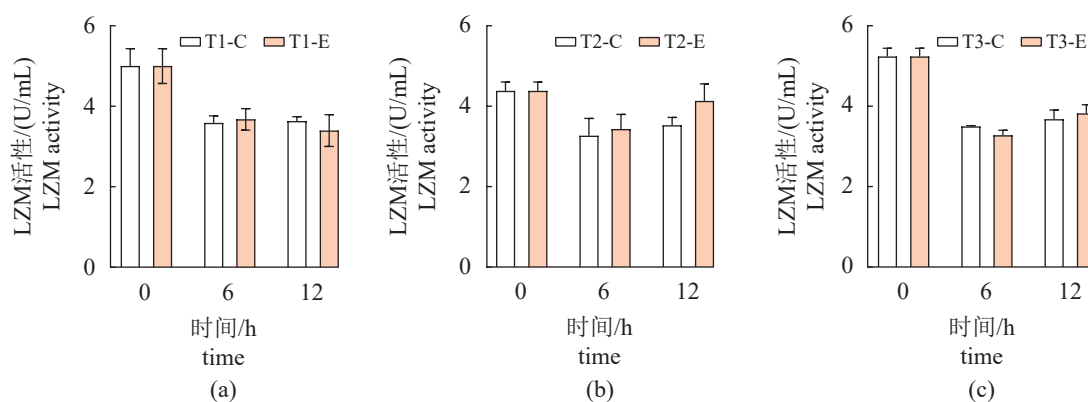
图5 高温胁迫下 12 h 内三角帆蚌血淋巴 H_2O_2 浓度的变化Fig. 5 Concentrations of serum H_2O_2 in *H. cuningii* during 12 hours under high-temperature stress

图6 高温胁迫下 12 h 内三角帆蚌血淋巴 LZM 活性的变化

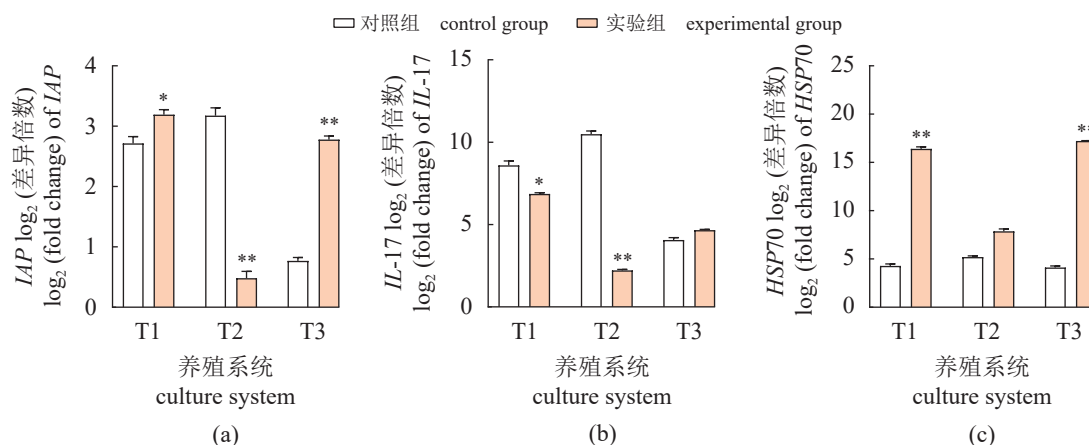
Fig. 6 Activities of serum LZM in *H. cuningii* during 12 hours under high-temperature stress

图7 高温胁迫 6 h 三角帆蚌肝胰腺中 IAP (a)、IL-17 (b)、HSP70 (c) 的表达

Fig. 7 Expression of IAP (a), IL-17 (b) and HSP70 (c) in the hepatopancreas of *H. cuningii* under high-temperature stress for 6 hours

于更换环境造导致基因上调, 而 T3 更能适应环境保持在低水平, 且在 33 °C 水温条件下能迅速上调表达 IAP 基因以应对高温胁迫。

高温胁迫 6 h, 与对照组相比, T1-E 组和

T2-E 组的 IL-17 基因分别下降 1.3 和 4.7 倍 (图 7-b), 高温胁迫 12 h, T1-E 组的 IL-17 基因表达量升高至显著高于对照组的水平, 而 T2-E 组的基因表达仍受到抑制 (图 8-b)。高温胁迫下 T3-

E组的 *IL-17* 表达量呈上升的趋势, 且在 12 h 极显著高于对照组 ($P<0.01$) (图 7-b, 图 8-b)。综合分析发现, 在常温环境中, T1 与 T2 组三角帆蚌肝胰腺中的 *IL-17* 表达量显著高于 T3 组 ($P<0.05$), 在高温胁迫下, T3 组三角帆蚌的 *IL-17* 表达量与对照组相比升高最多, 这与 *IAP* 基因的 mRNA 表达结果相似。

高温胁迫 6 h, 3 个养殖系统的实验组三角帆蚌的 *HSP70* 基因表达均上调, 且 T1-E 组和 T3-E 组的表达量分别升高至对照组的 3.8 倍和 4.2 倍 (图 7-c)。高温胁迫 12 h, 3 个养殖系统的实验组 *HSP70* 基因表达量均极显著高于对照组 ($P<0.01$) (图 8-c)。在常温下的三角帆蚌 *HSP70* 基因表达相对稳定, 受高温胁迫后 T1 和 T3 组三角帆蚌对高温刺激反应较快, 基因上调迅速, 而 T2 组的上调速率较慢。

2.4 主成分分析

3 个养殖系统的三角帆蚌高温暴露 6 和 12 h, 其血淋巴酶活性和肝胰腺免疫相关基因的主成分分析结果显示, 3 种免疫相关基因呈正相关且对 PC1 有正面影响, SOD 和 H_2O_2 与 LZM 和 AKP 呈负相关 (图 9-a), 即 SOD 和 H_2O_2 的动态变化与 LZM 和 AKP 相反。暴露 12 h 的主成分 PC1 和 PC2 分别占 42.2% 和 26.2% (图 9-b), SOD 与 CAT、LZM 呈正相关, 3 种免疫相关基因仍对 PC1 有正面影响。

3 讨论

3.1 三角帆蚌养殖水体水质理化性质的变化规律

养殖水体中 NH_4^+-N 、 $NO_2^- -N$ 和 $NO_3^- -N$ 浓

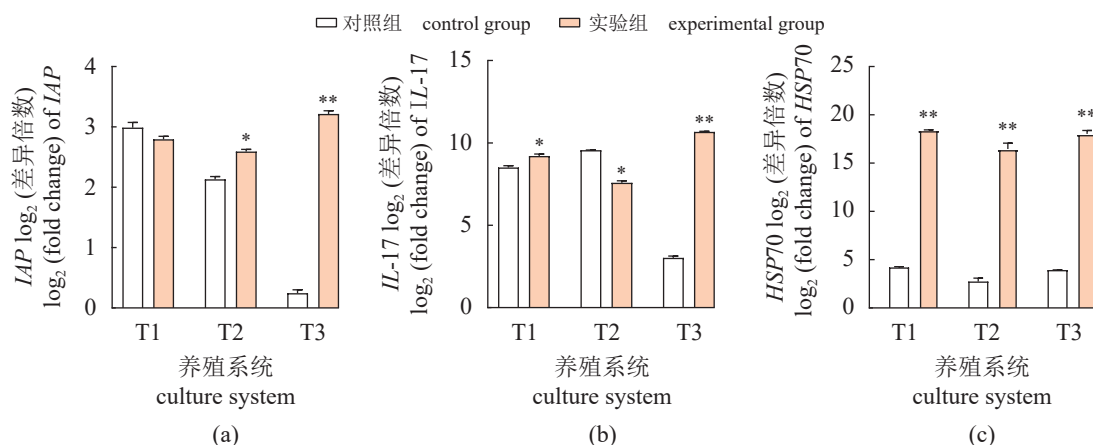


图 8 高温胁迫 12 h 三角帆蚌肝胰腺中 *IAP* (a)、*IL-17* (b) 和 *HSP70* (c) 的表达

Fig. 8 Expression of *IAP* (a), *IL-17* (b) and *HSP70* (c) in the hepatopancreas of *H. cumingii* under high-temperature stress for 12 hours

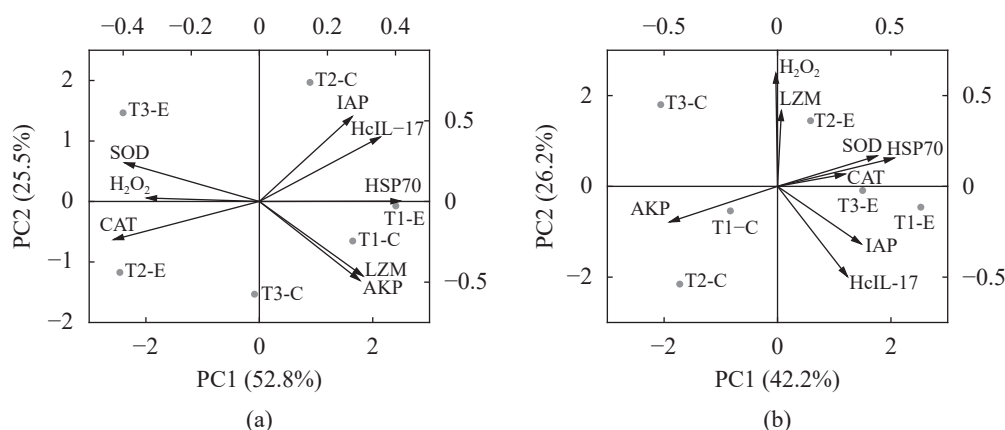


图 9 高温胁迫 6 h (a) 和 12 h (b) 三角帆蚌免疫酶活性和免疫相关基因的主成分分析

Fig. 9 Principal component analysis of immune enzyme activity and immune-related genes in *H. cumingii* exposed to high-temperature stress for 6 hours (a) and 12 hours (b)

度受土壤氮素释放、水体中微生物活动以及养殖动物净化作用三方面的影响。底泥中的有机氮经微生物转化分解为 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 后进入养殖水体, 而过多的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 在各种硝化细菌的作用下进一步转变为 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 和 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ ^[26], 开始了水体中氮的内循环。此外, 双壳贝类作为水域生态系统中重要的底栖动物, 其滤食习性可以有效地净化水体^[27-28]。

在本研究养殖初期, 由于土壤氮素释放和三角帆蚌排泄导致水体中 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量增加, 而亚硝化细菌又将 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 转化为 $\text{NO}_2^-\text{-N}$, 因而 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度具有与 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 浓度相似的变化趋势; 养殖后期, 三角帆蚌的净水作用以及水体中氮的各种赋存形态之间的相互转化使 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 浓度降低^[29-30]。在整个养殖过程中, 水体中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 和 $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 最终都转变为稳定的 $\text{NO}_3^-\text{-N}$, 因此 $\text{NO}_3^-\text{-N}$ 的浓度不断增加; 由于氮的来源大于氮的支出, 水体中的 TN 浓度也表现出不断上升的趋势。3 种养殖系统水体中的 $\text{NH}_4^+\text{-N}$ 含量总体无显著差异, $\text{NO}_2^-\text{-N}$ 含量以 T3 养殖系统中较低, 由于亚硝酸盐 (NO_2^-) 和铵离子 (NH_4^+) 是造成氮污染的主要物质^[31], 因此 S3 紫色土更利于水产动物的健康。

养殖水体中磷素的动态变化与池塘底泥的有机质矿化分解有关, 不同形态的磷之间相互转化。在养殖过程中, 土壤底泥磷素的释放以及未被三角帆蚌利用的小球藻导致水体中的 AP 含量增加, 而三角帆蚌的净化作用和土壤底泥的吸附作用又使磷酸盐浓度得到了调控^[18]。T3 养殖系统的水体中 TP 和 AP 含量较高, 表明 S3 紫色土更利于水生生物的生长。在养殖过程中 COD 不断升高, 分析是由养殖系统中残饵和代谢产物的累积以及底泥有机质的释放等因素造成的^[32]。第 7 天, T2 养殖系统的 COD 最高, 对三角帆蚌的生长和免疫具有负面影响。最后, 由于有机物的消耗、沉淀使三角帆蚌养殖水体中的 TH 降低^[33]。综合比较 3 种养殖系统的水质指标变化情况, 发现 S3 紫色土更适宜用作水产养殖底泥。

3.2 三种底泥养殖三角帆蚌对高温环境的响应

当环境温度升高时, 动物体会合成并分泌较多的应激激素使活性氧增加^[34], 而过量的氧自由基导致机体出现氧化应激并进一步造成氧

化损伤, 因此, 生物体会加速合成抗氧化酶以清除自由基, 减少高温胁迫造成的损伤^[35]。在本实验中, 高温胁迫下 3 种养殖系统中三角帆蚌的 AKP 活性降低, SOD、CAT、 H_2O_2 等抗氧化因子表现出上升的趋势, LZM 活性变化不显著, 这与许星鸿等^[36]的结论相近。

AKP 是巨噬细胞溶酶体酶的重要组成部分, 与蛋白质和脂类的代谢有密切联系, 其作为代谢调控酶在免疫反应中发挥重要作用^[37]。在高温胁迫下, 三角帆蚌的血淋巴中 AKP 的活性降低, 这可能是由于高温导致胰腺腺的损伤所致^[38]。然而, 以 S3 紫色土为底泥养殖的三角帆蚌在高温胁迫 12 h 的 AKP 活性升高, 这有助于维持细胞内的磷酸化平衡。

SOD 与 CAT 是生物体抗氧化系统中的重要酶类, 机体产生的活性氧由 SOD 分解成 H_2O_2 后, 进一步由 CAT 还原为无害的氧分子和水, 从而维持细胞和机体的正常生理活动。高温胁迫下, T3 养殖系统中三角帆蚌的 SOD 和 CAT 活性在胁迫初期即迅速且显著升高, 同时 H_2O_2 浓度呈现典型的应激响应模式, 表明以 S3 紫色土为底泥养殖的三角帆蚌具有更高效的抗氧化调控能力。

高温使 T1 和 T3 养殖系统中三角帆蚌的 *IAP* 基因表达上调, 其原因可能是高温暴露导致细胞凋亡程度升高, *IAP* 通过抑制 Caspase 活性的核心区以抑制细胞凋亡的发生^[39], 防止不必要的细胞凋亡给机体带来更大的损伤。而 T2 养殖系统中的三角帆蚌受高温刺激后, *IAP* 基因的表达受到抑制, 细胞凋亡的增加可能进一步导致组织和器官受损。

研究表明, *IL-17* 基因可能有助于软体动物有效应对炎症反应^[40]。本研究中, 高温胁迫使 T1 和 T3 养殖系统中三角帆蚌的 *IL-17* 基因表达量升高, 可能是由于高温影响了三角帆蚌体内炎症因子的浓度。而 T2 养殖系统中三角帆蚌受高温刺激后的 *IL-17* 表达情况与 *IAP* 基因相似, 表明以 S2 紫色土为底泥养殖的三角帆蚌抗氧化应激能力较弱。

大量研究发现, HSP70 与生物体的耐高温性能密切相关^[41], 在应激状态下细胞迅速表达的热休克蛋白可以与变性的蛋白质结合, 抑制其聚合并促进它们重新折叠恢复原来的状态^[42]。高温处理后, 本实验构建的 3 种养殖系统中三

角帆蚌 *HSP70* 表达量均显著升高, 但是 T2 养殖系统中三角帆蚌的基因上调稍慢于 T1 和 T3, 可能是由于该系统中三角帆蚌的免疫力下降导致的基因延迟上调。综合分析高温胁迫下免疫相关基因的表达情况, 以 S3 紫色土为底泥养殖的三角帆蚌能迅速上调免疫基因以应对高温环境。

3.3 土壤底泥对三角帆蚌抗高温能力的影响

土壤底泥能够对养殖系统中水生动物的生长和健康进行调控, 因而以不同类型的土壤构建的养殖系统中养殖对象的质量和产量也会出现差异^[43]。土壤底泥通过影响水体的理化性质、缓冲性、养分平衡等影响水生生物的生理状况。大量实践证明, 以不同的土壤为底泥进行水产养殖, 其效果也会出现差异, 这说明了土壤底泥对水产养殖具有重要影响^[44]。Fu 等^[45]比较了酸性黄壤、中性紫色土和石灰性紫色土的土壤养分, 发现石灰性紫色土的养分含量最丰富, 推测其更利于水产养殖。

本研究利用 3 种不同的石灰性紫色土为底泥构建养殖系统以模拟池塘养殖, 发现 3 种养殖系统中的三角帆蚌对高温的适应能力出现了显著差异。综合分析发现, 高温胁迫下 T3 养殖系统中三角帆蚌的抗氧化酶活性显著升高, 免疫相关基因表达迅速上调, 具有较强的抗高温能力。相比之下, T2 养殖系统中的三角帆蚌呈现明显的应激延迟现象, 表现为 *IL-17*、*IAP* 和 *HSP70* 基因表达滞后, 因而其高温适应能力较弱。

4 结论

以不同紫色土为底泥构建的养殖系统中水体的养分含量出现差异, 进而影响三角帆蚌的生理状况和抗应激能力。本研究通过对高温胁迫下三角帆蚌酶活性和免疫相关基因表达的测定发现, 三种土壤底泥养殖三角帆蚌的抗高温能力出现显著差异, 且三种紫色土对三角帆蚌抵抗高温胁迫的适应性排序为 $S3 > S1 > S2$ 。

参考文献 (References):

- [1] Golden C D, Koehn J Z, Shepon A, *et al.* Aquatic foods to nourish nations[J]. *Nature*, 2021, 598(7880): 315-320.
- [2] Vandeputte M, Gagnaire P A, Allal F. The European sea bass: a key marine fish model in the wild and in aquaculture[J]. *Animal*

Genetics, 2019, 50(3): 195-206.

- [3] 焦亮, 陶国华, 陶丽华. 池塘健康水产养殖技术措施探讨 [J]. *江西农业*, 2022(2): 127-128.
Jiao L, Tao G H, Tao L H. Pond health aquaculture technology measures to explore[J]. *Jiangxi Agriculture*, 2022(2): 127-128 (in Chinese).
- [4] 于秀娟. 稳定水产养殖: 基于全国渔业统计数据的数据分析 [J]. *中国水产*, 2023(2): 22-25.
Yu X J. Aquaculture stabilization: an analysis based on national fishery statistics[J]. *China Fisheries*, 2023(2): 22-25 (in Chinese).
- [5] 戈贤平. 中国淡水养殖业发展现状及未来发展战略 [R]. 无锡: 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 2016.
Ge X P. Current situation and future development strategy of aquaculture industry in China[R]. Wuxi: Freshwater Fisheries Research Center of Chinese Academy of Fishery Sciences, 2016 (in Chinese).
- [6] 叶元土. 西部地区及重庆市渔业现状与发展对策分析 (上)[J]. *内陆水产*, 2000, 25(11): 3-4.
Ye Y T. Analysis of the current situation and development countermeasures of fisheries in western region and Chongqing municipality (part 1)[J]. *Current Fisheries*, 2000, 25(11): 3-4 (in Chinese).
- [7] 叶元土. 西部地区及重庆市渔业现状与发展对策分析 (下)[J]. *内陆水产*, 2000, 25(12): 3-5.
Ye Y T. Analysis of the current situation and development countermeasures of fisheries in western region and Chongqing municipality (part 2)[J]. *Current Fisheries*, 2000, 25(12): 3-5 (in Chinese).
- [8] Liu F, Xiao X M, Qin Y W, *et al.* Large spatial variation and stagnation of cropland gross primary production increases the challenges of sustainable grain production and food security in China[J]. *Science of the Total Environment*, 2022, 811: 151408.
- [9] Zhao B C, Li Y F, Wang Y Z, *et al.* Research on expansion characteristics of aquaculture ponds and variations in ecosystem service value from the perspective of protecting cultivated lands: a case study of Liyang City, China[J]. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2022, 19(14): 8774.
- [10] 李天才, 余米, 江瑞, 等. 紫色土池塘养殖底泥理化性质变化及营养沉积过程 [J]. *河南农业科学*, 2022, 51(4): 151-159.
Li T C, Yu M, Jiang R, *et al.* Physicochemical properties change and nutrient deposition process in purple soil pond mud[J]. *Journal of Henan Agricultural Sciences*, 2022, 51(4): 151-159 (in Chinese).

- [11] 龚子同. 简评《中国紫色土(下)》[J]. *山地学报*, 2003, 21(3): 382.
- Gong Z T. A brief review of "Chinese purple soil (part 2)"[J]. *Mountain Research*, 2003, 21(3): 382 (in Chinese).
- [12] Xu D L, Xu M M, Wang D H. Effects of air temperatures on antioxidant defense and immunity in *Mongolian gerbils*[J]. *Journal of Thermal Biology*, 2019, 84: 111-120.
- [13] Shirasawa K, Sekii T, Ogiwara Y, *et al.* Identification of the chromosomal region responsible for high-temperature stress tolerance during the grain-filling period in rice[J]. *Molecular Breeding*, 2013, 32(1): 223-232.
- [14] Martins N D, Yunes J S, Monteiro D A, *et al.* Microcystin-LR leads to oxidative damage and alterations in antioxidant defense system in liver and gills of *Brycon amazonicus* (SPIX & AGASSIZ, 1829)[J]. *Toxicon*, 2017, 139: 109-116.
- [15] Yang C Y, Gao Q, Liu C, *et al.* The transcriptional response of the Pacific oyster *Crassostrea gigas* against acute heat stress[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2017, 68: 132-143.
- [16] Liu Y M, Yang M, Zheng L, *et al.* Antioxidant responses of triangle sail mussel *Hyriopsis cumingii* exposed to toxic *Microcystis aeruginosa* and thermal stress[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 743: 140754.
- [17] 段胜华, 刘振明, 胡宏辉, 等. 插片后珍珠蚌生长性状及其无核珍珠成珠率和大小 [J]. *水产学报*, 2020, 44(10): 1645-1653.
- Duan S H, Liu Z M, Hu H H, *et al.* Growth traits of pearl mussels and pearl formation percentage and size of non-nucleated pearl after graft operation[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2020, 44(10): 1645-1653 (in Chinese).
- [18] Yu X B, Zhao Z, Tang R, *et al.* Assessment of the environmental purification of triangle sail mussel (*Hyriopsis cumingii*) in recirculating aquaculture systems[J]. *Applied Ecology and Environmental Research*, 2020, 18(2): 3439-3454.
- [19] Liu Q G, Hu M H, Wu Z. Can mussels change phytoplankton community structure and enhance prawn production in semi-enclosed prawn ponds?[J]. *Aquaculture Research*, 2015, 46(10): 2559-2564.
- [20] 汪桂玲, 白志毅, 刘晓军, 等. 三角帆蚌种质资源研究进展 [J]. *水产学报*, 2014, 38(9): 1618-1627.
- Wang G L, Bai Z Y, Liu X J, *et al.* Research progress on germplasm resources of *Hyriopsis cumingii*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2014, 38(9): 1618-1627 (in Chinese).
- [21] 白志毅, 汪桂玲, 刘晓军, 等. 中国淡水珍珠种业现状与发展趋势 [J]. *上海海洋大学学报*, 2014, 23(6): 874-881.
- Bai Z Y, Wang G L, Liu X J, *et al.* The status and development trend of freshwater pearl seed industry in China[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2014, 23(6): 874-881 (in Chinese).
- [22] Yang Q L, Mei J, Tang X Q, *et al.* Assessing the suitability of three purple soils for aquaculture by physiological responses in freshwater bivalves (*Hyriopsis cumingii*)[J]. *Aquaculture*, 2023, 575: 739765.
- [23] Nimrat S, Suksawat S, Maleeweatch P, *et al.* Effect of different shrimp pond bottom soil treatments on the change of physical characteristics and pathogenic bacteria in pond bottom soil[J]. *Aquaculture*, 2008, 285(1-4): 123-129.
- [24] 郑宗林, 戴炳龙, 周朝伟, 等. 养殖水环境化学课程教学改革探析 [J]. *现代农业科技*, 2017(6): 285-286.
- Zheng Z L, Dai B L, Zhou C W, *et al.* Exploration of teaching reform of aquaculture water environment chemistry course[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2017(6): 285-286 (in Chinese).
- [25] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method[J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [26] 覃雅, 何绪刚, 邓闵, 等. 池塘水体氨氧化细菌季节变化及其与环境影响因子相关性分析 [J]. *环境科学学报*, 2016, 36(6): 1948-1954.
- Qin Y, He X G, Deng M, *et al.* Correlation analysis between the seasonal variations of abundance of ammonia-oxidizing bacteria and environmental factors in ponds[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2016, 36(6): 1948-1954 (in Chinese).
- [27] 张润一, 鲍格格, 赵淳朴, 等. 四种双壳贝类对养殖尾水的净化作用 [J]. *河北渔业*, 2023(2): 1-8.
- Zhang R Y, Bao G G, Zhao C P, *et al.* Purification effect of four types bivalves on the aquaculture tail water[J]. *Hebei Fisheries*, 2023(2): 1-8 (in Chinese).
- [28] 王勃, 丛媛媛, 孙同秋. 鱼虾贝类立体生态养殖对水质净化作用研究 [J]. *中国环境管理干部学院学报*, 2010, 20(5): 24-26, 59.
- Wang B, Cong Y Y, Sun T Q. Research on water purification of the fish, shrimp and shellfish three-dimensional ecological breeding[J]. *Journal of EMCC*, 2010, 20(5): 24-26, 59 (in Chinese).
- [29] 黎春, 赵哲, 姚维志. 三角帆蚌对养殖池塘的净水作用 [J]. *科学养鱼*, 2018, 40(6): 57-58.
- Li C, Zhao Z, Yao W Z. Effect of triangle mussel on water purification in culture pond[J]. *Scientific Fish Farming*, 2018, 40(6): 57-58 (in Chinese).
- [30] 张毅敏, 周创, 高月香, 等. 不同水动力条件下鲢、三角帆蚌的组合对富营养化水体的净化作用 [J]. *环境工程学报*, 2015, 9(3): 1109-1116.

- Zhang Y M, Zhou C, Gao Y X, *et al.* Purification effect on eutrophic water body with combination of *Xenocyprinae* and *Hyriopsis cumingii* under different hydrodynamic conditions[J]. *Chinese Journal of Environmental Engineering*, 2015, 9(3): 1109-1116 (in Chinese).
- [31] Chun S J, Cui Y S, Ahn C Y, *et al.* Improving water quality using settleable microalga *Ettlia* sp. and the bacterial community in freshwater recirculating aquaculture system of *Danio rerio*[J]. *Water Research*, 2018, 135: 112-121.
- [32] 孙振中, 刘金金, 张玉平. 上海市淡水养殖水体中氮、磷的分布研究 [J]. 水产科学, 2018, 37(4): 512-521.
- Sun Z Z, Liu J J, Zhang Y P. Distribution of nitrogen and phosphorus in waters of freshwater aquaculture in Shanghai[J]. *Fisheries Science*, 2018, 37(4): 512-521 (in Chinese).
- [33] 孙成渤, 李建国, 赵冬艳, 等. 多级生物净化在封闭循环水养殖系统中的水质调控效果 [J]. 水产科学, 2017, 36(5): 577-584.
- Sun C B, Li J G, Zhao D Y, *et al.* Regulating effect of multi-stage biological purification on water quality in a closed recirculating aquaculture system[J]. *Fisheries Science*, 2017, 36(5): 577-584 (in Chinese).
- [34] 吕锐, 孔爱红. 细胞色素 P450 酶催化反应动力学研究进展 [J]. 现代生物医学进展, 2009, 9(9): 1753-1756, 1697.
- Lv R, Kong A H. Recent progresses in cytochrome P450-catalyzed reaction mechanisms[J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2009, 9(9): 1753-1756, 1697 (in Chinese).
- [35] 江天棋, 张扬, 姜亚洲, 等. 高温胁迫对厚壳贻贝摄食、代谢和相关酶活性的影响 [J]. *生态学杂志*, 2020, 39(9): 3048-3056.
- Jiang T Q, Zhang Y, Jiang Y Z, *et al.* Effects of heat stress on feeding, metabolism and related enzyme activities of *Mytilus coruscus*[J]. *Chinese Journal of Ecology*, 2020, 39(9): 3048-3056.
- [36] 许星鸿, 朱晓莹, 阙义进, 等. pH、温度和盐度对单环刺螠消化酶和溶菌酶活力的影响 [J]. 水产科学, 2017, 36(2): 138-142.
- Xu X H, Zhu X Y, Que Y J, *et al.* Effects of pH, water temperature and salinity on activities of intestinal digestive enzymes and serum lysozyme in echiuran worm *Urechis unicinctus*[J]. *Fisheries Science*, 2017, 36(2): 138-142 (in Chinese).
- [37] 郑萍萍, 王春琳, 宋微微, 等. 盐度胁迫对三疣梭子蟹血清非特异性免疫因子的影响 [J]. 水产科学, 2010, 29(11): 634-638.
- Zheng P P, Wang C L, Song W W, *et al.* Effect of salinity stress on serum non-specific immune factors in swimming crab *Portunus trituberculatus*[J]. *Fisheries Science*, 2010, 29(11): 634-638 (in Chinese).
- [38] 邵彦翔, 陈超, 张廷廷, 等. 高温胁迫对 2 种杂交石斑鱼存活率及血清生化指标的影响 [J]. 广东海洋大学学报, 2017, 37(6): 89-95.
- Shao Y X, Chen C, Zhang T T, *et al.* Influence of high temperature stress on survival rate and serum biochemical indexes of 2 *Epinephelus* hybrids[J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2017, 37(6): 89-95 (in Chinese).
- [39] 作燕青. 高温、失水胁迫下坛紫菜细胞程序性死亡分子机制的初步研究 [D]. 厦门: 集美大学, 2016.
- Wu Y Q. Primary study on programmed cell death of *Pyropia haitanensis* under high temperature and dehydration stress[D]. Xiamen: Jimei University, 2016 (in Chinese).
- [40] 曹艳飞. 马氏珠母贝乙酰胆碱受体和 *IL-17* 基因鉴定及功能分析 [D]. 湛江: 广东海洋大学, 2019.
- Cao Y F. Identification and functional analysis of acetylcholine receptor and *IL-17* genes in *Pinctada fucata martensii*[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2019 (in Chinese).
- [41] 贲月. 虾夷扇贝应答高温变化的相关生理生态学研究 [D]. 大连: 大连海洋大学, 2013.
- Ben Y. Study on the physiological ecology of the *Mizuhopecten yessoensis* response to high temperature change[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2013 (in Chinese).
- [42] 刘雅, 王庆恒, 郑哲, 等. 马氏珠母贝 (*Pinctada fucata martensii*) *Pm-HSP70* 基因的克隆及其对温度胁迫的响应 [J]. 基因组学与应用生物学, 2019, 38(3): 990-998.
- Liu Y, Wang Q H, Chen Z, *et al.* Cloning of *Pm-HSP70* gene of *Pinctada fucata martensii* and its response to temperature stress[J]. *Genomics and Applied Biology*, 2019, 38(3): 990-998 (in Chinese).
- [43] Chumnanka N, Boyd C E, Viriyatum R, *et al.* Bottom soil characteristics, survival and production of shrimp in low-salinity, inland ponds in Alabama and Florida (USA)[J]. *Journal of Soils and Sediments*, 2015, 15(3): 671-682.
- [44] 陈想. 不同紫色土上覆水、渗滤液和淋溶液中的藻类生长特性研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2019.
- Chen X. Study on growth characteristics of algae in overlying water, leachate and leaching solutions of different purple soils[D]. Chongqing: Southwest University, 2019 (in Chinese).
- [45] Fu M, Wang W, Qin J G, *et al.* Growth response of phytoplankton to different soil extracts for choosing suitable soil types for pond aquaculture[J]. *Bangladesh Journal of Botany*, 2015, 44(5): 787-796.

Adaptive responses of *Hyriopsis cumingii* to different purple soils under high-temperature stress

MEI Jing, YANG Qinglin, TANG Xiaoqi, LIU Yang,
LI Yanhong, YU Xiaobo, WU Zhengli *

Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development, Ministry of Education,
Research Center of Fishery Resources and Environment, College of Fisheries,
Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: Soil sediment constitutes a vital element within pond aquaculture systems, exerting a profound influence on the growth and disease resistance of cultivated animals. In recent years, aquaculture has been under severe threats due to extreme thermal weather conditions. To scrutinize the impact of different sediment types on the high-temperature stress resistance of *Hyriopsis cumingii*, this study constructed a 28-day aquaculture experiment employing three different purple soils (S1, Feixian-guan group; S2, Shaximiao group; S3, Suining group) as sediment. Regular assessments of water quality indicators [ammonia nitrogen ($\text{NH}_4^+\text{-N}$), nitrite nitrogen ($\text{NO}_2^-\text{-N}$), nitrate nitrogen ($\text{NO}_3^-\text{-N}$), total nitrogen (TN), total phosphorus (TP), active phosphorus (AP), chemical oxygen demand (COD), total hardness (TH)] across varied aquaculture systems were conducted. After the completion of the aquaculture phase, *H. cumingii* in diverse systems were subjected to ambient (23 °C) and high-temperature (33 °C) conditions. Hemolymph antioxidant enzymes [superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT)], immune-related enzymes [alkaline phosphatase (AKP), lysozyme (LZM)] activities and H_2O_2 levels were measured at 6 h and 12 h after exposure, and the expression of hepatopancreas immune related genes (*IAP*, *IL-17*, *HSP70*) was analyzed. The results revealed differences in water quality indicators among the three aquaculture systems during the cultivation of *H. cumingii*. The system using S3 purple soil as sediment had the highest TP levels (peak value: 1.13 mg/L) and lower $\text{NO}_2\text{-N}$ concentrations (peak value: 0.12 mg/L) compared to the other systems, resulting in a more favorable environment for the growth and health of the cultured organisms. Following high-temperature stress, the activities of SOD and CAT in *H. cumingii* cultured in S3 purple soil increased to 1.2- to 2.0-fold of those in the control group, and the expression of *IAP*, *IL-17*, and *HSP70* genes was significantly up-regulated (1.2- to 13.0-fold), indicating enhanced thermotolerance. The adaptability hierarchy among distinct bottom sediment aquaculture systems, in terms of resisting high-temperature stress in *H. cumingii*, was ranked as $\text{S3} > \text{S1} > \text{S2}$. These findings contribute to a more profound comprehension of the influence of aquaculture sediment on the high-temperature resistance of aquatic organisms.

Key words: *Hyriopsis cumingii*; purple soil; physical and chemical properties; high-temperature stress

Corresponding author: WU Zhengli. E-mail: zh20140202@swu.edu.cn

Funding projects: Graduate Scientific Research and Innovation Foundation of Chongqing (CYS223236); Chongqing Natural Science Foundation (CSTB2022NSCQ-MSX0305); Chongqing Ecological Fisheries Industry Technology System (CQMAITS202315)