

干露胁迫对青蛤呼吸代谢及抗氧化相关酶活力的影响

段海宝, 茆双, 杜楠, 张敏, 葛红星, 魏敏, 孟学平, 董志国

(江苏海洋大学 江苏省海洋生物技术重点建设实验室, 江苏 连云港 222005)

摘要: 研究了不同时间和温度下干露对青蛤(*Cyclina sinensis*)失水率、存活率、呼吸代谢相关酶及抗氧化相关酶的影响。结果表明, 随着干露时间的增加, 青蛤的失水率显著增加, 且高温状态下青蛤失水加剧; 在 3℃ 和 10℃ 条件下干露 48 h 未出现死亡现象。在 20℃ 条件下, 干露时间超过 24 h 后, 青蛤出现死亡现象, 死亡率为 3.33%, 至 48 h 死亡率增加至 5.33%; 随着干露时间的增加, 青蛤的呼吸代谢相关酶的活性整体呈现显著下降趋势($P < 0.05$), 10℃ 条件下青蛤的呼吸代谢相关酶的活性整体高于 3℃ 和 20℃; 随着干露时间的增加, 青蛤的抗氧化相关酶的活性呈现与青蛤呼吸代谢相关酶相似的变化趋势, 且不同温度条件下, 干露时间达到 48 h 时, 青蛤的抗氧化相关酶活性显著低于对照组($P < 0.05$)。综上表明青蛤受干露胁迫时具有一定的自我调节能力, 但干露时间超过其耐受限度时会对青蛤的生理状态造成影响。

关键词: 青蛤(*Cyclina sinensis*); 温度; 干露; 呼吸代谢; 抗氧化

中图分类号: S968.31 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2020)03-0042-08

DOI: 10.11759/hyxx20190730001

青蛤(*Cyclina sinensis*)隶属软体动物门(Mollusca)、瓣鳃纲(Lamellibranchia)、帘蛤目(Venerida)、帘蛤科(Veneridae), 俗称黑蛤, 铁蛤, 牛眼蛤等。青蛤属于广温广盐性双壳贝类, 广泛分布在中国、日本、韩国及东南亚各国的沿海滩涂地区及河口地区^[1]。青蛤作为海产经济高蛋白贝类, 具有肉质鲜美、营养丰富、药用价值高等特点^[2-3], 为人们所喜食。目前随着青蛤人工育苗技术的不断成熟, 加之消费者对高质量蛋白需求的日益增加, 青蛤等海产贝类市场潜力巨大。

贝类的养殖及运输过程中会时常经历离水干露的过程。干露会造成水产动物机体水失衡, 进而抑制其呼吸功能, 最终造成血液 pH 失调而窒息死亡^[4-6]。近年来, 有关干露对贝类生长及活力影响的研究报道较多, 主要有干露胁迫对虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*)^[7]、海湾扇贝(*Argopecten irradians*)^[8]、菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)^[9-10]、魁蚶(*Anadara broughtonii*)^[11-12]、文蛤(*Meretrix meretrix*)^[13]、太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)^[14-15]、施氏獭蛤(*Lutraria sieboldii*)^[16]、硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria*)^[17]和毛蚶(*Scapharca subcrenata*)^[18]等生理状态和生命活动的影响研究, 均表明双壳类的海洋经济贝类具有较强的耐干露能力。双壳贝类的耐干露能力受到诸多因素的影响, 除了个体差异、种类差异等之外, 也受

到外界的温度、湿度以及干露时间的影响^[7, 14, 19]。而关于干露胁迫下贝类呼吸代谢和抗氧化生理研究较少。本研究探索不同干露时间及干露温度对青蛤呼吸代谢和抗氧化能力的影响, 初步探索青蛤耐干露能力, 旨在为青蛤活体运输提供科学依据, 并进一步为贝类耐干露新品种的选育提供理论参考。

1 材料与amp;方法

1.1 实验材料

本实验所用青蛤由国家贝类产业技术体系连云港综合试验站提供, 规格为: 平均壳长(2.76±0.12) cm, 平均壳高(2.70±0.14) cm, 平均壳宽(1.65±0.10) cm, 平均湿质量(6.95±0.95) g。实验开始前 2 d 停止投饵, 养殖水温为(19±1)℃。

收稿日期: 2019-07-30; 修回日期: 2019-08-27

基金项目: 国家贝类产业技术体系(CARS-49); 江苏省高等学校自然科学基金研究重大项目(18KJA240001); 江苏省渔业科技类项目(Y2018-27); 江苏省研究生科研与实践创新计划项目(No. SJCX18_0933, No. SJCX190979)

[Foundation: Modern Agro-industry Technology Research System, No. CARS-49, the Natural Science Foundation of the Jiangsu Higher Education Institutions of China, No. 18KJA240001; Jiangsu Fisheries Science and Technology Project, Y2018-27; the Postgraduate Research & Practice Innovation Program of Jiangsu Province, No. SJCX190979, No. SJCX180933]

作者简介: 段海宝(1994-), 男, 河北张家口人, 硕士研究生, 研究方向为水产养殖, E-mail: duanhaibao@126.com; 董志国, 通信作者, 教授, 研究方向: 水产资源与养殖生态学等, E-mail: dzg7712@163.com

1.2 实验设计与方法

1.2.1 实验设计

实验组通过恒温箱设置三个温度分别为 3、10 和 20°C(记为 T3、T10、T20), 对青蛤进行干露胁迫, 对照组为实验站正常养殖条件下的青蛤。每个温度实验组设置三个平行组, 每组均放置 50 粒青蛤。实验组分别于干露时间 2、6、12、24、48 h 取样, 每个青蛤取消化腺 0.1 g 左右, 浸润 PBS 洗去样本表面的体液及杂质, 然后放入 1.5 mL 离心管中于超低温冰箱中保存。在上述时间点分别记录各组青蛤死亡粒数。

1.2.2 样品处理

冷冻保存的样品在高温灭菌过的研钵中, 用液氮研磨法进行研磨, 并根据实际的取样重量, 按质量(g): 体积(mL)=1:9 的比例加入预冷 PBS 缓冲液, 4°C 下 10 000 r/min 离心 10 min, 取上清液即 10% 的匀浆上清液, 备用。

1.2.3 测定指标及方法

超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、乳酸脱氢酶(LDH)、琥珀酸脱氢酶(SDH)测定方法参考南京建成科技有限公司试剂盒说明书; 参照 Bradford 的方法用考马斯亮蓝检测待测样本蛋白浓度^[20]。

死亡率计算公式如下:

$$\text{死亡率} = (\text{死亡个体数} / \text{总个体数}) \times 100\%$$

干露过程中, 青蛤机体水分及体腔液会有一定损耗, 失水量占初始重量的比值为失水率。失水率计算公式如下:

$$R = \frac{W_1 - W_n}{W_1} \times 100\%$$

式中: R 为干露时青蛤的失水量占青蛤初始重量的比; W_1 为干露前青蛤的质量; W_n 为每个时间点测量青蛤的质量。

1.3 数据处理与分析

实验数据以平均值±标准差(mean±SD)表示, 采用 SPSS 22.0 统计软件进行数据处理和分析。利用单因素方差分析(one-way ANOVA)结合 Duncan 多重比较, 以 $P < 0.05$ 时为差异显著; 利用 Excel 2010 进行数据处理和作图。

2 结果

2.1 不同温度条件下干露胁迫对青蛤死亡率的影响

在不同温度条件下, 干露胁迫对青蛤的死亡率

影响如表 1 所示。T3 和 T10 组在干露 48 h 内未出现死亡青蛤。T20 组干露 24 h 出现死亡个体, 死亡率为 3.33%, 且死亡率有升高趋势, 干露 48 h 死亡率达到 5.33%。对照组未出现死亡情况。

表 1 不同温度和不同干露时间下青蛤的死亡率/%
Tab. 1 Effect of temperature and time on mortality rates of clam under desiccation /%

温度/°C	干露时间/h				
	2	6	12	24	48
3	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	0
20	0	0	0	3.33%	5.33%
对照组	0	0	0	0	0

2.2 不同温度条件下干露胁迫对青蛤失水率的影响

不同温度条件下, 干露胁迫对青蛤失水率影响如图 1, 各温度组均随着干露时间的增加失水加剧。T20 组失水最为严重, T3 组的失水率最低。干露 2 h 时, T10 组和 T20 组的失水率均显著大于 T3 组 ($P < 0.05$)。干露 6、12、24 和 48 h 时, 失水率结果均为 T20 组 > T10 组 > T3 组 ($P < 0.05$)。

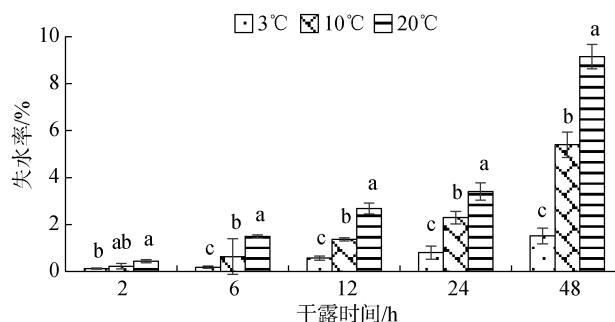


图 1 不同温度和不同干露时间下青蛤的失水率

Fig. 1 Water loss under different desiccation times and temperatures

注: 图中同一干露时间下不同字母表示数据间有显著性差异 ($P < 0.05$), 下同

2.3 不同温度条件下干露胁迫对青蛤呼吸代谢酶活的影响

2.3.1 不同温度条件下干露胁迫对青蛤 LDH 活力的影响

不同温度条件下干露胁迫对青蛤 LDH 活力的影响如图 2 所示。随着干露时间的增加, T3 组、T10 组和 T20 组青蛤 LDH 活力在总体上呈下降趋势, T10 组 LDH 活力大于 T3 组和 T20 组。对照组 LDH 活力

变化不明显。T3 和 T10 组随着干露时间的增加, 青蛤 LDH 活力呈现先下降后短暂上升再下降的趋势, 且均在干露 12 h 至 24 h 出现上升的趋势。

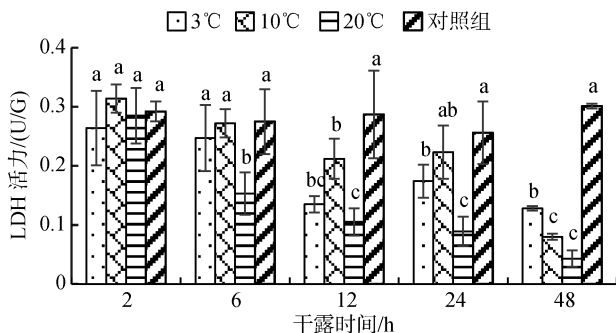


图 2 不同温度和不同干露时间下青蛤的乳酸脱氢酶(LDH)活力变化

Fig. 2 LDH activities under different desiccation times and temperatures

干露 2 h 时, T3 组、T10 组和 T20 组 LDH 活力均低于对照组($P>0.05$)。干露 2 h 至 6 h 时, T20 组青蛤 LDH 活力下降幅度最大, 且干露 6 h LDH 活力显著低于 T3 组、T10 组和对照组($P<0.05$)。干露 12 h 和 24 h 时, T3 组和 T20 组的 LDH 活力显著低于对照组($P<0.05$), T10 组 LDH 活力与对照组无明显差异($P>0.05$)。干露 48 h 时, 实验组青蛤 LDH 活力均显著低于对照组($P<0.05$), 且 T3 组 LDH 活力大于 T10 组和 T20 组($P>0.05$)。

2.3.2 不同温度条件下干露胁迫对青蛤 SDH 活力的影响

不同温度条件下干露胁迫对青蛤 SDH 活力的影响如图 3 所示。随着干露时间的增加, 各温度组的青蛤 SDH 活力在整体上呈下降趋势, 其中 T3 组和 T10

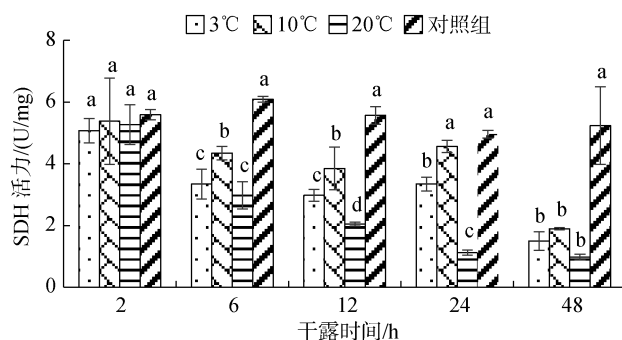


图 3 不同温度和不同干露时间下青蛤琥珀酸脱氢酶(SDH)的活力变化

Fig. 3 SDH activities under different desiccation times and temperatures

组青蛤 SDH 活力呈现先下降后上升再下降的趋势, 且均在干露 12~24 h 时 SDH 活力呈现上升的趋势。对照组青蛤的 SDH 活力整体变化不大。

干露 2 h 时, 实验组和对照组青蛤的 SDH 活力之间无显著性差异($P>0.05$)。干露 6 h 和 12 h 时, 实验组青蛤 SDH 活力均显著低于对照组($P<0.05$), 且 T10 组青蛤 SDH 活力显著大于 T3 组和 T20 组($P<0.05$)。干露 48 h 时, 各温度组的 SDH 活力都显著低于对照组($P<0.05$), 而各温度组之间差异不显著($P>0.05$)。

2.4 不同温度条件下干露胁迫对青蛤抗氧化能力的影响

2.4.1 不同温度条件下干露胁迫对青蛤 SOD 活力的影响

不同温度条件下干露胁迫对青蛤 SOD 活力的影响如图 4 所示。随着干露时间的增加, T3 组、T10 组和 T20 组 SOD 活力均呈现先下降后上升再下降的趋势, 干露 48 h 内整体呈下降趋势。

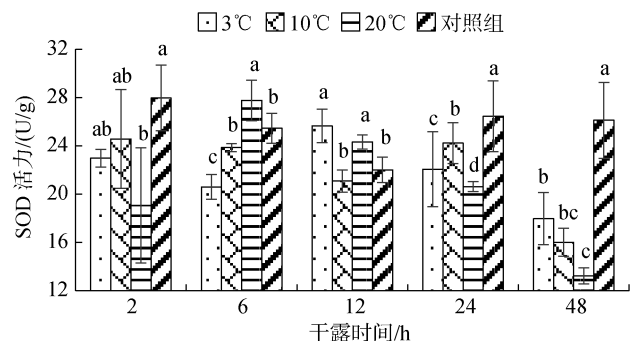


图 4 不同温度和不同干露时间下青蛤超氧化物歧化酶(SOD)活力的变化

Fig. 4 SOD activities under different desiccation times and temperatures

干露 2 h 时, T3 组和 T10 组 SOD 活力低于对照组($P>0.05$), T20 组 SOD 活力显著低于对照组($P<0.05$)。干露 6 h 时, T20 组 SOD 活力最高, T3 组、T10 组和对照组均显著低于 T20 组($P<0.05$)。干露 12 h 时, T3 组和 T20 组 SOD 活力显著高于 T10 组和对照组($P<0.05$)。干露 24 h 时, SOD 活力显著表现为: 对照组>T10 组>T3 组>T20 组($P<0.05$)。

2.4.2 不同温度条件下干露胁迫对青蛤 CAT 活力的影响

不同温度条件下干露胁迫对青蛤 CAT 活力的影响如图 5 所示。随着干露时间的增加, T3 组、T10 组和 T20 组 CAT 活力总体上呈现显著下降的趋势。

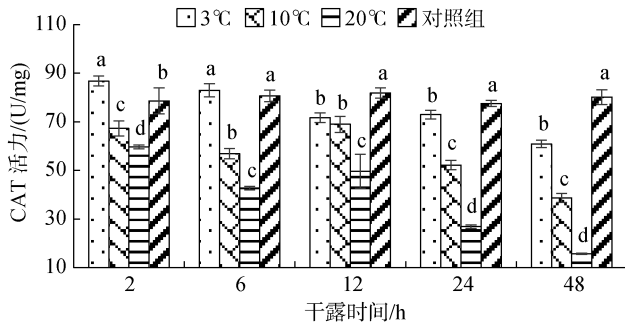


图 5 不同温度和不同干露时间下青蛤过氧化氢酶(CAT)活力的变化

Fig. 5 CAT activities under different desiccation times and temperatures

干露 2 h 时, 各温度组 CAT 活力差异显著, T3 组 > 对照组 > T10 组 > T20 组 ($P < 0.05$)。干露 6 h 时, T3 组和对照组 CAT 活力无显著性差异 ($P > 0.05$), T10 组和 T20 组 CAT 活力均显著低于对照组 ($P < 0.05$)。干露 12 h、24 h 和 48 h 时, 各温度组 CAT 活力均显著低于对照组 ($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 干露胁迫对青蛤死亡率和失水率的影响

青蛤属于潮间带埋栖贝类, 经常会面临各种环境因子的改变, 干露是其必须面临的重要环境变化之一。干露于贝类而言, 本来就是一种环境胁迫, 贝类无法滤食, 而温度又会影响到水生动物的代谢速率^[21]。实验证明, 随着干露时间增加失水率逐渐增加, 这一结果也与刘旭绪研究干露胁迫对魁蚶幼贝失水率的研究结果较为相似^[11]。相同干露时间, 温度越高, 其失水率也越高。干露胁迫下青蛤的死亡率主要表现为: 在干露时长 48 h 内, 3°C 和 10°C 均未出现死亡情况, 在 20°C 条件下干露时长在 24 h 及以后出现死亡情况。研究发现, 随着温度的升高, 青蛤死亡率也随之增加, 这与王文文和杨凤等在菲律宾蛤仔干露实验所得结论相似^[9-10]。而低温干露条件, 能够有效保障青蛤的存活率, 这与于瑞海等^[8]在海湾扇贝耐干露研究中的结果相一致。另外, 对西施舌稚贝的研究表明, 随着干露温度的升高, 死亡时间显著提前^[22]。而对太平洋牡蛎的研究结果表明, 低温干露下贝类的成活率显著高于高温条件^[15]。但是, 也有研究表明施氏獭蛤稚贝对低温干露的耐受性较差^[16], 这可能由于青蛤属广温性贝类, 适应的温度范围广, 可以适应低温干露条件, 而低温环境属于施氏獭蛤

生存海区温度变化范围之外, 导致其死亡率高。

青蛤遭受干露胁迫时, 其双壳紧闭, 以减少体内水分的流失, 从而提高其耐干露能力。在干露期间, 青蛤借助体内的水分可维持短时间机体的存活, 因此青蛤在遭受干露胁迫时其死亡率与失水率密切相关。我们认为, 青蛤 24 h 内的运输基本可以常温进行, 更长时间的运输则最好能在低温条件下运输, 这样会降低青蛤的死亡率。

3.2 干露胁迫对青蛤呼吸代谢的影响

LDH 是无氧呼吸代谢的标志酶, 其可催化丙酮酸转化为乳酸, 乳酸分解为机体提供 ATP^[23], LDH 活力的高低反映了机体无氧代谢的水平^[10, 24-25], SDH 是有氧呼吸的第一个酶, 有氧呼吸时其在三羧酸循环中可以将琥珀酸氧化成延胡索酸^[26], SDH 活力的高低反映了机体有氧代谢的水平^[27], 本实验通过测定干露过程中, 青蛤 LDH 和 SDH 活力, 反映青蛤的呼吸代谢水平。48 h 内, 各温度组 LDH 和 SDH 活力总体上呈下降趋势, 且低于对照组, 表明干露胁迫抑制了青蛤呼吸代谢酶活力。这与干露胁迫对日本囊对虾和三疣梭子蟹呼吸代谢酶的影响研究有所不同, 段亚飞认为, 干露胁迫下脊尾白虾有氧呼吸被抑制, 依靠无氧呼吸代谢维持生理活动, 所以 SDH 活力下降而 LDH 活力升高^[28]。姜娜认为, 无氧呼吸的增加是三疣梭子蟹适应干露胁迫的表现^[29], 而本研究在干露 12 h 和 24 h 之间, 3°C 组和 10°C 组 LDH 活力均出现上升趋势, 这一结果不仅在一定程度上与上述实验结果一致, 无氧呼吸以减少对体内氧气的消耗也与干露胁迫对大竹蛭的呼吸代谢的影响研究较为一致^[30], 究其原因, 可能是由于无氧呼吸出现乳酸的堆积, 激发了 LDH 活力, 从而将乳酸催化为丙酮酸, 为机体维持生命提供能量^[31]。

不同温度条件下, 干露 24 h, 3°C 组与 10°C 组青蛤 LDH 与 SDH 活力均有一定程度的增加, 可能是因为该温度条件下青蛤在 24 h 内失水率较低, 机体保存了一定量的水分, 可以通过有氧呼吸和无氧呼吸共同维持其生命现象。而 20°C 组, 由于其失水量逐渐增加且失水较为严重, 青蛤 LDH 和 SDH 呈持续下降趋势, 且显著低于 3°C、10°C 和对照组, 表明 20°C 组遭受干露胁迫时, 生命活力逐渐下降, 这也可能是 20°C 组青蛤在 24 h 就开始出现死亡, 并死亡率逐渐升高的原因。另外, 3°C 组和 20°C 组的 LDH 和 SDH 活力整体水平上低于 10°C 组, 10°C 组呼吸代谢酶活

力与对照组较为接近,表明在 10℃干露条件下,青蛤呼吸代谢酶活力接近正常养殖情况,青蛤能维持较强的生命活力,所以,该温度条件可作为长途活体运输参考温度。

3.3 干露胁迫对青蛤抗氧化能力的影响

青蛤属于低等无脊椎动物,缺乏免疫球蛋白,其免疫活动基本是靠非特异性免疫来实现。SOD 和 CAT 能够清除和分解体内 O_2^- 、 H_2O_2 等氧化物,减少活性氧自由基(ROS)对机体造成的损伤,在保护细胞免受过氧损伤中起着重要的作用^[32-34]。在生物抗氧化系统中,SOD 和 CAT 相互配合,SOD 首先将 O_2^- 歧化为 O_2 和 H_2O_2 ,CAT 继而将 H_2O_2 转化为 H_2O 。实验通过测定 SOD 和 CAT 活力,反映不同温度干露胁迫下,青蛤抗氧化水平的高低情况。结果表明,各实验组 SOD 活力的出现波动峰值顺序为 20℃组>3℃组>10℃组,且峰值为 20℃组最高,10℃组最低,这可能由于 10℃组青蛤,在干露胁迫下机体受损程度较小,在同样的时间刻需要依靠 SOD 消除的 ROS 没有另外两组^[29]。还表明 20℃组干露胁迫对青蛤机体的损伤程度高于 3℃组和 10℃组,该结果也与呼吸代谢酶所得结果相一致。而各组 SOD 活力出现峰值之后,均呈现出下降趋势,这可能由于干露过程中,机体能量持续消耗,以至于能量不足以持续调控自身 SOD 活力,以减少 ROS 对机体的损伤。三个实验组 CAT 活力总体水平为 3℃组>10℃组>20℃组,其中 3℃组接近对照组水平,20℃组与对照组差异较大,表明高温干露胁迫对青蛤的损伤大于低温干露。实验组 CAT 活力,在干露 12 h 以后,均随着时间的增加而下降。

通过不同温度和干露时间青蛤 SOD 和 CAT 活力的变化表明,干露初期,青蛤是可以调节自身抗氧化能力的强弱来应对干露胁迫,并且更接近养殖水温的 20℃组,表现出 SOD 活力的快速上升,这可能是由于,干露温度为 20℃时,青蛤机体还能依靠壳内保存的水分维持较高的生命活力和较强的非特异性免疫;但是,随着干露时间的延长,三组青蛤抗氧化能力都有显著下降,且明显低于对照组,这可能是青蛤壳内水分不断消耗,只能通过减少自身的生命活动,来应对干露胁迫。

4 结论

综上所述,干露胁迫不仅会加剧青蛤失水,而

且会通过影响其呼吸代谢和抗氧化相关酶活性,导致青蛤死亡。所以,青蛤长途运输应选择在不超 10℃的环境温度下进行,这样青蛤将会保持较好的呼吸代谢功能,且干露胁迫所造成的机体损伤也会较小。而关于青蛤对干露的耐受机制的探讨,还有待于后续实验从转录组,代谢组以及基因组方面进行深入研究。

参考文献:

- [1] 王兴强,曹梅,阎斌伦,等. 青蛤的生物学及其繁殖[J]. 水产科学, 2006, 6: 312-316.
Wang Xingqiang, Cao Mei, Yan Binlun, et al. Biology and reproduction of clam *Cyclina sinensis*[J]. Fisheries Science, 2006, 6: 312-316.
- [2] 李晓英,董志国,阎斌伦,等. 青蛤与文蛤的营养成分分析与评价[J]. 食品科学, 2010, 31(23): 366-370.
Li Xiaoying, Dong Zhiguo, Yan Binlun, et al. Analysis and evaluation of nutritional components in *Cyclina sinensis* and *Meretrix meretrix*[J]. Food Science, 2010, 31(23): 366-370.
- [3] 刘志新,赵莎莎,闫海强,等. 青蛤的养殖与药用价值研究进展[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(14): 4365-4366, 4379.
Liu Zhixin, Zhao Shasha, Yan Haiqiang, et al. Advances in researches on breeding and medical value of *Cyclina sinensis*[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2014, 42(14): 4365-4366, 4379.
- [4] 姜令绪,刘群,王仁杰,等. 三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)幼体不同干露温度下死亡率的研究[J]. 海洋与湖沼, 2012, 43(1): 127-131.
Jiang Lingxu, Liu Qun, Wang Renjie, et al. Larvae mortality of *Portunus trituberculatus* under different desiccation temperatures[J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 2012, 43(1): 127-131.
- [5] Madenjian C P, Rogers G L, Fast A W. Predicting night time dissolved oxygen loss in prawn ponds of Hawaii: Part I. Evaluation of traditional methods[J]. Aquacultural Engineering, 1987, 6(3): 191-208.
- [6] Koji O, Irawan B, Kikutani Y. Studies on the salinity and desiccation tolerances of *Helice tridens* and *Helice japonica* (Decapoda: Grapsidae)[J]. Hydrobiologia, 1998, 386(1): 27-36.
- [7] 刘忠颖,刘卫东,李军,等. 温度和规格对虾夷扇贝干露耐受性的影响[J]. 水产科学, 2018, 37(4): 464-468.
Liu Zhongying, Liu Weidong, Li Jun, et al. Effects of temperature and size on air exposure tolerance in juvenile Japanese Scallop *Patinopecten yessoensis*[J]. Fisheries Science, 2018, 37(4): 464-468.
- [8] 于瑞海,辛荣,赵强,等. 海湾扇贝不同发育阶段耐干露的研究[J]. 海洋科学, 2007, 6: 6-9.

- Yu Ruihai, Xin Rong, Zhao Qiang, et al. Survival rate on the different stages of *Argopecten irradians* in the different exposure times[J]. Marine Sciences, 2007, 6: 6-9.
- [9] 杨凤, 谭文明, 闫喜武, 等. 干露及淡水浸泡对菲律宾蛤仔稚贝生长和存活的影响[J]. 水产科学, 2012, 31(3): 143-146.
- Yang Feng, Tan Wenming, Yan Xiwu, et al. Effects of exposure to air, immersion in fresh-water on growth and survival of juvenile Manila Clam *Ruditapes philippinarum*[J]. Fisheries Science, 2012, 31(3): 143-146.
- [10] 王文文. 干露胁迫对菲律宾蛤仔免疫指标和基因表达的影响[D]. 大连: 大连海洋大学, 2016.
- Wang Wenwen. Effects of exposure in air on immune index and gene expression in *Ruditapes philippinarum*[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2016.
- [11] 刘旭绪, 张秀梅, 覃乐政, 等. 干露时长及温度对魁蚶幼贝潜沙行为及呼吸代谢的影响[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2017, 47(3): 19-26.
- Liu Xuxu, Zhang Xiumin, Qin Lezheng, et al. Effects of air exposure duration and temperature on burrowing behavior and respiratory metabolism of juvenile *Anadara broughtonii*[J]. Periodical of Ocean University of China, 2017, 47(3): 19-26.
- [12] An M I, Choi C Y. Activity of antioxidant enzymes and physiological responses in ark shell, *Scapharca broughtonii*, exposed to thermal and osmotic stress: Effects on hemolymph and biochemical parameters[J]. Comparative Biochemistry & Physiology Part B Biochemistry & Molecular Biology, 2010, 155(1): 1-42.
- [13] 魏伟, 唐保军, 孙鹏, 等. 干露胁迫对文蛤滤水率及呼吸排泄的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2017, 37(6): 37-42.
- Wei Wei, Tang Baojun, Sun Peng, et al. Effects of air exposure on filtration, respiration and excretion rates of *Meretrix meretrix*[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2017, 37(6): 37-42.
- [14] 于瑞海, 王昭萍, 孔令锋, 等. 不同发育期的太平洋牡蛎在不同干露状态下的成活率研究[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2006, 4: 617-620.
- Yu Ruihai, Wang Zhaoping, Kong Lingfei, et al. A study on the survival rate of Pacific oysters in different exposure states at different development stages[J]. Periodical of Ocean University of China, 2006, 4: 617-620.
- [15] Starkie R L, Hargreaves M, Rolland J, et al. Heat stress, cytokines, and the immune response to exercise[J]. Brain Behavior & Immunity, 2005, 19(5): 404-412.
- [16] 刘超, 郭景兰, 彭张明, 等. 施氏獭蛤稚贝对高温和干露的耐受性研究[J]. 水产科学, 2015, 34(3): 169-173.
- Liu Chao, Guo Jinglan, Peng Zhangming, et al. Tolerance of juvenile shellfish *Lutraria sieboldii* to high-temperature and dry exposure[J]. Fisheries Science, 2015, 34(3): 169-173.
- [17] 李忠泓, 王国栋. 硬壳蛤稚贝对淡水浸泡、干露和低温的耐受能力[J]. 水产科学, 2004, 23(6): 14-16.
- Li Zhonghong, Wang Guodong. Tolerance of *Merccenaria mercenaria* juveniles to exposure to freshwater bath, drying and low temperature[J]. Fisheries Science, 2004, 23(6): 14-16.
- [18] 王玉清, 孙同秋, 王冲, 等. 干露及温度变化对毛蚶苗种成活率的影响[J]. 河北渔业, 2016, 2: 1-3.
- Wang Yuqing, Sun Tongqiu, Wang Chong, et al. Effects of desiccation and temperature on survival of juvenile *scapharca subcrenate*[J]. Hebei Fisheries, 2016, 2: 1-3.
- [19] 邱清波, 李由明, 吴丽云, 等. 干露对缀锦蛤、文蛤、美女蛤和织锦巴非蛤耗氧率的影响[J]. 海南热带海洋学院学报, 2018, 25(2): 20-24.
- Qiu Qingbo, Li Youming, Wu Liyun, et al. Effect of exposure on the oxygen consumption rates of *Tapes literatus*, *Meretrix meretrix linnaeuss*, *Circe scripta linnaeus* and *Paphia textzle gmelin*[J]. Journal of Qiongzhou University, 2018, 25(2): 20-24.
- [20] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(s1-2): 248-254.
- [21] Blaxter J H S, Hempel G. The influence of egg size on Herring Larvae (*Clupea harengus* L.)[J]. ICES Journal of Marine Science, 1963, 28(2): 211-240.
- [22] 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(1-4): 10-24.
- [23] Kaja S, Payne A J, Singh, et al. An optimized lactate dehydrogenase release assay for screening of drug candidates in neuroscience[J]. Journal of Pharmacological and Toxicological Methods, 2015, (73): 1-6.
- [24] Viru M. Differences in effects of various training regimens on metabolism of skeletal muscles.[J]. Journal of Sports Medicine & Physical Fitness, 1994, 34(3): 217.
- [25] 蔡彬, 江幸福, 罗礼智, 等. 温、湿度对粘虫蛾飞行能源物质利用的影响[J]. 生态学报, 2002(7): 1068-1074.
- Cai Bin, Jiang Xingfu, Luo Lizhi, et al. Influences of temperature and humidity on utilization of energy substances during flight in the moths of Oriental Armyworm, *Mythimna separata* (Walker)[J]. Acta Ecologica Sinica, 2002(7): 1068-1074.
- [26] 王馨, 王芳, 路允良, 等. 光照强度对三疣梭子蟹呼

- 吸代谢的影响[J]. 水产学报, 2014, 38(2): 237-243.
- Wang Xin, Wang Fang, Lu Yunliang, et al. Effects of light intensity on the respiratory metabolism of swimming crab (*Portunus trituberculatus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(2): 237-243.
- [27] Tilgner H, Lesicki A. Kinetic changes of lactate dehydrogenase in hepatopancreas and abdominal muscle of the crayfish *orconectes limosus* raf. (crustacea: decapoda) after eyestalk removal[J]. Comparative Biochemistry & Physiology Part B Comparative Biochemistry, 1976, 54(1): 111-115.
- [28] 段亚飞, 董宏标, 王芸, 等. 干露胁迫对日本囊对虾呼吸代谢酶活性和 RNA/DNA 比值的影响[J]. 海洋渔业, 2016, 38(1): 42-50.
- Duan Yafei, Dong Hongbiao, Wang Yun, et al. Respiratory metabolic enzyme activities and RNA/DNA ratio of *Marsupenaeus japonicus* after desiccation[J]. Marine Fisheries, 2016, 38(1): 42-50.
- [29] 姜娜, 王芳, 路允良, 等. 干露对三疣梭子蟹抗氧化和应激能力的影响[J]. 水产学报, 2014, 38(12): 1996-2004.
- Jiang Na, Wang Fang, Lu Yunliang, et al. Effects of air-exposure stress on antioxidant capacity and stress response of swimming crab (*Portunus trituberculatus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(12): 1996-2004.
- [30] 李东东, 聂鸿涛, 刘国龙, 等. 盐度和干露对大竹蛏呼吸代谢相关酶的影响[J]. 水产科学, 2019, 38(1): 55-60.
- Li Dongdong, Nie Hongtao, Liu Guolong, et al. Effects of salinity and air exposure on activities of respiratory metabolism-related enzymes in grand jackknife clam *Solen grandis*[J]. Fisheries Science, 2019, 38(1): 55-60.
- [31] 连春盎. 干露胁迫对脊尾白虾呼吸代谢相关酶和低氧诱导因子的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2016.
- Lian Chunang. Effects of dry exposure on the respiratory metabolism-related enzymes and HIF-1 of *Exopalaemon carinicauda*[D]. Shanghai Ocean University, 2016.
- [32] 李允, 齐曼·尤努斯, 努尔麦麦提·艾麦提, 等. 钾处理对杜梨幼苗膜脂过氧化及其保护酶类的影响[J]. 天津农业科学, 2018, 24(6): 1-4.
- LI Yun, Qiman Y, Nurmatami A, et al. Effect of potassium peroxide and protective enzymes of membrane lipid of *Pyrus betulaefolia*[J]. Tianjin Agricultural Sciences, 2018, 24(6): 1-4.
- [33] 王小莉, 张雪娟, 张欣, 等. 不同菌种对中华稻蝗抗氧化酶活性的影响[J]. 山西农业科学, 2019, 47(4): 665-667.
- Wang Xiaoli, Zhang Xuejuan, Zhang Xin, et al. Effects of different strains on the activities of antioxidant enzymes in *Oxya chinensis*[J]. Journal of Shanxi Agricultural Sciences, 2019, 47(4): 665-667.
- [34] 高焕, 阎斌伦, 陈百尧, 等. 干露温度对三疣梭子蟹非特异免疫指标的影响[J]. 水产科学, 2013, 32(5): 280-283.
- Gao Huan, Yan Binlun, Chen Baiyao, et al. The effects of desiccation temperature on non-specific immune indices in swimming crab *Portunus trituberculatus*[J]. Fisheries Science, 2013, 32(5): 280-283.

Effects desiccation on respiratory metabolism and antioxidant enzyme activities of clam *Cyclina sinensis*

DUAN Hai-bao, MAO Shuang, DU Nan, ZHANG Min, GE Hong-xing, WEI Min, MENG Xue-ping, DONG Zhi-guo

(Jiangsu Key Laboratory of Marine Biotechnology, Jiangsu Ocean University, Lianyungang 222005, China)

Received: Jul. 30, 2019

Key words: *Cyclina sinensis*; temperature; desiccation; respiratory metabolism; antioxidation

Abstract: The effect of air-exposure on water loss rate, survival rate and the enzyme activity of the respiratory metabolism-related enzyme and antioxidant-related enzymes of *Cyclina sinensis* was studied. The result showed that the water loss rate of *C. sinensis* increased significantly with the increase of air-exposure time, and the water loss of clams increased under high temperature. There was no death at 3°C and 10°C during 48 hours, however, after more than 24 hours, *C. sinensis* began to die at 20°C, and the mortality rate was 3.33% and 5.33% at 24 hours and 48 hours respectively. The activities of the respiratory metabolism-related enzyme decreased significantly ($P<0.05$) with the increase of air-exposure time, and the activities of the respiratory metabolism-related enzyme at 10°C was higher than that of clams at 3°C and 20°C. The activities of antioxidant-related enzymes decreased significantly ($P<0.05$) with the increase of air-exposure time, and the activities of antioxidant-related enzymes were significantly lower than those in the control group ($P<0.05$) in 48 h at different temperatures. In conclusion, the *C. sinensis* has self-regulation ability under the stress of air-exposure, however, the physiological state of *C. sinensis* will be affected when the air-exposure time exceeds its tolerance limit.

(本文编辑: 康亦兼)