

DOI: 10.12264/JFSC2021-0286

温度、盐度变化对葛氏长臂虾存活和抗氧化能力的影响

胡润豪^{1,2}, 史文军², 王盼^{1,2}, 万夕和², 沈辉², 黎慧², 王李宝², 沙士兵²,
乔毅², 蒋葛², 成婕²

1. 上海海洋大学水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306;

2. 江苏省海洋水产研究所, 江苏 南通 226007

摘要: 本研究在对葛氏长臂虾(*Palaemon gravieri*)进行不同温度和盐度骤变预实验的基础上进行分组设置。温度骤变实验设置 1 个对照组(22.0 °C, 盐度 25)和 4 个处理组(14.0 °C、18.0 °C、26.0 °C 和 30.0 °C, 盐度均为 25); 盐度骤变实验组设置 1 个对照组(25, 温度 22.0 °C)和 4 个处理组(15、20、30、35, 温度均为 22.0 °C); 不同升温实验设置 2.0 °C/d、4.0 °C/d、6.0 °C/d 3 组, 记录葛氏长臂虾各时间点存活率, 并检测肝胰腺总抗氧化能力(T-AOC)、超氧化物歧化酶(T-SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性以及丙二醛(MDA)含量。结果显示, 温度骤变实验中, 仅 30 °C 组存活率变化显著($P<0.05$), 其 96 h 存活率低于 50.00%, 各处理组中 3 种抗氧化酶活性与 MDA 含量均呈现先升高后降低趋势, 其中除 T-SOD 活性 96 h 仍高于对照组外, 其余各组均恢复至接近对照组水平; 升温实验中, 6.0 °C/d 组存活率显著($P<0.05$)降低出现于 27.0 °C, 早于 2.0 °C/d 与 4.0 °C/d 组的 31.0 °C, 且 6.0 °C/d 组整体存活率下降快于另外 2 组, 根据 2.0 °C/d 组存活率数据推算葛氏长臂虾半数存活温度为 31.6 °C, 各实验组升温过程中抗氧化酶活性与 MDA 含量均呈现逐渐升高趋势, 且升高速率随着升温速率增大而加快, 但 3 种升温速率下 T-SOD、CAT 的最大值无显著差异, 而 T-AOC、MDA 最大值随升温速率增大而增加; 盐度骤变实验中, 各组葛氏长臂虾存活率均无显著差异, T-AOC 活性和 MDA 含量总体呈现先升高后降低的变化趋势, 96 h 恢复至接近对照组水平, T-SOD 和 CAT 活性总体均呈现先短暂降低再升高, 而后再降低的趋势, 96 h 均低于对照组水平。结果认为, 温盐变化均会引起葛氏长臂虾体内抗氧化能力的显著变化($P<0.05$); 而一定范围内的温盐变化对葛氏长臂虾存活无显著影响, 另外与降温和盐度变化相比, 升温变化对葛氏长臂虾存活率影响显著($P<0.05$)。本研究旨在为葛氏长臂虾的繁养应用提供科学参考。

关键词: 葛氏长臂虾; 温盐耐受性; 存活率; T-AOC; T-SOD; CAT; MDA

中图分类号: S961

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2022)04-0535-14

葛氏长臂虾(*Palaemon gravieri*), 隶属节肢动物门(Arthropoda)、软甲纲(Malacostraca)、十足目(Decapoda)、长臂虾科(Palaemonidae)、长臂虾属(*Palaemon*), 其甲壳上有红褐色斑纹, 因此在江浙沪一带俗称红毛虾、红芒子等^[1], 主要分布于东海北部海区, 于近海河口附近生活, 为我国近海

地方性特有种^[2], 春季以吕四、长江口区域及浙江北部岛屿周围水域较为密集, 秋冬季则外移向外侧深水海域索饵越冬^[3]。由于其海捕生产季节性较强, 主要在春秋两季上市, 因此如果可以进行人工繁养, 就可以向市场提供鲜活虾, 并延长其上市的时间, 满足消费者的需求。

收稿日期: 2021-06-11; 修订日期: 2021-07-04.

基金项目: 江苏省农业重大新品种创制项目(PZCZ201747); 2019 年南通市科技计划项目(JC2019057); 2020 年第五期南通市“226 工程”科研资助项目; 2021 年江苏省水产良种保存与更新项目(2021-SJ-006).

作者简介: 胡润豪(1996-), 男, 硕士研究生, 主要从事海水虾类繁育与抗逆研究. E-mail: hu970023@163.com;

并列第一作者: 史文军. E-mail: muzhiye080326@126.com

通信作者: 万夕和, 男, 博士, 研究员, 主要从事水产健康养殖及病害防控研究. E-mail: wxh1708@163.com

葛氏长臂虾为暖温性物种,对温度差异存在明显偏好,在较温暖海域全年出现^[4],而在纬度较高海域,其资源量呈现夏秋季节高于冬春季节的特点^[5];其对盐度差异也存在明显偏好^[6]。但目前相关温度及盐度对其影响的研究报道较少,主要报道集中在资源量调查^[7-8]、幼体发育过程^[9]、体内磷脂成分分析^[10]和线粒体基因分析^[11]方面。此外,本课题组从 2019 年开始对葛氏长臂虾开展人工繁养实验,目前已经实现苗种的规模化繁育,并开展了池塘试养实验。实际工作中发现,温盐的变化对葛氏长臂虾存活、发育和生长等有明显的影响。

生物体的正常生理活动会产生活性氧(reactive oxygen species, ROS),这是细胞行使正常功能所必需的^[12],但体内积累过量的 ROS,会对细胞产生毒害作用。环境因子的波动会导致生物体 ROS 的大量积累,从而促使生物体抗氧化水平提高以清除过多的 ROS 并修复氧化损伤,例如温度^[13]、盐度^[14]、溶解氧^[15]和酸碱度^[16]等。水生生物中,酶和非酶成分组成的抗氧化系统在对抗和清除 ROS 中发挥了重要作用,包括超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)和过氧化氢酶(catalase, CAT)等^[17]。T-SOD 与 CAT 的协同作用是抵抗 ROS 的重要防线^[18],T-SOD 是一类专一清除超氧阴离子自由基(O_2^-)的金属蛋白酶的统称,按其结合的金属离子可分为多种 SOD^[19],能够催化 O_2^- 氧化生成 H_2O_2 和 O_2 的歧化反应,从而清除氧自由基^[20],CAT 是一种常见的抗氧化酶,几乎存在于所有利用氧气的活组织中^[21],能够进一步将 H_2O_2 分解为 H_2O 和 O_2 ,预防过量的过氧化氢对细胞产生的毒害作用^[22]。总抗氧化能力(T-AOC)是指机体总体抗氧化能力,能够全面地体现机体的抗氧化防御水平^[23]。丙二醛(malondialdehyde, MDA)是脂质过氧化的终分解产物之一,能够引起对细胞的毒害作用,常被用作检测生物体中氧化应激水平的生物标志物^[24-25]。

本研究通过分析温盐变化对葛氏长臂虾存活和抗氧化能力的影响,探讨重要环境因子温度、盐度的骤变以及不同升温速率对葛氏长臂虾的氧化应激胁迫程度和抗氧化能力的影响,并综合评

定葛氏长臂虾对温度与盐度的适应和抗逆能力,以探究葛氏长臂虾人工繁育和养殖需要的适宜的温盐条件,旨在为葛氏长臂虾人工繁育和养殖提供技术支持与理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验虾取自江苏省海洋水产研究所如东海水虾类科研基地。随机挑选体长(5.0 ± 0.5) cm,体重(1.8 ± 0.4) g,健康活跃、无明显损伤的葛氏长臂虾,于 1000 L 塑料水桶中暂养 7 d,每桶约 500 尾。暂养海水盐度为 25、水温为 $22.0\text{ }^\circ\text{C}$ 或 $15.0\text{ }^\circ\text{C}$,使用功率 2000 W 的电加热棒控制温度,温度波动范围控制在 $\pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$,持续充氧。每天投喂适量的配合饲料,每天换水量约为 1/3。

1.2 实验设计

1.2.1 温盐骤变实验 为分析葛氏长臂虾在温度和盐度骤变胁迫下的存活率和抗氧化能力的变化,从暂养塑料桶中($22.0\text{ }^\circ\text{C}$, 盐度 25)随机挑取葛氏长臂虾,分别直接转入 1 个温度对照组($22.0\text{ }^\circ\text{C}$, 盐度 25)和 4 个温度骤变处理组($14.0\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $18.0\text{ }^\circ\text{C}$ 、 $24.0\text{ }^\circ\text{C}$ 和 $30.0\text{ }^\circ\text{C}$, 盐度均为 25)及 1 个盐度对照组(25, 温度 $22.0\text{ }^\circ\text{C}$)和 4 个盐度骤变处理组(15、20、30 和 35, 温度均为 $22.0\text{ }^\circ\text{C}$),进行温盐骤变胁迫,分别于 0 h、3 h、6 h、9 h、12 h、24 h、48 h、72 h 和 96 h 记录各组存活率并取肝胰腺组织测定抗氧化能力。每组均设 6 个生物学重复,其中 3 个重复用于统计存活率;3 个重复用于肝胰腺组织取样,测定抗氧化能力,每个重复每次随机选取 3 尾个体。每个重复 30 尾虾,分别随机放入 100 L 塑料桶中,实验期间保持正常投喂与换水,使用功率 500 W 的电加热棒控制温度,温度波动范围控制在 $\pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$ 。

1.2.2 温度渐变实验 为分析葛氏长臂虾在不同升温速率下的存活率和抗氧化能力的变化,从暂养塑料桶中($15.0\text{ }^\circ\text{C}$, 盐度 25)随机挑取葛氏长臂虾,转入 3 个升温速率组($2.0\text{ }^\circ\text{C/d}$ 、 $4.0\text{ }^\circ\text{C/d}$ 和 $6.0\text{ }^\circ\text{C/d}$, 盐度 25 保持不变),起始温度为 $15.0\text{ }^\circ\text{C}$,每组保持设定的升温速率持续升温,于升温开始后每 24 h 记录各组存活率并取肝胰腺组织测定抗

氧化能力,直至实验虾全部死亡。每组均设 6 个生物学重复,其中 3 个重复用于统计存活率;3 个重复用于取肝胰腺组织,测定抗氧化能力,每个重复每次随机选取 3 尾个体。每个重复 60 尾虾,分别随机放入 200 L 塑料桶中,实验期间保持正常投喂与换水,使用功率 1000 W 的电加热棒进行升温控制,其中升至设定温度,2 ℃/d、4 ℃/d 和 6 ℃/d 组每次分别需要 20 min、30 min 和 45 min,各设定温度点从升温开始即计时,保持 24 h。

1.3 样品的采集与测定

在每个取样时间点从各实验重复组中随机捞取存活虾 3 尾,用酒精擦净体表,迅速置于解剖盘内进行解剖,取肝胰腺混合,置于液氮中迅速冻存,随后转入-80 ℃冰箱保存。取肝胰腺混样称重,加入 9 倍体积的 0.86%、4 ℃预冷生理盐水,机械研磨制备 10%匀浆,制备好的匀浆于 4 ℃、2000 r/min 离心 15 min,取上清液用于后续测定。采用南京建成科技有限公司试剂盒测定葛氏长臂虾 T-AOC、T-SOD、CAT 活性以及 MDA 含量。T-AOC 活力单位定义为:在 37 ℃时,每分钟每毫升组织蛋白,使反应体系吸光度(OD)值每增加 0.01 时,为 1 个总抗氧化能力单位(U)。T-SOD 活力单位定义为:每毫克组织蛋白在 1 mL 反应液中 SOD 抑制率达 50%时所对应的 SOD 量为 1 个 SOD 活力单位(U)。CAT 活力单位定义为:每克组织蛋白中过氧化氢酶每秒钟分解吸光度为 0.50~

0.55 的底物中的过氧化氢相对量为 1 个过氧化氢酶的活力单位。

1.4 数据分析

数据用 Origin、Excel 和 SPSS 24.0 软件进行统计和分析,结果以 $\bar{x}\pm\text{SD}$ 表示。存活率数据通过 SPSS 24.0 拟合回归方程,计算半数致死温度,不同处理组间采用独立样本 *T* 检验方法比较,处理组内数据采用单因素 ANOVA 检验和 Duncan 多重比较,显著水平为 95% ($P<0.05$)。

2 结果与分析

2.1 温度骤变对葛氏长臂虾存活与抗氧化能力的影响

2.1.1 存活率 温度骤变组葛氏长臂虾 96 h 内存活率变化见表 1。14.0 ℃和 18.0 ℃组与对照组(22.0 ℃)在实验期间虾的存活率保持不变,96 h 存活率均为 100.00%;26.0 ℃和 30.0 ℃组存活率随实验时间延长而逐渐降低,但 26.0 ℃和 30.0 ℃组与其他实验组存在显著差异性($P<0.05$)。26.0 ℃组于实验开始 48 h 后出现死亡个体,96 h 存活率约为 80.00%;30.0 ℃组在实验开始 3 h 后即出现死亡个体,在 6~24 h 死亡个体数量无变化,96 h 存活率低于半数,约为 46.67%。

2.1.2 抗氧化能力 由图 1 可知,对照组(22.0 ℃)各时间点 T-AOC 活性无显著差异,温度骤变处理组 T-AOC 活性均呈现先升高后降低的趋势。14.0 ℃

表 1 温度骤变组葛氏长臂虾的存活率
Tab. 1 Survival rate of *Palaemon gravieri* in sudden temperature change groups

n=3; $\bar{x}\pm\text{SD}$; %

时间/h time	温度/℃ temperature				
	14.0 ^A	18.0 ^A	22.0 ^A	26.0 ^B	30.0 ^C
3	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00 ^a	96.67±3.33 ^a
6	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00 ^a	90.00±3.33 ^b
9	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00 ^a	90.00±3.33 ^b
12	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00 ^a	90.00±3.33 ^b
24	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00 ^a	90.00±3.33 ^b
48	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	90.00±3.33 ^b	63.33±0.00 ^c
72	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	85.56±1.93 ^c	60.00±3.33 ^c
96	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	80.00±3.33 ^d	46.67±3.33 ^d

注: 同列数据中上标小写字母不同表示差异显著($P<0.05$), 同行数据中上标大写字母不同表示差异显著($P<0.05$).
Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$), and values in each row with different capital superscripts are significantly different ($P<0.05$).

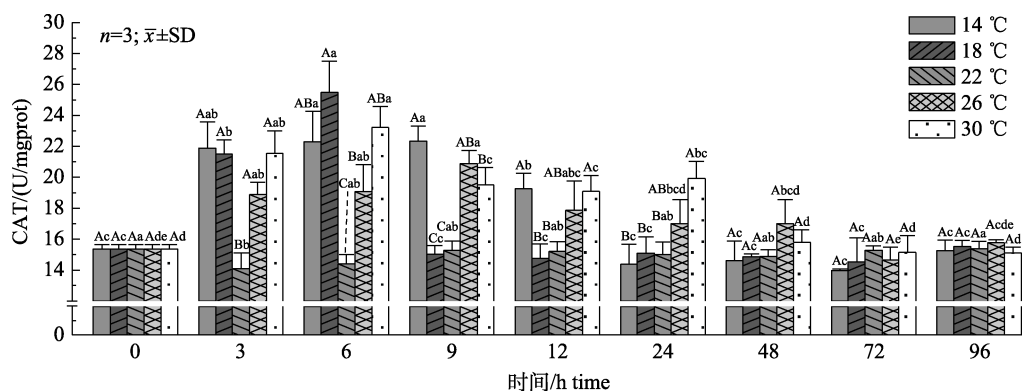


图 1 温度骤变下葛氏长臂虾 T-AOC 活性的变化

同一时间组柱上标小写字母不同表示不同温度间差异显著($P<0.05$), 柱上大写字母不同表示不同时间组差异显著($P<0.05$).

Fig. 1 Change of T-AOC activity in *Palaemon gravieri* under acute temperature change

Different superscripts on each column in the same time group mean significantly different ($P<0.05$) between different temperature, and different capital letters on each column mean significantly different ($P<0.05$) between different time.

和 18.0 °C 组在 6 h 达到峰值, 26.0 °C 和 30.0 °C 在 3 h 达到峰值, 显示温度骤升比温度骤降更易引起葛氏长臂虾 T-AOC 的升高。温度骤变幅度较大的 14.0 °C 和 30.0 °C 组 T-AOC 活性在 3~72 h 均显著高于对照组(22.0 °C) ($P<0.05$), 且于 96 h 恢复至接近对照水平, 而温度骤变幅度较小的 18.0 °C 和 26.0 °C 组 T-AOC 活性在 3~24 h 均显著高于对照组($P<0.05$), 且于 48 h 恢复至接近对照水平, 可以看出, 温度骤变幅度较小时 T-AOC 恢复的较快; 另外, 26.0 °C 组 T-AOC 值在 6~12 h 显著低于其他实验组($P<0.05$)。

由图 2 可知, 对照组(22.0 °C)各时间点 T-SOD 活性无显著差异, 温度骤变处理组 T-SOD 活性均

呈现先升高后降低的趋势, 各实验组 9 h 后酶活性显著高于对照组。14.0 °C 组 T-SOD 活性 6 h 后显著高于对照组, 12 h 达到最高, 晚于其余处理组; 18.0 °C 组 6 h 酶活性达到最大值, 其后逐渐降低且显著高于对照组水平; 26.0 °C 组酶活性于 0~3 h 与对照组无显著差异, 随后于 6 h 逐渐升高, 晚于其余处理组, 9 h 出现最大值; 30.0 °C 组酶活性最大值出现于 3 h, 早于其余处理组, 实验开始后整体酶活性水平显著高于对照组, 表明 30.0 °C 处理对 T-SOD 活性影响最为显著; 温度骤变处理组 T-SOD 活性 96 h 均未恢复对照组水平, 这可能是由于实验虾体内仍有部分过氧化物残留。

由图 3 可知, 对照组(22.0 °C)各时间点 CAT

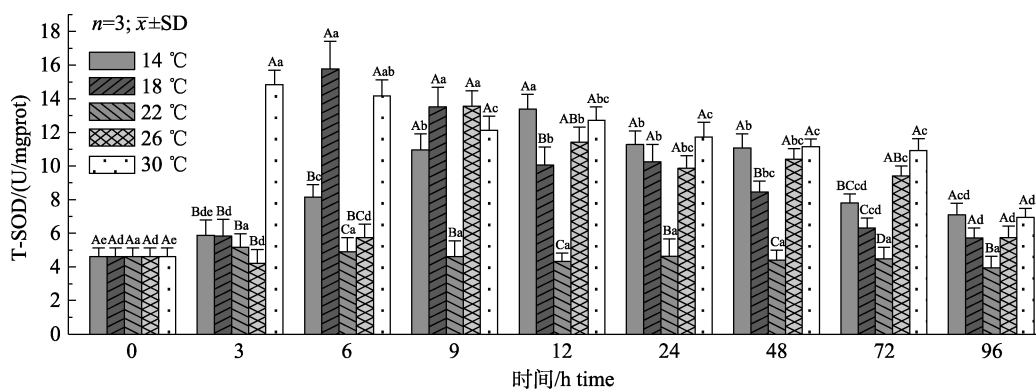


图 2 温度骤变下葛氏长臂虾 T-SOD 活性的变化

同一时间组柱上标小写字母不同表示不同温度间差异显著($P<0.05$), 柱上大写字母不同表示不同时间组差异显著($P<0.05$).

Fig. 2 Change of T-SOD activity in *Palaemon gravieri* under acute temperature change

Different superscripts on each column in the same time group mean significantly different ($P<0.05$) between different temperature, and different capital letters on each column mean significantly different ($P<0.05$) between different time.

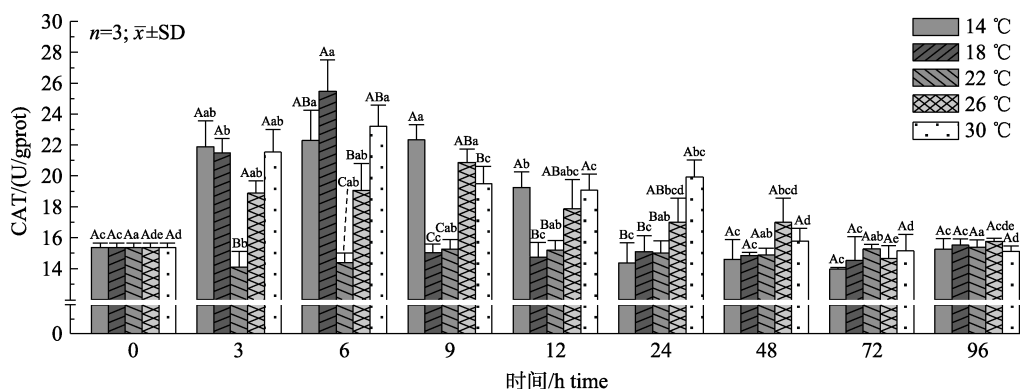


图3 温度骤变下葛氏长臂虾 CAT 活性的变化

同一时间组柱上标小写字母不同表示不同温度间差异显著($P<0.05$), 柱上大写字母不同表示不同时间组差异显著($P<0.05$).

Fig. 3 Change of CAT activity in *Palaemon gravieri* under acute temperature change

Different superscripts on each column in the same time group mean significantly different ($P<0.05$) between different temperature, and different capital letters on each column mean significantly different ($P<0.05$) between different time.

活性无显著差异, 各处理组 CAT 活性均呈先升高后降低的趋势。14.0 °C 组在 3 h、6 h 和 9 h 的 CAT 活性无显著差异, 因此认为在 3 h 已达峰值, 18.0 和 30.0 °C 组 6 h 达到峰值, 14.0 °C 和 26.0 °C 组 9 h 达到峰值, 18.0 °C 组 9 h 已恢复至对照水平, 14.0 °C 组 24 h 后降低到对照水平, 26.0 °C 和 30.0 °C 组 72 h 降低到对照水平。18.0 °C 可能更适合 CAT 酶发挥作用, 因此该温度下 CAT 酶活性最大值显著高于其余组, 且恢复至对照组水平早于其余处理组。

由图 4 可知, 对照组(22.0 °C)各时间点 MDA 含量无显著差异, 各处理组 MDA 含量均呈现先升高后降低的趋势。14.0 °C 组 MDA 含量峰值出

现于 3 h、9 h 后低于对照组, 峰值出现与恢复至对照水平均早于其他处理组; 18.0 °C、26.0 °C 和 30.0 °C 组最高值均出现于 9 h, 并于 12 h 降低至对照水平, 18.0 °C 组 MDA 含量峰值显著高于其余对照组, 说明 18.0 °C 组的脂质过氧化程度高于其他组; 48 h 后 14.0 °C、18.0 °C 和 30.0 °C 组恢复至对照组水平, 72 h 后 26.0 °C 组与其他组无显著性差异。

2.2 不同升温速率对葛氏长臂虾存活与抗氧化能力的影响

2.2.1 存活率 温度渐变组实验虾存活率见表 2, 6.0 °C/d 组与 2.0 °C/d 组差异显著($P<0.05$), 而 4.0 °C/d 与其他两组无显著差异, 6.0 °C/d 组存活

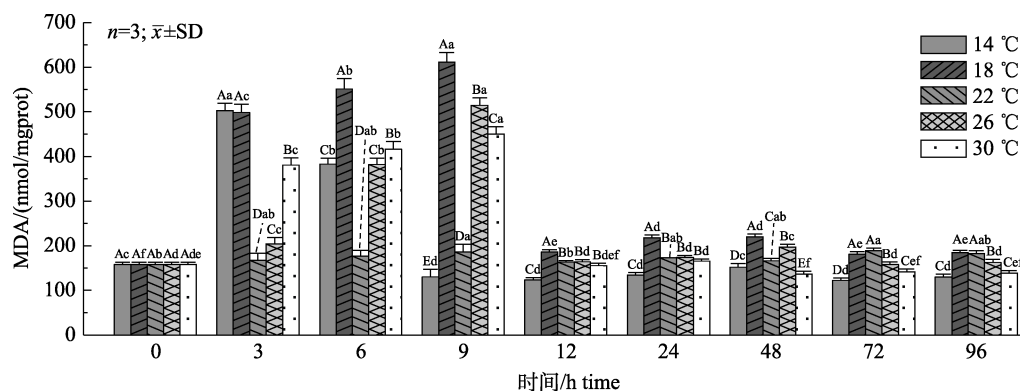


图4 温度骤变下葛氏长臂虾 MDA 含量的变化

同一时间组柱上标小写字母不同表示不同温度间差异显著($P<0.05$), 柱上大写字母不同表示不同时间组差异显著($P<0.05$).

Fig. 4 Changes of MDA content in *Palaemon gravieri* under acute temperature change

Different superscripts on each column in the same time group mean significantly different ($P<0.05$) between different temperature, and different capital letters on each column mean significantly different ($P<0.05$) between different time.

表 2 温度渐变组葛氏长臂虾存活率
Tab. 2 Survival rate of *Palaemon gravieri* in heating rate groups

$n=3; \bar{x} \pm SD; \%$

温度/℃ temperature	升温速率/(℃/d) heating rate		
	2.0 ^A	4.0 ^{AB}	6.0 ^B
15.0	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a
15.0~19.0	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a	—
21.0	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a	96.67±3.33 ^a
21.0~25.0	100.00±0.00 ^a	100.00±0.00 ^a	—
27.0	98.33±0.00 ^b	95.00±1.67 ^b	81.67±0.18 ^b
29.0	95.00±1.67 ^c	—	—
31.0	83.33±0.00 ^d	80.00±1.67 ^c	—
33.0	0.00±0.00 ^e	—	0.00±0.00 ^c
35.0	—	0.00±0.00 ^d	—

注: 同列数据上标小写字母不同表示差异显著($P<0.05$), 同行数据中上标大写字母不同表示差异显著($P<0.05$).

Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$), and in each row with different capital superscripts are significantly different ($P<0.05$).

率显著变化出现于 21.0 ℃, 早于 2.0 ℃/d 与 4.0 ℃/d 组的 27.0 ℃。2.0 ℃/d 和 6.0 ℃/d 两组实验虾 33.0 ℃全部死亡, 其中 2.0 ℃/d 组实验虾

33.0 ℃存活 13 h, 6.0 ℃/d 组实验虾 33.0 ℃存活 1 h 15 min, 4.0 ℃/d 组实验虾 35.0 ℃存活 1 h 40 min。以 2.0 ℃/d 组数据拟合存活率回归方程, 计算出葛氏长臂虾半数实验死亡温度为 31.6 ℃。

2.2.2 抗氧化能力 温度渐变组抗氧化酶活性和 MDA 含量变化见表 3。T-AOC 活性随温度升高不断增加, 4.0 ℃/d、6.0 ℃/d 组各温度点 T-AOC 活性均显著高于 2.0 ℃/d ($P<0.05$), 4.0 ℃/d 与 6.0 ℃/d 组间无显著差异, 可能由于 6.0 ℃/d 组数据较少导致; 升温至 27.0 ℃时 6.0 ℃/d 组的 T-AOC 显著高于其余两组($P<0.05$), 推测升温至 31.0 ℃时 6.0 ℃/d 组的 T-AOC 仍显著高于其余两组($P<0.05$), 从三组 T-AOC 活性比较结果分析, 升温速率的增大会促进 T-AOC 活性的增加。T-SOD 活性逐渐升高, 温度 17.0~25.0 ℃范围内各温度点 4.0 和 6.0 ℃/d 组显著高于 2.0 ℃/d 组 ($P<0.05$); 2.0 ℃/d 组在 15.0~19.0 ℃时酶活水平无显著变化, 升温至 25.0 ℃时 T-SOD 升高至最大值后不再显著增加, 而 4.0 ℃/d 和 6.0 ℃/d 组于

表 3 升温速率对葛氏长臂虾抗氧化能力的影响
Tab. 3 Effects of heating rate on antioxidant capacity of *Palaemon gravieri*

$n=3; \bar{x} \pm SD$

升温速率/(℃/d) heating rate	温度/℃ temperature	T-AOC/(U/mgprot)	T-SOD/(U/mgprot)	CAT/(U/gprot)	MDA/(nmol/mgprot)
2.0	15.0	2.71±0.09 ^b	14.60±1.21 ^{cd}	15.52±0.70 ^d	151.96±0.33 ^d
	17.0	2.52±0.05 ⁱ	13.87±0.100 ^d	15.74±2.61 ^d	118.29±0.17 ^b
	19.0	3.90±0.03 ^g	14.20±0.880 ^d	15.53±0.77 ^d	137.00±0.05 ^g
	21.0	4.30±0.02 ^f	15.51±0.98 ^{bc}	18.88±1.20 ^c	140.59±0.27 ^f
	23.0	4.41±0.00 ^e	17.02±0.82 ^b	21.50±2.49 ^c	144.77±0.02 ^e
	25.0	4.88±0.01 ^c	20.40±0.89 ^a	26.35±2.09 ^b	155.35±0.08 ^c
	27.0	4.50±0.02 ^d	20.39±0.74 ^a	28.31±0.90 ^b	185.74±0.09 ^b
	29.0	5.28±0.04 ^b	21.42±0.96 ^a	31.97±0.54 ^a	183.99±1.24 ^b
4.0	31.0	6.88±0.05 ^a	21.95±1.16 ^a	31.50±0.50 ^a	193.11±0.20 ^a
	15.0	2.70±0.05 ^e	14.50±1.00 ^d	15.91±1.71 ^c	151.81±0.04 ^d
	19.0	4.00±0.04 ^d	16.52±0.99 ^c	17.66±1.37 ^c	133.78±0.12 ^c
	23.0	6.02±0.11 ^c	18.63±0.84 ^b	24.52±0.69 ^b	155.42±0.87 ^c
	27.0	6.58±0.02 ^b	21.29±0.97 ^a	29.76±1.28 ^a	187.32±0.76 ^b
6.0	31.0	7.87±0.49 ^a	21.27±0.83 ^a	31.66±1.10 ^a	192.92±0.04 ^a
	15.0	2.70±0.02 ^c	14.95±1.10 ^c	15.81±0.90 ^c	154.04±1.35 ^c
	21.0	4.69±0.04 ^b	17.91±0.83 ^b	23.07±1.07 ^b	189.56±2.01 ^b
	27.0	7.28±0.02 ^a	22.29±0.25 ^a	30.14±1.91 ^a	207.44±0.27 ^a

注: 同列数据中上标字母不同表示差异显著($P<0.05$).

Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

27.0 ℃后 T-SOD 不再显著增加, 3 组 T-SOD 活性最大值无显著差异, 从结果可以看出升温速率增大会引起 T-SOD 活性增速变大, 但不会影响 T-SOD 活性的最大值。CAT 活性呈逐渐升高的总体变化趋势, 3 实验组 CAT 活性最大值无显著差异, 各温度点 CAT 活性从大到小依次为 6.0 ℃/d、4.0 ℃/d、2.0 ℃/d 组, 2.0 ℃/d 组在 15.0~19.0 ℃过程中 CAT 活性无显著差异, 升温速率对 CAT 活性的影响与其对 T-SOD 的影响类似, 即与 CAT 活性增速呈正相关但不影响 CAT 活性最大值。MDA 含量随时间增加逐渐增高, 且各温度点 MDA 含量差异显著, 2.0 ℃/d 组 15.0~23.0 ℃均低于初始水平, 25.0 ℃后逐渐增加; 4.0 ℃/d 组 19.0 ℃低于初始水平, 后逐渐升高; 值得注意的是 2.0 和 4.0 ℃/d 组在温度较低时均出现 MDA 含量低于对照组的情况, 可见 15.0~23.0 ℃范围内升温速率较慢时, MDA 不易积累。3 种升温速率处理下 27.0 ℃时, 2.0 ℃/d 与 4.0 ℃/d 无显著差异且显

著低于 6.0 ℃/d, 6.0 ℃/d 在 21.0 ℃的 MDA 含量已接近 2.0 和 4.0 ℃/d 组于 27.0 ℃的值, 据此推测升温速率的增加会显著增大 MDA 含量最大值。

2.3 盐度骤变对葛氏长臂虾存活和抗氧化能力的影响

2.3.1 存活率 盐度骤变组葛氏长臂虾存活率变化见表 4, 盐度 15~35 下, 96 h 内, 实验虾存活率组间与组内差异均无统计学意义, 存活率变化表明葛氏长臂虾对不高于 10 的盐度突变有较好的耐受能力。

2.3.2 抗氧化能力 盐度骤变组葛氏长臂虾 T-AOC 活性变化见图 5, 对照组(盐度 25)各时间点无显著差异, 各处理组基本呈现先升高后逐渐下降的趋势。盐度 30 组在 9 h 达最高值, 其余 3 个组最高值于 24 h 出现, 盐度 35 组的 T-AOC 峰值显著高于其他盐度骤变组; 48 h 除 35 组外其他实验组酶活力恢复至对照组水平, 盐度 35 组于 72 h 恢复对照水平, 并保持该酶活水平至实验结束。此外, 盐度 20 组于 96 h 的 T-AOC 活性与其他

表 4 盐度骤变组葛氏长臂虾存活率
Tab. 4 Survival rate of *Palaemon gravieri* in salinity sudden change groups

n=3; $\bar{x}\pm SD$; %

时间/h time	盐度 salinity				
	15	20	25	30	35
3-12	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00
24	100.00±0.00	100.00±0.00	100.00±0.00	96.67±3.33	100.00±0.00
48	100.00±0.00	96.67±3.33	100.00±0.00	96.67±3.33	98.89±1.92
72	100.00±0.00	96.67±3.33	100.00±0.00	96.67±3.33	96.67±0.00
96	97.78±1.92	96.67±3.33	98.89±1.92	96.67±3.33	96.67±0.00

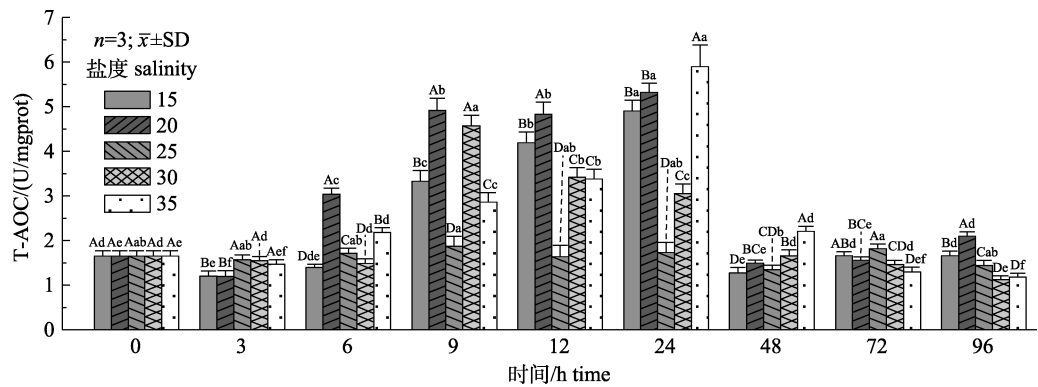


图 5 盐度骤变下葛氏长臂虾 T-AOC 活性的变化

同一时间组柱上标小写字母不同表示不同盐度间差异显著($P<0.05$), 柱上大写字母不同表示不同时间组差异显著($P<0.05$).

Fig. 5 Changes of T-AOC activity in *Palaemon gravieri* under sudden salinity change
Different superscripts on each column in the same salinity group mean significantly different ($P<0.05$) between different salinity, and different capital letters on each column mean significantly different ($P<0.05$) between different time.

组存在显著差异, 这可能是采样个体差异造成的。

盐度骤变组葛氏长臂虾 T-SOD 活性变化见图 6, 对照组(盐度 25)各时间点无显著差异, 处理组 T-SOD 活性均显著升高后降低至对照水平。盐度 15 组 T-SOD 活性在 9 h 和 12 h 无显著差异, 认为其活性 9 h 已升至峰值; 盐度 15 和盐度 20 组的 T-SOD 最大值出现于实验开始后 9 h, 早于盐度 30、35 组的 12 h, 说明盐度降低更易影响 T-SOD 的升高; 盐度 20、35 组 48 h 恢复至对照水平, 早于盐度 15、30 组; 96 h 各实验组酶活力均低于对照组, 提示盐度骤变后, 96 h 不足以满足处理组活性恢复至对照组水平, 或在不同盐度稳态下, 葛氏长臂虾体内 T-SOD 活性有所差异。

盐度骤变组葛氏长臂虾 CAT 活性变化见图 7, 对照组(盐度 25)各时间点无显著差异, 处理组 CAT 活性总体均呈显著升高后降低, 最终低于对照组水平。0~6 h 各组 CAT 活性均降低, 且盐度 15 组显著高于其他实验组($P<0.05$)。各实验组 CAT 活性于 6 h 后升高, 盐度 15 组峰值出现在 12 h; 盐度 20 组 9 h、12 h、24 h 酶活力无显著差异, 因此视作 9 h 已达到峰值; 盐度 30、35 组 24 h 升至峰值。各实验组 CAT 活性自 48 h 后显著低于对照组, 且除盐度 35 组外, 其余处理处基本保持稳定水平, 说明盐度骤变后, 在不同盐度稳态下, 葛氏长臂虾体内 T-SOD 活性有所差异。

盐度骤变组葛氏长臂虾 MDA 含量变化见图 8,

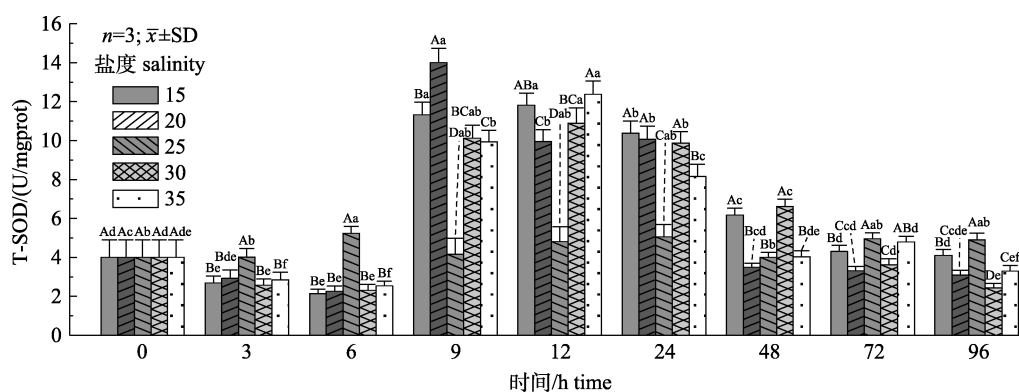


图 6 盐度骤变下葛氏长臂虾 T-SOD 活性的变化

同一时间组柱上标小写字母不同表示不同盐度间差异显著($P<0.05$), 柱上大写字母不同表示不同时间组差异显著($P<0.05$)。

Fig. 6 Changes of T-SOD activity in *Palaemon gravieri* under sudden salinity change

Different superscripts on each column in the same salinity group mean significantly different ($P<0.05$) between different salinity, and different capital letters on each column mean significantly different ($P<0.05$) between different time.

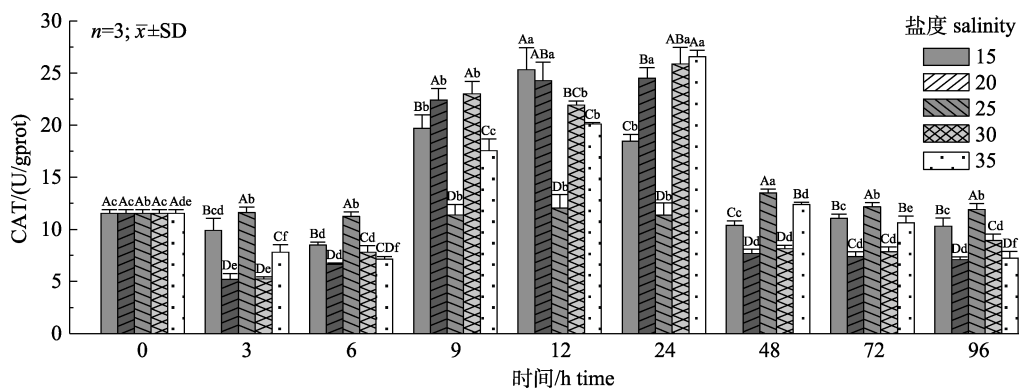


图 7 盐度骤变下葛氏长臂虾 CAT 活性的变化

同一时间组柱上标小写字母不同表示不同盐度间差异显著($P<0.05$), 柱上大写字母不同表示不同时间组差异显著($P<0.05$)。

Fig. 7 Changes of CAT activity in *Palaemon gravieri* under sudden salinity change

Different superscripts on each column in the same salinity group mean significantly different ($P<0.05$) between different salinity, and different capital letters on each column mean significantly different ($P<0.05$) between different time.

对照组(盐度 25)各时间点无显著差异, 处理组 MDA 含量均显著升高后降低, 并逐渐恢复至接近对照组水平。盐度骤降组(盐度 15, 盐度 20)中, 盐度 15 组 6 h、9 h 显著高于对照组($P<0.05$), 盐度 20 组 24 h 高于对照组, 其余时间点 MDA 含量与对照组无显著差异; 盐度骤升组(盐度 30, 盐度

35) MDA 含量在实验开始后 6~72 h 显著高于对照组($P<0.05$)。除盐度 20 组 MDA 含量最大值出现于 24 h 外, 其余 3 组最大值均出现于 9 h, 盐度 15 和盐度 35 组最大值无显著差异, 且高于盐度 20 和盐度 30 组, 可见盐度突变幅度增大, MDA 含量最大值相应增加。

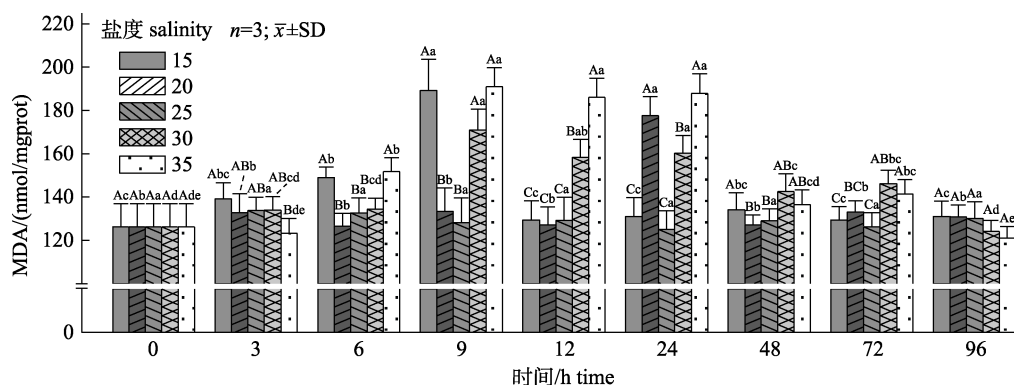


图8 盐度骤变下葛氏长臂虾 MDA 含量的变化

同一时间组柱上标小写字母不同表示不同盐度间差异显著($P<0.05$), 柱上大写字母不同表示不同时间组差异显著($P<0.05$)。

Fig. 8 Changes of MDA content in *Palaemon gravieri* under sudden salinity change

Different superscripts on each column in the same salinity group mean significantly different ($P<0.05$) between different salinity, and different capital letters on each column mean significantly different ($P<0.05$) between different time.

3 讨论

3.1 温盐变化对葛氏长臂虾存活率的影响

温度是水生生物生长发育过程中重要的环境因子, 对其存活、生长等有重要影响^[25]。本实验中, 葛氏长臂虾能够在 14.0~30.0 °C 的温度范围内存活, 水环境温度高于 26.0 °C 后实验虾存活率逐渐降低, 30.0 °C 条件下 96 h 存活率低于 50.00%, 因此推测葛氏长臂虾生存的最适温度应低于 26.0 °C, 远低于凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)^[26]、脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)^[25]等广温性虾类。虾类池塘养殖中, 温度易受到影响^[27], 由于葛氏长臂虾对高温耐受能力较弱, 气温升高导致的水体环境温度升高, 对其池塘养殖具有重要影响。本实验采用 3 种升温速率尝试了解这种短时间快速升温可能对葛氏长臂虾的影响以及危害性, 结果表明升温达 21.0 °C 后, 升温速率的提高会降低实验虾存活率, 但在升温至 27.0 °C 前存活率均高于 80.00%; 这一结果可能说明在一定温度阈值前, 升温速率对葛氏长臂虾存活率无显著影响, 但超过阈值后, 随着升温速率的增加,

葛氏长臂虾的存活率会显著降低。结合以上结果, 本项目组认为在葛氏长臂虾生产实际中, 特别是繁殖期室内育苗亲虾升温促熟时, 前期可选择 6.0 °C/d, 后期接近最适温度时选择 2.0 °C/d, 以提高工作效率。

甲壳动物对盐度有一定的耐受范围, 当盐度超过这一范围时, 机体可能发生死亡^[28]。研究发现实验虾能在 15~35 盐度范围内生存, 盐度对葛氏长臂虾的存活影响不显著, 证明葛氏长臂虾在该盐度范围有较好的耐受能力。此外, 盐度的变化还会影响个体的生长, 盐度过高或过低都会增加机体用于调节渗透压的能量消耗, 从而相应减少了提供给生长发育的能量^[29]。本实验中观察到盐度在 15 和 35 时实验虾活力较低, 基本不游动, 摄食明显减弱, 推测盐度的变化可能同样也对葛氏长臂虾生长发育存在影响。

3.2 温盐变化对葛氏长臂虾抗氧化能力的影响

机体内 ROS 的动态平衡是维持正常生理功能的重要前提, 环境因子的变化会干扰这一平衡, 正常情况下, 机体的免疫系统能够修复这种干扰^[30],

但当环境压力超过机体的耐受范围, 则会导致 ROS 的动态平衡被打破, 即机体受到氧化损伤^[31]。虾类的抗氧化能力主要依靠非特异性免疫, T-AOC 是反映机体总体抗氧化能力的重要指标, 可以全面地体现机体的抗氧化防御水平^[23], 而 SOD、CAT 等抗氧化酶与温度引起的氧化胁迫有关^[32]。

养殖环境温度的变化, 会影响机体的抗氧化酶和非特异性免疫酶活性^[33], 以及导致 MDA 含量的显著变化^[34]。本实验中, 温度骤变后 T-AOC 活性随处理时间先升高后降低, 且温度变化幅度越大 T-AOC 活性恢复正常水平所需时间越长, 说明温度骤变会影响抗氧化能力, 这与高焕等^[35]对脊尾白虾 T-AOC 的研究结果类似, 升温与降温对 T-AOC 活性影响有差异, 这可能是由于温度骤升导致的 ROS 积累效应强于温度骤降, 因此需要更多时间消除 ROS, 以此推测葛氏长臂虾对低温耐受能力强与高温。SOD 与 CAT 的活性在温度的骤变后均显著增加, 随着处理时间的延长又逐渐降低, 这与 T-AOC 的变化趋势相适应, 但 T-SOD 活性未降低至正常水平, 推测 T-SOD 比 CAT 更易受温度变化影响。MDA 能够反映机体氧化胁迫程度^[36], 本实验中 MDA 含量 12 h 已恢复正常水平, 表明此时氧化胁迫程度较低; 18.0 °C 下 96 h 的 MDA 含量与对照相等, 而其余实验组均低于对照, 表明温度的变化会改变 MDA 含量, 推测这可能是由于温度变化使机体抗氧化能力增强。值得注意的是, MDA 恢复正常早于 T-SOD、CAT, 有研究人员指出, 抗氧化酶活性的升高可能不是因为 ROS 的增加, 而是防御系统的增强以应对环境胁迫^[37], 根据本实验结果推测, 12 h 前抗氧化系统的增强是由于 ROS 积累与环境胁迫的共同效果, 而 12 h 后主要应对环境胁迫压力。

室外池塘养殖是水生生物的主要养殖方式之一, 夏季高温导致的池塘水体升温可能对一些耐高温能力较弱的水生生物产生影响, Liu 等^[38]研究了慢性升温对牙鲆各类酶活性的影响, 指出慢性升温会导致 SOD、CAT 酶活性逐渐升高再降低, 丁原刚等^[39]指出慢速升温与快速升温会引起刺参(*Apostichopus japonicus*)的免疫应激反应, 且两种升温方式下 T-AOC、SOD 的变化趋势存在差

异。本实验设计了 3 种升温速率, 处理后抗氧化酶活力逐渐升高, 并在达到最大值后保持该水平, 这可能由于升温后机体需持续应对环境胁迫, 因此抗氧化酶活力并未降低。研究结果表明, 升温速率增加会导致 T-AOC、T-SOD、和 CAT 酶活力升高速率加快, 且升温速率增加导致 T-AOC 活力最大值显著增加。研究人员发现热应激后凡纳滨对虾的几种非特异性免疫酶中, SOD、CAT 对应激源更为敏感^[40], 这与本实验结果一致, 此外 MDA 含量在升温期间持续增加, 表明机体受到的氧化胁迫逐渐增强。

盐度是水产养殖中重要的环境因子, 直接影响虾类多种生理活动, 如生长、代谢等^[28]。盐度波动会影响水体渗透压, 从而导致水生生物需要调节自身渗透压以应对环境压力, 而在这个过程中往往伴随抗氧化酶活性的变化^[41]。吴益星等^[42]报道, 低盐养殖大黄鱼(*Larimichthys crocea*)使 T-AOC、CAT 活性升高, 而使 SOD 活性、MDA 含量降低。龙晓文等^[43]报道雌性三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)在盐度 10~25 范围内, 随水体盐度的升高, 肝胰腺中的 T-SOD 活性显著上升, T-AOC 活性呈波动变化, MDA 含量显著下降。本实验中, 盐度骤变后 T-AOC 活性先升高后降低, 盐度骤降组的活性在升高前降低, 而在盐度骤升组未出现这种状况, 说明 T-AOC 对高盐度耐受能力强于低盐度。盐度升高组最终酶活性低于对照水平, 盐度 35 组的峰值最大, 而盐度降低组 T-AOC 活性再次升高, 高于对照水平。与张龙岗等^[44]对克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)急性盐度胁迫后 SOD、CAT 的活性变化研究结果类似, 本实验中, 两种抗氧化酶 T-SOD、CAT 均先降低后升高再降低。生物在适宜盐度范围内时其非特异性免疫酶类活性较高^[45], 盐度变化后最终抗氧化酶活力低于对照组, 推测 T-SOD 与 CAT 的最适盐度为 25。MDA 含量变化先升高后降低, 最终盐度骤升组含量低于对照, 这可能是由于盐度增加导致的 T-AOC 增加, 使得抗氧化系统降解活性氧的能力更为高效。与温度相比, 盐度骤变后 MDA 的增加量较低, 证明盐度骤变导致的葛氏长臂虾氧化胁迫弱于温度骤变, 也即葛氏长臂虾对盐度变化耐受较好。

参考文献:

- [1] Ding T M, Song H T. The study on biology of *Palaemon gravieri* in East China Sea[J]. Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science), 2002, 21(1): 1-5. [丁天明, 宋海棠. 东海葛氏长臂虾 *Palaemon gravieri* 生物学特征研究[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2002, 21(1): 1-5.]
- [2] Yin T T. Reproductive biology of representative species of three genera, the subfamily Palaemoninae[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2012. [尹婷婷. 长臂虾亚科三属代表种的生殖生物学研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2012.]
- [3] Li X Z, Liu R Y, Liang X Q. The zoogeography of Chinese Palaemonoidea fauna[J]. Chinese Biodiversity, 2003, 11(5): 393-406. [李新正, 刘瑞玉, 梁象秋. 中国长臂虾总科的动物地理学特点[J]. 生物多样性, 2003, 11(5): 393-406.]
- [4] Liu M H, Liang J, Xu H X. Spatio-temporal niche of dominant shrimp species in the Zhongjieshan Islands Marine Protected Area, China[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2020, 31(5): 1746-1752. [刘明华, 梁君, 徐汉祥. 中街山列岛海洋保护区虾类优势种时空生态位[J]. 应用生态学报, 2020, 31(5): 1746-1752.]
- [5] Jian T T, Luo M B, Zhang H, et al. Community ecology of trawl fishery resources in Shengsi Sea area[J]. Marine Fisheries, 2020, 42(6): 687-698. [简婷婷, 罗民波, 张衡, 等. 嵊泗海域拖网渔业资源群落生态学研究[J]. 海洋渔业, 2020, 42(6): 687-698.]
- [6] Zheng W M, Yang G, Zhang T, et al. Community structure analysis of swimming species in the Yangtze River Estuary Hengsha Shoal and adjacent waters in summer[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2020, 27(12): 1477-1484. [郑文明, 杨刚, 张涛, 等. 长江口横沙浅滩及邻近水域夏季游泳动物群落结构分析[J]. 中国水产科学, 2020, 27(12): 1477-1484.]
- [7] Tang X J, Song D D, Wu L, et al. Analysis on resource status and aquaculture potential of *Palaemon gravieri* in the East China Sea and the southern Yellow Sea[J]. Marine Fisheries, 2019, 41(6): 744-752. [汤晓建, 宋大德, 吴磊, 等. 东海和黄海南部葛氏长臂虾资源状况及养殖潜力概述[J]. 海洋渔业, 2019, 41(6): 744-752.]
- [8] He Z T, Xu K D, Xue L J, et al. Estimation of biological parameter, biomass, and yield for *Palaemon gravieri* in the northern area of East China Sea[J]. Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science), 2009, 28(3): 286-291. [贺舟挺, 徐开达, 薛利建, 等. 东海北部葛氏长臂虾生长死亡参数及资源量、渔获量的分析[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2009, 28(3): 286-291.]
- [9] Liang X Q, Zhou Z M. The larval development of *Palaemon gravieri* (Yu)[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1994, 25(1): 100-112. [梁象秋, 周昭曼. 葛氏长臂虾的幼体发育[J]. 海洋与湖沼, 1994, 25(1): 100-112.]
- [10] Yang W G, Lou Y J, Dong M M. Study of phospholipids in *Palaemon gravieri*[J]. Marine Sciences, 2001, 25(7): 45-46, 51. [杨文鸽, 娄永江, 董明敏. 葛氏长臂虾 *Palaemon gravieri* 磷脂成分的分析[J]. 海洋科学, 2001, 25(7): 45-46, 51.]
- [11] Kim S T, Kim G, Yoon T H, et al. Complete mitochondrial genome of *Palaemon gravieri* (Yu, 1930) (Crustacea: Decapoda: Palaemonidae)[J]. Mitochondrial DNA Part A, 2017, 28(2): 277-278.
- [12] Lushchak V I. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals[J]. Aquatic Toxicology, 2011, 101(1): 13-30.
- [13] Wang B Y, Guo C, Huang P Y, et al. Effects of acute raising temperature stress and recovery on antioxidant enzyme activities of Amur sleeper *Perccottus glenii*[J]. Fisheries Science, 2020, 39(3): 394-399. [王博雅, 郭策, 黄璞祎, 等. 急性升温胁迫与恢复对葛氏鲈塘鳢抗氧化酶活性的影响[J]. 水产科学, 2020, 39(3): 394-399.]
- [14] Zhao G Q, Qiu S Y, Huang H L, et al. Effects of abrupt and gradual changes in salinity on survival status and molting of *Euphausia superba*[J]. Marine Fisheries, 2018, 40(3): 360-367. [赵国庆, 邱盛尧, 黄洪亮, 等. 盐度骤变和渐变对南极大磷虾生存状况和蜕壳的影响[J]. 海洋渔业, 2018, 40(3): 360-367.]
- [15] Yang M, Sun S M, Fu H T, et al. Hypoxia and reoxygenation on antioxidant enzyme activities and histological structure of *Macrobrachium nipponense*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2019, 26(3): 493-503. [杨明, 孙盛明, 傅洪拓, 等. 低氧和复氧对日本沼虾抗氧化酶活力及组织结构的影响[J]. 中国水产科学, 2019, 26(3): 493-503.]
- [16] Muralisankar T, Kalaivani P, Thangal S H, et al. Growth, biochemical, antioxidants, metabolic enzymes and hemocytes population of the shrimp *Litopenaeus vannamei* exposed to acidified seawater[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2021, 239: 108843.
- [17] Parrilla-Taylor D P, Zenteno-Savín T, Magallón-Barajas F J. Antioxidant enzyme activity in Pacific whiteleg shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in response to infection with white spot syndrome virus[J]. Aquaculture, 2013, 380-383: 41-46.
- [18] Sepasi Tehrani H, Moosavi-Movahedi A A. Catalase and its mysteries[J]. Progress in Biophysics and Molecular Biology, 2018, 140: 5-12.
- [19] Wang M Q, Su X R, Li Y, et al. Cloning and expression of the Mn-SOD gene from *Phascolosoma esculenta*[J]. Fish &

- Shellfish Immunology, 2010, 29(5): 759-764.
- [20] He Y. Blueberry leaves superoxide dismutase extraction and purification and application[D]. Changchun: Jilin Agricultural University, 2012. [贺阳. 越橘叶超氧化物歧化酶的提取纯化及应用研究[D]. 长春: 吉林农业大学, 2012.]
- [21] Ighodaro O M, Akinloye O A. First line defence antioxidants-superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX): Their fundamental role in the entire antioxidant defence grid[J]. Alexandria Journal of Medicine, 2018, 54(4): 287-293.
- [22] Yu D L, Wang C L. Progresses in the research of catalase[J]. Chinese Journal of Histochemistry and Cytochemistry, 2016, 25(2): 189-194. [于德玲, 王昌留. 过氧化氢酶的研究进展[J]. 中国组织化学与细胞化学杂志, 2016, 25(2): 189-194.]
- [23] Lu Y P, Zhang X X, Li J T, et al. Effects of dietary protein levels on growth, muscle composition and enzyme activities of juvenile crayfish *Cherax quadricarinatus*[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2019, 47(10): 181-185. [鲁耀鹏, 张秀霞, 李军涛, 等. 饲料蛋白质水平对红螯螯虾幼虾生长、肌肉组成和酶活性的影响[J]. 江苏农业科学, 2019, 47(10): 181-185.]
- [24] Liu X L, Xi Q Y, Yang L, et al. The effect of dietary *Panax ginseng* polysaccharide extract on the immune responses in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2011, 30(2): 495-500.
- [25] Li Z H, Wang Y, Li G G, et al. Effects of temperature and salinity on the growth and non-specific immune indices of *Exopalaemon carinicauda*[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2019(6): 78-82. [李志辉, 王玉, 李光光, 等. 温度和盐度对脊尾白虾生长和非特异性免疫的影响[J]. 海洋湖沼通报, 2019(6): 78-82.]
- [26] Zhao Y C, Wang R J, Shen M, et al. Effects of high-salt stress on daily weight gain, osmoregulation and immune related enzyme activities in *Litopenaeus vannamei* postlarvae[J]. Journal of Fisheries of China, 2019, 43(4): 833-840. [赵玉超, 王仁杰, 沈敏, 等. 高盐对凡纳滨对虾仔虾生长、渗透调节及免疫相关酶活性的影响[J]. 水产学报, 2019, 43(4): 833-840.]
- [27] Yang S P, Wang C G, Li Y H, et al. Adaptability of juvenile *Penaeus penicillatus* to salinity and temperature[J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2016, 44(10): 298-301. [杨世平, 王成桂, 李扬海, 等. 长毛明对虾幼虾对盐度和温度的适应性[J]. 江苏农业科学, 2016, 44(10): 298-301.]
- [28] Dong T T, Cui Y T, Wang Z K, et al. Effect of high-salinity stress on growth, metabolism, and antioxidant enzyme activities of *Litopenaeus vannamei*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2020, 51(5): 1239-1245. [董甜甜, 崔彦婷, 王忠凯, 等. 高盐胁迫对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)生长、代谢和抗氧化酶活力的影响[J]. 海洋与湖沼, 2020, 51(5): 1239-1245.]
- [29] Ding S. The basic research of effects of salinity fluctuation on the ecophysiology of *Fenneropenaeus chinensis*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2007. [丁森. 盐度变化对中国明对虾生理生态学影响的基础研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2007.]
- [30] Włodarczyk A, Wilczek G, Wilczek P, et al. Relationship between ROS production, MnSOD activation and periods of fasting and re-feeding in freshwater shrimp *Neocaridina davidi* (Crustacea, Malacostraca)[J]. PeerJ, 2019, 7: e7399.
- [31] Li X, Qu Y, Zhang Q Q, et al. Effects of seawater acidification and thermal stress on the antioxidant responses and energy metabolism of *Alpheus japonicus* Miers[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2020, 51(6): 1412-1421. [李笑, 曲艺, 张倩倩, 等. 海水酸化和热应激对日本鼓虾氧化应激和能量代谢的影响[J]. 海洋与湖沼, 2020, 51(6): 1412-1421.]
- [32] Sun J H, Xu Y X, Ji Y B, et al. Effects of sudden drop in temperature on activities of antioxidant enzymes of *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Tianjin Agricultural University, 2008, 15(3): 7-10, 28. [孙金辉, 徐赞霞, 季延滨, 等. 温度骤降对南美白对虾仔虾抗氧化机能的影响[J]. 天津农学院学报, 2008, 15(3): 7-10, 28.]
- [33] Yuan X C, Jiang F, Shi Y H, et al. Effects of high temperature stress on antioxidative and non-specific immunity indices of one-year-old *Alosa sapidissima*[J]. Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences), 2021, 47(1): 107-117. [袁新程, 蒋飞, 施永海, 等. 高温胁迫对美洲鲥1⁺龄鱼种抗氧化与非特异性免疫相关指标的影响[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2021, 47(1): 107-117.]
- [34] Jiang X Y, Huang M, Yang X G, et al. Antioxidant enzyme activities of juvenile rainbow and steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to acute high-temperature stress[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2021, 28(1): 57-65. [姜旭阳, 黄铭, 杨小刚, 等. 急性高温胁迫对虹鳟和硬头鳟幼鱼抗氧化酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2021, 28(1): 57-65.]
- [35] Gao H, Xue B, Zhao L, et al. Analysis to the activities of five factors in response to temperature stress in *Exopalaemon carinicauda*[J]. Journal of Huaihai Institute of Technology (Natural Science Edition), 2014, 23(4): 72-75. [高焕, 薛蓓, 赵莲, 等. 脊尾白虾应答温度变化的5种因子活性分析[J]. 淮海工学院学报(自然科学版), 2014, 23(4): 72-75.]
- [36] Grotto D, Maria L S, Valentini J, et al. Importance of the lipid peroxidation biomarkers and methodological aspects FOR malondialdehyde quantification[J]. Quimica Nova,

- 2009, 32(1): 169-174.
- [37] García-Triana A, Zenteno-Savín T, Peregrino-Uriarte A B, et al. Hypoxia, reoxygenation and cytosolic manganese superoxide dismutase (cMnSOD) silencing in *Litopenaeus vannamei*: Effects on cMnSOD transcripts, superoxide dismutase activity and superoxide anion production capacity[J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2010, 34(11): 1230-1235.
- [38] Liu Y F, Ma D Y, Zhao C Y, et al. Histological and enzymatic responses of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) and its hybrids (*P. olivaceus* ♀ × *P. dentatus* ♂) to chronic heat stress[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2014, 40(4): 1031-1041.
- [39] Ding Y G, Pan L Q, Wang L. Effect of temperature on immune and antioxidant parameters of *Apostichopus japonicus*[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2016(3): 91-99. [丁原刚, 潘鲁青, 王林. 温度变化对刺参免疫防御和抗氧化指标的影响[J]. 海洋湖沼通报, 2016(3): 91-99.]
- [40] Estrada-Cárdenas P, Cruz-Moreno D G, González-Ruiz R, et al. Combined hypoxia and high temperature affect differentially the response of antioxidant enzymes, glutathione and hydrogen peroxide in the white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2021, 254: 110909.
- [41] Paital B, Chainy G B N. Antioxidant defenses and oxidative stress parameters in tissues of mud crab (*Scylla serrata*) with reference to changing salinity[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2010, 151(1): 142-151.
- [42] Wu Y X, Ye K, Wang Z Y, et al. Effects of low salinity culture on growth, muscle nutritional composition and antioxidant capacity of *Larimichthys crocea*[J]. *Journal of Jimei University (Natural Science)*, 2020, 25(3): 171-179. [吴益星, 叶坤, 王志勇, 等. 低盐养殖对大黄鱼生长、肌肉营养成分及抗氧化能力的影响[J]. 集美大学学报(自然科学版), 2020, 25(3): 171-179.]
- [43] Long X W, Wu R F, Hou W J, et al. Effects of water salinity on the growth, ovarian development, osmoregulation, metabolism and antioxidant capacity of adult female swimming crab (*Portunus trituberculatus*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 43(8): 1768-1780. [龙晓文, 吴仁福, 侯文杰, 等. 水体盐度对雌性三疣梭子蟹生长、卵巢发育、渗透压调节、代谢和抗氧化能力的影响[J]. 水产学报, 2019, 43(8): 1768-1780.]
- [44] Qiao Y B, Li S S, Cui W B, et al. Effects of acute salinity on antioxidation and non-specific immunity of *Procambarus clarkii*[J]. *Chinese Fishery Quality and Standards*, 2020, 10(2): 44-50. [乔雁冰, 李世顺, 崔文博, 等. 急性盐度胁迫对克氏原螯虾抗氧化和非特异性免疫性能的影响[J]. 中国渔业质量与标准, 2020, 10(2): 44-50.]
- [45] Li H, Li Q, Qu J F, et al. Comparison of immune and physiological parameters in the haemolymph of *Litopenaeus vannamei* at different salinities[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2007, 37(6): 927-930. [李华, 李强, 曲健凤, 等. 不同盐度下凡纳滨对虾血淋巴免疫生理指标比较[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2007, 37(6): 927-930.]

Effects of temperature and salinity on the survival and antioxidant capacity of *Palaemon gravieri*

HU Runhao^{1,2}, SHI Wenjun², WANG Pan^{1,2}, WAN Xihe², SHEN Hui², LI Hui², WANG Libao², SHA Shibing², QIAO Yi², JIANG Ge², CHENG Jie²

1. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
2. Institute of Oceanology & Marine Fisheries, Jiangsu, Nantong 226007, China

Abstract: Temperature and salinity are common and important environmental factors in aquaculture; the fluctuation of these parameters may cause a large amount of reactive oxygen species (ROS) accumulation in organisms, which can be toxic to cells. As such, antioxidant capacity needs to be increased in order to remove excessive ROS and protect against cell damage. The antioxidant system is composed of enzymatic and non-enzymatic components, which play an important role in antagonizing and removing ROS in aquatic fauna; this system includes superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT). Additionally, malondialdehyde (MDA), one of the products of lipid peroxidation (a reaction related to oxidative stress), is often used as an evaluation index. *Palaemon gravieri* is a common cheap shrimp in the East China and Southern Yellow seas; there are limited studies on the effects of temperature and salinity on *Palaemon gravieri*. To understand the effects of water temperature and salinity on *Palaemon gravieri*, this study investigated the survival rate and antioxidant capacity of *Palaemon gravieri* under sudden temperature and salinity changes and different heating rates. The sudden change of temperature experiment consisted of one control group (temperature: 22.0 °C; salinity: 25), four treatment groups (14.0, 18.0, 26.0, and 30.0 °C; salinity: 25), and three groups for the different heating rate experiments (2.0, 4.0, and 6.0 °C/d; salinity: 25). The sudden change of salinity experiment consisted of one control group (salinity: 25; temperature: 22 °C), and four treatment groups (salinity: 15, 20, 30, and 35; temperature: 22.0 °C). The total antioxidant capacity (T-AOC), and the superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and malondialdehyde (MDA) activities in the hepatopancreas were detected. The results showed that the survival rate had significantly decreased ($P < 0.05$) only when the temperature increased from 22.0 to 30.0 °C. At 96 h, the survival rate was $< 50.00\%$; however, the sudden change in salinity had no significant effect on the survival rate. In the different temperature rise experiments, there was no significant difference in survival rate between the 4.0 °C/d group and the other two groups; however, there was a significant difference in survival rate between the 2.0 and 6.0 °C/d groups ($P < 0.05$), and the half survival temperature was 31.6 °C based on the change in the 2.0 °C/d survival rate. The activities of the three antioxidant enzymes and the MDA content was observed to gradually rise, and this accelerated with an increase to the heating rate. The change of temperature rising rate was found to not affect the maximum SOD and CAT during heating, while the maximum T-AOC and MDA increase with the heating rate. In the sudden change of temperature experiment, the activities of three antioxidant enzymes and the MDA content had initially increased, then decreased to the control level; the exception to this was T-SOD, which did not decrease to the control level at 96 h. In the sudden change of salinity experiment, the T-SOD and CAT activities initially decreased, then increased, and finally decreased. By contrast, the activity of T-AOC and the MDA content initially increased, then decreased; at 96 h, the MDA content was lower than that of the control group. These results indicate that changes in temperature and salinity may cause significant changes in the antioxidant capacity in the body. In addition, changes in temperature had a significant effect on the shrimp survival rate compared to salinity; the effect of temperature increase was more significant than that of temperature decrease. This study advances research on the stress resistance of shrimp and the culturing of *Palaemon gravieri*.

Key words: *Palaemon gravieri*; temperature and salinity tolerance; survival rate; T-AOC; T-SOD; CAT; MDA

Corresponding author: WAN Xihe. E-mail: wxh1708@163.com