

DOI: 10.12264/JFSC2023-0244

水温对糙海参幼参生长、抗氧化酶及免疫酶活力的影响

李智巧¹, 刘旭佳², 姜发军², 刘京³, 钟声平⁴, 胡超群²

1. 广西大学, 资源环境与材料学院, 广西 南宁 530004;
2. 广西科学院, 广西海洋科学院, 广西近海海洋环境科学重点实验室, 广西 南宁 530007;
3. 北部湾大学, 海洋学院, 广西海洋生物多样性养护重点实验室, 广西 钦州 535011;
4. 广西中医药大学, 海洋药物研究院, 广西海洋药物重点实验室, 广西 南宁 530007

摘要: 为探讨水温对糙海参(*Holothuria scabra*)幼参生长、抗氧化酶及免疫酶活力影响, 选择体重为 (1.70 ± 0.24) g 的糙海参幼参, 在低温组(23 °C)、对照组(28 °C)和高温组(33 °C)温度控制养殖箱中养殖 30 d, 每 10 d 测定其特定生长率(SGR), 体壁、体腔液、肠道及呼吸树中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、碱性磷酸酶(AKP)、溶菌酶(LZM)活力和丙二醛(MDA)含量。结果显示: (1) 30 d 时对照组幼参 SGR 显著高于高温组和低温组($P < 0.05$), 且高温组显著高于低温组($P < 0.05$), 说明长期低温对幼参影响大于长期高温。(2) 在低温组, 0 d 时幼参体腔液中 SOD、AKP、LZM 活力以及 MDA 含量与对照组间无显著差异, 30 d 时 SOD、CAT 以及 AKP 活力显著高于对照组($P < 0.05$); 0 d 时体壁中 SOD、CAT、LZM 活力以及 MDA 含量与对照组间无显著差异, 30 d 时 SOD、CAT 活力以及 MDA 含量显著高于对照组($P < 0.05$); 0 d 时肠道中除 MDA 含量外, 所有酶活力显著高于对照组($P < 0.05$), 30 d 时只有 MDA 含量显著高于对照组($P < 0.05$); 0 d 与 30 d 呼吸树中所有指标均显著高于对照组($P < 0.05$)。说明幼参体腔液与体壁需要应对长期低温产生的氧化压力, 肠道需要应对短期低温的氧化压力, 而呼吸树需要应对短期与长期低温带来的氧化压力。(3) 在高温组, 0 d 幼参体腔液和体壁中 SOD、CAT、AKP 活力以及 MDA 含量显著高于对照组($P < 0.05$), 30 d 时所有指标均与对照组无显著差异; 0 d 幼参肠道中 CAT 活力显著高于对照组($P < 0.05$), 30 d 时所有指标均显著高于对照组($P < 0.05$); 0 d 幼参呼吸树所有指标显著高于对照组($P < 0.05$), 30 d 时 CAT 活力及 MDA 含量显著高于对照组($P < 0.05$)。说明体腔液、体壁主要应对短期高温的氧化压力, 肠道和呼吸树需要面对短期与长期高温压力。(4) 糙海参幼参 4 种组织中抗氧化酶和免疫酶活力基本与 SGR 负相关, 表明抗氧化酶和免疫酶活力的提高与快速生长冲突, 导致幼参 SGR 显著下降。结果表明, 长期低温和高温均会对幼参产生一定氧化压力, 且糙海参幼参对高温具有更强的适应性。

关键词: 水温; 糙海参; 生长; 氧化应激; 免疫

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2023)12-1429-16

近年来全球气候变暖等环境问题日益严重, 海水温度升高^[1]。在海参养殖过程中, 水温是一个至关重要的影响因素。董云伟等^[2]研究发现刺参(*Apostichopus japonicus*)幼参在 10~21 °C 之间生长速率加快, 当水温超过 22 °C 时, 刺参幼参会

进入夏眠状态^[3]。进入夏眠状态后, 刺参体壁和呼吸树组织中 SOD、CAT 活力显著升高后降低^[4-5], 生长受到抑制。当水温由 10 °C 降至-2 °C 时, 刺参幼参呼吸代谢、免疫能力等降低, 会出现排脏、化皮和死亡等现象^[6-7]。Kühnhold 等^[8]研究发现糙

收稿日期: 2023-08-22; 修订日期: 2023-11-20.

基金项目: 国家自然科学基金项目(31960225); 广西自然科学基金项目(2021GXNSFAA196074); 广西科学院基本科研业务费创新团队启动金项目(CQ-C-202301); 广西人才小高地项目(BGMRC202002); 广西中医药大学桂派中医药传承创新团队资助项目(2022A007).

作者简介: 李智巧(1999-), 女, 硕士研究生, 研究方向为养殖生态学. E-mail: 15323035905@163.com

通信作者: 刘旭佳, 博士, 副研究员, 研究方向为养殖水域环境修复及健康养殖技术研究. E-mail: lxx0312@126.com

海参(*Holothuria scabra*)幼参最佳养殖温度范围是 24~29 ℃。当水温达到 33 ℃时,糙海参幼参通过提高机体能量代谢及氧化应激水平应对不利水温,维持机体正常生长。水温低至 21 ℃时,糙海参幼参的能量代谢降低,生长受到抑制^[9]。水温在海参生长、代谢及免疫等方面发挥着重要作用,水温过高或者过低都会阻碍海参正常生长,甚至引起死亡。

糙海参(*Holothuria scabra*)俗称沙参、明玉参,是热带中最具开发前景的优质海参品种之一^[10-11],在分类上属棘皮动物门(Echinodermata),是海参纲(Holothuroidea),楯手目(Aspidochirotida),海参科(Holothuriidae),海参属(*Holothuria*)。糙海参主要分布在印度洋至太平洋地区的沿海国家,国内主要集中在海南、广东及广西近海岸水域 20 m 以内水深处。糙海参有丰富的蛋白质和人体所必需的氨基酸等营养成分^[12],其体内生物活性物质能够提升人体免疫力,具有抗血栓及抗肿瘤等作用^[13-14]。近年来国内海参需求量不断增加,过度捕捞需求导致野生糙海参数量不断下降^[15]。水温对刺参生长与抗氧化酶及免疫酶活力的影响研究很多,而糙海参为热带种,两者对温度变动的响应机制差异非常大,且不同海参适宜温度范围也会有差异,因此研究我国糙海参幼参适宜生长范围尤为重要,目前国内不同水温对糙海参幼参的影响还未见研究报道。因此本研究探讨水温对糙海参幼参生长、抗氧化酶及免疫酶活力的影响,不仅对我国糙海参人工养殖具有指导意义,还可为糙海参应对水温变动环境的适应机制提供科学数据。

1 材料与方法

1.1 实验材料与驯养

本次实验使用的糙海参是取自广西科学院和广西海洋研究所实验基地的同一养殖阶段的糙海参幼参。糙海参幼参在底质铺沙的水泥池(3.5 m×3.5 m×1.2 m)进行养殖,每日 15:30 投喂,饲料由稚参料、马尾藻粉、海洋红酵母、丁酸梭菌及螺旋藻粉等组成(见表 1),按照一定比例发酵 24 h 后投喂,投喂量约为幼参体重的 5%,每 5 天换 1 次

水。海水温度为(28.0±1.0) ℃,盐度为 26~28,溶氧为 4.5 mg/L。

表 1 糙海参幼参饲料组成
Tab. 1 Feed composition of young sea cucumber *Holothuria scabra*

组成 composition	投加量 dosage
稚参料/g food of juvenile	50
马尾藻粉/g sargassum power	100
海洋红酵母/g <i>Rhodotorula benthica</i>	2.5
丁酸梭菌液/mL <i>Clostridium butyrate</i> solution	2.5
螺旋藻粉/g spirulina	10
水/mL water	350

1.2 实验设施

实施装置主要有 3 个控温水箱,规格为 380 L (cm: 140×90×36),每个控温水箱中放置 9 个养殖 PVC 箱,规格为 21 L (mm: 385×260×210)。分别通过控温机(型号: HC-1000b)与加热棒来达到目标温度。

1.3 实验设计

根据预实验的结果,糙海参幼参在低于 23 ℃或高于 33 ℃时会停止摄食,因此实验设计 3 个温度梯度:低温临界组 23 ℃,对照组 28 ℃,高温组 33 ℃。海参在 PVC 水箱进行养殖,箱底铺设 2 cm 海砂,由 40~80 目的粒径组成。挑选健康的幼参,体重为(1.25±0.20) g。随机将幼参分配至 3 个温度组的 PVC 水箱,每个温度组有 9 平行,每个平行放 11 头幼参。以 28 ℃为对照组,通过冷暖控温机及加热棒按每日 1.0 ℃左右进行升降温,第 5 天达到实验设计的温度,一旦达到设定值即作为实验开始时间,实验周期为 30 d。

1.4 样品采集及制备

每个温度处理组糙海参幼参分别在 0、10、20、30 d 时,观察其生长情况并进行取样。从每个 PVC 水箱中随机选择 3 头幼参,用干纱布吸干糙海参表面海水,电子天平(精确 0.001 g)称量糙海参体重。同时,每个温度组随机取 15 头幼参,相同温度条件下禁食暂养 24 h 进行排粪。用干纱布吸干糙海参表面水分,将糙海参放在超净工作台上,用 2 mL 注射器从距离口 2 cm 的体壁处吸取体腔液 0.5 mL 放入无菌离心管中。用解剖剪沿

幼参腹面剪开, 取肠道、呼吸树以及体壁组织装入无菌冻存管中, 液氮速冻后放入 -80°C 保存, 尽快测定酶活。

每个温度处理组在温度变动前进行 4 个组织的样品采集处理(同上), 用来比对不同温度处理组间酶活初始差异。

1.5 测定方法与计算

1.5.1 特定生长率 计算公式为

$$\text{SGR}(\%/d) = 100 \times (\ln W_{30} - \ln W_0) / 30$$

式中, W_0 为初始体重; W_{30} 为 30 d 体重。

1.5.2 抗氧化酶与免疫酶的测定 超氧化物歧化酶(SOD)活力根据 WST-1 法测定, 过氧化氢酶(CAT)活力根据钼酸铵法测定, 蛋白含量根据考马斯亮蓝法测定, 碱性磷酸酶(AKP)活力根据微量酶标法测定, 溶菌酶(LZM)活力根据比浊法测定, 丙二醛(MDA)含量根据硫代巴比妥酸法测定, 试剂盒均采购自南京建成生物工程研究所。

1.6 数据处理与分析

所有实验数据 SPSS 27 统计软件进行单因素方差分析(ANOVA)、方差齐性检验等进行数据处理, 显著性标准设置为 0.05。由 origin 软件进行作图。

2 结果与分析

2.1 温度对糙海参幼参生长的影响

不同温度对糙海参幼参阶段性生长的影响见图 1。温度变动前, 3 个温度组幼参的体重无显著差异($P>0.05$)。0 d、10 d、20 d 及 30 d 时, 对照组幼参的体重均显著高于低温组和高温组($P<0.05$)(见图 1a)。10 d、20 d 时, 低温组幼参体重显著高于高温组($P<0.05$)。

3 个温度处理组糙海参幼参体重不同时间之间均出现差异显著($P<0.05$)(见图 1a)。低温组糙海参幼参体重在 0 d、10 d 显著低于 20 d、30 d ($P<0.05$)。对照组糙海参幼参的体重在 0 d 显著低于 10 d ($P<0.05$), 10 d 显著低于 20 d ($P<0.05$), 20 d 显著低于 30 d ($P<0.05$)。高温组糙海参幼参体重在 0 d、10 d 显著低于 20 d, 20 d 显著低于 30 d ($P<0.05$)。

不同温度条件下糙海参幼参 SGR 的变化见图

1b。0~10 d 时, 不同温度组之间幼参 SGR 呈现出显著性差异($P<0.05$), 对照组显著高于低温组、高温组($P<0.05$), 低温组显著高于高温组($P<0.05$), 高温组 SGR 出现负值。10~20 d 时, 高温组幼参 SGR 显著高于对照组、低温组($P<0.05$), 低温组和对照组间不存在显著差异($P>0.05$)。20~30 d 时, 低温组 SGR 显著低于高温组、对照组($P<0.05$)。0~30 d, 3 个温度组幼参 SGR 存在显著差异($P<0.05$), 其中对照组显著高于高温组, 且高温组显著高于低温组($P<0.05$)。

3 个温度处理组糙海参幼参 SGR 不同时间之间均出现差异显著($P<0.05$)。低温组中, 0~10 d 时幼参 SGR 较低, 10~20 d 时显著增加, 20~30 d 显著降低。对照组中 0~10 d 与 10~20 d 之间无显著差异, 20~30 d 时 SGR 显著降低。高温组在 0~10 d 时出现负增长, 10~20 d 显著增加, 20~30 d 继而显著降低。可以看出, 28°C 对照组糙海参幼参的生长速率最高。

综上所述, 温度对糙海参幼参的生长影响显著, 对照组糙海参幼参在每个时间点均获得最大体重, 0~30 d 的 SGR 最高; 低温 10 d 时幼参体重出现少量增加, 且 20 d 与 30 d 时体重变化很小, 0~30 d 的 SGR 最低, 表现出不耐长期低温的现象; 而高温 10 d 时幼参体重出现降低, 0~10 d 的 SGR 出现负值, 20 d 时体重显著增加, 0~30 d 的 SGR 显著低于对照组, 却高于低温组, 说明高温对糙海参前期影响较大。

2.2 温度变动前糙海参幼参不同组织抗氧化酶及免疫酶活力

经测定, 在温度变动前, 4 种组织不同温度处理间所有抗氧化酶及免疫酶活力之间均无显著差异($P>0.05$)(表 2)。

2.3 温度对糙海参幼参体腔液抗氧化酶及免疫酶活力的影响

不同温度条件下糙海参幼参体腔液中抗氧化酶及免疫酶活力变化如图 2 所示。不同温度条件下糙海参幼参体腔液 SOD 活力变化见图 2a。不同温度组幼参体腔液 SOD 活力差异显著($P<0.05$)。0 d、10 d 时, 高温组幼参 SOD 活力显著高于低温组、对照组($P<0.05$)。20 d、30 d 时, 低温

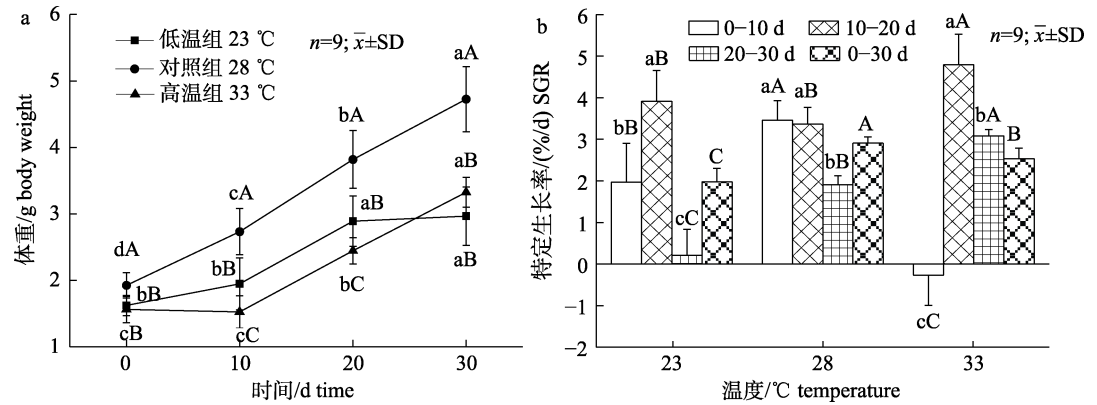


图 1 不同温度条件下糙海参幼参生长变化。

a. 体重; b. 特定生长率. 不同小写字母代表同一温度组内不同时间点之间差异显著($P<0.05$), 不同大写字母代表同一取样时间不同温度组之间差异显著($P<0.05$).

Fig. 1 Growth changes of juvenile *Holothuria scabra* under different temperature conditions. a. Body weight; b. SGR. Different minuscule represent significant differences between different time points in the same temperature group ($P<0.05$), and different capital letters represent significant differences between different temperature groups at the same sampling time ($P<0.05$).

表 2 温度变动前糙海参幼参不同组织抗氧化酶及免疫酶活力

Tab. 2 Antioxidant enzyme and immune enzyme activity in different tissues of juvenile *Holothuria scabra* before temperature variation

指标 parameter	温度/℃ temperature		
	23	28	33
体腔液-SOD/(U/mL) coelomic fluid-SOD	3.966±0.073	3.975±0.058	3.959±0.081
体腔液-CAT/(U/mL) coelomic fluid-CAT	1.623±0.165	1.637±0.159	1.613±0.171
体腔液-AKP/(金氏单位/100 mL) coelomic fluid-AKP	8.533±1.114	9.133±1.134	8.673±1.265
体腔液-LZM/(μg/mL) coelomic fluid-LZM	0.521±0.057	0.553±0.078	0.531±0.061
体腔液-MDA/(nmol/mL) coelomic fluid-MDA	0.535±0.224	0.524±0.205	0.528±0.214
体壁-SOD/(U/mgprot) muscle-SOD	62.326±4.709	69.067±3.386	68.947±6.486
体壁-CAT/(U/mgprot) muscle-CAT	17.592±5.104	19.004±4.331	18.931±2.418
体壁-AKP/(金氏单位/mgprot) muscle-AKP	2.457±0.398	2.816±0.205	2.313±0.109
体壁-LZM/(μg/mgprot) muscle-LZM	4.647±0.200	5.190±0.453	4.703±0.575
体壁-MDA/(nmol/mgprot) muscle-MDA	14.737±1.799	15.230±1.862	15.046±0.647
肠道-SOD/(U/mgprot) intestine-SOD	361.971±23.601	363.134±48.514	351.306±37.374
肠道-CAT/(U/mgprot) intestine-CAT	665.309±63.400	651.826±19.859	669.774±125.223
肠道-AKP/(金氏单位/mgprot) intestine-AKP	6.099±0.361	6.147±0.535	6.049±0.368
肠道-LZM/(μg/mgprot) intestine-LZM	7.973±0.826	8.330±1.034	7.530±1.074
肠道-MDA/(nmol/mgprot) intestine-MDA	7.658±2.179	7.469±2.335	6.965±1.458
呼吸树-SOD/(U/mgprot) respiratory tree-SOD	766.968±40.573	815.007±46.980	822.368±82.038
呼吸树-CAT/(U/mgprot) respiratory tree-CAT	856.996±60.409	826.820±55.100	892.457±62.455
呼吸树-AKP/(金氏单位/mgprot) respiratory tree-AKP	2.192±0.136	2.261±0.221	2.149±0.220
呼吸树-LZM/(μg/mgprot) respiratory tree-LZM	10.599±2.68	9.630±2.780	10.016±2.702
呼吸树-MDA/(nmol/mgprot) respiratory tree-MDA	16.714±6.194	16.161±6.526	17.160±4.339

组 SOD 活力显著高于高温组、对照组($P<0.05$)。低温组、高温组糙海参幼参 SOD 活力不同时间之间均出现显著差异($P<0.05$), 低温组幼参在 0 d、10 d 时 SOD 活力显著低于 20 d、30 d ($P<0.05$)。

高温组幼参在 0 d、10 d 时 SOD 活力显著高于 20 d、30 d ($P<0.05$), 且 0 d 时 SOD 活力显著高于 10 d ($P<0.05$)。对照组中幼参 SOD 活力无显著差异($P>0.05$)。

不同温度条件下糙海参幼参体腔液 CAT 活力变化见图 2b。不同温度组幼参的体腔液 CAT 活力差异显著($P<0.05$)。0 d 时, 高温组、低温组幼参 CAT 活力显著高于对照组($P<0.05$)。10 d, 高温组幼参 CAT 活力显著高于低温组、对照组($P<0.05$)。20 d, 低温组幼参 CAT 活力显著高于高温组($P<0.05$), 对照组与其他两组间无显著差异($P>0.05$)。30 d, 低温组显著高于对照组、高温组($P<0.05$)。3 个温度处理组糙海参幼参 CAT 活力在不同时间点均出现显著差异($P<0.05$)。低温组幼参 CAT 活力在 20 d 显著高于 0 d、10 d ($P<0.05$), 0 d、30 d 显著高于 10 d ($P<0.05$)。高温组幼参 CAT 活力在 0 d、10 d 显著高于 20 d、30 d ($P<0.05$), 30 d 显著高于 20 d ($P<0.05$)。对照组中幼参 CAT 活力无显著差异($P>0.05$)。

不同温度条件下糙海参幼参体腔液的 AKP 活力的变化见图 2c。不同温度组幼参 AKP 活力差异显著($P<0.05$)。0 d 时, 高温组幼参 AKP 显著高于低温组、对照组($P<0.05$)。10 d, 对照组幼参 AKP 显著高于高温组、低温组($P<0.05$), 且低温组显著高于高温组($P<0.05$)。20 d、30 d, 低温组幼

参 AKP 显著高于高温组、对照组($P<0.05$)。3 个温度处理组糙海参幼参 AKP 活力在不同时间点均出现显著差异($P<0.05$)。低温组幼参 AKP 活力在 20 d、30 d 显著高于 0 d、10 d ($P<0.05$), 0 d 显著高于 10 d ($P<0.05$)。对照组幼参 AKP 活力在 0 d、10 d 及 20 d 显著高于 30 d ($P<0.05$)。高温组幼参 AKP 活力 0 d、20 d 显著高于 10 d、30 d ($P<0.05$), 且 30 d 显著高于 10 d ($P<0.05$)。

不同温度条件下糙海参幼参体腔液的 LZM 活力的变化见图 2d。不同温度组幼参 LZM 活力差异不显著($P>0.05$)。3 个温度处理组糙海参幼参 LZM 活力在不同时间点均无显著差异($P>0.05$)。

不同温度条件下糙海参幼参体腔液的 MDA 含量的变化见图 2e。0 d 时, 高温组幼参 MDA 显著高于低温组、对照组($P<0.05$)。低温组、高温组幼参 MDA 含量在不同时间点均出现显著差异($P<0.05$)。低温组幼参 MDA 含量在 30 d 显著高于 10 d ($P<0.05$), 其他时间点间无显著差异($P>0.05$)。高温组幼参 MDA 含量在 0 d 显著高于 10 d、20 d 及 30 d ($P<0.05$), 10 d、20 d 及 30 d 之间无显著差异($P>0.05$)。

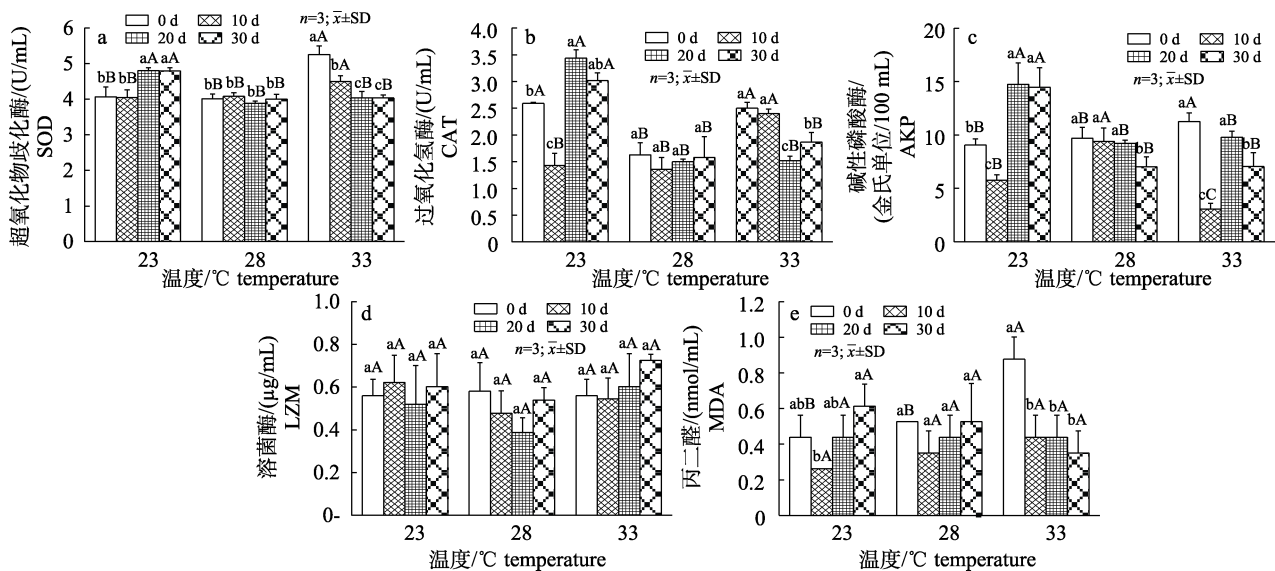


图 2 不同温度条件下糙海参幼参体腔液中抗氧化酶及免疫酶活力变化

a. 超氧化物歧化酶; b. 过氧化氢酶; c. 碱性磷酸酶; d. 溶菌酶; e. 丙二醛。不同小写字母代表同一温度组内不同时间点之间的显著差异($P<0.05$), 不同大写字母代表同一取样时间不同温度组之间的显著差异($P<0.05$)。

Fig. 2 Changes in antioxidant enzyme and immune enzyme activity in the body cavity fluid of juvenile *Holothuria scabra* under different temperature conditions

a. SOD; b. CAT; c. AKP; d. LZM; e. MDA. Different small letters represent significant differences between different time points in the same temperature group ($P<0.05$), and different capital letters represent significant differences between different temperature groups at the same sampling time ($P<0.05$).

2.4 温度对糙海参幼参体壁抗氧化酶及免疫酶活力的影响

不同温度条件下糙海参幼参体壁的抗氧化酶及免疫酶活力的变化如图 3 所示。不同温度条件下糙海参幼参体壁 SOD 活力变化见图 3a。不同温度组幼参体壁 SOD 活力出现显著差异($P<0.05$)。0 d 时, 高温组显著高于低温组、对照组($P<0.05$), 低温组与对照组无显著差异($P>0.05$)。10 d 时, 高温组显著高于对照组($P<0.05$)。20 d、30 d 时, 低温组显著高于对照组、高温组($P<0.05$)。低温组、高温组糙海参幼参 SOD 活力不同时间点均出现显著差异($P<0.05$)。低温组幼参 SOD 活力在 30 d 显著高于其余时间点($P<0.05$), 20 d 显著高于 0 d、10 d ($P<0.05$)。高温组幼参 SOD 活力在 0 d 显著高于 20 d 及 30 d ($P<0.05$), 其余

时间点间无显著差异($P>0.05$)。

不同温度条件下糙海参幼参体壁 CAT 活力变化见图 3b。不同温度组幼参体壁 CAT 活力存在显著差异($P<0.05$)。0 d 时, 高温组显著高于低温组、对照组($P<0.05$)。10 d, 高温组、低温组显著高于对照组($P<0.05$)。20 d 时, 低温组显著高于高温组、对照组($P<0.05$), 高温组显著高于对照组($P<0.05$)。30 d, 低温组显著高于高温组、对照组($P<0.05$)。低温组、高温组糙海参幼参 CAT 活力不同时间点均出现显著差异($P<0.05$)。低温组幼参 CAT 活力在 20 d、30 d 显著高于 0 d、10 d ($P<0.05$), 10 d 显著高于 0 d ($P<0.05$)。高温组幼参 CAT 活力在 0 d 显著高于 10 d、20 d 及 30 d ($P<0.05$), 10 d 显著高于 20 d、30 d ($P<0.05$)。对照组中幼参 CAT 活力在各时间点无显著差异($P>0.05$)。

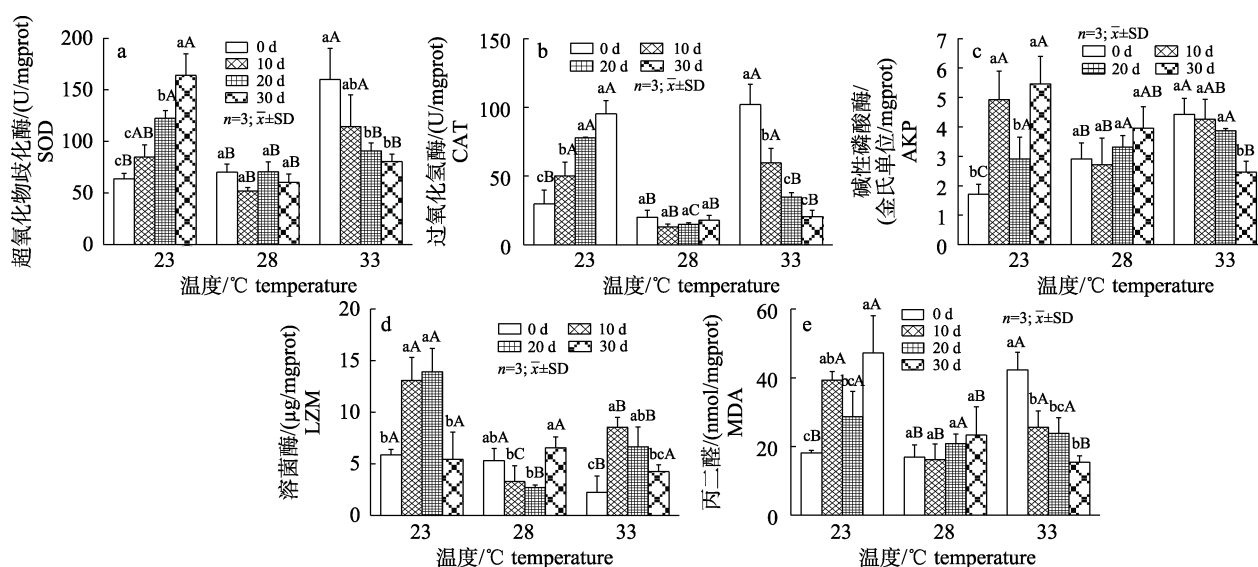


图 3 不同温度条件下糙海参幼参体壁抗氧化酶及免疫酶活力变化

a. 超氧化物歧化酶; b. 过氧化氢酶; c. 碱性磷酸酶; d. 溶菌酶; e. 丙二醛. 不同小写字母代表同一温度组内不同时间点之间的显著差异($P<0.05$), 不同大写字母代表同一取样时间不同温度组之间的显著差异($P<0.05$).

Fig. 3 Changes in antioxidant enzyme and immune enzyme activity in the body wall of juvenile *Holothuria scabra* under different temperature conditions

a. SOD; b. CAT; c. AKP; d. LZM; e. MDA. Different small letters represent significant differences between different time points in the same temperature group ($P<0.05$), and different capital letters represent significant differences between different temperature groups at the same sampling time ($P<0.05$).

不同温度条件下糙海参幼参体壁 AKP 活力变化见图 3c。不同温度组幼参体壁 AKP 活力存在显著差异($P<0.05$)。0 d 时, 高温组显著高于低温组、对照组($P<0.05$), 对照组显著高于低温组

($P<0.05$)。10 d 时, 低温组显著高于对照组($P<0.05$), 高温组与低温组、对照组无显著差异($P>0.05$)。20 d 时, 各温度组无显著差异($P>0.05$)。30 d, 低温组显著高于高温组($P<0.05$), 对照组与

高温组无显著差异($P>0.05$)。低温组、高温组糙海参幼参 AKP 活力不同时间点均出现差异显著($P<0.05$)。低温组幼参 AKP 活力在 10 d、30 d 显著高于 0 d、20 d ($P<0.05$)。高温组幼参 AKP 活力在 0 d、10 d 及 20 d 显著高于 30 d ($P<0.05$)。对照组中幼参 AKP 活力在各时间点无显著差异($P>0.05$)。

不同温度条件下糙海参幼参体壁 LZM 活力变化见图 3d。不同温度组幼参体壁 LZM 活力存在显著差异($P<0.05$)。0 d 时, 低温组、对照组显著高于高温组($P<0.05$), 低温组、对照组无显著差异($P>0.05$)。10 d 时, 低温组显著高于高温组、对照组($P<0.05$), 高温组显著高于对照组($P<0.05$)。20 d 时, 低温组显著高于高温组和对照组($P<0.05$)。30 d, 3 个处理组之间无显著差异($P>0.05$)。3 个温度处理组糙海参幼参 LZM 活力不同时间点均出现显著差异($P<0.05$)。低温组幼参 LZM 活力在 10 d、20 d 显著高于 0 d、30 d ($P<0.05$)。对照组幼参 LZM 活力在 30 d 显著高于 10 d、20 d ($P<0.05$)。高温组幼参体壁中 LZM 活力在 10 d 显著高于 0 d 及 30 d ($P<0.05$), 20 d 显著高于 0 d ($P<0.05$)。

不同温度条件下糙海参幼参体壁 MDA 含量变化见图 3e。不同温度组幼参体壁 MDA 含量存在显著差异($P<0.05$)。0 d 时, 高温组显著高于低温组、对照组($P<0.05$)。10 d 时, 低温组显著高于高温组、对照组($P<0.05$), 高温组和对照组无显著差异($P>0.05$)。20 d 时, 各处理组之间无显著差异($P>0.05$)。30 d 时, 低温组显著高于高温组、对照组($P<0.05$), 高温组和对照组间无显著差异($P>0.05$)。低温组、高温组糙海参幼参 MDA 含量不同时间之间均出现差异显著($P<0.05$)。低温组幼参体壁中 MDA 含量在 30 d 显著高于 0 d、20 d ($P<0.05$)。高温组幼参体壁中 MDA 含量在 0 d 显著高于 10 d、20 d 及 30 d ($P<0.05$), 10 d 时显著高于 30 d ($P<0.05$)。对照组幼参体壁中 MDA 含量在各时间点差异不显著($P>0.05$)。

2.5 温度对糙海参幼参肠道组织抗氧化酶及免疫酶活力的影响

不同温度条件下糙海参幼参肠道的抗氧化酶

及免疫酶活力的变化如图 4 所示。不同温度条件下糙海参幼参肠道 SOD 活力变化见图 4a。不同温度组幼参肠道 SOD 活力差异显著($P<0.05$)。0 d 时, 低温组显著高于对照组($P<0.05$), 对照组显著高于高温组($P<0.05$)。10 d、20 d, 3 个处理组之间无显著差异($P>0.05$)。30 d, 高温组显著高于低温组、对照组($P<0.05$), 低温组与对照组间无显著差异($P>0.05$)。低温组、高温组糙海参幼参肠道 SOD 活力不同时间之间均出现显著差异($P<0.05$)。低温组幼参肠道 SOD 活力在 0 d 显著高于 10 d、20 d 及 30 d ($P<0.05$), 10 d 显著高于 20 d、30 d ($P<0.05$)。高温组幼参肠道 SOD 活力在 30 d 显著高于 0 d、10 d ($P<0.05$), 20 d 显著高于 0 d ($P<0.05$)。对照组幼参肠道 SOD 活力在不同时间无显著差异($P>0.05$)。

不同温度条件下糙海参幼参肠道 CAT 活力变化见图 4b。不同温度组幼参肠道 CAT 活力差异显著($P<0.05$)。0 d 时, 低温组、高温组显著高于对照组($P<0.05$), 且低温组显著高于高温组($P<0.05$)。10 d、20 d 时, 低温组与高温组之间差异不显著($P>0.05$), 且均显著高于对照组($P<0.05$)。30 d 时, 高温组显著高于低温组、对照组($P<0.05$)。低温组、高温组糙海参幼参肠道 CAT 活力在不同时间之间均出现显著差异($P<0.05$)。低温组幼参肠道 CAT 活力在 0 d 显著高于 10 d、20 d 及 30 d ($P<0.05$), 10 d、20 d 显著高于 30 d ($P<0.05$)。高温组幼参肠道 CAT 活力在 30 d 显著高于 0 d、10 d 和 20 d ($P<0.05$)。对照组幼参肠道 CAT 活力在不同时间无显著差异($P>0.05$)。

不同温度条件下糙海参幼参肠道 AKP 活力变化见图 4c。不同温度组幼参肠道 AKP 活力存在显著差异($P<0.05$)。0 d 时, 低温组显著高于对照组($P<0.05$), 对照组显著高于高温组($P<0.05$)。10 d、20 d 时, 3 个处理组间差异不显著($P>0.05$)。30 d 时, 高温组显著高于对照组($P<0.05$), 对照组显著高于低温组($P<0.05$)。3 个温度处理组糙海参幼参肠道 AKP 活力不同时间之间均出现显著差异($P<0.05$)。低温组幼参肠道 AKP 活力在 0 d 显著高于 10 d、20 d 及 30 d ($P<0.05$), 10 d、20 d 显著高于 30 d ($P<0.05$)。对照组幼参肠道 AKP 活力

在 0 d 显著高于 20 d、30 d ($P<0.05$)。高温组幼参肠道 AKP 活力在 30 d 显著高于 0 d、20 d ($P<0.05$)，10 d 与 20 d、30 d 无显著差异 ($P>0.05$)。

不同温度条件下糙海参幼参肠道 LZM 活力变化见图 4d。不同温度组幼参肠道 LZM 活力存在显著差异 ($P<0.05$)。0 d、10 d 时，低温组显著高于高温组、对照组 ($P<0.05$)，高温组与对照组差异不显著 ($P>0.05$)。20 d、30 d 时，高温组显著高于对照组和低温组 ($P<0.05$)。低温组、高温组幼参肠道 LZM 活力不同时间之间均出现显著差异 ($P<0.05$)。低温组幼参肠道 LZM 活力在 0 d 显著高于 10 d、20 d 及 30 d ($P<0.05$)。高温组幼参肠道 LZM 活力在 0 d、20 d 及 30 d 显著高于 10 d

($P<0.05$)。对照组幼参肠道 LZM 活力在 0 d 显著高于 20 d 及 30 d ($P<0.05$)。

不同温度条件下糙海参幼参肠道 MDA 含量变化见图 4e。不同温度组幼参肠道 MDA 含量存在显著性差异 ($P<0.05$)。0 d 时，各温度组均无显著差异 ($P>0.05$)。10 d、20 d 时，3 个温度组之间无显著差异 ($P>0.05$)。30 d，低温组、高温组显著高于对照组 ($P<0.05$)。3 个温度处理组糙海参幼参肠道 MDA 含量不同时间之间均出现显著差异 ($P<0.05$)。低温组幼参肠道 MDA 含量在 30 d 显著高于 20 d ($P<0.05$)。对照组幼参肠道 MDA 含量在不同时间无显著差异 ($P>0.05$)。高温组幼参肠道 MDA 含量在 0 d、30 d 显著高于 10 d、20 d ($P<0.05$)。

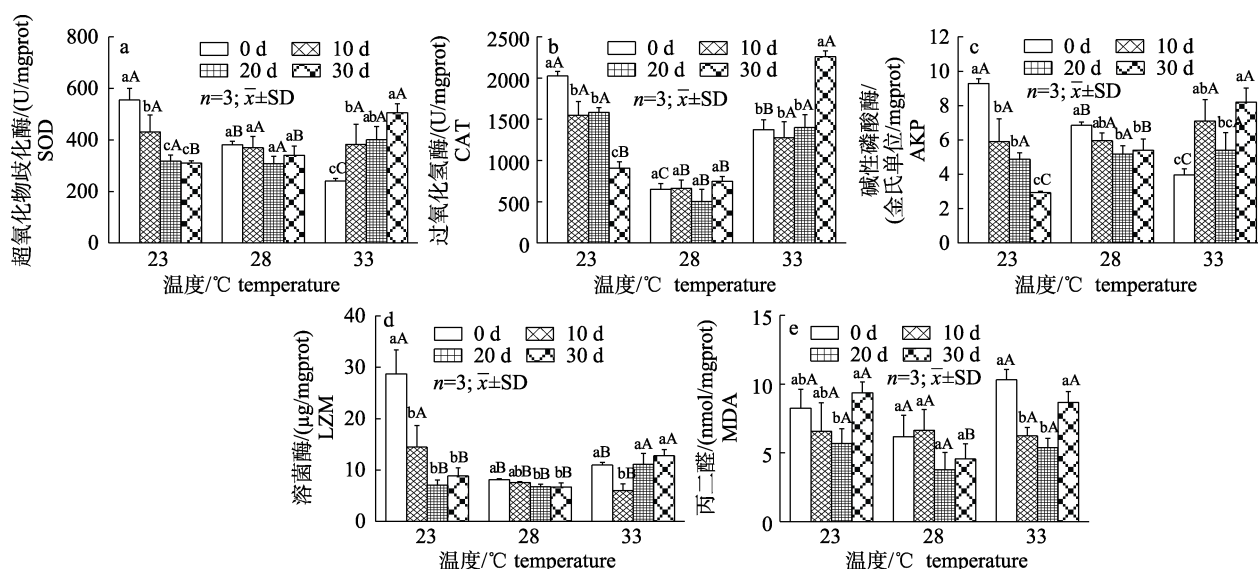


图 4 不同温度条件下糙海参幼参肠道抗氧化酶及免疫酶活力变化

a. 超氧化物歧化酶; b. 过氧化氢酶; c. 碱性磷酸酶; d. 溶菌酶; e. 丙二醛。不同小写字母代表同一温度组内不同时间点之间的显著差异 ($P<0.05$)，不同大写字母代表同一取样时间不同温度组之间的显著差异 ($P<0.05$)。

Fig. 4 Changes in intestinal antioxidant enzyme and immune enzyme activity of juvenile *Holothuria scabra* under different temperature conditions

a. SOD; b. CAT; c. AKP; d. LZM; e. MDA. Different small letters represent significant differences between different time points in the same temperature group ($P<0.05$), and different capital letters represent significant differences between different temperature groups at the same sampling time ($P<0.05$).

2.6 温度对糙海参幼参呼吸树抗氧化酶及免疫酶活力的影响

不同温度条件下糙海参幼参呼吸树的抗氧化酶及免疫酶活力的变化如图 5 所示。不同温度条件下糙海参幼参呼吸树 SOD 活力变化见图 5a。

不同温度组幼参呼吸树 SOD 活力存在显著差异 ($P<0.05$)。0 d 时，高温组显著高于低温组 ($P<0.05$)，低温组显著高于对照组 ($P<0.05$)。10 d 时，高温组和低温组显著高于对照组 ($P<0.05$)。20 d 时，低温组显著高于高温组 ($P<0.05$)，高温组显著高于对

对照组($P<0.05$)。30 d 时, 低温组显著高于高温组、对照组($P<0.05$), 高温组与对照组无显著差异($P>0.05$)。3 个温度处理组糙海参呼吸树 SOD 活力不同时间之间均出现显著差异($P<0.05$)(图 5a)。低温组幼参呼吸树 SOD 活力在 0 d、20 d 显著高于 10 d、30 d ($P<0.05$), 且 10 d 显著高于 30 d ($P<0.05$)。对照组幼参呼吸树 SOD 活力在 0 d、10 d 显著高于 20 d、30 d ($P<0.05$)。高温组幼参呼吸树 SOD 活力在 0 d 显著高于 10 d、20 d 及 30 d ($P<0.05$), 10 d、20 d 显著高于 30 d ($P<0.05$)。

不同温度条件下糙海参幼参呼吸树 CAT 活力变化见图 5b。不同温度组幼参呼吸树 CAT 活力存在显著差异($P<0.05$)。0 d 时, 高温组和低温组显

著高于对照组($P<0.05$)。10 d 时, 高温组显著高于低温组($P<0.05$), 低温组和对照组无显著差异($P>0.05$)。20 d 时, 低温组显著高于高温组($P<0.05$), 高温组显著高于对照组($P<0.05$)。30 d 时, 低温组显著高于高温组、对照组($P<0.05$), 高温组显著高于对照组($P<0.05$)。低温组、高温组糙海参呼吸树 CAT 活力不同时间之间出现显著差异($P<0.05$)。低温组幼参呼吸树 CAT 活力在 20 d 显著高于 0 d、10 d 及 30 d ($P<0.05$), 0 d、30 d 显著高于 10 d ($P<0.05$)。高温组幼参呼吸树 CAT 活力在 10 d 显著高于 0 d、20 d 及 30 d ($P<0.05$)。对照组幼参呼吸树 CAT 活力在不存在显著差异($P>0.05$)。

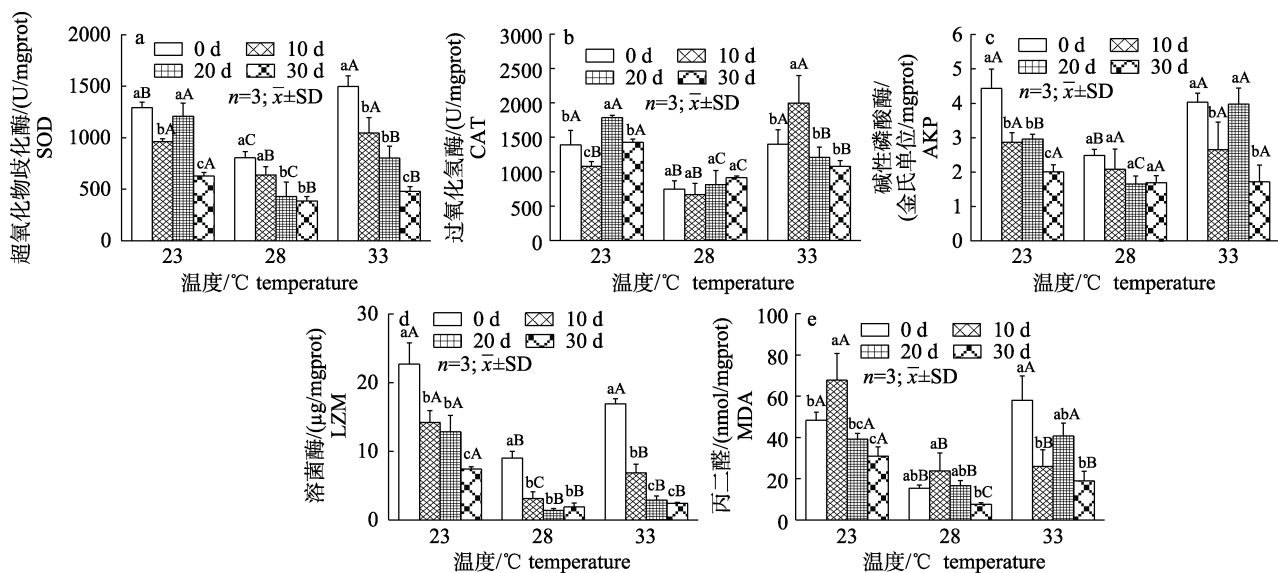


图 5 不同温度条件下糙海参幼参呼吸树抗氧化酶及免疫酶活力变化

a. 超氧化物歧化酶; b. 过氧化氢酶; c. 碱性磷酸酶; d. 溶菌酶; e. 丙二醛. 不同小写字母代表同一温度组内不同时间点之间的显著差异($P<0.05$), 不同大写字母代表同一取样时间不同温度组之间的显著差异($P<0.05$).

Fig. 5 Changes in antioxidant enzyme and immune enzyme activity of juvenile *Holothuria scabra* respiratory trees under different temperature conditions

a. SOD; b. CAT; c. AKP; d. LZM; e. MDA. Different small letters represent significant differences between different time points in the same temperature group ($P<0.05$), and different capital letters represent significant differences between different temperature groups at the same sampling time ($P<0.05$).

不同温度条件下糙海参幼参呼吸树 AKP 活力变化见图 5c。不同温度组幼参呼吸树 AKP 活力存在显著性差异($P<0.05$)。0 d 时, 高温组和低温组显著高于对照组($P<0.05$)。20 d 时, 高温组显著高于低温组($P<0.05$), 低温组显著高于对照组($P<0.05$)。10 d、30 d 时, 各温度组之间无显著差

异($P>0.05$)。低温组、高温组糙海参呼吸树 AKP 活力不同时间之间均出现显著差异($P<0.05$)。低温组幼参呼吸树 AKP 活力在 0 d 显著高于 10 d、20 d 及 30 d ($P<0.05$), 10 d、20 d 显著高于 30 d ($P<0.05$)。高温组幼参呼吸树 AKP 活力在 0 d、20 d 显著高于 10 d、30 d ($P<0.05$)。

不同温度条件下糙海参幼参呼吸树 LZM 活力变化见图 5d。不同温度组幼参呼吸树 LZM 活力存在显著差异($P<0.05$)。0 d 时, 高温组和低温组均显著高于对照组($P<0.05$)。10 d 时, 低温组显著高于高温组($P<0.05$), 高温组显著高于对照组($P<0.05$)。20 d 及 30 d 时, 低温组显著高于高温组和对照组($P<0.05$), 高温组与对照组无显著差异($P>0.05$)。3 个温度处理组糙海参呼吸树 LZM 活力不同时间之间均出现显著差异($P<0.05$)。低温组幼参呼吸树 LZM 活力在 0 d 显著高于 10 d、20 d 及 30 d ($P<0.05$), 10 d、20 d 显著高于 30 d ($P<0.05$)。对照组幼参呼吸树 LZM 活力在 0 d 显著高于 10 d、20 d 及 30 d ($P<0.05$)。高温组幼参呼吸树 LZM 活力在 0 d 显著高于 10 d、20 d 及 30 d ($P<0.05$), 10 d 显著高于 20 d、30 d ($P<0.05$)。

不同温度条件下糙海参幼参呼吸树 MDA 含量变化见图 5e。不同温度组幼参呼吸树 MDA 含量存在显著差异($P<0.05$)。0 d、20 d 时, 高温组和低温组显著高于对照组($P<0.05$), 高温组和低温组无显著差异($P>0.05$)。10 d 时, 低温组显著高于高温组、对照组($P<0.05$)。30 d 时, 低温组显著高于高温组($P<0.05$), 高温组显著高于对照组($P<0.05$)。

3 个温度处理组糙海参呼吸树 MDA 含量不同时间之间均出现显著差异($P<0.05$)。低温组幼参呼吸树 MDA 含量在 10 d 显著高于 0 d 及 20 d ($P<0.05$), 0 d 显著高于 30 d ($P<0.05$)。对照组幼参呼吸树 MDA 含量在 10 d 显著高于 30 d ($P<0.05$)。高温组幼参呼吸树 MDA 含量在 0 d 显著高于 10 d 及 30 d ($P<0.05$)。

2.7 不同糙海参幼参组织抗氧化酶及免疫酶活力与生长和水温关系

糙海参幼参不同组织抗氧化酶及免疫酶活力与生长和水温的关系见表 3。幼参呼吸树中 SOD、CAT、AKP、LZM 活力及 MDA 含量均与 SGR、水温呈负相关($P<0.05$), 且相关系数最高。肠道中的 SOD、AKP 与 SGR 正相关($P>0.05$), 其 CAT、LZM 活力及 MDA 含量与 SGR 负相关($P<0.05$), 肠道中 MDA 含量与水温负相关($P<0.05$), 其他指标均与水温正相关($P>0.05$)。幼参体壁中除 LZM

活力与 SGR 正相关以外, 其他指标均与 SGR、水温负相关($P<0.05$)。幼参体腔液中除 LZM 活力与水温正相关以外, 其余指标均与 SGR、水温负相关($P<0.05$)。

表 3 不同糙海参幼参组织抗氧化酶及免疫酶活力与特定生长率和温度的 Pearson 相关系数
Tab. 3 Pearson correlation coefficient between oxidative stress and immune indicators in different tissues of juvenile *Holothuria scabra* with specific growth rates and temperatures
 $n=3$; $\bar{x}\pm SD$

指标 parameter	特定生长率 /(%/d) SGR	温度/ $^{\circ}\text{C}$ temperature
呼吸树-SOD/(U/mgprot) respiratory tree-SOD	-0.923	-0.564
呼吸树-CAT/(U/mgprot) respiratory tree-CAT	-0.927	-0.642
呼吸树-AKP/(金氏单位/mgprot) respiratory tree-AKP	-0.330	-0.333
呼吸树-LZM/($\mu\text{g}/\text{mgprot}$) respiratory tree-LZM	-0.880	-0.809
呼吸树-MDA/(nmol/mgprot) respiratory tree-MDA	-0.937	-0.479
肠道-SOD/(U/mgprot) intestine-SOD	0.184	0.879
肠道-CAT/(U/mgprot) intestine-CAT	-0.068	0.810
肠道-AKP/(金氏单位/mgprot) intestine-AKP	0.488	0.961
肠道-LZM/($\mu\text{g}/\text{mgprot}$) intestine-LZM	-0.340	0.485
肠道-MDA/(nmol/mgprot) intestine-MDA	-0.798	-0.226
体壁-SOD/(U/mgprot) muscle-SOD	-0.904	-0.727
体壁-CAT/(U/mgprot) muscle-CAT	-0.830	-0.836
体壁-AKP/(金氏单位/mgprot) muscle-AKP	-0.415	-0.863
体壁-LZM/($\mu\text{g}/\text{mgprot}$) muscle-LZM	0.150	-0.247
体壁-MDA/(nmol/mgprot) muscle-MDA	-0.604	-0.831
体腔液-SOD/(U/mL) coelomic fluid-SOD	-0.858	-0.815
体腔液-CAT/(U/mL) coelomic fluid-CAT	-0.808	-0.697
体腔液-AKP/(金氏单位/100 mL) coelomic fluid-AKP	-0.820	-0.802
体腔液-LZM/($\mu\text{g}/\text{mL}$) coelomic fluid-LZM	-0.116	0.407
体腔液-MDA/(nmol/mL) coelomic fluid-MDA	-0.263	-0.554

3 讨论

3.1 水温对糙海参幼参生长的影响

海参的生长和温度的变化密切相关, 适宜的

温度范围能够促进海参的生长^[16]。根据文献报道, 糙海参能够在 16~35 °C 海域中生存^[10]。本实验中对对照组, 即在 28 °C 条件下养殖的糙海参幼参 SGR 是最高的, 其次是高温组, 最后是低温组, 说明温度条件控制在 28 °C 时糙海参幼参生长效果最好。低温初期组幼参 SGR 与对照组无显著差异, 后期显著低于对照组和高温组, 说明长期低温不利于糙海参幼参健康生长; 高温组幼海参初期出现负生长, 分析推测可能的原因是高温条件下耗氧率增加^[2,17], 体内产生较高浓度的氧自由基^[5], 同时抗氧化系统需要消耗很多的能量来应对高温压力, 从而导致生长出现负值^[3], 10~20 d 高温的幼参 SGR 显著增加, 但整体还是低于对照组。整体来看, 长期低温与高温压力均会对糙海参幼参生长产生一定影响, 而低温压力显著高于高温, 在高温压力后期幼参表现出一定适应现象。刺参幼参适宜生长的温度范围为 10~20 °C^[16], 超过 16 °C 刺参幼参 SGR 开始下降^[17]。高温胁迫对刺参影响要大于低温^[18], 而糙海参则出现相反的现象。

3.2 水温对糙海参幼参抗氧化酶活力的影响

水生生物的抗氧化防御和免疫防御在机体应对环境因子改变发挥着重要作用^[19]。温度会诱导生物体产生 ROS, ROS 过量会导致机体内源性氧自由基与外源性氧自由基失衡, 导致机体细胞组织损伤, 从而影响机体的生长^[20]。SOD 和 CAT 作为生物体抗氧化的第一道防线^[21], 能够清除过量 ROS 降低细胞氧化损伤。研究发现, 高低温均会诱导刺参机体产生过量 ROS, 使得刺参体内抗氧化酶活力升高^[4-5,22-23]。

在对照组中, 幼参肠道中 AKP 及 LZM 活力在 20 d、30 d 时显著低于 0 d, 呼吸树中 SOD 活力在 20 d、30 d 时显著低于 0 d、10 d, LZM 活力在 10 d、20 d 及 30 d 时显著低于 0 d。结合对照组中幼参生长变化情况, 推测可能是糙海参幼参生长需要消耗更多物质能量, 从而导致幼参肠道与呼吸树中合成部分抗氧化酶及免疫酶的物质能量不足, 导致其活力降低。

低温处理组 0 d 时体腔液 SOD 活力, 体壁 SOD、CAT 活力与对照组均无显著差异, 30 d 时

均明显高于对照组, 说明体腔液、体壁需要产生较多抗氧化酶来应对长期低温压力。0 d 时肠道 SOD、CAT 活力显著高于对照组, 30 d 时降低至对照组水平, 说明低温初期对肠道的氧化压力较大。0 d 与 30 d 时呼吸树中 SOD、CAT 活力均显著高于对照组, 说明低温初期与后期均诱导幼参呼吸树产生较多抗氧化酶。王方雨^[18]研究不同水温对刺参免疫机能的影响, 结果显示 0 °C、8 °C 低温胁迫组 72 h 内体腔液中 SOD、CAT 及 LZM 活力与对照组无显著差异, 高温胁迫组 3 种酶活性部分时间点显著高于或低于对照组, 说明刺参体腔液内几种免疫酶类活力受升温胁迫影响显著, 而降温胁迫的影响并不显著, 可以看出不同参种在应对短期低温的响应存在一定差异。Kamyab 等^[9]研究低但温 21 °C、对照 27 °C、高温 33 °C 对糙海参幼参氧化应激的影响, 结果显示低温组糙海参呼吸树和体壁中 SOD、CAT 活力和对照组在 0 d、15 d、30 d 时均无显著差异, 与本研究结果不同, 分析原因可能与糙海参来源地以及体重不同有关。分析得出, 糙海参幼参 4 种组织应对低温压力时出现不同响应结果。体壁是抵御外部环境第一道物理防线, 体腔液作为外层保护组织可以抵御低温初期的压力, 但随着低温时间延长, 体壁、体腔液不能承受长期低温压力, 需要诱导产生较高的抗氧化酶活力来应对氧化压力。而肠道作为消化吸收重要场所, 呼吸树作为代谢旺盛的器官^[9], 本身需要投入较高的能量来维持其正常机能, 低温初期压力需要消耗较多的能量来应对氧化应激, 以免机体产生损伤, 呼吸树仍然需要产生许多抗氧化酶来应对长期低温产生的氧化应激。从数值上来看, 糙海参幼参 4 种组织应对低温压力的抗氧化酶活力差异显著, 其中呼吸树最高, 其次是肠道、体壁、体腔液, 说明糙海参幼参在低温压力下产生的过量 ROS 主要由呼吸树的抗氧化系统进行清除。

高温处理组 0 d 时幼参体腔液、体壁 SOD、CAT 活力显著高于对照组, 表明高温处理在初期对幼参产生氧化应激, 需要机体产生较高的抗氧化酶活力来应对氧化压力, 30 d 时恢复至对照组水平。0 d 时肠道 SOD 活力明显低于对照组, CAT

活力明显高于对照组, 30 d 时均显著高于对照组。0 d 时呼吸树 SOD、CAT 活力均显著高于对照组, 30 d 时 SOD 活力降至对照组水平, CAT 活力显著高于对照组。可以看出, 糙海参幼参的 4 种组织应对高温压力时会出现与低温压力不同响应结果, 高温初期机体需要提高代谢从而导致更多 ROS 产生, 因此高温初期相较于后期对各种组织的氧化损伤更大。呼吸树作为代谢旺盛的器官, 肠道作为消化和吸收的重要场所, 对幼参生长有重要作用, 同时高温可能会影响肠道微生物群落与代谢^[24], 因此高温初期与后期均对肠道和呼吸树产生较大的氧化压力, 均需要诱导产生更多的抗氧化酶有助于降低肠道和呼吸树的氧化损伤。纪婷婷^[22]研究热胁迫对刺参的影响, 表明肠道比体壁在遭受热胁迫时敏感度更高。丁原刚等^[5]指出刺参不同组织应对高温变动的抗氧化水平为呼吸树>体壁>体腔液。Ju 等^[25]研究表明刺参呼吸树应对高温时的抗氧化水平高于体壁组织。从数值分析, 糙海参幼参 4 种组织应对高温压力的抗氧化酶活力差异显著, 与上述作者关于刺参应对高温压力的抗氧化水平的研究结果类似。

丙二醛(MDA)是生物体细胞膜脂质过氧化的重要产物, 其含量变化与其氧化应激水平呈正相关^[26]。在本研究中, 对照组幼参各组织中 MDA 含量低, 表明对照组中幼参氧化应激水平较低。从幼参 4 种组织中 MDA 含量分析得出, 幼参体腔液、体壁以及肠道主要受到长期低温的氧化损伤, 短期与长期低温均对呼吸树造成较大的氧化损伤; 幼参体腔液、体壁主要受短期高温带来的氧化损伤, 肠道、呼吸树均受到短期与长期高温的带来的氧化损伤。4 种组织中 MDA 含量与 SOD、CAT 活力变化趋势基本相同, 肠道应对低温与呼吸树应对高温压力时结果稍有不同, 分析原因主要是 MDA 作为细胞应对氧化应激反应的损伤结果会出现一定滞后性。

3.3 水温对糙海参幼参免疫酶活力的影响

糙海参作为无脊椎动物, 主要依赖非特异性免疫来应对入侵物质^[27-28]。碱性磷酸酶(AKP)是生物体免疫反应中重要的代谢类调控酶^[29]。LZM 是一种碱性蛋白酶, 主要存在于棘皮动物体腔液

和组织细胞中, 可以降解细菌从而防止机体细菌感染。因此, AKP 和 LZM 活力水平可以反映海参非特异性免疫水平的衡量指标^[30]。

在低温处理组, 0 d 时幼参体腔液中 AKP 活力与对照组之间无显著差异, 30 d 时显著增加, 而 LZM 活力无明显变化, 这与刺参体腔液应对低温时的结果类似, 刺参体腔液中 LZM 活力在 12 ℃ 降至 0 ℃ 无明显差异^[31], 杨宁等^[27]研究水温对刺参消化酶和免疫酶活力的影响, 结果表明体腔液 LZM 活力在 10 ℃、14 ℃ 低于 18 ℃、22 ℃, 说明体腔液中 LZM 可能不参与低温压力的免疫调节过程。0 d 时体壁 AKP 活力显著低于对照组, 30 d 时与对照组无显著差异, 而 0 d 与 30 d 时 LZM 活力与对照组均无显著差异。0 d 时肠道 AKP 和 LZM 活力显著高于对照组, 30 d 时 AKP 显著低于对照组, LZM 活力降至对照组水平。0 d 时呼吸树 AKP、LZM 活力显著高于对照组, 30 d 时 LZM 活力仍然显著高于对照组, AKP 活力与对照组无显著差异。可以看出, 体腔液、体壁通过提高 AKP 活力来应对长期低温压力, 肠道通过提高 AKP 和 LZM 活力来应对短期低温压力, 呼吸树在短期与长期低温压力中都需要较高的免疫酶活力来应对机体产生氧化应激, 这与幼参应对低温压力抗氧化酶响应规律一致。

在高温处理组, 0 d 时幼参体腔液和体壁中 AKP 活力显著高于对照组, LZM 活力与对照组间无差异, 30 d 时均与对照组无显著差异, 说明糙海参幼参体腔液中 LZM 可能也不参与应对高温压力的免疫调节过程, 而刺参体腔液中 LZM 活力在 16 ℃ 升至 28 ℃ 明显升高后降低又升高^[32], 刺参体壁在高温胁迫短期内 AKP 和 LZM 活力显著高于对照组^[33-34], 分析原因可能是不同参种应对高温压力时的响应机制存在差异。0 d 时肠道中 AKP 低于对照组, LZM 活力与对照组无显著差异, 30 d 时均显著高于对照组。0 d 时呼吸树 AKP 和 LZM 活力显著高于对照组, 30 d 时均降至对照组水平。可以看出, 幼参体腔液、体壁、呼吸树通过提高免疫酶活力来应对短期高温氧化压力, 而在长期高温压力下, 肠道产生更多的免疫酶活力以适应不利环境, 与幼参应对高温压力时抗氧化

酶的响应规律一致。

3.4 糙海参幼参抗氧化酶和免疫酶活力与生长的关系

糙海参幼参 4 种组织中抗氧化酶与免疫酶活力基本与 SGR 负相关, 即消耗较多物质能量诱导产生抗氧化酶与免疫酶活力以应对水温压力带来的氧化损伤, 导致用于生长的物质能量降低, 最终出现幼参 SGR 显著降低结果, 与鲷应对不同溶氧压力的结果相似^[35]。

4 结论

本研究结果表明, 对照组 28 ℃ 时糙海参幼参获得最大体重, SGR 最高, 均显著高于高温组 33 ℃ 与低温组 23 ℃, 且高温组 SGR 显著高于低温组。糙海参幼参 4 种组织通过提高抗氧化酶与免疫酶活力来应对低温、高温压力, 且长期低温对幼参影响远大于长期高温。

参考文献:

- [1] Huo D. The physiological response and molecular regulation mechanism of sea cucumbers under thermal and hypoxic stresses[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2020. [霍达. 刺参应对高温低氧胁迫的生理响应与分子调控特征[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2020.]
- [2] Dong Y W, Dong S L, Tian X L, et al. Effects of water temperature on growth, respiration and body composition of young sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2005, 12(1): 33-37. [董云伟, 董双林, 田相利, 等. 不同水温对刺参幼参生长、呼吸及体组成的影响[J]. 中国水产科学, 2005, 12(1): 33-37.]
- [3] An Z H, Dong Y W, Dong S L. Temperature effects on growth-ration relationships of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka)[J]. Aquaculture, 2007, 272(1-4): 644-648.
- [4] Ji T T, Dong Y W, Dong S L. Growth and physiological responses in the sea cucumber, *Apostichopus japonicus* Selenka: Aestivation and temperature[J]. Aquaculture, 2008, 283(1-4): 180-187.
- [5] 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.]
- [6] Zhao B, Li C L, Hu W, et al. Effects of low temprature on the growth and oxygen consumption rate of different sizes of sea cucumbers (*Apostichopus japonicus*) in industrial aquaculture[J]. Marine Sciences, 2011, 35(12): 88-91. [赵斌, 李成林, 胡炜, 等. 低温对不同规格刺参幼参生长与耗氧率的影响[J]. 海洋科学, 2011, 35(12): 88-91.]
- [7] Yu M Z, Chang Y Q. The effects of low temperature on some physiological phenomena in different populations of sea cucumber *Apostichopus japonicus* juveniles[J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2008, 23(1): 31-36. [于明志, 常亚青. 低温对不同群体仿刺参幼参某些生理现象的影响[J]. 大连水产学院学报, 2008, 23(1): 31-36.]
- [8] Kühnhold H, Kamyab E, Novais S, et al. Thermal stress effects on energy resource allocation and oxygen consumption rate in the juvenile sea cucumber, *Holothuria scabra* (Jaeger, 1833)[J]. Aquaculture, 2017, 467(1): 109-117.
- [9] Kamyab E, Kühnhold H, Novais S C. Effects of thermal stress on the immune and oxidative stress responses of juvenile sea cucumber *Holothuria scabra*[J]. Journal of Comparative Physiology B, 2017, 187(1): 51-61.
- [10] Yang X M, Zhang L. Introduction to a new tropical sea cucumber breeding variety[J]. Journal of Aquaculture, 2011, 32(12): 21-22. [杨学明, 张立. 介绍一种热带海参养殖新品种[J]. 水产养殖, 2011, 32(12): 21-22.]
- [11] Eriksson H, Clarke S. Chinese market responses to overexploitation of sharks and sea cucumbers[J]. Biological Conservation, 2015, 184(1): 163-173.
- [12] Liu X J, Huang G Q, Li J M, et al. Analysis on nutritive content of wet and dry sand fish *Holothuria scabra* cultured in indoor pond with different month ages[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2018, 38(2): 85-90. [刘旭佳, 黄国强, 李坚明, 等. 室内养殖不同月龄糙海参营养成分分析[J]. 广东海洋大学学报, 2018, 38(2): 85-90.]
- [13] Han H, Yi Y H, La M P, et al. Studies on antifungal and antitumor activities of scabraside A, B from *Holothuria scabra* Jaeger[J]. Chinese Pharmacological Bulletin, 2008, 24(8): 1111-1112. [韩华, 易杨华, 喇明平, 等. 糙海参皂苷 Scabraside A、B 的抗真菌和抗肿瘤活性[J]. 中国药理学通报, 2008, 24(8): 1111-1112.]
- [14] Chen J, Zheng A C, Xiao K J, et al. Studies on isolation and partial characterization of acidic mucopolysaccharide from *Holothuria scabra* jaeger[J]. Food and Fermentation Industries, 2006, 32(10): 123-126. [陈健, 郑艾初, 肖凯军, 等. 糙海参酸性粘多糖的分离及特性研究[J]. 食品与发酵工业,

- 2006, 32(10): 123-126.]
- [15] Feng Y Q, Feng W M, Fang Z G, et al. Large-scale breeding techniques of rough sea cucumber *Holothuria scabra*[J]. Fisheries Science, 2021, 40(5): 750-756. [冯永勤, 翁文明, 方再光, 等. 糙海参苗种规模化繁育技术研究[J]. 水产科学, 2021, 40(5): 750-756.]
- [16] Dong Y W, Dong S L. Advances of ecological physiology in sea cucumber *Apostichopus japonicus* selenka[J]. Periodical of Ocean University of China, 2009, 39(5): 908-912. [董云伟, 董双林. 刺参对温度适应的生理生态学研究进展[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2009, 39(5): 908-912.]
- [17] Zhang P. Effect of salinity, light intensity and temperature on growth and energy metabolism of red and green variants of *Apostichopus japonicus*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012. [张鹏. 盐度、光照强度、温度对青色系、红色系仿刺参(*Apostichopus japonicus*)生长和能量分配的影响[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.]
- [18] Wang F Y. Mechanism of ecological immunity and aestivation of *Apostichopus japonicus*[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2008. [王方雨. 刺参 *Apostichopus japonicus* 生态免疫与夏眠的基础研究[D]. 青岛: 中国科学院海洋研究所, 2008.]
- [19] Li G R, Ren L H, Sun G H, et al. Effects of hypoxic stress on oxidative stress indices in *Apostichopus japonicus*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2016, 37(5): 133-139. [李根瑞, 任利华, 孙国华, 等. 低溶氧胁迫对刺参(*Apostichopus japonicus*)氧化应激指标的影响[J]. 渔业科学进展, 2016, 37(5): 133-139.]
- [20] Valavanidis A, Vlahogianni T, Dassenakis M, et al. Molecular biomarkers of oxidative stress in aquatic organisms in relation to toxic environmental pollutants[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2006, 64(2): 178-189.
- [21] Wei J, Xu C, Li K X, et al. Progress on superoxide dismutase and plant stress resistance[J]. Plant Physiology Journal, 2020, 56(12): 2571-2584. [魏婧, 徐畅, 李可欣, 等. 超氧化物歧化酶的研究进展与植物抗逆性[J]. 植物生理学报, 2020, 56(12): 2571-2584.]
- [22] Ji T T. Ecological and physiological mechanisms on temperature change in sea cucumber, *Apostichopus japonicus*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2009. [纪婷婷. 刺参(*Apostichopus japonicus*)对温度变化的生态生理学响应机制[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2009.]
- [23] Wang X Y, Chang Y Q, Ding J, et al. A preliminary study of temperature reduction on immune enzymes, soluble sugars and soluble proteins in sea cucumber[J]. Journal of Agriculture, 2012, 2(4): 44-49, 55. [王晓燕, 常亚青, 丁君, 等. 降温对刺参免疫酶、可溶性蛋白及可溶性糖影响的初步研究[J]. 农学学报, 2012, 2(4): 44-49, 55.]
- [24] Quan Z J, Gao P P, Zhang Y, et al. Bacterial community and function in the intestinal tracts of sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) at different temperatures[J]. Chinese Journal of Ecology, 2019, 38(9): 2756-2764. [全紫娇, 高萍萍, 张杨, 等. 不同温度下刺参肠道菌群结构与功能[J]. 生态学杂志, 2019, 38(9): 2756-2764.]
- [25] Ju Z L, Liao G X, Zhang Y L, et al. Oxidative stress responses in the respiratory tree and the body wall of sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) to high temperature[J]. Environmental Science and Pollution Research, 2023, 30(8): 21288-21298.
- [26] Shi H H, Sui Y X, Wang X R, et al. Hydroxyl radical production and oxidative damage induced by cadmium and naphthalene in liver of *Carassius auratus*[J]. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C, 2005, 140(1): 115-121.
- [27] Yang N, Wang W Q, Jiang L X, et al. Effects of water temperature on activities of digestive enzymes and immune enzymes in *Apostichopus japonicus*[J]. Marine Sciences, 2014, 38(11): 56-59. [杨宁, 王文琪, 姜令绪, 等. 水温对刺参消化酶和免疫酶活力的影响[J]. 海洋科学, 2014, 38(11): 56-59.]
- [28] Liu Y, Kong W L, Jiang G L, et al. Effects of two kinds of immunopolysaccharide on the activities of immunoenzymes in sea cucumber, *Apostichopus japonicus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15(5): 787-793. [刘云, 孔伟丽, 姜国良, 等. 2种免疫多糖对刺参组织主要免疫酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2008, 15(5): 787-793.]
- [29] Zang Y Q. Ecological and physiological mechanisms on typical environmental factors in sea cucumber, *Apostichopus japonicus* selenka[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012. [臧元奇. 刺参(*Apostichopus japonicus* selenka)对典型环境胁迫的生理生态学响应及其机制研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2012.]
- [30] Cao X S. The effect of temperature on the growth, physiology and nutritional components in *Apostichopus japonicus*[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2014. [曹学顺. 温度对刺参的生长、生理及营养成分的影响研究[D]. 大连: 大连海洋大学, 2014.]
- [31] Wang F Y, Yang H S, Gao F, et al. Effects of acute temperature or salinity stress on the immune response in sea cucumber, *Apostichopus japonicus*[J]. Comparative Biochemistry

- and Physiology, Part A, 2008, 151(4): 491-498.
- [32] Cao X S, Ding J, Bai X Q, et al. The study of rising temperature on serum non-specific immune in Shuiyuan NO.1 sea cucumber populations and the cultured sea cucumber populations[J]. Journal of Agriculture, 2015, 5(1): 80-85. [曹学顺, 丁君, 白雪秋, 等. 升温对‘水院1号’和大连养殖刺参非特异性免疫影响的研究[J]. 农学学报, 2015, 5(1): 80-85.]
- [33] Liu S L, Ru X S, Xu Q Z, et al. Effects of high-temperature stress on several immune enzyme activities of *Apostichopus japonicus* thermotolerant and normal species[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2016, 23(2): 344-351. [刘石林, 茹小尚, 徐勤增, 等. 高温胁迫对刺参耐高温群体和普通群体主要免疫酶活力的影响[J]. 中国水产科学, 2016, 23(2): 344-351.]
- [34] Yang F Y, Yang Q H, Xiao Y Q, et al. Effects of high temperature stress on heat shock protein gene and immune enzyme activity of *Apostichopus japonicus* moved southward[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2022, 31(6): 1361-1372. [杨福元, 杨求华, 肖益群, 等. 高温胁迫对南移仿刺参热休克蛋白基因和免疫酶活力的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2022, 31(6): 1361-1372.]
- [35] Liu X J, Huang G Q, Peng Y H. Effect of different dissolved oxygen levels on growth, energy metabolism and oxidative stress of *Mugil cephalus*[J]. South China Fisheries Science, 2015, 11(4): 88-94. [刘旭佳, 黄国强, 彭银辉. 不同溶解氧水平对鲮生长、能量代谢和氧化应激的影响[J]. 南方水产科学, 2015, 11(4): 88-94.]

The effects of water temperature on growth, antioxidant enzyme and immune enzyme activities of juvenile sea cucumber, *Holothuria scabra*

LI Zhiqiao¹, LIU Xujia², JIANG Fajun², LIU Jing³, ZHONG Shengping⁴, HU Chaoqun²

1. College of Resources, Environment and Materials, Guangxi University, Nanning 530004, China;
2. Guangxi Key Laboratory of Marine Environmental Science, Guangxi Beibu Gulf Marine Research Centre, Guangxi Academy of Sciences, Nanning 530007, China;
3. College of Oceanography, Beibu Gulf University; Guangxi Key Laboratory for Marine Biodiversity Conservation, Qinzhou 535011, China;
4. Guangxi University of Traditional Chinese Medicine, Institute of Marine Drugs Guangxi, Key Laboratory of Marine Drugs, Nanning 530007, China

Abstract: This study was conducted to find out the effects of water temperature on the growth, antioxidant enzyme activity, and immune enzyme activity of juvenile sea cucumbers *Holothuria scabra*. We cultivated healthy individuals with an average body weight of (1.70 ± 0.24 g) at three temperatures: low temperature at 23 °C, control at 28 °C, and high temperature at 33 °C in temperature-controlled tanks for 30 d. The specific growth rate of *H. scabra* juveniles was measured every 10 d. Juvenile *H. scabra* body walls, coelomic fluid, intestines, and respiratory trees were collected to determine superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), alkaline phosphatase (AKP), lysozyme (LZM), and malondialdehyde (MDA) content. The results showed that: (1) The SGR₀₋₃₀ of the control group was significantly higher than that of the high-temperature and low-temperature groups ($P < 0.05$), and the high-temperature group exhibited a significantly higher value than that of the low-temperature group ($P < 0.05$), indicating that long-term low temperature had a greater impact on juveniles than long-term high temperature. (2) In the low-temperature group, SOD, AKP, and LZM activity and MDA content in the coelomic fluid were not significantly different from those in the control group at 0 d, and SOD, CAT, and AKP activity were significantly higher than those in the control group at 30 d ($P < 0.05$). SOD, CAT, and LZM activity, and MDA content in the body wall were not significantly different from those in the control group at day 0; however, SOD, CAT activity, and MDA content were significantly higher than those in the control group at day 30 ($P < 0.05$). All

enzyme activities in the intestine were significantly higher than those in the control group at 0 d ($P<0.05$), except for MDA content. Then, only MDA content was significantly higher than that of the control group at 30 d ($P<0.05$). All indicators in the respiratory tree were significantly higher than those in the control group at 0 and 30 d ($P<0.05$). The results showed that the coelomic fluid and body wall of juvenile *H. scabra* needed to cope with oxidative stress caused by prolonged low temperatures, while the intestine had to deal with oxidative stress from short-term low temperatures, and the respiratory tree had to adapt to oxidative stress from both short-term and prolonged low temperatures. (3) In the high-temperature group, SOD, CAT, and AKP activity and MDA content in the coelomic fluid and body wall were significantly higher than those in the control group at 0 d ($P<0.05$). No indicators showed significant differences from those in the control group at 30 d. CAT activity in the intestine was significantly higher than those in the control group on day 0 ($P<0.05$), and all indicators were significantly higher than those in the control group on day 30 ($P<0.05$). All indicators in the respiratory tree were significantly higher than those in the control group at 0 and 30 d ($P<0.05$); CAT content and MDA content were significantly higher than that in the control group ($P<0.05$). This suggests that the coelomic fluid and body wall primarily faced oxidative stress from short-term exposure to high temperatures, whereas the intestine and respiratory tree had to deal with both short-term and prolonged high-temperature stresses. (4) Antioxidant and immune enzyme activities in the four tissues of juvenile sea cucumbers were negatively correlated with SGR, indicating that the increase in antioxidant and immune enzyme activities conflicted with rapid growth, resulting in a significant decrease in SGR. In conclusion, both prolonged low and high temperatures generated oxidative stress in juvenile *H. scabra*, and juvenile *H. scabra* had greater adaptability to high temperatures.

Key words: water temperature; *Holothuria scabra*; growth; oxidative stress; immunity

Corresponding author: LIU Xujia. E-mail: lxu0312@126.com