

温度对福寿螺抗氧化酶活性和丙二醛含量的影响

陈炼^{①②} 邬婷^③ 陈燊^{②③} 邱怡妮^③ 朱善良^{②③} 祁雯^③
卫蔚^{②③} 刘少华^{②③} 刘青^{②③} 赵雨恬^③ 王仁雷^{②③*}

① 南京林业大学生物与环境学院 南京 210037; ② 江苏省生物功能分子重点建设实验室 南京 210013;

③ 江苏第二师范学院生命科学与化学化工学院 南京 210013

摘要: 福寿螺 (*Pomacea canaliculata*) 是外来入侵物种, 对中国南方大部分地区的生态环境造成严重威胁, 其生长和繁殖受到温度影响。本文研究了 15 °C (低温)、25 °C (对照组) 和 36 °C (高温) 三种温度条件下, 不同时间点 (0、6、12、24、48、72 h) 福寿螺体内超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活性及丙二醛 (MDA) 含量的变化。实验结果表明, 在低温 (15 °C) 和高温 (36 °C) 胁迫下, 福寿螺肝脏和鳃中超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶活性以及丙二醛含量均呈现先升高后降低的趋势, 并且在 72 h 时恢复到对照组 (25 °C) 水平。低温和高温胁迫下, 福寿螺鳃中的过氧化氢酶活性和肝脏中的超氧化物歧化酶活性在 12 h、24 h 和 48 h 时均显著高于对照组 ($P < 0.05$), 并在 48 h 时达到最大值 ($P < 0.01$)。鳃和肝脏中的谷胱甘肽过氧化物酶活性在 12 h 升高并在 24 h 时达到最大值。低温和高温胁迫下, 丙二醛含量分别在 24 h 和 12 h 达到最大值。结果表明, 温度能够诱导福寿螺抗氧化应激反应。福寿螺可以通过增加体内抗氧化酶活力来缓解温度胁迫所造成的压力。鳃中抗氧化酶活性变化快于肝脏抗氧化酶活性变化, 福寿螺氧化应激反应表现出组织特异性。

关键词: 福寿螺; 温度胁迫; 抗氧化酶; 丙二醛

中图分类号: Q955 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2019) 05-727-09

Effects of Temperature Stress on Antioxidase Activity and Malondialdehyde in *Pomacea canaliculata*

CHEN Lian^{①②} WU Ting^③ CHEN Yu^{②③} QIU Yi-Ni^③ ZHU Shan-Liang^{②③} QI Wen^③
WEI Wei^{②③} LIU Shao-Hua^{②③} LIU Qing^{②③} ZHAO Yu-Tian^③ WANG Ren-Lei^{②③*}

① College of Biology and Environmental Science, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037;

② Jiangsu Key Laboratory for Biofunctional Molecules, Nanjing 210013;

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 31770402), 江苏省自然科学基金项目 (No. BK20171407), 江苏省第五期 333 工程培养对象项目, 国家科技支撑计划项目 (No. 2015BAD08B01), 生物多样性保护重大工程专项基金项目;

* 通讯作者, E-mail: wrl3501988@163.com;

第一作者介绍 陈炼, 女, 副教授; 研究方向: 分子生态学; E-mail: chenlian_2004@163.com。

收稿日期: 2019-03-12, 修回日期: 2019-07-21 DOI: 10.13859/j.cjz.201905014

③ *College of Life Sciences, Chemistry and Chemical Engineering, Jiangsu Second Normal University, Nanjing 210013, China*

Abstract: Temperature is an important environmental factor that affects the distribution of species and causes the physiological stress response of species. After being introduced into China, the invasive species, *Pomacea canaliculata* has become a serious pest of important agricultural crops as well as a threat to ecosystems in its invaded regions. Effects of temperature on antioxidant enzyme activities and the malondialdehyde (MDA) contents in the hepatopancreas and gill of *P. canaliculata* were investigated. *P. canaliculata* were acclimated for two weeks with temperature 25 °C. After acclimation, the low and high temperature stress experiments were conducted. The temperature maintaining at 15 °C was designated as low-temperature group, 36 °C as high-temperature group, and 25 °C as control group, with three replicates for each group. All data were analyzed and compared with one-way ANOVA and Duncan using SPSS 22.0. The results showed that the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px) and the malondialdehyde contents in the hepatopancreas and gill of *P. canaliculata* changed similarly, both increased first and then decreased under low or high temperature stress (Fig.1 - 8). In groups of 15 °C and 36 °C, CAT activity in gill and SOD activity in hepatopancreas were significant higher than in the control group after 6 h ($P < 0.05$) and at the highest level at 48 h ($P < 0.01$, Fig. 2, 3). The activity of GSH-Px in gill and hepatopancreas increased at 12 h and reached the highest level in both low and high temperature groups at 24 h (Fig. 5, 6). MDA contents in gill and hepatopancreas of *P. canaliculata* were at the highest in the group of 15 °C at 24 h and group of 36 °C at 12 h, respectively (Fig. 7, 8). There were no significant differences of SOD, CAT, GSH-Px activities and MDA contents between temperature treatment groups and 25 °C control group at 72 h ($P > 0.05$). Furthermore, gills appeared more sensitive to defense oxidative damages than hepatopancreas. The results suggest that temperature stimulation can activate antioxidant enzymes activities in the hepatopancreas and gill of *P. canaliculata*, and eliminate reactive oxygen species (ROS) induced by low and high temperature stress.

Key words: *Pomacea canaliculata*; Temperature stress; Antioxidant enzyme; Malondialdehyde

福寿螺 (*Pomacea canaliculata*) 隶属于软体动物门 (Mollusca) 腹足纲 (Gastropoda) 中腹足目 (Mesogastropoda) 瓶螺科 (Ampullariidae) 福寿螺属, 原产于南美洲亚马孙河流域, 被世界自然保护联盟外来入侵物种专家委员会列为全球 100 种恶性外来入侵物种之一 (Luque et al. 2014)。福寿螺具有生长繁殖快、食性广、适应性强等特点 (Bae et al. 2015), 具有类似两栖动物的“鳃肺”呼吸系统 (Deaton et al. 2016), 在我国南方大部分地区形成自然种群, 威胁入侵地的生态和水生植物, 造成巨大经济损失。2003 年, 原国家环境保护总局将其列入首批入侵中国的 16 种“危害极大的外来物种之一”(杨

叶欣等 2010)。2012 年农业部将其列为第一批国家重点管理外来入侵物种。

温度是决定物种分布最重要的非生物因子 (Kelley 2014)。温度变化往往引起多种生理应激反应, 同时伴随着活性氧自由基 (reactive oxygen species, ROS) 的过量产生。活性氧自由基累积过多会引起蛋白质、核酸和甾醇类物质的氧化以及细胞膜中饱和和脂质的过氧化, 影响细胞的完整性 (Martínez-Alvarez et al. 2005)。为了防止过量活性氧造成的损伤和保持内环境的平衡, 生物在长期的进化过程中形成了一套完整的抗氧化体系来清除体内过多的活性氧自由基。在动物抗氧化系统中, 超氧化

物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GSH-Px) 具有清除活性氧自由基的功能, 对增强吞噬细胞防御能力和机体免疫功能有重要作用, 是机体清除氧自由基的重要抗氧化酶类 (Verlecar et al. 2008)。脂质过氧化被认为是活性氧自由基氧化脂质的结果, 而丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 被认为是脂质过氧化的最终分解产物之一, 丙二醛含量可以间接反映细胞膜的氧化损伤程度 (Liu et al. 2011)。因此, 可以通过测定抗氧化酶活性和丙二醛含量的变化来检测温度变化对生物生理机能的影响 (亢玉静等 2013)。

已有研究表明, 福寿螺生长繁殖和存活均受温度影响 (刘艳斌等 2011)。Seuffert 等 (2017) 研究发现, 在不同温度 (20、25、30 和 35 °C) 长时间处理下, 35 °C 处理组福寿螺死亡率最高, 而且无法产卵; 15 °C 处理组中的福寿螺个体小于其他温度 (20、25、30 和 35 °C) 组的福寿螺。本研究以福寿螺为研究对象, 探讨其在高温和低温胁迫下肝胰脏、鳃抗氧化酶活性及丙二醛含量的变化规律, 以期说明福寿螺受到温度胁迫后体内活性氧代谢机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用福寿螺于 2017 年 5 月采自浙江省丽水市, 在实验室条件下驯化 2 周。选取表现正常、活力较强、平均螺长约为 28 mm 的雌性福寿螺用于实验。将用于实验的福寿螺置于人工气候箱驯养 2 周 (温度 25 °C, 光周期为 L:D = 14:10, 光照强度 3 000 lx)。驯养期间每天使用曝气水换水并投喂生菜。

1.2 实验处理及样本采集

人工气候箱设置 36 °C (高温处理组)、15 °C (低温处理组) 和 25 °C (对照组) 温度处理。实验期间每个处理组对应的温度恒定。每个温度组设 3 个平行处理, 每个平行随机放

入 30 只福寿螺。实验期间停止投喂。实验开始后分别在 0、6、12、24、48、72 h 从各平行组中随机挑取 3 只福寿螺, 每个实验组共 9 只, 迅速置于解剖盘内进行解剖。剪取福寿螺肝胰脏和鳃, 置于液氮中迅速冻存, 再转入 -80 °C 冰箱保存。

1.3 抗氧化酶活性和丙二醛含量测定

测定酶活性指标时, 将样品放入离心管中, 使用预冷的 0.85% 生理盐水清洗组织样本, 冰浴匀浆, 在 4 °C 条件下 3 500 r/min 离心 10 min, 取上清液。将上清液稀释至试剂盒所需浓度后进行酶活力及总蛋白测定。上清液于 24 h 内测定完毕。

试剂盒均购自南京建成生物工程研究所, 按照试剂盒说明书进行操作, 测定超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶活性以及丙二醛和组织蛋白含量, 其中组织蛋白测定采用考马斯亮蓝蛋白测定试剂盒, 测定单位为 g/L。超氧化物歧化酶活性测定采用黄嘌呤氧化法。超氧化物歧化酶活力单位定义为 37 °C 条件下, 每毫克组织蛋白在 1 ml 反应液中超氧化物歧化酶抑制率达 50% 时所对应的超氧化物歧化酶量为 1 个活力单位 (U)。过氧化氢酶活性测定采用钼酸铵显色法。过氧化氢酶活力单位定义为每毫克组织蛋白每 1 s 分解 1 μmol H_2O_2 的量为 1 个活力单位 (U)。

采用 5, 5'-二硫代双 (2-硝基苯甲酸) [5, 5'-dithiobis- (2-nitrobenzoic acid), DTNB] 速率比色法测定谷胱甘肽过氧化物酶活性。谷胱甘肽过氧化物酶活性定义是在 37 °C 条件下, 每毫克组织蛋白反应 1 min 扣除非酶促反应, 使反应体系中谷胱甘肽浓度降低 1 $\mu\text{mol}/\text{L}$ 为 1 个酶活力单位 (U)。丙二醛含量测定采用硫代巴比妥酸法, 单位为 $\mu\text{mol}/\text{g}$ 。

1.4 数据分析

实验数据用平均值 \pm 标准差表示, 利用 SPSS 22.0 软件进行单因素方差分析 (One-way ANOVA), 运用 Duncan 法比较组间差异, 以 $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 温度对福寿螺肝胰脏和鳃中过氧化氢酶活性的影响

低温与高温胁迫下，福寿螺肝胰脏和鳃中过氧化氢酶活性随时间的变化均呈现先上升后下降的趋势，并在 72 h 时与对照组无显著性差异（图 1 和 2）。福寿螺肝胰脏中过氧化氢酶活性（图 1），在低温胁迫下 24 h 时显著上升（ $P < 0.01$ ），在 48 h 时活性达最大值；高温胁迫下 24 h 时达到最大值，与对照组差异极显著（ $P < 0.01$ ），48 h 时略降低，但仍与对照组之间存在极显著差异（ $P < 0.01$ ）。在 24 h 和 48 h 时实验组与对照组差异显著（ $P < 0.05$ ）。

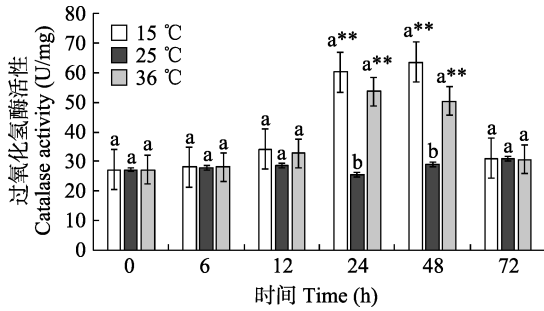


图 1 不同温度处理下福寿螺肝胰脏过氧化氢酶活性

Fig. 1 Catalase activity in the hepatopancreas of *Pomacea canaliculata* under different temperature levels

小写字母不同表示在同一时间不同温度处理组之间差异显著（ $P < 0.05$ ）；同一温度不同时间点的酶活性与 0 h 对照组之间比较，** 差异极显著（ $P < 0.01$ ）。

Different letters indicate significant differences at the same time of different temperature groups, while ** indicates highly significant differences ($P < 0.01$) from 0 h control groups in different temperature with the same treating time.

不同温度处理下福寿螺鳃中过氧化氢酶活性变化如图 2。低温胁迫下，过氧化氢酶活性 12 h 时显著上升（ $P < 0.05$ ），在 48 h 时达最大值，与对照组差异极显著（ $P < 0.01$ ）；高温胁迫下，过氧化氢酶活性在 12 h 时显著上升（ $P < 0.01$ ），在 48 h 时达最大值。在 12 h、

24 h、和 48 h 时不同处理组之间存在显著性差异（ $P < 0.05$ ）。

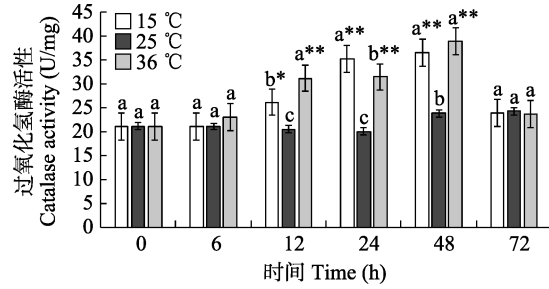


图 2 不同温度处理下福寿螺鳃过氧化氢酶活性

Fig. 2 Catalase activity in the gills of *Pomacea canaliculata* under different temperature levels

小写字母不同表示在同一时间不同温度处理组之间差异显著（ $P < 0.05$ ）；同一温度不同时间点的酶活性与 0 h 对照组之间比较，* 差异显著（ $P < 0.05$ ），** 差异极显著（ $P < 0.01$ ）。

Different letters indicate significant differences at the same time of different temperature groups, while an asterisk (*) indicates significant differences between temperature stress groups at different time points and their counterparts at 0 h control groups ($P < 0.05$). ** Represents that there is highly significant difference ($P < 0.01$).

2.2 温度对福寿螺肝胰脏和鳃中超氧化物歧化酶活性的影响

低温与高温胁迫下，福寿螺肝胰脏和鳃中超氧化物歧化酶活性随时间的变化均呈现先上升后下降的趋势（图 3 和 4）。不同温度处理下福寿螺肝胰脏中超氧化物歧化酶活性变化如图 3 所示。在高温和低温胁迫下，超氧化物歧化酶活性在 12 h 时开始显著上升，在 48 h 时达到最大值（ $P < 0.01$ ），随后超氧化物歧化酶活性开始下降，在 72 h 时超氧化物歧化酶活性与对照组无显著差异。在 12 h、24 h 和 48 h 时，低温和高温组超氧化物歧化酶活性显著高于 25 °C 对照组（ $P < 0.05$ ）。

不同温度处理下福寿螺鳃中超氧化物歧化酶活性变化如图 4。高温和低温组超氧化物歧化酶活性在 12 h 时与对照组差异极显著（ $P < 0.01$ ），在高温组超氧化物歧化酶活性 12 h 时达到最大值。低温组超氧化物歧化酶活性 24 h

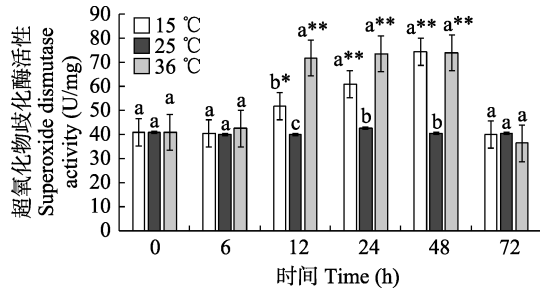


图3 不同温度处理下福寿螺肝胰脏
超氧化物歧化酶活性

Fig. 3 Superoxide dismutase activity in the hepatopancreas of *Pomacea canaliculata* under different temperature levels

小写字母不同表示在同一时间不同温度处理组之间差异显著 ($P < 0.05$); 同一温度不同时间点的酶活性与 0 h 对照组之间比较, * 差异显著性 ($P < 0.05$), ** 差异极显著 ($P < 0.01$)。

Different letters indicate significant differences at the same time of different temperature groups, while an asterisk (*) indicates significant differences between temperature stress groups at different time points and their counterparts at 0 h control groups ($P < 0.05$). ** Represents that there is highly significant difference ($P < 0.01$).

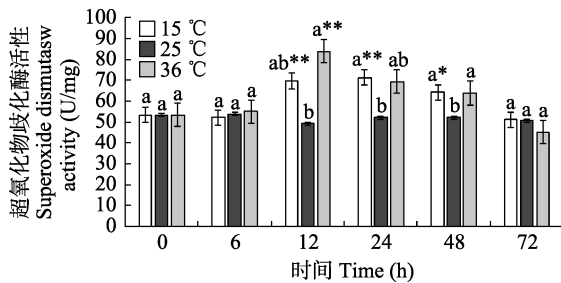


图4 不同温度处理下福寿螺鳃超氧化物歧化酶活性

Fig. 4 Superoxide dismutase activity in the gills of *Pomacea canaliculata* under different temperature levels

小写字母不同表示在同一时间不同温度处理组之间差异显著 ($P < 0.05$); 同一温度不同时间点的酶活性与 0 h 对照组之间比较, * 差异显著 ($P < 0.05$), ** 差异极显著 ($P < 0.01$)。

Different letters indicate significant differences at the same time of different temperature groups, while an asterisk (*) indicates significant differences between temperature stress groups at different time points and their counterparts at 0 h control groups ($P < 0.05$). ** Represents that there is highly significant difference ($P < 0.01$).

时达到最大值后, 超氧化物歧化酶活性开始下降, 72 h 时与对照组无显著差异。在 24 h 和 48 h 时不同处理组之间存在显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.3 温度对福寿螺肝胰脏和鳃中谷胱甘肽过氧化物酶活性的影响

低温和高温胁迫下, 福寿螺肝胰脏和鳃中谷胱甘肽过氧化物酶活性随着时间的延长总体呈现先上升后下降的趋势, 并且在 24 h 时与对照组差异极显著 ($P < 0.01$), 谷胱甘肽过氧化物酶活性达到最大值 (图 5 和 6)。不同温度处理下福寿螺肝胰脏中谷胱甘肽过氧化物酶活性变化如图 5。低温和高温组谷胱甘肽过氧化物酶活性在 12 h 时显著上升 ($P < 0.05$), 在 24 h 时达到最大值后, 谷胱甘肽过氧化物酶活性开始下降, 72 h 时与对照组无显著差异。在 12 h、24 h 和 48 h 时不同处理组之间存在显著性差异 ($P < 0.05$)。

不同温度处理下福寿螺鳃中谷胱甘肽过氧化物酶活性变化如图 6 所示。低温和高温组谷

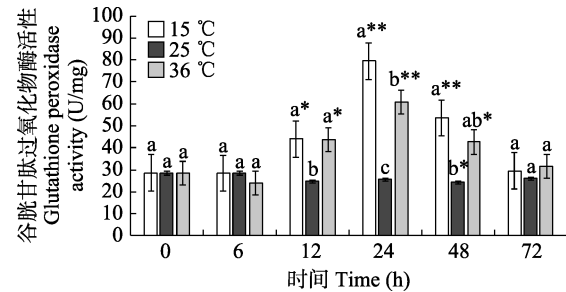


图5 不同温度处理下福寿螺肝胰脏
谷胱甘肽过氧化物酶活性

Fig. 5 Glutathione peroxidase activity in the hepatopancreas of *Pomacea canaliculata* under different temperature levels

小写字母不同表示在同一时间不同温度处理组之间差异显著 ($P < 0.05$); 同一温度不同时间点的酶活性与 0 h 对照组之间比较, * 差异显著 ($P < 0.05$), ** 差异极显著 ($P < 0.01$)。

Different letters indicate significant differences at the same time of different temperature groups, while an asterisk (*) indicates significant differences between temperature stress groups at different time points and their counterparts at 0 h control groups ($P < 0.05$). ** Represents that there is highly significant difference ($P < 0.01$).

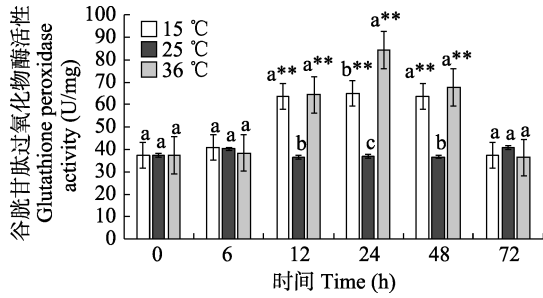


图 6 不同温度处理下福寿螺鳃谷胱甘肽过氧化物酶活性

Fig. 6 Glutathione peroxidase activity in the gills of *Pomacea canaliculata* under different temperature levels

小写字母不同表示在同一时间不同温度处理组之间差异显著 ($P < 0.05$)；同一温度不同时间点的酶活性与 0 h 对照组之间比较，** 差异极显著 ($P < 0.01$)。

Different letters indicate significant differences at the same time of different temperature groups, while ** indicates highly significant differences between temperature stress groups at different time points and their counterparts at 0 h control groups ($P < 0.01$).

胱甘肽过氧化物酶活性在 12 h 时与对照组之间差异极显著 ($P < 0.01$)，在 24 h 时达到最大值，随后谷胱甘肽过氧化物酶活性开始下降，但在 48 h 时仍与对照组之间存在显著性差异 ($P < 0.01$)；72 h 时显著下降，与对照组无显著性差异 ($P > 0.05$)。在 12 h、24 h 和 48 h 时不同处理组之间存在显著性差异 ($P < 0.05$)。

2.4 温度对福寿螺肝脏和鳃中丙二醛含量的影响

低温与高温胁迫下，福寿螺肝脏和鳃中丙二醛含量随时间的变化趋势一致，呈先上升后下降的趋势（图 7 和 8）。不同温度处理下福寿螺肝脏中丙二醛含量变化如图 7。低温和高温组丙二醛含量在处理后持续增加并分别在 24 h 和 12 h 时达到最大值 ($P < 0.01$) 后开始下降，在 72 h 时与对照组无显著差异。在 12 h、24 h 和 48 h 时不同处理组之间存在显著性差异 ($P < 0.05$)。

不同温度处理下福寿螺鳃中丙二醛含量变化如图 8。低温和高温组丙二醛含量在 6 h 显著

上升 ($P < 0.05$)，低温组丙二醛含量在 24 h 时达到最大值，高温组丙二醛含量在 12 h 时达

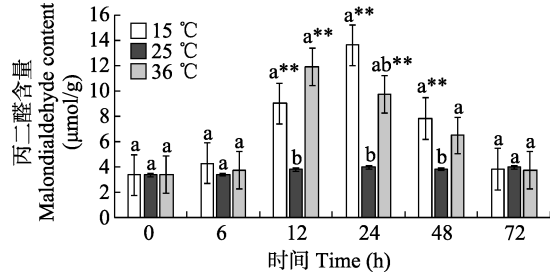


图 7 不同温度处理下福寿螺肝脏丙二醛含量

Fig. 7 Malondialdehyde content in the hepatopancreas of *Pomacea canaliculata* under different temperature levels

小写字母不同表示在同一时间不同温度处理组之间差异显著 ($P < 0.05$)；同一温度不同时间点的酶活性与 0 h 对照组之间比较，** 差异极显著 ($P < 0.01$)。

Different letters indicate significant differences at the same time of different temperature groups, while ** indicates highly significant differences between temperature stress groups at different time points and their counterparts at 0 h control groups ($P < 0.01$).

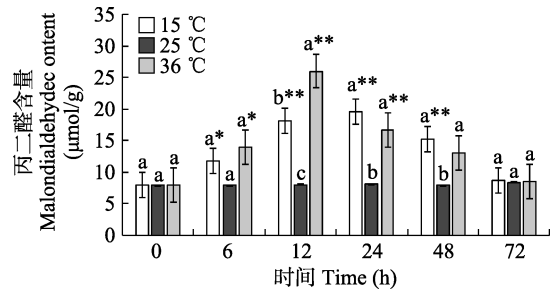


图 8 不同温度处理下福寿螺鳃丙二醛含量

Fig. 8 Malondialdehyde content in the gills of *Pomacea canaliculata* under different temperature levels

小写字母不同表示在同一时间不同温度处理组之间差异显著 ($P < 0.05$)；同一温度不同时间点的酶活性与 0 h 对照组之间比较，* 差异显著 ($P < 0.05$)，** 差异极显著 ($P < 0.01$)。

Different letters indicate significant differences at the same time of different temperature groups, while an asterisk (*) indicates significant differences between temperature stress groups at different time points and their counterparts at 0 h control groups ($P < 0.05$). ** Represents that there is highly significant difference ($P < 0.01$).

到最大值后, 开始下降, 在 72 h 时与对照组无显著性差异。在 12 h、24 h 和 48 h 时不同处理组之间存在显著性差异 ($P < 0.05$)。

3 讨论

温度作为主要的环境因子, 对水生生物代谢反应速率起控制作用, 是影响水生生物生理生化反应的重要环境变量 (Jiang et al. 2016)。环境温度急剧升高或降低都会导致活性氧自由基的产生和细胞组分氧化状态的变化, 超氧化物歧化酶、过氧化氢酶以及谷胱甘肽过氧化物酶对清除氧化胁迫过程中产生的活性氧自由基起着决定性作用 (Santovito et al. 2005)。超氧化物歧化酶可以和自由基反应产生 H_2O_2 , 过氧化氢酶将 H_2O_2 还原成氧分子和水或由谷胱甘肽过氧化物酶清除 (Verlecar et al. 2007), 防止活性氧自由基对机体中生物大分子的氧化损伤, 维持细胞和机体的正常生理活动。因此, 超氧化物歧化酶、过氧化氢酶和谷胱甘肽过氧化物酶活性的改变, 可以反映生物体在不同胁迫条件下的生理状况 (刘峰等 2016)。

高温和低温胁迫下, 福寿螺鳃中过氧化氢酶活性变化滞后于超氧化物歧化酶活性变化, 低温和高温组鳃中过氧化氢酶活性在 48 h 达到最大值, 超氧化物歧化酶活性在低温胁迫下 24 h 达到最大值, 高温胁迫下 12 h 时达到最大值。福寿螺受到温度胁迫时产生大量的活性氧自由基, 为了维持体内活性氧自由基的平衡, 超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性逐渐增强, 过氧化氢酶清除由超氧化物歧化酶分解活性氧自由基时所产生的过氧化氢, 因此过氧化氢酶活性会跟随着超氧化物歧化酶活性一起或略滞后于发生变化, 过氧化氢酶含量在一定程度受到超氧化物歧化酶含量的影响。随着胁迫时间的延长, 超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性开始下降, 在 72 h 时与对照组无显著差异, 表明在 72 h 时间内超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性能够恢复至正常状态, 机体通过清除活性氧自由基, 最终达到新的平衡状态。在其他研究

中也有相类似结果。Jiang 等 (2017) 研究发现随着温度胁迫时间的延长, 栉孔扇贝 (*Chlamys farreri*) 超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性先上升后下降, 在胁迫 72 h 后, 栉孔扇贝中超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性与对照组无显著差异。点篮子鱼 (*Siganus guttatus*) 幼鱼在低温胁迫下超氧化物歧化酶、过氧化氢酶活性呈先升后降的趋势, 并在 96 h 时两种酶活性恢复至正常状态 (宋志明等 2015)。高振坤等 (2017) 研究温度波动对虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*) 生理和免疫指标时发现, 随着温度波动次数的增加, 虾夷扇贝可能已经适应了适宜温度范围内的温度波动, 超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性与初始值无显著差异, 恢复到正常水平。福寿螺通过调节抗氧化酶的活性来适应温度的变化, 以清除体内积累的自由基, 从而恢复体内活性氧自由基的动态平衡, 免受氧化损伤。

谷胱甘肽还原酶是一种将氧化型谷胱甘肽还原为谷胱甘肽的酶, 它能将脂质过氧化氢转化为相应的醇类, 减少过氧化物反应 (Nordberg et al. 2001)。谷胱甘肽过氧化物酶对过氧化氢的亲合力比过氧化氢酶高, 即使过氧化氢浓度很低, 谷胱甘肽过氧化物酶也能够有效地进行清除 (Duan et al. 2015)。本研究中在 12 至 24 h 低温和高温胁迫下谷胱甘肽过氧化物酶活性均升高, 并且在 24 h 时达到最大值, 说明福寿螺在高温和低温胁迫下产生了活性氧, 导致了较高的抗氧化应激。低温处理下福寿螺肝脏和鳃以及高温处理下鳃中过氧化氢酶活性均在 48 h 达到最大值, 表明在应激过程中, 细胞内过氧化氢浓度增加, 谷胱甘肽过氧化物酶作为防御过氧化氢的第一道防线活性增强, 且活性变化略快于过氧化氢酶的活性变化。已有研究表明长牡蛎 (*Crassostrea gigas*) 在不同温度处理下, 会优先利用谷胱甘肽过氧化物酶来中和生物体应激过程超氧化物歧化酶分解活性氧自由基时产生的过氧化氢 (Moreira et al. 2017)。在 72 h 时低温和

高温组谷胱甘肽过氧化物酶活性与对照组间无显著性差异,表明福寿螺在 72 h 内可以适应 15 °C 和 36 °C 的温度。

丙二醛是体内氧自由基引发的生物膜不饱和脂肪酸过氧化反应的代谢产物,是目前反映有机体氧化损伤最具代表性的指标之一。丙二醛产生数量的多少代表了脂质过氧化的程度,间接反映组织细胞受自由基攻击的程度(刘玲等 2018)。一般来说,丙二醛含量越高,生物体所受的压力越大。研究发现,合浦珠母贝(*Pinctada fucata*)体内丙二醛含量在持续高温作用下迅速增加并趋向于稳定在最大值(Meng et al. 2016)。本研究中,在高温和低温胁迫下,福寿螺鳃中丙二醛含量在 6 h 显著升高,肝胰脏丙二醛含量在 12 h 显著升高,表明福寿螺在温度胁迫下所受压力增大,产生应激反应,增强脂质过氧化作用。随着产生大量的超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、谷胱甘肽过氧化物酶清除过量的自由基,丙二醛含量在 24 h 开始呈现下降趋势,在 72 h 与对照组无显著差异,说明机体通过调节体内抗氧化酶活性来维持体内氧自由基的平衡,降低体内脂质过氧化程度,丙二醛含量恢复至正常水平。这一变化规律也与 Xu 等(2018)对低温胁迫下凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)肝胰脏中丙二醛的研究结果相似。低温和高温胁迫使机体代谢加快,从而导致机体受到氧化损伤引起脂质的过氧化反应,脂质过氧化是氧化应激的主要指标(Brandão et al. 2015),因此丙二醛可以作为一种细胞膜氧化损伤的指示物。

福寿螺肝胰脏和鳃中抗氧化酶活性表现出相似的变化,都表现为先上升后下降的趋势,但在应激反应的效应上存在差异。高温或低温胁迫下,福寿螺鳃中抗氧化酶活性先于肝胰脏发生显著性变化,表明氧化应激和抗氧化反应存在组织特异性,鳃作为直接感受环境的器官,与水生生物生活的环境有大面积的接触,能够直接、快速地反应水温的变化(Jiang et al. 2016)。

参 考 文 献

- Bae M J, Park Y S. 2015. Characterizing the effects of temperature on behavioral periodicity in golden apple snails (*Pomacea canaliculata*). *Ecological Informatics*, 29: 130–138.
- Brandão F P, Cappello T, Raimundo J, et al. 2015. Unravelling the mechanisms of mercury hepatotoxicity in wild fish (*Liza aurata*) through a triad approach: bioaccumulation, metabolomic profiles and oxidative stress. *Metallomics*, 7(9): 1352–1363.
- Deaton L E, Schmidt W, Leblanc B, et al. 2016. Physiology of the invasive apple snail *Pomacea maculata*: tolerance to low temperatures. *Journal of Shellfish Research*, 35(1): 207–210.
- Duan Y F, Zhang J S, Dong H B, et al. 2015. Oxidative stress response of the black tiger shrimp *Penaeus monodon* to *Vibrio parahaemolyticus* challenge. *Fish & Shellfish Immunology*, 46(2): 354–365.
- Jiang W W, Jiang Z J, Du M R, et al. 2017. Physiological and biochemical responses of Zhikong scallop, *Chlamys farreri*, to different thermal stressors. *Aquaculture Research*, 48(9): 4783–4797.
- Jiang W W, Li J Q, Gao Y P, et al. 2016. Effects of temperature change on physiological and biochemical responses of Yesso scallop, *Patinopecten yessoensis*. *Aquaculture*, 451: 463–472.
- Kelley A L. 2014. The role thermal physiology plays in species invasion. *Conservation Physiology*, 2(1): cou045.
- Liu X L, Xi Q Y, Yang L, et al. 2011. The effect of dietary *Panax ginseng* polysaccharide extract on the immune responses in white shrimp, *Litopenaeus vannamei*. *Fish & Shellfish Immunology*, 30(2): 495–500.
- Luque G M, Bellard C, Bertelsmeier C, et al. 2014. The 100th of the world's worst invasive alien species. *Biological Invasions*, 16(5): 981–985.
- Martínez-Alvarez R M, Morales A E, Sanz A. 2005. Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors. *Reviews in Fish Biology & Fisheries*, 15(1/2): 75–88.
- Meng Z H, Zhang B, Liu B S, et al. 2016. High carotenoids content can enhance resistance of selected *Pinctada fucata* families to high temperature stress. *Fish & Shellfish Immunology*, 61: 211–218.
- Moreira A, Figueira E, Pecora I L, et al. 2017. Biochemical alterations in native and exotic oyster species in Brazil in response

- to increasing temperature. *Comparative Biochemistry & Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 191: 183–193.
- Nordberg J, Arnér E S J. 2001. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(11): 1287–1312.
- Santovito G, Piccinni E, Cassini A, et al. 2005. Antioxidant responses of the Mediterranean mussel, *Mytilus galloprovincialis*, to environmental variability of dissolved oxygen. *Comparative Biochemistry & Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 140(3/4): 321–329.
- Seuffert M E, Martin P R. 2017. Thermal limits for the establishment and growth of populations of the invasive apple snail *Pomacea canaliculata*. *Biological Invasions*, 19(4): 1169–1180.
- Verlecar X N, Jena K B, Chainy G B N. 2007. Biochemical markers of oxidative stress in *Perna viridis* exposed to mercury and temperature. *Chemico-Biological Interactions*, 167(3): 219–226.
- Verlecar X N, Jena K B, Chainy G B N. 2008. Modulation of antioxidant defences in digestive gland of *Perna viridis* (L.), on mercury exposures. *Chemosphere*, 71(10): 1977–1985.
- Xu Z, Regenstein J M, Xie D, et al. 2018. The oxidative stress and antioxidant responses of *Litopenaeus vannamei* to low temperature and air exposure. *Fish & Shellfish Immunology*, 72: 564–571.
- 高振锬, 张继红, 李敏, 等. 2017. 温度波动对不同规格虾夷扇贝 (*Patinopecten yessoensis*) 生理和免疫指标的影响. *渔业科学进展*, 38(3): 148–154.
- 亢玉静, 郎明远, 赵文. 2013. 水生生物体内抗氧化酶及其影响因素研究进展. *微生物学杂志*, 33(3): 75–80.
- 刘峰, 刘阳阳, 楼宝, 等. 2016. 温度对小黄鱼体内抗氧化酶及消化酶活性的影响. *海洋学报*, 38(12): 76–85.
- 刘玲, 陈超, 李炎璐, 等. 2018. 短期温度胁迫对驼背鲈(♀) × 鞍带石斑鱼(♂) 杂交子代幼鱼抗氧化及消化酶活性的影响. *渔业科学进展*, 39(2): 59–66.
- 刘艳斌, 韩微, 贤振华. 2011. 温度对福寿螺生长发育及摄食的影响. *南方农业学报*, 42(8): 901–905.
- 宋志明, 刘鉴毅, 庄平, 等. 2015. 低温胁迫对点篮子鱼幼鱼肝脏抗氧化酶活性及丙二醛含量的影响. *海洋渔业*, 37(2): 142–150.
- 杨叶欣, 胡隐昌, 李小慧, 等. 2010. 福寿螺在中国的入侵历史、扩散规律和危害的调查分析. *中国农学通报*, 26(5): 245–250.