

高温胁迫对膨腹海马幼苗存活率及抗氧化酶活性的影响

肖文杰^{①②} 郭宝英^① 赵超^③ 薛月光^④

刘长琳^{②*} 姜达^② 司仲强^③

① 浙江海洋大学 舟山 316022; ② 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071;

③ 青岛清源海洋生物科技有限公司 青岛 266000; ④ 青岛市黄岛区薛家岛街道办事处农业办 青岛 266000

摘要: 为探明高温胁迫对膨腹海马 (*Hippocampus abdominalis*) 幼苗的影响, 对 20 日龄幼苗进行 24 h 急性高温胁迫, 测定其在不同温度和时间下的存活率及抗氧化酶活性。将幼苗从 18 °C 直接转移到 22、24、25、26、27、28 和 30 °C, 每隔 2 h 观察死亡数和行为状态, 构建时间-温度-存活率模型。通过 Probit 回归分析, 得出高起始致死温度 (24 h-UILT50)。根据高起始致死温度结果, 将幼苗从 18 °C 直接转移到 21、24 和 27 °C, 持续胁迫 24 h, 分别在应激 0、3、6、12 和 24 h 取样, 用生化试剂盒测定不同温度 and 不同时间点的抗氧化酶活性。结果显示, 膨腹海马幼苗的存活率随水温的升高不断降低, 其高起始致死温度为 27.53 °C。在 24 h 急性高温胁迫过程中, 21 °C 和 24 °C 下超氧化物歧化酶 (SOD) 及过氧化氢酶 (CAT) 活性随着时间呈现先降后升的趋势; 27 °C 下, 超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性均呈升高趋势, 24 h 时显著高于对照组 (18 °C 组) ($P < 0.05$)。各温度组总抗氧化能力 (T-AOC) 的活性随时间均表现出升高-降低-升高的变化, 且活性在 12 h 时均降至最低。所有处理组丙二醛 (MDA) 的含量随时间均呈现升高的趋势, 但 24 °C 处理组于胁迫 6 h 后开始降低。实验表明, 急性高温胁迫使膨腹海马幼苗抗氧化酶活性产生了显著变化, 其体内抗氧化酶活性被激活用于消除高温应激产生的活性氧自由基 (ROS), 幼苗体内丙二醛含量显著增加, 表明膨腹海马幼苗仍处于氧化应激状态。27 °C 处理组抗氧化酶活性变化趋势与其余温度处理组间均存在明显差异, 表明膨腹海马幼苗无法适应 27 °C 的高温。

关键词: 膨腹海马; 高温胁迫; 存活率; 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 (2025) 01-059-10

Effects of High Temperature Stress on Survival Rate and Antioxidant Enzyme Activity of *Hippocampus abdominalis* Seedlings

XIAO Wen-Jie^{①②} GUO Bao-Ying^① ZHAO Chao^③ XUE Yue-Guang^④

LIU Chang-Lin^{②*} JIANG Da^② SI Zhong-Qiang^③

① Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022; ② Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy

基金项目 中国水产科学研究院基本科研业务费 (No. 2023TD30);

* 通讯作者, E-mail: liuchl@ysfri.ac.cn;

第一作者介绍 肖文杰, 男, 硕士研究生; 研究方向: 海洋生物学; E-mail: 2414675159@qq.com.

收稿日期: 2024-04-18, 修回日期: 2024-09-14 DOI: 10.13859/j.cjz.202424076 CSTR: 32109.14.cjz.24076

of Fishery Sciences, Qingdao 266071; ③ Qingdao Qingyuan Marine Biotechnology Co., LTD, Qingdao 266000;

④ Qingdao Huangdao District Xuejia Island sub-district Office of agriculture, Qingdao 266000, China

Abstract: [Objectives] To investigate the effects of high temperature stress on *Hippocampus abdominalis* seedlings, 20-day-old seedlings were subjected to acute high temperature stress for 24 h, and the survival rate and antioxidant enzyme activity were measured at different temperatures and times. **[Methods]** The seedlings were transferred directly from 18 °C to 7 temperature gradients of 22, 24, 25, 26, 27, 28 and 30 °C, and the number of deaths and behavioral status were recorded every 2 h, and a time-temperature-survival model was constructed. Probit regression analysis was used to determine the temperature at which the mortality rate reached 50% in 24 h, which was considered the high initial lethal temperature (24 h-UILT₅₀). According to the results, the seedlings were directly transferred from 18 °C to 21 °C, 24 °C and 27 °C for 24 h. Samples were collected at stress 0, 3, 6, 12 and 24 h, respectively, and the antioxidant oxidase activities at different temperatures and different time points were measured using biochemical kits. SPSS 26 software was used for data processing, and one-way ANOVA and Duncan test were used for significance analysis. **[Results]** The results showed that in the high initial lethal temperature experiment, the *H. abdominalis* seedlings did not die between 18 - 25 °C, they began to die slightly at 26 °C, and died completely at 30 °C, and the survival rate decreased with the increase of water temperature. Probit regression analysis showed that the high initial lethal temperature was 27.53 °C (Fig. 1, Table 1). The activities of superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) showed the same trend in the 24 h high temperature stress experiment. At 21 °C and 24 °C, the activities of SOD and CAT first decreased and then increased. The activities of SOD and CAT increased at 27 °C, and were significantly higher than those of control group at 24 h ($P < 0.05$) (Figs. 2, 3). The content of malondialdehyde (MDA) increased at the initial stage of stress, and did not change significantly at 21 °C. After 6 h of stress, the content of MDA began to decrease in the 24 °C treatment group, and after a period of stress at 27 °C, the content was significantly higher than that in the control group (Fig. 4). In all temperature groups, total antioxidant capacity (T-AOC) showed an increasing-decreasing-increasing trend with stress time, and all decreased to the lowest level at 12 h (Fig. 5). **[Conclusion]** The experiment showed that acute high temperature stress significantly changed the activity of antioxidant enzymes in *H. abdominalis* seedlings, which were activated to eliminate reactive oxygen species (ROS) generated by high temperature stress, and the content of MDA in *H. abdominalis* seedlings was significantly increased, indicating that the seedlings were still under oxidative stress. There were significant differences in the trend of antioxidant enzyme activity between the 27 °C treatment group and the other temperature treatment groups, indicating that *H. abdominalis* seedlings could not adapt to the high temperature at 27 °C.

Key words: *Hippocampus abdominalis*; High temperature stress; Survival rate; Antioxidant enzymes; Malondialdehyde

膨腹海马 (*Hippocampus abdominalis*) 又叫大腹海马, 隶属于棘背鱼目 (Gasterosteiformes) 海龙科 (Syngnathidae) 海马属, 常见于热带、亚热带及温带沿岸浅水区, 主要分布于南太平

洋区的澳洲及新西兰海域, 栖息在长有海草或海藻的区域 (罗辉玉等 2021)。海马具有重要的经济价值, 如在制药 (黄建设等 2002)、水族观赏 (Job et al. 2002) 和国际贸易 (Loh et al.

2016)等方面。

水温是水产养殖中关键的非生物因素之一,一旦超过适宜的温度范围,就会对生物的存活率、行为状态和生理指标等产生影响,并间接影响其生长发育和代谢等活动(吕为群等 2017)。研究发现,幼鱼体温通常与环境水温相同,这意味着幼鱼对环境的要求更加严格,当高于或低于最适水温时,都会对其生理生化指标产生影响,严重时引起死亡。将生物体从适应的温度逐渐升温至实验温度或直接转移至实验温度中,应激一定时间(12、24、48、96 或 168 h 等)后,生物体死亡率达到 50%时的温度,称为高起始致死温度(upper incipient lethal temperature, UILT₅₀)(Kivivuori et al. 1996, 江志兵等 2010, 任中华等 2018)。罗辉玉等(2021)发现,当温度高于 22 °C 时膨腹海马存活率较低,野外环境中其耐受温度范围为 8 ~ 24 °C (Woods 2008),未见高温对其幼苗影响的研究报道。本研究采用突变升温的方法对膨腹海马幼苗进行胁迫,揭示其存活率和抗氧化酶活性在高温下的变化,以期为其繁育、养殖及耐高温品种的选育提供参考资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验选取规格均一、体质健康的 20 日龄膨腹海马,平均体重(0.049 ± 0.005) g,平均体长(2.5 ± 0.3) cm,由青岛清源海洋生物科技有限公司提供。海马暂养于水深 1 m 的 3 m³ 养殖桶中,持续充氧,并及时清理残饵、粪便和死亡个体,以保持水质良好。每天 9:00 时和 16:00 时投喂卤虫(*Artemia*)无节幼体,每次投喂量按照投喂后 1 ml 水体中卤虫含量为 5 ~ 6 ind 计量。用加热棒控温,水温保持在(18 ± 0.2) °C,水体盐度 31 ± 0.1、pH 7.9 ± 0.2、溶解氧不低于 6 mg/L。

1.2 实验方法

1.2.1 高起始致死温度(UILT₅₀)实验 实验设置 22、24、25、26、27、28、30 °C 共 7 个

温度梯度。初始水温为 18 °C。实验用养殖箱长 36 cm、宽 28 cm、高 24 cm,每个养殖箱放水 10 L,待箱中水温达到预设温度时,将 30 尾膨腹海马幼苗从 18 °C 放入养殖箱,并记录开始实验时间。将海马沉底后平躺或侧翻、没有连续呼吸且轻触无反应定义为死亡。实验开始后,观察行为状态和死亡情况,每隔 2 h 记录,共记录 24 h,死亡个体及时清除。实验期间正常投饵,持续充氧,每隔 6 h 换水 1/3。利用 Probit 回归分析死亡情况,得到其幼苗高起始致死温度。

1.2.2 高温胁迫实验 根据 24 h 高起始致死温度(24 h-UILT₅₀)的结果,实验设置 21、24、27 °C 共 3 个温度梯度,将 18 °C 设置为对照组,每个温度设 3 个平行,每个平行 30 尾海马幼苗,共 360 尾。实验开始后将暂养的海马由 18 °C 迅速转移至预先调整好水温的养殖箱中并保持至实验结束,实验期间正常投喂,且每隔 6 h 换水 1/3,在高温胁迫 0、3、6、12、24 h 时,每个养殖箱随机采样 3 尾幼苗,立即放入做好标记的冻存管中并液氮速冻,然后转移至 -80 °C 超低温冰箱中保存,用于酶活力测定。

1.3 样品处理

将各组采集的样品擦干水分,称量体重并记录,按质量与体积比 1:9 加入生理盐水后研磨,研磨后在 4 °C 下 4 000 r/min 离心 10 min,取上清液 -20 °C 保存备用,用于测定超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)及丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量。均采用南京建成生物工程研究所生产的生化试剂盒测定,酶活单位为按照蛋白计量的 U/mg,丙二醛含量以 μmol/g 表示。

1.4 数据处理与分析

利用 Excel 软件对数据进行整理,构建时间-温度-存活率模型,对设置的 7 个实验温度梯度下 24 h 的累计死亡数量进行 Probit 回归分析,可以得到死亡概率为 0.5 时的温度估算值

及 95% 置信区间, 即得到 24 h 高起始致死温度 (°C)。采用 SPSS 26 软件对酶活力数据进行单因素方差分析 (one-way ANOVA) 和 Duncan 检验, 分别分析相同温度胁迫下不同时间点之间以及相同时间点不同温度胁迫组之间的酶活差异显著性, 当 $P < 0.05$ 时为差异显著。

2 结果

2.1 高温对膨腹海马行为及存活率的影响

膨腹海马在不同温度下会出现明显的行为差异, 22 和 24 °C 在实验开始后 4 h, 部分海马尾固着缠绕在加热棒线或充氧管上, 肛门处会出现明显的粪便, 12 h 时少数海马侧翻沉底或尾卷曲, 但仍处于存活状态, 大多数海马在 24 h 后依旧活跃。在 25 和 26 °C 下多数海马 4 h 时尾固着缠绕, 少数尾卷曲沉底或漂在水面, 极个别海马尾会互相缠绕, 聚集在远离加热棒一侧, 实验结束时这两个温度下的海马活力较好。27 和 28 °C 在实验开始后个别海马躯干和尾弯曲侧翻沉底, 依旧有连续呼吸但呼吸缓慢, 4 h 时大量海马会互相缠绕在一起, 并伴随大量死亡的出现, 只有少数海马活力较旺盛, 能正常游泳; 12 h 时, 存活的海马在 27 °C 条件下, 部分尾缠绕固着, 极个别活力较好, 少数尾或躯干弯曲随水漂流, 而 28 °C 条件下基本都弯曲沉底, 侧翻不动且有连续呼吸; 24 h 时, 两温度下海马活力均较差, 大多数躯干和尾弯曲随水漂流。30 °C 在 2 h 观察时部分鳃已发白, 全部死亡。

22、24 和 25 °C 胁迫 24 h 存活率不变, 均为 100%; 26 °C 下胁迫 2 h 出现 1 尾死亡, 之后存活率曲线也趋于稳定; 在 27 °C 和 28 °C 下, 膨腹海马幼苗在 12 h 内出现大量死亡, 且温度越高时, 前期死亡速度越快, 12 h 后逐渐适应了高温, 基本不出现死亡, 存活率曲线也趋于平缓; 30 °C 在胁迫 2 h 后存活率为 0 (图 1)。

2.2 高起始致死温度 (24 h-UILT₅₀) 的确定

膨腹海马幼苗的 24 h 存活率随着海水温度的升高而降低, 22、24 和 25 °C 组未出现死亡,

26 °C 组仅 1 尾死亡, 27 °C 组累计 12 尾海马死亡, 28 °C 组累计 17 尾死亡, 30 °C 组 24 h 内全部死亡 (表 1)。对死亡数进行 Probit 回归分析, 得到其高起始致死温度为 27.53 °C (电子附录 1)。

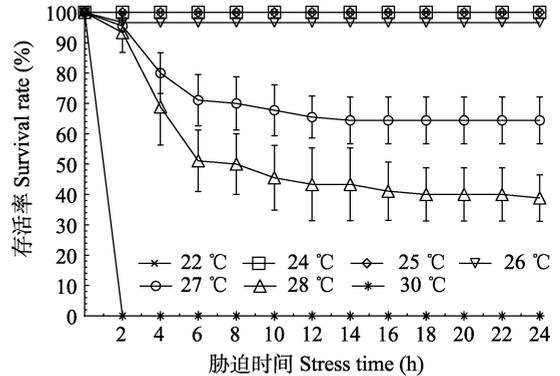


图 1 不同温度处理和胁迫时间下的膨腹海马幼苗存活情况

Fig. 1 Survival of *Hippocampus abdominalis* seedlings under different temperature treatment and stress time

表 1 膨腹海马幼苗高温胁迫致死效应及高起始致死温度 (24 h-UILT₅₀)

Table 1 Lethal effect of high temperature stress and high initial lethal temperature in *Hippocampus abdominalis* seedlings

水温 (°C) Water temperature	实验总数 (尾) Number of tested fish (ind)	24 h 累计死亡数量 (尾) Cumulative number of deaths at 24 h (ind)	高起始致死温度 (°C) High initial lethal temperature 24 h-UILT ₅₀	95% 置信区间 (°C) 95% confidence interval
22	30	0		
24	30	0		
25	30	0		
26	30	1	27.53	27.24 - 27.88
27	30	12		
28	30	17		
30	30	30		

2.3 高温胁迫对膨腹海马幼苗抗氧化酶活性的影响

2.3.1 超氧化物歧化酶活性 对照组膨腹海马幼苗超氧化物歧化酶活性在各时间点均无显

著差异 ($P > 0.05$); 21 °C 和 24 °C 处理组中呈现先降低后升高的变化趋势, 其中 21 °C 组在胁迫 12 h 后降至最低值, 显著低于其余各组 ($P < 0.05$), 随后在 24 h 时有所升高, 24 °C 胁迫组除 12 h 与对照组有显著差异外, 在各时间段变化不大; 27 °C 高温胁迫组总体呈升高趋势, 在 3 h、6 h 时变化不明显, 与对照组之间也无显著差异, 在 12 h、24 h 时均显著升高 (电子附录 2, 3)。

同一胁迫时间下, 超氧化物歧化酶活性在不同温度下具有差异, 其中各温度组在胁迫 3 h 时变化不大; 胁迫 6 h 时, 24 °C 和 27 °C 组与对照组之间无显著变化, 但 21 °C 组显著低于 24 °C 组; 胁迫 12 h 时, 21 °C 处理组显著降低, 24 °C 和 27 °C 处理组均显著升高; 胁迫 24 h 时, 21 °C 和 24 °C 处理组与对照组之间无明显差异, 27 °C 处理组与其他温度组和对照组相比显著升高 (图 2, 电子附录 4, 5)。

2.3.2 过氧化氢酶活性 在不同的时间点, 21 °C 处理组呈现明显的先降后升的变化, 至胁迫 6 h 时达到最低值, 在 6 h 和 12 h 时与其他各时间点相比显著降低; 24 °C 处理组整体降低, 胁迫

3 h 后各时间点均无显著变化; 27 °C 处理组整体呈上升趋势, 在 24 h 时显著升高, 其余时间点无显著变化 (电子附录 6, 7)。

在相同的处理时间, 胁迫 3 h 时, 21 °C 处理组与对照组无显著性变化, 27 °C 处理组显著高于 24 °C 处理组; 6 h 和 12 h 胁迫, 21 °C 和 24 °C 处理组之间无显著差异, 与对照组相比均显著降低, 27 °C 处理组与对照组无显著差异; 胁迫 24 h 时, 与对照组相比, 21 °C 处理组无明显变化, 24 °C 处理组显著降低, 27 °C 处理组明显升高 (图 3, 电子附录 8, 9)。

2.3.3 丙二醛含量 在不同的处理时间下, 21 °C 处理组在各时间点丙二醛含量无显著差异, 同时与对照组也无显著差异; 24 °C 处理组呈现明显的先升高后降低的变化, 胁迫 6 h 时达到最高值, 且显著高于 0 h 和 3 h, 但在 12 h 和 24 h 时丙二醛含量无显著差异; 27 °C 处理组丙二醛含量随时间延长而升高, 6 h 胁迫后显著升高, 24 h 显著高于对照组 (电子附录 10, 11)。

同一胁迫时间下, 丙二醛含量在不同温度下也有差异, 其中在 6 h 时, 24 °C 显著高于 21 °C 处理组, 27 °C 处理组较对照组显著升高; 12 h

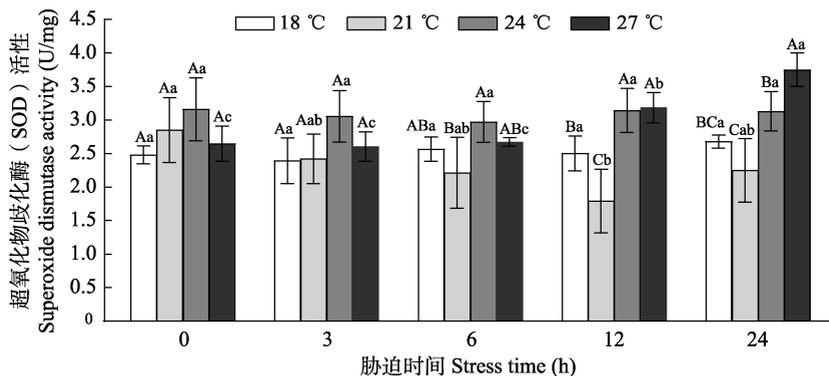


图 2 高温胁迫对膨腹海马幼苗超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的影响

Fig. 2 Effect of high temperature stress on superoxide dismutase (SOD) activity in *Hippocampus abdominalis* seedlings

柱状图上不同小写字母表示相同温度处理组在不同时间点有显著性差异 ($df = 4, P < 0.05$); 不同大写字母表示相同时间点不同温度处理组间有显著性差异 ($df = 3, P < 0.05$); 误差线代表标准差。

Different lowercase letters on the bar chart indicated that there were significant differences at different time points in the same temperature treatment group ($df = 4, P < 0.05$); different capital letters indicated that there was significant difference between different temperature treatment groups at the same time point ($df = 3, P < 0.05$); error bar indicates standard deviation.

和 24 h 胁迫时, 21 °C 和 24 °C 处理组与对照组无明显差别, 27 °C 处理组与其他温度处理组和对照组相比显著升高(图 4, 电子附录 12, 13)。

2.3.4 总抗氧化能力 同一温度处理组在不

同的胁迫时间, 总抗氧化能力随时间呈现升高-降低-升高的变化趋势, 其中 21 °C 和 27 °C 处理组在胁迫 3 h 和 6 h 无显著差异, 12 h 时降至最低值, 21 °C 处理组 24 h 时显著升高, 27 °C

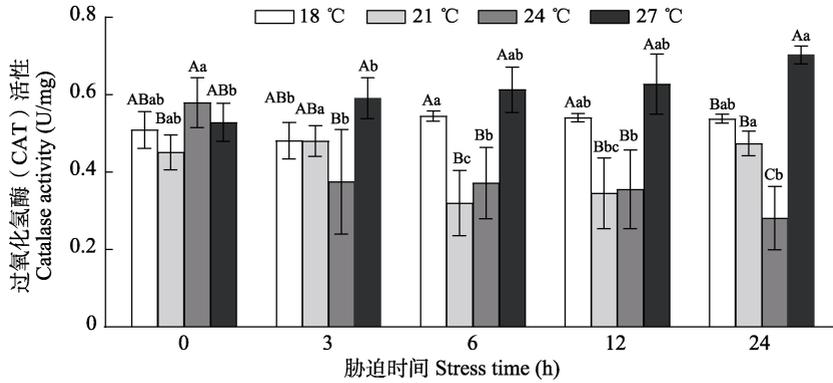


图 3 高温胁迫对膨腹海马幼苗过氧化氢酶 (CAT) 活性的影响

Fig. 3 Effect of high temperature stress on catalase (CAT) activity of *Hippocampus abdominalis* seedlings

柱状图上不同小写字母表示相同温度处理组在不同时间点有显著性差异 ($df = 4, P < 0.05$); 不同大写字母表示相同时间点不同温度处理组间有显著性差异 ($df = 3, P < 0.05$); 误差线代表标准差。

Different lowercase letters on the bar chart indicated that there were significant differences at different time points in the same temperature treatment group ($df = 4, P < 0.05$); different capital letters indicated that there was significant difference between different temperature treatment groups at the same time point ($df = 3, P < 0.05$); error bar indicates standard deviation.

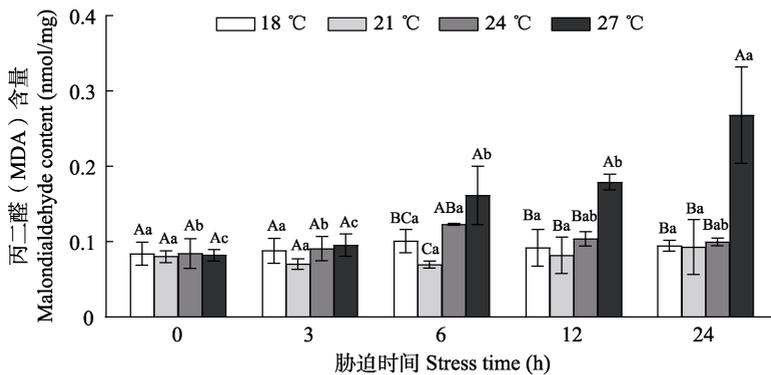


图 4 高温胁迫对膨腹海马幼苗丙二醛 (MDA) 含量的影响

Fig. 4 Effect of high temperature stress on malondialdehyde (MDA) content in *Hippocampus abdominalis* seedlings

柱状图上不同小写字母表示相同温度处理组在不同时间点有显著性差异 ($df = 4, P < 0.05$); 不同大写字母表示相同时间点不同温度处理组间有显著性差异 ($df = 3, P < 0.05$); 误差线代表标准差。

Different lowercase letters on the bar chart indicated that there were significant differences at different time points in the same temperature treatment group ($df = 4, P < 0.05$); different capital letters indicated that there was significant difference between different temperature treatment groups at the same time point ($df = 3, P < 0.05$); error bar indicates standard deviation.

处理组虽升高, 但无显著性差异; 24 °C 处理组在 3 h 升到最高值后开始降低, 12 h 时显著降低并达到最低值, 24 h 时虽有所升高, 但无显著性差异 (电子附录 14, 15)。

不同温度处理在相同的胁迫时间下其总抗氧化能力也存在差异, 其中胁迫 6 h 时, 24 °C 处理组较对照组明显降低, 21 °C 和 27 °C 处理组较对照组无明显差异; 12 h 时, 21 °C 处理组与对照组无显著差异, 24 °C 和 27 °C 处理组之间也无显著差异, 但较对照组有显著下降; 24 h 时, 21 °C 处理组较对照组显著升高, 而 24 °C 和 27 °C 处理组均显著低于对照组 (图 5, 电子附录 16, 17)。

3 讨论

3.1 高温胁迫对膨腹海马幼苗存活率的影响

温度是影响水生生物存活与生长的重要环境因子, 过高或过低的温度都会对其生长代谢起到一定的限制作用, 影响其存活率。本实验中, 在高温胁迫 24 h 条件下, 膨腹海马幼苗在 27 °C 时的存活率高于 50%, 而 28 °C 时的存活率低于 50%, 因此推测其高起始致死温度在 27 ~

28 °C 之间。罗辉玉等 (2021) 对膨腹海马的温度耐受性研究表明, 16 °C 是最适养殖温度, 高于 16 °C 时养殖存活率就会降低, 但 Woods (2008) 的研究表明膨腹海马在 12 ~ 21 °C 条件下生长和存活状况良好, 这与本实验 18 °C 和 21 °C 的研究结果一致。且低于 25 °C 时膨腹海马幼苗均没有出现死亡, 说明研究温度并没有达到其耐受限度, 而随着温度的升高, 膨腹海马幼苗的存活率迅速下降, 且温度越高其存活率越低, 推测原因是高温引发幼苗出现热应激反应, 导致机体出现生理异常和免疫系统紊乱。此外, 膨腹海马幼苗在 22 ~ 25 °C 未出现死亡现象是胁迫 24 h 的结果, 表明幼苗可在此温度下短期存活, 并非长时间的生存温度。关于高温长期胁迫的影响有待研究。

3.2 高温胁迫对膨腹海马幼苗抗氧化酶的影响

当鱼类处于环境胁迫条件下时, 其体内都会产生自由基 (章雪丹等 2013), 其中氧自由基造成的损伤最为严重, 又称活性氧 (reactive oxygen species, ROS) (Halliwell et al. 1999)。鱼类体内的活性氧浓度通常保持在较低的水

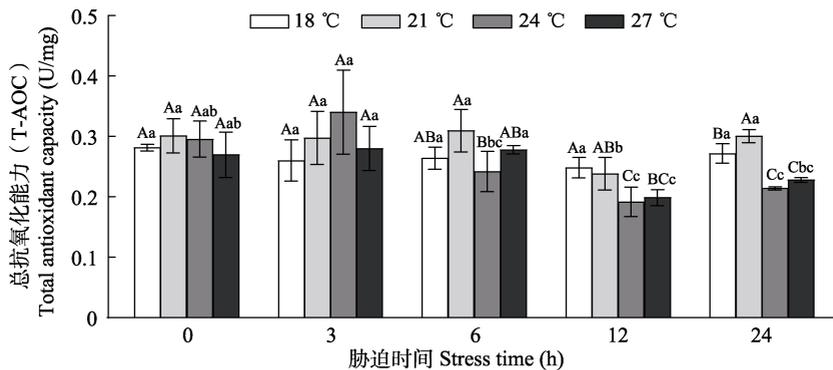


图 5 高温胁迫对膨腹海马幼苗总抗氧化能力 (T-AOC) 的影响

Fig. 5 Effect of high temperature stress on total antioxidant capacity (T-AOC) in *Hippocampus abdominalis* seedlings

柱状图上不同小写字母表示相同温度处理组在不同时间点有显著性差异 ($df = 4, P < 0.05$); 不同大写字母表示相同时间点不同温度处理组间有显著性差异 ($df = 3, P < 0.05$); 误差线代表标准差。

Different lowercase letters on the bar chart indicated that there were significant differences at different time points in the same temperature treatment group ($df = 4, P < 0.05$); different capital letters indicated that there was significant difference between different temperature treatment groups at the same time point ($df = 3, P < 0.05$); error bar indicates standard deviation.

平, 用于满足其正常生存代谢所需。在高温胁迫条件下会导致产生的活性氧变多及细胞内氧化应激 (Parihar et al. 1995, Lushchak et al. 2006), 从而损伤脂质、蛋白质和 DNA (Bougrier et al. 1995)。酶作为一类特殊的蛋白质 (田宏杰等 2006), 在应激反应中起着重要的调节作用, 其中抗氧化酶在清除 ROS 中起重要作用。温度的变化能直观影响抗氧化酶活性的高低, 温度过高会导致抗氧化酶失活, 而温度过低则会造成抗氧化酶受到抑制。因此, 研究抗氧化酶在高温下的作用机理, 可以深入了解生物对环境胁迫的响应。

3.2.1 高温胁迫对超氧化物歧化酶的影响

超氧化物歧化酶是一种能够将生物体内氧自由基催化生成氧和过氧化氢的抗氧化酶, 在维持生物体氧化与抗氧化平衡方面起重要的作用 (刘胜利等 2021)。当生物体受到环境胁迫时, 为了避免过多的氧自由基对机体造成氧化损伤, 细胞内活性氧的增加会促使超氧化物歧化酶合成 (亢玉静等 2013)。本实验中, 21 °C 和 24 °C 胁迫下膨腹海马幼苗超氧化物歧化酶活性均呈现先降低后升高的趋势, 其主要原因是胁迫初期海马幼苗短时间无法适应高温环境, 其体内的抗氧化系统被抑制, 随着胁迫时间的延长, 海马通过调节代谢等生理活动, 逐渐适应了高温环境, 其体内的抗氧化系统功能开始恢复, 超氧化物歧化酶活性开始上升 (龙勇等 2021), 这一现象与翘嘴鲌 (*Siniperca chuatsi*) 幼鱼 (张晨光等 2021) 和吉富罗非鱼 (*Oreochromis niloticus* var) (杨洪帅等 2014) 等研究结果一致。在 27 °C 高温下膨腹海马幼苗超氧化物歧化酶活性随胁迫时间整体呈升高趋势, 主要是因为机体面临高温环境时, 为了清除多余的自由基, 产生了一系列诱导抗氧化酶合成的应激反应 (黄天晴等 2023)。不同温度下超氧化物歧化酶活性的变化表明, 胁迫温度越高时, 其受到的氧化应激越严重, 温度对抗氧化酶变化的影响也越显著。

3.2.2 高温胁迫对过氧化氢酶的影响 过氧

化氢酶能够将细胞内的过氧化氢催化分解成水和氧分子, 是生物体中广泛存在的重要酶之一 (刘灵芝等 2009, 于德玲等 2016)。过氧化氢酶活性的变化通常可以反映出生物体在受到环境胁迫时的免疫状态, 因此可用来评估环境胁迫对生物的影响 (亢玉静等 2013)。本实验中, 过氧化氢酶活性在 21 °C 和 24 °C 胁迫初期都呈降低的趋势, 说明产生了应激反应, 温度的突然变化使体内的抗氧化系统被抑制, 胁迫一段时间后, 21 °C 下过氧化氢酶活性出现升高的趋势, 推测是海马幼苗通过调节代谢等生理活动, 其抗氧化系统功能开始恢复。而 24 °C 下过氧化氢酶活性随胁迫时间持续下降, 说明超氧化物歧化酶在清除氧离子后产生了大量的过氧化氢, 但过氧化氢酶不足以分解这些过氧化氢, 从而抑制了其活性的增加。27 °C 下过氧化氢酶活性随时间整体呈升高趋势, 说明在此温度下造成的氧化应激更严重, 需要更多的过氧化氢酶以维持机体的氧化还原平衡。这一现象与日本囊对虾 (*Marsupenaeus japonicas*) (郑锦滨 2019) 及台湾泥鳅 (*Paramisgurnus dabryanus*) (陶志英等 2020) 等研究结果一致。大量自由基在超氧化物歧化酶作用下, 首先歧化生成过氧化氢和氧分子, 再经过过氧化氢酶将过氧化氢氧化成水和氧气, 因此过氧化氢酶的活性通常随超氧化物歧化酶的变化而变化 (李勇等 2008)。本实验中过氧化氢酶活性与超氧化物歧化酶活性的变化趋势基本一致, 表明海马幼苗中氧自由基的产生和消除之间存在一个动态的平衡, 而 27 °C 下两种酶的活性变化趋势与其他温度组存在明显的差别, 处于持续升高的趋势, 推测是高温下活性氧的积累使得抗氧化酶活性的增强, 对膨腹海马幼苗机体产生了严重的损伤。

3.2.3 高温胁迫对丙二醛的影响

丙二醛的产生会加剧细胞质膜的损伤, 通常作为机体氧化应激和脂质过氧化的重要生理指标 (Lepage et al. 1991, 翟晓虎等 2018)。丙二醛产生量能够间接反映组织抗氧化能力的强弱, 其浓度的

显著增加在一定程度上反映了机体内大量活性氧无法被有效清除,造成了氧化损伤(Lushchak 2011)。实验发现 21 °C 组丙二醛含量逐渐升高,但与对照组无显著差异,说明此温度对海马幼苗的影响较小;而 24 °C 组丙二醛含量在胁迫初期升高,表明海马幼苗在受到高温刺激后代谢加快,脂质过氧化程度增强,胁迫 6 h 丙二醛含量达到峰值后开始降低,在 24 h 时与对照组无显著差异,表明幼苗通过调节抗氧化酶活性来维持体内氧自由基的平衡,降低脂质过氧化程度,丙二醛含量在胁迫一段时间后恢复至正常水平,这与温度对凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) (Xu et al. 2018) 的丙二醛含量变化的影响结果一致;27 °C 组随胁迫时间的延长丙二醛含量持续升高,这与中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) (宋林生等 2004) 胰腺在温度骤升下丙二醛含量变化一致,表明海马幼苗受到高温刺激后,体内活性氧浓度较高,机体无法及时清除,导致脂质过氧化严重,进一步说明了其无法适应 27 °C 的高温。

3.2.4 高温胁迫对总抗氧化能力的影响 总抗氧化能力是一项能够反映机体抗氧化酶系统和非酶促系统调节并反映外界刺激的综合指标,也能反映机体自由基代谢的状态(叶林骏等 2012)。实验发现各高温处理组总抗氧化能力均呈升高-降低-升高的趋势,这与长牡蛎 (*Crassostrea gigas*) (孟广玮等 2019) 总抗氧化能力在高温胁迫下的变化趋势基本一致,其原因可能是膨腹海马幼苗在短期高温胁迫时,通过自身抗氧化能力的调节来避免氧化损伤,故总抗氧化能力在胁迫初期升高;海马幼苗体内酶类和非酶类的氧化物质随着胁迫时间的延长逐渐失活,从而导致总抗氧化能力降低,实验结束时虽然酶活性有所升高,但水平显著低于对照组,表明长时间的高温胁迫打破了体内平衡,导致幼苗受到损伤而无法及时恢复,抗氧化能力减弱。

电子附录 电子附录 1 ~ 17 见本文网络版 (<http://dwxzz.ioz.ac.cn>)。

参 考 文 献

- Bougrier S, Gearon P, Deslous-Paoli J M, et al. 1995. Allometric relationships and effects of temperature on clearance and oxygen consumption rates of *Crassostrea gigas* (Thunberg). *Aquaculture*, 134(1/2): 143–154.
- Halliwell B, Gutteridge J N C. 1999. Mechanism of damage of cellular targets by oxidative stress: lipid peroxidation. *Journal of Free Radicals in Biology & Medicine*, 3(1): 284–313.
- Job S D, Do H H, Meeuwig J J, et al. 2002. Culturing the oceanic seahorse, *Hippocampus kuda*. *Aquaculture*, 214(1/4): 333–341.
- Kivivuori L A, Lahdes E O. 1996. How to measure the thermal death of *Daphnia*? A comparison of different heat tests and effects of heat injury. *Journal of Thermal Biology*, 21(5/6): 305–311.
- Lepage G, Munoz G, Champagne J, et al. 1991. Preparative steps necessary for the accurate measurement of malondialdehyde by high-performance liquid chromatography. *Analytical Biochemistry*, 197(2): 277–283.
- Loh T L, Tewfik A, Aylesworth L, et al. 2016. Species in wildlife trade: socio-economic factors influence seahorse relative abundance in Thailand. *Biological Conservation*, 201: 301–308.
- Lushchak V I. 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicology*, 101(1): 13–30.
- Lushchak V I, Bagnyukova T V. 2006. Temperature increase results in oxidative stress in goldfish tissues. 1. Indices of oxidative stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 143(1): 30–35.
- Parihar M S, Dubey A K. 1995. Lipid peroxidation and ascorbic acid status in respiratory organs of male and female freshwater catfish *Heteropneustes fossilis* exposed to temperature increase. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 112(3): 309–313.
- Woods C M C. 2008. Factors Affecting Successful Culture of the Seahorse, *Hippocampus Abdominalis* Leeson, 1827. *Marine Ornamental Species: Collection, Culture & Conservation*, 25(2): 275–288.
- 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.

- 黄建设, 张偲, 龙丽娟. 2002. 海龙科药用鱼类化学成分和药理活性的研究进展. *中草药*, 33(3): 282–285.
- 黄天晴, 董福霖, 刘恩慧, 等. 2023. 热应激对鱼类生命活动影响的研究进展. *水产学杂志*, 36(2): 109–113, 121.
- 江志兵, 曾江宁, 陈全震, 等. 2010. 不同升温速率对桡足类高起始致死温度的影响. *热带海洋学报*, 29(3): 87–92.
- 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.
- 李勇, 孔令青, 高洪, 等. 2008. 自由基与疾病研究进展. *动物医学进展*, 29(4): 85–88.
- 刘灵芝, 钟广蓉, 熊莲, 等. 2009. 过氧化氢酶的研究与应用新进展. *化学与生物工程*, 26(3): 15–18.
- 刘胜利, 吴文达, 戴求仲, 等. 2021. 超氧化物歧化酶 SOD 及模拟物的研究现状和应用. *中国饲料添加剂*, 9(1): 1–7.
- 龙勇, 葛国栋, 李西西, 等. 2021. 鱼类低温应激反应的调控机制. *水生生物学报*, 45(6): 1405–1414.
- 罗辉玉, 祁剑飞, 郑乐云, 等. 2021. 膨腹海马温度耐受性及不同温度对其生长的影响. *渔业研究*, 43(5): 480–486.
- 吕为群, 袁明哲. 2017. 温度变化对鱼类行为影响的研究进展. *上海海洋大学学报*, 26(6): 828–835.
- 孟广玮, 李琪, 徐成勋, 等. 2019. 高温胁迫对长牡蛎‘海大3号’品系存活及5项免疫指标的影响. *中国水产科学*, 26(4): 738–744.
- 任中华, 宋骏杰, 刘永叶, 等. 2018. 辽东湾4种海洋生物的热耐受性研究. *渔业科学进展*, 39(3): 1–10.
- 宋林生, 季延宾, 蔡中华, 等. 2004. 温度骤升对中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 几种免疫化学指标的影响. *海洋与湖沼*, 35(1): 74–77.
- 陶志英, 马本贺, 王海华, 等. 2020. 低温胁迫对台湾泥鳅抗氧化系统与能量代谢的影响. *江西水产科技*, (6): 3–8.
- 田宏杰, 庄平, 高露姣. 2006. 生态因子对鱼类消化酶活力影响的研究进展. *海洋渔业*, 28(2): 158–162.
- 杨洪帅, 王辉, 刘加慧, 等. 2014. 高温对吉富罗非鱼幼鱼生长及超氧化物歧化酶、乳酸脱氢酶活力的影响. *广东海洋大学学报*, 34(1): 15–20.
- 叶林骏, 胡艺珂, 何昆, 等. 2012. 环境胁迫因子对鱼类氧化压力的影响. *安徽农业科学*, 40(29): 14326–14330.
- 于德玲, 王昌留. 2016. 过氧化氢酶的研究进展. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 25(2): 189–194.
- 翟晓虎, 杨海锋, 陈慧英, 等. 2018. 丙二醛的毒性作用及检测技术研究进展. *上海农业学报*, 34(1): 144–148.
- 张晨光, 丁炜东, 曹哲明, 等. 2021. 急性高温胁迫对翘嘴鳊幼鱼抗氧化酶和消化酶活性及热休克蛋白基因表达的影响. *南方农业学报*, 52(3): 815–826.
- 章雪丹, 叶超霞, 冼健安, 等. 2013. 鱼类低温应激研究进展. *饲料工业*, 34(6): 17–22.
- 郑锦滨. 2019. 日本囊对虾高温胁迫响应机制研究. 厦门: 厦门大学博士学位论文, 75–77.