

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20200424002

http://www.yykxjz.cn/

王盼, 史文军, 万夕和, 沈辉, 沙士兵, 黎慧, 王李宝, 孙瑞健, 蒋葛, 吴旭干. 低氧-复氧对脊尾白虾呼吸代谢和抗氧化酶活力的影响. 渔业科学进展, 2021, 42(4): 106-115

WANG P, SHI W J, WAN X H, SHEN H, SHA S B, LI H, WANG L B, SUN R J, JIANG G, WU X G. Effects of hypoxia and reoxygenation on respiratory metabolism enzyme and antioxidant enzyme activities in *Exopalaemon carinicauda*. Progress in Fishery Sciences, 2021, 42(4): 106-115

低氧-复氧对脊尾白虾呼吸代谢和 抗氧化酶活力的影响*

王 盼^{1,2#} 史文军^{2#} 万夕和^{2①} 沈 辉² 沙士兵²
黎 慧² 王李宝² 孙瑞健² 蒋 葛² 吴旭干¹

(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 以静室呼吸耗氧-复氧为实验组, 持续充气组为对照组。于 0、1、2、4、5 h 及复氧 1、4、8 h 检测并分析了水体溶解氧(DO)和脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)组织主要呼吸代谢及抗氧化酶活力。结果显示, 随着时间的延长, 实验组 DO 不断降低, 且显著低于对照组($P<0.05$)。脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉细胞色素 C 氧化酶(CCO)、琥珀酸脱氢酶(SDH)活力降低; 乳酸脱氢酶(LDH)、延胡索酸还原酶(FRD)活力升高, SDH/FRD 值降低。复氧后, 3 种组织 SDH、LDH 和 FRD 活力恢复至对照组, 肌肉 CCO 活力升高, 在复氧 8 h 时低于对照组($P<0.05$); SDH/FRD 值升高。随着时间的延长, 3 种组织超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)和谷胱甘肽 S 转移酶(GST)活力均先升后降, 但肝胰腺的过氧化物酶(POD)活力降低, 而在鳃和肌肉中呈波动性变化; 复氧后, 3 种组织 SOD、CAT、GPX 和 GST 活力均恢复至对照组水平, 但鳃和肌肉的 POD 在复氧 8 h 时均低于对照组($P<0.05$)。研究表明, 随着 DO 的降低, 脊尾白虾有氧代谢逐渐降低, 无氧代谢逐渐升高。复氧后, 有氧代谢能力又逐渐恢复。上述抗氧化酶可能在脊尾白虾应对低氧-复氧中产生的氧化损伤发挥着重要作用。

关键词 脊尾白虾; 低氧; 呼吸代谢; 抗氧化能力

中图分类号 S966 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2021)04-0106-10

水体溶解氧(DO)是水生生物生存的必需因素之一, 在其生长、发育和繁殖等方面发挥重要作用。当前, 在我国水产养殖过程中, 由于养殖密度高、养殖投入品的广泛使用和气候变化等, 导致水体中 DO 含

* 江苏省农业重大新品种创制项目(PZCZ201747)、2018 年江苏省农业科技自主创新项目(CX18-2010)、2018 年南通市科技计划项目(JCZ18066)和 2019 年南通市科技计划项目(JC2019057)共同资助 [This work was supported by Agricultural Major New Variety Creation Project of Jiangsu Province (PZCZ201747), Agricultural Science and Technology Independent Innovation Project of Jiangsu Province in 2018 (CX18-2010), Science and Technology Plan Project of Nantong in 2018 (JCZ18066), and Science and Technology Plan Project of Nantong in 2019 (JC2019057)].

#共同第一作者: 王 盼, E-mail: w18738397563@163.com; 史文军, E-mail: muzhiye080326@126.com

① 通讯作者: 万夕和, 研究员, E-mail: wxh1708@163.com

收稿日期: 2020-04-24, 收修改稿日期: 2020-05-21

量经常波动,有时可能会下降到生物体的生理极限以下,形成低氧环境,对水产养殖造成巨大威胁。李志华等(2004)研究表明,在虾类养殖过程中,DO含量应该不低于3 mg/L。当低氧发生时,会对虾的呼吸、代谢和抗氧化能力等方面产生影响。Richard等(1996)研究表明,短刀小长臂虾(*Palaemonetes pugio*)的耗氧量随着氧分压力的降低显著下降。Marion等(2016)研究表明,在长期低氧条件下,北方长额虾(*Pandalus borealis*)肌肉组织乳酸脱氢酶(LDH)活力显著降低。此外,Li等(2016)研究表明,在低氧条件下,凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)鳃、肝胰腺、血淋巴组织的超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)活力均增加。

脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)广泛分布于我国沿岸,因其具有生长快、繁殖能力强、味道鲜美且营养价值高等优点,已成为我国海水池塘养殖的主要虾类品种(连春盎等,2017;窦全伟等,2019)。但脊尾白虾对氧的需求比较高,尤其是夏季高温季节,易出现缺氧死亡。目前,关于DO对脊尾白虾影响方面的研究相对较少,仅李明云等(1992)研究了脊尾白虾的窒息点和耗氧率;王琦等(2013)研究了干露胁迫对脊尾白虾HSP70和ferritin基因表达的影响;连春盎(2016)研究了干露胁迫对脊尾白虾呼吸代谢相关酶和低氧诱导因子的影响。尚未见对脊尾白虾进行渐变式低氧胁迫并分析其生理响应的研究。因此,本研究在封闭水体中,通过脊尾白虾的呼吸消耗逐渐产生低氧环境,模拟自然环境下水体低氧的形成过程,研究低氧-复氧对脊尾白虾呼吸代谢和抗氧化能力的影响,分析其生理指标的变化趋势,以期对脊尾白虾的健康养殖和耐低氧品系的选育提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验材料取自江苏省海洋水产研究所如东海水虾类科研基地。随机挑选体长为(5.1±0.2) cm,体重为(2.38±0.19) g,健康、活力好的脊尾白虾,于1000 L塑料圆桶中暂养7 d。暂养期间,海水盐度为25、水温为20℃~21℃,持续充气。每天投喂适量的配合饲料,实验前1 d停止投喂。每天换水1次,换水量约为总水量体积1/3。

1.2 实验设计

实验在盐度为25、温度为20℃~21℃条件下进行。

按预实验结果,随机将脊尾白虾分到装有5 L海水的三角瓶中,共48瓶,每瓶10尾,每3瓶为1个组。充气稳定0.5 h后,将实验组三角瓶停止充气,并用带有橡胶导管的橡胶塞密封,开始计时,待5 h后,打开橡胶塞,开始对实验组复氧并计时;对照组一直保持充气供氧。

1.3 样品的采集与测定

1.3.1 水样和组织采集 根据预实验结果,分别于实验开始0、1、2、4、5 h和复氧1、4、8 h,将水样采集至水样瓶中,用碱性碘化钾和MnCl₂固定液固定,用于后续DO的测定;同时,在每组水样取完后,立即打开橡胶塞,从各瓶中随机选取6尾活虾,取完整的鳃、肝胰腺和肌肉组织,液氮冻存后放入-80℃冰箱保存,用于后续酶活力的测定。

1.3.2 溶解氧测定 待水样固定1 h后(沉淀完全),按照海水监测规范(GB 17378.4-2007)规定的方法进行DO的测定。

1.3.3 酶活力测定 按1:9质量体积比,于上述鳃、肝胰腺和肌肉组织样品中加入0.86% NaCl溶液,冰浴下匀浆制成10%的组织匀浆液,离心,上清液分装后用于抗氧化酶和LDH活力测定;沉淀经匀浆介质重悬、超声破碎后制成线粒体匀浆液,用于细胞色素C氧化酶(CCO)、琥珀酸脱氢酶(SDH)和延胡索酸还原酶(FRD)活力测定。CCO活力测定采用武汉纯度生物科技有限公司试剂盒;抗氧化酶、LDH和SDH活力以及蛋白含量测定均采用南京建成生物研究所试剂盒;FRD活力测定参照Xiao等(1993)方法。酶活力单位以U/mg prot表示,代表每毫克组织含有的酶活力单位数。

1.4 数据分析

采用SPSS统计软件进行数据分析,所有实验结果均采用平均值±标准差(Mean±SD)表示。不同组同一时间点的数据采用t检验比较,同一组不同时间点的数据采用单因素方差分析(one-way ANOVA)进行比较,以P<0.05作为显著标准。

2 结果与分析

2.1 溶解氧浓度变化分析

对照组与实验组DO浓度的变化曲线见图1。从图1可以看出,随着静室呼吸耗氧时间的延长,实验组水体中DO含量不断降低,在呼吸耗氧2 h时,DO含量为3.70 mg/L;5 h时,DO含量已经由最初的7.92 mg/L

降至 1.10 mg/L, 而对照组 DO 含量一直保持相对稳定。实验组各时间点 DO 含量与对照组相比均差异显著($P<0.05$)。复氧后, 实验组 DO 含量迅速恢复到对照组水平, 且随着复氧时间的延长而一直保持稳定。

2.2 低氧-复氧对脊尾白虾呼吸代谢酶活力的影响

2.2.1 脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉细胞色素 C 氧化酶活力的变化 从图 2 可以看出, 随着静室呼吸耗氧时间的延长, 实验组脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉组织 CCO 活力均呈逐渐降低的趋势。在呼吸耗氧 5 h 时, 酶活力降到最低值, 分别下降了 80.2%、48.7%、80.1%。鳃和肌肉组织酶活力在呼吸耗氧 1 h 时, 分别与各自的对照组相比差异显著($P<0.05$); 而肝胰腺组织酶活力在呼吸耗氧 4 h 时与对照组间存在显著差异($P<0.05$)。鳃和肌肉组织酶活力分别在呼吸耗氧 2、4、5 h 和 4、5 h 时均呈下降趋势, 但差异不显著($P>0.05$)。复氧后, 3 种组织 CCO 活力均逐渐升高, 3 种组织在复氧 4 h 时与各自的对照组相比均无显著差异($P>0.05$), 但肌肉组织酶活力在复氧 8 h 时, 显著低于对照组($P<0.05$)。

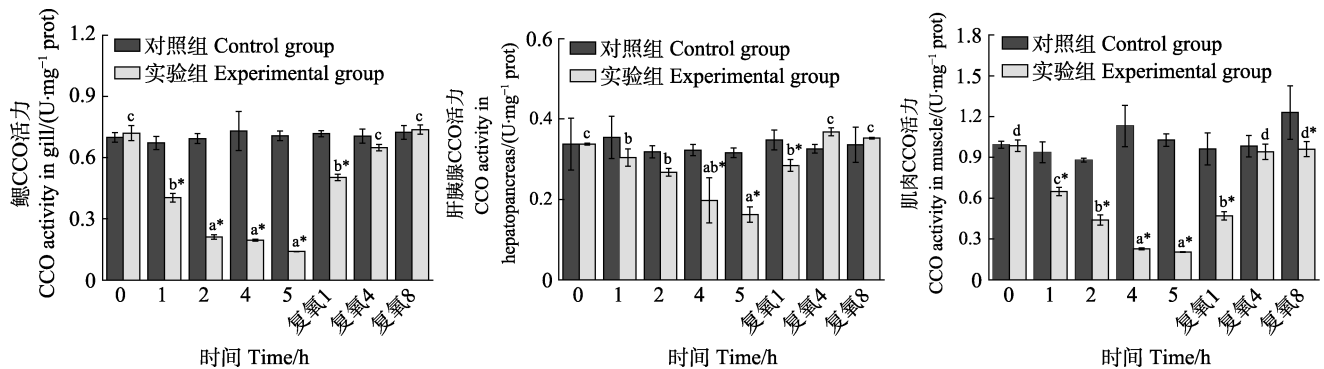


图 2 脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉 CCO 活力的变化
Fig.2 Changes of CCO activity in gill, hepatopancreas and muscle of *E. carinicauda*

2.2.2 脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉琥珀酸脱氢酶活力的变化 从图 3 可以看出, 随着静室呼吸耗氧时间的延长, 实验组脊尾白虾的鳃、肝胰腺和肌肉组织 SDH 活力均呈逐渐降低的趋势。鳃和肌肉组织酶活力在呼吸耗氧 2 h、肝胰腺在呼吸耗氧 4 h 时, 才开始与各自的对照组相比差异显著($P<0.05$)。3 种组织酶活力在呼吸耗氧 5 h 时降到最低, 分别下降了 48.4%、66.8%、52.3%。复氧后, 3 种组织酶活力均呈逐渐升高的趋势。在复氧 1 h 时, 3 种组织酶活力虽然升高但均显著低于各自的对照组($P<0.05$)。在复氧 4 h 时, 鳃和肌肉组织酶活力与各自对照组相比差异不显著($P>0.05$), 而肝胰腺组织酶活力却显著低于对照组($P<0.05$); 复氧 8 h 时, 3 种组织酶活力与各自对照组相比均无显著差异

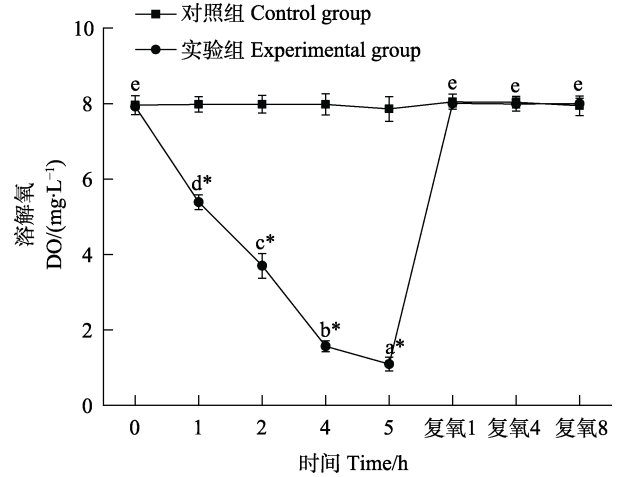


图 1 溶解氧浓度变化
Fig.1 Changes in dissolved oxygen concentration

不同小写字母表示同一处理组不同时间点差异显著, *表示实验组与对照组在相同时间点差异显著。下同
Different lowercases indicate significance difference ($P<0.05$) among the same treatment in different time points, *indicate significant differences ($P<0.05$) between experimental group and the control group at the same time. The same as below

($P>0.05$)。
2.2.3 脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉延胡索酸还原酶活力的变化 从图 4 可以看出, 随着静室呼吸耗氧时间的延长, 实验组脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉组织 FRD 活力均呈逐渐升高的趋势。在呼吸耗氧 2 h 时, 3 种组织酶活力与各自对照组之间相比差异显著($P<0.05$); 在呼吸耗氧 5 h 时, 3 种组织酶活力均达到最大值, 分别升高了 77.4%、179.5%、81.6%。复氧后, 3 种组织酶活力均呈逐渐降低的趋势。在复氧 1 h 时, 酶活力虽然显著下降但依旧显著高于各自的对照组($P<0.05$), 继续复氧, 酶活力逐渐恢复至对照组水平, 在复氧 8 h 与各自对照组相比均无显著差异($P>0.05$)。

2.2.4 脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉乳酸脱氢酶活力的变化 从图 5 可以看出,随着静室呼吸耗氧时间的延长,实验组脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉组织 LDH 活力均呈现逐渐升高的变化趋势。在呼吸耗氧 2 h 时,3 种组织酶活力与对照组相比存在显著差异($P<0.05$);在吸耗氧 5 h 时,3 种组织酶活力均达到最大值,分别

升高了 189.1%、103.6%、74.9%。复氧后,鳃和肌肉组织酶活力均逐渐降低,鳃组织酶活力在复氧 1 h 时仍显著高于对照组($P<0.05$);肌肉组织酶活力在复氧 1、4、8 h 与对照组相比均无显著差异($P>0.05$);肝胰腺组织酶活力在复氧阶段呈波动性变化,但在复氧 1、4、8 h 与对照组相比均无显著差异($P>0.05$)。

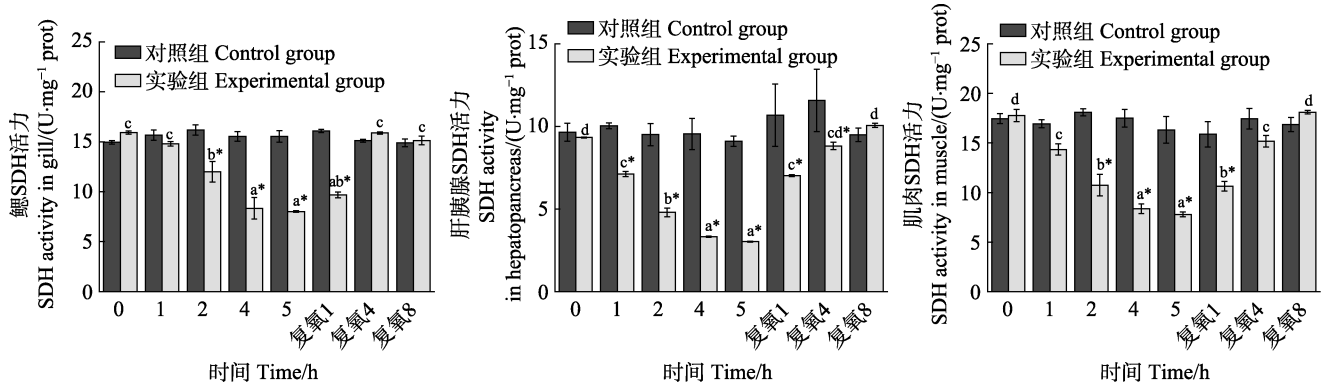


图 3 脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉 SDH 活力的变化

Fig.3 Changes of SDH activity in gill, hepatopancreas and muscle of *E. carinicauda*

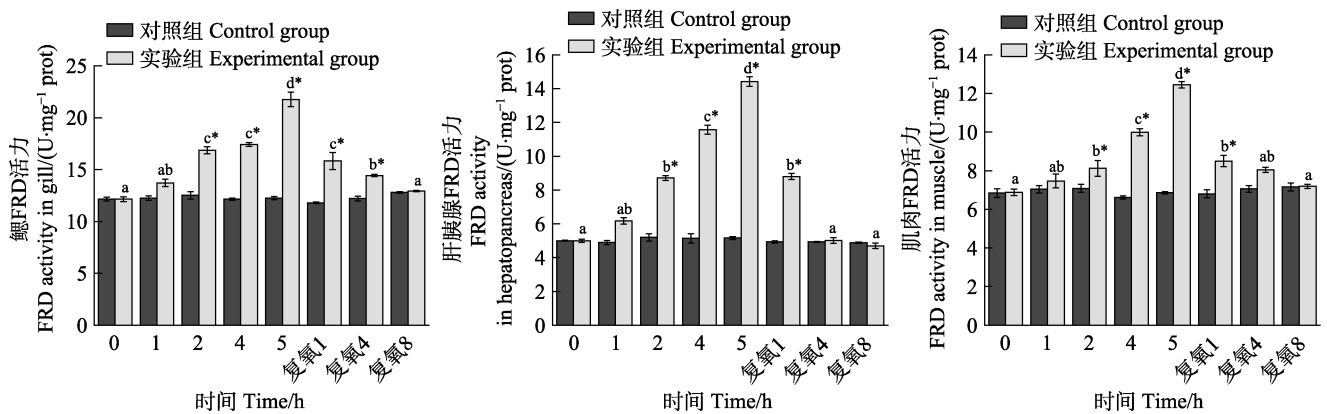


图 4 脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉 FRD 活力的变化

Fig.4 Changes of FRD activity in gill, hepatopancreas and muscle of *E. carinicauda*

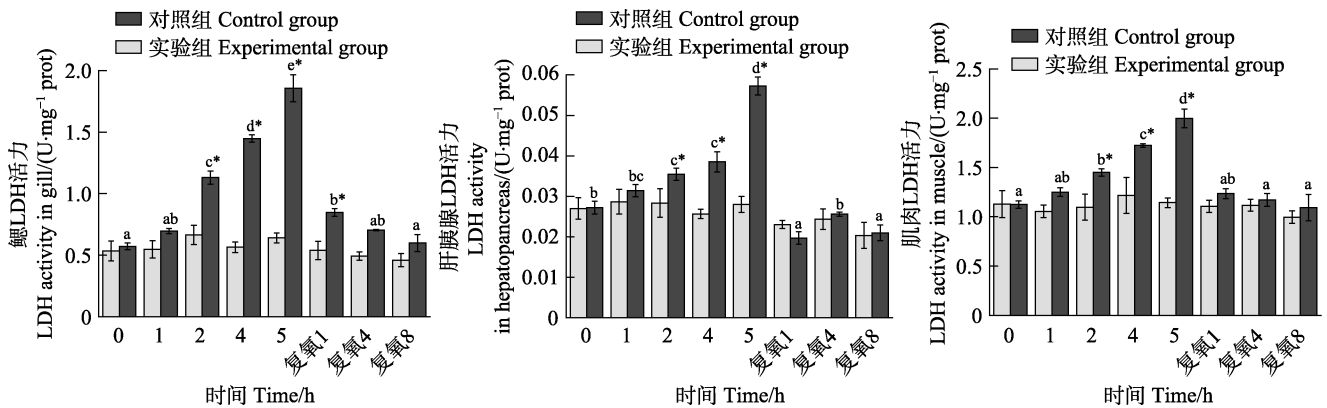


图 5 脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉 LDH 活力的变化

Fig.5 Changes of LDH activity in gill, hepatopancreas and muscle of *E. carinicauda*

2.2.5 脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉 SDH/FRD 值的变化

从图 6 可以看出, 脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉组织 SDH/FRD 值的变化规律基本相似。随着静室呼吸耗氧时间的延长, 该比值呈逐渐降低的趋势, 在呼吸耗氧 5 h 时降到最低值; 复氧后, 该比值逐渐升高。从图 6 还可以看出, 该比值在下降和升高阶段, 肌肉和肝胰腺组织变化幅度相比于鳃组织中的变化幅度较大。

2.3 低氧-复氧对脊尾白虾抗氧化酶活力的影响

2.3.1 脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉超氧化物歧化酶活力的变化

从图 7 可以看出, 随着静室呼吸耗氧时间的延长, 实验组脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉组织 SOD 活力均呈先升高后降低的趋势, 在呼吸耗氧 4 h 达到最大值, 分别升高了 54.2%、29.9%、199.6%; 呼吸耗氧 5 h 时, 3 种组织酶活力均显著下降, 但只有肝胰腺组织酶活力显著低于对照组 ($P < 0.05$)。复氧后, 3 种组织酶活力均呈先升高后降低的趋势, 在复氧 1 h 时,

酶活力均显著高于各自的对照组 ($P < 0.05$); 复氧 4、8 h 时, 酶活力与各自对照组相比均无显著差异 ($P > 0.05$)。

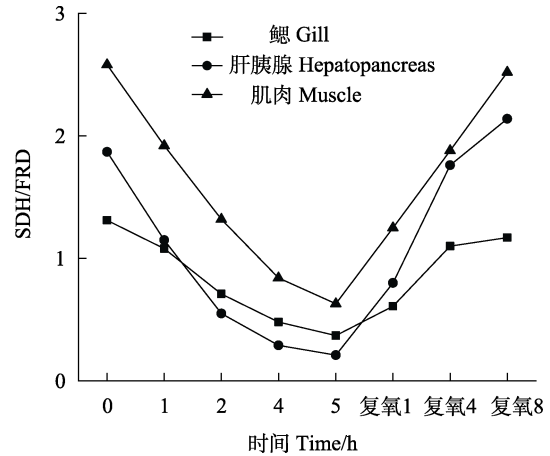


图 6 脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉 SDH/FRD 值的变化
Fig.6 Changes on value of SDH/FRD in gill, hepatopancreas and muscle of *E. carinicauda*

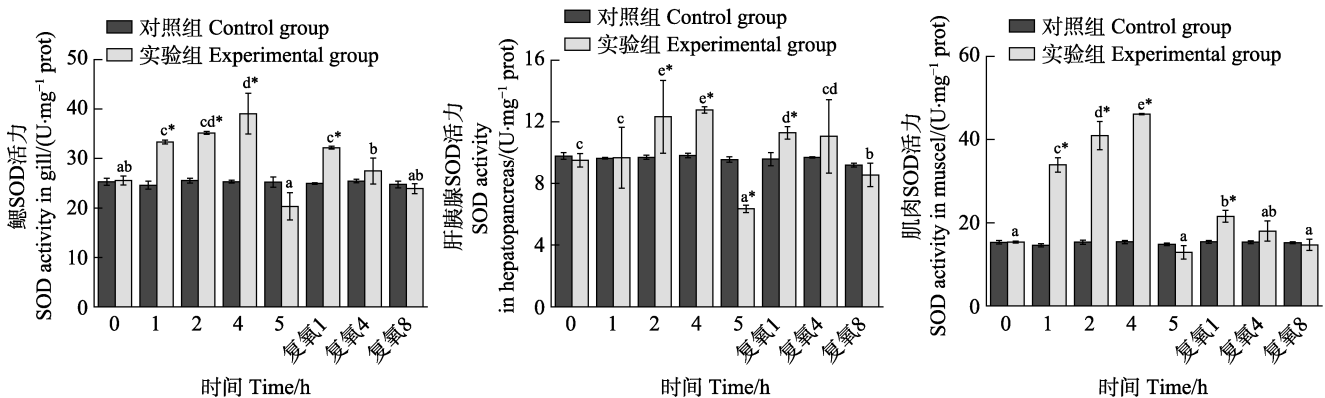


图 7 脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉 SOD 活力的变化

Fig.7 Changes of SOD activity in gill, hepatopancreas and muscle of *E. carinicauda*

2.3.2 脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉过氧化氢酶(CAT)活力的变化

从图 8 可以看出, 随着静室呼吸耗氧时间的延长, 实验组脊尾白虾肝胰腺和肌肉组织 CAT 活力均呈先升高后降低的趋势, 在呼吸耗氧 4 h 达到最大值并显著高于各自对照组 ($P < 0.05$)。呼吸耗氧 5 h 时, 酶活力均显著降低 ($P < 0.05$), 但与对照组相比无显著差异 ($P > 0.05$); 鳃组织酶活力在呼吸耗氧阶段呈波动性变化, 在呼吸耗氧 1 h 时, 酶活力显著低于对照组 ($P < 0.05$); 在呼吸耗氧 4 h 时显著升高并达到最大值, 继续呼吸耗氧至 5 h 时, 酶活力又显著降低 ($P < 0.05$) 但与对照组相比无显著差异 ($P > 0.05$)。复氧后, 实验组脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉 3 种组织酶活力均呈先升高后降低的趋势, 复氧 4、8 h 时, 3 种组织酶活力与各自对照组相比无显著差异 ($P > 0.05$)。

2.3.3 脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉过氧化物酶(POD)活力的变化

从图 9 可以看出, 随着静室呼吸耗氧时间的延长, 实验组脊尾白虾鳃和肌肉组织 POD 活力呈“降-升-降”的变化趋势, 但鳃组织酶活力在呼吸耗氧 5 h 时显著低于对照组 ($P < 0.05$); 肌肉组织酶活力呼吸耗氧 2 h 时显著低于对照组 ($P < 0.05$); 呼吸耗氧 4 h 时酶活力显著升高但与对照组相比无显著差异 ($P > 0.05$); 肝胰腺组织酶活力呈逐渐降低的趋势, 呼吸耗氧 2 h 时显著低于对照组 ($P < 0.05$)。复氧后, 实验组脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉 3 种组织酶活力均呈先升高后降低的趋势。复氧 1 h 时, 3 种组织酶活力显著升高并显著高于各自的对照组 ($P < 0.05$), 继续复氧酶活力不断降低, 但在复氧 8 h 时, 鳃和肌肉组织酶活力显著低于对照组 ($P < 0.05$), 肝胰腺组

织酶活力虽高于对照组但差异不显著($P>0.05$)。

2.3.4 脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉谷胱甘肽过氧化物酶活力的变化 从图 10 可以看出,随着静室呼吸耗氧时间的延长,实验组脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉组织 GPX 活力均呈先升高后降低的趋势,在呼吸耗氧 4 h 时达到最大值,并显著高于各自的对照组($P<0.05$);呼吸耗氧 5 h 时,3 种组织酶活力均显著降低,但肝胰腺组织酶活力显著低于对照组($P<0.05$),

而肌肉组织酶活力显著高于对照组($P<0.05$)。复氧后,实验组脊尾白虾鳃和肝胰腺组织酶活力均呈先升高后降低的趋势。复氧 4 h 时,酶活力达到最大值并显著高于对照组($P<0.05$);复氧 8 h 时,酶活力下降至低于对照组水平,但差异不显著($P>0.05$)。肌肉组织酶活力在复氧 1 h 时显著降低($P<0.05$),但与对照组相比无显著差异($P>0.05$),继续复氧后,GPX 活力维持相对稳定。

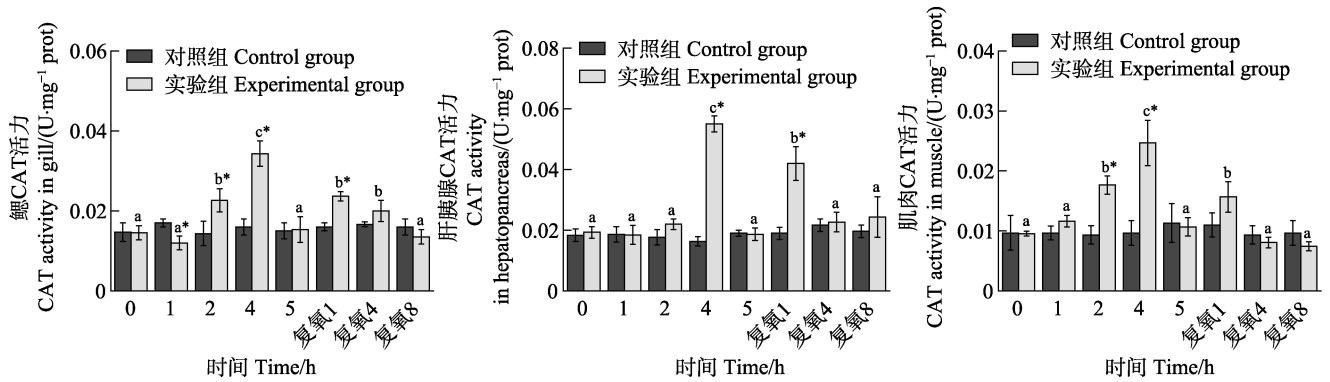


图 8 脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉 CAT 活力的变化

Fig.8 Changes of CAT activity in gill, hepatopancreas and muscle of *E. carinicauda*

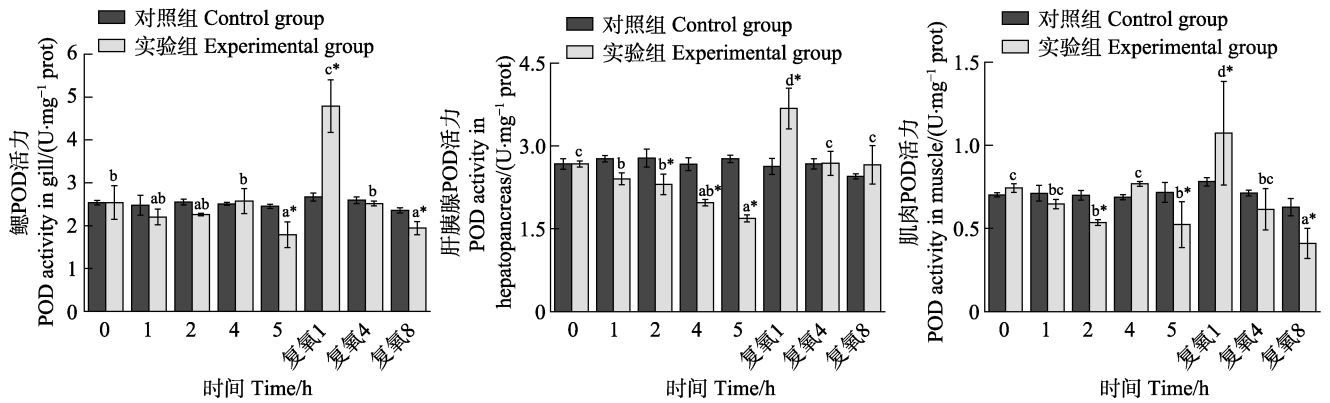


图 9 脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉 POD 活力的变化

Fig.9 Changes of POD activity in gill, hepatopancreas and muscle of *E. carinicauda*

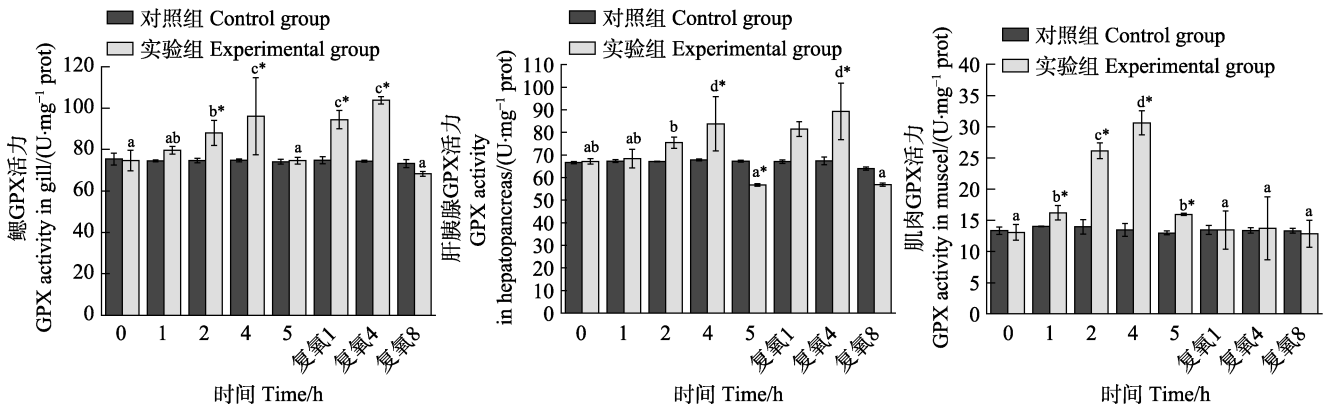


图 10 脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉 GPX 活力的变化

Fig.10 Changes of GPX activity in gill, hepatopancreas and muscle of *E. carinicauda*

2.3.5 脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉谷胱甘肽 S 转移酶 (GST) 活力的变化 从图 11 可以看出, 随着静室呼吸耗氧时间的延长, 实验组脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉组织 GST 活力均呈先升高后降低的趋势, 在呼吸耗氧 4 h 时达到最大值并显著高于各自的对照组 ($P<0.05$); 呼吸耗氧 5 h 时, 酶活力均显著降低, 鳃和肝胰腺组织酶活力显著低于对照组 ($P<0.05$), 但肌

肉组织酶活力与对照组相比无显著差异 ($P>0.05$)。复氧后, 肝胰腺和肌肉组织酶活力均呈先下降后升高的趋势, 肝胰腺组织在复氧 1 h 时显著低于对照组 ($P<0.05$), 肌肉组织酶活力在复氧期间与对照组相比无显著差异 ($P>0.05$); 鳃组织酶活力逐渐升高, 但复氧 1 h 时仍显著低于对照组 ($P<0.05$), 继续复氧, GST 活力升高至对照组水平。

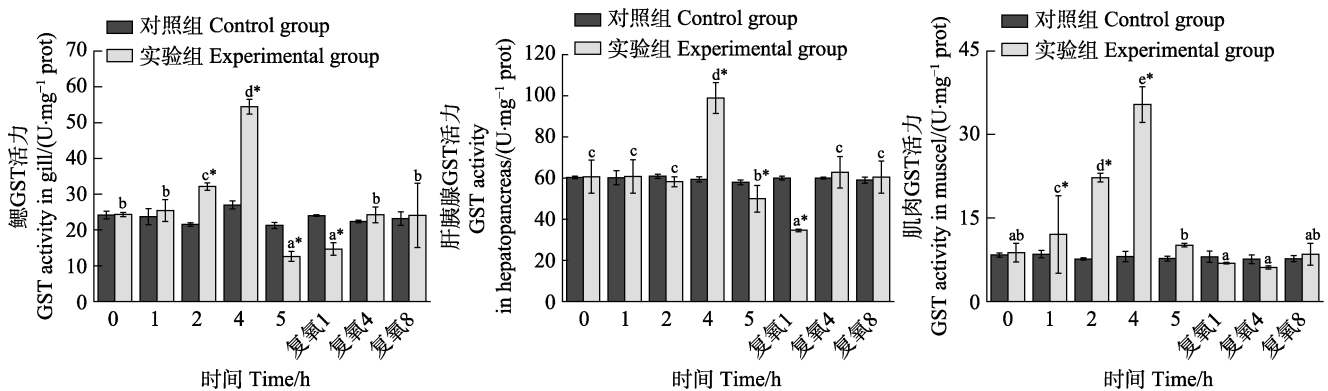


图 11 脊尾白虾鳃、肝胰腺和肌肉 GST 活力的变化

Fig.11 Changes of GST activity in gill, hepatopancreas and muscle of *E. carinicauda*

3 讨论

3.1 低氧-复氧对脊尾白虾呼吸代谢酶活力的影响

呼吸代谢常被用来评估十足目(Decapoda)甲壳动物在各种压力环境下的生理反应(Li *et al*, 2019)。在代谢过程中, 特定的酶会加速代谢产物的转化, 产生能量以满足机体的需要, 呼吸代谢酶活性的变化是代谢能力变化的直接反映(Bao *et al*, 2018)。CCO 是电子传递链末端的酶, 负责将电子从还原的细胞色素 c 转移到氢中, 从而产生 H₂O, 其活性是评价不同组织有氧呼吸产生能量的重要指标(Yau *et al*, 2018)。SDH 是唯一同时参加三羧酸循环和电子传递链的酶复合物(Haroon, 2018), 其活性在一定程度上可以反映有氧代谢水平; FRD 在三羧酸循环中催化其可逆反应(Messeder *et al*, 2017)。LDH 催化丙酮酸转变为乳酸及其可逆反应, 是生物体内参加无氧代谢的关键酶(Sun *et al*, 2018)。此外, 丁银娣等(2005)研究显示, SDH/FRD 值可以作为判断动物代谢类型的依据。

本研究结果显示, 随着静室呼吸耗氧时间的延长, 脊尾白虾鳃、肝胰腺、肌肉组织 CCO 和 SDH 活力均逐渐降低, LDH 和 FRD 酶活力逐渐升高, 且 SDH/FRD 值呈逐渐降低的变化趋势。复氧后, 酶活力均逐渐恢复到对照组水平, SDH/FRD 值也逐渐升高。管越强等(2010)对日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)的研究显示, 随着低氧[(2.0±0.2) mg/L, 8 h]

暴露时间的延长, 肝胰腺和肌肉组织细胞 CCO 和 SDH 活力显著下降, LDH 和 FRD 活力显著上升; 恢复常氧水平[(7±0.2) mg/L, 2.5 h]后, CCO、SDH 和 LDH、FRD 活力逐渐恢复正常水平。Gutierrez 等(2013)研究表明, 在对凡纳滨对虾缺氧条件下, CCO 活性降低, 但随着缺氧时间的延长逐渐恢复。Bao 等(2019)研究表明, 在对中华小长臂虾(*Palaemonetes sinensis*)的研究中, 随着环境缺氧时间的延长, SDH 活力逐渐降低, LDH 活力逐渐升高; 复氧后, SDH 和 LDH 活力均逐渐恢复到正常水平。另外, 李泽健(2012)研究表明, 在低氧条件下, 对中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)呼吸代谢产生一定的影响, SDH/FRD 值呈下降趋势, 复氧阶段呈上升趋势。这些研究结果与本研究结果基本一致, 说明在低氧条件下, 脊尾白虾有氧代谢能力逐渐降低, 无氧代谢能力逐渐升高。复氧后, 这种代谢调控的转变又逐渐恢复, 机体可以通过代谢水平调控来适应逐渐缺氧的水生环境。

3.2 低氧-复氧对脊尾白虾抗氧化酶活力的影响

在正常细胞呼吸过程中, O₂ 消耗量的 0.1%~0.2% 在逐步减少 O₂ 的过程中转化为活性氧(ROS), ROS 是具有未配对电子的高活性氧, 包括超氧自由基(O²⁻)、过氧化氢(H₂O₂)、羟基自由基(OH⁻)等, ROS 会损害细胞大分子, 如核酸、蛋白质和膜脂(Savin *et al*, 2006)。内源性抗氧化系统在抵消活性氧保护细胞免

受氧化应激中发挥重要作用, 这个系统主要由清除活性氧的酶组成, 包括 SOD、CAT、POD、GPX 和 GST(Li *et al.*, 2016; 李根瑞等, 2016)。O²⁻是最先产生的氧活性前体, SOD 将其催化为 H₂O₂, 尽管 H₂O₂ 依然有害, 但后续会被 CAT、POD、GPX 和 GST 催化转变为无害的 H₂O(Wang *et al.*, 2012; Casey *et al.*, 2014; Han *et al.*, 2018)。

本研究结果显示, 随着静室呼吸耗氧时间的延长, SOD、CAT、GPX 和 GST 活力均呈先升高后降低的趋势, 可能因为在实验前期的呼吸耗氧过程中, 实验组水体 DO 含量还处于比较高的水平, 虾体内摄氧量高, O²⁻产生多, 因此, SOD 活力升高, 导致产生的 H₂O₂ 水平上升, CAT、GPX 和 GST 活力也随之升高; 呼吸耗氧到实验后期时, 水体 DO 含量降至极低水平, 虾体内摄氧量下降, O²⁻的产生减少, SOD 活力下降, 导致产生的 H₂O₂ 水平降低, CAT、GPX 和 GST 活力也随之降低。在复氧后, SOD、CAT、GPX 和 GST 活力均呈先升高后降低逐渐恢复至对照组水平, 可能在复氧初期, 突然 O₂ 含量增加, 使脊尾白虾机体在短期内的摄氧量突然增加, 导致 O²⁻和 H₂O₂ 产生增多, SOD、CAT、GPX 和 GST 活力也随之升高, 随着复氧时间的延长, 机体逐渐适应并恢复, 酶活力也逐渐恢复至对照组水平。李利(2010)研究表明, 随着低氧暴露时间的延长, 日本沼虾肝胰腺组织 SOD 活力逐渐下降, CAT、GST 活力逐渐升高; 在常氧恢复阶段, SOD、CAT、GST 活力均恢复至对照组水平。杨明等(2019)在对日本沼虾的研究中发现, 低氧胁迫期间, 肌肉组织 SOD、CAT 和 GPX 活力呈先升高后下降的趋势。另外, Taylor 等(2011)研究也表明, 凡纳滨对虾在缺氧胁迫下, 肝胰腺组织中 SOD、CAT 和 GST 活力均高于对照组; 在复氧 1 h 时, SOD 和 GST 活力又明显的下降。这些研究结果与本研究结果有所不同, 可能是因为在实验低氧胁迫处理的方式存在差异。另外, 在本研究中, 鳃和肌肉 POD 活力在静室呼吸耗氧阶段呈波动性变化, 肝胰腺 POD 活力逐渐降低; 复氧处理后, POD 活力在鳃、肝胰腺和肌肉 3 种组织均呈现先升高后降低的变化趋势。Li 等(2006)在中国对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)的研究中发现, 随着养殖密度的增加, 实验组水体 DO 含量逐渐降低, POD 在低密度养殖中有较高的活力。而王春琳等(2008)在曼氏无针乌贼(*Sepiella maindrona*)的研究表明, 随着水体 DO 含量的不断下降, POD 活力呈先升高后降低的趋势。张晓梅等(2010)研究发现, 随着水体中 DO 胁迫程度的增加, 长蛸(*Octopusvariabilis sasaki*)体内的 POD 活力呈“降-升-

降”的变化趋势。推测可能由于物种和实验处理方式的差异, POD 在不同生物体所处地位存在差异。总之, 脊尾白虾在低氧胁迫及低氧后的复氧期间, 机体内抗氧化酶活力会发生显著变化, 这可能在脊尾白虾适应低氧及复氧环境处理机体产生的氧化损伤中发挥重要作用。

4 小结

本研究结果显示, 渐变式低氧-复氧对脊尾白虾呼吸代谢和抗氧化能力存在影响, 处于水体 DO 逐渐降低的环境中时, 脊尾白虾体有氧代谢水平下降, 无氧代谢水平升高, 同时, 在 DO 低至一定程度时会激活机体的抗氧化酶系统; 复氧后, 有氧代谢能力逐渐恢复; 此外, 从低氧环境骤然复氧到对照组水平也会使抗氧化功能再次被激活, 但经过一段时间的适应, 虾体会逐渐恢复。目前, 在我国虾类水产养殖业中, 随着养殖规模的扩大, 高密度养殖已成为池塘养殖的主要模式, 这也加剧了缺氧发生的可能性, 必然会导致缺氧胁迫。因此, 有必要进一步深入探究低氧下脊尾白虾适应及调控的分子机制, 为今后耐低氧品系的育种工作做准备。

参 考 文 献

- BAO J, LI X D, YU H, *et al.* Respiratory metabolism responses of Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis* and Chinese grass shrimp, *Palaemonetes sinensis*, subjected to environmental hypoxia stress. *Frontiers in Physiology*, 2018(9): 1559
- CASEY D K, LOUIS E B, KAREN G B. Recovery from hypoxia and hypercapnic hypoxia: Impacts on the transcription of key antioxidants in the shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2014, 170(1): 43-49
- CHU C, YU J L, WANG H, *et al.* Experiment on freshwater domestication aquaculture of *Exopalaemon carinicauda*. *Shandong Journal of Animal Science and Veterinary Medicine*, 2017, 38(12): 76-77 [褚春, 于杰伦, 王慧, 等. 脊尾白虾淡水驯化养殖试验. *山东畜牧兽医*, 2017, 38(12): 76-77]
- DING Y D, WANG Q, LI K, *et al.* Biochemical composition and sperm metabolism in male reproductive system of crayfish, *Cherax quadricarinatus*. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2005, 22(5): 562-568 [丁银娣, 王群, 李恺, 等. 红螯螯虾雄性生殖系统的生化组成及精子代谢. *中国水产科学*, 2005, 22(5): 562-568]
- DOU Q W, LI J T, LIU P, *et al.* cDNA cloning and immunological properties of two variants of hemocyanin subunit with higher molecular weight in *Exopalaemon carinicauda*. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2019, 43(1): 37-44 [窦全伟, 李吉涛, 刘萍, 等. 脊尾白虾 2 种血蓝蛋白大亚基变体的克隆及功能分析. *水生生物学报*, 2019, 43(1): 37-44]
- GUAN Y Q, LI L, WANG H C, *et al.* Effects of hypoxia on respiratory metabolism and antioxidant capability of *Macrobrachium nipponense*. *Journal of Hebei University (Natural Science)*, 2010, 30(3): 301-306 [管越强, 李利, 王慧

- 春, 等. 低氧胁迫对日本沼虾呼吸代谢和抗氧化能力的影响. 河北大学学报(自然科学版), 2010, 30(3): 301–306]
- GUTIERREZ L R J, LOPEZ J H, OSUNA M A I, *et al.* Three nucleus-encoded subunits of mitochondrial cytochrome c oxidase of the whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*: cDNA characterization, phylogeny and mRNA expression during hypoxia and reoxygenation. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry and Molecular Biology* 2013, 166(1): 30–39
- HARON A R M. Succinate dehydrogenase complex: An updated review. *Archives of Pathology and Laboratory Medicine*, 2018, 142(12): 1564–1570
- HAN S Y, WANG M Q, LIU M, *et al.* Comparative sensitivity of the hepatopancreas and midgut in the white shrimp *Litopenaeus vannamei* to oxidative stress under cyclic serious/medium hypoxia. *Aquaculture*, 2018, 490: 44–52
- LI G R, REN L H, SUN G H, *et al.* Effects of hypoxic stress on oxidative stress indices in *Apostichopus japonicus*. *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. 渔业科学进展, 2016, 37(5): 133–139]
- LI J T, XU X W, LI W T, *et al.* Linking energy metabolism and locomotor variation to osmoregulation in Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2019, 234: 58–67
- LI L. Effects of hypoxia on respiratory metabolism, energy metabolism and antioxidant capability of *Macrobrachium nipponense*. Master's Thesis of Hebei University, 2010 [李利. 低氧胁迫对日本沼虾呼吸代谢、能量代谢和抗氧化能力的影响. 河北大学硕士研究生学位论文, 2010]
- LI M Y, BAO J M, WU C E. Experiment on the oxygen consumption rate and the asphyxiant point of *Exopalaemon carinicauda*. *Marine Fisheries*, 1992(6): 251–253 [李明云, 包坚敏, 吴春娥. 脊尾白虾窒息点与耗氧率的试验观察. 海洋渔业, 1992(6): 251–253]
- LI Y H, WEI L, CAO J R, *et al.* Oxidativestress, DNA damage and antioxidant enzyme activities in the pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) when exposed to hypoxia and reoxygenation. *Chemosphere*, 2016, 144: 234–240
- LI Y Q, LI J, WANG Q Y. The effects of dissolved oxygen concentration and stocking density on growth and non-specific immunity factors in Chinese shrimp, *Fenneropenaeus chinensis*. *Aquaculture*, 2006, 256(1/2/3/4): 608–616
- LI Z H, WANG J H, XIE S. Analysis of the role of environmental factors in shrimp farming. *Reservoir Fisheries*, 2004(5): 1–4 [李志华, 王军霞, 谢松. 环境因子在虾类养殖中的作用分析. 水利渔业, 2004(5): 1–4]
- LI Z J. Effects of hypoxia Stress on energy metabolism, respiratory metabolism and antioxidant metabolism of *Eriocheir sinensis*. Master's Thesis of Hebei University, 2012 [李泽健. 低氧胁迫对中华绒螯蟹能量代谢、呼吸代谢及抗氧化代谢的影响. 河北大学硕士研究生学位论文, 2012]
- LIAN C A, LI J, LI J T, *et al.* Effects of dry exposure on the respiratory metabolism-related enzymes of *Exopalaemon carinicauda*. *Progress in Fishery Sciences*, 2017, 38(4): 53–60 [连春盎, 李健, 李吉涛, 等. 干露胁迫对脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)呼吸代谢相关酶的影响. 渔业科学进展, 2017, 38(4): 53–60]
- LIAN C A. Effect of dry exposure on the respiratory metabolism-related enzymes and HIF-1 of *Exopalaemon carinicauda*. Master's Thesis of Shanghai Ocean University, 2016 [连春盎. 干露胁迫对脊尾白虾呼吸代谢相关酶和低氧诱导因子的影响. 上海海洋大学硕士研究生学位论文, 2016]
- MARION P, AURELIE D P, DENIS C, *et al.* Effects of exposure to hypoxia on metabolic pathways in northern shrimp (*Pandalus borealis*) and Greenland halibut (*Reinhardtius hippoglossoides*). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2016, 483: 88–96
- MESSEDER D J, CAGLIAN C C, RAUBER R, *et al.* Fumarate reductase superfamily: A diverse group of enzymes whose evolution is correlated to the establishment of different metabolic pathways. *Mitochondrion*, 2017, 34: 56–66
- RICHARD E C, LOUIS E B. Respiratory responses of the salt marsh animals, *Fundulus heteroclitus*, *Leiostomus xanthurus*, and *Palaemonetes pugio* to environmental hypoxia and hypercapnia and to the organophosphate pesticide, azinphosmethyl. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1996, 195(1): 125–144
- SAVIN T Z, SALDIEMA R, SANDOVAL M A. Superoxide radical production in response to environmental hypoxia in cultured shrimp. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C: Toxicology and Pharmacology*, 2006, 142(3–4): 301–308
- SUN S M, FU H T, ZHU J, *et al.* Molecular cloning and expression analysis of lactate dehydrogenase from the oriental river prawn *Macrobrachium nipponense* in response to hypoxia. *International Journal of Molecular Sciences*, 2018, 19(7): 1990
- TAYLOW D P P, SAVIN T Z. Antioxidant enzyme activities in Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) in response to environmental hypoxia and reoxygenation. *Aquaculture*, 2011, 318(3/4): 379–383
- WANG C L, WU D H, DONG T Y, *et al.* Oxygen consumption rate and effects of hypoxia stress on enzyme activities of *Sepiella maindron*. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2008, 19(11): 2420–2427 [王春琳, 吴丹华, 董天野, 等. 曼氏无针乌贼耗氧率及溶氧胁迫对其体内酶活力的影响. 应用生态学报, 2008, 19(11): 2420–2427]
- WANG D D, LI F H, CHI Y H. Potential relationship among three antioxidant enzymes in eliminating hydrogen peroxide in penaeid shrimp. *Cell Stress and Chaperones*, 2012, 17: 423–433
- WANG Q, LI J, LI J T, *et al.* The effect of dry exposure on HSP70 and ferritin gene expression level in *Exopalaemon carinicauda*. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2013, 44(2): 409–414 [王琦, 李健, 李吉涛, 等. 干露胁迫对脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*) HSP70 和 ferritin 基因表达的影响. 海洋与湖沼, 2013, 44(2): 409–414]
- XIAO S H, FENG J J, GUO H F, *et al.* Effects of mebendazole, albendazole, and praziquantel on succinate dehydrogenase, fumarate reductase, and malate dehydrogenase in *Echinococcus granulosus* cysts harbored in mice. *Acta Pharmacologica Sinica*, 1993, 14(2): 151–154
- YAU C H, MENG H C, TSUNG H L. An assay of optimal cytochrome c oxidase activity in fish gills. *Analytical Biochemistry*, 2018, 553: 38–45
- YANG M, SUN S M, FU H T, *et al.* Hypoxia and reoxygenation on antioxidant enzyme activities and histological structure of *Macrobrachium nipponense*. *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. 中国水产科学, 2019, 26(3): 493–503]
- ZHANG X M, WANG C L, LI L G, *et al.* Oxygen consumption rate and effect of hypoxia stress on enzyme activity of *Octopus variabilis*. *Journal of Hydroecology*, 2010, 3(2): 72–79 [张晓梅, 王春琳, 李来国, 等. 耗氧率及溶氧胁迫对长蛸体内酶活力的影响. 水生态学杂志, 2010, 3(2): 72–79]

Effects of Hypoxia and Reoxygenation on Respiratory Metabolism Enzyme and Antioxidant Enzyme Activities in *Exopalaemon carinicauda*

WANG Pan^{1,2#}, SHI Wenjun^{2#}, WAN Xihe^{2①}, SHEN Hui², SHA Shibing², LI Hui²,
WANG Libao², SUN Ruijian², JIANG Ge², WU Xugan¹

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

Abstract Here we clarify the effects of gradually changing hypoxia and reoxygenation on respiratory metabolism and antioxidant capacity in *Exopalaemon carinicauda*. In the present study, we investigated oxygen consumption and reoxygenation in a respiratory chamber in which we first created a low-oxygen environment by preventing aeration and isolating the air, following which the chamber was aerated and reoxygenated. Continuously aerated groups were used as the control groups. Water and shrimp tissue samples were taken after 0, 1, 2, 4, 5 h of hypoxia and 1, 4, 8 h of reoxygenation from the beginning of the experiment. Further, we recorded the dissolved oxygen concentration of the water and the activities of the main respiratory metabolism enzyme and the antioxidant enzyme in shrimp tissues at different time points. The results indicated that over time, the dissolved oxygen concentration in the experimental group significantly decreased and was significantly lower than that in the control group ($P < 0.05$). The dissolved oxygen concentration in the control group remained stable. After reoxygenation, the dissolved oxygen concentration in the experimental group quickly returned to the control level. Over time, cytochrome c oxidase (CCO) and succinate dehydrogenase (SDH) activities in the gill, hepatopancreas, and muscle tissue from the experimental group continuously decreased, lactic dehydrogenase (LDH) and fumaric reductase (FRD) activities continuously increased. In addition, the value of SDH/FRD showed a gradually decreasing trend. During reoxygenation, SDH, LDH, and FRD activities gradually returned to the levels of the control group in three organizations; CCO activity in muscle continuously increased but was significantly lower than that in the control group at 8 h ($P < 0.05$). Furthermore, the value of SDH/FRD also showed a gradually increasing trend. Over time, the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX), and glutathione s-transferase (GST) in the gill, hepatopancreas, and muscle tissue showed a trend of first increasing and then decreasing, but the activities of peroxidase (POD) continuously decreased in the hepatopancreas, while fluctuating in both, the gill and the muscle tissue. During reoxygenation, the activities of SOD and CAT in the gill, hepatopancreas, and muscle tissue all showed a trend of first increasing and then decreasing, but showed no significant difference with the control group at 8 h ($P > 0.05$). With the increase of recovery time, the activities of GPX and GST in the three tissues returned to the level of the control group, but the activities of POD in gill and muscle tissue were significantly lower than those in the control group under reoxygenation at 8 h. The results show that with the continuous decrease in dissolved oxygen concentration, the aerobic metabolic level of *E. carinicauda* gradually decreased, and the anaerobic metabolic capacity gradually increased, while during reoxygenation, the aerobic metabolic capacity gradually recovered. Antioxidant enzymes such as SOD, CAT, POD, GPX, and GST may play an important role in responding to oxidative damage during hypoxia and reoxygenation.

Key words *Exopalaemon carinicauda*; Hypoxia; Respiratory metabolism; Antioxidant capacity

① Corresponding author: WAN Xihe, E-mail: wxh1708@163.com