

干露胁迫对脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*) 呼吸代谢相关酶的影响*

连春盎^{1,2} 李健^{1,3①} 李吉涛¹ 冯艳艳^{1,2}

(1. 上海海洋大学 上海 201306; 2. 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 中国水产科学
学研究院黄海水产研究所 青岛 266071; 3. 青岛海洋科学与技术国家实验室
海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室 青岛 266071)

摘要 为了研究离水干露对脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)呼吸代谢能力的影响,以常温干露(22–24℃)、低温干露(4℃)2个实验组和1个对照组进行脊尾白虾干露胁迫实验,于胁迫后60、90、120、180 min取组织,测定琥珀酸脱氢酶(SDH)、细胞色素氧化酶(CCO)、延胡索酸还原酶(FRD)、乳酸脱氢酶(LDH)4种呼吸代谢酶活力和乳酸含量。结果显示,常温干露组肝胰腺、鳃、肌肉SDH和CCO活力随干露时间的延长而降低,且显著低于对照组($P<0.05$);FRD、LDH活力和肌肉乳酸含量随胁迫时间的延长呈先升高后降低趋势,且显著高于对照组($P<0.05$)。低温干露组在胁迫60 min时,各组织呼吸代谢酶活力和肌肉乳酸含量与对照组无显著差异($P>0.05$),之后的变化趋势和常温干露组相同。常温干露组和低温干露组中肝胰腺和鳃SDH/FRD比值的变化幅度大于肌肉。研究表明,脊尾白虾通过提高无氧代谢来应对干露胁迫;低温干露下的脊尾白虾在胁迫早期可以维持有氧呼吸,肝胰腺和鳃比肌肉对干露胁迫更加敏感。

关键词 脊尾白虾;干露;呼吸代谢酶;无氧代谢

中图分类号 S917.4 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2017)04-0053-08

脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*),隶属于甲壳纲(Crustacea),十足目(Decapoda),长臂虾科(Palaemonidae),白虾属(*Exopalaemon*)。脊尾白虾是我国近海重要经济虾类(李新正等,1995),其肉质细嫩、味道鲜美,已成为重要的海水养殖和渔业捕捞对象。但是,脊尾白虾在养殖及运输过程中,时常涉及到幼苗或成体离水干露的现象。干露状态下,脊尾白虾脱离了自身赖以生存的水生环境,其呼吸结构鳃丝

无法在空气中获取氧气,面临着严重的低氧胁迫。低氧胁迫会阻碍虾体代谢能力,影响一系列的生理活动,最终引起死亡(Madenjian *et al*, 1987)。本研究阐明脊尾白虾对于干露胁迫的生理响应,以期获取增加干露胁迫下脊尾白虾存活时间的科学方法,是其养殖过程中必须面临的课题。

目前,甲壳动物的干露胁迫研究已见报道,王琦等(2013)研究发现,在脊尾白虾干露胁迫的耐受范围

* 国家虾产业技术体系(CARS-47)、山东省泰山产业领军人才工程项目(LNJY2015002)、国家自然科学基金项目(31472275)、青岛市产业培育计划科技惠民专项(17-3-3-62-nsh)、中国水产科学研究院黄海水产研究所基本科研业务费专项资金项目(20603022016009)和宁波市科技计划项目(2016C11011)共同资助[This work was supported by the Earmarked Fund for Modern Agro-Industry Technology Research System (CARS-47), the Program of Shandong Leading Talent (LNJY2015002), National Natural Science Foundation of China (31472275), Qingdao Industrial Development Program Science and Technology Benefit Special Project (17-3-3-62-nsh), Special Scientific Research Funds for Central Non-Profit Institutes, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences (20603022016009), and Projects of Science and Technology of Ningbo (2016C11011)]. 连春盎, E-mail: lianchunaden@163.com

① 通讯作者:李健,研究员, E-mail: lijian@ysfri.ac.cn

收稿日期:2016-03-25, 收修改稿日期:2016-05-03

内, HSP70 和 ferritin 基因发挥抗氧化功能。陈百尧等(2013)研究表明, NO 含量可以作为三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)家系是否耐受干露的一个指标。但是, 在干露胁迫下, 脊尾白虾呼吸代谢能力的变化机制尚不清楚。呼吸代谢反映了动物自身的生理状况、代谢特征、营养状况以及对外界环境条件的适应能力, 在动物生命过程中起着举足轻重的作用(林小涛等, 2000)。本研究采取常规急性实验的方法(3 h 干露胁迫), 以琥珀酸脱氢酶(SDH)、细胞色素氧化酶(CCO)、延胡索酸还原酶(FRD)、乳酸脱氢酶(LDH)的活力和乳酸含量为指标, 研究了干露胁迫下脊尾白虾呼吸代谢能力的变化, 旨在探究干露胁迫下脊尾白虾对于代谢类型的需求, 为进一步深入研究脊尾白虾耐干露机理打下基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

脊尾白虾 300 尾于 2015 年 9 月取自山东日照海辰水产有限公司, 均为健康活泼个体, 体长为(5.82±0.41) cm, 体重为(2.9±0.3) g。在 200 L 的 PVC 桶中暂养, 每桶 30 尾。暂养海水盐度为 31, pH 为 7.8, 温度为(20±2)℃, 持续充氧。每天分早晚投喂 2 次, 换水 1/3, 连续暂养 10 d。

1.2 实验设计

实验在封闭无风的室内进行, 室温为 22–24℃, 室内湿度为 20%–30%。实验分为 2 个实验组和 1 个对照组, 每组 90 尾脊尾白虾, 设置 3 个平行, 每个平行 30 尾。2 个实验组分别为常温干露组(将虾体置于铺有保鲜膜的解剖盘上, 不做任何处理)和低温干露组(将虾体置于铺有保鲜膜的解剖盘上, 并将带有虾体的解剖盘置于 4℃恒温冰箱中)。1 个对照组, 将虾暂养于 PVC 桶中充氧养殖。在实验开始后 0、60、90、120、180 min, 随机挑选 6 尾存活的脊尾白虾取肝胰腺、鳃和肌肉, 保存在液氮中。在上述时刻记录每个实验组的死亡个数, 计算死亡率。死亡的标准是实验虾体出现侧翻, 碰触后无反应, 放入海水中失去活性自然下沉。

1.3 样品处理

分别取 0.2 g 肝胰腺、鳃和肌肉, 剪碎, 加入 9 倍体积预冷的匀浆缓冲溶液, 超声波冰浴破碎组织, 于 4℃下 1000 r/min 离心 10 min 后, 取上清液, 4℃下 10000 r/min 离心 15 min(王金发等, 2004), 吸取上清

液用于 LDH 活性测定, 剩余沉淀用预冷的匀浆缓冲液超声波重悬, 重悬液用于 SDH、CCO、FRD 活性测定。另取 0.2 g 肌肉用于乳酸含量测定, 样品处理方法参考南京建成科技有限公司试剂盒。

1.4 SDH、CCO、FRD、LDH 和乳酸活力的测定

SDH 试剂盒、乳酸(LD)试剂盒、蛋白定量试剂盒购自南京建成科技有限公司; 还原性细胞色素 C、NADH 购自上海生工生物工程有限公司。

CCO 活力的测定参考 Affonso 等(2004)的方法, 10 μl 粗酶液加 750 μl 0.1 mol/L 的磷酸缓冲液, 15 μl 0.1 mol/L 的 K₃Fe(CN)₆ 溶液, 30℃预热 2 min。加入 2 mg/ml 还原性细胞色素 C 50 μl。在 550 nm 处测定吸光度, 记录 1 min 内吸光度下降值。每分钟 A₅₅₀ 下降 0.001 定义为一个酶活单位。

FRD 活力测定参考 Xiao 等(1993)的方法, 取 450 μl 用双蒸水定容的 6 mmol/L 延胡索酸二钠盐和 450 μl 用 PBS 定容的 2 mmol/L NADH, 30℃水浴 10 min 后加入 60 μl 粗酶液, 在 340 nm 波长处测定 1、2、3 min 时的吸光度。由吸光度的变化计算出 FRD 活力的变化。

LDH 活力测定参考张龙翔等(1997)方法, 将丙酮酸溶液(2.5 mg 用 29 ml PBS 定容)及 NADH 溶液(3.5 mg 用 1 ml PBS 定容)于 25℃预热。取 2 只石英比色杯, 1 只加入 PBS 调零, 另 1 只依次加入丙酮酸溶液 2.9 ml、NADH 溶液 0.1 ml 和 10 μl 经稀释的粗酶液, 混匀后立即计时。在 340 nm 处每隔 0.5 min 测 1 次, 连续测定 3 min。以 A_{340 nm} 对时间作图, 取反应最初线性部分, 计算每分钟 A₃₄₀ 的下降值。由此计算酶活力。考虑到反应体系偏中性, 易催化丙酮酸为乳酸, 因而仅用于肌肉组织测定。

SDH、肌肉乳酸活力的测定和蛋白含量测定参考南京建成科技有限公司的试剂盒说明书。

1.5 统计分析

实验数据以平均值±标准差(Mean±SD)表示, 利用 SPSS13.0 统计软件进行单因素方差分析(One-way ANOVA), $P < 0.05$ 为显著性差异。

2 结果

2.1 干露胁迫对脊尾白虾存活率的影响

实验从 14:00 开始, 脊尾白虾刚离水时表现出很强的活力, 约 10 min 后安静下来, 随着干露时间的延长, 虾体开始出现死亡。海水对照组脊尾白虾未表现出异常。在实验开始后 0、60、90、120、180 min 分别统计实验组及对照组存活个数, 并计算存活率。

从表 1 可以看出, 干露胁迫下的脊尾白虾均有死

表 1 干露胁迫对脊尾白虾存活率的影响
Tab.1 Effects of Dry exposure on survival rate of *E. carinicauda*

干露时间 Time of aerial exposure(min)	常温干露组 Dry exposure at normal temperature	低温干露组 Dry exposure at low temperature	对照组 Control
0	90(100.0%)	90(100.0%)	90(100.0%)
60	78(86.7%)	88(97.8%)	90(100.0%)
90	56(62.2%)	78(86.7%)	90(100.0%)
120	36(40.0%)	59(65.6%)	90(100.0%)
180	0(0)	40(44.4%)	90(100.0%)

注: 表中数据为存活个体数, 括号中数据为存活率(%)

Note: Values in this table were surviving numbers, datas in parentheses were survival rate (%)

亡, 同一干露时刻, 低温干露组脊尾白虾存活率高于常温干露组。

2.2 干露胁迫对 SDH 活力的影响

从图 1 可以看出, 随着干露时间的延长, 低温干露组中肝胰腺、鳃和肌肉 SDH 活力呈降低趋势, 各组织在干露胁迫 60 min 时, SDH 活力与对照组无显著差异($P>0.05$), 在干露为 90、120、180 min 时, SDH 活力显著低于对照组($P<0.05$); 常温干露组中肝胰腺、鳃和肌肉 SDH 活力随着时间的延长呈下降趋势, 各组织在干露为 60、90、120 min 时显著低于对照组($P<0.05$)。比较不同实验组同一时刻 SDH 的活力, 除 90 min 常温干露组鳃 SDH 活力与低温干露组无显著差异($P>0.05$)和 120 min 常温干露组肝胰腺 SDH 活力与低温干露组无显著差异($P>0.05$)外, 其余时刻常温干露组各组织 SDH 活力均显著低于低温干露组($P<0.05$)。180 min 时常温干露组脊尾白虾已无存活率, 不予比较。

2.3 干露胁迫对 CCO 活力的影响

从图 2 可以看出, 随着干露时间的延长, 低温干露组中肝胰腺、鳃和肌肉 CCO 活力呈降低趋势。但各组织在干露胁迫 60 min 时, CCO 活力与对照组无显著差异($P>0.05$), 在干露为 90、120、180 min 时, CCO 活力显著低于对照组($P<0.05$), 在 180 min 时 CCO 活力达到最低值; 常温干露组中肝胰腺、鳃和肌肉 CCO 活力随着时间的延长呈下降趋势, 其中, 肝胰腺和肌肉 CCO 活力在干露 60 min 时与对照组无显著差异($P>0.05$), 在 90、120 min 时显著低于对照组($P<0.05$), 且在干露 120 min 时达到最低值。鳃 CCO 活力在 60、90、120 min 时显著低于对照组($P<0.05$), 且在 120 min 时达到最低值。比较不同实验组同一时刻 CCO 的活力, 60 min 时常温干露组肝胰腺、肌肉 CCO 活力与低温干露组无显著差异($P>0.05$), 120 min 时常温干露组肌肉 CCO 活力与低温干露组无显著差异($P>0.05$), 其余时刻常温干露组各组织 CCO 活力均显著低于低温干露组($P<0.05$)。

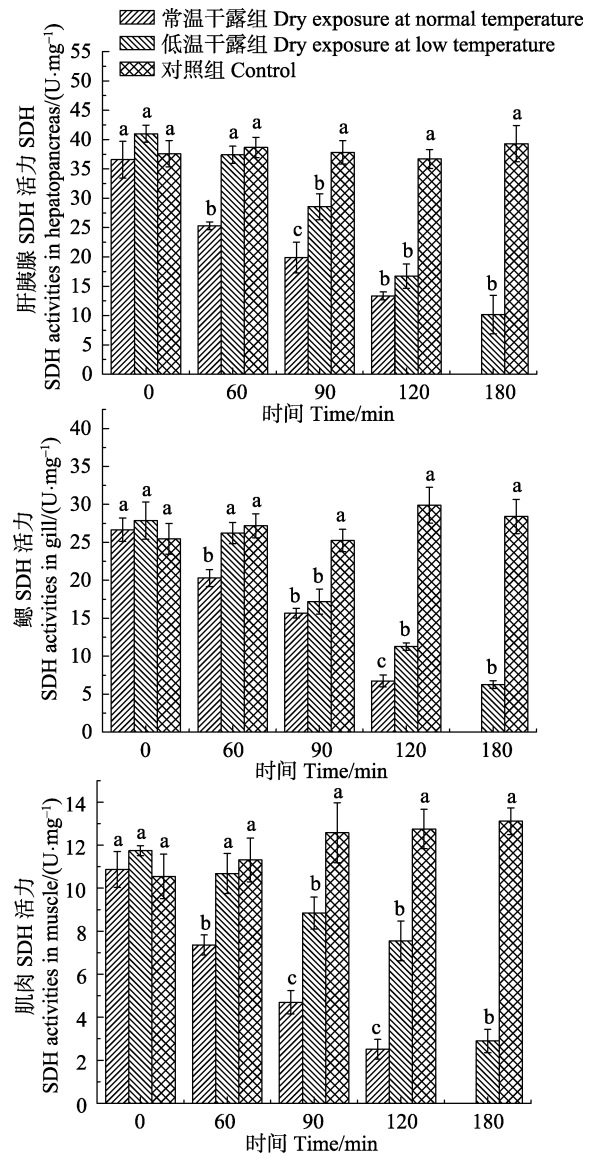


图 1 干露胁迫对脊尾白虾 SDH 活力的影响

Fig.1 Effects of dry exposure on the SDH activities of *E. carinicauda*

同一时刻不同组不同字母上标表示差异显著($P<0.05$), 下同
Different letters indicated significant difference at the same time point, the same as follow

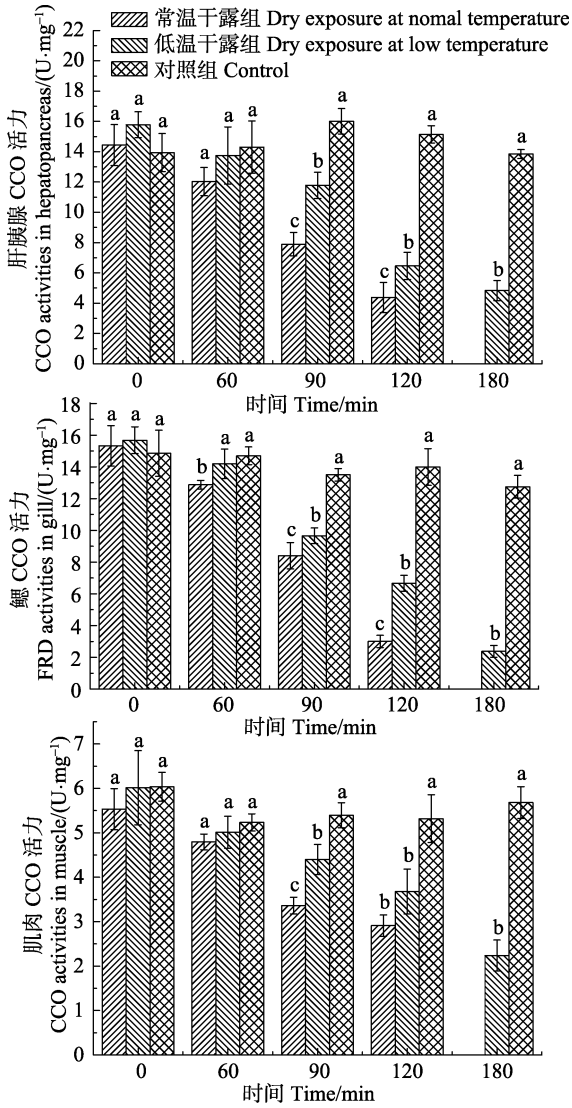


图 2 干露胁迫对脊尾白虾 CCO 活力的影响
Fig.2 Effects of dry exposure on the CCO activities of *E. carinicauda*

2.4 干露胁迫对 FRD 活力的影响

从图 3 可以看出,随着干露时间的延长,低温干露组中肝胰腺、鳃和肌肉 FRD 活力大致呈先升高后降低趋势。但各组织在干露胁迫 60 min 时 FRD 活力与对照组无显著差异($P>0.05$), 90、120、180 min 时, FRD 活力显著高于对照组($P<0.05$), 于 120 min 时 FRD 活力达到最高值; 常温干露组中肝胰腺、鳃和肌肉 FRD 活力随着时间的延长呈先上升后下降趋势, 60、90、120 min 时各组织 FRD 活力显著高于对照组 ($P<0.05$), 且在 90 min 时达到最高值。比较不同实验组同一时刻 FRD 的活力, 在 60、90 min 时, 常温干露组各组织 FRD 活力普遍高于低温干露组, 但是 120 min 时, 其各组织 FRD 相较于低温干露组表现出较低的活力。

2.5 干露胁迫对 LDH 活力的影响

从图 4 可以看出,随着干露胁迫时间的延长,低

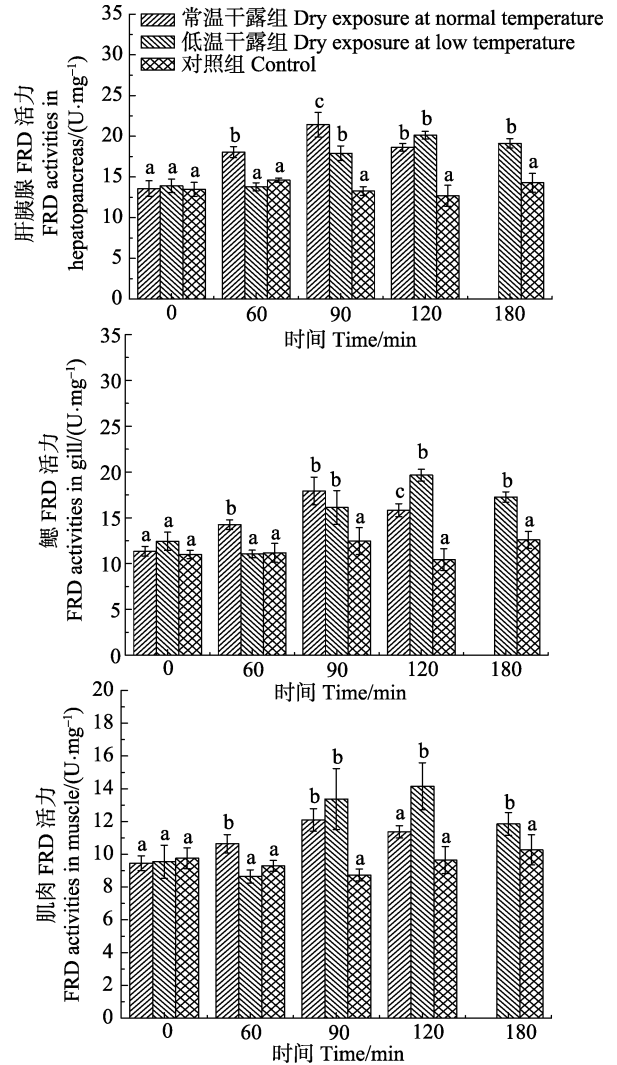


图 3 干露胁迫对脊尾白虾 FRD 活力的影响
Fig.3 Effects of dry exposure on the FRD activities of *E. carinicauda*

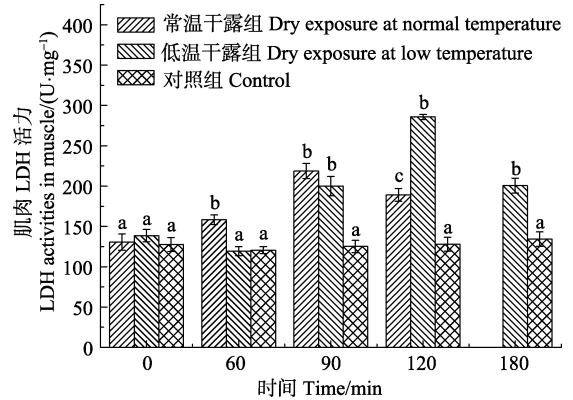


图 4 干露胁迫对脊尾白虾肌肉 LDH 活力的影响
Fig.4 Effects of dry exposure on the LDH activities in muscle of *E. carinicauda*

温干露组肌肉 LDH 活力呈先升高后降低趋势。干露胁迫 60 min 时, 肌肉 LDH 活力与对照组无显著差异 ($P>0.05$), 在 90、120、180 min 时, 肌肉 LDH 活力显著高于对照组 ($P<0.05$), 且在 120 min 时达到最大值; 常温干露组肌肉 LDH 活力随着胁迫时间的延长同样呈先升高后降低趋势, 在 60、90、120 min 时, 肌肉 LDH 活力显著高于对照组 ($P<0.05$), 且在 90 min 时达到最大值。比较不同实验组同一时刻肌肉 LDH 活力, 干露胁迫 60 min 时, 常温干露组肌肉 LDH 活力显著高于低温干露组 ($P<0.05$), 90 min 时常温干露组与低温干露组无显著差异 ($P>0.05$), 120 min 时常温干露组显著低于低温干露组 ($P<0.05$)。

2.6 脊尾白虾各组织 SDH/FRD 变化

从图 5 可以看出, 常温干露组脊尾白虾 3 种组织 SDH/FRD 的变化规律相同。干露胁迫阶段, 该比值呈下降趋势, 于 120 min 时达到最低点。其中, 肝胰腺和鳃 SDH/FRD 的变化幅度比肌肉大。

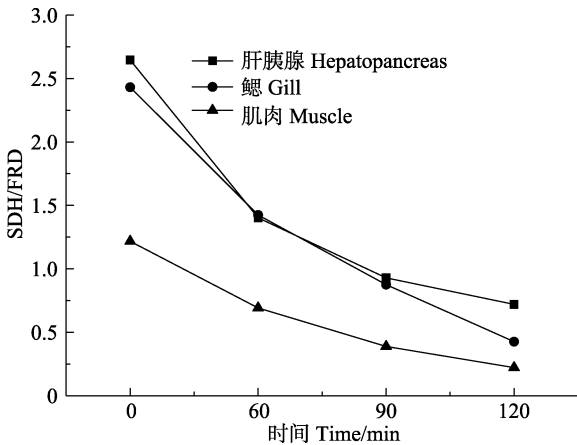


图 5 干露胁迫(常温)对脊尾白虾各组织 SDH/FRD 的影响
Fig.5 Effects of dry exposure (normal temperature) on SDH/FRD levels in different tissues of *E. carinicauda*

由图 6 可以看出, 低温干露组脊尾白虾 3 种组织 SDH/FRD 的变化规律, 干露胁迫在 0-60 min 时, 肝胰腺和肌肉略有上升, 鳃略有下降; 干露胁迫在 60-90 min 时, 该比值呈下降趋势, 于 180 min 达到最低点。其中, 肝胰腺和鳃 SDH/FRD 的变化幅度大于肌肉变化幅度。

2.7 干露胁迫对乳酸含量的影响

从图 7 可以看出, 随着干露胁迫时间的延长, 低温干露组肌肉乳酸含量呈先升高后降低趋势。在干露胁迫 60 min 时, 肌肉乳酸含量与对照组无显著差异 ($P>0.05$), 在 90、120、180 min 时, 肌肉乳酸含量显

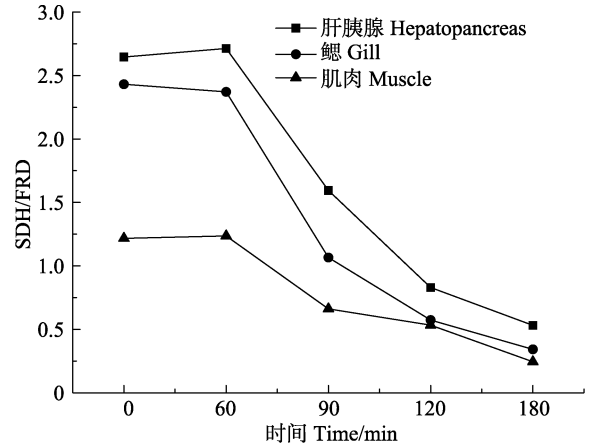


图 6 干露胁迫(低温)对脊尾白虾各组织 SDH/FRD 活力的影响

Fig.6 Effects of dry exposure (low temperature) on SDH/FRD levels in different tissues of *E. carinicauda*

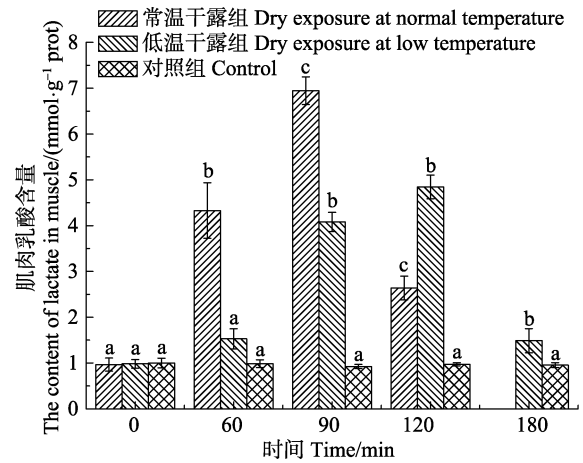


图 7 干露胁迫对脊尾白虾肌肉乳酸含量的影响
Fig.7 Effects of dry exposure on the content of lactate in *E. carinicauda* muscle

著高于对照组 ($P<0.05$), 且在 120 min 时达到最大值。常温干露组肌肉乳酸含量随胁迫时间的延长同样呈先升高后降低趋势。在干露胁迫 60、90、120 min 时, 常温干露组肌肉乳酸含量显著高于对照组 ($P<0.05$), 且在 90 min 时达到最大值。对比同一时刻不同实验组乳酸含量, 胁迫 60、90 min 时, 常温干露组肌肉乳酸含量显著高于低温干露组 ($P<0.05$); 胁迫 120 min 时, 常温干露组肌肉乳酸含量显著低于低温干露组 ($P<0.05$)。

3 讨论

有氧呼吸是动物进行呼吸作用的主要形式, 其共分为糖酵解、三羧酸循环和氧化磷酸化(电子传递链)(陈阅增, 1997)。Rustin 等(1994)研究发现, SDH 作为参与三羧酸循环和电子传递链上的关键酶, 其活

性一般可作为评价有氧呼吸运行程度的指标; CCO 是电子传递链末端的酶, 是有氧呼吸的限速酶(Simon *et al.*, 1971)。在低氧条件下, 由于细胞内氧气含量变低, 电子缺少受体, 该反应不能正常进行, 导致 CCO 活性变低; 同时, SDH 所参与的三羧酸循环因电子传递链末端反应受阻而速率降低, 最终导致 SDH 和 CCO 活性均变低。李利(2010)¹⁾研究低氧胁迫下的日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)发现, 水体中低溶解氧导致了日本沼虾 SDH 和 CCO 活力的降低。李泽健(2012)²⁾在研究中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)低氧胁迫下的呼吸代谢情况得到了同样的结论。本研究中, 常温干露组脊尾白虾各组织 SDH 和 CCO 活力随着干露时间的延长呈下降趋势, 表明了干露胁迫导致虾体细胞缺氧, 从而阻碍了电子传递, 最终使有氧呼吸代谢效率下降, 表现为 2 个标志酶活力降低。低温干露组脊尾白虾各组织 SDH 和 CCO 活力表现出与常温干露组相同的趋势, 但各时间点二者活力普遍高于常温干露组。结合低温干露组和常温干露组虾体存活率, 推测是低温下脊尾白虾机体的相应生理活动比常温干露下低迷, 对氧气的需求量较少, 血淋巴中存储的氧气能够满足机体一定时间的有氧代谢(Morris *et al.*, 1999)。处于干露状态的虾体通过鳃丝上残存的水分获取氧气, 空气中的氧以溶解氧的形式进入残存的水中再被虾体利用(张义浩等, 1996)。相较于常温干露下的脊尾白虾, 处于低温干露状态的脊尾白虾鳃丝表面的水分保留的更为持久, 因而可能通过增加瓣舟片的摆动频率来提高氧气的供应(Taylor *et al.*, 1997), 从而在细胞内表现出 SDH 和 CCO 活力高于常温干露组脊尾白虾。

缺氧或低氧条件下, 机体会通过无氧呼吸产生能量以满足机体对能量的需求。甲壳动物无氧呼吸代谢的最终产物是乳酸, 且虾类耐受低氧能力低的原因之一是无氧呼吸强度有限(Spicer *et al.*, 1990)。FRD 与 SDH 在结构上相似, 但功能相反。FRD 作为电子受体, 主要催化延胡索酸还原为琥珀酸, 在无氧代谢中起着重要作用(Ellington, 1983)。LDH 可以催化无氧代谢重要产物乳酸为丙酮酸, 释放出能量, 其活力在一定程度上可以反映无氧代谢能力的强弱(Viru, 1994)。管越强等(2009)在研究硫化物对日本沼虾呼吸代谢的影

响时指出, 随着硫化物胁迫的时间延长, 日本沼虾 SDH、CCO 活力下降, FRD 与 LDH 活力上升, 推测日本沼虾为适应硫化物胁迫, 机体无氧代谢能力增强。本研究中, 常温干露组各组织 FRD 活力随着干露时间的延长呈先升高后降低趋势, 与肌肉 LDH 活力和乳酸含量的变化趋势相同。表明了脊尾白虾应对干露胁迫时, 无氧呼吸代谢能力增强, 产物乳酸逐渐积累, 而乳酸的积累反过来又会促使 LDH 活力的上升, 形成了一种调节机制。但是在胁迫 120 min 时, 三者均下降。可能是胁迫时间过长导致机体的代谢系统受到一定程度的影响, 且机体为应对严重的低氧胁迫将乳酸转化为葡萄糖来维持内环境平衡和能量供应(Oliveira *et al.*, 2004), 从而使乳酸含量下降。低温干露组 FRD、LDH 活力和乳酸含量与常温干露组有所不同, 可以推测在 60 min 时, 低温干露组虾体尚可通过一定程度的有氧代谢提供能量, 无氧代谢提高的并不明显; 90 min 时, 常温干露组虾体细胞内缺氧严重, 无氧代谢强度急剧提高, 乳酸开始大量积累; 120 min 时, 常温干露组虾体代谢系统可能受到损害, 无氧代谢强度下降, 积累的乳酸被迫转化为葡萄糖来维持机体平衡。此时, 低温干露组乳酸逐渐积累, 无氧代谢强度上升, 形成调节机制。

SDH 和 FRD 是呼吸代谢相关的重要酶, 正因为这 2 种酶的关键性, 许多科研人员将 SDH/FRD 的比值用来判断物种的呼吸代谢类型。Anilkumar 等(1996)发现, 平分大额蟹(*Metopograpsus messor*)的精子 SDH/FRD 是 5.7 : 1, 推测其为兼性代谢。丁银娣等(2009)研究发现, 红螯螯虾(*Cherax quadricarinatus*)精子 SDH/FRD 的比值趋近 0, 推测为无氧代谢类型。本研究中, 常温干露组随着胁迫时间的延长, SDH/FRD 比值随之下降, 表明无氧代谢增强, 有氧代谢能力下降。低温干露组 SDH/FRD 比值在干露 60 min 时无明显变化, 随后呈下降趋势, 表明至少有一段时间虾体仍然进行有氧呼吸, 之后虾体开始进行无氧呼吸来应对严重的干露胁迫。相较于肌肉 SDH/FRD 的变化幅度, 肝胰腺和鳃的变化幅度较大, 可能是由于肝胰腺作为虾体的代谢中心及鳃作为主要呼吸器官对干露胁迫较为敏感。

综上所述, 干露胁迫下的脊尾白虾通过提高机体无氧代谢的能力来应对自身所处的逆境。低温干露下

1) Li L. Effects of hypoxia on respiratory metabolism, energy metabolism and antioxidant capability of *Macrobrachium nipponense*. Master's Thesis of Hebei University, 2010, 26-35 [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, 26-35]

2) Li ZJ. Effects of hypoxia on energy metabolism, respiratory metabolism and antioxidant metabolism of *Eriocheir sinensis*. Master's Thesis of Hebei University, 2012, 30-45 [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, 30-45]

的脊尾白虾至少有一段时间仍然以有氧代谢来维持生命活动。随着干露时间的延长, 低温干露的脊尾白虾无氧代谢相关酶相较于常温干露的脊尾白虾表现出较高的活力, 这是低温干露的虾体存活率较高的原因之一。因而, 在其他条件相同的情况下, 低温可以延长脊尾白虾的干露存活时间。

参 考 文 献

- Affonso EG, Polez VLP, Correa CF, *et al.* Physiological responses to sulfide toxicity by the air-breathing catfish, *Hoplosternum littorale* (Siluriformes, Callichthyidae). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology and Pharmacology*, 2004, 139(4): 251–257
- Anilkumar G, Sudha K, Anitha E, *et al.* Aspects of sperm metabolism in the spermatheca of the brachyuran crab *Metopograpsus messor*. *Journal of Crustacean Biology*, 1996, 16(2): 310–314
- Chen BY, Fu GH, An J, *et al.* Analysis of the activity differences of immune factors among different parentages in *Portunus trituberculatus* at different desiccation temperatures. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2013, 22(2): 194–199 [陈百尧, 伏光辉, 安健, 等. 干露下三疣梭子蟹家系间血淋巴免疫因子活性差异分析. *上海海洋大学学报*, 2013, 22(2): 194–199]
- Chen YZ. *General Biology*. Beijing: Higher Education Press, 1997 [陈阅增. 普通生物学. 北京: 高等教育出版社, 1997]
- Ding YD, Jia LZ, Ma Q, *et al.* The structure of vas deferens and formation of spermatophore in crayfish, *Cherax quadricarinatus*. *Journal of Fisheries of China*, 2009, 33(1): 78–86 [丁银娣, 贾林芝, 马强, 等. 红螯螯虾输精管的结构及精荚的形成. *水产学报*, 2009, 33(1): 78–86]
- Ellington WR. The recovery from anaerobic metabolism in invertebrates. *Journal of Experimental Zoology*, 1983, 228(3): 431–444
- Guan YQ, Wang HC, Li L. Effects of sulphide on the enzyme of respiratory metabolism and energy metabolism of *Macrobrachium nipponense*. *Ecology and Environmental Sciences*, 2009, 18(6): 2017–2012 [管越强, 王慧春, 李利. 硫化物胁迫对日本沼虾呼吸代谢和能量代谢酶的影响. *生态环境学报*, 2009, 18(6): 2017–2012]
- Li XZ, Liu RY, Liang XQ. The zoogeography of Chinese Palaemonoidea fauna. *Biodiversity Science*, 2003, 11(5): 393–406 [李新正, 刘瑞玉, 梁象秋. 中国长臂虾总科的动物地理学特点. *生物多样性*, 2003, 11(5): 393–406]
- Lin XT, Zhang QM, Xu ZN, *et al.* Advancement of the study on respiratory metabolism of decapod crustaceans. *Journal of Fisheries of China*, 2000, 24(6): 575–580 [林小涛, 张秋明, 许忠能, 等. 虾蟹类呼吸代谢研究进展. *水产学报*, 2000, 24(6): 575–580]
- Madenjian CM, Rogers GL, Fast AW. Predicting night-time dissolved oxygen loss in prawn pond of Hawaii: Part I. Evaluation of traditional methods. *Aquaculture Engineering*, 1987, 6(3): 191–208
- Morris S, Oliver S. Circulatory, respiratory and metabolic response to emersion and low temperature of *Jasus edwardsii*: Simulation studies of commercial shipping methods. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology*, 1999, 122(3): 299–308
- Oliveira GT, Eichler P, Rossi IC, *et al.* Hepatopancreas gluconeogenesis during anoxia and post-anoxia recovery in *Chasmagnathus granulata* crabs maintained on high-protein or carbohydrate-rich diets. *Journal of Experimental Zoology Part A: Comparative Experimental Biology*, 2004, 301(3): 240–248
- Rustin P, Chretien D, Bourgeron T, *et al.* Biochemical and molecular investigations in respiratory chain deficiencies. *Clinica Chimica Acta*, 1994, 228(1): 35–51
- Simon LM, Robin ED. Relationship of cytochrome oxidase activity to vertebrate total and organ oxygen consumption. *International Journal of Biochemistry*, 1971, 2(11): 569–573
- Spicer JI, Hill AD, Taylor AC, *et al.* Effect of aerial exposure on concentrations of selected metabolites in blood of the Norwegian lobster *Nephrops norvegicus* (Crustacea: Nephropidae). *Marine Biology*, 1990, 105(1): 129–135
- Taylor HH, Waldron FM. Respiratory responses to air-exposure in the southern rock lobster, *Jasus edwardsii* (Hutton) (Decapoda: Palinuridae). *Marine and Freshwater Research*, 1997, 48(8): 889–898
- Viru M. Differences in effects of various training regimens on metabolism of skeletal muscles. *The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness*, 1994, 34(3): 217–227
- Wang JF, He YM. *Experimental course of cell biology*. Beijing: Science Press, 2004, 47–51 [王金发, 何炎明. 细胞生物学实验教程. 北京: 科学出版社, 2004, 47–51]
- Wang Q, Li J, Li JT, *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 SH, Feng JJ, Guo HF, *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
- Zhang LX, Zhang TF, Li LY. *Experimental Biotechnology*. Beijing: Higher Education Press, 1997 [张龙翔, 张庭芳, 李玲媛. 生化实验方法和技术. 北京: 高等教育出版社, 1997]
- Zhang YH, Mei WX, Wang CL, *et al.* Live *Squilla* testing of dissociated water and dry exposure. *Journal of Zhejiang College of Fisheries*, 1996, 15(1): 43–48 [张义浩, 梅文骧, 王春琳, 等. 活虾脱离水干露试验. *浙江海洋学院学报(自然科学版)*, 1996, 15(1): 43–48]

Effects of Dry Exposure on the Respiratory Metabolism-Related Enzymes of *Exopalaemon carinicauda*

Lian Chunang^{1,2}, Li Jian^{1,3①}, Li Jitao¹, Feng Yanyan^{1,2}

(1. Shanghai Ocean University, Shanghai 201306; 2. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071;

3. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071)

Abstract The objective of the present research was to investigate the effects of dry exposure on respiratory metabolism in different tissues of *Exopalaemon carinicauda*. In the trial, *E. carinicauda* were divided into two experimental groups, namely normal temperature (22–24°C) group and low temperature (4°C) group. Meanwhile, shrimp cultured in seawater were used as the control group. Activities of respiratory metabolism enzymes and content of lactate were measured under dry exposure challenges at 60 min, 90 min, 120 min and 180 min. The investigated enzymes included succinate dehydrogenase (SDH), cytochrome oxidase (CCO), fumarate reductase (FRD) and lactate dehydrogenase (LDH). SDH and CCO are the key enzymes of aerobic metabolism in animals, whereas FRD and LDH are the key enzymes of anaerobic metabolism in animals. In addition, the content of lactate is an indicator of anaerobic metabolism. The results showed that the activities of SDH and CCO in hepatopancreas, gill, and muscle in the normal temperature group decreased significantly than those in the control ($P<0.05$) with the processes of dry exposure. Activities of FRD, LDH and content of lactate in muscle increased initially and then decreased gradually. And the levels were significantly higher than those in the control ($P<0.05$). Activities of respiratory metabolism enzymes and content of lactate in low temperature group had no significant difference compared to those in the control group at 60 min. After that, the trends of the enzyme levels in the low temperature group were as similar as the normal temperature group. The changes of enzyme activities were tissue dependent. Activities of respiratory metabolic enzymes in hepatopancreas and gill were higher than those in muscle. The results suggested that anaerobic metabolism increased after dry exposure. By contrast, *E. carinicauda* can maintain the aerobic metabolism during the early stage of low temperature dry exposure. Furthermore, the hepatopancreas and gill might be more sensitive to dry exposure, whereas reduced temperature could increase the survival rate of *E. carinicauda*.

Key words *Exopalaemon carinicauda*; Dry exposure; Respiratory metabolism enzymes; Anaerobic metabolism

① Corresponding author: Li Jian, E-mail: lijian@ysfri.ac.cn