

温度对中国鲎幼鲎生长、蜕壳、能值、免疫指标和抗氧化能力的影响研究

董兰芳, 许明珠, 李世才, 陈瑞芳, 龙子扬, 林立蔚

(广西海洋研究所有限责任公司, 广西海水养殖新品种繁育工程技术研究中心, 广西北海 536000)

摘要: 本文研究了温度 (29 °C、31 °C、33 °C、35 °C 和 37 °C) 对中国鲎 (*Tachypleus tridentatus*) 幼鲎蜕壳同步性、机体免疫力和抗氧化能力等的影响。研究结果显示: (1) 当温度高于 33 °C 时幼鲎的成活率显著降低 ($P<0.05$), 蜕壳增重率随温度的升高而显著降低 ($P<0.05$), 蜕壳率则随着温度升高呈先显著升高 ($P<0.05$) 后显著降低 ($P<0.05$) 的趋势, 33 °C 试验组蜕壳率最高; (2) 温度较高试验组幼鲎开始蜕壳的时间较早, 33 °C 试验组的幼鲎最先蜕壳; 一、二龄幼鲎能值随温度升高而显著降低 ($P<0.05$); (3) 37 °C 高温组一、二龄幼鲎的 ACP 活力均显著降低 ($P<0.05$), 而 AKP 活力变化没有明显规律; (4) 一龄幼鲎 CAT 活性随温度升高而显著降低 ($P<0.05$), 37 °C 试验组二龄幼鲎的 T-AOC 和 CAT 活性均显著低于其他试验组 ($P<0.05$)。研究结果表明, 当温度低于 33 °C 时, 适当升高温度有利于中国鲎幼鲎的蜕壳与生长; 当温度超过 33 °C 时, 幼鲎的免疫力、抗氧化能力显著降低, 成活率下降。本文的结果可以为中国鲎人工育苗和放流活动开展提供基础依据。

关键词: 温度; 中国鲎; 蜕壳; 能值; 免疫酶; 抗氧化酶

中图分类号: Q958.11 文献标识码: A 文章编号: 1007-6336(2023)01-0104-07

Effects of temperature on growth, molting, energy, immune index and antioxidation of juvenile Chinese horseshoe crab, *Tachypleus tridentatus*

DONG Lan-fang, XU Ming-zhu, LI Shi-cai, CHEN Rui-fang,
LONG Zi-yang, LIN Li-wei

(Guangxi engineering technology research center of breeding of new mariculture varieties., Guangxi Institute of Oceanology Co., Ltd, Beihai 536000, China)

Abstract: The effects of different temperatures (29 °C, 31 °C, 33 °C, 35 °C and 37 °C) on the synchronization of molting, body immunity and oxidation resistance of juvenile Chinese horseshoe crab (*Tachypleus tridentatus*) were explored. The results showed that: (1) The survival rate decreased significantly when the temperature was higher than 33 °C ($P<0.05$). With the increase of temperature, the molting weight gain rate decreased significantly ($P<0.05$). The molting rate increased significantly at first and then decreased significantly with the increase of temperature ($P<0.05$), and the 33 °C group was the highest. (2) The molting time of higher temperature test groups were earlier, and the 33 °C group was the first. The energy of the two-stage juvenile horseshoe crabs tended to decrease with the increasing temperature. (3) The ACP activity of the horseshoe crabs

收稿日期: 2021-09-06, 修订日期: 2022-08-18

基金项目: 广西自然科学基金项目 (2018GXNSFBA281071)

作者简介: 董兰芳 (1987-), 女, 浙江金华人, 副研究员, 主要从事水生动物营养学与养殖水环境生态学研究, E-mail: 0xiao0dong@163.com

通讯作者: 陈瑞芳 (1978-), E-mail: ttrfchen@foxmail.com

at 37 °C was significantly lower than that of other groups ($P < 0.05$), while the AKP activity had no obvious regularity. (4) With the increasing temperature, the CAT activities of the first-year-old horseshoe crabs significantly decreased. And the T-AOC and CAT activities of the 37 °C test group were significantly lower than those of other test groups ($P < 0.05$). The results showed that when the temperature was lower than 33 °C, raising the temperature properly was conducive to promote the molting and growth of juvenile horseshoe crabs. After exceeding 33 °C, the immunity and oxidation resistance of juvenile horseshoe crabs decreased significantly, and the survival rate decreased. This study provides a theoretical basis for the artificial breeding and releasing of Chinese horseshoe crab.

Key words: temperature; *Tachypleus tridentatus*; molting; emery; immune enzyme; antioxidase

鲎 (*Limulus*) 是一种肢口纲剑尾目海生节肢动物, 是地球上最古老的生物之一, 有海中“活化石”之称。中国鲎 (*Tachypleus tridentatus*) 是东方鲎属中的一种^[1]。我国中国鲎资源丰富, 主要集中在南海北部的海南、北部湾及粤西一带海域, 北部湾广西沿海是中国鲎最主要的栖息地^[2]。中国鲎的生长速度非常慢, 从幼鲎发育至性成熟一般需 13 ~ 15 年^[3], 由于近 20 年的过度捕捞和滩涂开发破坏, 中国鲎资源急剧减少, 作为国家二级保护动物, 中国鲎的研究一直得到我国相关部门的重视^[4], 深入开展了包括地理分布、资源现状和价值、生活习性、人工繁育等方面的研究工作。通过人工育苗开展增殖放流是恢复鲎资源最有效、最迅速的方法^[4], 近十几年, 中国鲎的人工育苗技术逐渐成熟, 在浙江舟山、福建厦门和泉州湾、广东湛江东海岛、广西北海等地多次组织开展人工鲎苗的放流活动。然而, 中国鲎的人工育苗过程中受环境影响较大, 海区环境对幼鲎放流成效的影响也未经系统研究, 放流活动选址多为中国鲎成体出现的海域或邻近码头, 放流活动不分季节、不看天气, 难以保证人工增殖放流的可行性^[5], 因此, 了解和掌握幼鲎的环境适应性是保证人工育苗和放流成效的关键之一^[6]。

一般来说, 甲壳动物阶梯状的生长形式是通过蜕壳来实现的, 每经过一次蜕壳便完成一次飞跃式生长, 因而蜕壳与生长一直是甲壳类动物的重点研究内容^[7-8]。水温是影响海洋动物分布、存活、代谢等的主要环境因子, 也通过影响甲壳类的蜕壳率进而影响其生长。据生产实践经验, 人工育苗过程中国鲎幼鲎培育水温在 30 °C 左右或稍高为佳, 低于 30 °C 时鲎卵发育较慢, 幼鲎

蜕壳周期延长。但育苗池水体小, 水体温度受气温和光照影响大, 夏季午后水温可达 34 °C 甚至 35 °C 以上。因此, 在生产实践基础上通过研究不同温度下中国鲎幼鲎存活、蜕壳、免疫、抗氧化能力及能值等指标的变化, 探讨幼鲎生理受水温变化的影响, 为开展中国鲎人工育苗和放流提供基础依据, 同时丰富鲎生理生态学资料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

广西海洋研究所有限责任公司为农业部认定的珍稀濒危水生动物(中国鲎)增殖放流苗种供应单位。试验用中国鲎一龄幼鲎来源于公司竹林海水增养殖基地人工繁育的同一亲本所产的同批次苗种。一龄幼鲎指鲎卵受精后, 胚体开始破内卵膜而出, 孵成具有头胸部和腹部尚未有剑尾的幼鲎, 也称三叶幼体, 挑选活力较好的健康个体(平均体质量 27.02 ± 0.82 mg)作为试验对象。不同温度水平的养殖试验在规格为 500 mL 的玻璃烧杯中进行, 烧杯放入恒温培养箱进行水温调节, 试验用海水为砂滤自然海水, 盐度为 29.7。

1.2 养殖试验

试验梯度根据夏季人工育苗生产中海水温度范围及幼鲎高温耐受范围预实验确定, 共设置 5 个梯度, 分别为 29 °C、31 °C、33 °C、35 °C 和 37 °C, 每个梯度设 3 个平行组, 共 15 个试验组, 每个试验组烧杯内放幼鲎 150 只、海水约 300 mL, 杯口盖表面皿使蒸发的水分回滴至烧杯内, 保证盐度稳定。室温下(18 °C ~ 23 °C)暂养 7 d 后开始温度试验, 以 2 °C/d 的速度升温, 至水温达到设定温度(以烧杯内水体温度为准), 温度试验正式开始, 烧杯内海水温度保持在: 设定温

度 ± 0.5 °C。

日常管理: 一龄幼鲎很少进食, 不投喂对其影响很小, 因此养殖试验选择全程不投喂, 也保证了养殖水质稳定。养殖期间每周换水一次, 换水量 100%, 换水时用水浴锅加热调至所需水温后更换。二龄幼鲎在养殖后期死亡率较高, 因此从有幼鲎蜕壳开始计算, 一个月后确定为养殖试验结束时间, 以此计算养殖周期。

1.3 样品收集与分析

养殖 30 d 时, 此时还未有幼鲎蜕壳, 每组随机选取一龄幼鲎 50 只, 用小漏勺捞出, 纯水冲洗, 纸巾拭干漏勺底部水分, 翻动幼鲎后再次拭干, 反复操作 3 次。-80 °C 保存用于酶活的测定, 蜕壳率只统计剩余的 100 只幼鲎。

从有幼鲎蜕壳开始, 每天用小漏勺收集鲎壳, 以此记录每组蜕壳数量, 纯水冲洗后保存于 -20 °C。

87 d 后养殖试验结束, 用小漏勺分别收集一龄幼鲎、二龄幼鲎计数后, 纯水冲洗, 同样用纸巾拭干漏勺底部水分, 分析天平(梅特勒 ML204)称总重, 计算均重, 并统计成活率、蜕壳率和蜕壳增重率, -80 °C 保存。二龄幼鲎部分用于酶活测定, 剩余的一龄幼鲎、二龄幼鲎及鲎壳, 105 °C 恒温干燥 24 h 用于能值测定。样本由多个幼鲎个体合并成一个进行测定。成活率、蜕壳率和蜕壳增重率计算式如下:

$$\text{成活率}(\%) = 100 \times N_t / N_0$$

$$\text{蜕壳率}(\%) = 100 \times T / N_0$$

$$\text{蜕壳增重率}(\%) = (W_2 - W_1) / W_1 \times 100$$

式中: N_t 和 N_0 分别为幼鲎终末和初始的数量(初始数量以 100 计); T 为蜕壳数量(以蜕壳数量计); W_1 和 W_2 分别为一龄和二龄幼鲎均重, t 为试验天数。

1.4 能值测定

干燥后的一龄幼鲎、二龄幼鲎及鲎壳的能值($\text{kJ} \cdot \text{g}^{-1}$)用 PARR1281 型氧弹仪测定。

1.5 酶活测定

将冷冻的一龄及二龄幼鲎转移至玻璃匀浆器, 加入预冷的生理盐水, 充分匀浆后, 匀浆液用冷冻离心机(Jouan, C3i, France)离心 10 min (4 °C, 3000 r/min), 上清液即待测酶液。

溶菌酶(lysozyme, LZM)、酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、超氧化物歧化酶活力(superoxide dismutase, SOD)以及总抗氧化能力((total antioxidant capacity, T-AOC)均采用南京建成生物工程研究所研制的试剂盒测定。待测酶液蛋白质量分数以牛血清蛋白作为标准, 用考马斯亮蓝法测定。

1.6 数据分析

采用 SPSS 20.0 对所得数据进行单因素方差分析(One-Way ANOVA), 分析前先对数据进行正态分布检验和方差齐性检验, 若差异达到显著($P < 0.05$), 则用 Tukey 多重比较各组数据之间的差异, 结果用“平均值 \pm 标准误”(n=3)表示。

2 结果与讨论

2.1 不同温度对幼鲎存活、蜕壳、能值等的影响

不同温度对幼鲎成活率、体质量、蜕壳率和蜕壳增重率影响的结果见表 1。不同温度对幼鲎的成活率有显著影响($P < 0.05$), 温度高于 33 °C 后幼鲎成活率显著降低($P < 0.05$)。温度较高组(33 °C、35 °C 和 37 °C)二龄幼鲎均重显著低于 29 °C 和 31 °C 试验组($P < 0.05$); 随着温度升高, 幼鲎蜕壳率呈先显著升高后显著降低的趋势($P < 0.05$), 33 °C 试验组幼鲎蜕壳率最高为 100%, 37 °C 试验组幼鲎蜕壳率最低; 蜕壳增重率随温度升高而显著减小($P < 0.05$)。

图 1 为不同温度下幼鲎蜕壳率随试验时间的变化趋势。整体来说, 较高温度试验组(33 °C、35 °C 和 37 °C)有幼鲎开始蜕壳的时间比较低温度试验组(29 °C 和 31 °C)早, 33 °C 试验组幼鲎最先开始蜕壳。31 °C 和 33 °C 试验组从开始蜕壳到试验结束 30 天内, 全部或大部分完成蜕壳, 29 °C 和 31 °C 试验组蜕壳率增加相对缓慢, 37 °C 试验组开始蜕壳时间早但蜕壳率增加最慢。

不同温度对幼鲎能值影响的结果如图 2 所示。不同温度试验组幼鲎的能值有显著差异($P < 0.05$), 且有随温度升高而降低的趋势。29 °C 试验组一龄幼鲎的能值显著高于 37 °C 试验组

表 1 不同温度下中国鲎幼鲎的成活率、均重、蜕壳率和蜕壳率增重率

Tab.1 Survival rate, molting rate and molting weight gain rate of the juvenile *Tachypleus tridentatus* under different temperatures

温度/℃	成活率/(%)	一龄幼鲎终末均重/mg	二龄幼鲎均重/mg	蜕壳率/(%)	蜕壳增重率/(%)
29	100.00±0.00 ^a	21.89±1.19	46.17±0.75 ^a	57.00±3.21 ^c	111.19±2.29 ^a
31	99.33±0.67 ^a	22.47±0.23	44.92±0.43 ^a	68.00±2.31 ^b	99.96±0.18 ^b
33	100.00±0.00 ^a	22.17±0.67	37.28±1.23 ^b	100.00±0.00 ^a	68.11±0.76 ^c
35	98.00±0.88 ^b	21.92±1.41	37.08±1.17 ^b	95.00±1.53 ^a	69.25±1.92 ^c
37	87.00±0.58 ^b	21.41±1.38	33.70±1.28 ^b	18.00±1.15 ^d	57.53±1.56 ^d
<i>P</i>	0.000	0.906	0.000	0.000	0.000
<i>F</i>	213.75	0.271	30.911	282.75	221.870

注: 同列数据上标字母不同表示存在显著差异($P<0.05$), 下表同

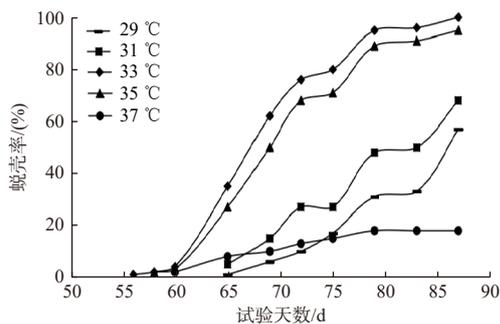
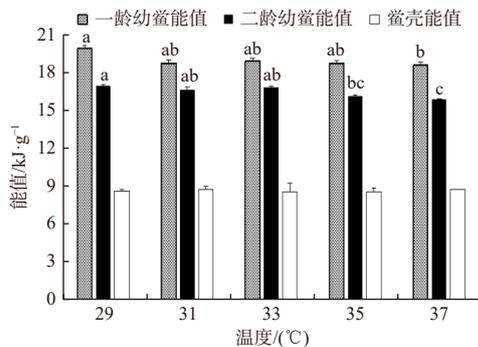


图 1 蜕壳率随试验时间的变化趋势

Fig. 1 Change trend graph of molting rate with test time



注: 误差线表示标准误

Note: The error line indicates the standard error

图 2 不同温度对中国鲎幼鲎能值的影响

Fig. 2 Effect of different temperatures on energy value of juvenile *Tachypleus tridentatus*

($P<0.05$), 29℃ 试验组二龄幼鲎的能值显著高于 35℃ 和 37℃ 试验组($P<0.05$)。各组鲎壳能值间没有显著差异($P>0.05$)。

温度是影响甲壳动物生长的主要环境因素, 研究表明, 在适宜的温度范围内温度升高能够有

效促进蜕壳, 生物体代谢率也随温度的上升逐渐升高, 但温度过高会在蜕壳周期缩短的同时降低蜕壳增重率^[9-10]。如在 20℃~35℃ 范围内, 随着温度的升高, 拟穴青蟹 (*Scylla paramamosain*) 的蜕壳率先显著升高后有所降低, 高温组青蟹开始蜕壳的时间显著比低温组早, 但各温度试验组青蟹蜕壳后壳长和体重的增加值没有显著差异^[11]; 在 18℃~26℃ 范围内, 随着温度的升高三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) 蜕壳期和硬化期所需时间明显缩短^[12]; 在高温条件下饲养的小蓝蟹 (*Callinectes similis*) 蜕壳周期和蜕壳后增重率均显著减少, 导致每一期蜕壳后蓝蟹的体型都变小^[13]; 在黄渤海鹰爪虾 (*Trachypenaeus curvirostris*)^[14]、红海远海梭子蟹 (*Portunus pelagicus*)^[15] 等物种的报道中也有相似的研究结果。有关温度对中国鲎生存生长的影响已有一些报道, Lee 和 Morton 的研究中, 28℃~32℃ 温度环境养殖的幼鲎蜕壳率明显高于 18℃~22℃^[16]; Liao 等通过 7 天不同温度水平养殖试验发现, 40℃ 时中国鲎存活率及存活时间均显著降低^[17]。本研究中, 低于 33℃ 前温度升高有利于幼鲎蜕壳, 且温度较高试验组幼鲎开始蜕壳的时间较早, 但蜕壳增重率和能值均显著小于温度较低试验组, 这说明温度升高缩短了幼鲎的蜕壳周期, 但温度升高后幼鲎代谢率升高, 机体消耗随之增加, 且因本试验全程不投喂, 没有外来能量补充, 机体能量储备随消耗增加而逐渐减少, 即表现为蜕壳增重率和能值减少。温度高于 33℃ 后, 幼鲎蜕壳率随温度升高而显著降低, 成活率也开始下降, 35℃ 试验组蜕壳率为 95%, 成活率为 98%, 37℃

时蜕壳率仅为 18%, 而成活率也下降到 87%, 说明此时温度已超过幼鲎适宜生存范围。此外, 本试验为方便取样限制了试验的养殖周期, 因而得到温度 29 °C 和 31 °C 试验组蜕壳率较低的结果, 事实上只要养殖时间足够长, 29 °C 和 31 °C 条件下幼鲎基本都能蜕壳, 仅蜕壳周期较 33 °C 条件下长。

2.2 不同温度对幼鲎免疫酶活性的影响

不同温度对幼鲎免疫酶活性影响的结果见表 2。温度对一龄幼鲎的 ACP 和 AKP 活性有显著影响 ($P<0.05$), 对 LZM 活性没有显著影响 ($P>0.05$), 37 °C 试验组幼鲎的 ACP 活性显著低

于其他试验组 ($P<0.05$); 随着温度的升高, 幼鲎 AKP 活性呈先显著升高后显著降低的趋势 ($P<0.05$), 35 °C 试验组最高, 显著高于其他试验组 ($P<0.05$)。温度对二龄幼鲎的 ACP 和 AKP 活性也有显著影响 ($P<0.05$), 对 LZM 活性没有显著影响 ($P<0.05$); 随着温度的升高, 幼鲎 ACP 活性呈先升高后降低的趋势, 33 °C 试验组最高, 显著高于 35 °C 和 37 °C 试验组 ($P<0.05$); 温度小于等于 33 °C 时幼鲎 AKP 活性没有显著差异 ($P<0.05$), 当温度升高至 35 °C 时, AKP 活性显著降低 ($P<0.05$), 而当温度继续升高至 37 °C 时, AKP 活性显著升高 ($P<0.05$)。

表 2 不同温度对中国鲎幼鲎免疫酶活性的影响

Tab.2 Effect of different temperatures on immune enzyme activities of juvenile *Tachypleus tridentatus*

温度/°C	一龄幼鲎			二龄幼鲎		
	LZM/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	ACP/U $\cdot\text{gprot}^{-1}$	AKP/U $\cdot\text{gprot}^{-1}$	LZM/ $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	ACP/U $\cdot\text{gprot}^{-1}$	AKP/U $\cdot\text{gprot}^{-1}$
29	19.48±0.25	9.98±0.72 ^a	59.56±4.38 ^c	31.32±4.95	7.66±0.47 ^{ab}	29.17±4.22 ^b
31	18.79±0.87	9.69±0.23 ^a	52.24±5.31 ^c	32.23±2.60	7.43±0.53 ^{ab}	21.64±2.84 ^{bc}
33	20.48±3.02	9.57±0.13 ^a	93.68±0.91 ^b	34.89±0.21	8.46±0.46 ^a	24.21±9.11 ^{bc}
35	21.29±1.58	9.73±0.42 ^a	115.00±4.47 ^a	33.15±4.20	7.03±0.08 ^b	11.30±0.99 ^c
37	20.68±4.59	6.34±0.12 ^b	34.67±1.65 ^d	37.15±3.26	6.46±0.20 ^b	71.04±4.14 ^a
<i>P</i>	0.772	0.000	0.000	0.319	0.003	0.000
<i>F</i>	0.448	44.547	507.543	1.346	8.809	62.885

温度是刺激鱼类等水生动物免疫应答的主要环境因素之一。温度低于最适水温免疫反应通常会延迟或降低, 相反, 温度过高会造成免疫相关酶的活力降低甚至丧失, 进而影响其正常的免疫应答反应^[18-20]。温度升高还会导致大量病原体出现, 生物体需通过调节自身的免疫体系来抵御不良环境, 以保证机体正常的生理活动^[21]。ACP 和 AKP 在甲壳动物的免疫应答机制中, 直接参与磷酸基团的转移和代谢, 可以加速物质的摄取与转运, 形成水解酶体系, 破坏和消除侵入机体的异物^[22]。在华贵栉孔扇贝 (*Chlamys nobilis*)^[23]、三疣梭子蟹^[22]、大菱鲂 (*Scophthalmus maximus*)^[23]、北极红点鲑 (*Salvelinus alpinus*)^[24] 等水生动物的温度影响试验中均发现温度变化对机体的 ACP 和 AKP 活力有显著影响。类似地, 本研究中不同温度试验组一龄、二龄幼鲎的

ACP 和 AKP 活力也有显著变化, 37 °C 高温组幼鲎的 ACP 活力显著降低, 说明此温度下幼鲎 ACP 调节已失衡, 而 AKP 活力的变化没有明显规律, 有待进一步研究。本研究中不同温度试验组的 LZM 活力没有显著差异, 这跟胡益鸣等^[25]对岩牡蛎 (*Crassostrea nippona*) 的研究结果一致, 但李文龙等^[23]对大菱鲂 (*Scophthalmus maximus*) 的研究表明随着饲养时间的延长以及温度升高, LZM 活力不断升高, Paillard 等^[26]对菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 的研究则发现 LZM 活力与温度呈负相关, 因此温度对不同物种 LZM 活力影响规律存在很大差异。

2.3 不同温度对幼鲎抗氧化酶活性的影响

不同温度对一龄和二龄幼鲎抗氧化酶活性影响的结果见表 3。温度对一龄幼鲎的 CAT 活性有显著影响 ($P<0.05$), 对 T-AOC、GSH-Px 和

SOD 活性没有显著影响 ($P < 0.05$), 随着温度的升高, 一龄幼鲎 CAT 活性呈显著降低的趋势 ($P < 0.05$), 温度 29 °C 和 31 °C 试验组显著高于温度较高的三个试验组 ($P < 0.05$)。温度对二龄

幼鲎的 T-AOC 和 CAT 活性也有显著影响 ($P < 0.05$), 对 GSH-Px 和 SOD 活性没有显著影响 ($P > 0.05$), 37 °C 试验组幼鲎的 T-AOC 和 CAT 活性均显著低于其他试验组 ($P < 0.05$)。

表 3 不同温度对中国鲎幼鲎抗氧化酶活性的影响

Tab.3 Effect of different temperatures on antioxidase activities of juvenile *Tachypleus tridentatus*

温度/°C	一龄幼鲎				二龄幼鲎			
	T-AOC/ U·mgprot ⁻¹	GSH-Px/ U·mgprot ⁻¹	CAT/ U·mgprot ⁻¹	SOD/ U·mgprot ⁻¹	T-AOC/ U·mgprot ⁻¹	GSH-Px/ U·mgprot ⁻¹	CAT/ U·mgprot ⁻¹	SOD/ U·mgprot ⁻¹
29	2.58±0.45	3.39±0.12	70.92±2.56 ^a	102.23±3.81	6.60±0.43 ^a	4.35±0.15	42.85±1.67 ^a	167.16±4.30
31	2.79±0.63	3.34±0.10	60.73±2.70 ^a	101.52±4.02	6.60±0.45 ^a	4.91±0.76	42.44±2.47 ^a	164.95±18.38
33	2.65±0.22	3.32±0.24	46.59±1.35 ^b	106.07±5.00	6.45±0.30 ^a	4.65±0.60	44.06±5.96 ^a	173.13±17.93
35	3.05±0.34	3.34±0.20	36.20±6.25 ^b	104.92±4.01	6.53±0.40 ^a	4.59±0.57	47.23±1.34 ^a	171.14±2.69
37	2.45±0.29	3.21±0.34	36.12±5.12 ^b	106.62±2.13	5.40±0.15 ^b	5.32±0.26	20.27±4.36 ^b	174.76±9.03
<i>P</i>	0.485	0.874	0.000	0.439	0.010	0.272	0.000	0.853
<i>F</i>	0.929	0.297	43.871	1.028	6.059	1.507	27.031	0.328

温度胁迫会引起水生动物的应激反应, 而应激反应多与活性氧自由基过量产生有关^[27], 当机体受到外界环境因子刺激后, 活性氧自由基大量产生, 体内抗氧化酶体系应激响应。SOD、CAT 和 GSH-Px 都是抗氧化酶体系之一, 研究表明, 生物机体抗氧化系统的响应机制因物种、组织器官等而异, 抗氧化酶活性也随着温度变化呈现不同的变化趋势^[28]。本研究中温度对中国鲎一龄幼鲎的 CAT 活力及二龄幼鲎的 T-AOC 和 CAT 活力有显著影响, 随着温度的升高一龄幼鲎的 CAT 活力从 33 °C 开始显著降低, 二龄幼鲎的 T-AOC 和 CAT 活力则是 37 °C 试验组显著低于其他试验组, 说明高温环境对幼鲎抗氧化指标产生显著抑制, 抗氧化能力减弱。原因可能是长时间的高温环境使得幼鲎机体内氧自由基不断积累, 抗氧化酶体系不足以抑制细胞内的氧化损伤, 尤其 37 °C 高温环境已经对幼鲎机体造成损伤, 表现为免疫力下降, 成活率降低。

3 结论

在本试验条件下, 当温度低于 33 °C 时, 适当升高温度有利于促进中国鲎幼鲎的蜕壳与生长, 温度越高幼鲎开始蜕壳的时间越早, 幼鲎蜕壳增重率和能值则随温度升高而降低; 当温度超过

33 °C 时, 幼鲎的免疫力、抗氧化能力均显著下降, 成活率降低。研究结果说明, 中国鲎幼鲎对高温的耐受能力较强, 人工育苗过程中可适当升高温度以缩短培育周期, 但水温不应超过 33 °C, 夏季太阳猛烈时应适时遮阴, 改善育苗车间通风条件, 避免水温过高; 因海水温度相对恒定, 放流活动中海水温度对幼鲎的影响不大。

参考文献:

- [1] SEKIGUCHI K. Biology of horseshoe crabs[M]. Tokyo: Science House Co. Ltd., 1988: 23-39.
- [2] 李琼珍, 胡梦红. 广西北海中国鲎资源现状以及保育工作进展[J]. 海洋环境科学, 2011, 30(1): 131-134.
- [3] HU M H, KWAN B K Y, WANG Y J, et al. Population structure and growth of juvenile horseshoe crabs *Tachypleus tridentatus* and *Carcinoscorpius rotundicauda* (Xiphosura) in Southern China[M]//CARMICHAEL R H, BOTTON M L, SHIN P K S, et al. Changing Global Perspectives on Horseshoe Crab Biology, Conservation and Management. Switzerland: Springer International Publishing, 2015: 167-180.
- [4] 洪水根. 中国鲎生物学研究[M]. 厦门: 厦门大学出版社, 2011: 58-62.
- [5] 朱俊华, 吴 宙, 冯炳斌, 等. 全球中华鲎资源保护现状及对策建议[J]. 生物多样性, 2020, 28(5): 621-629.
- [6] XU P, BAI H W, XIE X Y, et al. Tri-spine horseshoe crab aquaculture, ranching and stock enhancement: perspectives and challenges[J]. *Frontiers in Marine Science*, 2021, 8:

- 608155.
- [7] 李琼珍. 中国鲎保育工作研究进展[J]. *生物学杂志*, 2010, 27(4): 71-74.
- [8] COVI J A, CHANG E S, MYKLES D L. Neuropeptide signaling mechanisms in crustacean and insect molting glands[J]. *Invertebrate Reproduction & Development*, 2012, 56(1): 33-49.
- [9] 杨成聪, 戴振炎, 王爱民, 等. 甲壳类水产动物蜕壳研究进展[J]. *盐城工学院学报:自然科学版*, 2019, 32(4): 42-46,69.
- [10] ZAKES Z, KARPINSKI A. Influence of water temperature on oxygen consumption and ammonia excretion of juvenile pikeperch, *Stizostedion lucioperca* (L.) reared in a recirculating system[J]. *Aquaculture Research*, 1999, 30(2): 109-114.
- [11] 黄海涛. 温度、盐度、溶解氧、氨氮、亚硝酸盐氮对拟穴青蟹蜕壳的影响[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2011: 7-13.
- [12] 戴超, 王芳, 房子恒, 等. 温度对蜕壳后期三疣梭子蟹能量代谢酶活力的影响[J]. *水产学报*, 2013, 37(9): 1334-1341.
- [13] KUHN A A, DARNELL M Z. Elevated temperature induces a decrease in intermolt period and growth per molt in the lesser blue crab *Callinectes similis* Williams, 1966 (Decapoda: Brachyura: Portunidae)[J]. *Journal of Crustacean Biology*, 2019, 39(1): 22-27.
- [14] IMABAYASHI H, YAMADA H. Effect of temperature on molt and survival of the penaeid shrimp *Trachypenaeus curvirostris*[J]. *Benthos Research*, 1991 (41): 47-53.
- [15] AZRA M N, CHEN J C, HSU T H, et al. Growth, molting duration and carapace hardness of blue swimming crab, *Portunus pelagicus*, instars at different water temperatures[J]. *Aquaculture Reports*, 2019, 15: 100226.
- [16] LEE C N, MORTON B. Experimentally derived estimates of growth by juvenile *Tachypleus tridentatus* and *Carcinoscorpius rotundicauda* (Xiphosura) from nursery beaches in Hong Kong[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2005, 318(1): 39-49.
- [17] LIAO Y Y, LIU K, WU H P, et al. How survival and food intake of tri-spine horseshoe crabs, *Tachypleus tridentatus* respond to thermal variation: implications for understanding its distribution limit[J]. *Journal of Natural History*, 2019, 53(31/32): 1951-1960.
- [18] BOWDEN T J. Modulation of the immune system of fish by their environment[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2008, 25(4): 373-383.
- [19] RAIDA M K, BUCHMANN K. Temperature-dependent expression of immune-relevant genes in rainbow trout following *Yersinia ruckeri* vaccination[J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2007, 77(1): 41-52.
- [20] 谢明媚, 彭士明, 张晨捷, 等. 急性温度胁迫对银鲳幼鱼抗氧化和免疫指标的影响[J]. *海洋渔业*, 2015, 37(6): 541-549.
- [21] 栗志民, 钱佳慧, 劳翠英, 等. 温度和盐度对华贵栉孔扇贝免疫相关酶的联合效应[J]. *海洋科学进展*, 2015, 33(2): 227-238.
- [22] 吴丹华, 郑萍萍, 张玉玉, 等. 温度胁迫对三疣梭子蟹血清中非特异性免疫因子的影响[J]. *大连水产学院学报*, 2010, 25(4): 370-375.
- [23] 李文龙, 梁兴明, 梁萌青, 等. 温度对大菱鲆幼鱼生长及免疫相关酶活性的影响[J]. *水产科学*, 2017, 36(3): 311-316.
- [24] 刘克明, 夏苏东, 尤宏争, 等. 温度对北极红点鲑生长及非特异性免疫指标的影响[J]. *经济动物学报*, 2016, 20(4): 193-196,199.
- [25] 胡益鸣, 李琪, 刘士凯, 等. 温度和盐度急性胁迫对岩牡蛎存活及免疫指标的影响[J]. *中国水产科学*, 2020, 27(3): 286-294.
- [26] PAILLARD C, ALLAM B, OUBELLA R. Effect of temperature on defense parameters in Manila clam *Ruditapes philippinarum* challenged with *Vibrio tapetis*[J]. *Diseases of Aquatic Organisms*, 2004, 59(3): 249-262.
- [27] 尹飞, 孙鹏, 彭士明, 等. 低盐度胁迫对银鲳幼鱼肝脏抗氧化酶、鳃和肾脏ATP酶活力的影响[J]. *应用生态学报*, 2011, 22(4): 1059-1066.
- [28] 孙永旭, 董宏标, 王文豪, 等. 温度对大口黑鲈幼鱼不同组织抗氧化能力及免疫相关蛋白表达的影响[J]. *生态科学*, 2019, 38(3): 18-25.