

研究简报

高温对长牡蛎与熊本牡蛎及其杂交子代的免疫酶活性及杂种优势的影响*

岳绍波, 王昭萍**, 张学开, 范超, 唐黎明

(海水养殖教育部重点实验室(中国海洋大学), 山东 青岛 266003)

摘要: 夏季水温过高会使双壳贝类体内免疫调节系统发生改变, 这是造成牡蛎大量死亡的重要原因之一。本文以长牡蛎(*Crassostrea gigas*)和熊本牡蛎(*C. sikamea*)及其杂交子代为实验材料, 统计 F_1 代养成期存活率, 测定其在受到高温胁迫下过氧化氢酶(CAT)、丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)和总抗氧化能力(T-AOC)4种免疫相关酶活性的变化情况, 比较长牡蛎、熊本牡蛎及其杂交子代对高温突变的耐受能力。研究显示: 1. 随着水温的升高, 杂交牡蛎外套膜中的 CAT 活性变化与 MDA 总体呈负相关趋势。杂交子的 CAT 活性在 35 °C 以前杂种优势明显($H>0, hp>1$); 35 °C 与恢复组中, 表现为明显杂种劣势($H<0, hp<-1$)。2. 杂交子的 SOD 活性总体呈先下降后上升趋势, 在 35 °C 时取得最小值, 但差异不显著($P<0.05$)。3. 杂交子的 T-AOC 活性在 30 °C 以前表现为杂种优势($H>0$), 30 °C 以后表现杂种劣势($H<0$)。在 30 °C 时, T-AOC 活性显著下降。研究结果表明, 高温对长牡蛎、熊本牡蛎及其杂交子代的免疫酶活性有显著影响, 在外界温度发生变化时杂交子代机体做出响应的速度快于亲本。本文初步探明了高温胁迫下牡蛎的免疫应答机制, 研究结果为牡蛎杂交育种提供参考。

关键词: 长牡蛎; 熊本牡蛎; 高温; 杂种优势; 免疫

中图法分类号: S968.13

文献标志码: A

文章编号: 1672-5174(2022)07 II-116-07

DOI: 10.16441/j.cnki.hdxh.20200295

引用格式: 岳绍波, 王昭萍, 张学开, 等. 高温对长牡蛎与熊本牡蛎及其杂交子代的免疫酶活性及杂种优势的影响[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2022, 52(增 I): 116-122.

Yue Shaobo, Wang Zhaoping, Zhang Xuekai, et al. The effects of high temperature on the immunoenzyme activity and heterosis of Pacific oyster, Kumamoto oyster and their hybrid[J]. Periodical of Ocean University of China, 2022, 52(Sup. I): 116-122.

温度是引起海洋生态系统组成和功能转变的重要原因^[1]。适度的温度增加对很多海洋无脊椎动物有利, 可能会加快生长速度, 但是升温幅度过高一般会产生负面生理影响^[2-3]。贝类调节自身温度能力比较弱, 因此环境温度会严重影响其的能量平衡、新陈代谢^[4]。夏季死亡一直是影响牡蛎、扇贝、鲍鱼等经济贝类生产的重要问题之一, 其原因比较复杂, 一般认为是由于环境因子例如温度、溶氧、基础生产力等交互作用的结果^[5-7]。而种间杂交可应用于动植物遗传学和育种领域, 例如动植物改良, 基因和基因组作图, 染色体行为研究和进化研究^[8-9]。其目的是解决常规育种中的难题, 探究杂交子对环境胁迫下的适应性, 在此领域的研究已有不少报道, 如霍忠明比较了香港巨牡蛎与近江牡蛎杂交子及回交子代早期生长发育; 姚高友分析了

墨西哥湾扇贝杂交子代的高温耐受性, 发现杂交组在生长存活等方面表现出了明显的杂种优势^[8, 10-11]。高温胁迫对海洋贝类免疫功能的影响在扇贝^[12]、鲍鱼^[5]这些物种中都有研究, 但对于长牡蛎和熊本牡蛎及其杂交子的研究鲜有报道。

长牡蛎(*Crassostrea gigas*)又称太平洋牡蛎, 营养丰富, 生长速度快, 主要分布在我国北方地区, 同时也是世界上产量最高的经济贝类^[13]。熊本牡蛎(*C. sikamea*)曾经被学者认为是长牡蛎的一个亚种, 随后经过长牡蛎与熊本牡蛎的初步杂交实验发现它们之间存在单向受精现象, 又进一步利用分子生物学识别手段将熊本牡蛎定义为一个独立物种^[14-15]。熊本牡蛎主要分布在我国南部海岸、韩国沿海及日本的有明海附近, 其海域温度较高, 适宜熊本牡蛎生长繁殖^[16-17]。

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(911221680)资助

Supported by the National Natural Science Foundation of China(911221680)

收稿日期: 2020-10-13; 修改日期: 2020-12-28

作者简介: 岳绍波(1996—), 男, 硕士生, 研究方向: 贝类遗传育种。E-mail: 240716450@qq.com

** 通讯作者: E-mail: zpwang@ouc.edu.cn

本实验模拟南方地区夏季一天中的水温变化情况设置 5 个温度处理组,以长牡蛎和熊本牡蛎为素材,探究在升温胁迫过程中水温变化对其几种免疫参数的影响,比较杂种优势,为牡蛎的杂交育种工作提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

长牡蛎亲本采自山东省莱州市长渔水产实验基地,熊本牡蛎亲本取自广西水产科学研究所水产遗传育种实验室基地。实验材料来自 2018 年培育的一龄牡蛎,分别为长牡蛎自繁后代(GG)、熊本牡蛎自繁后代(SS)、熊本牡蛎♀×长牡蛎♂的杂交子代(SG)。利用抽样调差法统计 F_1 代养成期间长牡蛎、熊本牡蛎、杂交子的存活率为 64.2%、75.3%、82.5%。

1.2 实验设计

本实验在 100 L 白桶中进行,采用具有水温自动检测功能的加热棒调节温度,将加热设备连接控温器,设置好升温条件,期间保持充气并保持盐度不变。实验前将牡蛎提前 2 周从海上收回,置于室内水槽中常温 25℃ 暂养 2 周,选取大小、鲜重基本一致的长牡蛎(GG)、熊本牡蛎(SS)、杂交子代(SG)健康个体各 30 只进行实验。从 25℃ 以 2.5℃/h 的速率升温至 30、35 和 40℃ 分别保持 1 h,降温过程中连续注入常温海水持续 2 h 降至常温。本实验设置 5 个温度处理组,在 25、30、35、40 和 25℃(恢复)时分别进行取样并固定。每种牡蛎各取 3 只,快速剪下外套膜置于冻存管中,在液氮中进行保存固定,随后放入 -80℃ 冰箱中保存。实验共设置 3 组平行。

1.3 数据测定

1.3.1 组织取样与蛋白浓度的测定 将固定的牡蛎外套膜组织置于冰上解冻,取约 0.1 g 于 1.5 mL 离心管中,加入 1 mL 提取液进行冰浴匀浆。8 000g 4℃ 离心 10 min,取上清,置冰上待测。上清液中蛋白浓度用 Bradford 法进行测定。

1.3.2 免疫指标测定 使用北京索莱宝生化试剂公司生产的试剂盒测定过氧化氢酶 CAT、超氧化物歧化酶 SOD、丙二醛 MDA 及总抗氧化能力 T-AOC 4 项免疫指标,各项步骤均参照说明书严格实施。将每个平行组中的 3 只牡蛎外套膜组织混合为一个样品,所有指标测定均进行 3 次重复。

1.4 杂种优势及杂种潜力计算

杂种优势 $H(\%)$ 和杂种潜力 hp 的计算参照张跃环^[18]改进的方法,用如下公式计算:

$$H = [2SG - (GG + SS)] / (GG + SS) \times 100\%;$$

$$hp = [2SG - (GG + SS)] / |GG - SS|。$$

式中:SG 为杂交子代的表型值(如存活率、死亡率、酶活性、孵化率等);GG、SS 为亲本的表型值; H 是个百分比值,表示杂交子代的杂种优势率; hp 用来判定杂交所产生的杂交效果的显著程度;当 $hp > 1$ 或者 $hp < -1$ 时,杂交效果显著,可以认为具有显著的杂种优势或杂种劣势;当 $-1 \leq hp \leq 1$ 时,则认为杂交效果不显著。

1.5 数据分析

利用 Excel 进行数据处理并作图,用 SPSS 25 统计软件对数据进行单因素方差分析(One-way ANOVA),比较各组数据之间的差异,用 Duncan 检测法进行多重比较。 $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 高温胁迫对过氧化氢酶(CAT)活性及杂种优势的影响

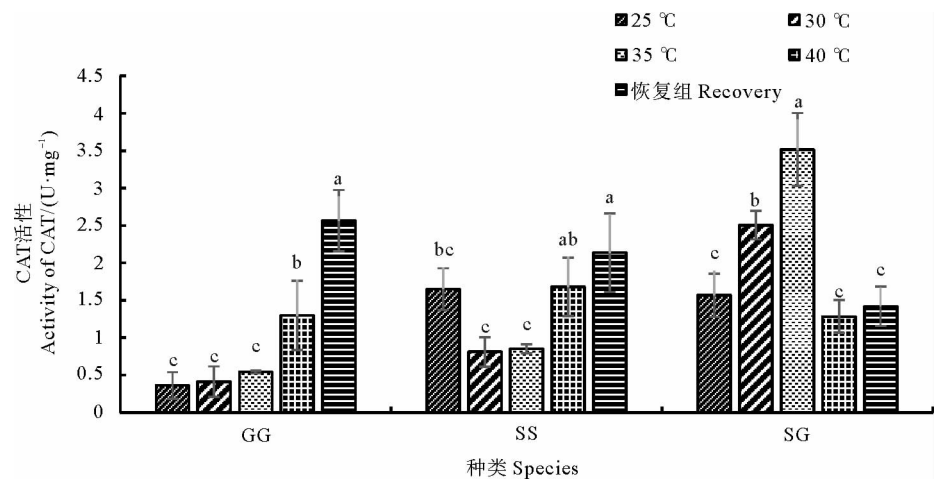
从图 1 中可以看出,随着温度的上升,GG 组 CAT 活性总体呈现上升趋势,从 35℃ 开始显著上升,在恢复组取得最大值;SS 组 CAT 活性随着温度的升高呈现先下降后上升的趋势,在恢复组取得最大值;SG 组 CAT 活性则表现出先上升后下降的趋势,35℃ 时取得最大值,且在 40℃ 时其 CAT 活性显著下降。从表 1 中可以看出在正常状态下,SG 表现一定的杂种优势($H > 0$),但杂种优势不明显($0 < hp < 1$);杂交子在 30 和 35℃ 两处理组间表现杂种优势($H > 0$),且优势显著($hp > 1$);在 40℃ 及恢复组中,杂交子表现杂种劣势($H < 0$)且杂种劣势显著($hp < -1$)。

2.2 高温胁迫对丙二醛(MDA)活性及杂种优势影响

图 2 显示了高温胁迫对长牡蛎、熊本牡蛎及其杂交子一龄成贝外套膜中 MDA 活性的影响。从图 2 中可以看出,GG、SS、SG 的 MDA 活性均随着温度的升高,呈现出先降低后升高的趋势,各温度处理组间差异显著($P < 0.05$),其中 SG 差异极显著($P < 0.01$)。35℃ 时,3 种牡蛎的 MDA 活性均最低,并且在恢复组中活性显著上升($P > 0.05$)。如表 2 所示,SG 在各实验组间均表现杂种优势($H > 0$),恢复组中杂交潜力值最高,达到约 3.78;30℃ 下杂交潜力值最低,约为 0.28。

2.3 高温胁迫对超氧化物歧化酶(SOD)活性及杂种优势的影响

SOD 水平变化情况如图 3 所示。随着升温胁迫的进行,GG 组 SOD 活性呈现出先降低后增加的趋势,恢复组中达到最大值,差异显著($P < 0.05$),而 SS、SG 各温度处理组间变化差异不显著($P > 0.05$)。关于 SOD 杂种优势及杂交潜力如表 3 所示,SG 仅在 30℃ 时,其 SOD 活性表现杂种优势,优势率达到 37.26%,且杂种优势显著($hp > 1$)。在其他处理组中,杂种优势不明显或表现杂种劣势。



(不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。下同。Values that are significantly different between each other at $P < 0.05$ are indicated by different letters above the bars.)

图1 不同温度下长牡蛎、熊本牡蛎及其杂交子 CAT 活性比较

Fig.1 Comparison of CAT activity of Pacific oyster, Kumamoto oyster and their hybrids at different temperatures

表1 不同温度下杂交子 CAT 活性杂种优势及杂交潜力

Table 1 Heterosis and hybrid potential of CAT about hybrids at different temperatures

	25 °C	30 °C	35 °C	40 °C	恢复组 Recovery
杂种优势 Heterosis/%	55.60	309.55	404.74	−19.30	−43.83
杂交潜力 Hybrid potential	0.87	9.52	18.00	−1.05	−30.86

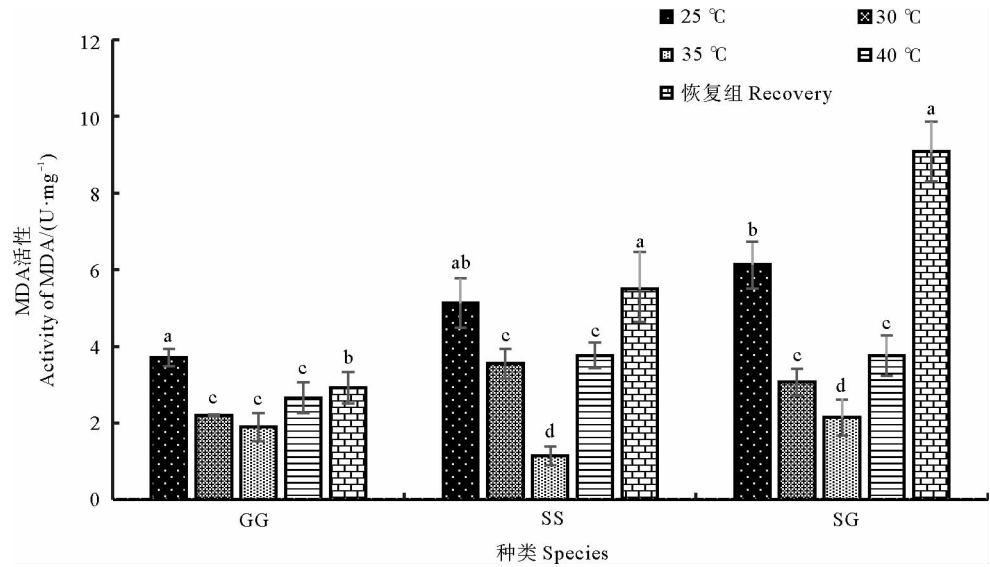


图2 不同温度下长牡蛎、熊本牡蛎及其杂交子 MDA 活性比较

Fig.2 Comparison of MDA activity of Pacific oyster, Kumamoto oyster and their hybrids at different temperatures

表2 不同温度下杂交子 MDA 活性杂种优势及杂交潜力

Table 2 Heterosis and hybrid potential of MDA about hybrids at different temperatures

	25 °C	30 °C	35 °C	40 °C	恢复组 Recovery
杂种优势 Heterosis/%	38.52	6.56	41.10	16.83	116.71
杂交潜力 Hybrid potential	2.39	0.28	1.68	0.98	3.78

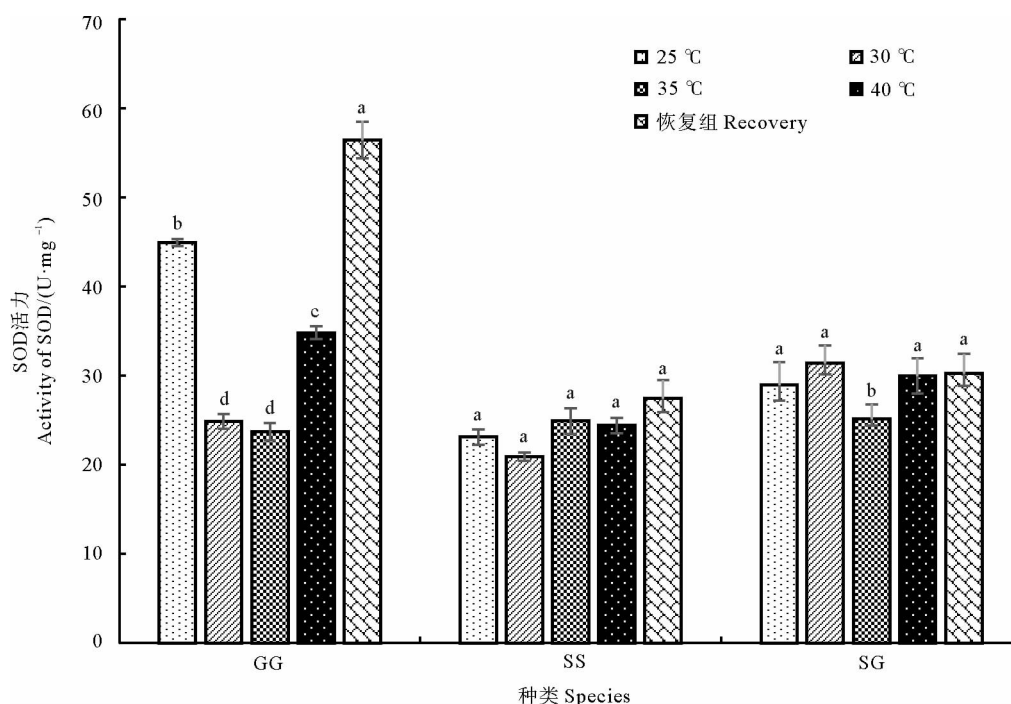


图3 不同温度下长牡蛎、熊本牡蛎及其杂交子 SOD 活性比较

Fig.3 Comparison of SOD activity of Pacific oyster, Kumamoto oyster and their hybrids at different temperatures

表3 不同温度下杂交子 SOD 活性杂种优势及杂交潜力

Table 3 Heterosis and hybrid potential of SOD about hybrids at different temperatures

	25 °C	30 °C	35 °C	40 °C	恢复组 Recovery
杂种优势 Heterosis/%	-14.76	37.26	3.48	1.14	-27.90
杂交潜力 Hybrid potential	-0.46	4.29	-1.38	0.07	-0.81

2.4 高温胁迫对总抗氧化能力(T-AOC)及杂种优势的影响

总抗氧化能力(T-AOC)的活性变化情况如图4所示。各温度处理组下,GG 总体呈现先上升,后逐渐稳定的趋势;SS、SG 各温度处理组的 SOD 活性在一定范

围内来回波动。从表4中可以看出,SG 在 25 和 30 °C 表现杂种优势($H>0$),且杂种优势明显($hp>1$);但在 35、40 °C 和恢复组中则表现杂种劣势($H<0$),杂种劣势明显($hp<-1$)。

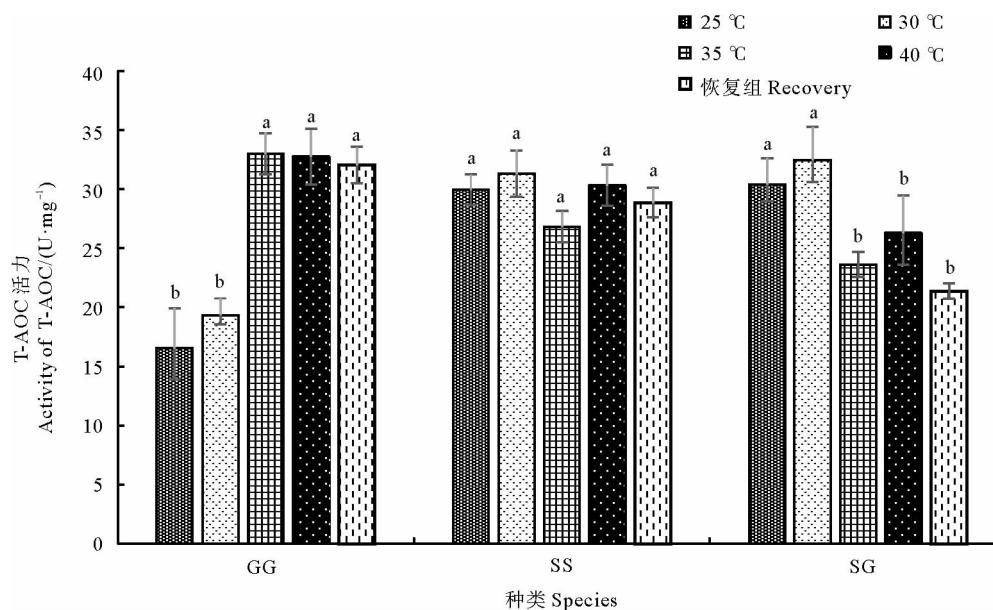


图4 不同温度下长牡蛎、熊本牡蛎及其杂交子 T-AOC 活性比较

Fig.4 Comparison of T-AOC activity of Pacific oyster, Kumamoto oyster and their hybrids at different temperatures

表4 不同温度下杂交子 T-AOC 活性杂种优势及杂交潜力

Table 4 Heterosis and hybrid potential of T-AOC about hybrids at different temperatures

	25 °C	30 °C	35 °C	40 °C	恢复组 Recovery
杂种优势 Heterosis/%	30.78	28.21	-21.00	-16.70	-29.77
杂交潜力 Hybrid potential	1.07	1.19	-2.03	-4.36	-5.67

3 讨论

温度是影响水生生物地理位置分布、体内生理生化反应的重要因素。温度变化会对生物的生长繁殖、新陈代谢产生重要影响^[1]。生物正常生理代谢中,自由基(ROS)是必不可少的,但在环境胁迫下会导致 ROS 过量产生并造成严重的氧化损伤并增加细胞和组织的凋亡^[19-20]。生物进化过程中,机体的免疫系统会进化出抗氧化防御机制来调节生物体的应激反应,从而在一定程度上防止环境改变导致的细胞损伤^[21-22]。高温对牡蛎的生理活动影响,最直接的是引起了免疫功能改变。当外界温度达到或超过其临界温度,氧气供应不足,ROS 大量产生,机体通过无氧呼吸提供能量^[19-20,23]。但是这并不意味着氧化损伤得到缓解,在长期高温胁迫下,机体无法提供足够的能量用于免疫活动^[5]。SOD、T-AOC 和 CAT 作为酶促防御机制的第一道防线,与其他抗氧化酶共同作用于中和体内由于高温胁迫而大量产生的活性氧物质(ROS),如过氧化氢(H_2O_2)、超氧阴离子 O_2^- 等^[5,22,24]。所以 CAT、SOD、T-TOC 含量越高,机体抗应激能力越强。MDA 是生物体内脂质过氧化的产物。它的含量是反应机体抗氧化能力的重要参数,可以反映机体脂质过氧化速率和强度,也可以间接反映组织过氧化损伤程度^[25]。所以 MDA 含量越高,机体抗应激能力越弱。

有研究表明,一般情况下,当生物体内 MDA 含量升高时,CAT、SOD 等抗氧化酶含量降低^[26]。也有研究显示,随着 MDA 含量升高,抗氧化酶并没有出现降低的现象^[27]。在本研究中,如图 1 和图 2 所示,随着水温升高,SG 的 CAT 活性呈现先升高后下降的趋势,而 MDA 则呈现先下降后上升的趋势。SG 的 CAT 活性最高时,MDA 活性最低;CAT 活性最低时,MDA 活性最高。各温度处理组间的 CAT、SOD 含量有呈负相关的趋势,与 Xu 等研究相符^[26]。表明高温使牡蛎机体出现氧化应激反应,杂交子免疫系统响应速度高于亲本,可能具有比亲本更高的高温耐受性。

SOD 是几乎所有真核生命体中必不可少的抗氧化酶,它通过催化 O_2^- 的歧化反应来消除生物体内有害物质,因此 SOD 活性变化可以反映出细胞内由于氧化应激而产生的损伤情况^[28-29]。本实验中,随着温度胁迫的进行,GG 在 35 °C 以后,SOD 酶活性显著上升,而 SS 和 SG 的曲线则呈波动状。这可能是由于当暴露于

自由基例如 O_2^- 时,海洋双壳贝类可以激活体内 SOD 酶等以抵消压力。但是由于环境压力,抗氧化酶活性不一定会提高^[30]。所以推测,随着温度的升高,由于水温超过其生长最适温度,牡蛎体内自由基开始大量产生,SOD 活性逐渐开始升高,由于环境压力,SS 和 SG 的 SOD 活性并没有显著升高($P>0.05$),而在恢复组中由于恢复时间较短,暂时达不到对照组 25 °C 时水平。T-AOC 水平反映了当生物体受到外界刺激时,机体抗氧化酶系统和非酶促系统对外界刺激的应激能力^[26-27]。结果表明,随着水温升高,达到或超过最适温度后,机体整体抗氧化能力逐渐减弱,表明机体整体机能状况在逐渐变差。恢复组中依然没有恢复至对照组水平,推测可能是由于高温胁迫导致 SG 机体出现不可逆的生理反应或者恢复时间较短。

参考文献:

- [1] Pörtner H. Ecosystem effects of ocean acidification in times of ocean warming: A physiologist's view[J]. Marine Ecology Progress Series, 2008, 373(22): 203-217.
- [2] Matoo O B, Ivanina A V, Ullstad C, et al. Interactive effects of elevated temperature and CO₂ levels on metabolism and oxidative stress in two common marine bivalves (*Crassostrea virginica* and *Mercenaria mercenaria*)[J]. Comparative Biochemistry and Physiology a-Molecular & Integrative Physiology, 2013, 164(4): 545-553.
- [3] Byrne M, Selvakumaraswamy P, Ho M A, et al. Sea urchin development in a global change hotspot, potential for southerly migration of thermotolerant propagules[J]. Deep-Sea Research Part II-Topical Studies in Oceanography, 2011, 58(5): 712-719.
- [4] Fearman J, Moltschaniwskyj N A. Warmer temperatures reduce rates of gametogenesis in temperate mussels, *Mytilus galloprovincialis*[J]. Aquaculture, 2010, 305(1-4): 20-25.
- [5] 林思恒. 皱纹盘鲍度夏死亡与高温胁迫响应的分子机制研究[D]. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所), 2016.
- [6] Lin S H. Study on Summer Mortality and Molecular Response to Heat Stress in the Pacific Abalones (*Haliotis discus hannai*)[D]. Qingdao: The University of Chinese Academy of Sciences, 2016.
- [7] Soletchnik P, Ropert M, Mazurie J, et al. Relationships between oyster mortality patterns and environmental data from monitoring databases along the coasts of France[J]. Aquaculture, 2007, 271(1-4): 384-400.
- [8] Gagnaire B, Soletchnik P, Madec P, et al. Diploid and triploid Pacific oysters, *Crassostrea gigas* (Thunberg), reared at two heights above sediment in Marennes-Oleron Basin, France: Difference in

- mortality, sexual maturation and hemocyte parameters[J]. *Aquaculture*, 2006, 254(1-4): 606-616.
- [8] 霍忠明, 王昭萍, 梁健, 等. 香港巨牡蛎与近江牡蛎杂交及回交子代早期生长发育比较[J]. *水产学报*, 2013, 37(8): 1155-1161.
Huo Z M, Wang Z P, Liang J, et al. Comparisons of growth and development of hybrid and backcrossing progenies between *Crassostrea hongkongensis* and *Crassostrea ariakensis*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2013, 37(8): 1155-1161.
- [9] 杜俊鹏, 王昭萍, 于瑞海. 盐度对香港巨牡蛎♀×葡萄牙牡蛎♂杂交子代稚贝的影响及杂种优势分析[J]. *中国海洋大学学报(自然科学版)*, 2019, 49(S2): 21-28.
Du J P, Wang Z P, Yu R H. Effect of salinity on heterosis for hybrid juveniles between *Crassostrea hongkongensis* ♀ × *C. angulata* ♂ [J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2019, 49(S2): 21-28.
- [10] 张国范, 刘晓, 阙华勇, 等. 贝类杂交及杂种优势理论和技术研究进展[J]. *海洋科学进展*, 2004, 28(7): 54-60.
Zhang G F, Liu X, Que H Y, et al. The theory and application of hybridization and heterosis in marine mollusks[J]. *Ocean Development and Management*, 2004, 28(7): 54-60.
- [11] 姚高友. 墨西哥湾扇贝杂交育种及杂交子代高温耐受性与遗传特征分析[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2019.
Yao G Y. Genetic and Stress Resistance Analysis of Diallel Cross Between *Argopecten irradians concentricus* and “Bohai Red”[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2019.
- [12] 刘超, 吴富村, 林思恒, 等. 高温刺激导致虾夷扇贝死亡因素的探究[J]. *海洋科学*, 2016, 40(11): 91-98.
Liu C, Wu F C, Lin S H, et al. Pilot study on reasons for yesso scallop's (*Patinopecten yessoensis*) survival after heat shock[J]. *Marine Sciences*, 2016, 40(11): 91-98.
- [13] 张景晓, 李琪, 徐成勋. 长牡蛎‘海大1号’生长性状的遗传参数评估[J]. *中国水产科学*, 2018, 25(5): 998-1003.
Zhang J X, Li Q, Xu C X. Estimates of genetic parameters of growth-related traits in *Crassostrea gigas* ‘Haida No. 1’[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2018, 25(5): 998-1003.
- [14] Xu F, Guo X, Li L, et al. Effects of salinity on larvae of the oysters *Crassostrea ariakensis*, *C. sikamea* and the hybrid cross[J]. *Marine Biology Research*, 2011, 7(8): 796-803.
- [15] 滕爽爽, 李琪, 李金蓉. 长牡蛎(*Crassostrea gigas*)与熊本牡蛎(*C. sikamea*)杂交的受精细胞学观察及子一代的生长比较[J]. *海洋与湖沼*, 2014, 41(6): 914-922.
Teng S S, Li Q, Li J R. Cytological observations of nuclear behavior and comparative growth of the hybrids between *crassostrea gigas* and *C. sikamea*[J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2014, 41(6): 914-922.
- [16] Wu X W, Zhang Y H, Xiao S, et al. Comparative studies of the growth, survival, and reproduction of diploid and triploid *Kumamoto oyster*, *Crassostrea sikamea*[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2019, 50(4): 866-877.
- [17] 苏家齐, 王昭萍, 张跃环, 等. 葡萄牙牡蛎与熊本牡蛎种间配子亲和力和合子育性分析[J]. *水产学报*, 2015, 39(3): 353-360.
Su J Q, Wang Z P, Zhang Y H, et al. Analysis of gamete compatibility and zygote fertility for *Crassostrea angulata* and *Crassostrea sikamea*[J]. *Journal of Fisheries of China* 2015, 39(3): 353-360.
- [18] 张跃环, 王昭萍, 闫喜武, 等. 太平洋牡蛎与近江牡蛎的种间杂交[J]. *水产学报*, 2012, 36(8): 1215-1224.
Zhang Y H, Wang Z P, Yan X W, et al. Interspecific hybridization between *Crassostrea gigas* and *C. ariakensis*[J]. *Journal of Fisheries of China* 2012, 36(8): 1215-1224.
- [19] Di Meo S, Reed T T, Venditti P, et al. Role of ROS and RNS Sources in Physiological and Pathological Conditions[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 2016: 44.
- [20] Nash S, Johnstone J, Rahman M S. Elevated temperature attenuates ovarian functions and induces apoptosis and oxidative stress in the American oyster, *Crassostrea virginica*: Potential mechanisms and signaling pathways[J]. *Cell Stress & Chaperones*, 2019, 24(5): 957-967.
- [21] Nagata T, Sameshima M, Uchikawa T, et al. Molecular cloning and expression of the heat shock protein 70 gene in the *Kumamoto oyster Crassostrea sikamea*[J]. *Fisheries Science*, 2017, 83(2): 273-281.
- [22] 孟广玮, 李琪, 徐成勋, 等. 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[J]. *中国水产科学*, 2019, 26(4): 738-744.
Meng G W, Li Q, Xu C X, et al. Effects of high-temperature stress on survival and five immune indicators of Pacific oyster ‘Haida No. 3’[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2019, 26(4): 738-744.
- [23] Lannig G, Flores J F, Sokolova I M. Temperature-dependent stress response in oysters, *Crassostrea virginica*: Pollution reduces temperature tolerance in oysters[J]. *Aquat Toxicol*, 2006, 79(3): 278-287.
- [24] Itou T, Iida T, Kawatsu H. Kinetics of oxygen metabolism during respiratory burst in Japanese eel neutrophils[J]. *Developmental and Comparative Immunology*, 1996, 20(5): 323-330.
- [25] Ryabchenko N I, Dzikovskaya L A, Izmet'eva O S, et al. Effects of exposure of animals to oxygen atmosphere at low pressure on lipid peroxidation and antioxidant defense[J]. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 2018, 165(5): 640-643.
- [26] Xu Z, Wang Y J, Gul Y, et al. Effects of copper supplement on the immune function and blood-chemistry in adult Chinese horse-shoe crab *Tachypleus tridentatus*[J]. *Aquaculture*, 2020, 515: 734567.
- [27] 叶继丹, 韩友文, 赵吉伟, 等. 唑乙醇对鲤肝胰脏抗氧化酶系统的影响[J]. *水产学报*, 2004, 28(3): 231-235.
Ye J D, Han Y W, Zhao J W, et al. Effects of dietary olaquindox on antioxidant enzymes system in hepatopancreas of *Cyprinus carpio*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2004, 28(3): 231-235.
- [28] 贾晨号. 载铅超细炭黑对CAT、SOD及小鼠肝细胞毒性效应与机理的研究[D]. 青岛: 山东大学, 2019.
Jia C H. Toxic Effect and Mechanism of Ultrafine Carbon Black Loaded with Lead on CAT, SOD and Mouse Hepatocytes[D]. Qingdao: Shandong University, 2019.
- [29] Ke S R, Liu Q, Yao Y H, et al. An in vitro cytotoxicities comparison of 16 priority polycyclic aromatic hydrocarbons in human pulmonary alveolar epithelial cells HPAEpiC[J]. *Toxicology Letters*, 2018, 290: 10-18.
- [30] Rahman M A, Henderson S, Miller-Ezzy P, et al. Immune response to temperature stress in three bivalve species: Pacific oyster *Cras-*

sostrea gigas, Mediterranean mussel *Mytilus galloprovincialis* and mud cockle *Katylusia rhytiphora* [J]. Fish & Shellfish Immunolo-

gy, 2018, 86: 868-874.

The Effects of High Temperature on the Immunoenzyme Activity and Heterosis of Pacific Oyster, Kumamoto Oyster and Their Hybrid

Yue Shaobo, Wang Zhaoping, Zhang Xuekai, Fan Chao, Tang Liming

(The Key Laboratory of Mariculture (Ocean University of China), Ministry of Education, Qingdao 266003, China)

Abstract: Excessive water temperature in summer will change the immune regulation system of bivalve mollusks, which is an important reason for the mass death of oysters. In this study, Pacific oyster and Kumamoto oyster were hybridized with the metamorphosis rate and survival rate of F1 generation were determined. By measuring the activity changes of catalase (CAT), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD) and total antioxidant capacity (T-AOC) under high temperature stress, the tolerance of Pacific oyster, Kumamoto oyster and their hybrid to high temperature was compared. (1) With the increase of temperature, the changes of CAT activity in the coats of three oysters were negatively correlated with MDA; the CAT activity of hybrids had obvious hybrid advantage before 35 °C ($H > 0$, $hp > 1$); in 35 °C and recovery group, its performance is inferior and reaches a significant level ($H < 0$, $hp < -1$). (2) The SOD activity of SG as a whole decreased first and then increased, and reached the minimum at 35 °C treatment group, but the difference was not significant ($P < 0.05$). (3) SG's T-AOC activity showed hybridization advantages before 30 °C ($H > 0$), and hybridization disadvantages after 30 °C ($H < 0$). At 30 °C, T-AOC activity decreased significantly. High temperature has a significant impact on the immune enzyme activity of Pacific oysters, Kumamoto oysters and their hybrid, and the hybrid responds faster than their parents when the external environment changes. In this study, we preliminarily explored the immune response mechanism of oysters under high temperature stress. Our findings will provide a reference for oyster hybrid breeding.

Key words: Pacific oyster; Kumamoto oyster; high temperature; heterosis; immunity

责任编辑 朱宝象