

秦 凤,石 凉,童晓琪,等. 高温冲击对家蚕抗性相关性状的影响[J]. 江苏农业科学,2016,44(10):293–295.
doi:10.15889/j.issn.1002–1302.2016.10.083

高温冲击对家蚕抗性相关性状的影响

秦 凤,石 凉,童晓琪,张 彦,黄德辉

(安徽省农业科学院蚕桑研究所,安徽合肥 230061)

摘要:高温是影响家蚕生命活动的重要因素,直接影响家蚕体内保护酶系统中相关酶活及其经济性状的高低。对常温下家蚕经济性状进行分析,并研究高温冲击后家蚕血液中的保护酶(SOD、POD、CAT)活性。结果表明,常温下皖广三号的经济性状高于对照品种薪杭×白云,高温冲击后皖广三号的抗性相关性状均高于对照种。皖广三号体质强健、抗逆性强,对高温、多湿环境具有较好的适应性,是适于长江流域夏、秋季饲养的优良家蚕品种。

关键词:高温;家蚕;保护酶;皖广三号;抗性育种

中图分类号:S882.12 **文献标志码:**A **文章编号:**1002–1302(2016)10–0293–02

家蚕既是茧丝产业的生物基础,又是鳞翅目昆虫研究的典型模式种类^[1],同时也是开发新一代生物反应器和新型昆虫产业的材料^[2–3]。家蚕血液中存在很多酶,其中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)组成了生物体内的保护酶体系^[4–5]。已有研究表明,这3种酶均与家蚕的免疫能力、抗逆性有关^[6–7]。

为明确家蚕机体在高温、多湿等环境中的生理反应,调查高温饲养环境中家蚕的生命力和产茧量性状成绩,并对笔者所在研究所保育家蚕品种的SOD、CAT、POD活性进行研究。分析家蚕5龄幼虫血淋巴中3种酶在不同温度下的活力差异,及其与家蚕生命力和产茧量性状的相关性,通过测定5龄幼虫血淋巴中保护酶系统中酶的活力,从而选择抗性家蚕品种育种材料。

1 材料与方法

1.1 家蚕幼虫血淋巴样品制备

供试家蚕品种为皖广三号,对照品种为薪杭×白云,二化性,正常饲养至5龄起蚕。正常食桑1d后,将上述品种各取100头,在温度为32℃及35℃、RH 95%的环境下饲养24、48、72h,剪掉腹足,每个样品收集5头幼虫的血淋巴,每个品种取3个重复独立样品,收集幼虫血淋巴。从高温处理开始,每隔24h记录家蚕的死亡头数。

1.2 家蚕血液抗氧化酶活性测定

1.2.1 酶液制备 将家蚕血液加入预冷的0.1 mol/L磷酸

缓冲液(pH值为7.0),在冰浴中匀浆,于4℃下10 000 g离心10 min,取上清液供酶活性测定用。

1.2.2 酶活性测定 酶活性测定均采用南京建成生物工程研究所生产的测定试剂盒。

SOD活性(U/mL) = $[(D_{1550\text{ nm}} - D_{2550\text{ nm}})/D_{1550\text{ nm}}]/50\% \times$ 反应体系的稀释倍数 × 样本测试前的稀释倍数。式中, $D_{1550\text{ nm}}$ 为对照管的吸光值, $D_{2550\text{ nm}}$ 为测定管的吸光值。

CAT活力(U/mL) = $(D_{1405\text{ nm}} - D_{2405\text{ nm}}) \times 271/(60 \times$ 取样量) × 样本测试前的稀释倍数。式中, $D_{1405\text{ nm}}$ 为对照管的吸光值, $D_{2405\text{ nm}}$ 为测定管的吸光值,271为斜率的倒数。

POD活力(U/mL) = $(D_{2420\text{ nm}} - D_{1420\text{ nm}})/(12 \times$ 比色直径) × 反应液总体积/样本量(mL)/反应时间 × 样本测试前的稀释倍数 × 1 000。式中, $D_{1550\text{ nm}}$ 为对照管的吸光值, $D_{2550\text{ nm}}$ 为测定管的吸光值,比色直径为1.0 cm,反应时间为30 min。

1.3 家蚕幼虫生命力与茧层率调查

该项调查与血淋巴总SOD活力检测同时进行。上述各供试家蚕品种自4龄起蚕后进行分区,每区400头,在正常条件下饲养至上簇结茧,并对每区的幼虫死亡率(幼虫期死亡头数/饲养总数 × 100%)、虫蛹率(活蛹数/饲养总数 × 100%)、茧层率(茧层量/全茧量 × 100%,分别为25头雄蚕和25头雌蚕的均值)进行统计调查。

2 结果与分析

2.1 高温冲击对家蚕血液中SOD活性的影响

不同高温胁迫下,试验品种皖广三号32、35℃(简称为WG32、WG35)及对照品种薪杭×白云32、35℃(简称为XH32、XH35)的变化幅度情况见表1。结果表明,在相同温度(32℃或35℃)胁迫下,试验品种和对照品种体内SOD的浓度基本相同,SOD活性随高温胁迫时间的延长表现为先降低、后升高。

2.2 高温冲击对家蚕血液中CAT活性的影响

由表2可知,随着高温胁迫时间的延长,对高温抵抗力较弱的品种其CAT变化幅度较小,对高温抵抗力较强的品种其CAT变化幅度较大。32℃时,WG的CAT活性变化幅度大于

收稿日期:2015–10–19

基金项目:安徽省农业科学院院长青年创新基金(编号:14B0637);现代农业产业技术体系建设专项(编号:CARS–22);安徽省长三角科技联合攻关项目(编号:1301c063013);安徽省现代农业产业技术体系蚕桑专项(编号:皖农科[2011]6号);安徽省农业科学院科技创新团队项目(编号:12C0602)。

作者简介:秦 凤(1982—),女,安徽全椒人,硕士研究生,助理研究员,主要从事家蚕遗传育种研究。Tel:(0551)62826576;E-mail:melissaqin@163.com。

通信作者:黄德辉,研究员,主要从事家蚕遗传育种研究。E-mail:Huangdehui@163.com。

表 1 高温冲击对家蚕血液 SOD 活性的影响

品种名	时间 (h)	SOD 活性(U/mL)			
		重复 1	重复 2	重复 3	平均值
WG32	24	1.871	1.877	1.858	1.869
	48	1.540	1.517	1.553	1.536
	72	1.734	1.749	1.772	1.752
XH32	24	1.789	1.852	1.860	1.834
	48	1.500	1.513	1.523	1.512
	72	1.708	1.726	1.734	1.723
WG35	24	1.628	1.639	1.625	1.631
	48	1.530	1.523	1.520	1.524
	72	1.731	1.700	1.654	1.695
XH35	24	1.822	1.808	1.825	1.819
	48	1.417	1.517	1.520	1.485
	72	1.739	1.741	1.764	1.748

表 2 高温冲击对家蚕血液 CAT 活性的影响

品种名	时间 (h)	CAT 活性(U/mL)			
		重复 1	重复 2	重复 3	平均值
WG32	24	31.843	31.933	32.068	31.948
	48	67.795	68.157	68.202	68.051
	72	37.895	37.985	38.121	38.000
XH32	24	40.605	40.560	40.198	40.454
	48	65.853	63.279	63.279	64.137
	72	43.496	43.450	43.089	43.345
WG35	24	36.946	33.604	34.959	35.170
	48	67.524	67.389	67.073	67.328
	72	39.837	36.495	37.850	38.060
XH35	24	43.360	39.656	40.244	41.087
	48	69.918	69.737	69.828	69.828
	72	42.592	38.889	39.476	40.319

XH;35℃时,试验品种的变化幅度均略大于对照品种。

2.3 高温冲击对家蚕血液中 POD 活性的影响

由表 3 可知,32℃时,试验品种在 3 个时间段的 POD 活性均高于对照品种;35℃时,随着高温胁迫时间的延长,试验品种的 POD 活性先明显增加、后维持不变,而对照品种的

POD 活性先增加、后明显低于试验品种。72 h 后,32、35℃下 WG 的 POD 活性均高于 XH。

表 3 高温冲击对家蚕血液 POD 活性的影响

品种名	时间 (h)	POD 活性(U/mL)			
		重复 1	重复 2	重复 3	平均值
WG32	24	44.667	39.222	41.889	41.926
	48	61.111	73.222	79.444	71.259
	72	59.333	55.778	60.333	58.481
XH32	24	22.000	22.444	23.111	22.519
	48	54.444	70.556	69.444	64.815
	72	43.556	46.778	49.556	46.630
WG35	24	33.667	31.111	32.333	32.370
	48	90.000	84.667	84.333	86.333
	72	79.000	91.222	86.000	85.407
XH35	24	29.222	28.778	29.000	29.000
	48	110.556	100.889	103.667	105.037
	72	50.444	42.333	40.556	44.444

2.4 高温冲击对家蚕生命率的影响

高温冲击对家蚕生命率的影响见表 4。高温胁迫 24 h 后,32、35℃下皖广三号和薪杭×白云品种均无死蚕。高温胁迫 48 h 后,32℃下皖广三号和薪杭×白云均无死蚕,35℃下皖广三号、薪杭×白云的死蚕数分别为 1、3 条。高温胁迫 72 h 后,32℃下皖广三号、薪杭×白云的死蚕数分别为 2、4 条,35℃下皖广三号、薪杭×白云的死蚕数分别为 3、7 条。结果表明,皖广三号的死笼率低于薪杭×白云。

表 4 高温冲击对家蚕生命率的影响

时间 (h)	死蚕数(条)			
	WG32	XH32	WG35	XH35
24	0	0	0	0
48	0	0	1	3
72	2	4	3	7

2.5 常温环境饲养家蚕的经济性状

由表 5 可知,常温环境饲养皖广三号的 5 龄经过、全龄经过均短于对照品种,各项经济指标均高于对照品种。

表 5 家蚕经济性状

品种名 (杂交型式)	饲养成绩								万蚕收茧量		万蚕茧层量	
	龄期经过		4 龄起蚕生命率			茧质						
	5 龄	全龄	结茧率 (%)	死笼率 (%)	虫蛹率 (%)	全茧量 (g)	茧层量 (g)	茧层率 (%)	实数 (kg)	指数 (%)	实数 (kg)	指数 (%)
皖广三号正	7 d	21 d 7 h	92.21	3.67	88.85	1.68	0.361	21.48	15.41	3.308		
皖广三号反	7 d	21 d 7 h	90.86	4.60	86.69	1.62	0.348	21.46	14.77	3.169		
平均	7 d	21 d 7 h	91.54	4.14	87.77	1.65	0.354	21.47	15.09	113.45	3.238	114.90
薪杭×白云	7 d 17 h	22 d	83.84	6.72	78.20	1.58	0.352	22.21	13.53	3.006		
白云×薪杭	7 d 17 h	22 d	79.79	7.31	73.97	1.53	0.309	20.12	13.06	2.629		
平均	7 d 17 h	22 d	81.82	7.02	76.08	1.56	0.330	21.16	13.30	100.00	2.818	100.00

3 结论与讨论

高温冲击对家蚕的生长发育有很大影响,可导致家蚕抗病能力和抗逆性下降,并直接造成经济损失。研究家蚕的抗高温机理,培育出强健好养的抗性品种是蚕桑产业的迫切需求。皖广三号是 2014 年 12 月通过安徽省家蚕品种审定的新品种。本研究结果表明,皖广三号体内保护酶系统的酶活性

均高于对照品种薪杭×白云,且其饲养成绩、经济性状均优于对照品种。皖广三号体质强健,抗逆性强,对高温及多湿环境、粗放型饲养具有较好的适应性,是适于长江流域夏、秋季饲养的优良品种。

参考文献:

[1] 庄兰芳. 家蚕转基因载体元件的结构优化及在基因功能分析中

张 玲,蒋春茂,段修军,等. 藏鸡高原种蛋在低海拔条件下的孵化效果[J]. 江苏农业科学,2016,44(10):295-297.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.10.084

藏鸡高原种蛋在低海拔条件下的孵化效果

张 玲,蒋春茂,段修军,杨晓志,秦豪荣,刘 丹

(江苏农牧科技职业学院,江苏泰州 225300)

摘要:将高原地区藏鸡种蛋运输到低海拔地区进行人工孵化。结果表明,在较好的孵化条件下,可以获得不错的孵化效果,受精蛋孵化率平均为 85.33%,健雏率平均为 91.77%,初生体质量平均为 31.21 g;其中平均蛋质量 43.25 g、蛋形指数 1.32 的第 2 组受精蛋孵化率最高,为 90.52%,高出平均数 5.19 百分点,分别比第 1、3 组高 13.11%、2.47 百分点,入孵蛋孵化率和健雏率也表现出同样的趋势。

关键词:藏鸡;种蛋;孵化效果;低海拔

中图分类号: S831.3⁺2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)10-0295-03

藏鸡是藏族农牧民经过长期驯养的高原原始地方鸡种,虽然生长缓慢,但具有耐粗饲、抗病力强、肉味美、蛋营养价值高、具观赏性等独特的种质特性,深得各地人民的喜爱。藏母鸡就巢性强,产区每年 5—8 月为孵化季节,多采用自然孵化方式繁殖^[1]。为了增强对藏鸡的保护和利用,扩大饲养规模,进行商品化生产,李长春等开展了高原条件下藏鸡人工孵化的研究,受精蛋孵化率可达 88.9%^[2]。但西藏高原海拔高、空气稀薄、氧分压低,因此种蛋的孵化环境和藏鸡的生存环境与平原地区还是有一定的差异。因此,本试验通过从西藏地区引进高原种蛋在低海拔条件下(泰州)进行人工孵化,研究蛋质量、蛋形指数等种蛋品质和孵化条件对孵化效果的影响,探讨低海拔地区藏鸡孵化的规律,为今后低海拔地区藏鸡的育种工作提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 种蛋来源

集中利用 3 d 的时间从西藏地区农牧民的藏鸡养殖场收集种蛋 2 200 枚,并在 1 d 内采用报纸包裹,放置蛋托后用种蛋运输箱包装,经 5 h 汽车运送到拉萨机场,经 6 h 飞机抵达南京,然后再由汽车运输 3 h 到达试验场所(江苏现代畜牧科技园内),于 12℃ 蛋库内贮存 1 d 后准备入孵。为了确保出雏数量,提高孵化率,剔除破损蛋和明显不合格种蛋 340 枚,本次试验用于孵化的藏鸡种蛋共 1 860 枚。

收稿日期:2015-08-11

基金项目:江苏省泰州市科技支撑项目(编号:TN201326)。

作者简介:张 玲(1977—),女,江苏泰兴人,硕士,副教授,从事家禽生产方向的教学与科研。E-mail:alingzh@163.com。

的应用研究[J]. 杭州:浙江大学,2011.

[2] 吴小锋,徐俊良,崔为正. 家蚕血液过氧化氢酶活力及其与蚕体抗逆性的关系[J]. 昆虫学报,1998,41(2):124-129.

[3] 陈 萍,朱 勇,鲁 成. 家蚕血液过氧化氢酶遗传性及其与经济性状相关性研究[J]. 西南农业大学学报,1999,21(6):263-265.

[4] 韩益飞,徐世清,张爱萍,等. 高温对家蚕血液和肠液几种酶活性的影响[C]. 中国蚕学会第七次全国代表大会论文集,2003:

1.2 孵化设备

人工孵化是在家禽生产实训中心的孵化场进行的,孵化设备为安徽省蚌埠市东宇电子有限公司生产的“三诚”牌全信息电脑模糊控制孵化机和出雏机,控温控湿、翻蛋、加湿和报警全部自动化,孵化中的测量用具主要有照蛋器、电子台秤和游标卡尺。

1.3 孵化方法

1.3.1 种蛋分组 用电子台秤对入孵的 1 860 枚种蛋逐一称量,计算出平均蛋体质量,将蛋体质量小于 40 g 的分为第 1 组,蛋体质量大于等于 40 g 小于 50 g 的分为第 2 组,蛋体质量大于等于 50 g 的分为第 3 组。测量每组种蛋的蛋形指数,计算平均值。

1.3.2 种蛋入孵 试验于 2014 年 4 月 26 日至 5 月 17 日进行。先将藏鸡种蛋从蛋库移至孵化室内预温,然后码孵化盘、装蛋架车、入孵化机,接着每立方米空间采用 1 g 三氯异氰尿酸(烟雾弹)按比例加入助燃剂进行熏蒸消毒 1 h,通风 30 min 后开始孵化。

1.3.3 孵化条件 孵化温度:1~5 d 为 38.3℃,6~12 d 为 38.1℃,13~18 d 为 37.5℃,19~21 d 为 37.2℃;孵化湿度:1~7 d 为 60%~65%,8~18 d 为 55%~60%,19~21 d 为 65%~70%;设定风门:1~2 d 为 0,3~7 d 为 1~3,8~18 d 为 4~5,19~21 d 为 6~7;翻蛋:自动翻蛋,一般每隔 2 h 翻蛋 1 次,前俯后仰各 45°。

1.3.4 照蛋检查 孵化期间,除了查看孵化机门表设定和显示的温度、湿度、风门、翻蛋次数外,还定时透过玻璃门观察机器内干湿球温度计实际显示的温度和湿度,并记录数据。孵化第 5 天进行头照,检查种蛋的受精情况,剔除无精蛋、裂纹蛋和死精蛋;第 10 天进行抽验,进一步剔除死胎蛋,观察胚胎

117-119.

[5] 柴连琴,宋 敏,张 丽. 高温诱导对家蚕血淋巴的影响[J]. 安徽农业科学,2009,35(19):9000-9001,9008.

[6] 郑 茜,李庆荣,肖 阳,等. 家蚕耐热机理研究进展[J]. 广东蚕业,2012,46(1):40-43.

[7] 袁燕萍,赵林川,魏广卫,等. 家蚕品种 7532 和大造在高温冲击下中肠抗氧化酶活性的变化[J]. 蚕业科学,2010,36(4):692-696.