

杨伟克,唐芬芬,刘增虎,等. 高温和低温条件下琥珀蚕血淋巴 SOD 及 CAT 活性的变化[J]. 江苏农业科学,2017,45(1):153-155.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.01.043

高温和低温条件下琥珀蚕血淋巴 SOD 及 CAT 活性的变化

杨伟克, 唐芬芬, 刘增虎, 董占鹏, 钟 健

(云南省农业科学院蚕桑蜜蜂研究所, 云南蒙自 661101)

摘要:为研究琥珀蚕在高温和低温胁迫条件下,血淋巴超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)的活性变化规律。对 5 龄琥珀蚕第 3 天幼虫分别进行 38 ℃ 高温和 4 ℃ 低温胁迫处理 3 h,以室温 26 ℃ 饲养作对照,在处理停止后 0、3、6、9、12 h 取血淋巴,测定 SOD 和 CAT 的活性变化。结果表明:38 ℃ 高温处理,引起琥珀蚕血淋巴 SOD 和 CAT 活性均呈现出先升高后降低趋势,在处理停止后 3 h 分别达到 1 个峰值 86.30 U/mL 和 108.15 U/mL,随后逐渐减弱,最终与对照组持平。4 ℃ 低温胁迫,SOD 活性也是在处理停止后 3 h 出现 1 个峰值 59.30 U/mL,随即开始逐渐减弱,在 12 h 接近对照组;而 CAT 酶活性先下降,并低于对照,在 3 h 出现 1 个最低值 11.09 U/mL,随后开始升高,在 6 h 达到 1 个峰值 88.68 U/mL,随后再逐渐下降并接近对照。

关键词:琥珀蚕;血淋巴;低温处理;高温处理;超氧化物歧化酶;过氧化氢酶

中图分类号:S885.9;S881.2⁺1 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2017)01-0153-02

琥珀蚕 (*Antheraea assamensis*) 属鳞翅目 (Lepidoptera) 大蚕蛾科 (Saturniidae) 柞蚕属 (*Antheraea*) 的绢丝昆虫,是一种珍贵的野蚕资源,主要分布在印度东北部和印缅边境地区,印度人称其为姆珈蚕 (muga silkworm)^[1-2]。在印度,琥珀蚕未被完全驯化,目前还不能完全在室内饲养,只能在野外放养^[3]。云南省农业科学院蚕桑蜜蜂研究所于 2006 年在云南发现琥珀蚕,并对云南野生琥珀蚕进行人工驯化饲养,经过几年的探索,成功实现了琥珀蚕的室内驯化饲养,并对其形态特征、生物学特性及人工驯养关键技术作了相应的研究^[4]。

目前对琥珀蚕的研究主要集中在生物学特征、饲养技术及茧丝性能和蚕丝蛋白等方面,至今还未见有关逆境条件下,琥珀蚕保护酶活性变化及生理生化特性的研究报道。本研究人工模拟逆境环境,对琥珀蚕 5 龄第 3 天幼虫分别进行高温和低温处理,测定其在高温和低温条件下 SOD 和 CAT 的活性变化,解析高温和低温对琥珀蚕生理生化影响的内在机理,为后续培育琥珀蚕抗逆新品种提供生理生化鉴定参考指标。

1 材料与方法

1.1 试验材料

琥珀蚕幼虫,由云南省农业科学院蚕桑蜜蜂研究所提供,在室内 26 ℃ 饲养至 5 龄第 3 天。

收稿日期:2015-12-11

基金项目:云南省农业科学院蚕桑蜜蜂研究所青年创新基金(编号:QC2015002);云南省优秀团队建设培育及科研超前预研基金(编号:YAAS2014YY032)。

作者简介:杨伟克(1985—),男,河南许昌人,硕士,助理研究员,主要从事野蚕资源的收集及利用。E-mail:WKSUN1985@163.com。

通信作者:钟 健,副研究员,主要从事野蚕资源的保护利用。E-mail:autment@163.com。

1.2 试验方法

试验分为 3 组:高温处理组、低温处理组与对照组。选择体型大小相近的 5 龄第 3 天琥珀蚕幼虫,分别置于 38 ℃ 高温和 4 ℃ 低温条件下冲击 3 h,以室温 26 ℃ 正常饲养为对照。

取样方法:分别取高温和低温冲击后 0、3、6、9、12 h 琥珀蚕幼虫,用脱脂棉蘸取 75% 乙醇进行体表消毒、晾干,冰上取已用 75% 乙醇消毒过的 2 号昆虫针刺其腹足,挤压虫体使血淋巴流出,收集到预先加有苯基硫脲的 5 mL 离心管中,4 ℃ 条件下,8 000 r/min 离心 5~8 min,收集上清液,用于酶活测定。每 5 头蚕的血淋巴收集到 1 个离心管为 1 个重复,每次取样均设 3 个重复,对照组同时取材。

1.3 主要试剂及仪器

SOD 测试盒和 CAT 测试盒(江苏南京建成生物科技有限公司);冰醋酸(上海联试化工);Thermo Scientific BioMate 3S 紫外可见分光光度计(美国)。

1.4 血淋巴保护酶活性测定

1.4.1 超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定 按照 SOD 测定试剂盒操作。其原理是通过黄嘌呤及黄嘌呤氧化酶反应系统产生超氧阴离子自由基($O_2^{\cdot-}$),后者经氧化羟胺形成亚硝酸盐,在显色剂的作用下呈现紫红色,用可见分光光度计于波长 550 nm 处测其吸光度。当被测样品中含 SOD 时,则对超氧阴离子自由基有专一性的抑制作用,使形成的亚硝酸盐减少,比色时测定管的吸光度低于对照管的吸光度,通过公式计算可求出被测样品中的 SOD 活力。酶活定义:1 mL 反应液中 SOD 抑制率达 50% 时所对应的 SOD 量为 1 个 SOD 活力单位(U)。计算公式:总 SOD 活力(U/mL) = $(D_1 - D_2) \div D_1 \div 50\% \times$ 反应体系稀释倍数 \times 样本测试前的稀释倍数。式中: D_1 指对照管的吸光度; D_2 指测定管的吸光度。

1.4.2 过氧化氢酶(CAT)活性的测定 参照 CAT 测定试剂盒操作。其原理是:过氧化氢酶(CAT)能分解 H_2O_2 生成

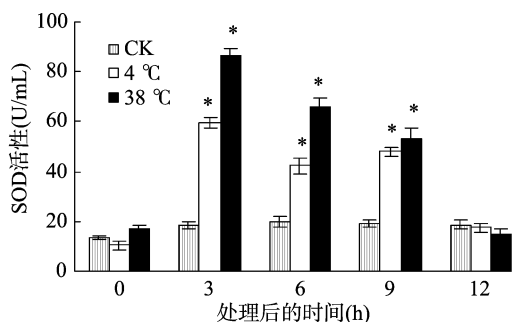
H₂O 和 O₂, 反应可通过加入钼酸铵而迅速中止, 剩余 H₂O₂ 与钼酸铵作用产生一种淡黄色的络合物, 在 405 nm 处测定其变化量, 可计算 CAT 活力。酶活定义: 1 mL 样品 1 s 分解 1 μmol H₂O₂ 的量为 1 个活力单位。计算公式: 样品 CAT 活力 (U/mL) = (D₁ - D₂) × 271 × [1/(60 × 取样量)] × 样本测试前稀释倍数。式中: D₁ 指对照管的吸光度; D₂ 指测定管的吸光度; 271 为斜率的倒数; 60 为反应时间 60 s。

1.4.3 数据处理及分析 采用 Excel 2003 进行数据处理及作图, 同时利用 SPSS 13.0 进行统计学分析。

2 结果与分析

2.1 高温和低温处理琥珀蚕血淋巴 SOD 活性变化

经高温 38 °C 和低温 4 °C 处理后, 在测定的时间范围内, 与对照组相比, 琥珀蚕血淋巴 SOD 活性均是先升高, 在 3 h 达到 1 个峰值, 随后逐渐减弱。其中 38 °C 高温处理停止后, SOD 活性上升较快, 上升幅度也比较大; 而低温 4 °C 处理停止后, SOD 活性上升幅度相对较弱 (图 1)。



* 表示低温(4 °C)或高温(38 °C)处理组与对照组 (CK) 存在显著差异 (t 检验, $P < 0.05$)。下图同

图1 4 °C和38 °C胁迫对琥珀蚕血淋巴 CAT 活性的影响

2.2 高温和低温处理琥珀蚕血淋巴 CAT 活性变化

由图 2 可以看出, 高温 38 °C 和低温 4 °C 均能引起琥珀蚕血淋巴过氧化氢酶 CAT 活性升高。其中 38 °C 高温处理停止后, CAT 酶活性在 3 h 达到 1 个峰值 (最高值达到 108.15 U/mL), 随后开始逐渐减弱, 在 12 h 接近对照。而 4 °C 低温处理停止后, CAT 酶活性在 3 h 出现降低, 并低于对照, 随后开始逐渐升高, 在 6 h 达到 1 个峰值 (最高值 88.68 U/mL), 然后再逐渐降低至接近对照。

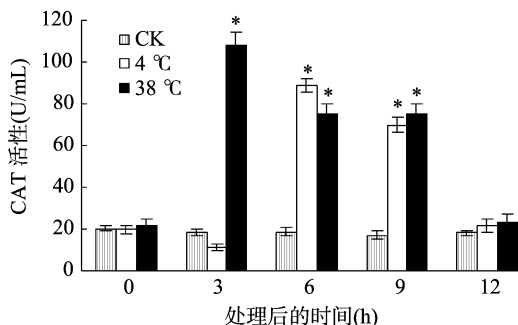


图2 4 °C和38 °C胁迫对琥珀蚕血淋巴 SOD 活性的影响

3 结论与讨论

超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD) 和过氧化氢

酶 (catalase, CAT) 是昆虫体内重要的 2 种保护酶^[5], 两者在维护生物体内自由基代谢平衡过程中发挥了重要的作用, 并在一定程度上影响生物的抗逆能力^[6-7]。CAT 的主要功能是参与活性氧代谢过程, 它可以催化 H₂O₂ 分解为 H₂O 和 O₂, 避免羟自由基的产生, 防止其进一步氧化而破坏生物大分子^[8]。SOD 能催化超氧阴离子自由基发生歧化反应, 将其歧化为 H₂O₂ 和 O₂, H₂O₂ 再经过 CAT 作用转化为水和氧气, 从而达到清除超氧阴离子自由基的目的, 维持细胞和机体的正常生理活动^[9]。

在对家蚕和柞蚕等的研究表明, 高温或低温胁迫均能引起蚕体自由基的过量积累, 而蚕体内的 SOD 和 CAT 在清除自由基过程中发挥了重要作用^[10-12]。夏润玺等测定了低温和高温条件下, 柞蚕血淋巴 CAT 活性变化, 研究结果表明, 4 °C 低温处理柞蚕, 其血淋巴 CAT 活性先下降, 然后持续升高, 并高于对照, 处理时间越长, CAT 上升幅度越大; 用高温 40、43、46 °C 分别处理柞蚕幼虫, 均能引起柞蚕血淋巴 CAT 活性升高^[10-11]。袁燕萍等比较了高温 36 °C 冲击对家蚕抗氧化酶活性的影响, 结果表明, 高温冲击 48 ~ 72 h, 5 龄家蚕幼虫中肠组织 SOD 和 CAT 活性均有一定程度的升高, 并且随冲击时间的延长其活性显著增加^[12]。另外, 吴蕾等研究了温度、光照周期和光照波长等环境因子对农业害虫西藏飞蝗抗氧化酶活性的影响, 结果表明, 在低温处理下, SOD 和 CAT 活性随温度的降低均出现升高趋势, 在 5 °C 条件下, 均显著高于对照; 在高温胁迫下, 各部位的 SOD 和 CAT 活性均呈现先升高后降低的现象, 超过 35 °C 后两者的活性呈现下降趋势, 当温度升高到 45 °C 时, SOD 和 CAT 活性均低于对照^[13]。

室内饲养琥珀蚕幼虫的最适温度为 26 ~ 32 °C, 温度过高或过低均不利于琥珀蚕幼虫的生长发育, 甚至造成死亡^[14]。本研究结果表明, 琥珀蚕在 38 °C 高温处理停止后, 相对于 26 °C 饲养的对照组, SOD 和 CAT 活性均呈现出先升高的趋势, 达到 1 个峰值, 随后逐渐减弱, 最终与对照组持平。在测定的时间范围内, SOD 与 CAT 活性上升幅度均高于低温 4 °C 处理组。这暗示 38 °C 高温胁迫诱导蚕体产生的自由基可能高于低温 4 °C 处理组, 自由基浓度的持续升高, 进一步引起保护酶 SOD 和 CAT 的活性升高。

低温 4 °C 刺激停止后, 琥珀蚕血淋巴 SOD 也是先出现上升趋势, 随着时间的推移, 逐渐下降, 最终恢复到对照组酶活水平; 而 CAT 活性先出现急剧下降, 随后升高达到 1 个峰值后, 再逐渐减弱, 在 12 h 时接近对照。4 °C 低温刺激琥珀蚕, 其 CAT 酶活先出现下降趋势, 分析认为很有可能是低温 4 °C 胁迫导致琥珀蚕机体自身营养代谢水平减弱甚至短暂失调, 在一定程度上阻碍了 CAT 的合成。

本研究结果显示: 高温 38 °C 和低温 4 °C 胁迫均能引起琥珀蚕血淋巴 SOD 和 CAT 活性在一定时间范围内出现先上升后减弱的趋势。保护酶 SOD 和 CAT 起清除自由基的作用, 其活性随着自由基浓度的变化而变化^[6]。不论是高温还是低温等逆境刺激对蚕体都会或多或少造成一定的损伤, 打破正常的生理活动, 引发蚕体产生过量自由基。在这种情况下, 蚕体需要大量保护酶用来清除过量的自由基, 维持机体正常的生命代谢活动。随着时间的推移, 蚕体生理机能逐渐趋于正常, 产生的自由基浓度逐渐降低, 保护酶活性也开始下降,

钟鸿干,马 军,姜芳燕,等. 2 种养殖模式下斑石鲷肌肉营养成分及品质的比较[J]. 江苏农业科学,2017,45(1):155-158.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2017.01.044

2 种养殖模式下斑石鲷肌肉营养成分及品质的比较

钟鸿干¹, 马 军², 姜芳燕², 张 旭¹, 陈 燕², 黄 海²

(1. 海南省三亚市海洋与渔业监测中心, 海南三亚 572000; 2. 海南热带海洋学院, 海南三亚 572000)

摘要:比较分析网箱和水泥池 2 种不同养殖模式对斑石鲷肌肉营养成分和营养品质的影响。结果显示, 2 种养殖模式对斑石鲷肌肉水分、粗蛋白质、粗灰分含量均无显著性影响, 而对肌肉粗脂肪、总碳水化合物的含量存在显著性影响。网箱养殖斑石鲷的肌肉呈味氨基酸总量及 Ca、P 含量均显著高于水泥池养殖斑石鲷, 但其他氨基酸含量和矿物质含量在二者间无显著性差异。2 种养殖模式下斑石鲷的肌肉 EAAI 均约为 79.00, 符合 FAO/WHO 的理想模式。在品质方面, 2 种养殖模式对斑石鲷肌肉咀嚼性、硬度、胶黏性的影响差异显著, 而对肌肉弹性和内聚性无显著性影响。本研究表明, 网箱养殖斑石鲷的肌肉具有高粗蛋白质含量、高谷氨酸含量、高必需氨基酸总量、高呈味氨基酸总量、低脂肪含量的优点, 同时具有较好的肌肉质构和鱼肉硬度特点, 该模式养殖斑石鲷优于水泥池养殖。

关键词:斑石鲷; 网箱养殖; 水泥池养殖; 营养成分; 质构分析

中图分类号: S965.231 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2017)01-0155-04

斑石鲷 (*Oplegnathus punctatus*) 为石鲷科 (Oplegnathidae) 石鲷属 (*Oplegnathus*) 鱼类, 别称黑金鼓、斑鲷。斑石鲷体呈黑褐色, 有不规则黑斑, 广泛分布于朝鲜、日本和我国台湾岛以及南海、东海、黄海等海域, 属于热带鱼类^[1]。斑石鲷在自然海域中资源稀少, 没有明显的盛鱼期, 但其营养价值和药用价值极高, 肉质细腻、胶原蛋白丰富、口感独特, 在日本料理中享有“刺

身绝品”之誉, 是一种养殖前景广阔的优良经济鱼类^[2]。

目前, 国内斑石鲷养殖相对较少, 仅个别省市有人工养殖斑石鲷的报道^[2]。人工养殖改变了鱼类的食物组成, 导致鱼类的生活方式发生变化^[3], 因此与野生鱼相比, 养殖鱼的肌肉纹理较松软、风味较淡^[4], 严重影响口感及品质。本研究比较分析了网箱养殖和水泥池养殖 2 种不同养殖模式下斑石鲷肌肉营养成分和品质的差异, 旨在了解斑石鲷肌肉营养成分与养殖模式、环境的关系, 以期优化饲料营养调控和改善养殖斑石鲷品质提供依据。

1 材料与方法

1.1 试验用鱼

在网箱和水泥池 2 种养殖模式下, 各随机抽取 12 尾健康

收稿日期: 2016-02-02

基金项目: 海南省自然科学基金面上项目 (编号: 20163156); 海南省三亚市科研试制专项 (编号: 2015KS02, 2015KS05)。

作者简介: 钟鸿干 (1971—), 男, 海南三亚人, 高级工程师, 从事水产养殖研究。Tel: (0898)88256935; E-mail: 1730016775@qq.com。

通信作者: 黄 海, 博士, 研究员, 主要从事水产养殖研究。E-mail: huanghai74@126.com。

两者最终维持一个动态平衡。

参考文献:

- [1] Hugon T, Jenkins F. Remarks on the silk worms and silks of Assam [J]. J Asiatic Soc Bengal, 1837, 6: 21-38.
- [2] Sarmah M C, Rahman S, Barah A. Traditional practices and terminologies in Muga and Eri culture [J]. Indian Journal of Traditional Knowledge, 2010, 9(3): 448-452.
- [3] Tikader A, Vijayan K, Saratchandra B. Muga silkworm, *Antheraea assamensis* (Lepidoptera: Saturniidae) - an overview of distribution, biology and breeding [J]. European Journal of Entomology, 2013, 110(2): 293-300.
- [4] 钟 健, 董占鹏, 江秀均, 等. 琥珀蚕的生物学特性 [J]. 应用昆虫学报, 2013, 50(3): 800-806.
- [5] Felton G W, Summers C B. Antioxidant systems in insect [J]. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 1995, 29(2): 187-197.
- [6] 方允中, 郑荣梁. 自由基生物学的理论与应用 [M]. 北京: 科学出版社, 2002: 231-238.
- [7] Lesser M P. Oxidative stress in Marine environments: biochemistry

and physiological ecology [J]. Annual Review of Physiology, 2006, 68(1): 253-278.

- [8] Zhao Lin Chuan, Shi Liang En. Metabolism of hydrogen peroxide in univoltine and polyvoltine strains of silkworm (*Bombyx mori*) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 2009, 152(4): 339-345.
- [9] Wang Y, Oberley L W, Murhammer D W. Antioxidant defense systems of two Lepidopteran insect cell lines [J]. Free Radical Biology & Medicine, 2001, 30(11): 1254-1262.
- [10] 夏润玺, 李健男, 曹慧颖, 等. 低温条件下柞蚕血淋巴过氧化氢酶 (CAT) 活性的变化 [J]. 沈阳农业大学学报, 2002, 33(4): 278-280.
- [11] 夏润玺, 曹慧颖, 刘 限, 等. 高温条件下柞蚕血淋巴过氧化氢酶活性的变化 [J]. 蚕业科学, 2009, 35(2): 415-417.
- [12] 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.
- [13] 吴 蕾. 环境胁迫对西藏飞蝗成虫取食生长和抗氧化酶系统的影响 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2010: 1-71.
- [14] 钟 健. 琥珀蚕的生物学特性及人工驯养关键技术研究 [D]. 北京: 中国农业科学院, 2011: 1-53.