许 荟,许志强,唐建清,等. 干旱胁迫对克氏原螯虾亲虾生长、抗氧化能力及生殖相关指标的影响[J]. 江苏农业科学,2022,50(6):143-148. doi:10.15889/j. issn. 1002-1302.2022.06.024

干旱胁迫对克氏原螯虾亲虾生长、抗氧化能力 及生殖相关指标的影响

许 荟1, 许志强2, 唐建清2, 黄亚红1

(1. 南京大学生命科学学院,江苏南京 210023; 2. 江苏省淡水水产研究所,江苏南京 210017)

摘要:为研究干旱胁迫同步化育苗对生殖期克氏原螯虾的生长、抗氧化能力和生殖相关指标的影响,本研究检测了性成熟克氏原螯虾在干旱胁迫下,5、10 d 时亲虾及最后获得的抱卵虾生长相关指标(丰满度、营养度)、生殖相关指标(性腺指数、相对繁殖力)、肝胰腺、性腺和肌肉蛋白含量,免疫相关酶(超氧化物歧化酶、过氧化氢酶、溶菌酶、酸性磷酸酶、碱性磷酸酶)活性,抱卵虾的抱卵指数、卵的质量、数量和营养物含量(葡萄糖、甘油三酯、总胆固醇)。结果表明,干旱对克氏原螯虾生长的影响不显著(P > 0.05);试验组的克氏原螯虾肝胰腺中酸性磷酸酶活力及性腺中超氧化物歧化酶的活力均显著低于对照组(P < 0.05),肌肉中超氧化物歧化酶和碱性磷酸酶活力均显著高于对照组(P < 0.05),浓菌酶活性显著高于对照组(P < 0.05);试验组抱卵虾的肝胰腺总蛋白含量及肌肉中过氧化氢酶活力均显著低于对照组(P < 0.05),溶菌酶活性显著高于对照组(P < 0.05);受干旱胁迫后,克氏原螯虾卵的甘油三酯含量显著降低(P < 0.05)。由此可知,短期干旱胁迫对克氏原螯虾的生长并没有明显影响,但显著影响了其体内免疫相关酶活力及卵的营养水平。

关键词:克氏原螯虾;干旱胁迫;生长;繁殖;酶活性

中图分类号:S966.12 文献标志码: A 文章编号:1002-1302(2022)06-0143-06

克氏原螯虾(Procambarus clarkii)隶属于节肢动物门软甲纲十足目螯虾科原螯虾属,原产于美洲,20世纪时经日本传入我国,现已成为国内重要的淡水经济虾类。据测算,2019年克氏原螯虾全国总产值高达约4110亿元^[1],整体呈快速增长趋势。随着国内克氏原螯虾养殖面积的迅猛发展,对优质虾苗的需求量也迅速增加,优质苗种供不应求。目前,克氏原螯虾的繁育主要以土池繁育为主,由亲虾在

虾塘内自行交配繁殖。该方式对土池生态环境依赖较大,实际繁育时,亲虾交配、产卵的时间较迟,且由于水温偏低,克氏原螯虾的胚胎发育速度比较慢^[2],通常要到第二年开春后才能批量出苗,因而到5—6月才能成熟上市^[3]。因此,年后3、4月无足够成虾供应,而6月成品虾集中上市又供大于求,直接影响克氏原螯虾养殖业的经济效益。

人工手段可以调控克氏原螯虾的生长和繁育。研究者提出了多种方法,以改进克氏原螯虾的繁育技术。徐加元等研究了光周期对克氏原螯虾性腺发育的影响,发现改变光周期可影响克氏原螯虾的生活和生殖行为^[4];Jin等研究了温度对克氏原螯虾的绝所和孵化的影响,发现克氏原螯虾孵化的最适温度为 25 ℃^[5];王庆研究了加温对克氏原螯虾抱卵行为的影响,发现冬季适度加温可刺激克氏原螯虾

- 收稿日期:2021-07-30
- 基金项目:江苏省农业重大新品种创制项目(编号:PZCZ201746);江 苏省克氏原螯虾产业技术体系建设专项(编号:JFRS-03)。
- 作者简介:许 荟(1995—),女,江苏南京人,硕士研究生,主要从事动物学的研究。E-mail;505576242vi@sina.com。
- 通信作者:黄亚红,博士,副教授,主要从事动物学的研究。E-mail: hyh518@ nju. edu. cn。
- [15] Dégremont L, Bédier E, Soletchnik P, et al. Relative importance of family, site, and field placement timing on survival, growth, and yield of hatchery – produced Pacific oyster spat (*Crassostrea gigas*) [J]. Aquaculture, 2005, 249 (1/2/3/4):213 – 229.
- [16] Bautista Teruel M N, Fermin A C, Koshio S S. Diet development and evaluation for juvenile abalone, *Haliotis asinina*: Animal and plant protein sources[J]. Aquaculture, 2003, 219 (1/2/3/4): 645-653.
- [17] 周歧存,麦康森,谭北平. 维生素 A 对皱纹盘鲍幼鲍生长、存活及体成分的影响[J]. 中国水产科学,2000,7(1):118-120.

.

- [18] 周歧存,麦康森,谭北平. 维生素 A 对皱纹盘鲍幼鲍生长、存活及体成分的影响[J]. 中国水产科学,2000,7(1):118-120.
- [19] 陈胜军,刘先进,杨贤庆,等. 不同产地鲍鱼特征元素分析与主成分评价模型的建立[J]. 渔业科学进展,2019,40(2):83-90.
- [20]刘艳青. 皱纹盘鲍地域及季节性差异分析及内脏磷脂减肥活性研究[D]. 青岛:中国海洋大学,2013.

的抱卵行为^[6];孙瑞杰研究了 17α – 羟孕酮的 3 种施加法和不同去除眼柄法对克氏原螯虾卵巢同步化发育的影响,发现去除眼柄可加速克氏原螯虾的性成熟,同时外源激素也可促使克氏原螯虾卵巢同步化发育^[7]。

克氏原螯虾养殖业迫切希望能提前育苗错峰 上市,以提高产业收益。刘伟杰等研究发现采用降 低育苗池水位的方法能同步化培育克氏原螯虾苗 种,可在短期内获得大量虾苗[8]。徐宇等发现干塘 胁迫亲虾穴居交配,可促使克氏原螯虾提前抱 卵[9]。朱凛等也证实,使用干旱胁迫方法,可使克 氏原螯虾在第一年的秋季即完成抱卵和孵化,年前 即可投放苗种进行培育,实现错峰养殖,在第二年 3、4月,即可实现商品虾批量上市[10]。但干旱胁迫 促进克氏原螯虾提前交配产卵,是否会影响亲虾的 生长、抗逆能力及繁殖能力,还需要进行深入探究。 本研究分别设置了不同的干旱胁迫及对照组,从生 长、营养、免疫及相对繁殖力等几个方面,比较分析 干旱胁迫过程对克氏原螯虾亲虾的影响和胁迫结 束后2组抱卵虾的差异。通过检测克氏原螯虾体内 的抗氧化酶活性,衡量克氏原螯虾对干旱逆境的抵 抗能力,从而判断胁迫处理对克氏原螯虾生长和繁 殖的影响。以期为通过干旱胁迫实现克氏原螯虾 的集中提前繁育提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料

试验用克氏原螯虾取材于江苏省淡水水产研究所克氏原螯虾繁育基地,采用随机抽样的方法,随机挑选养殖50d以上、肢体健全、性腺发育成熟、健康有活力的成虾,平均体长为(8.29±0.64)cm,平均体质量为(27.27±7.29)g/尾。

1.2 试验设计

干旱胁迫试验在 2019 年 8—10 月间于江苏省淡水水产研究所扬中基地内完成,为露天试验。试验使用的暂养池为长 1.63 m、宽 1.18 m、高 0.51 m的白色塑料池。试验过程中,环境温度为 18~30℃,试验用水为经沉淀池处理后的池塘水。试验用虾提前正常驯养 10 d,在池底用泥土堆出斜坡,投放水葫芦作隐蔽物,以提供生活和交配的环境。每个暂养池内投放雌虾和雄虾各 10 尾,每组设 6 个平行。开始干旱胁迫试验后,抽出试验组水池内水,仅保持土壤湿润,对照组的水深保持 30 cm,每天

早、晚投喂商业饲料 1 次,10 d 干旱胁迫结束后,试验组正常回水养殖。在胁迫 5、10 d 时,2 组分别随机取 10 尾雌虾测定其生长指标及其各组织的蛋白水平和酶活性。在胁迫结束 3 d 时,发现雌虾开始抱卵,各抽取 6 尾抱卵虾检测其生长指标、生殖指标、各组织的蛋白含量、酶活性,所抱卵的数目、质量、直径,免疫指标和营养指标。

1.3 试验方法

1.3.1 生长指标及生殖指标的测定 取得样品后, 用吸水纸吸干克氏原螯虾体表的水分,测量其体长 (眼柄基部至尾尖的距离)、体质量、肝胰腺、卵巢、 肌肉和卵粒的质量。卵粒的直径用游标卡尺测量, 质量由精密天平测量。

生长指标的计算公式为:

- (1) 丰满度 = $m/l^3 \times 100\%$;
- (2)营养度 = $m_h/m \times 100\%$;

生殖指标的计算公式为:

- (1)性腺指数 = $m_g/m \times 100\%$;
- (2)相对繁殖力 = n/m;

式中,m 为螯虾体质量,g;m_h 为肝胰腺质量,g;m_g 为性腺质量,g;l 为体长,cm;n 为卵粒数,粒。

1.3.2 蛋白含量及免疫相关酶活性的测定 解剖样品,分离肝胰腺、性腺、肌肉组织和卵粒,置于离心管中,-80℃保存,由南京建成生物工程有限公司检测总蛋白含量(TP)、超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、溶菌酶(LZM)、酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(AKP)活性。抱卵虾的卵巢量少,故合并为1个样品,集中于同一管检测。

TP 的检测方法为考马斯亮蓝法,SOD 的检测方法为羟胺法,CAT 的检测方法为钼酸铵法,LZM 的检测方法为比浊法,ACP 的检测方法为分光光度法,AKP 的检测方法为微量酶标法。

1.3.3 营养指标的测定 解剖样品,剪下附着卵粒的游泳足,采用镊子剥离卵粒,置于离心管中,-80℃保存,由南京建成生物工程有限公司检测葡萄糖(GLU)、甘油三酯(TG)、总胆固醇(TCH)含量。

GLU 的检测方法为微量酶标法,TG 的检测方法为 GPO - PAP 法,TCH 的检测方法为 COD - PAP 法。

1.3.4 水质指标的测定 使用 YSI 650MDS 水质测量仪对水体进行测定,测量时间为 09:00—10:00,测量指标为温度、pH 值、溶解氧、盐度。试验

过程中,水温为 17.5 ~ 26.4 ℃, pH 值为 7.82 ~ 8.07,溶解氧为 6.47 ~ 10.63 mg/L,盐度为 0.16‰ ~ 0.21‰。

因试验组暂养池中,只保持土壤湿润,没有积水,故仅监测对照组暂养池内的水环境。

1.4 数据统计

数据采用 Graphpad 8.0 进行显著性分析,以 P < 0.05 为差异显著,以 P < 0.01 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 干旱胁迫对克氏原螯虾亲虾及抱卵虾生长的影响

解剖样品后称质量,计算胁迫 5、10 d 这 2 个时间点的雌虾及抱卵虾的生长指标,即丰满度、营养度、成熟度,并计算抱卵虾的相对繁殖力,发现在试验过程中,雌虾及抱卵虾的丰满度、营养度、成熟度和相对繁殖力未表现出显著差异(P>0.05)。由表1 和表 2 可知,干旱胁迫对克氏原螯虾的生长没有显著影响。

2.2 干旱胁迫对克氏原螯虾肝胰腺的酶活性的 影响

在胁迫5、10 d时,检测克氏原螯虾肝胰腺的蛋

表 1 干旱胁迫对亲虾生长的影响

| 项目 ^肋 | 迫时间 (d) | 可 丰满度 (%) | 营养度 (%) | 成熟度 (%) |
|-----------------|------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 对照组 | 5 | 4.32 ± 0.21 Aa | 4. 12 ±0. 34Aa | 6.21 ± 1.32Aa |
| | 10 | $4.47 \pm 0.53 \mathrm{Aa}$ | $4.41 \pm 0.75 \mathrm{Aa}$ | $5.46\pm1.89\mathrm{Aa}$ |
| 试验组 | 5 | $4.28 \pm 0.46 \text{Aa}$ | $4.55 \pm 0.80 \text{Aa}$ | $5.50\pm1.15\mathrm{Aa}$ |
| | 10 | $4.44 \pm 0.44 \mathrm{Aa}$ | $4.21 \pm 0.48 \mathrm{Aa}$ | $5.15 \pm 1.61 \mathrm{Aa}$ |

注:不同小写字母表示组间差异显著(P < 0.05),不同大写字母表示期间差异显著(P < 0.05)。下表同。

表 2 干旱胁迫后抱卵虾的生长指标

| 项目 | 丰满度 (%) | 营养度 (%) | 成熟度(%) | 相对繁殖力 (粒/g) |
|-----|------------------|--------------|------------------|----------------|
| 对照组 | $4.53 \pm 0.36a$ | 3.98 ± 0.60a | $0.47 \pm 0.24a$ | 13.68 ±4.00a |

对照组 4.53 ±0.36a 3.98 ±0.60a 0.47 ±0.24a 13.68 ±4.00a 试验组 4.69 ±0.27a 4.36 ±0.86a 0.28 ±0.05a 17.63 ±4.62a

白水平及 SOD、CAT、LZM、AKP、ACP 活性。由表 3 可知,胁迫 5 d 时,试验组克氏原螯虾肝胰腺 SOD 活性极显著高于于对照组(P<0.01),ACP 活性显著极低于对照组(P<0.001),其余无显著差异。随时间推移,试验组克氏原螯虾肝胰腺总蛋白含量下降,LZM 和 ACP 活性上升,而对照组克氏原螯虾肝胰腺 SOD、AKP 和 ACP 活性均上升,但变化不显著(P>0.05)。

表 3 干旱胁迫下螯虾肝胰腺的酶活性变化

| 项目 | 胁迫时间 (d) | TP 含量 (mg/mL) | SOD 活性 (U/mg) | CAT 活性 (U/mg) | LZM 活性 (U/mg) | AKP 活性 (U/mg) | ACP 活性 (U/mg) |
|-----|-------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|----------------------|-----------------------------|
| 对照组 | 5 | 1.69 ± 0.27 Aa | 21.91 ± 2.86Aa | 0.91 ±0.16Aa | 25.09 ± 6.64Aa | 53.98 ± 11.76Aa | 77. 32 ± 17. 17 Ab |
| | 10 | 1.64 ± 0.16 Aa | 24.06 ± 1.06 Aa | $0.89 \pm 0.16 Aa$ | 23.59 ± 5.94 Aa | 56.46 ± 15.64 Aa | $78.48 \pm 21.22 $ Aa |
| 试验组 | 5 | $1.54 \pm 0.24 \mathrm{Aa}$ | $26.02 \pm 3.11 \mathrm{Ab}$ | $1.03\pm0.21\mathrm{Aa}$ | $24.44 \pm 8.21 \mathrm{Aa}$ | 50.82 ± 10.21 Aa | $50.85 \pm 11.87 \text{Aa}$ |
| | 10 | 1.51 ±0.15Aa | 23.86 ± 3.33 Aa | $0.93 \pm 0.24 \mathrm{Aa}$ | 28.29 ± 8.65 Aa | 57.33 ± 10.96Aa | 64.54 ± 21.53 Aa |

2.3 干旱胁迫对克氏原螯虾卵巢的酶活性的影响 在胁迫 5、10 d 时,检测雌虾卵巢的蛋白水平及 SOD、CAT、LZM、AKP、ACP活性。由表 4 可知,胁迫 5 d 时,试验组雌虾卵巢 SOD 活性显著(P<0.01) 低于对照组,并在胁迫 10 d 时,试验组雌虾卵巢 SOD 活性极显著(P < 0.05)低于对照组,其余无显著差异。试验过程中,雌虾卵巢的蛋白水平和酶活性随时间变化不显著(P > 0.05)。

表 4 干旱胁迫下螯虾性腺的酶活性变化

| 项目 | 胁迫时间 (d) | TP 含量 (mg/mL) | SOD 活性 (U/mg) | CAT 活性 (U/mg) | LZM 活性 (U/mg) | AKP 活性 (U/mg) | ACP 活性 (U/mg) |
|-----|-------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 对照组 | 5 | 3.87 ±0.50Aa | 32.95 ±1.75Ab | 0.22 ± 0.05 Aa | 14.03 ± 3.16Aa | 6.98 ± 1.70Aa | 5.91 ± 1.13Aa |
| | 10 | $3.77 \pm 0.61 \mathrm{Aa}$ | $37.21 \pm 6.85 \mathrm{Ab}$ | $0.24 \pm 0.05 \mathrm{Aa}$ | 13.39 ± 4.44 Aa | $7.91 \pm 1.52 \mathrm{Aa}$ | $6.39 \pm 0.93 \mathrm{Aa}$ |
| 试验组 | 5 | $3.86 \pm 0.48 \mathrm{Aa}$ | $28.33 \pm 4.54 \text{Aa}$ | $0.21 \pm 0.08 \mathrm{Aa}$ | 13.98 ± 2.34 Aa | $6.96 \pm 1.53 \mathrm{Aa}$ | $6.07 \pm 0.91 $ Aa |
| | 10 | $4.23 \pm 0.27 \mathrm{Aa}$ | 29.58 ± 3.05 Aa | $0.20\pm0.06\mathrm{Aa}$ | $12.33 \pm 2.81 \mathrm{Aa}$ | $6.63 \pm 1.63 \mathrm{Aa}$ | 6.08 ± 1.27Aa |

2.4 干旱胁迫对克氏原螯虾肌肉的酶活性的影响 在胁迫 5、10 d 时,检测克氏原螯虾肌肉的蛋白 水平及 SOD、CAT、LZM、AKP、ACP 活性。由表 5 可 知,胁迫 5 d 时,试验组克氏原螯虾肌肉的蛋白水平和 SOD 活性均极显著高于对照组 (P < 0.05),在 10 d时,AKP活性极显著高于对照组 (P < 0.01),

| ± 5 | 工目贴近 | 다 축수 바다 RII | 肉的酶活性变化 | , |
|--------------|------|-------------|---------|---|
| オ ▽ ⊃ | 十年別出 | ᅡᅉᇸᇄᆒ | 以的删活性变化 | |

| 项目 | 胁迫时间 (d) | TP 含量 (mg/mL) | SOD 活性 (U/mg) | CAT 活性 (U/mg) | LZM 活性 (U/mg) | AKP 活性 (U/mg) | ACP 活性 (U/mg) |
|-----|-------------|---------------------------|-----------------------------|-----------------------------|---------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| 对照组 | 5 | 4. 24 ± 0. 18 Aa | 4. 22 ± 0. 79Aa | 0.19 ± 0.04Aa | 16.70 ± 3.20Aa | 1.09 ±0.22Ba | 9. 23 ± 0. 96 Aa |
| | 10 | 4.28 ± 0.19 Aa | 5.26 ± 1.65 Aa | $0.18 \pm 0.03 \mathrm{Aa}$ | 12.17 ± 3.64 Aa | $0.74 \pm 0.27 \mathrm{Aa}$ | $8.89 \pm 1.93 \mathrm{Aa}$ |
| 试验组 | 5 | $4.55\pm0.35\mathrm{Ab}$ | $5.55 \pm 1.50 \mathrm{Ab}$ | $0.17 \pm 0.03 \mathrm{Aa}$ | 17.32 ± 3.78 Ba | $1.16 \pm 0.28 \mathrm{Aa}$ | $9.68 \pm 1.41 \mathrm{Aa}$ |
| | 10 | $4.23 \pm 0.32 \text{Aa}$ | 6.02 ± 2.14 Aa | $0.19 \pm 0.04 \mathrm{Aa}$ | 13.33 ± 4.03 Aa | $1.18\pm0.20\mathrm{Ab}$ | $9.80 \pm 1.53 \mathrm{Aa}$ |

其余无显著差异。随时间推移,试验组克氏原螯虾 肌肉的 SOD 和 AKP 活性变化不显著,LZM 活性显著下降(P < 0.05),而对照组 AKP 活性显著降低 (P < 0.05)。

2.5 干旱胁迫后抱卵虾各组织的酶活性

检测抱卵虾的肝胰腺、卵巢和肌肉的蛋白水平及酶活性,由表 6 可知,试验组抱卵虾的肝胰腺蛋白含量显著低于对照组(P < 0.05),肌肉中 CAT 活性也显著低于对照组(P < 0.05),但试验组抱卵虾肌

肉中的 LZM 活性显著高于对照组(P < 0.05)。因 抱卵虾的卵巢量很少,集中检测后仅能得到总体数 值,但从结果看来,试验组抱卵虾的卵巢 SOD、CAT、 LZM 活性均低于对照组,蛋白、AKP 和 ACP 活性均 高于对照组。

因此,干旱胁迫抑制了克氏原螯虾肝胰腺的ACP活性和性腺的SOD活性,而肌肉中的SOD和AKP活性升高了,并且回归正常环境后,克氏原螯虾体内的生化指标也未及时恢复正常。

表 6 干旱胁迫后抱卵虾的各组织的酶活性变化

| 项目 | 分组 | TP 含量 (mg/mL) | SOD 活性 (U/mg) | CAT 活性 (U/mg) | LZM 活性 (U/mg) | AKP 活性 (U/mg) | ACP 活性 (U/mg) |
|-----|-----|------------------|-------------------|-------------------------|-----------------------------|--------------------|------------------|
| 肝胰腺 | 对照组 | 1.87 ± 0.10b | 19.35 ± 1.54a | $0.73 \pm 0.15a$ | 25.69 ±4.89a | 50.82 ± 14.55a | 68.63 ± 29.07a |
| | 试验组 | $1.65 \pm 0.21a$ | $21.44 \pm 3.80a$ | $0.93 \pm 0.31a$ | $22.72 \pm 9.99a$ | $57.96 \pm 14.07a$ | 69.71 ± 22.01a |
| 卵巢 | 对照组 | 3.51 | 42.31 | 0.33 | 14.75 | 12.07 | 10.85 |
| | 试验组 | 3.78 | 37.58 | 0.14 | 11.77 | 14.05 | 12.76 |
| 肌肉 | 对照组 | $3.73 \pm 0.24a$ | $5.96 \pm 2.85a$ | $0.22\pm0.04\mathrm{b}$ | $14.41 \pm 3.13a$ | $0.93 \pm 0.33a$ | $8.23 \pm 2.38a$ |
| | 试验组 | $3.93 \pm 0.15a$ | $6.03 \pm 1.29a$ | $0.18 \pm 0.03a$ | $19.85 \pm 4.70 \mathrm{b}$ | $0.68 \pm 0.09 a$ | $7.83 \pm 1.66a$ |

2.6 干旱胁迫对克氏原螯虾卵的影响

检测卵的蛋白含量、酶活性、营养指标、质量、 直径和数量。由表7可知,试验组亲虾产下的卵,

GLU、TG、TCH的含量均低于对照组,其中,TG含量显著低于对照组(*P*<0.05);其余指标无显著差异。因此,于旱胁迫降低了克氏原螯虾卵的营养含量。

表 7 干旱胁迫后虾卵免疫相关酶、消化酶活性、营养含量及规格的对比

| 项目 | TP 含量 (mg/mL) | SOD 活性 (U/mg) | CAT 活性 (U/mg) | LZM 活性 (U/mg) | AKP 活性 (U/mg) | ACP 活性 (U/mg) |
|-----|---------------------|-------------------|---------------------|------------------|------------------|------------------|
| 对照组 | 12.81 ± 1.28 | 4.08 ± 0.53a | 0.06 ± 0.02a | 2. 19 ± 0. 64a | 1.95 ± 0.31a | 3.51 ± 1.72a |
| 试验组 | 12.21 ±1.16a | $4.33 \pm 0.95a$ | $0.07 \pm 0.03 a$ | $2.20 \pm 0.60a$ | $1.57 \pm 0.42a$ | 3.22 ± 1.86a |
| 项目 | GLU 含量 (mmol/g) | TG 含量 (mmol/g) | TCH 含量 (mmol/g) | 卵质量 (mg) | 直径 (mm) | 平均抱卵量 (个) |
| 对照组 | 0.13 ± 0.02a | 0.12 ± 0.03 b | 0.14 ± 0.01 a | 4.02 ± 0.90a | 1.70 ± 0.09a | 381.17 ± 139.31a |
| 试验组 | $0.11 \pm 0.01a$ | $0.09 \pm 0.02a$ | $0.13 \pm 0.02a$ | $4.27 \pm 1.34a$ | $1.68 \pm 0.14a$ | 471.5 ± 178.35a |

3 讨论

3.1 干旱胁迫对克氏原螯虾亲虾生长的影响

在自然环境中,洪水和干旱不仅会改变土壤的 理化性质,而且可以显著改变环境中微生物和无脊 椎动物的种类和数量。克氏原螯虾为水生十足目动物,水环境对克氏原螯虾的生存和繁衍至关重要,水不仅帮助克氏原螯虾进行气体交换、信号传递、抱卵孵化,也是机体内各种生化反应的参与者。对于水生甲壳类动物来说,干旱意味着氧气含量、

食物、温度和隐蔽场所的变化^[11]。面对干旱时,它们往往会用迁徙的方式应对逆境。比如转移到临近的水域,或者躲藏在湿润的洞穴和植被下^[12]。Kouba等发现,在干旱环境中,克氏原螯虾有相对较强的掘洞能力^[13]。Luo等发现,2种双壳类动物在应对干旱胁迫时,繁殖和节律相关基因表达有所变化,证明无脊椎动物会因外界的干旱环境改变自己的行为和基因转录水平,并趋向于降低环境胁迫的压力^[14]。

从克氏原螯虾生长试验结果看,在干旱胁迫过程中,克氏原螯虾的生长没有显著变化,短期干旱胁迫对螯虾生长无明显影响。在胁迫下,克氏原螯虾仍会正常进行繁殖准备工作,而同步化现象则表明干旱胁迫影响了克氏原螯虾的繁殖行为,其中原因仍待进一步研究。

繁殖期中,克氏原螯虾往往有打洞挖穴、抱对交配和产卵的习性[15]。结合这一生物学现象,研究者利用控制水位的办法,降低虾塘水位形成干旱胁迫环境,使克氏原螯虾掘洞;持续干旱一段时间后将水位提高,促使克氏原螯虾出洞交配,从而在短时间内收获大量抱卵虾[8-10,16]。另一方面,9、10月气温适宜,水体营养丰富,也是幼虾喜好的生长环境,因此可在11月前大批量收获虾苗,这也能够为干旱调控克氏原螯虾繁殖的同步化现象提供理论依据。

3.2 克氏原螯虾对干旱胁迫的生理响应

随着胁迫持续,克氏原螯虾体内的活性氧会不断积累。活性氧是 O_2 带电子后的产物,过多的活性氧损伤会诱导激活促细胞凋亡的信号通路,破坏细胞骨架蛋白和膜结构,干扰机体的生理活动 [14],需要抗氧化酶系统 (SOD、CAT等)清除这些自由基,以减少氧化对机体蛋白和 DNA 的损伤 [17]。 LZM 主要存在于吞噬细胞中,能够水解菌壁的黏多糖,从而破坏致病菌的结构 [18]。ACP 和 AKP 主要以酶原形式存在于半颗粒细胞中,参与克氏原螯虾体内的磷酸基团代谢和转运,并能够形成水解酶,催化磷酸单酯的水解和磷酸基团的转移,清除入侵机体的异物 [19-20]。应对胁迫时,尤其在缺少食物和氧气时,螯虾尾部的肌肉亦可提供能量,帮助应对压力 [21]。

从克氏原螯虾酶活性的试验结果观察,试验组克氏原螯虾肝胰腺和性腺中 SOD 和 ACP 的活性分别显著低于对照组,肌肉的 SOD 和 AKP 活性则显

著高于对照组,提示干旱胁迫对肝胰腺产生了较大压力,抑制了其肝胰腺的酶活性,导致其抗氧化能力下降;性腺作为繁殖期代谢最活跃的器官之一,酶活性也受到了抑制;而肌肉作为辅助抗逆的组织,抗氧化能量增强,帮助提高机体应对逆境的能力。

3.3 干旱胁迫对抱卵虾及产卵质量的影响

短时期的干旱可以看作是环境不稳定的一种干扰因素,在这种模式下,生境干扰强,严峻度低,有利于繁殖力高的杂草植物生存^[22-23]。Magoulick发现,在间歇水流中的克氏原螯虾数量大于长期水流中的,说明高扰动的生境可以促进克氏原螯虾的繁殖^[24]。

从研究结果可知,干旱胁迫后的抱卵虾各组织的蛋白含量和酶活力存在明显差异,表明回归正常状态后,逆境的影响仍然存在。甘油三酯作为卵最主要的营养成分之一,能以较小的分子量提供更多能量,胚胎发育多依赖于卵中脂类的积累^[25]。通常,克氏原螯虾产卵的数量与个体大小有关,卵的数量与体积成反比^[26]。本研究中,试验组的产卵数量多而直径小,卵中营养物质的含量明显改变,试验组卵的甘油三酯含量显著低于对照组,但试验组抱卵克氏原螯虾产的卵酶活性没有显著差异,提示在干旱胁迫压力下,亲虾繁殖产生的后代数量增加,卵的营养物质含量降低。从另一面来看,这可能是克氏原螯虾应对胁迫、尽可能保证种族繁衍的策略之一。因此推测,克氏原螯虾的生活史可能存在于扰下的"杂草对策"。

4 结论

本研究进行干旱胁迫同步化育苗对生殖期克 氏原螯虾的生长和生殖行为影响的探究,检测性成 熟的克氏原螯虾在10 d干旱胁迫下,各阶段雌性亲 虾及最后获得抱卵虾的生长指标、各组织的免疫相 关酶活性。结果表明,与对照组相比,试验组克氏 原螯虾肝胰腺和卵巢的免疫相关酶活性低于对照 组,而肌肉中的酶活力高于对照组;试验组和对照 组的克氏原螯虾生长指标无显著差异;回到正常环 境下,抱卵克氏原螯虾的免疫水平与对照组仍存在 显著差异,卵的甘油三酯含量显著降低。由此可 得,短期干旱胁迫对克氏原螯虾的生长并没有明显 影响,但显著影响了其体内免疫相关酶活力及卵的 营养水平,并引发了产卵行为的变化。

参考文献:

- [1]2020 中国小龙虾产业发展报告全文发布[J]. 水产科技情报, 2020,47(4);229.
- [2]董卫军,李 铭,徐加元,等. 克氏原螯虾繁殖生物学的研究 [J]. 水利渔业,2007,27(6):27,104.
- [3]董扬帆,李军涛,张秀霞,等. 克氏原螯虾繁殖生物学与苗种培育技术研究进展[J]. 水产学杂志,2020,33(4):68-74.
- [4]徐加元,岳彩锋,戴颖,等. 水温、光周期和饲料对克氏原螯虾雌虾成活和性腺发育的影响[J]. 华中师范大学学报(自然科学版),2008,42(1):97-101.
- [5] Jin S Y, Jacquin L, Huang F, et al. Optimizing reproductive performance and embryonic development of red swamp crayfish *Procambarus clarkii* by manipulating water temperature [J]. Aquaculture, 2019, 510;32 – 42.
- [6]王 庆. 克氏原螯虾繁育机制及养殖生态学研究[D]. 南京:南京师范大学,2012:14-19.
- [7] 孙瑞杰. 克氏原螯虾卵巢同步发育及产卵环境的研究[D]. 武汉:华中农业大学,2009:11-26.
- [8] 刘伟杰, 严维辉, 张成亮, 等. 克氏原螯虾同步化与非同步化育苗 效果分析[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(34):15029-15031.
- [9]徐 宇,李佳佳,许志强,等. 一种克氏原螯虾"秋苗早繁"方法: CN110537512A[P]. 2019-12-06.
- [10]朱 凛,李春宁,徐 宇,等. 一种基于苗种提前繁育的小龙虾提早上市方法初探[J]. 水产养殖,2020,41(8):44-45.
- [11] Chester E T, Matthews T G, Howson T J, et al. Constraints upon the response of fish and crayfish to environmental flow releases in a regulated headwater stream network [J]. PLoS One, 2014, 9 (3): e91925.
- [12] 王可洪,袁兴中,张冠雄,等. 河岸无脊椎动物多样性维持机制研究进展[J]. 应用生态学报,2020,31(3):1043-1054.
- [13] Kouba A, Tíkal J, Císar P, et al. The significance of droughts for hyporheic dwellers; evidence from freshwater crayfish [J]. Scientific Reports, 2016, 6; 26569.
- [14] Luo Y P, Li C, Landis A G, et al. Transcriptomic profiling of

- differential responses to drought in two freshwater mussel species, the giant floater *Pyganodon grandis* and the pondhorn *Uniomerus tetralasmus*[J]. PLoS One, 2014, 9(2); e89481.
- [15] 岳彩锋. 生长环境和食物对克氏原螯虾幼体生长发育的影响 [D]. 武汉:华中师范大学,2009:1-7.
- [16]常智伟,朱端亚,严维辉,等. 克氏原螯虾提早繁育试验总结 [J]. 水产养殖,2019,40(6):33-34.
- [17] Al Kaddissi S, Legeay A, Elia A C, et al. Mitochondrial gene expression, antioxidant responses, and histopathology after cadmium exposure [J]. Environmental Toxicology, 2014, 29(8):893-907.
- [18] 石和荣,何 琪,吕晴霁,等. 饲料中添加复方中草药或核苷酸 对虎龙杂交石斑鱼生长和免疫的影响[J]. 水产学杂志,2019,32(6);41-47.
- [19] 区又君,罗 奇,李加儿. 卵形鲳鲹碱性磷酸酶和酸性磷酸酶的分布及其低温保存[J]. 南方水产科学,2011,7(2):49-54.
- [20]魏 炜,张洪渊,石安静. 育珠蚌酸性磷酸酶活力与免疫反应关系的研究[J]. 水生生物学报,2001,25(4):413-415.
- [21] Izral N M, Brua R B, Culp J M, et al. Developing metabolomics based bioassessment; crayfish metabolome sensitivity to food and dissolved oxygen stress [J]. Environmental Science and Pollution Research, 2018, 25 (36); 36184 – 36193.
- [22] Grime J P, Hodgson J G, Hunt R. Comparative plant ecology: a functional approach to common British plants [M]. Springer Netherlands, 1988.
- [23] 刘志民,赵晓英,范世香. Grime 的植物对策思想和生态学研究 理念[J]. 地球科学进展,2003,18(4):603-608.
- [24] Magoulick D D. Effects of predation risk on habitat selection by water column fish, benthic fish and crayfish in stream pools [J]. Hydrobiologia, 2004, 527(1);209 221.
- [25]于建华,李树国. 虾蟹类营养繁殖研究进展[J]. 水产科技, 2010(3):12-15.
- [26] Mişe Yonar S, Köprücü K, Yonar M E, et al. Effects of dietary Propolis on the number and size of pleopadal egg, oxidative stress and antioxidant status of freshwater crayfish (*Astacus leptodactylus* Eschscholtz)[J]. Animal Reproduction Science, 2017, 184:149 159.

(上接第136页)

and the initiation of storage protein mobilization in seeds during germination and seedling growth $[\ J\]$. Journal of Experimental Botany, 2001, 52 (362):1741 –1752.

- [21] Wei S, Liu Y N, Wu M L, et al. Disruption of the transcription factors Thi2p and Nrm1p alleviates the post – glucose effect on xylose utilization in Saccharomyces cerevisiae [J]. Biotechnology for Biofuels, 2018, 11:112.
- [22]孙 建,周红英,乐美旺,等. 芝麻种子萌发动态及其代谢生理变化研究[J]. 中国农业科技导报,2020,22(8):41-48.
- [23]马 琳,王志清,张秀莲,等. 北细辛种子储藏过程中储藏物质变化的研究[J]. 种子,2015,34(12):1-3,8.
- [24]王海杰,杨 宇,黄家权. 瓜儿豆种子萌发糖代谢动态分析

- [J]. 山东农业大学学报(自然科学版),2019,50(1):99-102.
- [25] Pairochteerakul P, Jothityangkoon D, Ketthaisong D, et al. Seed germination in relation to total sugar and starch in endosperm mutant of sweet corn genotypes [J]. Agronomy, 2018, 8(12):299.
- [26] Tan Wilson A L, Wilson K A. Mobilization of seed protein reserves[J]. Physiologia Plantarum, 2012, 145(1):140-153.
- [27] 高小丽. 施磷对豌豆产量及其构成因素的影响[J]. 作物杂志, 2016(1):125-128.
- [28]李 琦,裴怀弟,马忠明,等. 钾肥与有机肥配施对食用百合根际土壤酶活性、养分含量及鳞茎产量的影响[J]. 中国土壤与肥料,2020(1):91-99.
- [29] 权宝全,吕瑞洲,王贵江. 不同施氮量对甘薯生长发育及产量的影响[J]. 东北农业科学,2019,44(6):14-17.