

Effect of Abrupt Low-Temperature on *Haliotis discus hannai* after Overwintering in South and North Coasts

Liyuan Liu^{1,2}, Yanyan Yao^{1,2}, Xiaobin Yang^{1,2}, Jianzi Ding^{1,2}, Longfei Lu^{1,2}, Lirong Chang^{1,2*}

¹Weihai Changqing Ocean Science and Technology Co. Ltd., Rongcheng Shandong

²National Marine Shellfish Engineering Research Center, Rongcheng Shandong

Email: 18853881382@163.com, yao_yy@hcbzlx.com, 54643446@qq.com, dingjianzi66@163.com, lulongfei567@163.com, *xs_chengguo@163.com

Received: Dec. 20th, 2019; accepted: Jan. 2nd, 2020; published: Jan. 9th, 2020

Abstract

In order to explore the abrupt low-temperature tolerance of *Haliotis discus hannai*, three types of abalones, i.e. breeding lines from original population of Ailian Bay (BD), production ones (SC) and the wild population from Changdao (CD), with ages of six-month-old and eighteen-month-old, after overwintering in south and north coasts, were selected. After abruptly cooling and warming, 16°C to 0°C, maintaining 0°C for 3 days, respectively, the parameters of mortality rates, wet and dry body weights and body compositions were detected. The results showed that the mortality rates of abalones overwintering in north (average 84.44%, 82.09%) were significantly lower than that in south (average 96.11%, 91.73%) at the same ages, $p < 0.05$, and the mortality rates of abalones of six-month-old significantly higher than that of eighteen-month-old ones overwintering in the same coast, but the difference is not significant. And survival percentages of BD were significantly greater than other two with the same treatment, $p < 0.05$. Before and after the actual work, wet weight of each treatment was decreased, but the difference is not significant. Before and after the temperature change, the total sugar components and crude protein components of abalones were lower, the crude fat components were higher, but the difference is not significant. In our experiments, the eighteen-month-old abalones overwintering in north coasts show comparatively better advantage of abrupt low-temperature resistance. Facing abrupt low-temperature conditions (from 16°C to 0°C), the difference of total sugar, crude fat and crude protein components of abalones were not significant. And, the ability of abrupt low-temperature resistance of BD was much better than that of SC and CD.

Keywords

Haliotis discus hannai, Overwintering, Ages, Lines, Mortality, Body Compositions

*通讯作者。

急性低温对南北越冬后皱纹盘鲍的影响探究

刘力源^{1,2}, 姚艳艳^{1,2}, 杨晓斌^{1,2}, 丁建姿^{1,2}, 卢龙飞^{1,2}, 常丽荣^{1,2*}

¹威海长青海洋科技股份有限公司, 山东 荣成

²国家海产贝类工程技术研究中心, 山东 荣成

Email: 18853881382@163.com, yao_yy@hcbzlx.com, 54643446@qq.com, dingjianzi66@163.com, lulongfei567@163.com, *xs_chengguo@163.com

收稿日期: 2019年12月20日; 录用日期: 2020年1月2日; 发布日期: 2020年1月9日

摘 要

为了探究皱纹盘鲍对急性低温的耐受性, 本文选取了南方、北方越冬后的一龄和二龄鲍(爱莲湾原种鲍、生产鲍和长岛野生鲍)采用骤变降温的方式从16℃瞬时降温至0℃, 测量其在实验前后的死亡率、个体湿重和体成分(总糖、粗脂肪和粗蛋白)等参数, 分析比较实验前后不同处理间皱纹盘鲍的差异。结果显示: 北方越冬一龄鲍和二龄鲍的死亡率(平均值84.44%、82.09%)均显著低于南方越冬的一龄和二龄鲍的死亡率(平均值96.11%、91.73%, $P < 0.05$), 同一越冬方式的一龄鲍的死亡率高于二龄鲍, 但差异不显著; 同一越冬方式、同一龄期的爱莲湾原种鲍的死亡率均显著低于其他处理组($P < 0.05$)。实验前后各处理皱纹盘鲍的个体湿重均降低, 但差异不显著。在骤变降温前后, 鲍体内的总糖和粗蛋白含量均呈降低的趋势, 粗脂肪呈升高的趋势, 但实验前后各处理间差异不显著。结论: 在16℃骤变降温至0℃的条件下, 北方越冬的二龄鲍更具有耐低温优势, 骤变降温至0℃的急性低温条件下鲍其总糖、粗蛋白和粗脂肪含量变化不明显; 相较于生产鲍和长岛野生鲍, 爱莲湾原种鲍的耐急性低温能力更强。

关键词

皱纹盘鲍, 越冬, 龄期, 品系, 死亡率, 体成分

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

温度变化是影响海洋生物生理生化活动的重要因素[1]。自然界通常存在两种水温变化, 一种是长期缓慢温度变化(季节交替)和急性温度变化(如潮汐带、急剧升降温、洋流异常等)[2][3]。温度变化特别是温度急剧变化对贝类生理生化活动有一定的影响。周玮等[4]研究发现跳跃型水温变化与扇贝死亡有关, 徐东等[5]研究发现温度骤变对扇贝的影响大于温度缓慢变化。温度急剧变化会影响贝类的免疫和抗病能力, 使贝类因为免疫抑制而死亡[6]。随着全球气候变暖, 极端温度变化常有发生, 使贝类在养殖和运输中受到一定程度的损失。皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*)是一种我国鲍科种重要的经济种, 是重要的珍贵海产品增殖养殖种, 具有很高的营养和保健价值[7][8]。前人研究发现南方养殖会影响鲍的温度耐受性[9]。在南北接力的养殖模式下, 北方鲍运往南方过程中运输是非常重要的中间环节, 生产中通常采用加冰块或冰袋降低环境温度, 这一过程中可能造成温度骤降, 对鲍的生理生化活动产生影响。对于不同越冬模式、不同龄期

和不同品系的皱纹盘鲍对急性温度变化的影响尚未见报道。本研究以爱莲湾原种鲍、长岛野生鲍和生产鲍作为材料,通过温度骤变处理,比较低温处理前后、不同越冬模式、不同龄期和不同品系的鲍存活率和体成分的差异,为发掘和培育耐低温性状的优良鲍品种提供理论支持,为鲍养殖产业提供基础数据。

2. 材料与方法

2.1. 试验材料

实验时间为2019年5~6月,实验用皱纹盘鲍均取自威海长青海洋科技股份有限公司,编号为BD、SC、CD,分别为爱莲湾原种鲍、生产鲍和长岛野生鲍。暂养在水温为16℃的低温育种实验室水槽内,每天下午投喂适量新鲜海带,水槽内放置瓦片供鲍附着,暂养1周后用于实验。选取生长健康、大小均一的皱纹盘鲍用于实验,本实验中分别选用南北方越冬的BD、SC一龄鲍(各150头)和二龄鲍、CD一龄鲍(各150头)作为实验材料。

2.2. 温度处理

本实验选用的低温胁迫温度为0℃,采用骤变的降温方式。温度骤变处理是从16℃的海水立即转入0℃的海水中。每个处理设3个平行试验,每个平行试验50个重复。每天统计鲍的死亡数量。

2.3. 体成分测定

本实验中选取16℃暂养7d(开始降温前)和0℃维持3d两个时间点检测鲍的体成分含量。
测定体成分前将鲍饥饿处理24h。饥饿处理后取下壳以外的全组织,冷冻干燥,磨粉后放置于干燥器中。干重的测定采用恒温干燥法(105℃)(GB5009.3-2010),总糖的测定采用硫酸苯酚法[10],粗蛋白的测定采用凯氏定氮法[11],粗脂肪的测定采用索氏抽提法[12]。用游标卡尺测量鲍的壳长(精确度为0.01mm),珠宝秤称量个重(精确度为0.01g)。

2.4. 数据处理与分析

实验数据运用统计分析软件SPSS 25.0进行单因素方差分析(one way ANOVA)和T检验, $P < 0.05$ 代表差异显著。用SigmaPlot 12.5作图。

3. 结果与分析

不同品系皱纹盘鲍在实验前后的个体湿重和干重比较见表1。骤变降温至0℃并且维持3天后,各组处理下皱纹盘鲍的湿重均降低。实验室后北方越冬鲍的个体湿重(实验前平均值,实验后平均值)均显著低于南方鲍的个体湿重。如表1所示,北方越冬的BD、SC、CD一龄鲍死亡率在80.00%~88.33%之间,平均值为84.44%,二龄鲍的死亡率在75.00%~86.27%,平均值为82.09%;南方越冬的BD、SC、CD一龄鲍死亡率在91.67%~100%之间,平均值为96.11%,二龄鲍死亡率在90.00%~95%之间,平均值为91.73%。同一品系、同一龄期的北方越冬鲍死亡率均显著高于南方越冬鲍;同一越冬模式、同一品系的一龄鲍死亡率显著高于二龄鲍;同一越冬模式、同一龄期的BD死亡率显著低于其他处理。

Table 1. Comparison of the weight and dry body weights and mortality rates of different lines of abalones
表 1. 不同品系皱纹盘鲍的个体湿重、干重和死亡率比较

品系 Line	初始壳长 Initial shell length	结束壳长 Finial shell length	初始个重(g) Initial body weight (g)	结束个重(g) Finial body weight (g)	死亡率(%) Mortality (%)
BD1 北	36.94 ± 3.22a	35.26 ± 2.88a	5.14 ± 1.38a	5.01 ± 1.42a	80.00 ± 4.91b
BD1 南	54.71 ± 2.68b	52.27 ± 3.42b	15.34 ± 2.47b	14.94 ± 1.98b	91.67 ± 4.76de

Continued

SC1 北	34.80 ± 2.72a	33.04 ± 2.94a	5.08 ± 1.94a	4.82 ± 1.77a	85.00 ± 2.67c
SC1 南	52.40 ± 4.73b	50.81 ± 3.96b	15.28 ± 2.99b	14.63 ± 2.45b	100f
CD1 北	35.02 ± 3.31a	33.98 ± 2.89a	5.12 ± 1.45a	4.96 ± 1.62a	88.33 ± 1.21cd
CD1 南	53.31 ± 3.66b	51.11 ± 4.26b	15.07 ± 3.43b	14.88 ± 2.80b	96.67 ± 0.88f
BD2 北	72.80 ± 3.38e	70.83 ± 3.50e	48.33 ± 5.41g	47.51 ± 4.38f	75.00 ± 3.00a
BD2 南	82.37 ± 3.28f	79.66 ± 3.81f	52.09 ± 4.85g	49.17 ± 4.72g	90.00 ± 2.00cde
SC2 北	59.89 ± 5.10c	57.44 ± 4.53c	19.38 ± 3.84c	18.12 ± 3.07c	85.00 ± 3.00c
SC2 南	67.10 ± 4.31d	65.07 ± 4.01d	35.47 ± 4.79e	34.73 ± 4.33d	95.00 ± 3.00ef
CD2 北	65.48 ± 4.14d	63.33 ± 4.00d	32.64 ± 3.56d	31.89 ± 3.81d	86.27 ± 2.00c
CD2 南	75.09 ± 4.83e	72.85 ± 4.23e	40.13 ± 4.28f	38.96 ± 3.99e	90.20 ± 1.56cde

注：BD1 北中各字符分别代表皱纹盘鲍种类、龄期和越冬模式，BD、SC 和 CD 分别代表爱莲湾原种鲍、生产鲍和长岛野生鲍，下同。不同小写字母表示同一生长参数各处理组间的差异显著，P < 0.05。

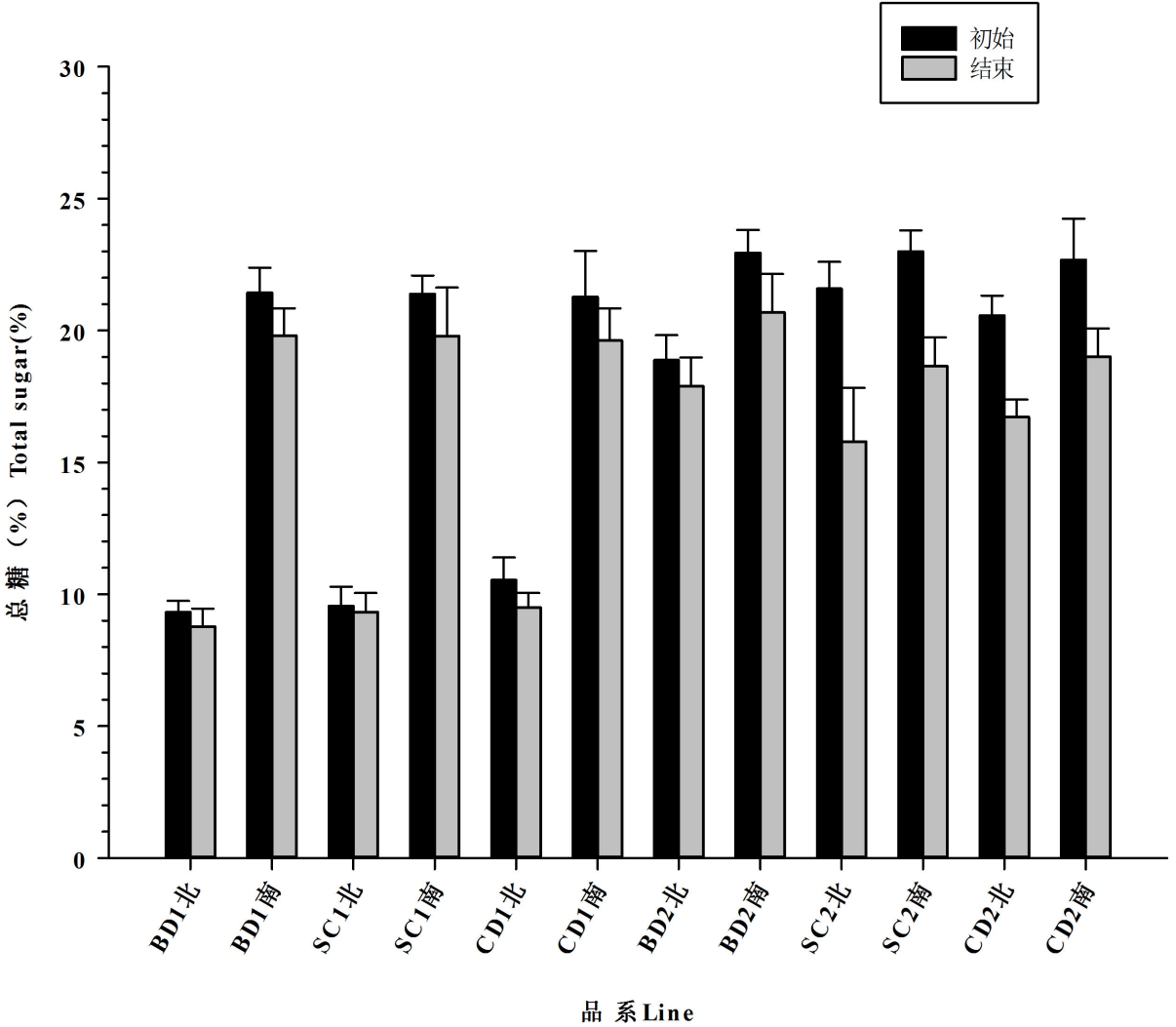


Figure 1. Changes of total sugar components of different lines of abalones

图 1. 不同品系皱纹盘鲍总糖含量变化

Table 2. Difference analysis of total sugar components of abalones
表 2. 各处理组鲍总糖含量的差异比较

时间 Time	BD1 北	BD1 南	SC1 北	SC1 南	CD1 北	CD1 南	BD2 北	BD2 南	SC2 北	SC2 南	CD2 北	CD2 南
初始	aA	bcA	aA	cdA	aA	cdA	bA	dA	bcA	dA	bcA	dA
结束	aA	gA	aA	gA	aA	fgA	dA	gA	bA	eA	cA	efA

注：不同小写字母表示同一处理时间下不同品系鲍总糖含量的差异显著， $P < 0.05$ ，不同大写字母表示同一品系鲍不同处理时间总糖含量的差异显著， $P < 0.05$ 。下同。

骤变降温后，鲍体内总糖含量(见图 1)均呈降低趋势，但差异不显著(见表 2)。骤变降温前后北方越冬鲍体内总糖含量(一龄鲍平均值 9.86%、二龄鲍平均值 20.01%)均显著低于南方越冬鲍(一龄鲍平均值 21.03%、二龄鲍平均值 22.87%)，各品系间差异均不显著。同一品系、同一越冬方式的二龄鲍体内总糖含量显著高于一龄鲍。

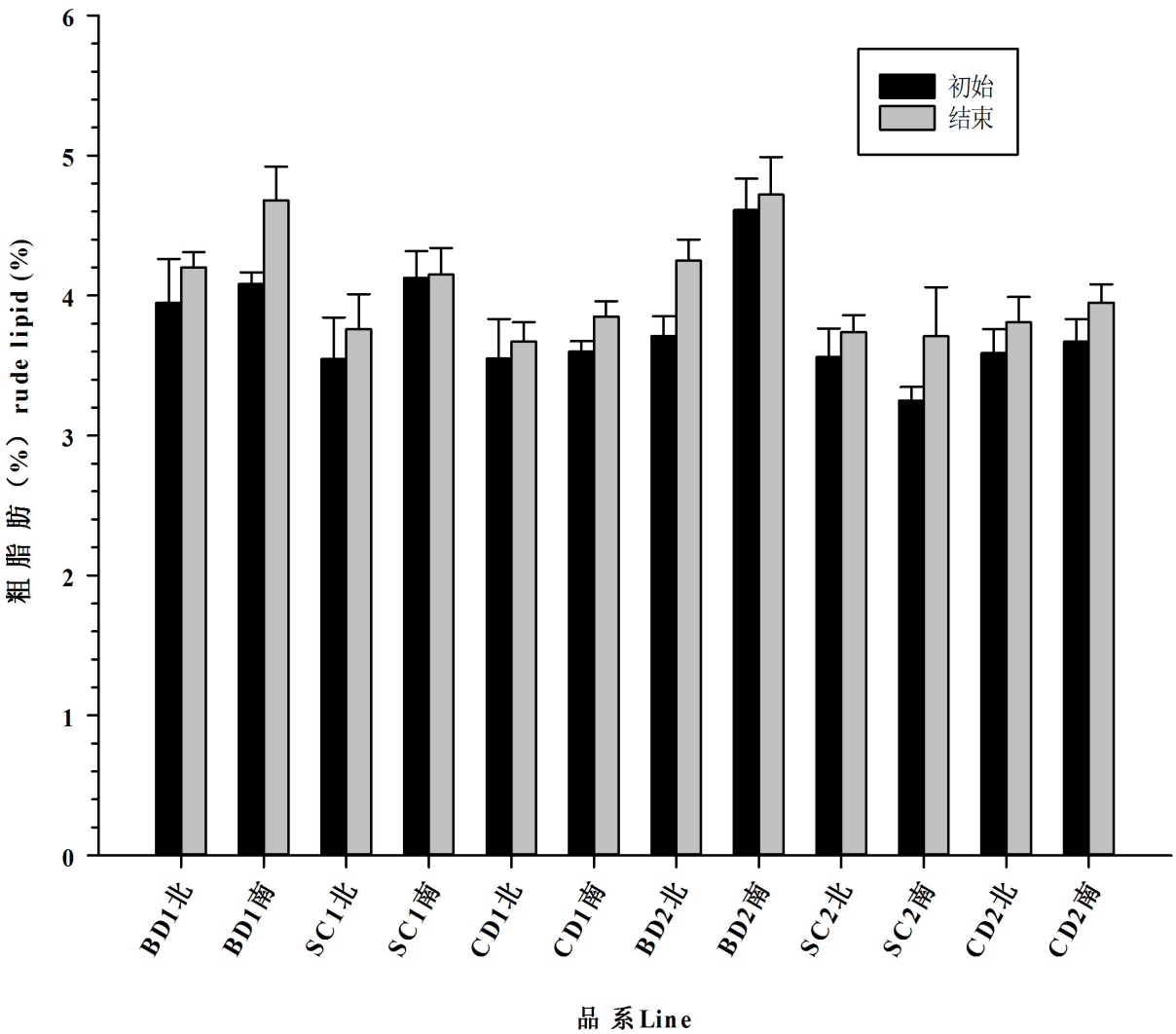


Figure 2. Changes of crude lipid components in different lines of abalones
图 2. 不同品系鲍粗脂肪含量变化

Table 3. Difference analysis of the differences in crude lipid content of abalones
表 3. 各处理组鲍粗脂肪含量的差异比较

时间 Time	BD1 北	BD1 南	SC1 北	SC1 南	CD1 北	CD1 南	BD2 北	BD2 南	SC2 北	SC2 南	CD2 北	CD2 南
初始	bcA	bcA	abA	cA	abA	abcA	abcA	dA	abA	aA	abcA	abcA
结束	cdA	eA	aA	bcdA	aA	abcA	dA	eA	aA	aA	abA	abcdA

骤变降温条件下, 鲍体内粗脂肪含量(见图 2)整体呈升高的趋势。如表 3 所示, 北方越冬鲍体内粗脂肪含量较南方越冬鲍低, 但差异不显著。同一品系、同一越冬方式的一龄鲍和二龄鲍体内粗脂肪含量差异不大。

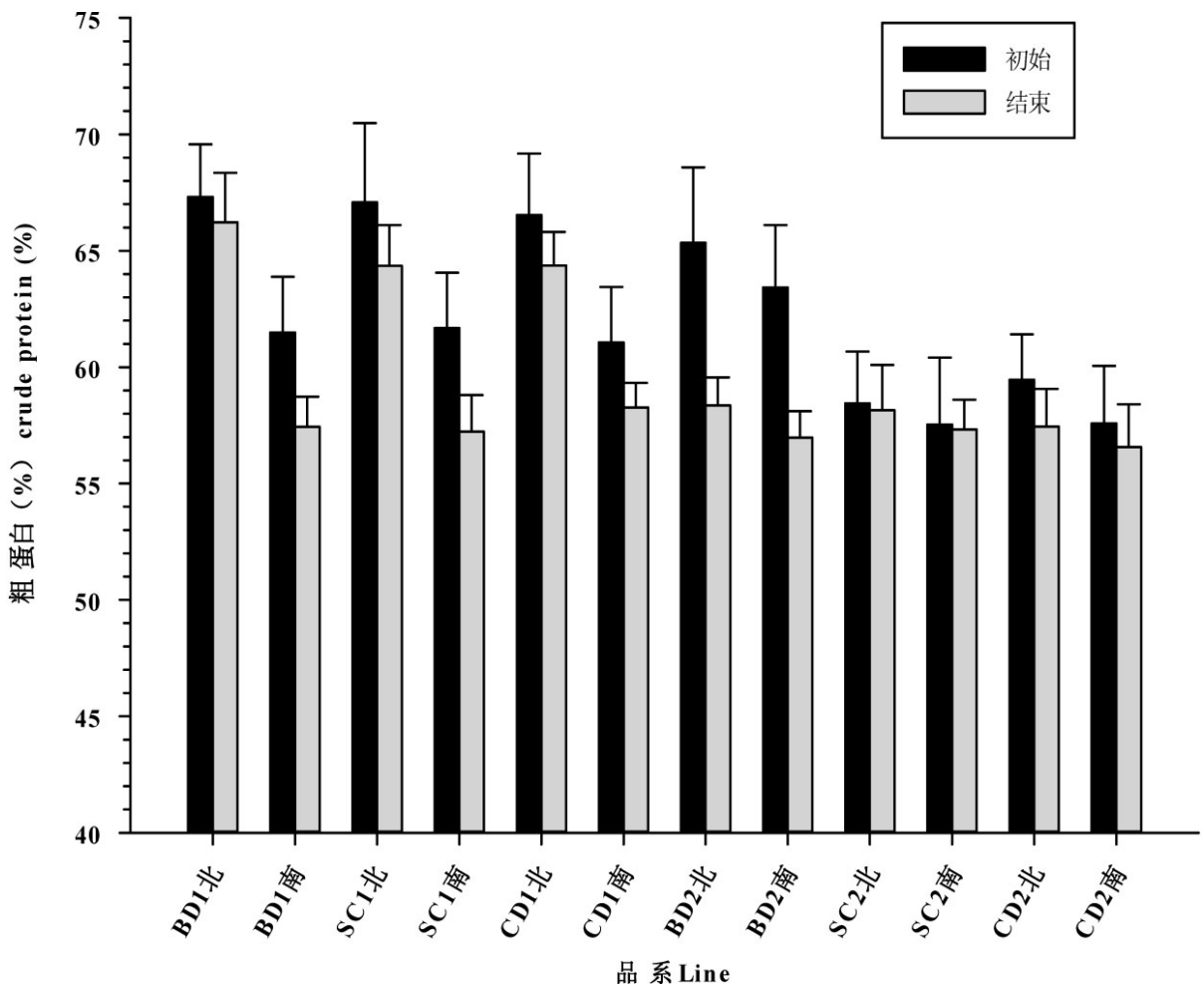


Figure 3. Changes in crude protein content of different lines of abalones
图 3. 不同品系鲍粗蛋白含量变化

Table 4. Difference analysis of the differences in crude protein content of abalones
表 4. 各处理组鲍粗蛋白含量的差异比较

时间 Time	BD1 北	BD1 南	SC1 北	SC1 南	CD1 北	CD1 南	BD2 北	BD2 南	SC2 北	SC2 南	CD2 北	CD2 南
初始	aA	abA	aA	abA	aA	abA	abA	abA	abA	aA	abA	aA
结束	bA	aA	bA	aA	bA	aA	aA	aA	aA	aA	aA	aA

从图 3 可以看出, 骤变降温后鲍体内粗蛋白含量均呈降低趋势。降温前各处理间粗蛋白含量差异均不显著(见表 4)。骤变降温后, 同一品系的北方越冬一龄鲍体内粗蛋白含量显著高于南方越冬的一龄鲍, 但二龄鲍各处理间粗蛋白含量差异均不显著。

4. 讨论

温度对贝类生理生化活动的影响已有不少前人进行了研究[13], 主要集中在摄食、生长、代谢和免疫等方面[14]。温度变化, 特别是温度急剧变化对贝类的影响也有不少学者进行了探究[15] [16] [17]。徐东等[5]研究发现温度变化影响虾夷扇贝的耗氧率和排氨率, 并且温度骤变组与温度缓变组存在显著差异。姜宏波等[18]发现菲律宾蛤仔在温度突变的条件下需要消耗更多的氧气。姜妮妮等[19]研究发现温度骤变处理下皱纹盘鲍的 O/N 比显著低于温度缓变处理。前人的研究主要集中在骤变高温对贝类生理生化活动的影响, 以探究其夏季死亡率高的原因。目前尚未发现有人探究急性低温对不同越冬模式鲍生理生化活动的影响。本实验所用鲍取自山东威海附近海域, 该地区冬季最低水温通常低于 -1°C [20] [21]。本实验中 0°C 的急性低温正好模拟了自然界的冬季急性低温。根据 2018~2019 年桑沟湾表层海水温度的监测结果, 冬季表层海水最低温为 1.6°C (数据正在整理中, 未发表)。因此本实验拟采用 0°C 作为低温胁迫温度。实验结果表明在骤变降温至 0°C 的条件下, 北方越冬鲍的存活率显著高于南方越冬鲍。本实验所用北方越冬鲍是冬季在北方海上养殖并且经历过冬季的低温条件, 而实验所用南方越冬鲍是 11 月从北方转移至南方海上进行越冬, 并未经历过冬季较低的温度。推测造成这种 0°C 下死亡率的差异可能与皱纹盘鲍养殖环境的温度范围有关。有研究发现连续多代南方养殖会提高皱纹盘鲍生长的适温范围[9]。造成这种差异的具体机制还有待进一步研究。

本实验过程中观察发现皱纹盘鲍放置于 0°C 的海水中基本处于麻木状态, 对外界环境刺激反应较迟钝, 并且所有处理组在经过 0°C 的急性低温处理 3 d 后死亡率均高于 75%, 个别处理组全部死亡, 这一结果说明皱纹盘鲍不能耐受较长时间的急性低温度刺激。另外, 本实验测得的各处理组间体成分差异不显著, 这也可能与本实验设置的 0°C 环境有关。虽然前人研究发现贝类经过骤变降温其耗氧率和排氨率以及脂肪和碳水化合物代谢会降低[5] [19], 但前人研究的低温并非急性低温, 而是贝类能正常活动的相对低温(4°C 及以上温度), 贝类较低温度下能够有机会对低温胁迫作出生理响应以应对温度骤变对其造成的损伤, 而本研究中皱纹盘鲍失去了活动能力, 其个体湿重、总糖和粗蛋白含量均呈降低趋势, 说明急性温度下皱纹盘鲍通过调控自身生理生化活动等对急性低温作出了相应, 但却抵御不了较长时间的急性低温而导致死亡。这很可能与低温降低了细胞免疫活性, 降低了代谢水平和抑制了蛋白质活性有关[6]。关于急性低温对皱纹盘鲍生理生活活动的影响的作用机制还有待进一步探究。

参考文献

- [1] Clarke, A. (2006) Temperature and the Metabolic Theory of Ecology. *Functional Ecology*, **20**, 405-412. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2006.01109.x>
- [2] Ohnson, T. and Bennett, A. (1995) The Thermal Acclimation of Burst Escape Performance in Fish: An Integrated Study of Molecular and Cellular Physiology and Organismal Performance. *Journal of Experimental Biology*, **198**, 2165-2175.
- [3] Temple, G.K. and Johnston, I.A. (1997) The Thermal Dependence of Fast-Start Performance in Fish. *Journal of Thermal Biology*, **22**, 391-401. [https://doi.org/10.1016/S0306-4565\(97\)00058-2](https://doi.org/10.1016/S0306-4565(97)00058-2)
- [4] 周玮, 薛真福, 王有君, 等. 海洋岛海域水温异常波动与养殖栉孔扇贝死亡的关系[J]. 海洋湖沼通报, 1992(4): 56-62.
- [5] 徐东, 张继红, 王文琪, 等. 温度变化对虾夷扇贝耗氧率和排氨率的影响[J]. 中国水产科学, 2010, 17(5): 1101-1106.

- [6] 许友卿, 吴卫君, 蒋伟明, 等. 温度对贝类免疫系统的影响及其机理研究进展[J]. 水产科学, 2012, 31(3): 176-180.
- [7] 高绪生, 王琦, 王仁波, 等. 鲍鱼[M]. 沈阳: 辽宁科学技术出版社, 2000: 1-3.
- [8] 高绪生, 刘永峰, 刘永襄, 等. 温度对皱纹盘鲍稚鲍摄食与生长的影响[J]. 海洋与湖沼, 1990(1): 22-28.
- [9] 姚托, 贾艳丽, 何健, 等. 皱纹盘鲍南北方群体的高温应激和生长差异[J]. 中国水产科学, 2017, 24(2): 258-267.
- [10] 罗建蓉, 康小丽, 钱金楸. 澳洲大蠔与美洲大蠔总糖含量的比较研究[J]. 大理学院学报: 综合版, 2014, 13(2): 26-29.
- [11] 刘宗柱, 朱凤华, 徐永立, 等. 凯氏定氮法测定牙鲆肌肉粗蛋白含量方法的改进[J]. 海洋科学, 1999, 6(1): 1-3.
- [12] 张丽英. 饲料分析及饲料质量检测技术[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2003.
- [13] Malham, S.K., Cotter, E., O'Keeffe, S., *et al.* (2009) Summer Mortality of the Pacific Oyster, *Crassostrea gigas*, in the Irish Sea: The Influence of Temperature and Nutrients on Health and Survival. *Aquaculture*, **287**, 128-138. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.10.006>
- [14] Kim, M., Ahn, I.Y., Cheon, J., *et al.* (2009) Molecular Cloning and Thermal Stress-Induced Expression of a Pi-Class Glutathione S-Transferase (GST) in the Antarctic Bivalve *Laternula elliptica*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, **152**, 207-213. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2008.09.028>
- [15] Yu, J.H., Song, J.H., Choi, M.C., *et al.* (2009) Effects of Water Temperature Change on Immune Function in Surf Clams, *Mactra veneriformis* (Bivalvia: Mactridae). *Journal of Invertebrate Pathology*, **102**, 30-35. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.06.002>
- [16] Monari, M., Matozzo, V., Foschi, J., *et al.* (2007) Effects of High Temperatures on Functional Responses of Haemocytes in the Clam *Chamelea gallina*. *Fish & Shellfish Immunology*, **22**, 98-114. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2006.03.016>
- [17] 洪美玲, 陈立侨, 顾顺樟, 等. 不同温度胁迫方式对中华绒螯蟹免疫化学指标的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2007, 13(6): 818-822.
- [18] 姜宏波, 宋忠涛, 包杰, 等. 不同温度及突变方式对菲律宾蛤仔耗氧率的影响[J]. 现代畜牧兽医, 2014(3): 5-8.
- [19] 姜妮妮, 方建光, 李加琦, 等. 温度胁迫对皱纹盘鲍生理和生化活动的影响[J]. 中国水产科学, 2017, 24(2): 220-230.
- [20] 刘伟, 丁君, 李润玲, 等. 黄, 渤海沿岸海水养殖池塘冰期环境因子变化的研究[J]. 大连海洋大学学报, 2014, 29(1): 51-56.
- [21] 周波, 李晓东, 李永函, 等. 海水越冬池塘冰下水体主要理化因子变化的初步研究[J]. 大连海洋大学学报, 2009, 24(6): 536-543.