

doi: 10.3969/j.issn.2095-0780.2015.02.014

· 研究简报 ·

高温胁迫对皱纹盘鲍幼鲍生长和成活的影响

贾艳丽^{1,2}, 王江勇², 刘广锋², 孙敬锋¹

(1. 天津农学院水产科学系, 天津市水产生态及养殖重点实验室, 天津 300384; 2. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 广东省渔业生态环境重点实验室, 农业部南海渔业资源开发利用重点实验室, 广东 广州 510300)

摘要: 为研究皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai* Ino)对高温的耐受性, 选取经过选育的皱纹盘鲍幼鲍进行试验。试验共分5组, 每组设置3个平行, 其中自然水温组A为对照组, 其他4组分别为B组25℃、C组28℃、D组31℃及E组32℃。研究了皱纹盘鲍幼鲍在温度渐变条件下不同温度组的生长和死亡情况, 从而分析其耐高温能力。试验进行了45 d, A~E组的死亡率分别为2.2%、11.1%、43.3%、81.1%和86.7%; 壳长增长率分别为1.2%、0.5%、0.3%、0.1%和0.1%; 壳宽增长率分别为1.2%、0.6%、0.3%、0.1%和0.1%; 湿质量增长率分别为6.6%、3.3%、1.7%、1.1%和1.2%。结果表明, 当温度高于其最适温度时, 随着温度的升高皱纹盘鲍幼鲍的死亡率升高、生长变缓慢; 并可初步判断该品系的皱纹盘鲍幼鲍可耐受30℃以上水温。

关键词: 皱纹盘鲍; 高温; 死亡率; 增长率

中图分类号: S 944.4+5

文献标志码: A

文章编号: 2095-0780-(2015)02-0096-05

Effect of high temperature stress on growth and survival of juvenile *Haliotis discus hannai* Ino

JIA Yanli^{1,2}, WANG Jiangyong², LIU Guangfeng², SUN Jingfeng¹

(1. Tianjin Key Lab. of Aqua-Ecology and Aquaculture, Department of Fishery Science of Tianjin Agricultural University, Tianjin 300384, China; 2. Key Lab. of Fishery Ecology and Environment, Guangdong Province; Key Lab. of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture; South China Sea Fisheries Research Institute, China Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China)

Abstract: To study the tolerance of juvenile *Haliotis discus hannai* Ino to high temperature, we designed five groups with three parallels each. The temperature of control group was set as natural temperature, and that of the other four groups were set as 25℃, 28℃, 31℃ and 32℃, respectively, so as to analyze the growth and mortality of each group. In the 45-day experiment, the mortalities of Group A~E were 2.2%, 11.1%, 43.3%, 81.1% and 86.7%, respectively; growth rates of shell length were 1.2%, 0.5%, 0.3%, 0.1% and 0.1%, respectively; growth rates of shell width were 1.2%, 0.6%, 0.3%, 0.1% and 0.1%, respectively; growth rates of wet weight were 6.6%, 3.3%, 1.7%, 1.1% and 1.2%, respectively. The results indicate that when the temperature was higher than the optimum temperature, the mortality of juvenile abalones increased and grew slowly as the temperature increased. It is concluded that the tolerance to high temperature of juvenile *H. discus hannai* Ino might be above 30℃.

收稿日期: 2014-04-28; 修回日期: 2014-07-11

资助项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金“贝类产业技术体系科学家岗位专项经费”(CARS-48); 广东省渔病防治专项“无特定病原(SPF)杂色鲍苗种的循环水养殖培育”; 广东省科技厅星火计划项目(2012B020420005); 省部产学研结合示范基地项目(2012B090700013)

作者简介: 贾艳丽(1989-), 女, 硕士研究生, 从事水产动物病害及免疫学研究。E-mail: jiayanli_dajiahao@126.com

通信作者: 王江勇(1971-), 男, 研究员, 从事渔业生物病害研究。E-mail: wjy104@163.com

孙敬锋(1976-), 男, 教授, 从事水产动物病害及免疫学。E-mail: sun_jf@163.com

Key words: *Haliotis discus hannai* Ino; high temperature; mortality; growth rate

鲍隶属于软体动物门,腹足纲,前鳃亚纲,原始腹足目,鲍科鲍属^[1],具有很高的营养和药用价值,自古以来就有“一口鲍一口金”的说法,在中国的饮食文化中占有很重要的地位^[2-3]。中国是世界第一养鲍大国^[4-5],主要养殖种类是分布在大连、山东等北方沿海的皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai* Ino)和广东、福建等南方沿海的杂色鲍(*H. diversicolor* Reeve)^[6],近年来由于鲍养殖产业的高速发展而出现近交严重、种质退化以及环境恶化致使鲍病害频发,皱纹盘鲍^[7-8]和杂色鲍^[9-11]相继出现了重大病害,严重影响了鲍养殖业的发展^[12]。针对种质退化问题,科研工作者正在致力于培育出具有更高抗性的新品种,如“大连1号”杂交鲍^[13]和“东优1号”杂色鲍^[14]新品种都具有强于亲本的优良性状。

科研工作者通过选育、杂交、多倍体诱导、雌核发育等技术试图培育出性状更好的新品种^[15-21]。关于耐高温和抗病新品种的培育,国内外学者已经取得了一些进展^[22-24],其中对大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)、刺参(*Apostichopus japonicus* Selenka)、褐牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)和近江牡蛎(*Crassostrea ariakensis* Gould)等耐高温品系

的选育研究较多^[25-30],此外,在水生植物中也有对坛紫菜(*Porphyra haitanensis*)^[31]耐高温品系的培育,然而在鲍中还未见到耐高温选育的系统研究报道。此研究所选试验动物是青岛选育的2个不同自然群体皱纹盘鲍的杂交鲍,这也是首次将该种杂交鲍引进南方进行试养,为进一步研究高温胁迫对鲍体内热休克蛋白基因的表达情况和鲍的耐高温机制奠定基础,以期培育适合南方海区养殖的抗逆性强的新品种提供参考。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验时间为2013年11月中旬至2013年12月末,选取生长健康、壳长接近10 mm的皱纹盘鲍450只,平均放置于15个尺寸为50 cm×30 cm×40 cm的玻璃水缸中,玻璃缸内放置鲍砖以供鲍附着并有一定的遮光作用。试验共分5组,每组3个平行,每个平行30个重复。试验开始时选取壳长相近的幼鲍进行试验,经测量并进行数据分析后各组鲍的平均壳长约11 mm,平均壳宽约8 mm,湿质量约0.2 g,均值、标准差和组间的差异性详见表1。

表1 各组鲍试验开始时的规格

Tab. 1 Size of each group at the beginning of research

| 温度/℃ temperature | 壳长/mm shell length | 壳宽/mm shell width | 湿质量/g wet weight |
|--------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 自然温度 natural temperature | 11.08 ± 0.25 ^a | 7.91 ± 0.13 ^a | 0.23 ± 0.02 ^a |
| 25 | 11.25 ± 0.06 ^a | 8.12 ± 0.09 ^a | 0.24 ± 0.02 ^a |
| 28 | 10.83 ± 0.24 ^a | 7.79 ± 0.08 ^a | 0.21 ± 0.01 ^a |
| 31 | 10.95 ± 0.11 ^a | 7.90 ± 0.10 ^a | 0.22 ± 0.01 ^a |
| 32 | 11.29 ± 0.56 ^a | 8.26 ± 0.43 ^a | 0.23 ± 0.01 ^a |

注:同列相同上标字母表示差异不显著,反之差异显著,下表同此

Note: The same superscripts within the column indicate no significant difference, while different ones indicate significant difference. The same case in the following figure.

1.2 试验方法

将上述15个玻璃水缸平均分为5组,每组3个平行,其中1组为对照组,温度维持自然水温(试验开始时温度为22℃,在20~23℃间变化),其他4组利用加热棒(JEBO佳宝)采用温度渐变(30℃以下每3 d升温1℃,30℃以上每周升温1℃)的方式分别升温至25℃、28℃、31℃和32℃。试验开始前和结束后对其形态指标进行测定,试验期间记录死亡情况。

1.3 日常管理

每个水缸接通一个充气石保证溶解氧不低于5 mg·L⁻¹,试验期间每天下午投喂适量鲍配合饲料,次日早晨采用虹

吸法从底部清除残饵和粪便并添加经过滤并预热至所需温度的新鲜海水,依据试验设计记录死亡情况和控制加热棒的温度来调节试验组温度,温差范围控制在±0.5℃以内。

1.4 形态特征测量

用电子数显游标卡尺测量每只鲍试验前后的壳长和壳宽,电子天平测量每缸中所有鲍的总湿质量,计算平均湿质量以减少水分的影响。按照 $LGR = (L_2 - L_1) \cdot t^{-1}$, $WGR = (W_2 - W_1) \cdot t^{-1}$ 的公式计算壳长、壳宽和湿质量的日增长率,其中 L_1 和 W_1 为初始所有个体数据, L_2 和 W_2 为终末剩余个体数据,其中控温组死亡个体数据以初始数据即增长率为0计算在内求得平均值, t 为试验持续时间。

1.5 数据处理

应用 SPSS 19.0 软件进行单因素方差分析, 分析不同温度下 5 组鲍的壳长、壳宽和湿质量的日增长率。

2 结果

2.1 温度对皱纹盘鲍幼鲍生长速率的影响

经过 45 d 的控温试验后, 各组鲍的平均壳长、壳宽和湿质量均有所增长, 并有随着温度的升高增长幅度减小的趋势, 自然温度组的鲍壳长增加了 6 mm, 壳宽增长接近 5

mm, 湿质量在试验结束时增长接近约 3.0 g, 增长显著, 其他各组的壳长和壳宽增长相近且均小于 3 mm, 湿质量随着温度的升高增长幅度减小。表 2 为试验结束时成活鲍的规格。将各组鲍试验前后的壳长、壳宽和湿质量数据代入 1.4 的特定增长率公式, 死亡鲍的增长率以 0% 计算在内, 温度由低到高的壳长增长率分别为 1.2%、0.5%、0.3%、0.1% 和 0.1%, 壳宽增长率分别为 1.2%、0.6%、0.3%、0.1% 和 0.1%, 湿质量增长率分别为 6.6%、3.3%、1.7%、1.1% 和 1.2% (图 1)。

表 2 各组鲍试验结束时的规格

Tab. 2 Size of each group at the end of the experiment

| 温度/℃ temperature | 壳长/mm shell length | 壳宽/mm shell width | 湿质量/g wet weight |
|--------------------------|---------------------------|--------------------------|--------------------------|
| 自然温度 natural temperature | 11.62 ± 1.22 ^a | 8.44 ± 0.89 ^a | 3.21 ± 0.11 ^a |
| 25 | 11.49 ± 0.26 ^b | 8.39 ± 0.25 ^b | 1.73 ± 0.04 ^b |
| 28 | 10.95 ± 0.34 ^c | 7.93 ± 0.12 ^c | 0.96 ± 0.02 ^c |
| 31 | 10.99 ± 0.23 ^c | 7.95 ± 0.27 ^c | 0.73 ± 0.19 ^c |
| 32 | 11.31 ± 0.64 ^c | 8.28 ± 0.46 ^c | 0.75 ± 0.23 ^c |

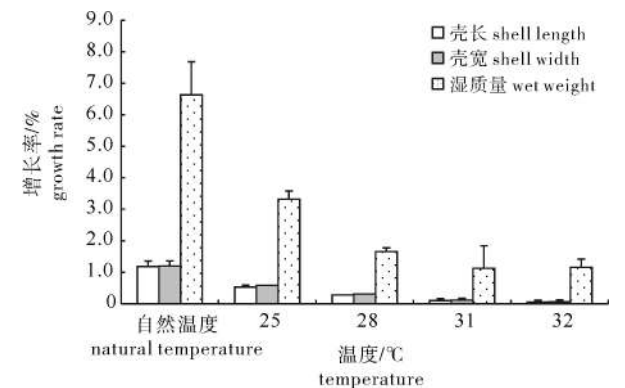


图 1 温度对皱纹盘鲍幼鲍壳长、壳宽和湿质量的影响
Fig. 1 Effect of temperature on shell length, width and wet weight of juvenile *H. discus hannai* Ino

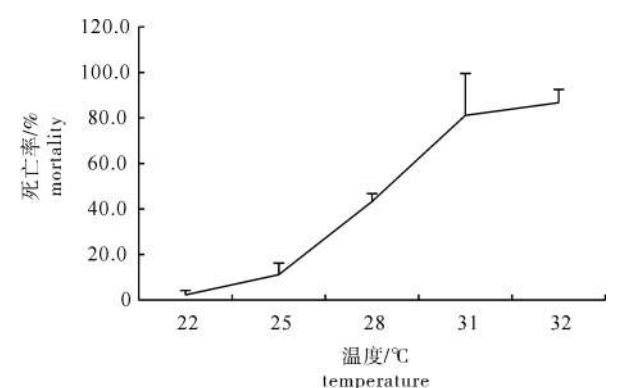


图 2 温度对皱纹盘鲍幼鲍死亡率的影响
Fig. 2 Effect of temperature on mortality of juvenile *H. discus hannai* Ino

2.2 皱纹盘鲍幼鲍对不同温度的耐受性

在日常管理期间观察到自然温度组的鲍吸附力和活力明显高于高温组, 高温组鲍的软体部分所占比例随温度的升高也减小; 试验结束后统计各组鲍的死亡率分别为 2.2%、11.1%、43.3%、81.1% 和 86.7%。随着温度的升高死亡率显著升高(图 2)。

3 讨论

温度是影响鲍健康生长和生长快慢的重要决定因素。随着夏季气温的升高, 提高鲍的抗逆性以使鲍安全度过较高水温是最直接且不易突破的技术手段, 学者们针对这一问题采取过杂交育种的措施, “东优 1 号”杂色鲍和“大连 1

号”杂交鲍的培育成功在一定程度上提高了鲍的生长性能。游伟伟等^[14]在对比温度对“东优 1 号”和其他 3 种地理群体杂色鲍的生长研究中发现, “东优 1 号”杂色鲍在各个温度下的生长情况高于其他 3 个地理群体, “大连 1 号”杂交鲍也比非杂色鲍的适温上限提高了 4~5℃, 生长率和成活率都高于父母本^[13,32], 充分体现了杂种优势, 这在一定程度上缓解了夏季死亡率高的局面, 但仍不能满足市场需求。此外, 前人从培育成功的杂交鲍中再继续筛选性状优良的鲍进行研究, 该研究中 5 组鲍在试验开始时的壳长、壳宽和湿质量不存在显著性差异(表 1), 而在试验结束时, 壳长、壳宽和湿质量在对照组、25℃和 28℃组间存在显著性差异(表 2), 在 28℃、31℃和 32℃3 组间无显著性差异,

单因素方差分析表明,温度对鲍的生长影响很大,在高于其最适生长温度 22℃ 后都有生长,但随温度的升高生长率降低,如湿质量的增长率在 22℃ 时为 6.6%,至 25℃ 时为 3.3%,28℃ 时只有 1.7%,30℃ 以后下降到约 1%。高绪生等^[33]的研究结果显示,22℃ 时皱纹盘鲍幼鲍湿质量增长率只有 2.6%,温度升高到 26℃ 时其湿质量日增重率下降到 1.7%,而该研究中皱纹盘鲍幼鲍在 22℃ 时的湿质量增长率为 6.6%,鲍湿质量日增重率为 1.7% 时的温度达到 28℃,说明该试验选取的皱纹盘鲍幼鲍与高绪生等^[34]选取的皱纹盘鲍稚鲍相比,在耐高温方面有所提高。

整体来看,杂交鲍随着温度的升高,死亡率明显增加。对照组温度随着气温变化在 20~23℃ 间自然波动,其他 4 个控温组温度均设置为高于皱纹盘鲍最适生长温度的范围,温度达到 28℃ 时该品系杂交鲍的成活率在 50% 以上,温度达到 31℃ 时仍有接近 20% 的成活率,在此高温的基础上继续升温探索该杂交鲍的耐温性能,温度升至 32℃ 维持 1 周后,该温度组成活鲍数为 10 只,占总数的 11.1%,说明该杂交鲍经驯化后部分鲍能耐受的上限温度可达到 32℃,这一温度高出其最适生长温度 10℃。

综合上述两方面内容评价该品系杂交鲍的耐温性能,该杂交鲍在 25℃ 时的日增长率可以达到传统皱纹盘鲍在 22℃ 时的日增长率,且死亡率只有 11.1%,适宜生长的上限温度升高了约 3℃^[33];温度升高至 32℃ 的高温时仍有 10% 的个体成活,说明部分杂交鲍的耐受上限能够达到 32℃。此结果为进行下一步的筛选工作奠定了良好的基础,笔者将从 28℃ 以上高温中仍然成活下来的杂交鲍继续进行选育,选出更具耐高温潜力的品系。

在后续的试验中将选取不同地区选育的皱纹盘鲍进行对比,结合其在高温条件下的生长、死亡情况、体内的生理生化反应和温度骤变条件下热休克蛋白的表达情况^[34-36],对比分析不同来源鲍对不良环境的耐受性,运用微卫星标记技术研究耐温群体和不耐温群体的基因序列差异^[37-38]来辅助选取优良品种,为提高种群质量新品种的研究,对该杂交鲍的抗逆性进行评估。

参考文献:

- [1] 刘孝华. 鲍鱼生物学特性及人工养殖技术[J]. 安徽农业科学, 2009, 37(13): 5872-5874.
- [2] 王江勇, 刘广锋, 吴忠业. 广东省杂色鲍苗种培育的现状与发展趋势[J]. 水产科技, 2006, 23(3): 1-3.
- [3] 刘彦, 李健, 宴海鸽, 等. 我国鲍鱼养殖存在的主要问题与疾病综合防治对策[J]. 北京水产, 2005, 24(3): 19-21.
- [4] FAO. Fish Stat Plus: universal software for fishery statistical time series, Version 2.3[DB]. FAO Fish Dep, Fish Inf, Data Sta Unit, 2000.
- [5] 赵洪恩. 鲍的增养殖[M]. 沈阳: 沈阳出版社, 1999: 67-89.
- [6] 柯才焕. 我国鲍鱼养殖产业现状与展望[J]. 中国水产, 2013, 56(1): 27-30.
- [7] 叶林, 俞开康, 王如才, 等. 皱纹盘鲍幼鲍溃烂病原菌的研究[J]. 中国水产科学, 1997, 4(4): 43-48.
- [8] 李霞, 王斌, 刘淑范, 等. 皱纹盘鲍“裂壳病”的病原及组织病理研究[J]. 水产学报, 1998, 22(1): 61-66.
- [9] 张朝霞, 王军, 苏永全, 等. 闽南养殖九孔鲍暴发性流行病的病原研究[J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2003, 42(3): 363-369.
- [10] 刘广锋, 周世宁, 徐力文, 等. 杂色鲍幼苗“急性死亡脱落症”病原菌分析[J]. 中国水产科学, 2006, 13(4): 655-661.
- [11] 王江勇, 刘广锋, 徐力文, 等. 杂色鲍幼苗“掉板症”病因的探讨[J]. 海洋湖沼通报, 2008, 30(3): 161-167.
- [12] 王进可, 严正凛. 鲍养殖现状及发展趋势[J]. 水产科学, 2012, 32(12): 749-753.
- [13] 刘小波. 杂交鲍“大连 1 号”[J]. 农民科技培训, 2010, 7(7): 30.
- [14] 游伟伟, 骆轩, 王德祥, 等. “东优 1 号”杂色鲍及其亲本群体的形态特征和养殖性能比较[J]. 水产学报, 2010, 37(12): 1837-1842.
- [15] JONASSON J, STEFANSSON S E, GUDNASON A, et al. Genetic variation for survival and shell length of cultured red abalone (*Haliotis rufescens*) in Iceland[J]. J Shellfish Res, 1999, 18(2): 621-625.
- [16] HARA M, KIKUCHI S. Increasing the growth rate of abalone, *Haliotis discus hannai*, using selection techniques[J]. NOAA Tech Rep NMFS, 1992, 106: 21-26.
- [17] OWEN R S, MCLEAN J H, MEYER R J. Hybridization in the eastern Pacific abalones (*Haliotis*) [J]. Bull LA Mus Nat Hist Sci, 1971, 9: 3-7.
- [18] 燕敬平, 孙慧玲, 方建光, 等. 盘鲍与皱纹盘鲍杂交育种技术研究[J]. 海洋水产研究, 1999, 20(1): 36-38.
- [19] 柯才焕, 田越, 周时强, 等. 杂色鲍与皱纹盘鲍、盘鲍杂交的初步研究[J]. 海洋科学, 2000, 24(11): 39-41.
- [20] 毛连菊, 王子臣, 刘相全, 等. 咖啡因加热休克诱导皱纹盘鲍多倍体的研究[J]. 遗传学报, 2000, 27(11): 959-965.
- [21] ARAI K, NAITO F, SASAKI H, et al. Gynogenesis with ultraviolet ray irradiated sperm in the Pacific abalone [J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1984, 50: 2019-2023.
- [22] BOWDEN T J. Modulation of the immune system of fish by their environment [J]. Fish Shellfish Immunol, 2008, 25(4): 373-383.
- [23] LUSHCHAK V I, BAGNYUKOVA T V. Temperature increase results in oxidative stress in goldfish tissues. 1. Indices of oxidative stress [J]. Comp Biochem Phys C, 2006, 143(1): 30-35.
- [24] 郭建丽, 马爱军, 田岳强, 等. 鱼类抗逆性状选育研究进展[J]. 海洋科学, 2013, 37(10): 148-157.
- [25] 马爱军, 许可, 黄智慧, 等. 大菱鲆与耐高温性状相关的微卫星标记筛选[J]. 海洋科学进展, 2011, 29(7): 370-378.
- [26] 关键, 刘梦侠, 刘洪军, 等. 大菱鲆子二代家系与亲本耐高

- 温能力比较[J]. 渔业科学进展, 2013, 34(2): 103–114.
- [27] 刘宝锁, 王清印, 孔杰. 大菱鲆幼鱼生长和耐高温性状的遗传参数估计与家系筛选[D]. 上海: 上海海洋大学, 2012.
- [28] 张其中, 邱马银, 吴信忠, 等. 热休克诱导近江牡蛎对高温的耐受性[J]. 生态科学, 2005, 24(2): 35–37.
- [29] 刘广斌, 杨红生. 刺参 *Apostichopus japonicus* (Selenka) 耐高温品系选育的基础研究[D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2008.
- [30] 李三磊, 徐冬冬, 楼宝, 等. 褐牙鲆耐热相关分子标记筛选及遗传多样性分析[J]. 上海海洋大学学报, 2012, 21(7): 516–524.
- [31] 梅高尚, 纪德华, 李兵, 等. 坛紫菜核糖体蛋白 S15a 基因的克隆及高温胁迫表达分析[J]. 水产学报, 2012, 36(12): 1826–1834.
- [32] 孙振兴, 常林瑞, 宋志乐, 等. 皱纹盘鲍与盘鲍杂交效果分析[J]. 水产科学, 2005, 24(8): 1–3.
- [33] 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(1): 20–25.
- [34] AMRO M H, DANIEL P C. Phenotypic plasticity of HSP70 and HSP70 gene expression in the Pacific oyster (*Crassostrea gigas*): implications for thermal limits and induction of thermal tolerance[J]. Biol Bull, 2003, 205: 160–169.
- [35] 程培周, 张国范, 刘晓. 皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*)热休克蛋白 70 基因的克隆, 表达及应用[D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2006.
- [36] DEANE E E, WOO N Y S W. Cloning and characterization of the hsp70 multigene family from silver sea bream: modulated gene expression between warm and cold temperature acclimation[J]. Biochem Biophys Res Com, 2005, 330: 776–783.
- [37] 李琪. 皱纹盘鲍微卫星研究进展. [J] 中国海洋大学学报, 2004, 34(3): 365–370.
- [38] 曹洁, 常亚青, 丁君, 等. 皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*)微卫星 DNA 的筛选与引物设计[J]. 农业生物技术学报, 2006, 14(3): 448–449.