

# 不同壳色文蛤免疫酶活性的比较

王家宁, 黄晨坤, 厉梦妮, 颜孙捷, 金建钰\*

温州大学教育学院, 浙江 温州

收稿日期: 2023年1月6日; 录用日期: 2023年2月3日; 发布日期: 2023年2月9日

## 摘要

软体动物贝壳神话般多姿的颜色和图案令人赞叹, 但是, 壳色对于贝体的生理意义尚不清晰。本研究选取温州市具有不同壳色的四种文蛤养殖品种(黑斑、红褐色、斑马纹、灰白色), 提取其肝胰腺组织, 开展免疫酶活性的测试。结果发现: 文蛤壳色对其肝胰腺中超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)的活力有显著影响( $F_{3,16} = 8.541, P = 0.001$ ), 对其肝胰腺中过氧化氢酶(catalase, CAT)活力无显著影响( $F_{3,16} = 0.113, P = 0.951$ ), 对其肝胰腺中丙二醛(malondialdehyde, MDA)的含量无显著影响( $F_{3,16} = 1.121, P = 0.370$ ); 整体来看, 深色文蛤体内具有更强的抗氧化酶活力, 红褐色文蛤SOD和CAT活力相对居于最高水平, 而灰白色文蛤SOD和CAT活力均为最低。这初步证实了不同壳色文蛤具有不同的抗氧化酶活性, 进一步预示着不同的壳色可能与其抗逆性相关。

## 关键词

文蛤, 壳色, 免疫酶, 活性

# Comparison of Immunoenzymatic Activities of Clam *Meretrix meretrix* with Different Shell Colors

Jianing Wang, Chenkun Huang, Mengni Li, Sunjie Yan, Jianyu Jin\*

College of Education, Wenzhou University, Wenzhou Zhejiang

Received: Jan. 6<sup>th</sup>, 2023; accepted: Feb. 3<sup>rd</sup>, 2023; published: Feb. 9<sup>th</sup>, 2023

## Abstract

The mythic diversity of colors and patterns in mollusc shells is impressive, but the physiological

\*通讯作者。

significance of shell color in shellfish remains unclear. In this study, four species of clam *Meretrix meretrix* with different shell colors (black spot, red-brown, zebra grain, gray-white) were selected from Wenzhou City, and hepatopancreas tissues were extracted for immunoenzyme activity test. Among the findings: The shell color of the clam had a significant effect on the activity of superoxide dismutase (SOD) in hepatopancreas ( $F_{3,16} = 8.541, P = 0.001$ ). There was no significant effect on the activity of catalase (CAT) in hepatopancreas ( $F_{3,16} = 0.113, P = 0.951$ ), and no significant effect on the content of malondialdehyde (MDA) in hepatopancreas ( $F_{3,16} = 1.121, P = 0.370$ ). In general, the dark clam had stronger antioxidant enzyme activities. The SOD and CAT activities of the red-brown clam were the highest, while the SOD and CAT activities of the gray-white clam were the lowest. This preliminary confirmed that clams with different shell colors have different antioxidant enzyme activities, and further suggested that different shell colors may be related to their stress resistance.

## Keywords

*Meretrix meretrix*, Shell Color, Immunoenzyme, Activity

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

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



Open Access

## 1. 引言

文蛤(*Meretrix meretrix* Linnaeus)隶属动物界(Animalia)、软体动物门(Mollusca)、瓣鳃纲(Lamellibranchia)、异齿亚纲(Heterodonta)、帘蛤目(Veneroida)、帘蛤科(Veneridae)、文蛤属(*Meretrix*),为我国沿海常见的一种经济贝类[1]。由于自然条件和个体生理因素等的影响,贝类在生长过程中,不同群体之间或同一群体中产生了壳色多态性。研究发现,海产经济贝类不同壳色品种的生长性状也不同[2]。因此,研究海产贝类壳色的调控机理以及壳色和其他经济性状的关联性就显得十分必要。

在需氧生物的新陈代谢活动中,会产生一定量的活性氧(reactive oxygen species, ROS),如果机体内的活性氧不能得以及时清除,将会伤害个体,影响其生命活动的正常运行。同时,水温会影响水生动物的抗氧化防御体系,一些慢性应激反应也会引起氧自由基升高。为了更好地适应生存环境,机体可以通过提高抗氧化酶的活力来清除氧自由基[3] [4],抗氧化酶和热休克蛋白在贝类如菲律宾蛤仔在对温度、盐度、低氧和环境污染等胁迫的反应过程中发挥着重要作用[5] [6] [7]。既然抗氧化酶家族成员在贝类的环境胁迫反应中起到重要作用,那么,文蛤壳色是否与其免疫酶活性相关?因此,本研究结合温州当地具有不同壳色的四种文蛤养殖品种(黑斑、红褐色、斑马纹、灰白色),以肝胰腺组织为代表,检测其超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活性及丙二醛(MDA)含量,开展四种不同壳色文蛤免疫酶活性的比较。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 实验材料

供试文蛤采于温州市灵昆镇农贸市场。运回实验室后,选择斧足能自然伸展、活力强且无损伤的个体用于试验。同时,在四种不同壳色(黑斑、红褐色、斑马纹、灰白色)(见图 1)的文蛤成贝个体中随机挑选 14 个,用数显游标卡尺(精度  $\pm 0.01$  mm)分别测量壳长、壳宽和壳高,用电子天平(精度  $\pm 0.0001$  g)称量湿重,所有数据以平均值  $\pm$  标准误表示(见表 1)。



**Figure 1.** Four different shell colors of *Meretrix meretrix*  
**图 1.** 四种不同壳色文蛤

**Table 1.** Descriptive statistics of morphological characteristics of *Meretrix meretrix* with different shell colors  
**表 1.** 不同壳色文蛤形态特征描述性统计

文蛤壳色	壳长/mm	壳宽/mm	壳高/mm	体重/g
黑色	48.26 ± 0.60	39.94 ± 0.58	24.82 ± 0.22	30.99 ± 1.07
红褐色	50.70 ± 0.78	41.60 ± 0.71	26.16 ± 0.51	35.52 ± 1.65
斑马纹	48.30 ± 0.82	39.67 ± 0.71	25.10 ± 0.43	31.83 ± 1.73
灰白色	46.93 ± 0.68	38.84 ± 0.55	24.75 ± 0.41	29.94 ± 1.17

## 2.2. 试剂

总蛋白定量(BCA法)试剂盒、超氧化物歧化酶(SOD)试剂盒、过氧化氢酶(CAT)试剂盒和丙二醛(MDA)试剂盒(均购自南京建成生物工程研究所)。

## 2.3. 主要仪器

高通量组织研磨器(Scientz-48, 宁波新芝生物科技股份有限公司)、-80℃冰箱(Thermo)、低温离心机(Thermo)、紫外可见分光光度计(TU-1810PC, 北京普析通用仪器有限公司)。

## 2.4. 酶活测试

从每个群体中分别挑选壳色花纹典型、大小均匀、状态较好的五个个体,于冰上解剖,取肝胰腺组织,再用4℃下预冷的0.85%的生理盐水清洗组织,滤纸吸干,电子天平称取组织质量,取每组肝组织分别稀释10倍碾磨成匀浆,离心取上清液于-60℃下保存。取上清液稀释成不同比例后,分别按照试剂盒说明书来测定肝胰腺组织蛋白质含量、SOD活力、CAT活力和MDA含量。

## 2.5. 数据统计

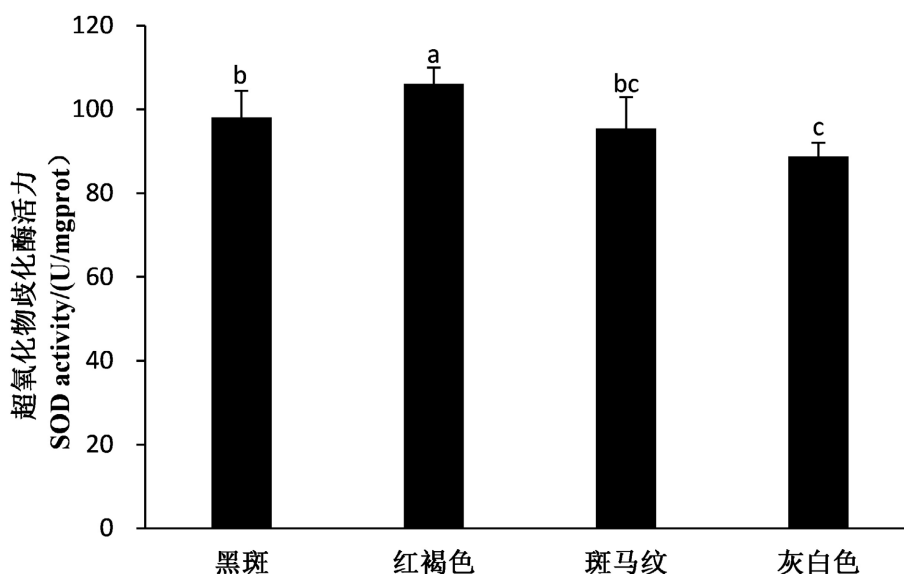
采用SPSS 20.0进行One-Way ANOVA单因素方差分析,多重比较均采用LSD检验。实验数据结果用平均值 ± 标准误(mean ± SE)表示,显著性水平设置为 $\alpha = 0.05$ 。

## 3. 结果

### 3.1. 超氧化物歧化酶(SOD)活力

结果显示,文蛤壳色对其肝胰腺中SOD的活力有显著影响( $F_{3,16} = 8.541, P = 0.001$ ),据SOD活力大

小将文蛤壳色排列为：红褐色 > 黑斑 > 斑马纹 > 灰白色(见图 2)。其中，红褐色文蛤的超氧化物歧化酶活力显著强于斑马纹( $P = 0.032$ )和灰白色( $P = 0.001$ )两种壳色的文蛤。

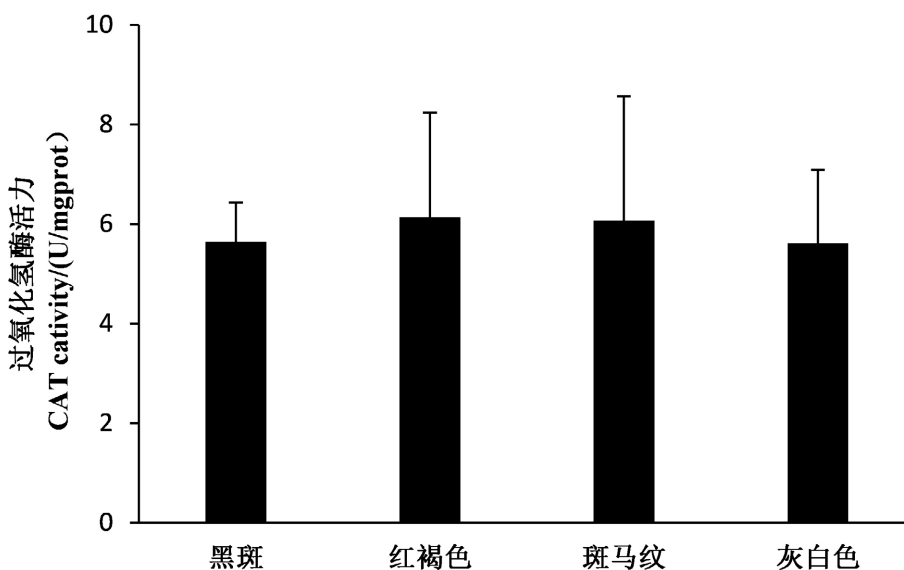


**Figure 2.** Changes of SOD activity in hepatopancreas of *Meretrix meretrix* with four different shell colors

**图 2.** 四种不同壳色文蛤肝胰腺 SOD 活力的变化

### 3.2. 过氧化氢酶(CAT)活力

结果显示，文蛤壳色对其肝胰腺的 CAT 活力无显著影响( $F_{3,16} = 0.113$ ,  $P = 0.951$ )，不同壳色文蛤的肝胰腺中 CAT 活力强度差异不显著，据 CAT 活力大小将文蛤壳色排列为：红褐色 > 斑马纹 > 黑斑 > 灰白色(见图 3)。



**Figure 3.** Changes of CAT activity in hepatopancreas of *Meretrix meretrix* with four different shell colors

**图 3.** 四种不同壳色文蛤肝胰腺 CAT 活力的变化

### 3.3. 丙二醛(MDA)含量

结果显示, 文蛤壳色对其肝胰腺中 MDA 的含量无显著影响( $F_{3,16} = 1.121, P = 0.370$ ), 不同壳色文蛤的肝胰腺中 MDA 含量差异不显著。据 MDA 含量高低将文蛤壳色排列为: 红褐色 > 黑斑 > 斑马纹 > 灰白色(见图 4)。

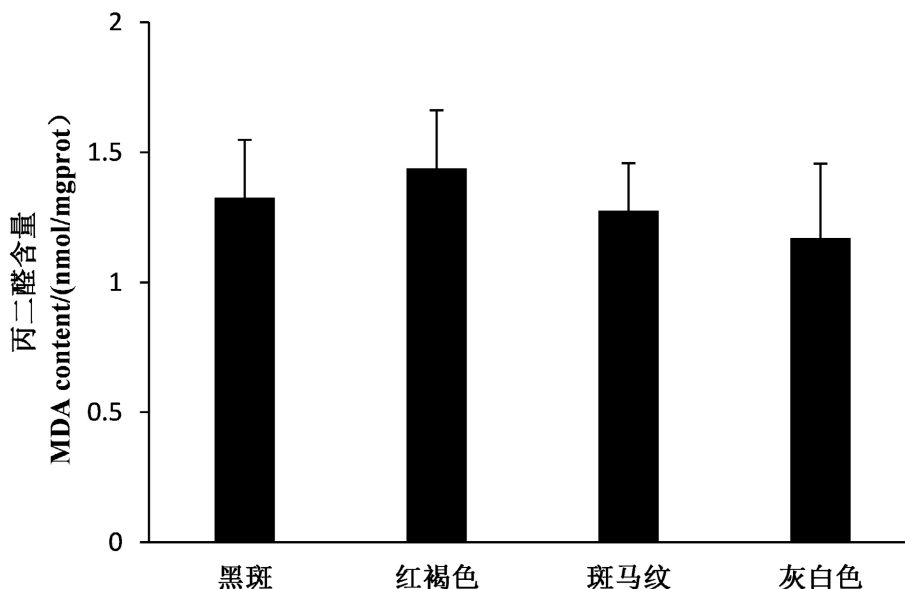


Figure 4. Changes of MDA content in hepatopancreas of *Meretrix meretrix* with four different shell colors

图 4. 四种不同壳色文蛤肝胰腺 MDA 含量的变化

## 4. 讨论

在生物体内活性氧防御系统中, 超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)是其中的两种重要酶类, 它们在清除各种自由基和过氧化物形成等方面起到了重要作用。其中, SOD 是抗氧化防御系统的第一道防线, 可清除体内过多的超氧阴离子, 同时产生  $H_2O_2$ ; CAT 则能将  $H_2O_2$  分解为  $H_2O$  和  $O_2$ , 从而清除机体过多的  $H_2O_2$  [8]。丙二醛(MDA)是体内积累过多的氧自由基攻击生物膜中多不饱和脂肪酸 (polyunsaturated fatty acid, PUFA), 造成脂质过氧化而产生的一个终产物, MDA 含量的高低可以间接反映机体细胞受自由基攻击的程度。MDA 的测定常常与 SOD 的测定一起进行, MDA 的高低可以显示机体细胞受自由基攻击的影响程度, 而 SOD 活力的高低间接代表了机体对这些氧自由基的清理能力[9]。

盐度是影响贝类生长存活的重要环境因子之一, 为了探明菲律宾蛤仔适应盐度变化的生理学机制, 有研究以盐度 35‰ 培育的蛤仔为对照, 研究了盐度骤降至 25‰ 和 15‰ 条件下不同时间后蛤仔血淋巴中抗氧化酶(SOD, CAT, GSH-PX)活力的变化[10]。抑食金球藻(*Aureococcus anophagefferens*)引发的褐潮会抑制贝类生长, 有研究通过检测不同浓度的抑食金球藻及其与亚心形四片藻(*Tetraselmis subcordiformis*)的混合藻对翡翠贻贝(*Perna viridis*)内脏团 SOD 活性和 MDA、谷胱甘肽(GSH)含量的影响, 分析抑食金球藻对贝类的危害方式, 为抑食金球藻生态毒理学提供理论基础[11]。纳米氧化镍(nNiO)作为一种广泛使用的纳米颗粒, 其水生毒理效应研究还很有限。为了探索 nNiO 对海洋贝类的毒性机制, 有研究将长牡蛎置于不同浓度的 nNiO 中暴露 96 h 后, 分别测定鳃和消化腺组织的 MDA 含量和 SOD、CAT 和过氧化物酶(POD)活性, 结果表明, 这些免疫酶的保护作用在较低浓度的 nNiO 暴露下更为有效[12]。

不同壳色文蛤免疫酶活性的比较研究表明: 1) 除了 SOD 以外, CAT 和 MDA 在不同壳色文蛤之间

无统计学意义,但可用于识别不同壳色文蛤机体抗逆性的潜在趋势;四种壳色群体中,灰白色文蛤 SOD 和 CAT 活力都为最低,而红褐色文蛤 SOD 和 CAT 活力都居于最高水平,这初步证实了不同壳色文蛤具有不同的抗氧化酶活性,进一步预示着不同的壳色与抗逆性相关。2) 不同壳色文蛤所表现出的免疫酶活力差异可能与这些蛋白质在不同壳色文蛤中的表达量有关,也可能与相应的 MDA 水平有关。颜色较深的文蛤体内天然具有较多的自由基,脂质过氧化作用较强,所以机体需要产生较多的抗氧化酶来清除过多的自由基。3) 海洋贝类中抗氧化酶活性的变化是一个动态过程,其变化受到水体成分、温度、盐度、含氧量、污染物等各种环境因素的影响,需要综合评价其抗逆能力。同时,由于本实验仅仅比较的是自然条件下的文蛤免疫酶活力,不同壳色文蛤是否具备不同的抗逆性仍有待今后的环境胁迫实验来进一步证实。

## 基金项目

温州市基础性农业科技项目(N20190010)。

## 参考文献

- [1] 王如才,王昭萍. 海水贝类养殖学[M]. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1993: 398-340.
- [2] 管云雁,何毛贤. 海产经济贝类壳色多态性的研究进展[J]. 海洋通报, 2009, 28(1): 108-114.
- [3] Livingstone, D.R. (2003) Oxidative Stress in Aquatic Organisms in Relation to Pollution and Aquaculture. *Revue de Medecine Veterinaire*, **154**, 427-430.
- [4] Kaviraj, A. and Gupta, A. (2014) Biomarkers of Type II Synthetic Pyrethroid Pesticides in Freshwater Fish. *BioMed Research International*, **2014**, Article ID: 928063. <https://doi.org/10.1155/2014/928063>
- [5] 王化敏,丁鉴锋,杨东敏,等. 4 种壳色菲律宾蛤仔在低氧胁迫下的耐受能力比较研究[J]. 大连海洋大学学报, 2018, 33(2): 181-189.
- [6] 丁鉴锋,杨霏,闫喜武,等. 不同壳色菲律宾蛤仔免疫机能的比较研究[J]. 大连海洋大学学报, 2012, 27(5): 411-416.
- [7] 丁鉴锋,王锐,闫喜武,等. 菲律宾蛤仔 3 种壳色群体低盐耐受能力的比较研究[J]. 大连海洋大学学报, 2013, 28(3): 264-268.
- [8] Madeira, C., Madeira, D., Diniz, M.S., Cabral, H.N. and Vinagre, C. (2016) Thermal Acclimation in Clownfish: An Integrated Biomarker Response and Multi-Tissue Experimental Approach. *Ecological Indicators*, **71**, 280-292. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2016.07.009>
- [9] 顾重建,金建钰,上官福根,等. 温度驯化对红耳滑龟幼龟选择体温、热耐受性和抗氧化酶活性的影响[J]. 生态学报, 2016, 36(3): 1737-1745.
- [10] 宋晓楠,马峻峰,秦艳杰,等. 盐度骤降对菲律宾蛤仔抗氧化酶活力及组织结构的影响[J]. 农学学报, 2013, 3(1): 50-56.
- [11] 谢磊,徐晓娇,江天久. 抑食金球藻对翡翠贻贝抗氧化酶系统的影响[J]. 水产学报, 2018, 42(6): 846-853.
- [12] 张钰昆,巩宁,车程,等. 纳米氧化镍颗粒对长牡蛎(*Crassostrea gigas*)抗氧化防御体系的影响[J]. 生态毒理学报, 2019, 14(2): 268-279.