

## 降温对刺参免疫酶、可溶性蛋白及可溶性糖影响的初步研究

王晓燕,常亚青,丁君,刘伟

(大连海洋大学/农业部北方海水增养殖重点实验室,辽宁大连 116023)

**摘要:**为初步探讨降温对刺参免疫酶、可溶性蛋白和可溶性糖的影响,采用2种降温模式,对刺参进行室内水温缓降实验和骤降实验。结果表明:(1)2种降温模式下刺参体壁可溶性蛋白有显著差异( $P<0.05$ );骤降过程中,不同的降温幅度(9.5、5.5、3.5℃)对可溶性糖、可溶性蛋白有显著影响( $P<0.05$ );缓降过程中,可溶性糖和可溶性蛋白在2℃点上变化较明显。(2)2种降温模式下刺参体腔液中过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)活性有显著差异( $P<0.05$ );骤降过程中,不同的降温幅度对CAT、SOD和碱性磷酸酶AKP活性有显著影响( $P<0.05$ );缓降过程中,几种免疫酶的活性随着温度的降低都产生了较为明显的变化。温度低于2~4℃以及降温幅度为9.5℃都会对刺参的免疫和生理指标产生显著影响;缓降对刺参免疫指标的影响比骤降要小。

**关键词:**刺参;低温;免疫酶;可溶性蛋白;可溶性糖

中图分类号:S917.4

文献标志码:A

论文编号:2011-1047

### A Preliminary Study of Temperature Reduction on Immune Enzymes, Soluble sugars and Soluble Proteins in Sea Cucumber

Wang Xiaoyan, Chang Yaqing, Ding Jun, Liu Wei

(Dalian Ocean University, Ministry of Agriculture Key Laboratory of the North Marine Aquaculture, Dalian, 116023, Liaoning, China)

**Abstract:** The purpose of this study was to investigate the effects of temperature reduction on immune enzymes, soluble sugars and soluble proteins in sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) preliminarily. Two temperature reduction modes were adopted. Sea cucumbers were designed to do cooling program including mild temperature and acute temperature inside. The result showed: (1) there was significant effect of two temperature reduction modes on the content of soluble proteins in the body wall of sea cucumbers ( $P<0.05$ ). In the process of acute temperature reduction, the different magnitudes of temperature reduction (9.5℃, 5.5℃, 3.5℃) were significantly affected the soluble sugars and soluble proteins ( $P<0.05$ ). In the process of mild temperature reduction, soluble sugars and soluble proteins varied obviously at 2℃. (2) There was a significant effect of two temperature reduction modes on the activities of CAT and SOD in the coelom fluid of sea cucumbers; The different magnitudes of temperature reduction significantly affected the activities of CAT, SOD and AKP in the coelom fluid of sea cucumbers ( $P<0.05$ ) at the process of acute temperature reduction. The activities of several immune enzymes changed gradually with the decrease of acclimation temperature at the

**基金项目:**国家自然科学基金“刺参耐寒相关基因筛选及表达研究”(31072230);国家海洋公益海冰监测项目“渤海海冰立体监测及高精度预警预报技术研究示范”(201105016-3)。

**第一作者简介:**王晓燕,女,1986年出生,山东临沂人,硕士研究生,主要从事动物遗传育种与繁殖研究。通信地址:116023 大连市沙河口区黑石礁街52号 大连海洋大学 农业部北方海水增养殖重点实验室, E-mail: wxy198696@163.com。

**通讯作者:**常亚青,男,1967年出生,河北邢台人,教授,博士,主要从事海洋动物遗传育种与养殖技术研究。通信地址:116023 大连市沙河口区黑石礁街52号 大连海洋大学,农业部北方海水增养殖重点实验室, Tel: 0411-84762695, E-mail: yqchang@dlou.edu.cn。

**收稿日期:**2011-12-09, **修回日期:**2012-03-23。

process of mild temperature reduction. Temperature below 2°C–4°C and the temperature reduction with 9.5°C had a significant effect on the immune and physiological indexes of the sea cucumber. Mild temperature reduction had smaller influence on the immune indexes of sea cucumber than acute temperature reduction does.

**Key words:** Sea Cucumber (*Apostichopus japonicus*); Temperature Reduction; Immune Enzymes; Soluble Proteins; Soluble Sugars

## 0 引言

刺参(*Apostichopus japonicus*)产于辽宁、山东、河北等北方沿海地区,是中国食用海参中质量最好的一种,不仅营养价值最高,而且具有广泛的药用价值,占海参养殖总量95%以上<sup>[1]</sup>。在自然条件下,温度是影响刺参生存、生长发育和繁殖的重要环境因子之一<sup>[2]</sup>,刺参的适宜温度变化范围是10~20°C。在刺参生理水平上的温度变化,刺参能够进行积极的、快速的响应,但是超过其生理承受极限的温度变化,会对刺参的生长及生理状态造成严重的伤害。国内外学者对刺参温度耐受性方面的研究主要集中在生理生态学及行为学方面。于明志等<sup>[3]</sup>研究发现,低温环境下不同群体仿刺参都出现排脏、化皮和死亡等现象,当温度降到0°C以下2天后,小规格刺参先开始出现化皮现象。有些学者通过研究温度对刺参生长、免疫等方面的影响发现,温度波动幅度小促进刺参的生长,温度波动幅度大刺参生长滞后,高温环境对刺参免疫能力的影响要强于低温和盐度胁迫环境,当温度升高时,SOD、CAT等免疫酶活性会出现明显的变化<sup>[4-6]</sup>。Dong等<sup>[7]</sup>报道,温度骤升会使机体SOD和CAT的活性升高。纪婷婷<sup>[8]</sup>研究发现,刺参在不同季节随着温度的变化,体内的SOD、CAT、GST、Hsp活性均呈现出显著的符合一定规律的变化。王方雨<sup>[9]</sup>对刺参的生态免疫与夏眠做了详细的基础性研究,认为,刺参体腔液内几种免疫酶类活性受升温胁迫影响显著;而降温胁迫的影响并不显著。综上所述,有关刺参耐寒的免疫、生理和生化指标方面的研究较少。

关于其他水产动物低温方面的研究相对较多,主要集中于鱼类和虾蟹类。常玉梅等<sup>[9-10]</sup>、丁雷<sup>[11]</sup>等报道了低温胁迫对鲤血清pH、生化指标及鲤红细胞膜表面结构的影响。马旦梅等<sup>[12]</sup>探讨了罗非鱼对不同低温胁迫及其持续期的耐受性。李强等<sup>[13]</sup>研究发现,温度对对虾血淋巴中PO、SOD和AKP活力均有显著影响,温度过高或过低都会导致免疫酶活力的下降。吴丹华等<sup>[14]</sup>报道,三疣梭子蟹血清中SOD和AKP活性在低温胁迫3 h内有明显下降趋势。孔金辉等<sup>[15]</sup>通过研究温度骤降对南美白对虾仔虾抗氧化机能的影响发现,当温度降幅为3°C时,SOD、CAT、ACP和AKP活性变化

不明显,降幅为6°C时,免疫指标活性变化明显。

近年来,北方持续降温,冰冻天气影响了中国北方沿海刺参养殖业,2010年1、2月间,辽东湾、黄海北部发生了30年来同期最为严重的低温冰害,据笔者所在课题组调查,一些地区刺参死亡率达80%以上,存活的刺参也出现了严重化皮现象。为减少低温冰害对北方刺参养殖业造成的损失,笔者研究了在不同的降温模式(骤降、缓降)下刺参几种免疫酶、可溶性蛋白和可溶性糖的变化情况,根据上述指标的变化来分析其与抗寒性的关系。同时,该研究对于指导刺参优良品种培育和养殖,具有重要的理论与实践参考价值。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料和条件

试验用刺参于2010年4月购于大连湾鹤圣丰海产品养殖场,为自然生长的个体,规格为20~60 g。将试验刺参暂养于大连海洋大学农业部北方海水增养殖重点实验室,每天降温1°C,换水1次,连续充气,最后水温维持在10°C左右。试验用养殖容器为铺有塑料膜与网片的大槽(体积约为30 L),电子天枰测量刺参体重,游标卡尺测量刺参体长,大连理工大学提供组合式冷库(冷库1号压缩机最低工作温度为-18°C)用于控制所需水温。

### 1.2 试验方法

实验前将水温缓慢从10°C降到8°C,并维持48 h。实验开始时,将刺参分为缓降和骤降两个降温模式处理组,每个处理组6个平行,每个平行7头刺参。缓降的降温方法为:温度从8°C缓慢降到-1.5°C,降温路线为8°C→6°C→4°C→2°C→1°C→0°C→-1°C→-1.5°C,每降1个梯度后维持1天。并在4°C、2°C、0°C、-1.5°C 4个温度点解剖取样,每个处理组随机取样6头刺参。骤降的降温方法为:将刺参分为8°C→-1.5°C,4°C→-1.5°C,2°C→-1.5°C 3个处理组,每个处理组6个平行,每个平行7头刺参。每个处理组的刺参在投入-1.5°C水中1、3、6、9、24 h后分别解剖取样,每个处理组每次随机取样6头刺参。

实验所取样品为刺参体腔液和体壁,解剖剪取刺参体壁组织,2 mL注射器抽取体腔液,分别装入1.5 mL离心管内,先用液氮冻存,后放入-80°C冰箱保



存,待测,每次取样前先称量各刺参体重。待所有样品取完后,测其体腔液的过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)、酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(AKP)等免疫酶活性,体壁可溶性蛋白的含量,以上指标均采用试剂盒(南京建成生物工程研究所生产)测定,具体方法见使用说明,体壁可溶性糖采用苯酚浓硫酸法进行测定。

### 1.3 统计分析

利用 Excel 和 SPSS 13.0 对数据进行统计分析。对不同降温模式下各指标之间的差异采用单因素方差

分析(One-way ANOVA)检测,对不同的降温幅度下各指标的差异采用双因素(降温幅度、持续时间)方差分析(Two-way ANOVAs)检测( $P < 0.05$  认为差异显著)。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同降温模式对刺参可溶性糖、可溶性蛋白含量的影响

在缓降和骤降2种降温模式下,缓降模式下的可溶性蛋白含量要显著高于骤降模式( $P < 0.05$ ),2种模式下的可溶性糖没有显著性的差异( $P > 0.05$ )(表1)。

骤降过程中,不同的降温幅度(9.5、5.5、3.5℃)与

表1 2种降温模式下刺参可溶性糖和可溶性蛋白含量的均值

指标	缓降均值	骤降均值	P值
可溶性糖	3.38	3.51	0.988
可溶性蛋白	0.79	0.41	0.02*

注:\*表示差异显著,\*\*表示差异极显著。

可溶性糖、可溶性蛋白含量变化具有显著的相关关系。其中,降幅为9.5℃的可溶性蛋白含量要显著高于其他2组( $P < 0.05$ ),而可溶性糖的含量要显著低于其他2组( $P < 0.05$ )。降幅为5.5℃和3.5℃2组之间的可溶性蛋白和可溶性糖没有显著性差异( $P > 0.05$ )。可溶性蛋白含量与刺参在该温度下的维持时间有极强的相关性,而且其温度变化量与维持时间之间存在极显著的交互作用(表2)。

从总体看来,缓降过程中,可溶性糖和可溶性蛋白

在2℃变化较明显。可溶性蛋白含量在2℃时达到最大值,而后减少。可溶性糖含量在2℃时达到最低值,而后逐渐升高,但是整个过程变化幅度很小(图1)。

### 2.2 不同降温模式对刺参几种免疫酶活性的影响

在缓降和骤降2种降温模式下,缓降模式下的SOD活性要显著高于骤降模式( $P < 0.05$ ),而骤降模式下的CAT活性要显著高于缓降模式( $P < 0.05$ ),2种模式下的AKP、ACP活性没有显著性的差异( $P > 0.05$ )(表3)。

如表4骤降过程中,不同的降温幅度(9.5、5.5、

表2 不同降温幅度下刺参可溶性糖和可溶性蛋白含量的均值

指标	均值			P值		
	8→-1.5℃	4→-1.5℃	2→-1.5℃	温度变化幅度	维持时间	交互作用
可溶性糖	3.07 <sup>a</sup>	3.47 <sup>b</sup>	3.27 <sup>ab</sup>	0.012*	0.617	0.781
可溶性蛋白	0.73 <sup>b</sup>	0.37 <sup>a</sup>	0.41 <sup>a</sup>	0.000**	0.000**	0.000**

注:\*表示差异显著,\*\*表示差异极显著。表中不同小写字母表示0.05水平差异显著。下同。

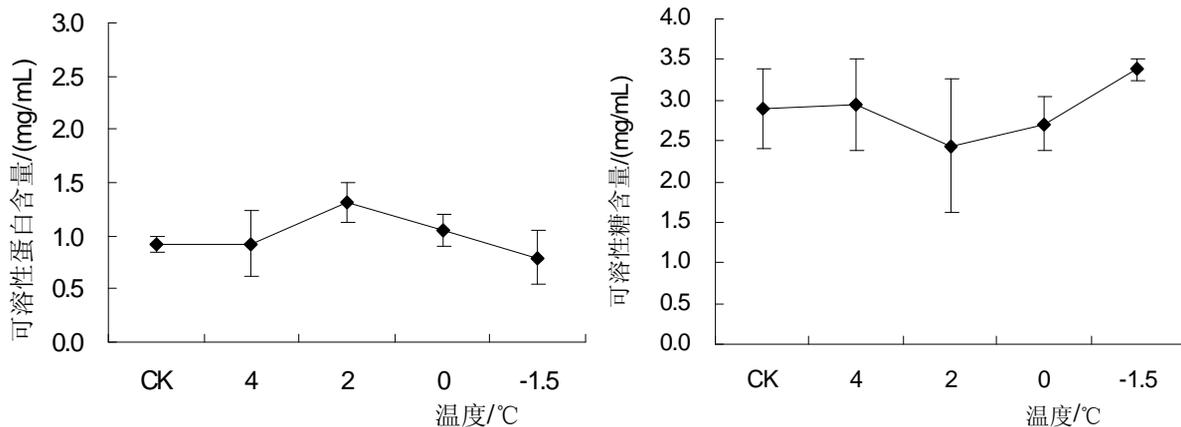


图1 缓降过程中刺参可溶性糖和可溶性蛋白的变化规律

表3 2种降温模式下刺参几种免疫酶活性的均值

指标	缓降均值	骤降均值	P值
过氧化氢酶(CAT)	505.37	973.93	0.011 <sup>*</sup>
超氧化物歧化酶(SOD)	93.49	32.24	0.005 <sup>**</sup>
碱性磷酸酶(AKP)	0.54	0.12	0.869
酸性磷酸酶(ACP)	0.76	0.26	0.822

表4 不同降温幅度下刺参几种免疫酶活性的均值

指标	均值			P值		
	8→-1.5℃	4→-1.5℃	2→-1.5℃	降温幅度	维持时间	交互作用
过氧化氢酶(CAT)	3297.54 <sup>c</sup>	1420.21 <sup>b</sup>	658.29 <sup>a</sup>	0.000 <sup>**</sup>	0.001 <sup>**</sup>	0.000 <sup>**</sup>
超氧化物歧化酶(SOD)	149.51 <sup>b</sup>	57.66 <sup>a</sup>	65.89 <sup>a</sup>	0.000 <sup>**</sup>	0.005 <sup>**</sup>	0.171
碱性磷酸酶(AKP)	0.66 <sup>c</sup>	0.26 <sup>a</sup>	0.45 <sup>b</sup>	0.000 <sup>**</sup>	0.013 <sup>*</sup>	0.000 <sup>**</sup>
酸性磷酸酶(ACP)	0.65 <sup>a</sup>	0.56 <sup>a</sup>	0.52 <sup>a</sup>	0.439	0.003 <sup>**</sup>	0.005 <sup>**</sup>

3.5℃)与CAT、SOD、AKP活性变化均具有显著的相关关系。其中,降幅为9.5℃的CAT、SOD、AKP活性要显著高于其他2组( $P<0.05$ ),3组之间的ACP活性没有显著的差别( $P>0.05$ )。降幅为5.5℃和3.5℃2组之间的CAT和AKP有显著性的差异( $P<0.05$ ),而SOD和ACP没有显著性差异( $P>0.05$ )。SOD、CAT、AKP和ACP活性与刺参在该温度下的维持时间有极强的相关性,而

且CAT、AKP、ACP3个指标降温幅度与维持时间之间存在极显著的交互作用( $P<0.05$ )。

如图2从总体看来,缓降过程中,各生理指标在4℃点上变化较明显,SOD和CAT活性在4℃急剧降低之后,随着温度的进一步降低,变化趋势相反且变化幅度不大。AKP和ACP活性在4℃升高之后,随着温度的降低逐渐降低,且当温度降至最低点时,AKP活性升高。

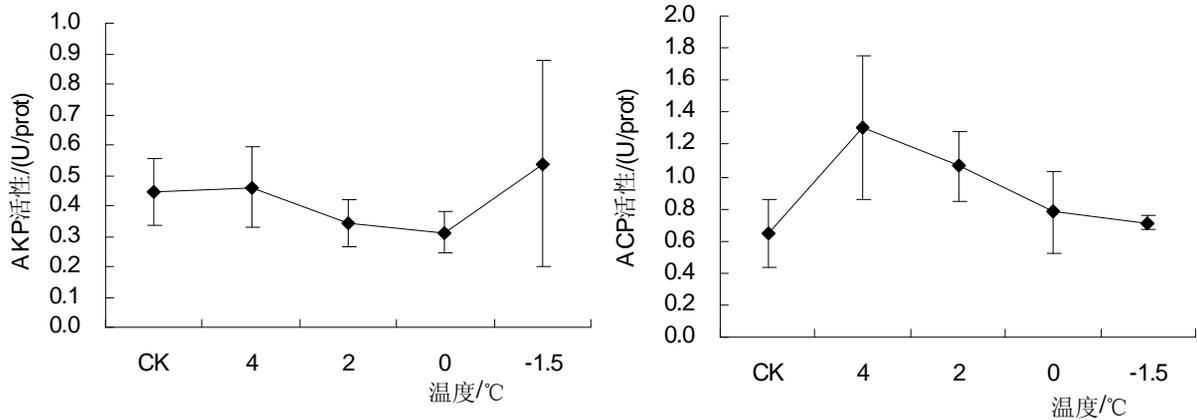


图2 缓降过程中刺参体腔液几种免疫酶的变化规律

### 3 讨论

#### 3.1 不同降温模式对刺参可溶性糖及可溶性蛋白的影响

可溶性蛋白作为调控蛋白,在生理代谢中发挥着重要作用。而生物体内的可溶性糖主要是为机体提供能量并保护细胞维持其基本的形态和功能。温度变化可影响鱼类和虾蟹类组织可溶性糖和可溶性蛋白含量

的变化<sup>[16-18]</sup>。本实验中,刺参在缓降模式下的可溶性蛋白含量要显著高于骤降模式,说明这2种不同的降温模式对刺参体壁可溶性蛋白代谢有显著的影响。刺参在受环境胁迫时为了维持自身的生存,会缓慢消耗已经储存的能量<sup>[19-21]</sup>,机体内蛋白质的代谢受多种因素的影响,要深入了解不同降温模式对刺参可溶性蛋白的作用机理,需做进一步研究。在缓降过程中,可溶性蛋



白含量在2℃达到峰值后逐渐减少,在2℃之前蛋白含量的增加,一方面可能是为了补充SOD和CAT活性降低后刺参机体免疫能力的不足<sup>[22]</sup>,另一方面可能是机体对低温应答产生应激蛋白和调控蛋白<sup>[23]</sup>。由于低温胁迫下蛋白质合成能力下降,并且随着温度的降低,需要消耗蛋白维持刺参基本需求,所以2℃之后随着温度降低可溶性蛋白含量呈下降趋势。体壁中可溶性糖含量变化波动幅度不是很大,变化规律与可溶性蛋白相反,在2℃略微降低,而后可溶性糖含量升高,这可能是由于低温环境下糖代谢相关酶的活性降低,可溶性糖不能转化成其他物质,导致其含量增加,也可能是在2℃之后,低温促使刺参应激反应加强,生物体内信号调控使组织内糖元的释放及合成增加。在2℃之前其含量略微降低,可能是由于刺参体内蛋白质合成量增加,所需的能量消耗所致。刺参体壁可溶性糖和可溶性蛋白的这种变化趋势与孔祥会的研究结果有所不同,孔祥会等<sup>[23-24]</sup>认为,经低温驯化的锯缘青蟹其可溶性蛋白和可溶性糖含量都是随温度降低而降低,而经温度骤降后其可溶性蛋白和可溶性糖含量在骤降初期升高,随后呈下降趋势。关于可溶性糖和可溶性蛋白的研究,在植物中也有报道,一般情况下低温驯化植物组织可溶性糖含量增加<sup>[25]</sup>。杨向娜等<sup>[26]</sup>发现仁用杏的可溶性蛋白呈先上升后降低的趋势,这与本试验研究结果相似。因此,在一定范围的低温条件下,刺参体内的代谢会增强,以此来适应温度的变化,保持正常的生理状态,但当温度降低到一定范围以后,由于体内相关酶和其它一些活性因子活力的降低,会使刺参的代谢减弱,影响刺参正常的生理状态。

### 3.2 不同降温模式对刺参几种免疫酶的影响

研究表明,不同的温度变化模式能够引起刺参生长上的显著差异<sup>[27]</sup>,而不同的温度变化模式是否也会对刺参的生理状态即生理生化指标产生显著的差异,本试验对此作了初步研究。SOD、CAT是机体清除氧自由基的重要抗氧化酶。AKP和ACP是动物体内参与免疫防御的2种重要水解酶,可能参与对外来异物的修饰,有增强血细胞识别异物的功能,在机体免疫防御过程中起到重要作用<sup>[28]</sup>。经研究发现,刺参在缓降模式下的SOD活性要显著高于骤降模式,而骤降模式下的CAT活性要显著高于缓降模式。这些与刺参的免疫能力相关的酶,它们之间对机体的免疫起协同和互补作用,其中的1种或者2种被抑制后另外2种或者1种就会显著提高<sup>[23]</sup>。低温刺激会使刺参体内的活性氧自由基(ROS)等有害物质增多<sup>[1]</sup>,因此,相应的2种降温模式下的SOD、CAT活性分别增多,以此来清除

体内的有害物质,保护身体不受损伤。但是2种降温模式下免疫酶的活性出现了显著的差异,这可能是由于SOD在刺参体内的作用时间要比CAT长<sup>[1,5,29]</sup>,短时间内CAT的活性要比SOD高,在机体防御中起主要作用,而长时间后,CAT活性降低,SOD活性升高以补充CAT的减少。本研究发现2种降温模式下AKP和ACP没有表现出显著的差异,这可能是在试验过程中,不论是缓降还是骤降,刺参均未表现出病变或化皮现象,2种降温模式对刺参免疫防御过程的影响没有明显的区别。关于不同降温模式对刺参免疫酶影响的研究,尚未见到类似报道,有待于进一步研究。

本研究发现,在缓降过程中,各免疫酶活性在4℃变化较明显,而2~4℃是否是刺参低温耐受性的一个临界点尚需深入研究。SOD和CAT活性在4℃显著降低之后趋于稳定,这是由于低温条件下刺参代谢减弱,产生的有氧代谢废物减少,相应的所需SOD和CAT的量下降,这是刺参在低温条件下的一个自我保护机制。孔祥会等<sup>[30-31]</sup>发现青蟹肝胰腺中抗氧化酶(SOD、CAT和GPX)活性,随驯化温度的降低而降低,而鳃中抗氧化酶活性随驯化温度的降低而升高,这可能是由于鳃生理功能的特殊性所决定的。该研究中ACP活性在4℃最高,之后随着温度的降低活性逐渐降低。磷酸酶活性的降低能使组织细胞生理活动维持于较低的水平以适应极端环境<sup>[32]</sup>。丁小丰<sup>[33]</sup>在锯缘青蟹中所观察到ACP活性随温度降低逐渐降低,与本研究结果有相似之处。

温度波动幅度不仅会影响刺参的生长状况,而且还会改变刺参的生理状态。Dong等<sup>[34]</sup>研究表明,在恒定温度下,刺参幼参在15℃时的生长率比18℃时要高,与恒定温度相比,波动温度能提高刺参的最适生长温度。上述研究只是把平均温度设置在刺参的最适温度条件下,并没有涉及低于最适温度刺参免疫酶活性的变化。本研究发现,在同样降温到-1.5℃条件下,不同的降温幅度所引起的刺参各生理指标的变化有明显的差异,这与纪婷婷<sup>[1]</sup>的研究结果一致。在该研究中,SOD在降幅为5.5℃和3.5℃时差异不显著,这可能是由于温度骤降的幅度不够大,具体原因有待于进一步的试验证明。3个处理组之间的ACP活性没有显著性的差异,可能是不同的降温幅度的刺激不足以激活或抑制溶酶体中以ACP为主体的一系列的水解酶,机体没有被异源物质入侵<sup>[35]</sup>。除了SOD,刺参在-1.5℃条件下的其他3种免疫酶活性与刺参处在该温度条件下的时间有很强的相关关系,这与Dong等<sup>[7,29]</sup>的研究结果相似,这种变化趋势可能与刺参对环境的适应性及各



免疫酶自身的生理活性特征有关。由此可见,低温对于刺参免疫水平的影响与其对代谢水平的影响是相似的,刺参的免疫能力对低温也具有一定程度的承受能力,但是温度降低到一定水平以后,由于与免疫相关的酶等活性被抑制,降低了刺参的机体免疫能力。

4 结论

本试验采用了2种降温模式(缓降和骤降)研究了刺参免疫酶、可溶性蛋白和可溶性糖含量的变化情况,前人尚未曾报道过。通过本次研究,认为,温度低于2~4℃以及降温幅度为9.5℃都会对刺参的免疫和生理指标产生显著的影响;缓降对刺参免疫指标的影响比骤降要小。本研究只是对刺参部分生理指标在降温过程中的变化情况做了初步研究,要想深入了解降温过程中刺参各生理指标的变化规律及刺参耐寒机制,从分子水平研究其生长、发育和代谢规律显得尤为重要。本试验未对刺参致死温度做进一步研究,设定的温度范围有一定的局限性,最低温度设为-1.5℃,而对于低于-1.5℃刺参各生理指标的变化情况,也需做进一步的试验分析。

低温以及较大的温度波动能对刺参的免疫酶、可溶性蛋白和可溶性糖产生较显著的影响,进而对刺参的生长和发育产生不利的影响,但刺参对低温环境表现出了一定的适应性。因此,在刺参养殖过程中要尽量避免低温以及过大的温度波动给刺参带来的危害,同时应该通过选择育种等方式把刺参对低温的这种适应性进行有效的提高和加强,培育出优良的抗低温品种,以减少低温冰害对刺参养殖业造成的损失。

参考文献

[1] 纪婷婷.刺参(*Apostichopus Japonicus*)对温度变化的生态生理响应机制[D].青岛:中国海洋大学,2009.

[2] 胡庆明,陈远,隋锡林.温度对幼参生长和摄食的影响[J].水产科学,1986,5(2):14-17.

[3] 于明志,常亚青.低温对不同群体仿刺参幼参某些生理现象的影响[J].大连水产学院学报,2008,23(1):31-36.

[4] 李宝泉,杨红生,张涛,等.温度和体重对刺参呼吸和排泄的影响[J].海洋与湖沼,2002,33(3):183-187.

[5] Wang F Y, Yang H S, Gao F, et al. Effects of acute temperature or salinity stress on the immune response in sea cucumber, *Apostichopus japonicus*[J]. Comparative Biochemistry and Physiology 2008,151(4):491-498.

[6] Yang H S, Yuan X T, Zhou Y, et al. Effects of body size and water temperature on food consumption and growth in the sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) with special reference to aestivation[J]. Aquaculture Research,2005,36(11):1085-1092.

[7] Dong Y W, Ji T T, Dong S L. Stress responses to rapid temperature

changes of the juvenile sea cucumber (*Apostichopus japonicus Selenka*)[J]. Journal of Ocean University of China(English Edition), 2007,6(3):275-280.

[8] 王方雨.刺参生态免疫与夏眠的基础研究[D].青岛:中国科学院海洋研究所,2008.

[9] 常玉梅,梁立群,孙效文,等.低温鲤鱼血清 PH 值的变化[J].东北农业大学学报,2006,37(3):357-361

[10] 常玉梅,匡友谊,曹鼎臣,等.低温胁迫对鲤血液学和血清生化指标的影响[J].水产学报,2006,30(5):701-706.

[11] 丁雷,李勇,李言,等.低温胁迫对虹鳟红细胞膜表面结构的影响及相关基因分析[J].中国水产科学,2009,16(4):496-505

[12] 马旦梅,程光平,喻海燕.吉富罗非鱼对低温持续胁迫的死亡反应[J].广西农业科学,2010,41(7):726-728.

[13] 李强,李华,姜传俊,等.温度对凡纳滨对虾血淋巴免疫指标的影响[J].大连水产学院学报,2008,23(2):132-135.

[14] 吴丹华,郑萍萍,张玉玉,等.温度胁迫对三疣梭子蟹血清中非特异性免疫因子的影响[J].大连海洋大学学报,2010,25(4):370-375.

[15] 孙金辉,徐霞,季延滨,等.温度骤降对南美白对虾仔虾抗氧化机能的影响[J].天津农学院学报,2008,15(3):7-10.

[16] 翁幼竹,李少菁,王桂忠.饥饿对锯缘青蟹幼体生化组成的影响[J].厦门大学学报自然科学版,2002,41(1):84-88.

[17] 王群,赵云龙,陈立桥.中化绒螯蟹雄性生殖系统生化组成及精子代谢[J].水产学报,2002,26(5):411-416.

[18] 王瑁,丘书院,杨圣云,等.花尾胡椒鲷幼鱼的生化组成和比能值[J].中国水产科学,2001,8(3):5-9.

[19] Yang H S, Yuan X T, Zhou Y, et al. Effects of body size and water temperature on food consumption and growth in the sea cucumber *Apostichopus japonicus* (Selenka) with special reference to aestivation[J]. Aquaculture Research,2005,36(11):1085-1092.

[20] 李馥馨,顾本学.刺参(*Apostichopus japonicus* Selenka)夏眠习性研究 II——夏眠致因的探讨[J].中国水产科学 1996(02):49-57.

[21] 刘永安,李馥馨,顾本学.刺参(*Apostichopus japonicus* Selekanka)夏眠习性研究 I——夏眠生态特点的研究[J].中国水产科学,1996(02):42-49.

[22] Gupta S C, Siddique H R, Mathur N, et al. Induction of hsp70, alterations in oxidative stress markers and apoptosis against dichlorvos exposure in transgenic *Drosophila melanogaster*: Modulation by reactive oxygen species[J]. Biochimica et biophysica-General Subjects.2007,1820(1):1382-1394.

[23] 孔祥会,边中春,王贵忠.温度骤降对锯缘青蟹可溶性蛋白和可溶性糖的影响[J].河南师范大学学报:自然科学版,2005,33(3):98-101.

[24] 孔祥会,王桂忠,李少菁.低温驯化对锯缘青蟹可溶性蛋白与可溶性糖的影响[J].厦门大学学报:自然科学版,2006,45(2):257-260.

[25] 王淑杰,王加民,李亚东,等.可溶性全蛋白、可溶性糖含量与葡萄抗寒性关系的研究[J].北方园艺,1996(2):13-14.

[26] 杨向娜,魏安智,杨途熙.仁用杏3个生理指标与抗寒性的关系研究[J].西北林学院学报,2006(3):30-33.

[27] An Z H, Dong Y W, Dong S L. A high-performance temperature-control scheme: growth of sea cucumber *Apostichopus japonicus* with different modes of diel temperature fluctuation[J].