

基于响应面法分析温度和盐度及其交互作用对大菱鲆幼鱼抗氧化酶活性的影响

王新安, 郭黎, 马爱军, 黄智慧, 何伟国, 马得友

(中国水产科学研究院 黄海水产研究所 农业部海洋渔业青岛市海水鱼类种子工程与生物技术重点实验室, 可持续发展重点实验室, 山东 青岛 266071)

摘要: 为了分析温度和盐度及其交互作用对大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)抗氧化酶活性的影响, 作者采用中心组合设计和响应曲面法研究温度(17~23 °C)和盐度(20~40)对大菱鲆幼鱼血清超氧化物歧化酶(SOD)活力的效应。结果表明: 温度对大菱鲆幼鱼血清 SOD 活力的线性效应极显著($P < 0.01$), 累积效应不显著($P > 0.05$); 盐度对大菱鲆幼鱼肠道 SOD 活力线性效应显著($P < 0.05$), 累积效应极显著($P < 0.01$); 温度和盐度对 SOD 活力的互作效应达到显著水平($P < 0.05$)。响应曲面法分析表明, 随着温度和盐度的增大, SOD 的活力基本上均呈先降后升的趋势。建立 SOD 活力与温度、盐度及其温度-盐度互作效应的模型方程 $Y = 74.76 - 9.53 X_1 + 5.31 X_2 + 1.8 X_1 X_2 + 5.31 X_1^2 + 10.53 X_2^2$, 并据此预测大菱鲆幼鱼血清 SOD 的活力。对所建模型进行优化, 得到 SOD 活性最低的理论最佳条件为: 温度 21.84°C, 盐度 27.97, 在此条件下 SOD 活性值为 70.0463 U/mg。

关键词: 大菱鲆(*Scophthalmus maximus*); 响应面分析; 温度; 盐度; 交互作用

中图分类号: Q953 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2014)06-0017-07

doi: 10.11759/hyxx20130606001

水生动物的生长受温度、盐度、光照等多种环境因素的影响。水体环境的变化将导致鱼体内活性氧含量及抗氧化酶活性的变化, 产生应激反应。长期的应激状态, 必然会导致鱼体的免疫防御能力和抗病力下降, 影响其正常生长^[1]。在各种水体环境因素中, 温度和盐度被认为是水产养殖中直接影响水生生物生长与存活的重要环境因子^[2]。由于抗氧化酶活力的变化在一定程度上反映鱼类在不同环境条件下的生理状况, 因此, 可作为衡量鱼类受外界环境胁迫大小的生理指标^[3]。其中, 血清超氧化物歧化酶(SOD)是生物体应对氧化损伤的重要抗氧化酶, 在活性氧清除反应中, 处于核心的地位, 能将超氧化物阴离子自由基快速氧化为过氧化氢和分子, SOD 活力的改变在一定程度上可以反映鱼类在不同环境条件下的生理状况。因而在生物学研究中, SOD 被认为是衡量生物环境适宜程度的一类重要生理指标^[4]。

从“十一五”开始, Liang 等^[5-7]开始大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)的耐高温品系选育, 目前已选育出耐高温新品系^[7]并推广到福建等地进行养殖示范。对选育出的大菱鲆耐高温品系在推广示范养殖或继续传代选育时, 除主要考虑耐高温品系的耐受温度外, 还要参考所推广地区或选育地点其他水体环境因素的

影响。有关温度和盐度及其交互作用对大菱鲆抗氧化酶活性的影响也已有研究^[8], 由于受研究方法的制约, 仅得出大菱鲆幼鱼适宜的生活水温和盐度范围, 无法获得大菱鲆生长最佳的温度与盐度组合点。本研究采用响应面分析方法考察温度和盐度对大菱鲆幼鱼 SOD 活力的影响, 建立因子与响应间关系的曲面模型, 对各因子的二次效应及其交互作用进行研究, 旨在探讨和预测大菱鲆幼鱼机体抗氧化体系在不同水体温度和盐度条件下的变化规律, 确定其最佳生活环境, 为大菱鲆耐高温品系的推广示范养殖或传代选育以及耐温、耐盐复合性状选育提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用大菱鲆幼鱼采自山东省烟台市国家级原良种场天源水产养殖公司。为大菱鲆耐高温选育 2

收稿日期: 2013-06-06; 修回日期: 2013-10-21

基金项目: 国家 863 计划共同资助项目(2012AA10A408-8); 现代农业产业技术体系建设专项资金资助项目(CARS-50-G01)

作者简介: 王新安(1970-), 男, 山东枣庄人, 副研究员, 主要从事鱼类繁育与育种研究, E-mail: wangxa@ysfri.ac.cn; 马爱军, 通信作者 E-mail: maaj@ysfri.ac.cn

代幼鱼。2007 年春季, 采用大规模家系选育与分子标记辅助育种相结合的手段, 开展了大菱鲂耐高温选育研究, 基于对所收集不同群体的遗传背景分析, 完成了基础群体的构建; 2008 年春季, 进行了大规模耐高温筛选, 获得选育一代耐高温家系。2010 年将家系作为选育亲本, 构建并培育了选育二代家系。选择人工繁育的无病无伤、活力强的健康个体作为试验用鱼, 个体质量为(82.75±17.58)g。试验鱼在玻璃水槽中暂养 7 d, 暂养期间, 每天 9: 00 投喂饵料, 持续充气, 每天换水 1 次。海水正常盐度为 30, 低盐度海水由地下海水与淡水配制而成, 高盐度海水由地下海水与海水晶(“珊瑚牌”海水晶购自昌邑市海瑞佳海水晶有限公司)配制而成。水温 17 °C, 采用静水法充气培养, 用自动恒温加热器控温。

1.2 方法

1.2.1 实验设计

参考耐高温选育的试验结论^[7]和前期基于温度及盐度对大菱鲂抗氧化酶活性的影响的初步研究^[8], 确定耐高温选育幼鱼适宜摄食与生长的温度和盐度范围。利用 Design-expert 响应曲面设计软件, 采用 Box-Behnken Design(BBD)设计实验方案。实验温度设计为 17~23°C, 盐度设计为 20~40, 响应指标为 SOD 活力。试验采用 2 因素 3 水平, 具体的试验因素与水平设计见表 1。各水平的编码值分别为-1, 0, 1。整个实验设计包括 13 个温度和盐度组合(表 2), 因子点数 4 个, 轴点数 4 个, 保证均一精密性的中心点重复次数为 5, 次序随机, 每个实验组合设置 3 组平行。实验在玻璃水槽中进行, 每个水槽盛海水 300 L, 放养 30 尾鱼。

表 1 响应面设计影响大菱鲂幼鱼血清抗氧化酶活性的因素和水平

Tab. 1 The factors and levels of the response surface analysis

因素	水平		
	-1	0	1
温度(°C)	17	20	23
盐度	20	30	40

1.2.2 实验方法

制备血清样品。在达到设定的试验组合条件 2 d 后, 从每个水槽中随机取 3 尾鱼, 用一次性注射器(2.5 mL)从大菱鲂幼鱼尾静脉取血, 血液置于 1.5 mL 离心管中, 4 °C 下静置 4 h 后, 以 12 000 r/min 离心 30 min, 取上清液, 即为血清样品。所取样品均置于冰箱(-20 °C)

中以备用。SOD 活力测定采用南京建成生物研究所生产的试剂盒, 蛋白浓度用考马斯亮蓝法(Brodford 法)测定, 采用酶标仪测定吸光度值。1 个 SOD 活力单位(U)定义为 1 mg 组织蛋白在 1 mL 反应液中 SOD 抑制率达 50%时所对应的 SOD 量, 酶的活力以比活力表示, 单位为 U/mg。

1.2.3 数据分析

数据测定结果用平均值±标准差(mean ± SD) 表示。利用 Design-expert 软件, 通过最小二乘法拟合因子与响应值之间的二次多项回归方程: $Y = b_0 + b_1T + b_2S + b_3TS + b_4T^2 + b_5S^2 + \varepsilon$; 式中, Y 为 SOD 活力的响应预测; b_0 为回归常数; b_1 、 b_2 分别为温度和盐度的一次效应; b_3 为温度和盐度的互作效应; b_4 、 b_5 分别为温度和盐度的二次效应; ε 为残差。显著水平设定为 $\alpha = 0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 模型的建立

根据相应的方案进行试验, 结果见表 2。将试验数据进行多元回归拟合, 得到以 SOD 活性 Y 为目标函数的二次回归方程模型为:

$$Y = 74.76 - 9.53 X_1 + 5.31 X_2 + 1.8 X_1 X_2 + 5.31 X_1^2 + 10.53 X_2^2$$

式中, Y 为 SOD 活性, X_1 为温度, X_2 为盐度。 X_1 和 X_2 在设计中均经量纲线性编码处理, 因此模型中各项系数绝对值的大小直接反应了各因素对指标值的影响程度, 系数的正负反映了影响的方向。

表 2 响应面分析方案及试验结果

Tab. 2 Arrangement and experimental results of response surface 3-level factorial design

实验号	因素		响应值
	温度(°C)	盐度	超氧化物歧化酶 (U/mg)
1	20	30	75.79 ± 5.79
2	23	40	89.15 ± 10.65
3	20	30	73.01 ± 5.16
4	17	30	84.41 ± 11.74
5	23	20	70.92 ± 8.51
6	20	20	82.45 ± 6.87
7	20	30	77.99 ± 6.01
8	23	30	72.64 ± 7.71
9	20	40	85.04 ± 8.99
10	17	20	97.21 ± 8.45
11	20	30	72.21 ± 7.71
12	20	30	77.91 ± 5.91
13	17	40	108.24 ± 10.91

从表 3 可以看出, 温度和盐度对大菱鲂幼鱼 SOD 活性之间所建立的回归模型显著($P < 0.01$); 且失拟项不显著($P = 0.0850 > 0.05$), 这表明该模型对试验拟合较好, 拟合的模型是有效的。可用于预测不同温度和盐度组合条件下大菱鲂幼鱼血清 SOD 活性的变化情况。在一次项中, X_1 (温度) 的回归系数均达到极其显著水平($P < 0.01$), 表明温度效应对 SOD 活性有极其显著影响, X_2 (盐度) 的回归系数均达到显著水平($P < 0.05$), 表明盐度效应对 SOD 活性有显著影响; 交互项 $X_1 X_2$ 的偏回归系数达到显著水平($P < 0.05$), 说明温度和盐度的互作效应对 SOD 活性有显著影响; 二次项中, X_1^2 的回归系数不显著($P > 0.05$), 而 X_2^2 的回归系数达到极其显著水平($P < 0.01$), 这说明温度的二次效应对 SOD 活性没有显著影响, 盐度的二次效

应对 SOD 活性有极其显著影响。综合分析, 盐度效应对 SOD 活性的影响应不低于温度效应的影响。

2.2 响应曲面分析

通过温度和盐度与 SOD 活性之间的响应曲面图 (图 1) 可评价试验因素对幼鱼血清 SOD 活性的两两交互作用, 并据此模型可以推测出最佳组合条件在试验中所覆盖的区域。根据回归方程做出响应曲面和等高线, 考察拟合响应曲面的形状, 分析温度和盐度效应对 SOD 活性的影响。结果见图 1A 和图 1B。响应曲面和等高线图直观地反映出各因素交互作用对响应值的影响。曲面较陡说明影响显著, 曲面较圆说明影响不显著; 等高线的形状可反映出交互效应的强弱大小, 椭圆型表示两因素交互作用显著, 而

表 3 SOD 活性的方差分析表

Tab. 3 Analysis of mean square on the activities of SOD

来源	总和	自由度	均方	F 值	Pr > F	显著性
回归模型	1313.56	5	262.71	14.03	0.0016	**
X_1 (温度)	544.35	1	544.35	29.08	0.0010	**
X_2 (盐度)	169.07	1	169.07	9.03	0.0198	*
$X_1 X_2$	12.96	1	12.96	0.69	0.0432	
X_1^2	77.92	1	77.92	4.16	0.0807	
X_2^2	306.33	1	306.33	16.36	0.0049	**
残差	131.03	7	18.72	—	—	
失拟项	101.99	3	34.00	4.68	0.0850	
净误项	29.05	4	7.26	—	—	
总离差	1444.60	12	—	—	—	

注: * 差异显著($Pr < 0.05$); ** 差异高度显著($Pr < 0.01$)。下同

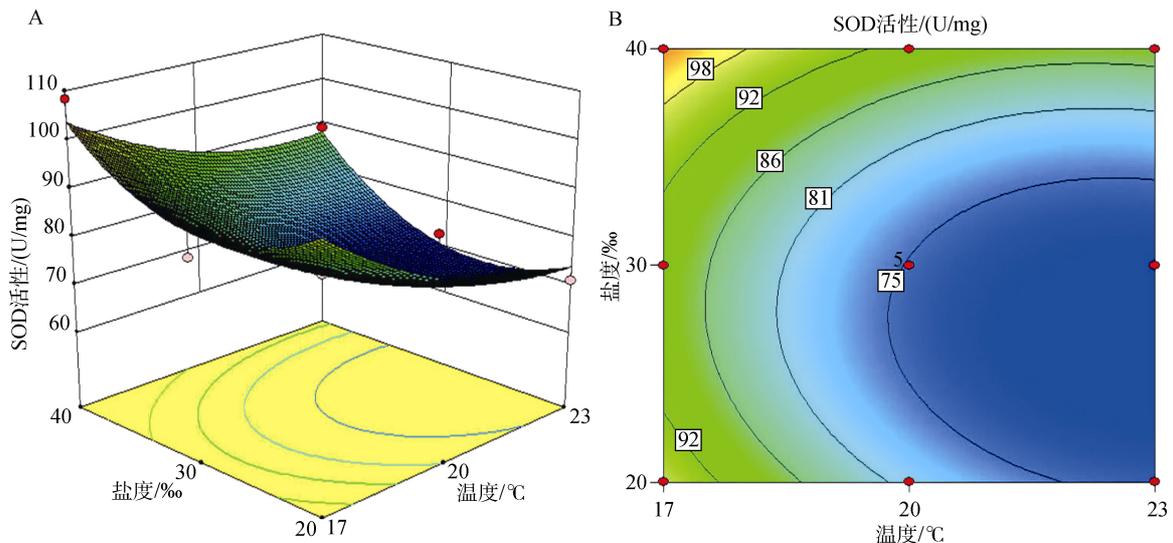


图 1 温度 X_1 和盐度 X_2 对 SOD 活性 Y 交互影响的响应面图(A)和等高线图(B)

Fig.1 Contour and response surface plots of $Y=f(X_1, X_2)$

圆形则相反^[2]。在本试验条件下,相应模型的曲面较陡,等高线近似椭圆型,表明温度和盐度的交互作用对SOD活性的影响显著。对于3个温度梯度(17, 20, 23℃),当温度恒定时,除在(23℃, 20)和(23℃, 30)两个温度-盐度组合外,其他组合的SOD活性均随着盐度的从低到高变化呈现先下降再上升的趋势;对于3个盐度梯度(20, 30, 40),当盐度恒定时,除在(23℃, 20)和(20℃, 20)两个温度-盐度组合外,其他组合的SOD活性均随着温度的从低到高变化也呈现先下降再上升的趋势。显然,从总体上来看,除在个别组合点外,SOD活性响应曲面的基本变化趋势是“随着温度和盐度的升高,SOD活性呈先降后升的变化趋势”。基于响应曲面图(图1)对温度、盐度(包括线性效应和累积效应)及其交互作用对SOD活力的共同效应进行考察发现,SOD活力的响应曲面图呈下凹的曲面,显然,存在SOD活性的最小值。

2.3 优化

采用软件中 Optimization 的 Numerical 功能,在模型活性范围内选择最低点为出发点,使用最小值优化,优化得到SOD活性最低的理论最佳条件为:温度 21.84℃,盐度 27.97,在此条件下SOD活性值为 70.0463 U/mg,其可靠性为 0.868。

为进一步检验研究结果的可靠性,采用上述优化条件进行SOD活性试验,考虑到实际操作的便利,将温度设置为 22℃,盐度设置为 28,实际测得的SOD活性值为 70.0120 U/mg,与理论预测值相比,其相对误差仅约为 0.05%。由此可见,基于响应面法优化所得SOD活性的温度、盐度参数准确可靠,具有实用价值。

3 讨论与结论

3.1 温度、盐度及其交互作用对大菱鲆幼鱼血清 SOD 活力的效应

温度作为影响鱼类生理活动的重要环境因子,影响着鱼类的抗氧化防御体系,能有效地控制鱼类代谢的反应速率,是影响鱼类生理活动的重要环境变量^[9]。由于不同生物种类、不同品种、不同器官的抗氧化系统具有不同的响应机制^[10],因此,不同来源SOD的活性随温度变化呈现不同的表现形式。综合文献,在水产动物领域,随着水域环境温度的升高,SOD活力的变化趋势主要有4种观点,即(1)SOD的活力随温度的升高而增加,如 Parihar 等^[11]研究发

现,在短期内随着温度的升高,鲶鱼(*Silurus asotus*)鳃的SOD比活力相应升高,且在升高到较高温度时,SOD比活力的增加非常显著。军曹鱼(*Rachycentron canadum*)幼鱼体侧肌肉中的SOD及中华鲟(*Acipenser sinensis*)血清中的SOD等抗氧化酶的活力也随着温度的升高呈现非常明显的上升趋势^[9, 12];(2)SOD的活力随温度的升高而降低,如研究发现,褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)肝脏组织中的SOD活力随处理温度的升高(25~32℃)而降低^[13];(3)SOD的活力随温度的升高呈先升后降趋势,如吉富品系尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)幼鱼肝脏中的SOD活力、南美白对虾(*Penaeus vannamei*)肌肉中的SOD活力、金鱼(*Carassius auratus*)各组织中的SOD活力均随温度的升高呈先升后降的变化^[2, 14-15];(4)SOD的活力随温度的升高呈先降后升趋势,如吉富罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)幼鱼肠道中的SOD活力随温度的升高呈先降后升的变化^[3],这种情况较为少见。本研究结果显示,随着温度的升高,大菱鲆幼鱼血清中SOD活力的变化趋势基本上符合上述中的第4种观点,即,以温度为主效应时,SOD活性随着温度的上升大致呈先下降再上升的趋势。与吉富罗非鱼幼鱼肠道中的SOD活力随温度升高的变化基本相同。对这种与大多数关于水温对水产动物抗氧化防御系统影响研究结果不一致的解释,本研究认同王海贞等^[3]的观点,即在急性实验条件下,试验鱼受到外界温度胁迫时,短时间内鱼体的代谢速率加快,机体产生过多的活性氧诱导SOD活力的增强。前期研究发现在本试验点养殖的大菱鲆的适宜生活水温为 17~20℃^[8],17℃为适宜水温的下限,同时,本研究试验鱼取至大菱鲆耐高温选育2代幼鱼,其耐温性较未经耐温选育鱼提高了近 2℃^[7],因此,在 17℃进行实验时,已产生了一定的胁迫性,本试验响应曲面的变化趋势也充分证实了这一观点(图1)。

盐度作为生态系统重要的非生物因子,主要通过渗透调节来改变鱼类的生理状态^[16],对鱼类的生理机能也有重要影响。研究表明,鱼类在接近或稍高于等渗点的水环境中生存,渗透调节处于较低水平^[17]。在高于或低于等渗点的水环境中,鱼体需消耗能量来维持体内渗透压的平衡^[18]。目前关于盐度对水产动物抗氧化酶活力影响的研究,与温度对抗氧化酶活力影响的研究现状相类似,也尚未形成统一的结论。研究发现,吉富品系尼罗罗非鱼幼鱼肝脏中的

SOD 活力对盐度响应的变化呈先升后降的趋势^[2]；吉富罗非鱼幼鱼肠道 SOD 活力对盐度响应的变化趋势与温度对其影响的趋势基本一致，也具有先降后升的特征^[3]；军曹鱼幼鱼体侧肌肉中 SOD 活力随着盐度的升高呈逐渐下降的趋势^[12]；而施氏鲟 (*Acipenser schrenckii*) 不同器官、组织中的 SOD 活力随着盐度的升高表现出不同的变化趋势^[19]。本研究中， X_2 (盐度)的回归系数达到显著水平($P < 0.05$)， X_2^2 的回归系数达到极其显著水平($P < 0.01$)，这说明盐度效应对 SOD 活性的也具有重要的影响。以盐度为主效应时，从 SOD 活性总体变化上看，与以温度为主效应的变化特征相类似，也具有先降后升的趋势。这种 SOD 活性变化趋势除受不同生物种类、不同品种、不同器官的抗氧化系统具有不同的响应机制^[10]的影响外，对于大菱鲆而言，这种变化趋势的原因可能是由于盐度为 30 的水体接近等渗环境，而盐度为 40、20 分别是高渗、低渗环境^[20]。当盐度为 30 的水环境条件下，接近于大菱鲆等渗点，机体的渗透调节功能处于较低水平，不会产生过多的活性氧，因此，在此条件下 SOD 的活力处于较低的水平，生理状态较稳定，比较适宜大菱鲆幼鱼的生长存活。当盐度在高渗(40)或低渗(20)环境条件下时，试验鱼体内细胞与外界水环境之间较高的渗透压落差将导致渗透调节功能加强，机体产生较多的能量，此时机体生长代谢在短时间内过于旺盛，代谢产生过多的活性氧，诱导体内 SOD 活力显著增强^[21]，并且在短时间内无法恢复到正常状态。水环境盐度越接近于最适生存盐度，大菱鲆的抗氧化防御系统越稳定，SOD 活力就越低。本试验响应曲面变化趋势也基本上证实了这一观点。

3.2 温度、盐度及其交互作用对大菱鲆幼鱼血清 SOD 活力的共同效应

本研究采用响应面法分析温度和盐度及其交互作用对大菱鲆幼鱼血清 SOD 活力的影响。响应曲面分析法的最突出的优点是可通过响应曲面分析得到拟合度较高的方程，并能利用所构建的数学模型对实验结果进行优化，找到最佳因子组合。然而，国内外关于环境因子对抗氧化酶活力影响的研究基本上是仅对某一环境因素条件下的几个孤立水平点进行分析，并未建立可靠的模型。本研究基于响应曲面图对温度、盐度(包括线性效应和累积效应)及其交互作用对 SOD 活力的共同效应进行考察发现，SOD 活力的响应曲面图呈下凹的曲面，显然，SOD 活力存在最

小值。对所建模型进行优化，得到 SOD 活性最低的理论最佳条件——温度：21.84℃；盐度：27.97，在此条件下 SOD 活性值为 70.0463 U/mg。这说明，在这一 SOD 活性值最低的温度-盐度组合条件下，大菱鲆幼鱼的生存环境较为适宜，未受到外界恶劣环境的胁迫。这里，最佳条件下的盐度值(27.97)位于两因素交互作用法得到的适宜盐度范围内(20~30)，而温度(21.84℃)则稍高于两因素交互作用法得到的适宜温度范围(17~20℃)^[8]。但本研究的最佳温度值与 Imsland 等^[22]研究的其中一个结论完全一致，Imsland 等研究发现，大菱鲆生存的一个最佳温度也是 21.8℃，其对应盐度值为 18.5。初步分析，本研究结论与基于两因素交互作用法^[8]不同的原因是：除了研究方法外，还可能受不同研究品系的影响；本研究结论与 Imsland 等^[22]不同的原因，可能受不同研究品系和不同研究指标的影响。本研究结果表明，在某一特定的温度下，盐度及盐度-温度的交互作用同样对大菱鲆的生存环境的适宜程度有重要影响。因此，在对大菱鲆选育出的耐高温新品系进行推广或开展耐高温传代选育及时，还要考虑盐度及其与温度互作效应的影响。

参考文献：

- [1] Martinez-A'lvarez R M, Morales A E, Sanz A. Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors [J]. *Reviews in Fish Biology Fisheries*, 2005, 15: 75-88.
- [2] 强俊, 任洪涛, 徐跑, 等. 温度与盐度对吉富品系尼罗罗非鱼幼鱼生长和肝脏抗氧化酶活力的协同影响 [J]. *应用生态学报*, 2012, 23(1): 255-263.
- [3] 王海贞, 王辉, 李瑞伟, 等. 温度和盐度对吉富罗非鱼幼鱼肠道两种抗氧化酶活力的联合效应 [J]. *广东海洋大学学报*, 2012, 32(1): 47-53.
- [4] Yu B P. Cellular defenses against damage from reactive oxygen species [J]. *Physiological Reviews*, 1994, 74(1): 139-162.
- [5] Liang X M, Ma A J, Wang G X A, et al. Morphological comparison between a selected fast-growing strain and the common cultured strain of turbot *Scophthalmus maximus* [J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2012, 30(4): 563-568.
- [6] Wang X A, Ma A J, Huang Z H, et al. Heritability and genetic correlation of survival in turbot (*Scophthalmus*

- maximus*) [J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 2012, 43(1): 1200-1205.
- [7] 马爱军, 黄智慧, 王新安, 等. 大菱鲂(*Scophthalmus maximus*) 耐高温品系选育及耐温性能评估[J]. 海洋与湖沼, 2012, 43(4): 787-804.
- [8] 郭黎, 马爱军, 王新安, 等. 温度和盐度对大菱鲂幼鱼抗氧化酶活性的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2012, 27(5): 422-428.
- [9] 李大鹏, 刘松岩, 谢从新, 等. 水温对中华鲟血清活性氧含量及抗氧化防御系统的影响[J]. 水生生物学报, 2008, 32(3): 327-332.
- [10] 刘艳, 鲁晓燕, 宋雪桂, 等. 不同梨品种(系)抗氧化酶活性差异分析[J]. 新疆农业科学, 2013, 50(1): 51-56.
- [11] Parihar M S, Dubey A K. Lipid peroxidation and ascorbic acid status in respiratory organs of male and female freshwater catfish *Heteropneustes fossilis* exposed to temperature increase [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C, 1995, 112(3): 309-313.
- [12] 杨健, 陈刚, 黄建盛, 等. 温度和盐度对军曹鱼幼鱼生长与抗氧化酶活性的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2007, 27(4): 25-29.
- [13] 徐冬冬, 楼宝, 詹炜, 等. 高温胁迫对褐牙鲈生长及肝脏抗氧化酶活性的影响[J]. 水产学报, 2010, 34(7): 1089-1095.
- [14] Wang W, Wang A, Liu Y, et al. Effects of temperature on growth, adenosine phosphates, ATPase and cellular defense response of juvenile shrimp *Macrobrachium nipponense* [J]. Aquaculture, 2006, 256(1-4): 624-630.
- [15] Lushchak V I, Bagnyukova T V. Temperature increase results in oxidative stress in goldfish tissues .2. Antioxidant and associated enzymes [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 2006, 143(1): 36-41.
- [16] 柳旭东, 王际英, 张利民, 等. 影响水产动物 Na⁺-K⁺-ATPase 活力的水环境因素[J]. 水产科学, 2009, 28(3): 171-175.
- [17] Gaumet F, Boeuf G, Sévère A, et al. Effects of salinity of the ionic balance and growth of juvenile turbot [J]. Journal of Fish Biology, 1995, 47 (5): 865-867.
- [18] 潘鲁青, 唐贤明, 刘泓宇. 盐度对褐牙鲈幼鱼血浆渗透压和鳃丝 Na⁺-K⁺-ATPase 活力的影响[J]. 海洋与湖沼, 2006, 37 (1): 1-6.
- [19] 赵峰, 庄平, 章龙珍, 等. 施氏鲟不同组织抗氧化酶对水体盐度升高的响应[J]. 海洋水产研究, 2008, 29(5): 65-69.
- [20] 唐贤明, 隋墨, 田景波, 等. 盐度对大菱鲈幼鱼耗氧率和排氨率的影响[J]. 南方水产, 2006, 2 (4): 54-58.
- [21] Dimple B. Radical ideas: genetic responses to oxidative stress[J]. Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology, 1999, 26 (1): 64-78.
- [22] Imsland A K, Foss A, Gunnarsson S, et al . The interaction of temperature and salinity on growth and food conversion in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. Aquaculture, 2001, 198(3-4): 353-367 .

Effects of temperature, salinity and their interaction on the activities of antioxidant enzymes of juvenile turbot *Scophthalmus maximus* based on response surface methodology

WANG Xin-an, GUO Li, MA Ai-jun, HUANG Zhi-hui, HE Wei-guo, MA De-you

(Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture; Qingdao Key Laboratory for Marine Fish Breeding and Biotechnology, Qingdao, 266071, China)

Received: Jun., 6, 2013

Key words: turbot; response surface methodology; temperature; salinity; interaction

Abstract: The central composite design and response surface methodology were used in the experiment to examine the combined effect of temperature (17~23 °C) and salinity (20~40) on serum Superoxide Dismutase (SOD) activities of turbot juveniles. The results showed that the linear of temperature on the serum SOD activity was highly significant ($P < 0.01$), and the quadratic was not significant ($P > 0.05$). The linear of salinity on the serum SOD activity was significant ($P < 0.05$), and the quadratic was highly significant ($P < 0.01$) in turbot juveniles. The interactive effect between temperature and salinity on SOD activity was significant ($P < 0.05$). By using the response surface method, the SOD activity varied mainly with increasing temperature and salinity in a curvilinear way. The model equation of SOD activity towards temperature, salinity and the interactive effect between temperature and salinity was established ($Y = 74.76 - 9.53 X_1 + 5.31 X_2 + 1.8 X_1 X_2 + 5.31 X_1^2 + 10.53 X_2^2$). The model equation could be practically used for forecasting the serum SOD activity in turbot juveniles. Via applying statistical optimization of the response of interest, the result showed that the minimum SOD activity was 70.0463 U/mg under the optimal conditions with a temperature of 21.84 °C and a salinity of 27.97.

(本文编辑: 谭雪静)