

短期低盐度胁迫对驼背鲈(♀)×鞍带石斑鱼(♂)杂交子代幼鱼抗氧化及消化生理的影响

刘 玲^{1,2}, 陈 超^{1,2}, 李炎璐¹, 刘 莉¹, 陈建国^{1,2}, 李文升³, 马文辉³

(1. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 青岛市海水鱼类种子工程与生物技术重点实验室, 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室, 山东 青岛 266071; 2. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 3. 莱州明波水产有限公司, 山东 莱州 261418)

摘要: 为探讨在不同程度的盐度降低下对驼背鲈(*Cromileptes altivelis* ♀)与鞍带石斑鱼(*Epinephelus lanceolatus* ♂)的杂交品种(鼠龙斑幼鱼)摄食、抗氧化和消化生理的影响, 本实验设置盐度突变组: 5×10^{-3} 、 10×10^{-3} 、 15×10^{-3} 、 20×10^{-3} 、 25×10^{-3} 、 30×10^{-3} (对照组); 盐度渐变组(每天盐度降低 5×10^{-3})。在第 0、3、7 天时分别取样, 测定血清和肝脏中的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、丙二醛(MDA)活力; 胃组织中的胃蛋白酶、肠道中的脂肪酶、淀粉酶活性。结果表明: 盐度突变组中, 盐度降低幅度越大对酶活性的影响越大, 尤其 $5\times 10^{-3}\sim 15\times 10^{-3}$, 3 种抗氧化性酶活性在肝脏中的变化趋势相似, 均呈显著升高再降低的趋势, 血清中的 SOD、CAT 在第 3、7 天活性相似, 均显著高于其他同时期各组, MDA 在第 7 天显著升高; 3 种消化酶活性均显著下降, 盐度越低, 下降幅度越显著; 其他各组的抗氧化性酶和消化酶活性与对照组相比无明显差异。盐度突变组各组的摄食量均呈下降趋势, 尤其 5×10^{-3} 组最低。盐度渐变组 SOD、CAT 活性呈持续上升趋势, MDA 先上升再下降, 胃蛋白酶与脂肪酶活性均是呈先上升再下降的趋势, 淀粉酶持续下降; 其摄食量下降后又恢复至胁迫前。综上, 鼠龙斑对盐度的适应范围较广, 当盐度突变为较低的水平($<15\times 10^{-3}$)时, 对鼠龙斑的抗氧化性及消化生理的影响较大, 随着胁迫时间延长可能对鱼体肝脏抗氧化系统具有损害作用, 从而影响了其生长, 因此在实际过程中可通过逐渐降低盐度的方式对鼠龙斑进行驯养, 以达到降低应激伤害的作用。

关键词: 鼠龙斑(驼背鲈(*Cromileptes altivelis* ♀)×鞍带石斑鱼(*Epinephelus lanceolatus* ♂)); 盐度胁迫; 抗氧化性; 消化酶

中图分类号: s965 文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2018)02-0078-10

DOI: 10.11759/hyxx20170717004

水环境作为鱼类生活的场所, 其因子的改变直接影响着其中动物的生命活动, 盐度作为重要的环境影响因子之一, 对鱼类的存活、生长、代谢和非特异性免疫具有显著的影响^[1-2]。当水体环境受到自然或人为因素的影响盐度发生变化时, 往往会引起鱼体的多种生理应激反应^[3], 有研究表明, 盐度的变化能够导致鱼体能量消耗增加、代谢加速、耗氧增多^[4], 从而影响鱼体的摄食、代谢、激素分泌及免疫防御等^[5-8]。鱼体应激反应会伴随产生过量的活性氧自由基, 过量活性氧会引起鱼体氧化损伤, 机体为防止这种伤害、保持内环境的动态平衡, 形成了特定的抗氧化防御体系, 其防御体系由酶类和非酶类抗氧化物构成, 其中的酶系统主要的抗氧化酶包括超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)等。SOD 是生物体内重要的抗氧化酶, 具有特殊的生理活性, 广泛

分布于各种生物体内, 是生物体内清除自由基的首要物质, 把有害的超氧自由基转化为过氧化氢, 然后 CAT 又立即促使过氧化氢分解为分子氧和水, 使细胞免于遭受 H_2O_2 的毒害, 从而达到保护机体的作用^[9]。因此, SOD 和 CAT 相互配合组成了一个防氧化链条, 是存在于生物体内的非常重要的抗氧化防御性功能酶^[10]。MDA 是膜脂过氧化最重要的产物之

收稿日期: 2017-07-17; 修回日期: 2017-10-18

基金项目: 冷温性石斑鱼规模化苗种繁育关键技术引进项目(2012DFA30360); 中国-东盟海上合作基金项目(2016-2018)

[Foundation: The Introduction of Key Techniques for Seedling-Rearing Cool-Temperate-Water Groupers, No. 2012DFA30360; China ASEAN Maritime Cooperation Fund Project, No.2016-2018]

作者简介: 刘玲(1992-), 女, 四川南充人, 硕士研究生, 主要从事海水鱼疾病防治研究, E-mail: 474572282@qq.com; 陈超, 通信作者, E-mail: ysfrihenchao@126.com

一, 它的产生还能加剧膜的损伤^[11], MDA 产生数量的多少能够代表膜脂氧化的程度, 也可间接反映组织细胞受自由基攻击的严重程度。因此, MDA 含量常被用来衡量水生动物机体的抗氧化能力^[12-13]。

水体盐度不仅影响水产动物机体的渗透压调节和代谢, 而且能激活或抑制机体消化酶活性, 进而影响机体对食物的消化吸收和生长^[14-15], 鱼类消化酶活性的变化可以在一定程度上反映其消化生理特征, 相关研究表明, 黄鳍鲷(*Sparus latus*)幼鱼的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性在盐度 $20 \times 10^{-3} \sim 30 \times 10^{-3}$ 时显著高于盐度 $5 \times 10^{-3} \sim 15 \times 10^{-3}$ ^[15]; 施氏鲟(*Acipenser schrenckii*)幼鱼各消化器官的消化酶(蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶)在不同盐度下, 不同的器官中不同的消化酶活性差异显著^[16]; 点带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)幼鱼在低盐度胁迫下, 肠胃的蛋白酶活性和肠道的淀粉酶活性都随盐度的梯度下降而下降^[17]。因此, 有关盐度对机体内抗氧化性酶的影响和消化生理研究具有重要意义, 有助于了解鱼体对盐度的适应性, 从而对实际养殖生产条件(盐度调控、运输处理、淡水驯化、病害防治等)具有指导性意义。

鼠龙斑是驼背鲈(*Cromileptes altivelis* ♀)与鞍带石斑鱼(*Epinephelus lanceolatus* ♂)的杂交品种, 具有母本形态优美、色彩鲜亮的特色以及父本生长速度快的特点, 驼背鲈又称老鼠斑, 为鲈形目(Perciformes)、鲷科(Serranidae)鱼类, 驼背鲈分布于印太海域印度尼西亚至东澳大利亚海域, 幼年时色彩靓丽, 可作为观赏鱼, 成年后味道鲜美, 为非常高级的食用鱼^[18]。鞍带石斑鱼, 中文俗名龙趸、龙胆石斑, 是石斑鱼类中体型最大者, 故也被称为“石斑王”, 是一种重要的经济鱼类, 具有较高的食用和营养价值。鼠龙斑作为一种人工杂交的石斑鱼, 与野生石斑鱼相比, 具有生长快、味道鲜美、抗病性强等特征, 亦可作为观赏鱼类。作为一种杂交新品种, 对其盐度适应性的研究对养殖、推广和养殖环境条件的要求有极大的应用价值。大量研究表明, 盐度对石斑鱼幼鱼的生长、摄食、代谢、免疫以及存活具有一定影响^[14, 19-23]。因此, 作者研究盐度突变和盐度渐变的条件下, 鼠龙斑的抗氧化性及消化生理的变化, 为其科学研究和产业化提供生理参数和基础参考资料。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用鱼鼠龙斑幼鱼由莱州市明波水产有限公

司提供, 共 420 尾, 平均体质量 $20.30 \text{ g} \pm 0.38 \text{ g}$, 平均体长 $10.35 \text{ cm} \pm 0.43 \text{ cm}$, 实验前于盐度为 30×10^{-3} (自然海水的盐度)的实验水池中暂养 7 d, 每天分别于 8:00 和 16:00 投喂饲料(日本林兼株式会社生产的“鱼宝”牌饲料), 按体质量的 1%~2%进行投喂, 每天清污换水 1 次。

1.2 条件

实验地点为莱州市明波水产有限公司, 实验用的不同盐度水为海水和淡水勾兑, pH 为 7.5~8.0, 温度为 $26^\circ\text{C} \pm 1^\circ\text{C}$, 溶氧 $> 5 \text{ mg/L}$ (24 h 不间断充氧)。实验在直径为 60 cm、容积为 120 L 的圆形水槽中进行。

1.3 实验设计

实验为 5 个突变盐度组: 5×10^{-3} 、 10×10^{-3} 、 15×10^{-3} 、 20×10^{-3} 、 25×10^{-3} 和 1 个盐度渐变组, 此外, 盐度 30×10^{-3} 为对照组。每个盐度组设 3 个平行, 每个平行 20 尾鱼。盐度突变组: 将暂养 7 d 后的鼠龙斑直接放入已经调好盐度的水槽中进行实验; 盐度渐变组: 盐度从 30×10^{-3} 开始降低, 每天降低 5×10^{-3} , 连续降低 6 d, 达到 5×10^{-3} 。在实验开始后每天投喂 2 次, 每次投喂时记录每一组投喂量(以不再抢食、水面漂浮着多余的饲料为饱食状态, 停止投喂, 投喂前后对装饲料的容器进行称量, 其减少量为投喂量), 喂食 0.5 h 后, 将残余的饵料吸出、晒干(室外晾晒 10~12 h)后称质量, 计算摄食量。每天清污换水 1 次, 换水量为 1/2。

参数计算公式:

$$\text{平均日摄食量(g)} = (\sum Q_1 - \sum Q_0) / t \times n$$

其中, Q_1 为饲料日平均投喂量, Q_0 为饲料日平均残留量, t 为试验时间(d), n 为鱼个体数。

1.4 取样

在实验的第 0、3、7 天分别对每组进行取样, 每个平行取 3 尾鱼, 利用丁香酚(200 mg/L)进行麻醉, 用 2 mL 的一次性注射器进行尾静脉抽血, 抽血前注射器先抽取少量的抗凝剂, 将抽出血样于 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液移于 EP 管中投入液氮罐中保存待测。取血后迅速将鱼置于冰盘上解剖, 取其肝脏、胃、肠, 液氮中保存待测。

1.5 样品处理及指标检测

将血清和样品置于 -20°C 、 4°C 逐渐解冻, 解冻后的组织与生理盐水按质量(g): 体积(mL)=1:9 的比例制备组织匀浆液, 在冰水浴条件下, 利用组织匀浆

机, 制备成 10% 的组织匀浆, 4 000 r/min 离心 10 min, 取上清液, 再用生理盐水稀释成适宜浓度, 4℃ 保存, 待测。

采用南京建成生物工程研究所的试剂盒测定血清与肝脏中的 SOD 活性、CAT 活性、MDA 含量; 胃中的胃蛋白酶活性; 肠道中的淀粉酶、脂肪酶活性, 测定步骤按试剂盒说明书进行。

1.6 数据处理

采用 SPSS22.0 软件进行数据处理和分析, 采用 ANOVA 对实验结果进行方差分析, 采用 Duncan's 法进行多重比较。试验数据用平均值±标准误差(mean±SD)表示, $P<0.05$ 为差异显著。

2 结果

实验开始时, 将暂养的鼠龙斑放入已调好盐度的实验水槽, 不同盐度的水槽中的鼠龙斑表现有所差异, 在盐度为 20×10^{-3} ~ 30×10^{-3} 的水槽中, 鼠龙斑的游动行为没有异样, 但是在低盐度水槽中(5×10^{-3} ~ 15×10^{-3}), 鼠龙斑出现应激表现: 游走快速, 上下乱

游, 几个小时后渐渐正常。在实验过程中, 均无死亡状态, 只是随着实验组盐度降低, 鼠龙斑的摄食量明显下降, 活动量也减少, 经常潜伏在水槽底部, 人走近时, 反应迟钝。

2.1 盐度突变与盐度渐变对摄食的影响

图 1 为各盐度组一周(7 d)内的平均日摄食量的变化, 盐度 30×10^{-3} 对照组其平均日摄食量变化不明显, 与其他各盐度组相比平均日摄食量最高, 达到 0.848 g/(尾·d), 盐度渐变组的平均日摄食量在实验前 3 d 比对照组略低, 3 d 后与对照组无明显差异, 其平均日摄食量达到 0.782 g/(尾·d)。盐度突变组的平均日摄食量在实验开始后均出现降低趋势, 其中盐度为 5×10^{-3} 的实验组的平均日摄食量较其他组最低, 平均日摄食量为 0.504 g/(尾·d), 其余各组平均日摄食量变化趋势相似, 在实验开始的前 3 d 变化显著, 3 d 后趋于平缓。在实验结束后(第 8 天), 将淡水关掉, 同时换成盐度为 30×10^{-3} 的自然海水盐度, 暂养 1 d, 观察摄食量的变化, 除盐度 5×10^{-3} 实验组外, 其他各组的摄食量均有所增加。

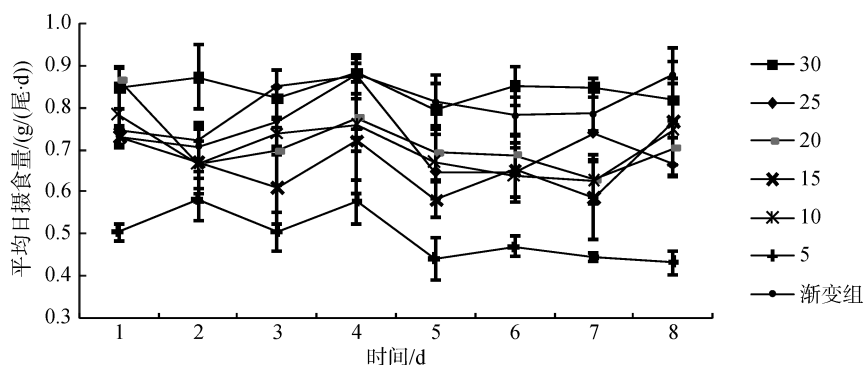


图 1 盐度突变与盐度渐变对鼠龙斑幼鱼的平均日摄食量的影响

Fig. 1 Effect of salinity mutation and gradual decreasing on average dietary intake of juvenile *Mussaurus spot*

2.2 盐度突变与盐度渐变对血清和肝脏中抗氧化指标的影响

2.2.1 超氧化物歧化酶

图 2 所示, 盐度突变组各盐度组肝脏中 SOD 均呈现上升后降低的趋势, 5×10^{-3} 、 10×10^{-3} 、 15×10^{-3} 盐度突变组肝脏中的 SOD 均在第 3 天显著上升 ($P<0.05$), 第 7 天恢复至胁迫前初始值, 血清中第 3、7 天与胁迫前相比显著增高 ($P<0.05$), 其他各组肝脏与血清中的 SOD 变化不明显。盐度渐变组肝脏中 SOD 在第 0、3 天变化不明显, 在第 7 天显著升高

($P<0.05$), 血清中第 3、7 天相似且显著高于胁迫第 0 天 ($P<0.05$)。

2.2.2 过氧化氢酶

如图 3 所示, 5×10^{-3} 、 15×10^{-3} 、 20×10^{-3} 、 25×10^{-3} 突变组肝脏与血清中的 CAT 变化趋势相似, 均在第 3 天显著升高 ($P<0.05$), 第 7 天下降但仍高于胁迫前初始值 ($P<0.05$), 10×10^{-3} 突变组肝脏中 CAT 与其他各组变化趋势相似, 血清中 CAT 第 3、7 天持续升高且显著大于第 0 天 ($P<0.05$)。盐度渐变组肝脏与血清中 CAT 在第 3、7 天均显著升高 ($P<0.05$)。

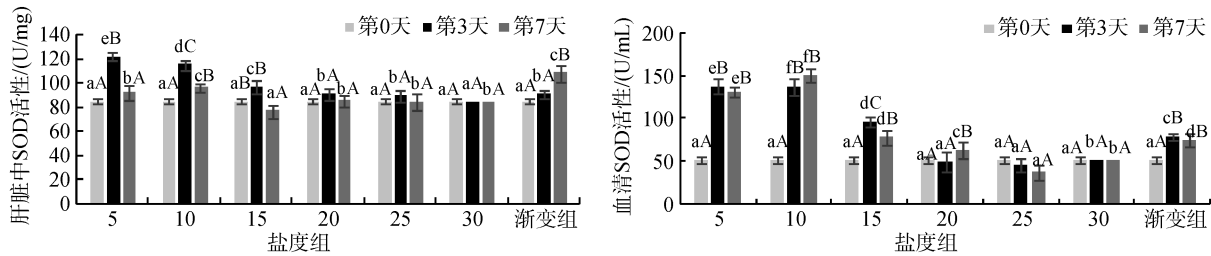


图2 盐度突变与盐度渐变对鼠龙斑幼鱼血清和肝脏中 SOD 活性的影响

Fig. 2 Effect of salinity mutation and gradual decreasing on SOD activity in serum and liver of juvenile *Mussaurus spot*
不同的小写字母表示不同盐度组同一时间存在显著差 ($P<0.05$); 不同的大写字母表示同一盐度组不同时间存在显著差 ($P<0.05$); 图3~图7 同
Different lowercase letters indicate significant differences in different salinity groups at the same time ($P<0.05$); Different capital letters indicate significant differences in the same salinity group at different times ($P<0.05$); The same as Fig.3~Fig.7

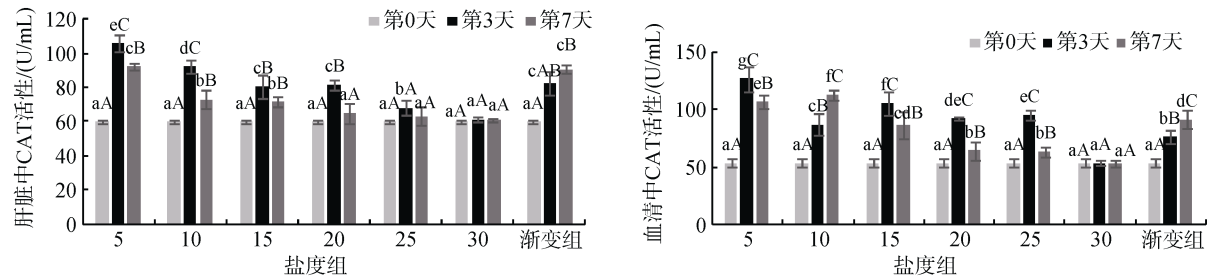


图3 盐度突变与盐度渐变对鼠龙斑幼鱼血清和肝脏中 CAT 活性的影响

Fig. 3 Effect of salinity mutation and gradual decreasing on CAT activity in serum and liver of juvenile *Mussaurus spot*

2.2.3 丙二醛

如图4所示, 5×10^{-3} 、 10×10^{-3} 、 15×10^{-3} 盐度突变组肝脏中的MDA变化趋势相似均为先上升后下降的趋势, 5×10^{-3} 的变化显著大于其他各组同时期的变化 ($P<0.05$), 在第3天达到最大值 1.617 nmol/mg , 血清中第0、3天无明显变化, 在第7天显著升高 ($P<0.05$); 20×10^{-3} 、 25×10^{-3} 突变组肝脏中MDA略微下降, 血清中的变化不明显。盐度渐变组肝脏中的MDA呈上升趋势, 血清中呈先上升再下降趋势。

2.3 盐度突变与盐度渐变对消化生理指标的影响

2.3.1 胃蛋白酶

如图5所示, 5×10^{-3} 、 10×10^{-3} 、 15×10^{-3} 盐度突变组在第3、7天比第0天显著降低 ($P<0.05$), 5×10^{-3} 突变组同比其他各突变组在第3天达到最低值 25.462 U/mg ; 20×10^{-3} 、 25×10^{-3} 第3天与对照组无明显差异 ($P>0.05$), 第7天有下降趋势。盐度渐变组在第3天升高, 随着盐度逐渐下降, 第7天胃蛋白酶活力下降但仍高于对照组。

2.3.2 脂肪酶

由图6可见, 盐度突变对 5×10^{-3} 、 10×10^{-3} 实验

组幼鱼肠道脂肪酶影响较大, 随着胁迫时间的加长脂肪酶活力逐渐下降, 5×10^{-3} 突变组在第7天同比其他各组同时期下降显著 ($P<0.05$), 达到同比最低值 63.076 U/mg , 其他各盐度突变组与对照组无明显差异 ($P>0.05$)。盐度渐变组在第3天显著升高 ($P<0.05$), 第7天恢复至胁迫前。

2.3.3 淀粉酶

图7中, 5×10^{-3} 、 10×10^{-3} 、 15×10^{-3} 盐度突变组的肠道淀粉酶随着胁迫时间加长, 在第3、7天均显著低于对照组 ($P<0.05$), 最低值较其他组同时期下降显著达到 3.267 U/mg , 20×10^{-3} 突变组先在第3天降低, 第7天又恢复至胁迫前, 25×10^{-3} 突变组在整个胁迫过程中与对照组无明显差异 ($P>0.05$)。盐度渐变组随着胁迫时间推移, 呈持续下降趋势, 在第7天淀粉酶活力为 3.483 U/mg 。

3 讨论

3.1 盐度突变与盐度渐变对鼠龙斑幼鱼摄食的影响

水体作为海水鱼类终生生活其中的介质, 盐度的变化影响着鱼体的正常生长及繁殖。有研究表明, 广盐性的鱼类在较大的盐度范围内都能存活, 且

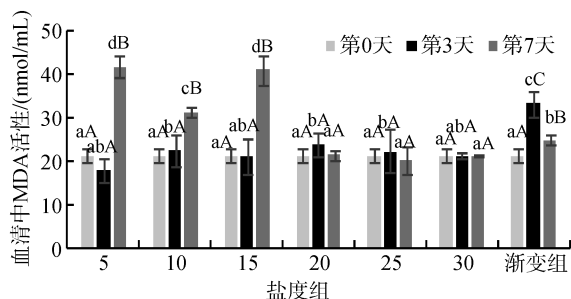
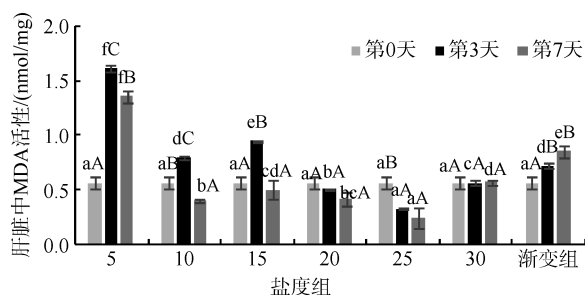


图4 盐度突变与盐度渐变对鼠龙斑幼鱼血清和肝脏中MDA活性的影响

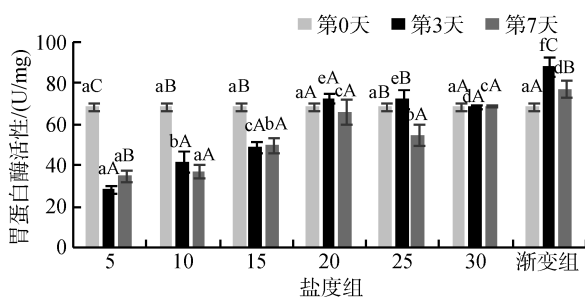
Fig. 4 Effect of salinity mutation and gradual decreasing on MDA activity in serum and liver of juvenile *Mussaurus spot*

图5 盐度突变与盐度渐变对鼠龙斑幼鱼胃蛋白酶活性的影响

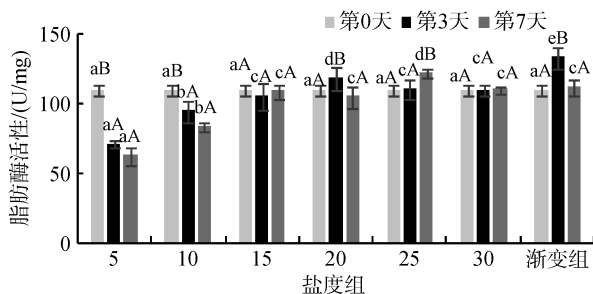
Fig. 5 Effect of salinity mutation and gradual decreasing on pepsin activity of juvenile *Mussaurus spot*

图6 盐度突变与盐度渐变对鼠龙斑幼鱼肠道脂肪酶活性的影响

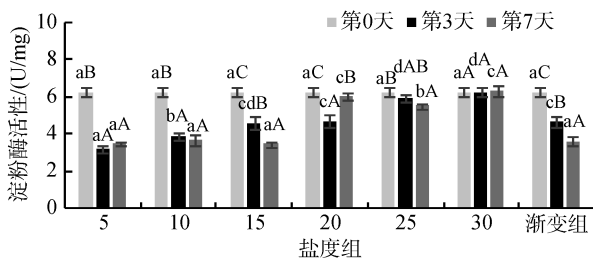
Fig. 6 Effect of salinity mutation and gradual decreasing on intestinal lipase activity of juvenile *Mussaurus spot*

图7 盐度突变与盐度渐变对鼠龙斑幼鱼肠道淀粉酶活性的影响

Fig. 7 Effect of salinity mutation and gradual decreasing on intestinal amylase activity of juvenile *Mussaurus spot*

其摄食和生长所受影响不大^[24-25]。本实验研究结果中,盐度渐变组在实验开始前3 d,其摄食量有所下降,到第7天恢复至胁迫前,表明鼠龙斑在盐度渐降的过程中,逐渐适应盐度变化。盐度突变组 5×10^{-3} ,其摄食量较对照组(30×10^{-3})显著降低,这与吴庆元等^[26]对鲮鱼(*Mugil cephalus*)和唐夏等^[27]对褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)的研究结果相似,在急性胁迫前期其摄食量明显低于对照组。其余各突变组在胁迫前3 d较对照组有所降低,第7天时逐渐恢复至胁迫前。在实验结束后(第8天),统一恢复盐度,除突变组 5×10^{-3} 以外,各盐度组摄食量均有所上升,表明鼠龙斑的盐度适应范围较广,能够通过自身调节适应较大的盐度跨度,这与柳敏海等^[28]对条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*)的研究结果相似,而突变组 5×10^{-3} 鼠龙斑摄食量仍然很低,可能是因为较低的盐度条件下,需要一定的调节时间来适应较大的盐度跨度^[29],也可能由于盐度跨度较大,对鼠龙斑的消化吸收具有一定的抑制作用。

3.2 盐度突变与盐度渐变对鼠龙斑幼鱼抗氧化指标的影响

鱼类进行正常的新陈代谢活动时会产生自由基等活性氧物质,少量的自由基是鱼类正常生长所必需的,一旦机体产生过量的自由基,随着时间延长,将会对机体造成氧化损伤^[30]。SOD和CAT是鱼体抗氧化防御机制中清除自由基的重要的酶蛋白,通常认为,SOD在清除活性氧的过程中是最早发挥作用的,随后CAT再进一步分解其产物,因此CAT的活力在一定程度上受SOD活力的影响。相关研究表明,一般情况下,酶活力升高预示着机体中产生了大量的自由基有待清除^[31-32]。本实验结果发现,在低盐度突变组 5×10^{-3} 和 10×10^{-3} 中,肝脏中的SOD在第3天著升高,在第7天复至胁迫前,而其他各突

变组无明显变化,说明鼠龙斑自身具有较强的防御力,在盐度跨度较大时产生应激反应,启动自身抗氧化系统,SOD显著升高以清除过多的自由基,这与庄平等^[33]和尹飞等^[34]研究结果相似。CAT的变化趋势与肝脏一致,只是上升趋势高于SOD,这可能与反应的先后时间有关。血清中SOD和CAT的变化趋势与肝脏中一致,其中突变组 10×10^{-3} 在第7天仍然持续升高,而肝脏中已经逐渐下降,说明肝脏是抗氧化反应的主要场所,血清的变化在反应过程中受到肝脏反应效果和时间的影响,这与潘桂平等^[35]在云纹石斑鱼(*Epinephelus moara*)抗氧化指标变化研究中得出的结果相似。盐度渐变组肝脏、血清SOD和CAT的变化趋势一致,均逐渐上升,说明随着盐度逐渐降低,鱼体受到胁迫逐渐增强,机体产生了大量的活性氧自由基,启动防御系统抵制氧化损伤。

MDA是细胞膜脂过氧化作用的产物之一,主要在肝脏分解,所以肝脏中的脂质过氧化产物MDA含量会随着胁迫加强而升高,正常状态下,机体内MDA的含量是极低的^[36]。因此,通过MDA含量多少来间接判断机体受损伤的程度。本实验中盐度突变组 5×10^{-3} 肝脏中MDA显著升高且超过其他各组,而血清中第7天MDA也显著升高,说明肝脏受到一定损伤,通透性增加而使肝脏中的MDA大量进入血液中。突变组 10×10^{-3} 和 15×10^{-3} 在第3天升高后在第7天下降且低于对照组,而血清中的含量在第7天显著升高,说明肝脏可能受到损伤使大量MDA进入血液,而后肝脏未能及时恢复,使得MDA含量过低。 20×10^{-3} 和 25×10^{-3} 组肝脏和血清中MDA呈下降趋势,在第7天MDA的含量低于对照组,说明鱼体适应了新的盐度环境,通过自身调节达到了新的平衡状态。盐度渐变组肝脏和血清中的MDA在第3天上升,在第7天,肝脏中MDA略微上升,而血清中显著下降仍高于对照组,说明随着盐度降低,鱼体受到的胁迫越来越大,肝脏中有大量MDA生成,并进入血液,可能由于反应时间的先后差别,在第7天,血清中的MDA被自身防御系统清除一部分,而肝脏中MDA还未进入血液,由此造成下降趋势。

3.3 盐度突变与盐度渐变对鼠龙斑幼鱼消化生理指标的影响

盐度对海水鱼类的生长起着至关重要的作用,据相关报道,盐度是通过影响鱼体的生理状态,如渗透调节作用从而影响机体的消化酶活性^[15]。本实验结果显示,在盐度突变组 5×10^{-3} 、 10×10^{-3} 、 15×10^{-3}

3组中的胃蛋白酶在第3天显著下降,第7天仍然显著低于对照组,其他两组在第7天也有所下降; 5×10^{-3} 和 10×10^{-3} 组的脂肪酶的变化趋势一致,在第3、7天显著小于对照组,其余各组脂肪酶变化不显著,仅 25×10^{-3} 组在第7天所上升; 5×10^{-3} 、 10×10^{-3} 、 15×10^{-3} 组中的淀粉酶显著下降,其余2组在实验第7天有所恢复。说明盐度骤降对消化酶具有一定的抑制作用,且随着盐度下降跨度的增加,这种应激抑制作用影响越大,这与尹飞^[37]在低盐胁迫对银鲳(*Pampus argenteus*)幼鱼肠道消化酶活力影响的研究结果相似。盐度渐变组的胃蛋白和脂肪酶呈先升再降趋势,而淀粉酶则持续下降。说明鼠龙斑在正常海水盐度基础上渐降时能够促进消化,随着盐度降低范围增大,机体不能及时调节而产生应激作用,这与余燕^[17]研究盐度对点带石斑鱼消化酶的结果——淀粉酶随着盐度梯度下降而显著下降相似。

通过盐度突变和盐度渐变两种方式对鼠龙斑抗氧化指标和消化生理指标进行研究分析得出:盐度突变会引起鼠龙斑的应激反应,这种反应在盐度突变跨度较大的情况下更加显著,且随着盐度急剧下降会影响消化酶活力从而影响鱼体的摄食,而盐度渐变前期对鱼体的影响较小,后期随着盐度下降趋势明显抗氧化性增加,消化酶活力下降。综上,鼠龙斑幼鱼对盐度具有较大的适应范围,在盐度急剧下降时,特别是盐度低于 15×10^{-3} 时,摄食量下降,机体应激反应增加,在养殖过程中应注意减少投饵量。在养殖淡化驯养过程中,可通过盐度渐变且延长渐变的时间的方法,促进鱼体适应盐度变化,减少应激反应,并在驯化过程中减少投饵量。

参考文献:

- [1] 孙鹏,尹飞,彭士明,等. 盐度对条石鲷幼鱼肝脏抗氧化酶活力的影响[J]. 海洋渔业, 2010, 32(2): 154-159.
Sun Peng, Yin Fei, Peng Shiming, et al. Effects of salinity on the activity of antioxidant enzymes in livers of juvenile *Oplegnathus fasciatus*[J]. Marine Fisheries, 2010, 32(2): 154-159.
- [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.
Qiang Jun, Ren Hongtao, Xu Pao, et al. Synergistic effects of water temperature and salinity on the growth and liver antioxidant enzyme activities of juvenile GIFT *Oreochromis niloticus*[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2012, 23(1): 255-263.

- [3] Choi C Y, An K W, An M I. Molecular characterization and mRNA expression of glutathione peroxidase and glutathione S-transferase during osmotic stress in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*).[J]. Comparative Biochemistry & Physiology Part A Molecular & Integrative Physiology, 2008, 149(3): 330-337.
- [4] 边平江, 邱成功, 徐善良, 等. 盐度对暗纹东方鲀生长、非特异性免疫和抗氧化酶活力的影响[J]. 水生生物学报, 2014, 38(1): 108-114.
Bian Pingjiang, Qiu Chenggong, Xu Shanliang, et al. Effects of salinity on growth activity of non-specific immune and antioxidant enzymes in obscure puffer takifugu obscures[J]. Acta Hydro Biologica Sinica, 2014, 38(1): 108-114.
- [5] Mcgrath M, Seidman J, Nelson M, et al. Physiological indicators of salinity stress in the grey mullet, *Mugil cephalus* Linnaeus, 1758 juveniles[J]. Comparative Clinical Pathology, 2013, 23(5): 1453-1456.
- [6] Mi S P, Hyun S S, Cheol Y C, et al. Effect of hypoosmotic and thermal stress on gene expression and the activity of antioxidant enzymes in the cinnamon clownfish, *Amphiprion melanopus*[J]. Animal Cells & Systems the Official Publication of the Zoological Society of Korea, 2011, 15(3): 219-225.
- [7] 童燕. 盐度、pH 和捕捞胁迫对施氏鲟(*Acipenser schrenckii*)生理生化影响的初步研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2007.
Tong Yan. The study on physiological and biochemical responds of *Acipenser schrenckii* to the stresses of ambient salinity pH and capture[D]. Shanghai: East China Normal University, 2007.
- [8] 杨宇晴, 余德光, 谢骏, 等. 急性盐度胁迫对斜带石斑鱼 Na^+/K^+ -ATP 酶及血清应激指标的影响[J]. 热带海洋学报, 2010, 29(4): 160-164.
Yang Yuqing, Yu Deguang, Xie Jun, et al. Effects of acute salinity stress on Na^+/K^+ -ATPase activity and plasma indicators of *Epinephelus coioides*[J]. Journal of Tropical Oceanography, 2010, 29(4): 160-164.
- [9] 张克烽, 张子平, 陈芸, 等. 动物抗氧化系统中主要抗氧化酶基因的研究进展[J]. 动物学杂志, 2007, 42(2): 153-160.
Zhang Kefeng, Zhang Ziping, Chen Yun, et al. Antioxidant defense system in animals[J]. Chinese Journal of Zoology, 2007, 42(2): 153-160.
- [10] 乔秋实, 徐维娜, 朱浩, 等. 饥饿再投喂对团头鲂生长、体组成及肠道消化酶的影响[J]. 淡水渔业, 2011, 41(2): 63-68.
Qiao Qiushi, Xu Weina, Zhu Hao, et al. Effects of starvation- and- refeeding on the growth, body composition and intestinal digestive enzyme of *Megalobrama amblycephala* Yih[J]. Freshwater Fisheries, 2011, 41(2): 63-68.
- [11] 王伟, 姜志强, 孟凡平, 等. 急性温度胁迫对太平洋鲱仔稚鱼成活率、生理生化指标的影响[J]. 水产科学, 2012, 31(8): 463-466.
Wang Wei, Jiang Zhiqiang, Meng Fanping, et al. The effects of sharply changes in temperature on survival and indices of physiology and biochemistry in Pacific cod *Gadus macrocephalus*[J]. Fisheries Science, 2012, 31(8): 463-466.
- [12] Viña J. Biochemical adaptation: mechanism and process in physiological evolution[J]. Biochemistry & Molecular Biology Education, 2002, 30(3): 215-216.
- [13] 刘小兵, 朴建华. 生物活性物质的抗氧化能力评价方法及其研究进展[J]. 中国食品卫生杂志, 2008, 20(5): 440-444.
Liu Xiaobing, Pu Jianhua. Progress in evaluation methods of antioxidant capacity of bioactive substances[J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2008, 20(5): 440-444.
- [14] 王云峰, 朱鑫华. 盐度对鱼类生态生理学特征的影响[J]. 海洋科学集刊, 2002, 44: 159-166.
Wan Yunfeng, Zhu Xinhua. A review on impact of salinity on patterns of fish ecophysiology[J]. Studia Marina Sinica, 2002, 44: 159-166.
- [15] 李希国, 李加儿, 区又君. 盐度对黄鳍鲷幼鱼消化酶活性的影响及消化酶活性的昼夜变化[J]. 渔业科学进展, 2006, 27(1): 40-45.
Li Xiguo, Li Jiaer, Ou Youjun. Effects of salinity on digestive enzyme activity and diurnal variation of digestive enzyme activity of young yellowfin black porgy *Sparus latus*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2006, 27(1): 40-45.
- [16] 庄平, 章龙珍, 田宏杰, 等. 盐度对施氏鲟幼鱼消化酶活力的影响[J]. 中国水产科学, 2008, 15(2): 198-203.
Zhuang Ping, Zhang Longzhen, Tian Hongjie, et al. Effects of salinity on digestive enzyme activities of juvenile *Acipenser schrenckii*[J]. Chinese Fisheries Science, 2008, 15(2): 198-203.
- [17] 余燕, 徐维娜, 刘兆普, 等. 低盐度胁迫对点带石斑鱼幼鱼消化酶、抗应激酶和存活率的影响[J]. 渔业科学进展, 2009, 30(4): 21-26.
Yu Yan, Xu Weina, Liu Zhaopu, et al. Effect of low salinity stress on activities of digestive and anti-stress enzymes, and survival rate of juvenile *Epinephelus malabaricus*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2009, 30(4): 21-26.
- [18] 区又君, 李加儿, 陈福华. 驼背鲈的形态和生物学性状[J]. 中国水产科学, 1999, 1: 24-26.
Ou Youjun, Li Jiaer, Chen Fuhua. Diagnostic and biological features of high finned grouper (*Cromileptes altivelis* Valenciennes)[J]. Chinese Fisheries Science, 1999, 1: 24-26.

- 1999, 1: 24-26.
- [19] 王素久, 张海发, 赵俊, 等. 不同盐度对斜带石斑鱼幼鱼生长和生理的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2011, 31(6): 39-44.
Wang Sujiu, Zhang Haifa, Zhao Jun, et al. Effects of different salinities on growth and physiology of orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2011, 31(6): 39-44.
- [20] 梁华芳, 黄东科, 吴耀华, 等. 温度和盐度对龙虎斑存活与摄食的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2013, 33(4): 22-26.
Liang Huafang, Huang Dongke, Wu Yaohua, et al. Effects of temperature and salinity on survival and food intake of grouper hybrid (*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *E. fuscoguttatus* ♀)[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2013, 33(4): 22-26.
- [21] 张雅芝, 刘冬娥, 方琼珊, 等. 温度和盐度对斜带石斑鱼幼鱼生长与存活的影响[J]. 集美大学学报(自然版), 2009, 14(1): 8-13.
Zhang Yazhi, Liu Donge, Fang Qionshan, et al. Effects of temperature and salinity on growth and survival rate of young *Epinephelus coioides*[J]. Journal of Jimei University (Natural Science), 2009, 14(1): 8-13.
- [22] 林建斌, 李金秋, 朱庆国, 等. 盐度对点带石斑鱼生长、肌肉成分和消化率的影响[J]. 海洋科学, 2009, 33(3): 31-35.
Lin Jianbin, Li Jinqiu, Zhu Qingguo, et al. Effects of salinity on the growth, muscle composition and digestibility of *Epinephelus coioides*[J]. Marine Sciences, 2009, 33(3): 31-35.
- [23] 施兆鸿, 廖雅丽, 王孝杉, 等. 盐度骤降对云纹石斑鱼肝脏代谢酶活力的影响[J]. 海洋渔业, 2016, 38(2): 174-181.
Shi Zhaohong, Liao Yali, Wang Xiaoshan, et al. Impact of abrupt salinity decrease on metabolic enzymes in the liver of *Epinephelus moara*[J]. Marine Fisheries, 2016, 38(2): 174-181.
- [24] 李小勤, 李星星, 冷向军, 等. 盐度对草鱼生长和肌肉品质的影响[J]. 水产学报, 2007, 31(3): 343-348.
Li Xiaoqin, Li Xingxing, Leng Xiangjun, et al. Effect of different salinities on growth and flesh quality of *Ctenopharyngodon idellus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2007, 31(3): 343-348.
- [25] 王雯, 温久福, 区又君, 等. 急性低盐胁迫对斜带石斑鱼幼鱼存活、血清离子浓度和内分泌激素水平的影响[J]. 海洋渔业, 2016, 38(6): 623-633.
Wang Wen, Wen Jiufu, Ou Youjun, et al. Effects of acute low salinity stress on survival, concentrations of ions and endocrine hormones in serum of *Epinephelus coioides* juveniles[J]. Marine Fisheries, 2016, 38(6): 623-633.
- [26] 吴庆元, 蒋玫, 李磊, 等. 水体盐度对鲈鱼(*Mugil cephalus*)幼鱼摄食、生长及肌肉成分的影响[J]. 长江流域资源与环境, 2014, 23(1): 112-117.
Wu Qingyuan, Jiang Mei, Li Lei, et al. Effects of salinity stress on feeding, growth and biochemical composition of juvenile mullet (*Mugil cephalus*)[J]. Resources and Environment in the Yangtze Basin, 2014, 23(1): 112-117.
- [27] 唐夏, 黄国强, 李洁, 等. 低盐度胁迫不同时间对褐牙鲈幼鱼生长的影响[J]. 南方水产科学, 2012, 8(3): 10-16.
Tang Xia, Huang Guoqiang, Li Jie, et al. Effects of low salinity stress on growth of juvenile *Paralichthys olivaceus*[J]. South China Fisheries Science, 2012, 8(3): 10-16.
- [28] 柳敏海, 彭志兰, 张凤萍, 等. 盐度对条石鲷摄食、生长和肌肉生化组成的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2012, 27(5): 392-397.
Liu Minhai, Peng Zhilan, Zhang Fengping, et al. Effects of salinity on feeding, growth and muscular biochemical composition in striped knifejaw *Oplegnathus fasciatus*[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2012, 27(5): 392-397.
- [29] 黄建盛, 陈刚, 杨健, 等. 盐度对卵形鲳鲹幼鱼生长及能量收支的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2007, 27(4): 30-34.
Huang Jiansheng, Chen Gang, Yang Jian, et al. Effect of salinity on energy budget of *Trachinotus ovatus* juveniles[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2007, 27(4): 30-34.
- [30] Winston G W, Giulio R T D. Prooxidant and antioxidant mechanisms in aquatic organisms[J]. Aquatic Toxicology, 1991, 19(2): 137-161.
- [31] Andersen F, Lygren B, Maage A, et al. Interaction between two dietary levels of iron and two forms of ascorbic acid and the effect on growth, antioxidant status and some non-specific immune parameters in Atlantic salmon (*Salmo salar*) smolts[J]. Aquaculture, 1998, 161(1-4): 437-451.
- [32] Ross S W, Dalton D A, Kramer S, et al. Physiological (antioxidant) responses of estuarine fishes to variability in dissolved oxygen[J]. Comparative Biochemistry & Physiology Part C Toxicology & Pharmacology, 2001, 130(3): 289-303.
- [33] 庄平, 王好, 章龙珍, 等. 盐度骤降对点篮子鱼存活率及肝脏抗氧化酶活性的影响[J]. 复旦学报(自然科学版), 2011, 3: 366-372.
Zhuang Ping, Wang Hao, Zhang Longzhen, et al. The effects of ambient salinity decrement on survival and the activity of antioxidant enzymes in livers of *Siganus guttatus*[J]. Journal of Fudan University (Natural Sci-

- ence), 2011, 3: 366-372.
- [34] 尹飞, 孙鹏, 彭士明, 等. 低盐度胁迫对银鲳幼鱼肝脏抗氧化酶、鳃和肾脏 ATP 酶活力的影响[J]. 应用生态学报, 2011, 22(4): 1059-1066.
Yin Fei, Sun Peng, Peng Shiming, et al. Effects of low salinity stress on the antioxidant enzyme activities in juvenile *Pampus argenteus* liver and the APTase activities in its gill and kidney[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2011, 22(4): 1059-1066.
- [35] 潘桂平, 刘本伟, 周文玉. 低温胁迫对云纹石斑鱼幼鱼抗氧化和免疫指标的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2016, 25(1): 78-85.
Pan Guiping, Liu Benwei, Zhou Wenyu. The effects of cold stress on the antioxidant defense and immune parameters of juvenile *Epinephelus moara*[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2016, 25(1): 78-85.
- [36] 王奇, 范灿鹏, 陈锐慈, 等. 三种磺胺类药物对罗非鱼肝脏组织中谷胱甘肽转移酶(GST)和丙二醛(MDA)的影响[J]. 生态环境学报, 2010, 19(5): 1014-1019.
Wang Qi, Fan Canpeng, Chen Kunci, et al. Effects of three typical sulfonamides on GST activity and MDA content in liver tissue of *Oreochromis niloticus*[J]. Ecology and Environmental Sciences, 2010, 19(5): 1014-1019.
- [37] 尹飞, 彭士明, 孙鹏, 等. 低盐胁迫对银鲳幼鱼肠道消化酶活力的影响[J]. 海洋渔业, 2010, 32(2): 160-165.
Yin Fei, Peng Shiming, Sun Peng, et al. Effects of low salinity on digestive enzyme activity in intestinal tract of juvenile silver pomfret *pampus argenteus*[J]. Marine Fisheries, 2010, 32(2): 160-165.

Effects of short-term salinity stress on antioxidant and digestive physiology of hybrid progeny (*Cromilepptes altivelis* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂)

LIU Ling^{1, 2}, CHEN Chao^{1, 2}, LI Yan-lu¹, LIU Li¹, CHEN Jian-guo^{1, 2}, LI Wen-sheng³, MA Wen-hui³

(1. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao Key Laboratory for Marine Fish Breeding and Biotechnology, Qingdao 266071, China; 2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Laizhou Mingbo Fisheries Limited Corporation, Laizhou 261418, China)

Received: Jul. 17, 2017

Key words: Hybrid progeny (*Cromilepptes altivelis* ♀ × *Epinephelus lanceolatus* ♂); salinity stress; antioxidation; digestive physiology

Abstract: This study investigated the effects of different salinities on the feeding, antioxidant, and digestive physiology of the hybrid cultivars *Cromilepptes altivelis*♀ and *Epinephelus lanceolatus*♂. Five salinity mutation groups, 5×10^{-3} , 10×10^{-3} , 15×10^{-3} , 20×10^{-3} , 25×10^{-3} , 30×10^{-3} , and a salinity gradient group (salinity decrease by 5×10^{-3} per day) were set up. A salinity of 30×10^{-3} was used as the control group. The activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), and malondialdehyde (MDA) in serum and liver; those of lipase and amylase in the intestinal canal; and the pepsin activity in the stomach tissue were measured at 0, 3, and 7 d, respectively. The results showed that the effects of salinity on the enzyme activities increased with decreasing salinity in the salinity mutation groups, especially in the 5×10^{-3} to 15×10^{-3} group. The levels of the three antioxidant enzymes in the liver showed similar changes, i.e., they were first increased and then decreased. The activities of SOD and CAT in the serum were significantly higher than those in other groups on the 3rd and 7th day, and the activity of MDA was significantly increased on the 7th day. The activities of the three digestive enzymes were significantly decreased, with a lower sa-

linity causing a more significant decrease. There was no significant change in the activities of the antioxidant and digestive enzymes between other groups and the control group. A decreasing trend in food intake was observed in the salinity mutation groups, with the lowest food intake level being observed in the 5×10^{-3} group. The activities of SOD and CAT increased gradually, while the activity of MDA increased at first and then decreased in the salinity gradient group. The activities of pepsin and lipase increased initially, whereas the activity of amylase decreased continuously. The food intake decreased initially and then returned to the level of the control group. In summary, juvenile *mussaurus* spot can adapt to a wide range of salinity. However, a low salinity level ($<15 \times 10^{-3}$) was found to have a significant effect on the antioxidant activity and the digestive physiology of juvenile *mussaurus* spot. In addition, there may be a damaging effect on the antioxidant system of the liver, including the growth of the fish. Therefore, decreasing the salinity gradually can help in achieving the required conditions, which can reduce the adverse stress response during salinity acclimation.

(本文编辑: 谭雪静)