

悬浮物对半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)幼鱼肝脏溶菌酶、超氧化物歧化酶和鳃丝 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的影响*

周 勇^{1,2} 马绍赛¹ 曲克明¹ 傅雪军^{1,2} 徐 勇¹

(1. 农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071;

2. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306)

提要 在实验室条件下构建不同的悬浮物浓度环境,采用试剂盒分析方法研究了不同浓度悬浮物对半滑舌鳎幼鱼肝脏溶菌酶(LSZ)、超氧化物歧化酶(SOD)和鳃丝 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的影响。养殖水体中悬浮物浓度添加量分别为 0(对照)、50、100、200 和 400mg/L,每 5 天采样测定一次,实验周期为 25 天。结果表明,当悬浮物浓度添加量为 50 和 100mg/L 时,肝脏 LSZ 和 SOD 活力与对照组无显著差异($P>0.05$),当添加量为 200 和 400mg/L 时,肝脏 LSZ 和 SOD 活力与对照组有显著差异($P<0.05$);实验后期各实验组鳃丝 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力与对照组均有显著差异($P<0.05$)。在悬浮物效应的 25 天内,各实验组肝脏 LSZ 活力呈峰值变化,10 天时除 100mg/L 浓度添加组外均达到最大值;而肝脏 SOD 活力在 50 和 100mg/L 浓度添加组略有升高,在 200 和 400mg/L 浓度添加组则基本呈下降趋势;鳃丝 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力前 10 天各实验组较对照组无显著变化,之后则显著降低,后期基本趋于稳定,其活力低于初始水平;实验结束时,各实验组其肝脏 LSZ、SOD 和鳃丝 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力相对于对照组都受到了不同程度的抑制,其中各实验组鳃丝 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力抑制率分别达到了 27.6%、65.2%、57.0%和 71.1%。

关键词 悬浮物,半滑舌鳎,溶菌酶,超氧化物歧化酶, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$

中图分类号 Q956

在经济全球化的今天,海洋的开发与利用与日俱增,如港口、码头及其它海岸工程的建设与维护越来越多,其施工过程中工程量大,施工周期长,不可避免地导致水底沉积物悬浮,从而造成附近海域悬浮物浓度大幅度升高,对此国内外学者针对悬浮物污染给予了高度重视,并就其对水生动物的行为反应(Bisson, 1982; Henley *et al*, 2000)、生理反应(Christopher *et al*, 2004)、摄食(宋强等, 2006; Kate *et al*, 2007)、生长繁殖(王金秋等, 2002)、存活(李纯厚等, 1997)和水体理化环境(张运林等, 2004)等影响进行了

深入研究。半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)是一种大型名贵暖温性底层鱼类,属鲽形目(Pleuronectiformes)、舌鳎科(Cynoglossidae),俗称细鳞、牛舌头、鳎目、鳎米、龙利,主要分布于渤海、黄海海域,具有生长速度快、肉质细腻、味道鲜美、经济价值高等特点,是目前渔业生产上一种新的优良养殖对象(马爱军等, 2007)。目前还未见到国内外有关悬浮物对半滑舌鳎免疫相关酶影响的研究报道。本试验中采用实验生态学方法,研究了不同悬浮物浓度对半滑舌鳎幼鱼肝脏溶菌酶(LSZ)、超氧化物歧化酶(SOD)和鳃丝

* 国家科技支撑计划项目, 2006BAD09A03 号; 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目, 2008-gy-04 号。周勇, E-mail: zhuyong_2002@163.com

通讯作者: 马绍赛, 研究员, E-mail: mass@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2008-08-15, 收修改稿日期: 2008-10-19

Na⁺-K⁺-ATPase 活力的影响,旨在为半滑舌鳎幼鱼的环境生理和免疫机制以及养殖水环境调控提供基础数据和理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用半滑舌鳎幼鱼于2008年5月取自于海阳市黄海水产有限公司,体色正常,健康活泼,全长(8.09±0.46)cm,体重为(4.98±0.64)g。实验前于装有80L海水的水族箱(60cm×40cm×40cm)中暂养2周,实验用水为即墨沿海自然海水,经砂滤处理,悬浮物浓度为25.5mg/L,盐度为30.68±0.16, pH为8.15±0.04,温度为(20.9±0.63)℃, DO为(7.03±0.33)mg/L, NH₄-N为(0.085±0.009)μmol/L, NO₂-N为(0.155±0.027)μmol/L, NO₃-N为(8.56±0.605)μmol/L,连续充气,日换水率100%,并投喂“海力利海”牌半滑舌鳎专用配合饲料(青岛金海力水产科技有限公司生产),日投饵2次(9:00am, 16:00pm),投饵量为幼鱼体重的3%—4%。

实验泥样采集于海阳沿海滩涂,带回实验室后在通风处摊开晒干,然后在烘箱中60℃条件下烘干至恒重,冷却并研磨成粉末状,过400目筛绢,使其粒径38μm,于干燥器中低温保存。泥样中硫化物、重金属(Hg、Cu、Zn、Pb、Cd)、油类物质、有机质等主要成分含量见表1,各要素的检测按《海洋监测规范》(GB17378-1998)(国家质量技术监督局,1998)进行。

1.2 实验设计

设置4个实验组和1个对照组,每组随机取健康活泼的半滑舌鳎幼鱼30尾,分别养于5个装有80L海水的水族箱内,实验期间受试鱼死亡率低于10%。所有组的水温、投饵等养殖条件与暂养时相同,充气量也保持一致。每天早晨8:40将各水族箱水体全部

更新并向各实验组添加泥样悬浮物,添加浓度依次为50、100、200、400mg/L,对照组不添加,其本底值为25.5mg/L。实验期间各实验组泥样悬浮情况良好,箱底基本没有明显沉积。于实验开始后每隔5天分别从各箱中随机取出3尾半滑舌鳎幼鱼,迅速取其鳃丝、肝脏分别装入10ml塑料离心管,做好标记放入-80℃的冰箱中以备测定。

1.3 样品的处理

分别取半滑舌鳎幼鱼的鳃丝和肝脏,经灭菌生理盐水润洗,用吸水纸吸去表面水分并称重,取各组织块0.2g,加入组织块重9倍体积的生理盐水(0.9%)中,冰浴匀浆后于4℃条件下离心(10000r/min, 15min),然后取上清再用生理盐水按1:9稀释成1%组织匀浆,用于组织蛋白含量、肝脏SOD和鳃丝Na⁺-K⁺-ATPase活力的测定;另取肝组织0.1g,用生理盐水按肝重量:生理盐水体积=1:19制成5%组织匀浆(具体操作同上),用于肝脏LSZ活力的测定。

1.4 组织蛋白含量及酶活力的测定

肝脏和鳃丝中蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝法。

肝脏溶菌酶(LSZ)、超氧化物歧化酶(SOD)和鳃丝Na⁺-K⁺-ATPase活力的测定,均采用南京建成生物公司提供的检测试剂盒,相应操作参照说明书进行。其中,LSZ活力的测定采用比浊法,活力单位为μg/ml;SOD活力的测定采用黄嘌呤氧化酶法,活力单位定义为每mg组织蛋白在1ml反应液中SOD抑制率达50%时所对应的SOD量为一个SOD活力单位(U/mg蛋白);Na⁺-K⁺-ATPase活力定义为每小时每mg组织蛋白的组织中ATP酶分解ATP产生1μmol无机磷的量为一个ATP酶活力单位(U/mg蛋白)。

1.5 数据分析

数据用SPSS13.0(Statistical Package for Social Sciences)统计软件进行方差分析(ANOVA),并用均

表1 实验泥主要成分含量(10⁻⁶)
Tab.1 The main components of the experimental mud (10⁻⁶)

样品号	硫化物	重金属					油类物质	有机质(%)
		Hg	Cu	Zn	Pb	Cd		
1	8.4	0.08	11.7	51.0	1.4	nd	14	1.49
2	8.3	0.08	11.8	55.0	1.8	nd	13	1.52
3	8.4	0.08	12.8	47.0	1.9	nd	13	1.47
平均值	8.4	0.08	12.1	51.0	1.7	nd	13	1.49
标准*	300.0	0.20	35.0	150.0	60.0	0.50	500	—

注: nd 为未检出; *为海洋沉积物质量标准第一类(国家质量监督检验检疫总局, 2002)

值多重比较分析法(LSD法)检验组内及组间的差异显著性。所得数据为3个平行样数据的平均值±标准差(Means±SD)。

2 结果

2.1 悬浮物对半滑舌鲷幼鱼肝脏溶菌酶(LSZ)活力的影响

表2表明,当添加悬浮物浓度为50和100mg/L时,各实验组半滑舌鲷幼鱼肝脏LSZ活力与对照组无显著差异($P>0.05$),当添加悬浮物浓度为200和400mg/L时,各实验组肝脏LSZ活力与对照组有显著差异($P<0.05$)。在悬浮物效应的25天内,各实验组肝脏LSZ活力呈峰值变化,先增大后减小,10天时基本达到最大值,20天后趋于稳定,而对照组无明显变化。实验结束时,添加悬浮物浓度100、200和400mg/L实验组,其肝脏LSZ活力相对于对照组,抑制率分别为17.6%、35.3%和32.4%。

2.2 悬浮物对半滑舌鲷幼鱼肝脏超氧化物歧化酶(SOD)活力的影响

表3表明,当添加悬浮物浓度为50和100mg/L时,各实验组半滑舌鲷幼鱼肝脏SOD活力与对照组

无显著差异($P>0.05$),当添加悬浮物浓度为200和400mg/L时,各实验组肝脏SOD活力与对照组有显著差异($P<0.05$)。在悬浮物效应的25天内,添加悬浮物浓度50和100mg/L实验组,其肝脏SOD活力相对于对照组略有增加,但变化不明显;添加悬浮物浓度200和400mg/L实验组,其肝脏SOD活力呈递减趋势,20天后趋于稳定,而对照组无明显变化。实验结束时,添加悬浮物浓度200和400mg/L实验组,其肝脏SOD活力相对于对照组,抑制率分别为28.2%和33.7%。

2.3 悬浮物对半滑舌鲷幼鱼鳃丝 Na⁺-K⁺-ATPase 活力的影响

表4表明,5天和10天时各实验组鳃丝Na⁺-K⁺-ATPase活力与对照组无显著差异($P>0.05$),15天后各实验组鳃丝Na⁺-K⁺-ATPase活力与对照组有显著差异($P<0.05$),且随着添加悬浮物浓度的增加,差异越明显。在悬浮物效应的25天内,各实验组鳃丝Na⁺-K⁺-ATPase活力呈递减趋势,且添加悬浮物浓度越大,减幅越大,实验后期各实验组鳃丝Na⁺-K⁺-ATPase浓度值趋于稳定。实验结束时,各实验组鳃丝Na⁺-K⁺-ATPase活力相对于对照组,抑制率分别为27.6%、65.2%、57.0%和71.1%。

表2 悬浮物对半滑舌鲷幼鱼肝脏溶菌酶活力的影响(平均值±标准差)

Tab.2 The effect of suspended substances on lysozyme activity in liver of the juvenile *C. semilaevis* (means±SD)

添加悬浮物(mg/L)	溶菌酶活力(μg/ml)						抑制率(%)
	0d	5d	10d	15d	20d	25d	
50	25.49±1.96 ^{ab/A}	26.14±4.08 ^{ab/BC}	27.45±3.40 ^{a/B}	20.92±4.08 ^{b/B}	21.57±3.92 ^{b/A}	23.53±1.96 ^{ab/A}	0.0
100	25.49±1.96 ^{bc/A}	25.49±3.40 ^{bc/BC}	30.07±3.00 ^{ab/B}	33.33±1.96 ^{a/A}	20.26±3.00 ^{cd/AB}	18.30±6.89 ^{d/AB}	17.6
200	25.49±1.96 ^{c/A}	29.41±5.88 ^{bc/B}	44.44±4.93 ^{a/A}	32.03±1.13 ^{b/A}	15.03±1.13 ^{d/BC}	14.38±3.00 ^{d/B}	35.3
400	25.49±1.96 ^{c/A}	35.95±5.99 ^{b/A}	42.48±1.13 ^{a/A}	35.29±3.92 ^{b/A}	11.76±1.96 ^{d/C}	15.03±2.26 ^{d/B}	32.4
0	25.49±1.96 ^{a/A}	22.88±3.00 ^{a/C}	24.84±3.00 ^{a/B}	23.53±1.96 ^{a/B}	24.84±1.13 ^{a/A}	22.22±1.13 ^{a/A}	0.0

注:数据右上角的小写字母表示同一处理下不同时间对肝脏溶菌酶活力的影响,数据右上角的大写字母表示不同处理在同一时间下对肝脏溶菌酶活力的影响,具有相同字母的数据表示差异不显著($P>0.05$)。下同

表3 悬浮物对半滑舌鲷幼鱼肝脏超氧化物歧化酶活力的影响(平均值±标准差)

Tab.3 The effect of suspended substances on superoxide dismutase activity in liver of the juvenile *C. semilaevis* (means±SD)

添加悬浮物(mg/L)	超氧化物歧化酶活力(U/mg 蛋白)						抑制率(%)
	0d	5d	10d	15d	20d	25d	
50	116.68±12.56 ^{a/A}	125.51±9.27 ^{a/A}	117.68±9.87 ^{a/A}	126.67±4.12 ^{a/A}	125.56±8.38 ^{a/AB}	124.48±7.51 ^{a/A}	0.0
100	116.68±12.56 ^{a/A}	119.80±5.56 ^{a/A}	126.32±10.54 ^{a/A}	123.62±5.10 ^{a/A}	130.63±4.73 ^{a/A}	119.41±4.61 ^{a/A}	0.0
200	116.68±12.56 ^{a/A}	97.96±2.97 ^{bc/B}	101.44±10.02 ^{b/B}	95.14±4.68 ^{bcd/B}	85.06±9.57 ^{cd/C}	82.80±5.26 ^{d/B}	28.2
400	116.68±12.56 ^{a/A}	102.19±15.83 ^{ab/B}	93.11±7.67 ^{b/B}	87.87±9.84 ^{bc/B}	77.84±5.86 ^{c/C}	76.49±8.50 ^{c/B}	33.7
0	116.68±12.56 ^{a/A}	118.21±7.97 ^{a/A}	123.06±6.13 ^{a/A}	117.99±6.66 ^{a/A}	113.14±7.17 ^{a/B}	115.30±10.09 ^{a/A}	0.0

表 4 悬浮物对半滑舌鲷幼鱼鳃丝 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的影响(平均值 \pm 标准差)Tab.4 The effect of suspended substances on $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity in gill of the juvenile *C. semilaevis* (means \pm SD)

添加悬浮物(mg/L)	$\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力(U/mg 蛋白)						抑制率(%)
	0d	5d	10d	15d	20d	25d	
50	11.23 \pm 1.45 ^{a/A}	11.27 \pm 0.92 ^{a/A}	10.82 \pm 0.94 ^{a/A}	10.46 \pm 0.38 ^{ab/AB}	8.97 \pm 0.86 ^{b/B}	7.30 \pm 0.52 ^{c/B}	27.6
100	11.23 \pm 1.45 ^{a/A}	10.55 \pm 1.00 ^{ab/A}	10.67 \pm 0.63 ^{a/A}	9.13 \pm 1.07 ^{b/B}	4.76 \pm 1.13 ^{c/C}	3.51 \pm 0.76 ^{c/CD}	65.2
200	11.23 \pm 1.45 ^{a/A}	10.66 \pm 0.86 ^{a/A}	10.07 \pm 0.65 ^{a/A}	7.30 \pm 0.94 ^{b/C}	5.46 \pm 0.68 ^{c/C}	4.33 \pm 0.36 ^{c/C}	57.0
400	11.23 \pm 1.45 ^{a/A}	10.42 \pm 0.35 ^{a/A}	8.31 \pm 0.63 ^{b/B}	5.27 \pm 0.64 ^{c/D}	2.82 \pm 0.42 ^{d/D}	2.40 \pm 0.21 ^{d/D}	71.1
0	11.23 \pm 1.45 ^{a/A}	11.01 \pm 0.83 ^{a/A}	11.50 \pm 1.62 ^{a/A}	11.20 \pm 0.80 ^{a/A}	10.50 \pm 0.62 ^{a/A}	10.08 \pm 0.60 ^{a/A}	0.0

3 讨论

3.1 悬浮物对半滑舌鲷幼鱼肝脏溶菌酶(LSZ)活力的影响

LSZ 是一种碱性蛋白,能水解革兰氏阳性细菌的细胞壁中黏肽乙酰基多糖使之裂解并释放出来,形成一个水解酶体系,破坏和消除侵入体内的异物,从而担负起机体的防御机能(赵红霞等, 2003)。鱼类 LSZ 是鱼体抵抗病原菌感染的重要非特异性因子之一。由本研究结果可知,各实验组肝脏 LSZ 活力随着时间的变化先升高后降低,呈现出倒“U”型变化趋势,其中 200 和 400mg/L 变化幅度最大,悬浮物效应的前 15 天内,肝脏 LSZ 活力较对照组显著升高,而效应的后 10 天内,肝脏 LSZ 活力则显著低于对照组,并趋于稳定。表明在悬浮物效应初期,半滑舌鲷幼鱼受到了较强的应激,肝脏 LSZ 活力因此而升高,随后幼鱼对悬浮物产生了一定的耐受性,其肝脏 LSZ 活力降低并趋于稳定。因此,肝脏 LSZ 活力可作为半滑舌鲷幼鱼应激的信号。同时本实验结果也说明,半滑舌鲷幼鱼长期处于一定悬浮物浓度环境条件下,会降低其肝脏 LSZ 活力,导致其机体免疫力降低,抗病能力减弱,从而影响其生长、甚至存活。因此,鱼类肝脏 LSZ 的活性变化可作为衡量悬浮物污染程度的指标之一。

3.2 悬浮物对半滑舌鲷幼鱼肝脏超氧化物歧化酶(SOD)活力的影响

当生物体暴露于污染物时,会产生多余的自由基。自由基引起机体的氧化损伤后,会引起细胞膜中不饱和脂肪酸和磷脂的比例发生改变及膜内蛋白的破坏;而且多余的自由基与膜内巯基基团结合,致多种酶失活,导致细胞发生肿胀、变性甚至死亡,从而使机体的免疫能力下降(Rovin *et al.*, 1993; 金惠铭等, 2002)。SOD 是重要的抗氧化酶,能够清除机体体内多余的自由基,使自由基的产生与消除处于一个动态平衡,从而免除自由基对生物分子的损伤。近年来

研究表明 SOD 酶活性与生物的免疫水平密切相关,可用它们的活性变化作为机体非特异性免疫指标,甚至定量指标(赵红霞等, 2003),其活力的变化反映了机体抵制自由基损伤的能力(孙虎山等, 2000)。王广军等(2007)研究表明,水中悬浮物对杂色鲍血清中 SOD 的活力产生显著影响。从本研究结果可以看出,当悬浮物添加浓度为 50 和 100mg/L 时,肝脏 SOD 活力与对照组无显著差别,但略有升高;当悬浮物添加浓度为 200 和 400mg/L 时,肝脏 SOD 活力与对照组有显著差别,随效应时间的增加显著下降,且后期逐步趋于稳定。说明半滑舌鲷幼鱼在低浓度悬浮物的污染暴露下,机体会产生适应性诱导反应,肝脏 SOD 活力升高以清除自由基伤害;但在较高浓度悬浮物的效应下,可能超过了机体所能忍受的极限,机体为了清除由于高浓度悬浮物侵入而产生的大量自由基,消耗了大量的肝脏 SOD,致使肝脏 SOD 活力显著低于对照组,而后期肝脏 SOD 活力趋于稳定说明幼鱼对悬浮物污染产生了一定的适应性。

3.3 悬浮物对半滑舌鲷幼鱼鳃丝 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的影响

$\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 普遍存在于低、高等水生生物体内,具有广泛的生态意义,是组成 $\text{Na}^+\text{/K}^+$ 泵活性的主要部分,为多种毒物攻击的靶器官;同时由于它是膜的成分,以膜上其它蛋白、磷脂等成分作为靶点的毒物也会间接地影响 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 的活性(方展强等, 2006)。本实验结果表明,前 10 天各实验组半滑舌鲷幼鱼鳃丝 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力相对于对照组无显著变化,后 15 天则显著降低,且悬浮物浓度越大,变化越显著,说明悬浮物对半滑舌鲷幼鱼鳃丝 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的抑制具有时间和浓度依赖性。 ATPase 活力的抑制对鱼的生理功能损害机理在于能够引起细胞膜结构的破坏,损害的部位或是质膜或为线粒体膜,结果导致生物自身代谢活动受到抑制。实验过程中,由于水体中大量悬浮物颗粒的存在,一方面悬

浮物颗粒会随着幼鱼的呼吸作用进入鳃部而附着在鳃丝上, 从而影响鱼体的呼吸作用; 另一方面由于悬浮物颗粒与鳃丝的不断摩擦而有可能破坏鳃丝细胞, 从而影响鳃丝的生理功能, 这些都有可能是导致半滑舌鳎幼鱼鳃丝 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力受抑制的原因。

3.4 生物体免疫相关酶作为悬浮物污染指示物的可行性分析

受污染的水域环境, 使用化学分析方法能够检测出污染物的种类和含量, 但难以评估这些污染物的潜在毒性。在毒理学领域, 常利用污染物对生物体进行急性毒性效应的分析而计算出其急性半致死浓度, 这些数据对预测污染物的致死浓度是不可缺少的。然而绝大多数水体中的有毒物质的浓度往往达不到足以引起水中生物急性中毒死亡的程度, 而水生生物长期生活在含低浓度污染物的水体中时, 由于污染物质低浓度长时间的作用, 有可能会影响这些生物的生长、繁殖及其它生理功能。目前国内外有关悬浮物对鱼类等水产动物的影响研究多限于急性毒性效应作用, 而有关悬浮物对鱼类的生理生化效应研究较少。因此, 研究悬浮物对半滑舌鳎幼鱼免疫相关酶的影响有助于进一步了解悬浮物的主要毒性作用和靶器官, 并对其养殖安全生产和养殖水环境调控提供基础数据和理论依据。

参 考 文 献

马爱军, 王新安, 庄志猛等, 2007. 半滑舌鳎与摄食行为相关的特定感觉器官研究. 海洋与湖沼, 38(3): 240—245
 王广军, 谢 骏, 余德光等, 2007. 杂色鲍对底泥悬浮物胁迫的生理效应. 大连水产学院学报, 22(5): 352—356
 王金秋, 徐兆礼, 石 椿等, 2002. 长江口疏浚弃土悬沙对褶皱臂尾轮虫的影响. 应用生态学报, 13(7): 871—874
 方展强, 王春风, 卫焕荣, 2006. 汞和硒对剑尾鱼 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性的影响. 应用与环境生物学报, 12(2): 220—223
 孙虎山, 李光友, 2000. 栉孔扇贝血淋巴中超氧化物歧化酶和

过氧化氢酶活性及其性质的研究. 海洋与湖沼, 31(3): 259—265
 李纯厚, 林燕棠, 杨美兰等, 1997. 南海海港疏浚淤泥悬浮物对海洋动物的急性毒性效应. 中国环境科学, 17(6): 550—553
 宋 强, 方建光, 刘 慧等, 2006. 沉积再悬浮颗粒物对 3 种滤食性贝类摄食生理的影响. 海洋水产研究, 27(4): 21—28
 张运林, 秦伯强, 陈伟民等, 2004. 太湖水体中悬浮物研究. 长江流域资源与环境, 13(3): 266—271
 国家质量技术监督局, 1998. 中华人民共和国国家标准 (GB17378.5-1998). 海洋监测规范. 北京: 中国标准出版社, 7—85
 国家质量监督检验检疫总局, 2002. 中华人民共和国国家标准 (GB18668-2002). 海洋沉积物质量. 北京: 中国标准出版社, 243—245
 金惠铭, 卢 建, 殷莲华, 2002. 细胞分子病理生理学. 郑州: 郑州大学出版社, 236—259
 赵红霞, 张艳秋, 黄 磊等, 2003. 虾类的免疫系统与免疫防治. 中国兽医杂志, 39(1): 42—44
 Bisson P A, 1982. Avoidance of suspended sediment by juvenile Coho Salmon. *Nor Am J Fish Manag*, 2: 371—374
 Christopher M, Bunt M, Steven J *et al*, 2004. Effects of incremental increases in silt load on the cardiovascular performance of riverine and lacustrine rock bass, *Ambloplites rupestris*. *Environmental Pollution*, 128(3): 437—444
 Henley W F, Patterson M A, Neves R J *et al*, 2000. Effects of sedimentation and turbidity on lotic food webs : A concise review for natural resource managers. *Fisheries Science*, 8(2): 125—139
 Kate K, Steger P, Jonathan A *et al*, 2007. Laboratory experiments on the effects of variable suspended sediment concentrations on the ecophysiology of the porcelain crab *Petrolisthes elongatus* (Milne Edwards, 1837). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 344(2): 181—192
 Rovin J D, Stamler J S, Loscalzo J *et al*, 1993. Sodium nitroprusside, an endothelium-derived relaxing factor congener, increases platelet cyclic GMP levels and inhibits epinephrine-exacerbated *in vivo* platelet thrombus formation in stenosed canine coronary arteries. *J Cardiovasc Pharmacol*, 22(4): 626—631

EFFECTS OF SUSPENDED SUBSTANCE CONCENTRATION ON ACTIVITIES OF LYSOZYME, SUPEROXIDE DISMUTASE, AND Na⁺-K⁺-ATPase IN JUVENILE *CYNOGLOSSUS SEMILAEVIS*

ZHOU Yong^{1,2}, MA Shao-Sai¹, QU Ke-Ming¹, FU Xue-Jun^{1,2}, XU Yong¹

(1. Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao, 266071; 2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai, 201306)

Abstract Changes in activities of lysozyme (LSZ), superoxide dismutase (SOD), and Na⁺-K⁺-ATPase in the liver and gill of juvenile *Cynoglossus semilaevis* Günther were studied in different concentrations of suspended substances (0, 50, 100, 200 and 400mg/L). The experiment was conducted in 80L plastic tanks (60cm×40cm×40cm in dimension), each containing 30 fish. The sizes and weights of the fish were at (8.09±0.46)cm and (4.98±0.64)g, respectively. The experimental condition was pH 8.15±0.04, salinity 30.68±0.16, temperature (20.9±0.63)°C, DO (7.03±0.33)mg/L, NH₄-N (0.085±0.009)μmol/L, NO₂-N (0.155±0.027)μmol/L, and NO₃-N (8.56±0.605)μmol/L. Daily bait was fed at 3%—4% of the body weight. The suspended substance used as the experimental mud was taken from a local muddy beach, dried, grinded, and sieved by 400-mesh (≤38μm), and the concentration was set at 25.5 (the control), 50, 100, 200, and 400mg/L. Sampling was conducted at Days 0, 5, 10, 15, 20 and 25, and the samples were stored at -80°C until enzymes were assayed. The results show that the effects of suspended substance were significant ($P<0.05$), especially at high concentration (200 and 400mg/L), on the activities of liver LSZ and SOD, gill Na⁺-K⁺-ATPase in juvenile *C. semilaevis*. During the 25 days, the liver LSZ activity increased at first and then decreased, on the Day 10, the peak values appeared in the groups of 50, 200 and 400mg/L, and the minimum ones appeared on Days 20 and 25; both liver SOD and gill Na⁺-K⁺-ATPase activities decreased gradually. At the end of the experiment, activities of all the enzymes in each group stabilized. Compared with the control group, the inhibition rate of activities of the three enzymes increased gradually with the increase in the concentration of suspended substance, and the maximum values of liver LSZ increased 35.3% at 200mg/L, liver SOD 33.7% and gill Na⁺-K⁺-ATPase at 400mg/L 71.1%, respectively.

Key words Suspended substances, *Cynoglossus semilaevis*, LSZ, SOD, Na⁺-K⁺-ATPase