

文章编号:1000-0615(2008)06-0929-10

饥饿及恢复投饵过程中花鲈肌肉组成及非特异免疫水平的变化

楼宝, 史会来, 毛国民, 骆季安, 郑代明

(浙江海洋学院海洋与渔业研究所, 浙江省海洋水产研究所, 浙江舟山 316100)

摘要: 探讨了饥饿及恢复投饵过程中花鲈(*Lateolabrax japonicus*)[(196±38)g]肌肉组成成分及鱼体非特异免疫水平的变化。实验设S0组(对照组,持续正常投喂),S5组(饥饿5d后恢复正常投喂),S10组(饥饿10d后恢复正常投喂),S15组(饥饿15d后恢复正常投喂)。S0组每隔5d取样,S5,S10和S15组分别在结束饥饿及恢复投饵后每隔5d取样测定。结果显示:饥饿程度对花鲈肌肉组成有显著影响。与对照组相比,S10组饥饿结束时肌肉的总脂含量显著降低;S15组饥饿结束时肌肉的总脂含量和粗蛋白含量都显著降,同时显著增加了肌肉的水分含量。表明饥饿过程中花鲈先动用肌肉脂肪,后动用肌肉蛋白。在恢复投饵过程中,S10和S15组总脂含量表现出先降后升的规律,而S15组蛋白表现为逐步回升的趋势。表明花鲈在饥饿后恢复投饵的过程中,先恢复肌肉蛋白含量,后恢复肌肉脂肪含量。饥饿15d时花鲈血清蛋白浓度显著降低。与对照组相比,S5组血清、脾脏和头肾溶菌酶活性均无显著变化;S10组头肾溶菌酶活性在恢复投饵10d时补偿性升高。S15组在饥饿结束时显著降低了花鲈头肾溶菌酶活性,但在恢复投饵5d时恢复到对照组水平。花鲈白细胞的吞噬活性也受饥饿程度及恢复投饵的影响。饥饿会降低花鲈血液白细胞的吞噬活性。在恢复投饵过程中,饥饿(5d)后恢复投饵会引起白细胞吞噬百分率和吞噬指数的补偿性升高。表明饥饿及恢复投饵也影响花鲈的非特异免疫水平。

关键词: 花鲈;饥饿;恢复投饵;肌肉成分;非特异免疫

中图分类号: S917 **文献标识码:** A

花鲈(*Lateolabrax japonicus*)是近年我国海水网箱养殖的主要品种之一。有关花鲈营养需求的研究已见报道。张雅芝等研究了花鲈仔、稚、幼鱼摄食习性与生长特性^[1]。艾庆辉等报道了饲料中能量蛋白比对花鲈幼鱼生长及体成分的影响^[2]。但在实际的养殖过程中,网箱养殖的花鲈主要以投喂鲜杂鱼为饵,通常会经历因饵料来源不稳定和气候突变引起的饥饿过程。在自然环境条件下,由于食物分布在空间上的不均匀性、季节更替或环境剧变等原因,鱼类也经常会生活周期的一定阶段面临食物资源的缺乏而受到饥饿胁迫。

作为生理生态学上的一种适应性,某些动物继食物供应不足甚至饥饿后在恢复正常摄食时表现出补偿生长现象。对鱼类补偿生长的研究已有较多报道,主要集中在生长速度,摄食率,消化酶活性、体组分等领域^[3-8]。有关饥饿及恢复投饵对花鲈生长影响已有报道。钱云霞等研究了饥饿对花鲈蛋白酶^[9]和血液生理生化指标^[10]的影响。杜震宇等^[7]报道了饥饿对淡水养殖花鲈肌肉、肝脏和血清主要生化组成的影响。曾庆民报道了饥饿对花鲈生长效果的影响,认为花鲈存在一定的补偿生长能力^[11]。朱艺峰等探讨了周期性饥饿

收稿日期:2008-01-20

资助项目:浙江省科技计划项目(2006C32003)

作者简介:楼宝(1969-),男,浙江义乌人,高级工程师,从事海水鱼类增养殖的研究。Tel:0580-3050985, E-mail:loubao6577

@sohu.com

下花鲈形态变化^[12]和补偿生长的机理^[13]。非特异性免疫机能是鱼类抵抗传染性疾病的重要生理防御机制,其活性受环境条件及多种管理措施的影响^[14-17]。而有关饥饿和恢复投饵过程中花鲈非特异免疫水平的研究,国内外尚未见报道。适度饥饿引起的花鲈机体补偿能力,能否在其非特异免疫机能上有所体现? 本论文探讨了不同饥饿程度及恢复投饵过程中花鲈肌肉组成及非特异性免疫机能的变化,不但可以拓宽鱼类因饥饿引起的补偿现象的研究领域,增加对鱼类饥饿生理和摄食生理的理解,同时在实际鱼类养殖中生产优质安全水产品也具有一定的应用价值。具有明显的理论意义和一定的现实意义。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

实验用花鲈幼鱼取自浙江舟山一养殖网箱。挑选体色正常,健康活泼,全长(22.7 ± 1.7) cm, 体质量(196 ± 38) g 的幼鱼 480 尾运抵西闪岛养殖基地用于实验。实验前幼鱼平均暂养于室内水泥池的 12 个网箱中,每天饱食投喂 3 次(8:00、12:00、16:00),饵料为冰鲜小杂鱼碎块。驯化 15 d 后开始正式实验。

1.2 实验设计

实验共 4 组,分别为对照组 S0(每天饱食投喂)、S5 组(饥饿 5 d 恢复正常投喂 20 d)、S10 组(饥饿 10 d 恢复正常投喂 20 d)、S15 组(饥饿 15 d 恢复正常投喂 20 d),每组设 3 平行,每平行有 40 尾实验鱼。在实验开始时,从各网箱中随机取鱼 5 尾,用于分析。随后 S0 组每隔 5 d 取样一次,S5 组、S10 和 S15 组在结束饥饿时及随后的恢复投饵过程中每隔 5 d 取样。每网箱每次取样 5 尾。

1.3 实验鱼的养殖管理

各组实验鱼分别用 2 m × 2 m × 1 m 网箱养殖,所有网箱悬挂在一室内水泥池(规格:5 m × 12 m × 1.5 m)中。实验用水为经暗沉淀处理、二级砂滤后的自然海水,盐度为 27。每日换水 1 次,换水量为 60%。光照为自然光照。每个网箱中安置一气石连续充气以保持充足的溶解氧。养殖水温为(26 ± 2) °C。实验组鱼在恢复投饵后日投喂次数和时间同暂养时。正式实验经历 35 d。

1.4 样品采集和分析

取样时,先测量每条鱼体质量和体长,然后断尾取血。一部分血液用肝素处理后作为抗凝血,当场用于白细胞吞噬实验。另一部分血液不作抗凝处理以获取血清用于溶菌酶活性和血清补体活性的测定。随后立即对鱼体进行解剖,分别取每尾鱼的头肾和脾脏组织,用于测定溶菌酶活性。最后从每尾鱼的侧线以上部位取肌肉若干用于肌肉组成的测定。对所取得的组织样品于 -18 °C 冰冻保存,血液样品于 4 °C 冰箱保存待用。

白细胞吞噬实验参考文献[18]进行。将 100 μL 灭活的白色葡萄球菌悬浊液与 100 μL 抗凝血在凹玻片中混合均匀,在 26 °C 孵育 30 min。然后取混合血样推片,干燥后姬姆萨染色。在油镜下计数白细胞吞噬情况。白细胞吞噬率(%) = 吞噬细菌的细胞数/100 × 100%;吞噬指数 = 100 个细胞吞噬的细菌数/100。

溶菌酶的测定采用南京建成的溶菌酶试剂盒。将冰冻保存的头肾和脾脏组织按 10 倍样品重加入预冷生理盐水,在高速组织匀浆机中冰浴匀浆,匀浆液以 10 000 r · min⁻¹ 的速率离心 10 min,取上清液,用于溶菌酶活性的检测。溶菌酶样品在 12 h 内分析完毕。匀浆液和血清的蛋白含量用考马斯亮蓝蛋白试剂盒测定。

肌肉组成采用常规方法进行,水分的测定采用 105 °C 常压加热干燥法;总脂肪的测定采用氯仿-甲醇法;粗蛋白的测定采用微量凯氏定氮法;灰分的测定采用马福炉 550 °C 灰化法。

1.5 数据处理

测定结果以平均值 ± 标准差表示。用 SPSS 11.0 软件做 ANOVA 分析,并 Duncan 氏多重比较。

2 结 果

2.1 饥饿及恢复投饵过程中花鲈肌肉组成的变化

表 1 所示为饥饿及恢复投饵过程中花鲈肌肉组成的变化情况。

实验期间 S0(对照)组花鲈肌肉中水分含量在 79.42%~80.11% 之间变动,不同取样时间无显著变化。S5 组肌肉水分含量变幅分别为 79.85%~80.62%,以饥饿结束时为最高,但与恢复投饵过程中无显著变化。S10 组和 S15 组肌肉水分含量分别界于 79.92%~80.85% 和 80.33%~

表 1 不同饥饿程度及恢复投饵过程中花鲈肌肉组成成分变化

Tab. 1 The ingredient(%) in muscle of the perch *L. japonicus* that experienced different starvation and refeeding

		取样时间 sampling time							
		0	5 d	10 d	15 d	20 d	25 d	30 d	35 d
水分/% moisture	S0	79.42 ± 0.45 ^X	79.55 ± 0.93 ^{aX}	80.04 ± 0.25 ^{aX}	79.83 ± 0.57 ^{aX}	79.48 ± 0.51 ^{aX}	80.07 ± 0.62 ^{aX}	79.96 ± 0.41 ^{aX}	80.11 ± 0.54 ^{aX}
	S5	/	80.62 ± 0.87 ^{aX}	79.85 ± 0.68 ^{abX}	80.24 ± 0.32 ^{aX}	80.30 ± 0.19 ^{aX}	79.98 ± 0.68 ^{aX}	/	/
	S10	/	/	80.85 ± 0.10 ^{bX}	80.31 ± 0.45 ^{aXY}	80.31 ± 0.42 ^{abXY}	79.92 ± 0.33 ^{aY}	80.07 ± 0.13 ^{aY}	/
	S15	/	/	81.33 ± 0.46 ^{bX}	80.62 ± 0.17 ^{bXY}	80.57 ± 0.57 ^{aXY}	80.33 ± 0.52 ^{aY}	80.41 ± 0.39 ^{aY}	/
脂肪 lipid%	S0	0.96 ± 0.05 ^X	0.96 ± 0.10 ^{aX}	0.95 ± 0.04 ^{aX}	0.93 ± 0.09 ^{aX}	1.03 ± 0.07 ^{aX}	0.97 ± 0.10 ^{aX}	0.92 ± 0.04 ^{aX}	1.01 ± 0.11 ^{aX}
	S5	/	0.94 ± 0.09 ^{aX}	0.93 ± 0.08 ^{abX}	0.98 ± 0.06 ^{aX}	0.90 ± 0.08 ^{aX}	0.91 ± 0.10 ^{aX}	/	/
	S10	/	/	0.86 ± 0.04 ^{bX}	0.83 ± 0.03 ^{bX}	0.76 ± 0.02 ^{bY}	0.81 ± 0.06 ^{aXY}	0.92 ± 0.04 ^{aX}	/
	S15	/	/	/	0.70 ± 0.07 ^{bX}	0.65 ± 0.07 ^{bX}	0.70 ± 0.03 ^{bX}	0.88 ± 0.03 ^{aY}	0.97 ± 0.05 ^{aY}
蛋白 protein%	S0	17.98 ± 0.27 ^X	17.54 ± 0.65 ^{aX}	17.48 ± 0.15 ^{aX}	17.36 ± 0.17 ^{aX}	18.48 ± 0.72 ^{aX}	17.86 ± 0.62 ^{aX}	17.49 ± 0.43 ^{aX}	17.26 ± 0.62 ^{aX}
	S5	/	17.56 ± 0.05 ^{aX}	16.94 ± 0.59 ^{aX}	17.01 ± 0.50 ^{aX}	17.53 ± 0.28 ^{abX}	17.77 ± 0.72 ^{aX}	/	/
	S10	/	/	17.69 ± 0.82 ^{aX}	17.23 ± 0.42 ^{aX}	17.41 ± 0.19 ^{abX}	17.70 ± 0.52 ^{aX}	17.13 ± 0.31 ^{aX}	/
	S15	/	/	/	15.89 ± 0.49 ^{bX}	17.07 ± 0.55 ^{bY}	16.76 ± 0.52 ^{aXY}	16.30 ± 0.83 ^{aXY}	17.16 ± 0.40 ^{aY}
灰分 ash%	S0	1.36 ± 0.05 ^X	1.40 ± 0.06 ^{aX}	1.32 ± 0.02 ^{aX}	1.37 ± 0.05 ^{aX}	1.36 ± 0.03 ^{aX}	1.31 ± 0.05 ^{aX}	1.36 ± 0.15 ^{aX}	1.23 ± 0.12 ^{aX}
	S5	/	1.44 ± 0.14 ^{aX}	1.36 ± 0.00 ^{bX}	1.37 ± 0.15 ^{aX}	1.45 ± 0.11 ^{aX}	1.39 ± 0.09 ^{aX}	/	/
	S10	/	/	1.46 ± 0.07 ^{abX}	1.45 ± 0.05 ^{aX}	1.54 ± 0.13 ^{aX}	1.50 ± 0.05 ^{aX}	1.33 ± 0.03 ^{aX}	/
	S15	/	/	/	1.42 ± 0.06 ^{aX}	1.48 ± 0.06 ^{aX}	1.44 ± 0.05 ^{aX}	1.34 ± 0.04 ^{aY}	1.21 ± 0.09 ^{aY}

注:各数值后面上标小写字母(a,b)代表在同一时间不同饥饿处理之间的多重比较,大写字母(X,Y)表示同一饥饿处理不同取样时间之间的多重比较。相同字母代表差异不显著($P>0.05$),字母不同表示差异显著($P<0.05$)

Notes: The lower case (a, b) superscripted on the figure in the same column means the comparison between different starvation and refeeding treatments. The capital letter (X, Y) superscripted on the figure in the same line means the comparison among different times in the same treatment. The same letter means on significant difference ($P>0.05$) and different letter means significant difference ($P<0.05$)

81.33%,两组在饥饿结束时肌肉水分含量均显著高于恢复投饵 15 d 和 20 d 时的水平。试验期间 S5 组和 S10 组在不同时刻的肌肉水分含量与 S0 组无显著差异,但 S15 组在饥饿结束及恢复投饵

5 d 时肌肉水分含量显著高于 S0 组,恢复投饵 10 d、15 d 和 20 d 时与 S0 组无显著差异。

实验期间 S0 组与 S5 组花鲈肌肉脂肪含量在不同取样时间无显著变化。S10 组脂肪含量在饥

饿结束后的恢复投饵过程中表现为先降后升,在恢复投饵 10 d 时降到最低。而 S15 组在饥饿结束、恢复投饵 5 d 和 10 d 时的肌肉脂肪水平显著低于恢复投饵 15 d 和 20 d 时的水平。试验期间 S5 组在不同时刻的肌肉脂肪含量与 S0 组无显著差异;S10 组和 S15 组在饥饿结束、恢复投饵 5 d 和 10 d 时肌肉总脂含量显著低于 S0 组,在恢复投饵 15 d 和 20 d 时与 S0 组无显著差异。

实验期间 S0 组、S5 组和 S10 组花鲈肌肉蛋白含量在不同取样时间均无显著变化,分别界于 17.26% ~ 18.48%、16.94% ~ 17.77% 和 17.13%~17.69%。S15 组肌肉蛋白含量在恢复投饵 5 d 时显著高于饥饿结束时的水平。试验期间 S5 组和 S10 组在不同时刻的肌肉蛋白含量与 S0 组均无显著差异;但 S15 组在饥饿结束和恢复投饵 5 d 时肌肉蛋白含量显著低于 S0 组,在恢复投饵 10 d、15 d 和 20 d 时略低于 S0 组,但统计差异不显著。

S0 组、S5 组和 S10 组花鲈肌肉灰分在不同取样时间均无显著变化。S15 组在恢复投饵 15 d 和 20 d 时肌肉灰分显著低于饥饿结束时的水平。

2.2 饥饿及恢复投饵过程中花鲈血清蛋白浓度的变化 图 1 显示了饥饿及其恢复过程中花鲈血清蛋白浓度的变化。与 S0 组相比,S5 组和 S10 组血清蛋白浓度在饥饿结束时与 S0 组无显著差异($P>0.05$),但 S5 组在恢复投饵 10 d,S10 组在恢复投饵 10 d、15 d 时显著低于 S0 组($P<0.05$);S15 组在结束饥饿时血清蛋白浓度显著低于 S0 组($P<0.05$),在恢复投饵后逐渐回升到 S0 组水平。表明不同饥饿程度引起的血清蛋白浓度的变化规律不同。

2.3 饥饿及恢复投饵过程中花鲈溶菌酶活性的变化 表 2 所示为不同饥饿处理及随后恢复投饵过程中花鲈不同组织中的溶菌酶活性的变化情况。不同组织中的溶菌酶活性有较大的差异。实验期间 S0 组血清溶菌酶、脾脏溶菌酶和头肾溶菌酶活性分别界于 $1.03\sim 1.43\text{ U}\cdot(\text{mgprot})^{-1}$ 、 $5.79\sim 12.47\text{ U}\cdot(\text{mgprot})^{-1}$ 和 $9.16\sim 35.47\text{ U}\cdot(\text{mgprot})^{-1}$,且 S0 组头肾和脾脏组织中溶菌酶活性在实验期间也存在显著变化。

对饥饿及恢复投饵处理的鱼体头肾溶菌酶研究表明,S5 组、S10 组和 S15 组在实验期间均表

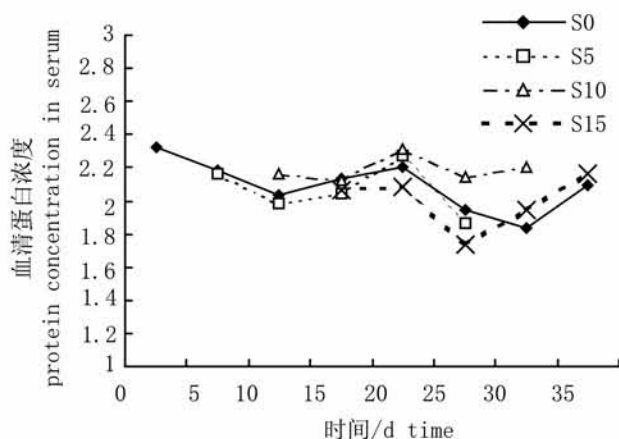


图 1 不同饥饿处理及恢复投饵过程中花鲈血清蛋白浓度的变化

Fig. 1 The protein concentration variations in serum of the perch *L. japonicus* that experienced different starvation and refeeding

现为先升后降的趋势。S5 组头肾溶菌酶活性在结束饥饿时比 S0 组低 12.6%,但差异不显著;在恢复投饵 5 d 时,比 S0 组低 7.7%;恢复投饵 10 d 和 15 d 时,分别为 S0 组的 131.97% 和 116.40%,但在实验过程中,S5 组头肾溶菌酶活性与对照组无显著差异。S10 组头肾溶菌酶活性在结束饥饿和恢复投饵 5 d 时,均比 S0 组低,但统计上无显著差异;在恢复投饵 10 d 时,为 S0 组的 192.66%,显著高于 S0 组;在恢复投饵 15 d 以后,与 S0 组无显著差异。S15 组头肾溶菌酶活性在结束饥饿时比 S0 组显著降低 37.67%;在恢复投饵 5 d 后,基本恢复到 S0 组水平,之后一直与 S0 组无显著差异。

饥饿处理组脾脏溶菌酶活性在实验期间也表现出先升后降的规律。S5 组脾脏溶菌酶在结束饥饿和恢复投饵 5 d 时分别比 S0 组低 13.47% 和 14.37%;在恢复投饵 10 d 后恢复到 S0 组水平;在恢复投饵 15 d 时比 S0 组高 35.90%,但统计上差异不显著。S10 组在结束饥饿和恢复投饵 5 d 时,脾脏溶菌酶仍然低于 S0 组,分别比 S0 组低 27.52% 和 32.08%;恢复投饵 10 d 后,比 S0 组高 23.90%。实验期间在相同取样时刻,S10 组脾脏溶菌酶活性与 S0 组无显著差异。S15 组脾脏溶菌酶在饥饿结束时比 S0 组低 25.15%,但差异不显著。恢复投饵后与 S0 组无明显差异。

试验期间 S5 组、S10 组和 S15 组血清溶菌酶活性与 S0 组相比均无显著差异。

表 2 不同饥饿处理及恢复投饵过程中花鲈血清、脾脏和头肾溶菌酶活性
 Tab. 2 The lysozyme activities in serum, spleen and head kidney of the perch *L. japonicus*
 that experienced different starvation and refeeding

时间 (d)	S0 组			S5 组			S10 组			S15 组		
	血清 serum	脾脏 spleen	头肾 head kidney	血清 serum	脾脏 spleen	头肾 head kidney	血清 serum	脾脏 spleen	头肾 head kidney	血清 serum	脾脏 spleen	头肾 head kidney
0	1.43 ± 0.18 ^a	7.36 ± 1.26 ^{ab}	12.30 ± 2.67 ^b	/	/	/	/	/	/	/	/	/
5	1.29 ± 0.20 ^{aX}	5.79 ± 0.86 ^{bX}	11.35 ± 5.4 ^{bcX}	1.27 ± 0.16 ^{aX}	5.01 ± 1.26 ^{bX}	9.92 ± 3.18 ^{bcX}	/	/	/	/	/	/
10	1.32 ± 0.14 ^{aX}	6.54 ± 0.87 ^{abX}	6.62 ± 1.47 ^{cX}	1.32 ± 0.20 ^{aX}	5.60 ± 0.57 ^{bX}	6.11 ± 0.91 ^{cX}	1.20 ± 0.07 ^{bX}	4.74 ± 1.00 ^{cX}	5.86 ± 1.00 ^{dX}	/	/	/
15	1.23 ± 0.11 ^{aX}	11.69 ± 4.50 ^{aX}	35.47 ± 6.22 ^{aX}	1.52 ± 0.17 ^{aX}	11.41 ± 2.65 ^{aX}	46.81 ± 18.89 ^{aX}	1.32 ± 0.25 ^{abX}	7.94 ± 1.19 ^{bX}	25.38 ± 7.82 ^{bXY}	1.39 ± 0.34 ^{aX}	8.75 ± 1.08 ^{abX}	22.11 ± 4.50 ^{aY}
20	1.42 ± 0.30 ^{aX}	9.75 ± 2.54 ^{aX}	29.14 ± 3.56 ^{aY}	1.55 ± 0.36 ^{aX}	13.25 ± 2.57 ^{aX}	33.92 ± 7.67 ^{aXY}	1.69 ± 0.25 ^{aX}	12.08 ± 1.69 ^{aX}	56.14 ± 5.86 ^{aX}	1.38 ± 0.17 ^{aX}	9.74 ± 1.73 ^{aX}	26.31 ± 6.38 ^{aY}
25	1.03 ± 0.24 ^{aX}	12.47 ± 4.51 ^{aX}	13.61 ± 2.79 ^{bX}	1.28 ± 0.33 ^{aX}	10.51 ± 2.31 ^{aX}	12.29 ± 1.40 ^{bX}	1.36 ± 0.42 ^{abX}	10.04 ± 1.30 ^{abX}	13.48 ± 1.81 ^{cX}	0.99 ± 0.29 ^{aX}	9.57 ± 0.96 ^{aX}	14.61 ± 1.12 ^{bX}
30	1.31 ± 0.14 ^{aX}	9.23 ± 2.57 ^{abX}	11.33 ± 2.43 ^{bX}	/	/	/	1.28 ± 0.16 ^{abX}	9.75 ± 0.89 ^{abX}	12.98 ± 1.42 ^{cX}	1.00 ± 0.14 ^{aX}	7.56 ± 0.36 ^{bX}	10.03 ± 1.32 ^{bX}
35	1.43 ± 0.17 ^{aX}	5.82 ± 0.93 ^{bX}	9.16 ± 2.07 ^{bcX}	/	/	/	/	/	/	1.04 ± 0.11 ^{aX}	5.39 ± 1.62 ^{cX}	6.78 ± 0.94 ^{cX}

注:各数值后面标大写字母(X, Y, Z)代表不同组同一指标在同一时间的多重比较,上标小写字母(a, b, c, d)代表同一指标不同时间之间的多重比较。相同字母代表差异不显著($P>0.05$),字母不同表示差异显著($P<0.05$)

Notes: The capital letter (X, Y, Z) superscripted on the figure in the same characteristic means the comparison among different treatments at the same time. The lower case (a, b, c, d) superscripted on the figure in the same column means the comparison among the different times in the same treatment. The same letter means on significant difference ($P>0.05$) and different letter means significant difference ($P<0.05$)

2.4 饥饿及恢复投饵过程中花鲈白细胞吞噬活性的变化

如表 3 所示,饥饿及恢复投饵过程中,花鲈血液中白细胞吞噬活性有明显变化。实验期间 S0 组的白细胞吞噬百分率为 28.3%~42.1%,吞噬指数为 2.7~3.3。与 S0 组相比,S5 组在饥饿结束及恢复投饵 5 d 时白细胞的吞噬百分率显著降低,吞噬指数无显著变化,在恢复投饵 15 d 时,吞

噬百分率和吞噬指数均显著高于 S0 组。S10 组在饥饿结束及恢复投饵 5 d 时白细胞的吞噬百分率和吞噬指数均显著降低,在恢复投饵 10 d 时,白细胞的吞噬百分率和吞噬指数与 S0 组相比均无显著差异。S15 组在饥饿结束时白细胞的吞噬百分率和吞噬指数均显著降低,但在随后的恢复投饵过程中,白细胞的吞噬百分率一直低于对照组,而吞噬指数在恢复投饵 5 d 后与 S0 组无显著差异。

表3 不同饥饿处理及恢复投饵过程中花鲈白细胞的吞噬活性

Tab. 3 The phagocytosis activities of the perch *L. japonicus* taht experienced different starvation and refeeding

时间 (d)	S0组		S5组		S10组		S15组	
	吞噬率% Phagocytic percentage	吞噬指数 Phagocytic index	吞噬率% Phagocytic percentage	吞噬指数 Phagocytic index	吞噬率% Phagocytic percentage	吞噬指数 Phagocytic index	吞噬率% Phagocytic percentage	吞噬指数 Phagocytic index
0	33.27 ± 2.26 ^{bc}	2.70 ± 0.61 ^a	/	/	/	/	/	/
5	38.41 ± 3.13 ^{abX}	3.28 ± 0.64 ^{aX}	31.41 ± 2.17 ^{cY}	2.96 ± 0.54 ^{bX}	/	/	/	/
10	36.54 ± 1.87 ^{bX}	2.95 ± 0.27 ^{aX}	32.60 ± 1.56 ^{cY}	3.05 ± 0.28 ^{abX}	30.47 ± 2.08 ^{bY}	2.12 ± 0.36 ^{bY}	/	/
15	42.09 ± 2.50 ^{aY}	3.06 ± 0.46 ^{aY}	48.41 ± 2.65 ^{aX}	3.82 ± 0.23 ^{aX}	27.94 ± 4.49 ^{bZ}	2.35 ± 0.22 ^{bZ}	30.75 ± 1.68 ^{aZ}	2.24 ± 0.37 ^{bZ}
20	39.55 ± 2.58 ^{abY}	2.87 ± 0.38 ^{aY}	45.25 ± 2.17 ^{aX}	3.85 ± 0.47 ^{aX}	43.08 ± 1.72 ^{aY}	3.03 ± 0.25 ^{aY}	29.74 ± 1.73 ^{abZ}	2.58 ± 0.30 ^{abY}
25	37.47 ± 4.51 ^{bX}	3.11 ± 0.32 ^{aX}	40.16 ± 2.32 ^{bX}	3.42 ± 0.38 ^{abX}	40.04 ± 3.30 ^{aX}	3.33 ± 0.50 ^{aX}	32.57 ± 1.86 ^{aZ}	2.87 ± 0.40 ^{abX}
30	29.23 ± 2.53 ^{cX}	2.98 ± 0.35 ^{aX}	/	/	32.75 ± 1.89 ^{bX}	3.04 ± 0.43 ^{aX}	26.75 ± 1.36 ^{bcY}	2.76 ± 0.35 ^{abX}
35	28.28 ± 2.03 ^{cX}	2.85 ± 0.41 ^{aX}	/	/	/	/	25.37 ± 1.65 ^{cY}	2.95 ± 0.32 ^{aX}

注: 各数值后面上标大写字母(X, Y, Z)代表不同组同一指标在同一时间的多重比较, 上标小写字母(a, b, c)代表同一指标不同时间之间的多重比较。相同字母代表差异不显著($P>0.05$), 字母不同表示差异显著($P<0.05$)

Notes: The capital letter (X, Y, Z) superscripted on the figure in the same characteristic means the comparison among different treatments at the same time. The lower case (a, b, c) superscripted on the figure in the same column means the comparison among the different times in the same treatment. The same letter means on significant difference ($P>0.05$) and different letter means significant difference ($P<0.05$)

3 讨论

3.1 花鲈饥饿及恢复投饵过程中肌肉成分的变化及其在生产上的应用

投饲策略是海水鱼类网箱养殖过程中最重要的管理措施之一。大量的研究发现, 鱼类受到饥饿胁迫后, 多种生理机能会发生变化, 往往产生不同程度的补偿生长, 表现为恢复投饵过程中饲料转化率增大, 生长加快, 饲料报酬增加等。花鲈是一种抗饥饿能力较强的鱼类^[1,7,11]。花鲈在经过5 d和10 d的饥饿后, 分别再投喂25 d和20 d均可获得超补偿生长^[11]。

饥饿会影响鱼类生理活动, 并使之发生适应性调节。脂肪、蛋白质和碳水化合物是鱼体的3大供能物质。对于大多数种类, 在饥饿的早期首先是消耗肝糖原提供能量, 与此同时, 贮存的脂肪也被用于供能消耗。当糖原和脂肪都部分被消耗

后, 骨骼肌中的蛋白才被作为能源动用^[19-21]。然而, 有些种类倾向于保留肝糖原, 而先消耗脂肪或蛋白作为能源使用^[19,22]。对真鲷幼鱼^[23]、美国红鱼^[24]、白鲫^[25]、草鱼鱼种^[26]、鲩状黄姑鱼^[27]和史氏鲟幼鱼^[28]的饥饿研究表明鱼类对饥饿的适应特性及能量消耗规律因鱼的种类有较大的差异。

杜震宇等^[7]通过测定生活在淡水中的花鲈在饥饿3、5、7、9周后肌肉成分, 认为在饥饿条件下首先动用其肠系膜脂肪作为能量供应; 此外还发现在饥饿过程中花鲈首先快速动用较大量的肌肉脂肪作为能源物质, 同时自始至终利用肌肉蛋白作为能源。认为肌肉蛋白可能是鲈长期饥饿时最主要的供能物质。本试验的结果表明, 在饥饿5 d时, 花鲈并没有明显动用肌肉中的脂肪和蛋白作为能源, 而是动用了其他部位的能源物质; 在饥饿10 d时, 花鲈已经动用肌肉中的脂肪作为能源; 在饥饿15 d时, 花鲈肌肉中的脂肪和蛋白含量均显

著降低。表明花鲈动用贮备能量物质的类型还与其经受的饥饿程度有关。

从表1可知,S10和S15组在结束饥饿恢复投饵的过程中,肌肉中脂肪的含量并没有随投饵的恢复而立即增加,表现为先继续下降然后再回升,最终在恢复投饵20d和15d后,与S0组无显著差异。S15组在结束饥饿恢复投饵的过程中,肌肉中蛋白的含量随投饵的恢复而立即增加,尽管蛋白水平恢复到S0组水平也需要20d。上述结果表明,不但花鲈饥饿时动用贮备物质的类型与饥饿程度有关,而且在恢复投饵过程中,其获取的能量用于恢复各贮备物质的顺序也不相同,在饥饿程度较深状态下,花鲈恢复投饵后获取的能量优先用于恢复肌肉蛋白等物质的贮备而不是先恢复脂肪水平。这可能与蛋白质在机体内的生物学作用比脂肪更重要有关。

由于花鲈具有较强的补偿生长能力^[7,11],而对其实现补偿生长的机制,朱艺峰等^[13]认为在短期周期性(周期性饥饿2d,再投喂2d)饥饿下花鲈的补偿生长通过提高摄食率实现。但曾庆民^[11]的研究表明,饥饿5d和饥饿10d的花鲈实现超补偿生长的机制不仅限于增加摄食量,同时包括改善食物效率,降低饲料系数。因此,在实际养殖生产中,一方面可以利用补偿生长原理来改善鱼类养殖技术,在不影响鱼类生长性能的前提下,节约饲料成本,降低劳动力成本,提高养殖效益。另一方面,在集约化养殖条件下,鱼类长期生活在食物有充裕保障的环境中,营养物质及消化能的局部过剩或不均衡,导致鱼体内脂肪等物质异常积累,从而影响养殖鱼产品的品质。国外,已有较多的研究表明人工养殖鱼类与野生鱼类在营养成分、风味和质地等品质方面表现出一定的差异^[29-31]。Haard等^[32]发现养殖鱼类的脂质通常高于同种野生鱼类,并且影响鱼肉的感官品质。段青源等^[33]对养殖大黄鱼和野生大黄鱼的研究也表明,养殖大黄鱼具有更多的脂肪含量。随着人们生活水平的提高,追求高品质的鱼产品已成为一种趋势。目前人工养殖的花鲈也常常表现出体内脂肪含量增加甚至表现出脂肪肝症状,影响养殖花鲈的产品品质。本研究的结果表明,对花鲈饥饿10d,在不影响蛋白含量的前提下,可有效降低其肌肉中的脂肪含量,因此有望将饥饿策略应用到上市前的花鲈养殖管理中,从而提高养殖

花鲈的品质。

3.2 花鲈饥饿及恢复投饵过程中非特异免疫机能的变化

病害防治是海水鱼类网箱养殖中又一重要的管理措施。病害的发生不仅会影响养殖鱼类的生长性能,最终也影响鱼类养殖。因此,如何通过其他养殖措施的改善来提高鱼体的抗病能力,减少药物使用、生效益,在养殖鱼类的食用安全问题日益受到关注之后,利用传统的抗生素等药物防治鱼病在养殖生产中日益受限制产安全的水产品是水产养殖者的兴趣和责任所在。鱼类的抗病能力与机体的免疫水平密切相关。传染性疾病的爆发往往与机体的免疫水平低下有关。有效改善机体的免疫机能,可增强动物的抗病能力。鱼类血液生理指标变化与机体的新陈代谢、生理状况息息相关,当动物处于不同的生长状态时,血液的理化指标可能也会相应地变化,因而被广泛用来评价鱼体的健康状况及其对环境的适应。

血清蛋白浓度是表征动物生理状态的重要指标之一。鳊鲈在饥饿第3天至第90天血清总蛋白几乎不变^[34]。钱云霞等^[10]报道养殖鲈鱼在饥饿过程中,第1周血清总蛋白有所增加,第2周回落,第3周低于正常组,第4周继续显著下降。本实验中,饥饿5d组和饥饿10d组的花鲈在饥饿结束时血清蛋白浓度并没有下降,在恢复投饵5d后血清蛋白浓度反而有所下降。但饥饿15d组在饥饿结束后血清蛋白浓度显著降低,在恢复投饵5d后明显回升,其变化规律与前人报道不同,原因有待进一步研究。

溶菌酶是一种碱性蛋白,广泛存在于动物体内多种组织和体液中,也是吞噬细胞杀菌的物质基础之一,在甲壳动物的免疫防御中起重要作用。它能够水解革兰氏阳性细菌的细胞壁,破坏入侵体内的异物,从而担负起机体防御的功能。黄旭雄等^[35]研究发现,中国明对虾体内的溶菌酶活性与其抗弧菌的能力密切相关,随溶菌酶活性的提高,机体的抗弧菌能力增强。本研究中,不同组织中溶菌酶活性差异较大。头肾的溶菌酶活性最高,其次是脾脏,血清中的溶菌酶活性相对较低。这与各组织器官的功能有关。头肾和脾脏是鱼类重要的免疫器官,尤其在头肾,内含丰富的吞噬细胞,而吞噬细胞中含有溶菌酶。由表2可知,饥饿对不同组织的溶菌酶活性的影响不同。相同状态

下头肾的溶菌酶活性比脾脏或血清的溶菌酶活性受饥饿影响更显著。

实验期间对照组的头肾和脾脏溶菌酶活性及吞噬活性在养殖 15 d 及 20 d 时有显著升高,推测与此时冷空气来临导致养殖环境及现场实验条件发生变化有关。与对照组相比,实验期间 S5 组头肾溶菌酶活性无显著差异。S10 组头肾溶菌酶活性在恢复投饵 10 d 时有超补偿现象,为 S0 组的 192.66%,显著高于 S0 组($P < 0.05$)。S15 组头肾溶菌酶活性在结束饥饿时比 S0 组显著降低,但在恢复投饵过程中没有发现超补偿现象。表明不同饥饿程度下花鲈在恢复投饵过程中头肾溶菌酶活性的变化规律不同,适度的饥饿(10 d)后恢复投饵会引起头肾溶菌酶活性的补偿性升高。

白细胞的吞噬百分率和吞噬指数通常用于衡量机体的非特异免疫水平^[18]。本研究中,与对照组相比,不同饥饿程度下花鲈的吞噬百分率和吞噬指数均变小,表明饥饿会降低花鲈血液白细胞的吞噬活性。在恢复投饵过程中不同饥饿组白细胞吞噬活性的变化规律不同,饥饿(5 d)后恢复投饵会引起白细胞吞噬百分率和吞噬指数的补偿性升高,而饥饿 10 d 组和 15 d 组在恢复投饵后并没有表现出吞噬活性的补偿性升高。综合表 2、3 可知饥饿及恢复投饵对溶菌酶和吞噬活性的影响规律并不完全相同,反映出饥饿对花鲈的非特异性免疫机能的影响可能是一个复杂的过程,仍有待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] 张雅芝,郑金宝,谢仰杰,等. 花鲈仔、稚、幼鱼摄食习性与生长的研究[J]. 海洋学报, 1999, 21(5): 110-119.
- [2] Ai Q H, Mai K S, Li H, *et al.* Effects of dietary protein to energy ratios on growth and body composition of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* [J]. *Aquaculture*, 2004 (230): 5072516.
- [3] 骆作勇,王雷,宝杰,等. 奥利亚罗非鱼饥饿后补偿生长对血液理化指标的影响[J]. 海洋科学进展, 2007, 25(3): 340-345.
- [4] 楼宝,史会来,骆季安,等. 饥饿和再投喂对日本黄姑鱼代谢率和消化器官组织学的影响[J]. 海洋渔业, 2007, 29(2): 140-147.
- [5] 高露姣,陈立侨,赵晓勤,等. 施氏鲟幼鱼的饥饿和补偿生长研究对消化器官结构和酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2004, 11(5): 410-419.
- [6] 李霞,姜志强,谭晓珍,等. 饥饿和再投喂对美国红鱼消化器官组织学的影响[J]. 中国水产科学, 2002, 9(3): 211-215.
- [7] 杜震宇,刘永坚,田丽霞,等. 饥饿对于鲈肌肉、肝脏和血清主要生化组成的影响[J]. 动物学报, 2003, 49(4): 458-465.
- [8] Zhu X M, Xie S Q, Lei W, *et al.* Compensatory growth in the Chinese longsnout catfish, *Leiocassis longirostris* following feed deprivation: Temporal patterns in growth, nutrient deposition, feed intake and body composition [J]. *Aquaculture*, 2005, 248: 307-314.
- [9] 钱云霞. 饥饿对养殖鲈蛋白酶活力的影响[J]. 水产科学, 2002, 21(3): 6-7.
- [10] 钱云霞,陈惠群,孙江飞. 饥饿对养殖鲈血液生理生化指标的影响[J]. 中国水产科学, 2002, 9(2): 133-136.
- [11] 曾庆民. 饥饿对花鲈生长效果的比较研究[J]. 集美大学学报(自然科学版), 2004, 9(2): 122-126.
- [12] 朱艺峰,林霞,吴望星,等. 周期性饥饿下花鲈的形态变化与饥饿状态的相对判别分析[J]. 中国水产科学, 2006, 13(1): 45-51.
- [13] 朱艺峰,林霞,关文静,等. 花鲈在短期周期性饥饿下的补偿生长[J]. 水产科学, 2007, 26(11): 597-600.
- [14] 常青,梁萌青,王家林,等. 壳聚糖对花鲈生长和非特异性免疫力的影响[J]. 海洋水产研究, 2006, 27(5): 17-22.
- [15] Kim D H, Austin B. Innate immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum) induced by probiotics [J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2006, 21(5): 513-524.
- [16] 聂芬,石小涛,李大鹏,等. 拥挤胁迫对史氏鲟稚鱼血浆溶菌酶活性和补体水平的影响[J]. 水生生物学报, 2007, 31(4): 581-584.
- [17] Kumari J, Sahoo P K, Swain T, *et al.* Seasonal variation in the innate immune parameters of the Asian catfish *Clarias batrachus* [J]. *Aquaculture*, 2006, 252(2-4): 121-127.
- [18] 朱立平,陈学清(主编). 免疫学常用实验方法[M]. 北京:人民军医出版社, 2000. 185-186.
- [19] Navarro I, Gutiérrez J. Fasting and starvation [M]// Hochachka P W, Mommsen T P (Eds.), *Biochemistry and Molecular Biology of Fishes*, vol. 4. Elsevier, Amsterdam, 1995: 393-434.

- [20] Echevarr A G, Mart Nez-Bebi M, Zamora S. Evolution of biometric indices and plasma metabolites during prolonged starvation in European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) [J]. Comp Biochem Physiol, A 1997, 118:111-123.
- [21] Met N I, Fern N F, Baanante I V. Short- and long-term effects of refeeding on key enzyme activities in glycolysis gluconeogenesis in the liver of gilthead seabream (*Sparus aurata*) [J]. Aquaculture, 2003, 225: 99-107.
- [22] Gillis T E, Ballantyne J S. The Effects of starvation on plasma free amino acid and glucose concentrations in lake sturgeon [J]. Journal of Fish Biology, 1996, 49:1306-1316.
- [23] 张波, 孙耀, 唐启升. 饥饿对真鲷生长及生化组成的影响 [J]. 水产学报, 2000, (3): 206-210.
- [24] 姜志强, 贾泽梅, 韩延波. 美国红鱼继饥饿后的补偿生长及其机制 [J]. 水产学报, 2002, 26(1): 67-72.
- [25] 沈文英, 金叶飞, 金俊, 等. 饥饿和再投喂对白鲫生物化学组分的影响 [J]. 绍兴文理学院学报, 2002, (2): 49-51.
- [26] 沈文英, 林浩然, 张为民. 饥饿和再投喂对草鱼鱼种生物化学组成的影响 [J]. 动物学报, 1999, 45(4): 402-412.
- [27] 孔令军, 王岩, 李翠, 等. 网箱养殖鲢状黄姑鱼停喂不同时间后的补偿生长 [J]. 中国水产科学, 2006, 13(4): 591-596.
- [28] 高露姣, 陈立侨, 宋兵. 饥饿和补偿生长对史氏鲟幼鱼摄食、生长和体成分的影响 [J]. 水产学报, 2004, 28(3): 279-284.
- [29] Netteleton J A, Exler J. Nutrients in wild and farmed fish and shellfish [J]. Food Science, 1992, 57: 257-260.
- [30] Grigorakis K, Alexis M N, Taylor K D A, et al. Comparison of wild and cultured gilthead sea bream: composition, appearance and seasonal alterations [J]. International Journal of Food Science Technology, 2002, 37: 477-484.
- [31] Grigorakis K, Taylor K D A, Alexis M N. Organoleptic and volatile aroma compounds comparison of wild and cultured gilthead sea bream (*Sparus aurata*): sensory differences and possible chemical basis [J]. Aquaculture, 2003, 225: 109-119.
- [32] Haard N F. Control of chemical composition and food quality attributes of cultured fish [J]. Food Research International, 1992, 25: 289-307.
- [33] 段青源, 麦康森, 申徒基康, 等. 养殖与野生大黄鱼的品质比较 [C] // 第六届世界华人鱼虾营养学术研讨会论文集. 中国水产学会水产动物营养与饲料专业委员会. 10-18.
- [34] 尾崎久雄. 鱼类血液循环生理 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1982.
- [35] 黄旭雄, 周洪琪, 宋理平, 等. 急性感染对中国明对虾非特异免疫水平的影响 [J]. 水生生物学报, 2007, 31(3): 325-331.

The variations on innate immune activity and muscular composition of Japanese sea perch, *Lateolabrax japonicus*, experienced starvation and refeeding

LOU Bao, SHI Hui-lai, MAO Guo-min, LUO Ji-an, ZHENG Dai-ming
(Marine and Fishery Research Institute of Zhejiang Ocean University, Zhejiang Marine Fisheries
Research Institute, Zhoushan 316100, China)

Abstract: The variations on muscle composition and innate immunity of the Japanese sea perch, *Lateolabrax japonicus*, which experienced starvation and refeeding were studied in this paper. Four treatments were designed. S0 group was treated as control for normal feeding during the experiment phase. S5, S10 and S15 groups were fasted for 5 d, 10 d and 15 d respectively and then refed as normal as the control. Fish were sampled every 5 days from the control group, or at the end of starvation and every 5 days during the refeeding phase from the experiment groups for assays on muscle composition and innate immunity. The results indicate that there are significant effects of starvation on muscle composition. Compared to that of the control, the fish from S10 group have a significantly lower lipid content and the fish from S15 have significantly lower lipid and protein contents while higher moisture in muscle at the end of starvation. It is suggested that lipid prior to protein in muscle is used as an energy source during starvation for Japanese sea perch. During the refeeding phase, the muscular lipid content of the fish from S10 group and S15 group continued to decrease to some extent then increase to the control level. While the muscular protein content of the fish from S15 increased as refeeding begun. It is suggested that the Japanese sea perch which experienced starvation restore protein prior to lipid in muscle during refeeding. The fish from S15 group have a significantly lower protein concentration in serum at the end of starvation. Compared to that of control, there is no significant variations on lysozyme activities in serum, spleen and head kidney of the fish from S5 group. After 10 d refeeding, the fish from S10 group have a compensatory increment of lysozyme activity in head kidney. The phagocytosis activities decrease after the fish experienced starvation. The fish from S5 group have a compensatory increment of phagocytosis activities after 15 d refeeding while the fish from S10 group and S15 group do not display the compensatory increment of phagocytosis activities. It is therefore suggested that starvation and refeeding also affect the innate immunity of Japanese sea perch and a reasonable starvation regimen will improve the innate immunity of the fish.

Key words: *Lateolabrax japonicus*; starvation; refeeding; muscle composition; innate immunity