



## 盐度胁迫对尼罗罗非鱼免疫相关指标的影响

蔡 然, 陈立敏, 辛 颖, 赵早亚, 俞筱箐,  
黄金凤, 廖宗甄, 李文笙\*

(中山大学生命科学学院, 有害生物控制与资源利用国家重点实验室,  
中山大学水生经济动物研究所暨广东省水生经济动物良种繁育重点实验室,  
广东省重要经济鱼类健康养殖工程技术研究中心, 广东广州 510275)

**摘要:** 为探究盐度胁迫对尼罗罗非鱼免疫的影响, 对体质量(35.0±5.0) g的尼罗罗非鱼进行了急性和慢性的盐度胁迫实验, 对免疫相关指标进行了检测和分析。在急性盐度胁迫中, 设置0、5和15盐度组, 分别在胁迫后6、12、24、48和96 h进行取样, 检测血清SOD、CAT、GSH-Px和AKP的活性。在慢性实验中, 设置0、10、20和30盐度组, 胁迫8周后检测血清SOD、CAT、GSH-Px和AKP活性, 并进行了无乳链球菌易感性实验。结果显示: ①血清中SOD活性在急性盐度胁迫6、12和24 h时都有随盐度上升而上升的趋势, 但在96 h时盐度15组酶活性显著低于盐度5组; 在慢性盐度胁迫下, 各组的酶活性呈现出随着盐度升高而显著性下降的趋势。②血清CAT活性在急性盐度胁迫下12和24 h时呈现出随着盐度升高而显著下降的趋势; 在慢性胁迫下不存在显著性差异。③血清中GSH-Px活性在急性和慢性胁迫后, 均呈现随着盐度升高而降低的趋势。④血清AKP活性在胁迫后6 h随盐度升高呈现出显著下降趋势; 在慢性盐度胁迫下, 盐度20组显著低于其他实验组。⑤尼罗罗非鱼对无乳链球菌易感性实验中, 盐度10组的易感性和盐度0组之间无显著差异, 盐度20和30组的易感性高于盐度0组。研究表明, 两种盐度胁迫均会引起免疫相关指标的变化, 急性盐度胁迫实验表明, 盐度5和15可导致尼罗罗非鱼机体氧化损伤, 但尼罗罗非鱼可以逐渐适应这一变化; 慢性盐度胁迫实验表明, 盐度高于20会抑制尼罗罗非鱼多种免疫指标活性, 造成其对无乳链球菌的易感性升高。

**关键词:** 尼罗罗非鱼; 无乳链球菌; 盐度; 胁迫; 免疫相关因子

**中图分类号:** S 917.4

**文献标志码:** A

在水产养殖中, 养殖鱼类时刻要受到环境的影响。环境对鱼类生存产生的压力被称为环境胁迫。环境胁迫可以分为急性胁迫和慢性胁迫, 而环境中能造成胁迫的因子, 被称为环境胁迫因子<sup>[1]</sup>。环境胁迫因子可以显著影响鱼类的生理状态, 盐度就是其中一种重要的环境胁迫因子, 可以显著地影响鱼类的免疫水平, 造成多种免疫因子的变化<sup>[2-3]</sup>, 导致鱼类对致病菌易感性的变化<sup>[4-5]</sup>。

鱼类属于低等脊椎动物, 其特异性免疫系统相比于高等脊椎动物较不完善, 而非特异性免疫在鱼类对抗病原体侵染的过程中发挥重要作用。其中, 鱼体内的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)和碱性磷酸酶(AKP)起到关键作用, 其活性可以反映机体的免疫水平, 是重要的机体免疫指标<sup>[6]</sup>, 已有研究表明, 环境因素会显著影响这些酶的活性, 造成机体免疫力的变化<sup>[7]</sup>。

收稿日期: 2019-09-22 修回日期: 2019-11-17

资助项目: 现代农业产业技术体系专项(CARS-46); 现代农业人才支撑计划(2016-2020); 广东省科技计划(2012B020308001)

通信作者: 李文笙, E-mail: lsslws@mail.sysu.edu.cn

尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*), 属于鲈形目(Perciformes), 丽鱼科(Cichlidae), 是一种广盐性鱼类, 能在不同盐度的水体中存活。尼罗罗非鱼是我国重要的出口水产品, 具有很高的经济价值。近年来, 无乳链球菌(*Streptococcus agalatae*)病的暴发给罗非鱼产业带来极大损失<sup>[8]</sup>。已有的研究表明, 氨氮等环境胁迫因子可以抑制尼罗罗非鱼免疫相关指标的活性, 提高尼罗罗非鱼对海豚链球菌(*S. iniae*)的易感性<sup>[9]</sup>。这表明环境胁迫因子与链球菌病等养殖常见疾病的暴发存在一定的相关性, 这可能是由于环境胁迫因子抑制尼罗罗非鱼的机体免疫力而导致的。因此, 阐明环境因子对罗非鱼免疫水平的影响, 对水产养殖业具有重要的意义。目前关于盐度对尼罗罗非鱼影响的研究, 主要集中于耐盐性和生长速率方面, 有关盐度对尼罗罗非鱼免疫影响的研究还比较缺乏。因此, 本研究从急性和慢性两个角度, 对盐度胁迫下尼罗罗非鱼的血清SOD、CAT、GSH-Px和AKP活性这几项免疫指标, 以及慢性盐度胁迫下罗非鱼对于无乳链球菌的易感性进行探究, 试图揭示盐度对尼罗罗非鱼免疫相关指标的影响, 为尼罗罗非鱼的咸水养殖提供一定的参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验用尼罗罗非鱼来自广东罗非鱼良种场, 种质来源相同, 体表无损伤、活力正常。实验用鱼的体质量规格为(35.0±5.0) g, 全雄。实验在室内流水养殖系统内进行。实验开始前在淡水中驯养1周使其适应环境, 每日饱食投喂2次。实验所使用的盐水为曝气的淡水和海水晶调配而成, 用YSI的Pro1030盐度计进行校准。

### 1.2 实验设计

**急性盐度胁迫实验** 实验设置盐度0(对照组)、5和15组, 每个实验组设置5个取样时间点, 每个时间点取10尾鱼。实验开始前, 将罗非鱼随机分配到不同养殖桶内(直径200 cm, 高100 cm), 每组60尾, 在淡水中暂养10 d。实验开始后, 盐度5和15组直接升高水体盐度至目标盐度, 盐度0组作为对照维持不变。分别在转移至实验盐度后6、12、24、48和96 h进行取样。每个实验组的每个时间点随机取10尾鱼。

**慢性盐度胁迫实验** 实验设置盐度0(对照组)、10、20和30组, 每组3个平行, 每个平行100尾。实验开始前, 随机将各组罗非鱼分配到12个室内养殖桶中(直径200 cm, 高100 cm), 每个桶100尾鱼, 在淡水中暂养10 d, 期间采用饱食投喂的方式每日投喂2次。实验开始后, 将12个桶随机编为4个实验组, 采用逐步增加盐度的方式进行驯化, 驯化方式如表1。在达到实验组设置的盐度后开始为期8周的实验。实验期间采用饱食投喂的方式每日投喂2次, 每次30 min, 并统计摄食量。实验期间关闭水循环系统, 通过增氧机和每日换水1/3来维持水质稳定, 每日检测水质, 确保氨氮不高于1.5 mg/L, 亚硝酸盐不高于0.25 mg/L, pH为6.8~8.0, 溶解氧含量不低于3 mg/L, 水质采用广州三晟环保科技有限公司的水质检测试剂盒进行检测。实验结束后取样。每个实验组取3个平行, 每个平行取10尾鱼。

表1 慢性盐度实验盐度胁迫驯化方式

盐度组 salinity group	第1天 day 1	第2天 day 2	第3天 day 3	第4天 day 4	第5天 day 5	第6天 day 6
0	0	0	0	0	0	0
10	0	0	0	0	5	10
20	0	0	5	10	15	20
30	5	10	15	20	25	30

**攻毒实验** 慢性盐度胁迫下养殖8周后, 从慢性胁迫10、20和30组以及对照组(0组)各组中的每个平行随机挑选规格均匀, 与整体平均体质量相同的鱼20尾, 随机分为攻毒组和对照组。具体实验分组设计与实验鱼规格见表2。实验使用无乳链球菌株(THN0901)来自中山大学李安兴教授实验室。菌株接种于脑—心浸出液(BHI)培养基平板, 并在28 °C下培养24 h, 后挑取单克隆进入BHI液体培养基, 在28 °C条件下扩大培养12 h后, 按照新旧培养基100:1的比例扩大培养10 h, 得到的菌株在5 000 r/min下离心5 min, 所得菌体沉淀使用生理盐水重悬。无乳链球菌悬液使用稀释涂布平板法进行计数。攻毒实验按照每尾 $5.0 \times 10^7$  CFU的菌体量进行注射, 对照组注射生理盐水。统计注射后14 d的死亡率。

### 1.3 检测与分析

**血清免疫指标检测** 采用静脉取血, 取

表 2 攻毒实验分组设计(平均体质量)  
Tab. 2 Experimental design of *S. agalactiae*

injection(average body weight) g				
组别 group	盐度+链球菌 salinity+S. agal	盐度+PBS salinity+PBS	0+链球菌 0+S. agal	0+PBS
A(10&0)	245.1±3.1	244.8±2.1	245.9±2.6	245.6±1.8
B(20&0)	205.0±2.7	204.7±1.9	204.0±2.5	204.2±3.0
C(30&0)	175.6±3.0	175.0±3.3	175.2±2.1	175.3±1.8

注: 组别中A、B和C后括号中的数字代表各实验组中的实验盐度  
Notes: the numbers in brackets after A, B, and C represent the experimental salinity for each group

1 mL罗非鱼血液, 室温下在7 500 r/min离心10 min, 分离上清液, 用于后续检测。本研究使用WST-1法检测SOD活性; 使用可见光法检测CAT活性; 使用比色法检测GSH-Px活性; 使用微板法检测AKP活性。实验中使用的试剂盒均来自南京建成生物工程研究所。

**数据分析** 实验数据采用SPSS 17软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA)。使用LSD法进行多重比较分析, 结果使用平均值±标准误(mean±SE)表示,  $P<0.05$ 为存在显著性差异。

## 2 结果

### 2.1 急性和慢性盐度胁迫对尼罗罗非鱼抗氧化系统免疫相关因子的影响

血清SOD活性在急性盐度胁迫处理后6和12 h均有随盐度升高而显著性上调的趋势( $P<0.05$ ), 在96 h时, 盐度15组SOD活性相较于盐度5组显著性降低( $P<0.05$ ); 在慢性盐度胁迫下, 盐度30组的SOD活性相较于其他组显著性降低( $P<0.05$ ) (图1)。血清CAT活性在急性盐度胁迫后12和24 h时均出现随盐度升高而显著性降低的趋势( $P<0.05$ ), 之后各组间不存在显著性差异( $P>0.05$ ); 在慢性盐度胁迫下, 各组之间不存在显著性差异( $P>0.05$ ) (图2)。血清GSH-Px活性在急性胁迫后6 h出现随盐度升高而显著性下降的趋势( $P<0.05$ ), 12 h时盐度5组活性显著低于0组( $P<0.05$ ); 在慢性盐度胁迫下, 各实验组GSH-Px活性呈现出随盐度升高而降低的趋势, 盐度30组显著低于其他组( $P<0.05$ ) (图3)。

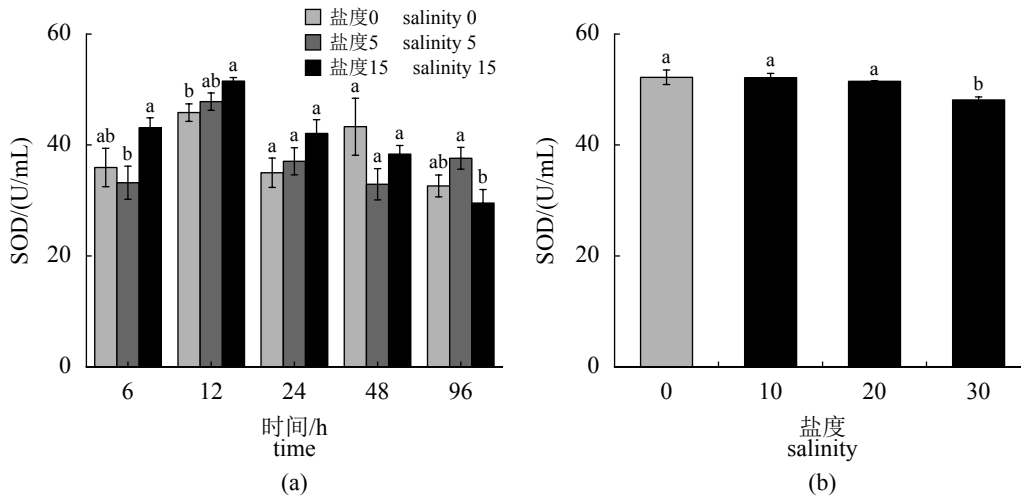


图 1 盐度胁迫下血清SOD活性变化

(a)急性盐度胁迫; (b)慢性盐度胁迫。(a)图中不同字母代表同一时间点不同盐度组之间存在显著性差异( $P<0.05$ ), (b)图中不同字母代表不同盐度组之间存在显著性差异( $P<0.05$ ), 下同

Fig. 1 Activity of serum SOD under salinity stress

(a) acute salinity stress; (b) chronic salinity stress. In figure (a), different letters indicate significant differences between different salinity groups at the same time( $P<0.05$ ); in figure (b), different letters indicate significant differences between different salinity groups ( $P<0.05$ ), the same below

### 2.2 急性和慢性盐度胁迫对尼罗罗非鱼血清AKP活性的影响

血清AKP活性在急性盐度胁迫后6 h有随盐度升高而显著性下降的趋势( $P<0.05$ ), 之后各组之间无显著性变化( $P>0.05$ ); 慢性盐度胁迫下,

盐度20组AKP活性相较于其他各组显著性下降( $P<0.05$ ) (图4)。

### 2.3 慢性盐度胁迫对尼罗罗非鱼无乳链球菌易感性的影响

慢性盐度胁迫下, 尼罗罗非鱼对无乳链球

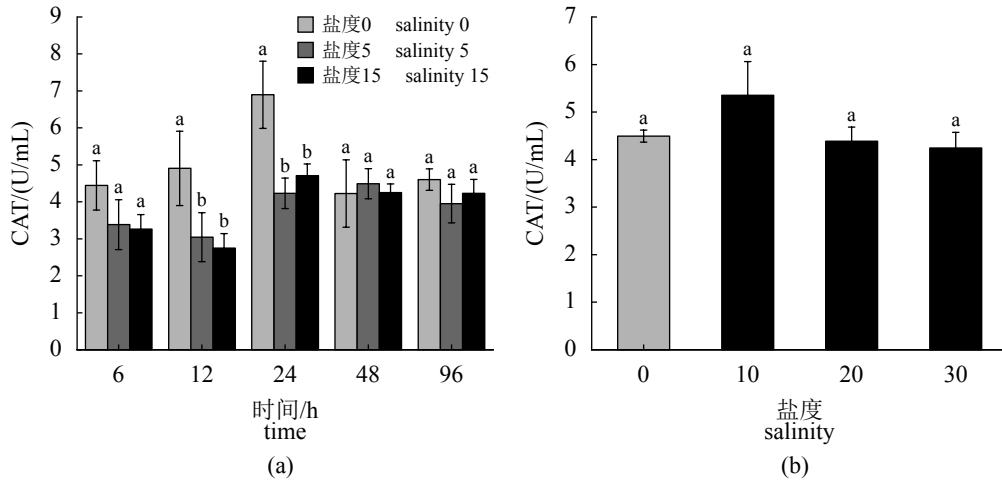


图2 盐度胁迫下血清CAT活性变化

Fig. 2 Activity of serum CAT under salinity stress

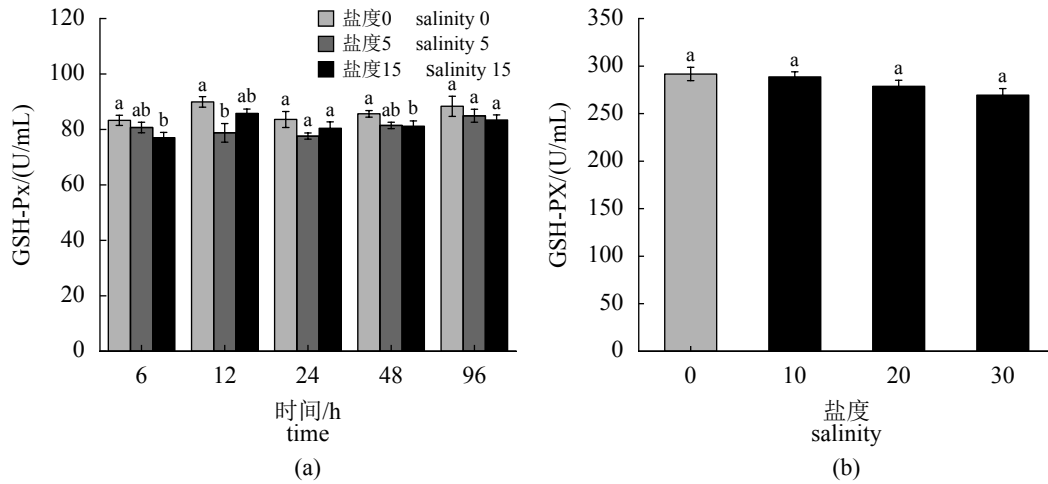


图3 盐度胁迫下血清GSH-Px活性变化

Fig. 3 Activity of serum GSH-Px under salinity stress

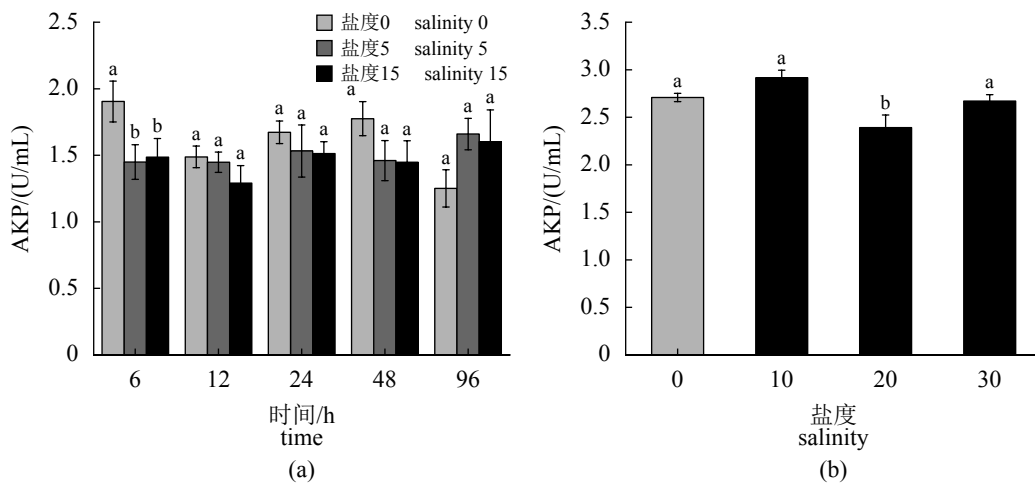


图4 盐度胁迫下血清AKP活性变化

Fig. 4 Activity of serum AKP under salinity stress

菌易感性的实验结果显示, 10+S. agal组攻毒后14 d死亡率与0+S. agal组之间无显著性差异; 20+S. agal组攻毒后14 d死亡率显著性高于0+S. agal组, 30+S. agal组攻毒后14 d死亡率高于0+S. agal组, 但不存在显著性差异(图5)。

### 3 讨论

尼罗罗非鱼属于广盐性鱼类, 对盐度具有一定的适应能力, 可以在一定盐度范围内存活。已有的研究表明, 在急性盐度胁迫下, 尼罗罗非鱼致死盐度为17~20<sup>[10]</sup>; 而经过逐步升高盐度的驯化过程, 尼罗罗非鱼可以在海水盐度(盐度34)下生存<sup>[11]</sup>。因此, 本研究选择在急性胁迫下设置0、5和15等3个盐度, 在慢性胁迫下设置0、10、20和30等4个盐度, 是具有科学依据的。

鱼类作为低等脊椎动物, 其特异性免疫系统发育较不完善, 非特异性免疫系统发挥着重要的作用。其中, 抗氧化系统起到很重要的作用。抗氧化系统主要由SOD、CAT和GSH-Px等组成, 用于应对机体的氧化压力。SOD是一种重要的抗氧化酶, 能够清除机体内部的ROS, 将其转化为H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 随后, 在GSH-Px和CAT等酶的作用下继续分解成水<sup>[12]</sup>。SOD、CAT和GSH-Px的活性与鱼类抵御外界疾病的能力息息相关, 是重要的免疫指标<sup>[13]</sup>。本研究的结果表明, 急性和慢性盐度胁迫都可以对罗非鱼的抗氧化酶产生影响。急性盐度胁迫中, 尼罗罗非鱼SOD活性的先升高后恢复和CAT以及GSH-Px活性的先下降后恢复, 说明盐度胁迫最开始的时候尼罗罗非鱼机体内可能产生大量H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>以应对这种胁迫。三种指标都在96 h时恢复至没有差异的水平, 表明尼罗罗非鱼在从急性盐度胁迫向慢性盐度胁迫转变的过程中, 机体可以逐步适应盐度5和15的水体环境。对云纹石斑鱼(*Epinephelus moara*)进行急性低盐胁迫6 h后, 其SOD和CAT的活性发生了显著下降<sup>[14]</sup>, 花鲈(*Lateolabrax maculatus*)在急性盐度胁迫1 d后SOD和CAT活性显著升高, 但到了11和21 d时就恢复至正常水平<sup>[2]</sup>。以上结果表明鱼类的抗氧化系统在急性盐度胁迫中的作用较为复杂, 在不同鱼类中表现出一定的差异, 其原因需要进一步的研究。但可以肯定的是, 抗氧化系统中的多种抗氧化酶对于盐度变化具有敏感性, 表明其在急性盐度胁迫中可能起到重要的作用<sup>[15]</sup>。慢性盐度胁迫中, 罗非鱼的

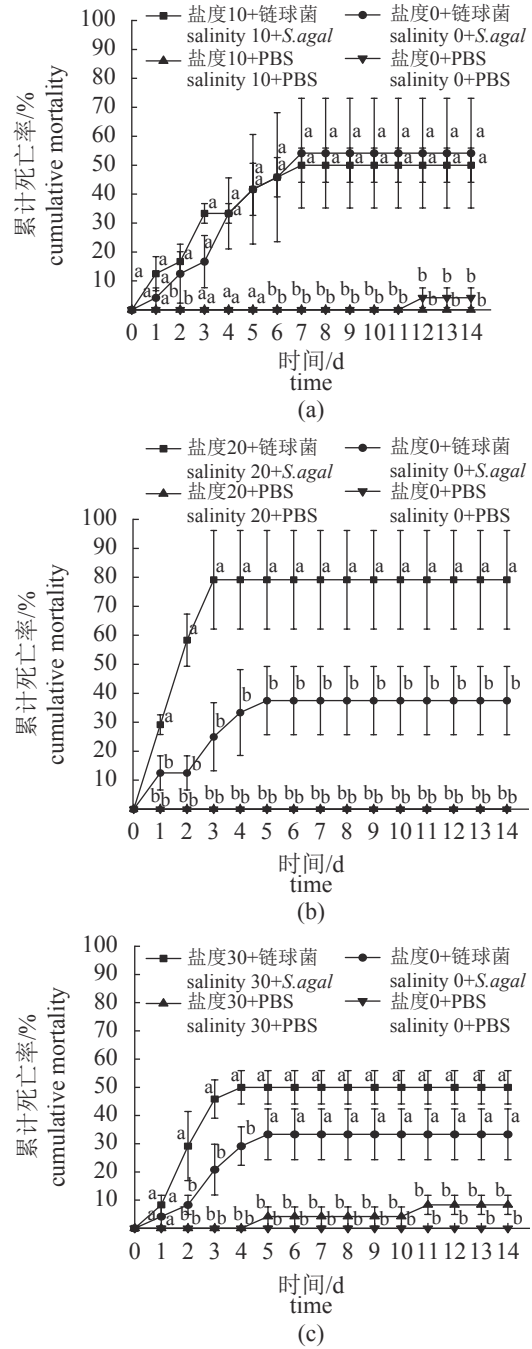


图5 不同盐度下尼罗罗非鱼腹腔注射感染无乳链球菌后14 d的累计死亡率

(a) A组攻毒实验累计死亡率; (b) B组攻毒实验累计死亡率; (c) C组攻毒实验累计死亡率。不同字母表明同一时间点各组之间存在显著性差异(P<0.05)

Fig. 5 Cumulative mortality (%) of *O. niloticus* at different salinity for 14 d post the challenge of intraperitoneal injection with *S. agalactiae*

(a) cumulative mortality of group A in the challenge experiment; (b) cumulative mortality of group B in the challenge experiment; (c) cumulative mortality of group C in the challenge experiment. Different letters indicate significant difference between different groups at the same time(P<0.05)

SOD和GSH-Px活性都在盐度30下显著降低( $P<0.05$ ), 说明慢性盐度胁迫下盐度30时显著抑制了罗非鱼抗氧化系统的活性, 对其免疫能力造成负面影响。这一结果与以往的研究结果类似, 即慢性盐度胁迫可以降低罗非鱼肝脏和肠道的多种抗氧化相关酶活性<sup>[16-17]</sup>。Zeng等<sup>[18]</sup>发现大黄鱼(*Larimichthys crocea*)在慢性盐度胁迫中通过Nrf2-keap1通路降低了SOD等酶的活性, 这为后续对其潜在的相关分子机制进行研究提供了参考。

AKP作为体内巨噬细胞溶酶体的标志酶, 能够催化生物分子脱去磷酸基团, 参与钙磷代谢, 是一种重要的免疫指标<sup>[19]</sup>。本研究发现, 尼罗罗非鱼在急性盐度胁迫下6 h时的AKP活性显著下降( $P<0.05$ ), 说明急性盐度胁迫可以抑制AKP活性; 而96 h时恢复至正常水平, 说明罗非鱼在从急性转向慢性盐度胁迫的过程中可以逐步适应盐度5和15的水体环境, 这一结果与SOD和CAT等的结果类似。而在慢性盐度胁迫下, 罗非鱼在盐度20和30时, AKP活性显著降低( $P<0.05$ ), 说明盐度20及以上的水体对其活性造成了影响。与之类似的, 大黄鱼在受到盐度胁迫后8和10周均出现AKP活性的下调<sup>[20]</sup>。水生生物AKP活性的下降与其对于疾病的易感性息息相关, 仿刺参(*Apostichopus japonicus*)在接受低渗胁迫后, 其AKP活性降低, 并对灿烂弧菌(*Vibrio splendidus* NB13)的易感性提高; 在添加伊萨酵母C21后, 其AKP活性升高, 对疾病的抵抗力增强<sup>[21]</sup>。以上结果表明, 盐度5和15的急性胁迫会造成罗非鱼短暂的AKP活性下调, 但是罗非鱼可以逐渐适应5和15的盐度, 使AKP恢复至正常水平; 盐度20以上的慢性胁迫可以抑制AKP活性, 增加其感染疾病的风险。

无乳链球菌, 又称为B族链球菌, 是一种革兰氏阳性菌, 可以通过水源和食源传播, 对罗非鱼产业具有极大的危害性, 近年来已有多次罗非鱼链球菌病暴发的报道<sup>[22]</sup>。本课题选择无乳链球菌易感性作为不同盐度下罗非鱼免疫力高低的综合指标, 具有一定的现实意义。已有的研究表明, 盐度变化可以使水生动物对于疾病的易感性产生巨大的影响。例如赤点石斑鱼(*E. coioides*)在盐度从34降到6和20时, 对溶藻弧菌(*V. alginolyticus*)的易感性显著升高<sup>[4]</sup>; 浅纹鳗鲡(*Pangasianodon hypophthalmus*)在盐度10相较于盐度0下, 对爱德华氏菌(*Edwardsiella ictaluri*)的易

感性降低<sup>[5]</sup>。由于尼罗罗非鱼在不同盐度下的生长速率存在差异<sup>[23]</sup>, 因此初始体质量相同的尼罗罗非鱼在慢性盐度胁迫下养殖一段时间后, 体质量必然出现差异, 而无乳链球菌对于100 g左右的罗非鱼侵染能力更强, 且不存在体质量和菌剂量的线性关系<sup>[24]</sup>, 因此本实验选择对10、20和30盐度下的罗非鱼实验组都分别设置同等规格的0盐度对照组。结果表明, 盐度20和30下的罗非鱼累计死亡率均高于对照组, 而盐度10下罗非鱼的死亡率略低于对照组, 说明在慢性胁迫下, 盐度20和30的环境提高了罗非鱼对无乳链球菌的易感性, 而盐度10组则没有这一现象。Chang等<sup>[25]</sup>的研究结果与本研究结果类似, 他们从斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)中分离得到一株链球菌, 并注射进不同盐度下的尼罗罗非鱼体内, 发现相较于盐度0, 盐度15会导致罗非鱼对链球菌易感性的升高。已有的研究表明, SOD、CAT等作为重要的免疫因子, 其活性的下降与水生生物对疾病的易感性存在一定的关联性。例如在氨氮胁迫下, SOD、AKP活性的下调导致了罗非鱼对于海豚链球菌易感性的增加<sup>[9]</sup>。结合本实验在慢性盐度胁迫下, SOD、GSH-Px和AKP活性均随着盐度升高而降低这一结果, 提示慢性盐度胁迫下SOD、CAT、GSH-Px和AKP等免疫相关酶活性的降低是尼罗罗非鱼对无乳链球菌易感性升高的关键因素。然而更深层的分子机制有待进一步探究。

## 4 结论

急性盐度胁迫实验中, 盐度5和15的水体在胁迫初期会刺激SOD活性的上调, 抑制GSH-Px、CAT和AKP的活性, 可能会对尼罗罗非鱼机体造成氧化压力和疾病增加的风险; 罗非鱼在盐度胁迫从急性转为慢性的过程中可以逐渐适应盐度5和15的水体, 多种指标恢复至正常水平。

慢性盐度胁迫实验中, 在盐度高于20时, 盐度胁迫会抑制血清中SOD、GSH-Px和AKP的活性, 造成免疫抑制。同时, 盐度20以上的水体增加了罗非鱼对于无乳链球菌的易感性。在实际生产中会增加疾病暴发的风险。因此尼罗罗非鱼长期的咸水养殖建议在盐度低于20的水体中进行。

## 参考文献:

- [1] 王文博, 李爱华. 环境胁迫对鱼类免疫系统影响的研究

- 究概况[J]. 水产学报, 2002, 26(4): 368-374.
- Wang W B, Li A H. The effect of environmental stress to fish immune system[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2002, 26(4): 368-374(in Chinese).
- [ 2 ] 王海亮, 温海深, 张晓燕. 盐度胁迫对花鲈幼鱼肠道抗氧化和非特异性免疫能力的影响[J]. *现代农业科技*, 2016(4): 261-263, 269.
- Wang H L, Wen H S, Zhang X Y. Effects of salinity stress on antioxidant enzyme and non-specific immunity activities in the intestine of juvenile *Lateolabrax maculatus*[J]. *Modern Agricultural Science and Technology*, 2016(4): 261-263, 269(in Chinese).
- [ 3 ] 郭勤单, 徐国成, 王有基, 等. 急性盐度应激对银鲳(*Pampus argenteus*)幼鱼耐受水平评价[J]. *海洋环境科学*, 2013, 32(4): 560-564.
- Guo Q D, Xu G C, Wang Y J, *et al.* Evaluate of tolerance to acute salinity stress in juvenile silver pomfret *Pampus argenteus*[J]. *Marine Environmental Science*, 2013, 32(4): 560-564(in Chinese).
- [ 4 ] Chen Y Y, Cheng A C, Cheng S A, *et al.* Orange-spotted grouper *Epinephelus coioides* that have encountered low salinity stress have decreased cellular and humoral immune reactions and increased susceptibility to *Vibrio alginolyticus*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2018, 80: 392-396.
- [ 5 ] Schmitz M, Ziv T, Admon A, *et al.* Salinity stress, enhancing basal and induced immune responses in striped catfish *Pangasianodon hypophthalmus* (Sauvage)[J]. *Journal of Proteomics*, 2017, 167: 12-24.
- [ 6 ] 陈家长, 臧学磊, 孟顺龙, 等. 亚硝酸盐氮胁迫对罗非鱼(GIFT *Oreochromis niloticus*)血清非特异性免疫酶活性的影响[J]. *生态环境学报*, 2012, 21(5): 897-901.
- Chen J Z, Zang X L, Meng S L, *et al.* Effect of nitrite nitrogen stress on the activities of nonspecific immune enzymes in serum of tilapia (GIFT *Oreochromis niloticus*)[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2012, 21(5): 897-901(in Chinese).
- [ 7 ] Jia X Y, Ding S, Wang F, *et al.* A comparative study on the nonspecific immunity of juvenile *Litopenaeus vannamei* ever inhabiting freshwater and seawater[J]. *Journal of Ocean University of China*, 2014, 13(3): 472-478.
- [ 8 ] 张德锋, 袁伟, 可小丽, 等. 中国罗非鱼主养区无乳链球菌的分子流行特征及其传播方式[J]. *中国水产科学*, 2017, 24(3): 606-614.
- Zhang D F, Yuan W, Ke X L, *et al.* Molecular characteristics and transmission of *Streptococcus agalactiae* in a major tilapia culturing area of China[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2017, 24(3): 606-614(in Chinese).
- [ 9 ] 陈家长, 臧学磊, 胡庚东, 等. 氨氮胁迫下罗非鱼(GIFT *Oreochromis niloticus*)机体免疫力的变化及其对海豚链球菌易感性的影响[J]. *生态环境学报*, 2011, 20(4): 629-634.
- Chen J Z, Zang X L, Hu G D, *et al.* The immune response of GIFT *Oreochromis niloticus* and its susceptibility to *Streptococcus iniae* under stress in different ammonia[J]. *Ecology and Environmental Sciences*, 2011, 20(4): 629-634(in Chinese).
- [10] 李家乐, 李思发, 韩风进. 罗非鱼五个品系耐盐性的比较研究[J]. *水产科技情报*, 1999, 26(1): 3-6.
- Li J L, Li S F, Han F J. Comparative study on salinity of five stocks of tilapia[J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 1999, 26(1): 3-6(in Chinese).
- [11] 余艳玲, 张永德. 罗非鱼的耐盐性能及研究进展[J]. *农业研究与应用*, 2014(1): 60-64, 68.
- Yu Y L, Zhang Y D. Salinity tolerance of tilapia and its research progress[J]. *Agricultural Research and Application*, 2014(1): 60-64, 68(in Chinese).
- [12] Schieber M, Chandel N S. ROS function in redox signaling and oxidative stress[J]. *Current Biology*, 2014, 24(10): 453-462.
- [13] Pijanowski L, Golbach L, Kolaczowska E, *et al.* Carp neutrophilic granulocytes form extracellular traps via ROS-dependent and independent pathways[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, 34(5): 1244-1252.
- [14] 张晨捷, 张艳亮, 彭士明, 等. 不同维生素E水平饲料对云纹石斑鱼幼鱼低盐胁迫前后抗氧化和渗透压调节功能的比较[J]. *水产学报*, 2015, 39(11): 1679-1689.
- Zhang C J, Zhang Y L, Peng S M, *et al.* Effect of dietary vitamin E on physiological and antioxidant functions in juvenile *Epinephelus moara* under low salinity stress[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2015, 39(11): 1679-1689(in Chinese).
- [15] Atli G, Canli M. Response of antioxidant system of freshwater fish *Oreochromis niloticus* to acute and chronic metal (Cd, Cu, Cr, Zn, Fe) exposures[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2010, 73(8): 1884-1889.

- [16] 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 J, Ren H T, Xu P, *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(in Chinese).
- [17] 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.
- Wang H Z, Wang H, Li R W, *et al.* Combined effect of temperature and salinity on two kinds intestinal antioxidant enzymes of GIFT tilapia juveniles (*Oreochromis niloticus*)[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2012, 32(1): 47-53(in Chinese).
- [18] Zeng L, Ai C X, Wang Y H, *et al.* Abrupt salinity stress induces oxidative stress via the Nrf2-Keap1 signaling pathway in large yellow croaker *Pseudosciaena crocea*[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2017, 43(4): 955-964.
- [19] 刘伟, 陈再忠. 麻醉剂MS-222对金鱼体内AKP、CAT和ACP活性的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2010, 19(3): 327-332.
- Liu W, Chen Z Z. Effects of the anesthetic MS-222 on the AKP, CAT and ACP activities in goldfish[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2010, 19(3): 327-332(in Chinese).
- [20] Wang Y J, Li W M, Li L S, *et al.* Effects of salinity on the physiological responses of the large yellow croaker *Pseudosciaena crocea* under indoor culture conditions[J]. Aquaculture Research, 2016, 47(11): 3410-3420.
- [21] Ma Y X, Liu Z M, Yang Z P, *et al.* Effects of dietary live yeast *Hanseniaspora opuntiae* C21 on the immune and disease resistance against *Vibrio splendidus* infection in juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2013, 34(1): 66-73.
- [22] 郭玉娟, 张德锋, 樊海平, 等. 中国南方地区罗非鱼无乳链球菌的分子流行病学研究[J]. 水产学报, 2012, 36(3): 399-406.
- Guo Y J, Zhang D F, Fan H P, *et al.* Molecular epidemiology of *Streptococcus agalactiae* isolated from tilapia in southern China[J]. Journal of fisheries of China, 2012, 36(3): 399-406(in Chinese).
- [23] Boeuf G, Payan P. How should salinity influence fish growth?[J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Toxicology & Pharmacology, 2001, 130(4): 411-423.
- [24] 祝璟琳, 杨弘. 鱼源无乳链球菌致病机理研究进展[J]. 广东海洋大学学报, 2013, 33(6): 92-96.
- Zhu J L, Yang H. Review on pathogenesis of *Streptococcus agalactiae* from fish[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2013, 33(6): 92-96(in Chinese).
- [25] Chang P H, Plumb J A. Effects of salinity on *Streptococcus* infection of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*[J]. Journal of Applied Aquaculture, 1996, 6(1): 39-45.



## Effects of salinity stress on immune-related parameters of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

CAI Ran , CHEN Limin , XIN Ying , ZHAO Zaoya , YU Xiaozheng ,  
HUANG Jinfeng , LIAO Zongzhen , LI Wensheng \*

(State Key Laboratory of Biocontrol,

Institute of Aquatic Economic Animals and Guangdong Province Key Laboratory for Aquatic Economic Animals,  
Guangdong Province Important Economic Fish Healthy Breeding Engineering Technology Research Center,  
School of Life Science, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

**Abstract:** In order to explore the effects of salinity stress on the immunity of the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), we conducted acute and chronic salinity stress experiments on tilapia with body weight of (35±5) g and some immune-related parameters of the serum were tested. In acute salinity stress, the salinities of 0, 5 and 15 were set, and the enzyme activities of SOD, CAT, GSH-Px and AKP in serum were detected by sampling at 6, 12, 24, 48 and 96 h after stress respectively. In the chronic experiment, four salinity levels of 0, 10, 20 and 30 were set, and the enzyme activity of SOD, CAT, GSH-Px and AKP in serum was detected after 8 weeks of stress. The results showed that: SOD activity in serum increased with salinity at 6, 12 and 24 h under acute salinity stress, but at 96 h, enzyme activity in the salinity 15 group was significantly lower than that in 5 group. Under chronic salinity stress, the enzyme activity of each group decreased significantly with the increase of salinity. CAT activity in serum decreased significantly with the increase of salinity at 12 h and 24 h under acute salinity stress, and there was no significant difference after that. GSH-Px activity in serum decreased significantly with the increase of salinity at 6, 12 and 48 h after stress. AKP activity in serum significantly decreased with the increase of salinity at 6h after stress. Under chronic stress, the 20 group was significantly lower than the other groups. In the experiment of susceptibility to *Streptococcus agalatae* after chronic stress, the susceptibility of the salinity 10 group to *S. agalatae* had no obvious difference compared with 0, the susceptibility of 20 and 30 groups were higher than 0 group. This study showed that both kinds of stress could cause changes in immune-related indicators: acute salinity stress experiment showed that the salinities of 5 and 15 caused oxidative damage to the tilapia, but tilapia could gradually adapt to this change. Chronic salinity stress experiment showed that salinity above 20 could inhibit the activity of many immune indicators of tilapia, resulting in increased susceptibility to *S. agalatae*.

**Key words:** *Oreochromis niloticus*; *Streptococcus agalatae*; salinity; stress; immune-related parameters

**Corresponding author:** LI Wensheng. E-mail: lsslws@mail.sysu.edu.cn

**Funding projects:** China Agriculture Research System(CARS-46); Program for Chinese Outstanding Talents in Agricultural Scientific Research(2016-2020); Science and Technology Planning Project of Guangdong Province(2012B020308001)