

盐度变化对斜带石斑鱼生理生化因子的影响

余德光¹, 杨宇晴^{1,2}, 王海英¹, 谢骏^{1*}, 郁二蒙¹, 王广军¹, 龚望宝¹

(1. 中国水产科学研究院珠江水产研究所, 广东 广州 510380;

2. 广东省大亚湾水产试验中心, 广东 惠州 516081)

摘要: 采用生化分析方法研究了盐度变化(24、14、4 及对照 34)对斜带石斑鱼幼鱼[体质量(19.59 ± 0.25) g]相关生理生化因子的影响, 不同盐度处理后 1、3、6 和 9 d 检测鳃丝 Na⁺/K⁺-ATP 酶、血清中血糖、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、溶菌酶, 肝脏超氧化物歧化酶(SOD)含量及 H. E 染色观察鳃丝氯细胞的变化。结果显示, 各盐度试验组斜带石斑鱼幼鱼的 Na⁺/K⁺-ATP 酶活性变化基本一致, 均在第 3 天达到最高值, 随后下降, 至第 6 天达到稳定。鳃丝氯细胞数量在盐度 24 试验组中变化不大, 在盐度 14 试验组中则略有减少, 在盐度 4 试验组中鳃丝氯细胞 6 d 后出现变化, 氯细胞数量减少, 胞核较大, H. E 染色较深, 细胞处于较原始的状态。各盐度试验组斜带石斑鱼幼鱼的血糖水平变化趋势相一致, 均在第 6 天到达峰值, 随后呈下降趋势。AST 水平在盐度 24、盐度 4 试验组随时间的延长呈上升趋势, 在第 9 天后到达各自的最高值, 盐度 14 试验组则呈现持续下降趋势。SOD 活性随时间的延长呈现先降低后上升的趋势, 在第 3 天时各试验组达最小值, 但试验组间 SOD 活性差异显著($P < 0.05$)。溶菌酶活性随时间的延长呈上升趋势, 试验组在第 6 天达到的峰值, 随后下降并趋于稳定, 试验组间差异显著($P < 0.05$)。结果表明, 斜带石斑鱼幼鱼通过盐度驯养, 由盐度 34 水体逐渐淡化至盐度为 24、14、4 的水体中, 能较快适应盐度低至 4 的水环境。

关键词: 斜带石斑鱼; 盐度胁迫; Na⁺/K⁺-ATP 酶; 氯细胞; 血糖; 天门冬氨酸氨基转移酶; 超氧化物歧化酶; 溶菌酶

中图分类号: Q 175; S 917

文献标识码: A

斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)属鲈形目(Perciformes)、鲷科(Serranidae)、石斑鱼属(*Epinephelus*), 主要分布于热带亚热带海区, 是我国南方沿海海水养殖的高档经济鱼类之一^[1-2]。盐度是影响鱼类生长的重要环境因素之一, 鱼类通过渗透压调节适应盐度的变化^[3]。不同盐度对石斑鱼仔、稚、幼鱼存活率、生长性能的研究表明石斑鱼适应盐度能力较强^[4-8], 杨宇晴等^[9]针对暴雨及淡水药浴的盐度急性胁迫, 开展了石斑鱼应激反应的研究, 结果表明斜带石斑鱼幼鱼由盐度 34 的水体转移至 24 和 14 的水体后, 其应激强度较弱; 由盐度 34 的水体转移至盐度 4

和 0 的水体后, 其应激反映较大, 适应盐度变化需时较长。本研究开展了逐级盐度驯化(盐度渐变)对石斑鱼的渗透调节及生理指标的变化研究, 测定斜带石斑鱼鳃丝 Na⁺/K⁺-ATP 酶、天门冬氨酸氨基转移酶活性、超氧化物歧化酶活性、溶菌酶活性、血糖浓度及 H. E 染色观察鳃丝氯细胞的变化情况, 探讨不同盐度对斜带石斑鱼的生理反应及免疫调节机制, 以期为石斑鱼养殖水环境的选择调控及其在低盐度或受咸潮影响地区的淡化养殖提供基础数据, 以期为广东珠江口一带开展石斑鱼的淡化养殖提供有效指导, 为扩大石斑鱼的养殖提供依据。

收稿日期:2010-10-27 修回日期:2011-01-17

资助项目:广东省科技计划项目(2008A020800012);现代渔业产业技术体系建设项目(nycytx-49);珠海市科技项目(c20082031);广东省科技计划项目(2009B020202015);国家海洋公益性行业科研专项(200805047)

通讯作者:谢骏, E-mail: xiejunhy@yahoo.com.cn

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验鱼购自广东省大亚湾水产试验中心,选择人工繁殖规格整齐的健康斜带石斑鱼幼鱼,体长为 (9.57 ± 0.13) cm,体质量为 (19.59 ± 0.25) g。

1.2 试验设计

分别设置 24、14、4、0、4 个盐度组,对照组为自然海水(盐度 34),每组设 3 个重复,每个重复 20 尾鱼,分别养于 15 个直径为 39 cm 的白色聚丙烯塑料桶(体积约为 50 L)中。试验鱼采用经过滤并充分曝气的自然海水暂养一周,暂养期间每天换水约 1/2,并于 8:30 和 16:00 按鱼体质量的 3% 投商品石斑鱼配合饲料,30 min 后吸取残饵。

试验开始时,每天降低盐度 3,3 d 后盐度降至 24 时作为盐度 24 试验组;其余组按照此速度继续降低盐度,7 d 后盐度为 14 时作为盐度 14 试验组;第 9 天当盐度降至 10 后,每天以降低盐度 1 的速度,盐度降至 4 时作为盐度 4 试验组;继续按此速度降低盐度至 0 作为盐度 0 试验组。盐度驯化过程中正常投饵。

至设定盐度后,于 1、3、6、9 d 进行取样,取样时从每个试验组中迅速捞取 6 尾(每个重复 2 尾)试验鱼,用 1 mL 注射器从尾部静脉窦取血,每尾鱼血液为一个样本。立即于 4 °C 条件下 8 000 r/min 离心 10 min,取上清液置于 -20 °C 条件下保存备检。

取试验鱼肝脏,用生理盐水润洗,吸去多余水分,称取约 0.2 g 置于 9 倍体积的生理盐水中,冰浴下进行匀浆,4 °C 下 2 000 r/min 离心 15 min,取上清进行超氧化物歧化酶活性测定。

采集鱼左侧第 2 鳃弓上的鳃丝,用生理盐水润洗,称取约 0.06 g 置于 9 倍体积的生理盐水中,用玻璃匀浆管进行冰浴匀浆,4 °C 下 1 000 r/min 离心 5 min,取上清用于测定 Na^+/K^+ -ATP 酶活性。

另取部分鳃丝,用双蒸水润洗后置于 Bouin 氏液中进行固定,12 h 后更换 Bouin 氏液,24 h 后将固定的鳃样进行梯度酒精脱水,经二甲苯透明,小心分离近鳃弓中部的鳃丝,将单个鳃丝石蜡包埋,制成石蜡切片,切片厚度 5 μm ,经 H. E 染色后根据文献[3]的描述在光学显微镜下对鳃丝结构及氯细胞进行观察并摄影。

1.3 样本测试

Na^+/K^+ -ATP 酶活性测试采用南京建成生

物工程研究所生产的试剂盒,考马斯亮蓝法测定蛋白含量。 Na^+/K^+ -ATP 酶活力单位定义:每小时每毫克组织蛋白的组织中 ATP 酶分解 ATP 产生 1 μmol 无机磷的量为一个 ATP 酶活力单位。血清中血糖含量检测采用葡萄糖测定试剂盒(上海生物药业有限公司),结果表示为 mmol/L。血清中天门冬氨酸氨基转移酶(AST)采用全自动生化分析仪进行检测(SYSMEX Chemix180,日本),血清中溶菌酶的测定采用溶菌酶测定试剂盒(南京建成生物工程研究所生产),将血清用生理盐水 1:1 稀释后,取 0.2 mL 血清加入 2 mL 应用菌液中混匀,在 37 °C 下反应 15 min,立即取出置于 0 °C 以下的冰水浴中 3 min,530 nm 处以蒸馏水调透光度 100%,比色,测透光度为 A_1 。同时取 0.2 mL 标准应用液(2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 溶菌酶)和 0.2 mL 蒸馏水按上述方法测定,透光度分别为 A_2 和 A_0 。溶菌酶含量($\mu\text{g}/\text{mL}$) = $(A_1 - A_0)/(A_2 - A_0) \times$ 标准液浓度(2.5 $\mu\text{g}/\text{mL}$) \times 稀释倍数(2)。肝脏超氧化物歧化酶(SOD)测定采用 SOD 测定试剂盒(南京建成生物工程研究所)。考马斯亮蓝法测定蛋白含量,SOD 酶活力单位定义:每毫克组织蛋白在 1 mL 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。

1.4 数据处理

试验数据采用平均值 \pm 标准误(mean \pm SE)表示,在单因子方差分析(ANOVA)基础上采用 Duncan 氏多重比较法检验组间差异($P < 0.05$)。所有数据均采用 SPSS 16.0 软件进行分析。

2 结果与分析

在盐度驯养过程中,盐度 24、14 和 4 试验组的试验鱼均未有异常反应,无死亡现象出现;当盐度降至 0,试验鱼在 12 h 时表现出焦躁不安,24 h 后鱼体色逐渐发白,48 h 后渗透调节出现紊乱,浮于水面上层,反应迟钝,陆续出现死亡个体,至 72 h 时幼鱼全部死亡,表明斜带石斑鱼不能适应长时间的淡水环境。盐度调节过程中,盐度 24、14 试验组试验鱼均能正常摄食,盐度降至 6 后,斜带石斑鱼食欲明显下降,降至 4 时基本不摄食,但 3 d 后斜带石斑鱼又开始正常摄食。

2.1 盐度变化对斜带石斑鱼鳃丝 Na^+/K^+ -ATP 酶活性的影响

不同盐度对斜带石斑鱼鳃丝 Na^+/K^+ -ATP 酶

活性有显著影响($P < 0.05$)。试验期间,对照组(盐度 34)试验鱼的 Na^+/K^+ -ATP 酶活性变幅平稳,平均值为(2.48 ± 0.08) U/mg prot;盐度 24 和 14 试验组试验鱼的 Na^+/K^+ -ATP 酶活性在第 3 天达到各自最高值,分别为(4.95 ± 0.05) U/mg prot

和(6.41 ± 0.04) U/mg prot,随后逐渐降低;盐度 4 试验组试验鱼的 Na^+/K^+ -ATP 酶活性在第 6 天达到最高值(6.60 ± 0.15) U/mg prot,随后呈现回落,并趋于稳定(图 1)。

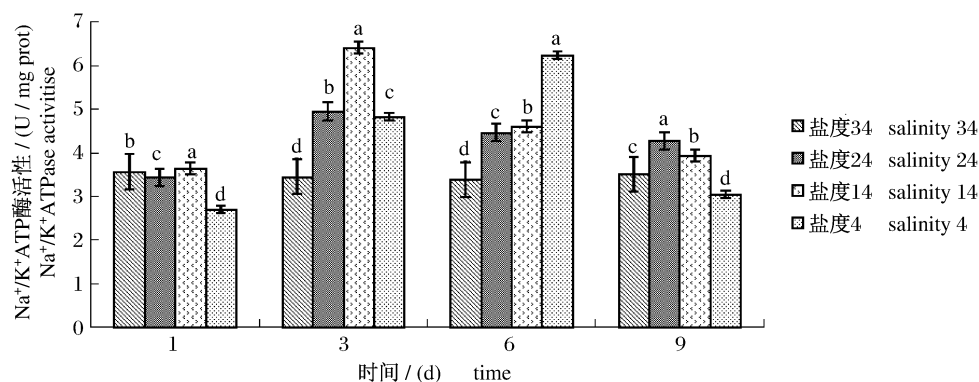


图 1 盐度变化对斜带石斑鱼幼鱼 Na^+/K^+ -ATP 酶活性的影响

同一列上方参数有一个字母相同则无显著差异($P > 0.05$),反之,则差异显著($P < 0.05$),后同。

Fig. 1 Effect of salinity change on Na^+/K^+ -ATPase activities in gill of juvenile *E. coioides*

Values in the same row with the same superscripts are not significantly different ($P > 0.05$), otherwise, with the different superscripts are significantly different ($P < 0.05$); the same as the following.

2.2 盐度变化对斜带石斑鱼鳃结构的影响

斜带石斑鱼的鳃丝发达,排列紧密。鳃小片由单层上皮细胞构成,氯细胞分散分布于鳃小片基部,数量多,H. E 染色较浅。盐度胁迫试验期间,对不同盐度试验组试验鱼的鳃丝进行显微观察,以自然海水对照组(盐度 34)试验鱼的氯细胞作为正常情况来参照(图版-1)。在第 9 天时,盐度 24 试验组试验鱼的氯细胞变化不明显(图版-2);盐度 14 试验组试验鱼的氯细胞数量略有减

少,细胞胞质明显变大(图版-3);而盐度 4 试验组试验鱼的氯细胞数量减少,细胞核变大,H. E 染色变深,此时细胞已处于较原始的状态,无明显的泌氯功能(图版-4)。

2.3 盐度变化对斜带石斑鱼幼鱼血糖含量的影响

不同试验组试验鱼的血糖浓度随时间变化情况如图 2 所示。试验期间,对照组(盐度 34)的血糖浓度无明显变化,其它各盐度试验组血糖浓度

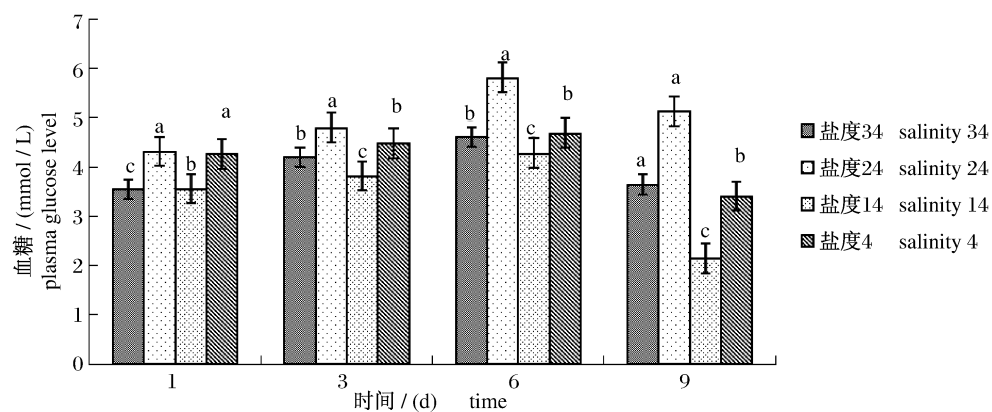


图 2 盐度变化对斜带石斑鱼幼鱼血清血糖含量的影响

Fig. 2 Effect of salinity change on plasma glucose level of juvenile *E. coioides*

在第6天时达到各自的峰值,盐度24、14和4试验组试验鱼的血糖浓度分别为 (5.82 ± 0.07) 、 (4.28 ± 0.04) 和 (4.69 ± 0.01) mmol/L,随后呈下降趋势。除第9天外,盐度24试验组其它时段试验鱼的血糖浓度均显著高于对照组的($P < 0.05$);盐度14试验组与各盐度试验组在4个取样时刻均差异显著($P < 0.05$);盐度4试验组除在第3天和第6天时与自然海水对照组无显著差异($P > 0.05$)外,与各盐度试验组均差异显著($P < 0.05$)。

2.4 盐度变化对斜带石斑鱼幼鱼天门冬氨酸氨基转移酶(AST)含量的影响

不同盐度试验组在各采样时刻的试验鱼血清AST含量变化如图3所示。试验中,盐度24和4试验组的血清AST含量随时间延长呈上升趋势,在第9天后到达各自的最高值,分别为 (84 ± 2.01) IU/L和 (200 ± 3.25) IU/L。盐度14试验组则出现下降趋势,在第9天时达到最小值 (21 ± 0.38) IU/L。盐度4试验组与其它各盐度试验组AST含量存在差异显著($P > 0.05$)。

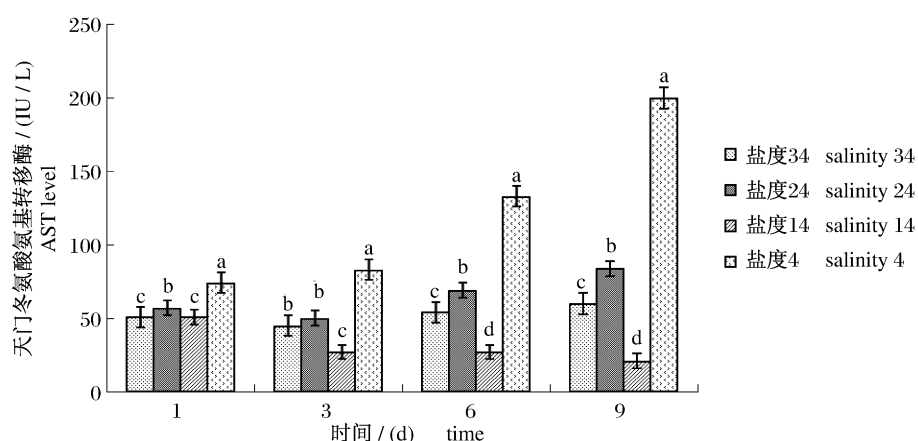


图3 盐度变化对斜带石斑鱼幼鱼血清AST含量的影响

Fig. 3 Effect of salinity change on plasma AST level of juvenile *E. coioides*

2.5 盐度变化对斜带石斑鱼幼鱼肝脏超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响

各盐度试验组试验鱼的肝脏SOD活性随时间变化趋势如图4所示。试验中,各盐度试验组试验鱼随着时间的延长其肝脏的SOD活性均呈现

先降低后上升的趋势,在第3天时达到各自的最小值,盐度24、14和4试验组其分别为 (97.94 ± 0.23) 、 (107.9 ± 0.12) 和 (155.81 ± 0.38) U/mg prot。各盐度试验组试验鱼的肝脏SOD活性差异显著($P < 0.05$)。

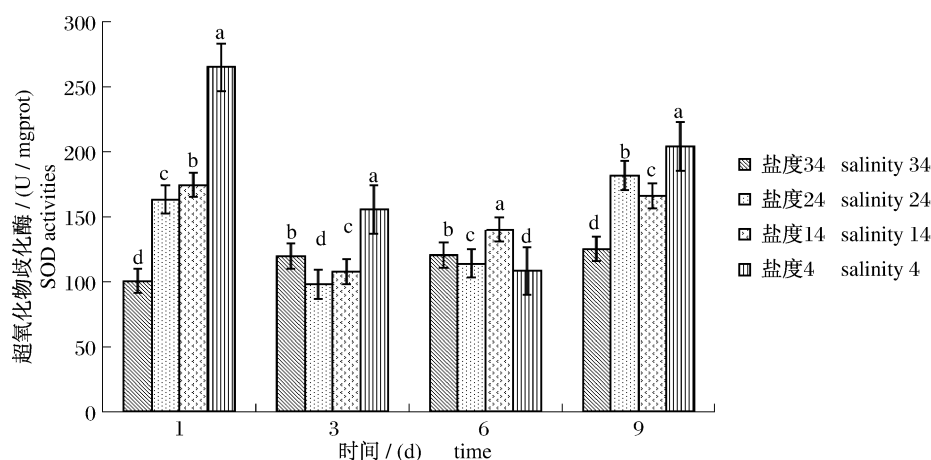


图4 盐度变化对斜带石斑鱼幼鱼肝脏SOD活性的影响

Fig. 4 Effect of salinity change on SOD activities in liver of juvenile *E. coioides*

2.6 盐度变化对斜带石斑鱼幼鱼血清溶菌酶活性的影响

图 5 显示了不同盐度试验组试验鱼的血清溶菌酶活性随时间变化的趋势。由图可见,盐度 24、14 和 4 试验组试验鱼的血清溶菌酶活性随时

间的延长呈上升趋势,并在第 6 天达到各自的峰值,分别为 (102.38 ± 0.05) 、 (75.40 ± 0.02) 和 (80.80 ± 0.04) $\mu\text{g}/\text{mL}$,随后逐渐下降并趋于稳定。各盐度试验组间在各时段的血清溶菌酶活性均差异显著($P < 0.05$)。

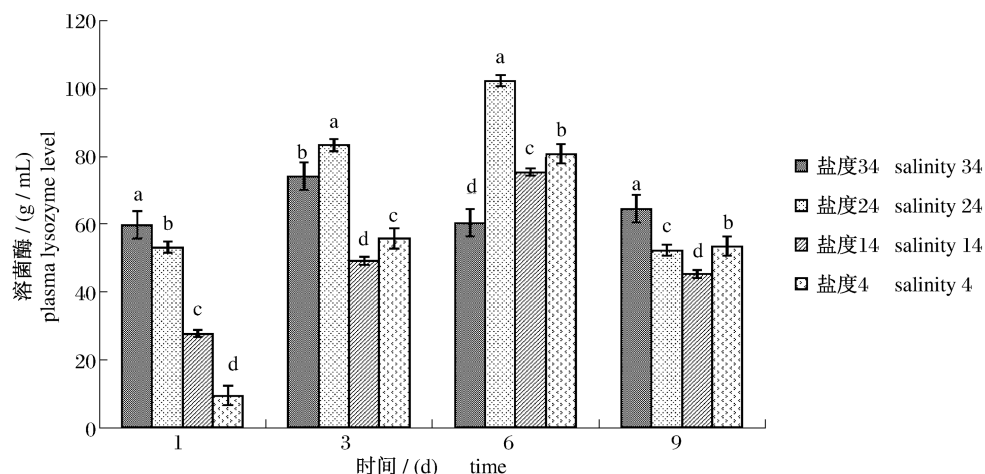


图 5 盐度变化对斜带石斑鱼幼鱼血清溶菌酶活性的影响

Fig. 5 Effect of chronic salinity stress on plasma lysozyme activities of juvenile *E. coioides*

3 讨论

石斑鱼是鲈形目石斑鱼属鱼类的总称,栖息于河口及等深线 100 m 以前的海域,大多为广盐性种类^[2]。逐级缓慢的淡化,可以使广盐性的海水鱼适应更广的盐度范围^[3]。海水鱼进入半淡咸水或淡水中时,鳃的氯细胞结构和 Na^+/K^+ -ATP 酶活性等生理生化指标会发生适应性改变^[10-14]。

3.1 盐度变化对斜带石斑鱼鳃丝 Na^+/K^+ -ATP 酶活性的影响

Na^+/K^+ -ATP 酶主要位于氯细胞基底侧膜以及微小管系统上,该酶的含量和活力受环境盐度变化影响较大,在海水和淡水适应过程中的离子转运起中心作用^[3]。 Na^+/K^+ -ATP 酶可建立 Na^+ 跨膜电化学梯度并催化 ATP 水解成 ADP 而释放能量,为各种离子的转运提供最终的驱动力^[15-16]。这种细胞膜内外渗透压和跨膜电化学浓度梯度的形成对于保证生物体体内各种生理作用的正常进行和能量代谢具有重要的作用^[17-19]。斜带石斑鱼驯化过程中 Na^+/K^+ -ATP 酶活性变化与急性盐度胁迫下相似,在盐度变化对条石鲷

幼鱼鳃 Na^+/K^+ -ATP 酶活性影响的研究中,盐度 8 和 18 处理时,鳃中 Na^+/K^+ -ATP 酶活力先略微增加,然后逐渐降低,之后又增加;高盐度 38 和 48 处理时鳃中 Na^+/K^+ -ATP 酶活力先有所降低,然后迅速升高,之后又逐渐降低^[20]。而在史氏鲟 (*Acipenser schrenki*) 盐度驯化过程中,鳃 Na^+/K^+ -ATP 酶活力首先表现为下降,然后活力又逐渐增加,最后下降并趋于平稳^[21]。可见不同种类鱼鳃 Na^+/K^+ -ATP 酶活力随盐度变化会有不同的反应的机制。试验中,斜带石斑鱼幼鱼适应淡化过程中,随着盐度的降低,进入体内的离子减少,出现了离子流失的现象^[3],为了从外界吸收离子, Na^+/K^+ -ATP 酶活性呈上升趋势,表明盐度变化能有效地激活斜带石斑鱼渗透调节机制;经过调节后, Na^+/K^+ -ATP 酶活性降低,并趋于稳定,斜带石斑鱼幼鱼适应了盐度为 4 以上的水环境。

3.2 盐度变化对斜带石斑鱼鳃结构的影响

鱼类的鳃与其生活的水环境直接接触,是其行使调节和分泌功能的主要器官,鳃丝上皮细胞在这一调节过程中发挥着至关重要的作用。盐度变化时,广盐性鱼类鳃的上皮细胞数量和

类型均会发生相应的改变以适应新的环境要求^[3]。

本试验中,盐度4试验组石斑鱼幼鱼的氯细胞表现为典型的淡水型氯细胞特征,这一结果与鲈(*Lateolabrax japonicus*)稚鱼在不同盐度下的鳃结构情况相似^[22]。在淡水适应过程中,鱼类主要依靠氯细胞的顶膜来吸收离子,因而需要较大的顶膜表面积和低离子渗透性^[23-26],斜带石斑鱼鳃丝结构的改变既保证了体内NaCl不会因离子浓度的逆转而流失,起到调节体液渗透压的平衡,又保证了鳃小片远端扁平细胞的气体交换畅通^[3],表明在盐度变化条件下,斜带石斑鱼幼鱼对低渗环境具有较强的适应能力。

3.3 盐度变化对斜带石斑鱼血清中血糖浓度的影响

盐度是与鱼类存活和生长密切相关的环境因子之一,其对鱼类生理生态的影响间接表现为鱼体与环境之间的能量流动和物质交换^[27-28]。斜带石斑鱼幼鱼由高渗环境向低渗环境过渡时,内外环境的改变使其必须消耗一定的能量用以维持水盐的平衡和调节生理生态达到稳定的状态,而调节所需能量主要来自于血糖的代谢和糖质的新生^[29-30]。

本试验结果与许氏平鲷(*Sebastes schlegeli*)在慢性盐度胁迫下血糖水平与盐度胁迫强度呈正相关的情况相似^[31]。在军曹鱼(*Rachycentron canadum*)稚鱼的急性盐度胁迫中也出现类似的情况,表现为血糖水平先升高后降低^[18]。血糖的升高一方面可能是由于盐度刺激后,组织对葡萄糖的利用率降低,另一方面可能是渗透机制调节中的高能量需求使组织糖元异生作用增强而导致^[18]。但在整个试验过程中血糖水平的变化并不大,因此对盐度的改变实施适当的缓冲过渡可减弱胁迫对鱼体的冲击力,有效地帮助鱼类适应阶段性的应激刺激,从而达到提高存活率的目的。

3.4 盐度变化对斜带石斑鱼血清中天门冬氨酸氨基转移酶含量的影响

盐度的逐渐改变,虽能缓冲渗透调节,减弱应激反应强度,但机体仍会受到不同程度的损伤。从AST由细胞释放到血液中的情况可推测机体

的细胞和组织受到损伤的程度。盐度适应过程中,在盐度14以上变化刺激对斜带石斑鱼幼鱼的心肌细胞和肝脏细胞损害不大,盐度刺激后其能较快地适应并进行调节。盐度4试验组试验鱼在试验过程中血清AST表现为持续上升的趋势,表明肝脏和心肌细胞受到了持续的损害,与急性盐度胁迫下斜带石斑鱼在盐度4和0时血清AST含量较高的结果相似^[9],说明即使是在逐渐的盐度变化条件下,持续的低盐度刺激也可导致鱼类长时间的应激反应^[32]。

3.5 盐度变化对斜带石斑鱼血清中超氧化物歧化酶活性的影响

本研究结果与草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)在食盐处理后SOD活性先上升后下降^[33]的情况相反,与长吻鲩(*Leiocassis longirostris*)在氨氮胁迫后SOD活性在第4天下降而在第32天升高^[29]的情况相类似。推测斜带石斑鱼幼鱼胁迫初期SOD活性的降低可能是由于机体受到胁迫后表现出不适应,盐度的刺激导致代谢酶生理功能的破坏,从而使SOD活性受到抑制甚至失活,抗氧化能力减弱;同时也有可能是吞噬细胞在杀伤或杀死病原时,氧的摄入量也随着增加,呼吸暴发使氧自由基增加,此时作为机体清除氧自由基第一道防线的SOD就会从细胞中释放出来达到炎症部位以清除过量的氧自由基,避免其对机体造成损伤^[34]。至第9天时,鱼体已经经过一段时间的适应,SOD功能恢复正常,而大量氧自由基的产生也诱导了SOD活性的增高以清除过量的氧自由基。

3.6 盐度变化对斜带石斑鱼血清中溶菌酶含量的影响

在盐度适应过程中,机体消耗一定的能量用以调节盐水平衡及内环境稳定,因此造成鱼体对外源病原的敏感度升高而易暴发疾病。此时,作为机体第一道防线的非特异性免疫在维持鱼类健康和防御病害中发挥了重要的作用,其中溶菌酶可作用于细菌的细胞壁,使细胞裂解并刺激细胞的吞噬作用^[35-36]。本实验结果与盐度变化后牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)溶菌酶活性在第5天达到峰值随后下降的情况相似^[37]。盐度变化初期机体溶菌酶活性上升反映了机体在经历一段时间的应激后产生了一种免

疫反应,刺激了抗菌蛋白和溶菌蛋白的合成,从而提高了溶菌酶的活力,借此维持内环境的平衡^[31];随后呈下降趋势,说明了长时间处于低盐度条件下鱼体的非特异免疫系统受到一定的抑制,血淋巴中某些机制被破坏或是血细胞自溶后转变成异物而消耗了大量的免疫因子,导致溶菌酶活性下降^[30,35]。

参考文献:

- [1] 麦贤杰,黄伟建,叶富良,等.海水鱼类学繁殖生物学和人工繁育[M].北京:海洋出版社,2005:166-167.
- [2] 刘付永忠.环境因子对赤点石斑鱼繁殖的影响[D].广州:中山大学,2004.
- [3] 林浩然.鱼类生理学[M].广州:广东高等教育出版社,1999:127-145.
- [4] 刘冬娥.斜带石斑鱼早期发育阶段的生物学研究[D].厦门:集美大学,2007.
- [5] 张海发,刘晓春,王云新,等.温度、盐度及 pH 对斜带石斑鱼受精卵孵化和仔鱼活力的影响[J].热带海洋学报,2006,25(2):31-36.
- [6] 刘旭,丁少雄,壬军.温度和盐度对斜带石斑鱼幼鱼生长的影响[C]//中国海洋湖沼学会鱼类学分会.中国动物学会鱼类学分会 2004 年学术研讨会摘要汇编.武汉:中国科学院水生生物研究所,2004:56-57.
- [7] 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:自然科学版,2009,14(1):8-13.
- [8] 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.
- [9] 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.
- [10] 王重庆.分子免疫学基础[M].北京:北京大学出版社,1997.
- [11] IMSLAND A K, GUSTAVSSON A, GUNNARSSON S, et al. Effects of reduced salinities on growth, feed conversion efficiency and blood physiology of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) [J]. Aquaculture, 2008, 274(2-4):254-259.
- [12] JARVIS P L, BALLANTYNE J S. Metabolic responses to salinity acclimation in juvenile shortnose sturgeon *Acipenser brevirostrum* [J]. Aquaculture, 2003, 219(1-4):891-909.
- [13] 徐立文,苏友禄,刘广锋,等.急性盐度胁迫下军曹鱼稚鱼应激反应的血清学指标[J].华南农业大学学报,2007,28(2):91-94.
- [14] 王文博,李爱华.环境胁迫对鱼类免疫系统影响的研究概况[J].水产学报,2002,26(4):368-374.
- [15] SAOUD I P, KREYDIYYEH S, CHALFOUN A, et al. Influence of salinity on survival, growth, plasma osmolality and gill $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATPase activity in the rabbitfish *Siganus rivulatus* [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2007, 348(1-2):183-190.
- [16] 潘鲁青,唐贤明,刘泓宇,等.盐度对褐牙鲷 (*Paralichthys olivaceus*) 幼鱼血浆渗透压和鳃丝 $\text{Na}^+ \text{K}^+$ -ATPase 活力的影响[J].海洋与湖沼,2006,37(1):1-6.
- [17] MCENROE M, JRCECH J J. Osmoregulation in juvenile and adult white sturgeon, *Acipenser transmontanus* [J]. Environmental Biology of Fishes, 1985, 141:23-30.
- [18] 徐力文,刘广锋,王瑞旋,等.急性盐度胁迫对军曹鱼稚鱼渗透调节的影响[J].应用生态学报,2007,18(7):1596-1600.
- [19] EVANS D H, PIERMARINI P M, CHOE K P. The Multifunctional fish gill: Dominant site of gas exchange osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste [J]. Physiological Reviews, 2005, 85:97-177.
- [20] 孙鹏,彭士明,尹飞,等.盐度对条石鲷幼鱼 Na^+/K^+ -ATP 酶活力的影响[J].水产学报,2010,34(8):1204-1209.
- [21] 赵峰,庄平,章龙珍,等.盐度驯化对史氏鲟鳃 Na^+/K^+ -ATP 酶活力、血清渗透压及离子浓度的影响[J].水产学报,2006,30(4):444-449.
- [22] 王艳,胡先成.不同盐度下鲈鱼稚鱼鳃的显微结构观察[J].海洋科学,2009,33(12):157-162.
- [23] 陈惠群,王国良.硬骨鱼类渗透压调节[J].海洋科学,2002,26(1):24-26.
- [24] 魏渲辉,汝少国,徐路,等.海水和淡水适应过程中广盐性鱼类鳃氯细胞形态与功能变化及其激素调节[J].海洋科学,2001,25(4):16-20.
- [25] 谢志浩.鱼类渗透压调节[J].生物学通报,2002,37(5):22-23.
- [26] 朱壮春,朱海波,赵守城.鱼鳃上氯细胞的结构与功能[J].河北渔业,2002,5(125):12.
- [27] 洪磊,张秀梅.环境胁迫对鱼类生理机能的影响

- [J]. 海洋科学进展, 2004, 22(1): 114 - 121.
- [28] 王云峰, 朱鑫华. 盐度对鱼类生理生态学特征的影响[J]. 海洋科学集刊, 2002, 44(5): 151 - 158.
- [29] 刘海燕. 环境胁迫和饲料营养对长吻鮠生长、代谢及免疫力的影响[D]. 武汉: 水生生物研究所, 2007.
- [30] 于棉荣. 低血糖的预防和救治[J]. 糖尿病新世界, 2009(12): 23 - 25.
- [31] 洪磊, 张秀梅. 环境胁迫对许氏平鲷和花鲈血糖、血沉降的影响[J]. 中国水产科学, 2005, 12(4): 414 - 418.
- [32] 传良敏, 王文建, 曹万惠, 等. 肝脏疾病患者血清中线粒体型天门冬氨酸氨基转移酶检测的临床意义[J]. 淮海医药, 2009, 27(2): 110 - 111.
- [33] 孔祥会, 郭春丽, 郭彦玲, 等. 食盐对草鱼血清超氧化物歧化酶和溶菌酶活性的影响[J]. 水生态学杂志, 2008(5): 80 - 83.
- [34] 谢文平, 马广智. 氯氰菊酯对草鱼鳃和肝组织超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响[J]. 水产科学, 2003(6): 12 - 16.
- [35] 刘树清, 江晓路, 牟海津, 等. 免疫多糖对中国对虾血清溶菌酶、磷酸酶和过氧化物的作用[J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(3): 278 - 283.
- [36] 郑清梅, 吴锐全, 叶星. 水生动物溶菌酶的研究进展[J]. 上海水产大学学报, 2006, 15(4): 483 - 487.
- [37] 巍然. 盐度对牙鲆非特异性免疫功能的影响和文昌鱼抗氧化酶的活性[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2004.

The effect of salinity change on physiology and biochemistry of *Epinephelus coioides*

YU De-guang¹, YANG Yu-qing^{1,2}, WANG Hai-ying¹, XIE Jun^{1*},
YU Er-meng¹, WANG Guang-jun¹, GONG Wang-bao¹

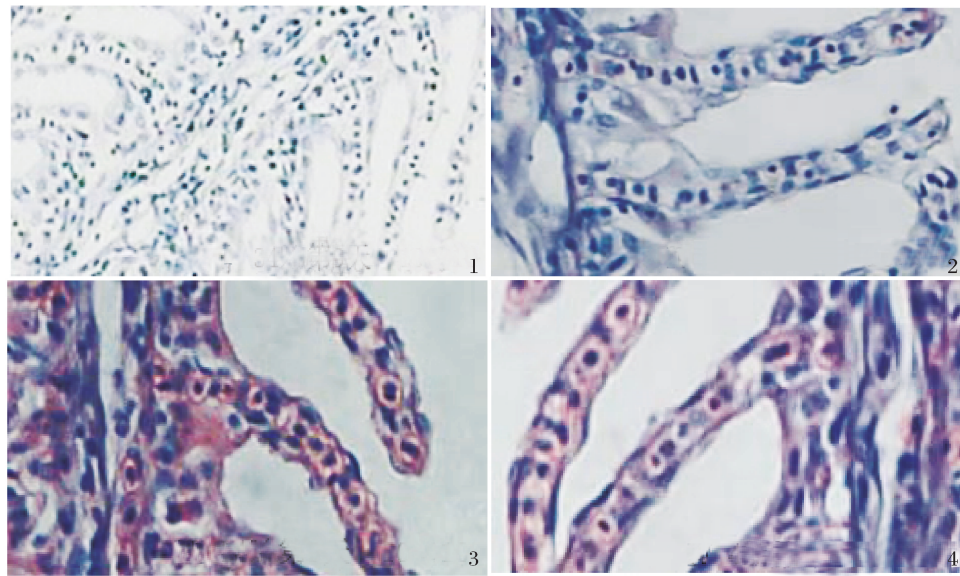
(1. Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, China;

2. Guangdong Daya Bay Fishery Development Center, Huizhou 516081, China)

Abstract: The objectives of this work were to study the effects of salinity change on the physiological chemical factors of *Epinephelus coioides* juvenile [body weight: (19. 59 ± 0. 25) g] by a biochemical analysis. The gill Na⁺/K⁺-ATPase, plasma glucose, aspartate carbamyl transferase (AST) , the activity of SOD and lysozyme of *Epinephelus coioides* juvenile were assayed after being treated with salinity [(4, 14, 24 and 34 as control)] in 1, 3, 6 and 9 d. At the same time, the gill chloride cells were observed using an H-E staining. The results showed that Na⁺/K⁺-ATPase activity in all groups showed similar tendency and the concentration reached the maximum level on 3rd day, then decreased and keep it constant on 6th day. The number of gill chloride cells did not show significant difference in salinity 24, but decreased slightly in salinity 14 during the experiment period. The changes in number, nucleus size and color of gill chloride cells in salinity 4 were observed on 6th day. The serum glucose level in all groups showed similar tendency and the concentration reached the maximum level on 6th day, then decreased. The serum AST level showed similar tendency both in salinity 24 and in salinity 4 and the concentration reached the maximum level on 9th day. However, the serum AST level continuously decreased in salinity 14 during the experiment period. The hepatic SOD activity in all test groups showed a tendency of decreasing at the beginning and increasing later, and reached the minimum level on 3rd day. There were significant differences in the hepatic SOD activity among all test groups (*P* < 0. 05). The serum lysozyme activity in all test groups showed a tendency of increasing at the beginning and reached the maximum level on 6th day, then decreased and gradually stable. There were significant differences in serum lysozyme activity among all test groups (*P* < 0. 05). When the salinity gradually decreased from 34 to 24, 14 and 4, these physiological chemical indicators showed similar tendency in all test groups, suggesting that *E. coioides* is typical of broad salinity fish and possesses good adaptability to low salinity. The results showed that *E. coioides* juveniles could adapt to the water body of salinity 4 under salinity domestication.

Key words: *Epinephelus coioides*; salinity stress; Na⁺/K⁺-ATPase; chloride cells; plasma glucose; aspartate carbamyl transferase; superoxide dismutase; lysozyme

Corresponding author: XIE Jun. E-mail: xiejunhy@yahoo.com.cn



图版 盐度变化对斜带石斑鱼幼鱼的鳃丝结构的影响

1. 盐度 34 试验组斜带石斑鱼幼鱼第 9 天的鳃丝结构(10×10); 2. 盐度 24 试验组斜带石斑鱼幼鱼第 9 天的鳃丝结构(10×10); 3. 盐度 14 试验组斜带石斑鱼幼鱼第 9 天的鳃丝结构; 氯细胞数量未见显著改变, 但胞质变大(10×10); 4. 盐度 4 试验组斜带石斑鱼幼鱼第 9 天的鳃丝结构图(10×10)。cc: 氯细胞。

Plate The effect of salinity change on gill structure from juvenile *E. coioides*

1. The change of gill structure on the ninth day from the group of salinity 34(10×10); 2. The change of gill structure on the ninth day from the group of salinity 24(10×10); 3. The change of gill structure on the ninth day from the group of salinity 14, no significant difference in the number of chloride cells, and increase in the volume of cytoplasm(10×10); 4. The change of gill structure on the ninth day from the group of salinity 4(10×10). cc: chloride cell.