

# 塑料袋包装充氧运输胁迫对四指马鲛幼鱼抗氧化系统的影响及抗应激剂的作用

刘奇奇<sup>①②</sup> 温久福<sup>①</sup> 区又君<sup>①\*</sup> 李加儿<sup>①</sup> 周慧<sup>①②</sup> 赵彦花<sup>①②</sup>

① 中国水产科学研究院南海水产研究所, 农业部南海渔业资源开发利用重点实验室 广州 510300;

② 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306

**摘要:** 为探究塑料袋包装充氧运输胁迫对四指马鲛 (*Eleutheronema tetradactylum*) 幼鱼肝、肌肉抗氧化系统的影响以及抗应激剂的生理作用。本研究设置了未经运输的幼鱼 30 尾作为对照组、不添加任何抗应激剂运输的幼鱼 90 尾作为空白组、添加维生素 C (VC) 运输的幼鱼 90 尾作为维生素 C 组以及添加谷氨酰胺 (Gln) 运输的幼鱼 90 尾作为谷氨酰胺组, 在运输实验进行的 2 h、6 h 以及 9 h 采样, 不同时间点每组各取 30 尾幼鱼分别采集肝、肌肉样品进行相关指标的测定。测定项目包括: 超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、还原型谷胱甘肽 (GSH)、丙二醛 (MDA) 以及总抗氧化能力 (T-AOC)。结果显示, 运输胁迫使空白组肝和肌肉中 SOD 活性最终显著 ( $P < 0.05$ ) 高于对照组, 而维生素 C 组和谷氨酰胺组由于抗应激剂的存在而使其最终活性低于对照组; 运输胁迫使空白组和维生素 C 组肝以及肌肉中 CAT 活性显著 ( $P < 0.05$ ) 升高, 最终其活性均显著 ( $P < 0.05$ ) 高于对照组, 而谷氨酰胺组最终值与对照组无显著差异 ( $P > 0.05$ ); 运输胁迫使空白组肝和肌肉 MDA 含量均显著 ( $P < 0.05$ ) 升高, 而抗应激剂维生素 C 和谷氨酰胺明显缓解了这一现象; GSH 含量在空白组、维生素 C 组和谷氨酰胺组的肝与肌肉中均出现了不同的变化趋势, 可能与这两种组织所承担的生理功能不同有关; 运输胁迫后, 空白组肝与肌肉 T-AOC 值均显著 ( $P < 0.05$ ) 高于对照组, 而维生素 C 组和谷氨酰胺组最终则略高于或等于对照组。本研究分析了运输胁迫下四指马鲛幼鱼抗氧化系统变化规律以及抗应激的作用效果, 旨在为其养殖生产提供参考依据。

**关键词:** 四指马鲛; 运输胁迫; 抗氧化系统; 抗应激剂

**中图分类号:** S968.22 **文献标志码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2018) 01-82-10

## Effects of Packing in Plastic Bags and Oxygenating Transport Stress on Antioxidant System and Effects of Anti-Stress Agent in Juvenile *Eleutheronema tetradactylum*

LIU Qi-Qi<sup>①②</sup> WEN Jiu-Fu<sup>①</sup> OU You-Jun<sup>①\*</sup> LI Jia-Er<sup>①</sup> ZHOU Hui<sup>①②</sup> ZHAO Yan-Hua<sup>①②</sup>

**基金项目** 广东省“扬帆计划”引进创新创业团队项目 (No. 2016YT03H038), 广东省省级科技计划项目 (No. 2017B020204002, 2013B090300009);

\* 通讯作者, E-mail: ouyoujun@126.com;

**第一作者简介** 刘奇奇, 男, 硕士研究生; 研究方向: 鱼类生物学; E-mail: 1158055407@qq.com.

收稿日期: 2017-04-24, 修回日期: 2017-10-10 DOI: 10.13859/j.cjz.201801011

① Key Laboratory of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture, South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Guangzhou 510300; ② College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

**Abstract:** In order to explore the effects of packing transport stress on antioxidant system in liver and muscle and effects of anti-stress agent in juvenile *Eleutheronema tetradactylum*, various groups including control group (without transportation), blank group (transported but without anti-stress agent), vitamin C group (vitamin C was added as an anti-stress agent) and glutamine group (glutamine was added as an anti-stress agent) were set in this study. Liver and muscle samples of juvenile *E. tetradactylum* were collected at 2 h, 6 h, and 9 h of transport stress to determine the related indexes. Tissue samples were preserved in liquid nitrogen immediately. The samples were added with normal saline according at a ratio of 1 : 9, then they were made into 10% tissue homogenate after crushing and centrifugation. Measured items included superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), malondialdehyde (MDA), glutathione (GSH), total antioxidant capacity (T-AOC) in liver and muscle. Results showed that transport stress led to rapid increase in SOD activity in liver and muscle in blank group, however, SOD activity was significantly ( $P < 0.05$ ) lower than that of the control group in vitamin C group and glutamine group, while there was no significant difference ( $P > 0.05$ ) between the latter two groups (Fig. 1). Transport stress led to significant increase in the activity of CAT ( $P < 0.05$ ) in liver and muscle in blank group, although slightly decreased later, the activity values were significantly higher than those in control group ( $P < 0.05$ ) finally; however, these values in vitamin C group and glutamine group were not significantly different compared with the control group ( $P > 0.05$ ) or slightly higher than that in control group (Fig. 2). Transport stress led to significant increase in the content of MDA ( $P < 0.05$ ) in muscle and liver in blank group, but this result was alleviated significantly in vitamin C group and glutamine groups (Fig. 3). The contents of GSH showed different change trends between liver and muscle in different groups, and this might be related to their different physiological functions (Fig. 4). The values of T-AOC in liver and muscle were significantly higher in blank group than that in control group ( $P < 0.05$ ), while the values were slightly higher in vitamin C group and glutamine groups than that in control group (Fig. 5). The analysis of antioxidant system of juvenile *E. tetradactylum* under the transport stress and the effects of anti-stress agent will provide reference for promoting artificial breeding of *E. tetradactylum*.

**Key words:** *Eleutheronema tetradactylum*; Transport stress; Antioxidant system; Anti-stress agent

研究表明, 长期过度的应激通常会扰乱机体正常的生理生化反应、降低鱼类的免疫能力 (Tort 2011)。对眼斑双锯鱼 (*Amphiprion ocellaris*) (董少杰等 2013) 的研究表明, 鱼类在运输过程中因溶解氧、排泄物毒性等因素影响将不同程度导致鱼体产生应激反应。通常情况下, 为了适应环境鱼类会对自身代谢酶类的活性进行调整 (Couto et al. 2008), 但当应激胁迫超过其自我调节范围时, 则会导致肌肉退化、

溶血以及细胞代谢的恶化, 最终导致细胞死亡 (Zhang 2004)。周传朋等 (2014) 的研究表明, 应激复合物 (维生素 C、必需氨基酸等) 能够增强团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*) 的抗应激能力, 延长水产动物长途运输时间。赵淑华等 (2000) 的研究表明, 维生素 C 对小鼠 (*Mus musculus*) 组织的氧化性损伤具有保护作用。熊铎龙等 (2014) 对普安银鲫 (*Carassius auratus gibelio*) 的研究也表明, 一定浓度的维

生素 C 可提高其成活率。谷氨酰胺是一种非必需氨基酸,在体内可以由葡萄糖转变而来, Lin 等 (1999) 研究表明, 其是免疫细胞的重要燃料和代谢前体, 徐洋等 (2011) 研究同样表明, 其具有促进淋巴细胞增殖的作用。许友卿等 (2012) 的研究表明, 谷氨酰胺对 B 淋巴细胞转化、浆细胞形成和免疫球蛋白合成与分泌有明显的促进作用。

四指马鲛 (*Eleutheronema tetradactylum*) 俗称午鱼、午笋、马友等, 隶属于鲭形目 (Mugiliformes) 马鲛科 (Polynemidae) 四指马鲛属 (孙典荣等 2013)。其主要分布于印度、印度尼西亚、新加坡、菲律宾、澳洲西部和北部等热带海域, 在我国沿海地区均有分布, 以南方居多, 属于热带及温带的海产鱼类。由于其生长迅速、肉质鲜美、抗病性强等优点受到广大养殖户和消费者的欢迎, 并迅速成为近年来新兴的水产养殖新品种。目前, 已有学者对四指马鲛胚胎发育 (谢木娇等 2016a)、盐度耐受性 (谢木娇等 2016b) 以及消化道结构和功能细胞的发育 (谢木娇等 2015) 等已进行了较为系统的研究, 进一步丰富了四指马鲛的生物学文库。但四指马鲛的人工养殖依然面临诸多问题, 如其极易受到人为因素如运输、转移、惊吓等惊扰, 而造成病害甚至死亡。本研究分析了运输胁迫下四指马鲛幼鱼抗氧化系统变化规律以及抗应激的作用效果, 以期摸索出其适合的抗应激剂, 以解决其长途运输易死亡的问题。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验所用的四指马鲛为 2016 年 6 月到 9 月在南海水产研究所珠海试验基地人工繁殖的一代鱼苗, 体长 ( $5.0 \pm 0.5$ ) cm, 体重 ( $1.5 \pm 0.4$ ) g。实验开始前先在室温 ( $27 \text{ }^\circ\text{C}$ )、pH  $8.0 \pm 0.2$ 、溶解氧为 ( $6.0 \pm 0.5$ ) mg/L 条件下驯养一周, 驯养期间每天换水 1 次, 每次换水量 1/2 左右, 24 h 连续充气。一周后, 随机挑选体色正常,

健康的幼鱼 300 尾进行实验。

### 1.2 实验设计

实验在相同条件下, 将四指马鲛幼鱼分为 4 个实验组, 即对照组、空白组、维生素 C 组 (添加维生素 C 作为抗应激剂)、谷氨酰胺组 (添加谷氨酰胺作为抗应激剂)。其中, 对照组 30 尾, 在实验开始之前先用丁香酚麻醉幼鱼 2~3 min, 解剖取其肝和肌肉样品固定于液氮中。空白组、维生素 C 组 (简称 VC 组) 以及谷氨酰胺组 (简称 Gln 组) 每组 90 尾幼鱼, 每组设 3 个平行。向空白组、VC 组以及 Gln 组的塑料袋中加入等量且适量的养殖用水 (取自对照组所在的养殖池), 参考周传鹏等 (2014) 的方法, 维生素 C 组和谷氨酰胺组的塑料包装袋中分别加入维生素 C 和谷氨酰胺使其最终浓度均为 20 mg/L, 而空白组不加任何抗应激剂, 每组各 3 个塑料袋。将空白组、维生素 C 组以及谷氨酰胺组幼鱼分别置于对应的塑料包装袋中, 每袋 30 尾, 然后充氧、密封, 放于运输车上使包装袋之间互不影响, 在运输的第 2 h、6 h、9 h 各取一袋即 30 尾, 分别取其肝和肌肉样品固定于液氮中。

### 1.3 样品测定

肝和肌肉抗氧化酶活性测定: 取经液氮固定的肝和肌肉样品, 冰浴条件下加入组织样品质量 9 倍体积的生理盐水制作成组织匀浆, 2 500 r/min 离心 10 min, 取上清液 (10% 的组织匀浆液)。按照南京建成公司生产的试剂盒说明书分别测定酶活性。总蛋白浓度以 BCA 法测定, 先将标准蛋白稀释成不同浓度梯度, 拟合出蛋白浓度与吸光度  $A$  值之间的线性方程  $y = a + bx$ , 进而计算出不同组织的蛋白浓度; 机体中很多抗氧化物可以将  $\text{Fe}^{3+}$  还原成  $\text{Fe}^{2+}$ , 其可与试剂盒中的菲啉类物质形成稳固的络合物, 在 520 nm 波长  $37 \text{ }^\circ\text{C}$  条件下测反应体系的吸光值, 计算总抗氧化能力; 过氧化氢酶分解过氧化氢可使反应体系的吸光值随反应时间延长而降低, 根据 405 nm 波长处吸光值的变化量即可计算出过氧化氢酶的活性; 被测样品中含有

SOD 时, 其对超氧负离子自由基有抑制作用, 使产生的亚硝酸盐减少, 继而体系的吸光值也降低, 通过公式即可计算出超氧化物歧化酶活性; 过氧化脂降解产物丙二醛通过 TBA 法来测定, 酸性条件下硫代巴比妥酸 (thiobarbituric acid, TBA) 分子与丙二醛分子共热将生成粉红色复合物, 其在 532 nm 的波长处检测到每毫克组织蛋白中所消耗的丙二醛的量, 进而计算丙二醛含量; 组织蛋白中谷胱甘肽可与二硫代二硝基甲酸反应, 生成一种黄色化合物而使体系吸光值增加, 在 405 nm 波长处检测到体系吸光值增加的量, 通过公式计算可得出组织中 GSH 含量。

#### 1.4 数据分析

本实验利用 SPSS 22.0 软件对测定结果进行方差分析以及 Duncan 检验, 进行显著性分析和多重比较,  $P < 0.05$  时认为数据之间有显著性差异。经实验结果测量得到的数据均表示为平均值  $\pm$  标准差 (Means  $\pm$  SD) 的形式。

## 2 实验结果

### 2.1 不同处理组四指马鲛幼鱼超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的变化情况

运输胁迫不同时间以及不同处理组, 肝组织中超氧化物歧化酶 (SOD) 活性远远大于肌肉组织中 (图 1)。在实验开始的 2 h, 空白组肝中超氧化物歧化酶 (SOD) 活性与对照组相比显著下降 ( $P < 0.05$ ), 而维生素 C 组和谷氨酰胺组虽略有下降但不显著 ( $P > 0.05$ )。随着实验的进行, 空白组肝超氧化物歧化酶 (SOD) 活性显著升高 ( $P < 0.05$ ), 升高到一定值, 一直保持到实验结束; 维生素 C 组超氧化物歧化酶 (SOD) 活性出现先升高后下降的趋势, 实验结束时其活性显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ); 而谷氨酰胺组超氧化物歧化酶 (SOD) 活性稍微有所下降但不显著 ( $P > 0.05$ ), 之后显著下降 ( $P < 0.05$ ), 实验结束时其值显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ), 但与维生素 C 组无显著差异 ( $P > 0.05$ , 图 1a)。随着实验的进行, 空白组肌肉中

超氧化物歧化酶 (SOD) 活性与对照组相比, 出现先升高后先下降的趋势, 最终其值仍显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ); 而维生素 C 组和谷氨酰胺组其活性与对照组相比有相同的变化趋势, 即先下降后上升, 之后又下降的趋势, 最终维生素 C 组显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ), 而谷氨酰胺组则与对照组无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 且此二实验组之间无显著差异 ( $P > 0.05$ , 图 1b)。

### 2.2 不同处理组四指马鲛幼鱼过氧化氢酶 (CAT) 活性的变化情况

与对照组相比, 空白组肝过氧化氢酶 (CAT) 活性在实验之初显著升高 ( $P < 0.05$ ), 之后下降至一定值后保持到实验结束, 最终其值仍显著高于对照组 ( $P < 0.05$ , 图 2); 维生素 C 组过氧化氢酶 (CAT) 活性, 在实验之初显著升高 ( $P < 0.05$ ), 维持一段时间后显著下降 ( $P < 0.05$ ), 实验结束时其值仍显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ); 谷氨酰胺组过氧化氢酶 (CAT) 活性则出现先升高后下降的趋势, 实验结束时其活性与对照组无显著差异 ( $P > 0.05$ )。与对照组相比, 空白组肌肉过氧化氢酶 (CAT) 活性在实验之初显著升高 ( $P < 0.05$ ), 维持在较高值一段时间后显著下降 ( $P < 0.05$ ), 最终其值仍显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ); 维生素 C 组过氧化氢酶 (CAT) 活性, 则出现先升高后下降的趋势, 实验结束时其值仍显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ); 谷氨酰胺组过氧化氢酶 (CAT) 活性先显著升高 ( $P < 0.05$ ), 后下降到与对照组无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 直到实验结束 (图 2b)。

### 2.3 不同处理组四指马鲛幼鱼丙二醛 (MDA) 含量的变化情况

空白组肝丙二醛 (MDA) 含量在实验之初迅速升高, 且达到最大值, 之后显著下降 ( $P < 0.05$ ), 下降到一定值后维持到实验结束, 其值不再显著变化 ( $P > 0.05$ ), 但仍显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ); 维生素 C 组其含量在实验之初显著升高 ( $P < 0.05$ ), 之后呈下降趋势, 直到

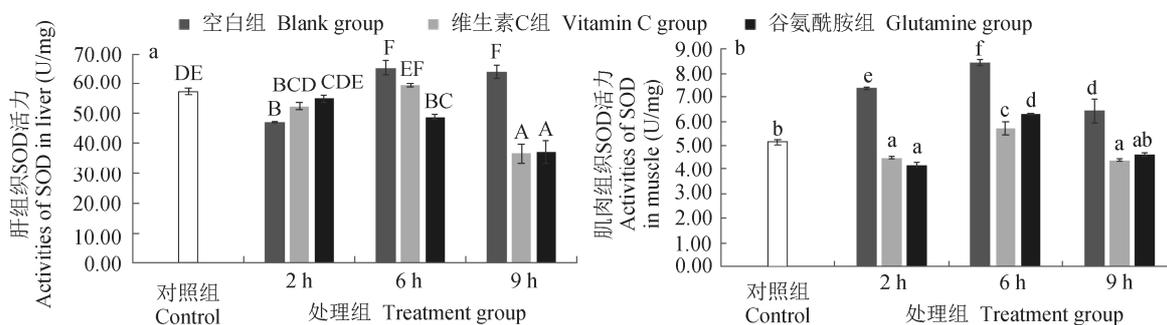


图 1 不同处理组四指马鲛幼鱼肝 (a)、肌肉 (b) 中超氧化物歧化酶活性的变化情况

Fig. 1 The changes of SOD activity in liver (a) and muscle (b) of juvenile *Eleutheronema tetradactylum* in different treatment groups

不同字母表示组间存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。Different letters indicate significant differences among groups ( $P < 0.05$ ).

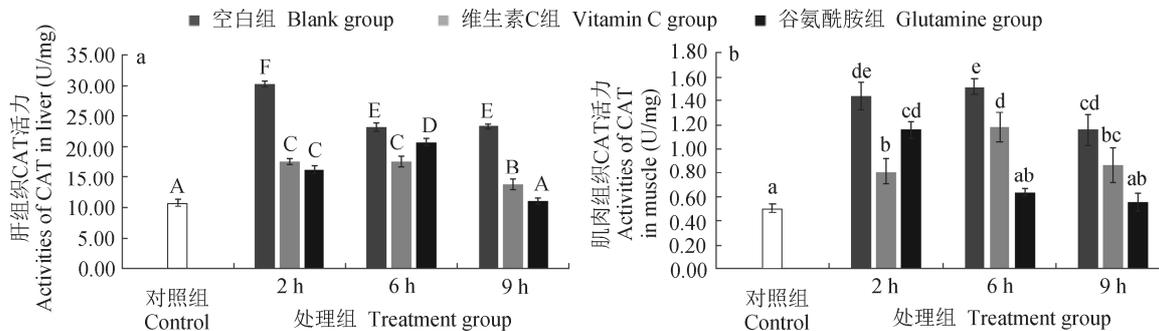


图 2 不同处理组四指马鲛幼鱼肝 (a)、肌肉 (b) 中过氧化氢酶活性的变化情况

Fig. 2 The changes of CAT activity in liver (a) and muscle (b) of juvenile *Eleutheronema tetradactylum* in different treatment groups

不同字母表示组间存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。Different letters indicate significant differences among groups ( $P < 0.05$ ).

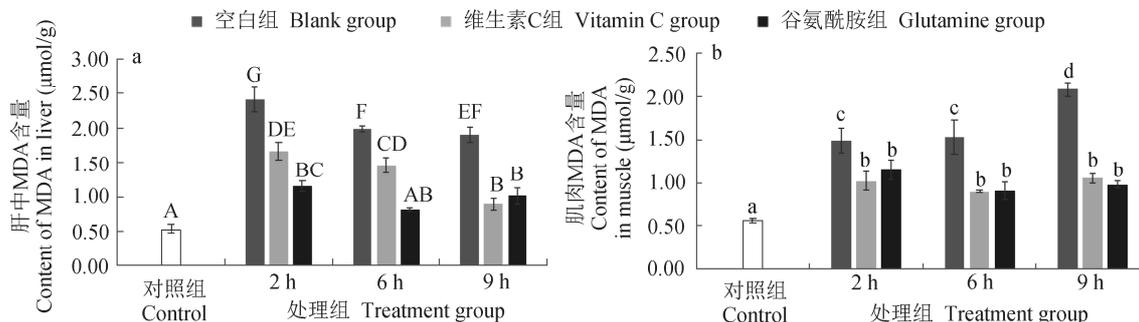


图 3 不同处理组四指马鲛幼鱼肝 (a)、肌肉 (b) 中丙二醛含量变化情况

Fig. 3 The changes of MDA content in liver (a) and muscle (b) of juvenile *Eleutheronema tetradactylum* in different treatment groups

不同字母表示组间存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。Different letters indicate significant differences among groups ( $P < 0.05$ ).

实验结束其含量仍显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ); 谷氨酰胺组其含量在实验开始之初时显著升高 ( $P < 0.05$ ), 之后略有波动但均不显著 ( $P > 0.05$ ), 最终其活性显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 但与维生素 C 组无显著差异 ( $P > 0.05$ , 图 3a)。空白组肌肉中丙二醛 (MDA) 含量在实验之初显著上升 ( $P < 0.05$ ), 之后维持一段时间又继续上升, 实验结束时显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 且达到最大值; 而维生素 C 组与谷氨酰胺组有相同的变化趋势, 即实验之初都显著升高 ( $P < 0.05$ ), 之后都略有波动但均不显著 ( $P > 0.05$ ), 实验结束时二者显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 且显著低于空白组 ( $P < 0.05$ ), 实验过程中二者之间均无显著差异 ( $P > 0.05$ , 图 3b)。

#### 2.4 不同处理组四指马鲛幼鱼还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量的变化情况

空白组肝还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量在实验之初迅速升高, 且达到最大值, 之后迅速下降到显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ), 之后则上升, 实验结束时其值与对照组无显著差异 ( $P > 0.05$ ); 维生素 C 组还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量在 6 h 以前呈显著下降趋势 ( $P < 0.05$ ), 之后略有下降但不显著 ( $P > 0.05$ ), 实验结束时其值显著低于对照组与空白组 ( $P < 0.05$ ); 谷氨酰胺组还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量在实验开始的 2 h 时显著下降 ( $P < 0.05$ ), 之后出现先升高后下降的趋势, 最终其含量显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ), 且与维生素 C 组无显著差异 ( $P > 0.05$ , 图 4a)。空白组肌肉还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量, 在整个实验过程中一直处于显著上升趋势 ( $P < 0.05$ ), 实验结束时其值显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 且达到最大值; 维生素 C 组还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量在实验之初略有升高但不显著 ( $P > 0.05$ ), 之后则先升高后下降, 最终其含量显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ); 谷氨酰胺组还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量在实验之初显著升高 ( $P < 0.05$ ), 之后略有波动但均不显著 ( $P > 0.05$ ), 直到实验结束其含量显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 且与维生素

C 组无显著差异 ( $P > 0.05$ , 图 4b)。

#### 2.5 不同处理组四指马鲛幼鱼总抗氧化能力 (T-AOC) 的变化情况

空白组肝总抗氧化能力 (T-AOC) 在实验过程中呈先显著升高 ( $P < 0.05$ ), 直到 6 h 后显著下降 ( $P < 0.05$ ) 的趋势, 实验结束时其值显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ); 维生素 C 组总抗氧化能力 (T-AOC) 在实验之初无显著变化 ( $P > 0.05$ ), 之后出现先升高后降低的趋势, 最后其值显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ); 谷氨酰胺组总抗氧化能力 (T-AOC) 出现较大波动, 即实验之初显著升高 ( $P < 0.05$ ), 之后降低至于对照组无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 之后又显著上升 ( $P < 0.05$ ), 实验结束其值显著高于对照组与维生素 C 组 ( $P < 0.05$ ), 但显著低于空白组 ( $P < 0.05$ , 图 5a)。空白组肌肉总抗氧化能力 (T-AOC) 在实验的前 6 h 均出现显著升高趋势 ( $P < 0.05$ ), 6 h 达到最高值, 直到实验结束, 其值显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ); 维生素 C 组总抗氧化能力 (T-AOC) 在实验之初时显著上升 ( $P < 0.05$ ), 6 h 时略有下降但不显著 ( $P > 0.05$ ), 9 h 时显著上升 ( $P < 0.05$ ), 实验结束时其值显著高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 且显著低于空白组 ( $P < 0.05$ ); 谷氨酰胺组总抗氧化能力 (T-AOC) 在 6 h 以前均呈显著升高趋势 ( $P < 0.05$ ), 实验结束时其值与对照组无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 但显著低于空白组与维生素 C 组 ( $P < 0.05$ , 图 5b)。

### 3 讨论

在实际生产过程中鱼苗的过塘、购入与出售、增殖放流等都需要运输, 运输是鱼苗扩大生产的重要过程之一, 因此研究运输对其影响具有重要意义。黄玉萍等 (2010) 对鳊 (*Megalobrama amblycephala*) 的研究表明, 长途运输会对鳊造成较强的应激, 常导致应激性充血、脱黏等严重后果。为了解决鱼类运输应激问题, 对抗应激剂的研究也越来越受到重视, 诸多抗应激剂应运而生, 如维生素 C、维生素

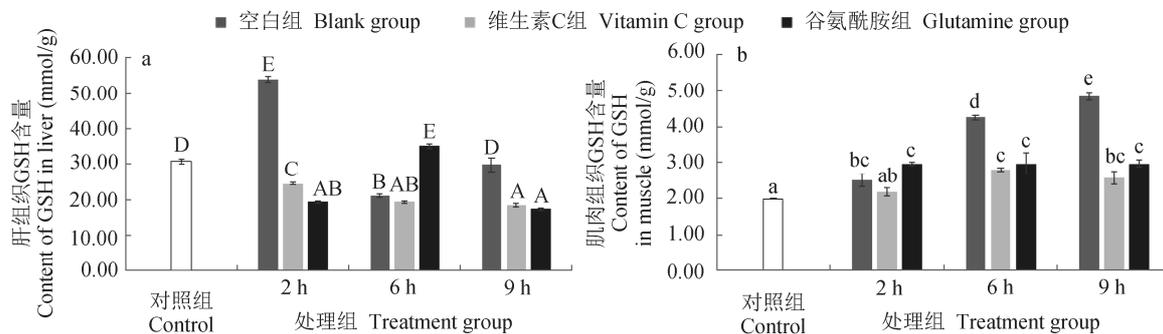


图4 不同处理组四指马鲛幼鱼肝 (a)、肌肉 (b) 中还原型谷胱甘肽含量变化情况

Fig. 4 The changes of GSH content in liver (a) and muscle (b) of juvenile *Eleutheronema tetradactylum* in different treatment groups

不同字母表示组间存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。Different letters indicate significant differences among groups ( $P < 0.05$ ).

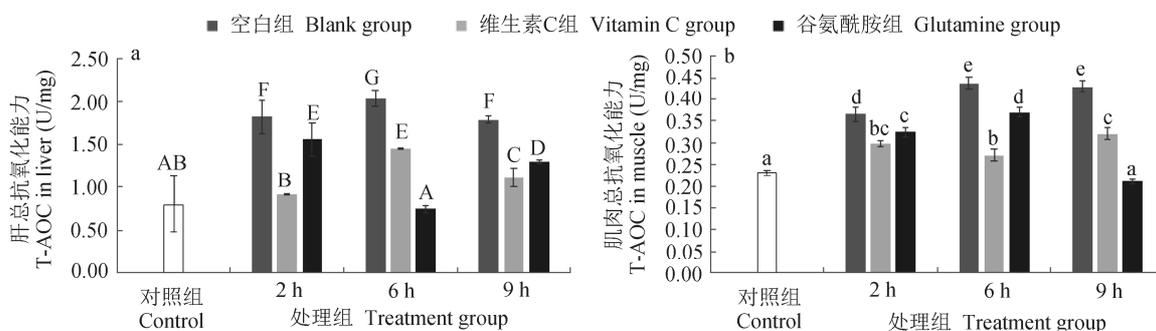


图5 不同处理组四指马鲛幼鱼肝 (a)、肌肉 (b) 总抗氧化能力变化情况

Fig. 5 The changes of T-AOC in liver (a) and muscle (b) of juvenile *Eleutheronema tetradactylum* in different treatment groups

不同字母表示组间存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。Different letters indicate significant differences among groups ( $P < 0.05$ ).

E、不饱和脂肪酸以及氨基酸等。对虹鳟 (*Salmo gairdnerii*) (Johnston et al. 1989) 的研究表明, 维生素 C 可通过神经调节因子来调节脑部激素水平, 调控鱼类的行为, 增强鱼类抗应激能力。谷氨酰胺是免疫细胞和肠道黏膜细胞的重要燃料和代谢前体 (Lin et al. 1999), 具有促进肠道黏膜修复、淋巴细胞增殖、巨噬细胞分裂和分化的作用, 在调节免疫功能方面具有重要意义 (徐洋等 2011)。

### 3.1 不同处理组四指马鲛幼鱼超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性变化情况

鱼类正常的生命活动中其体内会产生少量的自由基, 通常情况下自由基不断的产生, 同

时也不断被清除 (Martinez-Alvarez et al. 2005)。当鱼类受到胁迫刺激时, 机体内会产生过多的活性氧自由基, 而这些自由基对机体有破坏作用, 导致正常细胞和组织的损坏, 引发膜脂质过氧化反应 (Lushchak et al. 2006)。其原因是, 细胞基本结构的主要成分, 如细胞膜上存在大量多不饱和脂肪酸, 是氧化应激潜在的靶向攻击目标, 其对氧化应激较敏感, 可以迅速被氧化攻击 (Meng et al. 2014)。Mourete 等 (2002) 的研究表明, 脂质过氧化, 特别是多不饱和脂肪酸的氧化, 会引发体内膜脂的氧化损伤, 并最终破坏细胞生物膜的结构。然而, 好氧生物已经进化出了相应的防御系统, 即激活相应的抗氧化系统, 包括超氧化物歧化酶 (SOD)、过

氧化氢酶 (CAT)、还原型谷胱甘肽 (GSH) 以及一些小分子抗氧化剂, 以保护自己不受活性氧产生毒性效应的影响 (Frei 1999), 而超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 组成了防御氧化应激的第一道防线 (Stara et al. 2012)。杨丽华等 (2003) 对丰产鲫 [*Carassius auratus* of Penze (♀) × *Cyprinus acutidorsalis* (♂)] 的研究表明, 不同组织所承担的生理功能不同, 其抗氧化酶活性也不同。本研究中, 对照组以及空白组和维生素 C 组、谷氨酰胺组各时间点肝中超氧化物歧化酶 (SOD) 和过氧化氢酶 (CAT) 活性均远远高于肌肉中, 同样表明了这点。李勇男 (2016) 对鲤 (*Cyprinus carpio*) 的研究表明, 水体中添加维生素 C 能缓解鲤的运输应激反应, 本实验中也得到了相似的结果, 即维生素 C 组及谷氨酰胺组肝中超氧化物歧化酶 (SOD) 活性虽有所降低但与对照组相比不显著 ( $P > 0.05$ )。超氧化物歧化酶 (SOD) 活性在肌肉中, 与对照组相比显著下降 ( $P < 0.05$ ), 可能原因是, 突然的运输刺激阻碍了肌肉中超氧化物歧化酶 (SOD) 的合成途径, 而肝中其合成途径不受影响或者影响较弱。因为机体的自我调解能力, 随着实验的进行, 空白组超氧化物歧化酶 (SOD) 活性一直保持较高值, 以减轻运输应激对机体的损伤。随着自由基的逐渐清除, 超氧化物歧化酶 (SOD) 活性则会出现恢复正常水平的趋势, 因此本实验空白组肌肉中超氧化物歧化酶 (SOD) 活性出现先升高后下降的趋势。周传朋等 (2014) 对团头鲂的研究结果表明, 维生素 C 与谷氨酰胺的存在一定程度上缓解了运输应激对团头鲂幼鱼的影响, 故实验结束时维生素 C 组及谷氨酰胺组其活性最终均低于对照组。孙鹏等 (2014) 的研究表明, 运输刺激使日本黄姑鱼 (*Nibea japonica*) 产生氧化应激反应。本研究得出了相似的结果, 即过氧化氢酶 (CAT) 活性被提高以缓解氧化压力。然而维生素 C 组及谷氨酰胺组肝和肌肉中氧化压力同样存在, 但由于二者的缓解作用, 机体内产生

的氧化压力远低于空白组。由于机体的自我调节, 组织中的氧化压力得到逐渐缓解, 过氧化氢酶 (CAT) 活性也有恢复正常水平的趋势, 因此本实验结束时, 各组过氧化氢酶 (CAT) 活性均出现下降趋势。

### 3.2 不同处理组四指马鲛幼鱼丙二醛 (MDA) 和还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量变化情况

Ishii 等 (2006) 的研究表明, 丙二醛 (MDA) 作为细胞中过氧化脂降解产物, 反应了机体脂质过氧化程度, 其间接反映了细胞损伤程度。还原型谷胱甘肽 (GSH) 是与丙二醛 (MDA) 生理功能相反的小分子三肽, 其能将体内有害物质转变为无害物质, 并排出体外起到解毒作用, 是体内重要的抗氧化剂和自由基清除剂 (童海达等 2013)。实验开始之初各组中丙二醛 (MDA) 含量均高于对照组, 而维生素 C 组和谷氨酰胺组其含量值均低于空白组, 表明运输胁迫使四指马鲛幼鱼肝和肌肉细胞遭到损伤, 而维生素 C 组和谷氨酰胺组的损伤程度较空白组低。随着实验的进行维生素 C 组和谷氨酰胺组含量无显著差异且显著低于空白组, 表明维生素 C 和谷氨酰胺在一定程度上缓解了肝细胞中脂质的过氧化程度, 然而并不能完全消除, 且对长时间运输的作用效果维生素 C 和谷氨酰胺之间无太大差别。而空白组肌肉中其含量值则呈逐渐升高趋势, 维生素 C 组和谷氨酰胺组其值无显著变化同样表明了维生素 C 和谷氨酰胺有相似的作用效果。运输刺激使空白组自由基含量迅速增加, 破坏了内环境稳态, 为了消除这一不利影响机体则提高还原型谷胱甘肽 (GSH) 的合成量, 故实验开始的 2 h, 空白组两组织中还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量升高。林秀秀等 (2015) 的研究表明, 在同一强度刺激下, 不同组织受到影响程度有一定的差异, 随着本实验的进行, 四指马鲛幼鱼还原型谷胱甘肽 (GSH) 含量在肝与肌肉中出现相反的变化趋势也同样证实了这点。

### 3.3 不同处理组四指马鲛幼鱼总抗氧化能力 (T-AOC) 变化情况

总抗氧化能力 (T-AOC) 反映了鱼类机体酶系统和非酶系统抗氧化能力的总和 (冯广朋等 2012), 即其包括了超氧化物歧化酶 (SOD) 与过氧化氢酶 (CAT) 等抗氧化酶, 也包括还原型谷胱甘肽 (GSH)、氨基酸、维生素等小分子抗氧化物质。刘小玲 (2007) 的研究表明, 适当的刺激可提高鱼类对环境的适应能力, 改善其体质, 本实验开始的 2 h 各组肝和肌肉中总抗氧化能力 (T-AOC) 都有升高趋势也表明了这个观点。随着实验的进行, 最终维生素 C 组与谷氨酰胺组肝总抗氧化能力 (T-AOC) 均高于对照组, 且低于空白组, 表明 VC 与 Gln 的存在减轻了运输刺激对肝的影响程度, 机体做出的反应也较空白组温和。由于机体的自我调节能力无法消除运输刺激对空白组的影响, 这可能也是空白组肌肉总抗氧化能力 (T-AOC) 升高后保持较高值直到实验结束的原因。最终, 维生素 C 组肌肉总抗氧化能力 (T-AOC) 虽然显著低于空白组但有上升趋势, 表明 VC 能够缓解其肌肉的氧化应激, 但作用效果有限。谷氨酰胺组肌肉总抗氧化能力 (T-AOC) 最终与对照组无显著差异, 表明 Gln 相对于 VC 可以更好地缓解肌肉中的氧化应激, 即 Gln 作为抗应激剂有更好的作用效果。

## 参 考 文 献

- Couto A, Enes P, Peres H, et al. 2008. Effect of water temperature and dietary starch on growth and metabolic utilization of diets in gilthead sea bream (*Sparus aurata*) juveniles. *Comparative Biochemistry & Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 151(1): 45–90.
- Frei B. 1999. Molecular and biological mechanisms of antioxidant action. *The FASEB Journal*, 13(9): 963–964.
- Ishii T, Kumazawa S, Sakurai T, et al. 2006. Mass spectroscopic characterization of protein modification by malondialdehyde. *Chemical Research in Toxicology*, 19(1): 122–129.
- Johnston W L, Macdonald E, Hilton J W, et al. 1989. Relationships between dietary ascorbic acid status and deficiency, weight gain and brain neurotransmitter levels in juvenile rainbow trout, *Salmo gairdnerii*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 6(6): 353–365.
- Lin C, Abcouwer, S W. 1999. Effect of dietary glutamate on chemotherapy-induced immuno-suppression. *Nutrition*, 15(9): 687–696.
- Lushchak V I, Bagnyukova T V, 2006. Temperature increase results in oxidative stress in goldfish tissues. *Indices of oxidative stress. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 143(1): 30–35.
- Martinez-Alvarez R M, Morales A E, Sanz A, 2005. Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 15(1/2): 75–88.
- Meng S L, Chen J Z, Xu P, et al. 2014. Hepatic antioxidant enzymes SOD and CAT of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in response to pesticide methomyl and recovery pattern. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 92(4): 388–392.
- Mourente G, DiAz-Salvago E, Bell J G, et al. 2002. Increased activities of hepatic antioxidant defence enzymes in juvenile gilthead sea bream (*Sparus aurata* L.) fed dietary oxidised oil: attenuation by dietary vitamin E. *Aquaculture*, 214(1/4): 343–361.
- Stara A, Machova J, Velisek J, 2012. Effect of chronic exposure to simazine on oxidative stress and antioxidant response in common carp (*Cyprinus carpio* L.). *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 33(2): 334–343.
- Tort L. 2011. Stress and immune modulation in fish. *Developmental & Comparative Immunology*, 35(12): 1366–1375.
- Zhang J, Shen H, Wang X, et al. 2004. Effects of chronic exposure of 2, 4-dichlorophenol on the antioxidant system in liver of freshwater fish *Carassius auratus*. *Chemosphere*, 55(2): 167–174.
- 董少杰, 梁拥军, 孙向军, 等. 2013. 运输条件下温度、盐度和 pH 值对眼斑双锯鱼亲鱼氨和有机物排泄的影响. *天津农业科学*, 19(3): 32–37.
- 冯广朋, 庄平, 章龙珍, 等. 2012. 温度对中华鲟幼鱼代谢酶和抗氧化酶活性的影响. *水生生物学报*, 36(1): 137–142.
- 黄玉萍, 刘涛, 姚瑞清, 等. 2010. 拜激灵对鳊生长和运输应激的缓解作用研究. *饲料工业*, 31(22): 18–21.
- 李勇男. 2016. 水中添加维生素 C 缓解鲤鱼运输应激的研究. 无锡: 江南大学硕士学位论文, 36–50.

- 林秀秀, 叶元土, 蔡春芳, 等. 2015. 丙二醛引起草鱼肠道、肝胰脏谷胱甘肽/谷胱甘肽转移酶通路抗氧化应激. 动物营养学报, 27(11): 3604–3612.
- 刘小玲. 2007. 鱼类应激反应的研究. 水利渔业, 27(3): 1–3.
- 孙典荣, 陈铮. 2013. 南海鱼类检索. 北京: 海洋出版社, 380–381.
- 孙鹏, 柴学军, 尹飞, 等. 2014. 运输胁迫下日本黄姑鱼肝抗氧化系统的响应. 海洋渔业, 36(5): 469–474.
- 童海达, 王佳茗, 宋英. 2013. Keap1-Nrf2-ARE 在机体氧化应激损伤中的防御作用. 癌变. 畸变. 突变, 25(1): 71–75.
- 谢木娇, 区又君, 李加儿, 等. 2015. 四指马鲛稚鱼、幼鱼和成鱼消化道黏液细胞组织化学研究. 中国细胞生物学学报, 37(9): 1226–1234.
- 谢木娇, 区又君, 李加儿, 等. 2016a. 不同发育阶段的四指马鲛消化道组织学比较研究. 南方水产科学, 12(2): 51–58.
- 谢木娇, 区又君, 温久福, 等. 2016b. 四指马鲛 (*Eleutheronema tetradactylum*) 受精卵和仔鱼对不同盐度的耐受性. 生态学报, 35(5): 1263–1267.
- 熊铎龙, 姚俊杰, 安苗, 等. 2014. 葡萄糖、维生素 C 对普安银鲫早期发育的影响. 南方水产科学, 10(6): 88–92.
- 徐洋, 夏俊, 方丽华, 2011. 添加精氨酸和谷氨酰胺的胃肠外营养对肝癌术后患者细胞免疫状态的影响. 中国生化药物杂志, 32(1): 63–65.
- 许友卿, 李伟峰, 丁兆坤. 2012. 谷氨酰胺对水生动物免疫的影响及机理. 动物营养学报, 24(3): 406–410.
- 杨丽华, 方展强, 郑文彪, 等. 2003. 辐对鲫鱼鳃和肝超氧化物歧化酶活性的影响. 安全与环境学报, 3(3): 13–16.
- 赵淑华, 李景舜. 2000. 口服六价铬对小鼠氧化性损伤及维生素 C 保护作用的初步研究. 环境与健康杂志, 17(3): 151–153.
- 周传朋, 刘波, 谢骏, 等. 2014. 抗应激剂对运输团头鲂血清生化指标和肝抗氧化指标的影响. 水产科学, 33(1): 8–14.

## 江西九岭山发现灰头鹀

### Chestnut Thrush (*Turdus rubrocanus*) Found in Jiulingshan, Jiangxi Province

2017年2月27日, 在位于江西省宜春市靖安县的九岭山国家级自然保护区利用红外相机(猎科 Lti-6210MC)监测到了灰头鹀(*Turdus rubrocanus*), 经作者查阅文献(黄族豪等 2010, 邵明勤等 2010, 郑光美 2011, 黄慧琴等 2016, 涂飞云等 2016), 确定这是江西首次记录到该鸟种。发现地坐标为 115°16'37.89"N, 29°0'23.91"E, 海拔 1 175 m, 生境为灌丛。红外相机拍摄照片中个体头及颈部灰色, 两翼及尾黑色, 身体栗色, 眼圈黄色, 喙黄色。

灰头鹀属于雀形目(Passeriformes)鹀科(Turdidae)。国内有两个亚种, *rubrocanus* 亚种分布于西藏南部及四川北部和西部, *gouldii* 亚种分布于陕西南部、宁夏、甘肃、西藏东部、青海东南部、云南西部、贵州西北部、四川西部、重庆、湖北西部(郑光美 2011)。此次发现的应为 *gouldii* 亚种。灰头鹀一般单独或成对活动, 但冬季结小群, 常于地面取食(约翰·马敬能等 2000)。

此次在九岭山的发现, 扩展了对灰头鹀在国内分布区域的认识, 但其在江西的具体种群状况尚需进一步调查和研究。

魏振华<sup>①</sup> 李言阔<sup>①\*</sup> 李佳琦<sup>②</sup> 楼智明<sup>③</sup> 舒特生<sup>③</sup> 周鸭仙<sup>④</sup> 邵瑞清<sup>④</sup>

① 江西师范大学生命科学学院 南昌 330022; ② 环境保护部南京环境科学研究所 南京 210042;

③ 九岭山国家级自然保护区管理局 宜春 330600

基金项目 环境保护部生物多样性保护专项;

\* 通讯作者, E-mail: liyankuo@126.com;

第一作者介绍 魏振华, 男, 硕士研究生; 研究方向: 动物生态学; E-mail: weizhenhua\_ah@163.com.

收稿日期: 2017-09-13, 修回日期: 2017-10-26 DOI: 10.13859/j.cjz.201801024