

低盐对菊黄东方鲀幼鱼生长、存活、耗氧、鳃 Na^+/K^+ -ATP 酶以及肝抗氧化酶的影响

施永海 张根玉 刘建忠 张海明 刘永士

上海市水产研究所 上海市水产技术推广站 上海 200433

摘要: 通过探讨低盐 (盐度为 0、1.7、5、10、15 和 20) 对菊黄东方鲀 (*Takifugu flavidus*) 幼鱼生长、存活、耗氧、鳃 Na^+/K^+ -ATP 酶以及肝抗氧化酶的影响, 研究了菊黄东方鲀幼鱼对低盐的适应性。结果显示, 菊黄东方鲀幼鱼在盐度 0 组实验 3 周后全部死亡; 盐度 1.7 组实验 6 周幼鱼大量死亡, 最后成活率相当低, 仅 17.33%; 盐度 5、10、15 和 20 组的幼鱼在整个实验中没有出现死亡现象。全长特定生长率在盐度 1.7 ~ 20 组之间没有显著差异。体重特定生长率, 1.7 盐度组比其他盐度组显著低 ($P < 0.05$), 5 ~ 20 盐度组之间没有显著差异 ($P > 0.05$)。最高的全长特定生长率和最高的体重特定生长率均出现在 10 盐度组。前 6 周的饵料系数在盐度 1.7 ~ 20 组之间没有显著差异, 但最高 (1.27) 和最低 (1.17) 的饵料系数分别出现在 1.7 和 10 盐度组, 总饵料系数在 5 ~ 20 盐度组之间没有显著差异。幼鱼的耗氧率在 5 ~ 20 盐度组之间没有显著差异, 但最低的耗氧率出现在 10 盐度组。最低的鳃 Na^+/K^+ -ATP 酶 (NKA) 活性出现在 10 盐度组, 5 ~ 20 盐度与 NKA 活性的关系可以用二次函数来拟合 ($y = 0.0832x^2 - 2.1252x + 20.915, r^2 = 0.9779$), 由此得到理论上最低 NKA 活性值出现在盐度 12.77。肝超氧化物歧化酶 (SOD) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) 活性在盐度 1.7 ~ 20 组之间均无显著差异, 而 10 和 15 盐度组的过氧化氢酶 (CAT) 活性比 1.7 和 20 盐度组的显著低 ($P < 0.05$), 1.7 ~ 20 盐度与 CAT 活性关系可以用二次函数来拟合 ($y = 0.2577x^2 - 5.8076x + 87.357, r^2 = 0.8771$), 由此得到理论上最低 CAT 活性值出现在盐度 11.27。研究结果表明, 盐度 1.7 是菊黄东方鲀幼鱼的生存极限低盐, 盐度 5 以上已经能适合其存活和生长, 盐度 10 ~ 15 是菊黄东方鲀幼鱼的最适宜盐度范围, 适当降低盐度对菊黄东方鲀幼鱼的养殖生产是有利的。建议菊黄东方鲀幼鱼养殖盐度至少在 5 以上, 最好在 10 ~ 15 范围。

关键词: 菊黄东方鲀; 幼鱼; 生长; 耗氧; Na^+/K^+ -ATP 酶; 抗氧化酶

中图分类号: Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2015) 03-415-11

Effects of Low Salinity on the Growth, Survival, Oxygen Consumption, Gill Na^+/K^+ -ATPase, and Liver Antioxidase of Young Fish Tawny Puffer *Takifugu flavidus*

基金项目 国家公益性行业 (农业) 科研专项 (No. 201203065), 上海长江口主要经济水生动物人工繁育工程技术研究中心项目 (No. 13DZ2251800);

第一作者介绍 施永海, 男, 教授级高级工程师; 研究方向: 水产养殖、繁殖生物学及水环境监测; E-mail: yonghais@163.com.

收稿日期: 2014-08-10, 修回日期: 2015-01-15 DOI: 10.13859/j.cjz.201503012

SHI Yong-Hai ZHANG Gen-Yu LIU Jian-Zhong ZHANG Hai-Ming LIU Yong-Shi

Shanghai Fisheries Research Institute, Shanghai Fisheries Technical Extension Station, Shanghai 200433, China

Abstract: Tawny puffer (*Takifugu flavidus*) is a species considered to have potential for aquaculture in China. The ability of tawny puffer young fish to adapt to the low salinity environment was studied by measuring their growth, survival, oxygen consumption, gill Na^+/K^+ -ATPase, and liver antioxidase of young fish at different salinity (0, 1.7, 5, 10, 15, and 20). Data were analyzed by using the one-way ANOVA after arcsin-transformation of data in percentages, followed by Student-Newman-Keuls test (SNK). All analyses were performed with a significance level of $P < 0.05$. The results showed that all tawny puffer young fish at salinity 0 died 3 weeks later, while a great number of fish at salinity of 1.7 died in 6 weeks after experiment started, the final survival rate was very low (17.33%). No any fish died at salinity in 5 to 20 during experimental process (Fig. 1, Table 1). Although no significant difference was observed in total length specific growth rate among fish at salinity 1.7 - 20, the body weight specific growth rate in fish at 1.7 salinity was significantly lower than those at the rest salinity treatment group ($P < 0.05$). Both the highest total length specific growth rate and the highest body weight specific growth rate were found in fish at salinity 10 (Fig. 1, Table 1). The highest and lowest feed coefficient were found at fish group at salinity in 1.7 and in 10, respectively although no significant difference was observed in feed coefficient in fish group at salinity 1.7 - 20 during first six weeks experiment. In addition, no significant difference was observed in total feed coefficient among fish group at salinity 1.7 - 20 (Table 2). Although no significant difference was observed in the oxygen consumption rate among fish at salinity 5 - 20, the lowest oxygen consumption rate was found in fish at salinity 10 (Table 2). The lowest gill Na^+/K^+ -ATPase (NKA) activity was also found in fish at salinity 10 (Table 2). The relationship between salinity (5 - 20) and the NKA activity was modeled by a quadratic equation ($y = 0.0832x^2 - 2.1252x + 20.915$, $r^2 = 0.9779$) (Fig. 2). From the equation, the lowest NKA activity was predicted to occur at salinity of 12.77. Although no significant difference was observed in liver superoxide dismutase (SOD) and glutathion peroxidase (GSH-PX) activities among fish at salinity 1.7 - 20, the CAT activity at salinity 10 and 15 were significantly lower than that at salinity 1.7 and 20 (Table 3). The CAT activities of fish showed a parabolic relationship with salinity at (1.7 - 20) ($y = 0.2577x^2 - 5.8076x + 87.357$, $r^2 = 0.8771$) (Fig. 2), the lowest CAT activity was predicted to occur in fish at salinity of 11.27. Therefore, the critical survival low salinity of tawny puffer young fish is close to 1.7, the salinity not less than 5 can be suitable for the young fish growth and survival. The optimal salinity range for tawny puffer young fish is from 10 to 15. The results suggest that cultural salinity of tawny puffer young fish is not at less than 5, and the best cultural salinity range is 10 - 15. Appropriate reduction salinity in the cultural production of tawny puffer young fish is reasonable. The results of this study are useful in increasing the cultural production of the species.

Key words: *Takifugu flavidus*; Young fish; Growth; Oxygen consumption; Na^+/K^+ -ATPase; Antioxidase

菊黄东方鲀 (*Takifugu flavidus*) 隶属于硬骨鱼纲鲀形目 (Tetraodontiformes) 鲀科 (Tetraodontidae) 东方鲀属。其主要分布于我

国东海、黄海及渤海, 属于温带近海底层鱼类 (杨竹舫等 1991), 一般不作长距离的洄游, 菊黄东方鲀具有很高的药用、食用及工业用价

值(Shi et al. 2010),同时也因其品质好,菊黄东方鲀在国内东方鲀属鱼类中价格最高。从2001年开始,菊黄东方鲀的人工繁殖(虞建辉等 2002)和养殖逐渐兴起,养殖面积日益扩大,其产业主要分布于我国的沿海地区。

在沿海地区,水环境的盐度随着潮汐、径流以及降雨而频繁变化(Shi et al. 2008),而且盐度是海水和半咸水的鱼类生活史中重要的外部影响因子之一(Kamler 2002),盐度影响着许多鱼类的受精卵孵化(Hart et al. 1995)、生长(Gracia-López et al. 2004)、发育(Zhang et al. 2010)、存活(Fielder et al. 2005)、饵料利用(Imsland et al. 2008)、肌肉营养成分(Kikuchi et al. 2007)、新陈代谢(Shi et al. 2011)、血清渗透压(屈亮等 2010)及离子浓度(Imsland et al. 2008)、ATP酶(屈亮等 2010)及免疫酶活力(尹飞等 2011)等。

目前,有关盐度对菊黄东方鲀影响的研究,主要集中于受精卵孵化(Zhang et al. 2010)、仔鱼生长(陈林等 2012)和存活(Zhang et al. 2010)及稚鱼的耗氧率(Shi et al. 2011)。低盐环境是指水生生物生活的水环境渗透压低于其等渗点,这样的低盐环境对广盐性鱼类幼鱼生长可能往往有利,同时高生长率也缩短了养殖生产周期,这也在一些鱼类养殖中得到了证实(Okamura et al. 2009)。菊黄东方鲀转食配合饲料后的幼鱼究竟能否在更低的盐度条件下生存?在低盐条件下菊黄东方鲀该阶段幼鱼的生长情况和饵料利用率又怎样?本文采用养殖实验和生化分析手段,研究了低盐对菊黄东方鲀幼鱼生长、存活、饵料系数、耗氧、鳃 Na^+/K^+ -ATP酶以及肝抗氧化酶活性的影响,旨在全面地掌握菊黄东方鲀幼鱼生存最低临界盐度和适宜盐度低限,为低盐度养殖菊黄东方鲀提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用菊黄东方鲀幼鱼是2010年5月初在

上海市水产研究所座落于杭州湾北部沿岸的苗种技术中心基地采用全人工繁殖所得(施永海等 2007),于2010年6月5日开始进行配合饲料的驯养,驯养期间,幼鱼暂养于 20 m^3 的水泥池(池深 $1.2\sim 1.5\text{ m}$,水位 $100\sim 110\text{ cm}$),水体盐度为10,温度为 $23.0\sim 24.0^\circ\text{C}$ 。每天投喂2次,投饵量为鱼体重的 $5\%\sim 8\%$,饵料为含粗蛋白45%的鳗鱼饲料,每天吸底1次,每5 d换水 $2/3$ 。幼鱼驯化养殖10 d后,90%以上的幼鱼能很好地摄食配合饲料。挑选450尾体格健壮的幼鱼作为盐度实验用鱼,全长(36.33 ± 3.19) mm,体重(1.23 ± 0.29) g ($n=180$)。

实验养殖用水为当地自然海水(盐度为10)和浓缩海水配制而成,自然海水使用前经过纳水河、池塘、蓄水池沉淀、消毒、曝气、筛绢网过滤(60目)。淡化用水为当地深井水(盐度0.4),处理方法同上。

1.2 养殖实验设计与日常管理

养殖实验设置盐度梯度为0、1.7(当地河水)、5、10(对照组,当地半咸水)、15和20,每个梯度3个重复,即在1个养殖池(20 m^3)中放置3个网箱(长 1.0 m 、宽 1.0 m 、高 0.9 m),每个网箱随机放实验用鱼25尾,在盐度10稳定1 d之后,按 $5^\circ/\text{d}$ 进行盐度升降(Fielder et al. 2005, Zhang et al. 2010, Shi et al. 2011, 尹飞等 2011)。如实验鱼出现不适反应,则降低驯化速度。实验期间,每天投饵2次,时间为9:00时和15:00时,饵料同驯养期饵料,每次投饵2 h后,收集残饵、清除粪便及网片上的附着物。实验期间自然水温 $24.0\sim 30.0^\circ\text{C}$,自然光周期,光照与黑暗比为12.8:11.2。每天吸底和换水各1次,换水量 $1/2$,连续充气。饲养用水的水质指标为,pH $8.15\sim 8.45$,溶解氧(dissolved oxygen, DO) $\geq 6.5\text{ mg/L}$,总氨氮(total ammonia nitrogen, TAN) $\leq 0.30\text{ mg/L}$,亚硝酸氮(nitrite nitrogen, $\text{NO}_2\text{-N}$) $\leq 0.10\text{ mg/L}$ 。

实验开始时,每个重复各取10尾幼鱼测量记录全长和体重,以后每隔2周对所有幼鱼进行1次体重生长情况检测。养殖实验持续8周共

56 d。实验结束后,所有存活的幼鱼测量记录全长(中国广陆IP54卡尺,测量范围:0~200 mm,精度:0.01 mm)和体重(瑞士METTLER TOLEDO AL204电子天平,测量范围:0~210 g,精度:0.000 1 g)。同时,各盐度组的每个重复各取健康且体重相似的1尾幼鱼作为耗氧率测定的受试鱼暂养于各网箱,再各取2尾幼鱼用于各类酶测定。

1.3 耗氧率测定

耗氧率的测定采用密闭呼吸室法(Shi et al. 2011)。呼吸室是一个购置的大规格锥形瓶,水体约5 L,以实测为准,采用保鲜膜密封。0和1.7盐度组,因为生长试验结束时受试鱼数量太少,故不作处理。5、10、15和20每个盐度组,有4个呼吸室,每个盐度组呼吸室装有同温同盐度的水,其中3个呼吸室内各放置1尾幼鱼,剩下的1个呼吸室不放置鱼,留作空白对照。所有呼吸室都放置在同一水浴池内(28.8~29.0℃)。为避免因为摄食和排泄干扰幼鱼的新陈代谢,受试鱼在受试前24 h不投喂。为把幼鱼个体体重对耗氧率的影响降低到最低限度,所选取受试个体体重范围很窄,为(25.76 ± 0.92) g ($n=12$) (Mean ± SD)。为把应激反应对幼鱼耗氧率的影响降低到最低限度,受试鱼在呼吸室适应30 min左右,直到其鳃盖均匀张合。为减少生物钟节律对受试鱼耗氧的影响,所有测量在一天的同一时间段(8:30~9:30时)自然光照(照度为600~800 lx)条件下进行。

溶解氧水平采用YSI-58溶氧仪(美国,测量范围:0~20 mg/L,精度:0.03 mg/L)测定。每次测量持续1 h左右,直到水中溶解氧饱和度到50%~60%左右结束,以减少溶解氧水平对耗氧率的影响(Meade et al. 2002, Shi et al. 2011)。实验用水装入呼吸室前在30 L的水箱内至少曝气1 h,以确保实验前水体中的初始溶解氧水平保持90%以上。为确保测定结束时溶解氧饱和度保持在60%左右,所有测试前都进行预备实验来估计测定时间。测试结束后,AL204电子天平称量受试鱼体重。

1.4 酶测定方法

养殖实验结束时,每个重复取的2尾鱼组成1个样本,用清水将实验鱼洗净,擦干体表水分,解剖鱼体,取出肝和第二片鳃弓上的鳃丝,用生理盐水冲洗并用滤纸吸干,整个操作在冰盘上进行。取出的鳃丝和肝分别混合后置于-80℃冰箱保存待测;鳃丝和肝分别用于抗氧化酶和 Na^+/K^+ -ATP酶的测定。测定前,先将冷冻样品放到0~4℃冰箱解冻,放入预冷的离心管中,加入9倍体积生理盐水,冰浴匀浆,0~4℃ 3 500 r/min低温离心10 min,取上清液,即刻测定各酶活性。

Na^+/K^+ -ATP酶(Na^+/K^+ -ATPase, NKA)采用超微量 Na^+/K^+ -ATP酶试剂盒(南京建成,货号:A070-2),使用UV-7502CS紫外分光光度计(中国欣茂,波长精度:0.5 nm,波长范围:200~1 000 nm)测定吸光值(波长:636 nm);即每mg组织蛋白中的组织中ATP酶每1 h分解ATP产生1 μmol无机磷的量为1个ATP酶活力单位(U/mg)。

超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性测定采用黄嘌呤氧化法(羟胺法),即用超氧化物歧化酶测试盒(南京建成,货号:A001-1),使用紫外分光光度计(波长:550 nm)测定吸光值;即每mg组织蛋白与1 ml反应液作用40 min, SOD抑制率达50%时所对应的SOD量为一个SOD活力单位(U/mg)。

谷胱甘肽过氧化物酶(glutathion peroxidase, GSH-PX)活性的测定采用5-二硫代硝基苯甲酸法,即用谷胱甘肽过氧化物酶测试盒(南京建成,货号:A005),让GSH和二硫代二硝基苯甲酸作用生成5-二硫代硝基苯甲酸,使用紫外分光光度计(波长:412 nm)测定吸光值;即每mg蛋白质,每1 min扣除非酶反应的作用,使反应体系中GSH浓度降低1 μmol/L为酶活力单位(U/mg)。

过氧化氢酶(catalase, CAT)活性的测定采用钼酸铵法,即用过氧化氢酶测试盒(南京建成,货号:A007-2),使用紫外分光光度计

(波长: 405 nm) 测定吸光值; 即每g组织蛋白中过氧化氢酶(CAT)每秒钟分解吸光度为0.50 ~ 0.55的底物中的过氧化氢相对量为一个过氧化氢酶的活力单位(U/g)。

组织蛋白含量的测定全部采用考马司亮兰法, 采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒, 使用紫外分光光度计(波长: 562 nm)测定吸光值。

1.5 数据处理和统计

所有数据用平均值 ± 标准差(Mean ± SD)表示。用Oneway ANOVA对各盐度组数据差异进行方差分析, 如数据是百分数, 则先采用反正弦函数转换后再进行方差分析。用Student-Newman-Keuls(SNK)法进行多重比较。以 $P < 0.05$ 为差异显著。

全长特定生长率(total length specific growth rate, L_{SGR}), $L_{SGR} = [(\ln L_1 - \ln L_0) / t] \times 100\%$, 式中, L_0 是养殖实验开始时的幼鱼全长(单位mm), L_1 是养殖实验末时的幼鱼全长(单位mm), t 是养殖实验天数(单位d)。

体重特定生长率(body weight specific growth rate, W_{SGR}), $W_{SGR} = [(\ln W_1 - \ln W_0) / t] \times 100\%$, 式中, W_0 是养殖实验开始时幼鱼的体重(单位g), W_1 是养殖实验末时幼鱼的体

重(单位g), t 是养殖实验天数(单位d)。

饵料系数(feed coefficient, F_C), $F_C = W_{feed} / W_{fish}$, W_{feed} 是实验期间幼鱼的总摄食量(单位g), W_{fish} 是实验期间幼鱼的总增重量(单位g)。

耗氧率(oxygen consumption rate, C_{OR}), $C_{OR} = (C_t - C_0) V / (W \cdot T)$ (Meade et al. 2002, Shi et al. 2011), 式中, C_{OR} 为耗氧率, 表示每单位体重的耗氧率[单位mg / (g·h)], C_t 是实验前后测试瓶内溶解氧差值(单位mg/L), C_0 是实验前后空白对照瓶内溶解氧差值(单位mg/L), W 是幼鱼的体重(单位g), V 为呼吸室体积(单位L), T 是测试持续时间(h)。

2 结果与分析

2.1 低盐对菊黄东方鲀幼鱼存活和生长的影响

0盐度组(实测盐度0.5)菊黄东方鲀幼鱼每个平行组25尾鱼, 共75尾, 饲养2周后, 3个平行组仅存活4尾, 第3周各平行组实验鱼全部死亡。当地河水组(1.7盐度)的幼鱼养殖前6周没有死亡, 在养殖实验最后2周(养殖43 d至56 d)出现了大量死亡, 养殖实验结束后(56 d)的成活率相当低(17.33%)。5、10、15和20盐度组的幼鱼在8周的养殖实验中均未出现死亡现象(表1)。

表1 低盐对菊黄东方鲀幼鱼成活和生长的影响 ($n = 3$)

Table 1 The effects of low salinity on the growth and survival of young fish tawny puffer (*Takifugu flavidus*)

处理组 Treatment	盐度 Salinity	成活率 (%) Survival rate	全长特定生长率 (%) Total length specific growth rate	体重特定生长率 (%) Body weight specific growth rate
0	0.50 ± 0.00*	0.00 ± 0.00 ^a		
1.7	1.73 ± 0.08	17.33 ± 6.11 ^b	1.61 ± 0.05 ^a	4.55 ± 0.14 ^a
5	5.08 ± 0.06	100.00 ± 0.00 ^c	1.73 ± 0.04 ^a	5.03 ± 0.06 ^b
10	9.88 ± 0.20	100.00 ± 0.00 ^c	1.75 ± 0.11 ^a	5.23 ± 0.22 ^b
15	14.64 ± 0.49	100.00 ± 0.00 ^c	1.63 ± 0.04 ^a	4.93 ± 0.10 ^b
20	19.71 ± 0.19	100.00 ± 0.00 ^c	1.68 ± 0.04 ^a	5.00 ± 0.11 ^b

同列中标注不同小写字母的数据间差异显著 ($P < 0.05$); * 表示此盐度的样本数为56。

Mean values within a column followed by different letters were significantly different ($P < 0.05$); * The salinity sample size is 56.

0盐度组(实测盐度0.5)在养殖2周后,体重比其他组的显著低($P < 0.05$)。在养殖第4周,0盐度组没有存活的鱼,河水组(1.7盐度)的幼鱼体重比其他组的显著低($P < 0.05$),养殖第6周河水组幼鱼体重同样显著低于其他组。到养殖第8周实验结束时,10和15盐度组的幼鱼体重与20盐度组的以及5盐度组的均没有显著差异($P > 0.05$),但20盐度组幼鱼体重比5盐度组的显著高($P < 0.05$);河水组(1.7盐度)的幼鱼体重比10、15和20盐度组的显著低($P < 0.05$),但和5盐度组的没有显著差异($P > 0.05$) (图1)。56 d实验结束时,全长特定生长率在盐度1.7以上各组之间无显著差异($P > 0.05$);体重特定生长率1.7盐度组的比其他盐度组的显著低($P < 0.05$),5~20盐度组之间均无显著差异($P > 0.05$);最高的全长特定生长率

(1.75%)和最高的体重特定生长率(5.23%)均出现在10盐度组(表1)。

2.2 低盐度对菊黄东方鲀幼鱼饵料系数、耗氧率以及鳃 Na^+/K^+ -ATP酶的影响

菊黄东方鲀幼鱼在1.7~20盐度下前6周的饵料系数没有显著差异($P > 0.05$),但最高(1.27)和最低(1.17)的饵料系数分别出现在1.7和10盐度组。到第8周实验结束时,因为1.7盐度组在第7~8周时出现大量死亡现象,所以没有把该组的饵料系数统计进去,在5~20盐度组之间,各组的总饵料系数没有显著差异($P > 0.05$) (表2)。在养殖8周后,菊黄东方鲀幼鱼的耗氧率在5~20盐度组之间没有显著差异($P > 0.05$),但最低的耗氧率[0.426 mg/(g·h)]出现在10盐度组,高于或低于10盐度组的耗氧率均升高(表2)。

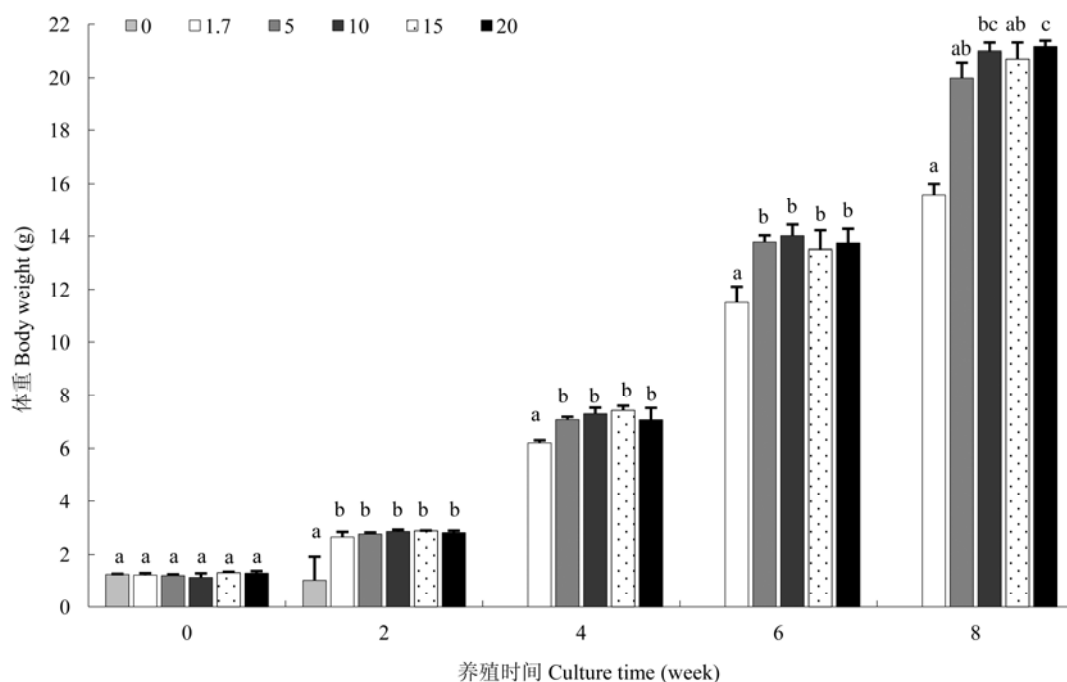


图1 菊黄东方鲀幼鱼在不同盐度下养殖的体重生长

Fig. 1 Body weight of tawny puffer (*Takifugu flavidus*) young fish at age of 8 weeks at different salinities.

数据以平均值 \pm 标准差 ($n = 3$) 表示; 在同一养殖时间不同处理组间标注不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

The data to Mean \pm SD ($n = 3$); Different letters within the same culture time indicate significant difference ($P < 0.05$) among treatments.

表 2 低盐对菊黄东方鲀幼鱼的饵料系数、耗氧率以及鳃 Na⁺/K⁺-ATP 酶的影响 (n = 3)Table 2 The effects of low salinity on feed coefficient, oxygen consumption rate, and gill Na⁺/K⁺-ATPase of young fish tawny puffer (*Takifugu flavidus*)

盐度组 Salinity	前 6 周的饵料系数 Feed coefficient of first six weeks	总饵料系数 Total feed coefficient	耗氧率[mg / (g·h)] Oxygen consumption rate	Na ⁺ /K ⁺ -ATP 酶 (U/mg) Na ⁺ /K ⁺ -ATPase
1.7	1.27 ± 0.06 ^a			10.80 ± 0.40 ^{ab}
5	1.18 ± 0.03 ^a	1.30 ± 0.03 ^a	0.461 ± 0.086 ^a	12.51 ± 2.04 ^b
10	1.17 ± 0.02 ^a	1.28 ± 0.00 ^a	0.426 ± 0.134 ^a	7.56 ± 2.24 ^a
15	1.22 ± 0.05 ^a	1.30 ± 0.04 ^a	0.471 ± 0.109 ^a	8.18 ± 0.81 ^{ab}
20	1.21 ± 0.03 ^a	1.28 ± 0.00 ^a	0.478 ± 0.030 ^a	11.55 ± 2.48 ^{ab}

同列中具不同小写字母的值表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Mean values within a column followed by different letters were significantly different ($P < 0.05$).

菊黄东方鲀幼鱼在各盐度下养殖8周后, 鳃 Na⁺/K⁺-ATP酶活性有显著的差异, 10盐度组的 Na⁺/K⁺-ATP酶活性比5盐度组的显著低 ($P < 0.05$), 而1.7、15、20盐度组的 Na⁺/K⁺-ATP酶活性与10盐度及5盐度组的均无显著差异 ($P > 0.05$)。最低的 Na⁺/K⁺-ATP酶活性出现在10盐度组 (表2)。若去除成活率相当低 (17.33%) 的1.7盐度组, 盐度与 Na⁺/K⁺-ATP酶活性做回归得到二次函数 ($y = 0.083 2 x^2 - 2.125 2 x + 20.915$, $r^2 = 0.977 9$), 据此方程可以推算出理论上最低 Na⁺/K⁺-ATP酶活性值出现在盐度 12.77 (图2)。

2.3 低盐度对菊黄东方鲀幼鱼肝抗氧化酶的影响

菊黄东方鲀幼鱼肝的SOD和GSH-PX活性在盐度1.7 ~ 20组之间均没有显著差异 ($P > 0.05$)。10和15盐度组幼鱼CAT活性比1.7和20盐度组显著低 ($P < 0.05$), 5盐度组的CAT活性与其他盐度组均无显著差异 ($P > 0.05$) (表3)。通过盐度与CAT活性做回归得到二次函数 ($y = 0.257 7 x^2 - 5.807 6 x + 87.357$, $r^2 = 0.877 1$), 通过此方程可以得到理论上最低CAT活性值出现在盐度11.27 (图2)。

3 讨论

3.1 低盐对菊黄东方鲀幼鱼存活和生长的影响

低盐会给生活在沿海及海洋鱼类的存活和生长造成很大的影响, 特别是那些大洋鱼类: 当外界水环境盐度低于鱼类的适宜盐度范围, 鱼类会通过消耗体内的能量来维持其体内的离子平衡, 这可能会造成生长缓慢; 当盐度处于鱼类能生存的极限值附近时, 鱼类会表现出一些生理功能的紊乱, 表面上会出现生长停滞甚至负生长, 同时也有一些虚弱的个体因没有能力承受外界的离子压力差而出现死亡; 到盐度低于鱼类能生存的临界范围, 鱼类生理功能极度紊乱, 最终出现大量死亡。这些在其他许多鱼类已经得到证实, 如银鲳 (*Pampus punctatissimus*) (Shi et al. 2008)、鲻 (*Mugil cephalus*) (于娜等 2011)、巴西牙鲆 (*Paralichthys orbignyanus*) (Sampaio et al. 2002)、褐牙鲆 (*P. olivaceus*) (张国政等 2008)。本研究中, 0盐度组 (实测盐度0.5) 菊黄东方鲀幼鱼养殖2周后仅存活4尾, 在随后的1周内全部死亡。1.7盐度组幼鱼从实验4周后出现停滞生长, 个体明显比其他高盐度组 (5 ~ 20盐度) 的小, 这种现象一直维持到实验结束, 且1.7盐度组的幼鱼在养殖实验的第7 ~ 8周出现了大量死亡, 最后的成活率相当低 (17.33%), 说明盐度1.7是菊黄东方鲀幼鱼的生存极限低盐。盐度5 ~ 20组的幼鱼在整个实验过程中均未死亡, 56 d实验结束时的全长特定生长率和体重特定生长率在盐度5 ~ 20组之间均无显著差异, 说明

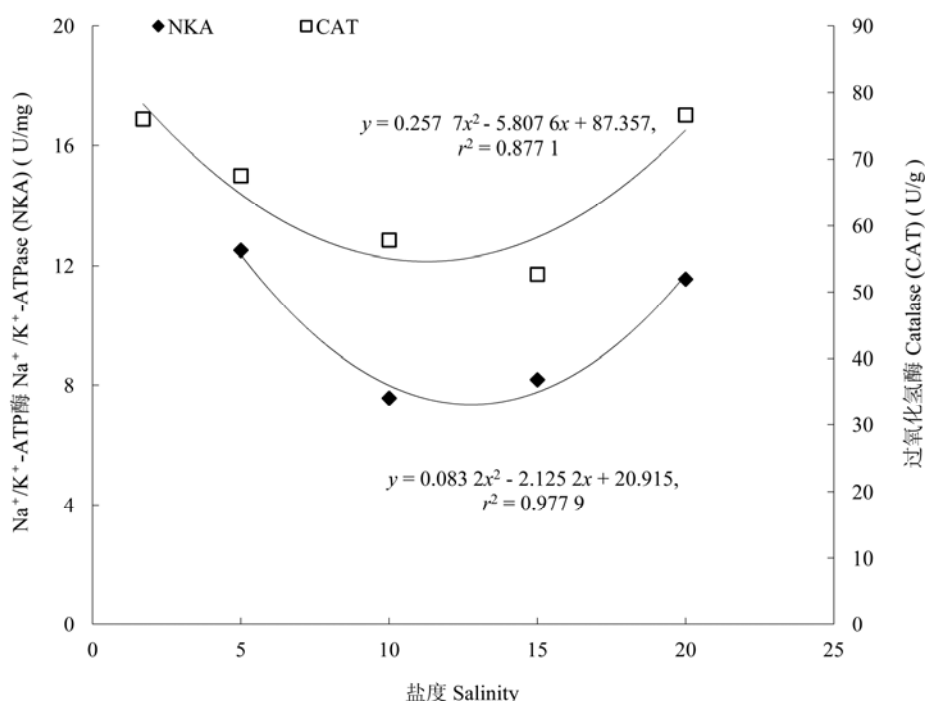


图 2 菊黄东方鲀幼鱼 Na⁺/K⁺-ATP 酶 (NKA) 及过氧化氢酶 (CAT) 与盐度的回归关系

Fig. 2 Regression analysis for the relationship between salinity and Na⁺/K⁺-ATPase (NKA), and catalase (CAT) of tawny puffer (*Takifugu flavidus*) young fish

表 3 盐度对菊黄东方鲀幼鱼肝抗氧化酶的影响 (n = 3)

Table 3 The effect of low salinity on liver antioxidant of young fish tawny puffer (*Takifugu flavidus*)

盐度组 Salinity	超氧化物歧化酶 (SOD) Superoxide dismutase (U/mg)	谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-PX) Glutathion peroxidase (U/mg)	过氧化氢酶 (CAT) Catalase (U/g)
1.7	55.42 ± 5.05 ^a	2.54 ± 0.22 ^a	75.95 ± 1.31 ^b
5	56.97 ± 5.33 ^a	0.42 ± 0.19 ^a	67.54 ± 9.86 ^{ab}
10	51.97 ± 7.08 ^a	1.69 ± 1.43 ^a	57.82 ± 9.06 ^a
15	47.25 ± 4.07 ^a	0.62 ± 0.16 ^a	52.72 ± 3.42 ^a
20	54.46 ± 3.85 ^a	1.49 ± 1.22 ^a	76.56 ± 6.84 ^b

同列中具不同小写字母的值表示差异显著 (P < 0.05)。

Mean values within a column followed by different letters were significantly different (P < 0.05).

盐度5以上的环境适合菊黄东方鲀幼鱼存活和生长。另外，最高的全长特定生长率和最高的体重特定生长率均出现在盐度10组，可能盐度10是菊黄东方鲀幼鱼最佳生长的盐度，也说明适当降低盐度可以提高菊黄东方鲀幼鱼生长率。

在不同发育阶段，盐度对鱼类的影响存在差异 (Zhang et al. 2010)。从盐度对生长和存活

的影响方面来说，菊黄东方鲀幼鱼和仔稚鱼的研究结果相似，但幼鱼更倾向于适应低盐，Zhang 等 (2010) 研究显示，菊黄东方鲀仔鱼适宜生长和存活的盐度范围分别为 15 ~ 25 和 15 ~ 35；陈林等 (2012) 研究显示，菊黄东方鲀仔鱼生长和存活的适宜生长盐度为 10 ~ 30，最适盐度范围为 15 ~ 20；郑惠东 (2008) 研究

结果显示,菊黄东方鲀仔鱼在10~35盐度范围存活相对较好(成活率为21.0%~33.5%),稚鱼最佳生长盐度在10左右,5~20盐度下稚鱼的成活率为73%~79%。本研究结果显示,菊黄东方鲀幼鱼的生存极限低盐和最佳生长盐度分别是1.7和10,盐度5以上就能适合其存活和生长,在5~20盐度下幼鱼成活率100%,这也表明菊黄东方鲀幼鱼对低盐适应性更强。

3.2 低盐度对菊黄东方鲀幼鱼饵料系数、耗氧率以及鳃 Na^+/K^+ -ATP酶的影响

理论上说,在外界环境的渗透压与水生生物体内的渗透压相等,即生物体处于等渗点附近时,生物体调动用来维持其体内离子平衡的鳃ATP酶的量最少(潘鲁青等2006),测得的鳃ATP酶活性最低(于娜等2011),在这样的情况下,生物体用于调节渗透压的能量就相对最小,也就是说,用于调节渗透压的能量可以用于生长,生物体摄入的能量用于生长的相对就多,具体表现在生物体的生长快、能量利用率高(Shi et al. 2011),饵料利用率高,饵料系数就低。在本研究中,10盐度组菊黄东方鲀幼鱼的 Na^+/K^+ -ATP酶活性比5盐度组的显著低,最低的 Na^+/K^+ -ATP酶活性出现在10盐度组,通过二次方程得到的理论上最低 Na^+/K^+ -ATP酶活性值出现在盐度12.77,而盐度1.7已经当达到菊黄东方鲀幼鱼的耐受极限,其鳃 Na^+/K^+ -ATP酶活力反被抑制,数值下降。虽然菊黄东方鲀幼鱼在1.7~20盐度下前6周的饵料系数没有显著差异,但最高和最低的饵料系数分别出现在1.7和10盐度组,到第8周实验结束时,在5~20盐度组之间,各组的总饵料系数没有显著差异。因此,在盐度10~12.77附近,菊黄东方鲀幼鱼的 Na^+/K^+ -ATP酶活性值最低,用于生长的能量也就最高,饵料利用率较高,也说明了适当降低盐度可以提高菊黄东方鲀幼鱼的饲料利用率。

环境最佳条件(如盐度和温度)的确定可以通过两个途径(Shi et al. 2011):一是直接分析其饵料利用情况并以生长及死亡状况来确定;另一种方法是通过分析评估呼吸代谢的强

度来间接确定,呼吸代谢强度是一种能很好反映生物体生理活动的指标,其考虑了能量的消耗和利用(Meade et al. 2002)。耗氧率经常被用来检测水生动物能量利用和应激反应(朱爱意等2007),进而通过对生物体最大生长能的研究来确定其最佳环境条件(Lyytikäinen et al. 1998)。鱼类的耗氧率往往用来检测鱼类能量的消耗情况,鱼类能量消耗小其耗氧率就会低。一般来说,外环境的盐度在鱼类等渗点附近时,鱼类用来调节渗透压的能量最小,其耗氧率就会最小,盐度和耗氧率的关系会呈现“U”型,鱼类耗氧率最低点是其最适盐度点(Aristizabal-Abud 1992);然而,另一些学者的研究也表明,在盐度适宜范围内,海水生物体用于调节渗透压的能量消耗是非常小的(Morgan et al. 1991),盐度变化造成的新陈代谢率变化产生的能量,大多用于行为反应而不是用于调节渗透压(Styczynska-Jurewicz 1970);同时,对于那些经过较长一段时间(如:2周以上)盐度适应后的广盐性种类来说,新陈代谢率随盐度的变化是非常有限的(Claireaux et al. 1999)。菊黄东方鲀是广盐性种类(Shi et al. 2011),本研究幼鱼的耗氧率在5~20盐度组之间没有显著差异,但最低的耗氧率出现在10盐度组,高于或低于10盐度组的耗氧率均升高,盐度与耗氧率呈现“U”型相关,这也再次表明,盐度10是菊黄东方鲀幼鱼的最适宜盐度。

另外,菊黄东方鲀幼鱼的耗氧率与其稚鱼的耗氧率有些不同:稚鱼耗氧率与盐度(5~35)呈现“n”型相关,最高的耗氧率理论预期值产生在盐度23.56的环境(Shi et al. 2011),这结果一方面说明菊黄东方鲀幼鱼用于调节渗透压的能量消耗非常小,而用于生长的能量相对较多;另一方面也表明,菊黄东方鲀稚鱼与幼鱼的呼吸作用对外界盐度变化的反应有所不同。

3.3 低盐度对菊黄东方鲀幼鱼肝抗氧化酶的影响

SOD、CAT和GSH-PX是生物体抗氧化防御

系统的关键酶 (Parihar et al. 1997)。当外源病原入侵机体时, 呼吸爆发和其他免疫过程会产生大量活性氧, 这些活性氧在细胞中累积, 在杀灭病原的同时, 对细胞也造成严重的伤害, SOD、CAT和GSH-PX可以缓解活性氧自由基对机体细胞的损伤, SOD能够清除机体内的 O_2^- , 让其发生歧化, 生成过氧化氢(H_2O_2)和氧气(O_2), 而CAT和GSH-PX两种酶可以将SOD的作用产物 H_2O_2 还原成水(尹飞等 2011)。一般情况下, 抗氧化酶活力升高预示着机体中产生了大量的自由基有待清除(尹飞等 2011)。本研究中, 1.7和20盐度组幼鱼CAT活性出现明显升高, 表明实验盐度的升高或下降导致了菊黄东方鲀幼鱼自由基积累, 会对机体造成氧化损伤, 这时幼鱼肝中CAT被激活并活性增强, 用于及时清除自由基, 银鲳幼鱼(尹飞等 2011)也出现类似现象; 10和15盐度组幼鱼CAT活性比1.7和20盐度组显著低, 理论上最低CAT活性值出现在盐度11.27, 说明幼鱼体内自由基较少, 自由基对机体的损伤就少, 再次说明盐度11.27适合菊黄东方鲀幼鱼。

参 考 文 献

- Aristizabal-Abud E O. 1992. Effects of salinity and weight on routine metabolism in the juvenile croaker, *Micropogonias furnieri* (Desmarest 1823). *Journal of Fish Biology*, 40(3): 471–472.
- Claireaux G, Lagardère J P. 1999. Influence of temperature, oxygen and salinity on the metabolism of the European sea bass. *Journal of Sea Research*, 42(2): 157–168.
- Fielder D S, Bardsley W J, Allan D L, et al. 2005. The effects of salinity and temperature on growth and survival of Australian snapper, *Pagrus auratus* larvae. *Aquaculture*, 250(1/2): 201–214.
- Gracia-López V, Kiewek-Martínez M, Maldonado-García M. 2004. Effects of temperature and salinity on artificially reproduced eggs and larvae of the leopard grouper *Mycteroperca rosacea*. *Aquaculture*, 237(1/4): 485–498.
- Hart P R, Purser G J. 1995. Effects of salinity and temperature on eggs and yolk sac larvae of the greenback flounder (*Rhombosolea tapirina* Günther, 1982). *Aquaculture*, 136(3/4): 221–230.
- Imsland A K, Gústavsson A, Gunnarsson S, et al. 2008. Effects of reduced salinities on growth, feed conversion efficiency and blood physiology of juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture*, 274(2/4): 254–259.
- Kamler E. 2002. Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 12(1): 79–103.
- Kikuchi K, Furuta T, Ishizuka H, et al. 2007. Growth of tiger puffer, *Takifugu rubripes*, at different salinities. *Journal of the World Aquaculture Society*, 38(3): 427–434.
- Lyytikäinen L, Jobling M. 1998. The effect of temperature fluctuations on oxygen consumption and ammonia excretion of underyearling Lake Inari Arctic charr. *Journal of Fish Biology*, 52(6): 1186–1198.
- Meade M E, Doeller J E, Kraus D W, et al. 2002. Effects of temperature and salinity on weight gain, oxygen consumption rate, and growth efficiency in juvenile red-claw crayfish *Cherax quadricarinatus*. *Journal of the World Aquaculture Society*, 33(2): 188–198.
- Morgan J D, Iwama G K. 1991. Effects of salinity on growth, metabolism, and ionic regulation in juvenile rainbow trout and steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) and fall chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 48(11): 2083–2094.
- Okamura A, Yamada Y, Mikawa N, et al. 2009. Growth and survival of eel leptocephali (*Anguilla japonica*) in low-salinity water. *Aquaculture*, 296(3/4): 367–372.
- Parihar M S, Javeri T, Hemnani T, et al. 1997. Response of superoxide dismutase, glutathione peroxidase and reduced glutathione antioxidant defenses in gills of the freshwater catfish (*Heteropneustes fossilis*) to short-term elevated temperature. *Journal of Thermal Biology*, 22(2): 151–156.
- Sampaio L A, Bianchini A. 2002. Salinity effects on osmoregulation and growth of the euryhaline flounder *Paralichthys orbignyanus*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 269(2): 187–196.
- Shi Y H, Zhang G Y, Liu J Z, et al. 2011. Effects of temperature and salinity on oxygen consumption of tawny puffer, *Takifugu*

- flavidus* juvenile. *Aquaculture Research*, 42(2): 301–307.
- Shi Y H, Zhang G Y, Zhu Y Z, et al. 2010. Effects of temperature on fertilized eggs and larvae of tawny puffer, *Takifugu flavidus*. *Aquaculture Research*, 41(12): 1741–1747.
- Shi Z H, Huang X X, Fu R B, et al. 2008. Salinity stress on embryos and early larval stages of the pomfret *Pampus punctatissimus*. *Aquaculture*, 275(1/4): 306–310.
- Styczynska-Jurewicz E. 1970. Bioenergetics of osmoregulation in aquatic animals. *Polskie Archiwum Hydrobiol*, 17: 295–302.
- Zhang G Y, Shi Y H, Zhu Y Z, et al. 2010. Effects of salinity on embryos and larvae of tawny puffer *Takifugu flavidus*. *Aquaculture*, 302(1/2): 71–75.
- 陈林, 周文玉, 潘桂平. 2012. 盐度对菊黄东方鲀受精卵孵化和仔鱼生长的影响. *广东海洋大学学报*, 32(4): 73–77.
- 潘鲁青, 唐贤明, 刘泓宇, 等. 2006. 盐度对褐牙鲆(*Paralichthys olivaceus*) 幼鱼血浆渗透压和鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力的影响. *海洋与湖沼*, 37(1): 1–6.
- 屈亮, 庄平, 章龙珍, 等. 2010. 盐度对俄罗斯鲟幼鱼血清渗透压、离子含量及鳃丝 Na^+/K^+ -ATP酶活力的影响. *中国水产科学*, 17(2): 243–251.
- 施永海, 张根玉, 朱雅珠, 等. 2007. 菊黄东方鲀河口区海水全人工繁育技术研究. *水产科技情报*, 34(3): 99–102, 106.
- 杨竹舫, 张汉秋, 匡云华. 1991. 渤海湾菊黄东方鲀(*Takifugu flavidus*)生物学的初步研究. *海洋通报*, 10(6): 44–47.
- 尹飞, 孙鹏, 彭士明, 等. 2011. 低盐度胁迫对银鲳幼鱼肝脏抗氧化酶、鳃和肾脏ATP酶活力的影响. *应用生态学报*, 22(4): 1059–1066.
- 于娜, 李加儿, 区又君, 等. 2011. 盐度胁迫对鲮鱼幼鱼鳃丝 Na^+/K^+ -ATP酶活力和体含水量的影响. *动物学杂志*, 46(1): 93–99.
- 虞建辉, 周志云. 2002. 菊黄东方鲀低盐度人工育苗技术. *科学养鱼*, (3): 12–13.
- 张国政, 黄国强, 田思娟, 等. 2008. 盐度胁迫及恢复对褐牙鲆幼鱼生长、能量分配和身体成分的影响. *水产学报*, 32(3): 402–410.
- 郑惠东. 2008. 盐度对菊黄东方鲀受精卵发育和仔稚鱼生长的影响. *福建水产*, (3): 12–15.
- 朱爱意, 赵向炯, 付俊, 等. 2007. 褐菖鲉耗氧率及窒息点的初步研究. *海洋水产研究*, 28(1): 95–100.