

盐度、温度对卵形鲳鲆选育群体肝 抗氧化酶活力的影响

刘汝建^{①②} 区又君^{①*} 李加儿^① 苏慧^{①②} 曹守花^{①②} 王永翠^{①②}

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: 通过盐度渐变和温度骤变的方法,分别研究了不同盐度(10、20、30、40)处理和不同温度(18.0℃、21.0℃、24.6℃、29.0℃、32.0℃)处理对卵形鲳鲆(*Trachinotus ovatus*)选育群体肝超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)活力的影响。在实验结束时,盐度10组酶活力与对照组无显著差异($P > 0.05$),盐度20组SOD活力极显著低于对照组($P < 0.01$);盐度40组120 h时,SOD和GPX活力极显著低于对照组($P < 0.01$),CAT活力与对照组差异不显著($P > 0.05$)。18.0℃和21.0℃SOD活力在1、3、6、12、24 h这5个取样时间点均高于对照组,CAT活力在实验结束时(24 h)极显著高于对照组($P < 0.01$);29.0℃SOD和CAT活力在实验结束时(24 h)显著高于对照组($P < 0.05$);32.0℃SOD和CAT活力在5个取样时间点均显著低于对照组($P < 0.05$)。结果表明,适当的盐度或温度变化可以改变卵形鲳鲆肝抗氧化酶活力,达到机体耐受极限时酶活力下降。

关键词: 卵形鲳鲆;盐度;温度;抗氧化酶

中图分类号:Q955 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2013)03-428-09

Effects of Salinity and Temperature on the Activity of Antioxidant Enzymes in Livers of Selective Group of *Trachinotus ovatus*

LIU Ru-Jian^{①②} OU You-Jun^{①*} LI Jia-Er^① SU Hui^{①②} CAO Shou-Hua^{①②} WANG Yong-Cui^{①②}

① *South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science;*

Key Laboratory of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture, Guangzhou 510300;

② *College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China*

Abstract: By changing water salinity gradually and temperature suddenly, the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPX) in livers of selective group of *Trachinotus ovatus* at different salinities (10, 20, 30, 40) and different temperatures (18.0℃, 21.0℃, 24.6℃, 29.0℃, 32.0℃) were studied respectively. At the end of the experiment, in groups with salinity of 10, the activity of enzymes had no significant difference with control groups ($P > 0.05$); in groups with salinity of 20, the activity of SOD was significantly lower than that of control groups ($P < 0.01$). In groups with salinity of 40, the SOD and GPX activities were significantly lower than those of control groups at 120 h ($P < 0.05$), while the CAT activity had no significant difference compared with the control ($P < 0.05$). In groups with temperatures of 18.0℃ and 21.0℃, the activity of SOD was higher than that of control groups at 1, 3, 6, 12, 24 h, while the

基金项目 国家“863”项目(No. 2006AA10A414),中国水产科学研究院基本科研业务费项目(No. 2012A0401, 2013A0501);

* 通讯作者, E-mail: ouyoujun@126.com;

第一作者介绍 刘汝建,男,硕士,研究所;研究方向:鱼类生理生化; E-mail: liurujian2908@163.com。

收稿日期:2012-12-07,修回日期:2013-03-18

activity of CAT was significantly higher than that of controls 24 h ($P < 0.01$). At the end of the experiment (24 h), in groups with temperature of 29°C the activities of SOD and CAT were significantly higher than those in control groups ($P < 0.05$). In groups with temperature of 32.0°C, the activities of SOD and CAT were significantly lower than those of control groups at 5 sampling time points ($P < 0.05$). The results indicate that the change of water salinity and temperature could enhance the antioxidant enzyme activity in *T. ovatus* liver. The activation can be inhibited when the salinity and temperature vary beyond the tolerance range of the body.

Key words: *Trachinotus ovatus*; Salinity; Temperature; Antioxidant enzymes

卵形鲳鲅 (*Trachinotus ovatus*) 隶属于鲈形目 (Perciformes) 鲈亚目 (Pecoidei) 鲳科 (Carangidae) 鲳鲅属, 俗称金鲳、黄腊鲳、红三、红沙等, 其味鲜美, 肉细嫩无刺, 属暖水性中上层鱼类, 适温范围 16 ~ 36°C, 适盐范围 3 ~ 33, 在我国主要分布于南海、东海和黄海 (区又君等 2005), 是国内近年来开发的优质养殖鱼类。但近年来极端天气常造成养殖水体盐度、温度等条件的急剧变化, 导致卵形鲳鲅大量死亡, 对其养殖产业造成重创 (区又君 2008a); 养殖、运输过程的环境变化也常导致大量死亡。研究盐度和温度对卵形鲳鲅肝抗氧化酶活力的影响, 有助于了解其在极端环境下以及环境变化时的机体抗逆力, 为卵形鲳鲅良种选育研究奠定理论基础。

盐度、温度的变化可引起鱼体多种生理应激反应, 并常伴随着鱼体内自由基 (reactive oxygen species, ROS) 的过量产生, 过量产生的自由基若不能得到及时清除可以引起脂质的过氧化, 诱导蛋白质变性, 破坏核酸分子结构等 (Lushchak 2011)。长期处于这种氧化压力下, 将导致鱼体免疫防御能力和抗病力下降, 影响鱼类的正常生长 (孙鹏等 2010)。水产动物对体内自由基的清除主要依靠小分子和高分子抗氧化剂来完成。高分子抗氧化剂包括超氧化物歧化酶 (superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (catalase, CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (glutathione peroxidase, GPX)、谷胱甘肽还原酶 (glutathione reductase, GR) 等 (Livingstone 2001)。我国对卵形鲳鲅已进行了一系列研究 (齐旭东等 2008, 区又君等 2011a, b, 王刚等 2011, 蔡文超等 2012), 但有关盐度、温度对卵

形鲳鲅抗氧化酶活力影响的研究尚未见报道。中国水产科学研究院南海水产研究所自 2008 年以来利用群体选育方法构建了具有生长优势的卵形鲳鲅基础群体, 本文以该选育群体为研究对象, 分别研究了盐度胁迫下肝 SOD、CAT、GPX 活力和温度骤变下肝 SOD、CAT 活力的变化, 了解不同盐度、温度条件下卵形鲳鲅肝抗氧化酶活力的变化规律, 以期了解环境异常所引起的机体生理生化反应提供依据, 为卵形鲳鲅良种选育的抗逆性研究提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 实验材料 实验用幼鱼为南海水产研究所的卵形鲳鲅选育群体, 平均体长 (4.44 ± 0.54) cm ($n = 60$), 平均体质量 (1.62 ± 0.28) g ($n = 60$)。实验前在室内暂养 2 周, 采用经砂滤的自然海区海水, 水温 24 ~ 25°C, 盐度 30, pH 7.9 ~ 8.7, 24 h 连续充气。每天投喂 2 次, 日投饵量为体质量的 3%。每天换水一次, 换水温差不超过 1°C。

1.2 实验设计

1.2.1 盐度对抗氧化酶活力的影响 实验在规格为 50 cm × 30 cm × 30 cm (长 × 宽 × 高) 的水族箱内进行。以经过砂滤的自然海水作为对照组 (盐度 30), 设 3 个平行, 每个平行放鱼 30 尾, 分别设计盐度 10、20、40 共 3 个处理组, 每组 3 个平行, 每个平行放鱼 30 尾。实验期间连续充气, 饲养水体溶氧水平 4.99 ~ 5.50 mg/L。各级盐度采用自然海水加沉淀、曝气和过滤后的自来水或 NaCl 进行调节, 盐度每隔 24 h 降低或升高 5, 在达到实验盐度后, 于 24、48、72、120 h 从各平行组随机取 3 尾幼鱼用于抗氧化

酶活力测定。取样前 24 h 停止投喂。实验在室内进行,实验期间光照为 1 500 lx。

1.2.2 温度对抗氧化酶活力的影响 实验在规格为 50 cm × 30 cm × 30 cm (长 × 宽 × 高) 的水族箱内进行,养殖用水为经砂滤的自然海水,盐度 30, 设 18.0℃、21.0℃、24.6℃、29.0℃、32.0℃ 共 5 个温度组,每组 3 个平行,每个平行放鱼 30 尾,以自然海区的海水温度(24.6℃)作为对照组。实验期间连续充气,饲养水体溶氧水平 4.80 ~ 5.44 mg/L。将幼鱼从对照组(24.6℃)直接放入各温度海水,在放入后的 0 (放入后立即取样的时间作为 0 h)、1、3、6、12、24 h 分别从各平行组随机取 3 尾幼鱼用于抗氧化酶活力测定。取样前 24 h 停止投喂。实验在室内进行,实验期间光照为 1 500 lx。

1.3 酶液制备 取幼鱼置于冰盘上解剖,取其肝,用预冷的生理盐水小心冲洗,然后用吸水纸吸干,称重,放入玻璃匀浆器中,加入 9 倍体积的预冷生理盐水研磨,在冷冻离心机中 3 000 r/min 离心 10 min。取上清液稀释,采用上海佑科 722s 可见光分光光度计进行抗氧化酶活力和蛋白浓度的测定,于 24 h 内测定完毕。

1.4 抗氧化酶活力测定方法 抗氧化酶活力和总蛋白均采用南京建成生产的试剂盒进行检测。

超氧化物歧化酶(SOD):采用黄嘌呤氧化酶法进行测定,通过黄嘌呤及黄嘌呤氧化酶反应系统产生超氧阴离子(O₂·)自由基,后者氧化羟胺形成亚硝酸盐,在显色剂的作用下呈现紫红色,用可见光分光光度计测定(波长 550 nm)吸光度。酶活力单位定义为: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 1 个 SOD 活力单位(U/mg)。

$$\text{SOD 活力 (U/mg)} = \frac{\text{对照管吸光度} - \text{测定管吸光度}}{\text{对照管吸光度}} \div 50\% \times$$

$$\frac{\text{反应液总体积}}{\text{取样量}} \div \text{待测样本蛋白浓度}$$

过氧化氢酶(CAT):采用可见光分光光度

计法进行测定,过氧化氢酶分解 H₂O₂ 的反应可以通过加入钼酸铵而迅速终止,剩余的 H₂O₂ 与钼酸铵作用生成一种淡黄色的络合物,在 405 nm 处测定其吸光度,可计算出 CAT 活力。酶活力单位定义为:每毫克组织蛋白每秒钟分解 1 μmol 的 H₂O₂ 为一个活力单位(U/mg)。

$$\text{CAT 活力 (U/mg)} = (\text{对照管吸光度} - \text{测定管吸光度}) \times 271 \times \frac{1}{60 \times \text{取样量}} \div \text{待测样本蛋白浓度}$$

谷胱甘肽过氧化物酶(GPX):采用化学比色法测定,通过测定酶促反应中还原型谷胱甘肽的消耗求出酶活力,波长 412 nm。酶活力单位定义为:每毫克组织蛋白质,每分钟扣除非酶反应的作用,使反应体系中谷胱甘肽(GSH)浓度降低 1 μmol/L 为 1 个酶活力单位(U/mg)。

$$\text{GPX 活力 (U/mg)} = \frac{\text{非酶管吸光度} - \text{酶管吸光度}}{\text{标准管吸光度} - \text{空白管吸光度}} \times \text{标准管浓度} \times \text{稀释倍数} \div \text{反应时间} \div (\text{取样量} \times \text{待测样本蛋白浓度})$$

总蛋白:采用考马斯亮兰蛋白测定试剂盒进行测定。

1.5 数据处理 实验数据用 Spss 18.0 进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),并采用 Duncan 法进行多重比较, $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。数据结果以平均值 ± 标准差(Mean ± SD)表示,采用 Excel 2007 作图。

2 结果

2.1 不同盐度下肝抗氧化酶活力

2.1.1 超氧化物歧化酶(SOD) 不同盐度处理下卵形鲳鲹肝 SOD 活力变化见图 1A。对于不同盐度同一时间抗氧化酶活力:24 h 和 48 h 时,3 个盐度处理组酶活力均极显著低于对照组($P < 0.01$);72 h 时,盐度 10 和 40 处理组酶活力极显著高于对照组($P < 0.01$),盐度 20 处理组酶活力极显著低于对照组($P < 0.01$);120 h 时,除盐度 10 处理组酶活力与对照组差

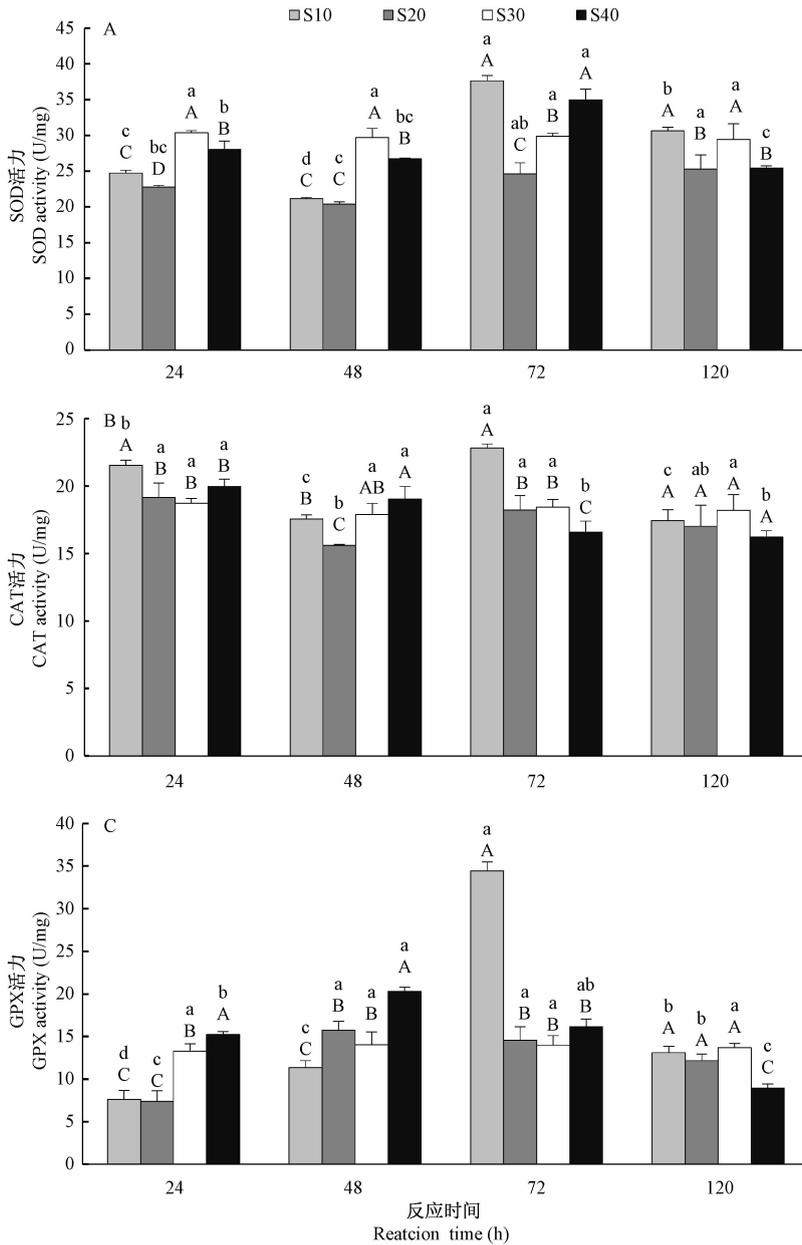


图 1 盐度对卵形鲳鲆肝抗氧化酶活力的影响

Fig. 1 Effect of salinity on antioxidant enzymes activities in the liver of *Trachinotus ovatus*

A. 超氧化物歧化酶 SOD; B. 过氧化氢酶 CAT; C. 谷胱甘肽过氧化物酶 GPX。图表上方大写字母不同,表示同一时间不同盐度之间酶活力存在显著性差异 ($P < 0.05$); 小写字母不同,表示同一盐度不同时间酶活力存在显著性差异 ($P < 0.05$)。图中 S 为盐度。

A. Superoxide dismutase SOD; B. Catalase CAT; C. Glutathione peroxidase GPX different capital letters on the columns mean significant difference in enzyme activity between different salinities at the same time ($P < 0.05$), and different small letters mean significant difference in enzyme activity between different time points under the same salinity ($P < 0.05$). S indicates salinity.

异不显著外 ($P > 0.05$), 其余处理组酶活力均极显著低于对照组 ($P < 0.01$)。

对于不同时间同一盐度组酶活力:盐度 10 处理酶活力呈现波动变化,最大值出现在 72 h ($P < 0.01$);盐度 20 处理组酶活力总体呈现逐渐升高的趋势;对照组(盐度 30)各时间点酶活力差异不显著($P > 0.05$);盐度 40 处理组酶活力最大值出现在 72 h ($P < 0.01$),酶活力总体呈现先升高后下降的趋势,120 h 时酶活力降到最低点。

2.1.2 过氧化氢酶(CAT) 不同盐度处理下卵形鲳鲆肝 CAT 活力变化见图 1B。对于不同盐度同一时间抗氧化酶活力:24 h 时,盐度 10 处理组酶活力极显著高于对照组($P < 0.01$),盐度 20 和 40 处理组酶活力与对照组之间差异不显著($P > 0.05$);48 h 时,盐度 10 和盐度 40 处理组与对照组酶活力不存在显著差异($P > 0.05$),盐度 20 处理组酶活力极显著高于对照组($P < 0.01$),盐度 20 处理组酶活力与对照组差异不显著($P > 0.05$),盐度 40 处理组酶活力低于对照组($P < 0.05$);120 h 时,各处理组酶活力均与对照组不存在显著差异($P > 0.05$)。

对于不同时间同一盐度组酶活力:盐度 10 处理组酶活力呈现波动变化,最大值出现在 72 h ($P < 0.05$);盐度 20 处理组酶活力总体呈现先下降后升高的趋势,最小值出现在 48 h ($P < 0.05$);对照组各时间点酶活力差异不显著($P > 0.05$);盐度 40 处理组酶活力随处理时间的延长逐步下降。

2.1.3 谷胱甘肽过氧化物酶(GPX) 不同盐度处理下卵形鲳鲆肝 GPX 活力变化见图 1C。对于不同盐度同一时间抗氧化酶活力:24 h 时,盐度 10 和 20 处理组酶活力极显著低于对照组($P < 0.01$),盐度 40 处理组酶活力显著高于对照组($P < 0.05$);48 h 时,盐度 10 处理组酶活力低于对照组($P < 0.05$),盐度 20 处理组酶活力与对照组没有显著差异($P > 0.05$),盐度 40 处理组酶活力极显著高于对照组($P < 0.01$);72 h 时,盐度 10 处理组酶活力极显著高于对照组($P < 0.01$),其他两个处理组酶活力与对照组没

有显著性差异($P > 0.05$);120 h 时,盐度 10 和 20 处理组与对照组无显著差异($P > 0.05$),盐度 40 处理组酶活力极显著低于对照组($P < 0.01$)。

对于不同时间同一盐度组酶活力:各盐度处理组酶活力均呈现先升高后下降的趋势。盐度 10 处理组,酶活力最大值出现在 72 h ($P < 0.01$),最小值出现在 24 h ($P < 0.01$);盐度 20 处理组,24 h 时酶活力最低($P < 0.01$),48 h 和 72 h 酶活力差异不显著($P > 0.05$),但是均显著高于 120 h ($P < 0.05$);对照组之间各时间点酶活力没有明显变化($P > 0.05$);盐度 40 处理组,酶活力在 120 h 时达到最低($P < 0.01$)。

2.2 不同温度下肝抗氧化酶活力

2.2.1 超氧化物歧化酶(SOD) 不同温度处理下卵形鲳鲆肝 SOD 活力变化见图 2A。当温度由 24.6℃ 下降到 18.0℃ 时,各取样时间点酶活力均显著高于对照组($P < 0.05$)。

当温度由 24.6℃ 下降到 21.0℃ 时,各取样时间点酶活力均极显著高于对照组($P < 0.01$)。

当温度由 24.6℃ 升高到 29.0℃ 时,0 h、1 h、3 h 和 24 h 时处理组酶活力极显著高于对照组($P < 0.01$),6 h 时与对照组没有显著差异($P > 0.05$),12 h 时处理组酶活力极显著低于对照组($P < 0.01$)。

当温度由 24.6℃ 升高到 32.0℃ 时,除 3 h 时酶活力显著低于对照组外($P < 0.05$),其他时间点酶活力均要极显著低于对照组($P < 0.01$)。

2.2.2 过氧化氢酶(CAT) 不同温度处理下卵形鲳鲆肝 CAT 活力变化见图 2B。当温度由 24.6℃ 下降到 18.0℃ 时,0 h 和 6 h 时酶活力显著低于对照组($P < 0.05$),1 h 和 3 h 时酶活力与对照组不存在显著差异($P > 0.05$),到 12 h 和 24 h 时酶活力极显著高于对照组($P < 0.01$)。

当温度由 24.6℃ 下降到 21.0℃ 时,0 h 时酶活力极显著低于对照组($P < 0.01$),1 h 和 24 h 与 0 h 时结果相反,其余取样时间点酶活力与对照组无显著差异($P > 0.05$)。

当温度由 24.6℃ 升高到 29.0℃ 时,0 h 和 3 h 时与对照组没有显著差异($P > 0.05$),1 h 和 24 h 时酶活力极显著高于对照组($P <$

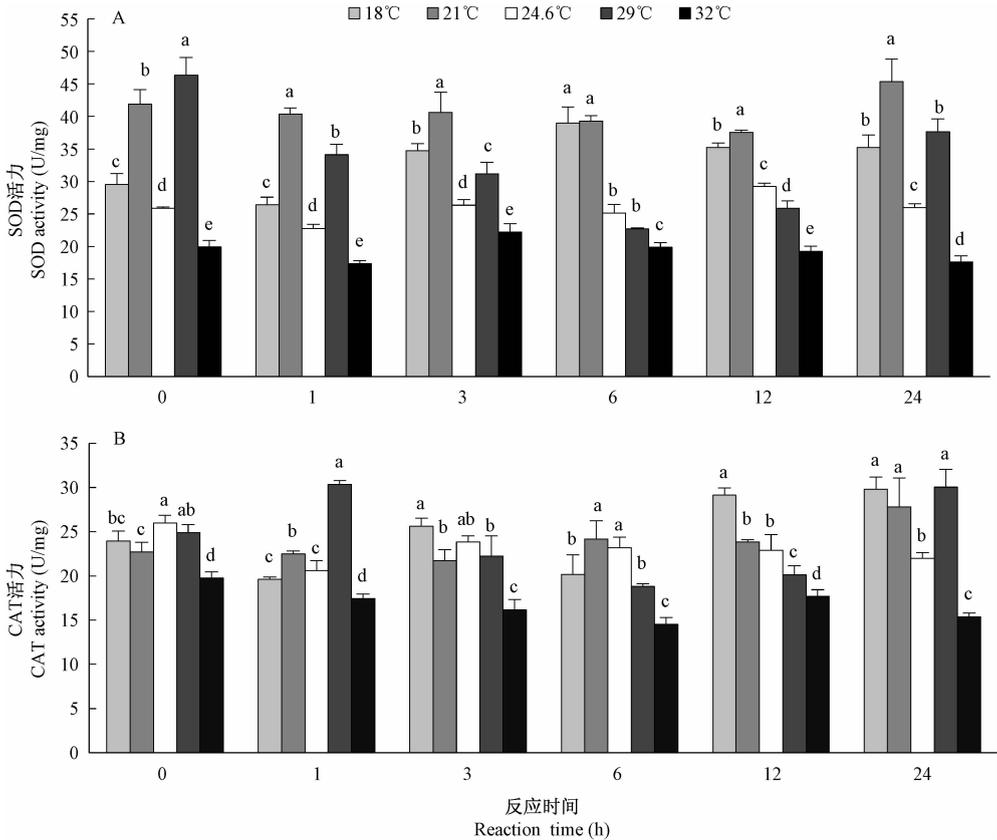


图 2 温度对卵形鲳鲆肝抗氧化酶活力的影响

Fig. 2 Effect of temperature on antioxidant enzymes activities in the liver of *Trachinotus ovatus*

A. 超氧化物歧化酶 SOD; B. 过氧化氢酶 CAT. 不同小写字母表示同一时间不同温度下酶活力存在显著差异 ($P < 0.05$).

A. Superoxide dismutase SOD; B. Catalase CAT. Different small letters indicated significant difference in enzyme activity among different temperatures at the same time ($P < 0.05$).

0.01), 其他两个取样时间点酶活力极显著低于对照组 ($P < 0.01$).

当温度由 24.6°C 进一步升高到 32.0°C 时, 各取样时间点酶活力均极显著低于对照组 ($P < 0.01$).

3 讨论

3.1 盐度对卵形鲳鲆肝抗氧化酶活力的影响

盐度变化与鱼体自由基的产生有关, 当鱼体由低盐度进入高盐度, 或者从高盐度进入低盐度, 必定会经历一个渗透压的调节过程, 从而引起能量的大量消耗 (Boeuf et al. 2001, Ye et al. 2009), 其结果是加速鱼体新陈代谢, 产生大量自由基, 从而导致鱼体处于氧化应激 (oxidative stress) 状态。所谓氧化应激是指鱼体自由基的

骤然增多打破了自由基原有的动态平衡, 最终对细胞成分造成破坏的过程 (Lushchak 2011)。鱼体内抗氧化酶对于自由基的清除有着重要意义。SOD 可以把超氧化物阴离子 ($O_2 \cdot$) 还原为过氧化氢 (H_2O_2), H_2O_2 可以进一步被 CAT 分解为 H_2O 和 O_2 (Filho et al. 2001)。GPX 以谷胱甘肽为底物, 主要功能也是清除 H_2O_2 , 同时还可以清除脂质过氧化物。

本研究中, 当盐度由 30 降低至 10 时, 对抗氧化酶活力产生了明显的影响。24 h 时, CAT 活力高于对照组, SOD 和 GPX 活力均要低于对照组。这与孙鹏等 (2010) 对条石鲷 (*Oplegnathus fasciatus*) 在低盐度下 (8 和 18) 24 h 时抗氧化酶活力的研究结果一致。而尹飞等 (2011) 对银鲳 (*Pampus argenteus*) 的研究结果则表明, 在

盐度 10 处理 24 h 时, GPX 和 SOD 活力升高, CAT 活力反而下降, 这与本研究以及孙鹏等 (2010) 的研究结果存在差异, 推测这是由于不同鱼类对于盐度的耐受性差异造成的。通常情况下, 抗氧化酶活力升高说明机体产生了大量自由基 (Ross et al. 2001)。赵峰等 (2008) 的研究表明, 盐度变化抑制了施氏鲟 (*Acipenser schrenckii*) 肝 SOD 和 CAT 活力, 但是随着驯化时间的延长, 抗氧化酶活力有所恢复, 并认为这与鱼体的渗透压调节过程有关。可见, 在盐度变化过程中, 开始阶段由于渗透压的调节, 对鱼体的新陈代谢造成较大影响, SOD 和 GPX 活力受到抑制, 而 CAT 活力受到激发, 说明在盐度变化过程中不同酶被激活或抑制具有一定的时序性, 这与尹飞等 (2011) 得出的结果相似。随着胁迫时间的延长, 渗透压的变化对鱼体产生的影响进一步加剧, 从而造成 CAT 活力在 48 h 明显下降。在 72 h 时, 鱼体对盐度 10 适应性增强, 为了防止氧化应激对鱼体的损伤, 3 种抗氧化酶活力升高, 以清除体内积累的自由基, 最后, 鱼体恢复到体内自由基的动态平衡状态, 抗氧化酶活力恢复到正常水平。

当盐度由 30 降低至 20 时, CAT 活力在 24 h 维持在正常水平, 48 h 时明显低于对照组, 而 GPX 活力与 CAT 相反, 二者活力呈现互补。这与 Wang 等 (2008) 对斑节对虾 (*Penaeus monodon*) 在低盐度下研究结果一致, 表明 GPX 和 CAT 在清除自由基过程中发挥着相互补充的作用, 同时也存在着一定的竞争。但是随着驯化时间的延长, 盐度 20 处理组并未出现酶活力显著升高的现象, SOD 活力依旧维持在较低水平, CAT 和 GPX 与对照组没有显著差异。一般情况下, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力在等渗点处最低, 从而其活力随盐度变化呈现“U”型 (徐力文等 2007)。范春燕等 (2012) 研究了盐度胁迫对卵形鲳鲹幼鱼 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力的影响, 结果表明在盐度 20 时其酶活力最低, 并认为卵形鲳鲹等渗点可能在盐度 20 左右。同时, 区又君 (2008b) 也指出, 在盐度 20 以下, 卵形鲳鲹生长迅速, 而在等渗点附近用于渗透压调节方面

消耗的能量较少, 从而有利于鱼体的生长。卵形鲳鲹在咸淡水中的生长速度快于海水, 因此, 笔者认为, 盐度 20 可能更接近于卵形鲳鲹的等渗点, 在维持渗透压平衡方面无需消耗额外的能量, 从而减少了自由基的产生。因此, 酶活力只需维持在较低或正常水平就可以保证鱼体自由基的动态平衡。同时, 盐度 20 比盐度 10 更加接近对照组 (盐度 30) 的盐度, 这也可能是造成其酶活力变化明显不同于盐度 10 处理组的原因之一。

当盐度由对照组的 30 升高到 40 时, 24 h 和 48 h 时, CAT 活力与对照组相比变化不明显, GPX 活力明显升高, 说明鱼体内产生了大量脂质过氧化物, 需要 GPX 来快速清除, 进而维持细胞膜的正常功能 (孙鹏等 2010)。大量脂质过氧化物对细胞正常功能的影响可能是造成 SOD 活力下降的重要原因。在 72 h 时, 伴随着脂质过氧化物的清除, SOD 活力明显升高, 鱼体产生了大量的 H_2O_2 。而此时 CAT 活力显著下降, GPX 活力也下降到正常水平。随着胁迫时间的进一步延长, 120 h 时, 3 种抗氧化酶活力均低于对照组。区又君 (2008b) 研究表明卵形鲳鲹在高盐度海水中生长较差。本实验的研究发现, 盐度 40 组卵形鲳鲹死亡率为 6.67%, 而其他盐度未出现死亡。孙鹏等 (2010) 对条石鲷的研究中也出现了在高盐度下酶活力显著降低的情况。根据研究结果推断, 一定程度的高盐度刺激对抗氧化酶的活力起到了激活作用, 但是随着胁迫时间的延长, 鱼体的生理机能受到较大影响, 甚至已经造成机体损伤, 新陈代谢活动降低, 最终导致抗氧化酶活力被抑制。

综上所述, 卵形鲳鲹幼鱼对低盐度的耐受能力较强, 可以通过改变体内抗氧化酶活力来维持体内自由基的动态平衡。但是在高盐度下, 随着胁迫时间的延长抗氧化酶活力明显下降, 导致鱼体免疫力降低, 在实验过程中存活率低于其他盐度组。因此, 在卵形鲳鲹养殖中, 可以通过适当降低水体盐度以达到更好的养殖效果。

3.2 温度对卵形鲳鲆抗氧化酶活力的影响

本研究中,在 0 h 时,各温度处理组 SOD 和 CAT 活力和对照组差异明显,推测是由于温度的骤然变化对鱼体代谢造成了较大的影响,说明卵形鲳鲆对于温度的变化是极为敏感的。低温处理组(18.0℃和 21.0℃)SOD 活力一直高于对照组,CAT 活力到实验结束同样要高于对照组。郭黎等(2012)对 17~28℃条件下大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)肝 SOD 研究发现,17℃时其活力最高,但是 CAT 活力最低。对锯缘青蟹(*Scylla serrata*)低温驯化后发现,低温处理组 SOD 和 CAT 活力要高于对照组,认为这是由于在低温条件下产生的活性氧需要更多的 SOD 和 CAT 来清除,因而抗氧化酶活力升高(孔祥会等 2007)。Malek 等(2004)认为这主要是由于低温增加机体自由基的产生或者低温减慢了自由基的清除造成的,但其机理尚不清楚。对锯缘青蟹的研究还发现 5℃处理组丙二醛含量明显高于对照组,表明锯缘青蟹处于氧化应激状态(孔祥会等 2007)。据此推测,尽管低温条件下抗氧化酶活力最终可以维持在较高水平,但当其活性增加不足以清除鱼体产生的自由基时,仍可使鱼体处于氧化应激状态,这可能是卵形鲳鲆耐低温能力差的重要原因之一。

卵形鲳鲆的适温范围为 16~36℃,在适温范围内鱼体耗氧率随温度的升高而升高,从而产生更多的自由基,因此当温度突变到 29.0℃时为了防止氧化损伤,SOD 活力在 1~3 h 以及 CAT 活力在 1 h 时明显高于对照组。这可视为鱼体新陈代谢的适应(刘伟成等 2006)。杨健等(2007)的研究发现,军曹鱼(*Rachycentron canadum*)肝 SOD 和 CAT 活力随温度(26~32℃)升高而升高;强俊等(2012)的研究发现,尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)肝 SOD 和 CAT 在 28~31℃时活力较高。可见,29℃也更有利于 SOD 和 CAT 活力的表达。但是在 6~12 h 时,SOD 和 CAT 活力都明显低于对照组。Lushchak 等(2006a, b)对金鱼(*Carassius auratus*)的研究也发现,在开始阶段高温促进了 SOD 和 CAT 的活性,但在胁迫 4 h 后抗氧化酶

活力显著下降。这可能与高温对鱼体造成了较大的氧化压力有关(徐冬冬等 2010)。在 24 h 时,SOD 和 CAT 活力明显高于对照组,表明在 29.0℃处理下随着胁迫时间的延长,卵形鲳鲆幼鱼最终可以通过增加抗氧化酶活力来清除体内大量产生的自由基。

当温度由 24.6℃骤变到 32.0℃时,SOD 和 CAT 活力一直明显低于对照组。这与徐冬冬等(2010)对褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)的研究结果一致。推测这主要是由于在 32.0℃高温条件下鱼体内自由基增加较多,抗氧化酶活力不足以抑制细胞内的氧化损伤,进而导致抗氧化酶活力下降。

综上所述,适当的温度变化可以增加卵形鲳鲆幼鱼抗氧化酶活力,在温度降低时可以通过加强鱼体抗氧化能力来提高其对低温的适应性。温度过高时抗氧化酶活力受到抑制。但由于本实验时间较短,有关温度变化对卵形鲳鲆抗氧化酶活力的长期影响有待进一步研究。

参 考 文 献

- Boeuf G, Payan P. 2001. How should salinity influence fish growth? *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 130(4): 411-423.
- Filho D W, Tribess T, Gaspari C, et al. 2001. Seasonal changes in antioxidant defenses of the digestive gland of the brown mussel (*Perna perna*). *Aquaculture*, 203(1/2): 149-158.
- Livingstone D R. 2001. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Marine Pollution Bulletin*, 42(8): 656-666.
- Lushchak V I. 2011. Environmentally induced oxidative stress in aquatic animals. *Aquatic Toxicology*, 101(1): 13-30.
- Lushchak V I, Bagnyukova T V. 2006a. Temperature increase results in oxidative stress in goldfish tissues. 1. Indices of oxidative stress. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 143(1): 30-35.
- Lushchak V I, Bagnyukova T V. 2006b. Temperature increase results in oxidative stress in goldfish tissues. 2. Antioxidant and associated enzymes. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 143(1): 36-41.
- Malek R L, Sajadi H, Abraham J, et al. 2004. The effects of temperature reduction on gene expression and oxidative stress in skeletal muscle from adult zebrafish. *Comparative*

- Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 138(3): 363–373.
- Ross S W, Dalton D A, Kramer S, et al. 2001. Physiological (antioxidant) responses of estuarine fishes to variability in dissolved oxygen. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 130(3): 289–303.
- Wang W, Wu J, Su S. 2008. Effects of salinity stress on antioxidant enzymes of *Penaeus monodon* of two different life stages. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 148(4): 466.
- Ye L, Jiang S G, Zhu X M, et al. 2009. Effects of salinity on growth and energy budget of juvenile *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 290(1/2): 140–144.
- 蔡文超, 区又君, 李加儿, 等. 2012. 卵形鲳鲹免疫器官的早期发育. *南方水产科学*, 8(5): 39–45.
- 范春燕, 区又君, 李加儿, 等. 2012. 急性盐度胁迫对卵形鲳鲹幼鱼 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 酶活性和渗透压的影响. *台湾海峡*, 31(2): 218–224.
- 郭黎, 马爱军, 王新安, 等. 2012. 盐度和温度对大菱鲆幼鱼抗氧化酶活性的影响. *大连海洋大学学报*, 27(5): 422–428.
- 孔祥会, 王桂忠, 李少菁. 2007. 低温驯化锯缘青蟹抗氧化防护, ATPase 及膜脂肪酸组成变化. *水生生物学报*, 31(1): 59–66.
- 刘伟成, 李多云, 黄福勇, 等. 2006. 镉胁迫对大弹涂鱼肝脏黄嘌呤氧化酶和抗氧化酶活性的影响. *应用生态学报*, 17(7): 1310–1314.
- 齐旭东, 区又君. 2008. 卵形鲳鲹不同组织同工酶表达的差异. *南方水产*, 4(3): 38–42.
- 强俊, 任洪涛, 徐跑, 等. 2012. 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. *应用生态学报*, 23(1): 255–263.
- 区又君. 2008a. 低温冰冻灾害对我国南方渔业生产的影响、存在问题和建议. *中国渔业经济*, 6(4): 89–93.
- 区又君. 2008b. 卵形鲳鲹的人工繁殖技术. *海洋与渔业*, 8(9): 24–25.
- 区又君, 李加儿. 2005. 卵形鲳鲹的早期胚胎发育. *中国水产科学*, 12(6): 786–789.
- 区又君, 罗奇, 李加儿. 2011a. 卵形鲳鲹碱性磷酸酶和酸性磷酸酶的分布及其低温保存. *南方水产科学*, 7(2): 49–54.
- 区又君, 罗奇, 李加儿, 等. 2011b. 卵形鲳鲹消化酶活性的研究 I. 成鱼和幼鱼消化酶活性在不同消化器官中的分布及其比较. *南方水产科学*, 7(1): 50–55.
- 孙鹏, 尹飞, 彭士明, 等. 2010. 盐度对条石鲷幼鱼肝脏抗氧化酶活性的影响. *海洋渔业*, 32(2): 154–159.
- 王刚, 李加儿, 区又君, 等. 2011. 温度、盐度、pH 对卵形鲳鲹幼鱼离体鳃组织耗氧量的影响. *南方水产科学*, 7(5): 37–42.
- 徐冬冬, 楼宝, 詹炜, 等. 2010. 高温胁迫对褐牙鲆生长及肝脏抗氧化酶活性的影响. *水产学报*, 34(7): 1099–1105.
- 徐力文, 刘广锋, 王瑞旋, 等. 2007. 急性盐度胁迫对军曹鱼稚鱼渗透压调节的影响. *应用生态学报*, 18(7): 1596–1600.
- 杨健, 陈刚, 黄建盛, 等. 2007. 温度和盐度对军曹鱼幼鱼生长与抗氧化酶活性的影响. *广东海洋大学学报*, 27(4): 25–29.
- 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 酶活性的影响. *应用生态学报*, 22(4): 1059–1066.
- 赵峰, 庄平, 章龙珍, 等. 2008. 施氏鲟不同组织抗氧化酶对水体盐度升高的响应. *海洋水产研究*, 29(5): 65–69.