

刘峰, 刘阳阳, 楼宝, 等. 温度对小黄鱼体内抗氧化酶及消化酶活性的影响[J]. 海洋学报, 2016, 38(12): 76—85, doi: 10. 3969/j. issn. 0253-4193. 2016. 12. 008

Liu Feng, Liu Yangyang, Lou Bao, et al. Effect of water temperature on antioxidant and digestive enzymes activities in *Larimichthys polyactis*[J]. Haiyang Xuebao, 2016, 38(12): 76—85, doi: 10. 3969/j. issn. 0253-4193. 2016. 12. 008

温度对小黄鱼体内抗氧化酶及消化酶活性的影响

刘峰^{1,2}, 刘阳阳^{1,4}, 楼宝^{1,3*}, 陈睿毅^{1,3}, 詹伟^{1,3}, 徐麒翔^{1,3}, 马涛^{1,3},
徐冬冬^{1,3}, 王立改^{1,2}, 毛国民^{1,3}

(1. 浙江省海洋水产研究所, 浙江 舟山 316021; 2. 浙江海洋大学 海洋与渔业研究所, 浙江 舟山 316021; 3. 浙江省海水增养殖重点实验室, 浙江 舟山 316021; 4. 浙江海洋大学 海洋科学与技术学院, 浙江 舟山 316022)

摘要: 为了深入了解不同温度条件下小黄鱼的应激反应, 为小黄鱼的人工养殖提供参考。本次研究以人工繁殖的 4.5 月龄小黄鱼为研究对象, 采用不同水温(27℃、29℃、31℃、32℃、33℃)进行养殖, 以此确定小黄鱼的高温致死温度, 并检测不同养殖水温条件下小黄鱼肝脏和肠道中抗氧化酶(超氧化物歧化酶 SOD、过氧化氢酶 CAT)和消化酶(脂肪酶 LPS、淀粉酶 AMS)的活性, 比较小黄鱼不同组织中 4 种酶活性的变化情况。结果显示, 32℃ 的养殖水温为小黄鱼的初始致死温度; 养殖温度对小黄鱼肝脏和肠道中几种酶的活性均存在显著影响($P < 0.05$); 抗氧化酶和消化酶活性均随着养殖水温的升高呈现先升高后下降的趋势(除了肠道中的 CAT)。另外, 肝脏中抗氧化酶活性强于消化酶, 而肠道中则相反, 表明肝脏侧重于机体免疫反应, 而肠道更侧重于食物消化。通过二次项回归方程拟合了温度与酶活性的回归方程, 只有肝脏和肠道中的 LPS 活性与温度的回归方程有意义, 决定系数 r^2 分别为 0.89 和 0.93(在 0.85 以上)。此外, 肝脏中 LPS 活性与实验鱼体质量呈极显著正相关关系($P < 0.01$), 研究结果为小黄鱼专用配合饲料的研发提供了重要参考。研究还得出, 养殖水温 29℃ 和 31℃ 时, 进行小黄鱼养殖可取得较好效果, 研究结果可为小黄鱼快速养成提供指导。

关键词: 小黄鱼; 温度; 肝脏; 肠道; 抗氧化酶; 消化酶

中图分类号: S917.4

文献标志码: A

文章编号: 0253-4193(2016)12-0076-10

1 引言

小黄鱼(*Larimichthys polyactis*), 又称小黄花, 属于鲈形目, 石首鱼科, 黄鱼属^[1], 是中国重要的经济鱼类^[2]。小黄鱼与大黄鱼、墨鱼、带鱼并称为“四大海产”, 近年来由于过度捕捞、水质污染以及生态环境变化, 小黄鱼的渔获量正在急剧下降^[3], 并且捕获的小

黄鱼出现低龄化、小型化现象^[4]。因此, 有必要采取措施对小黄鱼的种质资源实行保护和管理^[5]。继大黄鱼与墨鱼人工繁殖已经取得成功后, 小黄鱼的人工繁殖也于 2015 年取得成功^[6], 这为小黄鱼的资源保护提供了重要的突破口, 即通过开展小黄鱼的人工繁殖和大规模的人工养殖, 以养殖小黄鱼代替海捕小黄鱼满足消费者的需求, 从而达到保护小黄鱼野生资源

收稿日期: 2016-04-06; 修订日期: 2016-06-27。

基金项目: 浙江省科技计划项目(2015f50006); 舟山市科技计划项目(2014C31061); 宁波市科技计划项目(2016C10055); 浙江海洋学院博士启动基金项目(22135010715)。

作者简介: 刘峰(1987—), 江苏省淮安市人, 博士, 从事水产动物遗传育种研究。E-mail: lengfeng0210@126.com

* 通信作者: 楼宝。E-mail: loubao6577@163.com

量的目的。由于小黄鱼的人工繁殖刚刚取得成功,对于小黄鱼的许多生理习性还需要深入研究了解,以便完善小黄鱼的人工养殖技术。

水生动物的生长受温度、盐度、光照、溶氧等多种环境因素的影响。水体环境的变化将导致鱼体产生应激反应,主要表现为机体内各种酶,如抗氧化酶、消化酶等活性的变化。由于抗氧化酶活性的变化在一定程度上反映鱼类在不同环境条件下的生理状况,因此,可作为衡量鱼类对外界环境适宜程度的重要生理指标^[7-8]。消化酶活性是反映鱼类对不同营养物质利用能力的重要指标^[9],因此,可作为反映鱼类在环境胁迫条件下的摄食生长情况。鱼类是一种变温动物,温度是影响其生理代谢的一种重要的理化因子,表现为鱼体生理生化指标、生长速度、摄食率、消化率等的变化,已有很多研究表明温度可影响鱼类的生长发育和免疫系统以及对病原的易感性^[10-11]。每一种鱼类的人工养殖都需要对其生理特性进行详细了解,以便根据养殖对象的生理特性提供合适的养殖条件,从而实现鱼类的科学健康高效养殖,对于人工养殖小黄鱼的生物学特性,我们还知之甚少,本次研究通过设定不同的养殖温度,对小黄鱼的高温耐受性进行初步研究,研究不同温度条件下小黄鱼体内抗氧化酶和消化酶活性的变化情况,为小黄鱼人工养殖技术的优化提供重要参考。

2 材料与方法

2.1 实验材料

实验在2015年8月初进行,实验鱼为浙江省海洋水产研究所西轩渔业科技岛人工繁殖的小黄鱼群体,选取规格相近、体表无伤、体格健壮的小黄鱼共计540尾,体质量均值 (13.01 ± 1.04) g,实验鱼随机分为6组,每组90尾,每组3个重复,实验容器为200 L的蓝色塑料桶,每个实验桶中放养实验鱼30尾。实验正式开始之前实验鱼暂养7 d。实验所用海水为经高位池沉淀和砂滤池过滤处理之后的海水,海水盐度为26。

2.2 实验方法

首先选用一个实验组的实验鱼进行预实验,以确定小黄鱼致死温度;对实验桶进行升温,升温方式为每24 h升温 1°C ^[12],升温过程中发现在水温达到 33°C 出现个别个体死亡,达到 34°C 后8 h内实验鱼全部死亡。根据预实验结果,正式实验温度设定依次为: 27°C (实验时自然海水温度,变化范围为 $26.6 \sim$

27.5°C)、 29°C 、 31°C 、 32°C 、 33°C 。

实验水温的调控:通过加热棒及温控仪进行水温控制。其中,加热棒型号为WN-B1000 W,功率1 000 W;温控仪型号为WK-SM3。加热过程中,每个实验桶进行缓慢常流水,水流速度大约为30 L/h,确保加热升温速度快于常流水导致的降温速度,从而保证水温基本恒定。调节气阀确保水体含氧量在 5.5 mg/mL 以上。实验过程中,每天早晚两次饲喂人工配合颗粒饲料,颗粒直径为3 mm左右。采取饱食投喂的方式,即实验鱼饱食并且实验桶中无残饵。

2.3 数据采集及统计分析

测量实验鱼初始体质量,采用电子天平,精确到 0.01 g 。为了避免称量过程中对小黄鱼造成机械损伤、减少鱼体带水量导致的误差,本实验采取水中称量法,先用电子天平准确称量海水+器皿的质量,然后再将小黄鱼放入器皿中,计算增加的质量,即为小黄鱼的体质量。实验过程中的各组死亡个体应及时取出并记录死亡时间。实验结束后,死亡个体数与实验初始数量的比值即为死亡率。使用SPSS22软件对不同温度处理和不同组织中酶活力进行单因子方差分析(One-way ANOVA),多重比较用Duncan's进行差异显著性检验,结果用平均值±标准误差(Mean±SE)表示。

2.4 样品制备与测定

在各温度处理条件下养殖7 d后对实验鱼进行取样,每个实验组取9尾,每个平行3尾。首先对取样的实验鱼进行体质量测量,然后用纯水冲洗实验鱼体表2次,将实验鱼移至冰盘冰冻处死,快速解剖,取出实验所需的组织样品:肝脏和肠道的中肠,经预冷的鱼用生理盐水(1.2%)冲洗干净,滤纸吸干,盛装于2 mL离心管中, -80°C 超低温保存,用于各项酶活性指标的测定。需要检测活性的酶包括超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)、脂肪酶(Lipase, LPS)和淀粉酶(Amylase, AMS)。4种酶活性的测定均采用购自南京建成生物工程研究所的试剂盒进行测定。

3 结果

3.1 不同处理组实验鱼的状态

对实验鱼初始体质量进行统计汇总,结果见表1。经单因素方差分析得知各组之间体质量差异不显著,所以可以排除由于实验初始时体质量的差异导致实验结果的误差。

表 1 实验鱼初始体质量数据统计汇总

Tab. 1 Statistical summary of initial body weight of *L. polyactis* used in the experiment

温度/℃	样本量	最小值/g	最大值/g	均值/g	P 值
27	30	7.30	19.57	12.35±3.85	0.758
29	30	8.65	24.86	13.26±4.73	
31	30	7.34	16.23	12.05±3.33	
32	30	9.17	17.33	13.34±3.31	
33	30	7.65	21.43	14.07±5.08	

3.2 小黄鱼高温致死温度确定

实验在设定水温条件下养殖 7 d 结束。在设定的水温条件下养殖过程中,各组实验鱼的反应有所差异。其中,27℃组和 29℃组实验鱼在整个实验过程中摄食均较为旺盛,生长状态良好,未出现个体死亡。31℃组实验鱼未表现出明显应激反应,并且正常摄食。32℃组起初实验鱼无明显应激反应,活力较好,但是基本不摄食,在养殖 2 天之后开始有个体死亡。

33℃组实验鱼偶尔出现狂游现象,完全不摄食,养殖 18 h 后开始出现死亡个体,实验结束时各个实验组实验鱼死亡情况见表 2,从表中可以看出,27℃、29℃和 31℃组均无死亡个体,32℃组总死亡数量为 10 尾,死亡率为 16.67%;而 33℃组的总死亡数量为 68 尾,死亡率为 75.56%,初步断定小黄鱼幼鱼开始死亡的温度为 32℃。

表 2 不同实验温度条件下实验鱼死亡情况

Tab. 2 The mortality of *L. polyactis* under different water temperature

组别	温度/℃	平行 1	平行 2	平行 3	总计	死亡率/%
组 1	27	0	0	0	0	0
组 2	29	0	0	0	0	0
组 3	31	0	0	0	0	0
组 4	32	6	4	—	10	16.67
组 5	33	20	20	28	68	75.56

注:“—”表示数据缺失。

3.3 抗氧化酶变化情况

3.3.1 SOD 变化情况

不同温度处理组中,实验鱼肝脏和肠道中 SOD 活性存在较大差异,如图 1 所示。可以看出,肝脏中 SOD 活性与养殖水温的关系是随着水温升高呈现先上升后下降的趋势,其中,在水温为 31℃的实验组中 SOD 活性最高,为(248.11±33.36)U/mgprot,将该组与其他几组进行差异显著性检验,结果显示,该组酶活性显著大于 32℃、33℃组,但是与 27℃、29℃组酶活性差异不显著($P>0.05$)。同样,肠道中 SOD 活性也是随着水温升高呈现先上升随后迅速下降的态势,酶活性最高达到(205.84±43.26)U/mgprot,同样是水温为 31℃的实验组。经过统计检验发现该组酶活性

与 29℃组差异不显著($P>0.05$),与其余 3 个实验组呈现显著差异($P<0.05$)。由此可知,随着水温的升高肝脏和肠道中 SOD 活性呈现先上升后下降的趋势,并且同一温度处理下,肝脏中 SOD 活性始终显著大于肠道($P<0.05$)。以水温为 X 轴,分别以肝脏和肠道中的 SOD 活性为 Y 轴,进行二次项回归分析,获得两个回归方程的决定系数 r^2 值分别为 0.75 和 0.83。

3.3.2 CAT 变化情况

通过作图比较发现,不同温度处理组实验鱼肝脏和肠道中的 CAT 活性同样存在一些差异,如图 2 所示。肝脏中 CAT 活性随着水温增加从(5.09±1.71)U/mgprot 上升至(5.76±0.91)U/mgprot,随后迅速下降直至(3.73±1.00)U/mgprot,呈现先上升后下降

的趋势,其中在水温为 31℃ 的实验组中, CAT 活性最高,进行差异显著性检验发现该组酶活性显著大于 32℃、33℃ 组,但是与 27℃、29℃ 组差异不显著,此结果与肝脏中 SOD 活性的分析结果较为相似。另外,不同实验组实验鱼肠道中的 CAT 活性也有一些差别,其中酶活性最高为 $(1.50 \pm 0.30) \text{U}/\text{mgprot}$,最低为 $(1.07 \pm 0.58) \text{U}/\text{mgprot}$,但是经统计检验得出各组

之间酶活性差异不显著 ($P > 0.05$),表明温度对肠道中 CAT 活性的影响不显著。比较肝脏和肠道中 CAT 活性可以发现,在几个温度处理中,肝脏中 CAT 活性均显著大于肠道 ($P < 0.05$),这一结果与 SOD 活性分析结果相同。以水温为 X 轴,分别以肝脏和肠道中的 CAT 活性为 Y 轴,进行二次项回归分析,获得两个回归方程的决定系数 r^2 值分别为 0.81 和 0.26。

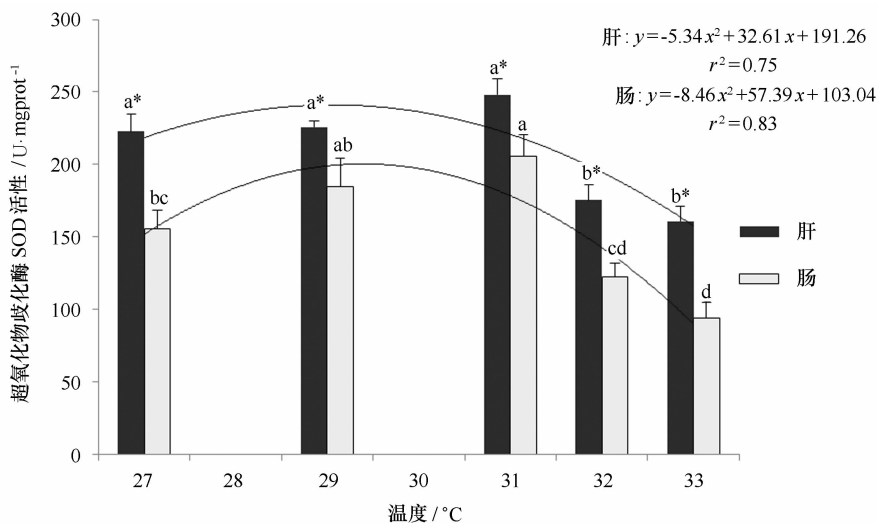


图 1 水温对肝脏和肠道中抗氧化酶 SOD 活性的影响

Fig. 1 Effects of water temperature on SOD activities in liver and intestine of *L. polylepis*

同一组织中,柱上无相同字母标注者表示相互间差异显著 ($P < 0.05$); * 表示同一温度下,肝脏和肠道中 SOD 活性差异显著 ($P < 0.05$)

Letters indicate significant differences of SOD activities among the treatments ($P < 0.05$). * indicate significant differences on SOD activity between the liver and intestine ($P < 0.05$)

3.4 消化酶的变化情况

3.4.1 LPS

图 3 是不同温度处理组实验鱼肝脏和肠道中的 LPS 活性。比较发现,肝脏 LPS 活性随着温度的升高从 $(57.45 \pm 15.72) \text{U}/\text{mgprot}$ 上升到 $(61.11 \pm 9.77) \text{U}/\text{mgprot}$ 随后开始较为缓慢下降,再次呈现出先上升后下降的趋势,其中 29℃ 组中的 LPS 活性最高,但是与 27℃、31℃ 组差异不显著,只显著大于 32℃ 和 33℃ 组。肠道中 LPS 活性同样是呈现先上升后下降的趋势,与肝脏不同的是,肠道中 LPS 活性是在 31℃ 组中最高,经差异性统计检验得出该组的酶活性只显著大于 33℃ 组,与另外几组的酶活性差异不显著。另外,肝脏中 LPS 活性始终显著小于肠道 ($P < 0.05$)。同样,以水温为 X 轴,分别以肝脏和肠道中的 LPS 活性为 Y 轴,进行二次项回归分析,获得两个回归方程的决定系数 r^2 值均较高,分别为 0.89

和 0.93,均大于 0.85,表明回归方程具有统计意义。

3.4.2 AMS

图 4 所示为不同温度条件下肝脏和肠道中的 AMS 活性。从图中可以看出,AMS 与 LPS 一样,即,肝脏和肠道中 AMS 活性随着水温上升呈现先迅速上升后迅速下降的走势,肝脏和肠道中 AMS 活性均是水温为 31℃ 时最高,分别为 $(0.99 \pm 0.21) \text{U}/\text{mgprot}$ 和 $(1.90 \pm 1.39) \text{U}/\text{mgprot}$ 。将酶活性最高组与其余实验组进行差异显著性检验,结果显示,肝脏中的 AMS 活性在 31℃ 组中是显著大于其余 4 个实验组,但是肠道中,31℃ 组的 AMS 活性与 27℃、29℃ 组差异不显著,只显著大于 32℃、33℃ 组。比较两种组织中同种酶活性可知,在 29℃ 和 31℃ 组中肠道 AMS 活性显著大于肝脏,其余 3 个实验组该种酶活性差异不显著。以水温为 X 轴,分别以肝脏和肠道中的 AMS 活性为 Y 轴,进行二次项回归分析,获得两个回归方

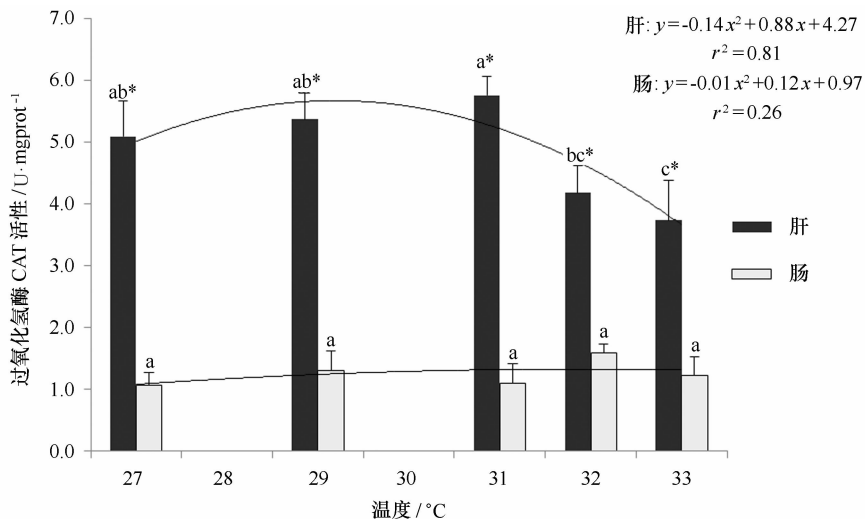


图 2 水温对肝脏和肠道中抗氧化酶 CAT 活性的影响

Fig. 2 Effects of water temperature on CAT activities in liver and intestine of *L. polyactis* 同一组织中,柱上无相同字母标注者表示相互间差异显著 ($P < 0.05$); * 表示同一温度下,肝脏和肠道中 CAT 活性差异显著 ($P < 0.05$)

Letters indicate significant differences of CAT activities among the treatments ($P < 0.05$). * indicate significant differences on CAT activity between the liver and intestine ($P < 0.05$)

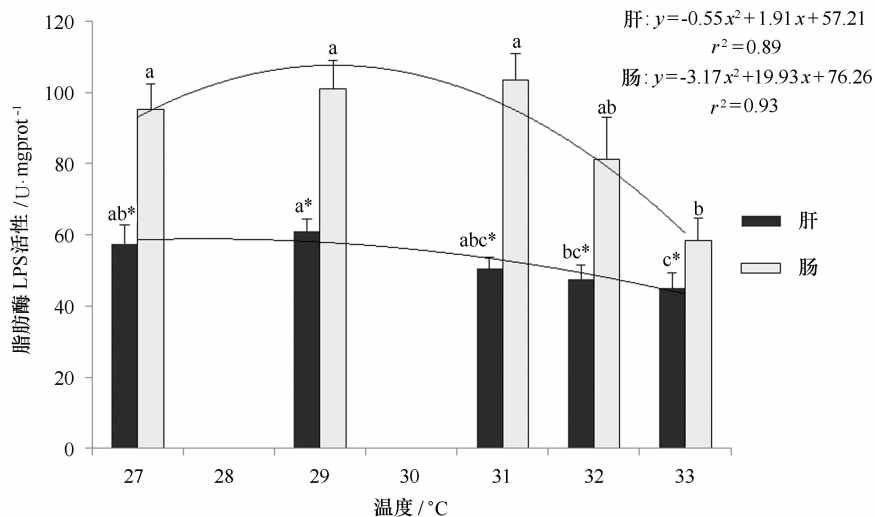


图 3 水温对肝脏和肠道中消化酶 LPS 活性的影响

Fig. 3 Effects of water temperature on LPS activities in liver and intestine of *L. polyactis* 同一组织中,柱上无相同字母标注者表示相互间差异显著 ($P < 0.05$); * 表示同一温度下,肝脏和肠道中 LPS 活性差异显著 ($P < 0.05$)

Letters indicate significant differences of LPS activities among the treatments ($P < 0.05$). * indicate significant differences on LPS activity between the liver and intestine ($P < 0.05$)

程的决定系数 r^2 值分别为 0.49 和 0.78。

比较肝脏和肠道中几种酶活性差异可以发现,肝脏中两种抗氧化酶活性高于肠道,而肠道中的两种消化酶活性则大于肝脏,也就是说,肝脏的抗氧化能力

强于肠道,而肠道的消化能力强于肝脏。

3.5 实验鱼体质量与酶活性相关性分析

进行取样个体体质量与不同组织中几种酶活性的 Pearson 相关性分析研究,结果列于表 3。从表中

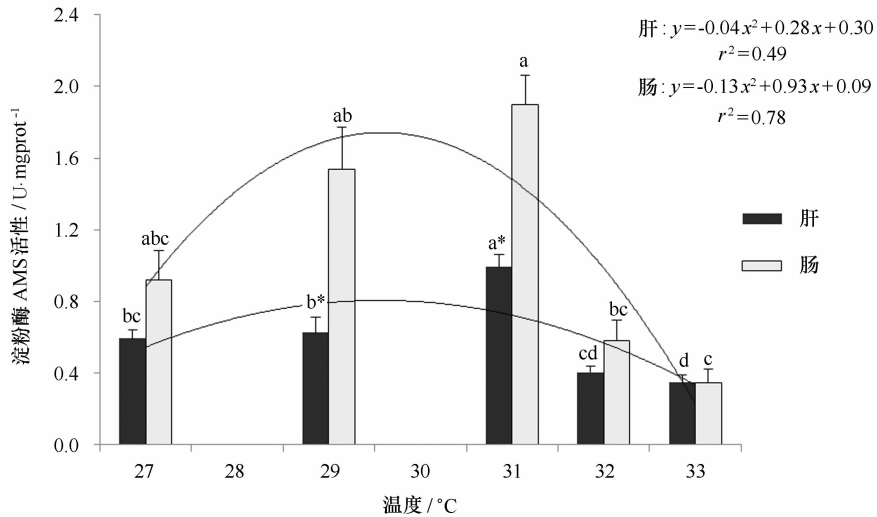


图4 水温对肝脏和肠道中消化酶 AMS 活性的影响

Fig. 4 Effects of water temperature on AMS activities in liver and intestine of *L. polyactis* 同一组织中,柱上无相同字母标注者表示相互间差异显著($P < 0.05$); * 表示同一温度下,肝脏和肠道中 AMS 活性差异显著($P < 0.05$)

Letters indicate significant differences of AMS activities among the treatments ($P < 0.05$). * indicate significant differences on AMS activity between the liver and intestine ($P < 0.05$)

可以看出,肝脏中 LPS 活性与体质量呈极显著正相关关系($P < 0.01$)。肠道中几种酶活性与体质量的相关性均不显著。并且 SOD 与 LPS 相关性不显著、与 CAT 呈极显著负相关($P < 0.01$),相关系数为 -0.479 。肠道中,CAT 活性与其他3种酶活性均呈

现极显著相关关系($P < 0.01$),其中与 LPS 是正相关,与其余两种是负相关。肝脏与肠道中的 SOD 及 AMS 呈现极显著正相关($P < 0.01$),而 CAT、LPS 相关性不显著($P > 0.05$)。

表3 体质量与酶活性相关性分析

Tab. 3 Correlation analysis of body weight and enzyme activity of *L. polyactis*

	体质量	超氧化物歧化酶 SOD	过氧化氢酶 CAT	脂肪酶 LPS	淀粉酶 AMS
体质量	1.000	-0.25	0.119	0.474 **	0.004
超氧化物歧化酶 SOD	0.068	0.663 **	0.456 **	0.251	0.587 **
过氧化氢酶 CAT	-0.173	-0.479 **	-0.25	0.288	0.343 *
脂肪酶 LPS	-0.169	0.213	0.434 **	0.262	0.285
淀粉酶 AMS	0.307	0.701 **	-0.508 **	0.013	0.478 **

注:表中上三角为肝脏中的4种酶活性与体质量的相关系数;下三角为肠道的4种酶活性与体质量的相关系数;对角线上为同种酶在不同组织中活性的相关系数;* 表示在 0.05 水平上显著相关;** 在 0.01 水平上显著相关。

4 讨论

4.1 小黄鱼温度耐受性的特点

在各种水体环境因素中,水温是水产养殖中具有影响作用的一个重要因子^[13],与鱼类的代谢强度密切相关,是影响鱼类生理生化 and 生长发育的重要环境

变量^[14-15]。当养殖水温超过鱼体耐受极限将导致鱼体的代谢紊乱,进而引发鱼体死亡^[16]。研究小黄鱼的致死温度有利于认识到小黄鱼的耐高温性能,可为小黄鱼的养殖提供必要的参考依据,筛选出可利用的耐高温基因,为培育耐高温优良品系奠定基础。研究鱼类耐热能力的主要方法有两种方式:(1)将实验对

象从适应的温度突然移入试验温度^[17],从开始记录到致死所经历的时间,此种方法成为急速变温方式;(2)以一定的升温率标准(如 1℃/h 或 1℃/d)进行加温^[18],直至鱼体出现死亡,此种方法称之为缓慢升温方式。对于这两种方式,研究人员大多倾向于采用后一种,即以一定升温速率进行升温开展研究,因为缓慢升温可使鱼体有充裕的时间适应温度变化,此种升温方式更具有实际意义,能更客观地反映出鱼类本身的热忍耐力^[19]。本次研究采用 1℃/d 的方式进行升温研究小黄鱼的耐高温性能,研究结果显示,小黄鱼幼鱼初始致死温度为 32℃,这一结果与大黄鱼的初始死亡温度相近^[20]。另外,比较不同水温条件下小黄鱼的成活率和酶活性可以得出,小黄鱼在养殖水温为 29℃ 和 31℃ 表现优良,表明此温度条件下进行小黄鱼养殖效果最佳。

4.2 水温对抗氧化酶的影响

环境和生理胁迫可能促使生物机体产生应激反应,进而导致机体的免疫防御能力和抗病力下降^[21]。超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)是生物体应对氧化损伤的重要抗氧化酶,SOD 将生物自身代谢或外界胁迫下产生的一系列有毒物质转化为过氧化氢,而 CAT 作为过氧化氢的清除剂,可将过氧化氢还原成氧分子和水^[22],从而维持细胞和机体的正常生理活动。因此,SOD 和 CAT 活性的改变,可以反映鱼类在不同环境条件下的生理状况。对于不同生物种类、不同品种、不同器官的抗氧化系统往往表现出不同的响应机制^[23],因此,温度的变化将导致抗氧化酶出现不同的变化:第一种是随着水温升高而升高,如军曹鱼(*Rachycentron canadum*)幼鱼体侧肌肉^[24]中 SOD 活性;中华鲟(*Acipenser sinensis*)血清中 CAT 活性^[25];第二种是随着水温升高而降低,如褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)肝脏中 SOD 和 CAT 活性^[26];第三种:随温度的升高先升高后降低,如吉富品系尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)幼鱼肝脏中的 SOD 和 CAT 活性^[14];还有一种是随着温度升高先下降后升高,如吉富罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)幼鱼肠道中的 SOD 和 CAT 活性^[7]。本次研究得出小黄鱼肝脏和肠道组织中 SOD 和 CAT 活性的总体变化形式与上述 4 种形式中的第三种相符,即随着水温的升高 SOD 活性呈现先上升后下降趋势。这种现象表明适当的高温可促进 SOD 和 CAT 活性增加起到免疫保护作用,但是过度的高温将可能导致机体代谢紊乱抑制两种抗氧化酶的活性。

4.3 水温对消化酶的影响

消化酶活性的高低决定着幼鱼对营养物质消化吸收的能力,从而决定其生长发育速度^[27-28]。国内外对一些重要养殖鱼类的消化酶已开展了大量的研究,如刘江华等^[29]研究了 20~50℃ 温度对驼背鲈(*Cromileptes altivelis*)消化酶(蛋白酶、脂肪酶、淀粉酶)活性的影响;黄永春^[30]报道了养殖水温对星洲红鱼(*Oreochromis mossambicus*)消化酶活性的影响;Furné 等^[31]研究意大利鲟(*Acipenser naccarii*)消化道内消化酶活性并与虹鳟鱼(*Oncorhynchus mykiss*)作了对比;付新华等^[32]研究了 1 龄大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)消化道中消化酶的活性。研究消化酶活性对了解鱼类消化蛋白质、碳水化合物、脂肪等营养物质的吸收利用,是研发专用配合饲料的重要基础^[33-34]。鱼类属变温动物,养殖水温的变化将直接影响鱼类的消化酶活性。田相利等^[35]报道指出,在水体盐度为 26 时,半滑舌鲷(*Cynoglossus semilaevis*)幼鱼肝脏和肠道中 LPS 和 AMS 活性随温度的升高(18~27℃)而增加。鲇鱼(*Silurus asotus*)成鱼肝脏和肠道中 LPS 和 AMS 活性同样是随着养殖水温的升高(20~35℃)而升高^[36]。本次研究主要对不同养殖温度条件下,小黄鱼肝脏和肠道中的 LPS 和 AMS 的活性变化情况进行了探讨。结果显示,小黄鱼在养殖水温从 27℃ 上升到 33℃ 过程中,两种消化酶活性表现为先升高后下降,与上述报道有一定差异,推测其原因可能是由于本次研究中部分实验组设定的养殖水温已经超越小黄鱼机体代谢的耐受极限,导致机体代谢出现紊乱,抑制了酶活性正常发挥作用。

已有报道指出,肝脏是鱼类机体新陈代谢和氧气消耗的主要组织,其中的抗氧化酶活性一般高于其他组织^[37];肠道是鱼类重要的消化吸收场所,往往具有较高的消化酶(脂肪酶、淀粉酶)活性^[38]。本次研究中,小黄鱼肝脏中的 SOD 与 CAT 活性要高于在相同条件下肠道中的活性,肠道中 LPS 和 AMS 的活性高于肝脏中的活性,这与上述报道的结论相一致,进而推断,小黄鱼肝脏的主要功能与免疫有关,而肠道的主要功能则在于消化。

分析温度与酶活力的回归关系可以发现,几种酶中,只有 LPS 活性与温度的二次回归方程有意义,其决定系数大于 0.85,其余几种酶活性与温度没有显著的回归关系(决定系数小于 0.85),说明,虽然温度对肝脏和肠道中的抗氧化酶和消化酶活性具有一定的影响,但是温度与酶活性之间并不一定具有显著的数

学函数关系。另外,体质量与酶活性相关性分析结果显示,小黄鱼肝脏中 LPS 活性与体质量呈极显著正相关关系($P < 0.01$),说明个体大的小黄鱼对于脂肪的吸收能力更强。已有报道指出,饲料中脂肪水平适当范围内升高,肝脏中脂肪酶活性也随之升高^[39]。

由此得出,在小黄鱼养殖过程中,随着小黄鱼个体长大,投喂的饲料中可以适当增加脂肪的含量(准确的脂肪含量还需要进一步研究),以便小黄鱼吸收利用,本次研究为小黄鱼的养殖和专用配合饲料的研发提供了重要参考。

参考文献:

- [1] 福建鱼类志编写组. 福建鱼类志[M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1984.
Editing Group of the Ichthyography of Fujian. The Ichthyography of Fujian[M]. Fuzhou: Fujian Science and Technology Press, 1984.
- [2] Li J, Feng F, Yue G H. Twelve novel polymorphic microsatellites in a marine fish species, yellow croaker *Larimichthys polyactis*[J]. Molecular Ecology Notes, 2006, 6(1): 188-190.
- [3] Froese R, Pauly D. Global capture production for *Larimichthys polyactis*[M]// FAO Fishery Statistic. Rome: FAO, 2003.
- [4] 林龙山, 程家骅, 任一平, 等. 东海区小黄鱼种群生物学特性的分析[J]. 中国水产科学, 2004, 11(4): 333-338.
Lin Longshan, Cheng Jiahua, Ren Yiping, et al. Analysis of population biology of small yellow croaker *Pseudosciaena polyactis* in the East China Sea region[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2004, 11(4): 333-338.
- [5] Wang Le, Liu Shufang, Zhuang Zhimeng, et al. Mixed-stock analysis of small yellow croaker *Larimichthys polyactis* providing implications for stock conservation and management[J]. Fisheries Research, 2015, 161: 86-92.
- [6] 陈睿毅, 楼宝, 詹炜, 等. 小黄鱼亲鱼驯养及苗种繁育[J]. 科学养鱼, 2016(1): 42-43.
Chen Ruiyi, Lou Bao, Zhan Wei, et al. Brood fish domesticating and fry breeding of small yellow croaker *Larimichthys polyactis*[J]. Scientific Fish Farming, 2016(1): 42-43.
- [7] 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 Haizhen, Wang Hui, Li Ruiwei, 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.
- [8] 熊向英, 黄国强, 彭银辉, 等. 低氧胁迫对鲮幼鱼生长、能量代谢和氧化应激的影响[J]. 水产学报, 2016, 40(1): 73-82.
Xiong Xiangying, Huang Guoqiang, Peng Yinhui, et al. Effect of hypoxia on growth performance, energy metabolism and oxidative stress of *Mugil cephalus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2016, 40(1): 73-82.
- [9] 梅景良, 马燕梅, 张红星, 等. 夏、冬两季黑鲷消化酶活力的比较及反应温度和 pH 对酶活力的影响[J]. 海洋学报, 2006, 28(4): 167-171.
Mei Jingliang, Ma Yanmei, Zhang Hongxing, et al. Comparison between digestive enzyme activities of *Sparus macrocephalus* in summer and winter and study on the effects of reactive temperature and pH on these activities[J]. Haiyang Xuebao, 2006, 28(4): 167-171.
- [10] Martínez-Álvarez R M, Morales A E, Sanz A. Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors[J]. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 2005, 15(1/2): 75-88.
- [11] Bolton T F, Havenhand J N. Physiological acclimation to decreased water temperature and the relative importance of water viscosity in determining the feeding performance of larvae of a serpulid polychaete[J]. Journal of Plankton Research, 2005, 27(9): 875-879.
- [12] Ndong D, Chen Y Y, Lin Y H, et al. The immune response of tilapia *Oreochromis mossambicus* and its susceptibility to *Streptococcus iniae* under stress in low and high temperatures[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2007, 22(6): 686-694.
- [13] 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 Jun, Ren Hongtao, Xu Pao, 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.
- [14] Nurdiani R, Zeng Chaoshu. Effects of temperature and salinity on the survival and development of mud crab, *Scylla serrata* (Forsskal), larvae[J]. Aquaculture Research, 2007, 38(14): 1529-1538.
- [15] Bowyer J N, Qin J G, Adams L R, et al. The response of digestive enzyme activities and gut histology in yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) to dietary fish oil substitution at different temperatures[J]. Aquaculture, 2012(368/369): 19-28.
- [16] Tsuji M, Abe H, Hanyuu K, et al. Effect of temperature on survival, growth and malformation of cultured larvae and juveniles of the seven-band grouper *Epinephelus septemfasciatus*[J]. Fisheries Science, 2014, 80(1): 69-81.
- [17] 田甜, 王京树, 杨元金, 等. 温度骤变对史氏鲟幼鱼活动状况及成活率的影响[J]. 畜牧与饲料科学, 2011, 32(5): 3-4.
Tian Tian, Wang Jingshu, Yang Yuanjin, et al. The effects of abrupt temperature change on activities and survival rate of *Acipenser schrenckii* juvenile[J]. Animal Husbandry and Feed Science, 2011, 32(5): 3-4.
- [18] Eme J, Bennett W A. Critical thermal tolerance polygons of tropical marine fishes from Sulawesi, Indonesia[J]. Journal of Thermal Biology, 2009, 34(5): 220-225.
- [19] 刘宝锁, 张天时, 孔杰, 等. 大菱鲆生长和耐高温性状的遗传参数估计[J]. 水产学报, 2011, 35(11): 1601-1606.

- Liu Baosuo, Zhang Tianshi, Kong Jie, et al. Estimation of genetic parameters for growth and upper thermal tolerance traits in turbot *Scophthalmus maximus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(11): 1601—1606.
- [20] 李佳凯, 王志勇, 刘贤德, 等. 高温对大黄鱼(*Larimichthys crocea*)幼鱼血清生化指标的影响[J]. 海洋通报, 2015, 34(4): 457—462.
Li Jiakai, Wang Zhiyong, Liu Xiande, et al. Effects of high temperature on serum biochemical indices of large yellow croaker *Larimichthys crocea* [J]. Marine Science Bulletin, 2015, 34(4): 457—462.
- [21] 刘永士, 施永海, 张根玉, 等. 菊黄东方鲀仔稚鱼生长及其消化酶与抗氧化酶活性[J]. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 2014, 40(6): 688—696.
Liu Yongshi, Shi Yonghai, Zhang Genyu, et al. Growth, digestive enzyme and antioxidant enzyme activities of tawny puffer (*Takifugu flavidus*) larvae[J]. Journal of Zhejiang University (Agriculture & Life Science), 2014, 40(6): 688—696.
- [22] 尹飞, 孙鹏, 彭士明, 等. 低盐胁迫对银鲳幼鱼肝脏抗氧化酶、鳃和肾脏 ATP 酶活力的影响[J]. 应用生态学报, 2011, 22(4): 1059—1066.
Yin Fei, Sun Peng, Peng Shiming, et al. Effects of low salinity stress on the antioxidant enzyme activities in juvenile *Pampus argenteus* liver and the APase activities in its gill and kidney[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2011, 22(4): 1059—1066.
- [23] 王新安, 郭黎, 马爱军, 等. 基于响应面法分析温度和盐度及其交互作用对大菱鲆幼鱼抗氧化酶活性的影响[J]. 海洋科学, 2014, 38(6): 17—23.
Wang Xin'an, Guo Li, Ma Aijun, et al. Effects of temperature, salinity and their interaction on the activities of antioxidant enzymes of juvenile turbot *Scophthalmus maximus* based on response surface methodology[J]. Marine Sciences, 2014, 38(6): 17—23.
- [24] 杨健, 陈刚, 黄建盛, 等. 温度和盐度对军曹鱼幼鱼生长与抗氧化酶活性的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2007, 27(4): 25—29.
Yang Jian, Chen Gang, Huang Jiansheng, et al. Effects of temperature and salinity on the growth and activities of antioxidant enzymes of *Cobia (Rachycentron canadum)* juveniles[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2007, 27(4): 25—29.
- [25] 刘松岩. 环境胁迫对中华鲟体内自由基水平和抗氧化酶活力的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2006.
Liu Songyan. Effect of environmental stress on free radical level and antioxidant enzymes activities of Chinese Sturgeon, *Acipenser sinensis*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2006.
- [26] 徐冬冬, 楼宝, 詹炜, 等. 高温胁迫对褐牙鲈生长及肝脏抗氧化酶活性的影响[J]. 水产学报, 2010, 34(7): 1099—1105.
Xu Dongdong, Lou Bao, Zhan Wei, et al. Effect of high temperature stress on growth performance and activities of antioxidant enzymes in liver of olive flounder *Paralichthys olivaceus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(7): 1099—1105.
- [27] 刘加慧, 杨洪帅, 王辉. 持续高温对吉富罗非鱼幼鱼消化酶和溶菌酶活力的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2013, 33(6): 47—51.
Liu Jiahui, Yang Hongshuai, Wang Hui. Effects of continuous high temperature on digestive enzyme and lysozyme activities of young GIFT *Oreochromis niloticus*[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2013, 33(6): 47—51.
- [28] 朱爱意, 谢佳彦, 江丽华. pH 和温度对黄姑鱼主要消化酶活力的影响[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2010, 29(6): 531—536.
Zhu Aiyi, Xie Jiayan, Jiang Lihua. Effects of pH and temperature on the main digestive enzyme activities of *Nibea albi flora* (Richardson)[J]. Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science), 2010, 29(6): 531—536.
- [29] 刘江华, 区又君, 李加儿, 等. 温度和 pH 对驼背鲈消化酶活力的影响[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2014, 53(3): 95—100.
Liu Jianghua, Qu Youjun, Li Jia'er, et al. Effects of temperature and pH on the activities of digestive enzymes in *Cromileptes altivelis*[J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2014, 53(3): 95—100.
- [30] 黄永春. 养殖水温对星洲红鱼生长、消化和免疫的影响[J]. 动物营养学报, 2015, 27(7): 2264—2271.
Huang Yongchun. Effects of cultural water temperature on growth, digestion and immune of Singapore red tilapia (*O. mossambicus*)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2015, 27(7): 2264—2271.
- [31] Furné M, Hidalgo M C, López A, et al. Digestive enzyme activities in Adriatic sturgeon *Acipenser naccarii* and rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study[J]. Aquaculture, 2005, 250(1/2): 391—398.
- [32] 付新华, 孙谧, 孙世春. 大菱鲆消化酶的活力[J]. 中国水产科学, 2005, 12(1): 26—32.
Fu Xinhua, Sun Mi, Sun Shichun. Activity of digestive enzymes in *Scophthalmus maximus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2005, 12(1): 26—32.
- [33] 黄金凤, 赵志刚, 罗亮, 等. 水温和饲料蛋白质水平对松浦镜鲤幼鱼肠道消化酶活性的影响[J]. 动物营养学报, 2013, 25(3): 651—660.
Huang Jinfeng, Zhao Zhigang, Luo Liang, et al. Effects of water temperature and dietary protein level on intestinal digestive enzyme activities of juvenile *Songpu Mirror Carp (Cyprinus specularis)* Songpu[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2013, 25(3): 651—660.
- [34] 施永海, 张根玉, 张海明, 等. 配合饲料和活饵料对刀鲆幼鱼生长、存活和消化酶、非特异性免疫酶、代谢酶及抗氧化酶活性的影响[J]. 水产学报, 2014, 38(12): 2029—2038.
Shi Yonghai, Zhang Genyu, Zhang Haiming, et al. Effects of compound feed and live feed on the growth, survival, and the activities of digestive enzyme, nonspecific immunity enzyme, metabolic enzyme, and antioxidant enzyme of young fish *Coilia nasus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(12): 2029—2038.
- [35] 田相利, 任晓伟, 董双林, 等. 温度和盐度对半滑舌鳎幼鱼消化酶活性的影响[J]. 中国海洋大学学报, 2008, 38(6): 895—901.
Tian Xiangli, Ren Xiaowei, Dong Shuanglin, et al. Studies on the specific activities of digestive enzymes of *Cynoglossus semilaevis* Günther at different salinities and temperatures[J]. Periodical of Ocean University of China, 2008, 38(6): 895—901.

- [36] 韩庆, 刘良国, 张建平, 等. 温度和 pH 对洞庭鲂鱼消化酶活性的影响[J]. 水生生物学报, 2011, 35(1): 22—29.
Han Qing, Liu Lianguo, Zhang Jianping, et al. The effects of temperature and pH on activities of digestive enzymes in catfish (*Silurus Asotus* Linnaeus) in Dongting Lake area[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2011, 35(1): 22—29.
- [37] 郭黎, 马爱军, 王新安, 等. 盐度和温度对大菱鲆幼鱼抗氧化酶活性的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2012, 27(5): 422—428.
Guo Li, Ma Aijun, Wang Xin'an, et al. Effects of temperature and salinity on the activities of antioxidant enzymes of juvenile turbot *Scophthalmus maximus*[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2012, 27(5): 422—428.
- [38] 黄瑾, 熊邦喜, 陈洁, 等. 匙吻鲟的消化酶分布及其活性[J]. 华中农业大学学报, 2013, 32(1): 110—115.
Huang Jin, Xiong Bangxi, Chen Jie, et al. Activity and distribution of digestive enzymes for paddlefish (*Polyodon spathula*)[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2013, 32(1): 110—115.
- [39] 曾本和, 廖增艳, 吴双, 等. 饲料脂肪水平对大鳞副泥鳅幼鱼生长性能、消化酶活性及抗氧化能力的影响[J]. 动物营养学报, 2016, 28(4): 1105—1113.
Zeng Benhe, Liao Zengyan, Wu Shuang, et al. Effects of dietary lipid level on growth performance, digestive enzyme activities and antioxidant ability of juvenile *Paramisgurnus dabryanus*[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2016, 28(4): 1105—1113.

Effect of water temperature on antioxidant and digestive enzymes activities in *Larimichthys polyactis*

Liu Feng^{1,2}, Liu Yangyang^{1,4}, Lou Bao^{1,3}, Chen Ruiyi^{1,3}, Zhan Wei^{1,3}, Xu Qixiang^{1,3}, Ma Tao^{1,3},
Xu Dongdong^{1,3}, Wang Ligai^{1,2}, Mao Guomin^{1,3}

(1. Marine Fisheries Research Institute of Zhejiang, Zhoushan 316021, China; 2. Marine and Fishery Research Institute of Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316021, China; 3. Key Lab of Mariculture and Enhancement of Zhejiang Province, Zhoushan 316021, China; 4. Marine Science and Technology College Zhejiang Ocean University, Zhoushan 316022, China)

Abstract: Small yellow croaker, *Larimichthys polyactis*, is an important marine fish species and widely distributed throughout the Bohai Sea, the Yellow Sea, and the East China Sea of the Northwest Pacific Ocean. To investigate the effect of water temperature on *L. polyactis*, the survival, activities of antioxidant enzymes (i. e. Superoxide dismutase, SOD, and Catalase, CAT) and digestive enzymes (i. e. Lipase, LPS, and Amylase, AMS) of 4.5 month-old *L. polyactis* at different temperatures (27°C, 29°C, 31°C, 32°C and 33°C) were compared. The results showed that the mortality rate of *L. polyactis* was zero at the temperatures of 27°C, 29°C, and 31°C, and the mortality was 16.67% at the temperature of 32°C. Nevertheless, the survival rate was 75.56% at the temperature of 33°C. This study indicated that the temperature of 32°C may be the upper limit for *L. polyactis*. The water temperature significantly affected the activities of antioxidant and digestive enzymes of liver and intestine of *L. polyactis* (except the activities of intestine CAT). The SOD, CAT, LPS and AMS activities increased and then declined with increasing water temperature in the temperature range of 27—33°C. A quadratic regression was fit to describe the relationship between the SOD, CAT, LPS, AMS activities and the water temperature, and only the R^2 of regression models of liver and intestine LPS and temperature were higher than 0.85 (R^2 was 0.89 and 0.93 respectively), which were meaningful. Moreover, SOD and CAT activities in liver were higher than those of intestine. Conversely, LPS and AMS activities in liver were lower than those of intestine. There were highly significant correlation between the body weight and LPS activities of liver. There were high activities of antioxidant and digestive enzymes and high survival rate of *L. polyactis* at the temperature of 29°C and 31°C, which means those temperatures conducive to culture *L. polyactis*. Those results would be good references for healthy culture of *L. polyactis*.

Key words: *Larimichthys polyactis*; temperature; liver; intestine; antioxidant enzymes; digestive enzymes