



盐度驯化对大鳞鲃幼鱼生理生化和抗氧化免疫的影响

李海涛^{1,2}, 赵志刚¹, 徐伟^{1*}, 罗亮¹, 尚信池¹, 李明帅^{1,3},
刘金雨^{1,2}, 王雨^{1,2}, 张瑞¹, 郭坤¹, 耿龙武¹,
张晴^{1,2}, 杜汝君⁴, 丛艳峰⁴

- (1. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 黑龙江省冷水性鱼类种质资源及增养殖重点开放实验室, 黑龙江 哈尔滨 150070;
- 2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;
- 3. 东北农业大学, 黑龙江 哈尔滨 150030;
- 4. 杜尔伯特蒙古族自治县水产总站, 黑龙江 大庆 166200)

摘要: 为了探索大鳞鲃经盐度驯化后的血液生理生化、免疫应激的适应性变化, 选择体长为 (15.09±3.54) cm, 体重为 (13.66±1.26) g 的幼鱼, 设置了 3 个组别, 空白组始终处于淡水中养殖, 驯化组经 4 g/L 的盐度适应性驯养 168 h 后再放入 8 g/L 的盐度水体中, 未驯化组直接放入 8 g/L 的盐度水体中, 分别测定并比较放入 8 g/L 盐度水体中第 0、6、12、24、48、96 和 168 小时幼鱼血液生理生化和免疫应激相关指标变化。结果显示, ① 驯化组和未驯化组幼鱼血液中的血常规指标 [白细胞 (WBC)、淋巴细胞 (Lymph)、单核细胞 (Mon)、中性粒细胞 (Gran)、红细胞 (RBC)、血红蛋白 (HGB) 含量]、血浆生理生化指标 [尿素 (UREA) 浓度、血清葡萄糖 (GLU-G) 和白蛋白 (ALB) 含量、血浆渗透压]、鳃组织中的天门冬氨酸氨基转移酶 (ACP)、碱性磷酸酶 (AKP)、乳酸脱氢酶 (LDH) 和肝脏组织中抗氧化指标 [超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽酶 (GSH-Px)、丙二醛 (MDA) 含量] 在盐度为 8 g/L 的水体中, 均随着胁迫时间的延长呈现出先升高后降低的现象。② 胁迫初期, 驯化组和未驯化组幼鱼的各项生化指标在相同组织内到达峰值的时间相同, 但驯化组幼鱼血浆中的生理生化指标 (WBC、Lymph、Gran、Mon、UREA、GLU-G、ALB、渗透压) 和转氨酶 (AST、ALT)、肝组织中的抗氧化酶 (SOD、CAT、GSH-Px、MDA) 上升幅度和峰值大小均显著性小于未驯化组。③ 在 8 g/L NaCl 盐度胁迫 168 h 后, 驯化组和未驯化组均能够恢复到对照组水平, 但驯化组的大鳞幼鱼血浆渗透压、血浆 ALB 含量均早于未驯化组恢复到对照组水平。研究表明, 经 4 g/L 的盐度驯化后的大鳞鲃幼鱼遭受 8 g/L NaCl 盐度环境胁迫时, 显示出较好的生理生化自我调节和恢复能力。

关键词: 大鳞鲃; 盐度; 生理生化; 抗氧化酶; 免疫

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

中国是淡水资源严重缺乏的国家, 而东北、西北、华北等内陆地区约有 0.64 亿 hm² 的低洼盐碱水域资源, 约占全国湖泊总面积的 55%^[1]。这些渔业水资源中盐碱是制约鱼类生存的重要影响

收稿日期: 2022-04-28 修回日期: 2022-10-19

资助项目: 国家重点研发计划 (2020YFD0900402, 2019YFD0900405); 中国水产科学研究院基本科研业务费专项 (2020TD56)

第一作者: 李海涛 (照片), 从事水产养殖研究, E-mail: 1834376935@qq.com

通信作者: 徐伟, 从事水产养殖研究, E-mail: xwsc23@163.com



因子。淡水鱼类长期处于高盐度环境胁迫时, 会导致其机体的渗透压失衡、内环境紊乱、免疫功能下降等生理功能的变化^[2]。尤其在早期的鱼苗培育阶段, 其身体结构和生理机能尚未发育完全, 对盐碱水环境的适应性较差, 直接放入较高的盐碱水域养殖, 会导致鱼体的成活率较低^[3]。但经过盐度适当驯化后, 可有效提高鱼体的成活率, 其生长、抗氧化和免疫性能等均有所提高^[4]。研究发现, 利用盐度渐变的方法可使白氏文昌鱼 (*Branchiostoma belcheri*) 幼鱼耐受盐度值提高 2~3^[5]。通过每天 2 g/L 的升盐驯化方式使虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 逐渐适应海水, 驯化后的虹鳟体内超氧化物歧化酶活性 (SOD)、谷胱甘肽酶活性 (GSH-Px) 和丙二醛 (MDA) 含量与对照组无显著差异^[6]。中华鲟 (*Acipenser sinensis*) 幼鱼在经过海水驯化后生长性能较好、免疫和总抗氧化能力也优于淡水组^[7]。

大鳞鲃 (*Luciobarbus brachycephalus*) 是我国 2003 年从乌兹别克斯坦引进的耐盐碱鱼类, 具有肉质鲜美、食性广、生长迅速、抗逆性强等养殖特点。目前, 科研人员在大鳞鲃的人工繁育^[8-9]、生物学^[10]、养殖技术^[11]以及盐碱适应机制方面开展了相关研究^[12-15]。本研究旨在从血液生理生化、抗氧化、免疫应激等方面, 探索大鳞鲃幼鱼经过盐度驯化后的生理适应性变化, 了解其对盐度环境变化的适应性机制, 为大鳞鲃高盐水体养殖提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

大鳞鲃幼鱼来自于黑龙江水产研究所呼兰实验基地, 体长为 (15.09±3.54) cm, 体重为 (13.66±1.26) g。实验开始前, 将大鳞鲃幼鱼在 200 L (规格: 长 90 cm×宽 55 cm×高 55 cm) 的室内循环水玻璃缸内暂养 168 h, 暂养密度为 140 尾/缸, 暂养用水为曝气自来水。暂养期间每天换水三分之一, 溶解氧含量保持在 5.00 mg/L 以上, pH 为 7.40, 水温控制在 (22.0±1.5) °C。每天早上约 7:30 饱食投喂 1 次, 将残饵和粪便吸出。不同盐度水体采用曝气 2 d 的自来水和 NaCl (国产, 分析纯) 配制, 并用 YSI 盐度测量仪进行校准。

1.2 实验方法

实验分别设置驯化组、未驯化组和空白组, 每组设置 3 个平行, 每个平行选择规格一致的 80

尾健康大鳞鲃幼鱼。驯化组: 先将暂养后的大鳞鲃置于 4 g/L 盐度水体中驯化 168 h 后, 将水体盐度增加到 8 g/L; 未驯化组: 大鳞鲃在淡水中养殖 168 h 后, 将水体盐度调整到 8 g/L; 空白组: 大鳞鲃始终于淡水中养殖。驯化组和未驯化组分别在鱼体置于 8 g/L 盐度水体后的 0、6、12、24、48、96 以及 168 h 时的 7 个采样点进行采样, 每个采样点随机收集 10 尾鱼, 经过 40 mg/L MS-222 麻醉后, 对其进行血液和肝脏、鳃组织样品的采集。采集的肝脏、鳃组织样品立刻用液氮保存。使用 2 mL 的注射器先抽 0.5 mL 肝素钠抗凝后, 再在鱼体尾静脉采集血液并进行多尾鱼混样处理。空白组同时进行相同的采样过程。实验过程中操作人员严格遵守《黑龙江水产研究所实验动物福利化理》动物伦理规范, 并按照实验动物福利及伦理各项规章制度执行。

各实验组在驯化期间的溶解氧、水温、投喂频率、换水情况和暂养期间一致, 并于采样前 24 h 停止投喂, 且采样期间不进行换水处理。

1.3 样品测定

将每个平行组的血液分为 2 份, 一份为新鲜血液采用动物血液细胞分析仪 (BC-2800Vet, Mindray) 测定其红细胞 (RBC)、血红蛋白 (HGB)、血小板 (PLT)、血小板压积 (PCT)、白细胞 (WBC)、淋巴细胞 (Lymph)、中性粒细胞 (Gran)、单核细胞 (Mon) 含量进行分析, 另外一份血液静置 2 h 后以 2 500 r/min 离心 10 min, 取上清液, 用生化分析仪 (BS-240Vet, Mindray) 及迈瑞生物医疗电子有限公司生产的天门冬氨酸氨基转移酶 (AST) 测定试剂盒 (IFCC 法)、丙氨酸氨基转移酶 (ALT) 测定试剂盒、尿素 (UREA) 测定试剂盒 (紫外-谷氨酸脱氢酶法)、葡萄糖 (Glu) 测定试剂盒 (葡萄糖氧化酶法)、白蛋白 (ALB) 测定试剂盒 (溴甲酚绿法) 对血浆进行测定。血浆渗透压采用冰点下降法, 用冰点渗透压计 (OSMOMAT) 取 50 μL 血浆进行测定 (单位 mOsm/kg)。肝脏样品中的超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽酶 (GSH-Px)、丙二醛 (MDA) 和鳃组织中的碱性磷酸酶 (AKP)、酸性磷酸酶 (ACP)、乳酸脱氢酶 (LDH) 含量, 用 Scientz-48L 冷冻型高通量组织研磨仪研磨后均采用南京建成所生产的试剂盒 [CAT 可见光试剂盒、还原型谷胱甘肽 (GSH) 测定试剂盒-微板法、丙二醛测定试剂盒-TBA 法、碱性磷酸酶 (ALP/AKP) 测试盒-微板法、酸性磷酸酶 (ACP) 测试盒-酶标仪法、LDH 乳酸脱氢酶试剂盒、总蛋白定量测试盒-BCA 法] 进行测定。

1.4 数据分析

采用 SPSS 20.0 软件进行单因素方差分析, 并对组间同时期和组内不同时期的显著性差异进行 Duncan 氏多重比较, 以 $P < 0.05$ 作为差异显著性标志, 结果数据均以平均值 \pm 标准差表示。采用独立样本的非参数检验进行驯化组和未驯化组峰值大小的显著性差异比较 ($P < 0.05$)。通过 Graph-Pad Prism 5.0 软件进行作图。

2 结果

2.1 血常规

在盐度单因子胁迫实验中, 驯化组和未驯化组大鳞鲃血液中 WBC、Lymph、Gran 和 Mon 含

量呈现显著的先升高后下降的趋势, 各项指标均在 24 h 到达峰值。驯化组的 WBC、Lymph、Mon 含量峰值大小均显著性小于未驯化组 ($P < 0.05$)。驯化组在 0 h 时和第 7 天时的 WBC、Lymph、Gran 和 Mon 含量和对照组之间并没有显著性差异 ($P > 0.05$)。0~24 h 的升高过程中, 驯化组鱼体血液中的白细胞、淋巴细胞和单核细胞上升幅度均显著性小于未驯化组 ($P < 0.05$)。24 h 后驯化组和未驯化组均开始逐渐恢复, 胁迫 48 h 后驯化组和未驯化实验鱼白细胞和单核细胞同时恢复到对照组水平, 胁迫 96 h 后淋巴细胞和中性粒细胞也同时恢复到对照组水平 (图 1)。

在 8 g/L 的盐度胁迫下, 驯化组和未驯化组大鳞鲃幼鱼血液中的红细胞、血红蛋白含量在胁

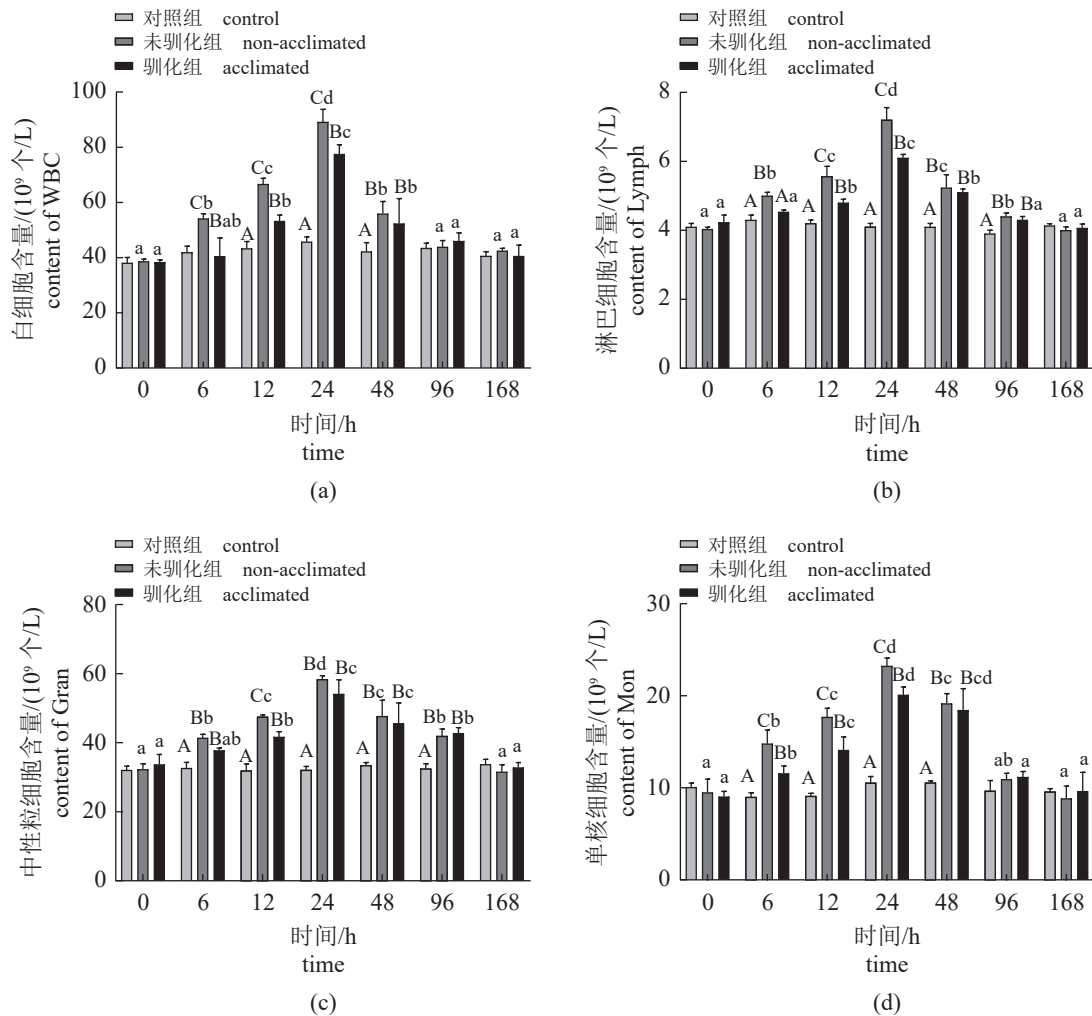


图 1 盐度驯化对大鳞鲃幼鱼的血液 WBC、Lymph、Gran 和 Mon 含量的影响

不同大写字母表示同时期不同处理组的显著差异 ($P < 0.05$); 不同小写字母代表同一处理组不同时期的显著差异 ($P < 0.05$); 下同。

Fig. 1 Effects of salinity acclimation on blood WBC, Lymph, Gran and Mon levels in juvenile *L. capito*

Different capital letters represent significant differences in different treatment groups at the same time ($P < 0.05$); different lowercase letters represent significant differences at different times in the same treatment group ($P < 0.05$); the same below.

迫初期均呈现出显著上升的趋势 ($P<0.05$), 且驯化组的上升幅度显著小于未驯化组 ($P<0.05$); 驯化组和未驯化组的红细胞、血红蛋白含量均在 24 h 出现峰值, 但驯化组的峰值大小显著性小于未驯化组 ($P<0.05$)。随着胁迫时间的延长, 驯化

组和未驯化组的红细胞血和血红蛋白含量均在 96 h 时恢复到正常水平。而驯化组和未驯化组的小血小板和小血小板压积在实验期间和对照组无显著性差异 ($P>0.05$)(图 2)。

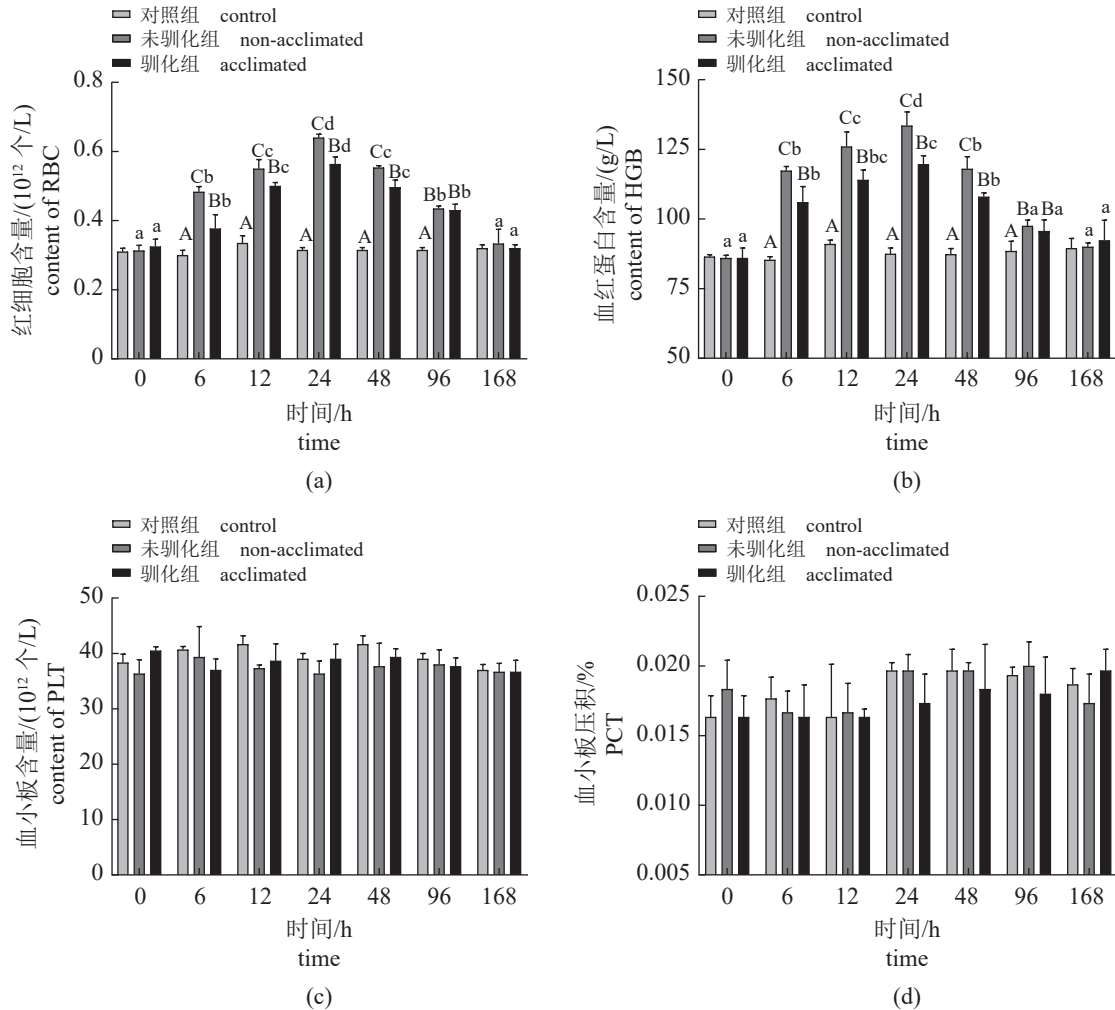


图 2 盐度驯化对大鳞鲂幼鱼的 RBC、HGB、PLT 和 PCT 的影响

Fig. 2 Effects of salinity acclimation on RBC, HGB, PLT and PCT of juvenile *L. capito*

2.2 血浆生化指标

驯化组和未驯化组鱼体血浆中的白蛋白含量、血糖浓度、尿素浓度、渗透压在 168 h 的实验过程中先升高后降低 ($P<0.05$), 各项指标在 168 h 内均逐渐恢复到正常组水平; 虽然驯化组和未驯化组各指标的峰值出现时间相同, 但驯化组的峰值大小和上升幅度均显著性小于未驯化组 ($P<0.05$)。下降过程中, 驯化组的血浆渗透压和血浆白蛋白含量均在 96 h 时恢复至对照组水平, 而未驯化组在 168 h 时才下降到对照组水平。驯化组在 0 h 时的白蛋白含量、血糖浓度、尿素浓度、渗透压指

标参数和对照组均无显著性差异 ($P>0.05$)(图 3)。

在实验 168 h 内, 驯化组和未驯化组鱼体的 AST 和 ALT 变化趋势均呈现先升后降的变化 ($P<0.05$), 均在 24 h 时出现的峰值大小无显著差异 ($P>0.05$)。下降过程中, 驯化组和未驯化组的转氨酶指标在 96 h 时均下降到正常组水平。驯化组在 0 h 的转氨酶指标大小和对照组无显著性差异 ($P>0.05$) (图 4)。

2.3 鳃组织磷酸酶和乳酸脱氢酶

0~12 h, 驯化组鳃组织中的 AKP、ACP、LDH

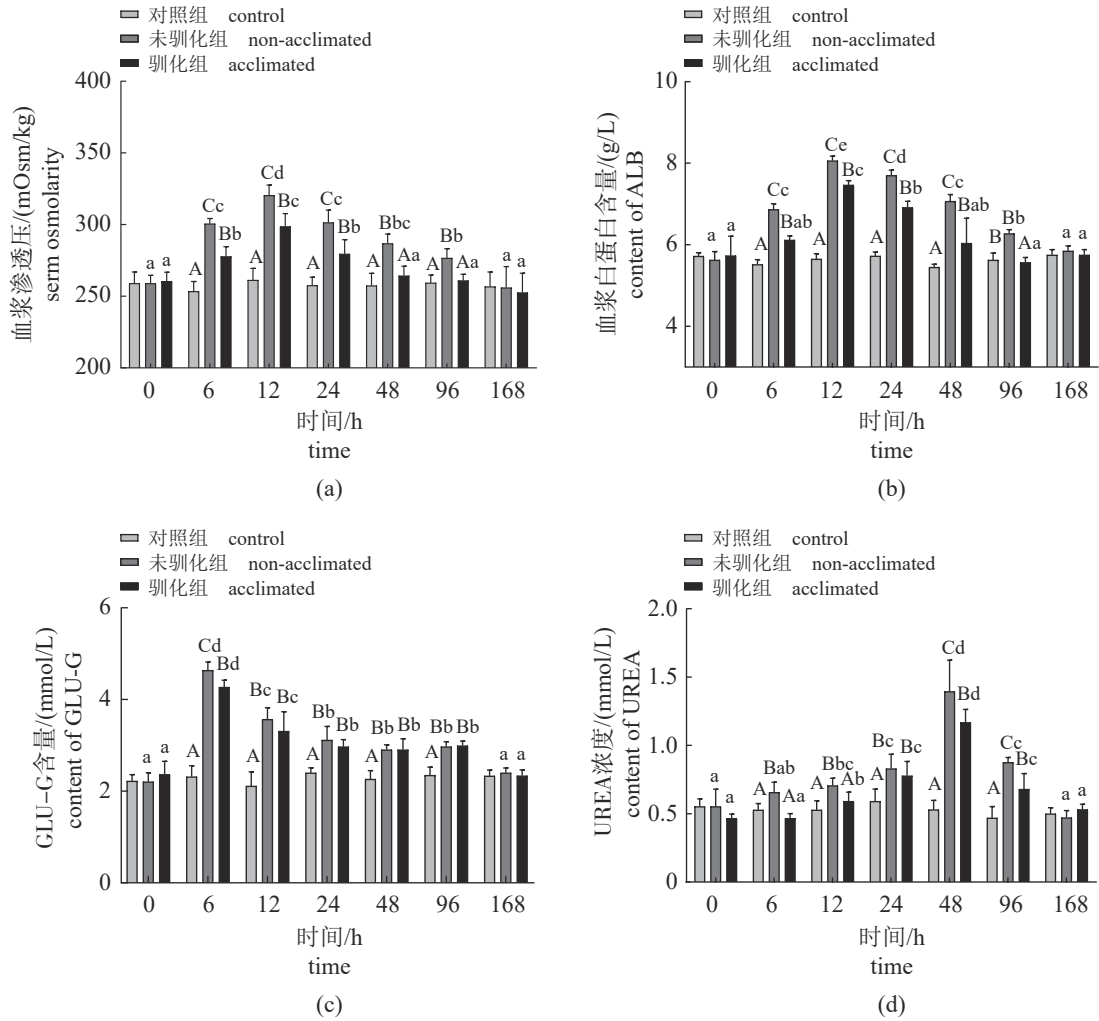


图 3 盐度驯化对大鳞鲂幼鱼血浆渗透压、ALB、GLU-G 和 UREA 的影响

Fig. 3 Effects of salinity acclimation on plasma osmotic pressure, ALB, GLU-G and UREA of juvenile *L. capito*

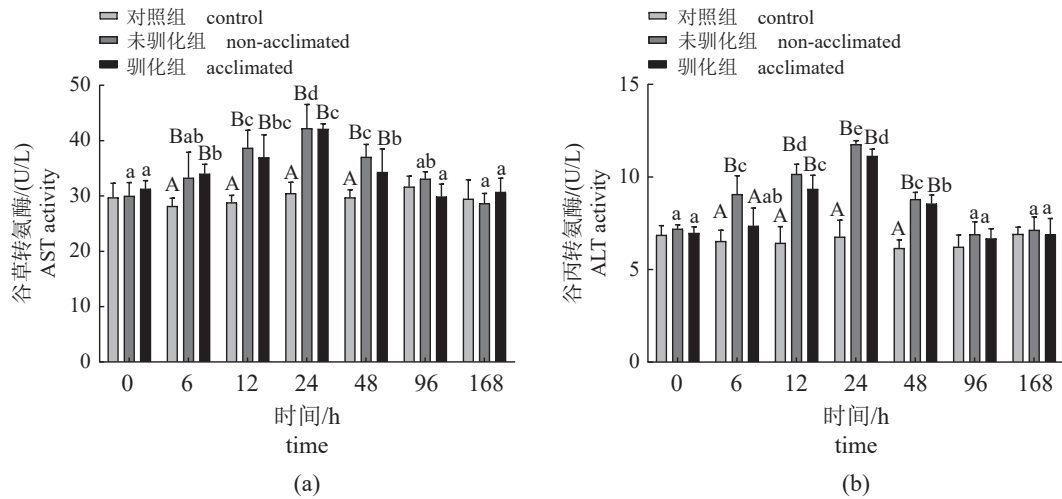


图 4 盐度驯化对大鳞鲂幼鱼血浆 AST 和 ALT 的影响

Fig. 4 Effects of salinity acclimation on plasma AST and ALT of juvenile *L. capito*

酶活均显著性小于同时间未驯化组 ($P < 0.05$)。驯化组鳃组织在 12 h 时出现的 AKP、ACP、LDH 酶活性峰值显著性大于未驯化组同时间出现的峰值 ($P < 0.05$)。驯化组和未驯化组的 AKP、LDH 酶均在 96 h 时恢复至和对照组无显著性差异 ($P > 0.05$), ACP 酶在第 7 天时恢复至对照组水平 (图 5)。

2.4 肝脏抗氧化酶系统

驯化组和未驯化组鱼体肝脏中的 SOD、CAT、GSH-Px、MDA 在 168 h 的盐度胁迫过程中的变化趋势一致, 均呈现先升高后降低的现象 ($P < 0.05$), 对照组则无显著性变化 ($P > 0.05$); 驯化组和未驯化组肝组织中的各抗氧化酶活指标和 MDA 含量均在 48 h 时出现峰值, 但驯化组的峰值大小和上升幅度显著性小于未驯化组 ($P < 0.05$)。0~48 h 的上升过程中, 驯化组肝组织中的各抗氧化酶指标大小均显著小于同时间未驯化组 ($P < 0.05$)。驯化组和未驯化组肝组织中的抗氧化酶在 96 h 时均下降到和对照组无显著性差异 ($P > 0.05$) (图 6)。

3 讨论

3.1 盐度驯化对大鳞鲃血常规分的影响

血常规中的 WBC、RBC、HGB、PLT 指标的高低可以一定程度上反映机体的基本状况^[16]。本研究表明, 在相同盐度胁迫下, 驯化组和未驯化的大鳞鲃血液中 WBC、Lymph、Gran 和 RBC、HGB 含量虽然到达峰值时间相同, 但驯化组的峰值大小显著性小于未驯化组, 且 0~24 h 的升高过程中, 上升幅度均显著性小于未驯化组。这表明经 4 g/L 的低盐度驯化后的大鳞鲃幼鱼在面临 8 g/L 盐度胁迫时, 机体所受的应激程度较小, 所

以驯化组产生的免疫细胞 (WBC、Lymph、Gran) 显著性小于未驯化组。

红细胞和血红蛋白是呼吸和新陈代谢的载体, 驯化组的血红蛋白和红细胞含量上升幅度均显著性小于未驯化组, 这表明经驯化后的大鳞鲃幼鱼耗氧增加不大, 新陈代谢速率提高较少。驯化组和未驯化组在初始 0 h 时和第 168 小时时的血常规指标参数均达到正常组水平, 各生化指标在相同组织内的恢复时间相同, 表明驯化组大鳞鲃幼鱼在 4 g/L 的低盐度胁迫下, 168 h 内已经适应并恢复到正常组水平; 且 8 g/L 的盐度胁迫并未对大鳞鲃幼鱼造成不可逆的机体应激和免疫应答, 在此盐度下的大鳞鲃幼鱼能够通过自身的调节维持内环境稳定。

3.2 盐度驯化对大鳞鲃血浆生理生化的影响

研究表明, 环境胁迫会引起鱼类的内分泌肾上腺素和去甲肾上腺素的增加, 进而促使血糖升高以利于鱼类重要器官在应急时得到更多的能量供应^[17]。本研究中, 驯化组和未驯化组鱼体内的血糖浓度短期内急剧升高的现象, 正是大鳞鲃幼鱼在受盐度环境胁迫时所引起机体的应急反应与应激反应, 二者相辅相成, 共同维持机体适应环境能力的表现, 另外, 当鱼体处于非等渗的环境中时, 肝糖原会被促进分解来维持鱼体正常的血糖浓度, 并向鳃、肾脏组织器官的渗透压调节功能提供能量^[18]。驯化组鱼体血液中的红细胞含量、血糖浓度、血红蛋白浓度、渗透压的上升幅度及峰值大小显著低于未驯化组, 原因可能是驯化组的大鳞鲃幼鱼盐度突变幅度较小, 耗氧率和渗透压耗能较少, 共同导致其能量代谢水平较低, 血

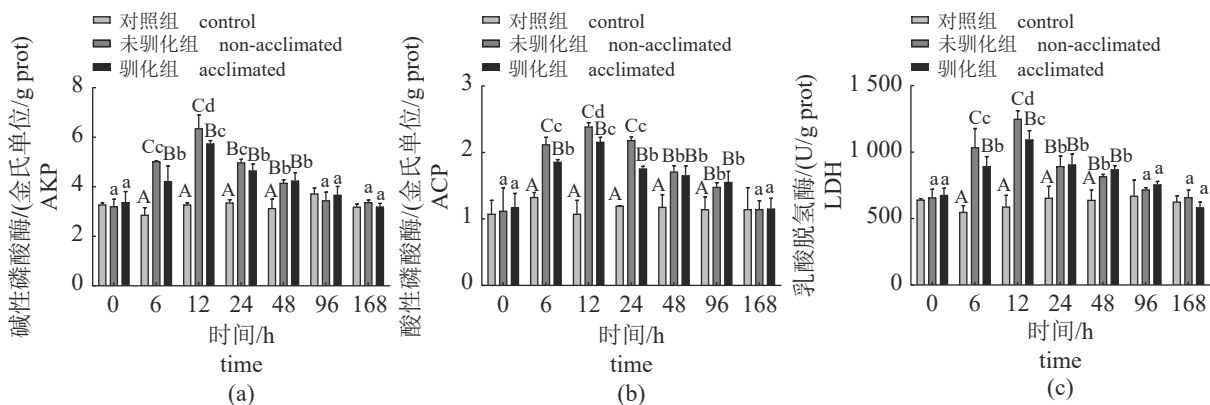


图 5 盐度驯化对大鳞鲃幼鱼鳃组织 AKP、ACP、LDH 的影响

Fig. 5 Effects of salinity acclimation on AKP, ACP and LDH in gill tissue of juvenile *L. capito*

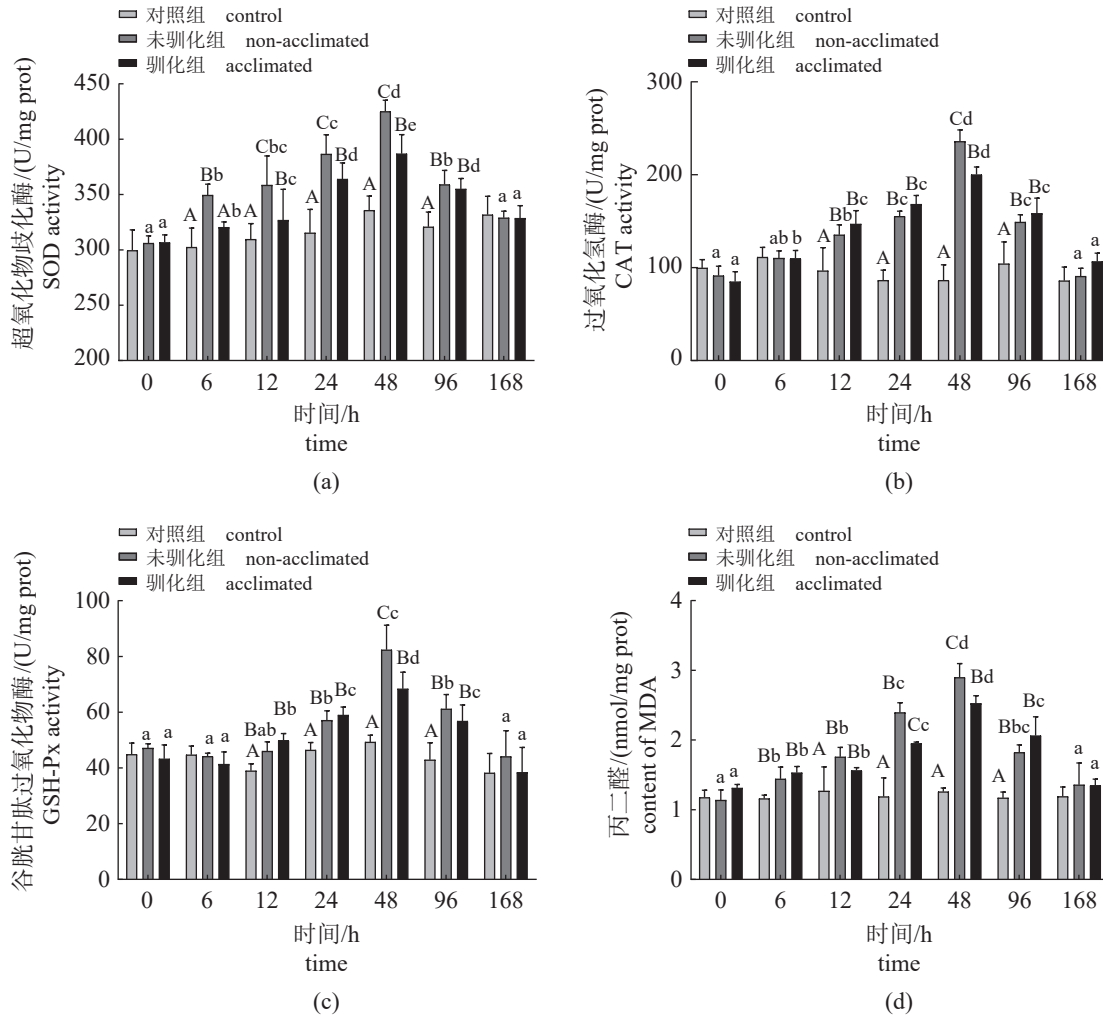


图 6 盐度驯化对大鳞鲃幼鱼肝脏组织中的 SOD、CAT、GSH-Px、MDA 的影响

Fig. 6 Effects of salinity acclimation on SOD, CAT, GSH-Px and MDA in liver tissue of juvenile *L. capito*

糖升高幅度较小^[19]。另有研究表明机体耗氧率降低,在一定程度上有利于鱼体生长^[20]。

血浆白蛋白是血浆胶体渗透压的主要物质之一,而胶体渗透压对维持血管内外水的相对平衡起着重要作用。有研究表明,盐度的逐渐改变,能缓冲渗透调节,减弱应激反应强度^[21]。本实验研究结果显示,驯化组和未驯化组的大鳞鲃幼鱼血浆渗透压和白蛋白浓度的上升趋势保持一致,但经驯化后的大鳞鲃幼鱼血浆渗透压和白蛋白浓度峰值较低,上升的幅度较小,表明经驯化后的大鳞鲃幼鱼在应对 8 g/L 的盐度胁迫时,由于经过 4g/L 中低盐度 7 d 的生理适应性养殖,鱼体表现出的应激反应程度会降低。但驯化组和未驯化组的血浆渗透压和白蛋白浓度恢复时间相同,则表现了大鳞鲃幼鱼有较强的渗透压恢复能力,能够通过自身的主动调节应对 8 g/L 的盐度变化对渗透

压调节方面的影响。有研究表明,大鳞鲃能耐受的血清渗透压范围在 280~420 mOsm/kg^[14],而本实验中驯化组和未驯化组的渗透压变化范围为 250~330 mOsm/kg,说明 8 g/L 的盐度胁迫所引起的渗透压变化并未超出大鳞鲃幼鱼的耐受范围。田相利等^[19]和王国栋^[22]研究表明,当驯化时间和驯化速度存在差异时,各处理组的渗透压变化幅度也有所不同,在一定的盐度范围内,如果盐度升高的幅度相同,则驯化时间越长驯化效果越好,如果是相同驯化时间,则升高幅度越小渗透压变化越小,鱼体的生理变化幅度也较小。

鱼类血浆的 UREA 指标常被用来评估鳃和肾脏的功能^[23]。研究表明,当鱼体受盐碱水环境胁迫时,随着盐碱度的增加,机体的排氮率降低^[24-25],此刻体内多余的氮将代谢合成的尿素氮一部分排出体外,另外一部分则以离子形式用来

参与渗透压的调节和酸碱平衡调节, 以此提高机体对盐碱环境的耐受性^[26]。本研究中的驯化组和未驯化组鱼体血浆尿素含量随着胁迫时间延长出现先升后降的趋势, 且在 168 h 内均能够同一时间恢复至对照组水平, 表明了大鳞鲃幼鱼有较强的自我调控能力应对 8 g/L 的盐度环境胁迫; 而驯化组的峰值大小显著性小于未驯化组, 下降速率较快于未驯化组, 原因是未驯化组的大鳞鲃幼鱼遭受的盐度变化幅度较大, 组织代谢会因为不适应而进入麻痹甚至停止状态, 个体排氨量也会随之下降, 尿素含量相对于氨氮排泄率会明显提高^[27-28], 而驯化组鱼体的排氨机制提前适应开启, 速率有所加快, 导致其血浆的 UREA 积累低于未驯化组。

血液中的 AST 和 ALT 在正常情况下的活性相对稳定, 但当组织发生炎症、中毒、坏死等情况造成组织细胞受损时, 转氨酶便会大量被释放到血液里, 使血液中的转氨酶升高^[21-29]。本研究中, 驯化组和未驯化组大鳞鲃血浆 AST 和 ALT 活性在实验过程前期虽然有所升高, 但随着时间延长转氨酶逐渐恢复到对照组水平, 造成这种现象可能的原因: 一是大鳞鲃幼鱼在 8 g/L 的盐度胁迫下, 组织细胞虽然有一定程度的轻微损伤致使血液中的转氨酶升高, 但通过机体自我调节修复, 恢复到了对照组水平。二是大鳞鲃幼鱼在 8 g/L 的盐度环境中, 只是受到了不同程度的刺激, 导致转氨酶基因表达上调致使其血液中的转氨酶短暂升高, 并没有对鱼类组织造成损伤或坏死。

3.3 盐度驯化对大鳞鲃鳃组织磷酸酶和乳酸脱氢酶的影响

ACP 和 AKP 是重要的磷酸单酯水解酶和非特异性磷酸酶, 不仅可以催化几乎所有的磷酸单酯水解反应, 而且在消解病原体、细胞吞噬、蛋白质的磷酸基团转移、钙磷代谢等过程中发挥重要作用^[30-31]。研究表明, 肝脏中的 AKP 活性在低盐下受到明显抑制, 随着盐度的升高 AKP 活性不断增强^[32]; 高盐胁迫下的凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 体内 ACP 和 AKP 活性随盐度升高, 增幅也逐渐扩大^[33]; 日本鳗鲡在最适盐度 5~10 g/L 时的生长最快, 体内的磷酸酶活性变化也较小^[34]; 对刀鲚 (*Coilia nasus*) 的研究中发现, 相较于淡水养殖而言, 一定盐度的半咸水并没有对非特异性 ACP 与 AKP 酶活性有显著升高或降低影响, 但却

促进刀鲚的生长^[35]。本研究结果显示, 驯化组鱼体鳃组织中的磷酸酶活性上升幅度显著小于未驯化组, 表明经过一定时间的低浓度盐度驯化后的大鳞鲃幼鱼, 能较好地应对盐度升高所带来的胁迫应激, 而未经驯化的大鳞鲃幼鱼机体应激性较强。李玉全等^[36]研究同样发现, 凡纳滨对虾血清中的 AKP 和 ACP 活性几乎不受盐度渐变的影响, 而盐度骤变对 AKP 和 ACP 活性均产生了显著影响。

3.4 盐度驯化对大鳞鲃肝脏抗氧化酶系统的影响

当鱼类机体受到应激或损伤时, 促使抗氧化机制中的 SOD、CAT、GSH-Px 酶活性增强, 清除过多的有害活性氧自由基 ($O_2^{\cdot-}$), 以此来增强机体的防御和免疫能力。对广盐性金钱鱼 (*Scatophagus argus*) 的研究表明, 当其处于淡水和高盐环境时均会引起鱼体内的氧化应激反应增强, 致使肝脏中的 SOD、CAT 和 GSH-Px 酶活性升高^[37]。有关于对小黄鱼 (*Larimichthys polyactis*)^[32]、中国鲷 (*Tachypleus tridentatus*) 幼鲷^[38] 和黄河鲤^[39] 的研究中也存在相似的变化趋势。本实验结果显示, 经低浓度盐度驯化后的大鳞鲃幼鱼, 肝脏组织中的抗氧化酶活性和 MDA 含量上升幅度均显著小于未驯化组, 这说明驯化后的鱼体受到的应激程度减弱, 机体所产生的有害自由基较少, 因此, 抗氧化系统中被激发的抗氧化酶活性显著性小于未驯化组。

丙二醛是自由基作用于脂质发生过氧化反应的氧化终产物, 会引起蛋白质、核酸等生命大分子的交联聚合, 且具有细胞毒性, 也能间接反映组织过氧化损伤程度, 本研究驯化组幼鱼体内的 MDA 含量上升幅度较小, 这说明驯化组的幼鱼机体在胁迫过程中, 体内的脂质过氧化物的生成速率显著性小于未驯化组, 佐证了驯化组受到的应激程度减弱的观点。

4 结论

大鳞鲃幼鱼经过 4 g/L 盐度水体驯化后, 在遭受更高盐度的水环境胁迫时, 从生理层面反映出机体应激强度减弱, 能量消耗降低, 适应能力增强。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] 武鹏飞, 耿龙武, 姜海峰, 等. 三种鳅科鱼对NaCl盐度和NaHCO₃碱度的耐受能力[J]. *中国水产科学*, 2017, 24(2): 248-257.
Wu P F, Geng L W, Jiang H F, *et al.* Tolerance of three Cobitidae fish species to high salinity and alkalinity[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2017, 24(2): 248-257 (in Chinese).
- [2] 成智丽, 孙鹏飞, 罗珺, 等. 盐度驯化下许氏平鲈血清生化指标及渗透压的变化[J]. *水产科学*, 2021, 40(3): 310-317.
Cheng Z L, Sun P F, Luo J, *et al.* Changes in serum biochemical profiles and osmotic pressure of schlegel's black rockfish *Sebastes schlegelii* acclimatized by various salinities[J]. *Fisheries Science*, 2021, 40(3): 310-317 (in Chinese).
- [3] 付占斐, 王鑫, 王芳, 等. 不同盐度驯化方式对虹鳟和硬头鳟幼鱼存活和生长的影响[J]. *中国海洋大学学报*, 2020, 50(7): 37-43.
Fu Z F, Wang X, Wang F, *et al.* Effect of acclimation at different salinities on survival and growth of rainbow trout and steelhead trout juveniles[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2020, 50(7): 37-43 (in Chinese).
- [4] 王好, 庄平, 章龙珍, 等. 盐度对点篮子鱼的存活、生长及抗氧化防御系统的影响[J]. *水产学报*, 2011, 35(1): 66-73.
Wang Y, Zhuang P, Zhang L Z, *et al.* Effects of salinity on survival, growth and antioxidant defense system of *Siganus guttatus*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(1): 66-73 (in Chinese).
- [5] 方琦, 周仁杰, 钟指挥. 白氏文昌鱼幼鱼对海水温度和盐度变化的耐受力研究[J]. *水产科技情报*, 2010, 37(6): 274-278,281.
Fang Q, Zhou R J, Zhong Z H. The tolerance of amphioxus (*Branchiostoma belcheri*) fry to temperature and salinity change[J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2010, 37(6): 274-278,281 (in Chinese).
- [6] 杨静雯, 杨小刚, 黄铭, 等. 盐度变化对虹鳟和硬头鳟抗氧化酶活性的影响[J]. *中国海洋大学学报*, 2021, 51(6): 26-33.
Yang J W, Yang X G, Huang M, *et al.* Effects of salinity change on antioxidant enzyme activities of rainbow and steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2021, 51(6): 26-33 (in Chinese).
- [7] 秦少宗. 中华鲟幼鱼海水适应过程中生长及生理特性研究[D]. 重庆: 西南大学, 2020.
Qin S Z. Study on the growth and physiological characteristics of juvenile Chinese sturgeon during seawater adaptation[D]. Chongqing: Southwest University, 2020 (in Chinese).
- [8] 徐伟, 耿龙武, 李池陶, 等. 大鳞鲃的人工繁殖、胚胎发育和耐盐碱测定[J]. *水产学报*, 2011, 35(2): 255-260.
Xu W, Geng L W, Li C T, *et al.* The artificial propagation, embryonic development and saline-alkali tolerant experiment of *Barbus capito*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2011, 35(2): 255-260 (in Chinese).
- [9] 耿龙武, 徐伟, 蔺玉华, 等. 大鳞鲃人工繁育技术初报[J]. *吉林农业大学学报*, 2010, 32(2): 218-220.
Geng L W, Xu W, Lin Y H, *et al.* Technique of artificial reproduction of *Barbus capito*[J]. *Journal of Jilin Agricultural University*, 2010, 32(2): 218-220 (in Chinese).
- [10] 蔺玉华, 耿龙武, 王信海, 等. 池塘驯养大鳞鲃某些生物学特性研究[J]. *天津师范大学学报(自然科学版)*, 2009, 29(4): 72-75.
Lin Y H, Geng L W, Wang X H, *et al.* Some biological characteristics of *Barbus capito* bred in ponds[J]. *Journal of Tianjin Normal University (Natural Science Edition)*, 2009, 29(4): 72-75 (in Chinese).
- [11] 徐伟, 耿龙武, 苗建生, 等. 耐盐碱鱼类大鳞鲃的研究现状[J]. *天津农学院学报*, 2012, 19(3): 62-64.
Xu W, Geng L W, Miao J S, *et al.* Current researches on saline-alkali tolerant fish of *Barbus capito*[J]. *Journal of Tianjin Agricultural University*, 2012, 19(3): 62-64 (in Chinese).
- [12] 党云飞, 徐伟, 耿龙武, 等. NaCl盐度和NaHCO₃碱度对大鳞鲃幼鱼生长及鳃组织特征的影响[J]. *中国水产科学*, 2013, 20(3): 577-584.
Dang Y F, Xu W, Geng L W, *et al.* Effects of NaCl and NaHCO₃ on growth and gill microstructure in juvenile *Barbus capito*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2013, 20(3): 577-584 (in Chinese).
- [13] 杨建, 徐伟, 耿龙武, 等. 盐度对5种幼鱼的生存及鳃、肾组织的影响[J]. *淡水渔业*, 2014, 44(4): 7-12.
Yang J, Xu W, Geng L W, *et al.* Effects of salinity on survival, gill and kidney tissue in juveniles of 5 species[J]. *Freshwater Fisheries*, 2014, 44(4): 7-12 (in Chinese).
- [14] 耿龙武, 徐伟, 李池陶, 等. 盐碱对大鳞鲃血清渗透压、离子含量及鳃丝Na⁺/K⁺-ATP酶活性的影响[J]. *中国水产科学*, 2011, 18(2): 458-465.
Geng L W, Xu W, Li C T, *et al.* Influence of salinity and alkalinity on serum ion concentrations, osmosis and gill

- Na⁺/K⁺-ATPase activity of *Barbus capito*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 18(2): 458-465 (in Chinese).
- [15] 张宇婷, 杨建, 耿龙武, 等. 盐度胁迫对大鳞鲃抗氧化酶和血清皮质醇的影响[J]. 渔业科学进展, 2021, 42(1): 56-62.
Zhang Y T, Yang J, Geng L W, *et al.* Effects of salinity stress on antioxidant enzymes and serum cortisol in *Luciobarbus capito*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2021, 42(1): 56-62 (in Chinese).
- [16] 张宇婷. 基于转录组技术的大鳞鲃盐碱胁迫免疫应激响应研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.
Zhang Y T. Study of immunological reaction of *Luciobarbus capito* under saline-alkali stress based on transcriptome sequencing technology[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020 (in Chinese).
- [17] 舒超华, 张珂, 洪美玲, 等. 盐度胁迫对红耳龟生长与血液生化指标的影响[J]. 四川动物, 2012, 31(6): 912-916.
Shu C H, Zhang K, Hong M L, *et al.* Effect of salinity stress on *Trachemys scripta elegans* growth and blood biochemical ingredient[J]. Sichuan Journal of Zoology, 2012, 31(6): 912-916 (in Chinese).
- [18] 房子恒, 田相利, 董双林. 低盐驯化对半滑舌鳎幼鱼生长、渗透生理及糖代谢酶活性影响的研究[J]. 中国海洋大学学报, 2016, 46(8): 19-27.
Fang Z H, Tian X L, Dong S L, *et al.* The growth performance, osmotic physiology and carbohydrate metabolism activity of juvenile cynoglossus semilaevis acclimated to low salinity water[J]. Periodical of Ocean University of China, 2016, 46(8): 19-27 (in Chinese).
- [19] 田相利, 王国栋, 董双林, 等. 不同盐度驯化方式对小鲟(*Huso huso*) (♀) × (*Acipenser ruthenus*) (♂) 生长及渗透生理的影响[J]. 中国海洋大学学报, 2010, 40(7): 29-35.
Tian X L, Wang G D, Dong S L, *et al.* Effects of different salinity acclimation on the growth and osmophysiology of the bester (*Huso huso*) (♀) × (*Acipenser ruthenus*) (♂)[J]. Periodical of Ocean University of China, 2010, 40(7): 29-35 (in Chinese).
- [20] 徐钢春, 聂志娟, 薄其康, 等. 水温对刀鲚幼鱼耗氧率、窒息点、血糖及肝肌糖元指标的影响[J]. 生态学杂志, 2012, 31(12): 3116-3120.
Xu G C, Nie Z J, Bo Q K, *et al.* Effects of water temperature on oxygen consumption rate, asphyxiant point, blood glucose content, and muscle and liver glycogen content of juvenile *Coilia nasus*[J]. Chinese Journal of Ecology, 2012, 31(12): 3116-3120 (in Chinese).
- [21] 余德光, 杨宇晴, 王海英, 等. 盐度变化对斜带石斑鱼生理生化因子的影响[J]. 水产学报, 2011, 35(5): 719-728.
Yu D G, Yang Y Q, Wang H Y, *et al.* The effect of salinity change on physiology and biochemistry of *Epinephelus coioides*[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(5): 719-728 (in Chinese).
- [22] 王国栋. 盐度对小鲟和半滑舌鳎生长的影响及生理生态学机制[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2007.
Wang G D. Effects of salinity on the growth of bester and tongue sole and their eco-physiological mechanisms[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2007 (in Chinese).
- [23] 冯广朋, 庄平, 章龙珍, 等. 温度对中华鲟幼鱼血液生化指标的影响[J]. 生态学杂志, 2010, 29(10): 1973-1978.
Feng G M, Zhuang P, Zhang L Z, *et al.* Effects of water temperature on biochemical parameters of juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) blood[J]. Chinese Journal of Ecology, 2010, 29(10): 1973-1978 (in Chinese).
- [24] 何强. 碳酸盐碱度对瓦氏雅罗鱼氨氮排泄及 *Rh* 基因表达的影响[D]. 上海: 上海海洋大学, 2016.
He Q. Effects of carbonate alkalinities on ammonia excretion and *Rh* gene expression in *Leuciscus waleckii dybowski*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2016 (in Chinese).
- [25] 何强, 常玉梅, 苏宝锋, 等. 碳酸盐碱度对达里湖瓦氏雅罗鱼耗氧率、氨氮排泄和排氨基因表达的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2016, 25(4): 551-558.
He Q, Chang Y M, Su B F, *et al.* Effects of carbonate alkalinities on oxygen consumption, ammonia excretion and ammonia excretion gene expression in *Leuciscus waleckii dybowski*[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2016, 25(4): 551-558 (in Chinese).
- [26] 郭雯翥, 么宗利, 来琦芳, 等. 盐碱胁迫下青海湖裸鲤鳃基因表达差异[J]. 海洋渔业, 2012, 34(2): 137-144.
Guo W F, Yao Z L, Lai Q F, *et al.* Differential gene expression of *Gymnocypris przewalskii* under saline-alkali stress[J]. Marine Fisheries, 2012, 34(2): 137-144 (in Chinese).
- [27] Gershanovich A D, Pototskij I V. The peculiarities of non-faecal nitrogen excretion in sturgeons (Pisces; Acipenseridae) - 2. Effects of water temperature, salinity and pH[J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Physiology, 1995, 111(2): 313-317.
中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

- [28] Tattersall G J, Wright P A. The effects of ambient pH on nitrogen excretion in early life stages of the American toad (*Bufo americanus*)[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Physiology*, 1996, 113(4): 369-374.
- [29] 林艳, 缪凌鸿, 盘文静, 等. 亚硝酸盐氮胁迫对鳙血液生化指标以及组织HSP70 mRNA表达水平的影响[J]. 水产学报, 2017, 41(8): 1192-1202.
Lin Y, Miao L H, Pan W J, *et al.* Effects of nitrite nitrogen stress on blood biochemical indicators and HSP70 mRNA expression level of *Aristichthys nobilis*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, 41(8): 1192-1202 (in Chinese).
- [30] 房子恒, 田相利, 董双林, 等. 不同盐度下半滑舌鳎幼鱼非特异性免疫酶活性分析[J]. 中国海洋大学学报, 2014, 44(5): 46-53.
Fang Z H, Tian X L, Dong S L, *et al.* Analysis of the activity of non-specific immune enzymes of juvenile *Tongue soles* cultured in various salinities[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2014, 44(5): 46-53 (in Chinese).
- [31] 田立立, 万金娟, 孟祥龙, 等. 高pH急性和慢性胁迫对克氏原螯虾非特异性免疫和抗氧化能力的影响[J]. *淡水渔业*, 2021, 51(4): 101-107.
Tian L L, Wan J J, Meng X L, *et al.* Effects of acute and chronic high pH stress on non-specific immunity and antioxidant capacity in *Procambarus clarkii*[J]. *Freshwater Fisheries*, 2021, 51(4): 101-107 (in Chinese).
- [32] 王梦洁, 储天琪, 刘峰, 等. 盐度胁迫对小黄鱼(*Larimichthys polyactis*)抗氧化酶、非特异性免疫酶和 Na^+/K^+ -ATP酶活性的影响[J]. 海洋学报, 2021, 43(2): 59-66.
Wang M J, Chu T Q, Liu F, *et al.* Effect of salinity stress on the antioxidant enzymes, non-specific immune enzymes, and Na^+/K^+ -ATPase activities in *Larimichthys polyactis*[J]. *Haiyang Xuebao*, 2021, 43(2): 59-66 (in Chinese).
- [33] 赵玉超, 王仁杰, 沈敏, 等. 高盐对凡纳滨对虾仔虾生长、渗透调节及免疫相关酶活性的影响[J]. 水产学报, 2019, 43(4): 833-840.
Zhao Y C, Wang R J, Shen M, *et al.* Effects of high-salt stress on daily weight gain, osmoregulation and immune related enzyme activities in *Litopenaeus vannamei* postlarvae[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 43(4): 833-840 (in Chinese).
- [34] 胡利华, 闫茂仓, 郑金和, 等. 盐度对日本鳗鲡生长及非特异性免疫酶活性的影响[J]. 台湾海峡, 2011, 30(4): 528-532.
Hu L H, Yan M C, Zheng J H, *et al.* Effects of salinity on growth and nonspecific immune enzyme activities of *Anguilla japonica*[J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 2011, 30(4): 528-532 (in Chinese).
- [35] 袁新程, 施永海, 徐嘉波, 等. 半咸水、淡水养殖刀鲚消化、抗氧化、非特异性免疫及代谢酶活性的比较分析[J]. 渔业科学进展, 2023, 44(1): 70-79.
Yuan X C, Shi Y H, Xu J B, *et al.* Analysis and comparison of digestive, antioxidant, nonspecific immunity and metabolic enzyme activities of *Coilia nasus* cultured in brackish water and freshwater[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2023, 44(1): 70-79 (in Chinese).
- [36] 李玉全, 李永生, 赵法箴. 盐度渐变与骤变对脊尾白虾渗透、代谢及免疫相关酶活性的影响[J]. 生态学报, 2015, 35(21): 7229-7235.
Li Y Q, Li Y S, Zhao F Z, *et al.* Effect of salinity changes on osmotic-, metabolic-, and immune-related enzyme activities in *Exopalaemon carinicauda*[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2015, 35(21): 7229-7235 (in Chinese).
- [37] 孙雪娜, 冯广朋, 刘鉴毅, 等. 盐度对金钱鱼幼鱼存活、生长和抗氧化系统的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2022, 31(1): 161-169.
Sun X N, Feng G P, Liu J Y, *et al.* Effects of salinity on survival, growth and antioxidant defense system of *Scatophagus argus*[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2022, 31(1): 161-169 (in Chinese).
- [38] 董兰芳, 许明珠, 刘海娟, 等. 盐度对中国鲎幼鲎生长、蜕壳、 Na^+/K^+ -ATP酶活性、免疫指标和抗氧化能力的影响[J]. 热带海洋学报, 2022, 41(3): 156-163.
Dong L F, Xu M Z, Liu H J, *et al.* Effects of salinity on growth, molting, Na^+/K^+ -ATP enzyme activities, immune index, and antioxidant of juvenile Chinese horseshoe crab, *Tachypleus tridentatus*[J]. *Journal of Tropical Oceanography*, 2022, 41(3): 156-163 (in Chinese).
- [39] 石英, 李燕舞, 庞纪彩, 等. 盐度胁迫对黄河鲤幼鱼耐受性、肝脏抗氧化酶和鳃丝 Na^+/K^+ -ATPase酶活性的影响[J]. 淡水渔业, 2021, 51(5): 37-44.
Shi Y, Li Y W, Pang J C, *et al.* The effects of salinity stress on tolerance, liver antioxidant activity and gill filament's Na^+/K^+ -ATPase activity of juvenile *Cyprinus carpio haematoperus*[J]. *Freshwater Fisheries*, 2021, 51(5): 37-44 (in Chinese).

Effects of salinity acclimation on physiology and biochemistry and antioxidant immunity of juvenile *Luciobarbus capito*

LI Haitao^{1,2}, ZHAO Zhigang¹, XU Wei^{1*}, LUO Liang¹, SHANG Xinchu¹, LI Mingshuai^{1,3},
LIU Jinyu^{1,2}, WANG Yu^{1,2}, ZHANG Rui¹, GUO Kun¹, GENG Longwu¹,
ZHANG Qing^{1,2}, DU Rujun⁴, CONG Yanfeng⁴

(1. Key Open Laboratory of Cold Water Fish Germplasm Resources and Breeding of Heilongjiang Province, Heilongjiang Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China;

4. Aquatic Products Station of Dorbod Mongolian Autonomous County, Daqing 166200, China)

Abstract: In saltwater fish culture, directly releasing freshwater-cultured fry into medium to high salinity water typically results in high mortality due to environmental adaptation challenges. However, prior adaptive acclimation in low to medium salinity environments can enhance fry resistance and improve survival rates. This study investigated the physiological, biochemical, and immune stress responses of *Luciobarbus capito* following salinity acclimation. Juvenile fish, averaging (15.09±3.54) cm in length and (13.66±1.26) g in weight, were divided into three groups: a control group maintained in freshwater, an acclimated group preconditioned at 4 g/L salinity for 168 hours before exposure to 8 g/L saltwater, and a non-acclimated group directly introduced in 8 g/L saltwater. Physiological, biochemical, and immune stress indicators were measured at 0, 6, 12, 24, 48, 96 and 168 h in all groups. The results indicated that, (i) the blood routine indexes (WBC, Lymph, Mon, Gran, RBC, HGB contents), plasma physiological and biochemical indexes (UREA concentration, GLU-G and ALB contents, plasma osmotic pressure), ACP, AKP, LDH in gill tissue and antioxidant indexes (SOD, CAT, GSH-Px, MDA content) in liver tissue of acclimated group and non-acclimated group all showed an increasing first and then decreasing with the extension of stress time. (ii) In the early stage of salinity stress, the biochemical indexes of juveniles in both acclimated and non-acclimated groups reached their peak at the same time. However, the amplitude and peak size of the physiological and biochemical indexes (WBC, Lymph, Gran, Mon, Urea, GLU-G, ALB, osmotic pressure), transaminases (AST, ALT) and antioxidant enzymes (SOD, CAT, GSH-Px, MDA) of liver tissue were significantly lower than those of non-acclimated group ($P<0.05$). (iii) After 7 days of 8 g/L NaCl salinity stress, both the acclimated and non-acclimated could recover to the level of the control group, but the plasma osmotic pressure and plasma ALB content of the *L. capito* juvenile in the acclimated group recovered to the level of control group earlier than those in the non-acclimated group. The study's findings suggest that *L. capito* juveniles acclimated at 4 g/L salinity exhibit superior physiological and biochemical self-regulation and recovery ability when subjected to 8 g/L salinity stress.

Key words: *Luciobarbus capito*; salinity; physiology and biochemistry; antioxidant enzymes; immunity

Corresponding author: XU Wei. E-mail: xwsc23@163.com

Funding projects: National Key Research and Development Project (2020YFD0900402, 2019YFD0900405); Basic Project of Chinese Academy of Fishery Science (2020TD56)