

饥饿及恢复生长对方斑东风螺抗氧化体系的影响

薛明^{1,2}, 柯才焕¹, 王德祥¹, 魏永杰¹

(1. 厦门大学 海洋学系, 厦门大学近海海洋环境科学国家重点实验室, 福建 厦门 361005; 2. 广东海洋大学 水产学院, 广东 湛江 524025)

摘要: 在 $(25.8 \pm 1.7)^\circ\text{C}$ 条件下, 测定了方斑东风螺 (*Babylonia areolata*) 不同饥饿期 (7 d、15 d、25 d、40 d) 后再投喂 (30 d) 过程中足肌、肝胰脏的抗氧化体系相关指标变化。结果显示, 分别饥饿 25 d 和 40 d 时幼螺两组组织丙二醛 (MDA) 含量较对照组均显著升高; 饥饿 25 d 前, 超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶 (GPx) 活力较对照组逐渐增强, 当禁食达 40 d 时却显著减弱; 谷胱甘肽硫转移酶 (GST) 活力饥饿状态下先略上升后下降, 肝胰脏、足肌中分别于饥饿 25 d 和 40 d 时显著降低; 谷胱甘肽还原酶 (GR) 活力及谷胱甘肽 (GSH) 含量随禁食延长均呈下降趋势。恢复生长后, 除饥饿 40 d 组 GR 活力及肝胰脏 MDA 水平较对照呈差异显著外, 该组其余指标及其他各处理组相应指标均恢复至或接近对照组水平。结果表明, 饥饿胁迫下螺体抗氧化体系虽被激活, 但仍处于一定的氧化应激状态, 提示幼螺养成中禁食时间不宜超过 25 d, 且 SOD、CAT 与 GPx 活性可作为螺体饥饿胁迫状态的指示参数。[中国水产科学, 2010, 17 (2): 281–288]

关键词: 方斑东风螺; 饥饿; 再投喂; 脂质过氧化; 酶活力

中图分类号: Q959.212

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2010)02-0281-08

自然环境中, 由于食物空间分布的不均匀性及出现时间上的季节更替等原因, 动物在其生命周期中遭遇食物缺乏或不足的现象非常普遍。饥饿影响到动物代谢、贮存物质消耗、免疫防御能力等的变化^[1-2], 尤其对于水生变温动物, 较低等的免疫系统和复杂多变的生态环境, 使其更易受到饥饿导致的氧化胁迫, 常伴随有活性氧自由基 (Reactive oxygen species, ROS) 的产生, 并引发脂质过氧化^[3]。通常生物体会利用抗氧化防御系统对 ROS 进行清除, 以减轻对机体的损害, 抗氧化体系包括抗氧化酶和非酶促系统, 其中酶促系统主要包括超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶 (Catalase, CAT) 等, 是细胞内清除 ROS 的主要保护酶; 非酶促系统主要包括一些小分子抗氧化物, 如还原型 GSH、维生素 C、维生素 E、胡萝卜素等^[4-5]。用脂质过氧化终产物丙二醛 (malondialdehyde, MDA) 含量

与抗氧化酶等相关指标作为生物标志物指示饥饿胁迫对鱼类的影响有少量研究^[6-8], 而有关食物缺乏对贝类造成的氧化胁迫及有关影响鲜见报道。

方斑东风螺 (*Babylonia areolata*) 隶属软体动物门 (Mollusca)、腹足纲 (Gastropoda)、新腹足目 (Neogastropoda)、蛾螺科 (Buccinidae)、东风螺属, 分布于中国、日本和东南亚诸国亚热带和热带沿岸浅海海域, 是目前养殖较为成功的海产腹足类之一。关于其幼体生物学特性、人工育苗及营养等方面已有若干研究^[9-11]。笔者在养殖过程中发现, 该螺具有典型的无脊椎动物耐饥饿特性, 故本实验通过测定幼螺肝胰脏与足肌的抗氧化体系相关指标变化, 探讨饥饿胁迫状态及恢复生长后螺体非特异性免疫防御系统可行的生物标志物, 旨在为丰富该物种饥饿生理生化理论并为其养殖生产管理提供科学依据。

收稿日期: 2009-04-28; 修订日期: 2009-10-15.

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金 (nycyt-47); 科技部农业科技成果转化 (03EFN213500133)。

作者简介: 薛明 (1975-), 女, 讲师, 主要从事海洋无脊椎动物学研究. E-mail: xuem@gdou.edu.cn

通讯作者: 柯才焕, 教授, 博士生导师. Tel: 0592-2187420; E-mail: chke@xmu.edu.cn

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验于2006年10–12月在厦门大学生态实验场进行。方斑东风螺幼螺来自福建东山下安养殖场,选取同池同批孵化幼体培育而成的个体,先在水泥池中暂养1周,每天投喂冰鲜蓝圆鲈(*Decapterus maruadsi*)肌肉,切成块状,每次投喂1 h左右,肉眼观察幼螺不再摄食时,收集残饵。然后精选活力好、个体规格相近的个体作实验材料放入玻璃水簇箱(55 cm × 45 cm × 42 cm)中驯化2周;样本体质量(5.25 ± 0.53) g,壳长(2.47 ± 0.21) cm;水体体积为70 L,箱底备细沙厚约4 cm。

1.2 实验方法

实验设饥饿7 d、15 d、25 d、40 d后再投喂30 d 4个处理组(分别以S7、S15、S25和S40表示)及相应的对照组(共4组,以C表示),每组均设3个重复,每一重复用一水簇箱,每箱放入幼螺30只,处理组于实验前停喂1 d,各组喂食期间投喂方式与暂养时相同,实验期间水温为(25.8 ± 1.7) °C,盐度为29.2, pH 7.7,连续充气,溶氧在6.0 mg/L以上,每天换水1/3,所用海水为实验前同批贮备,先经沉淀和沙滤处理,并用过滤棉不间断循环过滤;分别在饥饿结束与恢复喂食30 d后从每组3个水簇箱中各随机选取2只,共6只,相应的对照组同时取样,每只螺组织单独测定。

1.3 样品处理与测定

样品制备参照Livingstone^[12]方法,每次取样后立即于冰上解剖分离出足肌与肝胰脏,用预冷生理盐水清洗,再用滤纸吸干,称取0.5 g于玻璃匀浆器中,按1:9质量体积比加入预冷匀浆缓冲液(1.15% KCl, 0.01 mol/L Tris-HCl, pH 7.4),冰浴中匀浆,匀浆液在4 °C, 10 000 g离心20 min,所得上清液根据需要稀释2~10倍,用于各酶活力及MDA、GSH含量测定,所有样品在24 h内测定完毕。

所有测定指标均按试剂盒方法进行,试剂盒购自南京建成生物工程研究所。SOD活力采用黄嘌呤氧化酶法测定,其定义为37 °C条件下,每mg

组织蛋白在1 mL反应液中SOD抑制率达50%时所对应的SOD量为一个活力单位($\text{U} \cdot \text{mg}^{-1} \text{prot}$); CAT活力采用钼酸铵显色法,其定义为每mg组织蛋白每秒钟分解 $1 \mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ 的量为1个活力单位;谷胱甘肽硫转移酶(Glutathione-S-transferase, GST)采用CDNB法,其定义为每mg蛋白在37 °C反应1 min扣除非酶促反应,使反应体系中GSH浓度降低 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为1个酶活力单位;谷胱甘肽还原酶(Glutathione reductase, GR)采用比色法,其定义为每分钟使反应体系中底物NADPH的浓度改变 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为1个酶活力单位;谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx)活力采用DTNB法,其定义为在30 °C条件下每mg组织蛋白每分钟扣除酶促反应作用,使反应体系中GSH降低 $1 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 为1个酶活力单位。丙二醛含量用TBA (Thiobarbituric Acid)法测定,单位为纳摩尔/毫克蛋白($\text{nmol} \cdot \text{mg}^{-1} \text{prot}$)。还原型GSH含量测定采用DTNB比色法,单位为 $\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \text{prot}$ 。

蛋白质含量用福林-酚法测定,以牛血清白蛋白为标准。酶活性以比活力表示,即酶液中每mg蛋白具有的酶活力单位(U/mg)。

1.4 统计分析

数据均以平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm \text{SD}$)表示,用SPSS 13.0统计软件对酶活力进行处理组与对照组间的 t 检验,并对各组GSH、MDA含量进行单因素方差分析(ANOVA),当差异达显著性水平时,用Duncan's多重比较分析处理组内的显著性水平($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 抗氧化酶活性变化

方斑东风螺幼螺的饥饿耐受性较强,在实验期间无死亡个体出现。幼螺足肌抗氧化防御系统的5种相关酶活力变化见表1,其中SOD、CAT与GPx活力在饥饿前期均较正常摄食组显著性增强,禁食25 d时分别为对照组的1.27倍、1.45倍与1.43倍;当饥饿时间长达40 d时,3种酶活性相比同期的对照组却显著性下降($P < 0.05$),经30 d的饱足投喂

后,各处理组 3 种酶活力均达到或接近对照组水平,无显著性差异 ($P>0.05$)。足肌中 GR 活力在各处理组饥饿结束时均较对照显著下降 ($P<0.05$),恢复生长后,除 S40 组活力仍显著较低外,其余各组虽略低于对照组,但无显著性差异 ($P>0.05$)。GST 活力在禁食 7~25 d 时与对照无明显差异,当饥饿时间达 40 d,其活力也显著下降 ($P<0.05$),但恢复生长后又迅速回升至对照组水平 ($P>0.05$)。

表 1 实验期间方斑东风螺足肌中抗氧化酶活力变化
Tab. 1 Effects of refeeding after starvation on the maximal activities of enzymes involved in antioxidant defense in foot muscle of *B. areolata* juveniles during experiment

$n=6; \bar{x} \pm SD; U \cdot \text{mg}^{-1} \text{prot}$

处理组 Treatment group			SOD	CAT	GST	GPx	GR
S7	饥饿期 Starvation period	C	76.25 ± 6.54	1.25 ± 0.07	23.81 ± 1.04	17.45 ± 2.11	5.32 ± 1.28
		S	85.56 ± 5.34*	1.56 ± 0.08*	26.17 ± 0.87	21.40 ± 1.86*	4.07 ± 0.95*
	恢复期 Refeeding period	C	78.01 ± 5.79	1.29 ± 0.08	25.69 ± 1.13	18.09 ± 1.78	5.47 ± 1.36
		S	76.27 ± 5.46	1.27 ± 0.08	24.50 ± 1.31	16.89 ± 2.05	5.30 ± 1.19
S15	饥饿期 Starvation period	C	76.84 ± 4.31	1.28 ± 0.07	24.51 ± 0.95	17.97 ± 2.05	5.38 ± 1.20
		S	89.32 ± 5.77*	1.77 ± 0.36*	22.77 ± 0.49	22.32 ± 1.25*	3.78 ± 0.86*
	恢复期 Refeeding period	C	76.83 ± 6.23	1.26 ± 0.09	26.47 ± 1.23	18.67 ± 1.96	5.51 ± 1.26
		S	77.69 ± 5.43	1.30 ± 0.12	23.47 ± 1.01	17.43 ± 1.75	5.39 ± 1.21
S25	饥饿期 Starvation period	C	77.56 ± 5.45	1.30 ± 0.07	25.46 ± 0.76	17.86 ± 2.15	5.45 ± 1.05
		S	98.32 ± 6.48*	1.89 ± 0.56*	24.41 ± 1.26	25.59 ± 1.53*	3.29 ± 0.84*
	恢复期 Refeeding period	C	79.26 ± 5.81	1.29 ± 0.07	26.85 ± 1.32	19.03 ± 1.57	5.48 ± 1.37
		S	76.74 ± 5.56	1.24 ± 0.09	25.49 ± 1.18	17.98 ± 1.54	5.33 ± 1.07
S40	饥饿期 Starvation period	C	78.58 ± 6.45	1.28 ± 0.09	27.58 ± 1.09	17.83 ± 1.68	5.28 ± 1.53
		S	44.51 ± 3.28*	0.85 ± 0.06*	19.17 ± 1.28*	10.78 ± 0.86*	2.75 ± 0.89*
	恢复期 Refeeding period	C	79.55 ± 6.39	1.32 ± 0.11	26.53 ± 1.35	19.26 ± 2.53	5.40 ± 1.15
		S	77.48 ± 5.53	1.37 ± 0.07	28.84 ± 1.04	18.38 ± 1.15	4.25 ± 0.72*

注: * 表示与同期的对照组有显著差异 ($P<0.05$); C、S 分别表示对照组、处理组。
Note: * means significant differences between starvation and control groups ($P<0.05$); C and S indicate the control and treatment groups respectively.

如表 2 所示,在正常摄食状态下,除 SOD 活力外,幼螺肝胰脏中其他 4 种抗氧化防御酶活力均比足肌中的高。饥饿状态下,SOD、CAT 与 GPx 活力在实验过程中变化趋势与足肌中的相近似,其中饥饿 25 d 时酶活性达最高值,分别为对照组的 1.49 倍、1.51 倍与 1.43 倍,随后迅速下降。GST 活力在饥饿 7 d、15 d 时略高于对照组,但无明显差异 ($P>0.05$),当饥饿时间延长时 (25~40 d),其活力却显著降低 ($P<0.05$)。GR 活力也随饥饿时间延长而减弱,且显著低于对照组 ($P<0.05$)。恢复生长后,除 S40 组

GR 活力仍较低外,各处理组的酶活力均恢复或接近对照组水平 ($P>0.05$)。

2.2 丙二醛(MDA)含量变化

如图 1 所示,幼螺饥饿 7 d、15 d 时足肌 MDA 含量较对照组有所增加,经 30 d 恢复投喂后相比正常摄食组略有上升 (S7 组) 或下降 (S15 组),但各组间差异不显著 ($P>0.05$); 而幼螺经 25 d 或 40 d 饥饿时其足肌中 MDA 水平较对照组显著增加 ($P<0.05$),恢复生长后,两组 MDA 水平则与对照组间无显著性差异 ($P>0.05$)。

表 2 实验期间方斑东风螺肝胰脏中抗氧化酶活力变化
Tab. 2 Effects of refeeding after starvation on the maximal activities of enzymes involved in antioxidant defense in hepatopancreas of *B. areolata* juveniles during experiment

处理组 Treatment group			SOD	CAT	GST	GPx	GR
S7	饥饿期	C	65.45 ± 3.56	14.56 ± 1.48	52.37 ± 4.59	63.79 ± 5.32	13.45 ± 1.23
	Starvation period	S	69.93 ± 2.97*	18.27 ± 1.02*	54.27 ± 5.32	69.74 ± 4.18*	9.46 ± 0.97*
	恢复期	C	66.71 ± 4.03	14.77 ± 1.50	51.79 ± 4.20	62.33 ± 4.67	12.59 ± 1.17
	Refeeding period	S	68.48 ± 3.57	13.89 ± 1.24	53.26 ± 4.76	64.37 ± 4.89	13.23 ± 1.04
S15	饥饿期	C	65.39 ± 3.55	14.04 ± 1.25	54.46 ± 4.83	63.25 ± 4.39	12.97 ± 1.56
	Starvation period	S	76.17 ± 3.58*	19.55 ± 1.16*	57.43 ± 3.81	81.26 ± 6.01*	8.94 ± 1.41*
	恢复期	C	67.21 ± 4.60	14.89 ± 2.11	54.76 ± 4.66	64.15 ± 5.23	12.69 ± 0.85
	Refeeding period	S	64.83 ± 4.13	13.53 ± 1.17	52.77 ± 3.65	63.20 ± 4.79	11.77 ± 1.13
S25	饥饿期	C	66.18 ± 3.79	14.22 ± 1.24	55.24 ± 4.39	65.33 ± 5.21	12.15 ± 1.23
	Starvation period	S	98.37 ± 2.86*	21.48 ± 0.63*	40.42 ± 4.31*	93.23 ± 6.10*	8.05 ± 0.87*
	恢复期	C	66.19 ± 3.82	14.65 ± 1.27	53.80 ± 4.52	64.26 ± 3.24	12.62 ± 1.32
	Refeeding period	S	67.83 ± 4.26	13.99 ± 1.25	56.28 ± 3.74	66.75 ± 6.78	12.04 ± 0.92
S40	饥饿期	C	68.20 ± 3.75	14.17 ± 1.21	54.30 ± 5.28	63.29 ± 4.57	13.45 ± 1.25
	Starvation period	S	32.62 ± 2.09*	7.11 ± 2.12*	33.84 ± 3.65*	54.08 ± 3.25*	4.66 ± 0.53*
	恢复期	C	69.83 ± 4.25	14.75 ± 1.82	53.54 ± 5.36	64.37 ± 5.49	12.49 ± 1.20
	Refeeding period	S	67.57 ± 3.74	13.89 ± 1.06	51.84 ± 3.78	66.89 ± 6.46	9.44 ± 1.34*

注：* 表示与同期的对照组有显著差异 ($P<0.05$)；C、S 分别表示对照组、处理组。
Note: * means significant differences between starvation and control groups ($P<0.05$) ; C and S indicate the control and treatment groups respectively.

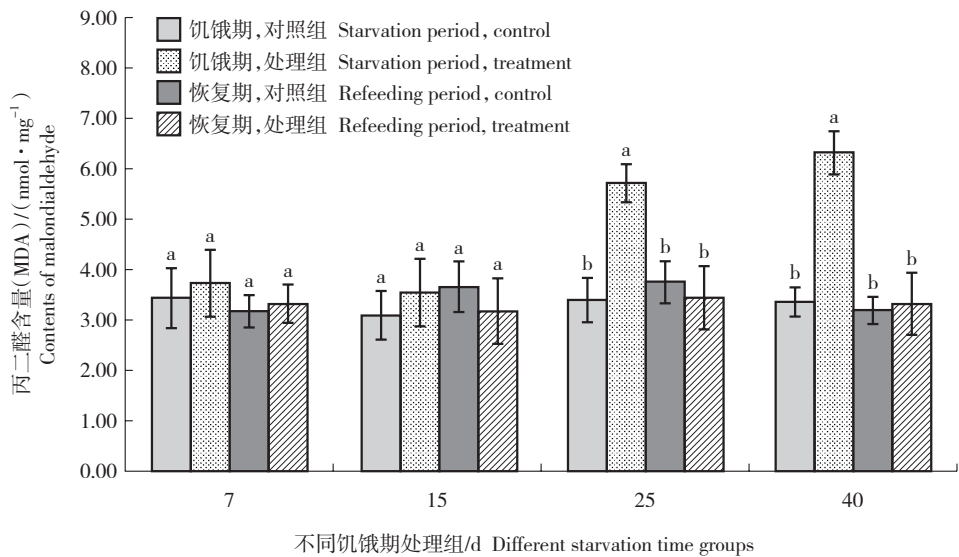


图 1 实验期间方斑东风螺足肌中 MDA 含量的变化
同一处理组的柱上不同字母者表示差异显著 ($P<0.05$)。

Fig. 1 Effects of refeeding after starvation on levels of malondialdehyde (MDA) in foot muscle of *B. areolata* juvenile
Columns in the same treatment with different letters indicate significant differences ($P<0.05$).

图 2 所示幼螺肝胰脏 MDA 含量变化,可看出饥饿 25 d 前,幼螺肝胰脏中 MDA 含量变化趋势与足肌中较相似。禁食 40 d 时螺的肝胰脏中 MDA 水平显著性上升,经 1 个月的恢复投喂后仍显著高于正常摄食组水平,但与饥饿结束时相比,MDA 含量有显著性下降 ($P<0.05$)。

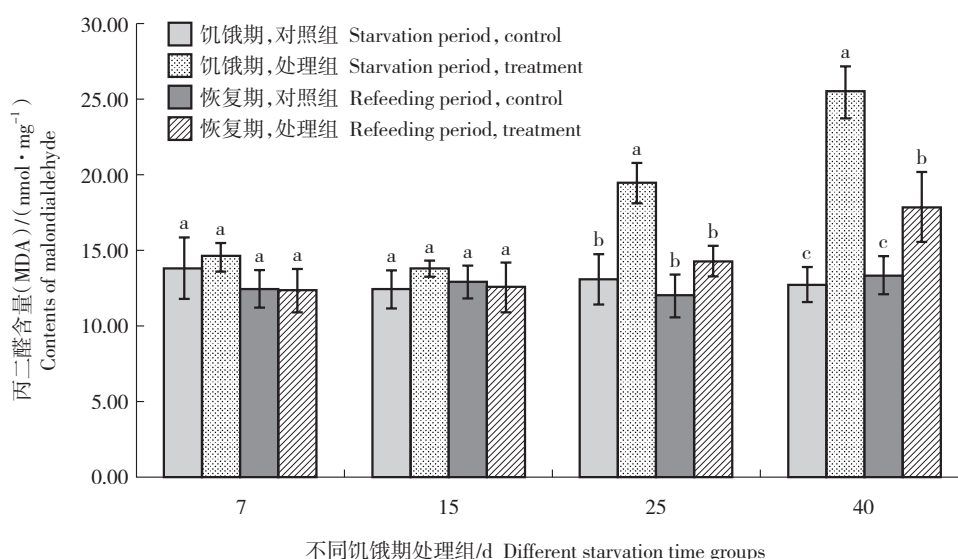


图2 实验期间方斑东风螺肝胰脏中MDA含量的变化

同一处理组的柱上不同字母者表示差异显著($P<0.05$)。

Fig. 2 Effects of refeeding after starvation on levels of malondialdehyde (MDA) in hepatopancreas of *B. areolata* juvenile
Columns in the same treatment with different letters indicate significant differences ($P<0.05$).

2.3 还原型谷胱甘肽(GSH)含量变化

如图3所示,幼螺足肌中还原型GSH含量随饥饿时间延长而不断降低,其中饥饿7 d、15 d时与同期的对照组无显著性差异($P>0.05$);而饥饿25~40 d时GSH含量处于较低的稳定状态,但较对照组均显著下降($P<0.05$)。各组恢复投喂后GSH含量相比饥饿结束时有所增加(S7、S40, $P>0.05$)或显著性增加(S15、S25, $P<0.05$);相比对照组而言, S7组略有降低,但无明显差异; S15、S25组GSH含量则显著上升($P<0.05$), S40组含量较低但无统计差异($P>0.05$)。

图4所示为幼螺肝胰脏中GSH含量变化,可见各组饥饿结束时GSH较同期的对照组均有所降低,且饥饿超过7 d时呈显著性下降($P<0.05$)。恢复生长后,各组GSH含量较饥饿结束时均显著上升($P<0.05$)。相比对照组而言,各组GSH含量均有所增加,其中S15、S25组呈显著性增加($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 饥饿对幼螺脂质过氧化程度的影响

正常活动状态下,动物体内ROS浓度极低且

处于平衡状态^[3],但遭遇胁迫环境(污染、饥饿、生境变化等)时,其产生与清除易失去平衡,自由基如 $\cdot\text{OH}$ 、 $\cdot\text{O}_2^-$ 、 H_2O_2 等在体内积累,攻击多种细胞成分,引起脂质过氧化(Lipid peroxidation, LPO)、酶蛋白失活、DNA断裂等一系列生理生化变化,对机体造成氧化胁迫,甚至诱导细胞死亡^[5-6]。MDA是脂质过氧化作用的主要分解产物,其含量高低可间接反映LPO水平,被作为一种细胞膜氧化损伤的指示物^[1]。较多研究报道,饥饿对生物机体的有害效应是由于ROS过量产生造成的^[3],如Morales等^[6]对饥饿5周后的细点牙鲷(*Dentex dentex*)与Pascual等^[7]对金头鲷(*Sparus aurata*)饥饿21 d后肝脏中抗氧化酶与MDA含量研究发现,抗氧化酶活力抑制与MDA含量上升说明饥饿导致鱼体处于一定的氧化胁迫状态。本实验发现幼螺在饥饿7 d和15 d时两组组织MDA水平略有上升,但与摄食组差异不显著,说明短期饥饿对螺体无明显损害。如Dempsey^[4]研究指出,对于一些慢性应激(如饥饿)引起的ROS升高,机体可以采取提高抗氧化酶类和许多其他防御的形式来加以适应,并且修复氧化损伤;但分别经过25 d和40 d的禁食后螺体组织MDA含量显著高于摄食

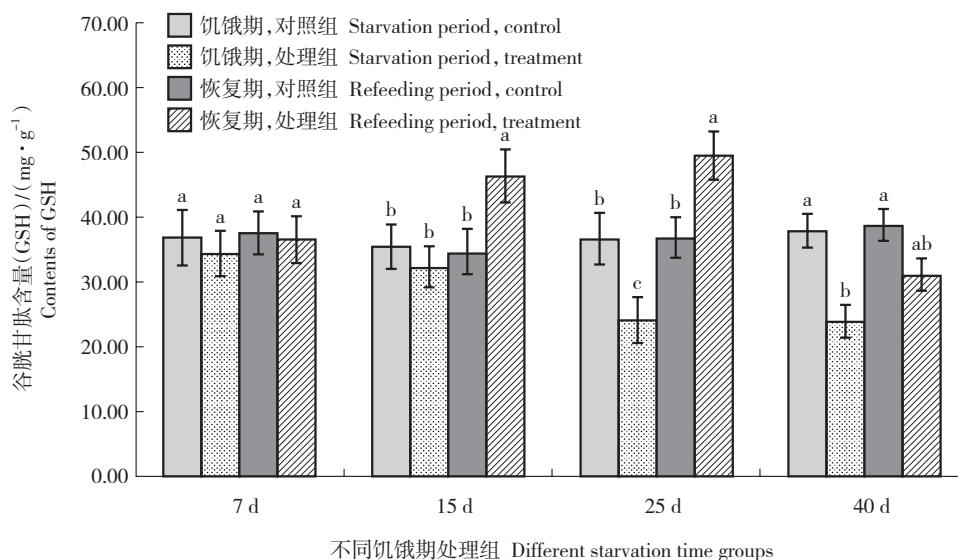


图3 实验期间方斑东风螺足肌中还原型 GSH 含量的变化
同一处理组的柱上不同字母者表示差异显著 ($P<0.05$)。

Fig. 3 Effects of refeeding after starvation on contents of reduced GSH in foot muscle of *B. areolata* juvenile.
Columns in the same treatment with different letters indicate significant differences ($P<0.05$).

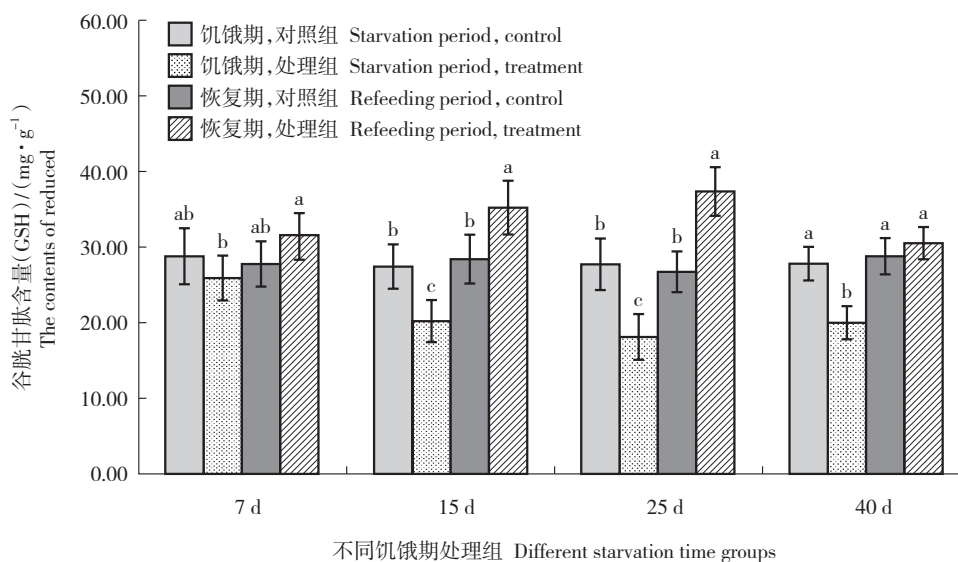


图4 实验期间方斑东风螺肝胰脏中还原型 GSH 含量的变化
同一处理组的柱上不同字母者表示差异显著 ($P<0.05$)。

Fig. 4 Effects of refeeding after starvation on contents of reduced GSH in hepatopancreas of *B. areolata* juvenile
Columns in the same treatment with different letters indicate significant differences ($P<0.05$).

组(足肌中分别上升 68.34%、88.36%; 肝胰脏分别为 48.70%、110.24%),说明较长时间饥饿后幼螺抗氧化系统无法清除过量的 ROS,导致氧化胁迫产生。

3.2 饥饿对幼螺抗氧化防御体系的影响

抗氧化酶如 SOD、CAT 以及与谷胱甘肽 (GSH) 循

环相关的抗氧化酶为抵御机体自由基损伤的第一道屏障,对机体的氧化与抗氧化平衡起着重要作用^[4-5]。其中 SOD 催化 $O_2^{\cdot-}$ 发生歧化反应,清除生物体内过高浓度的氧自由基,同时产生大量 H_2O_2 ,而 CAT 将 H_2O_2 还原为 H_2O 与 O_2 , GPx 则能同时还原 H_2O_2

与有机过氧化物, GST 以 GSH 为底物将脂过氧化氢物、核苷过氧化氢物等氧化降解, 而 GR 则可将 GPx 催化过程中产生的氧化型谷胱甘肽 (GSSG) 还原^[13], 而还原型 GSH 既可抵抗 ROS 的氧化损伤, 同时是其他抗氧化酶作用的底物^[15], 所以机体抗氧化体系防御能力取决于这些指标彼此协调的联合作用。

本实验结果表明, 在不同饥饿程度胁迫下幼螺中这 3 种保护酶的活力变化有所不同。SOD 是一种诱导酶, 饥饿胁迫促进 ROS 生成与 MDA 含量的增加, 从而诱导了两组织中 SOD 基因的表达, 轻度和中度饥饿下 (7 d、15 d、25 d) 其活力显著增强, 在 SOD 歧化 ROS 过程中伴随有大量 H_2O_2 的生成, 从而使 CAT 和 GPx 这 2 种主要清除 H_2O_2 的酶活力也显著性上升, 说明螺体抗氧化防御机制被激活。而更长期处于禁食胁迫下 (40 d), 组织细胞中 ROS 累积超过一定限度, 可能螺体内的代谢趋于混乱, 对其生物膜和酶系统产生了破坏, 从而抑制其基因表达, 导致 SOD 活力下降, 相应的 CAT 与 GPx 活力也受到抑制, 表明这 3 种酶对饥饿胁迫和 ROS 的响应存在着良好一致性。这种一致性在其他研究中也发现, Morales^[6] 报道细点牙鲷 (*Dentex dentex*) 在饥饿 5 周时肝脏中 3 种酶的活性均显著上升, 而经 3 周恢复喂食后均回复至对照组水平。赵扬等^[16] 也报道褐菖鲉 (*Sebastiscus marmoratus*) 肝脏 3 种酶活性在三丁基锡 (TBT) 暴露下同时被诱导, 污染清除后均回复到正常状态。Pannunzio 等^[13] 发现在 6 d 的缺氧胁迫过程中玉黍螺 (*Littorina littorea*) 肝胰脏组织的抗氧化酶活性均显著性受到抑制。

正常摄食状态下, 幼螺肝胰脏中除 SOD 活力稍低外, 其他酶活力均比足肌中高, 说明肝胰脏是东风螺对抗饥饿、污染等胁迫环境的重要器官, 饥饿 25 d 时其 GST 活力显著性降低, 而足肌中 GST 活力饥饿 40 d 时下降明显, 恢复生长后, 饥饿 40 d 组肝胰脏 MDA 水平仍显著高于对照组, 说明肝胰脏受饥饿胁迫影响较足肌严重, 这与其他贝类在胁迫环境下肝胰脏 (腺) 作为主要防御器官的报道相同^[13-14]。幼螺 GR 活力随禁食时间延长逐渐下降, 且饥饿各期均显著低于对照组, 这与细点牙鲷^[6]、虹鳟 (*Oncorhynchus*

mykiss)^[8] 饥饿后肝脏中 GR 活力显著下降类似, 而 GPx 活力在饥饿前 25 d 显著增强, 说明饥饿状态下作为 GPx 底物的 GSH 被大量消耗后难以通过 GR 还原等途径再生成, 因此幼螺肝、足肌 GSH 含量分别于饥饿 15 d 和 25 d 显著性下降, 导致细胞抵御 ROS 的能力减弱。

3.3 MDA 水平对螺养成时期的胁迫警示

水生生物常经历周期性的饥饿胁迫, 尤其对栖息地相对固定的贝类, 生活史中遭遇食物缺乏的风险更大^[17]。MDA 被认为是一个有效地反映细胞氧化胁迫状态的指示物, 本研究中幼螺饥饿 40 d 时 MDA 含量大幅上升, 脂质过氧化程度加剧, 5 种抗氧化酶活力也显著地受到抑制, 说明较长期饥饿后螺体自由基的生成与清除这一动态平衡遭到破坏, 导致机体抗氧化功能减弱。恢复生长后, 除 GR 活性及肝胰脏 MDA 水平与同期的对照组仍呈显著差异外, 其他指标均回复至正常水平。提示幼螺养成过程中即使有停食需要, 但时间不宜超过 25 d, 否则体内抗氧化剂和抗氧化酶系统无法维持自由基的“自稳态”, 使机体的 LPO 处于较高状态, 机体易受到损伤。

参考文献:

- [1] Bayne B L. Aspects of the metabolism of *Mytilus edulis* during starvation [J]. *Neth J Sea Res*, 1973, 7: 399-410.
- [2] 谢小军, 邓利, 张波. 饥饿对鱼类生理生态学影响的研究进展 [J]. *水生生物学报*, 1998, 22 (2): 181-189.
- [3] Robinson M K, Rustum R R, Chambers E A, et al. Starvation enhances hepatic free radical release following endotoxemia [J]. *J Surg Res*, 1997, 69: 325-330.
- [4] Demple B. Radical ideas: genetic responses to oxidative stress [J]. *Clin Exp Pharm Physiol*, 1999, 26: 64-78.
- [5] Storey K B. Oxidative stress: animal adaptations in nature [J]. *Braz J Med Biol Res*, 1996, 29: 1715-1733.
- [6] Morales A E, Pérez-Jiménez A, Hidalgo M C, et al. Oxidative stress and antioxidant defenses after prolonged starvation in *Dentex dentex* liver [J]. *Comp Biochem Physiol*, 2004, 139 C: 153-161.
- [7] Pascual P, Pedrajas J R, Toribio F, et al. Effect of food deprivation on oxidative stress biomarkers in fish (*Sparus aurata*) [J]. *Chem Biol*

- Interact, 2003, 145: 191–199.
- [8] Blom S, Andersson T B, Förlin L, et al. Effects of food deprivation and handling stress on head kidney 17 α -hydroxyprogesterone 21-hydroxylase activity, plasma cortisol and the activities of liver detoxification enzymes in rainbow trout [J]. Aquat Toxicol, 2000, 48: 265–274.
- [9] 吴进锋, 陈素文, 陈利雄, 等. 温度与盐度对方斑东风螺胚胎发育及幼虫生长的影响 [J]. 中国水产科学, 2005, 12 (5): 652–656.
- [10] 吴善. 方斑东风螺的产卵及幼贝培育 [J]. 中国水产, 2000, 1: 40–41.
- [11] 许貽斌, 柯才焕, 王德祥, 等. 方斑东风螺对饲料蛋白质需要量的研究 [J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2006, 45: 216–220.
- [12] Livingstone D R. Responses of microsomal NADPH-cytochrome reductase activity and cytochrome P-450 in digestive glands of *Mytilus edulis* and *Littorina littorea* to environmental and experimental exposure to pollutants [J]. Mar Ecol Progress Ser, 1988, 46: 37–43.
- [13] Pannunzio T M, Storey K B. Antioxidant defenses and lipid peroxidation during anoxia stress and aerobic recovery in the marine gastropod *Littorina littorea* [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1998, 221: 277–292.
- [14] Viarego A, Canesi L, Garcia Martinez P, et al. Pro-oxidant processes and antioxidant defence systems in the tissues of the Antarctic scallop (*Adamussium colbecki*) compared with the Mediterranean scallop (*Pecten jacobaeus*) [J]. Comp Biochem Physiol, 1995, 111B: 119–126.
- [15] Meister A. Glutathione metabolism and its selective modification [J]. J Biol Chem, 1988, 263: 17205–17208.
- [16] 赵扬, 王云, 左正宏, 等. 三丁基锡(TBT)对褐菖鲉肝脏抗氧化系统的影响 [J]. 厦门大学学报: 自然科学版, 2008, 47 (5): 748–751.
- [17] Hung T C, Meng P J, Han B C, et al. Trace metals in different species of mollusca, water and sediments from Taiwan coastal area [J]. Chemosphere, 2001, 44: 833–841.

Oxidative stress and antioxidant defenses during refeeding after starvation in tissues of juvenile spotted babylon, *Babylonia areolata*

XUE Ming^{1,2}, KE Caihuan¹, WANG Dexiang¹, WEI Yongjie¹

(1. Department of Oceanography, State Key Laboratory of Marine Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 2. College of Fisheries, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, China)

Abstract: An experiment was conducted to determine effects of refeeding after starvation on lipid peroxidation and antioxidant defenses of foot muscle and hepatopancreas of *Babylonia areolata* juveniles with initial body weight of (5.25 ± 0.53) g at (25.8 ± 1.7) °C. The results indicated that the malondialdehyde (MDA) content of the snails were significantly higher than that of the controls after food was deprived for 25 d and 40 d respectively. The activities of the antioxidant enzymes of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) were significantly higher than those in control in two tissues when food deprivation were not more than 25 d, but the results were reverse after the snails were starved for 40 d. The activities of glutathione-S-transferase (GST) reduced after increased firstly during starvation period, which were significantly lower than those in controls in muscle and hepatopancreas when starved time was up to 25 d and 40 d respectively. Both of the activities of glutathione reductase (GR) and the contents of GSH decreased gradually, with the starved time prolonged. After the snails were refed for 30 d, almost all the levels of the biomarkers of the snails returned to control values except MDA contents in hepatopancreas and GR activities in the 40 d starved group. In conclusion, prolonged starvation led to a pro-oxidant situation and oxidative stress despite activation of antioxidant defense mechanism, and the fasting time for the snails was best not more than 25 d during culture period when necessary. The activities of SOD, CAT and GPx could be used as good indexes to indicate the status of snails when food is deprived. [Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17 (2): 281–288]

Key words: *Babylonia areolata*; starvation; refeeding; lipid peroxidation; enzyme activities

Corresponding author: KE Caihuan. E-mail: chke@xmu.edu.cn