

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2017.17036

运动强度对斜带石斑鱼生长、非特异性免疫和肝脏抗氧化能力的影响

魏小岚^{1,2,3}, 虞顺年^{1,2}, 阳艳³, 肖雅元¹, 刘永¹, 韦芳三¹, 唐文乔², 李纯厚¹

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, 广东省渔业生态环境重点实验室, 广东 广州 510300;

2. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306;

3. 贵州省农业科学院水产研究院, 贵州 贵阳 550025

摘要: 为探讨有氧运动强度对斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)生长、血液非特异性免疫机能和肝脏抗氧化能力的影响, 本研究将斜带石斑鱼放置在 4 个运动强度(对照组 0 bl/s、实验组 0.5 bl/s、实验组 1.0 bl/s 和实验组 2.0 bl/s)中进行 8 周的训练实验。结果表明, 1.0 bl/s 运动强度对斜带石斑鱼的特定生长率(SGR)、增重率(WGR)和成活率(SR)有显著提高作用($P<0.05$)。血清中总蛋白(TP)、球蛋白(GLB)、补体 C3 含量和溶菌酶(LYZ)、碱性磷酸酶(AKP)、酸性磷酸酶(ACP)活性随运动强度的增加先上升后下降, 其中 1.0 bl/s 组显著高于其他组($P<0.05$), 而血清谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)活性先下降后上升, 其中 1.0 bl/s 组显著低于其他组($P<0.05$), 白蛋白(ALB)和补体 C4 含量无显著性差异($P>0.05$)。肝脏总抗氧化能力(T-AOC)、过氧化氢酶(CAT)和超氧化物歧化酶(SOD)的活性随运动强度的增加也呈现先增加后降低的趋势, 在 1.0 bl/s 组中活性显著高于其他组($P<0.05$)。8 周运动训练对肝脏 HSP70 mRNA 表达水平有显著影响, 1.0 bl/s 组显著高于其他组($P<0.05$)。总之, 1.0 bl/s 运动强度可提高斜带石斑鱼幼鱼的生长速度、增强血液非特异性免疫功能和肝脏抗氧化能力, 上调 HSP70 mRNA 表达水平。

关键词: 运动训练; 成活率; 非特异性免疫功能; 特定生长率

中图分类号: S917; Q417

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2017)05-1055-10

斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)属鲈形目(Perciformes), 鲷科(Serranidae), 石斑鱼属, 主要分布于热带亚热带海区, 具有很高的经济价值^[1], 由于过度捕捞、环境恶化等人为因素导致斜带石斑鱼资源遭到严重破坏, 因此斜带石斑鱼目前已成为中国南海北部地区增殖放流的重要品种。为了恢复海域内斜带石斑鱼种质资源, 国家开展了大量的增殖放流活动, 但放流效果并不理想^[2], 如何提高其增殖放流效果对目标海域范围内种质资源恢复具有重要意义。影响放流效果的因素有很多, 主要因素之一为放流策略, 放流地点、时间、规格、中间

培育(驯化)和放流方式均属于放流策略的范畴。人工繁育的苗种因适应了人工养殖环境, 若直接进行放流会对自然海区环境产生严重的应激反应, 从而造成放流鱼种死亡, 影响放流效果。因此, 对鱼种进行放流前驯化十分必要, 经过适应性驯化的鱼种能快速适应放流环境, 从而提高放流存活率^[3]。常见的驯化方式有自然生境驯化和饵料驯化^[4]等, 研究表明游泳是一种有效的适应性驯化方式^[5]。

游泳运动是绝大多数鱼类逃避敌害和洄游等活动的基础, 是其能否适应环境和生存的决定性因素^[6]。适当的游泳运动训练会促进鱼类生长, 增

收稿日期: 2017-02-04; 修订日期: 2017-04-20.

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项项目(201403008); 农业部南海渔业资源开发利用重点实验室开放基金课题(FREU2015-03); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项项目(2015161).

作者简介: 魏小岚(1987-), 男, 博士后, 研究方向为水生生物学. E-mail: weixiaolan1987@153.com

通信作者: 李纯厚, 研究员, 从事水生生物研究. E-mail: scslch@vip.163.com

强活动代谢,改善其生理代谢机能^[7]。已有研究表明,通过游泳运动训练能显著提高放流鱼种的野外存活率,大西洋鲑(*Salmo salar*)在经过 8 周的有氧运动训练(0.8 bl/s, 16 h 和 1.0 bl/s, 8 h)后免疫能力增强,放流后的存活率显著升高^[8]。

目前已有增强斜带石斑鱼机体免疫和环境适应能力的研究,主要集中在饲料配方和免疫添加剂方面^[9-10],运动训练对其生理生长影响的报道并不多。本研究以斜带石斑鱼为研究对象,通过不同水流强度诱导其逆流游泳运动,探讨运动强度对其生理指标如抗氧化能力(T-AOC)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)含量以及生长指标如生长率、成活率以及摄食率的影响,以期水产动物生态健康养殖和优化渔业资源增殖放流提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验鱼来源与暂养

斜带石斑鱼购于深圳南澳鱼苗繁育基地同一批次同一规格的苗种,实验开始前置于室内循环水养殖系统暂养 2 周。暂养期间每天饱足投喂 2 次(9:00 和 17:00)人工饵料(石斑鱼配合饲料,中山统一企业公司),每次喂食量为鱼体湿重的 2%。养殖水温为 26℃,光照周期为 12L:12D。饵料营养成分:粗蛋白≥46%、粗灰分≤16%、粗纤维≤4%、钙≤4.5%、总磷≤4.5%、赖氨酸≥1.5%、水分≤12%。

1.2 实验装置

采用自行设计的循环水运动训练装置。训练装置分为上下两层,上层为环形鱼类运动训练区域,下层为动力区域。动力由潜水泵提供,运动训练区域底部有两条平分环形训练区域的反向喷水管,水泵带动水流从喷水管流出,产生稳定环形水流,实验中通过调控水阀控制水泵出水量来控制装置内水流速度,流速大小用 LS300-A 型便携式流速仪测定(图 1)。

1.3 实验方法

大多数游泳鱼类都具有逆流游泳的行为,它们能根据水流的流动速度和流动方向不断的调整自身的游泳速度和运动方向,使其保持相对稳定

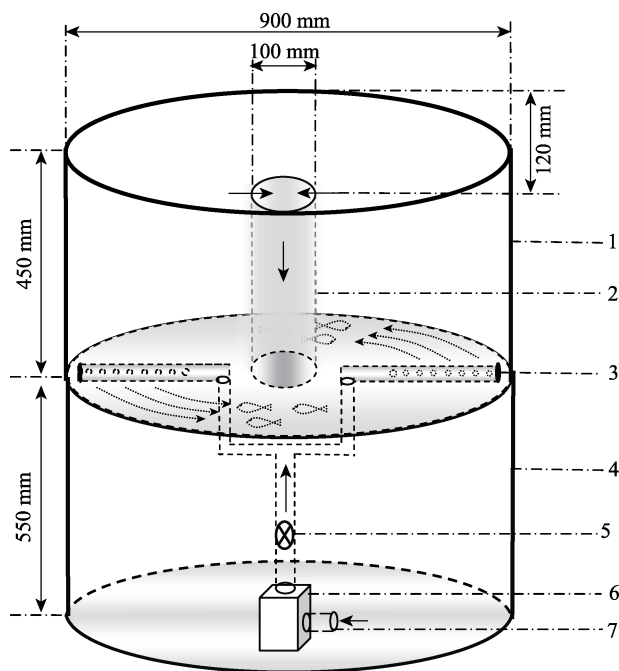


图 1 实验装置示意图

1: 训练区域; 2: 排水管; 3: 喷水管; 4: 动力区域; 5: 水阀; 6: 潜水泵; 7: 进水管。

Fig. 1 Schematic diagram of experimental apparatus

1: training area; 2: drainpipe; 3: water outlet; 4: power area; 5: hydrovalve; 6: pump; 7: water inlet.

的逆流游泳状态,因此可以人为改变水流速度使鱼类做不同强度的游泳运动。选择体重(42.54±0.62) g 健康的斜带石斑鱼,分别置于 4 个不同水流速度中:对照组 0.0 bl/s(体长/秒)和运动组(0.5 bl/s、1.0 bl/s 和 2.0 bl/s)进行运动训练,每个实验组有 3 个平行组,每个平行组 35 尾鱼。为了减少生理胁迫,通过每天增加 0.5 bl/s 游泳速度,达到实验所需的游泳条件,然后进行 8 周的训练实验,每天训练 12 h。随着鱼体生长,流速根据其体长每 2 周调整 1 次。训练结束后,对所有鱼体进行 24 h 饥饿处理,每个平行组随机选取 4 尾鱼,进行体重和体长测量,并用 1 mL 无菌注射器从尾静脉抽血。血样在 4℃ 3000 r/min 条件下离心 10 min,取出血清,置于-80℃保存。抽血后将鱼置于冰盒内迅速解剖取其肝脏,先在预冷生理盐水中洗净血液,并用滤纸吸干水分,快速放入液氮中冷冻,最后置于-80℃超低温冰箱中保存。

1.4 生长指标测定

实验期间每天饱足饲喂 2 次,每次喂食量为鱼体湿重的 2%,饲喂期间各组水流保持静止状

态, 饲喂 1 h 后立即清除残饵粪便, 通过计算投饵颗粒数和残饵颗粒数之差, 再乘以饵料的平均粒重, 可求得每日摄食量。实验开始和结束时测定各实验组鱼的体重, 分别按下式计算成活率(survival rate, SR)、特定生长率(specific growth rate, SGR)、增重率(weight gain rate, WGR)、摄食率(feed ration, FR)、饲料系数(feed coefficient, FC):

$$\text{成活率(SR, \%)} = N_t / N_0 \times 100\% \quad (1)$$

$$\text{特定生长率(SGR, \%} \cdot \text{d}^{-1}) = (\ln W_t - \ln W_0) / t \times 100\% \quad (2)$$

$$\text{增重率(WGR, \%)} = (W_t - W_0) / W_0 \times 100\% \quad (3)$$

$$\text{摄食率(FR, \%)} = FI / t (W_t + W_0) / 2 \times 100\% \quad (4)$$

$$\text{饲料系数(FC, \%)} = FI / (W_t - W_0) \times 100\% \quad (5)$$

式中, N_0 为第 0 天训练时鱼的数量/尾; N_t 为第 t 天训练时鱼的数量/尾; t 为训练时间/天; W_0 为第 0 天训练时鱼的重量/g; W_t (g) 为第 t 天训练时鱼的重量/g; FI 为鱼体平均摄食饵料总量/g (干重)。

1.5 血液理化指标测定

测定前将在 -80°C 保存的血清在 4°C 条件下融化。总蛋白(TP)采用考马斯亮蓝法测定; 白蛋白(ALB)采用溴甲酚绿法测定; 球蛋白(GLB)、补体 C3 和补体 C4 采用免疫比浊法测定; 溶菌酶(LYZ)采用比浊法测定; 谷丙转氨酶(GPT)和谷草转氨酶(GOT)采用紫外比色法测定; 碱性磷酸酶(AKP)采用可见光比色法测定; 酸性磷酸酶(ACP)采用分光光度法测定。上述指标试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.6 肝脏理化指标的测定

取出在 -80°C 保存的肝组织块, 4°C 解冻, 按 1 : 9 ($m : V$) 的质量体积比加入 0.86% 的预冷生理盐水, 冰浴匀浆后于 4°C 3000 r/min 离心 10 min, 取上清用于总抗氧化能力(T-AOC)、过氧化氢酶(CAT)、超氧化物歧化酶(SOD)和丙二醛(MDA)含量的测定。上述指标均使用南京建成生物工程研究所试剂盒测定。

1.7 肝脏 HSP70 mRNA 表达水平测定

根据 GenBank 中斜带石斑鱼 HSP70 引物序列 (FJ600726), 其 HSP70-RT-S: 5'-TTGAGGAGGC-TGCGCACAGCTTGTG-3', HSP70-RT-A: 5'-GGC-TGTGATCTCCTTCTGCA-3'。再用斜带石斑鱼的

管家基因 β -actin 序列 (AY510710) 作为内参, 设计 β -actin 引物, β -actin-S: 5'-TACGAGCTGCCTG-ACGGACA-3', β -actin-A: 5'-GGCTGTGATCTCC-TTCTGCA-3'。所有引物由广州铭善上生物科技有限公司合成, 取斜带石斑鱼肝脏 100 mg, 按照 RNAiso Reagent (TaKaRa 公司) 说明书操作提取总 RNA, 并按照试剂盒 (Fermentas 公司, RevertAidTM First strand cDNA synthesis kit) 进行反转录操作, OD_{260}/OD_{280} 为 1.90 左右。按照 SYBR[®] PrimeScriptTM RT-PCR Kit (TaKaRa 公司) 使用说明进行 RT 反应, 然后采用 SYBR Green I 嵌合荧光法进行实时定量 PCR 扩增反应, 以 β -actin 为内参对得到的各样品 C_t 值进行均一化处理, 以对照组 HSP70 mRNA 的表达量为基准, 应用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ [11] 法确定各处理组的相对表达量。RT-PCR 反应体系为 12.5 μL : PCR 正反向引物各 0.5 μL , RT 反应混合物 2.0 μL (cDNA 溶液), dH_2O 9.5 μL 。其反应条件: 95°C 10 s, 60°C 25 s, 72°C 20 s, 共 45 个循环。

1.8 统计分析

实验数据用 SPSS 17.0 软件进行单因素方差分析 (one-way ANOVA), 若组间存在差异则再进行 LSD 多重比较。统计值用平均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm \text{SD}$) 描述, 统计结果 $P < 0.05$ 时认为显著性差异。

2 结果与分析

2.1 运动强度对斜带石斑鱼生长的影响

4 个不同水流强度处理组的斜带石斑鱼的初体重、末体重、特定生长率、增重率、摄食率、饲料系数和成活率见表 1。对不同运动强度处理组的 SGR 和 WGR 统计结果表明, 在 0.5~1.0 bl/s 水流强度内, 随着水流强度的升高, 斜带石斑鱼的 SGR 和 WGR 也增加, 但随着水流强度的进一步升高, 在 2.0 bl/s 时的 SGR 和 WGR 反而比 0.0 bl/s 低。1.0 bl/s 组 SGR 显著高于 0.0 bl/s 组和 2.0 bl/s 组 ($P < 0.05$), 与 0.5 bl/s 组无显著性差异 ($P > 0.05$)。水流强度对 SR 的影响与 SGR 类似。不同运动强度对 FR 无显著影响。FC 随着运动强度的增加呈现先下降后上升的趋势, 1.0 bl/s 组最低, 相比对照组降低了 8.4%, 各训练组与对照组间差异不显著 ($P > 0.05$)。

表 1 运动强度对斜带石斑鱼生长的影响
Tab. 1 The effect of exercise intensity on growth of *Epinephelus coioides* n=12; $\bar{x} \pm SD$

变量 variable	运动强度/(bl·s ⁻¹) exercise intensity			
	0	0.5	1.0	2.0
初体重量/g initial body weigh	42.62±0.53 ^a	42.81±0.74 ^a	42.59±0.86 ^a	42.14±0.36 ^a
末体重量/g final body weigh	83.27±4.42 ^b	88.53±6.09 ^{ab}	94.78±5.67 ^a	80.64±7.91 ^b
特定生长率/(%·d ⁻¹) SGR	1.14±0.05 ^b	1.24±0.07 ^{ab}	1.29±0.03 ^a	1.12±0.06 ^b
增重率/% WGR	95.38±8.67 ^c	106.78±10.55 ^b	122.54±6.97 ^a	91.29±11.23 ^c
摄食率/% FR	2.56±0.02 ^a	2.57±0.05 ^a	2.54±0.03 ^a	2.51±0.04 ^a
饲料系数/% FC	1.31±0.04 ^{ab}	1.24±0.06 ^b	1.20±0.08 ^b	1.33±0.05 ^a
成活率/% SR	93.27±2.41 ^b	96.53±4.15 ^{ab}	98.78±1.56 ^a	91.64±3.62 ^b

注：同一行中不同字母代表差异显著(P<0.05).
Note: Different letters on in the same row represent significant differences (P<0.05).

2.2 运动强度对斜带石斑鱼血清蛋白及免疫相关酶的影响

经过 8 周的训练后,斜带石斑鱼总蛋白(TP)含量呈现先增加后下降的趋势,在 1.0 bl/s 组含量最高,显著高于对照组和 2.0 bl/s 组(P<0.05),但与 0.5 bl/s 组差异不显著,如图 2a 所示。白蛋白(ALB)含量在 1.0 bl/s 组最高,2.0 bl/s 组次之,但无显著性影响(图 2b)。变化趋势与 TP 类似,球蛋白(GLB)含量随强度增加而呈现先增加后下降的趋势,在 1.0 bl/s 组显著高于(P<0.05)对照组和 2.0 bl/s 组,而 1.0 bl/s 组和 0.5 bl/s 组差异不显著(图 2c)。补体 C3 含量在 1.0 bl/s 组显著显著高于其他三组(P<0.05),同时在 0.5 bl/s 组也显著高于对照组和 2.0 bl/s 组(P<0.05),而对照组与 2.0 bl/s 组间差异未达到显著性水平(图 2d)。而补体 C4 的含量在各处理组中均无显著性差异(图 2e)。溶菌酶(LYZ)活性在 1.0 bl/s 组显著高于其他处理组(P<0.05),在 2.0 bl/s 组 LYZ 活性则显著低于对照组和 0.5 bl/s 组(P<0.05,图 2f)。

谷丙转氨酶(GPT)活性在各处理组间均存在显著性差异(P<0.05),1.0 bl/s 组活性最低,2.0 bl/s 组活性最高,如图 3a 所示。谷草转氨酶(GOT)活性在 0.5 bl/s 组和 1.0 bl/s 组间差异无显著性,但均显著低于对照组(P<0.05),2.0 bl/s 组略微高于对照组,但差异不显著(图 3b)。碱性磷酸酶(AKP)活性在 0.5 bl/s 组和 1.0 bl/s 组均显著高于对照组(P<0.05),2.0 bl/s 组则与对照组无显著性差异(图

3c)。酸性磷酸酶(ACP)活性变化趋势为先上升后下降,1.0 bl/s 组显著高于对照组和 2.0 bl/s 组(P<0.05),与 0.5 bl/s 组差异不具有显著性(图 3d)。

2.3 运动强度对斜带石斑鱼肝脏抗氧化机能的影响

训练结束后,总抗氧化能力(T-AOC)出现明显变化,在 0.5 bl/s 组和 1.0 bl/s 组均显著高于对照组(P<0.05),而 2.0 bl/s 组相比对照组则显著下降(P<0.05,图 4a)。过氧化氢酶(CAT)活性随强度增加先上升后下降,1.0 bl/s 组显著高于对照组和 2.0 bl/s 组(P<0.05),0.5 bl/s 组虽有上升,但与对照组间差异未达到显著性水平(图 4b)。超氧化物歧化酶(SOD)活性在 0.5 bl/s 组和 1.0 bl/s 组显著高于其他二组(P<0.05),0.5 bl/s 组 SOD 活性略微高于 1.0 bl/s 组,但无显著性差异(图 4c)。丙二醛(MDA)含量随着运动强度的增加呈现先下降后上升的趋势,1.0 bl/s 组显著低于对照组(P<0.05),与 0.5 bl/s 组差异不显著,2.0 bl/s 组显著上升,与对照组间差异显著(P<0.05,图 4d)。

2.4 运动强度对斜带石斑鱼肝脏 HSP70 mRNA 表达水平的影响

8 周训练后,随着强度的增加,HSP70 mRNA 的表达量呈现上升后下降的趋势,其中,1.0 bl/s 组显著高于其他 3 组(P<0.05),其次是 0.5 bl/s 组,2.0 bl/s 组最低(图 5),这表明不同运动强度对斜带石斑鱼肝脏 HSP70 mRNA 表达水平有明显的影响。

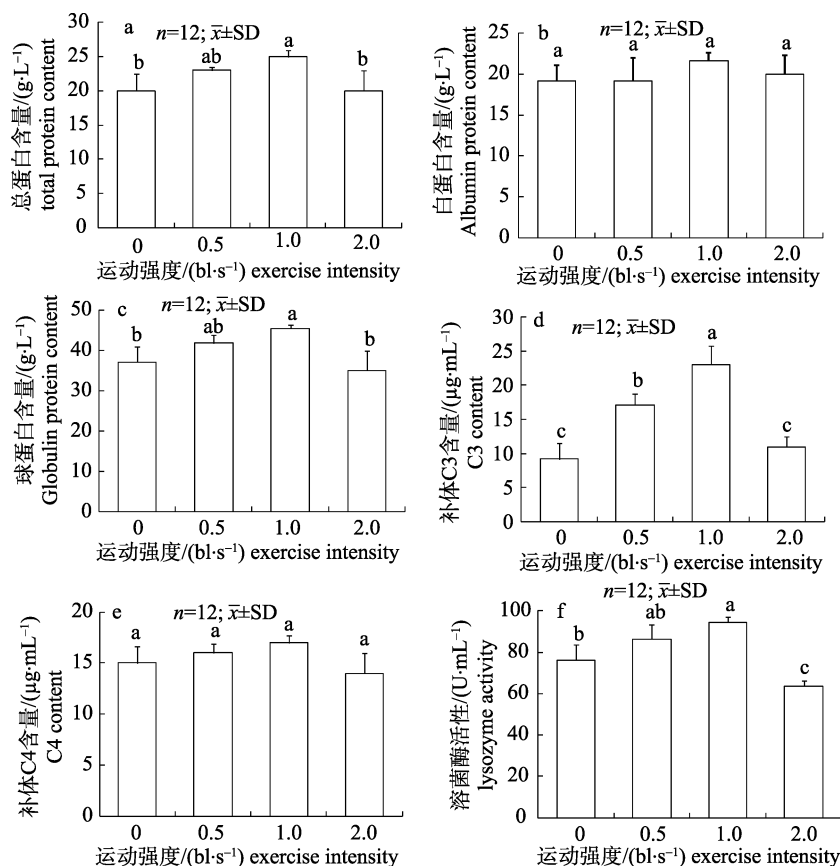


图 2 运动强度对斜带石斑鱼血清蛋白及溶菌酶活性的影响

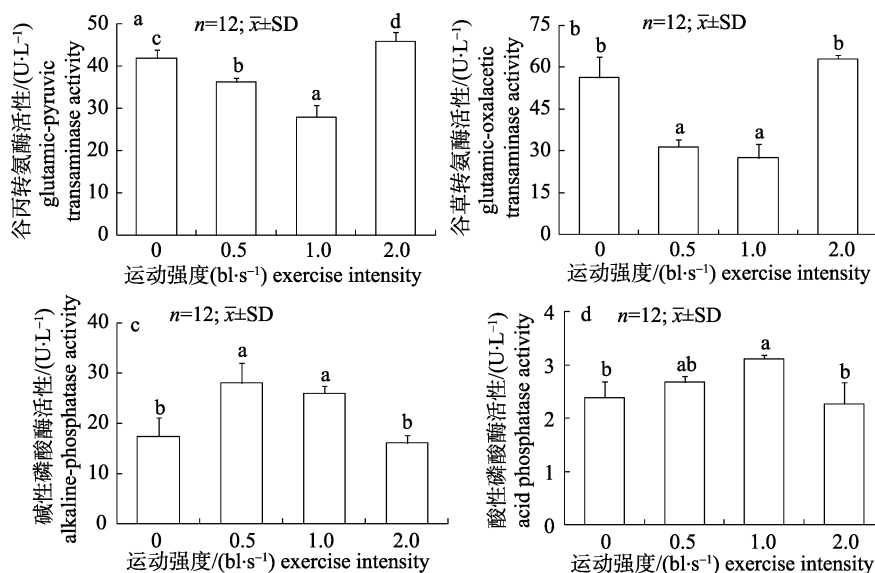
同一变量中不同字母代表差异显著 ($P < 0.05$).Fig. 2 The effect of exercise intensity on the serum protein and lysozyme activity of *Epinephelus coioides*. Different letters on in the same parameters represent significant differences ($P < 0.05$).

图 3 运动强度对斜带石斑鱼血清免疫相关酶活性的影响

同一变量中不同字母代表差异显著 ($P < 0.05$).Fig. 3 The effect of exercise intensity on activity of serum immune related enzymes of *Epinephelus coioides*. Different letters on in the same parameters represent significant differences ($P < 0.05$).

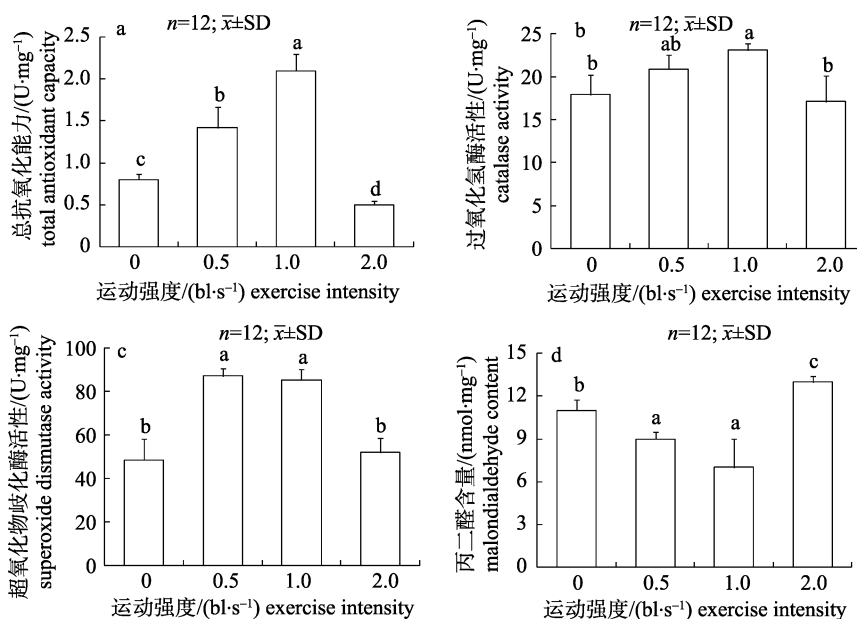


图 4 运动强度对斜带石斑鱼肝脏抗氧化指标的影响

同一变量中不同字母代表差异显著 ($P<0.05$).

Fig. 4 The effect of exercise intensity on the hepatic antioxidant indices of *Epinephelus coioides*. Different letters on in the same parameters represent significant differences ($P<0.05$).

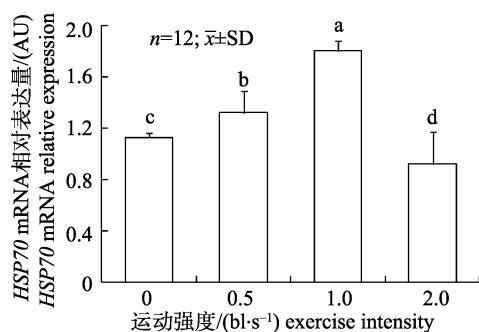


图 5 运动强度对斜带石斑鱼肝脏 HSP70 mRNA 表达水平的影响

同一变量中不同字母代表差异显著 ($P<0.05$).

Fig. 5 The effect of exercise intensity on the hepatic HSP70 mRNA expression of *Epinephelus coioides*. The different letters on in the same parameters represent significant differences ($P<0.05$).

3 讨论

3.1 运动强度对斜带石斑鱼生长的影响

鱼类大多数都具有逆流游泳的特性, 它们会根据水的流速和流向调整自身的游泳速度和运动方向, 以此来维持自身处于相对固定的位置^[12]。由此可见, 鱼类的运动强度、游泳行为和能量消耗会明显的受到水流速度的影响。在人工养殖环境下, 水流是影响鱼类运动的主要因素, 逆流运

动会使新陈代谢加速, 进而对鱼类的生长发育和生理生态产生影响^[13]。本研究表明, 经过 8 周不同运动强度的训练, 1.0 bl/s 组斜带石斑鱼幼鱼的特定生长率、增重率和存活率最高, 0.5 bl/s 组次之, 而 2.0 bl/s 组则低于对照组。大量研究表明, 0.75~2.0 bl/s 水流强度下的持续训练有利于鱼类生长率的提高^[14], 但 2.0 bl/s 以上的高强度训练通常会对鱼类的生长产生负面影响^[15], 这与本研究结果较为相符。适宜流速下的长期持续运动训练可以促进多数硬骨鱼类的生长, 如大西洋鲑 (*Salmo salar*)^[16]、虹鳟 (*Salmo gairdneri*)^[17]、中华倒刺鲃 (*Spinibarbus sinensis*)^[18]、条纹石鲈 (*Morone saxatilis*)^[19]等。因为鱼类在最适的游泳运动条件下, 将运动过程中最大的能量转移到游泳肌中促进鱼体生长, 且此时能量利用效率最高^[20-21]。研究者发现, 在适宜的水流速度下鱼类的侵略性下降, 并且表现出规律的同步性运动行为, 有利于减少由于自发性攻击运动所产生的能量消耗, 节约游泳过程的代谢耗能^[18]。此外, 鱼类竞争行为的减少使食物分配更均匀, 避免等级制度的形成, 使个体间的体长体重更加均一^[22], 这都可能是适宜流速促进鱼类生长的原因。

当水流强度高于最适游泳运动速度时, 游泳很快就会成为不可持续的和应激性的活动, 它会导致过量消耗体内能量储备, 产生氧债, 最终引起鱼类疲劳, 对鱼体产生负面影响^[23], 这可能是本研究 2.0 bl/s 组生长最慢、成活率最低的原因。研究表明, 训练组实验鱼的生长率提高通常伴随着摄食率和(或)饵料效率的提高^[24]。本研究对照组和各训练组之间的摄食率并没有显著性差异, 但是 1.0 bl/s 和 0.5 bl/s 训练组的饵料系数相比对照组分别降低了 8.4%和 5.3%, 即饵料效率分别提高了 8.4%和 5.3%。推测 1.0 bl/s 组和 0.5 bl/s 组斜带石斑鱼生长率的提高可能与训练期间机体碱性磷酸酶和酸性磷酸酶活性上升有关, AKP 和 ACP 对机体物质代谢具有重要作用, 其活性水平提升有利于加快机体物质代谢, 从而促进生长。

3.2 运动强度对斜带石斑鱼血清蛋白及免疫相关酶活性的影响

鱼类血清蛋白浓度和相关酶活性对机体免疫机能具有十分重要的意义, 通过对其分析判断可衡量鱼体健康和生理状况^[25]。本研究表明, 在 1.0 bl/s 强度下能提高总蛋白和补体 C3 含量及溶菌酶活性, 从而增强机体免疫机能。补体 C3 是鱼类血清补体的核心成分, 对抵抗微生物感染、吞噬病原体具有重要作用, 经过运动训练, 1.0 bl/s 训练组补体 C3 的含量显著提高, 进而提高鱼体抵御能力, 这与于丽娟^[26]的研究结果相似, 即运动训练能提高补体 C3 含量。而补体 C4 含量并无显著差异, 表明运动训练对补体 C4 的影响不大或补体 C4 对运动的响应阈值较高, 本研究的运动强度不足以引起其含量变化。溶菌酶在鱼类非特异性免疫系统中占重要地位, 可通过测定其活力强弱评价运动强度对非特异性免疫机能的影响^[27]。本研究中 1.0 bl/s 运动强度使溶菌酶活性显著增强, 表明在适宜强度下的游泳运动能促进免疫相关酶的合成和分泌, 或是促进激活血清酶原激活系统, 从而使其活力增强, 这与宋波澜^[23]对红鳍银鲫 (*Barbodes schwanenfeldi*) 的研究一致。在 2.0 bl/s 强度下溶菌酶活性出现显著下降, 这可能是过高的运动强度使机体产生了大量自由基, 造成细胞损伤, 从而使免疫机能下降, 增加机体被病原菌

感染的风险。

通常在血清中谷丙转氨酶和谷草转氨酶含量和活性都很低, 只有当组织发生病变或受到损伤时才会大量释放到血液中, 导致血清转氨酶活性升高^[28]。而碱性磷酸酶和酸性磷酸酶在机体代谢中具有重要作用, 当活性降低时机体代谢和免疫都将受到影响^[29]。本研究结果表明, 1.0 bl/s 强度的训练可以有效地降低血清中谷丙转氨酶和谷草转氨酶含量, 保护机体组织不受损伤; 显著提高碱性磷酸酶和酸性磷酸酶活性, 有助于机体代谢和免疫功能的提高。

3.3 运动强度对斜带石斑鱼肝脏抗氧化机能的影响

本研究通过测定斜带石斑鱼肝脏总抗氧化能力、超氧化物歧化酶活性、过氧化氢酶活性和丙二醛含量的高低及 HSP70 mRNA 表达水平来评价游泳运动强度对机体免疫机能的影响。结果表明, 总抗氧化能力、超氧化物歧化酶和过氧化氢酶活性随着运动强度的增加呈先上升后下降的趋势, 在 1.0 bl/s 强度下均显著升高。总抗氧化能力作为衡量机体抗氧化系统功能状况的综合指标, 其上升表明机体增强了对外来刺激的补偿能力和自由基代谢能力, 从而提升机体免疫机能。已有研究表明, 长期的运动训练对机体的总抗氧化能力有增强作用^[30], 这与本研究的结果一致。超氧化物歧化酶和过氧化氢酶联合作用, 可保护机体免受自由基伤害^[31], 本研究中低强度(1.0 bl/s)运动训练对超氧化物歧化酶和过氧化氢酶的激活作用可能是机体对运动训练的适应性反应, 以增强机体消除氧自由基的能力; 而高强度(2.0 bl/s)运动训练对其活性造成抑制, 表明已经超过机体的适应能力, 从而导致酶活性下降。丙二醛是细胞氧化代谢的最终产物, 具有很强的生物毒性, 研究表明运动会使体内自由基生成增加, 脂质过氧化水平升高, 导致丙二醛含量上升造成氧化损伤^[32], 这与本研究 2.0 bl/s 组的研究结果相符。1.0 bl/s 组丙二醛含量显著下降, 表明适宜强度的运动训练不会由于运动性自由基增加造成机体氧化损伤, 反而有利于降低机体的氧化应激水平, 原因可能是适当的运动训练激活并增强了机体的抗氧化防御系统, 加快了对自由基的清除。通常 HSP70

mRNA 表达水平的变化可以作为水生生物应对环境胁迫或伤害时的重要指标^[33], 本研究结果表明, 在 1.0 bl/s 运动强度下游泳运动训练能诱导肝脏 *HSP70* mRNA 的表达, 增加 *HSP70* 的合成, 从而提高机体对环境胁迫或伤害的耐受性。

综上所述, 在本研究中当水流速度为 1.0 bl/s 时, 鱼体的生长最快, 免疫和抗氧化能力最强。这一结果表明, 在选用斜带石斑鱼作为增殖放流物种时, 进行放流前的运动训练(水流速 1.0 bl/s)可以增加鱼体对外界环境因子的胁迫适应性, 进而增加放流鱼体的成活率, 提高增殖放流的效率。

参考文献:

- [1] Chen X H, Guo L, Li M M, et al. Analysis of RAPD and mitochondrial Cyt *b* gene sequences of three cultured stocks of *Epinephelus coioides* from Guangdong Province[J]. South China Fisheries Science, 2014, 10(4): 27–33. [陈兴汉, 郭梁, 李明明, 等. 广东沿海 3 个斜带石斑鱼养殖群体的 RAPD 和线粒体 Cyt *b* 基因序列变异分析[J]. 南方水产科学, 2014, 10(4): 27–33.]
- [2] Cheng J H, Jiang Y Z. Marine stock enhancement: review and prospect[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(3): 610–617. [程家骅, 姜亚洲. 海洋生物资源增殖放流回顾与展望[J]. 中国水产科学, 2010, 17(3): 610–617.]
- [3] Wang Q Y, Zhuang Z M, Deng J Y, et al. Stock enhancement and translocation of the shrimp *Penaeus chinensis* in China[J]. Fish Res, 2006, 80(1): 67–79.
- [4] Kong B, Ling G, Li X Z, et al. Adaptive domestication of barbel chub (*Squaliobarbus curriculus*) before artificial releasing in the river[J]. Guangxi Agricultural Sciences, 2008, 39(4): 540–543. [孔彬, 林岗, 李秀珍, 等. 赤眼鳟江河人工放流前适应性驯养试验[J]. 广西农业科学, 2008, 39(4): 540–543.]
- [5] Shi X T, Chen Q W, Zhuang P, et al. Life skill trainings for hatchery fish to improve its foraging and anti-predation capability in nature environment: A review[J]. Chinese Journal of Ecology, 2012, 31(12): 3235–3240. [石小涛, 陈求稳, 庄平, 等. 提高摄食-反捕食能力导向的鱼类野化训练方法述评[J]. 生态学杂志, 2012, 31(12): 3235–3240.]
- [6] Davison W. The effects of exercise training on teleost fish, a review of recent literature[J]. Comp Biochem Physiol, 1997, 117(1): 67–75.
- [7] McFarlane W J, McDonald D G. Relating intramuscular fuel use to endurance in juvenile rainbow trout[J]. Physiol Biochem Zool, 2002, 75(3): 250–259.
- [8] Castro, V, Grisdale-Helland B, Helland S J, et al. Aerobic training stimulates growth and promotes disease resistance in Atlantic salmon (*Salmo salar*)[J]. Comp Biochem Physiol, 2011, 160(2): 278–290.
- [9] Zhang W C, Dong X H, Tan B P, et al. Effects of dietary cholesterol content on growth performance, tissue biochemical indices and liver lipid metabolism related enzyme activities of orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*)[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2016, 28(6): 1945–1955. [张武才, 董晓慧, 谭北平, 等. 饲料胆固醇含量对斜带石斑鱼生长性能、组织生化指标和肝脏脂肪代谢相关酶活性的影响[J]. 动物营养学报, 2016, 28(6): 1945–1955.]
- [10] Sun Y Z, Yang H L, Ma R L, et al. Effect of *Lactococcus lactis* and *Enterococcus faecium* on growth performance, digestive enzymes and immune response of grouper *Epinephelus coioides*[J]. Aquac Nutr, 2012, 18(3): 281–289.
- [11] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. Methods, 2001, 25(4): 402–408.
- [12] Zhong J X, Zhang Q, Li X R, et al. Effects of water velocity on the swimming behavior of *Anabarrilius grahami*[J]. Chinese Journal of Ecology, 2013, 32(3): 655–660. [钟金鑫, 张倩, 李小荣, 等. 不同流速对鳊(鲌)白鱼游泳行为的影响[J]. 生态学杂志, 2013, 32(3): 655–660.]
- [13] Song B L, Lin X T, Xu Z N. Effects of upstream exercise training on feeding efficiency, growth and nutritional components of juvenile tinfoil barbs (*Barbodes schwanenfeldi*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(1): 106–114. [宋波澜, 林小涛, 许忠能. 逆流运动训练对多鳞四须鲃摄食、生长和体营养成分的影响[J]. 水产学报, 2012, 36(1): 106–114.]
- [14] Jobling M, Baardvik B M, Christiansen J S, et al. The effects of prolonged exercise training on growth performance and production parameters in fish[J]. Aquac Int, 1993, 1(2): 95–111.
- [15] Farrell A P, Johansen J A, Suarez R K. Effects of exercise-training on cardiac performance and muscle enzymes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*[J]. Fish Physiol Biochem, 1991, 9(4): 303–312.
- [16] Castro V, Grisdale-Helland B, Helland S J, et al. Cardiac molecular-acclimation mechanisms in response to swimming-induced exercise in Atlantic salmon[J]. PLoS ONE, 2013, 8(1): 1–10.
- [17] Greer-Walker M, Emerson L. Sustained swimming speeds and myotomal muscle function in the trout, *Salmo gairdneri*[J]. J Fish Biol, 1978, 13(4): 475–481.
- [18] Li X M. The effect and mechanism of exercise training on growth performance in juvenile *Spinibarbus sinensis*[D].

- Chong Qing: Southwest University, 2013. [李秀明. 运动训练对中华倒刺鲃幼鱼生长的影响及其机理研究[D]. 重庆: 西南大学, 2013.]
- [19] Young P S, Cech J J. Effects of exercise conditioning on stress responses and recovery in cultured and wild young-of-the-year striped bass, *Morone saxatilis*[J]. Can J Fish Aquat Sci, 1993, 50(10): 2094–2099.
- [20] Richards J G, Mercado A J, Clayton C A, et al. Substrate utilization during graded aerobic exercise in rainbow trout[J]. J Exp Biol, 2002, 205(14): 2067–2077.
- [21] Lauff R F, Wood C M. Respiratory gas exchange, nitrogenous waste excretion, and fuel usage during starvation in juvenile rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*[J]. J Comp Physiol B, 1996, 165(7): 542–551.
- [22] Arbeláez-Rojas G, Moraes G. Optimization of sustaining swimming speed of matrinxaã*Brycon amazonicus*: performance and adaptive aspects[J]. Scientia Agricola, 2010, 67(3): 253–258.
- [23] Song B L. Effect of water current on swimming activity, growth and ecophysiological aspect of young barbodes schwanenfeldi[D]. Guangzhou: Jinan University, 2008. [宋波澜. 水流因子对红鳍银鲫(*Barbodes schwanenfeldi*)游泳行为、生长和生理生态影响的研究[D]. 广州: 暨南大学, 2008.]
- [24] Davison W, Herbert N A. Swimming-Enhanced Growth[M]. Berlin Heidelberg: Springer, 2013: 177–202.
- [25] Misra S, Sahu N P, Pal A K, et al. Pre- and post-challenge immuno-haematological changes in *Labeorohita* juveniles fed gelatinised or non-gelatinised carbohydrate with n-3 PUFA[J]. Fish Shellfish Immunol, 2006, 21(4): 346–356.
- [26] Yu L J. The effects of exercise training on growth, antioxidative ability and immune function in juvenile *Spinibarbus sinensis*[D]. Chongqing: Southwest University, 2014. [于丽娟. 运动训练对中华倒刺鲃幼鱼生长、抗氧化及免疫功能的影响[D]. 重庆: 西南大学, 2014.]
- [27] Peng S M, Shi Z H, Gao Q X, et al. Effects of increasing dietary vitamin C on serum lysozyme activity and antioxidant ability of tissues in *Pampus argenteus*[J]. South China Fisheries Science, 2013, 9(4): 16–21. [彭士明, 施兆鸿, 高权新, 等. 增加饲料中 V_C 质量分数对银鲈血清溶菌酶活性及组织抗氧化能力的影响[J]. 南方水产科学, 2013, 9(4): 16–21.]
- [28] Ming J H, Xie J, Xu P, et al. Effects of emodin, vitamin C and their combination on growth, physiological and biochemical parameters, disease resistance and two HSP70s mRNA expression of Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(9): 1447–1459. [明建华, 谢骏, 徐跑, 等. 大黄素、维生素 C 及其配伍对团头鲂生长、生理生化指标、抗病原感染以及两种 HSP70s mRNA 表达的影响[J]. 水产学报, 2010, 34(9): 1447–1459.]
- [29] Tian J Y, Jia H B, Yu J. A description of alkaline phosphatases from marine organisms[J]. Chin J Oceanol Limnol, 2016, 34(4): 795–809.
- [30] Mohsen A, Mustafa M, Nosratollah Z. Influence of chronic exercise on red cell antioxidant defense, plasma malondialdehyde and total antioxidant capacity in hypercholesterolemic rabbits[J]. J Sport Sci Med, 2006, 5 (4): 682–691.
- [31] Meng S L, Chen J Z, Xu P, et al. Hepatic antioxidant enzymes SOD and CAT of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) in response to pesticide methomyl and recovery pattern[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2014, 92(4): 388–392.
- [32] Christine R M. Plasma malondialdehyde increases transiently after ischemic forearm exercise[J]. Med Sci Sport Exer, 2003, 35(11): 1859–1865.
- [33] Forsyth R B, Candido E P M, Babich S L, et al. Stress protein expression in coho salmon with bacterial kidney disease[J]. J Aquat Anim Health, 1997, 9(1): 18–25.

Effects of exercise intensity on growth, blood innate immunity, hepatic antioxidant capacity, and *HSPs70* mRNA expression of *Epinephelus coioides*

WEI Xiaolan^{1,2,3}, YU Shunnian^{1,2}, YANG Yan³, XIAO Yayuan¹, LIU Yong¹, WEI Fangsan¹, TANG Wenqiao², LI Chunhou¹

1. Key Laboratory of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture; Guangdong Provincial Key Laboratory of Fishery Ecology Environment; South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Guangzhou 510300, China;
2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
3. Fisheries Research Institute, Guizhou Academy of Agricultural Science, Guiyang 550025, China

Abstract: The present study was conducted to investigate the effects of exercise training on the growth, serum innate immunity, and hepatic antioxidant capacity of orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*). The fish were exercised at an intensity of 0, 0.5, 1, and 2 body lengths per second (bl/s) for 8 weeks. Specific growth, weight gain, and survival increased significantly in the 1 bl/s group ($P<0.05$). The plasma concentrations of total protein, globulin protein, complement 3, lysozyme, alkaline-phosphatase, and acid phosphatase increased as exercise intensity increased up to 1 bl/s and then decreased at the higher intensity of 2 bl/s ($P<0.05$). The plasma contents of glutamic-pyruvic transaminase and glutamic-oxaloacetic transaminase decreased as the exercise intensity increased up to 1 bl/s, and then increased at the higher intensity of 2 bl/s ($P<0.05$). The albumin and complement 4 contents of plasma did not significantly differ among treatments. Hepatic total antioxidant capacity, catalase, and superoxide dismutase activity increased with exercise intensity up to 1 bl/s and then decreased at 2 bl/s ($P<0.05$). The exercise treatments significantly affected the mRNA expression of *HSPs70*, and that of the 1 bl/s group was the highest. The results indicated that an exercise intensity of 1 bl/s effectively enhanced the growth, serum innate immunity, hepatic antioxidant capacity, and *HSPs70* mRNA expression of *Epinephelus coioides*.

Key words: exercise training; survival rate; innate immunity; specific growth rate

Corresponding author: LI Chunhou. E-mail: scslch@vip.163.com