

环境胁迫对许氏平鲉和花鲈血糖、血沉降的影响

洪磊, 张秀梅

(中国海洋大学 教育部海水养殖重点实验室, 山东 青岛 266003)

摘要:研究了运输、温度和空气暴露胁迫对许氏平鲉(*Sebastodes schlegeli*)和花鲈(*Lateolabrax maculatus*)血液生化指标的影响。60 min长途运输使许氏平鲉和花鲈的血糖含量都有所上升, 其中许氏平鲉的血糖含量在运输后24 h基本恢复到正常水平, 而花鲈的血糖水平在168 h后可恢复到稳定状态。季节温度变化是引起春冬两季许氏平鲉血糖水平在经运输胁迫后产生差异的主要原因, 春季(4月)经运输胁迫后鱼体血糖含量约为冬季(11月)的1.4倍。在温度梯度实验中, 设定不同温度组(10℃, 15℃, 20℃, 23.5℃, 26℃)检测许氏平鲉血糖和血沉降的变化, 血糖值出现峰值, 而血沉降则随温度升高一直表现出上升趋势。在温度梯度实验基础上进行的空气暴露实验中, 各胁迫组的血糖含量升高, 血沉降轻微降低但整体变化趋势与温度梯度实验结果相似。

关键词:许氏平鲉; 花鲈; 环境胁迫

中图分类号:Q959.483; Q959.499 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-8737-(2005)04-0414-05

自1936年加拿大病理生理学家Selye H^[1]提出应激学说以来, 胁迫条件下鱼类的应激反应及机体生理机能的变化逐渐成为研究的热点。血浆肾上腺素、血糖、血红蛋白、血比容、红细胞形态数目、粒细胞的吞噬功能、功能蛋白结构以及细胞内超氧化物歧化酶、过氧化氢酶等都是反映胁迫条件下鱼体生理机能变化的有效指标^[2-4]。作为影响鱼类正常生理机能的重要因素之一, 温度不仅可以影响鱼类的健康、生长、性别还可以影响鱼类的行为包括种群的迁徙^[5-7]。温度与运输、盐度、溶解氧等其他环境因子及捕捉胁迫等多种胁迫因子的耦合作用会对鱼类产生更大的影响^[8-11]。近年来国内已有一些关于环境温度能够影响鱼类的摄食、标准代谢和内源氮排泄、免疫功能及生长和发育的报道^[12-14], 而关于鱼类在运输胁迫及温度、空气暴露和捕捉胁迫的多重影响因子作用下产生的生理变化尚无报道。

许氏平鲉(*Sebastodes schlegeli*)、花鲈(*Lateolabrax maculatus*)都是黄渤海近岸海域的重要经济鱼类, 也是沿海海水网箱及池塘养殖的重要鱼种。研究环境胁迫对其生理机能的影响, 也是加强对养殖鱼类的管理, 改善养殖技术的重要内容。本研究以许氏平鲉和花鲈为实验对象, 探讨长途运输、水温

变化以及空气暴露等胁迫因子对鱼体生理生化指标的影响, 旨在为该鱼种的健康养殖提供必要的参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

许氏平鲉和花鲈为青岛市薛家岛网箱养殖。许氏平鲉体重(50±10)g, 体长(12±1)cm。花鲈体重(130±20)g, 体长(21±1)cm。

1.2 实验设计

2003年4月7日从海上养殖网箱中选出经24 h饥饿后的许氏平鲉和花鲈经过40 min活体运输船运输后装入双层充气塑料袋, 汽车运输20 min到达实验室, 运输水温与野外养殖水温一致, 12℃左右。放入2 t水体容量的大水槽(250 cm×150 cm×80 cm)中暂养, 水温10℃左右。早晚各投喂人工饵料一次, 饱食。在实验鱼到达实验室后的0 h、24 h、48 h、96 h、168 h对许氏平鲉和花鲈各取样5尾, 尾椎推动(静)脉取血, 记录运输胁迫后鱼体血糖变化趋势。

温度梯度实验和空气暴露实验在室内可控循环过滤式水族箱(80 cm×50 cm×50 cm)中进行。设

收稿日期: 2004-08-02; 修訂日期: 2005-01-06。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30070393); 山东省自然科学基金资助项目(Y2002D10)。

作者简介: 洪磊(1979-), 女, 博士生, 主要研究方向为鱼类生理学。E-mail: angelahonglei@yahoo.com.cn

通讯作者: 张秀梅。E-mail: gaohang@ouc.edu.cn

定10℃、15℃、20℃、23.5℃、26℃ 5个温度梯度,每个温度梯度组放养许氏平鲉12尾,设立2个平行组,一组进行温度梯度实验,另一组进行空气暴露实验。以每天1℃的速度缓慢上调温度,达到设定温度后,暂养1周开始取样。空气暴露实验在温度梯度实验的基础上进行,从每个温度组中取许氏平鲉6尾暴露空气5 min,放回水中恢复20 min,尾椎动脉(静)脉取血,检测血糖和血沉降变化。

为比较不同季节里许氏平鲉在运输胁迫下的生理变化,2003年11月13日从相同产地,以相同条件运输许氏平鲉200尾,运输水温10℃左右,检测运输后血糖恢复情况。

1.3 实验方法

1.3.1 血糖的测定 采用邻甲苯胺法。使用0.75 g 硫脲、441.6 mL 冰醋酸、38.4 mL 邻甲苯胺、20 mL 饱和硼酸溶液配成500 mL O-TB溶液,放入棕色瓶中24 h后可用;干燥的纯葡萄糖1 g溶于0.25%安息香酸溶液中定容到100 mL,作为葡萄糖标准贮存液(10 mg/mL);取葡萄糖标准贮存液10 mL用0.25%安息香酸溶液定容到100 mL,作为葡萄糖标准应用液(1 mg/mL)。

枸橼酸钠抗凝的全血,4 000 r/min 离心10 min,取上清液血浆0.1 mL放在样品管中,在对照管中加入葡萄糖标准应用液0.1 mL,然后在样品管、对照管中各加入O-TB溶液5 mL,沸水浴5~8 min,取出用凉水冷却,630 nm下比色。

$$C_H = (A_s/A_c) \times 100\%$$

C_H :血糖质量浓度, mg/(100 mL); A_s :样品管的吸光度值; A_c :对照管的吸光度值。

1.3.2 血沉降的测定 采用自制的血沉降管,加入用枸橼酸钠抗凝的全血,垂直放置2 h,记录血沉高度。

1.4 数据统计分析

实验以个体为单位进行统计学分析,对实验数据取算术平均值和标准偏差,用SPSS软件对各养殖温度下许氏平鲉实验数据进行单因素方差分析(One-way ANOVA)。

2 结果与分析

2.1 运输胁迫对血糖的影响

2.1.1 春季运输胁迫后许氏平鲉和花鮨的血糖恢复 春季运输胁迫后,随恢复时间的延长,许氏平鲉和花鮨的血糖水平整体上都表现出下降的趋势(图

1)。花鮨的血糖水平出现先升高后逐渐降低的变化趋势,在恢复初期许氏平鲉的血糖水平明显低于花鮨($P < 0.05$),且达到稳定状态时间较短,恢复24 h后基本趋于稳定,血糖含量为45.5 mg/(100 mL),经168 h的恢复,花鮨、许氏平鲉的血糖含量分别为64.1 mg/(100 mL)、26.4 mg/(100 mL)。

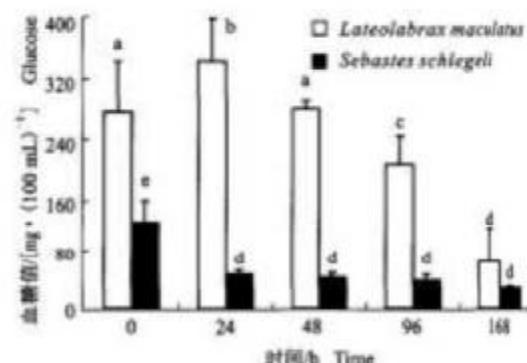


图1 春季运输后花鮨、许氏平鲉的血糖值(4月4~11日)
(未标有相同字母的柱相互之间存在显著差异)

Fig.1 Plasma glucoses of *Lateolabrax maculatus* and *Sebastes schlegeli* after transport in spring (4~11 Apr)
(Columns without the same letter were significantly different from each other)

2.1.2 运输季节对许氏平鲉血糖的影响 冬季运输胁迫后许氏平鲉血糖恢复趋势与春季相似(图2),运输结束后血糖水平为96.3 mg/(100 mL),24 h后血糖水平有较大幅度的降低,48 h后基本趋于稳定,血糖水平为36.4 mg/(100 mL)。春季运输结束后许氏平鲉血糖水平为130.8 mg/(100 mL),比冬季运输后相应值高,但在相同的实验室条件下,血糖恢复趋势基本一致。

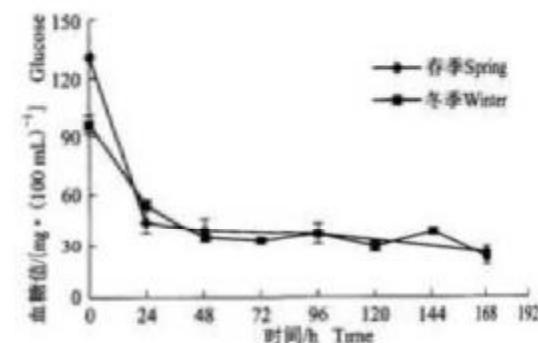


图2 春冬季运输后许氏平鲉的血糖值
Fig.2 Plasma glucose of *Sebastes schlegeli* after transport in the spring and winter

2.2 温度及空气暴露胁迫对血糖、血沉降的影响

由表1可知,在温度梯度实验中许氏平鲉的血糖水平随温度的升高呈逐渐上升的趋势,但当水温超过20℃时,血糖水平呈现下降趋势。在温度梯度实验基础上进行的空气暴露实验许氏平鲉血糖整体变化趋势与温度梯度实验一致,除10℃组外,其余各组许氏平鲉经过空气暴露胁迫后血糖含量有显著性提高($P<0.05$)。血沉降也是一种体现鱼体生理状

况的重要指标。血沉降越大,表示血液中细胞浓度越高,细胞悬浮稳定性越小。随水温升高,许氏平鲉血沉降值增大,在10℃的养殖水体中许氏平鲉的血沉降值为1.28 cm,在26℃的养殖水体中上升为4 cm,经空气暴露胁迫后许氏平鲉血沉降值有轻微的下降($P>0.05$),整体变化趋势与温度梯度实验相似(图4),在缺氧、温度及捕捉操作胁迫的多重影响下,10℃、26℃组的血沉降分别降至1.0 cm和3.1 cm。

表1 温度梯度实验和空气暴露实验中血糖含量

Tab.1 Plasma glucose levels with exposure to air and in the temperature gradient experiment $\bar{X} \pm SD$

| 血糖/[mg·(100 mL) ⁻¹] Plasma glucose level | 温度 Temperature | | | | |
|---|-----------------------|-----------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|
| | 10℃ | 15℃ | 20℃ | 23.5℃ | 26℃ |
| 温度梯度实验 Temperature group | 25.7±7.7 ^a | 27.7±6.7 ^a | 35.2±17.5 ^b | 23.3±9.4 ^a | 23.0±5.3 ^a |
| 空气暴露实验 Exposure group | 34.2±8.8 ^a | 41.9±6.5 ^b | 60.5±7.9 ^b | 64.1±6.4 ^c | 44.6±4.2 ^a |

* 标有不同字母的数值之间存在显著差异。

* The values without the same letter were significantly different from each other.

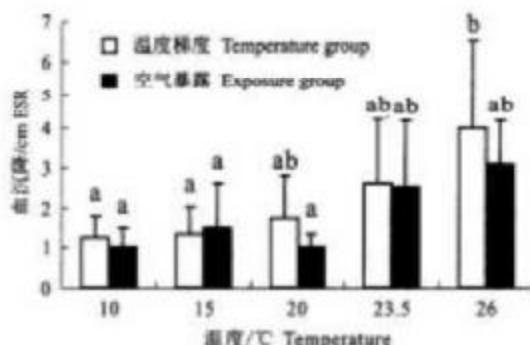


图3 温度梯度实验和空气暴露实验中血沉降的变化
(未标有相同字母的柱之间存在显著差异)

Fig.3 Changes of ESR with exposure to air and in temperature gradient experiment

(Columns without same letters were significantly different from each other)

3 讨论

许氏平鲉和花鲈从养殖网箱运输到实验室的过程中,除运输中的拥挤和缺氧等胁迫外还涉及捕捞、装载等其他操作胁迫。运输结束后二者血糖水平都有大幅度升高,这与其他学者的研究结果一致^[15-18]。运输胁迫后许氏平鲉的血糖水平恢复迅速,24 h后血糖值就趋于正常,并在运输72 h后开始积极摄食。说明许氏平鲉对运输胁迫的耐受性较强且具有较高的环境适应能力。花鲈的血糖水平明显

高于许氏平鲉,尾崎久雄^[19]研究表明,游泳能力较强的活泼鱼类的血糖值一般在60~90 mg/(100 mL)。运输胁迫后花鲈血糖值呈先升高后逐渐降低的变化趋势,这与其行为习性相关,花鲈属中下层活动性较强的鱼种,对外界环境的变化敏感,难驯化,运输结束后血糖水平仍保持上升,24 h后血糖含量达到高峰,48 h后血糖水平开始下降,经运输胁迫后需1周左右的恢复期血糖水平平均达到64.1 mg/(100 mL),接近正常水平。但此时实验鱼仍未摄食,除恢复性暂养降低了血糖水平的原因外,血糖水平的下降还应包括饥饿引起的血糖降低。Iversen等^[17]实验表明,大西洋鲑(Salmo salar L.)经装载、运输胁迫后,血糖恢复过程中也出现先升高后降低的变化趋势,分析认为运输后的捕捞和卸载等操作胁迫对鱼类的影响要远大于运输本身的影响,所以在运输结束后一段时间内鱼的肾上腺素、血糖等指标会持续上升,然后才下降。但在本实验中许氏平鲉没有表现出这种特性,分析认为与该鱼种的环境适应能力有关,24 h的暂养已经降低了操作胁迫对许氏平鲉的影响,表现为血糖含量的下降。

在不同季节里运输胁迫对许氏平鲉血糖影响的比较实验中发现,运输结束后许氏平鲉血糖恢复过程的整体趋势相近,在相同恢复条件下血糖水平的恢复过程不存在差异,但是不同季节里胁迫恢复初

期鱼体血糖水平差异显著,即在相同强度的运输胁迫下,春季许氏平鲉血糖含量高于冬季。分析原因有二,一是因为实验用许氏平鲉为近海网箱养殖鱼种,受海面水温影响较大。4月份海面水温相对较高(10~12℃),11月份海面水温较低(7~10℃),低温使许氏平鲉行动迟缓,代谢强度降低,体内各项生理指标变化缓慢,推测在无运输胁迫情况下春季许氏平鲉的血糖水平高于冬季。二是因为运输水温的差异使相同强度的运输胁迫作用于许氏平鲉,但产生不同的应激结果。水温高鱼体代谢快,体内酶类活性加强,细胞内化学过程的反应速度加快^[18],机体对外界刺激反应敏感。温度和运输胁迫的耦合作用使春季运输后许氏平鲉的血糖变化大于冬季。尾崎久雄^[19]曾提出,鱼类血糖水平随季节发生变化,但实验鱼的营养和代谢状况及取血操作的差异可引起血糖含量产生较大的改变,所以了解鱼类血糖季节变化的难度较大。根据本实验结果推断,季节水温变化是引起春冬两季许氏平鲉血糖水平在经运输胁迫后产生差异的主要原因。

由于神经和内分泌系统的不断调节,血糖含量在体内总是处于一种动态平衡。鱼类的活动性、栖息环境、季节变化、摄食状态、健康状态、外源激素的干扰等因素都可影响鱼类的血糖含量。在无其他因素干扰的条件下,血糖含量可作为机体营养状况的指标,血糖含量较高时表现为鱼类积极摄食,健康状态良好^[19]。在本实验过程中,实验水槽的各项水质指标良好,饵料充足,许氏平鲉的血糖水平在温度梯度实验的20℃组出现峰值,因此认为该温度是许氏平鲉在本实验室循环养殖系统中的最适生活温度。在温度梯度实验基础上进行的空气暴露实验,因涉及额外的缺氧和捕捉胁迫而使血糖值高于温度梯度实验,但变化趋势与温度梯度实验结果相似,可认为许氏平鲉血糖水平的明显提高是温度、缺氧和捕捉胁迫三者耦合作用的结果。

尾崎久雄^[19]认为,运动、温度上升、紫外照射、药品刺激及疾病等都会使血液沉降速度加快。在本实验中,许氏平鲉血沉降值随温度的升高表现出上升的趋势。另外,血沉降是血液红细胞浓度的一种衡量尺度,随红细胞数目的增加而减小,而缺氧可导致红细胞数目增加,一个原因可能是窒息促使鱼体表面黏液分泌增加,体内水分过多排泄造成血浆量的变化,血液被浓缩;另一方面可能是红细胞实际数目的增加。红细胞分为循环性红细胞和贮藏性红细

胞,在受到刺激后,后者被调动起来造成红细胞数目的增加^[20]。这与实验中许氏平鲉因暴露在空气中导致血沉降降低的结果相吻合。

本实验以鱼类的血糖和血沉降为生理指标,分析了环境胁迫对鱼类生理机能的影响。今后,尚需利用更直接、有效的指标开展胁迫条件下鱼类生理机能变化的系统研究。

参考文献:

- Selye H. Stress and the general adaptation syndrome [J]. British Medical Journal, 1950, 17: 1383~1392.
- Helene R, Gerard B. Fish blood parameters as a potential tool for identification of stress caused by environmental factors and chemical intoxication [J]. Marine Environmental Research, 1996, 41 (1): 27~43.
- Collares M E, Barriga C, Ortega E. Effect of high summer temperatures upon granulocyte phagocytic function of the tench (*Tinca tinca*, L.) [J]. Comparative Immunology Microbiology & Infectious Diseases, 1995, 18(2): 115~121.
- Adrienne N B, Mathiakath M V. Constitutive heat shock protein 70 (HSC70) expression in rainbow trout hepatocytes: effect of heat shock and heavy metal exposure [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 2002, 132: 223~233.
- Smythe A G, Sewyko P M. Field and laboratory evaluation of the effects of "cold shock" on fish resident in and around a thermal discharge: an overview [J]. Environmental Science and Policy, 2000, 3: S225~S232.
- Bjornsson B, Tryggvadottir S V. Effects of size on optimal temperature for growth and growth efficiency of immature Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.) [J]. Aquaculture, 1996, 142: 33~42.
- Luckenbach J A, Godwin J, Daniels H V, et al. Gonadal differentiation and effects of temperature on sex determination in southern flounder (*Paralichthys lethostigma*) [J]. Aquaculture, 2003, 216: 315~327.
- Golombieski J I, Silva L V F, Baldassarotto B. Transport of silver catfish (*Rhamdia quelen*) fingerlings at different times, load densities and temperature [J]. Aquaculture, 2003, 216: 95~102.
- Imsland A K, Foss A, Gunnarson S, et al. The interaction of temperature and salinity on growth and food conversion in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) [J]. Aquaculture, 2001, 198: 353~367.
- Chowdhury M J, Blust R. Effect of temperature on the uptake of waterborne strontium in the common carp, *Cyprinus carpio* (L.) [J]. Aquatic Toxicology, 2001, 54: 151~160.
- Davis M W, Olla B L, Schreck C B. Stress induced by hooking, net towing, elevated sea water temperature and air in teleosts: lack of concordance between mortality and physiological measures of stress [J]. Journal of Fish Biology, 2001, 58: 1~15.

- [12] 孙 霞, 张 波, 郭学武, 等. 温度对黑鲷(*Sparus macrocephalus*)能量收支的影响[J]. 生态学报, 2001, 21(2): 186~190.
- [13] 邓思平, 吴天利, 王德寿, 等. 温度对南方鮰幼鱼生长与发育的影响[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2000, 25(6): 674~679.
- [14] 尹家生, 邵峰泉, 徐伟, 等. 水温变化对黑龙江野鹤繁殖的影响[J]. 上海水产大学学报, 2002, 11(3): 253~258.
- [15] Urbini E C, de Abreu J S, da Silva Camargo A C, et al. Loading and transport stress of juvenile merozois (*Brycon ophidius*, Channidae) at various densities [J]. Aquaculture, 2004, 229: 389~400.
- [16] Grutter A S, Pankhurst N W. The effects of capture, handling, confinement and ectoparasite load on plasma levels of cortisol, glucose and lactate in the coral reef fish *Hemigymnus melapterus* [J]. Journal of Fish Biology, 2000, 57: 391~401.
- [17] Iversen M, Finstad B, Nilssen K J. Recovery from loading and transport stress in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) smolt [J]. Aquaculture, 1998, 168: 387~394.
- [18] 魏瑾芳. 鱼类生理学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1991: 225~285.
- [19] 尾崎久雄. 鱼类血液与循环生理[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1982: 151~154.
- [20] 魏奉. 生理学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 367~407.

Effects of environmental stress on plasma levels of glucose and ESR of *Sebastes schlegeli* and *Lateolabrax maculatus*

HONG Lei, ZHANG Xiu-mei

(Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: Stress is defined as the effect of any environmental alteration or force that extends homeostatic or stabilizing processes beyond their normal limits, at any level of biological organization. Physical or environmental disturbances that are severe enough to cause stress require a compensatory action by fish and thus the stress response is a mechanism which enables fish to avoid or overcome potentially threatening, noxious or harmful situations. Nevertheless, few studies have examined the recovery of *Sebastes schlegeli* and *Lateolabrax maculatus* from physiological stress during transportation and temperature change by using biochemical indicators. This study deals with the effects of transportation, temperature and exposure to air on blood biochemical indices of *S. schlegeli* and *L. maculatus*. The transport experiment was carried out during the regular procedures of the local aquiculture company so to repeat the real condition of transportation. Blood samples were collected from the fish immediately after the transportation and additionally at 24 h, 48 h, 96 h and 168 h after transport to observe the variation trends of plasma level of glucose during the recovery period. The plasma glucose levels were measured with O-TB method and the erythrocyte sedimentation rate (ESR) was examined by capillary method. The results showed that the plasma glucose levels of the two fishes were both elevated after 60 min transportation, and then the plasma glucose level of *S. schlegeli* decreased significantly within 24 h. At 168 h after transportation, the plasma glucose level of *L. maculatus* returned to normal values. It was reported that the changes of plasma glucoses related with the habits and behaviors of fish. The active *L. maculatus* had high plasma glucose level after transportation and recovers slowly. *S. schlegeli* with lower swimming capability showed a good tolerance to transportation stress and the plasma glucose level recovered quickly after the transportation. The changes of the plasma glucose levels under the transportation stress in spring and winter indicated that the seasonal temperature changes were the main reason. After the transportation, the plasma glucose levels of *S. schlegeli* in spring (April) were about 1.4 times as much as that in winter (November). Under the experiment temperature, the physiological indicators of the stress were plasma glucose level and ESR. The effects of plasma glucose level and ESR of *S. schlegeli* were examined at different temperature (10°C, 15°C, 20°C, 23.5°C and 26°C). The plasma glucose level of *S. schlegeli* reached the peak value but ESR elevated gradually with temperature increasing. During the air exposure experiment under different temperature, the level of plasma glucose increased and ESR decreased slightly. The tendency of plasma glucose level and ESR was similar to those in the temperature experiment.

Key words: *Sebastes schlegeli*; *Lateolabrax maculatus*; environmental stress

Corresponding author: ZHANG Xiu-mei. E-mail: gaochang@ouc.edu.cn