

中间球海胆饥饿代谢研究

李霞, 秦艳杰, 李颖逾

(大连水产学院, 农业部海水增养殖与生物技术重点开放实验室, 辽宁 大连 116023)

摘要: 于2002年4月至5月测定了饥饿状态下中间球海胆(*Strongylocentrotus intermedius*)耗氧率和排氨率的变化情况, 得出海胆饥饿后耗氧率、排氨率及氧氮比变化曲线, 并对海胆性腺主要成分进行组织化学分析。结果表明: 随饥饿时间的延长, 中间球海胆的耗氧率呈“稳定、急速下降、再稳定”的阶段性变化, 在整个饥饿期间内下降了45.6%; 排氨率经短暂稳定后, 先上升再阶段性下降, 实验结束时共下降了32.33%; 氧氮比则表现出平稳、下降、上升的趋势。组织化学的测定结果是海胆饥饿前后性腺的主要变化成分为蛋白质和糖类, 综上可认为, 海胆饥饿后能源物质利用顺序为: 蛋白质+糖类、蛋白质、蛋白质+糖类。

关键词: 中间球海胆; 饥饿; 代谢

中图分类号: S968.22 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8737-(2004)04-0302-05

由于自然界中的季节交替、环境复杂多变、食物分布不均等原因, 动物经常受到饥饿或营养不足的胁迫, 作为生理生态学上的一种适应性, 动物饥饿过程中会表现出特殊的代谢变化。有关水产动物饥饿代谢方面的研究自20世纪70年代以来, 逐渐受到人们广泛的重视, 鱼类方面的报道较多, 贝类、虾类也有一些研究^[1-7], 但在棘皮动物方面尚未见系统报道。

中间球海胆(*Strongylocentrotus intermedius*)又称虾夷马粪海胆, 于1989年由日本引入我国, 现已成为辽宁、山东等地海水养殖和创汇的重要种类, 国内外学者对其生态学、苗种培育和增养殖技术已有较多的研究^[8-10]。本研究以中间球海胆为实验对象, 研究海胆饥饿状态下代谢及性腺组织化学变化情况, 以期丰富水产动物饥饿代谢的理论研究, 也为海胆养殖实践提供必要的理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料

中间球海胆于2002年4月中旬取自大连碧龙海珍品养殖公司, 为海上吊笼式人工养殖。壳径 (2.54 ± 0.31) cm, 湿重 (6.70 ± 0.43) g。海胆采回后置于室内自动控温水族箱中挂袋饲育, 连续充气培养, 每天1/2~2/3换水1次, 期间充分投喂新鲜

孔石莼。逐渐升温(每天1℃)至水温18℃。在这种条件下暂养1周后开始实验。实验用水为沙滤自然海水, 盐度30~32, pH (8.01 ± 0.03) 。

1.2 方法

挑选健康、体重相近的海胆24只, 随机取出6只测量体重、壳径, 并解剖称得性腺重作为实验初值。其余18只分装于3个网袋内, 每袋6只。实验共进行24 d。

1.2.1 溶氧与氨氮的测定 实验正式开始起每天上午8:00将单个海胆移入装满新鲜海水的500 mL广口瓶中(所有广口瓶均事先完全浸入盛满新鲜海水的水槽中以盛满海水), 塑料薄膜封口。广口瓶放入 (18 ± 0.5) ℃的水浴槽中, 每次测定6只海胆, 同时设1个空白对照瓶。2 h后虹吸法取水样测定广口瓶中的溶解氧和氨含量(经预实验可知, 2 h后水中溶氧仍可保持在6 mg/L以上), 同时用电子天平称出海胆湿重。溶解氧采用碘量法测定, 次溴酸钠氧化法测定水样的氨氮含量。

$$\text{耗氧率}(\text{mg} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) = (C_0 - C_1) V / W \cdot T;$$

$$\text{排氨率}(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}) = (N_1 - N_0) V / W \cdot T;$$

$$\text{氧氮比} = 1000 \times \text{耗氧率} / \text{排氨率}$$

式中, C_0 : 空白瓶溶解氧含量(mg/mL); C_1 : 实验结束时溶氧含量(mg/mL);

收稿日期: 2003-09-03; 修订日期: 2004-02-19.

基金项目: 辽宁省科学技术基金(20022100).

作者简介: 李霞(1961-)女, 教授, 从事发育与细胞生物学研究. E-mail: dbwq@mail.dlptt.ln.cn

N_0 :空白瓶氮含量($\mu\text{g/mL}$); N_1 :实验结束时氮含量($\mu\text{g/mL}$); W :海胆体重(湿重, g); T :实验持续时间(h); V :广口瓶体积(mL)

1.2.2 饥饿起始时间的确定 从停食开始每天观察粪便产生状况,一旦观察到粪便排出量明显减少,便可以认为饥饿实验正式开始。

1.2.3 数据分析 实验结果进行单因子方差分析。

1.2.4 组织化学 在实验开始和结束时,将海胆性腺取出,分别置10%中性福尔马林和福尔马林钙固定,常规石蜡切片,进行以下染色:过碘酸-Schiff(PAS)反应显示多糖,对照用 α -淀粉酶消化。汞溴酚蓝(HgBpB)法显示蛋白质。苏丹Ⅲ法示复合性脂类,OLYMPUS显微镜观察。

2 结果

2.1 饥饿过程中中间球海胆体重、壳径变化

实验结束时饥饿组中间球海胆体重变化差异不显著;性腺重和性腺指数下降明显($P < 0.01$)。壳径不变(表1)。

表1 饥饿前后中间球海胆生长指标的变化

Table 1 Changes of body weight, diameter and gonad weight of sea urchin ($\bar{X} \pm \text{SD}, n = 6$)

项目 Item	实验开始 Initial	饥饿结束 Final
体重/g Weight	6.70 ± 0.43	6.42 ± 0.59
壳径/cm Diameter	2.54 ± 0.31	2.55 ± 0.42
性腺重/g Gonad weight	0.51 ± 0.02	0.40 ± 0.03
性腺指数* Gonad index	7.61 ± 0.03	6.24 ± 0.16

* 性腺指数 = 性腺重/体重 $\times 100\%$ 。

* Gonad index = gonad weight/body weight $\times 100\%$ 。

2.2 饥饿过程中中间球海胆耗氧率和排氨率变化

实验中观察到,停食2 d后中间球海胆排粪量明显减少,这种情况下测得的耗氧率为(0.046 ± 0.009) $\text{mg}/(\text{g} \cdot \text{h})$,排氨率为(2.128 ± 0.327) $\mu\text{g}/(\text{g} \cdot \text{h})$,此为标准代谢。之后24 d内中间球海胆饥饿后耗氧率和排氨率的变化见图1、图2。

中间球海胆在饥饿1~4 d后耗氧率相对稳定,水平与实验初始相当。第4~6天显著下降,共下降了45.6% ($P < 0.01$),之后再一次呈平稳状态,直至实验结束。而排氨率在1~4 d内也保持在初始水平,4~6天有一个明显的上升过程,之后呈阶段性下降。从饥饿第14天开始至实验结束一直保持在较低水平的平稳状态,此时排氨率较实验初

始下降了32.33% ($P < 0.01$)。

2.3 饥饿过程中中间球海胆氧氮比变化

饥饿实验过程中,中间球海胆的氧氮比即氧氮比的变化情况见图3,从图中可看出,饥饿实验开始时,氧氮比维持在 21.62 ± 2.32 的水平,之后急速下降,第5~9天稳定在 7.30 ± 1.47 的水平,为最初氧氮比的33.77%;此后随饥饿时间的延长缓慢上升,18~19 d达到最高水平为 41.07 ± 1.48 。后又有下降,至实验结束时为 20.23 ± 1.36 。

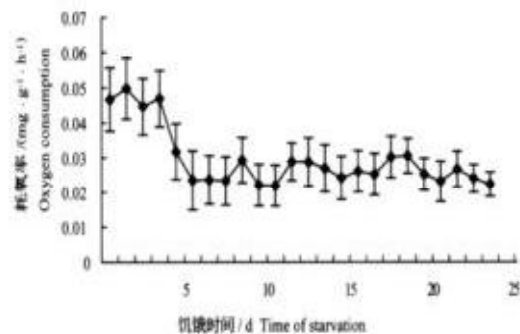


图1 中间球海胆饥饿过程中耗氧率的变化

Fig. 1 Changes of oxygen consumption rate of sea urchin during starvation

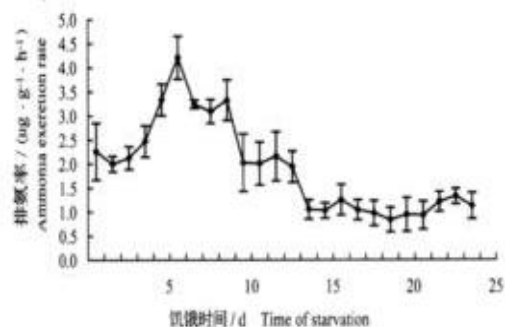


图2 中间球海胆饥饿过程中排氨率的变化

Fig. 2 Changes of ammonia excretion rate of sea urchin during starvation

2.4 饥饿对海胆性腺组织化学的影响

海胆性腺为滤泡型,每个滤泡由生殖细胞和营养颗粒组成,实验开始时性腺处于发育早期,卵巢中生殖细胞主要为无卵黄的初级卵母细胞,而精巢中主要为精原细胞、初级精母细胞和极少量的精子。饥饿结束时性腺无进一步发育。从表2和表3可见,在所测的多糖、蛋白质和脂类3种物质中,雌性

腺中生殖细胞含有蛋白质和少量脂类,不含有多糖;而营养颗粒含有丰富多糖和蛋白质,脂类很少。雄性腺中生殖细胞只含有蛋白质,营养颗粒由多糖和蛋白质构成。饥饿主要影响生殖腺中营养颗粒的多糖和蛋白质成分,造成两者数量的降低,也使初级卵母细胞中蛋白质成分有所减少。

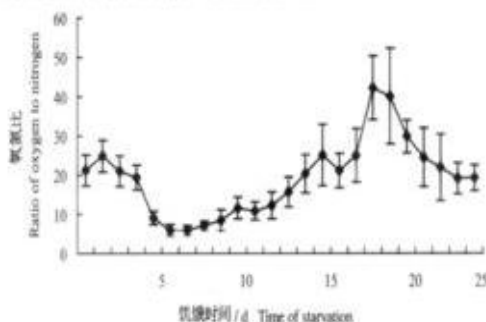


图3 中间球海胆饥饿过程中氧氮比的变化

Fig. 3 Ratio of oxygen to nitrogen in sea urchin during starvation

3 讨论

3.1 饥饿对中间球海胆代谢率的影响

由本实验结果可知,中间球海胆饥饿过程中耗氧率共下降了45.6% ($P < 0.01$),排氮率下降了32.33% ($P < 0.01$),这与水产动物饥饿后代谢率降低的一般规律相吻合^[1-7]。某些动物在饥饿期内代谢率的下降会呈现特异的阶段性,如南方鲇幼鱼饥饿过程中代谢率的变化可分为“下降—相对稳定—

再度下降—再度相对稳定”4个阶段^[2]。中华绒螯蟹^[7]饥饿过程中耗氧率也有类似的阶段性变化。为了区分高低2个相对稳定期,张波等建议把高稳定期称为“饥饿适应代谢”(Starvation-adapting metabolism),在这一阶段,动物具有能保持正常应激状态的最低代谢水平;而把低稳定期称为“存活代谢”(Survival metabolism),这一阶段是动物尽可能节约能量、延长生命的最低代谢水平。若再低于这一水平,动物就不能成活。本实验中,海胆在饥饿实验正式开始的第1~4天内,耗氧率维持在一定水平上,此水平与正常摄食情况下相近,4~6天时显著下降,之后维持在一个更低的水平上,直至第24天实验结束,其代谢率变化分为“稳定—急速下降—再稳定”3个阶段,与已有的报道有所不同。此与海胆特殊的生理和结构特点有关,Lasker^[11]研究指出,紫球海胆(*S. purpuratus*)连续喂食则连续排便,饥饿时则排便减少,两周后肠中仍有食物^[11]。本实验在饥饿进行过程中也发现了类似的情况,作者认为由于饥饿导致食物在中间球海胆肠道内较长时间滞留,所以在饥饿初期代谢率可以维持在正常水平一段时间,之后方显著下降,而不像其他水产动物那样饥饿之后代谢率即急速下降。与鱼类、虾蟹类等水生生物相比,中间球海胆仅有极薄的肠和性腺做为储能器官,没有发达的肌肉组织、脂肪组织和消化腺,所以饥饿过程中代谢率必须直接下降到最低代谢水平,以保证生存所需要的能量消耗,并尽可能长时间地相对稳定在此水平。

表2 海胆雌性腺组织化学变化

Table 2 Changes of histochemistry on ovary of sea urchin

所测项目 Item	方法 Method	实验开始 Initial			饥饿结束 Final		
		卵原细胞 Oogonium	初级卵母细胞 Primary oocyte	营养颗粒 Granular	卵原细胞 Oogonium	初级卵母细胞 Primary oocyte	营养颗粒 Granular
多糖 Carbohydrate	PAS	-	-	+++	-	-	+
蛋白质 Protein	HgBpB	+	++	++	+	+	+
脂类 Lipid	苏丹Ⅲ Sudan Ⅲ	-	+	+	-	+	+

注:“+”,阳性;“++”,较多;“+++”,多;“-”,阴性。

Note: “+”, positive; “++”, more; “+++”, many; “-”, negative

3.2 饥饿过程中中间球海胆体内贮存物质的利用

氧氮比可以用来估计水产动物能量代谢中能源物质的化学本质^[12]即用来反映饥饿条件下动物利用不同代谢底物的比例,氧氮比越低,表明蛋白质作为呼吸底物的比例越大^[13]。

水产动物饥饿后利用身体能源物质的顺序不同。美国红鱼^[3]、中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)幼蟹^[7]优先利用脂肪和碳水化合物,而少数种类,如真鲷(*Pagrosomus major*)^[14]在饥饿过程中主要以蛋白质为能源。多数鱼类机体纯利用蛋白质时氧氮比

达到最低值,约为 $3^{[15]}$,甲壳类完全由蛋白质氧化供能时氧氮比约为 $7^{[16]}$,由蛋白质和脂肪氧化供能时氧氮比约为 $24^{[17]}$;如果主要由脂肪或碳水化合物供能则氧氮比将变大甚至无穷大 $^{[13]}$ 。中间球海胆身体主要构成和有经济价值部分为生殖腺,由表2和表3可知其性腺主要成分为蛋白质和糖类物质,饥饿除导致卵原细胞、初级卵母细胞蛋白质含量有所降低外,更主要的变化是营养颗粒中蛋白质和多糖含量的降低,所以饥饿影响生殖腺的生化组成,使得海胆品质下降。图3可见,中间球海胆饥饿后氧氮比的变化是:第1~4天保持稳定,之后急速下降,5~9天时稳定在最低值范围内,此后缓慢上升,

18~19天达到最高值,以后又下降至实验初始水平。根据其他水产动物的研究结果可以初步推断,中间球海胆饥饿5~9天时以蛋白质供能,其余时间以多糖和蛋白质供能,随饥饿时间的延长,多糖供能比例增大。Lares $^{[18]}$ 提出饥饿早期,主要影响海胆(*Lytechinus variegates*)肠上皮结构,使其高度降低。结合本实验结果,饥饿1~4天以肠中食物为能量来源,5~9天消耗肠上皮中蛋白(无脂肪),其余时间利用生殖腺所储存的蛋白质和糖类。本实验所做海胆性腺发育至生长期,至于饥饿对其他发育阶段海胆代谢和组织化学的影响尚需做进一步的研究。

表3 海胆雄性腺组织化学变化
Table 3 Changes of histochemistry on testis of sea urchin

项目 Item	方法 Method	实验开始 Initial			饥饿结束 Final		
		精原细胞 Spermatogonium	精母细胞 Spermatocyte	营养颗粒 Granular	精原细胞 Spermatogonium	精母细胞 Spermatocyte	营养颗粒 Granular
多糖 carbohydrate	PAS	-	-	+++	-	-	+
蛋白质 protein	HgBpB	++	++	++	++	++	+
脂类 lipid	苏丹Ⅲ Sudan III	-	-	-	-	-	-

注:“+”,阳性;“++”,较多;“+++”,多;“-”,阴性。

Note: ‘+’, positive; ‘++’, more; ‘+++’, many; ‘-’, negative.

参考文献:

- [1] 崔奕波,王少梅,陈少蓬. 饥饿状态下草鱼的代谢率和氨排泄率及其与体重的关系[J]. 水生生物学,1993,17:375-376.
- [2] 张波,谢小军. 南方鲇的饥饿代谢研究[J]. 海洋与湖泊,2000,31(5):480-483.
- [3] 姜志强,贾泽梅,韩延波. 美国红鱼继饥饿后的补偿生长及其机制[J]. 水产学报,2002,26(1):67-72.
- [4] Carefoot T H, Qian P Y, Taylor B E, et al. Effect of starvation on energy reserves and metabolism in the Northern abalone, *Haliotis kamtschatkana* [J]. Aquaculture, 1993,118:315-325.
- [5] Whyte J N C, Englar J R, Carswell B L, et al. Influence of starvation and subsequent feeding of body composition and energy reserves in the prawn *Pandalus platyceros* [J]. Can J Fish Aquat Sci, 1986,43:142-148.
- [6] 林小涛,张秋明,许忠能,等. 虾蟹类呼吸代谢研究进展[J]. 水产学报,2000,24(6):575-579.
- [7] 温小波,陈立. 中华绒螯蟹幼蟹饥饿代谢研究[J]. 应用与环境生物学报,2001,7(5):443-446.
- [8] 王子臣,常亚青. 虾夷马粪海胆人工育苗的研究[J]. 中国水产科学,1997,4(1):60-68.
- [9] 常亚青,王子臣. 虾夷马粪海胆人工育苗的研究[J]. 大连水产学院学报,1997,12(2):7-14.
- [10] 常亚青,王子臣,孙培海,等. 虾夷马粪海胆的海区复殖、室内中间培育及工厂化养殖[J]. 中国水产科学,1996,6(2):66-69.
- [11] Lasker R, Giese A C. Nutrition of the sea urchin, *Strongylocentrotus purpuratus* [J]. Biol Bull, 1954,106:328-340.
- [12] 周洪琪,顾功超. 中国对虾幼体的能量代谢[J]. 水产学报,1992,16(2):167-170.
- [13] 杨红生,张涛. 温度对墨西哥湾扇贝耗氧率和排氨率的影响[J]. 海洋学报,1998,20(4):91-95.
- [14] 张波,孙耀,唐启升. 饥饿对真鲷生长及生化组成的影响[J]. 水产学报,2000,24(3):206-210.
- [15] 况莉,谢小军. 温度对饥饿状态下南方鲇幼鱼氨氮排泄的影响[J]. 西南师范大学学报,2001,26(1):45-50.
- [16] Mayzaud P. Respiration and nitrogen excretion of zooplankton. IV. The influence of starvation on the metabolism and biochemical composition of some species [J]. Mar Biol, 1976,37:47-58.
- [17] Ikeda T. Nutritional ecology of marine zooplankton [J]. Mem Fac Fish Hokkaido Univ, 1974,22:1-97.
- [18] Lares M T, Pomory C M. Use of body components during starvation in *Lytechinus variegates* (Lamarck) (Echinodermata: Echinoidea) [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1998,225:99-106.

Metabolism of sea urchin *Strontgylocentrotus intermedius* during starvation

LI Xia, QIN Yan-jie, LI Ying-yu, DONG Yi-chao

(Key Laboratory of Mariculture & Biotechnology, Agriculture Ministry; Dalian Fisheries University, Dalian 116023, China)

Abstract: In starvation, animals usually have special consumption rate. For most animals the consumption rate decreased in experiment. Some reports on starvation study were concerned with fish, shellfish and crustacea. But on sea urchin's starvation study, seldom reports were in details. In China, sea urchin *Strontgylocentrotus intermedius* has been one of the important economic species and cultured in some areas like Shangdong Province and Liaoning Province for some years. In this experiment, the effects of starvation on consumption rate, oxygen consumption rate, ammonia excretion rate and O/N varying curve were measured and calculated simultaneously in *Strontgylocentrotus intermedius* at temperature $(18.0 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$ during April and May, 2002. By the methods of iodometric and sodium hypobromite oxidation, DO and $\text{NH}_4^+ - \text{N}$ were measured. The results show that with the extension of starvation period, the oxygen consumption varying curves of *Strontgylocentrotus intermedius* displays three stages, which were "stability - sharp decrease - regained stability". There was a 45.6% decrease in oxygen consumption and 32.33% decrease in ammonia excretion rate during the whole period, and from the curve of oxygen consumption variation, it showed that oxygen consumption remained constant at the first stage, then decreased sharply before it remained constant at a lower level. From the changes that ammonia excreted gradually, it can be seen that after a short constant, the ammonia excretion increased and then decreased. The changes of metabolism in sea urchin were different from the other reported animals, of which the metabolism rate experienced four phases "increase - stability - decrease - stability". This is due to the characterization of special physiological structure in sea urchin. During the starvation period, the food can stay in the intestine for a long time, so at the beginning of starvation, the metabolism rate can maintain at normal level. The intestine and gonad were the exclusive organs which can be used to restore energy, so the metabolism rate has to fall to the lowest level. The histochemistry changes on gonad of sea urchin during the period of starvation were protein and carbohydrate. The gonad was composed of germ cell and nutritive cell which was full of nutritive granule. The protein, carbohydrate and fat were the main chemical materials in female gonad, and only protein and carbohydrate were found in male gonad. In this experiment, the protein, carbohydrate and fat in nutritive cell were decreased in great degree. On calculation, the change of O/N ratio showed stable - decreasing - increasing trend, then steady at lower level. Compared with other reported animals, the results showed that the use order of energy materials during the starvation period was: protein + carbohydrate $\rightarrow$ protein $\rightarrow$ protein + carbohydrate. During the period of starvation, the percentage of carbohydrate energy increased. The energy source in starvation came from the food had remained in intestine for 1 - 4 d, and the protein from intestinal epithelial tissue for 5 - 9 d, and protein and carbohydrate stored in the gonad in the rest time. The gonad studied in this experiment was at growing stage, so for the study in other developmental stage, a further research will be conducted.

Key words: *Strontgylocentrotus intermedius*; starvation; metabolism