

低盐环境对3种规格刺参(*Apostichopus japonicus*) 幼参生长与消化酶活力的影响*

赵斌^{1,2} 胡炜^{1,2} 李成林^{1,2①} 韩莎^{1,2} 董晓亮³
王波⁴ 姜涛⁴

(1. 山东省海洋生物研究院 青岛 266104; 2. 山东省海水健康养殖工程技术研究中心 青岛 266104;
3. 东营海跃水产科技有限公司 东营 257500; 4. 日照海山水产有限公司 日照 276800)

摘要 为探明低盐环境中刺参幼参各生长阶段的消化酶活力变化,采用实验生态学方法,测定了低盐(16、18、20、22、24)环境中3种规格,体质量分别为(28.37±3.21)g、(7.52±1.25)g、(2.03±0.68)g的刺参幼参生长和肠道蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活力。结果显示,3种规格刺参特定生长率变化趋势一致,随盐度升高而升高。盐度16时,特定生长率最低,与对照组差异显著($P<0.05$),刺参身体不能正常自然伸展,多数个体匍匐在水槽底部,几乎不摄食;盐度31时,特定生长率最高。在盐度16–24范围内,刺参消化道内蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶活性变化趋势一致,随盐度的升高而升高;盐度24时,蛋白酶活性均达到最高水平,与对照组差异不显著($P>0.05$),小规格刺参肠道蛋白酶活性在盐度20、22时无显著差异($P>0.05$);盐度20、22、24实验组淀粉酶活性无显著差异($P>0.05$),中规格刺参淀粉酶活性在盐度22升至24时出现显著增高($P<0.05$);大规格刺参肠道脂肪酶活性在盐度20升至22时出现显著增高($P<0.05$),小规格刺参在盐度升至24时脂肪酶活性出现显著增高($P<0.05$);当盐度高于24时3种消化酶活性随盐度升高而降低。

关键词 刺参;低盐;生长;消化酶

中图分类号 S917 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2015)01-0091-06

刺参(*Apostichopus japonicus*)属棘皮动物门(Echinopermata)、海参纲(Holothurodidea)、楯手目(Aspidochirotida)、刺参科(Stichopodidae)、仿刺参属(*Apostichopus*),是我国常见海参种类中营养价值最高,深受消费者喜爱的品种(李成林等,2010)。近年来随着人民生活水平提高和保健意识的增强,刺参市场需求剧增,刺激了养殖业的蓬勃发展(唐黎等,2007)。目前刺参产业带由传统的自然分布区域拓展到其他沿海地区,其中包括山东省黄河三角洲与丁字湾等盐度偏低且不稳定海区(胡炜等,2012),开展低盐环境对刺参生长影响的研究不仅可为刺参健康养

殖提供基础数据,还可以为刺参适养区域的拓展提供参考。

盐度是海水养殖环境中的重要生态因子,其变化对水产动物的生长和消化生理活动有显著影响(李刚等,2011),而消化酶则是决定机体营养吸收与生长性能的重要因素。近年来有关盐度对消化酶影响方面的相关研究对象主要为鱼类(陈品健等,1998;庄平等,2008;Chen *et al.*,2006)和虾类(孙建明等,1995;潘鲁青等,1997;黄凯等,2007),而研究盐度对刺参影响的相关报道多集中于生存和生长方面(陈勇等,2007;王国利等,2007;唐黎等,2007;孙双双等,2009),涉及较低

*国家“863”计划(2012AA10A412)、国家海洋局海洋公益性行业科研专项经费项目(201305001-4)、山东省现代农业产业技术体系刺参产业创新团队建设(SDAIT-08-011-01)、山东省农业良种工程项目(2014-2016)、山东省科技发展计划项目(2014GNC111022)和山东省农业重大应用技术创新课题(2011-2014)共同资助。赵斌, E-mail: jmbzster@gmail.com

① 通讯作者:李成林,研究员, E-mail: lcl_xh@hotmail.com

收稿日期:2014-05-01,收修改稿日期:2014-07-09

盐度特别是长期低盐环境对刺参消化酶活力影响的研究报道尚不多见。本研究重点探讨了低盐环境条件对不同规格刺参幼参生长及消化酶活力的影响,旨在探明低盐环境下刺参幼参各生长阶段的消化生理状态,为刺参耐低盐品系的选育研究提供技术支撑,并为养殖生产中水体盐度环境调控提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用刺参于2013年4月采集于山东省莱阳市水产养殖总公司刺参生态养殖池塘,运输至山东省海洋生物研究院种质资源研究中心鳌山卫实验室进行实验。设置3种不同规格的刺参为研究对象,大规格(L)平均体质量(28.37±3.21)g,中规格(M)平均体质量(7.52±1.25)g,小规格(S)平均体质量(2.03±0.68)g。刺参运到实验室后,按不同规格分别暂养在多个水族箱中,连续充气,使其适应实验室环境(盐度31, pH 8.1±0.2, 水温16~18℃)。暂养期间,日投喂刺参专用配合饲料1次,投饵量为刺参总重的3%~5%,同时按配合饲料与海泥重量比为1:5的比例搭配投喂海泥。选取表现正常、肉刺完整挺直、健康无病的刺参作为实验对象。

1.2 实验设计

设置不同盐度16、18、20、22、24五个处理组,以盐度31的自然海水为对照组。用经自然曝晒的自来水与自然海水混合的方式降低盐度,每天降低两个盐度单位,直至达到实验盐度,并在实验盐度条件下对刺参进行驯化养殖5d。驯化结束后,禁食48h,分别将刺参放置于水族箱(45 cm×35 cm×30 cm)中,按刺参规格不同,每个水族箱内放入大规格刺参10头、中规格刺参20头、小规格刺参30头,每个处理设置3个平行组。实验进行30d。

1.3 日常管理

实验期间连续充气,每天全量换水1次,用虹吸法清除残饵与粪便,换水前后水温差<1℃,盐度差<1。每天17:00投喂饲料1次。

1.4 测定方法与数据计算

1.4.1 特定生长率(SGR)的测定 实验开始前,停止投喂48h,刺参肠道内食饵及粪便排空后,将每个水族箱内刺参取出称质量,初始体质量为 W_0 (g);实验结束后,同样停止投喂48h,刺参排空肠道内食饵及粪便后,将每个水族箱内的刺参取出称重,结果体

质量为 W_t (g)。称重时,首先将刺参取出阴干10min,然后用吸水纸将刺参体表水分吸干,尽量避免体表水分所引起的称量误差。 t 为实验持续的时间(d)。刺参特定生长率SGR(%/d)采用以下公式计算:

$$SGR(\%/d)=100 \times (\ln W_t - \ln W_0) / t$$

1.4.2 消化酶活力的测定 取实验刺参,沿腹部剪开,取出消化道,剔除呼吸树,用超纯水冲洗干净,在-80℃超低温冰箱中保存。实验时取肠组织置于玻璃匀浆器中,加入10倍体积预冷的超纯水,在冰浴条件下匀浆20min,在高速冷冻离心机中(0~4℃, 1000 r/min)离心30min,所得上清液置于冰箱保存待测(姜令绪等,2007)。

刺参肠道蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活力测定所需试剂均购买于南京建成生物技术公司,使用其生产的相对应试剂盒(蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶试剂盒编号分别为A080-1、C016、A054)进行测定。3种消化酶测定原理、酶单位定义及测定操作方法均参照试剂盒说明书。

酶液中蛋白质含量的测定:以标准牛血清蛋白作标准,采用考马斯亮蓝G-250法测定。各种酶活力均以比活力表示,即每毫克可溶性蛋白质所含酶活力单位数。

1.4.3 数据统计 实验数据利用SPSS 17.0软件进行单因子方差分析和多重比较,以 $P < 0.05$ 作为不同处理之间显著差异的标志。

2 结果

2.1 低盐环境对刺参特定生长率的影响

低盐环境中3种不同规格刺参特定生长率的变化如表1所示。在盐度16~24范围内,3种规格刺参特定生长率随盐度的升高而升高。盐度低于20时,3种规格刺参特定生长率均为负值,刺参体质量表现为负增长。盐度16时,刺参特定生长率最小,与其他各盐度实验组及对照组差异显著($P < 0.05$);盐度31时,刺参特定生长率最大,L、M、S三种规格分别为0.83、0.81、0.98%/d。在盐度18~24范围内,大、小规格刺参各实验组特定生长率与对照组差异显著($P < 0.05$);盐度高于20时,中规格刺参实验组特定生长率与对照组差异不显著($P > 0.05$)。

经实验前渐变式降盐驯化,在低盐环境中的3种规格实验刺参全程无死亡。当盐度16、18时,刺参身体不能正常自然伸展,体表疣突逐渐趋向钝圆平滑,多数个体匍匐在水槽底部,吸附能力差,几乎不摄食、残饵多,粪便极少。盐度20时,刺参个体活动能力较强,摄食量增大,粪便增多。当盐度高于

表 1 不同盐度下 3 种规格刺参特定生长率 SGR (%/d)
Tab.1 The SGR of three-sized sea cucumber at different salinities

规格 Size	盐度 Salinity					
	16	18	20	22	24	31
L	-0.77±0.19 ^a	-0.57±0.21 ^b	-0.08±0.14 ^b	0.10±0.17 ^c	0.12±0.24 ^c	0.83±0.24 ^d
M	-0.52±0.25 ^a	-0.32±0.12 ^a	0.34±0.21 ^b	0.64±0.30 ^{bc}	0.73±0.26 ^c	0.81±0.27 ^c
S	-0.74±0.12 ^a	-0.58±0.34 ^a	-0.45±0.10 ^b	0.14±0.25 ^b	0.55±0.14 ^c	0.98±0.21 ^d

注: 同行中标有不同字母者表示组间差异显著($P<0.05$)

Note: The means with different letters within the same line are significantly different at the 0.05 probability level ($P<0.05$)

20 时, 刺参身体能够自然伸展, 疣突尖长, 活动能力强, 能够自由爬行, 附着在槽壁上, 摄食量大, 粪便明显增多, 与自然海水盐度条件下的状态相比未见明显异常, 实验结束时刺参体质量明显增加。

2.2 低盐环境对刺参消化酶活力的影响

2.2.1 低盐环境对刺参蛋白酶活力的影响 不同盐度对 3 种不同规格刺参消化道蛋白酶活力的影响如图 1 所示。在盐度 16–24 范围内, 刺参消化道蛋白酶活性随盐度的提高而升高。在盐度 16 时, 3 种规格刺参肠道蛋白酶活性均达到最低水平, 与对照组差异显著($P<0.05$); 盐度 24 时, 蛋白酶活性均达到最高水平, 与对照组差异不明显($P>0.05$)。

在盐度从 20 升至 22 时, 大、中两种规格刺参肠道蛋白酶活性均呈现显著升高($P<0.05$); 小规格刺参肠道蛋白酶活性在盐度 20、22 时无显著差异($P>0.05$)。此外, 在同一盐度水平下, 不同规格的刺参蛋白酶活性有差异。在盐度 16 时, 中、小规格刺参蛋白酶活性高于大规格刺参。但随盐度升高, 大规格刺参蛋白酶活性急剧升高, 当盐度高于 20 时, 不同规格刺参

蛋白酶活性均可以维持在较高水平。

2.2.2 低盐环境对刺参淀粉酶活力的影响 不同盐度对 3 种不同规格刺参消化道淀粉酶活力的影响如图 2 所示。在盐度 16–24 范围内, 刺参肠道淀粉酶活性呈现随盐度提高而升高的趋势。盐度 16 时, 3 种规格刺参肠道淀粉酶活性均处于最低水平。盐度 16、18 实验组中, 大规格刺参淀粉酶活性与对照组差异不显著($P>0.05$); 当盐度从 18 升高至 20 时, 淀粉酶活性升高; 盐度 20、22、24 实验组淀粉酶活性无显著差异($P>0.05$), 与其他实验组及对照组差异显著($P<0.05$)。中规格刺参淀粉酶活性在盐度 22 升至 24 时出现显著增高($P<0.05$), 小规格刺参淀粉酶活性在盐度 20 升至 22 时出现类似的变化规律。

2.2.3 低盐环境对刺参脂肪酶活力的影响 不同盐度对 3 种不同规格刺参消化道脂肪酶活力的影响如图 3 所示。在盐度 16–24 范围内, 刺参肠道脂肪酶活性呈现随盐度的提高而升高的变化趋势, 同蛋白酶及淀粉酶活性变化趋势基本一致。当盐度降至 16 时, 3 种规格刺参肠道脂肪酶活性均处于最低水平, 与对照组有明显差异($P<0.05$); 在盐度 24 时脂肪酶活性

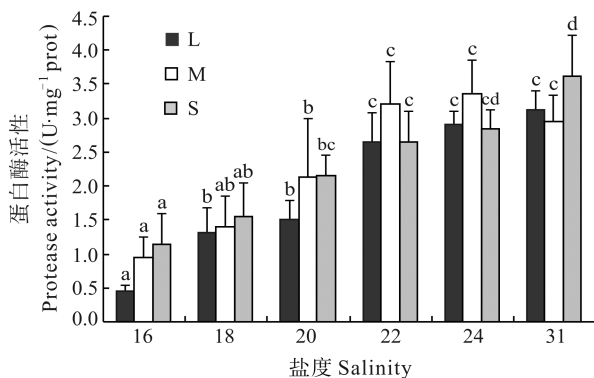


图 1 不同盐度对刺参蛋白酶活力的影响

Fig.1 The effects of different salinity on the protease activity of sea cucumber

不同的字母表示显著性差异($P<0.05$)
Different letters on the graph mean significant difference ($P<0.05$)

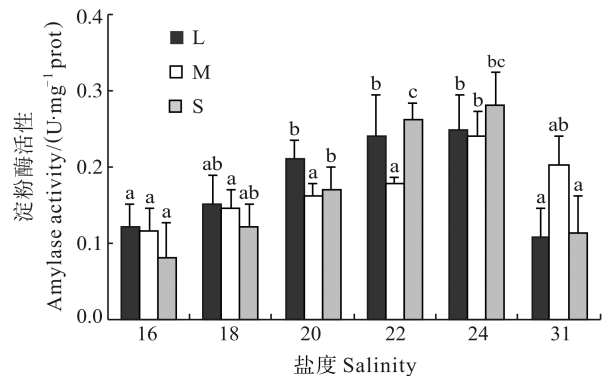


图 2 不同盐度对刺参淀粉酶活力的影响

Fig.2 The effects of different salinity on the amylase activity of sea cucumber

不同的字母表示显著性差异($P<0.05$)
Different letters on the graph mean significant difference ($P<0.05$)

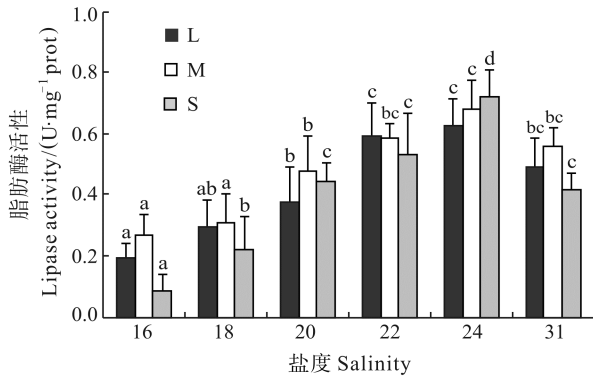


图3 不同盐度对刺参脂肪酶活性的影响

Fig.3 The effects of different salinity on the lipase activity of sea cucumber

不同的字母表示显著性差异($P<0.05$)

Different letters on the graph mean significant difference ($P<0.05$)

达到最大,与低于盐度 22 的各实验组有明显差异($P<0.05$)。大规格刺参肠道脂肪酶活性在盐度 20 升至 22 时出现显著增高($P<0.05$),小规格刺参是在 22 升至 24 时脂肪酶活性出现显著增高($P<0.05$)。

3 讨论

3.1 低盐环境与消化酶对刺参生长的影响

自然界中水生动物通过消耗自身能量来调节渗透压,当体液与外界水体的渗透压相等时,机体消耗能量最少(Dalla, 1986; 王国利等, 2007)。在本研究中,当盐度高于 22 时,刺参活力强,活动频繁,摄食旺盛,生长速度快;盐度低于 22 高于 20 时,刺参生长较为缓慢;当盐度低于 20 时,刺参用于调节渗透压的耗能增大,出现负生长,3 种不同规格的刺参均呈现这一生长规律。

消化酶活性与水产动物的营养吸收和生长密切相关。刺参肠道内含有的消化酶种类繁多,蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶就是其中主要 3 种消化酶。蛋白酶是一种内源性消化酶,分布在刺参消化道内各个部位(付雪艳, 2004)¹⁾,活性最高;淀粉酶也是刺参主要的消化酶,活性仅次于蛋白酶(姜令绪等, 2007; 唐黎等, 2007);脂肪酶同蛋白酶一样同属内源性消化酶(Shimizu *et al*, 1994),在刺参消化酶(蛋白酶、淀粉酶、脂肪酶)中活力最低(姜令绪等, 2007)。本研究结果表

明,消化酶活性水平的高低直接决定了刺参的生长性能,当消化酶活性维持在较高水平时,促进了刺参对营养物质的消化吸收,从而使刺参保持了较快的生长速度。

3.2 盐度变化对刺参消化酶活性的影响

许多研究表明,盐度会对水生动物的消化酶活性产生影响。陈品健等(1998)研究认为,盐度能够反映水体环境中无机离子的含量,对刺参消化酶活性的影响就是通过无机离子对酶的直接作用来实现的。许多无机离子是消化酶的激活剂或抑制剂(Squires *et al*, 1986),离子浓度不同,其影响程度也不相同(李刚等, 2011)。田相利等(2008)研究也发现,水中的无机离子作用于酶可能是盐度影响消化酶活性的主要原因。庄平等(2008)研究发现,无机离子可直接对酶产生作用。这些研究结果均表明,盐度能够影响水生动物的消化酶活性,就是通过调节渗透压的方式来产生影响。在本研究中,盐度不同程度地大幅降低使刺参体内环境渗透压梯度差增大,为维持渗透压平衡刺参需要大量摄入海水,从而导致消化道内无机离子的增加,进而影响了刺参消化酶活力的活性。

在低盐环境条件下 3 种消化酶变化的研究结果表明,当盐度在 20-24 范围时,刺参肠道消化酶活性均高于正常盐度 31 时的水平或与之相当,这说明在一定范围内低盐度对刺参消化酶活性有一定的激活作用;随着盐度从 24 下降至 16,蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性均逐渐降低,直至正常水平以下,其原因为渗透胁迫渐强,超出其耐受范围,刺参生理代谢功能下降所致。本研究结果与孙双双等(2009)提出的在一定盐度范围内,盐度变化可对刺参消化酶活性产生激活、无影响、抑制等 3 种作用情况的结论基本一致。实验中大、中、小 3 种规格刺参消化酶活性发生显著变化时的盐度并不一致,可能是由于刺参在生长过程中对其消化酶活性产生激活与抑制作用的盐度范围发生了改变。

此外, Babkin(1950)研究发现,动物体内不同消化酶活性之间存在关联。当一种酶活性发生变化时,其他消化酶的活性也会同时产生相应的变化。例如,当其中一种酶活性升高或降低的同时,其他消化酶的活性也随之升高或降低。在本研究中,刺参 3 种消化酶活力随着盐度变化趋势基本一致,也证明了这一结论。

1) 付雪艳. 海参消化蛋白酶的初步研究. 中国海洋大学硕士学位论文, 2004, 52-54

参 考 文 献

- 王国利, 祝文兴, 李兆智, 等. 温度与盐度对刺参生长的影响. 山东科学, 2007, 20(3): 6-9
- 田相利, 任晓伟, 董双林, 等. 温度和盐度对半滑舌鳎幼鱼消化酶活性的影响. 中国海洋大学学报, 2008, 38(6): 895-901
- 庄平, 章龙珍, 田宏杰. 盐度对施氏鲟幼鱼消化酶活力的影响. 中国水产科学, 2008, 15(2): 198-203
- 孙建明, 刘亚杰, 周遵春. 不同生长时期中国对虾蛋白酶、脂肪酶活性变化的研究. 水产科学, 1995, 14(2): 11-13
- 孙双双, 张云. 盐度对刺参消化酶活力的影响. 中国饲料, 2009, 20(24): 28-31
- 李成林, 宋爱环, 胡炜, 等. 山东省刺参养殖产业现状分析与可持续发展对策. 渔业科学进展, 2010, 31(4): 126-132
- 李刚, 唐学玺, 窦勇, 等. 盐度对刺参消化酶活力的影响. 海洋环境科学, 2011, 30(1): 61-63
- 陈品健, 王重刚, 郑森林. 盐度影响真鲷幼鱼消化酶活力的研究. 厦门大学学报(自然科学版), 1998, 37(5): 754-755
- 陈勇, 高峰, 刘国山, 等. 温度、盐度和光照周期对刺参生长及行为的影响. 水产学报, 2007, 31(5): 687-691
- 胡炜, 李成林, 赵斌, 等. 低盐胁迫对刺参存活、摄食和生长的影响. 渔业科学进展, 2012, 33(2): 92-96
- 姜令绪, 杨宁, 李建, 等. 温度和pH对刺参消化酶活力的影响. 海洋与湖沼, 2007, 38(5): 476-480
- 唐黎, 王吉桥, 许重, 等. 不同发育期的幼体和不同规格刺参消化道中四种消化酶的活性. 水产科学, 2007, 26(5): 275-277
- 黄凯, 杨鸿昆, 战歌, 等. 盐度对凡纳滨对虾幼虾消化酶活性的影响. 海洋科学, 2007, 31(3): 37-40
- 潘鲁青, 王克行. 中国对虾幼体消化酶活力的实验研究. 水产学报, 1997, 21(1): 26-31
- Babkin BP. Secretory mechanism of the digestive glands, Second edition. New York: Paul B Hoeber Inc, 1950
- Chen MY, Zhang XM, Gao TX, et al. Effects of temperature, pH and NaCl on protease activity in digestive tract of young turbot, *Scophthalmus maximus*. Chin J Oceanol Limnol, 2006, 24(3): 300-306
- Dalla VGJ. Salinity response of the juvenile penaeid shrimp *Penaeus japonicus* I. Oxygen consumption and estimation of productivity. Aquaculture, 1986, 55(4): 297-306
- Shimizu M, Mikami I, Takahashi K. On accelerating maturity of sea cucumber with controlled temperature and its artificial seed-rearing, histochemical detection on the ontogenic development of digestive enzymes in the intestine of a juvenile sea cucumber *Stichopus japonicus*. Bull Fac Fish Hokkaido Univ, 1994, 45(1): 1-8
- Squires EJ, Haard NF, Feltham LAW. Gastric proteases of Greenland cod *Gadus ogac*. Biochem Cell Biol, 1986, 64(3): 215-221

(编辑 刘丛力)

The Effects of Low Salinity on the Growth and Activities of Digestive Enzymes in Sea Cucumber *Apostichopus japonicus*

ZHAO Bin^{1,2}, HU Wei^{1,2}, LI Chenglin^{1,2}①, HAN Sha^{1,2}, DONG Xiaoliang³, WANG Bo⁴, JIANG Tao⁴

(1. Marine Biology Institute of Shandong Province, Qingdao 266104; 2. Healthy Mariculture Engineering Research Center of Shandong Province, Qingdao 266104; 3. Dongying Haiyue Aquatic Science and Technology Co., Ltd., Dongying 257500; 4. Rizhao Seamount Fisheries Ltd., Rizhao 276800)

Abstract Salinity is an important environmental factor in aquaculture that has significant effects on the growth and digestive physiology of aquatic animals. In the system of an aquatic animal digestive enzymes play a crucial role in the nutrient absorption and growth performance. In this study we investigated the effects of low salinity (16, 18, 20, 22 and 24) on the growth and activities of digestive enzymes in sea cucumbers (*Apostichopus japonicus*) of three different sizes (28.37±3.21 g, 7.52±1.25 g, and 2.03±0.68 g). The results showed that low salinity had remarkable impacts on the growth and digestive enzyme activities in sea cucumbers. The *SGR* of all three types of sea cucumber increased along with the increase in salinity, and it reached the lowest value at salinity 16 when the animals failed to stretch normally, crept at the bottom of the tank, and almost stopped the food intake. The lowest *SGR* was significantly different from the control ($P<0.05$). We also observed that the *SGR* reached the highest value at salinity 31. In the salinity range of 16–24, the activities of digestive protease, amylase and lipase all increased as the salinity rose. The protease activity of sea cucumbers reached the highest value at salinity 24, which was not significantly different from the control ($P>0.05$). Small sea cucumbers (2.03±0.68 g) showed no difference in the protease activity between salinity 20 and 22. Activities of amylase were not different between salinity 20, 22 and 24. For the medium-sized sea cucumbers (7.52±1.25 g), the amylase activity increased when the salinity rose from 22 to 24 ($P<0.05$). The lipase activity of large sea cucumbers (28.37±3.21 g) significantly increased when the salinity rose from 20 to 22, while it was elevated when the salinity rose from 22 to 24 ($P<0.05$) in small sea cucumbers (2.03±0.68 g). However, when the salinity was higher than 24, the activities of digestive enzymes increased as the salinity reduced. At the same salinity sea cucumbers of different sizes showed no variation in the activities of digestive enzymes. Our studies on the activities of the three enzymes at low salinity will provide reference for the salinity control in the aquaculture of sea cucumbers.

Key words *Apostichopus japonicus*; Low salinity; Growth; Digestive enzymes

① Corresponding author: LI Chenglin, E-mail: lcl_xh@hotmail.com