

doi: 10.3969/j.issn.2095-0780.2015.06.010

急性盐度胁迫对克氏双锯鱼幼鱼过氧化氢酶的影响

胡静, 吴开畅, 叶乐, 王雨

(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, 广东广州 510300)

摘要: 研究了盐度急性变化(盐度 35 降至 30、25、20、15)对克氏双锯鱼(*Amphiprion clarkii*)幼鱼鳃丝和肝脏过氧化氢酶(CAT)活性及其 mRNA 在鳃丝中表达的影响。结果表明, 盐度从 35 突变至 15 的范围内对克氏双锯鱼的成活率没有影响。低盐度处理组(30、25、20 和 15)肝脏、鳃丝 CAT 活性 24 h 内均呈上升趋势, 且盐度变化幅度越大酶活性增强的幅度越大, 第 48 小时后均下降, 至第 96 小时均降至与对照组无显著差异($P > 0.05$)。鳃丝中 CAT mRNA 表达量在低盐度处理下, 于第 6 小时后表达量开始上升, 第 12 小时上升明显, 与对照组差异显著($P < 0.05$), 第 96 小时全部低盐处理组与对照组相比较均无显著差异($P > 0.05$)。实验结果表明, 盐度变化对克氏双锯鱼幼鱼的 CAT 活性存在重要的影响, 所测定组织中 CAT 活性于第 96 小时均恢复至正常水平, 表明克氏双锯鱼幼鱼具有较强的盐度适应能力。

关键词: 盐度; 克氏双锯鱼; 过氧化氢酶; 基因表达; 鳃; 肝脏

中图分类号: S 965.8

文献标志码: A

文章编号: 2095-0780-(2015)06-0073-06

Effect of acute salinity stress on catalase of juvenile *Amphiprion clarkii*

HU Jing, WU Kaichang, YE Le, WANG Yu

(Key Lab. of South China Sea Fishery Resource Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture; South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China)

Abstract: We studied the change of catalase activity in gill and liver and catalase gene expression in gill of juvenile *Amphiprion clarkii* at an abrupt change in salinity from 35 to 15 (at decrement of 5, control: 35). The results show that the change of salinity caused no significant difference in survival. The CAT activity in liver and gill of *A. clarkii* showed an upward trend at salinities of 30, 25, 20 and 15 in 24 h. Besides, the changing range of CAT activity increased with increasing salinity change. All CAT activities had been decreasing since 48th hour and was not different from that of the control till 96th hour ($P > 0.05$). The CAT mRNA expressions in gill at salinities of 30, 25, 20 and 15 had been increasing since 6th hour and increased significantly at 12th hour, which were different from the control significantly ($P < 0.05$). All CAT mRNA expression showed no significant difference from the control ($P > 0.05$) at 96th hour. Therefore, salinity change had important effect on CAT activity of *A. clarkii*, and the CAT activities of tissues restored to the normal level in 96 h, showing strong salinity adaptability of *A. clarkii*.

Key words: salinity; *Amphiprion clarkii*; catalase; gene expression; gill; liver

收稿日期: 2015-02-15; 修回日期: 2015-07-01

资助项目: 海南省应用技术研发与示范推广专项(ZDXM2014131); 海南省重点科技计划项目(ZDXM20130051); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(中国水产科学研究院南海水产研究所)资助项目(2013YD10); 三亚市院地科技合作项目(2013YD78, 2011YD110); 三亚市科技成果转化项目(2013CZ11)

作者简介: 胡静(1987-), 女, 硕士, 助理研究员, 从事海水养殖和生理生态学研究。E-mail: hijlnm123@sina.com

通信作者: 叶乐(1974-), 男, 博士, 副研究员, 从事海水养殖和生理生态学研究。E-mail: yele2008@163.com

克氏双锯鱼 (*Amphiprion clarkii*) 是小丑鱼家族的一员, 在分类学上隶属雀鲷科、双锯鱼属, 因其可爱活泼易于饲养, 是热带海水观赏鱼的重要种类之一。随着海水观赏鱼产业的兴起, 小丑鱼人工养殖逐渐受到人们重视。目前, 克氏双锯鱼的全人工繁殖技术已成熟, 可以批量育苗生产^[1]。有关生态因子对克氏双锯鱼仔鱼生理生态的影响已有一些报道^[2-5], 如通过研究温度对仔鱼生长和成活的影响, 确定了育苗最适水温, 并从摄食和代谢率方面阐述了其影响机理^[3,5]; 通过盐度对仔鱼活力和仔稚鱼培育效果的研究, 表明中低盐度对其生长和成活有利^[2]。但目前, 在养成过程中容易出现病害问题, 特别是雨季发病率较高, 而相对应的生态因子对克氏双锯鱼幼鱼的影响尚未见报道。

盐度是鱼类生存与生长的重要生态因子之一, 对鱼类的生长发育、能量代谢及免疫能力有显著影响。高渗或低渗的逆环境将迫使鱼类产生一系列生理和生化变化, 以适应外界盐度和渗透压的变化。目前已有大量研究表明, 环境条件的变化能引起鱼体内抗氧化酶活性发生变化, 产生应激反应^[6-13]。过氧化氢酶 (CAT) 是抗氧化酶系统的重要组分, 常作为机体非特异性免疫指标和应激指标, 来评判免疫刺激剂或者外界环境对机体非特异性免疫力的影响^[14-17]。PARK 等^[18] 研究表明, 盐度变化 (35→17.5) 对黑双锯鱼 (*A. melanopus*) 抗氧化酶活性及其 mRNA 基因表达量有重要影响。不同种类小丑鱼及不同发育阶段对盐度的适应能力可能存在一定的差异, 此文通过研究盐度急性变化对克氏双锯鱼幼鱼 CAT 活性及其基因表达的影响, 旨在揭示克氏双锯鱼幼鱼对盐度骤变的生理反应, 为养殖生产和丰富小丑鱼养殖生态学理论提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用克氏双锯鱼幼鱼由南海水产研究所热带水产研究开发中心人工繁育所得, 全长为 (16.36±1.58) cm, 体质量为 (22.74±3.41) g。挑选体色正常、健康的幼鱼用于实验。实验前暂养 2 d, 暂养用水为自然沙滤海水, 盐度 35, 水温 (28±0.5) °C, pH 8.0~8.2, 连续充气, 每日换水 2 次, 换水量为 100%, 投喂虾糜, 每日投喂 2 次。

1.2 实验设计与方法

正式实验之前需进行预实验, 将克氏双锯鱼幼鱼从盐度 35 骤降至盐度 30、25、20、15、10 和 5, 养殖 7 d。结果表明, 盐度骤降至 5 时幼鱼 24 h 内全部死亡, 盐度降至 10 时, 7 d 内陆续全部死亡, 而骤降至盐度 15 及以上, 7 d 内无死亡。故实验以盐度 35→15 为最大骤降范围。

正式实验以自然海水盐度 35 为对照组, 将暂养的克氏双锯鱼随机分为 5 组, 分别放入盐度为 35、30、25、20、15 的容积为 500 L 的塑料桶中, 每组设 3 个平行, 每个实验桶放克氏双锯鱼幼鱼 48 尾。实验用水采用自然沙滤海水和经充分曝气的自来水调节至所需的盐度, 每天换水 1 次。实验期间水温 (28±0.5) °C, pH 8.0~8.2, 连续充气。各盐度处理组分别在第 0、第 6、第 12、第 24、第 48、第 96 小时取样, 每个平行实验组随机选取 3 尾幼鱼, 置于冰盘内解剖, 取其鳃丝和肝脏, 用生理盐水冲洗干净, 用滤纸吸去组织表面的水分并称质量。然后, 称适量取样组织, 用 9 倍生理盐水研磨, 将研磨液 4 °C、4 000 r·min⁻¹ 离心 10 min, 取上清, 置于 4 °C 冰箱保存, 用于鳃丝和肝脏 CAT 酶活性测定。蛋白含量和 CAT 酶活性分别采用蛋白含量测定试剂盒 (武汉谷歌生物科技有限公司出品) 和 CAT 试剂盒 (南京建成生物工程研究所出品) 进行测定, 测定方法分别为考马斯亮蓝法和比色法。

另取适量鳃丝组织做 mRNA 表达量测定, 总 RNA 提取采用 Trizol 试剂 (Invitrogen Life Technologies), 按照其使用说明进行。所提总 RNA 纯化后, 经 RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit (Thermo) 进行反转录合成 cDNA, 以此为模板进行实时荧光定量 PCR (SLAN 荧光定量 PCR 检测系统, 上海宏石医疗科技有限公司出品), 所用试剂盒为 Roche 生产的 FastStart Universal SYBR Green Master (Rox), CAT 基因序列由 Genbank 数据库导出 (序列号 JN032592), 引物由 Invitrogen Biotechnology Co., Ltd 中国公司合成, 引物序列见表 1。

1.3 数据分析

实验数据通过 SPSS 19.0 统计软件进行统计分析, 先对数据作单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 处理组间若有显著差异, 再用 Duncan 法进行多重比较, $P < 0.05$ 为差异显著。

表1 引物信息

Tab. 1 Information of primer

序列号 accession No.	引物名称 primer	序列(5'→3') sequence	片段长度/bp fragment size	退火温度/℃ annealing temperature
JF273495	小丑鱼-β-actin-S	CTCTGAACCCCAAAGCCAACA	109	60
	小丑鱼-β-actin-A	GAGGCATACAGGGACAGCACA		
JN032592	小丑鱼-CAT-S	CATCCCTGTCAACTGCCCTTA	167	60
	小丑鱼-CAT-A	CTGGAGACACCTTGAACCTGG		

2 结果与分析

2.1 盐度变化对幼鱼行为和成活率的影响

在各盐度处理组中,随着盐度的降低,克氏双锯鱼幼鱼最初表现出一些应激行为,如活动加剧、鳃盖煽动频率加快、摄食量减少等,经6 h适应后基本恢复正常。盐度15和20处理组的个体有些还出现腹鳍基部充血、背鳍颜色变淡现象,但整个实验过程中未发现死亡,因此,盐度35突变至盐度15的范围内对克氏双锯鱼的成活率没有影响。

2.2 盐度变化对幼鱼肝脏CAT活性的影响

盐度变化对克氏双锯鱼幼鱼肝脏CAT活性的影响见图1。结果显示,96 h内对照组(盐度35)幼鱼肝脏CAT活性呈现比较平缓的波动曲线,盐度30处理组的变化趋势与对照组基本一致,各时间段均无显著差异($P > 0.05$)。而盐度25、20和15处理组幼鱼肝脏CAT活性24 h内均呈上升趋势,且盐度变化幅度越大则CAT活性增强幅度越大,与对照组差异显著($P < 0.05$);在第24小时达最大值后下降,第48小时与对照组无显著差异($P > 0.05$),第96小时略低于对照组。

2.3 盐度变化对幼鱼鳃丝CAT活性的影响

盐度变化对克氏双锯鱼幼鱼鳃丝CAT活性的影响见图2。结果表明,96 h内对照组(盐度35)幼鱼鳃丝CAT活性呈现比较平直的波动曲线,而盐度30、25、20和15处理组鳃丝CAT活性24 h内均呈上升趋势,且盐度变化幅度越大则酶活性增强幅度越大,与对照组差异显著($P < 0.05$);盐度30、25、20处理组鳃丝CAT活性在第24~第48小时均维持在较高水平,而盐度15处理组第24小时达最大值后下降,第48小时与盐度20、25和30处理组无显著差异($P > 0.05$),第96小时全部低盐处理组与对照组均无显著差异($P > 0.05$)。鳃

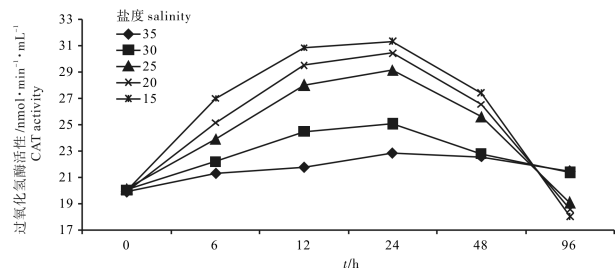


图1 盐度对克氏双锯鱼幼鱼肝脏过氧化氢酶活性的影响

Fig. 1 Effect of salinity on CAT activities in liver of juvenile *A. clarkii*

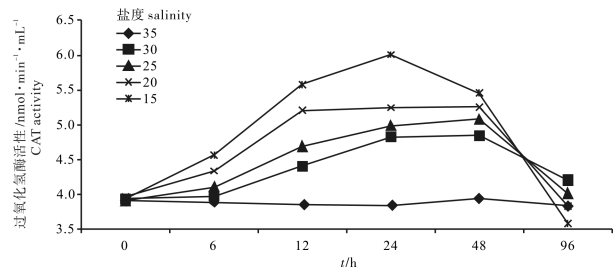


图2 盐度对克氏双锯鱼幼鱼鳃丝过氧化氢酶活性的影响

Fig. 2 Effect of salinity on CAT activities in gill of juvenile *A. clarkii*

丝CAT活性值较肝脏CAT活性值低了一个数量级。

2.4 盐度变化对幼鱼鳃丝CAT基因表达的影响

盐度变化对克氏双锯鱼鳃丝CAT mRNA表达的影响见图3。不同盐度下克氏双锯鱼鳃丝CAT mRNA表达量变化规律与鳃丝中CAT活性的变化规律相似。96 h内对照组(盐度35)幼鱼鳃丝CAT mRNA表达量呈现比较平直的波动曲线。其他盐度处理组鳃丝CAT mRNA表达量在实验第6小时开始上升,第12小时上升明显,均与对照组差异显著($P < 0.05$);中盐度处理组(30和25)在48 h内

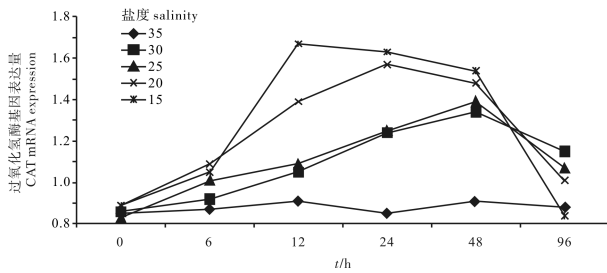


图3 盐度对克氏双锯鱼幼鱼鳃丝过氧化氢酶基因表达量的影响

Fig. 3 Effect of salinity on CAT mRNA expression in gill of juvenile *A. clarkii*

CAT mRNA 表达量持续缓慢增加, 低盐度处理组(20 和 15)鳃丝 CAT mRNA 表达量在前 12 h 急剧上升, 第 24 小时后开始下降, 第 48 小时与中盐度处理组(30 和 25)无显著差异($P > 0.05$); 第 96 小时全部盐度处理组与对照组间均无显著差异($P > 0.05$)。

3 讨论

盐度等生态因子的变化将引起机体内一系列的生理生化应激反应, 在此过程中会产生大量毒性氧自由基, 影响机体生长。CAT 作为一种重要的抗氧化酶可将超氧化物歧化酶(SOD)作用产物进一步还原成氧分子和水, 从而达到保护机体作用^[19]。在该实验中, 随着盐度的降低, 肝脏和鳃丝的 CAT 活性均在最初阶段呈现上升趋势, 前 48 h 内 CAT 活性均较强, 第 96 小时基本恢复至对照组水平。表明在盐度降低情况下, 前 48 h 内鱼体产生并积累了大量的自由基有待清除, 这与许多海水鱼类的研究结果相似, 如军曹鱼(*Rachycentron canadum*)^[20]、多鳞四指马鲛(*Eleutheronema rhadinum*)^[21]、褐牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)^[22]、条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*)^[23]和卵形鲳鲹(*Trachinotus ovatus*)^[24]等; 也与黑双锯鱼^[18]的研究结果相似, 黑双锯鱼盐度 17.5 处理个体的 CAT 活性在第 6 小时开始持续上升, 至第 48 小时达最高值, 约为对照组的 1.45 倍, 但对第 48 小时后的变化没有报道。该研究增加 96 h 处理时间的取样点, 发现克氏双锯鱼 96 h 各盐度处理组 CAT 活性均回落至最初水平, 甚至略低于对照组。此与点带石斑鱼(*Epinephelus malabaricus*)幼鱼^[25]、许氏平鲈(*Sebastes schlegeli*)^[26]和银鲳(*Pampus argenteus*)幼鱼^[27]不同, 点带石斑鱼在盐度逐级淡化过程中肝

脏、肌肉和肾脏的 CAT 和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)活性随盐度梯度下降呈降低趋势; 许氏平鲈血液 CAT 活性在盐度胁迫初期持续降低, 第 12 小时后逐步稳定在较低水平, 显著低于胁迫前血液 CAT 活性($P < 0.05$); 银鲳幼鱼 CAT 活性除在盐度 20 的第 24 小时和盐度 15 的第 48 小时略有上升外, 其他各时间点的酶活性均低于对照组($P < 0.05$)。可见, 海水硬骨鱼类在低盐胁迫下, 不同种类对盐度的应激反应程度存在较大差别, 造成这些差异的原因可能是不同种类海水鱼对盐度的应激反应存在一定差异, 也可能是受盐度胁迫方式(急性或慢性)和其他环境因素影响所致^[22,27-28]; 另外, 鱼类对盐度应激反应亦有一定的组织器官特异性和时序性^[27]。

目前多数鱼类对环境应激反应的研究均集中于酶活和蛋白水平上^[29], 近年来在分子水平进行应激反应的研究有增加的趋势, 并且普遍认为基因表达量可取代酶活和蛋白水平指标^[30-31]。该实验在酶活蛋白水平和分子水平对盐度应激进行研究, 结果显示, 在低盐胁迫下, 克氏双锯鱼幼鱼鳃丝中 CAT mRNA 表达量在第 6 小时开始显著增加, 第 12 ~ 第 48 小时内 CAT mRNA 表达量一直维持较高水平, 在第 96 小时下降至与对照组无显著差异。可见, CAT 酶表达量与酶活变化规律具有高度的一致性, 证实 CAT 酶活性强弱受控于 CAT 基因表达水平, 因此研究盐度胁迫时, CAT mRNA 表达指标也有较重要意义。

鱼类在受到环境胁迫后, 机体抗氧化酶会被激活应对环境变化, 当机体适应环境后, 抗氧化酶水平会恢复, 如果胁迫超出机体适应能力, 抗氧化酶水平将不可恢复。所以, 在一定程度上, 抗氧化酶活性恢复至正常水平的的时间反映了机体对环境的适应能力。该实验中, 克氏双锯鱼幼鱼对盐度的急剧变化虽然表现出一些行为应激, 但各实验组均未出现死亡, 且从生理指标看, 幼鱼鳃丝和肝脏的 CAT 活性以及鳃丝中 CAT mRNA 表达量均在 96 h 内逐渐降低恢复到最初水平, 且与对照组差异不显著。即使是盐度骤降至盐度 20 和 15 处理组, 体内 CAT 活性也能在 96 h 内迅速恢复正常, 表明该鱼对盐度变化适应能力较强, 其适应低盐刺激大约需要 96 h。克氏双锯鱼幼鱼对盐度的适应能力与银鲳幼鱼^[27]相似, 肝脏 CAT 活性均在低盐处理 96 h 附近恢复稳定, 强于多鳞四指马鲛^[21]、褐牙鲆^[22]和

条石鲷^[23],前两者CAT活性分别需要28d和6d才达到稳定水平,而条石鲷幼鱼在低盐处理120h后CAT活性仍处于波动状态。但克氏双锯鱼对盐度变化的适应能力与点篮子鱼(*Siganus guttatus*)^[32]相比还有一定差距,点篮子鱼直接放入盐度10和20的水体中,CAT活性虽有一定程度的升高,但与对照组无显著性差异($P > 0.05$),直接放入盐度5的水体中才与对照组有显著性差异,但在第24小时均恢复到对照组水平。

鱼类对盐度的适应性受多种因素的影响,如母体遗传、早期发育阶段的适应以及其他环境因子如温度的协同作用等。该结果还显示克氏双锯鱼不同发育阶段对低盐的适应能力存在一定的差异。克氏双锯鱼仔鱼直接从盐度35降至10可以部分成活^[2],而该实验幼鱼直接降至盐度10则全部死亡,暗示幼鱼对盐度的适应性比仔鱼反而弱,这可能是机体对环境长期适应的结果,因为克氏双锯鱼仔鱼营浮游生活,有更多机会生活于较低盐度而富营养的海区(如河口),而变态为幼鱼后均生活于较高盐度珊瑚礁中,对低盐的适应能力可能有一定的退化。该实验结果还表明,鳃丝CAT活性值整体水平上较肝脏CAT活性值低了一个数量级,证实脊椎动物的肝脏是新陈代谢和氧气消耗的主要组织,肝脏中抗氧化酶的变化最能代表机体抗氧化防御的变化特征^[19]。由于克氏双锯鱼幼鱼个体较小,肝脏取样量很少,有时难以获取足够量用于样品分析,所以该实验尝试使用鳃丝组织代替肝脏组织进行CAT活性测定,通过比较发现,鳃丝组织CAT活性没有肝脏组织敏感,但所呈现的变化规律与肝脏组织的一致。尹飞等^[27]、施兆鸿等^[28]分别对银鲳幼鱼肝脏和血清CAT活性对比研究发现,血清中CAT活性较肝脏中高了一个数量级,且血液中CAT活性对盐度突变更加敏感;杨健等^[20]对军曹鱼肌肉,赵峰等^[33]对施氏鲟(*Acipenser schrenckii*)心脏、肝、肾、脾和肌肉CAT活性的研究均得到了理想结果,提示低盐处理下机体的CAT活性分析可选取更多其他组织进行测定研究。

参考文献:

- [1] 叶乐,周泽斌,吴开畅,等.克氏双锯鱼全人工亲鱼培育技术研究[J].科学养鱼,2010(9):39-40.
- [2] 叶乐,杨圣云,王雨,等.盐度对克氏双锯鱼仔鱼活力和仔稚鱼培育效果的影响[J].安徽农业科学,2009,37(1):162-164.
- [3] 叶乐,杨圣云,刘敏等.温度和体重对克氏双锯鱼仔鱼代谢率的影响[J].生态学报,2012,32(14):4516-4524.
- [4] 叶乐,胡静,王雨,等.光周期和光照强度对克氏双锯鱼仔鱼存活,生长和发育的影响[J].琼州学院学报,2014,21(5):78-86.
- [5] YE L, YANG S Y, ZHU X M, et al. Effects of temperature on survival, development, growth and feeding of larvae of yellowtail clownfish *Amphiprion clarkii* (Pisces: Perciformes)[J]. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(5): 241-245.
- [6] 王好,庄平,章龙珍,等.盐度对点篮子鱼的存活、生长及抗氧化防御系统的影响[J].水产学报,2011,135(1):66-73.
- [7] WANG W, WU J, SU S. Effect of salinity stress on antioxidant enzymes of *Penaeus monodon* of two different life stages[J]. Comp Biochem Physiol C, 2008, 148(4): 466.
- [8] 徐冬冬,楼宝,詹炜,等.高温胁迫对褐牙鲆生长及肝脏抗氧化酶活性的影响[J].水产学报,2010,34(7):1099-1105.
- [9] 李大鹏,刘松岩,谢从新,等.水温对中华鲟血清活性氧含量及抗氧化防御系统的影响[J].水生生物学报,2008,32(3):327-332.
- [10] 鲁双庆,刘少军,刘红玉,等. Cu^{2+} 对黄鳍肝脏保护酶SOD、CAT、GSH-PX活性的影响[J].中国水产科学,2002,9(2):138-141.
- [11] CHOI C Y, AN K W, AN M I. Molecular characterization and mRNA expression of glutathione peroxidase and glutathione S-transferase during osmotic stress in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. Comp Biochem Physiol A, 2008, 149(3): 330-337.
- [12] MARTINEZ-ALVAREZ R M, MORALES A E, SANZ A. Antioxidant defenses in fish: biotic and abiotic factors[J]. Rev Fish Biol Fish, 2005, 15(1/2): 75-88.
- [13] 苏慧,区又君,李加儿,等.饥饿对卵形鲳鲹幼鱼不同组织抗氧化能力, Na^+/K^+ -ATP酶活力和鱼体生化组成的影响[J].南方水产科学,2012,8(6):28-36.
- [14] 李传慧,陈碧鹃,崔毅,等.胜利原油对半滑舌鲷幼鱼肝脏过氧化物酶、溶菌酶和鳃丝 Na^+/K^+ -ATP活力的影响[J].海洋环境科学,2011,30(5):681-685.
- [15] 韩春艳,郑清梅,陈桂丹,等.氨氮胁迫对奥尼罗非鱼非特异性免疫的影响[J].南方水产科学,2014,10(3):47-52.
- [16] LVCIA-LORO V, BASSO-JORGE M, da SILVA K R, et al. Oxidative stress parameters and antioxidant response to sublethal waterborne zinc in a euryhaline teleost *Fundulus heteroclitus*: protective effects of salinity[J]. Aquat Toxicol, 2012, 110-111: 187-193.
- [17] ZEHR A D, ALI E, ESIN G K, et al. Response of antioxidant system of tilapia (*Oreochromis niloticus*) following exposure to chromium and copper in differing hardness[J]. Bull Environ Contam Toxicol, 2014, 92(6): 680-686.
- [18] PARK M S, SHIN H S, CHOI C Y, et al. Effect of hypoosmotic and thermal stress on gene expression and the activity of antioxidant enzymes in the cinnamon clownfish, *Amphiprion melanopus*[J]. Anim Cells Syst, 2011, 15(3): 219-225.

- [19] 张克烽, 张子平, 陈芸, 等. 动物的抗氧化系统[J]. 动物学杂志, 2007, 42(2): 153-160.
- [20] 杨健, 陈刚, 黄建盛, 等. 温度和盐度对军曹鱼幼鱼生长与抗氧化酶活性的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2007, 27(4): 25-29.
- [21] 张琴星, 张涛, 侯俊利, 等. 盐度变化对多鳞四指马鲛幼鱼鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶及肝脏抗氧化酶活性的影响[J]. 海洋渔业, 2013, 35(3): 324-330.
- [22] 郭勤单, 王有基, 吕为群. 温度和盐度对褐牙鲆幼鱼渗透生理及抗氧化水平的影响[J]. 水生生物学报, 2014, 38(1): 58-67.
- [23] 孙鹏, 尹飞, 彭士明, 等. 盐度对条石鲷幼鱼肝脏抗氧化酶活力的影响[J]. 海洋渔业, 2010, 32(2): 154-159.
- [24] 刘汝建, 区又君, 李加儿, 等. 盐度、温度对卵形鲳鲹选育群体肝抗氧化酶活力的影响[J]. 动物学杂志, 2013, 48(3): 428-436.
- [25] 余燕, 徐维娜, 刘兆普, 等. 低盐度胁迫对点带石斑鱼幼鱼消化酶, 抗应激酶和存活率的影响[J]. 渔业科学进展, 2009, 30(4): 21-26.
- [26] 王晓杰, 张秀梅, 李文涛. 盐度胁迫对许氏平鲉血液免疫酶活力的影响[J]. 海洋水产研究, 2005, 26(6): 17-21.
- [27] 尹飞, 孙鹏, 彭士明, 等. 低盐度胁迫对银鲳幼鱼肝脏抗氧化酶、鳃和肾脏 ATP 酶活力的影响[J]. 应用生态学报, 2011, 22(4): 1059-1066.
- [28] 施兆鸿, 张晨捷, 彭士明, 等. 盐度对银鲳血清渗透压、过氧化氢酶及鳃离子调节酶活力的影响[J]. 水产学报, 2013, 37(11): 1697-1704.
- [29] JIN Y, ZHANG X, SHU L, et al. Oxidative stress response and gene expression with atrazine exposure in adult female zebrafish (*Danio rerio*) [J]. Chemosphere, 2010, 78(7): 846-852.
- [30] WU H F, LU X L, ZHAO J M, et al. Regulation of metabolites, gene expression, and antioxidant enzymes to environmentally relevant lead and zinc in the halophyte *Suaeda salsa* [J]. J Plant Growth Regul, 2013, 32(2): 353-361.
- [31] LARSEN P, NIELSEN E, MEIER K, et al. Differences in salinity tolerance and gene expression between two populations of Atlantic cod (*Gadus morhua*) in response to salinity stress [J]. Biotech Genet, 2012, 50(5/6): 454-466.
- [32] 庄平, 王好, 章龙珍, 等. 盐度骤降对点篮子鱼存活率及肝脏抗氧化酶活性的影响[J]. 复旦学报(自然科学版), 2011, 50(3): 366-372.
- [33] 赵峰, 庄平, 章龙珍, 等. 施氏鲟不同组织抗氧化酶对水体盐度升高的响应[J]. 海洋水产研究, 2008, 29(5): 65-69.