



## 2 种不同生长性状线纹海马的生长、消化和免疫酶活性

黄永春<sup>1,2\*</sup>, 涂晨凌<sup>1</sup>, 翁虹雨<sup>1</sup>, 林祥日<sup>3</sup>

(1. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021;

2. 福建省海洋渔业资源与生态环境重点实验室, 福建 厦门 361021;

3. 厦门市海洋职业技术学院, 福建 厦门 361012)

**摘要:** 为研究生长缓慢海马的出现时间和生理特性, 选取饲养 110 d 正常生长海马 [(8.57±0.61) cm, (1.51±0.38) g] 与生长缓慢海马 [(6.68±0.35) cm, (0.81±0.14) g] 进行生长、消化酶和免疫酶活性以及 RNA/DNA 研究。结果显示, 当体长大于 5.03 cm 时, 正常生长海马的生长速度明显大于生长缓慢的海马, 正常生长海马的日均增重率、特定生长率、肥满度和脏器指数均优于生长缓慢海马。2 种生长性状海马的消化酶(蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶)活性在不同反应温度(5、15、25、30、35、45 和 55 °C)和 pH(2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0、8.0 和 9.0)条件下的变化趋势基本一致, 正常海马消化酶均显著高于生长缓慢海马(除淀粉酶活性在 35~55 °C 和蛋白酶在 5~15 °C 外)。正常生长海马酸性磷酸酶、碱性磷酸酶、总抗氧化能力和过氧化物歧化酶活性分别比生长缓慢海马高 12.83%、48.21%、44.71% 和 65.75%, 且差异显著。正常生长海马丙二醛仅为生长缓慢海马的 61.09%, 且差异显著。另外, 正常生长 RNA/DNA 值比生长缓慢海马高 23.75%。海马在体长超过 5.03 cm 时, 正常生长海马的生长、消化和免疫性能明显优于生长缓慢的海马。

**关键词:** 线纹海马; 生长; 消化酶; 免疫酶; 温度; pH

**中图分类号:** S 965.3

**文献标志码:** A

海马既是海产品, 又是名贵中药材之一, 素有“南方人参”之称, 因此海马被国家列为重点发展的“南药”品种。近年来, 由于人为过度捕捞和环境污染, 国际已将所有海马种类列入濒临绝种野生动植物国际贸易公约附录 II<sup>[1]</sup>。为保护海马资源和满足需求, 人工增殖已成目前的选择<sup>[2-3]</sup>。国内海马养殖主要品种为斑海马 (*Hippocampus trimaculatus*)、大海马 (*H. kuda*) 和线纹海马 (*H. erectus*)<sup>[4]</sup>, 其中线纹海马又名灰海马, 原产于美洲地区, 具有生长速率快、成活率高、抗病能力强等特点。目前国内外学者 Teixeira 等<sup>[5]</sup>、Lin 等<sup>[6-7]</sup> 和王韩信等<sup>[8]</sup> 分别报道了线纹海马的繁

殖和幼体食性转换的生物学特性, 另有 Lin 等<sup>[9-10]</sup>、Zhang 等<sup>[11]</sup>、尹飞等<sup>[12]</sup>、席寅峰等<sup>[13]</sup>、李锋等<sup>[14]</sup> 和刘晓东等<sup>[15]</sup> 分别研究了 3 种环境因子(温度、光照、盐度)、投喂频率、养殖密度以及芽孢杆菌微生态制剂对线纹海马(灰海马)幼体生长、成活及消化酶活性的影响。为研究生长缓慢海马出现时间和生理特性, 实验对正常生长与生长缓慢线纹海马的生长、消化和免疫特性进行比较, 探讨生长缓慢海马产生的成因, 为线纹海马健康养殖和生长缓慢海马促生长饲料研发提供参考。

收稿日期: 2017-10-01 修回日期: 2018-01-16

资助项目: 福建省科技厅高校产学研合作项目(2017N5012)

通信作者: 黄永春, E-mail: ychuang@jmu.edu.cn

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

实验对象为饲养在福建东山线纹海马养殖场 4 个池塘(24 m<sup>2</sup>, 4 m×6 m)的 2016 年 8 月 20 日繁育的海马, 每隔 10 d 随机抽样 30 尾, 测体长和体质量。当改投糠虾(*Mysis* spp.)后陆续发现有生长减慢的海马, 10 月 20 日开始除抽样正常生长的海马 30 尾外, 另外再抽样生长减慢的海马 30 尾, 至 2016 年 12 月 10 日随机采集饲养 110 d 正常生长海马 [(8.57±0.61) cm, (1.51±0.38) g] 和生长缓慢海马 [(6.68±0.35) cm, (0.81±0.14) g] 各 50 尾做消化、免疫生理实验。

### 1.2 实验方法

**酶液提取** 停食 24 h, 测定其体质量、体长后, 在冰盘上解剖海马, 取出消化器官(胃、肝胰脏和肠), 剔除脂肪后再称质量, 分别按 1:5 (质量体积比)加入 0~4 °C 的双蒸水, 在冰浴的条件下, 用组织匀浆器匀浆, 将匀浆液在-4 °C、4 000 r/min 的条件下, 离心 25 min, 取其上清液, 即为酶液。酶液分为 2 部分, 一部分立即测定, 剩余部分放置于-20 °C 冰箱中, 保存以备复查。

**消化酶活性的测定**<sup>[16]</sup> 反应温度设 7 个梯度: 5、15、25、30、35、45 和 55 °C; 采用 0.2 mol/L 磷酸氢二钠—柠檬酸钠缓冲液配制 pH 为 2.0、3.0、4.0、5.0、6.0、7.0 和 8.0 反应液, 用 0.2 mol/L 甘氨酸—氢氧化钠缓冲液配制 pH 9.0 和 pH 10.0 反应液, 共 9 个梯度 pH 反应液。

蛋白酶测定采用福林酚试剂法。淀粉酶测定采用 3, 5-二硝基水杨酸比色定糖法。脂肪酶测定采用聚乙烯醇橄榄油乳化液水解法。可溶蛋白测定采用考马斯亮蓝染色法测定。酶的活性以比活性表示, 单位为 U/(mg 蛋白)。

**免疫相关酶的测定** 蛋白酶活性及氧化物歧化酶(SOD)、酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(AKP)、总抗氧化能力(T-AOC)、过氧化物酶(POD)的活性以及丙二醛(MDA)和总蛋白(TP)含量均采用南京建成生物工程研究所生产的相应试剂盒测定。

**生长指标计算** 体长—体质量关系方程:  
 $W=a \times L^b$

日均增重量(average daily gain, ADG)=( $W_2 - W_1$ )/ $t$ ;

特定生长率(specific growth rate, SGR, %)=

$100\% \times (\ln W_2 - \ln W_1) / t$ ;

肥满度(condition factor, CF, g/cm<sup>3</sup>)= $100 \times W / L^3$ ;

脏体指数(viscera index, VC, %)=( $W_0 / M_1$ )×100%;

式中,  $W_1$  为初始平均体质量(g);  $W_2$  为终末平均体质量(g);  $t$  为饲养天数(d),  $W$  为体质量(g);  $L$  为体长(cm),  $W_0$  为内脏重。

RNA/DNA 值测定采用已有方法<sup>[17]</sup>。

### 1.3 数据处理

用 Microsoft Excel 软件进行数据的计算和绘图。用 SPSS 18.1 软件进行数据统计分析, 通过 ANOVA 分析各实验因素的显著性, 显著水平设定为  $P < 0.05$ , 极显著水平为  $P < 0.01$ 。

## 2 结果

### 2.1 2 种不同生长性状海马生长性能的比较

据统计正常生长海马和生长缓慢海马的日均增重量分别为(0.028 4±0.000 9)和(0.010 9±0.001 1) g/d, 二者差异极显著( $P < 0.01$ ); 正常生长海马和生长缓慢海马的特定生长率分别为 4.63%±0.61%和 3.73%±0.57%, 二者差异显著( $P < 0.05$ ); 正常生长海马和生长缓慢海马的肥满度分别为(0.31±0.04)和(0.27±0.03) g/cm<sup>3</sup>, 二者差异显著( $P < 0.05$ ); 正常生长海马和生长缓慢海马的脏体指数分别为 9.10%±1.53%和 8.93%±1.73%, 二者差异显著( $P < 0.05$ )。

建立体长—体质量关系方程, 正常生长海马:  
 $W=0.002 4 L^{3.131 6}$ ( $r=0.988 1$ ), 生长缓慢海马:  
 $W=0.011 2 L^{2.177 5}$ ( $r=0.960 4$ )。当体长大于 5.03 cm 时正常生长海马的生长速率明显快于生长缓慢海马(图 1)。

### 2.2 2 种不同生长性状海马在不同反应温度下消化酶活性比较

**淀粉酶活性** 正常生长的海马和生长缓慢海马的淀粉酶活性在 5~30 °C 时, 随温度升高而活性增强, 30 °C 淀粉酶活性最强。超过 30 °C 时, 随反应温度上升活性反而下降。与正常生长的海马相比, 生长缓慢海马的淀粉酶活性对各个反应温度不敏感, 且均低于正常生长海马, 在 5~30 °C 时二者差异显著( $P < 0.05$ ), 在 35~55 °C 时二者差异不显著(表 1)。

**蛋白酶活性** 正常的海马和生长缓慢海马的蛋白酶活性随温度升高而增强, 且正常的

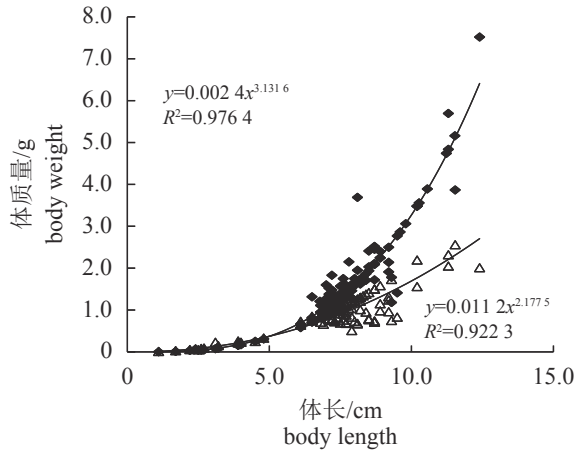


图 1 2 种不同生长性状海马体长—体质量的关系

Fig. 1 Correlation of body weight and body length for *H. erectus* in two different growth status

海马蛋白酶活性大于生长缓慢的海马。蛋白酶活性在 5~15 °C 时, 两者差异不显著, 在 25~55 °C 时, 二者差异显著 ( $P < 0.05$ ) (表 1)。

**脂肪酶活性** 正常的海马和生长缓慢海马的脂肪酶活性随温度升高而增强, 且正常生长的海马脂肪酶活性大于生长缓慢的海马 ( $P < 0.05$ ) (表 1)。

### 2.3 2 种不同生长性状海马在不同反应 pH 下消化酶活性比较

**淀粉酶活性** 正常生长海马和生长缓慢海马的淀粉酶活性随着 pH 值的升高而升高, 当 pH 为 7.0 时蛋白酶活性最高, 然后随 pH 值的升高而降低; 在各 pH 条件下正常生长海马淀粉酶活性均显著强于生长缓慢海马 ( $P < 0.05$ ) (表 2)。

**蛋白酶活性** 正常生长海马和生长缓慢海马的蛋白酶活性随着 pH 值的升高而升高, 当 pH 为 7.0 时蛋白酶活性最高, 然后随 pH 值的升高而降低; 在各 pH 条件下正常生长海马蛋白酶活性均显著强于生长缓慢海马 ( $P < 0.05$ ) (表 2)。

**脂肪酶活性** 正常生长海马和生长缓慢海马的脂肪酶活性随着 pH 值的升高而升高, 当 pH 值为 6.0 时正常生长海马的脂肪酶活性最高, 而生长缓慢海马脂肪酶活性最高时的 pH 值为 7.0, 而后均开始降低; 在各 pH 条件下, 正常生长海马蛋白酶活性均显著强于生长缓慢海马 ( $P < 0.05$ ) (表 2)。

### 2.4 2 种不同生长性状海马相关免疫酶活性、MDA 含量以及 RNA/DNA 值的比较

正常生长海马 ACP、AKP、T-AOC 和 SOD 活性分别比生长缓慢海马高 12.83%、48.21%、44.71% 和 65.75%, 且差异显著 ( $P < 0.05$ )。正常生长海马 MDA 仅为生长缓慢海马的 61.09%, 且差异显著 ( $P < 0.05$ )。另外, 正常生长海马和生长缓慢海马的 RNA/DNA 值分别为  $1.72 \pm 0.21$  和  $1.39 \pm 0.18$ , 前者比后者高 23.75%, 且差异显著 ( $P < 0.05$ ) (表 3)。

## 3 讨论

### 3.1 差异分化

刚孵化的幼海马只能捕食小型浮游生物, 如轮虫和单细胞藻类, 随着其口管直径的增大捕食种类也逐渐增大 (如: 轮虫 → 枝角类 → 桡足类)。因此, 海马生长过程中对饵料具有较强的选择。没有适宜的饵料会出现生长缓慢, 甚

表 1 2 种不同生长性状海马在不同反应温度下消化酶活性的比较

Tab. 1 Comparison between the digestive enzyme activities of two growth status seahorses at various reaction temperatures

温度/°C temperature	淀粉酶活性/(U/mg prot) amylase activity		蛋白酶活性/(U/mg prot) protease activity		脂肪酶活性/(U/mg prot) lipase activity	
	正常生长 normal growth	生长缓慢 slow growth	正常生长 normal growth	生长缓慢 slow growth	正常生长 normal growth	生长缓慢 slow growth
5	16.91±0.60 <sup>a</sup>	12.59±0.44 <sup>b</sup>	54.12±3.75 <sup>a</sup>	51.26±3.10 <sup>a</sup>	5.04±1.43 <sup>a</sup>	3.13±0.83 <sup>b</sup>
15	22.74±0.73 <sup>a</sup>	17.14±1.01 <sup>b</sup>	65.40±4.21 <sup>a</sup>	63.69±3.81 <sup>a</sup>	6.19±0.69 <sup>a</sup>	2.09±0.72 <sup>b</sup>
25	28.78±2.01 <sup>a</sup>	24.36±1.16 <sup>b</sup>	92.14±5.15 <sup>a</sup>	76.06±5.02 <sup>b</sup>	6.88±0.69 <sup>a</sup>	2.19±0.31 <sup>b</sup>
30	45.05±1.38 <sup>a</sup>	35.60±1.37 <sup>b</sup>	116.15±3.86 <sup>a</sup>	87.39±5.37 <sup>b</sup>	11.46±1.43 <sup>a</sup>	4.43±1.44 <sup>b</sup>
35	30.52±1.76 <sup>a</sup>	29.71±2.89 <sup>a</sup>	160.56±2.68 <sup>a</sup>	98.61±6.25 <sup>b</sup>	20.18±2.21 <sup>a</sup>	7.21±0.83 <sup>b</sup>
45	24.62±1.05 <sup>a</sup>	23.75±2.52 <sup>a</sup>	289.17±6.01 <sup>a</sup>	155.83±12.61 <sup>b</sup>	24.99±2.21 <sup>a</sup>	18.57±1.79 <sup>b</sup>
55	18.68±1.75 <sup>a</sup>	17.71±2.09 <sup>a</sup>	351.67±9.39 <sup>a</sup>	228.33±7.22 <sup>b</sup>	27.02±3.10 <sup>a</sup>	13.58±1.65 <sup>b</sup>

注: 同一列中不同字母表示差异显著 ( $P < 0.050$ ), 下同

Notes: different superscripts in the same column indicate a significant difference between them at the same temperature ( $P < 0.05$ ), the same below

表 2 2 种不同生长性状海马在不同 pH 条件下消化酶活性的比较

Tab. 2 Comparison between the digestive enzyme activities in two growth status seahorses in various pH solutions

pH	淀粉酶活性/(U/mg prot)	amylase activity	蛋白酶活性/(U/mg prot)	protease activity	脂肪酶活性/(U/mg prot)	lipase activity
	正常生长 normal growth	生长缓慢 slow growth	正常生长 normal growth	生长缓慢 slow growth	生长缓慢 slow growth	正常生长 normal growth
2.0	14.88±1.86 <sup>a</sup>	9.92±2.84 <sup>b</sup>	50.83±2.46 <sup>a</sup>	42.50±2.20 <sup>b</sup>	6.42±0.40 <sup>a</sup>	3.76±0.63 <sup>b</sup>
3.0	36.64±2.04 <sup>a</sup>	20.36±4.07 <sup>b</sup>	60.89±3.37 <sup>a</sup>	49.94±3.15 <sup>b</sup>	7.57±0.69 <sup>a</sup>	3.98±0.72 <sup>b</sup>
4.0	32.3±1.90 <sup>a</sup>	16.47±2.90 <sup>b</sup>	68.06±0.48 <sup>a</sup>	51.94±2.93 <sup>b</sup>	13.3±1.05 <sup>a</sup>	3.97±0.18 <sup>b</sup>
5.0	39.77±4.89 <sup>a</sup>	32.36±4.89 <sup>b</sup>	75.06±2.55 <sup>a</sup>	55.17±3.33 <sup>b</sup>	16.28±1.05 <sup>a</sup>	5.01±0.31 <sup>b</sup>
6.0	44.33±2.02 <sup>a</sup>	31.57±1.16 <sup>b</sup>	80.51±5.67 <sup>a</sup>	60.00±5.46 <sup>b</sup>	20.86±1.05 <sup>a</sup>	6.18±0.65 <sup>b</sup>
7.0	71.36±3.44 <sup>a</sup>	61.60±3.44 <sup>b</sup>	86.67±5.83 <sup>a</sup>	63.89±3.47 <sup>b</sup>	16.28±1.05 <sup>a</sup>	8.67±0.90 <sup>b</sup>
8.0	39.22±3.27 <sup>a</sup>	34.22±2.14 <sup>b</sup>	60.28±6.36 <sup>a</sup>	45.28±0.48 <sup>b</sup>	12.48±0.40 <sup>a</sup>	6.37±0.79 <sup>b</sup>
9.0	38.3±7.67 <sup>a</sup>	31.59±5.35 <sup>a</sup>	55.28±3.94 <sup>a</sup>	46.94±3.27 <sup>b</sup>	10.32±1.38 <sup>a</sup>	5.67±0.48 <sup>b</sup>
10.0	35.65±3.27 <sup>a</sup>	26.38±5.38 <sup>b</sup>	28.61±3.15 <sup>a</sup>	22.78±2.93 <sup>b</sup>	9.63±0.69 <sup>a</sup>	4.94±0.18 <sup>b</sup>

表 3 2 种不同生长性状海马相关免疫酶因子活性和 MDA 含量

Tab. 3 Comparison between the the immune enzyme activities and MDA in two growth status seahorses

性状	state of growth	ACP	AKP	T-AOC	SOD	MDA
正常生长	normal growth	263.96±7.59 <sup>a</sup>	145.67±6.38 <sup>a</sup>	1.23±0.17 <sup>a</sup>	9.05±0.61 <sup>a</sup>	1.35±0.09 <sup>b</sup>
生长缓慢	slow growth	233.96±10.0 <sup>b</sup>	98.29±2.22 <sup>b</sup>	0.85±0.38 <sup>b</sup>	5.46±0.49 <sup>b</sup>	2.21±1.12 <sup>a</sup>

至不吃其他饵料而饿死<sup>[18-20]</sup>。有关研究表明大海马在体长 1.5~2.5 cm 和 4.5~6.5 cm 时, 分别由摄食桡足类幼体转变到摄食桡足类成体和其他浮游动物以及由摄食浮游动物转变到摄食糠虾、毛虾等饵料<sup>[21]</sup>, 特别是体长在 5.0~8.0 cm 时, 是其转变捕食对象的时期<sup>[19]</sup>。就灰海马而言, 从体长 4.8 cm 左右开始驯化投喂卤虫的成体或活的糠虾较佳<sup>[8]</sup>, 体长在 6.59~7.46 cm 时开始驯化其摄食冰鲜糠虾效果较为理想。而线纹海马在培育过程中, 初生海马一般饲喂轮虫及桡足类无节幼虫, 后期投喂桡足类、幼糠虾、虾苗、端足类等, 体长达到 5~6 cm 时转食糠虾和小型虾类等。吴新军<sup>[22]</sup>报道线纹海马在 5~7 cm 时, 从桡足类转喂糠虾的过程中会出现烂尾、肠炎的情况, 体质变弱, 容易患病, 是整个养殖过程中死亡率最高的阶段。特别是对秋苗(即 8 月份繁育的幼海马), 此时已进入 10 月中下旬, 温度开始下降, 适宜饵料供应不如春苗, 如不能在此时及时转食, 则易出现生长障碍, 以致生长缓慢, 但机理有待进一步研究。

由正常生长海马和生长缓慢海马的体长—体质量关系方程推算可知, 当体长大于 5.03 cm

时正常生长海马的生长速率明显大于生长缓慢海马。由此推测, 线纹海马体长达到 5~6 cm 时是其重要的饵料转变期。

### 3.2 不同温度和 pH 条件下正常海马与生长缓慢海马消化酶活性特性

鱼类消化酶的研究是鱼类消化生理研究的重要内容, 消化酶活性的提高可以促进鱼类对营养物质的消化吸收, 从而促进鱼类的生长发育。在一定温度范围内, 随着反应温度的升高, 酶催化反应的速度加快, 并在某一温度下酶活性达到最大值, 但超过一定数值后, 酶催化反应的速度反而随温度的升高而减慢。本研究结果表明, 生长正常与生长缓慢海马的消化酶活性在低温下活性较弱, 但是随着温度的升高, 在某一温度时其活性达到最强, 然后随反应温度上升而下降。但生长缓慢海马的蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶活性均低于正常生长海马, 变化趋势不如正常生长海马明显。如在相同的最适温度下蛋白酶活性(55 °C)和淀粉酶活性(30 °C)表明, 生长缓慢海马的蛋白酶活性和淀粉酶活性分别仅为正常生长海马的 64.93% 和 79.03%。

正常生长海马与生长缓慢的海马脂肪酶活性的最适温度分别为 55 和 45 °C, 但生长缓慢海马的脂肪酶活性为正常生长海马的 68.73%, 这与黄永春<sup>[23]</sup>报道日本鳗鲡 (*Anguilla japonicus*) 僵鳗的消化酶活性均显著低于正常日本鳗鲡的结果基本一致。

海马消化酶活性随着 pH 值的升高而升高, 并在 pH 为 6.0~7.0 时达到最高值, 然后随 pH 值的升高而下降。据报道肉食性的南方大口鲶 (*Silurus meridionalis*)<sup>[24]</sup>、长吻鲩 (*Leiocassis longirostris*)<sup>[24]</sup> 和澳洲宝石鱼 (*Scortum barcoo*)<sup>[25]</sup> 淀粉酶活性的最适 pH 为 5.0~7.0; 南方大口鲶<sup>[2]</sup> 和长吻鲩<sup>[2]</sup> 胃、肝胰脏、肠道蛋白酶活性的最适 pH 分别为 2.6、6.4 和 7.0, 澳洲宝石鱼<sup>[23]</sup> 胃蛋白酶活性的最适 pH 为 2.0, 肝胰脏、肠道蛋白酶活性的最适 pH 分别为 7.5、7.0~7.5。由于海马消化器官与鱼类有所不同, 且样品较小, 胃、肠、肝胰脏无法分开, 实验以整个消化器官的消化酶为研究对象, 无法单独体现胃、肝胰脏、肠道消化酶活性的最适 pH, 但总体趋势一致, 也与海马肉食性特性相吻合。

### 3.3 正常生长与生长缓慢海马的免疫酶活性的差异

AKP 和 ACP 是体内最重要的水解酶, 广泛存在于动物血液和各种器官内, 可以加速物质的摄取和转运, 形成水解酶体系, 破坏和消除侵入体内的异物, 达到机体防御的功能, 是评价动物生理代谢水平的一项重要指标<sup>[26-27]</sup>。SOD 是抗氧化系统重要成员之一, 它不仅能清除体内多余的自由基, 降解溶酶体内的细菌及异物, 并在免疫中发挥重要作用<sup>[28]</sup>。T-AOC 是动物总抗氧化能力的综合性指标, 是机体抗氧化酶系统和抗氧化系统共同作用的结果, 能够反映机体对外界刺激的代偿能力以及清除活性氧自由基的综合能力<sup>[29]</sup>。本研究显示正常海马组织中 ACP、ACK、SOD 和 T-AOC 活性均高于生长缓慢海马, 表明正常海马顺利转食后各项功能系统正常, 机体免疫性能活跃, 自由基清除能力强, MDA 含量低。生长缓慢海马因生长障碍, 影响消化、免疫系统, 造成抵抗力差, MDA 的含量也表明生长缓慢海马免疫性能差, 受自由基攻击的严重程度高<sup>[30]</sup>。

研究表明, 当鱼体生长速率加快, 即鱼体

蛋白质合成速率加快时, 鱼体组织中的 RNA 含量就会增加, RNA/DNA 值能够准确反映蛋白质的合成速率, 从而衡量鱼类生长速率<sup>[31-33]</sup>。本研究结果表明正常生长 RNA/DNA 值比生长缓慢海马高 23.75%, 说明后者鱼体蛋白质合成速率慢, 影响生长。

综上所述, 人工饲养条件, 线纹海马在其体长 5.03 cm 时容易因食性转变过程中饲养管理和环境因子等变化造成生长障碍, 以致消化、免疫机能降低。生长缓慢海马除了要维持本身的基本代谢, 还要抵抗环境因子的变化, 消耗其内脏中的储藏物质, 造成体型异常, 肥满度和脏器指数明显小于正常生长海马。为此, 在线纹海马转食前要注意适口饵料的投喂和精心管理, 避免出现生长障碍, 导致生长缓慢。

### 参考文献 (References):

- [1] CITES. Seahorses and other members of the family Syngnathidae (decision 12.54). Report of the working group. AC20 Doc. 17[OL]/Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora (CITES). Twentieth Meeting of the Animals Committee Johannesburg (South Africa), 2004.
- [2] Vincent A C J. Reproductive ecology of seahorses[D]. Cambridge, London: University of Cambridge, 1990, 1-157.
- [3] Lourie S A, Vincent A C J, Hall H J. Seahorse: an identification guide to the world's species and their conservation[M]. London: Project Seahorse, 1999, 1-214.
- [4] 张璐, 李静, 魏万权. 海马的生物学特性及其增殖技术[J]. 中国水产, 2000(7): 62-63.  
Zhang L, Li J, Wei W Q. Biology characteristics and farming technology of *Hippocampus* sp[J]. China Fisheries, 2000(7): 62-63(in Chinese).
- [5] Teixeira R L, Musick J A. Reproduction and food habits of the lined seahorse, *Hippocampus erectus* (Teleostei: Syngnathidae) of Chesapeake Bay, Virginia[J]. Brazilian Journal of Biology, 2001, 61(1): 79-90.
- [6] Lin Q, Lin J D, Zhang D. Breeding and juvenile culture of the lined seahorse, *Hippocampus erectus* Perry, 1810[J]. Aquaculture, 2008, 277(3-4): 287-292.
- [7] Lin Q, Lin J D, Zhang D, et al. Weaning of juvenile seahorses *Hippocampus erectus* Perry, 1810 from live to frozen food[J]. Aquaculture, 2009, 291(3-4): 224-229.

- [8] 王韩信, 刘晓东, 张东, 等. 灰海马 (*Hippocampus erectus*) 人工繁殖技术初探[J]. *水产科技情报*, 2011, 38(2): 59-61, 65.  
Wang H X, Liu X D, Zhang D, et al. Preliminary study on artificial propagation of *Hippocampus erectus*[J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2011, 38(2): 59-61, 65(in Chinese).
- [9] Lin Q, Lin J D, Huang L M. Effects of substrate color, light intensity and temperature on survival and skin color change of juvenile seahorses, *Hippocampus erectus* Perry, 1810[J]. *Aquaculture*, 2009, 298(1-2): 157-161.
- [10] Lin Q, Zhang D, Lin J D. Effects of light intensity, stocking density, feeding frequency and salinity on the growth of sub-adult seahorses *Hippocampus erectus* Perry, 1810[J]. *Aquaculture*, 2009, 292(1-2): 111-116.
- [11] Zhang D, Zhang Y H, Lin J D, et al. Growth and survival of juvenile lined seahorse, *Hippocampus erectus* (Perry), at different stocking densities[J]. *Aquaculture Research*, 2010, 42(1): 9-13.
- [12] 尹飞, 唐保军, 张东, 等. 投喂不同密度卤虫无节幼体对灰海马幼体生长和存活的影响[J]. *应用与环境生物学报*, 2012, 18(4): 617-622.  
Yin F, Tang B J, Zhang D, et al. Growth and survival of juvenile lined seahorse (*Hippocampus erectus*) at different food densities[J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2012, 18(4): 617-622(in Chinese).
- [13] 席寅峰, 张东, 施兆鸿. 投喂频率对雌雄分化后灰海马生长发育、饵料转换效率及消化酶活力的影响[J]. *海洋渔业*, 2013, 35(1): 77-85.  
Xi Y F, Zhang D, Shi Z H. Effects of feeding frequency on the growth, food efficiency and digestive enzyme activity of *Hippocampus erectus* after sex differentiation[J]. *Marine Fisheries*, 2013, 35(1): 77-85(in Chinese).
- [14] 李锋, 罗伟, 黄良民, 等. 线纹海马 (*Hippocampus erectus*) 不同养殖密度下水体理化因子和细菌数量的动态变化[J]. *广东农业科学*, 2015(2): 114-120.  
Li F, Luo W, Huang L M, et al. Dynamic variation of physicochemical factors and bacteria under different stocking densities of *Hippocampus erectus*[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2015(2): 114-120(in Chinese).
- [15] 刘晓东, 张琴, 王韩信, 等. 芽孢杆菌微生态制剂对灰海马幼体生长、成活率及消化酶活力的影响[J]. *水产科技情报*, 2015, 42(3): 119-122.  
Liu X D, Zhang Q, Wang H X. Effects of Dietary Bacillus subtilis on growth, survival and digestive enzyme activity of *Hippocampus erectus*[J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2015, 42(3): 119-122(in Chinese).
- [16] 黄永春. 养殖水温对星洲红鱼生长、消化和免疫的影响[J]. *动物营养学报*, 2015, 27(7): 2264-2271.  
Huang Y C. Effects of cultural water temperature on growth, digestion and immune of singapore red tilapia (*O. mossambicus*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2015, 27(7): 2264-2271(in Chinese).
- [17] Buckley L J. Relationships between RNA-DNA ratio, prey density, and growth rate in Atlantic cod (*Gadus morhus*) larvae[J]. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 1979, 36(12): 1497-1502.
- [18] 吕军仪, 吴金英, 杨大伟, 等. 大海马在人工养殖条件下的生长速率[J]. *中国水产科学*, 2001, 8(1): 59-63.  
Lü J Y, Wu J Y, Yang D W, et al. Growth rate of *Hippocampus kuda* under intensive culture[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2001, 8(1): 59-63(in Chinese).
- [19] Wilson W J, Vincent A C J. Preliminary success in closing the life cycle of exploited seahorse species, *Hippocampus* spp., in captivity[J]. *Aquarium Sciences and Conservation*, 2000, 2(4): 179-196.
- [20] 魏祥东, 叶长明, 陈东红. 饵料对幼海马生长的影响[J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2003, 42(3): 60-63.  
Wei X D, Ye C M, Chen D H. Effects of foods on growth of young sea horses (*Hippocampus*)[J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2003, 42(3): 60-63(in Chinese).
- [21] 梁炳盛. 海马人工养殖的研究[J]. *青岛海洋大学学报*, 1992, 22(4): 39-44.  
Liang B S. Research on the culture of *Hippocampus*[J]. *Journal of Ocean University of Qingdao*, 1992, 22(4): 39-44(in Chinese).
- [22] 吴新军. 线纹海马养殖技术概况[J]. *海洋与渔业*, 2015(4): 104-105.  
Wu X J. Survey on technique culture of *Hippocampus erectus*[J]. *Ocean and Fishery*, 2015(4): 104-105(in Chinese).
- [23] 黄永春. 日本鳗鲡及其僵鳗消化酶活性的比较研究[J]. *动物营养学报*, 2012, 24(5): 977-982.  
中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

- Huang Y C. Comparison of digestive enzyme activities in normal and growth retarded Japanese eels (*Anguilla japonica*)[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2012, 24(5): 977-982(in Chinese).
- [24] 叶元土, 林仕梅, 罗莉, 等. 温度、pH值对南方大口鲶、长吻鮠蛋白酶和淀粉酶活力的影响[J]. *大连水产学院学报*, 1998, 13(2): 17-23.
- Ye Y T, Lin S M, Luo L, *et al.* The Effect of temperature and pH value on activities of proteases and amylases from *Silurus meridionalis* and *Leiocassis longirostris*[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 1998, 13(2): 17-23(in Chinese).
- [25] 沈文英, 祝尧荣, 钱科亮. 温度和pH对澳洲宝石鱼消化酶活性的影响[J]. *大连水产学院学报*, 2006, 21(2): 189-192.
- Shen W Y, Zhu Y R, Qian K L. The effects of temperature and pH on activities of digestive enzymes in jade perch (*Scortum barcoo*) in Australia[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2006, 21(2): 189-192(in Chinese).
- [26] Muta T, Iwanaga S. The role of hemolymph coagulation in innate immunity[J]. *Current Opinion in Immunology*, 1996, 8(1): 41-47.
- [27] Yokota Y, Nakano E. Comparative studies on particulate acid phosphatases in sea urchin eggs[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 1982, 71(4): 563-567.
- [28] 王玥, 胡义波, 姜乃澄. 氨态氮、亚硝态氮对罗氏沼虾免疫相关酶类的影响[J]. *浙江大学学报(理学版)*, 2005, 32(6): 698-705.
- Wang Y, Hu Y B, Jiang N C. Effects of ammonia-N and nitrite-N on immune enzymes of *Macrobrachium rosenbergii*[J]. *Journal of Zhejiang University (Science Edition)*, 2005, 32(6): 698-705(in Chinese).
- [29] Benzie I F F, Strain J J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": The FRAP assay[J]. *Analytical Biochemistry*, 1996, 239(1): 70-76.
- [30] Lüder C G K, Algner M, Lang C, *et al.* Reduced expression of the inducible nitric oxide synthase after infection with *Toxoplasma gondii* facilitates parasite replication in activated murine macrophages[J]. *International Journal for Parasitology*, 2003, 33(8): 833-844.
- [31] Pelletier D, Blier P U, Lambert Y, *et al.* Deviation from the general relationship between RNA concentration and growth rate in fish[J]. *Journal of Fish Biology*, 1995, 47(5): 920-922.
- [32] Clemmesen C. The effect of food availability, age or size on the RNA/DNA ratio of individually measured herring larvae: laboratory calibration[J]. *Marine Biology*, 1994, 118(3): 377-382.
- [33] Gwak W S, Tsusaki T, Tanaka M. Nutritional condition, as evaluated by RNA/DNA ratios, of hatchery-reared Japanese flounder from hatch to release[J]. *Aquaculture*, 2003, 219(1-4): 503-514.

## Growth, digestive enzymes and immune enzymes activities in two growth status of seahorse *Hippocampus erectus*

HUANG Yongchun<sup>1,2\*</sup>, TU Chenling<sup>1</sup>, WENG Hongyu<sup>1</sup>, LIN Xiangri<sup>3</sup>

(1. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. Fujian Provincial Key Laboratory of Marine Fishery Resources and Eco-environment, Xiamen 361021, China;

3. Xiamen Ocean Vocational College, Xiamen 361012, China)

**Abstract:** This paper studied the occurrence time and physiological characteristics of slow growth seahorse. Comparisons of the growth, the ratio of RNA/DNA, digestive enzymes and related immune enzymes activities in normal growth seahorses *Hippocampus erectus* [(8.57±0.61) cm, (1.51±0.38) g] and slow growth seahorse [(6.68±0.35) cm, (0.81±0.14) g] were studied in a cultural experiment for 110 d. The results showed that the average daily gain, specific growth rate, condition factor and viscera index in the normal growth seahorses were significantly higher than those of the slow growth seahorse, respectively. The normal growth seahorses grew faster than the slow growth seahorses after the body length was 5.03 cm. The amylase, protease and lipase activities in normal growth seahorses were in the same tendency as those of the slow growth seahorses at different reaction temperatures (5 °C, 15 °C, 25 °C, 30 °C, 35 °C, 45 °C and 55 °C) and pH (2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 and 9.0). However, the digestive enzymes activities of the former were higher than those of the latter, except amylase activity at 35-55 °C and protease activity at 5-15 °C. The activities of ACP, AKP, T-AOC and SOD in normal growth seahorses were 12.83%, 48.21%, 44.71% and 65.75% higher than those of the slow growth seahorses, respectively. The MDA of the normal growth seahorse was only 61.09% of that in the slow growth seahorse, and the ratio of RNA/DNA in the normal growth seahorse was 23.75% higher than that of the slow growth seahorse. The growth, digestion and immunity of normal growth seahorses were obviously better than those of slow-growing seahorses when their body length exceeded 5.03 cm.

**Key words:** *Hippocampus erectus*; growth; digestive enzymes; immuno enzyme; temperature; pH

**Corresponding author:** HUANG Yongchun. E-mail: ychuang@jmu.edu.cn

**Funding projects:** Science and Technology Department of Production and Research Cooperation Projects of Fujian (2017N5012)