

综 述

水产养殖中的环境胁迫及其预防——营养学途径^{*}

麦康森, 艾庆辉, 徐 玮, 刘付志国

(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: 环境胁迫强弱程度的不同对养殖动物的生理功能、免疫力、生长和繁殖有不同程度的负面影响。本文综述近 10 多年来关于水产养殖环境胁迫的最新研究成果, 重点介绍如何通过营养调控提高养殖动物的抗胁迫能力, 以缓解或减轻环境胁迫所带来的负面效应。并指出未来的重要研究方向是探讨提高养殖动物抗胁迫能力的途径和作用机制。

关键词: 水产养殖; 环境胁迫; 预防; 营养

中图法分类号: S963.16

文献标识码: A

文章编号: 1672-5174(2004)05-767-08

随着集约化养殖模式的推广, 水产养殖业得到了迅猛发展。然而, 由于高密度养殖、投喂频率增加、消毒剂和药物的滥用以及不适当的管理方法等等, 养殖水体的污染程度不断加剧, 养殖环境日益恶化, 致使养殖动物处于各种环境因子的胁迫之下, 导致养殖动物病害滋生、养殖效益下降, 严重阻碍了水产养殖业的健康发展。为了保证水产养殖业的可持续性发展, 必须尽可能地维持优良的养殖环境, 使养殖动物能够正常生长、发育和成熟。因此, 研究环境胁迫和水产养殖动物的关系, 探讨其作用机制, 寻找消除或缓解环境胁迫影响的途径就成为亟待解决的重大问题。本文将综述近 10 多年来关于水产养殖环境胁迫的最新研究成果, 重点介绍如何通过营养调控提高养殖动物的抗胁迫能力, 以缓解或减轻环境胁迫所带来的负面效应。

1 环境胁迫定义及分类

生物总受到生存环境中各种环境因子的刺激, 而且刺激与生物系统总是处于相互作用的动态过程中。在一定的环境条件下, 由于各种因素的负面影响, 使动物无法维持正常的生理状态, 这就叫环境胁迫 (Stress), 也叫环境应激。按水产养殖环境胁迫的性质, 可分为: 物理胁迫, 包括温度、光照、噪音等的胁迫; 化学胁迫, 包括水质恶化、环境污染、饲料营养不平衡和含氮排泄废物累积等; 生物胁迫, 包括高密度养殖导致的拥挤、与其它物种的竞争以及病原生物的侵袭等; 管理胁迫, 包括捕捉、分池、运输和病害处理等 4 类。按照胁迫作用时间又可分为急性 (Acute) 环境胁迫和慢性 (Chronic) 环境胁迫^[1]。人为的捕捉、干扰、分池、

运输等引起急性胁迫。而由于水体富营养化、水质逐步污染、以及因高密度导致的拥挤等均会造成慢性胁迫。环境胁迫有时是致命性的, 可导致养殖动物直接死亡; 有时是亚致死性的, 可引起养殖动物的应激反应。在环境胁迫条件下, 机体无法维持其正常生理功能, 因此通常处于病态状态。环境胁迫具有可叠加性; 也就是说, 多个不同的胁迫因子同时作用于养殖动物时会造成更严重的负面后果。

2 环境胁迫的主要评价指标

环境胁迫与生物系统的互相作用, 引起养殖动物的应激反应, 导致生理状态的变化, 这些变化都能反映在一些生理学指标上。有些指标对环境胁迫很敏感, 因此, 被用来作为观测环境胁迫程度的指标。这些指标主要包括血清中可的松 (Cortisol)、葡萄糖及乳酸、热休克蛋白 (Heat shock protein) 等。

2.1 可的松 在环境胁迫条件下, 养殖动物的下丘脑-脑垂体-肾间组织 (HPI) 轴受到连续刺激, 从而导致体内激素水平发生明显变化^[2-4]。可的松是 HPI 轴受到刺激后所分泌的主要激素之一。在捕捉、惊吓、拥挤、温度和盐度等的剧烈变化情况下, 血清中可的松水平有上升趋势^[5-7]。因而血清中可的松水平被认为是反映养殖动物胁迫状态的重要指标^[8]。然而, 有的研究却表明, 慢性胁迫对虹鳟和鲤鱼血清中可的松水平并未产生显著影响^[9-10]。这主要是由于在长期慢性刺激过程中, 鱼类已经适应了这些刺激, 因此导致 HPI 轴产生负反馈调节, 使血液中可的松稳定在某一较低水平。由此可见, 在急性胁迫条件下, 血液中的可的松

* 基金项目: 国家重点基础研究发展计划项目 (G1999012010) 资助

收稿日期: 2004-08-12; 修订日期: 2004-08-20

作者简介: 麦康森 (1958-), 男, 博士, “长口学者奖励计划”特聘教授, 博导。E-mail: kmaj@ouc.edu.cn

水平是反映动物生理状态的1个重要指标^[1,11],而在长期的环境胁迫条件下,可的松并非最敏感指标。

养殖水体中的可的松水平也是反映胁迫程度的1个重要指标。Scott等^[12]对虹鳟的研究表明,在急性刺激条件下,实验鱼体排入水体的可的松水平急剧上升。Ruane和Komen等^[10]也发现鲤鱼的养殖密度与排入水体的可的松水平密切相关,高密度的胁迫条件下,实验鱼排入水体中的可的松水平显著升高。同时,测定水体中的可的松水平并不会对养殖动物造成干扰,因此,水体中可的松水平是评价鱼体胁迫状态的1个优良指标。

2.2 葡萄糖和乳酸 与可的松分泌密切相关的是血液中葡萄糖及乳酸水平,它们是胁迫反应的二级产物^[13]。通常情况下随着血清可的松水平的升高,葡萄糖和乳酸水平也有上升趋势。有关遮目鱼(*Chanos chanos*)的研究表明,在冷休克处理条件下,由于糖原异生作用,实验鱼体中葡萄糖水平显著升高^[8]。在拥挤、捕捉等急性胁迫条件下,虹鳟和鲤鱼血液中的葡萄糖水平也显著升高^[14-15]。同样,在低温、捕捉和拥挤等胁迫条件下,尤其是当胁迫使鱼体活动增强、耗氧量增加时,鱼类血液中的乳酸水平明显升高^[8,16]。而且由于血液中葡萄糖和乳酸的测定比可的松测定相对简单^[17],因此,葡萄糖和乳酸可作为评价胁迫的重要指标。但是,二者也具有瞬时效应,当胁迫持续一段时间以后,血液中的乳酸和葡萄糖水平可恢复到胁迫前的水平,因此,它们也仅能作为急性反应的重要指标^[8]。不过,血脂水平的恢复正常要比血糖和乳酸慢得多^[8]。

2.3 热休克蛋白 热休克蛋白被认为是环境胁迫另外的1个重要指标^[18]。在胁迫条件下,养殖动物将发生一系列生理变化,除了其中的神经内分泌激素(如可的松)发生变化外,与细胞反应相关的热休克蛋白也发生变化。在一定的胁迫范围内热休克蛋白将被诱导,从而形成保护性机制,抵消胁迫对养殖动物的影响^[18]。但在高温胁迫条件下,虹鳟和罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*)的热休克蛋白受到了明显的抑制^[19]。但是,有关大西洋鲑的研究却表明,低温、拥挤和捕捉等胁迫因子并没有显著影响实验鱼体内热休克蛋白的水平^[20]。

3 环境胁迫对养殖动物的影响

3.1 物理胁迫的影响 在温度、光照等物理胁迫条件下,养殖动物的可的松、乳酸水平因胁迫存在而在短期内迅速升高^[8,21]。除激素水平发生变化外,体内的一些酶及生化组成也发生显著变化。Hsieh等^[8]对遮目鱼的研究发现,经过低温刺激后,实验鱼血浆中的可

的松和血糖均在短期内急剧升高,然后又恢复到原有水平,但血浆中脂肪的含量却一直在逐渐升高。这主要和其中的脂酰 CoA 去饱和酶活力有关。因此,在该实验条件下,血浆中脂肪的水平被认为是慢性胁迫反应的1个指标。Ritola等对白鲑(*Salvelinus alpinus*)进行臭氧胁迫实验,结果发现即使在低臭氧水平(0.34mg/L/min)下,实验鱼体肝脏内的谷胱甘肽抗氧化酶和单氧化酶都显著降低,这说明臭氧胁迫对该2种抗氧化酶有明显的抑制作用^[22]。另外,在物理胁迫条件下,养殖动物的生长将受到影响。Ojolic等对虹鳟的研究表明,在连续高温刺激下,实验鱼的生长率和存活率均显著下降^[23]。这主要是由于物理胁迫扰乱了养殖动物的正常生理状态,从而导致其食欲下降,因此养殖动物的生长率和存活率也受到抑制^[3]。

3.2 化学胁迫的影响 化学胁迫的研究主要涉及到水质、污染和含氮化合物积累等。化学胁迫显著影响养殖动物的生理状态及免疫力^[24]。当养殖水体中盐度和氯离子浓度发生剧烈变化时,鲈鱼血浆中的 α 生育酚显著下降,因此其抗氧化能力也相应下降^[25]。在高含量硝酸盐和亚硝酸条件下,斑节对虾(*Penaeus monodon*)血淋巴运输氧气的能力显著降低^[26]。在污染胁迫严重的情况下,胚胎的畸形率显著上升,因此胚胎的畸形率可以作为评价污染程度的1个重要指标^[27]。在化学胁迫条件下,养殖动物的生长率也明显受到抑制。Brown和Newman^[28]对*Gracilariopsis longissima*的研究表明,在高铜胁迫条件下(500mg/L),除了生理状态受到影响外,实验动物的生长率也显著降低。

3.3 生物胁迫的影响 在拥挤、高密度等生物胁迫条件下,血清中可的松和葡萄糖水平均有上升趋势^[29-30],而养殖动物的免疫学指标显著下降。Rotlland等发现,经过拥挤胁迫后,首先是真鲷的替代途径补体活力(ACH50)显著下降,然后其凝集效价也有下降趋势^[29]。Ortuno等对金头鲷(*Sparus aurata*)的研究同样表明,在高密度的饲养条件下,拥挤胁迫显著降低了实验鱼的替代途径补体活力^[31]。Iguchi等对香鱼(*Plecoglossus altivelis*)的研究也发现,在高密度养殖条件下,实验鱼血清中的抗体水平(IgM)显著降低^[30]。正是由于生物胁迫导致了免疫力的降低,因此养殖动物抵抗疾病的能力显著降低,死亡率也相应上升^[30,32]。

3.4 管理胁迫的影响 管理胁迫是指在养殖过程中由于人为管理操作而对养殖动物所造成的胁迫。高强度的管理胁迫将对养殖动物的生理状态、免疫力、繁殖和生长造成严重的负面效应。如在拉网、捕捉、苗种运输、分池、麻醉、消毒、病害用药等胁迫条件下,实验动

物血清中可的松水平均显著升高^[3,33]。而且可的松水平的变化与管理胁迫的强度密切相关, 在管理胁迫强度较大时, 血清中可的松水平变化较大, 而在干扰较小的情况下, 血清中可的松水平变化则相对较小。管理胁迫对养殖动物的繁殖有较大影响。环境胁迫对水产动物繁殖力的抑制主要是通过内分泌调节来实现的^[34]。在胁迫条件下, 机体内性激素的分泌、性激素结合蛋白的结合能力、卵黄的累积、精子的数量和质量都受到显著影响^[35-37]。同时, 水产动物进行繁殖活动的时间也相应提前或延后, 这与水产动物所处的发育阶段密切相关^[37]。有关环境胁迫抑制水产动物繁殖的确切机制目前尚未完全得到阐述, 但通常认为这一过程和可的松有关。在胁迫条件下, 当体内可的松水平升高时, 其性腺比重、血浆中雌二醇和孕酮等激素水平、卵黄的累积水平均相应地显著降低^[35,38-39]。但是, Pankhurst 和 Van Der Kraak 对虹鳟的研究却发现, 在限定胁迫条件下, 实验鱼血浆中孕酮随可的松水平的升高而显著下降, 但其中促性腺激素释放因子 (GtH) 并未受到影响, 这说明可的松对繁殖活动的调节并不是在脑垂体水平, 而是在其二级水平^[35]。目前也有研究认为可的松并不能调节水产动物的繁殖活动^[40], 因此有关环境胁迫对繁殖的抑制机制尚有待进一步探讨。养殖动物的生长率也受管理胁迫强度的影响, 在拉网、排污、惊扰等操作强度较大时, 养殖动物的生长率显著下降。McCormick 等的研究也发现, 在反复的捕捉刺激后, 大西洋鲑的生长率显著低于对照组 (没有刺激组)^[3]。

4 环境胁迫的预防或缓解环境胁迫的负面影响

从上面的论述可知, 在环境胁迫下, 养殖动物不能维持正常的生理状态、生长率下降、免疫力降低、感染疾病的几率大大升高, 甚至会给水产养殖业带来严重的经济损失。为了预防或缓解环境胁迫的影响, 人们必须采取各种措施, 消除各种胁迫因素。如维持良好的水质和卫生条件、尽可能采用温和的管理操作、减少不必的人为干扰以及选育抗逆性强的品系等等。但是, 在实际生产过程中, 许多环境胁迫因素是不可避免的。例如, 由于气候的导致温度、盐度突然变化, 意外的污染、病原的侵扰, 种苗运输、分池、更换网箱等日常操作。因此, 如何降低或缓解胁迫对养殖动物的影响是人们必须考虑的问题。均衡充裕的营养是保证养殖动物正常生长和健康的关键。通过营养学途径提高养殖动物的抗胁迫的能力业已证明是行之有效的。

4.1 采用适宜的投喂策略 在应激条件下养殖动物需要消耗大量能量来抵抗胁迫。因此良好的营养状况

是保证养殖动物抵抗环境胁迫、防御疾病的物质基础^[41]。在自然条件下, 动物经常面临饥饿的胁迫, 营养得不到保障, 因此其抵御环境变化的能力存在较大变数。而养殖条件下食物的可获得性有了保障, 其抵御胁迫的能力相对得到提高。当然, 在养殖条件下, 又增加了许多人为的胁迫因素。另一方面值得注意的是: 并非食物的可获得性越强, 摄食量越高, 养殖动物的抗应激能力就越强。在高摄食量情况下, 动物的特殊动力 (SDA) 耗氧量显著升高, 导致水体溶氧量急剧减少, 从而会形成一种新的环境胁迫^[42], 在高密度养殖条件下更是如此。有关大鳞大麻哈鱼和白鲑的研究表明, 不同的摄食率或摄食频率将显著影响动物的免疫力和抗病力, 进而影响动物抵御胁迫的能力^[43-44]。此外, 饲料中免疫增强剂的使用存在时间效应, 即在一定时间范围内它可提高免疫力和抗病力, 促进生长, 但超过一定时间范围, 它将产生免疫抑制^[45-46]。由此可见, 不仅营养全面均衡的优质饲料十分重要, 而且科学的投喂策略 (摄食量和摄食频率) 在养殖过程中也起着重要的作用。养殖过程中必须根据养殖对象的摄食行为特征制定科学的投喂策略。

4.2 营养素对环境胁迫影响的缓解作用 均衡充裕的营养是保证养殖动物正常生长和健康的基础。营养素是通过维持动物各种生理机能的正常工作而达到保证养殖动物正常生长和健康。健康的动物自然具有更强的抵御环境胁迫、维持良好的免疫活力和抗病力。各种些营养素 (包括一些非营养性添加剂) 具有各自的功能特点, 因而, 在缓解环境胁迫影响、维持良好免疫活力和抗病力方面的作用也存在差异。到目前为止, 研究的较多的营养素主要包括维生素 C、维生素 E、脂肪酸和微量元素, 非营养性添加剂主要多糖类化合物。

4.2.1 维生素 C 在养殖生产中, 为了缓解胁迫所造成的负面效应, 人们采取了各种措施, 其中在饲料中添加高含量的维生素 C 已被广泛采用^[47-49]。Merchie 等对斑节对虾和凡纳滨对虾 (*Penaeus vannamei*) 的研究发现, 维持最佳生长时, 2 种对虾幼体对维生素 C 的需要量为 20~130 mg/kg; 而饲料中添加 2 000 mg/kg 的维生素 C 能够提高对虾抗应激能力^[50]。Henrique 等以金头鲷为研究对象, 分别给各组实验鱼投喂不同维生素 C 含量的饲料, 经过 12 周的生长实验后, 对各组实验鱼进行低氧 (Hypoxic stress) 的胁迫。结果表明未添加维生素 C 组的血浆葡萄糖和可的松水平显著高于添加组^[47]。Sakakura 等发现饲料中高水平的维生素 C 含量显著提高了黄尾鲷 (*Seriola quinqueradiata*) 仔鱼的质量, 在暴露于空气中后 (Air dive), 实验鱼的存活力明显高于未添加或添加量较低组^[51]。Montero 等对金头鲷的研究也表明, 当饲料中维生素 C 和维生素 E 含

量较高时,在高密度养殖条件下实验鱼的血浆可的松水平和低密度组没有出现差异^[48]。Lim 等对虹鳟(*Poecilia reticulata*)的研究表明,当摄食维生素 C 含量较高的饲料时,虹鳟对盐度胁迫的调节能力显著提高^[74]。这些研究表明,摄食高剂量的维生素 C 能够显著提高养殖动物抗应激的能力。然而,有关于鲤鱼、大西洋鲑和斑点叉尾鲶(*Ictalurus punctatus*)的研究则表明,在捕捉或限制活动的胁迫下,实验鱼血浆中的可的松水平并不受饲料中维生素 C 水平的影响,因而免疫力和抗病力也不受到影响^[49, 53-54]。造成这种差异的原因可能是由于实验种类以及胁迫因子的种类、强度不同所致。

维生素 C 之所以能够调节胁迫后的生理活动,主要是因为它与可的松的合成密切相关。它可通过控制不饱和脂肪酸的过氧化而限制类固醇的合成,阻止胆固醇的生成,进而阻止可的松的生成^[55]。另外,维生素 C 还通过神经调节因子,调节脑部的多巴胺和去甲肾上腺素的水平,从而控制水产动物的行为,增强对环境胁迫的抵抗力^[56]。虽然有研究表明,经胁迫处理后鱼类的可的松水平不受维生素 C 的影响^[53],但多数研究都表明,高剂量的维生素 C 能够抑制类固醇的生成,从而使胁迫环境下的生理状况得到调节^[47-48, 59-61]。

4.2.2 维生素 E 维生素 E 是另外一种重要的维生素类免疫增强剂。已有的研究表明维生素 E 与水产动物的细胞免疫和体液免疫密切相关^[46, 60-62]。维生素 E 对水产动物免疫力的影响与下述两方面的因素密切相关。一是实验时间,Ortuno 等对金头鲷的研究表明,在养殖实验的第 15d,维生素 E 对实验鱼的免疫力并未产生影响,但实验鱼的补体和吞噬活力在第 30d 达到最大,并一直维持到 45d^[41]。而 Cuesta 等的研究则表明,当饲料中添加维生素 E 时,金头鲷的自然细胞杀菌能力在第 2~4 周达到最大,而到第 6 周时,实验鱼的自然细胞杀菌力与未添加组之间并未出现差异^[46]。这些研究说明,在不同的实验时期,鱼类的免疫指标变化并不一致;另外一个因素是实验所采用的维生素 E 的剂量。一般的研究表明,随着饲料或体外培养环境中维生素 E 含量的升高,鱼类的免疫力也随之上升^[61-63]。但有关于金头鲷的研究表明,中等水平的维生素 E 添加量能使鱼类的免疫力达到最佳效果,而过高的添加量并不能进一步提高鱼类的免疫力^[45-46]。这在体外的实验中也得到了验证^[64]。这可能是由于过高的维生素 E 水平,导致了它和其他抗氧化剂比例失调,从而影响了免疫应答。

有关维生素 E 调节环境胁迫条件下养殖动物生理状态的研究较少,但也有相关报道。Montero 等对金头鲷的研究表明,当饲料中添加 250mg/kg 的维生素 E

时,在高密度的胁迫条件下,血清中溶菌酶和替代途径的补体活力与低密度组相比较并未发生显著改变,而可的松水平也维持在一个较低的水平^[48]。同样,Montero 等也以金头鲷为研究对象,进行摄食生长实验,结果发现当维生素 E 缺乏时,实验鱼的生长和存活率均明显下降,血清中替代途径补体的活力也显著下降,但饲料中添加 150mg/kg 的维生素 E 时,金头鲷的生长及补体活力均显著上升,在慢性拥挤的胁迫条件下,血液中可的松水平明显下降^[60]。这些结果与关于哺乳动物的研究结果相类似。这表明,维生素 E 可通过降低血液中可的松的水平来缓解动物的胁迫,提高其抗应激的能力。这可能与维生素 E 抑制脂肪酸氧化,阻止可的松合成相关,然而有关维生素 E 调节环境胁迫的确切机制尚有待进一步的研究。

4.2.3 脂肪酸 脂肪酸是养殖动物所必需的一种营营养素,它是细胞膜的重要组分,能调节细胞的通透性。研究表明饲料中脂肪酸与动物的免疫力密切相关^[65]。适宜的脂肪酸含量可显著提高养殖动物的免疫力及抗病力,但当脂肪酸含量缺乏或过高时,养殖动物的免疫力均受到明显抑制^[65-66]。

有关脂肪酸调节养殖动物胁迫条件下生理状态的研究,主要在仔稚鱼中开展。有关金头鲷仔鱼的研究表明,投喂强化过花生四烯酸的轮虫后,在拥挤等胁迫刺激下,其成活率显著高于对照组(未添加花生四烯酸)^[67],表明花生四烯酸在抗应激过程中发挥着重要的作用。另外饲料中各种脂肪酸的比例也将影响鱼类的免疫力及抗应激能力。Kanazawa 对真鲷(*Pagrus major*)和大理石鲷(*Limanda yokohamae*)的研究发现,当分别以 0%,1%和 2%的 DHA(Docosahexaenoic acid)和 0%,3%和 5%的大豆卵磷脂(SBL)配比时,饲料中高含量的 DHA 和 SBL 显著提高了实验鱼抵御温度、溶氧和盐度变化的能力^[68]。Tago 等以牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)为实验对象,结果发现投喂 DHA-PC(Docosahexaenoic acid-phosphatidylcholine)组的实验鱼抵抗低温和低溶氧的能力显著高于 DHA-TG(Docosahexaenoic acid triglyceride)和 EPA-PC(Eicosapentaenoic acid-phosphatidylcholine)组^[69]。

4.2.4 微量元素 微量元素对鱼类的免疫系统具有非常重要的作用,这些微量元素主要包括铁、锌、硒、铜和铬等^[70]。影响微量元素对鱼类免疫力的作用主要有两方面的因素。一是饲料中所添加微量元素的形式;一是添加水平。饲料中添加适宜的微量元素可显著提高鱼类的生长率和存活率,同时促进鱼类的非特异性免疫力,提高抵抗疾病的能力。然而当饲料中的微量元素添加量过高时,其免疫力和抗病力并不能进一步提高,相反还会出现免疫抑制效应^[71-72]。这可能

是由于过高的微量元素对鱼类产生毒性的结果。通常情况下, 最佳生长的微量元素水平也就是使鱼类免疫力达到最佳状态的水平, 这与维生素 C 对免疫力的影响方式不一致。

不同的微量元素对养殖动物免疫系统的作用机制及作用途径各不相同, 但多数微量元素都是通过影响养殖动物体内抗氧化酶的活力来调节其免疫力^[52, 71-73]。既然适宜的微量元素可显著提高养殖动物的免疫力和抗病力, 那么它必定对抗应激能力产生一定的正效应。这值得以后进一步深入研究。

4.3 非营养型免疫增强剂 非营养型免疫增强剂主要包括免疫多糖、化学合成物(抗氧化剂等)、微生物制剂以及中草药等^[75-76]。已有的研究表明, 饲料中添加适量的非营养型免疫增强剂可显著提高养殖动物的免疫力和抗病力^[76-78]。因此, 养殖动物的抗应激能力也相应得到加强。 β -葡聚糖作为一种重要的免疫增强剂, 已被用于抗应激的研究。Jeney 等以虹鳟为研究对象, 结果表明饲料中添加低含量的 β -葡聚糖(0.1%) 可使实验鱼的免疫力显著升高, 相应地其抵御运输胁迫的能力也得到提高^[77]。虾青素是一种重要的抗氧化剂, 目前已被证明可提高养殖动物的免疫力和抗应激能力。Chien 等对斑节对虾(*Penaeus monodon*) 的研究表明, 在低氧胁迫条件下, 饲料中添加虾青素可显著提高实验虾的存活率^[79]。同样, Chien 等也以斑节对虾为研究对象, 通过在饲料中添加 80mg/kg 虾青素, 实验虾体内的超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD) 和总抗氧化力(Total antioxidant status, TAS) 显著升高, 抗击低温和调节渗透压的能力显著升高^[76]。有关非营养性免疫增强剂调节胁迫的研究将是今后重点开展的方向之一。

5 展望

环境胁迫给水产养殖业提出了巨大挑战。为了缓解养殖过程中的环境胁迫, 保持水产养殖业的可持续发展, 必须进一步探讨水产养殖业和环境胁迫之间的相互关系, 为此在今后的工作中应加强以下几个方面的研究: (1) 探讨环境胁迫影响养殖动物生理状态、免疫反应和生长的分子机制; (2) 寻找更准确敏感、更容易检测的指标, 用于反映或预测动物的应激状态; (3) 营养素提高养殖动物抵抗应激能力的分子机制; (4) 研究更多的营养素或几种营养素的交互作用与环境胁迫的关系; (5) 研究更多的非营养型添加剂对环境胁迫的调节作用。

参考文献:

- [1] Pickering A D. Environmental stress and the survival of brown trout, *Salmo trutta* [J]. *Freshwater Biol*, 1989, 21: 47-55.
- [2] Pickering A D, Duston J. Administration of cortisol to brown trout, *Salmo trutta* L., and its effects on the susceptibility to *Saprolegnia* infection and furunculosis [J]. *J Fish Biol*, 1983, 23: 163-175.
- [3] McCormick S D, Shrimpton J M, Carey J B, *et al*. Repeated acute stress reduces growth rate of Atlantic salmon parr and alters plasma levels of growth hormone, insulin-like growth factor I and cortisol [J]. *Aquaculture*, 1998, 169: 221-235.
- [4] Benfey T J, Biron M. Acute stress response in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and brook trout (*Salvelinus fontinalis*) [J]. *Aquaculture*, 2000, 184: 167-176.
- [5] Sun L T, Chen G R, Chang C F. Acute response of blood parameters and comatose effects in salt-acclimated tilapias exposed to low temperatures [J]. *J Therm Biol*, 1995, 20: 299-306.
- [6] Chen W H, Sun L T, Tsai C L, *et al*. Cold-stress induced the modulation of catecholamines, cortisol, immunoglobulin M, and leukocyte phagocytosis in tilapia [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2002, 126: 90-100.
- [7] Fevolden S E, Roed K H, Fjalestad K. A combined salt and confinement stress enhances mortality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) selected for high stress responsiveness [J]. *Aquaculture*, 2003, 216: 67-76.
- [8] Hsieh S L, Chen Y N, Kuo C M. Physiological responses, desaturase activity, and fatty acid composition in milkfish (*Chanos chanos*) under cold acclimation [J]. *Aquaculture*, 2003, 220: 903-918.
- [9] Procarione L S, Barry T P, Malison J A. Effects of high rearing densities and loading rates on the growth and stress responses of juvenile rainbow trout [J]. *N Am J Aquacult*, 1999, 61: 91-96.
- [10] Ruane N M, Komen H. Measuring cortisol in the water as an indicator of stress caused by increased loading density in common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Aquaculture*, 2003, 218: 685-693.
- [11] Sadler J, Wells R M G, Pankhurst P M, *et al*. Blood oxygen transport, rheology and haematological responses to confinement stress in diploid and triploid Atlantic salmon, *Salmo salar* [J]. *Aquaculture*, 2000, 184: 349-361.
- [12] Scott A P, Pinillos M, Ellis T. Why measure steroids in fish plasma when you can measure them in water? [A]. Goos, H J Th, Rastogi R K, Vaudry H, *et al*. Eds. *Perspective in Comparative Endocrinology: Unity and Diversity* [M]. Bologna: Monduzzi Editore, 2001. 1291-1295.
- [13] Barton B A, Iwama G K. Physiological changes in fish from stress in aquaculture with emphasis on the response and effects of corticosteroid [J]. *Annu Rev Fish Dis*, 1991, 1: 3-26.
- [14] Rotllant J, Tort L. Cortisol and glucose responses after acute stress by net handling in the sparid red porgy previously subjected to crowding stress [J]. *J Fish Biol*, 1997, 51: 21-28.
- [15] Pottinger. Changes in blood cortisol, glucose and lactate in carp retained in anglers' keepnets [J]. *J Fish Biol*, 1998, 53: 728-742.
- [16] Grutter A S, Pankhurst. 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]. *J Fish Biol*, 2000, 57: 391-401.
- [17] Morgan J D, Iwama G K. Measurements of stressed states in the field [A]. Iwama G K, Pickering A D, Sumpter J P, *et al.* Eds. *Fish Stress and Health in Aquaculture* [M]. Cambridge: Cambridge Univ. Press, 1997. 247-268.
- [18] Iwama G, Vijayan M M, Forsyth R B, *et al.* Heat shock proteins and physiological stress in fish [J]. *Am Zool*, 1999, 39: 901-909.
- [19] Basu N, Nakano T, Grau E G, *et al.* The effects of cortisol on heat shock protein 70 levels in two fish species [J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2001, 124: 97-105.
- [20] Zarate J, Bradley T M. Heat shock proteins are not sensitive indicators of hatchery stress in salmon [J]. *Aquaculture*, 2003, 223: 175-187.
- [21] Rotllant J, Tort L, Montero D, *et al.* Background colour influence on the stress response in cultured red porgy *Pagrus pagrus* [J]. *Aquaculture*, 2003, 223: 129-139.
- [22] Ritola O, Lyytikäinen T, Pyllkö P, *et al.* Glutathione-dependent defence system and monooxygenase enzyme activities in Arctic charr *Salvelinus alpinus* L. exposed to ozone [J]. *Aquaculture*, 2000, 185: 219-233.
- [23] Oplick E J, Cusack R, Benfey T J, *et al.* Survival and growth of all-female diploid and triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) reared at chronic high temperature [J]. *Aquaculture*, 1995, 131: 177-187.
- [24] McGeer J C, Szebedinszky C, McDonald D G, *et al.* Effects of chronic sublethal exposure to waterborne Cu, Cd or Zn in rainbow trout. 1: Ionoregulatory disturbance and metabolic costs [J]. *Aquatic Toxicol*, 2000, 50: 231-243.
- [25] Guerriero G, Di Finizio A, Ciarcia G. Stress-induced changes of plasma antioxidants in aquacultured sea bass, *Dicentrarchus labrax* [J]. *Comp Biochem Physiol*, 2002, 132: 205-211.
- [26] Cheng S Y, Chen J C. Joint action of elevated ambient nitrite and nitrate on hemolymph nitrogenous compounds and nitrogen excretion of tiger shrimp *Penaeus monodon* Comp [J]. *Biochem Physiol C*, 2002, 131: 303-314.
- [27] Klumpp D W, Humphrey C, Hong H S, *et al.* Toxic contaminants and their biological effects in coastal waters of Xiamen, China. II. Biomarkers and embryo malformation rates as indicators of pollution stress in fish [J]. *Marine Pollution Bulletin*, 2002, 44: 761-769.
- [28] Brown M T, Newman J E. Physiological responses of *Gracilariopsis longissima* (S. G. Gmelin) Steentoft, L. M. Irvine and Farnham (Rhodophyceae) to sub-lethal copper concentrations [J]. *Aquatic Toxicol*, 2003, 64: 201-213.
- [29] Rotllant J, Pavlids M, Kentouri M. Non-specific immune system responses in the red porgy *Pagrus pagrus* after crowding stress [J]. *Aquaculture*, 1997, 156: 279-290.
- [30] Iguchi K, Ogawa K, Nagae M, *et al.* The influence of rearing density on stress response and disease susceptibility of ayu (*Plecoglossus altivelis*) [J]. *Aquaculture*, 2003, 220: 515-523.
- [31] Ortuno J, Esteban M A, Meseguer J. Effects of short-term crowding stress on the gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) innate immune response [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2001, 11: 187-197.
- [32] Davis K B, Griffin B R, Gray W L. Effect of handling stress on susceptibility of channel catfish *Ictalurus punctatus* to *Ichthyophthirius multifiliis* and channel catfish virus infection [J]. *Aquaculture*, 2002, 214: 55-66.
- [33] Wagner E, Arndt R, Hilton B. Physiological stress responses, egg survival and sperm motility for rainbow trout broodstock anesthetized with clove oil, tricaine methanesulfonate or carbon dioxide [J]. *Aquaculture*, 2002, 211: 353-366.
- [34] Pankhurst N W, Van Der Kraak G. Effects of stress on reproduction and growth of fish [A]. Iwama G K, Pickering A D, Sumpter J P, *et al.* Eds. *Fish Stress and Health in Aquaculture* [M]. Society for Experimental Biology Seminar Series 62. Cambridge, UK: Cambridge Univ Press, 1997. 73-93.
- [35] Pankhurst N W, Van Der Kraak G. Evidence that acute stress inhibits ovarian steroidogenesis in rainbow trout in vivo, through the action of cortisol [J]. *Gen Com Endocrinol*, 2000, 117: 225-237.
- [36] Haddy J A, Pankhurst N W. Stress-induced changes in concentrations of plasma sex steroids in black bream [J]. *J Fish Biol*, 1999, 55: 1304-1316.
- [37] Schreck C B, Contreras-Sanchez W, Fitzpatrick M S. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny [J]. *Aquaculture*, 2001, 197: 3-24.
- [38] Clearwater S J, Pankhurst N W. The response to capture and confinement stress of plasma cortisol, plasma sex steroids and vitellogenic oocytes in the marine teleost, red gurnard [J]. *J Fish Biol*, 1997, 50: 429-441.
- [39] Foo J T W, Lam T J. Retardation of ovarian growth and depression of serum steroid levels in the tilapia, *Oreochromis mossambicus*, by cortisol implantation [J]. *Aquaculture*, 1993, 115: 133-143.
- [40] Pankhurst N W, Van Der Kraak G, Peter R E. Evidence that the inhibitory effects of stress on reproduction in teleost fish are not mediated by the action of cortisol on ovarian steroidogenesis [J]. *Gen Com Endocrinol*, 1995, 99: 249-257.
- [41] Woo N Y S, Kelly S P. Effects of salinity and nutritional status on growth and metabolism of *Sparus sarba* in a closed seawater system [J]. *Aquaculture*, 1995, 135: 229-238.
- [42] Friede I G. Metabolic scope in fishes [A]. Tyler, Cabw, Eds. *Fish Energetics New Perspective* [M]. London: GROOM HELM, 1985.
- [43] Jobling M, Koskela J, Winberg S. Feeding and growth of whitefish fed restricted and abundant rations: influences on growth heterogeneity and brain serotonergic activity [J]. *J Fish Biol*, 1999, 54: 437-449.
- [44] Alcorn S W, Pascho R J, Murray A L, *et al.* Effects of ration level on immune functions in Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) [J]. *Aquaculture*, 2003, 217: 529-545.
- [45] Ortuno J, Esteban M A, Meseguer J. High dietary intake of α -tocopherol acetate enhances the non-specific immune response of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2000, 10: 293-307.
- [46] Cuesta A, Esteban M A, Ortuno J, *et al.* Vitamin C and disease resistance in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. *Can J Fish Aquat Sci*, 2001, 39: 948-951.
- [47] Henrique M M F, Gomes E F, Gouillou-Coustans M F, *et al.* Influence of supplementation of practical diets with vitamin C on growth and response to hypoxic stress of seabream, *Sparus aurata* [J]. *Aquaculture*, 1998, 161: 415-426.
- [48] Montero D, Marrero M, Izquierdo M S, *et al.* Effect of vitamin E

- and C dietary supplementation on some immune parameters of gilt-head seabream (*Sparus aurata*) juveniles subjected to crowding stress [J]. *Aquaculture*, 1999, 171: 269-278.
- [49] Li M H, Wise D J, Robinson E H. Effect of dietary vitamin C on weight gain, tissue ascorbate concentration, stress response, and disease resistance of Channel catfish *Ictalurus punctatus* [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 1998, 29(1): 1-8.
- [50] Merchie G, Lavens P, Sorgeloos P. Optimization of dietary vitamin C in fish and crustacean larvae: a review [J]. *Aquaculture*, 1997, 155: 165-181.
- [51] Sakakura Y, Koshio S, Iida Y, *et al.* Dietary vitamin C improves the quality of yellowtail (*Seriola quinqueradiata*) seedlings [J]. *Aquaculture*, 1998, 161: 427-436.
- [52] Lim C, Klesius P H, Li M H, *et al.* Interaction between dietary levels of iron and vitamin C on growth, hematology, immune response and resistance of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) to *Edwardsiella ictaluri* challenge [J]. *Aquaculture*, 2000, 185: 313-327.
- [53] Dabrowska H, Dabrowski K, Meyer-Burgdorff K, *et al.* The effect of large doses of vitamin C and magnesium on stress response in common carp, *Cyprinus carpio* [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1991, 99A: 681-685.
- [54] Thompson I, White A, Fletcher T C, *et al.* The effect of stress on the immune response of Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) fed diets containing different amounts of vitamin C [J]. *Aquaculture*, 1993, 114: 1-18.
- [55] Kitabchi A E. Ascorbic acid in steroidogenesis [J]. *Nature*, 1967, 215: 1385-1386.
- [56] Johnston W L, MacDonald E, Hilton J W. Relationships between dietary ascorbic acid status and deficiency, weight gain and brain neurotransmitter levels in juvenile rainbow trout, *Salmo gairdneri* [J]. *Fish Physiol Biochem*, 1989, 6: 353-365.
- [57] Blom J H, Dabrowski K, Rapp J D, *et al.* Competition for space and food in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, as related to ascorbic acid status [J]. *Aquaculture*, 1999, 180: 79-87.
- [58] Wedemeyer J. Stress-induced ascorbic acid depletion and cortisol production in two salmonid fishes [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1969, 29: 1247-1251.
- [59] Wedemeyer J. Some physiological consequences of handling stress in the juvenile coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and steelhead trout (*Salmo gairdneri*) [J]. *J Fish Res Bd Can*, 1972, 29: 1780-1783.
- [60] Montero D, Tort L, Robaina L, *et al.* Low vitamin E in diet reduces stress resistance of gilt-head seabream (*Sparus aurata*) juveniles [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2001, 11: 473-490.
- [61] Hardie L J, Fletcher T C, Secombes C J. The effect of vitamin E on the immune response of Atlantic salmon (*Salmo salar*) [J]. *Aquaculture*, 1990, 87: 1-13.
- [62] Wise D J, Tomasso J R, Schwedler T E, *et al.* Effect of vitamin E on the immune response of Channel catfish to *Edwardsiella ictaluri* [J]. *J Aquat Anim Health*, 1993, 5: 183-188.
- [63] Clerton P, Troutaud D, Verlhac V, *et al.* Dietary vitamin E and rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) phagocyte functions: effect on gut and on head kidney leucocytes [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2001, 11: 1-13.
- [64] Mulero V, Esteban A, Meseguer J. Effects of *in vitro* addition of exogenous vitamins C and E on gilt-head seabream (*Sparus aurata* L.) phagocytes [J]. *Vet Immunol Immunopath*, 1998, 66: 185-199.
- [65] Kiron V, Fukuda H, Takeuchi T, *et al.* Essential fatty acid nutrition and defence mechanisms in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1995, 111A: 351-359.
- [66] Erdal J I, Evensen O, Kaustad O K, *et al.* Relationship between diet and immune response in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) after feeding various levels of ascorbic acid and omega-3 fatty acids [J]. *Aquaculture*, 1991, 98: 363-379.
- [67] Koven W, Barr Y, Lutzky S, *et al.* The effect of dietary arachidonic acid (20:4n-6) on growth, survival and resistance to handling stress in gilt-head seabream (*Sparus aurata*) larvae [J]. *Aquaculture*, 2001, 193: 107-122.
- [68] Kanazawa A. Effects of docosahexaenoic acid and phospholipids on stress tolerance of fish [J]. *Aquaculture*, 1997, 155: 129-134.
- [69] Tago A, Yamamoto Y, Teshima S, *et al.* Effects of 1, 2-di-20:5-phosphatidylcholine (PC) and 1, 2-di-22:6 PC on growth and stress tolerance of Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) larvae [J]. *Aquaculture*, 1999, 179: 231-239.
- [70] Landolt M L. The relationship between diet and immune response in fish [J]. *Aquaculture*, 1989, 79: 193-206.
- [71] Lim C, Klesius P H, Duncan P L. Immune response and resistance of Channel catfish to *Edwardsiella ictaluri* Challenge [J]. *Aquaculture*, 1996, 157: 83-93.
- [72] Wang C, Lovell T, Klesius P H. Response to *Edwardsiella ictaluri* challenge by Channel catfish fed organic and inorganic sources of selenium [J]. *J Aquat Anim Health*, 1997, 9: 172-179.
- [73] Lim C, Klesius P H. Response of Channel catfish (*Ictalurus punctatus*) fed iron-deficient and replete diets to *Edwardsiella ictaluri* challenge [J]. *Aquaculture*, 1997, 157: 83-93.
- [74] Lim L C, Dhert P, Chew W Y, *et al.* Enhancement of stress resistance of the Guppy *Poecilia reticulata* through feeding with vitamin C supplement [J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2002, 33(1): 32-40.
- [75] Sakai M. Current research status of fish immunostimulants [J]. *Aquaculture*, 1999, 172: 63-92.
- [76] Chien Y H, Pan C H, Hunter B. The resistance to physical stress by *Penaeus monodon* juveniles fed diets supplemented with astaxanthin [J]. *Aquaculture*, 2003, 216: 177-191.
- [77] Jeney G, Galeotti M, Volpatti D, *et al.* Prevention of stress in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fed diets containing different doses of glucan [J]. *Aquaculture*, 1997, 154: 1-15.
- [78] Paulsen S M, Engstad R E, Robertsen B. Enhanced lysozyme production in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) macrophages treated with yeast β -glucan and bacterial lipopolysaccharide [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2001, 11: 23-37.
- [79] Chien Y H, Chen I M, Pan C H, *et al.* Oxygen depletion stress on mortality and lethal course of juvenile tiger prawn *Penaeus monodon* fed high level of dietary astaxanthin [J]. *J Fish Soc Taiwan*, 1999, 26: 85-93.

Stress in Aquaculture and Its Prevention with Emphasis on Nutritional Methods

MAI Kang-sen, AI Qing-hui, XU Wei, LIU FU Zhì-guo

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

Abstract: Stress in aquaculture is a stimulus of environmental factors acting on aquatic organisms that are unable to maintain a normal physiologic state because of various factors adversely affecting its well-being. The stresses in aquaculture can be divided into four categories: physical stress, chemical stress, biological stress and management stress. The evaluation indices for stresses include blood cortisol, glucose, lactate, catecholamine and heat shock protein, etc. Stresses usually have negative effects on the physiology, growth and reproduction, immunity, and disease resistance of aquatic animals. In order to prevent stresses or alleviate their negative influences, stressors should be removed and/or the stress resistance of animals should be enhanced. In this paper, the available literature in the past 10 years on aquaculture stresses are reviewed and discussed, with emphasis on nutritional methods for stress influence minimization. The mechanism for the prevention of stresses or the alleviation their influence of through nutritional modulation needs further studies.

Key words: aquaculture; stress; prevention; nutrition