

文章编号: 1674 - 5566(2014)06 - 0848 - 08

乙酰甲嗪对刺参幼参非特异性免疫、生长及抗应激能力的影响

刘 云^{1,2}, 官向红², 徐英江², 安红红^{1,2}, 张华威³, 周全利², 张秀珍^{1,2}

(1. 上海海洋大学 食品学院, 上海 201306; 2. 山东省海洋资源与环境研究院, 山东省海洋生态修复重点实验室, 山东烟台 264006; 3. 烟台山水海产有限公司, 山东烟台 264006)

摘 要: 选用初始体重为 0.6 g 左右的幼参, 水体中分别添加 0 (对照组)、0.5、1.0、2.0、4.0 和 6.0 mg/L 的乙酰甲嗪。前 69 天每两天全部换水后, 按照用药浓度泼洒药物一次。停药两周后经长途运输, 考察其抗应激能力。实验结果表明: 前 30 d, 各组刺参体壁中 SOD 酶活性都呈现增高趋势, 2.0 mg/L 组 SOD 活性达到最高, 之后又呈现降低趋势; 随着乙酰甲嗪浓度的增加, 各实验组刺参体壁中 AKP 和 ACP 酶活性呈现先增加后降低的趋势, 2.0 mg/L 和 4.0 mg/L 组刺参酶活性最高; 40 d 后各实验组刺参体壁酶活性逐渐与对照组持平。所有实验组刺参的末体重、增重率和特定生长率均显著高于对照组 ($P < 0.05$), 4.0 mg/L 组刺参末体重、增重率和特定生长率最高, 显著高于其他各组 ($P < 0.05$); 4.0 mg/L 组成活率为 90.6%, 显著高于其他各组 ($P < 0.05$)。高浓度 (6.0 mg/L) 的乙酰甲嗪导致幼参抗应激能力差。综合以上分析, 认为刺参保苗期间, 乙酰甲嗪的适宜添加量为 2.0 ~ 4.0 mg/L。

研究亮点: 乙酰甲嗪具有广谱抗菌且无耐药性的特点, 但其对刺参的抗病作用及安全剂量研究均处于空白阶段, 本文在水体中添加不同浓度的乙酰甲嗪 (0、0.5、1.0、2.0、4.0 和 6.0 mg/L), 考察刺参幼参的非特异性免疫、生长指标和抗应激能力, 探讨乙酰甲嗪在刺参保苗期间的合理用药。

关键词: 刺参; 乙酰甲嗪; 成活率; 生长; 碱性磷酸酶; 酸性磷酸酶; 超氧化物歧化酶

中图分类号: S 917

文献标志码: A

刺参 (*Apostichopus japonicus*) 营养和药用价值极高, 自古以来就被誉为“海产八珍”之一^[1]。由于野生刺参的资源有限, 为了满足市场需求, 刺参养殖业应运而生^[2]。在刺参养殖中, 有时为了增产或者抗病, 会添加促生长抗病作用的多种药物。

乙酰甲嗪 (Mequindox), 又名痢菌净, 化学名 3-甲基-2-乙酰基-1,4-二氧嗪噁啉, 已被收录入《中华人民共和国兽药典 兽药使用指南 化学药品卷》^[3]。乙酰甲嗪具有广谱抗菌、高效低毒、吸收快、生物利用度高、体内分布广且无耐药性的特点^[4], 可以大大提高饲料转化率^[5]。在畜禽养殖业中得到广泛应用。近年来, 有乙酰甲嗪用于防治鱼^[6-7]、虾^[8]细菌病及其在鲤中的代谢动力

学^[9] 研究报道, 但是尚缺少对其安全性的系统研究, 而在海参养殖中应用及对海参的安全剂量研究均处于空白阶段。本文研究了乙酰甲嗪对刺参幼参非特异性免疫、生长及抗应激能力的影响, 为探讨乙酰甲嗪在刺参保苗期间的合理应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验刺参幼参由黄河三角洲海洋渔业科研推广中心提供, 选择平均体重为 0.6 g 左右的幼参, 于 300 L 塑料水槽中暂养 10 d 后随机分组用于实验, 实验在其保苗车间进行。实验试剂: 乙酰甲嗪, 含量 $\geq 98\%$, 黄色粉末, 购于山东康乐动

收稿日期: 2013-12-03 修回日期: 2014-03-20

基金项目: 山东省科学技术发展计划 (2012GHY11517); 烟台市科技发展计划 (2012134); 国家海洋公益性行业科研专项 (201105013); 水生动物营养与饲料泰山学者岗位 (2007 - 2012)

作者简介: 刘 云 (1987—), 女, 硕士研究生, 研究方向为水产品质量安全。E-mail: yliu_work@163.com

通信作者: 张秀珍, E-mail: zxx0535501@126.com

物保健有限公司。

1.2 实验设计

暂养后的刺参幼参随机分为 6 组,每组设 3 个平行,每个水槽 500 头刺参。实验自 2012 年 7 月 22 日起至 11 月 22 日止,为期 4 个月,实验期间水温未加以控制,变化范围为 18~26℃,与刺参育苗生产实际条件一致。溶解氧保持在 6~8 mg/L,24 h 持续充气,pH 为 7.8~8.2,盐度为 30~32,每天按照刺参生物量的 3%~5% 投喂配合饲料。每两天全量换水一次,清理残料、粪便。每天定时测定水温、pH 和盐度,记录观察刺参生长及健康情况。其中前 69 天用药,乙酰甲嗪用药方式为直接泼洒到水体中,水体体积 250 L,乙酰甲嗪浓度分别为 0、0.5、1.0、2.0、4.0 和 6.0 mg/L。停药两周后每组随机取 50 头幼参经长途运输后观察其抗应激能力变化。

1.3 样品采集及处理

每 10 天取样一次,随机取 6 头,在体壁的另一部位剪取小块,用以制作体壁匀浆液^[6]。将体壁小块置于研钵中,加入适量生理盐水(4℃),在冰浴中研磨,分别制成 10% 的组织匀浆,4℃ 下 5 000 r/min 离心 10 min,取上清液进行酶活性分析。随机取 20 头刺参用于测定平均体重,前 21 天每 7 天取样,之后每 15 天取样。第 69 天时测定幼参的生长指标。

1.4 指标测定

1.4.1 非特异性免疫指标

刺参体壁超氧化物歧化酶(SOD)、碱性磷酸酶(AKP)和酸性磷酸酶(ACP)活性均用南京建成生物工程研究所的酶试剂盒进行测定。

超氧化物歧化酶活力单位定义:每毫克组织蛋白在 1 mL 反应液中 SOD 抑制率达 50% 时对应的 SOD 量为一个 SOD 活力单位(U)。

碱性磷酸酶活力单位定义:每克组织蛋白在 37℃ 与基质作用 15 min 产生 1 mg 酚为 1 个活力单位(U)。

酸性磷酸酶活力单位定义:每克组织蛋白在 37℃ 与基质作用 30 min 产生 1 mg 酚为 1 个活力单位(U)。

组织匀浆液中蛋白含量测定:量取 5 mL 匀浆液,加浓硫酸 20 mL,410℃ 消化 4 h,冷却后,用全自动凯氏定氮仪测定。

1.4.2 生长性能指标

特定生长率(R_{SC}),增重率(R_{WG}),成活率(R_S)计算公式如下:

$$R_{SC}(\%) = \frac{\ln W_2 - \ln W_1}{d} \times 100 \quad (1)$$

$$R_{WG}(\%) = \frac{W_2 - W_1}{W_1} \times 100 \quad (2)$$

$$R_S(\%) = \frac{N_2}{N_1} \times 100 \quad (3)$$

式中: W_1 为初始体重; W_2 为终末体重; d 为养殖天数; N_1 为初始数量; N_2 为终末数量。

1.5 抗应激能力研究

实验过程中每次换水后观察海参状态。停药两周后,将各组刺参分别随机取出 50 头,采用长 70 cm,宽 40 cm 的塑料袋,装入 1/3 海水,充入氧气,用橡皮筋扎口,放入保温箱内,长途运输 5 h。取出置于玻璃水槽中暂养,水体 50 L,水温变化范围为 15~18℃。溶解氧保持在 6~8 mg/L,24 h 持续充气,pH 为 7.8~8.2,盐度为 30~32,观察各组刺参经过长途运输之后的应激情况。

1.6 实验数据处理

统计数据以平均值±标准差(Means±SD)形式表示。实验数据采用 SPSS 19.0 版统计软件进行单因素方差分析(One-Way-ANOVA),当处理之间差异显著($P < 0.05$)时,进行 Duncan 氏多重比较分析。

2 结果与分析

2.1 不同浓度的乙酰甲嗪对刺参幼参非特异性免疫的影响

图 1 表示不同浓度乙酰甲嗪对刺参 SOD 活性的影响。由图可见随着乙酰甲嗪浓度的增加,各实验组刺参体壁中的 SOD 活性呈现先增加后降低的趋势,2.0 mg/L 和 4.0 mg/L 组刺参 SOD 活性较高。随着时间的延长,刺参体壁中 SOD 活性呈现先增加后降低的趋势,30 d 时,各组 SOD 活性均达到最高,此后开始降低。各实验组刺参体壁中 SOD 活性与对照组的差异也呈现先增加后降低的趋势,前 30 d 差异显著($P < 0.05$),40 d 以后趋于对照组水平($P > 0.05$)。

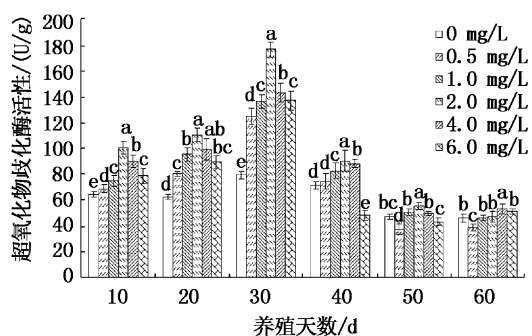


图1 幼参体壁中 SOD 活性比较 (n=18)

Fig. 1 Comparison of SOD activities in body wall of *Apostichopus japonicus* which were exposed to different mequindox solutions (n=18)

不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

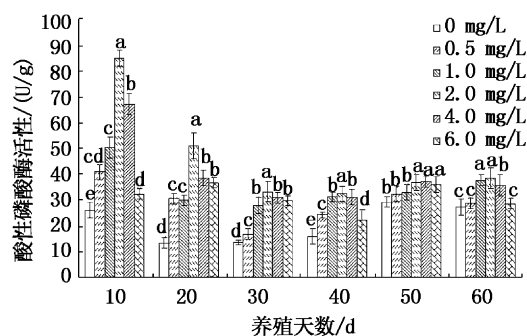


图3 幼参体壁中 ACP 活性比较 (n=18)

Fig. 3 Comparison of ACP activities in body wall of *Apostichopus japonicus* which were exposed to different mequindox solutions (n=18)

不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

图2、图3分别显示了不同浓度的乙酰甲嗪对刺参体壁 AKP、ACP 活性的影响。由图可见, AKP 和 ACP 变化趋势较一致。随着乙酰甲嗪浓度的增大,各实验组刺参体壁中磷酸酶活性呈现先增大后降低的现象,2.0 mg/L 和 4.0 mg/L 组磷酸酶活性较高,而 6.0 mg/L 组活性呈降低现象。随着时间的延长,磷酸酶活性呈先降低后增加的趋势。30~40 d 酶活性均较低,50 d 之后,酶活性增加。各实验组刺参体壁中磷酸酶活性与对照组的差异随着时间的延长有降低的趋势,前40天,各实验组(除0.5 mg/L 组)刺参体壁中磷酸酶的活性显著高于对照组 ($P < 0.05$),50 d 以后趋于对照组水平 ($P > 0.05$)。

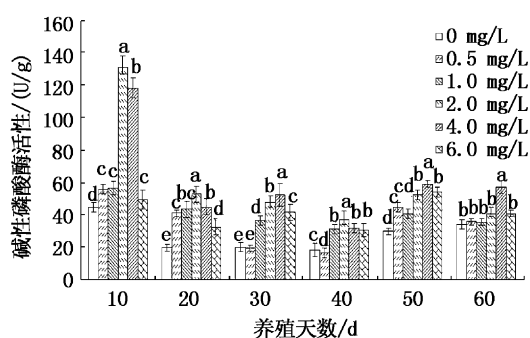


图2 幼参体壁中 AKP 活性比较 (n=18)

Fig. 2 Comparison of AKP activities in body wall of *Apostichopus japonicus* which were exposed to different mequindox solutions (n=18)

不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

2.2 不同浓度的乙酰甲嗪对刺参幼参生长性能的影响

表1数据展示了乙酰甲嗪对幼参生长指标的影响。不同浓度的乙酰甲嗪均可以显著提高刺参的终末体重、增重率和特定生长率。所有实验组刺参的末体重均显著高于对照组 ($P < 0.05$),随着乙酰甲嗪浓度的增大,刺参末体重呈先增加后降低的趋势,4.0 mg/L 组刺参末体重为 4.24 g,比对照组提高了 87.6%。6.0 mg/L 组为 3.52 g,低于 4.0 mg/L 组,与 2.0 mg/L 组差异不显著 ($P > 0.05$)。0.5 mg/L 与 1.0 mg/L 组无显著性差异 ($P > 0.05$)。各实验组刺参增重率和特定生长率均显著高于对照组 ($P < 0.05$)。4.0 mg/L 组刺参增重率和特定生长率最高,分别为 561.5% 和 2.75%,显著高于其他各组 ($P < 0.05$),其次是 6.0 mg/L 和 2.0 mg/L 组 ($P < 0.05$),0.5 mg/L 和 1.0 mg/L 组之间差异不显著 ($P > 0.05$)。各实验组刺参成活率在 84.0%~90.6% 之间,其中对照组的成活率 (84.0%) 最低,显著低于 1.0、2.0、4.0 和 6.0 mg/L 组 ($P < 0.05$),但与 0.5 mg/L 组刺参差异不显著 ($P > 0.05$)。4.0 mg/L 组成活率最高为 90.6%。

图4显示了各个实验组刺参幼参的平均质量增长情况,0~21 d 时各组之间差异不显著,随着用药时间的增加,21~65 d 时,4.0 mg/L 和 6.0 mg/L 组显著高于对照组 ($P < 0.05$)。前35天,

每周平均质量变化趋势较平缓,35~65 d 之间增长趋势较快。用药第 65 天时,4.0 mg/L 组刺参

每周平均质量最明显高于对照组($P < 0.05$)。

表 1 刺参幼参的增重率、成活率和特定生长率($n = 60$)

Tab.1 WGR,SR and SGR of *Apostichopus japonicus* ($n = 60$)

平均值 \pm 标准差

用药浓度/(mg/L)	初体重/g	末体重/g	增重率/%	特定生长率/%	成活率/%
0	0.61 \pm 0.05	2.26 \pm 0.11 ^d	271.8 \pm 19.10 ^e	1.91 \pm 0.09 ^e	84.0 \pm 0.91 ^d
0.5	0.63 \pm 0.04	2.58 \pm 0.16 ^c	309.6 \pm 21.23 ^d	2.13 \pm 0.07 ^d	84.3 \pm 0.82 ^{cd}
1.0	0.62 \pm 0.01	2.62 \pm 0.18 ^c	321.3 \pm 14.44 ^d	2.19 \pm 0.05 ^d	85.2 \pm 0.78 ^c
2.0	0.61 \pm 0.06	3.50 \pm 0.20 ^b	476.9 \pm 15.74 ^b	2.50 \pm 0.05 ^b	85.5 \pm 0.86 ^b
4.0	0.64 \pm 0.02	4.24 \pm 0.25 ^a	561.5 \pm 34.39 ^a	2.75 \pm 0.07 ^a	90.6 \pm 0.72 ^a
6.0	0.62 \pm 0.07	3.52 \pm 0.12 ^b	465.9 \pm 28.25 ^c	2.49 \pm 0.07 ^c	87.8 \pm 0.13 ^{ab}

注:不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

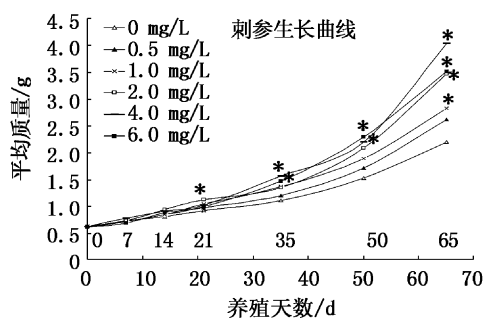


图 4 乙酰甲嗪对刺参幼参生长的影响

Fig.4 Effect of mequindox on growth of *Apostichopus japonicus*

* 表示差异显著($P < 0.05$)。

2.3 不同浓度的乙酰甲嗪对刺参幼参抗应激能力的影响

开始用药一周时,6.0 mg/L 组刺参幼参表现出中毒现象,表面很粘滑、甚至有化皮死亡现象,其余各组与空白组无显著性差别。养殖 10 天左右,6.0 mg/L 组刺参中毒现象逐渐好转,生长状态逐渐恢复正常。

停药后两周,经长途运输 5 h 后暂养,刚放入玻璃水槽中的刺参整体活性不高,沉于底部或抱团靠近充氧气石附近。停药 1 h 后,2.0 mg/L 和 4.0 mg/L 组刺参最先开始舒展。停药 3 h 之后,对照组和 0.5 mg/L 和 1.0 mg/L 组刺参身体舒展,肉刺明显,吸附力强,但是 6.0 mg/L 组刺参只有个别刺参身体舒展开来,活性较低,应激现象严重。停药 24 h 之后,0.5、1.0、2.0 和 4.0 mg/L 组刺参均表现为身体舒展,肉刺明显,活性很高,开始摄食,对照组和 6.0 mg/L 组个别刺参身体柔软光滑,无肉刺,活性低,吸附力弱。停药一周之后,6.0 mg/L 组刺参开始出现化皮现象,

刺参身体光滑有粘液,吸附力弱,其余各组变化不明显。停药一个月之后,6.0 mg/L 组刺参成活率 70%,其余各组成活率均大于 90%,无明显差异。

3 讨论

3.1 乙酰甲嗪对刺参非特异性免疫的影响

刺参由于缺少特异性免疫器官和组织,所以主要依靠非特异性免疫系统对外来物质进行识别和攻击。刺参主要是通过体腔液中具有吞噬能力的细胞对外来物进行吞噬,然后通过细胞内的磷酸酶和过氧化物酶等溶解酶进行裂解和消化,从而达到免疫保护的作用^[10]。SOD、AKP 和 ACP 是评价刺参机体免疫力的常用指标^[11],这些酶在促进新陈代谢、提高免疫力及抗氧化能力等方面起到重要作用。

3.1.1 超氧化物歧化酶(SOD)

正常生理状态下,生物机体细胞代谢会产生超氧阴离子自由基,而 SOD 作为生物体内仅有的以超氧阴离子为作用底物的酶^[12],可以清除体内过多的超氧阴离子自由基,使自由基始终保持在较低的水平,避免机体内因氧自由基浓度过高引起的不良反应^[13]。SOD 的增加或减少受基因的调控,在外界环境因子(如化学毒物)的刺激下,机体受到轻度胁迫时,体内自由基生产量会增加,从而诱导抗氧化酶的合成^[14-15],机体内的 SOD 活性往往会升高,与自由基作用从而消除自由基对机体的损害。如果受到重度逆境胁迫超出了机体自身的防御能力时,就会抑制该类酶的活性,导致生物体内积累了过多的活性氧,造成应激损伤,机体随之发生生理和病理改变。可以

用 SOD 活力的高低来表征生物体是否有病变发生。相关研究发现,含有 N,N 二氧基团的化合物在脱氧的同时会产生超氧阴离子自由基和羟基自由基,1997 年 ACREE 等^[16]研究喹噁啉类药物在脱氧代谢过程中也发现有氢氧自由基产生,过多的自由基可以和 DNA 或者蛋白质结合,导致 DNA 断裂、蛋白质损伤等氧化应激反应,对细胞组织有很强的破坏作用^[17]。含有 N-O 基团的乙酰甲喹药物在脱氧过程中也会产生类似的毒性反应,导致细胞损伤,影响机体功能。

本实验数据显示,各实验组刺参体壁中的 SOD 活性随着乙酰甲喹浓度的增大呈现先增高后降低的趋势。实验初期(10 d),低浓度(0.5 和 1.0 mg/L)组刺参体壁中 SOD 活性与对照组差异不显著,表明低浓度乙酰甲喹对 SOD 活性影响不大。2.0 mg/L 组刺参体壁中 SOD 活性较高,推测本组刺参受到轻度胁迫,乙酰甲喹脱氧过程中会产生自由基,诱导机体产生抗氧化酶,所以 SOD 活性较高。而 4.0 mg/L 和 6.0 mg/L 组刺参体壁中 SOD 活性开始降低,但仍高于对照组和低浓度组,说明当乙酰甲喹浓度达到或超过 4.0 mg/L 时可能对刺参造成了一定程度的氧化应激损伤,这与叶继丹研究结果一致^[18],只是不同药物对不同生物的最高剂量也不同。张华海^[5]发现五种喹噁啉类药物均可以引起细胞内 SOD 先上升后下降,随剂量增大,毒性增大,具有明显的剂量依赖性。随着实验时间的延长,各实验组 SOD 酶活性逐渐升高,到 30 d 达到最高值,并且明显高于对照组,此时正值八月,水温最高,幼参受到环境胁迫,所以 SOD 酶活性最高。低浓度的乙酰甲喹长时间作用依然可以对刺参幼参产生一定的氧化胁迫,诱导机体产生抗氧化酶。实验后期(40 d 以后),各实验组刺参体壁 SOD 酶活性下降,与对照组持平。在整个实验过程中,各组刺参 SOD 活性变化趋势大体相同,都是 8 月份(30 d)最高,其次是 7 月份,9 月份(50 d 以后)开始下降,这与王方雨等^[19]的研究结果一致,推测可能与水温变化有关。

3.1.2 磷酸酶活性

磷酸酶又称正磷酸单酯水解酶,是催化各组合磷化合物水解的酶类,普遍存在于动植物体内^[20],根据催化作用的最适 pH 不同,将其分为酸性磷酸酶(ACP)和碱性磷酸酶(AKP)^[21]。

ACP 和 AKP 都是溶酶体的重要组成部分,对非特异性免疫起着重要作用。

AKP 作为一种重要的水解酶,参与蛋白质、脂质、DNA 的代谢和营养物质的消化吸收^[22],不仅在细胞膜上较为活跃,在体能代谢过程中也具有重要作用,可以加速物质的摄取和转运,为 ADP 磷酸化形成 ATP 提供更多所需要的无机磷,从而促进生长^[23]。ACP 是巨噬细胞内最具有代表性的水解酶之一,溶酶体的标志酶,在低等脊椎动物及软体动物中,保证了溶酶体有效完成防御和消化的双重功能^[24],参与细胞的消化代谢和免疫调节^[25-26]。

本实验数据显示,刺参体壁中 AKP 和 ACP 活性变化趋势类似。实验初期(10 d),各组间刺参 AKP、ACP 活性差异显著,随着乙酰甲喹浓度的升高,呈现先增高后降低的趋势,MENG^[27]研究认为磷酸酶可以被外源刺激物激活,乙酰甲喹可能对磷酸酶具有激活作用,且具有剂量依赖性。低浓度(0.5 mg/L、1.0 mg/L)组,对磷酸酶活性的影响不明显。2.0 mg/L 和 4.0 mg/L 组 AKP、ACP 活性显著高于对照组,6.0 mg/L 组刺参体壁中磷酸酶活性降低,仅略高于对照组,可能是因为高浓度的乙酰甲喹对幼参产生毒性作用,当时该组幼参已出现类似中毒现象。随着实验时间的延长,各实验组磷酸酶活性与对照组的差异呈现先增大后减小的趋势,逐渐与对照组持平,这可能与免疫疲劳有关^[28]。

温度是影响水生动物生长、代谢最重要的环境因子,刺参生长的温度范围为 10 ~ 20 °C^[29],最适生长温度为 15.5 °C^[30]。当环境温度超过 20 °C 时,刺参逐渐停止摄食、开始休眠状态^[31]。幼参虽然不休眠^[32],但是活性也受到影响。实验中期(30 ~ 40 d),由于温度超过 24 °C,刺参体壁中磷酸酶活性降低,与臧元奇^[33]、RONGBIN 等^[34]研究发现温度超过 24 °C 时,刺参体壁和体腔液中 AKP、ACP 活性均表现为逐渐降低一致。实验 50 d 时,水温开始下降,刺参活性升高,所以磷酸酶活性开始升高。

3.2 乙酰甲喹对刺参幼参生长性能的影响

乙酰甲喹属于喹噁啉类药物,具有广谱抗菌性,在水产养殖中主要作为抗菌剂使用,起到杀灭病原菌的作用,其抗菌机理是抑制细菌 DNA 的合成。本研究发现在养殖水体中添加乙酰甲

嗪可以提高刺参幼参成活率,这可能是由于乙酰甲嗪的抗菌作用,减少了刺参幼参感染发病的几率。这与李秀颖^[6]将乙酰甲嗪添加到饲料中治疗青鱼细菌性肠炎病,使青鱼死亡率几乎降低为0的结果一致。水体中添加不同浓度的乙酰甲嗪对刺参幼参的促生长作用不同,添加乙酰甲嗪4.0 mg/L时刺参幼参增重率和特定生长率显著高于其余各组,添加乙酰甲嗪6.0 mg/L之后,呈现降低现象。适量的乙酰甲嗪可以显著地提高刺参幼参的成活率和生长速度。

3.3 不同浓度的乙酰甲嗪对刺参幼参的抗应激能力的影响

实验过程中日常的换水等操作引起刺参幼参的应激状况,各组之间没有显著差异。开始用药一周时,6.0 mg/L组刺参表现出类似中毒现象,甚至有部分个体死亡,原因可能是由于乙酰甲嗪被刺参吸收后在短时间内形成高浓度^[6],对刺参产生毒性作用,本研究中非特异性免疫酶活性也有相应变化。研究表明当乙酰甲嗪的使用剂量高于临床治疗量的3~5倍时就会引起不良反应,甚至引起畜禽死亡^[35]。本研究的结果与上述研究报道一致。

经过长途运输之后,6.0 mg/L组刺参的抗应激能力差,其余各组没有明显差异。胡晓芬研究使用超剂量噻乙醇会导致鱼类出现中毒反应,引起鱼类抗应激力显著降低,呈现“应激性出血症”^[36]。乙酰甲嗪与噻乙醇同属于噻啉类药物,分子中具有相同的母环结构,因而可能具有相似的毒性作用。

综合以上实验结果表明,高剂量的乙酰甲嗪降低了刺参幼参的抗应激能力。

4 结论

养殖水体中添加乙酰甲嗪可以显著地影响刺参的非特异性免疫指标。随着乙酰甲嗪浓度的增加,刺参体壁中的SOD、AKP和ACP活性均呈现先增加后降低的趋势,乙酰甲嗪浓度为2.0~4.0 mg/L时,以上3种酶活性最高;随着实验时间的延长,各实验组刺参体壁中的SOD、AKP、ACP活性与对照组的差异均呈现先增加后降低的趋势,超过40 d后逐渐与对照组持平。

适量的乙酰甲嗪可以显著地提高刺参幼参的成活率和生长速度。水体中乙酰甲嗪浓度为

2.0~4.0 mg/L时幼参生长速度快,成活率高。高浓度的乙酰甲嗪(6.0 mg/L)对幼参产生了一定的毒性,并且导致幼参抗应激能力差。

综合以上分析,认为刺参保苗期间,乙酰甲嗪的适宜添加量为2.0~4.0 mg/L。

参考文献:

- [1] 樊绘曾. 海参:海中人参——关于海参及其成分保健医疗功能的研究与开发[J]. 中国海洋药物, 2001, 20(4): 37-44.
- [2] GAVRILOVA G S, KUCHERYAVENKO A V. Commercial rearing of the sea cucumber *Apostichopus japonicus* in peter the great bay: methodical peculiarities and results of the work of a mariculture farm in sukhodol bight[J]. Russian Journal of Marine Biology, 2010, 36(7):539-547.
- [3] 中国兽药典委员会. 中华人民共和国兽药使用指南 化学药品卷[M]. 北京:中国农业出版社,2010.
- [4] 黄勇旗,李引乾,杨亚军,等. 乙酰甲嗪在绵羊体内的药物动力学研究[J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版, 2008, 36(2):77-81.
- [5] 张华海. 噻啉类在大鼠和猪肝微粒体中脱氧速率与肝细胞中毒性研究[D]. 武汉:华中农业大学,2010.
- [6] 李秀颖. 乙酰甲嗪对青鱼细菌性肠炎病的治疗作用[J]. 吉林水利, 2009, 12(331):50-51.
- [7] 陈灵. 日本鳗鲡腐皮病的原发病原及其治疗实验[D]. 福州:福建农林大学,2010.
- [8] 邢华. 南美白对虾常见疾病控制实例方法介绍[J]. 中国水产,2005(7):85,87.
- [9] 邹荣婕,徐英江,刘京熙,等. 乙酰甲嗪在鲤鱼肌肉组织中的残留消除规律研究[J]. 中国农学通报,2012,28(29): 137-141.
- [10] 孙永欣,王吉桥,汪婷婷,等. 海参防御机制的研究进展[J]. 水产科学,2007,26(6):358-361.
- [11] 李丹彤,谢广成,李洪福,等. 裙带菜和萱藻凝集素对刺参组织主要免疫酶活性的影响[J]. 水产学报,2011, 35(4): 524-530.
- [12] 袁勤生. 现代酶学[M]. 上海:华东理工大学出版社, 2001: 290-325.
- [13] 田春美,钟秋平. 超氧化物歧化酶的现状研究进展[J]. 中国热带医学, 2005, 5(8):1730-1732.
- [14] VAZIRI N D, LIN C Y, FARMAND F, et al. Superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and NADPH oxidase in lead-induced hypertension[J]. Kidney Int, 2003, 63(1):186-194.
- [15] LOPES P A, PINHEIRO T, SANTOS M C, et al. Response of antioxidant enzymes in freshwater fish populations (leuciscus alburnoides complex) to inorganic pollutants exposure[J]. Science of the Total Environment, 2001, 280(1/3):153-163.
- [16] ACREE JR W E, POWELL J R, TUCKER S A, et al.

- Thermodynamic and theoretical study of some quinoxaline 1,4-dioxides and of pyrazine 1,4-dioxide [J]. *Journal of Organic Chemistry*, 1997, 62(11):3722-3726.
- [17] PATTERSON L H. Bioradically activated antitumor N-oxides; the case of AQ4N, a unique approach to hypoxia-activated cancer chemotherapy [J]. *Drug Metabolism Reviews*, 2002, 34(3):581-592.
- [18] 叶继丹. 喹乙醇对鲤鱼的生理生化效益及其在组织中的残留 [D]. 哈尔滨:东北农业大学, 2003.
- [19] 王方雨, 杨红生, 高菲, 等. 刺参体腔液几种免疫指标的周年变化 [J]. *海洋科学*, 2009, 33(7):75-80.
- [20] MURRAY P G, THOMAS D, FRASER A M, et al. Acid phosphatases [J]. *J Clin Pathol; Mol Pathol*, 2002(55):65-72.
- [21] 詹付凤, 赵欣平. 重金属镉对鲫鱼碱性磷酸酶和酸性磷酸酶活性的影响 [J]. *四川动物*, 2007, 26(3):641-643.
- [22] ZHANG R Q, CHEN Q X, ZHENG W Z. Inhibition kinetics of green crab (*Scylla serrata*) alkaline phosphatase activity by dithiothreitol or 2-mercaptoethanol [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2000, 32(8):865-872.
- [23] 周进, 宋晓玲, 王秀华, 等. A3 α 肽聚糖对牙鲆不同组织中超氧化物歧化酶及磷酸酶活性的影响 [J]. *中国水产科学*, 2004, 11(4):296-301.
- [24] 郭伟荣, 刘利平, 张宗锋, 等. 感染鳃弧菌对花鲈非特异性免疫功能的影响 [J]. *上海海洋大学学报*, 2011, 20(1):89-95.
- [25] 于建伟, 李冬梅, 李吉龙, 等. 仿刺参酸性磷酸酶的提取及粗酶性质研究 [J]. *水产科学*, 2009, 28(1):5-7.
- [26] 魏炜, 张洪渊, 石安静. 育珠蚌酸性磷酸酶活力与免疫反应关系的研究 [J]. *水生生物学报*, 2001, 25(4):413-415.
- [27] MENG Z, SHAO J Z, XIANG L X. CpG oligodeoxy nucleotides activate grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) macrophages [J]. *Developmental & Comparative Immunology*, 2003, 27(4):313-321.
- [28] 白楠. 凡纳滨对虾 *Litopenaeus vannamei*、仿刺参 *Apostichopus japonicus* 免疫增强剂使用频率和免疫疲劳的研究 [D]. 青岛:中国海洋大学, 2010.
- [29] 隋锡林. 海参增殖 [M]. 北京:农业出版社, 1988:15-59.
- [30] 董云伟, 董双林, 张美昭, 等. 变温对刺参幼参生长、呼吸代谢及生化组成的影响 [J]. *水产学报*, 2005, 29(5):659-665.
- [31] CHEN J X. Present status and prospect of sea cucumber industry in China [J]. *Fisheries and Aquaculture Department*, 2004:25-38.
- [32] 王方雨. 刺参 *Apostichopus japonicus* 生态免疫与夏眠的基础研究 [D]. 北京:中国科学院, 2008.
- [33] 臧元奇. 刺参 (*Apostichopus japonicus* Selenka) 对典型环境胁迫的生理生态学响应及其机制研究 [D]. 青岛:中国海洋大学, 2012.
- [34] RONGBIN D U, ZANG Y Q, TIAN X L, et al. Growth, metabolism and physiological response of the sea cucumber, *Apostichopus japonicus* selenka during periods of inactivity [J]. *Oceanic and Coastal Sea Research*, 2013, 12(1):146-154.
- [35] 宋宗好, 提金凤, 李婧, 等. 鸡乙酰甲嗪中毒的诊断和预防 [J]. *中国家禽*, 2006, 28(13):41-42.
- [36] 胡晓芬. 喹噁啉类对鲤应激反应的影响研究 [D]. 武汉:华中农业大学, 2008.

Effects of mequindox on non-specific immunity, growth performance and stress resistance of juvenile sea cucumber *Apostichopus japonicus*

LIU Yun^{1,2}, GONG Xiang-hong², XU Ying-jiang², AN Hong-hong^{1,2}, ZHANG Hua-wei³, ZHOU Quan-li², ZHANG Xiu-zhen^{1,2}

(1. College of Food Science and Technology, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Shandong Marine Resources and Environment Research Institute, Shandong Provincial Key Laboratory of Restoration for Marine Ecology, Yantai 264006, Shandong, China; 3. Yantai Shanshui Seafood Co. Ltd, Yantai 264006, Shandong, China)

Abstract: The present study aimed to evaluate the effects of mequindox on non-specific immunity, survival rate, growth performance and stress resistance in juvenile sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) breeding. The sea cucumbers with initial body weight of 0.6g were exposed to different mequindox solutions of 0 (control group), 0.5, 1.0, 2.0, 4.0 and 6.0 mg/L for 69 days. The resistance after long-distance transportation was investigated two weeks after the drug withdrawal. The results showed that the AKP, ACP and SOD enzyme activities of juvenile sea cucumber increased significantly after the use of mequindox, and reached peak in the 2.0 mg/L, 4.0 mg/L mequindox solutions and then decreased as the mequindox continued to increase. However, after 40 days, the enzyme activities in the experimental groups generally decreased to the values in the control group. Appropriate amounts of mequindox can increase the growth rate and survival rate of the sea cucumber. The final body weight (FBW), weight gain rate (WGR) and specific growth rate (SGR) in the experimental groups were significantly higher than those in the control group ($P < 0.05$). The FBW, WGR and SGR were the biggest in the 4.0 mg/L mequindox solution with the highest survival rate (90.6%), significantly higher than the other groups ($P < 0.05$). Besides, high concentration of mequindox (6.0 mg/L) decreased the stress resistance of juvenile sea cucumber. Our study suggested that the proper amount of mequindox for juvenile sea cucumber in the period of growth seeding was approximately 2.0 mg/L–4.0 mg/L.

Key words: *Apostichopus japonicus*; mequindox; survival rate; growth performance; AKP; ACP; SOD