

# 鱼类的运输应激反应诱发因素、影响及缓解措施

李勇男<sup>1</sup>, 刘海英<sup>1,\*</sup>, 苏从毅<sup>2</sup>

(1. 江南大学食品学院, 江苏无锡 214122;

2. 无锡中粮工程科技有限公司, 江苏无锡 214035)

**摘要:** 运输过程中污染、振动的水体、高度拥挤、温度等突然改变的环境都会引发鱼类产生运输应激反应, 对鱼体健康造成影响, 严重时会导致衰弱而死。对此, 本文主要介绍了运输应激的诱发因素以及对鱼类造成的不利影响, 并列出了目前预防和缓解运输应激的相关措施, 提出了运输应激研究的必要性。

**关键词:** 运输应激, 诱发因素, 影响, 缓解措施

## Induced factors, effects and mitigation measures of stress response of fish during transportation

LI Yong-nan<sup>1</sup>, LIU Hai-ying<sup>1,\*</sup>, SU Cong-yi<sup>2</sup>

(1. School of Food Science and Engineering, Jiangnan University, Wuxi 214122, China;

2. Wuxi Scientific Research & Design Institute of the State Administration of Grain, Wuxi 214035, China)

**Abstract:** The sudden changes of environment, such as pollution and vibration of water, varied temperature and crowded conditions, can cause stress response of fish during transportation. Transport stress can damage fish health and eventually cause death. This paper introduced the causes of stress response and its detrimental to fish, and listed the response measures to alleviate transportation stress as well. In addition, the paper pointed out the necessary and importance for the study on transportation stress of fish.

**Key words:** transport stress; induced factors; effect; mitigation measures

中图分类号: TS254

文献标识码: A

文章编号: 1002-0306(2015)23-0391-04

doi:10.13386/j.issn1002-0306.2015.23.073

随着现代养殖业的迅速发展, 粗放养殖模式逐渐被集约化养殖所替代。鱼类在集约化养殖过程中, 极易受到饲养密度、环境变化、水质污染、饲料组成和饲养管理等方面因素影响而产生应激, 如胁迫应激、温度应激等<sup>[1]</sup>。

应激学说是由加拿大病理生理学家 Hans Selye 于 1936 年提出的, 认为应激反应是动物体受到一切不利因素的刺激后随机产生的非特异性适应性反应, 亦即应激综合征<sup>[2]</sup>。轻度应激会对鱼类的生长产生影响, 如果应激的刺激强度过大或持续时间过长, 超过机体的耐受力, 就会导致机体免疫力下降, 诱发疾病甚至是死亡。

运输应激则是养殖到销售环节之间一种较为常见的氧化应激反应。目前, 我国鱼类的保活运输以有水通氧运输为主<sup>[3]</sup>, 采取通入水体氧气、空气或者泼洒制氧剂为主要保活手段。保活运输虽然能使大

部分鱼保“活”, 但是运输过程中污染、振动的水体、高度拥挤、温度等突然改变的环境都会引发鱼类不同程度的氧化应激反应, 对鱼体健康产生影响。

### 1 运输应激的诱发因素

运输应激是指动物在运输过程中, 由于禁食、环境变化、颠簸等因素的综合作用下, 产生的适应性或防御性反应<sup>[4]</sup>。同氧化应激一样, 运输应激的发生涉及到神经和内分泌两大调节系统, 并伴随着糖、蛋白、脂肪及水盐代谢的变化。有研究表明, 在运输胁迫条件下, 银鲟血清皮质醇、血糖与乳酸含量显著升高<sup>[5]</sup>。周传朋等<sup>[6]</sup>研究团头鲂运输应激也得到类似结论。

实际上, 运输应激就是在众多应激源刺激下机体所产生的一种氧化应激反应。其机理为机体受到外界环境刺激时, 通过氧化还原反应进行多层次应激性调节和信号转导, 以消除体内产生过多氧自由

收稿日期: 2015-02-09

作者简介: 李勇男(1990-), 男, 硕士, 研究方向: 动物营养与饲料科学, E-mail: nanyongli2013@163.com。

\* 通讯作者: 刘海英(1973-), 男, 博士, 副教授, 研究方向: 水产品加工及贮藏工程研究, E-mail: liuhaiying@jiangnan.edu.cn。

基金项目: “十二五”农村领域国家科技计划课题(2011BAD26B04)。

基,避免氧化损伤。

### 1.1 氨氮胁迫

在运输环节中,水体中的氨氮是主要的环境胁迫因子,来源于鱼体的排泄物。运输水体中的氨氮主要以非离子氨(或称游离氨,  $\text{NH}_3$ )和离子氨( $\text{NH}_4^+$ )的形式存在,两者的存在比依赖于水的pH、温度、溶解氧等因素。一般把氨的毒性归因于非离子氨,而认为离子氨无毒或毒性很小<sup>[7]</sup>。因为非离子氨不带电荷,半径小,更易透过脂质性生物膜的疏水性微孔进入生物体内,造成生物体氨中毒。

运输过程的水体中,由于鱼类排泄物得不到及时清除,氨氮持续累积,其含量会逐渐升高。有研究表明<sup>[8]</sup>,高浓度的氨氮胁迫会对鱼鳃丝表皮细胞造成损害,影响鳃的气体交换功能,并且破坏渗透平衡,引起肝脏肾脏等组织器官病变,降低机体免疫力,严重时造成鱼体衰竭而死。黄云<sup>[9]</sup>和刘娥<sup>[10]</sup>分别对青鱼幼鱼和草鱼幼鱼进行氨氮毒性研究,确定青鱼幼鱼和草鱼幼鱼的96 h半数致死浓度分别为36.4 mg/L和48.16 mg/L,并发现青鱼幼鱼在96 h高氨氮胁迫后,鱼腮小片基部的毛细血管破裂,鳃小片呼吸上皮细胞也出现大面积脱落,腮丝  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP酶活性也出现了显著性变化。

### 1.2 拥挤胁迫

运输过程中,为提高经济利益,经营者往往会增加运输量,这样就造成了拥挤胁迫。拥挤胁迫同其他环境胁迫一样,首先会引起机体神经内分泌活动的变化,然后会影响到生理、生化和免疫反应的变化,最后造成机体抗病力下降,严重时会导致鱼体衰竭而死。

有关拥挤胁迫对鱼类的影响,国内外均有报道。李爱华<sup>[11]</sup>和王文博<sup>[12]</sup>对草鱼进行拥挤胁迫实验后,发现草鱼的脾脏脏器和血清杀菌活性显著降低,致使非特异性免疫功能下降。此外,Eva等<sup>[13]</sup>还研究了拥挤胁迫中大西洋鲑鱼的肌肉和血浆蛋白的变化,发现拥挤胁迫对鲑鱼体内的组织代谢产生了一定的影响。

### 1.3 振动胁迫

运输过程中,运输工具会因为环境的因素,不可避免的产生颠簸,引起水体的振动,尤其是国内以陆路运输为主,由于道路环境的变化性和不可预知性,振动自然就能成为了运输过程中的一个重要应激源。

目前,针对振动胁迫的研究较少,侧重点大多在于胁迫后鱼体的抗病性方面。同其他环境胁迫一样,鱼体受到振动刺激后,会产生应激反应,引起体内各项生理指标的变化,若刺激强度超过鱼体所能自我调节的阈值,则会引起体内器官的损伤,免疫力严重下降。王文博<sup>[12]</sup>在对鲫鱼的振动胁迫实验中发现,振动刺激后鲫鱼血液皮质醇水平显著升高,血液溶菌酶水平也得到了提高,Demer等<sup>[14]</sup>用虹鳟做的振动胁迫实验中也得到相似结论,进一步说明鱼体在振动刺激下产生了应激反应。

## 2 运输应激对鱼类生理活动的影响

### 2.1 运输应激对鱼类内分泌活动的影响

皮质醇是应激反应系统中,最后分泌的一种激素,皮质醇、血糖和乳酸常被作为应激反应的敏感指标,可以反映鱼类应激反应的强弱。彭士明等<sup>[15]</sup>对银鲟进行运输胁迫后发现银鲟血清皮质醇、血糖与乳酸含量显著性变化,呈现不同程度的升高。当鱼体受到氧化应激刺激时,会通过下丘脑-垂体-肾间组织进行应激调节,下丘脑促肾上腺皮质激素释放激素(CRH)、垂体促肾上腺皮质激素(ACTH)以及肾上腺糖皮质激素(GCS),都会过度分泌,激活皮质醇相关基因的表达,使皮质醇含量增加<sup>[16]</sup>。皮质醇含量的异常增高会扰乱鱼体糖代谢、免疫等生理功能,影响鱼类的健康成长。此外,下丘脑还可以通过神经内分泌系统调节机体糖、蛋白、脂肪及水盐代谢,协助机体抵抗应激。

### 2.2 运输应激对鱼类抗氧化功能的影响

抗氧化防御体系可以清除体内多余的自由基,维持体内自由基的平衡,因此自由基的变化也势必会影响到机体的抗氧化功能。抗氧化防御体系主要由抗氧化酶如超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)及抗氧化物质谷光氨肽(GSH)组成。其中,超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)在抗氧化系统中占有重要地位。超氧化物歧化酶可以将超氧阴离子催化为氧分子和反应活性较低的过氧化氢<sup>[17]</sup>,过氧化氢酶则会高效催化降解过氧化氢,生成水和氧气,阻断Fenton反应,防止破坏性极大的羟自由基的产生<sup>[18]</sup>。

在正常或应激强度较弱的情况下,抗氧化体系可以动员抗氧化酶和抗氧化物质清除过量的自由基,维持自由基产生与清除的动态平衡。而当应激强度过强或时间过长时,会产生大量的自由基,超过抗氧化体系处理自由基的阈值。同时,机体组织会受到严重损伤,导致抗氧化物质合成能力下降,抗氧化水平下降,氧化-抗氧化平衡被破坏。刘娥等<sup>[10]</sup>在对草幼鱼进行氨氮亚致死胁迫实验中发现,在氨氮浓度过高( $\geq 9.0$  mg/L)时,草幼鱼的肝脏、肌肉组织细胞内的MDA和ROS急剧上升,尽管抗氧化酶的活性在不断升高,但仍未能清除过多的活性氧自由基。Santos等<sup>[19]</sup>研究了密度和水质胁迫对欧洲石斑鱼生长性能的影响,得出相似的结论。

### 2.3 运输应激对鱼类组织器官和免疫功能的影响

运输应激对组织器官和免疫功能的影响主要与氧化应激强度和时间的长短有关。在慢性应激初期,对组织器官的影响较小,但应激刺激会使部分免疫指标代偿性升高,如溶菌酶活性、白细胞吞噬活性等。而应激较强或持续时间过长,过量的自由基会严重损伤部分组织器官,甚至会导致鱼体死亡。有学者研究发现<sup>[8]</sup>,高浓度的氨氮胁迫会导致肾脏发生病变,使肾小管和动脉球退化,肾小囊膨胀、充血、阻塞和出血,肝脏中则会引起充血、退化、甚至出现一些坏死腔。此外,过度分泌的激素会抑制机体的免疫功能,致使免疫器官指数下降,降低免疫细胞和免疫因子活性<sup>[20-21]</sup>。研究表明<sup>[12]</sup>,对草鱼进行高密度的拥

挤胁迫后发现血清杀菌活性和脾脏脏系数显著降低,非特异性免疫功能受到抑制。

### 3 缓解鱼类运输应激的措施

目前,有关预防和缓解鱼类运输应激反应的措施与传统抗氧化应激的方法基本一致,主要有苗种培育和改良、药物缓解、低温运输等方面。

#### 3.1 培育抗应激抗病品种

研究表明,鱼类不同个体和品种之间,其应激反应强度存在着差异,并且这种差异具有一定的遗传性<sup>[22]</sup>。因此,可以选择低反应强度的群体作为育种的对象,通过品系选育、杂交育种、现代细胞工程和基因工程等手段,定向培育抗应激鱼类新品种或家系。Ruiz-Gomez等<sup>[23]</sup>和 Overli<sup>[24]</sup>等对虹鳟进行选择改良,最终验证虹鳟在应对应激反应的行为策略方面具有可塑性,并且培育出了高、低应激耐受性两个不同家系的虹鳟。

#### 3.2 药物缓解

利用药物缓解鱼类运输应激反应是运输过程中广泛采用的有效手段。常用的药物主要有免疫增强剂、麻醉以及镇静药物等。

3.2.1 免疫增强剂 水产免疫增强剂有五类,分别是:人工合成免疫增强剂、维生素类、动植物提取物类、微生物类、微量元素。这几种免疫增强剂主要是添加到饲料中,鱼类摄食后,在鱼体内发挥作用,增强鱼类的抗应激能力。研究发现<sup>[25]</sup>,饲料中添加酵母核苷酸可以有效提高鲤鱼机体超氧化物歧化酶、溶菌酶和血清过氧化氢酶的活性。郝丽娟等<sup>[26]</sup>在饲料中添加V<sub>C</sub>能显著提高牙鲆仔鱼高温应激后存活率。此外,饲料中添加V<sub>C</sub>还可提高团头鲂HSP70s mRNA的表达水平<sup>[27]</sup>、降低苗王云鲫因运输应激引起的血清皮质醇浓度<sup>[28]</sup>,增强鱼体抵抗运输应激的能力。

除此之外,饲料中添加动植物提取物、微生物和微量元素等都可以增强鱼体抗应激胁迫能力。刘波<sup>[29]</sup>、明建华<sup>[27]</sup>和崔惟东<sup>[30]</sup>分别在饲料中添加不同比例的大黄葱醌提取物、大黄素和虾青素,发现鱼体的非特异性免疫力以及抗氧化能力显著增强。

3.2.2 麻醉、镇静类药物 麻醉以及镇静药物主要有吸入型麻醉剂如MS-222、丁香酚、苯唑卡因等,注射型麻醉剂有克他命、异丙粉等,主要用于大型鱼类的麻醉<sup>[31]</sup>,其中以MS-222应用最为广泛。麻醉、镇静类药物主要是降低鱼类的代谢水平和对应激的敏感度,在运输、疾病治疗、科研方面应用广泛,以缓解操作刺激引起的应激反应,减小对鱼体的损伤。但是此类药物使用后,往往需要一定休药期以排出体内药物残留,不太适合鱼类的商业运输。

#### 3.3 低温运输

温度是影响鱼类正常生理机能的重要因素之一。温度不仅影响鱼类的机体代谢,而且还在免疫功能和消化酶活性方面起着重要作用<sup>[32]</sup>。低温运输是指通过降低水体和鱼体温度以达到缓解运输应激的目的,因为低温环境下鱼体的新陈代谢速率和耗氧量显著降低,从而抑制了氨氮、二氧化碳等代谢产

物的生成和微生物的生长,并且低温环境下鱼体活动量减少,减少碰撞和摩擦,避免了疾病感染和应激反应的产生。张瑞霞等<sup>[33]</sup>研究了低温处理对鲫鱼生化特性的影响,发现低温环境(6.5℃)下鲫鱼的存活率显著高于对照组(6.5℃),并且鲫鱼血液的乳酸脱氢酶、谷草转氨酶、血糖和皮质醇含量均比对照组低,进一步说明低温环境可以在一定程度上降低鱼体的应激敏感度。低温运输前要对鱼类进行低温驯化,不适当的低温驯化会造成鱼类死亡。

### 4 展望

活鱼运输是集约化养殖模式中的重要环节,运输过程中鱼体会受到拥挤、碰撞、水质恶化等多方面影响,产生运输应激反应,易造成鱼类活动异常,生长性能下降,抗病力减弱,降低经济利益。目前,针对运输应激作用机制和缓解措施的研究并不完善,今后应加强运输模型的建立,进行运输应激对鱼类抗氧化功能和免疫功能影响的分子机制的研究,探寻缓解运输应激更为简单、有效的措施。只有真正深入了解并掌握应对运输应激的手段,才能保证集约化养殖业的健康、持续、稳定发展,实现经济效益最大化。

#### 参考文献

- [1]方允中,杨胜,伍国耀.自由基、抗氧化剂、营养素与健康的关系[J].营养学报,2003,25(4):337-343.
- [2]卢庆萍等(译).动物应激生物学[M].中国农业出版社,2005,10.
- [3]Wurts, W.A. Live fish transport using compressed and liquid oxygen[J]. World Aquaculture, 2006, 37(3):26-27.
- [4]张林,张海军,岳洪源,等.运输应激对畜禽的影响以及应对措施[J].家畜生态学报,2009,30(2):106-109.
- [5]彭士明,施兆鸿,李杰,等.运输胁迫对银鲟血清皮质醇、血糖、组织中糖元及乳酸含量的影响[J].水产学报,2011,35(6):831-836.
- [6]周传朋,刘波,谢骏.抗应激剂对运输团头鲂血清生化指标和肝脏抗氧化指标的影响[J].水产科学,2014,33(1):8-14.
- [7]Smart G R. The effect of ammonia exposure on gill structure of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. Journal of Fish Biology, 1976, 8(6):471-475.
- [8]Peyghan R, Takamy G A. Histopathological, serum enzyme, cholesterol and urea changes in experimental acute toxicity of ammonia in common carp *Cyprinus carpio* and use of natural zeolite for prevention [J]. Aquaculture International, 2002, 10:317-325.
- [9]黄云.维生素C、E对青鱼氨氮胁迫的营养调控研究[D].长沙:湖南农业大学,2012.
- [10]刘娥.草鱼幼鱼对氨氮胁迫的形态及生理学响应[D].济南:山东大学,2013.
- [11]李爱华.拥挤胁迫对草鱼血浆皮质醇、血糖及肝脏中抗坏酸含量的影响[J].水生生物学报,1997,21(4):384-386.
- [12]王文博.环境胁迫、中草药及基因转植对鱼体非特异性免疫功能的影响[D].北京:中国科学院研究生院,2005.
- [13]Eva Veiseth-Kent. Changes in muscle and blood plasma proteomes of Atlantic salmon (*Salmo salar*) induced by crowding



- [J]. Aquaculture, 2010, 309(4): 272-279.
- [14] Demers N E, Bayne C J. The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout [J]. Developmental & Comparative Immunology, 1997, 21(4): 363-373.
- [15] Denham Harman. Aging: A theory based on free radical and radiation chemistry [M]. California: University of California, 1955.
- [16] Bonga S E W. The stress response in fish [J]. Physiological Reviews, 1997, 77(3): 591-625.
- [17] JOSÉ M. MATÉ S. Antioxidant enzymes and human diseases [J]. Clinical Biochemistry, 1999, 32(8): 595-603.
- [18] 董伟仁. 河豚 NKEF 与 PBEF 基因鉴定、功能及机制研究 [D]. 杭州: 浙江大学, 2008.
- [19] Santos G. A. et al. Chronic stress impairs performance, energy metabolism and welfare indicators in European seabass (*Dicentrarchus labrax*): The combined effects of fish crowding and water quality deterioration [J]. Aquaculture, 2010, 299(4): 73-80.
- [20] 张朝晖, 李幸, 吴端生. 辐对红鲫免疫及生殖功能的影响 [J]. 实用预防医学, 2011, 12(1): 7-8.
- [21] 李文祥, 谢骏, 宋锐, 等. 水体 pH 胁迫对异育银鲫皮质醇激素和非特异性免疫的影响 [J]. 水生生物学报, 2011, 35(2): 256-261.
- [22] Pottinger T G, Pickering A D, Iwama G K, et al. Genetic basis to the stress response: selective breeding for stress-tolerant fish [J]. Fish stress and health in aquaculture, 1997: 171-193.
- [23] Maria de Lourdes Ruiz - Gomez. Behavioral plasticity in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) with divergent coping styles: when doves become hawks [J]. Hormones and Behavior, 2008, 54(4): 534-538.
- [24] Øyvind Øverli. Behavioral indicators of stress-coping style in rainbow trout: Do males and females react differently to novelty? [J]. Physiology and Behavior, 2006, 87(3): 506-512.
- [25] 向泉, 周兴华, 陈建, 等. 酵母核苷酸对鲤生长性能、体组成及血清免疫指标的影响 [J]. 动物营养学报, 2011, 31(1): 171-178.
- [26] 赫丽娟, 王鹤, 任同均, 等. 维生素 C 对牙鲆仔鱼存活率及抗应激能力的影响 [J]. 饲料工业, 2011, 32(4): 25-28.
- [27] 明建华, 谢俊, 徐跑, 等. 大黄素、维生素 C 及其配伍对团头鲂抗拥挤胁迫的影响 [J]. 水生生物学报, 2011, 35(3): 400-413.
- [28] 陈鹏飞, 伍莉.  $V_C$  对苗王云鲫生长及运输应激的影响 [J]. 畜牧市场, 2009, 4: 21-24.
- [29] 刘波, 郑小平, 周群兰, 等. 大黄萜醌提取物对建鲤抗应激及生长的影响 [J]. 动物学报, 2006, 52(5): 899-906.
- [30] 崔惟东, 冷向军, 李小勤, 等. 虾青素和角黄素对虹鳟肌肉着色和肝脏总抗氧化能力的影响 [J]. 水产学报, 2009, 6: 987-995.
- [31] Harms C A, Lewbart G A. Murry. Fish surgery [J]. Seminars in Avian and Exotic Pet Medicine, 2002, 11(4): 246-257.
- [32] Carlos A. Martínez - Palacios, Erik Barriga Tovar, John F. Taylor, et al. Effect of temperature on growth and survival of *Chiostoma estor estor*, Jordan 1879, monitored using a simple video technique for remote measurement of length and mass of larval and juvenile fishes [J]. Aquaculture, 2002, 209(4): 369-377.
- [33] 张瑞霞. 运前处理对鲫鱼生化特性及肉质的影响 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2008.
- [34] (上接第 390 页)
- peanut allergens Ara h1, Ara h2, Ara h3, and Ara h 6: A comparative *in vitro* study and partial characterization of digestion-resistant peptides [J]. Molecular nutrition & food research, 2010, 54(12): 1711-1721.
- [37] Shin D S, Compadre C M, Maleki S J, et al. Biochemical and structural analysis of the IgE binding sites on Ara h1, an abundant and highly allergenic peanut protein [J]. Journal of Biological Chemistry, 1998, 273(22): 13753-13759.
- [38] Van Boxtel E L, van Beers M M C, Koppelman S J, et al. Allergen Ara h 1 occurs in peanuts as a large oligomer rather than as a trimer [J]. Journal of agricultural and food chemistry, 2006, 54(19): 7180-7186.
- [39] Thomas K, Aalbers M, Bannon G A, et al. A multi-laboratory evaluation of a common *in vitro* pepsin digestion assay protocol used in assessing the safety of novel proteins [J]. Regulatory Toxicology and Pharmacology, 2004, 39(2): 87-98.
- [40] Teodorowicz M, Fiedorowicz E, Kostyra H, et al. Effect of Maillard reaction on biochemical properties of peanut 7S globulin (Ara h 1) and its interaction with a human colon cancer cell line (Caco-2) [J]. European journal of nutrition, 2013, 52(8): 1927-1938.
- [41] Liu Y, Zhao G, Zhao M, et al. Improvement of functional properties of peanut protein isolate by conjugation with dextran through Maillard reaction [J]. Food Chemistry, 2012, 131(3): 901-906.
- [42] 任娇艳, 胡晓, 崔春, 等. TGase 酶法交联改善低温花生粕分离蛋白功能特性的研究 [J]. 北京工商大学学报: 自然科学版, 2011, 29(5): 16-20.
- [43] 涂宗财, 张雪春, 刘成梅, 等. 超高压微射流对花生蛋白结构的影响 [J]. 农业工程学报, 2008, 24(9): 306-308.
- [44] Hu X, Ren J, Zhao M, et al. Emulsifying properties of the transglutaminase-treated crosslinked product between peanut protein and fish (*Decapterus maruadsi*) protein hydrolysates [J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2011, 91(3): 578-585.
- [45] 熊柳, 孙高飞, 王建化, 等. 花生分离蛋白磷酸化改性研究 [J]. 食品科学, 2010(10): 35-41.
- [46] Zhao G, Liu Y, Zhao M, et al. Enzymatic hydrolysis and their effects on conformational and functional properties of peanut protein isolate [J]. Food Chemistry, 2011, 127(4): 1438-1443.
- [47] 李宏. 花生变应原研究 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 2000: 7-8.