文章编号: 1000-0615(2017)12-1867-11 DOI: 10.11964/jfc.20161210662

盐度与pH对花鲈孵化、初孵仔鱼成活及早期幼鱼生长性能的影响

刘 阳, 温海深*, 李吉方, 张美昭, 李 昀, 王晓龙, 常志成, 田 源
(中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003)

摘要: 为探究我国北方海域花鲈繁育适宜盐度和pH处理的设定, 及促进早期花鲈苗种推广, 本研究针对不同盐度(0、15、20、25、30、35和40)与pH(5.5、6.5、7.5、8.5和9.5)条件下, 北方人工繁殖花鲈受精卵的孵化率、畸形率及饥饿10 d后的存活情况进行了分析, 并对花鲈初孵仔鱼进行不投饵耐饥饿实验, 记录每日存活率(SR)及最终生存活力指数(SAI)。最后观测低盐0、养殖盐度30与高盐45对花鲈早期幼鱼生长性能的影响。结果显示, 北方海域花鲈受精卵适宜孵化盐度为20~35, 以盐度25组孵化率最高, 适宜pH为6.5~7.5, 以pH 6.5组孵化率最高。低盐15组中, 具最低的孵化率及最高的畸形率, 但在最终饥饿SR的统计中, 低盐15组的SR及SAI明显高于盐度30与35组, 推测低盐15接近花鲈体液等渗点, 降低了渗透调节中的能量消耗, 更利于存活。初孵仔鱼饥饿实验中, 盐度20组SR下降相对平缓, 在第8天仍有12.66% 的SR(其他组已为0)。饥饿1 d时, 各pH组SR均小于90%, 以pH 6.5组SR最高, 为89.11%。与盐度处理组相比, 花鲈初孵仔鱼对pH变化较为敏感, 其孵化率及最终SR显著低于盐度处理组。花鲈早期幼鱼盐度处理组中, 低盐0与高盐45将对此规格花鲈幼鱼产生较大损伤, 以高盐45抑制最显著, 应为苗种盐度推广的上限, 而花鲈生长盐度30与各处理盐度相比, 较适合花鲈早期幼鱼的生长。研究结果将为北方海域花鲈繁育适宜盐度和pH处理的设定, 及提高花鲈孵化率、育苗成活率与早期苗种推广提供基础资料。

关键词: 花鲈; 盐度; pH; 孵化率; 生存活力指数; 生长
中图分类号: S 965.2 **文献标志码:** A

花鲈(*Lateolabrax maculatus*)属鲈形目(Perciformes), 鮨科(Serranidae), 花鲈属(*Lateolabrax*)。具生长快、病害少、适应广等特点。近几年, 对该品种进行的淡水养殖实验中, 其亦可正常存活与生长[1]。目前我国花鲈养殖规模不断扩大, 由20世纪70年代初期的港养、池塘养殖, 发展到现代海水网箱养殖、工厂化养殖等高密度集约化养殖方式[2]。随着花鲈人工养殖范围的不断扩大, 花鲈苗种生产的需求量亦不断攀升, 我国北方沿海已经突破花鲈全人工繁育技术难关, 这将增加北方地区花鲈苗种供应数量, 进而带动北部沿海和内陆水域鲈鱼养殖业的蓬勃发展。

盐度与pH是影响海产鱼类生存、生长的重要环境因子, 同时对鱼卵的正常孵化、发育也起着重要作用。鱼类早期发育阶段对水体盐度变化较为敏感, 当其超出适宜范围时, 会引起鱼类器官或组织的坏死[3], 进而导致孵化率降低、畸形率升高、仔鱼活力下降[4]。有关pH对花鲈受精卵的孵化及初孵仔鱼存活活力的影响未

收稿日期: 2016-12-26 修回日期: 2017-03-06
资助项目: 现代农业产业技术体系专项(CARS-47); 山东省东营市支农资金渔业科技研发专项(20150217)
通信作者: 温海深, E-mail: wenhaishen@ouc.edu.cn

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

见报道。我国内陆水域咸淡水分布不均，因此研究不同盐度对花鲈早期幼鱼生长性能的影响，将有利于花鲈苗种在北方的推广，进而带动我国北方花鲈市场的兴起。本研究探讨了不同盐度与pH条件下，北方全人工繁殖花鲈胚胎发育、初孵仔鱼活力及早期幼鱼生长性能，为提高花鲈孵化率、育苗成活率及推进早期苗种推广提供基础资料。

1 材料与方法

采用单因素实验法，每部分设3个平行，受精卵孵化盐度组中，设5个梯度：15、20、25、30、35，初孵仔鱼盐度组中设7个梯度：0、15、20、25、30、35、40，早期幼鱼盐度组中设0、30、45 三个梯度。pH组设置5个梯度：5.5、6.5、7.5、8.5、9.5。测定花鲈受精卵的孵化率与畸形率，对花鲈初孵仔鱼进行饥饿实验，测定其存活率(survival rate, SR)及生存活力指数(survival activity index, SAI)，并形态学观察实验鱼体体态及游动活力情况。同时测定盐度处理后的早期幼鱼基础生长指标以及胃中消化酶与肝脏中抗氧化酶活性。盐度实验中pH为7.9，pH实验中盐度为30。

1.1 实验对象

盐度对花鲈早期幼鱼生长影响的实验于2016年1月下旬进行，盐度与pH对花鲈胚胎发育、初孵仔鱼活力影响的实验于同年11月上旬进行。实验场地均由东营利津双瀛水产苗种有限责任公司提供。实验用鱼为北方养殖花鲈繁育群体，经人工催产、授精所得的同批受精卵、初孵仔鱼及早期幼鱼。实验前卵粒饱满，初孵仔鱼与早期幼鱼体质健康。

参考已有花鲈早期发育的研究[5]，并结合基地实际情况，将实验水温控制在(17±1) °C，光照强度400~500 lx，12L∶12D(上海嘉定学联实业JD-3型照度计测定)。实验期间采用微充气孵育，防止受精卵因堆积、沉底造成缺氧死亡。实验用水：低盐0组(盐度0)为经过曝气1 d以上的自来水；正常海水盐度组(盐度30)为经沙滤、曝气沉淀后，再经25#浮游生物网(去除海水中可能存在的浮游生物)进行过滤的自然海水；高盐处理组(盐度35、40、45)为正常组海水加海水晶，用ATAGO手持式折光仪对所需盐度进行配置，其余低盐组为正常组海水加曝气1 d以上的自来水进行配置。根据sartorius PB-10在自然海水基础上，加入HCl或NaOH(烟台市双双化工有限公司)调至所需实验pH，期间每隔12 h进行校正使其在0.2范围内变化。

1.2 实验步骤

不同盐度下受精卵的孵化实验 挑选发育正常的受精卵分组放于2.5 L盛有不同盐度梯度海水的孵化杯(直径0.14 m，高度0.18 m)中，每组300粒受精卵，恒温(17±1) °C微充气孵育。在此期间记录孵化率与畸形率(畸形仔鱼指脊柱弯曲、尾部弯曲、心包肿大的个体)，并对全部孵出仔鱼进行10 d饥饿养殖，观察其存活情况。

不同pH条件下受精卵的孵化实验 在天然海水中加入HCl或NaOH调至所需pH，将花鲈受精卵分组放于盛有不同pH海水的2.5 L孵化杯中(规格同前)，期间每隔12 h用pH计进行校正，使其在0.2范围内变化。期间记录孵化率及畸形率。并对全部孵出仔鱼进行10 d饥饿实验，统计实验后的存活情况。

不同盐度对花鲈初孵仔鱼活力的影响 在受精卵孵化盐度梯度基础上，增加低盐(0)与高盐(40)处理组。待仔鱼完全孵出后，挑取无异常仔鱼50尾，放入盛有10 L上述不同盐度梯度海水的圆桶(直径：0.26 m，高度：0.30 m，容积15 L)中，恒温(17±1) °C下微充气培育，不投饵，每日定时吸取死亡仔鱼1次(以吸管轻触无反应者视为死亡)，计算仔鱼死亡数，直至仔鱼全部死亡，然后比较不投饵条件下的SR及SAI值。

不同pH对花鲈初孵仔鱼活力的影响 pH梯度设定与受精卵孵化pH梯度相同，挑取体质健康初孵仔鱼50尾，放入盛有10 L上述不同pH梯度海水的圆桶中(容积15 L)，恒温(17±1) °C下微充气培育，不投饵，每天记录仔鱼死亡数，直至仔鱼全部死亡，然后计算SR，比较SAI值。

不同盐度下早期幼鱼生长性能实验 随机选取15尾实验早期幼鱼进行基础生物学指标的测定，其平均体长为(1.91±0.08)cm，平均体质量为(0.11±0.02)g。将此规格鱼种经1周盐度适应后，分别在养殖水体30、低盐0、高盐45三个盐度组中进行2个月的长期养殖。容积为600 L的长方形水槽(长1.30 m，宽0.80 m，高0.60 m，有效水体500 L)，每桶150尾。实验期间，每日饱食投喂2次，分别为上午8:00、下午4:00，每日下午

http://www.scxuebao.cn
?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

4:30吸污1次，并记录存活情况。当养殖60 d时，取每个处理组中10尾鱼，经麻醉(ms-222)进行常规采样，记录体质量、肝质量、去内脏质量，解剖取其胃及肝脏器官经液氮速冻后，置于–80 °C冰箱中保存，用于后续酶活测定。消化酶与抗氧化酶的具体测定原理及方法参考施永海等[6]。

1.3　数据处理与分析

孵化率(hatching rate, HR, %)=孵出仔鱼数/受精卵数×100

畸形率(deformity rate, DR, %)=孵出的畸形鱼苗/孵出仔鱼总数×100

存活率(survival rate, SR, %) =(N_t/N_0)×100

式中，t为实验开始时间(d)，N_t为最终存活数，N_0为起始尾数；

生存活力指数(survival activity index, SAI)=$\sum_{i=1}^{k}(N-h_i)\times i/N$

式中，N为起始的仔鱼数，K为仔鱼全部死亡所需的天数，h_i为第i天时仔鱼的累积死亡数；

增重率(weight gain rate, WGR, %)=(W_t–W_0)/W_0×100

特定生长率(specific growth rate, SGR, %/d)=(ln W_t–ln W_0)×100/t

肝体比(hepato–somatic index, HSI, %)=W_H/W_B×100

脏体比(viscero–somatic index, VSI, %)=W_V/W_B×100

式中，W_t、W_0分别为实验花鲈终末体质量和初始体质量，t为实验天数，W_H、W_V、W_B分别为肝质量、内脏质量和终末湿质量。

所有实验数据均采用单因子方差分析(One-Way ANOVA)及Duncan检验进行多重比较，确定组间是否具有差异性，以P<0.05为有显著性差异。利用SPSS统计软件(19.0)对所有实验数据进行统计分析。用平均值±标准误近似表示形态统计值，用Origin Pro 9.0 软件进行作图。

2　结果

2.1　不同盐度下受精卵的孵化情况

盐度处理组中(图1-a)，在盐度15~35时，花鲈受精卵均能孵化。盐度20~35实验组的受精卵孵化率均高于50%；其中以盐度25组孵化率最高，为68.42%；而盐度15 组的孵化率降至最低水平，为47.96%。畸形率中，盐度20~35组均小于15%；而低盐15组具最高的畸形率，为28.72%。对各盐度处理组的全部孵出仔鱼进行10 d不投喂

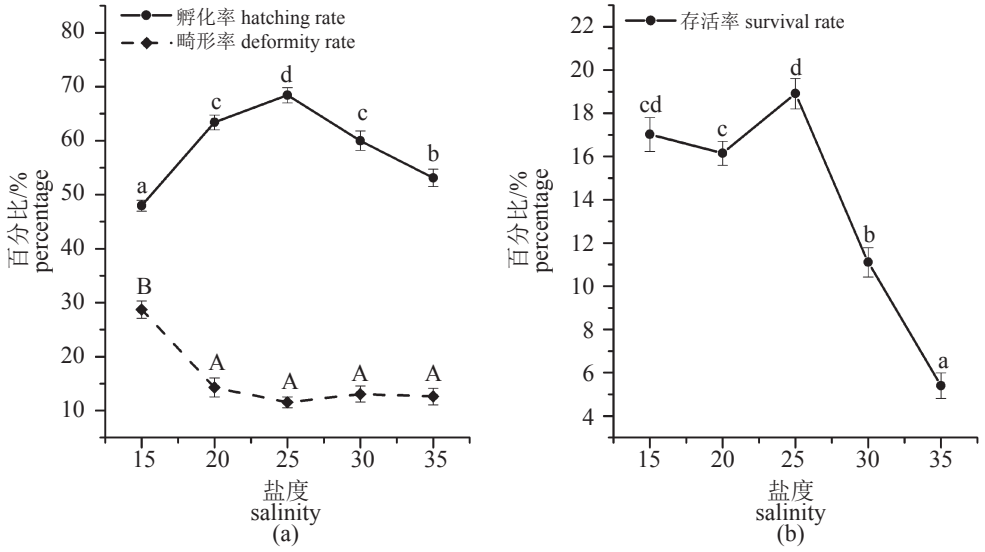

图 1　不同盐度下花鲈受精卵的孵化率和畸形率(a)及饥饿10 d后存活率(b)

不同大写或小写字母均表示差异显著(P<0.05)，下同

Fig. 1　Hatching rate of embryos and abnormal rate of newly-hatched larvae (a) and survival rate after 10 days of starvation (b) of *L. maculatus* at different salinity

Different letters indicate significantly different (P<0.05), the same below

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

饥饿处理中(图1-b)，各盐度处理组初孵仔鱼最终存活情况大体呈先上升后下降趋势，其中以盐度25组的SR最高，为18.91%；而在高盐35组中，出现SR的最低值，同时形态学观察，该处理组仔鱼鱼体皱缩，游动能力明显低于其他组。

2.2 不同pH下受精卵的孵化情况

在pH 5.5~9.5内均能孵出花鲈仔鱼，但pH 5.5与9.5组的孵化率显著低于其他组，分别为7.41%与11.68%(图2-a)。pH 6.5~8.5时，花鲈受精卵的孵化率介于47.64%~53.01%，其中pH 6.5组与pH 7.5组的孵化率高于50%，分别为53.01%与51.26%。对初孵仔鱼进行饥饿10 d的实验中，pH 5.5与9.5组仔鱼全部死亡，以pH 6.5组SR最高，为10.32%(图2-b)。

2.3 盐度对花鲈初孵仔鱼活力的影响

不同盐度条件下不投饵花鲈初孵仔鱼的SR及SAI值见表1。当盐度为0时，仔鱼2 d内全部死亡；高盐40中，仔鱼6 d内全部死亡。在饥饿的前3 d中，盐度15与20组的SR均为90%以上；但盐度15中，SR在6~7 d中出现骤降；而盐度20组SR下降相对平缓，并在第8天中仍有12.66 %

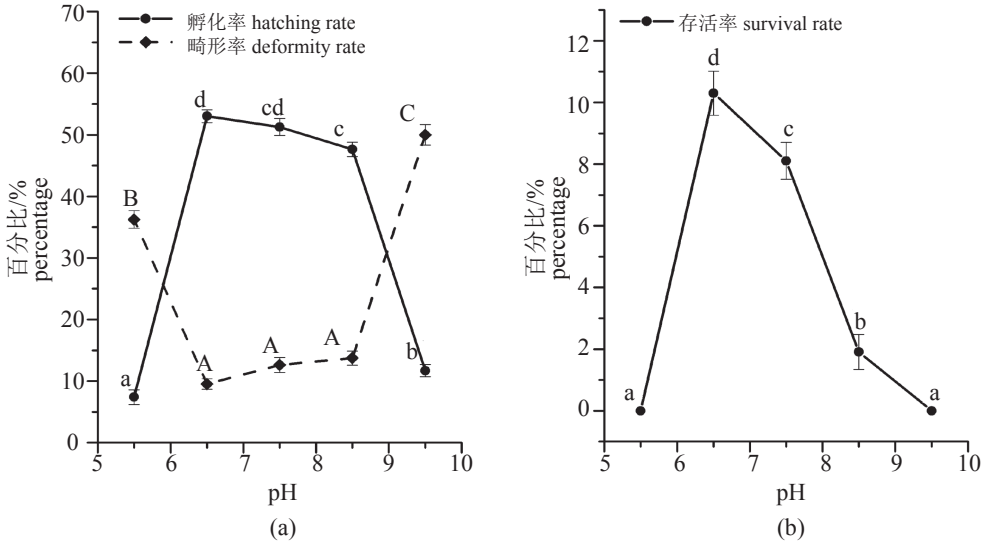

图 2 不同pH下花鲈受精卵的孵化率和畸形率(a)及饥饿10d后存活率(b)

Fig. 2 Hatching rate of embryos and abnormal rate of newly-hatched larvae(a) and survival rate after 10 days of starvation(b) of *L. maculatus* at different pH

表 1 花鲈初孵仔鱼在不投饵、不同盐度条件下的存活率及生存活力指数

Tab. 1 SR and SAI of *L. maculatus* newly-hatched larvae without feeding at different salinity

盐度 salinity	仔鱼孵化后不同天数中的存活率/% SR of larval *L. maculatus* post hatching									SAI
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	9 d	
0	3.96	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04±0.01^{a}
15	97.65	94.12	92.94	92.94	90.59	52.94	7.06	0.00	0.00	15.13±0.19^{f}
20	98.73	94.94	94.94	83.54	78.48	64.56	44.30	12.66	0.00	20.99±0.69^{g}
25	89.25	78.49	67.74	55.91	54.84	43.01	12.90	0.00	0.00	12.96±0.61^{e}
30	82.18	70.30	56.44	42.57	38.61	22.77	4.95	0.00	0.00	9.27±0.41^{d}
35	78.49	63.44	48.39	30.11	24.73	12.90	4.30	0.00	0.00	7.02±0.27^{c}
40	77.55	62.24	39.80	22.45	6.12	0.00	0.00	0.00	0.00	4.42±0.23^{b}

注：同一列中标有不同字母的数值表示差异显著 (P<0.05)，下同

Notes: values within the same row with different letters are significantly different (P<0.05), the same below

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

的SR(其他组已为0)。养殖盐度30组第1天的SR低于90%。各盐度处理组间，初孵仔鱼的SAI值具显著差异(P<0.05)。SAI值随盐度升高呈先升高后下降趋势，在盐度20组中达到峰值。盐度15、20与25处理组SAI值均超过10，其中以盐度20处理组SAI值最大，为20.99±0.69。而低盐0组中，SAI值最小，仅为0.04±0.01。

2.4　pH对花鲈初孵仔鱼活力的影响

pH对花鲈初孵仔鱼活力具显著影响(表2)。饥饿第1天时，SR均小于90%，以pH 6.5最高，为89.11%；而在pH 5.5中达到最低，为16.48%。pH 9.5中，初孵仔鱼3 d内全部死亡。以pH 6.5与7.5组存活时间最长，可达7 d。SAI值随pH的升高总体呈先上升后下降趋势，在pH 6.5组中达到峰值，为9.78±0.47。

2.5　盐度对花鲈早期幼鱼生长性能的影响

经60 d养殖实验后，养殖盐度30组的终末体质量、WGR、SGR均显著优于低盐0与高盐45组(P<0.05)(表3)。SR中以低盐0组最高，为91.8%。HSI在各盐度之间无显著差异，而在VSI的测定中，低盐0与养殖盐度30间无显著差异，以高盐45组VSI值最低(P<0.05)。

对花鲈幼鱼胃消化酶的测定中，3个盐度处理组间在胃蛋白酶与淀粉酶活性间无显著差异。脂肪酶活性测定中，低盐0组值最高，高盐45组值最低，各盐度组间差异显著(P<0.05)。肝脏抗氧化酶活性测定中，各盐度组间的超氧化物歧化酶活性无显著性差异。而丙二醛(MDA)的测定中，养殖盐度30组MDA值显著低于低盐0组与高盐45组(P<0.05)。

3　讨论

3.1　盐度对花鲈受精卵孵化及初孵仔鱼活力的影响

在盐度对花鲈受精卵孵化影响的研究中，王永新等[7]率先提出，花鲈受精卵在盐度13~31内，均能孵出仔鱼，但低盐13~16与高盐31组的孵化率较低而其畸形率较高。黄杰斯[8]在对南方养殖花鲈受精卵的孵化研究中指出，盐度

表 2　花鲈初孵仔鱼在不投饵、不同pH条件下的存活率及生存活力指数

Tab. 2　SR and SAI of *L. maculatus* newly-hatched larvae without feeding at different pH

pH	仔鱼孵化后不同天数中的存活率/%　SR of larval *L. maculatus* post hatching								SAI
	1 d	2 d	3 d	4 d	5 d	6 d	7 d	8 d	
5.5	16.48	7.69	4.40	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.45±0.04^{a}
6.5	89.11	82.18	68.32	52.48	39.36	11.88	5.94	0.00	9.78±0.47^{d}
7.5	78.79	63.64	51.52	32.32	25.25	8.08	3.06	0.00	6.86±0.45^{c}
8.5	52.43	30.10	22.33	16.16	9.71	5.83	0.00	0.00	3.28±0.23^{b}
9.5	24.51	0.03	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.25±0.03^{a}

表 3　不同盐度对花鲈幼鱼生长、存活率、增重率、特定生长率、肝体指数及脏体指数的影响

Tab. 3　The effects of different salinity on the growth, survival rate, WGR, SGR, HSI, VSI of juvenile *L. maculatus*

指标 index	低盐(0) lower S (0)	正常(30) normal S (30)	高盐(45) higher S (45)
初始体质量/g　initial body weight	0.11±0.02	0.11±0.02	0.11±0.02
终末体质量/g　final body weight	0.76±0.02^{a}	0.87±0.02^{b}	0.74±0.03^{a}
存活率/%　SR	91.80±0.68^{c}	88.25±0.62^{b}	81.08±1.49^{a}
增重率/%　WGR	6.14±0.12^{a}	7.16±0.19^{b}	5.96±0.18^{a}
特定生长率/(%/d)　SGR	3.28±0.03^{a}	3.50±0.02^{b}	3.23±0.04^{a}
肝体指数/%　HSI	1.96±0.24^{a}	2.03±0.22^{a}	2.19±0.25^{a}
脏体指数/%　VSI	12.94±0.12^{b}	12.84±0.12^{b}	12.38±0.09^{a}

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表 4 不同盐度对花鲈幼鱼胃消化酶及肝脏抗氧化酶活性的影响

Tab. 4 The effects of different salinity on the activities of digestive enzymes in stomach and anti-oxidant enzymes in liver of juvenile *L. maculatus*

指标 indicator	低盐(0) lower S (0)	正常(30) normal S (30)	高盐(45) higher S(45)
胃蛋白酶/(U/mg prot) pepsin	72.09±5.03[a]	75.31±4.77[a]	68.86±5.41[a]
淀粉酶/(U/mg prot) amylase	0.58±0.10[a]	0.41±0.13[a]	0.54±0.15[a]
脂肪酶/(U/g prot) lipase	820.65±80.82[c]	605.07±23.56[b]	415.52±34.12[a]
超氧化物歧化酶/(U/mg prot) superoxide dismutase	63.13±2.57[a]	67.64±2.34[a]	65.5±1.92[a]
丙二醛/(nmol/mg prot) malondialdehyde	22.43±1.32[b]	13.62±0.62[a]	18.64±1.89[b]

15~30组的孵化率均大于90%；盐度20~30组中，畸形率均低于5%。本研究中，在盐度15~35时，花鲈受精卵均能孵化，适宜孵化盐度范围为20~35，其中盐度25组孵化率最高，为68.42%。畸形率中，盐度20~35组均小于15%，以低盐15组最高。本实验得出的孵化率以及适宜孵化盐度范围，与以往研究结果有一定差异，可能因首次对北方花鲈群体进行北方孵化养殖，亲鱼性腺发育与繁殖调控时间中存在某些薄弱环节，如利于亲鱼性腺发育的最佳饵料配比的确定，开始进行人工温度调控的时间以及温度变化幅度的确立等。同时，受精卵和初孵仔鱼新陈代谢较旺盛，对水质特别敏感，水质条件差或理化因子含量超过其耐受范围时，都会导致花鲈受精卵的孵化率过低。此外，本实验繁殖亲本长期生活在盐度30的水域中，是否导致其适宜孵化盐度范围上调，有待进一步研究。

低盐15组中，具最低的孵化率及最高的畸形率，可能在渗透调节中，与原生质层仅有防止受精卵失水，而不能阻止水进入受精卵的特性相关[9]，但在最终饥饿存活数目的统计中，低盐15组的SR及活力明显高于盐度30与35组，Sampaio等[10]指出，广盐性鱼类其体液等渗点相当于盐度10~13，推测低盐15接近花鲈体液等渗点，使其用于渗透调节的能量减少，并减少了非正常状态下的物理损伤，更利于存活[11]。对各实验盐度条件下，针对胚胎发育各个时期及初孵仔鱼在24 h内存活情况均有研究[12-13]，而将受精卵孵化及初孵仔鱼最终存活情况进行整体性的研究未见报道，本研究对各实验条件下，花鲈受精卵的孵化及饥饿后最终整体存活情况进行分析，更全面地探讨各盐度处理在花鲈早期各阶段的作用差异，为花鲈早期更加细化的系统培育提供借鉴。

SAI值的大小一般与受精卵质量及环境中理化因子的适宜度相关。宋振鑫等[14]指出，初孵仔鱼主要靠卵黄供能，研究环境因素对其初孵阶段的影响，主要依据饥饿状态下，仔鱼每日SR及最终的SAI进行评估，一般SAI值越高，初孵仔鱼活力越强。在SAI测定中，对实验用初孵仔鱼的选择有所不同[7, 14-15]。有学者采用经各实验处理孵出后的健康初孵仔鱼进行后续饥饿实验，而多数采用正常孵化条件下的初孵仔鱼，再进行各实验梯度下SAI值测定。前者选择原孵化条件下的仔鱼进行饥饿实验，使其在相对稳态下的SAI值更具真实性，但容易造成两端极端条件下实验初孵仔鱼数目不足，限制该实验条件下SAI值的测定。后者虽可一定程度上引起实验初期的环境胁迫，影响SAI值的准确性，但其可较大范围内对各实验处理进行SAI值的探究，同时在实际生产中，各养殖环境未能与育苗环境条件保持完全一致，可见后者的探究更有益于实践的推广。本实验采用正常孵化的初孵仔鱼进行各实验梯度的研究。结果显示，初孵仔鱼面对直接的淡水胁迫，SR极低，可能巨大的渗透压超过了其所能承受的调节范围，同时从形态学观察，死亡鱼体膨胀、身体僵直，可能因大量水分进入所致。而低盐15、20组的存活情况显著优于养殖盐度30水体，其中以盐度20组的存活情况最稳定，此结果与Johnson等[16]研究盐度对舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*)仔鱼存活、生长影响的结果相一致。而高盐处理组每日SR及最终SAI值较低，可能与初孵仔鱼渗透压调节机制还未完善有关[17]，高盐水体会导致鱼体大量失水，加快能量代谢，最终引起鱼体SR下降[18]。

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3.2　pH对花鲈受精卵孵化及初孵仔鱼活力的影响

鱼类受精卵孵化为一复杂的生理、生化过程，受诸多因素制约，其中环境因素pH通过直接影响与鱼类孵化相关酶的活性，进而对孵化进程产生影响，使鱼类孵化对pH因素具很强的依赖性[19-20]。本研究中，在pH 5.5~9.5范围内均能孵化出花鲈仔鱼，但pH 5.5与9.5组的孵化率显著低于其他组。继续饥饿处理中，pH 5.5与9.5组仔鱼全部死亡，以pH 6.5组SR最高，为10.32%。与盐度处理组相比，花鲈初孵仔鱼对pH变化较为敏感，其孵化率及最终存活情况显著弱于盐度处理组，推测外界环境pH的大幅度变化将不利于花鲈种群的补充及可持续性[21]。在研究pH对斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)受精卵孵化的影响中[22]，得出其最适pH范围为6.5~7.5。本实验得出较适宜pH为6.5~7.5，而养殖水体pH为7.9左右，说明其值并非最适pH，需对其进一步探究。对花鲈初孵仔鱼活力影响的研究中，饥饿1 d时，各pH组SR均小于90%，以pH 6.5组最高，为89.11%。其中pH 6.5与7.5组存活时间最长，可达7 d。SAI值随pH的升高总体呈先上升后下降趋势，在pH 6.5组中达到峰值，为9.78±0.47。初步认为，花鲈初孵仔鱼偏喜弱酸环境。张海发等[15]研究pH对黄鳍东方鲀(*Takifugu xanthopterus*)受精卵孵化及仔鱼活力影响中，认为pH在5.5~9.0范围内，pH变化对其仔鱼SAI值影响不大。而较多鱼类孵化中较适宜pH一般偏碱性[14, 19]，同时花鲈精子在pH 7.5时，具有持久的活力[23]，因此需要对花鲈孵化中存在的潜在机制进行探究，使其更具科学实用性。

3.3　盐度对花鲈早期幼鱼生长性能的影响

早期幼鱼最佳养殖环境的确定将有益于养殖收益的获取[16]，本实验对长成盐度为30的花鲈早期幼鱼进行2个极端盐度的饲养，将为养殖盐度对花鲈早期幼鱼生长性能影响的评估及最佳出苗规格的判定提供理论依据。基础指标中，养殖盐度30组的终末体质量、增重率、特定生长率均显著优于其他组(P<0.05)。SR中以低盐0组最好，而高盐45组SR仅为81.08%。这些基础生长存活指标可较直观地反映出各处理对实验鱼产生的长期影响[24]。HSI在各盐度组间无显著差异，而VSI在高盐45组中最低(P<0.05)。极端盐度处理未引起花鲈早期幼鱼肝体指数的显著变化，而高盐45组脏体指数的明显降低，可能与高盐处理组鱼体偏瘦，摄食活力低下相关。在对花鲈进行不同配合饲料的投喂中[25]，MCA(中链脂肪酸)、PA(棕榈酸)及SA(硬脂酸)组与对照组FO(鱼油)相比，其终末体质量、特定生长率及摄食率显著降低，其中MCA组的VSI与对照组相比有所降低，而PA及SA组的VSI与OA(十八烯酸)、LNA(α-亚麻酸)及N-3 LC-PUFA(n-3长链–多不饱和脂肪酸)组相比极显著降低，可见通过VSI变化可大体对处理后实验鱼体的健康状况进行评估。

鱼类摄食情况可直接引起相关消化酶活性的变化[26]，对花鲈幼鱼胃消化酶的测定中，3个盐度处理组间在胃蛋白酶与淀粉酶活性间无显著差异。而在脂肪酶活性测定中，各盐度组间差异显著，以高盐45组值最低(P<0.05)。推测经2个月养殖实验后，各盐度组实验鱼逐渐适应其养殖盐度，形成新的相对稳态消化系统，故在胃蛋白酶与淀粉酶活性测定中无显著差异。而脂肪酶活性在高盐处理组中最低，因肝脏是脂肪酶生成的主要器官，故可能与肝脏受损相关[27]。所有动物都具有体内抗氧化系统，用以维持自身健康和防止氧化诱导产生的损伤，SOD可防止活性氧随意产生，MDA的高低可反映细胞膜的氧化损伤程度[28-29]。本实验肝脏抗氧化酶活性测定中，SOD活性在各盐度处理组间无显著差异。而在MDA的测定中，养殖盐度30组MDA水平显著低于其他组(P<0.05)，而低盐0与高盐45组间无显著差异。SOD活性在高盐45组中较低，但未达到显著水平。可能在高盐环境下，引起生物体代谢异常产生大量活性氧自由基(ROS)，进而抑制了SOD活性[29]。而从较低MDA水平中可看出，养殖盐度30组产生的活性氧较低，其体质较健康(从终末体质量、增重率与特定生长率中也可看出)，而低盐0与高盐45组的MDA水平显著高于养殖盐度30组(P<0.05)。初步认为低盐0与高盐45将对此规格花鲈幼鱼产生较大损伤，总体分析，高盐45应为此规格苗种盐度推广的设定上限，而花鲈生长盐度30相比较适宜，此结果与王海亮等[30]研究盐度胁迫对花鲈幼鱼肠道抗氧化能力影响中，得出盐度25是花鲈较适宜的生长盐度相类似，但需对其进行下一步梯度划分，从而探讨花鲈早期幼鱼的最佳盐度设定。

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

4 结论

本研究中，我国北方海域花鲈受精卵在盐度15~35与pH 5.5~9.5范围内均能孵化。适宜孵化盐度为20~35，以盐度25组孵化率最高，适宜pH为6.5~7.5，以pH 6.5组孵化率最高。初孵仔鱼饥饿实验中，盐度0时仔鱼2 d内全部死亡，盐度20组SR下降相对平缓，并在第8天中仍有12.66%的SR(其他组已为0)。饥饿1 d时，各pH组SR均小于90%，以pH 6.5组SR最高，为89.11%，其中pH 6.5与7.5组存活时间最长，可达7 d。与盐度处理组相比，花鲈初孵仔鱼对pH变化较为敏感，其孵化率及最终存活情况显著弱于盐度处理组。花鲈早期幼鱼盐度处理中，低盐0与高盐45将对此规格花鲈幼鱼产生较大损伤，以高盐45抑制最显著，为花鲈早期苗种盐度推广的上限。相比之下，花鲈早期苗种生长发育盐度30较适宜。

参考文献：

[1] Zhang X, Wen H, Wang H, *et al*. RNA-Seq analysis of salinity stress-responsive transcriptome in the liver of spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*)[J]. PloS One, 2017, 12(3): e0173238.

[2] 温海深, 张美昭, 李吉方, 等. 我国花鲈养殖产业现状与种子工程研究进展[J]. 渔业信息与战略, 2016, 31(2): 105-111.
Wen H S, Zhang M Z, Li J F, *et al*. Research progress of aquaculture industry and its seed engineering in spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*) of China[J]. Fisheries Information and Strategy, 2016, 31(2): 105-111(in Chinese).

[3] 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]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2008, 149(3): 330-337.

[4] Yokogawa K, Taniguchi N, Seki S. Morphological and genetic characteristics of sea bass, *Lateolabrax japonicus*, from the Ariake Sea, Japan[J]. Ichthyological Research, 1997, 44(1): 51-60.

[5] 胡先成, 曹双俊, 周忠良, 等. 花鲈胚胎发育的研究[J]. 重庆师范学院学报(自然科学版), 1997, 14(2): 51-56.
Hu X C, Cao S J, Zhou Z L, *et al*. Studies of embryonic development of *Lateolabrax japonicus*[J]. Journal of Chongqing Teachers College (Natural Science Edition), 1997, 14(2): 51-56(in Chinese).

[6] 施永海, 张根玉, 张海明, 等. 配合饲料和活饵料对刀鲚幼鱼生长、存活和消化酶、非特异性免疫酶、代谢酶及抗氧化酶活性的影响[J]. 水产学报, 2014, 38(12): 2029-2038.
Shi Y H, Zhang G Y, Zhang H M, *et al*. Effects of compound feed and live feed on the growth, survival, and the activities of digestive enzyme, nonspecific immunity enzyme, metabolic enzyme, and antioxidant enzyme of young fish *Coilia nasus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(12): 2029-2038(in Chinese).

[7] 王永新, 陈建国, 孙帼英. 温度和盐度对花鲈胚胎及前期仔鱼发育影响的初步报告[J]. 水产科技情报, 1995, 22(2): 54-57.
Wang Y X, Chen J G, Sun G Y. Effects of temperature and salinity on embryo and early larvae development in common sea bass, *Lateolabrax japonicus*[J]. Fisheries Science & Technology Information, 1995, 22(2): 54-57(in Chinese).

[8] 黄杰斯. 几种水环境理化因子对花鲈孵化与生长发育的影响及毒性试验研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2015.
Huang J S. Experimental study on toxicity and effect of several water environmental physical-chemical factors on hatching, growth and development of *Lateolabrax maculatus*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2015 (in Chinese).

[9] 麦贤杰, 黄伟健, 叶富良, 等. 海水鱼类繁殖生物学和人工繁育[M]. 北京: 海洋出版社, 2005.
Mai X J, Huang W J, Ye F L, *et al*. Reproductive Biology and Artificial Breeding of Marine Fishes[M]. Beijing: China Ocean Press, 2005 (in Chinese).

[10] Sampaio L A, Wasielesky W, Miranda-Filho K C. Effect of salinity on acute toxicity of ammonia and nitrite to juvenile *Mugil platanus*[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2002, 68(5): 668-674.

[11] Sampaio L A, Bianchini A. Salinity effects on osmoregulation and growth of the euryhaline flounder *Paralichthys orbignyanus*[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2002, 269(2): 187-196.

[12] 蔡文超, 区又君, 李加儿. 盐度对条石鲷胚胎发育的影

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

响[J]. 生态学杂志, 2010, 29(5): 951-956.
Cai W C, Ou Y J, Li J E. Effects of water salinity on embryonic development of rock bream *Oplegnathus fasciatus*[J]. Chinese Journal of Ecology, 2010, 29(5): 951-956(in Chinese).

[13] 杨州, 华洁, 陈晰. 盐度对暗纹东方鲀胚胎发育的影响[J]. 齐鲁渔业, 2004(9): 3-5.
Yang Z, Hua J, Chen X. Effect of salinity on embryonic development of *Takifugu obuscurus*[J]. Shandong Fisheries, 2004(9): 3-5(in Chinese).

[14] 宋振鑫, 陈超, 吴雷明, 等. 盐度与pH对云纹石斑鱼胚胎发育和仔鱼活力的影响[J]. 渔业科学进展, 2013, 34(6): 52-58.
Song Z X, Chen C, Wu L M, *et al*. Effects of salinity and pH on the embryonic development and larval activity of kelp bass *Epinephelus moara*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2013, 34(6): 52-58(in Chinese).

[15] 张海发, 舒琥, 王云新, 等. 盐度及pH对黄鳍东方鲀受精卵孵化和仔鱼活力的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2007, 27(3): 28-32.
Zhang H F, Shu H, Wang Y X, *et al*. Effects of salinity and pH on hatching and larval activity of *Takifugu xanthopterus*[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2007, 27(3): 28-32(in Chinese).

[16] Johnson D W, Katavic I. Survival and growth of sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae as influenced by temperature, salinity, and delayed initial feeding[J]. Aquaculture, 1986, 52(1): 11-19.

[17] Saillant E, Fostier A, Haffray P, *et al*. Saline preferendum for the European sea bass, *Dicentrarchus labrax*, larvae and juveniles: Effect of salinity on early development and sex determination[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2003, 287(1): 103-117.

[18] Tytler P, Blaxter J H. The effects of external salinity on the drinking rates of the larvae of herring, plaice and cod[J]. Journal of Experimental Biology, 1988, 138(1): 1-15.

[19] 陈楠, 高雯, 张磊, 等. 水温、pH值和光照对斑马鱼受精卵孵化率的影响[J]. 水产养殖, 2016, 37(7): 27-31.
Chen N, Gao W, Zhang L, *et al*. Effects of water temperature, pH and light on the hatching rate of zebrafish oosperm[J]. Journal of Aquaculture, 2016, 37(7): 27-31(in Chinese).

[20] 吴晗, 白俊杰, 姜鹏. pH对转红色荧光蛋白基因唐鱼孵化率和仔鱼存活的影响[J]. 大连海洋大学学报, 2014, 29(1): 27-30.
Wu H, Bai J J, Jiang P. Effects of pH on hatching rate and larval survival in transgenic white cloud mountain minnow *Tanichthys albonubes* expressing red fluorescent protein gene[J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2014, 29(1): 27-30(in Chinese).

[21] Wang J, Li Z H, Chen Y F, *et al*. The combined effect of temperature and pH on embryonic development of obscure puffer *Takifugu obscurus*, and its ecological implications[J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2015, 58: 1-6.

[22] 张海发, 刘晓春, 王云新, 等. 温度、盐度及pH对斜带石斑鱼受精卵孵化和仔鱼活力的影响[J]. 热带海洋学报, 2006, 25(2): 31-36.
Zhang H F, Liu X C, Wang Y X, *et al*. Effects of temperature, salinity and pH on hatch and larval activity of *Epinephelus coioides*[J]. Journal of Tropical Oceanography, 2006, 25(2): 31-36(in Chinese).

[23] Gwo J C. Fine structure, motility and cryopreservation of spotted sea bass, *Lateolabrax maculatus* (Moronidae, Teleostei), spermatozoa[J]. Journal of Applied Ichthyology, 2010, 26(5): 732-736.

[24] 张璐, 李静, 谭芳芳, 等. 饲料中不同维生素A含量对花鲈生长和血清生化指标的影响[J]. 水产学报, 2015, 39(1): 88-96.
Zhang L, Li J, Tan F F, *et al*. Effects of different dietary vitamin A levels on growth and serum biochemical parameters for Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2015, 39(1): 88-96(in Chinese).

[25] Xu H G, Dong X J, Zuo R T, *et al*. Response of juvenile Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) to different dietary fatty acid profiles: Growth performance, tissue lipid accumulation, liver histology and flesh texture[J]. Aquaculture, 2016, 461: 40-47.

[26] 杨代勤, 严安生, 陈芳, 等. 不同饲料对黄鳝消化酶活性的影响[J]. 水产学报, 2003, 27(6): 558-563.
Yang D Q, Yan A S, Chen F, *et al*. Effects of different diets on activities of digestive enzymes of *Monopterus albus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2003, 27(6): 558-563(in Chinese).

[27] 罗集光, 章龙珍, 庄平, 等. 盐度对点篮子鱼消化酶活

?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

性的影响[J]. 海洋渔业, 2011, 33(1): 33-38.
Luo J G, Zhang L Z, Zhuang P, *et al*. Effects of salinity on digestive enzyme activity in *Siganus guttatus*[J]. Marine Fisheries, 2011, 33(1): 33-38(in Chinese).

[28] Zhang C X, Huang F, Li J, *et al*. Interactive effects of dietary magnesium and vitamin E on growth performance, body composition, blood parameters and antioxidant status in Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) fed oxidized oil[J]. Aquaculture Nutrition, 2016, 22(3): 708-722.

[29] 姜娜, 王芳, 路允良, 等. 干露对三疣梭子蟹抗氧化和应激能力的影响[J]. 水产学报, 2014, 38(12): 1996-2004.
Jiang N, Wang F, Lu Y L, *et al*. Effects of air-exposure stress on antioxidant capacity and stress response of swimming crab (*Portunus trituberculatus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(12): 1996-2004(in Chinese).

[30] 王海亮, 温海深, 张晓燕. 盐度胁迫对花鲈幼鱼肠道抗氧化和非特异性免疫能力的影响[J]. 现代农业科技, 2016(4): 261-263.
Wang H L, Wen H W, Zhang X Y. Effects of salinity stress on antioxidant enzyme and non-specific immunity activities in the intestine of juvenile *Lateolabrax maculatus*[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2016(4): 261-263(in Chinese).

http://www.scxuebao.cn
?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

Effects of salinity and pH on hatching and larval activity of *Lateolabrax maculatus*

LIU Yang , WEN Haishen *, LI Jifang , ZHANG Meizhao , LI Yun ,
WANG Xiaolong , CHANG Zhicheng , TIAN Yuan
(*Key Laboratory of Mariculture*, *Ministry of Education*, *Ocean University of China*, *Qingdao* 266003, *China*)

Abstract: In order to set up a scientific basis for the suitable salinity and pH and promote early seed extension of *Lateolabrax maculatus* of northern China, in this study, we used different salinities (0, 15, 20, 25, 30, 35 and 40) and pH(5.5, 6.5, 7.5, 8.5 and 9.5)gradients to investigate the hatching rate and deformity rate of fertilized eggs, as well as the vitality after 10 days' starvation in spotted sea bass. Meanwhile, the survival rate (SR) and survival activity index (SAI) were measured for newly hatched larvae during starvation experiment. Finally, we studied the effects of low salinity (0), culture salinity (30) and high salinity (45) on the growth performance of juvenile spotted sea bass. The results showed that the optimum hatching salinity was ranging from 20 to 35, with the highest hatching rate appearing at 25. The optimum pH for hatchery was 6.5–7.5, and the highest hatching rate came at pH 6.5. The lowest hatching rate and the highest deformity rate were found at low-salinity of 15, however, the survival rate and activity of fish at salinity of 15 was significantly higher than that in 30 and 35 groups. We speculated that salinity 15 approached the isotonic point of body fluid in *L. maculatus*. At the isotonic point, energy consumption for osmotic regulation is saved for better survival and growth. The results will provide more detailed guidance for *L. maculatus* cultivation. During the starvation experiment, the survival rate of newly hatched larvae was the lowest when facing fresh water (salinity of 0) stress on the first day, while the survival rates of low salinity groups of 15 and 20 were significantly higher than those cultured in 30 group. The survival rate in salinity group of 20 declined relatively gently, and the survival rate on the 8^{th} day is 12.66% (0% in the other groups). On the first day of starvation, the survival rate of each pH group was lower than 90%, and the maximum survival rate was 89.11% appearing at pH 6.5. Compared with the salinity treatment, the larvae were more sensitive to pH change, because the hatching rate and final survival rate were much lower than those of salinity treatment group. For the salinity treatment to juvenile spotted sea bass, salinity groups of 0 and 45 would have greater damage to them, and the salinity of 45 was the most significant, which should be the upper limit of seed salinity extension. While the culture salinity of 30 was relatively appropriate. The results of this study will provide a scientific basis for setting the suitable salinity and pH for the breeding and enhancing the hatching and the survival rate, as well as promoting early seed extension of spotted sea bass in northern China.

Key words: *Lateolabrax maculatus*; salinity; pH; hatching rate; survival activity index; growth

Corresponding author: WEN Haishen. E-mail: wenhaishen@ouc.edu.cn

Funding projects: China Agriculture Research System (CARS-47); Fishery Science and Technology Project of Supporting Agriculture Funds of Dongying City, Shandong Province (20150217)

http://www.scxuebao.cn
?1994-2017 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net