

水体中组织胺对日本新糠虾生长、发育和体内组织胺含量的影响

王金锋, 杨筱珍, 吴旭干, 赵柳兰, 王小艳, 成永旭

(上海海洋大学 省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 200090)

摘要: 将日本新糠虾(*Neomysis japonica*)从新孵幼体至性成熟, 养殖于不同质量浓度组织胺水体中, 其质量浓度分别为 0 mg/L(对照组), 5 mg/L(低剂量组, L 组), 10 mg/L(中剂量组, M 组), 15 mg/L(高剂量组, H 组), 以研究水体中组织胺对日本新糠虾存活、生长和发育的影响及糠虾体内组织胺含量的变化。结果表明, 随组织胺质量浓度的升高, 日本新糠虾的体长、体质量和存活率均呈现下降趋势; M 组和 H 组日本新糠虾的体长和体质量显著小于对照组($P < 0.05$), 而 L 组与对照组间无显著差异; 较高质量浓度的组织胺(15 mg/L)能显著降低日本新糠虾的存活率, H 组存活率仅为 $53.92\% \pm 3.58\%$; 各组织胺质量浓度组对雄性日本新糠虾性征出现时间无显著的影响, 但对雄性日本新糠虾性成熟时间有不同程度的延迟作用, 对照组性成熟时间为 (25.71 ± 0.76) d, 而 H 组为 (28.00 ± 0.82) d, 两组间差异显著($P < 0.05$); 雌性日本新糠虾的性成熟时间也有随组织胺质量浓度升高而呈延迟的趋势, 但仅 H 组与对照组存在显著差异($P < 0.05$), 延迟近 3 d。经 HPLC(High Performance Liquid Chromatography, 简称 HPLC)法检测日本新糠虾体内组织胺后, 发现 M 和 H 组中检测出了较高含量的组织胺, 分别达到 (435.33 ± 56.94) pg/g 和 (478.67 ± 140.57) pg/g, 显著高于对照组($P < 0.05$)。上述结果说明, 水体中一定质量浓度的组织胺能抑制日本新糠虾的生长和发育, 其体内组织胺含量的升高可能是重要的诱因之一。

关键词: 日本新糠虾(*Neomysis japonica*); 组织胺; 生长; 发育; 存活

中图分类号: Q31

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2010)04-0001-05

日本新糠虾(*Neomysis japonica*)隶属于节肢动物门(Athropoda)、甲壳纲(Crustacea)、软甲亚纲(Malacostraca)、糠虾目(Mysidaca)、糠虾科(Mysinae)、新糠虾属(*Neomysis*), 是广泛分布于中国黄渤海沿岸的糠虾种类, 体长平均不足 1 cm。目前, 国内有少量关于糠虾生殖和消化系统基础生物学的报道^[1,2], 并发现环境污染可引起其生长繁殖异常^[3-5], 国际上已将糠虾列为环境监测指示生物^[6,7]。

组织胺是鱼粉或其蛋白质成分在加工与保存过程中, 由细菌将组氨酸脱羧而形成的, 其在饲料中含量的高低, 是评价鱼粉质量的重要指标^[8]。目前许多学者仅观察了饲料中的生物胺对水产动物生长的影响^[9-11], 却忽视了大部分溶失于水中的组织胺的影响, 而且有关生物胺对甲壳动物影响的研究也少见报道。本试验通过在日本新糠虾的养殖水体中添加不同质量浓度的组织胺, 观察糠虾幼体从新孵至性成熟存活、生长和发育的变化, 并检测了体内组织胺积累情况, 为弄清组织胺对糠虾的生长和发育的影响及糠虾作为环境指示生物的运用提供了基础的

参考资料。

1 材料和方法

1.1 试验分组与养殖条件

将 24 h 内新孵出的日本新糠虾幼体(亲本为本实验室连续培养数代的日本新糠虾)分为 4 组: 对照组, 0 mg/L; 组织胺低质量浓度组(L 组), 5 mg/L; 中质量浓度组(M 组), 10 mg/L; 高质量浓度组(H 组), 15 mg/L。每组设 20 个烧杯(500 mL), 每个烧杯单虾养殖, 用于观察和测定生长情况。另外, 每质量浓度组各设 3 个平行, 每个平行分别用 1 个 5 L 方形塑料水族箱进行群体养殖(50 只/箱), 用于糠虾体内组织胺含量的测定。恒温 (25.0 ± 1.0) , 光照周期为 12

收稿日期: 2008-12-08; 修回日期: 2009-03-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30700609); 上海市重点学科建设资助项目(Y1101)

作者简介: 王金锋(1983-), 男, 浙江桐庐人, 硕士研究生, 主要从事水产动物营养与生理学研究; 成永旭, 通信作者, 教授, 博导, E-mail: yxcheng@shou.edu.cn

h(昼): 12 h(夜), 盐度为 15, pH 为 7.6~8.6, 充气泵增氧, 溶解氧控制在 6.0~7.0 mg/L。每天 8:00 吸污换水 1/5, 换水时分别加入对应组织胺质量浓度的养殖用水, 并过量投喂卤虫无节幼体 (*Artemia nauplii*) 1 次, 组织胺购自 Sigma 公司。

1.2 养殖水中组织胺稳定性的测定

为了了解组织胺在养殖水中的稳定性, 分别在实验开始后的 0、24、48、72、96 和 120 h, 取养殖水体测定其中组织胺质量浓度。测定方法参考 Jorge 等^[12] 高效液相色谱法, 并加以改进; 仪器为日本岛津 LC-20A 高效液相色谱仪、岛津 RF-10AxL 荧光检测仪、CBM-20A 系统控制器、色谱柱为岛津 VP-ODS 150L×4.6; 流动相为 0.45 mol/L 醋酸钠缓冲液(pH 4.5): 色谱纯甲醇=55:45, 总流速=0.7 mL/min; 激发波长 $E_x=350$ nm, 发射波长 $E_m=445$ nm, 柱温为 25 °C; 取经 0.22 μm 有机相滤膜过滤的养殖水 40 μL, 加 0.25 mol/L 硼酸缓冲液(pH=9.8)500 μL, 甲醇 420 μL, OPA 40 μL, 立刻进样, 进样量为 20 μL, 对照标准曲线可得到水样组织胺含量。

1.3 生长指标的测定

1.3.1 体长、体质量的测定

体长为从额尖到第 6 腹节末端的长度, 体质量用吸水纸吸干后电子天平称得。

1.3.2 第二性征出现及性成熟标志

因雌虾第二性征出现以育卵囊开始膨大作为依据, 其判定具有主观性, 因此作者主要对雄性第二性征出现时间进行记录。雄性第二性征出现是以第 4 腹肢的外肢延长呈棒状为标志^[11]; 雄性成熟的标准为第 4 腹肢的外肢延长至第 6 腹节末端; 雌性成熟的标准为育卵囊膨大至囊状。试验中, 当发现日本新糠虾出现这些特征时, 立即记录出现时间并测量其体长和体质量。

1.4 体内组织胺含量的测定

试验中, 当某组日本新糠虾有半数以上性成熟时, 立即取样进行体内组织胺含量测定。测定方法参考文献^[12] 的高效液相色谱法, 取日本新糠虾 30 只(约 0.3 g)加入 1 mL 甲醇研磨, 浸泡 30 min, 3 000 r/min 离心, 取出上清液用 0.22 μm 微孔滤膜过滤, 取滤液 40 μL, 加硼酸缓冲液 500 μL, 甲醇 420 μL, OPA 40 μL, 立刻进样, 对照标准曲线可得到组织胺

含量。

1.5 数据处理

所有试验数据以平均值±标准差(Means±SD)表示, 用 SPSS 软件 Duncan 法进行显著性检验比较, 以 $P<0.05$ 作为差异显著性水平。

2 结果

2.1 养殖水中组织胺的稳定性

对各组养殖水体进行每隔 24 h 的组织胺质量浓度检测, 各组均有随时间延长, 其浓度呈现缓慢降低的趋势, 5 d 后各组织胺质量浓度均为初始质量浓度的 92% 以上且与初始质量浓度差异不大($P<0.05$) (图 1)。

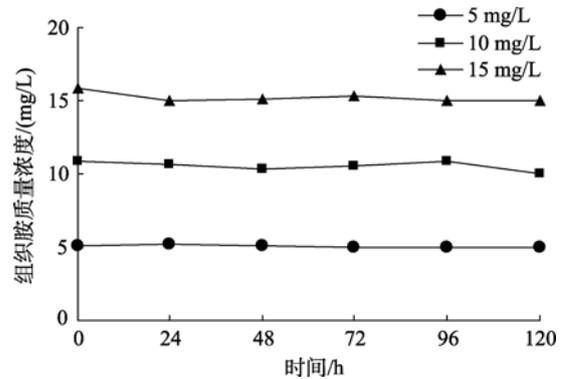


图 1 5 d 内组织胺在水中的浓度变化
Fig. 1 Changes of histamine concentrations in water

2.2 组织胺对日本新糠虾生长及存活的影响

表 1 列出了不同组织胺质量浓度下, 日本新糠虾性成熟时的体长、体质量及存活率。日本新糠虾的体长、体质量及存活率均有随组织胺浓度的升高而下降的趋势。雄性日本新糠虾的体长由对照组的(9.52±0.46) mm 降至 H 组的(7.92±0.71) mm, 差异显著($P<0.05$), L 组体长为(9.59±0.50) mm 略高于对照组, 但无统计学差异; 体质量变化与体长变化规律相似, 对照组与 L 组的体质量显著高于 M 组和 H 组, H 组达到性成熟时其体质量仅为对照组的 76.23%。雌性日本新糠虾各组体长和体质量随组织胺浓度的变化情况和雄性基本一致, 对照组体长和体质量分别为(9.13±0.42) mm 和(0.0098±0.0007) g, H 组体长和体质量分别为(8.30±0.26) mm 和(0.0072±0.0003) g, 两组间差异显著($P<0.05$)。不同组织胺浓度, 仅高剂

量对日本新糠虾存活率产生明显影响, 表现为明显降低其存活率, 由对照组的 72.37%±2.29% 降至 H 组的 53.92%±3.58%, 两组间存在显著差异。

2.3 组织胺对日本新糠虾发育的影响

组织胺对日本新糠虾第二性征出现的时间影响不明显, 各组雄虾第二性征出现时间约为 16 d。各组

组织胺质量浓度组对日本新糠虾性成熟时间有不同程度的延迟作用, 尤其对雄性更为明显, 性成熟时间有呈组织胺质量浓度的升高而延长的趋势, 各浓度组比对照组延迟了 1, 2 和 3 d, 与对照组间均存在显著差异($P<0.05$)。而雌性仅 H 组受到了明显的抑制, 由对照组的 (32.60±0.55)d 延长至最高浓度组的 (35.33±0.58) d(表 2)。

表 1 不同组织胺浓度下日本新糠虾的体长、体质量和存活率

Tab. 1 Body lengths and survival rates of *N.japonica* at different concentrations of histamine

项目	对照组(0 mg/L)	L 组(5 mg/L)	M 组(10 mg/L)	H 组(15 mg/L)	
雄	体长(mm)	9.52±0.46 ^a	9.59±0.50 ^a	8.29±0.80 ^b	7.92±0.71 ^b
	体质量(g)	0.0101±0.0008 ^a	0.0099±0.0012 ^a	0.0080±0.0011 ^b	0.0077±0.0011 ^b
雌	体长(mm)	9.13±0.42 ^a	8.96±0.38 ^{ab}	8.47±0.39 ^{bc}	8.30±0.26 ^{cd}
	体质量(g)	0.0098±0.0007 ^a	0.0088±0.0005 ^a	0.0076±0.0007 ^b	0.0072±0.0003 ^b
	存活率(%)	72.37±2.29 ^a	70.16±5.22 ^a	67.69±2.33 ^a	53.92±3.58 ^b

注: 表中同行内字母不同者表示差异显著($P<0.05$)

表 2 组织胺对日本新糠虾性成熟的影响

Tab. 2 Effects of different concentrations of histamine on maturity

项目	时间(d)			
	对照组(0 mg/L)	L 组(5 mg/L)	M 组(10 mg/L)	H 组(15 mg/L)
雄性性征出现时间	15.14±0.38 ^a	15.71±0.76 ^a	15.80±0.84 ^a	16.00±0.82 ^a
雄性成熟时间	25.71±0.76 ^a	26.85±1.07 ^b	27.60±0.55 ^{bc}	28.00±0.82 ^c
雌性成熟时间	32.60±0.55 ^a	32.80±1.79 ^a	33.40±0.55 ^a	35.33±0.58 ^b

注: 表中同行内不同字母表示差异显著($P<0.05$)

2.4 组织胺对日本新糠虾体内组织胺含量的影响

经 HPLC 法检测日本新糠虾后发现, 其体内含有微量的组织胺。由图 2 可见, 随组织胺质量浓度的

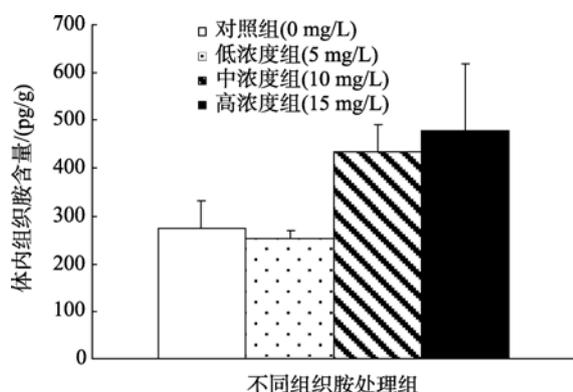


图 2 日本新糠虾体内组织胺含量

Fig. 2 The concentration of histamine in each group of *N.japonica*

上标字母不同代表不同浓度间差异显著($P<0.05$)

The different superscripts mean significantly different ($P<0.05$)

升高, 日本新糠虾体内组织胺含量呈现总体上升趋势, 其中 L 组略低于对照组, 但无统计学差异; 在 M 和 H 组中检测出了较高含量的组织胺, 分别达到 (435.33±56.94) pg/g 和 (478.67±140.57) pg/g, 显著高于对照组($P<0.05$)。通过分析日本新糠虾体内组织胺含量与水体中组织胺质量浓度的相关性后发现, 两者间相关性较高($y = 20.074x + 227.59, R^2=0.7618$)。

3 讨论

3.1 组织胺在养殖水中的稳定性

目前虾蟹类养殖中投喂的冰鲜饵料, 许多由于保存不当, 组织胺的含量很高。这些饲料多数通过消化道被消化吸收, 因此, 有关组织胺对水产动物的研究多集中于饲喂途径^[9-16]。本试验发现组织胺极易溶于水, 在养殖水体中有明显的稳定性, 5 d 内其衰减并不明显。饲料未被及时摄食而导致组织胺溶解于水中, 这也是养殖动物接触组织胺的途径之一。水体中组织胺对虾蟹类生长的影响应引起足够的

重视。

3.2 组织胺对水产动物的影响

饲料中的组织胺一般被认为是一种有害物质,但是目前生物胺对水产动物的影响还没有明确的观点。Fairgrieve 等^[10,13]在虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)饲料中添加 13.3 g/kg 腐胺和 2 g/kg 组织胺可降低其摄食率。但是也有研究表明在虹鳟饲料中添加组织胺没有对其摄食率和增质量率产生影响,但引起了其肠道的病变^[9]。在甲壳动物方面,据 Cruz-Suarez^[14]研究表明,饲料中较高含量的生物胺(尸胺、腐胺、组织胺)可降低凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)的摄食率、增长率和存活率。但另有研究发现饲料中的组织胺对细角滨对虾(*Litopenaeus stylirostris*)的摄食率、饲料转化率和成活率没有影响,且饲料中适当含量的组织胺可提高其生长率^[15]。本试验中不同组织胺质量浓度下的日本新糠虾的体长、体质量和存活率呈现随组织胺质量浓度的升高而下降趋势。当组织胺质量浓度达到 15 mg/L 时,上述 3 项指标都达到了最低,表明水体中一定浓度的组织胺会对日本新糠虾的生长和存活产生抑制,其对水体中组织胺污染能提供一定的指示作用。同时,也发现较高组织胺质量浓度能延迟日本新糠虾的性成熟时间,从营养学的角度分析,可能由于组织胺影响了日本新糠虾的摄食而缺少足够的营养供给,从而导致了性成熟时间的推迟。这有待于进一步的实验来证实。

3.3 日本新糠虾体内组织胺的积累和生长的关系

通过测定各组日本新糠虾体内组织胺含量的情况发现,水体中的组织胺质量浓度与日本新糠虾体内组织胺质量浓度存在着正相关关系,说明了水体中的组织胺可能会在水产动物体内产生蓄积。有研究表明,动物体内的生物胺含量会随着饲料中组织胺添加量的增加而增加^[15],且新陈代谢旺盛的组织器官(肝,肠,肾)比起代谢相对缓慢的组织器官(肌肉)一般含有较高量的生物胺^[16]。这些新陈代谢旺盛的组织器官(肝,肠,肾),又与动物的生长关系密切,由于糠虾个体较小,本实验无法对各个组织中的组织胺含量进行测定。本实验发现,高浓度组织胺组其体内组织胺含量最高,其生长、发育及存活均受到明显抑制,推测日本新糠虾体内较高的组织胺含量,可能是影响其生长和存活的主要原因。在以后的试验中,本课题组将对日本新糠虾的消化、免疫等指标

进行测定,进一步弄清组织胺影响糠虾生长的原因。

参考文献:

- [1] 杨丽娜,杨筱珍,成永旭,等. 成年日本新糠虾雄性生殖系统的组织学[J]. 动物学杂志, 2007, 42(3): 90-96.
- [2] 吴志强,姜国良,项鹏. 日本新糠虾消化系统组织学研究[J]. 中国海洋大学学报, 2007, 37(5): 781-784.
- [3] 谭志军,颜天,周名江,等. 塔玛亚历山大藻对黑褐新糠虾存活、生长以及种群繁殖的影响[J]. 生态学报, 2002, 22(10): 1 635-1 639.
- [4] 窦雅卿,成永旭. 糠虾作为毒性试验标准生物的应用与研究进展[J]. 实验动物科学与管理, 2006, 23(3): 47-53.
- [5] 王金锋,杨筱珍,吴旭干,等. 水体中组织胺对黑褐新糠虾生长与发育的影响[J]. 海洋渔业, 2008, 30(2): 157-162.
- [6] McKenny C L J, Matthews E. Alterations in the energy metabolism of an estuarine mysid(*Mysidopsis bahia*) as indicators of stress from chronic pesticide exposure[J]. *Mar Environ Res*, 1990, 30: 119.
- [7] Garnacho E, Peck L S, Tyler P A. Variations between winter and summer in the toxicity of copper to a population of the mysid *Praunus flexuosus*[J]. *Marine Biology*, 2000, 137: 631-636.
- [8] Pike I H, Hardy R W. Standards for assaying quality of feed ingredients[A]. D'Abraham L R, Conklin D E, Akiyama D M. Crustacean Nutrition[C]. USA: Louisiana State University, 1997. 473-492.
- [9] Fairgrieve W T, Myers M S, Hardy R W, et al. Gastric abnormalities in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss* fed amine supplemented diets or chicken gizzard-erosion-positive fish meal [J]. *Aquaculture*, 1994, 127: 219-232.
- [10] Fairgrieve W T, Dong F M, Hardy R W. Histamine effects feed acceptability but not protein utilization by juvenile rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*[A]. Izquierdo M, Fernandez-Palacios H. Abstracts of the VIII International Symposium on Nutrition and Feeding of Fish and Crustacean[C]. Spain: Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, 2008. 17.
- [11] Tapia-Salazar M, Ricque-Marie D, Cruz-Suarez L E, et al. Compared effects of raw material deterioration and added crystalline amines in herring meals fed to *Penaeus stylirostris*[A]. Izquierdo M, Fernandez-Palacios H. Abstracts of the VIII International Symposium on Nutrition and Feeding of Fish and Crustacean[C]. Spain: Universidad de Las Palmas de Gran Canaria: 2008. 18.
- [12] Jorge C, Alvarado-Alvarez R, Becerra E, et al. An improved method for long-term measuring of hemolymph fluctuations of non-essential amino acids, GABA and histamine from freely moving crayfish[J]. *Journal of Neuroscience Methods*, 2005, 153:1-7.
- [13] Cowey C B, Cho C Y. Failure of dietary putrescine to

- enhance the growth of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *Can J Fish Aquat Sci*, 1992, 94: 2 466-2 473.
- [14] Cruz-Suarez L E, Tapia-Salazar M, Ricque-Marie D, *et al.* Final evaluation of different biotoxicological score fish meals on *Penaeus vannamei* Juveniles[A]. Gatlin D M. International Symposium on Nutrition and Feeding of Fish[C]. USA TX: College Station, 1996. 11-15.
- [15] Tapia-Salazar M, Trevor K, Andrew H, *et al.* Effect of dietary histamine supplementation on growth and tissue amine concentrations in blue shrimp *Litopenaeus stylirostris*[J]. *Aquaculture*, 2001, 193: 281-289.
- [16] Seidel E R, Scemama J L. Gastrointestinal polyamines and regulation of mucosal growth and function[J]. *Nutr Biochem*, 1997, 8: 104-111.

The effects of the histamine in water on the growth, development and endogenous histamine of *Neomysis japonica* (Crustacea, Mysidacea)

WANG Jin-feng, YANG Xiao-zhen, WU Xu-gan, ZHAO Liu-lan, WANG Xiao-yan, CHENG Yong-xu

(Shanghai Ocean University, Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai 200090, China)

Received: Dec., 8, 2008

Key words: *Neomysis japonica*; histamine; growth; development; survival

Abstract: *Neomysis japonica* were cultured from larval to maturity in different concentrations of histamine, including 0 mg/L (control group), 5 mg/L (low concentration group, L), 10 mg/L (middle concentration group, M) and 15 mg/L (high concentration group, H), to explore the influence of histamine on the survival, growth, development and endogenous histamine of *N. japonica*. The body length, body weight and survival rate of *Neomysis japonica* decreased with the increase of histamine concentration; The body length and body weight of M and H were significantly lower than those of the control group ($P < 0.05$); but L and the control group had no such significant differences; When the concentration of histamine in water came to 15 mg/L, the survival rate decreased significantly, the survival rate of H being only $53.92\% \pm 3.58\%$. In this study, histamine did not delay the appearance of sexual character, but delayed the maturation time in male. The maturation time of the control group was (25.71 ± 0.76) d, and H (28.00 ± 0.82) d, showing significant differences $P < 0.05$; Histamine delayed the maturation time in female with the increase of histamine concentration, but only H was significantly different from the control group ($P < 0.05$) with a delay of 3 days. We determined the concentration of endogenous histamine by HPLC, and found that the endogenous histamine levels of M and H ($435.33 \text{ pg/g} \pm 56.94 \text{ pg/g}$ and $478.67 \text{ pg/g} \pm 140.57 \text{ pg/g}$, respectively) were significantly higher than that of the control group ($P < 0.05$). The results show that higher concentration of histamine in water restrain growth and development; the high concentration of endogenous histamine in the mysis may be an important factor.

(本文编辑: 谭雪静)