

文章编号:1000-0615(2012)09-1425-10

DOI:10.3724/SP.J.1231.2012.27983

急性盐度胁迫对摄食不同镁水平饲料鲈血清渗透压和离子水平以及鳃丝ATP酶活力的影响

张春晓^{1,2*}, 周磊^{1,2}, 叶继丹^{1,2}, 王玲^{1,2}, 皇康康^{1,2}, 翟秋玲^{1,2}

(1. 集美大学农业部东海海水健康养殖重点实验室,福建厦门 361021;

2. 集美大学厦门市饲料检测与安全评价重点实验室,福建厦门 361021)

摘要:为研究饲喂不同镁水平饲料后,鲈血清渗透压、离子水平和鳃丝ATP酶活力对急性盐度胁迫的反应,实验用镁水平为0.413 g/kg(D1,对照组)、1.042 g/kg(D2)、1.577 g/kg(D3)、1.991 g/kg(D4)的4种实验饲料,分别投喂初始平均体质量为(30±0.5)g的鲈。实验鱼在淡水循环养殖系统中饲养50 d后立即转入海水循环养殖系统,并在转入前(0 h)和转入后1、3、6、12、24 h分别采集鲈鳃丝和血液样本。结果显示:盐度胁迫前饲料镁水平对鲈血清渗透压、Na⁺、K⁺、Cl⁻、Mg²⁺含量和鳃丝中Na⁺/K⁺-ATP(NKA)与Ca²⁺/Mg²⁺-ATP(CMA)酶的活力有显著影响($P < 0.05$),其中血清渗透压、Mg²⁺含量和NKA酶活力随饲料镁水平的增加而升高。D4组的血清渗透压、Mg²⁺含量、NKA和CMA酶活力显著高于其他组($P < 0.05$),表明该组鲈处于高强度的渗透压调节的生理状态。急性盐度胁迫中,血清Na⁺和Cl⁻含量随胁迫时间的延长呈逐渐上升趋势,血清渗透压、K⁺、Ca²⁺、Mg²⁺和鳃丝ATP酶活力在0~24 h内呈波动性变化。D1组的NKA和CMA酶活力在胁迫1 h时显著低于其他组($P < 0.05$),表明长期摄食低镁水平的饲料会降低鲈鳃丝NKA和CMA酶对环境盐度刺激的敏感度。研究表明,淡水养殖鲈的饲料中镁水平应低于1.991 g/kg,以减少维持鳃丝NKA与CMA酶高活力而导致的能量损失,而在环境由低盐向高盐的快速转变过程中,较高的饲料镁水平可通过快速提高的鳃丝NKA与CMA酶活力而有利于鲈快速适应高盐环境。

关键词: 鲈; 镁; 渗透压; ATP酶; 血清离子

中图分类号: Q 175; S 963.1

文献标志码:A

盐度是影响鱼类生长的重要环境因子^[1]。尽管鱼类,尤其是广盐性鱼类对水体盐度具有较强的渗透调节能力,但在集约化养殖条件下,盐度常因自然条件或人为活动的影响而发生骤变,从而对养殖鱼类产生盐度胁迫。国内外研究表明,盐度胁迫会使鱼类的血液渗透压、离子含量和相关酶活性发生变化,最终鱼体通过渗透压相关的生理调节以适应环境盐度的改变^[2-6]。

鲈(*Lateolabrax japonicus*)是我国重要的海水养殖种类之一。作为广盐性鱼类,其对养殖水体盐度的变化具有很强的适应性,因而半咸水或

纯淡水的池塘养殖成为我国福建、广东等沿海地区鲈养殖的主要模式。Mg²⁺是海水中第二大阳离子,其浓度在淡水和海水中差异巨大。作为细胞内最丰富的阳离子之一,镁对鱼类的生长、代谢和渗透调节功能等方面起着非常重要的作用。研究表明镁缺乏会导致心脏、血管和肾脏钙化;能影响上皮细胞的渗透性和离子及其转运蛋白的活性^[7]。此外饲喂缺镁饲料会使大西洋鲑(*Salmo salar*)血清Cl⁻含量明显升高^[8],使罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*)和鲤(*Cyprinus carpio*)骨骼中Na⁺含量上升,Mg²⁺含量降低,鳃

收稿日期:2012-02-16 修回日期:2012-06-14

资助项目:国家自然科学基金项目(31001115);福建省高校优秀人才支持计划(JA11145);福建省青年创新项目(2009J05080);厦门市科技项目(3502Z20103025);集美大学创新团队项目

通讯作者:张春晓,E-mail:cxzhang@jmu.edu.cn

组织中氯细胞的 Na^+/K^+ -ATP (NKA) 活力下降^[9-10], 鱼体出现钙、钾、钠代谢失衡。本研究以不同镁水平的饲料在淡水中养殖鲈, 并以天然海水对其进行急性盐度胁迫试验, 通过检测鲈鳃丝 ATP 酶活力、血清渗透压和离子含量, 初步研究盐度胁迫环境下鲈的渗透压调节方式及饲料镁水平对鲈渗透压调节的影响。

1 材料与方法

1.1 实验饲料设计

根据鲈的营养需要, 用酪蛋白、明胶、鱼粉、大豆油、 α -淀粉、微晶纤维素等配制基础饲料, 并分别在基础饲料中添加 0、2.5、5.5、8.5 g/kg 的

MgSO_4 (纯度 > 99%, 购自美国 AMRESCO 公司), 以华南理工大学生产的双螺杆制粒机 (CD4 × 1TS) 制成 4 种粒径为 2.5 mm 的颗粒饲料, 阴干后放在 -20 ℃ 冰箱中备用。饲料配方及营养组成见表 1。

1.2 实验鱼的来源与驯养

实验用鲈苗购自福建省惠丰水产养殖厂。用 5×10^{-6} 的聚维酮碘溶液药浴鱼苗 5 min 后, 放入暂养缸 (1 000 L) 中驯养 1 个月。驯养期间饲喂基础饲料, 并以曝气自来水逐渐降低鲈养殖用水的盐度, 直至完全转为淡水, 使实验鱼逐渐适应实验饲料和养殖环境。

表 1 饲料配方及营养组成 (%干物质)

Tab. 1 Formulation and proximate composition of the experimental diets for Japanese seabass (% dry matter)

饲料原料 ingredients	D1	D2	D3	D4
酪蛋白 casein ¹	38.5	38.5	38.5	38.5
鱼粉 fish meal ²	5	5	5	5
明胶 gelatin ³	3	3	3	3
微晶纤维素 microcrystalline cellulose ⁴	5	5	5	5
α -淀粉 α -starch ⁵	28.71	28.46	28.16	27.86
南极磷虾浆 liquid Antarctic krill ⁶	3	3	3	3
氨基酸混合物 amino acid mixture ⁷	1.09	1.09	1.09	1.09
鱼油 fish oil	6	6	6	6
大豆油 soybean oil	5	5	5	5
胆碱 choline chloride	0.5	0.5	0.5	0.5
磷酸二氢钙 $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2$	2	2	2	2
维生素混合物 vitamin premix ⁸	2	2	2	2
矿物质混合物 mineral premix, Mg free ⁹	0.2	0.2	0.2	0.2
MgSO_4	0	0.25	0.55	0.85
成分分析 proximate chemical composition				
粗蛋白/% crude protein	42.31	42.15	42.46	42.20
粗脂肪/% crude lipid	11.24	11.17	11.33	11.30
镁含量/(g/kg) Mg content	0.413	1.042	1.577	1.991

注:1. 酪蛋白, 购自甘肃华羚集团郑州分公司;粗蛋白, 86% (%干物质)。2. 鱼粉, 由秘鲁 Tecnológica de Alimentos S. A 公司生产;粗蛋白, 70, 粗脂肪 9% (%干物质)。3. 明胶, 购自国药集团化学试剂有限公司;粗蛋白, 96% (%干物质)。4. 南极磷虾膏, 购自挪威 Krillsea group AS 公司;粗蛋白, 68, 脂肪 6% (%干物质)。5. α -淀粉, 购自聚祥(厦门)淀粉有限公司。6. 微晶纤维素, 购自安徽山河药用辅料股份有限公司。7. 氨基酸混合物(g/kg 饲料), 赖氨酸, 2.5 g; 蛋氨酸, 0.4 g; 精氨酸, 8.0 g。8. 维生素混合物(mg 或 g/kg 饲料), 硫胺素, 25 mg; 核黄素, 45 mg; 盐酸吡哆醇, 20 mg; 维生素 B_{12} , 0.1 mg; 维生素 K_3 , 10 mg; 肌醇, 800 mg; 泛酸, 60 mg; 烟酸, 200 mg; 叶酸, 20 mg; 生物素, 1.20 mg; 维生素 A 乙酸酯, 32 mg; 维生素 D3, 5 mg; α -生育酚, 120 mg; 维生素 C, 500 mg; 乙氧基喹啉, 150 mg; 微晶纤维素, 18.01 g。9. 矿物质混合物(mg/kg 饲料):一水硫酸锰, 50 mg; 碘化钾, 100 mg; 硫酸钴(1%), 100 mg; 五水硫酸铜, 20 mg; 一水硫酸亚铁, 260 mg; 一水硫酸锌, 150 mg; 亚硒酸钠(1%), 50 mg; 氯化钾, 200 mg; 氯化钠, 100 mg; 微晶纤维素, 970 mg。

Notes: 1. Casein, obtained from HuaLing enterprise group of Gansu, China, crude protein, 86% (% dry matter). 2. Fish meal, obtained from Tecnológica de Alimentos S. A, Peru, crude protein, 70%, crude lipid 9% (% dry matter). 3. Gelatin, obtained from pharmaceutical enterprise group of China, crude protein, 96% (% dry matter). 4. Liquid Antarctic krill, obtained from Krillsea group AS, Norway, crude protein, 68%, crude lipid 6% (% dry matter). 5. α -starch, obtained from Juxiang (Xiamen) starch Co., Ltd., China. 6. Microcrystalline cellulose, obtained from Shanhe pharmaceutical company of Anhui, China. 7. Amino acid mixture (g/kg diet), lysine, 2.5 g; methionine, 0.4 g; arginine, 8.0 g. 8. Vitamin premix (mg or g/kg diet), thiamin, 25 mg; riboflavin, 45 mg; hydrochloric acid pyridoxine, 20 mg; vitamin B_{12} , 0.1 mg; vitamin K_3 , 10 mg; inositol, 800 mg; pantothenic acid, 60 mg; nicotinic acid, 200 mg; folic acid, 20 mg; biotin, 1.20 mg; vitamin A, 32 mg; vitamin D₃, 5 mg; alpha tocopherol, 120 mg; vitamin C, 500 mg; ethoxy quinoline, 150 mg; microcrystalline cellulose, 18.01 g. 9. Mineral premix-Mg free (mg/kg diet): $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 50 mg; KI, 100 mg; CoSO_4 (1%), 100 mg; $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 20 mg; $\text{FeSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 260 mg; $\text{ZnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 150 mg; Na_2SeO_3 (1%), 50 mg; KCl, 200 mg; NaCl, 100 mg; Microcrystalline cellulose, 970 mg.

1.3 饲养过程

正式实验开始前,实验鱼饥饿 24 h,称重后挑选规格一致[初始体质量为(30 ± 0.5) g]的鲈进行分组实验。实验在室内循环水系统中进行,放养密度为 15 尾/箱(150 L)。每种饲料随机投喂 3 组实验鱼。每天投喂 2 次(08:30 和 17:30),达饱食状态。投喂期 50 d。养殖期间的养殖水体水温为(30 ± 2) °C,溶解氧在 6.5 mg/L 以上,盐度为 1.5,渗透压为(42 ± 1) mmol/kg,Mg²⁺ 含量为(11.0 ± 0.5) mg/L。

1.4 急性盐度胁迫实验和样品收集

养殖实验结束后,将鲈转移到盛有天然海水的水族箱中进行急性盐度胁迫实验(海水经过黑暗沉淀和三级砂滤,盐度为 30,渗透压为(814 ± 3) mmol/kg,Mg²⁺ 含量为(1.15 ± 0.05) g/L,并分别于转入前(0 h)和转入后的 1、3、6、12、24 h,从每个水箱中随机捞取 2 条鲈,用丁香酚麻醉、取样。先用 2 mL 注射器从尾静脉取血,血液样本放置在 4 °C 冰箱中过夜,第二天取出用离心机在 10 000 r/min 下离心,收集血清,置于 -80 °C 冰箱中保存,用于测定血清渗透压和离子水平。抽血后,取鲈右侧鳃丝,放入冻存管于液氮中保存,用于测定 Na⁺/K⁺-ATP(NKA) 和 Ca²⁺/Mg²⁺-ATP(CMA) 酶的活力。

1.5 样本测定

NKA 和 CMA 酶活力测定:鳃丝样品在冰水浴中匀浆,离心(1 000 r/min),收集上清液,用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定其中 NKA 和 CMA 酶活力。上清液蛋白含量用考马斯亮蓝试剂盒测定。每小时每毫克组织蛋白的组织中 ATP 酶分解 ATP 产生 1 μmol 无机磷的量为一个 ATP 酶活力单位(U)。

血清渗透压用露点渗透压仪(Vapro-5520,美国 Wescor 公司)测定;血清离子采用全自动生化分析仪(Synchron LX20,美国 Beckman coulter 公司)测定;饲料镁离子根据国标法(GB/T 13885 – 2003)采用原子吸收光谱仪(Solaar M,美国 Thermo Fisher Scientific 公司)测量。

1.6 数据统计分析

各组试验数据,均采用 SPSS 17.0 统计软件

进行单因素方差分析,差异显著时,用 Duncan 法多重比较,显著性水平为 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 急性盐度胁迫下饲料镁水平对鲈鳃丝 NKA 酶和 CMA 酶活力的影响

实验中鲈鳃丝 NKA 酶和 CMA 酶活力的变化趋势相似,急性盐度胁迫前,D1、D2 和 D3 组实验鱼鳃丝 NKA 酶(图 1)和 CMA 酶活力(图 2)显著低于 D4 组($P < 0.05$)。胁迫后,各饲料组鱼鳃丝 NKA 酶和 CMA 酶活力随胁迫时间呈波动性变化,其中,D1、D2 和 D3 组鱼鳃丝 NKA 酶和 CMA 酶活力变化趋势为先升高后降低再升高,而 D4 组鱼鳃丝 NKA 酶活力的变化趋势为先平稳后升高,CMA 酶活力变化趋势为先降低后升高。胁迫 0 ~ 12 h 内,D2 和 D3 组实验鱼鳃丝 NKA 酶活力在 0 ~ 1 h 间显著升高并达到最大值,然后缓慢下降,而 D1 组在 3 h 达到最大值,而后迅速下降,D4 组则没有升高且在 1 h 后缓慢下降;D2、D3 组实验鱼鳃丝 CMA 酶活力在 0 ~ 1 h 间显著升高并在 3 h 达到最大值,然后下降,而 D1 组在 0 ~ 1 h 没有明显变化,在 3 h 显著升高并达到最大值,而后下降,D4 组则没有升高且在 1 h 后缓慢下降。胁迫至 24 h,各饲料组之间的 NKA 酶和 CMA 酶活力均没有显著差异($P > 0.05$),除 D4 组的 CMA 酶活力低于 0 h 外,其它组的 NKA 酶和 CMA 酶活力均高于胁迫前水平。

2.2 急性盐度胁迫下饲料镁水平对鲈血清渗透压的影响

急性盐度胁迫前,D4 组鲈血清渗透压显著高于 D1、D2 和 D3 组($P < 0.05$)(图 3)。急性盐度胁迫后,各饲料组鱼血清渗透压随胁迫时间的延长而呈波动性变化,D1、D2 和 D3 组变化趋势为先升高后降低再升高,而 D4 组则是先平稳后升高。胁迫后 1 h 时,D1、D2 和 D3 组鱼血清渗透压都显著高于胁迫前水平($P < 0.05$),且 D3 组显著高于 D1、D2 和 D4 组,而 D1、D2 和 D4 组之间差异不显著($P > 0.05$)。胁迫 6 ~ 24 h 时各组鲈血清渗透压均显著高于胁迫前的水平($P < 0.05$);且在胁迫 24 h 时各组鲈血清渗透压随饲料镁水平的升高而增加。

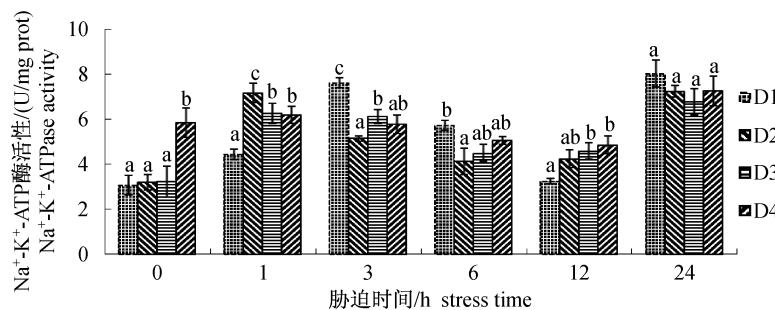


图1 急性盐度胁迫对摄食不同镁水平饲料鲈鳃丝 Na^+/K^+ -ATP酶活力的影响

同一组数据中，柱状图上方不同字母表示处理间显著差异($P < 0.05$)，下图相同。

Fig. 1 Effects of acute salinity stress on the activity of Na^+/K^+ -ATPase in gill filaments of Japanese seabass fed with diets containing different magnesium levels

Bars with different letters in the same group have significant difference ($P < 0.05$). The same as below.

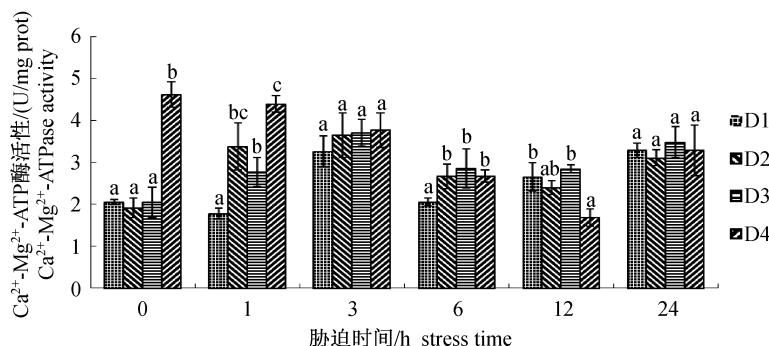


图2 急性盐度胁迫对摄食不同镁水平饲料鲈鳃丝 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -ATP酶活力的影响

Fig. 2 Effects of acute salinity stress on the activity of $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -ATPase in gill filaments of Japanese seabass fed with diets containing different magnesium levels

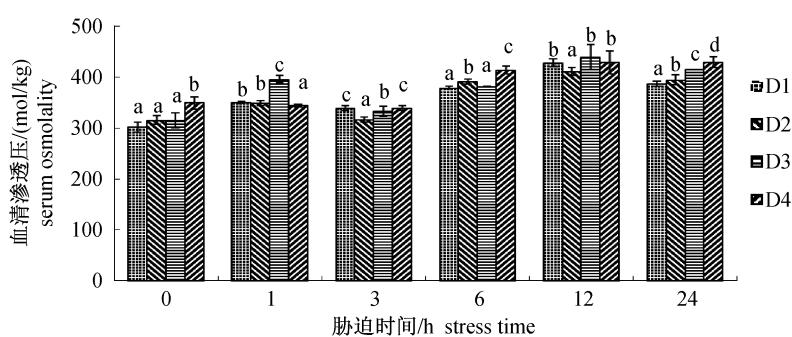


图3 急性盐度胁迫对摄食不同镁水平饲料鲈血清渗透压的影响

Fig. 3 Effects of acute salinity stress on the serum osmolality of Japanese seabass fed with diets containing different magnesium levels

2.3 急性盐度胁迫下饲料镁水平对鲈血清 Na^+ 、 Cl^- 、 K^+ 、 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 含量的影响

血清 Na^+ 和 Cl^- 在本实验中有相似的变化趋势，急性盐度胁迫前，饲料镁水平对血清 Na^+ 和 Cl^- 含量有显著影响，D1组鲈血清 Na^+ 和 Cl^- 含

量显著低于其他各组($P < 0.05$)，而胁迫后1 h时，D1组鲈血清 Na^+ 和 Cl^- 含量显著高于其他各组($P < 0.05$)；胁迫至24 h时，各实验组鲈血清 Na^+ 含量差异不显著(表2)，而 Cl^- 含量以D3组最高(表3)，显著高于其他各组。胁迫过程中，各

饲料组鲈血清 Na^+ 和 Cl^- 含量皆随胁迫时间的延长而显著升高 ($P < 0.05$) , 至 12 h 时达到峰值, 而

后维持平稳。

表 2 急性盐度胁迫下饲料镁水平对鲈血清 Na^+ 含量的影响

Tab. 2 Effects of acute salinity stress on the levels of serum sodium of Japanese seabass fed with diets containing different magnesium levels

	D1 (0.413 g/kg)	D2 (1.042 g/kg)	D3 (1.577 g/kg)	D4 (1.991 g/kg)	mmol/L
0 h	140.42 ± 0.42 ^{aA}	149.57 ± 2.54 ^{dA}	147.28 ± 0.17 ^{cA}	145.25 ± 0.17 ^{bA}	
1 h	160.23 ± 0.42 ^{cB}	148.63 ± 0.51 ^{aA}	156.25 ± 1.02 ^{bB}	155.49 ± 0.09 ^{bB}	
3 h	171.83 ± 0.85 ^{abC}	170.13 ± 0.85 ^{abD}	169.29 ± 1.69 ^{aC}	175.21 ± 0.85 ^{bcC}	
6 h	178.60 ± 0.85 ^{abD}	179.44 ± 3.39 ^{abB}	187.06 ± 2.54 ^{bD}	171.83 ± 0.85 ^{aC}	
12 h	195.53 ± 2.54 ^{bcF}	190.45 ± 0.85 ^{abC}	199.76 ± 1.69 ^{cF}	186.22 ± 3.39 ^{aD}	
24 h	187.06 ± 2.84 ^{aE}	195.53 ± 2.56 ^{ac}	192.99 ± 1.69 ^{aE}	191.29 ± 1.69 ^{aD}	

注:同列数值上标大写字母不同者表示差异显著 ($P < 0.05$) ;同行数值上标小写字母不同者表示差异显著 ($P < 0.05$) , 下表相同。

Notes: Values with different upper capital letters in the same column have significant difference ($P < 0.05$). Values with different small letters in the same row have significant difference ($P < 0.05$). The same as below.

表 3 急性盐度胁迫下饲料镁水平对鲈血清 Cl^- 含量的影响

Tab. 3 Effects of acute salinity stress on the levels of serum chloride of Japanese seabass fed with diets containing different magnesium levels

	D1 (0.413 g/kg)	D2 (1.042 g/kg)	D3 (1.577 g/kg)	D4 (1.991 g/kg)	mmol/L
0 h	87.76 ± 0.35 ^{aA}	101.70 ± 0.17 ^{cB}	94.27 ± 0.09 ^{bA}	97.88 ± 0.26 ^{cA}	
1 h	124.07 ± 0.26 ^{dB}	97.88 ± 0.09 ^{aA}	117.44 ± 0.26 ^{cB}	104.51 ± 0.26 ^{bB}	
3 h	129.85 ± 0.43 ^{dc}	125.94 ± 0.43 ^{dc}	120.50 ± 0.43 ^{dc}	122.79 ± 0.51 ^{bcC}	
6 h	128.83 ± 0.26 ^{aC}	135.20 ± 0.51 ^{bD}	150.34 ± 0.34 ^{qd}	137.69 ± 0.43 ^{cD}	
12 h	149.07 ± 0.26 ^{cd}	137.16 ± 0.43 ^{aE}	154.76 ± 0.17 ^{de}	142.78 ± 0.43 ^{bE}	
24 h	149.83 ± 0.51 ^{ad}	150.43 ± 0.59 ^f	157.82 ± 1.19 ^{bf}	150.60 ± 0.26 ^{aF}	

急性盐度胁迫前, 饲料镁水平对血清 K^+ 含量有显著影响, D4 组鲈血清 K^+ 含量显著低于其他各组 ($P < 0.05$) (表 4), 在胁迫 1 h 和 3 h 时, D4 组鲈血清 K^+ 含量显著高于其他各组 ($P <$

0.05)。胁迫中, 各饲料组鲈血清 K^+ 含量呈波动变化。至 24 h 时, 各饲料组的血清 K^+ 含量显著高于胁迫前水平 ($P < 0.05$), 其中 D4 组鲈血清 K^+ 含量显著低于其他各组 ($P < 0.05$)。

表 4 急性盐度胁迫下饲料镁水平对鲈血清 K^+ 含量的影响

Tab. 4 Effects of acute salinity stress on the levels of serum potassium of Japanese seabass fed with diets containing different magnesium levels

	D1 (0.413 g/kg)	D2 (1.042 g/kg)	D3 (1.577 g/kg)	D4 (1.991 g/kg)	mmol/L
0 h	1.29 ± 0.01 ^{bC}	1.24 ± 0.02 ^{bB}	1.26 ± 0.03 ^{bA}	1.12 ± 0.02 ^{aA}	
1 h	1.23 ± 0.02 ^{bB}	1.13 ± 0.02 ^{aA}	1.24 ± 0.01 ^{bA}	1.35 ± 0.02 ^{cC}	
3 h	1.11 ± 0.01 ^{aA}	1.17 ± 0.02 ^{bA}	1.23 ± 0.02 ^{cA}	1.44 ± 0.00 ^{dD}	
6 h	1.26 ± 0.02 ^{abC}	2.02 ± 0.02 ^{eE}	1.53 ± 0.02 ^{bB}	1.23 ± 0.01 ^{aB}	
12 h	1.40 ± 0.02 ^{cd}	1.32 ± 0.02 ^{bc}	1.24 ± 0.02 ^{bA}	1.08 ± 0.02 ^{aA}	
24 h	1.56 ± 0.02 ^{be}	1.54 ± 0.01 ^{bD}	1.65 ± 0.02 ^{cc}	1.41 ± 0.03 ^{aCD}	

急性盐度胁迫前, 饲料镁水平对血清 Ca^{2+} 含量无显著影响 ($P > 0.05$) (表 5)。胁迫后, 各饲料组之间血清 Ca^{2+} 含量在 3 ~ 12 h 差异显著 ($P < 0.05$), 而 1 h 和 24 h 时差异不显著 ($P > 0.05$); 胁迫中各饲料组血清 Ca^{2+} 含量随胁迫时

间的延长呈上升趋势, 胁迫 24 h 时, 各饲料组血清 Ca^{2+} 含量均显著高于胁迫前水平 ($P < 0.05$)。

急性盐度胁迫前, 血清 Mg^{2+} 含量饲料镁水平的升高而显著升高 ($P < 0.05$) (表 6)。胁迫中, 各饲料组的血清 Mg^{2+} 含量呈波动变化, D1 组的

血清 Mg^{2+} 含量在 1 h 时显著高于 0 h, 但显著低于其他各组 ($P < 0.05$), 其在 3 h 时显著高于 1 h ($P < 0.05$), 但与其他各组差异不显著 ($P > 0.05$)。D2、D3 和 D4 组血清 Mg^{2+} 含量在 1 ~ 6 h 呈上升变化, 6 ~ 24 h 时 D2 和 D3 组血清 Mg^{2+} 含

量显著降低, 而 D4 组则先降低后升高。胁迫 24 h 时, 各饲料组间血清 Mg^{2+} 含量差异显著, D2 组最高, 而 D3 组最低, 且各组均显著高于胁迫前水平 ($P < 0.05$)。

表 5 急性盐度胁迫下饲料镁水平对鲈血清 Ca^{2+} 含量的影响

Tab. 5 Effects of acute salinity stress on the levels of serum calcium of Japanese seabass fed with diets containing different magnesium levels

	D1 (0.413 g/kg)	D2 (1.042 g/kg)	D3 (1.577 g/kg)	D4 (1.991 g/kg)	mmol/L
0 h	2.70 ± 0.07 ^{aA}	2.96 ± 0.07 ^{aA}	2.67 ± 0.12 ^{aA}	2.84 ± 0.08 ^{aA}	
1 h	2.92 ± 0.05 ^{aB}	2.84 ± 0.21 ^{aA}	3.19 ± 0.12 ^{aB}	3.05 ± 0.08 ^{abA}	
3 h	3.00 ± 0.03 ^{abB}	3.10 ± 0.03 ^{abA}	3.20 ± 0.02 ^{bB}	3.16 ± 0.09 ^{abA}	
6 h	3.99 ± 0.08 ^{bC}	3.06 ± 0.20 ^{aA}	3.79 ± 0.14 ^{bC}	3.16 ± 0.07 ^{aA}	
12 h	4.28 ± 0.01 ^{cD}	3.07 ± 0.10 ^{aA}	4.06 ± 0.21 ^{bC}	3.66 ± 0.17 ^{bB}	
24 h	4.04 ± 0.08 ^{aC}	3.85 ± 0.10 ^{aB}	3.95 ± 0.17 ^{aC}	4.19 ± 0.16 ^{aC}	

表 6 急性盐度胁迫下饲料镁水平对鲈血清 Mg^{2+} 含量的影响

Tab. 6 Effects of acute salinity stress on the levels of serum magnesium of Japanese seabass fed with diets containing different magnesium levels

	D1 (0.413 g/kg)	D2 (1.042 g/kg)	D3 (1.577 g/kg)	D4 (1.991 g/kg)	mmol/L
0 h	0.76 ± 0.02 ^{aA}	1.15 ± 0.06 ^{bA}	1.20 ± 0.02 ^{bA}	1.42 ± 0.01 ^{cA}	
1 h	0.98 ± 0.04 ^{abB}	1.13 ± 0.10 ^{abA}	1.27 ± 0.02 ^{bA}	1.58 ± 0.01 ^{cB}	
3 h	2.28 ± 0.02 ^{aD}	2.13 ± 0.40 ^{abB}	2.86 ± 0.06 ^{aD}	2.29 ± 0.01 ^{aC}	
6 h	2.12 ± 0.02 ^{aC}	3.49 ± 0.24 ^{bC}	3.57 ± 0.08 ^{bE}	2.47 ± 0.05 ^{aD}	
12 h	2.50 ± 0.02 ^{bE}	3.11 ± 0.07 ^{cC}	2.43 ± 0.01 ^{bC}	2.22 ± 0.06 ^{aC}	
24 h	2.54 ± 0.05 ^{bE}	3.01 ± 0.02 ^{cC}	1.94 ± 0.03 ^{aB}	2.42 ± 0.04 ^{bD}	

3 讨论

鳃是广盐性硬骨鱼类调控渗透压和单价离子的重要器官, 而位于鳃丝氯细胞基底侧膜上的 ATP 酶主要功能是维持细胞质膜对离子的通透性, 维持细胞内各种离子浓度的相对稳定以及细胞内环境与体外环境之间的渗透平衡^[14]。鳃丝 NKA 酶在外界盐度变化时, 可以通过消耗能量完成细胞内外 Na^+ 与 K^+ 的主动跨膜转运^[15], 维持细胞外高 Na^+ 胞内高 K^+ 的离子浓度^[16]。研究表明, 水环境的盐度对鱼类鳃 NKA 酶活性有重要影响, 其活性会随体外环境盐度的升高而升高^[17~20]。本研究亦发现相同规律, 即鲈由淡水转入海水后 NKA 酶的活性显著升高。童燕等^[21]认为鱼类可以通过改变鳃丝氯细胞数量、类型、NKA 酶的活性来适应体外盐度的变化, 并由此完成渗透调节过程中的离子调节。在本研究中, D1、D2 和 D3 组鲈鳃丝 NKA 酶活力在胁迫 0 ~ 6 h 呈先升后降的趋势, 这与高盐胁迫下的军曹鱼

(*Rachycentron canadum*) 在胁迫后 0 ~ 6 h NKA 酶活力的变化相似^[22], 而杨宇晴等^[23]在对斜带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*) 的研究中发现, 低盐胁迫后 NKA 酶活力也出现先升后降的变化, 说明在急性盐度胁迫条件下, NKA 酶的活力除了受体外环境盐度的影响, 也显著受到体内外渗透压差或体内外 Na^+ 离子浓度差的影响^[24]。环境盐度通过体内外渗透压差值直接影响了血清渗透压的变化, 因此鳃丝 NKA 酶活力与血清渗透压水平的变化紧密相关。潘鲁青等^[25]和于娜等^[26]的研究结果表明, NKA 酶的活力与血清渗透压水平呈反比。然而本研究在盐度胁迫 0 ~ 3 h 中, NKA 酶活力的升高并不对应血清渗透压的降低, 笔者认为鲈从淡水转入海水后, 在体内外巨大的渗透压差值影响下, 血清渗透压快速上升, 刺激 NKA 酶活性升高, 以加快对离子的外排, 但因急性高盐胁迫导致体外离子快速进入体内, 而被激活的 NKA 酶对离子的外排速度小于离子进入鱼体的速度, 所以产生了胁迫前期 NKA 酶活性与

血清渗透压水平同时上升的现象。鳃丝 CMA 酶也是重要的离子调节酶,能维持细胞内 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 浓度的稳定^[27],但尚没有文献报道其在鱼类渗透压调节过程中的作用。本研究中鲈鳃丝 CMA 酶活性在胁迫 3~12 h 表现出与 NKA 相似的显著下降趋势,而同时段血清渗透压表现出上升趋势,说明 CMA 酶也参与了鲈的渗透压调节。广盐性鱼类由淡水进入海水后,因其体液渗透压^[2](约为 265~325 mmol/kg)相对于海水环境是低渗的,因此水分会通过鳃和皮肤渗出体外,而鱼类会通过吞饮海水来补偿身体丢失的水分,由此途径进入血液的 Na^+ 和 Cl^- 通过鳃丝的泌氯细胞排出, Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 和 K^+ 则由肾脏排出体外^[28~29],最终使鱼体内外渗透压达到平衡。本研究中,鲈从淡水[渗透压为(42±1) mmol/kg]进入盐度为 30 的海水[渗透压为(814±3) mmol/kg]后 24 h 时,血清 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 、 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 含量以及渗透压水平显著高于胁迫前水平,这与史氏鲟(*Acipenser schrenckii*)^[21,28]、军曹鱼^[22]、大鳞鲃(*Barbus capito*)^[24]和 *Paralichthys orbignyanus*^[4]的试验结果相似,即广盐性鱼类由淡水转入海水后血清离子含量和渗透压水平皆会在一段时间内升高,说明 Na^+ 、 Cl^- 、 K^+ 、 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 除通过鳃的泌氯细胞以及肾脏排出鱼体外^[29],仍有部分被保留于血液中,与其他血液成分共同构成血液的渗透压。根据本实验的结果,鲈血清中 Na^+ 和 Cl^- 的浓度是 K^+ 、 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 浓度的 30 倍以上,因而血清 Na^+ 和 Cl^- 浓度的变化应当直接影响血清渗透压的水平。然而本研究结果显示,胁迫中鲈血清 Na^+ 和 Cl^- 含量的变化趋势并不与血清渗透压的变化趋势一致,这与史氏鲟^[28]的研究结果相似,说明血清离子含量并不是影响渗透压的唯一因素。研究表明,血清渗透压是由晶体渗透压、胶体渗透压及其他无机小分子共同维持^[28,30],血液中其他小分子的减少也会导致渗透压下降。

在淡水中,鱼类体内环境相对于体外是高渗的,因而体外的水会大量进入鱼体内降低内环境的渗透压水平,鱼类通过保留离子排出过多的水来维持体内的水盐平衡;而在海水中则相反,鱼类会通过保留水分排出过多的离子来维持体内的水盐平衡^[2]。在急性盐度胁迫前,饲料中添加镁的 D2、D3 和 D4 组鲈血清 Na^+ 和 Cl^- 的含量显著高

于未添加镁的 D1 组,提示饲料镁水平促进了淡水养殖鲈血清 Na^+ 和 Cl^- 的保留,有助于鲈在淡水中维持内环境的水盐平衡。鲈血清 Mg^{2+} 含量随饲料镁水平的升高而显著增加,并在 D4 组达到最大值,且 D4 组的鲈血清渗透压水平、NKA 酶与 CMA 酶的活性也显著高于其他组,D2 和 D3 组鲈血清 Mg^{2+} 含量显著高于 D1 组,但渗透压水平、NKA 酶与 CMA 酶的活性均与 D1 组差异不显著。说明在稳定的水环境中,NKA 酶与 CMA 酶的活性受血清渗透压水平而不是血清镁水平的直接影响,本研究中高镁水平(1.991 g/kg)饲料通过提高淡水养殖的鲈血清渗透压水平,进而刺激 NKA 酶与 CMA 酶活性的提高。以上结果表明,1.991 g/kg 的镁水平饲料使淡水养殖鲈处于体内高渗的环境下,进而刺激鳃丝 NKA 酶与 CMA 酶的活性提高以维持高强度的渗透调节状态。急性盐度胁迫实验中,在鲈由淡水转入海水 1 h 时,D1 组鲈血清 Mg^{2+} 含量高于胁迫前水平但仍显著低于其他各组,说明鲈虽然从海水中获取了镁,但机体仍处于缺乏镁的状态,而此时刻其血清的 Na^+ 和 Cl^- 的含量却显著高于其他组,说明摄食低镁饲料减弱了鲈在急性盐度胁迫 1 h 时血清 Na^+ 和 Cl^- 的外排,因而不利于鲈在海水中维持内环境的水盐平衡。此时刻 D1 组鲈鳃丝 NKA 酶和 CMA 酶活力也显著低于其他组,但血清渗透压却高于 D4 组并与 D2 组无显著差异,说明低镁水平饲料会降低淡水环境中鲈鳃丝 NKA 酶与 CMA 酶对体外水环境盐度(或体内血清渗透压)变化刺激的敏感性,提示鲈鳃丝 NKA 与 CMA 酶需要在一定量镁存在的情况下才能保持对内外渗透压刺激的敏感反应。至胁迫后 3 h 时,D1 组 Mg^{2+} 含量显著高于 1 h 时刻并与其它各组差异不显著,而此时刻 D1 组鲈鳃丝 NKA 酶活力显著高于其他组,说明此时鲈从海水中获取的镁已能满足机体渗透压调节的需要。在急性盐度胁迫过程中,D4 组鲈鳃丝 NKA 酶活力和血清渗透压水平在 6 h 时发生显著变化,而其它各组却在 1 h 时发生显著变化,说明淡水养殖鲈长期摄食高镁饲料可以延缓海水环境对体内环境的影响。Duston^[31]在对大西洋鲑的研究中也发现,饲料中添加 10% 的 NaCl 能刺激其鳃 NKA 酶活性提高,并降低转入海水后渗透压对其胁迫的程度,而红大麻哈鱼(*Oncorhynchus nerka*)摄食高钠饲

料也可显著提高其入海后的渗透压调节能力^[32]。根据本研究的结果,淡水养殖鲈的饲料中镁水平应低于1.991 g/kg,以减少维持鳃丝NKA与CMA酶高活力而导致的能量损失,而在环境由低盐向高盐的快速转变过程中,较高的饲料镁水平可通过快速提高的鳃丝NKA与CMA酶活力而有利于鲈快速适应高盐环境。

参考文献:

- [1] Boeuf G, Payan P. How should salinity influence fish growth? [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Toxicology & Pharmacology, 2001, 130(4):411–423.
- [2] 谢志浩. 鱼类的渗透压调节[J]. 生物学通报, 2002, 37(5):21–23.
- [3] 刘珊, 李冰, 张成峰, 等. 硬骨鱼类渗透调控的研究进展[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(20):12239–12242, 12245.
- [4] 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.
- [5] Bisbal G A, Specker J L. Cortisol stimulates hypo-osmoregulatory ability in Atlantic salmon, *Salmo salar* L. [J]. Journal of Fish Biology, 1991, 39(3):421–432.
- [6] He X G, Zhuang P, Zhang L Z, et al. Osmoregulation in juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis* Gray) during brackish water adaptation [J]. Fish Physiology Biochemistry, 2009, 35(2):223–230.
- [7] Bijvelds M J, Velden J A, Kolar Z L, et al. Magnesium transport in freshwater teleosts [J]. Journal of Experimental Biology, 1998, 201(13):1981–1990.
- [8] El-Mowafi A F A, Waagbø Maage A. Effect of low dietary magnesium on immune response and osmoregulation of Atlantic salmon [J]. Journal of Aquatic Animal Health, 1997, 9(1):8–17.
- [9] van der Velden J A, Flik G, Wendelaar Bonga S E. Prolactin cell activity and ion regulation in tilapia, *Oreochromis mossambicus* (Peters): effects of a low magnesium diet [J]. Journal of Fish Biology, 1992, 40(6):875–885.
- [10] van der Velden J A, Flik G, Spanings F A T, et al. Physiological effects of low-magnesium feeding in the common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. The Journal of Experimental Zoology, 1992b, 264(1):237–244.
- [11] 高淳仁, 刘庆惠, 梁亚全, 等. 鲈幼鱼人工配合饲料中蛋白质、脂肪适宜含量的研究[J]. 海洋水产研究, 1998, 19(1):81–85.
- [12] Ai Q H, Mai K S, Zhang C X, et al. Effects of dietary vitamin C on growth and immune response of Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* [J]. Aquaculture, 2004, 242(1–4):489–500.
- [13] Zhang C X, Mai K S, Ai Q H, et al. Dietary phosphorus requirement of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus* [J]. Aquaculture, 2006, 255(1–4):201–219.
- [14] McCormick S D. Endocrine control of osmoregulation in teleost fish [J]. American Zoologist, 2001, 41(4):781–794.
- [15] Gorini A, Canosi U, Devecchi E, et al. ATPases enzyme activities during ageing in different types of somatic and synaptic plasmamembranes from rat frontal cerebral cortex [J]. Progress in Neuropsychopharmacology & Biological Psychiatry, 2002, 26(1):81–90.
- [16] 尹飞, 孙鹏, 彭士明, 等. 低盐度胁迫对银鲳幼鱼肝脏抗氧化酶、鳃和肾脏ATP酶活力的影响[J]. 应用生态学报, 2011, 22(4):1059–1066.
- [17] Evans D H, Piermarini P M, Choe K P. The Multifunctional fish gill: Dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste [J]. Physiological Reviews, 2005, 85(1):97–177.
- [18] 柳旭东, 王际英, 张利民, 等. 影响水产动物Na⁺/K⁺-ATP酶活力的水环境因素[J]. 水产科学, 2009, 28(3):171–175.
- [19] 屈亮, 庄平, 章龙珍, 等. 盐度对俄罗斯鲟幼鱼血清渗透压、离子含量及鳃丝Na⁺/K⁺-ATP酶活力的影响[J]. 中国水产科学, 2010, 17(2):243–251.
- [20] Beyenbach K W, Freire C A, Kinne R K H, et al. Epithelial transport of magnesium in the kidney of fish [J]. Mineral and Electrolyte Metabolism, 1993, 19(4–5):241–249.
- [21] 童燕, 陈立桥, 庄平, 等. 急性盐度胁迫对施氏鲟的皮质醇、代谢反应及渗透调节的影响[J]. 水产学报, 2007, 31(S1):38–44.
- [22] 徐力文, 刘广锋, 王瑞旋, 等. 急性盐度胁迫对军曹鱼稚鱼渗透压调节的影响[J]. 应用生态学报, 2007, (18)7:1596–1600.
- [23] 杨宇晴, 余德光, 谢骏, 等. 急性盐度胁迫对斜带石斑鱼Na⁺/K⁺-ATP酶及血清应激指标的影响[J]. 热带海洋学报, 2010, 9(4):160–164.

- [24] 耿龙武,徐伟,李池陶,等.盐碱对大鳞鲃血清渗透压、离子含量及鳃丝 Na^+/K^+ -ATP酶活力的影响[J].中国水产科学,2011,18(2):458-465.
- [25] 潘鲁青,唐贤明,刘泓,等.盐度对褐牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)幼鱼血浆渗透压和鳃丝 Na^+/K^+ -ATPase活力的影响[J].海洋与湖沼,2006,37(1):1-6.
- [26] 于娜,李加儿,区又君,等.盐度胁迫对鲻鱼幼鱼鳃丝 Na^+/K^+ -ATP酶活力和体含水量的影响[J].动物学杂志,2011,46(1):93-99.
- [27] 李海英,赵娟,李海生. Na^+/K^+ -ATP酶和 $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -ATP酶活性影响因素的研究进展[J].现代中西医结合杂志,2008,17(9):1449-1450.
- [28] 赵峰,庄平,章龙珍,等.盐度驯化对史氏鲟 Na^+/K^+ -ATP酶活力、血清渗透压及离子浓度的影响[J].水产学报,2006,30(4):444-449.
- [29] Genz J, McDonald M D, Grosell M. Concentration of MgSO_4 in the intestinal lumen of *Opsanus beta* limits osmoregulation in response to acute hypersalinity stress [J]. American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 2011, 300: R895-R909.
- [30] Cataldi E, Ciccotti E, Dimarco P, et al. Acclimation trials of juvenile Italian sturgeon to different salinities: morpho-physiological descriptors [J]. Journal of Fish Biology, 1995, 47(4): 609-618.
- [31] Duston J. Effects of dietary betaine and sodium chloride on seawater adaptation in Atlantic salmon parr (*Salmo salar* L.) [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A: Comparative Physiology, 1993, 105(4): 673-677.
- [32] Yamanome T, Mitsuboshi T, Omura R. Effects of salty diet on growth and osmoregulatory ability of sockeye salmon, *Oncorhynchus nerka*, in sea water [J]. Suisanzoshoku, 1995, 43(3): 377-380.

Effects of acute salinity stress on the serum osmolality, serum ion concentrations, and ATPase activity in gill filaments of Japanese seabass (*Lateolabrax japonicus*) fed with diets containing different magnesium levels

ZHANG Chun-xiao^{1,2*}, ZHOU Lei^{1,2}, YE Ji-dan^{1,2}, WANG Ling^{1,2},
HUANG Kang-kang^{1,2}, ZHAI Qiu-ling^{1,2}

(1. Key Laboratory of Healthy Mariculture for the East China Sea, Ministry of Agriculture, Jimei University, Xiamen 361021, China;
2. Key Laboratory for Feed Quality Testing and Safety Evaluation, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: An acute salinity stress trial was conducted to estimate the effect of dietary magnesium level on serum osmolality, serum ions and ATP enzyme in gill filaments of Japanese seabass *Lateolabrax japonicus*. Four semi-purified diets were formulated containing 0.413 g (D1), 1.042 g (D2), 1.577 g (D3), 1.991 g (D4) magnesium (as magnesium sulphate) per kilogram diet to feed triplicate groups of fish [initial average weight (30 ± 0.5) g] in freshwater circulation system for 50 days. Then all fish were transferred from freshwater to seawater to collect the serum and gill filaments at 0, 1, 3, 6, 12, 24 h, respectively. The results showed that dietary magnesium levels significantly affected the levels of serum ions (Na^+ , Cl^- , K^+ , Mg^{2+}), serum osmolality and the activities of Na^+/K^+ -ATPase (NKA) and $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$ -ATPase (CMA) in gill filaments at 0 h ($P < 0.05$). The serum osmolality, serum Mg^{2+} and NKA of gill filaments increased with the increase of dietary magnesium levels. The levels of serum Mg^{2+} and osmolality, NKA and CMA activities in gill filaments of fish fed D 4 were significantly higher than those fed the other diets ($P < 0.05$), which

indicated the Japanese seabass fed D4 was in a state of high intensity osmotic pressure regulating. During the salinity stress periods, the contents of serum Na^+ and Cl^- increased with the time extension of salinity stress, while the levels of serum osmolality, K^+ , Ca^{2+} and Mg^{2+} , NKA and CMA activities fluctuated with stress duration from 0 to 24 h. NKA and CMA activities of fish fed D1 were significantly lower than those of other groups, which indicated it would reduce the sensitivities of NKA and MKA in gill filaments to salinity stimulation for Japanese seabass fed low magnesium level diet for 50 d. The results suggested that in order to reduce energy consumption for higher activities of NKA and CMA in gill, dietary magnesium level should be lower than 1.991 g/kg for Japanese seabass cultured in freshwater, however, high dietary magnesium levels improve NKA and CMA activities in gill, which could be beneficial to quick adaptation high salinity environment for Japanese seabass transferred from low salinity water into high salinity water.

Key words: *Lateolabrax japonicus*; dietary magnesium; osmolality; ATP enzyme; serum ions

Corresponding author: ZHANG Chun-xiao. E-mail: cxzhang@jmu.edu.cn

欢迎订阅 2013 年《南方水产科学》

《南方水产科学》是由中国水产科学研究院南海水产研究所主办,面向国内外公开发行的水产类学术期刊。本刊立足南方,面向全国,突出学术性、地域性和实用性,重点报道我国南海区域和珠江流域水产科学研究的新成果和新技术。本刊为中国科技核心期刊,2011 年被评为 RCCSE 中国核心学术期刊扩展版,并先后被美国《化学文摘》、《剑桥科学文摘(自然科学版)》、俄罗斯《文摘杂志》,英国《动物学记录》、《食品科技文摘》、《国际农业与生物科学研究中心文摘》和波兰《哥白尼索引》等国际重要检索系统收录。

主要刊载热带、亚热带地区渔业生态环境与生物多样性保护、养殖生态与健康养殖、渔业资源监测与养护、生物技术、水产种质资源与遗传育种、海洋牧场与渔业装备、渔业生物病害、水产品加工、水产品质量安全控制及水产基础理论研究等学科的原创性学术论文。设有研究论文、研究简报、综述等栏目。

本刊为双月刊,大 16 开,逢双月 5 号出版。每期定价 12 元,全年 6 期 72 元。邮发代号: 46-65。读者可向当地邮局办理订阅,也可直接汇款至编辑部订阅。欢迎来电来函垂询。

编辑部地址: 广州市新港西路 231 号《南方水产科学》编辑部(邮编: 510300)

联系人: 林肖玲

电 话: 020-84458694

传 真: 020-84451442

网 址: <http://www.schinafish.cn>

E-mail: nfsc@vip.163.com