

文章编号: 1000-0615(2019)04-0833-08

DOI: 10.11964/jfc.20180511278

高盐对凡纳滨对虾仔虾生长、渗透调节及免疫相关酶活性的影响

赵玉超¹, 王仁杰¹, 沈敏¹, 崔彦婷¹, 王淑生²,
李玉全^{1*}, 付瑞江³, 张绍龙³

(1. 青岛农业大学海洋科学与工程学院, 山东 青岛 266109;

2. 滨州市渔业技术推广站, 山东 滨州 256616;

3. 滨州市北海新区海缘养殖科技有限公司, 山东 滨州 256619)

摘要: 为探讨高盐条件下凡纳滨对虾仔虾的耐盐性和免疫响应, 进行了为期30 d的生长实验。实验设置4个盐度梯度(40、50、60、65), 以盐度30为对照, 称量实验起始和结束时仔虾的体质量, 计算平均日增重, 实验结束时检测体内总ATPase、 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 、酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(AKP)、总超氧化物歧化酶(T-SOD)、过氧化氢酶(CAT)活性和溶菌酶(LZM)、丙二醛(MDA)含量。结果显示, 高盐能显著抑制凡纳滨对虾仔虾的日增重, 盐度40、50、60、65平均日增重分别为对照组的84.53%、60.99%、46.19%、27.71%; 存活率随盐度升高而显著降低。随着盐度的升高, 仔虾体内 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性缓慢升高, 盐度60后趋于稳定。总ATPase活性表现出先小幅下降后稳定的趋势, 最终维持在1.4 U/mg prot左右。T-SOD和CAT活性随盐度升高均呈现出先升高后降低的趋势, 盐度50时达到峰值; ACP和AKP活性随盐度升高呈上升趋势, 不同盐度间差异显著。此外, 盐度显著影响凡纳滨对虾仔虾的MDA含量, 对LZM含量无显著影响。研究表明, 盐度越高, 仔虾生长越缓慢, 用于渗透调节的能量增加。在一定的盐度范围内, 高盐能激发仔虾机体部分非特异性免疫酶活性以适应高盐胁迫。

关键词: 凡纳滨对虾; 仔虾; 高盐胁迫; 渗透调节; 酶活性

中图分类号: Q 55; S 968.22

文献标志码: A

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)俗称南美白对虾, 属广盐性虾类, 具有生长速率快、适应环境能力强、抗病耐病等优点, 是我国主养的经济虾类之一, 已在海水、咸水和淡水等水域广泛养殖^[1]。盐度是影响对虾繁殖、生长和分布的重要生态因子。盐度变化直接影响对虾机体的代谢水平和生理调节机制^[2-5]。国内外学者在凡纳滨对虾盐度适应方面做了大量的研究, 但多限于0~35的盐度范围^[6-7], 对更高盐度的研

究甚少^[8]。

仔虾期是对虾生活史中盐度调节的关键期, 生产中盐度驯化也多在此阶段完成。但目前苗种高盐驯化存在死亡率偏高、苗种体质弱、生长发育慢等问题。因此, 本实验以凡纳滨对虾仔虾为研究对象, 分析高盐胁迫对仔虾生长、渗透调节及免疫相关酶活性的影响, 旨在为凡纳滨对虾高盐苗种驯化和养殖提供理论指导, 同时为其他甲壳动物的耐高盐机理研究

收稿日期: 2018-09-12 修回日期: 2018-12-28

资助项目: 国家自然科学基金(31101916); 山东省现代农业产业技术体系虾蟹类创新团队项目(SDAIT-15-011); 山东省海洋与渔业科技创新计划(2017YY20); 青岛农业大学研究生创新计划(QYC201725)

通信作者: 李玉全, E-mail: jiangfangqian@163.com

提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料获取与管理

实验于2017年6—7月在青岛农业大学海洋科学与工程学院开放实验室进行,所用凡纳滨对虾仔虾来自滨州北海新区海缘养殖科技有限公司,选同家系同批次发育一致的P₅仔虾,运至实验室,置于75 cm×45 cm×50 cm玻璃水槽中暂养7 d。实验用高盐水由海水晶与自然海水调配而成,使用前进行砂滤和曝气等处理。投喂仔虾配合饲料(粗蛋白46.0%、粗脂肪10.6%、粗纤维1.8%、粗灰分13.0%、赖氨酸2.3%、水分5.0%),每天4次(7:00、12:00、17:00、22:00),日投喂量约为仔虾体质量的10%,投喂1 h后及时清除残饵和粪便。实验期间每2天换水1次,换水量为水体的1/3。水温(29.5±0.5)℃,pH 7.8~8.4,溶解氧含量维持在5 mg/L以上。

1.2 实验设计

实验设4个盐度梯度(40、50、60和65),以盐度30为对照,每个处理设3个平行组。按照单次盐度调节幅度为每天3~6,驯化速率6 h/次的方法将凡纳滨对虾仔虾驯化到目标盐度。实验在75 cm×45 cm×50 cm玻璃水槽中进行,每组放养仔虾幼体300尾,维持目标盐度养殖30 d,养殖管理方法同暂养。实验结束时,每个平行组分别取100尾,蒸馏水清洗2次,置于灭菌的离心管中,立即放入-80℃超低温冰箱保存备用。

1.3 样品处理

酶活性检测前将样品放置于冰箱中4℃解冻,取适量样本,用灭菌的生理盐水润洗,滤纸吸干后称重,置于10 mL离心管中,加入9倍体积匀浆介质,冰浴匀浆,冷冻离心(0~4℃,

10 000 r/min, 10 min),取上清液分装于1.5 mL离心管中,快速测定各种酶活性和含量。

1.4 指标测定

实验开始和结束时,各处理组分别取50尾仔虾用重蒸水冲洗3次,用分析天平称体质量,按下列公式计算平均日增重。

$$\text{平均日增重}(\text{mg/d}) = (W_t - W_0)/t$$

式中, W_t 为实验结束时仔虾的体质量, W_0 为实验开始时仔虾的体质量, t 为实验持续时间(d)。

酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(AKP)、总超氧化物歧化酶(T-SOD)、过氧化氢酶(CAT)、总ATP酶(T-ATPase)、 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性和溶菌酶(LZM)、丙二醛(MDA)含量均采用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒测定,样品前处理、试剂配制和测定步骤严格按照操作说明书进行。

1.5 数据分析

实验数据用平均值±标准差表示,利用SPSS 19.0统计软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA)以及Duncan氏多重比较检验数据差异的显著性,以 $P<0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 高盐对仔虾生长性能和存活率的影响

高盐会抑制凡纳滨对虾仔虾的生长(表1)。随着盐度升高,仔虾的平均日增重逐渐降低。除40盐度组外,其他实验组仔虾平均日增重均与对照组差异显著($P<0.05$),其中盐度65处理平均日增重最低,仅为对照组的27.71%,且与其他各处理间差异显著($P<0.05$);盐度30和40处理间、盐度50和60处理间差异不显著($P>0.05$)。随着盐度的升高,仔虾存活率显著下降($P<0.05$)。其中,盐度30与盐度40处理组存活率无显著差异($P>0.05$),但与其他组之间存活率差异显著($P<0.05$)。养殖盐度超过60时,存活率低于50%。

表1 高盐胁迫对凡纳滨对虾仔虾平均日增重的影响

Tab. 1 Effects of high-salt stress on average daily gain of *L. vannamei* postlarvae

指标 index	盐度 salinity				
	30	40	50	60	65
平均日增重/(mg/d) average daily gain	43.30±2.76 ^a	36.60±4.86 ^a	26.40±1.01 ^b	20.00±6.26 ^b	12.00±1.47 ^c
存活率/% survival rate	85.90±5.50 ^c	78.20±4.15 ^{bc}	68.60±6.00 ^c	42.70±8.02 ^a	36.00±3.86 ^a

注:不同字母代表差异显著($P<0.05$);下同

Notes: values in different groups with different letters are significantly different ($P<0.05$); the same below

2.2 高盐对仔虾总ATPase和 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性的影响

仔虾总ATPase活性受高盐胁迫影响较小(图1), 仅65盐度组与对照组差异显著($P<0.05$); 随盐度升高, 总ATPase活性呈降低趋势, 但盐度40以上各处理间差异不显著($P>0.05$)。 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性与总ATPase活性变化趋势相反, 表现为随盐度的升高逐步升高(图2)。盐度从30升高到40, 仔虾的 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性迅速升高, 后呈缓慢上升趋势。盐度60和65组 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性显著高于40盐度组和对照组($P<0.05$)。

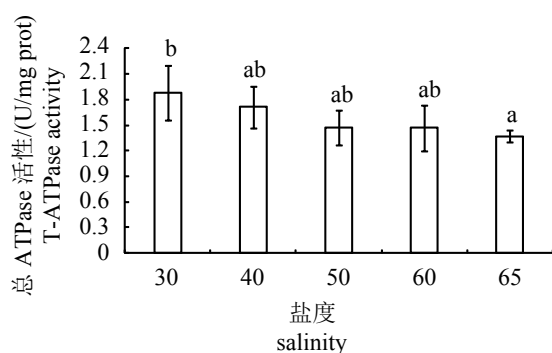


图1 高盐胁迫对凡纳滨对虾仔虾体内总ATPase活性的影响

小写字母不同代表差异显著($P<0.05$), 下同

Fig. 1 Effects of high-salt stress on T-ATPase activity of *L. vannamei* postlarvae

The different letters mean significant difference ($P<0.05$), the same below

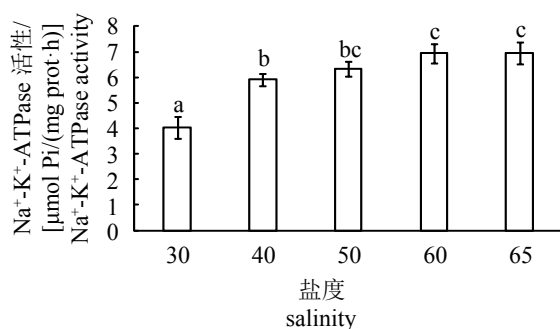


图2 高盐胁迫对凡纳滨对虾仔虾体内 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性的影响

Fig. 2 Effects of high-salt stress on $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity of *L. vannamei* postlarvae

2.3 高盐对仔虾免疫相关酶活性的影响

高盐胁迫下, 仔虾的T-SOD和CAT活性变化不显著(图3, 图4), 虽呈单峰变化, 盐度50时达

到峰值, 分别为16.12和1.4 U/mg prot, 但组间无显著性差异($P>0.05$)。

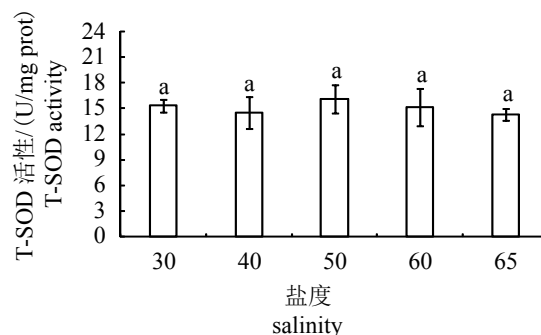


图3 高盐胁迫对凡纳滨对虾仔虾体内T-SOD活性的影响

Fig. 3 Effects of high-salt stress on T-SOD activity of *L. vannamei* postlarvae

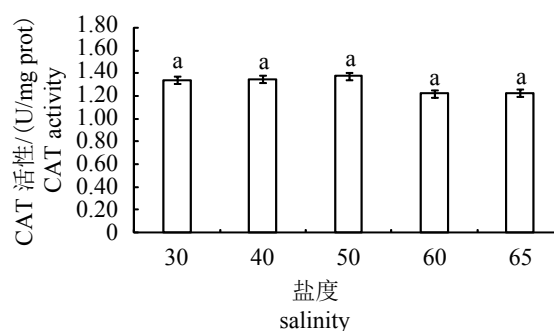


图4 高盐胁迫对凡纳滨对虾仔虾体内CAT活性的影响

Fig. 4 Effects of high-salt stress on CAT activity of *L. vannamei* postlarvae

随盐度升高, ACP和AKP的活性均逐步升高。统计分析表明, 盐度显著影响ACP活性($P<0.05$), 其中盐度30和40时ACP活性较低, 维持在164.68~213.72金氏单位/(g prot·mL) (图5); 盐度50时, ACP活性显著提升, 比对照组高80.71%; 随着盐度继续升高, ACP活性继续升高; 65盐度组ACP活性水平显著高于50、40盐度组和对照组($P<0.05$), 但与60盐度组间无显著差异($P>0.05$)。AKP活性同样随盐度升高而逐渐上升(图6), 盐度65、50与对照组间差异显著($P<0.05$), 而盐度30与40处理间以及盐度50与60处理间无显著差异($P>0.05$)。

高盐胁迫对凡纳滨对虾仔虾MDA和LZM含量影响的结果显示, 高盐胁迫条件下, 盐度显著影响仔虾的MDA含量($P<0.05$), 盐度越高, MDA

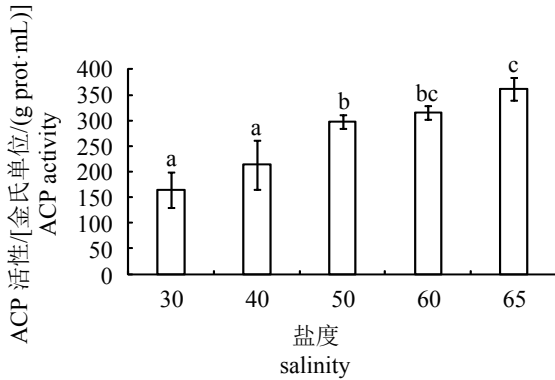


图5 高盐胁迫对凡纳滨对虾仔虾体内 ACP活性的影响

Fig. 5 Effects of high-salt stress on ACP activity of *L. vannamei* postlarvae

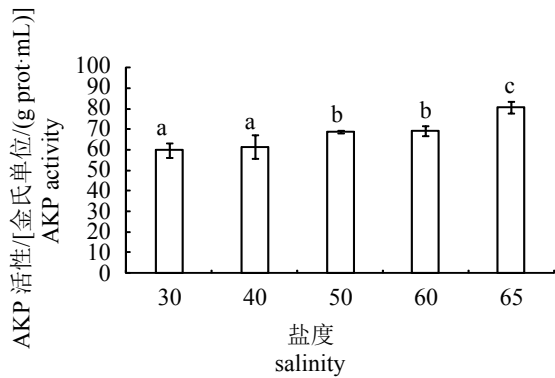


图6 高盐胁迫对凡纳滨对虾仔虾体内 AKP活性的影响

Fig. 6 Effects of high-salt stress on AKP activity of *L. vannamei* postlarvae

含量越高(图7); 65和30盐度组间MDA含量差异显著, 含量相差0.452 nmol/mL。LZM含量不受盐

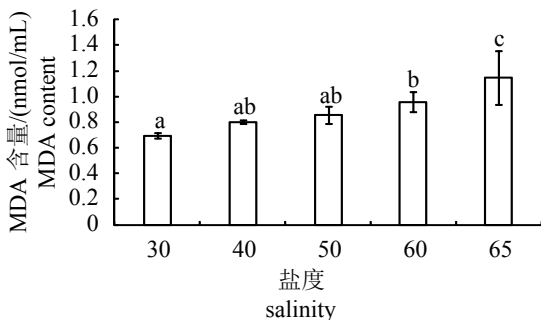


图7 高盐胁迫对凡纳滨对虾仔虾体内 MDA含量的影响

Fig. 7 Effects of high-salt stress on MDA content of *L. vannamei* postlarvae

度变化的影响($P>0.05$), 一直维持在较低的水平, 为13.29~15.28 U/mg prot (图8)。

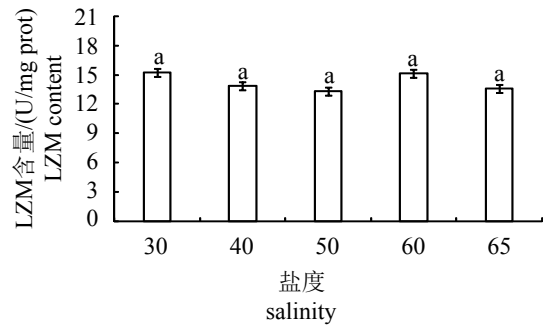


图8 高盐胁迫对凡纳滨对虾仔虾体内 LZM含量的影响

Fig. 8 Effects of high-salt stress on LZM content of *L. vannamei* postlarvae

3 讨论

3.1 高盐胁迫对凡纳滨对虾生长和存活率的影响

凡纳滨对虾是一种广盐性虾类, 关于其耐受盐度和最适盐度研究已有较多报道, 但结果不一致。陈永乐等^[7]认为其耐受范围为0.5~78, 最适盐度范围10~25; Li等^[9]认为最适盐度为20; 申玉春等^[10]认为盐度18最适, 此外也有其他相关研究报道, 绝大多数报道的最适盐度范围为18~35。对虾类的等渗点一般处于盐度24~26^[11]。

凡纳滨对虾在等渗点和低于等渗点时生长效果最佳^[12-13]。但也有研究认为, 适宜盐度下凡纳滨对虾的同化率会随盐度降低而降低。外界环境盐度高于或低于自身渗透压时, 甲壳动物会额外消耗能量调节渗透压平衡, 从而使用于生长发育的能量减少, 生长受抑制^[14-16]。关于凡纳滨对虾高盐环境下生长受抑制的研究也有个别报道。李娜等^[3]以凡纳滨对虾成虾为研究对象, 认为高盐环境不利于凡纳滨对虾的生长及饵料利用。本研究表明, 高盐胁迫显著影响凡纳滨对虾仔虾的生长($P<0.05$), 这与李二超等^[16]、李娜等^[3]、戴习林等^[17]和Panikkar^[18]的研究结论一致。此外, 盐度可通过改变对虾的蜕壳周期与渗透压等影响其生长。在对虾的蜕壳生长期间, 高盐海水比低盐海水能提供更多蜕壳所需的钙离子, 但对虾的蜕壳过程不仅需要物质积累, 更需要更多能量去调节, 渗透调节又会导致代谢加快, 物质积累量不足, 蜕壳周期延长, 蜕

壳次数减少, 生长速率也会减慢。本研究发现, 高盐环境对凡纳滨对虾的存活率具有显著的影响。对虾的存活率会随着盐度的升高而逐步降低, 盐度高于60时, 存活率仅为40%左右。

3.2 高盐胁迫对凡纳滨对虾仔虾渗透调节的影响

环境因子变化时, 生物体依靠自身特有的平衡调控机制进行适应性调节, 以维持机体正常的生理代谢。其中广盐性甲壳动物适应不同环境最重要的能力是血淋巴的渗透调节和离子调节, 而渗透调节和离子调节过程又伴随着能量代谢, 通过能量的贮存、释放、转移和利用来实现机体正常功能的运转^[18-19]。ATPase是维持机体内环境稳定的重要渗透调节酶。近年来, 针对不同条件下甲壳动物的 Na^+/K^+ -ATPase活性变化已开展了大量研究, 研究普遍认为 Na^+/K^+ -ATPase对血淋巴渗透压具有重要的调节和维持作用^[20-22]。甲壳动物主要依靠鳃上皮细胞膜上的 Na^+/K^+ -ATPase以主动运输的方式转运 Na^+ 和 K^+ , 从而维持机体的 Na^+ 、 K^+ 离子平衡和调节血淋巴渗透压^[23]。当外界环境与机体内环境处于等渗点时, Na^+/K^+ -ATPase转运 Na^+ 最少, 耗氧率最低, 用于渗透调节的能量最低。本实验中, Na^+/K^+ -ATPase活性随盐度升高而升高, 盐度60~65时 Na^+/K^+ -ATPase活性趋于稳定, 认为仔虾在较高的盐度条件下, 机体维持渗透平衡要消耗大量能量, Na^+/K^+ -ATPase转运能力不断升高, 但 Na^+/K^+ -ATPase转运 Na^+ 的能力有限, 盐度达到60时, 转运能力达到最大。但从总ATPase活性变化趋势来看, 其活性变化不明显, 仅65盐度组与对照组存在显著差异($P<0.05$)。因此, 总ATPase酶活性下降可能与 Ca^{2+} 和 Mg^{2+} 转运有关, 具体原因还需进一步研究证实。

3.3 高盐胁迫对凡纳滨对虾仔虾非特异性免疫的影响

甲壳动物以非特异性免疫为主。T-SOD和CAT活性是机体抗氧化系统中衡量机体内自由基代谢及组织氧化损伤的2种重要指标, 对机体细胞损伤后的氧化过程和吞噬作用具有很强的防御功能^[24]。在高盐度条件下, 对虾体内自由基会不断积累, 如果未被及时清除而累积到一定水平便会使虾体受到严重的氧化性损伤。T-SOD和

CAT具有协同作用, 能将过氧化氢转变为水进行正常代谢^[25]。本实验中, 仔虾体内T-SOD与CAT活性在高盐条件下均表现出先升高后降低的变化趋势, 盐度50时活性最高, 但各盐度梯度下2种抗氧化酶活性无显著差异($P>0.05$), 说明仔虾的抗氧化能力有限, 这与李娜等^[8]的研究结果一致。但成虾的CAT活性要高于仔虾和幼虾。ACP和AKP是衡量机体免疫机能和健康状况的重要指标^[26-28]。本实验中, 高盐胁迫下凡纳滨对虾仔虾ACP和AKP活性均随着盐度升高而增强, 且增幅较大, 说明抵御恶劣环境, 清除体内产生的异物能力增强。但李娜等^[8]在成虾上的研究认为, 随盐度升高ACP活性先升高后降低。部分酶活性是否存在规格间的差异还需要进一步的实验证实。LZM主要针对革兰氏阳性菌发挥作用^[29]。本实验中LZM含量在各盐度梯度下无显著差异($P>0.05$), 且均保持在较低的水平, 可见盐度对凡纳滨对虾仔虾的LZM含量影响较小。MDA含量常可反映机体内脂质过氧化的程度, 进而间接反映出细胞损伤的程度^[30-31]。本实验发现, 仔虾在不同高盐胁迫梯度下, MDA随盐度升高而升高, 机体抗氧化系统受损逐步加重, 仔虾体内的细胞受损程度也越高。

参考文献:

- [1] 杨海朋, 胡超群, 张吕平, 等. 凡纳滨对虾家系淡水耐受性状与生长性状的关系[J]. 热带海洋学报, 2014, 33(4): 69-76.
Yang H P, Hu C Q, Zhang L P, et al. The relationship between tolerance to fresh water and growth traits for desalination culture in families of Pacific white leg shrimp, *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Tropical Oceanography, 2014, 33(4): 69-76(in Chinese).
- [2] 杨世平, 王成桂, 黄海立, 等. 环境温度和盐度对墨吉明对虾(*Fenneropenaeus merguensis*)胚胎发育的影响[J]. 海洋与湖沼, 2014, 45(4): 817-822.
Yang S P, Wang C G, Huang H L, et al. Effects of environmental temperature and salinity on embryonic development of *Fenneropenaeus merguensis*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2014, 45(4): 817-822(in Chinese).
- [3] 李娜, 王仁杰, 赵玉超, 等. 高盐胁迫对凡纳滨对虾生长指标、血浆渗透压及 Na^+/K^+ -ATP酶活力的影响[J]. 浙江海洋学院学报(自然科学版), 2017, 36(3): 196-201.

- Li N, Wang R J, Zhao Y C, *et al.* Effects of high salinity on growth index, plasma osmotic pressure and $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activities of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Zhejiang Ocean University (Natural Science)*, 2017, 36(3): 196-201(in Chinese).
- [4] 刘慧杰, 潘鲁青, 胡发文. 凡纳滨对虾在盐度变化下免疫机能评价的研究[J]. *海洋湖沼通报*, 2008(2): 159-201.
- Liu H J, Pan L Q, Hu F W. The appraisalment of immune ability of *Litopenaeus vannamei* under the change of salinity[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2008(2): 159-201(in Chinese).
- [5] 张开全, 潘鲁青, 陈文斌. 盐度变化对生物絮团养殖水质和对虾生理健康指标的影响[J]. *海洋湖沼通报*, 2016(3): 75-82.
- Zhang K Q, Pan L Q, Chen W B. Effect of salinity periodic mutates on water quality, growth and the status health of shrimp *Litopenaeus vannamei* reared in biofloc-based culture tanks[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2016(3): 75-82(in Chinese).
- [6] 郇卫华, 谭北平, 麦康森, 等. 长期低渗胁迫诱导凡纳滨对虾肝胰腺差异表达基因的研究[J]. *中国海洋大学学报*, 2013, 43(9): 39-46.
- Gao W H, Tan B P, Mai K S, *et al.* Dentification of differentially expressed genes in hepatopancreas of white shrimp *Litopenaeus vannamei* induced by long-term low-salinity stress[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2013, 43(9): 39-46(in Chinese).
- [7] 陈永乐, 张亮森, 朱新平, 等. 南美白对虾的生物学及其养殖技术要素[J]. *淡水渔业*, 2003, 33(1): 54-55.
- Chen Y L, Zhang L S, Zhu X P, *et al.* Biology of south American white prawn and several essential factors in their culture techniques[J]. *Freshwater Fisheries*, 2003, 33(1): 54-55(in Chinese).
- [8] 李娜, 赵玉超, 王仁杰, 等. 高盐胁迫对凡纳滨对虾消化及免疫相关酶活力的影响[J]. *生态学报*, 2018, 38(4): 1411-1417.
- Li N, Zhao Y C, Wang R J, *et al.* Effects of high salinity on digestive and immunity-related enzymes in *Litopenaeus vannamei*[J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2018, 38(4): 1411-1417(in Chinese).
- [9] Li E C, Chen L Q, Zeng C, *et al.* Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at different salinities[J]. *Aquaculture*, 2007, 265(1-4): 385-390.
- [10] 申玉春, 陈作洲, 吴灶和, 等. 盐度和营养对凡纳滨对虾生长、耗氧率及排氨率的影响[J]. *热带海洋学报*, 2010, 29(5): 111-118.
- Shen Y C, Chen Z Z, Wu Z H, *et al.* Effects of salinity and nutrition on growth, respiration and excretion of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Tropical Oceanography*, 2010, 29(5): 111-118(in Chinese).
- [11] Castille Jr F L, Lawrence A L. The effect of salinity on the osmotic, sodium and chloride concentrations in the hemolymph of euryhaline shrimp of the genus *Penaeus*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Physiology*, 1981, 68(1): 75-80.
- [12] Bray W A, Lawrence A L, Leung-Trujillo J R. The effect of salinity on growth and survival of *Penaeus vannamei*, with observations on the interaction of IHNV virus and salinity[J]. *Aquaculture*, 1994, 122(2-3): 133-146.
- [13] Ogle J T, Beaugez K, Lotz J M. Effects of salinity on survival and growth of postlarval *Penaeus vannamei*[J]. *Gulf and Caribbean Research*, 1992, 8(4): 415-421.
- [14] Ye L, Jiang S G, Zhu X M, *et al.* Effects of salinity on growth and energy budget of juvenile *Penaeus monodon*[J]. *Aquaculture*, 2009, 290(1-2): 140-144.
- [15] Pillai B R, Diwan A D. Effects of acute salinity stress on oxygen consumption and ammonia excretion rates of the marine shrimp *Metapenaeus monoceros*[J]. *Journal of Crustacean Biology*, 2002, 22(1): 45-52.
- [16] 李二超, 陈立侨, 曾嵘, 等. 盐度对凡纳滨对虾体组织蛋白质积累、氨基酸组成和转氨酶活性的影响[J]. *水生生物学报*, 2009, 33(3): 532-538.
- Li E C, Chen L Q, Zeng C, *et al.* Protein accumulation, amino acid profile and amino transferase activities of the white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at different salinities[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2009, 33(3): 532-538(in Chinese).
- [17] 戴习林, 张立田, 臧维玲, 等. Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度对凡纳滨对虾存活、生长及风味的影响[J]. *水产学报*, 2012, 36(6): 914-921.
- Dai X L, Zhang L T, Zang W L, *et al.* Effect of Ca^{2+} , Mg^{2+} and salinity on survival, growth and shrimp taste of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2012, 36(6): 914-921(in Chinese).

- [18] Panikkar N K. Osmotic behaviour of shrimps and prawns in relation to their biology and culture[J]. FAO Fisheries Report, 1968, 57(2): 527-538.
- [19] 陈垂坤, 郇卫华. 盐度和营养素对甲壳动物营养生理的影响研究进展[J]. 长江大学学报(自然科学版), 2015, 12(3): 47-51.
- Chen C K, Gao W H. Research progress on effects of salinity and nutrients on crustacean nutrition physiology[J]. Journal of Yangtze University (Natural Science Edition), 2015, 12(3): 47-51(in Chinese).
- [20] Corotto F S, Holliday C W. Branchial Na, K⁺-ATPase and osmoregulation in the purple shore crab, *Hemigrapsus nudus* (Dana)[J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Physiology, 1996, 113(4): 361-368.
- [21] Masui D C, Mantelatto F L M, McNamara J C, et al. Na⁺, K⁺-ATPase activity in gill microsomes from the blue crab, *Callinectes danae*, acclimated to low salinity: novel perspectives on ammonia excretion[J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2009, 153(2): 141-148.
- [22] 江山, 许强华. 盐度胁迫对三疣梭子蟹鳃Na⁺/K⁺-ATPase酶活的影响[J]. 水产学报, 2011, 35(10): 1475-1480.
- Jiang S, Xu Q H. Influence of salinity stress on the activity of gill Na⁺/K⁺-ATPase in swimming crab (*Portunus trituberculatus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(10): 1475-1480(in Chinese).
- [23] Wilder M N, Ikuta K, Atmomassono M, et al. Changes in osmotic and ionic concentrations in the hemolymph of *Macrobrachium rosenbergii* exposed to varying salinities and correlation to ionic and crystalline composition of the cuticle[J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology, 1998, 119(4): 941-950.
- [24] Nichols T L, Whitehouse C A, Austin F E. Transcriptional analysis of a superoxide dismutase gene of *Borrelia burgdorferi*[J]. FEMS Microbiology Letters, 2000, 183(1): 37-42.
- [25] Mathew S, Ashok Kumar K, Anandan R, et al. Changes in tissue defence system in white spot syndrome virus (WSSV) infected *Penaeus monodon*[J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Toxicology & Pharmacology, 2007, 145(3): 315-320.
- [26] Muta T, Iwanaga S. The role of hemolymph coagulation in innate immunity[J]. Current Opinion in Immunology, 1996, 8(1): 41-47.
- [27] 柳飞, 李健, 李吉涛, 等. 碳酸盐碱度对脊尾白虾生存、生长、繁殖及免疫酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2016, 23(5): 1137-1147.
- Liu F, Li J, Li J T, et al. Effects of carbonate alkalinity stress on the survival, growth, reproduction, and immune enzyme activities of *Exopalaemon carinicauda*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2016, 23(5): 1137-1147(in Chinese).
- [28] 陈清西, 陈素丽, 石艳, 等. 长毛对虾碱性磷酸酶性质[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 1996, 35(2): 257-261.
- Chen Q X, Chen S L, Shi Y, et al. Characterization of Alkaline Phosphatase from *Penaeus penicillatus*[J]. Journal of Xiamen University (Natural Science Edition), 1996, 35(2): 257-261(in Chinese).
- [29] 王坛, 华雪铭, 朱伟星, 等. 饲料中添加溶菌酶对吉富罗非鱼生长、免疫—抗氧化功能及血清抗菌性能的影响[J]. 水生生物学报, 2016, 40(4): 663-671.
- Wang T, Hua X M, Zhu W X, et al. Effects of dietary lysozyme supplementation on growth performance, immune-antioxidant capacity and serum antibacterial properties of gift tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2016, 40(4): 663-671(in Chinese).
- [30] 姚仕彬, 叶元土, 蔡春芳, 等. 丙二醛对离体草鱼肠道黏膜细胞的损伤作用[J]. 水生生物学报, 2015, 39(1): 133-141.
- Yao S B, Ye Y T, Cai C F, et al. Damage of MDA on intestinal epithelial cells *in vitro* of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*)[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2015, 39(1): 133-141(in Chinese).
- [31] 王学锋, 陈海刚, 蔡文贵, 等. 汞离子胁迫对红鳍笛鲷抗氧化酶及乙酰胆碱酯酶活性的影响[J]. 水产学报, 2010, 34(12): 1829-1836.
- Wang X F, Chen H G, Cai W G, et al. Effects of mercury exposure on the antioxidant enzymes and acetylcholinesterase activities in the young crimson snapper (*Lutjanus erythropterus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(12): 1829-1836(in Chinese).

Effects of high-salt stress on daily weight gain, osmoregulation and immune related enzyme activities in *Litopenaeus vannamei* postlarvae

ZHAO Yuchao¹, WANG Renjie¹, SHEN Min¹, CUI Yanting¹, WANG Shusheng²,
LI Yuquan^{1*}, FU Ruijiang³, ZHANG Shaolong³

(1. Marine Science and Engineering College, Qingdao Agricultural University, Qingdao 266109, China;

2. Binzhou Fisheries Technology Extension Station, Binzhou 256616, China;

3. Hai Yuan Breeding Technology Co., Ltd., Binzhou 256619, China)

Abstract: In order to investigate salt tolerance and immune response under high-salt stress in postlarvae of *Litopenaeus vannamei*, a 30-day feeding trial was conducted with different high-salt stress (40, 50, 60, 65 and 30 as CK). Body weight were detected at the start and end of the trial to get average daily gain, and the activities of T-ATPase, Na⁺-K⁺-ATPase, ACP, AKP, SOD, CAT, LZM and MDA were detected at the end of the trial. The results showed that high-salt stress significantly inhibited average daily gain of postlarvae. The average daily gain showed decreasing trend with the increase of salinity, those of salinity 40, 50, 60, 65 were 84.53%, 60.99%, 46.19% and 27.71% compared with 30, respectively; Survival rate decreased significantly as salinity increased. The T-ATPase activity of postlarvae showed a tendency to decrease first and then stabilize at about 1.4 U/mg prot with salinity increasing. However, the change trend of Na⁺-K⁺-ATPase activity was opposite to T-ATPase activity. When salinity was 60 and 65, the activity of Na⁺-K⁺-ATPase was stable. In addition, high-salt stress also significantly affected the activities of non-specific immunity enzymes of *L.vannamei* postlarvae. With the increase of salinity, the enzymes activities of T-SOD and CAT had the same trend, rising first and decreasing then. Their highest values, 16.118 U/mg prot and 1.378 U/mg prot respectively, were detected at the salinity of 50. The changes of ACP and AKP activities were positively correlated with salinity. Under different salt stress treatments, the content of MDA changed significantly, and LZM content did not significantly change at all salinity levels. The result indicated that the higher salinity, the slower the growth rate and the increase of the energy for osmotic regulation of *L.vannamei* postlarvae. In a certain salinity range, high-salt stress can stimulate some non-specific immunity enzymes to cope with the salt stress environment and reduce the damage to the body.

Key words: *Litopenaeus vannamei*; postlarvae; high-salt stress; osmotic regulation; enzyme activity

Corresponding author: LI Yuquan. E-mail: jiangfangqian@163.com

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31101916); Shandong Modern Agricultural Technology System of Shrimp and Crab Innovation Team (SDAIT-15-011); Innovation Program for Marine and Fishery Science and Technology of Shandong Province (2017YY20); Postgraduate Innovation Program of Qingdao Agricultural University (QYC201725)