

## 低盐水体 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ 对凡纳滨对虾生长、体成分与肝胰腺、鳃组织结构的影响

祝华萍<sup>1,2</sup>, 苏家齐<sup>1</sup>, 张子军<sup>3</sup>, 朱长波<sup>1\*</sup>,  
张博<sup>1</sup>, 李婷<sup>1</sup>, 陈素文<sup>1</sup>

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 农业农村部南海渔业资源开发利用重点实验室, 广东省渔业生态环境重点开放实验室, 广东广州 510300;  
2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;  
3. 鄂尔多斯市水产技术站, 内蒙古自治区鄂尔多斯 017010)

**摘要:** 缺钾在内陆低盐度盐碱水中经常发生, 为探究低盐水体中不同钾缺乏程度对凡纳滨对虾生长、存活、体成分以及鳃和肝胰腺组织结构的影响, 实验参照海水离子组成配置盐度为 2 的低盐度水体, 在  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  (mg/mg) 比值为 27、47、67、87、107 (分别记为 A、B、C、D、E 组) 的条件下, 对体重为  $(1.04 \pm 0.23)$  g 的凡纳滨对虾幼虾开展了为期 60 d 的养殖实验。结果显示, E 组对虾的存活率为  $44.64\% \pm 20.95\%$ , 显著低于 A、B、D 三组; E 组体重为  $(4.86 \pm 0.66)$  g, 显著低于其他 4 组; A~D 组之间的湿重、增重率、特定生长率差异不显著, 但均大于 E 组且差异显著; 在饲料系数上, E 组最高并与 A、D 组差异显著。在体成分上, 各组全虾钾含量、灰分含量差异不显著, E 组的水分含量高于其他组, 并与 A、B 组差异显著; E 组粗蛋白含量最低, 且与 B 组差异显著。E 组对虾鳃组织角质层明显受损, 红细胞数量减少, 空泡增多, 肝胰腺 B 细胞及其内部转运泡体积增大, 肝小管结构受损。研究表明, 低盐条件下严重缺钾引起了对虾鳃和肝胰腺损伤, 降低了对虾的存活率和生长率; 水体缺钾在前期即可对对虾的生长产生明显影响, 而对存活的影响随养殖时间的增加而增大。实验结果有助于为内陆低盐度盐碱水养殖凡纳滨对虾提供理论依据。

**关键词:** 凡纳滨对虾;  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ; 生长; 体成分; 组织结构

中图分类号: S 966.1

文献标志码: A

凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 属甲壳纲 (Crustacea) 十足目 (Decapoda) 对虾科 (Penaeidae), 具有生长快、抗病能力强和出肉率高等优点, 是当今世界养殖虾类产量最高的三大品种之一<sup>[1-2]</sup>。作为广盐性经济物种, 凡纳滨对虾在海洋、微咸、低盐度和淡水中均可生长<sup>[3]</sup>, 在我国 27 个省、市、自治区均有养殖生产, 2019 年淡水养殖产量为  $6.71 \times 10^5$  t, 占其养殖总产量的 36.97%<sup>[4]</sup>。同时,

凡纳滨对虾也因其广泛的盐度适应性成为内陆地区盐碱水养殖主要的驯养对象之一<sup>[5]</sup>。

在凡纳滨对虾的内陆养殖过程中, 人们往往采用地下咸水调节盐度或直接利用盐碱水资源开展养殖。与海水相比, 内陆含盐地下水和盐碱水在化学特性上存在明显差别, 其中  $\text{K}^+$  含量较低是其常见的特性之一, 影响对虾的生长和存活<sup>[6-8]</sup>。近年来, 学者们以  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  为衡量标准, 先后在不

收稿日期: 2021-10-26 修回日期: 2022-03-21

资助项目: 国家重点研发计划“蓝色粮仓科技创新”专项 (2020YFD0900403); 国家自然科学基金 (31902423); 准格尔旗 2021 年科技计划项目“准格尔旗盐碱地对虾养殖技术示范与推广”

第一作者: 祝华萍 (照片), 从事水产养殖生态学与模式研究, E-mail: 1660233867@qq.com

通信作者: 朱长波, 从事水产养殖生态学与模式研究, E-mail: zhu@imau.edu.cn



同盐度下研究  $K^+$  对凡纳滨对虾的生长存活、生理代谢的影响, 结果表明凡纳滨对虾在不同盐度下对养殖环境中  $K^+$  浓度的适应范围有所差异<sup>[9-12]</sup>。Zhu 等<sup>[13]</sup> 研究了水体  $Na^+/K^+$  和盐度的交互作用对凡纳滨对虾生长、饲料转化及养分保存的影响, 认为低盐可以提高凡纳滨对虾对钾缺乏的耐受性。目前, 关于  $K^+$  缺乏对凡纳滨对虾影响的研究主要在较高盐度下进行, 在低盐环境下的研究仅见于 Liu 等<sup>[12]</sup> 利用盐度为 4 的地下水, 在  $Na^+/K^+$  为 14~60 (mg/mg) 对凡纳滨对虾生长及生理特性的研究报道。本研究参照正常海水离子组成, 在  $Na^+/K^+$  为 27~107、盐度为 2 的人工咸淡水条件下, 开展为期 60 d 的凡纳滨对虾养殖实验, 并对对虾的生长、体成分以及肝胰腺和鳃组织结构变化进行分析, 以期为低盐环境下凡纳滨对虾对  $K^+$  缺乏的抗逆适应性以及内陆盐碱水养殖供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验设计与水体调配

实验在中国水产科学研究院南海水产研究所珠海试验基地进行, 在充分曝气的自来水中加入不含钾的人工海水素(江西海鼎科技有限公司)调配水体盐度到 2, 再分别加入不同质量的 KCl 调节水中  $K^+$  的含量, 配制不同  $Na^+/K^+$  比的盐度为 2 的实验用水, 实验设置 5 个  $Na^+/K^+$  水平: 27(A 组, 对照组)、47(B 组)、67(C 组)、87(D 组)、107(E 组)。

### 1.2 幼虾暂养

从基地养殖池塘(盐度 4)挑选同一批次、体质健康的凡纳滨对虾幼虾作为实验用虾, 分别在 5 个 350 L 塑料圆桶中各放置 100 尾幼虾暂养 6 d, 暂养水温为  $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ , 在暂养期的第 2、3 天, 分别降低 1 的盐度, 在盐度 2 水平上再次暂养 3 d。暂养期间第 1~5 天每天按体重的 6% 投饵 2 次。暂养结束后, 用滤纸吸去幼虾体表水分, 用电子天平称量幼虾体重, 最终选取平均湿重为  $(1.04 \pm 0.22)$  g 的对虾 180 尾作为实验用虾。本研究经过中国水产科学研究院南海水产研究所伦理委员会审核, 符合实验动物管理和实施要求。

### 1.3 生长实验

**实验管理** 对虾生长实验采用  $5 \times 6$  析因设计, 每个水族箱(容积 60 L, 养殖水体 40 L)放养实验虾 6 尾, 每个处理组设 6 个重复, 采用完全

随机分组排列, 共计 30 个水族箱。为防止对虾跳出逃逸, 所有水族箱均用遮网盖住。实验采用静水连续充气的方式, 养殖水体中  $DO > 6.0$  mg/L, pH 为 7.7~8.2, 光周期为 14 L : 10 D, 水温  $(26.0 \pm 1.0)^\circ\text{C}$ , 每 2 天换水 1/2, 4 d 全量换水。实验期间日投喂商品对虾饲料(海明威, 广东珠海) 2 次(6:00, 18:00), 各组饲料在投喂前准确称量, 残饵在投饵 2 h 后用虹吸法收集, 在  $65^\circ\text{C}$  烘干至恒重后保存在  $-20^\circ\text{C}$ 。每天记录对虾摄食和死亡情况, 每间隔 10 d 测量 1 次体重和体长。实验期满后, 分别将各水族箱的虾停食 24 h 后称量湿重, 用烘箱在  $105^\circ\text{C}$  烘干至恒重, 保存在  $-20^\circ\text{C}$  环境下用于体成分测定。

**生长指标计算** 实验期间, 凡纳滨对虾的成活率、相对增重率、特定生长率及饲料系数:

存活率 (survival rate, SR, %) =  $N_t/N_0 \times 100\%$

相对增重率 (weight gain rate, WGR, %) =  $(W_t - W_0)/W_0 \times 100\%$

特定生长率 (specific growth rate, SGR, %/d) =  $(\ln W_t - \ln W_0)/T \times 100\%$

饲料系数 (feed coefficient, FC) = 饲料摄入量/体重增加量

式中,  $W_0$  为凡纳滨对虾初始湿重,  $W_t$  为凡纳滨对虾终末湿重,  $N_0$  为凡纳滨对虾初始尾数、 $N_t$  为凡纳滨对虾实验  $t$  天时存活虾尾数,  $T$  为实验持续时间 (d)。

**全虾体成分的测定** 对虾的水分含量以烘干前后重量的减少量为准, 采用  $105^\circ\text{C}$  烘干至恒重测定 (GB 5006.3—2016)。粗蛋白含量采用凯氏定氮法测定 (氮乘以 6.25) (GB 5009.5—2016)。灰分含量通过在马弗炉中灼烧  $(550 \pm 25)^\circ\text{C}$ , 8 h 后测定 (GB 5009.4—2016)。全虾体钾的测定: 测定干样于  $550^\circ\text{C}$  灰化, 用 1% 盐酸溶解定容后采用日立-Z5000 火焰原子吸收光谱仪测定  $K^+$  含量。

### 1.4 肝胰腺、鳃组织结构

生长实验结束时, 取对虾少许肝胰腺以及鳃组织放入 Bouin 氏液中固定 24 h 后, 用乙醇逐级脱水, 石蜡包埋后切片, H.E 染色, 光学显微镜观察并拍照。

### 1.5 数据分析

实验结果均采用平均值  $\pm$  标准差 (mean  $\pm$  SD) 表示, 用 GraphPad Prism.8 和 SPSS 25 软件进行数据统计分析, 利用单因素方差分析 (One-Way

ANOVA) 和 Duncan 氏方法进行比较检验。为了减小方差齐性, 对虾存活率均转化为反正弦函数  $\text{Asin}$ , 在数据不满足方差齐性的条件下则采用 Dunnett 氏 T3 方法进行比较检验。 $P < 0.05$  为差异显著,  $P < 0.01$  为差异极显著。

## 2 结果

### 2.1 低盐水体中 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ 对凡纳滨对虾存活和生长的影响

在实验开始后第 10~50 天, 各实验组存活率无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 其中对照组 A 组在第 30 天前无死亡, E 组第 10、30、40、50 天的存活率低于其他各组 (图 1)。在实验结束的第 60 天, E 组存活率最低, 为  $44.64\% \pm 20.95\%$ , 显著低于除 C 组外的其他 3 组 ( $P < 0.05$ )。A 组最高, 为  $70.83\% \pm 8.33\%$ , 但与除 E 组外其他 3 组无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

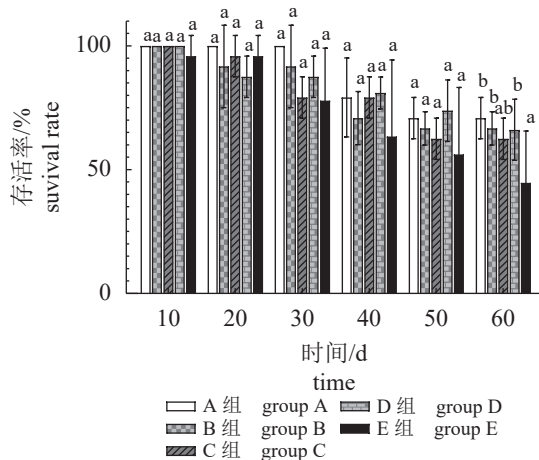


图 1 低盐水体中  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  对凡纳滨对虾幼虾存活的影响  
同一时间段上标小写字母不同表示存在显著差异 ( $P < 0.05$ ), 下同。

Fig. 1 Effects of  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ratio in low salinity water on the survival of juvenile *L. vannamei*

Different lowercase letters on the same time period indicate a significant difference ( $P < 0.05$ ), the same below.

在实验第 10 天, E 组体重低于其他 4 组并差异显著 ( $P < 0.05$ )。第 20 天, C 组体重最大并与 A、E 两组差异显著 ( $P < 0.05$ ), E 组体重最低并与各组差异显著 ( $P < 0.05$ )。第 30 天时, C 组体重最大并与 E 组差异显著 ( $P < 0.05$ ), 其他各组间体重无显著差异。第 40 天, C 组体重最大, 并与除 B 组外的其他各组差异显著 ( $P < 0.05$ ), E 组体重低于各组并与 B、C 组差异显著 ( $P < 0.05$ )。第 50 天, C 组体重最高并与除 D 组外的其他各组差异显著

( $P < 0.05$ ), E 组体重显著低于其他 4 组 ( $P < 0.05$ )。第 60 天, E 组体重低于其他 4 组并差异显著 ( $P < 0.05$ ), 其他 4 组之间无显著差异 ( $P > 0.05$ ) (图 2)。

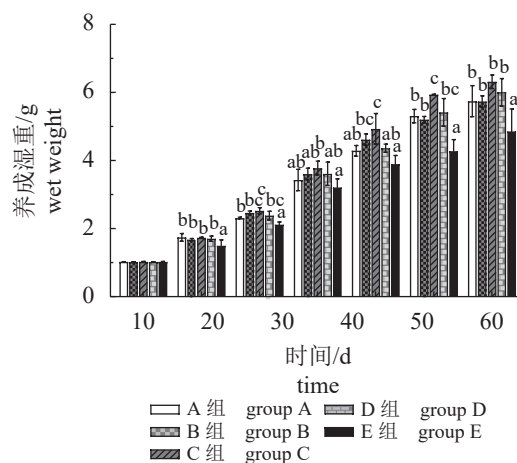


图 2 低盐水体中  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  对凡纳滨对虾幼虾体重的影响  
Fig. 2 Effects of  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ratio in low salinity water on the body weight of juvenile *L. vannamei*

低盐水体中不同  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  对凡纳滨对虾养成湿重、增重率、特定生长率和饲料系数影响显著 ( $P < 0.05$ ), C 组养成湿重最高且显著高于 E 组 (表 1)。E 组增重率低于其他各组且差异显著 ( $P < 0.05$ ), C 组最高 (518.2%)。C 组特定生长率最高 (3.04%), 且 E 组与其他各组均存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。A 组和 D 组饲料系数与 E 组存在显著差异 ( $P < 0.05$ ), 其中 A 组最小 (1.49), E 组最大 (1.85)。

### 2.2 低盐水体 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ 对凡纳滨对虾体成分及体钾的影响

随着  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  的增加, 凡纳滨对虾水分含量呈先下降后升高的变化趋势, B 组水分含量最低, 并显著低于 D、E 组, E 组水分含量最高, 并显著高于 A、B 组 ( $P < 0.05$ ) (表 2)。粗蛋白含量 B 组最高, E 组最低, 且 B 组与 E 组差异显著 ( $P < 0.05$ )。灰分含量则为 B 组最高, D 组最低, 且二者差异显著。各组间全虾体钾的含量无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

### 2.3 低盐水体 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ 对凡纳滨对虾鳃组织结构的影响

对照组凡纳滨对虾鳃组织结构完整, 细胞排列整齐, 细胞结构以及角质层形态结构正常 (图 3-a)。随着  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  升高, B、C 和 D 组的凡纳滨对虾鳃组织角质层增厚, 鳃丝间隙变宽 (图 3-b~d)。E 组对虾的鳃组织出现腔内空泡增多、血细胞减少, 鳃丝排列紊乱、变形或破损的现象 (图 3-e)。

表 1 低盐水体中  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  对凡纳滨对虾 60 d 生长指标的影响Tab. 1 Effects of  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ratio in low salinity water on the growth of *L. vannamei* in 60 days

指标 index	A组 group A	B组 group B	C组 group C	D组 group D	E组 group E
养成湿重/g final wet weight	5.75±0.46 <sup>b</sup>	5.74±0.17 <sup>b</sup>	6.32±0.20 <sup>b</sup>	6.01±0.40 <sup>b</sup>	4.86±0.66 <sup>a</sup>
增重率/% WGR	462.90±0.45 <sup>b</sup>	465.60±0.16 <sup>b</sup>	518.20±0.27 <sup>b</sup>	490.20±0.41 <sup>b</sup>	373.60±0.66 <sup>a</sup>
特定增长率/% SGR	2.88±0.13 <sup>b</sup>	2.89±0.05 <sup>b</sup>	3.04±0.07 <sup>b</sup>	2.96±0.12 <sup>b</sup>	2.58±0.23 <sup>a</sup>
饲料系数 FC	1.49±0.17 <sup>a</sup>	1.59±0.07 <sup>ab</sup>	1.60±0.14 <sup>ab</sup>	1.53±0.20 <sup>a</sup>	1.85±0.40 <sup>b</sup>

注: 表格中同一行上标的不同小写字母表示差异显著 ( $P < 0.05$ ), 下同。

Notes: In the same row, values with different superscripts mean significant differences ( $P < 0.05$ ). The same below.

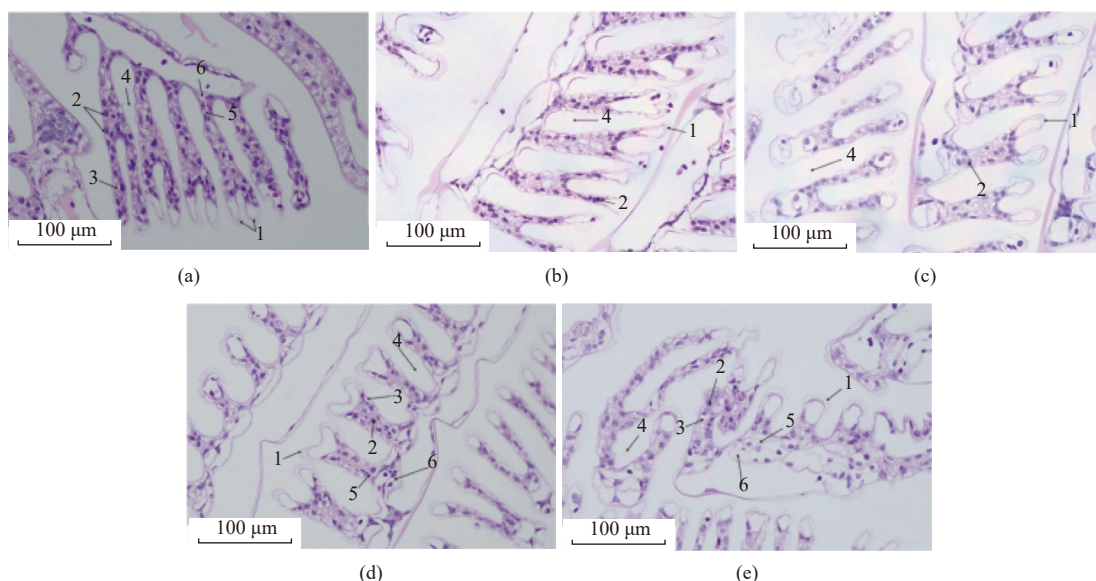
表 2 低盐水体中  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  对凡纳滨对虾体成分的影响Tab. 2 Effect of  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ratio in low salinity water on the conventional nutrient composition of *L. vannamei* %

指标 index	A组 group A	B组 group B	C组 group C	D组 group D	E组 group E
水分 moisture	75.97±0.79 <sup>ab</sup>	75.68±0.67 <sup>a</sup>	77.13±0.86 <sup>abc</sup>	77.39±0.3 <sup>bc</sup>	77.7±0.91 <sup>c</sup>
粗蛋白 crude protein	16.95±0.6 <sup>ab</sup>	17.22±0.54 <sup>b</sup>	16.17±0.46 <sup>ab</sup>	16.17±0.33 <sup>ab</sup>	15.88±0.74 <sup>a</sup>
灰分 ash	2.82±0.14 <sup>ab</sup>	2.92±0.25 <sup>b</sup>	2.64±0.08 <sup>ab</sup>	2.57±0.15 <sup>a</sup>	2.58±0.16 <sup>ab</sup>
体钾 body $\text{K}^+$	0.31±0.01	0.28±0.02	0.28±0.02	0.3±0.03	0.28±0.01

## 2.4 低盐水体 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ 对凡纳滨对虾肝胰腺组织结构的影响

低盐水体  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  为 27 时, 凡纳滨对虾肝小管形态完整, 管腔呈星型, 肝细胞结构正常、分布均匀 (图 4-a)。随着  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  升高, 肝小管 B 细胞转运泡数量增多、B 细胞体积增大 (图 4-b~c)。D 组

肝小管中少量 B 细胞破裂 (图 4-d)。E 组的肝胰腺中 B 细胞数量增加, 肝小管管腔明显变形, 少量 B 细胞破裂 (图 4-e)。各处理组 F 细胞数量无明显变化, R 细胞 (甲壳动物肝胰腺的贮藏细胞) 数量无显著变化。

图 3 低盐水体  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  对凡纳滨对虾鳃丝显微结构的影响

(a) 低盐水体中  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  为 27 (对照组) 鳃丝, 1. 角质层, 2. 血细胞, 3. 上皮细胞, 4. 组织间隙, 5. 入鳃血管, 6. 出鳃血管; (b)~(d).  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  为 47、67、87 鳃丝, 示角质层增厚, 鳃丝间隙变宽; (e)  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  为 107 鳃丝, 示腔内空泡增多、血细胞减少, 鳃丝排列紊乱、变形或破损。

Fig. 3 Effect of  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  on gill filament microstructure of *L. vannamei* in low salinity water

(a) the gill of *L. vannamei* exposed to  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  = 27 (control) in low-salt water, 1. cuticle, 2. haematocytes, 3. epithelial cells, 4. tissue spaces, 5. in-gill vessels, 6. and out-gill vessels; (b)~(d). the gill exposed to  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  = 47, 67, 87, indicating thickening of the cuticle and widening of the gill filament gap. (e) the gill exposed to  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  = 107, showing increased vacuolation in the lumen, reduced haemocytes and disorganised, distorted or broken gill filaments.

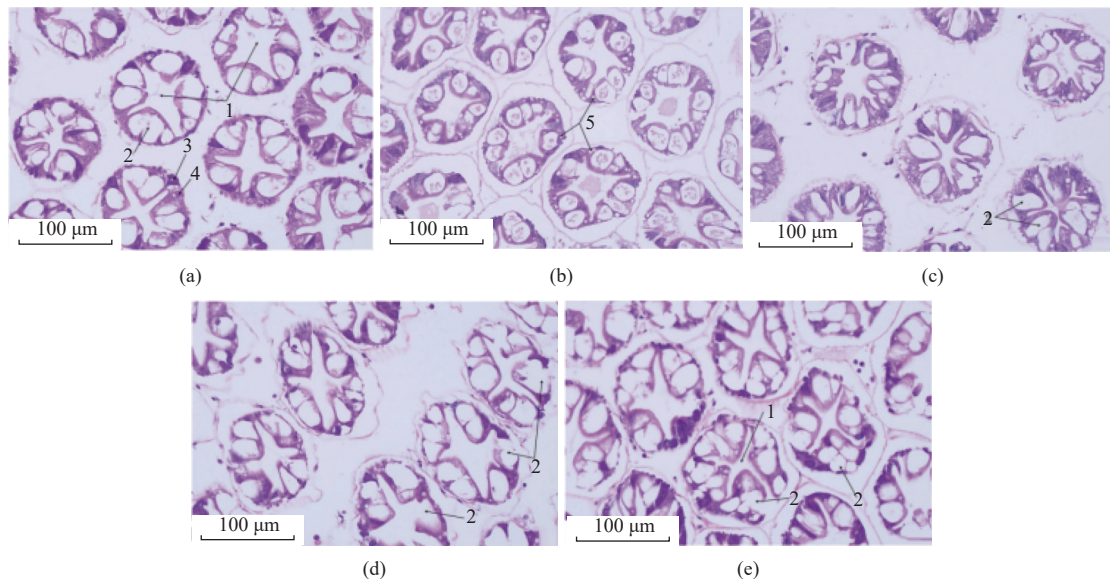


图 4 低盐水体  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  对凡纳滨对虾肝胰腺显微结构的影响

(a)  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  为 27 (对照组) 肝胰腺小管, 示凡纳滨对虾肝小管结构完整, 1. 管腔呈星型, 2~4. 肝细胞结构正常, 分泌细胞、纤维细胞和吸收细胞分布均匀; (b)  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  为 47 肝胰腺小管, 5. 转运泡数量增多; (c)  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  为 67 肝胰腺小管, 示 B 细胞体积增大; (d)  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  为 87 肝胰腺小管, 示少量 B 细胞破裂; (e)  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  为 107 肝胰腺小管, 示肝小管管腔变形, B 细胞数量增多, 少量 B 细胞破裂。

Fig. 4 Effect of  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  on the microstructure of the hepatopancreas of *L. vannamei* in low salinity water

(a) hepatopancreatics of *L. vannamei* exposed to  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  27 (control) in low salinity water, 1. intact hepatic tubule and star-shaped lumen, 2-4. normal hepatocyte structure and uniform distribution of secretory, fibrous and absorptive cells. (b) hepatopancreatics of *L. vannamei* exposed to  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  47, 5. an increase of transit vesicles. (c) hepatopancreatics of *L. vannamei* exposed to  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  67, showing the increase in the volume of some B cells. (d) hepatopancreatics of *L. vannamei* exposed to  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  87, showing a small number of B cells ruptured. (e) hepatopancreatics of *L. vannamei* exposed to  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  107, showing a deformed lumen, a small number of B cells ruptured and an increased number of B cells.

### 3 讨论

#### 3.1 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ 对凡纳滨对虾存活和生长的影响

钾作为水生动物体内的常量元素, 在参与营养物质消化、维持机体电解质平衡以及提高生长和繁殖性能等方面发挥着重要作用<sup>[14]</sup>。由于实际养殖中地下水的盐度因地区变化而不同, 相比研究某种单一离子的特定浓度, 以离子比例为指标研究离子对养殖生物的作用更为合适, 因此, 学者们多以  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  为衡量标准研究养殖环境以及饲料中钾含量的适宜范围<sup>[15-16]</sup>。朱长波等<sup>[17]</sup>在盐度为 15,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  为 27.7~68.4 的环境开展为期 30 d 的养殖实验, 结果表明在  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  为 27.7~44.8 的环境下的凡纳滨对虾的养成体重、增重率和特定生长率显著高于 51.9~68.4 环境下的对虾,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  为 57.8 和 68.4 组对虾的食物转化效率显著低于同盐度海水组。Liu 等<sup>[12]</sup>以盐度 4、 $\text{Na}^+/\text{K}^+$  为 60 的地下井水为基础, 在  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  为 14~60 范围内开展了为期 8 周的凡纳滨对虾养殖实验, 结果显示  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  为 60 组的凡纳滨对虾的饵料系数显著高于  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  为 23、33、42 的各实验组, 存活率、特定

增长率显著低于  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  为 23 的实验组。本研究中, 在盐度为 2、 $\text{Na}^+/\text{K}^+$  为 107 的条件下, 凡纳滨对虾的存活率、增重、湿重显著低于  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  为 27~87 各组, 饵料系数则显著高于各组。其他 4 组增重率、存活率和饵料系数均无显著差异。上述结果表明, 在长期养殖中, 较低盐度养殖水体中凡纳滨对虾对  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  异常的适应性要高于高盐度环境, 这与 Zhu 等<sup>[13]</sup>的研究结果相似。本研究中 E 组对虾饵料系数最高, 对虾湿重在第 10 日起小于其他组并与大多数组差异显著。表明在极度缺钾环境下可能会引起对虾的食物转化效率下降, 从而抑制其生长。此外, 各实验组存活率在 10~50 d 中无显著差异, 表明缺  $\text{K}^+$  胁迫在低盐度下对对虾存活产生显著影响需要较长时间。缺钾对凡纳滨对虾免疫、存活的影响机制有待进一步研究。

#### 3.2 低盐水体 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ 对凡纳滨对虾体成分的影响

在环境胁迫下, 虾类体内的代谢能力增强, 某些营养物质会快速耗竭或者合成途径受阻<sup>[18-19]</sup>。加上动物机体通常自身合成组织蛋白的能力有限, 外界吸收到体内的氨基酸又会优先被用于组织蛋

白的更新与修复, 然后是合成蛋白用于生长发育, 最后剩余的部分氨基酸会作为能源被消耗<sup>[20-22]</sup>。在长期饥饿条件下, 凡纳滨对虾仔虾的粗蛋白、粗脂肪含量下降, 而水分与灰分明显上升<sup>[23]</sup>。本研究中 E 组对虾蛋白质含量最低、水分含量最高、生长速率最慢, 灰分含量与对照组无明显差异, 表明高度缺  $K^+$  的水环境可能引起凡纳滨对虾组织损伤或免疫反应, 对虾需要较多的蛋白质来进行修复, 同时会对生长发育产生不利影响。Roy 等<sup>[24]</sup>的研究结果显示, 在盐度为 4,  $Na^+/K^+$  为 29~119 的人工盐碱水中, 凡纳滨对虾血清钾含量与同盐度淡化海水组无显著差异。本实验中各组虾体内的钾元素含量无显著差异, 表明对虾在低渗缺钾环境下仍然通过自身调节以维持体钾的相对稳定。

### 3.3 低盐水体 $Na^+/K^+$ 对凡纳滨对虾鳃组织结构的影响

鳃作为气体交换和离子调节的关键部位, 通常由鳃轴和鳃叶两部分组成, 鳃叶是最基本的功能单位, 其由角质层、呼吸上皮和微血管组成, 在水生动物受到环境胁迫后往往最先受到影响并造成损伤<sup>[25]</sup>。韩晓林等<sup>[26]</sup>研究表明低盐胁迫会造成三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) 血腔增大, 血细胞增多, 上皮层破坏。克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 受到低 pH<sup>[27]</sup> 或慢性硫酸锌<sup>[28]</sup> 胁迫后, 会出现鳃叶肿大, 鳃膜和呼吸上皮细胞分离, 呼吸上皮细胞坏死等现象。目前, 水体中离子缺乏对对虾鳃组织结构的影响尚无报道。本研究结果显示, 在正常条件下, 凡纳滨对虾鳃叶结构清晰, 细胞排列整齐; 随着  $Na^+/K^+$  升高, 凡纳滨对虾组织结构形态发生改变, 包括角质层增厚, 红细胞数量变少, 鳃小叶间距增大。本实验中,  $Na^+/K^+$  为 107 时, 鳃组织的结构破坏程度最高。鳃叶角质层出现破裂, 使鳃叶更容易受到细菌、病毒的感染或外部不良环境的侵蚀。鳃叶内呼吸上皮细胞的坏死可导致凡纳滨对虾与外界进行物质交换的能力逐渐减弱, 影响凡纳滨对虾的生长存活。

### 3.4 低盐水体 $Na^+/K^+$ 对凡纳滨对虾肝胰腺组织结构的影响

肝胰腺是甲壳动物进行解毒、排泄和代谢的重要器官, 该器官组织结构的变化反映了机体生理状态的改变。肝胰腺小管是其结构和功能的基本单位, 各小管由薄层结缔组织被膜包裹与分隔。肝小管内主要由分泌细胞 (B 细胞)、存储细胞 (R

细胞)、纤维细胞 (F 细胞) 和胚细胞 (E 细胞) 构成, 其中 B 细胞和 R 细胞数量较多。已有研究表明, 环境的改变可能会引起甲壳动物肝胰腺体的细胞组成比例发生变化, 特别是 B 细胞和 R 细胞<sup>[26-27, 29]</sup>。克氏原螯虾在低 pH 胁迫下, 肝胰腺 B 细胞数量增加且其细胞内转运泡体积增大<sup>[26]</sup>; 三疣梭子蟹在低盐暴露下 R 细胞减少, B 细胞内转运泡数量增多, 体积增大<sup>[25]</sup>。在本研究中,  $Na^+/K^+$  高于 87 时会导致肝胰腺内 B 细胞的转运空泡体积增大, 并对肝小管结构造成一定的损伤。此外, 本研究结果显示, 高  $Na^+/K^+$  提高了凡纳滨对虾的饵料系数, 而肝胰腺中 B 细胞及内部转运泡增多、体积增大也有利于饵料的消化吸收, 为其提供更多的能量, 表明高  $Na^+/K^+$  可能会促使凡纳滨对虾需要更多的能量物质用于维持自身的基础代谢。实验期间各组凡纳滨对虾摄食正常, 肝胰腺组织的 R 细胞数量也未发生明显变化, R 细胞可以储藏营养物质并有一定的吞噬作用, 表明凡纳滨对虾在面对低钾胁迫时, 首先通过依靠外界营养物质提供能量并维持自身离子平衡, 较少使用自身储存的营养物质。随着  $Na^+/K^+$  的升高, E 组肝小管结构出现损伤, 消化功能减弱, 对虾开始利用自身储存的物质抵御低钾胁迫, 导致生长速率降低。

研究表明, 在盐度 2 时, 钠钾离子比为 107 环境下的凡纳滨对虾生长和存活均低于钠钾离子比为 27~87 范围内各组。在极度缺钾环境下, 凡纳滨对虾肝胰腺小管 B 细胞数量增加, 小管腔明显变形, 鳃组织血细胞减少, 小片破损。水体中缺钾在前期即可对对虾的生长产生明显影响, 而对存活的影响随着养殖时间的增加而增大。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

### 参考文献 (References):

- [1] Wang L, Li X L, Lu K L, et al. Dietary hydroxyl methionine selenium supplementation enhances growth performance, antioxidant ability and nitrite tolerance of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Aquaculture*, 2021, 537: 736513.
- [2] Guo H P, Huang L, Hu S T, et al. Effects of carbon/nitrogen ratio on growth, intestinal microbiota and metabolome of shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2020, 11: 652.

- [ 3 ] Valencia-Castañeda G, Frías-Espericueta M G, Vanegas-Pérez R C, *et al.* Physiological changes in the hemolymph of juvenile shrimp *Litopenaeus vannamei* to sub-lethal nitrite and nitrate stress in low-salinity waters[J]. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 2020, 80: 103472.
- [ 4 ] 罗茵. 广东水产品总产量首次全国第一[J]. *海洋与渔业*, 2020(6): 12-13.
- Luo Y. Guangdong's total aquatic product output ranked No. 1 in China for the first time[J]. *Ocean and Fishery*, 2020(6): 12-13 (in Chinese).
- [ 5 ] 曾凡勇, 罗坤, 栾生, 等. 凡纳滨对虾在氯化物型盐碱水养殖环境下不同家系间生长、存活性能分析[J]. *中国水产科学*, 2018, 25(2): 308-315.
- Zeng F Y, Luo K, Luan S, *et al.* Analysis of growth and survival among different families of *Litopenaeus vannamei* in the chloride typed alkaline water[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2018, 25(2): 308-315 (in Chinese).
- [ 6 ] Araneda M, Pérez E P, Gasca-Leyva E. White shrimp *Penaeus vannamei* culture in freshwater at three densities: Condition state based on length and weight[J]. *Aquaculture*, 2008, 283(1-4): 13-18.
- [ 7 ] Saoud I P, Davis D A, Rouse D B. Suitability studies of inland well waters for *Litopenaeus vannamei* culture[J]. *Aquaculture*, 2003, 217(1-4): 373-383.
- [ 8 ] Sowers A D, Young S P, Grosell M, *et al.* Hemolymph osmolality and cation concentrations in *Litopenaeus vannamei* during exposure to artificial sea salt or a mixed-ion solution: Relationship to potassium flux[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2006, 145(2): 176-180.
- [ 9 ] Zhu C B, Dong S L, Wang F, *et al.* Effects of Na/K ratio in seawater on growth and energy budget of juvenile *Litopenaeus vannamei*[J]. *Aquaculture*, 2004, 234(1-4): 485-496.
- [10] 郑善坚. 凡纳滨对虾淡化养殖水质规律研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2006: 2-13.
- Zheng S J. Research on water quality patterns in desalination culture of *Litopenaeus Vannamei*[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2006: 2-13 (in Chinese).
- [11] 介子林, 董双林, 赵夕旦, 等. 滨海池塘咸水Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>对凡纳滨对虾成活率和生长的影响[J]. *中国海洋大学学报*, 2007, 37(1): 65-68,20.
- Jie Z L, Dong S L, Zhao X D, *et al.* Effects of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ratio in brackish water on survival and growth of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2007, 37(1): 65-68,20 (in Chinese).
- [12] Liu H Y, Tan B P, Yang J F, *et al.* Effect of various Na/K ratios in low-salinity well water on growth performance and physiological response of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2014, 32(5): 991-999.
- [13] Zhu C B, Dong S L, Wang F. The interaction of salinity and Na/K ratio in seawater on growth, nutrient retention and food conversion of juvenile *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Shellfish Research*, 2006, 25(1): 107-112.
- [14] 朱伟星, 雒敏, 何亚丁, 等. 钾在水产动物中的生理作用和营养代谢功能[J]. *动物营养学报*, 2014, 26(5): 1174-1179.
- Zhu W X, Ju M, He Y D, *et al.* Physiological and nutrient metabolic functions of potassium in aquatic animals[J]. *Chinese Journal of Animal Nutrition*, 2014, 26(5): 1174-1179 (in Chinese).
- [15] Fielder D S, Bardsley W J, Allan G L. Survival and growth of Australian snapper, *Pagrus auratus*, in saline groundwater from inland New South Wales, Australia[J]. *Aquaculture*, 2001, 201(1-2): 73-90.
- [16] 刘泓宇, 张新节, 谭北平, 等. 饲料钾水平对低盐井水养殖凡纳滨对虾生长及生理特性的影响[J]. *中国水产科学*, 2014, 21(2): 320-329.
- Liu H Y, Zhang X J, Tan B P, *et al.* Effects of different levels of dietary potassium on growth and physiological characters of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared in low-salinity well-water[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2014, 21(2): 320-329 (in Chinese).
- [17] 朱长波, 董双林, 张建东, 等. 缺K<sup>+</sup>型低盐度水体Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>比值对凡纳滨对虾幼虾生长和能量收支的影响[J]. *中国海洋大学学报*, 2005, 35(5): 773-778.
- Zhu C B, Dong S L, Zhang J D, *et al.* Effects of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ratio in K<sup>+</sup> deficient low salinity saline water on the growth and energy budget of juvenile *Litopenaeus vannamei*[J]. *Periodical of Ocean University of China*, 2005, 35(5): 773-778 (in Chinese).
- [18] 于赫男. 环境胁迫对罗氏沼虾和凡纳滨对虾行为、生长及生理活动的影响 [D]. 广州: 暨南大学, 2007: 1-25.

- Yu H N. Effects of environmental stress on behavior, growth and physiological activity of *Macrobrachium rosenbergii* and *Litopenaeus vannamei*[D]. Guangzhou: Jinan University, 2007: 1-25 (in Chinese).
- [19] 朱其建, 鞠波, 戴习林. 亚硝态氮对罗氏沼虾存活率、生长及能量代谢的影响[J]. 水产科技情报, 2019, 46(1): 14-18.
- Zhu Q J, Ju B, Dai X L. Effect of nitrite nitrogen on survival rate, growth and energy metabolism of *Macrobrachium rosenbergii*[J]. Fisheries Science & Technology Information, 2019, 46(1): 14-18 (in Chinese).
- [20] 李勇, 夏苏东, 于学权, 等. 高密度养殖凡纳滨对虾的蛋白质生态营养需要量[J]. 中国水产科学, 2010, 17(1): 78-87.
- Li Y, Xia S D, Yu X Q, *et al.* Eco-nutrition requirement of protein in high density *Litopenaeus vannamei* culture system[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(1): 78-87 (in Chinese).
- [21] 宋青春, 齐遵利. 水产动物营养与配合饲料学 [M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2010: 1-89.
- Song Q C, Qi Z L. Aquatic animal nutrition and compound feed science[M]. Beijing: China Agricultural University Press, 2010: 1-89 (in Chinese).
- [22] 董兰芳, 童潼, 张琴, 等. 饲料碳水化合物水平对拟穴青蟹稚蟹生长、体成分和消化酶活性的影响[J]. 水生生物学报, 2019, 43(2): 252-258.
- Dong L F, Tong T, Zhang Q, *et al.* Effects of dietary carbohydrate level on growth performance, body composition and digestive enzyme activities of juvenile crab, *Scylla paramamosain*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2019, 43(2): 252-258 (in Chinese).
- [23] 王美雪, 郭冉, 夏辉, 等. 七种不同结构糖源对凡纳滨对虾三大营养物质代谢的影响[J]. 水产学报, 2016, 40(4): 626-633.
- Wang M X, Guo R, Xia H, *et al.* Effects of seven kinds of carbohydrate structure on the metabolism of *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Fisheries of China, 2016, 40(4): 626-633 (in Chinese).
- [24] Roy L A, Davis D A, Saoud I P, *et al.* Effects of varying levels of aqueous potassium and magnesium on survival, growth, and respiration of the Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, reared in low salinity waters[J]. Aquaculture, 2007, 262(2-4): 461-469.
- [25] Guo H, Liang Z, Zheng P H, *et al.* Effects of nonyl-phenol exposure on histological changes, apoptosis and time-course transcriptome in gills of white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. Science of the Total Environment, 2021, 781: 146731.
- [26] 韩晓琳, 高保全, 王好锋, 等. 低盐胁迫对三疣梭子蟹鳃和肝胰腺显微结构及家系存活的影响[J]. 渔业科学进展, 2014, 35(1): 104-110.
- Han X L, Gao B Q, Wang H F, *et al.* Effects of low salinity stress on microstructure of gill and hepatopancreas and family survival rate of *Portunus trituberculatus*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2014, 35(1): 104-110 (in Chinese).
- [27] 陶易凡, 强俊, 王辉, 等. 低pH胁迫对克氏原螯虾鳃和肝胰腺酶活力及组织结构的影响[J]. 中国水产科学, 2016, 23(6): 1279-1289.
- Tao Y F, Qiang J, Wang H, *et al.* Acute toxicity of low-pH stress and its effect on enzyme activity and histological structure of gill and hepatopancreas in *Procambarus clarkii*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2016, 23(6): 1279-1289 (in Chinese).
- [28] 王权, 王建国, 陆宏达, 等. 硫酸锌慢性毒性胁迫下克氏原螯虾的组织病理[J]. 中国水产科学, 2012, 19(1): 126-137.
- Wang Q, Wang J G, Lu H D, *et al.* Chronic toxicity of zinc sulphate in *Procambarus clarkii*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2012, 19(1): 126-137 (in Chinese).
- [29] 洪美玲, 陈立侨, 顾顺樟, 等. 氨氮胁迫对中华绒螯蟹免疫指标及肝胰腺组织结构的影响[J]. 中国水产科学, 2007, 14(3): 412-418.
- Hong M L, Chen L Q, Gu S Z, *et al.* Effects of ammonia exposure on immunity indicators of haemolymph and histological structure of hepatopancreas in Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14(3): 412-418 (in Chinese).



## Effects of $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ratio on growth, body composition, hepatopancreas and gill microstructure of *Litopenaeus vannamei* reared in low-salinity environment

ZHU Huaping<sup>1,2</sup>, SU Jiaqi<sup>1</sup>, ZHANG Zijun<sup>3</sup>, ZHU Changbo<sup>1\*</sup>,  
ZHANG Bo<sup>1</sup>, LI Ting<sup>1</sup>, CHEN Suwen<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of South China Sea Fishery Resources Development & Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs,  
Guangdong Provincial Key Laboratory of Fishery Ecological Environment,

South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. Erdos Fisheries Management Station, Erdos 017010, China)

**Abstract:** Potassium deficiency often occurs in inland low-salinity saline waters, which is a major challenge to fishery utilization of such resources. In order to explore the effects of potassium deficiency in low-salinity water on the growth, survival, body composition, gill and hepatopancreas tissue structure of *Litopenaeus vannamei*, a 60-day growth experiment was set up using diluted artificial seawater at salinity of 2. Juvenile shrimps with body weight of (1.04±0.23) g were cultured under the conditions of  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  (mg/mg) ratio of 27, 47, 67, 87 and 107 (group A, B, C, D and E, respectively). The results showed that the survival rate of group E was 44.64%±20.95%, which was significantly lower than that of groups A, B and D; body weight of group E was (4.86±0.66) g, which was significantly lower than that of the other four groups. There were no significant differences in wet weight, weight gain and specific growth rate between groups A and D, but they were all higher than those in group E. The feed coefficient in group E was the highest and significantly different from that in groups A and D. In terms of body composition, there were no significant differences in potassium and ash content of whole body between all groups, and water content in group E was higher than that in other groups, and significantly different from that in groups A and B. The crude protein content in group E was the lowest, and was significantly different from that in group B. In group E, the shrimp gill cuticle was significantly damaged, the number of red blood cells decreased, vacuoles increased, the volume of hepatopancreas B cells and their internal transport vesicles increased, and the structure of hepatic tubules was damaged. The results indicated that severe potassium deficiency under low salinity conditions causes damage to the gills and hepatopancreas of the shrimp, which also reduces its survival and growth. Potassium deficiency in water body has a significant effect on the growth of *L. vannamei* even in the early stage, while its influence on the survival increases along the culture period, which means supplementation of potassium is necessarily at the beginning of farming. These findings would help to provide theoretical and practical support for the aquaculture exploitation of inland low salinity waters.

**Key words:** *Litopenaeus vannamei*;  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ ; growth; body composition; tissue structure

**Corresponding author:** ZHU Changbo. E-mail: zhu@imau.edu.cn

**Funding projects:** National Key R & D Program of China (2020YFD0900403); National Natural Science Foundation of China (31902423); Jungar Banner 2021 Science and Technology Program "Demonstration and Promotion of Shrimp Farming Technology in Saline-alkali land of Jungar Banner"