

盐度对条石鲷幼鱼 Na^+/K^+ -ATP酶活力的影响

孙鹏, 彭士明, 尹飞, 施兆鸿*

(中国水产科学研究院东海水产研究所,农业部海洋与河口渔业重点开放实验室,上海 200090)

摘要:研究了盐度变化对条石鲷幼鱼鳃、肾脏和肝脏中 Na^+/K^+ -ATP酶活力的影响。经不同盐度(8、18、28、38、48)的处理,条石鲷幼鱼3种组织 Na^+/K^+ -ATP酶活力均受到不同程度的影响。经低盐度(8和18)处理的幼鱼鳃 Na^+/K^+ -ATP酶活力在前6h略微增加,然后逐渐降低,在处理24h时下降到最低,之后又开始增加。经高盐度(38和48)处理时,鳃中 Na^+/K^+ -ATP酶活力在前6h有所降低,然后迅速升高,并在处理24h时达到最大,之后酶活力逐渐降低,并在处理96h后与对照组无显著性差异($P>0.05$)。所有盐度处理组幼鱼肾脏 Na^+/K^+ -ATP酶活力在处理开始6h均稍有增加,而从处理6h开始降低,在处理24h下降到最低,此后酶活力又呈现增加的趋势。在盐度为8的处理组中,肝脏 Na^+/K^+ -ATP酶活力与肾脏中变化趋势相似,而其它3组则逐渐降低,在处理24h时达到最低,之后又逐渐增加。结果表明,条石鲷幼鱼适盐范围广,具有较强的渗透压调节能力。3种组织的 Na^+/K^+ -ATP酶活力酶活性在盐度为18~38的范围内变化不明显,而在8和48的盐度下变化较大,最终酶活力均高于对照组。与肾脏相比,盐度变化对鳃和肝脏 Na^+/K^+ -ATP酶活力的影响较大。

关键词:条石鲷;幼鱼;盐度; Na^+/K^+ -ATP酶

中图分类号:Q 175; S 917

文献标识码:A

盐度是养殖环境中重要的生态因子,直接影响鱼类的存活、生长和渗透调节等生理功能^[1]。养殖环境可能受到诸多人为因素和自然因素的影响而导致养殖区域盐度的变化(如大量换水、连续降雨和泄洪排涝等),从而使养殖对象进行渗透压调节,造成生理胁迫^[2-3]。硬骨鱼类的鳃和肾脏在维持机体的渗透平衡及内环境的稳定上具有重要的作用^[4-5]。其中,鳃是渗透压调节和单价离子排出的主要器官,鳃上皮组织中的泌氯细胞是离子排出的主要功能细胞,细胞表面具有较高的 Na^+/K^+ -ATP酶活力^[6-7]。 Na^+/K^+ -ATP酶(又称Na-K泵)在整个机体的离子调节方面起到核心作用。其主要功能是维持细胞膜内外的离子平衡,保持细胞内环境中各种离子浓度的相对稳定,维持细胞内外的渗透压平衡^[8]。目前,有关鱼类 Na^+/K^+ -ATP酶活力及生态因子对其影响的研究已经开展起来。研究表明, Na^+/K^+ -ATP酶在

多种鱼类的渗透压调节过程中起着十分重要的作用。例如,在河鲀(*Siganus rivulatus*)中发现,盐度增高和降低均能导致 Na^+/K^+ -ATP酶活力增强^[9]。珍珠玛丽鱼(*Poecilia latipinna*)经海水(盐度35)处理时,血液渗透压比在淡水(盐度0)中培育时增高,而肌肉含水量保持不变;同时, Na^+/K^+ -ATP酶活力及其酶基因表达量均增高^[10]。

条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*)属于鲈形目(Perciformes)、鲈总科(Percoidae)、石鲷科(Oplegnathidae)、石鲷属,自然分布于太平洋和印度洋沿岸,我国产于黄海、东海和台湾海峡,是一种暖温性海洋中下层鱼类。它具有较高的食用价值和观赏价值,极具增殖潜力。通过人工繁育,可将条石鲷发展成中国海水网箱养殖和人工鱼礁增殖放流的一个新品种^[11-12]。目前,有关条石鲷的研究主要涉及到早期幼鱼发育、人工育苗和养殖技

收稿日期:2009-01-10 修回日期:2010-04-12

资助项目:中央级公益性科研院所基本科研业务费(东2009M05,东2008M14,东2009M08);沪农科攻字2007(4-1)

通讯作者:施兆鸿,E-mail:shizhh@hotmail.com

术以及温度和盐度等外界因素对胚胎和幼鱼发育的影响等方面^[13-15],而有关条石鲷Na⁺/-K⁺-ATP酶活性及渗透调节机制等方面的研究目前尚未见过报道。本文采用盐度急性胁迫处理条石鲷幼鱼,对其鳃、肾脏和肝脏中的Na⁺/-K⁺-ATP酶活力进行检测和分析,旨在明确盐度胁迫过程中条石鲷幼鱼Na⁺/-K⁺-ATP酶活力的变化规律,探讨条石鲷Na⁺/-K⁺-ATP酶的渗透调节机制,为条石鲷健康养殖和水环境调控提供科学依据。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

实验所用条石鲷幼鱼由舟山市水产研究所人工繁育所得,体长为(8.04 ± 0.82) cm,体重为(7.51 ± 1.23) g。挑选体色正常,健康的幼鱼用于实验。实验前暂养 2 d,海水经沙滤,水温 22 ℃,盐度为 28,pH 8.2 ~ 8.6,溶氧 ≥ 6 mg/L。连续充气,每日换水 2 次,换水量为 100%,投喂颗粒饲料。

1.2 实验设计与方法

根据徐永江等^[15]和闫茂苍等^[16]条石鲷仔稚幼鱼盐度实验的设置略作修正,以当地自然海水盐度 28 为对照,以盐度 10 为梯度上、下各设二组。实验时将暂养的条石鲷随机分为 5 组,分别放入盐度为 8、18、28(对照)、38 和 48 的容积为 800 L 的水族缸中,每组设 3 个平行,每个平行放入条石鲷幼鱼 40 尾。各级盐度采用曝气的自来水和 NaCl 调节。每天换水 1 次,换水前先用曝气后的自来水和 NaCl 调整好盐度。

在盐度处理 0、6、12、24、48、72 和 96 h 时分别进行取样,每个梯度的 3 个缸各随机选取 3 尾幼鱼,置于冰盘内解剖,取其鳃丝、肾脏和肝脏,用生理盐水洗净,用滤纸吸去组织表面的水分并称重。然后,在生理盐水中冰浴匀浆并离心(2 500 r/min,10 min)取得上清液待测。蛋白含量采用考马斯亮兰法测定,以牛血清蛋白为标准。Na⁺/-K⁺-ATP酶活力采用Na⁺/-K⁺-ATPase试剂盒(南京建成生物公司,编号:A070-2)进行测定,操作步骤参照说明书。Na⁺/-K⁺-ATP酶活力单位规定为每小时在含有 1 毫克组织蛋白的组织中 ATP 酶参与分解 ATP 产生 1 μmol 无机磷的量为 1 个酶活力单位。即微摩尔分子磷/毫克蛋白·小时[μmol Pi/(mg prot·h)]。

1.3 数据分析

所得数据均以平均值 ± 标准差(means ± SD)的形式表示,各组数据经统计软件 SPSS 13.0 中的方差分析(ANOVA)和 Duncan 氏检验法进行显著性分析和多重比较, $P < 0.05$ 为差异显著。

2 结果与分析

2.1 盐度变化对条石鲷幼鱼行为及成活率的影响

盐度为 8、18、38 的处理组幼鱼的活动情况和成活率与对照组相似,没有明显的差异;在最高盐度(48)组中的幼鱼体色变黑,活动变慢、不进食,并且在实验开始 24 h 左右发现一尾幼鱼身体偏斜,失去平衡。但是,在整个实验过程中各盐度梯度中的条石鲷幼鱼均未出现死亡现象。

2.2 盐度对鳃中Na⁺/-K⁺-ATP酶活力的影响

图 1 为不同盐度处理组条石鲷幼鱼鳃组织中Na⁺/-K⁺-ATP酶活力的比较。盐度为 8 和 18 的两个处理组中的Na⁺/-K⁺-ATP酶活力在处理开始有所增加,然后从处理 6 h 开始逐渐下降,在处理 24 h 达到最低值,之后酶活力又逐渐增加;盐度为 38 和 48 的两个处理组中的Na⁺/-K⁺-ATP酶活力在处理的前 6 h 呈现降低的趋势;之后,酶活力逐渐增加,并在处理 24 h 达到最大;接着,酶活力又有所降低。但是,各处理组的酶活性均与对照组无显著性差异($P > 0.05$)。相同处理时间的各盐度组之间也存在差别,特别是 24 h 和 48 h 的高盐度(38 和 48)处理组酶活力显著高于低盐度(8 和 18)处理组($P < 0.05$)。在处理 96 h 后,各处理组酶活力均高于对照组,且最高盐度组中酶活力高于其余各组,但各组之间均无显著性差异($P > 0.05$)。

2.3 盐度对肾脏中Na⁺/-K⁺-ATP酶活力的影响

图 2 所列为各盐度组条石鲷幼鱼肾脏中Na⁺/-K⁺-ATP酶活力。可以看出,各处理组幼鱼肾脏中的Na⁺/-K⁺-ATP酶活力在处理开始 6 h 稍有增加,从处理 6 h 开始呈现降低的趋势,并在处理后 24 h 出现最低值;之后酶活力又有所增加。但是,各组Na⁺/-K⁺-ATP酶活力与处理前相比亦无显著性差异($P > 0.05$)。经过相同的处理时间,不同盐度组酶活力在处理 72 h 前与对照组没有显著性差异,在处理 96 h 后,高盐度处理组(38)和低盐度处理组(18)与对照组亦无显著性

差异,而最高盐度组(48)和最低盐度组(8)中的幼鱼肾脏中的 Na^+/K^+ -ATP酶活力显著高于对照组($P < 0.05$)。

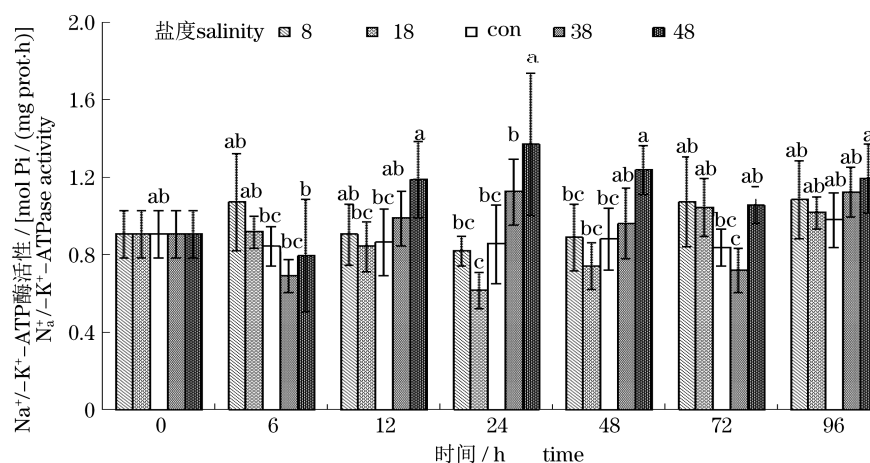


图1 盐度对条石鲷幼鱼鳃 Na^+/K^+ -ATP的酶活力的影响

图中各组中无相同字母表示存在显著性差异($P < 0.05$)。

Fig. 1 Effect of salinities on gill Na^+/K^+ -ATPase activity in juvenile *O. fasciatus*

Different letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

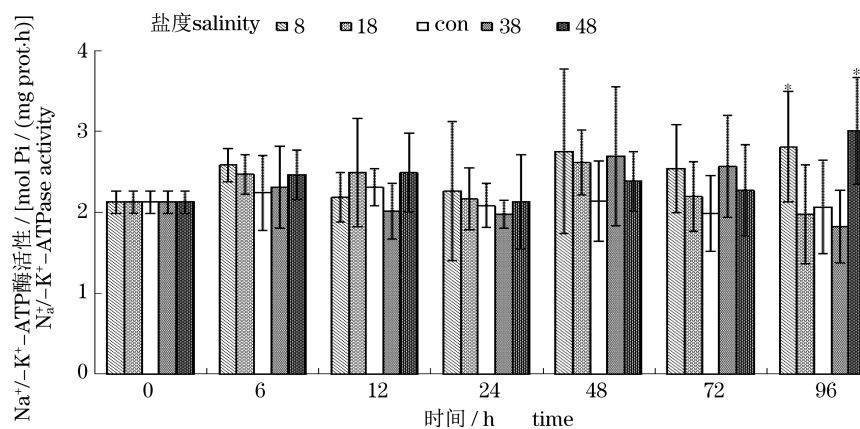


图2 盐度对条石鲷幼鱼肾脏 Na^+/K^+ -ATP的酶活力的影响

星号(*)表示与对照组存在显著性差异($P < 0.05$)。

Fig. 2 Effect of salinities on kidney Na^+/K^+ -ATPase activity in juvenile *O. fasciatus*

A asterisk (*) indicates significant difference between treated groups and control groups ($P < 0.05$).

2.4 盐度对肝脏中 Na^+/K^+ -ATP酶活力的影响

图3为各盐度组条石鲷幼鱼肝脏中 Na^+/K^+ -ATP酶活力。在最低盐度组中,肝脏 Na^+/K^+ -ATP酶活力先出现一个短暂的上升,并在6h时出现最高峰;从处理6h开始,酶活力逐渐下降,并在24h达到最低值;之后酶活力又有所增加。在其它3组中,肝脏 Na^+/K^+ -ATP酶活力从处理开始时逐渐降低,在24h时达到最低值,然后又逐渐增加。各盐度组在不同处理时间

也无显著性差异($P > 0.05$)。相同处理时间的不同盐度组之间的比较表明,在处理24h时最高盐度组的酶活力显著低于对照组($P < 0.05$),而其它各组与对照则无显著性差异。之后,最低盐度组和最高盐度组的 Na^+/K^+ -ATP酶活力均有所增加,并在处理96h后稍高于对照组,而高盐度和低盐度组中幼鱼的 Na^+/K^+ -ATP酶活力则稍低于对照组,但各组间亦无显著性差异($P > 0.05$)。

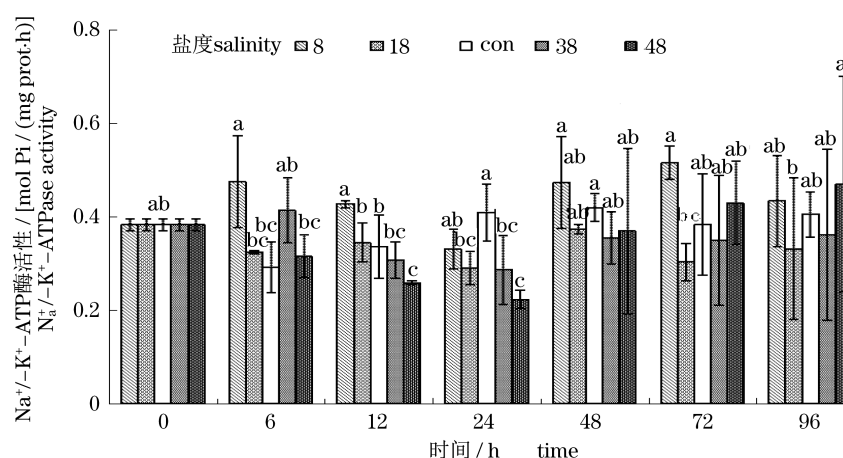


图3 盐度对条石鲷幼鱼肝脏 Na^+/K^+ -ATP的酶活力的影响

图中各组中无相同字母的表示存在显著性差异($P < 0.05$)。

Fig. 3 Effect of salinities on liver Na^+/K^+ -ATPase activity in juvenile *O. fasciatus*

Different letters indicate significant difference ($P < 0.05$).

3 讨论

不同物种甚至相同物种的不同组织中 Na^+/K^+ -ATP酶活力受盐度影响的程度存在差异。当鳁(*Müchthys müüy*)^[17]转入低盐度海水中培育时,鳁中 Na^+/K^+ -ATP酶活力先是逐渐下降,然后,在2 d后开始回升,并在处理第8天时趋于稳定;而经高盐度处理时,酶活力先随时间的增加而逐渐升高,在2 d后又逐渐降低,并在第8天左右趋于稳定。同样,当褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)^[18]培养盐度从30降低到18、12和6时,鳁丝中 Na^+/K^+ -ATP酶活力下降,在第6天出现最低值;然后,酶活力又上升并在第12天左右趋于稳定。史氏鲟^[19]经高盐度驯化时, Na^+/K^+ -ATP酶活力在处理开始迅速降低,显著低于对照组;之后,开始逐渐增加并出现最大值,此后,酶活力有所降低并最终趋于平衡。这与本研究条石鲷鳁组织中的 Na^+/K^+ -ATP酶活力变化情况基本一致。而Romao等^[20]发现,多鳍南极鱼(*Notothenia neglecta*)在盐度降低时鳁丝 Na^+/K^+ -ATPase活力并无显著变化。

条石鲷的鳁和肝脏中 Na^+/K^+ -ATP酶活力变化较明显,而肾脏中的变化不显著。表明其不同组织对盐度应激的应答程度不同。鳁组织是鱼类最主要的 Na^+/K^+ -ATP酶活力器官,盐度对鳁丝 Na^+/K^+ -ATP酶活力的影响是鱼类对外界环境进行自主适应的一种生理上的表现,它与内分

泌系统有着重要的联系,可能受到某种或者某些激素的控制^[21]。当从自然环境转至低盐度海水中时,条石鲷鳁组织中 Na^+/K^+ -ATP酶活力在前6 h增高,然后开始降低。推测当周围环境渗透压降低时,鱼体内离子过多散失,鳁中的 Na^+/K^+ -ATP酶活力因应激反应而增强,以维持高 K^+ 、低 Na^+ 的细胞内环境;之后,鱼体逐渐适应周围的环境,调节渗透压达到了新的平衡,故 Na^+/K^+ -ATP酶活力的活力降低。当条石鲷转入高盐度海水中时,鱼体为防止水分过量散失而大量吸入海水,造成大量离子涌入细胞;起初,可能由于鳁中 Na^+/K^+ -ATP酶蛋白结构受到影响而导致酶活力降低;接着,为了维持鱼体内环境的相对稳定,机体产生大量 Na^+/K^+ -ATP酶应对高渗环境, Na^+/K^+ -ATP酶活力增强;最后,在机体建立新的渗透压平衡后, Na^+/K^+ -ATP酶活力逐渐降低。

从本研究可以看出,条石鲷幼鱼在应对盐度变化时,能够通过改变 Na^+/K^+ -ATP酶活力而调节体内的渗透压平衡,最终使体内外环境达到新的平衡。同时,整个调节过程具有时间规律性,一般在前6 h为应激反应阶段,之后进入调整阶段,在处理24 h左右进入适应阶段,并逐渐达到新的平衡。条石鲷在盐度处理24 h后就调节自身的渗透平衡适应了新的环境,所用时间明显短于鳁和史氏鲟适应时间(2 d和10 d左右);并且,虽然在最低和最高盐度处理组中,3种组织的 Na^+/K^+ -ATP酶活力变化较明显,但在低盐度

(18)和高盐度组(38)中变化并不显著,表明条石鲷属于广盐性鱼类,具有较强的渗透调节能力,其对盐度变化具有较强的适应能力。然而,研究发现,高渗环境和低渗环境下鱼体均需消耗一定的能量来维持水盐平衡,这直接影响到营养分配和饵料的利用效率,进而影响鱼类的生长^[22-23]。因此,在条石鲷的养殖中,也应考虑到这一点,以避免不必要的损失。

参考文献:

- [1] Partridge G J, Jenkins G I. The effect of salinity on growth and survival of juvenile black bream (*Acanthopagrus butcheri*) [J]. *Aquaculture*, 2002, 210(1-4): 219-230.
- [2] 潘鲁青, 刘志, 姜令绪. 盐度、pH变化对凡纳滨对虾鳃丝 Na^+/K^+ -ATPase活力的影响[J]. *中国海洋大学学报*, 2004, 34(5): 787-790.
- [3] 徐力文, 冯娟, 郭志勋, 等. 盐度对军曹鱼稚鱼血液生理生化及鳃 Na^+/K^+ -ATPase活性的影响[J]. *海洋环境科学*, 2008, 27(6): 602-606.
- [4] Beyenbach K W, Freire C A, Kinne R K, *et al.* Epithelial transport of magnesium in the kidney of fish[J]. *Miner Electrolyte Metab*, 1993, 19(4-5): 241-249.
- [5] 林浩然. 鱼类生理学[M]. 广州: 广东教育出版社, 1999: 109-145.
- [6] Kamaky K J. Structure and function of the chloride cell of *Fundulus heteroclitus* and other teleosts[J]. *Am Zool*, 1986, 26(1): 209-224.
- [7] 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]. *Physiol Rev*, 2005, 85(1): 97-177.
- [8] Kaplan J H. Biochemistry of Na^+/K^+ -ATPase[J]. *Annu Rev Biochem*, 2002, 71: 511-535.
- [9] Yang W K, Hseu J R, Tang C H, *et al.* Na^+/K^+ -ATPase expression in gills of the euryhaline sailfin molly, *Poecilia latipinna*, is altered in response to salinity challenge[J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 2009, 375(1-2): 41-50.
- [10] Saoud I P, Kreydiyyeh S, Chalfoun A, *et al.* Influence of salinity on survival, growth, plasma osmolality and gill Na^+/K^+ -ATPase activity in the rabbitfish *Siganus rivulatus* [J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 2007, 348(1-2): 183-190.
- [11] 肖志忠, 郑炯, 于道德, 等. 条石鲷早期发育的形态特征[J]. *海洋科学*, 2008, 32(3): 25-30.
- [12] 蔡文超, 区又君, 李加儿. 南海区养殖条石鲷的胚胎发育[J]. *南方水产*, 2009, 5(4): 31-35.
- [13] 柳学周, 徐永江, 王妍妍, 等. 条石鲷的早期生长发育特征[J]. *动物学报*, 2008, 54(2): 332-341.
- [14] 施兆鸿, 彭士明, 尹颜强, 等. 不同盐度下条石鲷胚胎及卵黄囊仔鱼的形态变化[J]. *生态学杂志*, 2009, 28(3): 471-476.
- [15] 徐永江, 柳学周, 王妍妍, 等. 温度、盐度对条石鲷胚胎发育影响及初孵仔鱼饥饿耐受力[J]. *渔业科学进展*, 2009, 30(3): 25-31.
- [16] 闫茂仓, 单乐州, 谢起浪, 等. 温度、盐度及体重对条石鲷幼鱼耗氧率和排氨率的影响[J]. *海洋科学进展*, 2008, 28(4): 486-496.
- [17] 柳敏海, 罗海忠, 陈波, 等. 盐度、pH对鳊鱼幼鱼鳃丝 Na^+/K^+ -ATPase活力的影响[J]. *海洋湖沼通报*, 2008(1): 109-113.
- [18] 潘鲁青, 唐贤明, 刘泓宇, 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.
- [19] 赵峰, 庄平, 章龙珍, 等. 盐度驯化对史氏鲟鳃 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.
- [20] Romao S, Freire C A, Fanta E. Ionic regulation and Na^+/K^+ -ATPase activity in gills and kidney of the Antarctic agglomerular cod icefish exposed to dilute sea water[J]. *J Fish Biol*, 2001, 59(2): 463-468.
- [21] Thomas D, Singer R, Bengt F, *et al.* Interactive effects of cortisol treatment and salmon smolts[J]. *Aquaculture*, 2003, 222(1-4): 15-28.
- [22] Boeuf G, Payan P. How should salinity influence fish growth[J]. *Comp Biochem Physiol*, 2001, 130(4): 411-423.
- [23] Sampaio L A, Bianchini A. Salinity effects on osmoregulation and growth of the euryhaline flounder *Paralichthys orbignyanus* [J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 2002, 269(2): 187-196.

Effects of salinity on activity of Na^+/K^+ -ATPase in juvenile *Oplegnathus fasciatus*

SUN Peng, PENG Shi-ming, YIN Fei, SHI Zhao-hong*

(Key Laboratory of Marine and Estuarine Fisheries, Ministry of Agriculture, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China)

Abstract: Effects of salinity on activity of Na^+/K^+ -ATPase in gill, kidney and liver of *Oplegnathus fasciatus* were studied. The activity of Na^+/K^+ -ATPase changed when *Oplegnathus fasciatus* was treated with different salinity of 8, 18, 28, 38 and 48. Following fish treated with low salinity (8 and 18), the activity of Na^+/K^+ -ATPase in gill increased a little during first 6 h, then it dropped and reached minimum at 24 h. Afterwards, it increased again. As to fish treated with high salinity of 38 and 48, the activity of Na^+/K^+ -ATPase in gill decreased a little during first 6 h, then increased and reached maximum at 24 h. After that, it dropped slowly again, and had no significant difference from that in control groups at 96 h ($P > 0.05$). The activity of Na^+/K^+ -ATPase in kidney of all treated groups increased a little during first 6 h. After that, it dropped gradually and reached minimum at 24 h. Then, it increased again. The activity of Na^+/K^+ -ATPase in liver had similar trend with that in kidney when treated with the lowest salinity of 8. But as to juvenile in other 3 salinity groups, the activity of Na^+/K^+ -ATPase decreased gradually and reached minimum at 24 h, then it increased again. Our result indicated that *Oplegnathus fasciatus* is a highly euryhaline fish and a very strong osmoregulator, salinity with the range from 18 to 38 had only a little influence on the activity of Na^+/K^+ -ATPase in gill, kidney and liver. But extreme salinity (8 and 48) could exert a more obvious influence. And change of salinity had more influence on the activity of Na^+/K^+ -ATPase in gill and liver than that in kidney.

Key words: *Oplegnathus fasciatus*; juvenile; salinity; Na^+/K^+ -ATPase

Corresponding author: SHI Zhao-hong. E-mail: shizhh@hotmail.com