

# 卵磷脂对花尾胡椒鲷幼鱼 $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶和 $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -ATP 酶活性的影响\*

陈彦<sup>1</sup> 王重刚<sup>1</sup> 陈品健<sup>1</sup> 谢仰杰<sup>2</sup> 蔡克瑕<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> 厦门大学生物系 361005 )

(<sup>2</sup> 集美大学水产学院 361021 )

**摘要** 为探索卵磷脂影响幼鱼生长存活的作用机制,采用不同卵磷脂添加量的配合饲料投喂花尾胡椒鲷 (*Plectrohynchus cinctus*) 幼鱼,采用孔雀绿比色法同步测定幼鱼的  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶和  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP 酶活性。结果表明,饲料中添加适量卵磷脂可显著提高花尾胡椒鲷幼鱼  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶和  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP 酶活性,且卵磷脂含量为 3% 的配合饲料投喂的花尾胡椒鲷幼鱼  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性最高,而卵磷脂含量为 2% 的  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP 酶活性最高。

**关键词** 卵磷脂;  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶;  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATP 酶; 花尾胡椒鲷 (*Plectrohynchus cinctus*)

在我国海水经济类鱼类的生产性育苗中,因仔稚鱼和幼鱼阶段的大量死亡,成活率一般低于 30%。磷脂,特别是其中的卵磷脂,对仔稚鱼和幼鱼的生长、存活起着极为重要的作用<sup>[10-14]</sup>。用卵磷脂培养球藻和轮虫作为饵料或直接添加,在香鱼 (*Plecoglossus altivelis*)<sup>[16]</sup>、真鲷 (*Pagrus major*)<sup>[15]</sup>、鲤鱼 (*Cyprinus carpio* L.)<sup>[18]</sup>、大西洋鲑鱼 (*Salmo salar* L.)<sup>[17]</sup>、美国红鱼 (*Sciaenops ocellatus*)<sup>[7]</sup> 的育苗中均能够明显提高仔稚鱼和幼鱼的生长速度和存活率。然而,仔稚鱼和幼鱼的生长存活为什么需要磷脂尚不清楚<sup>[1]</sup>。Salhi 等在 1995 年的研究证明卵磷脂能够通过其乳化性质改进仔鱼对脂类的吸收,弥补其胆汁分泌的不足。Zambonino Infante 的研究证实卵磷脂有促进仔鱼消化道成熟的作用<sup>[8]</sup>。但卵磷脂对体内的有关生理活动和代谢起什么作用尚不清楚,ATP 酶是生物体内最重要的代谢酶之一,卵磷脂影响仔稚鱼和幼鱼的生长、存活,其过程则有可能伴随有 ATP 酶的活性变化。

花尾胡椒鲷 (*Plectrohynchus cinctus*) 属鲈形目 (Perciformes) 石鲈科 (Pomadasyidae) 胡椒鲷属,为亚热带和温带浅海底层鱼类,分布于印度洋北部至日本沿岸,因其经济价值较高,近几年已成为我国东南沿海的重要海水养殖鱼类。本文用含不同卵磷脂添加量的配合饲料投喂花尾胡椒鲷幼鱼,观察卵磷脂对其  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 和  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase 活性的影响,以了解卵磷

脂的添加量与花尾胡椒鲷幼鱼 ATPase 活性的关系,并进一步探讨卵磷脂对幼鱼生长、存活影响的机制。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验用鱼

实验用花尾胡椒鲷是于 2000 年 6 月在集美大学水产学院海水养殖场中人工培育的鱼苗。选用鱼苗为 40 日龄幼鱼,体重:105.4~239.3 mg,平均 182.0±66.91 mg;体长:19.83~26.12 mm,平均 23.0±2.55 mm。

### 1.2 配合饲料喂养

共设六组,每组 50 尾幼鱼,于 40 L 水体中培养,用充氧机充氧。分别投喂不同卵磷脂含量的配合饲料(见表 1),各组分别设两个平行组。试验期间水温 27.9~29.1 °C,日换水 2 次,每次换水量为 70%,并吸去底污及死鱼。试验进行 7 d。

### 1.3 酶液制备

幼鱼整体匀浆。用预冷的双蒸水将实验材料在

\* 福建省自然科学基金资助项目 139910007 号。

第一作者:陈彦,出生于 1978 年,厦门大学生物系 2000 级研究生,专业方向:海洋动物生物学。通信地址:厦门大学生物系研究生信箱,邮编:361005。E-mail: chenyan707@263.net

收稿日期:2001-06-07;修回日期:2001-06-28

**表 1 投喂花尾胡椒鲷配合饲料分组及其组成**

**Tab.1 Ingredient of basal diets fed to *Plectorhynchus cinctus* fry and supplemented with various levels of soy lecithin**

配合饲料分组	基础成分	大豆卵磷脂(g)
L0		0
L1	100 g (干酪素 50 g,	1
L2	糊精 30 g, CMC 3 g,	2
L3	复合维生素 10 g,	3
L4	复合矿物质 5 g,	4
L5	复合氨基酸 2 g)	5

玻璃匀浆器中匀浆。匀浆液于 15 000 r/ min 离心 10 min, 取上清液测定酶活性。

#### 1.4 酶活性测定

1.4.1 酶促反应 采用岑小波等 1998 年报道的孔雀绿比色法<sup>[2,3]</sup>进行酶促反应, 并测定反应产物中磷的量。

1.4.2 测定蛋白质含量 采用郭敏亮等<sup>[6]</sup>改进过的考马斯亮蓝显色法测定蛋白质含量。

1.4.3 酶活性计算 定义酶活性在 37 °C 条件下保温 1h 每毫克蛋白质释放磷的微摩尔数为 1 个酶活力单位, 表示为  $\mu\text{mol}/(\text{h} \cdot \text{mg})$

## 2 结果

### 2.1 卵磷脂对花尾胡椒鲷幼鱼 $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的影响

添加卵磷脂饲料组幼鱼  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性均显著高于未添加组(图 1), 其中 L3 组  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 的比活力最高, 为未添加组的 19.74 倍。

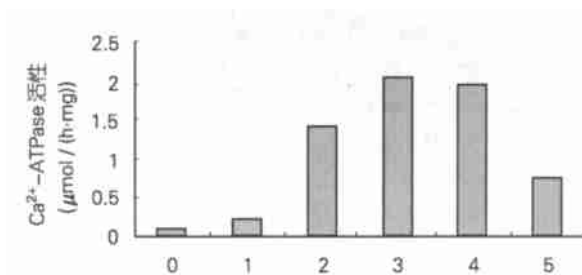


图 1 添加卵磷脂的人工饲料对花尾胡椒鲷幼鱼  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase 活性的影响

Fig.1 Conversion of the  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity of juvenile *Plectorhynchus cinctus* fed a basal diet containing supplemental soy lecithin

### 2.2 卵磷脂对花尾胡椒鲷幼鱼 $\text{Na}^{+}$ , $\text{K}^{+}$ -ATPase 活性的影响

添加卵磷脂饲料组幼鱼  $\text{Na}^{+}$ ,  $\text{K}^{+}$ -ATPase 活性均高于未添加组(图 2), 其中 L2 组  $\text{Na}^{+}$ ,  $\text{K}^{+}$ -ATPase 的比活力最高, 为未添加组的 2.83 倍。

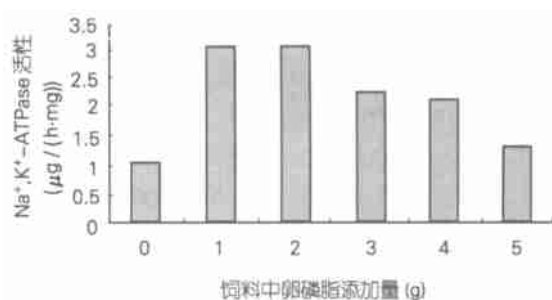


图 2 添加卵磷脂的人工饲料对花尾胡椒鲷幼鱼  $\text{Na}^{+}$ ,  $\text{K}^{+}$ -ATPase 活性的影响

Fig.2 Conversion of the  $\text{Na}^{+}$ ,  $\text{K}^{+}$ -ATPase activity of juvenile *Plectorhynchus cinctus* fed a basal diet containing supplemental soy lecithin

## 3 讨论

卵磷脂影响仔稚幼鱼生长、存活的机制比较复杂。对于鱼类来说, 磷脂是其必需脂肪酸的来源, 而必需脂肪酸能有效的激活 ATP 酶系统<sup>[4]</sup>。从本实验的结果可以看出, 用适度卵磷脂添加量的人工饲料投喂花尾胡椒鲷幼鱼, 确实使其  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性和  $\text{Na}^{+}$ ,  $\text{K}^{+}$ -ATP 酶活性得到显著提高。

$\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶和  $\text{Na}^{+}$ ,  $\text{K}^{+}$ -ATP 酶是 ATP 酶家族中的两个重要成员。 $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶是质膜上  $\text{Ca}^{2+}$  转运系统最重要的部分,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶可以利用 ATP 水解的能量把  $\text{Ca}^{2+}$  从细胞内泵出来, 使细胞质中维持低的  $\text{Ca}^{2+}$  浓度, 而在细胞外液一面维持高  $\text{Ca}^{2+}$  浓度<sup>[5]</sup>。对于生长发育迅速的仔稚幼鱼来说, 在其骨骼系统的生长发育中,  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶的作用尤其重要, 它不仅参与骨组织有机质的钙化, 还直接参与成骨细胞向骨细胞的分化, 是决定其骨骼正常生长的重要因素之一<sup>[9]</sup>。Kanazawa 等<sup>[16]</sup>在香鱼中证实, 卵磷脂除了提高仔稚幼鱼的生长和存活率之外, 还降低了畸形仔稚幼鱼的发生率, 特别是脊柱侧凸症的畸形仔稚鱼明显减少。可以认为, 卵磷脂影响  $\text{Ca}^{2+}$ -ATP 酶活性, 从而影响仔稚幼鱼的骨骼发育。根据本实验结果, 对于花尾胡椒鲷幼鱼来说, 配合饲料中卵磷脂添加量为 0% ~ 3% 时,

Ca<sup>2+</sup>-ATP酶的比活力随卵磷脂添加量的增加而增高,在卵磷脂百分比为3%时酶活力出现峰值;卵磷脂添加量为3%~5%的实验组Ca<sup>2+</sup>-ATP酶的比活力随卵磷脂添加量的增加而降低,说明对于Ca<sup>2+</sup>-ATP酶活性,3%左右的卵磷脂添加量为最适合。

海水鱼类为维持其体液的低渗透性,必须主动排泄Na<sup>+</sup>和Cl<sup>-</sup>。这种离子转运过程主要就是依赖Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATP酶来完成的。在狭盐性鱼类中,海水鱼类的Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATP酶活性是淡水鱼类的4到10倍。Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATP酶是Na<sup>+</sup>主动排出的生物化学介质,同时它也参与Cl<sup>-</sup>的主动排泄,Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATP酶活性增加为海水鱼类在海水中大量排出NaCl提供能量<sup>[4]</sup>。Couttean等<sup>[19]</sup>在对虾(*Penaeus vannamei*)幼体的研究中指出,卵磷脂对幼体维持其渗透压有重要作用,能够提高其对环境变化的耐受力。同样,对Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATP酶活性的影响也可能是卵磷脂影响仔稚幼鱼生长、存活的一个中间环节。根据本实验结果,对于花尾胡椒鲷幼鱼来说,配合饲料中卵磷脂添加量为0%~2%时,Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATP酶的比活力随卵磷脂添加量的增加而增高,在卵磷脂百分比为2%左右酶活力出现峰值;卵磷脂添加量为2%~5%的实验组Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATP酶的比活力随卵磷脂添加量的增加而降低,说明对于Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATP酶活性2%左右的卵磷脂添加量为最适合。

#### 参考文献

- 刘镜格. 国外仔稚鱼卵磷脂需要的研究, 海洋科学, 1997, 1: 22~24
- 岑小波、黄永光、王端淑等. 孔雀绿比色法同步测定大鼠成骨细胞膜Ca<sup>2+</sup>-ATP酶和Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATP酶活性, 华西医科大学学报, 1998, 29: 427~430
- 岑小波等. 锌对大鼠成骨细胞膜Ca<sup>2+</sup>-ATP酶活性的调节, 卫生研究, 2000, 29: 52~54
- 林浩然. 鱼类生理学. 广州: 广东高等教育出版社, 1999.
- 洪水根、汪德耀. 膜分子生物学. 厦门: 厦门大学出版社, 1994.
- 郭敏亮、姜涌明. 考马斯亮蓝显色液组分对蛋白质测定的影响, 生物化学与生物物理进展, 1996, 23(6): 558~561
- Craig Steven R. et al.. Growth and body composition of juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*) fed diets containing lecithin and supplemental choline, *Aquaculture*, 1997, 151(1~4): 259~267
- Zambonino Infante J.L.. High dietary lipid levels enhance digestive tract maturation and improve *Dicentrarchus labrax* larval development, *The Journal of nutrition*, 1999, 129: 1195~1200
- Kosik-Kosicka D.. Protein Kinase C and calmodulin effects on the plasma membrane Ca<sup>2+</sup>-ATPase from excitable and nonexcitable cells, *Mol. Cell Biol.*, 1997, 173: 79~87
- Furuita H. et al.. Requirements of larval yellowtail for eicosapentaenoic acid, docosahexaenoic acid, and n3 highly unsaturated fatty acid, *Fisheries Science*, 1996, 62(3): 372~379
- Ibeas C. et al.. Influence of dietary n3 highly unsaturated fatty acid levels on juvenile gilthead seabream (*Spans aumte*) growth and tissue fatty acid composition, *Aquaculture*, 1996, 142(3-4): 221~235
- Salhi M. et al.. Effect of lipid and n3 HUFA levels in Microdiets on Growth, Survival and Fatty Acid Composition of larval Gilthead seabream (*Spans aumte*), *Aquaculture*, 1994, 124(1-4): 275~282
- Rodriguez C. et al.. n3 HUFA requirements of larval Gilthead seabream (*Spans aumte*) when using high levels of eicosapentaenoic acid, *Comparative Biochemistry and Physiology A Physiology*, 1994, 107(4): 693~398
- Izquierdo M. S. et al.. Effect of n3 HUFA levels in Artemia on Growth of larval Japanese Flounder (*Pamlichthys olivaceus*), *Aquaculture*, 1992, 105(1): 73~82
- Kanazawa A. et al.. Effect of dietary phospholipids on growth of the larval red seabream and knife jaw, *M&M. Fac. Fish. Kagoshi Univ.*, 1983, 32: 109~114
- Kanazawa A. et al.. Effect of dietary phospholipids on growth, survival rate of malformation in the larval ayu, *M&M. Fac. Fish. Kagoshi Univ.*, 1981, 30: 301~309
- Poston H. A.. Performance of rainbow trout fry fed supplemental soy lecithin and choline, *Prog. Fish Cult.*, 1990, 52: 218~225
- Geurden I. et al.. Essentiality of dietary phospholipids carp (*Cyprinus carpio L.*) larvae, *Aquaculture*, 1995, 131: 303~314
- Coutteau P. et al.. The effect of different levels and sources of dietary phosphatidylcholine on the growth, survival, stress resistance and fatty acid composition of postlarval *Penaeus vannamei*, *Aquaculture*, 1996, 147(3~4): 261~273

研究论文 ·  *ARTICLE*

# EFFECT OF LECITHIN ON THE $\text{Ca}^{2+}$ -ATPASE AND $\text{Na}^+$ , $\text{K}^+$ -ATPASE ACTIVITIES OF JUVENILE *Plectrothynchus cinctus*

CHEN Yan<sup>1</sup> WANG Chong-gang<sup>1</sup> CHEN Pir-jian<sup>1</sup> XIE Yang-jie<sup>2</sup> CAI Ke-xia<sup>1</sup>

(<sup>1</sup> Department of Biology, Xianen University, 316005 )

(<sup>2</sup> Department of Aquaculture, Jimei University, 361027 )

Received: Jun., 7, 2001

**Key Words** Lecithin ;  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase ;  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase ; *Plectrothynchus cinctus*

## Abstract

The experiment was conducted to determine the effects of supplemental lecithin in the diet on juvenile *Plectrothynchus cinctus*. Six isocaloric diets were formulated by the addition of different levels (0%, 1%, 2%, 3%, 4%, 5% of diet) of soybean lecithin. The diets were fed to the six groups of juvenile *Plectrothynchus cinctus* for seven days. The  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase and  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase activities of juvenile *Plectrothynchus cinctus* were assayed simultaneously by malachite green colorimetric method.

The experimental result indicated that the addition of lecithin generally improved  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase and  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase activities of juvenile *Plectrothynchus cinctus*. The  $\text{Ca}^{2+}$ -ATPase activity was the highest in the group fed 3% lecithin, whereas the  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ -ATPase was the highest in the group fed 2% lecithin.

( 本文编辑 : 刘珊珊 )