

Ca²⁺、Mg²⁺及盐度对凡纳滨对虾体内代谢酶的影响

张立田^{1,2}, 戴习林¹, 臧维玲¹

(1. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306; 2. 东海水产研究所, 上海 200090)

摘要: 为探讨 Ca²⁺、Mg²⁺、盐度对凡纳滨对虾体内代谢酶的相对独立作用和相互影响, 进而为提高凡纳滨对虾生长力和免疫力提供理论依据, 本实验采取 L49(7⁸)安排 7 水平 Ca²⁺、Mg²⁺、盐度, L8(2⁷)安排 2 水平 Ca²⁺、Mg²⁺、盐度, 开展 60 d 凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)养殖试验, 通过比较对虾体内消化酶、ATP 酶及免疫类酶的活性以分析 Ca²⁺、Mg²⁺、盐度对凡纳滨对虾生长力和免疫力的影响。结果表明: 水体中 Ca²⁺、Mg²⁺、盐度对消化酶具有显著影响($P<0.05$), 其中与对虾消化吸收联系最紧密的蛋白酶中, 盐度对胃蛋白酶影响显著, 盐度为 10 时酶活最高, Ca²⁺、盐度对胰蛋白酶影响显著, Ca²⁺为 200 mg/L, 盐度为 20 时, 酶活最高; Ca²⁺、Mg²⁺、盐度对 ATP 酶具有显著影响($P<0.05$), 其中对 Na⁺-K⁺-ATP 酶都有显著影响, Ca²⁺为 300 mg/L, Mg²⁺为 500 mg/L, 盐度为 30 时酶活最高, Ca²⁺、Mg²⁺对 Mg²⁺-ATP 酶具有显著影响, Ca²⁺为 200 mg/L, Mg²⁺为 500 mg/L 时酶活最高, Ca²⁺对 Ca²⁺-ATP 酶具有显著影响, Ca²⁺为 200、300 mg/L 时酶活最高; Ca²⁺、Mg²⁺、盐度对凡纳滨对虾体内免疫酶具有显著影响($P<0.05$), Ca²⁺、Mg²⁺、盐度对 ACP 都有显著影响, Ca²⁺为 100 mg/L, Mg²⁺为 150 mg/L, 盐度为 30 时酶活最高, Mg²⁺对 AKP 具有显著影响, 在 150 mg/L 时酶活最高, Ca²⁺、盐度对 SOD 酶活具有显著影响, Ca²⁺为 100 mg/L, 盐度为 35 时酶活最高; Ca²⁺、Mg²⁺、盐度间的交互作用对体内代谢酶也有一定影响。

关键词: 凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*); Ca²⁺; Mg²⁺; 盐度; 消化酶; ATP 酶; 免疫类酶

中图分类号: S966.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2013)07-0063-09

凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)俗称南美白对虾, 为当今世界养殖产量最高的虾类品种, 其自然分布区主要在东太平洋^[1]。凡纳滨对虾盐度适应范围广, 在海水和淡水水域中均能生长, 但与海水养殖相比, 在淡水中生长速度较慢, 抗病能力较差, 这与海水和淡水中离子成分及含量有关^[2-5]。海水中常量离子成分和含量都比较稳定^[6], 淡水离子种类及含量与海水有一定差异, 其中与对虾蜕壳和生长有紧密联系的必需离子 Ca²⁺、Mg²⁺在淡水中的含量甚低, 世界河水中 Ca²⁺、Mg²⁺含量的平均值仅分别为 20.4 mg/L 与 3.4 mg/L^[7], 远低于海水。因此, 低盐、低钙及低镁水体中凡纳滨对虾的生长力和抗病力就成了学者和养殖业者关注的内容。

凡纳滨对虾生长力受多方面的影响, 其中与食物消化吸收有关的消化酶及与蜕壳紧密相关的 Na⁺-K⁺三磷酸腺苷酶(Na⁺-K⁺-ATP 酶)、Ca²⁺三磷酸腺苷酶(Ca²⁺-ATP 酶)、Mg²⁺三磷酸腺苷酶(Mg²⁺-ATP 酶)对其生长力有很大影响^[8-10]; 凡纳滨对虾抗病力与其体内免疫机制有关, 凡纳滨对虾体内存在着可以诱导的非特异性免疫防御系统, 超氧化物歧化酶(SOD)、酸性磷酸酶(ACP)和碱性磷酸酶(AKP)等是体液防御系统中

的重要免疫因子^[11]; 关于 Ca²⁺、Mg²⁺及盐度对凡纳滨对虾生长力与免疫力方面的研究已有一些报道, 刘存歧、沈丽琼等^[3,5,10]对 Ca²⁺、Mg²⁺或盐度对凡纳滨对虾免疫类酶影响有过研究, 但这些研究均甚少涉及 Ca²⁺、Mg²⁺、盐度三因素在剔除两因素效应下对凡纳滨对虾体内代谢酶的影响以及三者之间的交互作用。本试验主要根据中国内陆不同养殖水体的水质类型, 采用正交试验探讨 Ca²⁺、Mg²⁺、盐度对凡纳滨对虾体内代谢酶的相对独立作用和相互影响, 进而为提高凡纳滨对虾生长力和免疫力提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 试验用虾及养殖试验池

试验用虾购自厦门海水淡化苗(盐度=2), 平均体

收稿日期: 2011-12-12; 修回日期: 2012-08-20

基金项目: 上海市科技兴农重点攻关项目(沪农科攻字(2010)第 1-6 号); 上海市科技兴农科技推广项目(沪农科推字(2008)第 5-1 号); 上海市教育委员会重点学科建设项目(J50701)

作者简介: 张立田(1987-), 男, 山东潍坊人, 主要从事水产养殖技术研究, E-mail: zhanglitian4847023@163.com; 戴习林, 通信作者, E-mail: xldai@shou.edu.cn

长=(0.800±0.028)cm, 平均体质量=(0.002±0.001)g, 暂养于 100 L 塑料箱备用。试验池为上海市金山区申漕特种水产开发公司玻璃温室内的水泥育苗池(3.50 m×7.15 m)。

1.2 试验基础用水与药品

试验基础用水为经沉淀过滤、杀菌消毒的养殖场邻近三洪河河水, 盐度 0.3, Ca²⁺为 50 mg/L, Mg²⁺为 20 mg/L。调配试验用水的化学药品分别为工业纯: NaCl(日晒盐)、CaCl₂·2H₂O、MgCl₂·6H₂O、KCl、NaBr、H₃BO₃、Na₂SO₄。

1.3 试验设计

依据中国内陆不同地区地表水水质类型^[7]及预试验结果, 选择 L49(7⁸)正交表安排 Ca²⁺、Mg²⁺、盐度 3 因素 7 水平试验, 研究 3 者对凡纳滨对虾体内代谢酶的相对独立影响, 分析 3 个因子对凡纳滨对虾代谢酶影响趋势; 选择 L8(2⁷) 正交表安排 Ca²⁺、Mg²⁺、盐度 3 因素 2 水平试验, 考察 3 者之间的交互作用, 各试验组均设 1 个平行组, 两正交表中各因素水平分别列于表 1 和表 2。

表 1 L49(7⁸)中 Ca²⁺、Mg²⁺、盐度水平
Tab.1 Ca²⁺, Mg²⁺ and salinity levels in L49(7⁸)

水平	因素		
	Ca ²⁺ (mg/L)	Mg ²⁺ (mg/L)	盐度(‰)
1	30	10	0.3
2	50	20	2
3	100	150	5
4	200	300	10
5	300	500	20
6	400	750	30
7	500	1200	35

注: 表 3, 表 4, 表 5 中的水平同表 1

表 2 L8(2⁷)中 Ca²⁺、Mg²⁺、盐度水平
Tab.2 Ca²⁺, Mg²⁺ and salinity levels in L8(2⁷)

水平	因素		
	Ca ²⁺ (mg/L)	Mg ²⁺ (mg/L)	盐度(‰)
1	50	20	0.3
2	400	1200	35

注: 表 7, 表 8 中的水平同表 2

1.4 试验方法

1.4.1 试验用水调配

除 L49(7⁸)中 Ca²⁺、Mg²⁺水平为 1 试验组的基准水为经氢氧化钠处理降低钙镁含量, 并调节 pH 后的

河水, 其他试验组均以河水作为调配基准水。按试验设计要求先调节 Ca²⁺、Mg²⁺水平, 再以盐度为 35 自然海水作为参照, 依据臧维玲^[12]罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)育苗用水调配原则, 按照设定盐度比例分别添加其他离子(K⁺、Br⁻、H₃BO₃、SO₄²⁻), 最后以 NaCl(日晒盐)调节各试验组盐度水平, 水深 50 cm, 经充分曝气一周后用于试验。

1.4.2 试验用虾驯化与放养

各试验组受试虾苗约 1 000 尾分别在 100 L 塑料箱中驯养, 每日早晚分别用各自调配水换水^[13]驯化, 同时每日早中晚各投虾片 1 次, 并及时排出残饵污物。10 d 后驯化完毕, 将各组驯化苗完全随机人工逐尾计数 500 尾置于试验池中, 平均体长=(0.920±0.028) cm, 平均体质量=(0.003±0.001)g。

1.4.3 日常管理

试验期间每天定时投喂配合饲料, 早期每日 4 次, 后期每日 3 次, 连续散气石充气增氧, 定期排污, 不换水, 每隔 15 d 测量盐度及 Ca²⁺、Mg²⁺含量, 及时补充因蒸发所失基础水, 试验期间各水体中 TAN≤0.1 mg/L, NO₂⁻-N≤0.005 mg/L, 水温 30.6±1.4℃。60 d 后准确计数各池存活虾数, 并分别准确测量体长与体质量。

1.5 试验指标的测定

水体中 Ca²⁺、Mg²⁺含量测定采用络合滴定法进行滴定^[5], 盐度采用德国 WTW 多参数水质分析仪 Multi 340i 测量。

成活率=试验结束时对虾尾数/试验开始时放养尾数

体长日均增长=(试验结束时虾体均长 - 试验开始时虾体均长)/养殖天数

日均增质量=(试验结束时虾体均质量 - 试验开始时虾体均质量)/养殖天数

1.6 虾体组织酶活测定

蛋白酶活性采用福林-酚法测定^[14], 淀粉酶采用 3,5-二硝基水杨酸显色法(DNS 法)^[15], 脂肪酶采用以聚乙烯醇橄榄油为底物的标准氢氧化钠溶液滴定法^[16], 酶活测定组织取自凡纳滨对虾肝胰腺。

Na⁺-K⁺-ATP 酶、Ca²⁺-ATP 酶、Mg²⁺-ATP 酶采用南京建成生物研究所所配试剂盒进行测定, 规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, 即微摩尔分子磷/毫克蛋白/小时, 即: μmol/(mg·h), 酶活

测定组织取自凡纳滨对虾鳃丝。

ACP、AKP、SOD 采用南京建成生物研究所所配试剂盒进行测定, ACP、AKP 为每克组织蛋白在 37℃ 与基质作用 30 min 产生 1 mg 酚为一个活力单位(U), SOD 为每毫克组织蛋白在 1 mL 反应液中 SOD 抑制率达 50%时所对应的 SOD 量为一个 SOD 活力单位(U), 酶活测定组织取自凡纳滨对虾肝胰腺。

蛋白含量测定采用考马斯亮蓝法进行测定。

酶的比活力=酶活力/组织蛋白含量

1.7 数据处理

采用 Excel2003 和 SPSS 17.0 进行数据整理和分析。方差分析处理正交试验数据, Duncan 法均值多重比较, 差异显著性设置为 $P < 0.05$ 。

表 3 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度对凡纳滨对虾成活率、体长日均增长的影响

Tab.3 Effect of Ca^{2+} , Mg^{2+} and salinity on survival, growth and flavor amino acids of *Litopenaeus vannamei*

因素	水平	成活率(%)	体长日均增长 (mm/d)	因素	水平	成活率(%)	体长日均增长 (mm/d)
Ca^{2+}	1	55.4 ^e ±18.1	1.141 ^d ±0.081	Mg^{2+}	5	70.8 ^c ±18.0	1.218 ^c ±0.080
	2	64.2 ^c ±12.8	1.255 ^{ab} ±0.111		6	73.8 ^b ±9.8	1.237 ^b ±0.097
	3	79.7 ^a ±4.7	1.265 ^a ±0.086		7	79.6 ^a ±7.2	1.221 ^c ±0.068
	4	71.5 ^b ±19.2	1.238 ^c ±0.065		1	71.9 ^c ±10.5	1.189±0.099
	5	58.5 ^d ±12.0	1.241 ^{bc} ±0.114		2	68.8 ^d ±14.7	1.255±0.069
	6	77.6 ^a ±10.1	1.243 ^{bc} ±0.076		3	77.7 ^b ±5.5	1.201±0.066
	7	71.0 ^b ±19.2	1.245 ^{bc} ±0.045		S	4	79.9 ^a ±4.8
Mg^{2+}	1	65.0 ^e ±16.7	1.244 ^b ±0.107	5		63.8 ^e ±16.2	1.263±0.089
	2	65.5 ^d ±17.6	1.180 ^d ±0.093	6		57.1 ^f ±20.4	1.258±0.114
	3	53.3 ^f ±16.9	1.309 ^a ±0.075	7		59.6 ^f ±18.5	1.216±0.069
	4	70.5 ^c ±11.4	1.221 ^c ±0.080				

注: 同一指标数据的上标小写英文字母不同表示相互之间存在显著差异; S: 盐度, 以下表格相同

由方差分析知 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 对凡纳滨对虾体长日均增长具有显著影响($P < 0.05$)。表 3 表明, Ca^{2+} 为 100mg/L 时其体长日均增长最快, 30 mg/L 时, 体长日均增长值最小, 显著低于其余 Ca^{2+} 水平组; Mg^{2+} 为 150 mg/L 时生长速度最快, 50 mg/L 时生长速度最慢, $Mg^{2+} \geq 300$ mg/L 时其生长速度差别不大, 而 < 300 mg/L 时, 各水平组间对虾生长速度变化较大; 对虾生长与盐度的关系呈抛物线状趋势, 生长速度在盐度为 10~20 时较快。

2.2 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度对凡纳滨对虾体内消化酶的影响

Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度对凡纳滨对虾体内消化酶的影响见表 4。表 4 表明, Ca^{2+} 对类胰蛋白酶影响显著, 盐度对胃蛋白酶、类胰蛋白酶具有显著影响, Mg^{2+} 对 4

2 结果

2.1 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度对凡纳滨对虾存活及生长的影响

Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度对凡纳滨对虾存活及生长的影响见表 3。由方差分析知 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度对凡纳滨对虾成活率均具有显著影响($P < 0.05$)。由表 3 发现, Ca^{2+} 在 30~300 mg/L 时, 成活率呈抛物线趋势, 100 mg/L 时出现第一个峰值, 400 mg/L 时为第二个峰值, 500 mg/L 成活率降至 71.0%; Mg^{2+} 除 150 mg/L 外, 成活率基本呈递增之势, 1 200 mg/L 时成活率最高, 达到 79.6%($P < 0.05$), 100 mg/L 时成活率最低, 仅为 53.3%; 盐度由 0.5 上升到 10 时成活率逐渐升高, 此后随盐度增加逐渐降低。

种消化酶均没有显著影响。

由表 4 看出, 对胃蛋白酶的影响 Ca^{2+} 为 200 mg/L 时酶活较高, 500 mg/L 时酶活又达到一较高值, Mg^{2+} 在 300 mg/L 时酶活最低, 750 mg/L 时酶活最高, 盐度低于 10 时, 酶活呈递增之势, 此后随盐度增加酶活又逐渐降低, 30 时降到一较低水平, 而 35 时酶活又达到一较高水平; 对类胰蛋白酶的影响 Ca^{2+} 高于 300 mg/L 时, 随 Ca^{2+} 增加酶活逐渐升高, Ca^{2+} 低于 300 mg/L 时酶活变化较大, 其中在 200 mg/L 时酶活为最高值, 在 100 mg/L 和 300 mg/L 时酶活最低, Mg^{2+} 低于 150 mg/L 时, 随 Mg^{2+} 增加酶活逐渐降低, 150~750 mg/L 时, 随 Mg^{2+} 增加酶活逐渐升高, 1 200 mg/L 时酶活降至最低, 盐度低于 20 时, 随盐度增加酶活逐渐升高, 此后随盐度增加酶活又稍有下降; 对淀粉酶

表 4 Ca²⁺、Mg²⁺、盐度对凡纳滨对虾消化酶、ATP 酶比活力影响

Tab.4 Effect of Ca²⁺, Mg²⁺ and salinity on digestive enzymes, ATP enzymes specific activity of *L. vannamei*

因素	水平	胃蛋白酶	类胰蛋白酶	淀粉酶	脂肪酶	Na ⁺ -K ⁺ -ATP	Mg ²⁺ -ATP	Ca ²⁺ -ATP
Ca ²⁺	1	1.22±0.39	4.53 ^c ±0.92	4.02±0.91	0.56±0.08	8.70 ^c ±3.79	6.59 ^d ±1.77	6.43 ^c ±1.07
	2	1.37±0.35	4.90 ^{bc} ±0.93	4.39±0.49	0.73±0.28	9.85 ^a ±2.61	9.48 ^b ±3.00	8.11 ^b ±2.69
	3	1.51±0.64	4.37 ^c ±1.60	4.19±1.57	0.69±0.23	9.85 ^a ±3.32	9.35 ^b ±2.55	8.41 ^b ±2.91
	4	1.63±0.64	5.53 ^a ±0.94	4.62±1.14	0.67±0.18	8.86 ^c ±1.23	10.66 ^a ±3.29	11.34 ^a ±3.18
	5	1.37±0.70	4.37 ^c ±1.44	4.62±1.89	0.57±0.25	10.05 ^a ±4.48	8.29 ^c ±2.38	11.42 ^a ±3.95
	6	1.35±0.37	4.74 ^c ±0.55	4.15±1.14	0.59±0.23	9.03 ^{bc} ±2.92	8.03 ^c ±2.78	8.57 ^b ±4.17
	7	1.55±0.50	5.27 ^{ab} ±0.99	5.16±0.97	0.53±0.22	9.28 ^b ±4.00	7.72 ^c ±2.82	6.75 ^c ±2.40
Mg ²⁺	1	1.36±0.36	4.97±1.13	4.03±1.04	0.72±0.24	8.21 ^c ±2.34	6.95 ^d ±2.60	7.18±2.55
	2	1.47±0.67	4.92±1.24	3.89±1.33	0.68±0.21	8.30 ^c ±3.38	7.50 ^c ±1.54	7.69±3.33
	3	1.23±0.42	4.57±0.60	4.56±1.13	0.60±0.20	10.29 ^b ±2.94	9.53 ^b ±3.11	9.56±4.31
	4	1.20±0.71	4.74±1.47	4.43±1.42	0.59±0.24	11.31 ^a ±3.07	9.07 ^b ±2.84	9.07±3.43
	5	1.62±0.21	4.92±1.11	5.20±0.80	0.54±0.17	11.73 ^a ±4.17	10.63 ^a ±2.88	9.49±3.19
	6	1.72±0.47	5.29±1.32	4.58±1.55	0.60±0.22	7.50 ^d ±2.04	7.57 ^c ±1.49	8.50±3.18
	7	1.40±0.61	4.30±0.89	4.45±1.12	0.62±0.27	8.05 ^c ±2.87	7.76 ^c ±1.27	7.90±1.66
s	1	1.06 ^d ±0.26	4.01 ^c ±0.99	3.95 ^c ±1.29	0.68±0.27	7.94 ^d ±2.49	7.43±2.10	6.82±1.70
	2	1.10 ^d ±0.26	4.61 ^b ±0.51	4.60 ^b ±1.32	0.73±0.24	8.17 ^d ±4.38	7.46±2.26	9.22±4.14
	3	1.52 ^{bc} ±0.63	4.73 ^b ±1.46	4.86 ^{ab} ±1.23	0.70±0.16	9.87 ^b ±2.79	9.83±2.85	9.68±3.28
	4	1.76 ^a ±0.62	5.32 ^a ±1.37	4.70 ^{ab} ±1.32	0.60±0.26	8.93 ^c ±2.33	9.45±2.17	8.84±1.57
	5	1.56 ^b ±0.41	5.32 ^a ±1.18	5.17 ^a ±0.82	0.56±0.20	9.81 ^b ±4.88	7.82±3.14	8.30±4.53
	6	1.37 ^c ±0.49	4.80 ^b ±1.21	3.91 ^c ±1.55	0.50±0.08	10.52 ^a ±3.10	7.75±2.78	7.21±2.28
	7	1.64 ^{ab} ±0.58	4.91 ^{ab} ±0.64	3.97 ^c ±0.52	0.56±0.25	10.15 ^{ab} ±2.13	9.27±1.80	9.33±3.17

注：消化酶比活单位：U/mg；ATP 酶比活单位：μmol/(mg·h)

的影响 Ca²⁺为 30 mg/L, Mg²⁺为 20、60 mg/L 时酶活最低, Ca²⁺为 500 mg/L、Mg²⁺为 500 mg/L 时酶活最高, 而盐度对酶活影响呈抛物线状, 20 时酶活最高; 对脂肪酶的影响 Ca²⁺为 50 mg/L, Mg²⁺为 20 mg/L, 盐度为 2 时酶活最高, Ca²⁺为 30 mg/L, Mg²⁺为 500 mg/L, 盐度为 30 时酶活最低。

2.3 Ca²⁺、Mg²⁺、盐度对凡纳滨对虾 ATP 酶的影响

Ca²⁺、Mg²⁺、盐度对凡纳滨对虾 ATP 酶的影响见表 4。表 4 表明, Ca²⁺对 Na⁺-K⁺-ATP 酶、Mg²⁺-ATP 酶、Ca²⁺-ATP 酶酶活都有显著影响, Mg²⁺对 Na⁺-K⁺-ATP 酶、Mg²⁺-ATP 酶酶活具有显著影响, 而盐度仅对 Na⁺-K⁺-ATP 酶酶活影响显著。

由表 4 看出 Ca²⁺对 Na⁺-K⁺-ATP 酶影响呈波浪趋势, 50、100、300 mg/L 时酶活较高, 30、200、400、500 mg/L 时酶活较低, 其中 Ca²⁺为 300 mg/L 时酶活最高, 30mg/L 时酶活最低, Mg²⁺对 Na⁺-K⁺-ATP 酶的影响在低于 500 mg/L 时, 随 Mg²⁺增加酶活逐渐升高, 高于 500mg/L 时酶活又有较大幅度下降, 其中在

750 mg/L 时酶活最低, 盐度对 Na⁺-K⁺-ATP 酶的影响在低于 30 时, 基本随盐度增加而逐渐升高, 盐度为 5 除外, 盐度为 5 时酶活较高, 而在盐度达到 35 时酶活较盐度为 30 时略有下降; Ca²⁺对 Mg²⁺-ATP 酶的影响趋势呈抛物线趋势, 30mg/L 时酶活最低, 200 mg/L 时酶活最高, Mg²⁺对 Mg²⁺-ATP 酶影响也基本呈一抛物线趋势, 其中 20 mg/L 时酶活最低, 500 mg/L 时酶活最高, 盐度对 Mg²⁺-ATP 酶影响除 35 外也呈一抛物线趋势, 在 0.5 时酶活最低, 10 时酶活最高, 而 35 时酶活达到一较高水平; Ca²⁺对 Ca²⁺-ATP 酶影响呈抛物线趋势, 30 mg/L 时酶活最低, 200、300 mg/L 时酶活最高, Mg²⁺对 Mg²⁺-ATP 酶影响也基本呈抛物线趋势, 20 mg/L 时酶活最低, 150 mg/L 时酶活最高, 而盐度对 Ca²⁺-ATP 酶影响趋势与盐度对 Mg²⁺-ATP 酶酶活影响趋势相同, 0.5 时酶活最低, 5 时酶活最高。

2.4 Ca²⁺、Mg²⁺、盐度对凡纳滨对虾体内免疫酶的影响

Ca²⁺、Mg²⁺、盐度对凡纳滨对虾体内免疫酶的影响

响见表 5。表 5 表明, Ca^{2+} 对 ACP、SOD 酶活具有显著影响, Mg^{2+} 对 ACP、AKP 酶活有显著影响, 而盐度对 AKP、SOD 酶活影响显著。

由表 5 看出, 对 ACP 影响, Ca^{2+} 为 100 mg/L 时酶活最高, 30 mg/L 时酶活最低, Mg^{2+} 在 150 mg/L 时酶活最高, 1200 mg/L 时酶活最低, 20、60 mg/L 时酶活也较低, 而在高于 150 mg/L 时随 Mg^{2+} 增加酶活基本呈逐渐下降之势, 盐度为 5 时酶活最低, 高于 10 时对酶活的影响差别不大, 而由 0.5 增加到 5 时酶

活逐渐降低; 对 AKP 影响, Ca^{2+} 对 AKP 影响基本呈递减之势, Mg^{2+} 对 AKP 影响呈抛物线趋势, 150 mg/L 时酶活最高, 1200 mg/L 时酶活最低, 而盐度对 AKP 影响呈递增之势; 对 SOD 影响, Ca^{2+} 低于 100 mg/L 时随 Ca^{2+} 增加酶活逐渐升高, 100~300 mg/L 时随 Ca^{2+} 增加酶活逐渐降低, 在 400、500 mg/L 时酶活波动较大, 但酶活仍然较高, Mg^{2+} 对 SOD 影响除 1200 mg/L 外酶活呈抛物线趋势, 盐度对 SOD 影响呈递增之势。

表 5 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度对凡纳滨对虾免疫类酶比活力影响

Tab.5 Effect of Ca^{2+} , Mg^{2+} , salinity on immune enzymes specific activity of *L. vannamei*

因素	水平	ACP	AKP	SOD	因素	水平	ACP	AKP	SOD
Ca^{2+}	1	6.20 ^d ±1.92	5.32±2.50	6.09 ^d ±1.85	Mg^{2+}	5	8.10 ^b ±1.35	4.61 ^{bc} ±1.42	7.35±2.94
	2	6.22 ^d ±2.05	5.81±3.04	6.52 ^d ±1.89		6	6.67 ^d ±2.49	4.84 ^b ±2.08	6.90±2.18
	3	8.23 ^a ±2.61	5.01±1.40	8.88 ^a ±2.67		7	5.31 ^e ±1.63	3.02 ^d ±0.94	8.77±1.30
	4	7.58 ^b ±1.97	4.47±1.04	7.88 ^b ±2.36		1	7.34 ^a ±2.4	4.07±0.84	6.25 ^d ±1.28
	5	7.52 ^b ±2.06	3.96±0.86	7.23 ^c ±2.29		2	6.47 ^b ±2.31	3.92±1.73	6.72 ^d ±2.08
	6	7.86 ^{ab} ±1.85	4.00±2.20	8.80 ^a ±1.86		3	5.81 ^c ±2.12	3.93±1.43	7.57 ^c ±2.15
	7	6.73 ^c ±2.51	3.92±0.79	7.94 ^b ±2.65		4	7.62 ^a ±2.95	4.09±1.44	7.78 ^{bc} ±2.07
Mg^{2+}	1	7.17 ^c ±2.19	4.07 ^c ±0.97	6.36±2.75	S	5	7.48 ^a ±2.48	4.25±1.00	8.15 ^b ±3.42
	2	6.23 ^d ±2.39	4.24 ^c ±1.62	7.74±1.43		6	7.65 ^a ±1.97	5.81±1.72	8.03 ^b ±2.34
	3	8.83 ^a ±1.53	6.08 ^a ±2.93	8.42±2.61		7	7.59 ^a ±1.66	5.80±3.16	8.81 ^a ±2.54
	4	7.67 ^b ±2.86	5.01 ^b ±1.24	7.76±2.72					

注: ACP、AKP、SOD 比活单位: U/mg

2.5 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度对酶活影响极差分析

Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度对酶活影响极差分析见表 6。表 6 表明, Ca^{2+} 对 Mg^{2+} -ATP 酶、 Ca^{2+} -ATP 酶、SOD 影响最大, Mg^{2+} 对类胰蛋白酶、淀粉酶、 Na^+ - K^+ -ATP 酶、ACP、AKP 影响最大, 盐度对胃蛋白酶、脂肪酶影响最大。

2.6 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度及其交互作用对凡纳滨对代谢酶影响

Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度及其交互作用对凡纳滨对虾消化酶影响见表 7、表 8。

表 7 表明, Ca^{2+} 与 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 与盐度、 Mg^{2+} 与盐度之间的交互作用对凡纳滨对虾胃蛋白酶酶活都没有显著影响, 而对类胰蛋白酶酶活都有显著影响, Ca^{2+} 与盐度、 Mg^{2+} 与盐度之间的交互作用对淀粉酶酶活具有显著影响, Ca^{2+} 与 Mg^{2+} 间的交互作用对脂肪酶酶活具有显著影响; Ca^{2+} 与 Mg^{2+} 、 Mg^{2+} 与盐度之间的交互作用对凡纳滨对虾 Na^+ - K^+ -ATP 酶酶活具有显著影响, Ca^{2+} 与盐度间交互作用对 Mg^{2+} -ATP 酶酶活具有显著影响, Ca^{2+} 与盐

度、 Mg^{2+} 与盐度间的交互作用对 Ca^{2+} -ATP 酶酶活具有显著影响; 表 8 表明, Ca^{2+} 与 Mg^{2+} 、 Ca^{2+} 与盐度、 Mg^{2+} 与盐度间的交互作用对 ACP 酶活都有显著影响, 而对 AKP 酶活及 SOD 酶活都没有显著影响。

表 6 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度对酶活影响极差分析

Tab.6 Range analysis of effect of Ca^{2+} , Mg^{2+} and salinity to enzyme activity of *L. vannamei*

酶类	因素极差		
	Ca^{2+}	Mg^{2+}	S
胃蛋白酶	2.83	3.61	4.84
类胰蛋白酶	8.13	9.20	6.92
淀粉酶	7.99	9.19	8.57
脂肪酶	1.44	1.29	1.60
Na^+ - K^+ -ATP	9.05	29.59	18.04
Mg^{2+} -ATP	28.49	25.75	16.83
Ca^{2+} -ATP	34.99	16.65	20.01
ACP	23.17	36.40	20.86
AKP	11.37	21.38	15.72
SOD	18.92	16.83	17.92

表 7 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度间交互作用对凡纳滨对虾消化酶及 ATP 酶影响

Tab.7 The interaction effect of Ca^{2+} , Mg^{2+} , salinity on digestive enzymes and ATP enzymes specific activity of *L. vannamei*

因素	水平	胃蛋白酶	类胰蛋白酶	淀粉酶	脂肪酶	$\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATP}$	$\text{Mg}^{2+}-\text{ATP}$	$\text{Ca}^{2+}-\text{ATP}$
Ca^{2+}	1	1.76±0.52	5.41±0.90	4.48±0.51	0.74 ^a ±0.18	10.42±1.57	11.31 ^a ±1.75	11.31 ^a ±0.61
	2	1.50±0.67	5.39±1.34	4.45±1.96	0.56 ^b ±0.15	9.75±3.34	8.16 ^b ±3.41	9.36 ^b ±4.85
Mg^{2+}	1	1.23 ^b ±0.57	4.54 ^b ±0.76	4.03±0.25	0.62±0.10	12.17 ^a ±1.74	11.25 ^a ±3.60	10.12±4.20
	2	2.03 ^a ±0.30	6.27 ^a ±0.74	4.91±1.92	0.68±0.24	7.99 ^b ±1.44	8.32 ^b ±1.46	10.52±2.85
S	1	1.73±0.68	5.28±1.88	5.14 ^a ±1.78	0.68±0.23	0.62 ^a ±4.00	10.58±3.83	12.42 ^a ±4.20
	2	1.52±0.47	5.52±1.02	3.80 ^b ±1.91	0.61±0.20	9.54 ^b ±2.01	8.99±1.70	8.23 ^b ±4.22
$\text{Ca}^{2+}\times\text{Mg}^{2+}$	1	1.81±0.57	5.65 ^a ±1.28	4.52±1.93	0.50 ^b ±0.06	9.01 ^b ±2.69	9.86±3.10	10.43±2.77
	2	1.45±0.60	5.15 ^b ±0.92	4.42±0.60	0.80 ^a ±0.14	11.08 ^a ±2.15	9.71±3.12	10.22±4.26
$\text{Ca}^{2+}\times\text{S}$	1	1.71±0.33	4.99 ^b ±0.78	3.97 ^b ±1.10	0.62±0.19	10.07±2.21	8.33 ^b ±2.50	7.69 ^b ±3.22
	2	1.55±0.79	5.81 ^a ±1.29	4.97 ^a ±1.55	0.68±0.18	10.10±2.99	11.23 ^a ±2.99	12.96 ^a ±1.24
$\text{Mg}^{2+}\times\text{S}$	1	1.68±0.64	4.86 ^b ±1.01	3.58 ^b ±0.80	0.67±0.19	11.15 ^a ±2.83	10.62±2.65	10.96 ^a ±3.23
	2	1.58±0.57	5.95 ^a ±1.00	5.36 ^a ±1.37	0.63±0.18	9.02 ^b ±1.88	8.95±3.31	9.69 ^b ±3.82

消化酶比活单位: U/mg, ATP 酶比活单位: $\mu\text{mol}/(\text{mg}\cdot\text{h})$

表 8 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度间交互作用对凡纳滨对虾免疫类酶比活力影响

Tab.8 The interaction effect of Ca^{2+} , Mg^{2+} and salinity on immune enzymes specific activity of *L. vannamei*

因素	水平	ACP	AKP	SOD	因素	水平	ACP	AKP	SOD
Ca^{2+}	1	8.61 ^a ±1.32	5.32±0.88	8.80±2.75	$\text{Ca}^{2+}\times\text{Mg}^{2+}$	1	7.00 ^b ±0.75	4.59±1.19	7.80±2.48
	2	7.46 ^b ±1.27	4.40±1.18	8.10±2.82		2	9.07 ^a ±1.10	5.13±1.02	9.10±2.95
Mg^{2+}	1	8.11±0.85	5.29±1.25	9.74 ^a ±2.39	$\text{Ca}^{2+}\times\text{S}$	1	8.71 ^a ±1.59	5.32±1.26	9.22±3.03
	2	7.95±1.82	4.43±0.82	7.16±2.58		2	7.36 ^b ±0.78	4.40±0.77	7.68±2.31
S	1	8.22±2.80	4.71±1.71	7.26 ^b ±3.29	$\text{Mg}^{2+}\times\text{S}$	1	7.67 ^b ±0.75	4.90±1.27	9.49±1.95
	2	7.85±1.34	5.02±1.21	9.64 ^a ±3.06		2	8.39 ^a ±1.80	4.82±0.99	7.41±3.12

3 讨论

3.1 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度对凡纳滨对虾生长力的影响

虾类的生长是通过蜕皮来实现阶梯式增长的, Dall 等^[17]研究发现对虾类体内没有钙的储存机制, 蜕皮后早期钙化所需钙必须从水中吸获得, 如果水体中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 浓度较低, 蜕皮后表面钙化困难, 生长缓慢, 且当水体中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 浓度达到凡纳滨对虾生长的合适范围时, 虾体通过离子调节过程中耗能较少, 其生长速度便较快^[18-19]。Panikkar^[20]关于对虾渗透压研究得出盐度影响凡纳滨对虾的渗透压调节, 如果盐度过高或过低会使得渗透压调节的耗能增加, 能量转换效率降低, 从而导致其生长速度减慢。 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度对凡纳滨对虾的生长有着重要的作用, 对其体内消化酶和 ATP 酶的活性也有重要的影响, 酶活作为凡纳滨对虾生长的一个指标其活性高低可以判断凡纳滨对虾生长状况。

消化酶作为动物消化吸收的辅助因子对动物生

长具有重要作用, 对凡纳滨对虾消化酶的研究, 多数集中于消化酶种类、性质、幼体发育不同阶段的酶活力变化以及饵料对消化酶活力的影响等方面^[8,21-22], 关于 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 及盐度对消化酶影响报道较少。从本试验结果看 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度对与凡纳滨对虾消化吸收联系最紧密的蛋白酶都有显著影响。比较盐度对 4 种消化酶影响与盐度对生长影响可以看出消化酶酶活的高低与生长速度紧密相连, 结果表明盐度为 10 时凡纳滨对虾生长速度最快, 而恰好盐度为 10 时 4 种消化酶酶活都最高, 因此消化酶的活性可以很好地作为凡纳滨对虾生长指标, 据此也可以推测在凡纳滨对虾饲料中适当添加一定的消化酶酶活制剂能有效促进凡纳滨对虾生长; 极差分析表明 Mg^{2+} 对类胰蛋白酶影响最显著, 在 Mg^{2+} 高于 150 mg/L 时其对凡纳滨对虾生长的影响与对类胰蛋白酶酶活的影响规律基本相似, Mg^{2+} 为 750 mg/L 时生长最快, 而在 Mg^{2+} 低于 150 mg/L 时对凡纳滨对虾生长的影响与对类胰蛋白酶酶活的影响规律差别较大, 此可能与水体中 Mg^{2+} 含量太低受其他离子影响所致, 而交

互作用试验表明 Ca^{2+} 与 Mg^{2+} 交互作用对类胰蛋白酶具有显著影响,而在离子水平较低时此影响可能更大; Ca^{2+} 对类胰蛋白酶影响显著,但折线图看出 Ca^{2+} 对类胰蛋白酶影响没有一定规律,与 Ca^{2+} 对凡纳滨对虾生长的影响规律差别较大,此可能与交互作用有关, Ca^{2+} 与 Mg^{2+} , Ca^{2+} 与盐度之间的交互作用对类胰蛋白酶酶活都有显著影响。

三磷酸腺苷酶(ATP 酶)是一族酶,它是 Na^+ - K^+ 泵、 Ca^{2+} 泵、 H^+ 泵的构成成分,与机体渗透压紧密相连,在物质的跨膜转运中是一种非常重要的酶^[23],本试验中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度对 Na^+ - K^+ -ATP 酶都有显著影响。比较 Ca^{2+} 凡纳滨对虾生长影响可以看出除 Ca^{2+} 为 300 mg/L 外 Ca^{2+} 对 Na^+ - K^+ -ATP 酶酶活的影响与 Ca^{2+} 对生长影响规律基本一致,此可能与 Na^+ - K^+ -ATP 酶对 Ca^{2+} 吸收与排放有关; Mg^{2+} 是 Na^+ - K^+ -ATP 酶的激活剂,试验中 Mg^{2+} 为 500 mg/L 时酶活最高,这与刘存歧等^[10] 研究结果相同。 Mg^{2+} 太低和太高时酶活都很低,且 Mg^{2+} 太低时其生长速度也较慢,因此适当增加淡水水体中 Mg^{2+} 对酶激活有显著作用,同时促进了生长。盐度对酶影响基本呈递增之势,但盐度过高却限制了凡纳滨对虾生长,这正好表明高盐下 Na^+ - K^+ -ATP 酶耗能影响了对虾生长,因此在淡水养殖条件下应适当增加盐度。关于 Mg^{2+} -ATP 酶、 Ca^{2+} -ATP 酶的研究报道很少见,这两种酶主要是促进 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的吸收,本试验中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度对 Mg^{2+} -ATP 酶、 Ca^{2+} -ATP 酶影响基本都呈抛物线状,即 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 及盐度过高和过低都会降低 Mg^{2+} -ATP 酶、 Ca^{2+} -ATP 酶活性,进而限制 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 吸收。

3.2 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度对凡纳滨对虾免疫力的影响

Dall 等^[17] 提出水体中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度对凡纳滨对虾存活具有重要影响,对虾类的表皮薄而柔软,在淡化养殖水体中, Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 等离子含量较低,对虾难以吸收足够的 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 维持正常的生理功能,从而影响对虾的存活,本次试验结果与之一致, Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度均显著影响凡纳滨对虾的存活,而成活率的高低可以由对虾体内免疫指标进行衡量,ACP、AKP 和 SOD 等作为对虾体液防御系统中的重要免疫因子,其活性高低反映了虾体免疫力强弱。刘存歧,刘丽静^[7] 等在试验中证实 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 对凡纳滨对虾体内 SOD 和 AKP 的活性有重要的影响。盐度作为一种外源刺激和环境胁迫因子可以引起无脊

椎动物相关免疫指标及机体抵抗力变化^[11]。

AKP 和 ACP 均为磷酸单酯酶,对钙质吸取、骨骼形成、磷酸钙化、甲壳素的分泌形成等都具有重要作用^[24]。ACP 广泛分布于动物组织中,在酸性环境下起到吞噬异物作用^[4],本试验中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、盐度对 ACP 都有显著影响, Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 对 ACP 影响基本呈抛物线状, Ca^{2+} 为 100 mg/L, Mg^{2+} 为 150 mg/L 时酶活最高,这与 Ca^{2+} 对凡纳滨对虾成活率影响一致,但与 Mg^{2+} 对凡纳滨对虾成活率相反,这可能与交互作用有关,试验中得出 Mg^{2+} 与 Ca^{2+} 间、 Mg^{2+} 与盐度之间的交互作用对 ACP 都有显著影响,而盐度对 ACP 酶活的影响在盐度高于 10 时酶活基本稳定在同一值,变化不大,这与盐度对存活的影响稍有差别,而在盐度低于 10 时酶活变化较大这与盐度对存活影响类似,此可能盐度较低受交互作用影响较大; AKP 是一种含锌的对底物专一性较低的磷酸单酯水解酶^[25], Muhammad^[26] 根据试验证实蜕皮后的罗氏沼虾碱性磷酸酶活性显著高于蜕皮间期以增加钙镁的吸收,本试验中 Mg^{2+} 对 AKP 酶活具有显著影响,比较 Mg^{2+} 对 AKP 酶活影响与 Mg^{2+} 对成活率的影响可以看出两者变化规律相差较大, Mg^{2+} 过高限制了 AKP 酶活,而此时成活率较高,这可能是其他免疫因子起到了关键作用,其具体原因还有待进一步研究。SOD 是一种与机体免疫相关的酶,可以消除体内产生的自由基^[27],本试验中 Ca^{2+} 和盐度对 SOD 具有显著影响, Ca^{2+} 对酶活影响规律与对凡纳滨对虾成活率影响规律类似,而盐度对酶活影响与对成活率影响差别较大,盐度高时酶活较高而此时成活率较低,此可能主要与凡纳滨对虾渗透压调节有关。

综上,本研究所用消化酶类、三磷酸腺苷酶类及免疫类酶均与水体中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 及盐度有着紧密联系,因此它们活性的高低可做为检测水中离子浓度是否适合凡纳滨对虾存活与生长发育的重要指标,以判断对虾的机能状态。

参考文献:

- [1] 张伟权.世界重要养殖品种 - 南美白对虾生物学简介[J].海洋科学,1990,14(3):69-73.
- [2] 谢达祥,陈晓汉.水体中钙和镁对凡纳滨对虾幼体成活率和生长的影响[J].水利渔业,2007,27(5):46-51.
- [3] 刘存歧,刘丽静,张亚娟,等.基于卤水的养殖用水中 Ca^{2+} / Mg^{2+} 对凡纳滨对虾生长及体内 SOD 和 AKP 的影响[J].水产科学,2007,26(2):67-69.
- [4] 梁萌青,王士隐,王家林,等.海水养殖与低盐养殖

- 凡纳滨对虾生长性能、酶活及 RNA/DNA 比值的差异[J]. 海洋水产研究, 2007, 29(4): 69-75 .
- [5] 沈丽琼, 陈政强, 陈昌生, 等. 盐度对凡纳滨对虾生长与免疫功能的影响[J]. 集美大学学报, 2007, 12(2): 108-113 .
- [6] Stumm W, Morgan J J. 水化学: 天然水体化学平衡导论[M]. 北京: 科学出版社, 1987 .
- [7] 雷衍之, 臧维玲. 养殖水环境化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004 .
- [8] 朱春华, 李广丽, 文海翔. 南美白对虾早期幼体消化酶活力研究[J]. 海洋科学, 2003, 27(5): 54-57 .
- [9] 潘鲁青, 刘志, 姜令绪. 盐度、pH 变化对凡纳滨对虾鳃丝 Na^+ - K^+ -ATPase 活力影响[J]. 中国海洋大学学报, 2004, 34(5): 787-790 .
- [10] 刘存歧, 刘丽静, 王军霞, 等. 盐碱地渗水钙镁离子对凡纳滨对虾酶活力的影响[J]. 动物学杂志, 2007, 42(2): 129-133 .
- [11] 曹剑香, 简纪常, 吴灶和. 虾类体液免疫研究进展[J]. 湛江海洋大学学报, 2006, 26(1): 89-93 .
- [12] 臧维玲, 戴习林, 张建达, 等. 罗氏沼虾育苗水中 Mg^{2+} 和 Ca^{2+} 含量及 $\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$ 对出苗率的影响[J]. 海洋与湖沼, 1995, 26(5): 552-557 .
- [13] 臧维玲, 林喜臣, 戴习林. 淡化方式与盐度对凡纳滨对虾幼虾生长的影响[J]. 上海水产大学学报, 2003, 12(4): 308-312 .
- [14] 刘玉梅, 朱谨钊, 吴厚余, 等. 中国对虾幼体和仔虾消化酶活力及氨基酸组成的研究[J]. 海洋与湖沼, 1991, 22(6): 571-575 .
- [15] 刘玉梅, 朱谨钊. 对虾消化酶的研究[J]. 海洋科学, 1984, 8(5): 46-50 .
- [16] 潘鲁青, 王克行. 中国对虾幼体消化酶活力的试验研究[J]. 水产学报, 1997, 21(1): 26-32 .
- [17] Dall W, Smith D M. Ionic regulation of four species of *panacid prawn*[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology . 1981, 55: 219-232 .
- [18] Digby P S B . Calcification in crustacean: the fundamental process[J]. Physiologist, 1980, 23: 105.
- [19] Dong S L, Du N S, Lan W . Effects of pH and Ca^{2+} concentration on growth and energy budget of *Macrobrachium nipponense*[J]. Fish China, 1994, 18(2):118-122 .
- [20] Panikkar N K. Osmotic behavior of shrimps and prawns in relation to their biology and culture[J]. FAO Fish Rep, 57: 527-538 .
- [21] 陈楠生. 对虾生物学[M]. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 1992: 172-175 .
- [22] 杨奇慧, 周存歧, 马丽莎, 等. 凡纳滨对虾幼体胃蛋白酶和类胰蛋白酶活力的研究[J]. 海洋科学, 2005, 29(5): 6-9 .
- [23] Towle D W, Palmer G E, Harris J L . Role of gill Na^+ , K^+ -ATPase in acclimation of blue crab, *Callinectes sapidus*, low salinity[J]. J Exp Zoo, 1976, 196: 315- 322 .
- [24] 顾德平, 方卫星, 叶维明. 对虾淡化驯化存活率的观察[J]. 水产科技情报, 1998, 25(1): 35-36 .
- [25] Blasco J, Puppo J, Sararsquete M . Acid and alkaline phosphates activities in the champ *Ruditapes philipinarum*[J]. Mar . Biol . 1993, 115: 113- 118 .
- [26] Muhammad A L . Effects of environment alkalinity on calcium-stimulated dephosphodating enzyme activity in the gills of postmoult and intermoult giant freshwater prawns *Macrobrachium rosenbergii*(de Man)[J]. Comp Biochem Physic, 1992, 107A(4): 597-601 .
- [27] Dalla Via . Salinity response in bricks water popularations of the freshwater shrimp *Palaemonetes antenarius* I . Oxygen consumption[J]. Comp Biochem Physic, 1987, 87(2): 471-478 .

Effect of Ca^{2+} , Mg^{2+} and salinity on metabolic enzymes of *Litopenaeus vannamei*

ZHANG Li-tian^{1,2}, DAI Xi-lin¹, ZANG Wei-ling¹

(1. College of Fisheries and Life, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China)

Received: Dec., 12, 2011

Key words: *Litopenaeus vannamei*; Ca^{2+} ; Mg^{2+} ; salinity; digestive enzymes; ATP enzymes; immune enzymes

Abstract: The L49(7⁸) orthogonal experimental design was used to investigate the three factors Ca^{2+} , Mg^{2+} and salinity in water, and seven levels of each factor were based. The L49(7⁸) orthogonal experimental design was used to investigate the three factors Ca^{2+} , Mg^{2+} and salinity in water, and two levels of each factor were based. In order to analyze the effect of Ca^{2+} , Mg^{2+} and salinity in water on the growth performance and immunity of *L. vannamei*, the digestive enzymes, ATP enzyme and immune enzymes were compared during the 60 d culture cycle. Results showed that Ca^{2+} , and salinity had significant effect on digestive enzymes ($P < 0.05$), the salinity had significant effect on pepsin, and the Ca^{2+} and salinity had significant effect on trypsin. Ca^{2+} , Mg^{2+} and salinity had significant effect on ATP enzymes ($P < 0.05$), and Ca^{2+} , Mg^{2+} and salinity had significant effect on $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$, with maximum activity at Ca^{2+} 300 mg/L, Mg^{2+} 500 mg/L and salinity 30. Ca^{2+} and Mg^{2+} had significant effect on $\text{Mg}^{2+} - \text{ATPase}$ and Ca^{2+} had significant effect on $\text{Ca}^{2+} - \text{ATPase}$. Ca^{2+} , Mg^{2+} and salinity had significant effect on immune enzymes ($P < 0.05$), and Ca^{2+} , Mg^{2+} and salinity had significant effect on ACP, with maximum activity at Ca^{2+} 100 mg/L, Mg^{2+} 150 mg/L and salinity 30. Mg^{2+} had significant effect on AKP with maximum activity at 150 mg/L. Ca^{2+} and salinity had significant effect on SOD, with maximum activity at Ca^{2+} 100 mg/L, salinity 35. The interaction of Ca^{2+} , Mg^{2+} , and salinity also had some impact on metabolic enzymes of *L. vannamei*.

(本文编辑: 谭雪静)