

低盐胁迫对黄姑鱼(*Nibea albiflora*)幼鱼鳃离子调节、呼吸代谢酶和皮质醇的影响*

施兆鸿¹ 张晨捷¹ 彭士明¹ 张艳亮^{1,2} 王建钢¹ 高权新¹

(1. 农业部东海与远洋渔业资源开发利用重点实验室 中国水产科学研究院东海水产研究所 上海 200090;
2. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306)

摘要 挑选平均体重为(5.0±1.4) g, 平均全长为(8.3±0.8) cm 的黄姑鱼(*Nibea albiflora*)幼鱼, 进行低盐度胁迫试验, 以 23 盐度组为对照组, 设置 9 和 16 两个盐度胁迫组, 在 0、1、3、7 d 进行取样。通过检测鳃 Na⁺/K⁺-ATP 酶(NKA)、Ca²⁺-ATP 酶、H⁺-ATP 酶、乳酸脱氢酶(LDH)、琥珀酸脱氢酶(SDH)活力以及血清皮质醇含量, 研究低盐度对黄姑鱼离子调节和呼吸代谢的影响。结果显示, 鳃 NKA 活力在盐度胁迫后出现显著增强($P<0.05$); Ca²⁺-ATP 酶活力略有上升后即出现下降的变化, 而 H⁺-ATP 酶活力呈现上升后恢复的变化。血清皮质醇含量在低盐度胁迫后呈显著的波动变化($P<0.05$), 9 和 16 盐度组的皮质醇水平交替上升。鳃 LDH 活力在低盐度胁迫后显著增强($P<0.05$), 且 9 盐度组增强程度大于 16 盐度组。鳃 SDH 活力先减弱然后增强, 9 盐度组在 7 d 时增强十分显著($P<0.05$)。试验中, 仅 9 盐度组出现实验鱼死亡两尾的情况, 16 及 23 盐度组黄姑鱼进食和活动均正常, 9 盐度组略差。研究表明, 盐度降低可显著影响黄姑鱼幼鱼离子调节能力及呼吸代谢功能。盐度胁迫程度超过黄姑鱼适应能力与机体储备的承受范围会对机体造成伤害。

关键词 黄姑鱼; 低盐胁迫; 离子调节; 呼吸代谢; 皮质醇

中图分类号 S965.334 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2015)06-0022-07

黄姑鱼(*Nibea albiflora*)属石首鱼科, 黄姑鱼属, 分布于朝鲜、日本南部以及中国等西太平洋沿岸海域, 是我国重要的传统经济鱼类(朱元鼎等, 1963)。黄姑鱼属于广盐性鱼类, 其适盐范围为 10–40, 最适盐度为 20–25, 仔、稚鱼可以在 1–34 盐度下存活, 与大部分石首鱼科鱼类一样, 也是相对耐低温的种类之一(薛宝贵等, 2013; Han *et al.*, 2008)。另外, 黄姑鱼具有生长速度快、食性广、抗病和抗急流能力强等优点, 有良好的养殖发展前景(楼宝等, 2011; 王志铮等, 2005)。

鳃是鱼类调节外界生活水域与体内离子水平的重要器官, 其主要功能为气体交换、调控体内外离子和酸碱平衡(Huang *et al.*, 2010; Rombough, 2007)。在鱼

类鳃部离子平衡中, Na⁺、K⁺、H⁺、Cl⁻、HCO₃⁻、Ca²⁺等是最重要的调控对象, 相关离子调节酶 Na⁺/K⁺-ATP 酶(NKA)、Ca²⁺-ATP 酶和 H⁺-ATP 酶在调控过程中不仅转运特定离子, 还能为整个转运机制提供动力(Shigehisa *et al.*, 2003; Zimmer *et al.*, 2012)。鱼类渗透压调节涉及的激素有多种, 如: 生长激素(Growth hormone)、胰岛素样生长因子 I (Insulin-like growth factor- I) 和皮质醇(Cortisol)等。皮质醇不仅对应激反应和糖代谢有调控功能, 对渗透压也有调节作用, 能增加鳃细胞数量和 NKA 活力, 提高耐盐性(马慧等, 2012; Juan *et al.*, 2002)。乳酸脱氢酶(LDH)与细胞代谢活动关系密切, 可催化丙酮酸与乳酸的相互转化, 并伴随产生能量, 是糖酵解途径与三羧酸(TCA)循环之

* 国家科技部“863”项目(2012AA10A413-5)和中央级公益性科研院所基本科研业务费项目(东 2015M04)共同资助。

① 通讯作者: 施兆鸿, 研究员, E-mail: shizh@eastfishery.ac.cn

收稿日期: 2014-12-18, 收修改稿日期: 2015-01-24

间的关键酶,其活力可作为衡量无氧条件下代谢与能量供给水平的指标(Abdel-Mohsen, 2009; Koenig *et al.*, 2014)。琥珀酸脱氢酶(SDH)是有氧代谢的首要酶类和衡量指标,在 TCA 循环中起到连接氧化磷酸化与电子传递的作用,为细胞线粒体需氧和产能的呼吸链提供电子(路允良等, 2012; Liu *et al.*, 2010)。鳃组织离子调节酶与 LDH、SDH 活力以及血清皮质醇水平能够反映盐度胁迫下鱼类渗透压调节、呼吸代谢和供能情况。因此, NKA、Ca²⁺-ATP 酶、H⁺-ATP 酶、LDH、SDH 和皮质醇等指标在研究黄姑鱼受盐度胁迫下的渗透压调节和生理变化中具有重要意义。

1 材料与方 法

1.1 供试鱼和试验条件

黄姑鱼取自当年秋季自行繁育的幼鱼,挑选平均体重为(5.0±1.4) g,平均全长为(8.3±0.8) cm,体表无伤、体色正常的个体作为试验对象。试验于 2013 年 12 月在浙江省舟山市朱家尖养殖基地进行。养殖用水为暗沉淀后砂滤处理的天然海水(盐度为 23),换水量为 50%/d, pH 为 8.0±0.5,溶解氧为 6–8 mg/L,控温电加热棒维持水温恒定,水温为(18±1)°C, 24 h 不间断充气。养殖水总氨氮浓度低于 0.1 mg/L。

1.2 试验设计和取样

试验开始前,采用随机分组法,以每桶 25 尾的密度,将试验用鱼分别放入 500 L 的 9 个实验玻璃钢养殖桶中,并作适应性暂养 5 d,暂养期间,所有桶中的黄姑鱼喂同 1 种配合饵料,每天两次饱食投喂。试验设置 3 个处理(9、16、23 盐度组, 23 为对照组),每个处理 3 个平行;组间个体大小无显著差异($P>0.05$),用曝气后的自来水调节盐度,不同处理组通过换水将盐度同步调节至设定盐度。试验周期为 7 d,随机取样,盐度调节前(0)从每桶中各取 1 尾,分别于 1、3、7 d 取样,每个平行每次取 3 尾($n=9$)。

将试验用鱼麻醉后,称量每尾样品的体重和全长,之后置于冰盘上进行尾静脉采血。采血后解剖,取全鳃置于 2 ml 离心管中保存。静脉血静置后经 2500 r/min 离心 15 min,取上层血清移入 1.5 ml 离心管中。鳃组织与血清置于-70°C 超低温冰箱中保存备用。由于该试验幼鱼较小,血量和组织较少,故将同一平行 3 尾鱼的血液和鳃组织合为 1 个样本($n=3$),-70°C 超低温保存。

鳃组织用做检测离子调节酶 NKA、Ca²⁺-ATP 酶、H⁺-ATP 酶以及 LDH、SDH 活力,血清检测皮质醇含量。

1.3 指标检测

1.3.1 鳃组织相关酶活力检测 将鳃瓣在匀浆介质(pH 7.4, 0.01 mol/L Tris-HCl, 0.1 mmol/L EDTA-2Na, 0.01 mol/L 蔗糖, 0.8% NaCl)中剪碎,用匀浆机 15000 r/min 研磨制成匀浆。用低温离心机 4°C 下 2500 r/min,离心 5 min,取上清液检测酶活。

1.3.2 ATP 酶分解 ATP 生成 ADP 和无机磷,测定无机磷含量可判断 ATP 酶活力,无机磷测定采用钼蓝法,ATP 酶活力单位为 U/mg prot: 每毫克组织蛋白中 ATP 酶 1 h 分解 ATP 产生 1 μmol 无机磷的量。

LDH 催化乳酸生成丙酮酸,丙酮酸与 2,4-二硝基苯胍生成红棕色物质,可用比色法检测,以计算 LDH 活性。LDH 活力单位为 U/g protein: 每克组织蛋白 37°C 与基质作用 15 min,反应体系中产生 1 μmol 丙酮酸。

SDH 催化底物反应, FAD 为辅基, FAD 被还原成 FADH 的反应与 2,6-DPIP 的还原相偶联,测定 2,6-DPIP 的还原速度可推算 SDH 活力。SDH 活力单位为 U/mg prot: 每毫克蛋白每分钟使反应体系的吸光度降低 0.01。

采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒检测酶活,同时用考马斯亮蓝法测定蛋白含量,以计算酶比活力,按说明书要求操作。

血清皮质醇含量由南京建成生物工程研究所代为检测,采用 ELISA 法,所用试剂由 R&D systems (USA)提供。

1.4 数据统计与分析

试验结果用 SPSS 13.0 软件进行统计与分析。运用单因素方差分析(One-Way ANOVA),先进行方差齐性检验,不满足方差齐性时,对数据进行自然对数或平方根转换,然后采用 Duncan's 检验进行多重比较, $P<0.05$ 为有显著性差异,数据以平均值±标准差(Mean±SD)表示。用 Excel 2007 绘制图表。

2 结果

2.1 鳃 Na⁺/K⁺-ATP 酶(NKA)活力

随着时间推移,黄姑鱼幼鱼在低盐度胁迫下鳃 NKA 活力变化见图 1。从图 1 可以看出,9 盐度组 NKA 活力出现了先增强后恢复的变化,3 d 时最高,各时间点均显著高于初始值($P<0.05$)。16 盐度组鳃 NKA 活力随时间呈逐步增强趋势,且不同时间点存在显著差异($P<0.05$)。23 盐度对照组鳃 NKA 活力也呈逐渐增强变化,但各时间点差异不显著($P>0.05$)。比较 1、3 d 时,9 与 16 盐度组 NKA 活力显著高于对照组

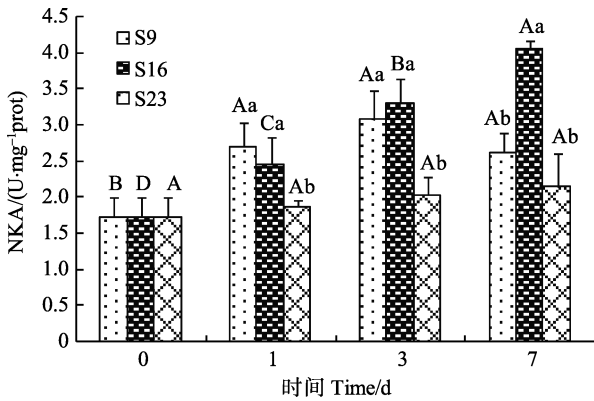


图 1 低盐胁迫对黄姑鱼幼鱼鳃 Na^+/K^+ -ATP 酶活力的影响

Fig.1 The effects of low salinity on the gill NKA activity of juvenile *N. albiflora*

NKA 活力单位: U/mg protein。不同大写字母表示同一盐度组中存在显著差异($P < 0.05$), 不同小写字母表示同一时间点中存在显著差异($P < 0.05$)

The unit of NKA activity: U/mg protein. Different uppercase letters indicate significant difference from each other in the same salinity group ($P < 0.05$). Different lowercase letters indicate significant difference from each other in the same time ($P < 0.05$)

($P < 0.05$); 7 d 时, 9 盐度组 NKA 活力减弱, 16 盐度组 NKA 活力持续增强, 并显著高于 9 盐度组和对照组($P < 0.05$)。

2.2 鳃 Ca^{2+} -ATP 酶活力

盐度逐步降低时, 黄姑鱼幼鱼鳃 Ca^{2+} -ATP 酶活力随时间变化见图 2。从图 2 可以看出, 9 盐度组鳃 Ca^{2+} -ATP 酶活力随时间呈先上升后下降的变化趋势。1、3 d 时, 其显著高于初始值; 7 d 时, 显著低于初始值($P < 0.05$)。16 盐度组鳃 Ca^{2+} -ATP 酶活力变化与 9 盐度组类似。1 d 时, 显著高于初始值; 3、7 d 时, 显著低于初始值($P < 0.05$)。23 盐度组鳃 Ca^{2+} -ATP 酶活力呈波动变化, 波动幅度不剧烈, 仅 7 d 时显著高于初始值($P < 0.05$)。各时间点中, 1 d 时, 9、16 盐度组 Ca^{2+} -ATP 酶活力显著高于对照组; 3 d 时, 16 盐度组 Ca^{2+} -ATP 酶活力出现减弱, 并显著低于 9 盐度组和对照组; 7 d 时, 9 盐度组 Ca^{2+} -ATP 酶活力也出现减弱, 两个胁迫组都显著低于 23 盐度对照组($P < 0.05$)。

2.3 鳃 H^+ -ATP 酶活力

低盐胁迫下, 各时间点黄姑鱼幼鱼鳃 H^+ -ATP 酶活力变化见图 3。从图 3 可以看出, 随时间推移, 各盐度组鳃 H^+ -ATP 酶活力都出现了先增强后恢复的变化, 16 盐度组变化最剧烈。在 1、3 d 时显著高于初

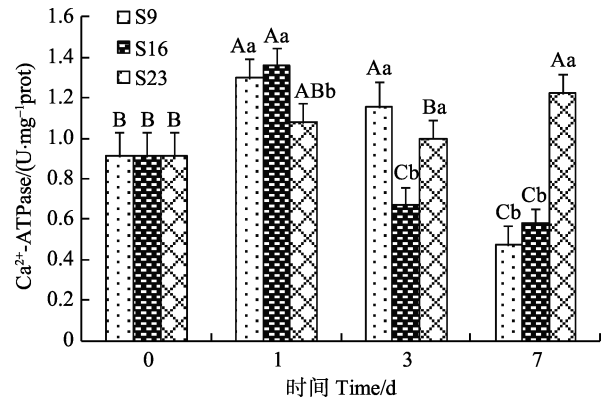


图 2 低盐胁迫对黄姑鱼幼鱼鳃 Ca^{2+} -ATP 酶活力的影响
Fig.2 The effects of low salinity on the gill Ca^{2+} -ATPase activity of juvenile *N. albiflora*

Ca^{2+} -ATP 酶活力单位: U/mg protein。不同大写字母表示同一盐度组中存在显著差异($P < 0.05$), 不同小写字母表示同一时间点中存在显著差异($P < 0.05$)

The unit of Ca^{2+} -ATPase activity: U/mg protein. Different uppercase letters indicate significant difference from each other in the same salinity group ($P < 0.05$). Different lowercase letters indicate significant difference from each other in the same time ($P < 0.05$)

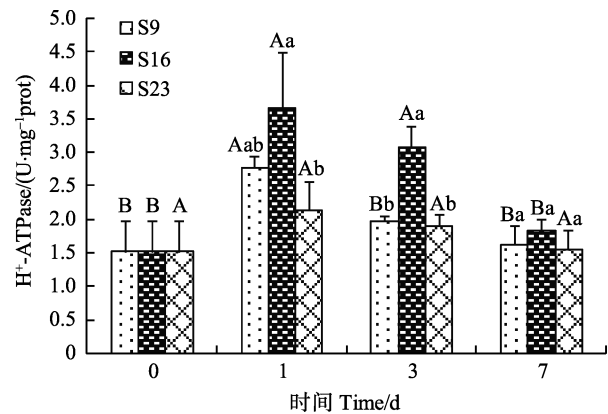


图 3 低盐胁迫黄姑鱼幼鱼对其鳃 H^+ -ATP 酶活力的影响
Fig.3 The effects of low salinity on the gill H^+ -ATPase activity of juvenile *N. albiflora*

H^+ -ATP 酶活力单位: U/mg protein。不同大写字母表示同一盐度组中存在显著差异($P < 0.05$), 不同小写字母表示同一时间点中存在显著差异($P < 0.05$)

The unit of H^+ -ATPase activity: U/mg protein. Different uppercase letters indicate significant difference from each other in the same salinity group ($P < 0.05$). Different lowercase letters indicate significant difference from each other in the same time ($P < 0.05$)

始值($P < 0.05$)。9 盐度组 H^+ -ATP 酶活力在 1 d 时显著增强($P < 0.05$), 而后逐渐恢复。23 盐度对照组活力变化不显著($P > 0.05$)。低盐胁迫后, 16 盐度组鳃 H^+ -ATP 酶活力始终处于较高水平, 且在 1、3 d 时显

著高于对照组。在 3 d 时显著高于 9 盐度组($P<0.05$); 9 盐度组 H^+ -ATP 酶活力略高于对照组, 二者差异不显著($P>0.05$)。

2.4 鳃乳酸脱氢酶(LDH)活力

盐度逐步降低, 黄姑鱼幼鱼鳃 LDH 活力随时间变化见图 4。从图 4 可以看出, 9 盐度组 LDH 活力出现先增强后恢复的变化, 1、3 d 时显著高于初始值($P<0.05$)。16 盐度组 LDH 活力呈先增强后下降的变化, 1、3 d 时, 显著强于 7 d 值($P<0.05$)。对照组 LDH 活力呈波动变化, 各时间点差异不显著($P>0.05$)。各时间点的比较中, 1、3 d 时鳃 LDH 活力随盐度降低而增强, 9 盐度组活力显著高于 23 盐度对照组($P<0.05$); 7 d 时, 16 盐度组活力减弱, 并显著低于对照组($P<0.05$)。

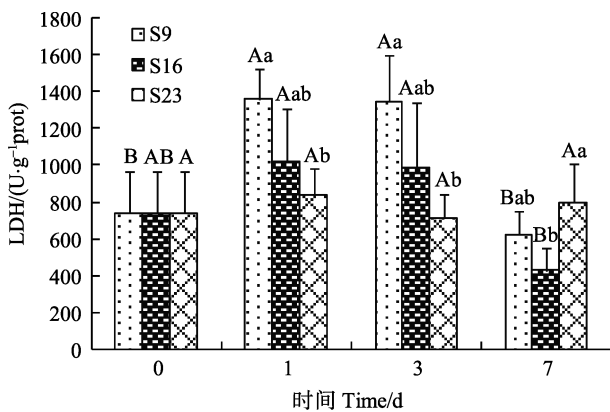


图 4 低盐度胁迫对黄姑鱼幼鱼鳃乳酸脱氢酶活力的影响
Fig.4 The effects of low salinity on the gill LDH activity of juvenile *N. albiflora*

LDH 活力单位: U/g protein。不同大写字母表示同一盐度组中存在显著差异($P<0.05$), 不同小写字母表示同一时间点上存在显著差异($P<0.05$)

The unit of LDH activity: U/g protein. Different uppercase letters indicate significant difference from each other in the same salinity group ($P<0.05$). Different lowercase letters indicate significant difference from each other in the same time ($P<0.05$)

2.5 鳃琥珀酸脱氢酶(SDH)活力

黄姑鱼幼鱼在低盐度胁迫下, 鳃 SDH 活力各时间点的变化见图 5。从图 5 可以看出, 9 盐度组 SDH 活力随时间推移, 略有下降, 而在 7 d 时显著跃升($P<0.05$)。16 盐度组 SDH 活力呈先下降后上升的变化, 1 d 时最低, 并显著低于对照组; 7 d 时, 活力增强, 显著高于 1、3 d($P<0.05$)。23 盐度对照组各时间点鳃 SDH 活力差异不显著($P>0.05$)。低盐度胁迫后 1 d 时, 16 盐度组显著低于对照组($P<0.05$); 3 d 时, 各盐度组差

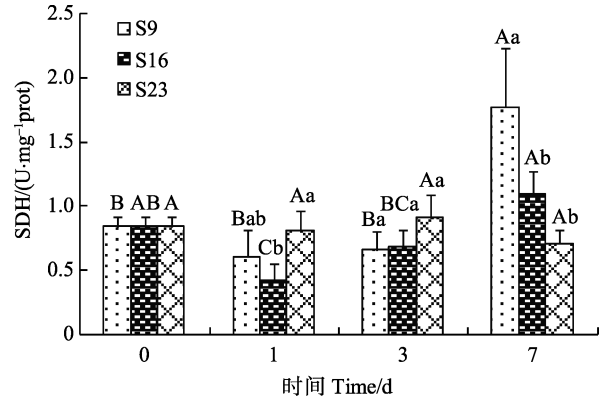


图 5 低盐度胁迫对黄姑鱼幼鱼鳃琥珀酸脱氢酶活力的影响

Fig.5 The effects of low salinity on the gill SDH activity of juvenile *N. albiflora*

SDH 活力单位: U/mg protein。不同大写字母表示同一盐度组中存在显著差异($P<0.05$), 不同小写字母表示同一时间点上存在显著差异($P<0.05$)

The unit of SDH activity: U/mg protein. Different uppercase letters indicate significant difference from each other in the same salinity group ($P<0.05$). Different lowercase letters indicate significant difference from each other in the same time ($P<0.05$)

异不显著($P>0.05$); 7 d 时, 9 盐度组显著高于其他两组($P<0.05$)。

2.6 血清皮质醇水平

低盐度胁迫下, 黄姑鱼幼鱼血清皮质醇含量随时间变化见图 6。从图 6 可以看出, 9 盐度组血清皮质醇含量呈波动上升趋势, 1、7 d 显著高于初始值($P<0.05$)。16 盐度组血清皮质醇含量在 1 d 时出现下降, 3 d 时又上升, 但各时间点含量差异不显著($P>0.05$)。23 盐度对照组血清皮质醇含量略有波动, 各时间点含量差异不显著($P>0.05$)。在 1 d 时, 9 盐度组血清皮质醇含量显著高于 16 盐度组($P<0.05$), 而二者与对照组差异不显著($P>0.05$); 3 d 时, 16 盐度组血清皮质醇含量上升, 而 9 盐度组含量下降, 二者间存在显著差异($P<0.05$), 但与对照组差异不显著($P>0.05$); 7 d 时, 9 盐度组含量再次上升并显著高于 16 盐度组和对照组($P<0.05$)。

3 讨论

当环境盐度降低时, 硬骨鱼类为了生存必须维持体内渗透压稳定。在硬骨鱼类渗透压调节中, 鳃的作用是独一无二, 其主要功能区为氯细胞。氯细胞含丰富的线粒体和离子转运酶类, 既是离子运转场所又为转运过程提供能量支持(Hwang *et al*, 2007)。而渗透压

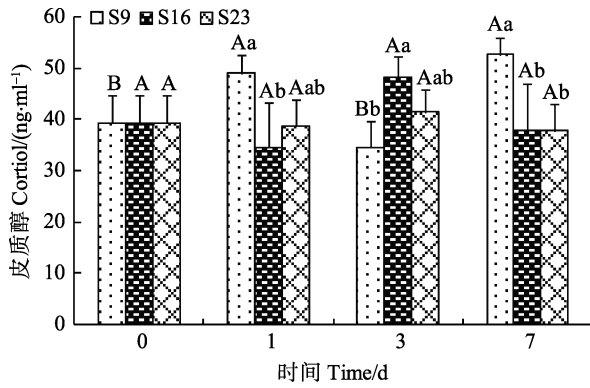


图6 低盐度胁迫对黄姑鱼幼鱼血清皮质醇含量的影响

Fig.6 The effects of low salinity on the serum cortisol concentration of juvenile *N. albiflora*

皮质醇含量单位: ng/ml。不同大写字母表示同一盐度组中存在显著差异($P<0.05$), 不同小写字母表示同一时间点中存在显著差异($P<0.05$)

The unit of cortisol concentration: ng/ml. Different uppercase letters indicate significant difference from each other in the same salinity group ($P<0.05$). Different lowercase letters indicate significant difference from each other in the same time ($P<0.05$)

调节过程又与皮质醇等激素调控密切相关(张晨捷等, 2013; Singer *et al*, 2008)。

3.1 低盐度胁迫对黄姑鱼渗透压调节的影响

硬骨鱼类具有高效的渗透压调节能力以维持体内水分及液体动态平衡, 离子调节酶 NKA、 Ca^{2+} -ATP 酶和 H^{+} -ATP 酶以及皮质醇在渗透压调节中都起着重要的作用。

受低盐胁迫时, 黄姑鱼 NKA 活力显著增强, 其中, 9 盐度组 NKA 活力增强后有所恢复, 而 16 盐度组 NKA 活力呈逐步增强。孙鹏等(2010)报道, 条石鲷 (*Oplegnathus fasciatus*) NKA 活力在盐度为 8 和 38 时, 都高于 28 盐度组; 大底鲷 (*Fundulus grandis*) 幼鱼鳃 NKA 表达最高点出现在盐度为 0.5, 最低点盐度为 12 (Patterson *et al*, 2012); 赤鲷 (*Pagrus pagrus*) 仔鱼的 NKA mRNA 表达 24 盐度组显著强于 34 盐度组 (Ostrowski *et al*, 2011)。说明盐度降低时鱼体内离子会向外流失, NKA 活力增强由外界环境摄入离子以维持渗透压动态平衡。而 9 盐度组 NKA 活力在 7 d 时有所回落, 可能与渗透压调节需要消耗能量(菅玉霞等, 2012), 能量储备消耗后不足以维持高 NKA 活力有关。

Ca^{2+} -ATP 酶和 H^{+} -ATP 酶也是重要的离子调节酶, 为 Na^{+} 与 H^{+} 、 Ca^{2+} 的交换提供动力。Masahiro 等(2009)认为, 鳃通过排出 H^{+} 转换摄入 Na^{+} 和 Cl^{-} 的能

量, 在低渗环境中作用尤为重要。Tsai 等(1998)认为, Ca^{2+} 对维持渗透压调节的离子流和细胞离子浓度有重要影响。本研究中, Ca^{2+} -ATP 酶活力略有上升后即出现下降的变化, 而 H^{+} -ATP 酶活力呈现上升后恢复的变化, 推测这两种酶在盐度胁迫初期活力增强为离子转运提供能量, 在渗透压平衡重新建立后活力随之减弱。

15 盐度组胁迫会使青鳉 (*Oryzias latipes*) 鳃内 NKA 基因表达显著升高, 转回淡水后表达会基本恢复, 但暴露于含 100 ng/L 皮质醇的淡水, NKA 基因表达仍维持较高水平(侯彦峰等, 2009)。注射皮质醇后, 无论淡水或海水培养的金头鲷 (*Sparus aurata*), NKA 酶活力都显著提高, 海水培养金头鲷的血浆渗透压和离子浓度也显著降低 (Juan *et al*, 2002)。本研究中黄姑鱼血清皮质醇含量在低盐度胁迫后呈显著的波动变化, 9 和 16 盐度组的皮质醇水平交替上升, 且 9 盐度组的变化更明显, 说明在应对不同程度的盐度刺激时, 皮质醇水平会出现不同的变化, 从而调控其相关渗透压调节功能。

3.2 低盐度胁迫对黄姑鱼呼吸代谢的影响

盐度变化时, 鱼类不仅需要直接的渗透压调节, 还需要对呼吸耗氧、能量消耗等生理代谢加以调整达到间接调节(宋振鑫等, 2013)。有研究报道, 龙虎斑 (*Epinephelus fuscoguttatus* ♀ × *Pinephelus lanceolatus* ♂) 和条石鲷在盐度为 5–15 时, 盐度越低, 耗氧率越高 (闫茂仓等, 2008; 梁华芳等, 2014)。本研究中, 黄姑鱼 LDH 活力在低盐度胁迫后显著增强, 且 9 盐度组增强程度大于 16 盐度组。表明盐度胁迫使黄姑鱼的能量消耗加速, 通过无氧呼吸代谢提供应急能量供给。低盐度胁迫后, 黄姑鱼鳃 SDH 活力先减弱然后增强, 9 盐度组在 7 d 时增强十分显著。环境胁迫会影响黄姑鱼正常的有氧呼吸代谢, 随着渗透压调节的进行, 需氧量增加, SDH 活力随之显著增强。

本研究中, 除 9 盐度组出现两尾死鱼外, 其余组均未出现死亡情况。实验中, 16 及 23 盐度组黄姑鱼进食和活动均正常, 9 盐度组略差。鉴此, 低盐胁迫时, 黄姑鱼幼鱼能够增强渗透压调节功能, 并且调整体内呼吸代谢平衡, 使体内离子平衡维持动态平衡。渗透压调节能力与体质和能量储备相关, 所以当盐度降低过大, 超出其调节范围, 会导致严重损害, 养殖时应当密切注意。

参 考 文 献

马慧, 柳淑芳, 马骞, 等. 硬骨鱼类渗透压的内分泌激素调节

- 机制. 水产科学, 2012, 31(1): 55–59
- 王志铮, 刘祖毅, 吕敢堂, 等. Hg^{2+} 、 Zn^{2+} 、 Cr^{6+} 对黄姑鱼幼鱼的急性致毒效应. 中国水产科学, 2005, 12(6): 745–750
- 朱元鼎, 罗云林, 伍汉霖. 中国石首鱼类分类系统的研究和新属新种的叙述. 上海: 上海科学技术出版社, 1963, 50–51
- 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. 海洋科学进展, 2008, 26(4): 486–496
- 孙鹏, 彭士明, 尹飞, 等. 盐度对条石鲷幼鱼 Na^+/K^+ -ATP 酶活力的影响. 水产学报, 2010, 34(8): 1204–1209
- 宋振鑫, 陈超, 吴雷明, 等. 盐度与 pH 对云纹石斑鱼胚胎发育和仔鱼活力的影响. 渔业科学进展, 2013, 34(6): 52–58
- 张晨捷, 彭士明, 王建钢, 等. 盐度对银鲳(*Pampus argenteus*) Na^+/K^+ -ATP 酶活力及血清渗透压调节激素浓度的影响. 海洋与湖沼, 2013, 44(5): 1395–1402
- 侯彦峰, 张照斌, 胡建英. 皮质醇影响青鳉鳃内钠钾 ATP 酶基因表达的研究. 生态毒理学报, 2009, 4(2): 212–217
- 梁华芳, 黄东科, 吴耀华, 等. 温度和盐度对龙虎斑耗氧率和排氨率的影响. 渔业科学进展, 2014, 35(2): 30–34
- 菅玉霞, 潘雷, 胡发文, 等. 温度和盐度对大泷六线鱼仔鱼存活与生长的影响. 渔业科学进展, 2012, 33(5): 24–29
- 路允良, 王芳, 高勤峰, 等. 盐度对三疣梭子蟹成熟前后呼吸代谢的影响. 水产学报, 2012, 36(9): 1392–1399
- 楼宝, 史会来, 毛国民, 等. 黄姑鱼全人工繁育及大规模苗种培育技术研究. 现代渔业信息, 2011, 26(3): 20–23
- 薛宝贵, 楼宝, 徐冬冬, 等. 密度胁迫对黄姑鱼幼鱼生长、代谢及非特异性免疫的影响. 渔业科学进展, 2013, 34(2): 45–51
- Abdel-Mohsen HA. Assessment of respiratory and ion transport potential of *Penaeus japonicus* gills in response to environmental pollution. Mediterr Mar Sci, 2009, 10(1): 5–18
- Han ZQ, Gao TX, Yanagimoto T, et al. Genetic population structure of *Nibea albiflora* in Yellow Sea and East China Sea. Fish Sci, 2008, 74(3): 544–552
- Hirose S, Kaneko T, Nobuko N, et al. Molecular biology of major components of chloride cells. Comp Biochem Phys Part B, 2003, 136(4): 593–620
- Huang CY, Chao PL, Lin HC. Na^+/K^+ -ATPase and vacuolar-type H^+ -ATPase in the gills of the aquatic air-breathing fish *Trichogaster microlepis* in response to salinity variation. Comp Biochem Phys, Part A, 2010, 155(3): 309–318
- Hwang PP, Lee TH. New insights into fish ion regulation and mitochondrion-rich cells. Comp Biochem Phys, Part A, 2007, 148(3): 479–497
- Juan MM, Raul LC, Maria del Pilar Martin del Rio. Osmoregulatory action of PRL, GH, and cortisol in the gilthead seabream. Gen Comp Endocr, 2002, 129(2): 95–103
- Koenig S, Sole M. Muscular cholinesterase and lactate dehydrogenase activities in deep sea fish from the NW Mediterranean. Mar Environ Res, 2014, 94: 16–23
- Liu XJ, Luo Z, Xiong BX, et al. Effect of waterborne copper exposure on growth, hepatic enzymatic activities and histology in *Synechogobius hasta*. Ecotox Environ Safe, 2010, 73 (6): 1286–1291
- Masahiro E, Kazuyuki H, Nobuhiro N, et al. Mechanism of development of ionocytes rich in vacuolar-type H^+ -ATPase in the skin of zebrafish larvae. Dev Biol, 2009, 329 (1): 116–129
- Ostrowski AD, Watanabe WO, Montgomery FP, et al. Effects of salinity and temperature on the growth, survival, whole body osmolality, and expression of Na^+/K^+ ATPase mRNA in red porgy (*Pagrus pagrus*) larvae. Aquaculture, 2011, 314(1–4): 193–201
- Patterson J, Bodinier C, Green C. Effects of low salinity media on growth, condition, and gill ion transporter expression in juvenile Gulf killifish, *Fundulus grandis*. Comp Biochem Phys, Part A, 2012, 161(4): 415–421
- Rombough P. The functional ontogeny of the teleost gill: Which comes first, gas or ion exchanger. Comp Biochem Phys, Part A, 2007, 148(4): 732–742
- Singer TD, Keir KR, Hinton M. Structure and regulation of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) gene in killifish: A comparative genomics approach. Comp Biochem Phys, Part D, 2008, 3(2): 172–185
- Tsai JC, Hwang PP. Effects of wheat germ agglutinin and colchicines on microtubules of the mitochondria-rich cells and Ca^{2+} uptake in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) larvae. J Exp Biol, 1998, 201(15): 2263–2271
- Zimmer AM, Barcarolli IF, Wood CM, et al. Waterborne copper exposure inhibits ammonia excretion and branchial carbonic anhydrase activity in euryhaline guppies acclimated to both fresh water and sea water. Aquat Toxicol, 2012, 122–123: 172–180

Effects of Low-Salinity Stress on the Ion Regulation, Respiratory Metabolic Enzymes and Serum Cortisol in the Gill of *Nibea albiflora* Juvenile

SHI Zhaohong¹Ⓐ, ZHANG Chenjie¹, PENG Shiming¹, ZHANG Yanliang^{1,2},
WANG Jiangang¹, GAO Quanxin¹

(1. Key Laboratory of East China Sea and Oceanic Fishery Resources Exploitation, Ministry of Agriculture, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090;
2. Fisheries and Life Science college, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306)

Abstract In this study *Nibea albiflora* juveniles with the average weight of (5.0±1.4) g and the average length of (8.3±0.8) cm were divided into 3 salinity groups including salinity 23 as the control group and salinity 9 and 16 as the stress groups. Fish samples were collected on the 0, 1st, 3rd and 7th day. To evaluate the effects of low salinity on the ion regulation and respiratory metabolism of *N. albiflora*, we tested the changes in activities of Na⁺/K⁺-ATPase (NKA), Ca²⁺-ATPase, H⁺-ATPase, lactate dehydrogenase (LDH) and succinate dehydrogenase (SDH) in gills, and the level of cortisol in the serum. In response to the low-salinity stress, the NKA activity increased significantly ($P<0.05$), and the Ca²⁺-ATPase activity decreased after a slight increase in the beginning, and the H⁺-ATPase activity first increased and then recovered to the initial level. The enhanced activities of NKA, Ca²⁺-ATPase and H⁺-ATPase could provide more energy for the ion transport to maintain the dynamic balance of the osmotic pressure. The cortisol level in the serum fluctuated significantly ($P<0.05$) during the low-salinity stress, and the cortisol levels of salinity 9 or 16 group increased alternately. The LDH activity in the gill increased significantly ($P<0.05$), and the activity of the salinity 9 group was higher than that of the salinity 16 group. The SDH activity in the gill first increased and then decreased, and the activity of the salinity 9 group increased significantly on the 7th day ($P<0.05$). Environmental stress would affect the normal aerobic respiration of *N. albiflora*. Along with the osmotic adjustment, the need of oxygen increased, which may significantly enhance the SDH activity. Noticeably, two experimental fishes died in the salinity 9 group during experiment. The feeding and activity of *N. albiflora* juveniles in the salinity 16 and 23 groups were normal, whereas they were impaired in the salinity 9 group. Our results suggested that low salinity could have significant effects on the ion regulation and respiratory metabolism of *N. albiflora*. Excessively low salinity may overwhelm the adaption ability of *N. albiflora* and cause harm to the health of the fish.

Key words *Nibea albiflora*; Low salinity stress; Ion-regulatory; Respiratory metabolism; Cortisol

Ⓐ Corresponding author: SHI Zhaohong, E-mail: shizh@eastfishery.ac.cn