

# 盐度对银鲳(*Pampus argenteus*) $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP 酶活力及血清渗透压调节激素浓度的影响

张晨捷<sup>1,2</sup>, 彭士明<sup>1</sup>, 王建钢<sup>1</sup>, 施兆鸿<sup>1,2</sup>

(1. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 农业部东海与远洋渔业资源开发利用重点实验室, 上海 200090;

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

**摘要:** 将银鲳幼鱼在盐度 14、25、36 条件下饲养 96h, 检测不同盐度组和不同时间点银鲳幼鱼鳃 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP(NKA)酶活力、血清生长激素(GH)、胰岛素样生长因子 I (IGF- I)和催乳素(PRL)浓度。结果显示, 鳃 NKA 酶活力在三种盐度下总体呈先上升后恢复的变化, 其最高点为 14 盐度 48h 时, 且峰值显著高于其它值( $P < 0.05$ )。36 盐度组的血清 GH 浓度一直保持着较高水平, 且与其它组均存在显著差异( $P < 0.05$ ), 8h 值为各组中最高值。14 盐度组和 36 盐度组血清 IGF- I 浓度都呈现先上升后恢复的变化。14 盐度组血清催乳素浓度始终高于其它各盐度组, 且在 8h、24h 和 48h 时显著高于其它盐度组( $P < 0.05$ )。本试验发现: 低盐度适应(14 和 25)时, 血清 GH 浓度与 NKA 酶活力呈极显著正相关( $P < 0.01$ ); 高盐度适应(36 和 25)时, 血清催乳素浓度与 NKA 酶活力呈显著负相关( $P < 0.01$ )。另外, 血清催乳素与 IGF- I 浓度间有极显著正相关( $P < 0.01$ )。研究证明银鲳幼鱼在适应不同盐度时, 鳃 NKA 酶、生长激素、IGF- I 和催乳素在渗透压调节中起着重要作用, 并且相互之间存在一定的关联。

**关键词:** 银鲳; 盐度;  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP 酶; 渗透压调节; 激素

## The effects of salinity on $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase activity and plasma osmoregulatory hormone concentration in silver pomfret (*Pampus argenteus*)

ZHANG Chen-Jie<sup>1,2</sup>, PENG Shi-Ming<sup>1</sup>, WANG Jian-Gang<sup>1</sup>, SHI Zhao-Hong<sup>1,2</sup>

(1: Key Laboratory of East China Sea & Oceanic Fishery Resources Exploitation and Utilization, Ministry of Agriculture, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China; 2: College of fisheries and life, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

**Abstract:** The juvenile silver pomfret were cultured in salinity 14, 25, 36 for 96h. And their gill  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase (NKA) activity, plasma growth hormone, Insulin-like growth factor- I (IGF- I) and prolactin (PRL) concentrations were tested with different salinity and time in this experiment. The results show that gill NKA activities increased firstly then recovered as a whole; salinity 14 at 48h, the highest point, was significantly different from other points ( $P < 0.05$ ). The plasma GH concentrations of salinity 36 which keeping high levels were

**收稿日期:**

**基金项目:** 国家科技支撑项目(2011BAD13B01); 中央级公益性科研院所基本科研业务费项目(东2011M09号)资助.

**作者简介:** 张晨捷(1989-)男,上海市人,硕士研究生,从事海水鱼类生理生态学研究。Email: zhangchenjie1989@yahoo.com.cn

**通讯作者:** 施兆鸿, Email: shizh@eastfishery.ac.cn

significantly different from other salinity ( $P < 0.05$ ), and point at 8h was the highest value. The plasma IGF- I concentrations of salinity 14 and 36 both increased firstly then recovered. The plasma PRL concentrations of salinity 14 were always higher than other salinity groups, and its points at 8h, 24h and 48h were significantly higher ( $P < 0.05$ ). This experiment also found that plasma GH concentration and gill NKA activity were significantly positively correlated ( $P < 0.01$ ) in low salinity adaption (14 and 25); plasma PRL concentration and gill NKA activity were significantly negatively correlated ( $P < 0.01$ ) in high salinity adaption (36 and 25). In addition, plasma PRL and IGF- I concentrations were significantly positively correlated ( $P < 0.01$ ). This research proved that gill NKA, plasma GH, PRL and IGF- I were involved in osmoregulation of silver pomfret adapting for different salinity.

**Key words:** silver pomfret; salinity;  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase; osmoregulation; hormone

## 1 前言

在不同盐度的水体中, 鱼类为维持体内渗透压稳定, 必须进行渗透压调节。海水硬骨鱼类的渗透压调节能力取决于鳃小片基底部氯细胞(chloride cells, 由于内部存在大量线粒体, 近年来也称 mitochondria-rich cells)的离子转运功能的强弱, 氯细胞内含有丰富的线粒体和  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP 酶(NKA), 可为离子转运提供能量。NKA 存在于鱼类鳃、肾脏和肠道, 其功能是镶嵌 ATP 和离子, 参与细胞内外  $\text{Na}^+$  与  $\text{K}^+$  的主动跨膜转运, 以维持细胞内高  $\text{K}^+$ 、细胞外高  $\text{Na}^+$  的离子梯度(Shigehisa et al, 2003; Charlotte et al, 2010; 尹飞等, 2011)。NKA 活性与环境盐度有关, 也受渗透压调节激素的调控(Ryan et al, 2001; Madsen et al, 1996)。

鱼类渗透压调节涉及的激素有很多种, 如: 鱼类对海水的适应受生长激素(growth hormone, GH)、胰岛素样生长因子 I (insulin-like growth factor- I, IGF- I)、皮质醇(cortisol)等调控; 对淡水的适应则受催乳素(prolactin, PRL)调控。鱼类 GH 与 IGF- I 可影响并调控鳃 NKA 活性以及氯细胞的数目(Ryan et al, 2001; Eddie et al, 2005)。氯细胞是产生 IGF- I 的重要部位, GH 能调控 IGF- I 表达, IGF- I 则直接作用于靶细胞, 介导 GH(Takashi et al, 2012; 马慧等, 2012)。PRL 是广盐性鱼类适应淡水生活的一种重要调节激素, 其作用是防止体内离子流失和外界水分进入, 降低体内器官渗透性, 使氯细胞变小并抑制 NKA 活性(刘金亮等, 2011; Juan et al, 2002; Toshihiro et al, 2004)。因此, 研究环境盐度、提供能量的 NKA 和参与渗透压调节的激素, 三者之间的相互关系不仅具有理论价值, 对指导养殖生产也具有一定的实际意义。

银鲳(*Pampus argenteus*)隶属鲈形目(Perciformes)、鲳科(Stromateidae), 广泛分布于印度洋和西太平洋沿海海域, 在中国各海域均有分布(刘静等, 2002; 施兆鸿等, 2009)。分布于中国东、黄海海域中的银鲳春夏季在近河口入海处咸淡水混合区域繁殖, 冬季则在有暖流经过的济州岛、琉球海域过冬(Zhao et al, 2011; 李春生, 2003), 而繁殖场所与越冬海域盐度差异较大。因此, 盐度是银鲳养殖中需要关注的重要因素之一。银鲳在低盐度胁迫下, 肝、肾和肌肉中抗氧化酶、ATP 酶以及肠道消化酶的活力变化已有报道(尹飞等, 2011; Yin et al, 2011; 尹飞等, 2010)。但不同盐度对银鲳激素和 NKA 活性的影响, 以及三者的相互关系还不明确, 本试验试图通过对不同盐度(14、25、36)条件下银鲳鳃 NKA 活性、血清中 GH、IGF- I 和 PRL 浓度的变化及相互关联的分析, 为进一步深入探究银鲳渗透压调节的机制提供资料支撑。

## 2 材料与方法

### 2.1 试验用鱼和环境

试验用鱼取自于人工授精孵化子一代银鲳幼鱼(90 日龄), 平均叉长  $7.11 \pm 0.72$  cm, 平均

体重  $7.28 \pm 2.31$  g, 试验在  $2\text{ m}^3$  圆形玻璃钢实验桶中进行。试验用水为净化处理的天然海水(盐度 25), 加海水精配置高盐度海水(盐度 36), 或与曝气后自来水配置低盐度海水(盐度 14)。试验用水配制后稳定 48h 后使用。每 d 8:00(am) 饱食投喂一次配合饲料, 期间水温保持在  $27 \pm 1.0$  °C, 不间断充气, 每 d 换同盐同温的试验用水 25%, 同时吸去底部污物及残饵, 及时捞出死鱼, 统计死亡情况。

## 2.2 试验设计

盐度梯度设为 14、25、36, 以盐度 25 的天然海水为对照组, 每个盐度梯度设 3 个平行, 共 9 个桶。随机从养殖银鲳群体中抽取个体放入试验桶中, 先暂养稳定 48h, 放养密度为每缸 33 尾。试验开始后通过换水逐步调节盐度, 在 24h 内同时达到设计水平。当盐度达到设计水平后, 从对照组取样作为起始 0h, 并开始计时, 在 8、24、48、96h 取样, 每平行每次取 3 尾。

## 2.3 取样和测试指标

取样前停喂饲料一次, 用 MS222(200 mg/L) 将鱼麻醉后, 用 1ml 注射器(预冷)从尾部动脉抽取血液, 4°C 下静置 12 小时, 2500 转离心 5min, 取上清液, 置于 1.5ml 离心管中 -20°C 保存, 用以检测 GH、IGF- I 和 PRL 含量。取完血样后将鱼置于冰盘上解剖, 取出组织用 4°C 的生理盐水冲洗干净。取左右全鳃, 用滤纸吸干, 置于 1.5ml 离心管中 -20°C 保存, 用以检测 NKA 酶活力。

鳃 NKA 酶活力检测: 将鳃瓣在匀浆介质(pH 7.4, 0.01mol/L Tris-HCl, 0.0001mol/L EDTA-2Na, 0.01mol/L 蔗糖, 0.8%NaCl)中剪碎, 用匀浆机 15000r/min 研磨制成匀浆。用低温离心机 4°C 下 1500r/min, 离心 5min, 取上清液检测酶活。NKA 酶活力以 ATP 酶分解 ATP 生成 ADP 和无机磷, 测定无机磷含量来判断 ATP 酶活力高低。采用南京建成生物工程研究所生产的  $\text{Na}^+\text{K}^+$ -ATPase 试剂盒检测酶活, 无机磷测定采用钼蓝法, 同时用考马斯亮蓝法测定蛋白含量, 以计算 NKA 酶比活力。NKA 酶活力单位为  $\mu\text{mol Pi/mg protein/h}$ 。

血清生长激素、IGF- I 和 PRL 含量检测采用双抗体夹心酶联免疫吸附法(ELISA), 使用海水鱼类 ELISA 试剂盒(SIGMA)。检测原理为: 海水鱼类生长激素、IGF- I 或 PRL 单克隆抗体结合激素后, 与辣根过氧化酶(HRP)标记的二抗反应, 再用四甲基联苯胺(TMB)显色, 检测吸光度并计算激素浓度。血清生长激素、IGF- I 或 PRL 的浓度单位为 ng/ml。

## 2.4 数据统计与分析

试验结果用 SPSS 19.0 软件进行统计与分析。运用单因素方差分析, 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  $\pm$  标准差(Mean  $\pm$  SD)表示。指标间的关联性采用 Pearson 相关性检验, 显著性水平为  $P < 0.05$ 。用 excel 2007 绘制图表及关联趋势线。

# 3 结果

## 3.1 鳃 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP 酶活力

随着时间的延长, 不同盐度下 NKA 酶活力变化如图 1 所示。14 盐度组 NKA 酶活力变化呈上升后恢复的波浪形, 在 8h 与 48h 时出现两个峰值, 且峰值显著高于其它值( $P < 0.05$ ), 其中 48h 点为各组中最高; 25 盐度组 NKA 酶活力在 24h 时达到最高值, 然后回落, 峰值与谷值存在显著差异( $P < 0.05$ ); 36 盐度组 NKA 酶活力呈上升趋势, 24、48 和 96h 值显著高于初始值( $P < 0.05$ )。各个时间点中, 8h 与 48h 时 14 盐度组出现峰值, 且显著高于其他盐度

组( $P < 0.05$ ), 25 与 36 盐度组的峰值点分别也显著高于此时的最低值( $P < 0.05$ )。

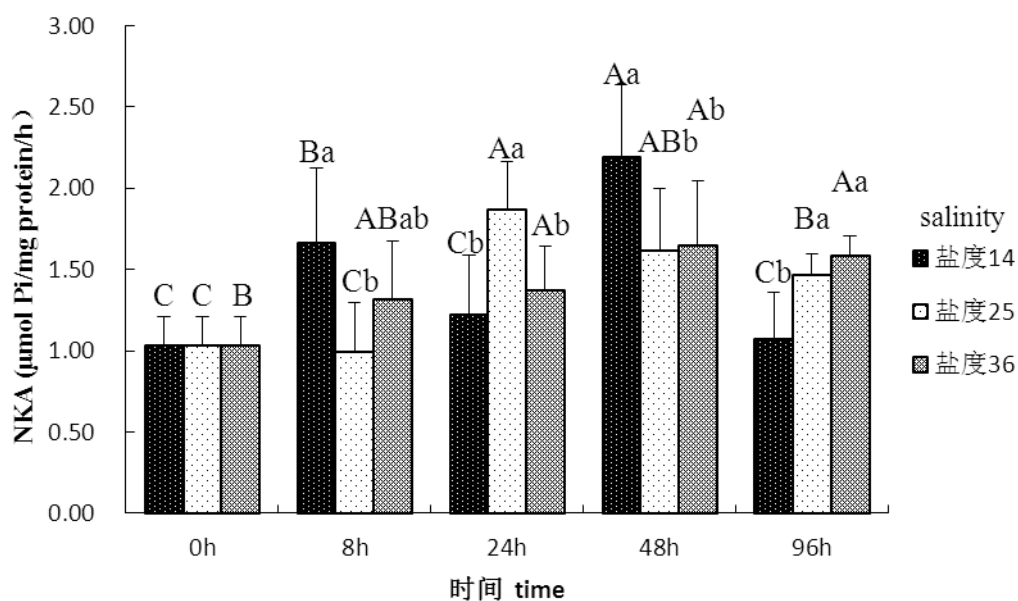


图 1 盐度对银鲳幼鱼鳃 NKA 酶活力的影响

Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATP 酶活力单位: μmol Pi/mg protein/h。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( $P < 0.05$ )。

Fig. 1 The effects of salinity on the gill NKA activity of juvenile silver pomfret

The unit of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPase activity: μmol Pi/mg protein/h. Different uppercase letters indicate enzyme activities elapsed of time are significantly different from each other in the same salinity group ( $P < 0.05$ ). Different lowercase letters indicate enzyme activities treated with different salinity are significantly different from each other in the same time ( $P < 0.05$ ).

### 3.2 血清 GH 浓度

不同盐度条件下银鲳幼鱼血清 GH 浓度变化情况如图 2 所示。14 盐度组 GH 浓度在 48h 出现峰值, 而其余时间点变化不显著( $P > 0.05$ ); 25 盐度组 GH 浓度呈波动上升趋势, 在 96h 达到峰值, 显著高于其他值( $P < 0.05$ ); 36 盐度组 GH 浓度在 8h 即出现峰值, 并保持较高水平, 各值均显著高于初始值 0h( $P < 0.05$ )。各时间点中, 36 盐度组都为最高值, 且与其他组均存在显著差异( $P < 0.05$ ), 其中 8h 值为各组中最高值。

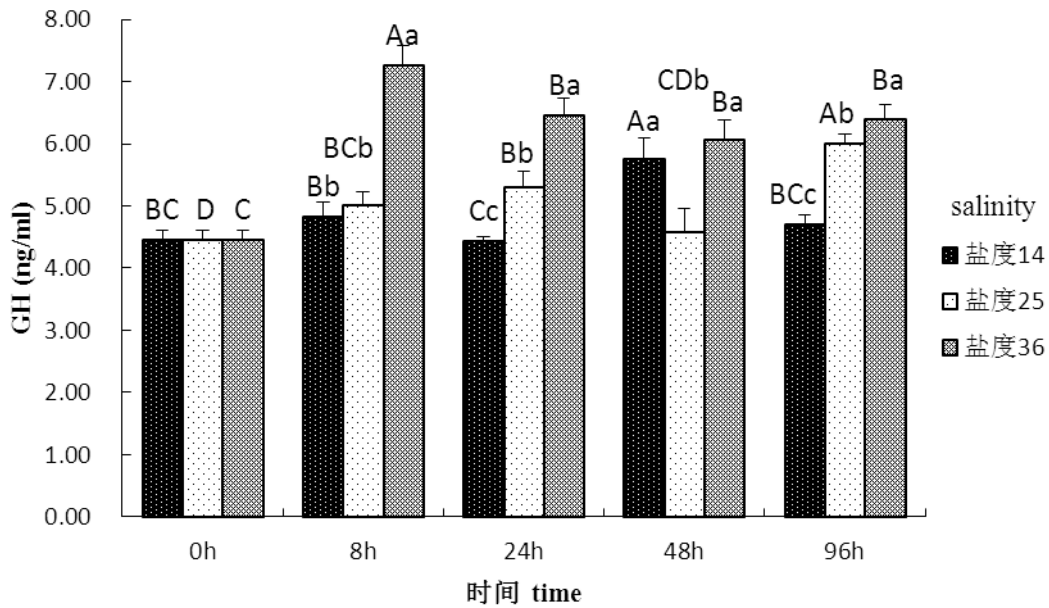


图 2 盐度对银鲳幼鱼血清 GH 浓度的影响

血清 GH 浓度单位: ng/mL。不同大写字母表示盐度组中存在显著差异( $P < 0.05$ ), 不同小写字母表示时间组中存在显著差异( $P < 0.05$ )。

Fig. 2 The effects of salinity on the plasma GH concentration of juvenile silver pomfret

The unit of plasma GH concentration: ng/mL. Different uppercase letters indicate GH concentrations elapsed of time are significantly different from each other in the same salinity group ( $P < 0.05$ ). Different lowercase letters indicate GH concentrations treated with different salinity are significantly different from each other in the same time ( $P < 0.05$ ).

### 3.3 血清 IGF- I 浓度

不同盐度条件下银鲳幼鱼血清 IGF- I 浓度变化情况见图 3。14 盐度组 IGF- I 浓度呈上升后恢复的变化, 峰值出现在 24h, 8h 和 24h 显著高于其他值( $P < 0.05$ ), 且 24h 值为各组最高值; 25 盐度组 IGF- I 浓度呈波动上升趋势, 最高值为 96h, 与初始值有显著差异( $P < 0.05$ ); 36 盐度组 IGF- I 浓度上升后恢复, 峰值为 24h, 峰值显著高于 0h 和 96h 值( $P < 0.05$ )。随着时间延长, 低盐度和高盐度组 IGF- I 浓度都呈上升后恢复变化, 8h 与 24h 时显著高于对照组( $P < 0.05$ ); 48h 后低盐度组 IGF- I 浓度下降较多, 96h 时对照组 IGF- I 浓度显著高于 14 和 36 盐度组。

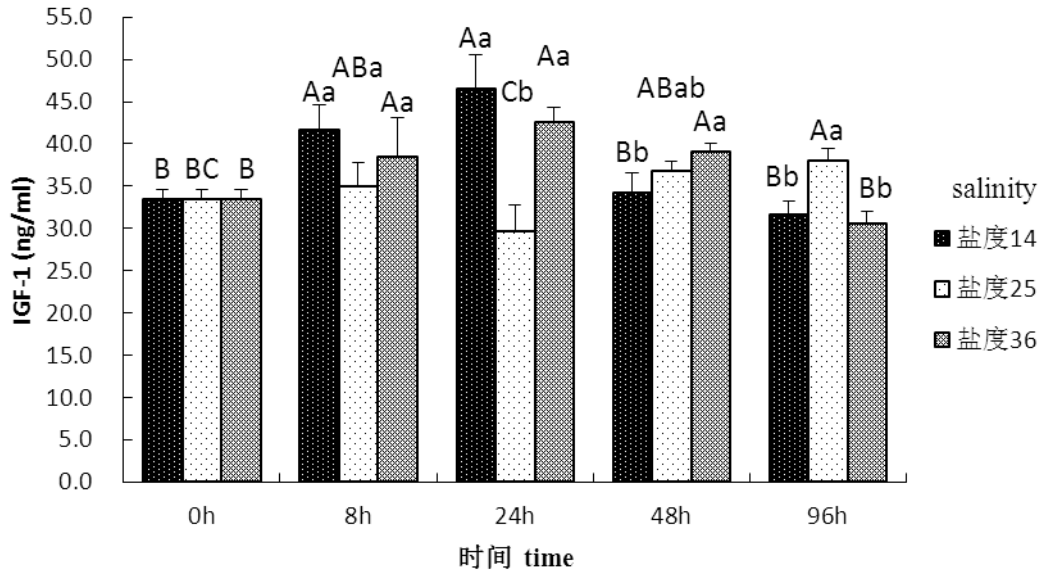


图3 盐度对银鲳幼鱼血清 IGF- I 浓度的影响

血清 IGF-1 浓度单位: ng/mL。不同大写字母表示盐度组中存在显著差异( $P < 0.05$ ), 不同小写字母表示时间组中存在显著差异( $P < 0.05$ )。

Fig. 3 The effects of salinity on the plasma IGF- I concentration of juvenile silver pomfret

The unit of plasma IGF- I concentration: ng/mL. Different uppercase letters indicate IGF- I concentrations elapsed of time are significantly different from each other in the same salinity group ( $P < 0.05$ ). Different lowercase letters indicate IGF- I concentrations treated with different salinity are significantly different from each other in the same time ( $P < 0.05$ ).

### 3.4 血清 PRL 浓度

随时间推移, 不同盐度下银鲳幼鱼血清 PRL 浓度变化情况参见图 4。14 盐度组 PRL 浓度呈上升后恢复的变化, 峰值出现在 24h 且是各组最高值, 8h 和 24h 显著高于其他值( $P < 0.05$ ); 25 盐度组 PRL 浓度呈波动起伏, 8h、48h 和 96h 值显著高于 0h 和 24h 值( $P < 0.05$ ); 36 盐度组与对照变化趋势类似, 8h、24h 和 96h 值显著高于 0h 和 48h 值( $P < 0.05$ )。在不同时间点中, 14 盐度组都是最高值, 其中 8h、24h 和 48h 时显著高于其他盐度组( $P < 0.05$ ); 25 盐度组的变化快于 36 盐度组, 两组在 24h 和 48h 时有显著差异( $P < 0.05$ )。

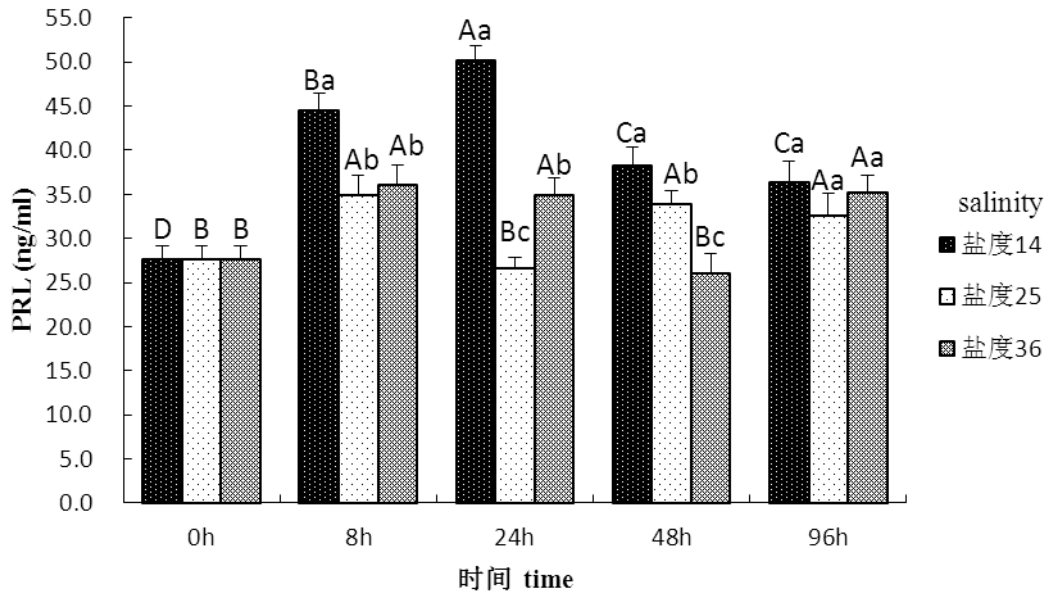


图4 盐度对银鲷幼鱼血清 PRL 浓度的影响

血清催乳素浓度单位: ng/mL。不同大写字母表示盐度组中存在显著差异( $P < 0.05$ ), 不同小写字母表示时间组中存在显著差异( $P < 0.05$ )。

Fig. 4 The effects of salinity on the plasma PRL concentration of juvenile silver pomfret

The unit of plasma PRL concentration: ng/mL. Different uppercase letters indicate PRL concentrations elapsed of time are significantly different from each other in the same salinity group ( $P < 0.05$ ). Different lowercase letters indicate PRL concentrations treated with different salinity are significantly different from each other in the same time ( $P < 0.05$ ).

### 3.5 NKA 与渗透压调节激素间的关联分析

NKA 酶活力与 GH 浓度的相关性如图 5A 所示。低盐度适应时(14 盐度组与 25 盐度对照组), NKA 酶活力与 GH 浓度相关性公式为  $Y = 0.770X + 3.759$ ,  $X$  为 NKA 酶活力,  $Y$  为 GH 浓度, 可靠性  $R^2 = 0.469$ ,  $R(\text{Pearson Correlation}) = 0.685$ ,  $P(1\text{-tailed}) = 1.1 \times 10^{-4} < 0.01$ , 可见两者呈极显著的正相关性( $P < 0.01$ )。其中对照组 96h 点 GH 浓度偏高, 不计算在内, 计算入对照组 96h 点后,  $R(\text{Pearson Correlation}) = 0.535$ ,  $P(1\text{-tailed}) = 0.002$ ,  $R^2 = 0.286$ , 依然极显著相关, 但可靠性较低。高盐度适应时(36 盐度组与 25 盐度对照组), NKA 酶活力与 GH 浓度相关性检验:  $R(\text{Pearson Correlation}) = 0.180$ ,  $P(1\text{-tailed}) = 0.184 > 0.05$ , 两者相关性不成立。

NKA 酶活力与 PRL 浓度的关联如图 5B 所示。高盐度适应时(36 盐度和 25 盐度对照组), 两者相关性方程为  $Y = -9.712X + 46.978$ ,  $X$  为 NKA 酶活力,  $Y$  为 PRL 浓度, 可靠性  $R^2 = 0.433$ ,  $R(\text{Pearson Correlation}) = -0.658$ ,  $P(1\text{-tailed}) = 1.9 \times 10^{-4} < 0.01$ , 两者呈极显著负相关( $P < 0.01$ ), 其中也包括 14 盐度 96h 点。低盐度适应时(14 盐度和 25 盐度对照组), NKA 酶活力与 PRL 浓度相关性检验:  $R(\text{Pearson Correlation}) = -0.205$ ,  $P(1\text{-tailed}) = 0.168 > 0.05$ , 两者相关性不成立。

另外, 本试验也得出了 PRL 与 IGF- I 浓度的相关性(图 5C)。低盐度适应时(14 盐度和 25 盐度对照组), 两者相关性公式为  $Y = 0.561X + 15.990$ ,  $X$  为 PRL 浓度,  $Y$  为 IGF- I 浓度, 可靠性  $R^2 = 0.585$ ,  $R(\text{Pearson Correlation}) = 0.765$ ,  $P(1\text{-tailed}) = 1.7 \times 10^{-6} < 0.01$ , 可见两者呈极显著正相关( $P < 0.01$ )。高盐度适应时(36 盐度组与 25 盐度对照组), PRL 与 IGF- I 浓度相关性检验:  $R(\text{Pearson Correlation}) = 0.173$ ,  $P(1\text{-tailed}) = 0.194 > 0.05$ , 两者相关性不成立。而将所有盐度点进行相关性检验:  $R(\text{Pearson Correlation}) = 0.519$ ,  $P(1\text{-tailed}) = 3.6 \times 10^{-4} < 0.01$ ,

依然呈极显著相关，其可靠性  $R^2 = 0.269$ 。

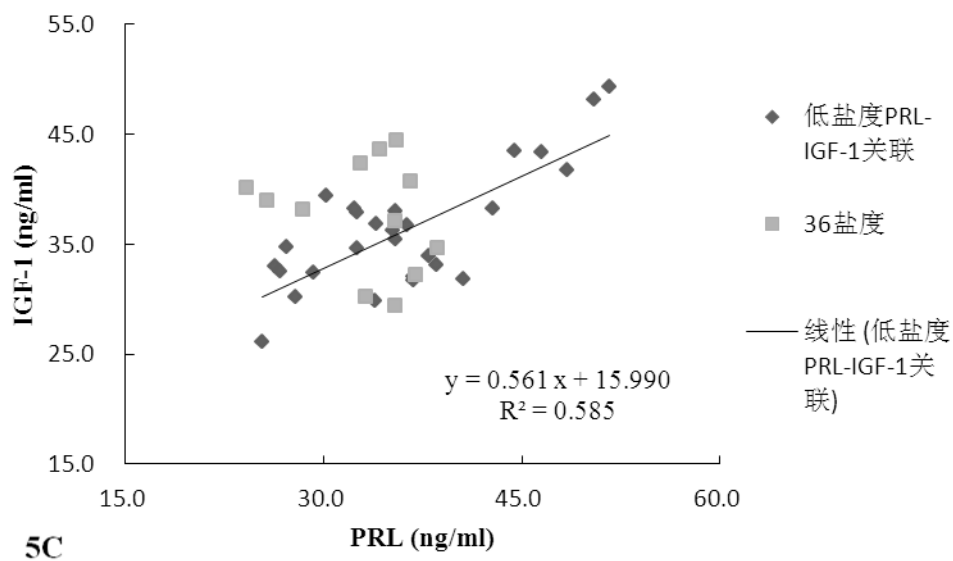
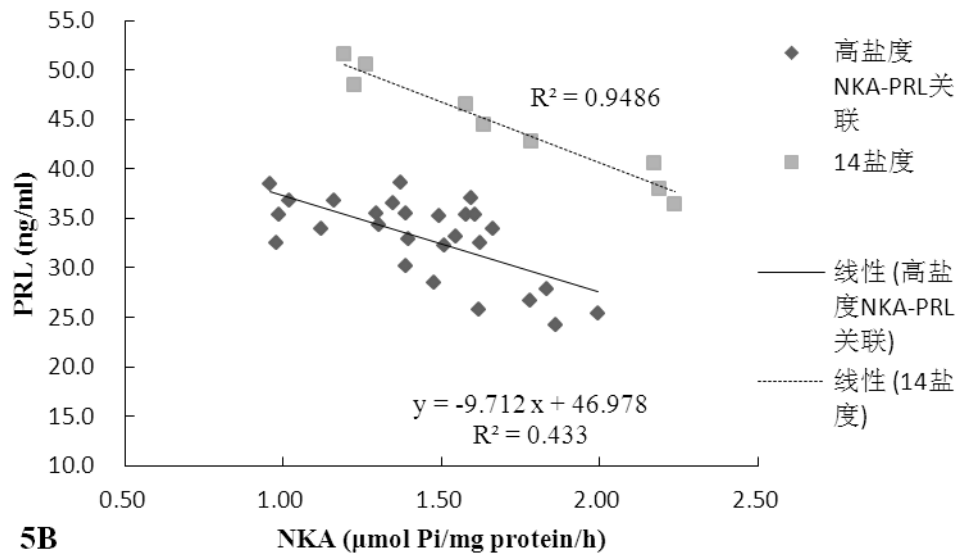
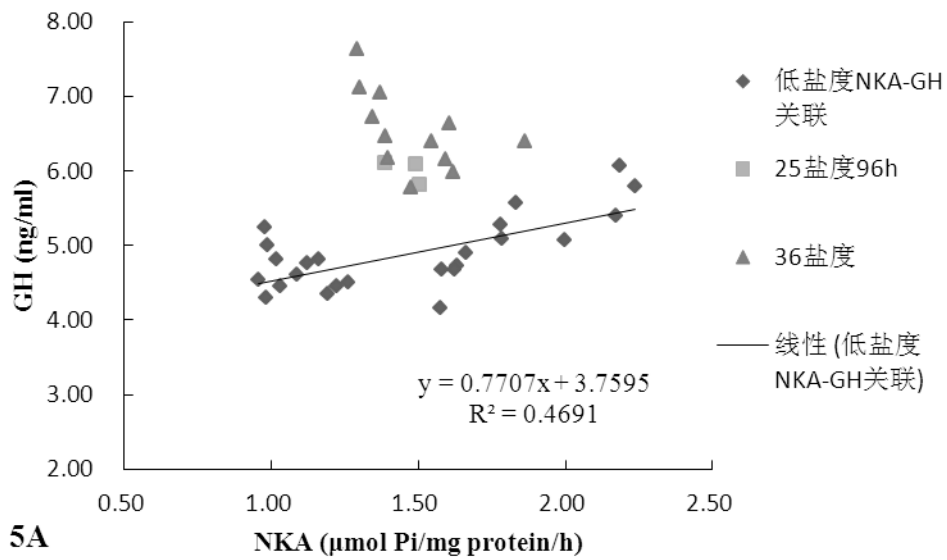




图5 银鲳幼鱼渗透压调节激素及 NKA 酶活力的相关性

(A) 14 与 25 盐度组鳃 NKA 酶活力与血清 GH 浓度的相关性; (B) 36 和 25 盐度组鳃 NKA 酶活力与血清 PRL 浓度的相关性; (C) 14 和 25 盐度组血清 PRL 与 IGF- I 浓度的相关性。

Fig. 5 The correlations among osmoregulation hormones and NKA activity of juvenile silver pomfret

(A) The correlation between gill NKA activity and plasma GH concentration in salinity 14 and 25 groups; (B) The correlation between gill NKA activity and plasma PRL concentration in salinity 36 and 25 groups; (C) The correlation between plasma PRL and IGF- I concentration in salinity 14 and 25 groups.

IGF- I 是介导 GH 作用的重要媒介, 但分析本试验的数据后, 所得血清 IGF- I 与 GH 浓度(低盐适应  $R = -0.208$ ,  $P = 0.149$ ; 高盐适应  $R = 0.345$ ,  $P = 0.078$ )、血清 IGF- I 浓度与 NKA 酶活力(低盐适应  $R = -0.126$ ,  $P = 0.265$ ; 高盐适应  $R = -0.189$ ,  $P = 0.173$ )的相关性很低( $P > 0.05$ ), 在此仅绘出 36 盐度组三者的变化趋势对比(图 6A、B)。36 盐度组, GH 的波峰出现于 8h, 比 IGF- I 的 24h 略早。NKA 酶活力与 IGF- I 浓度在 0h 至 24h 时变化趋势基本一致, IGF- I 浓度在 24h 到达波峰后下降, NKA 酶活力则到 48h 后略微下降。

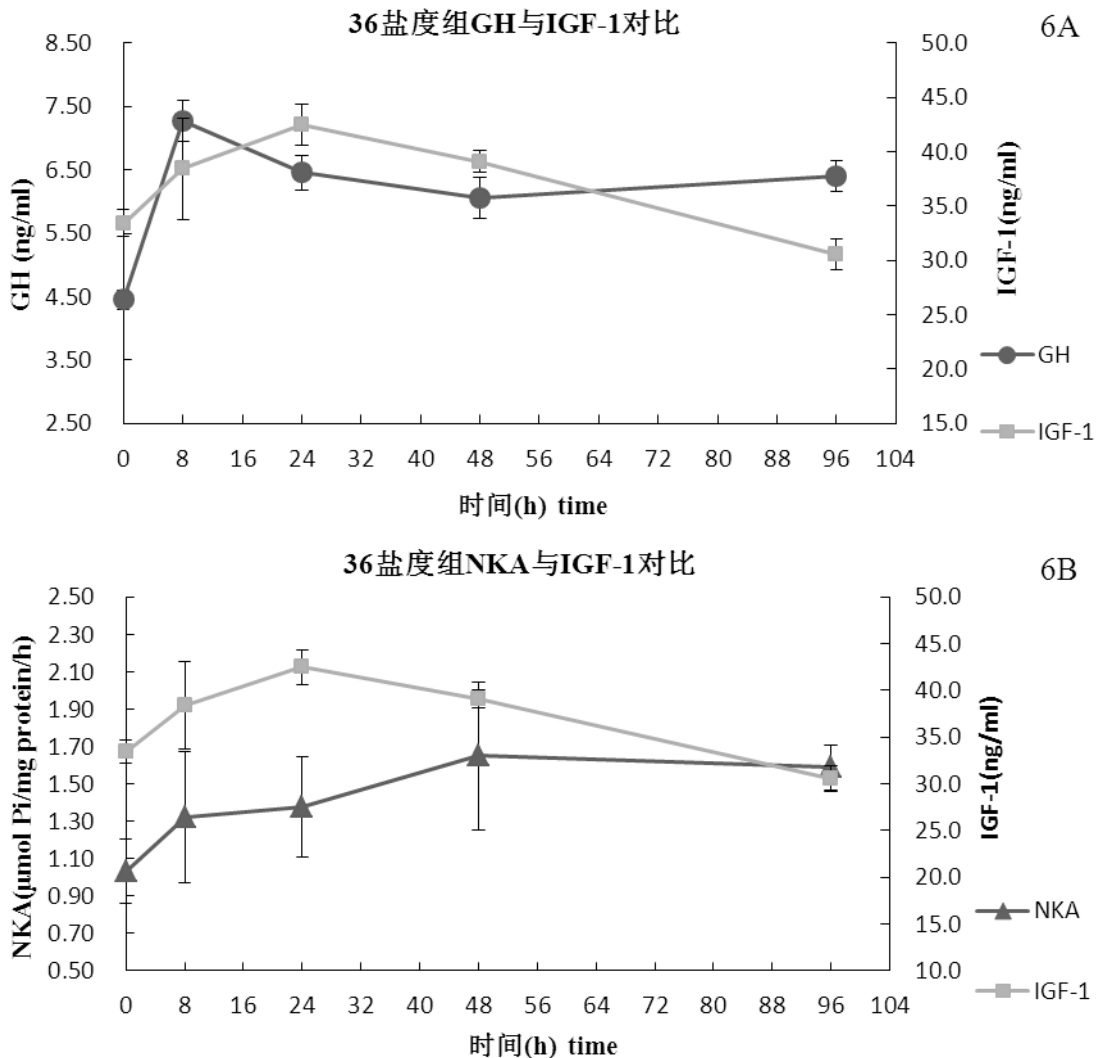


图6 银鲳幼鱼 36 盐度组 IGF- I 浓度与 NKA 酶活力、GH 浓度对比

(A)血清 GH 与 IGF- I 浓度变化曲线对比; (B)鳃 NKA 酶活力与血清 IGF- I 浓度变化曲线对比。

Fig. 6 The contrast between IGF- I concentration and NKA activity, GH concentration of juvenile silver pomfret treated with salinity 36

(A) the contrast of variation curve between plasma GH and IGF- I concentration; (B) the contrast of variation curve between gill NKA activity and plasma IGF- I .

## 4 讨论

当硬骨鱼类所处环境盐度改变时, 鳃的主要功能性物质 NKA 会启动膜蛋白运输及离子通道来维持细胞内环境, 这个过程与激素调控密切相关(徐力文等, 2007)。本试验中, 银鲳幼鱼在不同盐度下, 鳃 NKA 酶活力、血清生长激素、IGF- I 和 PRL 浓度都发生了明显的变化。

### 4.1 盐度与 NKA 酶活力

Eddie 等(2002)和 Lin 等(2006)认为广盐性硬骨鱼类可分为“高渗环境高 NKA 活性”和“低渗环境高 NKA 活性”两种类型, 以区分不同盐度条件下海水硬骨鱼类 NKA 活力的变化情况。“高渗环境高 NKA 活性”鱼类, 例如: 大菱鲆(*Scophthalmus maximus*) (Albert K et al, 2003)、金头鲷(*Sparus aurata*)(Juan et al, 2002)、茉莉花鲈(*Poecilia latipinna*)(Yang et al, 2009)、大西洋鳕(*Gadus morhua*)(Larsen et al, 2011)以及漠斑牙鲆(*Paralichthys lethostigma*)(Christian et al, 2008)的鳃 NKA 活力或 NKA $\alpha$  基因表达与环境盐度呈正相关。而“低渗环境高 NKA 活性”鱼类相关报道如: 鲮鱼(*Mugil cephalus*)幼鱼 NKA 活力在盐度 33 时最低(于娜等, 2011); 条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*)NKA 活力在盐度 8 和 38 时都高于 28 盐度(孙鹏等, 2010); 大底鳉(*Fundulus grandis*)幼鱼鳃 NKA 基因表达最高点出现在盐度 0.5, 最低点盐度 12(Joshua et al, 2012); 赤鲷(*Pagrus pagrus*)仔鱼的 NKA mRNA 表达 24 盐度显著强于 34 盐度(Andrew et al, 2011)。

本试验中, 银鲳幼鱼鳃 NKA 酶活力在三种盐度下总体呈先上升后恢复的变化, 其最高点为 14 盐度 48h 时, 而高盐度组 NKA 酶活性上升则较为平缓。尹飞等(2011)研究显示, 在 20、15 低盐度胁迫下银鲳幼鱼鳃 NKA 酶活力变化与本试验一致, 而且 20、15 盐度出现各组的最高、次高值。因此, 银鲳可能属于“低渗环境高 NKA 活性”鱼类。本试验对照组 24h 时也出现了较高峰值, NKA 活力与 GH、PRL 的关联式中均包含此点, 而 PRL 浓度在此时为最低值, 可能导致 NKA 活力增高; 另一原因为稳定盐度下幼鱼渗透压调节可能存在着波动周期。由于渗透压调节的生理机制较为复杂, 需要进一步研究。

### 4.2 盐度与 GH、IGF- I 浓度

GH 和 IGF- I 内分泌体系对于鲑科鱼类的幼鱼在海水适应方面有着十分重要的作用, 具有增加氯细胞数量和体积, 增强 NKA 酶活力的作用(Takashi et al, 2012; Takahiro et al, 2012; Anja et al, 2006)。其他鱼类, 如: 在平鲷(*Sparus sarba*)的离体培养试验中, GH 和 IGF- I 处理都能使鳃 NKA $\alpha$  和  $\beta$  亚基转录产物以及 NKA 活力显著增加(Eddie et al, 2005); GH 能增加条纹石鲷(*Morone saxatilis*)鳃的 NKA 活力(Madsen et al, 1996); 对高环境的适应也可以促进金头鲷、欧洲鳗鲡(*Anguilla vulgaris*)、尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)和斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)等鱼类的 GH 分泌(Juan et al, 2002; Breves et al, 2010; Katherine et al, 2003); 另外, 高盐度可以诱导巴南牙鲆(*Paralichthys orbignyanus*)GH 和 IGF- I mRNA 的表达量增加(Karina et al, 2009)。本试验银鲳幼鱼 36 盐度组的血清 GH 浓度一直保持着较高水平, 与上述情况大致相同; 对照组与 14 盐度组也分别出现了一个峰值, 14 盐度的峰值可能与低盐度下促进渗透压调节有关, 而对照组峰值则可能是正常生长时生长激素浓度的波动。Breves 等人(2010)也发现淡水与半咸水培养的莫桑比克罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*)血清 GH 浓度差异不大, 而从半咸水转移到淡水或海水中, GH 浓度都会略微下降。

本试验 14 盐度组和 36 盐度组血清 IGF- I 浓度都呈现先上升后恢复的变化。这与 Karl

等人(2010)研究发现淡水或海水转换都能提高霍氏萨罗罗非鱼(*Sarotherodon melanotheron heudelotii*)鳃 IGF- I mRNA 表达的结果类似。而 Christian 等人(2008)研究显示, 漠斑牙鲆淡水适应时 IGF- I 血清浓度及肝脏 mRNA 表达的增加比海水适应时更显著。Riley 等人(2003)的莫桑比克罗非鱼淡水适应试验也出现了血清生长激素与 IGF- I 浓度增加的情况。Sameh 等人(2007)研究发现莫桑比克罗非鱼淡水适应时血清 IGF- I 浓度增加, 海水适应时肝脏 IGF- I mRNA 表达增加。说明 IGF- I 对低盐度适应的渗透压调节可能也具有调控作用。

### 4.3 盐度与 PRL 浓度

低渗透压环境能刺激 PRL 基因表达、垂体合成并分泌 PRL, 使其在血浆中浓度增加, 并降低鳃氯细胞对体内离子的排除作用。对金头鲷注射 PRL, 无论处于海水(盐度 40)还是微咸水(盐度 5)条件下, 都能显著降低其 NKA 活性(Juan et al, 2002)。圆斑星鲽(*Verasper variegates*)在低盐度环境下脑垂体 PRL 细胞体积显著增大(Toshihiro et al, 2004)。淡水与半咸水中生存的萨罗罗非鱼(*Sarotherodon melanotheron*)PRL mRNA 表达显著高于海水和高盐水(Tine et al, 2007)。莫桑比克罗非鱼淡水适应可以增加血清 PRL 浓度和垂体 PRL mRNA 表达(Riley et al, 2003; Sameh et al, 2007)。

本试验中, 14 盐度组银鲳幼鱼血清 PRL 浓度始终为各盐度组中的最高, 且在 8h、24h 和 48h 时显著高于其他盐度组( $P < 0.05$ ), 与上述情况基本类似。另外, Tomy 等人(2009)将黑鲷(*Acanthopagrus schlegeli*)从海水转入淡水, PRL mRNA 表达显著增强, 而从淡水转移至海水, 其表达也略有提高。本试验的对照组和 36 盐度组也略有起伏波动, 与之相似。

### 4.4 银鲳鳃 NKA 与渗透压调节激素间的关联分析

已知硬骨鱼类至少存在两种氯细胞, 即海水型  $\alpha$  和淡水型  $\beta$  氯细胞, 从超微结构上看, 这两种氯细胞应该是同种氯细胞在不同阶段的变型, 但功能上差异极大(Shigehisa et al, 2003)。盐度变化促使激素分泌, 而后与下游受体结合后, 对氯细胞及其胞内各种通道蛋白和 ATP 酶的状态产生调控作用, 在向高盐度或低盐度适应时, 硬骨鱼类应当有不同的激素调控机制进行渗透压调节。另外, 各种渗透压调节激素间还存在相互作用, 如: GH 和 IGF- I 有介导补充关系, GH 与 PRL 则有拮抗作用(Riley et al, 2003, Eddie et al, 2009)。

本试验发现在 14 和 25 盐度时, 血清 GH 与 NKA 酶活力呈显著正相关, 但 25 盐度 96h 点不在其中, 此时正当 25 盐度组 GH 浓度峰值, 可能为正常生长的波动。36 盐度组 GH 浓度一直处于高位, 最低值 48h 点与对照组 96h 点相近, 可见两者关联性中 GH 浓度存在最高阈值, 超过此阈值, GH 浓度增高对 NKA 活力影响降低, 从图 5A 中也可以看出 36 盐度点的 GH 浓度明显高于趋势线区域。

Tine 等人(2007)对西非不同水体中萨罗罗非鱼的调查发现, 垂体 PRL mRNA 表达与环境盐度呈显著负相关。Jeanette 等人(2007)将莫桑比克罗非鱼置于不同盐度水体中, 发现鳃 NKA 酶活性与血清渗透压有显著正相关, 而血清渗透压又与环境盐度呈显著正相关。本试验银鲳幼鱼 36 和 25 盐度组血清 PRL 浓度与 NKA 酶活力呈极显著负相关, 与上述研究有对应之处。14 和 25 盐度组血清 PRL 与 IGF- I 浓度间有极显著正相关, 由此推测 PRL 与 IGF- I 有一定拮抗作用, 14 盐度组 IGF- I 浓度在初期显著增高, 使血清 PRL 与 NKA 酶活性关联性改变。从图 5C 可知, 14 盐度组初期血清 PRL 浓度与 NKA 酶活力在 PRL 浓度更高的位置几乎呈线性排列, 且与关联趋势线近似平行, 因此推测 IGF- I 浓度增高导致 PRL 需在更高浓度下对 NKA 产生作用, 在 96h 时 IGF- I 浓度最低, PRL96h 又包含于关联中。血清 PRL 与 IGF- I 浓度整体呈极显著正相关, 但是在高盐度时, 两者相关性并不成立, 究其原因: IGF- I 是典型高盐度调节激素, 36 盐度组在 24h 时呈现峰值, 而 PRL 为最重要的低盐度调节激素, 高盐度对其影响较小, 不出现峰值。

Takahiro 等人(2012)对马苏大马哈鱼(*Oncorhynchus masou*)幼鱼入海变态的研究发现, 血

清 IGF- I 浓度与鳃 NKA 酶活力呈极显著正相关。Riley 等人(2003)发现不同盐度下莫桑比克罗非鱼生长激素与 IGF- I mRNA 表达都与体重有显著相关性, 但未得出两者间的关联性。本试验未得出 IGF- I 与生长激素、NKA 的关联性, 但根据 36 盐度时三者的变化趋势, 似乎在时间上存在着某种关联, 有待进一步研究。

本试验证明银鲳幼鱼在适应不同盐度时, 鳃 NKA 酶与生长激素、IGF- I 和 PRL 在渗透压调节中起着重要作用, 并且相互之间存在一定关联。为了更深入探究银鲳渗透压调节的生理机制, 需要从分子、细胞层面进一步验证。

## 参考文献:

- 于娜, 李加儿, 区又君等, 2011. 盐度胁迫对鳊鱼幼鱼鳃丝 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATP 酶活力和体含水量的影响. 动物学杂志, 46(1): 93-99
- 马慧, 柳淑芳, 马骞等, 2012. 硬骨鱼类渗透压的内分泌激素调节机制. 水产科学, 31(1): 55-59
- 尹飞, 孙鹏, 彭士明等, 2011. 低盐度胁迫对银鲳幼鱼肝脏抗氧化酶、鳃和肾脏 ATP 酶活力的影响. 应用生态学报, 22(4): 1059-1066
- 尹飞, 彭士明, 孙鹏, 2010. 低盐胁迫对银鲳幼鱼肠道消化酶活力的影响. 海洋渔业, 32(2): 160-165
- 孙鹏, 彭士明, 尹飞等, 2010. 盐度对条石鲷幼鱼 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATP 酶活力的影响. 水产学报, 34(8): 1204-1209
- 刘金亮, 梁利群, 2011. 鱼类催乳素及其在渗透压调节中的作用. 水产学杂志, 24(1): 50-54
- 刘静, 李春生, 李显森, 2002. 中国鲷属鱼类的分类研究. 海洋科学集刊, 40: 240-252
- 李春生. 银鲳: 郑元甲, 陈雪忠, 程家骅等, 2003. 东海大陆架生物资源与环境. 上海: 上海科学技术出版社, 379 - 401
- 徐力文, 刘广锋, 王瑞旋, 2007. 急性盐度胁迫对军曹鱼稚鱼渗透压调节的影响. 应用生态学报, 18(7): 1596-1600
- 施兆鸿, 彭士明, 孙鹏等, 2009. 我国鲷属鱼类养殖的发展潜力及前景展望. 现代渔业信息, 24(10): 3-4
- Albert K I, Snorri G A et al, 2003. Gill Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase activity, plasma chloride and osmolality in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) reared at different temperatures and salinities. Aquaculture, 218(1-4): 671 - 683
- Andrew D O, Wade O W, Frank P M et al, 2011. Effects of salinity and temperature on the growth, survival, whole body osmolality, and expression of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase mRNA in red porgy (*Pagrus pagrus*) larvae. Aquaculture, 314(1-4): 193 - 201
- Anja M L, Carl B S, 2006. Effects of acute stress on osmoregulation, feed intake, IGF-1, and cortisol in yearling steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) during seawater adaptation. General and Comparative Endocrinology, 148(2): 195-202
- Breves J P, Hasegawa S, Yoshioka M et al, 2010. Acute salinity challenges in Mozambique and Nile tilapia: Differential responses of plasma prolactin, growth hormone and branchial expression of ion transporters. General and Comparative Endocrinology, 167(1): 135 - 142
- Charlotte B, Elliott S, Laura L B et al, 2010. Ontogeny of osmoregulation and salinity tolerance in the gilthead sea bream *Sparus aurata*. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, 157(3): 220-228
- Christian K, Tipsmark J, Adam L et al, 2008. Osmoregulation and expression of ion transport proteins and putative claudins in the gill of Southern Flounder (*Paralichthys lethostigma*). Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, 150(3): 265 - 273
- Eddie E D, Norman Y S W, 2005. Cloning and characterization of sea bream Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase  $\alpha$  and  $\beta$  subunit genes: In vitro effects of hormones on transcriptional and translational expression. Biochemical and Biophysical Research Communications, 331(4): 1229-1238
- Eddie E D, Norman Y S W, 2009. Modulation of fish growth hormone levels by salinity, temperature, pollutants and aquaculture related stress: a review. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 19(1): 97 - 120
- Eddie E D, Scott P K, James C Y L et al, 2002. Chronic salinity adaptation modulates hepatic heat shock protein and Insulin-like growth factor I expression in black sea bream. Marine biotechnology, 4(2): 193 - 205
- Jeanette C F, Amy K P, Liza M et al, 2007. Effects of environmental salinity and temperature on osmoregulatory ability, organic osmolytes, and plasma hormone profiles in the Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, 146(2): 252 - 264
- Joshua P, Charlotte B, Christopher G, 2012. Effects of low salinity media on growth, condition, and gill ion transporter expression in juvenile Gulf killifish, *Fundulus grandis*. Comparative Biochemistry and Physiology, Part A, 161(4): 415 - 421
- Juan M M, Raulil C, Maria P M R, 2002. Osmoregulatory action of PRL, GH, and cortisol in the gilthead seabream. General and Comparative Endocrinology, 129(2): 95-103
- Karina M M, Ma'rcio A F, Michel T K et al, 2009. Increased growth hormone (GH), growth hormone

- receptor(GHR), and insulin-like growth factor I (IGF-I) genetranscription after hyperosmotic stress in the Brazilian flounder *Paralichthys orbignyanus*. *Fish Physiol Biochem*, 35(3): 501 - 509
- Karl L, Giorgi B, Natallia S et al, 2010. Seawater and freshwater challenges affect the insulin-like growth factors IGF-I and IGF-II in liver and osmoregulatory organs of the tilapia. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 327(1-2): 40 - 46
- Katherine D, Shunsuke M, Hiroshi K et al, 2003. Development of an enzyme-linked immunosorbent assay for the measurement of plasma growth hormone (GH) levels in channel catfish (*Ictalurus punctatus*): assessment of environmental salinity and GH secretagogues on plasma GH levels. *General and Comparative Endocrinology*, 133(3): 314 - 322
- Larsen P F, Nielsen E E, Meier K et al, 2011. Differences in Salinity Tolerance and Gene Expression Between Two Populations of Atlantic Cod (*Gadus morhua*) in Response to Salinity Stress. *Biochem Genet*, Publish online, Springer
- Lin Y M, Chen C N, Yoshinaga T et al, 2006. Short-term effects of hyposmotic shock on Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase expression in gills of the euryhaline milkfish, *Chanos chanos*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part A*, 143(3): 406 - 415
- Madsen S S, Nishioka R S, Bem H A, 1996. Seawater acclimation in the anadromous striped bass, *Morone saxatilis*: strategy and hormonal regulation. *The Physiology of Migratory Fish Symp*: 167-174
- Riley L G, Hirano T, Grau E G, 2003. Effects of transfer from seawater to fresh water on the growth hormone insulin-like growth factor-I axis and prolactin in the Tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 136(4): 647 - 655
- Ryan M P, Stephen D M, 2001. Effects of growth hormone and cortisol on Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-2Cl<sup>-</sup> cotransporter localization and abundance in the gills of Atlantic Salmon. *General and Comparative Endocrinology*, 124(2): 134-143
- Sameh M, Katsuhisa U, Tetsuya H et al, 2007. Effects of environmental salinity on somatic growth and growth hormone/insulin-like growth factor-I axis in juvenile tilapia *Oreochromis mossambicus*. *FISHERIES SCIENCE*, 73(5): 1025 - 1034
- Shigehisa H, Toyoji K, Nobuko N et al, 2003. Molecular biology of major components of chloride cells. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 136(4): 593-620
- Takahiro S, Takuro N, Moeri H et al, 2012. Relationships between gill Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase activity and endocrine and local insulin-like growth factor-I levels during smoltification of masu salmon (*Oncorhynchus masou*). *General and Comparative Endocrinology*, 178(2): 427-435
- Takashi Y, Stephen D, McCormick S H, 2012. Effects of environmental salinity, biopsy, and GH and IGF-I administration on the expression of immune and osmoregulatory genes in the gills of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *aquaculture*, 362-363: 177-183
- Tine M, Lorget J, Panfili J et al, 2007. Growth hormone and Prolactin-1 gene transcription in natural populations of the black-chinned tilapia *Sarotherodon melanotheron* acclimated to different salinities. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B*, 147(3): 541 - 549
- Tomy S, Chang Y M, Chen Y H et al, 2009. Salinity effects on the expression of osmoregulatory genes in the euryhaline black porgy *Acanthopagrus schlegelii*. *General and Comparative Endocrinology*, 161(1): 123 - 132
- Toshihiro W, Masato A, Masaru T, 2004. Effects of low-salinity on the growth and development of spotted halibut *Verasper variegates* in the larva-juvenile transformation period with reference to pituitary prolactin and gill chloride cells responses. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 308(1): 113-126
- Yang W K, Hseu J R, Tang C H et al, 2009. Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase expression in gills of the euryhaline sailfin molly, *Poecilia latipinna*, is altered in response to salinity challenge. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 375(1-2): 41-50
- Yin F, Peng S M, Sun P et al, 2011. Effects of low salinity on antioxidant enzymes activities in kidney and muscle of juvenile silver pomfret *Pampus argenteus*. *Acta Ecologica Sinica*, 31(1): 55-60
- Zhao F, Dong Y H, Zhuang P, 2011. Genetic diversity of silver pomfret (*Pampus argenteus*) in the Southern Yellow and East China Seas. *Biochemical Systematics and Ecology*, 39(2): 145-150