

文章编号: 1000-0615(2017)09-1383-09

DOI: 10.1194/jfc.20160110229

不同盐度对斜带石斑鱼幼鱼血清离子浓度和激素水平的影响及其与鳃MRCs渗透调节功能的关系

王 雯^{1,2}, 区又君^{1*}, 温久福¹, 李加儿¹, 谢木娇^{1,2}, 陈世喜^{1,2}

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所, 农业部南海渔业资源开发利用重点实验室, 广东 广州 510300;

2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 为探究不同盐度对斜带石斑鱼幼鱼血清离子浓度和激素水平的影响及其与鳃线粒体丰富细胞(MRCs)渗透调节功能关系, 实验将暂养于盐度为30的水体中的斜带石斑鱼幼鱼直接转移至盐度分别为5、10、20和30(对照组)的水体中, 于7和15 d分别检测血清 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 浓度和血清皮质醇(COR)水平, 并于第15天观察幼鱼鳃MRCs分布和结构的变化。结果显示, 随盐度升高, 幼鱼血清 Na^+ 、 Cl^- 浓度显著上升, 而 K^+ 浓度无显著变化; COR水平在盐度5和10实验组显著高于盐度20和对照组; 随盐度上升, 鳃MRCs体积增大, 数量增多, 且盐度20和对照组鳃MRCs体积显著大于盐度5和10实验组; 鳃MRCs表面存在一个特殊的顶膜结构, 在不同盐度下呈现不同形态: 盐度5和10实验组中鳃MRCs顶膜开口较大, 且其表面存在大量的微绒, 而盐度20实验组和对照组中鳃MRCs的顶膜向内深陷形成了一个顶隐窝, 开口较小, 且其表面没有微绒毛。研究表明, 斜带石斑鱼幼鱼鳃MRCs在盐度5的水体中可以很好地发挥渗透调节功能, 使幼鱼在盐度5的水体中存活。

关键词: 斜带石斑鱼; 盐度; 血清离子; 血清激素; 鳃线粒体丰富细胞

中图分类号: S 965.1

文献标志码: A

盐度作为重要的生态环境因子之一, 对鱼类的生存、生长、繁殖、发育等有着重要的意义。盐度对鱼类的渗透调节有很大的影响^[1], 而鳃线粒体丰富细胞在广盐性硬骨鱼类的渗透调节中起着至关重要的作用。线粒体丰富细胞原名氯细胞/泌氯细胞, 近年来一些学者认为氯细胞不仅可以分泌吸收 Cl^- , 还可以分泌吸收 Na^+ 、 K^+ 等, 因此建议根据其富含线粒体这一特点将其改称为线粒体丰富细胞(mitochondrion-rich cells, MRCs)^[2]。目前国内对鳃MRCs的研究不多, 主要集中在结构方面^[3-5], 未见对其渗透调节功能的研究。

斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)俗称青斑, 隶属鲈形目(Perciformes)、鲷科(Serranidae)、石斑

鱼属, 主要分布于太平洋和印度洋的热带亚热带海区^[6], 由于其肉质细嫩鲜美、营养丰富、抗逆性强, 一直深受消费者和养殖者的青睐。斜带石斑鱼作为名贵海水养殖鱼类之一, 研究盐度变化对它的影响具有重要意义。但目前, 国内研究主要集中于盐度对斜带石斑鱼生长、生理等方面的影响, 如王素久等^[7]探讨了不同盐度下斜带石斑鱼幼鱼生长、生理的变化情况, 余德光等^[8]研究了盐度变化对斜带石斑鱼生理生化的影响, 却尚未见盐度对斜带石斑鱼血清离子、激素与鳃MRCs渗透调节功能关系方面的研究。因此, 本实验以斜带石斑鱼幼鱼为对象, 探讨不同盐度下斜带石斑鱼血清离子(Na^+ 、 K^+ 、 Cl^-)浓度和血清皮质醇(COR)水平以及鳃MRCs形

收稿日期: 2016-01-11 修回日期: 2017-01-09

资助项目: 广东省科技计划(2015A020209041)

通信作者: 区又君, E-mail: ouyoujun@126.com

态结构的变化, 研究盐度变化对斜带石斑鱼血清离子、激素的影响及与鳃MRCs渗透调节功能的关系, 了解斜带石斑鱼对盐度骤变的适应性, 以期对石斑鱼养殖水环境的选择或调控提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验用鱼

实验用的斜带石斑鱼幼鱼为当年人工繁殖鱼苗, 体长为(8.60±0.64) cm, 体质量为(17.70±2.97) g。

1.2 实验设计与样品制备

实验包括水体盐度为5、10、20等3个实验组和盐度为30的对照组, 每组设3个重复, 每个重复10尾鱼, 饲养于12个0.465 m×0.290 m×0.485 m (约65 L)的长方体玻璃水族缸中。各盐度实验用水均由固体海水素加曝气自来水调配而成。实验鱼先于盐度30的人工海水中暂养20 d, 温度23~24 °C, 溶解氧4.6~6.3 mg/L, 24 h不间断充气, 每天换水1/2并于9:30和17:00投喂, 投饲料为鱼体质量的1%, 2 h后吸取残饵。暂养期间实验用鱼无死亡情况。

实验开始后将规格相同的实验鱼分别移至5、10、20、30盐度组中, 然后分别于7、15 d取样。取样时分别从每个实验组捞出6尾(每缸2尾)。取样前一天和取样期间不投喂。

血清样品制备 用1 mL一次性无菌注射器从尾柄处抽血, 取血后将血液注入2.0 mL离心管中, 4 °C静置过夜, 分层后离心(5000 r/min, 15min, 4 °C), 取上清液于-80 °C保存备用。

光学显微镜样品制备 活体取右侧第三鳃弓的鳃丝, 4%多聚甲醛固定24 h, 自来水流水冲洗, 70%、80%、95%、100%乙醇逐级脱水, 二甲苯透明, 石蜡包埋, 5 μm切片; H.E染色, 中性树脂封片, 自然风干后, 于ZEISS Axio Scope A1型光学显微镜下观察和拍照。

扫描电镜样制备 活体取右侧第二鳃弓鳃丝, 5%戊二醛-4%多聚甲醛(pH=7.2, 4 °C)固定12 h; 0.1 mol/L PBS室温冲洗3次, 1%锇酸溶液4 °C固定1 h; 0.1 mol/L PBS (pH=7.2)室温冲洗3次; 30%、50%、70%、80%、90%、100%的乙醇逐级脱水, 醋酸异戊酯置换后常规临界CO₂干燥, 真空离子镀膜; FEI-Quanta200扫描电子显微镜下观察、拍照。

1.3 样品检测

将血清样品用去离子水稀释10倍后, 用南京建成生物科技有限公司试剂盒检测Na⁺、K⁺、Cl⁻浓度, 单位为mmol/L; 采用酶联免疫试剂盒(武汉基因美生物科技有限公司), 用酶联免疫分析法中的双抗体夹心法测定血清中COR水平, 单位为μg/L。

1.4 数据处理与统计分析

实验数据(mean±SE)采用EXCEL和SPSS 17.0软件进行分析, 在单因子方差分析(One-Way ANOVA)基础上采用Duncan氏多重比较法检验组间差异(P=0.05)。

2 结果

2.1 盐度变化对斜带石斑鱼幼鱼血清离子浓度的影响

盐度对血清Na⁺浓度的影响 不同盐度下斜带石斑鱼幼鱼血清Na⁺浓度有显著变化(图1)。随盐度升高Na⁺浓度显著升高(P<0.05)。但随着时间的延长, 实验组(盐度5、10和20组)和对照组的Na⁺浓度均无显著变化(P>0.05)。

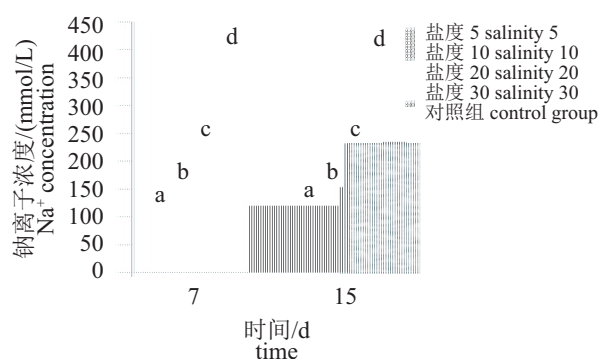


图1 盐度对斜带石斑鱼幼鱼血清Na⁺浓度的影响
同一时间点不同盐度上方参数有一个字母相同表示无显著差异(P>0.05), 反之则差异显著(P<0.05), 下同

Fig. 1 Effect of salinity on Na⁺ concentration in serum of juvenile *E. coioides*

Values at different salinities at the same time with the same superscripts are not significantly different (P>0.05), otherwise, with the different superscripts are significantly different (P<0.05); the same below

盐度对血清Cl⁻浓度的影响 盐度变化对斜带石斑鱼幼鱼血清Cl⁻浓度的影响结果显示,

随着盐度升高, Cl⁻浓度呈显著上升趋势($P < 0.05$), 其中盐度10组和盐度20组之间Cl⁻浓度没有显著差异($P > 0.05$), 但二者Cl⁻浓度显著高于盐度5组, 而显著低于对照组($P < 0.05$)(图2)。另外, 随着时间的延长, 各实验组Cl⁻浓度虽有微小的增长, 但变化不显著($P > 0.05$)。

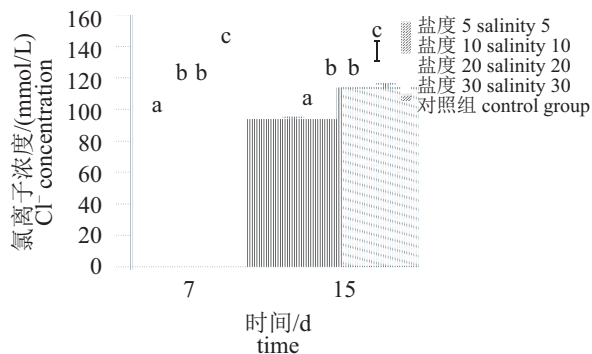


图2 盐度对斜带石斑鱼幼鱼血清Cl⁻浓度的影响
Fig. 2 Effect of salinity on Cl⁻ concentration in serum of juvenile *E. coioides*

盐度对血清K⁺浓度的影响 不同盐度下血清K⁺浓度的变化结果显示, 各个盐度组K⁺浓度无显著变化($P > 0.05$)。盐度5和20组K⁺浓度随着时间的延长有小幅度的下降; 而盐度10组K⁺浓度小幅度上升, 但变化都不显著($P > 0.05$)(图3)。

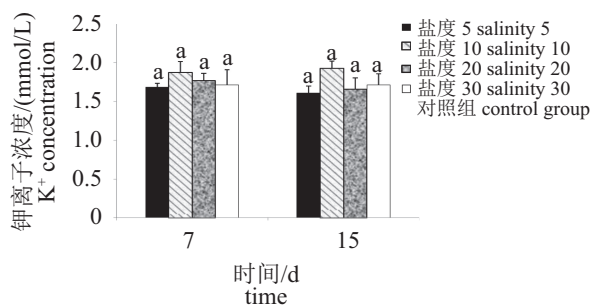


图3 盐度对斜带石斑鱼幼鱼血清K⁺浓度的影响
Fig. 3 Effect of salinity on K⁺ concentration in serum of juvenile *E. coioides*

2.2 盐度变化对斜带石斑鱼幼鱼血清COR水平的影响

盐度变化对血清COR水平有显著影响($P < 0.05$)(图4)。随盐度升高COR水平显著下降($P < 0.05$), 其中盐度5和10组显著高于盐度20和对照组。各盐度组血清COR水平随时间均无显著变化($P > 0.05$)。

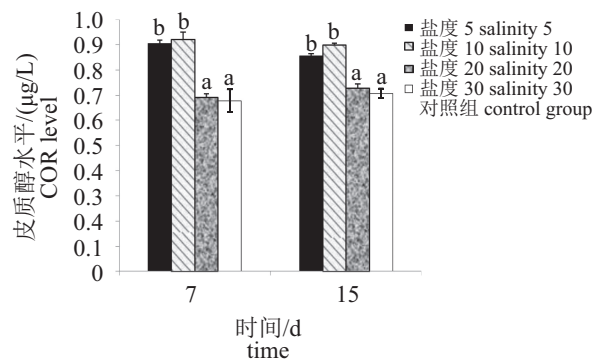


图4 盐度对斜带石斑鱼幼鱼血清皮质醇水平的影响
Fig. 4 Effect of salinity on cortisol (COR) level in serum of juvenile *E. coioides*

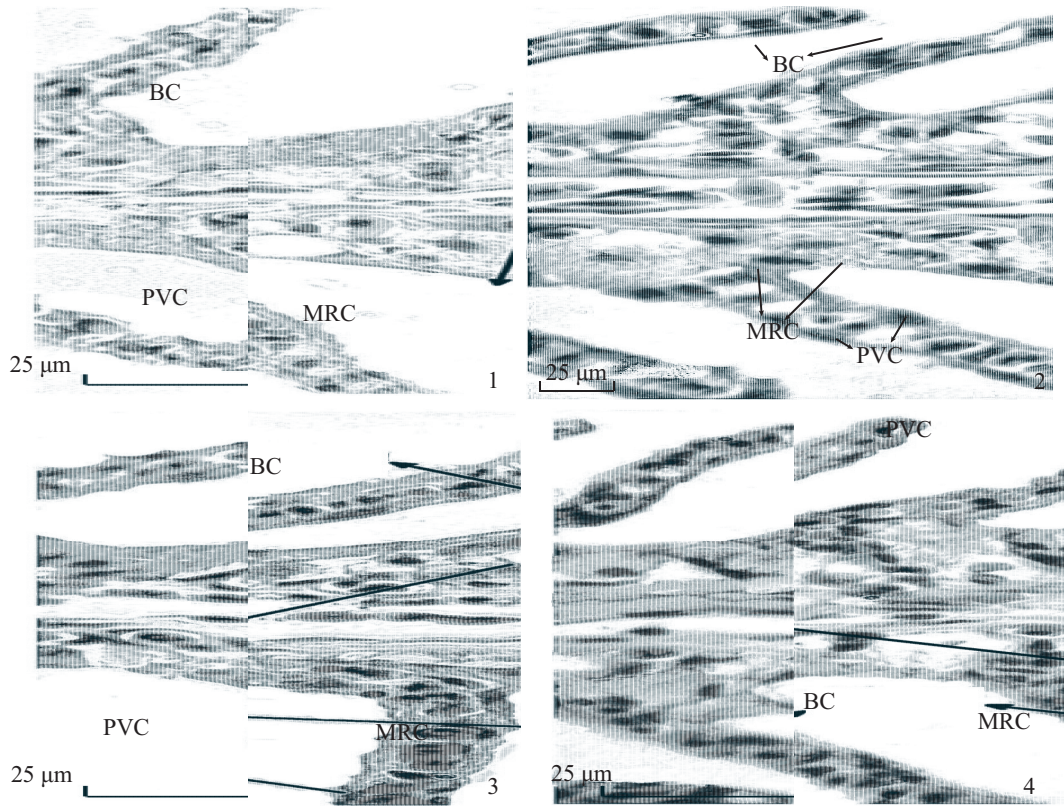
2.3 不同盐度下鳃MRCs显微结构的变化

盐度5组 鳃丝和鳃小片上可观察到鳃MRCs, 扁平上皮细胞和血细胞。3种细胞的细胞核都被苏木素染成浅蓝色, 血细胞胞质被尹红染成红色, 主要位于鳃小片和鳃丝内部, 细胞体积较小, 呈圆形或椭圆形。扁平上皮细胞和鳃MRCs胞质被染成浅红色, 扁平上皮细胞呈扁平状, 位于鳃小片上皮组织外缘; 而鳃MRCs主要位于鳃丝和鳃小片基部, 数量较少, 体积偏小, 呈椭圆形, 长径(6.56±0.33) µm, 短径(4.19±0.07) µm, 核较小(图版 I -1)。

盐度10组 扁平上皮细胞和血细胞分布与盐度5组一致。鳃MRCs主要存在于鳃丝和鳃小片基部, 体积未明显增大, 近椭圆形和圆形, 长径(6.88±0.41) µm, 短径(4.38±0.15) µm, 均与盐度5组无显著差异($P > 0.05$), 核较小。H.E染色结果与盐度5组一致(图版 I -2)。

盐度20组 扁平上皮细胞存在于鳃丝和鳃小片上皮组织外缘, 鳃小片血管内存在大量的血细胞。鳃MRCs存在于鳃丝和小片基部, 数量增加, 体积明显增大, 近椭圆形, 长径(8.35±0.31) µm, 短径(4.87±0.10) µm, 均显著高于盐度5和10组($P < 0.05$)。血细胞胞质被伊红染成深红色, 细胞核被苏木素染成蓝色。鳃MRCs胞质被染成红色, 细胞核被苏木素染成蓝色(图版 I -3)。

盐度30组(对照组) 扁平上皮细胞和血细胞分布与盐度20组一致, 鳃MRCs主要存在于鳃丝和鳃小片基部, 数量增加, 体积增大, 长径(8.64±0.13) µm, 短径(5.13±0.18) µm, 均与盐度20组无显著差异($P > 0.05$), 但显著大于盐度5和



图版 I 盐度变化对斜带石斑鱼幼鱼鳃线粒体丰富细胞的影响(第15天)

1.盐度5组; 2.盐度10组; 3.盐度20组; 4.盐度30组(对照组); BC.血细胞 MRC.鳃线粒体丰富细胞 PVC.扁平上皮细胞

Plate I Effect of salinity on gill MRCs of juvenile *E. coioides* (the fifteenth day)

1. salinity 5, 2. salinity 10, 3. salinity 20, 4. salinity 30 (control group), BC. blood cell, MRC. mitochondrion-rich cell, PVC. pavement cell

10组($P<0.05$), 核较大, 近椭圆形和圆形。H.E染色结果与盐度20组一致(图版 I -4)。

斜带石斑鱼幼鱼鳃MRCs随着盐度升高长径和均短径呈增大的趋势, 低盐度(5和10)组与高盐度(20和对照组)的细胞直径相比存在显著差异($P<0.05$)(图5)。

2.3 不同盐度下鳃MRCs扫描电镜观察结果

实验第15天时, 不同盐度下斜带石斑鱼幼鱼鳃MRCs的扫描电镜观察结果显示, 鳃MRCs通过顶膜表面与外界环境相连, 鳃MRCs的顶膜位于扁平上皮细胞边缘, 大多数位于鳃丝上皮的输入血管端, 而在输出血管端却很少见。不同盐度下鳃MRCs的顶膜结构有显著差异: 盐度5组鳃MRCs顶膜稍向内凹, 开口较大, 且其表面存在大量的微绒毛(图版 II -1)。盐度10组鳃MRCs顶膜稍向外凸, 开口较大, 同时其表面也存在大量的微绒毛(图版 II -2)。而盐度20和对照组鳃

MRCs的顶膜向内深陷形成了一个顶隐窝, 开口较小, 且其表面没有微绒毛(图版 II -3, -4)。

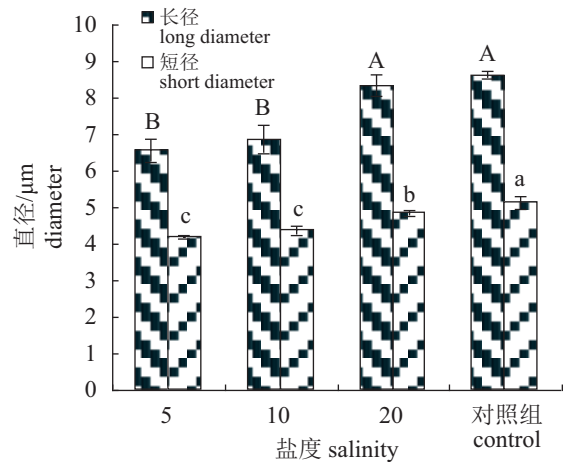
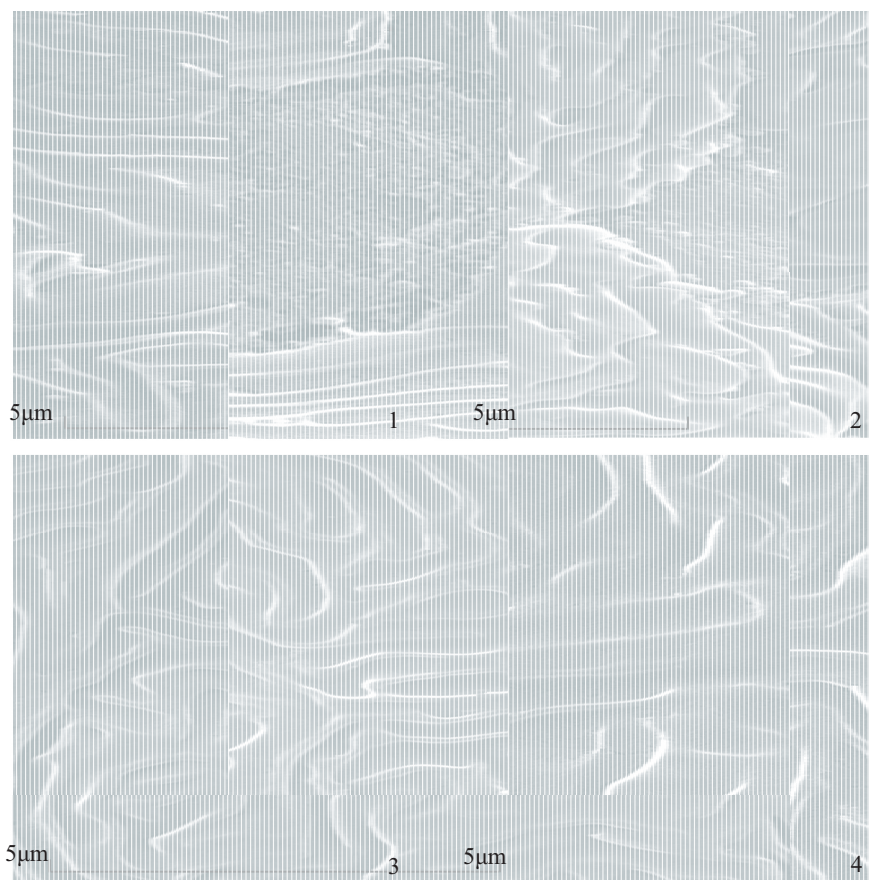


图5 盐度变化对斜带石斑鱼幼鱼鳃线粒体丰富细胞直径的影响(第15天)

Fig. 5 Effect of salinity on diameter of gill MRCs of juvenile *E. coioides* (the fifteenth day)



图版 II 斜带石斑鱼幼鱼在不同盐度下的鳃丝上皮细胞扫描电镜图(第15天)

1. 盐度5组; 2. 盐度10组; 3. 盐度20组; 4. 盐度30组(对照组); ↓: 鳃线粒体丰富细胞顶膜类型

Plate II Scanning electron micrographs of gill filaments in *E. coioides* at different salinities (the fifteenth day)

1. salinity 5; 2. salinity 10; 3. salinity 20; 4. salinity 30 (control group); ↓: apical openings of MRC

3 讨论

3.1 不同盐度对血清离子浓度与鳃MRCs渗透调节功能关系的影响

鳃MRCs上存在一个特殊的顶膜结构,当外界渗透压发生变化时,鳃MRCs主要通过它与外界环境进行离子和水分交换,从而发挥其渗透调节功能^[9]。该实验中,斜带石斑鱼幼鱼鳃MRCs的顶膜结构在不同盐度下呈现3种不同的类型,这与Choi等^[10]对莫桑比克罗非鱼(*Oreochromis massambicus*)以及Seo等^[11]对日本鳗鲡(*Aguilla janonicus*)的研究相一致。在盐度降低的情况下,鳃MRCs通过改变顶膜结构,使顶隐窝消失,来降低鳃上皮 Na^+ 和 Cl^- 排出量,从水中吸收 Na^+ 和 Cl^- 。支兵杰^[12]对大麻哈鱼(*Oncorhynchus keta*)的研究显示, Na^+ 、 Cl^- 的变化相一致,都随着盐度的升高而升高,而 K^+ 浓度则在盐度0组显

著高于其他4个盐度组(盐度5、10、15和20)($P < 0.05$);曾霖等^[13]研究了大菱鲂(*Scophthalmus maximus*)幼鱼在盐度12、24、30和36时 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 的变化规律,结果显示 Na^+ 浓度随盐度的升高而升高,而 K^+ 浓度差异不显著($P > 0.05$)。本研究中,将斜带石斑鱼幼鱼转移至盐度5、10、20、30的水体中,结果显示, Na^+ 和 Cl^- 浓度随盐度的升高而显著升高($P < 0.05$),而 K^+ 浓度无显著变化($P > 0.05$),与上述研究结果相似。但一般认为在渗透调节过程中, Na^+ 、 Cl^- 浓度升高, K^+ 浓度会下降,而本实验中盐度上升对 K^+ 没有显著影响($P > 0.05$),说明在此盐度范围内细胞膜的完整性没有遭到破坏,仍然具有主动调节渗透压的能力。Handeland等^[14]对大西洋鲑(*Salmo salar*)和潘鲁青等^[15]对褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)的研究结果认为,鱼类对盐度的适应过程可以分为两个阶段,一是盐度急剧变化的短时间内,鱼

类被动的渗透调节适应阶段,二是向变化前状态的主动恢复阶段,本研究中3种离子随时间都无显著变化,可能因为在取样时间点,斜带石斑鱼幼鱼经过主动调节已经适应低盐环境,血清离子逐渐下降并趋于平衡,相应地血清渗透压也得到了调节,维持了鱼体内外的渗透平衡。

3.2 不同盐度对血清COR水平与鳃MRCs渗透调节功能关系的影响

广盐性硬骨鱼类由海水转移至淡水时,其高渗调节机制受到抑制,低渗调节机制被激活^[16],停止饮水,增加尿量,从水中吸收Na⁺、K⁺、Cl⁻等离子,同时降低鳃上氯化钠的排出量,从而维持自身的渗透平衡^[17],而这些过程都是由各种激素介导的,皮质醇在其中发挥了重要作用^[2, 13, 18]。

COR是许多鱼类适应海水环境的重要调节激素,可增强盐度耐受性,保持渗透压平衡,一般来说,广盐性鱼类从淡水进入海水后体内的皮质醇含量一般会升高,这有助于促进氯细胞增殖^[12, 19-20]。董燕等^[21]将施氏鲟(*Acipenser schrenckii*)从淡水转移至盐度15和25的海水中后,发现高渗环境可使皮质醇浓度显著升高。在大菱鲆中,COR对其鳃中存在的两种盐依赖性钠-钾ATP酶(NKA)亚基:淡水中丰富型和海水中丰富型,都具有正调节作用^[13]。本实验中盐度5和10组幼鱼血清COR水平显著高于盐度20和对照组,这与在大菱鲆中的研究结果类似,表明COR对斜带石斑鱼幼鱼可能具有双重渗透压调节功能。鱼类受到盐度胁迫时,其下丘脑—垂体—肾上腺皮质轴也会迅速做出反应,促进促肾上腺皮质激素的释放,导致头肾细胞皮质醇激素的合成与释放^[22]。低盐胁迫中,盐度5和10组幼鱼处于高度应激状态,因此血清中COR水平较高。另一方面,随盐度升高COR水平显著下降($P<0.05$),同时,MRCs的胞径则逐渐增大($P<0.05$),表明血清COR变化与MRCs结构改变两者之间存在一定程度的关联。

3.3 不同盐度对鳃MRCs显微结构的影响

盐度会改变鱼体表面对离子和水分的渗透性,鳃占据了鱼体表面很大一部分,在鱼类的渗透调节中起着重要作用^[23]。鳃丝和鳃小片上的复层上皮是连接鳃与周围环境的场所,其上主要有扁平上皮细胞(PVCs)、鳃MRCs、黏液细胞。PVCs占据着鳃上皮的90%,是鱼类与周围环

境进行气体交换的主要场所,并在淡水鱼中起着吸收Cl⁻的作用;而鳃MRCs虽然大约只占8%的比例,却在鳃的渗透调节中起着至关重要的作用^[24-26]。无论是海水鱼还是淡水鱼,鳃丝上都有MRCs的存在,但由于它们生活环境的不同,其数量和结构存在较大的差异。海水鱼MRCs发达、体积大、数量多,周围有辅助细胞存在;淡水鱼MRCs数量少,没有辅助细胞,线粒体数量较少,管系不甚发达^[17, 28-29]。在本研究中,实验组和对照组斜带石斑鱼幼鱼鳃MRCs分布均无明显变化,主要分布于鳃丝和鳃小片基部,但随着盐度的下降,鳃MRCs体积减小,数量减少,这与对遮目鱼(*Chanos chanos*)^[4]、卵形鲳鲹(*Trachinotus ovatus*)^[5]、鲮(*Mugil cephalus*)^[29]、鲈(*Lateolabrax japonicus*)^[30]的研究结果相似。本研究结果显示从高盐度向低盐度驯化过程中,斜带石斑鱼幼鱼鳃MRCs发生适应性改变,表明鳃MRCs在其渗透调节中发挥重要作用。

参考文献:

- [1] 康自强,邓超准,于慧娟,等.盐度对鱼类的影响[J].福建水产,2013,35(5):395-401.
Kang Z Q, Deng C Z, Yu H J, et al. Study advances in the effect of salinity change on fish[J]. Journal of Fujian Fisheries, 2013, 35(5): 395-401(in Chinese).
- [2] 魏渲辉,汝少国,徐路,等.海水和淡水适应过程中广盐性鱼类鳃氯细胞的形态与功能变化及其激素调节[J].海洋科学,2001,25(4):16-20.
Wei X H, Ru S G, Xu L, et al. Structural and functional changes of euryhaline fish branchial chloride cell and hormonal regulation during seawater and freshwater adaptation[J]. Marine Science, 2001, 25(4): 16-20(in Chinese).
- [3] 林先智,区又君,李加儿,等.淡水驯化养殖条件下遮目鱼幼鱼的成活、生长及鳃器官的变化[J].南方水产科学,2015,11(3):53-58.
Lin X Z, Ou Y J, Li J E, et al. Survival, growth and changes of gills of juvenile *Chanos chanos* under freshwater acclimation[J]. South China Fisheries Science, 2015, 11(3): 53-58(in Chinese).
- [4] 区又君,林先智,李加儿,等.遮目鱼幼鱼鳃线粒体丰富细胞的形态结构及其在不同盐度下的变化[J].中国细胞生物学学报,2014,36(12):1622-1629.
Ou Y J, Lin X Z, Li J E, et al. The morphological

- structure of mitochondrion-rich cells in the gills of juveniles of the milkfish (*Chanos chanos*) and its changes in various salinities[J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2014, 36(12): 1622-1629(in Chinese).
- [5] 区又君, 刘汝建, 李加儿, 等. 不同盐度下人工选育卵形鲳鲹(*Trachinotus ovatus*)子代鳃线粒体丰富细胞结构变化[J]. 动物学研究, 2013, 34(4): 411-416.
- Ou Y J, Liu R J, Li J E, *et al.* Structural changes in mitochondrion-rich cells in the gills of artificial selected *Trachinotus ovatus* offspring under different salinities[J]. Zoological Research, 2013, 34(4): 411-416(in Chinese).
- [6] 麦贤杰, 黄伟健, 叶富良, 等. 海水鱼类繁殖生物学和人工繁育[M]. 北京: 海洋出版社, 2005: 166-167.
- Mai X J, Huang W J, Ye F L, *et al.* Reproductive biology and artificial propagation of marine fishes[M]. Beijing: China Ocean Press, 2005: 166-167 (in Chinese).
- [7] 王素久, 张海发, 赵俊, 等. 不同盐度对斜带石斑鱼幼鱼生长和生理的影响[J]. 广东海洋大学学报, 2011, 31(6): 39-44.
- Wang S J, Zhang H F, Zhao J, *et al.* Effects of different salinities on growth and physiology of orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*[J]. Journal of Guangdong Ocean University, 2011, 31(6): 39-44(in Chinese).
- [8] 余德光, 杨宇晴, 王海英, 等. 盐度变化对斜带石斑鱼生理生化因子的影响[J]. 水产学报, 2011, 35(5): 719-728.
- Yu D G, Yang Y Q, Wang H Y, *et al.* The effect of salinity change on physiology and biochemistry of *Epinephelus coioides*[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(5): 719-728(in Chinese).
- [9] Laurent P. Gill internal morphology[J]. Fish Physiology, 1984, 10: 73-183.
- [10] Choi J H, Lee K M, Inokuchi M, *et al.* Morphofunctional modifications in gill mitochondria-rich cells of Mozambique tilapia transferred from freshwater to 70% seawater, detected by dual observations of whole-mount immunocytochemistry and scanning electron microscopy[J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2011, 158(1): 132-142.
- [11] Seo M Y, Mekuchi M. Expression of ion transporters in gill mitochondrion-rich cells in Japanese eel acclimated to a wide range of environmental salinity[J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2013, 166(2): 323-332.
- [12] 支兵杰. 盐度对大麻哈鱼(*Oncorhynchus keta* Walbaum)幼鱼生理生化及组织学的影响[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2009.
- Zhi B J. Effects of salinity on physiology, biochemistry and histology of young chum salmon (*Oncorhynchus keta* Walbaum)[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2009 (in Chinese).
- [13] 曾霖, 雷霖霖, 刘滨, 等. 盐度对大菱鲆幼鱼鳃 Na^+ - K^+ -ATPase活力、血清离子浓度和激素水平的影响[J]. 动物学杂志, 2014, 49(3): 407-414.
- Zeng L, Lei J L, Liu B, *et al.* Effects of salinity on Na^+ - K^+ -ATPase activity in gills, and concentrations of ions and hormones in serum of juvenile Turbot (*Scophthalmus maximus*)[J]. Chinese Journal of Zoology, 2014, 49(3): 407-414(in Chinese).
- [14] Handeland S O, Björnsson B T, Arnesen A M, *et al.* Seawater adaptation and growth of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) of wild and farmed strains[J]. Aquaculture, 2003, 220(1-4): 367-384.
- [15] 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.
- Pan L Q, Tang X M, Liu H Y, *et al.* Effects of salinity on plasma osmolality and gill Na^+ - K^+ -ATPase activity of juvenile Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2006, 37(1): 1-6(in Chinese).
- [16] 林浩然. 鱼类生理学. 广州: 中山大学出版社, 2011: 205-221.
- Lin H R. Fish Physiology[M]. Guangzhou: Sun Yat-Sen University Press, 2011: 205-221 (in Chinese).
- [17] 朱壮春, 朱海波, 赵守城. 鱼鳃上氯细胞的结构与功能[J]. 河北渔业, 2002(5): 12, 33.
- Zhu Z C, Zhu H B, Zhao S C. Structure and function of chloride cell in fish gill[J]. Hebei Fisheries, 2002(5): 12, 33(in Chinese).
- [18] 胡俊恒, 班红琴. 盐度对鱼类的影响及鱼类的渗透压调节机制[J]. 河北渔业, 2010(8): 41-43, 50.
- Hu J H, Ban H Q. Effect of salinity change on fish and the osmoregulation mechanism of fishes[J]. Hebei Fisheries, 2010(8): 41-43, 50(in Chinese).
- [19] McCormick S D. Endocrine control of osmoregulation in

- teleost fish[J]. *American Zoologist*, 2001, 41(4): 781-794.
- [20] 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[J]. *水产科学*, 2012, 31(1): 55-59.
- Ma H, Liu S F, Ma Q, *et al.* Endocrine hormone adjustment mechanism of osmotic pressure in teleost[J]. *Fisheries Science*, 2012, 31(1): 55-59(in Chinese).
- [21] 童燕, 陈立侨, 庄平, 等. 急性盐度胁迫对施氏鲟的皮质醇、代谢反应及渗透调节的影响[J]. *水产学报*, 2007, 31(S1): 39-44.
- Tong Y, Chen L Q, Zhuang P, *et al.* Cortisol, metabolism response and osmoregulation of juvenile *Acipenser schrenckii* to ambient salinity stress[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2007, 31(S1): 39-44(in Chinese).
- [22] McCormick S D, Regish A, O'Dea M F, *et al.* Are we missing a mineralocorticoid in teleost fish? Effects of cortisol, deoxycorticosterone and aldosterone on osmoregulation, gill Na^+ , K^+ -ATPase activity and isoform mRNA levels in Atlantic salmon[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2008, 157(1): 35-40.
- [23] Furukawa F, Watanabe S, Kaneko T, *et al.* Changes in gene expression levels of somatolactin in the pituitary and morphology of gill mitochondria-rich cells in Mozambique tilapia after transfer to acidic freshwater (pH 3.5)[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2010, 166(3): 549-555.
- [24] Sinha A K, Matey V, Giblen T, *et al.* Gill remodeling in three freshwater teleosts in response to high environmental ammonia[J]. *Aquatic Toxicology*, 2014, 155: 166-180.
- [25] 李霞. 水产动物组织胚胎学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2006: 118-121.
- Li X. *Histology and embryology of aquatic animals*[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2006: 118-121 (in Chinese).
- [26] 区又君, 李加儿, 谢菁, 等. 鲮早期发育阶段鳃的超微结构及其呼吸表面积的研究[J]. *南方水产科学*, 2014, 10(4): 52-57.
- Ou Y J, Li J E, Xie J, *et al.* Study on gill ultrastructure and respiratory area in early developmental stages of grey mullet (*Mugil cephalus*)[J]. *South China Fisheries Science*, 2014, 10(4): 52-57(in Chinese).
- [27] 柳旭东, 张利民, 王际英, 等. 盐度对水产动物体组成与组织结构的影响[J]. *养殖与饲料*, 2008(9): 60-64.
- Liu X D, Zhang L M, Wang J Y, *et al.* Effects of salinity on aquatic animal body composition and organizational structure[J]. *Animals Breeding and Feed*, 2008(9): 60-64(in Chinese).
- [28] Bonga S E W. The stress response in fish[J]. *Physiological Reviews*, 1997, 77(3): 591-625.
- [29] 于娜, 李加儿, 区又君, 等. 不同盐度下鲮鱼幼鱼鳃和肾组织结构变化[J]. *生态科学*, 2012, 31(4): 424-428.
- Yu N, Li J E, Ou Y J, *et al.* Structural changes in gill and kidney of juvenile grey mullet under different salinity[J]. *Ecological Science*, 2012, 31(4): 424-428(in Chinese).
- [30] 王艳, 胡先成. 不同盐度下鲈鱼稚鱼鳃的显微结构观察[J]. *海洋科学*, 2009, 33(12): 138-142.
- Wang Y, Hu X C. Microscopical observation on the gill structure of juvenile *Lateolabrax japonicus* under different salinities[J]. *Marine Science*, 2009, 33(12): 138-142(in Chinese).

Effects of various salinities stress on the relationship between concentrations of ions, hormones in serum and gill mitochondrion-rich cells osmotic regulations of *Epinephelus coioides* juveniles

WANG Wen^{1,2}, OU Youjun^{1*}, WEN Jiufu¹, LI Jiaer¹, XIE Mujiao^{1,2}, CHEN Shixi^{1,2}

(1. Key Laboratory of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture, South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Guangzhou 510300, China;

2. College of Fisheries and Life, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: Effects of low salinity stress on the relationship between concentrations of ions, hormones in serum and gill mitochondrion-rich cells osmotic regulations of *Epinephelus coioides* juveniles were studied. *E. coioides* juveniles relayed in the seawater with salinity of 30 were directly transferred to water with salinities at 5, 10, 20, and 30, while those in seawater with salinity of 30 were taken as the control group. Na⁺, K⁺, Cl⁻ concentrations and cortisol (COR) in serum of *E. coioides* juveniles were investigated at 7 d and 15 d after transferring, and then the distributions and changes of the mitochondrion-rich cells (MRCs) in gills were studied. The results showed that Na⁺ and Cl⁻ concentrations in serum significantly increased with the rise of water salinity ($P < 0.05$), while there were no significant differences with K⁺ concentration at different salinities ($P > 0.05$). COR level in water with salinities 5 and 10 were significantly higher than that in water with salinity 20 and the control group ($P < 0.05$). The volume and quantity of MRCs were increased, and the volume of MRCs in water with salinity 20 and control group were significantly greater than that in water with salinities 5 and 10 ($P < 0.05$). There was a special apical membrane in gill MRCs. The apical surfaces of gill MRCs in water with salinities 5 and 10 were generally flat with dense microvilli-like projections. In contrast, the gill MRCs in water with salinity 20 control group exhibited deeply invaginated surfaces with smaller orifices without projections. In the light of this study, *E. coioides* juveniles can survive in water at salinities above 5, and the fresh water aquaculture of *E. coioides* is feasible.

Key words: *Epinephelus coioides*; salinity; serum ions; hormones; mitochondrion-rich cells

Corresponding author: OU Youjun. E-mail: ouyoujun@126.com

Funding projects: Science and Technology Planning Project of Guangdong Province (2015A020209041)