

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2013.01212

碳酸盐碱度对青海湖裸鲤幼鱼肝和肾 SOD、ACP 和 AKP 酶活性的影响

王卓^{1,2}, 么宗利¹, 林听听¹, 史建全³, 周凯¹, 王慧¹, 祁洪芳³, 来琦芳¹

1. 中国水产科学研究院 东海水产研究所, 中国水产科学研究院 盐碱地渔业工程技术中心, 上海 200090;

2. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306;

3. 青海湖裸鲤救护中心, 青海 西宁 810016

摘要: 青海湖裸鲤(*Gymnocypris przewalskii*, 以下简称裸鲤)为耐盐碱鱼类。自青海湖裸鲤救护中心取裸鲤幼鱼, 全长(4.42±0.02) cm, 体质量(0.84±0.01) g。碳酸盐碱度暴露浓度设定为 32 mmol/L(C_A32)和 64 mmol/L(C_A64), 通过测定青海湖裸鲤幼鱼肝和肾中超氧化物歧化酶(SOD)、酸性磷酸酶(ACP)和碱性磷酸酶(AKP)酶活性变化规律, 探索裸鲤幼鱼肝和肾中 SOD、ACP 和 AKP 对碳酸盐碱度胁迫的生理响应。在本试验范围内, 裸鲤在高碱环境中显示出较强的适应调节能力, 在碳酸盐碱度胁迫下, SOD、ACP 和 AKP 酶活性均能在发生显著变化后快速恢复到初始水平, 但 3 种酶显示出不同的变化规律: (1)肝 SOD 在 C_A32 和 C_A64 胁迫 3 d、肾 SOD 在 C_A32 胁迫 4 d、C_A64 胁迫 3 d 时, 酶活性均显著升高。(2)肝和肾 ACP 活性出现不同的变化趋势, 肝 ACP 活性仅在 C_A64 胁迫组 4 d 出现显著上升, 而肾 ACP 活性在 C_A32 胁迫 0.5 d、7 d 和 C_A64 胁迫 1 d 时分别出现了显著性波动。(3)肝 AKP 在 C_A32 胁迫 1 d、C_A64 胁迫 3 d 时, 酶活性显著升高, 而肾 AKP 仅在 C_A32 胁迫 0.5 d 时, 酶活性显著升高。在碳酸盐碱度胁迫下, 3 种酶活性均能发生显著变化, 说明青海湖裸鲤幼鱼通过抗氧化及去磷酸化应激调节, 来更好地应对高碱环境。

关键词: 青海湖裸鲤; 碳酸盐碱度; SOD; ACP; AKP; 青海湖

中图分类号: S965

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2013)06-1212-07

青海湖裸鲤(*Gymnocypris przewalskii*)俗称湟鱼, 属鲤形目(Cypriniformes), 鲤科(Cyprinidae), 裂腹鱼亚科(Schizothoracinae), 裸鲤属(*Gymnocypris*), 是青海湖中重要的经济鱼类, 处于青海湖整个生态系统的核心地位。近年来, 由于自然和人为的因素, 青海湖裸鲤资源急剧下降, 正面临衰竭的危险, 已被列为国家二级保护濒危物种^[1]。青海湖裸鲤生存在盐度 15, 碳酸盐碱度 32 mmol/L 的青海湖中, 面临着诸多环境胁迫, 碳酸盐碱度胁迫就是其中主要胁迫因素之一^[2]。关于碳酸盐碱度

对水生动物的研究比较少, 主要集中对鲤鱼(*Cyprinus carpio*)、鲢鱼(*Hypophthalmichthys molitrix*)^[3]、大银鱼(*Protosclanax hyalocranius* Abbott)^[4]、中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)^[5]和凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)^[6]存活和青鳉(*Oryzias latipes*)繁殖发育的影响^[7]。

应激因子是指能够引起机体发生疾病或死亡的生理反应的物理或化学因子^[8], 鱼类生存环境改变可以引起鱼类应激反应, 进而引起机体生理反应^[9]。鱼类应对环境胁迫会产生各种生理响应,

收稿日期: 2013-03-08; 修订日期: 2013-04-22.

基金项目: 公益性行业(农业)科研专项(200903001-05-02); 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项(中国水产科学研究院东海水产研究所)(2012M05).

作者简介: 王卓(1987-), 男, 硕士研究生, 主要从事分子生物学和盐碱地水产养殖研究. E-mail: wangzhuoibs@yahoo.cn

通信作者: 来琦芳, 研究员, 从事盐碱地渔业开发研究. Tel: 021-65684655; E-mail: qifanglai@163.com

产生多种代谢产物, 代谢产物的积聚会对鱼体产生毒害作用, 肝和肾分别作为主要的解毒和排泄器官^[10], 在清除鱼类体内有害代谢产物过程中起到重要作用。超氧化物歧化酶(SOD)作为一种重要的抗氧化酶, 能够清除机体超氧阴离子自由基(O₂⁻), 是鱼类应对环境胁迫分子标记之一^[11], 在促进免疫细胞防御能力等方面发挥重要作用^[11-13]。酸性磷酸酶(ACP)和碱性磷酸酶(AKP)是溶酶体标志性酶, 催化磷酸单酯水解成乙醇和磷酸^[14]。因此三种酶活性变化趋势可以间接的反映体内生理动态变化及组织损伤情况^[15-16]。

近年来对青海湖裸鲤的研究主要集中在营养消化组织中蛋白酶活性^[17]、人工繁殖技术^[18-19]、分子系统发育^[20-22]、以及盐碱胁迫下青海湖裸鲤耗氧率、血浆渗透浓度等生理响应^[23]和基因表达差异等方面的研究^[24]。本研究从生化角度研究碳酸盐碱度胁迫下, 青海湖裸鲤幼鱼肝和肾中SOD、ACP和AKP酶活性变化趋势, 为探索青海湖裸鲤盐碱胁迫响应机制提供理论依据, 对青海湖裸鲤资源保护措施的制定具有指

导意义。

1 材料与方法

1.1 材料

试验所用的青海湖裸鲤(下简称裸鲤)幼鱼由青海湖裸鲤救护中心提供, 试验前暂养 2 周, 暂养用水为过滤自来水(开能 AC/KDF150-1-300), pH (7.63±0.04), 温度(17.0±0.5)°C, 溶氧(9.14±0.03) mg/L, 暂养期间投喂山东升索配合饲料。暂养后挑选体色正常、活力强的裸鲤用于试验, 试验鱼全长(4.42±0.02)cm, 体质量(0.84±0.01)g。试验中取鱼的肝和肾, 用于酶活性的测定。

1.2 试验方法

1.2.1 试验设计 鉴于青海湖碳酸盐碱度为 32 mmol/L, 并参照碳酸盐碱度急性毒性试验结果, 裸鲤能在碳酸盐碱度 64 mmol/L 的水环境中 96 h 100% 存活, 本试验设置碳酸盐碱度为 32 mmol/L (C_A32)和 64 mmol/L (C_A64)两个试验组, 以与青海湖裸鲤救护中心养殖池塘水质碳酸盐碱度基本一致的过滤自来水作为对照组(表 1)。试验水体 150 L, 每组设置 3 个重复, 每个重复 120 尾鱼。试验周期 9 d。

表 1 碳酸盐碱度设置

Tab. 1 Designed and measured concentrations of carbonate alkalinity

碱度项目 alkalinity item	分组 group		
	对照组 control	C _A 32	C _A 64
碱度预设值 designed carbonate alkalinity	0	32	64
碱度实测值 measured carbonate alkalinity (n=3; $\bar{x} \pm SD$)	1.51±0.03	31.58±0.41	63.53±0.48

1.2.2 试验用水 试验用水为过滤自来水加入相应量的 Na₂CO₃(AR)和 NaHCO₃(AR)配制而成, 全部溶解稳定 24 h 后使用。为了保证试验水质中碱度和 pH 的稳定, 试验期间每天换水 90%, 水温 (17.0±0.5)°C。

1.2.3 样品采集 分别在 0、0.25、0.5、1、2、3、4、5、7 和 9 d 从试验组和对照组分别随机抽取 9 尾鱼, 在冰盒上迅速分离肝和肾组织, 装入带有标记的 2 mL 冻存管, 液氮中速冻, 转入-80°C 冰箱中以备测定。

1.2.4 酶液制备与活性测定 以 3 尾为一组, 分别将肝或肾等质量混合、放入一个 1.5 mL 离心管中, 称重, 按质量体积比 1 : 9(g : mL)加入预冷的匀浆介质(Tris-HCl 0.01 mol/L, EDTA-Na₂ 0.1 mmol/L, 蔗糖 0.01 mol/L, NaCl 0.8%, pH 7.4)中, 冰浴匀浆, 4°C 条件下离心(4 000 r/min, 15 min), 吸取上清用于组织蛋白含量、SOD、ACP 和 AKP 活力的测定。

总蛋白含量、SOD、ACP 和 AKP 活力的测定, 均采用南京建成生物公司试剂盒进行测定, 其中

蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝法。

1.2.5 酶活力单位定义 SOD 活力单位定义: 每 mg 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 1 个 SOD 活力单位 (U·mg⁻¹prot)。

ACP 活力单位定义: 每 g 组织蛋白在 37℃与 基质作用 30 min 产生 1 mg 酚为 1 个 ACP 活力单位(U·g⁻¹prot)。

AKP 活力单位定义: 每 g 组织蛋白在 37℃与 基质作用 15 min 产生 1 mg 酚为 1 个 AKP 活力单位(U·g⁻¹prot)。

1.2.6 数据分析 试验数据为 3 个重复样本数据的平均值 ± 标准差($\bar{x} \pm SD$)。数据处理使用 SPSS 13.0 统计软件, 试验结果用方差分析(one-way ANOVA)进行显著性检测, 如果方差分析差异显著, 则再用 Duncan 进行多重比较, 显著水平 *P* 为 0.05。

2 结果与分析

2.1 碳酸盐碱度对青海湖裸鲤幼鱼肝和肾 SOD 活力的影响

如图 1 和 2 所示, 青海湖裸鲤幼鱼在受到碳酸盐碱度胁迫后, 肝和肾 SOD 活力仅在第 3 天和第 4 天出现显著性升高, 其他时间点均未出现显著性差异。

C_A32 试验组肝 SOD 活力在胁迫第 3 天出现

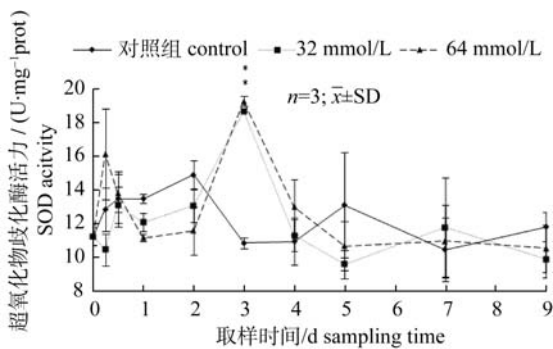


图 1 碳酸盐碱度对青海湖裸鲤幼鱼肝 SOD 活力的影响 “*”表示酶活性与对照组具有显著差异(*P*<0.05)。

Fig. 1 Effect of carbonate alkalinities on SOD activity in liver of the juvenile *Gymnocypris przewalskii*

“*” indicates significant difference compared with control (*P*<0.05).

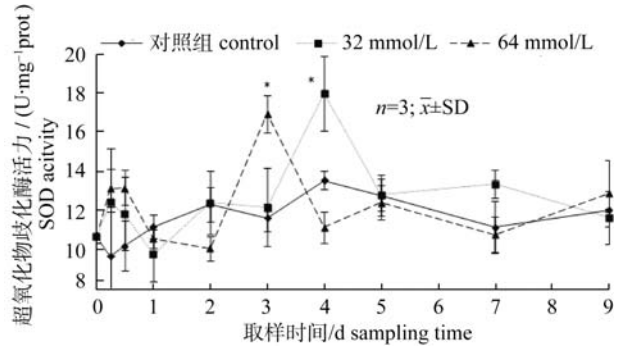


图 2 碳酸盐碱度对青海湖裸鲤幼鱼肾 SOD 活力的影响 “*”表示酶活性与对照组具有显著差异(*P*<0.05)。

Fig. 2 Effect of carbonate alkalinities on SOD activity in kidney of the juvenile *Gymnocypris przewalskii*

“*” indicates significant difference compared with control (*P*<0.05).

显著性升高(*P*<0.05), 酶活力达到(18.71±0.01) U·mg⁻¹prot; 肾 SOD 活力在胁迫第 4 天出现显著性升高, 酶活力达到(17.98±1.93) U·mg⁻¹prot。

C_A64 试验组肝和肾 SOD 活力均都在第 3 天出现显著升高(*P*<0.05), 酶活力分别为(19.31±0.29) U·mgprot⁻¹和(16.94±0.95) U·mg⁻¹prot。

2.2 碳酸盐碱度对青海湖裸鲤幼鱼肝和肾 ACP 活力的影响

如图 3 和图 4 所示, 青海湖裸鲤幼鱼在受到碳酸盐碱度胁迫后, 肝和肾 ACP 活力出现不同的变化趋势, 肾 ACP 活性分别在第 0.5 天和第 1 天以及第 7 天分别出现了显著性波动, 而肝 ACP 活力仅在 C_A64 胁迫第 1 天出现显著上升。

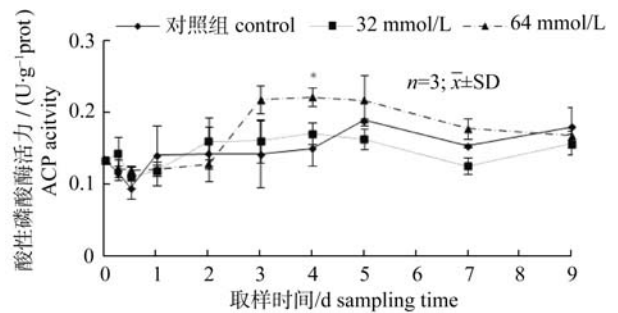


图 3 碳酸盐碱度对青海湖裸鲤幼鱼肝 ACP 活力的影响 “*”表示酶活性与对照组具有显著差异(*P*<0.05)。

Fig. 3 Effect of carbonate alkalinities on ACP activity in liver of the juvenile *Gymnocypris przewalskii*

“*” indicates significant difference compared with control (*P*<0.05).

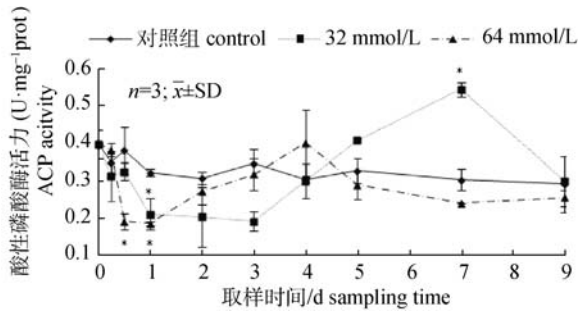


图 4 碳酸盐碱度对青海湖裸鲤幼鱼肾 ACP 活力的影响

“*”表示酶活力与对照组具有显著差异(P<0.05).

Fig. 4 Effect of carbonate alkalinities on ACP activity in kidney of the juvenile *Gymnocypris przewalskii*

“*” indicates significant difference compared with control (P<0.05).

C_A32 试验组肾 ACP 活力在胁迫第 1 天出现显著下降(P<0.05), 酶活力为(0.21±0.04) U·g⁻¹prot; 在胁迫第 7 天酶活性出现显著升高(P<0.05), 酶活力为(0.55±0.02) U·g⁻¹prot, 肝 ACP 活力在实验期间均没有显著变化。

C_A64 试验组, 肝 ACP 活力在胁迫第 4 天出现显著升高, 胁迫 0.5 d 后, 肾 ACP 活力开始出现显著性下降(P<0.05), 到胁迫 1 d 时 ACP 活力降至最低, 酶活力仅为(0.19±0.01) U·g⁻¹prot, 胁迫 2 d 后恢复到正常水平。

2.3 碳酸盐碱度对青海湖裸鲤幼鱼肝和肾 AKP 活力的影响

如图 5 和图 6 所示, 青海湖裸鲤幼鱼在受到碳酸盐碱度胁迫后, 肾 AKP 活力变化早于肝, 在第 0.5 天即出现了显著性升高, 肝则先后在第 1 天和第 3 天出现显著性升高, 之后均未出现显著性差异。

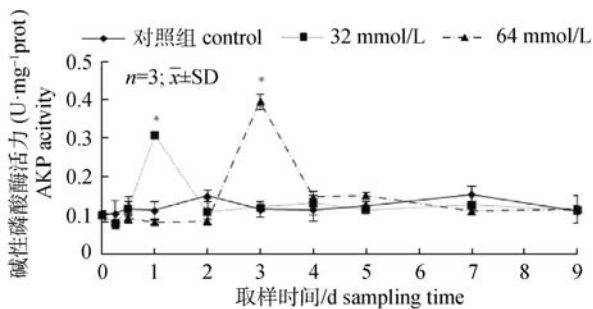


图 5 碳酸盐碱度对青海湖裸鲤幼鱼肝 AKP 活力的影响

“*”表示酶活力与对照组具有显著差异(P<0.05).

Fig. 5 Effect of carbonate alkalinities on AKP activity in liver of the juvenile *Gymnocypris przewalskii*

“*” indicates significant difference compared with control (P<0.05)

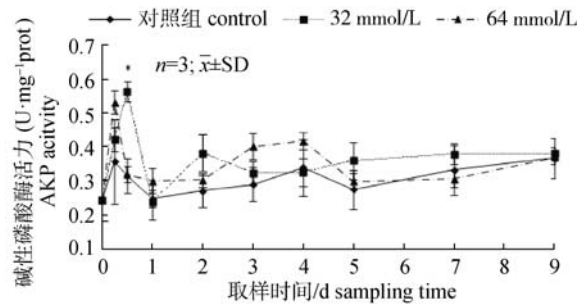


图 6 碳酸盐碱度对青海湖裸鲤幼鱼肾 AKP 活性的影响

“*”表示酶活性与对照组具有显著差异(P<0.05).

Fig. 6 Effect of carbonate alkalinities on AKP activity in kidney of the juvenile *Gymnocypris przewalskii*

“*” indicates significant difference compared with control (P<0.05).

C_A32 试验组, 肝 AKP 活力在胁迫第 1 天出现显著升高(P<0.05), 酶活力为(0.31±0.01) U·g⁻¹prot, 肾 AKP 活力在胁迫 0.5 d 酶活性显著升高(P<0.05), 酶活力达到(0.56±0.03) U·g⁻¹prot。

C_A64 试验组, 肝 AKP 活力在胁迫第 3 天出现显著升高(P<0.05), 酶活力为(0.40±0.02) U·g⁻¹prot; 肾 AKP 活力在试验期间与对照组没有显著性差异(P>0.05)。

3 讨论

3.1 青海湖裸鲤幼鱼 SOD、ACP 和 AKP 酶活力对碳酸盐碱度胁迫的应答反应

大多数环境胁迫因子会引起鱼类机体应激反应, 这些应激反应最先从组织中发生, 以应对或补偿应激因子的改变, 导致组织中内环境改变, 不同的胁迫因子会引起不同鱼类产生不同的应激响应^[25]。在本试验范围内, 青海湖裸鲤幼鱼肝和肾中 SOD、ACP 和 AKP 3 种酶活性基本在碳酸盐碱度胁迫后 4 d 之内出现显著变化后很快恢复到初始水平, 并趋于稳定。显示碳酸盐碱度胁迫下, 青海湖裸鲤幼鱼通过抗氧化和去磷酸化应激反应, 来更好地应对环境变化。

环境胁迫会引起鱼类体内活性氧的积累, 对鱼类机体健康造成威胁^[26], SOD 是一种重要的抗氧化酶, 能够清除机体超氧阴离子自由基(O₂⁻), 在防御机体衰老和 DNA 损失, 以及保护细胞死亡等方面发挥重要作用^[11,27]。当裸鲤受到碱度胁迫

迫时,体内的活性氧积聚,裸鲤组织中 SOD 酶活性应激性升高,协助体内活性氧的清除,从而避免高碱胁迫造成的机体损伤。这与庄平等^[28]、孙鹏等^[29]的研究结果相似:点蓝子鱼(*Siganus guttatus*)在盐度骤降 3 h SOD 活性显著升高,6 h 时酶活性恢复对照组水平;条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*)幼鱼在盐度为 38 的高盐环境中 1 d,肝 SOD 活性显著升高,2 d 后恢复对照组水平。SOD 酶活性变化趋势可以反映水生生物防御系统应对环境变化能力^[30]。本试验结果表明,碳酸盐碱度胁迫下,青海湖裸鲤幼鱼组织中 SOD 酶活性应激性升高,然后恢复初始水平,有利于机体活性氧的清除。

ACP 和 AKP 是衡量机体免疫机能和健康状况的重要指标^[31],水生生物机体部分新陈代谢由物质的磷酸化和去磷酸化调节的,这些过程的完成主要依靠不同磷酸酶催化完成^[32],ACP 和 AKP 参与磷酸基团的转移和代谢^[33],将代谢产物水解成磷酸和乙醇^[14],然后将水解生成的小分子物质排出体外。碳酸盐碱度胁迫下,裸鲤幼鱼通过去磷酸化应激反应,来适应环境的变化。这与文昌鱼(*Branchiostoma lanceolatum*)^[34]、中国明对虾(*F. chinensis*)^[35]、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)^[36]和鲫鱼(*Carassius cuvieri*)^[37]受到胁迫后变化趋势相似。试验结果表明,碳酸盐碱度胁迫下,裸鲤幼鱼肝中磷酸酶活性应激性升高,然后恢复初始水平,青海湖裸鲤幼鱼通过去磷酸化应激反应,来应对环境的变化。

另外,有研究发现 AKP 催化的去磷酸化反应可以明显提高地松鼠(*Spermophilus lateralis*)骨骼肌中 Na^+/K^+ ATP 活性^[38],AKP 能够通过介导多聚胺转移来调节蓝蟹(*Callinectes sapidus*) Na^+/K^+ ATP 活性,进而在蓝蟹渗透调节过程中发挥作用^[39]。本试验中碳酸盐碱度胁迫下,青海湖裸鲤幼鱼肾中 AKP 酶活力应激性升高,推测 AKP 催化的去磷酸化反应不仅参与代谢产物的降解,亦有可能通过调节 Na^+/K^+ ATP 活性,以此来协助进行渗透调节。该推测有待于今后进一步研究。

3.2 碱度胁迫下裸鲤幼鱼肝和肾的生理响应差异

本试验范围内,在碳酸盐碱度胁迫下肾酶活性响应速度快于肝,笔者认为主要与肾和肝生理功能的不同有关。推测作为主要排泄器官,当裸鲤受到高碱胁迫时,新陈代谢有害产物首先通过肾 ACP 和 AKP 的催化反应,水解成小分子物质排出体内;当排泄速度低于产生速度,有害产物产生积累时,则激活解毒器官肝的 ACP 和 AKP 活性,发挥其水解作用,降低代谢废物的积累量,避免机体受到损伤,这一推论有待进一步研究论证。

参考文献:

- [1] 史建全. 青海湖裸鲤研究现状与资源保护对策[J]. 青海科技, 2008 (5): 13-16.
- [2] 史建全, 祁洪芳. 青海湖裸鲤资源增殖放流概述[J]. 中国渔业经济, 2009(5): 80-84.
- [3] 雷衍之, 董双林, 沈成钢. 碳酸盐碱度对鱼类毒性作用的研究[J]. 水产学报, 1985(2): 171-183.
- [4] 房文红, 王慧, 来琦芳, 等. K^+ 、 SO_4^{2-} 和碳酸盐碱度对大银鱼仔鱼存活的影响[J]. 海洋渔业, 1999(2): 66-68.
- [5] 房文红, 王慧, 来琦芳. 碳酸盐碱度、pH 对中国对虾幼虾的致毒效应[J]. 中国水产科学, 2001, 7(4):78-81.
- [6] 么宗利, 王慧, 周凯, 等. 碳酸盐碱度和 pH 对凡纳滨对虾仔虾存活率的影响[J]. 生态学杂志, 2010, 29(5): 945-950.
- [7] Yao Z L, Lai Q F, Zhou K, et al. Developmental biology of medaka fish (*Oryzias latipes*) exposed to alkalinity stress[J]. J Appl Ichthyol, 2010, 26(3): 397-402.
- [8] Rottmann R W, Francis-Floyd R, Durborow R. The role of stress in fish disease[M]. Mississippi: Southern Regional Aquaculture Center,1992: 474.
- [9] Montero D, Tort L, Robaina L, et al. Low vitamin E in diet reduces stress resistance of gilthead seabream (*Sparus aurata*) juveniles[J]. Fish Shellfish Immunol, 2001, 11(6): 473-490.
- [10] 林浩然. 鱼类生理学[M]. 广州: 中山大学出版社, 2011.
- [11] Vutukuru S S, Chintada S, Madhavi K R, et al. Acute effects of copper on superoxide dismutase, catalase and lipid peroxidation in the freshwater teleost fish, *Esomus danricus*[J]. Fish Physiol Biochem, 2006, 32: 221-229.
- [12] 姚翠鸾, 王维娜, 王安利. 水生动物体内超氧化物歧化酶的研究进展[J]. 海洋科学, 2003, 27(10): 18-21.
- [13] 牟海津, 江晓路, 刘树清, 等. 免疫多糖对栉孔扇贝酸性磷酸酶、碱性磷酸酶和超氧化物歧化酶活性的影响[J]. 青岛海洋大学学报, 1999, 29(3): 463-468.
- [14] Ásgerisson B, Hartemink R, Chlebowski J F. Alkaline phosphatase from Atlantic cod (*Gadus morhua*) kinetic and

- structural properties which indicate adaptation to low temperatures[J]. *Comp Biochem Physiol*, 1995, B(110): 315-329.
- [15] Trenzado C, Hidalgo C M, García-Gallego M, et al. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in sturgeon *Acipenser naccarii* and trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study[J]. *Aquaculture*, 2006, 254:758-767.
- [16] 张龙岗, 安丽, 孙栋, 等. 盐度对澳洲宝石鲈幼鱼 3 个免疫因子活性的影响[J]. *水生态学杂志*, 2011, 32(6): 110-114.
- [17] 张雁平, 李晓卉. 青海湖裸鲤胰脏和肠道蛋白酶活性的研究[J]. *中国水产*, 2007 (7): 78-79.
- [18] 史建全, 祁洪芳, 杨建新, 等. 青海湖裸鲤繁殖生物学研究[J]. *青海科技*, 2000, 7(2): 12-15.
- [19] 张信, 熊飞, 唐红玉, 等. 青海湖裸鲤繁殖生物学研究[J]. *海洋水产研究*, 2005, 26(3): 61-67.
- [20] 赵凯, 李俊兵, 杨公社, 等. 青海湖及其相邻水系特有裸鲤属鱼类的分子系统发育[J]. *科学通讯*, 2005, 50(13): 1348-1355.
- [21] 赵凯, 何舜平, 彭作刚, 等. 青海湖裸鲤的种群结构和线粒体 DNA 变异[J]. *青海大学学报*, 2006, 24(4): 1-9.
- [22] 赵凯, 段子渊, 杨公社, 等. 青海湖裸鲤的起源和花斑裸鲤的种群演化[J]. *自然科学进展*, 2007, 17(3): 320-328.
- [23] 刘济源, 么宗利, 来琦芳, 等. 盐碱胁迫对青海湖裸鲤耗氧率、血浆渗透浓度和离子浓度的影响[J]. *生态学杂志*, 2012, 31(3): 664-669.
- [24] 郭雯翥, 么宗利, 来琦芳, 等. 盐碱胁迫下青海湖裸鲤鳃基因表达差异[J]. *海洋渔业*, 2012, 34(2): 137-144.
- [25] Schreck C B, Contreras-Sanchez W, Fitzpatrick M S. Effects of stress on fish reproduction, gamete quality, and progeny[J]. *Aquaculture*. 2001, 197(1): 3-24.
- [26] Volodymyr I L, Tetyana V B. Hypoxia induces oxidative stress in tissues of a goby, the rotan *Percottus glenii*[J]. *Comp Biochem Physiol*, 2007, B(148): 390-397.
- [27] 姚翠鸾, 王维娜, 王安利. 2003. 水生动物体内超氧化物歧化酶的研究进展[J]. *海洋科学*, 10(27): 18-21.
- [28] 庄平, 王妤, 章龙珍, 等. 盐度骤降对点篮子鱼存活率及肝抗氧化酶活性的影响[J]. *复旦学报: 自然科学版*, 2011, 50(3): 366-372.
- [29] 孙鹏, 尹飞, 彭士明, 等. 盐度对条石鲷幼鱼肝抗氧化酶活性的影响[J]. *海洋渔业*, 2010, 32(2): 154-159.
- [30] Dimitrova M S T, Tishinova V, Velchava V. Combined effect of zinc and lead on the hepatic superoxide dismutase-catalase system in carp(*Cyprinus carpio*)[J]. *Comp Biochem Physiol*, 1994, C(108): 43-46.
- [31] 刘树青, 江晓路, 牟海津, 等. 免疫多糖对中国对虾血清溶菌酶、磷酸酶和过氧化物酶的作用[J]. *海洋与湖沼*, 1999, 30(3): 278-283.
- [32] Pipe R K. Hydrolytic enzymes associated with the granular haemocytes of the marine mussel *mytilus edulis*[J]. *The Histochem J*, 1990(22): 596-603.
- [33] Pinoni S P, López Mananes A A. Alkaline phosphatase activity sensitive to environmental salinity and dopamine in muscle of the euryhaline crab *Cyrtograpsus angulatus*[J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 2004, 307: 35-46.
- [34] 白秀娟, 卢伙胜, 刘晓彬, 等. 盐度、pH 胁迫对茂名海域文昌鱼磷酸酶活性的影响[J]. *海洋通报*, 2009, 28(4): 42-46.
- [35] 白秀娟, 卢伙胜, 唐峰华. Cu^{2+} , Zn^{2+} 和 Cd^{2+} 对茂名海域文昌鱼酸、碱性磷酸酶的影响[J]. *水产科学*, 2009, 28(9): 513-517.
- [36] 孔祥会, 刘占才, 郭彦玲, 等. 汞暴露对草鱼器官组织中碱性磷酸酶活性的影响[J]. *中国水产科学*, 2007, 14(2): 270-274.
- [37] 詹付凤, 赵欣平. 重金属镉对鲫鱼碱性磷酸酶和酸性磷酸酶活性的影响[J]. *四川动物*, 2003, 26(3): 641-643.
- [38] Lovett D, Towle D, Faris J. Salinity-sensitive alkaline phosphatase activity in gills of the blue crab, *Callinectes sapidus* Rathbun[J]. *Comp Biochem Physiol* 1994, 109B (1), 163-173.
- [39] MacDonald J A, Storey K B. Regulation of ground squirrel Na^+K^+ -ATPase activity by reversible phosphorylation during hibernation[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 254: 424-429.

Effects of carbonate alkalinity stress on SOD, ACP, and AKP activities in the liver and kidney of juvenile *Gymnocypris przewalskii*

WANG Zhuo^{1,2}, YAO Zongli¹, LIN Tingting¹, SHI Jianquan³, ZHOU Kai¹, WANG Hui¹,
QI Hongfang³, LAI Qifang¹

1. Research Center for Saline Fisheries Technology, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China;
2. College of Fisheries and life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
3. Rescue Center of Naked Common Carp (*Gymnocypris przewalskii*), Xining 810016, China

Abstract: Saline-alkaline water is relatively prevalent throughout China. High alkalinity is thought to represent a significant stressor for aquatic organisms that occupy saline-alkaline waters. *Gymnocypris przewalskii* is a commercially important fish that is endemic to Qinghai Lake, a high saline-alkali environment. This species is anadromous and migrates up rivers to spawn between April to July. The abundance of *G. przewalskii* has decreased dramatically because of over-fishing and habitat degradation. As a result, it is now listed as an endangered fish. Thus, an understanding of the changes in stress-related enzymes in the liver and kidney of juvenile *G. przewalskii* exposed to carbonate alkalinity (C_A) may prove useful for protecting the remaining *G. przewalskii* resource. We exposed juvenile *G. przewalskii* to 32 or 64 mmol/L carbonate alkalinity stress and measured the activity of superoxide dismutase (SOD), acid phosphatase (ACP), and alkaline phosphatase (AKP) in the liver and kidney 0.25, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 7, and 9 d after the initial exposure. SOD is involved in the elimination of reactive oxygen species, which are produced following exposure to environmental stressors, whereas ACP and AKP assist in the elimination of metabolic products by dephosphorylation. The activity of both liver and kidney SOD initially increased with exposure time then returned to control levels. Liver SOD activity peaked in the C_{A32} and C_{A64} groups on day 3, whereas kidney SOD activity peaked on days 4 and 3, respectively. Interestingly, carbonate alkalinity stress promoted ACP activity in the liver but inhibited its activity in the kidney. There was no significant change in ACP activity in the liver of the C_{A32} group. Conversely, levels in the C_{A64} group were highest on day 4. Kidney ACP activity was lowest on day 1 and peaked on day 7 in the C_{A32} group, but was lowest after 12 h in the C_{A64} group. Both liver and kidney AKP activity increased with increasing exposure time. Liver AKP activity peaked on day 1 and 3 in the C_{A32} and C_{A64} groups, respectively. Our results suggest that liver and kidney SOD, ACP, and AKP play important role in the acclimation of *G. przewalskii* to carbonate alkalinity stress. The activity of these three enzymes was up-regulated by exposure to carbonate alkalinity stress, but recovered to control levels within 4 d, suggesting that *G. przewalskii* has the ability to adapt to concentrations <64 mmol/L carbonate alkalinity. The changes in the activity of these three enzymes likely plays an important role in protecting *G. przewalskii* from carbonate alkalinity stress. The activity of the three enzymes was up-regulated earlier in the kidney than in the liver, suggesting that the physiological responses to carbonate alkalinity occur earlier in the kidney than in the liver. Our results provide insight into how these three enzymes participate in the response of *G. przewalskii* to carbonate alkalinity stress, and provide a basis for setting water quality guidelines for the conservation of *G. przewalskii*.

Key words: *Gymnocypris przewalskii*; carbonate alkalinity; SOD; ACP; AKP; Qinghai Lake

Corresponding author: LAI Qifang. E-mail: qifanglai@163.com