

ISSN 1000-0933

CN 11-2031/Q

生态学报

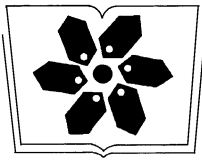
Acta Ecologica Sinica



第31卷 第17期 Vol.31 No.17 **2011**

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 31 卷 第 17 期

2011 年 9 月 (半月刊)

目 次

海洋生态资本理论框架下海洋生物资源的存量评估·····	任大川,陈 尚,夏 涛,等 (4805)
内生真菌对羽茅生长及光合特性的影响·····	贾 彤,任安芝,王 帅,等 (4811)
基于遥感图像处理技术胡杨叶气孔密度的估算及其生态意义·····	蒋圣淇,赵传燕,赵 阳,等 (4818)
水文变异下的黄河流域生态流量·····	张 强,李剑锋,陈晓宏,等 (4826)
黄河三角洲重度退化滨海湿地盐地碱蓬的生态修复效果·····	管 博,于君宝,陆兆华,等 (4835)
浙江省某 PCBs 废物储存点对其邻近滩涂生态系统的毒性风险·····	何闪英,陈昆柏 (4841)
鄱阳湖苔草湿地甲烷释放特征·····	胡启武,朱丽丽,幸瑞新,等 (4851)
三峡库区银鱼生长特点及资源分析·····	邵晓阳,黎道峰,谭 路,等 (4858)
低温应激对吉富罗非鱼血清生化指标及肝脏 HSP70 基因表达的影响 ···	刘 波,王美姝,谢 骏,等 (4866)
Cd ²⁺ 对角突臂尾轮虫和曲腿龟甲轮虫的急性毒性和生命表统计学参数的影响 ·····	许丹丹,席貽龙,马 杰,等 (4874)
圈养梅花鹿 BDNF 基因多态性与日常行为性状的关联分析 ·····	吕慎金,杨 燕,魏万红 (4881)
华北平原玉米田生态系统光合作用特征及影响因素 ·····	同小娟,李 俊,刘 渡 (4889)
长期施肥对麦田大型土壤动物群落结构的影响 ·····	谷艳芳,张 莉,丁圣彦,等 (4900)
蚯蚓对湿地植物光合特性及净化污水能力的影响·····	徐德福,李映雪,王让会,等 (4907)
三种农药对红裸须摇蚊毒力和羧酸酯酶活性的影响 ·····	方国飞 (4914)
六星黑点豹蠹蛾成虫生殖行为特征与性趋向·····	刘金龙,宗世祥,张金桐,等 (4919)
除草剂胁迫对空心莲子草叶甲种群的影响及应对策略·····	刘雨芳,彭梅芳,王成超,等 (4928)
荒漠植物准噶尔无叶豆结实、结籽格局及其生态适应意义 ·····	施 翔,王建成,张道远,等 (4935)
限水灌溉冬小麦冠层氮分布与转运特征及其对供氮的响应·····	蒿宝珍,姜丽娜,方保停,等 (4941)
准噶尔盆地梭梭、白梭梭植物构型特征 ·····	王丽娟,孙栋元,赵成义,等 (4952)
基于地表温度-植被指数关系的地表温度降尺度方法研究 ·····	聂建亮,武建军,杨 曦,等 (4961)
岩溶区不同植被类型下的土壤氮同位素分异特征 ·····	汪智军,梁 轩,贺秋芳,等 (4970)
施氮量对麻疯树幼苗生长及叶片光合特性的影响 ·····	尹 丽,胡庭兴,刘永安,等 (4977)
黄土丘陵区羔沟流域典型植物叶片 C、N、P 化学计量特征季节变化 ·····	王凯博,上官周平 (4985)
克隆整合提高淹水胁迫下狗牙根根部的活性氧清除能力·····	李兆佳,喻 杰,樊大勇,等 (4992)
低覆盖度固沙林的乔木分布格局与防风效果·····	杨文斌,董慧龙,卢 琦,等 (5000)
东灵山林区不同森林植被水源涵养功能评价·····	莫 菲,李叙勇,贺淑霞,等 (5009)
11 种温带树种粗木质残体分解初期结构性成分和呼吸速率的变化 ·····	张利敏,王传宽,唐 艳 (5017)
连栽第 1 和第 2 代杉木人工林养分循环的比较·····	田大伦,沈 燕,康文星,等 (5025)
最优化设计连续的自然保护区·····	王宜成 (5033)
基于自然地理特征的长江口水域分区·····	刘录三,郑丙辉,孟 伟,等 (5042)
煤电一体化开发对锡林郭勒盟环境经济的影响·····	吴 迪,代方舟,严 岩,等 (5055)
专论与综述	
生态条件的多样性变化对蜜蜂生存的影响·····	侯春生,张学锋 (5061)
研究简报	
胶州湾潮间带大型底栖动物次级生产力的时空变化·····	张崇良,徐宾铎,任一平,等 (5071)
湿地公园研究体系构建·····	王立龙,陆 林 (5081)
基于生态足迹的半干旱草原区生态承载力与可持续发展研究——以内蒙古锡林郭勒盟为例·····	杨 艳,牛建明,张 庆,等 (5096)
学术信息与动态	
恢复与重建自然与文化的和谐——2011 生态恢复学会国际会议简介 ···	彭少麟,陈蕾伊,侯玉平,等 (5105)
期刊基本参数:CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 302 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 37 * 2011-09	



封面图说: 相当数量的降雪与低温严寒是冰川发育的主要因素,地球上的冰川除南北两极外,只有在高海拔的寒冷山地才能存在。喜马拉雅山造山运动使中国成为了世界上中低纬度冰川最为发育的国家,喜马拉雅山地区雪峰连绵、冰川四溢,共有现代冰川 17000 多条,是世界冰川发育的中心之一。

彩图提供: 陈建伟教授 国家林业局 E-mail: cites.chenjw@163.com

刘波,王美垚,谢骏,徐跑,戈贤平,何义进,缪凌鸿,潘良坤. 低温应激对吉富罗非鱼血清生化指标及肝脏 HSP70 基因表达的影响. 生态学报, 2011, 31(17): 4866-4873.

Liu B, Wang M Y, Xie J, Xu P, Gg X P, He Y J, Miao L H, Pan L K. Effects of acute cold stress on serum biochemical and immune parameters and liver HSP70 gene expression in GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(17): 4866-4873.

低温应激对吉富罗非鱼血清生化指标及 肝脏 HSP70 基因表达的影响

刘 波^{1,2}, 王美垚¹, 谢 骏^{1,2,*}, 徐 跑^{1,2,*}, 戈贤平^{1,2}, 何义进^{1,2}, 缪凌鸿², 潘良坤²

(1. 南京农业大学(无锡)渔业学院, 无锡 214081; 2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心,

农业部淡水鱼类遗传育种和养殖生物学重点开放实验室, 无锡 214081)

摘要: 实验旨在探讨急性低温应激对吉富罗非鱼(GIFT, *Oreochromis niloticus*)血清生化、免疫指标以及肝脏 HSP70 mRNA 水平的影响。实验选取平均体重为(177±2.18)g 左右的吉富罗非鱼作为实验对象, 设定(25±1)℃ 对照组和低温(9±1)℃ 冷应激试验组, 每组设定 5 个平行组, 分别在 0、2、6、12h 随机采样, 测定血清血糖(GLU)、胆固醇(CHOL)、甘油三酯(TG)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、补体 3(C3)、补体 4(C4)、溶菌酶(LSZ)、皮质醇(COR)、三碘甲腺原氨酸(T3)、甲状腺素(T4)以及肝脏 HSP70mRNA 水平。结果表明: 与对照组相比, 试验组 GLU 水平在冷应激后 6h, TG 水平在冷应激后 2、6h, CHOL 水平在冷应激后 6、12h 均有显著升高($P<0.05$), ALT 水平在冷应激后 2、12h 均有显著升高($P<0.05$); 试验组 AST、COR、T3 水平在冷应激 2、6、12h 时出现显著升高($P<0.05$), C3、C4、LSZ 水平在冷应激后 2、6、12h 均出现显著下降($P<0.05$); 与对照组相比, 试验组 HSP70mRNA 水平在冷应激后的 12h 出现显著升高($P<0.05$)。因此, 急性低温应激可以提高吉富罗非鱼肝脏应激蛋白 HSP70mRNA 水平, 影响该鱼的非特异免疫力和相关生理指标。

关键词: 吉富罗非鱼; 低温应激; 血液生理生化指标; HSP70; 基因表达

Effects of acute cold stress on serum biochemical and immune parameters and liver HSP70 gene expression in GIFT strain of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)

LIU Bo^{1,2}, WANG Meiyao¹, XIE Jun^{1,2,*}, XU Pao^{1,2,*}, GE Xianping^{1,2}, HE Yijin^{1,2}, MIAO Linghong², PAN Liangkun²

1 Wuxi Fishery College, Nanjing Agriculture University, Wuxi 214081, China

2 Key Laboratory of Genetic Breeding and Aquaculture Biology of Freshwater Fishes, Ministry of Agriculture, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China

Abstract: Genetic Improvement of Farmed Tilapia (GIFT, *Oreochromis niloticus*) is the genetically improved tilapia obtained by gene improvement performed by World Fish Research Centre and Norwegian related organization. The GIFT grows fast, is genetically stable and can tolerate low temperature of 6—10℃ for short periods, and tolerate temperature as high as 35—42℃. Tilapia is extremely hardy but may be stressed by excessively high or low temperatures which increase susceptibility to pathogens.

Stress is the sum of an organism's nonspecific responses to various acute external and internal stimuli. It is an organism's physiological response to adapt to environmental changes, but excess response that inhibits immunity could lead

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金项目(2011JBFA01); 农业科技成果转化资金项目(2007GB2326037); 农业部淡水鱼类遗传育种和养殖生物学重点开放实验室资助项目(BZ2007-01)

收稿日期: 2010-07-05; 修订日期: 2011-02-14

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: xiej@ffrc.cn; xup@ffrc.cn

to pathological change. In fish, excess stress can lead fish to diseased state, even to death. Cold temperature is an important ecological stressor, potentially leading to activation of the neuroendocrine pathway, including the hypothalamic-pituitary-interrenal axis, the hypothalamic-pituitary-thyroid axis, or the hypothalamus-autonomic nerves-chromaffin axis, increasing the release of cortisol, thyroid hormone, or catecholamines in vertebrates. Previous studies showed that cold stress resulted in altered serum lysozyme, complement activity and other related immune parameters in gilthead sea bream (*Sparus aurata*), and altered serum biochemical parameters of milkfish (*Chanos chanos*) such as glucose and triglyceride. It also changed activities of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate transaminase (AST) of common carp (*Cyprinus carpio*) and large yellow croaker (*Pseudosciaena crocea*). Additionally, a study reported that cold stress increased the heat shock protein 70 (HSP70) level in Atlantic salmon (*Salmo salar*).

Information about the relationship among the changes of serum hormone (triiodothyronine, thyroxine and cortisol) concentrations, serum nonspecific complement (C3 and C4) and serum biochemical parameters (such as serum glucose, cholesterol, triglyceride, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase), although important for understanding the mechanism of stress effects, was not available. The mechanism of cold stress-induced immunomodulation in fish is not clear. The objective of this study was to investigate the effect of cold shock on the physiological function of GIFT strain of tilapia to gain a better understanding of the mechanism of coping with cold stress in this fish. The fish (body weight: (177 ± 2.18) g) were randomly divided into two groups: a control group ($(25 \pm 1)^\circ\text{C}$) and a treatment group ($(9 \pm 1)^\circ\text{C}$). The experiments were repeated five times. Serum glucose, cholesterol, triglyceride, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, complement 3, complement 4, lysozyme, cortisol, triiodothyronine, thyroxine concentrations and liver HSP70 mRNA level were determined at 0, 2, 6, and 12h after cold stress. The results showed that compared with the control group, the treatment group had the following serum parameters significantly increased: glucose level ($P < 0.05$) at 6h, triglyceride levels at 2 and 6h, cholesterol levels at 6 and 12h, and alanine aminotransferase activities at 2 and 12h. The levels of complement 3, complement 4, and lysozyme in the serum decreased significantly ($P < 0.05$) at 2, 6 and 12h after cold stress whereas serum concentrations of aspartate aminotransferase, cortisol, and triiodothyronine increased significantly ($P < 0.05$) at 2, 6, and 12h after cold stress. Additionally, liver HSP70 mRNA level was higher ($P < 0.05$) at 12h after the cold stress. We suggest that acute cold stress might increase liver HSP70 mRNA, thereby affecting the physiological function and non-specific immune ability of GIFT tilapia.

Key Words: GIFT; cold stress; serum biochemical parameters; HSP70; mRNA

温度是一个重要的生态因子,能引起水产动物生理机能、激素以及一些活性物质的水平发生变化,对机体内分泌系统、免疫系统及抗氧化系统也会产生一定的影响。低温可以引起金头鲷 (*Sparus aurata*) 血清溶菌酶、补体活性等免疫相关指标的变化^[1-2],遮目鱼 (*Chanos chanos*) 鱼体血清总蛋白、血糖、甘油三酯等血液生化指标的变化^[3],鲤鱼 (*Cyprinus carpio*)、大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*) 谷丙转氨酶、谷草转氨酶等酶类^[4-5] 以及皮质醇、儿茶酚胺等激素的变化^[6]。热应激蛋白 70 (heat stress proteins 70, HSP70), 是机体在应激情况下细胞内迅速合成的一种蛋白质,具有高度保守性,对应激可产生保护、耐受作用、且具有交叉耐受性^[7]; 可以清除应激所造成细胞内的异常或变性蛋白质,具有活化其他细胞基因的作用^[8]; 能够抑制由于 ATP 损耗引起的细胞凋亡^[9]。低温可以提高大西洋鲑 (*Salmo salar*) 体内 HSP70 含量^[10-11]。

吉富罗非鱼 (Genetic Improvement of Farmed Tilapia, GIFT, *Oreochromis niloticus*) 是经遗传性状改良后的罗非鱼,是利用尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 的亚洲品系与非洲品系选育而成的新品系,也是中国一个重要的养殖品种。吉富品系罗非鱼为热带鱼类,适宜温度 22—35℃,低温耐受不强,不能在我国北方冬季的寒冷水体中自然越冬,影响了罗非鱼的繁殖与生长。迄今有关冷应激对吉富罗非鱼血清常规指标、血清激素以及肝脏应激蛋白 HSP70 的影响还未见报道。鉴于此,本实验旨在研究急性低温应激对于吉富罗非鱼生理机能

的影响,为研究吉富罗非鱼冷应激作用机制提供一些理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验鱼种与驯养管理

实验所用吉富罗非鱼由中国水产科学研究院淡水渔业研究中心渔场提供。2008 年冬季选取鱼种 150 尾吉富罗非鱼驯养于室内控温循环流水系统内,保证充足的氧气,减少人为干扰,保持安静,防止额外应激。每日投喂人工配合颗粒饲料,投喂量为鱼体质量的 2%—3% 左右,分 3 次投喂(8:00、12:00、14:00),每次达饱食,尽量无饲料剩余,每次换水 1/3;每天吸污 1 次。在试验期间:水温为 $(25.0 \pm 1)^\circ\text{C}$,溶氧 $>6\text{ mg/L}$,氨氮 $<0.01\text{ mg/L}$,pH 约为 7.2—7.6。

1.2 实验设计

吉富罗非鱼驯养 30d 后,选取规格基本一致的健康吉富罗非鱼 100 尾,个体初重为 $(177 \pm 2.18)\text{ g}$,实验期间不投喂日粮。实验分为常温 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 对照组和低温 $(9 \pm 1)^\circ\text{C}$ 冷应激试验组,每组设定 5 个平行组,每个平行组 10 尾鱼,共 10 个圆形蓄养槽(规格为 $\varphi 820\text{ mm} \times 700\text{ mm}$),对照组与试验组鱼体初始温度均控制为 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$,鱼体驯养后空腹 48h 后采样作为对照组与试验组采样 0h 时间点,后对照组保持 $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$ 不变,而冷应激实验组预先做好预备试验,摸索出最佳加冰量,采取加冰调节温度的方式进行急速降温,在 30min 内降温到 9°C ,后利用室内控温循环流水系统使整个实验期间保持在 $(9 \pm 1)^\circ\text{C}$ 。

1.3 样品采集

在冷应激后的 0、2、6、12h 随机采样,每次每缸随机采样 1 尾,共 5 尾鱼。采样时将鱼迅速捞起并立即投入浓度为 200 mg/L 的 MS-222 中做快速深度麻醉,尾静脉采血,血样在 4°C 冰箱静置 1—2h 后,进行 4°C 、 10000 r/min 、5 min 离心制备血清。血清移入 -20°C 保存。采血后解剖,取 100 mg 左右肝胰脏冻存于液氮中用于分子生物学测定。

1.4 血清的分析

血糖(GLU)用葡萄糖氧化酶—过氧化物酶终点比色法,试剂盒购自卫生部上海生物制品研究所;胆固醇(CHOL),甘油三酯(TG)采用酶法,试剂盒来源上海名典生物工程公司;谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)采用比色法,试剂盒均购自骏实生物科技有限公司;GLU,CHOL,TG,ALT 和 AST 都在美国贝克曼 Cx-4 型自动生化分析仪测定)。皮质醇(COR)参照 Pickering 方法用放免法(RIA)进行测定,试剂盒购自北京北方生物技术研究所。溶菌酶(LSZ)活力测定参照华育平^[12]方法进行测定,试剂盒购自南京建成生物工程研究所。补体 C3(C3)、补体 C4 含量的测定参照周显青^[13]方法,购自伊利康生物技术有限公司。三碘甲腺原氨酸(T3)、甲状腺素(T4)采用放免法进行测定,DMF-96 型 10 管放射免疫 γ 计数器测定,试剂盒购自北京北方生物技术研究所。

1.5 肝脏 HSP70mRNA 测定

取每条吉富罗非鱼取肝脏 50mg 左右,用 RNAiso Reagent(宝生物工程(大连)有限公司)按照说明书提取总 RNA。反转录反应使用 SYBR ExScript™ RT-PCR Kit(宝生物工程(大连)有限公司)RT-PCR 试剂盒获得单链 cDNA。利用 primer premier 5.0 引物设计软件根据罗非鱼 HSP70 全长序列(GenBank Accession No.: FJ375325)设计 HSP70 特异性引物 F1:5'-CTTCAACGACTCCCAGCGACAG-3';R1:5'-AGATGCCGTCTTCAATG-GTCAG-3'。持家基因 β -actin 的引物是基于 GenBank(GeneBank Accession- No: AB037865)的序列设计:F2:5'-CCTGAGCG-TAAATACTCCGTCTG-3';R2:5'-AAGCACTTGCGGTG GACGAT-3'。

采用嵌合荧光法进行 Real Time PCR 扩增反应。PCR 反应体系总体积为 $20\mu\text{L}$:SYBR Premix Ex Taq II ($2 \times$) $10\mu\text{L}$;模板 $2\mu\text{L}$;正向引物($10\mu\text{mol/L}$) $0.8\mu\text{L}$;反向引物($10\mu\text{mol/L}$) $0.8\mu\text{L}$;双蒸水 $6.4\mu\text{L}$,补足 $20\mu\text{L}$ 。PCR 反应条件为:95 $^\circ\text{C}$ 3min;95 $^\circ\text{C}$ 10s;63 $^\circ\text{C}$ 15 s;80 $^\circ\text{C}$ 1s;读板计数;95 $^\circ\text{C}$ 10s 循环 44 次;72 $^\circ\text{C}$ 3min;溶解的反应条件为:65 $^\circ\text{C}$ 到 92 $^\circ\text{C}$,每升高 0.2 $^\circ\text{C}$ 保持 1 s 读板记录荧光量。随机取样品 cDNA,设 3 个重复,获得 HSP70 的标准方程是 $Y = -0.2687x + 10.767$,相关系数 $R^2 = 0.991$; β -actin 的标准方程是 $Y = -0.2754x + 8.963$,

相关系数 $R^2 = 0.986$; 其中 Y 代表起始模板浓度以 10 为底的对数, x 代表 C_t 值。由于两标准方程的斜率基本一致, 认为 HSP70 和 β -actin 的扩增效率基本一样, 符合 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算的前提条件。HSP70 mRNA 水平计算以罗非鱼 β -actin 为内参, 对得到的各样品 C_t 值进行均一化处理, 以对照组 (25 ± 1) $^{\circ}\text{C}$, 0h 时 HSP70 mRNA 为基准, 应用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 方法确定不同应激时间点其相对水平^[14]。

1.6 数据处理

数据用 SPSS (Ver. 11.5) 软件 Duncan 多重比较检验对照组与实验组在不同应激时间的差异, 用独立 t 检验检测对照组与实验组在同一应激时间的变化, $P < 0.05$ 表示有差异显著性。所有的结果均以平均值 $\pm$ 标准误差 ($\bar{X} \pm \text{SE}$) 来表示。

2 结果与分析

2.1 低温应激对吉富罗非鱼血清 GLU、TG、CHOL 的影响

由图 1 可知, 与冷应激前 (0h) 相比, 对照组 GLU 水平在摄食后 (对应试验组的应激时间点) 的 2、6、12h 均有显著升高; 试验组在冷应激后的 2、6h 均有显著升高 ($P < 0.05$)。冷应激前后的各组比较, 与对照组相比, 试验组在应激后 6h 出现显著升高 ($P < 0.05$), 而在 12h 时出现显著下降 ($P < 0.05$)。

与冷应激前 (0h) 相比, 对照组 CHOL 水平在摄食后的 2h 组有显著升高, 试验组在冷应激后的 2、6、12h 均有显著升高 ($P < 0.05$); 冷应激前后的各组比较, 试验组在冷应激后的 6、12h 均有显著升高 ($P < 0.05$)。

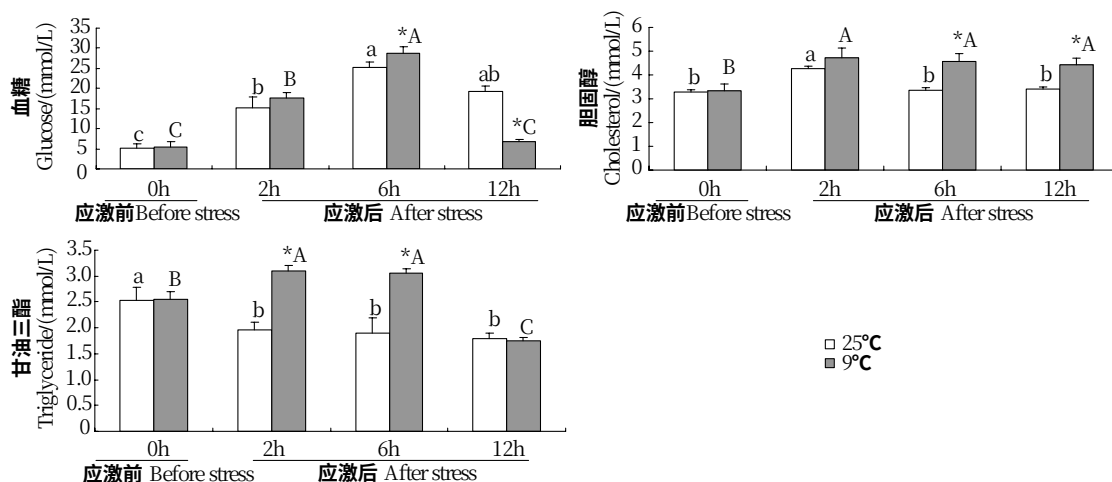


图 1 低温应激对吉富罗非鱼血糖、甘油三酯、胆固醇的影响

Fig. 1 Effects of cold stress on serum glucose, triglyceride, cholesterol levels in GIFT tilapia

* 表示对照组与实验组在同一应激时间点 t 检验结果差异显著; 不同上标大、小写字母分别表示对照组与实验组在不同应激时间点 Duncan 多重比较, 不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$); 图中值为平均值 $\pm$ 标准误差, $n = 5$

与冷应激前 (0h) 相比, 对照组 TG 水平摄食后的 2、6、12h 均有显著下降, 试验组在在应激后的 2、6h 出现显著升高, 12h 出现显著降低; 冷应激前后的各组比较, 与对照组相比, 在应激后的 2、6h 试验组出现显著升高 ($P < 0.05$)。

2.2 低温应激对吉富罗非鱼血清 ALT 与 AST 的影响

由图 2 可知, 与应激前 (0h) 相比, 对照组 ALT 水平在摄食后的 6、12h 出现显著升高 ($P < 0.05$), 试验组在冷应激后的 2、6、12h 时也出现显著升高 ($P < 0.05$); 应激前后各组之间比较, 与对照组相比, 试验组在冷应激后的 2、12h 时出现显著升高 ($P < 0.05$)。

与应激前 (0h) 相比, 对照组 AST 水平在摄食后 12h 出现显著升高 ($P < 0.05$), 试验组在冷应激后的 2、6、12h 均出现显著升高 ($P < 0.05$); 与对照组相比, 试验组在冷应激后的 2、6、12h 时均出现显著升高 ($P < 0.05$)。

2.3 低温应激对吉富罗非鱼体血清免疫指标的影响

由图 3 可知, 与应激前 (0h) 相比, 对照组 C3、C4、LSZ 水平在摄食后无显著差异, 试验组在冷应激后 2、6、

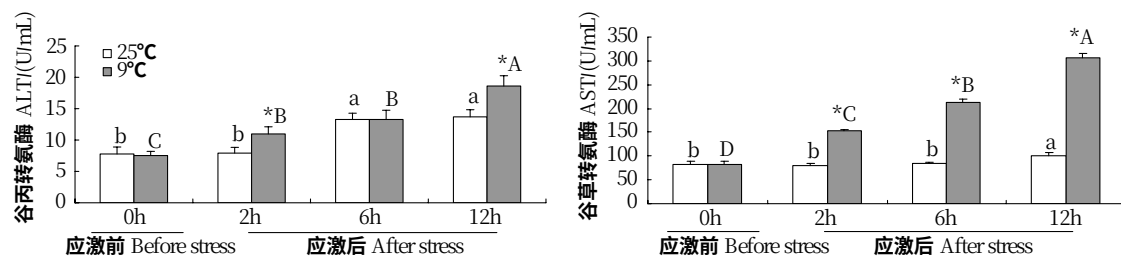


图2 低温应激对吉富罗非鱼血清谷草转氨酶、谷丙转氨酶活性的影响

Fig. 2 Effects of cold stress on serum ALT and AST activities in GIFT tilapia

图中值为平均值±标准误, $n=5$, Duncan's 多重比较和 T-test 比较标注如图1所示

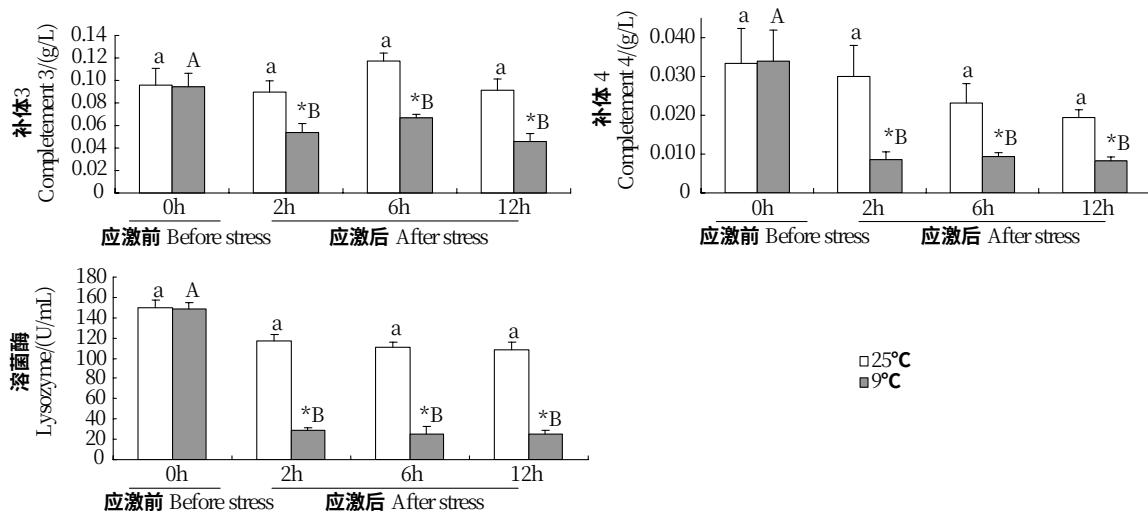


图3 低温应激对吉富罗非鱼血清免疫指标的影响

Fig. 3 Effects of cold stress on serum immune indices of GIFT tilapia

图中值为平均值±标准误, $n=5$, Duncan's 多重比较和 T-test 比较标注如图1所示

12h 均出现显著下降 ($P<0.05$); 应激前后的各组之间比较, 与对照组相比, 试验组 C3、C4、LSZ 水平在冷应激后 2、6、12h 均出现显著下降 ($P<0.05$)。

2.4 低温应激对吉富罗非鱼体血清几种激素的影响

由图4可知, 与应激前(0h)相比, 对照组皮质醇水平摄食后12h时出现显著下降 ($P<0.05$), 试验组在冷应激后2、6、12h均出现显著升高 ($P<0.05$); 应激前后的各组之间比较, 与对照组相比, 试验组在冷应激后的2、6、12h均出现显著升高 ($P<0.05$)。

与应激前(0h)相比, 对照组 T3、T4 水平分别在摄食后6、12h时出现显著升高、下降 ($P<0.05$); 试验组 T3 水平在应激后2、6、12h时出现显著升高 ($P<0.05$); 试验组 T4 水平在应激后的6、12h时出现显著下降 ($P<0.05$); 应激前后的各组之间比较, 与对照组相比, 试验组 T3 在冷应激后2、6、12h时出现显著升高 ($P<0.05$), 而试验组 T4 水平在冷应激前后无显著差异。

2.5 低温应激对吉富罗非鱼体肝脏 HSP70 mRNA 水平的影响

由图5可知, 与应激前(0h)相比, 对照组 HSP70 mRNA 水平在应激后2、6、12h未出现显著差异, 试验组在冷应激后的12h出现显著升高 ($P<0.05$); 应激前后的各组之间比较, 与对照组相比, 试验组在冷应激后12h出现显著升高 ($P<0.05$)。

3 讨论

鱼类在自然水域生态系中经常面临环境温度的变化, 当环境温度剧烈变化时, 会影响鱼体的正常代谢。

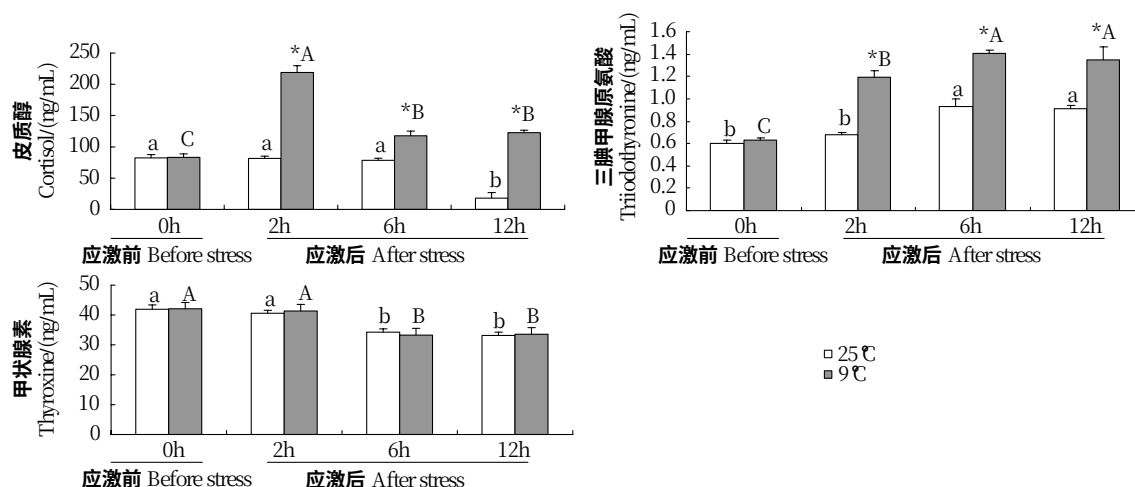


图4 低温应激对吉富罗非鱼常规血清激素的影响

Fig. 4 Effects of cold stress on sevatal serum hormones of GIFT tilapia

图中值为平均值±标准误, $n=5$, Duncan's 多重比较和 T-test 比较标注如图 1 所示

血液生化指标的变化反应了机体组织细胞机能和新陈代谢的改变,被广泛用来评价鱼类的健康状况,是鱼类重要的生理、病理和毒理学指标^[15-17]。应激反应是一种耗能过程,会导致血糖水平的变化,因此血糖水平常被作为可靠的生理应激指标之一^[18-19]。一些研究表明冷应激会导致鱼体血糖水平急剧升高^[20-21]。本实验结果也表明吉富罗非鱼 GLU 在冷应激持续 2h—6h 之间一直呈现上升趋势,这与一般鱼体在摄食后 3—6h 血糖达到最大是一致的^[22-23];并且与对照组相比在冷应激后 6h 显著增加 GLU 水平,这可能是由于在冷应激期,鱼体葡萄糖代谢酶活性增强,肝糖原大量分解,从而导致 GLU 水平的升高;而联系本试验在冷应激后 2—12h

血清激素皮质醇水平持续升高,这可能进一步促进肝内糖原异生,血糖升高^[24-25];相应的在冷应激条件下,血清 TG, CHOL 水平也出现了不同程度的升高,这可能是由于皮质醇的升高又可促进脂类代谢,加速脂肪降解^[26-27]。但血糖水平在冷应激 12h 后又产生显著下降,可能是因为在降温初期糖元转化成葡萄糖的速率加快,血糖浓度偏高;另一方面,为了抵御温度突然的骤降,大量的葡萄糖被分解,给机体提供能量,血糖浓度偏低^[4],但具体作用机制还有待进一步的研究。

血清酶绝大部分来自动物的各种组织器官中,其活性高低与相应组织器官的代谢水平和功能状态有关,AST 和 ALT 是肝脏代谢过程中表示肝脏损伤的两个重要酶^[28-29]。本实验表明低温应激使血清 ALT 含量在 12h、血清 AST 2—12h 显著增加,低温可能对对肝脏功能造成了一定的影响,联系本试验肝脏的 HSP70 mRNA 水平来看,在应激后 12h 显著增加了的 HSP70 mRNA 水平,可能通过增加的 HSP70 mRNA 水平,增加鱼体抗应激能力,来抵消冷应激带来的危害。

鱼类受到持续的低温应激后,还将影响鱼体的免疫机能,甚至产生免疫抑制,但其影响程度因种类而异^[1,30]。LSZ 是生物体内重要的非特异性免疫因子之一,是衡量机体免疫状态的指标之一^[31]。C3、C4 是补体系统中固有的成分,对机体发挥非特异免疫调节等功能^[32]。冷应激可导致鱼体 LSZ、C4 水平的下降^[33]。本实验也表明在冷应激 2—12h 显著降低了血清 LSZ、C3、C4 水平,这与 Ndong 等^[34]报道的莫桑比克罗非鱼

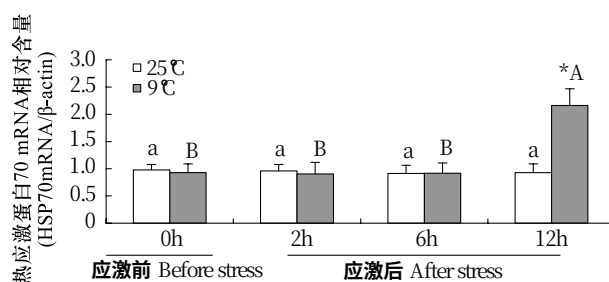


图5 低温应激对吉富罗非鱼肝脏 HSP70 mRNA 水平的影响

Fig. 5 Effects of cold stress on liver HSP70 mRNA level in GIFT tilapia

图中值为平均值±标准误, $n=5$, Duncan's 多重比较和 T-test 比较标注如图 1 所示

(*Oreochromis mossambicus*) 在经历冷应激后其 LSZ 活性下降结果一致。联系本试验的血清皮质醇, 与对照组相比, 试验组在冷应激后的 2、6、12h 均出现显著升高。这可能与皮质醇的升高与儿茶酚胺水平的免疫抑制作用有关^[6]。

当鱼类受到应激后, 下丘脑—垂体—肾间组织轴 (HPI) 会迅速作用促进促肾上腺皮质激素 (ACTH) 的释放, 从而导致头肾细胞皮质醇激素的合成与释放^[35]。有研究表明, 在捕捉、惊吓、拥挤、温度和盐度等的剧烈变化情况下, 血清中皮质醇水平均有上升趋势^[36-38]。因而其常被认为是反映养殖动物应激状态的重要指标之一^[39]。本实验也表明与对照组相比, 在冷应激后的 2、6、12h 试验组均显著提高了血清皮质醇激素含量。鱼类的下丘脑—垂体—甲状腺轴 (Hypothalamus-pituitary-thyroidal axis, HPT) 在神经内分泌系统调节中也占有重要的地位^[40]。甲状腺激素是以 T₃、T₄ 两种形式释放入血, 其中 T₃ 是体内发挥效能的主要甲状腺激素^[41]。邱家祥等在家禽上研究表明低温可以引起血清 T₃ 水平的升高^[42]。本试验也表明, 冷应激增加了吉富罗非鱼血浆 T₃ 含量, 但对 T₄ 含量无显著影响。

热应激蛋白 HSP70 几乎在所有生物的应激细胞中都经常高度地被诱导表达, HSP70 赋予细胞或生物体从应激状态中恢复的能力, 对机体形成保护性机制, 抵消应激对养殖动物的影响^[10-11, 43]。本实验发现肝脏 HSP70 mRNA 水平在冷应激 12h 时出现显著升高, 联系本实验也表明在冷应激 2、6、12h 持续显著降低了血清 LSZ、C₃、C₄ 水平, 12h 降低到最低水平来看, 表明冷应激到一定程度, 肝脏 HSP70 基因的转录迅速增加, 在细胞内大量表达, 鱼体采取积极的应答方式以抵抗外界的不良影响, 这一结果与 Ivona、Deane 等的报道一致^[11, 44]。

在摄食后的不同时间对照组血清 GIU、CHOL、TG、AST 含量等生化指标存在一定的差异, 这可能跟鱼体的自身代谢有一定的关系。急性低温应激后, 血清 GIU、CHOL、TG、AST 含量有增加趋势, 相应的冷应激后血清 COR、T₃ 等激素含量也呈现增加, 血清 C₃、C₄、LSZ 等免疫指标有降低趋势, 并在在冷应激后 12h 诱导肝脏的 HSP70 基因表达, 这表明组织 HSP70 的基因表达与 GIU、COR、AST、LSZ、C₃、C₄ 等血液指标存在一定的相关性, 在低温应激过程中发挥了一定的作用。因此, 急性低温应激可以引起吉富罗非鱼体的生理机能变化, 提高肝脏应激蛋白 HSP70mRNA 水平, 影响吉富罗非鱼非特异免疫力。

References:

- [1] Tort L, Rotllant J, Roviva L. Immunological suppression in gilthead sea bream *Sparus aurata* of the north-west Mediterranean at low temperatures. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1998, 120: 175-179.
- [2] Tort L, Rotllant J, Liarte C, Acerete L, Hernández A, Ceulemans S, Coutteau P, Padros F. Effects of temperature decrease on feeding rates, immune indicators and histopathological changes of gilthead sea bream *Sparus aurata* fed with an experimental diet. *Aquaculture*, 2004, 229(1/4): 55-65.
- [3] Hsieh S L, Chen Y N, Kuo C M. Physiological responses, desaturase activity, and fatty acid composition in milkfish (*Chanos chanos*) under cold acclimation. *Aquaculture*, 2003, 220(1/4): 903-918.
- [4] Chang Y M, Kuang Y Y, Cao D C, Liang L Q, Sun X W, Lei Q Q. Effects of cooling temperature stress on hematology and serum chemistry values of *Cyprinus carpio*. *Journal of Fisheries of China*, 2006, 30(5): 701-705.
- [5] Ji DW, Li MY, Wang TZ, Zhang CN, Xu Z, Xu WT. Effects of low temperature stress periods on serum biochemical indexes in large Yellow croaker *Pseudosciaena crocea*. *Journal of Fisheries Science*, 2009, 28(1): 1-4.
- [6] Law W Y, Chen W H, Song Y L, Dufour S, Chang C F. Differential in vitro suppressive effects of steroids on leukocyte phagocytosis in two teleosts, tilapia and common carp. *General and Comparative Endocrinology*, 2001, 121(2): 163-172.
- [7] Morimoto R I. Cells in stress: transcriptional activation of heat shock genes. *Science*, 1993, 259(5100): 1409-1410.
- [8] Lindquist S. The heat shock response. *Annual Review of Biochemistry*, 1986, 55(1): 1151-1191.
- [9] Wang Y H, Knowlton A A, Christensen T G, Shih T, Borkan S C. Prior heat stress inhibits apoptosis in adenosine triphosphate depleted renal tubular cells. *Kidney International*, 1999, 55(6): 2224-2235.
- [10] Takle H, Baeverfjord G, Lunde M, Kolstada K, Andersen Ø. The effect of heat and cold exposure on HSP70 expression and development of deformities during embryogenesis of Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Aquaculture*, 2005, 249(1/4): 515-524.
- [11] Mladineo I, Block B A. Expression of HSP70, Na⁺/K⁺ ATP-ase, HIF-1 α , IL-1 β and TNF- α in captive Pacific bluefin tuna (*Thunnus orientalis*) after chronic warm and cold exposure. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2009, 374(1): 51-57.
- [12] Hua Y P, Liu H B, Zhang Y. Lysozyme levels in serum and different tissues of *Amur Sturgeon* at different temperatures in normal and pathological status. *Journal of Northeast Forestry University*, 2005, 33(3): 63-66.
- [13] Zhou X Q, Niu C J, Sun R Y. Effects of the combination of Vitamin C and Vitamin E on non-specific immune function in Juvenile Soft-shelled Turtles (*Pelodiscus sinensis*). *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2004, 28(4): 356-360.
- [14] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using Real-Time quantitative PCR and the 2^{- $\Delta\Delta C_T$} method. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [15] Arad Z, Marder J, Eylath U. Serum electrolyte and enzyme responses to heat stress and dehydration in the fow (*Gallus domesticus*). *Comparative*

- Biochemistry and Physiology Part A; Physiology, 1983, 74(2): 449-453.
- [16] Zhou Y, Guo W Y, Yang Z G, Zhang K. Advances in the study of haematological indices of fish. Journal of Shanghai Fisheries University, 2001, 10(2): 163-165.
- [17] He F L, Xiang J G, Li C J, Li Z, Chen K J. Preliminary study on the effect of water temperature on hematology indices of Rainbow Trout. Acta Hydrobiologica Sinica, 2007, 31(3): 363-369.
- [18] Silbergeld E K. Blood glucose: a sensitive indicator of environmental stress in fish. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 1974, 11(1): 20-25.
- [19] Sun L T, Chen G R, Chang C F. The physiological responses of tilapia exposed to low temperatures. Journal of Thermal Biology, 1992, 17(3): 149-153.
- [20] Sun L T, Chen G R, Chang C F. Acute responses of blood parameters and coma-tose effects in salt acclimated tilapia exposed to low temperatures. Journal of Thermal Biology, 1995, 20(3): 299-306.
- [21] Woo N Y S. Metabolic and osmoregulatory changes during temperature acclimation in the red sea bream, *Chrysophrys major*: implications for its culture in the subtropics. Aquaculture, 1990, 87(2): 197-208.
- [22] Panserat S, Perrin A, Kaushik S. High dietary lipids induce liver glucose-6-phosphatase expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Journal of Nutrition, 2002, 132(2): 137-141.
- [23] Cai C F. Study on the Utilization of Dietary Carbohydrate by *Mylopharyngodon piceus* Richardson and *Carassius auratus* and Their Mechanism of Metabolism. Shanghai: East China Normal University, 2004.
- [24] Leach G J, Taylor M H. The effects of cortisol treatment on carbohydrate and protein metabolism in *Fundulus heteroclitus*. General and Comparative Endocrinology, 1982, 48(1): 76-83.
- [25] Chan D K O, Woo N Y S. Effect of cortisol on the metabolism of the eel, *Anguilla japonica*. General and Comparative Endocrinology, 1978, 35(3): 205-215.
- [26] Sheridan M A. Effects of thyroxine, cortisol, growth hormone and prolactin on lipid metabolism of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*, during smoltification. Gen Comp Endocrinol, 1986, 64(2): 220-238.
- [27] Dave G, Johansson-Sjöbeck M L, Larsson Å, Lewandera K, Lidman U. Effects of cortisol on the fatty acid composition of the total blood plasma lipids in the European eel, *Anguilla anguilla* L. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology, 1979, 64(1): 37-40.
- [28] De Smet H, Blust R. Stress responses and changes in protein metabolism in carp *Cyprinus carpio* during cadmium exposure. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2001, 48(3): 255-262.
- [29] Cho Y J, Kim Y Y, Lee N G, Choi Y J. Basic studies on developing equipment for waterless transportation of live fish. Bulletin of the Korean Fishery Society, 1994, 27: 501-508.
- [30] Bowden T J, Thompson K D, Morgan A L, Gratacap R M, Nikoskelainen S. Seasonal variation and the immune response: a fish perspective. Fish and Shellfish Immunology, 2007, 22(6): 695-706.
- [31] Demers N E, Bayne C J. The immediate effects of stress on hormones and plasma lysozyme in rainbow trout. Developmental and Comparative Immunology, 1997, 21(4): 363-373.
- [32] Holland M C H, John D L. The complement system in teleosts. Fish & Shellfish Immunology, 2002, 12(5): 399-420.
- [33] Ellis A E. Immunity to bacteria in fish. Fish and Shellfish Immunology, 2003, 9(4): 291-308.
- [34] Ndong D, Chen Y Y, Lin Y H, Vaseeharan B, Chen J C. The immune response of tilapia *Oreochromis mossambicus* and its susceptibility to *Streptococcus iniae* under stress in low and high temperatures. Fish and Shellfish Immunology, 2007, 22(6): 686-694.
- [35] Wendelaar Bonga S E. The stress response in fish. Physiology Review, 1997, 77(3): 591-625.
- [36] Sun L T, Chen G R, Chang C F. Acute responses of blood parameters and comatose effects in salt-acclimated tilapias exposed to low temperatures. Journal of Thermal Biology, 1995, 20(3): 299-306.
- [37] Chen W H, Sun L T, Tsai C L, Song Y L, Chang C F. Cold-stress induced the modulation of catecholamines, cortisol, immunoglobulin M and leukocyte phagocytosis in tilapia. General and Comparative Endocrinology, 2002, 126(1): 90-100.
- [38] Fevolden S E, Roed K H, Fjalestad K. A combined salt and confinement stress enhances mortality in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) selected for high stress responsiveness. Aquaculture, 2003, 216(1/4): 67-76.
- [39] Hsieh S L, Chen Y N, Kuo C M. Physiological responses, desaturase activity and fatty acid composition in milkfish (*Chanos chanos*) under cold acclimation. Aquaculture, 2003, 220(1/4): 903-918.
- [40] Kühn E R, Geris K L, van der Geyten S, Mol K A, Darras V M. Inhibition and activation of the thyroidal axis by the adrenal axis in vertebrates. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular and Integrative Physiology, 1998, 120A(1): 169-174.
- [41] Wang Y Y. Review of Finfish and Shellfish Nutrition. Beijing: Academic Press, 1993: 153-156.
- [42] Qiu J X, Shayi-buzati M, Zhao H Q. Progress on cold stress in poultry. Progress in Veterinary Medicine, 2008, 29(3): 96-101.
- [43] Iwama G K, Vijayan M M, Forsyth R B, Ackerman P A. Heat shock proteins and physiological stress in fish. Integrative and Comparative Biology, 1999, 39(6): 901-909.
- [44] Deane E E, Woo N Y S. Cloning and characterization of the HSP70 multigene family from silver sea bream; modulated gene expression between warm and cold temperature acclimation. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2005, 330(3): 776-783.

参考文献:

- [4] 常玉梅, 匡友谊, 曹鼎臣, 梁利群, 孙效文, 雷清泉. 低温应激对鲤血液学和血清生化指标的影响. 水产学报, 2006, 30(5): 701-7064.
- [5] 冀德伟, 李明云, 王天柱, 张皇念, 徐镇, 徐万土. 不同低温胁迫时间对大黄花鱼血清生化指标的影响. 水产科学, 2009, 28(1): 1-4.
- [12] 华育平, 刘红柏, 张颖. 温度、疾病感染对史氏鲟血清和各组织中溶菌酶水平的影响. 东北林业大学学报, 2005, 33(3): 63-66.
- [13] 周显青, 牛翠娟, 孙儒泳. 维生素 C 和 E 合用对中华鳖幼鳖非特异性免疫功能的影响. 水生生物学报, 2004, 28(4): 356-360.
- [16] 周玉, 郭文场, 杨振国, 张凯. 鱼类血液学指标研究的进展. 上海水产大学学报, 2001, 10(2): 163-165.
- [17] 何福林, 向建国, 李常健, 李治, 陈开健. 水温对虹鳟血液学指标影响的初步研究. 水生生物学报, 2007, 31(3): 363-369.
- [23] 蔡春芳. 青鱼和鲫对饲料糖的利用及其代谢机制的研究. 上海: 华东师范大学, 2004.
- [42] 邱家祥, 米克热木·沙衣布扎提, 赵红琼. 家禽冷应激研究进展. 动物医学进展, 2008, 29(3): 96-101.

CONTENTS

Marine ecological capital: valuation of standing stock of marine living resources	REN Dachuan, CHEN Shang, XIA Tao, et al (4805)
Effect of Endophytic fungi on growth and photosynthetic characteristics of <i>Achnatherum sibiricum</i>	JIA Tong, REN Anzhi, WANG Shuai, et al (4811)
Based on image processing technology estimating leaves stomatal density of <i>Populus euphratica</i> and analysis of its ecological significance	JIAN Shengqi, ZHAO Chuanyan, ZHAO Yang, et al (4818)
Evaluation of the ecological instream flow in the Yellow River basin with hydrological alterations	ZHANG Qiang, LI Jianfeng, CHEN Xiaohong, et al (4826)
The ecological effects of <i>Suaeda salsa</i> on repairing heavily degraded coastal saline-alkaline wetlands in the Yellow River Delta	GUAN Bo, YU Junbao, LU Zhaohua, et al (4835)
Toxicity risks to the closed tidal flat ecosystem of a PCBs waste savepoint at the coast of Zhejiang	HE Shanying, CHEN Kunbai (4841)
Methane emission from a <i>Carex</i> -dominated wetland in Poyang Lake	HU Qiwu, ZHU Lili, XING Ruixin, et al (4851)
The study on Ice-fish Resources in the Three Gorges Reservoir	SHAO Xiaoyang, LI Daofeng, TAN Lu, et al (4858)
Effects of acute cold stress on serum biochemical and immune parameters and liver HSP70 gene expression in GIFT strain of Nile tilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>)	LIU Bo, WANG Meiyao, XIE Jun, et al (4866)
Acute toxicity and effect of Cd ²⁺ on life table demography of <i>Brachionus angularis</i> and <i>Keratella valga</i>	XU Dandan, XI Yilong, MA Jie, et al (4874)
The association of BDNF gene polymorphisms with normal behavior traits in house-hold sika deer (<i>Cervus nippon</i>)	LÜ Shenjin, YANG Yan, WEI Wanhong (4881)
Characteristics and controlling factors of photosynthesis in a maize ecosystem on the North China Plain	TONG Xiaojuan, LI Jun, LIU Du (4889)
The soil macrofaunal community structure under a long-term fertilization in wheat field	GU Yanfang, ZHANG Li, DING Shengyan, et al (4900)
Effect of earthworms on the photosynthetic characteristics of wetland plants and their capacity to purify wastewater	XU Defu, LI Yingxue, WANG Ranghui, et al (4907)
Toxicity of three pesticides and their effects on carboxylesterase activity of <i>Propiloscerus akamusi</i>	FANG Guofei (4914)
Reproductive behavior character and sexual tendency of the adult <i>Zeuzera leuconotum</i> Butler (Lepidoptera: Cossidae)	LIU Jinlong, ZONG Shixiang, ZHANG Jintong, et al (4919)
Effects of herbicides stress on the population of alligator weed flea beetles, <i>Agasicles hygrophila</i> (Col.: Chrysomelidae) and corresponding strategies	LIU Yufang, PENG Meifang, WANG Chengchao, et al (4928)
Patterns of fruit and seed production and ecological significance in desert species <i>Eremosparton songoricum</i> (FABACEAE)	SHI Xiang, WANG Jiancheng, ZHANG Daoyuan, et al (4935)
Effect of different nitrogen supply on the temporal and spatial distribution and remobilization of canopy nitrogen in winter wheat under limited irrigation condition	HAO Baozhen, JIANG Lina, FANG Baoting, et al (4941)
Plant architecture characteristics of <i>Haloxylon ammodendron</i> and <i>Haloxylon persicum</i> in Zhungar Basin	WANG Lijuan, SUN Dongyuan, ZHAO Chengyi, et al (4952)
Downscaling land surface temperature based on relationship between surface temperature and vegetation index	NIE Jianliang, WU Jianjun, YANG Xi, et al (4961)
Differential characteristics of soil $\delta^{15}\text{N}$ under varying vegetation in karst areas	WANG Zhijun, LIANG Xuan, HE Qiufang, et al (4970)
Effect of nitrogen application rate on growth and leaf photosynthetic characteristics of <i>Jatropha curcas</i> L. seedlings	YIN Li, HU Tingxing, LIU Yongan, et al (4977)
Seasonal variations in leaf C, N, and P stoichiometry of typical plants in the Yangou watershed in the loess hilly gully region	WANG Kaibo, SHANGGUAN Zhouping (4985)
Clonal integration enhances the ability to scavenge reactive oxygen species in root of <i>Cynodon dactylon</i> subjected to submergence	LI Zhaojia, YU Jie, FAN Dayong, et al (4992)
Pattern of flow-covered sand-fixing woodland and its windbreak effect	YANG Wenbin, DONG Huilong, LU Qi, et al (5000)
Evaluation of soil and water conservation capacity of different forest types in Dongling Mountain	MO Fei, LI Xuyong, HE Shuxia, et al (5009)
Changes in structural components and respiration rates of coarse woody debris at the initial decomposition stage for 11 temperate tree species	ZHANG Limin, WANG Chuankuan, TANG Yan (5009)
Characteristics of nutrient cycling in first and second rotations of Chinese fir plantations	TIAN Dalun, SHEN Yan, KANG Wenxing, et al (5025)
The optimal design of a connected nature reserve network	WANG Yicheng (5033)
Sub-areas compartmentalization of Changjiang Estuary based on the natural geographical characteristics	LIU Lusan, ZHENG Binghui, MENG Wei, et al (5042)
The environmental and economic influence of coal-electricity integration exploitation in the Xilingol League	WU Di, DAI Fangzhou, YAN Yan, et al (5055)
Review and Monograph	
The influence of diversity changes of ecological conditions on the survival of honey bees	HOU Chunsheng, ZHANG Xuefeng (5061)
Scientific Note	
The spatio-temporal change in the secondary production of macrozoobenthos in the intertidal zone of Jiaozhou Bay	ZHANG Chongliang, XU Binduo, REN Yiping, et al (5071)
The studying system construction of wetland parks	WANG Lilong, LU Lin (5081)
Ecological footprint analysis of a semi-arid grassland region facilitates assessment of its ecological carrying capacity: a case study of Xilinguole League	YANG Yan, NIU Jianming, ZHANG Qing, et al (5096)

2009 年度生物学科总被引频次和影响因子前 10 名期刊★

(源于 2010 年版 CSTPCD 数据库)

排序 Order	期刊 Journal	总被引频次 Total citation	排序 Order	期刊 Journal	影响因子 Impact factor
1	生态学报	11764	1	生态学报	1.812
2	应用生态学报	9430	2	植物生态学报	1.771
3	植物生态学报	4384	3	应用生态学报	1.733
4	西北植物学报	4177	4	生物多样性	1.553
5	生态学杂志	4048	5	生态学杂志	1.396
6	植物生理学通讯	3362	6	西北植物学报	0.986
7	JOURNAL OF INTEGRATIVE PLANT BIOLOGY	3327	7	兽类学报	0.894
8	MOLECULAR PLANT	1788	8	CELL RESEARCH	0.873
9	水生生物学报	1773	9	植物学报	0.841
10	遗传学报	1667	10	植物研究	0.809

★《生态学报》2009 年在核心版的 1964 种科技期刊排序中总被引频次 11764 次,全国排名第 1;影响因子 1.812,全国排名第 14;第 1—9 届连续 9 年入围中国百种杰出学术期刊;中国精品科技期刊

编辑部主任 孔红梅

执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报
(SHENGTAI XUEBAO)
(半月刊 1981 年 3 月创刊)
第 31 卷 第 17 期 (2011 年 9 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 31 No. 17 2011

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www.ecologica.cn Shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	冯宗炜	Editor-in-chief	FENG Zong-Wei
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 70.00 元