

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第32卷 第3期 Vol.32 No.3 **2012**

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 32 卷 第 3 期

2012 年 2 月 (半月刊)

目 次

夏季可可西里雌性藏原羚行为时间分配及活动节律	连新明, 李晓晓, 颜培实, 等 (663)
热带印度洋黄鳍金枪鱼渔场时空分布与温跃层的关系	杨胜龙, 张禹, 张衡, 等 (671)
洪湖水体藻类藻相特征及其对生境的响应	卢碧林, 严平川, 田小海, 等 (680)
广西西端海岸四种红树植物天然种群生境高程	刘亮, 范航清, 李春千 (690)
高浓度 CO ₂ 引起的海水酸化对小珊瑚藻光合作用和钙化作用的影响	徐智广, 李美真, 霍传林, 等 (699)
盖度与冠层水深对沉水植物水盾草光谱特性的影响	邹维娜, 袁琳, 张利权, 等 (706)
基于 C-Plan 规划软件的生物多样性就地保护优先区规划——以中国东北地区为例	栾晓峰, 孙工棋, 曲艺, 等 (715)
城市化对本土植物多样性的影响——以廊坊市为例	彭羽, 刘雪华, 薛达元, 等 (723)
利用红外相机调查北京松山国家级自然保护区的野生动物物种	刘芳, 李迪强, 吴记贵 (730)
基于树木起源、立地分级和龄组的单木生物量模型	李海奎, 宁金魁 (740)
千岛湖社鼠种群遗传现状及与生境面积的关系	刘军, 鲍毅新, 张旭, 等 (758)
气候变化对内蒙古草原典型植物物候的影响	顾润源, 周伟灿, 白美兰, 等 (767)
中国西北典型冰川区大气氮素沉降量的估算——以天山乌鲁木齐河源 1 号冰川为例	王圣杰, 张明军, 王飞腾, 等 (777)
植被类型对盐沼湿地空气生境节肢动物功能群的影响	童春富 (786)
黔西北铅锌矿区植物群落分布及其对重金属的迁移特征	邢丹, 刘鸿雁, 于萍萍, 等 (796)
云南中南部季风常绿阔叶林恢复生态系统萌生特征	苏建荣, 刘万德, 张志钧, 等 (805)
筑坝扩容下高原湿地拉市海植物群落分布格局及其变化	肖德荣, 袁华, 田昆, 等 (815)
三峡库区马尾松根系生物量的空间分布	程瑞梅, 王瑞丽, 肖文发, 等 (823)
兴安落叶松林生物量、地表枯落物量及土壤有机碳储量随林分生长的变化差异	王洪岩, 王文杰, 邱岭, 等 (833)
内蒙古放牧草地土壤碳固持速率和潜力	何念鹏, 韩兴国, 于贵瑞 (844)
不同林龄马尾松凋落物基质质量与土壤养分的关系	葛晓改, 肖文发, 曾立雄, 等 (852)
不同丛枝菌根真菌侵染对土壤结构的影响	彭思利, 申鸿, 张宇亭, 等 (863)
不同初始含水率下粘质土壤的入渗过程	刘目兴, 聂艳, 于婧 (871)
不同耕作措施的温室气体排放日变化及最佳观测时间	田慎重, 宁堂原, 迟淑筠, 等 (879)
外源铅、铜胁迫对不同基因型谷子幼苗生理生态特性的影响	肖志华, 张义贤, 张喜文, 等 (889)
温度和盐度对吉富品系尼罗罗非鱼幼鱼鳃 Na ⁺ -K ⁺ -ATPase 活力的联合效应	王海贞, 王辉, 强俊, 等 (898)
基于元胞自动机的喀斯特石漠化格局模拟研究	王晓学, 李叙勇, 吴秀芹 (907)
边缘细胞对荞麦根尖铝毒的防护效应和对细胞壁多糖的影响	蔡妙珍, 王宁, 王志颖, 等 (915)
川中丘陵区人工柏木防护林适宜林分结构及水文效应	龚固堂, 黎燕琼, 朱志芳, 等 (923)
基于 AHP 与 Rough Set 的农业节水技术综合评价	翟治芬, 王兰英, 孙敏章, 等 (931)
基于 DMSP/OLS 影像的我国主要城市群空间扩张特征分析	王翠平, 王豪伟, 李春明, 等 (942)
生态旅游资源非使用价值评估——以达赉湖自然保护区为例	王朋薇, 贾竞波 (955)
专论与综述	
基于有害干扰的森林生态系统健康评价指标体系的构建	袁菲, 张星耀, 梁军 (964)
硅对植物抗虫性的影响及其机制	韩永强, 魏春光, 侯茂林 (974)

研究简报

光照条件、植株冠层结构和枝条寿命的关系——以桂花和水杉为例	占峰, 杨冬梅 (984)
Bt 玉米秸秆还田对小麦幼苗生长发育的影响	陈小文, 祁鑫, 王海永, 等 (993)
汶川大地震灾后不同滑坡体上柏木体内非结构性碳水化合物特性	陈博, 李志华, 何茜, 等 (999)

期刊基本参数: CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 344 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 37 * 2012-02



封面图说: 难得的湿地乔木——池杉池杉为落叶乔木, 高达 25 米, 主干挺直, 树冠尖塔。树干基部膨大, 常有屈膝状吐吸根, 池杉为速生树, 强阳性, 耐寒性较强, 耐干旱, 更极耐水淹, 多植于湖泊周围及河流两岸, 是能在在水里生长的极少数的大乔木之一, 故有湿地乔木之称。池杉原产美国弗吉尼亚沼泽地, 中国于本世纪初引种到江苏等地, 之后大量引种南方各省, 尤其是长江南北水网地区作为重要造树和园林树种而大量栽种。

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

DOI: 10.5846/stxb201107171061

王海贞, 王辉, 强俊, 徐跑, 李瑞伟. 温度和盐度对吉富品系尼罗罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的联合效应. 生态学报, 2012, 32(3): 898-906.
Wang H Z, Wang H, Qiang J, Xu P, Li R W. Combined effect of temperature and salinity on the $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity from the gill of GIFT tilapia juveniles (*Oreochromis niloticus*). Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(3): 898-906.

温度和盐度对吉富品系尼罗罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的联合效应

王海贞¹, 王 辉^{1,*}, 强 俊², 徐 跑², 李瑞伟³

(1. 广东海洋大学水产学院, 湛江 524025; 2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 无锡 214081;

3. 茂南三高罗非鱼良种繁殖基地, 茂名 525024)

摘要: 试验采用中心组合设计 (central composite face-centered design, CCF) 和响应曲面法 (response surface methodology, RSM) 研究了温度 (12—34℃) 和盐度 (0—26) 两因素对体长为 (4.36±0.105) cm, 体重为 (2.45±0.153) g 的吉富品系尼罗罗非鱼 (GIFT Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*; 简称吉富罗非鱼) 幼鱼鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的联合效应。结果表明: (1) 温度和盐度的一次效应和二次效应对 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力影响极显著 ($P<0.01$), 温度和盐度的交互效应不显著 ($P>0.05$); (2) 经响应曲面法分析, 随着温度和盐度的增大, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力呈先减小后增大的趋势; (3) 建立了 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力与温度、盐度间关系的模型方程 ($R^2=0.9829$, $\text{Pred. } R^2=0.8550$, $P<0.01$), 并可用于预测吉富罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 的活力; (4) 优化结果显示, 温度为 24.15℃, 盐度为 11.75 时, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力最小为 0.62 μmol 无机磷·mg⁻¹ 蛋白·h⁻¹, 满意度函数值高达 0.961。 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力可以作为检测罗非鱼生长性能的指标, 其活力较低时, 一般反映了鱼体生存环境适宜, 生长代谢旺盛, 消耗于渗透调节的能量较少。

关键词: 吉富罗非鱼; 温度; 盐度; $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$; 响应曲面法

Combined effect of temperature and salinity on the $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity from the gill of GIFT tilapia juveniles (*Oreochromis niloticus*)

WANG Haizhen¹, WANG Hui^{1,*}, QIANG Jun², XU Pao², LI Ruiwei³

1 Fisheries College of Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, China

2 Freshwater Fisheries Research Center of Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China

3 Maonan Sangao Tilapia Breeding Base, Maoming 525024, China

Abstract: Central composite face-centered design (CCF) and response surface methodology were used in the experiment to examine the combined effect of temperature (12—34℃) and salinity (0—26) on the $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity from the gill of tilapia juveniles (GIFT strain) (mean body length (4.3±0.105) cm and mean body weight (2.45±0.153) g). The results showed that: (1) The linear and quadratic effects of temperature and salinity on the $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity were highly significant ($P<0.01$), and the interactive effect between temperature and salinity was nonsignificant ($P>0.05$); (2) Using the response surface method, the $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity varied with increasing temperature and salinity in a curvilinear way; (3) The model equation of the enzyme activity towards temperature and salinity was established, with $R^2=0.9829$ and $\text{Pred. } R^2=0.855$ ($P<0.01$). The model equation could be practically used for forecasting the gill $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity in GIFT Nile tilapia juveniles; (4) Via applying statistical optimization of the response of interest, results

基金项目: 国家科技支撑计划项目 (2008BADB9B01-3); 农业部公益性行业科研专项 (200903046-02); 广东省教育部产学研结合项目 (2008B090500088, 2010B090500032)

收稿日期: 2011-07-17; 修订日期: 2011-11-09

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: whh524@sina.com

showed that the optimal factor combination was $24.15^\circ\text{C}/11.75$, at which the minimum $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity, $0.62\mu\text{molPi}\cdot\text{mg}^{-1}\text{pr}\cdot\text{h}^{-1}$, was reached, with the desirability as high as 0.961. The $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity can be used as an indicator of growth of GIFT Nile tilapia juveniles. In general, It can be said that the environment in which the $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity is weaker is suitable for the tilapia juvenile growth, and in this case the metabolism of tilapia is more efficient, and the energy consumed for osmoregulation is smaller.

Key Words: GIFT Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*); temperature; salinity; $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$; response surface method

$\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 是一种镶嵌在细胞膜类脂双分子层中具有腺苷酸三磷酸酶活性的一种特异性膜蛋白质,广泛存在于生物细胞中^[1]。在鱼类的鳃中, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 又是一个跨脂膜的 $\text{Na}^+\text{-K}^+$ 泵,能主动向细胞外运输 Na^+ ,向细胞内运输 K^+ ^[2-3]。并在此过程中水解 ATP 产生能量,该能量主要用于渗透调节、物质运输和生长代谢^[3-4]。另外, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 对外界不利因素的胁迫敏感性很强,已成为环境毒理评价、机体生理功能和生长状况指示的重要生物酶之一^[5]。

国内外关于罗非鱼 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 主要是以莫桑比克罗非鱼 (*Oreochromis mossambicus*) 和奥利亚罗非鱼 (*Oreochromis aureus*) 为研究对象,对 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 基因的分子结构^[6]、 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性^[7-9]、及其 mRNA 蛋白质表达^[10] 的差异等方面进行了较多研究^[11]。关于主要环境因子对吉富罗非鱼 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力影响的研究,国内外大部分文献是在单个环境因子条件下进行的,从而忽略了环境因子之间的互作效应,这与罗非鱼实际的生存环境不符。同时,这些研究只分析讨论了环境因子对 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的一次效应,并未建立模型和考察因子的二次效应,使试验结果缺乏可靠的预测性,忽略了环境因子对 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的累积效应。

本试验通过建立可靠的回归模型,研究了温度和盐度对吉富罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的一、二次效应和互作效应,并采用响应曲面法分析结果,优化并找到了温盐组合下的 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的最小值。通过本研究期望在理论上找到吉富罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力在不同温度和盐度下的变化规律,在实践生产中,能够通过罗非鱼鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的变化来检测其生长性能,并通过改善养殖水环境条件来达到罗非鱼增产增收的目的。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验鱼来自广东省茂名“三高”国家级罗非鱼良种繁殖基地最新繁育的第十六代吉富品系尼罗罗非鱼幼鱼。

1.2 试验方法

1.2.1 试验鱼驯养

将从养殖基地运回鱼苗中,挑选出无伤、无病、行动敏捷,生命力强,统一规格的吉富罗非鱼幼鱼分养在多个 50L 的塑料桶中暂养 6d,暂养水体为曝气后的自来水(水温 $(28\pm 0.5)^\circ\text{C}$,盐度 8, pH 7.6 ± 0.2),桶内放置相同通气量的气石通气以保持桶内溶氧充足,暂养结束后再次挑选出活力较好的,统一规格的鱼苗分别放养在 28 个已贴上标签并分组(表 1)的试验塑料桶(50L)内继续进行温度、盐度驯养,每个桶内放养 50 尾,驯养采用逐渐提高或降低温度、盐度的方法。驯养结束后,再次挑选出活力较好的鱼体,保证每个试验组有 30 尾,然后在设定的实验条件下继续养 14d,最后进行酶液的提取。整个试验过程中,塑料桶要经过消毒处理,试验用水为曝气后的自来水,溶氧保持在 5.5g/L 。温度用恒温棒和生物冰袋同时控制,精密温度计测定,盐度用海水晶调节,精密盐度计测定,每隔 12h 调节 1 次盐度,4h 调节 1 次温度。每天早、晚各投喂 1 次人工浮性膨化饲料(含粗蛋白为 30.0%、脂肪 8.0%、灰分 15.75%、水分 12.0%)。

1.2.2 酶液提取

随机抽取每个实验组桶内的 4 尾活力较好的幼鱼,置于冰盘上取其腮丝组织,在冰冷的生理盐水中漂洗,

除去血液,滤纸拭干,称重,放入 10mL 的小烧杯内。用移液管量取 0.86% 冷生理盐水(体积为组织块重量的 9 倍)。再用移液管取以上总量 2/3 的冷生理盐水于小烧杯中,用眼科剪尽快剪碎组织。剪碎的组织倒入玻璃匀浆管中,再将剩余的 1/3 以上冷生理盐水冲洗残留在烧杯中的碎组织片,一起倒入匀浆管中进行匀浆,左手持匀浆管将下端插入盛有冰水混合物的器皿中,右手将捣杆垂直插入套管中,上下转动研磨 10 次(6—8min),充分研碎使组织匀浆化。将制备好的 10% 的匀浆用离心机(2000r/min)离心 5 min,留上清液 4℃ 保存备用。

1.2.3 酶活力测定

用 BIO-TEKuQuart 全波段酶标仪,波长为 660nm,测出酶液的吸光度,然后利用公式计算出 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 的比活力。酶测定使用南京建成工程研究所提供的酶测定试剂盒,测定方法严格按照由南京建成工程研究所提供的 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力测定方法进行。蛋白质含量用考马斯亮蓝测定,酶活力单位为 μmol 无机磷 $\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白 $\cdot\text{h}^{-1}$ 。

1.2.4 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力定义

每小时每毫克组织蛋白的组织中 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 分解 ATP 产生 $1\mu\text{mol}$ 无机磷的量为一个 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力单位。

1.3 试验设计

本试验采用中心组合试验设计(CCF),温度 12—34℃,盐度 0—16。采用该设计形式时,温度($T/^\circ\text{C}$)在上述范围内取 3 个水平,盐度(S)也取 3 个水平。各水平的编码值分别为-1、0、1。整个试验设计包括 14 个温度和盐度组合(表 1)。因子点数 4 个,轴点数 4 个,星号臂为 1,中心点重复 6 次。整个试验重复 1 次。

表 1 试验设计与相应结果

Table 1 Experimental design and results

序号 No.	编码值 Coded value		实际值 Actual value		$\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}/(\mu\text{mol 无机磷} \cdot \text{mg}^{-1} \text{蛋白} \cdot \text{h}^{-1})$ 平均 mean $\pm$ SD
	$T/^\circ\text{C}$	S	$T/^\circ\text{C}$	S	
1	0	0	23	13	0.650 $\pm$ 0.024
2	0	0	23	13	0.702 $\pm$ 0.016
3	0	0	23	13	0.653 $\pm$ 0.009
4	0	0	23	13	0.684 $\pm$ 0.017
5	0	0	23	13	0.678 $\pm$ 0.013
6	0	0	23	13	0.623 $\pm$ 0.025
7	1	-1	34	0	2.135 $\pm$ 0.076
8	-1	-1	12	0	1.756 $\pm$ 0.056
9	0	1	23	26	2.004 $\pm$ 0.079
10	0	-1	23	0	1.040 $\pm$ 0.044
11	1	1	34	26	3.225 $\pm$ 0.082
12	-1	1	12	26	2.869 $\pm$ 0.065
13	1	0	34	13	1.756 $\pm$ 0.047
14	-1	0	12	13	0.869 $\pm$ 0.026

表 1 中的标准差是 1 次重复的结果

1.4 数据处理

采用 SAS (v9.13, SAS Institute Inc., North Carolina, US) 软件进行统计分析,以温度和盐度两个因子为自变量,罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力为因变量,拟建立 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力和温度、盐度之间的回归模型:

$$Y = b_0 + b_1T + b_2S + b_{12}T \times S + b_{11}T^2 + b_{22}S^2 + \varepsilon$$

式中, Y 为响应变量($\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力或其变换值); b_0 为常数项; b_1 、 b_2 分别为温度和盐度的一次效应; b_{11} 、

b_{22} 分别为温度和盐度的二次效应; b_{12} 为温度与盐度间的互作效应; ε 为残差,并假定其服从均数为0的正态分布。采用ANOVA方法检验模型的显著性,并给出几种决定系数以辅助确定模型的拟合优度。模型中的各项效应采用最小二乘法进行估计并采用 F 统计量进行显著性检验。其结果可通过响应曲面图来清晰展示。显著水平设定为 $P < 0.05$ 。

建立模型方程后,采用Montgomery^[12]的方法对回归方程进行优化,可得到最优的温度和盐度组合。优化结果的可靠性以满意度函数(Desirability function)来表示,其值介于0—1之间。

2 结果与分析

2.1 模型建立及显著型检验

方差分析结果表明:方程模型极显著($P < 0.01$),模型决定系数 R^2 为0.9829,矫正决定系数Adj. $R^2 = 0.9772$,预测决定系数Pred. $R^2 = 0.8550$;温度和盐度两因子互作时对吉富罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力影响不显著($P > 0.05$);温度和盐度对吉富罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力的线性影响极显著($P < 0.01$);温度和盐度的二次效应对吉富罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力的影响极显著($P < 0.01$)。

表2 模型的方差分析表

Table 2 Analysis of variance for the adequacy of the model

变异来源 Source	平方和 SS	自由度 df	均方 MS	F	P
模型 Model	10.120	5	2.020	92.090	< 0.0001
T	0.440	1	0.440	19.950	0.0021
S	1.670	1	1.670	76.040	< 0.0001
$T \times S$	1.320×10^{-4}	1	1.320×10^{-4}	6.016×10^{-3}	0.9401
T^2	1.820	1	1.820	82.680	< 0.0001
S^2	2.890	1	2.890	131.590	< 0.0001
残差 Residual	0.180	8	0.022		
失拟 Lack of fit	0.170	3	0.057	73.000	0.0002
纯误差 Pure error	3.925×10^{-3}	5	7.850×10^{-4}		
总值 Total	10.300	13			

决定系数 $R^2 = 0.9829$,矫正决定系数Adj. $R^2 = 0.9772$,预测决定系数Pred. $R^2 = 0.8550$

2.2 系数估计

实验得出的 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力实际的(即非编码)回归方程为:

$$Y = 4.0340 - 0.2794T - 0.1139S + 6.6191 \times 10^{-3}T^2 + 5.9788 \times 10^{-3}S^2 - 4.0210 \times 10^{-5}T \times S$$

表3显示95%置信区间预测模型的最高值为0.76,最低估计值为0.5;方差膨胀因子(VIF)接近于1;温度与盐度间互作效应不显著($P > 0.05$);温度、盐度的一次和二次效应对 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力均为正相关;温度和盐度的二次效应极显著($P < 0.01$),且系数都为正值。

表3 回归方程系数及95%置信区间估计

Table 3 The coefficient estimate and 95% confidence interval

因子 Factor	系数估计 Coefficient estimate	标准误差 Standard error	95% 置信区间 95% Confidence interval		方差膨胀因子 VIF
			下限 Low	上限 High	
截距 Intercept	0.630	0.057	0.500	0.760	
T	0.270	0.061	0.130	0.410	1.000
S	0.530	0.061	0.390	0.670	1.000
$T \times S$	-5.75×10^{-3}	0.074	-0.180	0.170	1.000
T^2	0.800	0.088	0.600	1.000	1.210
S^2	1.010	0.088	0.810	1.210	1.210

表中系数估计的值为编码值

2.3 响应曲面分析

从图1和表1中可以看到,随着温度和盐度的升高,吉富罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力呈先下降后

上升的趋势,温度在 12—23℃ 和盐度在 0—13 范围内呈下降趋势,温度在 23—34℃,盐度在 13—26 呈上升趋势。温度为 23—25℃,盐度为 11—13 范围内 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力有最小值。图 1 中显示等高线呈近圆形,说明温度和盐度互作对 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的影响不显著 ($P>0.05$)。

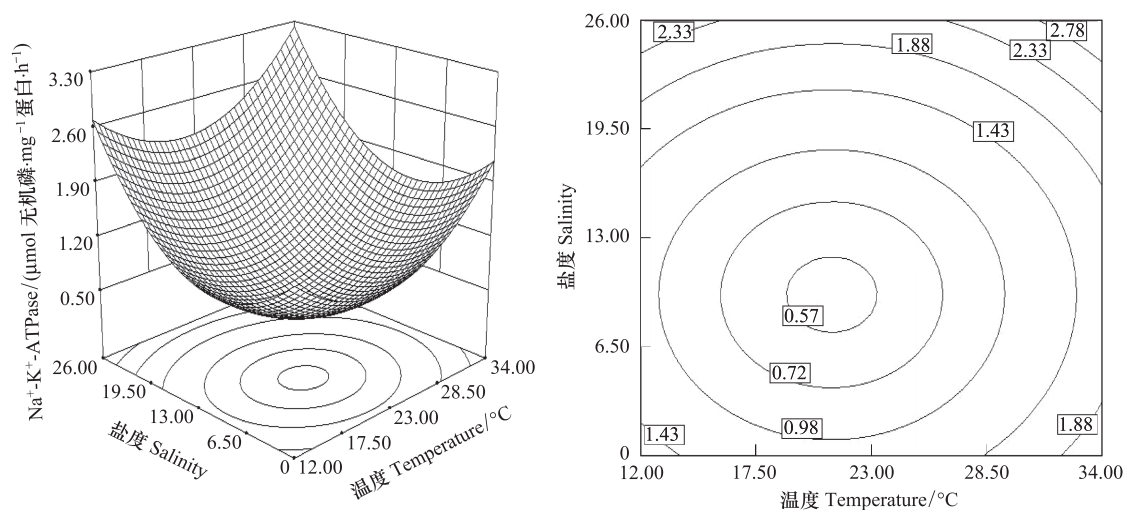


图 1 温度和盐度对吉富罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力影响的响应曲面图和等高线图

Fig. 1 Response surface and contour plot of effects of temperature and salinity on $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity from the gill of GIFT Nile tilapia juveniles (*O. niloticus*)

2.3 优化

利用 Montgomery^[12]的方法对吉富罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的模型进行优化,结果显示, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力估计最优预测的 95% 置信区间的上限和下限分别为 0.49 和 0.75,在温度为 24.15℃,盐度为 11.75 时, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 最小活力为 0.62 μmol 无机磷 $\cdot \text{mg}^{-1}$ 蛋白 $\cdot \text{h}^{-1}$,满意度高达 0.961。

3 讨论

3.1 温度对吉富罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的一次和二次效应

温度对水产动物鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的影响主要通过影响生物膜结构,从而影响膜上 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 构象的转变过程以及酶对反应离子和底物的亲和力,提高鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 对血淋巴渗透压的调节功能^[13]。关于温度对水产动物 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的影响,大部分研究认为,水温在一定的范围内, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力会随着水温的升高而增加。其原因认为高温能够提高 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 对离子和底物之间的亲和力,从而使 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性增加^[13]。然而,他们的研究中只分析讨论了温度对 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力一次效应(即线性效应)的影响,并没有考虑温度对 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的二次效应是否显著,这样得到结果并未体现出环境的累积效应。

本试验方差分析结果(表 2)显示,温度对吉富罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的一次效应极显著 ($P<0.01$),说明温度是影响吉富罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的关键环境因子。同时还显示,温度对吉富罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的二次效应极显著 ($P<0.01$),说明温度对 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的影响不是简单的线性关系。从响应曲面图(图 1)可知, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力随着温度的升高呈先下降后上升的趋势。通过优化得出,温度为 24.15℃ 时, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力有最小值为 0.62 μmol 无机磷 $\cdot \text{mg}^{-1}$ 蛋白 $\cdot \text{h}^{-1}$ 。

本试验结果可有两种原因:

(1) 在 24.15℃ 时,吉富罗非鱼体处于一种生理平衡状态,离子运输和渗透压调节保持在较低水平,用于渗透压调节的能量相对较少;在低温 12℃ 低温下则相反,鱼体代谢缓慢,不需要消耗过多的能量来维持生长代谢^[14],较多的能量就用于渗透压调节和呼吸^[15]上,因而鳃中 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 酶活力就相对较高,这也是罗非

鱼自身能量合理利用的一种表现。一般 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 的最适催化温度在 $30\text{--}40^\circ\text{C}$ [16], 在高温 34°C 时, 可能接近于吉富罗非鱼幼鱼鳃的 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 最适催化温度, 增加了 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 和其底物亲和力, 从而提高了 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力。

(2) $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 是硬骨鱼类渗透压调节组织中离子交换的关键性酶, 它的基本结构是由一个 α 亚基 (相对分子质量为 110kD) 和一个 β 亚基 (相对分子质量为 55kD) 组成 [17], $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 的 α 亚基分子量较大, 含有功能酶的酶触反应结构域, 在硬骨鱼类上已经克隆了编码此亚基的基因 [6, 18-20]。 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 的 β 亚基分子量较小, 其作用目前不清楚, 但现有的研究表明, 它是维持钠钾泵稳定性及正确膜定位的必要组成部分。同时, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 的 α 亚基有 3 种同型结构 α_1 、 α_2 和 α_3 , 温度能改变着 3 种同型结构基因表达量, 当温升高时, α_3 表达量下降, α_1 和 α_2 表达量升高 [21]。 α_1 、 α_2 和 α_3 三者基因表达量的比例关系可能影响 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力。罗非鱼最适生长温度在 $28\text{--}31^\circ\text{C}$ [22], 经过环境长期选择, 当外界温度接近于吉富罗非鱼的最适生长温度时, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 的 α_1 、 α_2 和 α_3 3 种亚基的基因表达量的比例可能正好能使 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力处于最低水平, 以便于节省渗透调节消耗的能量。

3.2 盐度对吉富罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的一次和二次效应

盐度主要通过渗透压调节水产动物的生理状态, 而 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 在渗透压调节方面起着极其重要的作用。因此, 盐度对水产动物 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的影响报道较多 [1]。鱼类对盐度的适应过程, 许多学者已经进行过一些相关的研究, 从 Partridge 等 [23] 对黑棘鲷 (*Acanthopagrus butcheri*)、Altinok 等 [24] 对墨西哥湾鲟 (*Acipenser oxyrinchus desotoi*)、以及 Handeland 等 [25] 对大西洋鲑 (*Salmo salar*) 的研究可以看出, 这一过程主要分为两个阶段: 一是盐度变化后短期内, 鱼类血浆渗透压呈迅速下降的趋势, 这一变化随即刺激鱼机体渗透调节生理机制的改变; 二是渗透压向变化前状态的逐渐恢复的过程 [26]。

在本试验过程中, 进行盐度驯养的前几天发现除了温度为 23°C , 盐度为 13 的试验组合中的罗非鱼活力较好, 体色正常外, 其他各组合的罗非鱼均出现了活力减退, 体色变黑的现象, 尤其是温度为 12°C , 盐度为 26 和温度为 34°C , 盐度为 26 两个高盐组合的罗非鱼活力最差, 体色最黑, 其次是盐度为 0 的试验组合, 罗非鱼活力也出现不同程度的下降, 体色稍微变黑, 这是罗非鱼在刚进入高盐或低盐环境下所表现出来的一种应急反应现象。但这种应急反应是短时间的, 在 7d 之后, 各个试验组的罗非鱼活力逐渐恢复正常, 到 14d 时各试验组的罗非鱼活力已达到相对稳定的状态, 体色也正常。这时测得的 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力稳定。

一般研究认为, 在盐度升高的情况下, 水产动物通过吸入大量海水来补偿由身体表面丢失的水分 [27], 由于鱼体需要排除细胞内过多的 Na^+ 和 K^+ , 以调节自身渗透压的稳定, 所以 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力就会增强 [28]。Wilder 等 [29] 对罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 的研究表明, 在驯养一周后, 提高盐度可以使鳃中的 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 比活力增加。Marshall 等 [30] 也认为盐度与水产动物的鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力有正相关关系。然而, 这些研究中只分析讨论了盐度对 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力一次效应 (即线性效应) 的影响, 也没有考虑盐度对 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的二次效应是否存在。

本试验方差分析结果 (表 2) 显示, 盐度对吉富罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的一次效应极显著 ($P < 0.01$), 说明盐度也是影响吉富罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的关键的环境因子。同时还显示, 盐度对吉富罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的二次效应极显著 ($P < 0.01$), 说明盐度对 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的影响不是简单的线性关系。从响应曲面图 (图 1) 可知, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力随着盐度的升高呈先下降后上升的趋势, 通过优化得出, 盐度为 11.75 时, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力有最小值为 $0.62 \mu\text{mol 无机磷} \cdot \text{mg}^{-1} \text{蛋白} \cdot \text{h}^{-1}$ 。

其原因可能为, 鱼类在接近于或稍高于等渗点的水体中, 鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 表现出较低的活力。在这个环境下, 鱼体进行渗透调节消耗的能量较少, 节省更多的能量用于生长代谢。从理论上说, 生活在盐度为 12 的水体中, 对罗非鱼来说是一种等渗环境, 用来进行渗透调节的能量较少, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力最低, 鱼类生长的盐度在接近等渗点时生长应该最快 [31]。本试验在盐度为 11.75 时更接近吉富罗非鱼幼鱼的体内细胞的等渗点, 所以, 渗透调节消耗的能量很少, 鳃 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力较低; 盐度为 0 和 26 时, 偏离了鱼体内等渗

点,所以鳃 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活力较高。而且外界水环境的盐度越接近该等渗点,鳃 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活力就会越低,外界水环境的盐度越偏离该等渗点,鳃 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活力就会越高。

3.3 温度和盐度对吉富罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活力的互作效应

当因子之间存在互作效应时,对该交互作用的分析比只分析因素的主效应重要的多^[32]。Montgomery^[12]明确指出,互作有时可以屏蔽主效应,在互作存在的情况下,互作效应比单纯主效应更重要,更有实际意义。然而,国内外关于环境因子对水产动物 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活力影响大部分是单因子方面的研究,即使是多因素试验,也只分析讨论了每个因子的主效应。从而忽略了环境因子之间的互作效应,使得分析结果与实际不符。Sardella 等^[33]研究发现,15℃时,莫桑比克罗非鱼在淡水中鳃 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活力较低,在相同的温度下,从淡水转移到海水中 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活力却升高。由此可见,温度和盐度对莫桑比克罗非鱼存在互作效应。但是 Sardella 等的研究没有详细分析温盐之间的互作效应是否显著,只讨论了温度和盐度 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活力的主效应。本试验通过方差分析表(表2)显示,温度和盐度的互作效应不显著($P>0.05$),同时,响应曲面等高线图1显示,等高线呈近似圆形,也说明温盐互作不显著。在本研究中,温盐互作不显著的可能原因为:温度和盐度对吉富罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活力的影响机制不同,温度可能是通过改变 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 的构象来改变酶的活力的,当 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 的构象适合与底物结合时,酶和底物之间的亲和就会增加,催化效率就会提高。反之,当 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 的构象阻碍与底物结合时,酶和底物之间的亲和就会减弱,催化效率就会降低。盐度可能是伴随着鳃上皮细胞细渗透压调节来改变 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活力的。当细胞内外环境渗透压有差距时,鳃上皮的氯细胞通过 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 向细胞外输送 Na^+ ,向细胞内输送 K^+ 来调节鱼体渗透压,使鱼体渗透压稳定在一个范围内。盐度还有可能通过改变鳃上皮细胞中氯细胞的数量和体积来改变 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 的浓度^[34],从而使 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 的活力在不同盐度中波动。

3.4 模型的建立及其意义

响应曲面分析方法的最大优点在于通过响应曲面分析得到拟合度较高的模型方程,同时还能对试验结果进行优化找到最优因子组合。然而,国内外大部分关于环境因子对 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活力影响的研究,并没有建立起可靠的模型进行预测,只是对某一个环境因素的几个孤立的水平点进行分析。本研究通过建立可靠的回归模型,可对响应进行连续的预测,优化并找到最适温盐环境下的吉富罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活力的最小值。本试验方差分析(表2)结果显示,各因素对模型影响极显著($P<0.01$)说明建立的模型有意义;得到的回归方程的决定系数 R^2 高达 0.9829 且 $\text{Pred. } R^2=0.8550$ ($P<0.01$),说明模型的拟合度很高,可用于预测 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 的活力;方差膨胀因子(VIF)接近于1(表3),说明模型的共线性不显著,模型中各项效应的估计可靠;方差分析表(表2)还显示,模型失拟检验结果显著($P<0.01$),但考虑到纯误差均方很小(7.850×10^{-4}),说明此显著的结果是由该极小的误差造成而非模型不恰当。理论上可以通过本研究建立的模型方程,可靠地预测到不同温度和盐度下吉富罗非鱼幼鱼鳃 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活力。

对该模型优化后得出最优的因子组合为,温度 24.15℃,盐度 11.75,在此最优组合下 $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活力有最小值,为 $0.62\mu\text{mol}$ 无机磷 $\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白 $\cdot\text{h}^{-1}$ 。一般来说, $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ 活力较低时,反映了鱼体生存环境适宜,生长代谢旺盛,消耗于渗透调节的能量较少。说明吉富罗非鱼幼鱼在温度 24℃、盐度为 12 左右时,生长状况良好。

致谢:彭俊、朱晓闻同学对试验给予帮助,特此致谢。

References:

- [1] Liu X D, Wang J Y, Zhang L M, Meng X J. Water environmental factors affecting $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$ activity in aquatic animals. *Fisheries Science*, 2009, 28(3): 171-175.
- [2] Wang J Y, Zhu S G, Xu C F. *Biochemistry*. Bei Jing: Higher Education Press, 2006: 49-58.
- [3] Mladineo I, Block B A. Expression of Hsp70, $\text{Na}^+-\text{K}^+-\text{ATPase}$, 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: 51-57.

- [4] Satyavathi C, Rao Y P. Inhibition of $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ in *Penaeus indicus* postlarvae by lead. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 2000, 127(1): 11-22.
- [5] Tan S H, Yan F, Luo S A, He D Y. Effects of NaNO_2 on $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ and $\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ activities in the liver of *Carassius auratus* (Linnaeus). *Modern Fisheries Information*, 2007, 22(8): 628.
- [6] Feng S H, Leu J H, Yang C H. Gene expression of $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ α_1 and α_3 subunits in gills of the teleost *Oreochromis mossambicus* adapted to different environmental salinities. *Marine Biotechnology*, 2002, 4(4): 379-391.
- [7] Lee T H, Feng S H, Lin C H. Ambient salinity modulates the expression of sodium pumps in branchial mitochondria rich cells of Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Zoological Science*, 2003, 20(1): 29-36.
- [8] Febry R, Lutz P. Energy partitioning in fish; the activity related cost of osmoregulation in a euryhaline cichlid. *Journal of Experimental Biology*, 1987, 128(4): 63-85.
- [9] Hwang P P, Sun C M, Wu S M. Changes of plasma osmolality, chloride concentration and gill $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) during seawater acclimation. *Marine Biology*, 1989, 100: 295-299.
- [10] Hwang P P, Fang M J, Tsai J C. Expression of mRNA and protein of $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ a subunit in gills of tilapia (*Oreochromis mossambicus*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 1998, 18(4): 363-373.
- [11] Li A J, Li X J. Changes of $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity of *Oreochromis niloticus* in freshwater and seawater. *Journal of Henan Normal University: Natural Science*, 2005, 33(4): 102-105.
- [12] Montgomery D C. Design and analysis of experiments (6th ed.). John Wiley & Sons, Inc., 2005: 405-439.
- [13] Lagerspetz K Y H, Pivovarova N B, Senius K E O. Monovalent cation activated ouabain-insensitive ATPase in the gills of freshwater mussel *Anodonta cygnea*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 1992, 103(4): 903-908.
- [14] Wang W N, Niu D H, Shang L X, Wang J X. Effect of low temperature on oxygen consumption, ammonia-N excretion and $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ of *Macrobrachium nipponense*. *Chinese Journal of Applied Environmental Biology*, 2004, 10(5): 602-604.
- [15] Kong X H, Wang G Z, Li S J. Changes of antioxidant defenses ATPase activity and cell membrane fatty acid composition in gill of *Scylla serrata* under low temperature acclimation. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2005, 12(6): 708-713.
- [16] Liu M H, Luo H Z, Chen B. Preliminary study on the characterization of gill $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ in *Miichthys muiy*. *Journal of Zhejiang Ocean University: Natural Science*, 2007, 26(3): 12-16.
- [17] Marshall W S, Bryson S E. Transport mechanisms of seawater teleost chloride cells: an inclusive model of a multifunctional cell. *Comparative Biochemistry and Physiology A*, 1998, 119(1): 97-106.
- [18] Semple J W, Green H J, Schulte P M. Molecular cloning and characterization of two $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ isoforms in *Fundulus heteroclitus*. *Marine Biotechnology*, 2002, 4: 512-519.
- [19] Richards J G, Semple J W, Bystriansky J S. $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ alpha isoform switching in gills of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) during salinity transfer. *Journal of Experimental Biology*, 2003, 206: 4475-4486.
- [20] Blasiole B, Degraeve A, Can V. Differential expression of $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ alpha and beta subunit genes in the developing zebrafish inner ear. *Developmental Dynamics*, 2003, 228(3): 386-392.
- [21] Morrison J F, Guynn S R, Scofield M A. Warm acclimation changes the expression of the $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ α subunit isoforms in Antarctic fish gills. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2006, 333(1): 129-139.
- [22] Wang H, Qiang J, Li R W. Effect of temperature on the growth, feed utilization and digestive enzymes activity of larvae and juvenile of hybrid tilapia. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2008, 28(6): 14-19.
- [23] Partridge G J, Jenkins G I. The effect of salinity on growth and survival of juvenile black bream (*Acanthopagrus butcheri*). *Aquaculture*, 2002, 210(1/4): 219-230.
- [24] Altinok I, Galli S M, Chapman F A. Ionic and osmotic regulation capabilities of juvenile Gulf of Mexico sturgeon (*Acipenser oxyrinchus desotoi*). *Comparative Biology and Physiology Part A*, 1998, 120(4): 609-616.
- [25] Handeland S O, Bjornsson B T, Arnesen A M. Seawater adaptation and growth of post-smolt Atlantic salmon (*Salmo salar*) of wild and farmed strains. *Aquaculture*, 2003, 220(1/4): 367-384.
- [26] Pan L Q, Tang X M, Liu H Y, Tian J B. Effects of salinity on plasma osmolality and gill $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ activity of juvenile Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2006, 37(1): 1-6.
- [27] Gershanovich A D, Smith T I J. International Symposium on Sturgeons Proceedings. Moscow: VXIRO Publ, 1995: 43-51.
- [28] Mancera J M, McCormic S D. Rapid activation of gill $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ in the euryhaline teleost (*Fundulus heteroclitus*). *Journal of Experimental Zoology*, 2000, 287: 263-274.
- [29] Wilder M N, Huong D T T, Atmomassono M. Characterization of $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ in *Macrobrachium rosenbergii* and the effects of changing salinity

- on enzymatic activity. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 2000, 125(3): 377-388.
- [30] Marshall W S, Emberley T R, Singer T D. Time course of salinity adaptation in a strongly euryhaline estuarine teleost, *Fundulus heteroclitus*: a multivariable approach. *Journal of Experimental Biology*, 1999, 202: 1535-1544.
- [31] Lotan R. Oxygen consumption in the gills of *Tilapia aurea* (Steindachner) (Pisces, Cichlidae) in various saline conditions. *Israel Journal of Zoology*, 1966, 15(2): 33-37.
- [32] Du R Q. *Biostatistics*. Beijing: Higher Education Press, 2003, 4: 119-120.
- [33] Sardella B A, Kültz D, Cech J J. Salinity-dependent changes in $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ content of mitochondria-rich cells contribute to differences in thermal tolerance of Mozambique tilapia. *Journal of Comparative physiology*, 2008, 178(3): 249-256.
- [34] Leji J, Babitha G S, Rejitha V. Thyroidal and osmoregulatory responses in tilapia (*Oreochromis mossambicus*) to the effluents of coconut husk retting. *Journal of Endocrinology and Reproduction*, 2007, 11(1): 23-30.

参考文献:

- [1] 柳旭东, 王阮英, 张利民, 孟先菊. 影响水产动物 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 酶活力的水环境因素. *水产科学*, 2009, 28(3): 171-175.
- [2] 王镜岩, 朱圣庚, 徐长法. *生物化学*. 北京: 高等教育出版社, 2006: 49-58.
- [5] 谭树华, 严芳, 罗少安, 何曲翼. 亚硝酸钠(NaNO_2)对鲫鱼肝脏 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 和 $\text{Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 活性的影响. *现代渔业信息*, 2007, 22(8): 628.
- [11] 李爱景, 李学军. 尼罗罗非鱼在淡、海水中 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活性变化. *河南师范大学学报*, 2005, 33(4): 102-105.
- [14] 王维娜, 牛东红, 商利新, 等. 低温对日本沼虾耗氧率、排氨率和 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 比活力的影响. *应用与环境生物学报*, 2004, 10(5): 602-604.
- [15] 孔祥会, 王桂忠, 李少菁, 王军霞. 低温驯化下锯缘青蟹肝胰腺的抗氧化效应及 ATPase 活性变化. *中国水产科学*, 2005, 12(6): 708-713.
- [16] 柳敏海, 罗海忠, 陈波, 傅荣兵. 鲢鱼鳃丝 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 性质的初步研究. *浙江海洋学院报*, 2007, 26(3): 12-16.
- [22] 王辉, 强俊, 李瑞伟. 温度对奥尼罗非鱼仔稚鱼生长、饲料利用和消化酶活力的影响. *广东海洋大学学报*, 2008, 28(6): 14-19.
- [26] 潘鲁青, 唐贤明, 刘泓宇, 田景波. 盐度对褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)幼鱼血浆渗透压和鳃丝 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 活力的影响. *海洋与湖沼*, 2006, 37(1): 1-6.
- [32] 杜荣骞. *生物统计学*. 北京: 高等教育出版社, 2003, 4: 119-120.

CONTENTS

Behavioural time budgets and diurnal rhythms of the female Tibetan gazelles in the Kekexili National Nature Reserve	LIAN Xinming, LI Xiaoxiao, YAN Peishi, et al (663)
The relationship between the temporal-spatial distribution of fishing ground of yellowfin tuna (<i>Thunnus albacares</i>) and thermocline characteristics in the tropic Indian Ocean	YANG Shenglong, ZHANG Yu, ZHANG Heng, et al (671)
Characteristics of algous facies of planktonic algae in lake honghu and its response to habitat	LU Bilin, YAN Pingchuan, TIAN Xiaohai, et al (680)
Tide elevations for four mangrove species along western coast of Guangxi, China	LIU Liang, FAN Hangqing, LI Chungan (690)
Effects of CO ₂ -induced seawater acidification on photosynthesis and calcification in the coralline alga <i>Corallina pilulifera</i>	XU Zhiguang, LI Meizhen, HUO Chuanlin, et al (699)
Impacts of coverage and canopy water depth on the spectral characteristics for a submerged plant <i>Cabomba caroliniana</i>	ZOU Weina, YUAN Lin, ZHANG Liquan, et al (706)
Prioritizing biodiversity in conservation planning based on C-Plan: a case study from northeast China	LUAN Xiaofeng, SUN Gongqi, QU Yi, et al (715)
Effects of urbanization on indigenous plant diversity: a case study of Langfang City, China	PENG Yu, LIU Xuehua, XUE Dayuan, et al (723)
Using infra-red cameras to survey wildlife in Beijing Songshan National Nature Reserve	LIU Fang, LI Diqiang, WU Jigui (730)
Individual tree biomass model by tree origin, site classes and age groups	LI Haikui, NING Jinkui (740)
Population genetics of <i>Niviventer confucianus</i> and its relationships with habitat area in Thousand Island Lake region	LIU Jun, BAO Yixin, ZHANG Xu, et al (758)
Impacts of climate change on phenological phase of herb in the main grassland in Inner Mongolia	GU RunYuan, ZHOU Weican, BAI Meilan, et al (767)
Atmospheric nitrogen deposition in the glacier regions of Northwest China: a case study of Glacier No. 1 at the headwaters of Urumqi River, Tianshan Mountains	WANG Shengjie, ZHANG Mingjun, WANG Feiteng, et al (777)
Effects of vegetation type on arthropod functional groups in the aerial habitat of salt marsh	TONG Chunfu (786)
The plant community distribution and migration characteristics of heavy metals in tolerance dominant species in lead/zinc mine areas in Northwestern Guizhou Province	XING Dan, LIU Hongyan, YU Pingping, et al (796)
Sprouting characteristic in restoration ecosystems of monsoon evergreen broad-leaved forest in south-central of Yunnan Province	SU Jianrong, LIU Wande, ZHANG Zhijun, et al (805)
Distribution patterns and changes of aquatic communities in Lashihai Plateau Wetland after impoundment by damming	XIAO Derong, YUAN Hua, TIAN Kun, et al (815)
Spatial distribution of root biomass of <i>Pinus massoniana</i> plantation in Three Gorges Reservoir area, China	CHENG Ruimei, WANG Ruili, XIAO Wenfa, et al (823)
Differences in biomass, litter layer mass and SOC storage changing with tree growth in <i>Larix gmelinii</i> plantations in Northeast China	WANG Hongyan, WANG Wenjie, QIU Ling, et al (833)
Soil carbon sequestration rates and potential in the grazing grasslands of Inner Mongolia	HE Nianpeng, HAN Xingguo, YU Guirui (844)
Relationships between litter substrate quality and soil nutrients in different-aged <i>Pinus massoniana</i> stands	GE Xiaogai, XIAO Wenfa, ZENG Lixiong, et al (852)
Compare different effect of arbuscular mycorrhizal colonization on soil structure	PENG Sili, SHEN Hong, ZHANG Yuting, et al (863)
The infiltration process of clay soil under different initial soil water contents	LIU Muxing, NIE Yan, YU Jing (871)
Diurnal variations of the greenhouse gases emission and their optimal observation duration under different tillage systems	TIAN Shenzhong, NING Tangyuan, CHI Shuyun, et al (879)
Effects of exogenous pb and cu stress on eco-physiological characteristics on foxtail millet seedlings of different genotypes	XIAO Zhihua, ZHANG Yixian, ZHANG Xiwen, et al (889)
Combined effect of temperature and salinity on the Na ⁺ -K ⁺ -ATPase activity from the gill of GIFT tilapia juveniles (<i>Oreochromis niloticus</i>)	WANG Haizhen, WANG Hui, QIANG Jun, et al (898)
Pattern simulation of karst rocky desertification based on cellular automata	WANG Xiaoxue, LI Xuyong, WU Xiuqin (907)
The role of root border cells in protecting buckwheat root apices from aluminum toxicity and their effect on polysaccharide contents of root tip cell walls	CAI Miaozen, WANG Ning, WANG Zhiying, et al (915)
The suitable stand structure and hydrological effects of the cypress protection forests in the central Sichuan hilly region	GONG Gutang, LI Yanqiong, ZHU Zhifang, et al (923)
Comprehensive evaluation of agricultural water-saving technology based on AHP and Rough Set method	ZHAI Zhifen, WANG Lanying, SUN Minzhang, et al (931)
Analysis of the spatial expansion characteristics of major urban agglomerations in China using DMSP/OLS images	WANG Cuiping, WANG Haowei, LI Chunming, et al (942)
Evaluation of non-use value of ecotourism resources: a case study in Dalai Lake protected area of China	WANG Pengwei, JIA Jingbo (955)
Review and Monograph	
Assessment indicators system of forest ecosystem health based on the harmful disturbance	YUAN Fei, ZHANG Xinyao, LIANG Jun (964)
Role of silicon in regulating plant resistance to insect herbivores	HAN Yongqiang, WEI Chunguang, HOU Maolin (974)
Scientific Note	
Relationships among light conditions, crown structure and branch longevity: a case study in <i>Osmanthus fragrans</i> and <i>Metasequoia glyptostroboides</i>	ZHAN Feng, YANG Dongmei (984)
Effects of maize straw with Bt gene return to field on growth of wheat seedlings	CHEN Xiaowen, QI Xin, WANG Haiyong, et al (993)
Studies of non-structural carbohydrates of <i>Cupressus funebris</i> in different landslides after Wenchuan Earthquake	CHEN Bo, LI Zhihua, HE Qian, et al (999)

《生态学报》2012 年征订启事

《生态学报》是中国生态学学会主办的自然科学高级学术期刊,创刊于 1981 年。主要报道生态学研究原始创新性科研成果,特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评介和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,280 页,国内定价 70 元/册,全年定价 1680 元。

国内邮发代号:82-7 国外邮发代号:M670 标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

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 32 卷 第 3 期 (2012 年 2 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA
(Semimonthly, Started in 1981)
Vol. 32 No. 3 2012

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