

## 低盐胁迫对大黄鱼 *gh*、*igf-1*、*hsp90* 和 *ppar $\beta$* 基因表达变化的影响

李星云, 苗 亮, 张 浩, 王 涛, 胡 谋, 刘连亮, 陈 炯

(宁波大学 应用海洋生物技术教育部重点实验室, 浙江 宁波 315211)

**摘要:** 为了解大黄鱼在低盐胁迫下相关基因的表达变化, 采用实时荧光定量 PCR 技术检测了正常盐度 25 和降低盐度后 3 个节点(盐度 8、盐度 3 和盐度 1.5)鳃、肾、肝、心、脾、肌肉、脑和肠 8 组织中 *gh*、*igf-1*、*hsp90* 和 *ppar $\beta$*  基因 mRNA 的表达量变化。研究表明: 低盐胁迫可显著影响大黄鱼中这 4 个基因的表达量。*gh* 基因在盐度 1.5 节点除心脏外各组织中表达量均显著高于正常盐度( $P<0.05$ ), 其中脾的升幅最大; 盐度 8 和盐度 3 节点, 均是肝中 *gh* 表达量升高幅度最大, 分别为正常盐度的 5.21 和 3.11 倍。*igf-1* 基因在盐度 1.5 节点除肌肉和脑外表达量均显著上调( $P<0.05$ ), 鳃中表达量最高, 为正常盐度的 5.28 倍, 其次为肾(3.05 倍)和肝(2.20 倍)。*hsp90* 基因在盐度 8 节点时心和肝中的表达量显著升高( $P<0.05$ ); 盐度 1.5 节点心中表达量显著降低( $P<0.05$ ), 而在其他组织中的表达量均显著升高( $P<0.05$ )。在盐度 8 节点 *ppar $\beta$*  基因在心、肌肉、肝和脾中的表达量均显著高于其他 3 个盐度点( $P<0.05$ ); 盐度 1.5 节点鳃、脑、肾和肠中的表达量均显著升高( $P<0.05$ ), 分别为正常盐度时的 9.04、7.36、3.39 和 3.19 倍。上述结果可为深入研究大黄鱼应对低渗环境的分子调控机制提供基础资料。

**关键词:** 大黄鱼; 低盐胁迫; 基因表达

中图分类号: Q785; S965

文献标志码: A

文章编号: 1001-5132 (2015) 04-0001-06

大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)是我国东南沿海重要的海水养殖经济鱼类, 适宜生存盐度为 20~34。为防治近海网箱养殖中频发的寄生虫(如刺激隐核虫等)病害, 有关单位开展了大黄鱼低盐度工厂化和池塘养殖试验<sup>[1-2]</sup>, 可有效地减少寄生虫病害。此外, 我国东部海区常遭受台风、暴雨侵袭, 大量的降水可引起海水盐度骤降, 会引起大黄鱼强烈的应激反应, 导致机体免疫力降低、渗透压调控机制紊乱和内环境稳态的破坏, 若应对措施不当有可能造成大量死亡。因此有必要从分子层面上研究大黄鱼低盐胁迫应激中的调控机制。

现有的研究显示生长激素(Growth Hormone, GH)、胰岛素样生长因子-I(Insulin-like Growth

Factor 1, IGF-1)、热休克蛋白(Heat Shock Protein, HSP)和氧化物酶体增殖剂激活受体(Peroxisome Proliferation-Activated Receptor, PPAR)都参与生物体的渗透压调节和盐度胁迫应激。在鱼类中 GH 和 IGF-I 除具有生长调节作用外, 还能通过影响血浆渗透压、离子浓度、鳃丝  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP 酶活性等参与渗透压调节, 并且 GH 对渗透压的影响可能是通过 IGF-I 介导<sup>[3-6]</sup>。HSP90 参与水生动物的盐度胁迫应激、渗透压调节和盐度适应过程<sup>[7-10]</sup>, PPAR 作为脂类代谢的重要调节因子, 在调控能量代谢方面起中枢作用, 并可影响热休克反应的调控<sup>[11-13]</sup>, 同时 PPAR 还可通过 STAT5 信号通路影响 GH 的分泌<sup>[14-15]</sup>。但关于盐度胁迫下这 4 个基因的表达变化

收稿日期: 2015-03-17.

宁波大学学报(理工版)网址: <http://journalg.nbu.edu.cn/>

基金项目: 国家高技术研究发展计划(2012AA10A403-4); 浙江省重大科技专项优先主题(2009C12077, 2012C12907-8); 宁波市重大项目(2008C3005)。

第一作者: 李星云(1942-), 男, 浙江舟山人, 教授, 主要研究方向: 鱼类遗传育种与种质保护. E-mail: limingyun@nbu.edu.cn

关系尚未有系统的研究报道。

目前关于低盐胁迫对大黄鱼渗透压调节和胁迫应激相关基因表达的影响未见研究报道。本文检测分析了 *gh*、*igf-1*、*hsp90* 和 *ppar $\beta$*  4 个基因在大黄鱼应对低盐胁迫时的表达变化, 其结果可为大黄鱼低盐品系选育、淡化养殖和防灾减灾等提供一定的理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

实验在象山港湾水产苗种有限公司进行, 从养殖网箱中选取健康无伤的“东海 1 号”大黄鱼(6 月龄, 体质量 13.53~15.61 g, 体长 8.60~12.18 cm), 在水泥池暂养 3 d (水温(23.0±0.5) °C, 盐度 25)。

将大黄鱼随机分为 4 组放入圆形水泥池中(池深 1 m, 水体容积 800 L), 每组 80 尾。对其中 3 组进行低盐胁迫, 以盐度 25 为起点, 按每次降低 2 个盐度并稳定 2 d 的方法将盐度降至 13, 之后每 2 d 降低 1 个盐度, 当鱼开始死亡时改为每 2 d 降低 0.5 个盐度, 至鱼死亡一半时终止实验。另 1 组始终保持盐度 25, 作为对照。暂养与实验期间每天早晚各换水 1 次, 日换水量 50%, 适量投饵。

根据实验过程中鱼的死亡情况, 在 3 个盐度节点进行采样: (1)盐度 8, 此时开始有鱼死亡; (2)盐度 3, 此时有约 10% 的鱼死亡; (3)盐度 1.5, 此时有 50% 的鱼死亡, 即达到半致死盐度。在盐度分别降至 8、3 和 1.5 并稳定 1 d 后, 从 4 个池中各随机取活力正常的大黄鱼 3 尾, 立即冰上解剖, 取肌肉、肠、肝、脾、肾、鳃、心和脑 8 个组织, 液氮速冻后 -80 °C 保存。

### 1.2 实验方法

用 Trizol 试剂(上海生工生物工程有限公司)提取大黄鱼各组织总 RNA, 检测完整性和纯度后用 PrimeScript<sup>®</sup> RT reagent Kit(TaKaRa 公司)反转录合成 cDNA。操作均按试剂盒说明书进行。

根据 Genbank 数据库中大黄鱼 *gh*、*Igf-1*、*hsp90* 及 *ppar $\beta$*  基因序列, 用 Primer 5.0 软件设计荧光定量检测引物, 以  $\beta$ -actin 作为内参。所用引物均由上海英俊生物技术有限公司合成, 引物序列见表 1。

*ppar $\beta$*  基因的表达情况, 设置 3 个重复。实时

荧光定量 PCR 反应采用两部 PCR 法, 25  $\mu$ L 反应体系包括 2 $\times$ SYBR<sup>®</sup> Premix Ex Taq(Tli RNaseH Plus) 12.5  $\mu$ L、正反向引物各 0.5  $\mu$ L、cDNA 模板 2  $\mu$ L、dH<sub>2</sub>O 9.5  $\mu$ L。反应条件为 95 °C 预变性 30 s; 95 °C 变性 5 s、58 °C 退火 30 s, 循环 40 次。溶解曲线反应条件为 95 °C 15 s, 60 °C 1 min, 95 °C 15 s。

表 1 荧光定量 PCR 检测引物

| 引物名称           | 引物序列                                                 | 扩增片段长度/bp | 登录号      |
|----------------|------------------------------------------------------|-----------|----------|
| GH             | F: GACAAGCACGAGACGCAACG<br>R: GGTTCTTCTCAGCGACTCCTCA | 279       | AF231941 |
| IGF-I          | F: GGCTCCAGGAAAAGGTTG<br>R: CGCTCAGAGTAAAAGGGTTG     | 85        | JN565945 |
| HSP90          | F: CCCC GCCACCCTCAGATT<br>R: GCAGAACGTCCCCGAACC      | 324       | JF440970 |
| PPAR $\beta$   | F: AGTCAACACAGCCTACC<br>R: GCTCCATACCAAACCAC         | 145       | GU014813 |
| $\beta$ -actin | F: GCGACCTCACAGACTACCTC<br>R: GTAGGTGGTCTCGTGGAT     | 196       | GU584189 |

### 1.3 数据处理

荧光定量实验结果采用仪器自带的仪器读取(包括目的基因与内参基因  $\beta$ -actin), 用  $2^{-\Delta\Delta CT}$  法计算分析目的基因的相对表达量<sup>[16]</sup>。用 Excel 软件对数据进行统计, 数值均用平均数±标准差(Mean±SD)表示; 利用 SPSS 16.0 软件对各组中不同盐度下的基因相对表达量进行单因素方差(One way ANOVA)分析, 以  $P<0.05$  为差异显著。

## 2 结果

### 2.1 不同低盐节点下大黄鱼各组织中 *gh* 基因的表达变化

盐度降低到各个节点大黄鱼各组织中 *gh* 基因的表达情况如图 1 所示。肝中 *gh* 基因的相对表达量在盐度由 25 降至 8 后出现了显著升高( $P<0.05$ ), 为盐度 25 时的 5.21 倍; 在盐度 3 和 1.5 时 *gh* 基因的表达量虽然较盐度 8 时显著降低( $P<0.05$ ), 但均显著高于盐度 25 时的表达量( $P<0.05$ )。脾中 *gh* 基因表达量在盐度降至 8 时比盐度 25 时显著降低, 但当盐度继续降低时又出现显著增加( $P<0.05$ ), 其中盐度 1.5 时的表达量为盐度 25 时的 4.05 倍。脑中 *gh* 基因表达量在盐度降至 3 和 1.5 时出现了显

著升高( $P<0.05$ ), 其中盐度 1.5 时的表达量为盐度 25 的 1.70 倍; 低盐度下心脏中 *gh* 基因的表达量显著降低( $P<0.05$ ), 但在盐度由 8 降至 1.5 的过程中 *gh* 基因表达量呈逐步升高。

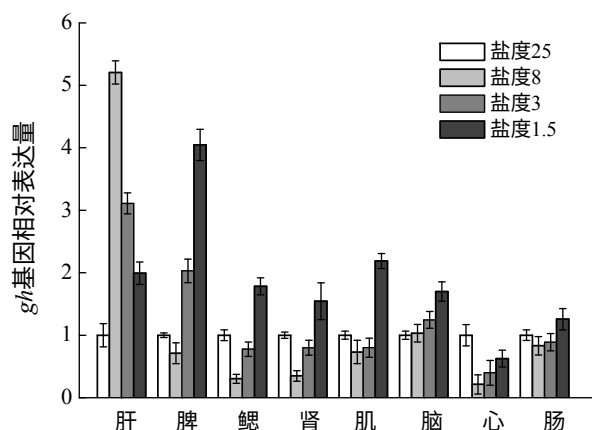


图1 不同低盐节点大黄鱼各组织中 *gh* 基因 mRNA 的表达

与正常盐度相比, 鳃、肠、肾、肌中 *gh* 基因表达量均是在盐度 8 和 3 下出现显著降低( $P<0.05$ ), 而在盐度继续降至 1.5 时又出现显著升高( $P<0.05$ ), 盐度 1.5 时 4 个组织中的表达量与盐度 25 相比分别升高了 1.78、1.29、1.54 和 2.19 倍。其中在盐度由 8 降至 3 时, 鳃和肾中 *gh* 基因表达量出现了显著升高, 而肠和肌中虽然略有升高但是差异不显著( $P>0.05$ )。

## 2.2 不同低盐节点下大黄鱼各组织中 *igf-1* 基因的表达变化

图 2 为降低至各盐度节点后大黄鱼各组织中 *igf-1* 基因的表达变化。心脏、鳃和肾中 *igf-1* 基因在盐度降低后的表达量变化较大, 其中心脏中盐度 8 时的表达量达到了盐度 25 时的 14.04 倍 ( $P<0.05$ ), 之后出现显著降低( $P<0.05$ ), 但盐度 1.5 时的表达量仍有盐度 25 时的 7.07 倍; 鳃中 *igf-1* 基因在盐度降低过程中逐步升高, 盐度 1.5 时的表达量升高了 5.28 倍; 肾中 *igf-1* 基因表达量在盐度降至 8 时出现显著降低( $P<0.05$ ), 之后随盐度降低而逐渐升高( $P<0.05$ ), 盐度 1.5 时的表达量为盐度 25 时的 3.05 倍。其他组织中 *igf-1* 的表达量变化相对较小, 其中肝和脾表现为随盐度降低 *igf-1* 表达量逐渐升高, 脑中为先升高再降低, 而肠和肌肉中则是先降低再升高。仅肌肉中 *igf-1* 在盐度 1.5 下的表达量显著低于盐度 25。

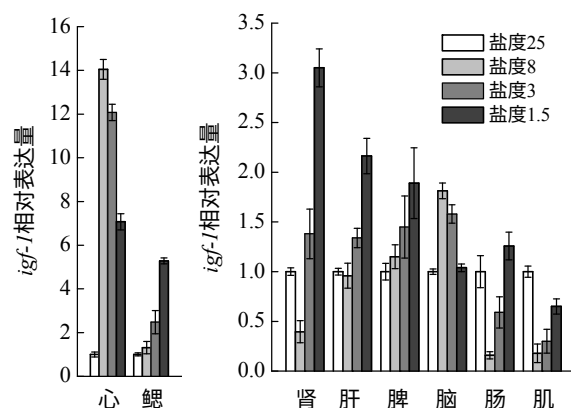


图2 不同低盐节点大黄鱼各组织中 *igf-1* 基因 mRNA 的表达

## 2.3 不同低盐节点大黄鱼各组织中 *hsp90* 基因的表达变化

不同低盐节点下大黄鱼 *hsp90* 基因的表达变化如图 3 所示。当盐度由 25 降至 8 时, 肌肉、鳃、肝脏、心中 *hsp90* 的表达量均显著升高( $P<0.05$ ), 而肠、肾、脑和脾中则显著降低( $P<0.05$ )。当盐度继续降低至 3 和 1.5 时, 肌肉、鳃、肠、肾、脑和脾中 *hsp90* 的表达连续显著升高(盐度 1.5 时上述 6 种组织中 *hsp90* 的表达量分别为盐度 25 时的 6.40、4.76、2.83、3.12、2.13 和 3.15 倍); 肝和心中则出现连续的显著降低( $P<0.05$ ), 其中肝降至与盐度 25 时相对水平( $P>0.05$ ), 而心中则大幅度降低, ( $P<0.05$ ), 仅为盐度 25 时的 36.86%。

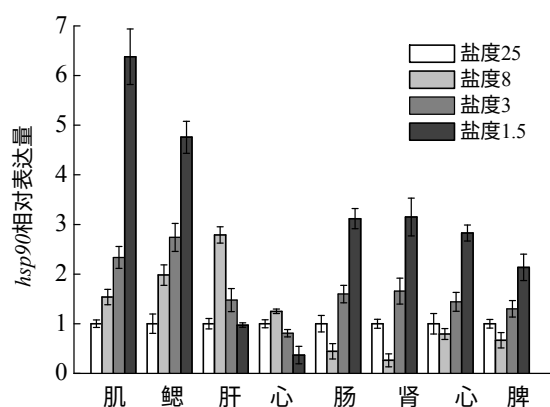


图3 不同低盐节点大黄鱼各组织中 *hsp90* 基因 mRNA 的表达

## 2.4 不同低盐节点大黄鱼各组织中 *ppar $\beta$* 基因的表达变化

由图 4 可见, 盐度降至 8 节点时大黄鱼肝、肌肉、心、脾和鳃中 *ppar $\beta$*  基因 mRNA 的表达量均

较正常盐度时出现了显著升高( $P<0.05$ ), 而脑、肾和肠中则出现了显著降低( $P<0.05$ ), 其中肝升高幅度最大(3.59倍), 脑中降低幅度最大(0.26倍)。当盐度由8继续降低至3、1.5时, 鳃、脑、肾和肠中 *ppar $\beta$*  的表达量均出现连续的显著升高, 盐度1.5时4个组织中的表达量分别为盐度25时的9.04、7.36、3.39和3.19倍; 而肝、肌肉、心、脾中的表达量则呈降低的变化, 其中盐度降至3时肝、肌、心中的表达量显著降低, 脾中略有降低但差异不显著; 盐度降至1.5时上述4种组织中的表达量均显著降低, 其中肝中的表达水平仍显著高于盐度25时, 脾中的表达水平与盐度25时相当, 而肌肉和心中的表达水平则显著低于盐度25时。

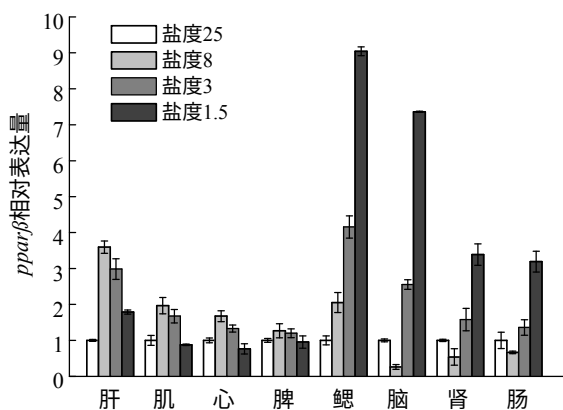


图4 不同低盐节点大黄鱼各组织中 *ppar $\beta$*  基因 mRNA 的表达

### 3 讨论

鱼类中生长激素(GH)的功能之一是通过影响鳃、肠道中的氯细胞和  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP 酶活力调节鱼体渗透压, 提高对不同盐度水体的适应能力<sup>[17]</sup>。在虹鳟等鲑科鱼类中的研究也发现低盐度下 GH 分泌增多、鱼体生长加快<sup>[18]</sup>。本实验中, 在盐度由25降至1.5的过程中大黄鱼鳃、肾和肠中 *gh* 基因的表达均呈先降低后升高的变化, 与盐度降低时鳃丝  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP 酶活力的变化相一致<sup>[19]</sup>, 表明大黄鱼有较强的适应低盐环境的能力。至于大黄鱼在低盐环境中的生长情况, 是后继研究的课题。

胰岛素样生长因子-I (IGF-I) 参与细胞分裂分化、胚胎发育和生长调节, 是生长激素的主要介导因子, 在河—海洄游性鱼类中还参与机体渗透压调节<sup>[5]</sup>。低盐度海水中适应过的虹鳟幼鱼在腹腔注

射不同浓度的重组牛 IGF-I 后转入高盐度海水中, 血浆渗透压和  $\text{Na}^+$  浓度均显著低于对照组, 并且随注射剂量的增加而降低<sup>[20]</sup>。在银鲑(*Oncorhynchus kisutch*)的研究中则显示重组牛 IGF-I 能够直接激活离体培养的鳃丝细胞中的  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP 酶<sup>[21]</sup>。Sakamoto 等<sup>[22]</sup>所得到的盐度降低过程中虹鳟鳃、肾等组织中 *igf-1* mRNA 水平变化与笔者研究结果相似。总体来说, *gh* 和 *igf-1* 基因都表现为低盐度下表达升高, 并且在鳃、肾、肠、脾等多个组织中2个基因随盐度降低而出现的表达水平变化规律基本一致, 提示在大黄鱼中 *igf-1* 的表达可能也受 GH 水平的影响。

热休克蛋白在生物的胁迫应激中有着重要的作用, 其中 HSP90 是研究较多的一种。盐度作为一种应激因子, 对水生动物的影响主要是通过改变体腔液渗透压, 产生渗透胁迫, 从而引起热休克蛋白的表达。对贝类、棘皮动物、节肢动物和鱼类等多种水生动物的研究显示, *hsp90* 基因参与机体的渗透压调节和盐度适应<sup>[8-10,23-26]</sup>。但 *hsp90* 基因在盐度变化时的表达情况在各研究中则各不相同, 这一方面可能与物种和盐度变化条件不同有关, 另一方面也说明渗透压调节和盐度适应机制的复杂性。总体来说, 本研究中大黄鱼在受到低盐胁迫时 *hsp90* 表达量升高, 特别是在盐度1.5时, 除肝和心外的其他组织中的表达量都达到了盐度25时的2倍以上。Yang 等<sup>[10]</sup>的研究表明吴郭鱼(*Oreochromis mossambicus*)肝和鳃中 *hsp90* mRNA 在高盐度下均表达量升高, 覃焱等<sup>[24]</sup>的研究显示转入含有三疣梭子蟹热休克蛋白 HSP90a 重组质粒的大肠杆菌在盐度胁迫下的存活率明显提高, 这些研究结果表明无论盐度升高还是降低, *hsp90* 基因都参与机体的胁迫应激和渗透压调节。

氧化物酶体增殖剂激活受体(PPAR $\beta$ )参与机体多种生理技能和病理调控的过程, 与脂代谢关系紧密, 在能量代谢的调控中处于枢纽地位<sup>[27]</sup>。脂类是鱼体重要的能量供应和储备物质, 盐度变化会影响鱼体的脂质代谢<sup>[28]</sup>。鱼类无皮下脂肪组织, 其脂肪主要蓄积在肝、肌肉和肠系膜脂肪组织中。在由盐度25逐渐降至1.5节点的胁迫过程中, 大黄鱼肝、肌肉和肠中 *ppar $\beta$*  的最大表达量均显著增加, 推测为应对低盐胁迫导致大黄鱼能量需求增加,

因此需要调动脂肪分解以保证能量供应。

#### 参考文献:

- [1] 李兵, 王帅, 张伟. 室内低盐度饲养大黄鱼的初步研究[J]. 上海海洋大学学报, 2012, 21(4):524-529.
- [2] 汤瑜瑛, 张志良. 大黄鱼低盐度养殖[J]. 科学养鱼, 2003(8):25.
- [3] 邓利, 张为民, 林浩然. 盐度变化对黑鲷生长激素及其受体的影响[J]. 热带海洋学报, 2003, 22(6):9-14.
- [4] Kelly S P, Chow N K, Woo N Y S. Effects of prolactin and growth hormone on strategies of hypoosmotic adaptation in a marine teleost, *Sparus sarba*[J]. Gen Comp Endocrinol, 1999, 113(1):9-22.
- [5] 张殿昌. 鱼类胰岛素样生长因子研究进展[J]. 上海水产大学学报, 2005, 14(1):66-71.
- [6] 刘红云, 童富淡. 鱼类 IGF-I 生理功能及其表达调控的研究进展[J]. 水产科学, 2004, 23(5):37-40.
- [7] 董云伟, 董双林, 纪婷婷. 水生动物热休克蛋白研究进展[J]. 中国海洋大学学报, 2008, 38(1):39-44.
- [8] Fu D, Chen J, Zhang Y, et al. Cloning and expression of a heat shock protein (HSP) 90 gene in the haemocytes of *Crassostrea hongkongensis* under osmotic stress and bacterial challenge[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2011(31):118-125.
- [9] Pan F, Zarate J M, Tremblay G C, et al. Cloning and characterization of salmon HSP90 cDNA up regulation by thermal and hyperosmotic stress[J]. Journal of Experimental Zoology, 2000, 287(3):199-212.
- [10] Yang W K, Hseu J R, Tang C H, et al. Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase expression in gills of the euryhaline sailfin molly, *Poecilia latipinna*, is altered in response to salinity challenge[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2009, 375(1/2):41-50.
- [11] Hummasti S, Tontono Z P. The peroxisome proliferator-activated receptor N-terminal domain controls isotype-selective gene expression and adipogenesis[J]. Molecular Endocrinology, 2006, 20(6):1261-1275.
- [12] Bhatia V, Viswanatan P. Insulin resistance and PPAR insulin sensitizers[J]. Current Opinion in Investigational Drugs, 2006, 7(10):891-897.
- [13] 方文良, 鞠志花, 黄金明, 等. 过氧化物酶体增殖剂激活受体的研究进展[J]. 家畜生态学报, 2011, 32(3):1-5.
- [14] Richter H, Albrektsen T, Billestrup B. The role of signal transducer and activator of transcription 5 in inhibitory effects of GH on adipocyte differentiation[J]. Journal of Molecular Endocrinology, 2003, 30:139-150.
- [15] Jung H S, Lee Y J, Kim Y H, et al. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma/signal transducers and activators of transcription 5A pathway plays a key factor in adipogenesis of human bone marrow-derived stromal cells and 3T3-L1 preadipocytes[J]. Stem Cells and Development, 2011, 21:465-475.
- [16] 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[J]. Methods, 2001, 25(4):402-408.
- [17] 张殿昌, 江世贵. 黄鳍鲷生长激素 cDNA 的分子克隆和序列分析[J]. 湛江海洋大学学报, 2002, 22(4):62-65.
- [18] Madsen S S, Bern H A. Antagonism of prolactin and growth hormone: Impact on seawater adaptation in two salmonids, *Salmon trutta* and *Oncorhynchus mykiss*[J]. Zool Sci, 1992, 4:775-784.
- [19] 王涛, 苗亮, 李星云, 等. 突降盐度胁迫对大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*) 血清生理生化及鳃丝 Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATP 酶活性的影响[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(2):421-426.
- [20] McCormick S D, Sakamoto T, Hasegawa S, et al. Osmoregulatory action of insulin-like growth factor-I in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)[J]. Endocrinol, 1991, 130:87-92.
- [21] Madsen S S, Bern H A. In-vitro effects of insulin-like growth factor-I on gill Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-ATPase in coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*[J]. Journal of Endocrinology, 1993, 138:23-30.
- [22] Sakamoto T, Hirano T. Expression of insulin-like growth factor I gene I osmoregulatory organs during seawater adaptation of the Salmonid fish: Possible mode of osmoregulatory action of growth hormone[J]. Proc Natul Acad Sci USA, 1993, 90:1912-1916.
- [23] Dubeau S F, Pan F, Tremblay G C, et al. Thermal shock of salmon in vivo induces the heat shock protein (Hsp70) and confers protection against osmotic shock[J]. Aquaculture, 1998, 168:311-323.
- [24] 覃烨, 许强华. 盐度胁迫下三疣梭子蟹热休克蛋白 HSP90a 的原核表达[J]. 水产学报, 2012, 36(5):681-685.
- [25] 于姗姗, 王青林, 孟宪亮, 等. 盐度骤变对仿刺参 HSP70 及 HSP90 基因表达的影响[J]. 中国海洋大学学报, 2012, 42(9):22-27.
- [26] Tomanek L, Somero G N. Time course and magnitude of synthesis of heat shock proteins in congeneric marine snails (genus *Tegula*) from different tidal heights[J]. Physiol Biochem Zool, 2000, 73:249-256.
- [27] Jugeaubry C E, Cottlicher M, Schmidt A, et al. Peroxisome proliferator activated receptor-mediate

crosstalk with thyroid receptor by competition for retinoid X receptor[J]. The Journal of Biological Chemistry, 1995, 270(30):18117-18120.

[28] 王艳, 胡先成, 罗颖. 盐度对鲈鱼稚鱼的生长及脂肪酸组成的影响[J]. 重庆师范大学学报: 自然科学版, 2007, 24(2):1-5.

## Effects of Low Salt Stress on Expression of *gh*, *igf-1*, *hsp90* and *ppar $\beta$* Gene in *Pseudosciaena crocea*

LI Ming-yun, MIAO Liang, ZHANG Hao, WANG Tao, HU Mou, LIU Lian-liang, CHEN Jiong

( Key Laboratory of Applied Technology of Marine Biology of Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo 315211, China )

**Abstract:** In order to investigate the gene expression changes responding to low salt stress, we detected the expression level of *gh*, *igf-1*, *hsp90* and *ppar $\beta$*  gene in different tissues of large yellow crocea (*Pseudosciaena crocea*) by real-time quantitative PCR. The samples were collected at normal salinity (25) and three low salt nodes (8, 3 and 1.5). The result shows that the expression of these four genes is significantly altered under low salt stress. At salinity 1.5 node, the expression level of *gh* rises significantly ( $P<0.05$ ) in all tissues except heart, and the most significant increase of amplitude is observed in spleen. Among all the sampled tissues, liver shows the most notable increase of amplitude of *gh* expression both at salinity 8 and 3 nodes, and the expression level is 5.21 and 3.11 times the normal salinity, respectively. The expression of *igf-1* mRNA goes up significantly ( $P<0.05$ ) in all tissues at salinity 1.5 node, except muscle and brain. At salinity 1.5 node, the expression level of *igf-1* is found in gill, which turns out to be 5.28 fold to normal salinity, and followed by kidney (3.05 fold) and liver (2.20 fold). The expression level of *hsp90* rises significantly ( $P<0.05$ ) in heart and liver at salinity 8 node. At salinity 1.5 node, the expression of *hsp90* is declined significantly ( $P<0.05$ ) in heart, while all the other tissues climbs significantly ( $P<0.05$ ). At salinity 8 node, the expression level of *ppar $\beta$*  in heart, muscle, liver and spleen are all significantly higher than the other three salinities ( $P<0.05$ ). At salinity 1.5 node, the expression of *ppar $\beta$*  in gill, brain, kidney and gut all raised significantly ( $P<0.05$ ), and are 9.04, 7.36, 3.39 and 3.19 fold to normal salinity. These results are expected to provide fundamental data for further research on the molecular mechanism of response to low salt stress in *Pseudosciaena crocea*.

**Key words:** *Pseudosciaena crocea*; low salt stress; gene expression

(责任编辑 史小丽)