DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20250217003 http://www.yykxjz.cn/

刘阳, 李胜杰, 田静, 朱涛, 雷彩霞, 杜金星, 宋红梅. 不同盐度胁迫对大口黑鲈渗透调节、抗氧化能力、组织损伤及 *NKCC1a* 表达的影响. 渔业科学进展, 2026, 47(1): 138–150

LIU Y, LI S J, TIAN J, ZHU T, LEI C X, DU J X, SONG H M. Effects of different salinity stress on osmoregulation, antioxidant capacity, tissue damage and *NKCC1a* expression in the largemouth bass (*Micropterus salmoides*). Progress in Fishery Sciences, 2026, 47(1): 138–150

不同盐度胁迫对大口黑鲈渗透调节、抗氧化能力、组织损伤及 *NKCC1a* 表达的影响*

刘 阳[1,2] 李胜杰[2] 田 静[2] 朱 涛[2] 雷彩霞[2] 杜金星[2] 宋红梅[2①]

(1. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306；2. 中国水产科学研究院珠江水产研究所 农业农村部热带亚热带水产资源利用与养殖重点实验室 广东 广州 510380)

摘要 大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)是我国主要经济鱼类之一，具有一定的耐盐性，在盐碱水中养殖具有很大潜力，探究不同盐度胁迫对大口黑鲈渗透压调节及生理响应至关重要。本研究以体重为(20.3±1.3) g 的大口黑鲈为研究对象，开展了不同盐度(0、5、10 和 15)的胁迫实验，检测其血清生化指标、渗透酶活性、抗氧化酶活性、组织病理变化及 *NKCC1a* 基因的相对表达量。结果显示，大口黑鲈血清渗透压、Na^+浓度、Cl^-浓度和血清皮质醇浓度均随着盐度的升高出现不同程度的升高，盐度 15 与盐度 10、5 和对照组之间存在显著差异($P<0.05$)。相较于对照组，Na^+/K^+-ATPase (NKA)、Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATPase (CMA)和过氧化氢酶(CAT)的活性均在盐度 5 和 10 时显著升高，在盐度 10 达到峰值，但盐度 15 相较于盐度 10 显著下降($P<0.05$)。鳃和肠组织学观察发现，盐度 15 和 10 时，鳃和肠中氯细胞和杯状细胞数量增多，甚至出现组织坏死、细胞脱落的情况；而盐度 5 时，鳃和肠组织未受到影响。此外，*NKCC1a* 基因在鳃和肠中的表达水平具有组织差异性，且盐度 5、10 和 15 时，*NKCC1a* 的表达量均显著高于对照组($P<0.05$)。此外，相关性分析得出，皮质醇(COR)与 Na^+、K^+、Cl^-、Ca^{2+}及鳃中 *NKCC1a* 的表达量高度相关($r\geqslant0.8$)。综上所述，大口黑鲈在盐度 5 时表现出良好的适应性，而盐度 10 和 15 则对大口黑鲈生理响应及基因表达等造成一定的影响。本研究结果可为大口黑鲈为咸淡水的养殖和发展提供参考依据和数据支持。

关键词 大口黑鲈；盐度胁迫；渗透压调节；酶活性

中图分类号 S965.211 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2026)01-0138-13

大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)，俗名加州鲈，是一种优质的淡水鱼类，为我国重要的淡水经济鱼类，因其肉质细嫩、无肌间刺等特点深受消费者青睐(Bai *et al*, 2008)。该物种具有适应性强、生长快、易起捕以及养殖周期短等优点，已成为华东、华南以及北方部分地区工厂化循环水养鱼以及“鱼–菜共生”模式中的核心养殖品种(史朝斌等, 2024)。然而，我国西北部由于盐碱水的限制，导致其大口黑鲈产业长期处于

* 新疆生产建设兵团重点领域科技攻关项目(2024AB019)和广东省乡村振兴战略专项资金种业振兴行动项目(2024SPY00003)共同资助。刘 阳，Email: 15731986210@163.com

① 通信作者：宋红梅，副研究员，Email: shm1227@126.com

收稿日期: 2025-02-17, 收修改稿日期: 2025-04-29

低效发展状态，进而引发区域性短缺。

盐度作为盐碱水中一个重要的非生物环境因子，在鱼类及其他水生生物生长发育和生理活动中有重要影响(冉凤霞等, 2020)。当水环境盐度产生的渗透压与内环境渗透压相近时，水生生物用于渗透调节的能量消耗较低，可以提高水生生物的存活率和生长速率(Liu *et al*, 2021; Hegazi *et al*, 2014)。然而，若水环境盐度产生的渗透压远高于或低于内环境渗透压，水生生物自身无法调节体内渗透压与外界渗透压平衡，导致内环境离子变化失控，影响水生生物的正常生理活动，严重时甚至导致死亡。目前关于水生生物应对盐度胁迫的研究中，渗透压调节主要与渗透酶和激素有关。虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)面临盐度胁迫时，体内相对应的Na^+/K^+-ATPase (NKA)和Ca^{2+}-Mg^{2+}-ATPase (CMA)活性均有所升高(Huong *et al*, 2010)。黑鲷(*Acanthopagrus schlegelii*)在面对低盐胁迫时，其体内的皮质醇(Cortisol, COR)浓度随着盐度的升高而升高，Mommsen 等(1999)的研究也证明了鱼体内皮质醇浓度的变化与离子调节和能量底物活化有关。此外，除渗透压外，氧化防御系统随盐度变化也受到显著影响。有研究发现，尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)在面对盐度变化时，其体内的超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和丙二醛(MDA)会出现升高的现象(Dawood *et al*, 2022)。Ding 等(2023)研究发现，鱼类在盐度胁迫时会导致活性氧(ROS)的产生，从而诱导氧化应激，而当 CAT 和 SOD 活性受到抑制时，鱼的抗氧化能力在面对盐度胁迫后通常会降低。此类生理紊乱可严重影响鱼类的生存率，对养殖业造成重大经济损失。目前，只有少数广盐性物种在盐水中养殖成功，如尼罗罗非鱼(Song *et al*, 2021)和金鲳鱼(*Trachinotus ovatus*) (Liu *et al*, 2019)等。

大口黑鲈具有对盐度适应性广的特点，其渗透调节机制具有重要的研究价值。大口黑鲈在盐度超过 8 时即出现摄食量下降(降幅达 42%)、特定生长率降低(约 28%)等现象(Sun *et al*, 2023)的机制尚未明晰。尽管已有研究探讨了盐度对其肠道菌群和肌肉质构特性(硬度增加 15%)的影响(逯冠政等, 2022)，关键渗透调节基因(如 *NKCC1a*)的表达模式、渗透压调节响应机制等仍待研究。这与虹鳟(Na^+/K^+-ATPase 调控机制明确)、罗非鱼(皮质醇响应阈值已量化)等模式物种形成鲜明对比(Mommsen *et al*, 1999)。

本研究首次尝试系统揭示大口黑鲈在不同盐度胁迫下的多维度响应机制，通过整合血清生化、组织酶活、*NKCC1a* 基因表达及显微结构变化等多组学指标，构建其盐适应能力的评价体系。研究结果将为西北盐碱水域的适生品种选育提供数据支持，并为精准调控养殖水盐度(梯度驯化方案优化)提供理论依据，对拓展我国适盐养殖空间具有重要实践价值。

1　材料与方法

1.1　实验材料

健康大口黑鲈来自广东梁氏水产种业有限公司，将鱼转至实验室后暂养在非循环系统水泥池中，随后在(23.0±0.6) ℃淡水环境下养殖 7 d。在此期间，每日饲喂 2 次商品饲料至饱腹状态，每日进行氨氮、溶氧和 pH 值的测定，每 2 d 换水 50%，若有死鱼及时捞出。暂养结束后，选取体重为(20.3±1.3) g 的健康鱼(无明显外伤、游动敏捷、吃食正常)进行实验。

1.2　实验设计与样品处理

根据预实验结果，处理组设计 3 个盐度(5、10 和 15)进行盐度胁迫实验，淡水组(盐度 0)作为对照组。实验盐水使用江西盐通科技有限公司海水晶配制，实验开始前，淡水曝气 24 h。每组 3 个重复，每个重复 50尾鱼，实验容器为 100 L 聚乙烯长方体水箱。实验期间，每日饲喂 2 次商品饲料至饱腹状态，每日检测水质，确保氨氮<1.5 mg/L，亚硝酸盐<0.25 mg/L，pH 为 6.8~8.0，溶解氧含量>3 mg/L。各盐度组初始盐度为 0，随后每 12 h 盐度升高 2，达到各组指定浓度 24 h 后，从每个实验组的 3 个平行组中取 3 尾鱼。使用 MS-222 (0.03 g/L)鱼用麻醉剂麻醉后，在尾端静脉使用无菌注射器抽取 200 μL 血液，4 ℃放置 4 h 后离心(4 000 r/min, 4 ℃) 10 min 得到血清。同时，采集肝脏、肠(中肠)和鳃组织(第二鳃弓)快速置于液氮中，随后转移至–80 ℃冰箱保存。

1.3　血清指标测定

血清渗透压测定采用上海亿达医疗器械有限公司冰点渗透压仪(BS-100)。Na^+、K^+、Ca^{2+}、Mg^{2+}和Cl^-均采用南京建成生物工程研究所市售试剂盒进行检测，具体操作按照说明书进行。鱼血清皮质醇和血清催乳素采用江苏酶免实业有限公司 ELISA 科研试剂盒进行检测，具体操作按照说明书进行。

1.4　鳃和肝中酶活性测定

取 0.2 g 肝和鳃组织样本，按照质量与体积比 1∶9 加入预冷的 0.9%生理盐水，用组织研磨仪(MM400) 10 000~15 000 r/min 研磨成 10%组织匀浆。将制备好的 10%匀浆 4 ℃条件下 2 500 r/min 离心 10 min，取上清液用于测定。鳃组织上清液用于测定 NKA 和

CMA 活性，肝上清液用于测定 SOD 和 CAT 活性。所有指标均采用南京建成生物工程研究所市售试剂盒进行检测，具体操作按照说明书进行。以上测定均使用美国伯腾仪器有限公司多功能酶标仪(Biotek Cytation 5)检测其吸光度(450 nm，1 cm 光径)。

1.5 鳃和肠组织学分析

将鳃组织和肠道组织用 4%多聚甲醛(Biosharp，中国)固定 24 h 后，修剪部分组织在梯度增加(70%、80%、90%和 100%)的乙醇浓度中脱水，随后包埋在石蜡块中。使用显微切片机(RM2016，中国)切成 4 μm 厚的组织切片，随后用苏木素伊红染色，最后用中性树胶封片并在光学显微镜(Nikon Eclipse E100，日本)下进行图像采集和分析。

1.6 总 RNA 提取、cDNA 合成及基因表达分析

按照 TRIzol 试剂盒的说明书提取鳃和肠道组织总 RNA。采用 1%琼脂糖凝胶电泳和 Cytating 5 多功能酶标记仪检测 RNA 样品的完整性和浓度。采用 PrimeScrip™ RT reagent Kit with gDNAErase 试剂盒合成首链 cDNA。采用 LightCycler96 qRT-PCR 仪进行 qRT-PCR。将 cDNA 稀释 5 倍作为 qRT-PCR 模板。反应程序：95 ℃ 30 s；94 ℃ 5 s，60 ℃ 30 s；72 ℃ 30 s，进行 40 个循环；熔解曲线：95 ℃ 5 s，60 ℃ 1 min，95 ℃ 1 s。以 *β-actin* 为内参基因，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算相对基因表达量(Livak *et al*, 2001)。基因引物序列详细信息见表 1，所有引物由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。

表 1 实验用到的引物

Tab.1 Primers used in this study

基因 Gene	GenBank 登录号 GenBank No.	引物 Primer (5′~3′)	扩增长度 Length/bp	扩增效率 Amplification efficiency/%
NKCC1a	XM_038733157.1	F: GATGATGGCAAAGCTCCAACT	210	92
		R: TGTGCCCTTCCCTTGTTTCTT		
β-actin	XM_020651307.1	F: AAAGGGAAATCGTGCGTGAC	171	95
		R: AAGGAAGGCTGGAAGAGGG		

1.7 数据统计与分析

采用 SPSS Statistics 26 软件进行统计学分析，采用单因素方差分析(one-way ANOVA)，使用 Duncan's 法进行多重比较检验，以 $P<0.05$ 确定差异具有统计学意义，结果均以平均值±标准误(Mean±SE)表示。

2 结果与分析

2.1 血清生化指标

在不同盐度胁迫下，Na^+和 Cl^-浓度与血清渗透压的变化趋势相似，均与盐度的大小呈正比，盐度 15 组的 Na^+和 Cl^-浓度以及血清渗透压始终显著高于其他 3 组($P<0.05$) (图 1a~图 1c)。与对照组相比，血清 K^+和 Ca^{2+}浓度在盐度 5 和盐度 15 组显著上升($P<0.05$)，而盐度 10 组与对照组无显著差异($P>0.05$) (图 1d、图 1f)。血清 Mg^{2+}浓度在盐度 5 组和盐度 10 组显著升高，且在盐度 10 时达到最高值(1.05 mmol/L)，在盐度 15 组显著下降至 0.56 mmol/L，显著低于其他 3 组($P<0.05$) (图 1e)。另外，血清离子以 Na^+和 Cl^-为主要成分，而 Ca^{2+}、Mg^{2+}和 K^+则较少。

2.2 皮质醇与催乳素浓度

在不同盐度胁迫下，血清皮质醇和催乳素浓度呈不同的变化趋势。相较于对照组，盐度 5、10 和 15 组的血清皮质醇浓度均显著升高，且与盐度呈正比；盐度 15 组的血清皮质醇浓度达到 685.44 ng/L，显著高于其他盐度组($P<0.05$)。血清催乳素浓度最高值出现在盐度 5 组(987.91 mIU/L)，显著高于其他 3 组。然而，盐度 10 和盐度 15 组的血清催乳素浓度显著低于对照组(图 2) ($P<0.05$)。

2.3 渗透酶活性

在不同盐度胁迫下，盐度 5、10 和 15 组的 NKA 酶活性相较于对照组显著升高($P<0.05$)。相较于对照组，CMA 酶活性在盐度 10 组显著升高($P<0.05$)，而在盐度 5 时与对照组无显著差异($P>0.05$)。NKA 和 CMA 酶活性均在盐度 10 时达到最高值，盐度 15 时显著下降($P<0.05$) (图 3)。2 种酶活性在盐度 15 的下降可能与鳃组织损伤和酶的大量消耗有一定的关系。

2.4 抗氧化酶活性

在不同盐度胁迫下，3 个盐度组肝中 SOD 酶活

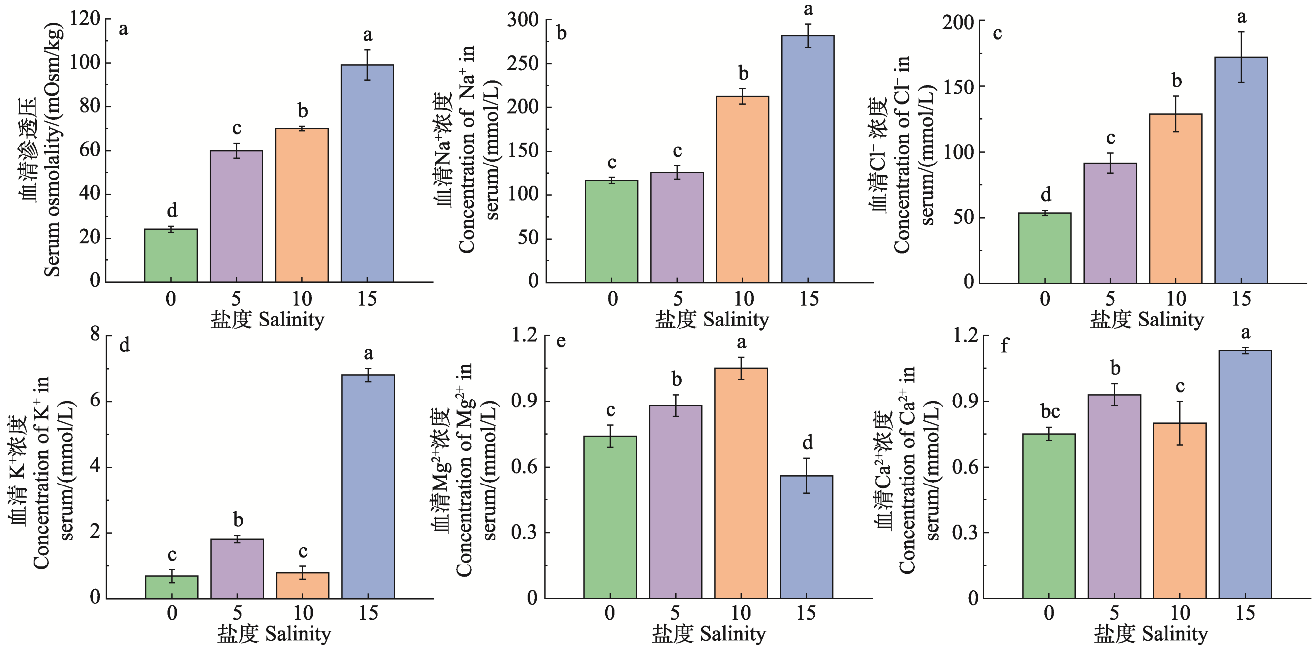

图 1　不同盐度胁迫下血清生化指标变化

Fig.1　Changes of serum biochemical indices under different salinity stress

数据以平均值±标准误表示(n=6)；不同小写字母表示差异显著(P<0.05)。下同。

Data are presented as Mean±SE (n=6); different lowercase letters indicate significant differences (P<0.05). The same below.

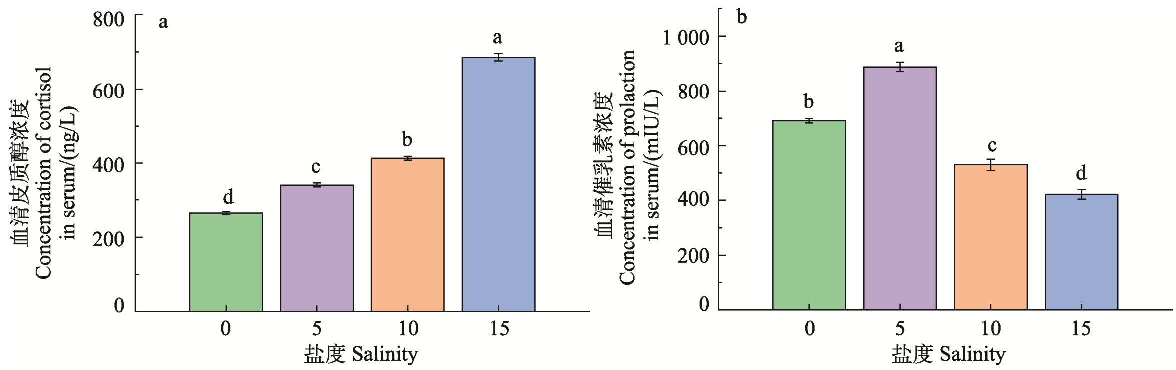

图 2　不同盐度胁迫下血清皮质醇和血清催乳素浓度变化

Fig.2　Changes of serum cortisol and serum prolactin concentrations under different salinity stress

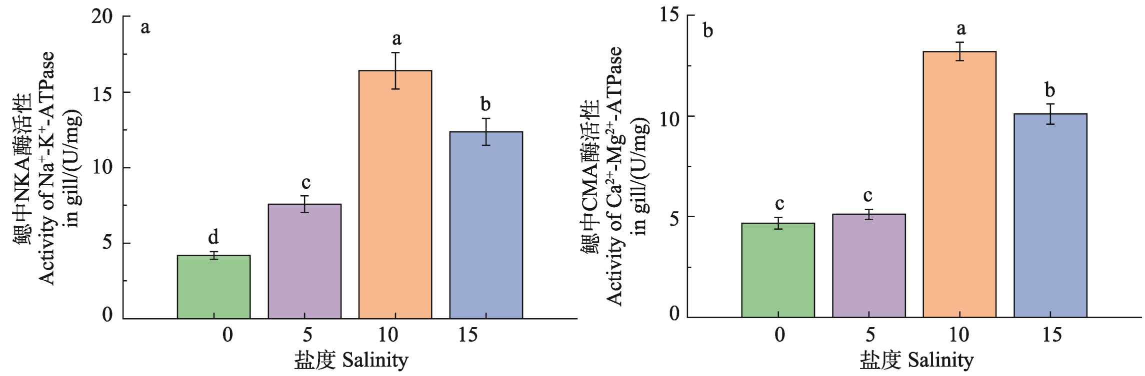

图 3　不同盐度胁迫下鳃 NKA 酶和 CMA 酶活性变化

Fig.3　Changes of NKA and CMA activity in gill under different salinity stress

性较对照组均显著上升，盐度 10 组相较于盐度 5 组活性上升最为明显；盐度 15 组的 SOD 酶活性达 210.57 U/mg，显著高于其他 3 组(P<0.05)。肝中 CAT 酶活性的变化趋势与 SOD 不同，其在盐度 5 和 10 时较对照组显著上升，且在盐度 10 时达到最高酶活性 35.72 U/mg，显著高于其他 3 组(P<0.05)；盐度 15 组的 CAT 酶活性较盐度 10 组显著降低，且与盐度 5 组无显著差异(P>0.05) (图 4)。

2.5　鳃和肠组织学分析

由图 5 和图 6 看出，盐度升高对大口黑鲈鳃和肠组织影响明显。对照组和盐度 5 组的鳃组织结构完整，氯细胞分布均匀、大小正常；在盐度 10 时，氯细胞逐渐膨大，平均直径从对照组的(8.3±0.9) μm 逐渐增大至(14.6±1.3) μm (P<0.05)，鳃小片间距由对照组的(15.2±1.8) μm 变为(23.5±2.4) μm (P<0.05)；在盐度 15 时，鳃小片萎缩并出现组织脱落的现象，鳃小片间距显著增加(P<0.05)。同样的，肠中的变化与鳃中相似：对照组和盐度 5 组的肠道粘膜层和肠绒毛完整无损伤，杯状细胞数量正常(P>0.05)；盐度 10 组的肠绒毛出现损伤和萎缩，且杯状细胞数量变多(P<0.05)；盐度 15 组的肠道粘膜层和肠绒毛出现变性和脱落，损伤严重。

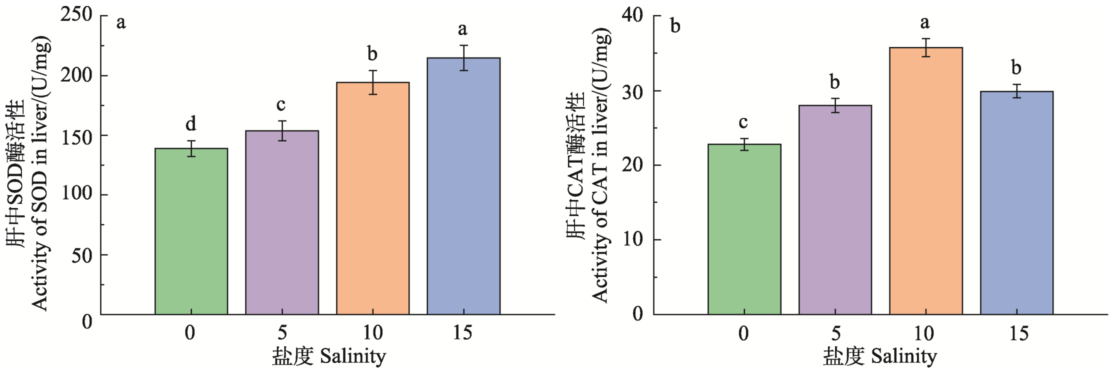

图 4　不同盐度胁迫下肝中 SOD 酶和 CAT 酶活性变化

Fig.4　Changes of SOD and CAT activities in liver under different salinity stress

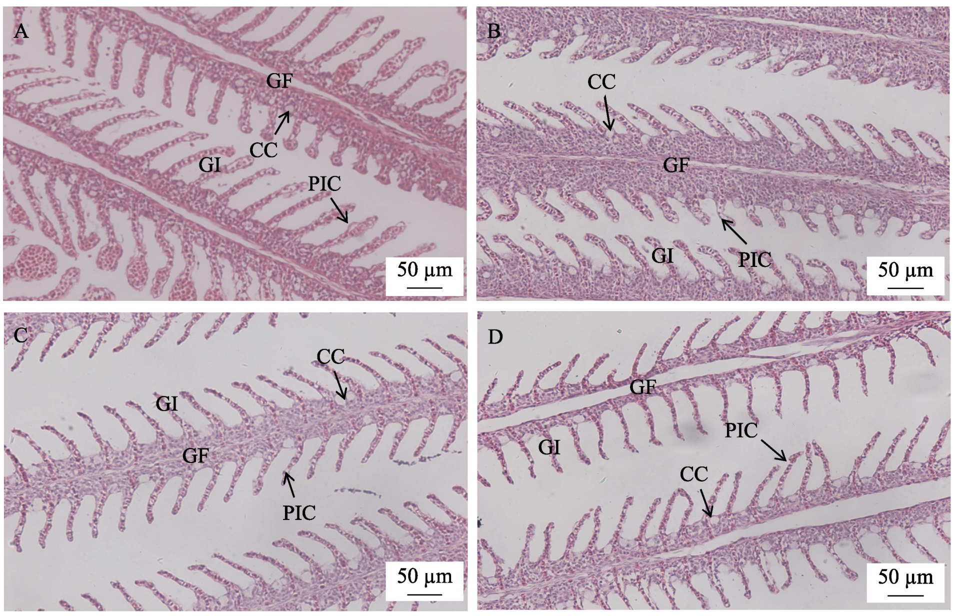

图 5　不同盐度胁迫下鳃组织学变化

Fig.5　Histological changes of gill under different salinity stress

A、B、C 和 D 分别代表盐度 0、5、10 和 15 下的鳃组织。GF：鳃丝；GI：鳃小片；PIC：柱细胞；CC：氯细胞。

A, B, C and D represent the gill tissue under the salinity of 0, 5, 10 and 15, respectively.
GF: Gill filament; GL: Gill lamella; PIC: Pillar cell; CC: Chlorine cells.

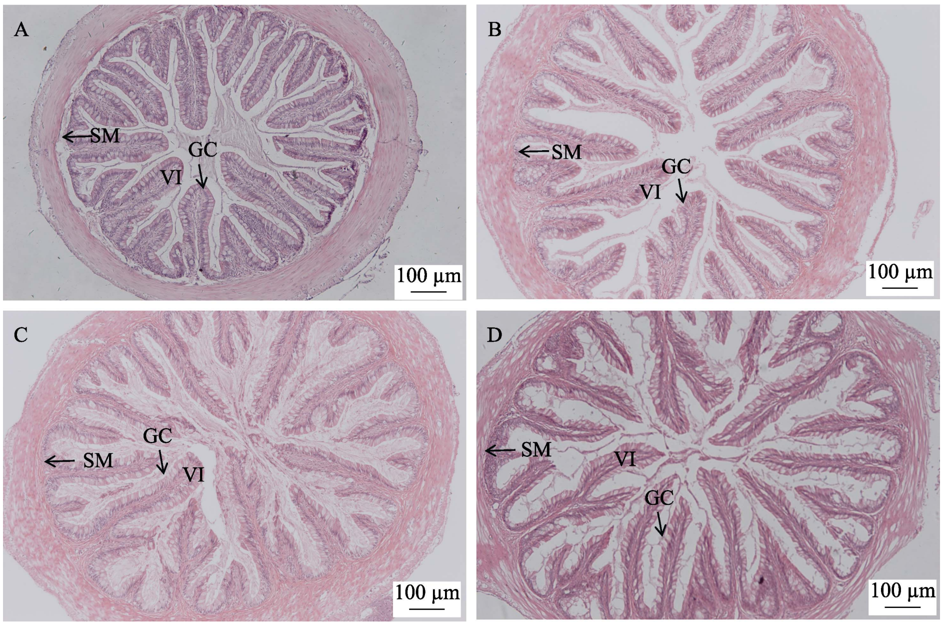

图 6　不同盐度胁迫下的肠组织学变化

Fig.6　Histological changes of intestine under different salinity stress

A、B、C 和 D 分别代表盐度 0、5、10 和 15 下的肠组织。VI：肠绒毛；GC：杯状细胞；SM：黏膜下层。
A, B, C and D represent the intestinal tissues under the salinity 0, 5, 10, and 15, respectively.
VI: Intestinal villi; GC: Goblet cells; SM: Submucosa.

表 2　鳃和肠组织学指标变化

Tab.2　Changes in gill and intestinal histological indices

指标 Index	盐度 Salinity			
	0	5	10	15
氯细胞直径 Diameter of chlorine cells/μm	8.3±0.9^{c}	8.6±0.7^{c}	12.6±1.3^{b}	15.1±1.1^{a}
氯细胞数量 Quantity of chlorine cells	18.0±1.5^{c}	20.0±1.0^{c}	25.0±2.2^{b}	28.5±4.5^{a}
鳃丝间距 Gill filament spacing/μm	15.2±1.8^{c}	16.3±1.6^{c}	23.5±2.4^{b}	31.7±3.1^{a}
杯状细胞数量 Quantity of goblet cells	22.3±1.5^{c}	23.1±1.8^{c}	35.6±3.1^{b}	39.8±3.7^{a}

注：氯细胞以 100 μm 单位长度鳃丝内数量计算，杯状细胞以 50 μm 单位长度肠绒毛内数量计算。数据以平均值±标准误表示(n=6)；不同小写字母表示不同盐度组之间差异显著(P<0.05)。

Note: Chlorine cells are calculated as the number of gill filaments per unit length of 100 μm, and goblet cells are calculated as the number of intestinal villi per unit length of 50 μm. Data are presented as Mean±SE (n=6); different lowercase letters indicate significant differences between different concentration (P<0.05); the same below.

2.6　鳃和肠中 *NKCC1a* 的表达量

由图 7 可以看出，*NKCC1a* 在鳃中的表达量随盐度的增加而升高，且在盐度 15 达到最高，显著高于其他 3 组(P<0.05)。*NKCC1a* 在肠中的表达量与鳃中相似，其中，盐度 5 组和对照组无显著差异；盐度 10 组显著高于盐度 5 组与对照组；盐度 15 组显著高于其他 3 组(P<0.05)。此外，鳃中 *NKCC1a* 的表达量高于肠组织，表明其表达谱具有组织差异性。

2.7　不同盐度胁迫下各指标相关性分析

由图 8 可见，血清渗透压(Osm)与 Cl^-和皮质醇(COR)显著相关(r≥0.95)，与 Na^+高度相关(r≥0.8)。Na^+、Cl^-、K^+和 Ca^{2+}之间具有正相关性，反映了它们在细胞膜电位中的协同变化。COR 与 Na^+、K^+、Cl^-、Ca^{2+}及鳃中 *NKCC1a* 的表达量高度相关(r≥0.8)。催乳素(PRL)除与 Mg^{2+}低度相关(0.3≤r<0.5)外，与其他指标均呈负相关(r<0)。NKA 酶与 CMA 酶显著相关(r≥0.95)，其可能共享能量代谢或离子转运通路。鳃中 *NKCC1a* 的表达量与渗透压、Na^+、K^+和 Cl^-之间存在高度相关(r≥0.8)，而肠中 *NKCC1a* 的表达量与血清渗透压、K^+和 Cl^-之间仅为强相关(0.6≤r≤0.8)。此外，鳃中 *NKCC1a* 的表达量与肠中 *NKCC1a* 的表达量存在高度相关(r≥0.8)。

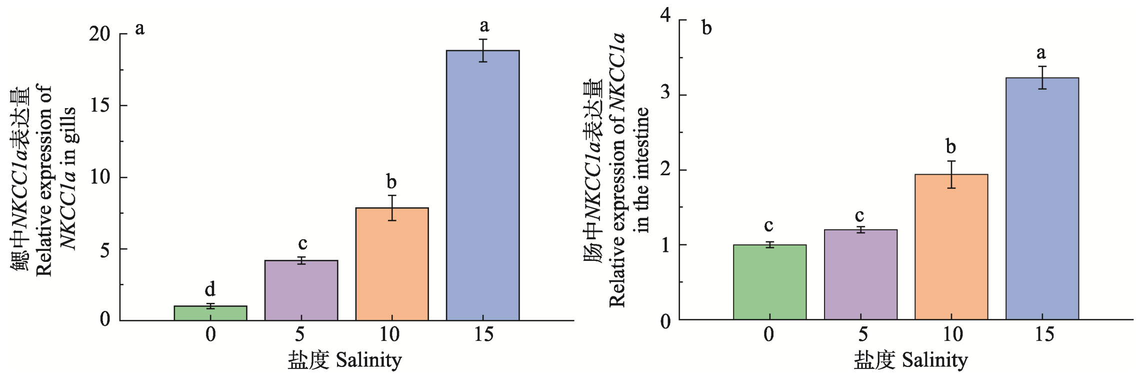

图 7 不同盐度胁迫下鳃和肠中 *NKCC1a* 表达量的变化

Fig.7 Changes of *NKCC1a* expression in gill and intestine under different salinity stress

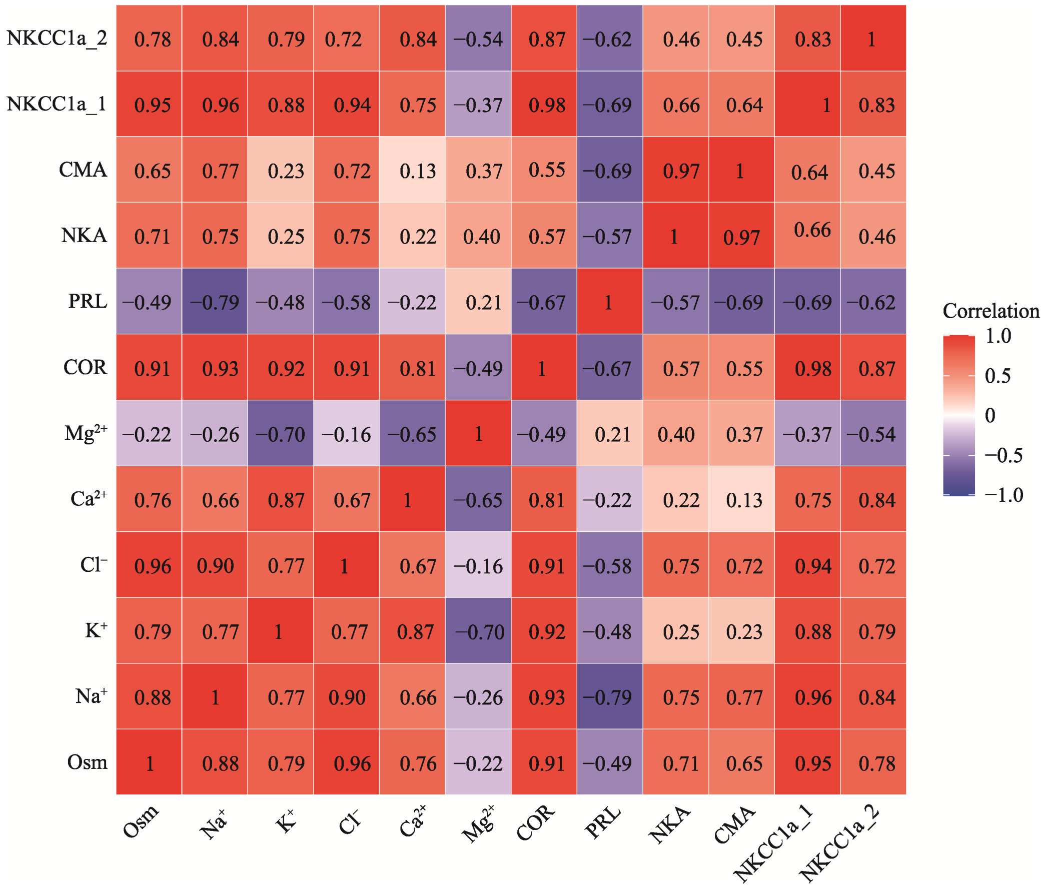

图 8 不同盐度胁迫下各指标相关性分析

Fig.8 Correlation analysis of each index under different salinity stress

Osm、COR、PRL、NKCC1a_1 和 NKCC1a_2 分别代表血清渗透压、皮质醇、催乳素、鳃中 *NKCC1a* 的表达量和肠中 *NKCC1a* 的表达量。

Osm, COR, PRL, NKCC1a_1, and NKCC1a_2 represent serum osmolality, cortisol, prolactin, the expression of *NKCC1a* in the gills, and the expression of *NKCC1a* in the intestine, respectively.

3 讨论

3.1 不同盐度胁迫对大口黑鲈渗透压调节的影响

当鱼类进入高盐度环境时，由于机体内外渗透压的不同，体内的水会向体外流失。因此，鱼类进行渗透压调节是不可或缺的(Gao *et al*, 2017)。硬骨鱼渗透压调节中的水盐平衡主要涉及 Na^+、K^+、Cl^-、Ca^{2+} 和 Mg^{2+}离子流动，而这些离子的流动又取决于 NKA

和 CMA 这 2 个关键酶，其趋势往往与渗透压的趋势有一定联系(Zhou *et al*, 2024)。NKA 酶的主要作用是将 Na^+泵出细胞外,将 K^+泵入细胞内(Lu *et al*, 2021)。在本研究中,大口黑鲈的渗透压调节机制表现出复杂的离子和酶活性变化。随着盐度升高，Na^+和 Cl^-浓度显著增加，这与血清渗透压的上升趋势一致(图 1)。相关性分析表明，渗透压与 Na^+和 Cl^-具有强正相关(r=0.88 和 r=0.96)，这种正相关关系反映了鱼类通过主动吸收 Na^+和 Cl^-来应对外界高盐环境的渗透调节策略。此外，NKA 酶的活性在盐度 5 和盐度 10 时显著升高，进一步支持了 Na^+和 K^+的主动转运机制。然而，在盐度 15 时，NKA 酶活性下降，导致 K^+开始被动扩散进而浓度升高，表明高盐度可能对鳃组织造成损伤，从而影响 NKA 的功能(图 3a)。该结果在草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)的研究中也得到了支持(Liu *et al*, 2023)。CMA 酶是渗透压调节的另一关键指标，可以将 Ca^{2+}泵出血清，又将 Mg^{2+}泵入血清(Zhang *et al*, 2019)。本研究中，CMA 酶在盐度 10 时的活性增强与 Mg^{2+}浓度上升和 Ca^{2+}浓度下降的趋势一致,表明 CMA 在高盐环境下通过调节 Ca^{2+}和 Mg^{2+}的转运来维持离子平衡。然而，在盐度 15 下，CMA 活性下降，导致 Ca^{2+}浓度升高和 Mg^{2+}浓度下降，这可能是由于高盐度对酶系统的损伤所致。类似地，在虹鳟的盐度胁迫实验中也观察到 CMA 活性随着盐度的升高出现上升趋势，但过高的盐度又导致 CMA 活性的下降(Xiong *et al*, 2020)。

除渗透酶以外，一些激素在鱼类进行渗透压调节中具有重要作用,其可通过调整体内盐分含量来控制体内渗透压的动态平衡(Watanabe *et al*, 2016)。皮质醇(COR)是一种参与调节鱼类渗透调节和代谢的皮质类固醇(Saravanan *et al*, 2018),皮质醇通过下调 NO 合成酶(NOS)的表达,阻断 NOS 对 NKA 的抑制作用,从而刺激离子间的交换(Dang *et al*, 2000)。在本研究中，血清皮质醇浓度随着盐度的升高而升高，表明皮质醇积极参与了渗透压的调节。盐度 10 组的皮质醇浓度显著高于其他 3 组(P<0.05)，证明高盐度胁迫下会促进皮质醇的释放。通过相关性分析发现，皮质醇与 Na^+、Cl^-及 NKA 存在强正相关(r>0.9)，进一步支持了其在应对盐度胁迫中的关键作用。其他研究发现，在高盐度环境饲养的鲤鱼(*Cyprinus carpio*)皮质醇水平要高于淡水组(Saravanan *et al*, 2018)，对大磷鲃(*Luciobarbus capito*)研究同样发现，高盐度环境相较于低盐度环境饲养的大磷鲃皮质醇浓度较高(张宇婷等, 2021)。除皮质醇外，催乳素(PRL)通过降低内部器官的通透性，在防止离子流失和外部水分进入方面有显著作用，也是渗透压调节的重要指标(Manzon, 2002; 刘金亮等, 2011)。在本研究中，催乳素在盐度 10 组和盐度 15 组显著低于对照组(P<0.05)。这与尼罗罗非鱼的研究结果一致,鱼体释放的催乳素随着盐度的升高而降低(Yamaguchi *et al*, 2018)。另一项研究也表明,高渗的环境中催乳素会直接降低鱼鳃上皮细胞的渗透能力和离子的被动运输能力,使得离子的再吸收能力消失(Breves *et al*, 2014)。然而,在盐度 5 时，血清催乳素水平显著升高。研究表明，这可能是硬骨鱼在盐度驯化过程中成功检测到渗透压变化并随后激活恢复渗透压稳态的一个生理反应。催乳素在低渗条件下促进离子保留，并具有渗透压感受器的功能(Manzon, 2002; McCormick *et al*, 2006)。因此，鱼类首次进入低盐度环境可能会促进催乳素的分泌,从而帮助其适应渗透压的变化。此外，催乳素与 Na^+、Cl^-及 Mg^{2+}负相关(r= –0.79、r= –0.58 和 r= –0.69)，表明 PRL 通过降低离子通透性来防止离子流失,从而在高盐环境中发挥保护作用。以上结果表明，二者可能是拮抗关系，皮质醇分泌水平随着盐度的升高而增加，可作为鱼类面对盐度刺激的正向评价指标之一；而催乳素则与盐度之间呈负相关关系,其可在海水鱼的淡水驯化中发挥重要作用。

3.2　不同盐度胁迫对大口黑鲈抗氧化能力的影响

除渗透压调节外,抗氧化能力是鱼类适应盐度胁迫的另一主要因素(Chowdhury *et al*, 2020)。SOD 和 CAT 是抵御细胞氧化的第一道防线，是鱼类抗氧化系统的重要组成部分，SOD 可通过歧化反应高效催化超氧化物阴离子(O_2^-),将其转化为 H_2O_2 和 O_2,CAT 则将 H_2O_2 转换为 H_2O，保护机体免受过氧自由基造成的损伤(Jia *et al*, 2019)。本研究中 SOD 活性随着盐度的升高而升高,说明盐度胁迫激活了鱼体内的抗氧化系统,且盐度越高抗氧化反应越明显。有研究发现，在盐度变化时，鱼类 SOD 活性升高，导致 H_2O_2 的量增多，使得 H_2O_2 清除酶 CAT 的活性也随之升高(Zhang *et al*, 2022)，这与本研究中 CAT 酶在盐度 5 和 10 时上升相符合。上述结果在罗非鱼(Song *et al*, 2021)和花鲈(*Lateolabrax maculatus*)(王孝杉等, 2021)都有类似报道,即在高盐度胁迫下,SOD 活性和 CAT 活性都有所增加。值得注意的是，SOD 活性在盐度 15 时仍维持高位，而 CAT 活性却显著下降，可能是由于 SOD 酶的升高生成大量的 H_2O_2，进而消耗大量 CAT 酶。这一结果与黄鳍鲷(*Acanthopagrus latus*)研究中发现的 CAT 活性抑制现象(Lin *et al*, 2020)相似，H_2O_2 的过量积累还可能通过负反馈抑制 CAT 活性，

或触发细胞凋亡信号导致酶功能受损(Sies *et al*, 2022)，未来需结合分子标记进一步验证。

3.3 不同盐度胁迫对大口黑鲈组织学的影响

鳃和肠是硬骨鱼类渗透压调节的重要器官，其形态结构及分子机理在适应外界复杂环境过程中能够发生显著的变化。将广盐性鱼类从淡水转移到海水环境时，体内各种离子浓度升高，鳃会通过渗透酶的作用进行体内与水环境的离子交换以维持体内离子的平衡，而肠道则能高效地吸收水分来弥补高渗环境造成的脱水(Boeuf *et al*, 2001; Abozeid *et al*, 2021)。因此，暴露于高盐胁迫对鱼类的影响通常通过鳃和肠道组织的病理学分析来评估(Gewaily *et al*, 2021)。在本研究中，随着盐度的增加，鳃中氯细胞逐渐增加并膨大，鳃小片逐渐损伤并伴有脱落；肠道组织随着盐度的增加，其杯状细胞增加，肠绒毛出现损伤脱落。该结果与欧洲鲈(*Dicentrarchus labrax*)的盐度适应策略高度吻合(Masroor *et al*, 2018)，表明大口黑鲈通过增强离子转运(鳃)和粘液屏障(肠)以应对渗透压挑战。然而，盐度 15 时，鳃小片脱落和肠绒毛断裂的病理特征提示组织修复能力可能被高盐度抑制。在尼罗罗非鱼和黄颡鱼(*Tachysurus fulvidraco*)应对盐度胁迫的研究中，随着盐度的升高，鳃丝逐渐变性脱落，氯细胞数量增多，肠道同样出现杯状细胞增加和肠绒毛损伤脱落的现象(Dawood *et al*, 2022; Tian *et al*, 2020)。值得注意的是，本研究观察到的肠道杯状细胞过度增生可能具有双面性：一方面通过粘液分泌缓解渗透压冲击，另一方面可能干扰营养吸收效率(Rombout *et al*, 2011)，这为后续研究大口黑鲈盐度胁迫下的生长性能下降提供了组织学依据。

3.4 不同盐度胁迫对大口黑鲈 *NKCC1a* 基因表达的影响

当盐度升高和降低时，鱼类通常提高具有离子转运活性的基因(如 *NKCC*)表达水平以保持细胞内外各种盐离子和水分的动态平衡(Pol *et al*, 2023)。NKCC 是一类电中性跨膜转运蛋白，以 $1Na^+ : 1K^+ : 2Cl^-$ 的比例进行离子跨膜运输，包括 *NKCC1* 和 *NKCC2* 两种基因亚型(Hebert *et al*, 2004)。*NKCC1a* 作为离子协同转运的关键载体，在鳃中，*NKCC1a* 定位于泌氯细胞基底膜，通过主动排出 Cl^-协助高盐环境中的离子排泄；在肠中，它介导离子吸收和水分调节，对维持体液渗透压至关重要(Hiroi *et al*, 2012)。在本研究中，大口黑鲈在应对盐度胁迫时，鳃和肠中 *NKCC1a* 的表达量随着盐度的升高而升高，盐度 15 时的表达量要显著高于其他 3 组($P<0.05$) (图 5)。另一方面，*NKCC1a* 在鳃中的表达量始终高于肠，经相关性分析得出鳃中 *NKCC1a* 的表达量与血清渗透压、Na^+、K^+和 COR 的相关系数($r>0.9$)高于肠中($r<0.9$)。本研究揭示鳃中 *NKCC1a* 表达显著高于肠道，与鳗鲡(*Anguilla japonica*)的器官特异性表达模式一致(Cutler *et al*, 2008)，证实鳃是盐度适应的核心器官。值得注意的是，盐度 15 时，*NKCC1a* 表达虽达峰值，但血清离子浓度未同步上升，暗示高盐度可能通过两种机制削弱转运效能：一是离子泵活性饱和(如 NKA 酶最大速率限制)，二是细胞膜电位失衡导致的电化学梯度衰减(Grosell *et al*, 2006)。与莫桑比克罗非鱼相比，大口黑鲈 *NKCC1a* 的肠道低响应性可能反映其广盐适应策略的物种特异性偏向于鳃主导的离子外排，而非肠道水分吸收，这一特征更接近海水鱼类(Inokuchi *et al*, 2008)。此外，*NKCC1a* 与 COR 的高相关性($r>0.9$)提示皮质醇可能通过糖皮质激素受体(GR)调控其转录(Kalujnaia *et al*, 2013)，但需通过启动子结合实验进一步验证。

4 结论

本研究系统解析了大口黑鲈应对不同盐度胁迫的生理与分子适应机制。结果表明，血清 Na^+、Cl^-与渗透压的强相关性($r=0.88$ 和 $r=0.96$)证实其作为核心渗透调节离子的功能地位，而皮质醇浓度的多指标关联特征(与盐度、渗透压及 *NKCC1a* 表达均呈正相关)为盐度胁迫评价提供了高效分子标志物。在 0~10 盐度范围内，大口黑鲈可迅速做出渗透压调节和抗氧化反应，抗氧化酶活性(SOD 和 CAT)与鳃和肠组织结构的协同适应性变化支持其盐度耐受性；但盐度 15 引发的 CAT 活性抑制和组织损伤，揭示该物种的盐度适应阈值。此外，盐胁迫促进了 *NKCC1a* 的表达，*NKCC1a* 在鳃和肠中表现出组织特异性表达模式。上述发现表明，大口黑鲈在盐度 10 以下环境中具有规模化养殖的应用潜力。此外，该研究结果为后续的生长性能、耐盐育种以及分子标记的研究开发提供了数据支持和参考。

参 考 文 献

刘金亮, 梁利群. 鱼类催乳素及其在渗透压调节中的作用. 水产学杂志, 2011, 24(1): 50–54 [LIU J L, LIANG L Q. Prolactin and its function in osmoregulation of fish. Chinese Journal of Fisheries, 2011, 24(1): 50–54]

逯冠政, 么宗利, 来琦芳, 等. 高盐碱环境下大口黑鲈幼鱼生

长性能、血液生理指标与质构特征研究. 渔业科学进展, 2022, 43(4): 1–11 [LU G Z, YAO Z L, LAI Q F, *et al*. Growth performance, blood parameters, and texture characteristics of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*) exposed to highly saline-alkaline water. Progress in Fishery Sciences, 2022, 43(4): 1–11]

冉凤霞, 金文杰, 黄屾, 等. 盐度变化对鱼类影响的研究进展. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2020, 48(8): 10–18 [RAN F X, JIN W J, HUANG S, *et al*. Research progress on the effects of salinity change on fish. Journal of Northwest A&F University (Natural Sciences), 2020, 48(8): 10–18]

史朝斌, 孙艳辉. 大口黑鲈工厂化苗种培育技术. 河南水产, 2024(4): 9–10, 19 [SHI C B, SUN Y H. Cultivation technology of *Micropterus salmoides*. Henan Fisheries, 2024(4): 9–10, 19]

王孝杉, 方秀, 彭士明, 等. 盐度骤变对花鲈血清及肝脏代谢酶、抗氧化酶活力及皮质醇含量的影响. 海洋渔业, 2021, 43(3): 340–349 [WANG X S, FANG X, PENG S M, *et al*. Impact of abrupt salinity changes on activity of metabolic enzymes, antioxidant enzymes and cortisol content in serum and liver of *Lateolabrax maculatus*. Marine Fisheries, 2021, 43(3): 340–349]

张宇婷, 杨建, 耿龙武, 等. 盐度胁迫对大鳞鲃抗氧化酶和血清皮质醇的影响. 渔业科学进展, 2021, 42(1): 56–62 [ZHANG Y T, YANG J, GENG L W, *et al*. Effects of salinity stress on antioxidant enzymes and serum cortisol in *Luciobarbus capito*. Progress in Fishery Sciences, 2021, 42(1): 56–62]

ABOZEID A M, ABDEL-RAHIM M M, ABOUELENIEN F, *et al*. *Quillaja saponaria* and/or *Yucca schidigera* ameliorate water quality, growth performance, blood health, intestine and gills histomorphology of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture Research, 2021, 52(12): 6117–6131

BAI J J, LUTZ-CARRILLO D J, QUAN Y C, *et al*. Taxonomic status and genetic diversity of cultured largemouth bass *Micropterus salmoides* in China. Aquaculture, 2008, 278(1/2/3/4): 27–30

BOEUF G, PAYAN P. How should salinity influence fish growth? Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2001, 130(4): 411–423

BREVES J P, SEALE A P, MOORMAN B P, *et al*. Pituitary control of branchial *NCC NKCC* and Na^+, K^+-ATPase α-subunit gene expression in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Journal of Comparative Physiology B, 2014, 184(4): 513–523

CHOWDHURY S, SAIKIA S K. Oxidative stress in fish: A review. Journal of Scientific Research, 2020, 12(1): 145–160

CUTLER C P, CRAMB G. Differential expression of absorptive cation-chloride-cotransporters in the intestinal and renal tissues of the European eel (*Anguilla anguilla*). Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology, 2008, 149(1): 63–73

DANG Z C, BALM P H M, FLIK G, *et al*. Cortisol increases Na^+/K^+-ATPase density in plasma membranes of gill chloride cells in the freshwater tilapia *Oreochromis mossambicus*. Journal of Experimental Biology, 2000, 203(15): 2349–2355

DAWOOD M A O, GEWAILY M S, SEWILAM H. The growth performance, antioxidative capacity, and histological features of intestines, gills, and livers of Nile tilapia reared in different water salinities and fed menthol essential oil. Aquaculture, 2022, 554: 738122

DING L, LIU Y J, WEI X F, *et al*. Effects of saline-alkaline stress on metabolome, biochemical parameters, and histopathology in the kidney of crucian carp (*Carassius auratus*). Metabolites, 2023, 13(2): 159

GAO X L, LI Y, LI X, *et al*. The response and osmotic pressure regulation mechanism of *Haliotis discus* Hannai (Mollusca, Gastropoda) to sudden salinity changes. Hydrobiologia, 2017, 795(1): 181–198

GEWAILY M S, ABDO S E, MOUSTAFA E M, *et al*. Dietary synbiotics can help relieve the impacts of deltamethrin toxicity of Nile tilapia reared at low temperatures. Animals, 2021, 11(6): 1790

GROSELL M, GENZ J. Ouabain-sensitive bicarbonate secretion and acid absorption by the marine teleost fish intestine play a role in osmoregulation. American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 2006, 291(4): R1145–R1156

HEBERT S C, MOUNT D B, GAMBA G. Molecular physiology of cation-coupled Cl^- cotransport: The SLC12 family. Pflugers Archive, 2004, 447(5): 580–593

HEGAZI M A M, ATTIA Z I, HEGAZI M M. Salinity lessens the impact of high stocking densities and metabolic cost in white muscle and liver of Nile tilapia fingerlings. Aquaculture Research, 2014, 45(3): 566–570

INOKUCHI M, HIROI J, WATANABE S, *et al*. Gene expression and morphological localization of NHE3 NCC and NKCC1a in branchial mitochondria-rich cells of Mozambique *Tilapia* (*Oreochromis mossambicus*) acclimated to a wide range of salinities. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2008, 151(2): 151–158

JIA R, LI Y, CAO L P, *et al*. Antioxidative, anti-inflammatory and hepatoprotective effects of resveratrol on oxidative stress-induced liver damage in tilapia (*Oreochromis niloticus*). Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2019, 215: 56–66

KALUJNAIA S, GELLATLY S A, HAZON N, *et al*. Seawater acclimation and inositol monophosphatase isoform expression in the European eel (*Anguilla anguilla*) and Nile tilapia (*Orechromis niloticus*). American Journal of Physiology Regulatory, Integrative and Comparative Physiology, 2013, 305(4): R369–R384

LIN G M, ZHENG M, GAO D, *et al*. Hypoosmotic stress induced tissue-specific immune responses of yellowfin seabream (*Acanthopagrus latus*) revealed by transcriptomic analysis. Fish & Shellfish Immunology, 2020, 99: 473–482

LIU B, GUO H Y, ZHU K C, *et al*. Growth, physiological, and molecular responses of golden pompano *Trachinotus ovatus* (Linnaeus, 1758) reared at different salinities. Fish Physiology and Biochemistry, 2019, 45(6): 1879–1893

LIU D R, ZHANG Z W, SONG Y K, *et al*. Effects of salinity on growth, physiology, biochemistry and gut microbiota of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Aquatic Toxicology, 2023, 258: 106482

LIU Z F, MA A J, YUAN C H, *et al*. Transcriptome analysis of liver lipid metabolism disorders of the turbot *Scophthalmus maximus* in response to low salinity stress. Aquaculture, 2021, 534: 736273

LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ method. Methods, 2001, 25(4): 402–408

LU W J, LONG L, ZHAO P Q, *et al*. Perfluorinated compounds disrupted osmoregulation in *Oryzias melastigma* during acclimation to hypoosmotic environment. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2021, 223: 112613

MANZON L A. The role of prolactin in fish osmoregulation: A review. General and Comparative Endocrinology, 2002, 125(2): 291–310

MASROOR W, FARCY E, GROS R, *et al*. Effect of combined stress (salinity and temperature) in European sea bass *Dicentrarchus labrax* osmoregulatory processes. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2018, 215: 45–54

MCCORMICK S D, BRADSHAW D. Hormonal control of salt and water balance in vertebrates. General and Comparative Endocrinology, 2006, 147(1): 3–8

MOMMSEN T P, VIJAYAN M M, MOON T W. Cortisol in teleosts: Dynamics, mechanisms of action, and metabolic regulation. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 1999, 9(3): 211–268

POL E, CÔME E, MERLAUD Z, *et al*. NKCC1 and KCC2 chloride transporters have different membrane dynamics on the surface of hippocampal neurons. Cells, 2023, 12(19): 2363

ROMBOUT J H W M, ABELLI L, PICCHIETTI S, *et al*. Teleost intestinal immunology. Fish & Shellfish Immunology, 2011, 31(5): 616–626

SARAVANAN M, RAMESH M, PETKAM R, *et al*. Influence of environmental salinity and cortisol pretreatment on gill Na^+/K^+-ATPase activity and survival and growth rates in *Cyprinus carpio*. Aquaculture Reports, 2018, 11: 1–7

SIES H, BELOUSOV V V, CHANDEL N S, *et al*. Defining roles of specific reactive oxygen species (ROS) in cell biology and physiology. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2022, 23(7): 499–515

SONG L Y, ZHAO Y, SONG Y D, *et al*. Effects of saline-alkaline water on growth performance, nutritional processing, and immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Aquaculture, 2021, 544: 737036

SUN S K, GONG C P, DENG C Y, *et al*. Effects of salinity stress on the growth performance, health status, and intestinal microbiota of juvenile *Micropterus salmoides*. Aquaculture, 2023, 576: 739888

TIAN L, TAN P, YANG L, *et al*. Effects of salinity on the growth, plasma ion concentrations, osmoregulation, non-specific immunity, and intestinal microbiota of the yellow drum (*Nibea albiflora*). Aquaculture, 2020, 528: 735470

WATANABE S, ITOH K, KANEKO T. Prolactin and Cortisol mediate the maintenance of hyperosmoregulatory ionocytes in gills of Mozambique tilapia: Exploring with an improved gill incubation system. General and Comparative Endocrinology, 2016, 232: 151–159

XIONG Y H, DONG S L, HUANG M, *et al*. Growth, osmoregulatory response, adenine nucleotide contents, and liver transcriptome analysis of steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) under different salinity acclimation methods. Aquaculture, 2020, 520: 734937

YAMAGUCHI Y, BREVES J P, HAWS M C, *et al*. Acute salinity tolerance and the control of two prolactins and their receptors in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and Mozambique tilapia (*O. mossambicus*): A comparative study. General and Comparative Endocrinology, 2018, 257: 168–176

ZHANG Y B, ZHANG S, XU S L, *et al*. Effects of acute low-salinity stress on osmoregulation, antioxidant capacity, and growth of the black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*). Fish Physiology and Biochemistry, 2022, 48(6): 1599–1617

ZHANG Y, SUN H J, ZHANG J Y, *et al*. Chronic exposure to dichloroacetamide induces biochemical and histopathological changes in the gills of zebrafish. Environmental Toxicology, 2019, 34(7): 781–787

ZHOU H S, YAO T H, ZHANG T X, *et al*. Effects of chronic saline-alkaline stress on gill, liver and intestinal histology, biochemical, and immune indexes in Amur minnow (*Phoxinus lagowskii*). Aquaculture, 2024, 579: 740153

(编辑　冯小花)

Effects of Different Salinity Stress on Osmoregulation, Antioxidant Capacity, Tissue Damage, and *NKCC1a* Expression in the Largemouth Bass (*Micropterus salmoides*)

LIU Yang[1,2], LI Shengjie[2], TIAN Jing[2], ZHU Tao[2], LEI Caixia[2], DU Jinxing[2], SONG Hongmei[2①]

(1. *College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai* 201306, *China*; 2. *Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; Key Laboratory of Tropical and Subtropical Fishery Resource Application and Cultivation, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangzhou* 510380, *China*)

Abstract The largemouth bass is an economically important fish species in our country, which exhibits a certain degree of salt tolerance, rapid growth, adaptability, and superior meat quality. It has great potential for aquaculture in saline-alkaline water. Therefore, in light of the greater expansion of aquaculture to saline-alkaline regions, it is of vital importance to explore the osmoregulation and physiological responses of largemouth bass under different salinity stresses. Although previous studies have highlighted its moderate salinity tolerance, the physiological and molecular responses to graded salinity challenges remain unclear, particularly regarding ion regulation, oxidative stress, and tissue-specific gene expression. This study systematically investigated the effects of salinity stress (0, 5, 10, and 15) on osmoregulation, antioxidant capacity, histology, and *NKCC1a* expression in largemouth bass, with the aim of establishing a comprehensive framework for evaluating its adaptability to saline conditions and developing sustainable aquaculture strategies. Largemouth bass, with an average weight of (20.3±1.3) g, was subjected to stress experiments under various salinity conditions (0, 5, 10, and 15). The initial salinity of each group was 0, followed by an increase of 2 every 12 h. After reaching the specified concentrations for 24 h, three fish were collected from each of the three experimental groups. Serum biochemical indicators, osmoregulatory enzyme activities, antioxidant enzyme activities, pathological tissue changes, and the relative expression levels of *NKCC1a* were assessed. Statistical evaluations included one-way ANOVA and Duncan's multiple comparison test (significance at $P<0.05$). Our results showed that the serum osmolality, Na^+ concentration, and Cl^- concentration of largemouth bass increased to varying degrees with the rise in salinity, with significant differences between the salinity 15 group *versus* the 10, 5, and control groups ($P<0.05$). Correlation analysis showed that osmolality has a strong positive correlation with Na^+ and Cl^- ($r=0.88$ and $r=0.96$), which reflects the strategy of osmoregulation in fish by actively absorbing Na^+ and Cl^- to cope with the external high-salinity environment. Serum cortisol concentrations increased with higher salinity, indicating that cortisol actively participates in osmoregulation. The cortisol concentration at salinity 10 was significantly higher than that in the other three groups ($P<0.05$), indicating that high-salinity stress promotes the release of cortisol. Correlation analysis found a strong positive correlation between cortisol (COR) and Na^+, Cl^-, and Na^+/K^+-ATPase (NKA) ($r>0.9$), further supporting its key role in coping with salinity stress. Notably, NKA and Ca^{2+}/Mg^{2+}-ATPase (CMA) activities peaked at salinity 10, but declined sharply at salinity 15, suggesting enzymatic dysfunction under extreme salinity. Superoxide dismutase (SOD) activity increased progressively with salinity and peaked at salinity 15 (210.57 U/mg), whereas catalase (CAT) activity peaked at salinity 10 (35.72 U/mg) before declining, indicating oxidative

① Corresponding author: SONG Hongmei, Email: shm1227@126.com

stress overload at higher salinities. In this study, chloride cells in the gills gradually increased and enlarged as salinity increased, while the gill filaments were gradually damaged, accompanied by shedding. Intestinal tissue showed an increase in goblet cells with rising salinity, in addition to damage and shedding of intestinal villi occurred. This indicates that the largemouth bass responds to osmotic stress by enhancing ion transport (gills) and mucin barriers (intestines). However, the pathological features of gill filament shedding and intestinal villus breakage at salinity 15 suggest that tissue repair capacity may be inhibited by high salinity. Notably, the hyperplasia of intestinal goblet cells observed in this study may have dual implications. On the one hand, it alleviates osmotic shock through mucin secretion, on the other hand, it may interfere with nutrient absorption efficiency, providing histological evidence for subsequent research on the decline in growth performance under salinity stress. Moreover, the expression levels of *NKCC1a* in the gills and intestines were tissue-specific, and the expression levels of *NKCC1a* at salinity 5, 10, and 12 were consistently significantly higher than those in the control group (P<0.05). This study systematically analyzed the physiological and molecular adaptation mechanisms of the largemouth bass in response to different salinity stress. These results demonstrate that largemouth bass effectively modulate ion regulatory and antioxidant systems at salinity 5 and 10, but suffer from significant physiological impairment at salinity 15. The tissue-specific upregulation of *NKCC1a* and its correlation with cortisol levels suggest a coordinated molecular response to salinity. This study provides critical insights into the salinity threshold of this species (10), identifying cortisol and *NKCC1a* as potential biomarkers for stress assessment. The results of this study provide a reference and support data for the culture and development of largemouth bass in brackish water environments.

Key words *Micropterus salmoides*; Salinity stress; Osmoregulation; Enzyme activity