

盐度对瘤背石磺不同部位 Na^+/K^+ -ATP 酶活性、 围心腔液和腹腔液渗透压及离子含量的影响

沈永龙^{1,2}, 戈贤平^{2*}, 黄金田^{1*}, 王爱民¹, 吕富¹, 王芹¹

(1. 盐城工学院江苏省滩涂底栖生物重点实验室, 江苏 盐城 224051;

2. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081)

摘要: 为了研究盐度对瘤背石磺不同部位 Na^+/K^+ -ATP 酶活性、围心腔液和腹腔液渗透压及离子含量(Na^+ 、 K^+ 和 Cl^-) 的影响, 选取健康的瘤背石磺[湿重(10.24 ± 2.16)g]600 只, 在不同盐度条件下(5、15、25、35 和 45)采用模拟生态环境的方式饲养 30 d 后测定各项指标。结果显示: (1) 瘤背石磺腹腔液和围心腔液的盐度和渗透压均随着环境盐度的升高而增高, 腹腔液的盐度和渗透压的变动幅度分别为 25~43 和 514~796 mOsm/kg, 其增高幅度均大于围心腔液(分别为 23~28 和 502~726 mOsm/kg); (2) 围心腔液中 Na^+ 、 Cl^- 和 K^+ 含量随环境盐度的变化具有一致性, 均呈先上升后下降的趋势, 且各离子浓度均在盐度 25 时达到最大值, 分别为 295.50、322.50 和 5.15 mmol/L, 但盐度对 Na^+ 和 Cl^- 含量有显著影响, 对 K^+ 含量无显著影响。(3) 瘤背石磺不同部位的 Na^+/K^+ -ATP 酶活性具有组织特异性, 贲门胃、肠、表皮、肌肉和围心腔膜等部位的 Na^+/K^+ -ATP 酶活性较高, 同时, 盐度激活不同部位的 Na^+/K^+ -ATP 酶活性具有显著差异性, 肌肉和贲门胃的 Na^+/K^+ -ATP 酶在低盐度时活性较高, 而肠、肾及围心腔膜等在高盐度时 Na^+/K^+ -ATP 酶被激活, 酶活性较高。研究表明: 盐度能显著影响瘤背石磺腹腔液和围心腔液的渗透压和离子浓度以及各器官的 Na^+/K^+ -ATP 酶活性, 贲门胃、肠和肌肉等均是其离子转运和渗透调节的主要部位, 具有较强的渗透压调节能力。

关键词: 瘤背石磺; 盐度; Na^+/K^+ -ATP 酶; 离子含量; 渗透压

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

瘤背石磺 (*Onchidium struma*) 是一种栖息于滩涂潮间带高潮线附近的广盐性腹足纲经济贝类, 不仅具有重要的营养价值和药用价值, 还对滩涂地区的环境保护以及生物多样性研究具有重要意义。在瘤背石磺的养殖过程中, 环境盐度是其重要的影响因素, 已有研究表明盐度对瘤背石磺的胚胎发育^[1] 和消化酶活性^[2] 有显著影响。由于瘤背石磺体表没有贝壳, 保水机制已严重退化, 体液盐度随外界环境的变化而发生显著变动。因此, 探索瘤背石磺对盐度的适应机制在理论和生产上均具有重要作用。

盐度作为一种重要的生态因子, 不仅能够显

著影响水生生物的生理代谢, 还对 Na^+/K^+ -ATP 酶活性及其相关基因的表达产生作用, 从而通过引起渗透压变化来影响水生生物的生理状态^[3-7]。截至目前, 国内外关于 Na^+/K^+ -ATP 酶的研究很多, 但主要集中于鱼类^[8-11] 和甲壳动物类^[12-16], 对于贝类 Na^+/K^+ -ATP 酶活性及其渗透调节机制等方面的研究却鲜有报道。同时, 由于瘤背石磺与大多数海洋贝类相似, 均属于渗透压随变者, 还未见有专门的渗透调节器官, 因此本实验以瘤背石磺为研究材料进行盐度实验, 对其腹腔液和围心腔液盐度和渗透压变化、围心腔液中 Na^+ 、 K^+ 和 Cl^- 浓度以及不同部位的 Na^+/K^+ -

收稿日期: 2012-11-01 修回日期: 2013-03-15

资助项目: 江苏省水产三新工程项目 (Y2012-22); 盐城市农业科技指导性计划项目 (YKN2012024)

通信作者: 戈贤平, E-mail: gexp@ffrc.cn; 黄金田, E-mail: hjt@ycit.cn

ATP 酶活性进行检测和分析,旨在研究瘤背石磺不同器官 Na^+/K^+ -ATP 酶活性随盐度的变化规律,初步探究瘤背石磺的渗透压调节机制,以期今后的规模化人工增养殖提供基础依据。

1 材料与方 法

1.1 实验动物

实验动物为采自盐城射阳滩涂高潮带的同一批体质健康、规格整齐的瘤背石磺,实验前经过 150 mg/L KMnO_4 水溶液消毒 5 min 后采用铺设底泥、搭置瓦片等模拟自然环境的方式暂养驯化 2 d 后备用^[17]。

1.2 实验设计与饲养管理

驯化结束后,挑选活力旺盛的健康瘤背石磺个体 600 只,初始体质量为 $(10.24 \pm 2.16) \text{ g}$,随机分成 5 组,分别用不同盐度水平 (5 、 15 、 25 、 35 和 45) 的人工海水饲养于特制的防逃养殖箱 (长 \times 宽 \times 高 $70 \text{ cm} \times 50 \text{ cm} \times 40 \text{ cm}$) 中,每组设置 3 个重复,每个重复 40 只。实验人工海水由曝气后的自来水与海水素 (青岛通用海大海水素有限公司) 按比例配制而成,静置 24 h 后使用,实验前用手持式折射仪 (WZ-211,北京万成北增精密

仪器有限公司) 校准实验盐度。饲养期间所用海泥均为 100 目筛绢网筛过的海边高潮带表层泥土,将细海泥分别在不同盐度梯度的海水中完全浸湿 5 min 后以 3 cm 厚度铺设于养殖箱底部。

实验期间采用空调控制室内气温为 $24 \sim 25 \text{ }^\circ\text{C}$ 、箱内相对湿度控制在 $88\% \sim 90\%$,每天两次 ($07:00$ 和 $17:00$) 用海泥与螺旋藻粉 ($m:M=5:1$) 拌饲投喂于固定位置的玻璃食台,投饲率为 2% 。每次投喂前清洁养殖箱、食台及瓦片,投喂后 1 h 清除残饵并向养殖箱中分别喷洒相应盐度的人工海水,维持瘤背石磺体表湿润和养殖箱内的湿度,同时调节水体盐度,从而维持瘤背石磺生存环境中盐度的稳定。观察记录摄食情况并检查防逃设施是否完好。饲养 30 d 后,从各处理组中随机抽取瘤背石磺 30 只采集组织样本,取样前禁食 24 h 。

1.3 样品制备

取样时,先用 1 mL 注射器抽取腹腔液和围心腔液于离心管中,于 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中保存备用。然后将瘤背石磺置于冰盘上解剖,分别将其表皮、肌肉、肝胰腺、肾、围心腔膜和肠分离开来,剔除附着物,预冷生理盐水洗净后用滤纸吸干,称重后分装于离心管中,液氮保存备用,以测定 Na^+/K^+ -ATP 酶活性。

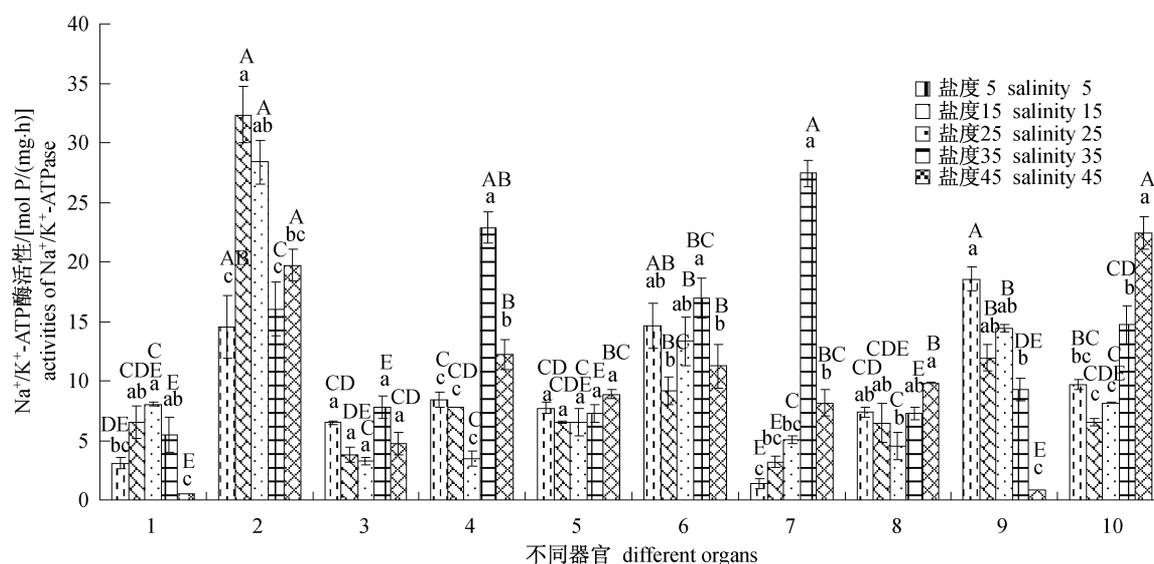


图 1 盐度对瘤背石磺不同部位 Na^+/K^+ -ATP 酶活性的影响

1. 肝胰腺; 2. 贲门胃; 3. 幽门胃; 4. 前肠; 5. 中肠; 6. 后肠; 7. 表皮; 8. 肾; 9. 肌肉; 10. 围心腔膜。

图标上方 a、b 和 c 字母不同,表示同种器官不同盐度之间存在显著性差异 ($P < 0.05$); A、B、C、D 和 E 字母不同,表示相同盐度下不同器官之间存在显著性差异 ($P < 0.05$)。以下图表中字母注释同此。

Fig. 1 Effects of salinities on Na^+/K^+ -ATPase activity in different organs of *O. struma*

1. hepatopancreas; 2. cardiac stomach; 3. pyloric stomach; 4. foregut; 5. midgut; 6. hindgut; 7. epidermis; 8. kidney; 9. muscle; 10. pericardial cavity film.

Different small letters of "a", "b" and "c" on the columns mean significant difference in Na^+/K^+ -ATPase activity of one organs under different salinities ($P < 0.05$); Different capital letters of "A", "B", "C", "D" and "E" mean significant difference in Na^+/K^+ -ATPase activity between different organs of *O. struma* under same salinity ($P < 0.05$). The same as the following.

1.4 样品处理及测定

围心腔液 Na⁺、K⁺ 和 Cl⁻ 浓度及渗透压的测定:采用全自动干生化分析仪(强生 VITROS 350,上海润达医疗科技股份有限公司)测定围心腔液中 Na⁺、K⁺ 和 Cl⁻ 浓度;全自动冰点渗透压计(FM-8,上海医科大学仪器厂)测定渗透压。

Na⁺/K⁺-ATP 酶样品处理与测定:冰浴条件下,将各组织剪碎后,用电动玻璃匀浆机(DY89-1,宁波新芝生物科技股份有限公司)匀浆,然后将匀浆液于 4℃ 下 3 500 r/min 离心 10 min,取上清液用定磷法测定 ATPase 活性(南京建成生物工程研究所超微量 Na⁺/K⁺-ATPase 测定试剂盒),蛋白质含量用双缩脲测试盒(南京建成生物工程研究所)测定。以每小时每毫克组织蛋白中 ATPase 分解 ATP 产生 1 μmol 无机磷的量为 1 个 ATP 酶活力单位[μmol P/(mg·h)]。

1.5 数据分析

先对数据进行正态分布检验,然后采用 SPSS 16.0 中的单因素方差分析(One-Way ANOVA)对数据进行统计分析并进行 Duncan 氏多重比较。统计结果表示为平均值 ± 标准误(mean ± SE),显著性水平设置为 P < 0.05。

2 结果与分析

2.1 盐度对瘤背石磺不同部位 Na⁺/K⁺-ATP 酶活性的影响

Na⁺/K⁺-ATP 酶在瘤背石磺所有部位均有分布,但贲门胃中分布最多,其次是后肠、肌肉和围心腔膜,肝胰腺、幽门胃和肾中的 Na⁺/K⁺-ATP 酶活性较低(图 1)。同时,盐度对瘤背石磺各部位(除幽门胃和中肠外)的 Na⁺/K⁺-ATP 酶活性均有显著影响(P < 0.05)。在低盐度时,贲门胃、后肠以及肌肉等器官中的 Na⁺/K⁺-ATP 酶活性较高,且这几个部位之间无显著差异(P > 0.05),但随着盐度的升高,除了肌肉呈明显的下降趋势外,肝胰腺、贲门胃和表皮的 Na⁺/K⁺-ATP 酶活性均呈先上升后下降的趋势,而前肠、后肠、肾及围心腔膜则呈先下降后上升的趋势。

2.2 环境盐度对瘤背石磺腹腔液和围心腔液盐度及其渗透压的影响

瘤背石磺腹腔液盐度随环境盐度的升高呈上升趋势,且各组之间差异显著(P < 0.05)(图 2)。围心腔液盐度虽然也随着环境盐度的升高呈上升

趋势,但变化幅度相对较小。盐度 35 与 45 组的围心腔液盐度差异不显著(P > 0.05),但显著高于其他各组(P < 0.05);盐度 5 组的围心腔液盐度最低,显著低于其余各组(P < 0.05)。

腹腔液与围心腔液渗透压的变化与环境盐度变化具有正相关性(图 3)。瘤背石磺腹腔液渗透压随盐度升高的幅度相对较大,在盐度 45 时达 796 mOsm/kg;而围心腔液的渗透压随环境盐度的变化波动范围较窄,为 502 ~ 725 mOsm/kg。

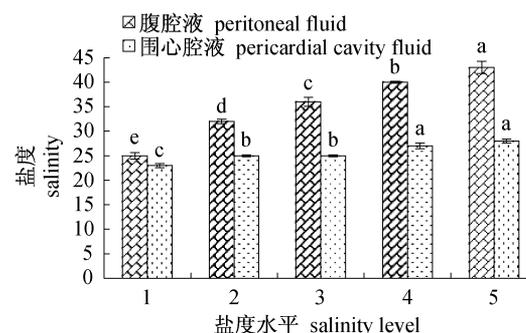


图 2 环境盐度对瘤背石磺腹腔液和围心腔液盐度的影响

Fig. 2 Effects of ambient salinities on the salinity of peritoneal fluid and pericardial cavity fluid of *O. struma*

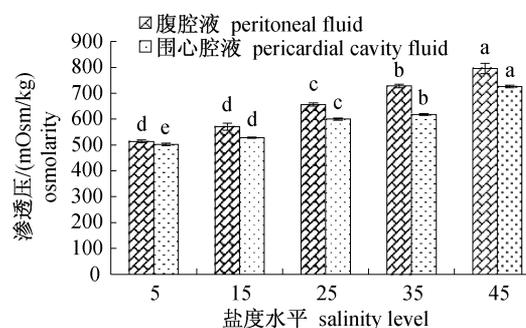


图 3 环境盐度对瘤背石磺腹腔液和围心腔液渗透压的影响

Fig. 3 Effects of ambient salinities on the osmolality of peritoneal fluid and pericardial cavity fluid of *O. struma*

2.3 环境盐度对瘤背石磺围心腔液离子浓度的影响

由表 1 可知,瘤背石磺围心腔液中 Na⁺ 和 Cl⁻ 含量较多,而 K⁺ 含量较低。同时,围心腔液中 Na⁺ 和 Cl⁻ 含量随环境盐度的升高均呈先上升后下降的趋势,且均在盐度 25 时离子浓度达到最

高,除盐度 35 和 45 组之间差异不显著 ($P > 0.05$) 外,其余各组之间均差异显著 ($P < 0.05$); K^+ 含量虽随着盐度变化与 Na^+ 和 Cl^- 的变化趋势相同,但各组之间差异不显著 ($P > 0.05$)。

表 1 盐度对瘤背石磺围心腔液离子浓度的影响
Tab.1 Effects of salinity on ion concentration of *O. struma*

盐度 salinity	$K^+ /$ (mmol/L)	$Na^+ /$ (mmol/L)	$Cl^- /$ (mmol/L)
5	4.35 ± 0.25^a	235.50 ± 5.50^c	255.00 ± 2.83^c
15	4.60 ± 0.20^a	244.50 ± 4.50^c	258.00 ± 4.00^c
25	5.15 ± 0.25^a	295.50 ± 4.50^a	322.50 ± 3.50^a
35	4.80 ± 0.20^a	271.50 ± 6.50^b	304.50 ± 2.50^b
45	4.85 ± 0.25^a	274.50 ± 5.50^b	307.50 ± 1.50^b

3 讨论

3.1 瘤背石磺不同部位 Na^+ / K^+ -ATP 酶的分布特征

Na^+ / K^+ -ATP 酶是广泛存在于各类细胞质膜上参与细胞内能量代谢和离子转运的重要酶系统,但其酶活性在不同的器官内具有组织特异性。为了解环境盐度对水生生物生理生化的影响,许多学者都对水生生物不同器官中的 Na^+ / K^+ -ATP 酶的活性变化进行了研究,报道相对较多的是鳃中 Na^+ / K^+ -ATP 酶活性的变化,但也有研究显示水生生物的肾脏、肝脏(肝胰腺)或肠等也是 Na^+ / K^+ -ATP 酶的作用场所^[18-21]。实验中,瘤背石磺各器官中均有 Na^+ / K^+ -ATP 酶分布,但在低盐度时,贲门胃、后肠和肌肉中的 Na^+ / K^+ -ATP 酶活性较高;而在高盐度时,除了贲门胃和后肠外,前肠、表皮和围心腔膜也是 Na^+ / K^+ -ATP 酶的主要作用场所,这说明瘤背石磺与一些有鳃类水生生物不同,其主要的渗透压调节器官不是传统的鳃、肾和表皮等,而是肠、围心腔膜、胃和肌肉等,且不同部位的 Na^+ / K^+ -ATP 酶被激活或抑制具有组织特异性,这可能是生物对恶劣环境的适应。

3.2 盐度对瘤背石磺不同部位 Na^+ / K^+ -ATP 酶活性的影响

影响水产动物 Na^+ / K^+ -ATP 酶活性的因素很多,主要包括温度、盐度、pH、重金属离子、氨氮含量和激素水平等^[22-24]。但由于 Na^+ / K^+ -ATP 酶在渗透压调节方面起着极其重要的作用,所以

盐度对 Na^+ / K^+ -ATP 酶活性的影响研究相对较多,但对于贝类仅见林听听等^[25]对青蛤(*Cyclina sinensis*)鳃 Na^+ / K^+ -ATP 酶活性以及 Fu 等^[26]对近江牡蛎(*Crassostrea hongkongensis*)在盐度胁迫条件下渗透调节相关基因 Hsp90 表达量的研究。一般来说,水生生物的渗透调节过程首先是被动吸水或失水,引起渗透压改变,然后诱导 Na^+ / K^+ -ATP 酶活性被激活或机体代谢过程发生改变,使渗透压最终趋向平稳^[27]。

经过长期的自然选择,一些非洄游广盐性鱼类的 Na^+ / K^+ -ATP 酶活性一般在其生存的自然海域盐度下最低。但在本研究中当盐度 45 时,瘤背石磺贲门胃、后肠、肌肉以及肝胰腺等器官中的 Na^+ / K^+ -ATP 酶活性却低于低盐度水平,这可能是由于瘤背石磺对于盐度胁迫的响应不仅仅是通过改变 ATP 酶活性实现的,也可能是通过改变调控机制来完成的,如:某些内分泌激素的分泌增加可抑制 Na^+ / K^+ -ATP 酶的活性等,在遮目鱼(*Chanos chanos*)^[28]就有类似研究结果,因此笔者推断瘤背石磺对高盐度的响应机制可能是:当体内围心腔液渗透压与体外水体渗透压相差相对较小时,瘤背石磺通过提高 ATP 酶活性将多余盐离子排出体外,当体内围心腔液渗透压与体外水体渗透压相差较大时,将诱导瘤背石磺代谢途径发生改变,围心腔液中游离氨基酸等有机离子含量增多,渗透压增大,围心腔膜的 ATP 酶活性降低。有报道显示瘤背石磺在高盐度时的渗透调节比低盐度时更有效^[29],本实验中在低盐度时瘤背石磺各器官的 Na^+ / K^+ -ATP 酶活性均较低也验证了这一观点,这可能是 Na^+ / K^+ -ATP 酶活性或 Na^+ / K^+ -ATPase 基因的表达受到抑制,最终导致其不能有效调节自身的渗透压,但由于本研究未就盐度胁迫相关基因表达量、腹腔液中的激素或游离氨基酸水平等做进一步的研究,其具体原因还需进一步探索。

3.3 环境盐度对瘤背石磺腹腔液和围心腔液盐度及渗透压的影响

已有研究表明,将无脊椎动物等放入一定浓度的海水一段时期后其体液盐度与环境盐度相似^[30]。本实验结果与以上结论一致,随着盐度的变化,瘤背石磺腹腔液和围心腔液渗透压分别处于 514 ~ 795.5 mOsmol/kg 和 502 ~ 726 mOsmol/kg 之间,且均与外界环境盐度具有正相关性,进

一步验证了瘤背石磺与很多海洋无脊椎动物一样,具有广盐性和渗透压随变性,可以通过渗透压调控来维持机体的正常生命活动。同时,瘤背石磺的围心腔液盐度变动幅度远小于腹腔液盐度的变动幅度,保持相对稳定,这也为瘤背石磺能在环境盐度受潮汐和降雨的影响而变动幅度较大的潮间带地区正常生活提供了保障;另外,有研究表明盐度变化对绿唇鲍 (*Haliotis laevis*) 和黑唇鲍 (*Haliotis rubra*) 等的心率有显著影响^[31],因此笔者推测瘤背石磺的围心腔膜在渗透调节方面具有重要的作用,这可能是瘤背石磺在长期进化过程中的一种心脏保护机制。

3.4 环境盐度对瘤背石磺围心腔液离子浓度的影响

渗透压的改变主要依赖于无机离子 (Na⁺、Cl⁻ 和 K⁺ 等) 和自由氨基酸等渗透压效应物含量的变化,有报道显示围心腔液渗透压的大小主要取决于 Na⁺ 和 Cl⁻ 的含量^[32]。本实验中瘤背石磺的 Na⁺、Cl⁻、K⁺ 浓度均随盐度的升高而呈先升高后下降的趋势,说明瘤背石磺渗透压在低盐度时由晶体渗透压主导,但当高盐度时围心腔液中 Na⁺ 和 Cl⁻ 的含量并不与围心腔液渗透压变化趋势相一致,这可能是由于瘤背石磺在高盐度时,其渗透压调节机制发生改变,使得围心腔液中存在部分胶体渗透压造成的,赵峰等^[8] 和 Cataldi 等^[33] 分别对史氏鲟 (*Acipenser schrencki*) 和意大利鲟 (*Italian sturgeon*) 的研究也得到相似结果。另外,本实验中还发现 K⁺ 与 Na⁺ 和 Cl⁻ 不同,盐度变化对瘤背石磺血清 K⁺ 浓度影响不大,这是因为 K⁺ 主要存在于细胞内,维持细胞内的渗透压,这也说明了在实验盐度条件下瘤背石磺细胞膜依然保持完整^[34-35],仍然具有正常的离子调节能力。

参考文献:

- [1] 沈和定,陈汉春,陈贤龙,等. 盐度对石磺胚胎发育的影响[J]. 上海水产大学学报,2006,15(3): 297-302.
- [2] 沈永龙,戈贤平,黄金田,等. 盐度对瘤背石磺 (*Onchidium struma*) 消化酶活性的影响[J]. 动物营养学报,2012,24(9):1839-1846.
- [3] Masui D C, Mantelatto F L, Mcnamara J C, et al. Na⁺/K⁺-ATPase activity in gill microsomes from the blue crab, *Callinectes danae*, acclimated to low
- salinity: Novel perspectives on ammonia excretion [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2009, 153(2):141-148.
- [4] Lucu C, Pavicic J, Ivankovic D, et al. Changes in Na⁺/K⁺-ATPase activity, unsaturated fatty acid and metallothioneins in gills of the shore crab *Carcinus aestuarii* after dilute seawater acclimation [J]. *Comparative Biochemistry Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2008, 149(4): 362-372.
- [5] 江山,许强华. 盐度胁迫对三疣梭子蟹鳃 Na⁺/K⁺-ATPase 酶活性的影响[J]. 水产学报,2011,35(10): 1475-1480.
- [6] 屈亮,庄平,章龙珍,等. 盐度对俄罗斯鲟幼鱼血清渗透压、离子含量及 Na⁺/K⁺-ATP 酶活力的影响[J]. 中国水产科学,2010,17(2):243-251.
- [7] Tang C H, Lee T H. The effect of environmental salinity on the protein expression of Na⁺/K⁺-ATPase, Na⁺/K⁺/2Cl⁻ cotransporter, cystic fibrosis transmembrane conductance regulator, anion exchanger 1, and chloride channel 3 in gills of a euryhaline teleost, *Tetraodon nigroviridis* [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2007, 147(2): 521-528.
- [8] 赵峰,庄平,章龙珍,等. 盐度驯化史氏鲟鳃 Na⁺/K⁺-ATP 酶活力、血清渗透压及离子浓度的影响[J]. 水产学报,2006,30(4):444-449.
- [9] 于娜,李加儿,区又君,等. 盐度胁迫对鳊鱼幼鱼鳃丝 Na⁺/K⁺-ATP 酶活力和体含水量的影响[J]. 动物学杂志,2011,46(1):93-99.
- [10] 杨宇晴,余德光,谢骏,等. 急性盐度胁迫对斜带石斑鱼 Na⁺/K⁺-ATP 酶及血清应激指标的影响[J]. 热带海洋学报,2010,29(4):160-164.
- [11] 孙鹏,彭士明,尹飞,等. 盐度对条石鲷幼鱼 Na⁺/K⁺-ATP 酶活力的影响[J]. 水产学报,2010,34(8):1204-1209.
- [12] 潘鲁青,刘志,姜令绪. 盐度、pH 变化对凡纳滨对虾鳃丝 Na⁺-K⁺-ATPase 活力的影响[J]. 中国海洋大学学报:自然科学版,2004,34(5):787-790.
- [13] Palacios E, Bonilla A, Luna D, et al. Survival, Na⁺/K⁺-ATPase and lipid responses to salinity challenge in fed and starved white Pacific shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarvae [J]. *Aquaculture*, 2004, 234(1-4):497-511.
- [14] Garçon D, Masui D, Mantelatto F, et al. Hemolymph ionic regulation and adjustments in gill Na⁺/K⁺-

- ATPase activity during salinity acclimation in the swimming crab *Callinectes ornatus* (Decapoda, Brachyura) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 2009, 154(1):44-55.
- [15] 金彩霞, 潘鲁青. 盐度变化对克氏原螯虾渗透调节影响机制的初步研究[J]. *水生生物学报*, 2008, 32(6):894-899.
- [16] Silva E C, Masui D C, Furriel R P, *et al.* Regulation by the exogenous polyamine spermidine of Na, K-ATPase activity from the gills of the euryhaline swimming crab *Callinectes danae* (Brachyura, Portunidae) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry & Molecular Biology*, 2008, 149(4):622-629.
- [17] 黄金田, 张余霞. 瘤背石磺室内温箱养殖实验[J]. *海洋科学*, 2004, 28(10):14-16.
- [18] 尹飞, 孙鹏, 彭士明, 等. 低盐度胁迫对银鲳幼鱼肝脏抗氧化酶、鳃和肾脏 ATP 酶活力的影响[J]. *应用生态学报*, 2011, 22(4):1059-1066.
- [19] 赵小晶, 孔华庭, 颜进, 等. 纳米 TiO₂、ZnO、SiO₄ 对剑尾鱼肝组织中 Na⁺/K⁺-ATP 酶活性的影响[J]. *生物学杂志*, 2011, 28(5):9-13.
- [20] Paital B, Chainy G. Antioxidant defenses and oxidative stress parameters in tissues of mud crab (*Scylla serrata*) with reference to changing salinity [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2010, 151(1):142-151.
- [21] 冯平, 王峰, 范光丽. 盐度对青鳉鱼肠内 Na⁺/K⁺-ATPase 基因表达的影响[J]. *西北农业学报*, 2006, 15(6):24-27.
- [22] 马慧, 柳淑芳, 马骞, 等. 硬骨鱼类渗透压调的内分泌激素调节机制[J]. *水产科学*, 2012, 31(1):55-59.
- [23] 胡毅, 黄云, 钟蕾, 等. 氨氮胁迫对青鱼幼鱼鳃丝 Na⁺/K⁺-ATP 酶、组织结构及血清部分生理生化指标的影响[J]. *水产学报*, 2012, 36(4):538-545.
- [24] 柳旭东, 王际英, 张利民, 等. 影响水产动物 Na⁺/K⁺-ATP 酶活力的水环境因素[J]. *水产科学*, 2009, 28(3):171-175.
- [25] 林昕昕, 来琦芳, 陆建学, 等. 盐度突变对青蛤 (*Cyclina sinensis*) 鳃 Na⁺/K⁺-ATPase 活性的影响[J]. *广东海洋大学学报*, 2012, 32(1):54-58.
- [26] 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(1):118-125.
- [27] He X G, Zhuang P, Zhang L Z, *et al.* Osmoregulation in juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis* Gray) during brackish water adaptation [J]. *Fish Physiol and Biochem*, 2009, 35(2):223-230.
- [28] Lin Y M, Chen C N, Lee T H. The expression of gill Na, K-ATPase in milkfish, *Chanos chanos*, acclimated to seawater, brackish water and fresh water [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & integrative Physiology*, 2003, 135(3):489-497.
- [29] Deaton L E. Hyperosmotic cellular volume regulation in the ribbed mussel *Geukensia demissa*; Inhibition by lysosomal and proteinase inhibitors [J]. *Journal of Experimental Zoology*, 1987, 244(3):375-382.
- [30] 温海深. 水产动物生理学[M]. 青岛: 中国海洋大学出版社, 2009:285-286.
- [31] Edwards S. Assessment of the physiological effect of altered salinity on greenlip (*Haliotis laevis*) and blacklip (*Haliotis rubra*) abalone using respirometry [J]. *Aquaculture Research*, 2003, 34(14):1361-1365.
- [32] Chen J C, Chia P G. Osmotic and ionic concentrations of *Scylla serrata* (Forsk.) subjected to different salinity levels-Chloride and osmotic concentration [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Physiology*, 1997, 117(2):239-244.
- [33] Cataldi E, Ciccotti E, Dimarco P, *et al.* Acclimation trials of juvenile Italian sturgeon to different salinities: Morphophysiological descriptors [J]. *Journal of Fish Biology*, 1995, 47(4):609-618.
- [34] 卢俊, 庄平, 冯广朋, 等. 中华绒螯蟹亲蟹渗透压调节和抗氧化系统对盐度的响应[J]. *海洋渔业*, 2011, 33(1):39-45.
- [35] Mcenroe M, Cech J J. Osmoregulation in juvenile and adult white sturgeon, *Acipenser transmontanus* [J]. *Environmental Biology of Fishes*, 1985, 14(1):23-30.

Effects of salinity on Na⁺/K⁺-ATPase activity, the osmolality of pericardial cavity fluid and peritoneal fluid and ion content in *Onchidium struma*

SHEN Yonglong^{1,2}, GE Xianping^{2*}, HUANG Jintian^{1*}, WANG Aimin¹, LÜ Fu¹, WANG Qin¹

(1. Key Laboratory of Benthic Biology of Shoals of Jiangsu Province, Yancheng Institute of Technology, Yancheng 224051, China;

2. Wuxi Fishery Institute, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China)

Abstract: To explore the effects of salinity on the Na⁺/K⁺-ATPase activity, the osmolality of pericardial cavity fluid and peritoneal fluid and ion content (Na⁺, K⁺ and Cl⁻) in *Onchidium struma* (Objective), six hundred healthy specimens [wet weight (10.24 ± 2.16) g] were selected and had been raised for 30 days with simulated ecological environments in different salinity conditions (5, 15, 25, 35 and 45), then all indices were determined (Method). The results show: (1) The salinity and osmolality of peritoneal fluid and pericardial cavity fluid of *O. struma* are increased with increasing ambient salinity. The increased amplitude of peritoneal fluid are 25 – 43 and 514 – 796 mOsm · /kg respectively, which were greater than the pericardial cavity fluid (23 – 28 and 502 – 726 mOsm/kg respectively). (2) The content of Na⁺, Cl⁻ and K⁺ of pericardial cavity fluid is consistent with the changes of ambient salinity and these all increased first then decreased. The concentration of Na⁺, Cl⁻ and K⁺ reached the maximum at salinity 25, which is 295.50 mmol/L, 322.50 mmol/L and 5.15 mmol/L respectively. Besides, salinity has a significant impact in Na⁺ and Cl⁻ but with no significant effect on K⁺. (3) There are significant differences on Na⁺/K⁺-ATPase activity of different parts in *O. struma*. The Na⁺/K⁺-ATPase in cardia stomach, intestine, epidermis, muscle and pericardial cavity membrane of *O. struma* have higher activity. In addition, the Na⁺/K⁺-ATPase activity of different parts activated by salinity with some tissue-specificity, there are higher activity of cardia stomach and muscle in low salinity while the intestine, kidney and pericardial cavities membrane in high salinity (Result). These results indicate that the salinity can significantly impact the osmolality and ion concentration of peritoneal fluid and pericardial cavity fluid as well as the Na⁺/K⁺-ATPase activity of *O. struma*. The cardiac stomach, intestine and muscle are the main tissues involved in its ion transport and osmoregulation with strong osmotic adjustment capability (Conclusion).

Key words: *Onchidium struma*; salinity; Na⁺/K⁺-ATPase; ion content; osmolality

Corresponding author: GE Xianping. E-mail: gexp@ffrc.cn; HUANG Jintian. E-mail: hjt@ycit.cn