# 急性低盐度胁迫对可口革囊星虫存活、$Na^+/K^+$-ATP 酶及磷酸酶活力的影响

游出超, 董兰芳, 曾梦清, 蒋　艳, 许明珠, 张　琴

(广西壮族自治区海洋研究所 广西海洋生物技术重点实验室, 广西 北海 536000)

**摘要**: 为探讨低盐度急性胁迫对可口革囊星虫(*Phascolosoma esculenta*)的影响规律, 研究可口革囊星虫对急性低盐度胁迫的响应机制, 本试验先通过急性毒性试验确定可口革囊星虫 96 h 内对低盐度的耐受范围, 再选取 96 h 最小死亡率盐度, 研究该盐度急性胁迫下可口革囊星虫(平均体质量 0.85±0.07 g)体质量、体壁含水量、$Na^+/K^+$-ATP 酶活力以及酸碱磷酸酶活力在 96 h 内的动态变化。结果表明: 在本试验盐度 3.0~7.0 范围内, 可口革囊星虫 24 h 的最大死亡率盐度是 3.0, 可口革囊星虫 96 h 的最小死亡率盐度为 7.0; 可口革囊星虫死亡率随盐度降低逐渐升高, 但相同盐度下随着时间延长, 可口革囊星虫死亡率基本不变, 可口革囊星虫 96h 内能耐受的最低盐度是 7.0; 在低盐度 7.0 胁迫下, 可口革囊星虫体质量和体壁含水量在 12 h 内显著增大($P<0.05$), 12 h 后趋于平稳($P>0.05$); $Na^+/K^+$-ATP 酶活力也在 6 h 内显著升高至最大值($P<0.05$), 6 h 至 12h 又显著降低($P<0.05$), 此后稳定在高于对照组水平; 酸性磷酸酶和碱性磷酸酶活力变化趋势与 $Na^+/K^+$-ATP 酶活力类似, 均是先显著升高($P<0.05$)后显著降低($P<0.05$), 最后稳定在高于对照组水平。以上研究表明, 可口革囊星虫能够通过 $Na^+/K^+$-ATP 酶、酸碱磷酸酶等渗透和免疫相关的生理调节机制, 迅速响应低盐度环境, 其对低盐度有很强的适应力和耐受力。

**关键词**: 低盐度胁迫; 可口革囊星虫; $Na^+/K^+$-ATP 酶; 磷酸酶

**中图分类号**: Q958.11　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 1000-3096(2019)03-0082-08

DOI: 10.11759/hykx20190117001

盐度是影响海洋无脊椎动物生理生态学最重要的环境因子之一[1]。大多数海洋无脊椎动物都是变渗压性的, 它们调节渗透压的作用不完善, 体液的渗透压与海水接近一致并且受到水环境渗透压的影响。水环境盐度升高时, 它们的体重因为失水而减少; 盐度降低时, 其体重由于水分渗入而增加[2]。水生生物对盐度的变化存在一定的适应范围和耐受极限, 这种适应性主要取决于机体对渗透压的调节能力, 而酶活力是最重要的调节方式之一。$Na^+/K^+$-ATP 酶能催化 ATP 水解供能, 驱动位于细胞膜两侧的 $Na^+$、$K^+$对向运输, 对于机体调节细胞渗透压和离子平衡有重要的调节作用[3]。目前国内外已经开展了一些水生生物的 $Na^+/K^+$-ATP 酶的研究, 包括鱼类[4-8]、贝类[9-10]、甲壳类[11-15]等。许多研究发现, 盐度升高或降低均能导致 $Na^+/K^+$-ATP 酶活力增强[16-21]。在盐度胁迫等逆境环境下, 机体产生大量氧自由基导致氧化损伤, 为维持细胞正常代谢, 生物体形成了复杂的酶类和非酶类免疫保护系统, 而非特异性免疫是机体防御和保护的第一道防线。其中酸性磷酸酶(acid phosphatase, ACP)和碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)是机体参与免疫防御等活动的两种重要水解酶[22-23]。

可口革囊星虫(*Phasolosma esculenta*)俗称泥虫、泥丁、土笋等, 隶属星虫动物门(Sipuncula)、革囊星虫属(*Phascolosoma*), 主要分布在中国东南沿海地区的泥质或沙泥质滩涂[24]。其活动范围小、抗逆性强、营养价值高, 是近年来新兴的海水增养殖品种[25]。由于生活在近岸潮间带, 受到潮汐、降雨等影响, 星虫需要通过不断调整自身生理活动以适应海水盐度变化, 因此研究可口革囊星虫对低盐度耐受性以及低

收稿日期: 2019-01-17; 修回日期: 2019-03-01

基金项目: 广西创新驱动发展专项资金项目(桂科 AA17204044), 广西科学研究与技术开发计划项目(桂科攻 14121006-2-3)

[Foundation: Guangxi Innovation-Driven Development Project (Guike AA17204044); Guangxi Scientific Research and Technological Development Program Project (Guike Attack 14121006-2-3)]

作者简介: 游出超(1985-), 男, 研究实习员, 研究方向为海水新品种繁育技术。E-mail: youchuchao666@163.com; 董兰芳(1987-), 通信作者, 女, 助理研究员, 研究方向为水产动物营养与养殖生态学, E-mail: 0xiao0dong0@163.com.

盐度急性胁迫下可口革囊星虫 $Na^+/K^+$-ATP 酶和磷酸酶活力的变化，可为探讨星虫类动物渗透压调节机制提供参考，为可口革囊星虫人工育苗和养殖生产中养殖水体选择与调控提供基础资料，丰富星虫类动物生理生态学相关的研究数据。

# 1 材料与方法

## 1.1 试验材料

试验用可口革囊星虫来源于广西壮族自治区海洋研究所竹林海水育苗基地，从室内泥池中(盐度 23)挖出后，放入自然海水(盐度 23)中暂养 7 日，期间每日喂食 1 次，试验前一天停止投喂。挑选规格相近、活力较好的个体(平均体质量 0.85±0.07 g)作为试验对象。

试验在规格为 40 cm×28 cm×22 cm 的白色塑料箱中进行，试验用海水为砂滤自然海水(盐度 24)，用充分曝气的自来水调节海水盐度，水温维持在 29~31℃。

## 1.2 可口革囊星虫 96 h 低盐度急性胁迫试验

采用将可口革囊星虫直接从对照组转移到试验盐度的方式开展低盐度胁迫试验。根据预实验确定可口革囊星虫 24 h 最大死亡率盐度和 96 h 最小死亡率盐度分别为 3.0 和 7.0，按照等对数间隔设置 5 个低盐度梯度组，分别为 3.0、3.7、4.6、5.7、7.0。试验过程中随时捞出死亡个体，观察并记录各组可口革囊星虫在 24 h、48 h、72 h 和 96 h 的死亡个体数。死亡的判断标准为身体松软，吻部伸出，刺激没有反应。图 1 为试验中正常、吸水膨胀和死亡后可口革囊星虫的照片。




图 1 试验中正常、吸水膨胀和死亡后可口革囊星虫的照片

Fig. 1 Normal, water-swelled, and dead *Phascolosoma esculenta* used in the experiment

## 1.3 96 h 急性低盐度胁迫对可口革囊星虫的影响试验

试验选取可口革囊星虫 96 h 最小死亡率盐度为试验组盐度，即试验盐度为 7.0，以保证试验过程中大多数可口革囊星虫能够存活。挑选健康活泼的可口革囊星虫，随机选取 7~8 条用纯水冲洗干净后滤纸吸干水分，再用剪刀纵向剖开，去除内脏和体腔液，体壁用 2.0 mL 离心管分装成 2 管保存于–20℃用于消化酶活力和体壁含水量的测定。剩余的可口革囊星虫放入盐度为 7.0 的海水中，分别在 2 h、4 h、6 h、8 h、10 h、12 h、24 h、48 h、72 h 和 96 h 时随机选取 7~8 条可口革囊星虫，同样用纯水冲洗拭干后收集体壁样品。试验过程如有死亡个体应及时捞出，每 24 h 换水一次。试验重复三次，并用自然海水设置对照组，用同样的方法收集对照组样品。

另取 10 条可口革囊星虫，冲洗干净后用滤纸拭干，称量并记录每条可口革囊星虫的体质量。再将可口革囊星虫放入盐度为 7.0 的海水中，在 2 h、4 h、6 h、8 h、10 h、12 h、24 h、48 h、72 h 和 96 h 时分别取出拭干，逐条称量体质量后取体壁测定体壁的含水量，最后绘制平均体质量和体壁含水量随胁迫时间的变化曲线。

## 1.4 体壁含水量测定

体壁的含水量采用 105℃恒温干燥 24 h 测定。

体壁含水量=(体壁鲜重–体壁干重)/体壁鲜重×100%

## 1.5 酶活测定

将–20℃冷冻的可口革囊星虫体壁样品在冰盘上用剪刀剪碎，转移至玻璃匀浆器，加入预冷的磷酸缓冲液(pH=7，质量体积比 1∶3)，充分匀浆后，匀浆

液用冷冻离心机(Jouan, C3i, France)离心 10 min(4℃, 3 000 r/min), 上清液即为待测酶液。

$Na^+/K^+$-ATP 酶、ACP 和 AKP 活力均采用南京建成生物工程研究所研制的试剂盒测定。待测酶液蛋白质量分数以牛血清蛋白作标准, 用考马斯亮蓝法测定。

### 1.6 数据分析

采用 SPSS 20.0 对所得数据进行单因素方差分析(One-Way ANOVA), 若差异达到显著($P$<0.05), 则用 Tukey 多重比较各组数据之间的差异, 结果表示为“平均值±标准误差”($n$=3)。

## 2 结果

### 2.1 低盐度对可口革囊星虫的 96 h 急性胁迫

可口革囊星虫放入低盐度环境中, 身体慢慢吸水膨胀, 活力也随时间的延长而减弱。根据预实验结果, 可口革囊星虫在本实验条件下 24 h 的最大死亡率盐度是 3.0, 96 h 的最小死亡率盐度为 7.0, 这表明 96 h 内可口革囊星虫能耐受的最低盐度是 7.0。表 1 是可口革囊星虫死亡率与盐度及时间的关系。随着盐度的降低, 可口革囊星虫死亡率逐渐升高。但相同盐度下随着时间的延长, 可口革囊星虫死亡率基本不变。表 2 中各时间点盐度对数与死亡率回归方程的相关系数 $R^2$ 均高于 0.95, 显示出很好的拟合度[26], 这说明在 3.0~7.0 盐度范围内, 可口革囊星虫的死亡率与盐度变化密切相关。

### 2.2 急性低盐胁迫下可口革囊星虫体质量及体壁含水量的变化

急性低盐度胁迫下可口革囊星虫体质量和体壁含水量的变化如图 2 所示, 可口革囊星虫体质量和体壁含水量随时间的变化趋势是一致的, 即 0~12 h 内迅速升高, 可口革囊星虫体质量从 0.83 g 显著升高到 2.03 g($P$<0.05), 体壁含水量则从 90.60%显著升高到 94.97%($P$<0.05), 12 h 后两者均趋于平稳($P$>0.05)。

**表 1 低盐度急性胁迫可口革囊星虫的死亡率**

**Tab. 1 Mortality rates of *Phascolosoma esculenta* under acute low-salinity stress**

| 试验组盐度 | 24 h | 48 h | 72 h | 96 h |
|---|---|---|---|---|
| 7.0 | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 | 0.0 ± 0.0 |
| 5.7 | 6.7 ± 3.3 | 6.7 ± 3.3 | 13.3 ± 3.3 | 13.3 ± 3.3 |
| 4.6 | 43.3 ± 5.8 | 43.3 ±3.3 | 43.3 ± 3.3 | 43.3 ± 3.3 |
| 3.7 | 76.7 ± 3.33 | 80.0 ± 3.3 | 80.0 ± 3.3 | 80.0 ± 0.0 |
| 3.0 | 96.7 ± 3.3 | 100.0 ± 0.0 | 100.0 ± 0.0 | 100.0 ± 0.0 |

**表 2 死亡率与盐度对数的回归分析**

**Tab.2 Regression analysis of the death and salinity logarithm**

| 时间 | 回归方程 | 相关系数 $R^2$ |
|---|---|---|
| 24 h | $Y = -285.5X + 233.6$ | 0.970 |
| 48 h | $Y = -296.4X + 242.1$ | 0.968 |
| 72 h | $Y = -289.0X + 238.6$ | 0.982 |
| 96 h | $Y = -289.0X + 238.6$ | 0.982 |

### 2.3 急性低盐胁迫下可口革囊星虫 $Na^+/K^+$-ATP 酶活力的变化

图 3 是急性低盐度胁迫下可口革囊星虫幼虫 $Na^+/K^+$-ATP 酶活力随时间的变化结果, 可口革囊星虫受盐度为 7.0 的海水胁迫后, 6 h 内 $Na^+/K^+$-ATP 酶活力迅速从 0.18 mmol Pi/(g prot·h)显著升高至最大值[1.25 mmol Pi/(g prot·h)], 6 h 至 12 h 内又迅速显著降低至 0.62 mmol Pi/(g prot·h)($P$<0.05)。12~96 h $Na^+/K^+$-ATP 酶活力相对稳定, 没有显著变化($P$>0.05), 但显著高于对照组($P$<0.05)。

### 2.4 急性低盐度胁迫下可口革囊星虫 ACP 酶活力的变化

急性低盐度胁迫下可口革囊星虫 ACP 酶活力随时间的变化结果如图 4 所示, 急性低盐度胁迫下可口革囊星虫 ACP 酶活力在 0~4 h 内从 20.20 U/g prot 显著升高到最大值 32.42 U/g prot($P$<0.05), 4 h 至 48 h 又显著降低($P$<0.05)。48 h 开始 ACP 酶活力趋于稳定, 且高于对照组。

### 2.5 急性低盐胁迫下可口革囊星虫 AKP 酶活力的变化

如图 5 所示, 急性低盐度胁迫下可口革囊星虫 AKP 酶活力与 $Na^+/K^+$-ATP 酶活力变化趋势类似, 在 0 h~2 h 内 AKP 酶活力从 26.72 U/g prot 显著升高,

2~6 h 有一个短期的平台期，而后继续显著升高($P$<0.05)，8 h 达到最大值 62.80 U/g prot，随后 8~12 h 内迅速显著下降($P$<0.05)，10 h 后趋于稳定且显著高于对照组($P$<0.05)。

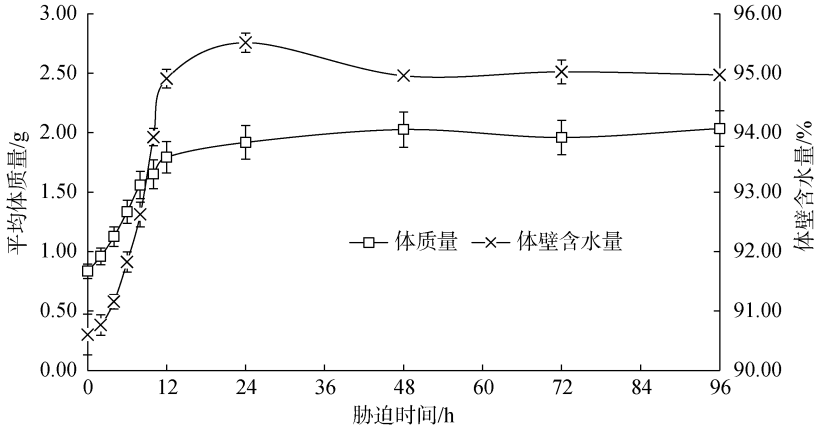



图 2　急性低盐胁迫下可口革囊星虫体质量及体壁含水量的变化

Fig. 2　Changes of the body mass and water content of the body wall of *Phascolosoma esculenta* under acute low-salinity stress

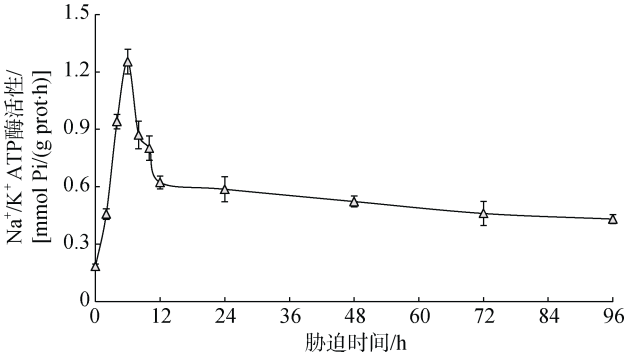



图 3　急性低盐胁迫下可口革囊星虫幼虫 $Na^+/K^+$-ATP 酶活力随时间的变化

Fig. 3　Changes of the $Na^+/K^+$-ATP enzyme activity of *Phascolosoma esculenta* under acute low-salinity stress

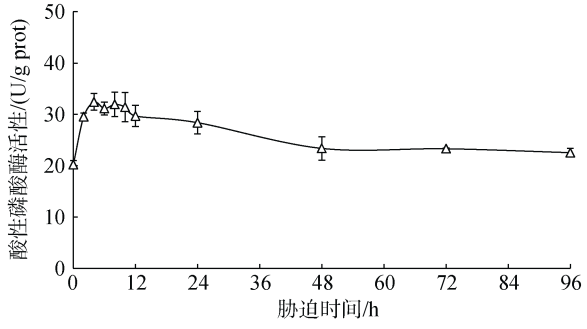



图 4　急性低盐胁迫下可口革囊星虫 ACP 酶活力随时间的变化

Fig. 4　Changes of the ACP enzyme activity of *Phascolosoma esculenta* under acute low-salinity stress

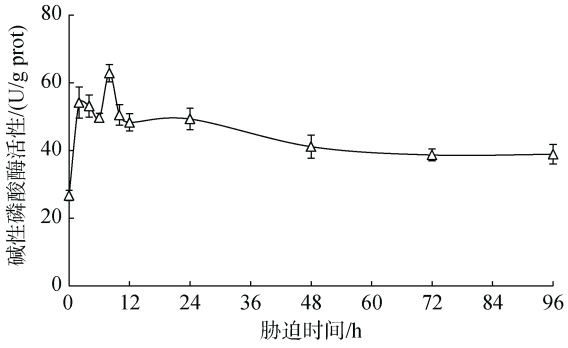



图 5　急性低盐胁迫下可口革囊星虫 AKP 酶活力随时间的变化

Fig. 5　Changes of the AKP enzyme activity of *Phascolosoma esculenta* under acute low-salinity stress

## 3　讨论

海水盐度不适的情况下，水产动物会消耗大量能量调节渗透压来适应环境，当海水渗透压的改变超过了动物自身的调节能力，会导致死亡[27]。曾海祥等[28]已经初步研究了可口革囊星虫对温度和盐度的耐受力，结果表明，可口革囊星虫 72 h 内生存的盐度范围为 5~30，耐受的盐度范围较广。本实验中可口革囊星虫 96 h 内能耐受的最低盐度为 7.0，与曾海祥的研究结果相近，偏差可能是由统计时间点以及实验温度不同造成的。3.0~7.0 盐度范围内，可口革囊星虫 96 h 的死亡率与盐度变化密切相关，但是同一盐度下随着时间的延长，可口革囊星虫死亡率基本不变，这说明可口革囊星虫对盐度的适应能力很强，24 h 内能够耐受住低盐，之后死亡的可能性较小。

环境盐度改变后，水产动物先是由于渗透压的作用被动吸水或失水引起自身渗透压改变，自身渗透压改变再激活机体渗透压相关调节过程，如 $Na^+/K^+$-

ATP 酶活力改变等, 最终使机体渗透压趋于稳定[29]。本研究中, 可口革囊星虫在低盐环境中迅速吸水膨胀, 最后经过调节, 体质量和体壁含水量均趋于稳定。多数水产动物在低盐度环境下, $Na^+/K^+$-ATP 酶活力都表现为升高的趋势。低盐度对斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)幼鱼的急性胁迫试验表明, 各低盐度试验组幼鱼鳃丝的 $Na^+/K^+$-ATP 酶活力均在 1h 时达到最高值, 随后下降, 至 6 h 达到稳定且均显著高于对照组[16]; 盐度突降胁迫下, 魁蚶(*Anadara broughtonii*)稚贝鳃 $Na^+/K^+$-ATP 酶活力 12 h 后显著升高, 24 h 分别达到最大值, 随后快速回落并稳定在高于对照组水平[17]; 吴庆元等[18]的研究结果表明, 0~15 的低盐度环境能够激活和提高鲻鱼(*Mugil cephalus*)幼鱼 $Na^+/K^+$-ATP 酶活力, 增强其对低盐度环境的适应能力, 随着试验时间延长, 试验组 $Na^+/K^+$-ATP 酶活力降低并趋于稳定, 与对照组之间的差异减小。类似的, 还有紫石房蛤(*Saxidomus purpurata*)[19]、拟穴青蟹(*Scylla paramamosain*)[20]、多鳞四指马鲅(*Eleutheronema rhadinum*)[21]等。本研究中可口革囊星虫 $Na^+/K^+$-ATP 酶活力变化同以上研究结果一致, 6 h 内 $Na^+/K^+$-ATP 酶活力显著升高至最大值, 之后迅速降低, 最后稳定在高于对照组水平。低盐度环境导致动物机体短时间内被动吸收过多水分以及体内离子流失, 为了从外界转运更多的离子来维持体内渗透压, 机体组织的 $Na^+/K^+$-ATP 酶活力升高, 经过一段时间的调节后体内渗透压趋于稳定, $Na^+/K^+$-ATP 酶活力也随之降低最后趋于稳定。然而灰海马(*Hippocampus erectus*)[30]、仿刺参(*Apostichopus japonicus*)[31]、赤鲷(*Pagrus pagrus*)[32]等在盐度突降的情况下 $Na^+/K^+$-ATP 酶活力却表现为下降的趋势, 说明不同物种对渗透调节的能力和方式存在很大的种间差异, 需进一步进行比较和研究。此外, 试验所处环境如温度、pH 等同样也影响着试验结果。

ACP 和 AKP 是机体免疫调节体系的重要组成部分[33], 也参与机体能量的收支平衡。当机体处于耗能状态时, ACP 和 AKP 参与机体能量代谢并释放能量, 来满足生命活动的需要[23]。研究表明, 盐度变化过程中水生动物 ACP 和 AKP 活性会随之改变[34]。本研究中可口革囊星虫 ACP 和 AKP 活性的变化趋势大致相同, 均是先显著升高后显著降低最后趋于稳定但高于对照组水平。这与对刺参的研究结果类似, 研究者认为各盐度组的 ACP、AKP 活力呈现短期升高而后出现下降的原因可能是机体通过消耗 ATP 去调节渗透压来适应外界环境中盐度变化影响, 而 ATP 合成所需的无机磷酸可由 ACP、AKP 催化磷酸酯类水解产生, 从而造成了 ACP、AKP 活力的升高[35]。本文结果与此相同, 盐度骤降后可口革囊星虫 ACP 和 AKP 活性立即升高, 不仅增强了可口革囊星虫机体的免疫防御能力, 同时其代谢释放的能量也可以用于机体的渗透调节过程, 这可能是水生动物自我保护的应激反应, 随着机体逐渐适应环境盐度, ACP 和 AKP 活性逐渐降低最后稳定。

**参考文献**:


[1] 庚宸帆, 田燚, 张宇鹏, 等. 低盐急性胁迫对仿刺参相关生理指标的影响[J]. 中国水产科学, 2015, 22(4): 666-674.
Geng Chenfan, Tian Yi, Zhang Yupeng, et al. Effects of acute low salinity stress on the physiological indices of *Apostichopus japonicus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2015, 22(4): 666-674.

[2] 张传贵. 浅谈水生生物的渗透压调节[J]. 生物学通报, 1998, 33(10): 25.
Zhang Chuangui. Discuss the osmotic regulation of aquatic organisms[J]. Bulletin of Biology, 1998, 33(10): 25.

[3] 李海英, 赵娟, 李海生. $Na^+$, $K^+$-ATP 酶和 $Ca^{2+}$, $Mg^{2+}$-ATP 酶活性影响因素的研究进展[J]. 现代中西医结合杂志, 2008, 17(9): 1449-1450.
Li Haiying, Zhao Juan, Li Haisheng. Research progress on influence factors of $Na^+$, $K^+$-ATPase and $Ca^{2+}$, $Mg^{2+}$-ATPase[J]. Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, 2008, 17(9): 1449-1450.

[4] 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 & Physiology Part A, Molecular & Integrative Physiology, 2007, 147(2): 521-528.

[5] 耿龙武, 徐伟, 李池陶, 等. 盐碱对大鳞鲃血清渗透压、离子含量及鳃丝 $Na^+/K^+$-ATP 酶活力的影响[J]. 中国水产科学, 2011, 18(2): 458-465.
Geng Longwu, Xu Wei, Li Chitao, et al. Influence of salinity and alkalinity on serum ion concentrations, serum osmosis and gill $Na^+/K^+$-ATPase activity of Barbus capito[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 18(2): 458-465.

[6] 王涛, 苗亮, 李明云, 等. 突降盐度胁迫对大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)血清生理生化及鳃丝 $Na^+/K^+$-

ATP 酶活性的影响[J]. 海洋与湖沼, 2013, 44(2): 421-426.
Wang Tao, Miao Liang, Li Mingyun, et al. Effects of abrupt salinity decrease on serum physiology, biochemistry and gill $Na^+/K^+$-ATPase activity of the large yellow croaker Pseudosciaena crocea[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2013, 44(2): 421-426.

[7] 赵丽慧, 赵金良, Jeerawat T, 等. 盐碱胁迫对尼罗罗非鱼血清渗透压、离子浓度及离子转运酶基因表达的影响[J]. 水产学报, 2014, 38(10): 1696-1704.
Zhao Lihui, Zhao Jinliang, Thammaratsuntorn Jeerawat, et al. Effects of salinity-alkalinity on serum osmolality, ion concentration and mRNA expression of ion transport enzymes of Oreochromis niloticus[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(10): 1696-1704.

[8] 苏慧, 区又君, 李加儿, 等. 饥饿对卵形鲳鲹幼鱼不同组织抗氧化能力、$Na^+/K^+$-ATP 酶活力和鱼体生化组成的影响[J]. 南方水产科学, 2012, 8(6): 28-36.
Su Hui, Ou Youjun, Li Jiaer, et al. Effects of starvation on antioxidative capacity, $Na^+/K^+$-ATPase activity and biochemical composition in juvenile Trachinotus ovatus[J]. South China Fisheries Science, 2012, 8(6): 28-36.

[9] 沈永龙, 戈贤平, 黄金田, 等. 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[J]. 水产学报, 2013, 37(6): 851-857.
Shen Yonglong, Ge Xianping, Huang Jintian, et al. Effects of salinity on $Na^+/K^+$-ATPase activity, the osmolality of pericardial cavity fluid and peritoneal fluid and ion content in Onchidium struma[J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(6): 851-857.

[10] 白奕天, 丁天扬, 李东东, 等. 不同盐度对文蛤(*Meretrix meretrix*)呼吸代谢及体内酶活性的影响[J]. 海洋科学, 2018, 42(6): 123-131.
Bai Yitian, Ding Tianyang, Li Dongdong, et al. Effects of different salinity on respiratory metabolism and enzyme activities of Meretrix meretrix[J]. Marine Sciences, 2018, 42(6): 123-131.

[11] 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*) post larvae.[J]. Aquaculture, 2004, 234(1-4): 497-511.

[12] Lucu Č, Pavičić J, Ivanković D, et al. Changes in $Na^+/K^+$-ATPase activity, unsaturated fatty acids 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.

[13] 江山, 许强华. 盐度胁迫对三疣梭子蟹鳃 $Na^+/K^+$-ATPase 酶活的影响[J]. 水产学报, 2011, 35(10): 1475-1480.
Jiang Shan, Xu Qianghua. Influence of salinity stress on the activity of gill $Na^+/K^+$-ATPase in swimming crab(Portunus trituberculatus)[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(10): 1475-1480.

[14] 赵磊, 龙晓文, 吴旭干, 等. 水体盐度对中华绒螯蟹成体雄蟹渗透压调节和生理代谢的影响[J]. 水生生物学报, 2016, 40(1): 27-35.
Zhao Lei, Long Xiaowen, Wu Xugan, et al. Effects of water salinity on osmoregulation and physiological metabolism of adult male Chinese mitten crab *Eriocheir Sinensis*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2016, 40(1): 27-35.

[15] 张立田, 戴习林, 臧维玲. $Ca^{2+}$、$Mg^{2+}$及盐度对凡纳滨对虾体内代谢酶的影响[J]. 海洋科学, 2013, 37(7): 63-71.
Zhang Litian, Dai Xilin, Zang Weiling. Effect of $Ca^{2+}$、$Mg^{2+}$ and salinity on metabolic enzymes of *Litopenaeus vannamei*[J]. Marine Sciences, 2013, 37(7): 63-71.

[16] 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.
Yang Yuqing, Yu Deguang, Xie Jun, et al. Effects of acute salinity stress on $Na^+/K^+$-ATPase activity and plasma indicators of *Epinephelus coioides*[J]. Journal of Tropical Oceanography, 2010, 29(4): 160-164.

[17] 蔡星媛, 张秀梅, 田璐, 等. 盐度胁迫对魁蚶稚贝血淋巴渗透压及鳃 $Na^+/K^+$-ATP 酶活力的影响[J]. 南方水产科学, 2015, 11(2): 12-19.
Cai Xingyuan, Zhang Xiumei, Tian Lu, et al. Effect of salinity stress on hemolymph osmolality and gill $Na^+/K^+$-ATPase activity of juvenile ark shell (*Anadara broughtonii*)[J]. South China Fisheries Science, 2015, 11(2): 12-19.

[18] 吴庆元, 蒋玫, 李磊, 等. 低盐度胁迫对鲻鱼(*Mugil cephalus*)幼鱼鳃丝、肌肉、肠 $Na^+$-$K^+$-ATP 酶活性和 MDA 含量的影响[J]. 生态与农村环境学报, 2014, 30(4): 481-487.
Wu Qingyuan, Jiang Mei, Li Lei, et al. Effects of chronic stress of lower salinity on activity of $Na^+$-$K^+$-ATPase and content of MDA in btanchial filament, muscle, intestine of juvenile mullet (*Mugil cephalus*)[J]. Journal of Ecology and Rural Environment, 2014, 30(4): 481-487.

[19] 王怡, 胡婉彬, 李家祥, 等. 急性盐度胁迫对紫石房蛤(*Saxidomus purpurata*)鳃组织结构及 4 种酶活性的影响[J]. 中国农业科技导报, 2016, 18(5): 178-186.
Wang Yi, Hu Wanbin, Li Jiaxiang, et al. Effects of acute salinity stress on gill structure and four enzyme activities in Saxidomus purpurata[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2016, 18(5): 178-186.

[20] 亓磊, 顾孝连, 蒋科技, 等. 盐度对拟穴青蟹幼蟹存活、生长和 $Na^+/K^+$-ATP 酶活性的影响[J]. 海洋科学, 2013, 37(2): 56-60.
Qi Lei, Gu Xiaolian, Jiang Keji, et al. Effect of salinity on the survival, growth and $Na^+/K^+$-ATPase activity of early juvenile mud crabs, *Scylla paramamosain*[J]. Marine Sciences, 2013, 37(2): 56-60.

[21] 张琴星, 张涛, 侯俊利, 等. 盐度变化对多鳞四指马鲅幼鱼鳃丝 $Na^+/K^+$-ATP 酶及肝脏抗氧化酶活性的影响[J]. 海洋渔业, 2013, 35(3): 324-330.
Zhang Qinxing, Zhang Tao, Hou Junli, et al. Effects of salinity on activities of gill $Na^+/K^+$-ATPase and liver antioxidase in juvenile *Eleutheronema rhadinum*[J]. Marine Fisheries, 2013, 35(3): 324-330.

[22] 王冲, 田燚, 常亚青, 等. 盐度胁迫对刺参非特异性免疫酶的影响[J]. 中国农业科技导报, 2013, 15(3): 163-168.
Wang Chong, Tian Yi, Chang Yaqing, et al. Effect of salinity stress on immune enzyme activity of sea cucumber (*Apostichopus japonicas*)[J]. Journal of Agricultural Science and Technology, 2013, 15(3): 163-168.

[23] 张明明, 王雷, 王宝杰, 等. 凡纳滨对虾碱性磷酸酶和酸性磷酸酶基因的克隆、表达及盐度应答效应[J]. 海洋科学, 2017, 41(1): 83-95.
Zhang Mingming, Wang Lei, Wang Baojie, et al. cDNA cloning and gene expression response to salinity of alkaline phosphatase and acid phosphatase from *Litopenaeus vannamei*[J]. Marine Sciences, 2017, 41(1): 83-95.

[24] 吴洪喜, 陈琛, 曾国权, 等. 可口革囊星虫人工繁殖试验[J]. 海洋科学, 2010, 34(3): 21-25.
Wu Hongxi, Chen Chen, Zeng Guoquan, et al. Artificial breeding of *Phascolosoma esculenta*[J]. Marine Sciences, 2010, 34(3): 21-25.

[25] 张虹, 曾达, 艳华. 可口革囊星虫繁殖生物学研究概况[J]. 大众科技, 2015, 17(4): 114-115.
Zhang Hong, Zeng Da, Yan Hua. Study on the breeding biology of *Phascolosoma esculenta*[J]. Popular Science & Technology, 2015, 17(4): 114-115.

[26] 王志铮, 吕敢堂, 施建军, 等. 4 种重金属离子对中华鳖(*Trionyx sinensis*)稚鳖的急性致毒效应[J]. 海洋与湖沼, 2009, 40(6): 745-752.
Wang Zhizheng, Lü Gantang, Shi Jianjun, et al. Acute toxic effects of four heavy metals on *Trionyx sinensis* juveniles[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2009, 40(6): 745-752.

[27] 姚托, 王昭萍, 闫喜武, 等. 盐度对长牡蛎和近江牡蛎及其杂交稚贝生长和存活的影响[J]. 生态学报, 2015, 35(5): 1581-1586.
Yao Tuo, Wang Zhaoping, Yan Xiwu, et al. Effect of salinity on growth and survival of Crassostrea gigas, C.ariakensis and juvenile hybrids[J]. Acta Ecologica Sinica, 2015, 35(5): 1581-1586.

[28] 曾海祥, 洪平, 丁理法, 等. 可口革囊星虫对温度、盐度的耐受性试验[J]. 水产科学, 2006, 25(8): 422-423.
Zeng Haixiang, Hong Ping, Ding Lifa, et al. Tolerance of Phascoloma esculenta to water temperature and salinity[J]. Fisheries Science, 2006, 25(8): 422-423.

[29] He X, Ping Z, Zhang L, et al. Osmoregulation in juvenile Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis* Gray) during brackish water adaptation[J]. Fish Physiology & Biochemistry, 2009, 35(2): 223-230.

[30] Yang L, Lin T T, Zhang D, et al. Time Course Effect of Low Salinity on the Plasma Osmotic Pressure, Ion Concentrations and $Na^+/K^+$-ATPase Activity in the Gill of Juvenile Lined Seahorse, *Hippocampus erectus*[J]. Journal of Aquaculture Research & Development, 2016, 7(11): 456. doi: 10.4172/2155-9546.1000456

[31] 王茂林, 李岑, 杨敏, 等. 盐度对仿刺参存活和 $Na^+$-$K^+$-ATP 酶活性的影响[J]. 渔业现代化, 2014, 41(1): 6-9.
Wang Maolin, Li Chen, Yang Min, et al. Effects of salinity on osmotic adjustment of sea cucumber[J]. Fishery Modernization, 2014, 41(1): 6-9.

[32] Vargas-Chacoff L, África C, Ruiz-Jarabo I, et al. Growth performance, osmoregulatory and metabolic modifications in red porgy fry, *Pagrus pagrus*, under different environmental salinities and stocking densities[J]. Aquaculture Research, 2011, 42(9): 1269-1278.

[33] Pipe R K. Hydrolytic enzymes associated with the granular haemocytes of the marine mussel Mytilus edulis[J]. Histochem, 1990, 22(11): 596-603.

[34] 施兆鸿, 廖雅丽, 王孝杉, 等. 盐度骤降对云纹石斑鱼肝脏代谢酶活力的影响[J]. 海洋渔业, 2016, 38(2): 174-181.
Shi Zhaohong, Liao Yali, Wang Xiaoshan, et al. Impact of abrupt salinity decrease on metabolic enzymes in the liver of *Epinehelus moara*[J]. Marine Fisheries, 2016, 38(2): 174-181.

[35] 郑慧, 李彬, 荣小军, 等. 盐度和溶解氧对刺参非特异性免疫酶活性的影响[J]. 渔业科学进展, 2014, 35(1): 118-124.
Zheng Hui, Li Bin, Rong Xiaojun, et al. Effects of salinity and dissolved oxygen variation on the non-specific immune response of *Apostichopus japonicus*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2014, 35(1): 118-124.

# Effect of Acute Low-Salinity Stress on the Survival and $Na^+/K^+$-ATPase and Phosphatase Activities of *Phascolosoma esculenta*

YOU Chu-chao, DONG Lan-fang, ZENG Meng-qing, JIANG Yan, XU Ming-zhu, ZHANG Qin

(Guangxi Institute of Oceanology, Key Laboratory of Marine Biotechnology of Guangxi, Beihai 536000)

**Received:** Jan. 17, 2019
**Key words:** low-salinity stress; *Phascolosoma esculenta*; $Na^+/K^+$-ATPase; acid phosphatase; alkaline phosphatase

**Abstract:** To analyze the effect of acute low-salinity stress on *Phascolosoma esculenta* (*P. esculenta*) and its response mechanism, acute toxicity testing was first conducted to determine the tolerance range of *P. esculenta* to low salinity within 96 h. Furthermore, the salinity of minimum mortality rate at 96 h were determined to culture *P. esculenta*, which investigate the dynamic changes of the body mass, water content of the body wall, and $Na^+/K^+$-ATPase and phosphatase activities of *P. esculenta* (average body mass of 0.85 ± 0.07 g) under this acute low-salinity stress within 96 h. The results showed that in the test range (3.0–7.0) of salinity, the maximum salinity at 24 h and minimum salinity at 96 h were 3.0 and 7.0, respectively. The mortality rate of *P. esculenta* gradually increased with the decrease in salinity from 7.0 to 3.0. However, with the same salinity, the mortality rate remained unchanged with the increase in time. The minimum salinity that *P. esculenta* can tolerate within 96 h is 7.0. The $Na^+/K^+$-ATPase activity also increased significantly to the maximum value within 6 h ($P < 0.05$) and decreased significantly from 6 h to 12 h ($P < 0.05$). Subsequently, the $Na^+/K^+$-ATPase activity stabilized at a higher level than the control group. The activities of acid phosphatase and alkaline phosphatase were similar to that of $Na^+/K^+$-ATPase, both of which initially increased significantly ($P < 0.05$), then significantly decreased ($P < 0.05$), and finally stabilized at a higher level than the control group. In conclusion, *P. esculenta* was able to rapidly respond to the low-salinity environment through the physiological regulation mechanism related to osmosis and immunity, such as $Na^+/K^+$-ATPase, acid phosphatase, and alkaline phosphatase, and exhibited strong adaptability and tolerance to low salinity.

(本文编辑: 赵卫红)