

# 温度、pH 和盐度对克氏原螯虾鳃 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性的影响

郭春雨 管越强\* 刘波兰

(河北大学生命科学学院 保定 071002)

**摘要:**采用钼蓝法测定克氏原螯虾(*Procambarus darwii*)鳃 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性,探讨温度、pH、盐度3个环境因子在环境驯化和突变状态下对 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活性的影响。实验结果表明, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 的活性与环境因子密切相关。酶活性在温度、盐度驯化实验中都表现为正相关关系,不同pH驯化中则表现为中性pH活性最高。在突变状况下表现出明显的应激性,应激响应在2~8 h之间,之后逐渐缓和,最终结果与驯化结果相同。

**关键词:**克氏原螯虾; $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ ;鳃;温度;盐度

中图分类号:Q176,Q955 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2007)06-96-07

## Effect of Temperature, pH and Salinity on Gill $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ Activity in *Procambarus darwii*

GUO Chun-Yu GUAN Yue-Qiang\* LIU Bo-Lan

(College of Life Sciences, Hebei University, Baoding 071002, China)

**Abstract:** This paper aims to investigate the effect of environmental factors such as temperature, pH and salinity on the activity of gill  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  in freshwater crayfish, *Procambarus darwii* under special environmental factors acclimation or their acute changes. In this research, phosphorus content—Molybdenum blue spectrophotometric method has been applied to determine the gill  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  activity in *P. darwii*. The result indicates that activity of  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  varies in accordance to the fluctuations of environmental factors and acute effect of  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  was shown apparently in emergency conditions, which last for 2–8 h. The change became smooth afterwards and the finally activity was the same as the result in acclimate treatment.

**Key words:** *Procambarus darwii*;  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ ; Gill; Temperature; Salinity

$\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  是横跨质膜的一种酶类,通过消耗ATP来维持 $\text{Na}^+$ 、 $\text{K}^+$ 离子的交换,在机体离子调节中起到核心作用,这对于细胞的渗透调节、物质吸收(葡萄糖、氨基酸等)和跨细胞离子运动都至关重要<sup>[1]</sup>。对于甲壳动物而言, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 主要分布于鳃、肝胰腺和触角腺等组织。其中,鳃直接与外界环境接触,为机体本身提供了一个与外界选择性交换信息的通道,在逐步的进化过程中使鳃能够行使多种功能,如呼吸、排泄、渗透压调节及病害防御等。

鳃组织中离子转运型上皮细胞是渗透调节和离子转运的主要场所, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 分布于这种细胞基底侧质膜上,是实现其功能的最重要

**基金项目** 河北省自然科学基金项目(No. C2007000193),河北大学博士基金项目,河北大学动物学重点学科经费;

\* 通讯作者, E-mail: guanyueqiang@mail.hbu.edu.cn;

**第一作者介绍** 郭春雨,男,硕士研究生;研究方向:水生动物营养与免疫; E-mail: guo\_chunyu\_80\_08@126.com。

收稿日期:2007-03-12,修回日期:2007-07-13

的酶<sup>[2]</sup>。

关于环境因子对甲壳动物鳃  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  比活力的影响,有报道称  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  对外界环境的刺激相当敏感,该酶的活性成为机体生理代谢和生长状况的重要指标。可以作为渗透调节机能不良、环境恶化的早期预警指标<sup>[1,3]</sup>。在水环境理化因子中,许多学者多以广盐性的海洋甲壳动物为研究对象,研究盐度变化对其活力的影响,最近已有对  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  表达影响的报道,而以淡水甲壳动物为材料的报道较少<sup>[4]</sup>。在其他环境因子如温度 pH 等方面的研究,多数学者首先制备粗酶液,然后测定其最适催化范围,而直接研究水环境温度 pH 对酶活力的影响却少见报道。

克氏原螯虾(*Procambarus darwii*)是一种经济价值较高的淡水虾类,在发育、养殖技术、生态毒理、病理<sup>[5-10]</sup>等方面已有大量报道。其本身耐污力强,当养殖环境恶化时依然可以生存,但体内已经积累了大量的有害物质。本文研究了温度 pH、盐度3个环境因子在环境驯化和突变状态下对克氏原螯虾  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  活力的影响,旨在探讨克氏原螯虾的渗透调节机制和鳃  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  性质,为其健康养殖提供科学依据,同时也为研究其他甲壳动物的渗透调节机制和  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的性质提供参考。

## 1 材料与方法

**1.1 实验用虾** 克氏原螯虾购于河北省保定市府河市场,选择体态正常、体长相近( $9.0 \pm 0.5$ )cm、健康无病的个体,于每个水族箱(50 cm × 50 cm × 40 cm)养殖20尾,自然水温。每天换水一次,换水量为原水量的1/3 ~ 1/2,每天早、晚各投饵一次。饲料为特级观赏鱼饲料(珠江水产研究所水产饲料厂),投饵量以第二天略有剩余为准。

**1.2 实验用主要试剂及仪器**  $\text{Na}_2\text{ATP}$  和乌本苷为Sigma公司产品,其他为国产分析纯。722s分光光度计(上海棱光技术有限公司);WY100Y型盐度计(成都万辰光学仪器厂)。

### 1.3 实验方法

**1.3.1 温度对克氏原螯虾鳃  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  活性的影响** 采用pH为7.0的淡水进行实验,分为温度驯化和突变实验两部分。温度驯化实验设3组,对照组温度为15.0℃,实验组设20.0 30.0℃2个温度梯度,每组各设3个平行。对照组温度保持不变,实验组水体由加热棒逐步升高温度,6d达到设定温度,一周后测定各组的酶活性。温度突变实验也分3组,实验分组与以上相同,将培养在15.0℃的虾分别直接放入20.0 30.0℃的实验缸中,于0 2 4 8、16 32h分别取样测定,每次取样8尾。

**1.3.2 pH对克氏原螯虾鳃  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  活性的影响** 采用水温为20.0℃的淡水进行实验,分为pH驯化和突变实验两部分。驯化实验分3组,对照组为pH7.0,实验组设pH5.0、9.0两个梯度,每组设3个平行。实验组pH逐步变化,6d达到设定pH,一周后,每组取样8尾,测定各组酶活性。突变实验也分3组,实验分组同驯化实验,每组设3个平行。对照组pH为7.0,将培养在pH为7.0的虾直接放入pH5.0 9.0的实验缸中,取样时间及每次取样尾数同温度突变。

**1.3.3 盐度对克氏原螯虾鳃  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  活性的影响** 采用水温为20℃ pH为7.0的不同盐度的水体进行实验,不同盐度通过海水晶来配制。分为盐度驯化和突变实验两部分。驯化实验设4组,对照组盐度为0,实验组设5.0‰ 10.0‰ 15.0‰3个盐度梯度,每组设3个平行。实验组盐度逐步升高,6d达到设定盐度。达到设定盐度一周后,每组取样8尾,测定各组酶活。突变实验分3组,每组设3个平行。将虾直接放5.0‰ 10.0‰ 15.0‰3个盐度梯度的实验缸中,取样时间及每次取样尾数同温度实验。

**1.3.4  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  酶活测定** 粗酶液的制备:取新鲜肌肉0.2g左右,按质量分数1:10的比例与预冷的Tris-Cl缓冲液(0.5 ml/L, pH 7.2)混合,超声波冰浴匀浆(70 W,工作3s,间歇7s,匀浆30次)。匀浆液用高速冷冻离心机10 000 r/min离心30 min。

酶活力的测定:参照文献<sup>[11]</sup>,取粗酶液0.1 ml 与0.22 ml A、B 反应液混合,37.0℃水浴10 min,加入10 mmol/L  $\text{Na}_2\text{ATP}$  0.22 ml 反应15 min,再加入1.2 mmol/L 三氯乙酸0.06 ml 终止反应。4.0℃下离心5 min(6 000 r/min)。取上清液0.2 ml,用钼蓝法在660 nm 波长下测定吸光值,确定无机磷含量<sup>[12]</sup>, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  酶活为A 液与B 液中无机磷含量的差值。采用考马斯亮蓝法<sup>[13]</sup>测定粗酶液蛋白质含量,并计算酶的比活力。 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  比活力(U/mg)定义为每毫克蛋白每小时水解ATP 所产生无机磷的微摩尔数。

A 液配方:咪唑50 mmol/L; $\text{NaCl}$  100 mmol/L; $\text{KCl}$  10 mmol/L; $\text{MgCl}_2$  5 mmol/L;乙酸调pH 为7.4,定容至1 000 ml。

B 液配方:咪唑50 mmol/L; $\text{NaCl}$  100 mmol/L;乌本苷1 mmol/L; $\text{MgCl}_2$  5 mmol/L;乙酸调pH 为7.4,定容至1 000 ml。

1.3.5 统计分析 数据用SPSS 统计软件进行相关分析、单因素方差分析,所有数据采用Excel 软件绘图。

## 2 结果与分析

2.1 温度对克氏原螯虾鳃 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的影响 温度驯化实验结果见图1,在15.0、20.0 和30.0℃条件下, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  比活力随温度的升高而升高,两者表现出正相关关系(Pearson 相关系数0.962, $P < 0.05$ )。温度突变实验结果表明,温度骤然升高可以使克氏原螯虾鳃 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  比活力在短时间内发生变化2 h 之内迅速升高,自2 h 至8 h 逐步降低,而后又逐渐升高,实验结束(32 h)时各组酶比活力与驯化温度相关,温度越高,酶比活力越高,与驯化结果一致(图2)。

2.2 pH 变化对克氏原螯虾鳃 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的影响 不同pH 条件下 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  比活力不同(图3)。pH 5.0-9.0 的水环境中酶比活力均显著低于对照组(pH 7.0),说明酸碱条件对酶比活力具有抑制作用,其中pH 9.0 时酶比活力显著高于pH 5.0 时,相对而言,

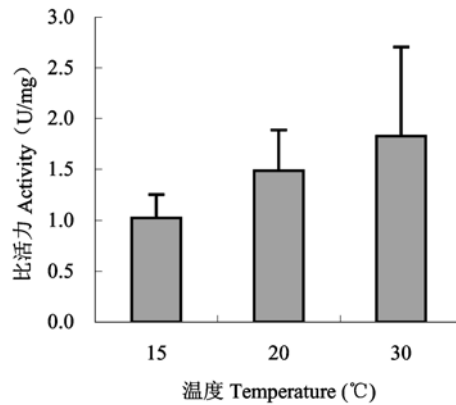


图1 温度对克氏原螯虾中 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  比活力的影响

Fig.1 The effect of temperatures on the activity of gill  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  in *Procambarus darkii*

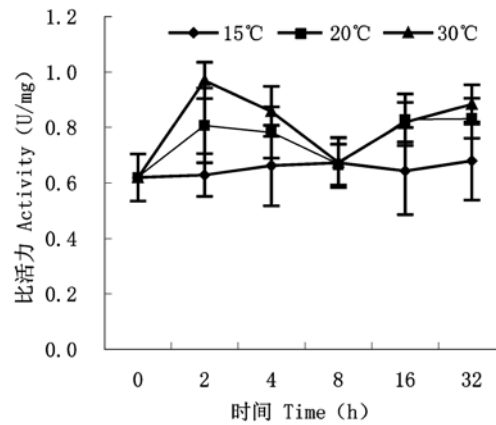


图2 温度突变对克氏原螯虾鳃中的 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  比活力的影响

Fig.2 The effect of acute temperature changes on gill  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  in *Procambarus darkii*

碱性条件具有更强的抑制作用。在突变实验中,实验组 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  比活力都受抑制(图4),表现出一定的应激反应,到8 h 抑制达到最低,之后有所回升,但最终比活力依然低于pH 7.0 时的酶比活力。

2.3 盐度变化对克氏原螯虾鳃 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的影响 盐度驯化实验中,在0‰、5‰、10‰、15‰ 4 个盐度中,盐度越高, $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的比活力越高(图5),两者呈正相关关系(Pearson 相关系数0.975)。在盐度突变的情

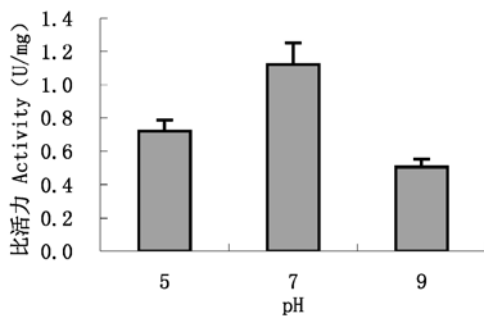


图3 pH 对克氏原螯虾

 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  比活力的影响

Fig.3 The effect of pH on the activity of gill

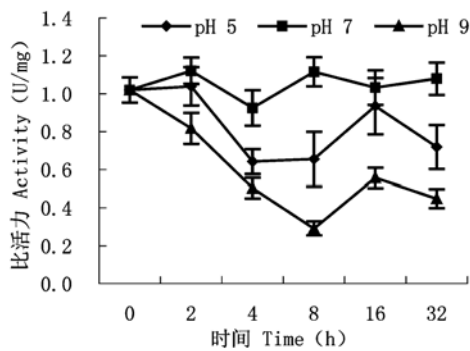
 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  in *Procambarus darkii*

图4 pH 突变对克氏原螯虾

 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  比活力的影响

Fig.4 The effect of acute pH changes on gill

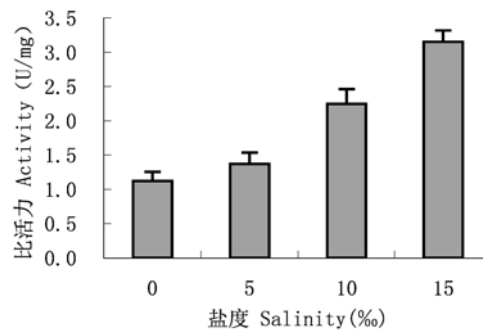
 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  in *Procambarus darkii*

图5 盐度对克氏原螯虾鳃中的

 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  比活力影响

Fig.5 The effect of salinities on the Specific

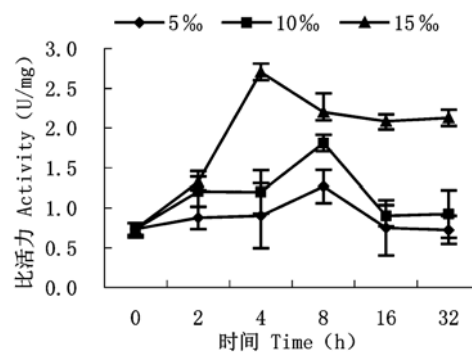
activity of gill  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  in*Procambarus darkii*

图6 盐度突变对克氏原螯虾

 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的活性影响

Fig.6 The effect of acute salinity changes on gill

 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  in *Procambarus darkii*

况下,各组  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  比活力升高,表现出应激效应(图6)。盐度 15.0‰ 的实验组在 4 h 达到最大值,而盐度为 10.0‰ 5.0‰ 则在随后的 8 h 达到最大值,之后均逐步降低、平稳,最终各组酶比活力和驯化实验中结果类似,同样表现出盐度越高,酶比活力越高的规律。

### 3 讨论

**3.1 温度对克氏原螯虾鳃  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的影响**  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  与温度的关系多次被国内外所报道,不同种类水生动物鳃  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  对温度的敏感性存在着明显的差异<sup>[14~16]</sup>。多数学者以粗酶液为材料,研究其最

适催化温度,而直接研究水环境温度对甲壳动物鳃  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  比活力影响的报道并不多见<sup>[17]</sup>。温度驯化实验表明在实验温度范围内酶比活力与温度正相关,与温度对大菱鲂 (*Scophthalmus maximus*) 鳃  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  比活力影响的报道一致,大菱鲂在实验温度 10.0、14.0、18.0 和 22.0℃ 时,鳃  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  酶比活力与温度正相关<sup>[18]</sup>。温度突变实验中克氏原螯虾鳃中的  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  在短时间内迅速升高,表现出很强的应激反应,4 h 以后逐渐适应新的温度环境,酶比活力逐渐回落,实验结束时各组酶比活力与温度的关系与温度驯化实验结果类似。温度对水生动物鳃丝  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$

ATPase 活性的影响主要在于直接影响生物膜结构,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<sup>[16]</sup>,提高了鳃  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  对血淋巴渗透压的调节功能。

**3.2 pH 变化对克氏原螯虾鳃  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的影响** 大量研究表明,不同物种  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  有不同的最适 pH,对于甲壳动物来说,其最适 pH 一般在 7.0 ~ 8.0 之间,如斑节对虾 (*Penaeus monodon*)、中国明对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*)、罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 的最适 pH 分别为 7.8、7.6 和 7.5<sup>[10, 19, 20]</sup>。与温度研究类似,多数学者研究的是  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的最适催化 pH,而水环境 pH 对酶比活力的影响方面,仅见到水环境 pH 对中国明对虾鳃  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的影响<sup>[18]</sup>。本实验克氏原螯虾在不同 pH 的水体中驯化一周后,鳃  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  在 pH 7.0 时最高,而在酸性或碱性条件下酶比活力降低,说明 pH 5.0 和 pH 9.0 已经超出了最适 pH 范围。突变实验中, pH 的突然变化可使克氏原螯虾鳃中的  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  酶比活力在短期内(4 ~ 8 h)降到最低,之后略有回升,最终结果依然是 pH 7.0 时酶比活力最高。pH 过高或过低对生物本身都是有害的,卢健民<sup>[21]</sup>证明,当 pH 远离鲤科鱼类正常生活范围时,具有致死性或造成机体损伤和组织学病变。随着 pH 的降低和时间延长,  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  酶比活力明显下降<sup>[21]</sup>。研究表明甲壳动物鳃上皮细胞顶部膜上具有  $\text{Na}^+ / \text{H}^+$  交换体系,水环境中的  $\text{Na}^+$  主要通过这个交换体系进入鳃上皮细胞,同时细胞内代谢产生的  $\text{H}^+$  也通过此交换体系排出体外。当外界  $\text{H}^+$  浓度过高时,吸收外界  $\text{Na}^+$  的能力下降,从而导致与这个交换体系偶联的  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  活性降低<sup>[22]</sup>。在碱性状况下,可能直接影响  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  在催化反应中磷酸化和去磷酸化的过程,导致酶比活力下降。

**3.3 盐度变化对克氏原螯虾鳃  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的影响** 为了更好地了解甲壳动物在外部水体环境盐度变化时体内的生理生化调

节,许多学者对甲壳动物在不同盐度环境下鳃组织中的  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  活性进行了研究,多以广盐性的海洋甲壳动物为材料,而淡水甲壳动物的相关报道较少。发现处于高渗环境中的许多广盐性海洋甲壳动物在进入低盐度水环境中经过一两周的驯化后,鳃上皮细胞  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的活性增大,其活性与体内外(血淋巴与水环境之间)的渗透压差正相关<sup>[23]</sup>,同时还发现将甲壳动物由海水中突然转到低盐度水体中(盐度突变),  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的活性骤然增加 35.0% ~ 58.0%<sup>[24]</sup>,如 Hurtado 对凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 的研究<sup>[25]</sup>, Lucu 对美洲龙虾 (*Homarus gammarus*) 的研究<sup>[26]</sup>, Pan 对日本囊对虾 (*Marsupenaeus japonicus*)<sup>[27]</sup> 的研究都充分证明了这一点。相对于广盐性的海洋甲壳动物而言,淡水甲壳动物在转入盐度较高的水体时表现的结果不尽相同,王顺昌等将中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 从淡水转移到盐度为 10.0‰、20.0‰ 和 30.0‰ 的水体时,24 h 内鳃  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的活性显著增加<sup>[28]</sup>。Furriel 对罗氏沼虾的研究表明,在驯养一周后,提高盐度可以使鳃中的酶比活力增加<sup>[29]</sup>。这一点和本实验盐度突变对克氏原螯虾鳃  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  影响的结果是一致的,在本实验中盐度突变导致  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的比活力在 4 ~ 8 h 骤然增加,盐度高则反应强烈。但也有例外,如 Li ma 对一种淡水沼虾 *M. dfersii* 的研究却得出相反的结论<sup>[30]</sup>。分析认为,淡水甲壳动物和海水甲壳动物不同,它的体液渗透压高于外界水环境,当外界环境盐度增加时,顶部质膜的  $\text{V-ATPase}$  为  $\text{Cl}^-$  的吸收提供动力,进而导致体内渗透压增高和细胞的内外极性增加,同时也激活基底侧质膜的  $\text{Cl}^-$  通道而增加  $\text{Cl}^-$  的吸收,使得鳃上皮细胞中  $\text{Cl}^-$  浓度增加,而  $\text{Cl}^-$  作为底物导致  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  比活力增高,促进  $\text{Na}^+$  通过基底侧质膜进入血淋巴,最终实现渗透平衡。

环境因素可通过甲壳动物的神经内分泌系统对鳃  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  产生影响,可分为长期影响和短期影响两种,本实验中的驯化应属于长期影响,而突变则属于短期影响。环境突变

刺激腺苷酸环化酶使 cAMP 浓度变化,从而调节  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的活性变化。而长期调节则可刺激基因表达量的变化,进而调节  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  位点数量,最终得以调节酶比活力<sup>[4]</sup>。

环境的变化如温度、盐度、pH、溶解氧等,对于甲壳动物这种开管式循环的变温动物来说都是相当大的刺激,这种刺激直接导致甲壳动物生理发生一系列的变化,如耗氧率、排氨率的增加,酚氧化酶、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 、血细胞数量的变化等<sup>[5,10,15,25]</sup>。机体产生应激反应是对不良环境进行积极对抗的结果,当环境因子的突变超过甲壳动物能够承受的范围时,则发生代谢上的紊乱、渗透调节机制失去作用、免疫力下降,甚至死亡。本实验所用的环境刺激多数设在克氏原螯虾的承受范围之内,所以表现出一定范围之内的缓冲应激能力。当环境发生变化时,鳃  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  便会在短时间内出现相应的应激变化。因此通过检测  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的变化便可灵敏检测环境变化,为克氏原螯虾健康生长和我们自身的饮食安全提供有力的保障。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] 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.
- [ 2 ] 潘鲁青,刘泓宇. 甲壳动物渗透调节生理学研究进展. 水产学报 2005 **29**(1): 109 ~ 115.
- [ 3 ] Sancho E, Ferna N V, Ferrando M D, et al. ATPase activity as biomarker of thiobencarb exposure. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 2003 **56**(3): 434 ~ 441.
- [ 4 ] Mendonça N N, Mastri D C, McNamee J C, et al. Long-term exposure of the freshwater shrimp *Macrobrachium dfersii* to elevated salinity: Effects on gill  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$   $\alpha$ -subunit expression and  $\text{K}^+$ -phosphatase activity. *Comparative Biochemistry and Physiology* 2007 **146**(4): 534 ~ 543.
- [ 5 ] 周双林,姜乃澄,卢建平等. 甲壳动物渗透压调节的研究进展 I 鳃的结构与功能及其影响因子. 东海海洋, 2001 **19**(1): 44 ~ 52.
- [ 6 ] 李铭,董卫军,邢迎春等. 温度对克氏原螯虾幼虾发育和存活的影响. 水利渔业 2006 **26**(2): 36 ~ 37.
- [ 7 ] 温小波,库天梅,罗静波. 克氏原螯虾耗氧率及窒息点的研究. 大连水产学院学报 2003 **18**(30): 170 ~ 174.
- [ 8 ] 罗静波,曹志华,温小波. 亚硝酸盐氮对克氏原螯虾仔虾的急性毒性效应. 长江大学学报(自然科学版) 2005, **11**(2): 64 ~ 68.
- [ 9 ] 李洪涛,周文宗,高红莉等. 盐度和碱度对克氏原螯虾的联合毒性试验. 水产养殖 2006 **27**(5): 1 ~ 4.
- [ 10 ] 黄灿华,石正丽,张建红等. 对虾白斑综合症杆状病毒体内增殖感染模型的建立. 中国病毒学, 1999 **14**(4): 358 ~ 363.
- [ 11 ] 刘存岐,王安利,王维娜等. 海水中几种金属离子对中国对虾幼体内碱性磷酸酶和 ATPase 的影响. 水产学报 2001 **25**(4): 299 ~ 305.
- [ 12 ] 上海市医学化验所主编. 临床生化检测上册. 上海:科学技术出版社, 1979: 224 ~ 225.
- [ 13 ] 李建武. 生物化学实验原理和方法. 北京:北京大学出版社, 1994: 174 ~ 176.
- [ 14 ] 房文红,王慧,来琦芳等. 斑节对虾鳃  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  的活性. 上海水产大学学报 2001 **10**(2): 140 ~ 144.
- [ 15 ] 唐贤明,潘鲁青,田景波. 褐牙鲆鳃  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  性质的研究. 中国海洋大学学报 2004 **36**(6): 969 ~ 972.
- [ 16 ] Lagerspetz K Y, Rvovarova 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.
- [ 17 ] Wang W N, Wang A L, Liu Y. Effects of temperature on growth, adenosine phosphates, ATPase and cellular defense response of juvenile shrimp *Macrobrachium nipponense*. *Aquaculture* 2006 **256**(1-4): 624 ~ 630.
- [ 18 ] Inslan A K, Gunnarsson I S, Foss A, et al. Gill  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  activity, plasma chloride and osmolality in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) reared at different temperatures and salinities. *Aquaculture*, 2003 **218**(2): 671 ~ 683.
- [ 19 ] Wang W N, Wang A L, Chen L, et al. Effects of pH on survival, phosphorus concentration, adenylate energy charge and  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  activities of *Penaeus chinensis* Osbeck juveniles. *Aquatic Toxicology* 2002 **60**(1-2): 75 ~ 83.
- [ 20 ] Stern S, Borut A, Cohen D. Characterization of  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  from the gills of the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 1984 **79**(1): 47 ~ 50.
- [ 21 ] 卢健民,卢玲,蔺玉华等. 低 pH 对鲤鳃组织  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  酶活性的影响. 水生生物学报, 2001 **25**(1): 102 ~ 104.
- [ 22 ] 潘鲁青,刘志,姜令绪. 盐度 pH 变化对凡纳滨对虾鳃  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  活性的影响. 中国海洋大学学报, 2004 **34**(5): 78 ~ 79.
- [ 23 ] Brooks S J, Mills C L. Gill  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$  in a series of

- hyper-regulating gammarid amphipods. Enzyme characterization and the effects of salinity acclimation. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 2006, **144**(1): 24~32.
- [24] Lucu C, Towle D W.  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase in gills of aquatic crustacean. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 2003, **135**(2): 195~214.
- [25] Hurtado M A, Racotta I S, Givera R, et al. Effect of hypo- and hypersaline conditions on osmolality and  $\text{Na}^+$ / $\text{K}^+$ -ATPase activity in juvenile shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed low- and high-HUFA diets. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 2007, **147**(3): 703~710.
- [26] Lucu C, Devescovi M. Osmoregulation and branchial  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase in the lobster *Homarus gammarus* acclimated to dilute seawater. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1999, **234**(2): 291~304.
- [27] Pan L Q, Luan Z H, Jin C X. Effects of  $\text{Na}^+$ / $\text{K}^+$  and  $\text{Mg}^{2+}$ / $\text{Ca}^{2+}$  ratios in saline groundwaters on  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase activity, survival and growth of *Marsupenaeus japonicus* postlarvae. *Aquaculture*, 2006, **261**(4): 1396~1402.
- [28] 王顺昌, 于敏. 中华绒螯蟹在不同盐度下鳃  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase 和 ALP 活性的变化. 安徽技术师范学院学报, 2003, **17**(2): 117~120.
- [29] Wilder M N, Huong D T T, Atmonarsono M. Characterization of  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -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] Lima A C, Menamara J C, Terra W R. Regulation of hemolymph osmolytes and gill  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -ATPase activities during acclimation to saline media in the freshwater shrimp *Macrobrachium dfesrii*. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 1997, **215**(1): 81~91.

## 菲菊头蝠在中国北方的新纪录

菲菊头蝠 (*Rhinodophus pusillus*), 亦称小菊头蝠, 英文名 Least Horseshoe Bat, 是目前已知体型最小的菊头蝠之一。头体长 30.0~40.0 mm, 前臂长 33.5~40.00 mm。鞍状叶中间收缩, 基部较宽, 至顶尖渐窄呈圆形。连接叶三角形。顶叶短且呈戟状。毛色呈棕褐, 毛基部灰白。据 Simmons (2005) 报道, 菲菊头蝠模式产地在印度尼西亚的爪哇岛, 广泛分布于印度、尼泊尔、泰国、缅甸、老挝、中国南部、马来半岛; 印度尼西亚的明打威群岛、爪哇岛、小巽他群岛及其附近的岛屿。柬埔寨是否有该种尚未得到证实。Csorba 等人 (2003) 还记录越南有分布。目前, 被承认的亚种有: *lythi* K. Andersen, 1918; *caidus* G. M. Allen, 1923; *gracilis* K. Andersen, 1905; *lakkhanae* Yoshiyuki, 1990; *nimus* Miller, 1906; *pagi* Tate and Archbold, 1939; *parvus* Allen, 1928; *szechuanus* K. Andersen, 1918 (Csorba 等 2003; Simmons, 2005)。依王应祥 (2003), 小菊头蝠在我国有 4 个亚种: (1) 四川亚种 *R. p. szechuanus*, 分布于西藏、四川、贵州; (2) 福建亚种 *R. p. caidus*, 分布于福建、广东、贵州、广西; (3) 海南亚种 *R. p. parvus*, 分布于海南; (4) 清迈亚种 *R. p. lakkhanae*, 分布于云南南部。

2001~2007 年, 我们在中国北方省市先后发现此种。形态特征与该种描述符合, 但体型略大, 前臂长为 37.0~41.0 mm。采集点如下: 2001 年 8 月, 北京西南郊区的房山区霞云岭附近的山涧 (39°42' N, 115°43' E), 捕获了 2 号雄性标本; 2004 年 11 月, 在湖北省神农架林区 (31°55' N, 110°44' E) 发现了该种, 但未制作标本, 仅采集了翼膜作分子生物学研究; 2005 年 12 月, 在江西省景德镇市山涧 (28°04' N, 116°58' E) 见到菲菊头蝠, 获得了翼膜样本; 2007 年 4 月, 在山东省莱芜市 (36°07' N, 117°40' E)、淄博市 (36°16' N, 118°05' E)、临沂市 (35°33' N, 118°20' E) 发现了一定种群的菲菊头蝠, 并采集了翼膜。

这些分布地点以往均未见正式报道, 是菲菊头蝠在这些省市的新纪录。特别值得注意的是, 菲菊头蝠过去一直被认为仅分布在热带和亚热带地区, 目前在地处温带的北京市和山东省境内也发现了该种。是否由于全球气候变暖, 菲菊头蝠在近年向北扩散有待进一步深入研究。

通过考察我们发现, 菲菊头蝠是比较常见的种类, 但其种群数量并不很大。世界自然保护联盟 (IUCN)《受胁物种红色名录》将其列为“低危 需予关注”(LR1c), 《中国物种红色名录》将其评估为“近危 (NT) 几近符合易危 (VU)”。菲菊头蝠的现状和未来命运值得进一步关注。

张劲硕<sup>①</sup> 李钢<sup>①</sup> 刘洋<sup>②</sup> 张俊鹏<sup>①</sup> 韩乃坚<sup>①</sup> 赵华斌<sup>①</sup> 张树义<sup>②</sup>  
(<sup>①</sup>中国科学院动物研究所 北京 100101; <sup>②</sup>华东师范大学 上海 200062)