

急性盐度胁迫对光裸星虫渗透压和超氧化物歧化酶活性的影响

陈伟耀¹, 李金兰¹, 陈伟寿¹, 陈振国²

(1. 湛江丰联水产有限公司, 广东湛江 524006; 2. 湛江市碧海湾水产科技有限公司, 广东湛江 524382)

摘要 [目的]探讨盐度胁迫对光裸星虫体腔液渗透压及超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响。[方法]对光裸星虫进行不同盐度急性胁迫48 h,用渗透压仪检测所有样品渗透压,采用羟胺法检测48 h所取部分样品的超氧化物歧化酶(SOD)活性。[结果]从暂养盐度30‰中移到盐度5‰、10‰、15‰、20‰、25‰、30‰、35‰和40‰海水中时,48 h内光裸星虫体腔液渗透压均能调节到一定的稳定状态,且与水环境渗透压相近;达到相近水平所需时间分别为15、15、9、6、6、0、6和9 h,随盐度的升高呈先降低后升高的趋势。在盐度15‰~40‰的梯度中,星虫体腔液SOD活性整体上随盐度的升高呈现先下降再上升的趋势,其中盐度25‰与盐度30‰组的光裸星虫SOD活性差异不显著($P > 0.05$),但均显著低于其他组($P < 0.05$)。[结论]在急性胁迫下,较适合光裸星虫生存生长的盐度为15‰~40‰,最适合的盐度为25‰~30‰。

关键词 光裸星虫;盐度;渗透压;SOD活性**中图分类号** S968.9 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2018)11-0066-03**Effects of Acute Salinity Stress on Osmotic Pressure and Superoxide Dismutase Activity of *Sipunculus nudus*****CHEN Wei-yao, LI Jin-lan, CHEN Wei-shou et al** (Zhanjiang Fenglian Aquatic Products Co., Ltd., Zhanjiang, Guangdong 524006)

Abstract [Objective] To study the effects of salinity stress on osmotic pressure and superoxide dismutase activity in coelomic fluid of *Sipunculus nudus*. [Method] Different salinity stress was made on *Sipunculus nudus* for 48 h. The osmotic pressure of samples were detected by using osmotic pressure instrument. The activity of superoxide dismutase (SOD) in part of samples after 48 h was detected by hydroxylamine method. [Result] When *S. nudus* was transformed from seawater with 30‰ salinity to seawater with of 5‰, 10‰, 15‰, 20‰, 25‰, 30‰, 35‰ and 40‰, the osmotic pressure of *S. nudus* coelomic fluid could be adjusted to a stable state within 48 h, and it was close to osmotic pressure of water environment. The required time to reach the similar level were 15, 15, 9, 6, 6, 0, 6 and 9 h respectively, showing the changing trend of first increase and then increase with the increase of salinity. Within the salinity gradient of 15‰-40‰, SOD activity in coelomic fluid of *S. nudus* showed a change tendency of first decreasing and then rising with the increase of salinity. SOD activity of *S. nudus* in the treatments with salinity of 25‰ and 30‰ had no significant difference ($P > 0.05$), but they were significantly lower than that in other experimental groups ($P < 0.05$). [Conclusion] Under acute salinity stress, the suitable salinity for the survival and growth of *S. nudus* was 15‰-40‰, and the optimum salinity was 25‰-30‰.

Key words *Sipunculus nudus*; Salinity; Osmotic pressure; SOD activity

光裸星虫(*Sipunculus nudus*)为星虫科星虫属的海鲜类无脊椎动物,俗称沙虫、海人参,广泛分布于我国沿海潮间带,其对生活环境的的质量十分敏感,素有“环境标志生物”之称。光裸星虫的营养价值高,味道鲜美,无论是鲜品或加工品均价格昂贵,而且十分畅销。近年来,因其市场需求量剧增,导致人为过度地抓捕开采,已经严重破坏了光裸星虫的栖息地,加上海水污染的日益加剧,光裸星虫的自然资源正逐渐衰竭。因此,要对星虫资源实现可持续性利用,改变传统的天然捕捞模式,发展人工养殖已势在必行。而对光裸星虫开展相关的科学研究,为其人工增殖的开展及其资源的合理保护利用积累科学依据具有重大意义。

光裸星虫生活的滩涂栖息地常常会受到涨潮海水、雨水和地表径流的影响,使得盐度急剧变化成为影响其生存及生长发育的重要环境因子之一。目前,国内外对光裸星虫的基础生态研究较少,尤其是对其盐度适应性的研究报道甚少。国内有学者从成活率的角度分别研究了光裸星虫幼体、成体对温度和盐度的耐受性^[1-2]。笔者研究了盐度胁迫对光裸星虫体腔液渗透压随时间的变化及其对星虫体腔液超氧化物歧化酶(SOD)活性的影响,旨在丰富光裸星虫的生物学及生态学内容,并为光裸星虫的人工健康增殖提供科学

参考。

1 材料与方法

1.1 材料 试验所用光裸星虫购自广东湛江市东海岛东简镇南坑村养殖户(采集点盐度为30‰),试验在广东海洋大学东海岛生物研究基地进行。将光裸星虫置于盐度30‰的海水中暂养2 d,连续微量充气。挑取大小接近、活力好且无损伤的个体作为试验材料,其平均体质量为 (13.202 ± 1.478) g。暂养和试验用水为所购光裸星虫产区的砂滤天然海水,试验全程在空调房中进行,维持室温23℃。

1.2 方法

1.2.1 试验设计 在预试验确保光裸星虫100%存活的基础上,设置A(5‰)、B(10‰)、C(15‰)、D(20‰)、E(25‰)、F(30‰)、G(35‰)和H(40‰)共8个盐度梯度组,并各设2个重复,使用天然海水和本地产天然海水或蒸馏水调配成各试验组盐度。各试验组水体为60 L,试验期间不投喂,连续微充气养殖48 h,在前24 h每隔3 h取3只光裸星虫,后24 h中每隔12 h取3只光裸星虫进行体腔液取样,用于检测体腔液的渗透压及超氧化物歧化酶(SOD)的活性。

1.2.2 获取光裸星虫体腔液 使用一次性无菌注射器抽取光裸星虫体腔液(避开星虫内部器官)约1.5 mL,在4℃低温下,以3 000 r/min离心5 min,取上清液保存即待待检样品。

1.2.3 光裸星虫体腔液渗透压的测定 使用渗透压摩尔浓

基金项目 广东省科技计划项目(2016A020209010)。**作者简介** 陈伟耀(1987—),男,广东湛江人,助理工程师,硕士,从事海洋经济动物发育生物学研究。**收稿日期** 2018-01-26

度测定仪(型号 SMC 30C)测定光裸星虫体腔液的渗透压,每个待检样品重复测定 3 次。

1.2.4 各个盐度梯度组海水的渗透压测定。对各试验组所用的海水分别取样 3~5 次,使用渗透压摩尔浓度测定仪(型号 SMC 30C)测定其渗透压,结果取平均值。

1.2.5 光裸星虫体腔液总超氧化物歧化酶(SOD)活性的测定。采用超氧化物歧化酶(SOD)测试盒(羟胺法)(购自南京建成生物工程研究所)测定光裸星虫的 SOD 活性。仅测定 C、D、E、F、G 和 H 组 48 h 时所取光裸星虫体腔液样品的 SOD 活性,每个待检样品重复测定 3 次。

2 结果与分析

2.1 在急性盐度胁迫下光裸星虫体腔液渗透压的变化 从图 1 可以看出,在 A(盐度 5‰)组、B(盐度 10‰)组的低盐胁迫下,光裸星虫体腔液的渗透压均在 0~15 h 内显著下降($P < 0.05$),而 C(盐度 15‰)组光裸星虫则在 0~9 h 内呈显著下降趋势($P < 0.05$);15~48 h 内 A 组和 B 组光裸星虫的渗透压分别在 0.252 和 0.324 Osm/kg 附近波动,均无显著变化且趋于稳定($P > 0.05$),而 C 组则在 9 h 后在 0.432 Osm/kg 附近趋于稳定且无显著变化($P > 0.05$);趋于

稳定后,A 组光裸星虫体腔液的渗透压比其周围海水环境的渗透压(0.163 Osm/kg)高 35.3%,而 B 组和 C 组光裸星虫体腔液的渗透压则仅比其各自海水环境的渗透压(0.249 Osm/kg、0.408 Osm/kg)略高。

D(盐度 20‰)组光裸星虫体腔液的渗透压在 6~18 h 内在 0.594 Osm/kg 附近波动($P > 0.05$),且显著低于其 6 h 前的渗透压($P < 0.05$);21~48 h 内光裸星虫体腔液的渗透压显著低于 18 h 前($P < 0.05$),并且在 0.509 Osm/kg 附近趋于稳定($P > 0.05$),低于周围水环境的渗透压(0.561 Osm/kg)。E(盐度 25‰)组光裸星虫体腔液的渗透压在 6~21 h 内在 0.688 Osm/kg 附近波动($P > 0.05$),且显著低于 6 h 前($P < 0.05$);24~48 h 内光裸星虫体腔液的渗透压则显著低于 21 h 前($P < 0.05$),并且在 0.634 Osm/kg 附近趋于稳定($P > 0.05$),亦略低于周围水环境的渗透压(0.662 Osm/kg)。

在 F(盐度 30‰)组海水中,在整个试验周期内光裸星虫体腔液渗透压并未随时间变化而发生显著性变化($P > 0.05$),在此期间其渗透压平均值为 0.757 Osm/kg,较水环境的渗透压(0.777 Osm/kg)略低。当受到 G(盐度 35‰)组和 H(盐度 40‰)组较高的海水盐度胁迫时,光裸星虫体腔液的

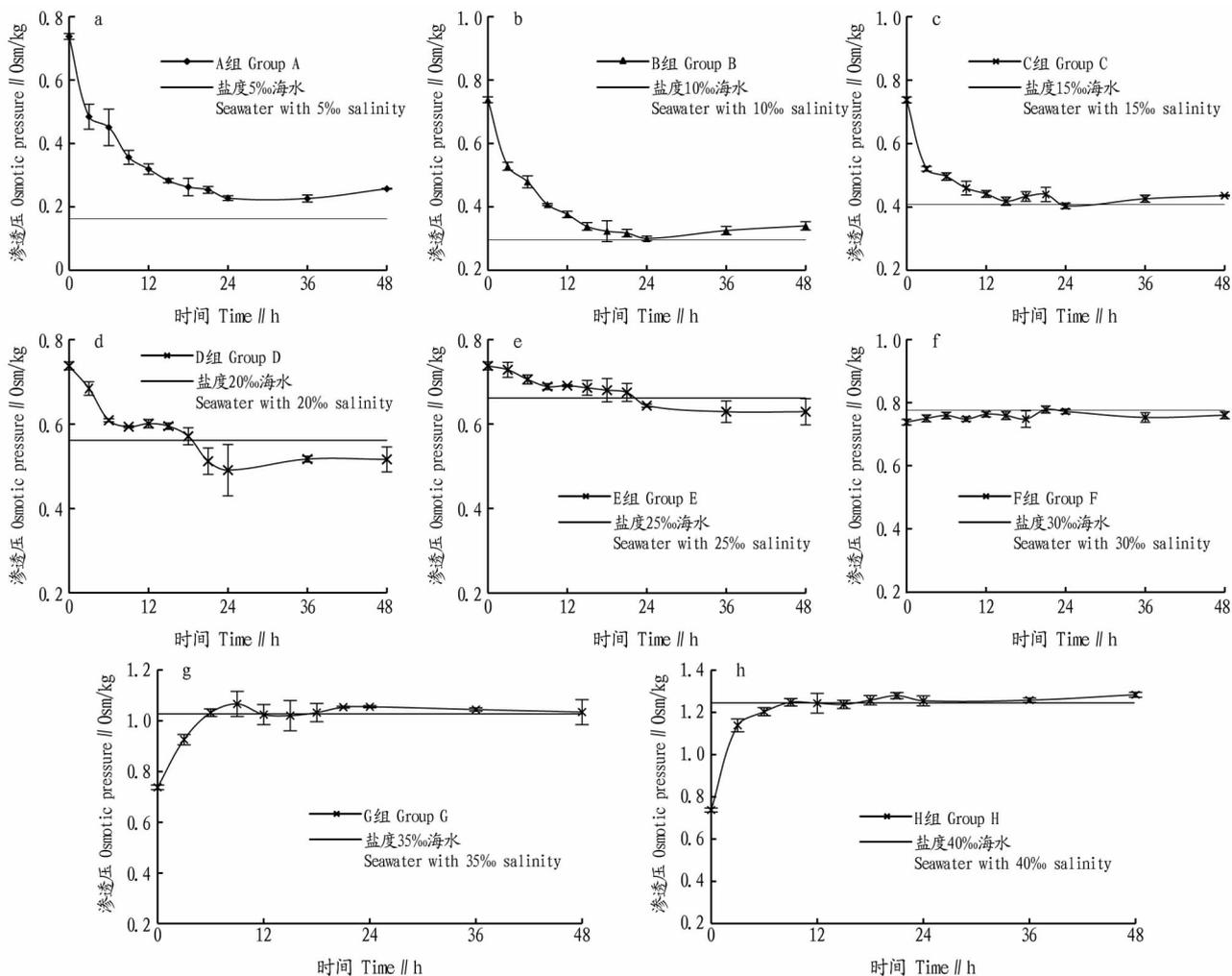
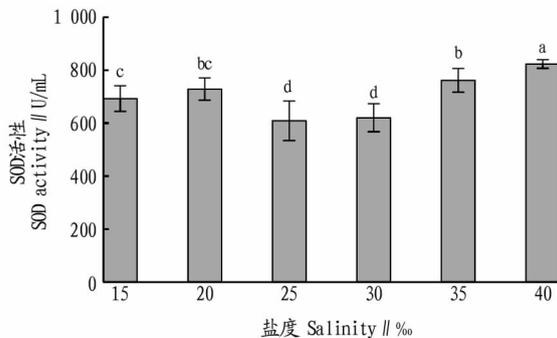


图 1 不同盐度海水中光裸星虫体腔液渗透压随时间的变化

Fig. 1 Changes of coelomic fluid osmotic pressure of *Sipunculus nudus* in seawater with different salinity with the time

渗透压均在 0~6 h 内显著上升 ($P < 0.05$); 此后均在 6~48 h 内趋于稳定 ($P > 0.05$), 在此期间 G 组和 H 组光裸星虫体腔液的渗透压平均值分别为 1.040 和 1.252 Osm/kg, 均比其各自水环境的渗透压 (1.027 和 1.244 Osm/kg) 略高。

2.2 在急性盐度胁迫下光裸星虫体腔液超氧化物歧化酶 (SOD) 活性的变化 从图 2 可以看出, 在盐度 15‰、20‰、25‰、30‰、35‰、40‰ 的试验梯度下, 光裸星虫体腔液的 SOD 活性整体上呈先下降再上升的趋势, 其中盐度 40‰ (H 组) 光裸星虫的 SOD 活性显著高于其他试验组 ($P < 0.05$); 盐度 25‰ (E 组) 和盐度 30‰ (F 组) 光裸星虫的 SOD 活性则显著低于其他试验组 ($P < 0.05$), 且 E 组和 F 组 SOD 活性差异不显著 ($P > 0.05$)。



注: 不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$)

Note: Different small letters indicated significant differences ($P < 0.05$)

图 2 不同盐度条件对光裸星虫体腔液 SOD 活性的影响

Fig. 2 Effects of different salinity conditions on SOD activity in coelomic fluid of *Sipunculus nudus*

3 讨论与结论

3.1 急性盐度胁迫对光裸星虫体腔液渗透压的影响 盐度对水生生物, 尤其对分布在海水潮间带的生物影响尤为重大。随着生存水环境盐度的改变, 水生动物会对体内液体的水-盐平衡进行调节, 排出水分或无机盐离子, 以抵消体液和水环境之间的渗透压差, 以合适的体内渗透压来促进机体进行正常的生命活动, 适应环境变化^[3]。其中, 大部分海洋无脊椎动物缺少独立的渗透调节器官, 通过改变自身体腔壁的通透性来适应水环境盐度的变化^[4], 并且体腔液的渗透压最终会与水环境达到等渗^[5]。例如, 将海盘车 (*Asteris rubens*) 和海蛇尾 (*Ophiocoma nigra*) 从正常盐度海水中转移到低盐海水中后, 其体腔液内的离子浓度逐渐下降到与周围海水环境相近的离子浓度, 与海水近乎等渗^[6-7]。此外, 不同物种为适应水环境盐度的变化, 其体液渗透压与周围水环境渗透压达到等渗所需的时间也不尽相同。例如, 海蛇尾从盐度 34‰ 的海水转到盐度 24‰ 的海水时, 只需 8 h 其体腔液就能与水环境等渗^[7]; 绿海胆 (*Strongylocentrotus droebachiensis*) 从盐度 33‰ 的海水转到盐度 23‰ 的海水时, 需要 24 h 才接近等渗^[8]。

该研究结果表明, 光裸星虫从盐度 30‰ 的海水中转移到不同的高盐或低盐海水环境中时, 在 48 h 内其体腔液渗透压

均能调节到一定的稳定状态, 并且与周围水环境渗透压相近, 符合大部分海洋无脊椎动物渗透压调节的变化规律。但在 5‰ 的海水盐度胁迫下, 光裸星虫的体腔液渗透压却在高出水环境渗透压约 35.3% 处稳定, 与其水环境渗透压有较大差距, 而此时光裸星虫虽仍然存活但活力较差。这可能是因为在较极端低盐条件下, 光裸星虫在调节体内渗透压尽量接近水环境渗透压的同时, 仍要维持一定水平的体内渗透压来保障一些必要生命活动的进行, 使自身能够继续存活。此外, 光裸星虫从盐度 30‰ 的海水分别转移到盐度 5‰、10‰、15‰、20‰、25‰、30‰、35‰ 和 40‰ 的海水中时, 其体腔液渗透压达到接近水环境渗透压的水平时所需的时间分别为 15、15.9、6、6、0、6 和 9 h。这表明在不同程度的盐度胁迫下, 光裸星虫体腔液渗透压达到接近周围水环境渗透压水平所需的时间有所差别, 并且在一定盐度范围内所需时间会随着盐度的升高呈现先降低后升高的变化规律。在不同环境条件的胁迫下, 生物对胁迫做出适应性调节所需的时间越短, 在一定程度上反映该胁迫环境越适合该生物的生存生长。从渗透压调节所需时间来看, 较适合光裸星虫生活的盐度为 15‰~40‰, 这与代悦等^[2]从成活率角度得出的研究结果“光裸星虫在突变盐度下的较为适应的盐度为 10‰~35‰”相吻合。

3.2 急性盐度胁迫对光裸星虫 SOD 活性的影响 超氧阴离子自由基 ($O_2 \cdot^-$) 在生物体内过多积累会对机体产生危害。超氧化物歧化酶 (SOD) 是 $O_2 \cdot^-$ 的清除剂, 对于防御自由基 $O_2 \cdot^-$ 对生物体的损伤起到重要作用, 细胞外超氧化物歧化酶活性的升高说明需要抵御更多来源的细胞外自由基 $O_2 \cdot^-$ 的数量^[9]。盐度变化不仅会影响水生生物体液渗透压的调节, 而且会影响生物体内各种酶的活性, 使其对环境的变化做出适应性反应。例如, 从较高盐度向极度较低的盐度变化时, 鲈鱼 (*Dicentrarchus labrax*)^[10] 和许氏平鲷 (*Sebastes schlegelii*)^[11] 血液中 SOD 活性均会显著升高; 从盐度 0 向较高盐度变化时, 日本鳗鲡 (*Anguilla japonica*) 体内 SOD 活性随着盐度的升高而呈上升趋势^[12]; 在盐度 (5‰、15‰、25‰、35‰) 胁迫下的 72 h 内, 锯缘青蟹 (*Scylla serrata*) 各处理组在盐度低于或高于 25‰ 时, 其肌肉中 SOD 活性均有所升高^[13]。由此可见, 盐度胁迫导致生物体内产生大量的活性氧自由基, 从而诱导 SOD 活性升高。该研究结果表明, 光裸星虫体腔液的 SOD 活性也出现了相似的变化规律。在高渗 (盐度 35‰、40‰) 和低渗 (盐度 20‰、15‰) 环境胁迫下, 光裸星虫体腔液 SOD 活性均显著高于盐度 25‰ (E 组) 与盐度 30‰ (F 组)。这说明在较高或较低盐度胁迫条件下, 光裸星虫为了调节并维持自身的体液渗透压在一定水平, 消耗大量能量并产生大量的超氧阴离子自由基 ($O_2 \cdot^-$), 从而诱导体内清除超氧阴离子自由基的超氧化物歧化酶活性显著上升。

综上所述, 光裸星虫体腔液的渗透压及超氧化物歧化酶 (SOD) 活性随盐度变化而发生变化, 笔者认为较适合光裸星虫生活的盐度为 15‰~40‰, 最适合光裸星虫生存及生长发

(下转第 83 页)

多且清晰,所以该浓度是银缕梅 ISSR-PCR 体系的最适引物浓度。

2.3.3 dNTPs 浓度对银缕梅 ISSR-PCR 反应的影响。作为 ISSR-PCR 反应的原料,dNTPs 浓度过高,会出现非特异性扩增条带;反之则影响合成效率。由图 3 可知,在浓度为 1.50 μL (2.5 mmol/L) 时扩增条带亮度和多态性最好,故银缕梅 ISSR-PCR 体系 dNTPs 最优浓度为 1.50 μL (2.5 mmol/L)。

2.3.4 Mg^{2+} 浓度对银缕梅 ISSR-PCR 反应的影响。 Mg^{2+} 浓度对 PCR 扩增特异性和产物有显著影响。比较反应体系中 2.60、3.00、3.40、3.80 μL (25 mmol/L) 4 个浓度电泳结果,当 Mg^{2+} 浓度为 3.00 μL (25 mmol/L) 时条带多态性较丰富,因此银缕梅 ISSR-PCR 体系中最适 Mg^{2+} 浓度应为 3.00 μL (25 mmol/L)。

2.3.5 Taq 酶浓度对银缕梅 ISSR-PCR 反应的影响。Taq 酶用量直接影响扩增反应成功与否,使用高浓度 Taq 酶易产生非特异扩增产物,但如果 Taq 酶浓度过低,则会导致产物合成效率下降。由图 3 可知,Taq 酶浓度在 0.05 ~ 0.50 μL (5 U/ μL) 时,以 0.10 μL (5 U/ μL) 的效果最好。

3 讨论与结论

ISSR-PCR 是基于 PCR 反应的分子标记,具有稳定性好、多态性高的特点,建立稳定性好、扩增效率高的反应体系是开展后续研究的基础。ISSR 反应体系容易受到模板 DNA 浓度和纯度、引物与 dNTPs 用量、 Mg^{2+} 浓度、Taq 酶浓度等因素的影响,为了保证 ISSR-PCR 反应结果的清晰、准确,必须对扩增条件进行优化。该试验先采用正交设计进行初筛选,再通过单因素进行优化,最终筛选出银缕梅 ISSR-PCR 的最佳反应体系,即 25 μL 的反应体系中 DNA 模板 2.50 μL (20 ng/ μL),引物浓度 1.00 μL (10 $\mu\text{mol/L}$),Taq 酶浓度 0.10 μL (5 U/ μL), Mg^{2+} 浓度 3.00 μL (25 mmol/L),dNTPs 浓度 1.50 μL (2.5 mmol/L)。上述 ISSR 反应体系中,关键影响因子为引物浓度和 Taq 酶浓度。引物浓度不同,扩增片段大小会呈现很大差异,引物浓度越高,条带不清晰,且弥散增多。Taq 酶浓度过高易产生非特异扩增产物,但如 Taq 酶浓度过低,则会导致产物合成效率下降。笔者首次针对银缕梅

ISSR-PCR 反应体系开展了研究,该研究结果为以后利用 ISSR 开展银缕梅遗传多样性及遗传结构进一步分析奠定了基础。

参考文献

- [1] 国务院.国家重点保护野生植物名录[Z].1999.
- [2] 胡一民,方国富.国家一级重点保护野生植物——银缕梅[J].安徽林业科技,2009(1):52.
- [3] 汪松,解焱.中国物种红色名录:第1卷[M].北京:高等教育出版社,2004.
- [4] 李海生. ISSR 分子标记技术及其在植物遗传多样性分析中的应用[J].生物学通报,2004,39(2):19-21.
- [5] 赵谦. ISSR 标记在植物遗传分析中的应用研究[D].汕头:汕头大学,2008.
- [6] 郝日明,魏宏图,刘晚苟.银缕梅属花形态及其分类学意义[J].植物资源与环境,1996,5(1):38-42.
- [7] 方炎明,金岳杏,邓懋彬,等.银缕梅叶器官的宏观与微观结构及系统意义[J].植物资源与环境,1997,6(3):35-41.
- [8] 李建华,BOGLE A L,KLEIN A S,等.金缕梅科银缕梅属与帕罗堤属的亲缘关系——核糖体 DNA ITS 序列证据[J].植物分类学报,1997,35(6):481-493.
- [9] SHI S,CHANG H T,CHEN Y Q,et al. Phylogeny of the Hamamelidaceae based on the ITS sequences of nuclear ribosomal DNA[J]. Biochemical systematics and ecology,1998,26(1):55-69.
- [10] 吴献礼,周荣汉,段金彪.银缕梅茎皮的化学成分[J].植物资源与环境,1998,7(4):59-60.
- [11] YUE C L,JIN S H,CHANG J,et al. Response of photosynthesis in *Shaniodendron subaequale* to soil water status[J]. Annales botanici fennici,2006,43(5):389-393.
- [12] 方顺清,颜建法,翁琴,等.宜兴龙池山自然保护区银缕梅种群生态现状与保护研究[J].江苏林业科技,2004,31(2):4-5,11.
- [13] 黄绍辉,方炎明,彭治,等.江苏宜兴市龙池山银缕梅种群的生态位研究[J].中南林学院学报,2005,25(6):80-83.
- [14] 朱汤军,岳春雷,金水虎.银缕梅和伴生植物光合生理生态特性比较[J].浙江林学院学报,2008,25(2):176-180.
- [15] 颜超,王中生,安树青,等.濒危植物银缕梅(*Parrotia subaequalis*)不同等级个体的光合能力差异与更新限制[J].生态学报,2008,28(9):4153-4161.
- [16] 姚志刚,王中生,颜超,等.濒危植物银缕梅幼苗对不同光强的光合响应[J].南京林业大学学报(自然科学版),2010,34(3):83-88.
- [17] 邓懋彬,金岳杏,盛国英,等.银缕梅花芽生长和开花习性的观察[J].应用与环境生物学报,1997,3(3):226-229.
- [18] 刘兴剑,汤诗杰,姚益,等.银缕梅开花过程与花形态观察[J].江苏农业科学,2008(6):165-166.
- [19] 黄绍辉,方炎明,张启香,等.银缕梅扦插繁殖试验[J].西南林学院学报,2006,26(5):94-96.
- [20] 刘兴剑,孙起梦,窦剑.珍稀树种银缕梅引种观察[J].江苏农业科学,2008(4):173-175.
- [21] 张莹,李思锋,黎斌,等.银缕梅引种栽培及种子营养成分分析[J].西北林学院学报,2011,26(4):148-151.
- [22] 王中,1962,42(1):49-64.
- [23] PAGETT R M. Distribution of sodium,potassium and chloride in the ophiroid,*Ophiocoma nigra* (Abildgaard)[J]. Journal of the marine biological association of the UK,1980,60(01):163-170.
- [24] LANGE R. The osmotic adjustment in the echinoderm,*Strongylocentrotus droebachiensis*[J]. Comparative biochemistry and physiology,1964,13(3):205-216.
- [25] FRIDOVICH I. Superoxide radical and superoxide dismutases[J]. Annual review of biochemistry,1995,64:97-112.
- [26] ROCHE H,BOGÉ G. Fish blood parameters as a potential tool for identification of stress caused by environmental factors and chemical intoxication[J]. Marine environmental research,1996,41(1):27-43.
- [27] 王晓杰,张秀梅,李文涛.盐度胁迫对许氏平鲈血液免疫酶活性的影响[J].海洋水产研究,2005,26(6):17-21.
- [28] 胡利华,闫茂仓,郑金和,等.盐度对日本鳗鲡生长及非特异性免疫酶活性的影响[J].台湾海峡,2011,30(4):528-532.
- [29] 陈宇锋,艾春香,林琼武,等.盐度胁迫对锯缘青蟹血清及组织、器官中 PO 和 SOD 活性的影响[J].台湾海峡,2007,26(4):569-575.

(上接第 68 页)

育的盐度为 25% ~ 30%。

参考文献

- [1] 曾志南,刘伟斌,林向阳,等.光裸方格星虫初期海球幼体对温度和盐度的耐受性试验[J].福建水产,2010(1):14-18.
- [2] 代悦,王庆恒,陈桂依,等.光裸星虫对盐度和温度的耐受性研究[J].水产科学,2009,28(10):563-566.
- [3] 张亦陈.温度和盐度对日本沼虾渗透调节的影响[D].保定:河北大学,2002.
- [4] VIDOLIN D,SANTOS-GOUVEA I A,FREIRE C A. Osmotic stability of the coelomic fluids of a sea-cucumber(*Holothuria grisea*) and starfish(*Asterina stellifera*) (Echinodermata) exposed to the air during low tide[J]. Acta biologica paranaense,2002,31:113-121.
- [5] BINYON J. Salinity tolerance and ionic regulation[M]//BOOLOOTION R A. Physiology of echinodermata. New York: Wiley-Interscience,1966:359-377.
- [6] BINYON J. Ionic regulation and mode of adjustment to reduced salinity of the starfish *Asterias rubens* L. [J]. Journal of the marine biological association of the UK,1962,42(1):49-64.