

盐度胁迫对三疣梭子蟹鳃 Na^+/K^+ -ATPase 酶活的影响

江山^{1,2,3}, 许强华^{1,2,3*}

(1. 上海海洋大学大洋渔业资源可持续开发省部共建教育部重点实验室, 上海 201306;

2. 上海海洋大学大洋生物资源开发与利用上海市高校重点实验室, 上海 201306;

3. 上海海洋大学海洋科学学院, 上海 201306)

摘要: 通过钼蓝法测定三疣梭子蟹在3组实验盐度的胁迫过程中第2对和第6对鳃 Na^+/K^+ -ATPase 酶活的变化, 比较了3组实验盐度胁迫1 d时, 鳃 Na^+/K^+ -ATPase 的酶活大小。结果表明, 在盐度胁迫初期, 3组实验盐度下第2对和第6对鳃 Na^+/K^+ -ATPase 的酶活下降; 之后, 各组实验盐度下第2对和第6对鳃 Na^+/K^+ -ATPase 的酶活开始随胁迫时间增长而上升; 最后, 各组实验盐度下第2对和第6对鳃 Na^+/K^+ -ATPase 的酶活下降并趋于稳定。另外, 胁迫1 d时, 各组实验盐度下三疣梭子蟹前5对鳃 Na^+/K^+ -ATPase 的酶活显著低于后3对鳃 Na^+/K^+ -ATPase 的酶活。三疣梭子蟹对盐度变化的调节可分为被动应激期(酶活力下降)、主动调节期(酶活力逐渐上升)和适应期(酶活力稳定); 三疣梭子蟹后3对鳃是离子转运、渗透压调节的主要部位。

关键词: 三疣梭子蟹; 盐度胁迫; 鳃; Na^+/K^+ -ATPase

中图分类号: Q 958.11; S 917.4

文献标志码: A

三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)隶属甲壳纲(Crustacea), 十足目(Decapoda), 梭子蟹科(Portunidae), 梭子蟹属(*Portunus*), 广泛分布于中国、马来西亚群岛、日本及朝鲜等海域, 具有产量大、营养价值高等优点, 是重要的海洋渔业资源^[1]。三疣梭子蟹是我国最重要的海洋养殖品种之一, 全国四大海区的年产量约为10万t, 经济意义重大^[2-3]。

三疣梭子蟹是一种广盐性蟹, 具有生殖洄游的特性, 常在港湾或河口附近产卵^[4], 自然条件下对盐度的适应范围很广。在三疣梭子蟹的养殖中, 水体盐度是一个很重要的因素。在胚胎发育乃至整个幼体阶段中, 三疣梭子蟹对环境盐度的变化非常敏感, 育苗过程稍有不慎, 即会引起变态推迟、活力变差, 导致病害发生^[5]。盐度过高也是导致蚤状幼体变大眼幼体难、大眼幼体变态率低的重要原因之一^[6]。因此, 探索三疣梭子蟹对环境盐度的适应机制在理论和生产上均具有重要

的意义。

关于水生甲壳动物 Na^+/K^+ -ATPase 酶的研究已有很多, 它是在水生甲壳动物体内广泛存在的一种P型ATPase, 对细胞 Na^+ , K^+ 稳态的维持起重要作用^[9-13]。一些学者对水生甲壳动物在不同盐度环境胁迫条件下鳃 Na^+/K^+ -ATPase 的酶活也进行了研究, 结果表明, Na^+/K^+ -ATPase 对血淋巴渗透压具有重要的调节和维持作用^[14-19]。

本研究对盐度胁迫中三疣梭子蟹鳃 Na^+/K^+ -ATPase 酶活的变化进行了检测, 旨在研究三疣梭子蟹在盐度胁迫中鳃 Na^+/K^+ -ATPase 酶活的变化规律, 探究三疣梭子蟹鳃 Na^+/K^+ -ATPase 在渗透调节机制中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用三疣梭子蟹均采自上海市浦东新区

收稿日期:2011-03-18 修回日期:2011-05-09

资助项目:国家自然科学基金项目(30800840);上海市科委青年科技启明星人才计划项目(09QA1402600)

通讯作者:许强华, E-mail:qhxy@shou.edu.cn

芦潮港码头,体质量为 (150 ± 25) g 的成年个体。为排除不同性别对环境盐度变化的敏感性可能存在的差异,本实验均采用雄性个体进行实验。买回的活蟹置于水族箱内驯化 3 d。驯化所用人工海水盐度为 25,水温为 (18 ± 1) °C。驯化以及盐度胁迫培养时连续充入氧气,每天更换 1/3 体积的水,换水时清除粪便,培养期间禁食^[19]。

三疣梭子蟹的最适生活盐度为 20 ~ 35^[20]。在本试验前期饲养过程中发现,当环境盐度低于 10 或高于 40 的条件下,三疣梭子蟹的存活率大幅度降低。因此,本试验选择 10、25 和 40 分别作为低盐、对照和高盐 3 个实验组。将已驯化的个体(视为实验 0 d)转移至各盐度实验组的人工海水内培养,每组 15 只梭子蟹。分别在实验 0.5, 1, 2, 3 和 5 d 取各实验组蟹 3 只,冰上麻醉 10 min,打开外壳,取出第 2 对和第 6 对鳃。另外,在实验 1 d 时,分别取各实验组 3 只蟹的全部 8 对鳃,用来比较同一时期各对鳃 Na^+/K^+ -ATPase 酶活之间的差别。将所有取出的鳃用蒸馏水冲洗后吸去水分, -80 °C 保存以备后续实验。

1.2 实验方法

蛋白质浓度测定 酶蛋白浓度测定参考 BRABFORD^[21] 的方法,采用考马斯亮蓝法测定,以牛血清白蛋白作标准。取鳃丝样品 0.5 g,加入 1 mL 匀浆缓冲液与蛋白酶抑制剂的混合液(体积比为 200:1),冰浴匀浆;1 800 r/min 离心 10 min 后取上清液;再将所得上清液 19 000 r/min 离心 20 min,取上清液待测。所有操作均在冰上或 4 °C 进行。

匀浆缓冲液: 25 mmol/L Tris-HCl, 0.25 mmol/L 蔗糖, 20 mmol/L EDTA-2Na, 0.4% 脱氧胆酸钠, 0.1 mmol/L PMSF, pH 7.4;

蛋白酶抑制剂: 3.31 mmol/L 抗蛋白酶, 2.16 mmol/L 亮抑酶肽, 63.86 mmol/L 苯甲脒, 100% 抑肽酶^[22]。

Na^+/K^+ -ATPase 酶活测定 Na^+/K^+ -ATPase 酶活测定采用 ATP 酶测试盒(南京建成生物公司)测定,具体操作参照该试剂盒说明书进行。每小时每毫克蛋白的组织中 ATP 酶分解 ATP 产生 1 μmol 无机磷的量规定为 1 个酶活力单位,即 Na^+/K^+ -ATPase 酶活的单位为 $\mu\text{mol PO}_4^{3-}/(\text{mg protein} \cdot \text{h})$ 。实验 0 d 作为对照组。

1.3 数据分析

所有实验数据用平均值 \pm 标准差 (mean \pm

SD) 表示,均采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA)。

2 结果

2.1 盐度胁迫对三疣梭子蟹第 2 和第 6 对鳃 Na^+/K^+ -ATPase 酶活的影响

3 组盐度(40、25、10)条件下 3 次取样测量的实验结果见图 1。在 40 盐度下,第 2 对和第 6 对鳃 Na^+/K^+ -ATPase 酶活在胁迫初期具有下降的趋势,分别在 1 d 和 3 d 时处于最低值,两对鳃的酶活随胁迫时间增长逐渐上升,分别在 3 d 和 5 d 达到最高值,之后酶活下降。在 25 盐度下,第 2 对和第 6 对鳃 Na^+/K^+ -ATPase 酶活具有相似的变化趋势,在 0.5 d 时下降到最低值,3 d 时上升到最高值,之后酶活开始下降。同样类似的情况出现在 10 盐度下,第 2 对和第 6 对鳃 Na^+/K^+ -ATPase 酶活在 1 d 时下降到最低值,2 d 时上升至最高值,3 d 和 5 d 时的酶活下降并趋于稳定。

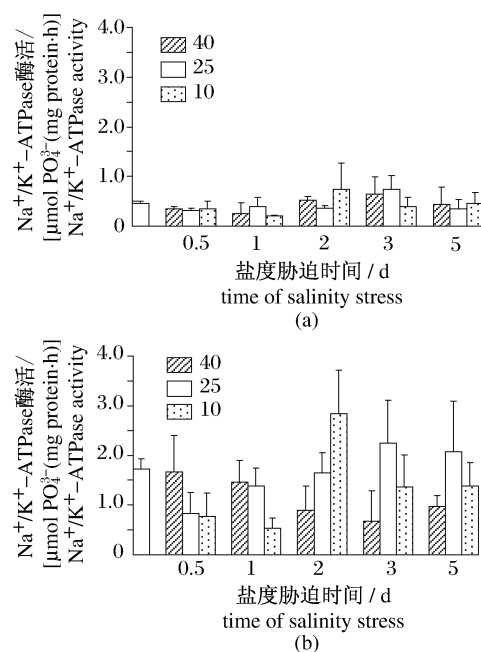


图 1 盐度胁迫对三疣梭子蟹

Na^+/K^+ -ATPase 酶活的影响

(a) 和 (b) 分别表示三疣梭子蟹第 2 对和第 6 对鳃在 3 组盐度胁迫下 Na^+/K^+ -ATPase 酶活变化情况。

Fig. 1 The effect of salinity stress on the activities of gill Na^+/K^+ -ATPase in swimming crab

The Na^+/K^+ -ATPase activity changes for the 2nd and the 6th gill in swimming crab during 3 groups of salinity stress were shown in the figure a and figure b, respectively.

2.2 盐度胁迫 1 d 时三疣梭子蟹各对鳃 Na^+/K^+ -ATPase 酶活的比较

3 组盐度(40、25、10)条件下,3 次取样测量的实验结果见图 2。胁迫 1 d 时,各组盐度下三疣梭子蟹前 5 对鳃 Na^+/K^+ -ATPase 的酶活值处于较低的水平,而后 3 对鳃 Na^+/K^+ -ATPase 的酶活值显著高于前 5 对鳃。

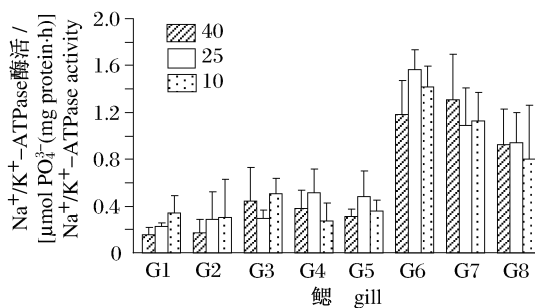


图 2 盐度胁迫 1 d 时三疣梭子蟹各对鳃 Na^+/K^+ -ATPase 酶活的比较

X 轴表示三疣梭子蟹的各对鳃,即 G1 ~ G8 分别代表第 1 ~ 8 对鳃;Y 轴表示 Na^+/K^+ -ATPase 酶活。

Fig. 2 Comparison of the activity of each gill Na^+/K^+ -ATPase under salinity stress one day in swimming crab

G1 - G8 on X-axis represented the 1st - 8th gill of swimming crab respectively, and Y-axis represented the activity of Na^+/K^+ -ATPase.

3 讨论

研究发现水生甲壳动物对外界盐度变化的适应,主要通过调节血淋巴渗透压来完成,该过程主要由鳃 Na^+/K^+ -ATPase 起作用^[23]; TOWLE 等^[24]认为水生甲壳动物鳃的 Na^+/K^+ -ATPase 在维持机体离子调节上起主要作用,并认为 Na^+/K^+ -ATPase 酶活大小与渗透调节能力显著相关。这些研究均表明 Na^+/K^+ -ATPase 在水生甲壳动物离子调控中占主导地位, Na^+/K^+ -ATPase 的酶活可以反映甲壳动物对外界盐度变化的适应能力。

3.1 盐度胁迫三疣梭子蟹鳃 Na^+/K^+ -ATPase 酶活变化规律

为了解外界水体盐度变化时,水生甲壳动物体内生理生化调节机制,许多学者对水生甲壳动物在不同盐度下鳃组织中的 Na^+/K^+ -ATPase 酶活的变化进行了研究。BROOKS 等^[25]对蚤状钩

虾(*Gammarus pulex*)的研究发现,处于高盐度水环境中的水生甲壳动物进入低盐度水环境中后,其鳃的 Na^+/K^+ -ATPase 的酶活增大,且酶活与血淋巴与水环境之间的渗透压差正相关;也有研究发现,如将广盐性海洋甲壳动物由高盐度水环境中突然转到低盐度水环境中, Na^+/K^+ -ATPase 的酶活会增加 35% ~ 58%^[26],如 HURTADO 等^[27]对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)的研究,LUCU 等^[28]对欧洲龙虾(*Homarus gammarus*)的研究,PAN 等^[29]对日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus*)的研究都和上述结论基本一致。尽管不同物种具有不同的适应模式,但研究表明鳃 Na^+/K^+ -ATPase 酶活在盐度降低时均会出现适应性增高。

三疣梭子蟹盐度胁迫实验发现,鳃 Na^+/K^+ -ATPase 酶活呈现先下降,再上升,后下降并趋于平稳的趋势。当三疣梭子蟹在盐度 10 下胁迫 1 d 后,鳃 Na^+/K^+ -ATPase 酶活明显下降。鳃 Na^+/K^+ -ATPase 酶活的下降导致细胞膜通透性的降低,从而减少细胞内 Na^+ 、 Cl^- 的摄入,说明这是一种被动的应激反应^[30]。此后,三疣梭子蟹鳃 Na^+/K^+ -ATPase 酶活随胁迫时间增长逐渐上升,说明盐度胁迫刺激了三疣梭子蟹的主动渗透压调节。从第 3 天开始,鳃 Na^+/K^+ -ATPase 酶活下降并趋于稳定,说明三疣梭子蟹开始适应新的盐度水环境。在盐度 40 实验组中,鳃 Na^+/K^+ -ATPase 酶活也呈现先下降、后上升、再下降的趋势,但不如盐度 10 组的实验结果明显。根据鳃 Na^+/K^+ -ATPase 酶活变化的实验结果表明,三疣梭子蟹对盐度变化的调节可能分为 3 个时期:一是被动应激期,表现为 Na^+/K^+ -ATPase 酶活下降,应激时间较短,为 1 d 左右;第二为主动调节期,随着外界不同盐度环境的持续刺激, Na^+/K^+ -ATPase 酶活开始逐渐上升,调节渗透压平衡;最后为适应期,经过调节后三疣梭子蟹体内渗透压重新平衡, Na^+/K^+ -ATPase 酶活趋于稳定,最终适应新的盐度水环境。

3.2 三疣梭子蟹各对鳃与离子转运和渗透调节的关系

水生甲壳动物的鳃分为前鳃和后鳃,前鳃的主要作用为呼吸,后鳃的主要作用为调节渗透压^[31]。关于水生甲壳动物鳃的功能研究已经证明, Na^+ 和 Cl^- 的转运和渗透压调节的场所主要

定位于后鳃^[23,32]。LOPEZ 等^[33] 研究泥蟹 (*Cyrtograpsus angulatus*) 在盐度环境变化时其 4~8 对鳃中各对鳃 Na^+/K^+ -ATPase 酶活的变化情况,发现盐度急剧变化时不同对鳃的 Na^+/K^+ -ATPase 酶活的变化幅度不同,说明泥蟹各对鳃 Na^+/K^+ -ATPase 在离子转运和渗透压调节上作用大小不同。

本研究得到的结果为三疣梭子蟹后 3 对鳃 Na^+/K^+ -ATPase 的酶活显著高于前 5 对鳃的酶活,与以往报道过的某些水生甲壳动物结果相一致^[14,34]。然而,也有一些水生甲壳动物例外,如罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*)^[35] 各对鳃的 Na^+/K^+ -ATPase 酶活并无显著差异。三疣梭子蟹各对鳃 Na^+/K^+ -ATPase 的酶活差异明确表明,三疣梭子蟹进行离子转运和渗透调节的主要部位是其后 3 对鳃。

参考文献:

- [1] 薛俊增,堵南山,赖伟. 中国三疣梭子蟹 *Portunus trituberculatus* Miers 的研究[J]. 东海海洋,1997,15(4):60-65.
- [2] 俞存根,宋海棠,姚光,等. 浙江近海蟹类资源合理利用研究[J]. 海洋渔业,2003(3):136-141.
- [3] 史会来,金翀略,林桂装,等. 浙江三疣梭子蟹养殖现状[J]. 河北渔业,2007,07:39-41.
- [4] 戴爱云,杨思谅,宋玉枝. 中国海洋蟹类[M]. 北京:海洋出版社,1986,194-196.
- [5] 季东升. 三疣梭子蟹池塘养殖技术[J]. 特种经济动植物,2005,3:12-13.
- [6] 国俭文,徐忠伟,于雪江,等. 三疣梭子蟹不同期幼体变态难的原因与对策[J]. 科学养鱼,2003(9):30-31.
- [7] MARTIN D. Structure-function relationships in the Na^+/K^+ -pump[J]. Seminars in Nephrology,2005,25(5):282-291.
- [8] MORTH J, PEDERSEN B, TOUSTRUP-JENSEN M, et al. Crystal structure of the sodium-potassium pump[J]. Nature,2007,450:1043-1050.
- [9] LUCU C, PAVICIC J, IVANKOVIC 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.
- [10] CRAMBERT G, HASLER U, BEGGAH A. Transport and pharmacological properties of nine different human Na^+/K^+ -ATPase isozymes [J]. Journal of Biological Chemistry,2000,275(3):1976-1986.
- [11] TANG C H, LEE T H. The effect of environmental salinity on the protein expression of Na^+/K^+ -ATPase, $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ 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.
- [12] 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.
- [13] FURRIEL R, MCNAMARA J, LEONE F. Characterization of (Na^+/K^+)-ATPase in gill microsomes of the freshwater shrimp *Macrobrachium olfersii* [J]. Comparative Biochemistry Physiology, Part B: Biochemistry & Molecular Biology,2000,126(3):303-315.
- [14] COROTTO F, HOLLIDAY C. Branchial Na^+/K^+ -ATPase and osmoregulation in the purple shore crab (*Hemigrapsus nudus*) [J]. Comparative Biochemistry Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology,1996,113(1):361-368.
- [15] GARCON 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 Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology,2009,154(1):44-55.
- [16] SILVA E, MASUI D, FURRIEL R, 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 Physiology, Part B: Biochemistry & Molecular Biology,2008,149(4):622-629.
- [17] MASUI D, FURRIEL R, MCNAMARA J, et al. Modulation by ammonium ions of gill microsomal (Na^+/K^+)-ATPase in the swimming crab *Callinectes danae*: a possible mechanism for regulation of ammonia excretion [J]. Comparative

- Biochemistry Physiology, Part C: Toxicology & Pharmacology, 2002, 132(4):471-482.
- [18] MASUI D, MANTELATTO F, MCNAMARA J, *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 Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2009, 153(2):141-148.
- [19] 吕富,潘鲁青,任加云. 中华绒螯蟹鳃上皮 Na^+ - K^+ -ATPase 性质的研究[J]. 海洋湖沼通报, 2004(3):47-53.
- [20] 季东升. 三疣梭子蟹池塘养殖技术[J]. 特种经济动植物, 2005(3):12-13.
- [21] BRADFORD M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 1976, 72(1-2):248-25.
- [22] CHUNG K F, LIN H C. Osmoregulation and Na , K -ATPase expression in osmoregulatory organs of *Scylla paramamosain*[J]. Comparative Biochemistry Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2006, 144(1):48-57.
- [23] MORRIS S. Neuroendocrine regulation of osmoregulation and the evolution of air-breathing in decapod crustaceans [J]. Journal of Experimental Biology, 2001, 204:979-989.
- [24] TOWLE D. Role of Na^+ - K^+ -ATPase in ionic regulation by marine and estuarine animals [J]. Marine Biology Letter, 1981, 2:107-122.
- [25] BROOKS S, MILLS C. Gill Na^+ - K^+ -ATPase in a series of hyper-regulating gammarid amphipods. Enzyme characterization and the effects of salinity acclimation [J]. Comparative Biochemistry Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2006, 144(1):24-32.
- [26] LUCU C, TOWLE D. Na^+ - K^+ -ATPase in gills of aquatic crustacean [J]. Comparative Biochemistry Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2003, 135(2):195-214.
- [27] HURTADO M, RACOTTA I, CIVERA R, *et al.* Effect of hypo- and hypersaline conditions on osmolality and Na^+/K^+ -ATPase activity in juvenile shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed low- and high-HUFA diets [J]. Comparative Biochemistry Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2007, 147(3):703-710.
- [28] LUCU C, DEVESOVI M. Osmoregulation and branchial Na^+ - K^+ -ATPase in the lobster *Homarus gammarus* acclimated to dilute seawater[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1999, 234(2):291-304.
- [29] PAN L Q, LUAN Z H, JIN C X. Effects of Na^+/K^+ -ATPase and $\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$ ratios in saline groundwaters on Na^+/K^+ -ATPase activity, survival and growth of *Marsupenaeus japonicus* postlarvae [J]. Aquaculture, 2006, 261(4):1396-1402.
- [30] RODRIGUEZ A, GALLARDO M, GISBERT E, *et al.* Osmoregulation in juvenile Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2002, 26(4):345-354.
- [31] CASTILHO P, MARTINS I, BIANEHINI A. Gill Na , K -ATPase and osmoregulation in the estuarine crab, *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851 (Decapoda, Grapsidae)[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2001, 256(2):215-227.
- [32] ABEAM G, DUERR J, ZHUANG Z, *et al.* Ion transport processes of crustacean epithelial cells[J]. Physiological and Biochemical Zoology, 1999, 72(1):1-18.
- [33] LOPEZ M, MELIGENI C, GOLDEMBERG A. Response to environmental salinity of Na^+/K^+ -ATPase activity in individual gills of the euryhaline crab *Cyrtograpsus angulatus* [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2002, 274(1):75-85.
- [34] TRAUSSCH G, FORGET M, DEVOS P. Bioamines-stimulated phosphorylation and ($\text{Na}^+ + \text{K}^+$) ATPase in the gills of Chinese crabs, *Eriocheir sinensis*[J]. Comparative Biochemistry Physiology, Part B: Biochemistry & Molecular Biology, 1989, 94:487-492.
- [35] WILDER M, HUONG D, ATMOMARSONO M. Characterization of Na/K -ATPase in *Macrobrachium rosenbergii* and the effects of changing salinity on enzymatic activity [J]. Comparative Biochemistry Physiology, Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2000, 125(3):377-388.

Influence of salinity stress on the activity of gill Na^+/K^+ -ATPase in swimming crab (*Portunus trituberculatus*)

JIANG Shan^{1,2,3}, XU Qiang-hua^{1,2,3*}

(1. Key Laboratory of Oceanic Fisheries Resources Exploitation of Shanghai Education Commission, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Key Laboratory of Sustainable Exploitation of Oceanic Fisheries Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

3. College of Marine Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The swimming crab, *Portunus trituberculatus*, is an important marine fishery and aquaculture species. Water salinity conditions influence its artificial propagations. In order to understand its adaptation mechanisms to environmental salinity changes, we investigated gill Na^+/K^+ -ATPase activity in the *P. trituberculatus* exposed to different salinity stresses. Forty-five male adult crabs were divided into 3 groups (15 crabs for one group) and acclimated to three different salinity conditions (10, 25 or 40). The 2nd and the 6th gills of three crabs from each treatment were sampled on days 0, 5, 1, 2, 3 and 5, respectively. In order to compare the Na^+/K^+ -ATPase activities among different gills of a crab, we sampled all the eight gills from three crabs from each salinity group on day 1. Na^+/K^+ -ATPase activities were measured by Molybdenum blue spectrophotometric method. Data were expressed as mean and standard error (mean \pm SD) and one-way ANOVA was used for statistical analysis. The results indicated that the activities of gill Na^+/K^+ -ATPase in three salinity treatments decreased in the primary period, increased gradually, decreased again and reached a plateau finally. In addition, the Na^+/K^+ -ATPase activities of the three posterior pairs of gills were remarkably higher than those of the five anterior pairs of gills. Based on these results, we proposed to divide osmotic regulation into three phases: passive stress phase (the decrease of the Na^+/K^+ -ATPase activities), positive regulation phase (the elevation of the Na^+/K^+ -ATPase activities) and adaptive phase (the stability of the Na^+/K^+ -ATPase activities). The three posterior pairs of gills were the main sites of ion transportation and osmotic regulation in *P. trituberculatus*. This paper revealed the regulations of Na^+/K^+ -ATPase activities of *P. trituberculatus* during salinity stress, and facilitated the understanding of physiological and salinity adaptative mechanisms in this species.

Key words: *Portunus trituberculatus*; salinity stress; gill; Na^+/K^+ -ATPase

Corresponding author: XU Qiang-hua. E-mail: qhxu@shou.edu.cn