

文章编号: 1674 - 5566(2014)01 - 0051 - 07

## 海洋中 CO<sub>2</sub> 引起的 pH 降低对紫海胆亚氏提灯附属肌肉生理机能的影响

王贵宁<sup>1</sup>, 石松惇<sup>2</sup>, 吕为群<sup>1</sup>

(1. 上海海洋大学 省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306; 2. 日本长崎大学环东中国海环境资源研究所, 长崎 851 - 2213)

**摘要:** 研究了高浓度 CO<sub>2</sub> (1 000 μL/L, 3 000 μL/L) 引起的海洋环境 pH 降低对紫海胆亚氏提灯附属肌肉的呼吸耗氧、总 ATP 含量、乙酰胆碱含量以及肌肉收缩力的影响。140 d 处理后, 结果显示肌肉呼吸在 3 000 μL/L 组中仅为对照组 (380 μL/L) 的 40%。总 ATP 含量未见显著差异。乙酰胆碱脂酶含量在高浓度 CO<sub>2</sub> 组有降低的趋势, 但不显著。肌肉收缩力在高浓度组低于对照组。综上所述, 海洋中 CO<sub>2</sub> 引起的 pH 降低对紫海胆亚氏提灯附属肌肉的生理会造成一定的影响。

**研究亮点:** 近年来, 温室气体的大量排放, 海洋生态及海洋动物保护受到国内外学术界普遍关注, 本文首次揭示了海洋中 CO<sub>2</sub> 引起的 pH 降低对紫海胆亚氏提灯附属肌肉呼吸、总 ATP 含量、乙酰胆碱含量以及肌肉收缩力的影响。对进一步研究海洋 pH 对海洋生物的生理胁迫提供了重要参数。

**关键词:** 紫海胆; CO<sub>2</sub>; 亚氏提灯; 肌肉; 呼吸; 总 ATP; 乙酰胆碱脂酶; 收缩力

**中图分类号:** S 917

**文献标志码:** A

工业革命之后, 由于人类活动, 特别是化石燃料的燃烧和乱砍乱伐致使森林植被锐减, 大气中 CO<sub>2</sub> 浓度急剧升高, 目前海洋吸收了大约 25% 人类活动释放出的 CO<sub>2</sub><sup>[1]</sup>, 成为地球上最重要的“碳汇”聚集地<sup>[2]</sup>。空气中的 CO<sub>2</sub> 增加, 溶于海洋表层后, 形成弱酸 (H<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>), 降低了海水的 pH, 增加了海洋的酸性<sup>[3]</sup>。大量研究证明, 海水中 CO<sub>2</sub> 浓度的升高影响了海洋生物<sup>[4-7]</sup>, 特别是棘皮动物的受精率<sup>[8-9]</sup>、存活率<sup>[10]</sup>、发育<sup>[11-12]</sup>、摄食<sup>[13]</sup>、钙化<sup>[3]</sup>、基因表达<sup>[14]</sup> 和体内酸碱平衡<sup>[15-16]</sup>。

紫海胆 (*Anthocidaris crassispina*) 是太平洋西岸最常见的一种海胆, 广泛分布在中国、日本、韩国沿海。主要生长在潮间带至水深 3 m 左右的岩礁岸。该种虽为杂食性海胆, 但仍以大型藻类为主食, 繁殖季节是 5 - 7 月。

咀嚼器亚氏提灯是海胆纲的特有结构。两套肌肉负责亚氏提灯的运动, 5 对收缩肌连接上颚和海胆壳边缘, 将亚氏提灯拉出正口位突出于海胆壳。我们将从海胆咀嚼器附属肌肉的体外呼吸、总 ATP 含量、乙酰胆碱脂酶含量、肌肉收缩力等生理机能方面探讨海水中 CO<sub>2</sub> 引起的 pH 降低对海胆亚氏提灯附属肌肉生理机能的影响。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验材料

实验材料为 2011 年 10 月于日本佐贺水产研究所购买的紫海胆成年个体, 暂养在沙滤后的自然海水中。

#### 1.2 实验方法

##### 1.2.1 暴露实验装置和实验材料

实验系统包括 3 套水槽系统, 分别用于 3 个

收稿日期: 2013-06-04

修回日期: 2013-09-24

基金项目: 上海市科学技术委员会项目 (11PJ1404500)

作者简介: 王贵宁 (1986—), 女, 硕士研究生, 研究方向为环境生理。E-mail: gnwang11@hotmail.com

通信作者: 吕为群, E-mail: wqlv@shou.edu.cn

CO<sub>2</sub> 水平(对照组:380 μL/L,pH 8.16;2100 年预测水平<sup>[17]</sup>:1 000 μL/L,pH 7.84;2300 年预测水平<sup>[18]</sup>:3 000 μL/L,pH 7.35)。每套系统都有一个蓄水水槽连接一个大水槽(图 1),水槽中放置 21 个容积为 3 L 的小水箱。沙滤海水经过两个滤径为 1 μm 的过滤器,由水泵抽到 3 个蓄水水槽中,曝气。380 μL/L 组直接用空气曝气,气体混合装置将干燥的 CO<sub>2</sub> 和空气混合成富含 CO<sub>2</sub> 的空气通入 1 000 μL/L 和 3 000 μL/L 组的蓄水水槽曝气,以此调节海水 pH 到 3 个水平。这 3 个实验组中曝气后的海水溶氧没有差异。经曝气的海水以 80 mL/min 的速度由管道通入 63 个小水箱中,水箱有一个出水孔,水流入外面的大水槽,大水槽收集废水,并由排水口排出。

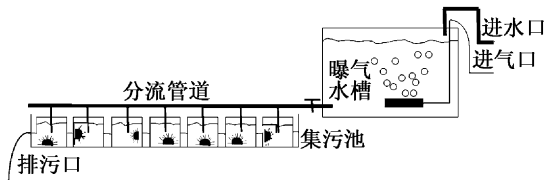


图 1 暴露实验装置

Fig. 1 Exposure experiment set-up

实验材料为 63 只成体紫海胆 (*Anthocidaris crassispina*), 湿质量为  $(58.09 \pm 11.29)$  g, 壳直径为  $(50.59 \pm 3.4)$  mm, 分别装入 3 套系统的 63 个小水箱里。养殖实验于 2011 年 11 月 26 日开始, 到 2012 年 4 月 14 日结束, 实验周期为 140 d。

### 1.2.2 海胆亚氏提灯附属肌肉体外呼吸测定

养殖实验结束后, 每组 4 只海胆用于测定肌肉体外呼吸。解剖海胆亚氏提灯附属肌肉, 用解剖剪在海胆壳靠近正口位处钻一个洞, 由此剪开外壳, 小心剪取肌肉, 因为每只海胆肌肉总质量有限, 仅  $(0.10 \pm 0.03)$  g, 所以将每组 4 只海胆的肌肉混合成一个样本进行测定。

冰上解剖暂停新陈代谢, 用眼科剪剪下亚氏提灯附属肌肉, 放在由海胆生理盐水(过滤海水)湿润的滤纸上。待 4 只海胆的肌肉全部取完, 放进呼吸室, 用眼科剪剪碎肌肉, 大约剪 400 次。在呼吸室加入 5 mL 生理盐水, 20% KOH 溶液湿润的滤纸贴在呼吸室的盖子上, 用来吸收小室内的 CO<sub>2</sub>。盖紧盖子, 装入微呼吸测定仪 (Model 6C, Taiyo-Kagaku Co., Japan) 上, 打开开关, 10 min 热平衡后, 每 5 分钟记录一次数据, 连续记录

60 min。计算得出海胆亚氏提灯附属肌肉的体外呼吸速率。

### 1.2.3 海胆亚氏提灯附属肌肉总 ATP 的测定

暴露实验结束后, 每组取 5 只海胆进行总 ATP 含量的测定。解剖紫海胆亚氏提灯附属肌肉, 取 0.05 g 于 2 mL 离心管中, 加入 1 mL 0.01 mol/L PBS(磷酸缓冲液), 在冰浴条件下研磨成组织匀浆, 2 600 r/min 离心 3 min, 取上清, 加 1 mL PBS(磷酸缓冲液)后 2 600 r/min 离心 3 min, 取上清, 加 1 mL PBS(磷酸缓冲液), 用 1 mol/L 和 10 mol/L 的 NaOH 调节 pH 到 6.4, 3 000 r/min 离心 3 min, 取上清, 重复 2 次, 加 PBS(磷酸缓冲液)至 10 mL, 保持 pH 6.4 储存在 -40 °C 冰箱, 待分析。运用高效液相色谱仪 (Agilent 1100, Agilent Co., USA), 流动相为 0.1 mol/L 磷酸盐缓冲液 (pH 6.25), 检测波长为 254 nm, 进样量为 20 μL, 柱温为室温。

### 1.2.4 海胆亚氏提灯附属肌肉乙酰胆碱脂酶活性的测定

每个实验组 5 只海胆用于亚氏提灯附属肌肉乙酰胆碱脂酶活性测定实验。肌肉乙酰胆碱酯酶活性测定运用 Amplit Fluorimetric Acetylcholinesterase Assay Kit (Green Fluorescence) 试剂盒, 荧光分光光度计 multilabel recorder Mithras LB940 (Berthold Technologies GmbH and Co. KG., Bad Wildbad, Germany)。准备乙酰胆碱反应混合物 (50 μL), 加乙酰胆碱脂酶标准样 (50 μL), 室温培养 20 min, 荧光强度 Ex/Em = 490/520。

解剖紫海胆亚氏提灯附属肌肉, 取 0.05 g 于 15 mL 离心管中, 加入 5 mL PBS(磷酸缓冲液), 用研磨机组织匀浆, 离心取上清。稀释 2 倍, 10 倍, 100 倍, 1 000 倍, 10 000 倍, 取 50 μL 加入黑色 96 孔板的小孔中, 并且将标准序列也加入 96 孔板。然后加入反应溶液, 室温避光培养 20 min, 放进荧光分光光度计检测吸光度值。

根据标准序列的吸光度值作出标准曲线, 将样品吸光度值代入标准曲线中(图 2), 得出亚氏提灯附属肌肉乙酰胆碱酯酶浓度。

### 1.2.5 海胆亚氏提灯附属肌肉收缩力的测定

实验结束后, 6 只海胆用来进行肌肉收缩力测定。用解剖剪剪掉海胆壳上部的三分之二, 在海胆肌肉无拉伸收缩的状态下, 测定亚氏提灯的

高度,收缩肌和牵拉肌的角度。然后切断所有罗盘肌肉,罗盘提升肌牵拉肌肉,最后切开口围膜。调整肌肉位置到自然位置,避免肌肉过度拉伸而损坏。

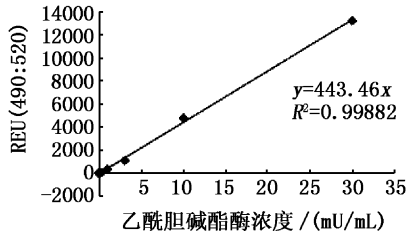


图2 乙酰胆碱酯酶吸光度标准曲线  
Fig. 2 The standard curve of Acetylcholinesterase

用一个铝制杆(直径 1.5 mm)倒插于亚氏提灯的中轴线,并在其上端连接到拉力传感器上,弯曲铝制杆的下端,以防止它滑出亚氏提灯。将海胆壳水平固定在人造体腔中,而后将等距传感器连接在操纵器上,通过已知的高度和角度调整传感器到垂直位置。由传感器拉升亚氏提灯,从而拉伸连接亚氏提灯和海胆壳的肌肉,并进行测量,方法如 WILKIE 等<sup>[19]</sup>所描述。向人造体腔中通入海胆生理盐水(过滤海水),待整个测定系统稳定后,用  $1 \times 10^{-5}$  mol/L 乙酰胆碱溶液替换生理盐水刺激肌肉收缩,记录最大收缩时的电信号(V),将电信号代入已知的标准曲线中,求出最大收缩力(F)。

### 1.3 数据分析

数据均以平均值  $\pm$  标准误 (means  $\pm$  SE) 表示,用 Graphpad Prism 5 统计作图软件对数据进行统计分析 (One-way ANOVA)。

## 2 结果

### 2.1 海洋中 CO<sub>2</sub> 引起的 pH 降低对亚氏提灯附属肌肉体外呼吸的影响

通过对亚氏提灯肌肉体外呼吸的测定,如图 3 所示,对照组 380  $\mu$ L/L (pH 8.16) 的海胆肌肉呼吸速率是 0.67  $\mu$ L/(g  $\cdot$  min),实验组 1 000  $\mu$ L/L (pH 7.84) 的海胆肌肉呼吸速率是 0.73  $\mu$ L/(g  $\cdot$  min),而 3 000  $\mu$ L/L (pH 7.35) 的海胆肌肉呼吸速率有一个大幅下降,呼吸速率是 0.27  $\mu$ L/(g  $\cdot$  min)。3 000  $\mu$ L/L (pH 7.35) 的海胆肌肉呼吸速率大约仅为对照组的 40%,为 1 000  $\mu$ L/L (pH 7.84) 组呼吸速率的 37%。此实验因为是混合样品,没有重复,所以未进行方差分析。

### 2.2 海洋中 CO<sub>2</sub> 引起的 pH 降低对紫海胆亚氏提灯附属肌肉总 ATP 的影响

由图 4 可看出,对照组的总 ATP 含量为  $(0.43 \pm 0.24)$   $\mu$ mol/g, 1 000  $\mu$ L/L (pH 7.84) 的总 ATP 含量为  $(0.62 \pm 0.20)$   $\mu$ mol/g, 3 000  $\mu$ L/L (pH 7.35) 的总 ATP 含量为  $(0.52 \pm 0.14)$   $\mu$ mol/g。实验组与对照组间无显著差异 ( $P > 0.05$ ),进而说明海水酸化并未对肌肉总 ATP 含量造成显著影响。

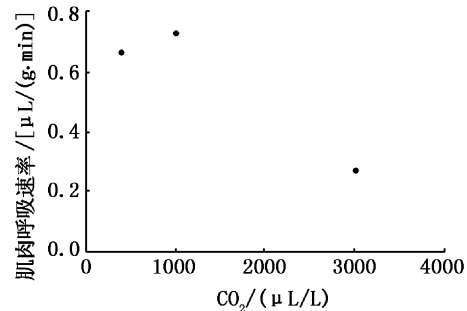


图3 不同 CO<sub>2</sub> 浓度暴露下紫海胆亚氏提灯附属肌肉的呼吸  
Fig. 3 Aristotle's lantern muscle respiration of purple sea urchin *A. crassispina* reared at different carbon dioxide concentrations

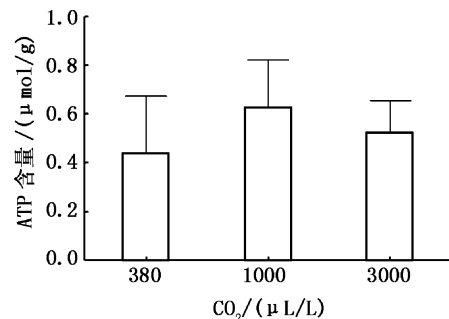


图4 不同 CO<sub>2</sub> 浓度暴露下紫海胆亚氏提灯附属肌肉总 ATP 含量  
Fig. 4 Aristotle's lantern muscle ATP content of purple sea urchin *A. crassispina* reared at different carbon dioxide concentrations

### 2.3 海洋中 CO<sub>2</sub> 引起的 pH 降低对紫海胆亚氏提灯附属肌肉乙酰胆碱酯酶含量的影响

如图 5 所示,对照组的乙酰胆碱酯酶含量为  $(11.24 \pm 1.84)$  mU/mg, 1 000  $\mu$ L/L (pH 7.84) 的乙酰胆碱酯酶含量为  $(9.30 \pm 0.24)$  mU/mg, 3 000  $\mu$ L/L (pH 7.35) 的乙酰胆碱酯酶含量为  $(8.71 \pm 0.37)$  mU/mg。亚氏提灯附属肌肉的乙

酰胆碱酯酶含量有随海水酸化程度的加强而降低的趋势,但是不同酸度的海水对乙酰胆碱酯酶含量的影响不显著( $P > 0.05$ )。

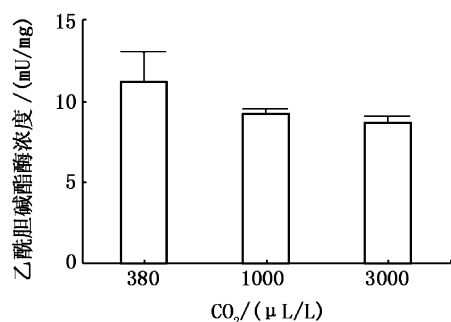


图5 不同 CO<sub>2</sub> 浓度暴露下紫海胆亚氏提灯乙酰胆碱酯酶含量

Fig. 5 Aristotle's lantern muscle AChE content of purple sea urchin *A. crassispina* reared at different carbon dioxide concentrations

#### 2.4 海洋中 CO<sub>2</sub> 引起的 pH 降低对紫海胆亚氏提灯附属肌肉收缩力的影响

由图 6 可知,用乙酰胆碱刺激后,对照组 380 μL/L 海胆肌肉收缩力比 1 000 μL/L 和 3 000 μL/L 的海胆肌肉收缩力大,但不显著( $P > 0.05$ )。

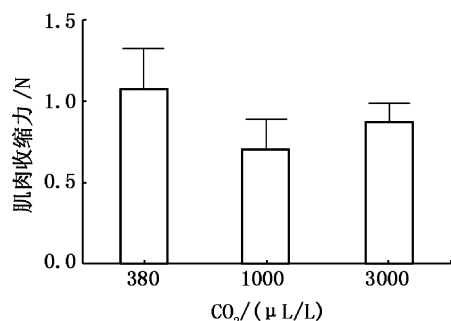


图6 不同 CO<sub>2</sub> 浓度暴露下紫海胆亚氏提灯附属肌肉拉力(N)

Fig. 6 Aristotle's lantern muscle contractile (N) of purple sea urchin *A. crassispina* reared at different carbon dioxide concentrations

### 3 讨论

亚氏提灯是海胆特有的咀嚼器,是一个复杂的肌肉骨骼系统,附属肌肉牵拉引起咀嚼器的运动,所以附属肌肉的生理机能决定了海胆的摄食能力。据报道肌肉收缩受骨骼肌呼吸<sup>[20]</sup>、ATP<sup>[21]</sup>、乙酰胆碱<sup>[22]</sup>、钙离子<sup>[22]</sup>、钠钾离子泵<sup>[24]</sup>、电刺激<sup>[25]</sup>等的影响,我们首次描述了海水

中 CO<sub>2</sub> 引起的 pH 降低对亚氏提灯附属肌肉的呼吸、ATP、乙酰胆碱、收缩力的影响。

#### 3.1 海洋中 CO<sub>2</sub> 引起的 pH 降低对紫海胆亚氏提灯附属肌肉体外呼吸的影响

肌肉新陈代谢强度因其在动物的生活方式中扮演角色的不同而有很大差别<sup>[20]</sup>。骨骼肌有氧代谢越强,肌肉收缩效率就越高,运动到力竭的时间就越长。无脊椎动物平滑肌因其不易于解剖而描述其新陈代谢的报道很少<sup>[26]</sup>。本实验结果说明 3 000 μL/L 组海胆的体外呼吸有低于对照组和 1 000 μL/L 组的趋势,只是初步证明海洋中 CO<sub>2</sub> 可能有抑制肌肉有氧代谢的能力。BASS<sup>[27]</sup>报道了低温对牡蛎闭壳肌代谢具有抑制作用。另有报道牡蛎和贻贝鳃组织<sup>[28]</sup>的呼吸不易被盐度变化所影响。所以不同的环境因子对不同组织呼吸代谢的作用也是不一样的。

#### 3.2 海洋中 CO<sub>2</sub> 引起的 pH 降低下紫海胆亚氏提灯附属肌肉的总 ATP 含量

肌肉收缩是通过释放 ATP 和乙酰胆碱神经递质来实现的,ATP 产生一个快速而短暂的平滑肌收缩,而乙酰胆碱可以维持缓慢持续的响应。SHINGYOJI 和 YAMAGUCHI<sup>[22]</sup>的研究结果显示,ATP 刺激海胆棘刺肌肉可引起肌肉收缩。OIKE 等<sup>[29]</sup>发现 ATP 促进肌肉中 Ca 离子的释放,引起肌肉收缩。本实验结果未检出两个 pH 降低的环境对肌肉总 ATP 含量造成显著影响。SCHETINGER 等<sup>[30]</sup>对 ATP 活性的研究中发现,pH 接近 8 时,鱼、鸡、鼠的 ATP 活性最高。因此,在 ATP 含量相同的情况下,体液 pH 可能通过影响 ATP 活性而影响肌肉收缩。关于无脊椎动物海胆 ATP 的报道较少,而 ATP 含量和 ATP 活性都是影响肌肉生理机能的重要因素。

#### 3.3 海洋中 CO<sub>2</sub> 引起的 pH 降低下紫海胆亚氏提灯附属肌肉的乙酰胆碱酯酶含量

乙酰胆碱酯酶(AChE)是影响神经响应和功能最关键的酶之一,降解乙酰胆碱为胆碱和乙酸,保证神经冲动的正常传递。乙酰胆碱酯酶活性还具有季节性变动规律,低温季节活性低;盐度越高,活性越低<sup>[31]</sup>。肌肉收缩是通过释放乙酰胆碱神经递质来实现的,乙酰胆碱可以维持缓慢持续的响应。同时 OIKE 等<sup>[29]</sup>也发现乙酰胆碱促进肌肉中 Ca 离子的释放,引起肌肉收缩。BOETTGER 和 MCLINTOCK<sup>[32]</sup>也预测了摄食率

下降可能抑制乙酰胆碱酯酶而引起肌肉僵直,即降低肌肉收缩力。本实验中,虽然不同 pH 浓度下海胆亚氏提灯附属肌肉乙酰胆碱酯酶没有显著差异,但却呈现一定的降低趋势。对于暴露于高 CO<sub>2</sub> 浓度下的海胆来说,乙酰胆碱酯酶含量的降低抑制了神经冲动的传递,导致乙酰胆碱不易分解,从而影响咀嚼器附属肌肉的收缩功能。

### 3.4 海洋中 CO<sub>2</sub> 引起的 pH 降低对紫海胆亚氏提灯附属肌肉收缩力的影响

骨骼肌活力的变化,直接影响动物捕食和反捕食能力<sup>[33]</sup>。亚氏提灯附属肌肉控制了提灯的运动,肌肉的收缩力大小影响海胆摄食能力,进而影响海胆的食物范围<sup>[22]</sup>,从而对海底生态系统稳定造成影响。通过相同浓度乙酰胆碱刺激实验发现,低 pH 组的肌肉收缩力有低于对照组的趋势,但不显著。当 pH 非常低时,细胞呼吸减弱,影响到了细胞正常功能,从而导致收缩力降低。在 LAGERSTRAND<sup>[23]</sup>对林蛙和非洲爪蟾进行温度、钙离子、pH 3 个环境因子对其心肌收缩力影响的研究中,在高 CO<sub>2</sub> 浓度下温度对非洲爪蟾的影响显著,在低温时心肌收缩对钙离子刺激更敏感。所以环境因子对肌肉收缩力的影响是一个复杂的过程,是相互作用的结果。

## 4 结论

本实验第一次探讨了海水中 CO<sub>2</sub> 引起的 pH 降低对紫海胆亚氏提灯附属肌肉呼吸,总 ATP 含量,乙酰胆碱酯酶含量,以及肌肉收缩力的影响。初步结果显示附属肌肉呼吸可能受到了高浓度 CO<sub>2</sub> 的抑制,总 ATP 含量在不同 pH 组中未见显著差异,肌肉中乙酰胆碱酯酶含量有随 pH 降低而降低的趋势,肌肉收缩力在本实验中没有受到海水中 CO<sub>2</sub> 引起的 pH 降低的影响。本实验的研究结果将对海洋中 CO<sub>2</sub> 引起的 pH 降低对紫海胆生理影响提供基础资料。

### 参考文献:

- [1] RIEBESELL U, FABRY V J, HANSSON L, et al. Guide to best practices for ocean acidification research and data reporting [M]. Luxembourg: Publications Office of the European Union, 2010.
- [2] SABINE C L, FEELY R A, GRUBER N, et al. The oceanic sink for anthropogenic CO<sub>2</sub> [J]. Science, 2004, 305 (5682): 367 - 371.
- [3] CLARK D, LAMARE M, BARKER M. Response of sea urchin pluteus larvae (Echinodermata: Echinoidea) to reduced seawater pH: A comparison among a tropical, temperate, and a polar species [J]. Marine Biology, 2009, 156(6): 1125 - 1137.
- [4] KURIHARA H, KATO S, ISHIMATSU A. Effects of increased seawater pCO<sub>2</sub> on early development of the oyster *Crassostrea gigas* [J]. Aquatic Biology, 2007(1): 91 - 98.
- [5] KURIHARA H, ASAI T, KATO S, et al. Effects of elevated pCO<sub>2</sub> on early development in the mussel *Mytilus galloprovincialis* [J]. Aquatic Biology, 2008, 4(3): 225 - 233.
- [6] ISHIMATSU A, KIKKAWA T, HAYASHI M, et al. Acute physiological impacts of CO<sub>2</sub> ocean sequestration on marine animals, in Greenhouse Gas Control Technologies 7 [M]. Elsevier Science Ltd: Oxford, 2005: 1499 - 1503.
- [7] KIKKAWA T, KITA J, ISHIMATSU A. Comparison of the lethal effect of CO<sub>2</sub> and acidification on red sea bream (*Pagrus major*) during the early developmental stages [J]. Marine Pollution Bulletin, 2004, 48(1/2): 108 - 110.
- [8] HAVENHAND J N, BUTTLER F R, THORNDYKE M C, et al. Near-future levels of ocean acidification reduce fertilization success in a sea urchin [J]. Current Biology, 2008, 18(15): 651 - 652.
- [9] CHRISTEN R, SCHACKMANN R W, SHAPIRO B M. Metabolism of sea urchin sperm. Interrelationships between intracellular pH, ATPase activity, and mitochondrial respiration [J]. Journal of Biological Chemistry, 1983, 258(9): 5392 - 5399.
- [10] MARTIN S, RICHIER S, PEDROTTI M L, et al. Early development and molecular plasticity in the Mediterranean sea urchin *Paracentrotus lividus* exposed to CO<sub>2</sub>-driven acidification [J]. Journal of Experimental Biology, 2011, 214: 1357 - 1368.
- [11] KURIHARA H, SHIRAYAMA Y. Effects of increased atmospheric CO<sub>2</sub> on sea urchin early development [J]. Marine Ecology Progress Series, 2004, 274: 161 - 169.
- [12] KURIHARA H. Effects of CO<sub>2</sub>-driven ocean acidification on the early developmental stages of invertebrates [J]. Marine Ecology Progress Series, 2008, 373: 275 - 284.
- [13] GOODING R A, HARLEY C D G, TANG E. Elevated water temperature and carbon dioxide concentration increase the growth of a keystone echinoderm [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2009, 106(23): 9316 - 9321.
- [14] STUMPP M, DUPONT S, THORNDYKE M C, et al. CO<sub>2</sub> induced seawater acidification impacts sea urchin larval development II: Gene expression patterns in pluteus larvae [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2011, 160(3): 320 - 330.
- [15] SPICER J I, WIDDICOMBE S, NEEDHAM H R, et al.

- Impact of CO<sub>2</sub>-acidified seawater on the extracellular acid-base balance of the northern sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2011, 407(1): 19–25.
- [16] STUMPP M, TRBENBACH K, BRENECKE D, et al. Resource allocation and extracellular acid-base status in the sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* in response to CO<sub>2</sub> induced seawater acidification [J]. *Aquatic Toxicology*, 2012(110/111): 194–207.
- [17] FEELY R A, SABINE C L, LEE K, et al. Impact of Anthropogenic CO<sub>2</sub> on the CaCO<sub>3</sub> system in the Oceans [J]. *Science*, 2004, 305(5682): 362–366.
- [18] CALDEIRA K, WICKETT M E. Oceanography: anthropogenic carbon and ocean pH [J]. *Nature*, 2003, 425(6956): 365.
- [19] WILKIE I C, CANDIA C M D, ANDRIETTI F. Mechanical properties of sea-urchin lantern muscles: a comparative investigation of intact muscle groups in *Paracentrotus lividus* (Lam.) and *Stylocidaris affinis* (Phil.) (Echinodermata, Echinoidea) [J]. *Journal of Comparative physiology B*, 1998, 168(3): 204–212.
- [20] BIANCONCINI M S C, MENDES E G, VALENTE D. The respiratory metabolism of the lantern muscles of the sea urchin *Echinometra lucunter* L.-I. The respiratory intensity [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 1985, 80(1): 1–4.
- [21] GUEGUEN N, LEFAUCHEUR L, FILLAUT M, et al. Control of skeletal muscle mitochondria respiration by adenine nucleotides; differential effect of ADT and ATP according to muscle contractile type in pigs [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2005, 140(2): 287–297.
- [22] SHINGYOJI C, YAMAGUCHI M. Effects of acetylcholine, octopamine, ATP, dopamine, and electrical stimulation on the spine muscle of the sea urchin, *Anthocidaris crassispina* [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1995, 111(1): 23–32.
- [23] LAGERSTRAND G. The effect of temperature on the contractile response of cardiac muscle from two frog species, *Rana temporaria* and *Xenopus laevis*, at two different calcium concentrations- II. At pH 7.0 and pH 6.6 [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 1982, 73(3): 469–475.
- [24] NAGAOKA R, YAMASHITA S, MIZUNO M, et al. Intracellular Na<sup>+</sup> and K<sup>+</sup> shifts induced by contractile activities of rat skeletal muscles [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 1994, 109(4): 957–965.
- [25] 李琦, 曾炳芳, 王金武, 等. 不同刺激参数对 SD 大鼠肌肉收缩的影响 [J]. *生物医学工程与临床*, 2010(4): 277–281.
- [26] HERRERA F C, PLAZA M. Extracellular cations and respiration of tissues of *Holothuria glaberrima* [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 1981, 70(1): 27–32.
- [27] BASS E L. Influences of temperature and salinity on oxygen consumption of tissues in the american oyster (*Crassostrea virginica*) [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Comparative Biochemistry*, 1977, 58(2): 125–130.
- [28] WINKLE W V. The effects of season, temperature and salinity on the oxygen consumption of bivalve gill tissue [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1968, 26(1): 69–80.
- [29] OIKE M, CREED K E, ONOUE H, et al. Increase in calcium in smooth muscle cells of the rabbit bladder induced by acetylcholine and ATP [J]. *Journal of the Autonomic Nervous System*, 1998, 69(2/3): 141–147.
- [30] SCHETINGER M R C, VIEIRA V L P, MORSCH V M, et al. ATP and ADP hydrolysis in fish, chicken and rat synaptosomes [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2001, 128(4): 731–741.
- [31] PFEIFER S, SCHIEDEK D, DIPPNER J W. Effect of temperature and salinity on acetylcholinesterase activity, a common pollution biomarker, in *Mytilus* sp. from the southwestern Baltic Sea [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2005, 320(1): 93–103.
- [32] BOETTGER S A, MCLINTOCK J B. Acetyl cholinesterase activity and muscle contraction in the sea urchin *Lytechinus variegatus* (Lamarck) following chronic phosphate exposure [J]. *Environmental Toxicology*, 2012, 27(4): 193–201.
- [33] WESTNEAT M W. A biomechanical model for analysis of muscle force, power output and lower jaw motion in fishes [J]. *Journal of Theoretical Biology*, 2003, 223(3): 269–281.

## Effect of CO<sub>2</sub> in the ocean on the physiology of Aristotle' Lantern muscle in the purple sea urchin *Anthocardis crassispina*

WANG Gui-ning<sup>1</sup>, ISHIMATSU Atsushi<sup>2</sup>, LÜ Wei-qun<sup>1</sup>

(1. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Ministry of Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Institute for East China Sea Research, Graduate School of Fisheries Science and Environmental Studies, Nagasaki University, 1551 -7 Tairamachi, Nagasaki 851 -2213, Japan)

**Abstract:** The aim of the present study is to investigate the effects of high CO<sub>2</sub> in the ocean on the physiology of Aristotle' s Lantern muscle. After 140 - day long-term high CO<sub>2</sub> exposure, the muscle respiration in 3000 μL/L group decreased nearly 40% compared with control group. The ATP content was not significantly influenced by CO<sub>2</sub>. Acetylcholinesterase content in high CO<sub>2</sub> groups decreased, but without significance. And the muscle contractile of high CO<sub>2</sub> groups was lower than that of control group. These experiments showed that CO<sub>2</sub> plays an important role in the muscle physiology.

**Key words:** purple sea urchin; CO<sub>2</sub>; Aristotle' s Lantern; muscle; respiration; ATP; AChE; contractile

### 《上海海洋大学学报》征稿简则(2013年10月修订)

#### 一、征稿内容

《上海海洋大学学报》为上海海洋大学主办,以海洋、水产科学技术为主的面向全国的综合学术刊物。主要刊载海洋环境、海洋工程、海洋信息、海洋渔业、水产生物技术、水产养殖与增殖、水产品保鲜与综合利用、渔业水域环境保护、渔业经济与技术管理等方面的文章。欢迎广大作者踊跃投稿。

#### 二、来稿注意事项

1. 来稿文责自负。要求论点明确,数据可靠,简明扼要,文字精练(包括文章题名、图、表和文献的运用),着重撰述作者的新方法、新观点和新成果等。
2. 来稿请访问本刊的网站,进行网上投稿,网址为 <http://www.shhydx.com>,本刊只接收网络投稿,必要时退作者修改和校对。编辑部 QQ:1351669176,若作者投稿3个月后未收到本编辑部录用通知,可自行处理稿件,请勿一稿多投。
3. 对录用的文章将收取一定的版面费,文章刊登后,将一次性支付作者著作权使用费及印刷版和网络版稿酬,并赠送若干册当期的本刊。

#### 三、对稿件的编辑出版要求

1. 论文稿书写的顺序:题名、作者署名、作者单位(写至二级)及所在地和邮编、中文摘要(400字左右)、关键词(3~8个,研究对象的词应排列在前)、中图分类号、文章研究亮点(100~120字左右)、英文题名、作者署名、作者单位(写至二级)及所在地和邮编、Abstract(与中文摘要相对应,以学术刊物上惯用的文体和句型撰写)、key words(与中文关键词相对应),正文,参考文献。首页地脚处请注明:①收稿日期;②基金项目:资助者(编号)。③作者简介:姓名(出生年-),性别,职称,学位,研究方向。通信作者另注明姓名、电子信箱。
2. 插图和照片要清晰。表格请采用“三线表”的形式,力求简明,其内容勿与图重复。图、表不单列,在文稿的相应页面内均应留有适当部位并写明图题、表题,其题目均须汉英对照。
3. 文中的学术名词、名称或术语、度量衡及其符号均应符合国家标准。
4. 参考文献只列确引的、最新的、最主要的、国内外公开发表的文献。每条文献中,作者姓名不超过3人者,全部照录;超过者,则第3人之后从略,加“等”之类的缩写。著录项目要齐全。中国人和外国人的姓名一律采用姓前名后著录法,英文姓要全大写,英文名缩写为首字母,缩写名后不加点“.”,英文题名的首字母大写,起止页码用“-”,结束处用英文句号“.”。参考文献:列于正文后,独占一行。所列文献一律采用标准化的顺序编码制,即把序号置于方括号内,并视引文的具体情况将序号作为上角标,或作为引文中的组成部分。每条文献应按类型注明其标志。

文献类型	普通图书	会议录	汇编	报纸	期刊	学位论文	报告	标准	专利	数据库	计算机程序	电子公告
标志代码	M	C	G	N	J	D	R	S	P	DB	CP	EB