

海月水母螅状体横裂生殖过程中渗透压调节基因表达及酶活性变化分析*

邢永泽^{1,2}, 乔莹², 米铁柱³, 甄毓^{3**}

(1. 广西科学院广西红树林研究中心, 广西红树林保护与利用重点实验室, 广西 北海 536000;
2. 自然资源部第四海洋研究所, 广西 北海 536000; 3. 中国海洋大学环境科学与工程学院, 山东 青岛 266100)

摘要: 横裂生殖是海月水母(*Aurelia coerulea*)螅状体产生碟状体的重要阶段。为了解螅状体横裂生殖过程中体内渗透压调节变化情况, 本文研究了海月水母螅状体横裂生殖过程中 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶(NKA)、V 型 $\text{H}^+ - \text{ATP}$ 酶(VHA)、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}$ 协同转运蛋白(NKCC)、碳酸酐酶(CA)和水通道蛋白(AQP4 和 AQP9)等渗透压调节蛋白或酶基因表达变化规律。结果表明: 在低温正常盐度条件下, VHA、NKCC 和 CA 基因在 12 h 内表达量显著上升, 实验开始 48 h 内各渗透压调节基因表达量趋于稳定。NKA、AQP4 和 AQP9 基因表达量在横裂前期无显著变化。横裂间期 AQP9、VHA 基因表达量显著上升, 横裂期 NKA、VHA、AQP4 及 AQP9 基因表达量显著上升, NKA 酶活性在横裂期显著上升。螅状体横裂生殖过程中体内存在离子再平衡的过程。

关键词: 海月水母; 螅状体; 横裂生殖; 渗透压调节; 基因表达

中图法分类号: P735

文献标志码: A

文章编号: 1672-5174(2021)07 II-019-06

DOI: 10.16441/j.cnki.hdxh.20200353

引用格式: 邢永泽, 乔莹, 米铁柱, 等. 海月水母螅状体横裂生殖过程中渗透压调节基因表达及酶活性变化分析[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2021, 51(增 I): 19-23, 127.

Xing Yongze, Qiao Ying, Mi Tiezhu, et al. Expression of osmoregulation genes and enzyme activity in strobilation process of *Aurelia coerulea* polyps[J]. Periodical of Ocean University of China, 2021, 51(Sup.I): 19-23, 127.

海洋生物都有适宜的渗透压范围, 在等渗点附近时海洋生物维持自身生存消耗的能量最低, 即可以用更多的能量进行生长、发育、繁殖等活动^[1]。刺胞动物一般与环境渗透压保持等渗或相近, 并通过细胞膜上的各种离子泵和水通道蛋白的协同作用维持其体内与环境渗透压平衡, 保障正常的生长繁殖行为。刺胞动物适应环境变化或繁殖活动会引起体内渗透压发生变化, 其参与渗透压调节的酶或蛋白主要有: $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶、V 型 $\text{H}^+ - \text{ATP}$ 酶、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}$ 协同转运蛋白、水通道蛋白和碳酸酐酶等。其中 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATP}$ 酶(简称 NKA 酶)被认为是水生生物调节渗透压及单价离子进出细胞最重要的酶, 它通过对 Na^+ 、 K^+ 主动跨膜运输参与渗透压调节^[2], 其活性受到环境渗透压的诱导^[3-4]。对鱼类研究发现, 通过 NKA 酶建立的 Na^+ 跨膜电化学梯度在调节渗透压的离子转运过程中起中心作用^[5]。 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - 2\text{Cl}$ 协同转运蛋白(简称 NKCC 蛋白)

广泛分布于各种生物的上皮组织中。它以 $1 \text{ Na}^+ : 1 \text{ K}^+ : 2 \text{ Cl}^-$ 的比例进行离子的跨膜主动转运, 通常和 NKA 酶协同调节机体内部离子浓度^[6]。V 型 $\text{H}^+ - \text{ATP}$ 酶(简称 VHA 酶)广泛存在于真核生物的细胞质膜和内膜系统上, 它利用 ATP 水解释放的能量, 以 H^+ 泵的形式维持细胞内正常的 pH 值和生理活动并在渗透压调节中起重要作用。有研究表明 VHA 酶的组装对 pH 非常敏感, 可以通过激活蛋白激酶 A 的方式间接调节细胞周期中的 G1 期向 S 期转变^[7-8]。水通道蛋白(AQPs)主要功能是协助水分子跨膜运输, 相对于水分子简单扩散穿过细胞膜, AQPs 大大提高了水分子的运输效率。除了能高效转运水分子外, 某些 AQPs 还能转运甘油、尿素等具有重要生理学功能的中性小分子物质, 在水分运输、离子选择透过性、渗透压调节等过程中起到重要作用^[9-10]。碳酸酐酶(CA)可以有效利用有氧呼吸产生的 CO_2 转化为 H^+ 和 HCO_3^- , 配合

* 基金项目: 国家重点研究发展计划项目(2017YFC1404402); 广西红树林保护与利用重点实验室系统性课题项目(GKLMC-17A01); 广西科学院基本科研业务费项目(2019GMRC-03)资助

Supported by the National Key Research and Development Program of China (2017YFC1404402); the Fund Program of Guangxi Key Lab of Mangrove Conservation and Utilization (GKLMC-17A01); the Basic Scientific Foundation of Guangxi Institute of Public Welfare Scientific Research (2019GMRC03)

收稿日期: 2020-12-05; 修订日期: 2021-04-05

作者简介: 邢永泽(1983-), 男, 博士。E-mail: xingshitou2010@163.com

** 通讯作者: E-mail: zhenyu@ouc.edu.cn

VHA、NKA 等酶类共同调节生物体内的 pH 值及离子浓度。

海月水母 (*Aurelia* spp.) 是全球近岸海域的主要致灾水母种类之一, 中国及日韩沿海广泛分布的海月水母种类为 *Aurelia coerulea* (*Aurelia* sp.1)^[11], 其螅状体的繁殖与种群数量是影响水母体暴发的重要因素。对于螅状体而言, 持续低温是诱使螅状体横裂生殖的重要原因。因此在每年冬末螅状体进行横裂生殖, 冬末初春则出现数量众多的碟状体^[12]。作为低等的海洋刺胞动物, 虽然海月水母螅状体已经有了简单的组织分化和原始的消化循环腔, 但仍未进化出鳃、肠, 血液循环系统等高效的离子调节器官, 渗透压调节作用不完善, 这使得其体内渗透压会随着生理状态变化而迅速发生改变。对哺乳动物研究表明, 渗透压调节相关基因在生殖过程中发挥着重要调控作用^[13]。横裂生殖是海月水母螅状体生理状态发生改变的重要时期, 渗透压调节基因或酶如何维持刺胞动物生殖阶段体内渗透压平衡却未见相关报道。本研究通过对螅状体繁殖过程中渗透压调节相关基因表达量定量分析, 同时检测 NKA 酶活性变化, 期望了解海月水母螅状体横裂生殖过程中渗透压调节变化情况, 为控制海月水母暴发提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料及用水

本实验的海月水母螅状体来自中科院海洋所人工培养条件下繁殖的螅状体。螅状体种群附着基为聚乙烯塑料波纹板。培养条件为温度 20 ℃, 自然光照, 盐度约为 33, pH 值约为 7.5。每 2 d 足量投喂卤虫。实验用海水取自青岛石老人附近海域, 盐度 32~33, pH 值约为 7.5。

1.2 实验方法

1.2.1 实验设置及采样步骤 实验开始前将附着有螅状体的波纹板剪成约 5 cm×5 cm 的小片, 剔除生理状态不好的螅状体, 每小片波纹板约保留 60 个螅状体。将螅状体在 21 ℃, 盐度 33 条件下避光培养 2 d。低温 (12 ℃) 培养盐度值为 33, 每 2 d 用 YSI 多参数水质仪测定海水盐度, 实验期间前 2 d 不投喂, 48 h 采样后投喂卤虫, 此后每 2 d 投喂卤虫, 投喂 1 h 后更换相同温度、盐度的海水, 观察螅状体发育状况。海月水母螅状体从实验开始到出现第一个横裂体为横裂前期, 从第一个横裂体出现到第一个碟状体释放为横裂间期, 从第一个碟状体释放到碟状体释放完毕为横裂期^[12]。依据生理观察结果, 设 0 h、6 h、12 h、1 d、2 d、8 d、19 d (横裂间期开始)、28 d (横裂间期)、40 d (横裂期), 共 9 个采样点。在 21 ℃, 盐度 33 相应时间点采样作为对照, 验证非横裂

生殖过程中渗透压相关指标的变化情况。每个时间点的每个条件采集 6 个生物学平行, 每个平行样含有 15 个螅状体, 随机挑选 3 个生物学平行用于测定渗透压调节相关基因, 剩余 3 个用于 NKA 酶活性测定。

1.2.2 渗透压相关基因荧光定量分析 根据本实验室转录组测序获得的 NKA、VHA、NKCC、CA、AQP4、AQP9 基因的部分序列, 利用 Primer premier 5.0 设计引物, 内参基因选择 *α-tubulin*^[14]。引物由北京六合华大基因科技有限公司合成。引物参数见表 1。

用 Trizol (Invitrogen) 提取样品总 RNA, 测定 OD₂₆₀/OD₂₈₀ 值在 2.0 左右后, 使用 TaKaTa 公司生产的反转录试剂盒合成 cDNA, 置于 -20 ℃ 保存待用。以 cDNA 为模板, 进行 RT-PCR 扩增, 反应条件为: 95 ℃ 预变性 10 min; 95 ℃ 变性 15 s; 56 ℃ 退火和延伸 1 min; 40 个循环。实验设 3 个技术重复。结果采用 2^{-ΔΔCt} 法以实验开始时刻的样品为对照, 计算各基因的表达量。

表 1 渗透压调节相关基因定量引物

Table 1 qRT-PCR primers of osmoregulation related genes

基因 Gene ID	引物序列 (5'→3') Primer sequence (5'→3')	扩增片段长度 Amplified fragment length/bp
NKA	CTTTCATTTGGACCCGTAA CAGAATTGTCGTGCATCG	180
VHA	CTTCCGTGATATGGGTTTC AATGTTTACGCTGGGCTA	326
NKCC	TTTGGTCCTATCGTCCTT AAACATTTGCTCGTCTCG	175
CA	GACGAATCCTCCAATAAA TTGCCATTGACGATAAGA	252
AQP4	CTTCTCGTTATTACCGTTTG CACCCAGTGATCCTTCCA	192
AQP9	TTGGTGGCTTGATGTATG CTTGTTTCAGGGTTGCTTT	117
<i>α-tubulin</i>	AGACAGAATCAGAAAGTTGGCAGA GTGAGTGGTCAGGATGGAGTTG	220

1.2.3 NKA 酶活性测定 NKA 酶活性测定采用定磷法, 蛋白含量测定采用考马斯亮蓝法测定。上述测定均采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定, 具体操作参照说明书进行。将每小时每毫克组织蛋白中 NKA 酶分解 ATP 产生 1 μmol 无机磷的量定义为一个 ATP 酶活力单位 (U·mg⁻¹)。

1.2.4 统计分析 用 Excel 2016 软件计算测定指标的平均值和标准差,用 SPSS 25.0 软件进行方差分析和显著性检验,以 $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 渗透压调节相关基因 mRNA 表达量变化

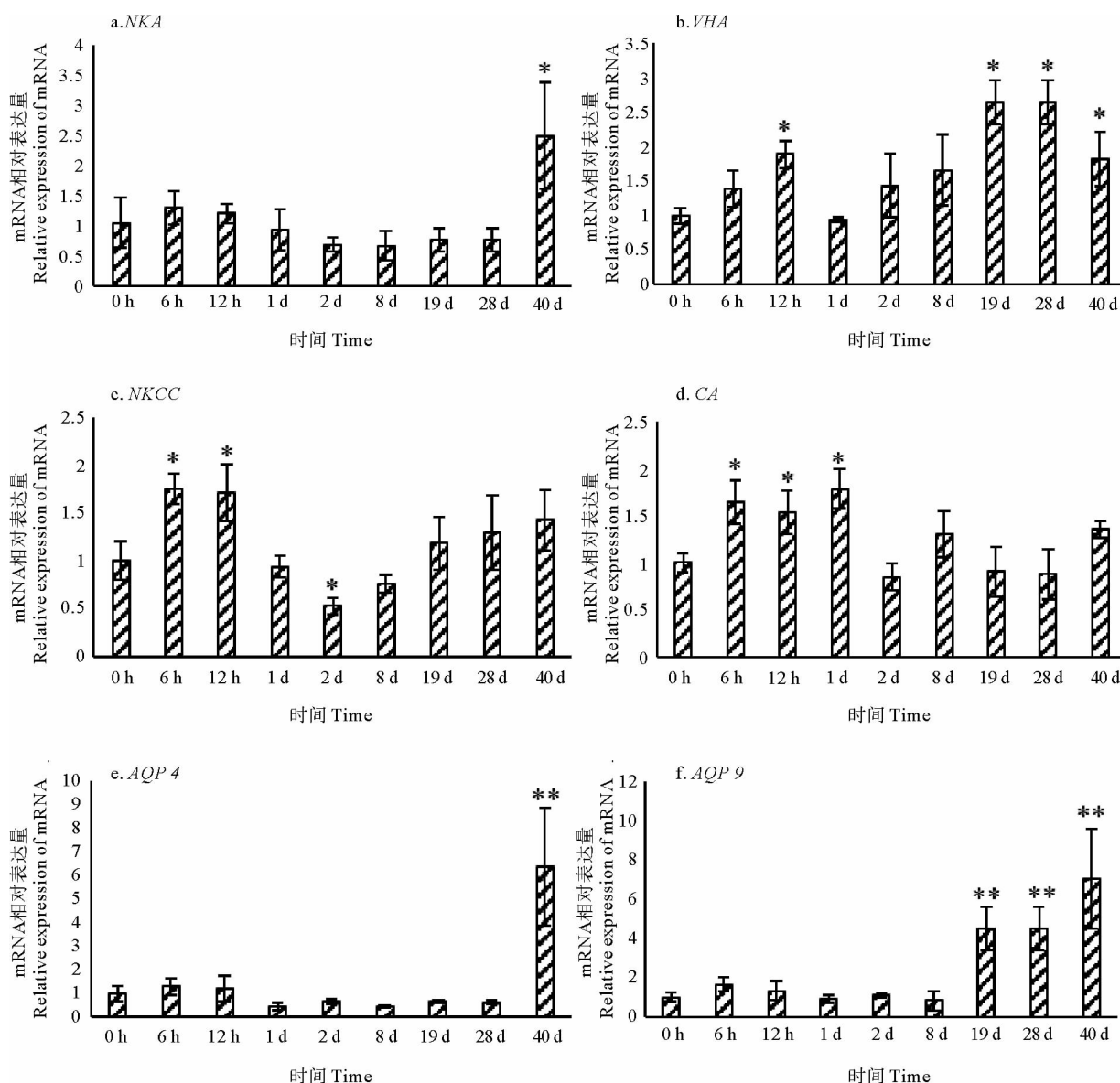
在共计 40 d 的非诱导横裂生殖条件下,渗透压调节相关基因表达量与 0 h 相比均无显著性差异($P > 0.05$)。

在共计 40 d 的诱导横裂生殖实验条件下, *NKA* 基因表达量在螅状体横裂期之前均与 0 h 无显著性差异(见图 1a),在横裂期 *NKA* 基因表达量相对 0 h 时显

著提高($P < 0.05$)。

VHA 基因呈现上升-下降-稳定-上升趋势(见图 1b),从实验开始 *VHA* 基因表达量逐渐上升,12 h 时 *VHA* 基因表达量显著高于 0 h($P < 0.05$),之后逐渐恢复并稳定在 0 h 水平,从横裂间期开始, *VHA* 基因表达量显著上升($P < 0.05$),横裂期虽然 *VHA* 表达量开始下降但仍显著高于 0 h 水平($P < 0.05$)。

NKCC 基因表达量呈现上升-下降-上升趋势(见图 1c),在前 12 h 其表达量显著高于 0 h($P < 0.05$),之后逐渐下降,48 h 时其表达量最低($P < 0.05$),8 d 时 *NKCC* 表达量已恢复到 0 h 水平($P > 0.05$)。横裂间期及横裂期表达量略有上升,但与 0 h 无显著性差异($P > 0.05$)。



(19 d:横裂间期开始;28 d:横裂间期;40 d:横裂期。19 d:Beginning of bet-strobilation period;28 d:Bet-strobilation period;40 d:Strobilation period.
*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$.)

图1 低温条件下海月水母螅状体渗透压调节基因 mRNA 表达量随时间的变化

Fig.1 Relative expression level of osmoregulation genes of *A. coerulea* polyps at low temperature with time

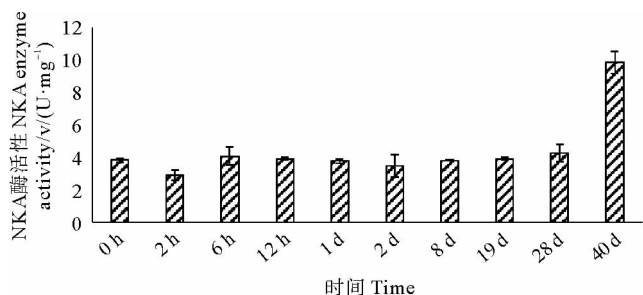
CA 基因表达量呈现上升到恢复的趋势(见图 1d)。CA 基因表达量在实验开始的 24 h 内维持在较高水平($P < 0.05$), 24 h 之后其表达量逐渐恢复到 0 h 水平。横裂间期、横裂期 CA 基因表达量与 0 h 水平无显著差异($P > 0.05$)。

AQP4 基因从实验开始到横裂间期其表达量与 0 h 相比均无显著差异(见图 1e), 但当螅状体进入横裂期其表达量显著提高($P < 0.01$)。AQP9 基因与 AQP4 略有不同, 其表达量至横裂前期与 0 h 时无显著差异(见图 1f), 但在横裂间期及横裂期其表达量显著提高($P < 0.01$)。

2.2 NKA 酶活性变化

在共计 40 d 的非诱导横裂生殖条件下, NKA 酶活性与 0 h 相比无显著性差异($P > 0.05$)。

如图 2 所示, 低温诱导横裂生殖条件下, 螅状体在实验早期(2 h), NKA 酶活性显著下降($P < 0.05$), 随着培养时间延长, 6 h 时 NKA 酶活性已恢复到对照组水平并在横裂前期基本保持稳定; 横裂间期 NKA 酶活性略有上升, 但与横裂前期相比无显著性差异($P > 0.05$), 横裂期 NKA 酶活性显著上升($P < 0.01$)。



(19 d: 横裂间期开始; 28 d: 横裂间期; 40 d: 横裂期。19 d: Beginning of bet-strobilation period; 28 d: Bet-strobilation period; 40 d: Strobilation period. *, $P < 0.05$, **, $P < 0.01$.)

图2 低温条件下海月水母螅状体不同发育阶段 NKA 酶活性

Fig.2 NKA enzyme activities of *A. coerulea* polyps in different stages at low temperature

3 讨论

通常水生生物渗透压调节基因和酶活性受到环境盐度变化诱导^[15-16], 本实验中盐度不变, 将螅状体由高温环境转移到低温条件下, VHA、NKCC 和 CA 等渗透压调节基因表达量在实验开始的 12 h 内显著上升, 表明上述基因表达不但受盐度影响, 可能也受到了温度变化的影响。本实验未检测到 NKA、AQP4 和 AQP9 基因表达量在横裂期之前发生显著变化, 这可能是由于在正常盐度下上述基因转录表达对低温条件不敏感。NKA 酶活性测定显示, 其在 2 h 时活性显著下

降, 表明 NKA 酶活性受到了低温的影响, 这可能是由于在低温环境初期, NKA 酶对反应离子和底物的亲和力降低所致。6 h 至横裂间期, NKA 酶活性与 0 h 时无显著差异并基本保持稳定。在实验开始后 48 h 内各渗透压调节基因趋于稳定, 表明螅状体基本适应了环境变化。

横裂间期及横裂期是螅状体产生碟状体的重要阶段, 本实验中从横裂间期开始螅状体的渗透压调节基因表达量逐渐发生变化。横裂间期 AQP9、VHA 基因表达量显著上升, 横裂期 NKA、VHA、AQP4 及 AQP9 基因表达量显著上升, NKA 酶活性在横裂期也显著上升, 而 NKCC 和 CA 基因表达量无显著变化。螅状体横裂生殖过程是螅状体内物质快速转运和能量消耗的过程, 螅状体线粒体合成 ATP 为 NKA 和 VHA 等离子泵活动提供能量, 同时释放 CO₂。VHA 通过 ATP 水解释放的能量, 以 H⁺ 泵的形式调节细胞内 pH 值; CA 则是细胞内逆催化 CO₂ 水合过程进而调节胞内 pH 值的关键酶^[17]。实验中 VHA 基因表达量显著上升而 CA 基因表达量无显著变化, 表明在横裂生殖过程中, 细胞内 VHA 与 CA 协作通过 VHA 主动运输将 H⁺ 排出细胞外, 形成跨膜质子电化学梯度, 促进 CA 催化细胞内 CO₂ 水合反应, 促进线粒体产生 ATP, 为离子主动运输提供能量, 进而影响横裂生殖过程的细胞内离子平衡。NKCC 转运蛋白与 NKA 酶协同调节机体内部离子浓度。NKA 酶的作用是排出 Na⁺ 防止细胞肿胀, 而 NKCC 作用正好相反, 它依靠 NKA 酶建立起的细胞内外电势差, 为 Na⁺ 进入细胞提供驱动力, 并为 Cl⁻ 和水分子进入细胞创造条件。实验中 NKA 表达量显著上升而 NKCC 表达量无显著变化, 表明横裂过程中 NKA 向细胞外排出 Na⁺, 以快速降低胞内外离子浓度差, 但未建立起适宜 NKCC 的电化学梯度。AQP4 和 AQP9 表达量显著变化暗示螅状体在横裂过程中体内伴随着水及多种中性溶质的快速转运。另有研究发现 AQP9 基因在生殖细胞发生发育过程中也发挥着重要作用^[18]。研究发现, 脊椎动物生精细胞拥有 Ca²⁺ 激活的 K⁺ 通道, 受精过程中 Ca²⁺ 会有暂时性升高, 并促进精子与卵子融合^[13]。另有研究发现, 小鼠囊胚发育过程中, 需要一定浓度的离子浓度^[19]。螅状体在产生碟状体的过程中, 可能也存在细胞膜超极化和离子快速转运; 碟状体在母体上发育早期, 可能也需要一定的离子浓度, 导致螅状体在横裂生殖的过程中存在体内离子再平衡的过程。

4 结语

低温正常盐度条件下, VHA、NKCC 和 CA 部分渗透压调节基因会受到初期温度变化的影响, 48 h 内

各渗透压调节基因趋于稳定,螅状体基本适应了环境变化。在横裂前期渗透压调节相关基因及 NKA 酶活性基本保持稳定。螅状体横裂间期及横裂期,渗透压调节相关基因表达量及 NKA 酶活性显著上升,螅状体横裂生殖过程中体内离子平衡发生着显著变化。

参考文献:

- [1] Hurst T P, Conover D O. Effects of temperature and salinity on survival of young-of-the-year Hudson River striped bass (*Morone saxatilis*): Implications for optimal overwintering habitats[J]. Canadian Journal of Fisheries & Aquatic Sciences, 2002, 59(5): 787-795.
- [2] Charmantier G. Ontogeny of osmoregulation in crustaceans: A review[J]. Invertebrate Reproduction & Development, 1998, 33: 177-190.
- [3] Jensen M K, Madsen S S, Kristiansen K. Osmoregulation and salinity effects on the expression and activity of Na⁺, K⁺-ATPase in the gills of European sea bass, *Dicentrarchus labrax* (L.) [J]. The Journal of Experimental Zool, 1998, 282(3): 290-300.
- [4] Péqueux A. Osmotic regulation in crustaceans[J]. Journal of Crustacean Biology, 1995, 15(3): 536.
- [5] Lingrel J B. Na, K-ATPase: Isoform structure, function, and expression[J]. Journal of Bioenergetics & Biomembranes, 1992, 24(3): 263-270.
- [6] Kahle K T, Simard J M, Staley K J, et al. Molecular mechanisms of ischemic cerebral edema: Role of electroneutral ion transport [J]. Physiology, 2009, 24(4): 257-265.
- [7] Dechant R, Binda M S, Pelet S, et al. Cytosolic pH is a second messenger for glucose and regulates the PKA pathway through V-ATPase[J]. EMBO J, 2011, 29(2): 2515-2526.
- [8] Dechant R, Saad S, Ibáñez A J, et al. Cytosolic pH regulates cell growth through distinct GTPases, Arf1 and Gtr1, to promote Ras/PKA and TORC1 activity[J]. Molecular Cell, 2014, 55(3): 409-421.
- [9] Holm L, Jahn T, Mller A, et al. NH₃ and NH₄⁺ permeability in aquaporin-expressing *Xenopus oocytes*[J]. Pflügers Archiv, 2005, 450(6): 415-428.
- [10] Robinson D G, Sieber H, Kammerloher W, et al. PIP1 Aquaporins are concentrated in plasmalemmasomes of *Arabidopsis thaliana* Mesophyll[J]. Plant Physiology, 1996, 111(2): 645-649.
- [11] Scorrano S, Aglieri G, Boero F, et al. Unmasking *Aurelia* species in the Mediterranean Sea: An integrative morphometric and molecular approach[J]. Zoological Journal of the Linnean Society, 2016, 180: 243-267.
- [12] 邢永泽, 张梅, 甄毓, 等. 盐度对不同温度下海月水母螅状体存活和无性繁殖的影响[J]. 应用生态学报, 2019, 30(6): 2087-2092.
Xing Y Z, Zhang M, Zhen Yu, et al. Effects of salinity on the survival and asexual reproduction of *Aurelia coerulea* polyps at different temperatures[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2019, 30(6): 2087-2092.
- [13] 苑洋洋. 精子特异性离子通道的生理与毒理作用研究[D]. 南昌: 南昌大学, 2020.
Yuan Y Y. Studies on Physiological and Toxicological Effects of Sperm-Specific Ion Channels[D]. Nanchang: Nanchang University, 2020.
- [14] 王国善. 海月水母响应环境低氧的分子机制研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014.
Wang G S. The Research on the Molecular Mechanisms of Hypoxia Response in *Aurelia* sp.1[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2014.
- [15] 张晨捷, 施兆鸿, 王建钢, 等. 盐度影响海水硬骨鱼类渗透压调节机理的研究与展望[J]. 海洋渔业, 2013, 35(1): 108-116.
Zhang C J, Shi Z H, Wang J G, et al. On salinity-related effects on osmoregulation mechanism in marine teleost[J]. Marine Fisheries, 2013, 35(1): 108-116.
- [16] 王悦如, 李二超, 龙丽娜, 等. 中华绒螯蟹对盐度变化的适应及其渗透压调节的研究进展[J]. 海洋渔业, 2011, 33(3): 352-360.
Wang Y R, Li E C, Long L N, et al. Review on the osmoregulation and adaptation to salinity changes of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*[J]. Marine Fisheries, 2011, 33(3): 352-360.
- [17] Esbaugh A J, Perry S F, Bayaa M, et al. Cytoplasmic carbonic anhydrase isozymes in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*: Comparative physiology and molecular evolution[J]. Journal of Experimental Biology, 2005, 208(10): 1951-1961.
- [18] 屈春风, 李胜, 李卉, 等. 水牛水通道蛋白 9 基因克隆及其表达分析[J]. 中国畜牧兽医, 2015(7): 1621-1629.
Qu C F, Ling S, Li H, et al. Cloning of buffalo *AQP9* gene and analysing its expression in the buffalo tissues[J]. China Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2015(7): 1621-1629.
- [19] 喻琳麟, 胡颖, 张金虎, 等. 17 β -雌二醇快速诱导静止状态小鼠囊胚细胞胞内钙离子增加[J]. 细胞生物学杂志, 2007, 29(4): 569-572.
Yu L L, Hu Y, Zhang J H, et al. Rapid effects of estrogen on intracellular calcium of mouse dormant blastocyst[J]. Chinese Journal of Cell Biology, 2007, 29(4): 569-572.

(下转第 127 页)

- [23] Le P, Huynh N V, Ho V. Classification results for Kirchhoff equations in $\mathbf{R}^N$ [J]. Complex Var Elliptic Equations, 2018, 64: 1146-1157.
- [24] Huynh N V, Le P, Nguyen D P. Liouville theorems for Kirchhoff equations in $\mathbf{R}^N$ [J]. J Math Phys, 2019, 60; DOI: <https://doi.org/10.1063/1.5096238>.

Nonexistence of Positive Stable Solutions for a Weighted Kirchhoff Equation

Cao Yuefan, Fang Zhongbo

(School of Mathematical Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266100, China)

Abstract: This article is devoted to researching on the nonexistence of positive stable solutions for a weighted Kirchhoff equation

$$-\left(a+b\int_{\mathbf{R}^N}\omega_1(x)|\nabla u|^2dx\right)\operatorname{div}(\omega_1(x)\nabla u)=\omega_2(x)|u|^{q-1}u, x\in\mathbf{R}^N.$$

By Combining the method of experimental function, the technique of truncation and the contrary argument, we establish the nonexistence theorems and some related corollaries of positive stable solutions when the weighted functions $\omega_1(x)$ and $\omega_2(x)$ satisfy appropriate conditions in weighted Sobolev space.

Key words: Kirchhoff equations; weighted functions; positive stable solution; nonexistence

AMS Subject Classification: 35J60

责任编辑 朱宝象

(上接第 23 页)

Expression of Osmoregulation Genes and Enzyme Activity in Strobilation Process of *Aurelia coerulea* Polyps

Xing Yongze^{1,2}, Qiao Ying², Mi Tiezhu³, Zhen Yu³

(1. Guangxi Key Lab of Mangrove Conservation and Utilization, Guangxi Mangrove Research Center, Guangxi Sciences Academy, Beihai 536000, China; 2. Fourth Institute of Oceanography, Ministry of Natural Resources, Beihai 536000, China; 3. College of Environmental Science and Engineering, Ocean University of China, Qingdao 266100, China)

Abstract: Strobilation is an important stage for the ephyrae production from polyps of the jellyfish, *Aurelia coerulea*. For the better understanding of the osmotic regulation change during the strobilation process, the expression changes of the osmoregulation genes such as $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ (NKA), Vavular-type ATPase (VHA), $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-2Cl}^-$ cotransporter (NKCC), Carbonic anhydrase (CA), Aquaporin4 (AQP4) and Aquaporin9(AQP9) were analyzed. The results showed that the expression levels of VHA, NKCC and CA gene significantly increased within 12 h under the condition of low temperature and normal salinity, and the expression levels of each osmoregulation genes tended to be stable within 48 h after the experiment. The NKA, AQP4 and AQP9 gene showed no significantly changes during the pre-strobilation stage, while the expression of AQP9 and VHA increased significantly during the strobilation interphase. The expression of NKA, VHA, AQP4, AQP9 gene and NKA enzyme activity increased significantly in strobilation stage. In conclusion, the results suggest the existence of the ion rebalance in the strobilation process of the *A. coerulea* polyps.

Key words: *Aurelia coerulea*; polyps; strobilation; osmoregulation; gene-expression

责任编辑 高 蓓