

# 盐碱地渗水钙镁离子对凡纳滨对虾酶活力的影响

刘存歧 刘丽静 王军霞 张亚娟

(河北大学生命科学学院 保定 071002)

**摘要** 研究了盐碱地渗水中不同钙镁离子总量、不同钙镁离子比例对凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 的存活、生长和体内谷草转氨酶 (GOT)、谷丙转氨酶 (GPT)、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{三磷酸腺苷酶} (\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase})$  等 3 种酶活力的影响。实验用水盐度保持在 5‰, 钙镁总量分别为 300、600、900 mg/L, 钙镁离子比例梯度 1:1、1:3、1:5、1:7、1:9、1:11。经过 20 d 的养殖实验, 结果表明, 当钙镁总量为 600 mg/L 时, 凡纳滨对虾的存活及生长、3 种酶活力表现最佳, 在此钙镁总量条件下, 钙镁离子比为 1:5 和 1:7 时其存活率和体长、体重增加率较高, 而钙镁离子比例为 1:3 和 1:5 时具有较高的酶活力。综合以上研究结果, 在 5‰ 的盐度下, 使钙离子和镁离子浓度分别保持在 100 mg/L 和 500 mg/L 的养殖用水, 能够保证凡纳滨对虾的存活和最佳生长, 证明经适当调配的盐碱地渗水养殖凡纳滨对虾是可行的。

**关键词** 凡纳滨对虾 盐碱地渗水  $\text{Ca}^{2+}$ ;  $\text{Mg}^{2+}$  生长 酶活性

中图分类号: Q178.1 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2007)02-129-05

## Effects of $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ in Brackish Water from Saline-Alkaline Area on Enzymatic Activities of American White Shrimp

LIU Cun-Qi LIU Li-Jing WANG Jun-Xia ZHANG Ya-Juan

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

**Abstract** The experiment was conducted for determining the effects of  $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+} / \text{Mg}^{2+}$  in brackish water from saline-alkali area on survival, growth and activities of enzymes (glutamic oxaloacetic transaminase, GOT, glutamic-pyruvic transaminase, GPT,  $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ ) of American White Shrimp (*Litopenaeus vannamei*). The shrimps were cultured under condition of salinity 5‰ and a gradient concentration of  $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$  (300, 600, 900 mg/L),  $\text{Ca}^{2+} / \text{Mg}^{2+}$  (1:1, 1:3, 1:5, 1:7, 1:9, 1:11) for 20 days. The results showed that the survival rate, growth rate and activities of enzymes of the shrimps were remained highest when  $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$  concentration was 600 mg/L; the shrimps had higher survival rate and growth rate under the ratio of  $\text{Ca}^{2+} / \text{Mg}^{2+}$  from 1:5 to 1:7, and had higher enzymatic activities under the ratio of  $\text{Ca}^{2+} / \text{Mg}^{2+}$  from 1:3 to 1:5. In conclusion, the optimal concentrations of  $\text{Ca}^{2+}$  and  $\text{Mg}^{2+}$  were 100 mg/L and 500 mg/L, respectively. So it is feasible to culture the shrimps in improved brackish water from saline-alkali area.

**Key words** *Litopenaeus vannamei*; Saline-alkali area brackish water;  $\text{Ca}^{2+}$ ;  $\text{Mg}^{2+}$ ; Growth; Enzyme activity

凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 俗称南美白对虾, 是当今国际上公认的最有前途的海水养殖品种之一, 该虾具有适应性强、生长快、抗逆能力强、品质好等优点, 与中国明对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 斑节对虾 (*Penaeus monodon*) 并称为世界三大高产养殖虾种<sup>[1]</sup>。近年来, 对虾流行性疾病一直困扰着我国养殖业, 为了切断病毒的传播途径和有效利用盐碱地资源, 人们利用凡纳滨对虾广盐性的特点开始用内陆盐碱地渗水进行该虾的养殖试验<sup>[2-4]</sup>。但盐碱地渗水既不同于自然海水, 也不同于地下水, 是一类水质较为复杂、生态环境非常脆弱的荒水。盐碱地渗水的化学特性, 主要表现在盐碱度较高, 缓冲性能差, 与海水相比水中离子比例失调, 有些离子缺乏甚至严重缺乏<sup>[5]</sup>。不同地区盐碱地水中的离子差异也非常明显。在未经调配的盐碱地渗水中对虾不能存活, 因此养殖之前必须找出影响对虾生长的关键离子, 如在黄河三角洲盐碱地渗水中加入一定量的钾离子能够提高凡纳滨对虾的存活率<sup>[2]</sup>。河北省沧州地区有丰富的盐碱地资源, 如果利用其养殖凡纳滨对虾, 不仅能够减少养殖过程中流行性病毒的侵扰, 也会为发展当地农业生产起到重要的促进作用。经作者对比该地盐碱地渗水和自然海水的离子比发现, 钙镁浓度和比例在两者之间存在极大的差异, 可能是影响凡纳滨对虾生长的关键因子, 因此进行了本项养殖实验。关于  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  对凡纳滨对虾存活及生长影响的研究仅见陈昌生等<sup>[6]</sup>的报道, 该研究是在蒸馏水的基础上添加不同量的离子进行的, 着重探讨了  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  及二者之间的相互关系对凡纳滨对虾生长和存活的影响, 但未进行  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  含量对凡纳滨对虾体内代谢酶的影响等方面的研究。本实验试图通过对盐碱地渗水进行稀释调配, 设立不同钙镁离子总量和不同钙镁比例并进行养殖实验, 研究不同钙镁离子总量和离子比例对凡纳滨对虾存活与生长及体内代谢酶的影响, 摸索出调配盐碱地渗水的最佳钙镁离子总量和配比, 进而探讨钙镁离子的作用机制。

## 1 材料与方法

**1.1 实验材料** 实验用凡纳滨对虾购自河北沧州, 为体长 2.6 ~ 3.0 cm 的幼虾。在河北大学水生生物研究所养殖室人工海水条件下进行驯养, 并逐渐降低海水盐度至 5‰, 以备实验。盐碱地渗水取自河北省黄骅市羊二庄盐碱地, 盐度 23‰, pH 8.7,  $\text{Ca}^{2+}$  含量为  $(104.72 \pm 3.399)$  mg/L,  $\text{Mg}^{2+}$  含量为  $(1239.22 \pm 15.3959)$  mg/L, 与自然海水存在很大差别。实验用  $\text{CaCl}_2$ 、 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  均为分析纯,  $\text{NaCl}$  为食用碘盐。

**1.2 实验用水梯度的设置** 根据预实验以及陈昌生等<sup>[6]</sup>的实验确定凡纳滨对虾的  $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$  耐受范围为 250 ~ 1100 mg/L, 从而确定本实验的  $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$  的大致浓度范围, 设置 300、600、900 mg/L 3 个钙镁离子总量, 钙镁离子比例分别为 1:1、1:3、1:5、1:7、1:9、1:11, 设置 18 个不同的实验组合, 每个组合设两个平行。养殖用水为曝气自来水和盐碱地渗水的混和水, 根据盐碱地渗水和曝气自来水中的离子浓度, 添加  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  来完成。实验前, 逐渐降低养殖用水盐度并进行驯化, 驯化一周达到养殖实验条件: 盐度为 5‰, pH  $8.0 \pm 0.2$ , 养殖期间水温保持  $(25 \pm 3)$  °C。实验在 35 cm × 15 cm × 25 cm 的水族缸内进行, 每缸养虾 30 尾, 平行缸相同。每天换水 1/3, 投喂人工虾饲料, 养殖实验进行 20 d (2005 年 8 月 1 日 ~ 8 月 21 日), 实验结束后测定实验虾的存活率、生长率、增重率。用液氮冷冻凡纳滨对虾以整虾做酶活测定。

**1.3 存活率、体长增长率和体重增长率的测定**

分别测定实验前后虾的存活数量、体长和体重, 存活率、生长率和增重率分别按下列公式进行计算:

$$\text{存活率} = (\text{实验终对虾尾数} / \text{实验初始对虾尾数}) \times 100\%$$

$$\text{体长增长率} = [(\text{实验终对虾平均体长} - \text{实验初始对虾平均体长}) / \text{对虾初始平均体长}] \times 100\%$$

$$\text{体重增长率} = [(\text{实验终对虾平均体重} - \text{实验初始对虾平均体重}) / \text{对虾初始平均}$$

体重]  $\times 100\%$

**1.4 三种酶比活力的测定** GPT 和 GOT 的测定以丙酮酸做标准,采用赖氏比色法<sup>[7]</sup>测定转氨酶的活性。GPT 的作用底物为丙氨酸和  $\alpha$ -酮戊二酸, GOT 的作用底物为天冬氨酸及  $\alpha$ -酮戊二酸。以丙酮酸的生成量换算为转氨酶的活性单位。用考马斯亮蓝法<sup>[8]</sup>测定蛋白含量,以每毫克蛋白在 37℃、pH 7.4 时每产生 1  $\mu\text{mol/L}$  丙酮酸为一个酶活单位 U ( $\mu\text{mol/L}$ ) / mg pr. min。Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 的测定定采用 Whealy 等<sup>[9]</sup>的方法,通过测定全酶反应体系和 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 的活力被乌本苷抑制反应体系中底物 ATPNa<sub>2</sub> 释放出无机磷 (Pi) 量的差值来计算酶活力单位 U 采用  $\mu\text{mol Pi/mg pr. h}$  表示。粗酶液蛋白含量采用考马斯亮蓝法测定。

**1.5 数据处理** 对所得数据用软件 SPSS (11.5) 进行显著性检验,不同钙镁离子总量实

验组之间的比较采用配对样本方法检验,在每一钙镁离子总量下不同离子比例实验组的比较采用 *t*-检验。

## 2 结果与分析

**2.1 钙镁离子总量和不同离子比例对凡纳滨对虾存活和生长的影响** 从表 1 可以看出钙镁离子总量对凡纳滨对虾的存活和生长存在明显的影响。钙镁总量 ( $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$ ) 为 600 mg/L 的实验组,存活率、体重增长率和体长增长率平均值都显著高于 300 mg/L ( $P < 0.05$ ) 和 900 mg/L 组 ( $P < 0.05$ ),且当  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  为 1:5 和 1:7 时达到最佳。总量为 900 mg/L 的实验组虽然在较大  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  时存活和生长指标都较高,但随着  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  的降低,存活率和体重、体长增长率都迅速降低,并在 1:9 和 1:11 时实验虾个体全部死亡。

表 1 钙镁离子总量和不同离子浓度对凡纳滨对虾存活和生长的影响

离子 比例	存活率 (%)			体重增长率 (%)			体长增长率 (%)		
	300 (mg/L)	600 (mg/L)	900 (mg/L)	300 (mg/L)	600 (mg/L)	900 (mg/L)	300 (mg/L)	600 (mg/L)	900 (mg/L)
1:1	36.7±5.2	93.3±9.2	86.7±9.4	2.04±0.29	42.3±0.74	68.8±0.68	2.15±0.30	4.34±0.63	2.57±1.37
1:3	46.7±6.6	93.3±9.2	90.0±2.4	2.40±0.34	56.8±0.82	61.6±0.06	2.30±0.33	5.90±0.63	6.94±3.58
1:5	46.7±6.6	96.7±4.9	43.3±7.1	2.42±0.34	48.6±0.58	14.9±1.01	2.90±0.41	6.40±0.46	1.76±1.24
1:7	43.3±6.1	96.7±4.7	46.7±1.5	3.09±0.44	64.5±0.56	22.3±1.67	3.25±0.46	7.14±0.03	1.57±1.11
1:9	93.3±6.1	93.3±0.0	0.0±0.0	3.03±0.26	53.9±0.52	0.00±0.00	4.29±0.53	6.62±0.33	0.00±0.00
1:11	86.7±6.1	93.3±9.2	0.0±0.0	3.37±0.07	27.3±0.42	0.00±0.00	3.43±0.06	5.17±0.29	0.00±0.00

**2.2 钙镁离子总量和不同离子比例对凡纳滨对虾体内三种酶活性的影响** 钙镁离子总量对 GPT 酶活力影响表现为各实验组随着  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  比例的降低逐渐增高,在比例为 1:3 时有最大的酶活力,然后逐渐降低,其中钙镁总量为 600 mg/L 的实验组明显高于其他两组 ( $P < 0.05$ ) (图 1)。GOT 酶活力表现为在钙镁总量为 300 mg/L 时随  $\text{Ca}^{2+}/\text{Mg}^{2+}$  下降而逐渐升高,总量为 600 mg/L 时酶活力达到最高,而钙镁离子比例对其酶活力影响较小,而在 1:3 和 1:5 时有一个最高值,并显著高于其他比例组 ( $P < 0.05$ ),总量 900 mg/L 组各比例组的 GOT 酶活力较小(图 2)。Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 酶活力,总量为

600 mg/L 组明显高于另外两组 ( $P < 0.05$ ),同样在钙镁离子比为 1:3 和 1:5 时,酶活力最高(图 3)。

## 3 讨论

**3.1 钙镁离子对凡纳滨对虾存活和生长的影响** 钙镁离子是维持甲壳动物渗透压的重要元素,雷衍之<sup>[10]</sup>认为虾蟹养殖用水的钙镁离子比例应控制在 1:(2.5~3.0)。河蟹 (*Eriocheir sinensis*) 育苗用水钙离子和镁离子应分别控制在 178~340 mg/L 和 484~816 mg/L 的浓度范围内<sup>[11]</sup>;罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 的最佳钙镁离子浓度分别为 190~300 mg/L,钙镁离

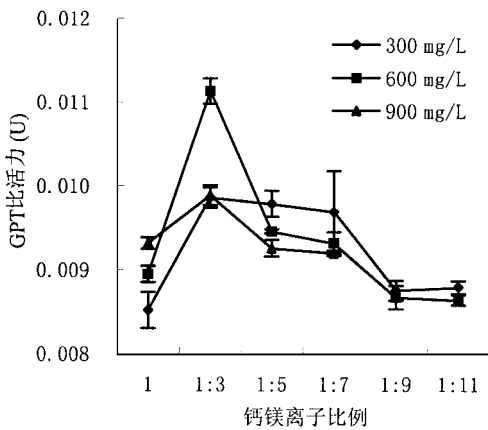


图1 钙镁离子总量和不同离子比例对凡纳滨对虾体内谷丙转氨酶活力的影响

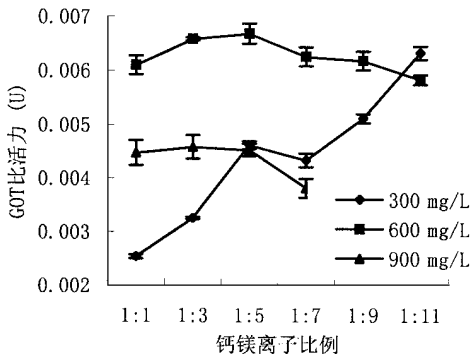


图2 钙镁离子总量和不同离子比例对凡纳滨对虾体内谷草转氨酶活力的影响

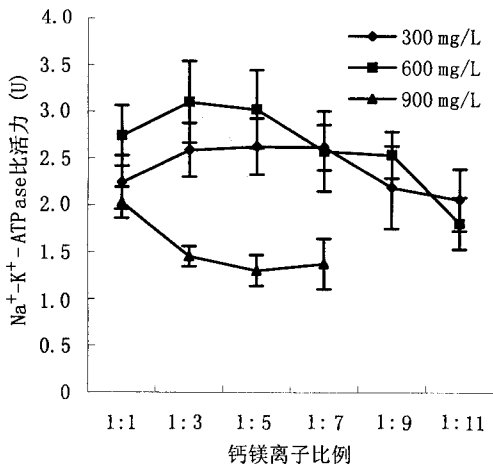


图3 钙镁离子总量和不同离子比例对凡纳滨对虾体内Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase酶活力的影响

子比为 1:(1.9 ~ 3.0)<sup>[12]</sup>;适于长毛对虾 (*Penaeus penicillatus*) 的钙镁离子比为 1:(3.0 ~ 3.15)<sup>[13]</sup>。由此可见不仅离子总量影响甲壳动物的存活和生长,合适的钙镁比例也是重要的影响因素。

自然海水钙镁离子比例为 1:3.14<sup>[14]</sup>,与自然海水相比,在未处理的盐碱地渗水中,钙镁总量远远超过 900 mg/L,钙镁离子比为 1:11.8,凡纳滨对虾个体在其中完全不能存活。但经过 Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup> 配兑的盐碱地渗水中,凡纳滨对虾可以存活,说明 Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup> 是凡纳滨对虾在盐碱地渗水条件下存活的关键因子。实验结果表明, Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup> 总量为 600 mg/L 时,凡纳滨对虾的存活和生长较好,适于凡纳滨对虾存活的 Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup> 的浓度范围很广,分别为 25 ~ 225 mg/L 和 270 ~ 625 mg/L,与其他虾蟹类研究结果类似<sup>[10-13]</sup>,这也说明甲壳动物对水中钙镁离子需求的一致性。除了钙镁离子总量外,实验结果还显示 Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> 对凡纳滨对虾的存活也有重要的影响。钙镁总量 600 mg/L 时各实验组都保持较高的存活率, Ca<sup>2+</sup>/Mg<sup>2+</sup> 比例 1:5 时存活率最高,生长率也表现最高,此结果与甲壳动物虾蟹常规养殖用水钙镁离子为 1:3 有差异,可能是盐碱地渗水条件下,凡纳滨对虾的生存不仅取决于钙镁离子含量和比例,也可能受到其他离子缺乏的影响,进而影响了凡纳滨对虾对 Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup> 的需求。

### 3.2 Ca<sup>2+</sup>、Mg<sup>2+</sup> 对凡纳滨对虾酶活力的影响

三磷酸腺苷酶(ATPase)是一族酶,它是 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> 泵、Ca<sup>2+</sup> 泵、H<sup>+</sup> 泵的构成成分,在物质的跨膜转运中是一种非常重要的酶,其中 Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase 普遍存在于动物细胞膜上,是生物体内重要的水解酶,其基本功能是催化 ATP 末端的磷酸水解,并利用该反应产生的自由能对抗电化学梯度,进行 Na<sup>+</sup>、K<sup>+</sup> 的主动运输,因而它在维持细胞内外离子平衡的过程中起重要作用。谷草转氨酶(GOT)和谷丙转氨酶(GPT)是广泛存在于动物细胞线粒体中重要的氨基转移酶,在机体蛋白质代谢中起着重要的作用<sup>[15]</sup>。由于上述酶活性的高低直接影响着离子的转

运、能量供给与合成代谢,酶活性可作为检测水中离子浓度是否适合对虾存活与生长发育的重要指标,以判断对虾的机能状态。从本实验看,较总量为 300 和 900 mg/L 的实验组相比,当钙镁离子总量为 600 mg/L 时, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 、GPT 和 GOT 的平均酶活性都较高,而其中钙镁离子比例为 1:3 和 1:5 时活性较高,与对虾存活和生长表现接近一致。

潘鲁青等<sup>[15]</sup>研究了重金属离子对凡纳滨对虾 GOT、GPT 的毒性作用,认为 GOT、GPT 活力的降低反映了机体蛋白质代谢受阻和组织结构受到伤害,本实验结果显示  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  总量 600 mg/L 时,GOT、GPT 的比活力高于 300 mg/L 和 900 mg/L,这也说明凡纳滨对虾的生长需要一个适合的  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  总量以及比值,过高或过低的离子总量可能会导致转氨酶的功能基团与其激活离子的结合受阻,从而引起酶活的变化甚至酶的失活,进一步影响凡纳滨对虾蛋白质代谢。外在表现为对凡纳滨对虾的存活和生长的影响。 $\text{Mg}^{2+}$  是  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  的激活剂,中华绒螯蟹鳃上皮  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  活性最高时需要的  $\text{Mg}^{2+}$  浓度为 144 mg/L<sup>[16]</sup>,海滨紫蟹<sup>[17]</sup>则需要 240 mg/L,淡水螯虾和罗氏沼虾<sup>[18]</sup>分别只需要 54 mg/L 和 60 mg/L 的  $\text{Mg}^{2+}$  即可达到酶活性最高。本实验结果  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  酶活力最高出现在  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  总量 600 mg/L 比值 1:3 时,较上述研究结果高,可能的原因是海水或咸水离子之间的相互作用较淡水更为复杂, $\text{Ca}^{2+}$  等其他离子的存在有可能影响到  $\text{Mg}^{2+}$  对  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  的激活作用,因此造成  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  对  $\text{Mg}^{2+}$  的需求较淡水高。

总之,从不同钙镁离子对凡纳滨对虾的存活和生长还是体内代谢酶的影响来看,在 5‰ 的盐度下,使钙离子和镁离子总量保持在 600 mg/L,离子比例为 1:5 的养殖用水,能够保证凡纳滨对虾的存活和最佳生长,超过此范围可能就会给对虾带来胁迫,从而影响存活和生长。本实验也证实了对盐碱地渗水进行离子调配,养殖凡纳滨对虾是可行的。

## 参 考 文 献

- [1] 张伟权. 世界重要养殖品种——南美白对虾生物学简介. 海洋科学, 1990 (3): 69~74.
- [2] 李鲁晶, 王春生, 朱丰锡. 盐碱地渗水调配养殖南美白对虾技术. 齐鲁渔业, 2002 (11): 6~7.
- [3] 赵丙彦, 匡柏林, 扈胜吉. 盐碱地池塘养殖南美白对虾技术总结. 河南水产, 2002 (1): 20~21.
- [4] 张延河. 盐碱地池塘养殖南美白对虾高产高效技术. 齐鲁渔业, 2006 23(2): 25.
- [5] 王慧. 盐碱地水产养殖技术 100 问(一). 河北渔业, 2006 (2): 27~28.
- [6] 陈昌生, 纪德华, 王兴标.  $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$  对凡纳滨对虾存活及生长的影响. 水产学报, 2004 28(4): 413~418.
- [7] 袁玉荪, 朱婉华, 陈钧辉. 生物化学实验. 北京: 高等教育出版社, 1988: 217~223.
- [8] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Anal Biochem*, 1976, 7(2): 248~254.
- [9] Whealty M G, Hentry R P. Branchial and antennal  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -dependent ATPase and carbonic anhydrase activity during salinity acclimation of the euryhaline crayfish *Pacifastacus leniusculus*. *J Exp Biol*, 1987, 133: 73~86.
- [10] 雷衍之. 淡水养殖水化学. 南宁: 广西科学技术出版社, 1993: 76~77.
- [11] 臧维玲, 江敏, 戴习林. 中华绒螯蟹育苗用水中  $\text{Mg}^{2+}$  和  $\text{Ca}^{2+}$  含量及  $\text{Mg}^{2+}$  和  $\text{Ca}^{2+}$  对出苗率的影响. 水产学报, 1998 22(2): 111~116.
- [12] 陆景天, 林惠山. 罗氏沼虾规模性育苗用水水质标准及水质优化技术. 水产科技情报, 2001 29(4): 159~160.
- [13] 徐国成, 李庭古, 李士虎.  $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  对长毛对虾仔虾生长和存活率的影响. 现代渔业信息, 2002, 17(4): 18~20.
- [14] 李爱英. 海水化学. 北京: 农业出版社, 1991: 161~174.
- [15] 潘鲁青, 吴众望, 张红霞. 重金属离子对凡纳滨对虾组织转氨酶活力的影响. 中国海洋大学学报, 2005 35(2): 195~198.
- [16] 吕富, 潘鲁青, 任加云. 中华绒螯蟹鳃上皮  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  性质的研究. 海洋湖沼通报, 2004 (3): 47~53.
- [17] Corotto F S, Holliday C W. Branchial  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  and osmoregulation in the purple shore crab *Hemigrapsus nudus* (Dana). *Comp Biochem Physiol A*, 1996, 113: 361~368.
- [18] Stern S, Bacat A, Cahern D. Characterization of  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$  from the gills of the fresh water prawn *Macrobrachian rosenbergii* (De Man). *Comp Biochem Physiol B*, 1984, 79: 47~50.