

文章编号:1000-0615(2008)05-758-07

pH 变化对日本囊对虾仔虾离子转运酶活力和存活、生长的影响

张林娟, 潘鲁青, 栾治华

(中国海洋大学海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003)

摘要: 研究了 pH 变化对日本囊对虾 (*Marsupenaeus japonicus*) 仔虾离子转运酶 (ATPase、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 、V-ATPase 和 $\text{HCO}_3^- - \text{ATPase}$) 活力和存活、生长的影响。结果表明: pH (7.1、7.6←8.1→8.6、9.1) 变化对日本囊对虾仔虾离子转运酶活力和存活率、体质量增重率的影响显著 ($F > F_{0.05}$), 而对照组无明显变化。各处理组仔虾 ATPase、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力在 72 h 内呈峰值变化, 于 24 h 时达到最大值, 至 72 h 后趋于稳定, 稳定后 ATPase 活力和对照组差异显著, 与 pH 值呈负相关, 而 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力则恢复至对照组水平; 仔虾 V-ATPase 和 $\text{HCO}_3^- - \text{ATPase}$ 活力随着 pH 变化的增加而变化增大, 24 h 后保持稳定, 且与 pH 值呈负相关。在实验梯度范围内, pH 7.6、8.6 处理组与对照组仔虾存活率差异不显著, 且 pH 8.6 处理组仔虾体质量增重率与对照组也无明显差异。建议日本囊对虾仔虾 pH 变化范围不应大于 0.5。

关键词: pH; 日本囊对虾仔虾; 离子转运酶; 存活; 生长

中图分类号: S917 **文献标识码:** A

pH 是对虾养殖环境中重要的环境因子, 常因大量换水、阴天暴雨和浮游植物优势种群的突然改变或消失等因素影响而变化, 尤其在盐碱地池塘养殖中, 易滋生杂草、青苔等造成 pH 偏高。在虾苗淡化和放养过程中, 因 pH 变化常导致对虾存活率下降, 生长缓慢, 渗透调节功能受损, 甚至出现病害暴发、大量死亡等现象。因此, 对虾健康养殖面临的主要问题是对其生理适应性以及存活与生长, 这些都与对虾的渗透调节生理直接相关, 而有关这方面的研究往往被忽视。

甲壳动物的渗透调节机制一直是国内外学者研究的热点, 在离子转运调控^[1-7]、血淋巴渗透压调节^[8-9] 以及神经内分泌调控^[10-11] 等方面均已取得了重要成果, 而有关对虾渗透生理适应性方面的研究甚少。本文研究了 pH 变化对日本囊对虾仔虾离子转运酶 (ATPase、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 、V-ATPase 和 $\text{HCO}_3^- - \text{ATPase}$) 活力和

存活、生长的影响, 探讨了对虾渗透生理适应机制, 提出了对虾仔虾在 pH 变化下渗透生理适应性指标, 为日本囊对虾养殖水环境调控提供了科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用日本囊对虾仔虾 2005 年 6 月购于青岛市营海对虾育苗场, 体色正常, 健康活泼, 生物体长为 0.7~0.9 cm。实验前采用自然海水暂养 3~5 d, 海水盐度为 31, pH 为 8.1, 温度为 $(20 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, 连续充气, 日换水 2 次, 换水量为 1/3-1/2, 并投喂对虾配合饲料。

1.2 实验方法

pH 梯度的设置 pH 梯度设置为 7.1、7.6、8.1、8.6、9.1, 将暂养在 pH 为 8.1 自然海水中的虾苗分别直接放到各 pH 实验梯度中, 各 pH

收稿日期: 2007-06-22

资助项目: 山东省优秀中青年科学家科研奖励基金项目(2006BS07005); 天津市农业科技成果转化与推广项目(0604020)

作者简介: 张林娟(1982-), 女, 硕士研究生, 从事甲壳动物渗透调节生理学的研究。E-mail: phy@ouc.edu.cn

通讯作者: 潘鲁青, E-mail: panlq@ouc.edu.cn

梯度采用 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 NaOH 溶液或 $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 的 HCl 溶液来调节,实验期间 pH 的变动幅度为 ± 0.1 ,以自然海水组为对照组;实验又分为离子转运酶活力和存活、生长实验两部分。

离子转运酶活力实验在 $50 \text{ cm} \times 40 \text{ cm} \times 30 \text{ cm}$ 的塑料水槽内进行,各水槽分别放健康的日本囊对虾仔虾 150~200 尾,每个梯度均设 3 个平行组。实验期间的养殖管理与暂养期间的完全相同,换水时分别加入相对应 pH 的养殖用水。取样时间为 0 h、6 h、12 h、24 h、36 h、48 h、60 h、72 h、96 h,取样时各水槽随机选取 10~15 尾仔虾,置于 1.5 mL 离心管中。所有样品均保存于 $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱内待测。

存活、生长实验在自制的控温箱内进行,每个实验容器的水体为 500 mL,放入仔虾 10 尾,不充气,实验时间为 96 h,实验结束时计数仔虾的存活率和体质量日增重率。在实验开始、结束时,分别取 3~5 尾仔虾用重蒸水冲洗 3 次, $60 \text{ }^\circ\text{C}$ 烘干至恒质量,用万分之一电子天平称质量,计算仔虾的体质量日增重率:

$$\text{体质量日增重率} = \frac{\text{终体质量} - \text{初体质量}}{\text{实验时间} \cdot \text{仔虾数量}} \quad (\mu\text{g} \cdot \text{ind}^{-1} \cdot \text{d}^{-1})$$

酶液的制备 用冰冷的提取液冲洗样品,然后加入 4 mL 预冷的提取液,冰浴中用匀浆机在 $10\,000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 转速下匀浆 5 min,匀浆液在高速冷冻离心机中以 $10\,000 \times g$ 离心 30 min,取上清液,然后再以 $10\,000 \times g$ 离心 10 min,上清液保存于 $-4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱中,8 h 内测定仔虾总 ATPase、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 、V-ATPase 和 $\text{HCO}_3^- - \text{ATPase}$ 活力。ATPase、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 和 V-ATPase 酶液提取液为 $250 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Sorbitol(山梨糖醇), $6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA, $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ tris/acetate(tris - 醋酸盐缓冲液), $0.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ DTT(二硫苏糖醇), $0.2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ PMSF(苯甲基硫酰氟), $100 \text{ U} \cdot \text{mL}^{-1}$ Aprotinin(抑酶肽), pH 7.4; $\text{HCO}_3^- - \text{ATPase}$ 酶液提取液为 $250 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 蔗糖, $0.5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ EDTA, $20 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-Hepes, pH 8.3。

离子转运酶活力的测定 酶活性的测定主要参考文献[12-13]方法,通过测定激活剂存在时(A液)与激活剂不存在时(用抑制剂代替,B液)ATP 释放出无机磷 Pi 量的差值来计算,酶活力单

位用微摩尔无机磷/毫克蛋白/小时($\mu\text{mol Pi} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$)表示。酶蛋白含量参考 Bradford^[14]方法测定。

$\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力的测定:取 0.05 mL 酶液分别加入到 1.10 mL A 液和 B 液中在 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴中培养 10 min,并以 0.05 mL 纯水代替酶液作为空白对照。然后加入 0.11 mL $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Na_2ATP ,混匀反应 15 min,加入 0.30 mL 30% TCA 终止反应,取上清液用钼蓝法测定无机磷。并以 A 液中反应液测得值作为总 ATPase 活力。(A 液 $6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgCl_2 , $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl, $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl, $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-醋酸 pH 7.4; B 液 $6 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgCl_2 , $110 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl, $5 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 乌本苷, $25 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-醋酸 pH 7.4)。

V-ATPase 活力的测定:在两支 1.5 mL 离心管中加入 847 μL 培养液($34.8 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Hepes, $173.9 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ KCl, $6.95 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgCl_2 , $0.01 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Orthovanadate (pH7.4), pH 7.0)和 37 μL 酶液,混匀平衡到 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 。分别加入 16 μL DMSO 和 16 μL Bafilomycin A_1 ,培养 10 min 后加入 0.1 mL $30 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Na_2ATP ,混匀反应 15 min 后,加入 0.15 mL 40% TCA 终止反应取上清液用钼蓝法测定无机磷。

$\text{HCO}_3^- - \text{ATPase}$ 活力的测定:取 0.05 mL 酶液分别加入到 0.85 mL A 液和 B 液中在 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴中培养 10 min 后,分别加入 0.1 mL $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Na_2ATP 并继续于 $30 \text{ }^\circ\text{C}$ 水浴中培养 15 min,最终反应体系为 1.0 mL。立即加入 1 mL 10% 冷 TCA 终止反应。用钼蓝法(Fisk *et al.*, 1925)测定两反应体系的 Pi 释放量。(A 液: $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaHCO_3 , $3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgCl_2 , $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-Hepes pH 7.8; B 液: $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaCl, $100 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ NaSCN, $3 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ MgCl_2 , $50 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ Tris-Hepes pH 7.8)。

1.3 数据分析

所有数据以 3 个重复组数据的平均值 \pm 标准差 (Means \pm SD) 表示,并采用单因素方差分析 (ANOVA) 和 Duncan 检验法统计分析。

2 实验结果

2.1 pH 变化对日本囊对虾仔虾离子转运酶活力的影响

由图 1 可知, pH 变化对日本囊对虾仔虾

ATPase、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 、 V-ATPase 和 $\text{HCO}_3^- - \text{ATPase}$ 活力均有影响显著 ($F > F_{0.05}$), 而对照组无明显变化。各处理组 ATPase、 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力在 72 h 内呈峰值变化, 于 24 h 达最大值, 至 72 h 均达到稳定, 稳定后 ATPase

活力和对照组差异显著, 与 pH 值呈负相关, 而 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力则恢复至对照组水平; 在 24 h 内, 随着 pH 变化梯度的增加仔虾 V-ATPase 和 $\text{HCO}_3^- - \text{ATPase}$ 活力变化增大, 至 24 h 后趋于稳定, 且与 pH 值呈负相关。

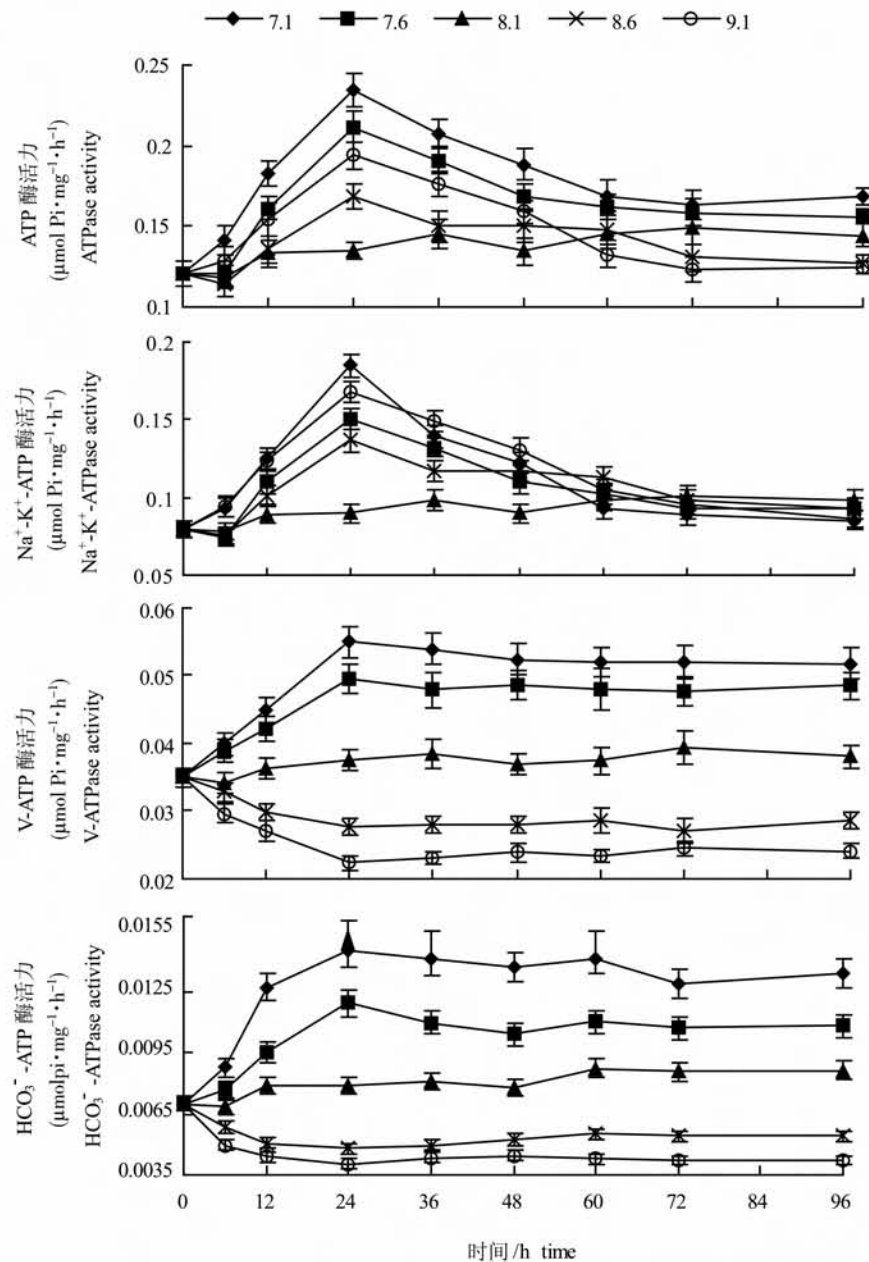


图1 pH变化对日本囊对虾仔虾离子转运酶活力的影响

Fig. 1 Effects of pH on ion-transport enzyme activities of *Marsupenaeus japonicus*

2.2 pH变化对日本囊对虾仔虾存活、生长的影响 由表1可见, pH变化(7.1、7.6←8.1→8.6、9.1)对日本囊对虾仔虾存活率、体质量增重率均有显著的影响 ($F > F_{0.05}$)。在实验梯度范围

内, pH 7.6、8.6 处理组与对照组仔虾存活率差异不显著; 而 pH 8.6 处理组仔虾体质量增重率与对照组也无明显差异, 其它处理组与对照组差异显著。

表 1 pH 变化对日本囊对虾存活率和增重率的影响

Tab. 1 Effects of pH on survival rate and weight gain of *Marsupenaeus japonicus* postlarvae

pH 梯度 pH grades	7.1	7.6	8.1	8.6	9.1
存活率(%) survival rate	72.33 ± 4.43 ^a	85.67 ± 5.7 ^{bc}	90 ± 3.37 ^c	83.33 ± 2.8 ^{bc}	80 ± 6.67 ^{ab}
体质量日增重率 ($\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$) daily body weight gain	36.22 ± 1.93 ^a	40.52 ± 1.56 ^b	52.0 ± 1.51 ^d	49.4 ± 1.69 ^d	43.67 ± 0.89 ^c

注: 数据右下角不同字母表示差异显著($F > F_{0.05}$)

Notes: Different letters indicate significant difference

3 讨论

3.1 日本囊对虾仔虾在 pH 变化下渗透生理的适应性

甲壳动物具有适应外界环境如盐度、pH 等变化的能力,主要通过血淋巴渗透压调控来维持机体正常的生命活动。甲壳动物血淋巴中 Na^+ 和 Cl^- 是形成渗透压的主要贡献者,占 80%~90%^[2],其离子调控主要依靠鳃上皮细胞膜上的多种离子转运酶的作用来完成,其中 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 维持机体 Na^+ 、 K^+ 离子平衡, V-ATPase 可进行 Na^+ / H^+ 电中性交换^[15], $\text{HCO}_3^- - \text{ATPase}$ 能协助 $\text{Cl}^- / \text{HCO}_3^-$ 交换^[13]。这说明离子转运酶在甲壳动物渗透调节生理方面起到核心作用,能反映甲壳动物对外界环境变化的渗透生理的适应能力。

许多研究表明外界盐度变化与甲壳动物鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 直接相关,并提出以鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力作为盐度变化下渗透调节生理适应性指标^[16-20]。目前关于外界环境 pH 变化对甲壳动物离子转运酶活力影响的研究甚少, Shaw^[21] 研究发现当外界的 H^+ 浓度过高时,河螯虾 (*Astacus pallipes*) 吸收外界 Na^+ 和排泄鳃上皮细胞内 H^+ 的能力同时下降, H^+ 大量内流而积聚,因此 V-ATPase 、 $\text{HCO}_3^- - \text{ATPase}$ 活力增高,促进 H^+ 排出以平衡内外环境; Breitwieser 等^[22] 发现软体动物的 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力依赖于体内 pH,且在 pH 7 时酶活力最大,很少受外界 pH 的影响。本研究表明在 pH 变化(7.1、7.6←8.1→8.6、9.1)下日本囊对虾仔虾 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力在 72 h 内呈峰值变化,之后趋于稳定且恢复至对照组水平,而仔虾 V-ATPase 、 $\text{HCO}_3^- - \text{ATPase}$ 活力变化在 24 h 内变化逐渐增大,至 24 h 后保持

稳定,且与 pH 值呈负相关,这与上述研究结果基本一致。由此表明在 pH 变化下日本囊对虾仔虾 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 虽然参与了渗透调节过程,但仔虾主要通过 V-ATPase 和 $\text{HCO}_3^- - \text{ATPase}$ 活性的变化来进行渗透调节、维持体内酸碱平衡,且变化过程具有明显的时间规律性,与 pH 变化值无关。这充分体现了日本囊对虾仔虾在 pH 变化下渗透调节的生理过程和特征,也说明 V-ATPase 和 $\text{HCO}_3^- - \text{ATPase}$ 活力可以作为评价甲壳动物对外界环境 pH 变化的渗透生理适应性指标。

3.2 pH 变化对日本囊对虾仔虾存活、生长的影响

已有研究表明水环境 pH 变化不仅直接影响对虾的渗透调节、代谢机能,而且还可影响氨氮、硫化氢和重金属离子等环境因子,进而间接影响对虾的存活、生长。Allan 等^[23] 报道在 pH 为 6.1~7.8 范围内,斑节对虾幼虾 (*Penaeus monodon*) 在 96 h 内很少有幼体死亡,而当 pH < 5.1 时 48 h 内出现大量死亡,并且将幼体分别置于 pH(7.8、7.3、6.7、6.1)、盐度(30、15)环境中适应 23 d,增重率变化均不显著;另据王维娜等^[24] 报道中国对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 在 pH ≥ 8.5 或 pH ≤ 6.0 时,2 周内幼体(20~30 mm)存活率均被显著削弱;水柏年^[25] 研究认为日本囊对虾虾苗的最适 pH 为 8.0~8.2,适应范围为 7.7~8.6。本实验表明 pH(7.1、7.6←8.1→8.6、9.1)变化对日本囊对虾仔虾的存活率、体质量增重率均有显著影响,但 pH 7.6、8.6 处理组与对照组仔虾存活率差异不显著,且 pH 8.6 处理组与对照组仔虾增重率无明显差异,这与上述研究结果基本相符。由此表明在实验 pH 梯度范围内未超出日本囊对虾仔虾的渗透调节能力,

也说明日本囊对虾仔虾的生存环境偏弱碱性,适应范围相对较窄。据林小涛等^[26]报道,当水体中的 pH 值高于或低于某一范围时,都会改变甲壳动物的呼吸活动,影响鳃从外界吸收氧的能力,进而影响其耗氧率;Chen 等^[27]发现中国对虾在 pH 为 7.0~8.5 的范围内适应 10 d 后,幼体的耗氧率随 pH 的下降而升高;据 Mauro 等^[28]对日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)的研究,在水体 pH 值较低时,它们的氨的排泄量明显增加。作者认为当外界环境 pH 发生较大变化时,对虾因在短时间内进行渗透调节,显著增加了耗氧量和能量需求,引起体内生化代谢异常,导致对虾存活率和生长明显下降,导致自身健康免疫水平下降,易诱发各种病害的发生。

综上所述,在盐碱地虾苗淡化和放养过程中,应全面分析对虾在 pH 变化下渗透生理的适应性,结合存活和生长,确定适宜的 pH 调节范围,这对于提高对虾健康养殖水平具有重要意义。建议日本囊对虾仔虾 pH 变化范围不应大于 0.5。

参考文献:

- [1] Morris S, Edwards T. Control of osmoregulation via regulation of Na^+/K^+ -ATPase activity in the amphibious purple shore crab *Leptograpsus variegatus* [J]. Comp Biochem Physiol, 1995, 112: 129-136.
- [2] Chen J C, Chia P G. Osmotic and ionic concentrations of *Scylla serrata* (Forsk l) subjected to different salinity levels [J]. Comp Biochem Physiol, 1997, 117: 239-244.
- [3] Lima A G, McNamara J C, Terra W R. Regulation of hemolymph osmolytes and gill Na^+/K^+ -ATPase activities during acclimation to saline media in the freshwater shrimp *Macrobrachium olfersii* (Wiegmann, 1836) (Decapoda, Palaemonidae) [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1997, 215: 81-91.
- [4] Onken H, Riestenpatt S. NaCl absorption across split gill lamellae of hyperregulating crabs: Transport mechanisms and their regulation [J]. Comp Biochem Physiol, 1998, 119A: 883-893.
- [5] Lucu C, Devescovi M. Osmoregulation and branchial Na^+ , K^+ -ATPase in the lobster *Homarus gammarus* acclimated to dilute seawater [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1999, 234: 291-304.
- [6] Lucu C, Devescovi M, Skaramuca B, et al. Gill Na^+/K^+ -ATPase in the spiny lobster *Palinurus elephas* and other marine osmoconformers: Adaptiveness of enzymes from osmoconformity to hyperregulation [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 2000, 246: 163-178.
- [7] Castiño P C, Martins I A, Bianchini A. Gill Na^+/K^+ -ATPase and osmoregulation in the estuarine crab, *Chasmagnathus granulata* Dana, 1851 (Decapoda, Grapsidae) [J]. J Exp Mar Biol Ecol, 2001, 256: 215-227.
- [8] Huong D T T, Yang W J, Okuno A, et al. Changes in free amino acids in the hemolymph of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* exposed to varying salinities: relationship to osmoregulatory ability [J]. Comp Biochem Physiol, 2001, 128: 317-326.
- [9] Wilder M N, Ikuta K, Atmomassono M, et al. Changes in osmotic and ionic concentrations in the hemolymph of *Macrobrachium rosenbergii* exposed to varying salinities and correlation to ionic and crystalline composition of the cuticle [J]. Comp Biochem Physiol, 1998, 119: 941-950.
- [10] Freire C A, McNamara J C, Rosa J C, et al. Neuroendocrine control of osmotic regulation in the freshwater shrimp *Macrobrachium olfersii* (Wiegmann) (Crustacea, Decapoda): Free amino acid concentrations in the hemolymph [J]. Gen Comp Endocrinology, 1995, 100: 83-91.
- [11] Morris S. Neuroendocrine regulation of osmoregulation and the evolution of air-breathing in decapod crustaceans [J]. J Exp Biol, 2001, 204(5): 979-989.
- [12] Zare S, Greenaway P. The effect of moulting and sodium depletion on sodium transport and the activities of Na^+/K^+ -ATPase and V-ATPase in the freshwater crayfish *Cherax destructor* [J]. Comp Biochem Physiol, 1998, 119: 739-745.
- [13] Lee S H. Low salinity adaptation of HCO_3^- -ATPase activity in the gills of blue crab (*Callinectes saidus*) [J]. Bio Biophys Acta, 1982, 689(1): 143-154.
- [14] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding [J]. Anal Biochem, 1976, 72: 248-254.
- [15] Pdqieux A. Osmotic regulation in crustaceans-Review [J]. Journal of Crustacean Biology, 1995, 15(1): 1-60.
- [16] Ferraris R P, Parado-Esteva F D, Ladfa J M, et al.

- Effect of salinity on the osmotic, chloride, total protein and calcium concentrations in the hemolymph of the prawn *Penaeus monodon* [J]. *Camp Biochem Physiol*, 1986, 83: 701 - 708.
- [17] Davis D A, Saoud I P, McGraw W J. Considerations for *Litopenaeus vannamei* reared in inland low salinity waters [M]// Cruz-Suarez E, Rique-Marie D, Tapia-Salazar M, *et al.* (Eds.). *Avances en Nutrici n Acu cola; Memorias del VI Simposium Internacional de Nutrici n Acu cola. 3 al 6 de septiembre del 2002*, 73 - 94.
- [18] Ma anes A A L, Meligeni C D, Goldemberg A L. Response to environmental salinity of $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activity in individual gills of the euryhaline crab *Cyrtograpsus angulatus* [J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 2002, 293:320 - 335.
- [19] 潘鲁青,刘 志,姜令绪. 盐度、pH变化对凡纳滨对虾鳃丝 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力的影响[J]. *中国海洋大学学报*, 2004,34(5):787 - 790.
- [20] 潘鲁青,栾治华. 盐度对日本囊对虾仔虾生长发育和 $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ 活力的影响[J]. *水生生物学报*, 2005,29(6):699 - 702.
- [21] Shaw J. The absorption of sodium ions by the crayfish *Astacus pallipes* Lereboullet. III. The effect of other cations in the external solution [J]. *J Exp Biol*, 1960, 37:548 - 556.
- [22] Breitwieser G E, Altamirano A A, Russell J M. Effects of pH changes on sodium pump fluxes in squid giant axons [J]. *Am J Physiol (Cell)*, 1987, 253: 547 - 554.
- [23] Allan G L, Maguire G B. Effects of pH and salinity on survival, growth and osmoregulation in (*Penaeus monodon*) Fabricius [J]. *Aquaculture*, 1992,107: 33 - 47.
- [24] Wang W N, Wang A L, Chen L, *et al.* Effects of pH on survival, phosphorus concentration, adenylate energy charge and $\text{Na}^+ - \text{K}^+ - \text{ATPase}$ activities of *Penaeus chinensis* Osbeck juveniles [J]. *Aqua Tox*, 2002, 60:75 - 83.
- [25] 水柏年. 日本对虾虾苗对若干环境因子的适应性研究[J]. *水产学报*, 2004, 28(4): 468 - 472.
- [26] 林小涛,张秋明. 虾蟹类呼吸代谢研究进展[J]. *水产学报*,2000, 24(6):575 - 580.
- [27] Chen J C, Lin C Y. Responses of oxygen consumption, ammonia-N excretion and Urea-N excretion of *Penaeus chinensis* exposed to ambient ammonia at different salinity and pH levels [J]. *Aquaculture*, 1995,136:243 - 255.
- [28] Mauro N, Moore G W. Effects of environmental pH on ammoniaexcretion, blood pH and oxygen uptake in freshwater crustaceans [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1995, 87 (1):1 - 7.

Effects of pH on ion-transport enzyme activities and survival, growth of *marsupenaeus japonicus* postlarvae

ZHANG Lin-juan, PAN Lu-qing, LUAN Zhi-hua

(The Key Laboratory of Mariculture, Ministry of Education,
Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: Effects of pH on iontransporting enzyme activities (total ATPase, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$, V-ATPase and $\text{HCO}_3^- \text{-ATPase}$) and survival, growth of *Marsupenaeus japonicus* postlarvae were investigated. It suggested the osmoregulatory adaptable parameter of postlarvae in pH changing in view of osmotic physiological mechanism and provided the scientific basis of regulation for shrimp aquacultural systems. The results showed that the activities of ATPase, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$, V-ATPase, and $\text{HCO}_3^- \text{-ATPase}$ were obviously affected by pH variation (7.1, 7.6 \leftarrow 8.1 \rightarrow 8.6, 9.1), which also had significant effect on its survival rate and weight gain ($F > F_{0.05}$). Within 72 h of pH changing, the activities of ATPase, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ in each treatment group showed peak change with the sampling time, reached their climax at 24 h, and stabilized after 72 h, the ATPase activity showed negative correlation with pH, while the activities of $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ came back to the level of the control group; meanwhile the activities of V-ATPase, $\text{HCO}_3^- \text{-ATPase}$ of postlarvae changed increasingly within 24 h and stabilized afterwards, the activities of V-ATPase and $\text{HCO}_3^- \text{-ATPase}$ showed negative relation with pH. In the range of experimental grades, the treatment of pH 7.6, 8.6 had no obvious difference with control ones in postlarvae survival rate, and the treatment of pH 8.6 also showed similar condition with the control group in weight gain. It suggested that the changing scope of pH in *Marsupenaeus japonicus* postlarvae culturing should be not over 0.5.

Key words: pH; *Marsupenaeus japonicus* postlarvae; iontransporting enzyme; survival rate; growth