DOI号: 10.3724/SP.J.0000.2009.30532

盐度对凡纳滨对虾体组织蛋白质积累、氨基酸组成和转氨酶活性的影响

李二超[1]　陈立侨[1]　曾　嶸[2]　熊泽泉[1]　林　琛[2]　彭士明[1]　刘立鹤[3]
(1. 华东师范大学生命科学学院, 上海　200062; 2. 海南大学海洋学院水产系, 海口　570228; 3. 武汉工业学院饲料科学系, 武汉　430023)

摘要: 本文研究了低、中和高三个盐度水平 (分别为 3‰、17‰和 32‰)对凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*)各组织蛋白质的积累、肌肉谷草转氨酶和谷丙转氨酶活力、肌肉总氨基酸和游离氨基酸组成和含量的影响。结果显示, 经过 50d不同盐度水平的试验, 低盐度组对虾的肝胰腺和血淋巴中可溶性蛋白质含量显著高于中、高盐度组 ($p < 0.05$), 而肌肉中可溶性蛋白质含量在各处理组间无显著性差异; 低、高盐度均导致肌肉中谷丙转氨酶和谷草转氨酶活力升高, 但是各处理间的差异不显著; 低、高盐度组凡纳滨对虾肌肉总氨基酸和总必需氨基酸含量均显著高于中盐度组 ($p < 0.05$), 中、低盐度处理组非必需氨基酸含量差异不显著, 而低盐度组对虾肌肉中蛋氨酸、丝氨酸、半胱氨酸和脯氨酸含量均显著低于中盐度组 ($p < 0.05$), 其中脯氨酸为常见的 5种主要渗透调节氨基酸之一; 低、高盐度组对虾肌肉总游离氨基酸含量显著高于中盐度组 ($p < 0.05$), 而盐度对机体绝大部分肌肉游离氨基酸含量的影响不显著 ($p > 0.05$)。结果显示, 当环境盐度偏离凡纳滨对虾最适生长盐度时, 其可通过在肝胰腺和血淋巴蛋白质积累及提高自身转氨酶活力, 来获得机体在渗透调节供能时所需的氨基酸, 而这些氨基酸以脯氨酸为主。

关键词: 盐度; 凡纳滨对虾; 蛋白质积累; 氨基酸; 转氨酶
中图分类号: Q958.8　　**文献标识码**: A　　**文章编号**: 1000-3207(2009)03-0532-07

海水养殖品种的淡化养殖, 一方面可以减轻海水养殖对沿岸海洋环境的污染, 避免病害传播, 另一方面也促进了内陆水产养殖业的发展。目前, 凡纳滨对虾的淡化养殖在美国、泰国及厄瓜多尔等国家发展迅速[1], 已成为内陆养殖的一个亮点。而凡纳滨对虾内陆养殖面临的首要问题就是对盐度的适应性。盐度是影响水产动物机体生理反应的重要环境因子之一, 不同盐度下水产动物表现出不同的适应状态。以往有关盐度对凡纳滨对虾影响的研究主要集中在最适盐度探讨[2—4]、不同淡化方式对幼虾存活和生长的影响[5]、盐度对能量收支及转换的影响[6]、对虾的呼吸代谢[7,8]、营养需求[8]、对渗透调节的影响因子[10]、免疫力及抗逆性[4,11,12]及相关病害学[13]等方面。然而, 迄今为止, 关于凡纳滨对虾对不同盐度尤其是低盐度的生理适应及相关基础生理学的研究还较为缺乏。从以往的研究来看, 低盐度凡纳滨对虾养殖存在"三低"现象, 即生长、成活和免疫力或抗逆性低。因此, 要提高凡纳滨对虾在低盐度下的生长率、成活率和免疫力或抗逆性, 必须在了解盐度对凡纳滨对虾的生理影响的基础上, 进一步探讨凡纳滨对虾的渗透压调节机制。

研究表明, 很多氨基酸均被甲壳动物大量用于调节渗透压, 而这些氨基酸大部分来自于饵料中的蛋白质[14]。氨基酸中的甘氨酸、谷氨酸、脯氨酸、丙氨酸和牛磺酸在大多数甲壳动物中起着重要调节作用, 但不同甲壳动物在渗透调节过程中起主要作用的氨基酸种类却不尽相同[15,16]。目前, 有关不同盐度环境下, 凡纳滨对虾对蛋白质及氨基酸的利用、积累和代谢的相关研究尚未见有详细的报道。

本文测定了不同盐度下凡纳滨对虾肝胰泉、肌肉和血淋巴中可溶性蛋白质含量、肌肉谷草转氨酶和谷丙转氨酶活力及肌肉总氨基酸和游离氨基酸含

收稿日期: 2007-08-28; **修订日期**: 2009-01-12
基金项目: 国家自然科学基金项目 (30771670); 上海市曙光跟踪计划项目 (06GG06); 高等学校博士点专项基金 (2008); 上海市科委基础重大专项 (06dj14003); 上海市教育委员会 E-研究院建设项目 (E03009); 武汉市晨光计划 (200750731287)资助
作者简介: 李二超 (1979—), 男, 汉族, 河北沧州人; 博士研究生; 主要从事水产动物营养生理和水产养殖研究。E-mail: lierchao@hotmail.com
通讯作者: 陈立侨 (1962—), 男, 教授, 博士生导师; Tel: 021-62233637; E-mail: lqchen@bio.ecnu.edu.cn

量,分析了盐度对凡纳滨对虾体蛋白质积累的影响和凡纳滨对虾在不同盐度下的生理适应。

1　材料与方法

1.1　试验动物驯化、分组和管理　试验用幼虾购自海南文昌市会文虾苗场。所购幼虾先在实验室暂养1周,暂养条件为水温(29.5 ±0.5)℃、pH (8.3 ±0.2),盐度22‰。然后用经充分曝气的自来水调节盐度,进行驯化,盐度调节范围为2‰/d。当分别调至目标盐度(为低盐度3‰、中盐度17‰和高盐度32‰)并稳定后,开始试验。试验每一处理设4个平行,每个缸(60cm ×50cm ×50cm)放虾40尾(体重(0.016 ±0.005) g)。驯化和正式试验期间投喂营养成分为蛋白质40.02%、粗脂肪8.5%、水分10.2%和灰分12%的商用饲料。每天饱食2次,分别在早8:00和20:00,采用饱食投喂法,投食量根据对虾的摄食情况进行适当调整,试验为期50d。

试验期间每天用温度计测定水温,用折射计进行测定水体盐度,并进行调节,每周不定期用溶氧仪和便携式pH计测定水体溶解氧和pH2—3次,氨氮采用试剂盒快速测定。养殖期间,水温为27.9—29.5℃,溶解氧为5.63—6.64 mg/L,总氨氮 < 0.01mg/L,pH (8.3 ±0.2)。

1.2　取样　试验结束时,凡纳滨对虾禁食24h。各处理组所有对虾冰浴麻醉之后,用1mL针头从对虾第五胸肢的基部直插入心脏取血。取血后,立即将血淋巴与预冷的抗凝剂按1∶2混匀,抗凝剂配方参考文献[17]。混匀后4℃下离心15min,转速为7000r/min。离心后,取上清液进行可溶性蛋白质的测定。取血后立即将对虾解剖,取出肝胰腺,并分离腹部肌肉,置于 -70℃冷藏备用。

1.3　样品分析　用玻璃匀浆器将对虾肝胰腺和肌肉组织按1/10 (*w*/*v*)的比例在预冷的pH7.4磷酸钾缓冲液中进行充分匀浆。匀浆后,4℃冷冻离心15min,转速为7000r/min。离心后,取上清液进行可溶性蛋白质含量和转氨酶活力的测定,每处理组测定5个样品。

肝胰腺和肌肉匀浆液均先稀释50倍,血淋巴稀释300倍后,再进行可溶性蛋白质测定。采用福林酚法[18]进行测定,以小牛血清蛋白为标准蛋白做标准曲线。

谷草(GOT)和谷丙转氨酶(GPT)的活力测定采用南京建成生物工程研究所试剂盒进行测定。两种酶活力均定义为生成产物1min内使NADH氧化成NAD^+而引起吸光度每下降0.001为一个活力单位,两种酶比活力单位均用活力/mg蛋白(U/mg protein)表示。

取各处理组对虾肌肉0.5g,样品经真空液氮冷冻干燥后,用6N盐酸(含0.1%的苯酚)110℃水解22h,然后用日立835-50型氨基酸自动分析仪测定氨基酸含量,每处理组测定3个样品。

取各处理组对虾肌肉湿重0.3g按1∶5(*w*/*v*)比例用预冷的$dddH_2O$充分匀浆后,于 -4℃离心15min,转速为7000r/min。将上清液与10%磺基乙酸1∶1混合均匀,再于 -4℃离心15min,转速为7000r/min。取上清,直接上样,用日立835-50型氨基酸自动分析仪测定氨基酸含量,每处理组测定3个样品。

1.4　统计分析　数据以平均值±标准误(Mean ± S.E.)表示,试验结果用SPSS 14.0软件包进行处理,在单因素方差分析的基础上,采用Duncan多重比较法检验组间差异(p = 0.05)。

2　结　果

2.1　盐度对凡纳滨对虾各组织可溶性蛋白质含量的影响

图1显示不同盐度下凡纳滨对虾肝胰腺、肌肉和血淋巴中可溶性蛋白质的含量。可以看出,低盐度下凡纳滨对虾肝胰腺和血淋巴中总可溶性蛋白质含量显著高于中、高盐度下凡纳滨对虾相应组织的可溶性蛋白质含量(p < 0.05),但肌肉组织中可溶性蛋白质含量与其他处理组对虾无显著性差异(p > 0.05)。而中、高盐度组之间对虾各组织可溶性蛋白质含量均无显著性差异(p > 0.05)。

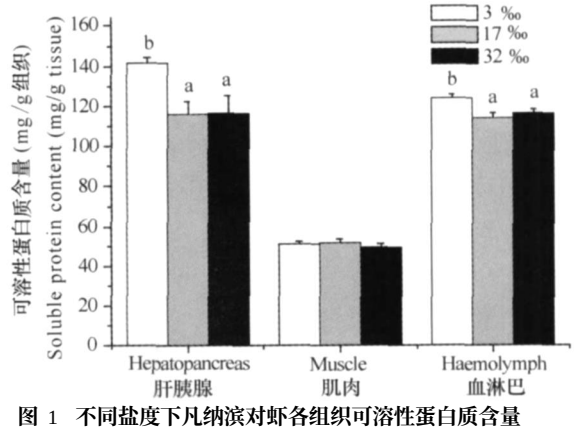


图1　不同盐度下凡纳滨对虾各组织可溶性蛋白质含量

Fig.1　Total soluble protein content in tissues of *L. vannamei* at different salinities

图中同一组织柱形上不同上标字母代表有显著差异(p < 0.05)

The different superscripts of the bars in the same tissue are significantly different (p < 0.05)

2.2 盐度对凡纳滨对虾肌肉转氨酶活力的影响

图 2显示不同盐度下凡纳滨对虾肌肉谷草转氨酶和谷丙转氨酶的比活力。高、低盐度都在一定程度上引起了凡纳滨对虾肌肉转氨酶比活力的升高,但统计分析表明,与中盐度凡纳滨对虾肌肉两种酶比活力相比,均无显著性差异 ($p > 0.05$)。

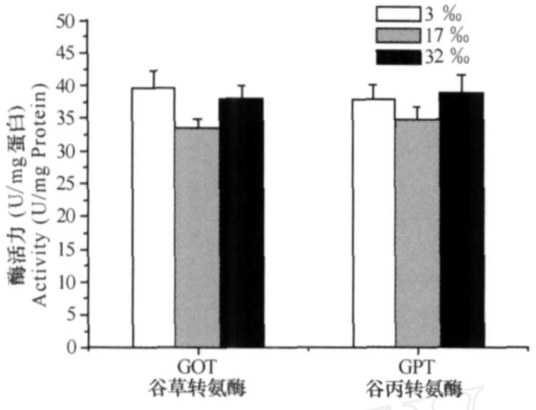


图 2 不同盐度下凡纳滨对虾肌肉谷草和谷丙转氨酶活力

Fig. 2 GOT and GPT activities of *L. vannamei* at different salinities

2.3 盐度对凡纳滨对虾肌肉氨基酸组成和含量的影响

表 1显示不同盐度下凡纳滨对虾肌肉总氨基酸、必需和非必需氨基的含量。可以看出低、高盐度组凡纳滨对虾肌肉总氨基酸和必需氨基酸含量均显著高于中盐度组 ($p < 0.05$),而中、低两盐度处理组非必需氨基酸含量差异不显著 ($p > 0.05$)。其中,低、高盐度组对虾肌肉总氨基酸中的蛋氨酸、亮氨酸、赖氨酸、精氨酸和谷氨酸含量均显著高于中盐度组。在所有的氨基酸中,谷氨酸、亮氨酸、精氨酸和天冬氨酸占的比例最高,其含量均超过 1.5mg/100mg组织湿重。值的注意的是,虽然低盐度组总氨基酸含量高于中盐度组对虾,但是其缬氨酸、丝氨酸、半胱氨酸和脯氨酸均显著低于中盐度组 ($p < 0.05$)。

表 1 不同盐度下凡纳滨对虾肌肉总氨基酸含量 (mg/100mg组织湿重)

Tab. 1 Total amino acids in muscles of *L. vannamei* at different salinities (mg/100mg wet tissue)

总氨基酸 Total amino acids	盐度 Salinity		
	3‰	17‰	32‰
必需氨基酸 EAA	9.263 ±0.066^{b}	8.648 ±0.001^{a}	9.683 ±0.120^{c}
苏氨酸 Threonine	0.555 ±0.001	0.550 ±0.008	0.567 ±0.019
蛋氨酸 Methionine	1.153 ±0.003^{b}	1.100 ±0.001^{a}	1.252 ±0.020^{c}
缬氨酸 Valine	0.261 ±0.011^{a}	0.340 ±0.001^{b}	0.347 ±0.012^{b}
异亮氨酸 Isoleucine	1.105 ±0.033	0.923 ±0.005	1.053 ±0.056
亮氨酸 Leucine	1.947 ±0.022^{b}	1.814 ±0.035^{a}	2.052 ±0.049^{b}
苯丙氨酸 Phenylalanine	0.717 ±0.019^{a}	0.677 ±0.001^{a}	0.778 ±0.019^{b}
组氨酸 Histidine	0.260 ±0.004^{a}	0.288 ±0.004^{a}	0.322 ±0.016^{b}
赖氨酸 Lysine	1.467 ±0.028^{b}	1.364 ±0.012^{a}	1.509 ±0.001^{b}
精氨酸 Arginine	1.801 ±0.027^{b}	1.596 ±0.001^{a}	1.805 ±0.025^{b}
非必需氨基酸 NEAA	7.956 ±0.045^{a}	7.768 ±0.124^{a}	8.470 ±0.178^{b}
天冬氨酸 Aspartic acid	1.601 ±0.012	1.468 ±0.176	1.719 ±0.037
丝氨酸 Serine	0.462 ±0.008^{a}	0.493 ±0.002^{b}	0.516 ±0.009^{b}
谷氨酸 Glutamic acid	2.418 ±0.036^{b}	2.242 ±0.023^{a}	2.587 ±0.060^{c}
甘氨酸 Glycine	1.363 ±0.029	1.283 ±0.030	1.347 ±0.104
丙氨酸 Alanine	0.865 ±0.021^{a}	0.919 ±0.014^{a}	0.961 ±0.022^{b}
半胱氨酸 Cysteine	0.056 ±0.003^{a}	0.082 ±0.002^{b}	0.063 ±0.001^{c}
酪氨酸 Tyrosine	0.492 ±0.007^{a}	0.513 ±0.009^{a}	0.573 ±0.005^{b}
脯氨酸 Proline	0.700 ±0.000^{a}	0.770 ±0.003^{b}	0.707 ±0.014^{a}
总氨基酸 TAA	17.218 ±0.021^{b}	16.416 ±0.124^{a}	18.153 ±0.298^{c}

注:表中同一行数据上不同上标字母代表有显著差异 ($p < 0.05$)

Note: The different superscripts of the same row values are significantly different ($p < 0.05$)

不同盐度下凡纳滨对虾肌肉游离氨基酸的含量和组成(表 2)。肌肉中游离氨基酸与总氨基酸的模式表现不同。低、高盐度下对虾总游离氨基酸含量显著高于中盐度对虾($p < 0.05$),而必需氨基酸及非必需氨基酸总量虽然也有升高的趋势,但是差异并不显著($p > 0.05$)。所有游离氨基酸中,除低盐度下对虾游离赖氨酸含量显著高于其他两处理组外($p < 0.05$),其他各种游离氨基酸在各组之间均无显著差异($p > 0.05$)。

表 2　不同盐度下凡纳滨对虾肌肉游离氨基酸含量(mg/100mg湿组织)

Tab. 2　Free amino acids in muscles of *L. vannamei* at different salinities (mg/100mg wet tissue)

游离氨基酸 Free amino acids	盐度 Salinity 3‰	17‰	32‰
必需氨基酸 EAA	0.492 ±0.051	0.451 ±0.029	0.519 ±0.039
苏氨酸 Threonine	0.096 ±0.035	0.080 ±0.022	0.098 ±0.019
缬氨酸 Valine	0.019 ±0.004	0.012 ±0.001	0.014 ±0.001
蛋氨酸 Methionine	0.007 ±0.003	0.003 ±0.000	0.006 ±0.001
异亮氨酸 Isoleucine	0.012 ±0.002	0.007 ±0.001	0.010 ±0.002
亮氨酸 Leucine	0.009 ±0.006	0.009 ±0.000	0.012 ±0.001
苯丙氨酸 Phenylalanine	0.014 ±0.002	0.014 ±0.002	0.016 ±0.001
组氨酸 Histidine	0.028 ±0.003	0.027 ±0.006	0.025 ±0.002
赖氨酸 Lysine	0.042 ±0.007^{b}	0.027 ±0.005^{a}	0.022 ±0.002^{a}
精氨酸 Arginine	0.264 ±0.010	0.273 ±0.005	0.316 ±0.017
非必需氨基酸 NEAA	1.011 ±0.074	0.945 ±0.037	1.019 ±0.030
牛磺酸 Taurine	0.047 ±0.004	0.050 ±0.008	0.049 ±0.001
天冬氨酸 Aspartic acid	0.029 ±0.009	0.032 ±0.009	0.041 ±0.017
丝氨酸 Serine	0.048 ±0.012	0.033 ±0.007	0.030 ±0.001
谷氨酸 Glutamic acid	0.092 ±0.015	0.076 ±0.005	0.087 ±0.007
甘氨酸 Glycine	0.366 ±0.007	0.35 ±0.002	0.354 ±0.009
丙氨酸 Alanine	0.154 ±0.048	0.153 ±0.033	0.201 ±0.019
酪氨酸 Tyrosine	0.008 ±0.004	0.004 ±0.004	0.010 ±0.002
脯氨酸 Proline	0.267 ±0.013	0.247 ±0.012	0.248 ±0.009
总氨基酸 TAA	1.503 ±0.032^{a}	1.397 ±0.014^{b}	1.538 ±0.008^{a}

注:表中同一行数据上不同上标字母代表有显著差异($p < 0.05$)

Note: The different superscripts of the same row values are significantly different ($p < 0.05$)

3　讨　论

本研究发现,不同盐度下凡纳滨对虾各组织蛋白质的积累程度不同,低盐度下凡纳滨对虾肝胰腺和血淋巴组织中可溶性蛋白显著高于中、高盐度组。甲壳动物的肝胰腺被认为是哺乳动物肝和胰腺的同源器官[19],是代谢反应进行的主要场所,其主要功能包括分泌酶、吸收营养物质和存储及卵黄发生等。肝胰腺对营养物质的蓄积可反映机体对营养物质的需求[20]。低盐度下,凡纳滨对虾肝胰腺组织中积累足量的蛋白质,在一定程度上反映了低盐度下蛋白质营养对保障对虾正常生理机能的重要性。在渗透胁迫下,对虾需要调动体内大量营养物质,一方面可以提供足够的能量用于渗透调节,另一方面争取获得尽可能快的生长速度。已有研究表明,多种氨基酸参与并被用于渗透压调节[14]。因此,低盐度下凡纳滨对虾肝胰腺积累的大量蛋白质,以保障机体分解蛋白质以获得足够的游离氨基酸来调节机体的渗透,这是对虾对低盐环境的一种适应。此外,肝胰腺还一直被认为是血淋巴中血蓝蛋白的合成场所[14],本研究发现的低盐度下凡纳滨对虾血淋巴组织中蛋白质含量的显著升高可能与肝胰腺蛋白质大量合成和积累有关。对虾血淋巴组织中的蛋白质作为能量存储物质,其含量高低对对虾渗透调节起着至关重要的作用[14]。因此,低盐度下凡纳滨对虾血淋巴中高含量的蛋白质也是凡纳滨对虾对低盐度的另一生化适应,在渗透调节过程中能量供应方面也为凡纳滨对虾提供了一定的营养或必要的能量。

为了进一步探讨何种氨基酸在凡纳滨对虾渗透调节中起重要的作用,本研究进一步分析了各盐度下凡纳滨对虾肌肉总氨基酸和游离氨基酸的含量和组成。结果发现,低盐度下凡纳滨对虾肌肉中的总氨基酸显著高于中盐度组,其缬氨酸、丝氨酸、半胱氨酸和脯氨酸均显著低于中盐度组,而低、高盐度下凡纳滨对虾肌肉中这四种氨基酸的游离形式却均在一定程度上高于中盐度处理组,提示这四种氨基酸可能在凡纳滨对虾渗透调节中起着重要的作用。目前已经公认可以起渗透调节作用的氨基酸主要有谷氨酸、丙氨酸、甘氨酸、脯氨酸和牛磺酸[21]。结合本试验结果,可以推断脯氨酸是凡纳滨对虾渗透调节中起重要作用的一种氨基酸。至于其他几种相关的氨基酸是否在凡纳滨对虾渗透调节中起重要作用,尚需进一步研究。

目前对组织中用于机体渗透调节的游离氨基酸含量升高的解析主要有两种观点, Hochachka 和 Somero[22]认为机体为了获得足够的游离氨基酸用于调节渗透压,在一定程度上降低了从头合成途径的效率,从而使机体组织中的某些游离氨基酸积累升高。而 Geoffrion, *et al* [23]从能量学的角度认为机体在渗透胁迫下,体内游离氨基酸的动态变化与机体的能量消耗相关,在高渗胁迫下,游离氨基酸的形成主要来自体内蛋白质的降解。鉴于此,本研究测定了各处理组凡纳滨对虾肌肉谷草转氨酶和谷丙转氨酶的活力,结果发现,长期生活在低、高盐度下的凡纳滨对虾谷草和谷丙两种转氨酶活力均有升高的趋势。由于转氨酶是组织中将一种氨基酸的氨基转运到另一种氨基酸上的一类酶,其活性高低可以在一定程度反映机体氨基的转移活力[24]。由此可见高、低盐度均提高了凡纳滨对虾机体体内氨基转运活力。所以,作者推测凡纳滨对虾为了在高、低盐度下渗透调节,已经动员出机体积累的大量的蛋白质,转化成游离氨基酸为渗透调节供能[25]。综合本研究结果,可以初步认为凡纳滨对虾在低、高盐度下体内游离氨基酸的升高主要来自于体内蛋白质的降解,且相类似的研究结论可见于 Silvia *et al* [26]的研究中。

综上所述,在低、高盐度的慢性胁迫下,凡纳滨对虾为了维持渗透压稳定和获得较快的生长速度,机体已经产生了一定的适应性生理、生化变化,其中肝胰腺和血淋巴作为蛋白质储存场所,表现出大量积累用于分解形成游离氨基酸的可溶性蛋白质的趋势,并通过转氨酶活力的升高,加速机体氨基转运速度,为机体在一定程度上提供了用于渗透调节供能的特定氨基酸,而这些氨基酸中,脯氨酸起着相对重要的作用。

参考文献:

[1] Saoud I P, Davis D A, Rouse D B. Suitability studies of inland well waters for *Litopenaeus vannamei* culture [J]. *Aquaculture*, 2003, **217**: 373—383

[2] Bray W A, Lawrence A L, Leung-Trujillo J R. The effect of salinity on growth and survival of *Penaeus vannamei*, with observations on the interaction of IHHN virus and salinity [J]. *Aquaculture*, 1994, **122**(2—3): 133—146

[3] Ponce-Palafox J, Martinez-Palacios C A, Ross L G. The effects of salinity and temperature on the growth and survival rates of juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*, Boone, 1931 [J]. *Aquaculture*, 1994, **157**(1—2): 107—115

[4] Li E C, Chen L Q, Zeng C, *et al*. Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at different salinities [J]. *Aquaculture*, 2007, **265**: 385—390

[5] Zang W L, Lin X C, Dai X L. *et al*. Effects of desalination method and salinity on survival rate and growth of *Penaeus vannamei* juvenile [J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2003, **12**(4): 308—312 [臧维玲, 林喜臣, 戴习林, 等. 淡化方式与盐度对凡纳滨对虾生长的影响. 上海水产大学学报, 2003, **12**(4): 308—312]

[6] Wang J Q, Luo M, Zhang D Z, *et al*. Effects of water temperature and salinity on energy budget of *Penaeus vannamei* juveniles [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2004, **28**(2): 161—166 [王吉桥, 罗鸣, 张德治, 等. 水温和盐度对凡纳滨对虾幼虾能量收支的影响. 水产学报, 2004, **28**(2): 161—166]

[7] Jiang D H, Lawrence A L, Neill W H, *et al*. Effects of temperature and salinity on nitrogenous excretion by *Litopenaeus vannamei* juveniles [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2000, **253**(2): 193—209

[8] Rosas C, Cuzon G, Gaxiola G, *et al*. Metabolism and growth of juveniles of *Litopenaeus vannamei*: Effect of salinity and dietary carbohydrate levels [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2001, **259**(1): 1—22

[9] Cheng K M, Hu C Q, Liu Y N, *et al*. Effects of dietary calcium, phosphorus and calcium/phosphorus ratio on the growth and tissue mineralization of *Litopenaeus vannamei* reared in low-salinity water [J]. *Aquaculture*, 2006, **251**: 472—483

[10] Pan A J, Lai Q F, Wang H, *et al*. Effect abrupt Salinity changes on the carbonic anhydrase activity in the tissues of *Litopenaeus vannamei* [J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2006, **15**(1): 47—51 [潘爱军, 来琦芳, 王慧, 等. 盐度突变对凡纳滨对虾组织碳酸酐酶活性的影响. 上海水产大学学报, 2006, **15**(1): 47—51]

[11] Zhu H Y, Deng Y S. Effect ambient salinity change on the NOS activity and sensitivity of *Litopenaeus vannamei* to disease bacteria

[J]. *Inland Fisheries*, 2005, **10**: 41—42 [朱宏友, 邓岳松. 盐度变化对凡纳滨对虾一氧化氮合酶水平及对病原敏感性的影响. 内陆水产, 2005, **10**: 41—42]

[12] Lin Y C, Chen J C. Acute toxicity of ammonia on *Litopenaeus vannamei* boone juveniles at different salinity levels [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2001, **259** (1): 109—119.

[13] Huang J R, Zha G C, Zhou C Q, *et al*. The planktonic ciliate in *Litopenaeus vannamei* desalination culture ponds [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2005, **29** (3): 345—352 [黄建荣, 查广才, 周昌清, 等. 凡纳对虾淡化养殖池浮游纤毛虫研究. 水生生物学报, 2005, **29** (3): 345—352]

[14] Cuzon G, Lawrence A, Gaxiola G. Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds [J]. *Aquaculture*, 2004, **234**: 513—551

[15] Duchateau-bosson G, Jeuniaus C, Florkin M. Rôle de la variation de la composante amino-acide intracellularire dans l'euryhalinté d'Arenicola marina L [J]. *Archives of Internal Physiology*, 1961, **69**: 30—35

[16] Jeuniaux C, Bricteux-Gregoire S, Florkin M. Régulation osmotique intracellularire chez Astacus rubeus rubens glycole dt de la taurine [J]. *Les Cahiers de Biologie Marine*, 1962, **3**: 107—113

[17] Vargas-Albores A. lipopolysaccharide-binding agglutinin isolated from brow shrimp (*Penaeus californiensis* Holmes) haemolymph [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 1993, **104**: 107—143

[18] Lowry O H, Rosenbrough N J, Farr A L, *et al*. Protein measurement with a Folin reagent [J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1951, **193**: 265—275

[19] Gibson R, Barker P L. The decapod hepatopancreas [J]. *Oceanography and Marine Biology*, 1979, **17**: 285—346

[20] Chanson M, Spray D C. Gating and single channel properties of gap junction channels in hepatopancreatic cells of *Procambarus clarkia* [J]. *The Biological Bulletin*, 1992, **183**: 341—342

[21] Somero G N, Bowlus R D. Osmolytes and metabolic end products of molluscs: the design of compatible solute systems. In: Hochachka P W (Eds), Environmental Biochemistry and Physiology [M]. The Mollusca. London: Academic Press. 1983, 77—100

[22] Hochachka P W and Somero G N. Biochemical Adaptation [M]. New Jersey: Princeton University Press. 1984, 27

[23] Geoffrion Y, Guderley H, Larochelle J. The effect of oxygen availability on the osmoregulatory contribution of free amino acids in *Acanthamoeba castellanii* [J]. *Canadin Journal of Zoology*, 1986, **64**: 1430—1435

[24] Chien Y H, Pan C H, Hunter B. The resistance to physical stresses by *Penaeus monodon* juveniles fed diets supplemented with astaxanthin [J]. *Aquaculture*, 2003, **216**: 177—191

[25] Deaton L E. Hyperosmotic cellular volume regulation in the ribbed mussel *Geukensia demissa*: inhibition by lysosomal and proteinase inhibitors [J]. *Journal of Experimental Zoology*, 1987, **244**: 375—382

[26] Silvia G J, Antonio U R A, Francisco V O, *et al*. Ammonia efflux rates and free amino acid levels in *Litopenaeus vannamei* post larvae during sudden salinity changes [J]. *Aquaculture*, 2004, **233**: 573—581

PROTEIN ACCUMULATION, AMINO ACID PROFILE AND AMINO TRANSFERASE ACTIVITIES OF THE WHITE SHRIMP, LITOPENEAUS VANNAMEI, AT DIFFERENT SALINITIES

LI Er-Chao[1], CHEN Li-Qiao[1], ZENG Ceng[2], XIONG Ze-Quan[1], LIN Chen[2], PENG Shi-Ming[1] and LIU Li-He[3]

(1. *School of Life Science, East China Normal University, Shanghai* 200062, *China;*
2. *Aquaculture Department, School of Marine Science, Hainan University, Haikou* 570228, *China;*
3. *Department of Feed Science, Wuhan Polytechnic University, Wuhan,* 430023, *China)*

Abstract: Shrimp farming in inland saline water has been undertaken in many parts of the world. Particularly, the culture of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, has becoming a rapid growing industry due to its tolerance to a wide range of salinity from 1‰ to 50‰. Although *L. vannamei* are euryhaline and able to tolerance a wide range of salinity, a salinity change does alter its growth performance and physiological responses. And even the optimal salinity for the growth of white shrimps is controversial, research on *L. vannamei* at low salinity is still limited. The physiological responses are believed to be essential to assess the animal performance at different environmental conditions. Therefore, it is necessary to conduct further investigation on the physiology of *L. vannamei* at low salinity for inland saline water farming.

The objective of this study was to further explore the adaptive mechanisms of white shrimp to different salinities in providing extra energy for osmoregulation at various salinities, and to explore which amino acids are the main osmolytes for *L. vannamei*. Therefore, shrimps which have been acclimated at 3.0‰, 17.0‰ and 32.0‰ respectively with four repli-

cates for 50 days were used to analyze the soluble protein of different tissues, muscle amino acid profile and contents, Glatamic oxalacetic transferase (GOT) and Glutamat Pyruvat Transferase (GPT) activities. During the experimental period, the shrimp were fed with a commercial feed containing 40.02% protein, 8.5% crude lipid, 12.0% ash, and 10.2% moisture, and Recirculation systems were used in the experiment. The results showed that shrimps at 3.0‰ had significantly higher soluble protein content of hepatopancreases and heamolymph than those at both 17.0‰ and 32.0‰ ($p < 0.05$), while no significant differences were observed in the tissue of muscle ($p > 0.05$). Low salinity 3.0‰ and high salinity 32‰ led to the slight increase of both GOT and GPT activities in muscle though without significant differences ($p > 0.05$) comparing with 17.0‰ treatment. Shrimps at 3.0‰ and 32.0‰ had significant higher levels of total amino acids and total essential amino acids in muscle than those at 17.0‰ ($p < 0.05$), and non essential amino acids in shrimps at 3.0‰ and 17.0‰ showed no obvious differences. However, the total muscle methionine, serine, cysteine and proline contents of shrimps at 3.0‰ were significantly lower than those at 17.0‰ ($p < 0.05$), and among which the praline is one of the main five osmolyte amino acids for aquatic animals. Most muscle free amino acids were not different significantly among all the treatments ($p > 0.05$).

All these results indicated that under salinities away from its optimal salinity, the white shrimp ensured themselves to have sufficient amino acids for osmoregulation by accumulating protein in the hepatopancreas and heamolymphs, and accelerating the amino transfer speed by increasing Glatamic oxalacetic transferase and Glutamat Pyruvat Transferase activities. Besides, the results also revealed that as one the main five osmolyte amino acids, the amino acid of proline is the main one among these amino acids which play important roles for osmoregulation for *L. vannamei*.

Key words: Salinity; *Litopeneaus vannamei*; Protein; Amino acids; Amino transferase