

盐度胁迫对锯缘青蟹体内腺苷三磷酸酶和磷酸酶活性的影响

徐 华, 艾春香, 林琼武, 陈宇锋, 沈圆虹

(厦门大学海洋学系, 亚热带海洋研究所, 福建 厦门 361005)

摘 要: 采用酶学分析的方法研究了盐度(分别为 5、15、25、35)胁迫下锯缘青蟹鳃、肌肉和肝胰腺中腺苷三磷酸酶和磷酸酶活性变化。结果表明, 随着盐度降低, 青蟹鳃中 Na^+, K^+ -ATPase、 $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -ATPase 活性均升高, 随着胁迫时间延长, Na^+, K^+ -ATPase 活性呈现不同的变化规律, 且趋于平缓。青蟹肌肉中 ACP 活性随着盐度的升高而呈小幅度下降, 而肝胰腺中 ACP 活性则呈小幅度升高, 但各组之间差异不显著($P>0.05$)。不同胁迫时间同一盐度组青蟹肌肉中的 ACP 活性有升有降。青蟹肌肉、肝胰腺中 AKP 活性随着盐度升高而升高; 随着胁迫时间延长, 同一盐度组青蟹肌肉中 AKP 活性均呈升高趋势, 肝胰腺中 AKP 活性有升有降。由此可见, 盐度对青蟹生理生化影响显著。

关键词: 锯缘青蟹; 盐度; 腺苷三磷酸酶; 磷酸酶

中图分类号: X503.225 文献标识码: A 文章编号: 1672-2043(2007)03-1173-05

Effect of Salinity Stress on the Activities of ATPase and Phosphatase in the Mud Crab (*Scylla serrata*)

XU Hua, AI Chun-xiang, LIN Qiong-wu, CHEN Yu-feng, SHEN Yuan-hong

(Department of Oceanography, Xiamen University, Institute of Subtropical Oceanography, Xiamen 361005, China)

Abstract: The mud crab (*Scylla serrata*) is a kind of important marine culture species in China. Salinity is one of the most important environmental factors which relates closely with the development of *S. serrata*. The activities of ATPase and phosphatase in gill, muscle and hepatopancreas of *S. serrata* were determined under different salinities (5, 15, 25, 35) for understanding its physiological-biochemical response to salinity stress. The results showed that the effects of salinity stress on Na^+, K^+ -ATPase activity in the gill of *S. serrata* were significant ($P<0.05$). Both Na^+, K^+ -ATPase and $\text{Ca}^{2+}, \text{Mg}^{2+}$ -ATPase activities increased with the salinity decreasing. The Na^+, K^+ -ATPase activities in each treatment tended to reach a platform with the time going on. The ACP activities in muscle decreased slightly with the salinity increasing, but increased in hepatopancreas insignificantly ($P>0.05$). The AKP activities in both muscle and hepatopancreas increased with the salinity increasing, and increased with the time duration in the same treatment. Both ACP and AKP activities in hepatopancreas were higher than those in muscle. The changes of AKP activities in hepatopancreas and muscle seemed to be related with Na^+, K^+ -ATPase activities changing in gill under different salinities. These results suggested that the physiological-biochemical response of *S. serrata* to salinity stress was significant, which could offer some theoretic basis for water quality management of mud crab aquaculture.

Keywords: *Scylla serrata*; salinity; ATPase; phosphatase

随着锯缘青蟹(*Scylla serrata* Forskål 1775, 简称青

蟹)养殖规模的扩大、养殖密度的增大和集约化程度的提高, 加上养殖环境的恶化, 应激源的增加, 导致其疾病时有发生, 严重制约了养蟹业的健康发展^[1]。环境因子在青蟹爆发疾病过程中发挥着重要作用。盐度作为一种与渗透压密切相关的环境因子, 对虾蟹的呼吸代谢、生长、存活及免疫防御有着极其重要的影响^[2]。若盐度胁迫幅度超过一定范围, 会导致虾蟹生理机能

收稿日期: 2006-09-01

基金项目: 厦门大学高层次人才引进科研启动项目“锯缘青蟹营养需求及其免疫营养研究”; 江苏省滩涂生物资源与环境保护重点实验室建设项目(JLCBE05007)

作者简介: 徐 华(1981—), 男, 硕士研究生, 主要从事海洋动物生态毒理学研究。

通讯作者: 艾春香 E-mail: chunxai@126.com

失常,引起疾病发生甚至大量死亡。迄今,有关盐度胁迫下青蟹生理生化的响应尚未见报道。本实验研究了盐度胁迫对青蟹体内腺苷三磷酸酶和磷酸酶活性的影响,以期初步了解盐度胁迫对青蟹生理生化的影响机制,为蟹类环境免疫学研究积累资料,也为青蟹健康养殖水质管理提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

2006年 4月从厦门市第八菜市场采购附肢完整、无病无伤,壳长为(7.77 ±0.25) cm,宽为(5.56 ±0.32) cm,体重约为(101.7 ±5.6) g的青蟹为实验对象,实验室条件下暂养一周后正式实验。

1.2 方 法

1.2.1 盐度梯度的设定

实验盐度分别设置为 5、15、25、35,采用盐度为 25的砂滤海水,分别添加适量的淡水或日晒海盐将自然海水盐度调节至各设置的盐度梯度。实验随机分 4个处理组,将青蟹分养于 0.80 m×0.58 m×0.45 m的无毒塑料箱中,每处理组设 3个平行组。

1.2.2 试验条件

每一个箱加盖防逃网,箱中设置隐蔽物,每次取样后采用预先配制好的同盐度实验用水换水 1/3。试验期间养殖水体 pH(7.5 ±0.3),温度为(21 ±1)。

1.2.3 样品制备

盐度胁迫实验开始后各处理组按 24、48、72、96 h 随机取样,各盐度组随机选取 3只锯缘青蟹。先取血淋巴,随后迅速取出其鳃、肝胰腺、肌肉,分别装入 1.5 mL 的 Eppendorf 管放入 -80 冰箱中保存待测。

1.2.4 组织、器官匀浆

将鳃丝置于 9倍体积的预冷(0~4)的 ATP 酶提取液(0.25 mmol·L⁻¹ 蔗糖;6 mmol·L⁻¹ EDTA-Na;10 mmol·L⁻¹ Tris;0.1%脱氧胆酸钠;pH7.5)中,玻璃匀浆器冰浴匀浆。匀浆液在高速冷冻离心机中、8 000 r·min⁻¹ 离心 30 min,取上清液在同样条件下重复离心 10 min 2次,所得上清液待测。取青蟹的肌肉、肝胰腺, PBS 缓冲液冲洗,用洁净的吸水纸吸去表面水分并称重,分别取各种组织器官块 0.2 g,加入组织器官块重 9倍体积的匀浆缓冲液(0.25 mol·L⁻¹ 蔗糖,0.025 mol·L⁻¹ Tri-HCl,0.000 1 mol·L⁻¹ EDTA-Na 溶液,pH6.4),玻璃匀浆器中冰浴匀浆后经冷冻高速离心,取上清粗酶液待测。

1.2.5 仪 器

752 型分光光度计,TGL-16G-A 型高速冷冻离心机,Sartorius BP211D 电子天平,恒温水浴锅,玻璃匀浆器等。

1.3 检测指标及其测定方法

ATPase、ACP、AKP 活性测定:均采用南京建成生物工程研究所研制的试剂盒测定,具体操作分别按试剂盒说明书进行。

ATPase 活性定义:每小时每毫克组织蛋白的组织中 ATP 酶分解 ATP 产生 1 μmol 无机磷的量为一个 ATP 酶活力单位。

ACP 和 AKP 活性定义:每克组织蛋白在 37 与基质作用 15 min 和 30 min,产生 1 mg 酚者为 1U。

1.4 匀浆粗提液中蛋白含量测定

采用考马斯亮蓝 G-250 比色法进行蛋白定量,参照 Bradford(1976)方法稍加改进后进行测定。牛血清白蛋白(BSA,购于 AMRESCO 公司)作为标准蛋白。

1.5 试验数据分析

试验所得数据平均数(Mean,M)±标准差(Stdeva,SD)表示,并采用 EXCEL2000 统计分析软件进行单因素方差分析和独立性 t 检验。

2 结 果

2.1 盐度胁迫对青蟹鳃中 Na⁺,K⁺-ATPase、Ca²⁺,Mg²⁺-ATPase 活性的影响

盐度胁迫下青蟹鳃中 ATPase 活性变化见图 1、2。由图 1 可见,盐度胁迫 24 h 时,随着盐度降低,青蟹鳃中 Na⁺,K⁺-ATPase 活性呈现出升高的趋势,其中 S₅ 和 S₁₅ 组青蟹鳃中 Na⁺,K⁺-ATPase 活性显著高于 S₂₅ 和 S₃₅ 组(P<0.05)。不同胁迫时间下,各处理组青蟹鳃

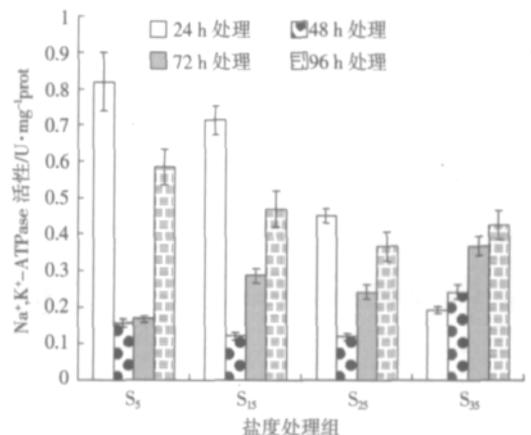


图 1 盐度对锯缘青蟹鳃中 Na⁺,K⁺-ATPase 活性的影响

Figure 1 The effects of salinity on the Na⁺,K⁺-ATPase activities in gill of *S. serrata*

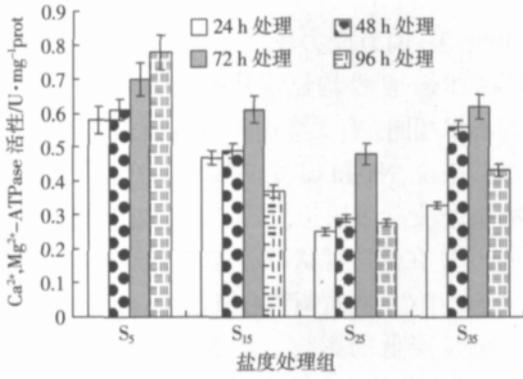


图 2 盐度对锯缘青蟹鳃中 Ca²⁺, Mg²⁺-ATPase 活性的影响

Figure 2 The effects of salinity on the Ca²⁺, Mg²⁺-ATPase activities in gill of *S. serrata*

中 Na⁺, K⁺-ATPase 活性变化规律各异, 其活性在胁迫 48、72 和 96 h 时分别表现为 S₃₅>S₃>S₁₅>S₂₅, S₃₅>S₁₅>S₂₅>S₃, S₃>S₃₅>S₁₅>S₂₅。至 96 h 时, 各盐度胁迫下青蟹鳃中 Na⁺, K⁺-ATPase 活性变化趋于平缓。

从图 2 中得出, 随着盐度降低, 青蟹鳃中 Ca²⁺, Mg²⁺-ATPase 活性呈现出增强的趋势, 其变幅小于 Na⁺, K⁺-ATPase, S₃ 和 S₁₅ 组青蟹鳃中 Ca²⁺, Mg²⁺-ATPase 活性显著高于 S₂₅ 和 S₃₅ 组(P<0.05)。胁迫 48、72 和 96 h 时, 各处理组青蟹鳃中 Ca²⁺, Mg²⁺-ATPase 活性均表现为 S₃>S₃₅>S₁₅>S₂₅。至 72 h 时, 各处理组青蟹鳃的 Ca²⁺, Mg²⁺-ATPase 活性随着胁迫时间的延长而增加, 且其活性至 96 h 时 S₃ 组达到最大值, 而 S₂₅ 组达到最小值。

2.2 盐度胁迫对青蟹肌肉和肝胰腺中 ACP 活性的影响

盐度胁迫下青蟹肌肉和肝胰腺中 ACP 活性变化见图 3、4。从图 3 中看出, 各处理组青蟹肌肉中 ACP 活性随着盐度的升高而呈小幅度下降趋势, 各处理组之间差异不显著(P>0.05)。随着胁迫时间的延长, 同一盐度组青蟹肌肉中的 ACP 活性有升有降, S₃ 组在 24 h 时达到最大值。

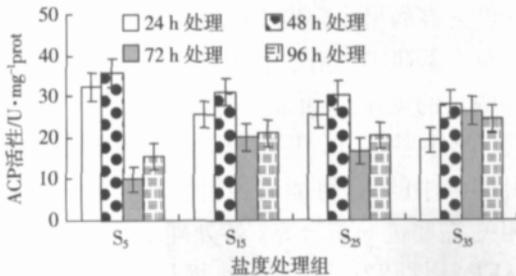


图 3 盐度对锯缘青蟹肌肉中 ACP 活性的影响

Figure 3 The effects of salinity on the ACP activities in muscle of *S. serrata*

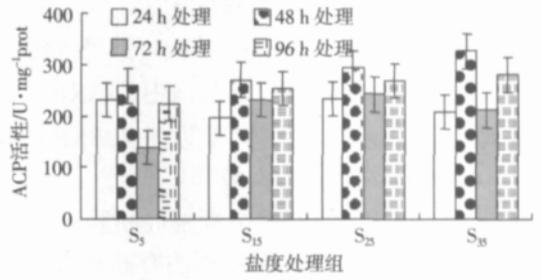


图 4 盐度对锯缘青蟹肝胰腺中 ACP 活性的影响

Figure 4 The effects of salinity on the ACP activities in hepatopancreas of *S. serrata*

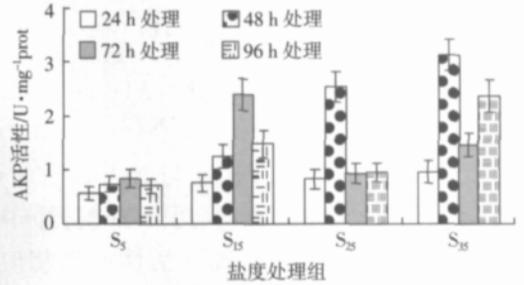


图 5 盐度对锯缘青蟹肌肉中 AKP 活性的影响

Figure 5 The effects of salinity on the AKP activities in muscle of *S. serrata*

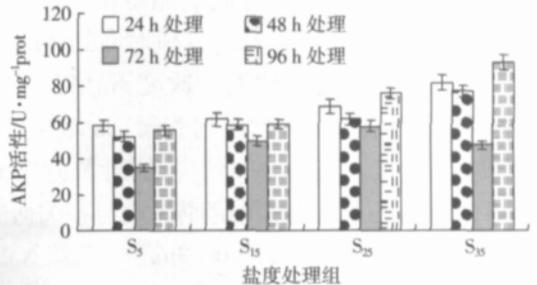


图 6 盐度对锯缘青蟹肝胰腺中 AKP 活性的影响

Figure 6 The effects of salinity on the AKP activities in hepatopancreas of *S. serrata*

从图 4 中得出, 各处理组青蟹肝胰腺中 ACP 活性则随着盐度的升高呈现出逐渐升高趋势, 各处理组之间差异不显著(P>0.05)。随着胁迫时间的延长, 同一盐度组青蟹肝胰腺中的 ACP 活性有升有降, S₂₅ 组在 24 h 时达到最大值。

此外, 从图 3、图 4 比较中得出, 各盐度处理组青蟹肌肉中 ACP 活性远低于肝胰腺中的。

2.3 盐度胁迫对青蟹肌肉和肝胰腺中 AKP 活性的影响

盐度胁迫下青蟹肌肉和肝胰腺中 AKP 活性变化见图 5、6。从图 5 中看出, 各处理组青蟹肌肉中 AKP 活性随着盐度的升高而呈现出显著升高趋势, S₃ 组与

S_{15} 、 S_{25} 、 S_{35} 3 个处理组之间差异显著($P<0.05$), S_{15} 组与 S_{25} 、 S_{35} 组之间差异显著($P<0.05$)。除 S_{25} 组外,随着胁迫时间的延长,同一盐度组青蟹肌肉中的 AKP 活性均呈升高趋势, S_{15} 、 S_{25} 和 S_{35} 组青蟹肌肉中 AKP 活性分别在 72、48、48 h 时达到最大值。

从图 6 中得出,各处理组青蟹肝胰腺中 AKP 活性随着盐度的升高而呈幅度较小的升高趋势,且各处理组之间差异不显著($P>0.05$)。随着胁迫时间的延长,同一盐度组青蟹肝胰腺中的 AKP 活性有升有降, S_{35} 组在 96 h 时达到最大值。

3 讨论

3.1 盐度胁迫对青蟹鳃中 Na^+ 、 K^+ -ATPase、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -ATPase 活性的影响

甲壳动物渗透压调节机能与 Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性变化直接相关^[3]。盐度胁迫会引起虾蟹类体内 Na^+ 、 K^+ -ATPase 和 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -ATPase 活性产生相应的变化,加速新陈代谢,其耗氧率升高,能量需求增加,引起蟹体内代谢机能失常,免疫防御能力降低,以致于正常状态下处于隐性感染的病原体造成严重的病害^[4]。

本研究表明,随着盐度降低,青蟹鳃中 Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性呈现增大的趋势,经过一段时间的适应,鳃丝细胞对水和离子的通透性发生改变, Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性逐渐趋于稳定,盐度胁迫对青蟹 Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性影响显著,且表现出时间效应性;青蟹鳃中 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} -ATPase 活性呈现增大的趋势,这与相关研究结果相似。美洲真蟹(*Callinectes sapidus*) 鳃丝 Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性在低盐度环境中比在高盐度中的高^[5];高渗调节类甲壳动物的血淋巴 Na^+ 浓度和外界水环境 Na^+ 浓度的差值与鳃丝 Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性符合正相关性^[6]。广盐性蟹(*Chasmagnathus granulata*) 在低盐度环境下血淋巴渗透性快速降低,大约 7 d 后达到一个新的稳定状态,在进入低盐度环境 1 d 后,前、后鳃 Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性表现出急剧上升的趋势。在高盐度环境中, Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性呈现出递减趋势,直到 15 d 后才趋于稳定^[7]。广盐性蟹(*Cyrtograpsus angulatus*) 在低盐度条件下,短期内后鳃中的 Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性升高^[8]。凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*) 从盐度 10 转入盐度 0 的水体,24 h 时其鳃中 Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性提高^[9]。随着盐度变化的增加, Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性变化增大,至 48~72 h 时,各盐度下日本囊对虾(*Mar-supenaeus japonicus*) 仔虾 Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性趋于稳定,而且盐度越低酶活性越大^[10]。由此可见,广盐性甲

壳动物鳃中 Na^+ 、 K^+ -ATPase 对盐度胁迫可在短时间内作出响应,调节能力较强。在低盐度环境中鳃丝 Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性均显著升高,但最后达到稳定的时间却不尽相同。有关渗透调节机制,Towle 指出对于广盐性蟹来说, Na^+ 和 Cl^- 是主要的与血淋巴渗透性有关的物质,忍受盐度胁迫,对 Na^+ 和 Cl^- 浓度调控是十分重要的^[11、12]。在低盐度状态下,蟹类要通过鳃从外部水体吸收 Na^+ 和 Cl^- ,从而调节血淋巴中这两种离子浓度,以补偿盐度降低的影响。在 Na^+ 、 K^+ -ATPase 作用下 Na^+ 从鳃细胞大量进入血淋巴, Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性增强,致使血淋巴中 Na^+ 大量积累。潘鲁青等提出盐度变化后凡纳滨对虾鳃丝 Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性出现变化,在短时间内可能是由于体内生物胺含量的变化,从而激活 Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性,迅速调节体内外离子浓度和血淋巴渗透压达到渗透平衡,然后主要通过生物胺系统和神经内分泌系统的调节,增加 Na^+ 、 K^+ -ATPase 位点和刺激新酶的合成,最终经过一段时间的适应,鳃细胞结构恢复正常, Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性趋于稳定^[13]。甲壳动物后鳃中 Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性的短期变化是由于机体组织中 Na^+ 水平,生物胺和第二信使等作用,从而调控酶前体造成的。此外,磷酸化和去磷酸化循环可以控制广盐性动物机体中不同细胞反应的酶活性,磷酸化和去磷酸化循环中的丝氨酸交换速率的调节可能是广盐性甲壳动物快速适应不同盐度条件的机理之一^[7]。

若盐度胁迫幅度超过一定范围,机体正常代谢无法维持,会导致蟹类发病甚至引起大量死亡,因此,在制定蟹类养殖水质管理方案时应结合其生长发育和生理状况,全面分析蟹类渗透生理的适应性,确定合理的盐度调配方案。

3.2 盐度胁迫对青蟹肌肉和肝胰腺中 ACP、AKP 活性的影响

ACP 和 AKP 对维持虾、蟹类的生存和生长有特别重要的意义^[14-16]。本研究表明,青蟹肌肉中 ACP 活性随盐度升高而呈小幅度下降,随着胁迫时间延长,同一盐度组青蟹肌肉、肝胰腺中 ACP 活性有升有降,表现出不明显的规律,这可能与青蟹个体适应能力的差异有关。此外,各盐度处理组,青蟹肌肉中 ACP 活性远低于肝胰腺中的,这可能与各组织、器官的生理机能密切相关,需要进一步研究。各处理组青蟹肌肉、肝胰腺中 AKP 活性随着盐度的升高而呈现出显著升高趋势,而鳃中 Na^+ 、 K^+ -ATPase 活性的变化正好与之相反。随着胁迫时间延长,同一盐度组青蟹肌肉中的 AKP

活性均呈升高趋势,而胰腺中的 AKP 活性却表现出有升有降。广盐性蟹(*Cyrtograpsus angulatus*)在不同盐度下肌肉中的 AKP 活性随着盐度降低而降低^[17,18],这与本研究结果类似。

AKP 对锯缘青蟹从海水中吸收磷酸盐和钙及甲壳的形成是重要的^[19]。在盐度为 35 的环境中 *C.sapidus* 前鳃中 AKP 活性较低^[20],而其鳃中 Na^+/K^+ -ATPase 活性却较高,这与 AKP 正好相反^[21],为此 Lovett 等提出 AKP 可能是 Na^+/K^+ -ATPase 的效应因子,鳃中 Na^+/K^+ -ATPase 在低盐度环境下活性会增加,为适应这种变化,AKP 调控多胺的合成或转运,而多胺便会对 Na^+/K^+ -ATPase 进行调控^[20]。松鼠骨骼肌中 Na^+/K^+ -ATPase 活性受到 AKP 介导的去磷酸化作用的调控^[22]。有关盐度对青蟹组织器官中 ACP、AKP 活性影响的作用机制有待于进一步研究,特别是有关 AKP 与 Na^+/K^+ -ATPase 之间的关系更需深入研究。

参考文献:

- [1] 艾春香,林琼武,李少菁,等.锯缘青蟹的营养需求及其健康养殖[J].福建农业学报,2005,20(4):222-227.
- [2] Huynh Minh Sang, Ravi Fotedar. Growth, survival, haemolymph osmolality and organosomatic indices of the western king prawn (*Penaeus latisulcatus* Kishinouye, 1896) reared at different salinities[J]. Aquaculture, 2004,234(1-4):601-614.
- [3] Lucu C, David W T. Na^+/K^+ -ATPase in gills of aquatic crustacea [J]. Comp Biochem Physiol, 2003, 135 A(2):195-214.
- [4] 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, 1995,112C(2):129-136.
- [5] Neufeld G J, Holliday C W, Pritchard J B. Salinity adaptation of gill Na^+/K^+ -ATPase in the blue crab, *Callinectes sapidus*[J]. J Exp Zool, 1980, 211(2):215-224.
- [6] Lucu C, Devescovi M, Skaramuca B, et al. Gill Na^+/K^+ -ATPase in the spiny lobster *Palinurus elephas* and other marine osmoconformer adaptiveness of enzymes from osmoconformity to hyperregulation[J]. J Exp Mar Biol Ecology,2000,246(2):163-178.
- [7] Castilho 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 Ecology, 2001, 256(2):215-227.
- [8] López Marañes A A, Meligeni C D, Goldemberg A L. Response to environmental salinity of Na^+/K^+ -ATPase activity in individual gills of the euryhaline crab *Cyrtograpsus angulatus*[J]. J Exp Mar Biol Ecology, 2002, 274(1):75-85.
- [9] Palacios E, Bonilla A, Luna D, et al. Survival, Na^+/K^+ -ATPase and lipid responses to salinity challenge in fed and starved white pacific shrimp (*Litopenaeus vannamei*) postlarvae[J]. Aquaculture,2004,234(1-4):497-511.
- [10] 潘鲁青,栾治华. 盐度对日本囊对虾仔虾生长发育和 Na^+/K^+ -ATPase 活力的影响[J]. 水生生物学报,2005,29(6):699-703.
- [11] Towle D W. Ion transport systems in membrane vesicles isolated from crustacean tissues[J]. J Exp Zool, 1993,265(4):387-396.
- [12] Towle D W. Molecular approaches to understanding salinity adaptation of estuarine animals[J]. Am Zool, 1997,37(6):575-584.
- [13] 潘鲁青,刘志,姜令绪. 盐度、pH 变化对凡纳滨对虾鳃丝 Na^+/K^+ -ATPase 活力的影响[J]. 中国海洋大学学报,2004,34(5):787-790.
- [14] 刘树青,江晓路,牟海津,等. 免疫多糖对中国对虾血清溶菌酶、磷酸酶和过氧化物酶的作用[J]. 海洋与湖沼,1999,30(3):278-283.
- [15] 陈清西,陈素丽,石艳,等. 长毛对虾碱性磷酸酶性质[J]. 厦门大学学报,1996,35(2):257-261.
- [16] 孙虎山,李光友. 脂多糖对栉孔扇贝血清和细胞中 7 种酶活性的影响[J]. 海洋科学,1999,4:54-57.
- [17] Pinoni S A, López Marañes A A. Alkaline phosphatase activity sensitive to environmental salinity and dopamine in muscle of the euryhaline crab *Cyrtograpsus angulatus*[J]. J Exp Mar Biol Ecology,2004,307(1):35-46.
- [18] Pinoni S A, Goldemberg A L, López Marañes A A. Alkaline phosphatase activities in muscle of the euryhaline crab *Chasmagnathus granulatus*. Response to environmental salinity[J]. J Exp Mar Biol Ecology, 2005, 326(2):217-226.
- [19] Park Y D, Yang Y, Chen Q X, et al. Kinetics of complexing activation by the magnesium ions on the activity of green crab (*Scylla serrata*) alkaline phosphatase[J]. Biochem Cell Biol, 2001,79(6):765-772.
- [20] Lovett D, Towle D, Faris J. Salinity-sensitive alkaline phosphatase activity in gills of the blue crab, *Callinectes sapidus* Rathbun[J]. Comp Biochem Physiol, 1994, 109B(1):163-173.
- [21] Lovett D, Watts S A, Ott R F, et al. Effect of acclimation salinity on Na^+/K^+ -ATPase activity and polyamine concentration in gills of the blue crab, *Callinectes sapidus*[J]. Am Zool, 1992,32(5), 58A (Abstract).
- [22] MacDonald J A, Storey K B. Regulation of ground squirrel Na^+/K^+ -ATPase activity by reversible phosphorylation during hibernation[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1999,254(2):424-429.