

不同盐度对凡纳滨对虾血淋巴及肌肉 游离氨基酸组成的影响

梁萌青 王士稳 王家林 常青

(中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

摘要 以平均体重为 10.50 ± 1.75 g 的凡纳滨对虾为研究对象, 分别在盐度为 0、15 和 30 的水体中用同一种饲料喂养 20 d, 探讨不同盐度对凡纳滨对虾肌肉及血淋巴游离氨基酸组成的影响。结果表明, 盐度在 0、15 和 30 变化时, 凡纳滨对虾血淋巴中总游离氨基酸总量随盐度升高而显著增加 ($P < 0.05$); 甘氨酸、谷氨酸、精氨酸和丙氨酸是凡纳滨对虾血淋巴中主要的游离氨基酸成分, 其含量随盐度的增加而急剧增加。盐度为 0、15 和 30 时, 凡纳滨对虾肌肉中游离氨基酸总量随着盐度的增加有增加趋势, 但无显著性差异 ($P > 0.05$)。甘氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸及精氨酸的含量随盐度由 0、15、30 的增加而显著增加 ($P < 0.05$); 其他氨基酸在盐度 0、15 和 30 增加时, 虽无显著性增加 ($P > 0.05$), 但大部分氨基酸有增加趋势。当盐度在 0、15 和 30 变化时, 游离甘氨酸、谷氨酸、精氨酸和丙氨酸是凡纳滨对虾体内渗透压调节的主要氨基酸。

关键词 凡纳滨对虾 盐度 肌肉 血淋巴 游离氨基酸组成

中图分类号 S963 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2009)02-0034-06

Effects of different salinities on free amino acid composition in muscle and hemolymph of the shrimp *Litopenaeus vannamei*

LIANG Meng-qing WANG Shi-wen WANG Jia-lin CHANG Qing

(Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

ABSTRACT The study on free amino acid variation in the muscle and hemolymph of *Litopenaeus vannamei* in different salinities revealed that total free amino acids of the hemolymph were 87.58 mg/ml, 569.27 mg/ml, 1 038.68 mg/ml respectively and total free amino acids of the muscle were 2 250.13 mg/100 g, 2 330.42 mg/100 g and 2 548.74 mg/100 g, respectively, when salinity was 0, 15 and 30. As salinity increased, total free amino acids of the hemolymph of *L. vannamei* increased significantly ($P < 0.05$). The concentrations of free Gly, Glu, Arg, Ala in the hemolymph of *L. vannamei* increased sharply, with increased salinity, in the meanwhile the concentration of free Gly, Glu, Arg, Ala in the muscle of *L. vannamei* correspondingly increased. However, the increase of concentrations of free Gly, Glu, Arg, Ala in the muscle of *L. vannamei* was less than those in the hemolymph. Free amino acids Gly, Glu, Arg, Ala

国家自然科学基金项目(30471341)和青岛市科技发展项目(02-2-k-hh-65)共同资助

收稿日期:2007-10-23; 接受日期:2007-12-14

作者简介:梁萌青(1963-)女,研究员,主要从事水产动物营养与饲料研究。E-mail: liangmq@ysfri.ac.cn, Tel: 0532(85822914)

played an important role in regulating osmotic pressure.

KEY WORDS *Lieopenaeus vanamei* Salinity Muscle Hemolymph
Free amino acid composition

甲壳动物肌肉中游离氨基酸的含量较高,特别是甘氨酸、脯氨酸、精氨酸、谷氨酸和丙氨酸(Simpson *et al.* 1959; Schoffeniels *et al.* 1970; Cobb *et al.* 1975; D'Aniello 1980)。随着环境盐度的变化迅速调节体内渗透压是必需的(Bishop *et al.* 1993)。有关虾类渗透压方面的研究以前多集中在虾类血淋巴无机离子方面(Robertson 1953; Shaw 1957; Gross 1964; Bedford *et al.* 1977)。游离氨基酸的代谢在海水无脊椎动物渗透压调节方面起重要作用(Clark 1968; Chaplin *et al.* 1967; Boone *et al.* 1977; Dalla Via *et al.* 1986),对于蟹游离氨基酸对细胞内渗透压的贡献超过 40%到 60%(Shaw 1978; Robertson 1961)。然而,不同盐度对凡纳滨对虾肌肉及血淋巴游离氨基酸组成还不清楚,有关这方面的信息对凡纳滨对虾的养殖具有重要意义,因为对虾血淋巴中氨基酸含量影响对虾体内氨基酸的吸收,进而支配组织营养成分的吸收,调节细胞的生长。本研究以凡纳滨对虾 *Lieopenaeus vanamei* 为研究对象,旨在探讨不同盐度的凡纳滨对虾肌肉及血淋巴游离氨基酸组成的变化,分析在不同条件下主要及必需氨基酸的功能,为凡纳滨对虾的养殖提供基本的生理生化信息。

1 材料与方 法

1.1 实验动物

将 500 尾平均体重 10.50 ± 1.75 g 的凡纳滨对虾暂养于盐度为 30 的海水中 10 d,正式实验前将虾转入 9 个 180 L 的玻璃钢桶中,放养密度为 30 尾/桶。试验盐度设计为 0、15 和 30 3 个组,每组设 3 个平行,试验用水由过滤净化后的海水与曝气的自来水逐渐调配而成,投喂商业饲料,喂养 20 d。试验期间水温平均水温 $23.6 \sim 26.5$ °C,每天换水 25%,并保持各组盐度不变。

1.2 血淋巴及肌肉样品的准备及游离氨基酸分析

对虾血淋巴取自心包及腹动脉,每组随机取 9 尾虾,每个处理的血淋巴混和,加入等体积的 5%的磺基水杨酸以沉淀蛋白质。样品在 1 °C, 13 000 r/min 离心 15 min,取 100 μ l 上清液以日立 835-50 型氨基酸自动分析仪进行游离氨基酸测定(Findley *et al.* 1978)。

肌肉样品随机取自每个处理的 15 尾虾混合,然后加入 20 ml 6%的三氯乙酸,超声波破碎,使之均质,在 1 °C, 13 000r/min 离心 15 min,上清液移走,剩余液用三氯乙酸再提取两次。上清液集中,加乙醚 30 ml,振荡 30 s,水层用低压旋转蒸发已浓缩为一黏稠液体,用去离子水稀释两倍以日立 835-50 型氨基酸自动分析仪进行游离氨基酸测定(Dalla Via *et al.* 1986; Shewbart *et al.* 1972; McCoid *et al.* 1984)。

1.3 数据统计方法

计算每一组数据平均值和标准差,所得数据用单因素方差分析,差异显著后再进行 Turkey's 多重比较,以 $P < 0.05$ 作为差异显著水平。

2 结果

2.1 不同盐度凡纳滨对虾血淋巴游离氨基酸组成的影响

不同盐度凡纳滨对虾血淋巴游离氨基酸的组成如表 1。凡纳滨对虾在盐度为 0、15 和 30 时,血淋巴的游离氨基酸总量分别为 87.58、569.27 和 1 038.68 mg/ml,随着盐度的增加,游离氨基酸总量显著增加($P < 0.05$)。盐度为 30 时血淋巴各游离氨基酸含量均显著高于盐度为 15 时血淋巴各游离氨基酸含量($P < 0.05$);

盐度为 15 时血淋巴各游离氨基酸含量均显著高于盐度为 0 时血淋巴各游离氨基酸含量 ($P < 0.05$)。

盐度为 30 时血淋巴甘氨酸、谷氨酸、精氨酸和丙氨酸含量比其他氨基酸高,其中甘氨酸含量为 189.06 mg/ml,占氨基酸总量的 18.20%;谷氨酸含量为 151.62 mg/ml,占氨基酸总量的 14.6%;丙氨酸含量为 156.53 mg/ml,占氨基酸总量的 15.07%;精氨酸含量为 94.37 mg/ml,占氨基酸总量的 9.08%。当盐度为 15 时,甘氨酸的含量为 84.97 mg/ml,占氨基酸总量的 14.93%;谷氨酸的含量为 75.35 mg/ml,占氨基酸总量的 13.23%;丙氨酸的含量为 77.64 mg/ml,占氨基酸总量的 13.64%;精氨酸的含量为 82.37 mg/ml,占氨基酸总量的 14.47%。当盐度为 0 时,凡纳滨对虾血淋巴中甘氨酸、谷氨酸、精氨酸和丙氨酸含量大大降低,其含量分别为 6.01、6.80、4.00 和 7.28,这 4 种氨基酸在总氨基酸中所占的比例也大大下降,甘氨酸占氨基酸总量的 6.86%;谷氨酸占氨基酸总量的 7.76%;精氨酸占氨基酸总量的 4.57%;丙氨酸占氨基酸总量的 8.31%。

表 1 不同盐度凡纳滨对虾血淋巴游离氨基酸组成(mg/100 ml)

Table 1 The free amino acid concentrations in the hemolymph of *L. vanamei* at different salinities (mg/100 ml)

氨基酸 Amino acids	Salinity 盐度		
	30	15	0
天门冬氨酸 Asp	29.84±3.25 ^a	18.35±2.35 ^b	6.81±1.15 ^c
苏氨酸 Thr	33.16±4.78 ^a	13.67±2.67 ^b	4.98±2.13 ^c
丝氨酸 Ser	36.19±4.12 ^a	25.79±1.19 ^b	4.99±2.68 ^c
谷氨酸 Glu	151.62±8.52 ^a	75.35±8.96 ^b	6.80±1.12 ^c
甘氨酸 Gly	189.06±7.88 ^a	84.97±3.36 ^b	6.01±1.68 ^c
丙氨酸 Ala	156.53±6.63 ^a	77.64±2.25 ^b	7.28±0.18 ^c
蛋氨酸 Met	7.61±1.20 ^a	2.43±0.26 ^b	0.40±0.08 ^c
缬氨酸 Val	27.81±1.80 ^a	13.96±1.24 ^b	7.36±1.16 ^c
异亮氨酸 Ile	42.24±2.62 ^a	30.78±3.89 ^b	4.69±1.31 ^c
亮氨酸 Leu	43.83±2.37 ^a	27.55±1.08 ^b	9.45±0.76 ^c
酪氨酸 Tyr	25.09±1.16 ^a	13.63±1.71 ^b	—
苯丙氨酸 Phe	37.70±2.03 ^a	24.98±1.66 ^b	6.38±0.57 ^c
赖氨酸 Lys	65.68±3.37 ^a	55.82±2.68 ^a	6.17±0.71 ^c
组氨酸 His	46.80±3.41 ^a	38.91±2.43 ^b	2.31±0.55 ^c
精氨酸 Arg	94.37±3.57 ^a	82.37±1.19 ^b	4.0±0.02 ^c
脯氨酸 Pro	32.55±1.15 ^a	23.89±1.32 ^b	3.69±0.52 ^c
氨 NH ₃	18.60±1.59 ^a	12.64±2.01 ^b	6.26±0.61 ^c
总氨基酸 TAA	1 038.68±59.45 ^a	569.27±43.37 ^b	87.58±17.27 ^c

注:表中同一行数据中不同字母表示差异显著($P < 0.05$)

2.2 不同盐度凡纳滨对虾肌肉游离氨基酸组成的影响

不同盐度肌肉游离氨基酸的组成如表 2。凡纳滨对虾在盐度为 0、15 和 30 时肌肉的游离氨基酸总量分别为 2 250.13、2 330.42 和 2 548.74 mg/ml,随着盐度的增加,游离氨基酸总量虽无显著增加($P > 0.05$),但有增加趋势。氨基酸甘氨酸、谷氨酸、丙氨酸及精氨酸是肌肉游离氨基酸的主要成分。甘氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸及精氨酸的含量随盐度由 0、15 和 30 的增加而显著增加($P < 0.05$);其他氨基酸在盐度 0、15 和 30 增加时,虽无显著性增加($P > 0.05$),但大部分氨基酸有增加趋势。

表 2 不同盐度凡纳滨对虾肌肉游离氨基酸组成(mg/100 ml)

Table 2 The free amino acid concentrations in the muscle of *L. vanamei* at different salinities (mg/100 ml)

氨基酸 Amino acids	Salinity 盐度		
	30	15	0
天门冬氨酸 Asp	13.32±2.28 ^a	11.54±1.15 ^a	10.02±1.26 ^a
苏氨酸 Thr	21.35±2.78 ^a	21.67±3.01 ^a	23.47±2.06 ^a
丝氨酸 Ser	31.93±3.21 ^a	33.59±2.89 ^a	35.16±5.21 ^a
谷氨酸 Glu	90.59±5.32 ^a	85.35±2.71 ^a	84.33±3.02 ^a
甘氨酸 Gly	985.06±11.32 ^a	894.98±15.50 ^b	859.06±13.03 ^c
丙氨酸 Ala	192.65±12.98 ^a	175.06±13.32 ^a	183.20±16.62 ^a
蛋氨酸 Met	13.47±2.32 ^a	11.48±3.32 ^a	9.93±1.15 ^a
缬氨酸 Val	76.09±8.76 ^a	63.65±7.31 ^a	56.48±6.82 ^a
异亮氨酸 Ile	25.79±4.41 ^a	23.32±3.78 ^a	21.67±2.21 ^a
亮氨酸 Leu	67.37±10.02 ^a	55.51±6.38 ^b	52.25±8.82 ^c
酪氨酸 Tyr	43.57±3.36 ^a	35.36±2.29 ^a	31.30±3.02 ^a
苯丙氨酸 Phe	65.74±5.66 ^a	49.82±7.92 ^b	38.42±4.87 ^c
赖氨酸 Lys	71.08±3.78 ^a	58.86±2.88 ^a	48.22±4.67 ^a
组氨酸 His	16.89±1.62 ^a	15.17±2.20 ^a	14.54±1.85 ^a
精氨酸 Arg	737.74±13.32 ^a	702.75±16.25 ^b	693.46±14.05 ^c
脯氨酸 Pro	33.56±3.28 ^a	33.08±2.32 ^a	32.17±4.45 ^a
氨 NH ₃	62.54±4.23 ^a	59.23±5.13 ^a	56.45±3.98 ^a
总氨基酸 TAA	2 548.74±98.65 ^a	2 330.42±98.36 ^a	2 250.13±97.07 ^a

注:表中同一行数据中不同字母表示差异显著($P < 0.05$)

3 讨论

早在 1951 年 Camien 等就对不同种类的海水和淡水甲壳类肌肉及血淋巴中的非蛋白氨基酸进行了研究,他发现海水种肌肉中甘氨酸、脯氨酸、精氨酸、谷氨酸和丙氨酸比淡水种高,血淋巴中游离氨基酸的总量要低于肌肉中游离氨基酸总量。有关环境盐度对对虾游离氨基酸组成及含量的影响已有报道(Dalla Via 1986; McCoid *et al.* 1984; Fang *et al.* 1992)。Dalla Via(1986)发现不论盐度增加还是降低,甘氨酸、脯氨酸、精氨酸、丝氨酸、苏氨酸及丙氨酸是凡纳滨对虾渗透压调节的主要贡献者。McCoid 等(1984)发现,日本对虾盐度由高到低变化时,甘氨酸、脯氨酸和丙氨酸是主要的渗透压调节剂,而盐度由低到高变化时,所有游离氨基酸的含量均增加。以上两位学者所作的实验是对整虾进行游离氨基酸的测定。Fang 等(1992)发现当环境盐度发生变化时,斑节对虾甘氨酸、脯氨酸、丙氨酸、精氨酸、氨及牛磺酸在调节体内渗透压方面起主要作用。

在本研究中,当盐度在 0、15 和 30 变化时,凡纳滨对虾肌肉中游离氨基酸含量变化幅度不大(表 2),但甘氨酸、谷氨酸、丙氨酸和精氨酸占肌肉中游离氨基酸总量的 80%,这一点与 Dalla Via(1986)研究的凡纳滨对虾及 McCoid 等(1984)研究日本对虾有相似之处,所不同的是在他们的实验中甘氨酸、脯氨酸、丙氨酸和精氨酸占肌肉中游离氨基酸总量的 80%。脯氨酸已被证明在许多中的甲壳动物渗透压调节方面起重要作用(Boone *et al.* 1977; Bishop *et al.* 1993),在本实验中脯氨酸在实验设定的 3 个盐度中所占凡纳滨对虾总游离氨基酸量不足 2%,在渗透压的调节方面没有直接起作用。在正常盐度条件下,螯虾 *A. letodactylus* 肌肉中主要的游离氨基酸是甘氨酸、精氨酸、丙氨酸和少量的脯氨酸(Weber *et al.* 1972)。日本沼虾 *M. nipponense* 肌肉中主要的氨基酸是甘氨酸、丙氨酸、脯氨酸(Wang *et al.* 2004)。值得注意的是所有这些在甲壳动物渗透压调节起作用的主要的游离氨基酸,除精氨酸外都不是必需氨基酸(Cowey *et al.* 1971; Claybrook 1983;

Smith *et al.* 1987)。通常,苯丙氨酸、苏氨酸、缬氨酸、组氨酸、精氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、蛋氨酸和色氨酸被认为是必需氨基酸,那些起渗透压调节作用的游离氨基酸并不是螯虾、褐对虾 *P. aztecus* 构成肌肉蛋白组成的氨基酸,而是谷氨酸和天冬氨酸等非必需氨基酸(Shewbart *et al.* 1972; Gilles 1977; Van Marrewijk *et al.* 1974)。

在本研究中,凡纳滨对虾血淋巴中游离氨基酸总量低于肌肉中游离氨基酸总量。与血淋巴相似,当盐度变化时,肌肉中甘氨酸、谷氨酸、丙氨酸和精氨酸仍是主要的氨基酸。盐度为 30 时,凡纳滨对虾血淋巴游离氨基酸的总量达到最高,随着盐度的增高,凡纳滨对虾血淋巴游离氨基酸的总量也增高,血淋巴游离氨基酸的组成与肌肉游离氨基酸组成有相似的变化趋势。这一结果与 Fang 等(1992)对斑节对虾所作的结果相似。在正常情况下,游离氨基酸的流动方向是从血淋巴到细胞,而不是从细胞到血淋巴。大部分对虾血淋巴的渗透压是通过无机离子来调节的(Castilles *et al.* 1981; Cheng *et al.* 1986)。这表明凡纳滨对虾可能适应 30 的盐度,无需付出额外的有机分子来调节渗透压。Castilles 等(1981)总结了不同盐度时对虾的等渗点,Cheng 等(1986)发现凡纳滨对虾的最适盐度为 20~35。

有趣的是,盐度为 30 时,不论是凡纳滨对虾血淋巴必需氨基酸和非必需氨基酸此时均达到最大(表 1),这些氨基酸值是盐度为 0 时的几倍到几十倍;这可以为在低盐或淡水养殖凡纳滨对虾的生长低于海水养殖对虾提供一个合理的解释(朱春华 2002)。血淋巴中高含量的游离氨基酸尤其是必需氨基酸丰富,表明在这个盐度下这些必需氨基酸很可能成为组织细胞的成分。

本实验发现不同凡纳滨对虾血淋巴变化的幅度很大,盐度为 30 时凡纳滨对虾血淋巴游离氨基酸的总量是盐度为 0 时游离氨基酸总量的 11 倍,盐度为 15 时凡纳滨对虾血淋巴游离氨基酸的总量是盐度为 0 时游离氨基酸总量的 6.5 倍。Fang 等(1992)研究发现盐度为 15、30 及 45 时,斑节对虾血淋巴游离氨基酸总量分别为 3.3、6.3 和 2.8 $\mu\text{mol}/\text{ml}$,认为大部分血淋巴渗透压是由无机离子来调控的,Wang 等(2004)测得斑节对虾在盐度为 26.5 时的渗透压为 770 mOsm/kg。Rodriguez(1981)的研究认为凡纳滨对虾属于渗透压调节,而 Castilles 等(1981)则认为凡纳滨对虾离子调节和渗透压调节二者兼而有之。本实验没有对血淋巴的渗透压进行测定,而本次实验凡纳滨对虾血淋巴在不同的盐度下游离氨基酸总量变化幅度如此之大,推测可能是用于渗透压调节,有关游离氨基酸等在凡纳滨对虾渗透压调节的作用还有待进一步研究。

参 考 文 献

- 朱春华. 2002. 盐度对南美白对虾生长性能的影响. 水产养殖, 3:25~27
- 黄 凯, 王 武, 卢 洁, 代小伟, 周家能. 2004. 盐度对南美白对虾的生长及生化成分的影响. 海洋科学, 28:20~25
- 潘 英, 王如才, 罗永巨, 黄 凯. 2001. 海水和淡水养殖南美白对虾肌肉营养成分的分析比较. 青岛海洋大学学报, 3:828~834
- Bedford, J. J., and Leader, J. P. 1977. The composition of the hemolymph and muscle tissue of shore crab, *Hemigrapsus edwardsi* exsoed to different salinities. *Comp. Biochem. Physiol.* 57A:341~345
- Bishop, J. S., and Burton, R. S. 1993. Amino acid synthesis during hyperosmotic stress in *Penaeus aztecus* post-larvae. *Comp. Biochem. Physiol.* 106A:49~56
- Boone, W. E., and Claybrooth, D. L. 1977. The effect of low salinity on amino acid metabolism in the tissue of the common mud crab, *Panopeus herbstii* (Milne-Edwards). *Comp. Biochem. Physiol.* 57A: 99~106
- Castilles, Jr. F. L., and Lawrence, A. L. 1981. The effect of salinity on the osmotic, sodium and chloride concentrations in the hemolymph of euryhaline shrimp of the genus *Penaeus*. *Comp. Biochem. Physiol.* 48A,75~80
- Chaplin, A. E., Huggins, A. K., and Munday, K. A. 1967. The role of amino acids during osmotic adjustment on aquatic invertebrates. *Biochem J.* 99:42~43. Schoffeniels E, Gilles R. Osmoregulation in aquatic arthropods. In: Florkin, M., Scheer, B. T. (Eds.), *Chemical Zoology: Arthropoda*, vol. 5, pt. . A. Academic Press, New York. 1970. 255~282
- Cheng, J. H., and Liao, I. C. 1986. The effect of salinity on the osmotic and ionic concentrations in the hemolymph of *Penaeus monodon* and *P. penicillatus*, in "The First Asian Fisheries Forum"(eds. By Maclean, J. L, Dizon, L. B, and Hosillos, I. V), *Asian Fish. Soc. Manila, Philippines*, 633~636
- Clark, M. E. 1968. A survey of the effect of osmotic dilution on free amino acids of various polychaetes. *Biol. Bull.* 134:252~260
- Claybrook, D. L. 1983. Nitrogen metabolism. Internal anatomy and physiological regulation, in "The Biology of Crustacea" (eds. By Bliss, D. E

- and Mantel, L. H), Vol. 5, Academic Press, New York, 163~213
- Cobb, B. F., Conte, F. S., and Edwards, R. M. A. 1975. Free amino acids and osmoregulation in penaeid shrimp. *J. Agric. Food Chem.* 23:1 172~1 174
- Cowey, C. B., and Forster, J. R. M. 1971. The essential amino acid requirement of the prawn *Palaemon serratus*. The growth of prawns on diets of proteins containing different amino acid composition. *Mar. Biol.* 10:77~81
- Dalla Via, G. J. 1986. Salinity responses of juvenile penaeid shrimp *Penaeus japonicus*. II. Free amino acids. *Aquaculture*, 55:307~316
- D'Aniello, A. 1980. Free amino acids in some tissues of marine crustacean. *Experientia*, 36:392~393
- Fang, L. S., Tang, C. K., Lee, D. L., and Chen, I. M. 1992. Free amino acid composition in muscle and hemolymph of the prawn *Penaeus monodon* in different salinities. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58:1 095~1 102
- Ferraris, R. P., Parado-Esteva, F. D., Ladja, M. J., and Jusus, E. G. 1986. The effect of salinity on the osmotic chloride, total protein and calcium concentrations in the hemolymph of the prawn *Penaeus monodon* (Fabricius). *Comp. Biochem. Physiol.* 83A:701~708
- Findley, A. M., and Stichle, W. B. 1978. Effects of salinity fluctuation on the hemolymph composition of blue crab *Callinectes sapidus*. *Mar. Biol.* 46:9~15
- Gilles, R. E. 1977. Effect of osmotic stresses on the protein concentration and pattern of *Erlocheir sinensis* blood. *Com. Biochem. Physiol.* 56A:109~114
- Gross, W. J. 1964. Trends in water and salt regulation among aquatic and amphibious crabs. *Biol. Bull.* 127:447~466
- McCoid, V., Miget, R., and Finne, G. 1984. Effect of environmental salinity of the free amino acid composition and concentration in penaeid shrimp. *J. Food Sci.* 49:327~330
- Robertson, J. D. 1953. Ionic regulation in some marine invertebrates. *J. Exp. Biol.* 30: 277~296
- Robertson, J. D. 1961. Studies on the chemical composition of muscle tissue- II. The abdominal flexor muscles of the lobster *Nephrops norvegicus* (L). *J. Exp. Biol.* 38:707~728
- Rodriguez, G. A. 1981. Osmoregulation and total serum protein of two species of penaeidean shrimps from the Pacific coast of Mexico. *Journal of Crustacean Biology*, 1:392~400
- Shaw, J. 1958. Osmoregulation in the muscle fibers of *Carcinus maenas*. *J. Exp. Biol.* 35:920~929
- Shaw, J. 1957. Salt and water balance in the East African freshwater crab *Potamon niloticus* (M. Edw.). *J. Exp. Biol.* 36:157~176
- Shewbart, K. L., Mies, W. L., and Ludwig, P. D. 1972. Identification and quantitative analysis of the amino acids present in protein of the brown shrimp *Penaeus aztecus*. *Mar. Biol.* 16:64~67
- Smith, B. R., Miller, G. C., Mead, R. W., and Taylor, R. E. L. 1987. Biosynthesis asparagines and taurine in the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (De Man). *Comp. Biochem. Physiol.* 87B:827~831
- Simpson, J. W., Allen, K., and Awapara, J. 1959. Free amino acids in some aquatic invertebrates. *Biol. Bull.* 117:371~381
- Van Marrewijk, W. J. A., and Ravesteyn, H. J. L. 1974. Amino acid metabolism of *Astacus leptodactylus* I. Composition of the free and protein-bound amino acids in different organs of crayfish. *Comp. Biochem. Physiol.* 47B:439~443
- Wang, W. N., Wang, A. L., Bao, L., Wang, J. P., Liu, Y., and Sun, R. Y. 2004. Changes of protein-bound and free amino acids in the muscle of freshwater prawn *Macrobrachium nipponense* in different salinities. *Aquaculture*, 233:561~571
- Weber, R. E., and Van Marrewijk, V. A. 1972. Free amino acids and isoosmotic intracellular regulation in the shrimp *Cragon cragon*. *Life Sci.* 11:589~595