

氨氮对墨吉明对虾的急性毒性及对其免疫因子的影响

钱佳慧, 栗志民, 刘建勇, 叶宁, 刘锐

(广东海洋大学水产学院, 广东 湛江 524088)

摘要:采用静水毒性试验方法研究氨氮对墨吉明对虾(*Fenneropenaeus merguensis*)急性毒性及免疫因子的影响,旨在为墨吉明对虾健康养殖提供理论依据.实验结果表明:在海水温度26℃,盐度22,pH值8.3条件下,氨氮毒性效应与浓度和胁迫时间呈正相关.氨氮对墨吉明对虾24、48、96 h的半致死浓度分别为67.680、62.950、35.310 mg/dm³,安全浓度为3.531 mg/dm³.对应的非离子氨半致死浓度分别为6.230、5.800、3.250 mg/dm³,安全浓度为0.339 mg/dm³.在浓度为35.310 mg/dm³氨氮胁迫下,实验组墨吉明对虾血淋巴蛋白含量显著低于对照组血淋巴蛋白含量($p < 0.05$),但实验组墨吉明对虾血淋巴中蛋白含量会随氨氮胁迫时间延长有所恢复,96 h蛋白含量升高为(3.78 ± 0.95) mg/cm³.氨氮胁迫下实验组对虾肝脏中超氧化物歧化酶(SOD)活性低于对照组,且差异水平达显著水平($p < 0.05$),实验组SOD活力随氨氮胁迫时间延长逐渐降低,96 h SOD活力低至(6.74 ± 0.53) U/cm³.相反在氨氮胁迫下实验组溶菌酶活力显著高于对照组溶菌酶活力,且随胁迫时间延长逐渐降低,96 h溶菌酶活力低至(51.53 ± 4.41) U/cm³.表明高氨氮胁迫对墨吉明对虾免疫因子产生重要影响.

关键词:海洋生物学;墨吉明对虾;氨氮;半致死浓度;免疫因子

DOI:10.3969/J. ISSN. 2095-4972. 2016. 02. 009

中图分类号: P735

文献标识码: A

文章编号: 2095-4972 (2016)02-0211-06

氨氮是水产养殖环境中主要污染因子之一,来源于水生动物蛋白质代谢产物、粪便排泄以及残余饵料等含氮有机物的氨化作用^[1].在对虾养殖过程中,水环境经常发生改变,导致氨氮浓度升高,对机体免疫产生显著影响,造成对虾病害爆发^[2].由于对虾缺乏免疫球蛋白,因此体液免疫主要依靠机体中天然形成或诱导产生的各种免疫因子完成^[3].血淋巴蛋白中含有多种免疫因子,如血蓝蛋白、模式识别蛋白、热休克蛋白等,因此血淋巴蛋白不仅具有结合病原菌的作用,同时参与对虾体内氧气运输;超氧化物歧化酶(SOD)主要参与对虾体内抗氧化机制,清除体内残留的氧自由基;溶菌酶主要起到与清除对虾体内异物,因此常将这3个因子水平高低作为衡量对虾免疫强弱的重要指标^[4-5].已有研究表明,凡纳滨对虾(*Penaeus vannamei*)体内蛋白含量、溶菌和抗菌活力会随氨氮浓度变化发生显著改变^[6-7];随着氨氮浓度增加斑节对虾(*Penaeus monodon*)体

内SOD活力逐渐增大^[8-9];日本沼对虾(*Macrobrachium nipponensis*)在氨氮胁迫下,蛋白含量发生显著改变^[10].在对红螯光壳螯虾(*Cherax quadricarinatus*)^[11]、三疣梭子蟹(*Portunus trituberculatus*)^[12]、中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)^[13]等其他甲壳类动物研究中也同样发现氨氮对免疫因子具有显著影响.因此,研究氨氮与对虾非特异性免疫的关系及如何进行防控已成为愈来愈多水产工作者的研究热点.

近年来,众多学者已将研究重点渐渐从凡纳滨对虾转移到其他品种对虾上,以期通过对其他品种对虾的研究缓解凡纳滨对虾目前面临的诸多问题,如种质退化、亲虾进口价格较高等问题.墨吉明对虾(*Fenneropenaeus merguensis*)作为广东本地一种暖水性经济对虾^[14],因其肉质鲜美、资源丰富、抗病性较强^[15]等特点逐渐获得学者们的青睐.近年来众多学者对墨吉明对虾研究主要集中在以下几个方面:墨吉明对虾的胚胎发育^[16-17]、对虾生长性状^[18]、功

收稿日期: 2015-05-25

基金项目: 广东省水产良种体系建设资助项目(2013004); 广西科学研究与技术开发计划资助项目(桂科攻14121006-2-6)

作者简介: 钱佳慧(1990~),女,硕士研究生; E-mail: 52_duo@163.com

通讯作者: 叶宁(1972~),男,高级实验师; E-mail: 2590713@qq.com

能基因的基因克隆、表达^[19]以及对墨吉明对虾进行资源调查^[20],对于环境因子胁迫,尤其是氨氮胁迫,在墨吉明对虾中并未开展. 本文采用静水毒性试验方法研究不同氨氮浓度对墨吉明对虾的毒性作用及在高氨氮胁迫下墨吉明对虾血淋巴中与免疫相关因子的变化情况,为墨吉明对虾工厂化养殖水环境管理以及病害防治提供生理免疫方面的理论依据.

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验所用材料由广东海洋大学无脊椎动物养殖工程中心提供,挑选体色正常、活力旺盛、平均体长为(50.51±9.13)mm,平均体重为(2.39±0.82 g)的墨吉明对虾用于试验. 实验前暂养7 d,海水盐度为22,pH值为8.3,温度为26℃,暂养期间不间断的进行充氧,每日进行换水,且换水量为总水体的50%,此外对墨吉明对虾投喂粤海人工饲料,投喂量为虾体质量的30%.

1.2 实验方法

1.2.1 氨氮急性毒性实验 墨吉明对虾氨氮实验分为实验组和对照组,实验组设5个质量浓度(简称浓度,下同)梯度(20.00、27.80、38.64、53.71、74.66 mg/dm³),且每个浓度梯度另设有3组平行,每组中分别放入健康的墨吉明对虾20尾. 对照组所用海水为砂滤、曝晒、消毒后的海水,且氨氮浓度<0.05 mg/dm³. 实验期间少量投喂饵料,每日50%换水,并保持各组中氨氮浓度不变. 实验期间分别记录好24、48、96 h不同时间段的死亡个体数目,并及时清除死亡对虾.

1.2.2 免疫因子测定 另取健康且活力良好的墨吉明对虾20尾,驯养在氨氮浓度为35.31 mg/dm³的饲养桶中,并于24、48、96 h时对虾进行取样(各取3尾). 用消毒后的1 cm³注射器先吸取抗凝剂(柠檬酸钠浓度50 mmol/dm³, EDTA·Na₂浓度10 mmol/dm³, pH 7.3),再从对虾头胸甲背部插入心

脏抽取血淋巴,放入灭菌的离心管中于4℃保存,用于蛋白含量测定;用高温灭菌后的剪刀和镊子,对墨吉明对虾的肝胰脏进行取样,并将肝胰脏置于提前加入1 cm³生理盐水的研磨器中研磨,将匀浆液保存于-4℃冰箱中,用于后续免疫指标检测. 蛋白含量测定采用考马斯亮蓝法,通过测定540 nm处吸光度可计算出蛋白含量. SOD活力的测定采用南京建成超氧化物歧化酶试剂盒进行.

1.3 数据处理

实验数据采用平均值±标准差表示,并采用单因素方差分析(ANOVA). $p < 0.05$ 表示差异显著, $p > 0.05$ 表差异不显著. 根据直线内插法,求出氨氮半致死浓度(lethal concentration 50, LC_{50})及安全浓度(safe concentration, SC).

$$SC = 0.1 \times LC_{50} \tag{1}$$

式(1)中 LC_{50} 代表96 h氨氮半致死浓度.

非离子氨(C_{NH_3})在总氨氮中占的百分数采用以下计算方法得出:

$$C_{NH_3} \text{ 占比}(\%) = 100 / (1 + 10^{(pK_{aS,T} - pH)}) \tag{2}$$

$$pK_{aS,T} = 9.24 + 0.003\,091S + 0.032\,4(298 - T) \tag{3}$$

式(2)、(3)中 T 表示绝对温度($T = 273℃ + t$), t 为摄氏温度; S 代表盐度; $pK_{aS,T}$ 为电离常数,pH代表水体pH值.

2 结果与分析

2.1 氨氮急性毒性实验

表1为氨氮对墨吉明对虾急性毒性实验结果,由表1可知,对照组中墨吉明对虾不随养殖时间延长死亡. 实验组中,在同一时间,随着氨氮浓度的增加,个体死亡数目逐渐增多;同一氨氮浓度条件下,随着胁迫时间延长,墨吉明对虾的死亡率逐渐增大,但当氨氮浓度为38.64 mg/dm³时,48 h死亡率低于24 h 墨吉明对虾死亡率. 氨氮浓度为74.66 mg/dm³胁迫96 h时,墨吉明对虾死亡率高达100%.

表 1 氨氮对墨吉明对虾急性毒性实验结果

Tab. 1 Acute toxicity test of ammonia nitrogen on shrimp *F. merguensis*

氨氮浓度 /mg · dm ⁻³	死亡率/%		
	24 h	48 h	96 h
<0.05(对照组)	0	0	0
20.00	0	10.00	27.78
27.80	10.00	11.11	31.25
38.64	25.00	20.00	58.33
53.71	40.00	41.67	85.71
74.66	55.00	60.56	100.00

表 2 为氨氮对墨吉明对虾半致死浓度及安全浓度结果分析,由表 2 可知,墨吉明对虾死亡率与氨氮浓度呈正相关($p < 0.05$),即随着氨氮浓度的增大,墨吉明对虾死亡率升高.24、48、96 h 氨氮半致死浓

度分别为 67.680、62.960、35.310 mg/dm^3 ;非离子氨半致死浓度分别为 6.230、5.800、3.250 mg/dm^3 .墨吉明对虾对氨氮的安全浓度为 3.531 mg/dm^3 ;非离子氨安全浓度为 0.325 mg/dm^3 .

表 2 氨氮对墨吉明对虾半致死浓度及安全浓度
Tab.2 LC_{50} and SC of ammonia nitrogen on shrimp *F. merguensis*

暴露时间 /h	氨氮半致死浓度 / $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$	非离子氨半致死浓度 / $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$	氨氮安全浓度 / $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$	非离子氨安全浓度 / $\text{mg} \cdot \text{dm}^{-3}$
24	67.680	6.230	-	-
48	62.950	5.800	-	-
96	35.310	3.250	3.531	0.325

注:“-”表示无数据

2.2 氨氮对墨吉明对虾免疫因子影响实验

由图 1 可见,经单因素方差分析(ANOVA),高浓度氨氮对墨吉明对虾血淋巴中蛋白含量影响显著($p < 0.05$).氨氮胁迫可降低墨吉明对虾血清蛋白含量,显著低于对照组($p < 0.05$).24 h 血清蛋白含量最低为 1.57 mg/cm^3 ,随着胁迫时间延长,实验组中墨吉明对虾血清蛋白逐渐升高,48 h 后血清蛋白含量逐步稳定在 3.41 ~ 3.78 mg/cm^3 .由图 2 可知,氨氮胁迫下 SOD 活力显著低于对照组($p < 0.05$),在氨氮浓度为 35.31 mg/cm^3 时,随着胁迫时间延长,实验组中 SOD 活力逐渐降低,96 h SOD 活力低至 6.74 U/cm^3 ,且每胁迫时间组差异达显著水平($p < 0.05$).对照组中 SOD 活力随时间延长不发生显著变化($p > 0.05$),表明氨氮对 SOD 活力具有显著影响.由图 3 可知,随着胁迫时间延长,实验组墨吉明对虾溶菌酶活力呈现下降趋势,且各取样点间活力差异显著($p < 0.05$).氨氮胁迫下墨吉明对虾溶菌酶活力显著高于对照组($p < 0.05$),且 24 h 溶菌酶活力最大为 185.89 U/cm^3 .墨吉明对虾在适宜环境中溶菌酶活力处于较低水平,且不随取样时间延长而发生改变($p > 0.05$).

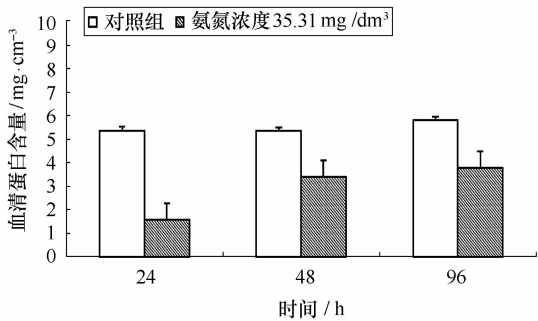


图 1 氨氮对墨吉明对虾血清蛋白含量影响
Fig.1 Effects of ammonia nitrogen on the protein concentration in shrimp *F. merguensis*

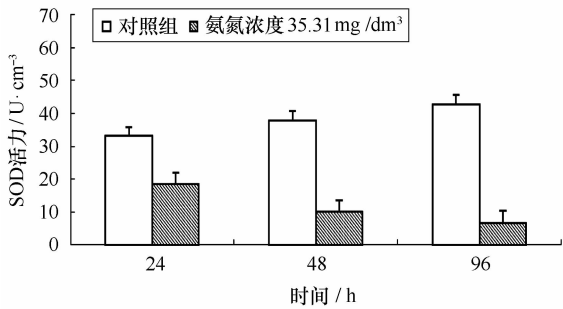


图 2 氨氮对墨吉明对虾 SOD 活力的影响
Fig.2 Effects of ammonia nitrogen on SOD activity in shrimp *F. merguensis*

3 讨论

3.1 氨氮对墨吉明对虾毒性影响

氨氮是对虾养殖环境中常见的一种有毒物质,水环境中,氨氮主要以离子氨(NH_4^+)和非离子氨(NH_3)形式存在^[21].非离子氨不带电荷,容易透过细胞膜的疏水部位进入机体内部,导致对虾氨中毒.相反,离子氨带正电荷,不易通过细胞膜进入体内产生毒性作用.因此非离子氨比离子氨对对虾机体产生的毒性作用大.墨吉明对虾 24、48、96 h 非离子氨半致死浓度分别为 6.230、5.800、3.250 mg/dm^3 ,显

著低于 24、48、96 h 总氨氮半致死浓度,且 96 h 非离子氨安全浓度为仅为 0.339 mg/dm^3 .表明非离子氨毒性大于氨氮毒性.孙国铭等(2002)、李永等(2012)、梁俊平等(2012)分别对规格约 47 ~ 50 mm 的凡纳滨对虾、斑节对虾、脊尾白对虾(*Exopalaemon carinicauda*)进行研究^[22-24],研究结果见表 3,从表 3 可以看出规格相近的墨吉明对虾对非离子氨的耐受能力要高于凡纳滨对虾和斑节对虾,但却低于脊尾白对虾耐非离子氨能力,其原因可能是是由于物种

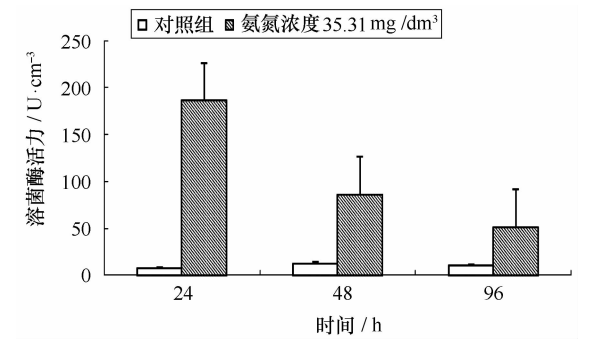


图3 氨氮对墨吉明对虾溶菌酶活力的影响
Fig.3 Effects of ammonia nitrogen on the activities of lysozyme in shrimp *F. merguensis*

差异导致对氨离子耐受性不同. 此外, 研究发现墨吉明对虾在相同氨氮浓度胁迫 24、48 h 两时间点死亡率差异较小, 而胁迫 96 h 与之相比差异显著, 原因可能是初始胁迫 24 h 时, 墨吉明对虾对氨氮产生严重应激反应, 导致大量个体死亡, 而随着胁迫时间延长墨吉明对虾表现出耐受性, 死亡率降低. 若氨氮胁迫时间过长, 墨吉明对虾免疫系统遭破坏, 无法实现自我调节, 死亡率增加, 即氨氮胁迫 96 h 死亡率显著增加. 大多研究表明, 凡纳滨对虾^[22]、斑节对虾^[23]、日本对虾 (*Penaeus japonicus*)^[25]、罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*)^[26] 等随氨氮浓度和胁迫时间增加死亡率逐渐增大, 与本实验结果相同, 即氨氮的毒性效应与浓度和胁迫时间呈正相关.

表3 不同种类对虾非离子氨半致死浓度
Tab.3 LC₅₀ of non-ionic ammonia in different shrimp species

项目	不同种类对虾非离子氨半致死浓度/mg · dm ⁻³		
	凡纳滨对虾 (<i>P. vannamei</i>)	斑节对虾 (<i>P. monodon</i>)	脊尾白对虾 (<i>E. carinicauda</i>)
24h LC ₅₀	4.684	3.230	7.740
48h LC ₅₀	3.068	2.430	6.400
96h LC ₅₀	2.008	1.840	4.950
SC	0.201	0.180	0.500

3.2 氨氮对墨吉明对虾免疫因子影响

对虾血淋巴中含有多种与免疫相关的蛋白, 如模式识别蛋白、热休克蛋白等. 这些免疫蛋白相互协同, 参与异物识别、吞噬、包裹和细胞毒性等作用, 最终消灭和清除病原体^[3]. 本实验结果表明, 在 35.31 mg/dm³ 氨氮胁迫下, 墨吉明对虾血淋巴蛋白含量显著低于对照组中血淋巴蛋白含量, 其原因是氨氮会加速对虾体内蛋白质的分解代谢以调节渗透平衡^[27]. 但随着氨氮胁迫时间延长, 实验组墨吉明对虾血淋巴蛋白含量有所升高, 推测其原因是 24 ~ 48

h 内高浓度的氨氮刺激诱发蛋白质的合成与释放, 同时氨氮造成的组织损伤和细胞破裂, 使细胞内容物进入血淋巴液, 共同导致血淋巴中总蛋白浓度升高^[28]. 据王国江(2008)报道日本沼虾血淋巴中蛋白含量随氨氮浓度增加呈现先上升后下降的趋势^[10]; Chen 等(1994)研究发现日本对虾血淋巴蛋白含量会随水体中氨氮浓度增加逐渐升高^[29]; Racotta 等(2000)对氨氮胁迫凡纳滨对虾进行研究, 研究表明随着氨氮浓度增加血淋巴中蛋白含量逐渐升高^[6], 在氨氮浓度为 1.07 nmol/dm³ 时, 蛋白含量最达 194.1 mg/dm³. 以上研究均与本实验研究结论相同, 即氨氮对对虾血淋巴蛋白含量影响显著.

超氧化物歧化酶(SOD)是重要的抗氧化酶之一, 具有清除超氧阴离子、过氧化氢等功能. 当 SOD 活力降低时, 生物体内氧自由不断积累, 对生物体内一些重要的生化过程造成干扰, 导致代谢紊乱, 免疫水平降低, 潜在病原被激活, 对对虾产生致病作用^[3]. 本研究发现, 氨氮胁迫下 SOD 活力显著低于对照组, 氨氮胁迫时间为 24 ~ 96h 时, SOD 活力逐渐降低. 原因是氨氮胁迫下破坏了抗氧化酶系统, 并且活性氧积累造成严重的氧化损伤, 因此 SOD 酶活力显著低于对照组, 且随着胁迫时间延长呈继续下降趋势, 这很可能是氨氮产生毒害作用的重要原因之一^[30]. 对其他种类虾蟹研究表明, 斑节对虾在氨氮胁迫 24 h 后, SOD 活力显著下降, 96 h SOD 活力显著低于对照组 SOD 活力^[8,23]; 克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 随着氨氮浓度升高, SOD 活力在 24 h 以后呈现显著下降趋势, 且低于对照组中 SOD 活力^[31]. 以上研究与本实验得出结论相同, 即 SOD 活力易受水体中氨氮影响.

溶菌酶是一种碱性蛋白, 广泛存在于对虾的血淋巴中, 是血细胞杀菌的物质基础, 能水解细菌细胞壁肽聚糖成分中乙酰氨基多糖, 使细菌裂解死亡, 从而发挥机体免疫防御功能^[3]. 姜令绪等(2005)研究氨氮对凡纳滨对虾 48 h 内溶菌酶活力变化中发现, 随着胁迫时间延长, 溶菌酶活力呈现下降变化趋势^[7]; 孙舰军等(1999)报道了中国对虾 (*Fenneropenaeus chinensis*) 在高氨氮胁迫条件下, 溶菌、抗菌活力及 SOD 活力显著下降, 对病菌侵染的敏感性增强^[32]; Yue 等(2010)对三疣梭子蟹研究发现, 暴露在氨氮浓度为 20 mg/dm³ 的三疣梭子蟹溶菌酶基因表达量显著降低, 感病能力增强^[33]. 本实验与以上研究结果相类似, 随着氨氮胁迫时间的延长, 实验组中溶菌酶活力逐渐减弱, 原因可能是由于较长时间的氨氮胁迫, 抑制了溶菌酶的合成及分泌, 而抑制的

原因则是氨氮与溶菌酶的活性中心直接作用,降低溶菌酶活力,从而造成对虾免疫水平下降^[34]。实验发现在氨氮胁迫条件下,墨吉明对虾 24、48、96 h 实验组溶菌酶活力显著高于对照组,产生这种现象的原因是氨氮破坏了对虾体内的部分免疫系统,导致大量病原菌入侵,为抵御病原体侵染,溶菌酶活力升高^[34],因此实验结果中实验组溶菌酶活力显著高于对照组。因此严格控制养殖水体中氨氮浓度有利于提高对虾抗病能力,增加产出量。

本研究得出,氨氮胁迫对墨吉明对虾血淋巴蛋

白含量、SOD 活力、溶菌酶活力具有重要影响。免疫指标的变化直接关系到墨吉明对虾抗病能力,因此无论是墨吉明对虾还是其他对虾养殖,严格控制水体中氨氮浓度,不仅能提高对虾自身免疫,而且有利于对虾繁育子代的成活率。本试验只探究水体中氨氮浓度对墨吉明对虾免疫因子影响,并未探讨水体中其他因子是否对氨氮毒性作用强弱存在影响,因此有待后续研究探讨氨氮与其他因子的协同效应对墨吉明对虾免疫的影响。

参考文献:

- [1] 洗健安,钱坤,郭慧,等. 氨氮对虾类毒性影响的研究进展[J]. 饲料工业, 2014, 35(22): 52-58.
- [2] Liu C H, Chen J C. Effect of ammonia on the immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2004, 16(3): 321-334.
- [3] 肖克宇. 水产动物免疫学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2011:106-107.
- [4] 章跃陵,林智建,李祖江,等. 凡纳滨对虾血清中直接与病原菌相结合的主要蛋白的鉴定[J]. 水产学报,2008,32(1): 105-110.
- [5] 雷质文,黄健,杨冰,等. 感染白斑综合征病毒(WSSV)对虾相关免疫因子的研究[J]. 中国水产科学,2001, 8(4): 46-54.
- [6] Racotta I S, Hernández-Herrera R. Metabolic responses of the white shrimp, *Penaeus vannamei*, to ambient ammonia[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2000, 125(4): 437-443.
- [7] 姜令绪,潘鲁青,肖国强. 氨氮对凡纳对虾免疫指标的影响[J]. 中国水产科学, 2005, 11(6): 537-541.
- [8] Pan C H, Chien Y H, Hunter B. The resistance to ammonia stress of *Penaeus monodon* Fabricius juvenile fed diets supplemented with astaxanthin[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2003, 297(1): 107-118.
- [9] 文国樑,张华军,张家松,等. 斑节对虾血淋巴免疫指标变化与其养殖池塘理化因子的关系[J]. 生态科学, 2014, 33(1): 76-82.
- [10] 王国江. 氨氮和亚硝态氮胁迫对日本沼虾血淋巴的影响[D]. 保定: 河北大学, 2008.
- [11] 蒋琦辰,顾曙余,张文逸,等. 氨氮急性胁迫及其毒后恢复对红螯光壳螯虾幼虾相关免疫和代谢指标的影响[J]. 水产学报, 2013, 37(7): 1 066-1 072.
- [12] 岳峰,潘鲁青,谢鹏,等. 氨氮胁迫对三疣梭子蟹酚氧化酶原系统和免疫指标的影响[J]. 中国水产科学, 2010, 17(4): 761-770.
- [13] 洪美玲,陈立侨,顾顺樟,等. 氨氮胁迫对中华绒螯蟹免疫指标及肝胰腺组织结构的影响[J]. 中国水产科学, 2007, 14(3): 412-418.
- [14] 麦贤杰,黄伟健,叶富良,等. 对虾健康养殖学[M]. 北京: 海洋出版社, 2009.
- [15] Patil P K, Gopal C, Panigrahi A, et al. Oral administration of formalin killed *Vibrio anguillarum* cells improves growth and protection against challenge with *Vibrio harveyi* in banana shrimp[J]. Letters in Applied Microbiology, 2014, 58(3): 213-218.
- [16] Qureshi N A, Amanat Z. Reproductive biology and size at sexual maturity of *Penaeus merguensis* (De Man, 1887) from the Sonmiani Bay Lagoon, Balochistan, Pakistan[J]. Journal of Animal and Plant Sciences, 2014, 24(2): 503-511.
- [17] Memon A J, Ikhwannuddin M, Talpur A D, et al. Assessment of sperm viability, determination fertilization capacity and hatching rate by artificial insemination of banana shrimp, *Penaeus merguensis* (De Man, 1888) [J]. Research Journal of Applied Sciences, 2011, 6(3): 174-178.
- [18] Mane S, Deshmukh V D. Age and growth studies of banana prawn, *Penaeus merguensis* de Man from Maharashtra waters[J]. Journal of the Marine Biological Association of India, 2011, 53(2): 184-188.
- [19] 王芸,李健,李吉涛,等. pH 胁迫对中国明对虾抗氧化系统酶活力及基因表达的影响[J]. 中国水产科学, 2011, 18(3): 556-564.
- [20] 钟振如,李辉权,闽信爱,等. 南海北部涠洲岛周围水域中的墨吉对虾资源[J]. 水产学报, 1992, 14(4): 277-285.
- [21] 董玉波,王珂,王林同. 氨氮对水生生物毒性的研究进展[J]. 天津水产, 2011(Z1): 6-11.
- [22] 孙国铭,汤建华,仲霞铭. 氨氮和亚硝酸氮对南美白对虾的毒性研究[J]. 水产养殖, 2002(1): 22-24.

- [23] 李永, 杨其彬, 苏天凤, 等. 氨氮对斑节对虾的毒性及免疫指标的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2012, 21(3): 358-362.
- [24] 梁俊平, 李健, 李吉涛, 等. 氨氮对脊尾白虾幼虾和成虾的毒性试验[J]. 水产科学, 2012, 31(9): 526-529.
- [25] 李建, 姜令绪, 王文琪, 等. 氨氮和硫化氢对日本对虾幼体的毒性影响[J]. 上海水产大学学报, 2007, 16(1): 22-27.
- [26] 臧维玲, 沈林华. 亚硝酸盐和氨对罗氏沼虾幼体的毒性[J]. 上海水产大学学报, 1996, 5(1): 15-22.
- [27] Chen J C, Lin C Y. Oxygen consumption and ammonia-N excretion of *Penaeus chinensis* juveniles exposed to ambient ammonia at different salinity levels[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Comparative Pharmacology, 1992, 102(2): 287-291.
- [28] 朱毅菲. 不同浓度氨氮, 不同低 pH 突变对克氏原螯虾免疫功能的影响[D]. 武汉: 华中农业大学, 2006.
- [29] Chen J C, Cheng S Y, Chen C T. Changes of haemocyanin, protein and free amino acid levels in the haemolymph of *Penaeus japonicus* exposed to ambient ammonia[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology, 1994, 109(2): 339-347.
- [30] 洪美玲, 陈立侨. 水中亚硝酸盐和氨氮对中华绒螯蟹幼体的毒性效应及维生素 E 的营养调节[D]. 上海: 华东师范大学, 2007.
- [31] 芦光宇, 刘国兴, 李佳佳, 等. 氨氮对克氏原螯虾抗氧化功能的影响[J]. 江西农业学报, 2014, 26(2): 129-133.
- [32] 孙舰军, 丁美丽. 氨氮对中国对虾抗病力的影响[J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(3): 267-272.
- [33] Yue F, Pan L, Xie P, et al. Immune responses and expression of immune-related genes in swimming crab *Portunus trituberculatus* exposed to elevated ambient ammonia-N stress[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2010, 157(3): 246-251.
- [34] 陈家长, 臧学磊, 胡庚东, 等. 氨氮胁迫下罗非鱼机体免疫力的变化及其对海豚链球菌易感性的影响[J]. 生态环境学报, 2011, 20(4): 629-634.

Acute toxicity of ammonia-N and its effect on the immune parameters of *Fenneropenaeus merguensis*

QIAN Jia-hui, LI Zhi-min, LIU Jian-yong, YE Ning, LIU Rui

(Fisheries College, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: Using the biological toxicity method, we studied the acute toxicity of ammonia-N and its effect on the immune parameters of *Fenneropenaeus merguensis*, in order to provide the theoretical basis for the *Fenneropenaeus merguensis* healthy breeding. The results showed that the toxicity of ammonia-N has a significant positive correlation with stress time and concentration. The 24, 48 and 96 h LC_{50} was 67.680, 62.950 and 35.310 mg/dm^3 , respectively, and the safe concentration reached at 3.531 mg/dm^3 . Under the same concentration, 24, 48 and 96 h LC_{50} of non-ionic ammonia was 6.230, 5.800, and 3.250 mg/dm^3 , respectively, and the SC was 0.339 mg/dm^3 . Under the stress of ammonia-N (35.310 mg/dm^3), the serum protein content of the shrimp in the treated group was significantly lower than the control group ($p < 0.05$). However, the protein content recovered gradually with the stress time prolonged and it reached the maximum (3.78 ± 0.95) mg/cm^3 in the group of 96 h. The superoxide dismutase(SOD) activity in the treated group was always lower than control group, as the time went on, it gradually declined to the lowest (6.74 ± 0.53) U/cm^3 in the group of 96 h. The activities of lysozyme was higher in the treated group, but with ammonia-N stress time prolonged, lysozyme activity decreased graduated to the lowest(51.53 ± 4.41) U/cm^3 in 96 hours. Acute toxicity results suggested that the immune parameters could be severely affected by high ammonia-N stress.

Key words: marine biology; *Fenneropenaeus merguensis*; ammonia-N; the half lethal concentration; immune parameters

DOI:10.3969/J. ISSN. 2095-4972. 2016. 02. 009