

凡纳滨对虾幼体不同生长发育时期应答氨氮胁迫的敏感性研究

石 祥, 肖 容, 邱立国, 周海龙

(海南大学 热带农林学院, 海南 海口 570228)

摘要: 凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)是世界上最重要的对虾养殖品种之一。为比较凡纳滨对虾不同生长发育时期应答氨氮胁迫的敏感性差异, 作者对其不同生长发育时期 24 h 半数致死浓度(LC₅₀)进行测定, 并分析其胁迫效应。结果表明, 24 h LC₅₀ 值在虾的不同生长发育时期差异显著($P < 0.05$), 不同时期凡纳滨对虾的 LC₉₀ 与 LC₅₀ 变化趋势相同。在溞状幼体 II 期(Z2)LC₅₀ 值最低, 为 17.811 mg/L, 在仔虾第 V 期(P5)时, LC₅₀ 值最高, 为 44.808 mg/L。根据 LC₅₀ 和 LC₉₀ 的变化趋势可以看出, 仔虾比幼体期的耐受性强。本试验结果不仅为凡纳滨对虾不同生长发育时期的苗种培育提供了重要的基础数据, 而且为凡纳滨对虾耐氨氮品系选育提供了重要指导。

关键词: 凡纳滨对虾; 氨氮胁迫; 不同生长发育时期; 敏感性

中图分类号: S968.22 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2018)02-0088-06

DOI: 10.11759/hyxx20170723001

凡纳滨对虾 (*Litopenaeus vannamei*) 俗称南美白对虾、白虾等, 其对盐度及温度的适应性较强, 而且肉质鲜美, 现已成为世界对虾养殖三大品种中产量最高的一种^[1-2]。近年来, 随着工业的发展及人类活动的增加(例如工业废水和生活污水的排放以及化肥的使用), 氨氮的环境排放量越来越大^[3]。另外, 凡纳滨对虾养殖过程中剩余饵料的分解及其自身排泄物的积累也会导致其养殖水体中产生大量的氨氮^[4]。据报道, 氨氮胁迫会严重影响凡纳滨对虾的正常生长发育, 已严重制约对虾养殖业的健康发展^[5]。

当养殖水体 NH₄⁺ 超过质量浓度 5 mg/L, NH₃ 超过 0.2 mg/L 时, 会影响鱼类等水生生物的生理代谢调节, 因而养殖水体的分子氨 NH₃ 含量最高值不宜超过 0.1 mg/L^[6]。相对 NH₃, NH₄⁺ 无论是在水中的含量还是危害都占主导地位^[7]。氨氮(NH₃-N)在水体中通常主要以 NH₄⁺ 状态存在, 同时还包括一部分未电离的氨水合物(NH₃·H₂O)。水生动物长期生活在含分子氨量较高的水体中时, 由于体内氨氮废物的排泄受阻, 若分子氨再从水体渗入组织液内, 进入生物体内的 NH₃ 会氧化血液中血红蛋白分子的 Fe²⁺, 造成血液载氧能力的大幅下降^[8]。同时, 血细胞对于对虾的免疫有重要作用, 而氨氮胁迫会显著影响甲壳动物的血细胞数量, 导致机体对病原菌的抗性减弱^[9]。

氨氮是虾类养殖环境中的一种重要的环境因子^[10], 对甲壳动物机体的系统免疫、生长发育及渗透压的调节等都有重要影响^[11]。正常情况下, 甲壳动物体内

氮的主要代谢产物是氨态氮(NH₄⁺), 体内超过 60% 的氮是以氨态氮的形式由鳃排出体外^[12]。当甲壳动物受到氨氮胁迫时, 其体内的氨氮解毒代谢途径发挥作用, 主要包括: 减少体内蛋白质和氨基酸的分解; 合成谷氨酸、谷氨酰胺等对机体无毒害作用的氨基酸; 降低鳃组织对分子氨的通透性, 增加 NH₄⁺ 的排出率; 加强尿素循环, 增加尿素氮的排泄^[13]。

目前, 氨氮对海洋动物的胁迫效应已开展了大量研究, 包括对斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)^[14]、花鲈鱼(*Lateolabrax maculatus*)^[15]、刺参(*Apostichopus japonicus*)^[16]、文蛤(*Meretrix meretrix*)^[17]、日本囊对虾(*Penaeus japonicus*)^[18]等; 另外不同种类的虾类, 即使同种虾类在不同生长发育时期对氨氮的敏感性也有差异^[19]。有关氨氮对甲壳动物的毒性效应已开展了大量研究。据报道, 氨水作为水生系统的主要毒物, 可能引起虾的免疫抑制, 增加对 WSSV 的敏感性^[20-22]。抗氧化酶是应对活性氧(ROS)的重要工具, 超氧化物歧化酶(SOD)是应对氧化应激的重要抗氧化酶之一^[23-24]。高氨氮可造成肝胰腺中 SOD 活性降

收稿日期: 2017-07-23; 修回日期: 2017-09-16

基金项目: 海南省自然科学基金项目(20164159); 国家自然科学基金项目(41161077)

[Foundation: The Natural Science Foundation of Hainan Province, No. 20164159; The National Natural Science Foundation of China, No. 41161077]

作者简介: 石祥(1993-), 男, 山东人, 硕士研究生, 主要从事海洋动物逆境生物学研究, 手机: 18789079886, E-mail: 576828603@qq.com; 周海龙, 通信作者, E-mail: zhoulh@hainu.edu.cn

低从而导致 ROS 含量升高^[25]。过量的 ROS 可能会破坏细胞膜, 形成脂质过氧化物和氧化蛋白^[26]。作为衡量水质好坏的重要标准, 有研究表明养殖水环境中氨氮含量变化对对虾的免疫力及生理机能和环境耐受力方面有显著的影响, 甚至可导致对虾非病原感染性死亡。如 Chen 等^[27]通过对不同浓度 NH₄Cl 胁迫下斑节对虾(*Penaeus monodon*)体内的氨基酸含量的研究发现, 不同组织中氨基酸的含量存在差异。张克俭^[28]指出, 当环境中氮质量浓度高于 10.44 mg/L 时, 中国明对虾(*Penaeus chinensis*)肝胰腺中肝小管管壁内的吸收细胞减少, 分泌细胞增多, 产生大量分泌小泡, 而且因分泌细胞的破裂解体导致部分肝小管损伤或破坏。

为了更好地指导凡纳滨对虾的苗种培育和健康养殖, 比较其不同生长发育时期应答氨氮胁迫的敏感性显得尤为重要。目前, 大多仅仅对其某个或几个生长发育时期应答氨氮胁迫开展了研究^[29-30], 而对其不同生长发育时期应答氨氮胁迫的敏感性尚无相关报道。因此, 本研究拟通过测定凡纳滨对虾不同生长发育时期不同致死比例来比较其对氨氮胁迫的敏

感性, 以期对凡纳滨对虾的健康养殖以及耐氨氮新品系选育提供基础数据及理论指导。

1 材料与方法

1.1 凡纳滨对虾发育形态学的观察研究

实验用凡纳滨对虾采自海南广泰海洋育种有限公司。在海水盐度为 31, pH 为 8.1±0.2, 温度为 30.88℃±0.73℃的环境下, 在 4×OLYMPUS 光学显微镜[型号 CX 21]下观察凡纳滨对虾发育过程。对各时期形态进行拍照, 利用 Adobe Photoshop 对所观察结果进行描边处理, 最终得到各时期胚胎发育图。

1.2 氨氮胁迫下凡纳滨对虾不同发育时期敏感性的确定

1.2.1 材料

实验用凡纳滨对虾采自海南广泰海洋育种有限公司。各取样时间对应的环境温度, pH 及盐度条件详见表 1。从表 1 可以看出, 发育过程中虾苗的体长呈现线性增长。温度维持在 30℃左右, pH 呈现碱性。

表 1 测定氨氮胁迫对不同时期凡纳滨对虾胁迫作用时的试验条件

Tab. 1 Experimental conditions to determine the stress levels for ammonia-N pollution of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*

发育时期	平均总长度/cm	温度/℃	pH	盐度
N	0.035±0.005	31.5 ± 0.1	7.98 ± 0.02	30 ± 0.173
Z	0.084±0.005	29.1 ± 0.115	7.96 ± 0.01	30 ± 0.265
Z	0.133±0.012	31.4 ± 0.173	7.98 ± 0.017	31 ± 0.2
Z	0.2±0.01	31.2 ± 0.265	7.95 ± 0.01	31 ± 0.1
M	0.278±0.011	31.5 ± 0.2	7.96 ± 0.01	30 ± 0.2
M	0.337±0.015	31.6 ± 0.2	7.91 ± 0.017	30 ± 0.173
M	0.387±0.116	31.5 ± 0.173	7.91 ± 0.017	30 ± 0.265
P	0.48±0.026	30.6 ± 0.265	7.93 ± 0.01	30 ± 0.265
P	0.527±0.025	30.5 ± 0.173	7.89 ± 0.02	30 ± 0.346
P	0.577±0.025	30.5 ± 0.1	7.92 ± 0.02	30 ± 0.4
P	0.63±0.026	30.7 ± 0.265	7.88 ± 0.03	30 ± 0.173
P	0.677±0.025	30.4 ± 0.1	7.88 ± 0.026	30 ± 0.436

注: N 为无节幼体; Z I 为蚤状幼体 I 期; Z II 为蚤状幼体 II 期; Z III 为蚤状幼体 III 期; M I 为糠虾幼体 I 期; M II 为糠虾幼体 II 期; M III 为糠虾幼体 III 期; P I 为仔虾 1 期; P II 为仔虾 2 期; P III 为仔虾 3 期; P IV 为仔虾 4 期; P V 为仔虾 5 期

1.2.2 主要试剂和仪器

主要仪器为胶头吸管、烧杯、NH₄Cl(分析纯)、电子天平(OHAUS)、HI96733 型氨氮测试仪(HANNA)。母液由 NH₄Cl(分析纯)与海水配制而成。

1.2.3 方法

在显微镜下观察胚胎发育过程, 并用胶头吸管吸取各时期的幼体进行暴露实验。根据不同时期设

置不同的氨氮浓度梯度: 无节幼体到糠虾 期设置氨氮暴露质量浓度分别为 0、10、20、25、30、35、40 mg/L; 实际测量氨氮质量浓度为 3.1、14.5、25.0、30.5、36.5、40.1、46.5 mg/L。仔虾期设置氨氮质量浓度梯度为 0、30、40、50、60、80 mg/L。每个浓度设置 3 个平行, 每个平行随机挑选健康的幼体 50 尾, 分别进行急性胁迫试验。每个浓度设置 3 个平行,

每个平行 50 尾虾, 分别暴露于 50 L 装有海水的玻璃烧杯内。用氨氮测定仪(HI96733, HANNA)测定氨氮浓度。暴露 24 h 用胶头滴管吸取虾苗于显微镜下观察, 记录死亡数与存活数量。

1.3 数据统计

数据统计及差异显著性分析采用 SPSS18.0 处理。结果用 Mean ± SD 表示, 采用最小差异显著法(Least-Significant Different, LSD)进行显著性比较($P < 0.05$)。

2 结果

2.1 凡纳滨对虾发育形态学的观察研究

凡纳滨对虾不同发时期形态如图 1 所示。

总观各时期凡纳滨对虾发育图可以发现, 无节

幼体与蚤状幼体 期的区别在于腹部是否有分节现象(图 1 B), 同时, 蚤状幼体 期尾部经常伴随线状食物排泄物, 在水中水平游动; 蚤状幼体 期与 期的区别在于头部前端有无额角, 从图 1 C 可以看出蚤状幼体 期的幼虾头部出现显著对称生长的额角; 蚤状幼体 期与 期的区别为 期幼虾腹部第六节明显加长; 对于蚤虾与糠虾的区别, 由图 1D 与图 1E 对比可以发现, 糠虾 期(图 1 E)尾部构造出现游泳型尾, 此外, 从糠虾 期开始, 幼虾躯体呈现弯曲状, 游泳时头部朝下在水中做弧线状运动; 糠虾 期步足则出现螯状结构(图 1 F), 躯体相比 期略显平整; 当对虾发育至 M_3 期, 游泳足发育完全, 同时其躯体再次呈现显著性弯曲现象, 在水中跳跃式运动。当对虾发育至仔虾期, 其形态与成虾一致。

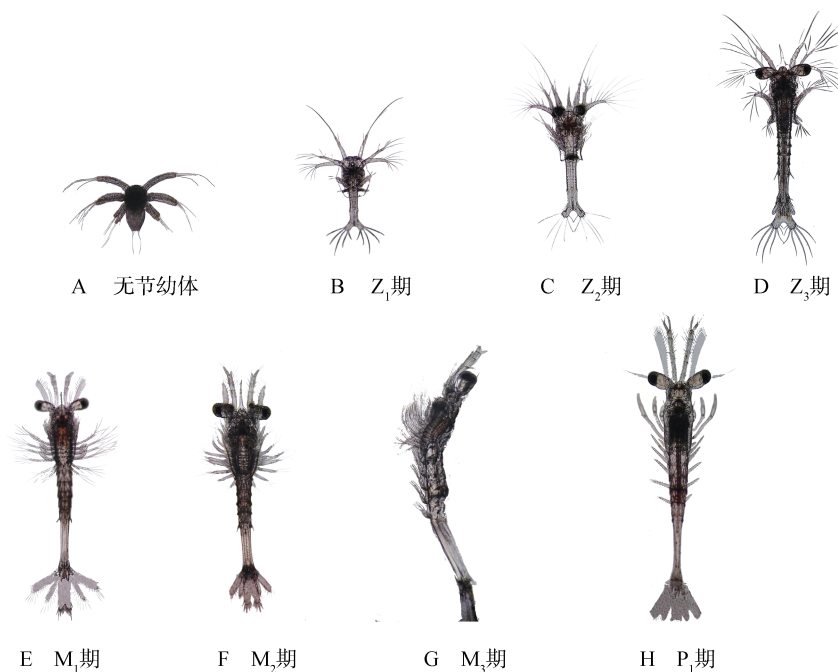


图 1 凡纳滨对虾胚胎发育全过程

Fig. 1 The process of the embryonic development of the white shrimp *Litopenaeus vannamei*

Z₁ 期为蚤状幼体 期; Z₂ 期为蚤状幼体 期; Z₃ 期为蚤状幼体 期; M₁ 期为糠虾幼体 期; M₂ 期为糠虾幼体 期; M₃ 期为糠虾幼体 期; P₁ 期为仔虾 期

Z₁: Zoea I; Z₂: Zoea II; Z₃: Zoea III; M₁: Mysis I; M₂: Mysis II; M₃: Mysis III; P₁: Postlarvae I

2.2 氨氮胁迫下凡纳滨对虾不同发育时期敏感性的确定

氨氮暴露 24 h 时的半数致死浓度(LC₅₀), 90%的致死浓度(LC₉₀)和 10%的致死浓度(LC₁₀)值详见表 2。方差分析的结果表明, 发育时期对氨氮的 24 h LC₅₀ 影响显著($P < 0.05$), 其中在蚤状幼体 期(Z2) LC₅₀ 最小为 17.811 mg/L, 而在仔虾第 5 期(P5)时, LC₅₀ 值

最高, 为 44.808 mg/L。而且 LC₁₀ 和 LC₉₀ 变化趋势与 LC₅₀ 变化趋势一致。

3 讨论

总氨氮和非离子氨氮对不同种类对虾或同一种对虾不同发育时期的 LC₅₀ 不同。由于氨氮胁迫实验在多种实验环境下进行, 不同时间研究对应的实验条件存在差异, 所以难以准确地仅仅利用 LC₅₀ 比较不

表 2 不同发育时期凡纳滨对虾 24 h 不同死亡比例的氨氮致死浓度及半致死浓度的 95%置信区间

Tab. 2 The proportion of ammonia to death at different death rates and 95% confidence interval for the lethal concentration at different mortality rates of *L. vannamei*

生长时期	LC ₅₀ /(mg/L)	95%置信区间	LC ₉₀ /(mg/L)	LC ₁₀ /(mg/L)
无节幼体	22.661 ± 1.755 ^b	20.929~24.291	28.352 ± 4.972 ^{ab}	15.350 ± 1.765 ^c
溞状幼体 期	25.275 ± 2.699 ^c	22.451~27.856	39.906 ± 6.905 ^c	11.358 ± 2.918 ^b
溞状幼体 期	17.896 ± 1.767 ^a	15.999~17.811	26.178 ± 1.021 ^a	9.255 ± 2.073 ^{ab}
溞状幼体 期	20.387 ± 0.874 ^b	18.925~20.386	33.314 ± 0.773 ^b	8.365 ± 0.660 ^a
糠虾幼体 期	32.997 ± 0.905 ^d	31.891~33.947	39.422 ± 2.367 ^c	23.935 ± 0.843 ^e
糠虾幼体 期	34.399 ± 0.279 ^d	32.651~36.130	44.370 ± 0.326 ^{cd}	21.617 ± 0.206 ^{de}
糠虾幼体 期	38.127 ± 0.449 ^e	37.099~39.035	45.794 ± 0.485 ^d	27.347 ± 0.884 ^f
仔虾 期	38.560 ± 0.702 ^e	36.161~40.961	54.705 ± 3.028 ^e	20.547 ± 2.221 ^d
仔虾 期	39.116 ± 0.606 ^e	36.843~39.103	55.641 ± 1.605 ^{ef}	20.692 ± 1.856 ^d
仔虾 期	39.389 ± 1.566 ^e	38.016~42.135	56.109 ± 2.100 ^{ef}	20.755 ± 1.698 ^d
仔虾 期	41.832 ± 2.097 ^f	36.234~45.551	60.549 ± 3.111 ^f	21.383 ± 1.155 ^{de}
仔虾 期	44.805 ± 1.044 ^g	34.953~75.112	58.343 ± 2.621 ^{ef}	27.802 ± 1.705 ^f

注: 同行数据肩标不同小写字母表示差异显著(P<0.05)

同虾类的氨氮耐受性。如就幼虾而言, 克氏原螯虾 (*Procambarus clarkii*) 与脊尾白虾 (*Exopalaemon carinicauda*) 的氨氮耐受性较高, 研究报道其 24 h 的 LC₅₀ 可达 150 mg/L 以上, 而对于斑节对虾等其他种类该发育时间点的 LC₅₀ 处于在 10~70 mg/L^[31]。李永等^[32]发现在温度为 30℃, pH 为 8, 盐度为 34.5 条件下氨氮对斑节对虾 24 h 的 LC₅₀ 为 52.63 mg/L, 且其 LC₅₀ 随氨氮胁迫时间的延长呈现下降趋势。梁俊平等^[33]研究了在水温 24℃、盐度 31、pH8.1 条件下, 氨氮对脊尾白虾幼虾和成虾的毒性; 试验结果表明, 脊尾白虾成虾(4.3 cm)各时间对氨氮的抗性显著高于幼虾(1.2 cm), 其对应 24 h 的 LC₅₀ 分别为 178.80 与 155.81 mg/L。

一般而言, 各种类对虾对氨氮的耐受性随发育时期呈现上升趋势。如在对斑节对虾不同时期的氨氮耐受性比较的研究结果显示, 随着幼体时期的增长, 氨氮的耐受力也逐渐增强, 即耐受力依次为: 后期仔虾>糠虾幼体>溞状幼体>无节幼体^[34]。李建等^[29]发现不同时期日本囊对虾对氨氮的耐受性顺序依次为: 仔虾>糠虾幼体>无节幼体>溞状幼体, 对应 24 h 的 LC₅₀ 依次为 50.12、35.48、23.44、15.85 mg/L; 而其 48 h 的氨氮耐受性依次为仔虾>糠虾幼体>溞状幼体>无节幼体, 对应 48 h 的 LC₅₀ 分别为 24.55、17.38、13.18、10.72 mg/L。而姚庆祯等^[30]通过观察不同发育时间凡纳滨对虾对氨氮的敏感性实验中发现, 其耐受性呈现为: 溞状幼体(Z₁)与糠虾(M₁)24h 的 LC₅₀ 近似相等(约为 20.00 mg/L), 而仔虾 P₆ 的 LC₅₀ 较小, 仅为

11.35 mg/L。而不同时较高虾日龄的虾类其氨氮耐受力增强^[35]。本实验研究对虾的苗种培育、健康养殖、揭示氨氮胁迫机制打下了一定的基础。更深入的工作(如其应答氨氮胁迫机制)可以利用现代分子生物学以及组学技术进一步深入研究, 将为凡纳滨对虾产业的可持续发展提供重要支撑。

参考文献:

- [1] Wyban J A, Lee C S, Sato V T, et al. Effect of stocking density on shrimp growth rates in manure-fertilized ponds[J]. *Aquaculture*, 1987, 61(1): 23-32.
- [2] Williams A S, Davis D A, Arnold C R. Density-dependent growth and survival of *Penaeus setiferus* and *Penaeus vannamei* in a semi-closed recirculating system[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2010, 27(1): 107-112.
- [3] 陈艳卿. 中国废水排放氨氮控制标准评述[J]. *环境科学与管理*, 2011, 36(3): 21-23.
Chen Yanqing. A review on the standard of ammonia Nitrogen control from China's wastewater[J]. *Environmental Science and Management*, 2011, 36(3): 21-23.
- [4] 刘永波, 王雅倩. 氨氮对养殖鱼类的危害及其控制方法[J]. *渔业致富指南*, 2016(4): 59-60.
Liu Yongbo, Wang Yaqian. Harm of ammonia Nitrogen to cultured fish and its control[J]. *Fisheries Getting Rich Guide*, 2016(4): 59-60.
- [5] 袁瑞鹏. 凡纳滨对虾生长、繁殖及高氨氮耐受性的选择育种研究[D]. 广州: 广东海洋大学, 2016.
Yuan Ruipeng. Selection and breeding of growth, reproduction and high ammonia tolerance of *Litopenaeus*

- vannamei*[D]. Guangzhou: Guangdong Ocean University, 2016.
- [6] 单丹, 范秋惠. 养殖水体氨氮转化形式及调控(下)[J]. 科学养鱼, 2016, 9: 87.
Shan dan, Fan Qiuwei. Ammonia Nitrogen transformation and regulation of aquaculture water[J]. Scientific Fish, 2016, 9: 87.
- [7] Chen J C, Chen C T. Changes of osmotic and electrolyte concentrations in the haemolymph of *Penaeus japonicus*, exposed to ambient ammonia[J]. Comparative Biochemistry & Physiology Part C Pharmacology Toxicology & Endocrinology, 1996, 114(1): 35-38.
- [8] 乔顺风. 水体氨氮转化形式与调控利用的研究[J]. 饲料工业, 2005, 26(12): 44-46.
Qiao Shunfeng. Study on transformation form and regulation and utilization of Ammonia Nitrogen in water[J]. Feed industry, 2005, 26(12): 44-46.
- [9] 吕晓燕. 亚硝酸盐和氨氮对红螯光壳螯虾生理生化的影响[D]. 上海: 华东师范大学, 2011.
Lü Xiaoyan. Effects of nitrite and ammonia nitrogen on physiological and biochemical characteristics of red cymbidium crayfish[D]. Shanghai: East China Normal University, 2011.
- [10] Wang J. Acute toxic effects of nitrite and non-ion ammonia on *Fenneropenaeus chinensis* at different dissolved oxygen levels[J]. Marine Fisheries Research, 2007, 28(6): 1-6.
- [11] Cheng W, Chen J C. The virulence of enterococcus, to freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*, and its immune resistance under ammonia stress[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2002, 12(2): 97-109.
- [12] Regnault M. Nitrogen excretion in marine and fresh water crustacea[J]. Biological Reviews, 2008, 62(1): 1-24.
- [13] 岳峰. 三疣梭子蟹在氨氮胁迫下免疫应答与解毒代谢机制的研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2010.
Yue Feng. Study on the immune response and detoxification mechanism of *Portunus trituberculatus* under ammonia nitrogen stress[D]. Qingdao: China Ocean University, 2010.
- [14] 郑乐云. 氨氮和亚硝酸盐对斜带石斑鱼苗的急性毒性效应[J]. 海洋科学, 2012, 36(5): 81-86.
Zhang Leyun. Effects of Ammonia Nitrogen and Nitrite on acute toxicity of *Epinephelus aureus* fry[J]. Marine Sciences, 2012, 36 (5): 81-86.
- [15] 韩枫, 黄杰斯, 温海深, 等. 不同盐度条件下亚硝酸盐氮与非离子氨对花鲈幼鱼的毒性实验[J]. 海洋科学, 2016, 40(10): 8-15.
Han Feng, Huang Jiesi, Wen Haishen, et al. Toxicity of nitrite nitrogen and non-ionic ammonia to juvenile sea bass under different salinity conditions[J]. Marine Sciences, 2016, 40 (10): 8-15.
- [16] 刘洪展, 郑风荣, 孙修勤, 等. 氨氮胁迫对刺参几种免疫酶活性的影响[J]. 海洋科学, 2012, 36(8): 47-52.
Liu Hongzhan, Zheng Fengrong, Sun Xiuqin, et al. Effects of nitrogen stress on the activities of several immunoenzymes of *Stichopus japonicus*[J]. Marine Sciences, 2012, 36 (8): 47-52.
- [17] 陈金凤, 黄鹤忠, 徐汗富, 等. 氨氮对文蛤存活及能量收支的影响[J]. 海洋科学, 2010, 34(3): 40-46.
Chen Jinfeng, Huang Hezhong, Xu Hanfu, et al. Effects of Ammonia on the survival and energy budget of clams[J]. Marine Sciences, 2010, 34 (3): 40-46.
- [18] 王仁杰, 姜令绪, 李建. 氨氮和硫化氢对日本对虾幼体生长和变态发育的影响[J]. 海洋科学, 2007, 31(7): 51-54, 85.
Wang Renjie, Jiang Lingxu, Li Jian. Effects of Ammonia Nitrogen and Hydrogen sulfide on the growth and metamorphosis of *Larix kaempferi*[J]. Marine Sciences, 2007, 31(7): 51-54, 85.
- [19] 寇红岩, 冼健安, 郭慧, 等. 亚硝酸盐对虾类毒性影响的研究进展[J]. 海洋科学, 2014, 38(2): 107-115.
Kou Hongyan, Xian Jianan, Guohui, et al. Research progress on the toxicity of Nitrite to shrimp[J]. Marine Sciences, 2014, 38 (2): 107-115.
- [20] Jiang G, Yu R, Zhou M. Modulatory effects of ammonia-N on the immune system of *Penaeus japonicus* to virulence of white spot syndrome virus[J]. Aquaculture, 2004, 241(1-4): 61-75.
- [21] Eleonora T, Roelh B, Johanaj V. WSSV risk factors related to water physico-chemical properties and microflora in semi-intensive *Penaeus monodon* culture ponds in the Philippines[J]. Aquaculture, 2010, 302(3-4): 164-168.
- [22] Corsin F, Turnbull J F, Hao N V, et al. Risk factors associated with white spot syndrome virus infection in a Vietnamese rice-shrimp farming system[J]. Diseases of Aquatic Organisms, 2001, 47(1): 1-12.
- [23] Trenzado C, Hidalgo M C, Garcíagallego M, et al. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in sturgeon *Acipenser naccarii* and trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study[J]. Aquaculture, 2006, 254(1-4): 758-767.
- [24] Campa-Córdova A I, Hernández-Saavedra N Y, De P R, et al. Generation of superoxide anion and SOD activity in haemocytes and muscle of American white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) as a response to beta-glucan and sulphated polysaccharide[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2002, 12(4): 353-366.
- [25] Liang Z, Liu R, Zhao D, et al. Ammonia exposure induces oxidative stress, endoplasmic reticulum stress and apoptosis in hepatopancreas of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J]. Fish Shellfish Immunol, 2016, 54(1): 523-528.
- [26] Tu H T, FréDéric S, Amandine B, et al. Oxidative stress response of black tiger shrimp (*Penaeus mono-*

- don) to enrofloxacin and to culture system[J]. *Aquaculture*, 2008, 285(1-4): 244-248.
- [27] Chen J. Study on the free amino acid levels in the hemolymph, gill, hepatopancreas and muscle of *Penaeus monodon* exposed to elevated ambient ammonia[J]. *Aquatic Toxicology*, 2000, 50(1-2): 27.
- [28] 张克俭. 锌和氨氮对对虾肝胰脏的毒性作用[J]. *水产学报*, 1993, 17(1): 52-59.
Zhang Kejian. Toxic effects of zinc and ammonia on liver and pancreas of shrimp[J]. *Journal of Fisheries Science*, 1993, 17(1): 52-59.
- [29] 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]. *上海海洋大学学报*, 2007, 16(1): 22-27.
Li Jian, Jiang Lingxu, Wang Wenqi, et al. The toxicity effects of ammonia nitrogen and hydrogen sulfide on Japanese shrimp larvae[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2007, 16(1): 22-27.
- [30] 姚庆祯, 臧维玲, 戴习林, 等. 亚硝酸盐和氨对凡纳对虾和日本对虾幼体的毒性作用[J]. *上海海洋大学学报*, 2002, 11(1): 21-26.
Yao Qingzheng, Zang Weiling, Dai Xilin, et al. Toxic effects of nitrite and ammonia on *Penaeus vannamei* larvae and *Penaeus japonicus* larvae[J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2002, 11(1): 21-26.
- [31] 冼健安, 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.
Xian Jianan, Qian Kun, Guo Hui, et al. Advances in studies of the ammonia - nitrogen toxicity on shrimp[J]. *Feed Industry*, 2014, 35 (22): 52-58.
- [32] 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.
Li Yong, Yang Qibin, Su Tianfeng, et al. Effects of ammonia nitrogen on toxicity and immune indexes of *Penaeus monodon* [J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2012, 21(3): 358-362.
- [33] 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.
Liang Junping, Li Jian, Li Jitao, et al. Toxicity test of ammonia nitrogen on juvenile white shrimp and shrimp[J]. *Fisheries Science*, 2012, 31(9): 526-528.
- [34] 周光正. 氨和亚硝酸盐对于对虾幼虫的毒性[J]. *海洋湖沼通报*, 1991, 2: 95-98.
Zhou Guangzheng. Toxicity of ammonia and nitrite to shrimp larvae[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 1991, 2: 95-98.
- [35] 钟君伟, 朱永安, 孟庆磊, 等. 氨氮对 2 种规格克氏原螯虾的急性毒性研究[J]. *长江大学学报(自科版)*, 2013, 23: 55-59.
Zhong Junwei, Zhu Yongan, Meng Qinglei, et al. Acute toxicity of ammonia nitrogen to two kinds of *Procambarus clarkia* [J]. *Journal of Yangtze University*, 2013, 23: 55-59.

Comparative study on sensitivity of ammonia nitrogen at different life stages of *Litopenaeus vannamei*

SHI Xiang, XIAO Rong, QIU Li-guo, ZHOU Hai-long

(Institute of Tropical Agriculture and Forestry, Hainan University, Haikou 570228, China)

Received: Jul. 23, 2017

Key words: *Litopenaeus vannamei*; ammonia nitrogen stress; different life stages; sensitivity

Abstract: *Litopenaeus vannamei* is one of the world's most commercially valuable shrimps. In this study, we conducted an ammonia nitrogen stress test on *L. vannamei* to estimate the 24-h half-lethal concentration (24 h LC₅₀) values at different larvae stages. The results showed that the 24 h LC₅₀ values were significantly different at different developmental stages of the shrimp ($P < 0.05$). Ammonia nitrogen stress had the same trend as LC₉₀ and LC₅₀ in *L. vannamei* at different developmental stages. LC₅₀ had the least value at Zoea II (17.811 mg/L) and the maximum value at Postlarvae V (44.808 mg/L). According to the trends of LC₅₀ and LC₉₀, we can conclude that the latter stage has higher tolerance than the earlier stage. These results can provide basic information for shrimp farming and nursery and can also guide selection breeding for the tolerance of *L. vannamei*. This study will play an important role in health development of shrimp in the shrimp industry.

(本文编辑: 谭雪静)