

# 氯化铵对“黄海1号”中国对虾免疫相关酶类的影响

哈承旭<sup>1,2</sup> 刘萍<sup>1\*</sup> 何玉英<sup>1</sup> 李健<sup>1</sup> 李霞<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所,青岛266071)

(<sup>2</sup>大连水产学院,116023)

**摘要** 在不同浓度氯化铵作用条件下对中国对虾“黄海1号”群体和中国对虾野生群体的存活率,血清中的溶菌酶(LSZ)、酚氧化酶(PO)、超氧化物歧化酶(SOD)、碱性磷酸酶(AKP)及酸性磷酸酶(ACP)活力变化进行了测定。发现“黄海1号”的24、48和72h的半数致死浓度(LC<sub>50</sub>)及安全浓度均高于野生群体;氯化铵浓度为8mg/L时,“黄海1号”体内的碱性磷酸酶、酸性磷酸酶活力极显著低于野生群体( $P < 0.01$ );氯化铵浓度为16mg/L时,“黄海1号”体内的溶菌酶活力显著高于野生群体( $P < 0.05$ ),酸性磷酸酶活力显著低于野生群体( $P < 0.05$ );氯化铵浓度为32mg/L时,“黄海1号”体内的溶菌酶、酚氧化酶活力极显著高于野生群体( $P < 0.01$ ),超氧化物歧化酶活力显著高于野生群体( $P < 0.05$ ),酸性磷酸酶活力显著低于野生群体( $P < 0.05$ );氯化铵浓度为64mg/L时,选育群体“黄海1号”体内的超氧化物歧化酶活力显著高于野生群体( $P < 0.05$ );氯化铵浓度为128mg/L时,两群体的各项免疫指标都未出现明显差异。比较发现,随着氯化铵浓度的上升,选育群体中国对虾“黄海1号”几种与抗病力相关的生理指标都表现出了其比野生群体优良的特性。

**关键词** 中国对虾 黄海1号 氯化铵 溶菌酶 酚氧化酶 超氧化物歧化酶

**中图分类号** S948 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2009)01-0034-08

## Effect of ammonium chloride on immunity-related enzymes of “Huanghai No. 1” population of shrimp *Fenneropenaeus chinensis*

HA Cheng-xu<sup>1,2</sup> LIU Ping<sup>1\*</sup> HE YU-ying<sup>1</sup> LI Jian<sup>1</sup> LI Xia<sup>2</sup>

(<sup>1</sup>Key Laboratory for sustainable Utilization of Marine Fishery Resources, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

(<sup>2</sup>Dalian Fisheries University, 116023)

**ABSTRACT** The survivorship and activity of lysozyme, phenoloxidase, superoxide dismutase, alkaline phosphatase and acid phosphatase in hemolymph of “Huanghai No. 1” and wild population of *Fenneropenaeus chinensis*, when they were exposed to different concentrations of Ammonia-N, were studied. The result showed that the 24hLC<sub>50</sub>, 48hLC<sub>50</sub>, 72hLC<sub>50</sub> and safe concentration of “Huanghai No. 1” were higher than the wild population. When ammonium chloride was 8 mg/L in the culture system, the alkaline phosphatase and acid phosphatase activities of “Huanghai No. 1” were much lower than the wild population of *F. chinensis* ( $P < 0.01$ ). When the concentration of ammonium chloride was 16 mg/L in the culture water, lyso-

国家科技支撑计划(2006BAD01A13)、国家自然科学基金项目(40706052)和青岛市科技计划项目(07-2-3-5-jch)共同资助

\* 通讯作者。E-mail: liuping@ysfri.ac.cn

收稿日期:2007-12-27;接受日期:2008-03-04

作者简介:哈承旭(1981-),女,硕士研究生,主要从事海洋生物遗传育种研究。E-mail:ningningha001@yahoo.com.cn, Tel: (0532)85823291-806

zyme activity of “Huanghai No. 1” was higher than the wild population ( $P < 0.05$ ) and alkaline phosphatase and acid phosphatase activity of “Huanghai No. 1” was lower than the wild population ( $P < 0.05$ ). When the concentration of ammonium chloride was 32mg/L in the culture water, lysozyme and phenoloxidase activity of “Huanghai No. 1” was much higher ( $P < 0.01$ ) and superoxide dismutase activity of “Huanghai No. 1” was higher ( $P < 0.05$ ) than the wild population, and phosphatase and acid phosphatase activities of “Huanghai No. 1” were lower than the wild population ( $P < 0.05$ ). When the concentration of ammonium chloride was 64mg/L in the culture water, superoxide dismutase activity of “Huanghai No. 1” was much higher than the wild population ( $P < 0.01$ ). When the concentration of ammonium chloride was 128mg/L in the culture water, there were no obvious differences between the two populations. It was suggested that the anti-disease ability of selected “Huanghai No. 1” was better than the wild population at a range of low concentrations of Ammonia-N.

**KEY WORDS** “Huanghai No. 1” *Fenneropenaeus chinensis* Ammonia-N  
Lysozyme Phenoloxidase Superoxide dismutase

对虾养殖业的发展已成为海水养殖业中最具有代表性的产业之一。良种的选择和培育是水产养殖业增产的有效途径。对虾类经济价值很高,受利润和市场需求的驱动,世界对虾渔业发展迅速(邓景耀 1998)。中国水产科学研究院黄海水产研究所自 1997 年 4 月开始进行中国对虾 *Fenneropenaeus chinensis* 快速生长群体的选育研究,得到了生长速度快、抗逆能力强的新品种,并经过国家水产原良种审定委员会的审定,被命名为“黄海 1 号”。“黄海 1 号”的选育成功,为中国对虾养殖提供了重要的品种保障,建立的技术和获得的经验也为其他海水养殖动物的育种研究提供了可借鉴的经验和技术(李 健等 2005)。自中国对虾进行人工选育的研究工作开展以来,已分别从形态特征(李朝霞等 2006)、同工酶(李 健等 2003)、分子标记如 RAPD(何玉英等 2004)、SSR(张天时等 2005)和 AFLP(李朝霞等(2006))方面对选育群体的遗传结构进行了检测,研究结果为中国对虾重要经济性状的分子标记筛选以及分子标记辅助育种提供了理论依据和指导,但对于其抵抗不良环境的能力尚未做系统的研究。

对虾防御系统由细胞防御和体液防御系统组成,以非特异性免疫为主。氨态氮是对虾生长环境中最常见的毒性物质,Chen 等(1994、1992、1991)认为对虾在氨氮浓度不断升高的环境中,其抗病力逐渐下降,对病原体易感性提高,疾病易发生。氨分子具有相当高的脂溶性,能穿透细胞膜毒害组织;虾池中氨的积累会增加虾的蜕皮次数,减缓生长,增加耗氧量,影响对虾的氨排泄系统和渗透调节系统(聂月美等 2006)。

本实验采用常规毒性实验生物学的方法,以野生群体为对照,对“黄海 1 号”中国对虾进行氯化铵梯度攻毒,计算其半致死浓度及安全浓度,并对 72h 后血清中的溶菌酶(LSZ)及血清、肝胰腺和肌肉中的酚氧化酶(PO)、超氧化物歧化酶(SOD)、碱性磷酸酶(AKP)及酸性磷酸酶(ACP)活力变化进行了测定,以检测选育新品种“黄海 1 号”的抗逆能力,为育种工作的进一步深入开展提供理论依据和数据支持。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

“黄海 1 号”第 11 代中国对虾及中国对虾野生群体均取自山东省昌邑海丰水产养殖责任有限公司,暂养 5~7d,连续充气,并投喂对虾配合饲料。

### 1.2 实验方法

### 1.2.1 实验设置

根据预实验结果,每个群体设6个浓度组,分别为0、8、16、32、64和128mg/L,每组设3个平行。实验水体0.1m<sup>3</sup>,选择体长(11.0±2.0)cm,体重(16.0±1.2)g的个体,24h换水1次,换水量为100%,加入氯化铵使之达相应的浓度,及时剔除死亡个体,记录24、48和72h对虾成活尾数。分别于72h每个浓度处理各平行组选取两尾(即每浓度6尾)对虾取血。海水盐度29,pH为8.2,水温(29±2)℃。

### 1.2.2 半致死浓度的计算

使用线形内插法求出氯化铵盐对选育群体及野生群体24、48和72h的半致死浓度(LC<sub>50</sub>),并按公式 $SC = 48 \text{ hLC}_{50} \times 0.3 / (24 \text{ hLC}_{50} / 48 \text{ hLC}_{50})^3$ (杨启超等 2006)计算安全浓度。

### 1.2.3 各组织样品的制备

用1ml一次性注射器从对虾的心脏、胸足基部和腹节等处抽取0.5~1ml血淋巴,注入洁净无菌的1.5ml塑料离心管中,置于冰盒中,待其凝固后5000 r/min,4℃离心10min,析出蓝色血清,-20℃放置备用。

### 1.2.4 抗逆指标的测定

#### (1)溶菌活力的测定

以溶壁微球菌为底物,采用Hultmark等(1980)和王雷等(1995)改进的方法进行。

#### (2)酚氧化酶(PO)活力的测定

以L-DOPA为底物,采用改进的Ashida等(1971)的方法在96孔酶标板中进行。

#### (3)超氧化物歧化酶(SOD)、碱性磷酸酶(AKP)及酸性磷酸酶(ACP)活力测定

使用南京建成生物工程研究所第一分所提供的超氧化物歧化酶(SOD)、碱性磷酸酶(AKP)及酸性磷酸酶(ACP)测定试剂盒进行测定并计算酶活。

### 1.2.5 数据处理

对实验所得的各项免疫相关酶活力进行数据分析处理。

## 2 结果

### 2.1 急性攻毒后的半致死浓度

随着氯化铵浓度的升高,对对虾的毒性逐渐加强,统计发现“黄海1号”中国对虾的24h LC<sub>50</sub>、48h LC<sub>50</sub>、72h LC<sub>50</sub>及安全浓度均高于野生群体(表1)。

### 2.2 氯化铵对选育群体组织溶菌活力的影响

随着氯化铵浓度的升高,选育群体血清中溶菌酶活力均呈下降的趋势,但下降的幅度明显低于野生群体。氯化铵浓度在16mg/L时,选育群体“黄海1号”血清中溶菌酶活力降低了5.30%,野生群体降低了9.66%,差异显著( $t=2.89, P=0.017<0.05$ );在浓度为32mg/L,选育群体和野生群体血清中溶菌酶活力分别降低了22.76%和29.14%,差异极显著( $t=3.95, P=0.003<0.01$ )(表2)。

### 2.3 氯化铵对选育群体酚氧化酶(PO)活力的影响

选育群体“黄海1号”及野生群体血清酚氧化酶活力随着氯化铵浓度的升高呈现下降的趋势。野生群体下降的幅度要大于选育群体,氯化铵浓度为32mg/L时,差异最大,选育群体和野生群体血清中PO活力分别下降了48.65%和69.57%,差异极显著( $t=4.304, P=0.003<0.01$ )(表3)。

表1 野生群体及选育群体“黄海1号”的半致死浓度及安全浓度

Table 1 The LC<sub>50</sub> and safe concentrations of selected “Huanghai No. 1” and wild *F. chinensis* populations

实验组 Groups	24hLC <sub>50</sub> (mg/L)	48hLC <sub>50</sub> (mg/L)	72hLC <sub>50</sub> (mg/L)	Cs (mg/L)
黄海1号 Huanghai No. 1	69.6	32.3	17.8	0.96
野生群体 Wild population	65.4	30.0	16.0	0.86

表 2 氯化铵作用条件下“黄海 1 号”中国对虾和野生群体溶菌酶活力(U/ mg) (M ±SD)

Table 2 Lysozyme (LSZ) activity of selected “Huanghai No. 1” and wild *F. chinensis* populations exposed to ammonia-N (U/ mg) (M ±SD)

群体 Population	组织 Tissue	样本数 Sample number	氯化铵浓度(mg/L) Concentration of ammonium chloride					
			0	8	16	32	64	128
黄海 1 号 Huanghai No. 1	血清 Hemolymph	6	0.151±0.009 <sup>C</sup>	0.143±0.010 <sup>C</sup>	0.126±0.007 <sup>B</sup>	0.107±0.014 <sup>A</sup>	0.078±0.01 <sup>C</sup>	0.06±0.006 <sup>C</sup>
野生群体 Wild population		6	0.145±0.006 <sup>C</sup>	0.131±0.010 <sup>C</sup>	0.112±0.009 <sup>B</sup>	0.082±0.004 <sup>A</sup>	0.069±0.010 <sup>C</sup>	0.045±0.008 <sup>C</sup>

注: A 为  $P < 0.01$ , 差异极显著; B 为  $P < 0.05$ , 差异显著; C 为  $P > 0.05$ , 差异不显著

表 3 氯化铵作用条件下“黄海 1 号”中国对虾和野生群体的酚氧化酶活力(U/ mg) (M ±SD)

Table 3 Phenoloxidase (PO) activity of selected “Huanghai No. 1” and wild *F. chinensis* populations exposed to ammonia-N (U/ mg) (M ±SD)

群体 Population	组织 Tissue	样本数 Sample number	氯化铵浓度(mg/L) Concentration of ammonium chloride					
			0	8	16	32	64	128
黄海 1 号 Huanghai No. 1	血清 Hemolymph	6	8.9±1.39 <sup>C</sup>	5.89±1.53 <sup>C</sup>	5.13±1.23 <sup>C</sup>	4.57±1.14 <sup>A</sup>	2.18±0.35 <sup>C</sup>	1.64±0.61 <sup>C</sup>
野生群体 Wild population		6	8.74±2.06 <sup>C</sup>	5.70±1.77 <sup>C</sup>	4.94±1.66 <sup>C</sup>	2.66±0.28 <sup>A</sup>	1.81±0.55 <sup>C</sup>	1.59±0.74 <sup>C</sup>

注: A 为  $P < 0.01$ , 差异极显著; B 为  $P < 0.05$ , 差异显著; C 为  $P > 0.05$ , 差异不显著

### 2.4 氯化铵对选育群体超氧化物歧化酶(SOD)活力的影响

随着氯化铵浓度的上升,两群体血清组织内的 SOD 活力出现差异。两群体 SOD 活力总趋势都表现为先上升后降低,未攻毒时两群体血清组织内的 SOD 活力表现差异不显著;氯化铵浓度分别为 8 和 16 mg/L 时,两群体 SOD 活力均上升,未出现显著差异;氯化铵浓度为 32mg/L 时,选育群体“黄海 1 号”SOD 活力上升,野生群体酶活力值下降,分别升高和降低了 6.01% 为 8.17%,差异显著( $t=2.91, P=0.025 < 0.05$ );攻毒浓度达到 64mg/L 时,选育群体和野生群体血清组织内 SOD 活力均开始降低,分别降低了 8.21% 和 15.80% ( $t=3.494, P=0.006 < 0.01$ ) 差异极显著(表 4)。

表 4 氯化铵作用条件下“黄海 1 号”中国对虾及野生群体的超氧化物歧化酶活力(U/ mg) (M ±SD)

Table 4 Superoxide dismutase (SOD) activity of selected “Huanghai No. 1” and wild *F. chinensis* populations exposed to ammonia-N (U/ mg) (M ±SD)

群体 Population	组织 Tissue	样本数 Sample number	氯化铵浓度(mg/L) Concentration of ammonium chloride					
			0	8	16	32	64	128
黄海 1 号 Huanghai No. 1	血清 Hemolymph	6	102.82±2.82 <sup>C</sup>	104.11±5.45 <sup>C</sup>	106.46±3.41 <sup>C</sup>	107.56±4.89 <sup>B</sup>	93.12±3.37 <sup>A</sup>	87.45±6.04 <sup>C</sup>
野生群体 Wild population		6	99.59±6.58 <sup>C</sup>	101.30±9.04 <sup>C</sup>	104.25±9.76 <sup>C</sup>	91.45±12.62 <sup>B</sup>	83.85±5.55 <sup>A</sup>	78.96±10.38 <sup>C</sup>

注: A 为  $P < 0.01$ , 差异极显著; B 为  $P < 0.05$ , 差异显著; C 为  $P > 0.05$ , 差异不显著

### 2.5 氯化铵对选育群体碱性磷酸酶活力(AKP)的影响

随着氯化铵浓度的上升,两群体血清组织内的 AKP 活力逐渐升高,选育群体“黄海 1 号”上升的幅度明显要低于野生群体。氯化铵浓度为 8mg/L 时,差异最明显,选育群体“黄海 1 号”和野生群体血清组织内 AKP 活力分别上升了 32.94% 和 46.28%,差异极显著( $t=7.86, P=0.001 < 0.01$ ) (表 5)。

表5 氯化铵作用条件下中国对虾“黄海1号”和野生群体的碱性磷酸酶活力(U/mg) (M±SD)  
Table 5 Alkaline phosphatase (AKP) activity of selected “Huanghai No. 1” and wild *F. chinensis* populations exposed to ammonia-N (U/mg) (M±SD)

群体 Population	组织 Tissue	样本数 Sample number	氯化铵浓度(mg/L) Concentration of ammonium chloride					
			0	8	16	32	64	128
黄海1号 Huanghai No. 1	血清 Hemolymph	6	1.17±0.02 <sup>C</sup>	1.56±0.03 <sup>A</sup>	2.02±0.03 <sup>C</sup>	2.04±0.03 <sup>C</sup>	2.16±0.05 <sup>C</sup>	2.20±0.05 <sup>C</sup>
野生群体 Wild population		6	1.16±0.03 <sup>C</sup>	1.70±0.03 <sup>A</sup>	2.06±0.05 <sup>C</sup>	2.08±0.03 <sup>C</sup>	2.14±0.01 <sup>C</sup>	2.16±0.01 <sup>C</sup>

注:A为 $P<0.01$ ,差异极显著;B为 $P<0.05$ ,差异显著;C为 $P>0.05$ ,差异不显著

## 2.6 氯化铵对选育群体酸性磷酸酶(ACP)活力的影响

随着氯化铵浓度的上升,两群体血清组织内的 ACP 活力逐渐升高。氯化铵浓度为 8mg/L 时,选育群体“黄海1号”和野生群体血清组织 ACP 活力分别上升了 17.11%和 48.7%,差异极显著( $t=4.189, P=0.002 < 0.01$ );氯化铵浓度为 16mg/L 时,两群体血清组织 ACP 活力分别上升了 152.63%和 201.28%( $t=3.213, P=0.027 < 0.05$ )差异显著;氯化铵浓度为 32 mg/L 时,两群体血清组织 ACP 酶活力分别上升了 227.63%和 301.28%,差异显著( $t=2.925, P=0.02 < 0.05$ )(表 6)。

表6 氯化铵作用条件下中国对虾“黄海1号”和野生群体的酸性磷酸酶活力(U/mg) (M±SD)  
Table 6 Acid phosphatase (ACP) activity of selected “Huanghai No. 1” and wild *F. chinensis* populations exposure to ammonia-N (U/mg) (M±SD)

群体 Population	组织 Tissue	样本数 Sample number	氯化铵浓度(mg/L) Concentration of ammonium chloride					
			0	8	16	32	64	128
黄海1号 Huanghai No. 1	血清 Hemolymph	6	0.76±0.02 <sup>C</sup>	0.89±0.02 <sup>A</sup>	1.92±0.13 <sup>B</sup>	2.49±0.25 <sup>B</sup>	3.71±0.16 <sup>C</sup>	4.19±0.21 <sup>C</sup>
野生群体 Wild population		6	0.78±0.02 <sup>C</sup>	1.16±0.15 <sup>A</sup>	2.35±0.29 <sup>B</sup>	3.13±0.47 <sup>B</sup>	3.86±0.19 <sup>C</sup>	4.22±0.19 <sup>C</sup>

注:A为 $P<0.01$ ,差异极显著;B为 $P<0.05$ ,差异显著;C为 $P>0.05$ ,差异不显著

## 3 讨论

### 3.1 溶菌酶(LSZ)和酚氧化酶(PO)

溶菌酶广泛存在于各种动物的血细胞和血液中,在免疫活动中发挥着重要作用(樊甄姣等 2006)。溶菌酶是吞噬细胞杀菌的物质基础,当吞噬细胞对异物颗粒进行吞噬和包裹后,细胞内的溶酶体会与异物进行融合,发生脱颗粒现象,外来入侵的微生物可以被其中的溶菌酶等直接杀死,然后再进一步将它们水解消化,并将水解消化后的残渣排出细胞外。王雷等(1995)在以溶壁微球菌 *Micrococcus lysolei* 冻干粉作为底物进行实验时发现,正常中国对虾的血淋巴中具有较强的溶菌活力,而濒死中国对虾血淋巴的溶菌活性基本丧失。由此认为,溶菌活力可以作为检测对虾机体免疫功能状态的一个有价值的参考。王雷等(1995)认为溶菌活力的测定不仅可作为免疫指标,而且对机体功能状态的衡量也是一个有价值的参考。

酚氧化酶原系统是防御中心,具有识别异物、全面启动防御机制的功能,酚氧化酶是甲壳动物的酚氧化酶原激活系统的产物。Soderhell 等(1990)发现,酚氧化酶还具有将酚催化为黑色素的作用,黑色素及其中间代谢产物可以杀死微生物等,有重要的防御功能。王雷等(1995)、丁美丽等(1997)和刘恒等(1998)以 L-

DOPA 为底物,根据酚氧化酶催化的产物在 490nm 处的吸光值来衡量对虾抗病力的大小。

本实验研究发现“黄海 1 号”及野生群体经氯化铵浓度梯度攻毒后体内的溶菌酶活力及酚氧化酶活力都呈现下降的趋势,表明对虾在有氨氮胁迫的环境中,影响对虾呼吸、离子调节(NH/Na)和氮代谢等相关生理功能和溶菌能力及酚氧化酶值降低,这也与孙舰军等(1999)的研究结果一致,但姜令绪等(2004)发现,随着氨氮浓度升高,南美白对虾 *Penaeus vannamei* 的溶菌活力显著降低( $P < 0.05$ ),PO 活力显著升高;吴中华(1999)报道,亚硝酸盐导致对虾体内的 PO、溶菌酶的活性下降,使虾体内的自由基过氧化物增多,抵抗能力下降,代谢紊乱,生理功能失调;Cheng 等(2002、2003)研究也发现,随着氨氮水平的升高,7d 后罗氏沼虾 *Macobachium rosenbergii* 血细胞酚氧化酶活力和溶菌能力明显降低,对病原菌 *Lactococcus garvieae* 的易感性提高。分析本实验结果,“黄海 1 号”两项免疫相关指标下降的幅度明显小于野生群体,分析认为虽然“黄海 1 号”并未进行过特定的抗氨氮个体筛选,但首先高强度筛选时,选择的对虾就不仅个体大而且活力强,其次在育苗时还进行了特定病原检测,这样就进一步淘汰了一些活力差的个体,因此选育得到的个体在受到不良胁迫时溶菌能力及酚氧化酶调节机制都强于野生群体。

### 3.2 超氧化物歧化酶(SOD)

超氧化物歧化酶(SOD)是重要的抗氧化酶之一,在清除自由基、防止自由基对生物分子损伤方面有十分重要的作用。近年来研究表明,SOD 活性与生物的免疫水平密切相关,可用它们的活性变化作为机体非特异性免疫指标,甚至定量指标(黄鹤忠等 2006)。健康的生物体其体内的自由基处于一动态的平衡状态中,当受到外界的刺激后,其活性会在一定范围内升高,但达到特定强度后降低,因为生物有机体在受到环境胁迫后常能引发应激反应。这是机体在经历了一段应激之后而产生的一种保护机制,但生物若持续地处于应激状态或应激强度加大时,机体的免疫功能会受到抑制,SOD 活性降低,导致生物代谢混乱,正常生理功能失调,体内免疫水平下降对各种病原的敏感性升高(樊甄姣等 2005)。

实验表明,无论是选育群体还是野生群体当其受到低浓度的氯化铵刺激后其 SOD 活性都会升高,但选育群体在逆境下 SOD 酶调节机制明显要比野生群体强,攻毒浓度达到 32mg/L,选育群体“黄海 1 号”SOD 活力值上升,野生群体酶活力值下降,浓度再升高两群体内 SOD 活性都下降,但明显选育群体要比野生群体下降速度慢。低幅度的氯化铵浓度作用后,对虾体内的 SOD 活力有所上升,这也支持了 Stebbing(1982)所说的“毒物兴奋效应”,即低毒物胁迫下出现的免疫力增益现象,这是机体产生的一种保护性反应,借此维持机体的自身平衡来克服胁迫;而高幅度的氯化铵作用后,对虾体内的 SOD 酶活性显著下降。同时能看出,对虾体内的 SOD 的升高与降低的幅度能反映出虾体的抗病能力差异,即选育群体高于野生群个体。

### 3.3 酸性磷酸酶(AKP)和碱性磷酸酶(ACP)

在甲壳动物的免疫反应中,碱性磷酸酶和酸性磷酸酶均为磷酸单酯酶,起着重要的作用。碱性磷酸酶是一种重要的代谢调控酶,直接参与磷酸基团的转移及钙磷代谢,作为甲壳动物溶酶体酶的重要组成部分在免疫反应中发挥作用。酸性磷酸酶在甲壳动物体内也是吞噬溶酶体的重要组成部分,在血细胞进行吞噬和包囊反应中,会伴随有酸性磷酸酶的释放,可通过水解作用将表面带有磷酸酯的异物破坏或降解(王明等 2005)。吴垠等(1998)研究发现,患病的中国对虾血清碱性磷酸酶活力明显高于正常虾,且不同发病期变化幅度不同,发病初期血清升高幅度为 54.78%,至重症期,病虾碱性磷酸酶活力升高的幅度增至 82.3%~93.7%。王玥等(2005)认为,在氨态氮作用下,罗氏沼虾肝胰腺细胞逐渐坏死,引起细胞和溶酶体破裂,酸性磷酸酶和碱性磷酸酶渗出,因而表现出较高的活力。

随着氯化铵浓度的升高“黄海 1 号”及野生群体血清组织 AKP、ACP 活性都表现出同样的上升趋势。但研究发现,在低浓度的氯化铵条件下选育群体两种酶上升幅度要比野生群体低,与野生群体出现显著的差异,但当氯化铵浓度达一定的值后两群体体内的酸性磷酸酶和碱性磷酸酶活性值差异并不显著。分析其原因,认为可能既是中国对虾处于突变环境中为维持自身酸碱平衡和离子平衡而采取的一种主动调节措施,既是机体的防御反应,也是一种被动的病理显示。当水体中氯化铵浓度达到一定值后,对虾处于一种病理状态,超出了

机体的免疫调节限度,就会导致免疫系统的受损,并最终导致机体死亡,即使是优良的选育品种也表现不出任何优势。

综上所述,通过两群体血清组织中溶菌酶、酚氧化酶、超氧化物歧化酶、酸性磷酸酶和碱性磷酸酶活力的检测,比较发现,在低浓度氯化铵存在的不良的水体环境中,选育群体中国对虾“黄海1号”几种与抗病力相关的生理指标都表现出了其比野生群体优良的特性,从而也说明了经过种群筛选、种群延续保护及苗种培育和养成,病原检测后所选育出的中国对虾“黄海1号”新品种抗氯化铵胁迫的能力较强。

## 参 考 文 献

- 丁美丽,林 林,李光友,朱谨钊. 1997. 有机污染对中国对虾体内外环境影响的研究. 海洋与湖沼, 28(1):7~11
- 王 明,胡义波,姜乃澄. 2005. 氨态氮、亚硝态氮对罗氏沼虾免疫相关酶类的影响. 浙江大学学报(理学版), 32(6):698~705
- 王 雷,李光友,毛远兴. 1995. 中国对虾血淋巴中的抗菌、溶菌活力与酚氧化酶活力的测定及其特性研究. 海洋与湖沼, 26(2):179~185
- 邓景耀. 1998. 对虾渔业生物学研究现状. 生命科学, 10(4):191~196
- 刘石林,刘 鹰,杨红生,游 奎,陈慕雁,俞立东. 2006. 双齿围沙蚕与赤子爱胜蚓对凡纳滨对虾生长和免疫指标的影响. 中国水产科学, 13(4):561~565
- 刘 恒,李光友. 1998. 免疫多糖对养殖南美白对虾作用的研究. 海洋与湖沼, 29(2):113~116
- 孙舰军,丁美丽. 1999. 氨氮对中国对虾抗病力的影响. 海洋与湖沼, 30(3):267~272
- 吴 垠,邢殿楼,祝国芹. 1998. 中国对虾暴发性流行病的血液病理研究. 中国水产科学, 5(3):53~57
- 吴中华. 1999. 中国对虾慢性亚硝酸盐和氨中毒的组织病理学研究. 华中师范大学学报, 33(1):119~122
- 李 健,刘 萍,何玉英. 2005. 中国对虾快速生长新品种“黄海1号”的人工选育. 水产学报, 29(1):1~5
- 李 健,高天翔,柳广东. 2003. 中国对虾人工选育群体的同工酶分析. 海洋水产研究, 24(2):1~8
- 李朝霞,李 健,王清印,何玉英,刘 萍. 2006. 中国对虾“黄海1号”选育群体与野生群体的形态特征比较. 中国水产科学, 13(3):384~388
- 李朝霞,李 健,何玉英,刘 萍,王清印. 2006. 中国对虾人工选育快速生长群体不同世代间的 AFLP 分析. 高技术通讯, 16(4):435~440
- 何玉英,刘 萍,李 健. 2004. 中国明对虾第1代和第6代人工选育群体的遗传结构分析. 中国水产科学, 11(6):572~575
- 张天时,王清印,刘 萍. 2005. 中国对虾 *Fenneropenaeus chinensis* 人工选育群体不同世代的微卫星分析. 海洋与湖沼, 36(1):72~80
- 杨启超,万 全,赵俊峰,甘小顺,张汉勤. 2006. 4种常用鱼药对泥鳅的急性毒性试验. 水利渔业, 26(2):93~95
- 姜令绪,潘鲁青,肖国强. 2004. 氨氮对凡纳滨对虾免疫指标的影响. 中国水产科学, 11(6):537~541
- 聂月美,邵庆均. 2006. 氨氮对虾的免疫影响及其预防措施. 中国饲料, 10:28~31
- 黄鹤忠,李 义,宋学宏,王永玲,杨彩根. 2006. 氨氮胁迫对中华绒螯蟹 *Eriocheir sinensis* 免疫功能的影响. 海洋与湖沼, 37(3):199~205
- 雷质文,黄 捷,杨 冰,张立敬,俞开康. 2001. 96孔酶标板法测定中国对虾血淋巴上清液抗菌活力和酚氧化酶活性的初步研究. 海洋湖沼通报, 4:31~37
- 樊甄姣,刘志鸿,杨爱国,戴继勋,任建峰,董迎辉. 2006. Vc对栉孔扇贝体内水解酶和抗氧化酶活性的影响. 海洋水产研究, 27(4):12~16
- 樊甄姣,刘志鸿,杨爱国. 2005. 氨氮对栉孔扇贝血淋巴活性氧含量和抗氧化酶活性的影响. 海洋水产研究, 26(1):23~27
- Ashida, M. 1971. Purification and characterization of prophenoloxi-dase from hemolymph of the silk worm *Bombyx mori*. Archs Biochem Biophys, 144:749~762
- Chen, J. C., Cheng, S. Y., and Chen, C. T. 1994. Changes of haemocyanin, protein and free amino acid levels in the haemolymph of *Penaeus japonicus* exposed to ambient ammonia. Comp. Biochem. Physiol. 109: 339~347
- Chen, J. C., and Kou, Y. Z. 1992. Effects of ammonia on growth and molting of *Penaeus japonicus* juveniles. Aquaculture, 104: 249~260
- Chen, J. C., Nan, F. H., and Kuo, C. M. 1991. Oxygen consumption and ammonia-N excretion of prawns (*Penaeus chinensis*) exposed to ambient ammonia. Arch. Environ. Contam. Toxicol. 21: 377~382
- Cheng, W., Chen, S. M., and Wang, F. I. 2003. Effects of temperature, pH, salinity and ammonia on the phagocytic activity and clearance efficiency of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* to *Lactacoccus garvieae*. Aquaculture, 219:111~121
- Cheng, W., and Chen, J. C. 2002. The virulence of *Enterococcus* to freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii* and its immune resistance and ammonia stress. Fish Shelf Immunol. 12:97~109
- Hultmark, D., Steiner, H., and Rasmuson, T. 1980. Insect immunity: Purification and properties of three inducible bactericidal proteins from hemolymph of immunized pupae of *Hyalophora cecropia*. Eur. J. Biochem. 106: 7~16
- Soderhell, K., Aspun, A., and Duvic, B. 1990. The proPO system and associated protein; Role in cellular communication in arthropods. Research Immunol. 141: 896~907
- Stebbing, A. R. D. 1982. Hormesis: the stimulation of growth by low levels of inhibitors. Sci. Tot. Envir. 22(1): 213~234