

氨氮对脊尾白虾幼体存活生长及体内 RNA/DNA 比值的影响

蒋玫^① 沈新强^① 李磊^② 黄厚见^③

^① 中国水产科学研究院东海水产研究所 上海 200090;

^② 国家海洋局第二海洋研究所 杭州 310012; ^③ 上海海洋大学 上海 200336

摘要: 以脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)糠虾幼体为实验材料,用氯化铵模拟水体中氨氮进行毒性试验。结果表明,氨氮对糠虾幼体 24、48、72 和 96 h 的半致死浓度(LC₅₀)分别为 27.51、23.15、19.46 和 10.28 mg/L。糠虾幼体体内毒性蓄积程度随实验时间逐步增强。在 6 d 的糠虾幼体蜕壳变态的亚急性实验中,高浓度的氨氮表现出较明显的抑制作用,显示剂量效应关系。此外,氨氮对脊尾白虾糠虾幼体肌肉组织细胞的核酸代谢及 DNA 合成有一定的影响,高浓度的氨氮促进 RNA/DNA 的含量比值有所下降,与对照组相比,差异性较显著。实验显示,在一定氨氮浓度胁迫下,糠虾幼体变态率与 RNA/DNA 的比值呈现较显著的指数负相关性的关系,说明了糠虾幼体本身的生长代谢过程还是受到了氨氮的抑制作用。

关键词: 氨氮;脊尾白虾糠虾幼体;生长;变态率;RNA/DNA

中图分类号:S965.3 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2011)04-102-07

Acute Toxicity of Ammonia on the Growth and RAN/DNA Ratio in *Exopalaemon carinicauda* Larvae

JIANG Mei^① SHEN Xin-Qiang^① LI Lei^② HUANG Hou-Jian^③

^① East China Sea Fisheries Research Institute Chinese Academy of Fishery Sciences,

Key and Open Laboratory of Marine and Estuary, Ministry of Agriculture of China, Shanghai 200090;

^② The Second Institute of Oceanography, Hangzhou 310012; ^③ Shanghai Ocean University, Shanghai 200336, China

Abstract: We carried out ammonia nitrogen acute toxicity test by exposing *Exopalaemon carinicauda* larvae to chlorine ammonium in water. The half lethal concentration (LC₅₀) were 27.51, 23.15, 19.46 and 10.28 mg/L for larvae exposing 24, 48, 72 and 96 h to ammonia nitrogen, respectively. Accumulative toxicity in the body of *E. carinicauda* larvae was gradually increased with the exposing time. High concentrations of ammonia had an inhibitory effect on the molt of *E. carinicauda* larvae indicating a relationship dose-effect. In addition, the ammonia had a significant effect on nucleic acid metabolism and DNA synthesis in the spinal muscle cells. The value of RNA/DNA ratio in the spinal muscle cells was significant decline in the larvae exposed to high concentration of ammonia than those in control larvae. The metamorphosis rate of larvae exposing to ammonia showed a significant negative relation with the value of RNA/DNA ratio that indicated that the growth and metabolism of larvae was inhibited by ammonia nitrogen.

基金项目 国家重点基础研究发展规划“973”项目(No. G2010CB429005);

第一作者介绍 蒋玫,女,副研究员;研究方向:早期渔业生态和海洋环境影响评价;E-mail: jiangrose73@163.com。

收稿日期:2011-01-12,修回日期:2011-03-02

Key words: Ammonia; *Exopalaemon carinicauda* larvae; Growth; Metamorphosis; RNA/DNA

随着我国经济的飞速发展,由于工业、畜禽水产养殖污水和生活污水等大量排放,引起水体氨氮污染日益严重,进而导致水体中藻类及其他微生物大量繁殖,形成富营养化污染,严重时会引起水中溶解氧的大量消耗,导致水生动物大量死亡,造成生态破坏和一定程度的经济损失。水体中存在的氨氮对水生生物具有一定的毒性影响,它能直接损害水生生物的鳃组织,并渗入血淋巴中产生毒害作用,严重影响生物的呼吸、免疫等生理功能,最终抑制其生长和存活^[1-2]。关于氨氮对水生生物特别是虾类,包括罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)、凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)和日本对虾(*Penaeus japonicus*)幼体,对其毒性危害的研究,大部分集中于对氨氮引起的急性毒性的生理和中毒机理方面^[2-6],而就氨氮污染对生物危害的微观毒理研究则少有报道。

脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)又名白虾,是我国特有的3种经济虾类之一^[7],随着传统虾类养殖难度的增加以及养殖区域的低盐化,脊尾白虾成为虾类养殖的重要品种。关于脊尾白虾的研究主要集中于饵料营养生理方面^[7-10]。有关氨氮对脊尾白虾糠虾幼体毒性作用的研究尚未见报道。本文就氨氮对脊尾白虾糠虾幼体的毒性影响做了一些实验分析,并从微观毒理学角度,探讨了氨氮对脊尾白虾糠虾幼体变态率和肌肉组织 RNA/DNA 的影响关系,以期对脊尾白虾的水环境调控和病害防治提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料 实验生物选自江苏启东黄海滩涂养殖育苗场内脊尾白虾糠虾幼体(M2)。挑选其中健康活泼、规格一致的个体作为实验虾。

实验用水来源于育苗场附近的近岸天然海水,经过沉淀沙滤后备用,盐度为 20.45 ~ 23.21,温度为(20.51 ± 2.30)℃,pH 为 7 ~ 8。后经过消毒后,藻类为 10 cell/L 以下,氨氮浓

度在 0.45 mg/L。

实验容器为容量 5 ml 的 12 孔细胞培养板,在水箱中水浴控温。

1.2 实验方法 96 h 急性毒性实验:将 NH₄Cl (优级纯)配制成母液,实验时按比例稀释至所需浓度。实验按对数间距设定 4 个 NH₄Cl 浓度梯度组,对应的氨氮浓度为 0.99 mg/L、4.35 mg/L、10.32 mg/L、28.13 mg/L,和 1 个对照组,氨氮浓度为 0.45 mg/L。每组 4 个平行,每组各放糠虾幼体 40 只。每 24 h 换水一次,并测定实验浓度值。实验期间不投饵,时间持续 4 d。实验开始后每 24 h 观察,并记录中毒反应和死亡情况。采用概率单位法求出半致死浓度(LC₅₀)和安全浓度(SC = 0.1 × 96 h LC₅₀)。

6 d 亚急性实验:根据 96 h 急性毒性实验结果,按等对数间距设定 5 个 NH₄Cl 浓度梯度组(对应的氨氮浓度为 0.99 mg/L、2.05 mg/L、4.35 mg/L、7.59 mg/L、10.32 mg/L)和 1 个对照组(氨氮浓度为 0.45 mg/L)。每组 4 个平行,每组各放糠虾幼体 40 只。每 24 h 换水一次,以保证实验浓度的稳定。实验时间持续 6 d,在实验第 3 天时投饵一次,其他时间不投饵。实验开始后每 24 h 观察取样一次,测定肌肉组织中 RNA/DNA 比值,并记录中毒反应情况。

RNA/DNA 比值测定:取部分肌肉组织,加入酒精制成石蜡切片,进行切片再脱蜡,AO 染色,37℃温育 15 min,倒置于共聚焦显微镜观察(蔡司 LSM 5 EXCITER,德国),在不同视野内进行激光扫描,经激光共聚焦扫描系统进行测定分析 RNA/DNA 的荧光像素比值^[11]。

1.3 数据处理 利用 SPSS 统计分析软件计算 LC₅₀和相应数据检验。同时进行单因素方差分析,检验各取样组间数据的差异显著性,当 $P < 0.05$ 时为差异显著。用药物毒性蓄积系数(material accumulation coefficient, MAC)分析生物体对毒素的蓄积与降减动态:MAC = (某观察时段的半致死浓度差值/最初观察与最终观察点的半致死浓度差值) × 100%。

2 结果

2.1 氨氮对糠虾幼体的 96 h 毒性结果 不同氨氮浓度下对糠虾幼体的 96 h 死亡率的统计结果如图 1 所示。由图 1 可见,糠虾幼体染毒 48 h 内除 0.99 mg/L 的低浓度组和对对照组未出

现死亡个体外,其余各浓度均有个别死亡发生;实验进行到 72 h,包括对照组在内,各浓度组均出现不同程度的糠虾死亡现象;到 96 h 后,对照组和 0.99 mg/L 的低浓度组仍保持低死亡率 (<5%),但高浓度组的死亡数量仍持续增加,直至死亡达到 100%。

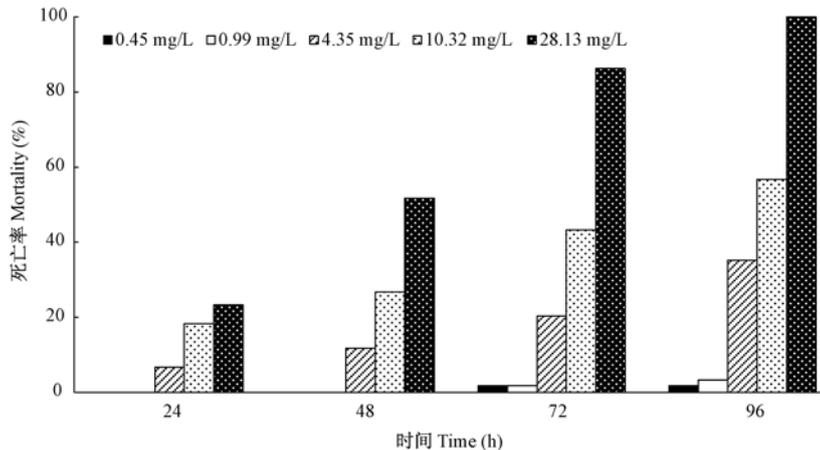


图 1 氨氮对脊尾白虾糠虾幼体死亡率的影响

Fig. 1 The mortality rate of *Exopalaemon carinicauda* larvae exposing to ammonia nitrogen

根据实验结果计算得出氨氮对脊尾白虾糠虾幼体的 LC_{50} 为 10.28 mg/L,95% 的可信限区间为 8.48 ~ 13.78 mg/L,安全浓度为 1.03 mg/L(表 1)。氨氮对糠虾幼体 96 h 染毒后的

半致死浓度以 24 h 时达到最高,到 96 h 最低。糠虾生物体内毒性蓄积程度系数 (MAC) 则随着时间的延续,在 96 h 达到最高峰。

表 1 氨氮对脊尾白虾糠虾幼体的半致死浓度

Table 1 The half death concentration of ammonia nitrogen on *Exopalaemon carinicauda* larvae

时间 Time (h)	半致死浓度 Half death concentration LC_{50} (mg/L)	95% 可信区间 Confidence interval (mg/L)	药物毒性蓄积系数 Material accumulation coefficient MAC (%)	安全浓度 Safe concentration (mg/L)
24	27.51	25.21 ~ 31.81		
48	23.15	19.55 ~ 27.32	-42.41	
72	19.46	17.06 ~ 22.76	25.30	
96	10.28	8.48 ~ 13.78	46.72	1.03

2.2 氨氮对糠虾幼体的 6 d 亚急性毒性影响及反应症状 表 2 为氨氮对糠虾幼体 6 d 染毒后的变态率的统计结果。由表 2 可以看出,同时间段,对照组的变态率最高,氨氮浓度为 10.32 mg/L 的实验组变态率最低。显示出氨氮对糠虾的变态率随着实验浓度的不断增加而呈现逐渐下降的趋势。实验 6 d 后,对照组的

变态率达到最大值,为 $53.71\% \pm 6.33\%$,而最高浓度组仅有 $4.23\% \pm 0.38\%$ 的糠虾幼体蜕壳。

根据实验结果,氨氮对糠虾幼体的 6 d 亚急性毒性影响的安全浓度为 0.45 mg/L。本次毒性实验,糠虾在对照组和高浓度氨氮实验水体中活动表现各异,对照组中糠虾体色褐黄,较

透明,从水体底部到液面游动活跃。高浓度组的糠虾体色偏白,通体透明度降低,实验初期在液体中急速转圈游动,随着实验时间的延续,活力明显减弱,速度缓慢,长时间趴伏于水体底部。用探针触碰,反应迟钝。个别糠虾甚至尾

部呈现弯曲现象。实验进行到 6 d 后,各浓度组均出现个体蜕壳现象,但经对糠虾体长的测量,已经蜕壳的对照组体长值高于高浓度组中未蜕壳的糠虾体长 0.08 ~ 0.15 cm。

表 2 氨氮对脊尾白虾糠虾幼体变态率毒性影响

Table 2 The metamorphosis of *Exopalaemon carinicauda* larvae exposing to ammonia nitrogen

实验浓度 Concentration (mg/L)	变态率 Metamorphosis (%)		
	2 d	4 d	6 d
0.45 (对照 Control)	18.63 ± 5.36	30.42 ± 1.41	53.71 ± 6.33
0.99	10.19 ± 2.20	21.28 ± 2.82	33.24 ± 3.29
2.05	9.23 ± 0.85	11.35 ± 0.52	27.62 ± 2.46
4.33	8.43 ± 0.37	10.99 ± 1.43	14.88 ± 2.89*
7.59	0	7.55 ± 0.38*	12.39 ± 0.66*
10.32	0	0*	4.23 ± 0.38*

* 与对照组比较,显著性水平 $P < 0.05$ 。* Significant difference at 5% probability level.

2.3 氨氮对糠虾幼体肌肉组织 RNA/DNA 比值的影响变化 氨氮胁迫下,脊尾白虾糠虾幼体肌肉组织 RNA/DNA 的比值影响如图 2 所示。由图 2 可见,实验开始初期(2 d),氨氮各浓度组的 RNA/DNA 比值都较高,随着时间的延续,到实验 6 d 降为最低。但各浓度组的降幅不大,约在 10.03% ~ 12.70% 之间。对照组

则是随着时间延续,RNA/DNA 的比值有逐步增高的趋势。不同浓度的氨氮对糠虾肌肉细胞的 RNA/DNA 的量值有一定的影响。同一时间段,氨氮最高浓度和次高浓度组的糠虾肌肉组织细胞 RNA/DNA 比值明显低于对照组的值,差异性显著($P < 0.01$)。表现出较明显的剂量效应关系。

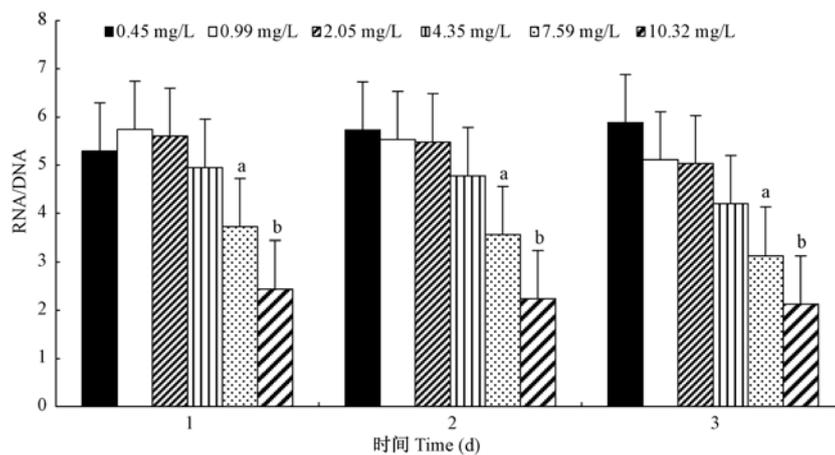


图 2 氨氮对脊尾白虾糠虾幼体的 RNA/DNA 的影响

Fig. 2 The ratio of RNA/DNA in *Exopalaemon carinicauda* larvae exposing to ammonia

与对照组比较,字母不同表示差异显著 $P < 0.05$ 。

Those different letters indicate significant difference at 5% probability level.

在不同浓度氨氮胁迫下,糠虾幼体变态率随着时间不断增加,其肌肉组织的 RNA/DNA 的比值呈现逐步降低的趋势,两者呈现指数负相关性关系,但对照组却显示出两者正相关性

的关系,其拟合方程见表 3,变态率和 RNA/DNA 的比值的相关性显著。尤其是次高浓度组(7.59 mg/L)和最高浓度组(10.32 mg/L),两者的相关性达到极为显著水平($P < 0.01$)。

表 3 脊尾白虾糠虾幼体变态率和肌肉组织中 RNA/DNA 比值的回归关系

Table 3 Regressive relationship between RNA/DNA ratio and metamorphosis of *Exopalaemon carinicauda* larvae

实验浓度 Concentration (mg/L)	回归方程 Regression equation	<i>n</i>	<i>r</i>	<i>P</i>
0.45 (对照 Control)	$y = 2.6134 \text{ EXP}(0.0042x)$	9	0.96	<0.05
0.99	$y = 4.0445 \text{ EXP}(-0.0069x)$	9	0.97	<0.05
2.05	$y = 5.3935 \text{ EXP}(-0.0083x)$	9	0.96	<0.05
4.33	$y = 6.0135 \text{ EXP}(-0.0080x)$	9	0.96	<0.05
7.59	$y = 5.7881 \text{ EXP}(-0.0078x)$	9	0.99	<0.01
10.32	$y = 5.8045 \text{ EXP}(-0.0219x)$	9	0.97	<0.01

3 讨论

3.1 对存活和蜕皮变态的毒性影响 氨氮对水生生物的危害主要表现为非离子氨的危害,非离子氨进入生物体内,对酶水解反应和膜稳定性会产生明显影响,表现出呼吸困难、不摄食、抵抗力下降、惊厥、昏迷等现象,影响生物正常的生理、生化指标与生长状况,严重时可导致生物死亡^[12]。在养殖水体中氨氮通常控制在 0.5 mg/L 以下,是虾可忍受的安全范围。当超过 1.0 mg/L 时,就可能对虾体造成污染,达到 5 mg/L 其毒害作用较大。本实验显示出 96 h 和 6 h 的安全浓度分别为 1.03 mg/L 和 0.45 mg/L,基本与上述值相吻合。Chen 等^[3] 研究指出,氨氮能够影响对虾的生长和变态发育。本实验结果也显示出,随着氨氮浓度的升高,脊尾白虾糠虾幼体死亡率和未变态个体数明显增加,游动能力下降。这与上述作者的研究结果相一致。说明氨氮浓度的增加会对糠虾幼体产生毒性效应。而且随着时间的延续,氨氮在体内的毒性作用也逐步增强。本实验也发现,糠虾生物体内毒性蓄积程度系数(MAC)则随着时间的延续,在 96 h 达到最高峰。一般情况下,在规定的实验时间范围内,如果 MAC 值越大,就说明毒效蓄积幅度越大,说明生物御毒能力下降,致死率就越大。因此可以采用 MAC 作为在不同实验时间段生物对毒物敏感程度差

异的指标,来分析生物体对毒物的蓄积与降减动态,当 $MAC > 0$ 时,蓄积作用强度大于降减作用^[13]。

甲壳动物的蜕皮是一个脆弱的时期,包括新的外表皮的构成以及吸收水分和离子的增长,以增大自身的体积。因此在蜕皮时易受毒性的影响^[14]。此外,虾类在生长过程中,由于自身的代谢排泄作用,会产生含氮有机物,其分解的最终产物就是氨氮。一定浓度的氨氮最终对生物体内新陈代谢过程产生明显影响。当水体中的氨氮浓度超过某一临界值时,可能会取代生物体内的钾离子,影响神经,引起 N-甲基-D-天冬氨酸(NMDA)受体结合活性明显降低,导致中枢神经系统中流入过量的钙离子并引起细胞死亡^[15]。实验结果显示,在高浓度氨氮的胁迫下,糠虾幼体生长迟缓,蜕壳变态明显滞后于对照组和低浓度组,变态率仅为后两者的 12% 以下。实验中未蜕壳的虾体长度也明显小于已经蜕壳的虾体长度,甚至个别虾体出现发白和尾部弯曲死亡的现象。显示出高浓度氨氮对脊尾白虾糠虾幼体的存活和蜕壳产生明显抑制作用。

3.2 RNA/DNA 比值的影响 生物体的生长实质是蛋白质合成的过程。有学者研究认为^[16]:在蛋白质合成的生化过程中,信使 RNA 和转运 RNA 是重要的参与者,生物体内蛋白质合成速度加快时,组织中的 RNA 浓度增加,而

细胞中细胞器 DNA 数目恒定,且 DNA 含量对环境条件的改变不敏感。因此 RNA/DNA 比值是测定生物生长率的敏感指标。甲壳动物的核酸变化与动物的发育阶段有关,在特定的发育阶段核酸与生长的关系一致。国外学者通过 12 d 不同的投喂策略研究了凡纳滨对虾肌肉核酸含量与生长的关系,发现 RNA/DNA 比值与凡纳滨对虾的生长呈正相关^[17]。一旦生物机体生长发育过程受到外界环境的抑制影响, RNA/DNA 比值则不存在与生长相一致性。本实验测得在氨氮胁迫的 6 d 时间里,糠虾幼体肌肉中的 RNA/DNA 比值随着幼体日龄的增长而呈现逐步下降的趋势,与对照组的正常发育逐步升高的趋势呈现截然相反的变化,表明了一定浓度的氨氮对脊尾白虾糠虾幼体肌肉组织细胞的核酸代谢及 DNA 合成有一定的影响,导致 RNA/DNA 比值与生长的不一致性。非离子氨不仅能阻止水生生物体内的氮向体外排出,使血液和组织中 NH_3 的浓度升高,造成体内的正常代谢降级或停滞,进而对机体产生一系列毒性影响,抑制其生长和发育,降低免疫力,甚至引起死亡。已有研究表明^[18],凡纳滨对虾氧合血红蛋白水平随着氨氮浓度的升高而降低,但耗氧率和能量消耗却逐渐增加。水环境中氨氮在生物体内长期累积下,将直接影响各种生理生化机能,损害组织器官,威胁其生存和生长。保罗美对虾(*Farfantepenaeus paulensis*)在一定氨氮条件下养殖 75 d,结果发现氨氮显著抑制了虾的生长,并且使虾体内的油脂含量降低而碳水化合物增加^[19]。本实验结果显示出氨氮对糠虾幼体正常生长的核酸代谢产生一定的抑制作用,与上述学者的结论一致。

虾蟹类幼体的蜕皮行为是内分泌系统调控,X-器官能够分泌合成的蜕皮抑制激素,Y-器官分泌合成的蜕皮激素。非离子氨因为不带电荷,具有较高的脂溶性,易穿透细胞膜,破坏细胞的能量代谢及离子和渗透平衡,引起组织器官的损伤,导致内分泌系统的失调。虾蟹类的蜕皮和生长是密切相关的,生长需要通过蜕皮得以实现。正常的蜕皮能够促进生长,而环境

胁迫等因素引起蜕皮激素的大量生成,其蜕皮往往不能促进虾蟹类的生长,反而具有抑制作用^[20]。本实验通过对糠虾幼体肌肉组织中 RNA/DNA 比值与其相应变态率的回归分析表明,变态率与 RNA/DNA 比值是成显著负相关的($P < 0.05$),说明了尽管糠虾幼体的蜕壳变态个体在增加,但机体本身的生长代谢过程还是受到了氨氮的抑制作用。

致谢 实验得到了江苏启东金海岸水产研究所朱善央老师的大力支持,特此表示感谢。

参 考 文 献

- [1] Rebelo M F, Rodriguez E M, Santos E A, et al. Histopathological changes in gills of the estuarine crab *Chasmagnathus granulata* (Crustacea-Decapoda) following acute exposure to ammonia. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Pharmacology, Toxicology and Endocrinology*, 2000, 125: 157 - 164.
- [2] 罗杰,杜涛,刘楚吾,等. 不同盐度、pH 条件下氨氮对管角螺稚贝毒性影响. *动物学杂志*, 2010, 45(3): 102 - 109.
- [3] Chen J C, Kou Y Z. Effects of ammonia on growth and molting of *Penaeus japonicus* juveniles. *Aquaculture*, 1992, 104: 245 - 260.
- [4] 臧维玲,江敏,张建达,等. 亚硝酸盐和氨对罗氏沼虾幼体的毒性. *上海水产大学学报*, 1996, 5(1): 15 - 22.
- [5] 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. *上海水产大学学报*, 2002, 11(1): 21 - 26.
- [6] 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. *上海水产大学学报*, 2007, 16(1): 22 - 27.
- [7] 曹梅,王兴强,阎斌伦,等. 脊尾白虾对蛋白质和脂肪需求量研究. *淮海工学院学报:自然科学版*, 2009, 18(1): 87 - 89.
- [8] 王兴强,曹梅. 低盐 and 低温对脊尾白虾生长和能量收支的影响. *水生态学杂志*, 2010, 3(2): 66 - 71.
- [9] 阎斌伦,王兴强,何执中,等. 中草药对脊尾白虾存活和生长的影响. *淮海工学院学报:自然科学版*, 2007, 16(3): 62 - 65.
- [10] 陆开宏,华建权. 人工培育脊尾白虾蚤状幼体的饵料基础研究. *黄渤海海洋*, 2001, 19(4): 63 - 70.
- [11] 于蕾,张凡菲,郎朗,等. TDI 致小鼠肝细胞损伤的机制分析. *哈尔滨商业大学学报:自然科学版*, 2006, 22

- (5): 7 - 10
- [12] 蔡继晗, 沈奇宇, 郑向勇, 等. 氨氮污染对水产养殖的危害及处理技术研究进展. 浙江海洋学院学报: 自然科学版, 2010, 29(2): 167 - 172.
- [13] 田丽粉, 任仲, 崔毅, 等. 胜利原油对褐牙鲈仔稚鱼的急性毒性和幼鱼碱性磷酸酶的影响. 海洋水产研究, 2008, 29(6): 95 - 100.
- [14] Daly H R, Hart B T, Campbell I C. Copper toxicity to *Paratya australiensis*. IV. Relation with ecdysis. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1992, 11: 881 - 889.
- [15] Randall D J, Tsui T K N. Ammonia toxicity in fish. *Marine Pollution Bulletin*, 2002, 45: 17 - 23.
- [16] Bulow F J. Seasonal variations in RNA/DNA ratios and in indicators of feeding, reproduction, energy storage, and condition in population of Bluegill, *Lepomis macrochirus* Rafinesque. *J Fish Biol*, 1981, 18(3): 237 - 244.
- [17] Moss S M. Using of nucleic acids as indicators of growth in juvenile white shrimp, *Penaeus vannamei*. *Mar Biol*, 1994, 120: 359 - 367.
- [18] Racotta I S, Hernández-Herrera R. Metabolic responses of the white shrimp, *Penaeus vannamei*, to ambient ammonia. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A*, 2000, 125: 437 - 443.
- [19] Miranda-Filho K C, Pinho G L L, Jr Wasielesky W, et al. Long-term ammonia toxicity to the pink-shrimp *Farfantepenaeus paulensis*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2009, 150: 377 - 382.
- [20] 王克行. 虾蟹类增殖学. 北京: 中国农业出版社, 2004: 161.