

DOI: 10.12264/JFSC2024-0189

## 硫酸盐胁迫对凡纳滨对虾组织损伤和生理功能的影响

顾晨<sup>1,2</sup>, 史文军<sup>2</sup>, 朱健强<sup>1,2</sup>, 朱玉洁<sup>3</sup>, 黎慧<sup>2</sup>, 王李宝<sup>2</sup>, 万夕和<sup>2</sup>

1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 江苏省海洋水产研究所, 江苏 南通 226007;

3. 扬州大学, 江苏 扬州 225009

**摘要:** 本研究对凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)进行硫酸盐胁迫, 以探究硫酸盐型水域中关键盐碱离子  $SO_4^{2-}$  对凡纳滨对虾组织结构、免疫能力、抗氧化能力及离子转运能力的影响。首先通过半致死浓度实验确定了硫酸盐对凡纳滨对虾 96 h LC<sub>50</sub> 为 54.71 mmol/L, 然后设置对照组(10 mmol/L  $SO_4^{2-}$ )和实验组(60 mmol/L  $SO_4^{2-}$ )胁迫 96 h, 取虾肝胰腺和鳃组织进行组织与超微结构观察以及生理指标的测定。结果显示: (1) 凡纳滨对虾肝胰腺和鳃组织受损伤程度随胁迫时间的增加逐渐增加; (2) 随胁迫时间增加, 肝胰腺组织中免疫酶[酸性磷酸酶(ACP)、碱性磷酸酶(AKP)]活性和鳃组织中 AKP 活性整体呈“升高-降低-升高-降低-升高”的变化趋势; 鳃中 ACP 活性呈“升高-降低-升高”的变化趋势; (3) 随胁迫时间增加, 肝胰腺组织中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽过氧化物酶(GPX)整体呈“升高-降低-升高-降低”的变化趋势, 丙二醛(MDA)含量先升高后降低; 鳃组织中 SOD 活性和 MDA 含量呈“升高-降低-升高”的变化趋势, CAT 活性呈“降低-升高-降低”的变化趋势, GPX 活性呈“降低-升高-降低-升高”的变化趋势; (4) 鳃组织中离子转运酶[钠钾 ATP 酶(NKA)、钠氢交换蛋白(NHE)]活性随胁迫时间增加, 分别呈“升高-降低-升高”和“降低-升高-降低-升高”的变化趋势。研究结果表明, 凡纳滨对虾对硫酸盐具有一定的耐受性, 可通过调节机体自身免疫、抗氧化以及离子转运能力来适应硫酸盐环境, 但长时间高浓度的胁迫会超出这些生理功能的调控范围, 对凡纳滨对虾肝胰腺以及鳃组织造成严重损伤, 影响机体正常功能, 进而导致死亡。

**关键词:** 凡纳滨对虾; 硫酸盐; 组织损伤; 免疫; 抗氧化能力; 离子转运能力; 盐碱水

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2024)08-0910-16

盐碱水在我国具有分布广、类型多等特点, 面积大约 3067 万  $hm^2$ , 主要分布在东部沿海、东北平原、黄淮海平原、西北内陆地区, 分为氯化物型、碳酸盐型和硫酸盐型等类型<sup>[1-3]</sup>。由于盐碱水域盐度和碱度较高, 很难用于农业<sup>[4]</sup>, 目前只在少数低盐碱水域进行了淡水鱼类养殖的尝试, 大多数盐碱水域仍处于荒废状态<sup>[5]</sup>。我国盐碱水域面积逐年上升, 发展盐碱水渔业已成为拓展我国水产养殖空间的重要措施<sup>[6]</sup>。盐碱水渔业对盐碱水资源的开发利用具有良好的效果, 但荒废的

盐碱水域盐碱程度较高, 一般水生生物较难生存。针对这一问题, 近年来我国学者对部分水产动物品种的盐碱水养殖技术和模式进行了探索, 包括青海湖裸鲤(*Gymnocypris przewalskii*)、尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)、中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)、罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)、克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)、日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)、中国明对虾(*Fenneropenaeus chinensis*)、脊尾白虾(*Exopalaemon carinicauda*)和凡纳滨对虾(*Litopenaeus*

收稿日期: 2024-06-04; 修订日期: 2024-07-12.

基金项目: 江苏现代农业产业技术体系项目(JATS[2023]154, 380); 江苏省种业振兴“揭榜挂帅”项目(JBGS[2022]122); 南通市自然科学基金项目(JC2023085).

作者简介: 顾晨(2000-), 男, 硕士研究生, 研究方向为水产养殖. E-mail: angus11221206@163.com

通信作者: 史文军, 副研究员, 主要从事海水虾类健康养殖研究. E-mail: muzhiye080326@126.com

vannamei)等<sup>[6-10]</sup>,并取得了一定的成果。其中凡纳滨对虾又名南美白对虾、太平洋白虾等,隶属于节肢动物门(Arthropoda)、甲壳纲(Crustacea)、十足目(Decapoda)、对虾科(Penaeidae)、滨对虾属(*Penaeus*),具有广盐性、生长快、环境适应力强等优点<sup>[11]</sup>,是 3 大经济养殖虾类之一<sup>[12-13]</sup>。凡纳滨对虾对高 pH 和高碳酸盐碱度表现出较高的耐受性<sup>[14]</sup>,已在部分盐碱水域开展养殖实验并取得了良好的效益<sup>[15]</sup>。因此凡纳滨对虾养殖在盐碱水渔业发展中具有广阔的前景。目前关于盐碱水对凡纳滨对虾影响的研究,主要集中于碳酸盐型,包括碳酸盐碱度胁迫对生长生存<sup>[16-17]</sup>、生理功能<sup>[18-19]</sup>和分子层面<sup>[18,20]</sup>的影响。但少有关于硫酸盐型盐碱水对凡纳滨对虾影响的研究报道。

硫酸盐型盐碱水是我国盐碱水的主要类型之一,在西北内陆地区分布较广,已成为影响当地农业生产的重要问题之一<sup>[21]</sup>。相较于碳酸盐型盐碱地,硫酸盐型盐碱地中关键盐碱离子为  $\text{SO}_4^{2-}$ 、 $\text{Na}^+$ ,且  $\text{SO}_4^{2-}$  较难洗脱<sup>[22]</sup>,因此硫酸盐型盐碱水中的  $\text{SO}_4^{2-}$  可能会对水生生物的生长生存造成一定影响。已有研究发现硫酸盐型盐碱淋出水可以用于凡纳滨对虾养殖<sup>[21]</sup>,硫酸盐型盐碱水养殖和海水养殖的凡纳滨对虾肌肉粗营养成分无明显差异,氨基酸组成均衡,而硫酸盐型盐碱水养殖凡纳滨对虾肌肉中 Na 含量显著高于海水养殖凡纳滨对虾,且 Zn/Fe 更合理<sup>[23]</sup>。但目前尚未有硫酸盐型盐碱水对凡纳滨对虾组织损伤和生理功能影响的深入研究报告。本研究通过测定硫酸盐对凡纳滨对虾不同时间的半致死浓度,分析硫酸盐胁迫对凡纳滨对虾组织损伤及相关生理指标的影响,以期探究凡纳滨对虾对硫酸盐胁迫的生理响应机制,为在硫酸盐型水域开展凡纳滨对虾健康养殖补充理论依据。

## 1 材料与amp;方法

### 1.1 实验材料

**1.1.1 实验用水** 选择经过滤、沉淀和充分曝气的纯海水[盐度(25±0.5),区域:江苏省南通市如东县长沙镇,时间:2023年10—11月]和自来水混合以配制实验用水,盐度(10.5±0.5),温度(24.0±

0.5) °C, pH (8.0±0.5)。

**1.1.2 实验用凡纳滨对虾** 取自江苏省海洋水产研究所如东海水虾类养殖实验基地。随机选取其中健康无损伤的凡纳滨对虾,体长(9.2±0.2) cm、体重(4.5±0.3) g,于养殖池中以实验用水暂养 7 d,持续充气,维持溶解氧大于 8.00 mg/L。暂养期间,每天更换 1/3 实验用水,定时(7:00、12:00 和 19:00)投喂配合饲料(南通海大生物科技有限公司),待虾充分摄食后及时清除死虾、残饵和粪便。

### 1.2 实验设计

**1.2.1 硫酸根及水体主要离子测定** 采用硫酸钠沉淀滴定法测定水体中硫酸根浓度,以茜素红作为指示剂<sup>[24]</sup>;离子色谱法测定水体中的  $\text{Na}^+$  和  $\text{Cl}^-$  含量(JY/T 0575-2020);酸碱滴定法测定水体中  $\text{CO}_3^{2-}$  和  $\text{HCO}_3^-$  含量(GB 8538-2022);电感耦合等离子体发射光谱法(ICP)测定水体中  $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$  和  $\text{Mg}^{2+}$  含量。

**1.2.2 半致死浓度实验** 采用 75 L 白色 PVC 圆桶进行实验,根据预实验结果以实验用水为对照组( $\text{SO}_4^{2-}$  浓度为 10 mmol/L),并通过向实验用水中添加分析纯硫酸钠( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , 国药)以配制 40、80、120、160 和 200 mmol/L  $\text{SO}_4^{2-}$  浓度组,稳定 24 h 后用于实验,每个浓度设置 3 组平行,每组 10 尾虾,胁迫 96 h,期间每天更换 1/3 对应硫酸盐浓度水体,其他管理与暂养期一致。分别记录不同硫酸盐浓度胁迫 0、24、48、72 和 96 h 各组凡纳滨对虾累计死亡数,计算死亡率,并及时移出死虾。根据改良寇氏法(Käber),通过 SPSS 27.0 软件,使用概率分析计算凡纳滨对虾耐硫酸盐的半数致死浓度(LC<sub>50</sub>)。同时设置 3 组纯海水组[盐度(25±0.5)]和实验用水组[盐度(10±0.5)]监控盐度变化对存活率的影响。

**1.2.3 组织及超微结构变化观察** 根据 1.2.2 中结果,向实验用水中添加  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  以配制稍高于 96 h LC<sub>50</sub> 的硫酸盐浓度( $\text{SO}_4^{2-}$  浓度为 60 mmol/L),稳定 24 h 后用于实验;对照组为未添加  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  的实验用水。实验在 500 L 白色 PVC 圆桶内进行,实验组和对照组各设置 3 组平行,每个平行组放对虾 200 尾,胁迫 96 h。期间管理同 1.2.2。

分别于 0、24、48、72 和 96 h 从各组桶中随

机选取凡纳滨对虾活虾,取肝胰腺和鳃组织,用10%甲醛溶液固定,进行常规石蜡包埋和苏木精-伊红(H.E)染色,光学显微镜观察组织学结构变化。用2.5%电镜专业戊二醛对肝胰腺和鳃组织固定,磷酸液漂洗3次,1%锇酸在4℃下固定2h,ddH<sub>2</sub>O漂洗3次,乙醇(30%、50%、70%、80%、95%、100%)梯度脱水2次,每次15min;环氧丙烷过渡,812树脂梯度渗透后包埋,60℃聚合,用Leica UC7型切片半薄定位和超薄切片,醋酸双氧铀和柠檬酸铅双染色,透射电镜观察超微结构变化。

**1.2.4 生理指标测定** 分别于0、6、12、24、48、72和96h从各组桶中随机选取5尾活虾,取肝胰腺和鳃组织装入2.0mL冻存管中作为1个生物学重复,经液氮速冻后转入-80℃冰箱备用。取适量肝胰腺或鳃组织混匀样品,加入9倍体积( $m:V=1:9$ )的0.86%生理盐水(4℃预冷),研磨得到10%组织匀浆,离心(2000 r/min、4℃)15min,取上清。采用南京建成科技有限公司的相应试剂

盒测定 ACP、AKP、SOD、GPX、CAT 活性、MDA 含量及鳃的 NKA 活性,采用上海研谨生物科技有限公司试剂盒测定鳃 NHE 含量。

### 1.3 数据分析

使用 GraphPad Prism 8.0.2、Excel 2015 和 SPSS 27.0 软件对实验数据进行统计和分析。结果以平均值±标准差( $\bar{x}\pm SD$ )表示, $n=3$ 。方差分析采用 SPSS 27.0 软件进行单因素 ANOVA 检验和 LSD 多重比较,显著性水平为 95% ( $P<0.05$ )。

## 2 结果与分析

### 2.1 不同硫酸盐浓度水体中 pH、盐度及主要离子变化情况

不同硫酸盐浓度水体中 pH 和盐度的实测值如表 1 所示,各硫酸盐浓度水体中的盐度差异显著( $P<0.05$ ),这是由于 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 的加入引起的盐度变化;pH 没有显著差异( $P>0.05$ ),但盐度和 pH 均处于凡纳滨对虾生存生长的适宜范围内。不同硫酸盐浓度水体中主要离子变化情况如表 2 所示,

表 1 不同硫酸盐浓度水体中 pH 和盐度变化情况

Tab. 1 Changes in water pH and salinity at different sulfate concentrations

硫酸盐浓度/(mmol/L) sulfate concentration	Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 加入量/(g/L) Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> addition	硫酸盐浓度计算值/(mmol/L) calculated sulfate concentration	硫酸盐浓度实测值/(mmol/L) measured sulfate concentration	pH	盐度 salinity
10(对照组) control group	0	10.00	10	7.95±0.04 <sup>a</sup>	10.92±0.02 <sup>f</sup>
40	5	45.20	40	7.97±0.03 <sup>a</sup>	13.96±0.03 <sup>c</sup>
80	10	80.40	80	8.03±0.09 <sup>a</sup>	16.87±0.04 <sup>d</sup>
120	15	115.60	120	8.04±0.02 <sup>a</sup>	19.50±0.14 <sup>c</sup>
160	20	150.81	160	8.02±0.06 <sup>a</sup>	22.43±0.25 <sup>b</sup>
200	25	186.01	200	8.04±0.06 <sup>a</sup>	25.20±0.10 <sup>a</sup>

注: 同列数据上标不同表示组间存在显著差异( $P<0.05$ )。

Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ( $P<0.05$ ).

表 2 不同硫酸盐浓度水体中主要离子变化情况

Tab. 2 Changes in the concentration of major ions in waters with different sulfate concentrations

硫酸盐浓度/(mmol/L) sulfate concentration	离子质量浓度/(mg/L) ion mass concentration						
	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Cl <sup>-</sup>	CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup>	HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
10 (实验用水) experimental water	91.50±4.95 <sup>b</sup>	3615.32±46.14 <sup>c</sup>	101.00±4.24 <sup>b</sup>	268.50±21.92 <sup>b</sup>	5927.48±11.24 <sup>b</sup>	2.58±0.00 <sup>b</sup>	125.94±2.62 <sup>b</sup>
200	97.00±2.83 <sup>b</sup>	11784.92±57.11 <sup>a</sup>	103.50±0.71 <sup>b</sup>	284.50±4.95 <sup>b</sup>	5869.99±129.81 <sup>b</sup>	2.58±0.00 <sup>b</sup>	128.56±0.00 <sup>b</sup>
30 (纯海水) pure seawater	296.00±8.49 <sup>a</sup>	8063.73±107.03 <sup>b</sup>	348.50±12.02 <sup>a</sup>	979.50±6.36 <sup>a</sup>	14138.39±55.96 <sup>a</sup>	13.76±2.98 <sup>a</sup>	145.18±3.03 <sup>a</sup>

注: 同列数据上标不同表示组间存在显著差异( $P<0.05$ )。

Note: Values in each column with different superscripts are significantly different ( $P<0.05$ ).

当水体中硫酸盐浓度从 10 mmol/L (对照组)增加到 200 mmol/L 时, 水中  $K^+$ 、 $Ca^{2+}$ 、 $Mg^{2+}$ 、 $Cl^-$ 、 $CO_3^{2-}$  和  $HCO_3^-$  含量没有显著差异( $P>0.05$ );  $Na^+$  含量显著增加( $P<0.05$ )。

### 2.2 硫酸盐对凡纳滨对虾的半致死浓度

不同盐度胁迫下凡纳滨对虾的累计死亡率如表 3 所示, 凡纳滨对虾在盐度(10.5±0.5)的实验用水和盐度(25.0±0.5)的纯海水中, 96 h 的死亡率均为 0。凡纳滨对虾在不同浓度硫酸盐胁迫 24、48、72 和 96 h 的累计死亡率如表 4 所示。胁迫 24 h 时, 各硫酸盐浓度梯度的对虾死亡率均低于 50%。硫酸盐浓度为 10 mmol/L 时, 72 h 时其中有 2 组各出现 1 尾死亡个体, 此时死亡率为 6.67%, 而 96 h 时累计死亡率未增加, 推测这可能是由于对虾在转移过程中其他因素引起的, 此时剩余对虾游动摄食正常; 硫酸盐浓度为 40 mmol/L 时, 个别对虾行动迟缓, 96 h 累计死亡率为 33.33%; 硫酸盐浓度为 80 mmol/L 时, 少数对虾行动迟缓,

个别对虾不游动, 72~96 h 出现大量死亡, 96 h 死亡率达到 70%; 硫酸盐浓度为 120 mmol/L 时, 多数对虾行动迟缓, 少数对虾不游动, 96 h 死亡率达到 83.33%; 硫酸盐浓度为 160 mmol/L 时, 48 h 对虾死亡率大于 50%, 96 h 死亡率达到 100%; 硫酸盐浓度为 200 mmol/L 时, 72 h 死亡率已达到 100%。

表 3 不同盐度胁迫下凡纳滨对虾的累计死亡率

Tab. 3 The cumulative mortality rates of *Litopenaeus vannamei* under different salinity stresses

$n=10; \bar{x}\pm SD$

盐度 salinity	累计死亡率/% cumulative mortality rate			
	24 h	48 h	72 h	96 h
10.5±0.5	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
25.0±0.5	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00

硫酸盐对凡纳滨对虾 24、48、72 和 96 h 的  $LC_{50}$  值以及置信区间(95%)如表 5 所示。凡纳滨对虾 96 h 半致死浓度(96 h  $LC_{50}$ )为 54.71 mmol/L, 置信区间(95%)为 26.46~76.49 mmol/L。

表 4 不同硫酸盐浓度胁迫下凡纳滨对虾的累计死亡率

Tab. 4 The cumulative mortality rates of *Litopenaeus vannamei* under different sulfate concentrations stresses

$n=10; \bar{x}\pm SD$

硫酸盐浓度/(mmol/L) sulfate concentration	累计死亡率/% cumulative mortality rate			
	24 h	48 h	72 h	96 h
10	0.00±0.00	0.00±0.00	6.67±5.77	6.67±5.77
40	3.33±5.77	6.67±5.77	16.67±5.77	33.33±5.77
80	13.3±5.77	23.33±5.77	46.67±5.77	70.00±10.00
120	23.33±5.77	33.33±5.77	67.67±15.28	83.33±15.28
160	26.67±5.77	60.00±0.00	96.67±5.77	100.00±0.00
200	46.67±5.77	86.67±15.28	100.00±0.00	100.00±0.00

表 5 通过概率分析估计的凡纳滨对虾 24 h、48 h、72 h 和 96 h 硫酸盐半数致死浓度及置信区间

Tab. 5 The 24 h, 48 h, 72 h, and 96 h  $LC_{50}$  of sulfate and confidence interval of *Litopenaeus vannamei* by probabilistic analysis

胁迫 时间/h time	半致死浓度/ (mmol/L) $LC_{50}$	置信区间(95%) confidence interval (95%)	
		下限 95%	上限 95%
		lower bound 95%	upper bound 95%
24	234.78	199.59	306.12
48	129.79	90.91	192.03
72	78.44	31.54	115.86
96	54.71	26.46	76.49

### 2.3 组织及超微结构变化

硫酸盐胁迫下凡纳滨对虾肝胰腺组织结构变化如图 1 所示。硫酸盐胁迫 48 h 后, 凡纳滨对虾肝胰腺肝小管中 B 细胞和 R 细胞数量增多, 部分肝小管基底膜破裂(图 1c)。硫酸盐胁迫 72 h 后, 肝小管体积扩大, 基底膜模糊破裂程度加重, 部分肝小管星形管状结构消失, 管腔大小与 B 细胞大小相比对照组显著增大(图 1d)。硫酸盐胁迫 96 h 后, 肝细胞排列紊乱, 大量肝胰腺细胞溶解坏死, 部分细胞解体, F 细胞流出(图 1e)。对照组肝胰腺

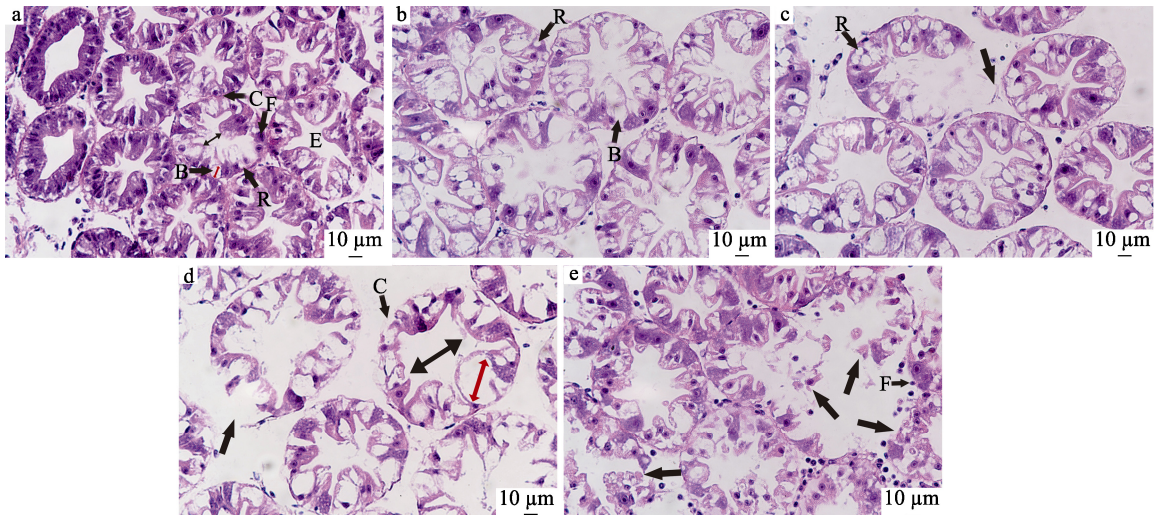


图 1 硫酸盐胁迫下凡纳滨对虾肝胰腺组织结构的变化

a. 硫酸盐胁迫 0 h, B: B 细胞, R: R 细胞, F: F 细胞, C: 基底膜, E: 星形管腔结构, 黑色双向箭头示正常管腔大小, 红色双向箭头示正常 B 细胞大小. b. 硫酸盐胁迫 24 h, B: B 细胞, R: R 细胞. c. 硫酸盐胁迫 48 h, R: R 细胞, 黑色箭头示基底膜破裂受损. d. 硫酸盐胁迫 72 h, C: 基底膜, 黑色箭头示基底膜破裂受损, 黑色双向箭头示管腔大小变大, 红色双向箭头示 B 细胞大小变大; e. 硫酸盐胁迫 96 h, F: F 细胞, 黑色箭头示基底膜破裂受损.

Fig. 1 Changes in histological structure in the hepatopancreas of *Litopenaeus vannamei* under sulfate stress

a. Sulfate stress 0 h, B: B cell, R: R cell, F: F cell, C: basement membrane, E: star-shaped lumen structure, black two-way arrow shows normal lumen size, red two-way arrow shows normal B cell size. b. Sulfate stress 24 h, B: B cell, R: R cell. c. Sulfate stress 48 h, R: R cell, black arrows show rupture of the basement membrane is damaged. d. Sulfate stress 72 h, C: basement membrane, black arrows show basement membrane rupture is damaged, black two-way arrow shows lumen size becomes larger, red two-way arrow shows B cell size enlarged; e. Sulfate stress 96 h, F: F cell, black arrows show basement membrane rupture damaged.

小管基底膜清晰完整, 管腔呈星形, 肾小管排列紧密, 具有丰富的 B 细胞、F 细胞和 R 细胞(图 1a)。

硫酸盐胁迫下凡纳滨对虾肝胰腺超微结构变化如图 2 所示。硫酸盐胁迫 24 h 后开始出现自噬现象(图 2b)。硫酸盐胁迫 48 h 后, 微绒毛排列疏松程度与自噬程度逐渐加重, 形成大量囊泡(图 2c)。硫酸盐胁迫 72 h 后, 微绒毛排列疏松程度与自噬程度加重, 线粒体肿胀, 部分嵴结构消失, 囊泡数量增多(图 2d)。硫酸盐胁迫 96 h 后, 微绒毛排列紊乱并破裂, 自噬程度加重, 囊泡广泛存在(图 2e)。对照组肝小管细胞结构较完整, 肝小管边缘微绒毛排列整齐紧密, 细胞核、核仁和脂滴清晰可见, 内质网丰富, 细胞质致密, 线粒体结构完整, 呈圆形或扁圆形, 外膜平坦, 内部嵴排列整齐(图 2a)。

硫酸盐胁迫下凡纳滨对虾鳃组织结构变化如图 3 所示。硫酸盐胁迫 24 h 后, 皮下间隙缩小(图 3b)。硫酸盐胁迫 48 h 后, 皮下间隙缩小程度加重(图 3c)。硫酸盐胁迫 72 h 后, 皮下间隙基本消失,

鳃丝萎缩变形(图 3d)。硫酸盐胁迫 96 h 后, 鳃组织结构明显受损, 鳃丝角质层断裂脱落, 鳃丝萎缩变形程度加重, 腔内空泡状严重(图 3e)。对照组鳃丝角质层和上皮结构完整, 皮下间隙清晰可见(图 3a)。

硫酸盐胁迫下凡纳滨对虾鳃超微结构变化如图 4 所示。硫酸盐胁迫 24~48 h 时, 线粒体逐渐肿胀(图 4b, 图 4c)。硫酸盐胁迫 72 h 后, 线粒体肿胀程度加重, 嵴结构逐渐退化, 角质层隆起, 开始出现囊泡(图 4d)。硫酸盐胁迫 96 h 后, 线粒体肿胀坏死, 嵴结构消失, 角质层隆起程度加重, 囊泡变大(图 4e)。对照组角质层光滑, 细胞核完整, 线粒体基质致密, 线粒体嵴紧密排列(图 4a)。

#### 2.4 硫酸盐对凡纳滨对虾免疫能力的影响

硫酸盐胁迫下凡纳滨对虾肝胰腺和鳃中 ACP 活性变化分别如图 5a、图 6a 所示。实验组 (60 mmol/L) 中, 肝胰腺和鳃中 ACP 活性在 0~12 h 期间均先升高后降低, 96 h 均显著高于 0 h ( $P < 0.05$ )。

硫酸盐胁迫下凡纳滨对虾肝胰腺和鳃中 AKP

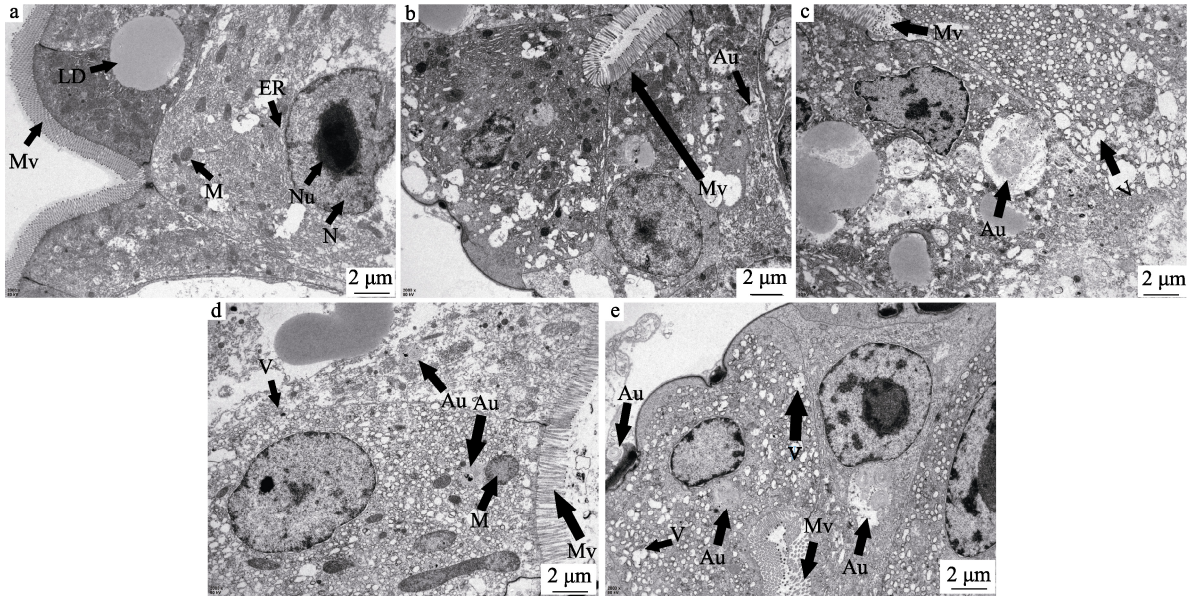


图 2 硫酸盐胁迫下凡纳滨对虾肝胰腺超微结构的变化

a. 硫酸盐胁迫 0 h, Mv: 微绒毛, LD: 脂滴, M: 线粒体, ER: 内质网, Nu: 核仁, N: 细胞核. b. 硫酸盐胁迫 24 h, Mv: 微绒毛, Au: 自噬. c. 硫酸盐胁迫 48 h, Mv: 微绒毛, Au: 自噬, V: 囊泡. d. 硫酸盐胁迫 72 h, Mv: 微绒毛, Au: 自噬, V: 囊泡. M: 线粒体. e. 硫酸盐胁迫 96 h, Mv: 微绒毛, Au: 自噬, V: 囊泡.

Fig. 2 Ultrastructural changes in the hepatopancreas of *Litopenaeus vannamei* under sulfate stress

a. Sulfate stress 0 h, Mv: microvilli, LD: lipid droplets, M: mitochondria, ER: endoplasmic reticulum, Nu: nucleolus, N: nucleus. b. Sulfate stress 24 h, Mv: microvilli, Au: autophagy. c. Sulfate stress 48 h, Mv: microvilli, Au: autophagy, V: vesicles. d. Sulfate stress 72 h, Mv: microvilli, Au: autophagy, V: vesicles; M: mitochondria. e. Sulfate stress 96 h, Mv: microvilli, Au: autophagy, V: vesicles.

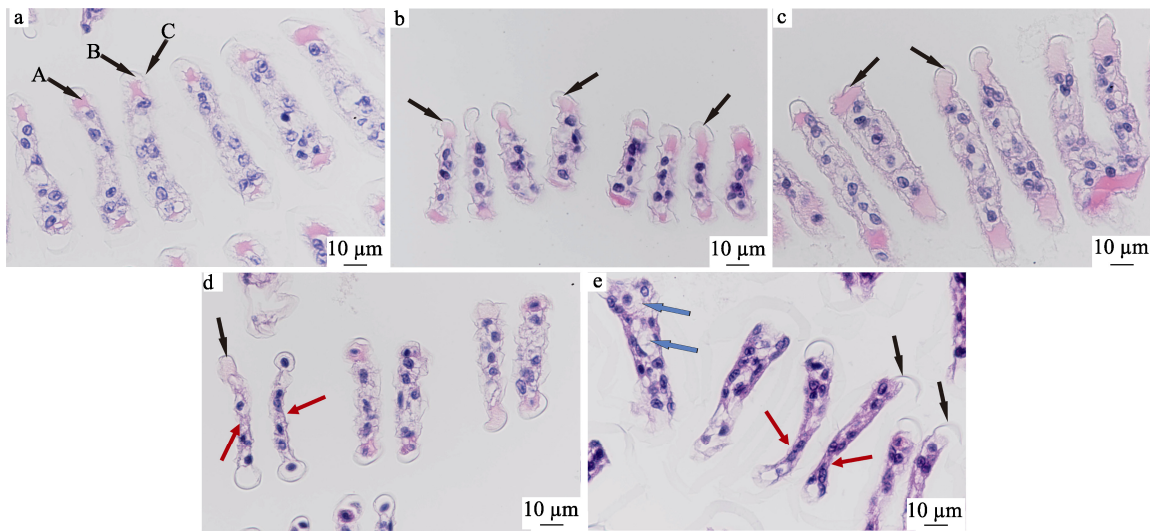


图 3 硫酸盐胁迫下凡纳滨对虾鳃组织结构的变化

a. 硫酸盐胁迫 0 h, A: 上皮, B: 皮下间隙, C: 角质层; b. 硫酸盐胁迫 24 h, 黑色箭头示表皮下间隙缩小; c. 硫酸盐胁迫 48 h, 黑色箭头示表皮下间隙缩小; d. 硫酸盐胁迫 72 h, 黑色箭头示表皮下间隙缩小, 红色箭头示鳃丝萎缩变形; e. 硫酸盐胁迫 96 h, 黑色箭头示角质层脱落, 红色箭头示鳃丝萎缩变形, 蓝色箭头示形成大量空泡.

Fig. 3 Changes in histological structure in gills of *Litopenaeus vannamei* under sulfate stress

a. Sulfate stress 0 h, A: epithelium, B: subcuticular space, C: cuticle. b. Sulfate stress 24 h, black arrows show subcuticular space shrinks. c. Sulfate stress 48 h, black arrows show subcuticular space shrinks. d. Sulfate stress 72 h, black arrows show subcuticular space shrinks, red arrows show gill filaments shrink and distortion. e. Sulfate stress 96 h, black arrows show cuticle detachment, red arrows show gill filaments atrophy and deformation, blue arrows show formation of large number of vacuoles.

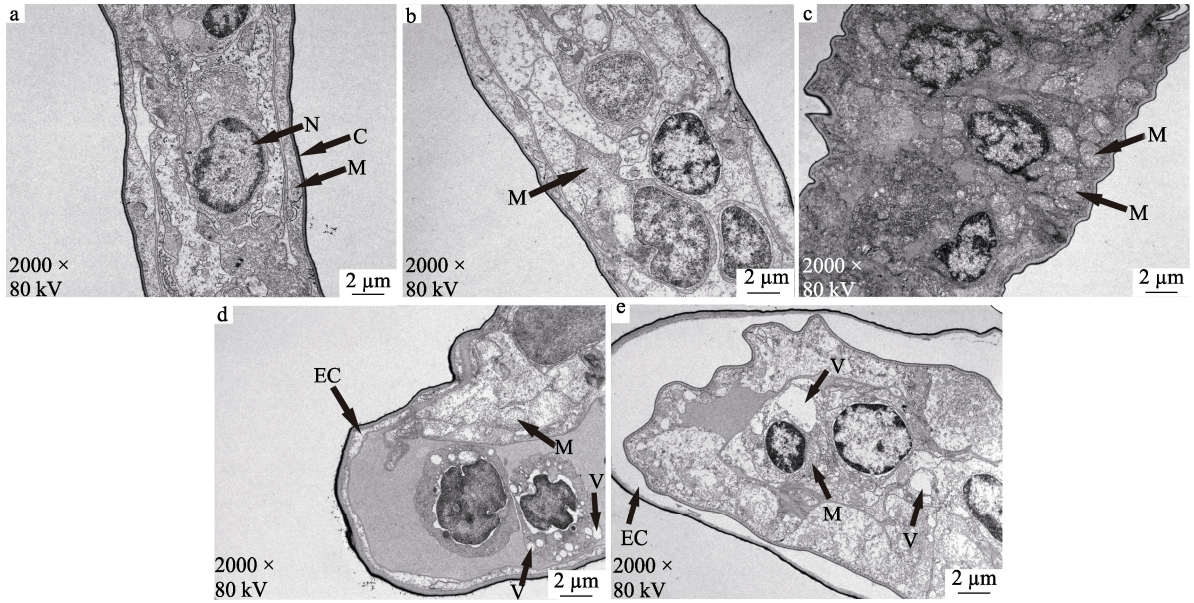


图 4 硫酸盐胁迫下凡纳滨对虾鳃超微结构的变化

a. 硫酸盐胁迫 0 h, C: 角质层, M: 线粒体, N: 细胞核. b. 硫酸盐胁迫 24 h, M: 线粒体. c. 硫酸盐胁迫 48 h, M: 线粒体. d. 硫酸盐胁迫 72 h, M: 线粒体, V: 囊泡, EC: 角质层隆起. e. 硫酸盐胁迫 96 h, M: 线粒体, V: 囊泡, EC: 角质层隆起.

Fig. 4 Ultrastructural changes in gills of *Litopenaeus vannamei* under sulfate stress

a. Sulfate stress 0 h, C: cuticle, M: mitochondria, N: nucleus. b. Sulfate stress 24 h, M: mitochondria. c. Sulfate stress 48 h, M: mitochondria. d. Sulfate stress 72 h, M: mitochondria, V: vesicles, EC: elevated cuticle. e. Sulfate stress 96 h, M: mitochondria, V: vesicles, EC: elevated cuticle.

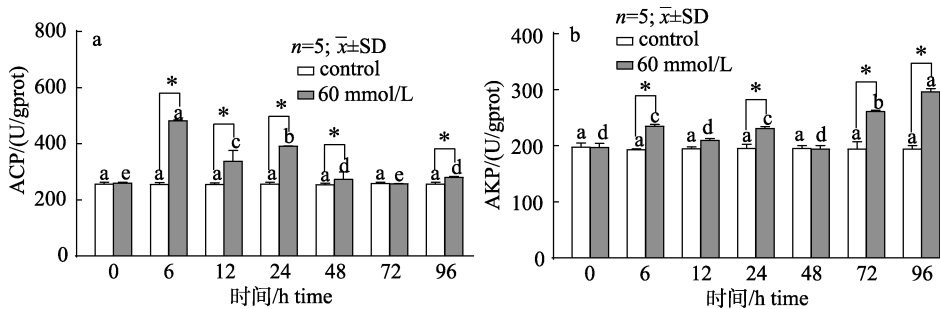


图 5 硫酸盐胁迫下凡纳滨对虾肝胰腺中 ACP 活性(a)和 AKP 活性(b)的变化

同一时间组柱上标\*表示不同胁迫浓度间差异显著( $P < 0.05$ ), 同一胁迫浓度组小写字母不同表示不同时间组差异显著( $P < 0.05$ ).

Fig. 5 Changes in ACP activity (a) and AKP activity (b) in the hepatopancreas of *Litopenaeus vannamei* under sulfate stress. Columns labeled with \* in the same time group indicate significant differences between different stress concentrations ( $P < 0.05$ ), and different lowercase letters in the same stress concentration group indicate significant differences between different time groups ( $P < 0.05$ ).

活性变化分别如图 5b、图 6b 所示。实验组(60 mmol/L)中, 肝胰腺和鳃中 AKP 活性在 0~96 h 期间均呈现“升高-降低-升高-降低-升高”的波动上升趋势, 96 h 显著高于 0 h ( $P < 0.05$ )。

### 2.5 硫酸盐对凡纳滨对虾抗氧化能力的影响

硫酸盐胁迫下凡纳滨对虾肝胰腺和鳃中 SOD 活性变化分别如图 7a、图 8a 所示。实验组(60 mmol/L)中, 肝胰腺中 SOD 活性在 0~96 h 期间呈现“升高-降低-升高-降低”的变化趋势, 12~48 h 活性变化

趋于平稳, 活性值最低; 鳃中 SOD 活性在 0~96 h 呈现“升高-降低-升高”的变化趋势, 24~48 h 活性变化趋于平稳, 活性值最低。肝胰腺和鳃中的 SOD 活性在 96 h 时均显著高于 0 h ( $P < 0.05$ )。

硫酸盐胁迫下凡纳滨对虾肝胰腺和鳃中 CAT 活性变化分别如图 7b、图 8b 所示。实验组(60 mmol/L)中, 肝胰腺中 CAT 活性在 0~96 h 期间呈现“升高-降低-升高-降低”的变化趋势。而鳃中 CAT 活性在 0~96 h 期间呈现“降低-升高-降低”的变化

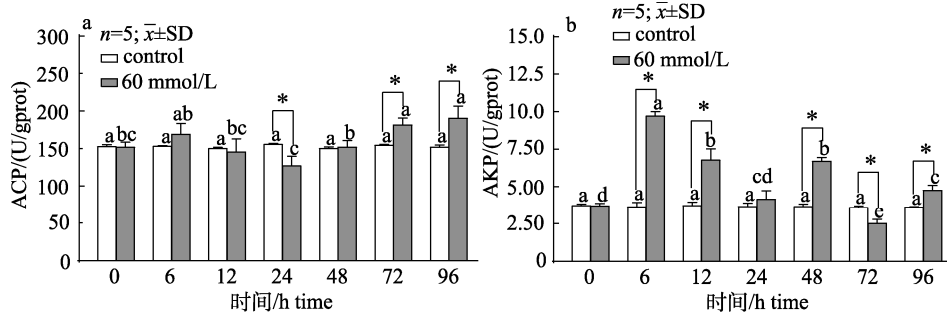


图 6 硫酸盐胁迫下凡纳滨对虾鳃中 ACP 活性(a)和 AKP 活性(b)的变化

同一时间组柱上标\*表示不同胁迫浓度间差异显著( $P<0.05$ ), 小写字母不同表示不同时间组差异显著( $P<0.05$ ).

Fig. 6 Changes in ACP activity (a) and AKP activity (b) in gills of *Litopenaeus vannamei* under sulfate stress. Columns labeled with \* in the same time group indicate significant differences between different stress concentrations ( $P<0.05$ ), and different lowercase letters in the same stress concentration group indicate significant differences between different time groups ( $P<0.05$ ).

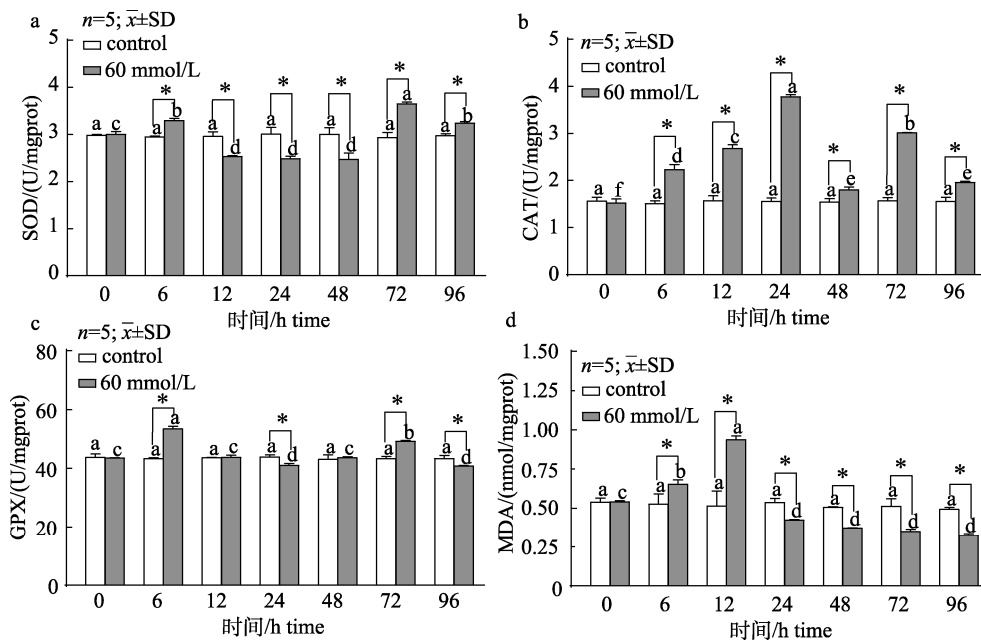


图 7 硫酸盐胁迫下凡纳滨对虾肝胰腺中 SOD 活性(a)、CAT 活性(b)、GPX 活性(c)和 MDA 含量(d)的变化  
同一时间组柱上标\*表示不同胁迫浓度间差异显著( $P<0.05$ ), 小写字母不同表示不同时间组差异显著( $P<0.05$ ).

Fig. 7 Changes in SOD activity (a), CAT activity (b), GPX activity (c) and MDA content (d) in the hepatopancreas of *Litopenaeus vannamei* under sulfate stress

Columns labeled with \* in the same time group indicate significant differences between different stress concentrations ( $P<0.05$ ), and different lowercase letters in the same stress concentration group indicate significant differences between different time groups ( $P<0.05$ ).

趋势。96 h 时, 肝胰腺和鳃中的 CAT 活性均显著高于 0 h ( $P<0.05$ )。

硫酸盐胁迫下凡纳滨对虾肝胰腺和鳃中 GPX 活性变化分别如图 7c、图 8c 所示。实验组(60 mmol/L)中, 肝胰腺中 GPX 活性在 0~96 h 期间呈现“升高-降低-升高-降低”的变化趋势, 96 h 显著低于 0 h ( $P<0.05$ ); 而鳃中 GPX 活性在 0~96 h 期间呈现“降低-升高-降低-升高”的变化趋势, 并

在 96 h 显著高于 0 h ( $P<0.05$ )。

硫酸盐胁迫下凡纳滨对虾肝胰腺和鳃中 MDA 含量分别如图 7d、图 8d 所示。实验组(60 mmol/L)中, 肝胰腺中 MDA 含量在 0~96 h 期间先升高后降低, 并在 96 h 达到最低值, 且显著低于 0 h ( $P<0.05$ ); 而鳃中 MDA 含量在 0~96 h 呈现“升高-降低-升高”的变化趋势, 96 h 达到最高值, 且显著高于 0 h ( $P<0.05$ )。



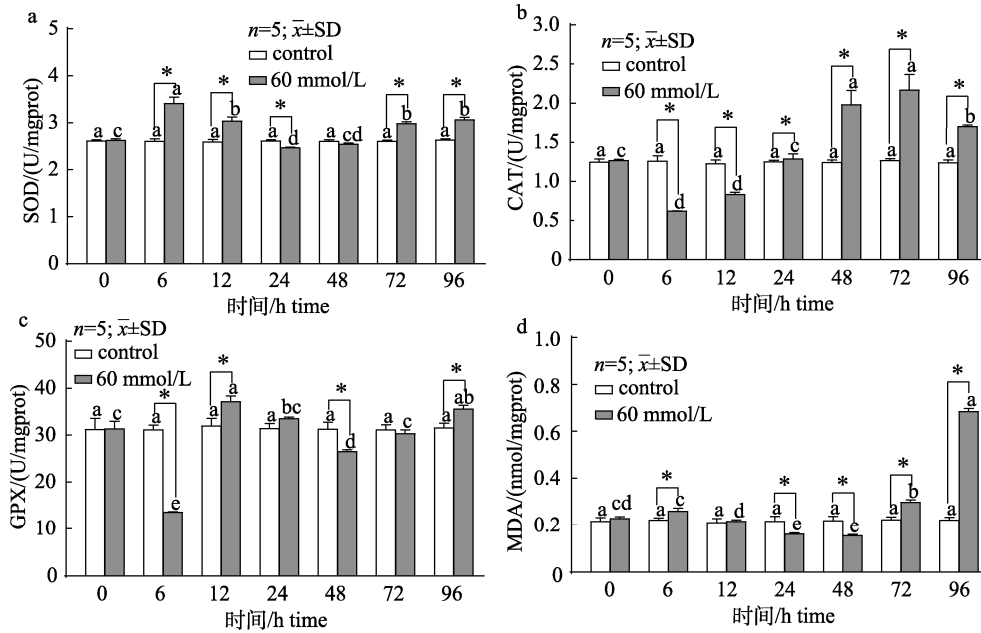


图 8 硫酸盐胁迫下凡纳滨对虾鳃中 SOD 活性(a)、CAT 活性(b)、GPX 活性(c)和 MDA 含量(d)的变化 同一时间组柱上标\*表示不同胁迫浓度间差异显著( $P<0.05$ ), 小写字母不同表示不同时间组差异显著( $P<0.05$ )。

Fig. 8 Changes in SOD activity (a), CAT activity (b), GPX activity (c) and MDA content (d) in gills of *Litopenaeus vannamei* under sulfate stress

Columns labeled with \* in the same time group indicate significant differences between different stress concentrations ( $P<0.05$ ), and different lowercase letters in the same stress concentration group indicate significant differences between different time groups ( $P<0.05$ ).

### 2.6 硫酸盐对凡纳滨对虾离子转运能力的影响

硫酸盐胁迫下凡纳滨对虾鳃中 NKA 活性和 NHE 含量分别如图 9a、9b 所示。实验组(60 mmol/L)中, 鳃中 NKA 活性在 0~96 h 呈现“升高-降低-升

高”的变化趋势, 12~24 h 活性变化趋于平稳, 72 h 活性值最低, 96 h 活性升高; 鳃中 NHE 含量在 0~96 h 呈现“降低-升高-降低-升高”的变化趋势, 6 h 达到最低值, 96 h 含量显著高于 0 h。

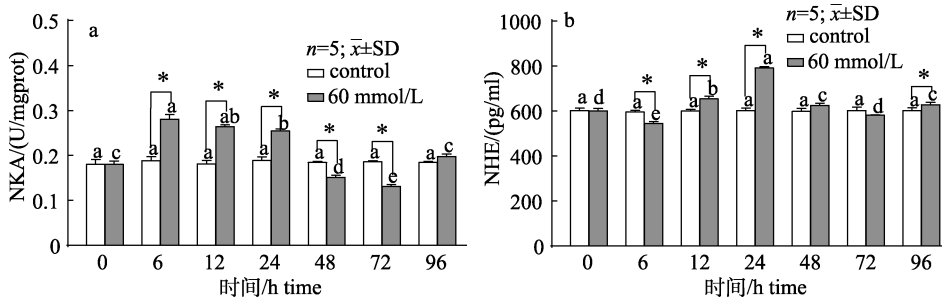


图 9 硫酸盐胁迫下凡纳滨对虾鳃中 NKA 活性(a)和 NHE 含量(b)的变化

同一时间组柱上标\*表示不同胁迫浓度间差异显著( $P<0.05$ ), 小写字母不同表示不同时间组差异显著( $P<0.05$ )。

Fig. 9 Changes in NKA activity (a) and NHE content (b) in gills of *Litopenaeus vannamei* under sulfate stress Columns labeled with \* in the same time group indicate significant differences between different stress concentrations ( $P<0.05$ ), and different lowercase letters in the same stress concentration group indicate significant differences between different time groups ( $P<0.05$ ).

## 3 讨论

### 3.1 硫酸盐对凡纳滨对虾存活的影响

碱度是盐碱水域关键的理化因素, 对于维持

水体的 pH 和离子稳定性具有重要作用<sup>[25-26]</sup>。研究发现, 盐碱环境可能对水生动物的组织结构造成损伤, 导致其能量代谢方式发生变化, 对其生

长生存产生影响<sup>[27-29]</sup>。研究表明, 经盐度 10 驯化的凡纳滨对虾在硫酸盐碱型盐碱淋出水( $\text{SO}_4^{2-}$  81.23 mmol/L)中, 120 h 存活率为 70%<sup>[21]</sup>。本实验在 pH 为 7.50~8.50、盐度 10.92~25.20 的条件下, 硫酸盐对凡纳滨对虾 96 h 的半致死浓度为 54.71 mmol/L, 说明凡纳滨对虾对水体中硫酸盐的耐受能力较强。

在本实验中, 随着硫酸盐浓度的升高, 水体盐度从 10.92 显著升高至 25.20, 但如表 3 所示, 凡纳滨对虾在盐度(10.5±0.5)的实验用水和盐度(25.0±0.5)的纯海水中 96 h 的死亡率均为 0, 说明水体盐度的急性升高对凡纳滨对虾存活没有显著影响。胡润豪等<sup>[30]</sup>研究表明, 葛氏长臂虾(*Palaemon gravieri*)在盐度 15~35 胁迫下, 死亡率也没有显著差异。说明对海水虾类而言, 在其适宜生长范围内的盐度升高可能不会对其存活产生显著影响。Pillard 等<sup>[31]</sup>研究表明硫酸盐对盐度 10 和盐度 20 水体中糠虾(*Americamysis bahia*)的毒性也没有显著影响。因此, 本实验中盐度的升高可能并不会对本实验结果产生显著影响。此外如表 2 所示, 随着硫酸盐浓度的升高, 水中  $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{CO}_3^{2-}$  和  $\text{HCO}_3^-$  含量没有显著差异 ( $P>0.05$ );  $\text{Na}^+$  含量显著增加 ( $P<0.05$ ), 这是由于  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  的加入引入了  $\text{Na}^+$  导致的。Scheibener 等<sup>[32]</sup>研究表明, 水体中  $\text{Na}^+$  含量从 0.7 mmol/L 增加到 10.9 mmol/L, 并不会增加硫酸盐对蜉蝣(*Neocloeon triangulifer*)的毒性。因此, 水体中  $\text{K}^+$ 、 $\text{Ca}^{2+}$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 、 $\text{Cl}^-$ 、 $\text{CO}_3^{2-}$ 、 $\text{HCO}_3^-$  和  $\text{Na}^+$  可能也不会对本实验结果产生显著影响, 推测本实验凡纳滨对虾死亡率的增加只与水体硫酸盐浓度升高有关。

### 3.2 硫酸盐胁迫对凡纳滨对虾组织及超微结构的影响

肝胰腺作为凡纳滨对虾关键的代谢器官, 除了在合成分泌酶类、吸收消化营养物质和储存脂肪等方面发挥功能外, 还在离子转运和免疫调控方面起着重要作用<sup>[33]</sup>。通过观察组织及超微结构的变化, 可以反映生物机体所受环境胁迫的程度以及其整体健康状况。本实验中组织和超微结构观察结果表明, 硫酸盐胁迫对凡纳滨对虾的肝胰腺组织和超微结构造成了严重损伤, 主要体现在

肝小管星形管状结构消失, B 细胞与管腔内间隙变大, 基底膜破裂, 肝小管间的间隙变大, 肝胰腺细胞溶解坏死; 肝小管边缘微绒毛排列紊乱并破裂, 线粒体肿胀, 大量囊泡出现以及自噬情况明显。Zhang 等<sup>[18]</sup>研究发现, 碳酸盐碱度胁迫凡纳滨对虾 24 h 后, 大量囊泡出现, 肝细胞排列紊乱, 肝小管坏死, 基底膜破裂以及肝胰腺细胞自溶, 与本实验结果类似。Wang 等<sup>[34]</sup>研究表明, 肝胰腺组织损伤程度以及自噬程度会随着碳酸盐碱度以及胁迫时间的增加而增加, 胁迫 96 h 时, 肝胰腺细胞膜模糊并断裂, 细胞质明显减少, 细胞核变形, 看不到完整的细胞器, 自噬情况明显, 也与本实验结果类似。虽然 Duan 等<sup>[20]</sup>研究表明, 凡纳滨对虾经碳酸盐碱度胁迫 14 d 后, 其 B 细胞体积变小, 但本研究结果表明, 凡纳滨对虾肝胰腺中 B 细胞体积在硫酸盐胁迫 72 h 后显著增大, 这可能与 B 细胞是营养物质吸收和消化的主要部位有关, 其体积增大可加速肝小管中营养物质的动员, 以帮助虾适应硫酸盐胁迫。这与 Li 等<sup>[35]</sup>和 Wang 等<sup>[36]</sup>研究结果一致。以上结果表明, 硫酸盐胁迫会损伤凡纳滨对虾的肝胰腺组织结构, 同时虾体会采取措施来应对硫酸盐胁迫, 并诱导自噬的发生。

高盐碱水环境中, 水生生物受渗透压影响严重, 有研究发现高碱度环境会影响鳃表皮细胞外表面的离子交换体系, 扰乱生物机体的离子平衡, 并导致鳃细胞增生或肥大, 甚至损伤鳃组织<sup>[37-38]</sup>。李明栋<sup>[39]</sup>研究发现, 碳酸盐碱度胁迫会影响脊尾白虾渗透压调节能力, 导致鳃丝肿大、排列紊乱, 角质层与上皮受损严重, 皮下间隙消失。Shi 等<sup>[40]</sup>研究表明, 鳃组织受损伤程度会随着碳酸盐碱度胁迫时间的增加而增加。此外, Ge 等<sup>[41]</sup>研究表明, 碳酸盐碱度胁迫也会对鳃的细胞结构产生显著影响。本实验结果同样显示, 硫酸盐胁迫 96 h 后, 凡纳滨对虾鳃丝角质层断裂脱落, 皮下间隙消失, 鳃丝显著萎缩变形, 腔内空泡状严重; 线粒体肿胀坏死, 嵴结构消失, 角质层严重隆起, 出现大量囊泡, 这说明硫酸盐胁迫会损伤凡纳滨对虾的鳃组织结构。

### 3.3 硫酸盐胁迫对凡纳滨对虾免疫能力的影响

研究表明,除了在分解外源蛋白质、碳水化合物和脂质中发挥作用之外,酸性磷酸酶(ACP)和碱性磷酸酶(AKP)还直接参与磷酸基团的转移以维持机体的酸碱平衡,是衡量对虾机体免疫力的重要指标<sup>[42-43]</sup>。因此,测量生物体内 ACP 和 AKP 活性可以间接反映机体的免疫能力。李晓英等<sup>[44]</sup>、Chen 等<sup>[45]</sup>和 Chen 等<sup>[46]</sup>在研究环境胁迫对机体免疫能力影响时,也将 ACP 和 AKP 活性作为重要的指标。

本实验中,凡纳滨对虾在受到硫酸盐胁迫后,肝胰腺和鳃中 ACP 活性具有相似的变化趋势,在胁迫初期均先升高后降低,而后增加,96 h 时均显著高于 0 h。这与 Zhang 等<sup>[47]</sup>和 Shen 等<sup>[48]</sup>研究结果相似,即中华绒螯蟹肝胰腺中 ACP 活性在部分盐碱浓度胁迫下,0~12 h 显著升高,24 h 显著降低,48~96 h 又显著升高;凡纳滨对虾体内 ACP 活性在盐度胁迫下,0~6 h 显著升高,12~18 h 显著降低,48 h 显著高于 0 h。研究结果表明,硫酸盐胁迫对凡纳滨对虾的 ACP 活性具有诱导作用,使机体能维持较高的 ACP 活性以应对硫酸盐胁迫及其引起的机体损伤。

肝胰腺和鳃中的 AKP 活性也具有相似的变化,肝胰腺和鳃中 AKP 活性在 0~96 h 均呈现“升高-降低-升高-降低-升高”的波动上升趋势,这与 Long 等<sup>[49]</sup>、Pang 等<sup>[50]</sup>和 Xu 等<sup>[51]</sup>研究结果相似。研究结果说明,硫酸盐胁迫会显著影响凡纳滨对虾体内 AKP 活性以维持体内的稳态环境。

### 3.4 硫酸盐胁迫对凡纳滨对虾抗氧化能力的影响

生存环境的改变会触发水生生物的氧化应激反应,对生物体造成氧化损伤,降低免疫力,甚至导致死亡<sup>[52]</sup>。研究表明,MDA 含量可以间接反映机体细胞受到的氧化损伤程度<sup>[53]</sup>。机体抗氧化系统,包括非酶类抗氧化物质以及酶类抗氧化酶(如 SOD、CAT 和 GPX 等),对降低氧化损伤起关键作用<sup>[54-55]</sup>。因此,测量生物体内 SOD、CAT 和 GPX 活性以及 MDA 含量可以间接反映机体的抗氧化能力。Li 等<sup>[56]</sup>、Zhang 等<sup>[57]</sup>和 Zhou 等<sup>[58]</sup>在研究环境胁迫对机体抗氧化能力影响时,也将 SOD、CAT 和 GPX 活性以及 MDA 含量作为一系

列重要指标。

研究表明,环境胁迫会显著影响水生生物机体内的 MDA 含量<sup>[59]</sup>,并触发机体应激反应,使自由基活性增加,达到一定强度后触发机体自我保护机制来降低其活性<sup>[60]</sup>。本实验中,硫酸盐胁迫后,凡纳滨对虾肝胰腺中的 SOD、CAT 和 GPX 活性和 MDA 含量在胁迫初期均增加,提示对虾出现了明显的氧化应激,而后 SOD、CAT 和 GPX 活性波动上升,MDA 含量逐渐降低,表明对虾机体内的适应性机制被激活。这与盐度胁迫下罗氏沼虾<sup>[61]</sup>和中华绒螯蟹<sup>[62]</sup>机体内抗氧化指标的变化趋势相似,也与盐碱胁迫下中华绒螯蟹机体内抗氧化指标的变化相符<sup>[63]</sup>。本研究中凡纳滨对虾鳃中的 CAT、GPX 活性在胁迫初期先降低后增加;SOD 活性和 MDA 含量在胁迫初期增加,而后逐渐减少,这说明凡纳滨对虾鳃中的 CAT 和 GPX 的合成激活可能需要更长的时间。这与 Li 等<sup>[64]</sup>和 Zhang 等<sup>[65]</sup>研究中的抗氧化酶的变化趋势相似。此外,CAT 与 GPX 活性在胁迫 6 h 时降低,也可能是因为胁迫初期的急性硫酸盐胁迫抑制了它们的活性,这与 Wang 等<sup>[61]</sup>研究结果相似。

上述研究结果表明,硫酸盐胁迫会显著影响凡纳滨对虾肝胰腺和鳃的抗氧化酶活性,且肝胰腺和鳃的抗氧化调节具有组织特异性。

### 3.5 硫酸盐胁迫对凡纳滨对虾离子转运能力的影响

鳃是甲壳动物调节体内渗透压平衡的关键器官,对抵御水环境中不利影响起着重要作用<sup>[66]</sup>。研究表明,NKA、NHE 和碳酸酐酶(CA)等,负责离子运输和交换,有助于渗透调节,对机体适应盐碱环境发挥关键作用<sup>[67-68]</sup>。本实验中凡纳滨对虾鳃中 NKA 活性在硫酸盐胁迫下先升高后降低,72 h 活性值最低,96 h 活性增加,鳃中 NHE 含量在胁迫初期先降低后增加,而后逐渐降低直至 72 h,96 h 含量增加,这说明 72 h 时凡纳滨对虾鳃的离子和酸碱平衡调节功能下降,提示鳃组织结构可能损伤,这与病理学研究结果一致。Zhang 等<sup>[65]</sup>研究中,凡纳滨对虾鳃中的 NKA 活性和 NHE 含量在碳酸盐碱度胁迫下也表现出相似的变化趋势。研究结果表明,硫酸盐胁迫会显著影响凡纳

滨对虾鳃中的 NKA 活性和 NHE 含量, 以维持体内渗透压和酸碱平衡。

#### 4 结论

本研究通过硫酸盐胁迫凡纳滨对虾, 初步探讨了硫酸盐型盐碱水中关键盐碱离子  $\text{SO}_4^{2-}$  对凡纳滨对虾组织损伤及生理功能的影响。研究表明, 凡纳滨对虾对硫酸盐具有一定的耐受性; 凡纳滨对虾在受到硫酸盐胁迫时会通过调节自身免疫、抗氧化以及离子转运能力来帮助机体应对硫酸盐胁迫, 但长时间高浓度硫酸盐胁迫会超出这些生理功能的调节范围, 对凡纳滨对虾肝胰腺以及鳃组织造成严重损伤, 影响机体正常功能, 进而导致死亡。本研究可为今后在硫酸盐型盐碱水域开展凡纳滨对虾健康养殖补充理论依据。

#### 参考文献

- [1] Dang Y F, Xu W, Geng L W, et al. A review of effects of saline-alkalinity and pH on growth and development in fish[J]. Chinese Journal of Fisheries, 2012, 25(2): 62-64. [党云飞, 徐伟, 耿龙武, 等. 盐碱和 pH 对鱼类生长和发育的影响[J]. 水产学杂志, 2012, 25(2): 62-64.]
- [2] Mao Q L, Wang S. Brief analysis on the trend of improve saline alkali soil in China[J]. Hubei Agricultural Sciences, 2020, 59(S1): 302-306. [毛庆莲, 王胜. 国内盐碱地治理趋势探究浅析[J]. 湖北农业科学, 2020, 59(S1): 302-306.]
- [3] Jia H X. Soil salinization control and sustainable agriculture in north-west endoland region of China[J]. Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica, 2003, 23(6): 1063-1068. [贾恢先. 中国西北内陆盐渍化防治与可持续农业的研究[J]. 西北植物学报, 2003, 23(6): 1063-1068.]
- [4] Lin J X, Peng X Y, Hua X Y, et al. Effects of arbuscular mycorrhizal fungi on *Leymus chinensis* seedlings under salt-alkali stress and nitrogen deposition conditions: From osmotic adjustment and ion balance[J]. RSC Advances, 2018, 8(26): 14500-14509.
- [5] Wang J L, Huang X J, Zhong T Y, et al. Review on sustainable utilization of salt-affected land[J]. Acta Geographica Sinica, 2011, 66(5): 673-684. [王佳丽, 黄贤金, 钟太洋, 等. 盐碱地可持续利用研究综述[J]. 地理学报, 2011, 66(5): 673-684.]
- [6] Liu Y X, Fang H, Lai Q F, et al. The current state and development strategy for China's saline-alkaline fisheries[J]. Strategic Study of Chinese Academy of Engineering, 2016, 18(3): 74-78. [刘永新, 方辉, 来琦芳, 等. 我国盐碱水渔业现状与发展对策[J]. 中国工程科学, 2016, 18(3): 74-78.]
- [7] Liu F, Li J, Li J T, et al. Effects of carbonate alkalinity stress on the survival, growth, reproduction, and immune enzyme activities of *Exopalaemon carinicauda*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2016, 23(5): 1137-1147. [柳飞, 李健, 李吉涛, 等. 碳酸盐碱度对脊尾白虾生存、生长、繁殖及免疫酶活性的影响[J]. 中国水产科学, 2016, 23(5): 1137-1147.]
- [8] Wang H, Geng L K, Fang W H, et al. Studies on the commercially experimental culture of Penaeid shrimp, *Peneaus chinensis*, transplanted to the northwest inland salt waters[J]. Marine Fisheries, 1997, 19(1): 9-12. [王慧, 耿隆坤, 房文红, 等. 中国对虾往西北内陆咸水水域移植的生产性试养研究[J]. 海洋渔业, 1997, 19(1): 9-12.]
- [9] Fang W H, Wang H, Lai Q F. Toxicity of carbonate-alkalinity and pH to larval *Peneaus chinensis*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2000, 7(4): 78-81. [房文红, 王慧, 来琦芳. 碳酸盐碱度、pH 对中国对虾幼虾的致毒效应[J]. 中国水产科学, 2000, 7(4): 78-81.]
- [10] Xu J J, Geng Z, Feng G P, et al. Effects of salinity on osmotic pressure and nonspecific immune enzymes in juvenile *Eniocheir sinensis*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2018, 25(6): 1252-1259. [徐静静, 耿智, 冯广朋, 等. 盐度对中华绒螯蟹仔蟹渗透压和非特异性免疫酶的影响[J]. 中国水产科学, 2018, 25(6): 1252-1259.]
- [11] Zhang W Q. Introduction to the biology of the world's important aquaculture species, *Litopenaeus vannamei*[J]. Marine Sciences, 1990(3): 69-73. [张伟权. 世界重要养殖品种——南美白对虾生物学简介[J]. 海洋科学, 1990(3): 69-73.]
- [12] Yang H P, Hu C Q, Zhang L P, et al. The relationship between tolerance to fresh water and growth traits for desalination culture in families of Pacific white leg shrimp, *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Tropical Oceanography, 2014, 33(4): 69-76. [杨海朋, 胡超群, 张吕平, 等. 凡纳滨对虾家系淡水耐受性状与生长性状的关系[J]. 热带海洋学报, 2014, 33(4): 69-76.]
- [13] Wang X Q, Ma S, Dong S L. Studies on the biology and cultural ecology of *Litopenaeus vannamei*: A review[J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 2004(4): 94-100. [王兴强, 马甦, 董双林. 凡纳滨对虾生物学及养殖生态学研究进展[J]. 海洋湖沼通报, 2004(4): 94-100.]
- [14] Yao Z L, Wang H, Zhou K, et al. Effects of water carbonate alkalinity and pH on survival rate of post-larval *Litopenaeus vannamei*[J]. Chinese Journal of Ecology, 2010, 29(5): 945-950. [么宗利, 王慧, 周凯, 等. 碳酸盐碱度和 pH 值对凡纳滨对虾仔虾存活率的影响[J]. 生态学杂志, 2010, 29(5): 945-950.]

- [15] Wang H, Lai Q F, Fang W H. Infection of saline-alkali water resource to fishery development in area east of canal of Cangzhou city[J]. Hebei Fisheries, 2003(5): 16-18. [王慧, 来琦芳, 房文红. 沧州运东地区盐碱水资源对开展渔业的影响[J]. 河北渔业, 2003(5): 16-18.]
- [16] Yang F Y, Li X J, Tian M Z, et al. Correlation between growth of *Litopenaeus vannamei* and environmental factors in saline-alkali waters[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2008, 24(1): 520-526. [杨富亿, 李秀军, 田明增, 等. 盐碱水域凡纳滨对虾体长生长与环境因子的相关性[J]. 中国农学通报, 2008, 24(1): 520-526.]
- [17] Yang F Y, Sun L M, Yang X Q. Toxicity of carbonate alkalinity to *Penaeus vannamei* juveniles[J]. Fisheries Science, 2004, 23(9): 3-6. [杨富亿, 孙丽敏, 杨欣乔. 碳酸盐碱度对南美白对虾幼虾的毒性作用[J]. 水产科学, 2004, 23(9): 3-6.]
- [18] Zhang R Q, Shi X, Liu Z, et al. Histological, physiological and transcriptomic analysis reveal the acute alkalinity stress of the gill and hepatopancreas of *Litopenaeus vannamei*[J]. Marine Biotechnology, 2023, 25(4): 588-602.
- [19] Zhao Y C, Wang R J, Shen M, et al. Effects of high-salt stress on daily weight gain, osmoregulation and immune related enzyme activities in *Litopenaeus vannamei* postlarvae[J]. Journal of Fisheries of China, 2019, 43(4): 833-840. [赵玉超, 王仁杰, 沈敏, 等. 高盐对凡纳滨对虾仔虾生长、渗透调节及免疫相关酶活性的影响[J]. 水产学报, 2019, 43(4): 833-840.]
- [20] Duan Y F, Xing Y F, Zhu X Y, et al. Integration of transcriptomic and metabolomic reveals carbonate alkalinity stress responses in the hepatopancreas of *Litopenaeus vannamei*[J]. Aquatic Toxicology, 2023, 260: 106569.
- [21] Zhao X. Ion movement behavior and feasibility of fishery utilization in the sulfate saline-alkaline soil[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2019. [赵鑫. 淋洗条件下硫酸盐型盐碱地离子运移及盐碱淋出水养殖适用性研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2019.]
- [22] Liu G F, Xu Z H, Yao Z L, et al. Effects of irrigation on the salt ions in sulfate-type saline-alkali soil[J]. Journal of Arid Land Resources and Environment, 2019, 33(3): 118-123. [刘国锋, 徐增洪, 么宗利, 等. 冲水灌溉对西北硫酸盐型土壤中盐分离子变化的影响研究[J]. 干旱区资源与环境, 2019, 33(3): 118-123.]
- [23] Huang Y Q, Yang X, Wang Y J, et al. Analysis and quality evaluation of nutrient components in muscle of *Litopenaeus vannamei* of two saline-alkali aquaculture and mariculture[J]. Fishery Information & Strategy, 2023, 38(1): 60-66. [黄艳青, 杨絮, 王怡菊, 等. 西北硫酸盐型盐碱水与低盐度海水养殖凡纳滨对虾营养成分及品质评价[J]. 渔业信息与战略, 2023, 38(1): 60-66.]
- [24] Li Q J. Indirect determination of sulfate in brines by precipitation titration with sodium sulfate[J]. China Well and Rock Salt, 1994(3): 37-38. [李启军. 硫酸钠沉淀滴定法间接测定卤水中硫酸根含量[J]. 中国井矿盐, 1994(3): 37-38.]
- [25] Ding F L, Peng S L. Acidity, alkalinity and freshwater fish farming[J]. Jiangxi Fishery Science and Technology, 2001(2): 39-40. [丁芳林, 彭书练. 酸、碱度与淡水养鱼[J]. 江西水产科技, 2001(2): 39-40.]
- [26] Boyd C E, Tucker C S, Somridhivej B. Alkalinity and hardness: Critical but elusive concepts in aquaculture[J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2016, 47(1): 6-41.
- [27] Song L Y, Zhao Y, Song Y D, et al. Effects of saline-alkaline water on growth performance, nutritional processing, and immunity in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Aquaculture, 2021, 544: 737036.
- [28] Rahi M L, Ferdusy T, Ahmed S M, et al. Impact of salinity changes on growth, oxygen consumption and expression pattern of selected candidate genes in the orange mud crab (*Scylla olivacea*)[J]. Aquaculture Research, 2020, 51(10): 4290-4301.
- [29] Chen S M, Chen J C. Effects of pH on survival, growth, molting and feeding of giant freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*[J]. Aquaculture, 2003, 218(1-4): 613-623.
- [30] Hu R H, Shi W J, Wang P, et al. Effects of temperature and salinity on the survival and antioxidant capacity of *Palaemon gravieri*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2022, 29(4): 535-548. [胡润豪, 史文军, 王盼, 等. 温度、盐度变化对葛氏长臂虾存活和抗氧化能力的影响[J]. 中国水产科学, 2022, 29(4): 535-548.]
- [31] Pillard D A, Dufresne D L, Mickley M C. Development and validation of models predicting the toxicity of major seawater ions to the mysid shrimp, *Americamysis bahia*[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2002, 21(10): 2131-2137.
- [32] Scheibener S, Conley J M, Buchwalter D. Sulfate transport kinetics and toxicity are modulated by sodium in aquatic insects[J]. Aquatic Toxicology, 2017, 190: 62-69.
- [33] Zhou Y J. Effects of saline-alkali stress on growth, reproduction and immune function of *Fenneropenaeus chinensis*[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2023. [周玉洁. 盐碱胁迫对中国对虾生长、繁殖及免疫功能的影响[D]. 大连: 大连海洋大学, 2023.]
- [34] Wang J Y, Sun L J, Li X J, et al. Alkali exposure induces autophagy through activation of the MAPK pathway by ROS

- and inhibition of mTOR in *Eriocheir sinensis*[J]. Aquatic Toxicology, 2023, 258: 106481.
- [35] Li E C, Chen L Q, Zeng C, et al. Comparison of digestive and antioxidant enzymes activities, haemolymph oxyhemocyanin contents and hepatopancreas histology of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at various salinities[J]. Aquaculture, 2008, 274(1): 80-86.
- [36] Wang Z L, Qu Y X, Yan M T, et al. Physiological responses of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* to temperature fluctuation in low-salinity water[J]. Frontiers in Physiology, 2019, 10: 1025.
- [37] Hiroi J, McCormick S D. New insights into gill ionocyte and ion transporter function in euryhaline and diadromous fish[J]. Respiratory Physiology & Neurobiology, 2012, 184(3): 257-268.
- [38] Evans D H, Piermarini P M, Choe K P. The multifunctional fish gill: Dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste[J]. Physiological Reviews, 2005, 85(1): 97-177.
- [39] Li M D. Estimation of heritability and mechanism analysis of alkaline tolerance in *Exopalaemon carinicauda*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2021. [李明栋. 脊尾白虾耐碱性状遗传力估计及其碱度胁迫适应机制初探[D]. 上海: 上海海洋大学, 2021.]
- [40] Shi K P, Li M D, Qin Z, et al. The mechanism of carbonate alkalinity exposure on juvenile *Exopalaemon carinicauda* with the transcriptome and microRNA analysis[J]. Frontiers in Marine Science, 2022, 9: 816932.
- [41] Ge Q Q, Wang J J, Li J T, et al. Effect of high alkalinity on shrimp gills: Histopathological alternations and cell specific responses[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2023, 256: 114902.
- [42] He H Q, Sun F. Studies on the characteristics of acid and alkaline phosphatases in Chinese shrimp, *Penaeus chinensis*[J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 1992, 23(5): 555-560. [何海琪, 孙凤. 中国对虾酸性和碱性磷酸酶的特性研究[J]. 海洋与湖沼, 1992, 23(5): 555-560.]
- [43] Zhao L L, Yang X Z, Cheng Y X, et al. Effects of histamine on survival and immune parameters of the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*[J]. Journal of Shellfish Research, 2012, 31(3): 827-834.
- [44] Li X Y, Dong Z G, Xue Y, et al. The impact of sharp increase in water temperature and hypoxia on activities of acid phosphatase (ACP) and lysozyme (LSZ) in clam *Cyclina sinensis*[J]. Fisheries Science, 2009, 28(6): 321-324. [李晓英, 董志国, 薛洋, 等. 温度骤升和窒息条件对青蛤酸性磷酸酶和溶菌酶的影响[J]. 水产科学, 2009, 28(6): 321-324.]
- [45] Chen S J, Yu Y Y, Gao Y J, et al. Exposure to acute ammonia stress influences survival, immune response and antioxidant status of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) pretreated with diverse levels of inositol[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2019, 89: 248-256.
- [46] Chen Y K, Dong X H, Yang Q H, et al. Effect of yeast hydrolysate supplementation on the resistance of Pacific white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, challenged with low salinity stress[J]. Aquaculture Research, 2022, 53(2): 409-418.
- [47] Zhang R, Zhao Z G, Li M S, et al. Effects of saline-alkali stress on the tissue structure, antioxidation, immunocompetence and metabolomics of *Eriocheir sinensis*[J]. Science of the Total Environment, 2023, 871: 162109.
- [48] Shen M, Cui Y T, Wang R J, et al. Acute response of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* to high-salinity reductions in osmosis-, metabolism-, and immune-related enzyme activities[J]. Aquaculture International, 2020, 28(1): 31-39.
- [49] Long J N, Cui Y T, Wang R, et al. Combined effects of high salinity and ammonia-N exposure on the energy metabolism, immune response, oxidative resistance and ammonia metabolism of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. Aquaculture Reports, 2021, 20: 100648.
- [50] Pang H Y, Wang G, Zhou S H, et al. Survival and immune response of white shrimp *Litopenaeus vannamei* following single and concurrent infections with WSSV and *Vibrio parahaemolyticus*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2019, 92: 712-718.
- [51] Xu D F, Wu J X, Sun L J, et al. Combined stress of acute cold exposure and waterless duration at low temperature induces mortality of shrimp *Litopenaeus vannamei* through injuring antioxidative and immunological response in hepatopancreas tissue[J]. Journal of Thermal Biology, 2021, 100: 103080.
- [52] Martínez-Álvarez R M, Morales A E, Sanz A. Antioxidant defenses in fish: Biotic and abiotic factors[J]. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 2005, 15(1-2): 75-88.
- [53] Lepage G, Munoz G, Champagne J, et al. Preparative steps necessary for the accurate measurement of malondialdehyde by high-performance liquid chromatography[J]. Analytical Biochemistry, 1991, 197(2): 277-283.
- [54] Chen S J, Zhuang Z X, Yin P, et al. Changes in growth performance, haematological parameters, hepatopancreas histopathology and antioxidant status of Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) fed oxidized fish oil: Regulation by

- dietary *myo*-inositol[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2019, 88: 53-64.
- [55] Alkadi H. A review on free radicals and antioxidants[J]. *Infectious Disorders-Drug Targets*, 2020, 20(1): 16-26.
- [56] Li Y H, Wei L, Cao J R, et al. Oxidative stress, DNA damage and antioxidant enzyme activities in the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) when exposed to hypoxia and reoxygenation[J]. *Chemosphere*, 2016, 144: 234-240.
- [57] Zhang R Q, Shi X, Guo J T, et al. Acute stress response in gill of Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* to high alkalinity[J]. *Aquaculture*, 2024, 586: 740766.
- [58] Zhou H S, Yao T H, Zhang T X, et al. Effects of chronic saline-alkaline stress on gill, liver and intestinal histology, biochemical, and immune indexes in Amur minnow (*Phoxinus lagowskii*)[J]. *Aquaculture*, 2024, 579: 740153.
- [59] Jiang X Y, Huang M, Yang X G, et al. Antioxidant enzyme activities of juvenile rainbow and steelhead trout (*Oncorhynchus mykiss*) in response to acute high-temperature stress[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2021, 28(1): 57-65. [姜旭阳, 黄铭, 杨小刚, 等. 急性高温胁迫对虹鳟和硬头鳟幼鱼抗氧化酶活性的影响[J]. *中国水产科学*, 2021, 28(1): 57-65.]
- [60] Hu G F, Li Z, Liang H W, et al. Effects of cadmium on SOD and CAT in hepatopancreas, antennary gland and gill of *Procambarus clarkii*[J]. *Journal of Agro-Environment Science*, 2009, 28(9): 1806-1811. [呼光富, 李忠, 梁宏伟, 等. 镉对克氏原螯虾肝胰腺触角腺及鳃中 SOD 和 CAT 活性的影响[J]. *农业环境科学学报*, 2009, 28(9): 1806-1811.]
- [61] Wang Y K, Li H R, Wei J, et al. Multi-effects of acute salinity stress on osmoregulation, physiological metabolism, antioxidant capacity, immunity, and apoptosis in *Macrobrachium rosenbergii*[J]. *Antioxidants*, 2023, 12(10): 1836.
- [62] Wang X, Guo Z X, Lei X Y, et al. Osmoregulation, physiological metabolism, and oxidative stress responses to water salinity in adult males of Chinese mitten crabs (*Eriocheir sinensis*)[J]. *Aquaculture International*, 2023, 31(2): 583-601.
- [63] Tao S Q, Li X J, Wang J Y, et al. Examination of the relationship of carbonate alkalinity stress and ammonia metabolism disorder-mediated apoptosis in the Chinese mitten crab, *Eriocheir sinensis*: Potential involvement of the ROS/MAPK signaling pathway[J]. *Aquaculture*, 2024, 579: 740179.
- [64] Li M S, Wang S H, Zhao Z G, et al. Effects of alkalinity on the antioxidant capacity, nonspecific immune response and tissue structure of Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis*[J]. *Fishes*, 2022, 7(4): 206.
- [65] Zhang R Q, Shi X, Liu Z, et al. Histological, physiological and transcriptomic analysis reveal the acute alkalinity stress of the gill and hepatopancreas of *Litopenaeus vannamei*[J]. *Marine biotechnology*, 2023, 25(4): 588-602.
- [66] Henry R P, Lucu Ć, Onken H, et al. Multiple functions of the crustacean gill: Osmotic/ionic regulation, acid-base balance, ammonia excretion, and bioaccumulation of toxic metals[J]. *Frontiers in Physiology*, 2012, 3: 431.
- [67] Niu J J, Hu X L, Ip J C H, et al. Multi-omic approach provides insights into osmoregulation and osmoconformation of the crab *Scylla paramamosain*[J]. *Scientific Reports*, 2020, 10(1): Article No.21771.
- [68] Deng Z T, Zhang Z H, Zhao R Y, et al. Effects of high-salinity on the expression of aquaporins and ion transport-related genes in Chinese shrimp (*Fenneropenaeus chinensis*)[J]. *Aquaculture Reports*, 2023, 30: 101577.

## Effects of sulfate stress on tissue damage and physiological function of *Litopenaeus vannamei*

GU Chen<sup>1,2</sup>, SHI Wenjun<sup>2</sup>, ZHU Jianqiang<sup>1,2</sup>, ZHU Yujie<sup>3</sup>, LI Hui<sup>2</sup>, WANG Libao<sup>2</sup>, WAN Xihe<sup>2</sup>

1. College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Jiangsu Institute of Oceanology and Marine Fisheries, Nantong 226007, China;

3. Yangzhou University, Yangzhou 225009, China

**Abstract:** Saline-alkaline waters in China are widely distributed and are of various types, primarily carbonate and sulfate. Due to the high alkalinity of saline-alkaline waters, only a few low saline-alkaline waters can be used for freshwater fish farming. However, the area of saline-alkaline waters in China has been increasing annually; therefore, an urgent need to take measures for the ecological treatment of soil salinization, exists. *Litopenaeus vannamei* has been widely chosen as a research object in recent years owing to its advantages, such as fast growth and strong environmental adaptability and research has been conducted on its tolerance to carbonate alkalinity. However, research lacks on the impact of sulfate-type water on *Litopenaeus vannamei*. Therefore, the present experiment was designed to investigate the effects of  $\text{SO}_4^{2-}$ , a key saline ion in sulfate-type waters, on histological structure, immunity, antioxidant capacity, and ion transport capacity of *Litopenaeus vannamei*. First, the 96 h  $\text{LC}_{50}$  of sulfate on *Litopenaeus vannamei* was determined to be 54.71 mmol/L by  $\text{LC}_{50}$  experiment. Further, a control group (10 mmol/L  $\text{SO}_4^{2-}$ ) and an experimental group (60 mmol/L  $\text{SO}_4^{2-}$ ) were established and exposed for 96 h. At 0, 24, 48, 72, and 96 h of exposure, the shrimp hepatopancreas and gills were collected for pathological studies. At 0, 6, 12, 24, 48, 72, and 96 h of exposure, the hepatopancreas and gill tissues of *Litopenaeus vannamei* were collected for the determination of physiological indicators (ACP, AKP, SOD, GPX, CAT, MDA, NKA, and NHE). The results showed that: (1) The degree of damage to the hepatopancreas and gill of *Litopenaeus vannamei* increased gradually with the increase of stress time; (2) The activity of immunoenzymes (ACP and AKP) in hepatopancreas and AKP in gill showed an overall trend of “increase-decrease-increase-decrease-increase” with the increase of stress time; the activity of ACP in gill showed an overall trend of “increase-decrease-increase”; (3) With the increase of stress time, SOD, GPX and CAT in hepatopancreas showed an overall trend of “increase-decrease-increase-decrease” and the MDA content first increased and then decreased. In gill, SOD activity and MDA content showed the “increase-decrease-increase” trend, CAT activity showed the “decrease-increase-decrease” trend, and GPX activity showed the “decrease-increase-decrease-increase” trend; (4) the activities of ion transporting enzymes (NKA and NHE) in gill showed the trends of “increase-decrease-increase” and “decrease-increase-decrease-increase” respectively, with the increase of stress time. These results indicate that *Litopenaeus vannamei* has a certain tolerance to sulfate and can adapt to the sulfate environment by regulating its own immune, antioxidant, and ion transport capacities. However, prolonged exposure would exceed the regulatory range of these physiological functions and cause severe damage to the hepatopancreas and gills of *Litopenaeus vannamei*, affecting its normal functions and eventually leading to mortality.

**Key words:** *Litopenaeus vannamei*; sulfate; tissue damage; immunity; antioxidant capacity; ion transport capacity; saline alkali water

**Corresponding author:** SHI Wenjun. E-mail: muzhiye080326@126.com