

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2016.15135

氨氮胁迫下凡纳滨对虾运动行为与能量分配模式变化

曾庆婷¹, 于赫男^{1,2}, 林小涛¹, 许忠能¹

1. 暨南大学 水生生物研究所 热带亚热带水生态工程教育部工程研究中心, 广东 广州 510632;

2. 广东省海洋工程职业技术学校, 广东 广州 510320

摘要: 为研究氨氮胁迫下凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)行为和能量分配的变化, 将体质量为(4.89±0.27) g 的凡纳滨对虾幼虾分别置于氨氮质量浓度为 0.02 mg/L (对照)、1.00 mg/L、2.50 mg/L、5.00 mg/L, 水温(28±0.5)℃的水族箱中养殖 2 周, 监测其行为并对其生长、体组分和能量收支进行测定。结果表明, 随氨氮浓度升高, 凡纳滨对虾白昼的活动频率、游走距离呈先升后降趋势, 而夜间则呈逐渐下降趋势, 5.00 mg/L 组白昼和夜间活动频率及游走距离均显著低于对照组($P<0.05$); 特定生长率及摄食率均呈逐渐下降趋势, 处理组显著低于对照组($P<0.05$); 2.50 mg/L 和 5.00 mg/L 组的凡纳滨对虾脂肪含量和能值均显著低于对照组($P<0.05$); 各处理组摄食能量分配于生长的比例随着氨氮浓度的增大而降低, 而消耗于代谢的比例随氨氮浓度增大而升高, 与对照组相比, 5.00 mg/L 组的摄食能用于生长比例下降 4.57%, 用于代谢消耗的比例上升 5.70%。上述结果表明, 氨氮胁迫下凡纳滨对虾的夜间活动水平明显下降, 摄食量减少, 能量利用效率降低, 生长速度减慢。

关键词: 氨氮胁迫; 凡纳滨对虾; 运动行为; 体组分; 能量收支

中图分类号: S966 文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2016)01-0198-09

氨氮在集约化水产养殖系统中普遍存在, 水体中过高浓度的氨氮会破坏动物排泄系统和渗透平衡, 导致动物体代谢紊乱、组织结构受损, 甚至中毒死亡^[1-3]。甲壳类动物的排泄物中, 氨氮约占 40%~90%, 是养殖水体氨氮主要来源之一^[4]。凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)是我国大宗养殖虾类, 其养殖规模庞大, 但由于不少养殖者盲目追求产量、片面增加放养密度和投饵量, 使氨氮等有害物质在水体中大量积累, 导致对虾生长缓慢, 体质下降, 病害频发。与其他动物一样, 行为变化是甲壳动物面对环境胁迫时最直观的外在反应, 并且往往伴随内在的生理变化^[5]。因此, 将行为反应与生理变化相结合进行研究, 有助于更好地了解环境胁迫影响动物的内外在机制^[6-10]。

Raque 等^[9]以视频分析法研究了水体污染物氟西汀(Fluoxetine)对岸蟹(*Carcinus maenas*)运动行为的影响, 发现随着氟西汀浓度增加, 其移动距离显著增大, 同时体内胆碱酯酶、谷胱甘肽硫转移酶和谷胱甘肽还原酶活性显著上升。Dissanayake 等^[10]也用相同的方法研究了有机污染物芘(Pyrene)对岸蟹觅食行为的影响, 发现在芘胁迫下, 其处理猎物时间显著增加, 而体内血淋巴细胞活性和血细胞吞噬指数却显著下降。在虾类方面, 有报道表明, 在高密度、低盐、缺氧等环境胁迫条件下, 其自残行为、攻击行为和呼吸行为等发生了不同程度的改变^[14]。目前, 国内外有关氨氮对虾类生长、体组分和免疫功能等影响的研究已有报道^[15-17], 但关于氨氮影响对虾生长的外在

收稿日期: 2015-04-07; 修订日期: 2015-07-14.

基金项目: 广东省自然科学基金项目(07005911); 广东省重大科技专项项目(2007A032600004); 广东省海洋渔业科技推广专项项目(A200899J01).

作者简介: 曾庆婷(1989-), 女, 研究方向为水生动物生理生态. E-mail: jiaoyinya@163. com

通信作者: 林小涛, 教授, 研究方向为水生动物生理生态学和养殖生态学. Tel: 020-85228310; E-mail: tlinxt@jnu.edu.cn

行为和内在生物能量学机制尚不明确。本研究采用动物行为视频分析方法和生物能量学方法, 在实验室条件下研究凡纳滨对虾在不同浓度氨氮胁迫下的昼夜运动行为以及生长、体组分和能量分配的变化, 探讨氨氮胁迫影响对虾生长的行为和生物能量学机制, 以期为养殖环境调控, 减少氨氮等污染物引起的动物应激提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料来源及驯养

实验于茂名市金阳热带海珍养殖有限公司育苗基地进行。实验用虾取自基地养殖池塘, 均为同一来源的体色正常、健康活泼的凡纳滨对虾, 体长为 (6.11 ± 0.56) cm。于底面积为 1 m²的圆形玻璃钢水槽中暂养 7 d, 每天投喂过量的对虾配合饲料 2 次(6: 00 和 17: 00), 每次投喂后 1.5 h 采用虹吸法清除残饵以及粪便等。一天中光照 L(2500 lx) : D(50 lx)=14 h : 10 h, 其中昼间为 5:00~19:00, 夜间为 19:00~5:00。饲育所用海水为经沉淀和砂滤处理后的天然海水, 使用前再用生物棉过滤。本实验采用微流水式养殖方式, 水流速度约为 1.20 L/h, 海水盐度为 30, pH 为 8.2, 温度为 (28 ± 0.5) °C, 持续充气, 溶解氧保持在 5.5 mg/L 以上。

1.2 实验设计

实验采用单因子 4 水平设计, 根据中华人民共和国海水水质标准(GB 3097-1997)以及凡纳滨对虾的氨氮安全浓度^[17-18], 设置氨氮质量浓度分别为 0.02 mg/L(对照)、1.00 mg/L、2.50 mg/L、5.00 mg/L 4 个梯度, 各浓度用氯化铵溶液调节。氨氮浓度采用次溴酸钠氧化法测定(《海洋调查规范》GB/T 12763.4), 实验过程中实测氨氮浓度变化范围分别为 0.017~0.025 mg/L、1.014~1.046 mg/L、2.533~2.582 mg/L、4.991~5.036 mg/L。实验在 40 cm×20 cm×20 cm 的玻璃水族箱(水深 16 cm)内进行, 将暂养在自然海水(对照)中体质量为 (4.89 ± 0.27) g 的实验虾分别放入各实验梯度水族箱中, 每箱分别放入 4 尾, 每个梯度均设 6 个平行组。各梯度组养殖条件与暂养期间一致, 实验持续 2 周, 发现对虾蜕壳后及时捞出。每次投喂后

1.5 h 收集残饵及粪便, 70 °C 烘干至恒重后称重, 残饵量用饲料损失率和干湿重比较确定。

运用自行设计的视频记录分析系统(图 1), 其主要结构为一个底部绘有 2 cm × 2 cm 小方格的 40 cm×20 cm×20 cm 的玻璃水族箱, 其上方 100 cm 处设置一个摄像机(Sony HC20E)用于拍摄凡纳滨对虾在水族箱中的运动行为, 然后将所拍录像转换为 MPEG4 视频文件, 在计算机进行分析和记录结果, 其中游走距离的测定首先根据水族箱底部小方格定位并记录其运动轨迹, 获取轨迹中各小段(两点之间)直线距离, 再加以累计。

实验时同时拍摄不同氨氮质量浓度的 4 个实验组对虾的活动情况, 拍摄时间为每天昼间 8:00、12:00、16:00 和夜间 21:00、24:00、3:00, 每次拍摄 30 min。

对虾运动行为用活动频率和游走距离表示:

$$\text{活动频率 MF}(\%) = 100 \times T_a / T$$

$$\text{游走距离 SWD(cm)} = D / T \times 5 \text{ min}$$

式中, T_a 为对虾累计运动(包括游泳、爬行和跳跃)的时间, T 为总观察时间, D 为对虾在观察期间通过游泳、爬行或跳跃所经过的累计路程(cm)。

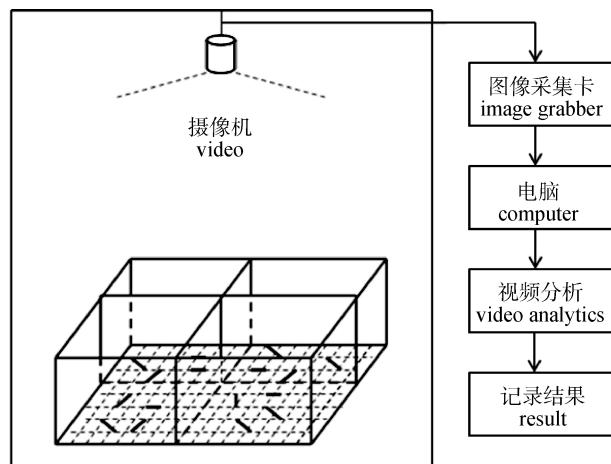


图 1 视频记录分析装置示意图

Fig. 1 The diagrammatic sketch of the video record system

1.3 样品制备与测定

实验结束后, 用滤纸吸干实验虾体表水分后称湿体质量, 干体质量和含水率采用 70 °C 常压干燥法测定。为消除个体差异, 测定虾体营养组成

时, 取每一平行组 4 尾虾等量样品混合作为一份样品。蛋白质含量采用瑞典 FOSS KjeltecTM2300 型自动定氮仪测定; 脂肪含量采用丹麦 FOSS Soxtec Avanti 2055 型索氏提取系统测定。饲料、虾体及其蜕壳和粪便的能值均采用氧弹式热量计(德国 IKA C4000 型)测定。

1.4 能量收支方程及相关计算公式

$$\text{能量收支方程 } C = G + F + E + U + R$$

式中, 摄食能(C)为实验期间对虾摄食量(g)与饲料能值(kJ/g)的乘积; 生长能(G)等于实验始末虾体的能值之差, 虾体能值为对虾干体质量(g)与单位体质量能值(kJ/g)的乘积; 排粪能(F)为对虾排粪量(g)与粪便能值(kJ/g)的乘积; 蜕壳能(E)为虾蜕壳量(g)与虾壳能值(kJ/g)的乘积; 排泄能(U)根据氮收支式 $U = (C_N - G_N - F_N - E_N) \times 24.83$ 计算, 其中 C_N 为摄入的氮[mg/(g·d)], G_N 为生长沉积的氮[mg/(g·d)], F_N 和 E_N 分别为粪氮[mg/(g·d)]和蜕壳损失的氮[mg/(g·d)]; 代谢能(R)根据能量收支方程式计算, 即 $R = C - G - F - E - U$ 。

其他指标计算公式:

$$\text{特定生长率 } SGR(\%) = 100 \times (\ln W_t - \ln W_0) / t$$

$$\text{摄食率 } FR(\%) = 100 \times C_E / [t \times (W_0 + W_t) / 2]$$

$$\text{食物转化率 } FCE(\%) = 100 \times (W_t - W_0) / C_E$$

式中: W_0 和 W_t 分别为实验开始时和实验结束时虾体的能值(kJ), C_E 为摄入饵料的能量(kJ), t 为养殖时间。

1.5 数据处理与分析

实验数据以平均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示, 用 SPSS11.0 统计软件进行单因素方差分析(ANOVA)、Duncan's 多重比较以及回归分析, 显著性水平均为 5%。

2 结果与分析

2.1 不同氨氮浓度下对虾的行为变化

2.1.1 活动频率 实验期间, 各组对虾的存活率均为 100%。图 2 表示不同氨氮浓度下凡纳滨对虾活动频率的变化。氨氮胁迫对实验虾的昼夜活动频率有显著影响。在白昼, 氨氮浓度为 1.00 mg/L 和 2.50 mg/L 组的活动频率显著高于对照组和 5.00 mg/L 组($P < 0.05$), 而 5.0 mg/L 组的活动频率

显著低于对照组($P < 0.05$)。在夜间, 各组的活动频率随氨氮浓度的增加呈逐步下降的趋势, 各处理组的活动频率显著低于对照组($P < 0.05$), 且各处理组之间也具有显著差异($P < 0.05$)。同一氨氮浓度下, 对照组夜间活动频率显著高于白昼($P < 0.05$), 而各处理组夜间的活动频率则显著低于白昼($P < 0.05$)。

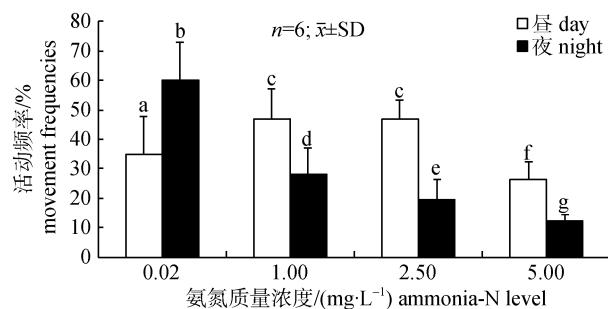


图 2 不同氨氮浓度下凡纳滨对虾的活动频率

各组平均值上标不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。

Fig. 2 Effects of ammonia-N on the movement frequencies of *Litopenaeus vannamei*

Values with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

2.1.2 游走距离 图 3 为不同氨氮浓度下凡纳滨对虾昼夜观察期间每 5 min 的游走距离。在白昼, 氨氮浓度为 1.00 mg/L、2.50 mg/L 和 5.00 mg/L 组的游走距离均显著高于对照组($P < 0.05$), 而各处理组间差异不显著($P > 0.05$)。在夜间, 各组的游走距离随氨氮浓度的增加呈下降的趋势, 各处理组的游走距离均显著低于对照组($P < 0.05$), 且各处理组之间也具有显著性差异($P < 0.05$)。同一氨氮浓度下, 对照组夜间游走距离显著高于白昼($P < 0.05$), 而各处理组夜间的游走距离则显著低于白昼($P < 0.05$)。

2.2 不同氨氮浓度下对虾的生长

由表 1 可见, 氨氮胁迫显著影响凡纳滨对虾的特定生长率(SGR)、摄食率(FR)和食物转化率(FCE)。随氨氮浓度升高, 实验虾的 SGR、FR 和 FCR 均呈逐渐下降趋势, 各处理组显著低于对照组水平($P < 0.05$)。氨氮浓度为 1.00 mg/L 和 2.50 mg/L 组的 SGR、FR、FCE 无显著性差异($P > 0.05$), 但 5.00 mg/L 组的 SGR 和 FCE 显著低于其他组($P < 0.05$)。

表1 不同氨氮浓度下凡纳滨对虾特定生长率、摄食率和食物转化率的变化

Tab 1 Effects of ammonia-N on the specific growth rates, feeding rates, food conversion efficiencies of *Litopenaeus vannamei*
 $n=6; \bar{x} \pm SD$

氨氮浓度/(mg·L ⁻¹) ammonia-N level	特定生长率/(%·d ⁻¹) SGR	摄食率/(%·d ⁻¹) FR	食物转化率/%FCE
0.02(对照 control)	1.60±0.12 ^a	7.77±0.57 ^a	20.60±2.75 ^a
1.00	1.37±0.08 ^b	7.57±1.54 ^b	18.12±1.68 ^b
2.50	1.37±0.05 ^b	7.44±0.49 ^{bc}	18.39±0.79 ^b
5.00	1.18±0.03 ^c	7.35±0.68 ^c	16.03±1.36 ^c

注: 同一列数据上标不同字母表示差异显著($P<0.05$).

Note: Values with different superscripts within the same column are significantly different ($P<0.05$).

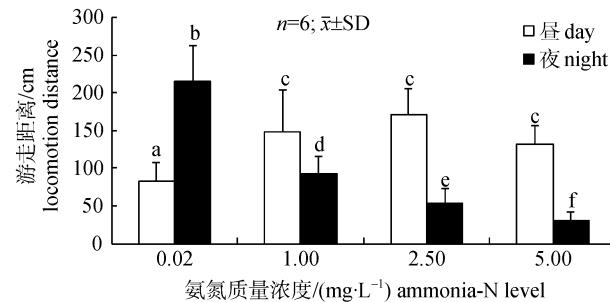
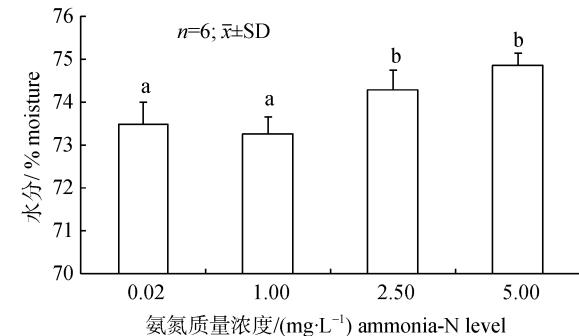


图3 不同氨氮浓度下凡纳滨对虾的游走距离

各组平均值上标不同字母表示差异显著($P<0.05$).

Fig. 3 Effects of ammonia-N on the locomotion distances of *Litopenaeus vannamei*

Values with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).



2.3 不同氨氮浓度下虾体营养组分的变化

图4 表示不同氨氮浓度下凡纳滨对虾机体营养组分和能值的变化。1.00 mg/L 浓度组的水分和蛋白质含量(干重)与对照组无显著性差异($P>0.05$), 而 2.50 mg/L 和 5.00 mg/L 浓度组的水分和蛋白质含量均显著高于对照组($P<0.05$); 随氨氮浓度的增高, 实验虾脂肪含量(干重)和能值(干重)均呈逐步下降的态势, 但 1.00 mg/L 组与对照组差异不显著($P>0.05$), 而 2.50 mg/L 和 5.00 mg/L 组的脂肪含量和能值则显著低于对照组水平($P<0.05$)。

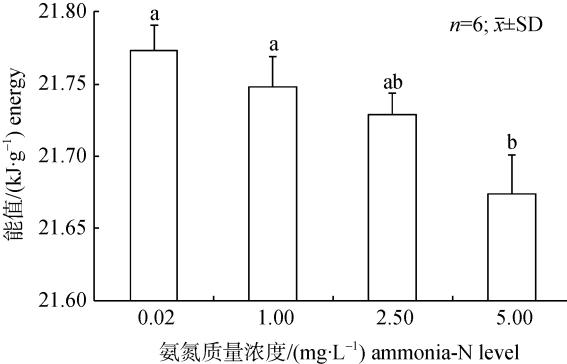
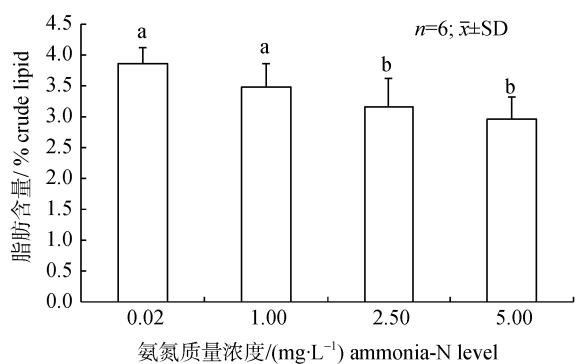
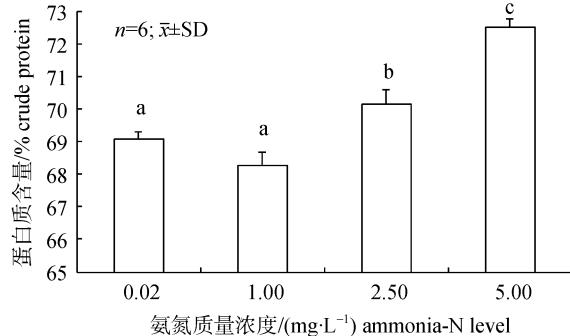


图4 不同氨氮浓度下凡纳滨对虾营养组分的变化

蛋白质含量、脂肪含量和能值均为以干重计; 各组平均值上标不同字母表示差异显著($P<0.05$).

Fig. 4 Effects of ammonia-N on the biochemical composition of *Litopenaeus vannamei*

The contents of crude protein, crude lipid and energy are calculated with dry weight. Values with different superscripts are significantly different ($P<0.05$).

2.4 不同氨氮浓度下对虾能量分配

表 2 列出了不同氨氮浓度下凡纳滨对虾摄食能量的分配比例。能量分配中代谢能占摄食能的比例最大, 达 55.13%~60.83%; 其次是生长能, 占摄食能的 16.03%~20.60%; 排粪能占摄食能的 15.79%~16.47%; 排泄能和蜕壳能是能量支出中较小的部分, 分别占摄食能的 4.41%~6.11% 和 2.61%~3.07%。各氨氮浓度处理组实验虾每天摄入食物能量显著低于对照组($P<0.05$)。与对照组相比, 摄食能量分配于生长的比例随着氨氮浓度的

增大而降低($P<0.05$), 而消耗于代谢的能量比例随氨氮浓度增大而升高($P<0.05$), 消耗于排泄的能量比例随氨氮浓度升高呈波动变化, 而消耗于排粪和蜕壳的能量比例不受氨氮浓度变化的影响($P>0.05$)。氨氮浓度为 1.00 mg/L 和 2.50 mg/L 组, 摄食能以及生长能、排粪能、蜕壳能和代谢能占摄食能的比例均无显著性差异($P>0.05$); 氨氮浓度为 5.00 mg/L 组, 其摄食能以及生长能和排泄能占摄食能的比例显著低于 1.00 mg/L 组($P<0.05$), 而用于代谢消耗的能量比例显著升高($P<0.05$)。

表 2 不同氨氮浓度下凡纳滨对虾的能量分配模式
Tab 2 Effects of ammonia-N on the energy budget of *Litopenaeus vannamei*

氨氮质量浓度 (mg·L ⁻¹)ammonia-N level	摄食能 (kJ·g ⁻¹ ·d ⁻¹)feeding energy	n=6; $\bar{x} \pm SD$				
		生长能/摄食能(%) growth energy/feeding energy	排粪能/摄食能(%) defecation energy/feeding energy	蜕壳能/摄食能(%) molting energy/feeding energy	排泄能/摄食能(%) excretion energy/feeding energy	代谢能/摄食能(%) metabolizable energy/feeding energy
0.02	1.74±0.15 ^a	20.60±2.75 ^a	16.06±0.93 ^a	2.61±1.50 ^a	5.59±0.75 ^a	55.13±3.45 ^a
1.00	1.63±0.29 ^b	18.12±1.68 ^b	16.26±1.02 ^a	3.07±1.35 ^a	6.11±0.66 ^b	56.45±2.74 ^{ab}
2.50	1.62±0.42 ^{bc}	18.39±0.79 ^b	16.47±1.62 ^a	2.63±0.78 ^a	5.70±0.44 ^a	56.82±1.98 ^b
5.00	1.59±0.25 ^c	16.03±1.36 ^c	15.79±1.87 ^a	2.94±1.89 ^a	4.41±0.86 ^c	60.83±3.77 ^c

注: 同一列数据上标不同字母表示差异显著($P<0.05$)。

Note: Values with different superscripts within the same column are significantly different ($P<0.05$).

3 讨论

3.1 氨氮胁迫对凡纳滨对虾行为及生长的影响

甲壳类相关研究发现, 当水环境发生改变时, 其运动行为^[19~20]、呼吸行为^[6, 21]、争斗行为^[22]和觅食行为等^[23~25]均发生不同程度的变化, 但鲜见关于氨氮对虾类行为影响的报道。本研究中, 凡纳滨对虾的运动行为在氨氮胁迫下产生显著变化, 且在昼夜呈现不同的作用规律。在白昼, 氨氮浓度为 1.00 mg/L 和 2.50 mg/L 组对虾的活动频率显著高于对照组; 而 5.00 mg/L 组的活动频率则显著低于对照组。而在夜晚, 实验虾的活动频率随氨氮浓度的增加而减少。各组游走距离也呈现相同的变化趋势。造成此现象的原因可能是在低氨氮浓度下, 作为一种应激反应, 对虾日间活动频率增加, 表现出对不良环境胁迫的逃避行为; 而在更高氨氮浓度胁迫下, 对虾的生理失调, 代谢消耗增大, 因此采取减少活动、节约能量消耗的

行为策略, 以适应高氨氮胁迫的环境。

对虾是夜行性动物, 具有明显的昼夜活动节律, 自然条件下, 由于觅食等需要, 夜间活动水平较高, 但在人工养殖条件下, 为方便管理, 一般都在昼间尤其晨昏时投饵。本研究对照组凡纳滨对虾的夜间活动频率显著高于白昼, 但随氨氮浓度的增加大幅下降, 各处理组夜间活动频率均低于白昼, 反映出对虾在夜间对氨氮胁迫更为敏感。这可能是由于夜间不投喂饲料, 为了节省能量用于抵抗环境胁迫, 对虾采取限制夜间活动的行为策略。端足类也有类似报道。钩虾(*Gammarus aequicauda*)也是夜行性动物, 自然条件下其白昼生活在穴内, 在黄昏和夜间游出洞穴寻找食物。Morillo-Velarde 等^[20]通过实验研究发现当水体中镉质量浓度超过 0.24 mg/L 时, 其白昼的运动频率无明显变化, 而夜间运动频率却显著低于对照组。由此可见, 动物对胁迫的行为适应对策还体现在生活习性的改变, 因此当对虾生活习性发生

改变时, 提示有可能是水体氨氮浓度增加等环境变化所致。

此外, 氨氮胁迫会显著影响虾蟹的摄食、吸收和生长^[26-28]。Naqvi 等^[28]报道在氨氮胁迫下罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)的成活率、摄食率和生长率均显著降低, 但作者没有深入探讨其影响生长的内外在机制。本研究中, 随氨氮浓度的升高, 凡纳滨对虾的 SGR、FR 和 FCE 均显著下降, 但在行为学观察中, 在高氨氮浓度下, 实验虾的活动频率及游走距离也显著下降, 反映了其因运动引起的活动代谢减弱。从能量学角度来分析, 节约运动能耗应是有利生长的, 但高氨氮浓度组的实验结果却与此相反。因此, 仅从行为观察结果无法说明氨氮影响对虾生长的原因, 必须结合内在的能量分配模式才能阐明其机理机制。

3.2 氨氮胁迫影响凡纳滨对虾生长的生物能量学机制

研究虾类生物能量学可阐明其在不同环境下的能量对策^[29]。水环境条件变化对虾类能量收支具有显著影响, 如 Hou 等^[30]研究发现, 在一定的 Ca^{2+} 浓度下水体盐度有规律的波动会影响凡纳滨对虾的能量分配, 在 Ca^{2+} 浓度保持恒定(385 mg/L)而水体盐度在 10~30 范围内波动会提高对虾摄入能量分配于生长的比例, 而耗损于呼吸和排泄的比例减少, 从而促进对虾生长。本研究结果表明凡纳滨对虾的能量分配模式在氨氮胁迫下也发生了改变, 各处理组凡纳滨对虾每天摄入食物能量显著低于对照组, 且摄食能量分配于生长的比例随着氨氮浓度的增大而降低, 与对照组相比, 1.00 mg/L、2.50 mg/L 组和 5.00 mg/L 组分别减少了 2.48%、2.19% 和 4.57%, 而消耗于代谢的能量比例则分别上升了 1.32%、1.69% 和 5.70%, 最终导致氨氮处理组对虾能量利用效率降低, 生长速度减慢。

动物体代谢可细分为基础代谢、摄食代谢和活动代谢等。氨氮胁迫下, 对虾活动减少, 摄食率下降而代谢支出却显著增加, 据此可认为, 此期间代谢消耗主要是应对环境胁迫的各种内在生理活动引起的基础代谢量的增加。随环境氨氮浓度增加, 凡纳滨对虾的呼吸、离子调节和氮代谢等

相关生理功能会受到影响, 为适应环境, 机体必然作出相应功能性调节^[31-33]。而功能调节需要大量能量支出, 于是调动体内脂肪等来提供应激反应的能量需求^[34-36]。这从氨氮胁迫下对虾体内营养与能量物质的含量变化可得到佐证。本研究结果显示, 随氨氮胁迫浓度的增高, 实验虾的水分和蛋白质含量升高, 脂肪含量和能值显著下降。由于图 4 和图 5 中虾体营养组成系以干重的百分比计, 是相对含量, 考虑到处理组虾体含水率增加, 因此以湿重计各组蛋白质含量并没有明显差异, 而无论以湿重还是干重计, 脂肪含量和能值均随氨氮浓度升高而下降的趋势却更加明显。由此表明, 在抵抗氨氮胁迫过程中, 脂肪是凡纳滨对虾的重要能量来源^[34]。但随着能量供给的减少, 凡纳滨对虾采取以减少活动水平和游走距离的方式进一步调节能量分配, 将自身储存的能量更多分配于维持生命所需的各种基本的生理代谢活动上, 以降低能量消耗。

本研究结合外在行为与内在能量分配模式变化进行综合分析, 从理论上阐明了氨氮影响对虾生长的机理机制, 在实践上, 可通过对虾昼夜活动水平的改变判断水体是否受到氨氮胁迫, 及时对养殖环境进行调节, 保证对虾的健康生长。

参考文献:

- [1] Xian J A, Qian K, Guo H, et al. Research progress in toxic effects of ammonia-N on shrimp[J]. Feed Industry, 2014, 35(22): 52-57.[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): 52-57.]
- [2] Lei Y Z. Aquaculture Water Chemistry[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2003: 117-124.[雷衍之. 养殖水环境化学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 117-124.]
- [3] Jiang L X, Pan L Q, Xiao G Q, et al. Effects of ammonia-N on immune parameters of white shrimp *Litopenaeus vannamei*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2004, 11(6): 537-541.[姜令绪, 潘鲁青, 肖国强. 氨氮对凡纳滨对虾免疫指标的影响[J]. 中国水产科学, 2004, 11(6): 537-541.]
- [4] Ding M L, Lin L, Li G Y, et al. Effects of organic pollution on *Penaeus chinensis* body's intraenvironment and external environment[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1997, 28(1): 7-12.[丁美丽, 林林, 李光友, 等. 有机污染对中国对虾内外环境影响的研究[J]. 海洋与湖沼, 1997, 28(1):

- 7–12.]
- [5] Curtis D L, Jensen E K, McGaw I J. Behavioural influences on the physiological responses of *Cancer gracilis*, the graceful crab, during hyposaline exposure[J]. *Biol Bull*, 2007, 212(3): 222–231.
- [6] Sornom P, Felten V, Médoc V, et al. Effect of gender on physiological and behavioral responses of *Gammarus roeseli* (Crustacea Amphipoda) to salinity and temperature[J]. *Environ Poll*, 2010, 158(2): 1288–1295.
- [7] Filiciotto F, Vazzana M, Celi M. Behavioural and biochemical stress responses of *Palinurus elephas* after exposure to boat noise pollution in tank[J]. *Mar Pollut Bull*, 2014, 84(1-2): 104–114.
- [8] Yi M M, Yu H N, Lin X T, et al. Effects of stocking densities on behavior and physiological activity in *Litopenaeus vannamei*[J]. *Journal of Jinan University: Natural Science*, 2012, 33(1): 81–86.[衣萌萌, 于赫男, 林小涛, 等. 密度胁迫下凡纳滨对虾的行为与生理变化[J]. 暨南大学学报: 自然科学版, 2012, 33(1): 81–86.]
- [9] Raquel M S, Lúcia G, Laura G. Biochemical and locomotor responses of *Carcinus maenas* exposed to the serotonin re-uptake inhibitor fluoxetine[J]. *Chemosphere*, 2011, 85(6): 967–976.
- [10] Dissanayake A, Piggott C, Baldwin C, et al. Elucidating cellular and behavioural effects of contaminant impact (polycyclic aromatic hydrocarbons, PAHs) in both laboratory-exposed and field-collected shore crabs, *Carcinus maenas* (Crustacea: Decapoda)[J]. *Mar Environ Res*, 2010, 70(5): 368–373.
- [11] Zhang P D, Zhang X M, Li J, et al. Observation of behavior in *Fenneropenaeus chinensis* and *Litopenaeus vannamei* postlarvae[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2008, 32(2): 223–227.[张沛东, 张秀梅, 李健, 等. 中国明对虾、凡纳滨对虾仔虾的行为观察[J]. 水产学报, 2008, 32(2): 223–227.]
- [12] Jiang L X, Wang R J, Zhou L, et al. Behavioral analysis of *Exopalaemon carinicauda* under different salinity conditions[J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2011, 42(12): 1564–1567.[姜令绪, 王仁杰, 周莉, 等. 脊尾白虾在不同盐度条件下的行为变化[J]. 南方农业学报, 2011, 42(12): 1564–1567.]
- [13] González-Ortegón E, Rodríguez A, Drake P. The freshwater shrimp *Atyephyra desmarestii* (Millet, 1831) as a bioindicator of hypoxic event effects on temperate freshwater systems[J]. *Ecol Indic*, 2012, 18: 236–242.
- [14] Li E C. Physiological effects of ambient salinity on *Litopenaeus vannamei* and nutrient modulation[D]. Shanghai: East China Normal University, 2008: 46–54.[李二超. 盐度对凡纳滨对虾的生理影响及其营养调节[D]. 上海: 华东师范大学, 2008: 46–54.]
- [15] Jia X Y. The ecophysiological responses of *Litopenaeus vannamei* under freshwater condition to environmental stresses[D]. Qingdao: Ocean University of China, 2014: 87–91.[贾旭颖. 淡水养殖凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)对环境胁迫的生理生态响应[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014: 87–91.]
- [16] Rodríguez-Ramos T, Espinosa G, Hernández-López J, et al. Effects of *Escherichia coli* lipopolysaccharides and dissolved ammonia on immune response in southern white shrimp *Litopenaeus schmitti*[J]. *Aquaculture*, 2008, 274(1): 118–125.
- [17] Miranda-Filho K C, Pinho G L, Jr W W, et al. Long-term ammonia toxicity to the pink-shrimp *Farfantepenaeus paulensis*[J]. *Comp Biochem Physiol C*, 2009, 150(3): 377–382.
- [18] Ge H X, Li J, Chen P, et al. The immune response of *Litopenaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio parahaemolyticus* under stress caused by ammonia nitrogen at different concentrations[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2014, 35(6): 76–82.[葛红星, 李健, 陈萍, 等. 氨氮胁迫下凡纳滨对虾对副溶血弧菌的易感性[J]. 渔业科学进展, 2014, 35(6): 76–82.]
- [19] Mills C L, Shukla D H, Compton G J. Development of a new low cost high sensitivity system for behavioural ecotoxicity testing[J]. *Aquat Toxicol*, 2006, 77(2): 97–201.
- [20] Morillo-Velarde P S, Lloret J, Marín A, et al. Effects of cadmium on locomotor activity rhythms of the Amphipod *Gammarus aequicauda*[J]. *Arch Environ Contam Toxicol*, 2011, 60(3): 444–451.
- [21] Felten V, Charmantier G, Charmantier-Daures M, et al. Physiological and behavioural responses of *Gammarus pulex* exposed to acid stress[J]. *Comp Biochem Physiol C*, 2008, 147(2): 189–197.
- [22] Dissanayake A, Galloway T S, Jones M B. Physiological condition and intraspecific agonistic behaviour in *Carcinus maenas* (Crustacea: Decapoda)[J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 2009, 375(1): 57–63.
- [23] Bernatis J L, Gerstenberger S L, McGaw I J. Behavioural responses of the Dungeness crab, *Cancer magister*, during feeding and digestion in hypoxic conditions[J]. *Mar Biol*, 2007, 150(5): 941–951.
- [24] Kumar A, Doan H, Barnes M, et al. Response and recovery of acetylcholinesterase activity in fresh waters shrimp, *Paratya australiensis* (Decapoda: Atyidae) exposed to selected anti-cholinesterase insecticides[J]. *Ecotoxicol Environ*

- Safety, 2010, 73(7): 1503–1510.
- [25] Scarlett A, Dissanayake A, Rowland S J, et al. Behavioral, physiological, and cellular responses following trophic transfer of toxic monoaromatic hydrocarbons[J]. Environ Toxicol Chem, 2009, 28(2): 381–387.
- [26] Zhang G. Effect of dissolved oxygen, salinity, ammonia-N and nitrite-N on the survival and food intake of *Portunus trituberculatus*[D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University, 2012: 25–30.[张贵. 溶解氧、盐度、氨氮、亚硝酸盐氮对三疣梭子蟹存活和摄食的影响[D]. 湛江: 广东海洋大学, 2012: 25–30.]
- [27] Kooi J G, Kim S G, Jee J H, et al. Effects of ammonia and nitrite on survival, growth and moulting in juvenile tiger crab, *Orithya sinica* (Linnaeus)[J]. Aquacult Res, 2005, 36(1): 79–85.
- [28] Naqvi A A, Adhikari S, Pillai B R, et al. Effect of ammonia-N on growth and feeding of juvenile *Macrobrachium rosenbergii* (De-Man)[J]. Aquacult Res, 2007, 38(8): 847–851.
- [29] Lv H M, Xu S L. Characteristics of energy budget and affecting factors in shrimps and crabs[J]. Fisheries Science, 2009, 28(10): 604–608.[吕慧明, 徐善良. 虾蟹能量收支特点及其影响[J]. 水产科学, 2009, 28(10): 604–608.]
- [30] Hou C Q, Wang F, Dong S L, et al. Effects of constant Ca^{2+} concentration in salinity fluctuations on growth and energy budget of juvenile *Litopenaeus vannamei*[J]. Aquacult Int, 2012, 20: 177–188.
- [31] Barbieri E. Acute toxicity of ammonia in white shrimp (*Litopenaeus schmitti*) (Burkenroad, 1936, Crustacea) at different salinity levels[J]. Aquaculture, 2010, 306: 329–333.
- [32] Romano N, Zeng C. Acute toxicity of ammonia and its effects on the haemolymph osmolality, ammonia-N, pH and ionic composition of early juvenile mud crabs, *Scylla serrata* (Forskal)[J]. Comp Biochem Physiol A, 2007, 148(2): 278–285.
- [33] Schock T B, Duke J, Goodson A, et al. Evaluation of pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) health during a super-intensive aquaculture growout using NMR-based metabolomics[J]. Plos One, 2013, 8(3): 1–12.
- [34] Sullivan K M. Physiology of feeding and starvation tolerance in overwintering fresh water fishes[C]//Developments in Environmental Biology of Fishes, Springer Netherlands, 1986, 7: 259–268.
- [35] Li E, Chen L, Zeng C, et al. Growth, body composition, respiration and ambient ammonia nitrogen tolerance of the juvenile white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, at different salinities[J]. Aquaculture, 2007, 265(1–4): 385–390.
- [36] Racotta I S, Hernández-Herrera R. Metabolic responses of the white shrimp, *Penaeus vannamei*, to ambient ammonia[J]. Comp Biochem Physiol A, 2000, 125(4): 437–443.

Effects of ammonia-nitrogen on locomotor performance and the energy budget of *Litopenaeus vannamei*

ZENG Qingting¹, YU Henan^{1,2}, LIN Xiaotao¹, XU Zhongneng¹

1. Institute of Hydrobiology, Jinan University, Engineering Research Center of Tropical and Subtropical Aquatic Engineering, Ministry of Education, Guangzhou 510632, China;

2. Guangdong Province Ocean Engineering Vocational School, Guangzhou 510320, China

Abstract: Excess ammonia-nitrogen (ammonia-N) in the aquaculture environment destroys the shrimp excretory system and osmotic balance; thus, affecting health and growth. The behavioral responses that often accompany internal physiological changes are a reaction to environmental stress. Therefore, behavioral observations combined with physiological measurements provide a more complete understanding of the homeostatic perturbations of shrimp from external or internal stressors. The effects of ammonia-N on growth, body composition, and immunity of shrimp have been studied extensively, but the effects on locomotor behavior and energy allocation are not known. We investigated the effects of ammonia-N on locomotor behavior and energy metabolism of *Litopenaeus vannamei*, a commercially important shrimp species, to provide useful information for shrimp health and regulation of the aquaculture environment. Shrimp (weight, 4.89 ± 0.27 g) were exposed to four ammonia-N concentrations of 0.02 (control), 1.00, 2.50, and 5.00 mg/L in aquaria for 2 weeks at a water temperature of (28 ± 0.5) °C. The locomotor behaviors of *L. vannamei* were recorded by cameras, and energy budgets were determined. Video of each aquarium was recorded for 30 min at 8: 00, 12: 00, and 16: 00 during the daytime and at 21: 00, 24: 00, and 3: 00 during the night and analyzed to calculate movement frequency and locomotion distance of shrimp in each experimental group. Feeding, growth, body composition, and defecation were measured to calculate energy budgets. The results showed that frequency of movement and locomotion distance increased initially and then decreased during the day, but decreased at night as ammonia-N concentration increased. Movement frequency and locomotion distance of shrimp in the 5.00 mg/L ammonia-N concentration were significantly lower than those of the controls, regardless of time ($P < 0.05$). Specific growth rate, feeding rate, and food conversion efficiency of *L. vannamei* decreased significantly as ammonia-N concentration increased, and all shrimp exposed to ammonia-N had significantly lower values for these variables than those of the control ($P < 0.05$). Crude lipid and energy contents in shrimp exposed to 2.50 mg/L and 5.00 mg/L ammonia-N were significantly higher than those of the controls ($P < 0.05$). Less energy was allocated to growth as ammonia-N concentration increased, whereas that for metabolism increased. Energy for growth in shrimp exposed to 1.00, 2.50, and 5.00 mg/L ammonia-N dropped 2.48%, 2.19%, and 4.57%, respectively, whereas that for metabolism rose 1.32%, 1.69%, and 5.70%, respectively, compared with the controls. These findings indicate that *L. vannamei* reduced food intake under ammonia-N stress, decreased locomotor behavior to adjust energy allocation to reduce energy consumption, and allocated more energy to basic physiological metabolism, resulting in decreased energy utilization efficiency and inhibited growth. This study provides a mechanism for energy allocation in *L. vannamei* under ammonia-N stress and shows the behavioral responses of the shrimp to ammonia-N stress, which will contribute to producing healthy shrimp and monitoring water quality using animal behavior.

Key words: *Litopenaeus vannamei*; ammonia stress; locomotor performance; body composition; energy budget

Corresponding author: LIN Xiaotao. Tel: 020-85228310; E-mail: tlinxt@jnu.edu.cn