急性硫化物胁迫对日本沼虾免疫和抗氧化系统的影响

管越强,裴素蕊,李泽健

(河北大学生命科学学院,保定 071002)

摘要:日本沼虾(*Macrobrachium nipponense*)在硫化物浓度为0.4、1.2和4.0 mg/L的水体中暴露48 h,研究硫化物胁迫对其血液免疫指标和机体抗氧化能力的影响。结果表明,硫化物对日本沼虾的24、48、72、96 h LC_{50}分别为22.5、15.2、12.5、11.35 mg/L。血细胞密度(THC)和吞噬活力(吞噬百分比和吞噬指数)随硫化物质量浓度升高而降低,至48 h,0.4、1.2和4.0 mg/L组的THC显著降低,分别为对照组的85.71%、70.75%和57.48%。各试验组沼虾的凝血时间与对照组相比延长,1.2 mg/L和4.0 mg/L组分别从12 h和6 h开始显著长于对照组($P<0.05$)。沼虾肌肉中的总抗氧化能力(T-AOC)随硫化物浓度的升高而降低,至48 h,1.2 mg/L和4.0 mg/L组显著低于对照组($P<0.05$)。超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化氢酶(CAT)活力随硫化物浓度的升高而增强,至48 h,1.2 mg/L和4.0 mg/L组的SOD活力显著高于对照组($P<0.05$),表明日本沼虾免疫系统对低浓度硫化物有一定的耐受力;当硫化物浓度过高时,沼虾的免疫能力降低,对机体抗氧化系统产生显著影响。

关键词:日本沼虾;硫化物;半致死浓度;免疫防御能力;抗氧化能力

中图分类号:Q178.1^{+}1 **文献标志码**:A **文章编号**:1674-3075(2011)06-0089-06

日本沼虾(*Macrobachium nipponense*)是我国养殖面积最大、产量最高的一种淡水经济虾类,还自然分布于日本、越南及俄罗斯远东等地区的淡水水域(冯建彬等,2008)。硫化物是水体中的常见污染物,水体硫化物包括溶解性的H_2S、HS^-和S^{2-}共3种形式,其组成比例与pH值直接相关,H_2S在硫化物胁迫效应中起决定性作用(顾顺樟等,2007)。在自然条件下,H_2S由水体底质的有机物经厌氧分解产生。在养殖水体中,残饵、粪便等沉到水底增加了底部有机物含量,进而产生更多的H_2S。H_2S是一种刺激性气体和窒息性气体,与细胞色素氧化酶中的Fe^{3+}结合而阻碍其还原为含Fe^{2+}的还原型细胞色素氧化酶,从而抑制电子传递链,阻断了细胞呼吸(管越强等,2008)。H_2S还可能与体内谷胱甘肽中的巯基结合,使谷胱甘肽失活,影响了体内生物氧化过程,加重了组织缺氧。硫化物在水产养殖业中危害较为严重,随着水体中H_2S浓度的升高,鱼虾的生长速度、体力和抗病力都将减弱,严重时会损坏其中枢神经。

目前,硫化物对甲壳动物毒性研究的报道主要集中于养殖虾蟹类,研究对象包括日本沼虾(管越强等,2009)、罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)(Jayamanne, 1992)、日本囊对虾(*Marsupenaeus japonicus*)(Cheng et al, 2007)、凡纳滨对虾(*Litopenaeus vannamei*)(Hsu & Chen, 2007)、中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)等(石俊艳等,1999)。Kang等(1995)报道在低氧和硫化物胁迫条件下,日本沼虾表现出逃避行为;笔者曾研究了硫化物胁迫对日本沼虾呼吸代谢和能量代谢过程的影响(管越强等,2009),但均未涉及其半致死浓度,目前尚未见到硫化物对日本沼虾免疫毒性影响的研究报道;另外,环境胁迫往往造成机体活性氧爆发,并引起其抗氧化能力的改变,但迄今为止,硫化物胁迫对养殖虾类抗氧化系统的影响报道较少,仅见涉及到超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD)活力的变化(顾顺樟, 2007;Cheng et al, 2007; Hsu & Chen, 2007)。本文研究了硫化物短期胁迫下,日本沼虾的半数致死浓度以及其对沼虾血液免疫指标和机体抗氧化能力的影响,为养殖过程中的环境调控提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验用日本沼虾购于河北省安新县水产市场,暂养7 d,选择附肢完整、活力强的个体开始正式试验,试验前24 h及试验期间停止投喂。虾体长(3.57±0.30)cm,体重(1.56±0.09)g。

1.2 半致死浓度试验

毒性试验采用96 h半静态试验法。以硫浓度

收稿日期:2011-07-04

基金项目:河北省自然基金项目(C2007000193、C2010000253)。

作者简介:管越强,1973年生,男,博士,教授,主要从事水生动物生理生态及营养免疫研究。E-mail:guanyueqiang@hbu.edu.cn

为1 g/L的硫化钠溶液调节水体硫化物质量浓度，其浓度的测定采用N,N－对氨基二乙基苯胺比色法(陈佳荣,1996)。根据预试验结果,设7个浓度梯度,质量浓度分别为0.0、6.5、8.0、10.0、12.5、16.0、20.0、25.0 mg/L。玻璃缸规格为35.5 cm×15.5 cm×15.0 cm,养殖水体积5 L。试验用水为曝气自来水,水温(22±2)℃,pH值(8.2±0.2),溶氧量保持4 mg/L以上,试验在自然光照下进行。每缸放虾8尾,每个浓度3个平行,每天8:00、15:00、22:00更换试验液,更换前测定温度、pH、溶解氧等水质指标,观察中毒症状,记录24、48、72、96 h时沼虾死亡数(用玻璃棒触及触角和附肢无任何反应者即为死亡),并剔除死亡个体。用直线内插法求得硫化物的半致死浓度。

1.3 血液免疫指标的测定

根据急性毒性试验结果,进行急性胁迫条件下硫化物对日本沼虾血液免疫指标和肌肉抗氧化能力的影响试验。设置0.4、1.2、4.0 mg/L共3个试验组,另设1个不添加硫化物的对照组,每组3个平行,每缸10尾,暴露时间为48 h。以1 g/L的Na_2S溶液为母液调节水体硫化物质量浓度,分别在0、6、12、24、48 h取样。

1.3.1 血细胞计数(Total Haemocyte Count, THC) 采用1 mL注射器从日本沼虾的围心腔抽血,其中的0.2 mL血淋巴液与0.2 mL抗凝剂(Söderhäll & Smith,1983)移至Eppendorf管中混匀,采用血球计数板测定THC(Smith & Johnston, 1992),计数时未对各类血细胞进行区分。

1 mL血淋巴中的THC $=(A/5)\times25\times10^4\times B=50\ 000A\times B$

式中:A－5个方格中的细胞总数,B－稀释倍数。

1.3.2 血淋巴液凝血时间测定 血淋巴加入毛细玻璃管后,将管垂直,血样在上端,直到由于重力的作用血淋巴流到下端。管旋转180°,重复前面试验直至血淋巴凝固。血淋巴凝固时间定义为血流停止,全部血淋巴凝固的时间(Jussila et al, 2001)。

1.3.3 吞噬活力测定 血淋巴细胞吞噬活力(吞噬率和吞噬指数)测定参照微生物学试验技术(沈萍等, 2005)。主要步骤如下:将血淋巴液用抗凝0.1 mL血淋巴液与0.9 mL抗凝剂混合,10 μL的谷草芽孢杆菌菌悬液(10^7CFU/mL)加入到血细胞密度为10^5个/mL的血淋巴液与抗凝剂混合液中,混匀;27 ℃温育1 h,4℃下700 g离心4 min。清洗样品,重悬浮,铺在载玻片上。玻片干燥后,用福尔马林溶液固定3~5 min。固定后的玻片用Gimsa染料染色1.0~1.5 h,油镜下观察。

吞噬百分比(PP)=参与吞噬的细胞个数/100个吞噬细胞×100%

吞噬指数(PI)=吞噬细菌总数/参与吞噬的细胞数

1.4 肌肉抗氧化能力测定

取日本沼虾肌肉0.25 g,置于预先加入2.5 mL、pH 7.4磷酸盐缓冲液的5 mL离心管中,用剪刀把样品剪到悬粒状,超声波冰浴匀浆(200 A,10 s/次,间隙10 s,反复10次),接着4℃、10 000 r/min离心30 min,弃沉淀,将上清液置于－20 ℃下保存备用。

用考马氏亮蓝法测定样品的总蛋白含量(Bradford,1976);总抗氧化能力(Total Antioxidant Capability, T-AOC)采用试剂盒(南京建成生物工程研究所)测定,方法为铁还原法;SOD活力也采用上述试剂盒,方法为黄嘌呤氧化酶－羟胺法;过氧化氢酶(Catalase, CAT)活力采用钼酸铵比色法测定,样品量分别为100、40、200 μL,每组3个平行(Góth, 1991)。

1.5 数据分析

相关数据用SPSS 11.5统计软件进行单因素方差分析(One-Way ANOVA),若方差具齐性,再采用LSD多重比较法检验各浓度组间的差异,显著水平设定为$P<0.05$。

2 结果

2.1 半致死浓度

根据试验结果(图1),用直线内插法求得硫化物对日本沼虾的24、48、72、96 h LC_{50}分别为22.5、15.2、12.5、11.35 mg/L。

2.2 免疫指标

试验组沼虾THC随暴露时间的延长而降低,在12 h后与对照组相比差异显著。试验组沼虾THC随硫化物浓度的升高而降低,至48 h时,0.4、1.2和4.0 mg/L组THC分别为对照组的85.71%、70.75%和57.48%(图2A)。

各试验组沼虾的凝血时间与对照组相比延长,硫化物浓度越高,暴露时间越长,虾的凝血时间越长(图2B);其中,0.4 mg/L组在不同暴露时间凝血时间无显著变化($P>0.05$),1.2 mg/L和4.0 mg/L组分别自12 h和6 h开始凝血时间显著高于对照组($P<0.05$)。

暴露试验开始后的各个取样时间,试验组沼虾的吞噬百分比和吞噬指数均低于对照组(图 2C – D)。在同一取样时间,表现为硫化物浓度越高、吞噬百分比和吞噬指数越低;至 48 h,试验组沼虾的吞噬百分比和吞噬指数都显著低于对照组($P<0.05$);表明硫化物胁迫降低了日本沼虾血细胞的吞噬活力。

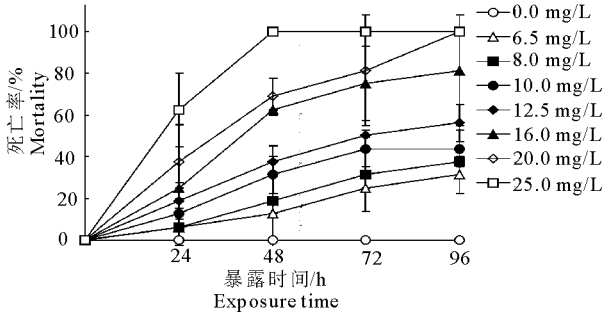


图 1　不同时刻硫化物暴露下日本沼虾的死亡率

Fig. 1　Mortality of *M. nipponense* exposed to sulfide stress in relation to exposure times

2.3　抗氧化能力

日本沼虾肌肉 T-AOC、SOD 和 CAT 活力测定结果表明(图 2E – G),0.4 mg/L 和 1.2 mg/L 组在 6 h 和 12 h 的 T-AOC 略有升高,随后降低;4.0 mg/L 组沼虾 T-AOC 随暴露时间延长而降低,至 48 h,1.2 mg/L和 4.0 mg/L 组 T-AOC 与对照组相比显著降低($P<0.05$)。各试验组沼虾的 SOD 活力与对照组相比升高,硫化物浓度越高,暴露时间越长,SOD 活力越大;至 48 h,1.2 mg/L和 4.0 mg/L 组的 SOD 活力显著高于对照组($P<0.05$)。CAT 活力的变化趋势与 SOD 活力类似,试验组沼虾的 CAT 活力随硫化物浓度的升高和暴露时间的延长而升高,但各试验组与对照组相比均无显著差异($P>0.05$)。

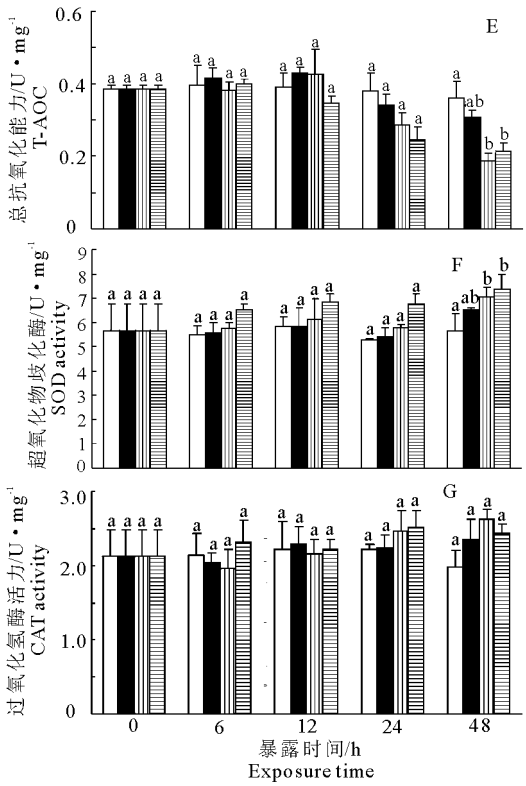
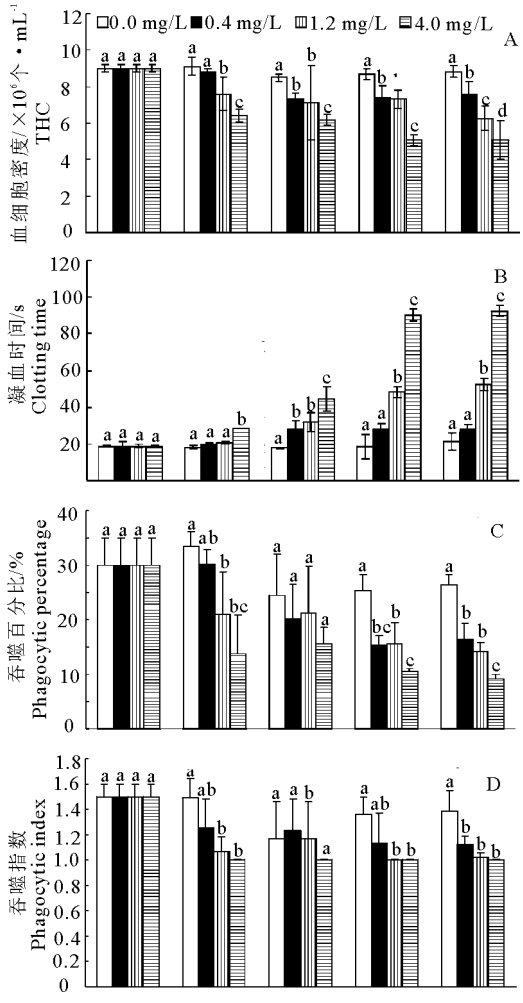


图 2　硫化物胁迫对日本沼虾的影响

Fig. 2　Effect of sulfide stress of *M. nipponense*



3　讨论

3.1　硫化物对日本沼虾的半致死浓度

在虾蟹类养殖过程中,硫化物是水体中常见的污染物。硫化物对体长为 7.26 mm 和 15.08 mm 的罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*) 96 h LC_{50}分别为 2.57 mg/L 和 4.20 mg/L(Jayamanne, 1992);中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*) 溞状幼体Ⅲ期(Z_3)、溞状幼体Ⅴ期(Z_5)和大眼幼体(M)的 96 h LC_{50}分别为 2.75、2.95 和 3.61 mg/L(石俊艳等,1999);雌性亲蟹 96 h LC_{50}为 3.09 mg/L(顾顺樟, 2007)。当

pH 8.1～8.3 时,体长为 20～25 mm 的绿尾对虾(*Metapenaeus dobsoni*)和印度对虾(*Penaeus indicus*)的硫化物 96 h LC_{50}分别为 378 μg/L 和 342 μg/L(Gopakumar & Kuttyamma,1996)。本试验中,日本沼虾的硫化物 96 h LC_{50}为 11.35 mg/L,表明其对硫化物的耐受性较强。

3.2 硫化物对日本沼虾血液免疫指标的影响

血细胞密度总是随着甲壳动物自身的生理状况及周围水体环境条件的改变而不断发生变化,常被用作甲壳动物健康状况的评定指标。本试验中,受硫化物胁迫的日本沼虾的 THC 随暴露时间的延长而降低,随硫化物浓度的上升而降低;至 48 h 时,0.4、1.2 和4.0 mg/L 组 THC 显著降低,分别为对照组的 85.71%、70.75% 和 57.48%。这与硫化物对日本囊对虾(*M. japonicus*)和凡纳滨对虾(*L. vannamei*)胁迫的结果一致,2 种虾分别暴露在硫化物为 0.525 mg/L 和 0.488 mg/L 的海水中 48 h 后,THC 降低了 40% 和 25%(Cheng et al, 2007;Hsu & Chen, 2007)。

血细胞主要有吞噬、细胞毒杀、凝血作用以及合成和释放酚氧化酶原系统等功能(Johansson et al, 2000)。受硫化物胁迫的日本沼虾 THC 显著降低,同时各处理组的血细胞吞噬百分比和吞噬指数降低。Cheng 等(2007)和 Hsu & Chen(2007)报道,硫化物胁迫引起日本囊对虾和凡纳滨对虾血细胞对溶藻胶弧菌的吞噬活力和清除效率显著降低。吞噬作用作为非特异性免疫的主要组成部分之一,是细胞内化、杀灭和消化入侵的微生物过程,也是细胞防御最普遍的反应。高浓度硫化物胁迫使沼虾的吞噬活力显著低于对照组,表明硫化物胁迫降低了日本沼虾的机体免疫力。

虾类的凝血是通过转谷氨酰酶(TGase)催化凝集蛋白(Clotting protein)聚合而完成的,这 2 种分子在虾类抵御微生物感染的免疫反应中有非常重要的作用(Maningas et al, 2008);机体免疫力下降或病原严重感染后凝血时间延长,甚至不能凝血(Yoganandhan et al, 2003);水环境中的污染物胁迫(多氯联苯)也会导致虾类凝血时间延长(Smith & Johnston,1992),但尚未见到硫化物胁迫对于虾类凝血时间的影响。本研究结果表明,硫化物胁迫下日本沼虾凝血时间延长,且硫化物浓度越高,暴露时间越长,趋势越明显。

3.3 硫化物对日本沼虾肌肉抗氧化能力的影响

T-AOC 是指机体淬灭自由基和抗氧化能力的总和,包括酶促与非酶促两个体系。酶促体系包括 SOD、CAT、谷胱甘肽过氧化物酶等抗氧化酶类;非酶促反应体系包括维生素、类胡萝卜素、氨基酸和金属蛋白等抗氧化剂。0.4 mg/L 和 1.2 mg/L 组沼虾在 6 h 和 12 h 时 T-AOC 略有升高,之后降低;4.0 mg/L组沼虾 T-AOC 随暴露时间的延长而降低,至 48 h,1.2 mg/L 和 4.0 mg/L组的T-AOC与对照组相比显著降低。低浓度硫化物组的沼虾在胁迫试验前期 T-AOC 升高,可能是由于硫化物对日本沼虾的胁迫作用使沼虾体内的活性氧含量增加,刺激酶促反应体系中各种酶活性的升高,从而提高了T-AOC。随着硫化物浓度的升高和作用时间的延长,产生过量活性氧,会对各种抗氧化酶活力产生部分抑制作用;另外,抗氧化剂在清除活性氧的同时,自身被消耗掉。由于抗氧化酶的产生或活力受到抑制以及抗氧化剂的消耗导致 T-AOC 下降,进而使体内积累了较多的活性氧而对日本沼虾产生毒害作用。

SOD 是生物体内非常重要的一种抗氧化酶,催化超氧阴离子(O_2^-)转化成 H_2O_2,使 O_2^- 保持在较低水平,以保护生物大分子不被氧化破坏。CAT 是抗氧化系统的终端酶,催化 H_2O_2 转化为 H_2O 和 O_2。SOD 和 CAT 的活力高低可以反映抗氧化体系活性氧清除机制的高低,也能从侧面反映体内活性氧水平。试验结果表明,受硫化物胁迫的沼虾的 SOD 和 CAT 活力与对照组相比均升高,且硫化物浓度越高,酶活力越高。至 48 h,1.2 mg/L 和 4.0 mg/L 组的 SOD 活力显著高于对照组,表现出明显的"毒性兴奋效应"。这与硫化物对日本囊对虾和凡纳滨对虾的胁迫试验中,高浓度硫化物胁迫组 48 h 后 SOD 活力显著升高的结果相一致(Cheng et al, 2007;Hsu & Chen, 2007);但在慢性胁迫下(硫化物浓度为 0.33 mg/L 和 1.0 mg/L),中华绒螯蟹 SOD 活性随硫化物暴露时间延长出现不同程度降低,与对照组显著差异甚至低于对照组,标志着抗氧化保护机制已受到明显损害(顾顺樟,2007)。

硫化物的毒性作用,使日本沼虾体内的 O_2^- 含量增加,酶活力相应提高,这样沼虾可以清除体内过多的 O_2^-,但同时也导致了 H_2O_2 的过量产生;而 H_2O_2 作为 CAT 的底物,少量增加时促进 CAT 活力的升高。O_2^- 的少量增加有助于增强机体免疫能

力,反之,过量增加则可能会对机体产生毒害作用(Munnoz et al, 2000)。

4　结论

日本沼虾对低浓度的硫化物有一定的耐受性,但硫化物在高浓度时,显著影响日本沼虾的存活率、THC、凝血时间、吞噬活力和抗氧化能力,降低了沼虾的免疫能力。因此,在人工养殖日本沼虾时,要保证硫化物的浓度保持在较低水平,以保证沼虾的养殖安全。本研究主要从个体、生化水平研究了短期硫化物胁迫对日本沼虾的免疫毒性影响,后续研究将应用抑制性消减杂交方法筛选出硫化物胁迫条件下差异表达的基因,用定量 PCR 方法分析硫化物胁迫在转录水平对这些基因的调控作用。

参考文献

陈佳荣. 1996. 水化学实验指导[M]. 北京:中国农业出版社: 243 – 244.

冯建彬, 李家乐, 程熙. 2008. 日本沼虾种质资源挖掘和保护研究进展[J]. 上海水产大学学报, 17(3): 371 – 376.

顾顺樟, 洪美玲, 陈立侨, 等. 2007. 不同 pH 下硫化物胁迫对中华绒螯蟹亲体卵巢发育的影响[J]. 中国水产科学, 14(4): 684 – 689.

顾顺樟. 2007. 硫化物对中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)雌性亲体胁迫效应的研究[D]. 上海:华东师范大学.

管越强, 俞志明, 宋秀贤. 2008. 主要环境因子对虾类免疫反应及疾病发生的影响[J]. 海洋环境科学, 27(5): 554 – 561.

管越强, 王慧春, 李利,等. 2009. 硫化物胁迫对日本沼虾呼吸代谢和能量代谢酶的影响[J]. 生态环境学报, 18(6):2017 – 2022.

沈萍, 范秀荣, 李广武. 2005. 微生物学实验(第 3 版)[M]. 北京:高等教育出版社.

石俊艳, 刘中, 丁茂昌, 等. 1999. 亚硝酸盐、硫化物与氨对河蟹幼体的急性毒性试验[J]. 辽宁大学学报, 26(1): 92 – 96.

Bradford M M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein – dye binding[J]. Analytical Biochemistry, 72(7): 248 – 254.

Cheng S Y, Hsu S W, Chen J C. 2007. Effect of sulfide on the immune response and susceptibility to *Vibrio alginolyticus* in the kuruma shrimp *Marsupenaeus japonicus*[J]. Fish & Shellfish Immunology, 22(1 – 2): 16 – 26.

Gopakumar G, Kuttyamma V J. 1996. Effect of hydrogen sulphide on two species of penaeid prawns *Penaeus indicus* (H. Milne Edwards) and *Metapenaeus dobsoni* (Miers)[J]. Environmental Contamination and Toxicology, 57(5): 824 – 828.

Góth L. 1991. A simple method for determination of serum catalase activity and revision of reference range[J]. Clinical Chimia Acta, 196(2 – 3):143 – 151.

Hsu S W, Chen J C. 2007. The immune response of white shrimp *Penaeus vannamei* and its susceptibility to *Vibrio alginolyticus* under sulfide stress[J]. Aquaculture, 271(1 – 4): 61 – 69.

Jayamanne S C. 1992. Toxcity of hydrogen sulphide to juveniles of *Macrobrachium rosenbergii*[J]. Journal of the National Science Council of Sri Lanka, 20(2): 192 – 199.

Johansson M W, Keyser P, Sritunyalucksana K, et al. 2000. Crustacean haemocytes and haematopoiesis[J]. Aquaculture, 191(1 – 3): 89 – 107.

Jussila J, McBride S, Jago J, et al. 2001. Hemolymph clotting time as an indicator of stress in western rock lobster (*Panulirus cygnus* George)[J]. Aquaculture, 199(1 – 2): 185 – 193.

Kang J C, Matsuda O, Imamura N. 1995. Avoidance and behavior of prawn *Macrobrachium nipponense* by oxygen depletion and hydrogen sulfide[J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 61(6): 827 – 831.

Maningas M B B, Kondo H, Hirono I, et al. 2008. Essential funetion of transglutaminase an clotting protein in shrimp immunity[J]. Moleeular Immunology, 45:1269 – 1275.

Munñoz M, Cedenño R, Rodriguez J, et al. 2000. Measurement of reactive oxygen intermediate production in haemocytes of the penaeid shrimp, *Penaeus vannamei*[J]. Aquaculture, 191(1 – 3): 89 – 107.

Smith V J, Johnston P A. 1992. Differential haemotoxic effect of PCB congeners in the common shrimp, *Crangon crangon*[J]. Comp Biochem Physiol, 101C(3): 641 – 649.

Smith V J, Johnston P A. 1992. Differential haemotoxic effect of PCB congeners in the common shrimp, *Crangon crangon*[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C, 101(3): 641 – 649.

Söderhäll K, Smith V J. 1983. Seperation of hemocyte populations of *Carcinus maenus* and other marine decapods, and prophenoloxidase distribution[J]. Devel Comp Immunol, 7(2): 229 – 239.

Yoganandhan K, Thirupathi S, Sahul Hameed A S. 2003. Biochemical, physiological and hematological changes in white spot syndrome virus – infected shrimp, *Penaeus indicus*[J]. Aquaculture, 221(1 – 4):1 – 11.

(责任编辑　万月华)

Effects of Acute Sulfide Stress on Immune Responses and Antioxidant System of *Macrobrachium nipponense*

GUAN Yue-qiang, PEI Su-rui, LI Ze-jian

(School of Life Sciences, Hebei University, Baoding 071002, China)

Abstract: Effects of acute sulfide stress on survival, immune responses and antioxidant system of *Macrobrachium nipponense* were studied with *M. nipponense* immersed in the sulfide solution with concentration of 0.4, 1.2 and 4.0 mg/L respectively. The results showed that LC_{50} of sulfide to *M. nipponense* was 22.5, 15.2, 12.5 and 11.35 mg/L respectively in 24h, 48 h, 72 h and 96 h. The total haemocyte count (THC) and phagocytic activity (including phagocytic percentage and phagocytic index) of the haemocyte decreased with sulfide concentrations increasing, and THC of 0.4, 1.2 and 4.0 mg/L groups decreased to 85.71%, 70.75% and 57.48% of the control group up to 48 h, respectively ($P<0.05$). Compared with the control group, coagulation time of the experimental groups was longer, with 1.2 mg/L and 4.0 mg/L groups significantly longer than the control group from 12 h and 6 h, respectively. The total antioxidant capability (T-AOC) of *M. nipponense* muscle decreased with the increase of sulfide concentrations, 1.2 mg/L and 4.0 mg/L groups, significantly lower than that of control group ($P<0.05$) up to 48 h. Superoxide dismutase (SOD) and catalase (CAT) activities increased, with SOD activities of *M. nipponense* exposed to 1.2 mg/L and 4.0 mg/L sulfide up to 48 h significantly higher than that of the control. The result showed that *M. nipponense* had resistance to low concentration of sulfide to some degree. With concentration of sulfide excessively being higher, the immune system of *M. nipponense* was inhibited and its antioxidant system was significantly affected.

Key words: *Macrobrachium nipponense*; sulfide; LC_{50}; immune response; antioxidant capacity