

中华绒螯蟹在不同 pH 下氨氮排泄和血淋巴含氮成分的变化

于 敏¹ 王顺昌² 卢 韞²

(1. 安徽大学生命科学学院, 合肥 230039; 2. 淮南师范学院化学生物系, 淮南 232001)

摘要:为研究不同环境 pH 对中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 氮排泄的影响, 将性成熟的中华绒螯蟹置于 pH 4.5、6.0、7.5、9.0 和 10.5 的环境中, 24h 后测定血淋巴中不同含氮成分的变化。结果表明, 环境 pH 从 4.5 到 9.0, 中华绒螯蟹的氨氮排泄无显著变化, 当 pH 升高到 10.5 时, 氨氮排泄受到显著抑制; 同时环境 pH 的升高还导致血淋巴 pH 上升, 在 pH 10.5 时, 血淋巴氨氮、尿素氮和尿酸的含量也显著上升分别达到 $(5.90 \pm 0.61) \mu\text{g/mL}$ 、 $(2.47 \pm 0.14) \mu\text{g/mL}$ 和 $(0.096 \pm 0.002) \mu\text{mol/mL}$ 。实验结果还显示, 高 pH 环境影响中华绒螯蟹的蛋白质和氨基酸的代谢水平, 降低血淋巴总蛋白和血蓝蛋白的含量, 而游离氨基酸含量显著增加, 它们的变化可能同机体的氨中毒解毒机制有关。

关键词: 中华绒螯蟹; pH; 氨氮; 血淋巴

中图分类号: Q958.11 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2008)01-0062-06

中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 是我国重要的淡水经济蟹类, 在各地广泛养殖。其养殖适宜温度为 15—25℃, 最适 pH 7.5—pH 8.5, 目前普遍推行的养殖模式为池塘精养^[1]。在池塘养殖条件下, 水体交换受到一定程度的限制, 白天浮游植物的光合作用可使池水 pH 升高到 10.2 以上, 养殖过程中普遍利用生石灰消毒也可使池水 pH 急剧升高。夜间动植物的呼吸作用可导致池水 pH 降低到 6.6 以下^[2], 中国一些地区的酸雨频繁活动会导致水体 pH 下降到 5.0 以下^[3]。

淡水甲壳类对环境 pH 非常敏感, 环境 pH 的变化影响甲壳类的存活率、生长特性、离子平衡和外骨骼的矿化作用^[4-6]。低 pH 环境对中华绒螯蟹幼体发育有严重的影响^[7]。同其他甲壳类动物一样, 中华绒螯蟹为排氮动物, 氮代谢终产物主要以氨氮 ($\text{NH}_3^+/\text{NH}_4^+$) 的形式排出, 也排泄少量尿素氮、尿酸和氨基酸等。甲壳类的氮排泄受到内源和外源因素的双重影响, 影响甲壳类氮排泄的内源因子包括蜕皮周期、营养状况、个体大小和发育阶段等, 外源因子包括温度、盐度、pH、水体氨氮水平等^[8]。动物的氨氮排泄对环境具有高度的依赖性^[9], 中华绒螯蟹幼体的氨氮排泄随着环境温度的上升而增加, 随着水体盐度的增加而降低^[1, 10]。

环境的 pH 对罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 的氮排泄具有显著影响, 在低 pH 条件下, 氨氮和总氮排泄增加, 而高 pH 条件下, 尿素氮、硝态氮和亚硝态氮的排泄量增加, 氨氮排泄受到一定程度的抑制^[11]。环境因子对甲壳类氮排泄的影响还表现在, 它们直接影响了甲壳类血淋巴的构成, 如短沟对虾 (*Penaeus paulensis*) 的血淋巴构成受到环境氨氮、硝态氮、亚硝态氮和盐度的广泛影响^[12-14]。但目前有关环境因子对淡水甲壳类氮排泄和血淋巴的影响研究很少。本文研究了环境 pH 对中华绒螯蟹氨氮排泄的影响, 并探讨了在不同 pH 条件下血淋巴含氮物质的组成。

1 材料与方法

1.1 实验材料 成熟的中华绒螯蟹雌蟹 (均重 $(112.1 \pm 5.4) \text{g}$) 购自安徽合肥市郊的池塘。将购回的蟹养于经充分曝气的自来水中, 在实验室驯化 10d, 实验前 2 天和试验过程中均不投喂饲料, 以减少摄食对氮排泄的影响。

1.2 试验用水 所有试验用水均为充分曝气的自来水, 水体 pH 用 2mol/L H_3PO_4 或 1mol/L NaOH 分别调节至 4.50、6.00、7.50、9.00 和 10.50。试验过程中水体 pH 波动 0.2—0.5 单位, 每 6h 进行一次调节。

收稿日期: 2006-12-20; 修订日期: 2007-04-26

基金项目: 安徽省教育厅自然科学基金 (2002kj582) 资助

作者简介: 于敏 (1965—), 女, 汉族, 安徽太和县人; 副教授; 主要从事比较生理学方面的研究

通讯作者: 于敏, E-mail: yuminwy@yahoo.com.cn

1.3 试验过程 将蟹单个置于 1L 的试验溶液中,分别在试验开始和 24h 时,取水样 10mL,测定水体氨氮含量的变化,另设空白对照 1 组,每组设置 5 个平行,如上述时间取样测定。当试验蟹暴露 24h 后,将蟹取出,用 7 号注射器从第五步足基部抽取 3.0mL 血淋巴,并分为三份,其中一份 500μL 立即用预先校正的 PHS-3C 型酸度计测定血淋巴的 pH。1000μL 加入 3mL 冰冷的三氯乙酸(TCA),4℃下以 11000r/min 离心 15min,取上清液测定血淋巴氨氮和尿素氮含量。其余样品在 -40℃保存,用于测定血淋巴尿酸、总蛋白、氧合血红蛋白和总游离氨基酸含量。

1.4 样品分析 水中和血淋巴中的氨氮测定采用酚-次氯酸盐分光光度法,血淋巴尿素氮测定采用二乙酰-肟法(南京建成)。为测定血淋巴尿酸、总蛋白、氧合血红蛋白和总游离氨基酸的含量,将血淋巴解冻并以 9000r/min 于 4℃下离心 15min,取 100μL 上清液加入 3,5-二氯-2-羟苯磺酸盐溶液,形成的化合物可以在 520nm 下进行比色测定。血红蛋白的测定采用紫外分光光度法,将 30μL 上清液溶解于 2970μL 蒸馏水中,混匀后在直径 1cm 石英比色皿内,于 335nm 波长下读取吸光度。利用消光系数 $E_{\text{mmol}} = 17.26$ 和 $E_{1\%} = 2.83$ 计算血红蛋白的含量^[15]。血淋巴总蛋白测定采用考马斯亮蓝法测定;总游离氨基酸测定采用茚三酮法。氨氮分泌速率的测定以每小时每克个体分泌氨氮的量表示:

$$J_{\text{Amm}} = \frac{V \times (C_{\text{end}} - C_{\text{beg}})}{t \times W}$$

C_{beg} 和 C_{end} 分别为实验开始和结束时水中氨氮含量, V 为实验水体积, t 为实验时间, W 为蟹体重。

1.5 统计分析 所有数据均以平均值 $\pm$ 标准差 (mean $\pm$ sd) 表示,方差分析使用 Duncan 多重比较,采用 SPSS11.5 for Windows 软件进行, $p < 0.05$ 表示差异显著。

2 结果与分析

2.1 氨氮排泄

环境 pH 的变化对中华绒螯蟹的氨氮排泄有显著影响(图 1)。在 pH 为 4.0 时,氨氮排泄率最高,平均氨氮排泄率为 $(9.12 \pm 1.55) \mu\text{g/g} \cdot \text{h}$,但同 pH 6.0、pH 7.5 和 pH 9.0 无显著差异 ($p > 0.05$),但当 pH 上升到 10.5 时,氨氮的排泄率显著降低,仅为 $(1.52 \pm 0.3) \mu\text{g/g} \cdot \text{h}$,仅相当于 pH 6.0 的 17%,表明环境中高 pH 可显著抑制中华绒螯蟹的氨氮排泄

速率。

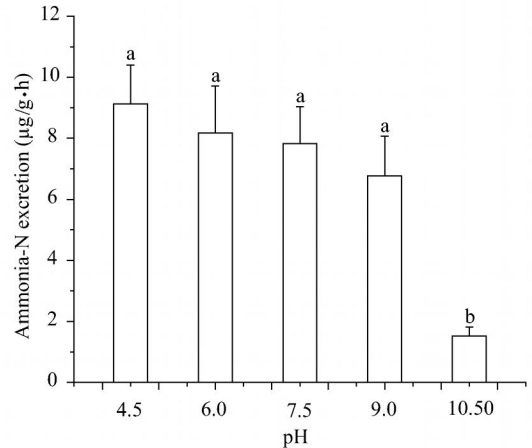


图 1 中华绒螯蟹在不同 pH 下的氨氮排泄

Fig. 1 Ammonia excretion of *E. sinensis* at different environmental pH
n = 5, 字母不同表示具有显著差异 ($p < 0.05$), 下同
n = 5, Treatment bars with different letters are significantly different ($p < 0.05$), the same as follows

2.2 血淋巴 pH 的变化

环境 pH 对中华绒螯蟹血淋巴 pH 有一定影响(图 2),从 pH 4.5 到 9.0,血淋巴 pH 比较稳定,各实验组无显著差异,但当环境 pH 上升到 10.5 时,血淋巴 pH 迅速升高至 8.2。这说明环境中高 pH 对中华绒螯蟹体液酸碱平衡有显著的影响。

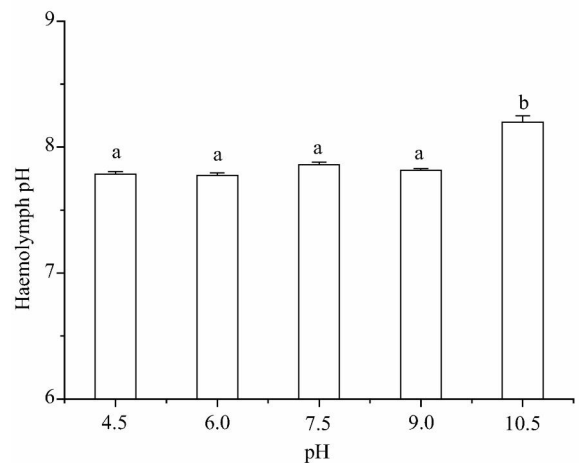


图 2 环境中不同 pH 对血淋巴 pH 的影响

Fig. 2 Effects of ambient pH to haemolymph pH of *E. sinensis*

2.3 血淋巴氨氮、尿素氮和尿酸氮

血淋巴氨氮浓度随环境的 pH 升高而增加(图 3A)。在 pH 4.5 时,血淋巴氨氮含量最低,当 pH 上升到 10.5 时,血淋巴氨氮含量最高,达 $(5.90 \pm 0.61) \mu\text{g/mL}$,是 pH 4.5 的 3.2 倍。从 pH 6.0—pH 9.0,血淋

巴氨基水平维持在相对稳定的水平,但均高于 pH 4.5 而低于 pH 10.5 时 ($p < 0.05$, 图 3A)。血淋巴尿素氮的变化也随环境 pH 的变化而变化,当 pH 大于 9.0 时,血淋巴中的尿素氮含量显著高于 pH 4.5—pH 7.5

时 ($p < 0.05$, 图 3B)。血淋巴尿酸氮含量在 pH 4.5 时为 $(0.096 \pm 0.002) \mu\text{mol/mL}$, 显著低于其他 pH 水平,当 pH 升高到 10.5 时,血淋巴尿酸氮水平达到最大值,是 pH 4.5 时的 1.8 倍 ($p < 0.05$, 图 3C)。

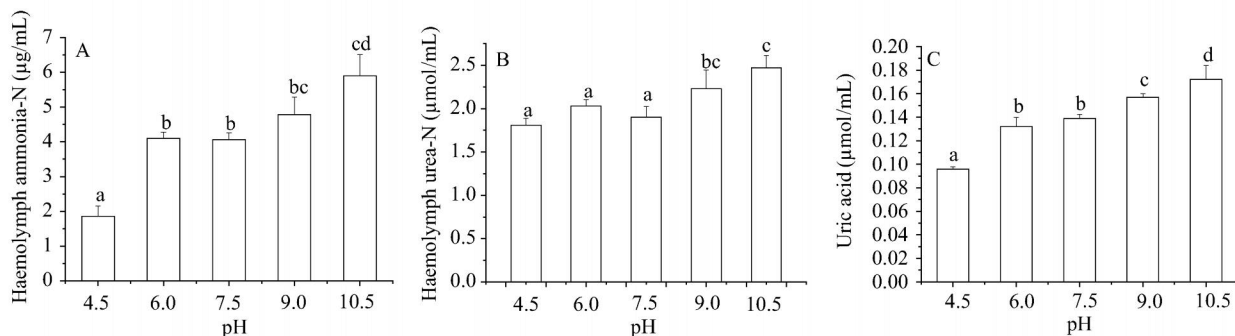


图3 不同环境 pH 对血淋巴氨氮(A)、尿素氮(B)和尿酸(C)的影响

Fig. 3 Effects of environmental pH on haemolymph ammonia nitrogen (A), urea (B) and urate (C) content of *E. sinensis*

2.4 血淋巴总蛋白、氧合血蓝蛋白和总游离氨基酸含量

从 pH 4.5 到 pH 7.5, 血淋巴总蛋白的含量变化并不明显, 但当 pH 升高到 9.0 以上时, 血淋巴总蛋白水平显著降低 ($p < 0.05$, 图 4A)。氧合血蓝蛋白的含量波动较小, 从 pH 4.5 到 pH 9.0, 血蓝蛋白的含量无显著变化, 在 pH 10.5 时, 血蓝蛋白含量显著降低 ($p < 0.05$, 图 4B)。从 pH 4.5 到 pH 7.5, 血淋巴游离氨基酸含量无显著变化, 在 pH 9.0 时总游离氨基酸水平达到最高, 当 pH 继续上升到 10.5 时, 总游离氨基酸含量又有所降低, 但仍高于 pH 4.5—pH 7.5 时(图 4C)。

3 讨论

水体 pH 对甲壳类的生理活动有广泛影响, 如蜕皮周期、甲壳矿化过程、离子平衡和血淋巴酸碱度等。甲壳类含氮废物主要以氨态氮的形式排泄。在正常生理条件下, 甲壳类血淋巴中氨氮含量较环境高, 主要以非离子态的氨 (Non-ionic, NH_3) 和离子态的氨 (Ionic form, NH_4^+) 两种形式存在, 其中 NH_3 主要以扩散方式通过鳃排出, 而离子态氨 (NH_4^+) 的排泄主要通过 $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ 离子交换的方式透过鳃上皮细胞, 这一过程需要 Na^+ , K^+ -ATPase 的参与^[16]。

根据图 1, pH 对中华绒螯蟹的氨氮排泄影响较小, 从 pH 4.5 到 pH 9.0, 氨氮的排泄速率没有显著的改变。环境 pH 对水生生物氨氮排泄的影响之一是改变水体的离子态氨和非离子态氨的比例, 根据

Henderson-Hasselbalch 方程, 当 pH 降低时, 水体非离子态氨比例下降而离子态氨比例上升, 从而增加了非离子态氨向体外扩散的速率; 在高 pH 条件下, 水体非离子态氨的比例上升而离子态氨比例下降, 从而使扩散速率降低^[17]。根据图 1 可以看出, 低 pH 对中华绒螯蟹的氨氮排泄无显著影响, 主要原因是在试验过程中, 环境水体的氨氮维持在较低水平, 并且血淋巴 pH 保持在相对稳定状态, 这样, 尽管水体 pH 值的改变对体外离子态氨和非离子态氨比例有一定影响, 但体内离子态氨和非离子态氨比例保持基本稳定, 氨氮排泄速率也保持在相对稳定的水平。当 pH 上升到 10.5 以上时, 由于血淋巴 pH 的升高, 导致血淋巴非离子态氨比例升高, 氨氮的排出主要依赖于扩散作用, 从而导致氨氮排泄速率下降。罗氏沼虾 (*M. rosenbergii*) 在高 pH 下, 鳃 Na^+ , K^+ -ATPase 活性显著的降低, 以 $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ 离子交换方式的氨氮排泄受到一定程度的抑制^[11]。当 pH 升高时, 虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 鳃部依赖 Na^+ , K^+ -ATPase 的 $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ 速率降低, 从而降低了氨氮的排泄速率^[18], 本实验具有类似的结果。这表明从甲壳类到鱼类, 环境 pH 对氨氮排泄速率影响的机制可能是一致的。

环境 pH 对血淋巴酸碱平衡的影响主要体现在, 高 pH 时, 血淋巴 pH 显著升高, 产生碱中毒。Schmitt 等报道, 在环境氨氮水平达到 20mmol/L 时, *P. paulensis* 血淋巴 pH 值呈现显著升高的趋势, 并对其氨氮排泄速率和成分造成显著影响^[12]。环境 pH 显著影响中华绒螯蟹血淋巴氨氮水平, 高 pH 暴露

导致血淋巴氨氮水平升高,说明高 pH 抑制了氨氮排泄,导致氨氮在体内积累。除 pH 外,其他环境因素如氨氮水平、干燥暴露、盐度升高等^[12-14],也会导致氨氮在体内的积累。甲壳类的尿素生成主要来源于鸟氨酸循环和尿酸的分解,而後者的形成主要源于核苷酸的降解。鸟氨酸循环的关键酶——精氨酸酶活性见于许多甲壳类鳃、肝胰脏和肌肉中^[19,20]。实验结果证实,环境 pH 对中华绒螯蟹血淋巴尿素氮水平有显著影响。在 pH 4.5 时,血淋巴氨氮、尿素氮和尿酸氮的含量较 pH 7.5 时低,当 pH 升高到 10.5 时,它们的含量显著上升,这可能与环境 pH 影响氨氮的排泄相关联,即在低 pH 下,含氮废物主要以氨氮的形式有效排出体外,相关代谢废物不会在体内积累,当 pH 升高到一定程度时,由于

氨氮的主动运输和被动扩散受到限制^[11],导致血淋巴氨氮含量的升高,机体在此情况下启动解毒机制,将毒性较强的氨氮转变为毒性相对较弱的尿素氮和尿酸,从而导致血淋巴尿素氮水平的升高。类似的结果见于日本囊对虾 (*Marsupenaeus japonicus*),在环境盐度升高时,由于氨氮排泄受到抑制,血淋巴氨氮水平和尿素氮水平均升高^[13],表明尿素氮的合成对维持甲壳类正常氮代谢具有非常重要的作用。血淋巴尿酸氮积累见于多种甲壳类动物,Regnault 认为^[21],甲壳类血淋巴的尿酸积累是由于尿酸分解为尿素的速率降低造成的。但 Linton 等认为^[22],甲壳类尤其是蟹类具有从头合成 (*de novo*) 尿酸的能力,尤其当氨氮排泄受到如离开水体、高渗环境等影响而降低时,尿酸氮的积累更加显著。

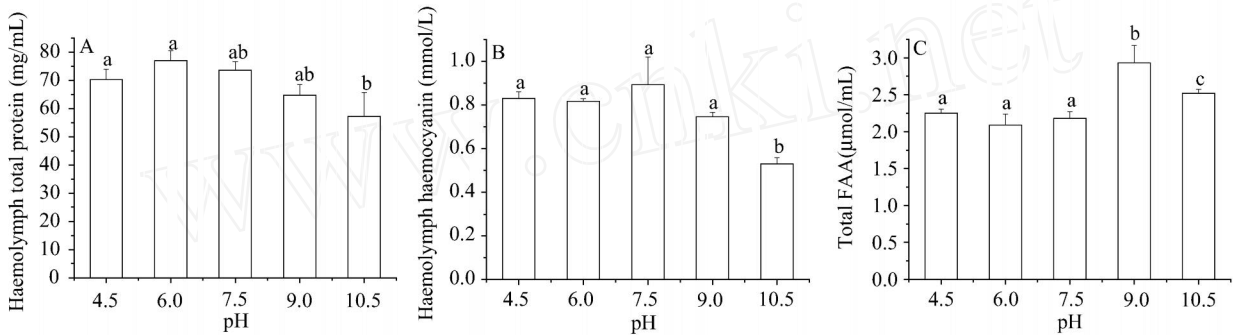


图 4 不同 pH 对中华绒螯蟹血淋巴总蛋白(A)、血蓝蛋白(B)和游离氨基酸(C)的影响

Fig. 4 Effects of ambient pH on haemolymph total protein (A), Haemocyanin (B) and total FAA (C) of *E. sinensis*

甲壳类血淋巴总蛋白和氧合血蓝蛋白的水平反映了机体的营养状态,温度、环境氨氮水平和蜕皮周期等均会影响它们的含量。图 4A、4B 显示,从 pH 4.5—pH 9.0,血淋巴总蛋白和氧合血蓝蛋白的水平保持稳定,但当 pH 上升到 10.5 时,二者的含量显著下降。Chen 等认为,中国对虾 (*Penaeus chinensis*) 和斑节对虾 (*Penaeus monodon*) 在高环境氨氮下,血淋巴总蛋白和氧合血蓝蛋白含量的降低同机体的渗透调节有关^[14],由于 pH 的改变不会影响到水体渗透压,它们的降低很可能是由于机体蛋白质代谢速率改变所导致。高 pH 下血淋巴游离氨基酸含量的增加与机体的解毒作用有关,将有毒的氨氮合成为无毒的氨基酸,是动物重要的解除氨中毒的方式,这种现象见于多种甲壳类动物,如岸蟹 (*Carcinus maenas*) 可以将体内过剩的氨氮贮藏在血淋巴和肌肉中,导致机体的游离氨基酸含量增加^[23]。当中华绒螯蟹暴露于高 pH 环境下时,同样观察到血淋巴游离氨基酸水平的上升。这表明,不同环境因子对甲壳类

氨氮排泄及其代谢过程的影响具有相似的反应机制。

总之,环境中高 pH 降低中华绒螯蟹的氨氮排泄速率、增加血淋巴 pH 和含氮代谢废物的组成与含量,使血淋巴总蛋白、血蓝蛋白含量降低,同时总游离氨基酸的含量显著增加。

参考文献:

- [1] Wen X B, Chen L Q, Ai C X, Zhou Z L. Effects of temperature and body weight on fasting metabolism of the juvenile *Eriocheir sinensis* [J]. *Acta Hydrobiologia Sinica*, 2003, 27 (4) : 357—361 [温小波, 陈立桥, 艾春香, 周忠良. 温度和体重对中华绒螯蟹幼蟹饥饿代谢的影响. 水生生物学报, 2003, 27 (4) : 357—361]
- [2] Boyd C E. Water quality in ponds for aquaculture [M]. Birmingham: Birmingham Publishing AL. 1990, 482
- [3] Feng Y Q. Summary of acid rain 's S482status, causes of natural formation and counter measures research in China [J]. *Yunnan Geographic Environment Research*, 2004, 16 (1) : 25—28 [冯砚青. 中国酸雨状况和自然成因综述及防治对策探究. 云南地理环境研究, 2004, 16 (1) : 25—28]

- [4] Zanotto F P, Wheatly M G. The effect of ambient pH on electrolyte regulation during the postmolt period in freshwater crayfish *Procambarus clarkii* [J]. *J Exp Biol*, 1993, **178**: 1—49
- [5] Allan GL, Maguire GB. Effects of pH and salinity on survival, growth and osmoregulation in *Penaeus monodon* Fabricius [J]. *Aquaculture*, 1992, **107**: 33—47
- [6] Morgan D O, McMahon B R. Acid tolerance and effects of sublethal acid exposure on ion regulation and acid-base status in two crayfish *Procambarus clarkii* and *Orconectes rusticus* [J]. *J Exp Biol*, 1982, **97**: 241—252
- [7] Jin S D, Zhao X H. Influence of low temperature, salinity-lowering and pH on metamorphosis of Chinese mitten-handed crab [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2001, **16**: 249—256 [金送笛, 赵晓红. 低温、降盐度及 pH 对中华绒螯蟹幼体变态的影响. 大连水产学院学报, 2001, **16**: 249—256]
- [8] Regnault M. Nitrogen excretion in marine and freshwater *Crustacea* [J]. *Biol Rev*, 1987, **62**: 1—24
- [9] Wright P A. Nitrogen excretion: three end products, many physiological roles [J]. *J Exp Biol*, 1995, **198**: 273—281
- [10] Pequeux A, Gilles R. Na^+ fluxes across isolated perfused gills of the Chinese crab *Eriocheir sinensis* [J]. *J Exp Biol*, 1981, **92**: 173—186
- [11] Chen J C, Kou C T. Nitrogenous excretion in *Macrobrachium rosenbergii* at different pH levels [J]. *Aquaculture*, 1996, **144**: 155—164
- [12] Schmitt A S C, Santos E A. Haemolymph nitrogenous constituents and nitrogen efflux rates of juvenile shrimp, *Penaeus paulensis* (Perez-Farfante), exposed to ambient ammonia-N [J]. *Aquaculture Research*, 1999, **30**: 1—11
- [13] Lee W C, Chen J C. Hemolymph ammonia, urea and uric acid levels and nitrogenous excretion of *Marsupenaeus japonicus* at different salinity levels [J]. *J Exp Mar Biol Ecol*, 2003, **288**: 39—49
- [14] Chen J C, Chen C T, Cheng S Y. Nitrogen excretion and changes of hemocyanin, protein and free amino acid levels in the hemolymph of *Penaeus monodon* exposed to ambient ammonia-N at different salinity levels [J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 1994, **110**: 85—94
- [15] Nickerson K W, Van Holde K E. A comparison of molluscan and arthropod hemocyanin. I. Circular dichroism and absorption spectra [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1971, **39B**: 855—872
- [16] Weihrauch D, Becker W, Postel U, et al. Active excretion of ammonia across the gills of the shore crab *Carcinus maenas* and its relation to osmoregulatory ion uptake [J]. *J Comp Physiol*, 1998, **168B**: 364—376
- [17] Kormanik G A, Cameron J N. Ammonia excretion in the seawater blue crab (*Callinectes sapidus*) occurs by diffusion, and not $\text{Na}^+/\text{NH}_4^+$ exchange [J]. *J Comp Physiol*, 1981, **141B**: 457—462
- [18] Wright P A, Wood C M. An analysis of branchial ammonia excretion in the freshwater rainbow trout: Effects of environmental pH change and sodium uptake blockade [J]. *J Exp Biol*, 1985, **114**: 329—353
- [19] Hanlon D P. The distribution of arginase and urease in marine invertebrates [J]. *Comp Biochem Physiol*, 1975, **52B**: 261—264
- [20] Chen J C, Chen J M. Arginase specific activity and nitrogenous excretion of *Penaeus japonicus* exposed to elevated ambient ammonia [J]. *Mar Ecol Prog Ser*, 1997, **153**: 197—202
- [21] Regnault M. Effect of air exposure on nitrogen metabolism in the crab *Cancer pagurus* [J]. *J Exp Zool*, 1992, **264**: 372—380
- [22] Linton S M, Greenaway P. Urate deposits in the gecarcinid land crab *Gecarcoidea natalis* are synthesised de novo from excess dietary nitrogen [J]. *J Exp Biol*, 1997, **200**: 2347—2354
- [23] Durand F, Chausson F, Regnault M. Increases in tissue free amino acid levels in response to prolonged emersion in marine crabs: an ammonia-detoxifying process efficient in the intertidal *Carcinus maenas* but not the subtidal *Necora puber* [J]. *J Exp Biol*, 1999, **202**: 2191—2202

AMMONIA EXCRETION AND HEAMOLYMPH NITROGENOUS CONTENTS OF MITTEN CRAB (ERIOCHEIR SINENSIS) AT DIFFERENT ENVIRONMENTAL pH

YU Min¹, WANG Shun-Chang² and LU Yun²

(1. School of Life Science, Anhui University, Anhui 230039; 2. Department of Chemistry and Biology, the Normal College of Huainan, Huainan 232001)

Abstract: Crustacean nitrogenous excretion was easily affected by environmental factors, such as ambient ammonia, salinity and pH. In order to investigate the effects of pH on ammonia excretion and haemolymph nitrogenous contents of Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*), matured female crabs were exposed to pH 4.5, 6.0, 7.5, 9.0 and 10.5 for 24h, the ammonia excretion rate and haemolymph nitrogenous contents were determined after exposure. The results showed that there was no significant difference of the ammonia excretion of *E. sinensis* from pH 4.5 to pH 9.0, but the inhibit effects on the ammonia excretion were observed at pH 10.5 ($p < 0.05$). The haemolymph pH kept relatively constant at the levels of $(7.79 \pm 0.02) - (7.82 \pm 0.01)$ from pH 4.5 to pH 9.0, but increased significantly to 8.2 ± 0.05 when exposed to pH 10.5 ($p < 0.05$). The content of haemolymph ammonia, urea and urate were also affect by environmental pH. The content of haemolymph ammonia increased from $(4.06 \pm 0.2) \mu\text{g/mL}$ at pH 7.5 to $(5.90 \pm 0.61) \mu\text{g/mL}$ at pH 10.5 and decreased to $(1.86 \pm 0.3) \mu\text{g/mL}$ at pH 4.5. The haemolymph urea and urate also affected by environmental pH, the content of urea and urate increased from $(1.9 \pm 0.12) \mu\text{mol/mL}$ and $(0.139 \pm$

0.003) $\mu\text{mol}/\text{mL}$ at pH 7.5 to $(2.47 \pm 0.14) \mu\text{mol}/\text{mL}$ and $(0.172 \pm 0.012) \mu\text{mol}/\text{mL}$ at pH 10.5, respectively. At pH 4.5, the concentrations of haemolymph were $(1.81 \pm 0.08) \mu\text{mol}/\text{mL}$ and $(0.096 \pm 0.002) \mu\text{mol}/\text{mL}$, significantly lower than that of pH 7.5. The high pH exposure also affected the metabolisms of protein and amino acids. The total haemolymph protein and haemocyanin concentrations exhibited unchanged from pH 4.5 to pH 9.0, but decreased significantly at the pH 10.5. The content of haemolymph protein and haemocyanin were $(76.94 \pm 3.08) \text{mg}/\text{mL}$ and $(0.89 \pm 0.01) \text{mmol}/\text{mL}$ at pH 7.5, decreased to $(57.18 \pm 8.49) \text{mg}/\text{mL}$ and $(0.53 \pm 0.03) \text{mmol}/\text{mL}$ at pH 10.5, respectively. In contrast, the total haemolymph free amino acids increased significantly at pH 10.5 ($p < 0.05$). The results indicated that exposure *E. sinensis* to high environmental pH caused decrease in ammonia excretion rates, and elevated the contents of haemolymph ammonia, urea, urate and total free amino acids, which might be contributed to the detoxification of ammonia.

Key words: *Eriocheir sinensis*; pH; Ammonia nitrogen; Haemolymph

www.cnki.net