

亚硝酸盐氮胁迫对罗非鱼 (GIFT *Oreochromis niloticus*) 血清非特异性免疫酶活性的影响

陈家长^{1,2}, 臧学磊², 孟顺龙^{1,2}, 瞿建宏¹,
胡庚东¹, 宋超¹, 范立民¹, 裘丽萍¹

1. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 农业部长江下游渔业资源环境科学观测实验站,

中国水产科学研究院内陆渔业生态环境和资源重点开放实验室, 江苏 无锡 214081; 2. 南京农业大学无锡渔业学院, 江苏 无锡 214081

摘要: 试验设置了不同浓度亚硝酸盐氮 (空白对照、0.75 mg·L⁻¹、1.50 mg·L⁻¹、3.00 mg·L⁻¹ 和 5.00 mg·L⁻¹), 研究了亚硝酸盐氮胁迫对罗非鱼 (GIFT *Oreochromis niloticus*) 血清非特异性免疫酶 (溶菌酶、碱性磷酸酶、补体 C₃) 活性的影响。结果表明: 罗非鱼血清碱性磷酸酶、溶菌酶、补体 C₃ 活性均呈现出随亚硝酸盐氮浓度升高而降低的趋势, 且当亚硝酸盐氮浓度小于 1.50 mg·L⁻¹ 时, 罗非鱼血清碱性磷酸酶、溶菌酶、补体 C₃ 活性与对照组相比差异不显著 ($P>0.05$), 说明低于 1.50 mg·L⁻¹ 的亚硝酸盐氮不会对罗非鱼机体免疫力产生显著影响; 而高于 3.00 mg·L⁻¹ 的亚硝酸盐氮胁迫能够显著 ($P<0.05$) 降低罗非鱼血清碱性磷酸酶、溶菌酶、补体 C₃ 活性, 最大下降率分别达到 31.75%、27.40%、14.43%, 从而显示出高浓度亚硝酸盐氮 (>3.00 mg·L⁻¹) 能够对罗非鱼机体产生强烈的氧化胁迫和免疫损伤, 导致机体免疫力下降, 增加罗非鱼对致病菌的易感性。本研究认为, 3.00 mg·L⁻¹ 可能是亚硝酸盐氮胁迫引起罗非鱼机体免疫力显著降低的阈值。

关键词: 罗非鱼; 亚硝酸盐氮; 免疫力; 非特异性免疫酶

中图分类号: X171.5

文献标识码: A

文章编号: 1674-5906 (2012) 05-0897-05

罗非鱼, 俗称非洲鲫鱼, 隶属于鲈形目、鲈形亚目、丽鱼科、罗非鱼属, 因其具有生长快、食性杂、抗病力强、无肌间刺等优点, 罗非鱼被联合国粮农组织向全世界推广养殖。在我国南方各省, 罗非鱼的养殖产量已占到世界总产量的 50% 以上^[1]。然而, 近年来, 海豚链球菌病等疾病的爆发给罗非鱼产业造成了严重损失。海豚链球菌病的发生除了与病原菌本身的致病力有关外, 一些环境因子也起到了重要作用, 特别是高密度养殖引起的亚硝酸盐氮质量浓度过高可能是主要环境因子之一^[2]。

由于鱼类处于生物进化的低级阶段, 其免疫功能并不像高等脊椎动物那样由特异性免疫作用占主导地位, 非特异性免疫系统在鱼体抵抗病原生物入侵时发挥着更为重要的作用^[3]。鱼体的非特异性免疫相关酶, 如溶菌酶 (lysozyme)、碱性磷酸酶 (AKP) 以及补体 C₃ 等在各级非特异免疫的应答中发挥着重要作用^[4-8], 其活性能够反映出机体的代谢功能和免疫力。本文研究了亚硝酸盐氮胁迫下罗非鱼血清溶菌酶、碱性磷酸酶以及补体 C₃ 的响应, 试图揭示亚硝酸盐氮胁迫对罗非鱼机体免疫力的影响, 为研究罗非鱼链球菌病等疾病爆发的环境机制提供科学依据, 同时也为寻求通过调控养殖环境来预防和控制罗非鱼病害爆发的方法奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验用鱼

试验用鱼为罗非鱼 (GIFT *Oreochromis niloticus*), 取自中国水产科学院淡水渔业研究中心宜兴养殖基地。挑选正常、健康的个体, 平均体重为 120.3±5.1 g ($n=20$), 试验前在与正式试验相同的条件下暂养 7 d。

1.2 试验用水

试验用水为曝气 7 d 后的除氯自来水, 亚硝酸盐氮质量浓度在 0.01 mg·L⁻¹ 以下, pH 6.85~7.05, 总硬度 7.85~8.10 德国度, Zn 0.02 mg·L⁻¹, Fe 0.05 mg·L⁻¹, Pb、Cu 和 Cd 均未检出, COD_{Mn} 2.25~2.45 mg·L⁻¹, 溶氧量保持在 5 mg·L⁻¹ 以上, 水温 25±0.5 °C。

1.3 试验设计

在容量为 100 L (水 80 L) 的水族箱中进行亚硝酸盐氮的暴露试验。试验设置亚硝酸盐氮质量浓度分别为 0.75 mg·L⁻¹、1.50 mg·L⁻¹、3.00 mg·L⁻¹ 和 5.00 mg·L⁻¹ 的 4 个梯度, 并设空白对照组 (<0.01 mg·L⁻¹)。每个梯度随机放入健康罗非鱼 15 尾, 每个梯度均设置 3 个平行。试验期间每天换水 1/3, 并测定亚硝酸盐氮质量浓度 2 次, 及时调节水中亚硝酸盐氮至初始质量浓度。每天观察罗非鱼的死亡情况, 发现死鱼及时清理。

基金项目: 现代农业产业技术体系建设专项资金 (CARS-49)

作者简介: 陈家长 (1964 年生), 男, 研究员, 硕士生导师, 研究方向为渔业环境保护和水产生态养殖技术。E-mail: chenjz@ffrc.cn

收稿日期: 2012-04-17

选择血清溶菌酶、碱性磷酸酶以及补体 C_3 作为罗非鱼的免疫相关酶。分别在暴露后的 0 h、3 h、24 h、48 h 和 96 h 和 120 h 时进行采样, 每次采样时在各质量浓度组和对照组取出 2 条鱼, 连同平行每组共计 6 条鱼。用一次性注射器(规格为 5 mL)从鱼体尾静脉取血约 1 mL, 取出的血放入 1.5 mL Eppendorf 离心管, 室温静置 1 h, 于 4 °C 冰箱内过夜, 然后 4000 $r \cdot min^{-1}$ 离心 20 min, 取血清进行溶菌酶、碱性磷酸酶以及补体 C_3 活性的测定。碱性磷酸酶、溶菌酶活性采用南京建成生物工程研究所提供的试剂盒测定, 碱性磷酸酶活性单位为 $U \cdot L^{-1}$, 溶菌酶活性单位为 $U \cdot mL^{-1}$; 补体 C_3 活性采用美国 R&D 公司生产的酶联免疫试剂盒检测, 活性单位为 $\mu g \cdot mL^{-1}$ 。

1.4 统计分析

试验数据采用 JMP 软件(SAS 公司旗下商用软件)进行统计显著性检验, 显著性水平取 $\alpha=0.05$ 。

2 结果与分析

2.1 亚硝酸盐氮对罗非鱼血清碱性磷酸酶活性的影响

从图1可以看出, 0.75 $mg \cdot L^{-1}$ 质量浓度组罗非鱼血清碱性磷酸酶活性在暴露后的 48 h~120 h 较对照组稍有升高, 但差异不显著 ($P>0.05$), 而其他质量浓度组的罗非鱼血清碱性磷酸酶活性在试验期间均低于对照组。其中 1.50 $mg \cdot L^{-1}$ 质量浓度组罗非鱼血清碱性磷酸酶活性在 24 h 和 120 h 与对照组相比均显著下降 ($P<0.05$), 分别下降了 14.03% 和 19.43%; 3.00 $mg \cdot L^{-1}$ 和 5.00 $mg \cdot L^{-1}$ 质量浓度组的罗非鱼血清碱性磷酸酶活性在 24 h、96 h 和 120 h 与对照组相比均显著下降 ($P<0.05$), 分别下降了 13.23%、31.75%、30.83% 和 16.22%、31.05%、30.64%。同时, 在同一取样时间下, 碱性磷酸酶活性随着亚硝酸盐氮质量浓度的升高呈降低趋势。

2.2 亚硝酸盐氮对罗非鱼血清溶菌酶活性的影响

从图2可以看出, 0.75 $mg \cdot L^{-1}$ 质量浓度组罗非鱼血清溶菌酶活性在试验期间与对照组相比略有上升, 但差异不显著 ($P>0.05$); 而其他质量浓度组的罗非鱼血清溶菌酶活性在试验期间均低于对照组。其中 1.50 $mg \cdot L^{-1}$ 质量浓度组罗非鱼血清溶菌酶活性在试验期间与对照组相比差异性不显著 ($P>0.05$); 3.00 $mg \cdot L^{-1}$ 和 5.00 $mg \cdot L^{-1}$ 质量浓度组罗非鱼血清溶菌酶活性在试验期间与对照组相比均显著降低 ($P<0.05$), 24 h、48 h、96 h 和 120 h 分别较对照组降低了 19.55%、22.60%、20.62%、22.98% 和 18.13%、26.24%、27.40%、27.35%。同时, 在同一取样时间下, 罗非鱼血清溶菌酶活性随着亚硝酸盐氮质量浓度的升高呈降低趋势。

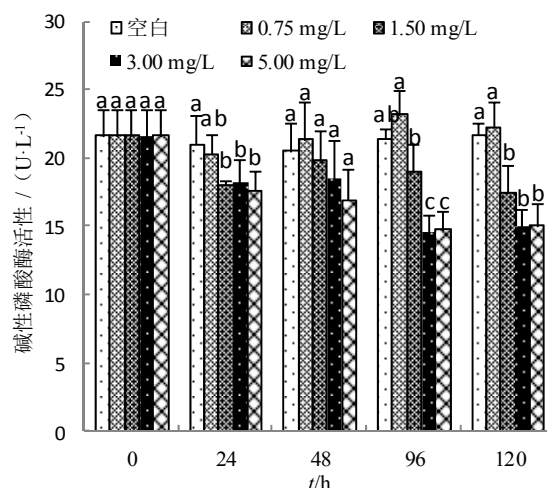


图1 亚硝酸盐氮对罗非鱼血清碱性磷酸酶活性的影响

Fig.1 Effect of nitrite nitrogen on the activity of alkaline phosphatase in tilapia serum

注: 图中同一时间不同质量浓度组间, 相同字母则表示这两组间差异不显著 ($P>0.05$), 不同字母表示差异显著 ($P<0.05$)。下同。

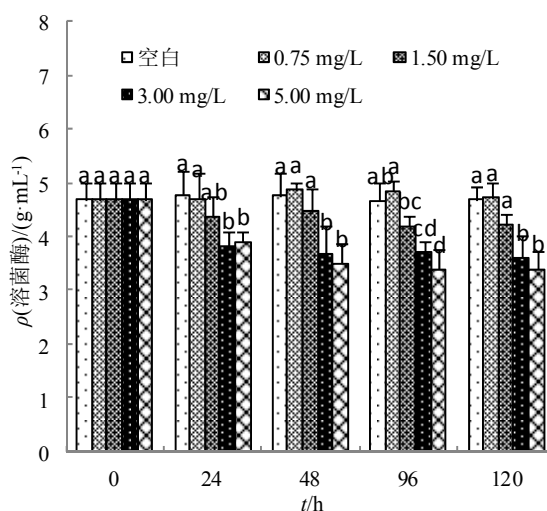


图2 亚硝酸盐氮对罗非鱼血清溶菌酶活性的影响

Fig.1 Effect of nitrite nitrogen on the activity of lysozyme in tilapia serum

2.3 亚硝酸盐氮对罗非鱼血清补体 C_3 活性的影响

从图3可以看出, 0.75 $mg \cdot L^{-1}$ 和 1.50 $mg \cdot L^{-1}$ 质量浓度组的罗非鱼血清补体 C_3 活性在试验期间与对照组相比均无显著差异 ($P>0.05$); 3.00 $mg \cdot L^{-1}$ 试验组罗非鱼血清中补体 C_3 活性在 24 h 和 120 h 较对照组显著降低 ($P<0.05$), 分别下降了 11.27% 和 14.43%; 5.00 $mg \cdot L^{-1}$ 试验组罗非鱼血清补体 C_3 活性在 24 h 时与对照组相比显著降低 ($P<0.05$), 降低了 11.10%。同时, 在同一取样时间下, 罗非鱼血清补体 C_3 活性随着亚硝酸盐氮质量浓度的升高呈降低趋势。

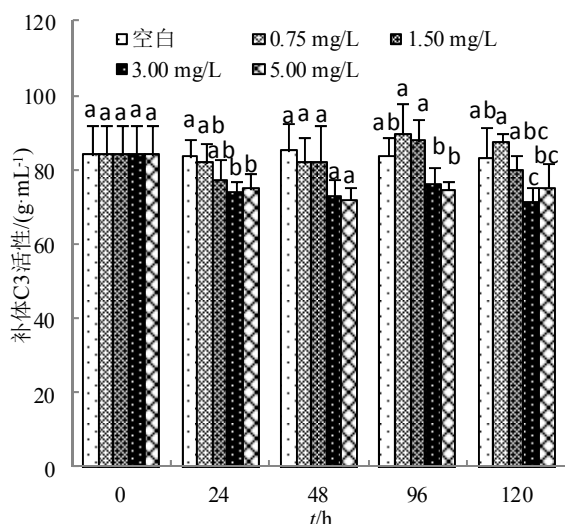
图3 亚硝酸盐氮对罗非鱼血清补体C₃活性的影响

Fig.3 Effect of nitrite nitrogen on the activity of supplement C₃ in tilapia serum

3 讨论

3.1 亚硝酸盐氮对罗非鱼血清碱性磷酸酶活性的影响

碱性磷酸酶是生物体内巨噬细胞溶酶体的标志酶,能够杀死入侵的病原菌,并能通过修改病原表面分子来加速吞噬细胞的吞噬以及异物的降解速度^[9]。碱性磷酸酶活性能够反映出机体的代谢功能和免疫力^[10],可作为机体免疫标志酶。本试验发现质量浓度在1.50 mg·L⁻¹以上的各试验组罗非鱼血清碱性磷酸酶活性在试验期间均低于对照组,且在同一取样时间下随着亚硝酸盐质量浓度的提高碱性磷酸酶活性有降低趋势,说明高质量浓度的亚硝酸盐氮胁迫能够抑制碱性磷酸酶活性。这与白秀娟等关于高亚硝酸盐氮胁迫能够抑制文昌鱼碱性磷酸酶活性^[11]以及Ajani等关于亚硝酸盐氮胁迫能够抑制尖齿胡鲶的碱性磷酸酶活性^[12]的研究结果一致。碱性磷酸酶活性降低的原因可能是因为罗非鱼在高质量浓度亚硝酸盐氮胁迫下碱性磷酸酶的合成和分泌受到了抑制,也可能是高质量浓度亚硝酸盐氮能够直接作用在碱性磷酸酶的活性中心,从而使其活性降低。

3.2 亚硝酸盐氮对罗非鱼血清溶菌酶活性的影响

溶菌酶是广泛存在于鱼体表粘液、血清和巨噬细胞中的一种碱性蛋白,能水解革兰氏阳性细菌的细胞壁中黏肽乙酰基多糖,并能够破坏和消除入侵体内的异物。溶菌酶活性会因动物体发生炎症、感染、组织损伤等而改变,它在一定程度上可以体现病原菌及其他环境因素对鱼体健康的影响^[13]。本试验中溶菌酶活性有随着亚硝酸盐氮质量浓度增高而降低的趋势,且当亚硝酸盐氮质量浓度小于1.50

mg·L⁻¹时,罗非鱼血清溶菌酶活性与对照组相比变化不显著($P>0.05$),不会引起罗非鱼机体产生氧化损伤,而高于3 mg·L⁻¹的亚硝酸盐氮胁迫能够显著降低($P<0.05$)罗非鱼血清溶菌酶活性,对罗非鱼机体产生强烈的氧化胁迫和免疫损伤,导致机体免疫力下降。研究认为,高质量浓度亚硝酸盐氮能够显著降低罗非鱼的免疫力,增加其对致病菌的易感性,且3 mg·L⁻¹可能是亚硝酸盐氮胁迫引起罗非鱼免疫力显著降低的阈值。

3.3 亚硝酸盐氮对罗非鱼血清补体C₃活性的影响

补体系统是免疫系统中非常重要的组成部分,可以通过经典和旁途径激活。在硬骨鱼类当中补体具有细胞溶解、细胞黏附、中和毒素、清除病原菌等重要的生物学功效,而C₃是补体中最重要的部分^[14]。本试验表明,0.75 mg·L⁻¹和1.50 mg·L⁻¹质量浓度组罗非鱼血清补体C₃活性在各个采样时间与对照组相比均无显著差异($P>0.05$);3.00 mg·L⁻¹和5.00 mg·L⁻¹质量浓度组罗非鱼血清补体C₃活性与对照组相比有下降趋势,且在24 h和120 h与对照组相比显著降低($P<0.05$)。说明低质量浓度亚硝酸盐氮胁迫对罗非鱼血清补体C₃活性影响不大,而高质量浓度亚硝酸盐氮胁迫能够显著抑制罗非鱼血清补体C₃活性。

研究显示,亚硝酸盐氮胁迫可通过加剧组织脂质过氧化的方式导致中华绒螯蟹机体免疫力下降^[15],并能降低马氏沼虾对嗜水气单胞菌的抵抗力^[16]以及凡纳滨对虾对弧菌的抵抗力^[17]。从本试验中三种免疫酶对亚硝酸盐氮胁迫的响应情况来看,当亚硝酸盐氮质量浓度小于1.50 mg·L⁻¹时,罗非鱼血清碱性磷酸酶、溶菌酶、补体C₃活性与对照组相比变化均不显著($P>0.05$),而当亚硝酸盐氮质量浓度大于3.00 mg·L⁻¹时,三种酶的活性都呈显著降低($P<0.05$)的趋势。据此推断,低于1.50 mg·L⁻¹的亚硝酸盐氮不会引起罗非鱼机体产生免疫损伤,而高质量浓度亚硝酸盐氮能够显著降低罗非鱼的免疫力,增加其对致病菌的易感性,且3.00 mg·L⁻¹可能是亚硝酸盐氮胁迫引起罗非鱼免疫力显著降低的阈值。同时,从本试验中三种免疫酶对亚硝酸盐氮胁迫的响应程度来看,当亚硝酸盐氮质量浓度大于3.00 mg·L⁻¹时,溶菌酶活性在整个暴露试验期间均显著低于对照组;碱性磷酸酶活性在暴露后的24 h、96 h、120 h显著低于对照组,而在暴露后的48 h,其活性与对照组相比有所回升;补体C₃活性仅在24 h显著低于对照组,在其他时间下两高质量浓度组(3.00 mg·L⁻¹、5.00 mg·L⁻¹)的补体C₃活性并不都显著降低,由此推断,与碱性磷酸酶及补体C₃相比,溶菌酶可能对亚硝酸盐氮胁迫更为敏感。

4 结论

(1) 罗非鱼血清碱性磷酸酶、溶菌酶、补体C₃活性随亚硝酸盐氮质量浓度的升高而降低。当亚硝酸盐氮质量浓度小于1.50 mg·L⁻¹时,罗非鱼血清碱性磷酸酶、溶菌酶、补体C₃活性与对照组相比差异不显著 ($P>0.05$),说明低于1.50 mg·L⁻¹的亚硝酸盐氮不会导致罗非鱼机体免疫力下降;而高于3.00 mg·L⁻¹的亚硝酸盐氮胁迫能够显著 ($P<0.05$)降低罗非鱼血清碱性磷酸酶、溶菌酶、补体C₃活性,从而对罗非鱼机体产生强烈的氧化胁迫和免疫损伤,导致机体免疫力下降,增加罗非鱼对致病菌的易感性。

(2) 与碱性磷酸酶及补体C₃相比,溶菌酶可能对亚硝酸盐氮胁迫更为敏感。

(3) 本试验条件下,3.00 mg·L⁻¹可能是亚硝酸盐氮胁迫引起罗非鱼免疫力显著降低的阈值。

参考文献:

- [1] 杨弘. 中国罗非鱼现状及发展趋势[J]. 中国渔业经济, 2010, 28: 5-8.
YANG Hong. Situation and trends of the tilapia industry development in China [J]. Chinese Fisheries Economics, 2010, 28: 5-8.
- [2] 卢迈新. 罗非鱼病害防治和养殖技术进展[J]. 科学养鱼, 2010(251):110-112.
LU Maixin. Advances on the disease prevent and aquaculture of tilapia [J]. Scientific Fish Farming, 2010(251):110-112.
- [3] JONES S R M. The occurrence and mechanisms of innate immunity against Parasites in fish [J]. Developmental and Comparative Immunology, 2001, 22(8):841-852.
- [4] FRIDOVICH I. Superoxide radical and superoxide dismutases [J]. Accounts of chemical research, 1995, 5(10):97-112.
- [5] 陈家长, 臧学磊, 胡庚东, 等. 氨氮胁迫下罗非鱼(GIFT *Oreochromis niloticus*)机体免疫力的变化及其对海豚链球菌易感性的影响[J]. 生态环境学报, 2011, 20(4):629-63.
CHEN Jiazhang, ZANG Xuelei, HU Gengdong, et al.. The immune response of GIFT *Oreochromis niloticus* and its susceptibility to *Streptococcus iniae* under stress in different ammonia [J]. Ecology and Environmental Sciences, 2011, 20(4):629-63.
- [6] DUNIER M, SIWICKI A K, DEMAEL. Effects of organophosphorus insecticides: Effects of trichlorfon and dichlorvos on the immune response of carp (*Cyprinus carpio*): In vitro effects on lymphocyte proliferation and phagocytosis and in vivo effects on humoral response [J]. Ecotoxicology and environmental Safety, 1991, 22(1): 79-87.
- [7] SAKAI D K. The non-specific activation of rainbow trout, *Salmon gaudener Richardson*, complement by *Aeromonas salmonicida* extracellular products and the correlation of complement activity with the inactivation of lethal toxicity products [J]. Journal of Fish Diseases, 1984, 7(5):329-333.
- [8] 陈家长, 臧学磊, 瞿建宏, 等. 温度胁迫下罗非鱼(GIFT *Oreochromis niloticus*)机体免疫力的变化及其对海豚链球菌易感性的影响[J]. 农业环境科学学报, 2011, 30(9):1896-1901.
CHEN Jiazhang, ZANG Xuelei, Qu Jianhong, et al.. The immune response of tilapia (GIFT *Oreochromis niloticus*) and its susceptibility to *Streptococcus iniae* under temperatures stress [J]. Journal of Agro-Environment Science, 2011, 30(9):1896-1901.
- [9] 王鸿泰, 胡德高. 池塘中亚硝酸盐对草鱼种的毒害及防治[J]. 水产学报, 1989, 13(3):207-214.
WANG Hongtai, HU Degao. Toxicity of nitrite to grass carp (*Ctenophary ngodon*) in ponds and its way of prevention [J]. Journal of Fisheries of China, 1989, 13(3):207-214.
- [10] 刘慧, 王晓蓉, 王为木, 等. 低浓度锌及其 EDTA 配合物长期暴露对鲫鱼肝脏锌富集及抗氧化系统的影响[J]. 环境科学, 2005, 26(1):173-176.
LIU Hui, WANG Xiaorong, WANG Weimu, et al.. Effects of long-term exposure of low level zinc and Zn-EDTA complex on zinc accumulation and antioxidant defense system in liver of *Carassius auratus* [J]. Environmental Science, 2005, 26(1):173-176.
- [11] 张景飞, 王晓蓉. 2,4-二氯苯酚低浓度长期暴露对鲫鱼肝脏抗氧化系统的影响[J]. 环境科学, 2003, 24(5):136-140.
ZHANG Jingfei, WANG Xiaorong. Effects of long-term exposure of low-level 2,4-dichlorophenol on the antioxidant defense system in liver of *Carassius auratus* [J]. Environmental Science, 2003, 24(5): 136-140.
- [12] AJANI F, EMIKPE B O, ADEYEMO O K. Histopathological and Enzyme Changes in *Clarias gariepinus* (Burchell 1822) Exposed to Nitrite at Different Water Temperatures [J]. Nature and Science, 2011, 9(5): 119-124.
- [13] 韩英, 张辉, 王琨. 亚硝态氮对鲤鱼种血液SOD及GSH-Px的影响[J]. 淡水渔业, 2007, 37(1):66-68.
HAN Ying, ZAHNG Hui, WANG Kun. Activity of SOD and GSH-Px in the blood of fingerling *cyprinus carpio* under different nitrite concentration [J]. Freshwater Fisheries, 2007, 37(1):66-68.
- [14] DIEGANE N, CHEN Y Y, LIN Y H, et al. The immune response of tilapia (*Oreochromis mossambicus*) and its susceptibility to *Streptococcus iniae* under stress in low and high temperatures [J]. Fish and Shellfish Immunology, 2007, 22(6): 686-694.
- [15] 洪美玲, 陈立侨, 孙新瑾, 等. 亚硝酸盐急性胁迫对中华绒螯蟹幼体相关免疫指标和应激蛋白(HSP70)表达的影响[J]. 应用与环境生物学报, 2011, 17(5): 688-693.
HONG Meiling, CHEN Liqiao, GU Shunzhang, et al. Effects of ammonia exposure on immunity indicators of haemolymph and histological structure of hepatopancreas in Chinese mitten crab (*Eriocheir sinensis*) [J]. Journal of Fisher Sciences of China, 2007, 14(3): 412-418.
- [16] CHAND R K, SAHOO P K. Effect of nitrite on the immune response of freshwater prawn *Macrobrachium malcolmsonii* and its susceptibility to *Aeromonas hydrophila* [J]. Aquaculture, 2006, 258(1-4): 150-156.
- [17] 周鲜娇, 邱德全. 亚硝酸盐和副溶血弧菌对凡纳滨对虾部分免疫指标的影响[J]. 水生生态学杂志, 2009, 2(1):49-53.
ZHOU Xianjiao, QIU Dequar. Effects of Nitrite Nitrogen and *Vibrio parahaemolyticus* on Some Immunity Indicators of *Litopenaeus vannamei* [J]. Journal of Hydroecology, 2009, 2(1):49-53.

Effect of nitrite nitrogen stress on the activities of nonspecific immune enzymes in serum of tilapia (GIFT *Oreochromis niloticus*)

CHEN Jiazhang^{1,2}, Zang Xuelei^{1,2}, MENG Shunlong^{1,2}, QU Jianhong¹,
HU Gengdong¹, SONG Chao¹, FAN Limin¹, QIU Liping¹

1. Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences; Scientific Observing and Experimental Station of Fishery Resources and Environment in the Lower Reaches of the Changjiang River, Ministry of Agriculture; Key Open Laboratory of Ecological Environment and Resources of Inland Fisheries, Wuxi 214081, China;

2. Wuxi Fishery College, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081, China

Abstract: In order to know the effect of nitrite nitrogen stress on the immunity of tilapia (GIFT *Oreochromis niloticus*), the research on the response of lysozyme, alkaline phosphates and supplement C₃ in tilapia serum under the stress of different concentrations of nitrite nitrogen (control, 0.75 mg·L⁻¹, 1.50 mg·L⁻¹, 3.00 mg·L⁻¹ and 5.00 mg·L⁻¹) were carried out indoor. The results showed that nonspecific immune enzyme activities in tilapia serum decreased with the increasing of the concentrations of nitrite nitrogen. The activities of lysozyme, alkaline phosphates and supplement C₃ in tilapia serum didn't changed significantly ($P>0.05$) when the concentrations of nitrite nitrogen were lower than 1.50 mg·L⁻¹, which meant that the low concentrations of nitrite nitrogen wouldn't have significant oxidative stress and immune injury on tilapia, and therefore the nitrite nitrogen wouldn't decrease the immunity of tilapia when it was lower than 1.50 mg·L⁻¹. However, the activities of lysozyme, alkaline phosphates and supplement C₃ in tilapia serum decreased significantly ($P<0.05$) when the concentrations of nitrite nitrogen were higher than 3.00 mg·L⁻¹, which meant that high concentrations of nitrite nitrogen had strong oxidative stress and immune injury on tilapia and would decrease its immunity. It could be concluded from the research that 3.00 mg·L⁻¹ might be the threshold value of nitrite nitrogen stress on tilapia's immunity.

Key words: GIFT *Oreochromis niloticus*; nitrite nitrogen; immunity; nonspecific immune enzyme