

doi: 10.3969/j.issn.2095-0780.2014.03.007

氨氮胁迫对奥尼罗非鱼非特异性免疫的影响

韩春艳, 郑清梅, 陈桂丹, 刘丽霞

(广东嘉应学院生命科学学院, 广东 梅州 514011)

摘要: 将奥尼罗非鱼 (*Oreochromis niloticus* × *O. areus*) 幼鱼暴露于不同质量浓度 (0、2.5 mg·L⁻¹、5 mg·L⁻¹、10 mg·L⁻¹ 和 20 mg·L⁻¹) 的氨氮溶液中, 于第 0、第 12、第 24、第 48 和第 72 小时测定其非特异性免疫相关指标。结果表明, 试验幼鱼经氨氮胁迫后各试验组血清溶菌酶活力随着胁迫时间的延长下降显著 ($P < 0.05$)。氨氮胁迫明显影响鱼肝脏总抗氧化能力 (T-AOC) 及相关抗氧化酶活力。与对照组相比, 随胁迫时间增加各试验组肝脏 T-AOC 及总超氧化物歧化酶 (T-SOD) 活力均先下降后上升 ($P < 0.05$)。过氧化氢酶 (CAT) 及谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-Px) 活力变化还与胁迫溶液浓度相关。低浓度组 (2.5 mg·L⁻¹ 和 5 mg·L⁻¹), CAT 活力在胁迫 24 h 后显著下降 ($P < 0.05$); 高浓度组 (10 mg·L⁻¹ 和 20 mg·L⁻¹), CAT 活力却出现先升高后降低的变化。除最高浓度组, 各试验组 GSH-Px 活力表现为诱导效应 ($P < 0.05$)。试验条件下氨氮胁迫对罗非鱼非特异性免疫产生明显影响, 且随浓度增加及时间延长影响程度加大。

关键词: 罗非鱼; 氨氮胁迫; 非特异性免疫

中图分类号: S 917

文献标志码: A

文章编号: 2095-0780-(2014)03-0047-06

Effect of ammonia-N stress on non-specific immunity of tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. areus*)

HAN Chunyan, ZHENG Qingmei, CHEN Guidan, LIU Lixia

(Department of Biology, Jiaying University, Meizhou 514011, China)

Abstract: The juveniles of tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. areus*) were exposed to ammonia-N (0, 2.5 mg·L⁻¹, 5 mg·L⁻¹, 10 mg·L⁻¹ and 20 mg·L⁻¹) for 0, 12 h, 24 h, 48 h and 72 h to evaluate the effect of ammonia-N stress on their non-specific immunity. Results show that the activity of serum lysozyme decreased significantly with extension of stress time ($P < 0.05$). The total antioxidant capacity (T-AOC) and activity of antioxidantase in liver were significantly affected. The activity of T-AOC and total superoxide dismutase (T-SOD) of fish exposed to ammonia-N were initially decreasing then increasing ($P < 0.05$). Activities of catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GSH-Px) were correlated with concentrations of ammonia-N. Fish exposed to lower concentrations (2.5 mg·L⁻¹, 5 mg·L⁻¹) showed decreasing CAT activity within 24 h ($P < 0.05$), while those exposed to higher concentrations (10 mg·L⁻¹, 20 mg·L⁻¹) showed initially increasing then decreasing activity of CAT. Except for the highest concentration groups, fish exposed to ammonia-N showed induction activity of GSH-Px ($P < 0.05$). Under the experimental conditions, non-specific immunity of tilapia was affected by ammonia-N stress, and the impact was increasing with increasing concentration and extension of time.

Key words: *Oreochromis niloticus* × *O. areus*; ammonia-N stress; non-specific immunity

收稿日期: 2013-12-14; 修回日期: 2014-01-22

资助项目: 广东省自然科学基金项目 (S2013010013693, S2011010003451); 嘉应学院自然科学研究重点项目 (2011KJZ05); 广东省优秀青年
教师计划项目 (Yq2013152)

作者简介: 韩春艳 (1973-), 女, 博士, 副教授, 从事水产动物营养研究。Email: mhanchunyan@aliyun.com

氨氮是水环境的主要污染因子之一,其浓度受到农业径流及水体内有机物(包括养殖动物排泄物、饵料及动植物尸体等)分解的影响^[1]。包括鱼类在内的多数水生生物对氨氮毒性非常敏感^[2-4]。氨氮可通过降低鱼类生长速度,伤害鱼体组织结构、免疫功能、繁殖能力以及血液生化指标等^[4-5],特别是组织承受因此而产生的化学、生理或生物学压力时,突然短缺的氧都会导致体内有氧代谢途径发生不正常的氧化反应,从而导致体内氧的高度积累使体内抗氧化系统压力增加^[6]。水体中氨氮浓度低于鱼体耐受限度时机体可自行调节其免疫能力从而适应外界环境变化^[7]。但一定浓度的氨氮持续长时间刺激且超过机体调节限度时,机体的非特异性免疫系统特别是抗氧化系统会受到破坏,部分抗氧化物质含量及酶活性下降,脂质过氧化产物增多,免疫力下降,从而严重影响鱼类健康^[8-10]。因此,研究氨氮与水生生物非特异性免疫的关系及如何进行防控已引起越来越多研究者的关注。

罗非鱼是中国南方地区的主要养殖种类,因其具有生长速度快、味道鲜美等特点,深受广大消费者的欢迎。但近年来,养殖者为提高产量人为增加放养密度和投饵量,致使水体中氨氮水平升高,罗非鱼的发病率普遍提高。笔者以奥尼罗非鱼(*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)为研究对象,研究不同氨氮浓度、不同胁迫时间对其血清内溶菌酶及肝脏内与抗氧化有关酶活性的影响,旨在探讨氨氮胁迫对罗非鱼非特异性免疫指标的影响,为罗非鱼及其他淡水鱼免疫机制的研究及健康养殖提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验动物与饲养管理

试验幼鱼为奥尼罗非鱼[初始体质量为(6.81 ± 0.85)g]购自虎门沙田鱼苗场。试验前暂养于室外水泥池中,驯化2周,日投喂商品饲料2次(8:30和17:00)。正式试验前停食24 h,试验期间不投喂。

氨质量浓度由10 g·L⁻¹的氯化铵母液稀释之后分别配成0、2.5 mg·L⁻¹、5 mg·L⁻¹、10 mg·L⁻¹和20 mg·L⁻¹,分别设为C0、C1、C2、C3和C4组。每组3个重复,每个重复30尾鱼。试验在80 L的水族箱中进行,充入自来水后曝气3 d后使用。试验期间水温(28 ± 1)℃,水体pH(6.8 ± 0.2),24 h连续充氧。并以奈氏试剂法每隔6 h定时测定水体中氨质量浓度。

1.2 样品采集与分析

分别于胁迫前及氨氮胁迫后第12、第24、第48和第72小时采集样品。每次从各水族箱中随机取出5尾用麻醉剂(MS-222)进行暂短麻醉,于冰盘上用5 mL的一次性注射器自鱼尾静脉取血,置于1.5 mL离心管中,4℃冰箱中过夜,3 000 r·min⁻¹离心10 min,取上清液用于测定溶菌酶活力。鱼采血后立刻解剖取其肝脏,于-80℃保存,以备测定其总抗氧化能力(T-AOC)、总超氧化物歧化酶(T-SOD)、过氧化氢酶(CAT)和谷胱甘肽-过氧化氢酶(GSH-Px)活力。各指标均采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒测定,具体操作及定义见说明书。胁迫前只测定混合组(随机取各组鱼混合在一起)相关指标。采用考马斯亮蓝G-250染色法测定蛋白质的含量,牛血清白蛋白作为标准蛋白。

1.3 数据统计分析

采用SPSS 17.0软件对所有数据进行单因素方差分析(One-Way ANOVA)和Duncan's检验法统计分析($P < 0.05$)。所有试验结果均以平行组数据平均值 ± 标准差($\bar{X} \pm SD$)表示。

2 结果与分析

2.1 对血清中溶菌酶质量浓度的影响

试验条件下不同质量浓度氨氮胁迫均可对罗非鱼血清中溶菌酶的质量浓度产生影响,且均随胁迫时间的延长呈现降低趋势(表1)。统计结果显示,对照组罗非鱼血清溶菌酶质量浓度在各个采样时间虽有波动但无显著差异;C1和C2组血清中溶菌酶质量浓度均于第24小时显著下降($P < 0.05$),且C1组血清内溶菌酶质量浓度在24 h后基本维持稳定之间无显著差异。而C2组第48和第72小时血清中溶菌酶质量浓度显著低于第24小时($P < 0.05$);C3和C4组血清中溶菌酶质量浓度于第12小时开始显著下降($P < 0.05$),且随时间的延长进一步降低;C4组血清中溶菌酶质量浓度第24小时后维持在较低水平。

2.2 对肝脏中T-AOC活力的影响

在此试验水体氨氮质量浓度下均会对奥尼罗非鱼肝脏内T-AOC产生明显影响(表2)。水体氨氮水平为2.5~20 mg·L⁻¹时,第12小时肝脏内T-AOC显著变化,第24小时均达到最低水平,并维持一段时间(24~48 h),之后虽有所恢复但均显著低于正常水平($P < 0.05$)。

表1 氨氮胁迫对奥尼罗非鱼血清中溶菌酶质量浓度的影响

Tab. 1 Effect of ammonia-N stress on concentration of lysozyme in serum of tilapia (*O. niloticus* × *O. areus*) $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$

组别 group	时间/h time				
	0	12	24	48	72
C0	3.23 ± 0.14	3.03 ± 0.21	3.11 ± 0.09	3.26 ± 0.23	3.14 ± 0.13
C1	3.23 ± 0.14 ^a	2.85 ± 0.38 ^a	2.31 ± 0.20 ^b	2.38 ± 0.17 ^b	2.18 ± 0.17 ^b
C2	3.23 ± 0.14 ^a	2.99 ± 0.11 ^{ab}	2.76 ± 0.23 ^b	2.24 ± 0.18 ^c	1.97 ± 0.11 ^c
C3	3.23 ± 0.14 ^a	2.18 ± 0.12 ^b	2.01 ± 0.17 ^b	1.62 ± 0.05 ^c	1.62 ± 0.09 ^c
C4	3.23 ± 0.14 ^a	2.70 ± 0.19 ^b	1.87 ± 0.14 ^c	1.67 ± 0.06 ^c	1.60 ± 0.16 ^c

注: 表中同行字母表示同一剂量不同暴露时间点之间的比较, 相邻字母表示差异显著($P < 0.05$); 后表同此

Note: Values with neighboring letters in the same row are significantly different from one another ($P < 0.05$). The same case in the following tables.

表2 氨氮胁迫对奥尼罗非鱼肝脏总抗氧化能力的影响

Tab. 2 Effect of ammonia-N stress on T-AOC capacity in liver of tilapia (*O. niloticus* × *O. areus*) $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$

组别 group	时间/h time				
	0	12	24	48	72
C0	3.38 ± 0.65	3.31 ± 0.26	3.58 ± 0.32	3.44 ± 0.22	3.59 ± 0.31
C1	3.38 ± 0.65 ^a	2.75 ± 0.18 ^b	0.66 ± 0.10 ^c	0.90 ± 0.10 ^c	2.53 ± 0.28 ^b
C2	3.38 ± 0.65 ^a	1.20 ± 0.30 ^c	0.60 ± 0.09 ^c	0.77 ± 0.09 ^c	2.46 ± 0.38 ^b
C3	3.38 ± 0.65 ^a	1.16 ± 0.31 ^c	0.30 ± 0.02 ^d	0.27 ± 0.03 ^d	1.86 ± 0.24 ^b
C4	3.38 ± 0.65 ^a	1.32 ± 0.29 ^b	0.29 ± 0.04 ^c	0.59 ± 0.09 ^c	1.62 ± 0.32 ^b

表3 氨氮胁迫对奥尼罗非鱼肝脏总超氧化物歧化酶活力的影响

Tab. 3 Effect of ammonia-N stress on T-SOD activity in liver of tilapia (*O. niloticus* × *O. areus*) $\text{U}\cdot\text{mg}^{-1}$

组别 group	时间/h time				
	0	12	24	48	72
C0	30.37 ± 2.37	31.54 ± 3.12	29.97 ± 2.01	32.03 ± 3.09	33.12 ± 2.07
C1	30.37 ± 2.37 ^b	18.86 ± 2.04 ^c	15.27 ± 2.37 ^{cd}	11.02 ± 1.49 ^d	38.41 ± 6.79 ^a
C2	30.37 ± 2.37 ^b	12.35 ± 1.45 ^c	15.01 ± 2.24 ^c	12.93 ± 0.87 ^c	53.42 ± 4.61 ^a
C3	30.37 ± 2.37 ^b	20.61 ± 3.51 ^c	13.91 ± 1.31 ^d	10.50 ± 1.37 ^d	53.59 ± 4.20 ^a
C4	30.37 ± 2.37 ^b	35.08 ± 2.89 ^b	13.24 ± 1.54 ^c	12.31 ± 1.33 ^c	43.74 ± 6.78 ^a

2.3 对肝脏中 T-SOD 活力的影响

试验 C1、C2 和 C3 组鱼体肝脏内 T-SOD 活力在第 12 小时均出现显著下降($P < 0.05$) (表 3)。其中试验 C2 组肝脏内 T-SOD 活力第 12、第 24 和第 48 小时均维持在较低水平, 而 C1 和 C3 组肝脏内 T-SOD 活力最低则出现在第 24 ~ 第 48 小时; C4 组肝脏内 T-SOD 活力下降出现在第 24 小时, 第 48 小时维持在较低水平, 但第 72 小时各组鱼体肝脏内 T-SOD 显著高于氨氮处理前水平($P < 0.05$)。

2.4 对肝脏中 CAT 活力的影响

在试验条件下氨氮胁迫均会对奥尼罗非鱼肝脏内 CAT 活力产生明显影响(表 4)。试验 C1 组胁迫 24 h 后肝脏内 CAT 活力显著下降($P < 0.05$), 并在试验期间一直维持在较低水平; C2 组, 肝脏内 CAT 活力第 12 小时显著下降($P < 0.05$), 第 48 和第 72 小时达到最低; C3 和 C4 组, 肝脏内 CAT 活力第 12 小时显著上升($P < 0.05$), 第 24 小时后迅速降低并维持在较低水平。

表4 氨氮胁迫对奥尼罗非鱼肝脏过氧化氢酶活力的影响

Tab. 4 Effect of ammonia-N stress on CAT activity in liver of tilapia (*O. niloticus* × *O. aureus*) U·mg⁻¹

组别 group	时间/h time				
	0	12	24	48	72
C0	3.42 ± 0.31	3.25 ± 0.28	3.04 ± 0.49	3.13 ± 0.33	3.38 ± 0.29
C1	3.42 ± 0.31 ^a	3.68 ± 0.45 ^a	2.67 ± 0.32 ^b	2.16 ± 0.17 ^b	2.55 ± 0.07 ^b
C2	3.42 ± 0.31 ^a	2.85 ± 0.27 ^b	2.72 ± 0.19 ^b	2.16 ± 0.20 ^c	2.22 ± 0.12 ^c
C3	3.42 ± 0.31 ^b	4.45 ± 0.38 ^a	2.37 ± 0.23 ^c	2.17 ± 0.04 ^c	2.04 ± 0.17 ^c
C4	3.42 ± 0.31 ^b	4.30 ± 0.54 ^a	2.43 ± 0.25 ^c	1.87 ± 0.14 ^c	2.07 ± 0.13 ^c

表5 氨氮胁迫对奥尼罗非鱼肝脏谷胱甘肽-过氧化物酶活力的影响

Tab. 5 Effect of ammonia-N stress on GSH-Px activity in liver of tilapia (*O. niloticus* × *O. aureus*) U·mg⁻¹

组别 group	时间/h time				
	0	12	24	48	72
C0	4.21 ± 0.81	4.10 ± 0.62	4.56 ± 0.57	3.98 ± 0.49	4.31 ± 0.56
C1	4.21 ± 0.81 ^b	4.77 ± 0.29 ^b	6.68 ± 0.43 ^a	6.73 ± 0.63 ^a	7.81 ± 0.81 ^a
C2	4.21 ± 0.81 ^b	4.08 ± 0.46 ^b	4.96 ± 0.60 ^b	5.65 ± 1.37 ^{ab}	7.27 ± 1.20 ^a
C3	4.21 ± 0.81 ^c	4.38 ± 0.48 ^{bc}	5.65 ± 0.80 ^b	5.38 ± 0.93 ^{bc}	8.62 ± 0.55 ^a
C4	4.21 ± 0.81 ^{bc}	4.79 ± 0.58 ^{ab}	5.37 ± 0.46 ^a	4.19 ± 0.29 ^{bc}	3.50 ± 0.27 ^c

2.5 对肝脏中 GSH-Px 活力的影响

在试验条件下氨氮胁迫均会对奥尼罗非鱼肝脏内 GSH-Px 活力产生明显影响(表5)。试验 C1、C2 和 C3 组鱼体肝脏内 GSH-Px 活力随时间的延长呈现明显的上升($P < 0.05$)。并分别于第 24、第 48 和第 72 小时达到最高;而 C4 组肝脏内 GSH-Px 活力在第 24 小时出现峰值,之后逐渐下降,第 72 小时鱼体肝脏内 GSH-Px 活力最低。

3 讨论

氨在水溶液中以离子氨和非离子氨的形式存在,由于非离子氨为脂溶性,可穿过细胞膜对机体造成伤害,因此把氨的毒性归于非离子氨,而认为离子氨无毒或毒性很小^[11]。水体 pH 是影响氨存在形式的主要因素。水体 pH 小于 7,氨几乎都以离子氨形式存在;而 pH 为 11 则几乎都是以非离子氨的形式存在,常引起养殖动物的缺氧或中毒死亡^[12]。已有研究表明,不仅非离子氨有毒,低 pH 条件下高浓度的离子氨同样有毒^[13]。该研究表明水体 pH 在 6.5 ~ 7.0,试验 72 h 内各浓度组均未发现死亡,说明在试验水体条件下罗非鱼短期内能适应 2.5 ~ 20 mg·L⁻¹ 的氨氮水平。但水体中的氨氮对奥尼罗非鱼的非特异性免疫指标都会产生明

显影响,且随浓度的增加而升高。

鱼类处于生物进化的低级阶段,非特异性免疫系统在机体抵抗病原生物入侵时发挥着重要的作用。溶菌酶是一种重要的非特异性防御因子,能水解革兰氏阳性细菌,破坏和消除入侵体内的异物。陈家长等^[14]对建鲤(*Cyprinus carpio* var. Jian)的研究发现,水体中低质量浓度的氨氮(0.1 mg·L⁻¹和 0.5 mg·L⁻¹)对血清溶菌酶含量无影响,而质量浓度为 2.0 mg·L⁻¹和 5.0 mg·L⁻¹时能使其血清内溶菌酶含量显著降低。随后对罗非鱼(*O. niloticus*)的研究指出,水体氨氮质量浓度较低时(1.0 mg·L⁻¹)罗非鱼能够有一定的耐受性,但随着氨氮质量浓度的升高溶菌酶含量显著下降^[15]。试验中设置水体氨氮质量浓度最低为 2.5 mg·L⁻¹,24 h 后出现血清中溶菌酶下降的现象,随着水体氨氮质量浓度的增加溶菌酶水平下降的时间提前,并维持在较低水平。这与陈家长等^[14]的研究结果基本一致。

氧化胁迫和活性氧介导的毒害一直被认为是环境条件下对鱼体组织伤害的主要原因^[16-17]。肝脏作为脊椎动物的主要解毒器官,其内 SOD、CAT 及 GSH-Px 作为机体应对氧化损伤的重要的抗氧化酶,其活力的改变对于维持氧化剂和抗氧化剂之间的平衡有重要作用。ZHOU 等^[6]研究指出,受到氨

氮胁迫后草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*) 肝脏内 SOD 基因表达有一定的时间和剂量的依赖性, 可以作为鱼类氨氮胁迫的指示指标。试验中发现各试验组肝脏内 T-SOD 是先抑制后升高, 均在第 72 小时达到最高, 但兴奋程度与氨氮质量浓度有关, $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 提高幅度最大 (76% 左右)。曾媛媛等^[18]对拟穴居蟹 (*Scylla paramamosain*) 的研究也有类似发现。但 SUN 等^[19]对鳙 (*Aristichthys nobilis*) 幼鱼的研究发现, 氨氮低浓度时 SOD 活力明显上升, 而高浓度时却明显下降, 这说明低浓度的氨氮虽然会使体内活性氧的浓度提高, 但 SOD 能清除掉, 而高浓度下 SOD 活力的降低可能是 SOD 不能及时清除过多活性氧, 而其反过来作用于 SOD。

SUN 等^[19]对 14 日龄的鳙幼鱼研究发现, 氨氮质量浓度为 $0.06 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时肝脏内 CAT 活力显著上升, 而质量浓度为 $0.264 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 时 CAT 活力急剧下降, 推测可能原因是低浓度产生的轻微氧化胁迫会刺激其活力升高, 而氧化胁迫增加时可能已经对组织产生伤害。试验中 CAT 在低质量浓度时 ($2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 分别在胁迫第 24 和第 12 小时显著下降, 这与胡毅等^[20]对青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*) 研究发现的氨氮胁迫会导致鱼体血清内 CAT 显著下降的结果类似。而高质量浓度 ($10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 时均在第 12 小时出现“毒物兴奋效应”, 达最高值, 随后快速下降并维持在较低水平。这说明氨氮对罗非鱼肝脏内 CAT 诱导的浓度较高且其对氨氮的反应更为敏感。

试验结果表明, 水体氨氮质量浓度为 $2.5 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 可诱导罗非鱼 GSH-Px 活性, 且随胁迫时间的延长逐渐增加, 达到最大值的时间与浓度有关, 这与张红梅和姜会民^[21]对黄河鲤 (*C. carpio*) 血清中抗氧化结果相一致。而当氨氮质量浓度达到一定值时 ($20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$) 出现先升高后快速下降, 并维持在较低水平, 这说明在氨氮胁迫一定质量浓度下 ($2.5 \sim 10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), GSH-Px 在清除肝脏内自由基及保护肝脏方面起重要作用, 但随着氨氮质量浓度的升高, 肝脏内产生的自由基已超出其自身细胞的清除能力, 甚至已经造成细胞不可逆的损伤, 从而使 GSH-Px 的合成受阻活性下降。这与姜会民^[22]对黄河鲤研究发现随氨氮质量浓度的增加, 肝脏内 GSH-Px 活性先上升后降的结论类似。T-AOC 作为一种反映机体抗氧化酶系统和非酶促系统对外来刺激的代偿能力以及机体自由基代谢的状态的综合指

标。研究中各氨氮胁迫组鱼体肝脏内 T-AOC 活力均出现先下降然后有一定程度的回升, 但最终显著低于处理前。这种变化的原因可能与体内 T-SOD 的变化有直接联系。

综上所述, 笔者试验水体条件下, $2.5 \sim 20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 的氨氮胁迫均会对奥尼罗非鱼的非特异性免疫指标产生明显影响, 且随氨氮质量浓度增加及时间的延长影响程度加大。此外, 肝脏内 SOD、CAT 和 GSH-Px 活性的变化能够反应氧化损伤程度, 可作为评价氨氮毒性的生物学标志。

参考文献:

- [1] 程伟轩, 梁旭方, 符云. 高温季节鳊及饵料鱼池塘水质调查研究[J]. 南方水产科学, 2011, 7(4): 43-49.
- [2] 李永, 杨其彬, 苏天凤, 等. 氨氮对斑节对虾的毒性及免疫指标的影响[J]. 上海海洋大学学报, 2012, 21(3): 358-363.
- [3] 黄建华, 李永, 杨其彬, 等. 斑节对虾家系氨氮耐受性的比较[J]. 南方水产科学, 2012, 8(6): 37-44.
- [4] ATWOOD H L, TOMASSO J R, RONAN P J, et al. Brain monoamine concentrations as predictors of growth inhibition in channel catfish exposed to ammonia[J]. J Aquat Anim Health, 2000, 12(1): 69-73.
- [5] MCKENZIE D, SHINGLES A, TAYLOR E. Sub-lethal plasma ammonia accumulation and the exercise performance of salmonids[J]. Comp Biochem Physiol A, 2003, 135(4): 515-526.
- [6] ZHOU X, DONG Y W, WANG F, et al. The effect of high ammonia concentration on gill structure alternation and expression of SOD and HSP90 genes in grass carp, *Ctenopharyngodon idella*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2013, 37(2): 321-330.
- [7] 邱德全, 周鲜娇, 邱明生. 氨氮胁迫下凡纳滨对虾抗病力和副溶血弧菌噬菌体防病效果研究[J]. 水生生物学报, 2008, 32(4): 455-461.
- [8] ROMANO N, ZENG C S. Ontogenetic changes in tolerance to acute ammonia exposure and associated gill histological alterations during early juvenile development of the blue swimmer crab, *Portunus pelagicus*[J]. Aquaculture, 2007, 266(1/2/3/4): 246-254.
- [9] 张亚娟, 王超, 刘存歧, 等. 氨态氮和亚硝态氮对日本沼虾酚氧化酶活力及血蓝蛋白含量的影响[J]. 水产科学, 2010, 29(1): 31-35.
- [10] 洪美玲. 水中亚硝酸盐和氨氮对中华绒螯蟹幼体的毒性效应及维生素 E 的营养调节[D]. 上海: 华东师范大学, 2007.
- [11] 武玉强, 陈学豪, 张孝杰, 等. 非离子氨对文昌鱼的急性毒性影响[J]. 水产科学, 2012, 31(12): 745-749.
- [12] 师尚丽, 冯奕成, 郑莲, 等. 不同 pH 和盐度下氨氮对方斑东风螺的毒性研究[J]. 湛江海洋大学学报, 2005, 25(6): 36-42.
- [13] 陈炜, 雷衍之, 蒋双. 离子铵和非离子氨对海蜇螅状幼体和碟状幼体的毒性研究[J]. 大连水产学院学报, 1997, 12

- (1): 8-14.
- [14] 陈家长, 简纪常, 胡庚东, 等. 水体中 $\text{NH}_3\text{-N}$ 对建鲤非特异性免疫功能的影响[J]. 湛江海洋大学学报, 2000, 20(3): 13-16.
- [15] 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): 629-634.
- [16] LI L, XIE P. Hepatic histopathological characteristics and antioxidant response of phytoplanktivorous silver carp intraperitoneally injected with extracted microcystins [J]. Biomed Environ Sci, 2009, 22(4): 297-302.
- [17] HEGAZI M M, ATTIA Z I, ASHOUR O A. Oxidative stress and antioxidant enzymes in liver and white muscle of Nile tilapia juveniles in chronic ammonia exposure[J]. Aquat Toxicol, 2010, 99(2): 118-125.
- [18] 曾媛媛, 蒋云霞, 艾春香. 氨氮胁迫对拟穴青蟹组织器官中 SOD 及 GPX 活性的影响[J]. 台湾海峡, 2011, 30(2): 210-216.
- [19] SUN H J, LÜ K, EWAN J A, et al. Combined effects of ammonia and microcystin on survival, growth, antioxidant responses, and lipid peroxidation of bighead carp *Hypophthalmichthys nobilis* larvae[J]. J Hazard Mater, 2012, 221/222(7): 213-219.
- [20] 胡毅, 黄云, 钟蕾, 等. 氨氮胁迫对青鱼幼鱼鳃丝 Na^+/K^+ -ATP 酶、组织结构及血清部分生理生化指标的影响[J]. 水产学报, 2012, 36(4): 538-546.
- [21] 张红梅, 姜会民. 分子氨对黄河鲤鱼血清抗氧化反应的影响[J]. 西南大学学报, 2011, 33(8): 88-93.
- [22] 姜会民. 氨氮胁迫对黄河鲤幼鱼肝胰脏、肾脏抗氧化性的影响[J]. 山东大学学报: 理学版, 2012, 47(1): 17-23.