

doi: 10.12131/20180234

• 研究简报 •

## 氨氮胁迫对方斑东风螺溶菌酶及 3 种常见消化酶活力的影响

谭春明<sup>1,2</sup>, 赵旺<sup>1,2</sup>, 于刚<sup>1,2</sup>, 吴开畅<sup>1,2</sup>,  
杨蕊<sup>1</sup>, 温为庚<sup>1,2</sup>, 陈旭<sup>1,2</sup>, 张玥<sup>3</sup>

(1. 中国水产科学研究院南海水产研究所热带水产研究开发中心, 海南 三亚 572018; 2. 农业农村部南海渔业资源开发利用重点实验室, 广东 广州 510300; 3. 海南大学海洋学院, 海南 海口 570228)

**摘要:** 为揭示方斑东风螺 (*Babylonia areolata*) 应对氨氮 (NH<sub>4</sub>-N) 急性胁迫时的生理变化, 分别于不同 NH<sub>4</sub>-N 浓度和时间下测定其体内溶菌酶及 3 种消化酶的活力。结果表明, 实验剂量和实验时间均显著影响这 4 种酶的活力 ( $P < 0.05$ )。与对照组比较, 方斑东风螺经 NH<sub>4</sub>-N 胁迫后: 1) 溶菌酶活力随着胁迫时间的延长总体呈现“抑制-诱导”趋势; 2) 低质量浓度 NH<sub>4</sub>-N (22 mg·L<sup>-1</sup>) 对胃蛋白酶活力随时间的延长表现出“诱导-抑制”趋势, 而其他质量浓度总体表现为“抑制-诱导”趋势; 3) 脂肪酶活力随着 NH<sub>4</sub>-N 处理时间的延长, 总体上呈现抑制作用或与对照组呈相似水平; 4) NH<sub>4</sub>-N 处理时间显著影响方斑东风螺淀粉酶的活力, 但各处理组的淀粉酶活力相比对照组在处理时间较短的情况下并无太大的诱导或抑制作用。综上, 水体中的 NH<sub>4</sub>-N 会影响方斑东风螺这 4 种消化酶的活力。

**关键词:** 方斑东风螺; 氨氮胁迫; 消化酶; 酶活力

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

文章编号: 2095 - 0780 - (2019) 03 - 0120 - 06

## Effects of ammonia-N stress on activities of lysozyme and three digestive enzymes of *Babylonia areolata*

TAN Chunming<sup>1,2</sup>, ZHAO Wang<sup>1,2</sup>, YU Gang<sup>1,2</sup>, WU Kaichang<sup>1,2</sup>,  
YANG Rui<sup>1</sup>, WEN Weigeng<sup>1,2</sup>, CHEN Xu<sup>1,2</sup>, ZHANG Yue<sup>3</sup>

(1. Tropical Aquaculture Research and Development Center of South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Sanya 572018, China; 2. Key Laboratory of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Guangzhou 510300, China; 3. College of Marine Science, Hainan University, Haikou 570228, China)

**Abstract:** In this paper, the effects of ammonia-N (NH<sub>4</sub>-N) stress on the activities of lysozyme and three digestive enzymes of *Babylonia areolata* were studied to reveal its physiological changes. The results show that both the concentration and treatment time of NH<sub>4</sub>-N had a significant effect on the activities of digestive enzymes of *B. areolata* ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group: 1) As the treatment time of NH<sub>4</sub>-N increased, the lysozyme generally demonstrated a suppression-induction trend. 2) The lower concentration of NH<sub>4</sub>-N (22 mg·L<sup>-1</sup>) showed an induction-suppression trend to the pepsin activity, while the other concentrations gener-

收稿日期: 2018-10-22; 修回日期: 2018-12-21

资助项目: 广东省渔港建设和渔业产业发展专项 [海洋渔业科技推广方向-科技攻关与研发项目 (A201601B11)]; 现代农业产业技术体系建设专项资金 (CARS-49); 海南省自然科学基金青年基金项目 (318QN304); 三亚市院地科技合作项目 (2018YD19)

作者简介: 谭春明 (1991—), 男, 硕士, 研究实习员, 从事水产养殖及高值化利用研究。E-mail: cmtan\_ouc@163.com

通信作者: 于刚 (1972—), 男, 博士, 研究员, 从事水产养殖及高值化利用研究。E-mail: gyu0928@163.com

ally showed a suppression-induction trend. 3) The lipase activity of *B. areolata* was generally suppressed or similar with that of the control group with the prolongation of treatment time. 4) The  $\text{NH}_4\text{-N}$  treatment time affected the amylase activity significantly, but in the case of short treatment time, the lysozyme activities of treatment groups did not have much induction or suppression. In conclusion, the stress of ammonia-N can influence the activities of these four digestive enzymes of *B. areolata*.

**Key words:** *Babylonia areolata*; ammonia-N stress; digestive enzymes; enzyme activity

方斑东风螺 (*Babylonia areolata*) 属软体动物门、腹足纲、蛾螺科, 俗称“花螺”、“海猪螺”和“南风螺”, 分布于中国东南沿海、东南亚及日本等地, 是中国东南沿海主要的养殖海珍品和经济贝类, 因其肉质鲜美、营养丰富, 成为畅销国内外且具有推广前景的优质海水养殖贝类品种<sup>[1]</sup>。近年来, 方斑东风螺的养殖生产在中国部分地区如广东、广西和海南等有较快发展, 但在养殖过程中常受到氨氮 ( $\text{NH}_4\text{-N}$ ) 毒性的影响。积累的氨以离子氨 ( $\text{NH}_4^+$ ) 或非离子氨 ( $\text{NH}_3$ ) 的形式存在于水体, 从而影响水生动物的生长<sup>[2]</sup>。

$\text{NH}_4\text{-N}$  是水产养殖水环境中的主要有毒物质和重要的水体环境指标之一, 被认为是水产养殖中的常见胁迫因子, 其浓度受养殖水体中动物排泄物、分泌物、残饵、动植物尸体等含氮有机物分解的影响<sup>[3-4]</sup>。研究表明, 多数水生生物对  $\text{NH}_4\text{-N}$  毒性非常敏感。关于  $\text{NH}_4\text{-N}$  对鱼类、虾类等水生生物消化系统和抗氧化系统酶活力影响的研究已有不少报道<sup>[5-8]</sup>, 但  $\text{NH}_4\text{-N}$  胁迫对方斑东风螺消化酶活力影响的研究仍属空白。徐武杰等<sup>[9]</sup> 研究  $\text{NH}_4\text{-N}$  胁迫对三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) 消化酶活力的影响时发现, 在  $\text{NH}_4\text{-N}$  胁迫下其中肠腺中的胃蛋白酶和脂肪酶活力表现出明显的诱导作用, 而对3种消化器官中淀粉酶活力表现出明显的抑制作用; 胡炜等<sup>[10]</sup> 研究发现慢性  $\text{NH}_4\text{-N}$  胁迫会对刺参 (*Stichopus japonicus*) 摄食、消化与生长产生不利影响, 在质量浓度低于  $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的  $\text{NH}_4\text{-N}$  胁迫下, 刺参消化酶活力短期可被显著诱导上调, 高  $\text{NH}_4\text{-N}$  质量浓度对消化酶活力起抑制效应并可导致生理紊乱, 且该响应存在体质量、规格上的差异; 王程昊等<sup>[11]</sup> 研究发现,  $\text{NH}_4\text{-N}$  胁迫也会影响泥蚶 (*Arca granosa*) 体内的几种免疫酶活力。  $\text{NH}_4\text{-N}$  还可降低水生动物生长速度, 影响其血液生化指标并伤害免疫功能、组织结构及繁殖能力<sup>[12-13]</sup>。当水体中  $\text{NH}_4\text{-N}$  质量浓度低于生物体耐受限度时, 机体能够自行调节其体内相关酶的活力从而适应外界环境的变化, 但当一定质量浓度的  $\text{NH}_4\text{-N}$  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及消化系统就会受到破坏, 相关酶活力下降<sup>[14-16]</sup>。另外,  $\text{NH}_4\text{-N}$  胁迫还会增加水生动物的致病性<sup>[17]</sup>, 从而影响水生动物健康。为探究方斑东风螺在  $\text{NH}_4\text{-N}$  刺激下其体内消化酶活力变化, 进而揭示其消化酶

应对急性胁迫时的调节机制, 本文通过开展方斑东风螺不同质量浓度的  $\text{NH}_4\text{-N}$  胁迫实验, 测定  $\text{NH}_4\text{-N}$  对其常见消化酶活力的影响, 以期充实  $\text{NH}_4\text{-N}$  对贝类毒理实验消化酶层面的基础数据, 并为其他贝类  $\text{NH}_4\text{-N}$  胁迫实验提供科学依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

方斑东风螺由中国水产科学研究院南海水产研究所热带水产研究开发中心 (海南陵水) 提供, 并在该基地进行实验。实验所用方斑东风螺平均体质量为  $(0.392\pm 0.080) \text{ g}$ , 体长为  $(0.65\pm 0.15) \text{ cm}$ , 实验开始前先暂养 2 d。养殖过程中水质参数为温度  $(26.0\pm 1.0) \text{ }^\circ\text{C}$ , 盐度  $33\pm 0.8$ , 溶解氧 (DO) 质量浓度大于  $6.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 亚硝酸盐质量浓度小于  $0.04 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ,  $\text{NH}_4\text{-N}$  质量浓度小于  $0.01 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , pH 为  $8.0\pm 0.2$ 。实验用水为过滤的海水。

### 1.2 实验方法

1.2.1 饲养管理及实验设计 将氯化铵 ( $\text{NH}_4\text{Cl}$ , AR) 配置成质量浓度为  $0\sim 500 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的溶液, 按实验要求放入健康状况良好且大小均一的方斑东风螺, 观察其行为、活动及存活状况, 得到 24 h 和 96 h 100% 死亡浓度 [ ( $\text{LC}_{100}$ , 24 h) 和 ( $\text{LC}_{100}$ , 96 h)], 根据实验结果确定出实验液  $\text{NH}_4\text{-N}$  质量浓度的上、下限。实验过程中停止投饵。

根据所确定的上、下限设置 5 个  $\text{NH}_4\text{-N}$  质量浓度, 分别为  $0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $22 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $47 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、 $102 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和  $220 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 各组均为 3 个平行, 每个实验容器 (3 L) 内投放 30 只健康状况良好的方斑东风螺, 分别于第 6、第 12、第 24、第 36、第 48、第 72 和第 96 小时从各养殖桶中随机取样 3 只, 检测其消化酶活力的变化情况。同时, 每隔 3 h 从每个容器中取水样, 及时调整至设定的表观质量浓度。

每日换水 1 次, 每次换水 50%, 并将养殖桶中的排泄物以及死去的方斑东风螺及时除去。间隔观察并记录各实验组方斑东风螺的状态、行为活动、中毒症状及死亡率。判断死亡的标准为实验东风螺置于塑料板上无明显活动迹象, 用解剖刀触碰无反应。

1.2.2 样品处理 用  $0.2 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$  生理盐水将各实验组所取样品 (整个螺) 按 1 : 2 ( $m : V$ ) 进行研磨, 研磨液于  $5000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ 、 $4 \text{ }^\circ\text{C}$  下离心 10 min, 取 1 mL 上清液于洁净 EP (ep-

pendorf)管中,  $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$  保存待测, 分别采用相关试剂盒测定蛋白及各消化酶活力, 试剂盒购自南京建成生物工程研究所。

1.2.3 数据处理与分析 利用 SPSS 21.0 对实验数据进行统计分析, 先对数据作单因素方差分析 (One-Way ANOVA), 处理间若有显著差异, 再用 Duncan 法比较均值间的差异显著性 ( $P < 0.05$ ), 本文数据均采用“平均值 $\pm$ 标准差 ( $\bar{x} \pm SD$ )”表示。

## 2 结果

### 2.1 $\text{NH}_4\text{-N}$ 胁迫对方斑东风螺的急性毒性作用

$\text{NH}_4\text{Cl}$  处理组中, 随着  $\text{NH}_4\text{Cl}$  浓度的升高, 方斑东风螺呈现不同的应激行为甚至死亡, 主要表现为运动缓慢, 对外界刺激反应迟钝, 爬壁运动减少, 逐渐翻背, 沉于水桶底部, 身体僵硬直至死亡。死亡状态的东风螺, 吻管向外凸出, 螺肉外翻、惨白僵硬。300  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{NH}_4\text{Cl}$  处理组第 48 小时开始出现死亡, 第 96 小时成活率为 (60.0 $\pm$ 1.6)%, 而 500  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$   $\text{NH}_4\text{-N}$  处理组于第 24 小时便出现 (20.3 $\pm$ 2.1)% 的死亡率, 死亡个体吻稍微张开、出现体色变红现象, 且第 96 小时成活率为 0, 其余各组成活率为 100% (表 1)。可见,  $\text{NH}_4\text{-N}$  浓度越大, 其毒性作用越强, 方斑东风螺死亡率越高; 相同条件下,  $\text{NH}_4\text{-N}$  胁迫时间越久, 方斑东风螺死亡率也越高。

### 2.2 $\text{NH}_4\text{-N}$ 胁迫对方斑东风螺溶菌酶活力的影响

不同浓度  $\text{NH}_4\text{-N}$  对方斑东风螺溶菌酶活力的影响显著 ( $P < 0.05$ ), 而处理时间对方斑东风螺溶菌酶活力影响极显著 ( $P < 0.01$ )。第 6 小时各  $\text{NH}_4\text{-N}$  浓度处理组个体溶菌酶活力与对照组相比均呈降低趋势, 但随着时间的延长, 溶菌酶活力呈先增后降 (22  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和 102  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  处理组) 或先增后降再增 (47  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和 220  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  处理组) 的趋势 (图 1-a)。综上, 溶菌酶活力表现出“抑制-诱导”的趋势。

### 2.3 $\text{NH}_4\text{-N}$ 胁迫对方斑东风螺胃蛋白酶活力的影响

处理时间和不同质量浓度的  $\text{NH}_4\text{-N}$  均极显著影响方斑东风螺胃蛋白酶活力 ( $P < 0.01$ )。相比对照组, 22  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  处理组个体胃蛋白酶活力随时间的延长呈“诱导-抑制”变化趋势, 但 47  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  处理组个体胃蛋白酶活力随时间的延长却呈现“抑制-诱导-抑制”变化趋势, 而其他各处理组个体胃蛋白酶活力随时间的变化趋势为“抑制-诱导”且峰值均出现在第 72 小时, 谷值均出现在第 6 小时 (图 1-b)。

### 2.4 $\text{NH}_4\text{-N}$ 胁迫对方斑东风螺脂肪酶活力的影响

处理时间对方斑东风螺脂肪酶活力影响极显著 ( $P < 0.01$ ), 不同浓度的  $\text{NH}_4\text{-N}$  胁迫导致各组处理个体脂肪酶活

表1 氨氮对方斑东风螺急性毒性实验结果

Tab.1 Acute toxicity experiment of  $\text{NH}_4\text{-N}$  to *B. areolata*

$\rho(\text{NH}_4\text{Cl})/\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$	死亡率/% mortality rate			
	第24小时	第48小时	第72小时	第96小时
对照 control	0	0	0	0
25	0	0	0	0
50	0	0	0	0
75	0	0	0	0
100	0	0	0	0
200	0	0	0	0
300	0	21.4 $\pm$ 3.3	40.1 $\pm$ 2.9	60.0 $\pm$ 1.6
500	20.3 $\pm$ 2.1	50.0 $\pm$ 2.7	73.6 $\pm$ 4.2	100.0

力变化趋势也存在显著差异 ( $P < 0.05$ )。各处理组脂肪酶活力较对照组在总体上呈抑制作用或与对照组呈相似水平, 但中质量浓度处理组 (47  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、102  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 个体脂肪酶活力在第 6 小时表现出诱导作用, 低、高质量浓度处理组 (22  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、220  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) 个体脂肪酶活力于第 48 小时表现出诱导作用 (图 1-c)。

### 2.5 $\text{NH}_4\text{-N}$ 胁迫对方斑东风螺淀粉酶活力的影响

处理时间对方斑东风螺淀粉酶活力影响极显著 ( $P < 0.01$ ), 不同浓度的  $\text{NH}_4\text{-N}$  胁迫导致各组处理个体淀粉酶活力变化趋势存在明显差异 ( $P < 0.05$ )。各处理组淀粉酶活力相比对照组在处理时间较短的情况下并无太大的诱导或抑制作用,  $\text{NH}_4\text{-N}$  质量浓度为 47  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和 102  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的处理组在第 72 和第 96 小时才表现出明显的诱导作用, 而  $\text{NH}_4\text{-N}$  质量浓度为 220  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  的处理组在第 6 小时表现出明显的抑制作用, 并在第 36 和第 96 小时具有一定的诱导作用 (图 1-d)。

## 3 讨论

### 3.1 $\text{NH}_4\text{-N}$ 对方斑东风螺生存状况和成活率的影响

研究表明, 对水生动物造成危害甚至死亡的  $\text{NH}_4\text{-N}$  成分主要是  $\text{NH}_3$ <sup>[2]</sup>。 $\text{NH}_3$  因不带电荷且具有较强的脂溶性而对水生动物有极大毒性, 能够穿透水体细胞膜表现出毒性效应, 但  $\text{NH}_4^+$  对水生动物毒性很小<sup>[7,11,18]</sup>。

本实验结果显示, 方斑东风螺对  $\text{NH}_4\text{-N}$  具有一定的耐受性, 因此高质量浓度 (500  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ )  $\text{NH}_4\text{-N}$  处理 24 h 仅 (20.3 $\pm$ 2.1)% 的死亡率, 但在 96 h 后全部死亡, 说明该  $\text{NH}_4\text{-N}$  浓度已超过方斑东风螺最大耐受浓度。师尚丽等<sup>[2]</sup>指出,  $\text{NH}_4\text{-N}$  的浓度越大, 其毒性作用越强, 与本实验结

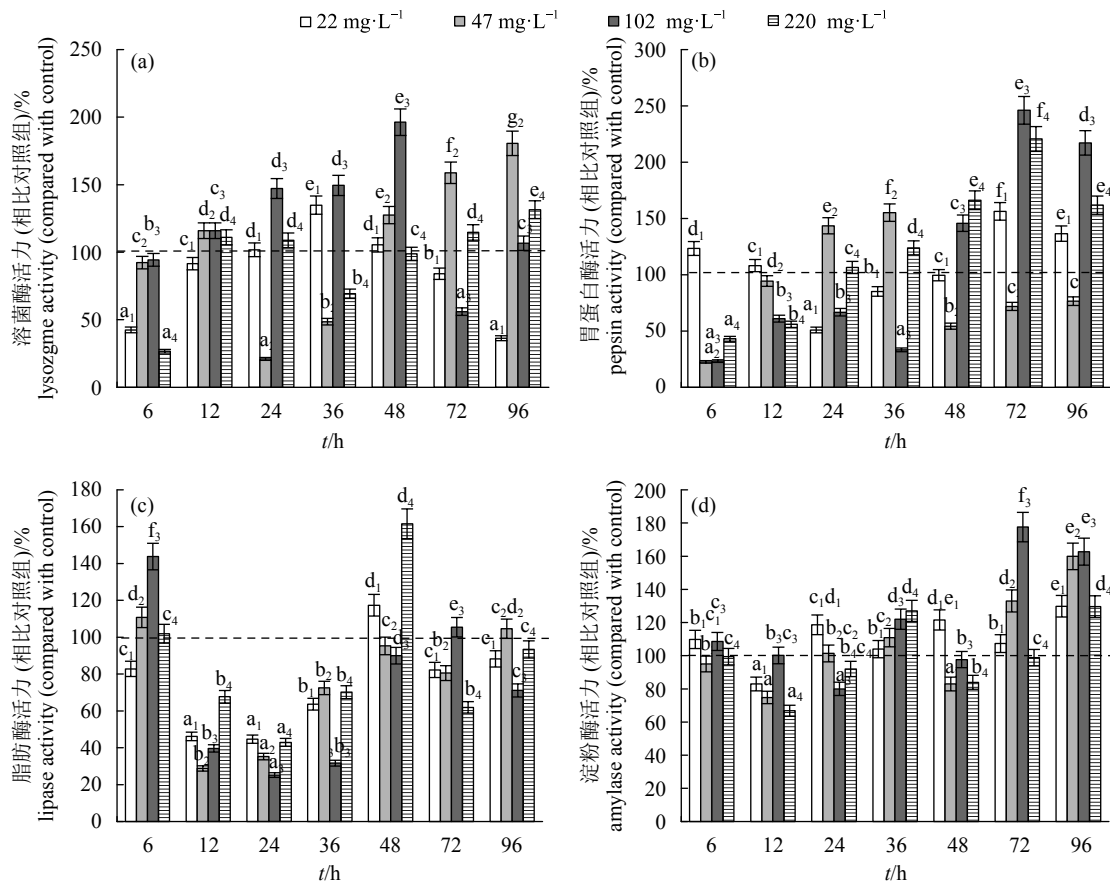


图1 氨氮胁迫对方斑东风螺4种消化酶活力的影响

不同字母表示同一组不同处理时间之间存在显著性差异, 字母下标数字代表组号, 分别为 22  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、47  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 、102  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  和 220  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$

Fig.1 Effect of  $\text{NH}_4\text{-N}$  stress on activities of four digestive enzymes of *B. areolata*

Different letters indicate significant difference. The subscript letters represent group No., which are 122  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 47  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , 102  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  and 220  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ , respectively.

果一致。因此, 养殖生产中应尽可能地降低养殖水体中  $\text{NH}_4\text{-N}$  的浓度, 及时清理投喂的冰鲜鱼、虾蟹肉等残渣及死亡的东风螺等, 防止含氮有机物分解产生  $\text{NH}_4\text{-N}$ 。另外, 方斑东风螺对  $\text{NH}_4\text{-N}$  的应激行为表现为运动缓慢、对外界刺激反应迟钝和爬壁运动减少等, 可能是  $\text{NH}_4\text{-N}$  影响了东风螺的组织器官, 如影响肌肉伸缩能力和神经介质传递。研究表明, 水体中的  $\text{NH}_4\text{-N}$  会影响鱼、贝类等水产动物的生长摄食、组织器官和免疫机能等<sup>[12,19-23]</sup>。洪美玲等<sup>[24]</sup>在研究  $\text{NH}_4\text{-N}$  对中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 幼体的免疫指标及肝胰腺组织结构影响时指出,  $\text{NH}_4\text{-N}$  不仅损伤机体非特异性免疫防御系统, 还对机体细胞和组织造成伤害。王琨<sup>[25]</sup>研究发现, 在  $\text{NH}_4\text{-N}$  的影响下鲤 (*Cyprinus carpio*) 幼鱼的各个组织器官(鳃、肠、心肌、肾脏、脾脏和肝脏)均受到不同程度的损伤, 且高浓度的  $\text{NH}_4\text{-N}$  使鲤幼鱼的红细胞数量和血红蛋白浓度下降, 而组织器官的损伤和免疫机能的下降正是造成鲤容易患病、死亡的主要

原因。

### 3.2 $\text{NH}_4\text{-N}$ 对方斑东风螺个体消化酶活力的影响

大量研究表明,  $\text{NH}_4\text{-N}$  作为养殖水质污染源之一, 除了对鱼、贝类等水产动物机体的血液指标、组织结构和免疫机能造成损害, 还能降低鱼虾贝类的产卵能力<sup>[26]</sup>, 引起血淋巴理化因子和抗病能力的变化<sup>[27-28]</sup>, 使血淋巴中血细胞(如透明细胞、颗粒细胞和半颗粒细胞)数量下降<sup>[7]</sup>, 还会对水生生物消化系统酶活力造成影响<sup>[5]</sup>。本研究结果表明, 不同质量浓度的  $\text{NH}_4\text{-N}$  对消化酶活力均产生影响, 且随着处理时间的延长表现出不同的诱导或抑制作用。 $\text{NH}_4\text{-N}$  对方斑东风螺个体溶菌酶活力表现出“抑制-诱导”的趋势, 说明贝类溶菌酶活力的提高可能也是一种防御反应外的被动病理显示<sup>[29]</sup>。相比对照组, 22  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  处理组个体胃蛋白酶活力随时间的延长呈“诱导-抑制”变化趋势, 但 47  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$  处理组个体胃蛋白酶活力随时间的延长呈“抑制-诱导-抑制”变化趋势; 而其他各处理组个体胃蛋白酶

活力均在  $\text{NH}_4\text{-N}$  处理一段时间后表现出抑制作用。可以看出在  $\text{NH}_4\text{-N}$  急性胁迫下, 由于  $\text{NH}_4\text{-N}$  的毒性作用, 使得机体的相关代谢酶活力降低, 而机体的应激反应又在短时间内诱导酶活力上升, 其恢复正常水平的时间反映了机体对环境的适应能力。最终酶活力的显著降低说明对处理个体已经造成毒害作用。而不同  $\text{NH}_4\text{-N}$  质量浓度对方斑东风螺处理个体脂肪酶活力的总体抑制, 更表明了  $\text{NH}_4\text{-N}$  的毒害作用。赵海涛<sup>[30]</sup>通过南方鲶 (*Silurus meridionalis*) 幼鱼的  $\text{NH}_4\text{-N}$  胁迫实验得出, 经  $\text{NH}_4\text{-N}$  胁迫后南方鲶幼鱼的造血机能受损, 机体无法将氧 ( $\text{O}_2$ ) 顺利携带进入, 猜测  $\text{NH}_4\text{-N}$  急性中毒引起死亡的主要原因是由机体组织缺氧造成。而乔顺风等<sup>[31-32]</sup>认为,  $\text{NH}_4\text{-N}$  的毒性大小取决于存在状态, 当水体中的  $\text{NH}_4\text{-N}$  以  $\text{NH}_3$  状态存在时, 便会对水生动物产生很强的神经性毒害, 造成急性氨中毒。李波等<sup>[33]</sup>在研究亚硝酸 ( $\text{HNO}_2$ ) 和  $\text{NH}_4\text{-N}$  对黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 的急性毒性时发现,  $\text{NH}_4\text{-N}$  对黄颡鱼的毒性明显大于  $\text{HNO}_2$  对黄颡鱼的毒性, 因而把  $\text{NH}_4\text{-N}$  作为黄颡鱼养殖过程中毒性危害的重要影响因子。

此外, 虽然各消化酶活力随着  $\text{NH}_4\text{-N}$  处理浓度显著变化, 但并不存在明显的线性关系或一致规律, 变化规律较特异, 这可能与东风螺的高抗逆性等生理习性或所处发育阶段不同有关, 也可能是  $\text{NH}_4\text{-N}$  的胁迫对其消化系统造成了一定的紊乱效应, 但并未引起死亡是因为胁迫处理剂量仍在其适应范围内。有研究表明,  $\text{NH}_4\text{-N}$  胁迫程度的差异性与对象规格、养殖密度和个体差异等有关<sup>[34]</sup>。 $\text{NH}_4\text{-N}$  处理组方斑东风螺消化酶活力的变化规律很好地指引了养殖过程中水体  $\text{NH}_4\text{-N}$  的控制范围, 从而防止因超过最大承受能力而造成重大养殖损失。

#### 参考文献:

- [1] 钟鸿干, 王冬梅, 王国福. 东风螺的营养与饵料研究进展 [J]. 河北渔业, 2012(9): 50-53.
- [2] 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): 36-40.
- [3] 程炜轩, 梁旭方, 符云, 等. 高温季节鳃及饵料鱼池塘水质调查研究 [J]. 南方水产科学, 2011, 7(4): 43-48.
- [4] 董乔仕. 养殖水体氨氮的危害及改良 [J]. 齐鲁渔业, 2002(9): 10.
- [5] LIU Y J, HU J, ZHOU S J, et al. Effect of acute ammonia stress on antioxidant enzymes and digestive enzymes in *Barramundi Lates calcarifer* larvae[J]. Soc Isr Aqua Mar Biotech, 2018, 70: 1508-1519.
- [6] 王贞杰, 陈四清, 曹栋正, 等. 急性氨氮胁迫对圆斑星鲃 (*Verasper variegatus*) 幼鱼鳃和肝组织结构及相关酶活性的影响 [J]. 渔业科学进展, 2017, 38(2): 59-69.
- [7] 王芸, 李健, 李吉涛, 等. pH 胁迫对中国明对虾抗氧化系统酶活力及基因表达的影响 [J]. 中国水产科学, 2011, 18(3): 556-564.
- [8] 肖炜, 李大宇, 徐杨, 等. 慢性氨氮胁迫对吉富罗非鱼幼鱼生长、免疫及代谢的影响 [J]. 南方水产科学, 2015, 11(4): 81-87.
- [9] 徐武杰, 潘鲁青, 岳峰, 等. 氨氮胁迫对三疣梭子蟹消化酶活力的影响 [J]. 中国海洋大学学报 (自然科学版), 2011, 41(6): 35-40.
- [10] 胡炜, 赵斌, 李成林, 等. 慢性氨氮胁迫对刺参摄食与消化酶活性的影响 [J]. 中国水产科学, 2018, 25(1): 137-146.
- [11] 王程昊, 钱琦凡, 张耀尹, 等. 氨氮胁迫对泥蚶免疫酶活力的影响 [J]. 水产研究, 2017, 4(3): 65-70.
- [12] 韩春艳, 郑清梅, 陈桂丹, 等. 氨氮胁迫对奥尼罗非鱼非特异性免疫的影响 [J]. 南方水产科学, 2014, 10(3): 47-52.
- [13] 刘洪展, 郑风荣, 孙修勤, 等. 氨氮胁迫对刺参几种免疫酶活性的影响 [J]. 海洋科学, 2012, 36(8): 47-52.
- [14] 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.
- [15] 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.
- [16] 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): 31-34.
- [17] 方金龙, 王元, 房文红, 等. 氨氮胁迫下白斑综合征病毒对凡纳滨对虾的致病性 [J]. 南方水产科学, 2017, 13(4): 52-58.
- [18] 鲁林仓. 谨防氨氮中毒 [J]. 内陆水产, 2001(7): 32.
- [19] 余瑞兰, 聂湘平, 魏泰莉. 分子氨和亚硝酸盐对鱼类的危害及其对策 [J]. 中国水产科学, 1999, 6(3): 73-77.
- [20] 吕晓燕. 亚硝酸盐和氨氮对红螯光壳蟹生理生化的影响 [D]. 上海: 华东师范大学, 2011: 43.
- [21] 王娟, 曲克明, 刘海英, 等. 不同溶氧条件下亚硝酸盐和氨氮对中国对虾的急性毒性效应 [J]. 海洋水产研究, 2007, 28(6): 1-6.
- [22] 魏国富. 淡水养殖水体氨氮成分累积的危害性分析 [J]. 南方农业, 2015, 9(21): 205-207.
- [23] 樊甄姣, 刘志鸿, 杨爱国. 氨氮对栉孔扇贝血淋巴活性氧含量和抗氧化酶活性的影响 [J]. 海洋水产研究, 2005, 26(1): 23-27.
- [24] 洪美玲, 陈立侨, 顾顺樟, 等. 氨氮胁迫对中华绒螯蟹免疫指标及肝胰腺组织结构的影响 [J]. 中国水产科学, 2007, 14(3): 412-418.
- [25] 王琨. 氨氮对鲤 (*Cyprinus carpio* Linnaeus) 幼鱼部分组织及血液指标的影响 [D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2007: 13-16.
- [26] 李长玲, 黄翔鸽, 李瑞伟, 等. 硝化细菌对罗非鱼苗培育环境及抗病力的影响 [J]. 广东海洋大学学报, 2008, 28(6): 41-45.
- [27] 李光, 樊景凤, 林凤翔, 等. 对虾的免疫机制及其疾病免疫预防的研究进展 [J]. 水产科学, 2007, 26(1): 56-60.
- [28] YOUNG L W, CHARMANTIER M, CHARMANTIER G. Effect of ammonia on survival and asmoreglatien in different life stages

- of the lobster *Homarus americanus*[J]. Mar Bid, 1991, 110: 293-300.
- [29] MCGINN N A, CHERR G N. A cellular defense mechanism in the oocytes and embryos of the mussel, *Mytilus galloprovincialis*[J]. J Shellfish Res, 2008, 27(4): 1031.
- [30] 赵海涛. 氨氮对南方鲶 (*Silurus meridionalis* Chen) 幼鱼血液生理、生化及非特异性免疫指标的影响 [D]. 重庆: 西南大学, 2006: 56.
- [31] 乔顺风, 李红顺. 水体生物急性氨中毒的成因和调控技术 [J]. 河北渔业, 2005(2): 27-29.
- [32] 乔顺风, 刘恒义, 靳秀云, 等. 养殖水体氨氮积累危害与生物利用 [J]. 河北渔业, 2006(1): 20-22.
- [33] 李波, 樊启学, 张磊, 等. 不同溶氧水平下氨氮和亚硝酸盐对黄颡鱼的急性毒性研究 [J]. 淡水渔业, 2009, 39(3): 31-35.
- [34] 徐勇, 张修峰, 曲克明, 等. 不同溶氧条件下亚硝酸盐和氨氮对半滑舌鳎的急性毒性效应 [J]. 海洋水产研究, 2006, 27(5): 28-33.