

· 综述 ·

亚硝酸盐在水生动物体内的吸收机制及蓄积的影响因素

高明辉, 马立保, 葛立安, 梅春生, 徐海涛, 陈伟

(华中农业大学动物科技学院动物营养学与饲料科学系, 湖北 武汉 430070)

摘要: 亚硝酸盐是水产养殖系统中一种潜在的污染物, 淡水鱼类通过鳃主动吸收亚硝酸盐, 导致体内亚硝酸盐的浓度过高。海水鱼类对亚硝酸盐的敏感性较低, 但仍可以通过肠和鳃吸收亚硝酸盐。影响亚硝酸盐在体内蓄积的因素很多, 文章就亚硝酸盐在水生动物体内的吸收及蓄积的影响因素这2个方面进行了论述。

关键词: 亚硝酸盐; 吸收机制; 毒性作用; 蓄积

中图分类号: X503.225

文献标识码: A

文章编号: 1673-2227-(2008)04-0073-07

Nitrite uptake mechanism and the influencing factors of accumulation in aquatic animals

GAO Minghui, MA Libao, GE Lian, MEI Chunsheng, XU Haitao, CHEN Wei

(Department of Animal Nutrition and Feed Science, College of Animal Science and Technology, Huazhong Agriculture University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Nitrite is a potential pollutant in aquatic culture systems. Freshwater fishes actively take up nitrite across the gills, leading to high concentrations accumulated within body. Marine fishes are less susceptible but do take up nitrite across intestine and gills. Many factors can influence nitrite accumulation. This paper gave a discussion about nitrite uptake mechanism and the influencing factors of accumulation in aquatic animals.

Key words: nitrite; uptake mechanism; toxicity; accumulation

亚硝酸盐是生态系统中氮循环的一个天然组成部分, 也是水产养殖系统中一个潜在性问题^[1-3]。近年来, 高密度高投饵的集约化养殖方式造成的高蛋白残饵和高含氮排泄物超越养殖水体自然菌群的代谢能力而不断沉积于池底, 是养殖水体中亚硝酸盐等有害物质不断增加的最主要原因^[4-5]。亚硝酸盐浓度的升高已成为影响水产养殖业发展的主要问题^[6-7], 也是诱发鱼病的主要环境因子^[8-9], 甚至可能造成大量的水生动物死亡^[1,7,10-12], 给水产养殖业带来巨大的经济损失。关于这方面的研究主要集中在亚硝酸盐对水生动物的生长及毒性作用^[10,13-14], 而此文就亚硝酸盐是通过何种途径进入水生动物体内以及亚硝酸盐在体内

蓄积的影响因素展开论述, 以期采取相应的措施降低亚硝酸盐的毒性作用提供理论依据。

1 水环境中亚硝酸盐的产生

亚硝酸盐是细菌硝化作用和生态系统中脱氮作用过程的中间产物(图1), 也是水产养殖系统中最常见的污染物^[11,15]。亚硝酸盐是由氨转变而来的, 这是由亚硝化细菌完成的, 而亚硝化细菌的生长繁殖速度为18 min一个世代, 因此, 其转化的时间较短; 另一类细菌, 称为硝化杆菌, 它可以把亚硝酸盐转变为硝酸盐。硝化细菌的生长速度相对较慢, 其繁殖速度为18 h一个世代, 因此, 由亚硝酸盐

收稿日期: 2008-01-04; 修回日期: 2008-04-25

作者简介: 高明辉(1982-), 女, 硕士研究生, 从事鱼类营养与饲料研究。E-mail: gaominghui567@163.com

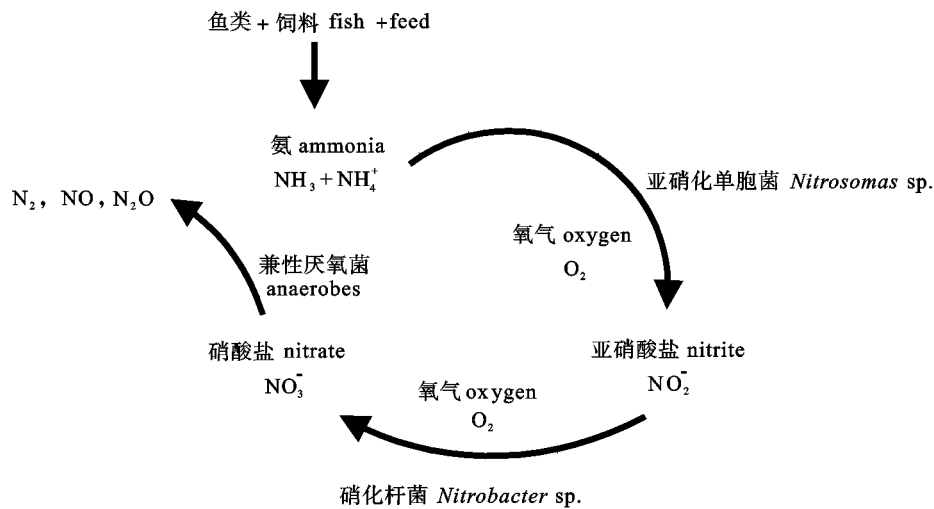


图1 水环境中亚硝酸盐的产生

Fig. 1 Formation of nitrite in the water environment

转化到硝酸盐的时间就长很多。而脱氮作用是通过许多兼性厌氧菌来实现的，它还原硝酸盐为 N_2 与 NO_2^- ， NO 和 N_2O 等这样的中间产物。天然水环境中亚硝酸盐的浓度是非常低的，在微摩范围内，而在商业化鱼类和观赏鱼类的集约化养殖过程中，由于硝化细菌 (*Nitrosomas sp.* 和 *Nitrobacter sp.*) 活性失调^[16-18] 和脱氮作用过程的不平衡^[15,19] 都可能引起亚硝酸盐的过量产生，水中亚硝酸盐的浓度甚至可达 1 mM ($50 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) 或更高^[20-22]。根据对武汉一带的水质调查结果，某些池塘中亚硝酸盐的含量在夏季竟高达 $15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，甚至在冬季也可以达到 $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。影响细菌硝化作用过程的因素，如 pH，水温，溶解氧，硝化细菌的数量，一些化肥、农药及抗生素的使用，甚至生活污水和工业废物排放进入河流或池塘中都可能影响水中亚硝酸盐的产生。一般认为，养殖水体中亚硝酸盐含量 (以氮计) 低于 $0.1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ，对鱼类不会造成损害；含量达到 $0.1 \sim 0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，就会产生中毒症状 (鱼类摄食降低，鳃呈暗紫红色，呼吸困难，游动缓慢，骚动不安)；含量高于 $0.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 时，中毒症状明显加重，某些器官功能会出现衰竭，严重时导致死亡^[23]。因此，在实际生产过程中，要定时对水中亚硝酸盐的含量进行检测，必要时采取适当的措施来缓解亚硝酸盐的毒性作用，如加开增氧机，降低养殖密度，使用微生物制剂或过氧化钙等化学增氧剂。

2 水生动物亚硝酸盐的吸收机制

2.1 淡水动物对亚硝酸盐的吸收

淡水硬骨鱼类对亚硝酸盐的吸收主要是通过 NO_2^- 与 Cl^- 有效地竞争鳃上氯化物的主动吸收机制。因为淡水鱼类和甲壳类动物相对于环境是高渗的，因此，它们需要通过

鳃主动地吸收离子来补偿尿中损失的离子及通过鳃被动外流的离子^[1]。研究认为，淡水鱼类^[24] 和淡水甲壳类动物^[25-26] 鳃离子吸收机制是位于上皮细胞基顶膜上的 H^+ -ATPase 排出 H^+ ，并经过钠离子通道促使 Na^+ 进入细胞。排出的 H^+ 主要是通过二氧化碳水合作用产生的，这一过程由上皮细胞内的碳酸酐酶催化进行的，而形成的 HCO_3^- 则通过顶端 Cl^-/HCO_3^- 的交换机制从而作为 Cl^- 吸收的平衡离子^[1]。因此， H^+ -ATPase 为 HCO_3^- 的排出提供有利的浓度梯度，也为 Cl^- 的吸收创造条件^[25,27-28] (图2)。

由于 NO_2^- 对鳃上 Cl^- 的吸收具有亲和力，因此，亚硝酸盐通过与氯化物竞争，占据氯化物的吸收位点，从而跨过鳃的屏障作用，在血浆中蓄积^[29]，血浆中亚硝酸盐的浓度通常高于环境中亚硝酸盐的浓度，而进入血浆的亚硝酸盐又可以进入红细胞中。研究认为， NO_2^- 进入脊椎动物的红细胞是通过阴离子交换机制 (AE1 或 Band3 蛋白)^[1]，且亚硝酸盐在淡水鱼类鳃中的转运也是通过相似的阴离子交换机制，然而，JENSEN^[30] 研究发现，阴离子交换抑制剂对亚硝酸盐进入鲤 (*Cyprinus carpio*) 红细胞没有影响，MAY 等^[31] 在人类红细胞的研究中也得出相似的结论。亚硝酸盐进入鲤的红细胞，说明亚硝酸盐对氧合作用存在特别大的依赖性，在生理 pH 条件下，亚硝酸盐被广泛地转运到去氧的红细胞中，而亚硝酸盐却很难进入氧合的红细胞^[30-32]。亚硝酸盐进入去氧红细胞和氧合红细胞的不同表明红细胞可能存在氧合依赖性渗透性变化，即氧合红细胞具有较低的渗透性^[1]。因此，亚硝酸盐可能是通过传导性转运进入红细胞内，且亚硝酸盐最初的进入速度确实与跨膜电位有关。在红细胞内，亚硝酸盐把血红蛋白中的 Fe^{2+} 氧化为 Fe^{3+} 产生高铁血红蛋白，而高铁血红蛋白缺乏运输氧气的

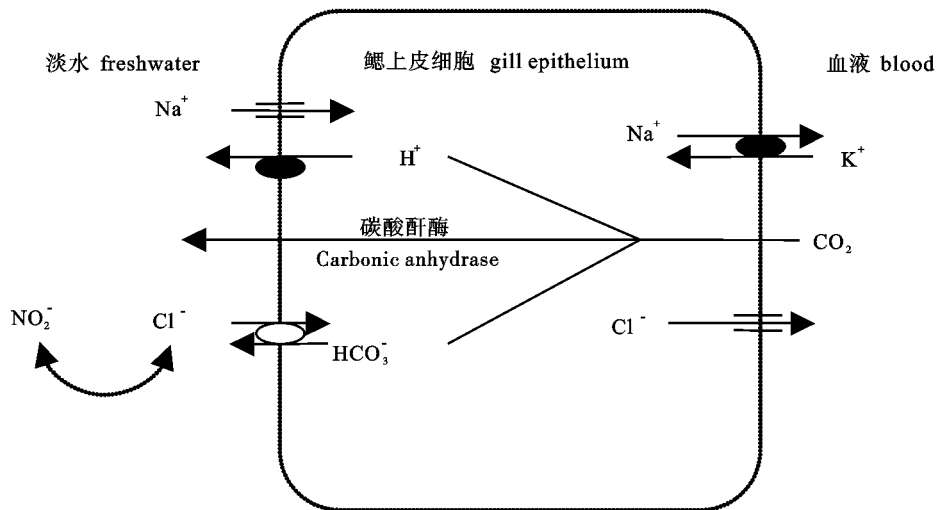


图2 淡水鱼类对亚硝酸盐的吸收机制

Fig. 2 The mechanisms of nitrite uptake in freshwater fish

能力，从而导致组织缺氧。

亚硝酸盐的吸收对于亚硝酸盐毒性的发挥起着重要的作用，而亚硝酸盐的吸收又涉及到 Cl^- 的流入速度。研究发现具有较高氯离子流入速度的鱼类似乎具有较高的亚硝酸盐吸收速度^[1,22]。欧洲鳗鲡 (*Anguilla anguilla*)，鲤和丁鲷 (*Tinca tinca*)，这些鱼类具有较低的 Cl^- 流入速度，因此，对 NO_2^- 中毒的敏感性较低^[33]。事实上，鳃中 Cl^- 吸收速率高的鱼类 [如虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)，鲈 (*Lateolabrax japonicus*)，日本鲟 (*Sphyrna japonica*)] 与鳃中 Cl^- 吸收速率低的鱼类 [如海鳗 (*Muraenesox cinereus*)、鲤] 相比，前者对亚硝酸盐的敏感性更高，这一事实也支持了亚硝酸盐和氯化物的共同吸收机制，即鳃 Cl^- 流入速度较高的鱼类伴随着较高的亚硝酸盐吸收速度^[22]。

淡水硬骨鱼类对亚硝酸盐的吸收可能还存在另一种机制即 HNO_2 的扩散。一些亚硝酸盐可能通过 HNO_2 的扩散进入鱼体，但是这一途径在很多情况下并不是主要的^[1]。因为在天然 pH 值条件下 (亚硝酸的 $\text{PKa} = 3.35$)，只有很少一部分亚硝酸盐以 HNO_2 的形式存在，而大多数池塘水中 pH 范围在 6~8 左右，这意味着在 pH 大于 5 的条件下， NO_2^- 的量远远高于 HNO_2 的量，而且， HNO_2 的扩散也不能很好地解释水中氯化物对亚硝酸盐的保护效应^[1,22,34]，但在水中 pH 较低的情况下，也不能排除亚硝酸盐通过 HNO_2 扩散方式进入。0.72 mM 的亚硝酸盐在 pH 为 6.8 时， HNO_2 的百分率比 pH 为 8.2 时 HNO_2 的百分率高出 25 倍，比 pH 为 9.2 时 HNO_2 的百分率高出 1 167 倍，且 CHEN 等^[35] 的研究也表明，亚硝酸盐进入斑节对虾 (*Penaeus monodon*) 血淋巴中主要是通过 HNO_2 的被动扩散，说明在低 pH 条件下， HNO_2 的被动扩散不容忽视，但这种观点还

需要进一步验证。目前对硬骨鱼类和非硬骨鱼类的组群比较也进一步证实了硬骨鱼类对亚硝酸盐的吸收是通过鳃上氯化物的吸收机制，且它也是硬骨鱼类的一种祖传特性。

2.2 海水动物对亚硝酸盐的吸收

海水硬骨鱼类生活在高渗环境中，因此，面临着与淡水鱼类不同的需求，它们需要不断地吞饮海水，且通过肠上皮吸收离子和水来补偿水的损失^[19]，因此，吞饮海水也揭示了亚硝酸盐跨肠上皮吸收的可能性。海水鱼类肠道前段亚硝酸盐的浓度与环境水中亚硝酸盐的浓度相似，但是后肠部分亚硝酸盐的浓度下降，直肠液中亚硝酸盐的浓度最低，这意味着 NO_2^- 可以横过肠上皮被吸收^[15]。亚硝酸盐可能通过 $\text{Na}^+/\text{K}^+ / 2\text{Cl}^-$ 协同转运体参与肠基顶膜上 NO_2^- 的吸收 (NO_2^- 替代 Cl^-)，但其它的途径也可能发生，即通过 Na^+/Cl^- 协同转运蛋白和通过传导性转运。GROSELL 和 JENSEN^[15] 通过原位灌注对川鲮 *Platichthys flesus* 肠道亚硝酸盐的吸收进行研究，发现吸收的亚硝酸盐 2/3 是通过肠道途径得到的。剩余吸收的亚硝酸盐主要是通过鳃，而通过鳃吸收的亚硝酸盐可能是通过扩散方式或置换鳃转运体上的氯化物而被吸收的。由于海水鱼类鳃上皮细胞中离子的渗透性相对较高，因此， NO_2^- 的向内扩散 (传导性转运) 可能是海水鱼类鳃上一个最重要的转运途径，且这种转运依赖于 NO_2^- 浓度的差异以及鳃上皮细胞的电位 (经上皮电位)。

3 亚硝酸盐蓄积的影响因素

水生动物可以在血液、肝脏、肾脏和鳃中蓄积亚硝酸盐，最终对动物产生一定的毒性作用。亚硝酸盐的蓄积受很多外在因素和内在因素的影响，如氯化物、暴露浓度和

时间、温度、pH、种属差异、种内差异等。

3.1 氯化物

由于 NO_2^- 与 Cl^- 都需要通过鳃小板上的氯细胞才能进入鱼体, 水中的 Cl^- 可以与 NO_2^- 竞争氯细胞的吸收位点而增加了 NO_2^- 进入鱼体的难度, 从而可以抑制亚硝酸盐的吸收和蓄积^[36], 且这种蓄积的严重性与水中氯化物与亚硝酸盐的比率有关。MARGIOCCO 等^[37] 研究表明, 虹鳟暴露在周围亚硝酸盐浓度为微摩尔浓度范围内, 如果水中氯化物也在微摩尔范围内, 那么亚硝酸盐可以在血浆浓缩到毫摩尔浓度, 当暴露在亚硝酸盐浓度为毫摩尔范围内, 如果水中 Cl^- 水平足够高, 那么仍可以耐受很长的时间。CHEN 和 LEE^[38] 研究认为, 当环境中 Cl^- 浓度从 $15 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 增加到 $33 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 能够使罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) (暴露在 0.71 mM 亚硝酸盐中 24 h) 血淋巴中亚硝酸盐的浓度从 2.16 mM 减少到 0.67 mM 。而 BOUDREAUX 等^[39] 研究发现, 眼斑雀鳊 (*Lepisosteus oculatus*), 纺锤骨雀鳊 (*Atractosteus spatula*) 和匙吻鲟 (*Polyodon spathula*) 暴露在只有亚硝酸盐的水中, 其血浆亚硝酸盐的浓度高于鱼类暴露在氯化物与亚硝酸盐比率为 20:1 时其血浆亚硝酸盐浓度的 30 倍, 这说明氯化物可以抑制亚硝酸盐对鱼类的毒性作用^[40-41]。但是 TOMASSO^[41] 研究发现, 氯化物不能降低亚硝酸盐对大口黑鲈 (*Micropterus salmoides*) 的毒性作用, 且 ATWOOD 等^[42] 报道, 环境中以盐的形式存在的氯化物对亚硝酸盐引起的漠斑牙鲮 (*Paralichthys lethostigma*) 的存活率或亚硝酸盐的吸收没有影响。

ATWOOD 等^[43] 研究表明, 在水中添加氯化物后, 尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 血浆中亚硝酸盐的浓度低于环境中亚硝酸盐的浓度, 且不论氯化物以氯化钙或氯化钠的形式添加都没有差别, 然而, MAZIK 等^[44] 研究表明, 与氯化钠相比, 氯化钙是一种更有效的亚硝酸盐毒性抑制剂。添加氯化钙可以更有效地抑制幼短吻鲟 (*Acipenser brevirostrum*) 对水中亚硝酸盐的吸收^[45]。SIPAÚBA 和 BOYD^[46] 对美国阿拉巴马州鲟鱼养殖的调查发现, 大多数养殖户通常使用氯化钠以维持水中氯化物的浓度为 $50 \sim 100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 以预防斑点叉尾鲟 (*Ictalurus punctatus*) 的高铁血红蛋白血症。以上研究结论表明, 水中氯化物对亚硝酸盐的蓄积及毒性作用的影响还存在争议, 这可能与鱼的种类和环境条件的不同有关, 但氯化物的添加形式及氯化物与亚硝酸盐的比率也是影响亚硝酸盐蓄积及毒性的因素之一。因此, 在养殖过程中对 $\text{Cl}^-/\text{NO}_2^-$ 比率的检测是很重要的, 当水中亚硝酸盐的浓度较高时, 要根据池塘中的养殖品种和水体环境, 选择适当形式的氯化物投入水中以增加 Cl^- 浓度, 从而降低亚硝酸盐在水生动物体内的蓄积, 但要控制好 Cl^- 和 NO_2^- 的比率, 一般情况下 Cl^- 和 NO_2^- 的比率在 6:1

以上较好^[36], 但过多的添加容易造成水质盐化。

3.2 暴露浓度和时间

鱼类可以把环境中的亚硝酸盐聚集在它们的血浆中, 这是由于亚硝酸盐通过鳃氯化物的吸收机制 (鳃上皮细胞 $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ 同向转运交换系统)^[47-48]。一些鱼类血浆和虾类血淋巴中亚硝酸盐的浓度随着亚硝酸盐暴露时间和暴露剂量而增加^[2,45,49]。CHEN 等^[35] 研究发现, 斑节对虾暴露在 pH 为 6.8, 8.2, 9.8, 浓度为 0.72 mM 的亚硝酸盐中, 随着暴露时间的延长, 其血淋巴中的亚硝酸盐显著地增加。YILDIZ 等^[2] 将土耳其螯虾 (*Astacus leptodactylus*) 暴露在 9, 14, $25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 的亚硝酸盐中 48 h, 其血淋巴中蓄积的亚硝酸盐分别高达 46.0, 311, $860.5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 并随着亚硝酸盐暴露浓度的增加而增加, 而 TEADU FERREIRA DA COSTA 等^[3] 在大盖巨脂鲤 (*Colossoma macropomum*) 的研究中也得出相似的结论。一般来说, 对亚硝酸盐敏感的动物具有更快的亚硝酸盐蓄积速度, 且亚硝酸盐在鱼体内的最大蓄积需要 24~48 h 的暴露。

3.3 温度

温度也可以影响亚硝酸盐的蓄积。JEBERG 等^[50] 研究发现, 低温可以显著地降低亚硝酸盐在欧洲螯虾 (*Astacus astacus*) 体内的蓄积。近年来关于温度对亚硝酸盐蓄积的影响报道较少, 但不可否认的是, 高温可以在一定程度上增强亚硝酸盐的毒性作用, 至于它对亚硝酸盐蓄积的影响还需要进一步研究。

3.4 pH

除了外界环境中氯化物、温度、暴露浓度和时间等影响因素外, pH 也可以影响亚硝酸盐的蓄积。CHEN 等^[35] 在亚硝酸盐的暴露试验中发现, 在 pH 为 6.8 时, 随着暴露时间的增加, 斑节对虾血淋巴中蓄积的亚硝酸盐明显地高于 pH 为 8.2 和 9.8 时血淋巴中蓄积的亚硝酸盐, 且血淋巴中蓄积的亚硝酸盐与 pH 和暴露时间呈显著地相关。关于 pH 对亚硝酸盐蓄积影响的研究报道较少, 而 pH 的变化往往会影响到水中其它成分的变化, 尤其是离子氨和非离子氨, 所以很难对实验结果进行判定。但不可否认的是 pH 可以影响亚硝酸盐在体内的蓄积, 且关于 pH 对亚硝酸盐在不同动物体内的蓄积规律还有待进一步研究。

3.5 种属差异

亚硝酸盐的蓄积除了外界因素的影响外, 还表现出较大的种属变异。鳃中 Cl^- 的吸收速率低的鱼类对亚硝酸盐的敏感性也低, 因此, 不利于亚硝酸盐的吸收和在组织中的蓄积。海鳗、大口黑鲈、条纹狼鲈 (*Morone saxatilis*) 鳃中 Cl^- 的吸收速率特别低, 对亚硝酸盐的敏感性也低。而欧洲螯虾和土耳其螯虾与虹鳟相比, 前两者具有较高的亚硝酸盐吸收速度^[51-52], 因此, 在相同的水质条件下, 欧洲

螯虾和土耳其螯虾比虹鳟更能蓄积相当高浓度的亚硝酸盐。事实上并不是所有的硬骨鱼类都能够把环境中的亚硝酸盐聚集在它们的血液中,例如鲾形目(Pleuronectiformes)^[42],鲈形目(Perciformes)^[41,44],鲢形目(Cyprinodontiformes)^[53]和鳗形目(Anguilliformes)^[33]等动物不能把亚硝酸盐聚集在它们的血浆中,因为亚硝酸盐和氯化物吸收的关系^[48]。根据以往的研究结论,亚硝酸盐蓄积的种属差异可能是由于鳃中Cl⁻吸收速率的种属差异以及在吸收机制中对亚硝酸盐相对亲和力的不同引起的。亚硝酸盐的蓄积与水生动物血液的氧合状况有关,而氧合状况与动物的种类有关,活动性较强的水生动物需氧量较高,因此,在供氧相同的条件下,亚硝酸盐进入去氧红细胞中的速度明显地高于氧合的红细胞,因为去氧的红细胞对亚硝酸盐的亲合力似乎高于氧合的红细胞。

3.6 种内差异

除了种属差异外,亚硝酸盐的蓄积也呈现出种内差异性。虹鳟个体之间对亚硝酸盐的敏感性也存在差异^[54-55]。对亚硝酸盐敏感的虹鳟,表现出更快速的亚硝酸盐蓄积,更显著的生理学紊乱和更早的死亡率^[55]。因为对亚硝酸盐敏感的虹鳟比耐受的虹鳟具有更显著高的鳃亚硝酸盐流入速度^[56]。研究发现,富含线粒体的氯细胞是氯化物(亚硝酸盐)跨鳃吸收的最可能部位,所以亚硝酸盐蓄积的差异,一种可能的原因是氯细胞数量的变化和鳃氯细胞的表面积。在亚硝酸盐暴露过程中,氯细胞数量增加并出现氯细胞的肥大现象^[57],因此,推测亚硝酸盐蓄积的差异可能是由于个体之间氯细胞增殖不相同,从而导致对亚硝酸盐的差别性选择。种内亚硝酸盐蓄积的差异,另一种解释是由于亚硝酸盐解毒作用的变化和消除机制^[55]。HUERTAS等^[49]研究报道,幼西伯利亚鲟(*A. baeri*)的肝细胞似乎具有一种亚硝酸盐的解毒机制,它可以从血液中移除这一有毒物质。鱼类的肝细胞可以有效地氧化亚硝酸盐为硝酸盐,通过2种可能的机制即过氧化氢酶和细胞色素氧化酶途径。亚硝酸盐解毒的另一种机制是通过高铁血红蛋白还原酶系统。

4 结论

目前,随着高密度集约化养殖水平的提高,亚硝酸盐引起的水质恶化越来越受到养殖界和相关学者的重视,其对水生动物的毒害作用也严重制约着水产养殖业的发展。淡水鱼类亚硝酸盐的吸收途径与海水鱼类存在差异,海水鱼类主要是通过肠上皮,而淡水鱼类主要是通过鳃吸收。亚硝酸盐在水生动物体内的蓄积依赖于很多外界和内在因素,因此,任何因素的改变都能够影响体内亚硝酸盐的蓄积。未来的研究还需要进一步理解氯细胞的变化对亚硝酸盐蓄积的影响。

参考文献:

- [1] JENSEN F B. Nitrite disrupts multiple physiological functions in aquatic animals [J]. *Comp Biochem Physiol*, 2003, 135A (1): 9-24.
- [2] YILDIZ H Y, BENLI A C K. Nitrite toxicity to crayfish, *Astacus leptodactylus*, the effects of sublethal nitrite exposure on hemolymph nitrite, total hemocyte counts, and hemolymph glucose [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2004, 59 (3): 370-375.
- [3] TEADU FERREIRA DA COSTA O, DOS SANTOS FERREIRA D J, LO PRESTI MENDONCA F, et al. Susceptibility of the Amazonian fish, *Colossoma macropomum* (Serrasalminae), to short-term exposure to nitrite [J]. *Aquac*, 2004, 232 (1/4): 627-636.
- [4] 余瑞兰, 聂湘平, 魏泰莉, 等. 分子氮和亚硝酸盐对鱼类的危害及其对策的研究 [J]. *中国水产科学*, 1999, 6 (3): 73-77.
- [5] 谭树华, 罗少安, 梁芳, 等. 亚硝酸钠对鲫鱼肝脏过氧化氢酶活性的影响 [J]. *淡水渔业*, 2005, 35 (5): 16-18.
- [6] DVORAK P. Selected specificity of aquarium fish disease (in Czech) [J]. *Bull VURH Vodnany*, 2004, 40 (3): 101-108.
- [7] SVOBODOVA Z, MACHOVA J, POLESZCZUK G, et al. Nitrite poisoning of fish in aquaculture facilities with water-recirculating systems; three case studies [J]. *Acta Vet Brno*, 2005, 74 (1): 129-137.
- [8] 赵玉宝, 袁宝山. 生态管理与暴发性鱼病 [J]. *淡水渔业*, 1994, 24 (1): 23-25.
- [9] 蒋艾青, 杨四秀, 郑陶生, 等. 池塘鱼类暴发性疾病与主要水化因子关系研究 [J]. *水利渔业*, 2005, 25 (5): 104-105.
- [10] MARTINEZ C B R, SOUZA M M. Acute effects of nitrite on ion regulation in two neotropical fish species [J]. *Comp Biochem Physiol*, 2002, 133 (1): 151-160.
- [11] WANG Weina, WANG Anli, ZHANG Yajuan, et al. Effects of nitrite on lethal and immune response of *Macrobrachium nipponense* [J]. *Aquac*, 2004, 232 (1/4): 679-686.
- [12] SVOBODOVA Z, KOLAROVA J. A review of the diseases and contaminant related mortalities of tench (*Tinca tinca* L.) [J]. *Vet Med-Czech*, 2004, 49 (1): 19-34.
- [13] SIKAVUOPIOA S I, DALEA T, CHRISTIANSEN J S, et al. Effects of chronic nitrite exposure on gonad growth in green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis* [J]. *Aquac*, 2004, 242 (1/4): 357-363.
- [14] SIKAVUOPIOA S I, SÆETHER B S. Effects of chronic nitrite exposure on growth in juvenile Atlantic cod, *Gadus morhua* [J]. *Aquac*, 2006, 255 (1/4): 351-356.
- [15] GROSELL M, JENSEN F B. Uptake and effects of nitrite in the marine teleosts fish *Platichthys flesus* [J]. *Aquat Toxicol*, 2000, 50 (1/2): 97-107.
- [16] MASSER M P, RAKOCY J, LOSORDO T M. Recirculating aquaculture tank production systems management of recirculating systems

- [J]. SRAC Publication, 1999, 452 (94): 1-12.
- [17] WICKINS J F, LEE D O' C. Crustacean farming ranching and culture [M]. Oxford: Second Edition Blackwell Science, 2002, 446: 1-480.
- [18] LIN Yongchun, CHEN Jiannchu. Acute toxicity of nitrite on *Litopenaeus vannamei* (Boone) juveniles at different salinity levels [J]. Aquac, 2003, 224 (1/4): 193-201.
- [19] DEANE E E, WOO N Y S. Impact of nitrite exposure on endocrine, osmoregulatory and cytoprotective functions in the marine teleost *Sparus sarba* [J]. Aquat Toxicol, 2007, 82 (2): 85-93.
- [20] AVNIMELECH Y, WEBER B, HEPHER B, et al. Studies in circulated fish ponds; organic matter recycling and nitrogen transformation [J]. Aquac Fish Manag, 1986, 17 (13): 231-242.
- [21] KAMSTRA A, SPAN J A, VAN WEERD J H. The acute toxicity and sublethal effects of nitrite on growth and feed utilization of European eel, *Anguilla anguilla* (L.) [J]. Aquac Res, 1996, 27 (2): 903-911.
- [22] KROUPOVA H, MACHOVA J, SVOBODOVA Z. Nitrite influence on fish: a review [J]. Vet Med-Czech, 2005, 50 (11): 461-471.
- [23] 姚传付. 养鱼慎防亚硝酸盐 [J]. 北京水产, 2006, 11 (2): 44.
- [24] EVANS D H, PIERMARINI P M, CHOE K P. The multifunctional fish gill: dominant site of gas exchange, osmoregulation, acid-base regulation, and excretion of nitrogenous waste [J]. Physiol Rev, 2005, 85 (1): 97-177.
- [25] ONKEN H, PUTZENLECHNER M. A V-ATPase drives active, electrogenic and Na⁺-independent clyabsorption across the gills of *Eriocheir sinensis* [J]. J Exp Biol, 1995, 198 (2): 767-774.
- [26] ZARE S, GREENAWAY P. The effect of moulting and sodium depletion on sodium transport and the activities of Na⁺-K⁺ ATPase, and V-ATPase in the freshwater crayfish *Cherax destructor* (Crustacea; Parastacidae) -Potential energization by a V-type H⁺-ATPase [J]. Comp Biochem Physiol, 1998, 119A (7): 739-745.
- [27] JENSEN L J, WILLUMSEN N J, LARSEN E H. Proton pump activity is required for active uptake of chloride in isolated amphibian skin exposed to freshwater [J]. J Comp Physiol, 2002, 172B (6): 503-511.
- [28] BRAUNER C J, SUVAJZIC K, NILSSON G, et al. Fish physiology, toxicology, and water quality [C]. Proceedings of the Ninth International Symposium, Capri, Italy. Athens, Georgia: Ecosystems Research Division, 2006: 120-121.
- [29] AVILEZ I M, ALTRAN A E, AGUIAR L H, et al. Hematological responses of the Neotropical teleost matrinx (*Brycon cephalus*) to environmental nitrite [J]. Comp Biochem Physiol, 2004, 139C (1/3): 135-139.
- [30] JENSEN F B. Nitrite and red cell function in carp: control factors for nitrite entry, membrane potassium ion permeation, oxygen affinity and methaemoglobin formation [J]. J Exp Biol, 1990, 152 (1): 149-166.
- [31] MAY J M, QU Z C, XIA L, et al. Nitrite uptake and metabolism and oxidant stress in human erythrocytes [J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2000, 279 (6): 1 946-1 954.
- [32] JENSEN F B. Influence of haemoglobin conformation, nitrite and eicosanoids on K⁺ transport across the carp red blood cell membrane [J]. J Exp Biol, 1992, 171 (1): 349-371.
- [33] WILLIAMS E M, EDDY F B. Chloride uptake in freshwater teleosts and its relationship to nitrite uptake and toxicity [J]. J Comp Physiol, 1986, 156B (6): 867-872.
- [34] EDDY F B, WILLIAMS E M. Nitrite and freshwater fish [J]. Chem Ecol, 1987, 13 (1): 31-38.
- [35] CHEN Jiannchu, CHENG Shayen. Recovery of *Penaeus monodon* from functional anaemia after exposure to sublethal concentration of nitrite at different pH levels [J]. Aquat Toxicol, 2000, 50 (1/2): 73-83.
- [36] 乔顺风. 水体氨氮转化形式与调控利用的研究 [J]. 饲料工业, 2005, 26 (12): 44-46.
- [37] MARGIOCCO C, ARILLO A, MENSI P, et al. Nitrite bioaccumulation in *Salmo gairdneri* Rich and hematological consequences [J]. Aquat Toxicol, 1983, 3 (2): 261-270.
- [38] CHEN Jiannchu, LEE Yuh. Effects of nitrite on mortality, ion regulation and acid-base balance of *Macrobrachium rosenbergii* at different external chloride concentrations [J]. Aquat Toxicol, 1997, 39 (15): 291-305.
- [39] BOUDREAUX P J, FERRARA A M, FONTENOT Q C. Chloride inhibition of nitrite uptake for non-teleost Actinopterygian fishes [J]. Comp Biochem Physiol, 2007, 147A (2): 420-423.
- [40] TOMASSO J R, SIMCC B A, DAVIS K B. Chloride inhibition of nitrite-induced methemoglobinemia in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. J Fish Res Board Canada, 1979, 36: 1 141-1 144.
- [41] TOMASSO J R. Comparative toxicity of nitrite to freshwater fishes [J]. Aquat Toxicol, 1986, 8: 129-137.
- [42] ATWOOD H L, TOMASSO J R J, SMITH T I J. Nitrite toxicity to southern flounder *Paralichthys lethostigma* in fresh and brackish water [J]. J World Aquac Soc, 2001, 32 (3): 348-351.
- [43] ATWOOD H L, FONTENOT Q C, TOMASSO J R, et al. Toxicity of nitrite to Nile tilapia: effect of fish size and environmental chloride [J]. N Am J Aquac, 2001, 63 (1): 49-51.
- [44] MAZIK P M, HINMAN M L, WINKELMANN D A, et al. Influence of nitrite and chloride concentrations on survival and hematological profiles of striped bass [J]. Trans Am Fish Soc, 1991, 120 (2): 247-254.

- [45] FONTENOT Q C, ISELY J J, TOMASSO J R. Characterization and inhibition of nitrite uptake in shortnose sturgeon fingerlings [J]. *J Aquat Anim Health*, 1999, 11 (1): 76-80.
- [46] SIPAÚBA T L H, BOYD C E. Possible effects of sodium chloride treatment on quality of effluents from Alabama channel catfish ponds [J]. *J World Aquac Soc*, 2003, 34 (2): 217-222.
- [47] EVANS D H. The physiology of fishes [J]. *Rev Fish Biol Fish*, 1994, 4 (2): 261-262.
- [48] TOMASSO J R, GROSELL M. Physiological basis for large differences in resistance to nitrite among freshwater and freshwater-acclimated euryhaline fishes [J]. *Environ Sci Technol*, 2005, 39 (1): 98-102.
- [49] HUERTAS M, GISBERT E, RODRÍGUEZ A, et al. Acute exposure of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*, Brandt) yearlings to nitrite: median-lethal concentration (LC_{50}) determination, haematological changes and nitrite accumulation in selected tissues [J]. *Aquat Toxicol*, 2002, 57 (4): 257-266.
- [50] JEBERG M V, JENSEN F B. Extracellular and intracellular ionic changes in crayfish *Astacus astacus* exposed to nitrite at two acclimation temperatures [J]. *Aquat Toxicol*, 1994, 29 (1/2): 65-72.
- [51] JENSEN F B. Sublethal physiological changes in freshwater crayfish, *Astacus astacus*, exposed to nitrite: haemolymph and muscle tissue electrolyte status, and haemolymph acid-base balance and gas transport [J]. *Aquat Toxicol*, 1990b, 18 (2): 51-60.
- [52] HARRIS R R, COLEY S. The effects of nitrite on chloride regulation in the crayfish *Pacifastacus leniusculus* Dana (Crustacea: Decapoda) [J]. *J Comp Physiol*, 1991, 161B (2): 199-206.
- [53] PATRICK L, PÄRT P, MARSHALL W S, et al. Characteristics of ion and acid-base transport in the freshwater adapted mummichog (*Fundulus heteroclitus*) [J]. *J Exp Zool*, 1997, 279 (3): 208-219.
- [54] STOMER J, JENSEN F B, RANKIN J C. Uptake of nitrite, nitrate, and bromide in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*: effects on ionic balance [J]. *Can J Fish Aquat Sci*, 1996, 53 (9): 1943-1950.
- [55] AGGERGAARD S, JENSEN F B. Cardiovascular changes and physiological response during nitrite exposure in rainbow trout [J]. *J Fish Biol*, 2001, 59 (1): 13-27.
- [56] ZACHARIASEN F. Intraspecific differences in nitrite tolerance of rainbow trout. The role of gill and kidney [D]. Odense: Institute of Biology, University of Southern Denmark, 2001.
- [57] GISBERT E, RODRÍGUEZ A, CARDONA L, et al. Recovery of Siberian sturgeon yearlings after an acute exposure to environmental nitrite: changes in the plasmatic ionic balance, $Na^+ - K^+$ ATPase activity, and gill histology [J]. *Aquac*, 2004, 239 (1/4): 141-154.