

# 维生素 C 对氨氮胁迫下大鳞鲃幼鱼存活及鳃抗氧化酶活性的影响

梁俊平<sup>1</sup>, 张 静<sup>1</sup>, 覃宝利<sup>2</sup>, 王宣朋<sup>2</sup>, 蔺玉华<sup>2</sup>, 丁辰龙<sup>1,2</sup>, 吴学军<sup>2</sup>

(1. 河南师范大学 水产学院/河南省水产动物养殖工程技术研究中心, 河南 新乡 453007;

2. 江苏省农业科学院 宿迁农科所, 江苏 宿迁 223800)

**摘要:** 为探究维生素 C (Vc) 对大鳞鲃幼鱼抗氨氮胁迫能力的影响, 在水温 (23.50±0.41) °C、pH 值 8.03±0.07 条件下, 选取体质量 (3.71±0.60) g 的大鳞鲃幼鱼, 测定了氨氮对大鳞鲃幼鱼的 24、48、72、96 h 半致死质量浓度, 分析了水体添加 Vc 对大鳞鲃幼鱼死亡率以及鳃抗氧化酶活性的影响。结果显示, 氨氮对大鳞鲃幼鱼的 24、48、72、96 h 半致死质量浓度 (LC<sub>50</sub>) 分别为 34.95、33.84、31.42、30.02 mg/L, 安全质量浓度 (SC) 为 3.00 mg/L。在 96 h 氨氮全致死质量浓度胁迫下, 大鳞鲃幼鱼死亡率随水体 Vc 添加量增加呈显著下降趋势。在 1/2 的 96 h LC<sub>50</sub> 氨氮胁迫下 (胁迫组), 水体添加 50 mg/L Vc 后, 大鳞鲃幼鱼超氧化物歧化酶 (SOD) 活性在 24、96 h 显著高于胁迫组 ( $P < 0.05$ ), 且与对照组无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 过氧化氢酶 (CAT) 和谷胱甘肽过氧化物酶 (GSH-px) 活性在 48~96 h 显著高于胁迫组 ( $P < 0.05$ ); 水体添加 80 mg/L Vc 后大鳞鲃幼鱼 SOD 活性在 24~96 h 显著高于胁迫组 ( $P < 0.05$ ), 且与对照组无显著差异 ( $P > 0.05$ ), CAT 和 GSH-px 活性在 48~96 h 均显著高于胁迫组 ( $P < 0.05$ ), 其中 GSH-px 活性在 24~96 h 与对照组无显著差异 ( $P > 0.05$ )。综上, 氨氮胁迫下, 大鳞鲃幼鱼的死亡率随氨氮质量浓度增加和胁迫时间延长呈线性增加, 水体添加 Vc 可提高大鳞鲃幼鱼鳃抗氧化酶活性, 增强其耐氨氮胁迫能力, 降低大鳞鲃幼鱼死亡率。

**关键词:** 大鳞鲃; 氨氮毒性; 维生素 C; 鳃; 死亡率; 抗氧化酶活性

中图分类号: S968 文献标志码: A 文章编号: 1004-3268(2020)01-0157-08

## Effects of Vitamin C on the Survival and Antioxidant Enzyme Activities of Juvenile *Barbus capito* under Ammonia-N Stress

LIANG Junping<sup>1</sup>, ZHANG Jing<sup>1</sup>, QIN Baoli<sup>2</sup>, WANG Xuanpeng<sup>2</sup>, LIN Yuhua<sup>2</sup>,  
DING Chenlong<sup>1,2</sup>, WU Xuejun<sup>2</sup>

(1. College of Fisheries, Henan Normal University/Engineering Technology Research Center of Henan Province for Aquatic Animal Cultivation, Xinxiang 453007, China; 2. Suqian Institute of Agricultural Sciences, Jiangsu Academy of Agricultural Sciences, Suqian 223800, China)

**Abstract:** In order to reveal the effects of vitamin C (Vc) on anti-ammonia-N stress ability of juvenile *Barbus capito*, the median lethal concentrations of total ammonia-N were calculated for 24, 48, 72 and 96 h, and the effects of Vc on mortality and activities of antioxidant enzymes in gills were analyzed for juvenile *Barbus capito* under ammonia-N stress at water temperature of (23.50±0.41) °C and pH of 8.03±

收稿日期: 2019-08-12

基金项目: 江苏省水产三新工程项目 (Y2016-15); 江苏省农业科技自主创新项目 [CX(14)2076]; 宿迁市自主创新项目 (SQCX2016-04, L201611); 河南师范大学水产学院研究生科研创新项目 (SC20180001)

作者简介: 梁俊平 (1981-), 男, 河北尚义人, 副教授, 博士, 主要从事水产动物健康养殖研究。

E-mail: liangjunpinglover@163.com

通信作者: 吴学军 (1970-), 男, 江苏沐阳人, 研究员级高级工程师, 硕士, 主要从事水产养殖研究。

E-mail: 271499738@qq.com

丁辰龙 (1977-), 男, 江苏泗阳人, 副研究员, 硕士, 主要从事特种水产养殖研究。E-mail: dcl0625@126.com

0.07. The results showed that, the median lethal concentrations of total ammonia-N were found to be 34.95 mg/L for 24 h, 33.84 mg/L for 48 h, 31.42 mg/L for 72 h, and 30.02 mg/L for 96 h to juvenile *B. capito*. The safe concentration of total ammonia-N was estimated to be 3.00 mg/L for juvenile *B. capito*. The mortalities of juvenile *B. capito* were decreased with the rising of Vc concentration, when it was exposed to the 96 h total lethal concentration of ammonia-N. When juvenile *B. capito* was exposed to 15.01 mg/L ammonia-N with 50 mg/L Vc added, the SOD activities of gill significantly increased compared with the stress group ( $P < 0.05$ ) at 24 h and 96 h, and there was no significant difference compared with control group ( $P > 0.05$ ), the CAT and GSH-px activities increased significantly compared with the stress group ( $P < 0.05$ ) at 48—96 h. When juvenile *B. capito* was exposed to 15.01 mg/L ammonia-N with 80 mg/L Vc added, the activity of SOD increased significantly compared with the stress group ( $P < 0.05$ ) at 24—96 h and was consistent with the control group, the activities of CAT and GSH-px increased significantly compared with the stress group ( $P < 0.05$ ) at 48—96 h. In conclusion, the mortality of juvenile *B. capito* increases gradually with the rising of ammonia-N concentration or exposed period. Vc can reduce the mortality of juvenile *B. capito* exposed to ammonia-N effectively by improving the activity of antioxidant enzyme in gill, and enhancing the tolerance of juveniles *B. capito* to ammonia-N toxicity.

**Key words:** *Barbus capito*; Ammonia-N toxicity; Vitamin C; Gill; Mortality; Antioxidant enzyme activities

大鳞鲃 (*Barbus capito*) 隶属鲤形目、鲤科、鲃属, 原产于乌兹别克斯坦的阿姆河, 具有食性广、耐盐碱、抗逆性强、生长速度快、肉质鲜美等优良特征<sup>[1-2]</sup>。大鳞鲃于 2003 年被引进我国以后, 在解决人工繁育和养殖技术难题的基础上, 养殖产量逐年增加<sup>[3-4]</sup>。然而, 在大鳞鲃苗种高密度培育中, 大量残饵、粪便等易引起养殖水体氨氮含量升高, 对大鳞鲃苗种成活率及质量造成了严重影响。

氨氮在水体中通常以离子氨 ( $\text{NH}_4^+$ ) 和非离子氨 ( $\text{NH}_3$ ) 2 种形式存在。非离子氨 ( $\text{NH}_3$ ) 毒性较强, 由于其分子半径较小、脂溶性较强, 极易通过鳃等组织器官进入机体, 使体内产生大量自由基而出现氧化应激现象<sup>[5-7]</sup>, 严重时会引起水产动物组织发生病变、抗氧化防御系统发生紊乱以及呼吸、排泄功能受损<sup>[8-9]</sup>, 最终导致水产动物摄食量下降、生长受阻, 甚至出现大规模死亡<sup>[10-11]</sup>。因此, 如何缓解水体氨氮对水产动物的毒性作用是当前亟待解决的问题。

维生素 C (Vitamin C, Vc), 又称抗坏血酸, 是一种水溶性维生素, 作为天然的抗氧化剂和免疫增强剂, 通常被添加到饲料和水体中, 以提高水产动物机体抗氧化酶活性, 缓解氧化应激反应<sup>[12]</sup>, 增强鱼体免疫力、抗病力<sup>[13]</sup>。研究表明, 饲料中添加 Vc 能有效降低氨氮胁迫下圆斑星鲃 (*Verasper variegatus*) 幼鱼<sup>[14]</sup>、青鱼 (*Mylopharyngodon piceus*)<sup>[15]</sup> 血清抗氧化酶活性下降的幅度, 增强其抗氨氮胁迫能力; 水体中添加 Vc 能提高亚硝酸盐胁迫下匙吻鲟 (*Polyodon spathula*) 仔鱼的抗氧化能力<sup>[16]</sup>, 缓解鲤鱼 (*Cyprinus*

*carpio*) 在运输、养殖过程中的氨氮胁迫反应<sup>[17]</sup>, 提高普安银鲫 (*Carassius auratus*) 胚胎及仔鱼的抗氧化酶活性<sup>[18]</sup>。由此可见, Vc 添加到饲料或水体中都能缓解水产动物对胁迫因子的应激反应。但由于饵料在粉碎、挤压、加工、干燥及运输的过程中受温度、压力、水分等影响, 常导致 Vc 的有效成分被破坏, 保留率下降<sup>[19]</sup>。另外, 水体氨氮含量过高会引起水产动物摄食量减少, 导致饲料中的 Vc 不能被有效利用<sup>[20-21]</sup>。水体中加入 Vc 不受动物摄食影响, 可直接被水产动物吸收进入体内而发挥作用。目前, 在大鳞鲃苗种培育阶段, 有关向水体中添加 Vc 缓解氨氮毒性作用的研究尚未见报道。鉴于此, 以大鳞鲃幼鱼为研究对象, 采用半静水试验法, 研究氨氮对大鳞鲃幼鱼的毒性效应, 并在此基础上直接向水体中添加 Vc, 揭示 Vc 对大鳞鲃幼鱼氨氮中毒的缓解作用, 以期为培育高质量大鳞鲃苗种及生态健康养殖提供技术支持。

## 1 材料和方法

### 1.1 试验材料与试剂

1.1.1 供试鱼与饲养条件 大鳞鲃幼鱼取自江苏省农业科学院宿迁农科所水产养殖中心, 试验前于室内水泥池暂养 7 d。暂养期间, 自然光照, 水温 ( $23.50 \pm 0.41$ ) °C, pH 值  $8.03 \pm 0.07$ , 连续充氧, 每天换水一次, 换水量为总体水量的 1/2, 每天按照鱼体质量的 3% 投喂基础饵料 3 次, 投喂时间分别为 9:00、12:00、18:00, 正式试验前停食 24 h。

1.1.2 主要试剂 超氧化物歧化酶 (Superoxide

dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(Glutathione peroxidase, GSH-px)、过氧化氢酶(Catalase, CAT)以及总蛋白测试试剂盒均购于南京建成生物工程研究所;氯化铵(分析纯,纯度 99.5%)购于上海苏懿化学试剂有限公司;Vc(分析纯,纯度 99.7%)购于国药集团化学试剂有限公司。

## 1.2 试验方法

1.2.1 氨氮对大鳞鲃幼鱼的急性毒性作用 通过预试验,确定 24 h 内供试鱼 100%死亡的最小氨氮质量浓度为 38.12 mg/L,24 h 内无死亡的最大氨氮质量浓度为 28.52 mg/L。

根据预试验,按照等对数间距设置 8 个氨氮质量浓度,分别为 28.52、29.98、31.21、32.49、33.88、35.32、36.89、38.12 mg/L,每个质量浓度组设置 3 个重复,每个重复 20 尾鱼,鱼体质量(3.71±0.60)g,体长(6.56±0.43)cm,试验水体 30 L,试验时间 96 h。试验期间,连续充氧,水温控制在(23.50±0.41)℃,pH 值稳定在 8.03±0.07,为保证水族箱内氨氮质量浓度的稳定,每 12 h 更换一次试验液,换液量为 1/2,实时观察供试鱼的中毒症状,及时捞出死鱼,以防止水质变坏影响试验结果。

定时记录 24、48、72、96 h 内各组鱼的死亡数,计算各时间点的死亡率、全致死质量浓度、半致死质量浓度(LC<sub>50</sub>)、安全质量浓度(SC)及对应的非离子氨的质量浓度。

1.2.2 Vc 对氨氮胁迫下大鳞鲃幼鱼死亡率的影响

通过 1.2.1 试验,确定出大鳞鲃幼鱼在 96 h 全致死的最低氨氮质量浓度为 32.49 mg/L,在此氨氮质量浓度胁迫下,向水体添加不同质量浓度的 Vc,确定 96 h 内无死亡的 Vc 最小质量浓度为 80 mg/L。

在 96 h 全致死的最低质量浓度 32.49 mg/L 氨氮胁迫下,设置 9 个 Vc 质量浓度梯度,分别为 0、10、20、30、40、50、60、70、80 mg/L,每个质量浓度设置 3 个重复,每个重复 20 尾鱼,鱼体质量(3.63±0.70)g,体长(6.16±0.80)cm,试验水体 30 L,试验时间 96 h。试验期间,连续充氧,控制水温稳定在(23.50±0.41)℃,pH 值稳定在 8.03±0.07,为保证水族箱内氨氮及 Vc 质量浓度稳定,每 12 h 更换一次试验液,换液量为 1/2,实时观察供试鱼的状况,及时捞出死鱼,以防止水质变坏影响试验结果。

实时记录 24、48、72、96 h 各组鱼的死亡数,计算各个时间点的死亡率。

1.2.3 Vc 对氨氮胁迫下大鳞鲃幼鱼鳃抗氧化酶活性的影响 试验共分 4 组(对照组、胁迫组、2 个 Vc 缓解组),其中,对照组:0 mg/L 氨氮+0 mg/L Vc,胁

迫组:15.01 mg/L 氨氮(1/2 96 h LC<sub>50</sub> 的氨氮质量浓度)+0 mg/L Vc,Vc-50 缓解组:15.01 mg/L 氨氮+50 mg/L Vc,Vc-80 缓解组:15.01 mg/L 氨氮+80 mg/L Vc,每个质量浓度组设 3 个重复,每个重复随机放养 40 尾鱼,鱼体质量(3.98±0.71)g,体长(6.59±0.57)cm,试验持续 96 h。试验期间水温控制在(23.50±0.41)℃,pH 值稳定在 8.03±0.07,于暴露后的 24、48、72、96 h 从每个质量浓度组随机捞出 9 尾鱼,取鳃组织,每 3 尾鱼的鳃组织样品混合为 1 个样品,液氮速冻后-80℃冷冻保存。

将鳃组织液氮研磨后,分成 3 份,每份准确称 0.05 g 于 1.5 mL 无菌塑料离心管中,按质量(g):体积(mL)=1:9 加 0.45 mL 0.65%的生理盐水,4℃条件下 2500 r/min 离心 10 min,吸取上清液转移至新的离心管中,即为粗酶液,4℃保存备用。

按照各酶活性说明书操作步骤,测定各样品 SOD、CAT、GSH-px 活性,结果以平均值±标准差表示。

## 1.3 数据分析

运用 SPSS 22.0 进行单因素方差分析,两两比较采用 Duncan's 检验。采用 SPSS 22.0 对大鳞鲃幼鱼的死亡率与氨氮质量浓度进行线性回归分析,得出回归方程。

## 2 结果与分析

### 2.1 氨氮对大鳞鲃幼鱼的毒性效应

2.1.1 氨氮胁迫对大鳞鲃幼鱼行为的影响 大鳞鲃幼鱼从养殖水体移入氨氮水体后,在试验初期,低浓度组大鳞鲃幼鱼活动正常,无明显中毒症状;高浓度组大鳞鲃幼鱼表现出狂躁不安,撞壁,上下翻滚、打转,蹿游,痉挛等症状。氨氮质量浓度越高、胁迫时间越长,供试鱼中毒症状越明显。高质量浓度氨氮组从胁迫的第 3 小时开始陆续出现死亡现象,6 h 后死亡速度明显加快,死亡幼鱼口和鳃盖张开,身体弯曲。

2.1.2 氨氮胁迫对大鳞鲃幼鱼死亡率的影响 如图 1 所示,24 h 内仅氨氮质量浓度为 28.52 mg/L 时大鳞鲃幼鱼未出现死亡,其余各质量浓度组均出现不同程度的死亡,大鳞鲃幼鱼在 38.12 mg/L 时出现 100%死亡。同一氨氮质量浓度组,随着胁迫时间的延长,大鳞鲃幼鱼的死亡率也逐渐升高;在同一时间内,随着氨氮质量浓度的升高,大鳞鲃幼鱼的死亡率呈线性升高(表 1)。大鳞鲃幼鱼在 24、48、72、96 h 死亡率达 100%的最小总氨氮质量浓度分别为 38.12、38.12、35.32、32.49 mg/L。

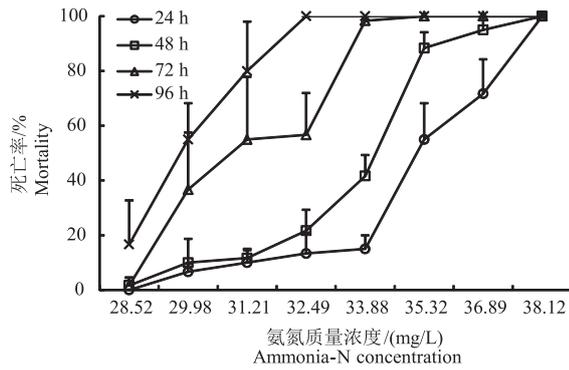


图 1 氨氮对大鳞鲃幼鱼死亡率的影响

Fig. 1 Effect of ammonia-N on the mortalities of juvenile *Barbus capito*

表 1 氨氮质量浓度与大鳞鲃幼鱼死亡率的关系

Tab. 1 The relationship between ammonia-N concentration and the mortality of juvenile *Barbus capito*

处理时间/h	回归方程	r
24	$y = 11.622x - 356.131$	0.881
48	$y = 12.222x - 360.030$	0.891
72	$y = 14.473x - 403.618$	0.938
96	$y = 21.025x - 579.434$	0.986

2.1.3 氨氮对大鳞鲃幼鱼的半致死质量浓度和安全质量浓度 如表 2 所示,大鳞鲃幼鱼的 24、48、72、96 h 总氨氮半致死质量浓度分别为 34.95、33.84、31.42、30.02 mg/L,对应的非离子氨的质量浓度为 1.64、1.59、1.47、1.41 mg/L;安全质量浓度为 3.00 mg/L,对应的非离子氨的质量浓度为 0.14 mg/L。

表 2 氨氮对大鳞鲃幼鱼的半致死质量浓度和安全质量浓度

氨氮形式	LC <sub>50</sub> / (mg/L)				SC / (mg/L)
	24 h	48 h	72 h	96 h	
总氨氮	34.95	33.84	31.42	30.02	3.00
非离子氨	1.64	1.59	1.47	1.41	0.14

### 2.2 Vc 对氨氮胁迫下大鳞鲃幼鱼死亡率的影响

如图 2 所示,在 96 h 全致死的最低质量浓度 32.49 mg/L 氨氮胁迫下,分别向水体添加 0、10、20、30、40、50、60、70、80 mg/L Vc,大鳞鲃幼鱼在 96 h 内的死亡率分别为 100%、55%、55%、43%、25%、5%、3%、3%、0,死亡率随 Vc 质量浓度的增加呈下降趋势。在氨氮胁迫的基础上,当水体未添加 Vc 时,大鳞鲃幼鱼在 96 h 内的死亡率达 100%;当水体添加 10 mg/L Vc 时,大鳞鲃幼鱼在 96 h 内的死亡率下降至 55%;当 Vc 质量浓度增加到 50 mg/L 时,

供试鱼在 96 h 内的死亡率仅为 5%;当 Vc 质量浓度增加到 80 mg/L 时,供试鱼在 96 h 内的死亡率为 0。

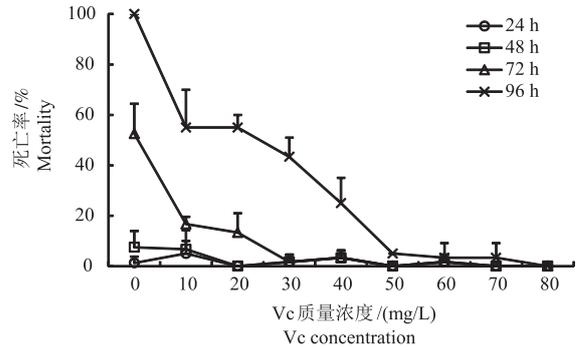
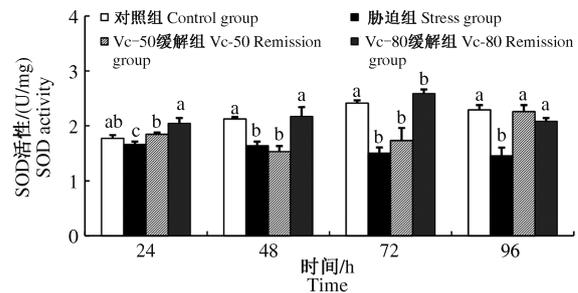


图 2 Vc 对氨氮胁迫下大鳞鲃幼鱼死亡率的影响

Fig. 2 Effect of Vc on the mortalities of juvenile *Barbus capito* under ammonia-N stress

### 2.3 Vc 对氨氮胁迫下大鳞鲃幼鱼鳃抗氧化酶活性的影响

2.3.1 Vc 对氨氮胁迫下大鳞鲃幼鱼鳃 SOD 活性的影响 如图 3 所示,氨氮胁迫组 SOD 活性随胁迫时间的延长呈下降趋势,在胁迫的 24~96 h 显著低于对照组 ( $P < 0.05$ )。Vc-50 缓解组,SOD 活性在 48~72 h 与胁迫组无显著差异 ( $P > 0.05$ ),在 24、96 h 显著高于胁迫组 ( $P < 0.05$ );与对照组相比,Vc-50 缓解组 SOD 活性在 48~72 h 显著低于对照组 ( $P < 0.05$ ),在 24、96 h 与对照组无显著差异 ( $P > 0.05$ )。Vc-80 缓解组,SOD 活性在 24~96 h 显著高于胁迫组 ( $P < 0.05$ ),而与对照组无显著差异 ( $P > 0.05$ ),在 24~72 h 内均显著高于 Vc-50 缓解组 ( $P < 0.05$ ),在 96 h 与 Vc-50 缓解组无显著差异 ( $P > 0.05$ )。



不同字母表示不同组别间存在显著差异 ( $P < 0.05$ ),下同

Different letters indicate there is a significant difference ( $P < 0.05$ ) between groups, the same below

图 3 Vc 对氨氮胁迫下大鳞鲃幼鱼鳃 SOD 活性的影响

Fig. 3 Effect of Vc on SOD activity in gill of juvenile *Barbus capito* under ammonia-N stress

2.3.2 Vc 对氨氮胁迫下大鳞鲃幼鱼鳃 CAT 活性的影响 如图 4 所示,胁迫组 CAT 活性随胁迫时间

的延长呈下降趋势,除 24 h 外,其余时间点均显著低于对照组( $P < 0.05$ )。各 Vc 缓解组,CAT 活性除 24 h 以外,在 48~96 h 均显著高于胁迫组( $P < 0.05$ );与对照组相比,各 Vc 缓解组 CAT 活性在 24 h 显著高于对照组( $P < 0.05$ ),在 48 h 与对照组无显著差异( $P > 0.05$ ),在 72~96 h 显著低于对照组( $P < 0.05$ )。Vc-80 缓解组 CAT 活性与 Vc-50 缓解组相比,在 24~96 h 均无显著差异( $P > 0.05$ )。

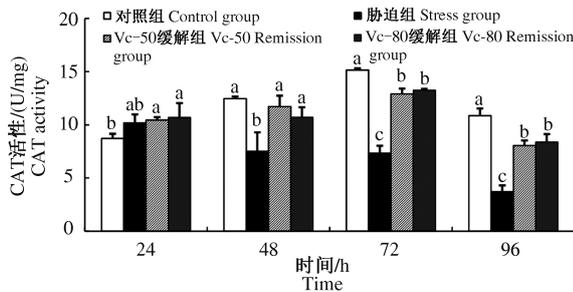


图 4 Vc 对氨氮胁迫下大鳞鲃幼鱼鳃 CAT 活性的影响  
Fig. 4 Effect of Vc on CAT activity in gill of juvenile *Barbus capito* under ammonia-N stress

2.3.3 Vc 对氨氮胁迫下大鳞鲃幼鱼鳃 GSH-px 活性的影响 如图 5 所示,胁迫组大鳞鲃幼鱼鳃 GSH-px 活性随着胁迫时间的延长呈下降趋势,在 48~96 h 显著低于对照组( $P < 0.05$ )。Vc-50 缓解组,GSH-px 活性在 48~96 h 显著高于胁迫组( $P < 0.05$ ),在 24,96 h 与对照组无显著差异,在 48,72 h 显著低于对照组( $P < 0.05$ )。Vc-80 缓解组,GSH-px 活性在 48~96 h 内均显著高于胁迫组( $P < 0.05$ ),在 96 h 内与对照组均无显著差异( $P > 0.05$ )。与 Vc-50 缓解组相比,Vc-80 缓解组 GSH-px 活性在 48~72 h 显著高于 Vc-50 缓解组( $P < 0.05$ ),在 24 h 和 96 h 与 Vc-50 缓解组无显著差异( $P > 0.05$ )。

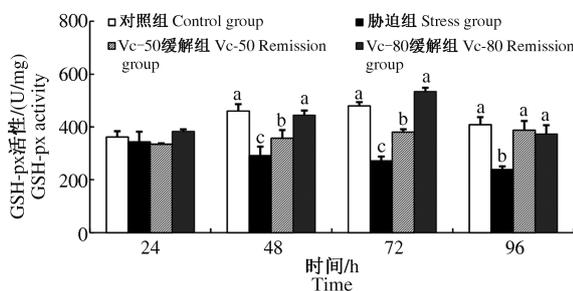


图 5 Vc 对氨氮胁迫下大鳞鲃幼鱼鳃 GSH-px 活性的影响  
Fig. 5 Effect of Vc on GSH-px activity in gill of juvenile *Barbus capito* under ammonia-N stress

### 3 结论与讨论

#### 3.1 氨氮胁迫对大鳞鲃幼鱼行为及存活的影响

氨氮是水产养殖中常见的环境胁迫因子,对水

产动物具有严重的毒性作用<sup>[5-11]</sup>。本试验结果显示,大鳞鲃幼鱼由自然水体移入高质量浓度氨氮水体后,表现出狂躁不安、上下翻滚、打转等症状,氨氮质量浓度越高或胁迫时间越长,大鳞鲃幼鱼中毒症状越明显,死亡率越高。这与卡拉白(*Chalcalburnus chalcoides Aralensis*)<sup>[22]</sup>、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)<sup>[23]</sup>、黄颡鱼(*Pelteobagrus vachelli*)<sup>[24]</sup>、异育银鲫(*Allogynogenetic gibel carp*)<sup>[25]</sup>、泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)<sup>[26]</sup>等的氨氮毒性结果相似。但是,不同鱼类对氨氮的耐受能力存在一定差异,如体质量 3.71 g 的大鳞鲃幼鱼(SC 为 3.00 mg/L)的耐氨氮能力与体质量 3.52 g 的黄颡鱼(SC 为 5.17 mg/L)<sup>[24]</sup>、体质量 0.69 g 的异育银鲫(SC 为 15.80 mg/L)相比较弱<sup>[25]</sup>,这可能与物种差异、个体大小及生存环境有关。氨氮胁迫引起大鳞鲃幼鱼中毒甚至死亡的原因,可能是由于水体中高质量浓度氨氮通过呼吸作用进入鳃,引起鳃组织内自由基含量增加,随着胁迫时间的延长,大量的自由基在鳃组织内累积,造成鳃组织损伤、坏死,鳃渗透压调节、排泄功能受损;另外,非离子氨进入血液后,将血红蛋白中  $Fe^{2+}$  氧化为  $Fe^{3+}$ ,使血液载氧能力下降,进而导致鱼类窒息、死亡<sup>[7,27-28]</sup>。

#### 3.2 氨氮胁迫下 Vc 对大鳞鲃幼鱼死亡率的影响

本研究结果显示,在 96 h 全致死的最低质量浓度 32.49 mg/L 氨氮胁迫下,分别向水体添加 0~80 mg/L Vc,大鳞鲃幼鱼在 96 h 内的死亡率从 100% 下降到 0,死亡率随 Vc 质量浓度的增加呈下降趋势。在氨氮胁迫的条件下,向水体添加 10 mg/L Vc 时,大鳞鲃幼鱼在 96 h 内的死亡率下降至 55%;当 Vc 质量浓度增加到 50 mg/L 时,供试鱼在 96 h 内的死亡率仅为 5%;当 Vc 质量浓度增加到 80 mg/L 时,供试鱼在 96 h 内的死亡率为 0。李勇男<sup>[17]</sup>的研究也显示,在 96 h 全致死质量浓度 145 mg/L 氨氮胁迫下,向养殖水体中添加 0、5、10、15、20、25、30 mg/L Vc,在 96 h 内,鲤的死亡率分别为 100%、100%、80%、66%、40%、20%、0,呈下降趋势。氨氮胁迫下,向水体添加 Vc,大鳞鲃幼鱼死亡率下降的原因,可能是由于 Vc 通过鳃扩散进入血液循环,在机体内不断累积,发挥抗氧化作用,清除自由基,增强了机体应对不良环境因子胁迫的能力,从而提高了存活率<sup>[17-18]</sup>。

#### 3.3 氨氮胁迫下 Vc 对大鳞鲃幼鱼鳃抗氧化酶活性的影响

当鱼体暴露于高质量浓度氨氮环境中,其鳃与外界环境直接接触,是最先被氨氮侵袭的器官,极易

受到扩散的非离子氨的伤害,引起自由基含量升高<sup>[17,28]</sup>。在长期的进化过程中,生物体为防止氧自由基对机体造成损伤,保持其内环境平衡,逐渐形成了特定的抗氧化防御系统,主要包括酶系统(SOD、CAT、GSH-px)和非酶系统(维生素 C、维生素 E 等),其中抗氧化酶 SOD、CAT、GSH-px 的活性是反映机体健康与否的重要指标<sup>[29-31]</sup>。研究发现,当泥鳅暴露于 1/2 96 h LC<sub>50</sub>(250 mg/L)氨氮溶液中 21 d 后,其鳃 SOD 和 GSH-px 活性随胁迫时间的延长呈显著下降趋势<sup>[28]</sup>;福瑞鲤幼鱼暴露于 10、20、30 mg/L 氨氮溶液(96 h LC<sub>50</sub> 为 35.6 mg/L)中 96 h,其鳃 SOD 和总抗氧化酶活性均显著低于胁迫组<sup>[32]</sup>。本研究也显示,大鳞鲃幼鱼暴露于 1/2 96 h LC<sub>50</sub>(15.01 mg/L)的氨氮溶液中 96 h,其鳃 SOD、CAT、GSH-px 活性随胁迫时间的延长呈下降趋势,与上述研究结果相似。大鳞鲃幼鱼鳃抗氧化酶活性下降的原因,可能是大鳞鲃幼鱼暴露于氨氮环境中,水体中非离子氨扩散进入鳃,引起鳃自由基含量增加,为防止自由基对机体造成损伤,诱导自身抗氧化酶参与清除自由基<sup>[33]</sup>,但机体抗氧化系统具有一定的耐受限度,当水体氨氮质量浓度过高或胁迫时间过长,鳃组织内自由基得不到及时有效清除而过量积累,抗氧化系统被破坏,抗氧化酶活性下降<sup>[28]</sup>。

非酶系统主要包括 Vc 和维生素 E 等,其中 Vc 作为一种水溶性抗氧化剂,进入机体后,能有效发挥抗氧化作用,清除自由基,保护机体免受氧化损伤<sup>[14-15]</sup>。本研究发现,在 1/2 96 h LC<sub>50</sub> 氨氮胁迫下,水体添加 50~80 mg/L Vc 后,大鳞鲃幼鱼鳃抗氧化酶 SOD、CAT、GSH-px 活性与胁迫组相比均出现不同程度升高,其中 CAT 和 GSH-px 活性在缓解的 48~96 h 均显著高于胁迫组( $P<0.05$ )。在鲤研究中也发现,在 1/2 96 h 全致死质量浓度 40 mg/L 氨氮胁迫的条件下,向养殖水体添加 25 mg/L Vc,鲤血清和肝脏 SOD 活性在缓解的 12~24 h 显著高于氨氮胁迫组( $P<0.05$ )<sup>[17]</sup>;另外,向饲料中添加不同质量浓度的 Vc,投喂圆斑星鲃(*Verasper variegatus*)幼鱼 8 周后进行氨氮胁迫,氨氮胁迫导致各组圆斑星鲃血清中 CAT、SOD 活性显著下降( $P<0.05$ ),但添加 402.8~616.2 mg/kg Vc 组 CAT、SOD 活性与对照组相比有所回升<sup>[15]</sup>,与本研究结果一致。在氨氮胁迫下,向水体添加 Vc,大鳞鲃幼鱼鳃抗氧化酶活性较胁迫组升高的原因,可能是由于 Vc 作为一种水溶性的抗氧化剂,添加到水体后,扩散进入鳃,一方面通过还原作用与 O<sub>2</sub><sup>-</sup>、HOO· 及 ·OH 发生反应,生成半脱氢抗坏血酸,清除自由基<sup>[34]</sup>;另

一方面,Vc 将氧化型谷胱甘肽(GSSG)还原为还原型谷胱甘肽(GSH),GSH 协同 SOD 清除 O<sub>2</sub><sup>-</sup> 和脂质过氧化物<sup>[35]</sup>,减轻了自由基对鳃的损伤,缓解氧化应激反应,从而使抗氧化酶活性下降的幅度降低。

综上,大鳞鲃幼鱼的死亡率随氨氮质量浓度的增加或胁迫时间的延长而逐渐升高。氨氮胁迫下,大鳞鲃幼鱼的死亡率随 Vc 质量浓度的升高呈下降趋势,水体添加 Vc 可有效提高大鳞鲃幼鱼鳃 SOD、CAT、GSH-px 活性,以缓解氨氮毒性作用。

#### 参考文献:

- [1] 蔺玉华,王信海,耿龙武,等. 大鳞鲃的含肉率及肌肉营养成分分析[J]. 天津师范大学学报(自然科学版), 2008,28(3):1-4.  
LIN Y H, WANG X H, GENG L W, et al. Analyses nutritional components and dressed fish in *Barbus capito*[J]. Journal of Tianjin Normal University (Natural Science Edition), 2008,28(3):1-4.
- [2] 张媛媛,朱永安,宋理平. 大鳞鲃幼鱼对蛋白质适宜需求量的研究[J]. 山东师范大学学报(自然科学版), 2018,33(2):209-214.  
ZHANG Y Y, ZHU Y A, SONG L P. Dietary protein requirement of juvenile *Barbus capito*[J]. Journal of Shandong Normal University(Natural Science Edition), 2018, 33(2):209-214.
- [3] 蔺玉华,丁辰龙,王信海,等. 大鳞鲃的引进、驯化、繁育及研发[J]. 吉林农业大学学报, 2017, 39(6): 631-639.  
LIN Y H, DING C L, WANG X H, et al. Introduction, domestication, breeding and research status of *Barbus capito*[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2017, 39(6):631-639.
- [4] 徐伟,耿龙武,苗建生,等. 耐盐碱鱼类大鳞鲃的研究现状[J]. 天津农学院学报, 2012,19(3):62-64.  
XU W, GENG L W, MIAO J S, et al. Current researches on saline-alkali tolerant fish of *Barbus capito*[J]. Journal of Tianjin Agricultural University, 2012,19(3):62-64.
- [5] 王芸,李健,何玉英,等. 氨氮胁迫对中国明对虾血淋巴氨氮、尿素氮含量和抗氧化能力的影响[J]. 中国水产科学, 2017,24(1):180-189.  
WANG Y, LI J, HE Y Y, et al. Effects of ambient ammonia-N exposure on hemolymph nitrogen metabolism and antioxidant capacity of *Fenneropenaeus chinensis*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2017,24(1):180-189.
- [6] CHING B, CHEN W S F, WONG W P, et al. Environmental ammonia exposure induces oxidative stress in gills and

- brain of *Boleophthalmus boddarti* (mudskipper) [J]. Aquatic Toxicology, 2009, 95(3): 203-212.
- [7] 谢雨欣, 张木子, 黎明, 等. 氨氮胁迫下饥饿和再投喂对黄颡鱼幼鱼生长性能、血液健康、抗氧化能力及免疫应答的影响 [J]. 动物营养学报, 2018, 30(8): 3073-3081.
- XIE Y X, ZHANG M Z, LI M, *et al.* Effects of starvation and refeeding on growth performance, blood health, antioxidant capacity and immune response of juvenile yellow catfish under ammonia stress [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2018, 30(8): 3073-3081.
- [8] ROMANO N, ZENG C. 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] BENLI A C, KÖKSAL G, OZKUL A. Sublethal ammonia exposure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*): Effects on gill, liver and kidney histology [J]. Chemosphere, 2008, 72(9): 1355-1358.
- [10] SCHRAM E, ROQUES J A C, VAN KUIJK T, *et al.* The impact of elevated water ammonia and nitrate concentrations on physiology, growth and feed intake of pikeperch (*Sander lucioperca*) [J]. Aquaculture, 2014, 420/421: 95-104.
- [11] 张武肖, 孙盛明, 戈贤平, 等. 急性氨氮胁迫及毒后恢复对团头鲂幼鱼鳃、肝和肾组织结构的影响 [J]. 水产学报, 2015, 39(2): 233-244.
- ZHANG W X, SUN S M, GE X P, *et al.* Acute effects of ammonia exposure on histopathology of gill, liver and kidney in juvenile *Megalobrama amblycephala* and the post-exposure recovery [J]. Journal of Fisheries of China, 2015, 39(2): 233-244.
- [12] ZHAO Y, ZHAO J, ZHANG Y, *et al.* Effects of different dietary vitamin C supplementations on growth performance, mucus immune responses and antioxidant status of loach (*Misgurnus anguillicaudatus cantor*) juveniles [J]. Aquaculture Research, 2017, 48(8): 4112-4123.
- [13] 明建华, 谢骏, 徐跑, 等. 大黄素、维生素 C 及其配伍对团头鲂生长、生理生化指标、抗病原感染以及两种 HSP70s mRNA 表达的影响 [J]. 水产学报, 2010, 34(9): 1447-1459.
- MING J H, XIE J, XU P, *et al.* Effects of emodin, vitamin C and their combination on growth, physiological and biochemical parameters, disease resistance and two HSP70s mRNA expression of Wuchang bream (*Megalobrama amblycephala*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(9): 1447-1459.
- [14] 王贞杰, 叶保民, 常青, 等. 饲料维生素 C 含量对圆斑星鲃幼鱼抗氨氮胁迫能力的影响 [J]. 动物营养学报, 2016, 28(12): 4054-4062.
- WANG Z J, YE B M, CHANG Q, *et al.* Effects of dietary vitamin c content on anti-ammonia-nitrite stress ability of juvenile spotted halibut (*Verasper variegatus*) [J]. Chinese Journal of Animal Nutrition, 2016, 28(12): 4054-4062.
- [15] 胡毅, 黄云, 文华, 等. 维生素 C 对青鱼幼鱼生长、免疫及抗氨氮胁迫能力的影响 [J]. 水产学报, 2013, 37(4): 565-573.
- HU Y, HUANG Y, WEN H, *et al.* Effect of vitamin C on growth, immunity and anti-ammonia-nitrite stress ability in juvenile black carp (*Mylopharyngodon piceus*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(4): 565-573.
- [16] 秦国兵, 熊伟, 姚俊杰, 等. 维生素 C 对亚硝酸盐胁迫下匙吻鲟仔鱼非特异性免疫及抗氧化能力的影响 [J]. 河南农业科学, 2018, 47(7): 132-136.
- QIN G B, XIONG W, YAO J J, *et al.* Effects of vitamin c on the non-specific immunity and antioxidant capacity of *Polyodon spathula* larvae under nitrite stress [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2018, 47(7): 132-136.
- [17] 李勇男. 水中添加维生素 C 缓解鲤鱼运输应激的研究 [D]. 无锡: 江南大学, 2016.
- LI Y N. Study on alleviation of transport stress in *Cyprinus carpio* by adding vitamin C to water [D]. Wuxi: Jiangnan University, 2016.
- [18] 姚俊杰, 熊铎龙, 蒋左玉, 等. 维生素 C 对普安银鲫早期发育中氧化损伤及总抗氧化能力的影响 [J]. 动物学杂志, 2015, 50(4): 581-590.
- YAO J J, XIONG H L, JIANG Z Y, *et al.* Effect of vitamin c on oxidative damage and total antioxidant capacity in early development of *Carassius auratus gibelio* [J]. Chinese Journal of Zoology, 2015, 50(4): 581-590.
- [19] 吴永沛, 刘年生, 蔡慧农. 鲍人工配合饲料维生素 C 和 B<sub>1</sub> 稳定性的研究 [J]. 集美大学学报 (自然科学版), 1999, 4(4): 24-28.
- WU Y P, LIU N S, CAI H N. Studies on the stability of vitamin C and B<sub>1</sub> in abalone artificial diets [J]. Journal of Jimei University (Natural Science) Edition, 1999, 4(4): 24-28.
- [20] YANG W, SUN H, XIANG F, *et al.* Response of juvenile crucian carp (*Carassius auratus*) to long-term ammonia exposure: Feeding, growth, and antioxidant defenses [J]. Journal of Freshwater Ecology, 2011, 26(4): 563-570.
- [21] 黄厚见, 蒋玫, 李磊, 等. 摄食水平和氨氮对鲮鱼幼鱼

- 食物消化及生长的影响[J]. 生态毒理学报, 2013, 8(4): 521-528.
- HUANG H J, JIANG M, LI L, *et al.* Effects of ration level and ammonia exposure on food digestion and growth of juvenile mullet *Liza haematocheila* [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2013, 8(4): 521-528.
- [22] 寇凌霄, 王兴兵, 石俊艳, 等. 氨氮对卡拉白鱼的急性毒性试验[J]. 辽东学院学报(自然科学版), 2018, 25(2): 100-105.
- KOU L X, WANG X B, SHI J Y, *et al.* Acute toxic effects of ammonia nitrogen on *Chalcalburnus chalcoides Aralensis* [J]. Journal of Eastern Liaoning University (Natural Science Edition), 2018, 25(2): 100-105.
- [23] 林晶. 氨氮对草鱼的急性半致死试验[J]. 福建畜牧兽医, 2019, 41(2): 4-6.
- LIN J. Experimental study on acute half lethal effects of ammonia nitrogen on grass carp [J]. Fujian Journal of Animal Husbandry and Veterinary Medicine, 2019, 41(2): 4-6.
- [24] 李波. 氨氮和亚硝酸盐对黄颡鱼的毒性研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2010.
- LI B. Effects of ammonia and nitrite toxicity on yellow catfish *pelteobagrus fulvidraco* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2010.
- [25] 薛凌展, 吴素琼, 张坤, 等. 氨氮对异育银鲫‘中科 3 号’幼鱼急性毒性及肝脏抗氧化酶系统的影响[J]. 农学学报, 2019, 9(3): 44-50.
- XUE L Z, WU S Q, ZHANG K, *et al.* Ammonia nitrogen: Effects on acute toxicity and antioxidant enzymes system in liver of juvenile of *Allogynogenetic gibel carp* ‘CAS III’ [J]. Journal of Agriculture, 2019, 9(3): 44-50.
- [26] 郝小凤, 刘洋, 凌去非. 氨氮对泥鳅的急性毒性及其肝、鳃组织超微结构的影响[J]. 水生生态学杂志, 2012, 33(5): 101-107.
- HAO X F, LIU Y, LING Q F. Acute toxicity test of ammonia nitrogen and effects of ammonia-N stress on the ultrastructure of gill and liver of *Misgurnus anguillicaudatus* [J]. Journal of Hydroecology, 2012, 33(5): 101-107.
- [27] 陈思涵, 彭瑞冰, 黄晨, 等. 急性氨氮胁迫对虎斑乌贼肝脏、鳃和脑组织结构的影响[J]. 水产学报, 2018, 42(9): 1348-1357.
- CHEN S H, PENG R B, HUANG C, *et al.* Effects of acute ammonia exposure on histopathology of liver, gill and brain in juvenile cuttlefish (*Sepia pharaonis*) [J]. Journal of Fisheries of China, 2018, 42(9): 1348-1357.
- [28] 刘洋, 凌去非, 于连洋, 等. 氨氮胁迫对泥鳅不同组织 SOD 和 GSH-PX 活性的影响[J]. 安徽农业科学, 2011, 39(2): 1069-1072.
- LIU Y, LING Q F, YU L Y, *et al.* Effect of ammonia-N stress on activity of SOD and GSH-PX in different tissues of *Misgurnus anguillicaudatus* [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2011, 39(2): 1069-1072.
- [29] 孟晓林, 田雪, 郭倩倩, 等. 铜在虾夷扇贝鳃和肝胰腺中的累积及对抗氧化酶、脂代谢的影响[J]. 水产学报, 2015, 39(6): 908-915.
- MENG X L, TIAN X, GUO Q Q, *et al.* Copper specific accumulation and its effect on the activity of antioxidant enzymes and metabolism of lipid in gill or hepatopancreas of *Patinopecten yessoensis* [J]. Journal of Fisheries of China, 2015, 39(6): 908-915.
- [30] 尹飞, 孙鹏, 彭士明, 等. 低盐度胁迫对银鲳幼鱼肝脏抗氧化酶、鳃和肾脏 ATP 酶活力的影响[J]. 应用生态学报, 2011, 22(4): 1059-1066.
- YIN F, SUN P, PENG S M, *et al.* Effects of low salinity stress on the antioxidant enzyme activities in juvenile *Pampus argenteus* liver and the APTase activities in its gill and kidney [J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2011, 22(4): 1059-1066.
- [31] JAMES A I. Pathways of oxidative damage [J]. Annual Review of Microbiology, 2003, 57(1): 395-418.
- [32] 李利红, 袁宏利, 胡振平, 等. 氨氮对福瑞鲤鳃和肝组织抗氧化能力的影响[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(22): 96-98.
- LI L H, YUAN H L, HU Z P, *et al.* Effects of ammonia stress on the antioxidant systems of gills and livers in carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2015, 43(22): 96-98.
- [33] RAMA S, MANJABHAT S N. Protective effect of shrimp carotenoids against ammonia stress in common carp, *Cyprinus carpio* [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2014, 107: 207-213.
- [34] 王月明, 于振海, 陈仲全, 等. 维生素 C 对衰老大鼠红细胞抗氧化能力的修复作用及其机制探讨[J]. 中国细胞生物学学报, 2017, 39(1): 21-27.
- WANG Y M, YU Z H, CHEN Z Q, *et al.* Restore effect of vitamin C on the antioxidant capacity of erythrocytes in aged rats [J]. Chinese Journal of Cell Biology 2017, 39(1): 21-27.
- [35] WINTERBOURN C C, ETODIEWA D. Reactivity of biologically important thiol compounds with superoxide and hydrogen peroxide [J]. Free Radical Biology & Medicine, 1999, 27(3): 322-328.