

# 慢性氨氮胁迫对黄颡鱼摄食、生长及血液指标的影响\*

李波<sup>1,2</sup> 樊启学<sup>1\*\*</sup> 杨凯<sup>1,2</sup> 张磊<sup>1</sup> 郭红喜<sup>2</sup> 王青云<sup>2</sup> 高银爱<sup>2</sup> 朱思华<sup>2</sup> 方巍<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>华中农业大学水产学院 武汉 430070)

(<sup>2</sup>武汉市水产科学研究所 武汉 430065)

**摘要** 挑选规格相近的健康黄颡鱼幼鱼分别饲养在氨氮浓度为 $3.36 \text{ mg L}^{-1}$ (A<sub>1</sub>)、 $6.72 \text{ mg L}^{-1}$ (A<sub>2</sub>)、 $13.44 \text{ mg L}^{-1}$ (A<sub>3</sub>)、 $26.88 \text{ mg L}^{-1}$ (A<sub>4</sub>)的水体中, 对照组(A<sub>0</sub>)用不加外源氨氮的自然晾晒的自来水饲养。每组放养试验鱼30尾, 暴露56 d。结果表明, 非离子氨对黄颡鱼幼鱼的摄食、生长及血液指标存在显著影响( $P<0.05$ ), 而对鱼体成分的影响不显著( $P>0.05$ )。随着非离子氨浓度升高, 高浓度组摄食率明显下降, 饲料利用率降低, 生长缓慢, 特定生长率(Special growth rate, SGR)和存活率都较对照组低。血氨浓度随非离子氨浓度升高而显著升高( $P<0.01$ ), 各处理组血氨浓度远低于其所处环境总氨氮(Total ammonia, TAN)浓度, 而血浆尿素氮(Urea nitrogen, Ur-N)水平逐渐降低但差异不显著。A<sub>3</sub>和A<sub>4</sub>碱性磷酸酶(Alkaline phosphatase, AKP)活性和皮质醇(Cortisol)水平升高较快, A<sub>1</sub>和A<sub>2</sub>尽管呈上升趋势, 但与对照组差异不显著( $P>0.05$ )。血糖(Glucose, GLU)浓度总体上表现为降低的趋势, 2个高浓度组(A<sub>3</sub>和A<sub>4</sub>)下降速度较快。谷丙转氨酶(Alanine aminotransferase, ALT)和谷草转氨酶(Aspartate aminotransferase, AST)活性总体呈升高趋势, 非离子氨浓度越大其升高趋势越明显。因此, 黄颡鱼幼鱼不宜长期生活在高浓度的氨氮胁迫环境中, 适宜的养殖水体中氨氮应该保持在低于 $6.72 \text{ mg L}^{-1}$ 水平。表5参22

**关键词** 慢性氨氮胁迫; 黄颡鱼; 摄食; 血液指标

CLC X174 : Q959.405

## Effects of Chronic Ammonia Stress on Foraging, Growth, and Haematological Parameters of Yellow Catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) Juveniles\*

LI Bo<sup>1,2</sup>, FAN Qixue<sup>1\*\*</sup>, YANG Kai<sup>1,2</sup>, ZHANG Lei<sup>1</sup>, GUO Hongxi<sup>2</sup>, WANG Qingyun<sup>2</sup>,

GAO Yin'ai<sup>2</sup>, ZHU Sihua<sup>2</sup> & FANG Wei<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

(<sup>2</sup>Institute of Fisheries Science of Wuhan, Wuhan 430065, China)

**Abstract** Some healthy yellow catfish juveniles were chosen to raise in the water with different ammonia concentrations (A<sub>1</sub>- $3.36 \text{ mg L}^{-1}$ , A<sub>2</sub>- $6.72 \text{ mg L}^{-1}$ , A<sub>3</sub>- $13.44 \text{ mg L}^{-1}$ , A<sub>4</sub>- $26.88 \text{ mg L}^{-1}$ , and A<sub>0</sub>-no exogenous ammonia), respectively. 450 catfish samples in good health and condition were distributed equally among fifteen 280-L circular fiberglass tanks, and the exposure time was 56 d. The results showed that un-ionized ammonia significantly influenced on growth, foraging and blood parameters of the yellow catfish juveniles, but had no significant effect on the body composition ( $P>0.05$ ). With the increase of un-ionized ammonia, foraging rate decreased dramatically and foraging efficiency reduced. Compared to the control group, the special growth rate and survival rate in high concentration groups were lower. Plasma ammonia concentration increased significantly with the increase of unionized ammonia concentration ( $P<0.01$ ), and the blood ammonia concentration of treatment group was less than the surrounding total ammonia (TAN). However, plasma urea nitrogen levels showed no significant difference among experimental groups. Alkaline phosphatase (AKP) activity and cortisol levels increased quickly in two concentration groups ( $13.44 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $26.88 \text{ mg L}^{-1}$ ), and although those of A1 and A2 increased, however, there were no significant differences among different groups ( $P>0.05$ ). Glucose (GLU) concentrations showed a gradual decreasing trend, especially decreased rapidly in two high concentration groups ( $13.44 \text{ mg L}^{-1}$ ,  $26.88 \text{ mg L}^{-1}$ ). Alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were correlated to ammonia concentration. The more ammonia in the blood was, the more ALT and AST increased. Therefore, yellow catfish juveniles were unsuitable for raising in the water with high levels of ammonia, and the concentration of ammonia should be less than  $6.72 \text{ mg L}^{-1}$ . Tab 5, Ref 22

**Keywords** chronic ammonia stress; yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*); foraging; haematological parameter

CLC X174 : Q959.405

黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*) 隶属鲶形目

收稿日期: 2010-11-13 接受日期: 2011-01-18

\*国家科技支撑计划项目(No. 2007BAD37B02)和湖北省“十一五”重大科技攻关项目(No. 2006AA203A01)资助 Supported by the National Key Science & Technology Program of China (No. 2007BAD37B02) and the “11<sup>th</sup> Five-year-plan” Key Science & Technology Program of Hubei, China (No. 2006AA203A01)

\*\*通讯作者 Corresponding author (E-mail: fanqixue@mail.hzau.edu.cn)

(Siluriformes) 鳔科 (Bagridae) 黄颡鱼属 (*Pelteobagrus* Bleeker), 是我国长江中下游湖泊的重要经济鱼类之一。近年来, 其养殖规模迅速扩大。在高密度精养模式下, 向水体投入大量人工配合饲料, 产生大量的残饵和粪便, 在微生物的分解作用下产生氨氮和亚硝酸盐以及其他有害气体, 水体中氨氮和亚硝酸盐浓度逐渐升高。如果鱼类长期处在低浓度的氨氮胁迫环境中, 其生长、生理机能以及组织器官会受到一

定的影响<sup>[1~4]</sup>。有关氨氮对黄颡鱼摄食、生长及血液生化指标的影响未见报道。本文研究了慢性氨氮胁迫对黄颡鱼幼鱼摄食、生长及部分血液生化指标的影响,以期为黄颡鱼的健康养殖提供科学依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验鱼于2008年5月取自国家淡水渔业工程技术研究中心(武汉)阳逻苗种生产试验基地,暂养于3.5 m<sup>3</sup>水泥池内。驯养期间,每天(7:00, 18:00)用武汉福龙饲料有限公司生产的黄颡鱼专用膨化饲料(表1)饱食投喂2次。驯养14 d后,挑选规格一致、体质健康的个体作为试验鱼。饲养用水为曝气2 d以上的自来水,水温(27.5 ± 1.5) °C, pH 7.7~7.9, DO为7.2~7.8 mg/L,自然光照。试验毒物为NH<sub>4</sub>Cl(均为分析纯),烘干至恒重后配制成10 g L<sup>-1</sup>的母液,试验时按比例稀释至试验所需浓度。

表1 饲料主要原料组成以及主要化学组成

Table 1 Formulation and chemical composition of the experimental diet

原料 Ingredient	含量 Content (w/w%)
鱼粉 White fishmeal <sup>1)</sup>	35.00
鱼油 Fish oil	1.00
α-淀粉 α-starch	5.00
豆粕 Soybean meal	36.00
小麦粉 Wheat flour	17.00
豆油 Soybean oil	1.00
免疫多糖 Immune polysaccharide	0.10
矿物盐预混物 Mineral premix <sup>2)</sup>	3.40
维生素预混物 Vitamin premix <sup>3)</sup>	0.30
维生素C Vitamin C	0.10
氯化胆碱 Choline chloride	0.10
三氧化二铬 Chromic oxide	1.00
化学组成 Chemical composition	含量 Content (w/w%, dry matter)
干物质 Dry matter	94.23
粗蛋白 Crude protein	40.54
粗脂肪 Crude fat	3.87
灰分 Ash	9.28
总能量 Gross energy (e/kJ g <sup>-1</sup> )	17.28

<sup>1)</sup> 饲料中使用的鱼粉来自秘鲁 <sup>1)</sup> Fishmeal used in the diet was from Peru

<sup>2)</sup> 矿物质预混料Mineral premix (w/mg kg<sup>-1</sup>): NaCl, 500; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 7 500; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O, 12 500; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 16 000; Ca(H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O, 100 000; FeSO<sub>4</sub>, 1 250; C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>CaO<sub>6</sub>·5H<sub>2</sub>O, 1 750; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 176.5; MnSO<sub>4</sub>·4H<sub>2</sub>O, 81; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 15.5; CoSO<sub>4</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0.5; KI, 1.5

<sup>3)</sup> 维生素预混料(w/mg kg<sup>-1</sup>): 硫胺素, 20; 核黄素, 20; V<sub>B6</sub>, 20; cyanocobalamin, 2; 叶酸, 5; 泛酸钙, 50; 肌醇, 100; 尼克酸, 100; 生物素, 5; 淀粉, 3226; 抗坏血酸, 111; V<sub>A</sub>, 110; V<sub>D3</sub>, 20; V<sub>E</sub>(消旋-α-生育酚醋酸酯), 100; V<sub>K3</sub>(甲萘纳亚硫酸盐), 10

<sup>3)</sup> Vitamin premix (w/mg kg<sup>-1</sup>): Thiamine, 20; Riboflavin, 20; VB6, 20; cyanocobalamin, 2; Folic acid, 5; Calcium pantothenate, 50; Inositol, 100; Nicotinic acid, 100; Biotin, 5; Starch, 3 226; Ascorbic acid, 111; VA, 110; VD3, 20; VE (Racemic-alpha-tocopherol acetate), 100; VK3 (Menadione sodium bisulfite), 10

### 1.2 试验方法

依据氨氮对黄颡鱼的急性毒性试验结果96 h LC<sub>50</sub>的10%为基础,共设计了4个氨氮浓度梯度,分别为3.36 mg L<sup>-1</sup>(A<sub>1</sub>)、6.72 mg L<sup>-1</sup>(A<sub>2</sub>)、13.44 mg L<sup>-1</sup>(A<sub>3</sub>)、26.88 mg L<sup>-1</sup>(A<sub>4</sub>),同时以未添加氯化铵的正常饲养用水作为对照组(A<sub>0</sub>),每组3个平行。每组放养试验鱼30尾,放养规格见表2。试验容器为280 L

圆形玻璃缸水族箱,盛放140 L试验溶液,连续24 h充气,DO为6.5~7.2 mg L<sup>-1</sup>。试验期间,水温(27.6 ± 1.4) °C, pH 7.7 ± 0.2。定时用奈氏试剂法测定各组总氨氮浓度,并用母液及时调整至试验设定的表观浓度,试验为期56 d。在试验过程中,每天饱食投喂试验鱼2次(7:00, 17:00),每次投喂颗粒饲料40 min后,捞取剩余饲料,用于计算日摄食量。每天早晚定时用虹吸管清除粪便,每晚(18:00)定时更换预先配置成相应质量浓度、等温的NH<sub>4</sub>Cl溶液,用饱和Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>溶液使水的pH维持相对稳定。每2周取样1次,取样的前一天停食1 d;取样时用网具迅速将试验鱼捞出,尽量减少对试验鱼的刺激,用200 mg L<sup>-1</sup> MS-222 (Sigma, MO, USA) 将黄颡鱼麻醉后,测量常规生物学指标(全长、体长、体重等),试验结束时(d 56)从每组取10尾黄颡鱼,用1 mL注射器从心脏采血,4 °C离心15 min(3 000 r min<sup>-1</sup>),用移液枪收集上清液分装在干净的小试管中,-20 °C保存,最后对所有试验组的上清液样品进行生化指标测量和分析。

### 1.3 试验观察和测量

**1.3.1 中毒症状** 在试验期间,每天观察鱼体的游泳、摄食、头部、体表及各鳍条的损伤情况。如有死亡个体,立即捞出,称量计数,并解剖观察内脏器官的病理变化情况。

**1.3.2 生长和摄食** 试验期间,每天准确记录黄颡鱼的摄食量,并统计黄颡鱼的受伤及死亡情况。在试验的d 0、d 14、d 28、d 42、d 56,每组取样15尾测量体长体重。体增重(Weight gain, WG)=W<sub>2</sub>-W<sub>1</sub>;特定生长率(SGR, r/%)=(ln W<sub>2</sub>-ln W<sub>1</sub>)/(t<sub>2</sub>-t<sub>1</sub>)×100, W<sub>1</sub>和W<sub>2</sub>为时间t<sub>1</sub>和t<sub>2</sub>的体重(g);饲料转化效率(Feed conversion rate, FCE, r/%)=体增重(g)/饲料摄食量(g)。

**1.3.3 体成分和生物能量的测量** 实验结束时,从各组中随机取10尾,用作鱼体成分分析。水分通过105 °C下烘干至恒重测定;蛋白质测定使用凯氏定氮法测定;脂肪采用索氏抽提系统( Soxtec system HT6, Tecator, Extraction Unit, Hoganas, Sweden)通过乙醚抽提失重法测定;灰分通过在马弗炉中550 °C燃烧法测定;能量通过Phillipson微量能量计( Phillipson micro bomb calorimeter, Gentry Instruments Inc., Aiken, U.S.A.) 测定。初始鱼样也采用同样的测量办法。

**1.3.4 血液指标** 皮质醇(Cortisol):采用北京科美东雅生物技术有限公司研制的碘[125I]皮质醇放射免疫分析试剂盒,采用竞争性放射性免疫测定法进行测定。血糖(Glu)、总蛋白(TP)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、尿素氮(Ur-N):均采用美国雅培(Abbott)公司生产的原装试剂盒,血糖和总蛋白使用终点法,谷草转氨酶、谷丙转氨酶和碱性磷酸酶使用速率法,尿素氮使用两点法,在ABBOTT AEROSET 全自动生化仪上进行测定。血氨(Plasma ammonia):采用美国强生公司原装试剂盒,在美国强生公司生产的Vitros 350型全自动干式急诊快速生化分析仪上进行测定。

### 1.4 数据处理

试验数据采用Statistica Version 6.0进行处理分析,结果以平均值±标准误(Mean ± S.E.)表示。各组间差异用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行检验, P<0.05表明差异显

著,  $P<0.01$ 表明差异极显著。本试验中所提及的氨氮是指水环境中的总氨氮浓度,由离子铵和非离子氨组成。由于非离子氨不带电荷,对鱼体的毒害作用最强,其浓度受水环境中pH和温度的影响。通常在计算氨氮的半数致死浓度时还要考虑非离子氨的半数致死浓度,非离子氨的计算公式如下<sup>[5]</sup>:

$$\text{非离子氨} = \text{总氨氮浓度} / [10^{(pK_a - pH)} + 1]$$

其中,  $pK_a = 0.09018 + 2729.92/T$  ( $T$ 为开氏温度,等于 $273 + t$  °C)

## 2 结果与分析

### 2.1 中毒症状

在氨氮浓度较高时,试验组A<sub>3</sub>和A<sub>4</sub>黄颡鱼出现了明显的充血、出血、腐皮和烂尾等症状,死亡数量也较大。中毒鱼体表粘液明显增多,身体瘦弱,游泳缓慢,呼吸困难,身体各鳍条出现缺损,胸鳍基部充血,有些死亡个体尾部溃烂,鳃部充血;打开鳃盖,发现鳃丝暗红;解剖鱼体内脏,肝脏发白,肠道内食物较少。在试验的过程中,高浓度组黄颡鱼摄食活动减少,摄食量明显降低;特别在试验的后期,高浓度组试验鱼尾鳍腐烂,出现大量死亡,说明非离子氨对黄颡鱼幼鱼具有慢性胁迫作用。

### 2.2 慢性氨氮胁迫对黄颡鱼摄食和生长的影响

氨氮胁迫对黄颡鱼体重变化及特定生长率的结果见表

表2 慢性氨氮胁迫对黄颡鱼幼鱼生长和摄食的影响 ( $N=3$ )

Table 2 Effects of chronic ammonia stress on growth and food intake of yellow catfish juveniles ( $N=3$ )

氨氮 Ammonia ( $\rho/\text{mg L}^{-1}$ )	0	3.36	6.72	13.44	26.88
非离子氨 Un-ionized ammonia ( $\rho/\text{mg L}^{-1}$ )	0	0.11	0.22	0.44	0.88
摄食率 FR ( $r/\%$ )	1.27±0.02 <sup>c</sup>	1.25±0.02 <sup>bc</sup>	1.24±0.01 <sup>bc</sup>	1.21±0.02 <sup>b</sup>	1.12±0.02 <sup>a</sup>
初始鱼体重 IBW ( $m/\%$ )	20.20±0.56	20.07±0.21	20.59±0.25	20.38±0.13	20.07±0.32
终末鱼体重 FBW ( $m/\%$ )	32.77±0.55 <sup>d</sup>	30.05±0.38 <sup>c</sup>	29.79±0.60 <sup>c</sup>	24.60±0.29 <sup>b</sup>	23.25±0.17 <sup>a</sup>
存活率 Survival ( $r/\%$ )	98.88±1.11 <sup>d</sup>	91.11±1.11 <sup>c</sup>	86.67±1.92 <sup>c</sup>	73.33±3.85 <sup>b</sup>	58.89±2.94 <sup>a</sup>
特定生长率 SGR ( $r/\%$ )	0.86±0.03 <sup>c</sup>	0.72±0.03 <sup>b</sup>	0.66±0.03 <sup>b</sup>	0.34±0.02 <sup>a</sup>	0.26±0.02 <sup>a</sup>
饲料转化率 FCE ( $r/\%$ )	66.72±1.33 <sup>c</sup>	54.22±2.11 <sup>b</sup>	51.06±1.99 <sup>b</sup>	27.79±2.10 <sup>a</sup>	23.15±0.76 <sup>a</sup>

同一指标中不同小字母者表示组间差异显著 ( $P<0.05$ ),标有相同小写字母者表示组间差异不显著 ( $P>0.05$ )

The means with different little letters within the same column represent significantly different at the 0.05 probability level, and the means with the same letters are not significantly different

表3 慢性氨氮胁迫对黄颡鱼鱼体成分及能量含量的影响 ( $N=3$ )

Table 3 Effects of chronic ammonia stress on proximate composition and energy of whole body of yellow catfish juveniles ( $N=3$ )

氨氮 Ammonia ( $\rho/\text{mg L}^{-1}$ )	初始鱼样 Initial fish sample	0	3.36	6.72	13.44	26.88
干物质 Dry matter ( $r/\%$ )	24.68±0.22	24.24±0.29	24.28±0.35	24.20±0.30	24.17±0.33	24.65±0.29
蛋白 Protein ( $r/\%$ )	15.38±0.18	15.86±0.17	15.56±0.35	15.70±0.17	15.98±0.40	15.47±0.20
脂肪 Lipid ( $r/\%$ )	6.68±0.15	6.81±0.37	7.06±0.48	6.59±0.33	6.45±0.17	6.55±0.32
灰分 Ash ( $r/\%$ )	3.32±0.10	3.37±0.18	3.39±0.22	3.61±0.25	3.34±0.16	3.40±0.26
能量含量 Energy ( $e/\text{kJ g}^{-1}$ )	5.19±0.07	5.25±0.08	5.21±0.07	5.08±0.09	5.02±0.10	5.07±0.10

表4 慢性氨氮胁迫对黄颡鱼幼鱼能量收支的影响 ( $N=3$ )

Table 4 Effects of chronic ammonia stress on energy budget of whole body of yellow catfish juveniles ( $N=3$ )

氨氮 Ammonia ( $\rho/\text{mg L}^{-1}$ )	0	3.36	6.72	13.44	26.88
C/kJ g <sup>-1</sup> d <sup>-1</sup>	0.219±0.004	0.227±0.009	0.220±0.005	0.209±0.003	0.196±0.006
		As a percentage of C ( $r/\%$ )			
G	20.65±0.69 <sup>d</sup>	16.43±0.47 <sup>c</sup>	14.21±0.91 <sup>b</sup>	6.70±0.47 <sup>a</sup>	5.87±0.75 <sup>a</sup>
F	21.64±0.97 <sup>a</sup>	23.75±0.71 <sup>b</sup>	25.02±0.62 <sup>b</sup>	28.52±0.57 <sup>c</sup>	30.55±0.62 <sup>c</sup>
U	6.92±0.03 <sup>a</sup>	7.47±0.09 <sup>b</sup>	7.45±0.03 <sup>b</sup>	8.12±0.09 <sup>c</sup>	8.43±0.09 <sup>d</sup>
R	50.79±1.57 <sup>a</sup>	52.35±0.95 <sup>ab</sup>	53.32±1.53 <sup>abc</sup>	56.65±0.93 <sup>c</sup>	55.16±1.45 <sup>bc</sup>
		As a percentage of A ( $r/\%$ )			
R	71.06±1.28 <sup>a</sup>	76.12±0.75 <sup>b</sup>	78.94±1.54 <sup>b</sup>	89.41±0.80 <sup>c</sup>	90.36±1.32 <sup>c</sup>
G	28.94±1.28 <sup>c</sup>	23.88±0.75 <sup>b</sup>	21.06±1.54 <sup>b</sup>	10.59±0.80 <sup>a</sup>	9.64±1.32 <sup>a</sup>

同一指标中不同小字母者表示组间差异显著 ( $P<0.05$ ),标有相同小写字母者表示组间差异不显著 ( $P>0.05$ )

The means with different little letters within the same column represent significantly different at the 0.05 probability level, and the means with the same letters are not significantly different

2. 试验组A<sub>4</sub>的摄食率(Feed rate, FR)明显低于低浓度组和对照组( $P<0.05$ ),而低浓度组摄食率差异不显著( $P>0.05$ )。摄食率(FR)的差异直接导致黄颡鱼生长的差异,A<sub>1</sub>和A<sub>2</sub>终末鱼体重(Final body weight, FBW)明显高于高浓度组;随着非离子氨浓度升高,特定生长率(SGR)呈下降趋势。结果表明,非离子氨对黄颡鱼的生长存在显著影响,高浓度的非离子氨明显抑制黄颡鱼的正常摄食和生长,最终导致饲料的转化率降低。

### 2.3 慢性氨氮胁迫对黄颡鱼鱼体成分和能量收支的影响

氨氮胁迫对黄颡鱼鱼体成分的试验结果见表3,各组之间差异不显著( $P>0.05$ ),并且d 56和d 0鱼体成分差异也不明显。随着氨氮浓度的升高,黄颡鱼用于生长的能量(G)减少,而粪能(F)和排泄能(U)正好相反(表4,  $P<0.05$ )。随着浓度的增加,黄颡鱼将更多的能量用于活动和排泄,而用于生长的能量减少。

### 2.4 慢性氨氮胁迫对黄颡鱼血液指标的影响

氨氮胁迫对黄颡鱼幼鱼的部分血液生化指标的结果见表5。随着非离子氨浓度的升高,血氨浓度显著升高( $P<0.01$ ),但各处理组血氨的浓度远高于其所处环境总氨氮浓度,而血浆尿素氮水平逐渐降低但差异不显著。A<sub>3</sub>和A<sub>4</sub>

表5 氨氮胁迫对黄颡鱼幼鱼血液生化指标的影响 ( $N=3$ )Table 5 Effects of chronic ammonia stress on selected hematological parameters of yellow catfish juveniles ( $N=3$ )

氨氮 Ammonia ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	0	3.36	6.72	13.44	26.88
皮质醇 Cortisol ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )	11.96±0.66 <sup>a</sup>	9.66±0.82 <sup>a</sup>	13.28±0.74 <sup>a</sup>	17.22±1.65 <sup>b</sup>	19.03±1.37 <sup>b</sup>
血糖 Glucose ( $\mu\text{mmol L}^{-1}$ )	2.47±0.61 <sup>c</sup>	2.11±0.33 <sup>abc</sup>	2.28±0.47 <sup>bc</sup>	1.13±0.21 <sup>ab</sup>	0.92±0.14 <sup>a</sup>
总蛋白 TP ( $\mu\text{g L}^{-1}$ )	28.42±1.19 <sup>c</sup>	24.55±2.20 <sup>bc</sup>	22.66±1.72 <sup>ab</sup>	18.94±1.28 <sup>a</sup>	18.37±1.60 <sup>a</sup>
谷丙转氨 GTP ( $\mu\text{U L}^{-1}$ )	26.23±1.88 <sup>a</sup>	35.03±2.90 <sup>ab</sup>	39.10±3.40 <sup>bc</sup>	44.09±3.68 <sup>bc</sup>	47.14±4.34 <sup>c</sup>
谷草转氨 AST ( $\mu\text{U L}^{-1}$ )	151.89±13.61 <sup>a</sup>	164.67±12.41 <sup>a</sup>	184.67±18.10 <sup>ab</sup>	219.67±18.50 <sup>c</sup>	221.00±12.10 <sup>c</sup>
碱性磷酸酶 ALT ( $\mu\text{U L}^{-1}$ )	71.52±3.56 <sup>a</sup>	77.23±8.11 <sup>a</sup>	74.34±5.59 <sup>a</sup>	106.76±7.64 <sup>b</sup>	111.43±9.38 <sup>b</sup>
尿素氮 Ur-N ( $\mu\text{mmol L}^{-1}$ )	1.47±0.13 <sup>b</sup>	1.10±0.07 <sup>ab</sup>	1.03±0.16 <sup>a</sup>	0.87±0.14 <sup>a</sup>	0.74±0.08 <sup>a</sup>
血氨 PA ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	111.67±16.04 <sup>a</sup>	147.90±15.82 <sup>a</sup>	254.50±28.02 <sup>b</sup>	548.48±31.30 <sup>c</sup>	849.62±25.36 <sup>d</sup>

同一指标中不同小字母者表示组间差异显著 ( $P<0.05$ ), 标有相同小写字母者表示组间差异不显著 ( $P>0.05$ )

The means with different little letters within the same column represent significantly different at the 0.05 probability level, and the means with the same letters are not significantly different

碱性磷酸酶 (AKP) 活性和皮质醇水平升高较快, 中低浓度组有些上升但与对照组差异不显著 ( $P>0.05$ )。血糖 (GLU) 浓度总体上表现为降低的趋势,  $A_3$  和  $A_4$  下降较快。谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性总体呈升高趋势, 非离子氨浓度越大其升高趋势越明显。血液中总蛋白随着非离子氨浓度升高, 呈下降趋势。结果表明, 非离子氨对黄颡鱼幼鱼的血液生化指标产生明显的影响, 说明非离子氨对黄颡鱼幼鱼具有明显的慢性毒性效应; 因此, 黄颡鱼幼鱼不宜长期生活在高浓度的氨氮环境中, 适宜的养殖水体中氨氮浓度应该保持在低于  $6.72 \text{ mg L}^{-1}$  水平。

### 3 讨论

#### 3.1 慢性氨氮胁迫对黄颡鱼活动和死亡的影响

试验结果表明, 高浓度非离子氨直接导致黄颡鱼体表分泌粘液增多, 活动能力减弱, 尾部溃烂, 表皮受伤容易感染细菌, 易感性增强。到试验后期, 试验鱼出现死亡现象。说明非离子氨长期胁迫会导致动物生长率降低甚至生长停滞, 饲料转化效率降低。因此, 在黄颡鱼的养殖过程中, 如果水体中存在一定浓度的非离子氨, 黄颡鱼摄取的能量将会大量用于活动、排泄作用, 而用于生长的能量减少, 导致饲料的利用效率降低, 黄颡鱼生长缓慢。大量研究结果表明, 长期的氨氮胁迫可使水产动物的生长减缓, 导致鱼类死亡率升高<sup>[6~7]</sup>。Lemarie等发现在高浓度非离子氨处理组 ( $0.9 \text{ mg L}^{-1}$  和  $0.88 \text{ mg L}^{-1}$ ), 舌齿鲈的活动量明显增加, 死亡率也较高<sup>[8]</sup>; 绿海胆在非离子氨为  $0.0688 \text{ mg L}^{-1}$  时, 存活率仅为 24%<sup>[9]</sup>。

#### 3.2 慢性氨氮胁迫对黄颡鱼摄食和生长的影响

本研究中慢性氨氮胁迫在一定程度上减少了黄颡鱼对饲料的摄取, 导致黄颡鱼生长减缓, 饲料转化效率降低。大量研究结果表明, 随着非离子氨的增加, 鱼类摄食量下降, 而且大部分能量用于机体的消耗, 很少用于生长, 从而导致饲料转化率下降<sup>[10~12]</sup>。养殖的花狼鱼 (*Anarhichas minor Olafsen*) 在低浓度氨氮组 (对照组和  $0.13 \text{ mg L}^{-1}$ ) 比高浓度组 ( $0.13 \text{ mg L}^{-1}$  和  $0.25 \text{ mg L}^{-1}$ ) 的生长率较高, 生长率下降的原因可能与摄食量下降有关<sup>[11]</sup>。Lemarie等研究了非离子氨对舌齿鲈幼鱼的影响, 在试验开始 55 d 后, 对照组的试验鱼增重 3.4 倍, 而高浓度组 ( $0.90 \text{ mg L}^{-1}$ ) 只有 1.8 倍, 并且增重率与非离子氨成负相关, 非离子氨为  $0.26 \text{ mg L}^{-1}$  为其安全限制浓度<sup>[8]</sup>。Foss 等研究了非离子氨对大西洋鳕的毒性, 当非离子氨大于  $0.06 \text{ mg L}^{-1}$  时, 日摄食量减少, 生长率降低<sup>[2]</sup>。Pinto 等研究了

非离子氨对塞内加尔鳎 (*Solea senegalensis* Kaup 1858) 生长和氨基酸代谢的影响, 高浓度组的体重增长率最低<sup>[12]</sup>。

#### 3.3 慢性氨氮胁迫对黄颡鱼血液指标的影响

氨氮胁迫对黄颡鱼的部分血液指标的影响差异显著。本试验中, 血糖浓度总体上表现为降低的趋势, 2 个高浓度组下降较快。在高浓度组中 AKP 和皮质醇水平明显高于对照组, 但是差异不显著。对大菱鲆和虹鳟进行 48 和 96 h 的毒性研究结果<sup>[10, 13]</sup>与本文相似, 一般鱼类皮质醇水平随着非离子氨升高而增加。但是, 在长时间的氨氮胁迫下, 部分血液指标会趋向正常对照生理水平<sup>[8, 14]</sup>。这种规律说明鱼类具有适应环境胁迫的自动调节能力, 但是不能说明鱼类的生长不受氨氮的影响<sup>[12]</sup>。鱼类可以逐渐适应慢性氨氮胁迫, 但是其生长仍然受到一定的影响<sup>[15]</sup>。

本文中, 随着非离子氨浓度的增加, 血液中尿素氮含量逐渐减少, 说明当黄颡鱼幼鱼在高浓度非离子氨水体中, 尿素氮排泄率增加, 这与许多试验结果<sup>[10]</sup>相一致。鱼类可以通过多种途径解除氨在鱼体内的积累, 其中包括减少氨的产生, 增加氨的排泄以及转化成无毒的物质<sup>[2, 16~17]</sup>。通过减少体内蛋白质水解和氨基酸的代谢也可以阻止氨氮在体内的积累, 而且在许多鱼类中, 可以将氨氮转化成谷氨酸盐和进入尿素氮通路循环<sup>[17~18]</sup>。

另外, 鱼类在氨暴露环境下血浆总氨氮水平会随暴露时间的延长而增加<sup>[19~20]</sup>, 且一般与外界总氨氮水平之间呈线性相关关系<sup>[19~21]</sup>。非离子氨对舌齿鲈幼鱼的研究结果发现, 血氨水平与非离子氨成正相关<sup>[8]</sup>。Beaumont 等发现, 随着血氨水平增加, 血液中的皮质醇水平也增加, 说明鱼体内氨氮积累会导致体内皮质醇的释放<sup>[22]</sup>, 这与本文的试验结果一致。

#### References

- Wajsbrodt N, Gasith A, Diamant A, Popper, DM. Chronic toxicity of ammonia to juvenile gilthead seabream *Sparus aurata* and related histopathological effects. *Fish Physiol & Biol*, 1993, **42**: 321~328
- Foss A, Siikavuopio SI, Sather BS, Evensen TH. Effect of chronic ammonia exposure on growth in juvenile Atlantic cod. *Aquaculture*, 2004, **237**: 179~189
- Dosdat A, Person-Le-Ruyet J, Coves D, Gasset E, Le RA, Lemarie G. Effect of chronic exposure to ammonia on growth, food utilisation and metabolism of the European sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Aquat Living Res*, 2003, **16**: 509~520
- Spencer P, Pollock R, Dube M. Effects of un-ionized ammonia on

- histological, endocrine, and whole organism endpoints in slimy sculpin (*Cottus cognatus*). *Aquat Toxicol*, 2008, **90**: 300~309
- 5 Emerson K, Russo RC, Lund RE, Thurston RV. Aqueous ammonia equilibrium calculations: Effect of pH and temperature. *J Fish Res Board Can*, 1975, **32**: 2379~2383
- 6 Siikavuopio SI, Sather B. Effects of chronic nitrite exposure on growth in juvenile Atlantic cod, *Gadus morhua*. *Aquaculture*, 2006, **255**: 351~356
- 7 Kasturi Reddy-Lopata, Auerswald L, Cook P. Ammonia toxicity and its effect on the growth of the South African abalone *Haliotis midae Linnaeus*. *Aquaculture*, 2006, **261**: 678~687
- 8 Lemarie G, Dosdat A, Coves D, Dutto G, Gasset E, Ruyet JP. Effect of chronic ammonia exposure on growth of European seabass (*Dicentrarchus labrax*) juveniles. *Aquaculture*, 2004, **229**: 479~491
- 9 Siikavuopio SI, Dale T, Foss A, Mortensen A. Effects of chronic ammonia exposure on gonad growth and survival in green sea urchin *Strongylocentrotus droebachiensis*. *Aquaculture*, 2004, **242**: 313~320
- 10 Person-Le Ruyet J, Galland J, Roux R, Chartois H. Chronic ammonia toxicity to juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*, 1998, **154**: 155~171
- 11 Foss A, Evensen TH, Vollen T, Oiestad V. Effects of chronic ammonia exposure on growth and food conversion efficiency in juvenile spotted wolffish. *Aquaculture*, 2003, **228**: 215~224
- 12 Pinto W, Aragao C, Soares F, Dinis MT, Conceicao LEC. Growth, stress response and free amino acid levels in Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup 1858) chronically exposed to exogenous ammonia. *Aqua Res*, 2007, **38**: 1198~1204
- 13 Wicks BJ, Tang Q, Joensen R, Randall DJ. Swimming and ammonia toxicity in salmonids: The effect of sub-lethal ammonia exposure on the swimming performance of coho salmon and the acute toxicity of ammonia in swimming and resting rainbow trout. *Aquat Toxic*, 2002, **59**: 55~69
- 14 Person-Le Ruyet J, Lames A, Le RA, Severe A, Boeuf G, Mayer-Gostan N. Long-team ammonia exposure of turbot: Effects on plasma parameters. *J Fish Biol*, 2003, **63**: 879~894
- 15 Jentoft S, Aastveit AH, Torjesen PA, Anderson O. Effects of stress on growth, cortisol and glucose levels in non-domesticated Eurasian perch (*Perca fluviatilis*) and domesticated rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Comp Biol Chem & Physiol A*, 2005, **141**: 353~358
- 16 Randall DJ, Tsui TKN. Ammonia toxicity in fish. *Mar Poll Bull*, 2002, **45** (1): 17~23
- 17 Ip YK, Chew SF, Leong IA, Jin Y, Lim CB, Wu RS. The sleeper *Bostrichthys sinensis* (Family Eleotridae) stores glutamine and reduces ammonia production during aerial exposure. *J Comp Physiol*, 2001, **171**: 367~367
- 18 Wang Y, Walsh PJ. High ammonia tolerance in fishes of the family Batrachoididae (Toadfish and Midshipmen). *Aquat Toxic*, 2000, **50**: 205~219
- 19 Ruyet JPL, Chartois H, Quemener L. Comparative acute ammonia toxicity in marine fish and plasma ammonia response. *Aquaculture*, 1995, **136** (1): 81~94
- 20 Richard SR, Bodil K. Ammonia and urea in plasma of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus* L.) in response to external ammonia. *Comp Biochem & Physiol*, 1998, **120A**: 163~168
- 21 Knoph MB, Olsen YA. Subacute toxicity of ammonia to Atlantic salmon (*Salmo salar* L.) in seawater: Effects on water and salt balance, plasma cortisol and plasma levels. *Aquat Toxic*, 1994, **30** (4): 295~310
- 22 Beaumont MW, Butler PJ, Taylor EW. Exposure of brown trout *Salmo trutta* to a sublethal concentration of copper in soft acidic water: effects upon gas exchange and ammonia accumulation. *J Exp Biol*, 2003, **206**: 153~162