

## 氨和空气暴露对大鳞副泥鳅肝脏抗氧化能力的影响

张云龙, 商泽昊, 王光毅, 米笛, 尤昆

安徽农业大学动物科技学院, 安徽 合肥 230036

**摘要:** 将大鳞副泥鳅(*Paramisgurnus dabryanus*)分别暴露于 30 mmol/L NH<sub>4</sub>Cl 溶液和空气中, 以评价氨和空气暴露对其肝脏抗氧化能力的影响。结果显示, 氨暴露并未引起大鳞副泥鳅肝脏超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性的显著变化, 仅空气暴露 12 h 后, 大鳞副泥鳅肝脏 SOD 活性显著高于对照组( $P<0.05$ )。氨和空气暴露均显著降低了大鳞副泥鳅肝脏过氧化氢酶(catalase, CAT)活性, 且在暴露 72 h 后升高( $P<0.05$ )。丙二醛(malondialdehyde, MDA)及脂质过氧化物(lipid peroxide, LPO)含量在氨和空气暴露组中均呈现先显著上升后下降的趋势。氨和空气暴露对大鳞副泥鳅肝脏谷胱甘肽-S 转移酶(glutathione S-transferase, GST)活性、谷胱甘肽(glutathione, GSH)含量和总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)无显著影响( $P>0.05$ ), 但谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)活性均明显降低, 乙酰胆碱酯酶(acetylcholin esterase, AChE)活性均显著上升。综上所述, 在氨和空气暴露的初期, 大鳞副泥鳅体内出现了明显的氧化反应;而在暴露一段时间后, 体内的氧化反应受到了明显的抑制, 大鳞副泥鳅肝脏中 SOD、CAT、GST 及 GSH-Px 等抗氧化酶系统并未被成功激活。

**关键词:** 大鳞副泥鳅; 氨累积; 空气暴露; 抗氧化能力; 氨耐受

中图分类号: S966

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2021)02-0176-10

氨是养殖水体中常见的环境污染物, 尤其在高密度养殖条件下会随着养殖周期的延长而出现显著的氨累积<sup>[1]</sup>。而环境氨的累积又可通过鳃等组织造成水产动物体内氨累积<sup>[2]</sup>。氨对水生动物具有极强的毒性作用, 可引起水生动物生长降低<sup>[3]</sup>、氧化应激<sup>[4]</sup>、免疫抑制<sup>[5]</sup>、细胞凋亡<sup>[1]</sup>及组织损伤<sup>[6-7]</sup>等。因此, 水生动物体内氨应维持在较低的水平, 而一些气呼吸型鱼类具有独特的氨解毒策略<sup>[8]</sup>, 从而对氨具有极高的耐受性, 如泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)<sup>[9]</sup>、黄鳝(*Monopterus albus*)<sup>[10]</sup>及大鳞副泥鳅(*Paramisgurnus dabryanus*)<sup>[11-14]</sup>等。因而, 较多的研究关注其特有的耐氨策略, 而关于氨对气呼吸型鱼类的毒性机理方面的研究则相对较为缺乏。非致死浓度的氨暴露会造成鱼类生理损伤, 对气呼吸型鱼类来说, 这种非致死浓度要远高于其他鱼类。气呼吸特性是鱼类对特殊环境

(主要为阶段性生境干旱)的一种适应机制。而且, 多数气呼吸型鱼类较为适应高密度养殖环境。也就是说气呼吸型鱼类更容易出现体外和体内氨累积的情况。因此, 研究体外和体内氨累积对气呼吸型鱼类的生理影响是非常必要的。

大鳞副泥鳅是亚洲地区重要的经济水产养殖鱼类之一<sup>[15]</sup>, 它是一种典型的气呼吸型鱼类<sup>[16]</sup>, 且具有多种有效的氨耐受策略<sup>[12-14]</sup>。氨作为一种环境应激因子, 会对大鳞副泥鳅造成胁迫<sup>[17]</sup>。鱼类在应激条件下会通过一些生理变化来适应恶化的生存环境<sup>[18]</sup>, 但有关氨胁迫对大鳞副泥鳅的生理影响尚缺乏系统的研究。氨累积是水产养殖中重要的限制性因素之一, 可引起鱼类产量降低、死亡等。然而, 关于氨对鱼类尤其是气呼吸型鱼类毒性机理的研究目前尚缺乏。因此, 本研究测定大鳞副泥鳅肝脏抗氧化指标在氨和空气暴露中

收稿日期: 2020-07-27; 修订日期: 2020-08-14.

基金项目: 安徽省自然科学基金面上项目(1908085MC78); 安徽省重点研发计划与面上攻关项目(1804a07020144).

作者简介: 张云龙(1989-), 男, 副教授, 博士, 主要从事鱼类生理生态及增养殖研究. E-mail: zhangyunlong@ahau.edu.cn

的变化规律, 旨在阐明体内和体外氨累积对大鳞副泥鳅抗氧化能力的影响, 为研究氨对气呼吸型鱼类的毒性机理提供基础数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验鱼

实验用大鳞副泥鳅体重( $20.1\pm3.2$ ) g, 体长( $15.3\pm2.9$ ) cm, 购自合肥某农贸市场, 转运至实验室, 养殖于5个60 L的循环水族缸中(盛水50 L), 每个缸中养殖30~50尾并放置3个充气石。实验鱼在实验室中暂养7 d后开始实验, 暂养期间水温( $23.0\pm1.0$ ) °C, DO≥5 mg/L, 每天投喂两次商品配合饲料(粗蛋白35%, 粗脂肪7%), 每天换水30%。

### 1.2 实验设计

将4尾大鳞副泥鳅置于圆形塑料盆(直径35.5 cm, 高15.5 cm)中进行空气暴露, 盆中装有很浅的一层蒸馏水(100 mL)以保持大鳞副泥鳅体表湿润。盆中的蒸馏水每隔8 h彻底更换一次以保证盆中的湿度。将4尾大鳞副泥鳅置于圆形塑料盆(直径35.5 cm, 高15.5 cm)中, 盆中装有10 L 30 mmol/L的NH<sub>4</sub>Cl溶液(以4 mol/L NaOH溶液调节pH至7.2), 以此进行氨暴露。盆中的NH<sub>4</sub>Cl溶液每隔24 h彻底更换一次以避免氨挥发造成的氨浓度降低。将4尾大鳞副泥鳅置于圆形塑料盆(直径35.5 cm, 高15.5 cm)中, 盆中装有10 L曝气后的蒸馏水, 以此作为对照组。以暴露时间为0 h的大鳞副泥鳅作为基础水平。空气暴露组、氨暴露组和对照组的暴露时间均设置为12 h、24 h、48 h、72 h及96 h, 每个暴露时间点均设置3个平行组, 共45个塑料盆用于实验, 空气暴露组、氨暴露组和对照组均为15个。实验期间, 实验室内温度为( $25.0\pm1.0$ ) °C, 所有实验用水均在实验室内静置48 h以上, 以保证水温与室温一致。实验期间, 所有实验鱼均不投喂。

### 1.3 样品采集及处理

每个暴露时间点结束, 该时间点3个平行中的所有实验鱼均以MS-222彻底麻醉。随后, 所有实验鱼通过敲击头部致死, 解剖后取肝脏组织。

每个平行中的肝脏样品由4尾实验鱼合并而来。以玻璃匀浆器匀浆后, 按照体积质量比9:1加入预冷(4 °C)的生理盐水, 充分混合后置于转速10000 r/min、温度4 °C条件下离心20 min, 取上层清液备用。所有样品均保存于-80 °C冰箱中待测。

### 1.4 指标测定

肝脏总蛋白含量以考马斯亮蓝法测定, 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性采用黄嘌呤氧化酶法测定, 过氧化氢酶(catalase, CAT)活性采用钼酸铵法测定, 谷胱甘肽还原酶(glutathione reductase, GR)活性采用紫外比色法测定, 谷胱甘肽-S转移酶(glutathione S-transferase, GST)活性采用比色法测定, 谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)活性采用酶偶联连续监测法测定, 谷胱甘肽(glutathione, GSH)含量采用酶偶联连续监测法测定, 总抗氧化能力(total antioxidant capacity, T-AOC)采用ABTS法测定, 乙酰胆碱酯酶(acetylcholin esterase, AChE)活性、脂质过氧化物(lipid peroxide, LPO)含量及多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)活性均采用紫外比色法测定。以上试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

### 1.5 数据处理

所有数据均以平均值±标准误( $\bar{x}\pm SE$ )表示, 用SPSS 18.0进行分析。先以Levene's检验进行方差同质性检验, 随后进行单因素方差分析(one-way ANOVA)检测结果的差异显著性, 如果显著则进行LSD多重比较。以T-检验分析同一时间点实验组与对照组之间的显著性, 显著性水平为0.05。

## 2 结果与分析

图1和图2所示为氨和空气暴露对大鳞副泥鳅肝脏超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)以及丙二醛(MDA)含量的影响。30 mmol/L NH<sub>4</sub>Cl溶液暴露后, 肝脏SOD活性变化较小, 但与对照组之间无显著性差异(图1A,  $P>0.05$ )。而氨溶液暴露显著降低了大鳞副泥鳅肝脏CAT活性, 且暴露12 h后显著低于对照组(图1B,  $P<0.05$ )。对照组和氨暴露组中, 肝脏MDA含量均呈现先上升后下

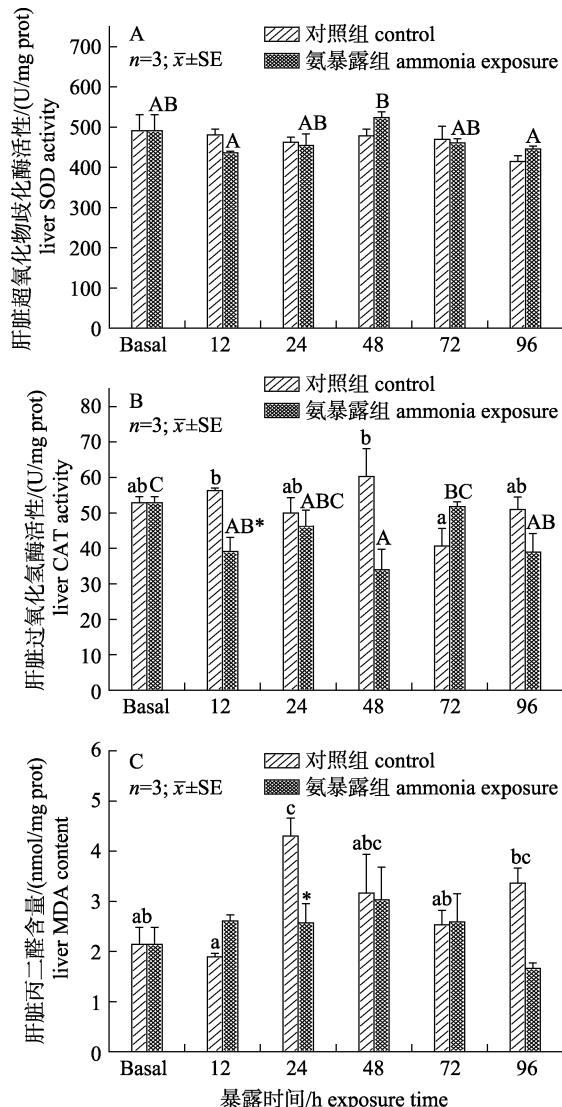


图 1 氨暴露对大鳞副泥鳅肝脏超氧化物歧化酶(A)、过氧化氢酶(B)活性及丙二醛(C)含量的影响  
图中不同小写字母表示对照组中不同暴露时间之间差异显著( $P<0.05$ )，不同大写字母表示实验组中不同暴露时间之间差异显著( $P<0.05$ )，\*表示实验组与对照组之间差异显著( $P<0.05$ )。

Fig. 1 Effects of various period of ammonia exposure on SOD (A), CAT (B) activities and MDA (C) contents in liver of *Paramisgurnus dabryanus*

Different lowercase letters indicate significant difference ( $P<0.05$ ) among different exposure times in the control group. Different capital letters indicate significant difference ( $P<0.05$ ) among different exposure times in the experimental group.  
\* indicate significant difference between the experimental group and the control group ( $P<0.05$ ).

降的趋势。但氨暴露组中，不同暴露时间之间无显著性差异(图 1C,  $P>0.05$ )。类似地，不同时间空气暴露后，大鳞副泥鳅肝脏 SOD 活性呈先升高后

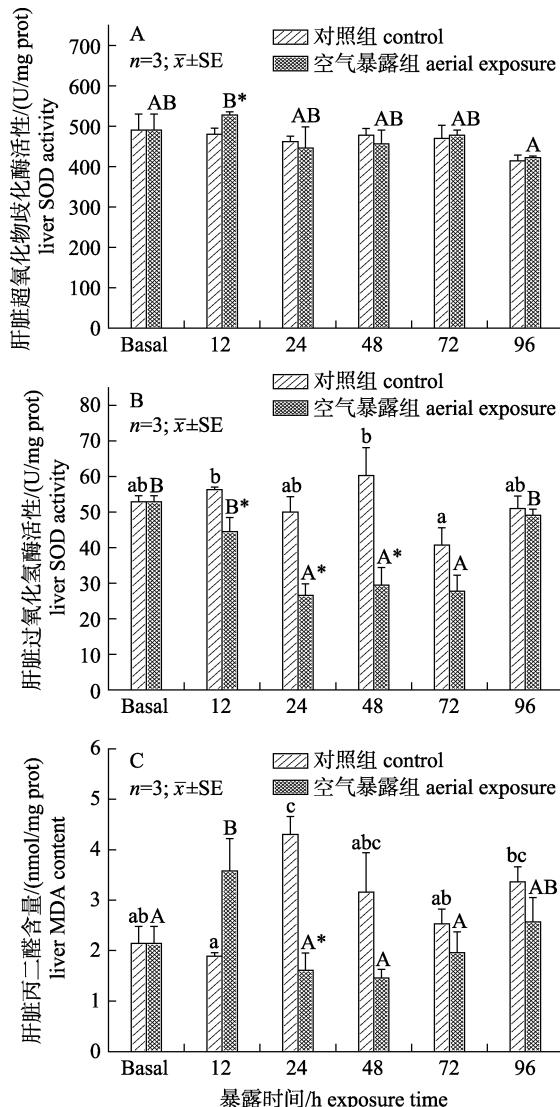


图 2 空气暴露对大鳞副泥鳅肝脏超氧化物歧化酶(A)、过氧化氢酶(B)活性及丙二醛(C)含量的影响  
图中不同小写字母表示对照组中不同暴露时间之间差异显著( $P<0.05$ )，不同大写字母表示实验组中不同暴露时间之间差异显著( $P<0.05$ )，\*表示实验组与对照组之间差异显著( $P<0.05$ )。

Fig. 2 Effect of various period of aerial exposure on SOD (A), CAT (B) activities and MDA (C) contents in liver of *Paramisgurnus dabryanus*

Different lowercase letters indicate significant difference ( $P<0.05$ ) among different exposure times in the control group. Different capital letters indicate significant difference ( $P<0.05$ ) among different exposure times in the experimental group.  
\* indicate significant difference between the experimental group and the control group ( $P<0.05$ ).

缓慢下降的趋势，在暴露 12 h 后显著高于对照组( $P<0.05$ , 图 2A)。空气暴露 12 h、24 h 和 48 h 后肝脏 CAT 活性显著低于对照组(图 2B,  $P<0.05$ )。

空气暴露 12 h 后, 大鳞副泥鳅肝脏 MDA 含量显著上升, 随后迅速下降至基础水平直至实验结束。对照组中肝脏 MDA 含量也呈现先显著上升后明显下降的趋势, 在 24 h 时达到最高值且显著高于空气暴露组(图 2C,  $P<0.05$ )。

不同时间氨和空气暴露对大鳞副泥鳅肝脏中谷胱甘肽还原酶(GR)、谷胱甘肽 S 转移酶(GST)、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-Px)活性以及谷胱甘肽含量的影响见图 3 和图 4。氨暴露 48 h 后, 大鳞副泥鳅肝脏中 GR 活性显著低于基础水平( $P<0.05$ ), 随后缓慢上升(图 3A)。肝脏 GST 活性在氨暴露 72 h 内无显著变化( $P>0.05$ ), 随后显著下降(图 3B,  $P<0.05$ )。随着氨暴露时间的延长, 大鳞副泥鳅肝脏中 GSH-Px 活性逐渐下降, 在暴露 72 h

之后显著低于基础水平(图 3C,  $P<0.05$ )。而不同时间氨暴露并未引起肝脏谷胱甘肽含量的明显变化(图 3D,  $P>0.05$ )。

空气暴露下, 大鳞副泥鳅肝脏中 GR 活力变化趋势与氨暴露组类似, 在暴露 48 h 后显著降低(图 4A,  $P<0.05$ )。大鳞副泥鳅暴露于空气中 12 h 后, 肝脏 GSH-Px 活力显著降低, 且在暴露 12 h 和 48 h 后显著低于对照组(图 4C,  $P<0.05$ )。不同时间空气暴露对大鳞副泥鳅肝脏 GST 活力和 GSH 含量无显著影响(图 4B 和 4D,  $P>0.05$ )。

如图 5A 和图 6A 所示, 大鳞副泥鳅肝脏总抗氧化能力(T-AOC)不受氨暴露和空气暴露的影响( $P>0.05$ )。随着氨暴露时间的延长, 大鳞副泥鳅肝脏中乙酰胆碱酯酶(AChE)活力呈升高的趋势, 且

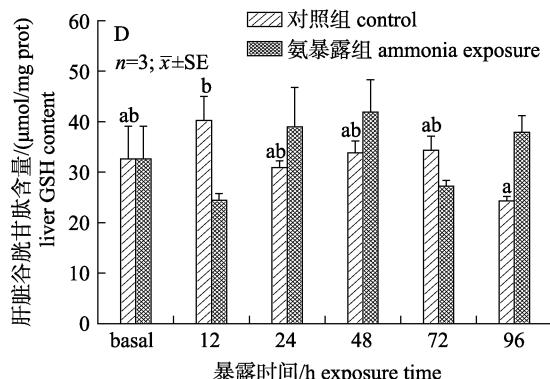
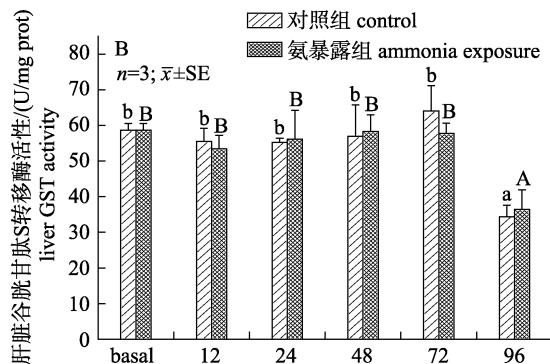
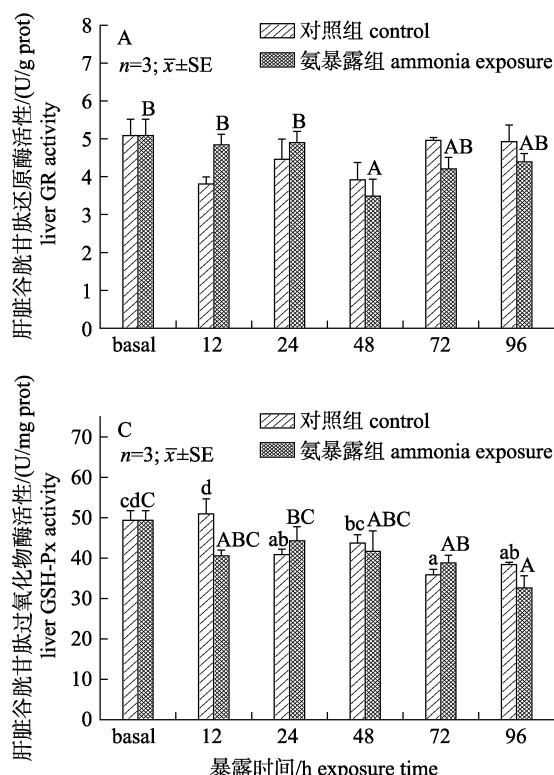


图 3 氨暴露对大鳞副泥鳅肝脏谷胱甘肽还原酶(A)、谷胱甘肽 S 转移酶(B)、谷胱甘肽过氧化物酶(C)活性及谷胱甘肽(D)含量的影响

图中不同小写字母表示对照组中不同暴露时间之间差异显著( $P<0.05$ ), 不同大写字母表示实验组中

不同暴露时间之间差异显著( $P<0.05$ ), \* 表示实验组与对照组之间差异显著( $P<0.05$ )。

Fig. 3 Effects of various period of ammonia exposure on GR (A), GST (B), GSH-Px (C) activities and GSH (D) contents in liver of *Paramisgurnus dabryanus*

Different lowercase letters indicate significant difference ( $P<0.05$ ) among different exposure times in the control group. Different capital letters indicate significant difference ( $P<0.05$ ) among different exposure times in the experimental group. \* indicate significant difference between the experimental group and the control group ( $P<0.05$ )。

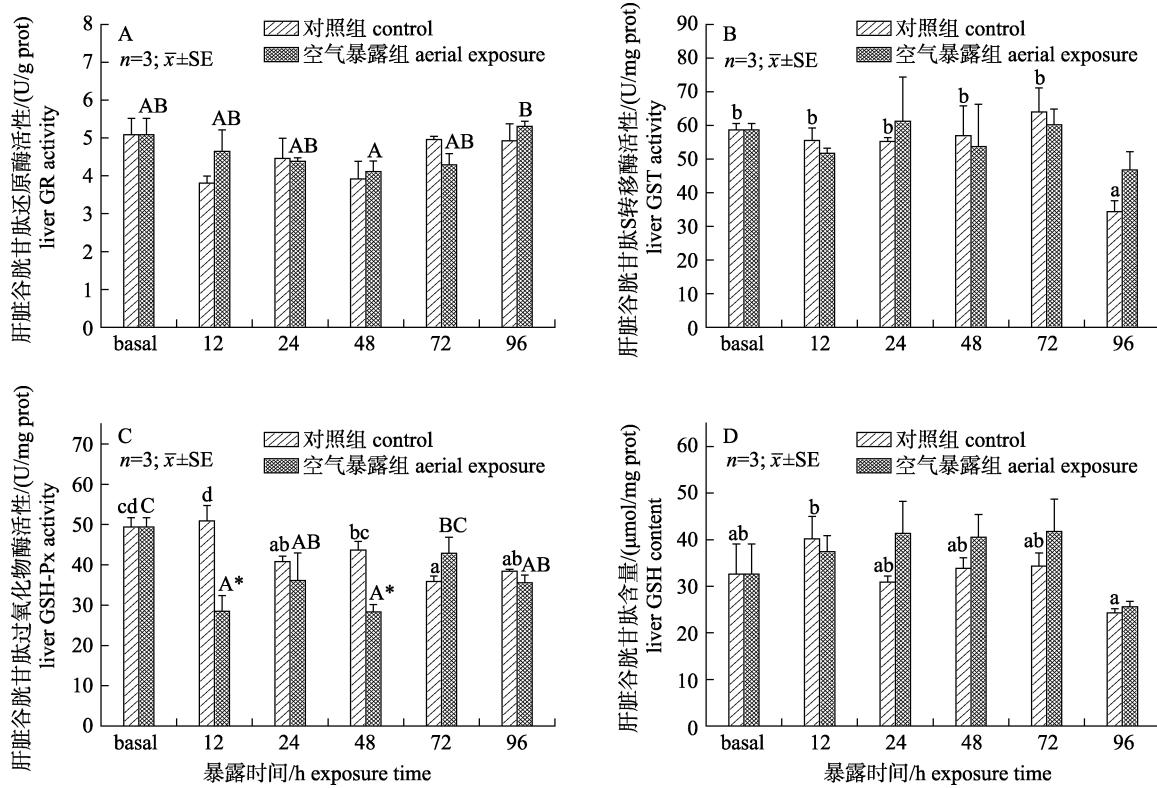


图 4 空气暴露对大鳞副泥鳅肝脏谷胱甘肽还原酶(A)、谷胱甘肽 S 转移酶(B)、谷胱甘肽过氧化物酶(C)活性及谷胱甘肽(D)含量的影响

图中不同小写字母表示对照组中不同暴露时间之间差异显著( $P<0.05$ )，不同大写字母表示实验组中

不同暴露时间之间差异显著( $P<0.05$ )，\*表示实验组与对照组之间差异显著( $P<0.05$ )。

Fig. 4 Effects of various period of aerial exposure on GR (A), GST (B), GSH-Px (C) activities and GSH (D) contents in liver of *Paramisgurnus dabryanus*

Different lowercase letters indicate significant difference ( $P<0.05$ ) among different exposure times in the control group.

Different capital letters indicate significant difference ( $P<0.05$ ) among different exposure times in the experimental group.

\* indicate significant difference between the experimental group and the control group ( $P<0.05$ ).

在暴露 48 h 和 96 h 后显著高于对照组(图 5B,  $P<0.05$ )。大鳞副泥鳅肝脏多酚氧化酶(PPO)活性在氨暴露 12 h 后显著降低( $P<0.05$ )，随后迅速恢复至基础水平，在 72 h 后又显著降低(图 5D,  $P<0.05$ )。而肝脏中脂质过氧化物(LPO)含量不受氨暴露的影响( $P>0.05$ )，但对照组中呈现先上升后下降的趋势，且在 24 h 和 96 h 时显著高于氨暴露组(图 5C,  $P<0.05$ )。随着空气暴露时间的延长，大鳞副泥鳅肝脏中 AChE 活性呈现先升高后降低的趋势，在暴露 12 h 后达到最高值且显著高于对照组(图 6B,  $P<0.05$ )。空气暴露并未引起肝脏 PPO 活性的显著变化(图 6D,  $P>0.05$ )。空气暴露和对照组中 LPO 含量均呈现先上升后下降的趋势，分别在 12 h 和 24 h 时达到最大值(图 6C)。

### 3 讨论

氨累积引起鱼类氧化应激主要是由于体内活性氧(reactive oxygen species, ROS)的过量合成<sup>[1]</sup>。然而，鱼体具有细胞内 ROS 清除系统，以保护机体免疫 ROS 毒性，其主要通过提升机体抗氧化酶活性以抑制 ROS 的合成，如 SOD、CAT、GR 及 GSH-Px 等<sup>[18-20]</sup>。SOD 可将机体内的活性过氧化物阴离子转化为 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>，而 CAT 可将 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>还原为 O<sub>2</sub> 和 H<sub>2</sub>O<sup>[21]</sup>。本研究中，氨暴露并未引起大鳞副泥鳅肝脏 SOD 活性的显著变化(图 1A)，仅空气暴露 12 h 后，大鳞副泥鳅肝脏 SOD 活性显著高于对照组(图 2A)。然而，氨处理暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus*)<sup>[1]</sup>、黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)<sup>[4]</sup>、

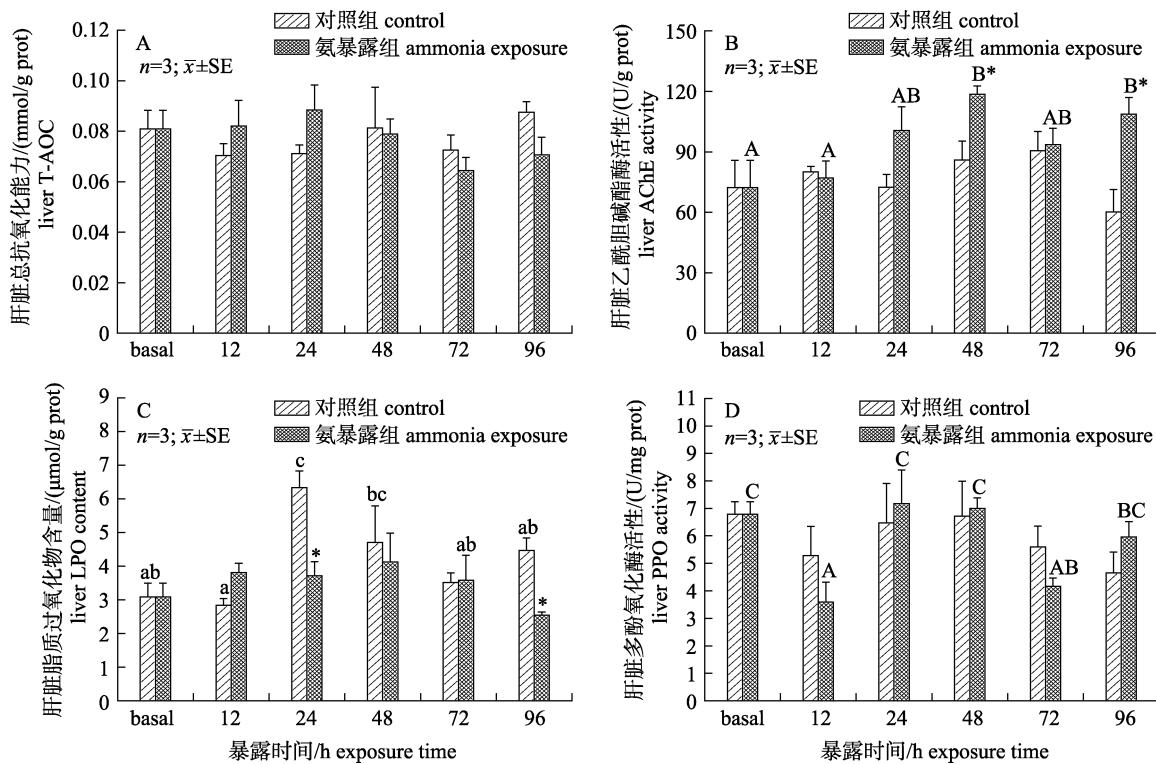


图 5 氨暴露对大鳞副泥鳅肝脏总抗氧化能力(A)、脂质过氧化物含量(C)及乙酰胆碱酯酶(B)和多酚氧化酶(D)活性的影响

图中不同小写字母表示对照组中不同暴露时间之间差异显著( $P<0.05$ )，不同大写字母表示实验组中不同暴露时间之间差异显著( $P<0.05$ )，\*表示实验组与对照组之间差异显著( $P<0.05$ )。

Fig. 5 Effects of various period of ammonia exposure on T-AOC (A), LPO (C) contents, AChE (B) and PPO (D) activities in liver of *Paramisgurnus dabryanus*

Different lowercase letters indicate significant difference ( $P<0.05$ ) among different exposure times in the control group.  
Different capital letters indicate significant difference ( $P<0.05$ ) among different exposure times in the experimental group.

\* indicate significant difference between the experimental group and the control group ( $P<0.05$ ).

许氏平鲉(*Sebastes schlegelii*)<sup>[22]</sup>及圆斑星鲽(*Verasper variegatus*)<sup>[23]</sup>后，其体内 SOD 活性呈持续性升高的趋势。30 mmol/L NH<sub>4</sub>Cl 溶液和空气暴露均显著降低了大鳞副泥鳅肝脏中 CAT 的活性且在暴露 72 h 后回升，这与多数的研究结果相反，如黄颡鱼<sup>[4]</sup>、许氏平鲉<sup>[22]</sup>及吉富罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)<sup>[24]</sup>等。本研究结果说明，在体内和体外氨累积时，大鳞副泥鳅肝脏中 SOD 和 CAT 这两种抗氧化酶并未被成功激活。MDA 作为脂质氧化的终产物，其在氨暴露组和空气暴露组中均呈现先显著上升后下降的趋势(图 1B, 2B)。说明在氨和空气暴露的初期，大鳞副泥鳅体内出现了明显的氧化反应；而在暴露一段时间后，体内的氧化反应受到了明显的抑制。结合之前的结果，显然并不是大鳞副泥鳅体内的抗氧化酶系统抑制了机

体的氧化反应。因此，这可能是由于大鳞副泥鳅的氨耐受机制被激活<sup>[12-14]</sup>，降低了体内的氨毒性从而抑制了体内的氧化反应。

GST 也是一种重要的抗氧化酶，可结合外源性异物并将其清除<sup>[25-26]</sup>。GSH 是一种重要的非酶类抗氧化剂，是 GST 和 GSH-Px 两种抗氧化酶进行酶促反应的底物<sup>[26]</sup>。作为底物参与抗氧化反应后，还原型 GSH 被氧化成氧化型谷胱甘肽(oxidized glutathione, GSSG)，这一生化反应可被 GR 逆转以保证机体抗氧化系统的稳定<sup>[22,26]</sup>。本研究中，氨和空气暴露对大鳞副泥鳅肝脏中 GST 活性的影响并不明显(图 3B, 4B)。而多数前期研究均报道了环境污染物暴露显著激活了鱼体内的 GST 活性，如阿氏翼甲鲇(*Pterygoplichthys anisitsi*)<sup>[21]</sup>、许氏平鲉<sup>[22]</sup>、条纹鲮脂鲤(*Prochilodus*

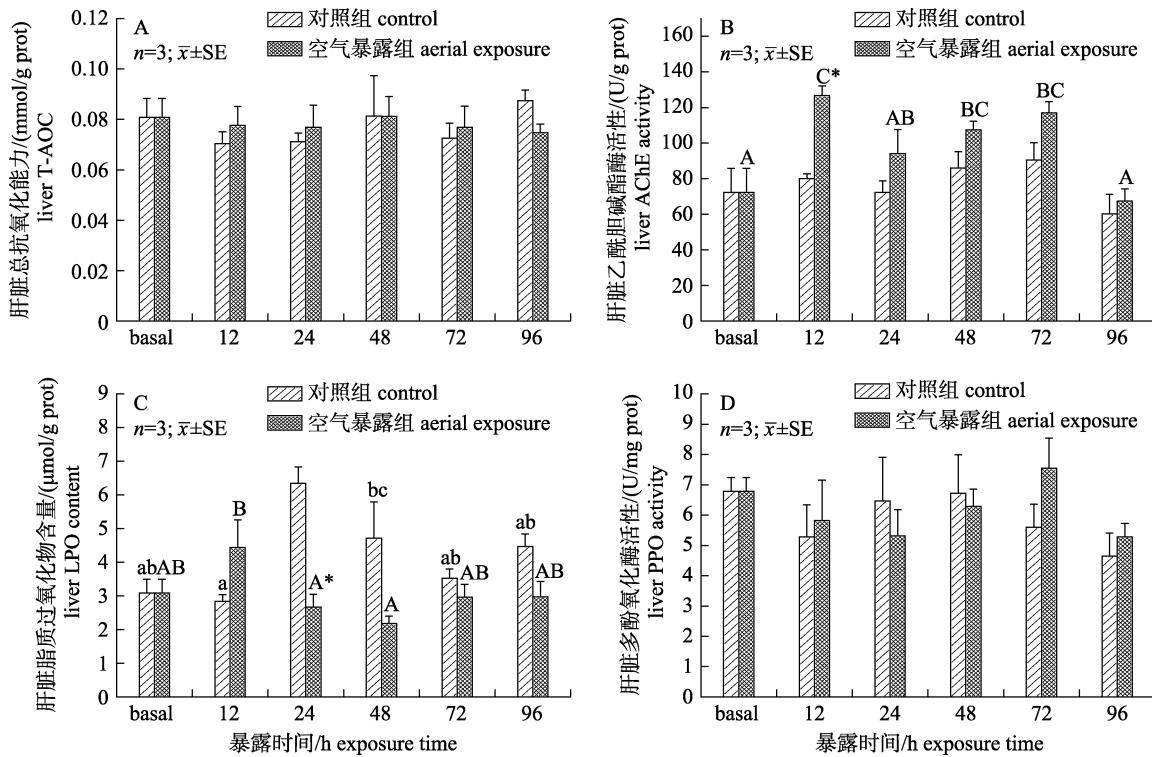


图 6 空气暴露对大鳞副泥鳅肝脏总抗氧化能力(A)、脂质过氧化物含量(C)及乙酰胆碱酯酶(B)和多酚氧化酶(D)活性的影响

图中不同小写字母表示对照组中不同暴露时间之间差异显著( $P<0.05$ )，不同大写字母表示实验组中不同暴露时间之间差异显著( $P<0.05$ )，\*表示实验组与对照组之间差异显著( $P<0.05$ )。

Fig. 6 Effects of various period of aerial exposure on T-AOC (A), LPO (C) contents, AChE (B) and PPO (D) activities in liver of *Paramisgurnus dabryanus*

Different lowercase letters indicate significant difference ( $P<0.05$ ) among different exposure times in the control group. Different capital letters indicate significant difference ( $P<0.05$ ) among different exposure times in the experimental group.

\* indicate significant difference between the experimental group and the control group ( $P<0.05$ ).

*lineatus*)<sup>[26]</sup> 及翠鳢(*Channa punctatus*)<sup>[27]</sup> 等。GSH 可辅助 GST 结合和清除外源性异物, 本研究中大鳞副泥鳅肝脏中 GSH 含量在氨和空气暴露后并未出现显著性变化(图 3C, 4C)。而鲫(*Carassius auratus*)<sup>[28]</sup> 和许氏平鲉<sup>[22]</sup> 在氨暴露后, 其体内 GSH 含量显著降低。GSH 含量的下降可能是由于机体出现氧化损伤<sup>[29]</sup>。因此, 大鳞副泥鳅在氨累积的情况下并没有通过 GST 清除体内的氨, 且机体并未出现明显的氧化损伤。大鳞副泥鳅肝脏中 GSH-Px 活性在氨和空气暴露后均明显降低(图 3D, 4D), GSH-Px 参与的抗氧化反应需要 GSH 作为底物, 本研究中 GSH-Px 活性的降低可能是为了维持细胞中 GSH 含量的稳定<sup>[25]</sup>, 类似的结果还可见于条纹鲮脂鲤<sup>[26]</sup>。氨和空气暴露后, 大鳞副泥鳅肝脏中 GR 活性先上升后下降(图 3A, 4A),

说明在氨和空气暴露的早期, 其体内出现了大量的 GSSG; 而随着暴露时间的延长, GSSG 的生成量显著降低。

T-AOC 和 LPO 也是常用的抗氧化评价指标之一<sup>[26,30-31]</sup>, 氨和空气暴露后, 大鳞副泥鳅肝脏 T-AOC 没有明显变化(图 5A, 6A)。而空气暴露 12 h 后, 大鳞副泥鳅肝脏中 LPO 含量显著上升, 随后则迅速降低(图 6C), 其变化趋势与丙二醛(MDA)相似。LPO 和 MDA 均为脂质氧化的产物, 本研究结果说明氨和空气暴露的初期, 大鳞副泥鳅体内出现了明显的脂质氧化反应; 而在暴露一段时间后, 体内的脂质氧化受到了明显的抑制。AChE 是胆碱能通路中的关键酶之一, 可以水解乙酰胆碱以调节神经系统中乙酰胆碱的含量<sup>[32-33]</sup>, 在鱼类的运动和神经系统中起重要作用<sup>[34-35]</sup>。利

诺菌素暴露可引起克林雷氏鲶(*Rhamdia quelen*)

体内 AChE 活性显著降低, 从而明显损伤鱼类的神经和运动系统<sup>[36]</sup>。而本研究中, 氨和空气暴露引起大鳞副泥鳅肝脏中 AChE 活性上升(图 5B, 6B), 说明机体氨累积并不会引起大鳞副泥鳅神经系统的损伤。

综上所述, 在氨和空气暴露的初期, 大鳞副泥鳅体内出现了明显的氧化反应, 具体表现为 MDA 和 LPO 的显著上升; 而在暴露一段时间后, 体内的氧化反应受到了明显的抑制。然而, 大鳞副泥鳅肝脏中 SOD、CAT、GST 及 GSH-Px 等抗氧化酶系统并未被成功激活。这可能是由于大鳞副泥鳅的氨耐受机制被激活, 降低了体内的氨毒性从而抑制了体内的氧化反应。

## 参考文献:

- [1] Cheng C H, Yang F F, Ling R Z, et al. Effects of ammonia exposure on apoptosis, oxidative stress and immune response in pufferfish (*Takifugu obscurus*)[J]. Aquatic Toxicology, 2015, 164: 61-71.
- [2] Eddy F B. Ammonia in estuaries and effects on fish[J]. Journal of Fish Biology, 2005, 67(6): 1495-1513.
- [3] Hegazi M M, Hasanein S S. Effects of chronic exposure to ammonia concentrations on brain monoamines and ATPases of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2010, 151(4): 420-425.
- [4] Zhang M Z, Li M, Wang R X, et al. Effects of acute ammonia toxicity on oxidative stress, immune response and apoptosis of juvenile yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco* and the mitigation of exogenous taurine[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2018, 79: 313-320.
- [5] Ren Q Y, Li M, Yuan L X, et al. Acute ammonia toxicity in crucian carp *Carassius auratus* and effects of taurine on hyperammonemia[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2016, 190: 9-14.
- [6] Sinha A K, Matey V, Giblen T, et al. Gill remodeling in three freshwater teleosts in response to high environmental ammonia[J]. Aquatic Toxicology, 2014, 155: 166-180.
- [7] Wu L M, Xu Y F, Li Y J, et al. Effects of acute ammonia nitrogen exposure on brain, gill, liver, and kidney histology of Qi River crucian carp (*Carassius auratus*)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2020, 27(7): 789-800. [吴利敏, 徐瑜凤, 李永婧, 等. 急性氨氮胁迫对淇河鲫幼鱼脑、鳃、肝、肾组织结构的影响[J]. 中国水产科学, 2020, 27(7): 789-800.]
- [8] Zhang Y L, Zhang H L, Wang L Y, et al. Impact factors of ammonia toxicity and strategies for ammonia tolerance in air-breathing fish: A review[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2017, 41(5): 1157-1168. [张云龙, 张海龙, 王凌宇, 等. 氨氮对鱼类毒性的影响因子及气呼吸型鱼类耐氨策略[J]. 水生生物学报, 2017, 41(5): 1157-1168.]
- [9] Tsui T K N, Randall D J, Hanson L, et al. Dogmas and controversies in the handling of nitrogenous wastes: Ammonia tolerance in the oriental weatherloach *Misgurnus anguillaris caudatus*[J]. Journal of Experimental Biology, 2004, 207(12): 1977-1983.
- [10] Ip Y K, Tay A S L, Lee K H, et al. Strategies for surviving high concentrations of environmental ammonia in the swamp eel *Monopterus albus*[J]. Physiological and Biochemical Zoology, 2004, 77(3): 390-405.
- [11] Zhang Y L, Zhang H L, Wang L Y, et al. Changes of ammonia, urea contents and transaminase activity in the body during aerial exposure and ammonia loading in Chinese loach *Paramisgurnus dabryanus*[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2017, 43(2): 631-640.
- [12] Zhang Y L, Zhang H L, Wang L Y, et al. Changes to tissue glutamine content, glutamine synthetase, and glutamate dehydrogenase activities during ammonia and aerial exposure in Chinese loach (*Paramisgurnus dabryanus*)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2017, 24(5): 1115-1122. [张云龙, 张海龙, 王凌宇, 等. 氨和空气暴露对大鳞副泥鳅组织中谷氨酰胺含量的影响[J]. 中国水产科学, 2017, 24(5): 1115-1122.]
- [13] Zhang Y L, Wang G Y, Zhang Z H, et al. Partial amino acid metabolism and glutamine synthesis as the ammonia defensive strategies during aerial exposure in Chinese loach *Paramisgurnus dabryanus*[J]. Frontiers in Physiology, 2019, 10: 14.
- [14] Zhang Y L, Wang G Y, Jin H, et al. The effects of ammonia exposure on amino acid metabolism in Chinese loach *Paramisgurnus dabryanus*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2019, 43(5): 1013-1020. [张云龙, 王光毅, 金慧, 等. 氨基酸代谢调控在大鳞副泥鳅应对氨暴露中的作用[J]. 水生生物学报, 2019, 43(5): 1013-1020.]
- [15] Liu J S, Wang Q D, Yuan J, et al. Integrated rice-field aquaculture in China, a long-standing practice, with recent leapfrog developments[M]// Aquaculture in China: Success Stories and Modern Trends. Chichester: John Wiley & Sons Ltd, 2018: 174-184.
- [16] Zhang Y L, Wu Q W, Hu W H, et al. Morphological changes and allometric growth in hatchery-reared Chinese loach *Paramisgurnus dabryanus* (Dabry de Thiersant, 1872)[J]. Chi-

- nese Journal of Oceanology and Limnology, 2016, 34(4): 757-762.
- [17] Ding S Q, Chen F, Ma H, et al. Changes in physiological responses of *Paramisgurnus dabryanus* suffering from aerial exposure and ammonia loading stress[J]. Freshwater Fisheries, 2019, 49(6): 15-19. [丁淑荃, 陈范, 马欢, 等. 氨和空气暴露对大鳞副泥鳅血浆皮质醇、乳酸及血糖含量的影响[J]. 淡水渔业, 2019, 49(6): 15-19.]
- [18] Jin Y X, Zheng S S, Fu Z W. Embryonic exposure to cypermethrin induces apoptosis and immunotoxicity in zebrafish (*Danio rerio*)[J]. Fish & Shellfish Immunology, 2011, 30(4-5): 1049-1054.
- [19] Jin Y X, Zheng S S, Pu Y, et al. Cypermethrin has the potential to induce hepatic oxidative stress, DNA damage and apoptosis in adult zebrafish (*Danio rerio*)[J]. Chemosphere, 2011, 82(3): 398-404.
- [20] Jiang W D, Liu Y, Hu K, et al. Copper exposure induces oxidative injury, disturbs the antioxidant system and changes the Nrf2/ARE (CuZnSOD) signaling in the fish brain: Protective effects of myo-inositol[J]. Aquatic Toxicology, 2014, 155: 301-313.
- [21] Arantes Felício A, Martins Parente T E, Regina Maschio L, et al. Biochemical responses, morphometric changes, genotoxic effects and CYP1A expression in the armored catfish *Pterygoplichthys anisitsi* after 15 days of exposure to mineral diesel and biodiesel[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2015, 115: 26-32.
- [22] Kim S H, Kim J H, Park M A, et al. The toxic effects of ammonia exposure on antioxidant and immune responses in Rockfish, *Sebastodes schlegelii* during thermal stress[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2015, 40(3): 954-959.
- [23] Wang Z J, Chen S Q, Cao D Z, et al. Effects of acute ammonia nitrogen stress on histopathology of gill and liver and enzyme activities of juvenile *Verasper variegatus*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2017, 38(2): 59-69. [王贞杰, 陈四清, 曹栋正, 等. 急性氨氮胁迫对圆斑星鲽(*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.]
- [24] Qiang J, Xu P, He J, et al. The combined effects of external ammonia and crowding stress on growth and biochemical activities in liver of (GIFT) Nile tilapia juvenile (*Oreochromis niloticus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(12): 1837-1848. [强俊, 徐跑, 何杰, 等. 氨氮与拥挤胁迫对吉富品系尼罗罗非鱼幼鱼生长和肝脏抗氧化指标的联合影响[J]. 水产学报, 2011, 35(12): 1837-1848.]
- [25] van der Oost R, Beyer J, Vermeulen N P E. Fish bioaccumulation and biomarkers in environmental risk assessment: A review[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2003, 13(2): 57-149.
- [26] Paulino M G, Souza N E S, Fernandes M N. Subchronic exposure to atrazine induces biochemical and histopathological changes in the gills of a Neotropical freshwater fish, *Prochilodus lineatus*[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2012, 80: 6-13.
- [27] Sayeed I, Parvez S, Pandey S, et al. Oxidative stress biomarkers of exposure to deltamethrin in freshwater fish, *Channa punctatus* Bloch[J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2003, 56(2): 295-301.
- [28] Yang W, Sun H J, Xiang F H, 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.
- [29] Monteiro D A, de Almeida J A, Rantin F T, et al. Oxidative stress biomarkers in the freshwater characid fish, *Brycon cephalus*, exposed to organophosphorus insecticide Folisuper 600 (methyl parathion)[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2006, 143(2): 141-149.
- [30] Hao T T, Wang J Y, Ma C X, et al. Effects of dietary selenium levels on growth performance, antioxidant capacity and related gene expression of juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) under copper stress[J]. Journal of Fisheries of China, 2019, 43(11): 2304-2316. [郝甜甜, 王际英, 马长兴, 等. 硒对铜胁迫下大菱鲆幼鱼生长、抗氧化能力及相关基因表达的影响[J]. 水产学报, 2019, 43(11): 2304-2316.]
- [31] Abdalla R P, Kida B M S, Pinheiro J P S, et al. Exposure to aluminum, aluminum + manganese and acid pH triggers different antioxidant responses in gills and liver of *Astyanax altiparanae* (Teleostei: Characiformes: Characidae) males[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2019, 215: 33-40.
- [32] Čolović M B, Krstić D Z, Lazarević-Pašti T D, et al. Acetylcholinesterase inhibitors: Pharmacology and toxicology[J]. Current Neuropharmacology, 2013, 11(3): 315-335.
- [33] Ren Z M, Zhang X, Wang X G, et al. AChE inhibition: One dominant factor for swimming behavior changes of *Daphnia magna* under DDVP exposure[J]. Chemosphere, 2015, 120: 252-257.
- [34] Baldissera M D, Souza C F, Santos R C V, et al. *Pseudomonas aeruginosa* strain PAO1 infection impairs locomotor activity in experimentally infected *Rhamdia quelen*: Interplay between a stress response and brain neurotransmitters[J]. Aquaculture, 2017, 473: 74-79.

- [35] Baldissera M D, Souza C F, Zeppenfeld C C, et al. Aflatoxin B<sub>1</sub>-contaminated diet disrupts the blood-brain barrier and affects fish behavior: Involvement of neurotransmitters in brain synaptosomes[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2018, 60: 45-51.
- [36] Serafini S, de Freitas Souza C, Baldissera M D, et al. Fish exposed to water contaminated with eprinomectin show inhibition of the activities of AChE and Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase in the brain, and changes in natural behavior[J]. Chemosphere, 2019, 223: 124-130.

## Effects of ammonia and aerial exposure on the hepatic antioxidant capacity of *Paramisgurnus dabryanus*

ZHANG Yunlong, SHANG Zehao, WANG Guangyi, MI Di, YOU Kun

College of Animal Science and Technology, Anhui Agricultural University, Hefei 230036, China

**Abstract:** *Paramisgurnus dabryanus* were exposed to 30 mmol/L NH<sub>4</sub>Cl solution and air to evaluate the effects of exogenous and endogenous ammonia accumulation on the hepatic antioxidant capacity of this species. During various periods of ammonia exposure, hepatic superoxide dismutase (SOD) activity fluctuated slightly but was not significantly different from the control group ( $P>0.05$ ). Only after 12 h of air exposure, the SOD activity was notably higher than in control group ( $P<0.05$ ). Both ammonia and aerial exposure markedly decreased catalase (CAT) activity. The malondialdehyde and lipid peroxide contents first increased and then fell after ammonia and air exposure. The hepatic glutathione S-transferase (GST) activity, glutathione contents, and total antioxidant capacity were unaffected by ammonia and aerial exposure, while the glutathione peroxidase (GSH-Px) activity significantly decreased and the acetylcholinesterase activity markedly increased ( $P<0.05$ ). Our results indicated that obvious oxidation reactions occurred during the early stage of ammonia and aerial exposure in *P. dabryanus*, while these reactions were inhibited after a period of exposure. However, the antioxidant enzyme system (e.g. SOD, CAT, GST, and GSH-Px) in *P. dabryanus* was not activated successfully.

**Key words:** *Paramisgurnus dabryanus*; ammonia accumulation; aerial exposure; antioxidant; ammonia tolerance

**Corresponding author:** ZHANG Yunlong. E-mail: zhangyunlong@ahau.edu.cn