

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2020.19325

急性氨氮胁迫对淇河鲫幼鱼脑、鳃、肝、肾组织结构的影响

吴利敏, 徐瑜凤, 李永婧, 李燕锋, 马晓, 王磊, 刘慧芬, 袁淑仪, 杨慧, 李学军
河南师范大学水产学院, 河南 新乡 453007

摘要: 随着养殖密度的增加, 过量投喂产生的残饵和大量代谢废物在水中积累, 并通过氨化作用转化为氨态氮在水体中富集, 对鱼类的抗氧化系统、呼吸及神经系统均存在较大的危害。本研究以 6 月龄淇河鲫(*Carassius auratus*)幼鱼[体重(15±2) g]为实验对象, 研究水体中过量氨氮(50 mg/L、100 mg/L、150 mg/L、200 mg/L、250 mg/L、300 mg/L)对淇河鲫脑、鳃、肝、肾的组织学损害。结果发现, 淇河鲫安全养殖的氨氮浓度为 16.6 mg/L, 超过安全浓度后随着氨氮浓度的升高及氨氮胁迫时间的延长, 脑神经纤维结构被破坏的程度增大, 神经细胞体出现不同程度坏死; 鳃小片也出现不同程度的萎缩聚拢, 鳃丝基部充血肿大, 鳃丝间隔增大, 上皮细胞排列紊乱, 泌氯细胞和上皮细胞出现不同程度的空泡化, 超显微观察发现, 鳃小片出现萎缩, 上皮细胞脱落, 细胞表面分泌物增多; 肝组织中心静脉周围肝细胞排列出现不同程度的紊乱, 肝小叶轮廓模糊不清且间距增大, 肝细胞排列疏松, 细胞核出现不同程度的偏移、溶解, 细胞表面粗糙且分泌物增多; 肾组织出现淋巴细胞浸润和扩散、肾小囊腔膨大、肾小管腔缩小的现象, 甚至出现了肾小球坏死。以上结果表明高浓度氨氮对淇河鲫幼鱼的神经、呼吸及代谢相关器官均存在不同程度的损害。因而, 在淇河鲫大规模养殖过程中, 应严格监测水体中氨氮浓度, 践行绿色、健康养殖模式。

关键词: 淇河鲫; 急性氨氮胁迫; 显微结构; 鳃小片; 肾小囊; 肝小叶

中图分类号: S94 文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2020)07-0789-12

鱼类作为较低等的脊椎动物, 其生存环境与其他高等脊椎动物明显不同, 水体中的溶氧、酸碱度、盐碱以及氨氮含量均对其生命活动存在一定影响。在诸多水环境因子中, 高浓度的氨氮是最为常见的水产养殖动物毒性因子, 有时甚至会对养殖对象造成致命损伤^[1]。氨氮在水体中通常以非离子氨(NH₃)和离子氨(NH₄⁺)的形式存在, 其中 NH₃ 由于不带电荷, 具有脂溶性极易穿透鳃细胞膜, 对动物体毒性极大; 而 NH₄⁺与水结合形成更大的水合离子则很难透过鳃细胞膜^[2-4]。水体中氨氮来源主要有两个方面: 一是高密度养殖过程中过量投喂产生的大量残饵及代谢废物, 以氨氮的形式在水体中富集; 另外是, 工业、农业及生物废料分解产生的有害化学物质进入水

体, 经过一系列生物化学反应产生氨态氮。这些氨态氮在水中富集, 当含量超过机体调节阈值时, 将对水生生物产生不同程度的损害。一方面氨氮分解会消耗水体中的溶氧进而导致鱼类缺氧死亡; 另一方面有机体长期处于高氨氮的环境中, 内源性氨氮的不断积累及外源性氨氮的不断吸收, 导致其酸碱平衡失调、能量代谢受阻, 进而影响其对于外界病原体的抵抗能力, 最终出现死亡^[5-7]。

高浓度氨氮胁迫日本蟳(*Charybdis japonica*)、团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)、尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)、日本对虾(*Penaeus japonicus*)、虎斑乌贼(*Sepia pharaonis*)及圆斑星鲽(*Verasper variegatus*)均会导致其内脏器官细胞出

收稿日期: 2019-11-29; 修订日期: 2020-01-31.

基金项目: 国家自然科学基金项目(31702316); 河南省教育厅重点科研项目(18A240002, 17A240002); 河南师范大学博士科研启动基金项目(qd16158).

作者简介: 吴利敏(1987-), 女, 博士, 讲师, 水产动物遗传育种. E-mail: shuminwu10@163.com

通信作者: 李学军, 教授. E-mail: xjli670405@163.com

现不同程度肿大、核溶解等细胞坏死症状, 进而对机体免疫能力产生影响^[8-12]。因此, 水体中过量氨氮也是鱼病暴发的主要环境因子之一^[13-19]。研究表明, 泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)、青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)等底层鱼类对氨氮的耐受能力远远高于金鱼(*Carassius auratus*)、鲢(*Aristichthys nobilis*)、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)等中上层鱼类^[19-25], 即不同鱼类的氨氮耐受能力存在明显差异(表 1), 暗示不同鱼类存在独特的氨氮调节机制。因此对水体中氨氮的控制越来越受到重视, 但目前有关氨氮胁迫对鲫的影响鲜有报道。

表 1 氨氮胁迫下不同鱼类的半致死浓度
Tab. 1 The semi-lethal concentration of different fish under ammonia nitrogen stress

鱼名 fish species	24 h LC ₅₀ /(mg/L)
泥鳅 <i>Misgurnus anguillicaudatus</i>	267.2 ^[19]
“新吉富”罗非鱼 <i>Oreochromis mossambicus</i>	245.737 ^[20]
异育银鲫“中科 3 号” <i>Carassius auratus gibelio</i> ('CAS III')	276.51 ^[21]
草鱼 <i>Ctenopharyngodon idellus</i>	243 ^[22]
鲢 <i>Hypophthalmichthys molitrix</i>	33.61 ^[23]
斑马鱼 <i>Danio rerio</i>	126 ^[24]

淇河鲫(*Carassius auratus*), 隶属鲤形目(Cyprinid), 鲤科(Cyprinidae), 鲫属(*Carassius*), 因其源于河南淇河而得名。淇河鲫味道鲜美, 具有很高的营养价值和经济价值。随着其养殖规模的扩大及养殖密度的增加, 水体环境恶化的现象日趋加剧, 由此带来的淇河鲫幼鱼生长迟缓、存活率低等问题也不容忽视。水中氨氮含量作为衡量水体环境健康状况的重要理化指标, 对鱼类生命活动极为重要。为探索淇河鲫对氨氮的耐受能力及氨氮富集对其生命活动的影响, 本研究以 6 月龄淇河鲫为研究对象, 观察了不同氨氮浓度胁迫 24 h、48 h、72 h、96 h 后淇河鲫的脑、鳃、肝、肾的组织学变化, 分析过量氨氮对淇河鲫幼鱼神经、呼吸及代谢器官的组织损伤, 为淇河鲫的健康养殖提供一定的参考。

1 材料方法

1.1 实验用鱼

淇河鲫幼鱼由河南师范大学水产学院养殖基地繁殖得到^[26]。挑选同一批次、生长健康状况良好的淇河鲫幼鱼[体重(15±2) g, 体长(8.25±0.55) cm] 180 尾进行实验, 正式实验前在室内温棚内暂养 2 周, 正式实验前 1 天停止喂食。

1.2 预实验

实验在养殖桶(1.2 m³)中进行, 设置 50 mg/L、100 mg/L、150 mg/L、200 mg/L、250 mg/L、300 mg/L 5 个氨氮实验组进行预实验, 每天测定水体 pH, 同时以奈氏试剂法定时测定水体氨氮浓度, 分别添加 NH₄Cl、NaCO₃ 以维持氨氮含量和 pH 稳定, 24 h 连续充氧以维持溶氧稳定, 每隔 24 h 观察淇河鲫的活动情况及应激反应并记录水体温度, 同时统计随着氨氮胁迫的进行淇河鲫在不同氨氮浓度下 24 h、48 h、72 h、96 h 的死亡率, 得出各时间段的半致死浓度及安全浓度。

1.3 急性氨氮胁迫实验

根据预实验得出的 96 h 半致死浓度, 设置 0 mg/L、50 mg/L、100 mg/L、150 mg/L、200 mg/L、250 mg/L 6 个实验组, 每组设置 3 个平行, 每个平行淇河鲫 10 尾, 在养殖桶(1.2 m³)中进行 96 h 的急性氨氮胁迫实验。

1.4 样品制备

显微观察样品制备: 在氨氮胁迫期间, 分别在 24 h、48 h、72 h、96 h 取各实验组淇河鲫 3 尾, 用麻醉剂(MS-222)麻醉后解剖, 取脑、鳃、肝和肾组织经 1×PBS 漂洗后, 用 Bouin 氏液固定过夜, 用于制作石蜡切片, 以备对其进行组织学观察。具体步骤如下: 首先将 Bouin 氏液固定的组织经 1×PBS 漂洗后, 用梯度酒精(70%、80%、90%、95%、100%)逐级脱水, 1/2 二甲苯、二甲苯 I、二甲苯 II 透明后, 石蜡包埋、切片、HE 染色, 显微观察并拍照(Zeiss Axio Scope A1)。

扫描电镜样品的制备: 试验进行到 96 h 后, 分别取对照组和实验组的淇河鲫鳃及肝脏组织经 1×PBS 漂洗后, 用 2.5% 的戊二醛 4 ℃ 固定过夜, 经 1×PBS 漂洗后, 用梯度酒精(70%、80%、90%、

95%、100%)逐级脱水,之后用醋酸异戊酯处理,常规临界干燥,真空离子镀膜,在 JEOL JSM-7800F 场发射扫描电镜观察拍照。

1.5 数据分析

急性毒性实验使用 SPSS 软件处理数据,采用直线内插法^[27]求出 LC₅₀、安全浓度(SC)计算公式如下。

LC₅₀: 假设氨氮浓度为 A₁ 对应的死亡率是 B₁,与氨氮浓度为 A₂ 对应的死亡率是 B₂,半致死浓度 A 介于浓度 A₁ 和 A₂ 之间,已知与半致死浓度 A 对应的数据是 50%,则可以按照 $(A_1 - A)/(A_1 - A_2) = (B_1 - 50)/(B_1 - B_2)$ 计算得出半致死浓度的数值。安全浓度: SC=0.1×96 h LC₅₀

2 结果与分析

2.1 氨氮半致死浓度(LC₅₀)及安全浓度的测定

对 50 mg/L、100 mg/L、150 mg/L、200 mg/L、250 mg/L、300 mg/L 5 个实验组的淇河鲫死亡率进行统计: 在相同的氨氮浓度下,淇河鲫幼鱼死亡率随氨氮胁迫时间的延长而升高; 在相同的氨氮胁迫时间下,淇河鲫幼鱼死亡率随水体中氨氮浓度的升高而升高(表 2)。除此之外,通过直线内插法得出淇河鲫 24 h、48 h、72 h、96 h 的半致死浓度分别为 286.5 mg/L, 222.4 mg/L, 185.5 mg/L, 165.9 mg/L; 淇河鲫安全养殖的氨氮浓度为 16.6 mg/L(表 3)。

表 2 不同氨氮浓度下淇河鲫的死亡率

Tab. 2 The mortality of *Carassius auratus* under different concentrations of ammonia nitrogen

n=3; $\bar{x} \pm SE$

氨氮浓度/(mg/L) ammonia-N	暴露时间/h exposure time			
	24	48	72	96
50	0.0	0.0	10.0±0.3 ^a	16.7±0.3 ^b
100	0.0	10.0±0.2 ^a	16.7±0.1 ^b	23.3±0.1 ^c
150	16.7±0.2 ^b	23.3±0.3 ^c	36.6±0.1 ^c	40.0±0.3 ^f
200	33.3±0.2 ^d	50.0±0.1 ^g	50.0±0.4 ^g	53.3±0.2 ^h
250	40.0±0.4 ^f	60.0±0.2 ⁱ	63.3±0.2 ^j	73.3±0.1 ^k
300	53.3±0.1 ^h	73.3±0.1 ^k	83.8±0.1 ^l	86.7±0.3 ^l

注: 同一行不同上标字母表示相同氮浓度下不同胁迫时间差异显著($P<0.05$)。

Note: Different superscripts at the same line mean significant difference ($P<0.05$) between different exposure groups.

表 3 淇河鲫幼鱼氨氮胁迫的半致死浓度及安全浓度

Tab. 3 The median lethal and safe concentration of ammonia nitrogen for *Carassius auratus*

项目 item	LC ₅₀	SC
暴露时间/h exposure time	24	48
氨氮浓度/(mg/L) ammonia-N	286.5	222.4
	185.5	165.9
	16.6	

2.2 氨氮胁迫后淇河鲫组织显微观察

2.2.1 脑组织显微结构观察 通过显微镜观察,0 mg/L 脑组织的视叶区可见清晰的粉红色神经纤维和被其包围的圆形分泌细胞及细长形的支持细胞,此时神经细胞胞体形态正常,分布均匀,神经纤维紧致(图 1a, 图 1f); 经过 96 h 的氨氮胁迫,50 mg/L 实验组脑组织并未出现明显变化(图 1b, 图 1g); 100 mg/L 实验组脑组织神经纤维出现轻微破损,支持细胞略有减少(图 1c, 图 1h); 150 mg/L 及 200 mg/L 实验组神经纤维破损现象更为严重,支持细胞减少,分泌细胞破裂(图 1d, 图 1i; 图 1e, 图 1j)。对于不同浓度的氨氮实验组,当氨氮浓度为 250 mg/L 时,脑组织损害最为明显: 作用 24 h 后脑组织未出现明显变化(图 2b, 图 2g); 作用 48 h 后,脑组织神经纤维开始解体,支持细胞略有减少(图 2c, 图 2h); 作用 72 h 后,神经纤维解体现象更为严重,支持细胞减少,分泌细胞破裂(图 2d, 图 2i); 作用 96 h 后,视叶区神经纤维大部分被破坏,分泌细胞细胞核溶解,细胞破裂,视野内支持细胞基本消失(图 2e, 图 2j)。

2.2.2 鳃组织显微观察 通过显微观察发现,0 mg/L 鳃组织鳃丝排列整齐规律,泌氯细胞和上皮细胞致密有序排列,鳃丝之间间距紧密,鳃丝中间分布着丰富的微血管,充满被伊红染成红色的红细胞,鳃丝结构完整清晰(图 3a, 图 3f)。伴随着氨氮胁迫时间的延长,96 h 后 50 mg/L 实验组鳃丝结构无明显变化(图 3b, 图 3g); 100 mg/L 实验组鳃丝之间间距变大,部分泌氯细胞和上皮细胞细胞核溶解,上皮细胞开始出现空泡化(图 3c, 图 3h); 150 mg/L 实验组出现鳃丝萎缩,上皮细胞排列紊乱,较多上皮细胞和泌氯细胞出现空泡化(图 3d, 图 3i); 200 mg/L 实验组鳃丝间距明显变大,鳃丝进一步萎缩,鳃丝轮廓模糊不清,上皮细胞排列紊乱

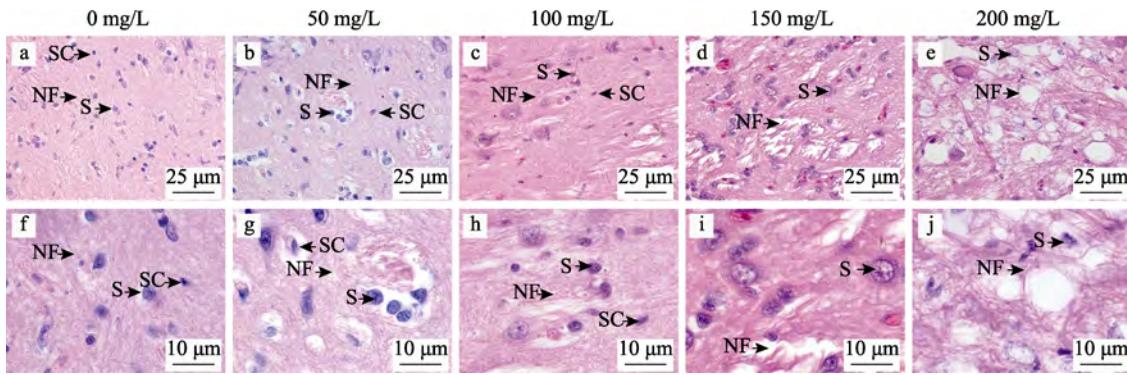


图 1 氨氮胁迫 96 h 淇河鲫脑组织显微结构观察

NF, 神经纤维; S, 分泌细胞; SC, 支持细胞.

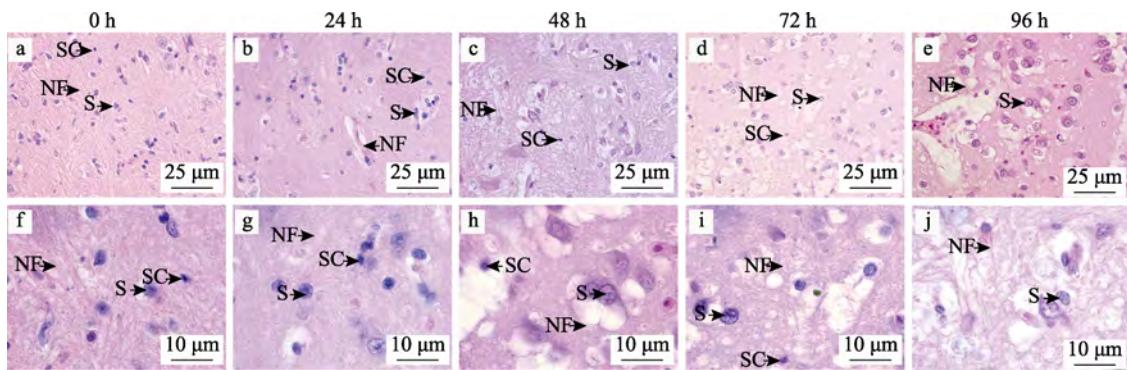
Fig. 1 Effect of ammonia exposure for 96 h on brain microstructure of *Carassius auratus*
NF, nerve fiber; S, sertolice cell; SC, secretory cell.

图 2 250 mg/L 氨氮胁迫下淇河鲫脑组织显微结构观察

NF, 神经纤维; S, 分泌细胞; SC, 支持细胞.

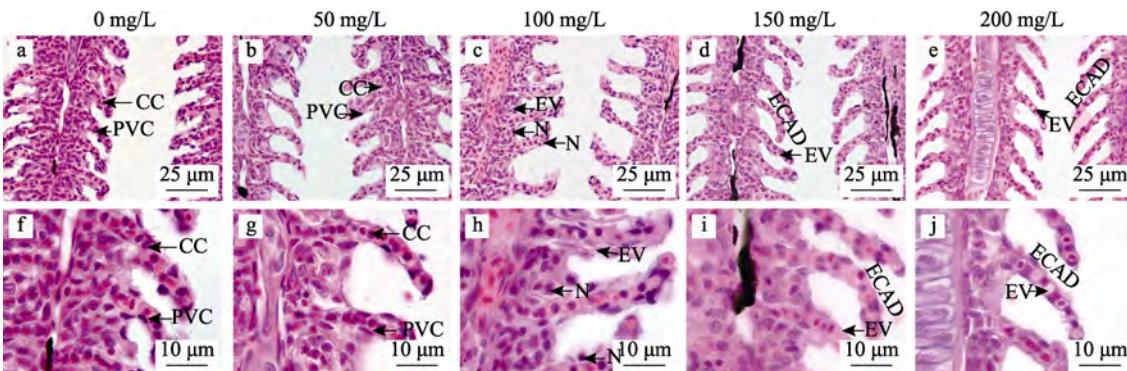
Fig. 2 Effect of ammonia exposure at 250 mg/L on brain microstructure of *Carassius auratus*
NF, nerve fiber; S, sertolice cell; SC, secretory cell.

图 3 氨氮胁迫 96 h 淇河鲫鳃组织显微结构观察

CC, 泌氯细胞; ECAD, 上皮细胞排列紊乱; EV, 细胞空泡化; N, 细胞核溶解; PVC, 上皮细胞.

Fig. 3 Effect of ammonia exposure for 96 h on gill microstructure of *Carassius auratus*
CC, Chlorine cells; ECAD, epithelial cells arranged disorder; EV, cellular vacuolation; N, nucleolysis; PVC, pavement cells.

且上皮细胞及泌氯细胞空泡化更加严重(图 3e, 图 3j)。对于不同浓度的氨氮实验组, 250 mg/L 条件下鳃组织的损害最为明显, 作用 24 h 后鳃丝结

构无明显改变(图 4b, 图 4g); 48 h 后鳃丝间距开始增大, 泌氯细胞及上皮细胞出现少量细胞核溶解(图 4c, 图 4h); 72 h 后鳃丝基部充血并发生萎缩,

泌氯细胞和上皮细胞出现空泡化, 细胞破损严重(图 4d, 图 4i); 作用 96 h 后上皮细胞排列紊乱且细胞空泡化严重, 鳃丝轮廓模糊不清, 出现严重的组织损伤(图 4e, 图 4j)。

扫描电镜观察发现, 0 mg/L 鳃组织鳃丝排列

整齐规律, 鳃耙部位细胞表面存在少量分泌物, 细胞平整(图 5a, 图 5c); 250 mg/L 鳃组织鳃丝出现大量卷曲变形, 表面分泌物增多, 表皮细胞脱落, 鳃耙表面分泌物增多, 细胞脱落变形, 鳃组织出现严重破损(图 5b, 图 5d)。

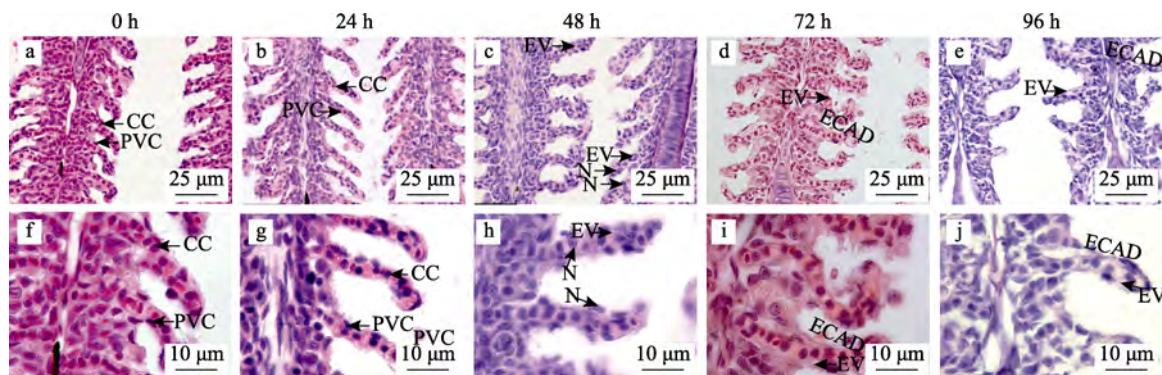


图 4 250 mg/L 氨氮胁迫下淇河鲫鳃组织观察

CC, 泌氯细胞; ECAD, 上皮细胞排列紊乱; EV, 细胞空泡化; PVC, 上皮细胞。

Fig. 4 Effect of ammonia exposure at 250 mg/L on gill microstructure of *Carassius auratus*
CC, chlorine cells; ECAD, epithelial cells arranged disorder; EV, cellular vacuolation; PVC, pavement cells.

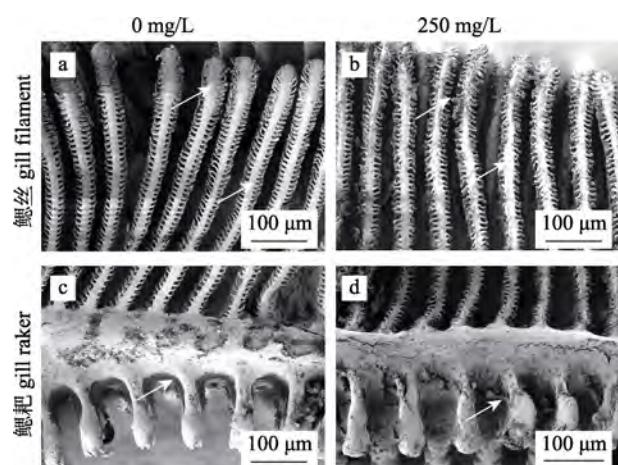


图 5 250 mg/L 氨氮胁迫 96 h 淇河
鲫鳃组织超微结构观察

Fig. 5 Effect of ammonia exposure for 96 h at 250 mg/L on gill microstructure of *Carassius auratus*

2.2.3 肝组织显微观察 通过显微观察发现, 0 mg/L 肝组织中央静脉周围肝细胞排列整齐, 视野内肝细胞的细胞核居于细胞的中间部位, 结构清晰完整, 肝血窦清晰可见(图 6a, 图 6f)。伴随着氨氮胁迫时间的延长, 96 h 后 50 mg/L 的实验组可见围绕中央静脉周围的肝细胞排列开始紊乱(图 6b, 图 6g); 100 mg/L 实验组中, 少数肝细胞出现细胞

核偏移, 肝小叶界限模糊不清, 肝血窦不可见(图 6c, 图 6h); 150 mg/L 实验组肝细胞细胞核出现大量偏移, 细胞核开始溶解, 出现细胞空泡化, 肝血窦不可见(图 6d, 图 6i); 200 mg/L 实验组中, 大量细胞核溶解, 细胞排列紊乱, 肝小叶更加模糊(图 6e, 图 6j)。250 mg/L 氨氮条件下, 24 h 肝细胞的细胞核开始出现溶解, 细胞开始出现空泡化(图 7b, 图 7g), 48 h 后肝细胞出现损伤, 细胞核破损, 肝细胞出现大量空泡化, 肝血窦不可见(图 7c, 图 7h), 72 h 后细胞空泡化现象加剧, 肝小叶的结构模糊(图 7d, 图 7i), 96 h 后大量细胞核溶解, 肝小叶轮廓严重模糊, 细胞大量破裂糜烂, 肝组织结构严重损伤(图 7e, 图 7j)。

扫描电镜观察发现, 0 mg/L 肝组织中央静脉周围肝细胞排列整齐, 细胞表面整齐, 细胞之间紧密相连(图 8a); 150 mg/L 实验组中, 肝小叶间距离增大, 细胞表面出现少许分泌物(图 8b); 200 mg/L 实验组中, 肝细胞破损, 细胞之间间隙增大, 细胞表面粗糙且分泌物增多(图 8c); 250 mg/L 实验组中, 中心静脉周围肝细胞排列紊乱, 肝细胞皱缩变小, 细胞表面分泌物持续存在且细胞破损严重(图 8d)。

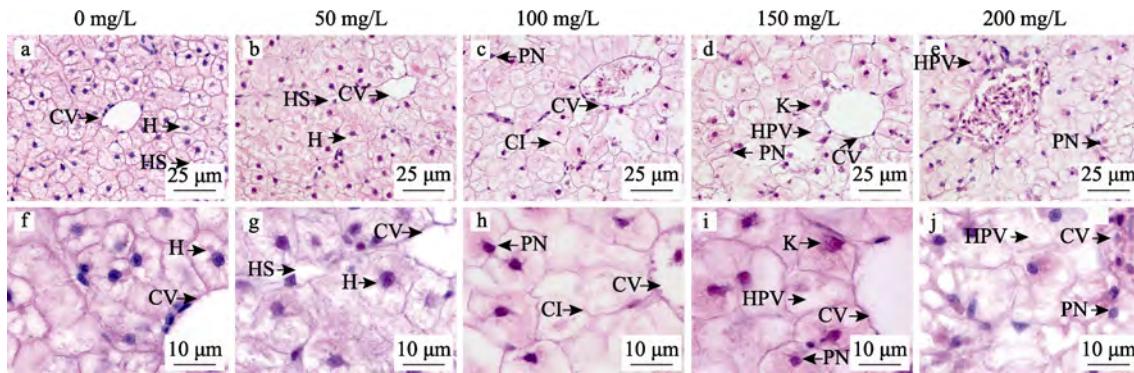


图 6 氨氮胁迫 96 h 淇河鲫肝组织显微结构观察

CI, 肝小叶轮廓模糊不清; CV, 中央静脉; H, 肝细胞;

HPV, 肝细胞空泡化; HS, 肝血窦; K, 细胞核溶解; PN, 细胞核偏移.

Fig. 6 Effect of ammonia exposure for 96 h on liver microstructure of *Carassius auratus*
CI, cellular outline indistinguishable; CV, central veins; H, hepatocyte; HPV, hepato cellular
vacuolation; HS, hepatic sinusoid; K, karyolysis; PN, cellular peripheral nucleus.

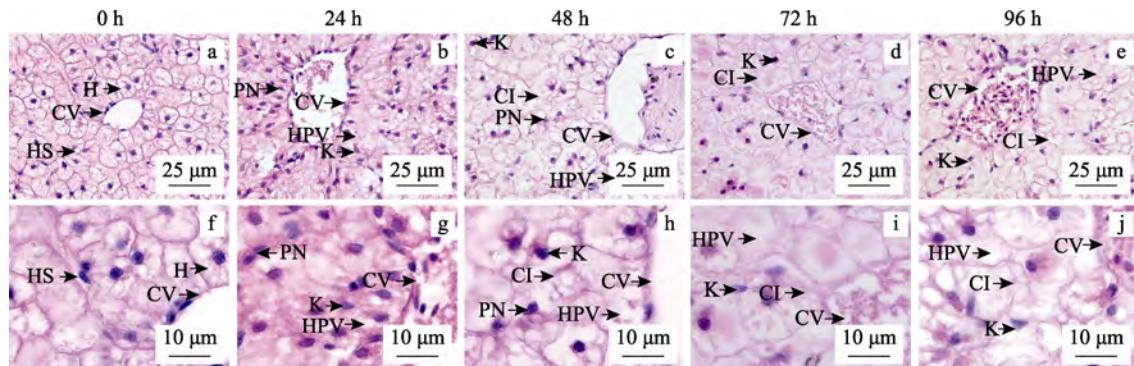


图 7 250 mg/L 氨氮胁迫下淇河鲫肝组织显微结构观察

CI, 肝小叶轮廓模糊不清; CV, 中央静脉; H, 肝细胞;

HPV, 肝细胞空泡化; HS, 肝血窦; K, 细胞核溶解; PN, 细胞核偏移.

Fig. 7 Effect of ammonia exposure at 250 mg/L on liver microstructure of *Carassius auratus*
CI, cellular outline indistinguishable; CV, central veins; H, hepatocyte; HPV, hepato cellular
vacuolation; HS, hepatic sinusoid; K, karyolysis; PN, cellular peripheral nucleus.

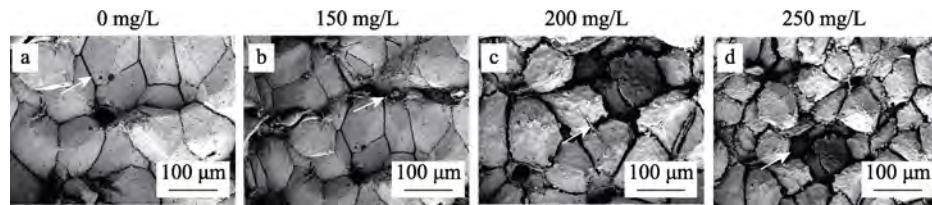


图 8 氨氮胁迫 96 h 淇河鲫肝组织超显微结构观察

Fig. 8 Effect of ammonia exposure for 96 h on liver ultramicroscopic of *Carassius auratus*

2.2.4 肾组织显微观察 显微镜观察结果显示, 0 mg/L 肾组织的肾小管和造血组织均完整正常(图 9a, 图 9f), 经过 96 h 的处理, 50 mg/L 和 100 mg/L 实验组出现不同程度的肾小管腔缩小, 淋巴细胞扩散和浸润的现象(图 9b, 图 9g; 图 9c, 图 9h);

150 mg/L 和 200 mg/L 实验组开始出现局部充血的现象, 同时淋巴细胞扩散和浸润、肾小管腔缩小等现象持续存在(图 9d, 图 9i, 图 9e, 图 9j)。250 mg/L 氨氮条件下, 氨氮胁迫 24 h 后出现肾小囊腔扩大(图 10b, 图 10g), 48 h 后出现淋巴细胞浸

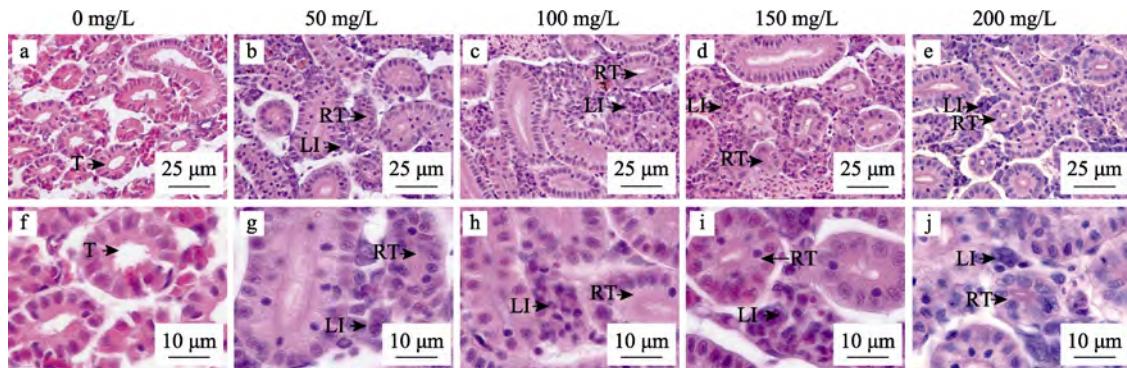


图9 氨氮胁迫 96 h 淇河鲫肾组织显微结构观察

LI, 淋巴细胞浸润; RT, 肾小管管腔缩小; T, 肾小管.

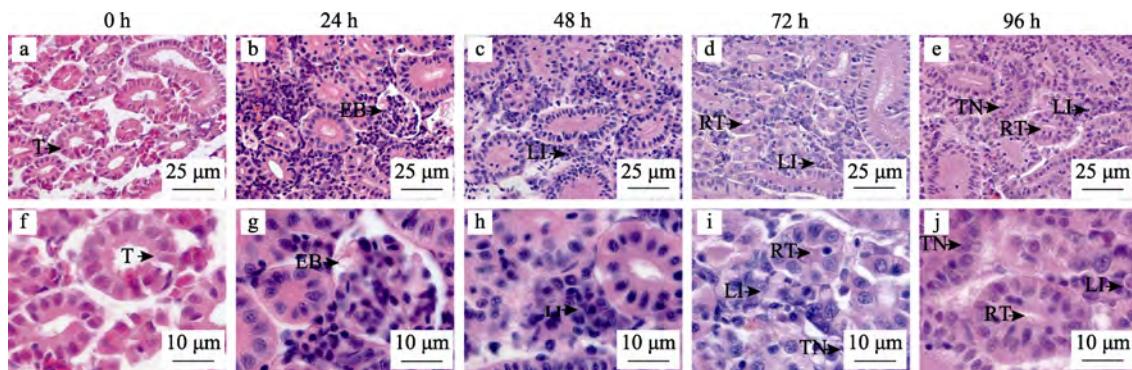
Fig. 9 Effect of ammonia exposure of *Carassius auratus* on kidney microstructure at 96 h
LI, lymphocytic cell infiltration; RT, reduction of space inside renal tubules; T, tubular.

图10 250 mg/L 氨氮胁迫下淇河鲫肾组织显微结构观察

EB, 肾小囊腔扩大; LI, 淋巴细胞浸润; RT, 肾小管腔缩小; T, 肾小管; TN, 肾小管坏死.

Fig. 10 Effect of ammonia exposure at 250 mg/L on kidney microstructure of *Carassius auratus*
EB, expansion of space inside Bowman's capsule; LI, lymphocytic cell infiltration;
RT, reduction of space inside renal tubules; T, tubular; TN, glomerulus necrosis.

润(图10c, 图10h), 72 h后淋巴细胞浸润更严重, 肾小管腔缩小(图10d, 图10i), 96 h后淋巴细胞扩散和浸润、肾小管腔缩小的现象仍在加重, 同时出现了肾小管坏死的现象(图10e, 图10j)。

3 讨论

作为水体中氨氮毒性的主要来源, 分子氨主要通过渗透作用进入生物体内, 降低其载氧能力, 从而影响其呼吸系统。分子氨进入机体后, 主要侵袭各组织黏膜结构, 特别是鳃表皮和肠黏膜; 其次是神经系统, 进而使鱼类等水生动物的肝肾系统遭受破坏, 引起体表及内脏充血、肿大, 最终导致其发生昏迷甚至死亡^[28]。本研究中, 氨氮浓度以水体中总氨氮含量表示, 即包含了非离子氨(NH_3)和离子氨(NH_4^+), 通过对急性氨氮胁迫下淇

河鲫幼鱼脑、鳃、肝以及肾组织的组织学观察, 探究了水体中过量氨氮对其生理活动的影响, 除此之外, 研究发现淇河鲫24 h半致死浓度与泥鳅和罗非鱼等底层鱼类相近, 而显著高于鲢、斑马鱼等中上层鱼类, 推测可能是由于饵料残渣及代谢废物的积累产生大量的氨氮聚集于水体底层, 导致下层水体的氨氮含量显著高于上层, 因此在水体下层生活的鱼类对氨氮具有较强的适应及耐受能力。

3.1 氨氮胁迫对淇河鲫脑组织结构的影响

水体中大量氨氮对机体存在较为明显的神经毒性, 长时间暴露于高氨氮的环境中, 机体发生脑细胞中血液循环受阻, 氨基酸代谢平衡被打破, 神经性递质传递受阻等一系列生理反应^[29]。水体中游离 NH_4^+ 在谷氨酰胺合成酶的作用下与谷氨酸

结合生成大量谷氨酰胺。脑细胞中谷氨酸作为重要的神经递质合成原料, 大量用于谷氨酰胺的合成, 导致抑制性神经递质 GABA (γ -氨基丁酸) 的合成受阻, 而兴奋性神经递质谷氨酰胺在细胞中大量积累, 打破了机体神经系统的平衡^[30-31], 另一方面, 谷氨酸还是苹果酸-天门冬氨酸循环的重要组成成分, 脑组织中的谷氨酸的减少抑制了这一循环活动, 进而抑制了脑组织中能量代谢活动的进行^[32]。与此同时, 脑组织细胞中谷氨酰胺的含量增多将导致脑组织的胶质细胞发生破裂, 从而使颅内压升高, 最终导致水产生物死亡^[33-35]。除此之外, 也有研究表明水产动物在急性氨氮胁迫下的死亡可能与脑组织的胶质细胞发生肿胀从而诱发了氧化损伤有关^[36-37]。在本研究中, 淇河鲫经过不同浓度的氨氮胁迫后, 脑组织中神经纤维被破坏, 神经细胞体(分泌细胞与支持细胞)出现不同程度的坏死, 氨氮对神经细胞的损伤可能导致淇河鲫机体神经活动发生障碍, 从而影响淇河鲫的正常生命活动。但是, 在急性氨氮胁迫过程中, 脑组织中的谷氨酰胺含量是否增加还有待进一步研究。

3.2 氨氮胁迫对淇河鲫鳃组织结构的影响

鳃作为水产动物重要的呼吸器官, 直接参与外界环境与生物体内部物质的交换, 因此鳃组织对于外界刺激最为敏感。大量研究表明在生物体暴露于有毒物质或 pH、氨氮浓度超过正常范围的水体中, 鳃组织都将受到明显的生理及组织学损伤^[38-39]。在大西洋鲑(*Salmo salar*)中, 长时间的氨氮胁迫导致其氧运输能力显著下降进而使机体处于明显的缺氧状态^[40]; 在长臂虾(*Macrobrachium amazonicum*)中, 长期暴露于高氨氮含量的水体中, 导致其机体出现缺氧、酸碱平衡失调、渗透压平衡被破坏以及氨代谢受阻等一系列生理损伤, 进而导致其免疫能力受到损害, 最终出现死亡^[41]。在日本对虾、泥鳅、青鱼中, 长期或短期的氨氮胁迫均会导致鳃组织上皮细胞、泌氯细胞水肿甚至坏死, 导致鳃组织无法行使正常的生理功能^[12, 42-43]。除此之外, 在青鱼中, 水体中氨氮通过影响位于鳃小片上泌氯细胞及细胞器膜上的 Na^+/K^+ -ATP 酶的活性, 进而影响机体渗透压调节

活动^[44]。本研究中, 显微与超微观察结果均表明随着氨氮胁迫时间的延长, 淇河鲫鳃组织鳃丝出现萎缩, 基部充血, 鳃丝之间间距增大, 上皮细胞及泌氯细胞空泡化严重, 氨氮胁迫对淇河鲫鳃组织造成损伤, 致使鳃组织的生理功能受阻, 渗透压调节及呼吸等生命活动不能正常进行, 最终导致淇河鲫死亡。初步推测水体中过量的氨氮通过影响生物体鳃组织的呼吸等正常生理功能而使机体处于缺氧、水盐调节失衡的状态, 进而导致其死亡。

3.3 氨氮胁迫对淇河鲫肝脏组织结构的影响

肝脏作为新陈代谢的主要器官, 其基本结构是肝小叶, 具有重要的解毒功能, 各种生物化学物质的毒害作用首先表现在肝脏。氨可以通过肝门静脉作为营养物质进入肝脏, 从而进入肝脏代谢通路^[35]。大量研究表明, 鱼体暴露于氨氮含量超过其调节阈值的水体中, 其肝脏会出现水肿、浑浊肿胀、空泡化严重和局部坏死等病变, 进而影响其正常的解毒功能, 导致鱼体死亡^[45-47]。在本实验中氨氮胁迫导致淇河鲫肝组织出现细胞空泡化、破损, 细胞核溶解, 肝小叶的结构模糊不清等组织学病变, 且伴随着氨氮浓度的升高及胁迫时间的延长, 肝组织损伤愈发严重, 这与其他鱼类中的研究结果一致。肝脏上分布着多种酶, 酶在生命活动过程中发挥着重要作用, 肝脏在执行各种重要代谢功能的同时必会有酶的参与, 然而肝小叶的损伤, 肝细胞核的溶解, 可能会对酶的活性产生一定的影响, 从而影响肝脏的正常生理功能, 进而对机体产生不同程度的损伤, 这可能是导致鱼类死亡的原因之一。

3.4 氨氮胁迫对淇河鲫肾组织结构的影响

肾脏是鱼类的主要的排泄器官, 也是解毒器官之一。鱼类各种生理活动产生的废物大部分通过肾脏排出体外, 从而调节水盐平衡、渗透压平衡、酸碱平衡, 确保机体适应所处的环境, 因此外界水环境中的污染物对肾脏的生理功能及组织结构也具有较大影响。研究表明在外界污染物如强酸、菊酯类仿生物农药等工业农业废物的胁迫下, 水生生物的肾脏组织均出现不同程度的充血、水样变性、炎症细胞浸润、肾小管间质细胞增生等

组织学损害^[47-49]; 除此之外在鲤(*Cyprinus carpio Linnaeus*)、团头鲂、尼罗罗非鱼的急性氨氮胁迫实验中, 肾组织出现了肾小囊的扩大和充血、肾小球坏死、淋巴细胞的扩散等组织学病变, 且随着氨氮胁迫时间的延长, 肾脏组织受损程度不断增加^[9-10, 50-51]。在本研究中, 淇河鲫的肾脏组织出现了淋巴细胞浸润、肾小管管腔缩小、肾小囊腔扩大等组织学病变, 且随着时间的延长和浓度的增加出现了肾小球坏死的现象。推测急性氨氮胁迫对于淇河鲫肾脏的损害导致其自身排泄、排毒功能下降, 进而导致鱼体死亡。

综上所述, 本研究通过对淇河鲫幼鱼进行不同时间、不同浓度的氨氮胁迫, 发现长时间高浓度的氨氮胁迫对于淇河鲫幼鱼的呼吸系统、神经系统及肝肾循环代谢系统均存在较为明显的组织学损害, 因此, 严格监控水体中氨氮含量, 保证鱼类生活环境的稳定与安全, 防止氨氮对鱼类的毒性效应, 对于提高水产品产量和质量至关重要。与此同时, 在统计氨氮胁迫一定时间淇河鲫幼鱼死亡率的基础上, 也得出淇河鲫的24 h、48 h、72 h、96 h的半致死浓度及安全浓度, 为淇河鲫的大规模养殖提供了一定的理论基础。

参考文献:

- [1] Lu X, Kong J, Luan S, et al. Transcriptome analysis of the hepatopancreas in the Pacific white shrimp (*Litopenaeus vannamei*) under acute ammonia stress[J]. PLoS ONE, 2016, 11(10): e0164396.
- [2] Zhu Z X, Jiang D L, Li B J, et al. Differential transcriptomic and metabolomic responses in the liver of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) exposed to acute ammonia[J]. Marine Biotechnology, 2019, 21(4): 488-502.
- [3] Harris J O, Maguire G B, Edwards S M, et al. Effect of ammonia on the growth rate and oxygen consumption of juvenile greenlip abalone, *Haliotis laevigata* Donovan[J]. Aquaculture, 1998, 160(3-4): 259-272.
- [4] Frías-Espericueta M G, Harfush-Melendez M, Osuna-López J I, et al. Acute toxicity of ammonia to juvenile shrimp *Penaeus vannamei* Boone[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 1999, 62(5): 646-652.
- [5] Salin D, Williot P. Endogenous excretion of Siberian sturgeon, *Acipenser baeri* Brandt[J]. Aquatic Living Resources, 1991, 4(4): 249-253.
- [6] Sinha A K, Rasoloniriana R, Dasan A F, et al. Interactive effect of high environmental ammonia and nutritional status on ecophysiological performance of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) acclimated to reduced seawater salinities [J]. Aquatic Toxicology, 2015, 160: 39-56.
- [7] Randall D J, Tsui T K N. Ammonia toxicity in fish[J]. Marine Pollution Bulletin, 2002, 45(1-12): 17-23.
- [8] 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. [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.]
- [9] Benli A Ç K, Köksal G, Özkul A. Sublethal ammonia exposure of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): Effects on gill, liver and kidney histology[J]. Chemosphere, 2008, 72(9): 1355-1358.
- [10] 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. [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.]
- [11] 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.]
- [12] 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. [郝小凤, 刘洋, 凌去非. 氨氮对泥鳅的急性毒性及对其肝、鳃组织超微结构的影响[J]. 水生态学杂志, 2012, 33(5): 101-107.]
- [13] 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.
- [14] Buttle L G, Uglow R F, Cowx I G. Effect of dietary protein on the nitrogen excretion and growth of the African catfish, *Clarias gariepinus*[J]. Aquatic Living Resources, 1995, 8(4): 407-414.
- [15] Hasan M R, Macintosh D J. Acute toxicity of ammonia to common carp fry[J]. Aquaculture, 1986, 54(1-2): 97-107.

- [16] Ting Y C. The toxicity of ammonia[J]. Science, 1950, 112(2899): 91-92.
- [17] Israeli-Weinstein D, Kimmel E. Behavioral response of carp (*Cyprinus carpio*) to ammonia stress[J]. Aquaculture, 1998, 165(1-2): 81-93.
- [18] Dosdat A, Metailler R, Tetu N, et al. Nitrogenous excretion in juvenile turbot, *Scophthalmus maximus* (L.), under controlled conditions[J]. Aquaculture Research, 1995, 26(9): 639-650.
- [19] Wen X L, Xia L J, Xu Y P, et al. Effects of leachate on ammonia-nitrogen adsorption ability in soil nearby a municipal waste landfill[J]. Journal of Agro-Environmental Science, 2004, 23(3): 503-507. [温小乐, 夏立江, 徐亚萍, 等. 生活垃圾渗滤液对堆填区周边土壤铵态氮吸附能力的影响[J]. 农业环境科学学报, 2004, 23(3): 503-507.]
- [20] Tang S J, Liu X Y, Wu T C, et al. Study on the acute toxicity of ammonia nitrogen to juvenile tilapia "Xinjifu"[J]. Fisheries Science & Technology Information, 2017, 44(6): 325-329. [唐首杰, 刘辛宇, 吴太淳, 等. 氨氮对“新吉富”罗非鱼幼鱼的急性毒性研究[J]. 水产科技情报, 2017, 44(6): 325-329.]
- [21] 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. [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.]
- [22] Zhou X, Dong Y W, Wang F, et al. The effect of high ammonia concentration on gill structure alternation and expression of *sod* and *hsp90* genes in grass carp, *Ctenopharyngodon idella*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2013, 37(2): 321-328. [周鑫, 董云伟, 王芳, 等. 急性氨氮胁迫对于草鱼 *sod* 和 *hsp90* 基因表达及鳃部结构的影响[J]. 水生生物学报, 2013, 37(2): 321-328.]
- [23] Liang J, Jin B T, Wang H Q, et al. Study on the toxicity of ammonia nitrogen to silver carp[J]. Hunan Feed, 2013(6): 33-34. [梁健, 金柏涛, 王红权, 等. 氨氮对鲤鱼的毒性研究[J]. 湖南饲料, 2013(6): 33-34.]
- [24] Han L Q, Kang X J, Li S S, et al. Effects of ammonia nitrogen on metabolic enzymes in *Brachydanio rerio*[J]. Journal of Hebei University (Natural Science Edition), 2005, 25(2): 179-184. [韩力强, 康现江, 李双石, 等. 氨氮对斑马鱼 2 种代谢酶类的影响[J]. 河北大学学报(自然科学版), 2005, 25(2): 179-184.]
- [25] Du H, Wei Q W, Liu J Y, et al. Acute toxicity of phenol, copper, nitrite and total ammonia to juvenile Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*[J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2007, 22(2): 118-122. [杜浩, 危起伟, 刘鉴毅, 等. 苯酚、Cu²⁺、亚硝酸盐和总氨氮对中华鲟稚鱼的急性毒性[J]. 大连水产学院学报, 2007, 22(2): 118-122.]
- [26] Sun M, Li Z, Gui J F. Dynamic distribution of spindlin in nucleoli, nucleoplasm and spindle from primary oocytes to mature eggs and its critical function for oocyte-to-embryo transition in gibel carp[J]. Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological Genetics and Physiology, 2010, 313A(8): 461-473.
- [27] Xing D L, Wang L, Yang F, et al. The determination of Mn(II) in marine by modified potassium periodate oxidation spectrophotometry[J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2008, 23(6): 442-445. [邢殿楼, 王丽, 杨凤, 等. 用改进的高碘酸钾氧化分光光度法测定海水中的 Mn(II)[J]. 大连水产学院学报, 2008, 23(6): 442-445.]
- [28] Campa-Córdova A I, Hernández-Saavedra N Y, Ascencio F. Superoxide dismutase as modulator of immune function in American white shrimp (*Litopenaeus vannamei*)[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology, 2002, 133(4): 557-565.
- [29] Cooper A J, Plum F. Biochemistry and physiology of brain ammonia[J]. Physiological Reviews, 1987, 67(2): 440-519.
- [30] Hegazi M M, Attia Z I, Hegazi M A M, et al. Metabolic consequences of chronic sublethal ammonia exposure at cellular and subcellular levels in Nile tilapia brain[J]. Aquaculture, 2010, 299(1-4): 149-156.
- [31] Cooper A J, Jeitner T M. Central role of glutamate metabolism in the maintenance of nitrogen homeostasis in normal and hyperammonemic brain[J]. Biomolecules, 2016, 6(2): 16.
- [32] McKenna M C, Waagepetersen H S, Schousboe A, et al. Neuronal and astrocytic shuttle mechanisms for cytosolic-mitochondrial transfer of reducing equivalents: Current evidence and pharmacological tools[J]. Biochemical Pharmacology, 2006, 71(4): 399-407.
- [33] Sinha A K, Giblen T, Abdelgawad H, et al. Regulation of amino acid metabolism as a defensive strategy in the brain of three freshwater teleosts in response to high environmental ammonia exposure[J]. Aquatic Toxicology, 2013, 130-131: 86-96.
- [34] Smart G R. Investigation of the toxic mechanisms of ammonia to fish-gas exchange in rainbow trout (*Salmo gairdneri*) exposed to acutely lethal concentrations[J]. Journal of Fish Biology, 2006, 12(1): 93-104.
- [35] Wicks B J, Randall D J. The effect of sub-lethal ammonia exposure on fed and unfed rainbow trout: The role of glutamine in regulation of ammonia[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physi-

- ology, 2002, 132(2): 275-285.
- [36] van der Linden A, Verhoye M, Nilsson G E. Does anoxia induce cell swelling in carp brains? *in vivo* MRI measurements in crucian carp and common carp[J]. Journal of Neurophysiology, 2001, 85(1): 125-133.
- [37] 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.
- [38] Henry R P, Lucu C, Onken H, et al. Multiple functions of the crustacean gill: Osmotic/ionic regulation, acid-base balance, ammonia excretion, and bioaccumulation of toxic metals[J]. Frontiers in Physiology, 2012, 3: 431.
- [39] Saravana B P, Geraldine P. Histopathology of the hepatopancreas and gills of the prawn *Macrobrachium malcolmsonii* exposed to endosulfan[J]. Aquatic Toxicology, 2000, 50(4): 331-339.
- [40] Wilson R C H. Acute toxicity of spent sulphite liquor to Atlantic salmon (*Salmo salar*)[J]. Journal of the Fisheries Research Board of Canada, 1972, 29(8): 1225-1228.
- [41] Dutra F M, Rönnau M, Sponchiado D, et al. Histological alterations in gills of *Macrobrachium amazonicum* juveniles exposed to ammonia and nitrite[J]. Aquatic Toxicology, 2017, 187: 115-123.
- [42] Velmurugan B, Selvanayagam M, Cengiz E I, et al. Histopathology of lambda-cyhalothrin on tissues (gill, kidney, liver and intestine) of *Cirrhinus mrigala*[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2007, 24(3): 286-291.
- [43] Chen J C, Cheng S Y, Chen C T. Changes of haemocyanin, protein and free amino acid levels in the haemolymph of *Peneaeus japonicus* exposed to ambient ammonia[J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology, 1994, 109(2): 339-347.
- [44] Hu Y, Huang Y, Zhong L, et al. Effects of Ammonia stress on the gill Na^+/K^+ -ATPase, microstructure and some serum physiological-biochemical indices of juvenile black carp (*Mystus lopharyngodon piceus*)[J]. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(4): 538-545. [胡毅, 黄云, 钟蕾, 等. 氨氮胁迫对青鱼幼鱼鳃丝 Na^+/K^+ -ATP酶、组织结构及血清部分生理生化指标的影响[J]. 水产学报, 2012, 36(4): 538-545.]
- [45] Hargreaves J A, Kucuk S. Effects of diel un-ionized ammonia fluctuation on juvenile hybrid striped bass, channel catfish, and blue tilapia[J]. Aquaculture, 2001, 195(1-2): 163-181.
- [46] Hawkes J W. The effects of xenobiotics on fish tissues: Morphological studies[J]. Federation Proceedings, 1980, 39(14): 3230-3236.
- [47] Mishra A K, Mohanty B. Acute toxicity impacts of hexavalent chromium on behavior and histopathology of gill, kidney and liver of the freshwater fish, *Channa punctatus* (Bloch)[J]. Environmental Toxicology and Pharmacology, 2008, 26(2): 136-141.
- [48] Chen X R, Luo Y L, Zeng L B, et al. Effect of fenvalerate on activity of hepatic CYP3A in grass carp[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2010, 29(6): 768-771. [陈秀荣, 罗宇良, 曾令兵, 等. 氰戊菊酯对草鱼肝微粒体 CYP3A 活性的影响[J]. 华中农业大学学报, 2010, 29(6): 768-771.]
- [49] Zhao J Q, Jia P, Liu W Z, et al. Establishment and characterization of a cell line derived from the kidney of tilapia, *Oreochromis niloticus*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2019, 26(2): 382-390. [赵建青, 贾鹏, 刘文枝, 等. 罗非鱼肾脏细胞系的建立及其生物学特性[J]. 中国水产科学, 2019, 26(2): 382-390.]
- [50] Marty G D, Núñez J, Lauren D J, et al. Age-dependent changes in toxicity of N-nitroso compounds to Japanese medaka (*Oryzias latipes*) embryos[J]. Aquatic Toxicology, 1990, 17(1): 45-62.
- [51] Wang K. Effects of ammonia nitrogen on some tissues and haematological parameters of juvenile carp (*Cyprinus carpio Linnaeus*)[D]. Harbin: Northeast Agricultural University, 2007. [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.]

Effects of acute ammonia nitrogen exposure on brain, gill, liver, and kidney histology of Qi River crucian carp (*Carassius auratus*)

WU Limin, XU Yufeng, LI Yongjing, LI Yanfeng, MA Xiao, WANG Lei, LIU Huifen, YUAN Shuyi, YANG Hui, LI Xuejun

College of Fisheries, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China

Abstract: With increasing fish density in aquaculture systems, residual bait and a large amount of metabolic waste from over-feeding are accumulated in the water. These are then converted into ammonia nitrogen through ammonization. This, in turn enriches the water body, and does harm to the nervous, respiratory, and antioxidant systems of fish. The present study was conducted on Qi river crucian carp (*Carassius auratus*) larvae [body weight (15±2) g] to investigate the histological damage of excessive ammonia nitrogen (50 mg/L, 100 mg/L, 150 mg/L, 200 mg/L, 250 mg/L, and 300 mg/L) on brain, gill, liver, and kidney tissues. The results showed that the highest safe ammonia nitrogen concentration was 16.6 mg/L. Once the concentration of ammonia nitrogen was higher than the safe concentration, the structure of nerve fibers in brain tissue was destroyed, and the secretory and Sertoli cells showed different degrees of necrosis; the gill lamella showed different degrees of atrophy and aggregation, the base of gill filaments was congested and swollen, and the space between gill filaments was enlarged. Ultramicroscopic observation revealed that the sputum smear appeared atrophied, epithelial cells fell off, and secretion on the cell surface increased. As for the liver, the arrangement of hepatocytes around the central vein of liver tissue presented different degrees of disorder, the contours of hepatic lobules were blurred, and the nuclei showed different degrees of migration and dissolution. Ultramicroscopic observation showed that after 96 h of ammonia nitrogen stress, the distance between the hepatic lobules increased, the arrangement between hepatocytes was lost, the surface of cells was rough, and secretions increased. In the kidney, renal cysts were enlarged, lymphocytes exhibited infiltration and spreading, renal tubular lumen shrinkage was more serious, and glomerular necrosis occurred. The above results indicate that high concentrations of ammonia nitrogen cause different degrees of damage to the nerves, respiratory, and metabolic-related organs of Qi River crucian carp. Thus, the toxicity of ammonia nitrogen in high-density culture cannot be ignored. Therefore, we should strictly monitor the concentration of ammonia nitrogen in the culture water body and practice green and healthy cultivation.

Key words: Qi River crucian carp (*Carassius auratus*); acute ammonia stress; microstructure; renal capsule; branchial lamella; hepatic lobule

Corresponding author: LI Xuejun. E-mail: xjli670405@163.com