

裘正元, 洪美玲, 张豪, 等. 急性亚硝酸盐胁迫对红耳龟和中华条颈龟幼体抗氧化能力的比较研究[J]. 生态科学, 2015, 34(4): 99-104.

QIU Zhengyuan, HONG Meiling, ZHANG Hao, et al. A comparative study of anti-oxidative ability between *Trachemys scripta elegans* and *Mauremys sinensis* under acute nitrite stress[J]. Ecological Science, 2015, 34(4): 99-104.

急性亚硝酸盐胁迫对红耳龟和中华条颈龟幼体抗氧化能力的比较研究

裘正元¹, 洪美玲^{1,*}, 张豪¹, 陈鹏¹, 史海涛^{1,2,*}

1. 海南师范大学生命科学学院, 海口 571158
2. 中国科学院成都生物研究所, 成都 610041

【摘要】为了比较红耳龟(*Trachemys scripta elegans*)与本地龟抗氧化损伤的能力, 选取体重为 5 ± 1 g 的红耳龟($n=18$)和中华条颈龟(*Mauremys sinensis*)($n=18$)幼体暴露于 3 个亚硝酸盐浓度组(0、50、500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$), 进行 24 h 急性胁迫实验。结果表明: (1) 随着亚硝酸盐浓度的升高, 红耳龟肝组织中积累的亚硝酸盐量显著低于中华条颈龟($p<0.05$), 肠组织中的积累量则相反, 这说明红耳龟对亚硝酸盐的代谢及解毒能力要强于中华条颈龟; (2) 两种龟肝组织和肠组织中超氧化物歧化酶(SOD)活力显著低于对照组($p<0.05$), 且同一浓度组内红耳龟 SOD 活力略高于中华条颈龟, 但差异不显著; 两种龟肝组织和肠组织中丙二醛(MDA)含量随亚硝酸盐浓度的升高而显著升高, 相比于红耳龟而言, 中华条颈龟的上升趋势更加显著, 说明亚硝酸盐浓度的升高对龟体产生了氧化性损伤且中华条颈龟的损伤程度要高于红耳龟; (3) 两种龟红细胞微核率随亚硝酸盐浓度升高而升高, 且高浓度组中中华条颈龟略高于红耳龟。综上所述, 红耳龟幼体在亚硝酸盐胁迫下, 其机体的氧化损伤程度要弱于中华条颈龟。

关键词: 亚硝酸盐胁迫; 微核率; 抗氧化酶; 红耳龟; 中华条颈龟

doi:10.14108/j.cnki.1008-8873.2015.04.016 中图分类号: Q955 文献标识码: A 文章编号: 1008-8873(2015)04-099-06

A comparative study of anti-oxidative ability between *Trachemys scripta elegans* and *Mauremys sinensis* under acute nitrite stress

QIU Zhengyuan¹, HONG Meiling^{1,*}, ZHANG Hao¹, CHEN Peng¹, SHI Haitao^{1,2,*}

1. College of Life Sciences, Hainan Normal University, Haikou 571158, China
2. Chengdu Institute of Biology, Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China

Abstract: In order to compare the ability of stress resistance of environmental pollutants between *Trachemys scripta elegans*($n=18$) and the native *Mauremys sinensis*($n=18$) juvenile, an acute stress of three nitrite concentration groups (0, 50, 500 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$) for 24 h was selected. Results showed that: (1) with the increasing of the nitrite concentration, the nitrite accumulated in the liver of *T. s. elegans* was significantly lower than that in *M. sinensis* ($p < 0.05$). In contrary, the nitrite accumulated in *T. s. elegans* was significantly higher than *M. sinensis* in intestine, which showed that *T. s. elegans* had a better ability of nitrite metabolism and detoxification than *M. sinensis*. (2) The Superoxide dismutase (SOD) activity in the liver and intestine of these two turtles in the nitrite treatment groups were significantly lower than the control group ($p < 0.05$), and the concentration of the same group of *T. s. elegans* was a little higher than *M. sinensis*, but no significant difference existed. However, the malonic dialdehyde (MDA) content in the liver and intestine of these two

收稿日期: 2014-09-08; 修订日期: 2014-12-18

基金项目: 国家自然科学基金项目(31360642, 31372228); 教育部科技重点项目(211145); 省级创新项目(2013116580)

作者简介: 裘正元(1989—), 男, 安徽滁州, 硕士研究生, 动物生态学, E-mail: qiuzhengyuan@hotmail.com

*通信作者: 史海涛, 男, 博士, 教授, 生态学, E-mail: Haitao-shi@263.net; 洪美玲, 女, 博士, 教授, 动物学, E-mail: meilinghong_ecnu@aliyun.com

turtles increased significantly with the rising of nitrite concentration. Compared with *T. s. elegans*, the MDA of *M. sinensis* raised more significantly, which indicated a more serious oxidative damage of *M. sinensis* than *T. s. elegans*. (3) The erythrocytes micronucleus rates of these two turtles raised with the nitrite concentration, although *M. sinensis* was a little higher, no significant difference existed. In sum, *T. s. elegans* juvenile had a slightly stronger anti-oxidative ability than *M. sinensis* juvenile under nitrite stress.

Key words: nitrite stress; micronucleus rates; antioxidase; *T. s. elegans*; *M. sinensis*

1 前言

红耳龟(*Trachemys scripta elegans*)由于生长速度快、繁殖率高、易存活等特点已在世界范围内成功入侵,被世界自然保护联盟评定为全世界100个最危险的入侵物种之一^[1-2]。红耳龟已出现在我国14种龟鳖类的分布环境^[3]。已有的研究表明,红耳龟不仅在争夺食物、抢占空间、逃避敌害和迁移扩散方面的生存竞争能力显著高于入侵地的本土龟类物种^[4-5]。而且,其耐受环境污染和毒性胁迫的能力也显著强于本地物种^[6]。本课题组前期已开展了关于红耳龟与我国本地龟类物种中华条颈龟(*Mauremys sinensis*)耐饥能力^[7]和对毒物的抗胁迫能力^[8-10]的比较研究,结果表明红耳龟的竞争能力和耐受能力均明显强于中华条颈龟。对红耳龟竞争和耐受能力的深入研究,将有助于预测其潜在生存环境与分布范围,以及了解该入侵物种对我国本土龟类可能造成的不利影响。

由于高密度养殖、投饵过量、污水的排放等因素导致亚硝酸盐在水中的积累量很高,是常见的化学胁迫因子之一,目前已在鱼、虾、蟹等水生动物方面作了大量研究^[11],结果表明亚硝酸盐作为一种强氧化剂,进入血液后会与血红蛋白结合,氧化氧合血红蛋白成高铁血红蛋白,使其失去携氧能力,导致组织缺氧,出现中毒,并且亚硝酸盐也具有强烈的致癌性^[12]。此外,在亚健康状况下,亚硝酸盐还可增加机体红细胞的微核率,同时也可改变抗氧化防御系统的生物酶活性^[13-15]。机体内活性氧代谢平衡由于胁迫作用而被打破,产生大量的活性氧自由基,使机体处于应激状态而加剧脂质过氧化过程,从而使机体表现出活性氧伤害。机体通过活化超氧化物歧化酶(SOD)等抗氧化酶系统来清除活性氧自由基使机体免受活性氧伤害^[16],但生物体的清除能力是有限的,一旦超过限度势必会给机体造成损伤。

张杰等^[17]曾开展了水中亚硝酸盐对红耳龟和中

华条颈龟慢性胁迫的比较研究,但短期内高浓度的亚硝酸盐胁迫对外来入侵种红耳龟与本地龟类的比较研究尚未开展。由于集约化的养殖^[18-19]和环境污染,常使得自然和人工水体不同程度的受到亚硝酸盐的污染^[20],部分水体中亚硝酸盐的含量甚至可以达到1mM (50 mg·L⁻¹)以上^[21],在黄颡鱼(*Pelteobagrus fuhidraco*)^[22]、尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[23]、印度鲤(*Cirrhina mrigal*)^[24]和彭泽鲫(*Carassius auratus Pengzenensis*)^[25]等大量物种中开展的急性亚硝酸盐胁迫的研究表明,高浓度的亚硝酸盐会导致鱼体急性中毒^[26],目前在龟类中相关研究尚属空白。故本研究选取红耳龟和中华条颈龟的幼体,测定两种龟不同组织在亚硝酸盐溶液中的亚硝酸盐含量以明确不同龟组织对亚硝酸盐的积累和代谢情况,通过测定不同组织中抗氧化指标的变化以比较两种龟机体的抗氧化损伤能力,测定红细胞微核率以了解其遗传毒理学方面的相关变化。研究结果可在一定程度上揭示红耳龟强适应能力的相关生理机制,为红耳龟的入侵危害及入侵机理研究提供理论依据。同时还可以唤醒民众对于外来入侵种的认识,减少由于人为放生、宠物饲养所造成的生态危机。

2 材料和方法

2.1 实验材料及处理

从海口市东山镇龟鳖养殖场购买中华条颈龟和红耳龟幼体各30只,体重在4—6 g左右,于海南师范大学生命科学学院龟类养殖池驯养两周,将体重5±1 g的健康幼龟18只按照亚硝酸盐浓度不同随机分成3组,即0 mg·L⁻¹对照组、50 mg·L⁻¹、500 mg·L⁻¹亚硝酸盐处理组,养殖用水为经曝气的自来水,水温控制在(20±1) °C, pH 为6.7±0.2。亚硝酸盐处理24 h后取肝、肠及血液分别作各指标检测。

2.2 指标测定

亚硝酸钠浓度:采用重氮-偶氮比色法测量^[27]。

红细胞的微核率:取血液加到预先滴有标准小

牛血清的载玻片上, 与标准小牛血清混匀后涂片并立即吹干, 甲醇固定 15 min, 10% Giemsa 染液(pH 6.98)染色 15 min, 显微镜(油镜)下观察。每个试验组观察 3 只龟, 每只龟观察约 2000 个红细胞, 记录具微核的细胞数, 并且重复 3 次。观察结果以百分率(%)表示。

超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA): 按南京建成生物有限公司试剂盒进行测定。

2.3 数据处理

所有实验数据均以 $\bar{X} \pm S.E.$ 表示, 同种龟不同浓度组各指标之间的比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 若差异显著, 则采用 LSD 法比较两两之间的差异显著性。在相同亚硝酸盐暴露浓度下, 两种龟之间各指标的比较采用 t 检验或 χ^2 检验。实验结果均采用 SPSS16.0 软件进行统计与分析。

3 结果分析

3.1 不同处理组两种龟组织中亚硝酸盐浓度比较

表 1, 经亚硝酸盐暴露后, 两种龟肠组织和肝组织中的亚硝酸盐含量都表现出随着亚硝酸盐浓度升高而升高的趋势。对照组中, 红耳龟肠组织中亚硝酸盐含量几乎是同组中华条颈龟肠组织的 2 倍, 随着亚硝酸盐浓度的升高, 两种龟肠组织之间的亚硝酸盐含量差距在缩小, 但红耳龟始终都维持在中华条颈龟的 1.2 倍以上。而肝组织中亚硝酸盐含量, 对照组红耳龟要略高于同组中华条颈龟, 但差异不显著($P=0.36$); 两个盐度组中中华条颈龟肝组织亚硝酸盐含量均显著高于红耳龟($P=0.003$; 0.011)。

3.2 不同处理组两种龟组织中 SOD 活力和 MDA 含量比较

表 2 中, 随着水中亚硝酸盐浓度的升高, 两种

表 1 不同处理组红耳龟和中华条颈龟组织中亚硝酸盐浓度比较($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

Tab. 1 Nitrite concentration in liver and intestine of *M. sinensis* and *T. s. elegans* ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)

项目	亚硝酸盐浓度/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)			
	0	50	500	
养殖水体	中华条颈龟	-	49.63	448.93
	红耳龟	-	49.98	449.75
	P value (t-test)	-	-	-
肠	中华条颈龟	0.086±0.002	0.159±0.003	0.247±0.026
	红耳龟	0.159±0.009	0.192±0.009	0.323±0.007
	P value (t-test)	0.003**	0.005**	0.001**
肝	中华条颈龟	0.155±0.009	0.307±0.023	0.441±0.044
	红耳龟	0.162±0.005	0.212±0.010	0.375±0.026
	P value (t-test)	0.36	0.003**	0.011*

注: 表中带*(或**)号的为同一处理组内两种龟组织中亚硝酸盐浓度差异显著。

表 2 中华条颈龟和红耳龟 SOD 活力($\text{U}\cdot(\text{mg}\cdot\text{prot})^{-1}$)和 MDA 浓度比较($\text{nmol}\cdot(\text{mg}\cdot\text{prot})^{-1}$)(t-test)

Tab. 2 Comparison on SOD activity and MDA level in liver and intestine of *M. sinensis* and *T. s. elegans*

项目	亚硝酸盐浓度/($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)			
	0	50	500	
肝 SOD	红耳龟	91.00±3.45 ^a	76.30±7.18 ^b	56.29±5.62 ^c
	中华条颈龟	74.74±7.80 ^a	68.62±7.08 ^a	24.74±5.07 ^b
	P value (t-test)	0.03*	0.09	0.000**
肠 SOD	红耳龟	79.85±1.54 ^a	54.73±2.94 ^b	25.07±4.86 ^c
	中华条颈龟	67.11±4.95 ^a	68.97±5.09 ^a	25.21±3.98 ^b
	P value (t-test)	0.013*	0.014*	0.958
肝 MDA	红耳龟	0.43±0.12 ^a	0.68±0.31 ^a	0.91±0.13 ^b
	中华条颈龟	0.76±0.10 ^a	1.94±0.08 ^b	2.44±0.16 ^c
	P value (t-test)	0.02*	0.00**	0.000**
肠 MDA	红耳龟	0.83±0.09	0.82±0.10	0.86±0.07
	中华条颈龟	0.66±0.03 ^a	0.95±0.13 ^a	2.19±0.29 ^b
	P value (t-test)	0.033*	0.234	0.000**

注: 表中带*(或**)号表示同一处理组中两种龟之间差异显著(或极显著); 同一行中的不同上标字母表示同种龟不同处理组之间差异显著。

龟肝组织和肠组织中 SOD 活力与对照组相比都表现出了下降的趋势; 50 mg·L⁻¹ 组中, 红耳龟肝组织和肠组织中的 SOD 活力与对照组相比显著降低, 而中华条颈龟降低趋势并不显著; 500 mg·L⁻¹ 组中, 除了红耳龟肝组织中 SOD 活力约占对照组的 2/3 外, 其余均少于各自对照组的 1/2, 中华条颈龟肠组织中 SOD 活力甚至不到其对照组的 1/3。两种龟相比而言, 除了 50 mg·L⁻¹ 组肠组织中中华条颈龟 SOD 活力显著高于红耳龟及 50 mg·L⁻¹ 组的肝组织和 500 mg·L⁻¹ 组的肠组织两种龟 SOD 活力相比差异不显著外, 其余各组红耳龟肝组织和肠组织中的 SOD 活力均显著或者极显著高于同组中华条颈龟。

两种龟肝组织中 MDA 含量均随亚硝酸盐胁迫浓度的升高而升高, 且中华条颈龟 MDA 含量的升高幅度要大于红耳龟; 除了红耳龟 50 mg·L⁻¹ 组 MDA 含量与其对照组差异不显著外, 其余各组红耳龟和中华条颈龟的 MDA 含量都显著高于各自对照组, 高亚硝酸盐浓度组中中华条颈龟甚至是其对照组的 3 倍以上。但就肠组织而言, 仅 500 mg·L⁻¹ 组中中华条颈龟 MDA 含量显著高于对照组, 而其余各组差异均不显著, 尤其是红耳龟在各亚硝酸盐处理组中 MDA 含量均与对照组差异不显著。两种龟相比较而言, 除了对照组肠组织中中华条颈龟 MDA 含量显著低于同组红耳龟外, 其余各组中华条颈龟 MDA 含量都高于同组红耳龟, 并且除 50 mg·L⁻¹ 组差异不显著外(P=0.234), 其余都差异显著或者极显著; 500 mg·L⁻¹ 组中中华条颈龟肝组织和肠组织 MDA 含量甚至达到了同组红耳龟的 2.6 倍左右。

3.3 不同处理组两种龟红细胞微核率比较

两种龟红细胞微核率随着亚硝酸盐浓度上升均呈升高趋势。在 50 mg·L⁻¹ 组中, 两种龟的红细胞微核率分别是各自对照组的 2 倍左右, 而 500 mg·L⁻¹ 组中两种龟红细胞微核率分别是各自对照组的 3 倍左右。微核率的增幅在放缓, 50 mg·L⁻¹ 组和 500 mg·L⁻¹ 组中红细胞微核率差异均不显著。两种龟相比, 同一浓度组内, 中华条颈龟的微核率始终略高于红耳龟, 但差异并不显著。

4 讨论

机体在遭受环境因子胁迫后, 通常会表现出一系列的氧化损伤。对酿酒酵母菌(*Saccharomyces cerevisiae*)

表 3 不同处理组中华条颈龟和红耳龟红细胞微核率比较
Tab. 3 Comparison on micronucleus rate of red blood cells in *M. sinensis* and *T. s. elegans*

项目	亚硝酸盐浓度/(mg·L ⁻¹)		
	0	50	500
中华条颈龟	0.12% ^a	0.25% ^{ab}	0.37% ^b
红耳龟	0.10% ^a	0.24% ^b	0.29% ^b
χ ² 值	0.1335	0.0076	1.0904

注: 同一行中的不同字母表示同种龟不同处理组之间差异显著(单因素方差分析), 而 χ² 值为同一处理组中两种龟红细胞微核率的比较(χ²-检验)。

进行的急性镉胁迫中, 酵母菌表现出了MDA显著升高^[28]。在中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)亚硝酸盐胁迫的研究中发现, 随着胁迫时间的延长, 幼蟹肝胰腺 SOD活性下降, 而MDA含量升高^[29]。叶俊等(2013)^[30]研究表明亚硝酸盐急性胁迫对草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)抗氧化性能产生了显著影响。在虾类的毒性实验中也观察到了类似的现象^[31]。因此, 机体抗氧化损伤的能力对于机体在胁迫环境下的生存至关重要。本研究发现, 红耳龟和中华条颈龟在经历了相同浓度的亚硝酸盐胁迫后, 机体都会有亚硝酸盐累积。同样的现象在虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[32], 斑节对虾(*Penaeus monodon*)^[33]和小龙虾(*Astacus astacus*)^[34]中均有发现。中华条颈龟肠组织中的亚硝酸盐含量显著低于红耳龟, 而肝脏中显著高于红耳龟, 预示着红耳龟比中华条颈龟肠道具有更强的吸收能力, 肝脏对亚硝酸盐具有更强的分解能力, 因此红耳龟表现出肠道含有更多的亚硝酸盐, 而肝脏具有较少的亚硝酸盐积累, 这与张杰等^[17]在慢性毒性试验中得到的结果一致, 说明红耳龟对亚硝酸盐的解毒能力强于中华条颈龟。

生物体在遭受胁迫时, 体内活性氧代谢失衡, 产生大量的活性氧自由基^[35-36], 脂质过氧化程度加剧; 其中丙二醛(MDA)就是脂质过氧化的产物之一^[37], 常被广泛用作细胞氧化损伤的评价指标^[38]。超氧化物歧化酶(SOD)是生物体内主要的抗氧化酶, 可通过清除活性氧自由基而减轻机体氧化损伤程度^[39]。通常体内SOD酶活力下降, 标志着机体清除氧自由基的能力下降^[40-42]。本研究发现, 随着亚硝酸盐浓度升高, 两种龟组织中SOD活力均下降, 说明由高浓度亚硝酸盐胁迫而产生的氧自由基已超过了龟自身清除阈值, 过多的活性氧抑制了SOD活力^[43-44]。

但本研究并未观察到张杰等(2011)^[17]和洪美玲等(2007)^[16]的胁迫研究中的所谓的“毒性兴奋现象”(Poison-intoxication effect)^[45], 究其原因可能与本研究中亚硝酸盐胁迫浓度梯度跨度过大, 浓度梯度设置过少有关, 从而导致机体抗氧化酶系统在较高的胁迫浓度下直接被抑制而掩盖了毒性兴奋现象。本研究中中华条颈龟组织中SOD活力随亚硝酸盐升高而下降的幅度要大于红耳龟, 500 mg·L⁻¹亚硝酸盐暴露组中红耳龟肝组织中SOD活力甚至达到中华条颈龟的2倍以上。此外, 在本研究中, 随着亚硝酸盐浓度的上升, 红耳龟肝组织中MDA含量略有升高, 而中华条颈龟肝脏和肠组织中MDA含量升高幅度较大, 均显著高于同组的红耳龟, 这说明红耳龟在高浓度的亚硝酸盐胁迫下其清除自由基的能力强于中华条颈龟, 与张杰等^[17]和傅丽容等^[9]的结论一致。

细胞微核主要是由于染色体断裂产生的无着粒片段或分裂后期没有迁移到纺锤体极位上去的整条染色体滞留在胞质中形成的^[46]。微核率的变化可作为机体应对外界的环境胁迫的一种表现, 是遗传毒理学试验中一个较为理想的监测指标^[47]。在本研究中, 高亚硝酸盐浓度组(500 mg·L⁻¹)中华条颈龟和红耳龟微核率显著高于对照组, 这与其他学者对大弹涂鱼(*Periophthalmus cantonensis*)^[48]和泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)^[49]研究的结果一致。这可能是由于亚硝酸盐胁迫使染色体畸形率升高, 从而导致微核率升高^[50]。随着亚硝酸盐浓度的进一步上升, 红耳龟的微核率升高的幅度要小于中华条颈龟, 这在一定程度上也反映出了红耳龟的耐胁迫优势。

综上所述, 红耳龟在应对亚硝酸盐胁迫时, 通过增加肠道的吸收和肝脏解毒, 减少了自身及环境中的亚硝酸盐含量, 从而降低了亚硝酸盐对机体的危害。同时, 机体在应对高浓度的亚硝酸盐胁迫时, 会表现出抗氧化酶活力下降, 脂质过氧化程度加剧等一系列氧化损伤的现象。在相同的亚硝酸盐处理下, 红耳龟抗氧化损伤能力明显强于中华条颈龟。养殖水体中的亚硝酸盐浓度可以达到 50 mg·L⁻¹ 以上^[51-52], 在一些人类生活区附近的水体中亚硝酸盐含量更高。由此我们可推断, 在亚硝酸盐污染区, 红耳龟的竞争能力强于中华条颈龟, 可以获得更大的种群优势。

参考文献

[1] LOWE S, BROWNE M, BOUDJELAS S, et al. 100 of the

world's worst invasive alien species. A selection from the global invasive species database[J]. ISSG, SSC and IUCN, 2000.

- [2] NEWBERY R. The American red-eared terrapin in South Africa[J]. African Wildlife, 1984, 38(5): 186-189.
- [3] 史海涛, 龚世平, 梁伟, 等. 控制外来物种红耳龟在中国野生环境蔓延的态势[J]. 生物学通报, 2009, 44(4): 1-3+64.
- [4] CADI A, JOLY P. Impact of the introduction of the red-eared slider (*Trachemys scripta elegans*) on survival rates of the European pond turtle (*Emys orbicularis*)[J]. Biodiversity & Conservation, 2004, 13(13): 2511-2518.
- [5] SHI Haitao, PARHAM J F, FAN Zhiyong, et al. Evidence for the massive scale of turtle farming in China[J]. Oryx, 2008, 42(1): 147-150.
- [6] SHIGESADA N, KAWASAKI K. Biological invasions: theory and practice[M]. Oxford: Oxford University Press, 1997.
- [7] 魏朝军, 杨志兵, 洪美玲, 等. 外来种红耳龟和本地种中华条颈龟耐饥饿能力比较研究[J]. 四川动物, 2012, 31(3): 430-434.
- [8] 傅丽容, 贺斌, 王雪, 等. 硝酸铵影响红耳龟和中华条颈龟孵化及血液生理指标的研究[J]. 四川动物, 2012, 31(2): 252-255.
- [9] 傅丽容, 贺斌, 王娅玲, 等. 硝酸盐胁迫对红耳龟和中华条颈龟胚胎的毒性效应[J]. 水产科学, 2012, 31(11): 683-686.
- [10] 傅丽容, 陈美玲, 史海涛. 孵化基质 pH 对红耳龟和中华条颈龟胚胎的毒性效应[J]. 四川动物, 2013, 32(2): 237-241.
- [11] 洪美玲, 陈立侨, 顾顺樟, 等. 氨氮胁迫对中华绒螯蟹免疫指标及肝胰腺组织结构的影响[J]. 中国水产科学, 2007, 14(3): 412-416.
- [12] 余瑞兰, 聂湘平. 分子氮和亚硝酸盐对鱼类的危害及其对策[J]. 中国水产科学, 1999, 6(3): 73-77.
- [13] 赵元凤, 祝国芹, 吕景才. 亚硝酸盐对尼罗罗非鱼的毒性及其机理的研究[J]. 大连水产学院学报, 1991, 6(1): 62-65.
- [14] HILMY S S. The later Wittgenstein: The emergence of a new philosophical method[M]. Oxford: Basil Blackwell, 1987.
- [15] 黄翔鸽, 李长玲, 郑莲, 等. 亚硝酸盐氮对凡纳滨对虾毒性和抗病相关因子影响[J]. 水生生物学报, 2006, 30(4): 466-471.
- [16] 洪美玲. 水中亚硝酸盐和氨氮对中华绒螯蟹幼体的毒性效应及维生素E的营养调节[D]. 华东师范大学博士论文, 2007, 26-99.
- [17] 张杰, 洪美玲, 廖广桥, 等. 亚硝酸盐暴露对红耳龟与中华条颈龟幼体的慢性毒性效应[J]. 四川动物, 2011, 30(2): 173-177.
- [18] SVOBODOVA Z, MACHOVA J, POLESZCZUK G, et al.

- Nitrite poisoning of fish in aquaculture facilities with water-recirculating systems: three case studies[J]. *Acta Veterinaria*, 2005, 74(1): 129-137.
- [19] 赵玉宝, 袁宝山. 生态管理与暴发性鱼病[J]. *淡水渔业*, 1994, 24(1): 23-25.
- [20] 何义进. 微生态制剂降解养殖水体氨氮及亚硝酸盐的研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2007.
- [21] KAMSTRA A, SPAN J A, VAN WEERD J H. The acute toxicity and sublethal effects of nitrite on growth and feed utilization of European eel, *Anguilla anguilla* (L.)[J]. *Aquaculture Research*, 1996, 27(12): 903-911.
- [22] ZHANG L, XIONG D M, Li B, et al. Toxicity of ammonia and nitrite to yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)[J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2012, 28(1): 82-86.
- [23] 赵元凤, 祝国芹, 吕景才. 亚硝酸盐对尼罗罗非鱼的毒性及其机理的研究[J]. *大连水产学院学报*, 1991, 6(1): 62-65.
- [24] DAS P C, AYYAPPAN S, JENA J K, et al. Nitrite toxicity in *Cirrhinus mrigala* (Ham.): acute toxicity and sub-lethal effect on selected haematological parameters[J]. *Aquaculture*, 2004, 235(1): 633-644.
- [25] 魏泰莉, 余瑞兰, 聂湘平, 等. 水中亚硝酸盐对彭泽鲫血红蛋白及高铁血红蛋白的影响[J]. *大连水产学院学报*, 2001, 16(1): 67-71.
- [26] 胡益民, 陈月英. 鲫、鲢、鳙等养殖鱼类暴发性疾病与池塘水质因子的调查初报[J]. *水产科技情报*, 1991, 8(2): 42-44.
- [27] 陈佳荣, 王以农, 曾达. 若干水产品鲜度变化规律的研究[J]. *福建水产*, 1993, 4: 39-44.
- [28] 刘明学, 张东, 康厚军, 等. 急性条件下镉对酵母菌抗氧化酶活性的影响[C]. *Proceedings of Conference on Environmental Pollution and Public Health*, 2010: 4.
- [29] 洪美玲, 陈立侨, 孙新谨, 等. 亚硝酸盐急性胁迫对中华绒螯蟹幼体相关免疫指标和应激蛋白(HSP70)表达的影响[J]. *应用与环境生物学报*, 2011, 17(5): 688-693.
- [30] 叶俊, 肖琛, 尹晓燕, 等. 亚硝态氮胁迫对草鱼非特异性免疫性能的影响[J]. *淡水渔业*, 2013, 43(4): 40-44.
- [31] 洗健安, 苟妮娜, 陈晓丹, 等. 流式细胞术检测虾类血细胞活性氧含量方法的建立[J]. *海洋科学*, 2012, 36(2): 29-33.
- [32] STORMER J, JENSEN F B, RANKIN J C. Uptake of nitrite, nitrate, and bromide in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): effects on ionic balance[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1996, 53(9): 1943-1950.
- [33] CHEN Jiannchun, CHIN Tzongshean. Acute toxicity of nitrite to tiger prawn, *Penaeus monodon*, larvae[J]. *Aquaculture*, 1988, 69(3): 253-262.
- [34] JENSEN F B. Uptake, elimination and effects of nitrite and nitrate in freshwater crayfish (*Astacus astacus*)[J]. *Aquatic toxicology*, 1996, 34(2): 95-104.
- [35] 时忠杰, 胡哲森. 水分胁迫与活性氧代谢[J]. *贵州大学学报 (农业与生物科学版)*, 2002, 21(2): 140-145.
- [36] 李建喜, 杨志强, 王学智. 活性氧自由基在动物机体内的生物学作用[J]. *动物医学进展*, 2006, 27(10): 33-36.
- [37] WINSTON G W. Oxidants and antioxidants in aquatic animals[J]. *Comp Biochem Physiol Part C: Comp Pharmacol*, 1991, 100(1-2): 173-176.
- [38] LEPAGE G, MNUOZ G, CHAMPAGNE J, et al. Preparative steps for the accurate measurement of malondialdehyde by high performance liquid chromatography[J]. *Anal Biochem*, 1991, 97(2): 277-283.
- [39] 陈鸿鹏, 谭晓风. 超氧化物歧化酶(SOD)研究综述[J]. *经济林研究*, 2007, 25(1): 59-65.
- [40] 陈瑞明. 铵态氮和亚硝酸盐氮对鳊鱼苗的急性毒性试验[J]. *水利渔业*, 1998, 95(1): 17-20.
- [41] HIDALGO C, GARCIA-A-GALLEGO M C, MORALES M, et al. Antioxidant enzymes and lipid peroxidation in sturgeon *Acipenser naccarii* and trout *Oncorhynchus mykiss*. A comparative study[J]. *Aquaculture*, 2006, 254(1-4): 758-767.
- [42] 王瑞刚. 盐诱导氧化胁迫与杨树耐盐性研究[D]. 北京: 北京林业大学, 2007.
- [43] 樊甄姣, 夏灵敏, 吴常文, 等. 亚硝酸盐对曼氏无针乌贼幼体的急性毒性及免疫系统的影响[J]. *河北渔业*, 2009, 187(7): 8-11.
- [44] SUN Yuhua, TANG Rong, Li Dapeng, et al. Acute effects of microcystins on the transcription of antioxidant enzyme genes in crucian carp *Carassius auratus*[J]. *Environ Toxicol*, 2008, 23(2): 145-152.
- [45] STEBBING A R D. Hormones is the stimulation of growth by low levels of inhibitors[J]. *Sci Tot VI*, 1982, 22(1): 213-234.
- [46] 王爽, 诸葛坚, 余应年. 微核与微核试验在遗传毒理学中的应用[J]. *癌变·畸变·突变*, 2000, 12(4): 253-256.
- [47] 张春丹, 黄福勇, 李明云, 等. 镉胁迫条件下大弹涂鱼(*Boleophthalmus pectinirostris*)外周血微核标记及肝脏过氧化物酶标记的变化[J]. *海洋与湖沼*, 2006, 37(1): 7-13.
- [48] 楼允东, 吴萍. 亚硝基胍对泥鳅红细胞微核及核异常的诱发[J]. *中国环境科学*, 1996, 16(4): 275-278.
- [49] 杜启艳, 吴小华, 南平, 等. 苏丹红对泥鳅红细胞微核率和组织磷酸酶活性的影响[J]. *安徽农业科学*, 2008, 36(14): 5902-5903.
- [50] 孟顺龙, 胡庚东, 瞿建宏, 等. 除草剂阿特拉津对鲫鱼外周血红细胞微核和总核异常的影响[J]. *生态环境*, 2008, 17(1): 178-183.
- [51] JENSEN F B. Nitrite disrupt smultiple physiological functions in aquatic animals[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 2003, 135(1): 9-24.
- [52] KLOUPOVA H, MACHOVA J, SVOBODOVA Z. Nitrite influence on fish: a review[J]. *Vet. Med. Czech.*, 2005, 50(11): 461-471.