

花鲈稚鱼组织在不同盐度下的酶活和显微结构变化



袁晨^{1,2,3}, 曹毅^{1,2,3}, 胡忠军^{1,2,3*}, 刘其根^{1,2,3}, 陈丽平^{1,2,3}

1. 上海海洋大学水产科学国家级实验教学示范中心, 上海海洋大学, 上海 201306
2. 上海海洋大学农业部鱼类营养与环境生态研究中心, 上海海洋大学, 上海 201306
3. 上海水产养殖工程技术研究中心, 上海海洋大学, 上海 201306

讨论

在盐度为 16ppt 环境下, MDA 含量较低, 证明可能在该环境下, 细胞损伤程度较低, 适合花鲈稚鱼的生长。鳃丝 MDA 含量整体两倍高于肾脏 MDA 含量, 表明不同组织对盐度的耐受范围与组织的特异性有关。

盐度为 16ppt 时, 鳃丝和肾脏 NKA 酶活性显著低于其余四个处理组, 整体呈现出“U”型分布, 在鱼类等渗点左右会出现 NKA 酶活力的最低值。花鲈稚鱼肠道中淀粉酶活力远远小于蛋白酶活力, 表现出花鲈肉食性的特点, 而随着盐度的上升, 淀粉酶活力和脂肪酶活力呈现出波动状态, 在不同的时间梯度上没有特定的趋势, 而蛋白酶活力整体上随着盐度强度的上升而呈现下降的趋势, 表现出盐度对蛋白酶具有抑制作用。

组织结构方面, 在 32ppt 盐度组中, 花鲈稚鱼的鳃小片变短而且鳃小片间的间距变大, 说明在高盐度下, 鳃小片间距的变大是为了增加体内外气体的交换量, 使其具有良好的生长。随着盐度的上升, 鳃小片上的泌氯细胞数量增多, 细胞分布较为广泛, 说明泌氯细胞在渗透压调节中发挥着重要的作用。

随着实验盐度胁迫强度的增加, 黏膜层中的杯状细胞数量明显增加。杯状细胞位于黏膜层基部, 具有分泌蛋白的功能。同时在其类似“高脚杯”的构造, 能够很好的储存摄取的氨基酸和葡萄糖。因此推测在盐度上升的过程中, 花鲈需要更多的能量来维持渗透压的平衡, 甚至可以抵抗盐度带来的应急反应。

随着盐度的增加, 肾小球逐渐变小, 使得肾小囊空间变大, 同时肾小管的管径大小也逐渐萎缩。淡水组和盐度组中所出现的变化, 主要是与水体的渗透压有关。为了维持渗透压平衡, 鱼类在淡水环境下肾脏通过肾小球的泌尿作用, 及时排除出大量的稀尿, 因此此时鱼类肾小球较为饱满。

结论

在 16ppt 以及 72 小时为花鲈适应的最佳盐度和最小稳定时间, 同时相较于肾脏, 花鲈鳃丝对于盐度渗透压调节具有更加灵敏且重要的作用, 而肠道蛋白酶活力整体上随着盐度的上升, 具有抑制作用。

随着盐度的上升, 花鲈稚鱼鳃小片间距及大小、泌氯细胞均发生变化; 肠黏膜层杯状细胞的数量增加; 肾小球和肾小管变小萎缩。但是在随着养殖时间增加, 肠道组织呈现出不同的规律。

研究背景

盐度和渗透压密切相关, 当盐度改变时, 不仅仅会引起应激反应, 造成耗能增加、代谢加快, 还会引起鱼体的患病, 甚至死亡。一定的盐度压力会引起活性氧 (ROS) 的增加, 活性氧的过度产生会导致核酸和蛋白质结构的改变, 甚至会导致功能丧失和有害的生理效应。丙二醛 (MDA) 作为脂质过氧化物的最终产物, 是自由基引起毒性的一个重要指标, 因此可以作为评估外界环境盐度对鱼类机体应激反应以及影响渗透压的指标。Na⁺/K⁺-ATP 酶是鱼类渗透压调节的重要指标, 主要分布于硬骨鱼类的鳃丝以及肾脏中, 参与细胞内外离子跨膜运输, 并为离子浓度的调节提供能量, 对维持细胞内外渗透压的动态平衡起决定性作用。除此之外, 在盐度环境下, 鱼类的肠道吸收 75% 的水分和离子。因此盐度的变化会直接影响鱼体肠道消化酶的活力而影响消化系统的正常运转, 从而影响鱼类的生长、发育及新陈代谢。肠道中消化酶包括蛋白酶、淀粉酶和脂肪酶。

研究目的及意义

研究鳃丝、肾脏、肠道在不同盐度的动态环境下生理机制上的差异, 可以对其生理习性、耐盐机制等有更为全面的研究, 为今后花鲈大规模淡水或低盐度养殖提供理论技术支持, 从而拓宽、丰富花鲈的养殖理论及经验以及野生花鲈的资源保护, 也为其他的广盐性鱼类的研究提供帮助。

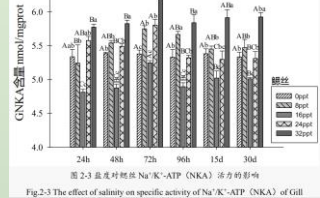
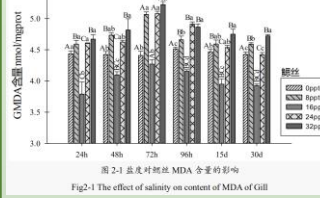
研究的内容及方法

- 盐度对花鲈稚鱼渗透压调节关键指标的影响。
- 花鲈稚鱼鳃丝、肾脏、肠道在盐度胁迫下渗透压调节组织显微结构的观察。

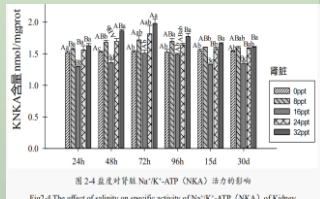
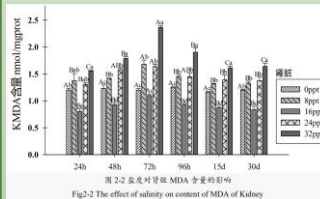
实验设定 5 个处理组, 分别为 0、8、16、24、32ppt, 每组设三个平行, 每个鱼缸规格为 1m×0.5m×0.6m, 每个盐度梯度投放 150 尾, 使用光学盐度和电子盐度计配制相应的养殖水浓度, 定期监测养殖水盐度的波动并及时调整。采样时间为 24h、48h、72h、96h、15d、30d 共计 6 个时间梯度。

实验结果

鳃丝



肾脏



肠道

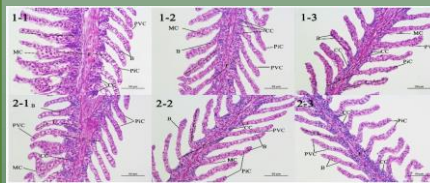
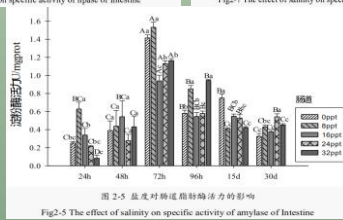
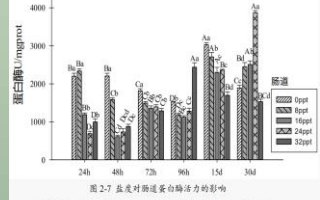
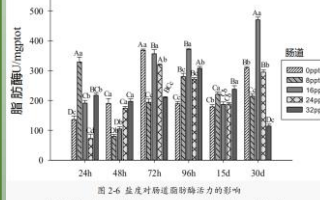


Fig. 3-1 Histological structure of *Lateolabrax maculatus* Gill (hematoxylin and eosin×400)
1-1: 15d 淡水组; 1-2: 15d-16ppt 盐度组; 1-3: 15d-32ppt 盐度组; 2-1: 30d 淡水组; 2-2: 30d-16ppt 盐度组; 2-3: 30d-32ppt 盐度组; FC: 鳃丝; L: 鳃小片; B: 红细胞; CC: 泌氯细胞; PnC: 柱状细胞; PVC: 扁平上皮细胞; MC: 黏液细胞

鳃丝

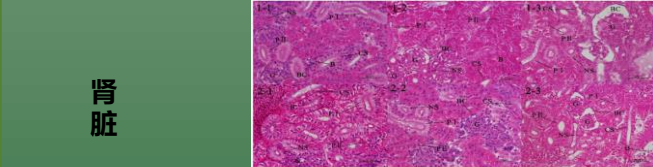


Fig. 3-3 Histological structure of *Lateolabrax maculatus* Kidney (hematoxylin and eosin)
1-1: 15d 淡水组; 1-2: 15d-16ppt 盐度组; 1-3: 15d-32ppt 盐度组; 2-1: 30d 淡水组; 2-2: 30d-16ppt 盐度组; 2-3: 30d-32ppt 盐度组; BC: 肾小囊; P1: 第一近曲小管; P II: 第二近曲小管; NS: 肾段; G: 肾小球; CS: 集合管; B: 红细胞

肾脏

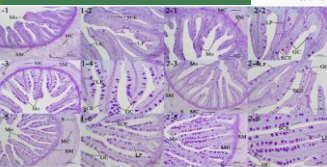


Fig. 3-2 Histological structure of *Lateolabrax maculatus* Intestine (hematoxylin and eosin)
1-1: 15d 淡水组 (×200); 1-2: 15d 淡水组 (×400); 1-3: 15d-16ppt 盐度组 (×200); 1-4: 15d-16ppt 盐度组 (×400); 1-5: 15d-32ppt 盐度组 (×200); 1-6: 15d-32ppt 盐度组 (×400); 2-1: 30d 时组 (×200); 2-2: 30d 时组 (×400); 2-3: 30d-16ppt 盐度组 (×200); 2-4: 30d-16ppt 盐度组 (×400); 2-5: 30d-32ppt 盐度组 (×200); 2-6: 30d-32ppt 盐度组 (×400); S: 盲肠; MC: 肌层; SM: 黏膜下层; Me: 黏膜层; LP: 固有层; DC: 杯状细胞; SCE: 柱状上皮细胞

肠道