

Effect of Intestinal Gas Bubble Accumulation on the Metabolizing Enzymes in Four Tissues of Silver Pomfret

Di Zheng^{1,2}, Qian Wang¹, Lei Wang¹, Zhaohong Shi¹, Shiming Peng^{1*}

¹East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Key and Open Laboratory of Marine and Estuary, Ministry of Agriculture, Shanghai

²China College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai
Email: 877164467@qq.com, *shiming.peng@163.com

Received: Apr. 21st, 2020; accepted: May 11th, 2020; published: May 18th, 2020

Abstract

Intestinal gas bubble accumulation is a common disease in the breeding process of silver pomfret, which is characterized by fast onset and high mortality, and seriously hinders the large-scale farming and promotion of silver pomfret. In order to investigate the effect of intestinal gas bubble accumulation on the metabolizing enzyme activity of silver pomfret, fifteen diseased fish were chosen as group diseased (11.7 ± 0.8 cm, 42.8 ± 4.1 g) and fifteen healthy fish as group healthy (12.5 ± 0.7 cm, 48.6 ± 5.6 g). These fish were collected from Fuding research center of East China Sea Fisheries Research Institute in March 2019. Liver, kidney, muscle, and gill tissues of each group were collected and used to test their activities of AST, ALT, ALP, and ACP. The results showed that: the activities of in muscle and kidney in group diseased were significantly lower than those in group healthy ($P < 0.05$); the activities of ALT in liver and muscle in group diseased were significantly lower than those in group healthy ($P < 0.05$); the activities of ALP in four tissues of the two groups were significantly different; the activity of ACP in liver in group diseased were significantly lower than those in group healthy ($P < 0.05$), but in gill and kidney, it was significantly lower than those in group healthy ($P < 0.05$). The results showed that the intestinal gas bubble accumulation would lead to the disorder of tissue metabolism of silver pomfret, and had a great influence on the activity of ALT in muscle and ALP in kidney of silver pomfret. These two indexes of enzyme activity could be an important reference for the detection and pathological analysis of the disease.

Keywords

Silver Pomfret, Intestinal Gas Bubble Accumulation, Tissue, Metabolizing Enzyme

肠道气泡堆积对银鲳四种组织代谢酶活力的影响

*通讯作者。

郑迪^{1,2}, 王倩¹, 王磊¹, 施兆鸿¹, 彭士明^{1*}

¹中国水产科学研究院东海水产研究所 农业农村部东海渔业资源开发利用重点实验室, 上海

²上海海洋大学水产与生命学院, 上海

Email: 877164467@qq.com, *shiming.peng@163.com

收稿日期: 2020年4月21日; 录用日期: 2020年5月11日; 发布日期: 2020年5月18日

摘要

肠道气泡堆积是银鲳养殖过程中的常见病, 具有发病快, 死亡率高的特点, 严重阻碍银鲳的规模养殖及推广。为研究肠道气泡堆积对银鲳组织代谢酶活力的影响, 2019年3月于东海水产研究所福鼎研究中心采集了15尾肠道气泡堆积的银鲳为病鱼组(11.7 ± 0.8 cm, 42.8 ± 4.1 g), 15尾健康银鲳为对照组(健康鱼组)(12.5 ± 0.7 cm, 48.6 ± 5.6 g), 分别采集各组样品的肝脏, 肾脏, 肌肉和鳃组织, 并对这四种组织谷草转氨酶活力(AST)、谷丙转氨酶活力(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)和酸性磷酸酶活力(ACP)活力进行测定和比较, 实验结果显示: 病鱼组肌肉和肾脏中AST活力显著低于健康组($P < 0.05$); 病鱼组肝脏和肌肉中的ALT活力显著低于健康组($P < 0.05$); 两组样品四种组织中ALP活力均有显著差异; 病鱼组肝脏中ACP活力显著高于健康组($P < 0.05$), 但在鳃和肾脏中显著低于健康组($P < 0.05$)。研究结果表明, 肠道气泡堆积会导致银鲳组织代谢紊乱, 且对银鲳肌肉ALT, 肾脏ALP活力影响较大, 这两种酶活力指标可以成为该病检测和病理分析的重要参考依据。

关键词

银鲳, 肠道气泡堆积, 组织, 代谢酶

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

银鲳(*Pampus argenteus*)属鲈形目(Perciformes), 鲳科(Stromateidae), 鲳属, 因其肉质细嫩鲜美、肌间刺较少、营养丰富等特点, 具有较高的市场价值与需求, 是我国主要的海产经济鱼类之一[1]。近年来, 银鲳的年产量呈逐步上升趋势, 但其资源状况并不乐观[2], 所以自20世纪80年代起, 国内开始对银鲳人工养殖展开研究[3], 截至目前, 已取得了关于银鲳繁殖生物学[4], 人工育苗[5]和养殖模式[6]等科技成果, 但距离规模养殖和推广仍有较长一段距离, 而这其中病害问题是主要的限制因素之一。

肠道气泡堆积是银鲳养殖过程中一种常见的病理现象, 几乎所有年龄段都有可能发生, 且由于该病发生位置特殊, 很难及时发现, 即使发现也难以控制[7], 所以死亡率较高。目前国内外对于鱼类肠道气泡堆积方面的研究相对较少, 且主要集中在水环境[8]和组织学[9]方面。谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、碱性磷酸酶(ALP)、酸性磷酸酶(ACP)是鱼类营养代谢的关键酶类, 这些酶类的活力变化可以反映出鱼体代谢水平的高低及生理状态[10]。本文通过对患有肠道气泡堆积的银鲳及对照健康银鲳体内的四种组织(肝脏, 肾脏, 肌肉和鳃)AST、ALT、ALP和ACP活力的测定和比较, 分析肠道气泡堆积对银鲳代谢能力的影响, 以期为该病理现象的防治提供数据支持, 并为银鲳的养殖和推广提供参考依据。

2. 材料与方法

2.1. 样品采集

本次实验用银鲳采自东海水产研究所福鼎研究中心工厂化养殖车间,该车间拥有4个银鲳养殖池,采样期间每天饱食投喂2次(7:00和16:00),日换水量50%,水温20℃~22℃,盐度25~27,溶氧保持在7 mg/L。于2019年3月参与日常管理,同时在管理过程中注意观察鱼的游动行为,对行为异常如游动速度加快[7],垂直或水平停在水面[11],躁动不安,对惊吓敏感,甚至跳出水面[12]等疑似肠道气泡堆积的银鲳进行采集,打捞起后于25 mg/L丁香酚中麻醉,冰盘解剖,观察其肠道内是否有明显的气泡堆积,如有则可确认为所需要的病鱼样品。取其肝脏,肾脏,肌肉和鳃在预冷的生理盐水中漂洗后,滤纸拭干,液氮速冻后于-80℃保存,待样品全部采集完成后带回实验室统一测定。病鱼取15尾为有气泡组,平均叉长为(11.7 ± 0.8) cm,平均体质量为(42.8 ± 4.1) g。另选摄食,游动等行为正常,有活力,游动有规律且解剖观察肠道无气泡堆积的健康鱼15尾为无气泡组,平均叉长为(12.5 ± 0.7) cm,平均体质量为(48.6 ± 5.6) g。两组样品取样方法一致。

2.2. 酶活力测定

银鲳的肝脏、肾脏、肌肉、肠道和鳃组织中蛋白含量的测定采用考马斯亮蓝法[13],AST、ALT、AKP和ACP活力的测定均严格按照由南京建成生物公司提供的检测试剂盒所附带的说明书进行操作。每3尾鱼的样品组织混为一个样品进行检测,对照组与病鱼组每个组织各分别检测5次,每次检测3重复,取平均值。

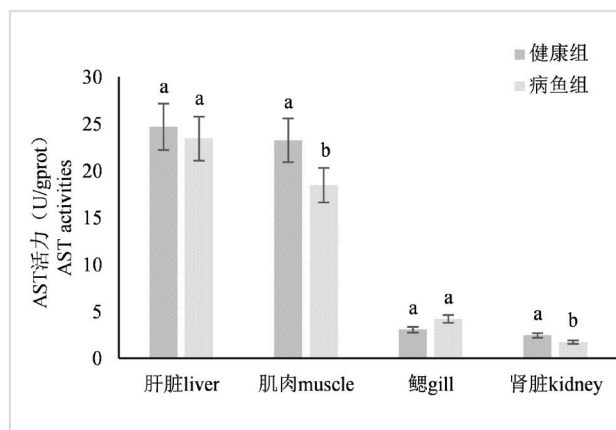
2.3. 数据处理

所得数据以平均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示,实验结果采用SPSS19.0进行统计分析,并进行独立样本T检验,分析各组间相关参数差异显著性,并使用Excel 2010作图。

3. 结果与分析

3.1. 肠道气泡堆积对银鲳四种组织中AST活力的影响

肠道气泡堆对银鲳四种组织AST活力的影响见图1,由图1可以看出,肝脏和肌肉中AST活力高与其他组织;病鱼组肌肉和肾脏中的AST活力显著低于健康鱼组($P < 0.05$),而在肝脏和鳃中没有显著差异($P > 0.05$)。

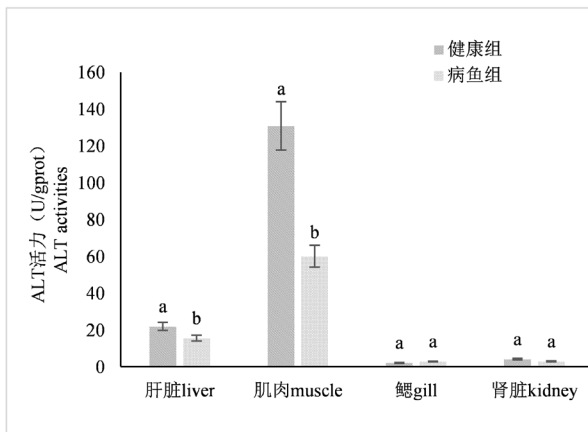


注: 相同字母表示没有显著性差异($P > 0.05$), 不同字母表示有显著性差异($P < 0.05$)。

Figure 1. Effect of intestinal gas bubble accumulation on AST activity in four tissues of silver pomfret
图 1. 肠道气泡堆积对银鲳四种组织中AST活力的影响

3.2. 肠道气泡堆积对银鲳四种组织中 ALT 活力的影响

肠道气泡堆对银鲳四种组织 ALT 活力的影响见图 2, 由图 2 可以看出, 银鲳肌肉中 ALT 活力较高; 病鱼组肝脏和肌肉中的 ALT 活力显著低于健康鱼组($P < 0.05$), 而在鳃和肾脏中没有显著差异($P > 0.05$)。

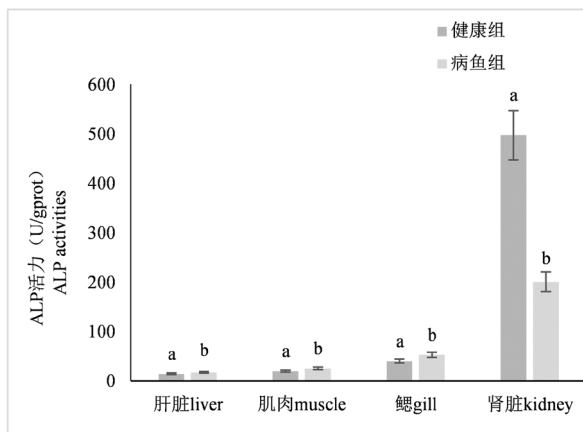


注: 相同字母表示没有显著性差异($P > 0.05$), 不同字母表示有显著性差异($P < 0.05$)。

Figure 2. Effect of intestinal gas bubble accumulation on ALT activity in four tissues of silver pomfret
图 2. 肠道气泡堆积对银鲳四种组织中 ALT 活力的影响

3.3. 肠道气泡堆积对银鲳四种组织中 ALP 活力的影响

肠道气泡堆对银鲳四种组织 ALP 活力的影响见图 3, 由图 3 可知, 肾脏中 ALP 活力高于其他三种组织; 病鱼组肝脏、肌肉和鳃中 ALP 活力显著高于健康组($P < 0.05$), 但在肾脏中显著低于健康组($P < 0.05$)。

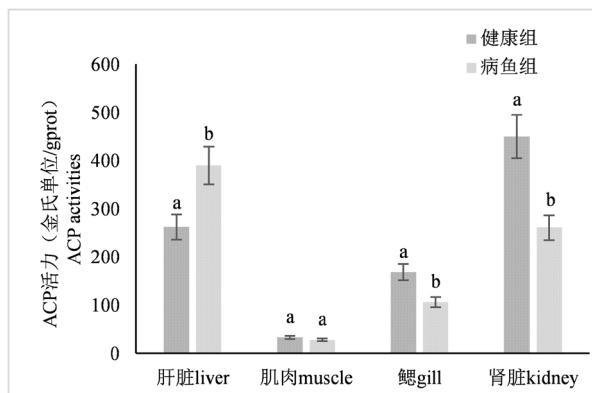


注: 相同字母表示没有显著性差异($P > 0.05$), 不同字母表示有显著性差异($P < 0.05$)。

Figure 3. Effect of intestinal gas bubble accumulation on ALP activity in four tissues of silver pomfret
图 3. 肠道气泡堆积对银鲳四种组织中 ALP 活力的影响

3.4. 肠道气泡堆积对银鲳四种组织中 ACP 活力的影响

肠道气泡堆对银鲳四种组织 ACP 活力的影响见图 4, 由图 4 可知, 病鱼组肝脏中 ACP 活力显著高于健康组($P < 0.05$), 但在鳃和肾脏中显著低于健康组($P < 0.05$), 两组样品在肌肉中 ACP 活力没有显著差异($P > 0.05$)。



注：相同字母表示没有显著性差异($P > 0.05$)，不同字母表示有显著性差异($P < 0.05$)。

Figure 4. Effect of intestinal gas bubble accumulation on ACP activity in four tissues of silver pomfret
图 4. 肠道气泡堆积对银鲳四种组织中 ACP 活力的影响

4. 讨论

目前对于肠道气泡堆积的研究还不是很深入，已经可以明确的是肠道内大气泡的形成是由很多来自各组织以及血管的微气泡汇集而成，通常在显微镜下便可观察到这些微气泡的移动和汇集[9]。微气泡最初如何形成目前尚待研究，但这些微气泡的移动和汇集势必会引起组织损伤，而这些组织损伤是否会影响到组织代谢酶活力尚未由人研究。

4.1. 肠道气泡堆积对银鲳四种组织中 AST 和 ALT 活力的影响

AST 和 ALT 是氨基酸代谢中的 2 个关键酶，主要存在于细胞线粒体中[14]，其活性强弱反映了氨基酸代谢程度的强弱[15]。这两种转氨酶主要作用是催化氨基酸生成酮酸，进而保持机体稳态[16]。在本实验中，患病银鲳肝脏中 ALT 活力下降显著，肾脏中 AST 活力下降显著，推测其原因可能是肠道气泡堆积的发生导致了肝脏和肾脏细胞受损，从而导致大量的转氨酶流失[17]。这与陈丹丹等对力竭黑鱼的研究[18]和安树伟等对患诺卡氏菌病的大黄鱼的研究结果[19]相类似，同时也与前期组织观察实验中患病鱼部分肝细胞出现空泡坏死，肾小管上皮细胞坏死消失现象相吻合。鱼类肝脏是蛋白质、糖类和脂类代谢最活跃的器官，同时也是鱼体合成蛋白质的重要场所[20]，而肝细胞受损则意味着鱼体代谢能力的减弱和蛋白质生产量下降；肾脏是鱼体的排泄，造血器官[21]，蛋白质代谢的最终产物都需要通过肾脏排除，而肾脏组织受损则会阻碍这一进程，也会导致造血功能衰退。

在本实验中，患病鱼肌肉组织中的 AST，ALT 活性下降显著，其原因可能是微气泡在肌肉组织中移动时造成了组织损伤，从而引发代谢障碍。可以预见的是，随着病情的发展，受损肌肉组织无法修复，最终导致坏死，产生病变和溃烂，从而引起细菌感染，加速鱼体病情恶化[22]，所以病情期间使用相应抗生素药物是有必要的。另外，从图 2 可以看出，相较于其他组织，肌肉组织中 ALT 活力变化更为明显，这一特性或许可以作为鱼类肠道气泡堆积的检测手段，但仍需要进一步研究。

4.2. 肠道气泡堆积对银鲳四种组织 ACP 和 ALP 活力的影响

ALP 是一种通过寡糖磷脂酰肌醇锚定在细胞膜上的结合蛋白，在生物体可直接参与磷酸基团的转移和代谢的生理过程，且参与体内的钙、磷代谢，维持体内适宜的钙磷比例[23]。有研究表面，当鱼类处于不利环境时，其碱性磷酸酶的活性必定受到影响[24]，这本实验中四种组织 ALP 活力均变化显著相符。患病银鲳肾脏 ALP 活力显著下降，其他三种组织 ALP 活力显著上升，其原因可能是肾脏组织损伤导致

ALP 进入血液和其他组织。另外, 肾脏 ALP 活性下降这一特点或许可以用于肠道气泡堆积的检测, 但仍需要进一步研究。

ACP 在鱼体内分布广泛, 其中, 定位于溶酶体中的 ACP 主要参与磷酸酯的代谢, 细胞的消化代谢[25] 和免疫调节[26], 而定位于高尔基复合体和内质网上的 ACP 则参加能量转换和信号传导等重要生命活动[27]。在本实验中, 病鱼组肝脏 ACP 活力显著高于健康鱼组, 说明在肠道气泡堆积的刺激下, 肝脏中溶酶体数量增加, 是吞噬作用变得剧烈的表征之一, 这与陈寅儿等对患乳化病三疣梭子蟹[28]的研究结果相类似。肾脏和鳃中 ACP 活性下降则可能与组织损伤有关。

参考文献

- [1] 彭士明, 尹飞, 孙鹏, 等. 不同饲料对银鲳幼鱼增重率、肝脏脂酶及抗氧化酶活力的影响[J]. 水产学报, 2010, 34(6): 769-774.
- [2] 李建生, 胡芬, 严利平. 东海区银鲳资源合理利用的研究[J]. 自然资源学报, 2014, 29(8): 1420-1429.
- [3] 张仁斋. 中国近海鱼卵与仔鱼[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1985: 151-153.
- [4] 施兆鸿, 王建钢, 高露姣, 等. 银鲳繁殖生物学及人工繁育技术的研究进展[J]. 海洋渔业, 2005, 27(3): 246-250.
- [5] 施兆鸿, 高露姣, 谢莹梁, 等. 舟山渔场银鲳和灰鲳繁殖特性的比较[J]. 水产学报, 2006, 30(5): 647-653.
- [6] 周燕侠, 余开. 这条鱼可以养殖了——揭开东海银鲳养殖的神秘面纱[J]. 科学养鱼, 2017(2): 13-16.
- [7] Espmark, Å.M. and Baeverfjord, G. (2009) Effects of Hyperoxia on Behavioural and Physiological Variables in Farmed Atlantic Salmon (*Salmo salar*) Parr. *Aquaculture International*, **17**, 341-353. <https://doi.org/10.1007/s10499-008-9206-6>
- [8] Edsall, D.A. and Smith, CE. (1990) Performance of Rainbow Trout and Snake River Cutthroat Trout Reared in Oxygen-Supersaturated Water. *Aquaculture*, **90**, 251-259. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(90\)90249-M](https://doi.org/10.1016/0044-8486(90)90249-M)
- [9] 彭天辉. 自然及人工条件下大口黑鲈慢性气泡病的病因及病理研究[D]: [硕士学位论文]. 上海: 上海海洋大学, 2013.
- [10] 高权新, 谢明媚, 彭士明, 等. 急性温度胁迫对银鲳幼鱼代谢酶、离子酶活性及血清离子浓度的影响[J]. 南方水产科学, 2016, 12(2): 59-66.
- [11] Kramer, D.L. (1987) Dissolved-Oxygen and Fish Behavior. *Environmental Biology of Fishes*, **18**, 81-92. <https://doi.org/10.1007/BF00002597>
- [12] Bouck, G.R. (1980) Etiology of Gas Bubble Disease. *Transactions of the American Fisheries Society*, **109**, 703-707. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1980\)109<703:EOGBD>2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1980)109<703:EOGBD>2.0.CO;2)
- [13] 李娟, 张耀庭, 曾伟, 等. 应用考马斯亮蓝法测定总蛋白含量[J]. 中国生物制品学杂志, 2000, 13(2): 118-120.
- [14] 冯健, 刘永坚, 田丽霞, 等. 草鱼实验性镉中毒对肝胰脏、肾脏和骨骼的影响[J]. 水产学报, 2004, 28(2): 195-200.
- [15] 王桂芹, 李子平, 牛小天, 等. 饲料能量和维生素 B6 对乌鳢生长和蛋白质代谢酶活性的影响[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2011, 50(4): 96-99.
- [16] Bräer, S. (2008) Amino Acid Transport across Mammalian Intestinal and Renal Epithelia. *Physiological Reviews*, **88**, 249-286. <https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2006>
- [17] 陈晨, 黄峰, 舒秋艳, 等. 共轭亚油酸对草鱼生长、肌肉成分、谷草转氨酶及谷丙转氨酶活性的影响[J]. 水生生物学报, 2010, 34(3): 647-651.
- [18] 李丹丹, 陈丕茂, 朱爱意, 等. 黑鲷幼鱼力竭运动后代谢酶活性的恢复水平[J]. 南方水产科学, 2018, 14(6): 61-67.
- [19] 安树伟, 袁思平, 王国良. 患诺卡氏菌病的大黄鱼几种主要组织的酶活力变化分析[J]. 渔业科学进展, 2012, 33(2): 43-48.
- [20] 张永嘉, 吴泽阳, 许其爵, 等. 网箱养殖罗非鱼综合症的血清分析[J]. 水利渔业, 1994(2): 8-9+47.
- [21] 刘巧巧. 中国大鲵肾脏与生殖腺发生的解剖学和组织学观察[D]: [硕士学位论文]. 西安: 陕西师范大学, 2012.
- [22] 程波. 七带石斑鱼“突眼”症病原菌鉴定及其血液病理研究[D]: [硕士学位论文]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学, 2009.
- [23] 廖金花, 陈巧, 林丽蓉. 鲍鱼碱性磷酸酶的分离纯化和性质研究[J]. 厦门大学学报, 2005, 44(2): 272-275.

-
- [24] 杜启艳, 王萍, 王友利, 等. 长期饥饿和再投喂对泥鳅不同组织糖原、酸性磷酸酶和碱性磷酸酶的影响[J]. 江西师范大学学报(自然科学版), 2008, 32(4): 114-119.
- [25] 陈瑛, 邱子健, 隋淑光, 等. 棘尾虫酸性磷酸酶的定位及诱导表达[J]. 动物学报, 2003, 49(2): 218-223.
- [26] Pipe, R.K. (1990) Hydrolytic Enzymes Associated with the Granular Haemocytes of the Marine Mussel *Mytilus edulis*. *Histochemistry*, **22**, 596-603. <https://doi.org/10.1007/BF01072941>
- [27] 江琰, 刘克武, 雷远成, 等. 意蜂工蜂酸性磷酸酶的纯化及其酶学特性[J]. 昆虫学报, 2004, 47(3): 310-315.
- [28] 陈寅儿, 王国良, 金珊, 等. 三疣梭子蟹患“乳化病”后几种保护酶活力的变化[J]. 水产科学, 2006, 25(9): 448-451.