

亚硝酸盐对越冬红螯螯虾生理指标及肠道菌群的影响

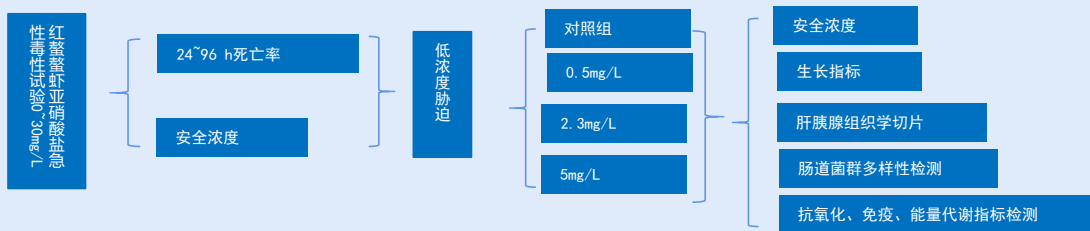
韦永春 程顺 贾永义² 迟美丽 刘士力 郑建波² 李飞 顾志敏

(1.上海海洋大学 农业农村部淡水水产种质资源重点实验室 上海 2013062; 2.浙江省淡水水产研究所 农业部淡水渔业健康养殖重点实验室/浙江省淡水水产遗传育种重点实验室, 浙江 湖州 313001; 3. 上海海洋大学 水产科学国家级实验教学示范中心 上海 2013062)



前言: 在非热带地区, 红螯螯虾常采用温室水泥池繁育虾苗, 因为该方式的孵化效率更高, 有利于规模化育苗, 且环境可控, 集约化程度高。但采用该方式, 红螯螯虾在温室越冬过程中由于水体区域较小, 水质指标易变, 会造成亲虾体质下降、生长受限、产生疾病甚至死亡, 影响其繁殖能力, 从而造成了虾苗批量化供应能力的不足, 导致虾苗价格过高, 制约红螯螯虾产业化发展。在亲虾在越冬期间, 有毒污染物亚硝酸盐经常出现过高的情况。亚硝酸盐不仅是虾类养殖过程中重要的污染成分, 也是制约虾类生长与生存的主要因子之一。高浓度 (超过其安全浓度) 的亚硝酸盐急性胁迫会引起虾类中毒, 甚至窒息死亡。

研究方法



研究结果

1、生长指标中胁迫6周后不同亚硝酸盐浓度组 (0、0.5、2.3、5.0mg/L) 的成活率、肥满度、肝体指数、体重增加率与体长增加率均无显著性差异 ($P>0.05$), 高浓度组的成活率、体重增加率、体长增加率最低。
2、组织切片观察发现, 对照组上皮细胞无断裂, 排列较为整齐, 分支管状腺之间的结缔组织较多而互相联系 (图1-1,2); 低浓度组 (0.5mg/L) 与对照组形态一致, 未出现形态学的改变 (图1-3,4); 中浓度组 (2.3mg/L) 的肝小管排列开始混乱, 各肝小管大小出现差异, 但总体上变化不明显 (图1-5,6); 高浓度组 (5mg/L) 上皮细胞层溶解, 肝小管排列混乱, 各肝小管大小出现差异, 基膜不整齐, 肝小管间的结缔组织减少, 细胞出现裂解, 空泡化加剧 (图1-7,8)。总体上随着亚硝酸盐浓度的增加, 肝小管排列趋于混乱, 大小出现差异, 肝小管间的结缔组织随之减少, 产生空泡化, 特别是在高浓度组 (5mg/L) 中的变化相对明显。

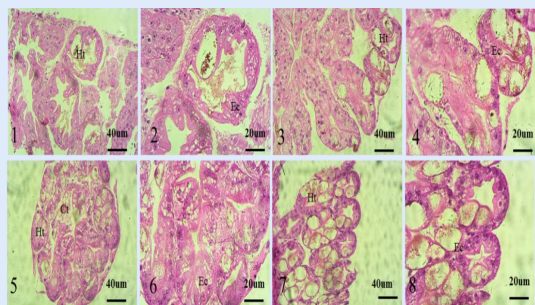
酶 Enzyme (U/gprot)	组织 tissue	亚硝酸盐浓度Nitrite concentration (mg/L)			
		0	0.5	2.3	5
ACP	肝胰腺 Liver pancreas	118.59±4.85 ^a	106.42±2.32 ^b	91.11±3.65 ^c	82.57±1.47 ^d
	肌肉 Muscle	17.77±0.43 ^a	9.89±1.04 ^b	7.71±1.72 ^b	6.87±1.66 ^b
AKP	肝胰腺 Liver pancreas	79.86±1.38 ^a	69.25±2.48 ^b	40.38±3.74 ^c	18.82±1.50 ^d
	肌肉 Muscle	10.23±0.22 ^a	8.24±0.48 ^b	5.81±1.05 ^c	3.48±0.33 ^d
UL	血清 Serum	0.14±0.01 ^a	0.12±0.01 ^a	0.11±0.01 ^a	0.10±0.01 ^a

表4 免疫相关指标检测

酶 (mmol/gprot)	组织 tissue	亚硝酸盐浓度Nitrite concentration (mg/L)			
		0	0.5	2.3	5
TG	肝胰腺 Liver pancreas	0.26±0.04 ^a	0.23±0.02 ^{ab}	0.19±0.01 ^{ab}	0.17±0.01 ^b

表5 能量代谢相关指标检测

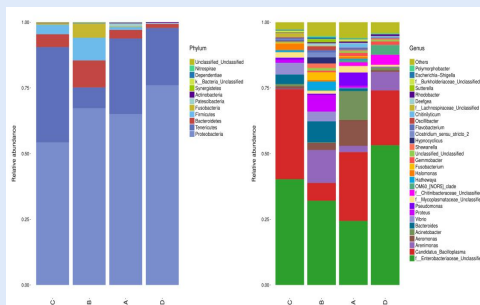
由表可以看出, 高浓度的亚硝酸盐含量对抗氧化指标、免疫相关指标、能量代谢指标具有影响。



1-1、1-2: 对照组; 1-3、1-4: 低浓度组 (0.5mg/L); 1-5、1-6: 中浓度组 (2.3mg/L); 1-7、1-8: 高浓度组 (5mg/L) (Ec: 单层柱状上皮细胞; Ht: 肝小管; Ct: 结缔组织)

酶 Enzyme (U/mgprot)	组织 tissue	亚硝酸盐浓度Nitrite concentration (mg/L)			
		0	0.5	2.3	5
SOD	肝胰腺 Liver pancreas	39.70±0.94 ^a	37.02±0.77 ^b	36.15±0.52 ^{bc}	33.90±1.50 ^c
	肌肉 Muscle	27.63±0.89 ^a	26.80±1.11 ^{ab}	24.59±1.58 ^b	21.79±2.35 ^{bc}
MDA	肝胰腺 Liver	1.81±0.23 ^a	2.01±0.05 ^a	2.17±0.21 ^a	2.22±0.10 ^a
	肌肉 Muscle	3.01±0.20 ^a	3.37±0.22 ^{ab}	3.46±0.18 ^b	3.64±0.05 ^b

表3 抗氧化相关指标检测



左图为分类上门的水平肠道菌群组成, 右图为分类上属的水平肠道菌群组成

	A	B	C	D
Sampling depth				
平均有效序列数Mean sequences	51815	71985	67095	64693
丰富度估算Richness estimate				
ACE	88.80±15.38 ^b	79.93±15.28 ^a	79.06±8.07 ^a	82.99±22.49 ^a
Chao1	89.67±15.50 ^b	82.25±22.22 ^b	79.93±8.93 ^a	81.97±24.94 ^a
多样性指数Diversity estimators				
Shannon	3.23±1.10 ^a	3.28±1.42 ^a	2.77±0.81 ^{ab}	2.24±1.40 ^b

表6 不同亚硝酸盐浓度胁迫下肠道菌群丰富度估算 (Chao1& ACE) 和多样性指数 (Shannon)

研究结论 1、在亚硝酸盐浓度为0~5 mg/L范围内, 各组的成活率、肥满度、肝体指数均无显著差异 ($P>0.05$), 但高浓度组 (5 mg/L) 的成活率、体重增加率、体长增加率最低。2、高浓度亚硝酸盐导致的肝胰腺组织结构受损是使虾生理机能下降的重要原因。组织切片观察发现, 随着亚硝酸盐浓度的增加, 肝小管排列趋于混乱, 大小出现差异, 肝小管间的结缔组织随之减少, 产生空泡化, 在高浓度组中尤为明显。3、在0.5 mg/L 的较低亚硝酸盐浓度下, 红螯螯虾SOD、ACP、AKP以及UL活力下降, MDA活力升高。4、高浓度亚硝酸盐造成了虾体内肠道菌群多样性的降低。