

文章编号: 1674-5566(2024)05-1098-08

DOI: 10.12024/jsou.20240504546

NaHCO₃胁迫对草鱼鳃和肝胰脏组织抗氧化酶与组织结构的影响

陈立伟¹, 姜雨辰¹, 贾学文¹, 李家乐^{1,2}, 邱军强^{1,2}, 沈玉帮^{1,2}

(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 201306; 2. 上海海洋大学 上海水产养殖工程技术研究中心, 上海 201306)

摘要: 为了探究NaHCO₃胁迫对草鱼鳃和肝胰脏组织抗氧化酶和组织结构的影响, 采用3个NaHCO₃浓度组(10, 20, 30 mmol/L)对草鱼进行NaHCO₃胁迫, 对鳃和肝胰脏组织进行抗氧化酶(SOD、CAT)酶活性测定和组织病理学观察。结果显示, 草鱼在NaHCO₃胁迫下, 鳃组织SOD、CAT酶和肝胰脏组织CAT酶在72 h内活力变化总体上呈先上升后下降的趋势, 仅肝胰脏组织SOD酶在72 h内活力总体呈上升趋势, 且各实验组中, 两组织的抗氧化酶活力相比空白组具有显著差异; 相比空白组, 实验组的草鱼鳃组织中, 鳃丝翻折和褶皱情况严重、扁平上皮细胞PVC严重脱落、线粒体富集细胞MRC肿胀; 在肝胰脏组织中, 胰脏细胞肿胀、细胞间隙增大、肝细胞核偏移和空泡化减少。研究表明, NaHCO₃胁迫会影响草鱼抗氧化水平, 并且对草鱼鳃和肝胰脏组织产生组织损伤, 随着浓度增大损伤程度加重。本研究可为盐碱水域草鱼的养殖与推广应用提供参考资料。

关键词: 草鱼; NaHCO₃胁迫; 鳃和肝胰脏组织; 组织病理学; 抗氧化酶

中图分类号: S 917.4 文献标志码: A

我国约有0.46亿hm²的低洼盐碱水域, 遍及19个省市和自治区^[1]。盐碱水作为分布于陆地地区的非海洋性咸水资源, 具有高碱度、高pH、离子组成复杂等特点, 在利用方面存在一定的难度^[2]。

碱度是指水体中溶解的碳酸根离子、氢氧根离子和碳酸氢根离子的总和, 通常以pH来表示, 而盐碱水中的碱度主要成分是HCO₃⁻和CO₃²⁻。适当的碱度有助于维持水体中鱼类生长所需的酶活性和代谢功能, 但是过高或者过低的碱度影响鱼类的生长和发育。研究^[3]认为, 过高碱度会损伤鳃组织并对离子交换体系和Na⁺-K⁺-ATP酶主动调节功能造成影响。碱盐胁迫(NaHCO₃和Na₂CO₃)对生物体的破坏性大于中性盐胁迫(NaCl和Na₂SO₄)^[4]。

草鱼(*Ctenopharyngodon idella*)是我国产量最高的淡水养殖鱼类, 是我国四大家鱼之一, 分布广泛^[5-6]。由于盐碱水高pH、高碳酸盐碱度且离子比例失衡, 在碱胁迫下刺激鱼体造成的应激性

疾病和死亡在水产养殖中经常发生^[7]。近年来, 随着国内外学者对鱼类耐盐碱的生理和分子机制研究的深入, 越来越多与鱼类耐盐碱性能相关的生理指标、分子标记及基因被鉴定和利用^[8]。国外学者在早期对钩吻鲟(*Oncorhynchus clarki henshawi*)^[9]、卡拉白鱼(*Chalcalburnus tarichi*)^[10]和裸鲤(*Gymnocypris przewalskii*)^[11]等具有耐盐碱能力鱼类进行了一定的研究, 近年来我国学者也对鲫(*Carassius auratus*)^[12]、尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[13]、鲤(*Cyprinus carpio*)^[14]、青鳉(*Oryzias latipes*)^[15]和乌苏里白鲑(*Coregonus ussuriensis*)^[16]等鱼类开展了一些碱胁迫下的分子和生理机制相关研究, 这对于盐碱水域开展增殖具有重要意义。本研究以草鱼为研究对象, 对不同NaHCO₃浓度下的草鱼鳃和肝胰脏组织进行胁迫, 通过抗氧化酶活性测定和组织病理学观察探究草鱼在NaHCO₃胁迫下生理生化变化, 为草鱼在盐碱水中养殖提供一定的理论参考。

收稿日期: 2024-05-14 修回日期: 2024-05-21

基金项目: 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-45-04)

作者简介: 陈立伟(1998—), 男, 硕士研究生, 研究方向为鱼类遗传育种。E-mail: 15060013766@sina.cn

通信作者: 沈玉帮, E-mail: ybshen@shou.edu.cn

版权所有 ©《上海海洋大学学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0)

Copyright © Editorial Office of Journal of Shanghai Ocean University (CC BY-NC-ND 4.0)

<http://www.shhydx.com>

1 材料与方法

1.1 试验材料

本试验在苏州市申航生态科技发展股份有限公司进行,所使用的实验用鱼为同批孵化并培育约 90 d 的健康草鱼,平均体质量为(91.31±3.12) g,体长为(13.67±1.43) cm。胁迫实验在 100 cm×80 cm×50 cm 白色硬质塑料箱中进行,采用 NaHCO₃(分析纯,国药沪试)与曝气处理后的自来水来配制不同浓度的试验用水,稳定 24 h 后,通过酸碱滴定法测定并调整浓度。

1.2 试验方法

根据预试验草鱼 NaHCO₃最大耐受浓度为 37 mmol/L^[17],分别设置 3 个 NaHCO₃浓度梯度(10 mmol/L、20 mmol/L 和 30 mmol/L)和 1 个空白对照组(0 mmol/L),4 个实验组均设置 3 个平行重复,其结果取平均值。试验前,所有草鱼均在曝气过的自来水中暂养 7 d,每个浓度组及其平行重复都随机放入 40 尾草鱼,试验期间每天换水,换水量为总水体的三分之一,所换水体为配置对应浓度后稳定 24 h 后的水。试验前 7 天不投喂,每天观察水质情况并及时捞出死鱼。

1.3 样本采集及检测

1.3.1 样本采集

试验开始于早上 8 时 30 分,在试验开始后的第 2、4、6、12、24、48、72 小时分别采集不同浓度组与空白组草鱼及其平行重复各 3 尾的鳃和肝胰脏组织样本,随即使用液氮冷冻保存于-80 °C 冰箱内,用于后续酶活力测定。在第 72 小时,同时采集样本置于 4% 多聚甲醛溶液中,固定 24 h 后用于进行切片制作。

1.3.2 草鱼鳃和肝胰脏组织酶活测定

取 0.1 g 左右样品在冰水浴条件下按 1:9 的比例与 PBS 缓冲液制成匀浆,2 500 r/min 10 min 离心后制成匀浆上清,使用 SOD、CAT 酶活试剂盒(南京建成生物工程研究所)进行酶活力测定,使用 GraphPad Prism 9 软件记录数据并制图,实验数据采用 two-way 方差分析(ANOVA),结果采用平均值±标准差(Mean±SE)表示, $P < 0.05$ 为显著性差异。

1.3.3 草鱼鳃和肝胰脏组织病理学观察

在第 72 小时采集的样品经多聚甲醛溶液固定 24 h 后,使用 70% 乙醇溶液进行洗涤并保存。

固定好的组织进行石蜡包埋,使用切片机制成 5 μm 横切切片,经 H.E 染色后用中性树脂封片,使用 Nikon 光学显微镜观察,拍照。

2 结果

2.1 NaHCO₃胁迫对草鱼组织抗氧化酶活力的影响

不同浓度组草鱼鳃组织 SOD 活力随时间变化呈现先升高后下降的情况。在 30 mmol/L 浓度下,鳃组织 SOD 酶活力在 12 h 时达到最高,随后开始下降;在 20 mmol/L 浓度下,鳃组织 SOD 酶活力在 12 h 达到最高值,随后开始下降,在 72 h 时酶活力小幅上升;在 10 mmol/L 浓度下,鳃组织 SOD 酶活力在 12 h 达到最高值,随后缓慢下降。在 6、12 和 24 h 时,30 mmol/L 浓度组鳃组织 SOD 酶活力相比其他组存在明显差异。在 72 h 时,20 mmol/L 浓度下鳃组织 SOD 酶活力相比其他组存在明显差异,见图 1。

不同浓度草鱼肝胰脏组织 SOD 活力随时间变化总体上呈升高的情况,在 30 mmol/L 浓度下,肝胰脏组织 SOD 酶活力在 6 h 时出现下降,并在 24 h 时开始上升,在 72 h 时 SOD 酶活力达到最高;在 20 mmol/L 浓度下,肝胰脏组织 SOD 酶活力仅在 6 和 24 h 时出现下降,酶活力峰值出现在 72 h;在 10 mmol/L 浓度下,肝胰脏 SOD 酶活力 24 h 时出现下降,随后继续上升,SOD 酶活力峰值出现在 72 h。在 4、12 和 24 h,20 mmol/L 浓度组的肝胰脏组织 SOD 酶活力相比其他组存在显著差异,在 2 h 时 30 mmol/L 浓度下肝胰脏组织的 SOD 酶活力显著高于其他组,见图 1。

不同浓度组的草鱼鳃组织 CAT 活力随时间变化总体呈现出先上升后下降的水平,在 30 mmol/L 浓度下,鳃组织 CAT 酶活力在 12 h 达到最高值,随后开始下降,但在 72 h 时 CAT 酶活力上升。在 20 mmol/L 浓度下,鳃组织 CAT 酶活力峰值出现在 12 h,随后开始下降,在 72 h 恢复至初始水平;在 10 mmol/L 浓度下,鳃组织 CAT 酶活力峰值出现在 12 h,随后开始下降并在 72 h 时恢复至初始水平;30 mmol/L 浓度组鳃组织 CAT 酶活力相比其他组存在显著差异,见图 1。

不同浓度组草鱼肝胰脏组织 CAT 酶活力变化随时间变化总体呈先上升后下降的趋势。在 30 mmol/L 浓度胁迫下,肝胰脏组织 CAT 酶活力

峰值出现在2 h,随后开始下降,除24和48 h时上升,在72 h肝胰脏组织CAT酶活力达到最低值并小于空白组初始水平;在20 mmol/L浓度下,肝胰脏组织CAT酶活力峰值出现在2 h,随后开始下降,在72 h时恢复至初始水平;在10 mmol/L浓度下,肝胰脏组织CAT酶活力在2 h达到最高值,随后开始下降,在12 h时下降到初始水平,之后继续下降,在72 h时CAT酶活力明显低于初始水平。在4,6和12 h时20 mmol/L浓度组肝胰脏组织CAT酶活力相比其他组差异更为显著,见图1。

2.2 NaHCO₃胁迫对草鱼组织结构的影响

2.2.1 草鱼鳃组织形态结构变化

根据组织病理学观察,空白组鳃组织结构完整,鳃小片(GL)对称,扁平上皮细胞(PVC)紧密贴合在鳃小片上,线粒体富集细胞(MRC)均匀分布在鳃丝两侧;10 mmol/L NaHCO₃胁迫下的鳃组织鳃丝(GF)变得褶皱、鳃小片变长、PVC发生脱水并且MRC减少;20 mmol/L NaHCO₃胁迫下鳃小片弯曲且末端出现增生、PVC和MRC脱落情况加剧;30 mmol/L浓度时鳃小片缩短、PVC严重脱落,MRC肿胀,见图版I。

2.2.2 草鱼肝胰脏组织结构形态变化

根据组织病理学观察,空白组的肝胰脏结构清晰,肝板排列规则,肝细胞核居中,在空白组肝胰脏组织中有脂肪空泡,但在其他3个浓度组中没有发现明显脂肪空泡现象;10 mmol/L浓度组中肝窦隙增多,肝细胞核发生偏移;20 mmol/L浓度组肝细胞核偏移,肝窦隙增大,胰脏之间空隙增大;30 mmol/L浓度组肝细胞间隙继续增大,胰脏受到损伤,形状不均匀,中央静脉边缘有部分胰腺细胞融入,见图版II。

3 讨论

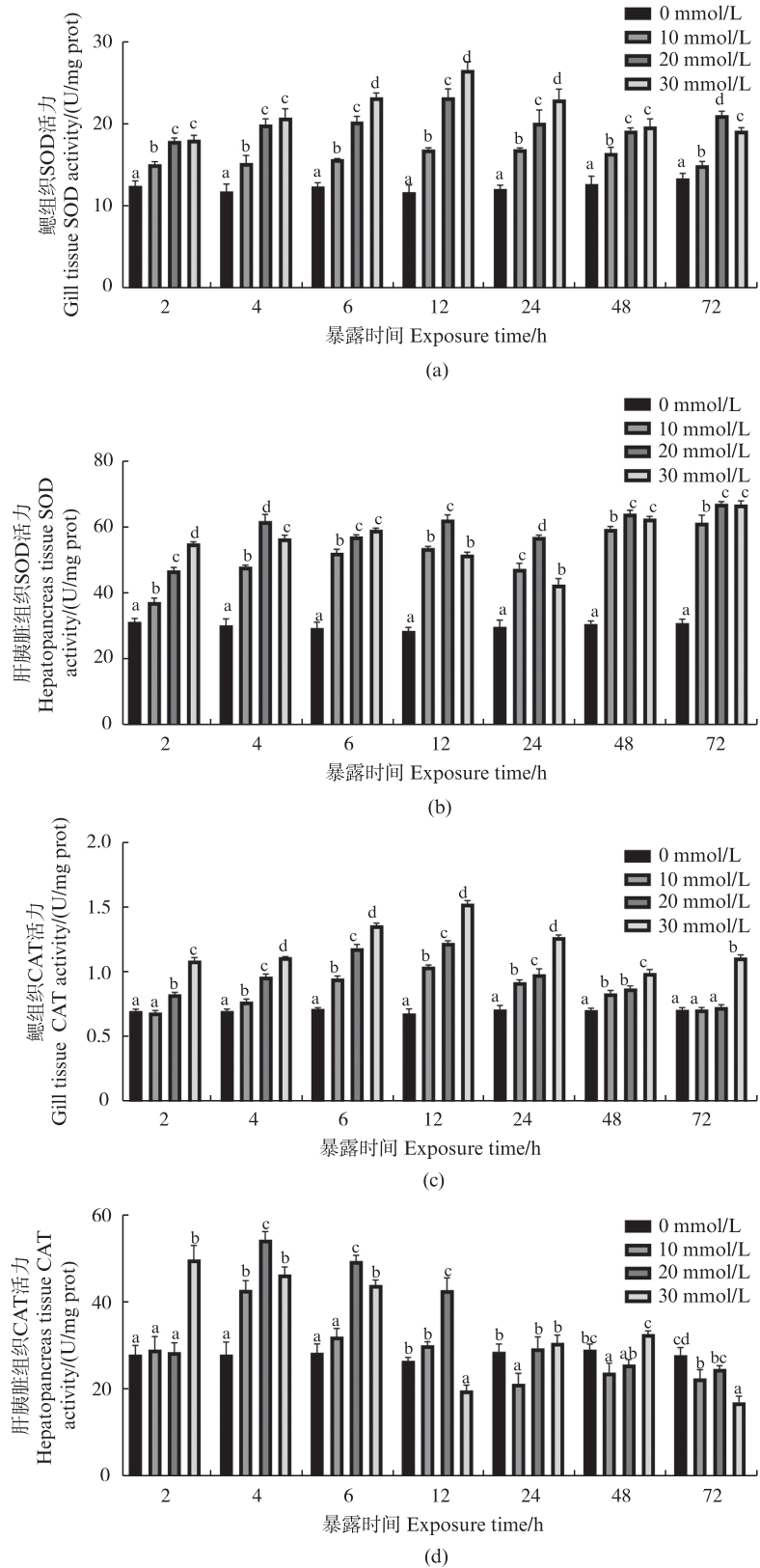
3.1 NaHCO₃胁迫对草鱼鳃和肝胰脏组织的氧化应激

SOD通过歧化反应高效催化超氧化物阴离子(O²⁻),将其转化为H₂O₂和O₂,CAT可以将其代谢为无毒无害的水(H₂O),保护机体不受过氧自由基造成的损害^[18]。研究发现,氨氮暴露后异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*) SOD的活性出现显著性升高,表明SOD在清除ROS和缓解氧化损伤方面发挥了重要作用^[19]。乌苏里白鲑在

NaHCO₃胁迫下CAT活性升高来保护自身不受氧化损伤,且SOD和CAT酶在应对NaHCO₃胁迫时相互协调共同作用^[16]。本研究结果显示,草鱼在NaHCO₃胁迫下鳃和肝胰脏组织都发生了氧化应激,并且在肝胰脏中抗氧化酶活力更高。有学者发现篮子鱼(*Siganus guttatus*)CAT的活力以肝脏中最高^[20],这一结论与本研究的结果一致。在本研究中同样发现,在10和20 mmol/L浓度下草鱼鳃和肝胰脏组织CAT酶活性随着时间的推移,72 h后大致能恢复到正常水平。说明草鱼在低浓度NaHCO₃环境中能通过机体自身的抗氧化调节机制来适应。而在30 mmol/L浓度条件下,两组织抗氧化酶活性胁迫72 h时仍未恢复到正常水平,说明高浓度NaHCO₃环境可能会影响机体抗氧化调节机制适应时间,有待进一步探究。

3.2 NaHCO₃胁迫对草鱼鳃和肝胰脏组织的结构影响

鳃是鱼类进行呼吸和排除代谢废物的主要器官,鱼类通过鳃组织摄取氧气和排出二氧化碳。过高的NaHCO₃浓度会对鳃组织造成损伤,影响其气体交换功能^[17]。有研究发现大鳞鲃(*Luciobarbus capito*)在NaHCO₃胁迫下出现鳃丝肿胀、卷曲,MRC增大,PVC脱落^[21]。也有一些耐盐碱鱼类在胁迫下发生了适应性变化,例如青海湖裸鲤(*Gymnocypris przewalskii*)鳃组织形态结构发生了改变以适应盐碱水造成的低氧环境^[22-24],瓦氏雅罗鱼(*Leuciscus waleckii*)在高浓度NaHCO₃胁迫下为了保持鳃的完整结构性和正常生理功能,鳃丝变宽、鳃小片变长、鳃小片间距变大^[25]。本研究发现,草鱼在NaHCO₃胁迫开始时为适应环境,PVC开始脱水,MRC出现脱落,导致鳃小片变长,尖端收缩变小,使得比表面积增大,这在一定程度上增加水体与鳃丝的接触面积,利于鳃组织与外界环境离子交换和溶氧获取。随着浓度升高,PVC脱水严重导致脱落、坏死,鳃小片变短且厚度变薄,从而减小鳃丝与碱度水体的接触面积。不同浓度鳃组织鳃丝结构匀称到鳃丝变得细长,鳃丝间距增大,再到鳃丝严重翻折和褶皱。说明鳃丝在结构上的改变可能是草鱼对NaHCO₃环境的一个生理适应过程。

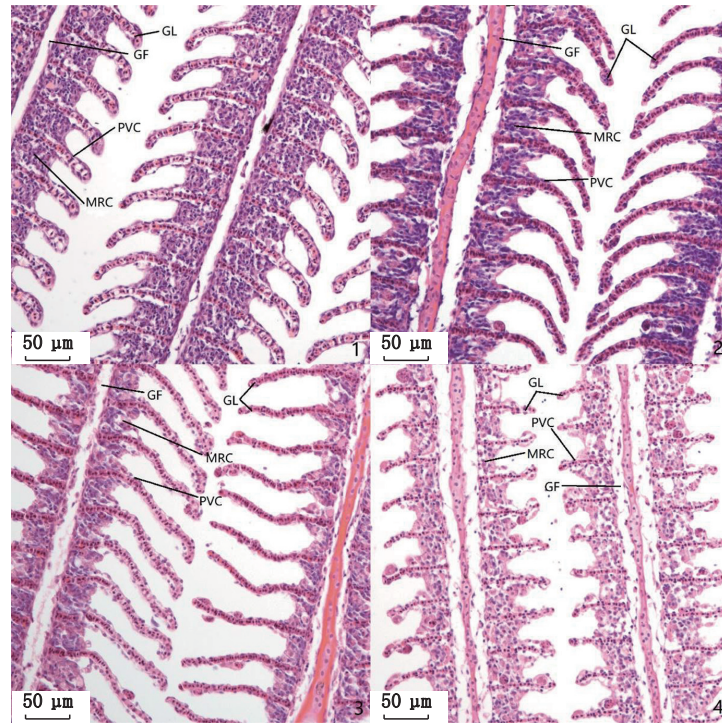


(a), (b)为草鱼鳃和肝胰脏组织SOD活性在72 h内变化图, (c), (d)为草鱼鳃和肝胰脏组织CAT活性在72 h内变化图。不同小写字母上标表示该时间段内显著差异(P < 0.05)。

(a), (b) are the SOD activity changes in gill and hepatopancreas tissues of grass carp within 72 h; (c), (d) are the CAT activity changes in gill and hepatopancreas tissues of grass carp within 72 h. Different lowercase superscripts indicate significant differences in the time period (P < 0.05).

图1 草鱼鳃和肝胰脏组织在NaHCO₃胁迫下的抗氧化酶活性

Fig. 1 Activity of antioxidant enzymes in gill and hepatopancreas tissues of grass carp under NaHCO₃ stress

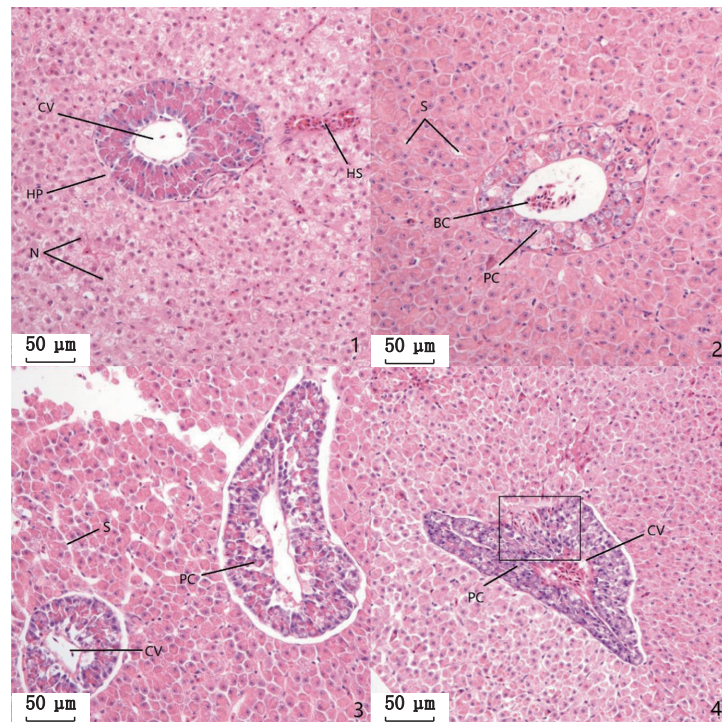


1. 空白组; 2. 10 mmol/L组; 3. 20 mmol/L组; 4. 30 mmol/L组; GF. 鳃丝; GL. 鳃小片; PVC. 扁平上皮细胞; MRC. 线粒体富集细胞。

1. Blank group; 2. 10 mmol/L group; 3. 20 mmol/L group; 4. 30 mmol/L group; GF. Gill filament; GL. Gill lamellae; PVC. Pavement cell; MRC. Mitochondria rich cells.

图版 I 不同浓度 NaHCO_3 胁迫 72 h 草鱼鳃组织的显微结构

Plate I Microstructure of gill tissue of grass carp under different NaHCO_3 stress for 72 h



1. 空白组; 2. 10 mmol/L组; 3. 20 mmol/L组; 4. 30 mmol/L组; CV. 中央静脉; HP. 肝板; N. 细胞核; HS. 肝血窦; S. 肝窦; BC. 血细胞; PC. 胰腺细胞。

1. Blank group; 2. 10 mmol/L group; 3. 20 mmol/L group; 4. 30 mmol/L group; CV. Central vein; HP. Hepatic plate; N. Nucleus; V. Vacuolar; HS. Hepatic sinusoid; S. Sinusoid; BC. Blood cells; PC. Pancrea cells.

图版 II 不同浓度 NaHCO_3 胁迫 72 h 草鱼肝胰脏组织的显微结构

Plate II Microstructure of hepatopancreas tissue of grass carp under different NaHCO_3 stress for 72 h

肝脏是鱼类体内代谢与氧化还原的主要器官,承担着各项代谢、解毒与免疫等重要功能。肝脏作为一个极敏感的器官,也是鱼类进行物质代谢的重要枢纽,外源异生物质主要在肝中进行生物转化^[26]。并且有研究发现肝细胞内的物质合成速度与内循环系统的释放速度失衡会导致细胞空泡化^[27]。在本研究中,通过组织病理学观察发现,随NaHCO₃浓度升高,胰腺细胞表现出明显的细胞肿胀和细胞间隙扩展,这种组织损伤可能是由于胰腺细胞在NaHCO₃下发生的细胞膜损伤和结构不稳定所致。胰腺作为重要的内分泌和外分泌器官,其功能受损可能会触发全身性的免疫反应,导致炎症介质的释放和免疫细胞的活化。这种免疫反应可能对胰腺的进一步损伤起到加剧作用,同时也可能是鱼类对抗胁迫的一种防御机制。空泡化现象仅在空白组中出现,推测NaHCO₃胁迫可能对草鱼脂质代谢产生了影响。同时肝细胞的损伤可能与Na⁺、OH⁻、NH₃等物质在肝脏的代谢密切相关,NaHCO₃胁迫造成肝脏损伤可能会降低草鱼肝脏清除体内有害代谢产物的能力。

综上,本实验通过对草鱼进行NaHCO₃胁迫,利用酶活测定、组织病理学方法对草鱼鳃和肝组织的生理生化指标进行分析,发现草鱼在NaHCO₃胁迫下产生氧化应激,在短期内影响了抗氧化酶水平,且鳃和肝组织在胁迫下都受到组织损伤。本实验可以为草鱼在盐碱水养殖和开展草鱼耐盐碱育种提供一定参考。

参考文献:

- [1] 陈学洲, 来琦芳, 么宗利, 等. 盐碱水绿色养殖技术模式[J]. 中国水产, 2020(9): 61-63.
CHEN X Z, LAI Q F, YAO Z L, et al. Green culture technology model of saline-alkali water [J]. China Fisheries, 2020(9): 61-63.
- [2] 梁利群, 任波, 常玉梅, 等. 中国内陆咸(盐碱)水资源及渔业综合利用[J]. 中国渔业经济, 2013, 31(4): 138-145.
LIANG L Q, REN B, CHANG Y M, et al. Inland brackish (alkaline-saline) water resources and fisheries utilization in China[J]. Chinese Fisheries Economics, 2013, 31(4): 138-145.
- [3] 姜秋隍, 蔺玉华, 王信海, 等. NaHCO₃对卡拉白鱼生长及渗透调节的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2008, 30(1): 106-110, 118.
JIANG Q L, LIN Y H, WANG X H, et al. Effect of NaHCO₃ on growth and osmoregulation of *Chalcalburnus chalcooides aralensis* [J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2008, 30(1): 106-110, 118.
- [4] 常玉梅, 梁利群. 耐盐碱鱼类的生理和分子机制研究进展[J]. 水产学报, 2021, 45(5): 798-812.
CHANG Y M, LIANG L Q. Advances of research of physiological and molecular mechanisms related to alkali-saline adaptation for fish species inhabiting alkali-saline water [J]. Journal of Fisheries of China, 2021, 45(5): 798-812.
- [5] 沈玉帮, 张俊彬, 李家乐. 草鱼种质资源研究进展[J]. 中国农学通报, 2011, 27(7): 369-373.
SHEN Y B, ZHANG J B, LI J L. Advances in studies on genetic resources of grass carp [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2011, 27(7): 369-373.
- [6] SHEN Y B, WANG L, FU J J, et al. Population structure, demographic history and local adaptation of the grass carp [J]. BMC Genomics, 2019, 20(1): 467.
- [7] 徐悦, 梁利群, 孙博, 等. 瓦氏雅罗鱼鳃细胞系的建立及其耐碱生长特性初探[J]. 上海海洋大学学报, 2023, 32(2): 283-291.
XU Y, LIANG L Q, SUN B, et al. Establishment of the gill cell line of *Leuciscus walechii* and alkaline-tolerant growth characteristics [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2023, 32(2): 283-291.
- [8] 王双毅, 梁利群, 常玉梅, 等. 瓦氏雅罗鱼盐碱适应相关InDels位点的挖掘与分析[J]. 中国水产科学, 2022, 29(2): 184-199.
WANG S Y, LIANG L Q, CHANG Y M, et al. Mining and analysis of InDels in response to alkali-saline stress in Amur ide (*Leuciscus walechii*) [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2022, 29(2): 184-199.
- [9] WILKIE M P, WRIGHT P A, IWAMA G K, et al. The physiological adaptations of the lahontan cutthroat trout (*Oncorhynchus clarki henshawi*) following transfer from well water to the highly alkaline waters of Pyramid Lake, Nevada (pH 9.4) [J]. Physiological Zoology, 1994, 67(2): 355-380.
- [10] DANULAT E, KEMPE S. Nitrogenous waste excretion and accumulation of urea and ammonia in *Chalcalburnus tarichi* (Cyprinidae), endemic to the extremely alkaline lake van (eastern Turkey) [J]. Fish Physiology and Biochemistry, 1992, 9(5/6): 377-386.
- [11] WANG Y S, GONZALEZ R J, PATRICK M L, et al. Unusual physiology of scale-less carp, *Gymnocypris przewalskii*, in Lake Qinghai: a high altitude alkaline saline lake [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2003, 134(2): 409-421.
- [12] SUN Y C, HAN S C, YAO M Z, et al. Exploring the

- metabolic biomarkers and pathway changes in crucian under carbonate alkalinity exposure using high-throughput metabolomics analysis based on UPLC-ESI-QTOF-MS[J]. RSC Advances, 2020, 10(3): 1552-1571.
- [13] ZHAO Y, WU J W, WANG Y, et al. Role of miR-21 in alkalinity stress tolerance in tilapia [J]. Biochemical and Biophysical Research Communications, 2016, 471(1): 26-33.
- [14] 赵兰, 徐鹏, 孙效文. 碳酸盐碱度胁迫下鲤鱼氨排泄相关基因的差异表达[J]. 生物技术通报, 2013(4): 185-193.
- ZHAO L, XU P, SUN X W. Ammonia excretion related genes expression of common carp under the stress of carbonate alkalinity [J]. Biotechnology Bulletin, 2013(4): 185-193.
- [15] YAO Z L, LAI Q F, HAO Z R, et al. Carbonic anhydrase 2-like and Na⁺-K⁺-ATPase α gene expression in medaka (*Oryzias latipes*) under carbonate alkalinity stress[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2015, 41(6): 1491-1500.
- [16] 刘雪峰, 黄天晴, 刘恩慧, 等. 碳酸盐碱度胁迫对乌苏里白鲑幼鱼生长、抗氧化能力和生长基因表达的影响[J]. 水产学杂志, 2024, 37(1): 1-8.
- LIU X F, HUANG T Q, LIU E H, et al. Effects of carbonate alkalinity stress on growth, antioxidant capacity and expression of growth-related genes in ussuri whitefish *Coregonus ussuriensis* [J]. Chinese Journal of Fisheries, 2024, 37(1): 1-8.
- [17] 温健. 高NaHCO₃碱度下草鱼生长和生理适应研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2023.
- WEN J. Growth and physiological adaptation of grass carp at high NaHCO₃ alkalinity stress[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2023.
- [18] 王召, 彭舒, 孟立霞. 噻虫嗪对鲫鱼的急性毒性和抗氧化酶及乙酰胆碱酯酶活性的影响[J]. 水产科学, 2020, 39(6): 922-927.
- WANG Z, PENG S, MENG L X. Acute toxicity of thiamethoxam and activities of antioxidant enzymes and acetylcholinesterase in juvenile crucian carp *Carassius auratus*[J]. Fisheries Science, 2020, 39(6): 922-927.
- [19] 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.
- 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.
- [20] 王妤, 庄平, 章龙珍, 等. 盐度对点篮子鱼的存活、生长及抗氧化防御系统的影响[J]. 水产学报, 2011, 35(1): 66-73.
- WANG Y, ZHUANG P, ZHANG L Z, et al. Effects of salinity on survival, growth and antioxidant defense system of *Siganus guttatus* [J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(1): 66-73.
- [21] 张宇婷. 基于转录组技术的大鳞鲃盐碱胁迫免疫应激响应研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2020.
- ZHANG Y T. Study of immunological reaction of *Luciobarbus capito* under saline-alkali stress based on transcriptome sequencing technology [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2020.
- [22] MATEY V, RICHARDS J G, WANG Y X, et al. The effect of hypoxia on gill morphology and ionoregulatory status in the Lake Qinghai scaleless carp, *Gymnocypris przewalskii* [J]. Journal of Experimental Biology, 2008, 211(7): 1063-1074.
- [23] 秦桂香, 魏青, 余家庆. 青海湖裸鲤肌肉和鳃组织结构特征[J]. 青海大学学报(自然科学版), 2010, 28(2): 4-7.
- QIN G X, WEI Q, YU J Q. Histological characterization muscular and gill of *Gymnocypris przewalskii*[J]. Journal of Qinghai University (Natural Science), 2010, 28(2): 4-7.
- [24] 张仁意, 李国刚, 张存芳, 等. 不同生境下青海湖裸鲤 (*Gymnocypris przewalskii*) 两亚种鳃形态差异及其功能适应[J]. 动物学研究, 2013, 34(4): 387-391.
- ZHANG R Y, LI G G, ZHANG C F, et al. Morphological differentiations of the gills of two *Gymnocypris przewalskii* subspecies in different habitats and their functional adaptations[J]. Zoological Research, 2013, 34(4): 387-391.
- [25] 高珊, 常玉梅, 赵雪飞, 等. 不同NaHCO₃碱度对瓦氏雅罗鱼鳃组织结构的影响[J]. 水生生物学报, 2020, 44(4): 736-743.
- GAO S, CHANG Y M, ZHAO X F, et al. The effect of different bicarbonate alkalinity on the gill structure of amur ide (*Leuciscus waleckii*) [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2020, 44(4): 736-743.
- [26] 黄雨薇, 叶元土, 蔡春芳, 等. MDA对草鱼肠道黏膜结构屏障损伤和肝胰脏、肠道胆固醇、胆汁酸合成影响[J]. 水生生物学报, 2016, 40(4): 869-878.
- HUANG Y W, YE Y T, CAI C F, et al. The damage of intestinal mucosa barrier structure and the effect of cholesterol and bile acid synthesis pathway in the liver and intestine under MDA in grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2016, 40(4): 869-878.
- [27] 温久福, 蓝军南, 周慧, 等. 不同盐度对花鲈幼鱼消化器官组织结构的影响[J]. 南方农业学报, 2019, 50(12): 2826-2832.
- WEN J F, LAN J N, ZHOU H, et al. Effects of different salinities on histological structure of digestive organs of juvenile *Lateolabrax maculatus* [J]. Journal of Southern Agriculture, 2019, 50(12): 2826-2832.

Effects of NaHCO₃ stress on antioxidant enzymes and tissue structure in gill and hepatopancreas of grass carp

CHEN Liwei¹, JIANG Yuchen¹, JIA Xuewen¹, LI Jiale^{1,2}, QIU Junqiang^{1,2}, SHEN Yubang^{1,2}

(1. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Germplasm Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 2. Shanghai Aquaculture Engineering and Technology Research Center, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: In order to explore the effects of NaHCO₃ stress on antioxidant enzymes and tissue structure of gill and hepatopancreas of grass carp, three NaHCO₃ concentration groups (10, 20, 30 mmol / L) were used to stress grass carp with NaHCO₃, and the antioxidant enzymes (SOD, CAT) activity and histopathological observation of gill and hepatopancreas were carried out. The results showed that under NaHCO₃ stress, the activities of SOD and CAT in gill and CAT in hepatopancreas of grass carp increased first and then decreased within 72 h, and only the activity of SOD in hepatopancreas increased within 72 h. In each experimental group, the activities of antioxidant enzymes in the two tissues were significantly different from those in the blank group. Compared with the blank group, in the gill tissue of grass carp in the experimental group, the gill filaments were seriously folded and wrinkled, the PVC of the flat epithelial cells was seriously exfoliated, and the MRC of the mitochondria-enriched cells was swollen; in the hepatopancreas, the swelling of the pancreatic cells, the increase of the intercellular space, the deviation of the hepatocyte nucleus and the decrease of the vacuolization were observed. Studies have shown that NaHCO₃ stress can affect the antioxidant level of grass carp and cause tissue damage to the gills and hepatopancreas of grass carp, and the degree of damage increases with the increase of concentration. This study could provide reference for the breeding and application of grass carp in saline-alkali waters.

Key words: grass carp; NaHCO₃ stress; gill and hepatopancreas tissue; histopathology; antioxidant enzymes