

doi: 10.7541/2013.147

三角帆蚌内脏团不同插核部位对机体生理代谢的影响

黄 凯¹ 施志仪^{1,2} 李文娟¹ 李 倩¹

(1. 上海海洋大学农业部水产种质资源与养殖生态重点开放实验室, 上海 201306;

2. 上海海洋大学, 上海市高校水产养殖学 E-研究院, 上海 201306)

摘要: 研究旨在探明内脏团不同插核部位对三角帆蚌机体生理代谢的影响。试验选取 2 龄三角帆蚌 180 只, 随机分成 5 个实验组和 1 个对照组, 实验组按内脏团 5 个部位(I. 斧足内脏团前端; II. 斧足内脏团中部; III. 近生殖腺部; IV. 近胃部; V. 近肾部)进行插核, 并分别在插核后第 5、10、20、50 天(thd)采集蚌体淋巴血样, 检测机体的尿酸及肝、肾生理指标的变化, 以及插核对珍珠质沉积相关的钙含量和碱性磷酸酶活力的影响。结果表明: (1)与对照组相比, 插核手术处理的蚌体与对照组机体生理指标有显著差异($P<0.05$)。 (2) 5 个插核组试验蚌术后 5—20thd 尿酸含量显著高于 50thd 时($P<0.05$), 且 V 组尿酸含量在 10—50thd 显著高于其余各组。 (3)各插核组尿素氮、肌酐含量 5thd 时均显著高于 50thd ($P<0.05$), 其中 I、III 组 20—50thd 无显著变化, V 组的尿素氮含量除 5thd 外, 其余各个时期均显著高于其他各组($P<0.05$)。 (4) I、II、III 组谷丙和谷草转氨酶活性在 20thd 前均显著低于 50thd 时($P<0.05$), IV 组谷丙和谷草转氨酶活力除了 10thd 外, 均显著高于其余插核组, V 组的谷丙和谷草转氨酶活力, 在 20thd 之后均仅次于 IV 组, 并显著高于 I、II、III 组。 (5) I 组插核后 10thd 血液钙含量显著低于 5thd 时, 10—50thd 间无显著变化; II、III 组血液钙含量变化呈先增大后降低的趋势, 在 20thd 达到峰值; IV 组血液钙含量随着试验期的延长显著降低, V 组血液钙含量 10、50thd 时显著高于其余 4 组。 II、III 组碱性磷酸酶活力无显著变化, I、IV 组显著降低($P<0.05$), 而 V 组在 5—20thd 显著升高, 20—50thd 显著降低, 20thd 时出现峰值。研究结果显示, 三角帆蚌内脏团插核后 20d 内机体各生理指标显著变化, 之后趋于稳定, 表明其术后 20d 可能是机体损伤的修复和功能恢复以及钙性磷酸酶含量逐步稳定的关键时期。

关键词: 三角帆蚌; 内脏团插核; 生理代谢; 钙含量; 碱性磷酸酶

中图分类号: S968.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2013)06-1085-09

三角帆蚌(*Hyriopsis cumingii*)是我国淡水珍珠培育的主要蚌种。目前淡水珍珠培育的主要方式是在紧贴蚌壳外套膜结缔组织内, 所采用的是外套膜小片植入技术, 其产生的珍珠为无核珍珠, 一般来说, 育珠周期较长, 珍珠颗粒较小, 圆珠率低, 且形状不规则, 远远满足不了国际市场对于高档珍珠的需求, 尤其是直径为 8 mm 以上的正圆大珍珠。因此, 淡水育珠正在出现“植核育珠”代替“植片育珠”的发展趋势^[1]。不管是“植片育珠”或是“植核育

珠”, 植入的部位都在外套膜内外表皮之间的结缔组织中。由于此部位空间的限制, 因此形成的珍珠大多为小颗粒珍珠, 难以形成正圆大珍珠。近年来淡水育珠正致力于内脏团插核的研究^[2]。

内脏团体积较大, 是培育正圆大珍珠的潜在部位。近年来对内脏团可供选择的插核位点的研究已被相继报道。吴宗文等^[3]提出在三角帆蚌和褶纹冠蚌的内脏团斧足下方两边的生殖腺处植核, 发现该部分插核较困难; 李庆乐^[4]多次在三角帆蚌的足部、

收稿日期: 2012-05-14; 修订日期: 2013-05-01

基金项目: 教育部博士点基金(No.20123104120003); 上海市优青项目(No.ssc11004); 国家自然科学基金项目(31201991); 上海海洋大学博士启动基金及水生生物重点学科开放基金项目资助

作者简介: 黄凯(1987-), 男, 山东聊城人; 硕士研究生; 主要从事水生动物细胞分子生物技术研究。E-mail: nuerhachihuang@163.com

通信作者: 施志仪, 教授, 博士生导师; 主要从事水生动物生物技术及遗传学研究。E-mail: zyshi@shou.edu.cn

内脏团部植核均未成功,植核蚌死亡率很高;吴县水产局将 8—10 mm 大型核送入三角帆蚌和褶纹冠蚌内脏团唇瓣下面(位于肝脏下部)和内脏团背部(围心腔下方),但核脱落特别多,留核率很低,还损伤了内脏器官引起送核蚌死亡^[5]等。高死亡率主要因为内脏团汇集了所有生理事官,在靠近不同器官的部位插核,都会引起不同的机体损伤及生理代谢反应,且三角帆蚌自身机体的生理代谢又直接影响珍珠的质量。

目前淡水珍珠养殖的基础研究尚不深入,与插核相关的生理代谢研究还相当薄弱,制约了珍珠产业的重大突破和革新。本研究旨在分析内脏团不同插核部位对三角帆蚌机体损伤及钙代谢指标的影响,为三角帆蚌淡水有核珍珠的内脏团培育提供有关生理代谢的基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

三角帆蚌购自金华市三角帆蚌养殖厂的二龄蚌,体重为 (72.9 ± 5.13) g,壳长为 (11.78 ± 1.06) cm。珠核购自江西鄱湖珍珠核工艺有限责任公司,大小为 3 mm。

三角帆蚌吊养于室内水族箱内,吊养深度 20—30 cm,试验期间连续充气,自然光照,循环水系统,水温保持在 $(22.5 \pm 1.7)^{\circ}\text{C}$,并以池塘天然饵料(硅藻、裸藻、隐藻等混合藻类)喂养给其提供营养。每周测一次水质,模拟池塘养殖条件,水族箱中水体 pH 控制在 8.2—8.8,溶氧量(DO)控制在 6.5—7.8 mg/L,电导率(CD)控制在 0.225—0.240。

选取二龄健康蚌 180 只随机分成 5 个实验组和 1 个对照组,每组设 5 个平行小组,每小组 6 只蚌放在一个水族箱内。实验组按内脏团插核不同部位分为: I (斧足-内脏团前端)、II (斧足-内脏团中部)、III (近生殖腺部)、IV (近胃部)、V (近肾部)等 5 组,在 2011 年 11 月 10 日进行插核工作,插核方法参照张元培淡水有核珍珠插核方法。试验期为 50d,在插核后第 5、10、220、50 天(thd),于实验组的每小组取 1 只蚌抽血检测各生理指标。对照组不进行插核手术,取样方法与实验组相同。取样前 0.5h 将蚌从水中取出,防止其在抽血检测操作时产生应激反应。每 10d 测一次体重,并在插核后 1、5、15、30、50 thd 统计吐珠情况。

1.2 血清样本制备

用 10 mL 无菌注射器自三角帆蚌闭壳肌抽去血

淋巴 2 mL, 3000 r/min 离心 10min 得血清,用于检测反映机体损伤指标的尿酸含量,肾功能指标的血肌酐含量、尿素氮含量,肝脏代谢指标的谷丙转氨酶、谷草转氨酶活力以及钙代谢相关指标的钙含量和碱性磷酸酶活力。

1.3 机体损伤指标和肾、肝指标的测定

机体损伤指标测定:尿酸含量采用磷钨酸还原法测定。肾功能指标测定:肌酐含量采用除蛋白法测定。尿素氮用南京建成试剂盒测定,采用脲酶法。肝功能指标测定:谷丙转氨酶、谷草转氨酶均采用赖氏法,以卡门氏单位(KU)报告结果。谷丙、谷草转氨酶活力单位定义为:规定酶在 37°C 与底物作用 30min 后,能产生 2.5 μg 的丙酮酸为一个谷丙转氨酶活力单位。KU 定义为:1 mL 血清,反应液总容量 3 mL,波长 340 nm,1 cm 光径, 25°C ,1min 内所产生的丙酮酸,使 NADH 氧化成 NAD^{+} 而引起吸光度每下降 0.001 为一个单位(1 卡门氏单位=0.482 IU/L, 25°C)。相关试剂购于南京建成生物有限公司。

1.4 钙代谢相关指标测定

钙含量、碱性磷酸酶均采用南京建成试剂盒。碱性磷酸酶活力单位定义:每克组织蛋白在 37°C 与基质作用 15min 产生 1 mg 酚为 1 单位。

1.5 数据处理

试验数据以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,采用 SAS 数据分析软件进行 ANOVA 分析, Duncan 氏多重比较分析各组间显著性差异,以 $P < 0.05$ 作为差异显著性标准。

2 结果

2.1 育珠蚌插核后体重和吐珠情况分析

由图 1 可知,三角帆蚌插核后 1—20thd 育珠蚌生长缓慢,20thd 之后增长速率显著加快($P < 0.05$)。其中,10thd 比 1thd 育珠蚌体重没有显著变化,20thd 比 1thd 育珠蚌体重增加显著,之后各检测时间点(20、20、40、50thd)育珠蚌组间体重都存在显著差异($P < 0.05$)。

由图 2 中可看出,5 个处理组吐珠现象主要出现在插核后 1—5thd,5thd 的吐珠率显著高于 1thd ($P < 0.05$)。5thd 之后各组吐珠率无显著差别,其中 IV、V 组吐珠率在 5thd 之后显著高于其余 3 组 ($P < 0.05$),分别达到了 33.3%和 40%。III 组吐珠率在整个试验期均显著低于其余 4 组 ($P < 0.05$),50thd 的吐珠率为 16.7%。

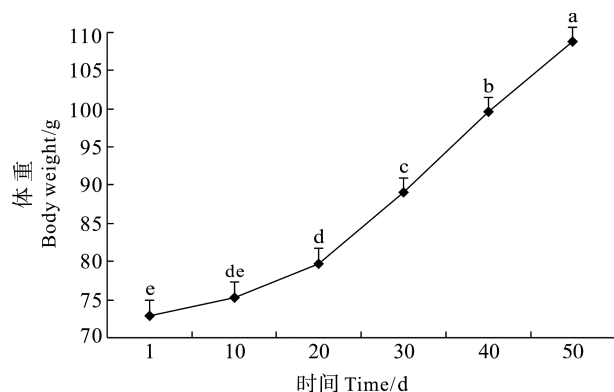


图1 三角帆蚌插核后体重变化

Fig. 1 The change of weight of *Hyriopsis cumingii* after inserting-nucleus

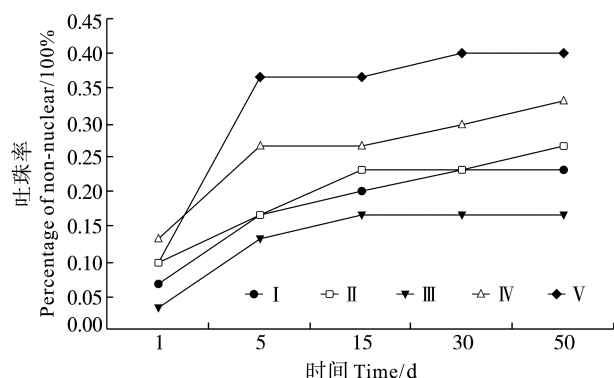


图2 三角帆蚌插核后吐珠率分析

Fig. 2 The analysis of percentage of non-nuclear after inserting-nucleus in *Hyriopsis cumingii*

2.2 三角帆蚌插核组与对照组间各生理指标差异分析

由图 3 可知,三角帆蚌内脏团各插核组生理指标与未插核的对照组间存在显著差异($P<0.05$)。各处理组尿酸含量均显著高于对照组($P<0.05$),其中 II、III、IV 组无显著差异, V 组含量最高, I 组次之。肌酐含量 V 组最高, III、VI 组仅次之,且无显著差异,剩余 3 组肌酐含量最低,且无显著差异。尿素氮含量 V 组最高, IV 组次之, I 组含量显著低于其余 5 组($P<0.05$), II、III、VI 组尿素氮含量无显著差异。I 组谷草转氨酶活力显著低于其余 5 组, VI 组最高, V 组次之,其余 3 组无显著差异。VI 组谷丙转氨酶活力最高,对照组次之, I、II、III 组无显著差异,但显著低于其余 3 组($P<0.05$)。对照组钙含量显著低于其余 5 组, V 组最高, III 组次之,其余 3 组无显著差异。II 组碱性磷酸酶活力最高,显著高于其余 5 组($P<0.05$), IV、V、VI 组无显著差异,酶活力仅次于 II 组, III 组酶活力最低。

2.3 三角帆蚌不同部位插核对机体损伤的影响

三角帆蚌内脏团不同部位插核对血液尿酸的影响由图 4 可见,插核后 5thd, I、II 组血液尿酸含量较之 III、IV、V 组显著高($P<0.05$),而 III、IV、V 组无显著差异。20thd 之前, I、II 组血液尿酸含量无显著变化, III、IV、V 组在 10thd 尿酸含量显著高于 5thd ($P<0.05$),并在 10thd 分别出现了峰值。III、IV 组 20thd 尿酸含量比 10thd 非显著性降低, V 组则呈显著性降低($P<0.05$)。5 组在 20thd 的尿酸含量,没有显著差异。5 组 50thd 时尿酸含量均显著低于 20thd ($P<0.05$),其中 V 组显著高于其他 4 组($P<0.05$),其余 4 组在 50thd 时无显著差异。

三角帆蚌内脏团不同部位插核对肾功能的影响插核后 5thd, I、II、V 组尿素氮含量显著低于 III、IV 组,其中 I、II、V 组无显著差异, III、IV 组无显著差异(图 5)。I、II、III 组 20thd 时尿素氮含量显著低于 5thd ($P<0.05$)。IV 组 10thd 显著降低 5thd 的尿素氮含量($P<0.05$),10thd 之后再次出现显著增高($P<0.05$)。V 组 5—20thd 有一个显著增高($P<0.05$),从 10—20thd 没有显著变化。20thd 之后, I 组无显著变化,尿素氮含量趋于稳定, II、IV、V 组出现显著下降($P<0.05$), III 组显著升高($P<0.05$)。其中 50thd 时, V 组的尿素氮含量仍显著高于其他 4 组($P<0.05$)。

图 6 显示,插核后 5thd, 5 个试验组肌酐均有显著差异($P<0.05$),从 5—50thd, I 组肌酐含量呈波浪式变化, II 组 10thd 时的肌酐含量显著高于 5thd ($P<0.05$),高峰期一直持续到 20thd, 20thd 之后显著降低($P<0.05$)。10thd 时 III 组肌酐含量极显著低于 5thd ($P<0.01$),10—50thd 没有显著变化。IV 组肌酐含量在整个试验期内没有显著变化。V 组肌酐含量在 5—20thd 无显著变化, 20thd 之后出现显著降低($P<0.05$)。除第 1 组外,其余 4 组的肌酐含量在 50thd 时,没有显著差异。

三角帆蚌内脏团不同部位插核对肝脏代谢的影响三角帆蚌内脏团不同插核部位对血液谷丙转氨酶和谷草转氨酶活力的影响差异显著($P<0.05$)。如图 7 所示,插核后 5d, I、II、III、V 组谷草转氨酶活力差异不显著, IV 组显著高于其他 4 组($P<0.05$)。从 5—20thd, I 组谷草转氨酶活力显著降低($P<0.05$),而 II 组显著升高($P<0.05$), III 组其酶活

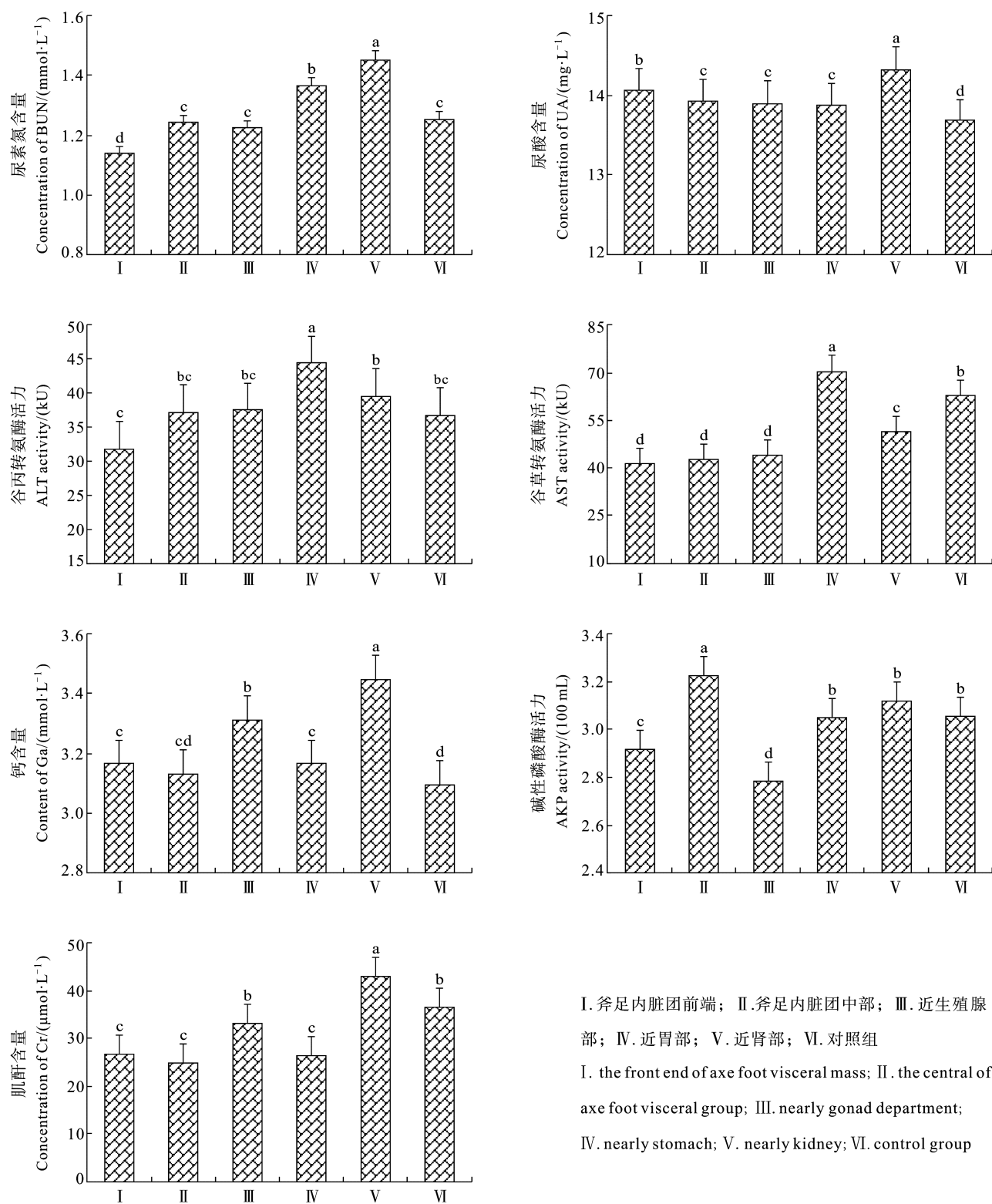


图3 插核实验组与对照组各生理指标显著分析

Fig. 3 The significance analysis of physiological indexes among treatment groups and control groups in *Hyriopsis cumingii*

呈非显著性升高, IV组、V组 10thd 时谷草转氨酶活力显著低于 5thd ($P<0.05$), 10thd 之后显著升高 ($P<0.05$)。除 II 组显著降低外, 其余 4 组 50thd 时均

显著高于 20thd 时谷草转氨酶活力 ($P<0.05$)。其中, I、II 两组的酶活力显著低于其他 3 组。

由图 8 可知, 插核后 5—10thd, 除 I 组血液谷

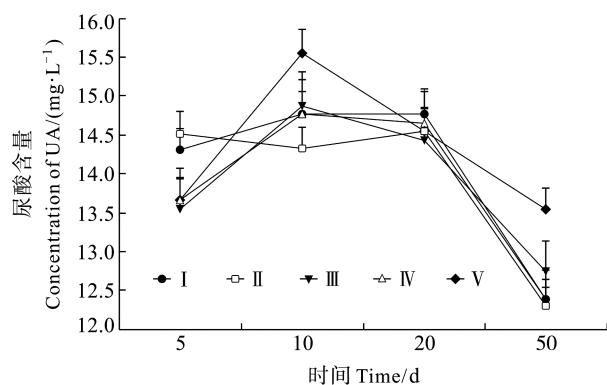


图 4 三角帆蚌内脏团不同插核部位对血液尿酸的影响

Fig. 4 The effect of different inserting-nucleus locations in viscera mass on blood Uric acid in *Hyriopsis cumingii*

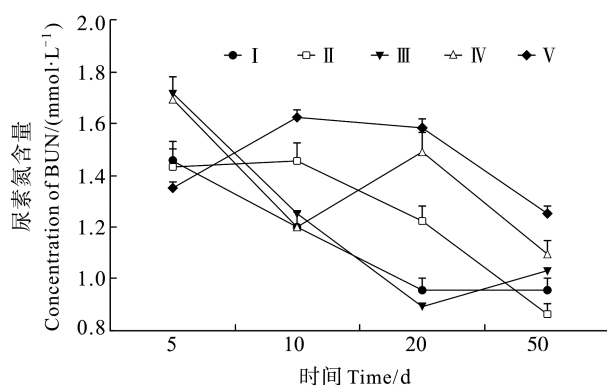


图 5 三角帆蚌内脏团不同插核部位对血液尿素氮的影响

Fig. 5 The effect of different inserting-nucleus locations in viscera mass on blood urea nitrogen in *Hyriopsis cumingii*

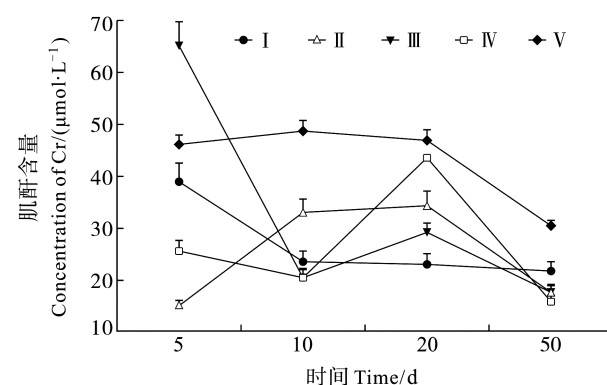


图 6 三角帆蚌内脏团不同插核部位对血液肌酐的影响

Fig. 6 The effect of different inserting-nucleus locations in viscera mass on blood urine creatinine in *Hyriopsis cumingii*

丙转氨酶活力显著升高($P<0.05$), II 组非显著降低外, 其余 3 组 10thd 的该酶活力均显著低于 5thd ($P<0.05$)。从 10thd 以后, 5 个试验组血液谷丙转氨酶活力均出现显著升高($P<0.05$), 其中 I 组显著小于其他 4 组($P<0.05$)。IV 组谷丙转氨酶活力显著高于其余 4 组($P<0.05$), 其余 3 组无显著差异。

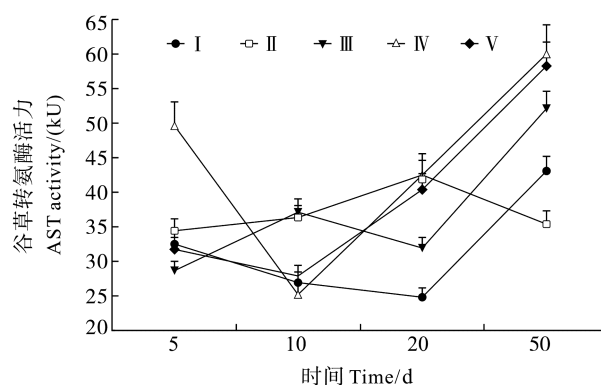


图 7 三角帆蚌内脏团不同插核部位对血液谷草转氨酶活力的影响

Fig. 7 The effect of different inserting-nucleus locations in viscera mass on blood glutamicoxaloacetic transaminase activity in *Hyriopsis cumingii*

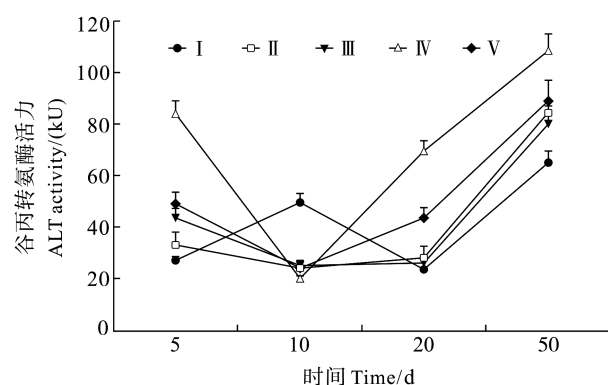


图 8 三角帆蚌内脏团不同插核部位对血液谷丙转氨酶活力的影响

Fig. 8 The effect of different inserting-nucleus locations in viscera mass on blood glutamate alanine aminotransferase activity in *Hyriopsis cumingii*

2.4 三角帆蚌内脏团不同部位插核对血液钙代谢的影响

插核后, I、IV 组钙含量均在整个试验期内显著下降($P<0.05$), 其中 10—50thd 时, I 组变化不显著。II、III 组 20thd 时钙含量显著高于 5thd ($P<0.05$), 20d 之后显著下降($P<0.05$), 峰值出现在 20thd。V 组 10thd 时的钙含量非显著性高于 5thd, 10thd 之后显著降低($P<0.05$)。其中, V 组在 4 个检测时期, 其钙含量均较高(图 9)。

由图 10 可知, I 组 10thd 时碱性磷酸酶活力显著高于 5thd ($P<0.05$), 10thd 之后显著下降($P<0.05$)。II、V 两组 20thd 时酶活显著高于 5thd ($P<0.05$), 20thd 之后显著降低($P<0.05$)。III 组碱性磷酸酶活力 20thd 时显著高于 10thd ($P<0.05$), 其中 10thd 之前无显著变化, 20thd 之后显著降低($P<0.05$)。IV 组在试验

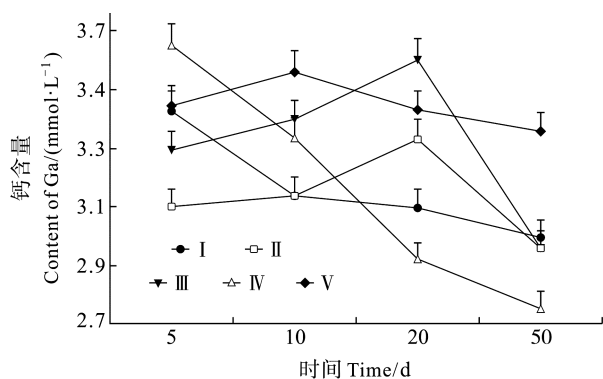


图9 三角帆蚌内脏团不同插核部位对血液钙含量的影响

Fig. 9 The effect of different inserting-nucleus locations in viscera mass on blood calcium in *Hyriopsis cumingii*

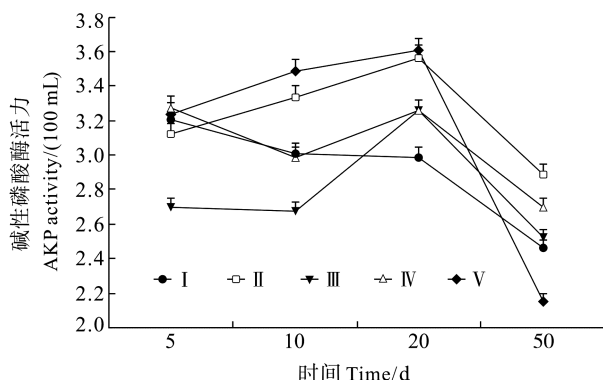


图10 三角帆蚌内脏团不同插核部位对血液碱性磷酸酶活力的影响

Fig. 10 The effect of different inserting-nucleus locations in viscera mass on blood alkaline phosphatase activity in *Hyriopsis cumingii*

期间碱性磷酸酶活力显著下降($P<0.05$), 其中第10thd 时显著低于5thd 和20thd, 显著高于50thd 时碱性磷酸酶活力。

3 讨论

采用内脏团插核育珠是目前研究培育淡水贝类大颗粒有核珍珠的热点之一^[1], 关于三角帆蚌内脏团插核部位的选择, 文献报道不一, 内脏团合适的插核部位是关系到术后育珠蚌的成活、育珠成败的关键因素。目前, 对于内脏团插核培育淡水珍珠的研究还不够深入, 对于插核后蚌体的机体损伤研究还没有系统的开展, 本研究针对这一关键科学问题, 从插核后机体各生理指标的变化研究了插核部位对生理代谢的影响。研究表明, 内脏团插核手术的实施对育珠蚌机体都产生了不同程度的损伤。

试验采用室内模拟池塘养殖条件, 并使各插核组间处理条件保持一致, 研究内脏团插核手术

对蚌体产生损伤的影响。实验室以往均用豆浆饲养育珠蚌, 但王岩等^[6]研究表明, 豆浆喂养的蚌体重和蚌壳增长率均远低于天然饵料饲养的蚌。并且费志良等^[7]研究表明, 三角帆蚌天然饵料主要由硅藻、隐藻、裸藻组成。所以在本试验中, 采用由硅藻、隐藻、裸藻混合成的天然饵料来投喂, 这样既可以保证蚌体生长的营养需求, 又可与池塘营养结构相一致。

本研究结果显示, 插核手术后, 各组试验蚌的尿酸含量在5—20thd 一直处于较高的水平, 而后显著降低, 这暗示了术后5—20thd 内机体会出现代谢紊乱, 20—50thd 的期间里, 机体代谢开始趋于正常化, 手术所造成的创伤可能逐步愈合。这与贾彬等研究尿酸水平与代谢紊乱成正相关相一致^[8]。从插核后血液尿酸含量来看, 斧足内脏团前端、斧足内脏团中部(I、II)插核组在插核后20d 内处于较高的水平, 这可能由于插核部位在斧足处, 影响了其正常活动, 致使其代谢紊乱较其他三组早。

尿酸为体内核酸(包括食物中的核酸)中嘌呤的代谢终末产物^[9]。Poulter^[10]认为, 血尿酸与多种代谢紊乱密切相关。Choi, *et al.*^[11]也认为, 尿酸含量可能成为代谢综合征检测的新指标。因此本实验将尿酸测定作为机体损伤的指标。尿酸主要由尿液从肾脏中排泄, 近肾部插核手术, 难免会对肾脏形成损伤, 所以造成尿酸排泄障碍, 近肾部(V)插核组尿酸、尿素氮含量在插核后显著高于其余几组, 推测近肾部插核手术的实施对肾脏产生了较大的损伤。插核手术会造成蚌体各项机能紊乱, 导致各重要器官功能降低^[12]。血肌酐及尿素氮是反映肾功能的重要指标^[13, 14], 尿素氮是蛋白质代谢的最终产物, 氨基酸脱氨基产生 NH_3 和 CO_2 , 两者在肝脏中合成尿素, 然后通过肾脏排泄^[15]。当肾功能异常时, 尿素氮清除率降低, 血液中的浓度会迅速升高^[16]。肌酐水平的升高是肾脏损害的主要表现^[17]。肌酐经由肾小球(肾脏的重要组成部分)滤过排出体外。在肾功能损害早期可在正常范围之内, 当肾小球滤过率下降到正常的50%以下时(即实质性的损害), 浓度会迅速升高^[16]。在本研究中, 近胃部和近肾部(IV、V)插核组肌酐、尿素氮含量较高且变化趋势基本相同, 表现出肾部损伤及胃功能紊乱, 而斧足内脏团前端、斧足内脏团中部、近生殖腺部(I、II、III)插核组肌酐从10—50thd 的变化趋势, 与尿素氮基本相

同,含量较低,同样暗示了3种插核方法术后恢复较快。本研究说明,5种插核方法所表现出的对肾功能的影响,I、II、III组最小,近肾部(V)组最严重,其中近胃部(IV)插核组由于造成了胃部的损伤,导致机体恢复慢于前三组。而肾脏的损伤一直持续到20d,直到20d之后才开始慢慢修复。

谷丙转氨酶和谷草转氨酶是广泛存在于动物细胞浆和线粒体中的两种重要的转氨酶,在动物体蛋白质代谢过程中,起到重要作用。这两种酶活性高低反映动物体内氨基酸代谢的情况,同时反映肝脏功能,是指示肝细胞功能的敏感指标^[18],也是评价肝脏损伤程度的主要指标^[19]。在正常情况下,血浆中转氨酶活性较低,当肝脏受损时,这两种酶会大量释放到血液中,引起血浆中谷丙转氨酶和谷草转氨酶活性增强^[20]。近胃部插核(IV组)致使谷丙转氨酶和谷草转氨酶活力保持着较高的水平,说明这一位点的插核对于肝脏的生理机能造成了一定的损伤(三角帆蚌肝脏紧挨胃部)。马跃等^[21]研究,肾脏的损害会影响肝脏的功能。近肾部插核(V组)的谷草转氨酶、谷丙转氨酶活力,除5thd外其余各时期酶活力均仅次于IV组,显著高于前三组,可能的原因就是手术造成肾脏受损,进而导致肝脏机能下降,谷丙转氨酶和谷草转氨酶活力升高。肝缺血-再灌注(Ischemia Reperfusion, I-R)是肝脏外科临床中常见的病理生理过程^[22]。在本试验中I、II、III组的谷草转氨酶、谷丙转氨酶活性在20d前的各时期均显著低于50d时,这可能因为斧足内脏团前端、斧足内脏团中部、近生殖腺部(I、II、III)三处位点的插核手术造成I-R(三处插核点均距血窦较近),I-R导致肝脏受损,进而造成谷草转氨酶、谷丙转氨酶活力升高。因为是间接对肝脏造成的损伤,所以酶活的升高时间比IV组要晚。且I、II、III三组酶活力在50thd显著低于近胃部(IV)组、近肾部(V)组,表明前三组插核方法术后恢复较快。本研究说明,5种插核方法所表现出的对肝功能的影响,I、II、III组最小,近胃部(IV)最严重,其中近肾部(V)插核组由于造成了肾部的损伤,导致机体恢复慢于前三组。

肾脏是钙排出的主要器官^[23],并且是珍珠和贝壳中的主要组成成分^[24]。近肾部插核难免会对肾造成损害,所以造成钙排出障碍,近肾部插核(V)组钙含量从5—50thd,一直保持着很高的水平,且

5thd和50thd的钙含量无显著差异,推测因为V组插核靠近肾脏,对肾脏造成的损伤,进而影响了钙的排泄,使得血钙含量一直保持在较高水平。贝类可通过消化系统从摄取的食物中吸收钙^[25],IV组钙含量及碱性磷酸酶活力在50thd显著低于5thd,可能由于IV组插核位点靠近胃部,对胃部造成损伤,进而影响到了机体对钙的吸收。斧足内脏团中部、近生殖腺部(II、III)组在5—20thd期间内,血钙含量以及碱性磷酸酶活力缓慢升高,50thd比20thd显著下降,并在50thd时无显著差别,推测20thd之后血钙得到了一定的补充,说明机体组织中的钙与血钙可以进行交换。这与钙在组织与血液中的方向性穿越细胞的运输及调节细胞内、外钙的稳态平衡中起着重要作用相一致^[26]。且在本研究中插核后从5thd到20thd,几乎所有处理组碱性磷酸酶活力都出现持续升高直至达到最高峰。这表明,插核后20d内,钙代谢一直处于一个旺盛期。推测由于插核造成的伤口,引起大量血液外流,血液中钙大量的流失,进而引起组织中碱性磷酸酶活力增强,以提高钙的含量。这与罗文等的研究基本一致^[27]。本研究表明,5种插核方法,II、III组对钙含量影响最小,近胃部(IV)组、近肾部(V)组影响最大,且插核后20d蚌体血钙开始趋于正常,这期间也是钙代谢的一个旺盛期。

尿酸、尿素氮、肌酐、谷草转氨酶、谷丙转氨酶、钙含量、碱性磷酸酶是动物机体损伤以及钙代谢的重要指标,通过本研究可知,插核前后20d无论是对蚌体还是育珠都有重要作用,蚌体会在这20d进行机体损伤的修复,肾脏、肝脏的修复以及钙含量的逐步稳定。所以,插核后20d内,一定要加强育珠蚌的管理,控制好养殖环境,以便三角帆蚌的术后恢复。通过5个插核部位的指标比较,近胃部、近肾部插核容易对蚌体造成损害,并引起机体代谢紊乱。斧足-内脏团前端、斧足-内脏团中部以及近生殖腺部插核对于蚌体影响小,且血液中钙含量容易稳定下来。而在三角帆蚌中,珍珠是由贝类外套膜和珍珠囊表皮细胞所分泌的壳角蛋白和碳酸钙共同沉积,结晶而形成的,其中碳酸钙的含量达90%以上^[10]。所以,这三个部位插核对于珍珠形成同样有利。

参考文献:

- [1] Xie S H. Large-scale cultivation techniques of nucleated freshwater pearl in China [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2010, 30(1): 56—58 [谢绍河. 淡水有核珍珠大面

- 积养殖技术研究. 广东海洋大学学报, 2010, **30**(1): 56—58]
- [2] Huang W H, Shen Z H, Tong J M, *et al.* Culture of round nucleated pearl in visceral mass of freshwater pearl mussel *Hyriopsis cumingii* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2009, **39**(4): 71—74 [黄惟灏, 沈智华, 童建民, 等. 三角帆蚌内脏团培育圆形有核珍珠的试验. 淡水渔业, 2009, **39**(4): 71—74]
 - [3] Wu Z W, Zeng H Q, Jiang S Q. Pearl Cultivation [M]. Sichuan People's Publishing House. 1981, 51—52 [吴宗文, 曾和期, 江述秋. 珍珠养殖. 四川人民出版社, 1981, 51—52]
 - [4] Li Q L. Contrast tests about improve vitality of cell-piece and cultivated nucleated-pearl in different positions of out mantle in *Hyriopsis cumingii* [J]. *Guangxi Agricultural Sciences*, 1990, **21**(3): 46—48 [李庆乐. 关于提高细胞片活力和三角帆蚌外套膜不同部位培育有核珍珠的对比试验. 广西农业科学, 1990, **21**(3): 46—48]
 - [5] Wuxian Aquatic Bureau. Freshwater Pearl Culture (Version 2) [M]. Jiangsu Science and Technology Press. 1979, 44—58 [吴县水产局珍珠组. 河蚌育珠第2版. 江苏: 江苏科学技术出版社. 1979, 44—58]
 - [6] Wang Y, Dong X Q, Wang W L, *et al.* Feeding freshwater pearl mussel with formulated feeds [J]. *Freshwater Fisheries*, 2006, **36**(4): 22—25 [王岩, 董向全, 王伟良, 等. 利用配合饲料饲养三角帆蚌的试验. 淡水渔业, 2006, **36**(4): 22—25]
 - [7] Fei Z L, Wu J, Zhao Q, *et al.* Effect of Filtration and Digestion of *Hyriopsis cumingii* to Algae [J]. *Freshwater Fisheries*, 2006, **36**(5): 24—27 [费志良, 吴军, 赵钦, 等. 三角帆蚌对藻类滤食及消化的研究. 淡水渔业, 2006, **36**(5): 24—27]
 - [8] Jia B. The Relationship between the Metabolic syndrome and Alanine Aminotransferase, Uric Acid, White Blood Cell Count [D]. Hebei Medical University, Thesis for Master of Science. 2010 [贾彬. 谷丙转氨酶、尿酸、白细胞与代谢综合征的相关性研究. 河北医科大学, 硕士学位论文. 2010]
 - [9] Chen D Q, Xu E. Hyperuricemia and cerebrovascular diseases [J]. *International Journal of Cerebrovascular Diseases*, 2005, **13**(2): 144—146 [陈登青, 徐恩. 高尿酸血症与脑血管病. 国际脑血管病杂志, 2005, **13**(2): 144—146]
 - [10] Poulter N. Global risk of cardiovascular disease [J]. *Heart*, 2003, **89**(2): 112—115
 - [11] Choi H K, Ford E S. Prevalence of the metabolic syndrome in individuals with hyperuricemia [J]. *American Journal of Medicine*, 2007, **120**(5): 442—447
 - [12] Yang J J, Hao L J. The chest surgical operation recovers from illness a gymnastic design behind and it is to the contrast research that the body function influences [J]. *Chinese Journal of Medicinal Guide*, 2009, **11**(6): 1043—1044 [杨九菊, 郝兰婕. 胸部术后康复操的设计及其对身体机能影响的对比研究. 中国医药导刊, 2009, **11**(6): 1043—1044]
 - [13] Beier K, Eppanapally S, Bazick H S, *et al.* Elevation of blood urea nitrogen is predictive of long-term mortality in critically ill patients independent of “normal” creatinine [J]. *Critical Care Medicine*, 2011, **39**: 305—313
 - [14] Carnevale V, Pastore L, Camaioni M, *et al.* Estimate of renal function in oldest old inpatients by MDRD study equation, Mayo Clinic equation and creatinine clearance [J]. *Journal of Nephrology*, 2010, **23**: 306—313
 - [15] Xiang T. Livestock Physiological and Biochemical [M]. Jiangxi: Jiangxi Science & Technology Press. 1989, 249 [向涛. 家畜生理生化学. 江西科学技术出版社. 1989, 249]
 - [16] Duan X P. Effects of *Agaicus blazei murrill* Polysaccharid on urea and creatinine of serum in kidney failure mice [J]. *Journal of Tianjin Agricultural University*, 2010, **17**(1): 19—20 [段县平. 姬松茸多糖对肾损伤小鼠血清中尿素氮和肌酐含量的影响. 天津农学院学报, 2010, **17**(1): 19—20]
 - [17] Chen Y, Jia L Q, Xu G J, *et al.* Significance of determination of levels of serum lipid, BUN and Cr in HFRS patients [J]. *Chain Tropical Medicine*, 2010, **10**(4): 419—420 [陈阳, 贾连群, 徐桂娟, 等. 肾综合征出血热患者血脂、尿素氮及肌酐含量的变化. 中国热带医学, 2010, **10**(4): 419—420]
 - [18] Ru S G. Effects of monocrotophos on GPT and GOT activities in the goldfish (*Carassius auratus*) livers and serum [J]. *Journal and Safety and Environment*, 2008, **8**(5): 9—11 [汝少国. 久效磷对金鱼肝脏和血浆谷丙、谷草转氨酶活性的影响. 安全与环境学报, 2008, **8**(5): 9—11]
 - [19] Huang Y, Hu Y, Xiao T Y, *et al.* Influence of dietary canola meal levels on growth and biochemical indices in juvenile *Mylopharyngodon piceus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2012, **36**(1): 41—48 [黄云, 胡毅, 肖调义, 等. 双低菜粕替代豆粕对青鱼幼鱼生长及生理生化指标的影响. 水生生物学报, 2012, **36**(1): 41—48]
 - [20] Zheng Y H, Pu F Y. Effect of mercury on transaminase activities of tissues in *Carpio auratus* [J]. *Journal of Southwest Agricultural University*, 1997, **1**(1): 41—45 [郑永华, 蒲富永. 汞对鲤鱼组织转氨酶活性的影响. 西南农业大学学报, 1997, **1**(1): 41—45]
 - [21] Ma Y, Tian J H, Zhang X Y, *et al.* Influence of nephropathogenic infectious bronchitis virus on the metabolism of purine in chicken [J]. *Journal of Traditional Chinese Veterinary Medicine*, 2005, **6**(6): 21—23 [马跃, 田晋红, 张晓瑜, 等. 肾型传染性支气管炎病毒对鸡嘌呤代谢的影响研究. 中兽医医药杂志, 2005, **6**(6): 21—23]
 - [22] Vail L, Taba G, Szentmihalyi K, *et al.* Reduced antioxidant level and increased oxidative damage in intact liver lobes during ischaemia reperfusion [J]. *World Journal of Gastroenterology*, 2006, **12**: 1086—1091
 - [23] Johnson J A, Kumar R. Renal and intestinal calcium transport: roles of vitamin D and vitamin D-dependent calcium binding proteins [J]. *Journal of the American Society of Nephrology*, 1994, **14**: 119—128
 - [24] Li W J, Shi Z Y, Hao Y Y, *et al.* Research of calcium flux by ion-selective microelectrodes in mantle tissue of *Hyriopsis cumingii* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2011, **35**(3): 545—549 [李文娟, 施志仪, 郝莹莹, 等. 运用微电极技术测定三角帆蚌外套膜 Ca^{2+} 流量的研究. 水生生物学报, 2011, **35**(3): 545—549]

- [25] Tang M, Shi A J. Overview of studies on calcium metabolism in mollusks [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2000, **24**(1): 86—91 [唐敏, 石安静. 贝类钙代谢研究概况. 水产学报, 2000, **24**(1): 86—91]
- [26] Petit H, Davis W L, Jones R G. Morphological studies on the calcification process in the fresh-water mussel [J]. *Amblema Tissue Cell*, 1980, **12**: 13—28
- [27] Luo W, Yang S B. Calcium metabolism in *Hyriopsis cumingii* during early pearl-forming stages [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2010, **41**(6): 895—900 [罗文, 杨受保. 三角帆蚌(*Hyriopsis cumingii*)珍珠形成初期钙代谢的特征分析. 海洋与湖沼, 2010, **41**(6): 895—900]

THE EFFECT OF DIFFERENT INSETTING-NUCLEUS LOCATIONS ON BODY PHYSIOLOGICAL METABOLISM IN VISCERAL MASS OF *HYRIOPSIS CUMINGII*

HUANG Kai¹, SHI Zhi-Yi^{1,2}, LI Wen-Juan¹ and LI Qian¹

(1. Key Laboratory of Aquatic Genetic Researches and Aquacultural Ecology Certificated by the Ministry of Agriculture, Shanghai 201306, China; 2. Aquaculture Division, E-Institute of Shanghai Universities, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: To ascertain the effect of different inserting-nucleus locations in viscera mass on body damage in *Hyriopsis cumingii*, a 50d trial was carried out on six groups. The six groups were randomly divided into one control group and five experimental groups according to the five locations in viscera mass (: the front end of axe foot visceral mass; : the central of axe foot visceral group; : nearly gonad department; : nearly stomach; : nearly kidney) to insert nucleus. The lymphatic blood samples were extracted respectively from closed shell muscle nucleus at 5d, 10d, 20d and 50d (thd) after inserting-nucleus to detect uric acid (UA) and physiological indexes of liver and kidney, and to clarify the influence of calcium content and alkaline phosphatase (AKP) activity about nacre deposition. Our results indicated: (1) Compared with the control group, the physiologic index of experimental group showed significant differences ($P<0.05$). (2) The UA levels at 50thd of five inserting-nucleus groups were markedly lower than that of the other time groups, and UA of group was significantly higher than that of the other experimental groups during 10thd to 50thd. (3) The levels of blood urea nitrogen (BUN) and blood urine creatinine (Cr) of five experimental groups at 5thd were markedly higher than those at the 50thd ($P<0.05$). There into, the levels of and groups showed no significant difference during 20thd to 50thd, the BUN levels of group were significantly higher than those of the other groups during experiment period except for the 5thd ($P<0.05$). (4) The activities of glutamicoxaloacetic transaminase (AST) and glutamate alanine aminotransferase (ALT) of the , , groups from 5thd to 20thd were markedly lower than that at the 50thd ($P<0.05$), the ALT and AST activities of group were significantly higher than that of the other groups during experiment period except for the 10thd. The AST and ALT activities were significantly higher than that of , , groups and were the highest after group from 20thd to 50thd. (5) Blood calcium content (Ga) of group at 10thd was significantly lower than that at 5thd, and no significant difference after 10thd. In , groups, the Ga increased firstly and then decreased, which reached to the peak at the 20thd. The Ga of group had a decreasing trend with experimental period, the level of group was significantly higher than that of the other four groups at 10—50thd ($P<0.05$). AKP activities showed no significant difference in , groups, but decreased significantly in and groups ($P<0.05$). The AKP activity of group reached the peak at 20thd. The present study showed the body physiological index was significantly changed before 20d of inserting-nucleus in visceral mass of *Hyriopsis cumingii*, and then the value kept stable. This result indicated that the 20 days may be a critical period for repair of body damage, kidney, and liver function recovery, and the gradual stabilization of the calcium content. Our study provided theory basis for fresh-water pearl cultivation in the visceral mass of *Hyriopsis cumingii*.

Key words: *Hyriopsis cumingii*; Inserting-nucleus in viscera mass; Physiological metabolism; Calcium content; Alkaline phosphatase