

几种养殖鱼类越冬生理生化指标的变化Ⅲ ——血清蛋白组分*

吴 垠** 张 峰 桂 远 明 江 仁 党
(养殖系)

摘 要 应用薄膜电泳扫描法对鲢、鳙、草鱼、鲤(杂交鲤、镜鲤)在北方越冬期间血清蛋白含量及成分进行分析比较。研究表明,(1)在越冬过程中5种鱼血清蛋白含量随水温下降而减少,减少的百分率依次为杂交鲤(48.8%)>草鱼(41.2%)>镜鲤(40.8%)>鳙(33.8%)>鲢(31.5%);越冬各期草鱼、鲢、镜鲤的 γ -球蛋白数值变化不明显,杂交鲤、鳙的血清 γ -球蛋白在越冬中期下降,下降幅度为杂交鲤(21%)>鳙(16.8%)。(2)越冬过程中患竖鳞病杂交鲤与正常杂交鲤相比,白蛋白、球蛋白1、球蛋白2明显减少, γ -球蛋白明显升高。

关键词 鲢;鳙;草鱼;杂交鲤;镜鲤;越冬;血清蛋白组分

中图分类号 S912

血清蛋白成分及其含量变化与机体健康、营养和疾病等状况有着密切关系。因此当机体受外界因素的影响而发生生理或病理变化时,可以在血清蛋白中得到反映。迄今为止,关于鱼类血清蛋白成分的分离及其含量的测定等方面的研究工作取得一定成绩^[1,2,3,4],所涉及的影响因子大多为生长阶段、营养条件、季节变化、渗透压变化等。但是有关鱼类在低温条件下血清蛋白成分变化方面的报道作者尚未见到。我们对鲢、鳙、草鱼、鲤(杂交鲤、镜鲤)在吉林省水库越冬期间血液学指标进行分析研究的同时^[5],还应应用薄膜电泳扫描法对上述鱼种血清蛋白各成分进行分离比较,以及对于在越冬期间患有竖鳞病的杂交鲤血清蛋白成分的变化进行分析。旨在探讨温度、特别是低温条件以及低温发病状态下影响血清蛋白组分含量的机理。为北方养殖鱼类越冬期间生态生理学、病理学方面的研究提供一些理论依据。

1 材料与方法

1.1 试验鱼

采自吉林朝阳水库,其规格见表1。试验鱼放置于水库网箱中冰下越冬,定期采样,

收稿日期:1994-11-10

* 本文为农业部重点科研项目“北方鱼类越冬死亡原因分析及提高成活率的研究”专题论文之一

** 吴 垠:1962年生,女,讲师,大连116024

时间为 1989~1990 和 1990~1991 两年的冬季. 每年分 3 次采样 (10 月份水温 6 ℃左右, 12 月至翌年 1 月 1~2 ℃, 4 月份 6 ℃左右). 并且在 1990 年 10 月及 1991 年 3 月, 在室内进行不同温度梯度组 (0.8 ℃、1 ℃、6 ℃、9 ℃、13 ℃) 试验, 其中 0.8 ℃、1 ℃、6 ℃组于控温环境箱内饲养. 9 ℃、13 ℃组于实验室水族箱内饲养, 饲养时间 12~15 d, 每个温度条件均设平行组, 每组测定鱼 12 尾.

表 1 试验鱼规格

项目	鲢	鳙	草鱼	杂交鲤	镜鲤
体长 /cm	17.4 ~ 20.9	17.9 ~ 19.4	15.0 ~ 21.6	17.0 ~ 19.5	14.8 ~ 18.1
体重 /g	52.5 ~ 77.7	66.5 ~ 106	40.5 ~ 138	96.5 ~ 134.1	58.0 ~ 105.5

1.2 血清蛋白成分值的测定

1.2.1 血液采集及血清制备

用洁净干燥的玻璃注射器, 从鱼的尾动脉处采血, 血液样品低温放置 1 h 后转入离心管中, 以 3 000 r/min 离心 30 min, 取血清样品进行测定及电泳分析.

1.2.2 血清电泳方法

血清蛋白电泳使用 DY-600 型电泳仪, 乙酸薄膜 14 cm×2 cm, 巴比妥缓冲液 pH 8.6, 离子强度 0.06, 电压 120~140 V, 通电 2 h, 氨基黑 10 B 染色^[6]. 电泳图谱透明后采用 Beckman 薄层扫描仪自动扫描绘图, 并记录各谱带所占百分比.

依据血清蛋白电泳谱带经透射扫描后显示出的各种成分的百分含量与血清总蛋白的乘积, 即得出血清蛋白几种成分的绝对值含量 (单位 g/L), 血清总蛋白含量采用双缩脲法^[6]测定.

2 结果

2.1 鲢、鳙、杂交鲤、镜鲤、草鱼血清蛋白组成

应用薄膜电泳扫描法, 草鱼血清可分出 5 条清晰的蛋白区带 (图 1), 与正常人血清蛋白电泳图谱中各带迁移率相对照, 依次相应于白蛋白、球蛋白 1、球蛋白 2、球蛋白 3、球蛋白 4 (γ-球蛋白). 这与 AGamoBa^[7] (1973 年)、浙江省水产研究所^[7]、林义浩^[7]等的研究结果相一致.

2.1.1 鲢、鳙、杂交鲤、镜鲤

应用相同的电泳方法, 水库网箱养殖鲢、鳙的血清蛋白电泳图谱, 呈现与草鱼相似的 5 条蛋白区带, 杂交鲤、镜鲤在上述电泳条件下经常分离出肉眼可见的 6~7 条蛋白区带, 但经透射扫描后仍可分辨出 5 个波峰 (图 2).

2.2 越冬期间杂交鲤、镜鲤、鲢、鳙、草鱼血清蛋白几组成分的变化

在对血清蛋白各组分析比较时,选择出白蛋白、 γ -球蛋白及球蛋白系数(球蛋白总量/血清蛋白总量)几组数据在越冬期间的变化列于表 2.

表 2 表明,5 种鱼的白蛋白含量在越冬期间呈下降趋势,每年 12 月至翌年 1 月份降至最低水平,降低的百分率依次为杂交鲤 (48.8%) > 草鱼 (41.2%) > 镜鲤 (40.8%) > 鳙 (33.8%) > 鲢 (31.5%). 越冬后白蛋白含量有所回升,但都未达到越冬前指标. 5 种鱼在越冬过程中 γ -球蛋白的变化趋势不同. 鲢、镜鲤、草鱼稍有升降但变化不显著 ($P>0.05$), 鳙、杂交鲤越冬中期的下降幅度分别为 16.8% 和 21.0%, 越冬后 3~4 月份测定结果表明,鳙 γ -球蛋白稍有回升,而杂交鲤仍在下降.

球蛋白系数: 5 种鱼越冬前、中、后期球蛋白系数不同, 鲢鱼各期数值基本一致, 其它 4 种鱼呈现越冬中期高, 前、后期低的趋势. 但越冬期间升高幅度不同, 依次为草鱼 (升高 10%) > 杂交鲤 (7%)、镜鲤 (7%) > 鳙 (3%).

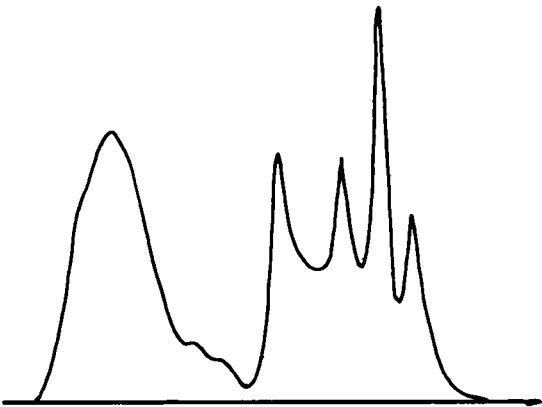


图 1 草鱼血清蛋白电泳图型

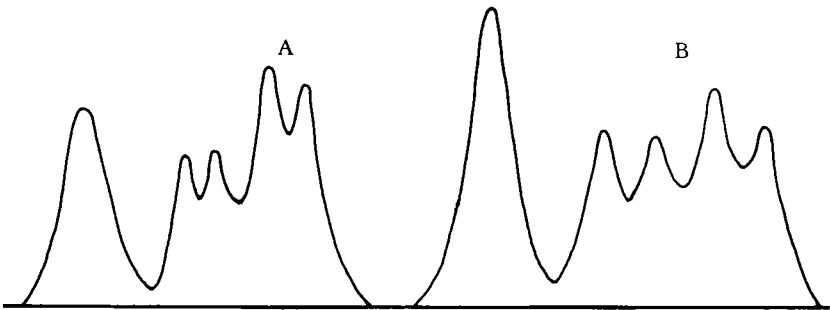


图 2 杂交鲤血清蛋白电泳图型

A 竖鳞病杂交鲤 B 正常杂交鲤

2.3 5种鱼在不同温度条件下血清蛋白成分的变化

为了排除其它生态因子的影响,探讨低温对鱼类血清蛋白成分的变化,我们在实验室不同温度(特别是低温)条件下将5种鱼分别饲养12~15 d后测得血清蛋白各组分值.结果(表3、图3)显示:杂交鲤、镜鲤、鲢、鳙、草鱼血清蛋白、 γ -球蛋白值均随温度降低而减少,球蛋白系数随温度降低而升高.但是就白蛋白、 γ -球蛋白而言,各温度间降低幅度不同,水温自13℃下降到9℃时,各项指标比较恒定,而13℃与6℃及0.8~1℃条件下暂养鱼的白蛋白含量比较,各种鱼降低幅度不同,杂交鲤降低幅度最大为19.6%~47.8%;草鱼、镜鲤其次分别为10.4%~36.8%、12%~36.7%;鲢、鳙鱼降低幅度最小为8.3%~30.9%、10.6%~29.2%.

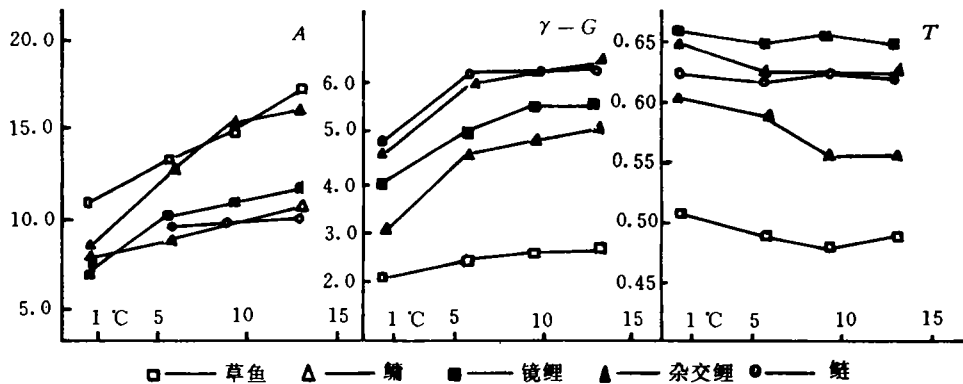


图3 水温与5种鱼血清蛋白组分的关系

A 白蛋白 γ -G γ -球蛋白 T 球蛋白系数

低温(6℃, 0.8~1℃)与13℃水温条件下 γ -球蛋白值比较,不同种类鱼降低幅度不同.杂交鲤降低幅度最大为11.8%~41.2%;草鱼、镜鲤其次为7.7%~19.2%、9%~27.8%;鲢、鳙最小6.2%~28.2%、7.6%~31.6%.

2.4 越冬期间杂交鲤竖鳞病的血清蛋白各组分

我们对吉林水库越冬期所患竖鳞病的杂交鲤进行血清蛋白各组分的测定,同时与个体大小相似、性腺发育相同的健康鲤进行比较研究.图2为竖鳞病鲤与正常鲤的血清蛋白电泳扫描图,血清蛋白组分值见表4,病鱼与健康鱼在血清蛋白各组分间存在着明显差异.患病杂交鲤白蛋白含量比正常显著减少($P < 0.01$),减少的百分率为39.5%.在球蛋白分离出的4种成分中,球蛋白1(成分2)、球蛋白2(成分3)含量与同期正常鱼相比显著减少($P < 0.05$);球蛋白3变化不明显;球蛋白4(γ -球蛋白)患病鱼明显高于正常鱼($P < 0.05$),增加的百分率为44.6%.

表 2 越冬期间 5 种鱼的血清蛋白几组分的变化

种类	越冬前 (10 月)			越冬中 (12 ~ 1 月)			越冬后 (3 ~ 4 月)		
	A M ± SD	γ - G M ± SD	T	A M ± SD	γ - G M ± SD	T	A M ± SD	γ - G M ± SD	T
杂交鲤	22.9 ± 1.6	4.7 ± 0.1	0.53	11.9 ± 0.2	3.7 ± 0.5	0.60	15.2 ± 1.3	3.4 ± 0.1	0.55
镜 鲤	18.1 ± 0.9	4.9 ± 0.8	0.57	10.7 ± 1.6	5.2 ± 1.2	0.64	12.7 ± 0.9	5.0 ± 0.8	0.62
鲢 鱼	11.4 ± 1.4	5.6 ± 1.4	0.64	7.8 ± 0.8	5.4 ± 0.8	0.64	8.5 ± 1.2	5.4 ± 1.4	0.62
鳙 鱼	14.3 ± 1.8	7.7 ± 2.8	0.57	9.9 ± 0.7	6.2 ± 1.3	0.60	12.6 ± 1.8	6.4 ± 1.0	0.58
草 鱼	19.9 ± 1.2	3.0 ± 0.3	0.48	11.7 ± 1.5	2.7 ± 1.0	0.58	15.0 ± 0.9	2.7 ± 0.8	0.52

A : albumin 白蛋白; G : globulin 球蛋白; T : 球蛋白系数 G/(A + G); γ - G : γ-球蛋白

表 3 5 种鱼在不同水温下血清蛋白几组分的变化

种类	13 °C			9 °C			6 °C			0.8 ~ 1 °C		
	A M ± SD	γ - G M ± SD	T	A M ± SD	γ - G M ± SD	T	A M ± SD	γ - G M ± SD	T	A M ± SD	γ - G M ± SD	T
杂交鲤	16.3 ± 1.6	5.1 ± 1.4	0.56	15.6 ± 0.6	4.9 ± 1.2	0.56	13.1 ± 1.6	4.5 ± 0.9	0.59	8.5 ± 1.3	3.0 ± 2.0	0.61
镜 鲤	11.7 ± 1.7	5.5 ± 0.8	0.65	11.3 ± 2.3	5.5 ± 1.2	0.66	10.3 ± 2.4	5.0 ± 1.2	0.65	7.4 ± 1.7	4.0 ± 0.1	0.66
鲢 鱼	11.0 ± 1.4	6.4 ± 1.4	0.62	10.6 ± 1.5	6.4 ± 1.7	0.63	10.4 ± 1.9	6.6 ± 0.3	0.62	7.6 ± 1.2	4.6 ± 1.1	0.63
鳙 鱼	11.3 ± 0.7	6.6 ± 1.0	0.63				10.1 ± 0.7	6.1 ± 1.3	0.63	8.0 ± 1.2	4.5 ± 1.2	0.65
草 鱼	17.4 ± 1.6	2.6 ± 1.5	0.49	15.4 ± 1.4	2.6 ± 0.2	0.48	13.8 ± 1.4	2.4 ± 1.4	0.49	11.0 ± 1.2	2.1 ± 1.6	0.51

3 讨论

3.1 关于越冬期间影响血清白蛋白的因素

我们对北方淡水鱼类越冬期间血清蛋白各项成分的分析结果表明,杂交鲤、镜鲤、鲢、鳙、草鱼在越冬期间的蛋白含量呈下降趋势,每年12月至翌年1~2月降至最低水平,越冬后回升。

越冬期间白蛋白含量变化的原因可能有二:(1)与摄食营养状况有关。几种主要养殖鱼类属于温水性鱼类,在越冬期间冰下水温 6°C 以下,由于饵料来源缺乏,加之本身摄食能力降低,所以这些鱼类在越冬期间基本不摄食。但是鲢鳙鱼属于滤食性鱼类,在越冬池有天然饵料的条件下,整个越冬期均可进行少量摄食,而肉食性鱼类由于饵料供应短缺,在越冬期基本不摄食,肠管充塞度为0^[8]。所以从白蛋白含量变化看出,鲢鳙越冬期降低幅度明显少于其它3种鱼。科迪埃^[1]等测定了猫鲨断食15 d前后的血清蛋白量,发现由于断食,血清蛋白中尤以白蛋白含量变化非常显著,尾崎久雄^[1]在综合了对人及其它高等动物血清蛋白成分的认识后指出:当处在长期营养不良的状况下,蛋白特别是白蛋白的下降是很明显的。在通过对鱼的血清蛋白的深入研究后,也获得了与此相似结果。(2)与机体代谢状况有关。越冬期间鱼类代谢水平大幅度下降,表现在5种鱼的耗氧率随水温下降呈明显的下降趋势。血糖血脂的变化,以及由于呼吸减慢,出现气体交换障碍,血液内 CO_2 增加^[5]。以上各项指标变化说明越冬过程中机体正常的物质代谢发生改变尤其导致氮代谢障碍与肝脏对白蛋白的合成减少。

3.2 关于越冬期 γ -球蛋白的变化因素

关于鱼类免疫球蛋白,现今为止已经证明鱼类具有免疫系统执行特异性免疫与非特异性免疫,淋巴细胞可以产生抗体,而对抗体的分子量、类型、化学组成、电泳速率等研究结果表明,抗体呈现与球蛋白相同的物理性质^[9]。我们在对5种鱼血清蛋白电泳分析时发现球蛋白部分可以分出4~5条谱带,包括有 α, β, γ 球蛋白三大类,而 γ -球蛋白则是主要执行免疫功能的球蛋白。因此血清蛋白中,特别是 γ -球蛋白含量变动通常可以反应机体的病理状况和免疫功能。而当机体受外界因素的影响而发生生理或病理变动时,这种免疫蛋白的产生也会受到影响。关于影响免疫蛋白的因素归纳起来包括机体的营养状况、性腺发育周期及水质污染等。我们通过对几种鱼类越冬期间及低温暂养期间血清蛋白各组分析结果表明,低温影响 γ -球蛋白含量。当暂养水温从 13°C 依次降低到 6°C 时, γ -球蛋白降低幅度为6.2%~11.8%;水温继续下降到 $0.8\sim 1^{\circ}\text{C}$ 时, γ -球蛋白降低幅度为19.2%~41.2%,说明鱼类对于低温的耐受力是有一定限度的。通过试验我们可以将 6°C 认为是试验鱼的生理适应阈值, $0.8\sim 1^{\circ}\text{C}$ 为生理极限阈值。 6°C 以上 γ -球蛋白值变化不大,各血液指标比较稳定,说明机体新陈代谢正常。 6°C 以下由于超出了鱼体对温度的耐受范围,导致机体进入一种应激状态(Stresser),在神经系统、内分泌系统作用下机体产生应激激素,调动机体各种本能以应付低温的伤害。同时机体正常代谢紊乱,蛋

白质合成减少，糖代谢受阻，免疫系统中通过抑制淋巴组织减少抗体生成导致 γ -球蛋白急剧下降，由此影响鱼类免疫功能，长时间处于这种状态下的鱼类势必影响其对疾病的抵抗力而易患病。当温度下降到 $0.8\sim 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ 时，鲤、鲢、鳙出现休克现象，这说明当温度下降已超出鱼的应激能力范围时，机体新陈代谢由量变发展到质变，必将导致机体死亡。

3.3 关于患病杂交鲤血清蛋白各组分值变化的分析

流行性病害是制约北方鱼类越冬成活率的重要因素，而杂交鲤的竖鳞病是越冬期间比较常见的病害之一。作者在对感染了竖鳞病的杂交鲤进行血清蛋白电泳分析发现，白蛋白大大低于正常鱼， γ -球蛋白比正常鱼高（表 4）。前已述及，白蛋白与营养和代谢密切相关，越冬过程中白蛋白含量下降，而患病鲤白蛋白与同期正常鲤相比，下降幅度为 30.3%，若与适温期鲤的白蛋白含量相比下降幅度更大为 63.5%，这说明越冬期患竖鳞病的鱼体具有较正常越冬鱼更为显著的代谢异常。

表 4 越冬期竖鳞病鲤与正常鲤血清蛋白组分值

种类	白蛋白	球蛋白 1	球蛋白 2	球蛋白 3	球蛋白 4
	$M \pm SD$	$M \pm SD$	$M \pm SD$	$M \pm SD$	$M \pm SD$
正常鲤	11.9 ± 0.2	4.26 ± 0.7	4.4 ± 1.0	5.8 ± 0.8	3.7 ± 0.5
患病鲤	7.2 ± 1.0	3.0 ± 0.5	2.4 ± 1.0	5.4 ± 0.4	5.35 ± 0.7
显著性检验	$P < 0.01^{1)}$	$P < 0.05$	$P < 0.05$	$P > 0.05$	$P < 0.05^{2)}$

1) 差异极显著 2) 差异显著

γ -球蛋白可以看作是抗体蛋白，其成分存在着生理上或病理上的变化。患病鱼 γ -球蛋白升高（与正常相比升高 44.6%），说明鲤鱼在受到病原体感染时，在某个时期将导致机体免疫系统调动起来，通过细胞免疫与体液免疫作用，达到消灭病原体保护自身的作用。其中免疫球蛋白的增高，可视为由于抗原的刺激，激活了淋巴细胞产生特异性免疫球蛋白的结果。Hunn^[10]发现感染肾病的美洲红点鲑血清蛋白成分中白蛋白减少，球蛋白部分也变形。浙江省水产研究所^[7](1976)对并发烂鳃和肠炎病草鱼血清蛋白的分析指出，血清蛋白成分 1、成分 5 发生了变化。人们对于血清蛋白的深入研究将对于鱼类免疫作用、鱼类疾病的早期诊断及治疗具有重要的意义。

参 考 文 献

- 1 尾崎久雄. 鱼类血液与循环生理. 上海: 上海科学技术出版社, 1982
- 2 刘荣臻等. 大阪鲫鱼血清雌性特异蛋白的鉴定. 水产养殖, 1988 (1): 8~9
- 3 桂远明等. 用几种饵料添加剂饲养鲤鱼营养价值的比较. 水利渔业, 1989 (3): 14~18
- 4 Vanstone W E. Plasma proteins of Coho salmon *Oncorhynchus kisutch* separated by zone electrophoresis. J Fish Res Bd Canad, 1969, 18 (3): 393
- 5 桂远明等. 几种养殖鱼类越冬生理生化指标的变化 I —— 血液指标及代谢率. 大连水产学院学报, 1994, 9(3): 15~27
- 6 上海市医学化验所主编. 临床生化检验. 上海: 上海科学技术出版社, 1984
- 7 林义浩等. PHA 免疫刺激治疗草鱼的血清蛋白分析. 淡水渔业, 1983 (6): 25~31
- 8 雷惠僧. 池塘养殖学. 上海: 上海科学出版社, 1981
- 9 张绍伦等. 医学免疫学. 长春: 吉林科学技术出版社, 1990
- 10 Hunn J B. Some patho-physiologic effects of bacterial kidney disease in brook trout. Exper Biol & Med, 1964 (117): 383~385

Changes on Physiological and Biochemical Index for Chinese Carps in Winter III ——Serum Protein Composition

Wu Yin Zhang Feng Gui Yuanming Jiang Rendang

(Department of Aquaculture)

Abstract This paper deals with a comparison for the serum protein content and composition of silver carp, bighead carp, grass carp, hybrid carp and mirror carp during wintering in the northern China by the electrophoresis scanning technique of cellulose acetate membrane. The results show that: (1) the serum albumin contents of the five fishes are decreased as a result of a fall in temperature in wintering period. And the decreased percentage are hybrid carp (48%) > grass carp (41.2%) > mirror carp (40.8%) > bighead carp (33.0%) > silver carp (31.5%). The changes of serum globulin contents in hybrid carp, bighead carp are obvious and the decrease rate are hybrid carp (21%) > bighead carp (16.8%). (2) the contents of serum albumin, serum globulin-1 and globulin-2 in hybrid carp infected with lepid or thosis disease reduce significantly, and the contents of serum γ -globulin increase considerably in comparison with that in the normal one.

Key words carps; serum protein composition; survival in wintering