

饲养水温对草鱼溶菌酶活性的影响^{*}

陈昌福 罗宇良 蔡 冰 周红标

(华中农业大学水产学院, 武汉 430070)

摘 要 草鱼在水温 10℃、20℃ 和 28℃ 条件下饲养五周后, 测定其体表粘液、血清、肠粘液、肝、脾和肾脏中溶菌酶的活性。20℃ 和 28℃ 试验组的溶菌酶活性比试验前均有不同程度地上升, 而 10℃ 试验组的溶菌酶活性有所下降, 推测这主要是由于鱼体未摄食的缘故。

关键词 饲养水温, 草鱼, 溶菌酶活性

前 言

鱼类的溶菌酶(Isozyme)是鱼体抵抗病原菌感染的重要非特异性因子之一^[2]。有关鱼类溶菌酶的生成部位^[6]、活性特点^[3,4]、杀菌活性等^[1], 已经有了较多的研究报道。但是, 关于饲养水温对鱼类溶菌酶活性的影响的研究工作较少, 仅见楠田等^[5]关于水温对日本鳗鲡(*Anguilla japonica* T. et S.)溶菌酶活性影响的报道。

为了探讨饲养水温对草鱼(*Ctenopharyngodon idellus* C. et V.)非特异性免疫能力的影响, 本研究检测了在 10℃、20℃ 和 28℃ 水温条件下饲养的草鱼体表、肠粘液, 血清, 肝、脾和肾脏的溶菌酶活性。现将结果报道如下。

材 料 与 方 法

(一) 试验鱼

试验草鱼来源于华中农业大学水产站, 平均体重为 163 ± 5.2 g、健壮且无外伤。

(二) 饲养方法

试验用容器为 3 个 3M³ 圆形玻璃钢水槽, 各放鱼 30 尾, 用电热棒在 1 周内将水温逐渐调整到 $10 \pm 1^\circ\text{C}$ 、 $20 \pm 1^\circ\text{C}$ 和 $28 \pm 1^\circ\text{C}$ 。用充气泵增氧, 保持水中溶氧量在 $5\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 以上。每天早、晚两次按鱼体重 1% 投喂人工配合饲料。

收稿日期: 1994-12-26。

^{*} 湖北省重点科学技术经费资助课题, 编号 92192103。

(三) 试验材料的收集与处理方法

待调整至适当水温后每间隔1周从各组随机捞起5尾鱼采样。体表粘液用含有5.0ml 灭菌生理盐水的灭菌海绵擦拭吸取并混合, 以匀浆器匀浆后, 采用 $20\,000\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心20min, 取其上清液作为测试样品。血清的制备则是首先以切断腹动脉采血, 离心法分离血清。收集肠粘液是将肠道剪开后, 清除残余食物及粪便等, 再用解剖刀刮取肠粘液, 余下操作与对体表粘液的处理方法相同。对肝、脾和肾脏分别切取0.1g, 并加入灭菌生理盐水使总量达1.5ml, 然后同对体表粘液的处理一样匀浆、离心, 取其上清液备用。

(四) 溶菌酶活性测定方法

溶壁微球菌(*Micrococcus lysodeikticus*)的培养采用笔者^[1]已报道的方法进行。经丙酮和乙醚干燥后的溶壁微球菌, 用 $0.01\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, pH7.2 的 PBS 稀释至波长为 530nm, 吸光度(O.D.)为0.8 的菌悬液, 分别在 2.0ml 菌悬液中加入上述测试样品 1.5ml, 37℃ 反应 1h, 并于反应前后测定其吸光值, 与用蛋白溶菌酶(日本和光产品)作成的标准曲线对照, 计算样品中溶菌酶活性。以 1.5ml PBS 加 2.0ml 菌悬液, 37℃ 反应 1h, 所测得的吸光值作为校正值。溶菌酶相对活性值以含 1mg 蛋白质量计算, 标准蛋白质采用牛血清白蛋白(BSA, 进口分装)。蛋白质的测定参照 Lowry et al.^[7]的方法。

结 果

草鱼体表粘液中溶菌酶活性受饲养水温影响的情况见图1。由图1可见, 试验开始时, 体表粘液中溶菌酶活性为 $27.3\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白质。在第1周内, 各种温度饲养组草鱼体表粘液中溶菌酶活性均有所下降, 10℃ 饲养草鱼体表粘液中溶菌酶活性虽然自第2周开始有所上升, 但始终维持在较低水平。20℃ 饲养组于第2周上升到 $33.2\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白质, 第5周时

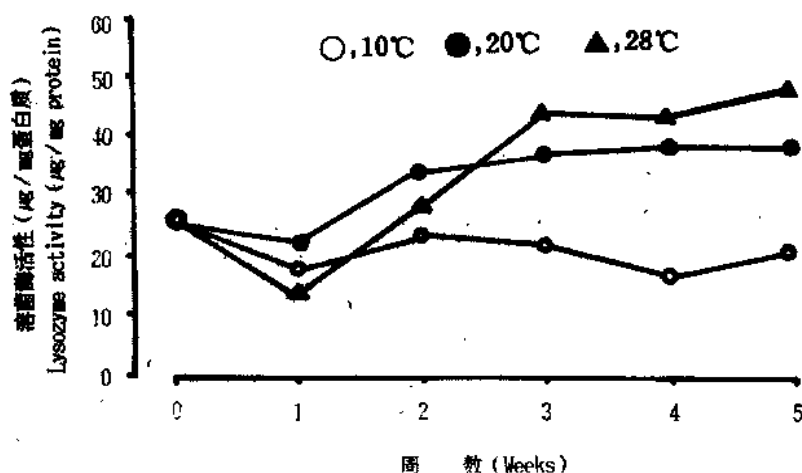


图1 在不同的饲养水温条件下草鱼体表粘液中溶菌酶活性的变化

Fig.1 Changes in lysozyme activity in skin mucus extracts of grass carp reared at different water temperatures

达到 $37.8\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白质。28℃ 饲养组则从第 2 周开始迅速上升, 第 3 周达到 $43.2\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白质, 第 5 周则高达 $46.5\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白质。

不同饲养水温对草鱼血清中溶菌酶活性的影响见图 2。从图 2 可以看出, 试验刚开始时, 草鱼血清中溶菌酶活性为 $3.9\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白质。10℃ 饲养组在 5 周试验期间内, 血清中溶菌酶活性呈下降的趋势, 至第 5 周时为 $3.1\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白质。20℃ 和 28℃ 则呈上升趋势, 第 5 周时分别达到 $4.7\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 和 $5.6\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白质。

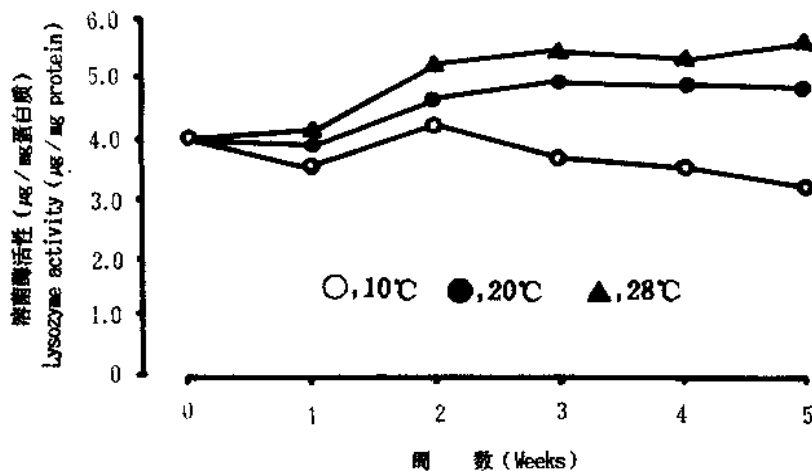


图 2 在不同饲养水温条件下草鱼血清中溶菌酶活性的变化

Fig. 2 Changes in lysozyme activity in serum of grass carp reared at different water temperatures

肠粘液中溶菌酶活性受饲养水温影响的状况见图 3。试验开始时, 草鱼肠粘液中溶菌酶活性为 $22.0\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白质。10℃ 饲养组从第 1 周开始下降, 至第 5 周时其活性为 $10.9\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白质。20℃ 和 28℃ 饲养组草鱼肠粘液中溶菌酶活性虽然第 1 周内有所下降, 但随后逐渐上升, 至第 5 周时分别达到 $36.8\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 和 $39.2\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白质。

饲养水温对草鱼肝脏中溶菌酶活性的影响见图 4。由图 4 可以看出, 试验开始时, 肝脏中溶菌酶活性为 $4.3\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白质。10℃ 饲养草鱼肝脏中溶菌酶活性至第 4 周时一直呈下降趋势, 随后保持平衡, 至第 5 周时其活性为 $2.6\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白质。20℃ 和 28℃ 饲养组草鱼肝脏中溶菌酶活性在试验中有升降变化, 至第 5 周时, 分别为 $3.9\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 和 $5.4\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白质。

草鱼脾脏中溶菌酶活性在不同水温条件下的变化见图 5。如图 5 所示, 试验开始时, 脾脏中溶菌酶活性为 $27.5\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白质。10℃ 饲养组自试验开始后, 其溶菌酶活性几乎一直呈下降趋势, 至第 5 周时仅为 $15.9\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白质。与 10℃ 饲养组相反, 20℃ 和 28℃ 饲养组除第 1 周外, 脾脏中溶菌酶活性一直呈上升趋势, 第 5 周时分别达到 $29.2\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 和 $34.3\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白质。

饲养水温对草鱼肾脏中溶菌酶活性的影响见图 6。从图 6 可知, 试验开始时, 肾脏中溶菌酶活性为 $71.7\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白质。开始试验后的第 1 周内, 3 个饲养温度组鱼体肾脏中溶

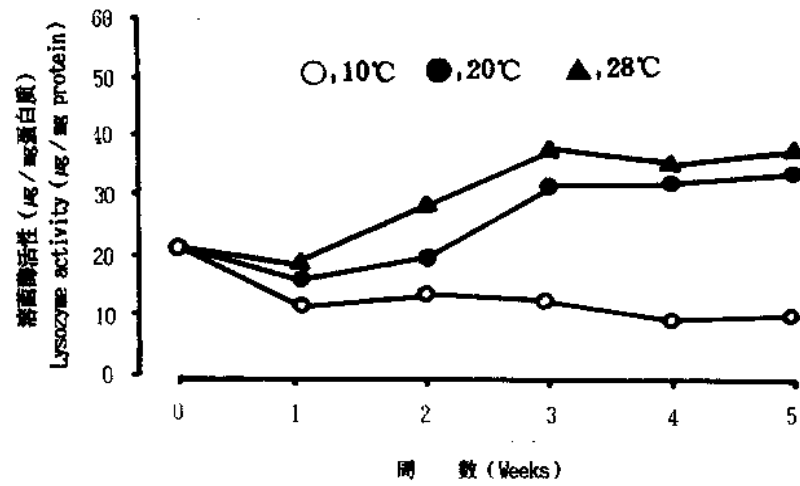


图3 不同饲养水温条件下草鱼肠液中溶菌酶活性的变化
Fig.3 Changes in lysozyme activity in intestine mucus extracts of grass carp reared at different water temperatures

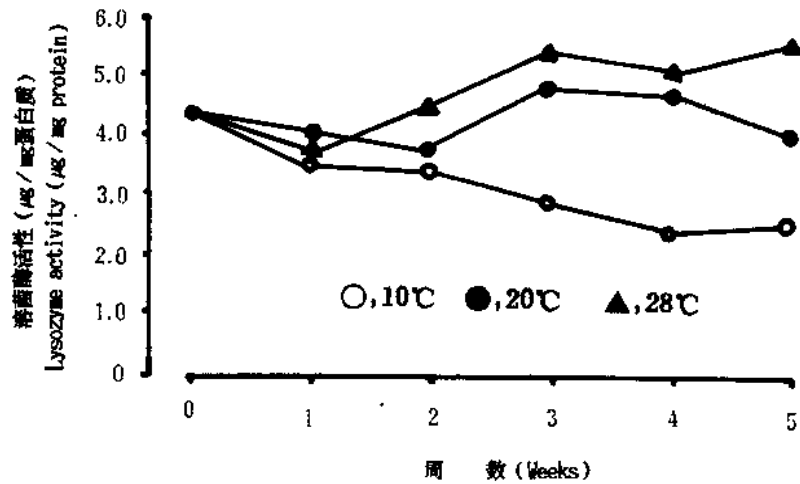


图4 不同饲养水温条件下草鱼肝脏中溶菌酶活性的变化
Fig.4 Changes in lysozyme activity in liver extracts of grass carp reared at different water temperatures

菌酶活性均趋下降,随后则程度不同地上升,10℃养殖组至第5周时并未回复到试验开始时的水平,其溶菌酶活性为 $53.4\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白质;而20℃和28℃养殖草鱼肾脏中溶菌酶活性则分别达到了 $90.5\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 和 $96.2\mu\text{g}\cdot\text{mg}^{-1}$ 蛋白质。

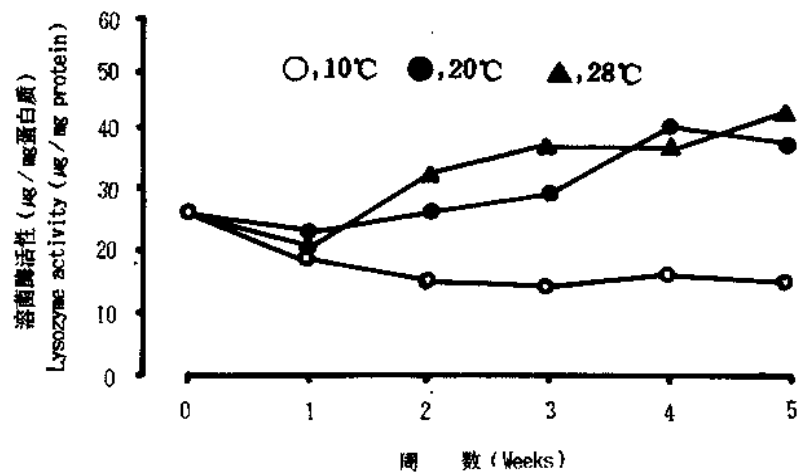


图5 不同饲养水温条件下草鱼脾脏中溶菌酶活性的变化

Fig.5 Changes in lysozyme activity in spleen extracts of grass carp reared at different water temperatures

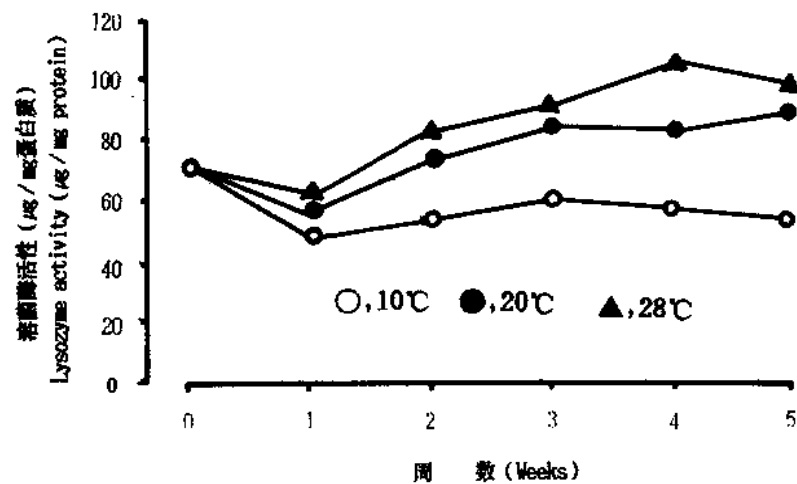


图6 不同饲养水温条件下草鱼肾脏中溶菌酶活性的变化

Fig.6 Changes in lysozyme activity in kidney extracts of grass carp reared at different water temperatures

讨 论

川原等^[2]对日本鳗鲡、香鱼(*Plecoglossus altivelis* T. et S.)、五条鲷(*Seriola quinqueradiata* T. et S.)和真鲷(*Pagrosomus major* T. et S.)等鱼类的溶菌酶所做的研究表明,不同鱼类各种器官和组织中溶菌酶含量是不同的。本研究结果证明,草鱼肾脏中溶菌酶相对活性明显高于其它器官和组织。这可能是由于草鱼的肾脏是白血球的主要生成器官的缘故,因为鱼类溶菌酶已被证明主要是由嗜中性白细胞和单核细胞等白细胞产生的^[6]。

楠田等^[5]的报道指出,在 15℃ 饲养水温条件下日本鳗鲡的各种器官和组织中溶菌酶活性较高,而在 25℃ 和 30℃ 饲养水温条件下,则相应的器官和组织中溶菌酶活性较低。本研究的结果与楠田等的结果有所不同。究其原因,除了因鱼的种类和试验环境条件具有差别外,最重要的原因可能是楠田等在试验过程中未对试验鱼投喂饲料,而本研究是始终投喂人工配合饲料的。Fletcher et al.^[8]的研究发现角鳎(*Aesopia cornuta* K.)在 5℃ 的水温条件下饲养 3 个月后,血清中溶菌酶活性下降 70%。本研究中的 10℃ 饲养草鱼血清以及其它组织和器官中的溶菌酶活性在试验期间也都呈现下降趋势。众所周知,鱼类属于变温动物,摄食与否直接受水温影响。草鱼在 10℃ 饲养水温条件下是几乎不摄食的,只能依靠其自身营养积累维持各项生命活动需求。所以,我们认为草鱼在 10℃ 饲养水温条件下,各种组织和器官中溶菌酶活性相对下降的直接原因是由于营养缺乏。草鱼在 20℃ 和 28℃ 的饲养水温条件下,因能正常摄食而能提供机体产生溶菌酶的各种必需营养成分,结果导致其溶菌酶活性的相对上升。Sakai^[9]报道虹鳟(*Salmo gairdneri* R.)经过 10d 绝食后,补体价降低 50%,绝食 20d 后就几乎测不到补体,这可能也是由于鱼体得不到产生补体的营养物质的缘故。

参 考 文 献

- [1] 陈昌福、纪国良,1992。草鱼的血清、体表和肠粘液中溶菌物质活性及其特性。华中农业大学学报,11(3):276-279。
- [2] 川原逸朗、楠田理一,1988。养殖ウナギのリゾチーム活性の特性。日本水产学会誌,54(6):965-968。
- [3] 楠田理一、川原逸朗、浜口昌己,1987。ブリの体表粘液、血清および腎臓のリゾチーム活性とその特性,日本水产学会誌,53(2):211-214。
- [4] 高桥幸则、伊丹利明、古根川纪潮,1986。コイの体表粘液ならびに腸管に分布する溶菌性物質の性状。鱼病研究,21(3):187-191。
- [5] 楠田理一、北代典幸,1992。ウナギのリゾチーム活性に及ぼす飼育水温の影響。水产増殖,40(4):453-456。
- [6] Hansen, N. E., 1974. Plasma lysozyme - a measure of neutrophil turnover. Acta. Haematol., 7(1):7-87。
- [7] Lowrk, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J., 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. J. Biol. Chem. 193(1):256-275。
- [8] Fletcher, T. C. and White, A., 1976. The lysozyme of the plaice *Pleuronectes platessa* L. Comp. Biochem. Physio. 55 B (2):207-210。
- [9] Sakai, D. K., 1983. Lytic and bactericidal properties of salmonid sera. J. Fish Biol., 23(4):457-466。

EFFECTS OF WATER TEMPERATURE ON LYSOZYME ACTIVITY OF GRASS CARP (*CTENOPHARYNGODON IDELLUS* C. ET V.)

Chen Changfu Luo Yuliang Cai Bing Zhou Hongbiao

(Fishery College, HuaZhong Agricultural University, Wuhan 430070)

ABSTRACT Lysozyme activity of the skin mucus, serum, intestine mucus and extracts of liver, spleen and kidney in grass carp (*Ctenopharyngodon idellus* C. et V.) reared at temperatures of 10℃, 20℃ and 28℃ for five weeks were determined. The lysozyme activity was observed to have raised in varying degrees at 20℃ and 28℃ in all test samples. The lysozyme activity was lowered at 10℃ rear temperature. It is assumed that inhibition of the lysozyme activity at 10℃ rear temperature was due to the short of food.

KEYWORDS Rear temperature, Grass carp, Lysozyme activity

《海洋渔业》杂志 1997 年证订启事

《海洋渔业》杂志是中国水产学会和中国水产科学研究院东海水产研究所主办的中级水产科技期刊。主要刊登海洋渔业管理、资源开发与利用、繁殖保护、捕捞技术、鱼虾贝藻类的增养殖、海洋环境保护、水产品加工利用、保鲜技术、渔业机械仪器等各类文章。

《海洋渔业》杂志为国内外公开发行, 刊号 $\frac{\text{ISSN } 1004-2490}{\text{CN31-1341/S}}$, 1997 年仍为季刊, 16 开, 48 页, 逢季中月 25 日出版。每期定价 3.50 元, 全年 14.00, 由杂志编辑部自行发行。欢迎广大读者订阅。

编辑部地址: 上海市军工路 300 号

邮政编码: 200090

电 话: 65434690 × 95