

研究简报

拥挤胁迫对草鱼血浆皮质醇、血糖及肝脏中 抗坏血酸含量的影响*

李 爱 华

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

EFFECTS OF CROWDING STRESS ON PLASMA CORTISOL, GLUCOSE AND LIVER ASCORBIC ACID IN GRASS CARP (*CTENOPHARYNGODON IDELLUS*)

Li Aihua

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

关键词 拥挤胁迫, 皮质醇, 抗坏血酸, 血糖, 脏器系数, 草鱼

Key words Crowding stress, Cortisol, Ascorbic acid, Plasma glucose, Organ weight index, Grass carp.

由于环境胁迫引起的鱼类应激反应常常是导致养殖鱼类对病原敏感性增高的重要原因^[1]。养殖鱼类遭受的环境胁迫主要有: 水质恶化、个体间的相互竞争、水温变化以及因养殖密度过高造成的拥挤胁迫等^[2]。有关应激反应在鱼病发生发展中的作用, 国外学者已有不少研究。在国内虽也正逐步受到学者们的认识和重视, 但尚未见有这方面的研究报道。据来自哺乳动物的研究认为, 应激反应对机体的危害与应激因素的性质、强度、持续时间以及动物的种类等有关。由于血浆皮质醇的增高是应激反应的主要特征, 而且是导致机体抵抗力下降的重要机理。本文拟从血糖、血浆皮质醇等几项指标的变化来认识因养殖密度过高而产生的应激效应。

1 材料与方法

1.1 实验鱼 实验鱼为当年龄草鱼(*C. idellus*), 取自本所养殖场, 体重为 23.04 ± 4.04 g。进入室内后, 在持续流水的池中暂养 2 周, 暂养密度为 2.6g / L。其间投喂配合饲料加青饲料。水温为 22 ± 2 ℃, pH6.4,

* 湖北省自然科学基金资助项目。

1996年6月12日收到; 1997年5月20日修回。

DO 4.0—5.5mg / L.

1.2 实验分组 实验鱼采用随机分组, 设置三个密度组: 4g / L、20g / L、40g / L。分养于体积为 45L 的塑料箱中进行。实验期间水流的速度约为 120L / h。每次取鱼后, 投入已做标记的同等重量和尾数的非试验鱼, 以保持各组的密度自始至终基本不变。

1.3 血样和组织样品的采集 实验前及实验开始后的第 3、5、10d 取鱼采血及肝脏、脾脏等。采血时, 将鱼快速捞起并立即投入麻醉剂中作深度麻醉, 以防止采血时挣扎而影响结果。一般在 15—20s 的范围内即可达到麻醉的目的, 据认为这样不至于使血浆皮质醇升高^[3]。

1.4 血糖 采用邻甲苯胺法测定。并以葡萄糖纯品配制标准溶液, 制作标准曲线, 测定波长为 630nm。

1.5 血浆皮质激素 采用放射免疫测定法。试剂盒由北京北方免疫试剂研究所生产, 批号为 RK-8607。液闪计数器为中国科学院上海原子核研究所日环仪器厂生产的 SN-682型放射免疫 γ 计数器。

1.6 肝脏中抗坏血酸的测定 采用 2,4-二硝基苯肼比色法, 主要步骤为: 精确称取鱼的肝脏组织 0.2—0.5g 置于离心管中, 滴加 6% 三氯醋酸溶液 6ml, 捣碎后离心, 在上清液中加不含铁离子的活性炭 0.3g, 充分混合后过滤。取试管二只, 标明空白管及测定管, 分别加入 4% 三氯醋酸溶液及样品滤液 2ml, 余下步骤同^[4]。以标准品抗坏血酸(广东西陇化工厂生产, 批号为 940305)配制标准溶液, 制作标准曲线, 并测定其检测限。

1.7 脏器系数 即肝脏或脾脏的重量与体重之比。测定程序为: 先将实验鱼麻醉, 心脏采血后, 摘取脾脏和肝脏, 用生理盐水稍加冲洗, 吸水纸吸干表面水分, 立即在分析天平上称重。

2 结果

2.1 脏器系数

拥挤胁迫 10d 后, 肝脏的脏器系数变化不显著($p > 0.05$), 而脾脏的脏器系数却显著降低($p < 0.05$), 而且两个高密度组又显著低于 4g / L 组。这说明拥挤胁迫对脾脏的影响更大, 且与拥挤程度相关。鉴于脾脏是鱼的重要免疫器官, 所以这一结果和应激反应可导致抗病力下降的现象是相吻合的(表 1)。

2.2 血糖的测定结果

实验前后各实验组的血糖浓度及其变化见表 1。经方差分析各实验组间血糖没有显著差异, 拥挤胁迫前后也无显著变化($p > 0.05$)。

表 1 在三种密度下饲养 10d 后, 草鱼的脏器系数、血糖及肝脏中抗坏血酸的含量变化

Tab.1 Changes of plasma glucose, liver ascorbic acid and organ weight indices of grass carp reared in three densities of 4, 20 and 40g / L for 10d

项 目 Items	胁迫前 (N=9)	胁迫后第 10d 10d post-crowding. (N=6)		
		4g / L	20g / L	40g / L
血糖 (mg/ml) blood sugar	0.85±0.15	0.92±0.14	0.788±0.19	0.77±0.07
肝脏中抗坏血酸含量 Liver ascorbic acid (μg/g)	174.65±51.2	97.4±10.7	99.2±39.7	91.2±21.6
体重(g) Body weight	25.5±2.94	22.8±6.1	20.5±3.3	19.5±1.2
肝重(mg) Liver weight	433.1±33.5	444.6±30.9	346.5±28.2	345.2±24.6
脾重(mg) Spleen weight	26.9±13.5	19.3±10.5	14.2±4.4	13.8±4.8
肝重/体重 Liver/Body weight	1.70%	1.95%	1.69%	1.70%
脾重/体重 Spleen/Body weight	0.105%	0.0845%	0.0695%	0.0578%

*Organ weight index=organ weight / body weight

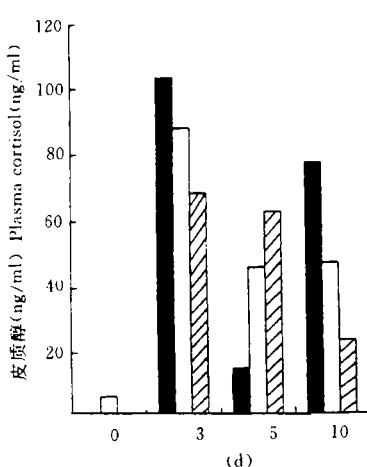


图 1 3种不同密度下饲养后草鱼血浆皮质醇的浓度(N=3—7)。

Fig.1 Plasma cortisol concentrations (N=3—7) in grass carp reared in three densities
 ■ 4g/L □ 20g/L ▨ 40g/L

影响很大。实验中虽未出现其他学者观察到的实验鱼死亡现象,但实验后期鱼的体色显著发黑。这使我们想到,草鱼种的网箱养殖很难成功是否与应激反应有关?本次试验的结果表明,拥挤胁迫可使脾脏的脏器系数显著降低。这和拥挤胁迫可引起血液淋巴细胞数量显著减少的现象是相符合的。考虑到脾脏是鱼的重要免疫器官,这一结果对于认识应激对鱼类免疫功能的影响机制有一定意义。草鱼在未受到胁迫因素作用时,血浆皮质醇浓度很低。这和大鱥大麻哈鱼及斑点叉尾鮰的情形相近。实验开始后,血浆皮质激素迅速升高,但随着实验鱼对环境的逐渐适应,实验中期血浆皮质激素有所下降,但较高浓度的激素水平仍持续较长时间,这对于鱼体的抗病力将造成极大的影响。实验表明,在拥挤胁迫持续作用下,肝脏中抗坏血酸含量显著下降,养殖密度愈高,情况更为严重。这就意味着机体对环境胁迫的抵抗力下降,继而增加了机体对病原体的易感性。因此,在饲料中添加足量的抗坏血酸,就有可能增强机体对不良环境的抵抗力及免疫功能。

从以上结果可以看出,生产中如果为了追求产量,而过分提高放养密度,将会导致鱼体出现强烈的应激反应,使抗病力下降,容易造成病害发生,这进一步阐明了合理放养的重要性。

参 考 文 献

- [1] Snieszko S F. The effects of environmental stress on outbreaks of infectious diseases of fishes. *J. Fish Biol.*, 1974, 6: 1977—208.
- [2] Pickering A D, et al. Administration of cortisol to brown trout, *Salmo trutta* L., and its effects on the susceptibility to *Saprolegnia* infection and furunculosis. *J. Fish Biol.*, 1983, 23: 163—175.
- [3] Mazur C F, et al. Handling and crowding stress reduces number of plaque-forming cells in Atlantic salmon. *J. Aquat. Animal Health*, 1993, 5: 98—101.
- [4] 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。1982, 389—391。

2.3 肝脏抗坏血酸的含量变化

按照上述分析方法,标准品溶液经比色测定可检测出的最低浓度为 $2.5\mu\text{g}/\text{ml}$,也就是说,如果样品量为 0.5g ,那么,可检测出的最低组织浓度为 $10\mu\text{g}/\text{g}$ 。结果表明:各实验组肝脏中抗坏血酸的含量均显著低于试验前的水平($p < 0.01$),且 $40\text{g}/\text{L}$ 组的含量又显著低于两个低密度组($p < 0.05$) (表 1)。

2.4 血浆皮质激素的动态变化

实验前及实验后各组在第 3、5、10d 的血浆皮质醇测定结果见图 1。实验前,草鱼血浆中皮质醇的浓度很低,平均为 $6.23\text{ng}/\text{ml}$,且个体之间的差异很大,有 6 个样品中几乎测不出这种激素。分组实验后,各组血浆皮质醇的浓度均显著升高($p < 0.01$),但组间无显著差异。至实验的第 5d,各密度组的血浆皮质激素浓度均出现下降。至第 10d,血浆皮质激素仍维持较高水平。

3 讨论

拥挤胁迫是水产养殖中的一种很常见的应激因素,特别是在网箱养殖中更为常见。本试验的结果表明,拥挤胁迫对鱼的