

鲤鱼白肌中RNA/DNA值与其生长的关系

司亚东

金有坤 周洪琪 陆 桂

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

(上海水产大学, 200090)

提 要 鲤鱼白肌中核糖核酸与脱氧核糖核酸的比值(RNA/DNA)可作为种群生长的生理指标,并用此指标预测和评价生态环境、饲养条件的优劣对其生长可能产生的影响。鱼体白肌中RNA/DAN值与其生长率呈正相关($r=0.8994$);鱼体增重率和RNA/DNA值的季节变动规律基本一致,都是在9-10月最高,4月次之,11-12月最低。鲤鱼生长良好时,RNA/DNA值大于2.0;反之,低于2.0;Hg²⁺浓度达到0.005mg/l时,才对鲤鱼的生长产生显著影响,并在RNA/DNA值上显示出来。用RNA/DNA值评价鱼的生产快慢、环境优劣是可信的

关键词 鲤鱼,核糖核酸,脱氧核糖核酸,种群生长,生理指标,污染

池塘渔业中所采用定期、连续采样、测定鱼类体长、体重,来判断其生长状况,但操作繁琐、费时,不适用于天然水体中鱼类生长状况的研究。七十年代以来,国外有关专家开始研究用鱼体肌肉中核糖核酸(RNA)与脱氧核糖核酸(DNA)的比值来判别鱼类生长发育的优劣^[9,13]。依据是,鱼类的生长主要是通过蛋白质的合成来实现的,其生长率可由蛋白质合成速率确定,蛋白质的合成又取决于RNA的量变,所以定量测定RNA即可了解蛋白质的合成,转而了解鱼的生长情况。考虑到单位组织样品中细胞数目不同,会影响DNA和RNA量,发现采用RNA/DNA作指标更为有效。

用鱼类白肌中RNA/DNA值作为种群生长状况的指标,国内尚未见研究。Bulow(1979)^[9]认为RNA/DNA值可作为鱼类近期生长率的指标; Haines(1973)^[13]认为RNA/DNA值还可衡量鱼类种群的长期生长,Buckley(1979)^[8]证实鱼类RNA/DNA值与其食物量及生长率有关,作者根据生产需要,选用我国广泛饲养和适应能力较强的鲤鱼为首次探索对象。通过室内及池塘试验对比藉以验证方法的可靠性和实用性。同时,进行室内重金属(汞)污染试验,观察Hg²⁺是否在其白肌的RAN/DNA值上有所显示,以探索特定因子对该比值的影响。研究中所提供的测试方法和指标对于指导渔业生产、改善生态环境将有一定的参考意义。

1 材料与方 法

试验鱼取自上海市孙桥鱼种场,选用体质健壮,发育正常的当年鲤鱼种,分为室内生长试验

1992-05-22收到

(1)甘居利,1988. 鱼肌核酸的导数分光光度测定及其在环境检油中的应用的。

和室外池塘验证以及重金属污染对生长的影响三项。池塘验证在该鱼种场进行,其余两项在上海水产大学水族试验室进行。

1.1 室内生长试验

1.1.1 试验条件

水族箱20只,60×44×55cm,容水量70 l。用曝气后的自来水,水温 $24\pm 1^{\circ}\text{C}$,pH7.0-7.5,溶氧6.8-11.0mg/l,总硬度1.49毫克当量/升,碱度1.07毫克当量/升。

1.1.2 试验处理

每箱随机放暂养两周已适应的鱼种5尾,体重15g左右,称重准确至0.01g。1-10号为试验组,正个试验期间均不投喂;11-20号为对照组,按常规方法每日投喂自制的颗粒饲料,投饵量占鱼体重的5%,其它条件基本一致,每天定时清除粪便和残饵,每隔5天换水一次。试验组和对照组同步取样,每2天一次。

1.2 池塘生长试验

池塘面积660m²,水深1.5-1.7m,按常规的方法进行饲养管理,6月下旬放养鲤鱼和白鲢,每天投喂豆饼粉、豆渣或颗粒饵料等,并记录水温变化。从1989年7月1日起到1990年4月30日止,每半月取样品鲤鱼5尾以备分析。

1.3 重金属污染试验

选用对鱼敏感和危害较严重的汞为代表,测试对其生长指标产生影响的最低临界浓度。根据工业废水中汞及其无机化合物的最高允许排放浓度为0.05mg/l Hg^{2+} ^[4,7],考虑到本试验既要求水体受到污染又要保证鱼类能够生存,根据予试,设计试验时的汞浓度(Hg^{2+})除空白对照外分别为:0.0012, 0.0028, 0.0038, 0.005, 0.01(mg/l Hg^{2+}),采用半静止法,隔天换水3/4,并根据测定结果及时补充 H_2O 浓度。其它方法与室内试验基本一致,养殖时间分别为15天和30天,结束时定量分析RNA和DNA及肌肉中总汞残留量。

1.4 分析方法

1.4.1 采样

每次取鲤鱼5尾,称重(准确至0.01g);取侧线与背鳍之间的白肌约0.5g,置于姆指管中,编号并放入-21℃以下的冰箱中备用。

1.4.2 RNA和DNA分析

采用Schmidt--Thannhauser--Schneider法^[2],但对某些条件加以改进^{[1,3,12,14,16](2)}。

1.4.3 肌肉中残留总汞分析

采用冷原子吸收法^[6]

2 结果与讨论

2.1 室内生长试验

鲤鱼在不同条件下有不同的生长率(以日增重率表示),生长率的变化又与其白肌中RNA/DNA值呈正相关。表1表明,当鲤鱼以其湿重的0, 5%饵料量饲养时,体重变化会在RNA/DNA值上反映出来。在10天的一段时间,其增重率分别为-14.5%和12.6%,相对应的RNA/DNA值分别为1.79和2.72;在20天的一段时间,增重率分别为-15.4%和31.1%,相应的RNA/DNA值为

(2)见本文脚注(1)。

1.55和2.80.RNA/DNA值在鲤鱼饥饿状态时最低,在摄食较多和生长快速时最高。

表1 鲤在不同饲养条件下的体重及RNA/DNA值变化

Table 1 Percentage changes in body weight and RNA/DNA ratios of carp reared at various conditions

时间 (天)	投喂 (%)	始体重 (g)	日重率 (%)	日增重率	RNA/DNA	T检验
10	0	13.38±0.42	-14.5	-1.56	1.79±0.18	二者差异
	5	17.96±0.67	12.6	1.18	2.72±0.16	显著
20	0	13.13±0.51	-15.4	-0.83	1.55±0.10	二者差异
	5	11.43±0.41	31.1	1.34	2.80±0.58	显著

注: 鱼体日增重率(%)=[2(W_n-W₀)/n(W₀+W_n)]×100. 式中W₀—始体重(g);W_n—终体重(g);n—饲养天数。

表2 试验组及对照组中鲤鱼增重和RNA/DNA值的变化

Table 2 Changes of gained weight and RNA/DNA ratios in the white muscle of carps in experiments and controls

时间(天)	试验组				对照组			
	始体重 (g)	日重率 (%)	日增重率	RNA/DNA	始体重 (g)	日重率 (%)	日增重率	RNA/DNA
1	13.07±1.46			2.90±0.19				
3	13.95±0.82	1.65	0.55	3.03±0.32	9.68±1.39	1.2	0.41	2.71±0.29
5	10.81±0.62	-17.9	-1.96	2.04±0.10	15.51±0.43	9.0	1.37	2.93±0.11
7	15.30±0.75	-13.1	-1.89	1.79±0.27	12.99±0.83	11.9	1.61	2.77±0.18
9	13.40±0.10	-15.6	-1.56	1.45±0.10	11.41±0.22	17.1	1.75	2.98±0.24
11	13.38±0.42	-14.5	-1.42	1.43±0.18	13.96±0.67	19.3	1.60	2.72±0.16
13	13.60±0.60	-13.3	-1.09	1.40±0.15	12.19±0.40	21.8	1.51	2.57±0.10
15	13.80±0.60	-13.4	-0.96	1.59±0.16	14.91±1.29	26.7	1.57	2.77±0.19
17	14.94±0.92	-14.7	-0.93	1.36±0.17	13.30±1.14	33.1	1.68	2.93±0.14
19	13.13±0.51	-15.4	-0.88	1.55±0.10	11.43±0.41	35.8	1.60	2.80±0.58

Bulow (1979)^[9]以金体美鳊(*Notemigonus crysoleucas*)为试验对象,也取得类似的结果。当

以体重的0, 2, 6%的饵料量饲养15天时,其RNA/DNA值分别为2.18, 2.83和4.32,平均体重变化为-16.1, 2.2和21.3%。Buckley (1979)^[6]指出,大西洋鳕(*Gadus morhua*)幼体在浮游生物密度高的水域中比在密度低的,具有较高的RNA/DNA值和较快的生长率。Wilder (1983)^[18]对鲑鳟鱼类的试验也得出了同样的结果。当给予它们充足的食物时生长较快,而饵料量受到限制时生长较缓慢,生长率和白肌的RNA/DNA呈显著正相关。本研究也取得相同的结果。

鲤鱼在饥饿时,其体重及RNA/DNA值的变化迅速,二者变化规律相似(表2)。鲤鱼停止进食后,除前3天因其肠内尚残留食物和处于逐渐消化排空阶段之外,体重一直在减少,RNA/DNA值也从较高的2.90、3.03开始逐渐下降,直至第9天的1.45,以后趋向稳定。这样的规律和结果与Bulow(1970)的基本一致。RNA/DNA的快速变化主要在于RNA的浓度。在整个试验过程中,无论试验组或对照组,DNA值基本稳定,RNA值则有较大幅度的变动,这就导致了RNA/DNA值的波动。

对照组鲤鱼始终处于良好的增重状态(日增重率 $\bar{V}=1.63\pm 0.08$),其RNA/DNA值也一直保持较高水平。比较一下试验组和对照组的RNA/DNA值(图1),可以发现,当鲤鱼生长良好时,其RNA/DNA值均在2.0以上,而处于饥饿态时,其RNA/DNA值基本在2.0以下。

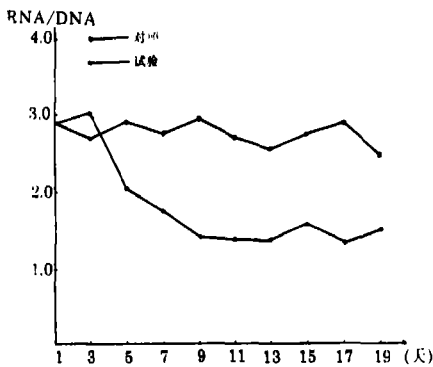


图1 试验组和对照组鲤鱼白肌中RNA/DNA的比较。

Fig.1 Comparisons of RNA/DNA ratios in the white muscle of carp between experiments and controls

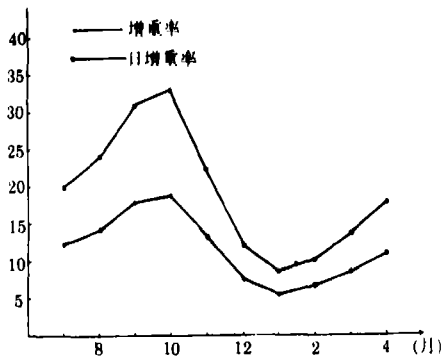


图2 鲤鱼增重的季节变化

Fig.2 Seasonal changes of gained weight of carp

2.2 池塘生长试验

表3所示,鲤鱼自始至终都在不断增重,但其增重率、RNA值和RNA/DNA值明显地随季节而变化,呈显著的正相关($r=0.8994$),经回归分析得出日增重率(x)和RNA/DNA(y)的回归方程为 $y=0.8982x+1.15$ 。它们在一年中皆在9、10月最高,4月次之,7、8月再次之,11-2月最低。DNA值的变化很小,仅在秋季略有升高,大部分时间处于恒定的水平(图2-5)。秋季温度适宜,溶氧充足,若投饵充分,其生长是迅速的。冬季温度较低,其摄食及活动均降低,生长受到一定程度的抑制。春季因为性腺的发育等使摄入的能量转移于性腺发育成熟过程,而用于生长的相对减少。夏季温度较高,溶氧昼夜变化大,遏制了摄食和生长,况且鱼类在此季节期间活动加剧,消耗了大部分摄入的能量,因而,影响了用于生长的能量。

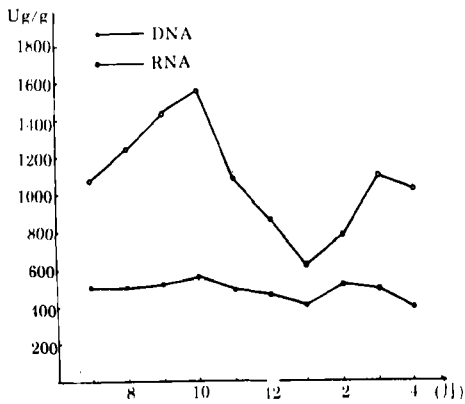


图3 鲤鱼白肌中RNA和DNA浓度的季节变化。

Fig.3 Seasonal changes in RNA and DNA concentrations in the white muscle of carp.

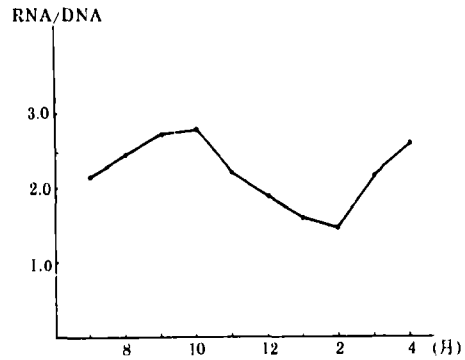


图4 鲤鱼白肌中RNA/DNA值的季节变化

Fig.4 Seasonal changes of RNA/DNA ratios in the white muscle of carp

表3 鲤鱼增重和RNA/DNA值的季节变化

Table 3 Seasonal changes of gained weight and RNA/DNA ratios in the white muscle of carp

月份	体重(g)	增重率(%)	日增重率	RNA/DNA
1989,7	8.71	20.1	1.22	2.14±0.20
8	13.21	24.3	1.43	2.45±0.29
9	22.01	30.9	1.79	2.73±0.07
10	39.36	33.1	1.89	2.80±0.21
11	61.35	22.4	1.34	2.22±0.16
12	80.09	12.1	0.76	1.9±0.24
1990,1	190.24	8.7	0.56	1.6±0.17
2	114.96	10.4	0.67	1.48±0.17
3	146.11	13.9	0.86	2.2±0.06
4	200.86	18.2	1.11	2.63±0.25

一年中, RNA/DNA值只在12-2月期间低于2.0, 余时皆高于2.0(图4)。这表明除冬季外, 在其它季节鱼类的生长速度均较迅速。本文的试验结果与Terry (1980)^[17]对黑斑太阳鱼(*Pomoxis nigromaculatus*)的结果一致, 而与Bulow (1981)^[10]对兰鳃鱼(*Lepomis macrochirus*)的结果稍有差异他认为兰鳃鱼RNA与RNA/DNA值的变化趋势为春>秋>夏>冬。然而这一差异并不影响如下结果, 即生长速率总是和RNA/DNA值相关的。

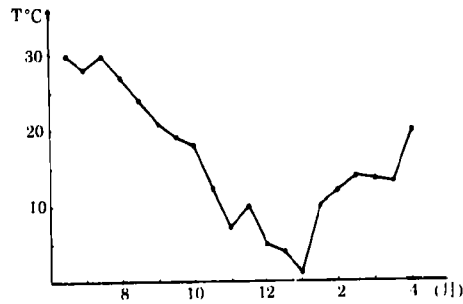


图5 试验池水温的季节变化

Fig.5 Seasonal changes of water temperature in experimental pond

表4 鲤鱼在不同浓度 Hg^{2+} 水中饲养15天和30天时增重率、RNA/DNA值及肌肉中总汞残留量的变化Table 4 Changes of gained weight, RNA/DNA ratios and amount of Hg^{2+} in the white muscle of carp reared in various concentrations of Hg^{2+} for 15 and 30 day

结果 Hg^{2+} 浓度 (mg/l)	15(天)					30(天)				
	始体重 (g)	增重率 (%)	日增重率	RNA/DNA	残留量 (mg/kg)	始体重 (g)	增重率 (%)	日增重率	RNA/DNA	残留量 (mg/kg)
0	12.83±1.91	21.50	1.29	2.84±0.27	0	11.93±0.54	37.00	1.04	2.71±0.10	0
0.0012	13.96±3.20	13.60	0.85	2.60±0.16	0.22	12.53±2.93	31.00	0.89	2.52±0.08	0.37
0.0028	10.68±1.33	12.10	0.76	2.46±0.07	0.26	9.31±0.85	27.00	0.79	2.39±0.33	0.45
0.0038	9.94±0.84	10.10	0.64	2.29±0.13	0.27	12.93±2.61	15.80	0.49	2.15±0.66	0.49
0.0050	10.24±1.61	9.30	0.59	2.16±0.18	0.29	9.63±1.62	8.10	0.26	2.08±0.22	0.56
0.010	7.42±1.42	7.00	0.45	2.18±0.14	0.32	10.01±1.92	4.20	0.14	1.95±0.38	0.62

2.3 重金属(汞)污染试验

如表4所示,暴露于含汞水中的鲤鱼的生长明显受到影响。由于每天饲喂颗粒饲料,鲤鱼在各浓度组均能适应,体重增加,但增重率随浓度加大而降低。不论试验15天或30天,试验组的增重率俱低于同时间的对照组。这主要是汞积累于体内,会影响到酶的活性和蛋白质合成,使之与外界的物质交换和代谢活动受到抑制,减缓了生长速率。

从肌肉中汞的残留量分析可以看出,30天时汞的残留量几乎是15天时的两倍,但其增重率并不因为汞残留量的增多而减少。如在0.0028mg/l浓度时,15天的残留量为0.26mg/kg,增重率12.1%;30天的残留量为0.45mg/kg,增重率27%。后者的增重率远大于前者,这或许是因为在汞未达到一定浓度限度和未积累到一定限量时,鱼类对汞有一种适应作用,允许汞在鱼体内缓慢积累而其本身仍然能够生长;只在汞浓度超过一定限度或残留量超定量后,对其生长的影响才较明显地表现出来。本文试验的结果,0.005mg/l Hg^{2+} 将是一个浓度阈值,超过此限,30天

时的增重率明显低于15天时。因此,可以认为,不论其残留量如何,都将明显抑制鲤的生长。

分析鱼体白肌中RNA/DNA值的变化,试验组明显低于对照组。经方差分析显示,鱼在含不同浓度汞的水中,RNA/DNA值有显著差异。但用LSD法检验^[6],分析RNA/DNA值有差异的浓度组别表5显示,15天时所有浓度组均和对照组的RNA/DNA值有显著差异,但相邻各浓度组间的RNA/DNA值并无明显差异;30天时,仅浓度达0.0038mg/l时才显示出与对照组有差异,这和前面阐述的增重率相符合的。即汞在浓度或残留量达到一定限度后才使鱼类的生长受到显著影响,并通过RNA/DNA值预测到。

表5 不同汞浓度中鲤鱼白肌RNA/DNA值的LSD法检验

Table 5 Comparisons of RNA/DNA ratios in the white muscle of carps between concentration of Hg^{2+} , using LSD method

Hg^{2+} 浓度(mg/l)	15天		30天	
	RNA/DNA	LSD	RNA/DNA	LSD
0	2.84	---	2.71	--
0.0012	2.60	与对照组差异显著	2.52	---
0.0028	2.46	与对照组差异显著	2.39	---
0.0038	2.29	与对照组差异显著	2.15	与对照组差异显著
0.005	2.16	与对照组差异显著	2.08	与对照组差异显著
0.01	2.18	1.95	1.95	与对照组差异显著
	5% LSD=0.23 1% LSD=0.31		5% LSD=0.47 1% LSD=0.64	

综上所述,RNA/DNA值与鱼的生长速率密切相关,但影响鱼类生长速率的污染物很多,所以,用鱼肌核酸水平衡量水环境,只能在一定条件下预测污染与否及水环境是否有利于鱼类的生长,而无法对污染物作定性或定量分析。

3 小 结

(1) 用紫外吸收分光光度法测定鱼肌中的RNA和DNA,回收率分别达到103.08%和95.01%,表明此方法是可信的。

(2) 鲤鱼饥饿或饱食时,其白肌中的RNA/DNA值显著不同,体重变化与RNA/DNA值变化有明显的相关性。

(3) 池塘养殖的鲤鱼,其增重率、RNA值及RNA/DNA值在一年中有基本一致的变化规律,9、10月最高,4-6月次之,7-8月再次之,11、12、1、2月最低;其增重率和RNA/DNA值呈显著的正相关($r=0.8994$),回归方程为 $y=0.8982x+1.15$ (x ——日增重率, y ——RNA/DNA值)。

(4) 鲤鱼白肌中RNA/DNA值的测定可预测其种群的生长趋势,由于RNA含量的变化先于蛋白质合成速率的变化,故可在鱼类生长速率明显变化之前,用RNA/DNA值作指标进行预测。当鲤鱼处在较好的生长状况时,其RNA/DNA值总是高于2.0,而当环境因子不利于其生长

时,其RNA/DNA值总是在在1.5左右。因此,若某个水体中随机取5条样品鱼,分析其白肌中的RNA/DNA值,若显示其值在2.0,以下,将指示该水体中的鲤鱼的生长已受到或将受到抑制。若其比值在2.0以上,将指示其鲤鱼处于较好的生长状态。

(5) 暴露于含汞水中的鲤鱼,只有当水中汞离子浓度超过一定限度时,才能对其生长产生显著的影响,并通过RNA/DNA值予测出来,对于本试验,这一浓度阈值是0.005mg/l。

(6) 鱼肌核酸水平变化并不能说明水质状况,两者无固有的关系,因为性腺发育、水温、饥饿也引起核酸水平变化。

参 考 文 献

- [1] 达维森, J. N. (中国科学院生物化学研究所核酸组译), 1983. 核酸的生物化学, 63-68, 155-156. 科学出版社(京).
- [2] 朱俭等, 1987. 生物化学试验, 117-149. 上海科学技术出版社.
- [3] 沈仁权等, 1980. 基础生物化学, 151-152. 上海科学技术出版社.
- [4] 阿拉巴斯特, J. S. 等(姜礼禧译), 1986. 淡水鱼类水质标准, 50-76. 科学普及出版社(京).
- [5] 金有坤主编, 1986. 淡水渔业水质分析法, 100-111. 上海科学技术出版社.
- [6] 金炳陶, 1988. 概率论与数理统计, 85-100. 湖南科学技术出版社(长沙).
- [7] 湛江水产专科学校主编, 1980. 淡水养殖水化学, 136-156. 农业出版社(京).
- [8] Buckley, L. J., 1979. Relationships between RNA/DNA ratio, prey density, and growth rate in Atlantic cod (*Gadus morhua*) larvae. *J. Fish. Res. Board Can.*, 36(12):1497-1502.
- [9] Bulow, F. J., 1970. RNA/DNA ration as indicator of recent growth rates of a fish. *Ibid*, 27(12):2343-2349.
- [10] Bulow, F. J. et al., 1981. Seasonal variations in RNA/DNA ratios and in indicators of feeding, reproduction, energy storage, and condition in a population of Bluegill, *Lepomis macrochirus* Rafinesque. *J. Fish. Biol.*, 18(3):237-244.
- [11] Collvin, L., 1985. Effects of copper on growth and starvation in perch, *Perca fluviatilis* L.. *J. Fish. Biol.*, 27(6):757-764.
- [12] Fleck, A. & H. N. Munro, 1962. The precision of ultraviolet absorption measurements in the Schmidt-Thannhauser procedure for nucleic acid estimation. *Biochim. Biophys. Acta* 55(5):571-583.
- [13] Haines, T. A., 1973. An evaluation of RNA/DNA ratio as a measure of long-term growth in fish populations *J. Fish Res. Board Can.*, 30(2):195-199.
- [14] Munro, H. N. & A. Fleck, 1965. Recent developments in the measurement of nucleic acid in biological materials. *Analyst*, 91(1074):78-88.
- [15] Mustafa, S., 1977. Influence of maturation on the concentrations of RNA and DNA in the flesh of the catfish, *Clarias batrachus*. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 106(5):499-451.
- [16] Tsanev, R. & G. G. Markov, 1960. Substance interfering with spectrophotometric estimation of nucleic acids and their elimination by the two-wavelength method. *Biochim Biophys. Acta.*, 42(3):442-452.
- [17] Haines, T. A. 1980. Seasonal patterns of muscle RNA/DNA ratio and growth in black crappie, *Pomoxis nigromaculatus*. *Env. Biol. Fish.*, 5(1):67-70.
- [18] Wilder, I. B. & J. G. Stanley, 1983. RNA/DNA ratio as an index to growth in salmonid fishes in the laboratory and in streams contaminated by carbaryl. *J. Fish. Biol.*, 22(2):165-172.

RNA/DNA RATIO IN WHITE MUSCLE OF CARP (*CYPRINUS CARPIO L.*) AND ITS RELATIONSHIP WITH GROWTH RATE

Si Ya-dong

(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan 430072)

Jin You-kun Zhou Hong-qi Lu Gui

(Shanghai Fisheries University, 200090)

ABSTRACT The RNA/DNA ratios in white muscle of carp were determined by UV spectroscopy as a physiological index of growth rate. The index was possibly used to evaluate the effect of ecological environment and feeding condition on the carp growth. The experimental results indicated that the RNA/DNA values in white muscle of carp were correlated with the change in growth rate ($r=0.8994$) or the increase in fish weight. Moreover, the RNA/DNA ratio was the highest in autumn, the lowest in winter and the medium in spring and summer time. When the ratio value was over 2.0, it showed that carp grew well, otherwise grew badly. The growth rate of the fish was significantly affected if the concentration of mercuric ion (Hg^{++}) reached 0.005 mg/l, and this effect might be detected by measuring the RNA/DNA ratios in white muscle of the fish through UV absorbance measurements.

KEYWORDS carp, RNA, DNA, population growth, physiological index, pollution