

文章编号:1000-0615(2006)05-0701-06

·研究简报·

低温胁迫对鲤血液学和血清生化指标的影响

常玉梅^{1,2}, 匡友谊¹, 曹鼎臣¹, 梁利群^{1,3}, 孙效文¹, 雷清泉³

(1. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所 黑龙江 哈尔滨 150070;

2. 中山大学生命科学学院 广东 广州 510275;

3. 哈尔滨理工大学 黑龙江 哈尔滨 150080)

关键词 鲤;低温;胁迫;血液 pH

中图分类号 S 917 文献标识码 A

Effects of cooling temperature stress on hematology and serum chemistry values of *Cyprinus carpio*

CHANG Yu-mei^{1,2}, KUANG You-yi¹, CAO Ding-chen¹, LIANG Li-qun^{1,3}, SUN Xiao-wen¹, LEI Qing-quan³

(1. Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China;

2. College of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;

3. Harbin University of Science and Technology, Harbin 150080, China)

Abstract: A total of 85 interspecific hybrid F₂ (*Cyprinus carpio* var. *wuyuanensis* × *Cyprinus pellegrini pellegrini*) were cooled to specific temperatures and held at those temperatures over a maximum of 4 days in a water-recycled and temperature-controlled aquarium inside. As a result, the blood homeostasis of experimental fish changed violently as acute temperature changed from 16 °C to 10 °C and 4 °C at a rate of 1 °C·h⁻¹ according to the data we collected. Whole blood pH, also called extracellular pH (pHe) were very sensitive to temperature changes, where there was a significant difference between 10 °C (7.41) and 16 °C (7.17) ($P < 0.01$), compared to other values of hematology and serum chemistry. When the water temperature was continually decreased to an extreme temperature of 4 °C, the content of Na⁺ of serum decreased remarkably in comparison with that of 10 °C and 16 °C, which was 85.2 mmol·L⁻¹, 113.3 mmol·L⁻¹ and 118.7 mmol·L⁻¹, respectively. The values of hematology and serum chemistry also altered in gentle temperature changes of (10 ± 2) °C and (4 ± 2) °C. Most values of serum chemistry and pH changed significantly, whereas the values of blood plasma changed slightly. pH was up slowly in 4 days at (10 ± 2) °C and down slowly in 3 days at (4 ± 2) °C. A variety of values of serum chemistry changed remarkably both at (10 ± 2) °C and (4 ± 2) °C, but the values of TP, TG and ALB only changed significantly at (4 ± 2) °C. These results distinguished at least two mechanisms involved in cold-induced stress in hybrid F₂. Cold-induced pH changes resulted in other values altered. What's more, pH correlated negatively with water temperature above 10 °C, and the content of Na⁺. We also found that gentle temperature changes will be physiologically compensated for on day one at (10 ± 2) °C and on day 2 at (4 ± 2) °C in hybrid F₂.

Key words: *Cyprinus carpio*; cooling temperature; stress; pH

收稿日期 2005-08-25

资助项目 国家 973 计划(2004CB117404)

作者简介:常玉梅(1978-),女,内蒙古阿拉善盟人,博士研究生,从事鱼类分子生物学研究。Tel: 0451-84861314, E-mail: ymchang2002@sohu.com

通讯作者 梁利群, E-mail: llq-1019@163.com

鱼类生活在水域环境中,每天都面临着来自水域环境的各种胁迫(stress),如极限水温、低氧、食物匮乏和人为造成的污染等,这些胁迫因子会使鱼类体内保持的稳态(homeostasis)发生剧烈变化。通常受胁迫的鱼类要经历3个不同的阶段。首先是警觉反应阶段(alarm reaction phase),鱼类体内稳态发生剧烈变化;其次是抵制阶段(resistance phase),鱼类试图适应改变的环境以恢复稳态;最后进入疲劳阶段(exhaustion phase),持续胁迫会抑制鱼类体内的补偿体系^[1]。然而,不同鱼类对胁迫的反应及承受能力存在很大的差异。尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)虽耐受水温范围广(8~42℃)国外有些学者称之为广温性鱼类^[2],但当水温低于或保持下限水温时,鱼体立即出现冷休克反应,如水温不能及时回升,短时间内全部死亡^[2]。而广温性鱼类鲤(*Cyprinus carpio*)0~30℃,尤其是分布在北方高寒地区的鲤,可以耐受其生存温度下限0~4℃长达数月^[3]。这种差异的产生,国外学者 Goldspink^[4]推测,由于鲤是四倍体鱼类,似乎有更多的机会发展演化热适应和冷适应基因,而且通过研究鲤肌肉收缩蛋白 myosin hc 基因,发现其数目是哺乳类的一倍

多。因此,鲤受到低温胁迫时,有能力通过调控自身的生理反应,以保持体内稳态的平衡。通常,低温胁迫包括两个方面,冷驯化(cold acclimation)和温度快变(acute temperature)。冷驯化指水温的缓慢变化,一般可使鱼体内部出现补偿机制以保持内环境的稳态,而水温的快速变化则会打破这种稳态,继而使鱼体出现胁迫反应(stress response)^[1,5]。本研究通过对荷包红鲤抗寒品系(*Cyprinus carpio* var. *wuyuanensis*)与大头鲤(*Cyprinus pellegrini*)杂交 F₂ 在低温胁迫下的血液学和血清生化指标的测定,阐明变化的水温主要通过影响哪些因子,破坏杂交 F₂ 的血液学稳态,致使其出现胁迫反应。

1 材料与方法

1.1 实验水环境水质分析

降温实验前,对室内控温循环水族箱内的过滤养殖用水进行水质分析,包括 pH 值(玻璃电极法, Mettler TOLEDO 320, 瑞士)、Ca²⁺(HCl 滴定法)、Mg²⁺(EDTA 滴定法)、Cl⁻(硝酸银滴定法)和 HCO₃⁻(酸碱滴定法)(表 1)。各项指标基本符合养殖用水标准^[6,7]。

表 1 水环境水质分析情况

Tab. 1 Water quality analysis of water environment

	水温(℃) temp	pH	Cl ⁻ (mg·L ⁻¹)	HCO ₃ ⁻ (mg·L ⁻¹)	Ca ²⁺ (mg·L ⁻¹)	Mg ²⁺ (mg·L ⁻¹)	总碱度 total alkali (mol·L ⁻¹)	总硬度 total hardness (mol·L ⁻¹)
养殖水质 water quality	16	7.02	20.53	7.078	49.25	14.93	3.7	3.4

1.2 实验鱼

实验鱼是黑龙江水产研究所培育的荷包红鲤抗寒品系(♂,耐寒)与大头鲤(♀,不耐寒)杂交 F₂。从中挑取体重在 58~70 g 健康的杂交 F₂ 85 尾进行实验。

1.3 低温胁迫实验设计

降温实验模型是在 Trueman 等^[8]报道的基础上稍加修改而设计的。实验鱼放入水温为(16±2)℃的室内控温循环水族箱,敞口区用泡沫板封盖(并排双层,规格相同 140 cm×60 cm×40 cm)。降温前,从 16℃水箱随机采样 5 尾作为对照组。第一天将水温从 16℃以 1℃·h⁻¹的速度降至 10℃,此后部分实验鱼进行(10±2)℃冷驯化 4 d,水温降至 10℃的第二天,以与第一天同样的降温速度使水温降至 4℃,此后部分实验鱼进行(4±2)℃冷驯化 3 d。两个温控点 10℃和 4℃以及两个温度范围(10±2)℃和(4±2)℃的不同冷驯化天数分别采样 5 尾。同时,观察记录在不同温度下实验鱼的反应。

1.4 血液的采集及指标的测定

全血 pH 及相关指标测定 首先用含有少量肝素钠的注射器从鱼尾静脉抽取约 300~500 μL 的血液,并快

速排出注射器内的空气密封,放入冷藏室备用。采用微量血气分析仪(型号:AVL995-Hb,瑞士)毛细管法测定全血 pH、P_{CO₂}、P_{O₂}和 HCO₃⁻。血液学指标测定:上述肝素钠浸润采血后,立即更换一支新注射器尾静脉采血。迅速采取 1~1.5 mL 的血液,将其中约 0.5 mL 的血液注入含有少量 10% 乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂·2H₂O)的 1.5 mL 离心管中,快速混匀,放入冷藏室备用。采用全自动血液分析仪(型号:Sysmex SF3000,日本)测定部分血液学指标。测定项目包括血红蛋白(HGB)、红细胞压积(Hct)、红细胞平均体积(MCV)、红细胞平均血红蛋白量(MCH)和红细胞平均血红蛋白浓度(MCHC)、红细胞计数(RBC)和白细胞计数(WBC)参照文献^[9]报道的方法在 Neubauer 计数板上通过显微镜手动计数。

血清生化指标测定 将剩余的血液全部注入另一个 1.5 mL 的离心管中,放入冷藏室,待自然析出血清后,以 4 000 r·min⁻¹离心 10 min,收集血清。采用全自动生化分析仪(型号:Olympus AU-2700,日本)测定部分生化指标。测定项目包括谷草转氨酶(AST)、谷丙转氨酶(ALT)、总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)、总胆红素(TBIL)、尿素氮

(BUN) 甘油三酯(TG) 乳酸脱氢酶(LDH) Na^+ 、 Cl^- 、 Ca^{2+} 、无机磷和 Mg^{2+} 。以上实验均在当天完成。

1.5 数据处理

采用 SAS 8.0 统计软件包中的单因素方差分析和 Duncan 氏多重范围比较进行分析,结果以平均值 \pm 标准差表示。

2 结果

2.1 温度的变化与鱼体的反应

水温从 16 $^{\circ}\text{C}$ 降到 10 $^{\circ}\text{C}$ 时,实验鱼并未出现任何不良反应,游动自如,经常聚堆。在随后 4 d 冷驯化中,表现亦正常。当水温继续从 10 $^{\circ}\text{C}$ 降至 4 $^{\circ}\text{C}$ 时,实验鱼开始出现游动缓慢,上浮,分散独游等现象,未出现死亡。在随后的

3 d 冷驯化中,表现同前,仍未出现死亡。

2.2 温度的快变对实验鱼血液中一些重要指标的影响

水温的快速变化引起了实验鱼血液中一些重要指标的波动,其中 pH 和血清 Na^+ 有极显著的变化($P < 0.01$); 血浆 MCH 和 MCHC 有显著性的变化($P < 0.05$)。均值比较主要呈现出两个趋势:随温度的快速下降,pH、 HCO_3^- 和 Cl^- 有明显上升趋势,其余指标则随温度的快速降低而下降。相对于血液中的其它因子的变化,pH 对温度的变化比较敏感,水温降至 10 $^{\circ}\text{C}$ 时即与对照组差异显著。血浆和血清中一些理化指标在水温继续降至 4 $^{\circ}\text{C}$ 时,变化明显(表 2)。

表 2 实验鱼血液指标在 3 个温控点的均值比较(mean \pm SD)

Tab.2 Mean values comparison of blood indices of experimental fish at 3 temperature control points

温控点($^{\circ}\text{C}$) temperature control points	全血 whole blood			血浆 blood plasma			血清 blood serum		
	pH	P_{CO_2} (mmHg)	HCO_3^- ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	HGB ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	MCH (pg)	MCHC ($\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)	Na^+ ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Cl^- ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Ca^{2+} ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)
16	7.17 \pm 0.02 ^b	16.5 \pm 2.1 ^b	6.2 \pm 0.4 ^b	84.6 \pm 5.9 ^{ab}	188.5 \pm 3.3 ^a	1004.8 \pm 28.1 ^a	118.7 \pm 6.4 ^a	86.6 \pm 17.0 ^b	2.8 \pm 0.3 ^a
10	7.41 \pm 0.05 ^a	14.6 \pm 1.0 ^a	9.4 \pm 1.1 ^a	73.2 \pm 10.3 ^a	182.7 \pm 12.5 ^a	958.0 \pm 70.7 ^a	113.3 \pm 3.0 ^a	89.3 \pm 1.5 ^a	2.3 \pm 0.2 ^a
4	7.37 \pm 0.14 ^a	14.3 \pm 1.4 ^{ab}	8.0 \pm 1.7 ^{ab}	58.8 \pm 6.0 ^b	127.3 \pm 9.1 ^b	676.0 \pm 98.3 ^b	85.2 \pm 12.4 ^b	111.5 \pm 16.5 ^a	2.0 \pm 0.1 ^b

注:字母相同表示无差异,字母不同表示差异明显

Notes: same letters mean no difference, otherwise, significant difference

2.3 (10 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 冷驯化对实验鱼血液指标的影响

(10 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 不同天数的冷驯化对血液 P_{O_2} 、Hct 和血清 BUN 的变化有显著性的影响(包括温控点 10 $^{\circ}\text{C}$, day 0 表示)($P < 0.05$),对血清 Na^+ 的变化也有极显著的影响(P

< 0.01)。均值多重范围比较发现,血液和血清生化指标如 pH、RBC、TBIL 等在冷驯化第一天即与温控点差别明显,而与其它冷驯化天数差别不明显,表明实验鱼有可能从 10 $^{\circ}\text{C}$ 冷驯化第一天开始就进入了冷适应阶段(表 3)。

表 3 实验鱼血液指标在(10 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 不同冷驯化天数的均值比较(mean \pm std)

Tab.3 Mean values comparison of blood indices of experimental fish in different cold acclimation days at (10 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$

时间 (d) time	全血 whole blood			血浆 blood plasma		血清 blood serum				
	pH	P_{CO_2} (mmHg)	P_{O_2} (mmHg)	RBC ($\times 10^{12}\cdot\text{L}^{-1}$)	Hct(%)	TBIL ($\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$)	BUN ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Mg^{2+} ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Na^+ ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)	Cl^- ($\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$)
0	7.41 \pm 0.05 ^a	14.6 \pm 1.0 ^a	85.9 \pm 13.4 ^a	0.56 \pm 0.051 ^a	7.72 \pm 1.08 ^a	13.3 \pm 6.1 ^a	2.2 \pm 0.3 ^c	0.6 \pm 0.1 ^{ab}	113.3 \pm 3.0 ^a	89.3 \pm 1.5 ^a
1	7.22 \pm 0.01 ^b	20.4 \pm 1.0 ^b	94.3 \pm 12.5 ^a	0.83 \pm 0.068 ^b	11.68 \pm 0.98 ^b	1.2 \pm 0.5 ^b	4.3 \pm 0.5 ^a	0.8 \pm 0.2 ^b	94.0 \pm 7.3 ^b	62.5 \pm 15.0 ^b
2	7.28 \pm 0.04 ^{ab}	19.0 \pm 3.0 ^{ab}	47.4 \pm 7.9 ^b	0.67 \pm 0.11 ^{ab}	8.08 \pm 2.84 ^{ab}	0.7 \pm 0.1 ^b	3.5 \pm 0.6 ^{ab}	0.5 \pm 0.1 ^a	71.3 \pm 5.1 ^c	52.4 \pm 12.0 ^b
3	7.29 \pm 0.02 ^{ab}	17.8 \pm 0.07 ^{ab}	51.7 \pm 7.5 ^b	0.70 \pm 0.046 ^{ab}	10.36 \pm 0.91 ^{ab}	0.7 \pm 0.2 ^b	2.7 \pm 1.0 ^{bc}	0.7 \pm 0.2 ^{ab}	89.4 \pm 5.1 ^b	71.8 \pm 17.0 ^{ab}
4	7.32 \pm 0.01 ^{ab}	19.0 \pm 0.06 ^{ab}	64.8 \pm 8.8 ^{ab}	0.62 \pm 0.052 ^{ab}	8.58 \pm 0.82 ^{ab}	1.0 \pm 0.4 ^b	2.8 \pm 1.1 ^{bc}	0.8 \pm 0.2 ^{ab}	92.4 \pm 16.3 ^b	68.6 \pm 22.0 ^{ab}

注:字母相同表示无差异,字母不同表示差异明显

Notes: same letters mean no difference, otherwise, significant difference

2.4 (4 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 冷驯化对实验鱼血液指标的影响

(4 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 不同天数的冷驯化对 pH、血清 TG 和 Cl^- 的变化有显著性的影响($P < 0.05$),对血清 TP、ALB、TBIL、 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 的变化有极显著的影响($P < 0.01$)。均值多重范围比较表明,血液及血清生化指标在冷驯化第二

天与温控点和/或第一天发生明显的变化。随冷驯化天数的延长,pH 及相关指标均有下降趋势,血清中除 Cl^- 下降外,其余变化明显的指标均有上升趋势。同时可看出,实验鱼在(4 \pm 2) $^{\circ}\text{C}$ 的 3 d 冷驯化过程中,血浆中的指标无明显

显变化,而血清中大部分指标的变化较明显(表4)。

表4 实验鱼血液指标在(4±2)℃不同冷驯化天数的均值比较(mean±SD)

Tab.4 Mean values comparison of blood indices of experimental fish in different cold acclimation days at (4±2)℃

时间 (d) time	全血 whole blood			血清 blood serum						
	pH	P _{CO₂} (mmHg)	HCO ₃ ⁻ (mmol·L ⁻¹)	TP (g·L ⁻¹)	ALB (g·L ⁻¹)	TBIL (μmol·L ⁻¹)	TG (mmol·L ⁻¹)	Cl ⁻ (mmol·L ⁻¹)	Ca ²⁺ (mmol·L ⁻¹)	Mg ²⁺ (mmol·L ⁻¹)
0	7.37±0.14 ^a	14.3±1.4 ^a	8.0±1.7 ^a	20.0±1.8 ^{ab}	6.5±1.3 ^b	0.5±0.4 ^b	0.6±0.3 ^{ab}	111.5±16.5 ^a	2.0±0.1 ^b	0.7±0.1 ^b
1	7.31±0.01 ^{ab}	13.8±0.2 ^{ab}	6.7±0.3 ^{ab}	15.5±1.9 ^c	5.3±1.0 ^b	0.6±0.4 ^{ba}	0.4±0.1 ^b	108.7±2.8 ^a	2.2±0.1 ^{ab}	0.5±0.1 ^b
2	7.29±0.04 ^b	13.6±2.1 ^b	6.1±0.5 ^b	23.6±2.2 ^a	8.6±0.6 ^a	9.0±7.7	0.9±0.1 ^a	82.4±23.7 ^b	2.5±0.0 ^a	0.9±0.0 ^a
3	7.26±0.01 ^b	16.7±0.4 ^{ab}	7.3±0.1 ^{ab}	18.8±4.1 ^{bc}	6.3±1.2 ^b	0.7±0.6 ^b	0.6±0.2 ^{ab}	88.8±13.5 ^{ab}	2.06±0.2 ^b	0.7±0.1 ^b

注:字母相同表示无差异,字母不同表示差异明显

Notes: same letters mean no difference, otherwise, significant difference

3 讨论

3.1 水温的快变与冷驯化对实验鱼的影响

水温的变化速率及持续的时间长短是决定鱼类能否存活的重要因素。本研究2 d内从16℃降至4℃时,鱼体立即出现了低温胁迫反应,但并未出现死亡。血液学指标表明pH变化最明显,pH稳态的打破,必然引起其它相关因子的变化(表2)。例如,随温度的快速下降,HGB含量随之下降,必然影响O₂和CO₂的运输及输出速率,但实验结果却表明,P_{O₂}并未受影响(未列出),HGB一直保持氧合状态。Perry等¹⁰认为,快速氧合的HGB会释放大量的波尔质子(Bohr protons),促使HCO₃⁻发生脱氢反应,所以氧合的血液流经鱼鳃时,会提高CO₂的排出速率。CO₂排出率提高,P_{CO₂}随之下降,所以pH上升。另外,pH的变化也会引起血液离子浓度发生一定的变化^[11,12]。但水温的快变并未引起蛋白或酶、脂类的变化,我们推测这可能是由于水温的快变引起了鱼体内代谢反应的可逆性抑制,这与Trueman等⁸的观点是一致的。温度驯化(thermal acclimation)是指一个有机体通过调节自身的生理反应或表现对环境温度的特定变化产生应答反应的过程,同时也是锻炼表型可塑性的一个特例^[13]。驯化应答的产生是一个缓慢的过程。本研究通过对实验鱼(10±2)℃和(4±2)℃两个温程的冷驯化(4 d和3 d),血液学和血清生化指标表明,实验鱼从冷驯化第一天开始出现代谢性补偿,对(10±2)℃的温度变化产生适应性反应(表3);在(4±2)℃温程的驯化中,冷驯化第二天的生理生化反应比较明显,而第一天、第三天以及温控点4℃的变化都不明显(表4),这可能由于冷刺激在24~48 h内产生热效应,而出现能源代谢物质的应急反应,如TP、TG和ALB含量增加^[14]。但如果这种胁迫继续存在,鱼体内的代谢反应可能持续被抑制,体能被用来恢复已破坏的稳态,致使免疫力下降,最终导致鱼体发病死亡,这种病症称为适应综合征(general adaptation syndrome, GAS)^[1]。

3.2 低温胁迫对实验鱼影响最大的是pH

通过温度胁迫实验发现,实验鱼的pH对温度的变化十分敏感。当水温从16℃以1℃·h⁻¹的速率降至10℃时,pH为7.41,与对照组7.17差异极显著(P<0.01),但10℃与4℃的pH变化不明显(7.41和7.37)。另外,在两个温程的冷驯化实验中,pH有缓慢上升((10±2)℃)和下降((4±2)℃)的趋势(图2)。Taylor等¹⁵认为,动物通过对新环境的一段时期的驯化,普遍存在生化过程的温度补偿策略。其中,pH由于对内在的生理生化过程的温度变化很敏感,并与温度呈负相关(-0.016~0.019 U·℃⁻¹),所以pH是细胞间代谢的一个非常重要的调节因子。我们的研究表明,水温大于10℃时,杂交F₂的pH与温度的负相关性成立,但水温小于10℃时,则不存在这种关系。这可能是由于低温导致CO₂的排泄率下降,体内的积累使pH稍微有所下降^[15]。

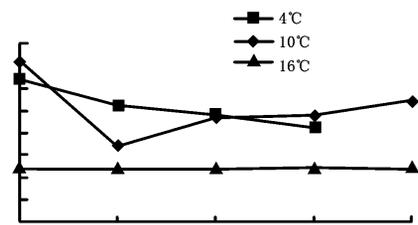


图1 实验鱼在不同温度下的pH

Fig.1 pH of experimental fish at different temperatures

3.3 低温胁迫下实验鱼血清离子浓度的变化

低温胁迫也破坏了实验鱼血清离子的稳态。水温从16℃快变至4℃时,血清Na⁺、Cl⁻和Ca²⁺发生明显变化,其中Na⁺和Ca²⁺含量明显下降(表2)。Ganim等¹⁶认为,鱼类为了提高在低温环境下的生存能力,通常会采取降低Ca²⁺的渗透性,以维护一些重要器官如心脏、大脑等的离子稳态。本研究实验鱼可能通过阻止内质网中Ca²⁺渗透到血液中,以试图恢复已破坏的离子稳态。而pH的变化必会引起Na⁺浓度发生波动。Burton^[11,12]曾报道,在特定

的温度下,硬骨鱼类,两栖类和爬行类的正常 pH 与血浆 Na^+ 浓度呈负相关,并且认为它们在保持 pH/ Na^+ 稳态的作用机制也十分相似,这种稳态的存在是为了保证细胞表面某些特定分子的正常功能。由于 pH 对细胞表面特定位点的分子的离子化(主要指蛋白质分子)具有显著性的影响,如果该分子位于细胞表面负电荷区域,必定会吸引

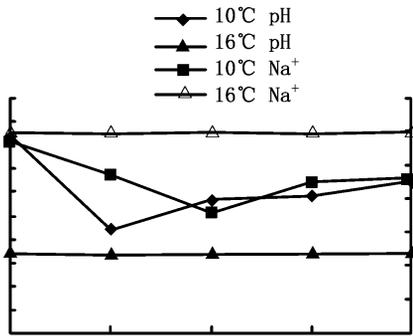


图2 实验鱼在 $(10 \pm 2)^\circ\text{C}$ 低温胁迫时 pH/ Na^+ 关系

Fig.2 pH/ Na^+ relationship of experimental fish at $(10 \pm 2)^\circ\text{C}$

3.4 低温胁迫下实验鱼血液变化的生理过程

本研究实验数据表明,低温胁迫最先导致实验鱼 pH 的稳态发生了变化,而鱼体试图恢复这种稳态时,可能涉及 3 个生理过程的变化^[15]。首先,血液中存在的多对复杂的缓冲系统如 $\text{NaHCO}_3/\text{H}_2\text{CO}_3$ 、 $\text{NaHPO}_4/\text{NaH}_2\text{PO}_4$ 、Na-蛋白质/H-蛋白质,尤其是以 $\text{NaHCO}_3/\text{H}_2\text{CO}_3$ 最为重要,不仅含量多,而且缓冲能力强^[9]。其次,低温下,鱼体内新陈代谢速率下降,排泄率也会下降, CO_2 的运输及排出率随之下降,势必引起 P_{CO_2} 上升,pH 偏酸性。而血红蛋白(HGB)的氧和程度以及碳酸酐酶的活性对 CO_2 的运输及排出有非常重要的影响^[10,17]。最后,低温下激活的离子运输通道可以捕获或去除酸碱平衡物。如 Na^+/H^+ 通道, $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ 通道^[10,18]。由此可见,这些生理过程的变化对维持 pH 的稳态至关重要。

鱼类对低温的适应是由遗传因素决定的。生活在极地高寒地区(如南极洲)的大多数鱼类通过抗冻蛋白基因表达抗冻蛋白以避免血液结冰达到对低温的适应^[19]。而罗非鱼和鲤等一些淡水鱼类对低温的适应是一个数量性状,受微效多基因控制^[20,21],但也受到生物因素如年龄、大小、性别、身体状况等和非生物因素如季节变化、水质(硬度、酸碱度等)等的影响^[22]。本研究通过控制生物因素和非生物因素可能造成的影响,以保证实验鱼只受到低温胁迫。结果,低温胁迫对实验鱼的血液和血清生化指标影响很大,破坏了血液稳态,并使实验鱼产生胁迫反应。数据分析表明受胁迫的实验鱼可能在 $(10 \pm 2)^\circ\text{C}$ 冷驯化第一天开始就进入稳态恢复阶段,而在 $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ 冷驯化

大量的 H^+ 来屏蔽这些负电荷。但事实上,Burton 认为,血液中的 Na^+ 会代替部分 H^+ 进行屏蔽,这样血液中的 Na^+ 就会减少,过多的 H^+ 引起的 pH 偏酸性,则会通过加快 CO_2 的排泄率来消除。另外,血液中的 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 也存在同样的作用机制。本研究虽未测血浆 Na^+ 浓度,但血清 Na^+ 浓度与 pH 同样存在负相关性(图 3)。

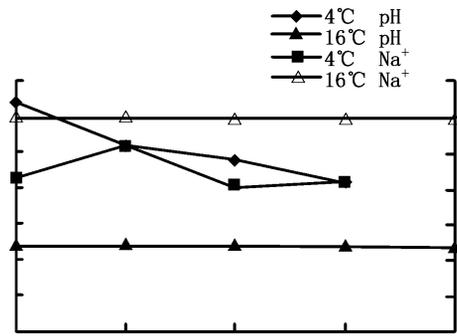


图3 实验鱼在 $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ 低温胁迫时 pH/ Na^+ 关系

Fig.3 pH/ Na^+ relationship of experimental fish at $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$

第二天开始出现代谢补偿反应。这些数据为从遗传表达角度寻找鲤鱼耐寒基因奠定了基础。

参考文献:

- [1] Goos H J T H, Consten D. Stress adaptation, cortisol and pubertal development in the male common carp *Cyprinus carpio* [J]. Molecular and Cellular Endocrinology 2002, 197: 105-116.
- [2] Dan N C, Little D C. Overwintering performance of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) broodfish and seed at ambient temperature in northern Vietnam [J]. Aquaculture Research, 2000, 31: 485-493.
- [3] 沈俊宝,刘明华.鲤鱼育种研究[M].哈尔滨:黑龙江科学技术出版社,2000.28-29.
- [4] Goldspink G. Adaptation of fish in different environmental temperature by qualitative and quantitative changes in gene expression [J]. J Therm Biol, 1995, 20(1/2): 167-174.
- [5] Engelsma M Y, Hougee S, Nap D, et al. Multiple acute temperature stress affects leucocyte populations and antibody responses in common carp, *Cyprinus carpio* [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2003, 15: 397-410.
- [6] 中华人民共和国国家标准渔业水质标准. GB11607-89.
- [7] 湛江水产专科学校.淡水养殖水化学[M].北京:农业出版社,1979.35-57.
- [8] Trueman R J, Tiku P E, Caddick M X, et al. Thermal thresholds of lipid restructuring and $\Delta 9$ -desaturase expression in the liver of carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. Journal of Experimental Biology, 2000, 203: 641-650.
- [9] 赵维信.鱼类生理学[M].四川:高等教育出版社,1992.212

- 215.
- [10] Perry S F , Wood C M , Walsh P J , *et al.* Fish red blood cell carbon dioxide transport *in vitro* : a comparative study[J]. *Comp Biochem Physiol* , 1996 , 113 (2) : 121 - 130.
- [11] Burton R F. The dependence of normal arterial blood pH on sodium concentration in teleost fish[J]. *Comp Biochem Physiol* , 1996 , 114 (2) : 111 - 116.
- [12] Burton R F. Evolutionary determinants of normal arterial plasma pH in ectothermic vertebrates [J]. *Journal of Experimental Biology* , 2002 , 205 : 641 - 650.
- [13] Wakeling J M , Cole N J , Kemp K M , *et al.* The biomechanics and evolutionary significance of thermal acclimation in the common carp *Cyprinus carpio* [J]. *Am J Physiol Regulatory Integrative Comp Physio* , 2000 , 279 : 657 - 665.
- [14] 桂远明 , 吴 垠 , 祝国芹 , 等 . 几种养殖鱼类越冬生理生化指标的变化 1. 血液指标及代谢率 [J]. *大连水产学院学报* , 1994 , 9 (3) : 15 - 27.
- [15] Taylor S E , Egginton S , Taylor E W , *et al.* Estimation of intracellular pH in muscle of fishes from different thermal environment[J]. *Journal of Thermal Biology* , 1999 , 24 : 199 - 208.
- [16] Ganim R B , Peckol E L , Larkin J , *et al.* ATP-sensitive K^+ channels in cardiac muscle from cold-acclimated goldfish : characterization and altered response to ATP [J]. *Comp Biochem Physiol* , 1998 , 119A (1) : 395 - 401.
- [17] Currie S , Kieffer J D , Tufts B L. The effects of blood CO_2 reaction rates on CO_2 removal from muscle of exercised trout [J]. *Respiration Physiology* , 1995 , 100 : 261 - 269.
- [18] Maetz J , Romeu J G. The chloride uptake by a fresh-water fish , mechanism of sodium and the gills of *Carassius auratus* . Evidence for NH_4^+ / Na^+ and HCO_3^- / Cl^- exchanges [J]. *Journal of General Physiology* , 1964 , 47 : 1209 - 1227.
- [19] 钟其旺 , 樊廷俊 . 鱼类抗冻蛋白的研究进展 [J]. *生物化学与生物物理学报* , 2002 , 34 (2) : 124 - 130.
- [20] Cnaani A , Gall G A E , Hulata G. Cold tolerance of tilapia species and hybrids [J]. *Aquaculture International* , 2000 , 8 : 289 - 298.
- [21] 梁群群 , 孙效文 . 鲤鱼抗寒性状的 RAPD 分析 [J]. *中国水产科学* , 1997 , 14 (3) : 89 - 91.
- [22] Atwood H L , Tomasso J R , Webb K , *et al.* Low temperature tolerance of *Nile tilapia* , *Oreochromis niloticus* : effects of environmental and dietary factors [J]. *Aquaculture Research* , 2003 , 34 : 241 - 251.

欢迎订阅 2007 年《动物学报》

《动物学报》于 1935 年创刊 , 由中国动物学会和中国科学院动物研究所共同主办 , 是我国动物学领域中历史最悠久、最具权威性的学术刊物之一 , 在国内、外有广泛的影响。据中国科学技术信息研究所 2004 年公布的数据 , 本刊影响因子为 0.873 , 在 51 种生命科学期刊中排名第 6 , 在 1 576 种源刊物中排名第 96 , 并获得“百种国家杰出期刊”荣誉称号。

《动物学报》为动物学研究领域的综合性学术期刊 , 主要刊登原创性的研究论文 , 优先发表创新突出、理论性强和有关中国特有动物的研究论文 , 并刊登特定研究领域中的综述(以特约稿为主) , 主要领域包括 : 生态学和行为学 , 系统学和动物地理学 , 生理学和生物化学 , 生殖、发育和衰老生物学 , 遗传、细胞和分子生物学 ; 主要栏目为综述、研究论文、观点与方法、研究简报。

《动物学报》可全文免费下载址(www.actazool.org) , 双月刊 , 大 16 开本 , 双月下旬出版 , 国内、外发行 , 每期定价 49 元。邮发代号 2 - 497 , 全国各地邮局均可订阅 , 也可与编辑部联系补订或补刊等有关事项。

地 址 : 100080 北京海淀北四环西路 25 号《动物学报》编辑部

电 话 : 010 - 62624530 , E-mail : zool@ioz.ac.cn