

佟雪红, 睢燕, 路瑛, 等. 牙鲆变态期间核酸、总蛋白的变化及其与生长的关系[J]. 江苏农业科学, 2014, 42(3): 171–173.

牙鲆变态期间核酸、总蛋白的变化及其与生长的关系

佟雪红^{1,2}, 睢燕², 路瑛², 邵青臣², 俞峰², 瞿晓苏²

(1. 江苏省滩涂生物资源与环境保护重点实验室, 江苏盐城 224002; 2. 盐城师范学院生命科学与技术学院, 江苏盐城 224002)

摘要:研究牙鲆变态期间核酸、总蛋白及其比值的变化, 并确定其与生长的关系。结果显示, DNA 浓度在 22~32 日龄保持相对稳定, 在 32~34 日龄急剧升高, 在 36 日龄达到最高。RNA 浓度在 24 日龄升至峰值, 在 32 日龄降至最低, 之后呈先升高再下降的趋势。总蛋白浓度在 22~29 日龄呈升高趋势, 之后先降低再上升。DNA、RNA 含量及总蛋白含量在变态期间均保持先升高后降低再升高的趋势, 在 32~36 日龄快速增长。RNA/DNA 比值在 22~24 日龄呈上升趋势, 然后下降直至 32 日龄, 之后先上升后下降, 并在 36 日龄达到最低值(2.27)。Protein/DNA 比值在 29 日龄达到最高值(61.97), 之后先下降后上升。RNA、DNA 浓度及总蛋白浓度与体长和体重有明显的线性关系。结果表明, 牙鲆变态高峰期前的生长以细胞增大为主, 变态后的生长以细胞增殖为主, RNA、DNA 及其比值可以从微观细胞水平上指示仔稚鱼的生长。

关键词:牙鲆; 变态; 核酸; RNA/DNA; Protein/DNA

中图分类号:S917.4 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2014)03-0171-03

鱼类在养殖过程中通常采用测定体长和体重的方式确定生长状况。但早期发育阶段, 仔稚鱼形体较小, 精确测定其形态指标比较困难, 降低了应用体长或体重来评价生长的可行性。有研究表明, 生化指标能够准确地检测到鱼类生长的细微变化和食物分布的波动^[1]。因此, 在通过传统方法不能度量出鱼类生长的变化时, 采用有效的生化指标来评价鱼类的生长是非常重要的。鱼类的生长依赖于蛋白质的持续合成, RNA 和 DNA 在仔鱼生长和发育中也有重要作用。RNA 参与合成蛋白质, 控制着细胞和核糖体的体积, 进一步影响细胞的生长率。DNA 是生物的遗传物质, DNA 浓度高表明单位组织中细胞数目多, RNA/DNA 是体内蛋白质合成的体现。根据 RNA/DNA 比值可以估算出鱼类的生长速度^[2-4]。目前已在隆头鱼(*Tautoga onitis*)^[5]、黑线鳕(*Melanogrammus aeglefinus*)^[6]、东方蓝鳍鲷(*Thunnus orientalis*)^[7]、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)^[8]、红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)^[9]等鱼中进行了核酸指标与生长参数的研究, 结果表明 RNA/DNA 比值是评价养殖鱼类生长潜能的敏感参数。在鱼类的体长、体重较难测量时, 可以采用核酸指标来度量生长状况。

牙鲆在我国俗称牙片、偏口, 是名贵的海产鱼类, 又是重要的海水养殖鱼类之一, 经济价值较高。在早期发育阶段, 牙鲆仔鱼要经历变态过程, 身体逐渐偏转 90°, 导致脑颅及胸腔变形, 同时生活方式也从浮游型转变为底栖埋伏型^[10]。变态期往往伴随着营养危机和高死亡率, 是鲆鲽鱼类早期发育阶段的关键期, 并决定着年产量和经济收益^[11]。探究变态期仔稚鱼的生长发育, 了解鱼苗的生理状况, 有助于优化养殖管

理, 提高成活率。因此, 本研究分析变态期间牙鲆仔稚鱼 DNA、RNA 和总蛋白的变化规律, 确定上述生化指标跟生长的数量关系, 以期建立从微观细胞水平上评价仔稚鱼生理状态的方法, 为发育生理等方面的深入研究提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 样品采集和保存

试验所用牙鲆鱼苗取自江苏省赣榆县海头镇养鱼场, 培育时水温 16~19℃, 溶氧 7.9~8.7 mg/L, 盐度 3.1‰~3.3‰。分别在 22、24、28、29、32、34、36 日龄上午投饵前定点定时取样, 按照鱼苗大小随机取一定量的样品用于测定 RNA、DNA 浓度及总蛋白浓度, 样品麻醉后快速保存于液氮中备用。在测定 DNA、RNA 浓度及总蛋白浓度前, 于半解冻的状态下用游标卡尺和电子天平测定体长(BL)、全长(TL)及体重(BW)。

1.2 核酸和总蛋白的测定

按照 Buckley 等^[12]和 Kuropat 等^[13]的方法, 略作修改进行测定。采用整体匀浆法提取牙鲆仔稚鱼的核酸和总蛋白, 进一步用紫外分光光度法测定并计算 RNA 和 DNA 的含量及浓度, 依据 Bradford 的方法^[14]测定总蛋白含量及浓度。

1.3 数据分析

试验数据均用“平均值±标准差”表示, 采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 DNA、RNA 及总蛋白的变化

由图 1 可知, DNA 浓度在 22~32 日龄期间保持相对稳定, 32~34 日龄时急剧升高, 34~36 日龄缓慢升高, 在 36 日龄达到最高值。RNA 浓度在 24 日龄升至峰值(2.34 μg/mg), 然后逐渐下降, 在 32 日龄降至最低值(1.15 μg/mg), 之后呈先升高再下降的趋势。总蛋白浓度在 22~29 日龄间呈升高趋势, 之后呈先降低再上升的趋势。

收稿日期: 2013-07-03

基金项目: 江苏省滩涂生物资源与环境保护重点实验室开放课题(编号: JLCBE12003); 江苏省高校自然科学基金研究项目(编号: 12KJB240001); 盐城师范学院大学生实践创新训练计划项目。

作者简介: 佟雪红(1979—), 女, 山东潍坊人, 博士, 讲师, 主要从事海洋生物学研究。E-mail: txh113005@163.com。

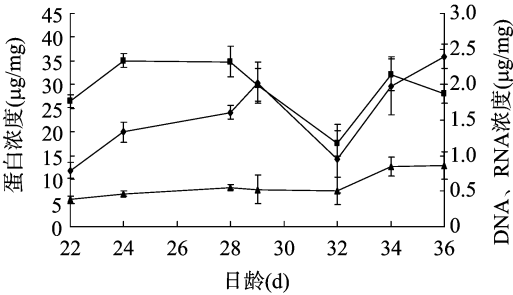


图1 牙鲈变态期间RNA (■)、DNA (▲) 和总蛋白(◆)浓度的变化

由图 2 可知,DNA、RNA 含量及总蛋白含量在牙鲈变态期间均呈先升高后降低再升高的趋势,在 32~36 日龄期间快速增长。

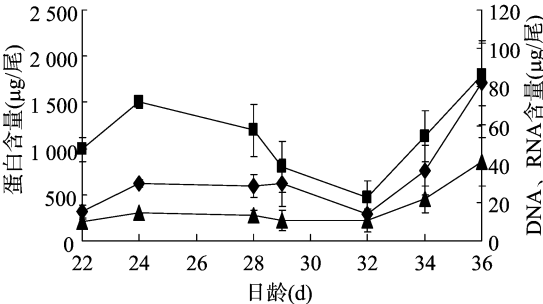


图2 牙鲈变态期间RNA (■)、DNA (▲) 和总蛋白(◆)含量的变化

2.2 Protein/DNA 和 RNA/DNA 的变化

由图 3 可知,RNA/DNA 比值在 22~24 日龄期间呈上升趋势,之后保持下降趋势直至 32 日龄,再呈先上升后下降的趋势,在试验结束时达到最低值(2.27)。Protein/DNA 比值在 22~29 日期间呈上升趋势,并在 29 日龄达到最高值(61.97),之后呈先下降后上升趋势。

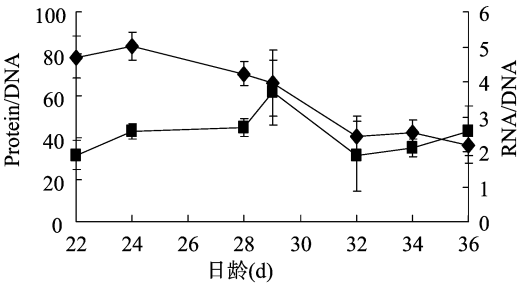


图3 牙鲈变态期间Protein/DNA (■)和RNA/DNA (◆)的变化

2.3 核酸、总蛋白浓度与牙鲈体长、体重的关系

由表 1、图 4、图 5 可知,RNA、DNA 浓度及总蛋白浓度与牙鲈体长和体重有明显的线性关系;RNA/DNA 和 Protein/DNA 与牙鲈体长和体重的线性关系弱于 RNA、DNA 浓度及总蛋白浓度。

3 讨论

3.1 核酸和总蛋白

DNA 是稳定的遗传物质,DNA 的量反映了鱼体的细胞数量,而RNA的量与细胞中的蛋白合成密切相关^[15]。本试验

表 1 核酸、总蛋白浓度与牙鲈体长 (BL)、体重 (BW) 的关系式

关系式	r^2
$DNA = 141.83BL - 112.7$	0.895
$RNA = 121.24BL + 42.78$	0.909
$Protein = 595.57BL + 45.58$	0.914
$RNA/DNA = -4.11BL - 11.28$	0.686
$Protein/DNA = -73.7BL - 82.89$	0.596
$DNA = 10.82BW + 63.75$	0.902
$RNA = 34.86BW + 16.78$	0.935
$Protein = 1.078BW - 8.39$	0.934
$RNA/DNA = -12.14BW + 17.24$	0.657
$Protein/DNA = -9.36BW + 77.38$	0.691

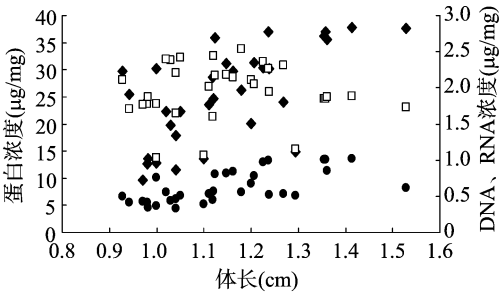


图4 牙鲈体长与总蛋白(◆)、RNA (□)、DNA (●)浓度的关系

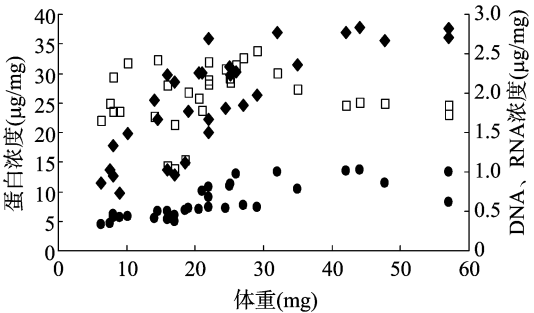


图5 牙鲈体重与总蛋白(◆)、RNA (□)、DNA (●)浓度的关系

中 RNA 浓度在 22~28 日龄期间呈上升趋势,然后下降,表明变态高峰期前牙鲈的生长以细胞体积增大为主;变态高峰期后器官重组导致能量消耗,最终引起 RNA 浓度降低^[16]。变态后 RNA 浓度总体趋势是升高,表明鱼体在大量合成蛋白质。总蛋白浓度的变化与 RNA 总体相似,但在 28~36 日龄部分趋势相反,表明蛋白的变化滞后于 RNA 的变化,对牙鲈生理状态变化的敏感性低于 RNA。总蛋白和 RNA 含量均呈先升高后降低再升高的趋势,变态期间总蛋白和 RNA 含量降低可能跟该时期器官组织重新排列、发育不完善有关^[17]。

DNA 含量是反映生物体内细胞数目的指标^[18]。29 日龄时 DNA 含量较低,这跟此时牙鲈的形体剧烈改变有关;之后 DNA 含量呈升高趋势,可能是因为牙鲈生活方式由浮游状态改变到底栖状态,此时刚经历变态过程,生理状况较差^[19]。

由 DNA 和 RNA 的变化曲线可知,牙鲈变态开始至变态高峰期的生长以细胞增大为主,变态高峰后的生长以细胞增殖为主。微观生长方式的改变对应的是宏观养殖环境中牙鲈

仔稚鱼的发育状况和生活方式的变化。

3.2 RNA/DNA

RNA/DNA 是生物体中细胞代谢强度的指示指标,可用于评价鱼类的生理状况^[20]。本试验中 RNA/DNA 比值随日龄增长和鱼体增大呈下降趋势,在青鱼和日本沙丁鱼中也有类似的结果^[21-22],推测可能是因为变态期 RNA 量呈下降趋势、DNA 量呈增长趋势,变态后 RNA 的增长幅度弱于 DNA 的增长幅度,即细胞增殖的速度高于蛋白合成的速度,这跟该时期牙鲆稚鱼生活方式由浮游转为底栖相关联。有研究表明,RNA/DNA 比值还可以预测生物的营养状况,该比值有个界限值 2.49,低于该界限值的生物处于“亚健康”状态或者饥饿状态^[23]。本研究中牙鲆稚鱼在 36 日龄时 RNA/DNA 比值为 2.27,表明该时期的牙鲆稚鱼处于营养不良状态,推测可能是因为稚鱼刚转变为底栖生活,生活方式的剧烈改变会对其摄食产生一定障碍,进而影响到其营养状况和生长。

3.3 Protein/DNA

蛋白质在细胞中占有很高的比例,因此 Protein/DNA 比值可作为指示细胞大小或者细胞重量的指标^[18]。本研究中该比值在变态高峰期前保持升高趋势,在 29 日龄时达到最高值,表明该时期鱼体的生长以细胞增大为主。随后稚鱼转入底栖生活,生活环境的急剧改变会对其摄食产生影响,此时鱼体会大量消耗前期合成的蛋白质,导致变态后的 Protein/DNA 比值呈急剧下降趋势,在条斑星鲽也发现了类似试验结果^[15]。待底栖环境适应后,稚鱼逐渐减少对自身蛋白的利用率,加大对外源食物的摄入量,体内蛋白含量逐步升高,导致该比值在后期呈升高趋势。

参考文献:

- [1] Buckley L J, Calderone E, Ong T L. RNA - DNA ratio and other nucleic acid - base indicators for growth and condition of marine fishes [J]. *Hydrobiology*, 1999, 401: 265 - 277.
- [2] Gwak W S, Tanaka M. Developmental change in RNA/DNA ratios of fed and starved laboratory - reared Japanese flounder larvae and juveniles, and its application to assessment of nutritional condition for wild fish [J]. *Journal of Fish Biology*, 2001, 59(4): 902 - 915.
- [3] Gwak W S, Tsusaki T, Tanaka M. Nutritional condition, as evaluated by RNA/DNA ratios, of hatchery - reared Japanese flounder from hatch to release [J]. *Aquaculture*, 2003, 219(4): 503 - 514.
- [4] Tanaka Y, Satoh K, Yamada H, et al. Assessment of the nutritional status of field - caught larval Pacific bluefin tuna by RNA/DNA ratio based on a starvation experiment of hatchery - reared fish [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2008, 354(1): 56 - 64.
- [5] Mercaldo - Allen R, Kuropat C, Caldaron E M. A model to estimate growth in young - of - the - year tautog, *Tautoga onitis*, based on RNA/DNA ratio and seawater temperature [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2006, 329(2): 187 - 195.
- [6] Caldaron E M. Estimating growth in haddock larvae *Melanogrammus aeglefinus* from RNA/DNA ratios and water temperature [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2005, 293: 241 - 252.
- [7] Tanaka Y, Gwak W S, Tanaka M, et al. Ontogenetic changes in RNA, DNA and protein contents of laboratory - reared Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* [J]. *Fisheries Science*, 2007, 73: 378 - 384.
- [8] 罗莉, 文华, 王琳, 等. 牛磺酸对草鱼生长、品质、消化酶和代谢酶活性的影响 [J]. *动物营养学报*, 2006, 18(3): 166 - 171.
- [9] 梁萌青, 王成刚, 陈超, 等. 几种添加剂对红鳍东方鲀的促生长效果与 RNA/DNA 关系 [J]. *海洋水产研究*, 2001, 22(2): 38 - 41.
- [10] 鲍宝龙, 杨桂梅, 任大明. 牙鲆变态过程中的细胞凋亡 [J]. *动物学报*, 2006, 52(2): 355 - 361.
- [11] Amara R, Galois R. Nutritional condition of metamorphosing sole: spatial and temporal analyses [J]. *Journal of Fish Biology*, 2004, 64(1): 72 - 88.
- [12] Buckley L J, Bulow F J. Techniques for the estimation of RNA, DNA, and protein in fish [M] // Summerfelt R C, Hall G E. *The age and growth of fish*. Ames, IA: Iowa State University Press, 1987: 345 - 354.
- [13] Kuropat C, Mercaldo - Allen R, Caldaron E, et al. Evaluation of RNA concentration as an indicator of growth in young - of - the - year winter flounder *Pseudopleuronectes americanus* and tautog *Tautogaonitis* [J]. *Marine Ecology - Progress Series*, 2002, 230: 265 - 274.
- [14] Bradford M M. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein - dye binding [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72: 248 - 254.
- [15] 佟雪红, 徐世宏, 刘清华, 等. 条斑星鲽变态期间 DNA、RNA 及总蛋白变化的研究 [J]. *海洋科学*, 2010, 34(5): 41 - 48.
- [16] Tanaka M, Kawai S, Seikai T, et al. Development of the digestive organ system in Japanese flounder in relation to metamorphosis and settlement [J]. *Marine and Freshwater Behaviour and Physiology*, 1996, 28: 19 - 31.
- [17] Peck M A, Buckley L J, Caldaron E M, et al. Effects of food consumption and temperature on growth rate and biochemical - based indicators of growth in early juvenile Atlantic cod *Gadus morhua* and haddock *Melanogrammus aeglefinus* [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2003, 251: 233 - 243.
- [18] Park S U, Lim H K, Han H S. Changes in RNA/DNA ratio and growth of slime flounder, *Microstomus achne*, larvae until metamorphosis [J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2008, 24(1): 50 - 54.
- [19] Malzahn A M, Clemmesen C, Rosenthal H. Temperature effects on growth and nucleic acids in laboratory - reared larval coregonid fish [J]. *Marine Ecology Progress Series*, 2003, 259: 285 - 293.
- [20] Vinagre B C, Fonseca V, Maia A, et al. Habitat specific growth rates and condition indices for the sympatric soles *Solea solea* (Linnaeus, 1758) and *Solea senegalensis* Kaup 1858, in the *Tagus estuary*, Portugal, based on otolith daily increments and RNA - DNA ratio [J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2008, 24(2): 163 - 169.
- [21] Clemmesen C. The effect of food availability, age or size on the RNA/DNA ratio of individually measured herring larvae: laboratory calibration [J]. *Marine Biology*, 1994, 118: 377 - 382.
- [22] Kimura R, Watanabe Y, Zenitani H. Nutritional condition of first - feeding larvae of Japanese sardine in the coastal and oceanic waters along the Kuroshio Current [J]. *Journal of Marine Sciences*, 2000, 57(2): 240 - 248.
- [23] Islam M S, Tanaka M. Nutritional condition, starvation status and growth of early juvenile Japanese sea bass (*Lateolabrax japonicus*) related to prey distribution and feeding in the nursery ground [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2005, 323: 172 - 183.