

海洋鱼类的生长与发育生物学研究与苗种培育*

林浩然

(中山大学水生经济动物研究所, 广东 广州 510275)

摘 要: 鱼类生长与发育生物学是海洋鱼类苗种培育的理论基础。近年来鱼类生长与发育生物学取得的研究进展为改善海洋鱼类苗种培育提供依据。主要的研究进展是: 阐明调控鱼类生长的脑-脑垂体-肝脏轴的各种激素分泌活动和作用机理, 促进海洋鱼类生长激素释放和提高生长率; 海洋鱼类幼苗生长发育的形态学与生理学特征及对饵料的消化吸收; 海洋鱼类幼苗生长发育所需要的营养物质; 促进鱼类苗种对饵料摄取与消化吸收的饵料添加剂; 环境条件对海洋鱼类苗种利用营养物质和生长的影响等。目前所取得的进展还只限于少数几种海洋养殖鱼类, 许多基本理论问题尚未充分阐明。今后, 为配合海洋鱼类养殖和增殖的发展, 必需系统深入研究各种重要海洋养殖鱼类的生长与发育生物学, 并在此基础上建立苗种培育新技术。

关键词: 海洋鱼类; 生长; 发育; 苗种培育

中图分类号: Q959.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2001) 04-0001-05

海洋鱼类苗种培育的基础理论是生长与发育生物学。海洋鱼类的产卵量通常比较大, 但卵径一般较小, 孵化期较短, 孵出的鱼苗体质较弱, 需及时摄食以获得养料, 并且需经较长时间的生长发育和变态过程才能成为体格健壮的可供养殖和放流的幼苗。如何促进海洋鱼类苗种的生长发育, 为它们提供适合而富于营养的饵料, 以提高生长率和成活率以及抗病能力, 是改善海洋鱼类苗种培育的关键。近年来对鱼类生长和发育生物学以及形态学和生理学的研究都取得不少进展, 为改善海洋鱼类苗种培育提供理论依据。

1 主要的研究进展

1.1 促进海洋鱼类生长激素的分泌活动和提高生长率

研究调控鱼类生长的脑-脑垂体-肝脏轴的各种激素分泌活动和作用机理。由脑垂体分泌产生的生长激素 (growth hormone, GH) 是一个具有两个二硫键的直链多肽; 鱼类 GH 由 173~188 个氨基酸组成, 相对分子质量为 20 000~22 000, 它对调节鱼体生长起主要作用。鱼类 GH 的分泌活动受到脑特别是下丘脑产生的多种神经内分泌因子的调控, 包括刺激性和抑制性的。刺激性的神经内分泌因子包括: 生长激素释放因子

(growth hormone-releasing factor, GRF)、脑垂体腺苷酸环化酶激活多肽 (pituitary adenylate cyclase activating polypeptide, PACAP)、促性腺激素释放激素 (gonadotropin-releasing hormone, GnRH)、促甲状腺素释放激素 (thyrotropin-releasing hormone, TRH)、神经肽 Y (neuropeptide Y, NPY)、胆囊收缩素 (cholecystokinin, CCK)、铃蟾肽 (bombesin, BBS)、激动素或活化素 (activin)、甘丙肽 (galanin, GAL)、促肾上腺皮质激素释放因子 (corticotropin-releasing factor, CRF)、多巴胺 (dopamine, DA) 等, 这些因子及它们的高活性类似物或激动剂既能通过孵育方式直接刺激离体的鱼脑垂体释放 GH, 亦能通过注射或埋植方式刺激鱼体内的脑垂体释放 GH 进入血液循环。抑制性的神经内分泌因子有: 生长激素抑制素 (somatostatin, SRIF)、去甲肾上腺素 (norepinephrine, NE)、5-羟色胺 (serotonin, 5-HT) 和谷氨酸 (glutamate, Glu) 等, 它们都可以抑制基础的 GH 分泌以及上述刺激性因子诱导的 GH 释放^[1]。鱼类 GH 的受体主要分布在肝脏 (肝细胞), 但在脑、性腺、鳃、肠和肾脏亦有分布; 这表明 GH 具有多种功能, 但主要功能是和肝细胞的特异性受体结合后刺激产生胰岛素样生长因子 (insulin-like growth factor, IGF), 并通过 IGF 传

* 基金项目: 广东省自然科学基金资助项目 (980308)

收稿日期: 2001-05-08; 作者简介: 林浩然 (1934-), 男, 教授, 博士生导师, 中国工程院院士。

递促进生长的作用。IGF(包括IGF-I和IGF-II)在进化上十分保守,例如,鱼类和人类的IGF-I的氨基酸序列十分相似,具有对鱼类和人类等等的生物活性。IGF在鱼类的生物学功能主要是刺激DNA合成和蛋白质合成、软骨的硫酸化和骨骼组织的蛋白聚糖合成;此外还能提高对海水的适应能力,刺激精子生成和诱导卵母细胞最后成熟。鱼类IGF虽然在许多组织中表达,但最高的含量是在肝脏,并且受到GH的调控。在鲑鳟鱼类研究表明肝脏IGF-I mRNA和血液中IGF-I的含量明显和幼鱼的生长速率相关连^[2]。对一些海洋鱼类的研究发现在幼鱼和成鱼,肝脏是GH最主要的靶器官,GH-肝脏轴通过IGF对促进生长起主要作用;但在孵化后5d的鲷鱼鱼苗,GH的结合位点在肝脏很少而主要集中在头部,并使头部生长较快,表明在鱼苗发育的早期,生长激素可能直接促进组织的生长^[3]。由于近年来取得的研究进展,目前已经可以利用神经内分泌因子-生长激素-类胰岛素生长因子轴对生长的调控作用以促进养殖鱼类苗种的生长。可供生产应用的主要途径是:

(1)在鱼类饲料中拌入一些能刺激鱼类自身生长激素合成与分泌的高活性神经内分泌因子,如GRF的类似物,GnRH的类似物,DA的激动剂,SRIF的抑制剂等,以提高生长速率。我们的研究表明一些多肽和蛋白质能为鱼类消化道完整吸收而进入血液循环并保持其生物活性,因而给鱼类苗种投喂高活性神经内分泌因子促进鱼体生长,提高生长速率是可行的。

(2)在鱼类饲料中拌入用基因工程技术生产的基因重组GH和IGF以直接刺激鱼体生长。由于基因工程技术的发展,一些海洋鱼类GH和IGF的基因已经克隆和表达,并且陆续获得基因重组的GH和IGF。最近的研究表明给金头鲷鱼种腹腔注射(每周1次)金头鲷基因重组GH,90d后平均生长率比对照组提高29%~33%;给金头鲷鱼苗投喂金头鲷基因重组GH,55d后平均生长率比对照组提高55%~65%,成活率亦显著提高^[4]。同样,给罗非鱼鱼种注射(每周1次)罗非鱼基因重组IGF,5周后平均体质量增长率比对照组提高73%(IGF-I)和72%(IGF-II)^[5]。

1.2 海洋鱼类幼苗生长发育的形态学与生理学特征及饵料的消化吸收

研究一些海洋鱼类鱼苗发育阶段的形态学与

生理学变化及它们对饵料消化吸收的直接与间接影响。鱼苗进入体外营养期后,消化器官和消化酶功能逐渐完善并提高对饵料营养成分的利用效能;内分泌系统的发育对幼苗的生长发育起重要作用;在胚胎时期,内分泌器官还未出现,母体传递的激素亦逐渐减少;在鱼苗孵出初期,内分泌器官开始形成,但激素含量很低;到变态期,内分泌器官的作用增强,激素含量表现较大的波动,其中的甲状腺素,皮质醇,生长激素和催乳激素都参与幼苗生长发育的调节。例如在牙鲆(*Paralichthys olivaceus*),脑垂体(腺垂体和神经垂体)在卵黄囊吸收完毕、孵化后3~4d形成,此时用细胞免疫反应能检测生长激素(GH)和催乳激素(PRL)的存在;甲状腺滤泡在孵化后4d开始摄食时数量很少,以后随着发育过程甲状腺滤泡逐渐增多,组织中 T_4 的含量随之上升,直到变态期达到高峰,变态后明显减少;肾间腺细胞大约在卵黄囊吸收后5d出现,组织中皮质醇含量的变化和 T_4 相似,但其高峰出现早于 T_4 的大量分泌;胰岛组织在卵黄囊吸收完毕时形成。这些内分泌器官大多都在卵黄囊完全吸收时分化与形成,证明它们在鱼苗由内源性能量来源转变为外源性来源时起重要作用。因此,在由卵黄囊吸收到完成变态的期间人为的提供促进生长发育的激素,将会有利于苗种培育和成活。

1.3 海洋鱼类幼苗生长发育所需要的营养物质

研究一些海洋鱼类幼苗发育阶段对蛋白质、脂类等主要营养物质的需求。海洋鱼类产出的卵中含有40%~60%的氨基酸(指干质量的百分比),包括聚合在蛋白质和其他大颗粒中的氨基酸和其他游离氨基酸,其中组成蛋白质的氨基酸是主要的。但是,大多数海洋鱼类产出的浮性卵,游离氨基酸可占总氨基酸含量的50%,而在一些海洋鱼类产的沉性卵和淡水鱼类产出卵,游离氨基酸只有2%~5%。海洋鱼类浮性卵的游离氨基酸是在卵母细胞最后成熟阶段通过卵黄蛋白的水解而形成。在卵产出后的卵黄囊吸收期间,游离氨基酸逐渐降解,而在摄食开始前的含量最低;这期间游离氨基酸用于能量代谢和鱼苗蛋白质合成,其中用于能量消耗的氨基酸占60%或更多。由于鱼苗的生长率非常高,依靠蛋白质合成与添加使身体的肌肉质量增长,因而需要从饵料中提取大量氨基酸。鱼苗开始摄食初期,胃的发生较晚,消化道消化分解和吸收蛋白

质和肽类的能力较弱, 而吸收游离氨基酸的能力较强。天然的海洋鱼苗开始摄食后主要从消化浮游生物获得大量游离氨基酸供身体的生长发育, 因而游离氨基酸是影响鱼苗成活的主要营养物质之一。采用包含游离氨基酸的微型脂质体饵料(脂类包被的微型小颗粒)配合以小型浮游生物能较好满足鱼苗发育初期的需要^[7]。归纳海洋鱼类幼苗脂类营养与代谢的研究结果, Sargent 等^[8]认为理想的饵料是含有约 10% 的干物质、富于 $n-3$ PUFA、磷脂中的三酰甘油少于 5%、基本上和海洋鱼类的卵黄、海洋鱼类幼鱼本身以及海洋浮游动物的脂类组成相似, 并且具有 22:6 $n-3$ (二十二碳六烯酸, DHA), 20:5 $n-3$ (二十碳五烯酸, EPA) 和 20:4 $n-6$ (花生四烯酸, AA) 的适宜含量与比例, 能满足幼苗对磷脂、肌醇和胆碱的需要。他们对栖息与适应不同的生态环境并摄食不同饵料, 表现不同代谢水平的舌齿鲈、大菱鲆和庸鲽的幼鱼进行综合分析, 提出舌齿鲈的优化饵料中: $w(\text{DHA}) : w(\text{EPA})$ 以 2 : 1、 $w(\text{EPA}) : w(\text{AA})$ 以 1 : 1 为宜; 而在大菱鲆和庸鲽的优化饵料中, $w(\text{DHA}) : w(\text{EPA})$ 亦以 2 : 1、而 $w(\text{EPA}) : w(\text{AA})$ 以 10 : 1 或更大些为宜。近年来采用含有鱼类苗种所必需的磷脂、蛋白质、固醇等的人工微型颗粒饲料取代天然活饵料培育鱼苗已获得初步成效, 但还需进一步研究各种海洋养殖鱼类苗种的营养需要量和摄食量以及人工饵料的实际营养价值并加以改善^[9]。

1.4 促进鱼类苗种对饵料摄取与消化吸收的饵料添加剂

给苗种开始投喂人工饵料时, 或者投喂含有低值饵料成份或可口性较差的饵料时, 在饵料中添加适量能促进苗种对饵料摄取与消化吸收的添加剂是很必要的。最近对条纹鲈 (*Morone saxatilis*) 的研究表明在饵料中添加约 4% 的摄食刺激剂(由 L -丙氨酸, L -丝氨酸, 肌苷-5'-单磷酸盐和甜菜碱组成) 4~6 个星期后, 能促进苗种对以植物蛋白配制的人工饵料的摄食量, 使食物转化率和体重增长率显著提高^[10]。这种摄食刺激剂将为今后以植物蛋白取代动物蛋白(如鱼粉)配制鱼用人工饵料的推广应用创造良好条件。在体内由赖氨酸和蛋氨酸合成的肉碱, 能促进长链的脂肪酸运送到线粒体, 增强身体组织的脂肪酸氧化作用和食物利用效能, 对促进苗种生长的作用亦很明显。例如给杂交条纹鲈每公斤饵

料中添加 370 mg 肉碱, 经过 8 个星期投喂后使平均体质量比对照组增长 19% 左右, 饵料摄入量亦明显增加, 但对鱼体生化组成没有影响^[11]。通常都认为鱼类能从水中吸收钙质满足它们代谢的需要, 特别是海水丰富的溶解钙是海洋鱼类的充足钙源, 因而很少考虑到海洋鱼类的饵料钙需要量。但是, 一些研究结果表明各种海洋鱼类利用海水钙的能力不同, 有些鱼类并不能从海水中获取所需要的钙。在鱼粉中, 钙通常和磷结合而形成复杂的羟基磷灰石或磷酸三钙而不能为有些鱼类充分利用。因而, 饵料中钙添加量对海洋鱼类苗种培育的影响引起重视。最近给褐菖鲉 (*Sebastes marmoratus*) 苗种的饲料中增加钙 ($w = 0.2\%$ 乳酸钙), 经几个星期投喂后苗种能达到最优的生长率和保持鱼体组织正常矿物质水平^[12]。

1.5 环境条件对海洋鱼类苗种利用营养物质和生长的影响

环境条件主要是温度, 对苗种吸收利用饵料中的蛋白质有明显的影响。例如, 舌齿鲈 (*Dicentrarchus labrax*) 适宜的生长温度范围是 23~27℃, 超出这个范围就不能很好吸收利用饵料中的营养物质, 并且影响生长效果; 试验表明饵料中含有 $w = 48\%$ 的蛋白质能满足其生长的需求, 在 25℃ 中培育苗种, 饵料利用效能和生长速率要明显高于 18℃ 中培育的苗种^[13]。鱼苗培育的适宜密度和投给开口饵料如轮虫的合适数量对鱼苗的生长和成活十分重要。例如赤鲷 (*Pagrus pagrus*) 的鱼苗以不同的培养密度(每 L 水含 100, 150 或 200 粒受精卵)、投喂给开口鱼苗的富集鱼油轮虫或冻干的鲨鱼卵、给以不同数量的轮虫(每 mL 水含有 5, 7 或 10 个轮虫)进行 14 d 的培育试验表明以 100~150 粒卵/L 的育苗密度和投给每 mL 含有 5~7 个富于 22:6 $n-3$ (DHA PUFA) 的轮虫, 能得到最好的鱼苗生长率和成活率^[14]。

目前所取得的研究进展还只限于少数几种鲈形目的养殖鱼类, 许多基本理论问题尚未充分阐明。今后, 为配合海洋鱼类养殖和增殖的发展, 必需系统深入研究各种重要海洋养殖鱼类的生长与发育生物学。

2 主要的研究方向和目标

2.1 鱼苗个体发育过程的形态学、生态学和生理学特征

着重消化器官和内分泌器官的形成过程、摄食方式和食物组成、耗氧量和代谢水平(能量)、环境因子和营养条件对发育、变态和生长的影响、对水质变化(如 pH、溶氧量、盐度、氨、污染物等)的耐受能力、激素(如甲状腺素、生长激素、IGF 等)在个体发育中的作用。

2.2 鱼苗生长发育所需要的营养素和能量

着重必需氨基酸、必需脂肪酸(特别是 PUFA)、维生素和微量元素的需要量,以及它们之间的均衡比例;适合苗种生长发育的最优饵料配方和配制人工微型颗粒饵料。

2.3 调控鱼苗鱼种生长发育

着重生长激素(GH)、胰岛素样生长因子(IGF)和其他重要神经内分泌因子的作用机理和它们分泌活动的调节机理,特别着重分离纯化重要养殖鱼类的 GH 和 IGF,建立它们的 RIA 或 Elisa 测定技术,以便深入阐明它们调控生长发育的作用机理。

在这些理论研究的基础上,将能够筛选和配制适合于主要海洋鱼类鱼苗鱼种生长发育的饵料,显著改善苗种生长发育的环境条件和培育技术,使苗种培育的生长率和成活率以及苗种的规格与质量都能提高到符合海洋鱼类大规模增殖和养殖的需求。

参考文献:

- [1] PENG C, PETER R E. Neuroendocrine regulation of growth hormone secretion and growth in fish[J]. Zool Studies, 1997, 36:79-89.
- [2] DUAN C. Nutritional and developmental regulation of insulin-like growth factor in fish[J]. J Nutrition, 1998, 128:306-314.
- [3] PEREZ-SANCHEZ J. The involvement of growth hormone in growth regulation, energy homeostasis and immune function of the gilthead sea bream (*Sparus aurata*): a short review[J]. Fish Physiology and Biochemistry, 2000, 22:135-144.
- [4] BEN-ATIA I, FINE M, TANDLER A, et al. Preparation of recombinant gilthead sea bream (*Sparus aurata*) growth hormone and its use for stimulation of larvae growth by oral administration[J]. Gen Comp Endocrinol, 1999, 113:155-164.
- [5] CHEN J Y, CHEN J C, CHANG C Y, et al. Expression of recombinant tilapia insulin-like growth factor-I and stimulation of juvenile tilapia growth by injection of recombinant IGFs polypeptides[J]. Aquaculture, 2000, 181:347-360.
- [6] TANAKA M, TANANGONAN J B, TAGAWA M, et al. Development of the pituitary, thyroid and interrenal glands and application of endocrinology to the improved rearing of marine fish larvae[J]. Aquaculture, 1995, 135:111-126.
- [7] RONNESTAD I, THORSEN A, FINN R N. Fish larval nutrition: a review of recent advances in the roles of amino acid[J]. Aquaculture, 1999, 177:201-216.
- [8] SARGENT J, McEVOY L, ESTEVEZ A, et al. Lipid nutrition of marine fish during early development: current status and future directions[J]. Aquaculture, 1999, 179:217-229.
- [9] TESHIMA S, ISHIKAWA M, KOSHIO S. Nutritional assessment and feed intake of microparticulate diets in crustaceans and fish[J]. Aquaculture Research, 2000, 31:691-702.
- [10] PARATRYPHON E, SOARES Jr J H. The effects of dietary feeding stimulants on growth performance of striped bass, *Morone saxatilis*, fed-a-plant feedstuff-based diet[J]. Aquaculture, 2000, 185:329-338.
- [11] TWIBELL R G, BROWN P B. Effects of dietary carnitine on growth rate and body composition of hybrid striped bass (*Morone saxatilis* male $\times$ *M. chrysops* female)[J]. Aquaculture, 2000, 187:153-161.
- [12] HOSSAIN M A, FURUICHI M. Essentiality of dietary calcium supplement in fingerling scorpion fish (*Sebastes marmoratus*)[J]. Aquaculture, 2000, 189:155-163.
- [13] PERES H, OLIVA-TELES A. Influence of temperature on protein utilization in juvenile European seabass (*Dicentrarchus labrax*)[J]. Aquaculture, 1999, 170:337-348.
- [14] HERNANDEZ-CRUZ C M, SALHI M, BESSONART M, et al. Rearing techniques for red porgy (*Pagrus pagrus*) during larval development[J]. Aquaculture, 1999, 179:489-497.

(下转第 12 页)

- Sovremenna Med, 1983, 34: 381 - 385.
- [8] CHRISTOV I, KRUSTEVA E. Thaliblastine-a potential plant antitumor preparation [A]. In: ECKHARDT S, KERPEL-FRONTUS S, eds. CMEA-chemotherapy symposium[M]. Akademiai Kiado, Budapest, 1985. 497 - 502.
- [9] LIN C W, SU Y Y, ZENG L M, et al. Structure determination of novel ether-linked bisalkaloid acutiaporberine [J]. Chem J Chinese Univ, 2000, 12: 1820 - 1823.
- [10] LIN C W, WANG X F, ZHOU F X, et al. Studies on the chemical constituents of *Thalictrum acutifolium* (Hand.-Mazz.) Boivin[J]. Acta Botanica Sinica, 1989, 60: 449 - 452.

新型植物来源生物碱

——唐松草阿原碱对人体肿瘤细胞株的细胞毒性研究

陈 琪, 戚穗坚, 彭文烈, 徐安龙

(中山大学生命科学学院, 广东 广州 510275)

摘 要: 研究从毛茛科唐松草属植物尖叶唐松草根部分提取的新型醚键双生物碱——唐松草阿原碱对几种人体肿瘤细胞株的毒性作用。唐松草阿原碱以质量浓度从 2.5 $\mu\text{g/mL}$ 到 100 $\mu\text{g/mL}$ 作用于 6 种体外培养的肿瘤细胞株及 2 种正常细胞株, 对其中 4 个肿瘤细胞株种表现了强烈的杀伤作用, IC_{50} 分别为: 宫颈癌 Hela 37 $\mu\text{g/mL}$, 肝癌 LCC 60 $\mu\text{g/mL}$, 胃癌 MGC 65 $\mu\text{g/mL}$, 非小细胞肺癌 PLA-801 82 $\mu\text{g/mL}$ 。对 2 个正常细胞株的毒性分别为: 肝细胞 L-02 65 $\mu\text{g/mL}$, 小鼠成纤维细胞 NIH3T378 $\mu\text{g/mL}$ 。而对另一株肝癌 HepG2 及乳腺癌细胞 MCF-7 无明显作用 ($\text{IC}_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$)。

关键词: 唐松草阿原碱; 尖叶唐松草; 细胞毒性

分类号: Q599

(上接第4页)

The Biological Studies of Growth and Development as well as Larval Rearing in Marine Fishes

LIN Hao-ran

(Institute of Aquatic Economic Animals, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: The fish growth and developmental biology is the theoretical bases of larval rearing in marine fishes. Recent advances in fish growth and developmental biology provided fundaments for the improvement of larval rearing in marine fishes. The major advances are: elucidated the secretion and action of the hormones from the brain-pituitary-liver axis which control the growth of fish, promoted growth hormone (GH) release and enhanced growth rate in marine fishes; the morphological and physiological characteristics of larval growth and development in marine fish as well as digestion and absorption of diet; the essential nutrients of marine fish larvae during growth and development; the application of dietary supplements to facilitated ingest and digest of diets in marine fish larvae; the effect of environmental factors on the utilization of nutrients and growth in marine fish larvae, etc. The advances up till the present moment are confined to few cultured marine fish, a great deal of fundamental theories are remained to be further investigation. In future, in order to coordinate the development of proliferation and culture of marine fish, the deeply and systematic research of growth and developmental biology in the major cultured marine fishes are necessary, and then establish new techniques of larval rearing based on these research.

Keywords: marine fishes; growth; development; larval rearing