

生长激素对中国对虾仔虾生长的影响^{*}

宋裕昌 侯兰英

(中国科学院海洋研究所)

对虾的人工养殖已成为我国养殖业中的支柱产业,不仅拓宽了农村劳动力市场渠道,同时也是农村脱贫致富的重要经济产业。但是近几年来,由于生态环境日益恶化,病毒或细菌感染、水质污染、饵料变坏引起的应激反应。造成对虾大面积遭灾,有的甚至全军覆灭。

我国北方沿海一些地区,为躲避高温期的对虾流行疾病,提出早育苗、育大苗的建议。而虾苗质量的好坏,又最终会直接影响对虾的成长和产量。我国部分育苗场采用提高育苗池温度和加大抗生素用量,促使虾苗在长度上达到 0.7—1cm,从而符合放养规格。日本学者 Nakamura(1987)用组织学方法研究日本对虾的流行疾病时发现,仔虾在 P₂₀期以前,特别是 P₄₋₁₀期时,发育的淋巴器官大小的转换值较低,仔虾期抵抗力亦较低,是仔虾易发病死亡的原因,而这段时期又正是中国对虾的放养期,从育苗池到虾塘,环境的改变较大,若加上育苗场急功近利的作法,则会加速仔虾的死亡或成为孱弱的个体。

据酒井(1992)、梶田(1990)、Kajita 等(1992)、Sakai 等(1991)、Edwards 等(1988)报道,生长激素对鱼类不仅有促进生长的作用,而且还有提高免疫力的效果。本课题组在完成山东省“八五”攻关课题“基因工程人工合成饵料的研制”过程中,同样证实了生长激素对鲤鱼有显著的促生长和抗病作用。但是在对虾的养殖中,有关生长激素的报道不多。本文为利用浸渍生长激素对中国对虾(*Penaeus chinensis*)仔虾生长和耐盐度影响的研究结果。

一、材料和方法

1. 实验用虾

1995 年中国对虾 P₁₂期仔虾取自青岛市大麦岛青岛市水产局科技推广育苗场;1996 年对虾 P₇期仔虾取自青岛市胶南泊里育苗场;1997 年对虾 P₇期仔虾取自青岛市小麦岛黄海水产所育苗场。仔虾取回后,放于本所水族楼玻璃钢水槽中,通以空气,并饲以蛋黄及卤虫无节幼体。

^{*} 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 2937 号;本课题为国家自然科学基金资助项目,39470105 号。

收稿日期:1997 年 9 月 10 日。

2. 实验用生长激素

实验用生长激素为:(1)猪生长激素(系美国 Sigma 公司产品),浓度为 6mg/L;(2)鲑鱼生长激素基因表达产物(激素蛋白)(由本所实验海洋生物学开放实验室张培军研究员提供,鲑鱼生长激素基因重组质粒经转化工程菌表达合成后分离提取所得),浓度为 22.18mg/L^①。

3. 实验方法

实验用虾均为一次浸渍于生长激素中 1h,后移至玻璃圆缸饲养。观察仔虾生长效果的圆缸水体为 1.5×10^4 ml,每缸(组)放置 300 条仔虾(1997 年每组增加为 2 缸)。以实验前(每缸取 10 条);7d(每缸取 10 条);15d(每缸取 30 条)和 24d(每缸取 30 条),分别随机取样测量全长,并进行数据统计处理。1995 年的实验结束时,计数仔虾的存活数。同时,还进行了生长激素对对虾高盐度的耐盐试验。耐盐试验的盐度分为 33,38,43 三组(此时测得青岛海水盐度为 33)。每缸放仔虾数如表 2,实验组预先在生长激素内浸渍 1h,然后移至高盐度海水中,每隔 1d 计数仔虾成活数,连续计数 3d。

为探索盐度对仔虾的影响,用透射电子显微镜观察仔虾的鳃;电镜预固定液用 2.5% 戊二醛磷酸缓冲液。1% 锇酸后固定,系列乙醇脱水,Epon-812 环氧树脂包埋,Nova 超薄切片机切片,醋酸铀-柠檬酸铅染色,日立 H-500 型透射电子显微镜观察。正常鳃的超微结构已由 Foster 等(1978)报道,正常对虾幼体鳃的渗透压调节组织的微细结构按 Talbot 等(1972)所述来区分。

二、结 果

1. 生长激素处理仔虾的增长效果和成活率

1995—1997 年对对虾进行三次实验,其统计增长效果列于表 1。结果表明,不论是鱼还是猪生长激素;也不论是处理以后的 7d,15d 或 24d 后,其增长率都比对照组高,增长的效果是明显的。

在存活率方面,我们测得对照组只剩仔虾 86 条(存活率为 28.6%),而鱼生长激素组剩仔虾为 114 条(存活率为 38%),猪生长激素组剩仔虾 143 条(存活率为 47.6%)。因此说明经生长激素处理以后,仔虾的存活率也提高了。

2. 耐盐度试验

表 2 为不同盐度组的对虾仔虾成活数据。通过不同盐度试验,表明随着盐度的增加,经生长激素处理的各组存活率明显超过对照组;当盐度剧增到 43(增幅为 10)时,对照组死亡率迅速加大,存活率仅为 14%。而用鱼生长激素处理组的仔虾存活率为 34%,猪生长激素处理组为 32%,都超过对照组一倍以上,说明生长激素确有调节离子浓度的作用。

① 张培军等,1994,中国科学院海洋研究所实验海洋生物学开放研究实验室研究年报,中国科学院海洋研究所,48—54。

表 1 生长激素处理仔虾的增长效果和存活率

时间	组别	全 长(mm±SD)				存活个数		存活率(%)
		最 初	7d	15d	24d			
1995	对 照			12.60±1.88 n=10	15.93±2.57 n=30	86		28.6
	鱼生长激素	11.67±1.67 n=20		14.20±2.15 n=10	16.73±4.26 n=30	114		38 ^①
	猪生长激素			16.50±2.51 ^① n=10	17.60±2.71 ^② n=30	148		47.6 ^②
1996	对 照			9.10±2.02 n=10	10.83±1.64 n=30			
	猪生长激素	6.75±0.55 n=10		11.25±2.15 ^② n=10	12.88±1.75 ^② n=30			
1997	对 照		8.54±1.15 n=20					
	猪生长激素	7.30±0.59 n=20	8.77±1.48 n=20					

①为试验组与对照组之比, $P<0.05$, 有显著差异; ②为试验组与对照组之比, $P<0.01$, 有极显著差异。

表 2 生长激素对对虾仔虾耐盐度的试验结果

盐度	处理时间(d)	对 照 组		鱼生长激素组		猪生长激素组	
		个体数量	存活率(%)	个体数量	存活率(%)	个体数量	存活率(%)
33	0	200	100	400	100	400	100
	1	200	100	400	100	400	100
	2	200	100	394	98.50	399	99.75
	3	200	100	391	97.75	398	99.50
38	0	100	100	150	100	100	100
	1	85	85	118	78.60	90	90
	2	61	61	100	66.66	70	70
	3	42	42	74	49.33	57	57 ^①
43	0	100	100	150	100	100	100
	1	28	28	110	73.33 ^①	63	63 ^②
	2	14	14	95	63.33 ^②	41	41 ^②
	3	14	14	51	34 ^②	32	32 ^②

注: ①为试验组与对照组之比, $P<0.05$, 有显著差异; ②为试验组与对照组之比, $P<0.01$, 有极显著差异。

3. 透射电子显微镜观察

有关褐对虾鳃的微细结构已由 Foster 等(1978)报道, Talbot 等(1972)进一步描述了褐对虾幼体鳃的调节渗透压组织的微细结构。我们观察中国对虾正常鳃调节渗透压组织的亚微结构类似于褐对虾(Talbot *et al.*, 1972); 未经生长激素处理而在高盐度浸渍下的仔虾鳃上皮细胞(图版 I:1,2)的原生质膜所形成的褶曲断裂或溶解, 大量的线粒体肿胀, 管状嵴的缺损和消失, 线粒体外膜的溶解, 基质凝聚, 出现细小絮状致密物; 粗面内质网池膨大, 内含絮状沉淀, 内质网膜上的核蛋白体脱落; 细胞质内基质疏松, 髓样小体大量出现; 核周隙扩大。而经生长激素预先处理后再入高盐度海水浸渍仔虾鳃的上皮细胞肿胀程度明显降低(图版 I:3,4), 表现为质膜多数存在, 且相互间紧紧靠拢, 虽然粗面内质网部分网池开始膨大, 且有絮状沉淀, 但核蛋白体尚未脱落, 细胞基质也较致密, 部分线粒体有肿胀现象, 某些产生空泡化。从总的情况观察, 仔虾鳃的上皮细胞经生长激素处理过的比

未处理过的受损害程度大大降低。

三、讨论与结语

Toullec 等(1991)报道,印度对虾(*P. indicus*)体内存有类人生长激素肽,它与脊椎动物的生长激素相似,并且用人生长激素喂南美白对虾(*P. vannamei*)幼体,有促进幼体发育的作用,并能提高幼体的耐盐能力;有人将人生长激素注入美洲龙虾(*Homarus americanus*)幼体内,也证明对其有促生长作用。本试验的结果表明,无论是鱼还是猪的生长激素,用浸渍方法对中国对虾均具有促进生长的作用,且存活率亦有明显提高。

由于目前尚未对鲑鱼生长激素基因表达产物的生物效价进行测定,因此要对鱼和猪生长激素浓度的优劣进行比较是不可能的。但是,实验结果至少从定性的角度给予我们一个信息,即用基因工程方法提取的生长激素肽对中国对虾的生长具有促进作用。它将为我国大规模应用生物工程于水产养殖,特别是摆脱当前夏季高发病时期虾病的预防提供一条新的技术措施:早育苗、育大苗,争取高温季节到来之前达到商品虾规格,尽量减少因虾病而带来的损失。

一些学者给鱼类注射 GH,然后测定其血液中 GH 的含量。结果表明,GH 在鱼体内最多能保持 7—15d。我们没有做这方面的测定,但是 Ishioka 等(1992)用重组真鲷生长激素处理小真鲷,在 20d 以后仍有促生长作用;Moriyama 等(1990)用重组大马哈鱼生长激素处理大马哈鱼幼鱼,在 80d 以后仍然具有促进生长的作用,这与我们的对虾仔虾实验结果有相似之处。虽然 GH 在血液中的半衰期很短,但在体内仍有较长的生物半衰期,这可能是由于 GH 在受体位置上占据的时间较长,也可能形成了长寿命的中间体,(如生长调节素)所致(沈孝宙等,1983),因而即使在停止处理以后,仍然显示有继续促进生长的作用。

于鸿仙等(1985)研究了盐度变化对仔虾生长和成活率的影响,也证明中国对虾仔虾对其生活环境中盐度的变化具有一定的适应范围,这种范围随着盐度变化速度和幅度以及仔虾体质强、弱等有一定波动。在突变情况下适应高盐度差为 10.12,为确保仔虾放养时的安全,于鸿仙等(1985)建议池水高盐度差不超过 5。我们的盐度实验也证实增幅盐度达 10 时,对虾仔虾大幅度死亡,而用生长激素后又能大幅度增加存活率,这使我国北方沿海地区(通常干旱而盐度偏高地区)从南方沿海地区购得的虾苗不会因盐度剧变而影响虾苗的成活率。

Yao 等(1990)、Sakamate 和 Hirano(1991)、Gray 等(1990)用生长激素处理虹鳟鱼,除了促进其生长外,还起到了调节动物渗透压的作用。Toullec 等(1991)用人生长激素混合饵料喂饲南美白对虾(*P. vannamei*),使仔虾新陈代谢活跃,体质增强,并提高了仔虾在盐度突变情况下的适应能力。我们在实验中用生长激素处理过的仔虾在实验结束(24d)时观察到:虾体色鲜明,个体肥壮,活泼好动,与未处理的仔虾有明显的差异。

有关生长激素调节渗透压的原理,目前有两种观点:(1)Sakamate 等(1991)在鲑鱼的实验中,提出生长激素对渗透压的调节主要是生长激素刺激肝的类胰岛素生长因子 I (IGF-I)的生成,从而促进了渗透压器官的渗透压调节能力;(2)另一种观点认为,对虾体内水和无机离子的浓度随外界盐度变化而改变,并受渗透压和离子调节控制(Dall *et al*, 1990)。Mantle 等(1983)的研究表明,离子和渗透压调节通过鳃进行,Pequeux 等(1981)

提出,甲壳类鳃的 Na^+ 的吸收和氨基酸的分解代谢有关。在广盐性的对虾体内,组织中离子浓度的降低首先通过血液的渗透压调节,其次通过替代细胞中的有机物质(如游离氨基酸),使细胞中离子水平浓度至少降低到海水浓度的 50% (Dall *et al.*, 1990),我们倾向于后一种观点。最近, Seddiki 等(1996)用大西洋鲑鱼(*Atlantic Salmon*)的幼鲑(Parr)和小鱼(pre-smolt)进行定量检测耗氧量和 ATP 酶的活力证实:在淡水中鱼类经 GH 处理后,耗氧量和 ATP 酶的活力增高;而当鱼类置于海水时,盐度增高可引起耗氧量的下降和昼夜节律性的消失。当用 GH 处理以后又转入海水时,幼鲑的耗氧量的减少要比未处理组少得多(未处理组 -50%, 幼鲑 -27%);小鲑转移至海水的处理组(+13%)比未处理组(+5%)耗氧量增加得多,说明 GH 具有改善离子调节功能,而且幼鲑原生质离子的改变暗示的酸代谢中毒说明了幼鲑转移到海水以后耗氧量的明显下降,这与我们在电镜下观察的结果相似。当仔虾处于高盐度海水时,在鳃的钠泵作用下,离子浓度不断升高,破坏了钾-钠离子平衡,形成质膜褶曲的断裂、线粒体的肿胀,及 ATP 直接下降;当用生长激素处理后,肿胀程度明显降低,推测是由于生长激素(多肽)在吸收入血液以后,可能有部分转变成类似的游离氨基酸,这样在鳃中参与阻止 Na^+ 的吸收,因此在一定时间内具有渗透压改变的适应能力, GH 激活质膜上的 cAMP 使蛋白质磷酸化, ATP 酶活力提高。但这种作用只是暂时的延缓,因为 ATP 的下降幅度过大,使细胞内呼吸停止,一旦线粒体基质发生变性,就成为不可逆病变,细胞内缺氧,在线粒体内形成大而不规则的絮状致密物,外膜间断,整个细胞的细胞体开始解体,就形成对照组现出的亚微结构特征(翟中和等, 1980)。

参 考 文 献

- 于鸿仙、陈宗尧, 1985, 盐度变化对对虾仔虾成活率及生长率的影响, 海洋湖沼通报, 1: 58—62。
- 沈孝宙等编, 1983, 激素的生物化学, 科学出版社, 63—68。
- 翟中和、洪 涛, 1980, 生物医学超微结构与电子显微镜技术, 科学出版社, 342—345。
- 酒井正博, 1992, 水产养殖における免疫賦活剤の利用, 水产の研究, 11: 65—75。
- 木尾田阳一郎, 1990, ニシマスの生体防御に及ぼす各種免疫賦活物質の影響, 北里大学水产学部修士論文, 1—55。
- Dall, W. *et al.*, 1990, The biology of the Penaeidae. In: Blaxter, H. S. (ed). *Advances in marine biology*. 27: 489.
- Edwards, J. C. K. *et al.*, 1988, A newly defined property of somatotropin: priming of macrophages for production of superoxide anion, *Science*, 239: 769—771.
- Foster, C. A. and H. D. Howse, 1978, A morphological study on gills of the brown shrimp, *Penaeus aztecus*. *Tissue and cell*, 10: 77—92.
- Gray, E. S. *et al.*, 1990, Radioreceptor assay for growth hormone in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) and its application to the study of stunting, *J. Exp. Zool.*, 256: 290—296.
- Ishioka, H. *et al.*, 1992, Effect of recombinant red sea bream growth hormone on growth of young red sea bream, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 58(12): 2335—2340.
- Kajita, Y. *et al.*, 1992, Enhancement of nonspecific cytotoxic activity of leucocytes in rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. injected growth hormone, *Fish. Shellfish. Immunol.* (Accepted).
- Mantel, L. H. and L. L. Farmer, 1983, Osmotic and ionic regulation. In L. H. Mantel, ed. "The Biology of Crustacea". vol. 5, Internal Anatomy and Physiological Regulation, Academic Press, New York and London, 55—161.
- Moriyama, S. and H. Kawauchi 1990, Growth stimulation of juvenile salmonids by immersion in recombinant growth hormone, *Nippon Suisan Gakkaishi*, 56(1): 31—34.
- Nakamura, K., 1987, Lymphoid organ and its developmental property of larval prawn *Penaeus japonicus*, *Memo. Fac. Fish. Kagoshima Univ.*, 36(1): 215—220.

- Pequeux, A. and R. Gilles, 1981, Biochemical aspects of the control of blood osmolarity in crustaceans, *Actual. Biolchem. Mar.*, **4**:569—592.
- Sakai, M. *et al.*, 1991, Enhancement of chemiluminescent response of leucocytes in growth hormone injected rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, *Dev. Com. Immunol.*, **15**:S86(Suppl).
- Sakamate, T. and T. Hirano, 1991, Growth hormone receptors in the liver and osmoregulatory organ of rainbow trout: characterization and dynamics during adaptation to seawater, *J. Endocrinol.*, **130**:425—433.
- Seddiki, H., *et al.*, 1996, Effects of growth hormone treatment on oxygen consumption and seawater adaptability in Atlantic salmon parr and pre-smolts, *Aquaculture*, **148**:49—62.
- Talbot, P. *et al.*, 1972, Light and electron microscope studies on osmoregulatory tissue in the developing brown shrimp *Penaeus aztecus*, *Tissue and Cell*, **4**:271—286.
- Toullec, J. Y. *et al.*, 1991, Immunoreactive human growth hormone like peptides in tropical penaeids and the effect of dietary GH on *Penaeus vannamei* larval development, *Aquat. Living. Resour.*, **4**(2):125—132.
- Yao, *et al.*, 1990, Presence of growth hormone binding sites in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) tissues: characterization of the hepatic receptor, *Gen. Comp. Endocrinol.*, **81**:72—82.

EFFECTS OF GROWTH HORMONE TREATMENT ON GROWTH OF *PENAEUS CHINENSIS* POSTLARVAL*

Song Yuchang, Hou Lanying

(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences)

ABSTRACT

The effects of growth hormone (GH) in the seawater on *Penaeus Chinensis* postlarval were studied. The GH-treated groups higher growth (in body length) and survival rates than the control groups; and built up its resistance to the change of high salinity. In addition, the fine structure of the gills of the shrimp treated with 43‰ salinity seawater was observed by electron microscope, and the osmoregulatory mechanism was investigated. Treatment with GH to accelerate growth important measure as it can advance the date of postlarva and avoid shrimp disease in the high temperature season.

* Contribution No. 2937 from the Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences.

图版说明

吴长功等: Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 、 K^{+} 及胰蛋白酶和
胰蛋白酶抑制剂对中国对虾卵子激活的影响

图版(Plate) I

1. 无 Mg^{2+} 人工海水中卵子不能激活, 正常形态被破坏, $\times 200$; 2. 无 Ca^{2+} 人工海水中可以正常激活的卵子, $\times 100$; 3. 无 K^{+} 人工海水中卵子可以激活, 皮质棒消散不完全, 孵化膜已经举起, $\times 100$; 4. 无 Mg^{2+} 及 Ca^{2+} 人工海水中卵子不能激活, 正常形态被严重破坏, 卵子已解体, $\times 100$; 5. 卵子产出后 2 分钟, 受 SBTI 作用皮质棒停止释放, $\times 300$; 6. 受 SBTI 的抑制作用而停留在不同激活状态的卵子, $\times 300$; 7. SBTI 抑制胶质层的消散及孵化膜的形成, 并使卵裂异常, $\times 200$; 8. 卵子产出后 15min 胰蛋白酶作用使胶质层消散, 孵化膜不完全消散, 卵裂出现异常, $\times 300$; 9. 卵子产出后 5min 受胰蛋白酶作用, 16 细胞期卵裂球表面扫描形态, 胶质层及孵化膜均消失, $\times 300$; 10. 卵子产出后 10min 受胰蛋白酶作用, 16 细胞期卵裂球表面扫描形态, $\times 200$

宋裕昌、侯兰英: 生长激素对中国对虾仔虾生长的影响

图版(Plate) I

1—2. 高盐度海水中的对虾仔虾鳃上皮

1. 高度肿胀的线粒体(M)和粗面内质网(re), 原生质膜形成褶曲断裂和膨大(箭头), $\times 15,000$; 2. 细胞基质疏松, 游离核糖体缺失, 核周隙扩大, 部分核外膜消失, 线粒体外膜消失(Δ), $\times 12,000$; 3. 用生长激素预处理 1h 以后, 再入高盐度海水仔虾鳃渗透压调节组织图像, 上部为鳃角质层(C), 下部为基膜(BM), $\times 48,000$; 4. 仔虾用生长激素预处理 1h 以后, 再入高盐度海水其鳃渗透压调节组织的高倍图像, $\times 12,000$

AL. 顶部质膜褶曲; BL. 基部质膜褶曲; BM. 基膜; C. 角质层; Fr. 游离核糖体; H. 血淋巴; H $\uparrow$. 渗透压调节组织与血淋巴接触处; M. 线粒体; N. 细胞核; re. 粗面内质网

刘锡兴等: 唇口目苔藓虫群体早期发育的演化意义

I. 软壁目膜孔苔虫科和琥珀苔虫科的群体
早期发育特点及一新属、六新种

图版(Plate) I

1. 假大室膜孔苔虫 *Membranipora paragrandidicella* 的双生初虫、围初虫及其后续个虫(比例尺 100 μm); 2. 相似膜孔苔虫 *Membranipora similis* 的双生初虫、围初虫及其后续个虫(比例尺 1mm); 3. 强壮帐苔虫 *Conopeum eriophorum* 的初虫、围初虫及其后续个虫(比例尺 300 μm); 4. 东方楯琥珀苔虫 *Aspidelectra orientalis* 的初虫和围初虫(比例尺 100 μm); 5. 厦门琥珀苔虫(新种) *Electra xiamenensis* Liu sp. nov. 群育重复初生带的个虫(比例尺 100 μm)

(图 1—4 中 a 表示初虫)

图版(Plate) II

1. 双刺假膜孔苔虫 *Membraniporopsis bispinosa* 的群育变化初生带, 包括初虫、围初虫及其后续个虫(比例尺

