

鳙、团头鲂和短盖巨脂鲤早期发育阶段甲状腺激素含量变化研究

赵维信 贾 江

(上海水产大学渔业学院, 200090)

摘 要 鳙(*Aristichthys nobilis*)、团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)和短盖巨脂鲤(*Colossoma brachypomum*)胚胎与仔鱼体内三碘甲腺原氨酸(T_3)和甲状腺素(T_4)含量的变化,采用放射免疫测定法进行测定,研究发现胚胎阶段的 T_3 和 T_4 含量较稳定,出膜后仔鱼阶段的 T_3 和 T_4 含量逐渐下降。结合三种鱼类典型甲状腺腺泡结构发生的研究,表明甲状腺腺泡最早出现在咽鳃区腹主动脉周围,典型甲状腺腺泡出现的时间分别与该种鱼类 T_4 含量的升高相一致。研究表明,鳙、团头鲂和短盖巨脂鲤早期发育阶段甲状腺激素含量的变动是由于母源性甲状腺激素的用尽耗竭与自身甲状腺发生和功能性分泌开始所共同构成的。

关键词 鳙,团头鲂,短盖巨脂鲤,早期发育阶段,甲状腺激素,甲状腺发生

甲状腺激素是由甲状腺合成和分泌的一类含碘的激素,而鱼类的生长、发育、变态、渗透调节和代谢活动都与甲状腺激素有密切关系。关于鱼类甲状腺的早年研究,主要是甲状腺的形态学方面和甲状腺激素对鱼类变态和行为变化的研究。80年代以来,特别对鱼类早期发育阶段的甲状腺素(T_4)和三碘甲腺原氨酸(T_3)水平的变化进行了研究[Tagawa 和 Hirano 1987, Sullivan 等 1987, Kobuke 等 1987, Leatherland 等 1989],在应用外源性 T_3 或 T_4 影响鱼类孵化率、仔鱼生长、发育与存活率方面也开展了研究工作[Lam 1980, Nacario 1983, Lam 和 Sharma 1985, Brown 等 1988, Ayson 和 Lam 1993]。国外学者的工作主要集中在鲑鳟鱼类和非鲫方面,而国内在这方面的起步较晚,至今尚无研究报告。本研究对鳙(*Aristichthys nobilis*)、团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)和短盖巨脂鲤(*Colossoma brachypomum*)三种鱼类早期发育阶段体内甲状腺激素水平进行了跟踪测定,并结合这三种鱼类自身甲状腺组织发生的研究,以了解甲状腺激素与该鱼早期发育的关系,为该激素的应用提供理论依据。

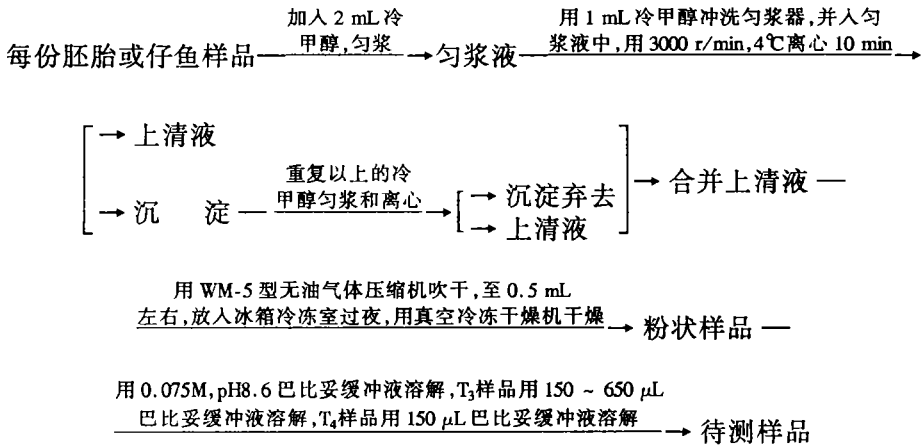
1 材料与方 法

1.1 材料采集

鳙和团头鲂胚胎和仔鱼于 1994 年和 1995 年采自上海市浦东新区孙桥特种水产养殖场,短盖巨脂鲤仔鱼于 1994 年 8 月采自上海市浦东新区王港水产队。材料取回后,在室内培育,并按原肠晚期、肌肉效应期、出膜仔鱼期、胸鳍原基出现期、鳔充气前期、鳔充气期、卵黄囊吸收期、鳔充气 7、14、28 和 49 天,分别收集样品。每期样品 5~10 份,其中胚胎样品每份 150~300 粒;仔鱼样品为 100~400 尾。每份样品准确计数,重量均为 0.15~0.40 g。

1.2 样品制备

胚胎和仔鱼样品按 Tagawa 和 Hirano[1987]的方法进行 T_3 、 T_4 提取,具体步骤如下:



1.3 组织样品中甲状腺激素提取率测定

胚胎或仔鱼中 T_3 或 T_4 提取率测定, 采用样品在最初用甲醇匀浆时加入一定量放射性碘标记的 T_3 ($^{125}\text{I}-T_3$) 或放射性碘标记的 T_4 ($^{125}\text{I}-T_4$)。待完成全部提取过程后, 再分别测定样品的放射性强度, 经计算求出提取率。本研究工作所求得的 T_3 的提取率为 61.8%, T_4 的提取率为 74.01%。

1.4 甲状腺激素的放射免疫测定

T_3 和 T_4 放射免疫测定药盒购自上海化学试剂研究所。 T_3 药盒的灵敏度为 0.0125 ng/mL, T_4 药盒的灵敏度为 0.5 ng/mL。 T_3 和 T_4 的测定方法按药盒提供的方法进行, 其中 T_3 测定采用固相二抗分离游离抗原和抗原-抗体结合物; T_4 则采用二抗和聚乙二醇共同分离游离抗原和抗原-抗体结合物。使用 FJ-2008 (西安 602J) γ 计数机计数。 T_3 和 T_4 放射免疫测定标准曲线直线化, 采用纵坐标结合率经 Logit 转化后相对于横座标标准品 T_3 或 T_4 浓度的对数作图。样品经 RIA 测定所得的 T_3 和 T_4 数据, 按提取率分别进行校正。采用 t 检验分析不同发育阶段 T_3 、 T_4 浓度变化的显著性。

1.5 甲状腺组织切片技术

与每份甲状腺激素含量测定样品对应的胚胎和仔鱼期样品用 Bouin 氏液固定 20 粒(尾), 进行常规石蜡连续切片, 苏木精-伊红染色, Olympus BH-Z 显微镜观察与摄影。

2 结果

2.1 三种鱼类早期发育阶段 T_3 和 T_4 含量变化

2.1.1 鳙早期发育阶段 T_3 和 T_4 含量变化

表 1 鳙早期发育阶段 T₃、T₄含量

Table 1 T₃ and T₄ levels of big head carp during early developmental stages

发育期	受精后时间(h)和仔鱼		受精后时间(h)和仔鱼	
	日龄(水温 22~25℃)	T ₃ (pg/胚胎或仔鱼)	日龄(水温 18~20℃)	T ₄ (pg/胚胎或仔鱼)
肌肉效应期	23	17.88 ± 1.23(3)	23	97.48 ± 17.12(4)
出膜前期	57	16.46 ± 1.59(3)	70	93.65 ± 7.30(4)
出膜仔鱼期	62	15.44 ± 1.06(3)	82	85.30 ± 4.24(4)
鳔充气前期	81(1日龄)	14.90 ± 0.93(5)	106(1日龄)	75.96 ± 6.80(4)
鳔充气期	129(3日龄)	9.74 ± 0.99(5)**	154(3日龄)	65.74 ± 6.21(4)
卵黄囊吸收期			178(7日龄)	111.40 ± 12.84(4)**
鳔充气 7 天	297(10日龄)	16.27 ± 0.80(4)**	346(11日龄)	138.80 ± 13.70(4)
鳔充气 14 天	465(17日龄)	20.13 ± 1.60(5)**		
鳔充气 28 天	801(31日龄)	38.07 ± 4.70(4)**		
鳔充气 49 天	1305(52日龄)	157.60 ± 15.80(4)**		

注: ** 与前期比较, 差异极显著

从表 1 和图 1 可以看出, 鳙胚胎阶段的肌肉效应期和出膜前期的 T₃、T₄水平均较稳定。出膜后仔鱼的 T₃、T₄水平逐渐下降; 鳔充气期的 T₃水平与鳔充气前期相比极显著降低(P < 0.01); 至鳔充气 7 天, T₃水平又出现极显著升高(P < 0.01); 鳔充气 49 天的稚鱼, T₃水平仍维持显著上升趋势。T₄的最低值出现在鳔充气期; 卵黄囊吸收期的 T₄水平又极显著上升(P < 0.01); 鳔充气 7 天的 T₄水平仍维持上升趋势, 但无显著性(P > 0.05)。

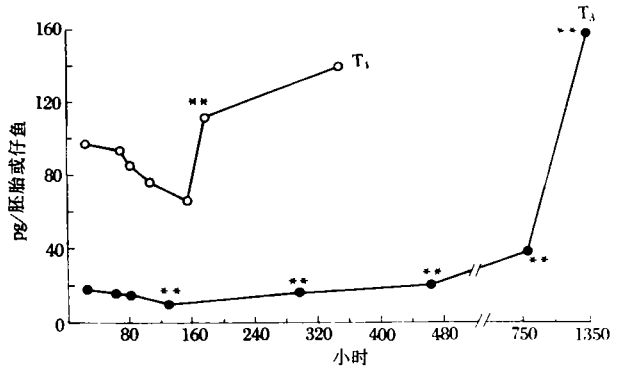


图 1 鳙早期发育阶段 T₃、T₄含量变化

Fig.1 Changes of T₃ and T₄ levels in big head carp during early developmental stages

2.1.2 团头鲂早期发育阶段 T₃和 T₄含量变化

表 2 团头鲂早期发育阶段 T₃、T₄含量(水温 22~24℃)

Table 2 T₃ and T₄ levels of blunt snout bream during early developmental stages

发育期	受精后时间(h)和仔鱼日龄	T ₃ (pg/胚胎或仔鱼)	T ₄ (pg/胚胎或仔鱼)
原肠晚期	12	4.66 ± 0.61(3)	25.44 ± 1.41 (3)
肌肉效应期	21	4.70 ± 0.56(3)	29.16 ± 2.12(3)
出膜前期	37	4.58 ± 0.32(4)	23.48 ± 2.81(3)
出膜仔鱼期	38	2.06 ± 0.31(3)**	16.49 ± 2.08(3)*
胸鳍原基期	50(1日龄)	1.48 ± 0.34(3)	12.39 ± 1.06(3)*
鳔充气前期	62(2日龄)	5.41 ± 0.32(3)**	27.50 ± 1.05 (3)**
鳔充气期	90(3日龄)	3.32 ± 0.19(5)**	25.19 ± 3.81 (3)

注: * 与前期比较差异显著; ** 与前期比较差异极显著

从表 2 和图 2 可以看出,团头鲂胚胎和仔鱼期间的 T_3 和 T_4 的变化趋势较一致,曲线变化呈马鞍形。胚胎发育期间的 T_3 和 T_4 含量较稳定,变动不大 ($P > 0.05$),当发育至出膜仔鱼期, T_3 和 T_4 含量均下降, T_3 的变化尤为剧烈 ($P < 0.01$)。至胸鳍原基期, T_3 和 T_4 含量降至最低。至鳔充气前期, T_3 和 T_4 含量均又出现极显著升高 ($P < 0.01$)。至鳔充气期, T_3 极显著降低 ($P < 0.01$), 而 T_4 的变化不大 ($P > 0.05$)。

2.1.3 短盖巨脂鲤早期发育阶段 T_3 和 T_4 含量变化

表 3 短盖巨脂鲤早期发育阶段 T_3 、 T_4 含量(水温 26 ~ 30℃)

Table 3 T_3 and T_4 levels of pacu during early developmental stages

发育期	受精后时间(h)和仔鱼日龄	T_3 (pg/胚胎或仔鱼)	T_4 (pg/胚胎或仔鱼)
出膜仔鱼期	34	3.07 ± 0.47(3)	29.52 ± 2.70 (3)
鳔充气前期	66(2日龄)	3.64 ± 0.10(4)	33.12 ± 2.68(3)
鳔充气期	96(3日龄)	3.04 ± 0.27(4)**	21.38 ± 1.20(3)**
卵黄囊吸收期	192(7日龄)	1.44 ± 0.10(4)**	15.13 ± 1.75(3)**
鳔充气 7 天	264(10日龄)	0.60 ± 0.60(3)**	26.91 ± 2.95(3)**
鳔充气 14 天	432(17日龄)	4.74 ± 0.49(3)**	38.19 ± 2.34(3)**

注: ** 与前期比较, 差异极显著

从表 3 和图 3 可以看出,出膜仔鱼发育至鳔充气期, T_3 和 T_4 水平均极显著下降 ($P < 0.01$)。 T_4 的最低值出现在卵黄囊吸收期, 鳔充气 7 天的 T_4 水平又极显著升高 ($P < 0.01$)。 T_3 的最低值出现在鳔充气 7 天, 较 T_4 最低值的出现推迟 72 小时。之后, T_3 水平又出现极显著升高 ($P < 0.01$), 出膜后仔鱼 T_4 水平的变化呈现一个马鞍型。

2.2 三种鱼类甲状腺发生的组织学

2.2.1 鳙甲状腺腺泡发生的组织学

鳙的胚胎期至鳔充气期的切片中均未观察到甲状腺腺泡结构。鳔充气 7 天的仔鱼, 在腹主动脉周围已见到甲状腺腺泡结构, 腺泡腔内有胶体物, 甲状腺细胞界限明显(图版 I -1)。鳔充气 14 天的仔鱼, 甲状腺腺泡壁增厚(图

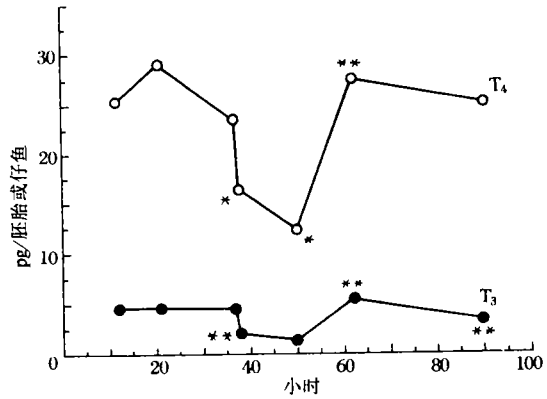


图 2 团头鲂早期发育阶段 T_3 、 T_4 含量的变化
Fig.2 Changes of T_3 and T_4 levels in blunt snout bream during early developmental stages

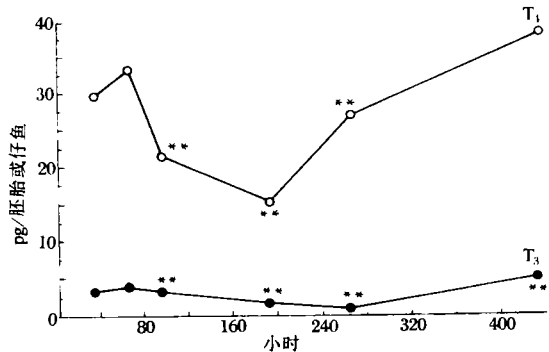
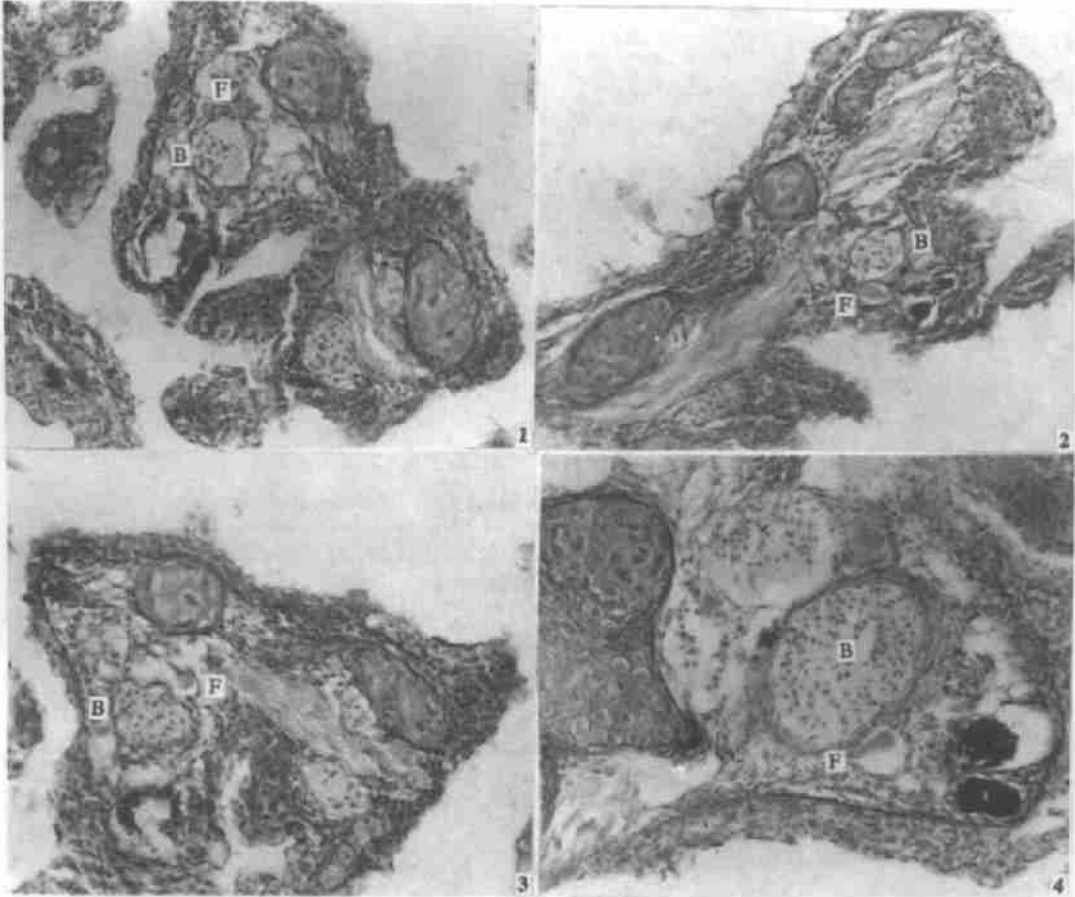


图 3 短盖巨脂鲤早期发育阶段 T_3 、 T_4 含量变化
Fig.3 Changes of T_3 and T_4 levels in pacu during early developmental stages

版 I-2)。鳔充气 28 天的仔鱼,腹主动脉的管壁肌肉层清晰,腔内有大量血细胞,甲状腺细胞为立方形(图版 I-3)。鳔充气 49 天的稚鱼,腹主动脉管径明显扩大,管壁肌肉发达,血细胞丰富,甲状腺细胞为立方形(图版 I-4)。



图版 I Plate I

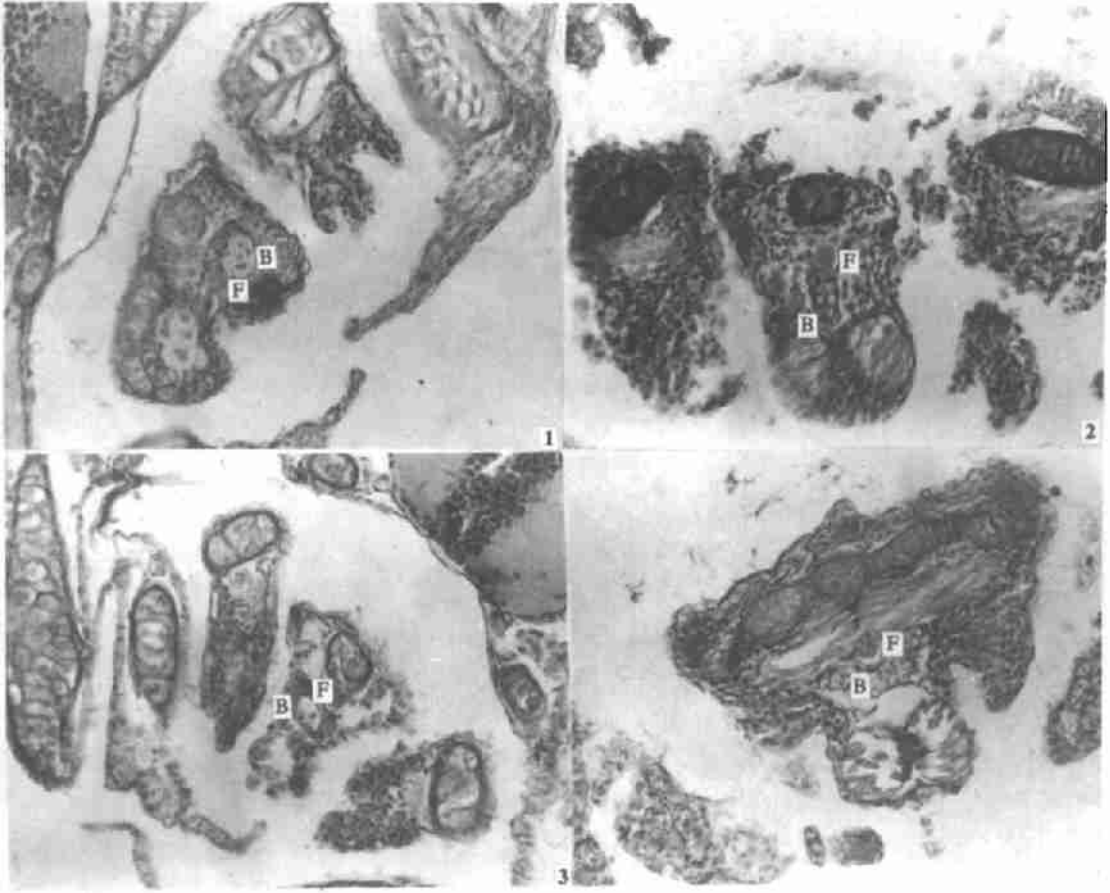
1. 鳔充气 7 天仔鱼, $\times 400$; 2. 鳔充气 14 天仔鱼, $\times 400$; 3. 鳔充气 28 天仔鱼, $\times 400$; 4. 鳔充气 49 天稚鱼, $\times 400$;
B: 腹主动脉, F: 甲状腺腺泡

2.2.2 团头鲂甲状腺腺泡发生的组织学

团头鲂的胚胎期至胸鳍原鳍期的组织学切片均未发现甲状腺腺泡结构。在鳔充气前期仔鱼的腹主动脉周围开始观察到染成粉红色的甲状腺腺泡胶体物,但甲状腺细胞界限尚不清楚,此时的腹主动脉中可见少量血细胞(图版 II-1)。鳔充气期仔鱼的切片中,甲状腺细胞界限清楚,腺泡腔中充满胶体物(图版 II-2)。

2.2.3 短盖巨脂鲤甲状腺腺泡发生的组织学

短盖巨脂鲤鳔充气 7 天以前的各期仔鱼切片中均未发现甲状腺腺泡结构。在鳔充气 7 天的仔鱼切片中观察到甲状腺腺泡分布在腹主动脉周围,腺泡腔内有丰富的胶体物,甲状腺细胞较扁平;腹主动脉管腔内的血细胞还很少(图版 II-3)。在鳔充气 14 天仔鱼切片上,腹主动脉管腔内可见较多血细胞,此时的甲状腺细胞清晰,腺泡腔内的胶体物丰富(图版 II-4)。



图版 II Plate II

1. 团头鲂充气前期仔鱼, $\times 400$; 2. 团头鲂充气期仔鱼, $\times 400$; 3. 短盖巨脂鲤充气 7 天仔鱼, $\times 400$; 4. 短盖巨脂鲤充气 14 天仔鱼, $\times 400$; B: 腹主动脉, F: 甲状腺腺泡

3 讨论

笔者首次在鱼类早期发育过程中,将胚胎和仔鱼体内甲状腺激素(T_3 和 T_4)含量的变化与甲状腺组织的发生结合在一起研究,较全面地阐明了母源性甲状腺激素(由母体带到受精卵及胚胎和早期仔鱼体内的 T_3 与 T_4)与自身甲状腺发生和功能性分泌之间的关系及其在时间上的衔接。本研究表明鳙、团头鲂和短盖巨脂鲤早期发育阶段,包括胚胎与仔鱼体内存在一定量的 T_3 和 T_4 ;其中胚胎阶段的 T_3 、 T_4 含量较稳定,孵化后的仔鱼体内 T_3 、 T_4 含量均逐渐降低,这与Sullivan等[1987]和Leatherland等[1989]对鲑鱼类类胚胎和卵黄囊仔鱼 T_3 、 T_4 含量变化的研究结果相一致。这些研究表明,鱼类的早期发育与生长需要甲状腺激素,而个体发育的早期,鱼类自身的甲状腺组织尚未分化,因此,实验测得的 T_3 和 T_4 必然来自母体,属母源性的。Nacario[1983]报道了尼罗蒂齿非鲫(*Sarotherodon niloticus*)孵出后一周的卵黄囊仔鱼体内尚未出现甲状腺腺泡结构,在孵化后4周的鱼苗的咽腮区腹主动脉周围已能见到一群分离的甲状腺腺泡,腺泡壁为低立方体细胞,腺泡腔内含大量胶体物;但发现经 T_4 浸浴4周(从刚孵出开始用 T_4 浸

浴处理4周)的鱼苗的甲状腺腺泡细胞较扁平,腺泡腔内胶体物较少。这说明 T_4 处理的结果抑制了自身(内源性)甲状腺功能,这种作用是通过 T_4 反馈性抑制脑垂体促甲状腺激素的释放而引起的。由此进一步证明,鱼类自身甲状腺组织的功能性分泌与血液中甲状腺激素浓度有关。本研究结果也表明,早期仔鱼体内母源性 T_3 和 T_4 含量的耗竭与该鱼自身甲状腺功能性分泌是相衔接的。特别在 T_4 含量下降到低谷,又开始升高之时,反映了该鱼自身甲状腺功能的开始。由此可见,三种鱼类早期发育阶段甲状腺激素含量的变动是由于母源性甲状腺激素的用尽耗竭与自身甲状腺发生和功能性分泌开始所共同构成的。

本研究发现,团头鲂仔鱼的母源性甲状腺激素维持的时间较短, T_3 、 T_4 水平降至低谷的时间和自身甲状腺腺泡出现的时间较鳙和短盖巨脂鲤提早很多,尚处于卵黄囊仔鱼阶段,这反映出种间差异的存在。生产上发现,团头鲂人工繁殖过程中,鳔充气期仔鱼往往出现成批死亡,这恰与团头鲂出膜后仔鱼体内母源性甲状腺激素用尽耗竭,自身甲状腺功能分泌开始的时间相吻合。推测,如若这一生理变化中,两者衔接不上,可能是导致鳔充气仔鱼发育受阻而大批夭折的原因。加之受低水温的影响,机体处于低温环境中代谢率增加,而甲状腺激素是机体适应低温所不可缺少的激素,母源性甲状腺激素必然加速利用和降解,而自身的甲状腺组织因水温低而发育滞后,就可能出现因甲状腺激素缺乏或不足使之难以适应低温环境而引起死亡。短盖巨脂鲤的母源性 T_3 、 T_4 水平与团头鲂很接近,但由于该鱼孵化、生活的水温较高,母源性甲状腺激素在仔鱼体内消耗较慢,维持的时间明显较团头鲂仔鱼长,能较好地与自身甲状腺发生和功能性分泌相衔接。已知母体血液中的 T_3 、 T_4 极易转移到受精卵直至卵黄囊仔鱼体内[Brown等1988, Ayson和Lam1993],因此,生产上可采取在给团头鲂雌鱼注射催产药物的同时注射一定剂量的甲状腺素(T_4),以增加母鱼血液中的 T_3 (由部分 T_4 转化成 T_3)和 T_4 浓度,并增加转移到受精卵、胚胎和卵黄囊仔鱼中的母源性 T_3 和 T_4 含量,有望改善这种“脱节”现象,提高仔鱼存活率。

鳙、团头鲂和短盖巨脂鲤早期发育阶段 T_3 、 T_4 含量测定还表明, T_4 含量均高于 T_3 ;在发育过程中, T_3 的变化趋势与 T_4 相类似(图1、2和3),或稍稍滞后(图3),表明鱼类也与哺乳动物相似,一部分 T_4 分泌后在外周组织中经脱碘作用转化成 T_3 。Ayson和Lam[1993]的研究工作也发现,注射到点蓝子鱼(*Siganus guttatus*)体内的 T_4 可以转化成 T_3 ,从而认为该鱼体内存在 $5'$ -单脱碘酶。

参 考 文 献

- Ayson F G, Lam T J. 1993. Thyroxine injection of female rabbitfish (*Siganus guttatus*) broodstock; changes in thyroid hormone levels in plasma, eggs, and yolk-sac larvae, and its effect on larval growth and survival. *Aquaculture*, 109: 83 ~ 93.
- Brown C L, et al. 1988. Maternal triiodothyronine injections cause in swimbladder inflation and survival rates in larval striped bass, *Morone saxatilis*. *J Exp Zool*, 248: 168 ~ 176.
- Kobuke L, Specker J L, Bem H A. 1987. Thyroxine content in eggs and larvae of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *J Exp Zool*, 242: 89 ~ 94.
- Lam T J. 1980. thyroxine enhances larval development and survival. *Sarotherodon (Tilapia) massambicus* Ruppell. *Aquaculture*, 21: 287 ~ 291.
- Lam T J, Sharma R. 1985. Effects of salinity and thyroxine larval survival, growth, and development in the carp, *Cyprinus carpio*. *Aquaculture*, 44: 201 ~ 212.
- Leatherland J F, et al. 1969. Thyroid hormone content of eggs and developmental stages of five *Oncorhynchus* species. *Can J Fish Aquat*

Sci, 46: 2140 ~ 2145.

Nacario J F. 1983. The effect of thyroxine on the larvae and fry of *Sarotherodon niloticus* L. (tilapia nilotica). *Aquaculture*, 34: 73 ~ 83.

Sullivan C V, Iwamoto R N, Dickhoff W W. 1987. Thyroid hormones in blood plasma of developing salmon embryos. *Gen Comp Endocrinol*, 65: 337 ~ 345.

Tagawa M, Hirano T. 1987. Presence of thyroxine in eggs and changes in its content during early development of chum salmon, *Oncorhynchus keta*. *Gen Comp Endocrinol*, 68: 129 ~ 135.

CHANGES OF THYROID HORMONE CONTENT IN BIG HEAD CARP, BLUNT SNOUT BREAM AND PACU DURING EARLY DEVELOPMENTAL STAGES

ZHAO Wei-Xin, JIA Jiang

(College of Fisheries, Shanghai Fisheries University, 200090)

ABSTRACT Changes of the thyroid hormone content in the embryos and larvae of big head carp (*Aristichthys nobilis*), blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) and pacu (*Colossoma rachypomum*) were measured by using radioimmunoassay. The levels of triiodothyronine (T_3) and thyroxine (T_4) during the embryonic stages in blunt snout bream and big head carp were rather stable. The levels of T_3 and T_4 in the hatched larvae of the three species decreased gradually. In combination with the studies of the development of typical thyroid follicle structures in three species. It was found that the earliest appearance of the thyroid follicles were present around the ventral aorta in the pharynx-gill region, the time of typical thyroid follicles appearance coincide with the T_4 level rising in that fish. The results indicated that the changes of the thyroid hormone level during early development were caused by the depletion of maternal origin thyroid hormone and the onset of thyroid gland function in larva.

KEYWORDS Big head carp, Blunt snout bream, Pacu, Early developmental stage, Thyroid hormone, Thyroid gland development