

水温与雌二醇对中国大鲵幼体生长与肝的影响

龚旭东 田英芳 梁刚*

陕西师范大学生命科学学院 西安 710062

摘要: 为探讨水温与外源 17β -雌二醇(E_2)暴露对中国大鲵(*Andrias davidianus*)幼体生长的影响,设置了3个水温、2个 E_2 暴露浓度与3个暴露时间交互处理共18组,并在3个水温下设置了3个对照组,每组幼鲵20尾,分别在出膜143、182、248天称量各组幼鲵体重。为进一步探寻 E_2 对幼鲵生长影响的原因,在出膜143天对幼鲵的肝进行了组织切片观察。结果表明,幼鲵在 $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$ 水温下生长最快、在 $(13 \pm 1)^\circ\text{C}$ 生长次之、在 $1 \sim 16^\circ\text{C}$ 生长最慢;在 $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$ 水温下,外源 E_2 暴露对幼鲵生长具有一定的抑制作用,且暴露时间越长、抑制作用越强,暴露剂量越大、抑制作用越大; E_2 暴露浓度为 $25 \mu\text{g/L}$ 的幼鲵极少数肝细胞质内出现了脂肪空泡,肝血窦有所扩大; E_2 暴露浓度为 $250 \mu\text{g/L}$ 的幼鲵约30%肝细胞与细胞核肿大、细胞质中出现脂肪空泡、被覆在肝实质表面的上皮细胞向肝实质内迁移、肝血窦扩大等。本文认为, E_2 暴露对幼鲵肝组织结构造成的损伤,可能是抑制幼鲵生长的主要原因。

关键词: 大鲵幼体; 水温; 17β -雌二醇; 生长; 肝

中图分类号: Q958.11 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2014)03-376-08

Water Temperature and Estradiol Affect the Growth and Liver of the Chinese Giant Salamander Larvae, *Andrias davidianus*

GONG Xu-Dong TIAN Ying-Fang LIANG Gang*

College of Life Sciences, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China

Abstract: To explore the influence of water temperature and 17β -estradiol (E_2) on the growth of the Chinese giant salamander larvae, *Andrias davidianus*, and to further reveal the mechanism of E_2 effect on the growth of the larvae, eighteen groups formed by factors interaction among three water temperatures, two E_2 concentrations and three exposure periods, were analyzed. There were totally twenty one groups in the experiment when considering three control groups without E_2 at different water temperatures. Three water temperatures were $1 \sim 16^\circ\text{C}$ (drawing natural river water into experimental cement pool), $(13 \pm 1)^\circ\text{C}$ and $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$; two E_2 concentrations were $25 \mu\text{g/L}$ and $250 \mu\text{g/L}$; and three E_2 exposure periods were 40, 80 and 120 days, respectively. The post-hatching 60-day larvae were selected for experiment, and twenty larvae were fed in the cement pool which contained 40 liters of water as a group. The weight of the larvae was calculated at 143, 182 and 248 days after post-hatching. One-way ANOVA and LSD multiple comparison analysis were used to average weight of the larvae in different groups. In addition, eight post-hatching 143-day larvae exposed to E_2 for 40 days were randomly chosen from control, $25 \mu\text{g/L } E_2$ and $250 \mu\text{g/L } E_2$ groups at $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$, and the livers for microstructure observation. The results showed that the growth of larvae was fast at $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$, less fast at $(13$

基金项目 陕西省水利科技计划项目(No. 2012-2-21);

* 通讯作者, E-mail: lianggang@snnu.edu.cn;

第一作者介绍 龚旭东, 男, 硕士研究生; 研究方向: 水生生物学; E-mail: gongxudong19860807@163.com。

收稿日期: 2013-09-09, 修回日期: 2014-01-10

± 1) $^{\circ}\text{C}$, and the slowest at range of 1 – 16 $^{\circ}\text{C}$ ($P < 0.01$, Fig. 1 and 2). E_2 had adverse effects on the growth of larvae at (20 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$; in addition, the toxicity of E_2 increased with the exposure time and concentration ($P < 0.01$, Fig. 1, 2 and 3); vacuolization in hepatic cells and enlargement in hepatic sinusoid were observed in the liver at 25 $\mu\text{g}/\text{L}$ E_2 (Fig. 4b). Moreover, epithelium cells in the liver capsule migrated into the inner tissue in 250 $\mu\text{g}/\text{L}$ E_2 group (Fig. 4c). The growth of larvae might be inhibited by liver damage, which was probably caused by E_2 .

Key words: *Andrias davidianus* larvae; Water temperature; 17 β -Estradiol; Growth; Liver

中国大鲵 (*Andrias davidianus*) 简称大鲵, 是我国特有的国家 II 级重点保护野生动物 (费梁等 2006)。为有效保护这一珍稀资源, 我国采取了就地保护与迁地保护等措施, 尤其是迁地保护取得了明显效果。迁地保护就是将大鲵从原生境转移到人工建造的环境中进行繁育并维持稳定的种群。然而, 大鲵养殖企业为了使幼鲵的成活率及生长速度得到提高, 在冬春季将刚孵化出膜的幼鲵转移到室内并使用井水饲养, 由于冬春季的井水水温明显高于自然河道水, 使得人工饲养的幼鲵性别比例失调, 且绝大多数个体分化为雄性, 这对大鲵这一古老物种延续及产业可持续健康发展均构成了威胁 (王中乾等 2013)。基于以上养殖实际, 本文用不同水温与不同浓度 17 β -雌二醇 (17 β -estradiol, E_2) 处理了幼鲵, 旨在探讨水温与外源 E_2 暴露对幼鲵性腺分化、生长及肝的影响, 为大鲵养殖与雌激素风险评估等提供理论依据。

1 材料与方 法

实验用幼鲵及实验场地均由陕西省宁陕县某大鲵养殖场提供。该场位于秦岭山脉南坡 (34 $^{\circ}$ 02'48"N, 108 $^{\circ}$ 07'44"E, 海拔 742 m), 是野生大鲵在秦岭山脉的主要自然分布区之一。实验用幼鲵均是该场通过仿生态繁育技术繁殖的后代, 实验前这些幼鲵均健康活跃, 体重 1.12 ~ 1.48 g。为保证外源 E_2 暴露时幼鲵的安全, 将 15 尾幼鲵分成 5 组进行了预实验。

在预实验基础上, 从 2011 年 12 月 16 日 (出膜约 60 d) 开始正式实验, 于 2012 年 4 月 13 日结束实验。设 3 个水温梯度、2 个 E_2 浓度

梯度与 3 个时间梯度交互处理共 18 组; 3 个水温条件下设置了 3 个对照组, 即不进行 E_2 处理。正式实验共 21 组, 每组 20 尾幼鲵全部饲养在含水 40 L 的一个水泥池中。3 个水温梯度分别是 1 ~ 16 $^{\circ}\text{C}$ 、(13 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 、(20 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$, 其中, 1 ~ 16 $^{\circ}\text{C}$ 是直接抽取的自然河道水, (13 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 水直接引自常年基本恒温的山泉水, (20 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 水是将引来的山泉水加温后再流入水泥池, 3 个水温梯度分别设置在 3 间养殖房内, 后二者养殖房通过空调使各自养殖房内的环境温度基本保持恒定。2 个 E_2 浓度梯度分别为 25、250 $\mu\text{g}/\text{L}$ 。3 个时间梯度分别是 E_2 暴露 40、80、120 d。 E_2 处理组的幼鲵每天只在 11:00 ~ 15:00 时连续 4 h 饲养于含有相应浓度 E_2 的水体中, 其余时间饲养于原水温的清水中。在如此条件下 E_2 分别暴露 40、80、120 d 后, 各组继续用原水温的清水进行饲养。实验用 E_2 为美国 Alfa Aesar 生产。

在出膜第 143、182、248 天且每次喂食 5 h 后, 分别称量各组幼鲵的体重 (精确到 0.01 g)。为进一步探寻 E_2 对幼鲵生长影响的原因, 在 (20 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 水温条件下的对照组、25 $\mu\text{g}/\text{L}$ E_2 组与 250 $\mu\text{g}/\text{L}$ E_2 组, 随机选择出膜 143 d 幼鲵各 8 尾取材。取材时首先称量体重, 随后投入 4% 多聚甲醛中处死, 剖腹后再用 4% 多聚甲醛固定 24 h 以上。在 LEICA-MZ125 体视显微镜下, 观察固定后幼鲵肝的形态, 整体取出肝, 称量肝重 (精确到 0.01 g) 并计算肝指数 (肝重/体重 \times 100%)。切取肝的右叶行常规石蜡包埋, 连续横切, 切片厚 7 μm , 常规 H. E 染色。切片用 Olympus BX41 光学显微镜观察和测量, 用 Leica Q win V3 图像系统拍照。

不同处理条件的幼鲵体重采用单因素方差分析及 LSD 法进行多重比较(分析前对数据进行方差齐性检验显示,数据具方差齐性),确定组间差异性,显著性水平设置为 $\alpha = 0.05$,极显著水平设置为 $\alpha = 0.01$ 。所有实验数据统计分析均利用 SPSS 16.0 统计软件完成,根据平均值 \pm 标准差 (Mean \pm SD) 用 Origin 8 作图。

2 结果与分析

正式实验的 21 组所有幼鲵,在 E_2 暴露期间及暴露后均健康活跃、生活正常。

2.1 E_2 对幼鲵生长的影响 在出膜 143 天时,对照组及 3 个水温条件下在 25 $\mu\text{g/L}$ 、250 $\mu\text{g/L}$ E_2 暴露 80 d 幼鲵的平均体重见图 1。对照组和两个 E_2 组幼鲵平均体重的共同特点是,1~16 $^{\circ}\text{C}$ 组 < (13 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 组 < (20 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 组,且各组幼鲵的平均体重均差异极显著 ($P <$

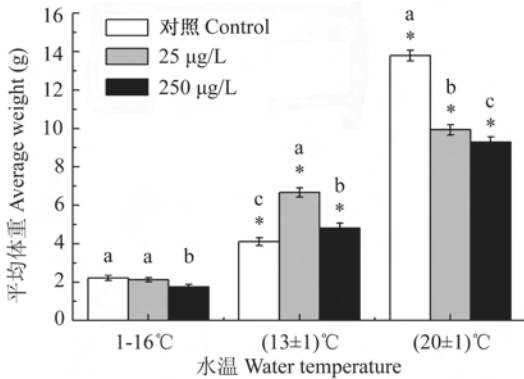


图 1 在不同水温下出膜 143 d 时不同实验组幼鲵的平均体重

Fig. 1 Average weight of the post-hatching 143 d *Andrias davidianus* larvae at different temperatures (exposed to E_2 for 80 days, $n = 20$)

同一 E_2 暴露浓度、不同水温之间, * 表示差异极显著 ($P < 0.01$)。同一水温、不同 E_2 暴露浓度之间,不同字母表示差异显著 ($P < 0.05$)。

Comparisons on different water temperatures in the same concentration of estradiol, * shows very significant difference ($P < 0.01$). Comparisons on different concentrations of estradiol at the same water temperature, different letters represent statistical difference ($P < 0.05$).

0.01), 水温越高,幼鲵的平均体重增加越明显。就(20 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 组而言,对照组平均体重最大,25 $\mu\text{g/L}$ E_2 组次之,250 $\mu\text{g/L}$ E_2 组最小,3 组幼鲵的平均体重差异极显著 ($P < 0.01$),表明在(20 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 条件下,外源 E_2 暴露对幼鲵生长具有一定抑制作用,且暴露浓度越大,抑制作用越强。

在出膜 182 天时,不同实验组幼鲵的平均体重见图 2a。在同一实验组内,3 个水温下幼鲵的平均体重差异均极显著 ($P < 0.01$),即水温越高,幼鲵平均体重增加越明显。在(20 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 水温且 E_2 暴露浓度为 25 $\mu\text{g/L}$ 条件下,对照组的平均体重 > 暴露 40 d > 暴露 80 d > 暴露 120 d,且各实验组之间幼鲵平均体重差异也极显著 ($P < 0.01$); 同样,在(20 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 水温且 E_2 暴露浓度为 250 $\mu\text{g/L}$ 条件下,各实验组之间幼鲵平均体重也具有此规律; 此外,在(20 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 水温且 E_2 暴露天数相同条件下,25 $\mu\text{g/L}$ E_2 组幼鲵的平均体重明显大于 250 $\mu\text{g/L}$ E_2 组。以上结果再次表明,在(20 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 水温下,外源 E_2 暴露对幼鲵生长具有一定的抑制作用,且 E_2 暴露时间越长,抑制作用越强,暴露剂量越大,抑制作用也越大。

出膜 248 天的不同实验组间幼鲵平均体重变化规律与出膜 182 天的基本相同(图 2b)。

图 3 是在(20 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 水温下 E_2 暴露 40 d 后,不同时期幼鲵平均体重的变化趋势。对照组平均体重均大于 E_2 暴露组,且 25 $\mu\text{g/L}$ 组的平均体重大于 250 $\mu\text{g/L}$ 组。

综上所述,不同水温与不同 E_2 暴露浓度,均对幼鲵生长具有较明显的影响。具体而言,(20 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 生长最快、(13 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 生长次之、1~16 $^{\circ}\text{C}$ 生长最慢; 在(20 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 水温下,外源 E_2 暴露对幼鲵生长具有一定的抑制作用,且 E_2 暴露时间越长,抑制作用越强,暴露剂量越大,抑制作用也越大。

2.2 E_2 对幼鲵肝的影响 在(20 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 水温下外源 E_2 暴露 40 d 后,对照组幼鲵的肝指数为 1.25 ± 0.16 , 25 $\mu\text{g/L}$ E_2 组为 1.67 ± 0.38 , 250 $\mu\text{g/L}$ E_2 组为 2.50 ± 0.34 。与对照组相比,

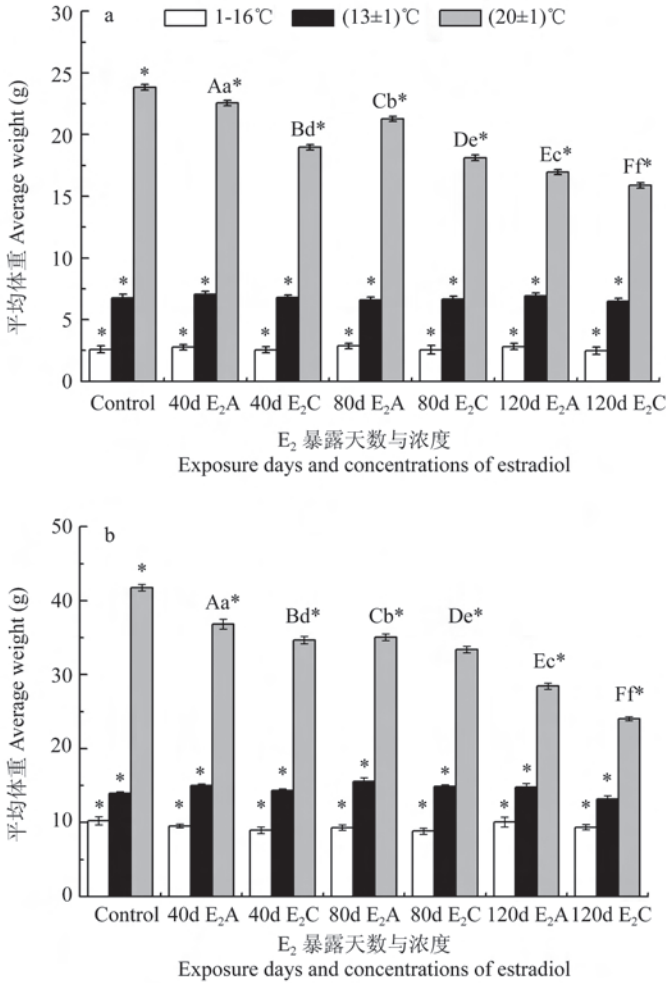


图2 不同实验组幼鲵的平均体重

Fig. 2 Average weight of the *Andrias davidianus* larvae in different groups

图a、b分别表示出膜182 d、248 d时不同实验组幼鲵的平均体重。40 d、80 d、120 d分别表示E₂暴露40 d、80 d、120 d; E₂A表示E₂暴露浓度为25 μg/L, E₂C表示E₂暴露浓度为250 μg/L。E₂暴露天数与浓度相同,不同水温之间,*表示差异极显著(P<0.01)。(20±1)°C水温,不同E₂暴露天数之间,分别用a、b、c(25 μg/L)与d、e、f(250 μg/L)表示差异极显著(P<0.01)。(20±1)°C水温,不同E₂暴露浓度之间,分别用A与B(40 d)、C与D(80 d)、E与F(120 d)表示差异极显著(P<0.01)。

Fig. a and b respectively show average weight of the post-hatching 182 d and 248 d *Andrias davidianus* larvae in different groups. 40 d, 80 d, 120 d respectively represent exposure days of estradiol; E₂A means 25 μg/L E₂, E₂C means 250 μg/L E₂. Comparisons on different water temperatures in the same E₂ concentrations and days, * shows very significant difference (P<0.01). At the (20±1)°C, a, b, c (25 μg/L E₂) and d, e, f (250 μg/L E₂) respectively indicate very significant differences among different days (P<0.01). At the (20±1)°C, A and B (40 d), C and D (80 d), E and F (120 d) respectively indicate very significant difference among different E₂ concentrations (P<0.01).

25 μg/L E₂组肝指数显著增加(P<0.05), 250 μg/L E₂组肝指数极显著增加(P<0.01), 且25 μg/L E₂组与250 μg/L E₂组间存在极显

著性差异(P<0.01)。

在光镜下,对照组幼鲵的肝实质表面被覆一层完整的被膜,厚20~40 μm,由3~5层上

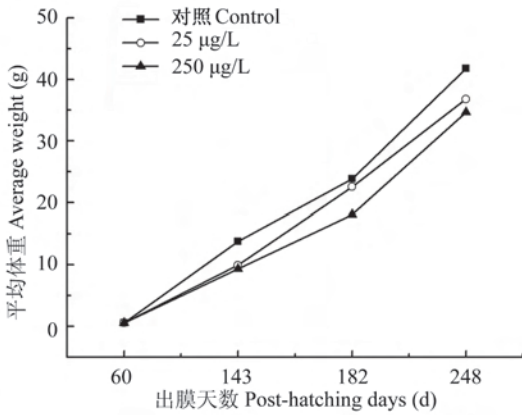


图 3 (20 ± 1) °C 水温下不同 E₂ 浓度暴露 40 d 后幼鲩平均体重的增长趋势

Fig. 3 Profile of average weight in the *Andrias davidianus* larvae exposed to different E₂ concentrations for 40 days at the (20 ± 1) °C

皮细胞构成，上皮细胞排列紧密，细胞较小(4 ~ 5 µm)，细胞核大、强嗜碱性、几乎占据整个细胞。肝实质主要由肝细胞组成，其间夹杂有少量结缔组织、血管与血细胞，肝小叶及肝细胞索不甚明显。肝细胞排列紧密而均匀，细胞界限明显，呈圆形、椭圆形或多边形，大小 36 µm (n = 50)；胞质丰富，嗜酸性，呈均匀的泡沫状；多数细胞为单核、少数为双核，细胞核较小(15 µm)，圆形，多偏居细胞一侧，嗜碱性，染色质呈均匀的颗粒状。肝血窦位于肝细胞索之间，呈长梭形，10 µm × 20 µm，有些肝血窦内可见少量红细胞(图 4a)。

与对照组相比，25 µg/L E₂ 组肝整体组织结构与绝大部分肝细胞形态结构均未见明显变化，但极少数肝细胞质内出现空泡，完整的细胞核悬浮在该空泡靠近细胞膜处；肝血窦大小约为 17 µm × 75 µm，红细胞增多(图 4b)。以上结果显示，经过外源 E₂ 暴露 40 d 后，25 µg/L E₂ 组幼鲩极少数肝细胞质内出现了脂肪空泡，并且由于充血使得肝血窦有所扩大，表明 25 µg/L 外源 E₂ 暴露对幼鲩的肝产生了轻微损伤。

与对照组相比，250 µg/L E₂ 组肝的组织结构主要区别是：① 肝实质中约有 70% 的肝细胞形态结构基本正常，大小为 37 µm (n = 50)；细胞核较小(15 µm)，多呈圆形，染色质呈均匀的颗粒状。② 肝实质中约有 30% 的肝细胞界限明显，大小为 70 µm (n = 50)；细胞质内具有明显且大小不等的空泡，大的空泡甚至占据整个细胞质部分，若干小的空泡可同时位于一个细胞内；具有空泡的细胞有些无细胞核，有些具有较大而明显的细胞核(20 µm)，靠近细胞膜分布。③ 在肝实质内，聚集了较多嗜碱性的上皮细胞团，该细胞团位于肝细胞之间，细胞团内的每个细胞在大小、形态、结构等方面与被覆在肝实质表面的上皮细胞基本相同。④ 肝血窦大小约为 20 µm × 75 µm，红细胞进一步增多(图 4c)。经过外源 E₂ 暴露 40 d 后，250 µg/L E₂ 组幼鲩约 30% 的肝细胞与细

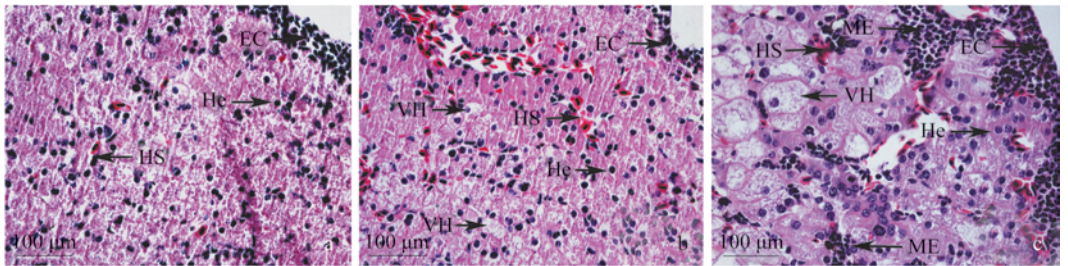


图 4 E₂ 暴露 40 d 后幼鲩肝的组织结构比较

Fig. 4 Comparison of liver microstructure in the *Andrias davidianus* larvae exposed to E₂ for 40 days

a. 对照组；b. 25 µg/L E₂ 组；c. 250 µg/L E₂ 组。a. Control；b. 25 µg/L E₂；c. 250 µg/L E₂。

EC. 上皮细胞；He. 肝细胞；HS. 肝血窦；ME. 迁入的上皮细胞；VH. 空泡化肝细胞。

EC. Epithelial cell；He. Hepatocyte；HS. Hepatic sinusoid；ME. Migrate epithelial cell；VH. Vacuolization hepatocyte.

胞核出现肿大、细胞质中出现脂肪空泡、被覆在肝实质表面的上皮细胞向肝实质内迁移、肝血窦扩大等现象,表明 250 $\mu\text{g}/\text{L}$ 外源 E_2 暴露对幼鲵肝产生了一定程度的损伤。

3 讨论

3.1 水温对大鲵生长的影响 包括大鲵在内的两栖类属于变温动物,其体温与新陈代谢均会随生活环境温度的变化而变化。已有研究表明,两栖类不同物种生长体温适宜范围不尽相同。例如,蟾蜍 (*Bufo*)、雨蛙 (*Haly*) 和姬蛙 (*Microhyla*) 的体温在夏季可达 30 $^{\circ}\text{C}$ 以上 (Hota 1994)。中国林蛙 (*Rana chensinensis*) 蝌蚪生长适宜温度是 15 ~ 25 $^{\circ}\text{C}$, 最适温度是 18 ~ 20 $^{\circ}\text{C}$, 低于 10 $^{\circ}\text{C}$ 时生长缓慢,高于 28 $^{\circ}\text{C}$ 时蝌蚪极易死亡,高于 20 $^{\circ}\text{C}$ 时变态提前 (王立志等 2005)。大鲵可在 0 ~ 30 $^{\circ}\text{C}$ 的水中生存,适宜生活水温为 14 ~ 24 $^{\circ}\text{C}$; 当水温低于 14 $^{\circ}\text{C}$ 或高于 24 $^{\circ}\text{C}$ 时,摄食减少、生长缓慢;当水温在 10 $^{\circ}\text{C}$ 以下时摄食下降,4 $^{\circ}\text{C}$ 以下完全停止进食 (武思齐等 2002)。

有关温度对两栖类生长发育的影响研究已积累了一些资料。泽蛙 (*R. limnocharis*) 蝌蚪在自然生长温度 (23 ~ 25 $^{\circ}\text{C}$) 到 30 $^{\circ}\text{C}$ 范围内,生长速度随着温度的升高而加快,在 (30 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 条件下生长速度最快,但是 30 $^{\circ}\text{C}$ 以上生长速度则随着水温的升高而减慢 (李桑等 2008)。从受精卵到鳃盖完成期,河蛙 (*R. grylio*) 的胚胎发育在水温 20 ~ 22.5 $^{\circ}\text{C}$ 时历时 272 h 24 min,在 21 ~ 26.5 $^{\circ}\text{C}$ 时历时 226 h 37 min,在 23 ~ 31 $^{\circ}\text{C}$ 时历时 191 h 33 min,当水温骤然降至 14 ~ 18 $^{\circ}\text{C}$ 时胚胎仍能继续发育,但速度较慢 (梁淡茹等 1997)。将中华大蟾蜍 (*B. gargarizans*) 及中国林蛙蝌蚪分别饲养在 5、15、25 $^{\circ}\text{C}$ 水温下,在相同时间内以 25 $^{\circ}\text{C}$ 水温两种蝌蚪的变态率最高,而 5 $^{\circ}\text{C}$ 水温时两种蝌蚪均不能完成变态,表明温度对中华大蟾蜍和中国林蛙蝌蚪的生长发育有着显著影响 (王立志等 2005)。本文结果显示,在大鲵适宜的生活水温条件下, (20 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 幼鲵的生长最快, (13 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 次之,

1 ~ 16 $^{\circ}\text{C}$ 生长最慢,且三者幼鲵的平均体重差异极显著,表明大鲵在其适宜的环境温度范围内,对水温的变化较为敏感,水温越高、生长越快,水温越低、生长越慢。

陈云祥等 (2006) 指出,在 7.1 ~ 23.5 $^{\circ}\text{C}$ 范围内,大鲵的摄食频率与水温呈正相关。一般认为,包括摄食在内的多种生理活动与体内的生化反应密不可分,许多生化反应是由酶催化的,而温度是影响酶活性的主要因子之一;在最适的温度下酶能发挥最强的催化作用,温度升高可加速反应速率,但温度过高反而使酶丧失活性,使体内许多生化反应停止。基于以上理论,本文认为,包括大鲵在内的变温动物在其适宜的环境温度范围内,环境温度越高、酶的活性就越强,摄食与消化吸收的功能也就越旺盛,最终导致其生长速度越快。

3.2 雌二醇对大鲵生长与肝的影响 有关外源雌激素暴露对无羊膜类生长影响的研究较多,从这些研究看,大部分结果显示外源雌激素对其生长具有一定的抑制作用。例如,黑鲈 (*Dicentrarchus labrax*) 在 E_2 和乙炔基雌醇作用下,其生长受到了抑制 (Blázquez et al. 1998); 雌激素分别对大西洋庸鲽 (*Hippoglossus hippoglossus*) (Hendry et al. 2003) 与溪红点鲑 (*Salvelinus fontinalis*) 的生长均有抑制作用 (Johnstone et al. 1979); 259、1 180 ng/L 浓度的 E_2 对稀有鮎鲫 (*Gobiocypris rarus*) 幼鱼体长生长具有显著性抑制作用 (王星等 2012)。本文结果显示,在 (20 \pm 1) $^{\circ}\text{C}$ 水温下, 25 $\mu\text{g}/\text{L}$ 与 250 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度的 E_2 暴露对幼鲵生长均具有一定的抑制作用,且 E_2 暴露时间越长、抑制作用越强,暴露剂量越大、抑制作用也越大。然而,也有部分研究结果显示, E_2 暴露对无羊膜类生长影响不够明显或有一定促进作用。例如,张晓彦等 (2009) 在 19 ~ 20 $^{\circ}\text{C}$ 水温下,分别用 1、3、10、30 $\mu\text{g}/\text{L}$ 浓度的 E_2 对半滑舌鲷 (*Cynoglossus semilaevis*) 暴露 65 d, E_2 对其早期生长没有显著的影响;用含 E_2 为 1.5 mg/kg 的饵料短期投喂 2 月龄施氏鲟 (*Acipenser schrenckii*) 幼鱼,短期内幼鱼表现出生长快的

势头,而未发现 E_2 有长期的促进作用(王念民等 2005);用含雌激素的饲料喂养中国林蛙蝌蚪,实验组的幼蛙平均体重高于对照组,表明雌激素促进了林蛙的生长发育(霍洪亮 2002)。从以上研究结果可以看出,外源雌激素暴露对无羊膜类的生长影响是较为复杂的,可能与雌激素暴露浓度、时间与水温等因素密切相关。

吴翠琴等(2009)指出,肝指数不仅可以反映肝的生长状况,而且在毒理学实验中常用来检测实验动物靶器官病理性增生或萎缩的信息,有助于判断毒物在动物体内的作用位点,为更深入研究毒理作用提供思路,因此肝指数出现异常,表明肝已经受到一定程度的损伤。本文与已有的研究结果均显示,外源雌激素类物质暴露均能使无羊膜类的肝指数增大(Verslycke et al. 2002, Werner et al. 2003, 吴翠琴等 2009)。此外,已有的研究表明,在雌激素或类雌激素类物质的暴露下,会导致无羊膜类的肝形态与结构发生较为明显变化,例如,将孵化 20 d 的斑马鱼 (*Brachydanio rerio*) 暴露在 10 ng/L 的 17β -乙炔雌二醇中 100 d,导致肝细胞略有肿大,粗面内质网、脂滴和脂褐素增多(李洁斐等 2006);将雄性剑尾鱼 (*Xiphophorus helleri*) 暴露在 250 $\mu\text{g/L}$ 的 E_2 中 50 d,肝细胞质内出现脂肪空泡和脂肪沉积等脂肪肝症状(温茹淑等 2013)。本文也观察到, E_2 暴露 40 d 后, 25 $\mu\text{g/L}$ 组的幼鲵极少数肝细胞质内出现了脂肪空泡、肝血窦有所扩大等特征,而 250 $\mu\text{g/L}$ 组的幼鲵约 30% 的肝细胞与细胞核出现肿大、肝细胞质中出现脂肪空泡、被覆在肝实质表面的上皮细胞向肝实质内迁移、肝血窦扩大等病理现象。

综上所述,一定浓度的外源雌激素类物质暴露,不仅对无羊膜类生长具有一定的抑制作用,而且还对肝的组织结构造成较明显的损伤、引起肝指数增大。肝是三大营养物质的代谢中心,也是主要的解毒器官。一定浓度的外源雌激素类物质进入动物体内后,通过血液循环被运送至肝进行解毒,同时也会造成肝组织结构的损伤,使肝的营养物质代谢功能受到影

响,最终导致包括大鲵在内的无羊膜类生长受到抑制。因此,本文认为外源 E_2 暴露对肝组织结构造成的损伤,可能是抑制幼鲵生长的主要原因。

参 考 文 献

- Blázquez M, Zanuy S, Carrillo M, et al. 1998. Structural and functional effects of early exposure to estradiol- 17β and 17α -ethynylestradiol on the gonads of the gonochoristic teleost *Dicentrarchus labrax*. *Fish Physiology and Biochemistry*, 18 (1): 37 - 47.
- Hendry C I, Martin-Robichaud D J, Benfey T J. 2003. Hormonal sex reversal of Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus* L.). *Aquaculture*, 219(1/4): 769 - 781.
- Hota A K. 1994. Growth in amphibians. *Gerontology*, 40(2/4): 147 - 160.
- Johnstone R, Simpson T H, Youngson A F, et al. 1979. Sex reversal in salmonid culture: Part II. The progeny of sex-reversed rainbow trout. *Aquaculture*, 18(1): 13 - 19.
- Verslycke T, Vandenberg G F, Versonnen B, et al. 2002. Induction of vitellogenesis in 17α -ethynylestradiol-exposed rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): a method comparison. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 132(4): 483 - 492.
- Werner J, Wautier K, Evans R E, et al. 2003. Waterborne ethynylestradiol induces vitellogenin and alters metallothionein expression in lake trout (*Salvelinus namaycush*). *Aquatic Toxicology*, 62(4): 321 - 328.
- 陈云祥, 阳爱生, 王伟军, 等. 2006. 温度和体重对大鲵摄食的影响. *水利渔业*, 26(5): 32 - 47.
- 费梁, 胡淑琴, 叶昌媛, 等. 2006. 中国动物志: 两栖纲 上卷 总论 蚓螈目 有尾目. 北京: 科学出版社, 242 - 254.
- 霍洪亮. 2002. 中国林蛙雌性繁育技术的研究. 长春: 东北师范大学硕士学位论文, 8 - 10.
- 李桑, 尤永隆, 林丹军. 2008. 泽蛙的性腺分化及温度对性别决定的影响. *动物学报*, 54(2): 271 - 281.
- 李洁斐, 李卫华, 杨健, 等. 2006. 17α -炔雌醇对斑马鱼的卵黄蛋白原及性腺发育的影响. *毒理学杂志*, 20(1): 9 - 12.
- 梁淡茹, 潘涂. 1997. 河蛙早期胚胎发育研究. 华南师范大学学报: 自然科学版, (1): 55 - 61.
- 王立志, 李晓晨, 张春博. 2005. 大蟾蜍蝌蚪与中国林蛙蝌蚪生长发育的温度效应. *四川动物*, 24(3): 355 - 358.
- 王念民, 张颖, 曲秋芝, 等. 2005. 短期投喂雌二醇对施氏鲟幼鱼生长的影响. *水产学杂志*, 18(2): 11 - 15.
- 王星, 汤保华, 蔡磊明, 等. 2012. 17β -雌二醇对稀有鮡鲫 (*Gobiocypris rarus*) 幼鱼生长及性分化的影响. *农药*, 51(7): 513 - 516.
- 王中乾, 梁刚. 2013. 大鲵的保护方式及其研究方向. *淡水渔业*, 43(增刊): 41 - 43.
- 温茹淑, 钟燕婷, 方展强, 等. 2013. 17β -雌二醇对雄性剑尾

鱼精巢和肝发育的影响. 动物学杂志, 48(2): 174-181.

吴翠琴, 袁东星, 刘宝敏. 2009. 乙炔基雌二醇对真鲷幼鱼的雌激素效应研究. 海洋环境科学, 28(6): 630-634.

武思齐, 殷梦光, 徐晓茜, 等. 2002. 温度和光照条件对大鲵的影响. 经济动物学报, 16(1): 43-45.

张晓彦, 刘海金. 2009. 17 β -雌二醇对半滑舌鳎性分化和生长的影响. 东北农业大学学报, 40(6): 67-72.

DOI: 10.13859/j.cjz.201403025

青海可鲁克湖-托素湖发现大红鹤

The Greater Flamingo (*Phoenicopterus roseus*) Found in Keluke-Tuosu Lake

2013年11月12日,在青海省海西州可鲁克湖-托素湖自然保护区可鲁克湖西南岸入水口区域(37°15'07"N, 96°51'06"E,海拔2803 m)监测到小群大型涉禽。根据保护区工作人员监测记录,11月12日有7只停留于此,其与斑头雁(*Anser indicus*)、赤麻鸭(*Tadorna ferruginea*)相伴。11月16日记录到3只,并捡到1只缺少头颈的死亡个体(标本现存于青海省林业厅),11月19日1只迁飞,后2只于11月27日飞离,共停留16 d。现场拍摄到的影像资料及死亡个体主要形态特征为:长颈,长腿,颈背灰褐色,嘴基粗壮,嘴中央部突然向下弯曲;体羽灰白色,具暗褐色羽干纹;跗跖和裸露的胫黑褐色或浅灰色。根据这些形态特征,查阅文献后(李德浩等1989,郑光美等2013)鉴定为大红鹤(*Phoenicopterus roseus*),为青海省首次记录此鸟种。

大红鹤属于红鹤目(Phoenicopteriformes)红鹤科(Phoenicopteridae)的大型涉禽(IUCN 2013),繁殖于中亚的哈萨克斯坦北部,越冬于巴基斯坦、印度、斯里兰卡等国家(马鸣等2000),分布涉及74个国家,漂鸟有记录的国家32个(IUCN 2013)。通常栖息于营养丰富的水体浅滩处(水深不超过1 m),如咸水湖、盐田或盐场、沼泽及滨湖的浅水地带。此次停歇地可鲁克湖-托素湖位于柴达木盆地中部,可鲁克湖为淡水湖,托素湖为咸水湖,大红鹤停留区域为可鲁克湖湖水进入托素湖的入水口区域,其在浅水区觅食。

近年来,中国境内多次记录到单只或小群的迁徙大红鹤。1997和1998年在新疆的哈密、乌鲁木齐机场、沙湾县、石河子地区分别记录到单只和10只的大红鹤亚成鸟,并确定为中国鸟类新纪录种(马鸣等2000);2013年11月29日至12月1日,新疆摄影爱好者焦翔辉影在石河子北湖拍摄到1只大红鹤;2013年12月27日可鲁克湖再次记录到1只。根据Johnson等(1993)对法国Cammargue湿地区大红鹤幼体、亚成体(未成熟体)和成体翅、裸露胫及喙等颜色变化的9个阶段的描述,中国新疆、青海所记录大红鹤的年龄在11个月至1岁左右,属幼体阶段。青海可鲁克湖的发现是国内继新疆之后第二次有小群大红鹤幼鸟记录,有可能是中亚哈萨克斯坦繁殖种群的幼鸟因为体力、经验不足避开高大山系向东迁徙的结果。建议今后应加大新疆、青海湿地生态系统的野外监测巡护力度,以进一步确定大红鹤幼鸟越冬迁徙路线。

致谢 感谢中国林业科学院张国钢博士、中国科学院新疆生态与地理研究所马鸣研究员、中国科学院动物研究所朱磊先生、汤宋华女士在物种鉴定和文献资料方面提供的无私帮助。

张毓^① 郑泽^② 宋晓英^① 仪律北^① 郑桂云^① 李金花^① 蔡振媛^{③*}

① 青海省林业厅 西宁 810008; ② 青海可鲁克湖-托素湖自然保护区管理局 德令哈市 817000;

③ 中国科学院西北高原生物研究所高原生物适应与进化重点实验室 西宁 810001

基金项目 中国科学院仪器设备功能开发技术创新项目(No. yg2012085);

* 通讯作者, E-mail: caizhenyuan@nwipb.cas.cn;

第一作者介绍 张毓,男,高级工程师;研究方向:野生动物保护与研究;E-mail: yuzh75@163.com。

收稿日期: 2013-12-09, 修回日期: 2014-03-17