

文章编号:1005-8737-(2001)02-0048-04

促黄体素释放激素类似物 和地欧酮诱导鲇排卵和产卵

毛玉泽¹, 温海深², 林浩然², 李成永³

(1. 内蒙古民族大学 动物科技学院, 内蒙古 通辽 028042;
2. 中山大学 生命科学学院, 广东 广州 510275; 3. 辽宁省辽阳县鱼种场, 辽宁 辽阳 111218)

摘要:以珠江和辽河流域的鲇(*Silurus asotus*)为研究对象,在室内进行了不同组合的激素和药物注射实验。结果表明,注射促黄体素释放激素类似物(LHRH-A)和多巴胺拮抗物地欧酮(DOM)药物组合(LHRH-A+DOM),剂量为(10 μg +5 mg)/kg 鱼体重,能快速而大量地诱导鲇血清促性腺激素(GtH)水平的升高,进而诱导产卵,产卵率为90%,显著高于其他实验组;采用LHRH-A+DOM药物组合对2 926组鲇进行了人工催产,注射剂量为(7 μg +5 mg)/kg 鱼体重,平均催产率为70%,最高80%,获得鱼苗207万尾。

关键词:促黄体素释放激素类似物;地欧酮;鲇;催产;人工繁殖
中图分类号:S965.128.12 **文献标识码:**A

鲇(*Silurus asotus*)是鲇形目中起源和分布都较特殊的类群,其种群生态学有较大的可塑性,具有种群数量较大、对环境的适应能力强、对产卵基质的要求不严等特性^[1,2]。关于其人工繁殖技术的研究已有过报道^[3,4],但在使用催产剂的种类、药物之间的搭配等方面存在较大的差异,且催产效果不稳定。本文以珠江和辽河流域的鲇为研究对象,从理论上阐述鲇在人工诱导排卵过程中促性腺激素(GtH)水平的变动规律。目前这方面的研究国内外尚未见报道。同时,探讨了促黄体素释放激素类似物(LHRH-A)和多巴胺拮抗物地欧酮(domeridone, DOM)组合药物(林彼方法, Linpe method)对鲇排卵的作用以及在人工繁殖中的应用。旨在建立鲇的人工繁殖技术提供理论依据,并进一步证实“林彼方法”在鲇人工繁殖中应用的可行性。

收稿日期:2000-09-15

基金项目:国家自然科学基金资助项目(39970586);内蒙古自然科学基金资助项目(9610E45)

作者简介:毛玉泽(1970-),男,讲师,主要从事鱼类生态生理学研究。

1 材料与方法

1.1 实验鱼

1999年6~7月,珠江流域的天然水体(在中山大学进行人工诱导排卵和GtH的测定)捞取性腺发育良好,即将产卵的雌雄鱼45尾;2000年5~6月,取自辽河水体(人工繁殖试验地点为辽宁省辽阳县鱼种场),性腺发育良好的雌雄鱼共5 918尾(2 926组)。

1.2 诱导排卵实验

将实验鱼分成5组:

I组:注射生理盐水(P.S, 对照组)。

II组:单独注射LHRH-A(50 μg /kg 鱼体重);单独注射HCG(第1次注射剂量为1 000 IU/kg 鱼体重,第2次注射剂量为4 000 IU/kg 鱼体重,两次注射间隔6 h)。

III组:LHRH-A与DOM联合注射,剂量为(10 μg +5 mg)/kg 鱼体重。

IV组:鲤脑垂体(PG)与LHRH-A联合注射,第1次注射剂量为(0.5个+0.5 μg)/kg 鱼体重,第2

次注射剂量为(5个+6 μg)/kg 鱼体重,两次注射间隔6 h。

V组:PG与HCG联合注射,第1次注射剂量为(0.5个+100 IU)/kg 鱼体重,第2次为(2个+2 000 IU)/kg 鱼体重,两次注射间隔6 h。

以上I~V组雄鱼的注射剂量减半。

1.3 GtH的放射免疫测定(RIA)

1.3.1 血样处理 I~V组每组注射后6、12、24 h,分别用1 ml注射器从尾静脉取血液,-4℃静置4~6 h,高速离心5~8 min(15 000 r/min),分离血清,-20℃贮存待测。

1.3.2 测定方法 采用异源GtH RIA,即鲤双抗体放射免疫测定法^[5],以鲤促性腺激素(cGtH-Ⅱ)为标记抗原和标准品,第1抗体为兔抗鲤cGtH-β亚基抗血清(β-Sunbint cGtH),第2抗体为羊抗兔γ-球蛋白血清(GAR, Arnel公司产品)。采用本实验室建立的cGtH 125 I标记法(氯胺T法)标记^[6]。

1.4 野外人工繁殖实验

2000年5月21日至6月27日,在辽宁省辽阳县鱼种场进行,共分2 926组。亲鱼为2~3冬龄,2龄雄鱼的最小体重为300 g/尾,雌鱼为500 g/尾;3龄雄鱼的最小体重为500 g/尾,雌鱼为750 g/尾。只采用LHRH-A+DOM联合药物组合,注射剂量为(7 μg+5 mg)/kg 鱼体重。

1.5 数据处理

实验所得资料均表示为平均数±标准差($\bar{X} \pm SD$),采用Duncan氏新复极差检验各组间GtH水平差异显著性。

2 结果

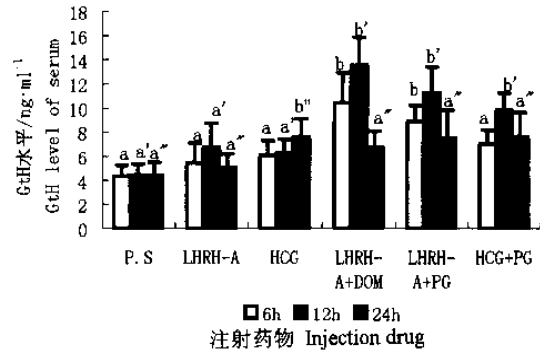
2.1 鲈血清GtH水平的变动

实验水温为(28±1)℃,单独注射LHRH-A或HCG后12 h,血清GtH水平开始升高,注射LHRH-A组达到峰值,而注射HCG组还在继续上升,与对照组之间差异显著;当LHRH-A与DOM联合注射时,6 h后血清GtH水平明显升高,并于12 h达到峰值,与对照组之间差异极显著;LHRH-A或HCG与PG联合注射时,6 h后血清GtH水平开始上升,并于12 h达到峰值,与对照组之间差异显著(图1)。

2.2 室内人工诱导鲈排卵的效果

单独注射LHRH-A或HCG组,排卵率分别为40%和30%,效应时间分别为14~16 h和17~20 h,在以后的观察中发现有陆续排卵现象;LHRH-A

与DOM联合注射组,效应时间为9~12 h,排卵率为90%(只有1尾因成熟度不够未产);LHRH-A与PG联合注射组,效应时间为10~14 h,排卵率为80%,HCG+PG组效应时间为11~15 h,排卵率为80%(图2)。



相同字母表示GtH水平无显著差异。The samilar superscripts mean insignificant difference in GtH level.

图1 人工诱导排卵过程中鲈血清GtH水平的变化

Fig.1 The changes of GtH levels in serum during ovulation inducement in catfish

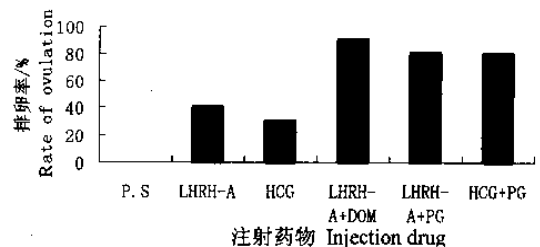


图2 注射不同种类的催产药物后鲈的排卵率

Fig.2 The rate of ovulation after injection with different drugs in catfish

2.3 人工繁殖效果

LHRH-A+DOM药物组合对2 926组鲈人工催产结果见表1。从表1中可知,在催产前未进行成熟度鉴别的情况下,2 926组亲鱼平均产卵率为70%,最高为80%,获受精卵377万粒,共获得鱼苗207万尾,效果十分明显。

3 讨论

关于鲈人工繁殖技术的研究起步比较晚,而且最初使用的多为传统的催产剂。LHRH-A、HCG或PG+HCG,催产效果不够理想,只在PG+HCG组

获得了较好结果, LHRH-A 单独注射几乎没有促产作用^[3]。后来, 有人将“林彼方法”应用于鲇人工繁殖技术中, 取得了成功^[4], 平均产卵率达到83.3%, 比传统的催产法(LHRH-A + PG, 81.95%)效果要好。本实验中, 各种催产药物对性腺发育成熟与产卵前期的珠江鲇, 均有一定效果(图1), 尤其是LHRH-A + DOM 组鲇血清GtH水平高峰可达13.

52 $\mu\text{g}/\text{ml}$ 。具有最高的排卵率(90%)(图2), 其次是LHRH-A + PG 组和HCG + PG 组, 最低的是单独注射LHRH-A 和HCG 组, 这进一步证实了血清GtH 峰值的到来与排卵之间的因果关系。这一结果在野外人工繁殖实验中同样得到了印证。但是, 由于采用的是群体催产, 影响到每组的产卵率和产苗率。

表1 鲇人工催情和产卵情况

Table 1 The data of induced spawning and artificial propagation in catfish

实验日期 Date	水温/ $^{\circ}\text{C}$ Water temperature	试验鱼数 Fish nos.	雌雄比例 Female/Male	效应时间/h Latency time	催产结果 Result			
					产卵率/% Spawning rate	受精卵数/ $\times 10^4$ Fertilized eggs	孵化率/% Hatching rate	鱼苗数/ $\times 10^4$ 尾 Larvae
2000-05-21	18~20	♀:100 + ♂:100	1:1	18~21	80.0	20.0	75.0	15.0
2000-05-23	19~22	♀:300 + ♂:300	1:1	16~18	70.0	60.0	53.3	32.0
2000-05-24	21~22	♀:600 + ♂:600	1:1	16~18	50.0	60.0	33.3	20.0
2000-05-25	21~23	♀:400 + ♂:419	1:1.05	14~16	75.0	60.0	50.0	30.0
2000-05-26	24~25	♀:580 + ♂:600	1:1.03	12~14	70.0	70.0	42.0	30.0
2000-05-27	20~21	♀:312 + ♂:330	1:1.06	18~21	75.0	47.0	63.8	30.0
2000-05-27	29~30	♀:634 + ♂:643	1:1.01	10~12	70.0	60.0	83.3	50.0
合计 Total		♀:2926 + ♂:2992				377.0		207.0

从本实验结果看, 传统催产剂PG + LHRH-A 或PG + HCG 组合在促进鲇排卵方面均有效。同时还证实了用DOM 取代PG 与LHRH-A 配合使用效果更好(产卵率高、效应时间准确), 并已经在渔业生产中得到初步成效。与鲤科鱼类不同的是鲇单独注射LHRH-A 的产卵效果不理想^[3-4], 这一现象在鲇形目的其他鱼类中也存在^[6-10]。本实验证实, 单独注射LHRH-A 能导致部分鱼排卵(排卵率30%~40%), 有一定的催产效果, 这可能与亲鱼在催产后期成熟度好有关系, 这方面的研究有待进一步深入。PG 或DOM 与LHRH-A 配合使用都会增强LHRH-A 刺激GtH 分泌效果, 但两者的作用机制不同, PG 作为一种外源性GtH 直接作用于性腺, 从而促进性类固醇激素的分泌, 效应时间较短。而DOM 作为GtH 释放抑制因子(DA)的拮抗物, 在脑垂体水平上刺激GtH 分泌和释放, 用这两种药物诱导的GtH 水平相近、效果相似(图1)。注射LHRH-A + DOM, 排卵的效应时间一般为9~12 h(图1, 2), 依水温和性腺发育状况而略有差异。在野外人工繁殖实验中, 水温为24~30 $^{\circ}\text{C}$ 时, 产卵的效应时间为10~14 h(表1), 与室内的结果基本吻合。这些数据与革胡子鲇(*Clarias gariepinus*) 和大鳍鲮(*Hemibagrus macropterus*) 不同^[6, 10], 而与南方大口鲇(*Silurus meridionalis*)相似^[11]。

在鲇人工繁殖中采用“林彼方法”一次注射, 操

作简便, 减少了对亲鱼的损伤, 产卵相对集中、效应时间准确, 效果好而且稳定。建议使用剂量为(6~7 $\mu\text{g} + 5 \text{mg}$)/kg 鱼体重, 如果亲鱼成熟度好或在催产的后期可以适当减少LHRH-A 的用量, 这种药物组合应在鲇生产中大力推广。值得注意的是, 鲇产卵的持续时间较长, 如果亲鱼培育不好, 则每次催产的产卵量低(仅能产出1/4左右)。若采取加强亲鱼培育、选择适龄亲鱼进行催产等措施加以改善, 则鲇的人工繁殖效果会更好。

参考文献:

- [1] 魏刚, 黄林. 鲇繁殖生物学研究[J]. 水产学报, 1997, 21(3): 225-232.
- [2] 温海深, 曹克响. 辽河鲇个体生殖力研究[J]. 华中农业大学学报, 1997, 25(增刊): 1-5.
- [3] 潘伟志, 郭佳祥, 田丰声, 等. 鲇的人工繁殖[J]. 水产学报, 1992, 16(3): 278-281.
- [4] 刘焕亮, 蒲红宇, 胡作文, 等. 鲇人工繁殖关键技术的研究[J]. 大连水产学院学报, 1998, 13(2): 1-8.
- [5] 林浩然, 张梅丽, 张素敏, 等. 鳊繁殖生物学研究IV. 人工催产过程中下海鳊的GtH 分泌活动、性腺发育状况和脑垂体的超微结构[J]. 水生生物学报, 1987, 11(4): 320-328.
- [6] Peter R E, Nahorniak C S, Chang J P, et al. Gonadotropin release from the pars distalis of goldfish, *Carassius auratus*, transplanted beside the brain or into the brain ventricles: Additional evidence for gonadotropin release-inhibitory factor[J]. Gen Comp Endocrinol, 1984, 55: 337-346.

- [7] De Leeuw R, Resink J W, Rooyakkers E J W, et al. Pimozide modulates the luteinizing hormone-releasing hormone effect on gonadotropin release in the African catfish, *Clarias lazera* [J]. Gen Comp Endocrinol, 1985a, 58:120-127.
- [8] De Leeuw R, Goos H J Th, Richter C J J, et al. Pimozide - LHRHa - induced breeding of the African catfish *Clarias gariepinus* [J]. Aquaculture, 1985b, 44:295-302.
- [9] 潘炳华,朱洁新,郑文彪,等. 塘胡子鲃的人工繁殖试验[J]. 淡水渔业, 1980, (2):2-7.
- [10] 王德寿,林浩然,谷斯 H J Th. 大塘鲷促性腺激素分泌调控的研究[J]. 动物学报, 1998, 44(3):322-328.
- [11] 谢忠明. 鲃鳊养殖技术[M]. 北京:中国农业出版社, 1999. 13-27.

Induction of ovulation and spawn by LHRH-A and DOM in catfish, *Silurus asotus*

MAO Yu-ze¹, WEN Hai-shen², LIN Hao-ran², LI Cheng-yong³

(1. College of Animal Sciences, Inner Mongolia National University, Tongliao 028042, China;

2. Institute of Aquatic Economic Animals, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China;

3. Fresh Water Culture Farm of Liaoyang County, Liaoyang 111218, China)

Abstract: The catfish, *Silurus asotus*, were captured from Pearl River (June~July, 1999) and Liaohe River (May~June, 2000). In the ovulation induction experiment, 5 treatments were designed, which were injected with P. S (control), LHRH-A, LHRH-A + DOM, common-carp-PG + LHRH-A, and common-carp-PG + HCG, respectively. The results showed that in the treatment with a dose of LHRH-A + DOM (10 μg + 5 mg)/kg body weight, the induction led to a large secretion of GtH to a high level in the catfish, furthermore resulted in the spawning with a spawning rate of 90% which was obviously higher than the other treatments. In the artificial breeding experiment, 2 926 individuals were injected with LHRH-A + DOM at a dose of (7 μg + 5 mg)/kg body weight, getting an average spawning rate of 70%, the highest 80%, and 2.07 million larvae were hatched.

Key words: LHRH-A; DOM; *Silurus asotus*; spawning induction; spawn; artificial propagation