

文章编号: 1004-7271(2003)01-0006-06

# 外源激素及环境因子对日本鳗鲡卵巢发育的影响

柳 凌, 郭 峰, 张洁明, 鲁大椿

(中国水产科学研究院长江水产研究所农业部淡水鱼类种质资源与生物技术重点实验室 湖北 荆州 434000)

**摘 要** 开展了不同外源激素、剂量、注射针距以及环境因子对鳗鲡卵巢发育影响的研究。在所试验的外源激素中, HCG 和 PT 对鳗鲡卵巢催熟效果较好, LHRH-A 和 TOP 则无明显效果。外源激素注射剂量越高, 卵巢发育所需时间越短, 但注射剂量过低, 催熟率则急剧下降。采用注射剂量为 0.5mgPT + 150IU HCG/500g。在外源激素总剂量不变的情况下, 改变注射针距 7~15d, 除卵巢发育所需时间随针距而延长外, 总催熟率不变。超过 15d, 则催熟率下降。研究认为, 鳗鲡卵巢成熟所需外源激素最低总剂量为 3.5~4.5mg TP + 1050~1350IU HCG/500g。试验的环境因子包括温度、盐度、钙镁比以及 pH, 除温度高于 24℃ 或低于 14℃ 对卵巢发育有明显的影响外, 其它因子在试验范围内对鳗鲡卵巢的发育影响不明显。

**关键词** 外源激素 环境因子 日本鳗鲡 卵巢

中图分类号 S917 文献标识码: A

## Effects of exterior hormones and environmental factors on the ovarian development in Japanese eel

LIU Ling, GUO Feng, ZHANG Jie-ming, LU Da-chun

(Key Laboratory of Freshwater Fish Germplasm Resources and Biotechnology certificated by the Ministry of Agriculture, Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Jinzhou 434000, China)

**Abstract** The effects of different kinds and dosages of exterior hormones, an interval of time between two injections, as well as environmental factors on the development of Japanese eel ovary were studied. In all kinds of exterior hormones, the effects of HCG and PT on the ovarian development are better, but LHRH-A and TOP are inconspicuous. The higher the dosage, the shorter the period of the ovary for developing maturation. If the dosage is excessively low, the rate of ovarian maturation can be rapidly declined. The optimal dosage adopted at present is 0.5mg PT + 150IU HCG. If changing of the interval between injections from 7 to 15 days in the case of fixed total dosage, the total rate of maturation is unchangeable except the time needed for ovarian maturation is changed. But the total rate can fall if the interval exceeds 15 days. The author considers that the inducing ovarian maturation in Japanese eel needed minimum total dosage of exterior hormone should be 3.5~4.5mg PT + 1050~1350IU HCG/500g. The environmental factors in the experiment include temperature, salinity, the ratio of calcium to magnesium, to pH. All these values in the experiment do not influence the ovarian maturation except the temperature above 24℃, or under 14℃.

**Key words** exterior hormones; environmental factors; *Anguilla japonicus*; ovarian maturation

收稿日期 2002-10-21

基金项目 中国水产科学研究院基金项目资助(2002-1-4)

作者简介 柳 凌(1959-)男,四川成都人,副研究员,主要从事鱼类生殖生理研究。E-mail: lliul@yfi.ac.cn

日本鳗鲡 (*Anguilla japonicus*) 是一种在淡水里生长, 降海洄游产卵的鱼类。在我国每年 10 月中旬到 11 月底从它们栖息的江河、湖泊中成群地洄游入海, 进行性腺发育和产卵繁殖。

研究证明, 此时的下海鳗卵巢发育为 II 期, 成熟系数为 1% ~ 2%<sup>[1]</sup>。将下海鳗暂养在人工条件下的海水中, 若无外源激素诱导, 日本鳗鲡的卵巢是不发育的。开展外源激素对日本鳗鲡卵巢发育影响的研究, 是对日本鳗鲡人工育苗技术研究的基础。它决定着卵子先天营养物质积累的程度和质量, 以及对鳗鲡幼苗后天发育的影响。我们在 1996 - 2002 年, 对人工条件下, 不同的外源激素和作用方式对日本鳗鲡卵巢发育的影响以及与环境因子间的相互关系进行了较系统的研究。现将研究结果报道如下, 以供进一步研究参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 亲鳗来源及处理方式

试验采用亲鱼均取自每年 11 月中旬珠江口的下海野生鳗, 选择体质健壮, 无病害的鳗鲡作为试验用鱼, 体重为 550 ~ 650g/尾。所有亲鳗先在盐度为 15 ~ 20 海水中暂养 10d, 然后根据试验要求分组养殖于人工海水的玻璃钢水槽中。每组亲鳗数为 15 尾。海水采用循环过滤, 增氧。根据试验要求进行水温控制, 昼夜温差不超过 0.5℃。每组亲鳗 2 ~ 4 尾用于解剖, 观察卵巢发育情况和计算成熟系数。其余用于催产, 观察催熟率及催产率。

### 1.2 外源激素诱导卵巢发育

参照相关研究报道<sup>[1-4]</sup>, 试验中采用的激素有鲤垂体 (PT)、促黄体素释放激素 (LHRH - A<sub>2</sub>)、绒毛膜促性腺激素 (HCG) 以及丙酸睾丸素 (TOP)。按照不同激素、不同剂量组合进行催熟。催熟针距统一采用 12d 注射一次的方式进行。催熟海水盐度为 28, 水温为 20 ± 0.5℃。催熟效果以各时间段内催熟群体中个体成熟系数达到 45% 以上的个体百分比为检测标准。所有试验均重复 2 次。

### 1.3 催熟针距对卵巢发育的影响

根据 1.2 的研究结果, 选择效果好的激素组合, 对催熟针距进行研究。试验中采用的针距分别为 7、10、12、15 和 18d。催熟效果以各时间段内催熟群体中个体成熟系数达到 45% 以上的个体百分比以及催产率为检测标准。所有试验均重复 2 次。

### 1.4 环境因子对卵巢发育的影响

根据 1.2、1.3 的研究结果选择效果较好的激素组合和催熟方式, 在不同环境因子作用下进行催熟。试验中所采用的环境因子为海水的盐度、温度、钙镁比以及 pH。试验方案参照其它研究报道, 根据多效应比较规律进行设计。检测标准以催熟群体的总催熟率为准。所有试验均重复 2 次, 取其平均数。

## 2 试验结果

### 2.1 外源激素诱导卵巢发育

试验中用于诱导鳗鲡卵巢发育的外源激素主要有 PT、LHRH - A<sub>2</sub>、HCG 以及 TOP。其注射方案如表 1 所列。试验中还采用了其它外源激素和不同剂量的组合, 由于不具代表性, 未在表 1 中列出。

按照表 1 所列的注射药物和剂量, 对各试验组雌鳗进行注射后, 根据解剖的雌鳗卵巢发育的成熟系数与挖卵检查未解剖雌鳗的卵粒发育程度、体长胸围比的比较, 以及结合对肛门、胸鳍等副性征的发育程度观察, 确定试验组雌鳗卵巢发育程度。一般来讲, 挖卵检查, 70% 以上卵粒的卵径达到 700 μm 以上; 体长与胸围比达到 (60 ~ 70):(14 ~ 16); 胸鳍除基部还留有一点白色外, 其余全部变黑; 生殖孔开始扩张, 则认为其成熟系数达到了 45% 以上。注射后, 雌鳗各时间的卵巢成熟情况如表 2 所示。

表 1 外源激素诱导日本鳗鲡卵巢发育注射方案

Tab.1 Projects for inducing the maturation of Japanese eel ovary

注射方案	PT( mg/500g )	LHRH - A <sub>2</sub> ( μg/500g )	HCG( IU/500g )	TOF( mg/500g )
1	1	-	-	-
2	0.5	-	-	-
3	0.1	-	-	-
4	1	-	250	-
5	0.5	-	250	-
6	0.1	-	250	-
7	1	-	150	-
8	0.5	-	150	-
9	0.1	-	150	-
10	1	10	150	-
11	0.5	10	150	-
12	0.1	10	150	-
13	0.5	-	150	2

表 2 不同激素诱导鳗鲡卵巢发育结果

Tab.2 Results of Japanese eel ovary induced by different exterior hormone

注射方案	成熟系数达到 45% 以上的个体百分比( % )					总催熟率( % )
	48 ~ 60d	60 ~ 84d	84 ~ 108d	108 ~ 132d	132d 以上	
1	4.2	29.2	20.8	0	0	54.2
2	0	4.4	43.5	21.7	0	69.6
3	0	0	0	17.4	0	17.4
4	10.0	45.0	35.0	0	0	90.0
5	0	18.2	50.0	22.7	0	90.0
6	0	0	19.1	28.6	0	47.7
7	4.4	43.5	39.1	4.4	0	92.3
8	0	4.8	76.2	14.3	0	95.3
9	0	0	9.1	31.8	12.8	53.7
10	5.3	42.1	24.4	0	0	71.9
11	0	8.7	60.9	17.4	0	87.0
12	0	0	13.4	29.9	4.5	47.8
13	0	8.5	75.5	9.0	0	93.0

比较表 2 中各试验组的结果发现,不同的催熟药物比较,PT+HCG(4~9 组)催熟效果表明明显优于单用 PT(1~3 组),PT+HCG 的总催熟率最高可达到 95.3%,而 PT 的总催熟率最高只有 69.6%;PT+HCG(7~9 组)的催熟效果略好于 PT+HCG+LHRH-A<sub>2</sub>(10~12 组),其最高总催熟率分别为 95.3% 和 87.0%;PT+HCG(7~9 组)与 PT+HCG+TOF(13 组)比较,其催熟效果无明显差异,最高总催熟率分别为 95.3% 和 93.0%。

同种催熟药物不同剂量的比较结果发现,催熟药物剂量越高,卵巢成熟所需时间越短,但催熟药物剂量过低,则对总催熟率有很大影响,以 PT+HCG 为例,当 HCG 量不变,PT 注射量为 1mg/500g 时(4、7 组),卵巢最早成熟的时间为 48~60d,催熟率分别为 10.0% 和 4.4%,卵巢成熟高峰期不集中,60~108d 均不断有雌鳗达到性成熟。PT 注射量为 0.5mg/500g 时(5、8 组),卵巢最早成熟时间为 60~84d,催熟率分别为 18.2% 和 4.8%,卵巢成熟高峰期主要集中在 84~108d,催熟率分别为 50.0% 和 76.2%。而 PT 的注射量降到 0.1mg/500g 时(6、9 组),除卵巢成熟时间延迟外,总催熟率明显下降,分别为 47.7% 和 53.7%。同样,HCG 浓度越高,卵巢发育的时间越短(4~6 组与 7~9 组比较)。

综合分析所有研究结果后认为,试验方案 8 的效果最好,催熟药物和剂量为 0.5gPT+150IU HCG/500g,总催熟率达到 95.3%,催熟高峰期主要集中在 84~108d,此期间的催熟率可达到 76.2%。

## 2.2 催熟针距对卵巢发育的影响

在注射药物和剂量不变的条件下,针距越短,卵巢成熟所需时间也越短。表 3 列出了不同针距催熟后鳗鲡卵巢发育的结果。从表 3 可看出注射针距为 7d 时,雌鳗性腺成熟主要集中在 50~70d;当针距为 10d 时,卵巢成熟高峰期主要集中在 60~80d;当针距为 12d 时,卵巢成熟的高峰期推后到 80~100d;而注射针距为 15d 时,卵巢成熟的高峰期则变为 90~110d。上述 4 个试验组的结果,除随着针距的延长,卵巢成熟所需的时间也延长外,总催熟率变化不大,为 90.9~95.3%。其中,针距为 12d 的催熟率最高,为 95.3%。但当针距为 18d 时,除卵巢成熟时间继续向后推迟外,其催熟率则急剧下降,总催熟率只有 23.8%。

进一步分析发现,在 7~15d 的范围内,无论针距是多少,鳗鲡卵巢达到成熟高峰期所需的针数是相同的。当针距为 7d 时,卵巢达到成熟高峰期(50~70d)所需针数为 7~9 针;当针距为 12d 时,所需针数也是 7~9 针。10d 和 15d 的结果也与此相同。换句话说,在一定范围内,日本鳗鲡卵巢成熟所需的外源激素总量是一个定值,即 3.5~4.5mg PT+1050~1350IUHCG/500g。

表 3 不同针距诱导鳗鲡卵巢发育结果

Tab.3 Results of Japanese eel ovary induced by different between two injections

针距	成熟系数达到 45% 以上的个体百分比 (%)					总催熟率 (%)	催产率 (%)
	40~60d	60~80d	80~100d	100~120	120d 以上		
7	54.2	37.5	0	0	0	91.7	54.6
10	13.0	60.9	17.4	0	0	91.3	47.8
12	0	4.8	66.7	23.8	0	95.3	47.6
15	0	4.5	54.6	27.3	4.5	90.9	30.4
18	0	0	0	14.3	9.5	23.8	8.7

虽然在一定范围内,注射针距对雌鳗总的催熟率没有影响,但对进一步的催产率却有影响。从表 3 可看出其规律为,催熟针距加大,卵巢成熟所需的时间延长,催产率也随之逐渐下降。

## 2.3 环境因子对卵巢发育的影响

利用 0.5mgPT+150IU HCG 对试验组雌鳗在不同水环境中进行催熟,催熟针距为 12 天,其结果如图 1 所示。从图 1 可看出,温度对卵巢发育影响较大。水温在 16~20℃ 范围内总催熟率均在 90% 以上。随着温度升高,催熟率下降,当水温达到 24℃ 以上时,总催熟率只有 48% 以下。当水温低于 14℃ 时,总催熟率同样下降为 67%。另外,由于水温对卵巢发育所需时间影响不明显,14℃ 与 22℃ 比较只相差一个针距。因此,影响卵巢发育所需时间是催熟药物的总剂量,而温度在一定范围内影响不大。海水盐度在 28~34 均适合鳗鲡卵巢发育,其中盐度为 30 效果最好,总催熟率达到 95% 以上。盐度低于 26,由于亲鳗在催熟过程中不断死亡,造成总催熟率下降。钙镁比和 pH 值在试验范围内对卵巢发育影响不大。但由于该 2 项因子在试验范围内对以后幼苗的发育有较大影响(将在另文讨论),因此,仍作为研究内容进行了相关试验。

## 3 讨论

### 3.1 外源激素对鳗鲡卵巢发育的影响

外源激素 HCG 和 PT 诱导鳗鲡卵巢发育成熟的效果非常明显,而 LHRH-A<sub>2</sub> 和 TOP 等其它外源激素则效果不明显。这与林浩然等<sup>[5]</sup>对性类固醇激素诱导鳗鲡 GtH 分泌的研究结果是一致的。这说明鳗鲡卵巢的发育是可以通过 HCG 和 PT 外源激素来调控的。作者在研究过程中发现,日本鳗鲡的卵巢发育在外源激素的诱导下,其发育时间的变化范围很大。一般来讲,注射激素剂量越高,卵巢发育所需时间越短。最短的只需要 48d,长的可达 120d 在上。卵巢发育的时间变化导致的直接结果是催产率的变

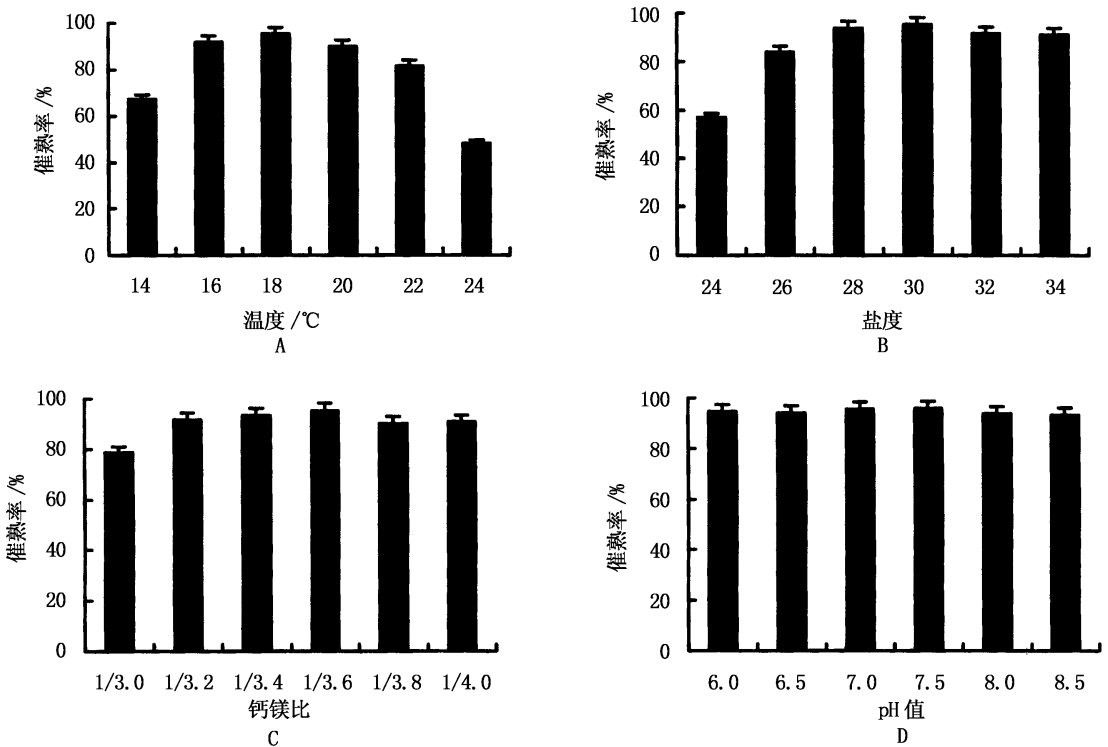


图 1 不同环境因子对鳗鲡卵巢发育的影响

Fig. 1 The effect of different environmental factors on the ovarian development in Japanese eel

化,即发育时间越短,催产率越高。这可能与外源激素对鳗鲡自身内分泌激素的抑制有关。这为外源激素作用下,鳗鲡自身内分泌激素调控的研究提出了新的研究内容。同时,卵巢发育时间长短还可能与鳗鲡育苗的后天发育有关。日本鳗鲡是目前人工繁殖鱼类中唯一一种必须通过外源激素诱导才能使Ⅱ期卵巢发育成熟的鱼类,也是唯一一条目前人工繁殖幼苗还不能存活的鱼类。Tzeng<sup>[6]</sup>根据日本鳗鲡幼苗耳石推算,在自然条件下,鳗鲡卵巢发育时间应该是150~180d。因此,作者认为在外源激素有效范围内,尽量延长卵巢发育的时间,对鳗鲡幼苗的发育可能更有利。

### 3.2 外源激素作用方式对卵巢发育的影响

外源激素作用方式除林浩然等<sup>[5]</sup>进行过一些包埋试验外,目前国内外都主要采用肌肉注射,但注射的针距差异较大。有关资料显示 Fontaine 采用的是2d;王义强<sup>[1]</sup>采用的是15d;多部田修<sup>[7]</sup>采用的是7d,而谢刚<sup>[2]</sup>采用的是10d。作者的研究发现,在7~15d范围内,只要催熟药物的总剂量不变,注射针距对鳗鲡成熟所需的时间和总催熟率没有影响。鳗鲡卵巢成熟所需外源激素的最低总剂量为3.5~4.5mg PT+1050~1350IU HCG/500g。作者曾将这个剂量平均分配,采用7、10和12d进行注射,其催熟结果完全一样。但注射针距延长到18d以上,则催熟率急剧下降。这说明试验中所用的外源激素是与鳗鲡自身内分泌激素相互作用完成性腺发育的。只是外源激素和内源激素间的互相关系尚有待进一步的研究。

### 3.3 环境因子对卵巢发育的影响

就目前的研究结果总的来讲,环境因子对鳗鲡卵巢发育影响不明显。除温度过高(高于24℃)或过低(低于14℃)对卵巢发育有明显的影响外,其它因子在试验范围内对鳗鲡卵巢发育影响不明显。但这并不能确定这些因子对卵巢发育就没有影响、或影响不大。这是由于试验中所选因子的变化范围对鳗鲡幼苗的发育影响较大,对卵巢发育研究的指标主要集中在催熟率和催熟系数上,而没有采用标准不明确的卵子质量高低作为检测标准。但事实上,这些因子对卵子质量可能已经产生了影响。

### 参考文献：

- [1] 王义强, 赵长春, 施正峰, 等. 河鳗人工繁殖的初步研究[J]. 水产学报, 1980, 4(2): 147-158.
- [2] 谢 刚. 鳗鲡苗种人工繁育的研究概况及其展望[J]. 大连水产学院学报, 2001, 16(1): 42-48.
- [3] 黄大明, 陈世群. 鳗鲡的生活史和人工育苗技术探讨[J]. 生物工程进展, 1997, 17(2): 3-12.
- [4] Lin H R, Xie G, Zhang L H, et al. Artificial induction of gonadal maturation and ovulation in the Japanese eel[J]. Bull Fr Peche Piscic, 1998, 349: 163-176.
- [5] 林浩然, 张美丽, 张素敏, 等. 鳗鲡繁殖生物学研究 V. 性类固醇激素诱导雌鳗促性腺激素(GtH)分泌和卵巢发育的作用[J]. 水生生物学报, 1994, 18(3): 272-279.
- [6] Txeng W N. Otolith microstructure and daily age of *Anguilla japonica* T & S from the estuaries of Taiwan with reference to unit stock and larval migration[J]. J Fish Biol, 1992, 40: 845-857.
- [7] 多部田修. ウナギの初期生活史と种苗生産の展望 A]. 雌の成熟促進 M]. 恒星社厚生閣, 1996, 95-107.

## 新书介绍

# 《中国有毒和药用鱼类新志》

由上海水产大学伍汉霖教授主编, 并获国家科学技术学术著作出版基金资助的《中国有毒和药用鱼类新志》一书已于 2002 年 6 月由中国农业出版社出版。本志共收入我国有毒鱼类和药用鱼类 390 种, 附有插图 442 幅和彩图 76 幅, 全书共 679 页, 100 万字。为我国首部将有毒鱼类和药用鱼类志形式写成的最为全面的专著。

本志作者将我国有毒鱼类根据含毒部位毒素性质的差异, 将有毒鱼类分为毒鱼类(包含珊瑚礁毒鱼类、鲉毒鱼类、卵毒鱼类、胆毒鱼类、血清毒鱼类、肝毒鱼类、易生成组胺毒鱼类、蛇鲭毒鱼类和含真鲨毒素鱼类)、刺毒鱼类和皮肤粘液毒鱼类三大类。除介绍其形态、分布、生态和利用外, 重点对种类鉴别、异名、毒性、中毒症状、治疗、预防均有详尽的叙述。在药用鱼类编著上, 本志除叙述各种药用部位、性味功效和主治外, 还重点介绍近年国内外关于角鲨烯、鲨鱼软骨粉、鱼油(DHA、EPA)、河鲀毒素等方面的药理、药用功效和制药情况。

本志为作者数十年来工作的积累和总结, 有的还是作者动物实验和研究的新成果(如对胆毒鱼类、血清毒鱼类、皮肤粘液毒鱼类的研究有新的突破和发现), 并参阅了国内外最新研究资料和有关文献整理而成, 可供水产部门、医药卫生防疫部门的科技工作者及大专院校有关专业的师生参考。

各地新华书店及中国农业出版社发行部(北京农展馆北路 2 号, 邮编 100026)有售, 定价 120 元。也可与作者直接联系, 联系地址: 上海市军工路 334 号 57 信箱, 邮编 200090。