

# 多巴胺拮抗物 pimozide(PIM) 或排除剂 reserpine(RES) 和促黄体素释放激素类似物(LHRH-A) 诱导养殖鱼类促性腺激素分泌和排卵的研究\*

林浩然 梁坚勇 彭纯 张梅丽 张素敏 陈朝

(中山大学生物系)

G. V. D. 克拉克 R. E. 彼得

(阿尔伯塔大学动物系, 加拿大)

**提 要** 由多巴胺拮抗物 **PIM** 或排除剂 **RES** 组成的高效新型鱼类催产剂能有效的诱导主要的淡水养殖鱼类促性腺激素分泌和产卵, 其中青鱼催产率为 80%, 鲢鱼为 84%, 鳙鱼和草鱼为 88%, 长春鳊为 94%, 鲮鱼为 96%。试验表明这种催产剂的主要优点是: 催产效果高而稳定, 可以完全取代鱼脑垂体; 对当年第二次成熟和产卵的亲鱼同样有效; 有利于保护亲鱼; 节省劳力和成本。

**主题词** 促性腺激素, 排卵, 养殖鱼类, 多巴胺拮抗物, 促黄体素释放激素类似物。

近年来, 鱼类生殖内分泌生理的研究已经证明: (一) 鱼类脑垂体 GTH 的分泌活动既受到下丘脑的促性腺激素释放激素 (GnRH) 的刺激, 又受到下丘脑的促性腺激素释放的抑制因子 (GRIF) 的抑制<sup>[7,9]</sup>; (二) 由下丘脑神经分泌细胞产生的多巴胺起 GRIF 的作用, 它既能直接抑制脑垂体 GTH 细胞的分泌活动, 亦能抑制 GnRH 促进脑垂体 GTH 的分泌<sup>[2~4]</sup>; (三) 多巴胺的拮抗物, 排除剂以及各种合成抑制剂都能消除多巴胺对脑垂体 GTH 分泌活动的抑制作用, 从而显著增强 GnRH 促进 GTH 分泌和诱导排卵的作用<sup>[1,5,6,10]</sup>。根据这些理论研究成果并结合我国的实际生产需要, 我们研制成功高效新型鱼类催产剂, 由多巴胺拮抗物 pimozide (PIM) 或排除剂 reserpine (RES) 和促黄体素释放激素类似物 (des-Gly<sup>10</sup>, D-Ala<sup>6</sup>-LHRH-ethylamide, LHRH-A) 组成, 用于诱导鱼类人工繁殖。这种催产剂能有效的促进鱼类 GTH 分泌和诱导排卵, 效果比单一使用 LHRH-A 或 HCG 显著提高, 具有使用鱼脑垂体的同等功效。近年来, 我们和浙江省宁波激素制品厂合作组织小批量生产, 并在全国一些主要鱼苗场推广试用。与此同时, 我们在校实验鱼场和广东省新会县与南海县的一些主要鱼苗场亦开展试验, 都取得良好效果。

\* 由中国科学院科学基金和加拿大国际发展研究中心 (IDRC) 资助。

## 材料和方 法

试验亲鱼由本校试验鱼场培育或新会县横江鱼苗场和南海县大正鱼苗场提供;在繁殖季节(4月~7月)挑选腹部膨大而松软的成熟个体在室外产卵池进行人工注射激素催产试验。

LHRH-A 为浙江省宁波激素厂产品,用淡水鱼类生理盐水(PS)溶解并配制成不同浓度的注射液。RES 是美国 Sigma 公司产品,PIM 是比利时 Janssen 公司产品,它们分别用 0.7% NaCl+0.1%  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$  的溶液(即载体, Veh)或者 PS 配制成不同浓度的悬浮液。腹腔注射;注射的剂量、次数和间隔时间均在各试验组的结果中一并列出。对照组注射生理盐水和载体溶液。大部分亲鱼在注射激素后雌雄配对(1:1)放入产卵池观察产卵情况。部分亲鱼在注射激素后定时捕起用 1 毫升注射器从尾部血管抽取鱼样,并轻压腹部检查排卵情况。血样在低温(4°C左右)下凝血数小时,离心分离血清。制得的血清样品在 -25°C 保存,以待测定 GTH 含量。血清 GTH 含量的放射免疫测定采用 Peter 等介绍的双抗体方法<sup>[3]</sup>。鲤-GTH 和免抗鲤-GTH 血清由法国 Breton 提供。采用卡方检验法和 Mann-Whitney U-检验法比较各试验组血清 GTH 含量和产卵率的差异性程度。

## 结 果

### 1. 多巴胺拮抗物 PIM 或排除剂 RES 和 LHRH-A 诱导主要养殖鱼类产卵的效果

如表 1 所示,在 1985 年—1986 年的繁殖季节,用 PIM 或 RES 和 LHRH-A 对草鱼、鲢鱼、鳙鱼、青鱼、鲈鱼和长春鳊等进行多次人工催产试验,都取得良好效果,产卵率都在 80% 以上,而且效应时间较短而稳定,获产的鱼大都能产空,产卵量较大。除青鱼由于试验鱼尾数较少,人工授精技术欠完善而致孵化率较低之外,各种鱼催产的成熟卵均受精与正常发育,孵化率亦在 80% 以上。各地鱼苗场经过试用后都一致肯定它的催产效果,并认为用于草鱼、鲈鱼和长春鳊的效果尤为显著。

华南地区通常对几种主要养殖鱼类的成熟亲鱼进行当年第二次人工催产,以充分发挥亲鱼的生产潜力。在本校实验鱼场和南海县大正鱼苗场对草鱼、鲢鱼和鲈鱼的成熟亲鱼都采用 RES+LHRH-A 进行当年第一次和第二次催产。在适宜的水温和管理条件下,亲鱼第一次催产后经过 35~45 天培育,性腺再次正常发育成熟,进行第二次催产时草鱼 20 尾全产,鲢鱼 37 尾有 35 尾产卵,鲈鱼 169 尾有 164 尾产卵,产卵率达 97% 以上,充分表明这种催产合剂对当年第二次成熟的亲鱼同样有良好的催产效果。

### 2. 多巴胺拮抗物 PIM 或排除剂 RES 和 LHRH-A 促进主要养殖鱼类 GTH 分泌的作用

(1) 草鱼 *Ctenopharyngodon idellus* 如图 1 所示,预先注射低剂量的 LHRH-A (20 微克/每尾亲鱼),7 小时后注射 PIM (1 毫克/公斤体重)+LHRH-A (10 微克/公斤体重),能使血液 GTH 在 4 小时内迅速增加并持续到注射后 14 小时(40—45 毫微克/毫升);与此同时亲鱼发情产卵,产卵的效应时间较短而稳定,一般在第二次注射后 6—8 小时产卵。一次注射 PIM (1 毫克/公斤体重)+LHRH-A (10 微克/公斤体重)亦能促使 GTH 分泌,但血液 GTH 含量升高较为缓慢,注射后 14 小时才达到高峰,因而,诱导亲鱼

表1 多巴胺拮抗物 PIM 或排除剂 RES 和 LHRH-A 诱导主要养殖鱼类产卵的效果  
Table. 1 Effects of LHRH-A plus PIM or RES on inducing spawning in major freshwater cultured fish

种类 Species	温度 Temp. ( $^{\circ}$ C)	注射剂量(微克或毫克/公斤体重) Dosages(in ug or mg/kg body wt)			效应时间 (小时) Responses time(h)	产卵率(%) Rate of spawning (%)	受精卵的 孵化率(%) Rate of hatching (%)
		第一次注射 First injection	间隔时间 (小时) Interval (h)	第二次注射 Second injection			
草鱼 Grass carp	23-31	PIM or RES 5 mg + LHRH-A 10 $\mu$ g	4-5	LHRH-A 10 $\mu$ g	4-6	88%(7批76尾 亲鱼有67尾产 卵)	90%
鲢鱼 Silver carp	24-30	PIM or RES 5 mg + LHRH-A 10~50 $\mu$ g	4-6	LHRH-A 10~50 $\mu$ g	6-8	84%(4批32尾 亲鱼有27尾产 卵)	80%
鳙鱼 Bighead carp	25-31	PIM or RES 5 mg + LHRH-A 10~50 $\mu$ g	4-6	LHRH-A 10~50 $\mu$ g	6-8	88%(4批27尾 亲鱼有24尾产 卵)	80%
青鱼 Black carp	26-31	RES 5~10 mg + LHRH-A 100 $\mu$ g	6	RES 1~5 mg + LHRH-A 50 $\mu$ g	6-8	88%(3批5尾 亲鱼有4尾产 卵)	30%
鲮鱼 Mud carp	24-29	PIM or RES 5 mg + LHRH-A 50 $\mu$ g	4	LHRH-A 50 $\mu$ g	3-4	96%(5批329 尾亲鱼有316 尾产卵)	92%
长春鳊 Bream	25-28	PIM or RES 1~2 mg + LHRH-A 100 $\mu$ g	/	/	10-12	94%(2批55尾 亲鱼有52尾产 卵)	80%

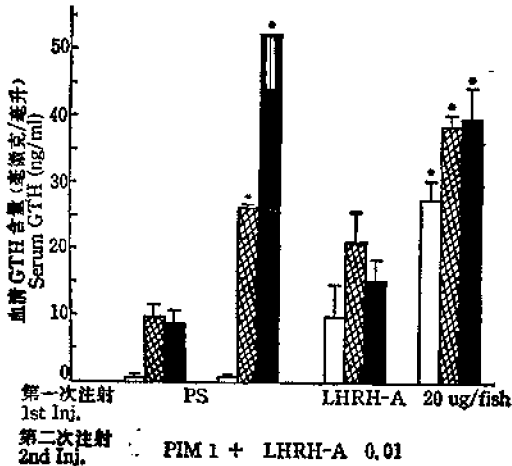


图1 PIM (1毫克/公斤体重)和 LHRH-A (10微克/公斤体重)对草鱼血清 GTH 含量的影响(水温25-27 $^{\circ}$ C)。\*显著高于未排卵组( $P < 0.05$ )。

Fig. 1 Effects of PIM (1 mg/kg) and LHRH-A (10  $\mu$ g/kg) on serum GTH level in grass carp (25-27 $^{\circ}$ C). \*significantly higher than unovulated fish ( $P < 0.05$ ).

□第二次注射之前 0 hr. P. 2nd I.  
■第二次注射后 4小时 4 hr. P. 2nd I.  
■第二次注射后 12小时 12 hr. P. 2nd I.

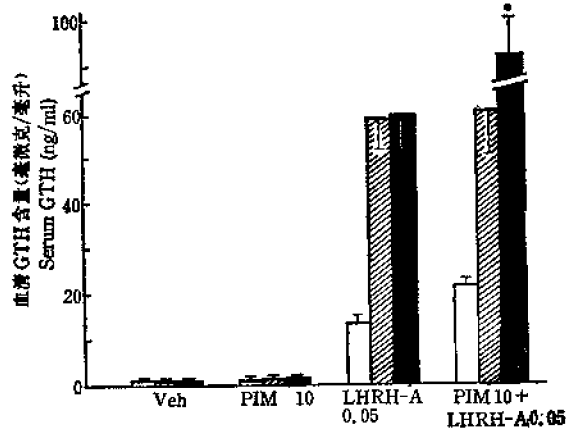


图2 PIM (10毫克/公斤体重)和 LHRH-A (50微克/公斤体重)对初产鲢鱼血清 GTH 含量的影响(水温21-23.5 $^{\circ}$ C)。\*显著高于 LHRH-A 组( $P < 0.05$ )。

Fig. 2 Effects of PIM (10 mg/kg) and LHRH-A (50  $\mu$ g/kg) on serum GTH level in "new brooder" of silver carp (21-23.5 $^{\circ}$ C). \*significantly higher than LHRH-A alone ( $P < 0.05$ ).

□注射后 8小时 8 hr. P. I.  
■注射后 18小时 18 hr. P. I.  
■注射后 48小时 48 hr. P. I.

产卵的效应时间亦较长,约为10—14小时。注射催产剂后个别未能诱导产卵的亲鱼,其血液的GTH含量升高不明显。

(2) 鲢鱼 *Hypophthalmichthys molitrix* 如图2所示,对初产的鲢鱼亲鱼,一次注射PIM(10毫克/公斤体重)+LHRH-A(50微克/公斤体重)能使血液GTH含量持续增加,在注射后18小时达到相当高水平(60—70毫微升/毫升),这时绝大多数亲鱼已经发情产卵。注射后48小时血液的GTH含量达到高峰,表明鲢鱼在产卵后的一段时间内血液GTH含量仍持续升高。单独注射LHRH-A(50微克/公斤体重)亦能促使血液GTH含量升高到一定程度并能诱导小部分亲鱼产卵。

用RES(10毫克/公斤体重)+LHRH-A(50微克/公斤体重)对当年性腺第二次发育成熟的亲鱼一次注射后能促使血液GTH含量迅速升高,并在注射后持续的保持高水平(100—120毫微克/毫升),亲鱼发情排卵。注射后48小时,血液GTH含量明显降低(图3)。

(3) 鳊鱼 *Aristichthys nobilis* 一次注射PIM(10毫克/公斤体重)+LHRH-A(100微克/公斤体重),或预先注射PIM或LHRH-A,6小时后再注射PIM+LHRH-A都能促使血液GTH含量持续增加,在注射后12—24小时期间达到高峰(40—50毫微克/毫升),并诱导产卵;但在前一种情况,血液GTH含量升高的持续时间较短,在注射后24小时明显降低(图4)。

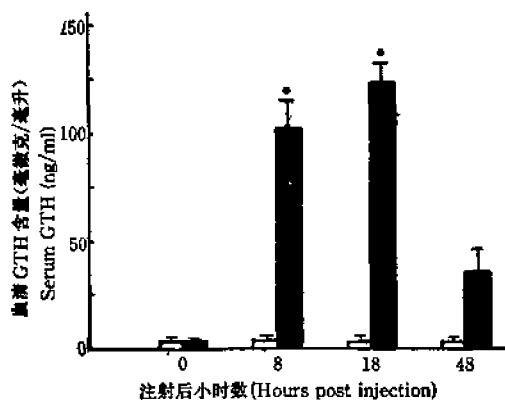


图3 RES(10毫克/公斤体重)和LHRH-A(50微克/公斤体重)对当年第二次产卵鲢鱼血清GTH含量的影响(水温28.5—32.5°C)。\*显著高于注射前和注射后48小时( $P < 0.05$ )。

Fig. 3 Effects of RES(10 mg/kg) and LHRH-A(50  $\mu$ g/kg) on serum GTH level in silver carp during the second time inducing spawning(28.5—32.5°C). \*significantly greater than 0 and 48 hours postinjection ( $P < 0.05$ ).

□ PS  
 ■ RES + LHRH-A

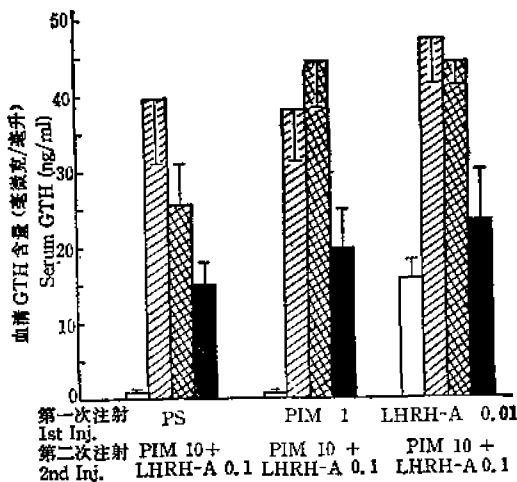


图4 PIM(10毫克/公斤体重)和LHRH-A(100微克/公斤体重)对鳊鱼血清GTH含量的影响(30—32°C)。

Fig. 4 Effects of PIM(10 mg/kg) and LHRH-A(100  $\mu$ g/kg) on serum GtH level in bighead carp (30—32°C).

□第二次注射之前0hr. P. 2nd I.  
 ▨第二次注射后12小时12hr. P. 2nd I.  
 ▩第二次注射后24小时24hr. P. 2nd I.  
 ■第三次注射后36小时36hr. P. 2nd I.

(4) 鲢鱼 *Cirrhinus molitorella* 如图 5 所示, PIM (10 毫克/公斤体重) 和 RES (10 毫克/公斤体重) 单独注射未能促进血液 GTH 含量明显升高。LHRH-A (100 微克/公斤体重) 一次或二次注射能促使血液 GTH 含量明显升高, 但升高的幅度较小, 持续时间亦短, 注射后 12 小时就显著降低, 未达到诱导产卵的要求。预先注射 PIM + LHRH-A 或者 RES + LHRH-A, 4 小时后再注射一次 LHRH-A (100 微克/公斤体重), 能促使血液 GTH 含量在几小时内迅速增加到相当高的水平 (50—60 毫微克/毫升), 这时许多亲鱼自行产卵, 产卵效应时间为 3—4 小时。预先注射 PIM (10 毫克/公斤体重), 然后注射 LHRH-A, 亦能促使血液 GTH 含量迅速升高并诱导产卵。但预先注射 RES (10 毫克/公斤体重), 4 小时后再注射同样剂量的 LHRH-A, 只促使血液 GTH 含量升高到 30—40 毫微克/毫升, 未能使亲鱼自行产卵。

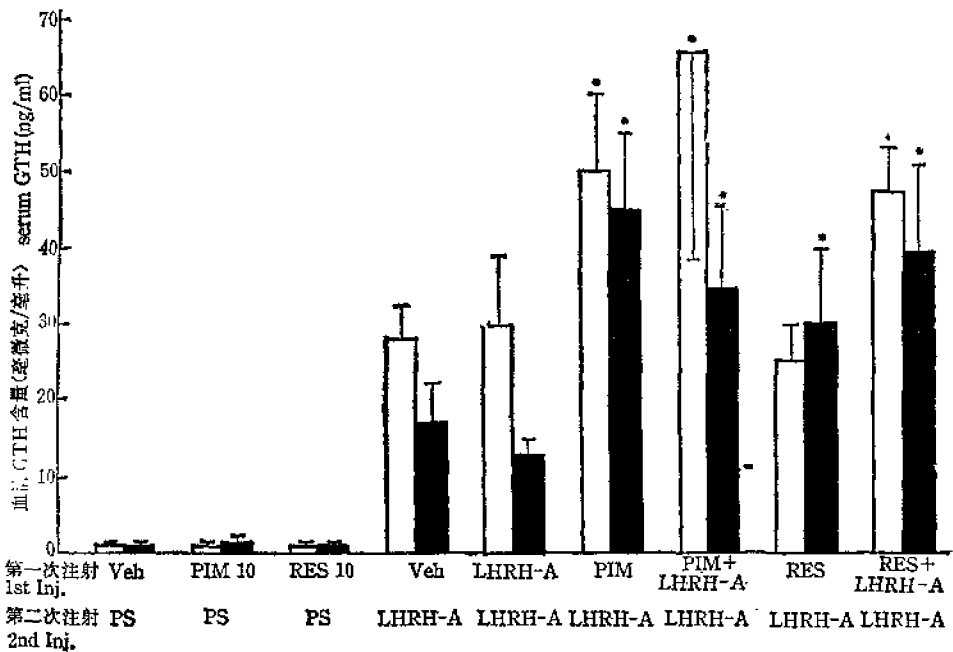


图 5 PIM 或 RES (10 毫克/公斤体重) 和 LHRH-A (100 微克/公斤体重) 对鲢鱼血清 GTH 含量的影响 (水温 26—28°C)。\* 显著高于 LHRH-A 组 ( $P < 0.05$ )。

Fig. 5 Effects of PIM or RES (10 mg/kg) and LHRH-A (100  $\mu$ g/kg) on serum GTH level in mud carp (26—28°C). \*significantly greater than LHRH-A alone ( $P < 0.05$ ).

□ 第二次注射后 8 小时 8hr. P. 2nd I.

■ 第二次注射后 12 小时 12hr. P. 2nd I.

(5) 长春鲮 *Parabramis pekinensis* 如图 6 所示, 单独注射 PIM (1 毫克/公斤体重), 使血液 GTH 含量略有升高。单独注射较低剂量 LHRH-A (10 微克/公斤体重), 虽使血液 GTH 含量显著升高, 但幅度不大, 且 8 小时后就降低, 因而未能诱导亲鱼产卵。单独注射较高剂量 LHRH-A (100 微克/公斤体重) 能促使血液 GTH 含量持续升高, 注射后 24 小时仍保持较高水平, 因而有部分亲鱼排卵。注射 PIM 和较低剂量 LHRH-A (10 微克/公斤体重), 能促使血液 GTH 含量在 8 小时内迅速升高到 70—80 毫微克/毫升, 亲

鱼在注射后 8~24 小时内全部排卵。注射 PIM 和较高剂量 LHRH-A (100 微克/公斤体重), 使血液 GTH 在数小时内升到高峰 (80~90 毫微克/毫升), 与此同时, 许多亲鱼排卵; 注射后 24 小时, 血液 GTH 含量虽略有降低, 但仍保持相当高的水平。

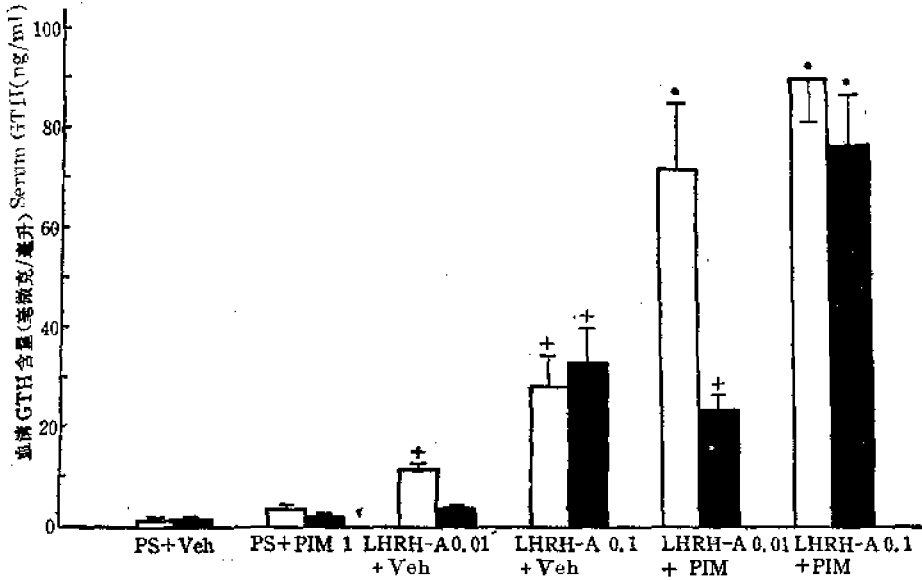


图 6 PIM (1 毫克/公斤体重) 和 LHRH-A (10 或 100 微克/公斤体重) 对长春鳊血清 GTH 含量的影响 (29.5—31.5°C)。† 显著高于对照组; \* 显著高于单独 LHRH-A 组 ( $P < 0.05$ )。

Fig. 6 Effects of PIM (1 mg/kg) and LHRH-A (10 or 100  $\mu$ g/kg) on serum GTH level in bream (29.5—31.5°C). † significantly greater than controls; \* significantly greater than LHRH-A alone ( $P < 0.05$ ).

□ 注射后 8 小时 8hr. P. I.

■ 注射后 24 小时 24hr. P. I.

## 讨 论

根据我们的试验结果和各地鱼苗场的实际情况, 这种高效鱼类催产合剂的主要优点是: (一) 催产效果显著而稳定, 可以完全不用鱼脑垂体; 从各种养殖鱼类的催产结果看, 催产率都在 80% 以上, 且产卵效应时间较短; (二) 对华南地区当年第二次成熟和产卵的亲鱼同样有良好的催产效果; (三) 有利于保护亲鱼, 产后亲鱼的死亡率比采用鱼脑垂体或 HCG 催产明显降低; (四) 不用取鱼脑垂体, 既省劳力, 又降低成本。

表 1 归纳的草鱼、鲢鱼、鳙鱼、鲮鱼和长春鳊的催产率都在 84% 以上, 因此, 表内列出的注射剂量和注射次数可以推荐给各地作为今后在使用这种激素时的参考。青鱼试验中所列出的注射剂量和注射次数还有待今后继续深入试验。由于这种激素的活性强, 用量少, 在使用时应严格掌握用量的准确性。

试验结果还表明: 各种养殖鱼类对多巴胺拮抗物 PIM 或排除剂 RES 和 LHRH-A 的敏感性有所不同。初产鲢鱼和长春鳊的敏感性较强, PIM 或 RES 和 LHRH-A 的一次注射就能诱导排卵; 而鳙鱼、草鱼和鲮鱼则需二次注射才取得满意的催产效果。不过, PIM

或 RES 和 LHRH-A 刺激养殖鱼类 GTH 分泌的作用通常和诱导排卵的效果都是一致的,亦就是说在激素和药物处理后血液 GTH 含量都需要迅速增高到一定程度后才能诱导排卵,不然的话,排卵效果就很差。例如草鱼,第一次注射低剂量 LHRH-A,约 7 小时后第二次注射 PIM + LHRH-A,能使血液 GTH 含量在 4 小时内迅速增加并持续一段时间,与此同时亲鱼发情产卵,效应时间为 6~8 小时,催产效果良好;而只一次注射 PIM + LHRH-A,血液 GTH 含量增高较为缓慢,注射后 14 小时才达到高峰,因而亲鱼延迟发情产卵,效应时间长达 10~14 小时,催产率亦较低。由此可见,诱导产卵的效应时间和亲鱼血液 GTH 含量增高的时间性是一致的。由于个体的差异(如性腺成熟度的不同),个别亲鱼经激素和药物处理后未能产卵,其血液的 GTH 含量亦没有明显增高,这亦表明亲鱼脑垂体对这些激素和药物的 GTH 分泌反应和诱导排卵的效应是密切联系的。又如鲢鱼, LHRH-A 以较高剂量(50 微克/公斤体重)单独注射虽能促使血液 GTH 含量升高,但持续时间较短,只能诱导少部分(约 30%)亲鱼产卵;但 PIM 和 LHRH-A 的协同作用能促使血液 GTH 含量持续增高并显著提高催产率(80%以上)。同样, RES + LHRH-A 对当年第二次催产的鲢鱼亦能促使血液 GTH 含量迅速而持续的增高,增高的幅度和初产鲢鱼相似。催产效果亦相当好。这表明连续两次使用 RES + LHRH-A 进行催产并不会影响鲢鱼脑垂体对这些激素和药物处理所引起的 GTH 分泌反应。

### 参 考 文 献

- [1] 林浩然等, 1985. 抑制多巴胺合成的药物和丘脑下部促黄体素释放激素类似物(LHRH-A)对大鳞副泥鳅雌鱼促性腺激素的分泌和排卵的影响. 科学通报, 21:1680.
- [2] Chang, J. P. and Peter, R. E., 1983a. Effects of pimozone and des-Gly<sup>10</sup> [D-Ala<sup>6</sup>]-luteinizing hormone-releasing hormone ethylamide on serum gonadotropin concentrations, germinal vesicle migration and ovulation in female goldfish, *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 52: 30-31.
- [3] Chang, J. P. and Peter, R. E., 1983b. Effects of dopamine on gonadotropin release in female goldfish, *Carassius auratus*. *Neuroendocrinology*, 36: 351-357.
- [4] Chang, J. P. et al. 1984. Effects of catecholaminergic agonists and antagonists on serum gonadotropin concentration and ovulation in goldfish: evidence for specificity of dopamine inhibition of gonadotropin secretion. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 55: 351-360.
- [5] Lin, H.-R. et al, 1985a. Induction of ovulation on the loach (*Paramisgurnus dabryanus*) using pimozone and [D-Ala<sup>6</sup>, Pro<sup>9</sup>-N-ethylamide]-LHRH. *Aquaculture*, 46: 330-340.
- [6] Lin, H.-R. et al, 1985b. The effects of LHRH analogue and drugs which block the effects of dopamine on gonadotropin secretion and ovulation in fish cultured in China. In "Proceeding of the International Symposium on the Aquaculture of Carp and Related Species" (R. Billard, ed.), 139-150. *INRA publications, Versailles, France*.
- [7] Peter, R. E., 1983. The brain and neurohormones in teleost reproduction. In "Fish Physiology" (W. S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson, eds), 9(A): 97-135. *Academic Press, New York*.
- [8] Peter, R. E., et al. 1984. 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. *Gen comp. Endocrinol.*, 55: 337-346.
- [9] Peter, R. E. et al, 1986. Interactions of catecholamines and GnRH in regulation of gonadotropin secretion in teleost fish. *Recent Progress in Hormones Research*, 42: 513-548.
- [10] Sokolowska, M. et al, 1984. Induction of ovulation in goldfish, *Carassius auratus*, by pimozone and analogues of LHRH. *Aquaculture*, 36: 71-83.

**INDUCTION OF GONADOTROPHIN SECRETION AND OVULATION  
OF CULTURED FISHES BY USING LHRH-A AND DOPAMINE  
ANTAGONIST PIMOZIDE (PIM) OR LHRH-A AND  
CATECHOLAMINE DEPLETOR RESERPINE (RES)**

Lin Haoran, Liang Jianyong, Peng Chun, Zhang Meili, Zhang Suming,  
and Chen Chao

(Department of Biology, Zhongshan University, China)

Glen Van Der Kraak and Richard E. Peter

(Department of Zoology, University of Alberta, Canada)

**ABSTRACT** The effect of LHRH-A (des-Gly<sup>10</sup>, D-Ala<sup>6</sup>-LHRH-ethylamide) in combination with dopamine antagonist PIM or catecholamine depletor RES on gonadotrophin secretion and ovulation of the cultured fishes were investigated. Injection of the mixture of LHRH-A and PIM or LHRH-A and RES is highly effective in stimulating gonadotrophin secretion and inducing ovulation or spawning of freshwater cultured fishes. The rates of spawning in our experiment were: black carp (*Mylopharyngodon piceus*) 80%; silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) 84%; bighead carp (*Aristichthys nobilis*) and grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) 88%; bream (*Parabramis pekinensis*) 94%; and mud carp (*Cirrhinus molitorella*) 96%. The advantages of these ovulatory agents are high rate of ovulation, complete replacement of carp<sup>♂</sup> pituitary, beneficial to the protection of brooders as well as labour saving and low cost.

**KEYWORDS** gonadotrophin, ovulation, cultured fishes, pimozide, reserpine