

# 诱导大鳞副泥鳅排卵的多巴胺拮抗物和丘脑下部促黄体素释放激素类似物的协同作用\*

林浩然 彭纯 刘龙志 周溪涓

(中山大学生物系)

## 提 要

多巴胺拮抗物 pimozide (PIM)和 LHRH-A 协同作用能有效地诱导大鳞副泥鳅排卵,排卵率显著高于单独的 LHRH-A 和鱼脑垂体。采用一次同时注射的方式,较好的剂量是 PIM 0.5 微克/克体重 + LHRH-A 0.05 微克/克体重。PIM 和 LHRH-A 同时注射的效果比 PIM 提前三小时注射的好。PIM + 低剂量 LHRH-A (0.01 微克/克体重)间隔 24 小时进行两次注射的排卵率要比只注射一次的高。

我们先前的研究已经证明大鳞副泥鳅存在着抑制脑垂体促性腺激素 (GTH) 分泌的促性腺激素释放的抑制因子 (GRIF), 而多巴胺具有 GRIF 的作用; 因此, 注射多巴胺拮抗物 pimozide (PIM) 能显著增强 LHRH-A 诱导排卵的效应<sup>[1]</sup>。这个结果同国外学者对金鱼和鲤鱼的研究结果相一致<sup>[4, 6, 8]</sup>。为了进一步掌握 PIM 和 LHRH-A 诱导大鳞副泥鳅排卵的作用特点, 并为对其他养殖鱼类进行同类的研究提供依据, 我们就不同注射剂量、不同注射次数和注射间隔时间以及在繁殖季节不同时期注射后的催产效果作了对比研究。

## 材 料 和 方 法

实验在繁殖季节(11月—1月, 3月—5月)进行。大鳞副泥鳅从农贸市场购回后蓄养在室外 250 立升水族箱中, 挑选腹部松软饱满、性腺发育成熟的雌鱼进行试验。实验前称鱼体重并剪鳍进行分组和编号。每个试验组 7—14 尾鱼。

LHRH-A 为浙江省宁波水产激素制品厂产品, 用淡水硬骨鱼类生理盐水 (PS)<sup>[9]</sup> 溶解, 配制成不同浓度的注射液, 按 5 微克/克体重的剂量进行肌肉注射。PIM 是比利时 Janssen 药物公司产品, 以 0.7% NaCl 和 0.1% Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub> 溶液配制成不同浓度的悬浮液, 亦按 5 微克/克体重的剂量进行腹腔注射。对照组注射生理盐水和 PIM 的载体 (vehicle)。

\* 此项研究课题为中国科学院科学基金资助的课题

注射前用浓度约为 0.05% 的 tricaine methanesulfonate 麻醉。注射后在不配雄鱼和不加水草做鱼巢的情况下,经过 24 小时,轻轻挤压腹部检查排卵效果。采用卡方检验法(chi-square test)比较各试验组排卵率的差异程度。

## 结 果

### 1. PIM 和不同剂量 LHRH-A 同时注射的催产效果(表 1)

表 1 PIM 和不同剂量的 LHRH-A 同时注射的催产效果  
(水温 14—16°C, 1983 年 11 月)

组 别	试验鱼数	注射的激素、药物和剂量	排卵鱼数	排卵率(%)
1	10	PIM 1 $\mu$ g/g + LHRH-A 0.1 $\mu$ g/g	8	80 <sup>(1)(2)</sup>
2	10	PIM 1 $\mu$ g/g + LHRH-A 0.05 $\mu$ g/g	10	100 <sup>(2)(3)(4)</sup>
3	10	PIM 1 $\mu$ g/g + LHRH-A 0.01 $\mu$ g/g	5	50 <sup>(1)</sup>
4	10	Vehicle + LHRH-A 0.1 $\mu$ g/g	2	20
5	10	Vehicle + LHRH-A 0.05 $\mu$ g/g	2	20
6	10	PIM 1 $\mu$ g/g + PS	0	0
7	10	Vehicle + PS	0	0

(1) 排卵率显著高于第 4 组 ( $P < 0.05$ ); (2) 排卵率显著高于第 6、7 组 ( $P < 0.05$ ); (3) 排卵率显著高于第 5 组 ( $P < 0.005$ ); (4) 排卵率显著高于第 3 组 ( $P < 0.05$ )。

以 1 微克/克体重的 PIM 分别和 0.1、0.05、0.01 微克/克体重三种剂量的 LHRH-A 同时一次注射的三个试验组, 24 小时后的排卵率分别为 80%, 100% 和 50%。单独以 0.1 和 0.05 微克/克体重剂量注射 LHRH-A 的两个试验组, 排卵率均为 20%, 低于前三组。单独注射 PIM 的一组 and 对照组都没有排卵。

### 2. 预先注射 PIM, 三小时后注射不同剂量 LHRH-A 的催产效果(表 2)。

表 2 注射 PIM 后 3 小时注射不同剂量 LHRH-A 的催产效果  
(水温 14—22°C, 1984 年 1 月)

组 别	试验鱼数	注射时间、激素、药物和剂量		排卵鱼数	排卵率 (%)
		8:00	11:00		
1	10	PIM 1 $\mu$ g/g	LHRH-A 0.1 $\mu$ g/g	7	70 <sup>(1)(2)</sup>
2	10	PIM 1 $\mu$ g/g	LHRH-A 0.05 $\mu$ g/g	5	50 <sup>(1)</sup>
3	10	PIM 1 $\mu$ g/g	LHRH-A 0.01 $\mu$ g/g	1	10
4	10	PIM 1 $\mu$ g/g	PS	0	0
5	10	Vehicle	LHRH-A 0.1 $\mu$ g/g	2	20
6	10	Vehicle	LHRH-A 0.05 $\mu$ g/g	2	20
7	10	Vehicle	PS	0	0

(1) 排卵率显著高于第 4、7 组 ( $P < 0.05$ ); (2) 排卵率显著高于第 3 组 ( $P < 0.05$ )。

预先注射 PIM (1 微克/克体重), 3 小时后分别以 0.1 和 0.05 微克/克(体重)的剂量注射 LHRH-A, 其排卵率分别为 70% 和 50%, 都比单独注射同样剂量 LHRH-A 的高,

但无显著性差异。注射 PIM 后 3 小时, 再次按剂量 0.01 微克/克(体重)注射 LHRH-A 的试验组, 其排卵率仅为 10%, 与对照组比较无显著性差异。

在大鳞副泥鳅繁殖季节盛期(4月底—5月初)水温较高的情况下, 用较低剂量的 LHRH-A(0.01 和 0.005 微克/克体重)进行另一次相似的实验, 结果表明, 在繁殖盛期, 先注射 PIM, 三小时后以 0.01 微克/克体重的剂量注射 LHRH-A, 有一定的催产效果(表 3)。

表 3 繁殖盛期注射 PIM 后 3 小时注射较低剂量 LHRH-A 的催产效果  
(水温 20—24°C, 1984 年 4 月)

组 别	试验鱼数	注射时间、激素或药物和剂量		排卵鱼数	排卵率(%)
		08:30	11:30		
1	8	PIM 1 $\mu$ g/g	LHRH-A 0.01 $\mu$ g/g	5	62.5 <sup>(1)</sup>
2	7	PIM 1 $\mu$ g/g	LHRH-A 0.005 $\mu$ g/g	3	43
3	9	PIM 1 $\mu$ g/g	PS	0	0
4	7	Vehicle	LHRH-A 0.01 $\mu$ g/g	0	0
5	7	Vehicle	LHRH-A 0.005 $\mu$ g/g	0	0
6	8	Vehicle	PS	0	0

(1) 排卵率显著高于第 3、4、5、6 组( $P < 0.05$ )。

### 3. PIM 和低剂量 LHRH-A (0.01 微克/克体重)两次注射的催产效果(表 4)

PIM 和低剂量的 LHRH-A (0.01 微克/克体重)同时一次注射不引起排卵, 但 24 小时后进行第 2 次注射, 则能有效地引起排卵。而单独注射低剂量 LHRH-A 间隔 24 小时的两次注射, 排卵率仍然很低, 和对照组没有显著性差异。

表 4 间隔 24 小时注射 PIM 和低剂量 LHRH-A 的催产效果  
(水温 18—24°C, 1983 年 12 月)

组 别	试验鱼数	注射次数、激素、药物和剂量		排卵鱼数	排卵率(%)
		第一次注射	第二次注射		
1	12	PIM 1 $\mu$ g/g + LHRH-A 0.01 $\mu$ g/g		0	0
2	12	PIM 1 $\mu$ g/g + LHRH-A 0.01 $\mu$ g/g	PIM 1 $\mu$ g/g + LHRH-A 0.01 $\mu$ g/g	10	83 <sup>(1)</sup>
3	14	Vehicle + LHRH-A 0.01 $\mu$ g/g		0	0
4	14	Vehicle + LHRH-A 0.01 $\mu$ g/g	Vehicle + LHRH-A 0.01 $\mu$ g/g	1	7.1
5	12	PIM 1 $\mu$ g/g + PS		0	0
6	12	PIM 1 $\mu$ g/g + PS	PIM 1 $\mu$ g/g + PS	0	0
7	11	Vehicle + PS		0	0
8	11	Vehicle + PS	Vehicle + PS	0	0

(1) 排卵率显著高于其他各组( $P < 0.005$ )。

## 4. 不同剂量的 PIM 和 LHRH-A 同时注射的催产效果(表 5)

表 5 同时注射不同剂量的 PIM 和 LHRH-A 的催产效果  
(水温 14—17°C, 1984 年 4 月)

组 别	试验鱼数	注射激素、药物和剂量	排卵鱼数	排卵率(%)
1	10	PIM 1 $\mu$ g/g + LHRH-A 0.05 $\mu$ g/g	10	100 <sup>(1)</sup>
2	8	PIM 0.5 $\mu$ g/g + LHRH-A 0.05 $\mu$ g/g	8	100
3	8	PIM 0.1 $\mu$ g/g + LHRH-A 0.05 $\mu$ g/g	4	50
4	10	Vehicle + PS	0	0

(1) 排卵率显著高于第 3 组 ( $P < 0.05$ )。

以 1 微克/克体重和 0.5 微克/克体重的剂量的 PIM 与 LHRH-A 同时注射均获得很好的催产效果; 但剂量为 0.1 微克/克体重的 PIM 与 LHRH-A 同时注射的催产效果明显降低, 表明低剂量的 PIM 不能很好地增强 LHRH-A 的催产效果。

## 5. PIM + LHRH-A 同鲢鳙鱼脑垂体的催产效果比较(表 6)。

表 6 PIM + LHRH-A 同鲢鳙脑垂体对大鳞副泥鳅催产效果比较  
(水温 22—27°C, 1984 年 3 月)

组 别	试验鱼数	注射激素、药物和剂量	排卵鱼数	排卵率(%)
1	20	PIM 1 $\mu$ g/g + LHRH-A 0.05 $\mu$ g/g	20	100 <sup>(1)</sup>
2	50	鲢鳙脑垂体(1 粒/尾)	31	62

(1) 排卵率显著高于第 2 组 ( $P < 0.005$ )。

1984 年 3 月, 使用两种不同的激素进行大批催产试验的结果表明, 注射 PIM + LHRH-A 的排卵率为 100%, 而注射鲢鳙垂体的排卵率为 62%。

## 讨 论

上述研究结果表明 PIM 和 LHRH-A 协同作用诱导大鳞副泥鳅排卵具有以下的特点:

(1) PIM 有增强 LHRH-A 诱导大鳞副泥鳅排卵的效应, 使排卵率显著提高。但是, 当 LHRH-A 的剂量下降到 0.01 微克/克体重时, PIM 的增强效应受到限制, 排卵率较低且不稳定。同样, PIM 的有效剂量可以降低到 0.5 微克/克体重, 但如果降低到 0.1 微克/克体重, 就会大大减弱增强 LHRH-A 诱导排卵的作用。综合各次试验结果可知, 诱导大鳞副泥鳅排卵的较好剂量是 PIM 0.5 微克/克体重 + LHRH-A 0.05 微克/克体重。

(2) PIM 和 LHRH-A 同时注射的催产效果比较好。Chang 等(1983)<sup>[6]</sup>和 Sokolowska 等(1984)<sup>[9]</sup>对金鱼的试验表明 PIM 提早三小时注射对诱导血清 GtH 水平升高和排卵的效果较好。Billard 等(1983)<sup>[2]</sup>对鲤鱼的试验表明 PIM 提前六小时注射能得到较

好的催产效果。这和 PIM 是以悬浮液注射到鱼体内,其作用过程要比以溶液状态注射到鱼体内的 LHRH-A 缓慢有关。但是,我们对大鳞副泥鳅的试验表明 PIM 和 LHRH-A 同时注射的催产效果要比 PIM 提早注射的好,其原因是否与种类特异性、对 PIM 作用的敏感性以及不同的环境条件(如温度)有关,有待进一步研究。

(3) PIM 和低剂量的 LHRH-A 的两次注射比一次注射的效果好。PIM 和 LHRH-A (0.01 微克/克体重) 一次注射不能诱导排卵,但如果间隔 24 小时进行同样剂量的两次注射,排卵率可提高到 83%。这表明 PIM + LHRH-A 也存在着自身增强作用<sup>[7]</sup>。

(4) PIM + LHRH-A 的催产效果比较稳定可靠。从大批催产的结果来看,注射 PIM + LHRH-A 比注射鱼脑垂体的效果好得多。另外,上述多次实验结果也表明,在外界条件适宜、鱼卵巢发育良好、注射剂量合适的情况下,PIM + LHRH-A 的催产率基本上能达到 100%。

(5) 在繁殖盛期,催产用的剂量可以降低。如在 1 月份的试验中,1 微克/克体重的 PIM + 0.01 微克/克体重的 LHRH-A,催产率只有 10%;而在 4 月份,注射同样的剂量,催产率可以达到 62.5%。这可能与鱼本身的性腺成熟度以及脑垂体对激素反应的敏感性有关。

这些研究结果充分证明多巴胺拮抗物 PIM 能显著增强 LHRH-A 诱导大鳞副泥鳅排卵的作用。采用适宜的配合使用方法以充分发挥它们的协同作用,将会使它们成为一种高活性的鱼类催产剂。

### 参 考 文 献

- [1] 林浩然、彭纯、林鸿平, 1984。多巴胺拮抗物 Pimozide 增强丘脑下部促黄体素释放激素类似物(LHRH-A) 诱导大鳞副泥鳅排卵效应的研究。科学通报, 29(12)。
- [2] Billard, R., Alagarswami, K., Peter, R. E. and Breton, B., 1983. Potentialisation par le pimozide des effets du LHRH-A sur la secretion gonadotrope hypophysaire l'ovulation et la spermiation chez la carpe commune (*Cyprinus carpio*). *C. R. Acad. Sci. Paris*, 296(Serie III): 181-184.
- [3] Burnstock, G., 1958. Saline for fresh-water fish. *J. Physiol.*, 141: 35-44.
- [4] Chang, J. P. and Peter, R. E., 1983a. Effects of dopamine on gonadotropin release in female goldfish, *Carassius auratus*. *Neuroendocrinology*, 36: 351-357.
- [5] Chang, J. P. and Peter, R. E., 1983b. Effects of pimozide 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: 30-37.
- [6] Chang, J. P., Cook, A. F. and Peter, R. E., 1983. Influence of catecholamines on gonadotropin secretion in goldfish, *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 49: 22-31.
- [7] Peter, R. E., 1980. Serum gonadotropin levels in mature male goldfish in response to luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) and des-Gly<sup>10</sup>-(D-Ala<sup>6</sup>)-LH-RH ethylamide. *Can. J. Zool.*, 58: 1100-1104.
- [8] Peter, R. E., 1982. Neuroendocrine control of reproduction in teleosts. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 39: 48-55.
- [9] Sokolowska, M., Peter, R. E., Nahorniak, C. S., Pan, C. H., Chang, J. P., Crim, L. W. and Weil, C., 1984. Induction of ovulation in goldfish, *Carassius auratus*, by pimozide and analogues of LH-RH. *Aquaculture*, 36: 71-83.

**THE COMBINED ACTION OF PIMOZIDE AND LHRH-A HIGHLY  
EFFECTED OVULATION IN INDUCED SPAWNING OF LOACH  
(PARAMISGURNUS DABRYANUS)**

Lin Haoran, Peng Chun, Liu Longzhi and Zhou Xijuan

*(Department of Biology, Zhongshan University)*

Abstract

The effects of the combination of luteinizing hormone-releasing hormone analogues, des-Cly<sup>10</sup>-(D-Ala<sup>6</sup>)-LH-RH ethylamide (LHRH-A) with pimozone (PIM), a dopamine antagonist, on induced ovulation in loach during spawning season were investigated. A high rate of ovulation (nearly 100%) was observed within 24 hours when PIM and LHRH-A were injected simultaneously. The rate of ovulation is much higher than the ordinary fish pituitary injection groups. The effective dosage is PIM 0.5 $\mu$ g + LHRH-A 0.05 $\mu$ g/g body weight. The effect of injection PIM and LHRH-A injected simultaneously is better than that injected separately. If PIM + low dose of LHRH-A (0.01 $\mu$ g/g bodyweight) was injected twice with an interval of 24 hours apart, the high rate of ovulation would be obtained. These results reveal the facts that PIM potentiates the effects of LHRH-A on induction of ovulation in loach.