

淡水养殖梭鱼的人工繁殖机理*

陈惠彬

(河北省水产研究所)

摘要 1982~1986年;作者采用外源药理学方法,使淡水养殖梭鱼(S% 0.297—0.569)克服了“淡水不育症”,雌鱼性腺成熟率85%以上,完全取代了“海水过渡”。在人工催产中又克服了排卵机制的障碍及胚胎对环境的不适应,并对梭鱼亲鱼血清激素含量进行放射免疫(RIA)测定及电子显微镜对梭鱼脑垂体亚显微结构进行观察。提出梭鱼存在血脑屏障。

关键词 淡水梭鱼,人工繁殖,外源药理学方法,“海水过渡”

梭鱼(*Mugil so-inuy* Basilewsky)是广盐性鲮科鱼类,是一种食物链短、生长快、商品价值较高的优良经济鱼类,为海水、半咸水养殖的主要对象。在淡水池塘中与四大家鱼混养,有很好的经济效益。但其苗种一直依赖沿海水域采捕天然苗。天然苗种受外界多种因素的影响,产量极不稳定。世界各国对鲮科鱼类人工繁殖十分重视,已被列为重要的研究课题之一。我国在海水、半咸水的梭鱼人工繁殖技术业已解决。如江苏、天津、山东等地采用亲鱼产前“海水过渡”方法已达苗种生产化。但自六十年代以来国内外学者虽对淡水养殖鲮鱼、梭鱼进行了大量探索和研究,试图克服鲮鱼、梭鱼“淡水不育症”,均未能突破。本文在综合分析国内外研究资料基础上,提出一条新的研究技术路线,即采用外源药理学的方法来改变梭鱼中枢神经介质水平,进而抑制催乳素的活跃,促使亲鱼逾越淡水环境中生殖机制障碍,从而克服“淡水不育症”。它还包括人工催产、授精、孵化、育苗等特殊系统工艺。

梭鱼(雌鱼)“淡水不育症”和生殖机制障碍主要原因

鱼类和其他脊椎动物一样,整个生殖活动(性腺发育、成熟、排卵过程)是由神经系统和内分泌系统的共同协作和调节而完成的。而水流、光照、盐度、温度等生态环境因子都会影响鱼类的生殖内分泌活动。这些影响是在鱼类的中枢神经通过外感受器官(如视觉、触觉、侧线等)接受外界刺激后,激发神经细胞释放神经介质,传递信号给大脑,大脑将信号转为指令给下丘脑,下丘脑分泌促黄体释放激素(LRH),通过毛细血管系统或深入垂体间叶的神经纤维直接传递,促使脑垂体间叶嗜碱性分泌细胞相应分泌促性腺激素(GTH)进入血液循环至性腺,从而促进性腺的发育和成熟,并刺激性腺生成和分泌性甾类激素。

* 本文曾提交中国水产学会第四次全国会员代表大会暨学术年会(1987年11月5—10日),并在学术讨论的大会上宣读。参加本研究的主要成员还有:岳空生、尉海涛、杨荣国、周彦恒、王建华、孙桂青、张富荣, GTH放射免疫测定:中科院上海生物化学研究所王育西。本文承中国科学院动物研究所张崇理副研究员、河北省水产局高级工程师徐绍斌审阅,特此致谢。

* 收稿年月:1987年12月;1988年10月修改。

在这一生殖内分泌过程中,如果外界生态环境主要条件起变化或缺少某种必要条件,就会引起鱼类生殖周期紊乱而导致不育。梭鱼自海区移养到淡水,中间跨越了多盐区、少盐区⁽¹⁾,生态环境起了很大的变化。其中主要生态因子盐度由30%左右急骤下降到0.5%,由高渗环境到低渗环境,梭鱼必需调节自身渗透压才能适应淡水环境,调节的过程和低渗的环境都引起梭鱼生殖内分泌的失调和减弱。因此雌鱼在淡水中出现卵巢不育、生殖机制受阻。六十年代以来,国内外学者基本阐明了盐度是影响“淡水不育”的主要因子。

1. 盐度对梭、鲮鱼脑垂体形态的影响 河北省水产研究所、中国科学院水生生物研究所(1980)对梭鱼脑垂体研究测得,在性腺发育相似的个体间,淡水雌鱼脑垂体前叶相对体积较海水雌梭增大61.3%,而间叶相对体积,淡水梭鱼较海水梭鱼缩小45.8%。Blanc-Livni和Abraham(1970)报道,淡水鲮鱼脑垂体前叶占总垂体的 $41.3 \pm 1.8\%$;海水环境下为 $26.8 \pm 1.2\%$ 。这些研究表明盐度下降使梭鱼脑垂体前叶和间叶的相对大小出现了变化。

2. 盐度对梭、鲮鱼脑垂体细胞形态和细胞分泌颗粒的影响 河北省水产研究所(1987)⁽²⁾电镜亚显微结构观察表明,海水中梭鱼催乳素细胞(PRL)大小为 $7.5-10\mu$,淡水中为 $9-11\mu$,前者线粒体暗淡、不显著,内质网细纹状环核不清晰,电子密度较低;后者线粒体清晰,球状嵴发达,内质网环核清晰,很发达,电子密度高。Blanc-Livni和Abraham(1970)报道,淡水鲮鱼脑垂体前叶催乳素分泌细胞十分活跃,染色力强;超微结构观察表明,催乳素细胞增大,颗粒显著,细胞核仁显著,粗糙内质网多层。Blanc-Livni和Abraham(1970)报道,淡水鲮鱼催乳素颗粒为 2600Å ,海水鲮鱼为 2300Å 。Oren, O.H.(1975)做了盐度环境对鲮鱼脑垂体催乳素和促性腺激素分泌部位的影响,也证明了盐度对脑垂体有明显的影响。

3. 盐度对鲮鱼卵巢类固醇的影响 Eckstein B.和U.Eylath(1970)报道,围养在淡水中的鲮鱼卵巢里积累了大量的有效雄性激素。并测得淡水鲮鱼卵巢脱氢表雄甾酮(DHA)和11-酮睾酮积累的原因是由于 $\delta-5-3\beta$ 羟基类固醇脱氢酶的活性方面的障碍所致。U. Eylath,(1970)报道,淡水卵巢组织均浆中 $\delta-5-3\beta$ 羟基类固醇脱氢酶的活性比海水鱼下降。11-酮睾酮在硬骨鱼类是一种有效的雄性激素(androgen),从而抑制了排卵激素的释放,或以其他某种方式破坏了生殖所必需的激素体内平衡。

以外源药理学方法克服“淡水不育症”的机理

国内外大量研究表明,鲮、梭鱼移至淡水后脑垂体催乳素分泌过量。研究表明,脑垂体催乳素是支配淡水鱼调节渗透压的重要物质,它的直接作用是抑制钠离子从鳃中分泌出,水的流入和水分在肠道中的吸收(罗德珍译,1987)。

鱼类和其他脊椎动物一样,下丘脑—垂体—性腺之间存在着密切联系。同时鱼类生殖是一个复杂的过程,整个生殖过程的完成,需要通过一系列比性腺更高一级的器官或组织,如脑下垂体、下丘脑及中枢神经所分泌的生化物质来控制(雷慧僧等,1981)。

(1) 1959年意大利威尼斯国际会议对于各种盐度水体分类规定:混合多盐区30—18‰,混合中盐区18—5‰,混合少盐区5—0.5‰,淡水小于0.5‰。

(2) 河北省水产研究所,1987。电子显微镜对梭鱼脑垂体亚显微结构的观察(未发表)。

Peter, R.E. (1970) 在下丘脑各部位的定向电解毁损实验中证实, 金鱼的促性腺激素的分泌是由促性腺激素释放因子所刺激的, 后者可能是由结节侧核(nucleus lateralis tuberalis)所产生。因此提示硬骨鱼类排卵的内分泌调节相似于四足动物。

在哺乳动物生殖内分泌中, 高的催乳素水平, 抑制Gn—RH的释放, 也抑制FSH和LH的释放。而在药理学上, 许多物质都表现出对催乳素释放具有抑制的活性, 其中以多巴胺与多巴胺能的刺激物为催乳素分泌的最强抑制剂。多巴胺(dopamine)即儿茶酚乙胺, 是神经系统内一种独立的介质(韩济生等, 1982), 也即神经传递介质(neurotransmitter)。与生殖关系比较密切的多巴胺, 可促进动物的性行为。L. 特雷格(沈考庙等, 1983)指出, 催乳素经过在丘脑下部的反馈而抑制本身的分泌, 这一过程的完成是受多巴胺释放而抑制的。

汤健等(1975)所引的, 实验将 1.25 μg 多巴胺注入大鼠第三脑室 10 分钟后, 血浆 PRL 浓度即明显下降, 约为注射前的 70%, 30 分钟后降低到注射前 50%, 而 LH 在注射 10 分钟后增加 4 倍, 120 分钟后增加近 20 倍。FSH 分泌增加 4—10 倍。同时他发现垂体柄血管中的 PRH(催乳素释放抑制激素)的活性增加。汤健等(1975)所引的, 采用许多不同方法反复 Kamberi 的这一实验, 都得到同样可靠的结果。可见四足动物脑内神经介质与生殖机制有密切的关系。脑内控制促性腺激素分泌有以下两个系统: 一是多巴胺神经介质, 它可以促进 FSH、LH 的分泌, 并抑制 PRL 的分泌, 因而起着刺激排卵和性活动的作用; 二是 5-羟色胺神经介质系统可抑制 FSH 和 LH 的分泌, 促进 PRL 的分泌, 起着抑制排卵和性行为的作用(汤健等, 1975)。

附表 1982~1986 年试验情况汇总
Attached Table 1982—1986 Experimental case collect

项 目		年 度					
		1982	1983	1984	1985	1986	
亲鱼总数(五龄以上)		170	190	120	91	121	
其 中	实验亲鱼(指性腺达 III 中雌鱼)	42	51	47	41	40	
	对照亲鱼(指性腺达 III 中雌鱼)	56	38	39	12	25	
	雄鱼及性腺未分化	72	41	34	38	56	
成 熟 (指性腺达 IV 以上)	实 验	亲 鱼	9	33	33	35	34
		成熟率(%)	21.4	64.7	70.2	85.4	85
	对 照	亲 鱼	1	2	3	1	1
		成熟率(%)	1.8	5.3	7.7	8.3	4
催 产	尾 数		8	25	36	18	19
	获 产		3	11	19	17	17
	催产率(%)		37.5	44	51.4	94.4	89.5
孵化仔鱼(水花)		100,000	200,000	650,000	2,020,000	3,600,000	
培养 2.5cm 以上鱼种			1500	72,000	184,200	140,000	
水花至鱼种培养成活率(%)			0.75	11.08	9.1	3.9	

作者在综合研究分析的基础上,对梭鱼在淡水环境中人工繁殖技术进行了一条新途径的探索。五年来采用外源神经药理学的方法,对221尾亲鱼在内陆封闭型淡水池塘培育期进行7种药物组合、2种剂型、不同给药途径及不同剂量的多种生理生态实验,以寻求克服“淡水不育症”的最佳方案。实验结果,梭鱼在淡水池塘中亲鱼成熟率达85%以上(见图版1.2.),可完全取代“海水过渡”。同时在催产中以生态学和药理学的方法,采用雄性激素对抗剂减弱卵巢雄性激素的活力,促使成熟亲鱼(雌)在催产过程中恢复 $\delta-5-3\beta$ 羟基类固醇脱氢酶的活性,从而克服了产卵机制的障碍,催产率达89.5%以上,获得大量受精卵。并研制了由六种离子配制的平衡液及人工高密度集约化孵化工艺,每立方水体可孵化仔鱼35—45万尾。五年来已孵化仔鱼657万尾,培养2.5厘米以上鱼种39.8万尾(见附表),从而使梭鱼在内陆人工繁殖育苗终于得到实现。

论 证

本研究,除反复试验取得了较稳定满意的效果外,还认真检验其可靠性。

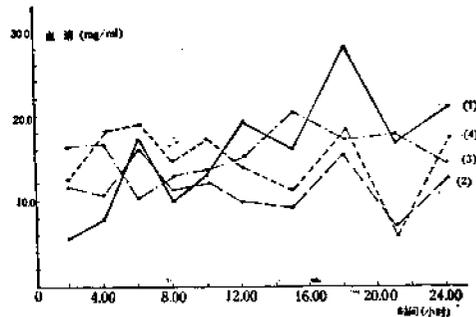
1. 放射免疫测定法 对实验亲鱼血清GTH测定(见附图)。从图上可以看出,(1)组注射“淡梭I号”出现三次促性腺激素(GTH)释放高峰(“淡梭I号”为易通过血脑屏障的神经介质),比(3)组只注射LRH-A出现的高峰量分别大92%、78.8%、64%。由此验证“淡梭I号”脑神经介质对淡水养殖梭鱼催产与生殖内分泌的密切关系。

2. 电镜对脑垂体亚显微结构及光学显微结构的观察 淡水中梭鱼脑垂体前叶催乳素分泌细胞处于十分活跃状态,细胞饱满而肥大,近似圆形,规则整齐,颗粒电子密度高,非常稠密(见图版4.5.)。而实验组的梭鱼脑垂体前叶催乳素分泌细胞则明显萎缩、解体,内质网断裂,分泌颗粒大量减少或消失,与海水梭鱼脑垂体前叶催乳素分泌细胞相似(见图版7.8.)。电镜对脑垂体前叶亚显微结构及光学显微结构的观察,证实了“淡梭I号”脑神经介质对梭鱼催乳素细胞活跃起到抑制的作用。

3. 脑神经介质阻断剂的生理试验 1983~1984年在催产中共对12尾成熟亲鱼注射脑神经介质受体阻断剂(氯丙嗪)以中止产卵行为,结果全部未能获产,从而验证了脑神经介质与生殖内分泌的密切关系。

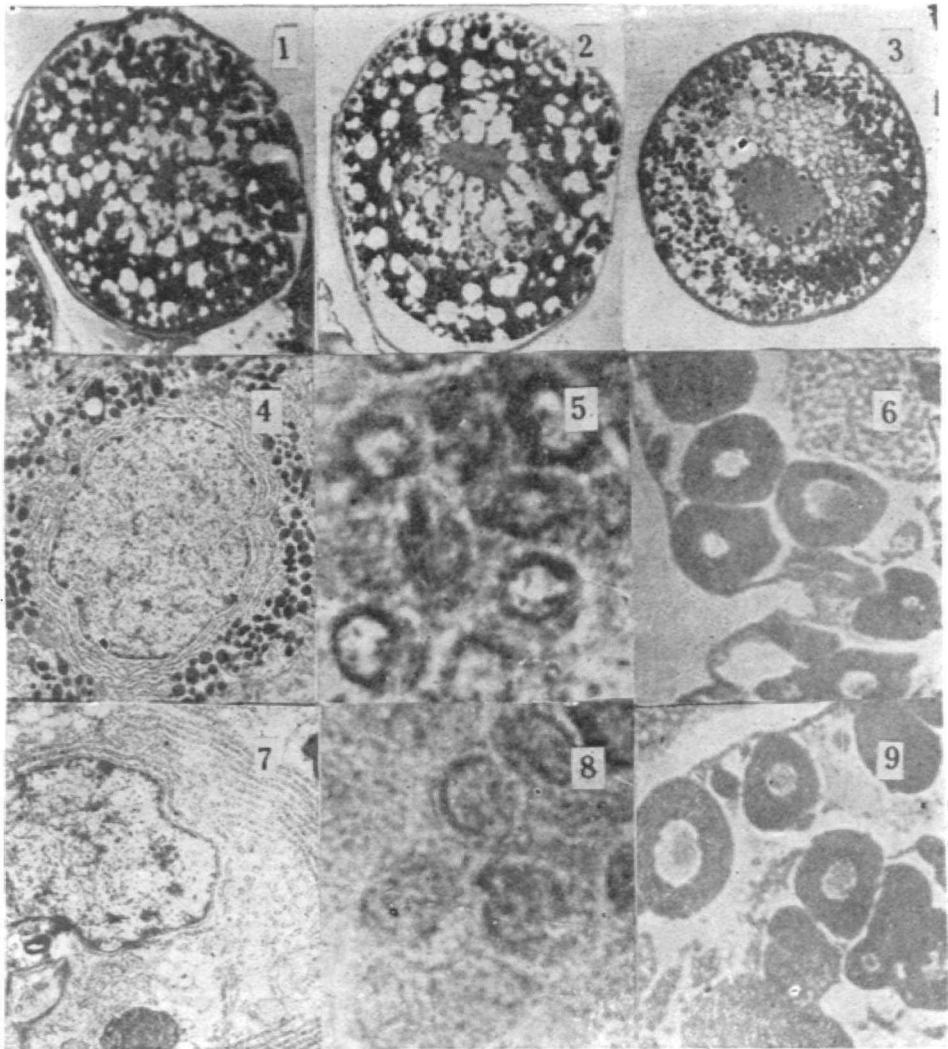
讨 论

1. 在1980~1984年的生殖季节(4月末至5月中)连续解剖四龄以上内陆封闭型淡



附图 梭鱼血清GTH含量变化测定结果
Attached fig. Determination results of changes in GTH content of *Mugil so-so* fish blood serum

(1) “淡梭I号” (2) “淡梭II号”
(3) LRH-A (4) 0.65%生理盐水



图版 Plate

1,2. 淡水中实验梭鱼成熟卵切片(IV₁₋₂)。 3. 淡水中个别自然成熟卵切片(IV 初)。 4. 电镜观察的梭鱼垂体前叶催乳素细胞($\times 7000$)。 5. 光学显微观察的梭鱼垂体前叶催乳素细胞群(10×100)。 6,9. 淡水中自然卵巢性腺切片(II-III)。 7. 电镜观察的实验梭鱼垂体前叶催乳素细胞($\times 7000$)。 8. 光学显微观察的梭鱼垂体前叶催乳素细胞群(10×100)。

水池塘饲养的成鱼 86 尾,进行性腺观察。其中雄鱼 37 尾,达性成熟 20 尾,自然成熟率占 54%,性腺未分化 6 尾,占 6.9%。雌鱼 37 尾,达三期末仅 6 尾,无一尾达性成熟(见图版 6.9.)。此结果与国内外学者观察报道相一致。

2. 脑神经介质是现代医学很活跃的研究领域。它是一种化学介质,被脑细胞紧紧包着,只占大脑重量不到百万分之一,是大自然数百亿神经细胞或神经元用以互相联系的化学信使。脑内这些介质水平与丘脑下部释放激素和抑制激素的分泌有着密切的关系。这些介质通过它们对丘脑下部释放激素和抑制激素的分泌进一步控制调节垂体前叶各种激素的分泌。但脑神经介质在鱼类人工繁殖的应用,至今国内外尚无生产应用的先例,仅个

别用于实验性小试验的报道,因此在鱼类的应用尚属新领域。脑神经介质种类很多,机理复杂。五年来,本研究通过多种实验与生产实践证明,脑神经介质可为鱼类人工繁殖开辟新的途径,尤其对溯河性和降海性鱼类的人工繁殖可望通过脑神经介质来突破诸多的难题。

3. 梭鱼存在血脑屏障。在哺乳动物体内儿茶酚胺系统生物代谢过程中,对催乳素起抑制作用的是多巴胺(3,4-二羟基苯乙胺),但多巴胺是不太容易输送进脑的物质之一,而它的中间代谢前体多巴(二羟苯丙氨酸)则易于进入(Bachelard, H.S. 1974)。而多巴胺本身,也像其它胺,不能通过屏障(雷慧僧等,1981)。

我们在以 RIA 测定血清 GTH 含量时观察到,注射易通过血脑屏障的物质,出现三次 GTH 波动〔见附图(1)组〕,其中 GTH 释放量最大达 27.9 ± 4.1 毫微克/毫升血清,而注射不易通过血脑屏障的物质〔见附图(2)组〕,未有明显 GTH 释放高峰出现,与注射 LRH-A 出现的高峰值基本相似。

4. 如前阐述,鱼类和其他脊椎动物一样,整个生殖活动除受控于神经系统和内分泌系统外,外界生态环境也影响鱼类的生殖内分泌活动,因此在外源神经药理学方法实验的同时,必须注重改善鱼池生态环境条件,全年加强亲鱼饲养管理工作,保证良好饲料,池塘水质、溶氧、水流等条件,这样才能取得较理想的效果。

5. 在对比实验过程中观察到,同一实验池对照组(不给予外源药物),随着饲养条件的改善,梭鱼在淡水池塘自然条件下,雌鱼个别可达性成熟(五年中在实验池同池进行对照亲鱼 170 尾,达自然性成熟 8 尾,成熟率 4.7%)。但经催产,授精率极低,胚胎发育不正常,从未能获得 1 尾仔鱼。对这部分鱼进行基础卵光学组织切片观察(即催产注射第一针前基础卵)发现卵细胞卵黄颗粒积累很不饱满,也即未达到生理生长成熟。因此尽管在外源激素作用下,勉强产卵,但终因先天不足,胚胎未能正常发育(见图版 3.)。

参 考 文 献

- [1] 沈考庙等,1988. 激素的生物化学,42~48. 科学出版社。
- [2] 河北省水产研究所、中国科学院水生生物研究所,1980. 环境盐度对梭鱼脑垂体及性腺发育的影响。水产学报,4(3):229~240。
- [3] 罗德珍译(原作者佚),1987. 淡水鱼体内水分和盐分调节。今日渔业,(2):14。
- [4] 汤健等,1975. 脑内神经介质与促性腺激素的分泌。国外医学参考资料,(3):93~95。
- [5] 雷慧僧等,1981. 池塘养鱼学,109~113. 上海科学技术出版社。
- [6] 韩济生等,1982. 中枢神经介质概论,873~876. 科学出版社。
- [7] Bachelard, H. S., 1974. Outline studies in biology. Brain biochemistry., 212-225. London.
- [8] Blanc-Livni, N. & M., Abraham, 1970. The influence of environmental salinity on the prolactin and gonadotropin-secreting regions in the pituitary of Mugil(Teleostei).Gen. Comp. Endocrinol., 14: 184-197.
- [9] Eckstein, B. & U., Eylath, 1970. The occurrence and biosynthesis in vitro of 11-ketotestosterone in ovarian tissue of the Mullet derived from two biotopes. Gen. Comp. Endocrinol., 14: 396-403.
- [10] Eylath, U., 1970. Steroidogenetic pathways in the ovary of Mullet in sea and fresh water. Thesis, Heberew University Jerusalem, 22pp.
- [11] Oren, O. H., 1981. Aquaculture of Grey Mullet., 265-279. International biological programme 26. London.
- [12] Peter, R. E., 1983. Evolution of neurohormonal regulation of reproduction in lower vertebrates. AMER 2001, 23: 685-695.

THE MECHANISM OF ARTIFICIAL PROPAGATION OF FRESHWATER CULTURED *MUGIL SO-IUY* BASILEWSKY

Chen Huibin

(Fisheries Research Institute of Hebei Province)

ABSTRACT *Mugil so-iuy* Basilewsky belongs to euryhaline fish. The artificial propagation of *M. Cephalus* and *M. soiyuy* in seawater and brackish water has been made usually at home and abroad. But the artificial breeding of freshwater reared *M. soiyuy* remains unsolved despite that its researches have taken years. This paper reports the results achieved in the freshwater reared *M. soiyuy* made between 1982—1986.

Fingerling of 1/3 decimeter in length captured in open seas were reared in confined freshwater piscinas with salinity of 0.297—0.569‰. "Sterility" of *M. soiyuy* in freshwater was subdued through extrinsic pharmacological treatment of over four years old adult fish. Sex maturity of female fishes could be successfully reached without "seawater transition". Obstacles with regards to ovulation mechanism and adaptation of ovules to surroundings were overcome in the process of artificial induced spawning. A large number of fertilized ova were obtained. 6,570,000 fries were hatched and 398,000 fingerlings of over 2.5 cm in length were raised. In the experiments a total number of 221 females were induced within 5 years. The maturity of parent fishes reached 85%, while general birth rate was 89.5% with 106 groups given induced spawning. By high density hatching, hatching rate was 81%. The artificial breeding of freshwater cultured *M. soiyuy* has been successfully realized. Physiological-ecological contrast experiments as well as determinations of GTH content in *M. soiyuy* blood serum by means of RIA were repeatedly made. Encephalic hypophysis cells were proved by observing oval microstructure with electron microscope. In addition, the blood brain barrier (BBB) has been observed existing in *M. soiyuy* through the experiments.

KEYWORDS freshwater *Mugil so-iuy*, artificial propagation, extrinsic pharmacological method, "seawater transition"