

淡水白鲟人工繁殖的调控

姜仁良 谭玉钧 罗清荣

(上海水产大学, 200090)

李先才 严维辉 房亚萍 陈富宾

(南京水产良种场, 210039)

提 要 本文对控制淡水白鲟有效积温和投饲量促进性腺成熟人工诱导春繁和秋繁作了研究。春繁平均水温 $23.3 \pm 1.1^{\circ}\text{C}$, 雌、雄亲鱼有效积温分别达到 3509.0 ± 164.2 和 3786.7 ± 81.8 度·日, 平均催产率为86.9%, 比自然水温条件下, 提前催产约1.5个月。秋繁平均水温 $28.1 \pm 2.0^{\circ}\text{C}$, 雌、雄亲鱼有效积温分别为2008.8和2030.0度·日, 平均催产率为93.2%; 秋繁千克鱼饲料量小于春繁, 但千克鱼日投饲量大于春繁。产卵前后血清中 $17\beta\text{-E}_2$ 和T浓度测定表明, 雌鱼血清中 $17\beta\text{-E}_2$ 浓度在产卵后极显著降低(春季, $P < 0.01$; 秋季, $P < 0.001$), 经秋季培育后又再升高, 表明 $17\beta\text{-E}_2$ 的作用主要与卵黄发生有关, 但与排卵的关系不大, 而睾酮在产卵过程中, 雌、雄鱼均有显著升高($P < 0.001$), 这与排卵、排精有关。

关键词 淡水白鲟, 人工繁殖, 有效积温, $17\beta\text{-雌二醇}$, 睾酮

淡水白鲟(*Colossoma brochypomum*)原产南美亚马逊河, 是热带和亚热带主要经济鱼类之一, 又是食用和观赏两者兼备的大型热带鱼类之一, 具有食性广、生长快、肉质美、抗病力强、耐低氧、易捕捞等优点, 当前已成为我国养殖鱼类的新对象。但该鱼却不耐低温, 临界水温为 $8\text{-}10^{\circ}\text{C}$ 。因此, 提早淡水白鲟在春季人工繁殖, 延长生长期, 当年育成至商品鱼规格, 避开鱼种越冬生产环节, 节省热能, 对在更大范围内推广养殖颇为重要。本试验对淡水白鲟人工繁殖的水温调控、亲鱼培育的饲料需求量和产卵前后血液中性激素变化作了研究, 从而为提早淡水白鲟的人工繁殖和一年春、秋两季产卵化苗提供可靠依据和技术参数。

一、材料与方法

1. 亲鱼的培育 1992年和1993年试验在南京水产良种场进行。淡水白鲟雌、雄鱼同为6-7龄, 雌、雄鱼平均体重3.25 kg, 放养密度为3750 kg/ha。分别在6只池塘, 面积共为0.31 ha。雌、雄鱼分开单养。水源为工厂余热水, 按照额定水温要求调节昼夜流量。水温随季节控制, 稳定在 $17\text{-}30^{\circ}\text{C}$ 之间变幅。水中溶氧量在3 mg/L以上; $\text{NH}_3\text{-N}$ 在进水口为0.038 mg/L, 出水口为0.31 mg/L。亲鱼投喂颗粒饲料, 蛋白质含量为30%左右[马仲波等, 1991], 加喂麦芽和青饲料。每日上下午各投喂一次, 以饱食为度。

2. 人工催产 采用家鱼人工繁殖常规催产技术[福建、江苏、上海淡水经济鱼类人工繁殖协作组,1977],分二次或一次注射法,每千克亲鱼注射 DOM 1 mg 加 LRH-A 10 μ g 或 HCG 400 I·U. 加 LRH-A 10 μ g 混合注射,以及单一注射 LRH-A 10 μ g,都能获得明显的催产效果。

3. 血样采集 取雌、雄亲鱼产卵前后血样,采用尾动脉取血法,血样4℃冰箱凝集,待透出血清后,3000 rpm,离心5分钟,沉降血块,吸出血清,置-20℃低温保存备用。

4. 血清中17 β -雌二醇(17 β -E₂)和睾酮(T)的测定 血样中17 β -E₂和 T 经加热处理,直接用放射免疫测定(RIA)法药盒检测,样品采用美国 Beckman 公司的 L₉₈₀₀型液体闪烁计数机计数测定[赵维信等,1987a]。

二、结 果

1. 亲鱼培育期的有效积温 1992年和1993年春季繁殖的淡水白鲟,分别由前一年的11月份开始至翌年的4月份进行培育,有效积温依水温在20℃以上亲鱼正常摄食生长为积温累加,低於20℃水温不计算在内。培育成熟的亲鱼,两年分别在4月25日和28日进行催产。1992年和1993年春季繁殖的淡水白鲟,雄鱼培育期161天,有效积温为3786.7 \pm 81.8度·日;雌鱼培育期152天,有效积温为3509.0 \pm 164.2度·日。1993年秋繁亲鱼6月1日至8月11日进行强化培育72天,雄鱼有效积温为2030.0度·日;雌鱼则为2008.8度·日(表1)。

表1 亲鱼培育期的有效积温

Table 1 The effective accumulating temperature of spawners during culture stage

时期	雄鱼			雌鱼		
	平均水温 (℃)	培育 天数	有效积温 (度·日)	平均水温 (℃)	培育 天数	有效积温 (度·日)
1992年春季	23.3 \pm 1.3	165	3844.5	22.8 \pm 1.1	159	3625.2
1993年春季	23.6 \pm 1.5	158	3728.8	23.4 \pm 0.2	145	3393.0
均 值	23.5 \pm 1.4	161	3786.7 \pm 81.8	23.1 \pm 0.7	152	3509.0 \pm 164.2
1993年秋季	28.2 \pm 1.9	72	2030.0	27.9 \pm 2.0	72	2008.8

2. 培育期亲鱼所需饲料量 亲鱼培育期,雌、雄鱼投喂饲料总量相同。日投饲率(占体重的%),精饲料11-12月份为2.5-4.7%,1-2月份为3.8-4.1%,3-4月份为9.2-12.0%,6-8月份为4.2-12.5%;青饲料为1.0-4.2%。1992、1993年春季培育期每千克亲鱼所需精饲料量为7.74-8.41 kg,平均为8.08 \pm 0.47 kg,青饲料为0.94-1.38 kg,平均为1.16 \pm 0.31 kg。夏秋季培育期每千克亲鱼所需精饲料和青饲料约为春季培育期的50%左右,但千克鱼日投饲量则比春季为高(表2)。

3. 培育亲鱼的催产效果 1992年和1993年两年共催产雌鱼371尾,雄鱼391尾,产卵亲鱼为327尾,平均催产率达88.1%,产卵8028.2万粒,平均受精率67.1%,孵化得苗3028.6万尾,每千克亲鱼平均产卵7.5万粒,化苗为2.9万尾。其中春繁催产率为86.9%,秋繁则为93.2%(表3)。

表2 亲鱼培育期的饲料量 (单位:千克)

Table 2 The feeding amount of spawners during culture stage (Unit:kg)

时期	尾数	颗粒饲料		麦芽		精饲料(颗粒、麦芽)			青饲料	
		数量	千克鱼 饲料量	数量	千克鱼 饲料量	合计 总量	千克鱼 饲料量	千克鱼 日投饲量	数量	千克鱼 饲料量
1992年春季	336	7361.0	6.74	1823.0	1.67	9184.0	8.41	0.051	1030.5	0.94
1993年春季	328	5360.0	5.03	2891.5	2.71	8251.5	7.74	0.049	1475.0	1.38
1993年秋季	81	337.5	1.28	772.5	2.94	1110.0	4.22	0.060	181.0	0.69

表3 春、秋季节亲鱼催产结果

Table 3 The results of induced spawning in spring and autumn

时期	催产尾数		产卵 尾数	催产率 (%)	产卵量 (万粒)	受精率 (%)	受精卵数 (万粒)	孵化率 (%)	化苗数 (万尾)
	♀	♂							
1992年春季	141	149	129	91.5	2799.0	73.4	2053.5	53.6	1100.0
1993年春季	157	150	130	82.8	2899.0	54.8	1589.1	40.8	649.1
合计	298	299	259	86.9	5698.2	63.9	3642.6	48.0	1749.1
1993年秋季	73	92	68	93.2	2330.0	74.7	1741.1	73.5	1279.1
总计	371	391	327	88.1	8028.2	67.1	5383.7	56.3	3028.6

4. 产卵前后血清中 $17\beta\text{-E}_2$ 和T含量的变化 经培育后亲鱼性腺迅速发育,春季和秋季产卵雌鱼,产卵前血清中 $17\beta\text{-E}_2$ 浓度分别为 3.749 ± 1.348 和 4.422 ± 0.991 ng/ml(N=5)。诱导产卵后, $17\beta\text{-E}_2$ 出现下降趋势,分别为 1.778 ± 0.357 和 1.364 ± 0.500 ng/ml(N=10),产卵前后 $17\beta\text{-E}_2$ 均值经显著性检测都有非常显著差异(春季, $P < 0.01$;秋季, $P < 0.001$)(图1)。雌、雄鱼产前血清中T浓度分别为 1.410 ± 0.410 和 2.092 ± 1.321 (N=10),产后则为 11.357 ± 4.590 和 6.479 ± 1.762 (N=15)。产卵后都比产卵前呈现出显著上升,雌鱼产卵后比产卵前高出8.0倍,雄鱼则高出3.1倍,雌、雄鱼产卵前后差异都呈现非常显著变化($P < 0.001$)(图2)。

三、讨 论

1. 亲鱼性腺成熟所需有效积温和饲料量 提早淡水白鲢的人工繁殖,延长生长期,当年育成至商品鱼规格是推广淡水白鲢养殖的关键,而要提早人工繁殖必须使亲鱼性腺提早成熟。在长江流域,自然水温条件下,五月下旬至六月上旬,亲鱼性腺才能完全发育成熟,方可人工催产,孵化得苗,此时培育的苗种,在六月下旬至七月上旬,体长才能达到2.0 cm规格,这在当年育成至商品鱼规格有一定难度,一般只能达到250 g以下规格。本试验在有热水源的条件下,从11月份开始至翌年4月份平均水温,雄鱼调节在 23.5 ± 1.4 °C,雌鱼则在 23.1 ± 0.7 °C,以水温 20.0 °C以上[张中英等,1991]作为有效积温,雄、雌鱼分别为 3786.7 ± 81.8 度·日和 3509.0 ± 164.2 度·日,在此有效积温界限内培育的亲鱼,性腺都能完全发育成熟,催产率高。1992年和1993年的两年实验证明,雄鱼的有效积温高于雌鱼272.3度·日。据此,我们认为在春季培育淡水白鲢亲鱼宜雌、雄鱼分开单养,雄鱼平均水温适当比雌鱼略高一些,以便在催产前雌、雄鱼都

能同时达到额定的有效积温,性腺发育成熟趋向同步,有利于提高催产率和受精率。实践证明,达到上述有效积温的亲鱼,就能在4月中、下旬催情产卵,比自然水温条件下,提早约1.5个月的催产期,这样就使淡水白鲟当年苗种当年育成至商品鱼规格,在生产上是可行的。至于春季产过卵的亲鱼,接着强化培育72天,雄鱼平均水温为 $28.2 \pm 1.9^\circ\text{C}$,雌鱼为 $27.9 \pm 2.0^\circ\text{C}$,有效积温分别为2030.0和2008.8度·日,比春季繁殖时,有效积温下降46.4-42.7%,而雌、雄亲鱼在秋季8月中旬性腺发育同样都能达到完全成熟,并且获得很高的平均催产率(93.2%)。

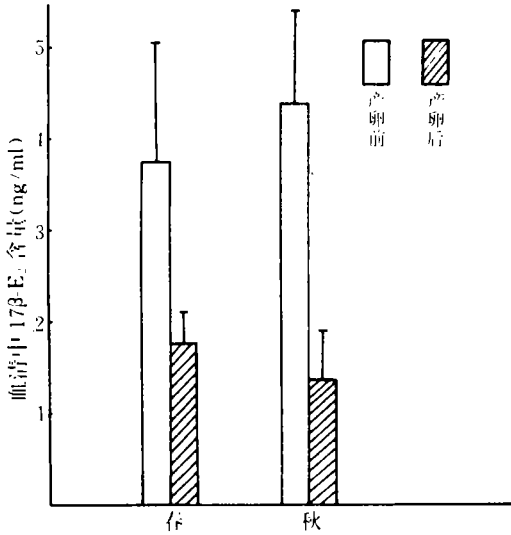


图1 雌鱼产卵前后血清中 $17\beta\text{-E}_2$ (ng/ml)含量变化

Fig. 1 Changes of serum $17\beta\text{-E}_2$ levels in female during spawning

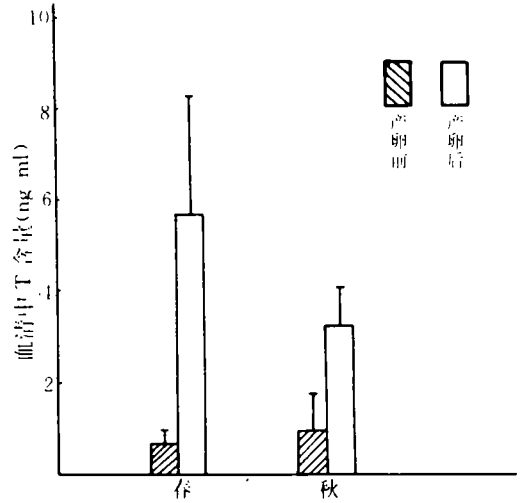


图2 雌、雄鱼产卵前后血清中T(ng/ml)含量变化

Fig. 2 Changes of serum testosterone (T) levels in female and male during spawning

淡水白鲟是杂食性鱼类,摄食旺盛,对饲料需求量大。本试验证明,春季产卵的亲鱼,每千克亲鱼所需精饲料量为 8.08 ± 0.47 kg,青饲料为 1.16 ± 0.31 kg;秋季产卵亲鱼在72天培育期内,千克鱼所需饲料量比春季培育少50%左右。但秋季培育每千克亲鱼平均日投饲量却比春季培育高20.0%,这是因为夏、秋季水温高,鱼体代谢强度的旺盛,营养物质向性腺中转化的速度也加快,加速了性腺发育成熟。总之,无论是春季产卵,还是秋季产卵的亲鱼,根据培育水温,投喂相应的饲料量,在适宜的池塘生态条件下,当达到额定的有效积温,性腺发育成熟即可进行催产。另外,两年实践证明,淡水白鲟人工催情产卵无需采用脑垂体或HCG[Castagnolli等, 1981; Godinho等, 1986],而只要每千克亲鱼一次注射LRH-A 10 μg,就能获得良好催产效果。例如,1993年秋季,一次催产73组亲鱼,全部采用一次注射LRH-A,催产率达93.2%,化苗1279.1万尾。生产上可推广这种简便易行的催产方法。

2. $17\beta\text{-E}_2$ 和T在淡水白鲟繁殖中的生理作用 本研究表明淡水白鲟催产前,卵巢虽已发育成熟,但血清中 $17\beta\text{-E}_2$ 含量高于催产前的团头鲂[姜仁良等,1986] 2.7倍,这与淡水白鲟卵母细

胞发育的非同步性有关,据叶盛钟等[1989]对淡水白鲟解剖研究,四月份的卵巢中除Ⅳ期卵母细胞外,尚存在大量Ⅲ期向Ⅳ期和Ⅱ期向Ⅲ期发育过渡的卵母细胞,表明淡水白鲟为分批产卵鱼类。为了使部份尚处于外源性卵黄发生期的卵母细胞继续发育,需要由 $17\beta\text{-E}_2$ 继续诱导肝细胞产生雌性特异蛋白,经脂化、糖化和磷酸化作用转化为卵黄蛋白前体,被卵母细胞吸收。所以这可能是淡水白鲟催产前血液中 $17\beta\text{-E}_2$ 水平较团头鲂高的原因。无论是自然产卵时内源性GTH大量分泌或者人工催产时注射HCG引起外源性促性腺激素升高,从而抑制性腺 $17\beta\text{-E}_2$ 合成和分泌[Zhao等,1985],因此,出现 $17\beta\text{-E}_2$ 的降低,这与LRH-A和HCG诱导鲤科鱼类产卵,引起 $17\beta\text{-E}_2$ 降低相仿。淡水白鲟经春繁的雌鱼培育72天后, $17\beta\text{-E}_2$ 再度升高,性腺发育再次成熟,显示出 $17\beta\text{-E}_2$ 在促进卵母细胞卵黄发生中的作用[Lambert等,1978],而与卵母细胞最后成熟和排卵的关系不大。

淡水白鲟血清中T在雌、雄亲鱼产卵后出现升高现象,而且雌鱼血清中睾酮的浓度明显高于同种雄鱼。据雌鲢催产结果表明[赵维信等,1988],注射HCG后约10小时或产卵前7小时出现T的峰值,产卵后T值仍然高于催产前的水平。这与淡水白鲟雌鱼产卵后T的含量高于催产前相一致,这是由于注射催产剂后,使卵巢芳香酶活力减弱,因此由性腺产生的T转化成 $17\beta\text{-E}_2$ 也相应减少,而大量T则与自身分泌的GTH或外源性促性腺激素协同作用,刺激成熟类固醇激素产生并进一步促进卵母细胞核象的偏移、极化,最后成熟和排卵[赵维信,1987b; Stacey,1983]。至于催产后雄鱼T浓度的升高,则可能作为雄鱼排精时期11-氧睾酮(11-OT)的前身物,转化为11-OT,参予雄鱼的性行为 and 排精活动。

参 考 文 献

- [1] 福建、江苏、上海淡水经济鱼类人工繁殖协作组,1977.合成促黄体生成激素释放激素的类似物(LRH-A)对家鱼催产效果的进一步探讨.生物化学与生物物理学报,9(1):15-24.
- [2] 马仲波等,1988.淡水白鲟的属种及其养殖特性.水产学报,12(3):183-191.
- [3] 张中英等,1991.淡水白鲟的生物学和人工繁殖研究.淡水渔业,(4):3-6.
- [4] 赵维信等,1987a.团头鲂血清中雌二醇含量测定方法的改进和周年变化规律的研究.水生生物学报,11(2):97-103.
- [5] ——,1987b.虹鳟排卵前后血清中性类固醇激素浓度变化的研究.水产学报,11(3):205-213.
- [6] ——,1988.诱导鲢排卵时性类固醇激素含量的变化.水生生物学报,12(3):212-218.
- [7] 姜仁良等,1986.促黄体生成素释放激素类似物对团头鲂血清中促性腺激素和 17β -雌二醇含量变动的研究.水产学报,10(2):185-193.
- [8] 叶盛钟等,1989.淡水鲟的催产与孵化.水产科技情报,16(5):130-133.
- [9] Castagnolli, N. et al., 1981. Induced ovulation and rearing of the pacu (*Colossoma mitrei*). *Aquaculture*, 25:275-279.
- [10] Godinho, H. P. et al., 1986. Induced spawning of the pacu, *Colossoma mitrei* (Berg 1895), by hypophysation with crude carp pituitary extract. *Aquaculture*. 55:69-73.
- [11] Lambert, J. G. D. et al., 1978. Annual cycle of plasma oestradiol- 17β in the female trout, *Salmo gairdneri*. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 18(4):923-927.
- [12] Stacey, N. 1983. Hormones and pheromones in fish sexual behavior. *Bioscience*, 33(9):552-556.
- [13] Zhao, W. X. et al., 1985. The course of steroid release by intact ovarian follicles of Atlantic salmon (*Salmo salar*) incubated in vitro with and without gonadotrophin. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 57:274-280.

REGULATION OF ARTIFICIAL REPRODUCTION IN *COLOSSOMA BROCHYPOMUM*

Jiang Renliang, Tan Yujun and Luo Qingrong

(Shanghai Fisheries University, 200090)

Li Xiancai, Yan Weihui, Fang Yaping and Chen Fubin

(Nanjing Aquatic Seed Multiplication Farm, 210039)

ABSTRACT The regulation of effective accumulating temperature and feeding amount for promoting gonad maturation during spring and autumn induced breeding were studied. When the water temperature was $23.3 \pm 1.1^\circ\text{C}$, the effective accumulating temperatures were up to $3509.0 \pm 164.2^\circ\text{C}$ and $3786.7 \pm 81.8^\circ\text{C} \cdot \text{d}$. of female and male spawners respectively. The average spawning rate was 86.9%, and the spawning time was about one and a half months early than that of the induced spawning under the condition of natural water temperature. When the water temperature was at $28.1 \pm 2.0^\circ\text{C}$, the effective accumulating temperatures were 2008.8°C and $2030.0^\circ\text{C} \cdot \text{d}$. in female and male fish respectively, and 93.2% spawning rate was got. The feeding amount per kilogram body weight of fish during autumn breeding was low than that of the fish during spring breeding, but higher in daily feeding amount. Serum 17β -oestradiol (17β - E_2) and testosterone (T) levels were measured before and after spawning. Serum 17β - E_2 level showed highly significant decrease (spring, $P < 0.01$ and autumn, $P < 0.001$) in female after spawning. The serum 17β - E_2 level increased when the spawned fish were recultured intensively. It suggested that the role of 17β - E_2 was involved in vitellogenesis and less relationship with ovulation. The serum level of T in both female and male after spawning were highly significant increase ($P < 0.001$), and it showed in connection with ovulation and spermiation.

KEYWORDS *Colossoma brochypomum*, artificial reproduction, effective accumulating temperature, 17β -oestradiol, testosterone