

一种新的高效能的鱼类催产剂

——促黄体生成素释放激素类似物的应用

经济鱼类激素应用研究协作组*

摘 要

用 LRH 九肽类似物(D-丙⁶·去甘¹⁰-乙酰胺),对草、青、鲢、鳙鱼进行催产试验,证明了此类似物仅需每公斤体重微克量,即可使性成熟池养亲鱼排卵,其活力较 LRH 十肽高数十倍乃至上百倍,是一种新的高活性鱼类催产剂,在鱼类生产上有重大的实践意义。草鱼对 LRH 类似物较为敏感,催产剂量为每公斤体重 5—10 微克,催产率为 86.3%;青鱼催产单一用 LRH 类似物,其催产率为 42.9%,而将每公斤体重 10 微克 LRH 类似物加 1—2 毫克鱼脑垂体合用,则催产率为 74.7%;LRH 类似物对鲢、鳙鱼的催产试验,采用两次注射的方式缩短了效应时间,鲢鱼的催产剂量范围为每公斤体重 3—300 微克,催产率为 71.9%,鳙鱼的催产剂量范围为每公斤体重 1.4—300 微克,催产率为 78.7%。本试验用亚显微结构和细胞化学方法观察了 LRH 对草鱼垂体的激发作用,并初步观察了蛋白水解酶和多肽水解酶对 LRH 的作用,以说明 LRH 的作用效果。

我国内陆水面辽阔,淡水养殖有着悠久的历史,解放后发展很快,在我国渔业中占有重要位置。

1958 年,在三面红旗光辉照耀下,我国先后获得鲢鱼(*Hypophthalmichthys molitrix*)、鳙鱼(*Aristichthys nobilis*)、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)、青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)四大家鱼的人工繁殖成功^[1],从此结束了江河捞苗“靠天吃饭”的局面。

十几年来,家鱼人工繁殖工作不断发展,特别是在文化大革命和批林批孔运动推动下,鱼苗的年产量大幅度增长,逐渐出现了绒毛膜促性腺激素(HCG)和鱼脑垂体供不应求的矛盾,因此生产上迫切需要寻找一种新的鱼用催产剂。

1973 年,我们用改进的固相法^[2]合成了促黄体生成素释放激素(以下简称 LRH),用于对下丘脑病变引起的闭经和不孕症的治疗,马^[3]、水貂^[4]等动物的繁殖及家养鱼类的催情产卵^[5],都取得了较好的结果。特别是 LRH 对家鱼的催情产卵,这是一项具有重要经济意义的工作。

用 LRH 催产家鱼使用的剂量较大,当采用颅腔注射的方法,可使催产用量下降^[5]。1975 年初,我们合成了 LRH 的类似物,其结构是:焦谷·组·色·丝·酪·D-丙·亮·精·脯·

本文 1976 年 1 月 3 日收到。

* 协作组名单:中国科学院北京动物研究所、上海生物化学研究所、厦门水产学院、湖北长江水产研究所、中山大学生物系以及北京、上海、湖北、江苏、福建和广东等六省市的有关水产养殖场共 28 个单位。

乙酰胺^[6],生物活性高于LRH几十倍至上百倍,从而大大提高了对家鱼催产的效果。

这项试验是在有关科研、教育和生产单位紧密配合和大力协作下开展的。从4—7月,试验工作分别在广东、福建、江苏、上海、湖北、北京等6个省市24个渔场相继进行,共试验了草鱼、青鱼、鲢鱼、鳙鱼、团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)、鲮鱼(*Cirrhina molitorella*)、乌鱼、鳊鱼等近十种不同的经济鱼类,总数达七百余尾,得苗在一亿尾以上。试验紧密地和生产相结合,以寻找生产剂量和缩短效应时间为目标,并从各种鱼的不同特性出发,认真分析,大胆试验,取得了大量数据,找到了一些生产上可行的方法,为明年进一步的推广应用创造了条件。

参加这项试验工作的广大工人、干部、技术人员和工农兵学员,学习无产阶级专政理论,破除资产阶级法权观念,进一步提高了阶级斗争和路线斗争的觉悟。大家以饱满的政治热情,团结战斗在生产第一线,发挥了不怕疲劳和连续作战的作风,加快了工作进程。短短的两年中,人工合成了LRH及其类似物,应用于家鱼等人工催产获得成功,并不断降低催产用量,这是毛主席革命科研路线的胜利,是批林批孔运动推动下取得的又一项重要科研成果。

一、试验和结果

试验按常规生产操作进行。除作了单用LRH类似物催产试验外,也作了用LRH类似物加鱼脑垂体或HCG的混合剂催产试验。

LRH类似物由中国科学院上海生物化学研究所提供。经雄性化大白鼠诱导排卵和蟾蜍排卵试验测定,其最低有效活力分别为0.002微克和1微克。鱼脑垂体和HCG由渔种场提供。催产时,将药品以0.7%生理盐水或蒸馏水溶解,采用体腔或肌肉注射给药。

共试验草鱼、青鱼、鲢鱼和鳙鱼522尾,顺产401尾,催产率为76.8%。其中单用LRH类似物进行催产为409尾,顺产314尾,催产率为76.7%。说明用LRH类似物催产,效果显著。对113尾青鱼、鲢鱼和鳙鱼还采用了LRH类似物加鱼脑垂体或HCG的复合剂进行催产,顺产87尾,催产率为76.9%。

还对团头鲂、鲮鱼、乌鱼和鳊鱼等其他经济鱼类进行了催产试验,也均获得成功。

1. 草鱼

草鱼对LRH较为敏感,采用一次或二次注射均能顺利产卵,有效剂量低,催产率高,受精率一般在80—90%,孵化出苗正常。开始时,我们试用每公斤体重100微克LRH类似物的剂量,以后逐渐下降至每公斤体重1微克LRH类似物。低于此剂量时,催产效果较差。试验水温范围在20—27℃,一次注射的效应时间一般为15—20小时,较用鱼脑垂体催产的时间略长。用LRH类似物共催产草鱼139尾,顺产120尾,催产率为86.3%。结果见表1。其中用一次注射催产95尾,顺产84尾。因为表1是按剂量大小汇总了各试验点的数据,亲鱼成熟度差异的因素无法排除,因此难于肯定催产剂量对催产率的影响。在草鱼催产试验过程中,也曾采用二次注射,试验44尾,顺产36尾。由于第一针剂量已达到催产有效剂量,因此第二针的效果难于说明。根据既节约LRH类似物用量又保证有较高催产率的原则,可以大致定出草鱼催产的剂量为每公斤体重5—10微克LRH类似物。

在各地区的试验中,还观察了水温对草鱼催产的影响。有14尾草鱼在28℃以上的水温下进行催产,仅5尾顺产,催产率为35.7%,说明水温较高时催产率较低。也可能是亲鱼开始退化,而影响了催产率。问题有待今后探讨。

LRH 类似物对雄青鱼催情排精有显著效果。一次或二次注射每公斤体重 10—30 微克 LRH 类似物,在 12—24 小时后均能挤出大量精液。

3. 鲢鱼和鳙鱼

LRH 类似物对鲢鱼和鳙鱼的催产试验中大多采用二次注射,通常是第一次注射约为总剂量的 1/10,第二次注射余量,两次注射的间隔时间为 8—12 小时,对鲢鱼的催产试验中,剂量范围在每公斤体重 1.3—300 微克 LRH 类似物,共催产 132 尾,顺产 95 尾,催产率为 71.9%。对鳙鱼的催产试验中剂量范围在每公斤体重 1.4—300 微克 LRH 类似物,共催产 155 尾,顺产 122 尾,催产率为 78.7%(表 3)。

表 3 LRH 类似物对鲢鱼、鳙鱼催产试验结果

鱼 别	水 温 (°C)	体 重 (公斤)	注射方法	剂量(微克/ 公斤体重)	注射 次数*	针 距 (小时)	效应时间 (小时)	总时数 (小时)	催产尾数	顺产尾数	催产率 (%)
鲢 鱼	20—28	3—10	体腔或肌肉	1.3—300	2	7—24	7—14	21—38	132	95	71.9
鳙 鱼	20—28	5—20	体腔或肌肉	1.4—300	2	7—24	8—15	22—39	155	122	78.7

* 通常是第一次注射总剂量的约 1/10,第二次注射余量。在部分试验中第一针的剂量为总剂量的 1/100—1/200。

LRH 类似物催产鲢鱼、鳙鱼的效应时间一般比用鱼脑垂体或 HCG 为长。采取延长两次注射的针距的方法,可使效应时间缩短,即在第一次注射约总剂量的 1/10 后,将亲鱼放回池塘,不占用产卵池,24 小时后再注射余量,可在 9—10 小时内顺产。或者降低第一针的剂量至总剂量的 1/100—1/200,第二针注射余量,能在 9—15 小时顺产。此外,也曾采用 LRH 类似物加鱼脑垂体或 HCG 的混合剂进行催产,每公斤体重 5—10 微克 LRH 类似物加 0.5—1 毫克鱼脑垂体或 0.5—1 毫克 HCG,二次注射,也能使效应时间缩短。

在个别渔场的试验中,对 28 尾鳙鱼二次注射,总剂量为每公斤体重 12 微克 LRH 类似物,第一次注射每公斤体重 2 微克,10—12 小时后注射余量,8—9 小时后有 23 尾顺产。其效应时间和总时数均和用鱼脑垂体或 HCG 相当。在个别试验中还发现了三尾鲢鱼一次注射每公斤体重 1.3—4.6 微克 LRH 类似物,22 小时后均获顺产。

二、讨论与结论

高活性 LRH 类似物应用于经济鱼类催情试验,是我们继 1974 年工作^[5]的进一步深入。二年来的试验结果证明:LRH 对鱼类有催产效果,而 LRH 类似物则有更高的催产效果,它的药效较 LRH 约高 100 倍。就目前所知,它是经济鱼类的高效催产剂。一般说来,在生产上用绒毛膜促性腺激素(HCG)催产草鱼成功率很低,因此一般仍用鱼脑垂体催产。在我们的试验中,LRH 类似物的有效剂量可减到每公斤体重 1 微克,在不同剂量下其催产率平均为 86.3%,与鱼脑垂体的催产效果相同。关于青鱼,多年来人工催产一直不很稳定,HCG 不能诱导产卵,如和鱼脑垂体混合使用,催产率只能达到 40% 左右,用 LRH 类似物的催产效率约为 42.9%,但如用 LRH 类似物加鱼脑垂体(0.5—2 毫克/公斤体重)合并处理,则效果显著提高,催产率可达 75% 左右,基本上解决了生产上青鱼的催产问题。LRH 类似物对鲢和鳙鱼的催产率分别为 71.9% 和 78.7%,但个别地区的实验也有高达 90% 左右的例子,一次注射或两次注射

均有效,说明 LRH 类似物对鲢、鳙鱼也是有效的。

根据初步观察 LRH 类似物在个别试验中,对雄鱼似有促使排精的效果,给挤不出精液的雄青鱼注射 LRH 类似物 50—100 微克/尾,一天后发现精液流出,对雄鳙鱼效果更明显,6.5 小时后即有大量精液流出。在哺乳动物中,LRH 能促进精母细胞形成和精子发育^[7]。对鱼类,看来也有同样的功能,但因实验数据较少,尚需进一步研究。此外,还观察到 LRH 不仅有催情产卵的作用,同时也有促使性腺成熟的效应。实验选择成熟度较差的鲢、鳙鱼,经两次注射低剂量 LRH 类似物,间隔时间为 24 小时,发现能使卵母细胞成熟并顺利产卵,在大白鼠中也已证明 LRH 有刺激滤泡成熟的作用。如能掌握 LRH 类似物在经济鱼类的催熟效应,对鱼类的人工繁殖,特别在我国北部地区,有很大的实践意义。

在实验中,我们还注意到 LRH 类似物对连续多年进行激素催产的老龄鲢鱼和鳙鱼的效果,发现它们对 LRH 类似物的所需量较初次催产的亲鱼为高,其原因何在还不十分清楚,可能是由于老年亲鱼垂体促性腺激素含量下降的缘故,在哺乳类也有相似现象。勒帕尔(Rippele)等人的实验指出,青春前期的羊对 LRH 非常敏感,用小至 5 微克 LRH 即能使血清 LH 量达到排卵高峰,因此认为,青春前期动物的垂体,贮存着高水平的促黄体生成素(LH),所以对 LRH 有较高的反应。另外,也有一种可能,即由于鲢鱼和鳙鱼经长期用 HCG 处理后,体内形成 HCG 抗体^[10],并通过交叉反应降低了促性腺激素的活力,因而降低了 LRH 类似物的催产效果,关于这一问题,有待进一步阐明。

用 LRH 及其类似物催产,我们发现对鲢和鳙鱼的效应时间较长(效应时间即从注射到产卵的时间间隔),而采用两次注射似可使效应时间缩短。这一问题从生理上来说是可以理解的,因为 LRH 和它的类似物作用于靶器官垂体,在它作用时首先与垂体细胞膜受体结合,然后激活垂体细胞释放促性腺激素,再作用于卵巢,使亲鱼发情产卵,这需要一个较长的生理过程。我们的组织化学和亚显微结构变化研究也说明了这一问题。而另一方面,不论是鱼脑垂体还是 HCG,它们都是直接作用于性腺,所以其效应时间较 LRH 和其类似物为短。我们在草鱼垂体促性腺分泌细胞的亚显微结构变化中,也观察到 LRH 对垂体的激发作用。当给低剂量 LRH 后 2 小时,分泌颗粒与内质网池就开始有变化,说明低剂量 LRH 就有激发促性腺细胞的分泌功能。在此基础上再注射第二针,促性腺细胞的内质网池显著扩大,并互相联结,小分泌颗粒继续减少。说明在第一针激发垂体促性腺细胞的基础上,再注射第二针,就能提高 LRH 的作用效力。

在青鱼催产中,将 LRH 类似物与小量鱼脑垂体混合使用,对目前在青鱼生产上是有利的,因为它可提高催产率并节约鱼脑垂体,加不足以引起排卵量的垂体,使之直接作用卵巢,有助于提高 LRH 的作用,这可能是较单纯用 LRH 效果好的缘故。

LRH 类似物为什么较 LRH 有较高的活性呢?目前有两种解释:一种可能是 LRH 肽链第六位甘氨酸改为 D-丙氨酸,去掉第十位甘氨酸接上乙酰胺后,不易被蛋白水解酶和多肽水解酶所破坏;另一种可能是这样结构的类似物与靶器官-垂体膜受体,有特别强的亲和力,使垂体细胞有更高的合成和释放促性腺激素的功能。我们初步观察到 LRH 中混合慈菇抑制剂,能降低 LRH 对蟾蜍诱导排卵的剂量。将诱导雄性化大白鼠排卵最低有效剂量 4—5 倍的 LRH 中,加入鱼下丘脑匀浆液,共同保温,未能测得排卵活性,初步说明了鱼丘脑下部 LRH 分解酶可能引起 LRH 降解^[10]。

总之,本试验确定了 LRH 类似物对家鱼人工催产的高效能,如能对 LRH 的结构与功能的关系和其作用原理有进一步深入的了解,则将为经济鱼类人工繁殖开拓更加广阔的前景!

参 考 资 料

- [1] 伍献文、钟烈,科学通报, 15 (1964), 10, 900.
- [2] 中国科学院上海生物化学研究所多肽激素组,中国科学, 1975, 3, 278.
- [3] 中国科学院北京动物研究所内分泌研究室,中国人民解放军山丹军马场,科学通报, 20 (1975), 1, 48.
- [4] 中国科学院北京动物研究所内分泌研究室,动物学报, 20 (1974), 423.
- [5] 经济鱼类激素应用总结交流会,科学通报, 20 (1975) 1, 43.
- [6] Schally, A. V. etc., *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1974, 57, 335.
- [7] Debeljuk, L. etc., *Endocrinology*, 1972, 92, 23
- [8] Schally, A. V. etc., *Science*, 1973, 179, 26.
- [9] Reeves, J. J. etc., *J. Anim. Sci.*, 1971, 32, 123.
- [10] 福建、江苏、上海淡水经济鱼类人工繁殖协作组,动物学报, 1975, 3.