

几种神经内分泌因子促进草鱼鱼种生长激素分泌和生长的作用^{*}

孙 颖, 林浩然

(中山大学生命科学学院水生经济动物研究所 // 广东省水生经济动物良种繁育重点实验室, 广东 广州 510275)

摘 要: 短期 (3 d) 或长期 (6 周) 单独投喂促黄体素释放激素类似物 LHRH-A (每克饵料含 5 μ g), 或者 LHRH-A 分别与促甲状腺素释放激素 TRH (每克饵料含 5 μ g)、多巴胺激动剂 APO (每克饵料含 1 mg)、多巴胺 D-1 型受体激动剂 SKF (每克饵料含 0.5 mg) 混合投喂, 都能显著提高草鱼鱼种的血清 GH 水平, 并能促使鱼体生长率和食物转化率显著提高。LHRH-A 分别与 TRH、APO 和 SKF 的协同作用要比它的单独作用较能有效的促进草鱼 GH 分泌和鱼体的生长。这些研究结果表明, 通过投喂方式, 一些刺激脑垂体 GH 分泌的神经内分泌因子, 能被草鱼鱼种消化道直接吸收进入血液循环, 并保持生物活性, 使草鱼鱼种血清 GH 水平升高, 进而提高食物转化率, 使生长速率加快。因此, 将一些促进 GH 分泌的高活性神经内分泌因子, 以适当的剂量添加到鱼类饵料中, 提高鱼苗和鱼种的生长率与成活率, 在鱼类养殖生产中有良好的应用前景。

关键词: 草鱼 *Ctenopharyngodon idella*; 生长; 生长激素; 神经内分泌因子

中图分类号: Q959.463 文献标识码: A 文章编号: 0529-6579 (2006) 01-0086-05

鱼类生长激素 (GH) 的分泌活动受到下丘脑产生的促性腺激素释放激素 (GnRH)^[1]、促甲状腺素释放激素 (TRH)^[2]、多巴胺 (DA) 及其激动剂 (如 APO、SKF 等)^[3-4] 等多种神经内分泌因子的刺激作用, 还受到生长激素抑制素 (SRIF)^[5]、5-羟色胺 (5HT) 和去甲肾上腺素 (NE)^[6] 等神经内分泌因子的抑制。

LHRH-A 是哺乳类 GnRH (LHRH) 的高活性类似物。近年来对金鱼和鲤鱼的研究证明, GnRH 及其高活性类似物能刺激在体和离体脑垂体释放 GH^[1-7]。腹腔注射鲑鱼 GnRH (sGnRH) 或 LHRH 的高活性类似物 (D-Ala⁶, Pro⁹-sGnRH 或 D-Ala⁶, Pro⁹-N-Etylamide LHRH), 不仅促使草鱼鱼种血清 GH 含量升高, 还能显著提高生长速率^[8]。

APO (Apomorphine 阿扑吗啡) 是一种无选择型多巴胺 (Dopamine DA) 的激动剂。目前已证明, DA 以及它的激动剂 APO 和前体 L-多巴 (L-dopa) 等, 能促进金鱼、鲤鱼和草鱼的 GH 释放^[4,9]。

SKF 是 DA 的特异性 D-1 型激动剂。对金鱼的离体研究表明, DA 和 SKF 能刺激金鱼脑垂体碎片分泌 GH, 腹腔注射 APO 或 SKF 都能升高金鱼的

血清 GH 含量^[9]。

不同剂量 (10~1 000 mol/L) TRH 能刺激离体的金鱼和鲤鱼脑垂体碎片释放 GH, 且呈现出明显的剂量依存反应; 给金鱼腹腔注射 TRH 亦能使血液的 GH 含量增加^[10], 这和鸟类及一些哺乳类的情况相似, 表明 TRH 能直接作用于脑垂体促进 GH 的释放。

许多实验已证明, 注射这些神经内分泌因子能刺激一些养殖鱼类 GH 的释放, 并且显著提高其生长速率。但注射方法不适用于大规模养殖生产。最近的研究表明一些多肽和蛋白质能被鱼类消化道完整地吸收而进入血液循环, 并保持生物活性, 能刺激 GH 的分泌和鱼体生长^[11-12]。这说明把一些肽类激素拌入饵料中投喂鱼苗鱼种促进其生长是可行的。

已有的研究多着重于单个的神经内分泌因子对鱼类生长的促进作用。但由于鱼类 GH 分泌活动是受到下丘脑多种神经内分泌因子的调控, 因而本文着重对比单个和多个神经内分泌因子的协同作用, 旨在筛选出活性高、用量少、来源方便、成本低和无副作用的药物, 以适宜的剂量添加到鱼类饵料中, 在大规模的鱼种培育过程中应用, 提高生长速

* 收稿日期: 2005-02-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39570099); 教育部科学技术研究委员项目 (02150); 高校博士点专项科研基金资助项目 (20040558012)

作者简介: 孙颖 (1972 年生), 女, 博士生; 通讯联系人: 林浩然; E-mail: ls32@zsu.edu.cn

率, 缩短苗种培育周期或培育大规格鱼种, 从而达到提高养殖产量的目的。

1 材料和方法

1.1 实验用鱼及其饲养

草鱼鱼种 (体质量 20 ~ 40 g 体长 10 ~ 13 cm) 购自中山大学生命科学学院水生经济动物研究所实验鱼场。选取经过驯养的健壮草鱼鱼种, 随机分到 0.8 m × 0.6 m × 0.45 m 的室内水族箱内, 每箱 15 尾, 自然光照和水温, 24 h 通氧并循环过滤水质。实验过程中, 每天投饵 2 次 (8:00 18:00), 每天投喂量为草鱼鱼种体质量的 3% 左右。

人工配合的基本饲料配方 (w%) 如下: 干酪素 (40), 糊精 (30), 花生油 (2), 维生素 (1), 无机盐 (9.3)。

投喂实验所用的饵料是将不同的神经内分泌因子, 以一定剂量拌入基本饵料中, 加工成颗粒饵料。

各种神经内分泌因子来源如下: ① APO: Apomorphine, 阿扑吗啡, 美国 Sigma 公司; ② LHRH-A: D-Ala⁶, Pro⁹-N-Etylamide LHRH, 促黄体素释放激素类似物, 浙江宁波水产激素厂; ③ SKF: SKF 38393 hydrochloride 美国 RBI 公司; ④ TRH: Thyrotropin releasing hormone 促甲状腺素释放激素, 美国 Sigma 公司。

1.2 体长和体质量的测定

实验前将各组鱼进行剪鳍标记。实验过程中, 每周测量 1 次体质量和体长。方法是草鱼用 MS 222 (Tricaine methanesulfonate 加拿大 Syndel 公司) 进行麻醉后, 用毛巾吸干鱼体表水份后进行称量, 体质量精确到 0.1 g, 体长是从吻端至身体鳞片末端的长度 (标准体长), 精确到 0.1 cm。每次取样时间为 9:00-11:00 取样前暂不投饵。

1.3 几种生长指标的计算

草鱼的生长主要以相对体质量生长率 (RSGR) 和相对体长生长率 (RLGR) 来表示, 计算公式分别如下:

相对体质量生长率 (RSGR) = $(W_t - W_0) / W_0 \times 100\%$

相对体长生长率 (RLGR) = $(L_t - L_0) / L_0 \times 100\%$

其中, W_0 和 L_0 表示实验开始时草鱼鱼种的体质量和体长; W_t 和 L_t 表示时间点 t 时草鱼鱼种的体质量和体长。

食物转化率 $F\% = (\Delta W / F) \times 100$

其中, F 表示在一段时间内草鱼鱼种的食物投

喂量 (g), ΔW 表示在这段时间内草鱼鱼种的体质量增长量 (g)。

1.4 实验设计

1.4.1 短期投喂 LHRH-A、LHRH-A + TRH 和 LHRH-A + SKF 对草鱼鱼种血清 GH 水平的影响

将 60 尾健康草鱼鱼种随机分养于 4 个水族箱内, 每箱养 15 尾。水温: 25 ~ 26 °C。实验分组和投喂实验饲料为:

- ① LHRH-A (5 μg/g 基本饲料) 组; ② LHRH-A (5 μg/g) + SKF (0.5 mg/g) 组; ③ LHRH-A (5 μg/g) + TRH (5 μg/g 基本饲料) 组; ④ 对照组 (基本饲料)。

实验前, 先投喂基本饵料 2 d 实验期间, 第 1 天上午 8:00 投喂实验饵料, 10:00 取血样 (即投喂后 2 小时取血样); 第 2 天上午 8:00 投喂实验饵料, 下午 14:00 取第 2 次血样 (即投喂后 6 小时取样)。第 3 天上午 8:00 投喂实验饵料, 第 4 天上午 8:00 取第 3 次血样 (即投喂后 3 d 取样)。

1.5.2 长期投喂 LHRH-A、LHRH-A + TRH、LHRH-A + SKF 和 LHRH-A + APO 对草鱼鱼种的生长和血清 GH 水平的影响 将 60 尾健康草鱼鱼种随机分养于 4 个水族箱, 每箱养 15 尾。实验时间为 6 周, 每周测一次体质量和体长, 实验结束时取血样。水温: 25.6 ~ 29.8 °C。实验分组和投喂剂量 (按每 g 基本饲料计) 如下:

- ① LHRH-A (5 μg) 组; ② LHRH-A (5 μg) + SKF (0.5 mg) 组; ③ LHRH-A (5 μg) + TRH (5 μg) 组; ④ LHRH-A (5 μg) + APO (1 mg); ⑤ 对照组 (基本饲料)。

1.6 样品制备和测定

将鱼用 MS 222 (Tricaine methanesulfonate 加拿大 Syndel 公司, 1:10 000) 麻醉后, 从尾静脉取血样约 1 mL, 4 °C 静置 4 ~ 6 h 后离心 (15 000 r/min 5 min), 分离出血清, 保存于 -20 °C, 以备测 GH 含量。血清 GH 的放射免疫测定参照 Cook 等^[19]的双抗体放射免疫方法建立。数据以平均值 ± 标准差表示, 不同处理组数据间的差异性采用 Student 氏检验法进行分析, $P < 0.05$ 认为存在显著性差异, $P < 0.01$ 认为存在极显著性差异。

2 结 果

2.1 投喂 LHRH-A、LHRH-A + SKF 和 LHRH-A + TRH 对草鱼鱼种血清 GH 水平的影响

2.1.1 短期投喂 LHRH-A、LHRH-A + SKF 和 LHRH-A + TRH 对草鱼鱼种血清 GH 水平的影响

投喂后 2 h 和 6 h IHRH-A、IHRH-A + SKF、IHRH-A + TRH 都使草鱼鱼种的血清 GH 水平比对照组显著提高, 但各实验组之间差别不明显。投喂 3 d 后, IHRH-A、IHRH-A + SKF 和 IHRH-A + TRH 都使草鱼鱼种的血清 GH 水平显著提高, 且 IHRH-A + SKF 和 IHRH-A + TRH 组草鱼鱼种的血清 GH 水平显著高于 IHRH-A 组 (图 1)。

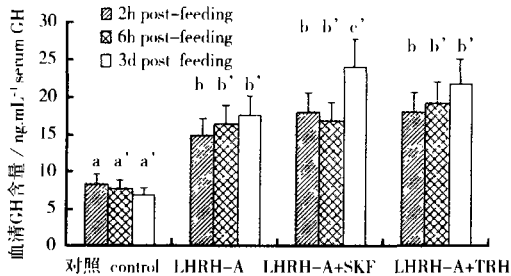


图 1 短期投喂 IHRH-A、IHRH-A + SKF 和 IHRH-A + TRH (2 h 6 h 3 d) 后对草鱼鱼种血清 GH 水平的影响
Fig.1 Effect of short term (2 h 6 h 3 d) feeding of IHRH-A、IHRH-A + TRH, and IHRH-A + SKF on the serum GH of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*)
GH 水平以平均值 ± 标准偏差表示 (n = 8 ~ 10), 每个柱形上方不同的字母表示组间显著性差异 (P < 0.05)

2.1.2 长期 (6 周) 投喂 IHRH-A、IHRH-A + TRH、IHRH-A + SKF 和 IHRH-A + APO 对草鱼鱼种的血清 GH 水平的影响 长期投喂 IHRH-A、IHRH-A + SKF、IHRH-A + TRH 和 IHRH-A + APO 后都使草鱼鱼种的血清 GH 水平明显提高 (图 2), 且 IHRH-A + APO、IHRH-A + SKF 组和 IHRH-A + TRH 组草鱼鱼种的血清 GH 水平都显著高于 IHRH-A 组。

2.2 长期投喂 IHRH-A、IHRH-A + SKF、IHRH-A + TRH 对草鱼鱼种生长及食物转化率的影响
实验结果表明, 长期投喂 IHRH-A、IHRH-A + SKF 和 IHRH-A + TRH 均显著促进草鱼鱼种的生长 (图 3)。投喂 6 周后, IHRH-A、IHRH-A + SKF 和 IHRH-A + TRH 组草鱼鱼种的食物转化率分别为: 20.72%, 22.32% 和 21.87%, 均显著高于对照组的 16.72%。

3 讨论

3.1 投喂 IHRH-A、TRH、SKF 和 APO 对草鱼鱼种的血清 GH 水平的影响

短期投喂后 2h 和 6h IHRH-A、IHRH-A + SKF 和 IHRH-A + TRH 均使草鱼鱼种的血清 GH 水平显著升高, 但各实验组之间没有显著差异, 即在注射后 2h 和 6h 并没有表现出 IHRH-A 分别与

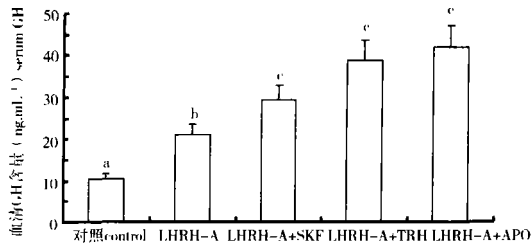


图 2 长期投喂 IHRH-A、IHRH-A + TRH、IHRH-A + SKF 和 IHRH-A + APO 6 周后对草鱼鱼种血清 GH 水平的影响

Fig.2 Effect of IHRH-A、IHRH-A + SKF、IHRH-A + TRH and IHRH-A + APO on the serum GH of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) following dietary incorporation over 6 weeks

GH 水平均用平均值 ± 标准偏差表示 (n = 8 ~ 10), 每个柱形上方不同的字母表示组间显著性差异 (P < 0.05)

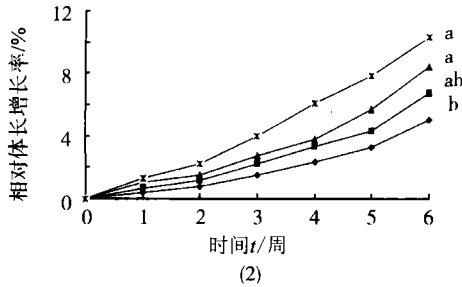
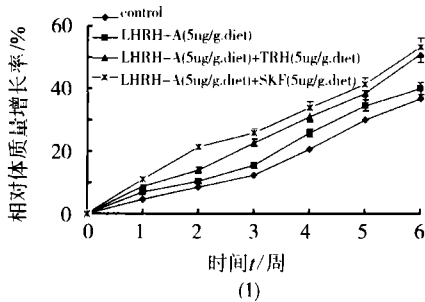


图 3 长期投喂 IHRH-A、IHRH-A + TRH 和 IHRH-A + SKF 对草鱼鱼种相对体质量生长率 (RSGR) (n = 13 ~ 15)

Fig.3 Effect of IHRH-A、IHRH-A + TRH, and IHRH-A + SKF on relative somatic growth rate (RSGR)
不同的字母表示组间显著性差异 (P < 0.05)

SKF 和 TRH 的协同效应。但是, 投喂 3 d 后, IHRH-A、IHRH-A + SKF 和 IHRH-A + TRH 都极显著提高草鱼鱼种的血清 GH 水平 (图 1), 且 IHRH-A + SKF 组草鱼鱼种的血清 GH 水平显著高于 IHRH-A 组, 表明 IHRH-A 与 SKF 的“协同优势”在投喂后第 3 天出现。

长期投喂后, IHRH-A、IHRH-A + APO、IHRH-A + SKF 和 IHRH-A + TRH 都显著提高了草鱼种血清 GH 水平, 且 IHRH-A 分别与 APO、SKF 和 TRH 协同作用都比单独的 IHRH 效果好, 即

LHRH-A + APO, LHRH-A + SKF 组和 LHRH-A + TRH 组草鱼鱼种的血清 GH 水平都显著高于 LHRH-A 组 (图 2)。

这些结果表明, 通过投喂, LHRH-A、APO、SKF 和 TRH 能被鱼体消化道吸收, 进入血液循环并保持生物活性, 进而刺激鱼脑垂体分泌 GH, 这种作用在投喂后 2 h 就开始表现出来。但是 LHRH-A 与 SKF、TRH 或 APO 的协同效应须有一个时间积累过程, LHRH-A + SKF、LHRH-A + TRH 以及 LHRH-A + APO 对血清 GH 水平的提高程度才会显著高于单独的 LHRH-A 的作用。

3.2 LHRH-A、SKF 和 TRH 对草鱼鱼种的生长及食物转化率的影响

长期投喂 LHRH-A、LHRH-A + SKF 和 LHRH-A + TRH 后, 草鱼鱼种生长速率的提高与血清 GH 水平的升高一致 (图 3)。LHRH-A + SKF 组和 LHRH-A + TRH 组草鱼鱼种的生长速率和食物转化率都显著高于 LHRH-A 组。由此说明, 长期投喂 LHRH-A + SKF 和 LHRH-A + TRH 对草鱼鱼种的促进生长效果比单独投喂 LHRH-A 好。

本研究初步证明一些高活性的神经内分泌因子, 如 LHRH-A、APO、SKF 和 TRH 等, 通过投喂, 能刺激草鱼鱼种的脑垂体 GH 分泌, 促进鱼体生长, 并能显著提高食物转化率。今后的研究可在此基础上, 进一步筛选出以 LHRH-A 和 DA 的 D-1 型受体激动剂为主的能刺激 GH 分泌的高活性的神经内分泌因子, 作为一种新型鱼类促生长剂, 以适宜的剂量添加到鱼类饵料中, 在大规模的苗种培育过程中应用, 提高生长速率, 缩短苗种培育周期或培育大规格鱼种, 从而达到提高养殖产量的目的。

参考文献:

[1] MARCHANT T A, CHANG J B, NAHORNIAK C S et al Evidence that gonadotropin releasing hormone also functions as a growth hormone releasing factor in the goldfish[J]. Endocrinology 1989 124 2509-2518

[2] TRUDEAU V L, SOMOZA G M, NAHORNIAK C S et al Interactions of estradiol with gonadotropin releasing hormone and thyrotropin releasing hormone in the control

of growth hormone secretion in the goldfish [J]. Neuroendocrinology 1992 56 483-490

[3] CHANG J B, MARCHANT T A, COOK A E et al Influences of catecholamines on growth hormone release in female goldfish (*Carassius auratus*) [J]. Neuroendocrinology 1985 40 463-470

[4] CHANG J B, YU K L, WONG A O L et al Differential action of dopamine receptor subtypes on gonadotropin and growth hormone release in vitro in goldfish [J]. Neuroendocrinology 1990 51 661-674

[5] MARCHANT T A, FRASER R A, ANDREW S P C et al The influence of mammalian and teleost somatostatins on the secretion of growth hormone from goldfish (*Carassius auratus* L.) pituitary fragments in vitro[J]. RegulPeptides 1987 17 41-52

[6] PETER R E, YU K L, MARCHANT T A, et al Direct neural regulation of the teleost adenohypophysis[J]. J Exp Zool 1990 (Suppl): 84-89

[7] SOMOZA G M, PETER R E Effects of serotonin on gonadotropin and growth hormone release from in vitro perfused goldfish fragments[J]. Gen Comp Endocrinol 1991 82 103-110

[8] LIN H R, ZHANG Q, PETER R E Effects of recombinant tuna growth hormone and analogs of gonadotropin releasing hormone on growth of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. Aquaculture 1995 129(1995): 342

[9] WONG A O L, CHANG J B, PETER R E In vitro and in vivo evidence that dopamine exerts growth hormone releasing activity in goldfish[J]. Ani J Physiol 1993 264 (Endocrinol Metab 27): E925-E932

[10] LIN X W, LIN H R, PETER R E The regulatory effects of thyrotropin releasing hormone on growth hormone secretion from the pituitary of common carp in vitro[J]. Fish Physiol Biochem 1993 11 71-76

[11] MCLEAN E, DONALDSON E M. Absorption of bioactive proteins by the gastrointestinal tract of fish: A review[J]. J Aquat Anim Health 1990 2 1-11.

[12] SIRE M F, VERNIER J M. Intestinal absorption of protein in teleost fish[J]. Comp Biochem Physiol 1992 103A: 771-781.

The Effects of Some Neuroendocrine Factors Administration in Diet on Growth Hormone (GH) Secretion and Growth in Juvenile Grass Carp (*Ctenopharyngodon idellus*)

SUN Ying, LIN Hao-ran

(Institute of Economic Aquatic Animal, School of Life Sciences

Sun Yat sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract Compared to controls, treatment of juvenile grass carp with some neuroendocrine factors such as a mammalian GnRH analog (D-Ala⁶-Pro⁹-N-Ethylamide LHRH, LHRH-A) in diet (5 μ g/g diet), whether alone or in combination with apomorphine (APO, 1 mg/g diet), thyrotropin-releasing hormone (TRH, 5 μ g/g diet), and dopamine D-A receptor agonist (SKF, 0.5 mg/g diet) for 3 days resulted in a significant increase in serum GH levels, and for 6 weeks resulted in a significant increase in both body weight and body length. Meanwhile, the enhancement on serum GH level and body growth of LHRH-A treatment in diet along with TRH, SKF and APO is significantly higher than LHRH-A administration alone. These results demonstrated that at least part of biological active LHRH-A, TRH, SKF and APO can be absorbed intact by the alimentary tract and transferred into the blood of fish and effectively stimulate growth hormone release and body growth. These results also suggested that it is full of promise to promote the growth of juvenile cultured fish by administration some of these neuroendocrine factors in diet.

Key words grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*); growth; growth hormone; neuroendocrine factors

(上接第 76 页)

The Environmental Effect of Different Marine Culture Models

YANG Ting-bao¹, WANG Bo, LIN Gong-na, AN Dong²

(School of Life Sciences, Sun Yat sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract The purpose of this research is to study the environmental effects of different culture models of the economical fishes and shellfishes in order to establish the best combination of different kind of polyculture. The results showed that any kind of pen aquaculture would accelerate the eutrophication and water quality deterioration. To a certain degree, the influence of single-species culture of fish on water quality will be more serious than fish polyculture. This study also indicated that not random combination of fishes and shellfishes could get good environmental effect. Only if they were cultured in mixture scientifically, could it attain a good environmental as well as economic benefit.

Key words polyculture; culture model; eutrophication; water environments