

投喂 LHRH A 粗制品对鲫鱼生长激素释放和生长速率的影响^{*}

龙 进^{1,2}, 刘晓春¹, 谢嘉华^{1,3}, 林浩然¹

(1. 中山大学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;

2. 井冈山师范学院生命科学系, 江西 吉安 343009;

3. 泉州师范学院, 福建 泉州 362000)

摘 要: 研究投喂促黄体素释放激素类似物 (LHRH-A) 粗制品 8 周对鲫鱼 *Carassius auratus* 生长激素释放和生长速率的影响。每 kg 含 1.00 g LHRH-A 粗制品的饲料能显著促进鲫鱼体质量和体长的增长 ($P < 0.05$); 血清生长激素含量亦有所升高, 但与对照组相比没有显著差异; 肌肉和肝脏的生化成分分析表明, 实验组与对照组没有显著差异。以上结果提示, 投喂 LHRH-A 粗制品可以促进鲫鱼生长而不影响它营养成分的含量。

关键词: 促黄体素释放激素类似物; 生长; 生长激素; 鲫鱼 *Carassius auratus*

中图分类号: Q451 文献标识码: A 文章编号: 0529-6579 (2004) 06-0037-04

在鱼类, 下丘脑分泌的促性腺激素释放激素 (gonadotropin releasing hormone, GnRH) 及其类似物 (GnRH A) 具有促进脑垂体促性腺激素 (gonadotropin, GtH) 和生长激素 (growth hormone, GH) 释放的双重作用, 因而它既能促进鱼的生殖活动, 又能促进鱼体生长^[1]。在生长研究中, 一般实验是采用注射 GnRH 或 GnRH-A 的精制品来进行的^[2-10]。这种方法操作比较复杂, 劳动强度大; 加之药品价格贵, 经济成本比较高, 很难在生产中应用。为了便于在生产中推广应用, 我们以生产促黄体素释放激素类似物 (luteinizing hormone releasing hormone analog, LHRH-A) 过程中形成的下脚料—LHRH-A 粗制品作为添加剂, 掺入到鱼饵料中进行投喂, 以期达到促进鱼体生长的目的。

1 材料与方法

1.1 实验动物

鲫鱼 (金鲫品种) *Carassius auratus*, 购于广州花地花鸟鱼虫市场, 体质量 50~90 g, 雌雄不分。购回后放置室内水池暂养 10 d, 用基础饵料投喂驯化。

1.2 药品与饵料

(1) 药品。LHRH-A 粗制品为宁波市激素制品有限公司产品。

(2) 饵料。以普通鲫鱼饵料配方制成基础饵料

(1 号饵料), 其配方 (w/%) 为鱼粉 20、豆粕 36、面粉 19.03、酵母粉 5、玉米蛋白粉 10、玉米油 4、鱼油 4、磷酸二氢钙 1.5、复合维生素 0.20、复合无机盐 0.25、抗氧化剂 0.02。在此基础上分别添加不同剂量的 LHRH-A 粗制品以配成不同型号的饵料, 即: 1 号饵料为基础饵料; 2 号饵料为每 kg 基础饵料加 0.01 g LHRH-A 粗制品; 3 号饵料为每 kg 基础饵料加 0.10 g LHRH-A 粗制品; 4 号饵料为每 kg 基础饵料加 1.00 g LHRH-A 粗制品。

1.3 实验设计

1.3.1 实验分组 根据鱼体质量, 将实验鱼分成 2 批, 分别为 60 g 体质量组和 80 g 体质量组。然后将每批鱼又随机分成 4 组, 分组编号采用体质量规格与投喂饵料种类相结合的方法。例如 60 g 体质量组各个小组的编号分别为: 60-1 号饵料、60-2 号饵料、60-3 号饵料、60-4 号饵料; 80 g 体质量组类推。60 g 体质量组的鱼每组 15 尾, 80 g 体质量组的鱼每组 8~9 尾。

1.3.2 投喂 每 1 个小组的鱼放养于一个规格为 90 cm×80 cm×60 cm 的水池中。循环水流, 室内光照和水温。日投喂饵料量为体质量的 2.5%, 每天上午 10:00 和下午 15:00 各投喂 1 次。实验从 2002-11-24 开始至 2003-01-20 结束, 共 8 周。实验期间平均水温为 17℃, 最高温度 22℃, 最低温度 13℃。

* 收稿日期: 2004-01-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (39970586)

作者简介: 龙进 (1957 年生), 男, 教授, 通讯联系人, 刘晓春; E-mail: ls73@zsu.edu.cn

1.3.3 取样 实验期间, 每 2 周测量一次实验鱼的体质量和体长。实验第 8 周, 用 1 mL 注射器对实验鱼进行尾静脉取血、开颅取脑垂体, 同时取肝脏和肌肉样品, 并称量肝脏及去内脏体质量。脑垂体、肝脏和肌肉样品取后立即投入液氮中速冻, 然后移入-28℃的冰箱内保存待测。血液在 4℃下静置 4~6 h 后, 以 10 000 r/min 的速度离心 15 min, 取血清在-28℃下保存待测。60 g 体质量组的鱼, 每组取 10 尾鱼的样; 80 g 体质量组的鱼, 按实际鱼尾数全部取样。每次称量和取样之前用 2-苯氧乙醇 (2-phenoxyethanol, Sigma) 对实验鱼进行轻度麻醉。

1.4 激素测定和营养成分分析

1.4.1 激素测定 血液和脑垂体样品中的 GH 含量采用鲤鱼 GH 放射免疫测定方法^[4]。

1.4.2 营养成分分析 每组随机选取 2 个肌肉样品和 2 个肝脏样品进行生化成分分析。水分含量的测定采用 105℃常压干燥法; 灰分测定采用 550℃灼烧法; 粗蛋白测定采用凯氏定氮法 (Tecator 1030 凯氏自动分析仪, 瑞典); 粗脂肪含量测定采用索氏抽提法 (Tecator 1043 索氏抽提系统, 瑞典)。

1.4.3 肝比、内脏比和肥满度的计算

肝比 = $\frac{\text{肝脏质量}}{\text{体质量}} \times 100\%$

内脏比 = $\frac{\text{内脏质量}}{\text{体质量}} \times 100\%$

肥满度 = $\frac{\text{体质量}}{\text{体长}} \times 100\%$

1.5 数据分析方法

每组数据以平均值±标准差表示, 显著性检验采用 *t* 检验, 当 *P* < 0.05 时认为差异显著。

2 结 果

2.1 不同剂量 LHRH-A 粗制品对鱼体质量和去内脏体质量增长的影响

从图 1 可以看出, 起始体质量为 60 g 的鱼, 实验第 4 周开始, LHRH-A 粗制品投喂组与对照组体质量出现差异, 到第 8 周, 4 号饵料投喂组的体质量显著高于对照组 (*P* < 0.05); 起始体质量为 80 g 的鱼, 实验第 6 周和第 8 周, 4 号饵料投喂组的体质量都显著高于对照组 (*P* < 0.05)。表 1 显示, 4 号饵料投喂组的去内脏体质量与对照组相比亦显著增加 (*P* < 0.05)。

2.2 不同剂量 LHRH-A 粗制品对鱼体长增长影响

从图 2 可以看出, LHRH-A 粗制品投喂组的平

表 1 LHRH-A 粗制品投喂对鲫鱼去内脏体质量增长的影响¹⁾

Tab 1 Effect of crude LHRH-A on body weight (without viscus) in goldfish

组别	去内脏体质量/g	组别	去内脏体质量/g
60-1 号	79.96±4.03	80-1 号	88.21±3.10
60-2 号	85.88±3.82	80-2 号	98.76±3.80
60-3 号	84.13±3.83	80-3 号	98.84±3.80 ²⁾
60-4 号	92.10±3.73 ²⁾	80-4 号	100.54±4.01 ²⁾

1) 起始体质量 60 g 组, *N*=10; 起始体质量 80 g 组, *N*=5~9; 2) 表示与对照组相比较差异显著 (*P* < 0.05)

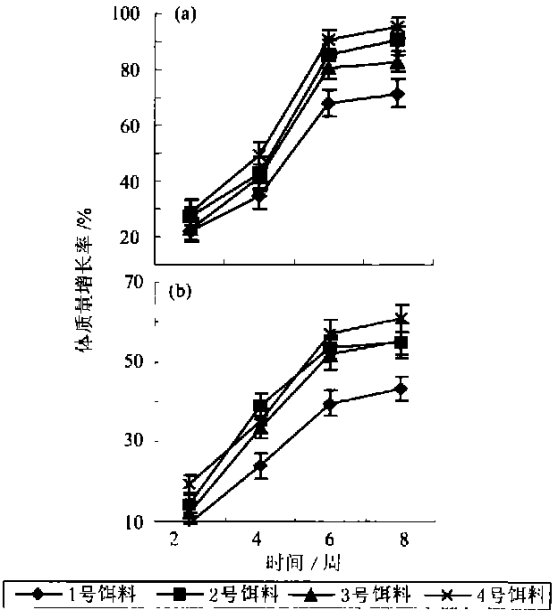


图 1 LHRH-A 粗制品投喂对鲫鱼体质量增长的影响(平均数±标准差)

Fig 1 Effect of crude LHRH-A on body weight in goldfish
(a) 为起始体质量 60 g 鱼的生长情况(*N*=10);
(b) 为起始体质量 80 g 鱼的生长情况(*N*=5~9)

均体长与对照组相比在第 4 周即表现出差别。起始体质量 60 g 的鲫鱼, 4 号饵料投喂组的平均体长与对照组相比显著增加 (*P* < 0.05)。起始体质量 80 g 的鲫鱼, 在实验第 6 周和第 8 周时, 各浓度 LHRH-A 粗制品投喂组的平均体长与对照组相比均显著增加 (*P* < 0.05)。

2.3 不同剂量 LHRH-A 粗制品对肝质量、内脏质量和肥满度的影响

从表 2 可以看出, 投喂 LHRH-A 粗制品对鲫鱼肝质量、内脏质量和肥满度没有明显影响, 同一起始体质量的不同处理之间没有显著差异。

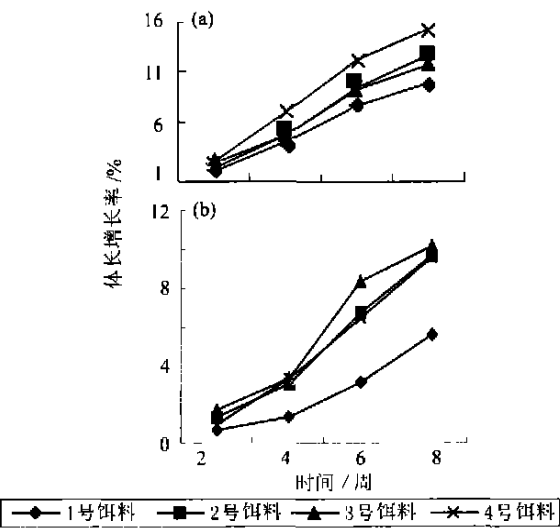


图2 LHRH-A 粗制品投喂对鲫鱼体长增长的影响
Fig.2 Effect of crude LHRH-A on body length in goldfish
(a)为起始体质量 60 g 鱼的体长变化情况(N= 10);
(b)为起始体质量 80 g 鱼的体长变化情况(N= 5~9)

表2 LHRH-A 粗制品对肝胰质量、内脏质量和肥满度的影响¹⁾

Tah 2 Effect of crude LHRH-A on visceral weight, liver weight and degree of grossness in goldfish

组别	肝比/%	内脏比/%	肥满度/%
60-1号	6.31±0.38	25.80±0.83	5.01±0.13
60-2号	6.97±0.18	27.69±1.18	5.15±0.14
60-3号	6.69±0.54	26.05±1.75	5.12±0.24
60-4号	6.05±0.32	24.40±0.81	4.91±0.13
80-1号	6.40±0.40	25.82±1.09	4.86±0.20
80-2号	6.30±0.42	22.23±2.85	4.74±0.19
80-3号	7.38±0.36	22.55±1.07	4.71±0.12
80-4号	6.66±0.27	23.90±1.11	4.86±0.12

1) 起始体质量 60 g 组, N= 10; 起始体质量 80 g 组, N= 5~9

2.4 不同剂量 LHRH-A 粗制品对血清和脑垂体 GH 水平的影响

无论起始体质量是 60 g 还是 80 g, 都表现出药物处理组血清 GH 和脑垂体 GH 水平较对照组的水平高, 并且有一种剂量依赖性增高的趋势, 这种变化趋势在血清更为明显, 但是处理组与对照组之间差异不显著(表 3)。

2.5 不同剂量 LHRH-A 粗制品对肌肉和肝脏营养成分的影响

从表 4、5 可以看出, LHRH-A 粗制品对鱼肌肉和肝脏水分、灰分、粗蛋白及粗脂肪含量没有显著影响, 各种处理之间的数据没有显著差异。

表3 LHRH-A 粗制品对鲫鱼血清和脑垂体 GH 水平的影响¹⁾

Tah 3 Effects of crude LHRH-A on senu GH and pituitary GH levels in goldfish

组别	血清 GH/(ng·mL ⁻¹)	垂体 GH/(ng·mL ⁻¹)
60-1号	19.76±1.71	37.63±1.67
60-2号	19.20±1.14	38.19±0.99
60-3号	21.77±1.81	37.22±2.03
60-4号	25.21±2.09	41.75±2.82
80-1号	22.94±2.37	46.80±2.85
80-2号	25.67±1.54	47.91±4.10
80-3号	26.36±1.20	46.42±2.62
80-4号	29.53±2.18	47.62±3.05

1) 起始体质量 60 g 组, N= 9~10;
起始体质量 80 g 组, N= 5~9

表4 LHRH-A 粗制品对鲫鱼肌肉营养成分的影响¹⁾

Tah 4 Effect of crude LHRH-A on muscle nutritious components in the goldfish

处理	w/%			
	水分	灰分	脂肪	蛋白质
1号	70.79±3.57	4.82±0.11	18.07±2.98	71.35±1.75
2号	74.18±0.84	4.59±0.31	21.19±1.05	69.17±0.74
3号	74.15±1.35	4.49±0.49	21.78±2.40	68.26±1.20
4号	73.20±2.94	4.44±0.30	20.39±1.90	68.95±1.94

1) 灰分、脂肪和蛋白质的含量为样品干质量百分比, N= 4

表5 LHRH-A 粗制品对鲫鱼肝脏营养成分的影响¹⁾

Tah 5 Effect of crude LHRH-A on liver nutritious components in goldfish

处理	w/%			
	水分	灰分	脂肪	蛋白质
1号	69.55±0.89	4.08±0.34	13.66±0.11	32.94±2.50
2号	66.86±1.51	3.56±0.53	13.21±0.20	30.46±1.09
3号	70.51±0.15	4.27±0.07	10.47±0.81	32.61±0.09
4号	68.97±0.23	3.86±0.17	12.23±1.33	29.19±0.20

1) 灰分、脂肪和蛋白质的含量为样品干质量百分比, N= 4

3 讨论

GnRH 是刺激脑垂体促性腺激素 GtH 释放的主要激素, 近来对一些鱼类研究表明, GnRH 也起着 GH 释放因子的作用^[1]。最近报道 sGnRH 和 sGnRH-A 以剂量依赖的方式升高鲤鱼脑垂体 GH mRNA 水平和促进 GH 分泌^[8]。说明 GnRH 不仅影响 GH 释放, 对 GH 合成也具有调节作用。利用抗生物素蛋白一金技术和电镜观察发现, 鲫鱼脑垂体 GH 细胞表面存在 GnRH 的特异性受体, 提示 GnRH 能直接作用于 GH 细胞^[1]。在鱼类, GH 是促进生长的主要激素, 能刺激鱼类 GH 释放的 GnRH 及其高活性的类似物也能促进鱼体生长^[1]。大量资料表明,

GnRH 及其高活性的类似物在离体和在体情况下都可以刺激鲤科鱼和其它一些鱼脑垂体释放 GH 并促进鱼体的生长^[2-6,8]。本实验采用饵料添加的方法给鲫鱼投喂 LHRH-A 粗制品。结果显示,无论是 60 g 起始还是 80 g 起始的鱼,在高剂量的情况下均能明显促进鲫鱼生长,鱼体质量和体长的增加都显著高于对照组(图 1, 2)。与此相对应, LHRH-A 粗制品处理也增加鲫鱼血清 GH 水平,并且呈现出剂量依赖式增加的趋势(表 2)。虽然这种增加与对照相比没有显著差异,但它与体质量和体长的增加基本是一致的。这个结果与鲤鱼腹腔注射 LHRH-A (0.1~1.0 mg/kg 体质量,每周 1 次)^[9]和草鱼投喂 LHRH-A (1~10 μg/g 饵料)^[3]的结果一致。这说明投喂 LHRH-A 粗制品在高剂量情况下对刺激鲫鱼生长是有效的,这种刺激作用可能是通过促进 GH 释放实现的。正如表 2 所示,实验组和对照组的肝比、内脏比和肥满度没有显著性差异,提示 LHRH-A 促进鱼体生长是均衡和协调的。营养成分分析显示(表 4, 5),各种处理组和对照组之间肌肉、肝脏的水分、灰分、粗脂肪和粗蛋白质含量均没有显著差异,说明 LHRH-A 投喂不会引起鱼体营养成分的改变。本实验结果初步证明,通过投喂的方式施加 LHRH-A 对促进鱼类生长是有效的,这对探索渔业增产新途径具有积极意义,不过在药物添加剂量以及投喂的时间等技术问题上还需进一步探讨。

参考文献:

[1] 林浩然. 神经内分泌因子调控鱼类生殖和生长的相互作用[J]. 动物学研究, 2000, 21(1): 12-16.
[2] LIN H R, LU M, LIN X W, et al. Effects of gonadotropin-

releasing hormone(GnRH) analogs and sex steroids on growth hormone (GH) secretion and growth in common carp (*Cyprinus carpio*) and grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Aquaculture*, 1995, 135: 173-184.
[3] LIN H R, SUN Y. The effects of neuroendocrine factor administration in diet on growth hormone (GH) secretion and growth in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) // The fifth Asian fisheries forum[C]. Thailand: Asian fisheries Society and Aquatic Resources Research Institute, Chulalongkorn University, 1998: 190.
[4] 王黎, 林浩然, 张为民. 不同的下丘脑肽和神经递质对鲤鱼促性腺激素和生长激素分泌活动的影响[J]. 动物学研究, 1997, 18(1): 79-84.
[5] 王黎, 林浩然, 张为民. 阿扑吗啡对 LHRH-A 促进鲤鱼 GH 和 GH 分泌的影响[J]. 中山大学学报(自然科学版), 1997, 36(1): 119-121.
[6] 王黎, 林浩然. 促黄体素释放激素类似物和多巴胺对鲤鱼幼鱼和性成熟雌鱼生长激素分泌的影响[J]. 动物学报, 1997, 43(3): 303-308.
[7] 王德寿, 林浩然, 张为民. 大鳍 脑垂体和血清生长激素水平的季节变化[J]. 水产学报, 1999, 23(1): 1-5.
[8] LI W S, LIN H R, WONG A O L, et al. Effect of gonadotropin-releasing hormone(GnRH) on growth hormone (GH) secretion and gene expression in common carp pituitary [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 2002, 132: 335-341.
[9] AGUSTISSON T, BJORNSSON B T. Growth hormone inhibits growth hormone secretion from the rainbow trout pituitary *in vitro*[J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C*, 2000, 126: 299-303.
[10] 温海深, 林浩然, 肖东. 野生鲇鱼生长激素的季节变化及其神经内分泌调控[J]. 动物学报, 2002, 48(2): 213-220.
[11] COOK H, BERKENBOSCH J W, FERNHOUT M J, et al. Demonstration of gonadotropin-releasing hormone receptors on gonadotrophs and somatotrophs of the goldfish: an electron microscope study[J]. *Regul Peptides*, 1991, 36: 369-378.

Effects of Crude LHRH-A Administration on Growth Hormone Release and Body Growth in Goldfish (*Carassius auratus*)

LONG Jin^{1,2}, LIU Xiao chun¹, XIE Jia hua³, LIN Hao ran¹

(1. Institute of Aquatic Economic Animals //Guangdong Provincial Key Lab for Aquatic Economic Animals, Sun Yat Sen University, Guangzhou 510275, China;
2. Jing Gangshan Normal University, Ji'an 343009, China;
3. Department of Biology, Quanzhou Normal University, Quanzhou 362000, China)

Abstract: The effects of LHRH-A oral administration on growth and growth hormone release were studied in goldfish. The body weight and body length increased significantly compared with the control ($P < 0.05$) while fed with coarse LHRH-A 1.00 g/kg diet for 8 weeks in goldfish. The levels of serum GH were dose dependently increased with the LHRH-A contents in diet, but had no significant difference with the control. The contents of moisture, ash, lipid and protein in goldfish muscle and liver were similar to that in the control. The results indicated that the growth could be accelerated by LHRH-A (crude product) with no significant changes in the contents of nutritious component in goldfish.

Key words: LHRH-A; growth; GH; *Carassius auratus*