

# 绒毛膜促性腺激素对草鱼排卵和卵球成熟的作用再报\*

刘元楷 张念慈 许谷星 冯阿芳 冯阿庆

(浙江省淡水水产研究所)

在草鱼的人工繁殖中,应用绒毛膜促性腺激素(HCG)催产的作用效果尚未得到统一认识,是一个亟待查明解决的问题。早些年试验已表明,一定效价和剂量的绒毛膜促性腺激素(激素II)具有良好的激发草鱼卵巢排卵和卵球成熟的作用。并在浙江省杭州地区五个鱼场(试验场)进行了推广试验,也同样获得了很好的效果。这证明草鱼和鲢、鳙鱼一样,对于绒毛膜促性腺激素的促进卵球成熟与排出之功能有着很好的反应,否定了关于这种激素对草鱼催产无效的不正确结论,但也有一些问题需要澄清和解决,主要是:(1)一般应用于鲢、鳙鱼催产的效价较低的激素,在草鱼的催产中,多数是失败的。因此,需进行系统试验,进一步肯定其结果;(2)以往对草鱼催产的试验,所用的激素产品不只一种,因此需要通过不同制备工艺所得的激素产品对草鱼催产效果的比较试验,查明其间的关系。这无论从生产实践,还是从理论探索的角度看,都是应该努力的。

在无产阶级文化大革命中,我们遵照毛主席关于“抓革命,促生产”的教导,继续用绒毛膜促性腺激素对草鱼人工催产试验。五年(1966—1970)中,共进行36次实验,使用雌草鱼166尾,获产118尾,得卵3835.9万粒,孵化鱼苗2253.4万尾,现将结果简报如下。

## 材料与方 法

一、绒毛膜促性腺激素共计有4个产品。

激素I(通常用于鲢、鳙鱼催产的激素):

- (1) 用盐酸(10%)将孕妇尿的pH值调至5.0;
- (2) 加苯甲酸酒精饱和液,搅拌,榨滤;
- (3) 滤物用酒精(95%)溶去苯甲酸,抽气过滤;
- (4) 滤物用pH4.8的醋酸盐缓冲液(0.1N)抽提,离心(3,000转/分);
- (5) 离清液加酒精(95%),使溶液的酒精浓度达85%,静置,离心或抽气过滤;

(6) 沉淀物(滤物)用无水乙醇(二次)和乙醚洗净,真空干燥。

激素II(是早年实验对草鱼催产效果良好之激

素):

(1) 激素I产品用pH4.5的醋酸盐缓冲液(1/15M,内含0.015M氯化钙和50%酒精)抽提,离心(3,000转/分);

(2) 离清液加酒精(95%),使溶液之酒精浓度达55%,离心(3,000转/分);

(3) 离清液加酒精(95%),使溶液之酒精浓度达85%,静置,离心或抽气过滤;

(4) 沉淀物或滤物由无水乙醇(二次)和乙醚洗净,真空干燥。

激素III:

(1) 同激素I的(1)—(3);

(2) 滤物用pH4.5的醋酸缓冲液(1/15M),内容0.015M氯化钙和50%酒精)抽提,离心(3,000转/分);

(3) 同激素I的(5)—(6)。

激素IV:

(1) 同激素I的(1)—(3);

(2) 滤物用pH4.8的醋酸盐缓冲液(0.1N,内含30%酒精)抽提,离心(3,000转/分);

(3) 同激素I的(5)—(6)。

用蟾蜍卵巢离体排卵的方法进行绒毛膜促性腺激素产品效价的生物检定,以“绒毛膜促性腺激素蟾蜍单位”为其计量单位,标准是:以蟾蜍脑垂体前叶激素对照,在30毫升的Ringer液中,置入约100个卵的蟾蜍卵巢小块,在温度16—18°C下,经24小时达50%排卵率的最低激素剂量,定为一个“绒毛膜促性腺激素蟾蜍单位。”

二、性成熟的池养草鱼,体长50—100厘米,体重3.0—12.0公斤,生殖腺发育良好。对照实验用之脑垂体,取自0.5—2.0公斤的鲤鱼,冬季摘取,并经丙酮脱水保存。激素和鲤鱼脑垂体用Ringer液制剂。亲鱼

\* 杭州市水产试验场在激素提纯实验方面给予宝贵支持和密切协作。苗种组和试验场不少同志先后参加过这项工作。

腹腔注射,按预定剂量一次注足。用自行产卵或人工授精的方法检查催产亲鱼的成熟、排卵的效果。鱼卵孵化采用喷水或长漏斗形钢丝网水泥孵化缸(容水量约0.25立方,可放卵40—50万粒),室内孵化。

## 实验结果和讨论

一、不同制备工艺之绒毛膜促性腺激素的效价和提取量。

1965—1966年间进行的多次激素提取比较实验的结果表明,在 Claesson 修改法和 Got 法基础上进行提取的4个激素产品,尽管可能由于孕妇尿的质量及操作技术等条件的不同而在其产品效价上有一定的变化幅度,但它们均可能达到或接近激素 II 产品的效价(以往实验中,效价为1.0—2.0 螭鲈单位/毫克)的激素 II 对草鱼有良好的催产效果。可知,为了达到这个效价,从激素 I 再提纯为激素 II 的工艺过程是并非一定需要的。现将我们在激素提取比较实验中几个不同制备工艺的激素产品的效价和提取量关系简列表 1 比较。

表 1 不同制备工艺之绒毛膜促性腺激素产品的效价和提取量

项目	激素 I	激素 II	激素 III	激素 IV
效价 (螭鲈单位/毫克)	0.2—2.0	0.5—2.0	1.33—2.0	0.5—1.0
提取量 (相对关系)	++++	+	++	+++

二、不同制备工艺、效价和剂量之绒毛膜促性腺激素对草鱼卵巢排卵和卵球成熟的作用。

(一)产卵率 在222尾雌草鱼中,用于激素催产效果比较实验的共166尾。4个不同制备工艺的激素产品(激素 I—IV)均得到良好的催产效果。166尾催产雌鱼中有排卵反应者118尾,产卵率为71.1%,其中得到良好排卵效果(全产和部分产)的有84尾,占50.6%。激素 I 有4种效价的产品,注射雌鱼117尾;激素 II 有2种效价的产品,注射雌鱼28尾;激素 III 仅有效价1.33 螭鲈单位/毫克的一种产品,共注射雌鱼6尾;激素 IV 也仅有一种效价之产品,共注射雌鱼15尾。注射鲤垂体作对照的雌鱼共56尾,有排卵反应者42尾,产卵率为75%,其中得到良好排卵效果的有32尾,占57%(表2)。

从上述实验结果,可得概念:(1)在 Claesson 修改法及 Got 法基础上进行提制的4种不同工艺的绒毛膜促性腺激素产品(激素 I、II、III、IV),只要注射足够剂量,都可促使性成熟的雌性草鱼良好地排卵,其作用效果为优劣与激素的制备工艺没有直接关系,在实验所用激素产品的效价范围内,不同效价产品之催产效果

也无明显差异。(2)关于绒毛膜促性腺激素对草鱼催产的有效剂量,以高于20 螭鲈单位/公斤的各组获得较好的催产效果,而剂量为20 螭鲈单位/公斤的各组效果大都不佳以及我们早年的草鱼催产实验中所用的剂量低于20 螭鲈单位/公斤均未获产的结果,可以推断,绒毛膜促性腺激素对草鱼进行催产的最低有效剂量大约为20 螭鲈单位/公斤左右。

(二)产卵量和卵球质量 统计84尾用不同制备工艺、效价及剂量之绒毛膜促性腺激素催产而得到良好排卵效果(全产和部分产)的草鱼产卵量,平均为45.6万粒/尾(或5.9万粒/公斤),32尾草鱼用鲤垂体催产也得到良好排卵效果,平均产卵量是37.5万粒/尾(或4.04万粒/公斤)(表3)。这些数据同我们过去所得的结果一样,说明绒毛膜促性腺激素对草鱼排卵的作用是良好的。鉴于催产实验时间较长(1966—1970),次数较多(36次),各次催产用的材料鱼规格、卵巢和卵球发育程度不尽一致以及进行了各种效价和剂量的比较实验等等因素所带来的影响,不同制备工艺所得到的各个激素产品在促使草鱼产卵的产卵量上所出现的差别(激素 I,平均产卵量6.8万粒/公斤;激素 II,平均产卵量4.3万粒/公斤;激素 III,平均产卵量0.8万粒/公斤;激素 IV,平均产卵量6.9万粒/公斤),究竟反映了什么,目前也难给予肯定。不过有一现象值得提及,即多年来我们本所或在所外鱼场的草鱼人工催产实践中,用激素催产所得的草鱼平均产卵量一般都较用鲤脑垂体催产所得的草鱼平均产卵量为高,这一现象值得探讨。

至于由绒毛膜促性腺激素激发排出卵球之成熟程度和发育能力,从表3所反映的各个激素产品激发排出的草鱼卵球孵化结果,则进一步说明,用不同制备工艺提取的各个激素产品催产所激发排出的草鱼卵球与用脑垂体催产所激发排出的草鱼卵球一样,均可以良好地受精、胚胎发育和孵出幼鱼。

三、作用时间 归纳各次催产实验结果可知,使用绒毛膜促性腺激素对草鱼进行催产,剂量20—70 螭鲈单位/公斤,水温21—29℃,激发卵巢排卵的效应时间为9—20小时左右,与激素产品的制备工艺无大关系;倘使用鲤脑垂体催产,剂量2—3个/公斤,在上述温度条件下,其作用时间则大致为9—13小时左右(图1)。此外,若进一步分析历年的实验数据,还可得出如下概念,激发草鱼排卵的作用时间的影响因素很多,除与亲鱼卵巢及卵球发育程度密切相关外,催产时的水温、催产剂的种类和剂量的影响也是显著的。一般地说,在有效剂量范围内,剂量高作用时间快;而在适温范围内,温度越高作用时间则越快。至于不同的催产剂的作用时间,在实验所曾使用的剂量范围内,鲤脑垂体的作用时间快于绒毛膜促性腺激素,而且在适温范围内,温度越低其差距就越明显。

表2 不同制备工艺之绒毛膜促性腺激素产品与鲤鱼垂体对草鱼催产后亲鱼的产卵率

催产剂种类	产品名称	效价 (毫克单位/毫克)	剂 量		催产鱼数 (尾)	排 卵 鱼 数 和 百 分 比						未排卵鱼数和百分比		
			毫克/公斤	毫克单位/公斤		全产和部分产		有排卵反应		小 计		尾	%	
						尾	%	尾	%	尾	%			
														尾
绒 毛 膜 促 性 腺 激 素	I	1.33	20.0	26.7	13	9	69.3	0	0	9	69.3	4	30.7	
			30.0	40.0	23	10	43.4	2	8.7	12	52.1	11	47.8	
			40.0	53.3	10	5	50.0	3	30.0	8	80.0	2	20.0	
		小 计		46	24	52.1	5	10.9	29	63.0	17	37.0		
		1.0	20.0	20.0	6	0	0	1	16.7	1	16.7	5	83.3	
			25.0	25.0	6	1	16.7	4	66.7	5	83.3	1	16.7	
			30.0	30.0	10	3	30.0	5	50.0	8	80.0	2	20.0	
	40.0		40.0	7	4	57.1	1	14.3	5	71.4	2	28.6		
	70.0		70.0	1	1	100	0	0	1	100	0	0		
	小 计		30	9	30.0	11	36.7	20	66.7	10	33.3			
	0.5	40.0	20.0	2	0	0	0	0	0	0	2	100		
		50.0	25.0	28	17	60.7	2	7.1	19	67.8	9	32.2		
		60.0	30.0	6	3	50.0	2	33.3	5	83.3	1	16.7		
	小 计		36	20	55.6	4	11.1	24	66.7	12	33.3			
0.2	150.0	30.0	5	2	40.0	3	60.0	5	100	0	0			
合 计		117	55	47.0	23	19.7	78	66.7	29	33.3				
II	1.33	16.0	21.3	3	1	33.3	1	33.3	2	66.7	1	33.3		
		20.0	26.7	16	10	62.5	4	23.0	14	87.5	2	12.3		
		小 计		19	11	57.9	5	26.3	16	84.2	3	15.8		
	0.5	40.0	20.0	3	3	100	0	0	3	100	0	0		
		50.0	25.0	3	3	100	0	0	3	100	0	0		
60.0		30.0	3	3	100	0	0	3	100	0	0			
小 计		9	9	100	0	0	9	100	0	0				
合 计		28	20	71.4	5	17.9	25	89.3	3	10.7				
III	1.33	20.0	26.7	1	0	0	1	100	1	100	0	0		
		30.0	40.0	1	0	0	1	100	1	100	0	0		
		40.0	53.3	4	3	75.0	0	0	3	75.0	1	25.0		
合 计		6	3	50.0	2	33.2	5	83.3	1	16.7				
IV	1.0	20.0	20.0	3	0	0	3	100	3	100	0	0		
		30.0	30.0	6	3	50.0	0	0	3	100	3	50.0		
		40.0	40.0	6	3	50.0	1	16.7	4	67.7	2	33.3		
合 计		15	6	40.0	4	26.7	10	66.7	5	33.3				
总 计		166	84	50.6	34	20.5	118	71.1	48	28.9				
鲤垂体		2—3个/公斤	56	32	57.2	10	17.9	42	75.0	14	25.0			

表3 不同制备工艺之绒毛膜促性腺激素产品和鲤鱼垂体对草鱼催产后亲鱼的产卵量及产出卵球的受精和发育能力的比较

催产剂种类	产品名称	效价 (鳙鲮单位/ 毫克)	剂量 (鳙鲮单位/ 公斤)	产卵鱼数 (尾)	产卵鱼体重 (公斤)	产卵量 (万粒)	平均产卵量		孵化鱼苗数 (万尾)	成活率* (%)
							万粒/尾	万粒/公斤		
绒毛膜促性腺激素	I	1.33	26.7	9	25.0	104.5	11.6	4.18	59.2	56.5
			40.0	10	95.9	744.7	74.5	7.8	424.5	57.0
			53.3	5	19.5	108.0	21.6	5.5	89.6	83.9
		小计	24	140.4	957.2	39.8	6.8	573.7	59.8	
	II	1.0	25.0	1	6.8	10.0	10.0	1.47	8.0	80.0
			30.0	3	24.8	131.3	43.7	5.28	101.0	77.0
			40.0	4	47.8	370.2	92.5	8.45	167.3	45.2
		70.0	1	7.0	8.0	8.0	1.1	6.4	80.0	
	小计	9	82.4	519.5	57.8	6.3	282.7	54.5		
	III	0.5	25.0	17	144.2	1217.6	71.6	8.44	780.7	64.2
			30.0	3	31.0	135.0	45.0	4.36	80.5	59.6
			小计	20	175.2	1352.6	67.6	7.7	861.2	63.5
0.2		30.0	2	22.0	35.0	17.5	1.6	8.3	23.7	
合计	55	420.0	2864.3	52.1	6.82	1725.5	60.3			
IV	1.33	21.3	1	8.0	40.0	40.0	5.0	26.8	67.0	
		26.7	10	89.0	450.7	45.1	5.05	261.3	58.0	
		小计	11	97.0	490.7	44.7	5.05	288.1	58.7	
	0.5	20.0	3	10.5	40.0	13.3	3.8	26.5	66.0	
		25.0	3	11.0	44.0	14.7	4.0	29.0	65.9	
		30.0	3	25.0	45.0	15.0	1.8	0	0	
小计	9	46.5	129.0	14.3	2.8	39.5	30.6			
合计	20	143.5	619.7	31.0	4.3	327.5	52.7			
IV	1.33	53.3	3	40.0	31.1	10.4	0.8	29.0	93.5	
IV	1.0	30.0	3	24.0	172.0	57.4	7.17	102.7	59.7	
		40.0	3	22.5	148.8	49.4	6.5	68.7	46.3	
合计	6	43.5	320.8	53.4	6.9	171.4	53.4			
总计	84	650.3	3835.9	45.6	5.9	2253.4	58.7			
鲤鱼垂体		2-3 个/公斤	32	297.5	1203.0	37.5	4.04	822.3	68.4	

\* 成活率指孵出的鱼苗数与产卵量之比

## 总 结

一、绒毛膜促性腺激素(I、II、III、IV)，均能良好地促使性成熟的池养草鱼卵巢排印和卵球成熟，产出的卵球均能正常地受精和孵化发育；激素的制备工艺与其对草鱼催产的作用效果无大关系。

二、使用绒毛膜促性腺激素对草鱼催产，激素产

品的效价不是一个严格的因素，和鲢鳙相比，基本上只是它们的最低有效剂量的高低不同而已。只要剂量适当，各种效价之产品都可能获得良好的效果。但使用效价很低的激素，其注射量必然增加，从而带入许多杂质，会产生不良的影响。因此，不提倡使用效价过低的激素产品。对草鱼催产的最低有效剂量为20鳙鲮单位/公斤左右，最适剂量以25鳙鲮单位/公斤左右为

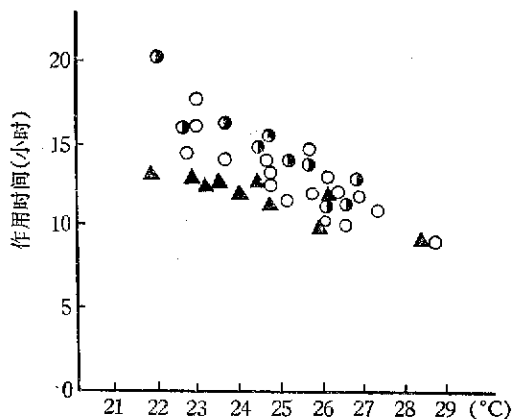


图1 绒毛膜促性腺激素和鲤垂体激发草鱼产卵的作用时间

- 绒毛膜促性腺激素 (剂量 20—26.7 鲮鲮单位/公斤)
- 绒毛膜促性腺激素 (剂量 30—40.0 鲮鲮单位/公斤)
- ▲ 鲤垂体 (剂量 2—3 个/公斤)

宜,远较鲢、鳙之最低有效剂量为高。可知我们以往工作中激素 I 和激素 II 在促使草鱼产卵上出现的效果不同,不是两个激素产品效能上的绝对差异,其原因除了实验条件(包括实验的质量)等因素外,当系激素注射剂量不当所致。

三、只要操作严谨,几个绒毛膜促性腺激素产品(激素 I—IV)的效价均能达到 1.0—2.0 鲮鲮单位/毫克;而不同制备工艺之激素产品的提取量不尽相同,其中以激素 I 的提取法为优。因此,制备鱼用绒毛膜促性腺激素,采用 Claesson 修改法还是可取的。

四、绒毛膜促性腺激素来自孕妇尿,成本低,提制不难,可以有计划生产。使用激素催产,效果良好,使用简便,可以作为草鱼人工繁殖的催产剂,进行鱼苗生产,鲤鱼资源少的地区尤为可取。但和鲢、鳙鱼相比较,在草鱼上用激素催产的剂量较大,因此成本较高,则是待解决的问题。