

大鲵尿液性激素水平季节变化及其与繁殖的关系

邹忠义¹, 王海文¹, 欧东升², 何望¹

(1. 湖南省水产科学研究所, 湖南长沙 410153; 2. 湖南省大鲵救护中心, 湖南张家界 427000)

摘要:2004-2005年检测和分析了大鲵(*Andrias davidianus*)尿液中睾酮(TT)和雌二醇(E₂)水平的季节性变化、性激素水平季节性变化规律及其与繁殖的关系。结果表明,雌二醇含量呈年度周期性变化,表现为生殖季节前逐渐达到顶峰,繁殖期过后逐渐降低至正常值,呈抛物线变化;7月8日达到峰值,最小值出现在3月初。当雌性个体雌二醇水平高于946.45 pg/mL,雄性个体睾酮含量高于0.2954 ng/mL,适时催产可促使雌鲵产卵和雄鲵排精,且精卵质量好;低于此值,一般不能产卵或排精。

关键词:大鲵;尿液;季节变化;繁殖

中图分类号:Q175 **文献标志码:**A **文章编号:**1674-3075(2012)03-0128-04

大鲵(*Andrias davidianus*)俗称娃娃鱼,属两栖纲(Amphibia)、有尾目(Caudata)、隐腮鲵科(Cryptobranchidae),是当今世界上最大的珍稀两栖动物,经济价值极高。目前,大鲵的人工繁殖率较低,在其人工繁殖工作中,亲本成熟状况的掌握是一个关键环节;对此,阳爱生等(1981)进行了大鲵性腺发育的组织学观察,杨焱清等(2003)采用彩色多普勒仪观测雌鲵卵径的大小来检验其性腺发育进程,这些研究为探索大鲵成熟状况提供了一定的理论基础,但也存在着局限性,如对亲本造成伤害、检测准确度不够等。睾酮(TT)和雌二醇(E₂)是动物体内2种固有的性激素,其作用是调节动物的生长发育和生殖行为,对于确定动物成熟度十分关键(汪小东等,2000;邓利等,2001;张利红等,2001;何正侃等,2003)。本研究通过检测大鲵体内睾酮和雌二醇含量的变化,旨在探索大鲵成熟状况的有效检测方法,为其规模化繁殖奠定理论基础。

1 材料和方法

1.1 材料选取

试验大鲵于1998-2000年取自湖南、湖北、陕西、四川等地,饲养于湖南省大鲵救护中心室内水泥

池,单池面积0.8~1.2 m²,池高0.7 m,水深0.2 m左右,按1池1鲵的原则饲养。水温5~23℃。饲料为鱼块、活鲫等。

1.2 检测步骤

在上述饲养大鲵中选取有繁育史的2尾体重分别为3.6 kg(记为A)和12.0 kg(记为B)的雌体进行周年检测,其中1尾催产,1尾不催产,检测雌二醇(E₂)含量的变化。依个体检测情况随机抽取雌雄大鲵各10尾进行E₂和睾酮(TT)峰值检测(7月中下旬),随后进行人工催产,由催产效果来验证;并对抽检的雌雄大鲵各留1尾不做人工催产,到8月下旬再和已做检测并进行了人工催产的雌雄大鲵各1尾同步检测,跟踪观察其E₂和TT的变化。对有雄性副性征的雌体,在检测E₂的同时,检测其TT含量。

1.3 尿样采集

于6:00~7:00采集尿样。操作时使大鲵腹部朝上,然后用毛巾擦干泄殖孔周围的水,再用去掉针头的10 mL注射器插入泄殖孔内1.0 cm深处,同时用手轻轻挤压大鲵的腹部,吸取尿液,及时置保温盒中加冰冷藏,当天送至湖南省儿童医院核医学科检测。

1.4 性激素检测

尿样性激素(E₂和TT)检测采用全自动化学发光免疫法,仪器为美国贝克曼公司生产的ACCESS全自动微粒子化学发光免疫分析仪(型号:81600)。试剂由该公司生产的全自动微粒子化学发光专用试剂盒,批内、批间变异系数均<5%;所有检测均严格按照仪器操作规程和试剂说明书进行。

收稿日期:2012-04-16

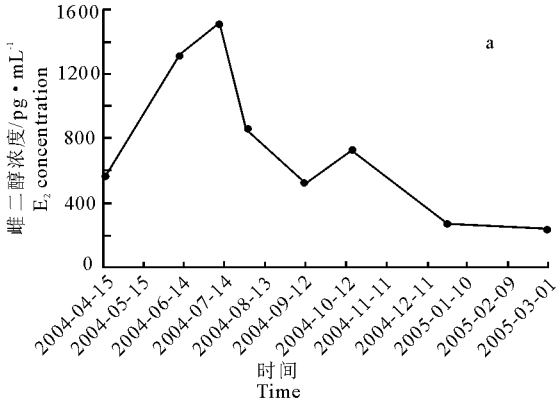
基金项目:国家“十一五”科技支撑计划子专题(2006BAD03B08-05);湖南省科技计划项目(2006NK3127);湖南省农业科技重点项目(2003-2-37)。

作者简介:邹忠义,1964年生,男,助理研究员,主要从事水产养殖及渔业生态环境保护研究。E-mail: zou_zhongyi0526@yahoo.com

2 结果与分析

2.1 雌二醇(E_2)的周年变化

大鲵A尿液中 E_2 含量的周年变幅为239.12~1 505.37 pg/mL,平均值为748.28 pg/mL。峰值期出现在7月8日,低值期为3月9日。周年变化情



况见图1-a。

大鲵B尿液中 E_2 含量的周年变幅为169.73~1 177.09 pg/mL,平均值为456.46 pg/mL。峰值出现在7月8日,低值期为3月9日。周年变化情况见图1-b。该鲵于8月8日进行人工催产并产卵,其 E_2 含量变化趋势仍与未催产的大鲵A相同。

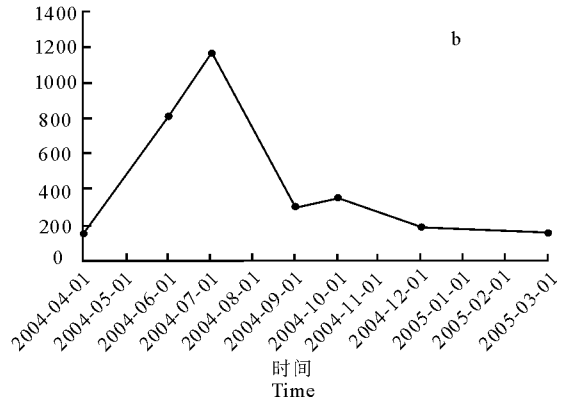


图1 大鲵尿液中雌二醇浓度的周年变化

Fig. 1 Annual change of E_2 concentration in *Andrias davidianus* females

2.2 雌二醇(E_2)峰值检测

2005年7月11日进行第一次检测, E_2 含量为273.65~1 697.19 pg/mL,平均值为718.21 pg/mL;2005年7月29日进行第二次检测, E_2 含量为265.47~2 128.85 pg/mL,平均值为946.21 pg/mL;催产时间为2005年8月9日。检测结果详见表1。

表1 雌性大鲵尿液中雌二醇(E_2)含量检测

Tab. 1 E_2 concentration in urine of *Andrias davidianus* females

池号	体重/kg	第一次检测值/ $pg \cdot mL^{-1}$	第二次检测值/ $pg \cdot mL^{-1}$	E_2 均值/ $pg \cdot mL^{-1}$	产卵数/粒	卵质情况
A ₂₋₉	7.65	1187.48	946.45	1066.97	1000	一般
A ₁₋₁₅	5.80	831.63	漏检	831.63	600	一般
B ₁₋₇	15.80	823.46	2128.85	1476.16	800	好
D ₁₋₃	4.55	273.65	560.58	417.12	未催	/
D ₂₋₂	8.40	679.37	707.24	693.31	未产	/
B ₁₋₅	3.05	313.28	423.18	368.23	未产	/
A ₂₋₁₁	6.30	1697.19	2012.76	1854.98	700	好
D ₁₋₉	6.65	665.55	1103.29	884.42	500	一般
D ₂₋₄	12.90	318.49	265.47	291.98	未产	/
B ₁₋₈	4.10	392.00	368.07	380.04	未产	/

2.3 睾酮(TT)峰值检测

2005年7月11日进行第一次检测,TT含量为0.1044~0.3169 ng/mL,平均值为0.2415 ng/mL;2005年7月29日进行第二次检测,TT含量为0.0140~0.7077 ng/mL,平均值为0.2120 ng/mL。催产时间为2005年8月8日。检测结果详见表2。

表2 雄性大鲵尿液中睾酮(TT)含量检测

Tab. 2 Testosterone concentration in urine of *Andrias davidianus* males

池号	体重/kg	第一次检测值/ $ng \cdot mL^{-1}$	第二次检测值/ $ng \cdot mL^{-1}$	TT均值/ $ng \cdot mL^{-1}$	催产情况
C ₂₋₃	8.70	0.2726	0.0140	0.1433	产精多,活力强
C ₁₋₉	10.75	0.2011	0.1469	0.1740	未产
A ₂₋₁₀	12.10	0.3169	0.2766	0.2968	未产
C ₂₋₁₀	7.75	0.1044	0.0000	0.0522	未产
A ₂₋₁₅	4.40	0.2251	0.4927	0.3589	产精多,活力差
C ₁₋₅	6.70	0.2549	0.1500	0.2025	未产
C ₁₋₁₅	6.75	0.2157	0.0000	0.1079	未产
A ₁₋₇	5.90	0.2623	0.7077	0.4850	产精多,活力强
A ₂₋₃	6.65	0.2749	0.2954	0.2852	产精多,活力强
A ₂₋₂	4.60	0.2869	0.0365	0.1617	未催

2.4 具有雄性副性征的雌体TT检测结果

具有雄性副性征的雌性大鲵体内均可检测出睾酮(TT)含量,而不具雄性副性征的雌鲵则未检测到睾酮含量,说明睾酮含量对于雌鲵雄性副性征的形成具有决定作用。2005年7月11日的检测结果见表3。催产时间为2005年8月9日。

2.5 人工催产与不催产大鲵性激素含量比较

人工催产与不催产大鲵 E_2 和TT含量比较结果见表4。从表4可以看出,大鲵性激素水平达峰值期后,不论是否进行人工催产,也不论是否产卵产精,雌二醇和睾酮含量均呈下降趋势。显示大鲵的性腺发育具有一个相对固定的生殖生理过程,受外界的影响较小。

表3 具雄性副性征的雌体 TT 含量

Tab.3 Testosterone concentration of *Andrias davidianus* females with secondary sex characters of males

池号	体重/ kg	TT 含量/ ng · mL ⁻¹	产卵 情况	雄性 副性征
D ₁₋₃	4.55	0.1237	未产(2004年产)	有
D ₁₋₉	6.55	0.1257	500粒,卵质一般	有
D ₁₋₈	4.10	0.0000	未产(2004年产)	无
A ₂₋₁₁	6.30	0.0000	700粒,卵质好	无

3 讨论

3.1 雌二醇含量与季节变化

本次研究结果显示,大鲵尿液中雌二醇含量呈

表4 人工催产与不催产大鲵性激素含量比较

Tab.4 Sex hormone concentration of *Andrias davidianus* with or without artificial induced breeding scheme

池号	性别	体重/ kg	检测 时间	E ₂ 含量/ pg · mL ⁻¹	TT 含量/ ng · mL ⁻¹	催产 情况	催产 时间	繁殖 情况
B ₁₋₇	♀	12.00	2004-06-10	818.01	未检测	人工催产	2004-08-08	800粒, 卵质好
			2004-07-08	1177.09				
			2004-09-10	304.73				
B ₁₋₇	♀	15.80	2005-07-11	823.46	未检测	人工催产	2005-08-09	700粒, 卵质好
			2005-07-29	2128.85				
			2005-08-22	721.28				
D ₁₋₃	♀	3.60	2004-06-10	1306.58	未检测	未催产	/	/
			2004-07-08	1505.37				
			2004-07-30	855.24				
			2004-09-10	521.08				
D ₁₋₃	♀	4.55	2005-07-11	273.65	未检测	未催产	/	/
			2005-07-29	560.58				
			2005-08-22	274.49				
A ₂₋₃	♂	6.65	2005-07-11	0.2749	0.2954 0.0638	人工催产	2005-08-08	产精好
			2005-07-29	未检测				
			2005-08-22	未检测				
A ₂₋₂	♂	4.60	2005-07-11	0.2869	0.0365 0.0107	未催产	/	/
			2005-07-29	未检测				
			2005-08-22	未检测				

大鲵雌二醇和睾酮含量达峰值期后,不论是否进行人工催产,也不论是否产卵产精,雌二醇和睾酮含量均呈下降趋势;这就不难看出,大鲵性腺发育是一个从生长发育到逐渐成熟,成熟后再退化,次年再生长发育这样一个相对固定、周而复始的生殖生理过程,达到性腺成熟的高峰是7月中下旬。

3.2 雌二醇和睾酮含量与人工催产效果

本研究中性激素峰值检测与人工催产效果表明,当雌性个体的雌二醇含量大于946.45 pg/mL时(表1),在外来激素的作用下,均可产卵,低于此值则不能产卵,由此证明雌性的性成熟 E₂ 临界点为946.45 pg/mL。值得指出的是,当 E₂ 含量大于946.45 pg/mL时,若其含量继续上升,适时催产不但催产效果好,且受精率高,若 E₂ 含量从最高点迅速

周期性变化,表现为生殖季节前逐渐达到高峰,繁殖期过后逐渐降低至正常值,基本呈抛物线变化,峰值在7月8日,低值在3月初;此结果与阳爱生等(1981)、杨焱清等(2003)、肖汉兵等(1995)的研究结论基本一致。需要指出的是,雌二醇含量在10月中旬有小幅度上升,出现“小阳春”现象,这和鲤(*Cyprinus carpio*)等鱼类体内性激素含量繁殖前升高、繁殖期过后降低,至秋季再度回升结果相似(刘筠,1993);说明大鲵虽属水陆两栖类过渡动物,但生活环境以水为主,其体内性激素含量季节变化与鱼类具有相似之处。

下降,虽能产卵,但大多产卵不顺利,卵质泛黄,胶膜稀软、发粘,受精率不高,甚至不能受精。因样本数量有限,受精率的高低与雌二醇含量增降速率的关系未作数理统计分析,但人工催产试验表明呈正相关关系。雄性睾酮含量大于0.2954 ng/mL时(表4),在外来激素的作用下均可产精,但试验中有1尾雄性体重8.7 kg,7月11日检测其 TT 含量为0.2762 ng/mL,7月29日检测 TT 含量下降到0.014 ng/mL,8月8日人工催产,不但产精,且精多、量足、活力强。笔者认为有2种可能性:①因该养殖场部分亲本发病,在防病治病过程中导致试验鲵错位;②因雄性个体睾酮变化幅度较大,在雄性大鲵中具有个体差异性。尽管如此,从大多数雄性个体的检测结果可得出结论,雄鲵的性成熟睾酮含量

临界点为 0.2954 ng/mL。本研究还发现,雄性睾酮含量的变化不如雌性雌二醇含量变化平稳,增速快、下降也快,这可能与雄性生理特性有关,体内性激素含量易受外部环境条件的影响而产生波动,也可能是雄性本身发育较雌性早,在夏季高水温(23~25℃)条件下,由于水温的影响造成大鲵精巢成熟后的等待期缩短、退化迅速有关,此现象尚有待进一步的研究。大鲵人工催产试验还表明,催产后雄性大鲵在 23~25℃水温条件下,效应期过后能采到成熟精子的时间为 1~3 d,而将其移置水温为 16~18℃环境条件下饲养,能采得成熟精子的时间可延长至 8~10 d。因此,为确保大鲵人工繁殖成功,夏季水温应尽量控制在 20℃以下为宜。

3.3 睾酮含量与副性征

副性征是生物体在繁殖期所表现出来的特有症状,雄性大鲵的副性征是生殖孔内缘两侧有 10 余粒白色小突起,成熟良好时,多数在生殖孔周围出现“桔瓣状”肌肉隆起圈。本研究结果表明,凡具有雄性副性征的个体均能检测到 TT 值;不论雌雄,副性征越明显,TT 值越高,有些雌鲵外观具有雄性副性征,如 D₁₋₃和 D₁₋₉,7 月 11 日作 TT 值检测,其含量分别为 0.1237 ng/mL 和 0.1257 ng/mL,而不具雄性副性征的雌性个体,如 D₁₋₈和 A₂₋₁₁,则检测不到

TT 值,这说明大鲵体内睾酮含量与体表雄性副性征相一致,睾酮能促进雄性副性征的产生。

参考文献

- 邓利,张为民,林浩然,等. 2001. 黑鲟生长激素及其受体的季节变化[J]. 水产学报,25(3):203-208.
- 何正侃,戚隽渊,肖雨,等. 2003. 黄鳍体内睾酮、雌二醇和炔诺酮含量的检测分析[J]. 水产科技情报,30(2):58-61.
- 刘筠. 1993. 中国养殖鱼类繁殖生理学[M]. 北京:农业出版社:93-97.
- 汪小东,林浩然,谢刚. 2000. 鲤脑垂体匀浆液和人绒毛膜促性腺激素混合注射对鳊鲮脑区促性腺激素释放激素和血清促性腺激素及性类固醇激素含量的影响[J]. 水产学报,24(2):123-129.
- 肖汉兵,刘鉴毅,林锡芝,等. 1995. 养殖条件下大鲵性腺周年变化的研究[J]. 淡水渔业,25(3):9-11.
- 阳爱生,卞伟,刘运清. 1981. 大鲵性腺发育的组织学观察[J]. 动物学报,(3):240-246.
- 杨焱清,肖汉兵,张云辉. 2003. 雌性大鲵性腺发育活体观测[J]. 淡水渔业,33(4):23-24.
- 张利红,张为民,林浩然. 2001. 雄烯二酮和甲基睾酮对日本鳊血清睾酮和 17β-雌二醇含量的影响[J]. 水产学报,25(2):107-111.

(责任编辑 万月华)

Seasonal Changes of Sexual Hormone Level in *Andrias davidianus* Urinarys and Its Relationship with Breeding

ZOU Zhong-yi¹, WANG Hai-wen¹, OU Dong-sheng², HE Wang¹

(1. Hunan Fisheries Scientific Reseach Institute, Changsha 410153, P. R. China;

2. Hunan Giant Salamander Protection Center, Zhangjiajie 427000, P. R. China)

Abstract: This study tested the urinary estradiol (E₂) and testosterone(TT) levels in *Andrias davidianus* to probe the seasonal changes pattern of sexual hormone level and analyze the relationship between hormone level and breeding. The results showed a periodical seasonal change of estradiol level which gradually reached maximum when the reproductive season was coming, and decreased to normal level after breeding. The maximal level appeared on July 8, and the minimum concentration was found in the beginning of March. The sexual hormone kept increasing when E₂ concentration in female was above 946.45 pg/mL and TT level in males was above 0.2945 ng/mL, when an artificial induced breeding could be performed to make females spawning and males releasing sperms with good quality, otherwise the animals usually could not breed successfully.

Key words: *Andrias davidianus*; urine; seasonal change; breeding