

性信息素诱发中华乌塘鳢 (*Bostrichthys sinensis*) 产卵的应用研究*

洪万树 张其永 陈仕玺 马细兰 郑微云

(厦门大学海洋与环境学院 厦门 361005)

提要 以人工合成的 17α -羟孕酮 (17α -P)、 17α , 20β -双羟孕酮 (17α , 20β -P)、前列腺素 E_2 (PGE_2) 和前列腺素 $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) 作为性信息素, 吊挂在陶瓷管道内诱发性成熟野生和养殖中华乌塘鳢产卵, 以陶瓷管道产卵率、总产卵量和平均受精率为指标, 比较了两者的产卵效应, 测定了产卵水和生活水 (未产卵水) 中 PGE_2 和 $PGF_{2\alpha}$ 的含量以及性腺提取液中 17α -P、 PGE_2 和 $PGF_{2\alpha}$ 的含量。结果表明, 性信息素能明显提高诱发中华乌塘鳢的产卵效应。在同等实验条件下, 诱发野生鱼的产卵效应优于养殖鱼。野生鱼和养殖鱼产卵水中的 PGE_2 和 $PGF_{2\alpha}$ 水平分别高于生活水中的, 野生鱼和养殖鱼产卵水中的 PGE_2 水平均极显著高于 $PGF_{2\alpha}$ ($P < 0.01$)。 PGE_2 在卵巢、精巢和贮精囊提取液中的含量, 野生鱼均高于养殖鱼。

关键词 中华乌塘鳢, 性信息素, 性类固醇激素, 前列腺素, 诱发产卵

中图分类号 Q492

中华乌塘鳢 (*Bostrichthys sinensis*) 属塘鳢科 (Eleotridae), 产于南海、台湾海峡和东海 (孟庆闻等, 1995), 栖息于沿海潮间带滩涂, 营穴居生活, 繁殖季节性成熟雌、雄鱼择偶配对进入洞穴内交配产卵 (张健东等, 2001)。根据其生殖特性, 在人工繁殖过程中多数采用人工鱼巢诱导其交配产卵 (李生等, 1999), 但可能由于雌、雄亲鱼产卵和排精不同步, 成熟卵的受精率很低。国外的研究结果初步表明, 鱼类性信息素对成熟雌、雄个体间的求偶配对以及对促进生殖同步有着重要的作用 (王德寿等, 2000 Kobayashi *et al.*, 2002 Van den Hurk *et al.*, 1992)。

作者以前的研究结果表明, 中华乌塘鳢的卵巢、精巢和贮精囊提取液中含有 17α -羟孕酮 (17α -P)、前列腺素 E_2 (PGE_2) 和前列腺素 $F_{2\alpha}$ ($PGF_{2\alpha}$) (赵卫红等, 2004), 这些提取液具有吸引性成熟中华乌塘鳢的作用, 其中卵巢提取液对吸引性成熟雄鱼进入人工鱼巢的作用大于性成熟雌鱼, 而精巢和贮精囊提取液对吸引性成熟雌鱼进入人工鱼巢的作用则大于性成熟雄鱼 (洪万树

等, 2004)。嗅电图 (EOG) 的研究结果进一步表明, 性成熟中华乌塘鳢嗅上皮对 17α -P、 17α , 20β -双羟孕酮 (17α , 20β -P)、 PGE_2 和 $PGF_{2\alpha}$ 的刺激均具有敏感性, 而且卵巢提取液刺激所引起的平均 EOG 值, 雄鱼高于雌鱼, 而精巢和贮精囊提取液刺激所引起的平均 EOG 值则是雌鱼高于雄鱼 (马细兰等, 2003)。作者又以性成熟中华乌塘鳢的卵巢、精巢和贮精囊提取液以及人工合成的 17α -P、 17α , 20β -P、 PGE_2 和 $PGF_{2\alpha}$ 诱发中华乌塘鳢养殖鱼产卵, 取得了初步结果 (洪万树等, 2004)。上述研究表明 17α -P、 17α , 20β -P、 PGE_2 和 $PGF_{2\alpha}$ 可能是中华乌塘鳢的性信息素。为了探明贮精囊上皮细胞的分泌机制, 作者研究了雄性中华乌塘鳢贮精囊的形态结构与功能 (张其永等, 2004)。

本文中采用隔离吊挂的实验方法, 以人工合成的 17α -P、 17α , 20β -P、 PGE_2 和 $PGF_{2\alpha}$ 作为性信息素, 选用野生和养殖两种不同生态环境的中华乌塘鳢, 以陶瓷管道产卵率、总产卵量和平均受精率为指标, 研究性信息素对诱发中华乌塘鳢的

* 国家自然科学基金资助项目, 40476056 号、30170739 号。洪万树, 博士, 教授, E-mail: wshong@jingxian.xmu.edu.cn

收稿日期: 2005-04-18 收修改稿日期: 2005-10-09

产卵效应,并通过测定产卵水和生活水中 PGE_2 和 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 的含量,进一步探讨性信息素在中华乌塘鳢生殖中的作用。文中还比较了野生鱼和养殖鱼性腺(卵巢、精巢和贮精囊)提取液中 $17\alpha\text{-P}$ 、 PGE_2 和 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 的含量,以查明诱发野生鱼和养殖鱼产卵效应差异的原因。

1 材料与方法

1.1 实验鱼

野生中华乌塘鳢 (*Bostrichthys sinensis*) 采自福建省九龙江口潮间带滩涂,养殖中华乌塘鳢取自福建省东山县养殖池塘,选择健壮活泼、性腺发育至第 期的个体作为亲鱼。野生鱼体长 10.5—19.3 cm,体重 20.2—139.0 g 养殖鱼体长 11.7—17.4 cm,体重 62.9—151.6 g 均为 1 龄鱼。

1.2 试剂药品

$17\alpha\text{-P}$ 、 17α 、 $20\beta\text{-P}$ 、 PGE_2 和 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 均为美国 Sigma 公司产品, PGE_2 和 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 酶联免疫试剂盒为美国 Cayman 化学公司产品, $17\alpha\text{-P}$ 酶联免疫试剂盒为美国 Diagnostic Systems Laboratories 产品, HCG 和 IHRH- A_3 为宁波市激素制品有限公司产品。

1.3 实验方法

采用长方形塑料箱(长 81 cm × 宽 58 cm × 高 45 cm)为诱发产卵实验容器,水位高 15 cm,海水体积为 70.5 L。每个塑料箱中放置 2 个陶瓷产卵管道,管道由上下两部分组成,两端开口,可以分开或组合(洪万树等, 2001, 图 1),方便检查产卵情况。每个塑料箱放入 2 对经性激素催熟的亲鱼。亲鱼分 2 次注射,间隔 24 h 每次胸腔注射剂量为 HCG 100 U + IHRH- A_3 1.0 μg /尾,雌、雄亲鱼注射同等剂量。共设 $17\alpha\text{-P}$ 、 17α 、 $20\beta\text{-P}$ 、 PGE_2 和 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 4 个实验组和 1 个对照组,每组均设平行组。诱发野生鱼和养殖鱼产卵实验分别重复 3 次。亲鱼第二次注射性激素后 48 h 检查陶瓷管道内产卵情况,以面积法计算产卵量,胚胎发育至原肠期计算受精率。

人工合成激素 $17\alpha\text{-P}$ 、 17α 、 $20\beta\text{-P}$ 、 PGE_2 和 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 经甲醇溶解,分别取 100 μg 装入塑料管(2 m l)内,氮气吹干后加生理盐水至 1 m l 管口塞少许棉花,悬挂在陶瓷管道上半部内表面(图 1),激素经棉花渗透到管道内的水体中。实验期间塑料箱上方覆盖双层遮阳网,保持弱光环境,水体不充气,水温 23.5℃—29.5℃,盐度 18—21。

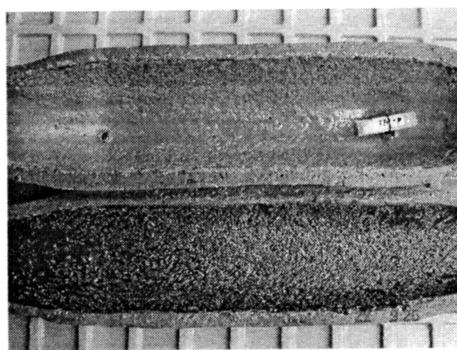


图 1 $17\alpha\text{-P}$ 组陶瓷管道内粘附的受精卵

Fig. 1 Fertilized eggs adhering to the inner surface of the nest in $17\alpha\text{-P}$ treated group

1.4 性腺提取液的制备以及产卵水和生活水的采集

取出性成熟中华乌塘鳢的卵巢、精巢和贮精囊,称重后加入无水乙醇,捣碎研磨后离心 5 m in (10000 r/m in),取上清液,即为卵巢、精巢和贮精囊提取液,经 2 次提取后氮气吹干,保存于 -82°C 低温冰箱中冷冻备用。

待亲鱼产卵后将其捞起,搅动产卵水,分别取塑料箱中间和周围的水样,同时取同批亲鱼的生活水(未产卵),水样均保存于 -82°C 低温冰箱中待测。

1.5 $17\alpha\text{-P}$ 和前列腺素测定

应用生物素亲和素系统酶联免疫分析法测定卵巢、精巢和贮精囊提取液中 $17\alpha\text{-P}$ 的含量,酶标仪(BD-RAD550)为美国产品。应用酶联免疫吸附分析法(ELISA)测定产卵水、生活水以及卵巢、精巢和贮精囊提取液中 PGE_2 和 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 含量, PGE_2 酶联免疫试剂盒采用羊抗鼠 IgG 包被板, $\text{PGF}_{2\alpha}$ 酶联免疫试剂盒用鼠抗兔 IgG 包被板。测定方法参照文献(赵卫红等, 2004)。

1.6 数据处理

经单因素方差分析,检验样品之间的差异显著性,当 $P < 0.05$ 时,认为差异性显著;如果 $P < 0.01$ 时为差异性极显著。采用的分析软件为 SPSS。

2 结果

2.1 诱发野生中华乌塘鳢产卵效应

性信息素诱发野生中华乌塘鳢产卵效应见表 1。3 次实验每组共放置 12 个陶瓷管道,各实验组的管道产卵率、总产卵量和平均受精率均明显高于对照组。各实验组的管道产卵率高低依

次为 17α-P 组 > 17α, 20β-P 组 > PGE₂ 组 > PGF_{2α} 组。各实验组的总产卵量依次为 17α-P 组 > PGE₂ 组 > PGF_{2α} 组 > 17α, 20β-P 组, 均分别高于对照组。各实验组的最高受精率均达到 98% 以

上, 对照组的最高受精率仅为 60%, 其中 1 次虽有产卵, 但未受精。各实验组的平均受精率高依次为 PGE₂ 组 > 17α-P 组 > 17α, 20β-P 组 > PGF_{2α} 组, 均分别高于对照组。

表 1 性信息素诱发野生中华乌塘鳢产卵效应
Tab. 1 Effects of sex pheromones on spawning of wild *B. sinensis*

性信息素	17α-P	17α, 20β-P	PGE ₂	PGF _{2α}	对照组
产卵管道总数	9	8	6	5	3
管道产卵率 (%) *	75.0	66.7	50.0	41.7	25.0
产卵量范围 (粒 / 管道 / 次)	550—20300	1100—21700	420—21000	220—19600	2050—14000
总产卵量 (粒)	79850	64780	73940	68680	20300
受精率范围 (%)	55—99	40—99	50—99	15—98	0—60
平均受精率 (%)	88.2	80.9	88.8	68.6	31.7

注: * 管道产卵率 (%) = (产卵管道总数 / 实验管道总数) × 100%。表 2 表 3 同

2.2 诱发养殖中华乌塘鳢产卵效应

性信息素诱发养殖中华乌塘鳢的产卵效应结果见表 2。3 次实验每组共放置 12 个陶瓷管道, 其中以 PGE₂ 组的管道产卵率为最高 (25%)。

17α, 20β-P 组的总产卵量最高, 17α-P 组次之, 分别明显高于其他实验组和对照组。PGE₂ 组、17α-P 组和 17α, 20β-P 组的平均受精率分别明显高于 PGF_{2α} 和对照组。

表 2 性信息素诱发养殖中华乌塘鳢产卵效应
Tab. 2 Effects of sex pheromones on spawning of cultured *B. sinensis*

性信息素	17α-P	17α, 20β-P	PGE ₂	PGF _{2α}	对照组
产卵管道总数	1	2	3	2	1
管道产卵率 (%)	8.3	16.7	25.0	16.7	8.3
产卵量范围 (粒 / 管道 / 次)	14500	17500—17850	250—800	250—1000	3500
总产卵量 (粒)	14500	35350	1400	1250	3500
受精率范围 (%)	80.0	55.0—90.0	85—90.0	8.0—12.0	10.0
平均受精率 (%)	80.0	72.5	86.7	10.0	10.0

2.3 性信息素诱发野生与养殖中华乌塘鳢产卵效应的比较

在同等实验条件下, 野生中华乌塘鳢各实验组的管道产卵率和总产卵量均分别高于养殖中华乌塘鳢, 其中野生鱼 17α-P 组和 17α, 20β-P 组的管道产卵率分别比养殖鱼高出 9 倍和 4 倍, 野

生鱼 PGE₂ 组和 PGF_{2α} 组的总产卵量分别比养殖鱼高出 52.8 倍和 54.9 倍。17α-P 组、17α, 20β-P 组和 PGE₂ 组野生鱼平均受精率与养殖鱼没有明显的差别, 但野生鱼 PGF_{2α} 组的平均受精率为养殖鱼的 6.9 倍。对照组中, 野生鱼产卵效应优于养殖鱼 (表 3)。

表 3 性信息素诱发野生与养殖中华乌塘鳢产卵效应的比较
Tab. 3 Comparison of induced spawning effects between wild and cultured *B. sinensis*

性信息素		17α-P	17α, 20β-P	PGE ₂	PGF _{2α}	对照组
管道产卵率 (%)	野生	75.0	66.7	50.0	41.7	25.0
	养殖	8.3	16.7	25.0	16.7	8.3
总产卵量 (万粒)	野生	7.985	6.478	7.394	6.868	2.030
	养殖	1.450	3.535	0.140	0.125	0.350
平均受精率 (%)	野生	83.8	80.9	88.8	68.6	31.7
	养殖	85.0	72.5	86.7	10.0	10.0

2.4 野生和养殖中华乌塘鳢产卵水和生活水中前列腺素的含量

在不吊挂性信息素的实验条件下,野生或养殖中华乌塘鳢产卵水中的 PGE_2 和 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 含量均分别高于生活水,但差异并不显著 ($P > 0.05$)。

野生鱼产卵水或生活水中的 PGE_2 含量均分别极显著高于 $\text{PGF}_{2\alpha}$ ($P < 0.01$),养殖鱼产卵水或生活水中的 PGE_2 含量也分别极显著高于 $\text{PGF}_{2\alpha}$ ($P < 0.01$) (表 4)。

表 4 野生和养殖中华乌塘鳢产卵水和生活水中 PGE_2 和 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 的含量 ($n = 6$)

Tab. 4 PGE_2 and $\text{PGF}_{2\alpha}$ levels in spawning and holding waters of wild and cultured *B. sinensis* ($n = 6$)

性信息素		野生鱼	养殖鱼
产卵水	PGE_2	59.61 ± 5.78	$38.00 \pm 6.88^{\#}$
	$\text{PGF}_{2\alpha}$	2.55 ± 0.77	1.62 ± 0.36
生活水	PGE_2	48.45 ± 4.04	$32.71 \pm 8.43^{\#}$
	$\text{PGF}_{2\alpha}$	0.70 ± 0.24	0.99 ± 0.23

注: * 表示野生中华乌塘鳢产卵水和生活水中的 PGE_2 与 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 含量差异极显著 ($P < 0.01$); #表示养殖中华乌塘鳢产卵水和生活水中的 PGE_2 与 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 含量差异极显著 ($P < 0.01$)

2.5 野生与养殖中华乌塘鳢性腺提取液中 $17\alpha\text{-P}$ 、 PGE_2 和 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 含量的比较

性成熟野生与养殖中华乌塘鳢卵巢、精巢和贮精囊提取液中 $17\alpha\text{-P}$ 、 PGE_2 和 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 的含量见表 5。从表中看出, $17\alpha\text{-P}$ 在卵巢提取液中的含量,野生鱼高于养殖鱼,但不显著 ($P > 0.05$),在精巢和贮精囊提取液中的含量则养殖鱼略高于

野生鱼。 PGE_2 在卵巢和精巢提取液中的含量,野生鱼显著高于养殖鱼 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),在贮精囊提取液中的含量也高于养殖鱼,但不显著 ($P > 0.05$)。 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 在卵巢和精巢提取液中的含量,野生鱼和养殖鱼相似,在贮精囊提取液中的含量则野生鱼明显高于养殖鱼。

表 5 性成熟野生与养殖中华乌塘鳢性腺提取液中 $17\alpha\text{-P}$ 、 PGE_2 和 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 含量的比较

Tab. 5 Comparison of $17\alpha\text{-P}$, PGE_2 and $\text{PGF}_{2\alpha}$ levels of gonadal extracts between mature wild and cultured *B. sinensis*

性信息素		野生鱼	养殖鱼
卵巢提取液	$17\alpha\text{-P}$ (ng/ml)	18.83 ± 3.25	13.86 ± 3.90
	PGE_2 (pg/ml)	1343.49 ± 197.02	986.04 ± 250.30
	$\text{PGF}_{2\alpha}$ (pg/ml)	843.04 ± 161.44	767.56 ± 162.46
精巢提取液	$17\alpha\text{-P}$ (ng/ml)	14.62 ± 4.32	15.67 ± 8.89
	PGE_2 (pg/ml)	1305.78 ± 290.92	641.23 ± 97.48
	$\text{PGF}_{2\alpha}$ (pg/ml)	365.26 ± 86.13	385.57 ± 100.80
贮精囊提取液	$17\alpha\text{-P}$ (ng/ml)	14.12 ± 4.65	15.40 ± 3.32
	PGE_2 (pg/ml)	1466.80 ± 341.24	1073.95 ± 106.03
	$\text{PGF}_{2\alpha}$ (pg/ml)	608.53 ± 112.13	447.14 ± 56.91

3 讨论

本研究中应用的 4 种性信息素能提高中华乌塘鳢的产卵效应,尤其对野生亲鱼的诱发作用更为明显。这些性信息素可能是通过吸引性成熟雌、雄亲鱼进入陶瓷管道内,并使体内性类固醇激素水平提高,从而获得更好的诱发产卵效应。Stacey 等 (1989) 研究发现,当卵黄形成后期的雌金鱼 (*Carassius auratus*) 暴露于含有性信息

素的介质后, 鱼体内 IH 的含量迅速上升, 这期间 C21 类固醇 (包括 17α , 20β -P) 含量也随着升高, 直到产卵后才下降。雄金鱼短暂暴露于 17α , 20β -P 后, 鱼体内 IH 的含量立即上升, 精液量增加, 精子活力增强, 最后导致排精 (Zheng *et al* 1997)。

鱼类的性信息素主要是性类固醇激素和前列腺素两大类, 前者在排卵前起主要作用, 后者在排卵后起主要作用, 而且具有种的特异性 (Kobayashi *et al* 2002)。类固醇和类固醇葡萄糖苷酸是非洲鳉 (*Clarias garapinus*) 主要的性信息素 (Resink *et al* 1989), $\text{PGF}_{2\alpha}$ 是金鱼、大西洋鲑 (*Salmo salar*) 和泥鳅 (*Misgurnus anguillicaudatus*) 的主要性信息素, 能诱导性成熟雌、雄个体产生生殖行为 (王德寿等, 2000; Ogata *et al* 1993; Stacey 1976)。本实验结果表明, PGE_2 诱发性成熟中华乌塘鳢的产卵效应优于 $\text{PGF}_{2\alpha}$, PGE_2 组的陶瓷管道产卵率、总产卵量和平均受精率均高于 $\text{PGF}_{2\alpha}$ 组; 野生鱼和养殖鱼产卵水或生活水中 PGE_2 含量均分别显著高于 $\text{PGF}_{2\alpha}$; 嗅电图 (EOG) 的研究结果证实, 中华乌塘鳢嗅觉上皮对 PGE_2 刺激反应的敏感性大于 $\text{PGF}_{2\alpha}$ (马细兰等, 2003)。因此, 可以认为 PGE_2 是中华乌塘鳢前列腺素类的性信息素, 主要参与协调性成熟雌、雄亲鱼的同步生殖行为。前列腺素能引起成熟卵母细胞滤泡膜破裂, 促进排卵过程。对性腺提取液的测定结果表明, PGE_2 在中华乌塘鳢卵巢和精巢提取液中的含量, 野生鱼显著高于养殖鱼, 在贮精囊提取液中的含量野生鱼也高于养殖鱼; $\text{PGF}_{2\alpha}$ 在贮精囊提取液中的含量, 野生鱼高于养殖鱼。这两种前列腺素在性腺中的含量差异可能是诱发野生鱼的产卵效应优于养殖鱼的原因之一。作者以前的实验表明, 17α -P 和 17α , 20β -P 吸引性成熟中华乌塘鳢的数量多于对照组 (洪万树等, 2004), 结合本实验的研究结果, 进一步证明这两种类固醇激素都是中华乌塘鳢重要的性信息素。

在一般情况下, 海水养殖鱼的催产效果比海水野生鱼好, 如养殖石斑鱼类, 不注射性激素也会自然产卵 (王涵生, 1997)。但中华乌塘鳢与其它鱼类不同, 以性信息素诱导产卵, 野生鱼的效果优于养殖鱼。根据作者的调查, 育苗场一般不采用养殖中华乌塘鳢作为亲鱼, 原因是养殖鱼的催产效果不如野生鱼。中华乌塘鳢与其它鱼类在野生鱼和养殖鱼催产效果方面存在差异, 其内

分泌调控机制有待深入研究。据王德寿等 (1996) 综述, 池塘养殖鲶鱼合成类固醇葡萄糖苷酸的种类和数量比野生鱼明显减少, 因而不能诱发生殖行为、实现自然繁殖。作者认为, 在进行中华乌塘鳢人工繁殖和育苗时, 应先选取野生鱼作为亲鱼, 同时也要加强养殖亲鱼的人工选育, 以提高养殖鱼的繁育效果。

有关鱼类性信息素的研究, 国外在金鱼和非洲鳉有较多的文献报道, 而且多数研究主要集中在分析性信息素的种类、对同种鱼类的异性吸引作用、增加雄性 GH、诱导排卵、促进性腺发育以及促进雄性生殖行为等 (Stacey *et al* 1997)。本文中作者以性成熟亲鱼的陶瓷管道产卵率、总产卵量和平均受精率为主要指标, 研究了性信息素诱发性成熟中华乌塘鳢的产卵效应, 在性信息素的应用方面进行了探索, 取得了研究结果。今后还需要深入研究性腺、贮精囊、尿液和产卵水中其它主要前列腺素和性类固醇激素及其化合物 (如 17α , 20β -P, 17α , 20β -P-Su 和 17α , 20β -P 葡萄糖苷酸等) 的含量变化, 研究嗅觉上皮性信息素受体的分布, 进一步明确性信息素诱发产卵的适宜剂量。

参 考 文 献

- 马细兰, 洪万树, 柴敏娟等, 2003. 中华乌塘鳢对性外激素嗅电反应的比较. 厦门大学学报 (自然科学版), 42 (6): 781—786
- 王涵生, 1997. 石斑鱼 *Epinophelus* 人工繁殖研究的现状与存在问题. 大连水产学院学报, 12(3): 44—51
- 王德寿, 江宗秀, 2000. 鱼类性外激素的研究进展. 水生生物学报, 24(3): 282—288
- 王德寿, 林浩然, 1996. 鲶类生殖内分泌学研究. 水产学报, 20(2): 151—158
- 李 生, 肖锦平, 余忠明等, 1999. 中华乌塘鳢的育苗技术. 上海水产大学学报, 8(1): 48—52
- 张其永, 洪万树, 陈仕玺等, 2004. 雄性中华乌塘鳢贮精囊的结构与功能. 动物学报, 50(2): 269—278
- 张健东, 叶富良, 2001. 中华乌塘鳢生物学及其养殖. 见: 陆忠康主编. 简明中国水产养殖百科全书. 北京: 中国农业出版社, 694—702
- 孟庆闻, 苏锦祥, 缪学祖, 1995. 鱼类分类学. 北京: 中国农业出版社, 851
- 赵卫红, 洪万树, 张其永等, 2004. 中华乌塘鳢 (*Bostrichthys sinensis*) 和大弹涂鱼 (*Boleophthalmus pectinirostris*) 成熟产卵过程中 17α -羟基孕酮和前列腺素水平的研究. 海洋与湖沼, 35(1): 69—73
- 洪万树, 张其永, 王明雄等, 2001. 人工管道诱导大弹涂鱼

- 产卵研究. 热带海洋学报, 20(3): 75—80
- 洪万树, 赵卫红, 马细兰等, 2004. 性外激素诱发中华乌塘鳢产卵的初步研究. 水产学报, 28(3): 225—230
- Kobayashi M, Sorensen P W, Stacey N E, 2002. Hormonal and pheromonal control of spawning behavior in the goldfish. *Fish physiology Biochem*, 26: 71—84
- Ogata H, Kitamura S, Takashima F, 1993. F-prostaglandins in the holding water of female black Nippon Suisan Gakkaishi 59: 1259
- Resink J W, Schoonen W G E J, Abers P C H *et al*, 1989. The chemical nature of sex attracting pheromones from the seminal vesicle of the African catfish *Clarias gariepinus*. *Aquaculture*, 83: 137—151
- Stacey N E, 1976. Effects of indomethacin and prostaglandins on the spawning behavior of female goldfish. *Prostaglandins*, 12: 113—126
- Stacey N E, Cardwell J R, 1997. Hormonally-derived Sex Pheromone Systems in Fish. *New Approaches to Control Reproduction*. In: Fingeman M, Nagabhushanam R, Thompson M. ed. *Marine Biotechnology*. U. S. A: Science Publisher, 407—454
- Stacey N E, Sorensen P W, Van Der Kraak G J *et al*, 1989. Direct evidence that 17 α , 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one functions as a goldfish primer pheromone. Preovulatory release is closely with associated male endocrine responses. *Gen Comp Endocrinol*, 75: 62—70
- Van den Hurk R, Resink J W, 1992. Male reproductive system as sex pheromone producer in teleost fish. *J Exp Zool*, 26(2): 204—213
- Zheng W, Stacey N E, 1997. A steroidal pheromone and spawning stimuli act via different neuroendocrine mechanisms to increase gonadotropin and milt volume in male goldfish (*Carassius auratus*). *Gen Comp Endocrinol*, 105: 228—235

ON SEX PHEROMONES INDUCED SPAWNING OF CHINESE BLACK SLEEPER *BOSTRICH THYS SINENSIS*

HONG Wan-Shu, ZHANG Qi-Yong, CHEN Shi-Xi, MA Xi-Lan, ZHENG Wei-Yun
(College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen, 361005)

Abstract The authors used synthetic steroids 17 α -P and 17 α , 20 β -P, and prostaglandins PGE₂ and PGF_{2 α} as sex pheromones to induce spawning for the wild and cultured mature Chinese black sleepers (*Bostriich thys sinensis*). Effects of these sex pheromones on spawning were compared between the wild fish and cultured ones in nest spawning rate, total number of eggs, and mean fertilization rate. PGE₂ and PGF_{2 α} levels of the spawning and holding waters, and 17 α -P, PGE₂ and PGF_{2 α} levels of the gonadal extracts were determined, separately and respectively.

The wild fish were caught in the intertidal zone of Juhong River estuarine, Fujian, 10.5—19.3 cm in body length and 20.2—139.0 g in body weight, and the cultured ones were collected from farming ponds in Dongshan County, Fujian, 11.7—17.4 cm in body length and 62.9—151.6 g in body weight. Plastic tanks (81 cm $\times$ 58 cm $\times$ 45 cm) were used in the experiment. Artificial ceramic nests were placed on the bottoms of the tanks, two nests each tank, and then two pairs of mature fish, induced by hormones, were introduced into every tank. The fish were randomly divided into four hormonal treated groups (i.e. 17 α -P, 17 α , 20 β -P, PGE₂ and PGF_{2 α}). Induction of spawning for both wild and cultured fish were investigated in three equivalent trials respectively, in two tanks for each trial conducted in parallel. Solution of synthetic steroids 17 α -P, 17 α , 20 β -P, prostaglandins PGE₂ and PGF_{2 α} was injected into a plastic tube at a dosage of 100 μ g, and then the plastic tube was fixed inside the ceramic nest. Each plastic tube containing sex pheromone solution was plugged by a piece of cotton. In this case, sex pheromones seeped slowly through the cotton into the inner water of the nests. During the experiment, water temperature varied from 23.5°C to 29.5°C. 17 α -P, PGE₂ and PGF₂ levels in the extracts of ovary, testis and seminal vesicle, as well as in spawning and holding waters were determined.

by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

The results showed that sex pheromones evidently increased the spawning efficiency of the wild fish. The nest spawning rate, the total number of eggs and the mean fertilization rate in the sex pheromone treated groups were higher than those of the control. The highest nest spawning rate was found in the 17 α -P treated group, followed by the 17 α , 20 β -P treated group, PGE₂ treated group and PGF_{2 α} treated group in order. The largest egg number was obtained from the 17 α -P treated group, followed by PGE₂ treated group, PGF_{2 α} treated group and 17 α , 20 β -P treated group, and each of them was larger than that of the control respectively. The mean highest fertilization rate was found in the PGE₂ treated group, followed by 17 α -P treated group, 17 α , 20 β -P treated group and PGF_{2 α} treated group. The highest fertilization rate of each treated group reached above 98%. Sex pheromones were more effective in inducing spawning of the wild fish than the cultured ones under the same conditions. The nest spawning rates of the wild fish were 9 and 4 times higher than those of the cultured ones treated with 17 α -P and 17 α , 20 β -P, respectively. The total egg numbers of the wild fish were 52.8 and 54.9 times as many as those of the cultured ones treated with PGE₂ and PGF_{2 α} respectively. PGE₂ and PGF_{2 α} levels of the spawning water were higher than those of the holding water of the wild fish and the cultured ones. PGE₂ levels were significantly higher than PGF_{2 α} in the spawning waters of the wild fish and the cultured ones. Ovarian 17 α -P level of the wild fish was higher than that of the cultured fish, but not significantly. PGE₂ levels of ovary, testis and seminal vesicle of the wild fish were higher than those of the cultured ones correspondently. PGF_{2 α} levels of ovary and testis of the wild fish were similar to those of the cultured ones.

Key words Chinese black sleeper (*Bostrichthys sinensis*), Sex pheromones, Sex steroids, Prostaglandins, Induced spawning