

刘 炜,陈树桥,茆健强,等. 17 α -羟孕酮对克氏原螯虾卵巢同步发育的影响[J]. 江苏农业科学,2013,41(12):241-243.

17 α -羟孕酮对克氏原螯虾卵巢同步发育的影响

刘 炜,陈树桥,茆健强,张 迪,周国勤

(江苏省南京市水产科学研究所,江苏南京 210036)

摘要:使用点滴、注射、浸泡 3 种不同方式(以下简称点滴法、注射法、浸泡法)进行 17 α -羟孕酮处理,研究其对克氏原螯虾卵巢同步发育的影响。试验结果表明,3 种方法均能在不同程度上促进克氏原螯虾卵巢同步发育,在卵巢同步发育成熟率上至少比对照组提高了 10%,其中卵巢同步发育成熟率最高为浸泡法(50%),3 种方法比较结果为:浸泡法>注射法>点滴法>对照组;浸泡法、注射法促进了克氏原螯虾同步产卵,同步产卵率分别为:浸泡法(32.5%)、注射法(20%)、点滴法(17.5%)、对照组(17.5%),综合同步产卵率、最终产卵率与雌虾死亡率得出:浸泡法>注射法>点滴法>对照组。

关键词:克氏原螯虾;卵巢;同步发育;产卵率;17 α -羟孕酮

中图分类号:S966.12+9.2;S917

文献标志码:A

文章编号:1002-1302(2013)12-0241-03

克氏原螯虾(*Procambarus clarkii*)原产于北美洲,现已成为全球重要的水产经济动物之一。克氏原螯虾肉味鲜美、营养丰富,深受国内外市场欢迎,欧美国家把克氏原螯虾作为珍贵的水产经济动物和美味佳肴加以利用,是国家贸易的重要水产品之一,具有广阔的产业化前景^[1-2]。随着克氏原螯虾养殖规模的不断扩大,规模化养殖场需要在同一时期内提供规格整齐的苗种,因此,如何促进克氏原螯虾性腺同步发育成为克氏原螯虾规模化养殖业中重要的课题,目前国内外许多学者进行了体外注射各种外源激素促使甲壳动物性成熟的试验,取得了一定的成果^[3-11]。所用的激素包括:5-羟色胺、孕酮、17 α -羟孕酮、17 β -雌二醇、保幼激素(JH-Ⅲ)、多巴胺等,其中主要应用的有孕酮、17 β -雌二醇和保幼激素(JH-Ⅲ),但尚未见有关 17 α -羟孕酮对克氏原螯虾卵巢同步发育影响的报道。本试验通过研究 17 α -羟孕酮对克氏原螯虾卵巢同步发育的影响,探讨促进克氏原螯虾性腺同步发育的处理方法,以期对克氏原螯虾规模化苗种繁育提供基础研究资料。

1 材料与方法

1.1 材料

试验地点:南京市水产科学研究所周岗基地。供试虾选择标准:体色鲜艳、附肢完整、无病无伤、体质健壮的亲虾,体重(35 \pm 5)g,体长(从眼柄至尾柄末端)(8.0 \pm 0.5)cm。供试虾强化培育:2010 年 7 月中旬把供试虾放入盖有遮阳布的试验池内进行为期 1 个月的强化培育,培育期间用生石灰定期对试验池消毒,每天 17:00 按供试虾体重的 2% 投喂新鲜鱼肉,每天 19:00 对供试虾冲水 1 次,冲水量为池水的 1/10,每 5 d 换水 1 次,每次换水 1/3~1/2。供试药物:所用药物

17 α -羟孕酮为醋酸甲羟孕酮片,主要成分是醋酸甲羟孕酮,其化学名为:6 α -甲基-17 α -羟基孕甾-4-烯-3,20-二酮醋酸酯。清池消毒:试验前检查池子是否漏水,清理试验池,对池子进行编号,加水深度 50 cm,用 20 mg/m³ 的生石灰对试验池进行浸泡消毒。水草及洞穴设置:设置凤眼莲,水草覆盖面积占水体的 1/3;设置沉性 PVC 洞穴,每池直径有直径 5 cm、长 20 cm 的 PVC 管,并排 20 个,叠层 2 层设置用玻璃胶粘牢的人工洞穴,每池配置 4 组。

1.2 方法

1.2.1 试验分组及药物处理 试验分为 4 组,其中 3 个处理组和 1 个对照组。每个试验组设置 3 个重复。供试虾放养密度为 20 尾/m²。每个试验池放虾 80 尾,雌雄比例 1:1。处理组 1(点滴法):将 17 α -羟孕酮片碾碎后用生理盐水配制成 0.1% 的溶液,每只雌虾用量为 0.5 mL,用注射器从供试雌虾的胸腹交接处进行点滴处理,处理时间 45~60 s,采用试验前雌虾一次性点滴处理,雄虾不做任何处理;处理组 2(注射法):将 17 α -羟孕酮片碾碎后用生理盐水配制成 0.05% 的溶液,每只雌虾用医用注射器注射 0.05 mL,注射部位为供试雌虾的腹部,采用试验前雌虾一次性注射处理,雄虾不做任何处理;处理组 3(浸泡法):将 17 α -羟孕酮片碾碎后用生理盐水配制成 0.2% 的溶液置入 200 mL 的烧杯中,浸泡部位为腹部,浸泡时间 60 s,采用试验前雌虾一次性浸泡处理,雄虾不做任何处理;对照组 4:雌雄虾均不做任何处理。

1.2.2 试验取样与记录 试验时间:2010 年 6—10 月。试验取样:8 月 23 日、9 月 5 日和 9 月 9 日分别于每个处理组取雌虾 10 尾(未抱卵虾),解剖取其性腺。首先观察其性腺发育形态、卵巢颜色,判断卵巢发育程度,以肉眼观察的方法对卵巢进行初步发育分期。试验记录:试验期间每 8 d 取样 1 次,检查雌虾发育情况并做记录。记录内容:雌虾抱卵数、雌虾死亡数、蜕皮数及交配数。试验记录:试验期间每 8 d 取样 1 次,检查雌虾发育情况并做记录。记录内容:雌虾抱卵数、雌虾死亡数、蜕皮数及交配数。计算公式:抱卵率=抱卵数/试验初雌虾总数 \times 100%;最终抱卵率=总抱卵数/(试验初雌虾总数-试验雌虾死亡数) \times 100%;雌虾死亡率=雌虾死

收稿日期:2013-04-09

作者简介:刘 炜(1982—),男,硕士,工程师,从事水生动物遗传育种研究。E-mail:biowliu@163.com。

通信作者:周国勤,硕士,研究员,主要从事水产增养殖研究。E-mail:njfish@126.com。

亡数/试验初雌虾总数×100%;成熟率=同一时间发育至4期以上的雌虾数/样本总数×100%;同步成熟率=同一时间处于5期的雌虾数/样本总数×100%。

1.2.3 日常管理 水质管理:每天20:00至次日6:00增开增氧机,保证水体中溶氧充足;每5 d对池子换水1次,每次换水量为池子水深的1/2。病害防治:每15 d对试验池进行二氧化氯消毒处理1次。水草管理:试验期间,每3 d检查1次,保持水草覆盖面积为池子的1/3,多去少补。投喂管理:根据喂食的“四看”“四定”原则对亲虾进行科学投喂。每天17:00投喂,投喂量占整个虾体重的2%。

2 结果与分析

2.1 17α-羟孕酮的3种不同处理方法对克氏原螯虾卵巢同步发育的影响

试验初期观察,卵巢呈细棒状,占据胸腔的1/2以下,呈浅黄色,发育比较一致。试验处理后克氏原螯虾卵巢同步发育结果如表1所示。在9月5号第2次取样时,注射法、浸泡法和对照组均有雌虾发育成熟,成熟率均为10%,而应用点滴法的雌虾卵巢均未发育成熟。9月20号第3次取样,卵巢发育成熟率最高为浸泡法(50%),其次为注射法(40%),再次为点滴法(30%),最后为对照组(20%)。3个处理组与对照组的差异显著($P < 0.05$)。卵巢同步发育的成熟率分别为:点滴法(20%)、注射法(40%)、浸泡法(40%)、对照组(20%)。

2.2 17α-羟孕酮的3种不同处理方法对克氏原螯虾同步产卵的影响

17α-羟孕酮的3种不同处理方法对克氏原螯虾同步产卵的影响不同(图1)。首先表现在3种不同的处理方法都导

致了雌虾产卵出现了明显的产卵高峰期,高峰值由高到低分别为:浸泡法(32.5%)、注射法(20%)、点滴法(17.5%)、对照组(17.5%)。浸泡法、注射法与对照组差异显著($P < 0.05$),点滴法与对照组无显著差异;其次,产卵高峰期出现时间点滴法、注射法和浸泡法一致,均比对照组提前,点滴法的产卵高峰期维持时间较长。

表1 17α-羟孕酮对克氏原螯虾卵巢同步发育的影响

试验组别	方法	日期 (月-日)	不同发育期雌虾数(尾)				成熟率 (%)
			3期	4期	5期	6期	
1	点滴法	09-05	1	9	0	0	0
		09-20	0	7	2	1	30
2	注射法	09-05	2	7	1	0	10
		09-20	0	6	4	0	40
3	浸泡法	09-05	1	8	1	0	10
		09-20	0	5	4	1	50
4	对照组	09-05	3	5	2	0	20
		09-20	1	7	2	0	20

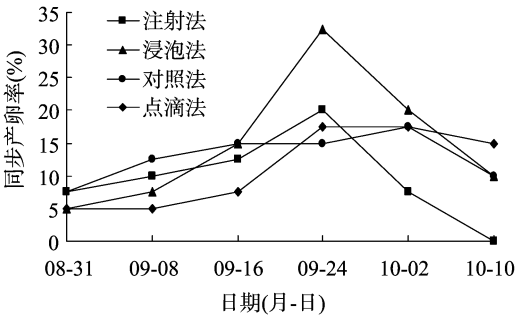


图1 17α-羟孕酮对克氏原螯虾卵巢同步产卵率的影响

表2 17α-羟孕酮对克氏原螯虾同步产卵的影响

组别	方法	不同取样期雌虾数(尾)						剩余雌虾数 (尾)	当天死亡率 (%)	最终产卵率 (%)
		08-31	09-08	09-16	09-24	10-02	10-10			
1	点滴法	2	2	3	7	7	6	5	20.0	87.5
2	注射法	3	4	5	8	3	0	0	42.5	100
3	浸泡法	2	3	6	13	8	4	0	10.0	100
4	对照组	3	5	6	6	7	4	8	0	80.0

2.3 17α-羟孕酮的3种不同处理方法对克氏原螯虾最终产卵率的影响

由表2可以看出,不同处理方法对克氏原螯虾死亡率与最终产卵率的影响不同。试验组的雌虾死亡率均高于对照组,并且在处理后的当天均出现雌虾死亡现象。比较最终产卵率得出:浸泡法和注射法产卵率最高,为100%,其次是点滴法,为87.5%,对照组最低,为80%。浸泡法、注射法与对照组差异性极显著($P < 0.01$),点滴法与对照组差异显著($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 17α-羟孕酮对克氏原螯虾卵巢发育的影响

经17α-羟孕酮处理后,克氏原螯虾的产卵峰期明显比对照组提前1个取样周期,说明17α-羟孕酮对克氏原螯虾的卵巢发育起到了一定的促进作用,这与赵维信等推测的孕酮和17α-羟孕酮是诱导甲壳动物卵母细胞生长和卵黄发育的自然激素^[12]相吻合,与17α-羟孕酮能够促进刀额新对

虾、罗氏沼虾、中国对虾以及日本沼虾的卵巢发育的研究结果^[7-11]是一致的。但与Rodriguez等的研究结果^[13]不完全一致,Rodriguez等发现17α-羟孕酮在一定程度上抑制克氏原螯虾生殖系统发育。可能原因如下:首先,本试验在药物种类、理化性质及注射剂量上可能与Rodriguez等的不同。Tsukimura等也认为,孕酮对范氏对虾卵巢发育的影响与注射剂量有直接关系^[14];其次,可能与处理时雌虾所处的发育阶段不同有关。赵维信等的研究发现克氏原螯虾次级卵黄发生早期的卵巢孕酮含量最高,卵黄发生前期卵巢孕酮含量次之,次级卵黄发生中期的卵巢孕酮含量显著降低,产后期卵巢检测不出孕酮含量^[15],间接说明孕酮只有在雌虾发育的特定阶段才能发挥作用。

3.2 17α-羟孕酮的3种不同处理方法对克氏原螯虾卵巢同步发育及同步产卵的影响

从表1中17α-羟孕酮对克氏原螯虾卵巢同步发育的影响得出:17α-羟孕酮能够促进其卵巢同步发育,3种不同方

法对卵巢同步发育的影响不同。卵巢发育成熟程度最高为浸泡法的 50%，其次为注射法的 40%，再次为点滴法的 30%，最后为对照组的 20%。卵巢发育的同步成熟率比较结果为：浸泡法与注射法均为 40%，点滴法为 30%，对照组的克氏原螯虾产卵出现了明显的高峰期，经 17α - 羟孕酮处理后，有利于其集中产卵，间接说明了 17α - 羟孕酮能够促进克氏原螯虾同步产卵。3 种不同处理方法对其同步产卵的影响结果：浸泡处理法为 32.5%、注射处理法为 20%、点滴处理法为 17.5%、对照组为 17.5%。说明 3 种不同的处理方法对其促进卵巢同步发育所发挥的作用不同。在 3 种不同处理方法对克氏原螯虾卵巢同步发育及同步产卵的影响中，结果显示注射法不是最优方法，这可能与注射剂量有关，与赵维信等的观点^[15]是一致的。有关 17α - 羟孕酮影响克氏原螯虾卵巢同步发育的机制，以及最适使用剂量和雌虾最佳处理时间有待进一步研究。

3.3 17α - 羟孕酮 3 种不同处理方法对克氏原螯虾雌虾死亡率的影响

雌虾在经过 17α - 羟孕酮处理后，不同程度上出现了死亡现象，并且在试验初期雌虾的死亡率较高，因此在实际生产中要慎重选择。死亡因素主要存在以下几个方面：首先，无论是采用注射法、点滴法还是浸泡法，都改变了机体原来稳定有序的内环境，导致机体环境紊乱，影响虾体正常的生理机能；其次，注射法的高死亡率可能是因为机体局部药物浓度过高，产生应激反应，致使雌虾死亡，也可能是注射法破坏了螯虾的开放式循环系统，导致体液受外界病菌感染；再次，是操作不当或操作失误所致；最后，由于试验是在水泥池中进行，所处生态环境与条件较自然界差，本身存在一定的死亡率。

3.4 17α - 羟孕酮的 3 种不同处理方法对克氏原螯虾最终产卵率的影响

浸泡法和注射法最终产卵率最高，为 100%，其次为点滴法的 87.5%，最后是对照组的 80%。这一结果表明， 17α - 羟孕酮能够影响克氏原螯虾的最终产卵率，这与多数学者如虞冰如等^[7]、赵维信等^[12]、魏华等^[16]的孕酮能够促进甲壳动物卵巢发育的研究结果是一致的，在提高雌虾最终产卵率方面，浸泡法和注射法优于点滴法。

参考文献：

[1] 唐建清, 夏爱军, 韩 飞. 2010 年江苏克氏原螯虾养殖产业发展情况报告[J]. 水产养殖, 2011(2): 44-47.

(上接第 211 页)

[4] Shette. 新型饲料添加剂: 甜菜碱[J]. 李秀波. 国外畜牧科技, 1995, 22(3): 2-3.

[5] 陈国宏, 侯水生, 吴信生, 等. 中国部分地方鸡肌肉肌苷酸含量研究[J]. 畜牧兽医学报, 2000, 31(3): 211-215.

[6] 武书庚, 齐广海. 肉品风味的形成及其影响因素[J]. 中国畜牧杂志, 2001, 37(3): 53-55.

[7] Davidek J, Khan A W. Estimation of inosinic acid in chicken muscle and its formation and degradation during post-mortem aging[J]. Journal of Food Science, 1967, 32(2): 155-157.

[8] 刘望夷, 竺来发, 翁志发, 等. 肉用鸡肌肉中肌苷酸含量的比较[J]. 中国农业科学, 1980(4): 79-83.

[2] 刘伟杰, 严维辉, 张成亮, 等. 克氏原螯虾同步化与非同步化育苗效果分析[J]. 安徽农业科学, 2008, 36(34): 15029-15031.

[3] Ghosh D. 17β -Hydroxysteroid dehydrogenase activity of ovary and hepatopancreas of fresh water prawn, *Macrobrachium rosenbergii* relation to ovarian condition and estrogen treatment. [J]. Gen Comp Endocrinol, 1993, 89: 245-254.

[4] Kulkarni G K, Nagabhushanam R, Amaldoss G. 5-Hydroxytryptamine stimulation of the ovary in the crayfish, *Procambarus clarkii* [J]. Am Zool, 1991, 31: 115.

[5] Spaziani E P, Hinsch W, Edwards S C. Possible role of prostaglandin $F_{2\alpha}$ in vitellogenesis in the crayfish (*Procambarus paeninsulae*) [J]. Am Zool, 1991, 31: 23.

[6] Tsukinura B, Bender J S, Linder C J. Development of an anti-vitel in ELISA for the assessment of reproduction in the ridgback shrimp, *Sicyoniainvents* [J]. Comparative Biochemistry and Physiology Part A, 2000, 127: 215-224.

[7] 虞冰如, 林文淑. 人工诱导青虾成熟和产卵[J]. 水产科技情报, 1990, 17(3): 66-69.

[8] 李广丽, 朱春华. 三种药物诱导罗氏沼虾产卵[J]. 上海水产大学学报, 1996, 5(1): 23-29.

[9] 赵维信, 汪志强. 人工诱导罗氏沼虾同步产卵与卵巢组织学研究[J]. 水产学报, 1995, 19(4): 289-296.

[10] 罗宇良, 陈孝煊. 人工诱导红螯螯虾同步产卵的初步研究[J]. 水利渔业, 1999, 19(2): 3-4.

[11] 蔡生力, 杨丛海. 体外注射激素对中国对虾卵巢发育的影响[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2000, 39(增刊): 91-95.

[12] 赵维信, 安 苗. 外源激素和眼柄提取物对罗氏沼虾卵母细胞的离体诱导作用[J]. 上海水产大学学报, 1996, 5(4): 221-225.

[13] Rodriguez E M, Lopez-Greck L S, Medesani D A. Effects of methyl farnesoate, alone and in combination with other hormones, on ovarian growth of the red swamp crayfish *Procambarus clarkii*, during vitellogenesis [J]. Gen Comp Endocrinol, 2002, 125: 34-40.

[14] Tsukinura B, Kamemoto F I. In vitro stimulation of acolytes by presumptive mandible organ secretion in the shrimp, *Penaeus vannamei*. [J]. Aquac, 1991, 92: 59-66.

[15] 赵维信, 白 桦, 马晓华. 克氏原螯虾卵黄发生过程中卵巢和大额器孕酮含量的变化[J]. 上海水产大学学报, 1999, 8(3): 232-235.

[16] 魏 华, 赵维信. 保幼激素类似物及 17α - 羟孕酮对罗氏沼虾的产卵作用[J]. 上海水产大学学报, 1992, 1(1): 66-70.

[9] 苏淑贞, 朱汉炎, 刘建梁, 等. 鹌鹑、鸡、鸽子肌肉中的肌苷酸含量的比较[J]. 家禽, 1987(2): 32-33.

[10] 陈 辉, 黄仁录, 李 巍, 等. 散养柴鸡肌肉肌苷酸含量的比较[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2006(5): 90.

[11] 陈国顺, 刘孟洲. 野猪杂种猪肌肉营养特性的分析[J]. 养猪, 2004(1): 24-27.

[12] 朱 砺, 李学伟, 帅素容, 等. 大河猪与大河乌猪的肌肉营养成分分析[J]. 中国畜牧杂志, 2008, 44(7): 6-9.

[13] 余德勇. 北京鸭和樱桃谷鸭生长性能、肌肉理化特性比较及填饲对其影响[D]. 北京: 中国农业大学, 2005: 1-52.

[14] 戴 晔. 北京鸭和樱桃谷鸭肉用性能及 *MSTN* 基因多态性的研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2006: 1-68.