

罗氏沼虾血淋巴中20-羟基蜕皮酮的含量变动及其对生长的影响

吴嘉敏 姜仁良 叶林

(上海水产大学水产养殖系, 200090)

沈庆生 倪家林 龚桂兰 庄建军

(上海青浦县特种水产试验场, 201700)

提 要 应用放射免疫的方法,测定了罗氏沼虾在生长过程血淋巴中20-羟基蜕皮酮(20-HE)的变化。A组,饲料中添加蜕皮生长素1.5%,血淋巴中20-HE含量明显升高,7、10月份的平均含量分别为 79.32 ± 5.93 ng/ml和 14.79 ± 3.59 ng/ml。对照组7、10月份的平均含量分别为 22.68 ± 7.00 ng/ml和 5.24 ± 1.34 ng/ml。A组与对照组罗氏沼虾20-HE含量的变化具有显著差异($p < 0.05$)。B组血淋巴中20-HE含量与对照组相比也有升高,7、10月份平均含量分别为 43.17 ± 5.34 ng/ml和 7.72 ± 1.59 ng/ml,但差异不显著,无统计意义($p > 0.05$)。在养殖期间,罗氏沼虾的生长速度与血淋巴中20-HE含量具有相关性。

关键词 罗氏沼虾, 20-羟基蜕皮酮, 生长

罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*),是一种大型淡水虾。早在60年代,东南亚各国已开始养殖。近年来,由于它在池塘养殖条件下生长快,养殖周期短,罗氏沼虾的养殖在我国发展较快。目前,大面积养殖每公顷平均产量在1500公斤左右。与其它甲壳类一样,罗氏沼虾的生长必须依赖于蜕壳,而血淋巴中的20-HE对调节、控制蜕壳起着决定性的作用^[6]。本研究通过在饲养过程中,向颗粒饲料中添加一定量的蜕皮生长素,以期提高罗氏沼虾血淋巴中20-HE的浓度,促使蜕壳同步,加快蜕壳频率,从而达到提高罗氏沼虾的生长速度和单位面积产量的目的。

1. 材料和方法

1.1 试验材料

选择0.15公顷的池塘三只,条件相似,每公顷放养3.25mg(平均体长0.9cm)的仔虾16.5万尾。A、B组分别投喂颗粒饲料,内含不同来源的蜕皮生长素1.5%,其中,A组混有上海延安制药厂生产的蜕皮生长素,B组混有北京营养源研究所提供的蜕皮生长素,另一只池塘作为对照组。每日定时投喂二次颗粒饲料。试验时间从1990年6月25日至10月22日。

1.2 血淋巴样品处理

每月取样20尾,抽取血淋巴,置20倍于样品体积的甲醇抽提,吸取上清液,沉淀后再用同法抽提一次,合并二次的上清液,吹干后,用1ml GPBS(pH7.2-7.5)溶解,置-20℃低温保存待测。

1992-03-01收到

1.3 测定方法

采用20-HE药盒^[2],进行放射免疫(RIA)测定,方法略加改进^[1]。

1.4 方法学鉴定

1.4.1 灵敏度

方法的最小检出量即为灵敏度。本方法的灵敏度为2.22pg。

1.4.2 准确与精确性

在低浓度的罗氏沼虾血淋巴中,添加标准20-HE, 100pg、300pg、500pg, 分别测其回收量,与添加量的比值即为回收率。回收率越高,表明方法越准确。本方法的回收率为 $95.61 \pm 2.14\%$ (N=9)(图1)。

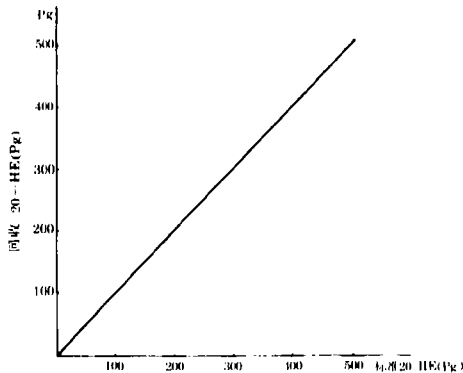


图1 20-HE 回收试验

Fig.1 Recovery test of 20-HE

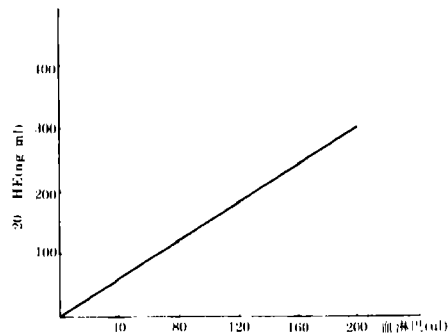


图2 血淋巴的平行试验

Fig.2 Parallelism test of hemolymph of the *M. rosenbergii*

取不同量的血淋巴液(40-200 μ l),测定其20-HE含量,并对应地与所取的血淋巴液量作图,得出一条通过原点的直线($r=0.9935$),表明取样在40-200 μ l范围内,实验测定结果精确(图2)。

1.4.3 抗血清的特异性

在罗氏沼虾血淋巴中添加 17β -雌二醇(17β -E₂)、睾酮(T)、11-氧睾酮(11-OT)三种不同的甾体激素,进行交叉试验,相对结合率见表1。结果表明,三种甾体激素与20-HE抗血清的交叉反应小,专一性强。

表1 20-HE抗血清与三种甾体激素的交叉反应

Table 1 The cross-reactions of three steroids with 20-HE antiserum

| 激素名称 | 17β -E | T | 11-OT |
|--------------------|------------------|------------------|------------------|
| 与20-HE抗血清 相对结合率 | $<5.76 \pm 2.23$ | $<7.39 \pm 1.42$ | $<3.50 \pm 0.62$ |
| N | 6 | 6 | 7 |

2 结果

2.1 罗氏沼虾血淋巴中20-HE的浓度变化与生长有关

随着虾的生长,血淋巴中20-HE含量逐渐减小,相对增重率也随之下落(表2,表3)

表2 7月和10月罗氏沼虾血淋巴中20-HE含量与生长的状况

Table 2 The 20-HE levels in the hemolymph and growth of *Macrobrachium rosenbergii* in July and October

| 组别 | 血淋巴20-HE含量(ng/ml) | | 虾体重(克/尾) | |
|-----|-------------------|------------|-----------|------------|
| | 7月 | 10月 | 7月 | 10月 |
| A组 | 79.32±5.93 | 14.79±3.59 | 0.54±0.18 | 13.89±3.63 |
| B组 | 43.17±5.34 | 7.72±1.59 | 0.45±0.15 | 10.60±1.46 |
| 对照组 | 22.68±7.00 | 5.24±1.34 | 0.44±0.06 | 6.67±1.09 |

表3 7-10月罗氏沼虾血淋巴中20-HE含量与相对增重率

Table 3 The 20-HE levels in the hemolymph and relative increasing rates of body weight in *Macrobrachium rosenbergii* from July to October

| 组别 | 养殖前期(7-8月) | | 养殖后期(9-10月) | |
|-----|------------|-------|-------------|-------|
| | 20-HE平均含量 | 相对增重率 | 20-HE平均含量 | 相对增重率 |
| | ng/ml | % | ng/ml | % |
| A组 | 73.82±7.72 | 4.41 | 34.67±28.11 | 2.29 |
| B组 | 41.35±3.94 | 3.94 | 14.55±9.66 | 1.94 |
| 对照组 | 19.65±4.29 | 2.52 | 8.07±4.00 | 1.71 |

2.2 饲料中添加蜕皮生长素

对罗氏沼虾血淋巴中20-HE浓度变化有明显的的作用,养成期间,20-HE的平均含量,A组为54.24±28.19ng/ml,B组为27.95±16.51ng/ml,对照组为13.86±7.49ng/ml(图3)。

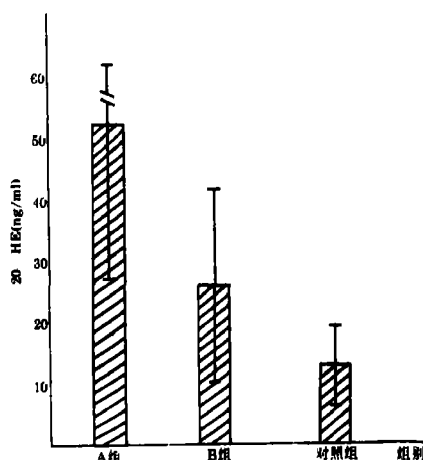


图3 罗氏沼虾血淋巴中20-HE平均含量变化

Fig.3 Changes of hemolymph 20-HE average levels of *M. rosenbergii*

2.3 罗氏沼虾增重率、成活率和产量

增重率、成活率和产量,A组最高,(分别为124.90毫克/日,56.29%和1290.15公斤/公顷);B组其次,(分别为92.30毫克/日,48.90%,和855.30公斤/公顷);对照组最低,(分别为49.50毫克/日,43.89%和483.00公斤/公顷)(表4)

表4 罗氏沼虾增重率、成活率和产量

Table 4 The rates of body weight increasing survival and production in *Macrobrachium rosenbergii*

| 组别 | 增重率(毫克/克) | 成活率(%) | 产量(公斤/公顷) |
|-----|-----------|--------|-----------|
| A组 | 124.90 | 56.29 | 1290.15 |
| B组 | 92.30 | 48.90 | 855.30 |
| 对照组 | 49.50 | 43.89 | 483.00 |

3 讨论

甲壳动物的生长是依赖蜕壳的过程来完成的。蜕壳前,血淋巴中20-HE的浓度都要达到一个峰值。例如,蜕壳时20-HE的浓度,锯齿长臂虾(*Palaemon serratus*),雌的达到84ng.eq/g,雄的达到81ng.eq/g^[3];跳钩虾(*Orchestia cavimans*)达到810±45pg.eq/μl^[5];日本对虾(*Penaeus japonicus*),达到223±75ng/ml^[6];蜘蛛蟹(*Acanthonyx lunulatus*)达到49pmol^[4];凡氏对虾(*Penaeus vannamei*)达到200pg/μl^[7];中华绒蟹(*Eriocheir sinensis*)达到116.16±32.96ng/ml^[1]。说明血淋巴中20-HE的含量变动控制着蜕壳活动。从本试验罗氏沼虾的整个养殖周期来看,前期血淋巴20-HE平均含量较高,生长较快,后期20-HE含量较低,生长相对较慢。

20-HE不仅对蜕壳具有调控作用,而且,对某些甲壳类血淋巴中蛋白质的含量也有直接影响。Damboviceanu(1932)、Drihlon(1935)、Leone(1953)、Travis(1955)、Glynn(1968)等都在报告中指出,血淋巴中蛋白质的含量变化与蜕皮有关。J. C. Chaix等的研究发现,蜘蛛蟹血淋巴中的蛋白质含量在20-HE达到峰值时也达到最高值^[4]。Siu-ming Chan 等对凡氏对虾的研究也得到了类似的结果,当血淋巴中20-HE含量达到最高值200ng/ml时,其蛋白质含量也随之达到峰值85~95ng/ml。^[7]显然,血淋巴中较高量的20-HE促进了蛋白质浓度升高,蛋白质含量的这种变动规律其生物学意义在于为蜕皮后的生长积累物质基础。

本试验着重研究了蜕皮激素对罗氏沼虾生长、成活率和产量的影响。通过在饲料中添加二种不同的蜕皮生长素,在饲养过程中,都不同程度地提高了罗氏沼虾血淋巴中20-HE的浓度(图3),日增重率、成活率和产量也相应提高(表3)。这可能是较高量的20-HE加速了虾体蜕皮频率,驱使虾群体同步蜕壳,减小了相互残食现象,提高了成活率,并刺激罗氏沼虾体内快速积累蛋白质,从而提高了日增重率和产量。

试验还发现,罗氏沼虾血淋巴中20-HE的浓度是随其体重的增加而减小,相对增重率也逐渐下降(表2,表3)。因此,在罗氏沼虾养殖后期,应适当增加饲料中蜕皮生长素的添加量,提高血淋巴中20-HE的浓度,刺激罗氏沼虾蜕壳生长,这对提高养殖产量有实际生产意义。当然,在不

同养殖阶段,根据虾的生长情况,调节饲料中蜕皮生长素的添加量,这方面的工作,还需要作进一步的研究。

此外,为了使罗氏沼虾更好地完成蜕壳,除了饲料添加蜕皮生长素外,还应该重视钙的添加研究,或者通过向养殖池泼洒生石灰,提高水中钙的含量,以利于虾的吸收。已经发现,某些甲壳类在蜕壳前,血淋巴中钙的含量也明显升高,这同蛋白质的情况相似。甲壳类如果缺钙,血淋巴中即使蜕皮激素含量很高,蜕壳可想而知也是不能顺利完成的。

4 结语

调节罗氏沼虾血淋巴20-HE的浓度,达到加速虾体蜕壳频率及蜕壳同步,促进生长,减小相互残食,是提高养殖产量的有效途径。试验结果表明,颗粒饲料中添加蜕皮生长素1.5%,对罗氏沼虾的发育、成活率和产量具有明显的效果,可在饲养罗氏沼虾的生产中推广应用。

参 考 文 献

- [1] 姜仁良等. 1992. 中华绒螯蟹血淋巴中20-羟基蜕皮酮、17 β -雌二醇和睾酮含量的变动. 水产学报, 16(2):101-106.
- [2] 曹梅汛等. 1980. 20-羟基蜕皮酮放射免疫分析法及在蓖麻蚕上的应用. 昆虫学研究集刊, 第一集:1-6. 上海科学技术出版社.
- [3] Baldaia, L. et al.. 1984. Ecdysteroides in the shrimp (*Palaemon serratus*). Relations with molt cycle. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 55:437-443.
- [4] Chaix, J. C. et al.. 1981. Variations of ecdysone titer and hemolymph major proteins during the molt cycle of the spider crab (*Acanthonyx lunulatus*). *Comp. Biochem. Physiol.*, 69B:709-714.
- [5] Graf, F. et al., 1987. Ecdysteroid during the molt cycle of *Orchestia cavimana* (Crustacea, Amphipoda). *Gen. Comp. Endocrinol.* 65:23-33.
- [6] Passano, L. M., 1960. Moulting and its control. In T. B. Waterman (ed.): *The physiology of Crustacea*. 443-536. Academic Press.
- [7] Siu-ming chan et al., 1988. Characterization of the molt stages in *Penaeus vannamei*: Setogenesis and hemolymph levels of total protein, ecdysteroids and glucose. *Biol. Bull.*, 175(2):186-192.
- [8] Okumura, T. et al., 1989. Hemolymph ecdysteroid levels during the molt cycle in the Kuruma prawn (*Penaeus japonicus*). *Nippon Suisan Gakkaishi*, 55(12):2091-2098.

CHANGES OF 20-HE LEVEL IN HEMOLYMPH AND ITS EFFECT ON GROWTH IN *MACROBRACHIUM ROSENBERGII*

Wu Jia-min, Jiang Ren-liang and Ye Lin

(Department of Aquaculture, SFU, 200090)

Shen Qing-sheng, Ni Jia-jin, Gong Gui-lan and Zhuang Jian-jun)

(Qing Pu Fishfarm for special aquatic species culture, Shanghai 201700)

ABSTRACT The variations of 20-hydroxyecdysone (20-HE) in hemolymph has been traced by means of radioimmunoassay (RIA).

In the group-A, added ecdysis-growth hormone-A 1.5‰ in diet, 20-HE level in the hemolymph of *Macrobrachium rosenbergii* rose significantly, the concentration of 20-HE was 79.32 ± 5.93 ng/ml in July and 14.79 ± 3.59 ng/ml in October. In the control group, the concentrations of 20-HE were 22.68 ± 7.00 ng/ml and 5.24 ± 1.34 ng/ml in July and October, respectively. A significant difference in the concentration of 20-HE was found between the group-A and the control group ($p < 0.05$). In the group-B, added ecdysis-growth hormone-B 1.5‰ in diet, the concentrations of 20-HE in hemolymph were 43.17 ± 5.34 ng/ml and 7.72 ± 1.59 ng/ml in July and October, respectively. There were no significant difference between the group-B and the control group ($p > 0.05$). The growth rate of *Macrobrachium rosenbergii* was correlated with 20-HE concentration in hemolymph during rearing period.

KEYWORDS *Macrobrachium rosenbergii*, 20-hydroxyecdysone, growth