池养大鲵的人工催产研究

肖汉兵 1,2 刘鉴毅 1,2 杨焱清 1,2 林锡芝 1

(1. 农业部淡水鱼类种质资源与技术重点开放实验室,中国水产科学研究院长江水产研究所,湖北 荆州 434000; 2. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心,江苏 无锡 214081)

摘要:本文报道了人工培育大鲵亲本的繁殖结果。在养殖条件下,大鲵的性腺可正常发育,大鲵的性成熟年龄为 5龄,性周期为一年一次,群体的繁殖高峰期出现在每年的 6—8月。使用 LRH-A 或 HCG均可诱导大鲵产卵和排精。群体的性腺发育进程存在明显的个体差异,雄性比雌性的发育时间长 10—20d。在繁殖盛期进行人工催产,获产率为 60%左右。人工繁育的子代,在培育为亲本时,其性腺发育的个体差异仍然存在。养殖的性成熟个体,在没有受到外源激素作用时,将不会发生自然排卵现象,雄鲵不能挤出精液。在 20—23 下,雌性大鲵的效应时间约为 96—120h,雄性可在 80h 后挤到精液。炙大鲵的产卵量为 400—500 粒,平均为 430 粒。多次产卵个体的产卵量多于初次产卵个体。低剂量的药物催熟,未发现对性腺发育进程和产卵结果有明显的促进作用。

关键词:大鲵;人工养殖;人工繁殖

中图分类号: S961.2 文献标识码:A 文章编号:1000-3207(2006)05-0530-05

大鲵 [Andrias davidianus (Blanchard)]是我国特有的两栖动物,生活在海拔300~1500m的山涧溪流,在我国十七个省区均有一定的种群分布。大鲵具有重要的经济价值,长期受到研究者和养殖者的关注。近二十年来,大鲵天然资源受到过量捕杀、栖息地生境被破坏等人为因素的影响,野生群体数量严重减少,是国家保护物种之一。从资源利用与人工增殖角度考虑,1958年贵州省进行的大鲵驯养试验是我国开始此类探索工作的最早记载。1976—1980年,湖南省水产研究所等单位进行了大鲵的驯养繁殖研究,利用野生成熟亲本,大鲵人工繁殖获得了成功[1]。此后,我国南方各地进行了大鲵人工繁殖试验工作,但相关报道极少。本项研究在养殖条件下,进行了驯养亲本和子一代亲本的人工繁殖试验,人工催产的结果报告如下。

1 材料与方法

1.1 试验材料 部分材料于 1987 年采自湖北省竹溪,部分于 1990—1992 年从陕西汉中引入。收集的大鲵规格为 0.5—2kg/ 尾,饲养 2 年之后用作亲本。

用于催产的子一代亲本为野生大鲵繁育后代培育而成。

- 1.2 饲养 饲养池建在地下室内,每只水池面积 16m^2 ,池深 0.47m,水深 0.20 m。视个体大小,每池放养大鲵 12-40 尾。水源为自来水,静水养殖,每 1-2d 换水一次,常年水温变化在 5-26 。饵料是从市场上购买的新鲜鱼虾,每天投喂一次。
- 1.3 人工催产 在大鲵成熟高峰期,将同一养殖池内的亲本同时催产。催产药物为宁波激素制品厂生产的促黄体素释放激素类似物(LRHA),绒毛膜促性腺激素(HCG)和自制鲤鱼脑垂体等。获产结果的评判以雌鲵产卵和雄鲵能挤出精液为依据,效应时间指从注射催产药物后到雌鲵产出第一粒卵所间隔的时间。

2 结果

2.1 人工养殖亲本的催产结果

在养殖条件下,大鲵的性腺发育表现出较大的 个体差异。在每年的5月即可发现有少数个体处于 性成熟状态。试验选择了大鲵性成熟相对集中的7 月和8月进行人工催产,结果列于表1。

-	311. 34 1 ACT 44		/	/
表1	池养大鲵的		Œ光	2==
4X I	/15つでノミッルロコ	\sim	iŒ)	>0 X

Tola 1	Autificial	nmnogotion	magnite of	tank-cultured	Chinaga	mi ant	colomondon

			•	
年份 Year	亲本类型 Parental form	催产亲本尾数(/) Number of parent salamander for induced spawing	获产尾数(/) Number of parent salamander having ovulated or spermiated	获产率(/)(%) Induced spawning rate
1991	野生驯养	66 (40/26)	42 (25/17)	63.6(62.5/65.4)
1992	野生驯养	75 (40/ 35)	49 (26/23)	65.3 (65.0/65.7)
1993	野生驯养	74 (46/28)	50 (30/20)	67.6(65.2/71.4)
1994	野生驯养	79 (50/29)	52 (33/19)	65.8 (66.0/65.5)
2000	子一代	56 (34/22)	24(15/9)	42.9 (44. 1/40.9)
2001	子一代	69 (44/ 25)	33 (20/13)	47.8 (45.5/52.0)
2002	子一代	76 (49/27)	41 (29/12)	53.9 (59. 1/44. 4)

试验中发现,同一养殖池的亲本(10 组以上)同时催产,其获产率一般在 50 %—70 %,每个饲养池中都有少数亲本不能获产,经解剖检查,发现其卵巢大多处于第 期,或精巢中精子细胞尚未形成。而产过卵的大鲵卵巢中仅剩数粒 6—7mm 的卵,其余为 2—3mm 的卵粒,表明人工催产是成功的。

在养殖条件下,人工繁殖的子一代在4龄时,催产后没有获产,5龄及以上时,通过人工催产可产卵或排精,并可繁育子二代。可以认为大鲵发育至性腺成熟为5年,当然,其子一代亲本群体的个体发育差异仍然存在。

2.2 效应时间

大鲵在进行药物催产后,行为表现为厌食,单独活动。雌鲵可见后腹部膨大,生殖孔区域润滑,红色加深,雄鲵生殖孔周边的隆起明显,吸盘状。

催产均在 20.0-25.0 的水温范围完成,饲养池的水温日温差变化在 0.2 以内。水温不同,引起大鲵的效应时间产生较明显的差别。表 2 所列的数据是使用 $LRHA_2$ 与 HCG 混合物,在一次注射情

况下,雌鲵催产后的效应时间统计结果。

表 2 水温对大鲵()效应时间的影响

Tab. 2 Influence of water temperature on the effective time of spawning inducer

水温() Water temperature	效应时间(h) Effective time	样本数量 Sample size
20.1 -21.0	145. 1	23
21.1 -22.0	138.4	26
22.1 -23.0	115.3	65
23.1 -24.0	108.8	89
24.1 -25.0	100.2	11

虽然大鲵的效应时间存在个体差异,但总的趋势是水温越高,效应时间缩短,水温每升高1,其效应时间约减少10h。在与雌鲵等剂量注射激素的情况下,雄鲵的效应时间略短,一般比雌鲵提早15h可采集到精液。

2.3 产卵量

对人工培育的大鲵亲本,进行适当的药物催产后,绝大部分可以获得顺产,并具有一定的产卵量。表 3 所列的结果是野生大鲵经驯养后的产卵量。

表 3 1989 -- 1994 年大鲵亲本的产卵量

Tab. 3 Amount of eggs laid by parent salamander from 1989 to 1994

年份 Year	产卵亲本数量(尾) Number of parent salamander having spawned	平均体重(kg) Average body weight	总产卵量(粒) Total number of eggs laid in each year	平均每尾产卵量 Average amount of eggs per parent salamander	平均每千克产卵量 Average number per kg of eggs
1989	6	2.2	1814	302	138
1990	8	4.3	3414	427	99
1991	25	4.5	5665	227	51
1992	26	4.7	13359	514	111
1993	30	5. 1	16785	560	110
1994	33	5.5	13970	423	77
合计	128	4.8	55007	430	90

大鲵卵粒较大,成熟时平均卵径 6.4mm,最大可达 7mm。就卵径而言,达到 5 mm 时即可受到药物催产而产出。

产卵量与亲本体重的关系不明显。相对而言,多次产卵亲本的产卵量多于初次产卵者,产卵量也并不因营养状况的改善而增大。与其怀卵量相比较,大鲵的产卵量较少。在本试验中发现大鲵个体的最大产卵量为1224粒,平均每尾的产卵量为430粒,以产400—500粒卵的个体常见。

2.4 催产方法

催产药物 试验中曾采用LRHA、HCG、鲤鱼脑

垂体(PG),无论是单独使用还是混合配伍,均能诱导大鲵产卵和排精。当药物剂量达到 LRH-A 2µg/kg或 HCG200 IU/kg时,即可使成熟良好的雌鲵产卵。不同的催产药物,因其作用机理不同,效应时间略有差异。

注射次数 采用上述几种药物,曾进行过催熟后催产,三次注射、二次注射和一次注射等多种方法试验,雌雄鲵等剂量注射。二次注射(和一次注射的催产效果相近(见表 4),一次注射的操作简单,对亲鱼损伤较小)可使亲本的效应时间相对一致。

表 4 一次注射与两次注射的获产率比较

	Comparison			

注射次数 Injection frequency	药物种类及剂量 Spawning inducers and their doses	催产数量(尾) Number of salamander having been induced for spawning	获产数量(尾) Number of salamander having spawned or spermiated	获产率(%) Induced spawning rate
一次	HCG	24	18	62. 5
Single	PG	7	4	57. 1
	LRHA和 HCG混合	136	87	64. 0
二次	LRHA			
Double	LRHA与 HCG混合	51	32	62.7

两次注射的针距时间对催产结果的影响不明显。针距 8h、12h、24h、36h、48h 时,除间距 48h 效果较差外,其他针距无明显差别,对卵子质量是否有影响,未作研究。

三次注射,亲本受到多次刺激,产卵效果差,但有助于延长雄性的排精时间。催产后的雄鲵,一般在达到效应时间后 1—3d 可采得成熟精液,若补注一定剂量的激素后,采精时间可延长 3—5d。

催熟 试验中,曾进行过低剂量的药物催熟,未 发现它对亲体性腺发育进程及催产后的产卵结果有 明显的促进作用。相反,可能会引起部分亲本流产。

3 讨论

- 3.1 性成熟年龄 据资源调查的结果,260mm以上的个体即可性成熟^[2],大鲵的性成熟年龄为 5 年^[3],4 龄^[4]。根据繁殖子代的解剖观察和催产试验,在人工养殖条件下,大鲵 5 龄时,体长全长已达 500mm以上,有部分个体可发育至性腺成熟,通过人工繁殖方式可成功繁育大鲵的子二代。
- 3.2 性行为 对于性腺发育成熟的亲鲵,LRHA、HCG、PG等几种常规渔用催产激素制品,无论是单一使用还是混合配制使用,达到一定药物剂量后,均

可成功地诱导大鲵产卵、排精。在池养条年下,性成熟个体没有受到外源激素作用时,将不会发生自然排卵现象,雄鲵不能挤出精液,随着时间的推移,其性腺将逐渐自然退化吸收。药物催产后,雌性大鲵可在养殖池内自行排卵(流卵),未见雌雄鲵在池内有发情行为和自然交配。这与野生状态下大鲵的繁殖行为有明显的不同。

有资料报道,野生大鲵自然产卵有间断产出的现象^[5]。在本试验中,雌鲵经催产后,多数个体是一次即可将全部卵粒分别由两条输卵管中产出,产卵过程的时间很短,一般 1—5min。但也存在有一些亲本出现两条卵带间隔一定时间产出,或是一条卵带分为多次产出的现象。不能一次将卵全部排出的个体,往往是其卵胶膜稀软、弹性差,这往往会导致卵粒过熟,丧失受精能力。

3.3 群体内性腺发育进程存在个体差异 大鲵在自然环境中,其群体的繁殖季节可延续 5 个月^[4],相对于个体而言,这种成熟时间的个体差异就十分明显。通过驯养,虽然在一定程度上缩小了个体间性腺发育进程的差异,但仍然存在。试验中发现,即使是在繁殖盛期,同一批催产的亲本,总是有部分个体(约占 30 %)不能获产,解剖后检查,其性腺处于第

期, 卵径为 2—3mm。将当年全部是产过卵或排过精的亲本放入专池饲养, 次年同时进行催产, 多年重复试验的结果与上述现象一致, 这反映出大鲵的性腺发育进程有较明显的个体差异。人工繁育的子代, 在养殖为亲本后, 其个体的性成熟时间也并不一致。本试验中, 在每年的五月底至九月初, 均可发现性成熟个体的存在, 试验的获产率从某种程度上讲也是大鲵亲本的同步成熟比率。

3.4 性周期 据观察,越冬过程中,大鲵卵巢处于 第 期[6]。水温升至 12 以上时,性腺开始发育, 经过 100 —120d 可达到性成熟。产后卵巢退化萎 缩,发育趋向是退化过程,卵巢内的剩余卵粒将被机 体吸收,这个过程约需2个月,之后再恢复发育功 能。虽然大鲵卵巢中同时具有几个发育时相的卵 粒,但一个生殖周期中只有部分卵粒可以发育至成 熟。可能卵巢中有某种机制来保证只有正常数量的 卵母细胞进入快速生长达到成熟期,而并非各时相 卵母细胞同步增长或分批发育。这在产后亲本中, 于 10 月下旬再次进行的催产结果得到验证,催产后 未见产卵,为 期卵巢,结合大鲵性腺发育的组织学 观察,大鲵是一年一次产卵类型。采用终年恒温养 殖,大鲵也同样表现为一年内性腺只发育至成熟一 次。在本试验中,曾标记了一些亲本,其中部分连续 6年可产卵或采得精液,这从另一方面也证实,达到 性成熟年龄的大鲵,每年均可性成熟一次。

另外,计算大鲵的怀卵量,只有计数卵巢中那些可发育至成熟的卵粒数量才具有实践意义,而这些卵粒也只有在每年的夏季才能分辨。就群体而言,在同等养殖条件下,雄性大鲵发育至性成熟的时间

相对要长,成熟高峰比雌鲵晚 10 —20d。这种现象是否与养殖条件有关,还需进一步研究。

3.5 **效应时间** 效应时间与水温有较明显的变化 关系,尽管存在个体差异,总体上看,在一定温度条件下,大鲵的效应时间为 4—5d,它对于卵粒能否受精十分重要。

参考文献:

- [1] Yang A S Liu GJ. A Prelimary Study on Artificial Propagation of the Gant Salamander[J]. Freshwater Fisheries, 1979,9(2):1—5[阳爱生,刘国钧.大鲵人工繁殖的初步研究.淡水渔业,1979,9(2):1—5]
- [2] Song M T, Wang Q. The Study on Reproductive System of Great Salamander[J]. Chinese Journal of Zoology, 1990, 25(3):47—49 [宋鸣涛,王琦. 大鲵生殖系统发育研究. 动物学杂志,1990, 25(3):47—49]
- [3] Ge YR, Zhen HX. Natural Breeding Cycle of the Gant Salamander (Andrias dividianus) [J]. Journal of Henan Normal University (Natural Science), 1994, 22(2):67—70[葛荫榕,郑合勋. 大鲵的自然繁殖周期.河南师范大学学报(自然科学版),1994,22(2):67—70]
- [4] Wang W L , Jiang F J , Wang B L . Investigations on the Natural Reproduction Habits of *Andrias dividianus* [J]. *Reservoir Fisheries* , 2000, 20(6):12—13[王文林,蒋发俊,王炳立.大鲵的自然繁殖习性调查.水利渔业,2000,20(6):12—13]
- [5] Liu B H. A Investigations on Eological of the Chinese Gant Salamander and its cultural observation [J]. *Chinese Wildlife*. 1990:4: 12—14[刘宝和.中国大鲵的生态调查及饲养观察.野生动物, 1990:4:12—14]
- [6] Xiao HB, Liu JY, Yang YQ et al. Annual Variation of Gonad of Andrias dividianus under Culture Condition [J]. Freshwater Fishreries, 1995, 25(3):9—1[肖汉兵,刘鉴毅,杨焱清,等. 养殖条件下大鲵性腺周年变化的研究. 淡水渔业,1995, 25(3):9—1]

ARTIFICIAL PROPAGATION OF TANK CULTURED CHINESE GIANT SALAMANDER (ANDRIAS DAVIDIANUS)

XIAO Harr Bing 1,2 , LIU Jianr $\mathrm{Yi}^{1,2}$, YANG Yianr Qing 1,2 and LIN Xir Zhi 1

(1. Key laboratory of Freshwater Fish Germplasm Resources & Biotechnology, Ministry of Agriculture, Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Jingzhou 434000; 2. Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081)

Abstract : Chinese giant salamander [Andrias davidianus (Blanchard)], Which is the largest species in amphibian, is found in 17 provinces of China. The resources of salamander are declined remarkably because of inordinate catching by men. Therefore, the artificial domestication and propagation of salamander are widely developed in the present time. In this paper, the results of propagation for artificial domesticated brood in Chinese giant salamander are reported.

The salamanders for the test were caught from Hubei and Sanxi Provinces. The area of each tank for domestication was $16m^2$ and the depth of water was 0.20m. In each tank, 12-40 salamanders are cultured in static water, which came from tap water. The water was changed once in 1-2 days. The temperature of water changed from 5 to 26 in all year. The feed was fresh

fish.

In the condition of artificial domestication, it takes 5 years for the Chinese giant salamander to attain gonad maturity and the gonads can be normally developed. Its reproductive cycle is once a year and fastigium is 6—8 month in each year. Its ovulation and spermiation can be induced by LHRHA or HCG injection. Individual differences were observed in gonad development within the population. During the reproductive fastigium, only about 60 % brood salamanders can lay eggs after hormonal injection. It takes 10—20 days more for male than female to attain gonad maturity. The phenomenon is often observed that the gonad of some individuals in the population attaining progenitive age cannot attain maturity. When the filial generations coming from artificial propagation attain maturity, their individual differences of gonad development are also observed.

If they were not induced by exterior hormone, the mature individual under the condition of artificial domestication would not take ovulation and spermiation. Furthermore, their gonads will degenerate and absorb naturally. After induced by hormone, female salamanders can lay eggs naturally in tank, but copulatory action is not observed.

The reactive time for salamander spawning is related with different hormone and water temperature. The reactive time of LHRHA was longer than that of HCG. The lower the water temperature was; the longer time needed. If the water temperature declines 1 , the reactive time will delay 10 hours. Induced by the extender of LHRHA and HCG, the reactive time of female was about 96—120h and sperm could be extruded in male after 80h.

The quantity of eggs laid by each brood salamander was about 400—500, with an average of 430. The ovulated quantity of repetitious spawning brood was more than that of first spawning brood. The method of inducing ovulation was that exterior hormone was directly injected into the celom of salamander. The effect of once injection was better than that of more than one injection. No significant effects were found upon the gonad development and spawning rate by using low doses of hormones for inducing maturation. On the contrary, low doses of hormones could lead to the abortion of some brood salamander.

Key words: Chinese giant salamander; Tank-culture; Artificial propagation