

doi: 10.7541/2013.42

## LHRH-A 对尼罗罗非鱼生长及生长轴相关基因表达的影响

马细兰<sup>1,2,3</sup> 张勇<sup>1</sup> 周立斌<sup>3</sup> 刘晓春<sup>1</sup> 林浩然<sup>1</sup>

(1. 中山大学有害生物控制与资源利用国家重点实验室, 生命科学学院, 水生经济动物研究所暨广东省水生经济动物良种繁育重点实验室, 广州 510275; 2. 华南师范大学生命科学学院, 广州 510631; 3. 惠州学院生命科学系, 生物技术研究所, 惠州 516007)

**摘要:** 促性腺激素释放激素(GnRH)的主要作用是刺激脑垂体促性激素(GtH)的释放, 亦可促进鱼类生长激素(GH)的释放。促黄体素释放激素类似物(LHRH-A)是哺乳类 GnRH 的类似物, 为了分析 LHRH-A 对尼罗罗非鱼生长调节的作用, 设计了长期和短期 2 个实验, 采用腹腔注射(剂量 0.1 μg/g 体重)方法, 分析 LHRH-A 对尼罗罗非鱼绝对生长率、特定生长率、肝体系数和肥满度的影响, 并应用荧光实时定量 PCR 方法检测在注射 LHRH-A 后不同时段(6h、12h、24h、2 周)尼罗罗非鱼垂体 GH、肝脏 GHR 和肝脏 IGF-I 基因的表达变化。结果表明, LHRH-A 组尼罗罗非鱼的绝对生长率、特定生长率、肝体系数、肥满度均显著高于对照组( $P < 0.05$ ); 注射 LHRH-A 后 12h、24h 垂体 GH mRNA 表达水平均显著升高( $P < 0.05$ ), 2 周后恢复到对照组水平; 注射 LHRH-A 后 24h 和 2 周肝脏 GHR mRNA 表达水平显著上升( $P < 0.05$ ); 注射 LHRH-A 后 6h 肝脏 IGF-I mRNA 表达水平显著升高( $P < 0.05$ ), 12h、24h 和 2 周恢复到对照组水平。以上结果提示, LHRH-A 可显著上调尼罗罗非鱼生长轴相关基因的表达, 从而促进鱼类的生长。

**关键词:** 尼罗罗非鱼; 促黄体素释放激素类似物; 生长; 基因表达

中图分类号: Q344 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2013)01-0042-06

促性腺激素释放激素(GnRH)的主要作用是刺激脑垂体促性激素(GtH)的释放, 已有研究表明 GnRH 亦可促进鲤科鱼类生长激素(Growth hormone, GH)的释放<sup>[1]</sup>。促黄体素释放激素类似物(LHRH-A)是哺乳类 GnRH 的类似物, 它既可刺激鲤科鱼类 GH 的释放又能促进鱼体生长<sup>[1]</sup>。在鲤科鱼类 LHRH-A 以剂量依赖方式刺激鲤鱼(*Cyprinus carpio*)、鲫鱼(*Carassius auratus*)和草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)垂体碎片基础的 GtH 和 GH 释放, 并使血清 GH 水平显著提高<sup>[2-5]</sup>; 在鲷科鱼类, LHRH-A 可促进黑鲷(*Acanthopagrus schlegelii*)和黄鳍鲷(*Sparus latus*)的 GH 释放, 刺激黄鳍鲷肝脏 IGF-I 基因的表达, 但对黑鲷肝脏生长激素受体(Growth hormone receptor, GHR)的基因表达无影响<sup>[6, 7]</sup>; 而在鲈科鱼类, LHRH-A 不能促进非洲鲈鱼(*Clarias*

*gariepinus*) 和野生鲈(*Silurus asotus*)GH 的分泌和释放<sup>[8, 9]</sup>, 反映出 LHRH-A 对鱼类生长内分泌调控作用的种族特异性。尼罗罗非鱼为鲈形目丽鱼科(亦称丽鱼科)<sup>[10]</sup>, 迄今未见 LHRH-A 对其生长调控方面的报道。

本文以尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)为研究对象, 通过腹腔注射方法分析了 LHRH-A 的促生长作用, 并应用 Real-time PCR 方法检测了 LHRH-A 对尼罗罗非鱼生长轴相关基因(垂体 GH、肝脏 GHR 和肝脏 IGF-I)表达的影响, 旨在探讨 LHRH-A 对罗非鱼下丘脑-垂体-肝脏生长轴的调控作用, 以阐明 LHRH-A 的促生长作用机制, 为水产养殖提供理论依据。

### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

尼罗罗非鱼采自广东省番禺国家级罗非鱼良种

收稿日期: 2011-10-20; 修订日期: 2012-09-17

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(973 计划)项目(2010CB126302); 广东省自然科学基金项目(9451601501001986); 广东省教育部产学研结合项目(2010B090400551)资助

作者简介: 马细兰(1976—), 女, 广东南雄人; 博士, 副教授; 主要从事鱼类生理及分子生物学研究。E-mail: mxl@hzu.edu.cn

通信作者: 林浩然(1934—), 男, 中国工程院院士; E-mail: lsslhr@mail.sysu.edu.cn

场, 长期注射和短期注射实验的设计与处理参照文献[11]。鱼用生理盐水(PS)为实验室自配; 促黄体激素释放激素类似物(D-Ala6, Pro9-Net-LHRH, LHRH-A), 购自浙江宁波激素制品厂, LHRH-A 溶于 PS 中, 剂量为 0.1  $\mu\text{g}/\text{g}$  体重。长期注射实验在第 0、2、6、10 周采样测体长、体重、肝重等, 检测 LHRH-A 对生长性能的影响; 短期注射实验在第 6、12、24 h 采样, 用 Real-time PCR 方法检测 LHRH-A 对生长轴相关基因表达的影响。实验中所用的各种试剂及仪器设备同文献[11]。

## 1.2 方法

生长性能的分析 选用以下几种参数指标, 计算公式如下:

$$\text{肥满度 } CF (\%) = 100 \times \text{体重}(\text{g}) / \text{体长}(\text{cm})^3 \quad (1)$$

$$\text{肝体系数 } HSI (\%) = 100 \times \text{肝重} / \text{体重} \quad (2)$$

$$\text{体长绝对增长率 } ARG_L (\%) = 100 \times (L_2 - L_1) / L_1 \quad (3)$$

$$\text{体重绝对增长率 } AGR_W (\%) = 100 \times (W_2 - W_1) / W_1 \quad (4)$$

$$\text{体长特定增长率 } SGR_L (\%/d) = 100 \times [(\ln L_2 - \ln L_1)] / (\Delta T) \quad (5)$$

$$\text{体重特定增长率 } SGR_W (\%/d) = 100 \times [(\ln W_2 - \ln W_1)] / (\Delta T) \quad (6)$$

$$\text{实验组 } SGR_W \text{ 的提高率} (\%) = 100 \times (\text{实验组 } SGR_W - \text{对照组 } SGR_W) / \text{对照组 } SGR_W \quad (7)$$

式中,  $L_1$  为  $T_1$  时体长,  $L_2$  为  $T_2$  时体长,  $W_1$  为  $T_1$  时体重,  $W_2$  为  $T_2$  时体重,  $\Delta T = T_2 - T_1$ 。

生长轴相关基因 mRNA 表达的分析 用 Real-time PCR 检测 LHRH-A 对 *GH*、*GHR*、*IGF-I* mRNA 表达的影响, 各基因的特异性引物(表 1)。Real-time PCR 方法参照文献[11]。

表 1 荧光实时定量 PCR 分析所用引物  
Tab. 1 Primers used for real-time quantitative PCR analysis

引物 Primer	序列 Sequence
$\beta$ -actin-F	5'-GGTGGGTATGGGTCAGAAAAGA-3'
$\beta$ -actin-R	5'-GCTGTCGTGAAGGAGTAG-3'
GH-F	5'-ATTATCAAAGTCTGGGAGGC-3'
GH-R	5'-GGTAGGTCTCCACCTTGTC-3'
GHR-F	5'-TAAGAAAGAGCCTCCTACCA-3'
GHR-R	3'-ACTGTCGCTGAATGTCCAAT-5'
IGF-I-F	5'-TCTGTGGAGAGCGAGGCTT-3'
IGF-I-R	5'-CACGTGACCGCCTTGCA-3'

## 2 结果

### 2.1 LHRH-A 对尼罗罗非鱼生长的影响

由表 2 可见, 腹腔注射 LHRH-A 可显著促进尼

罗罗非鱼生长。注射 LHRH-A 2、6、10 周后, 雌鱼体长、体重比对照组有显著提高( $P < 0.05$ ); 6、10 周后雄鱼体重显著高于对照组( $P < 0.05$ ), 但体长与对照组无显著差异。与对照组相比, LHRH-A 组的  $AGR_W$  和  $AGR_L$  都显著提高, 雌鱼和雄鱼  $AGR_W$  分别提高了 14.82% 和 15.95%,  $AGR_L$  分别提高了 25.36% 和 5.06%, 表明 LHRH-A 对尼罗罗非鱼促生长作用明显。LHRH-A 对尼罗罗非鱼在不同发育阶段的促生长效果存在差异, 在 0—2、2—6、6—10 周, LHRH-A 组雄鱼的  $SGR_W$  分别比对照组提高了 11.52%、1.21%、39.06%, 雌鱼分别提高了 14.29%、6.88%、5.83%; 0—2 周 LHRH-A 对雌鱼和雄鱼的促生长作用不存在显著差异( $P > 0.05$ ), 2—6 周 LHRH-A 对雌鱼的促生长作用显著强于对雄鱼( $P < 0.05$ ), 6—10 周 LHRH-A 对雄鱼的促生长作用极显著高于对雌鱼( $P < 0.01$ )。另外, LHRH-A 显著提高了尼罗罗非鱼的肥满度( $CF$ )和肝体系数( $HSI$ )( $P < 0.05$ )。

### 2.2 LHRH-A 对雄鱼 *GH*、*GHR*、*IGF-I* mRNA 表达的影响

对生长参数的影响分析中可以看出: LHRH-A 可明显促进尼罗罗非鱼雄鱼和雌鱼的生长, 表明 LHRH-A 对雄鱼和对雌鱼生长轴相关基因表达的影响一致, 为了节省工作量, 本文只研究了 LHRH-A 对雄鱼生长轴相关基因(垂体 *GH*、肝脏 *GHR*、肝脏 *IGF-I*)表达的影响。

对垂体 *GH* mRNA 表达的影响 注射 LHRH-A 6h 后, 雄鱼垂体 *GH* mRNA 表达无显著变化( $P > 0.05$ ), 12h 后表达量极显著提高( $P < 0.01$ ), 24h 后略有下降但仍显著高于对照组( $P < 0.05$ ); 隔周多次注射 LHRH-A, 2 周后采样, 雄鱼垂体 *GH* mRNA 表达水平与对照组无显著差异( $P > 0.05$ )(表 3)。

对肝脏 *GHR* mRNA 表达的影响 注射 LHRH-A 需作用 24h 后才可明显提高雄鱼肝脏 *GHR* mRNA 的表达水平( $P < 0.05$ ); 隔周多次注射 LHRH-A, 2 周后采样, 雄鱼肝脏 *GHR* mRNA 的表达仍显著高于对照组( $P < 0.05$ )(表 3)。

对肝脏 *IGF-I* mRNA 表达的影响 注射 LHRH-A 对雄鱼肝脏 *IGF-I* mRNA 表达的影响快速而短暂。注射 LHRH-A 6h 后, 雄鱼肝脏 *IGF-I* mRNA 表达水平显著升高( $P < 0.05$ ), 12h 后恢复到对照组水平, 24h 后略有下降( $P > 0.05$ ); 隔周多次注射 LHRH-A

表 2 LHRH-A 对尼罗罗非鱼生长的影响  
Tab. 2 Effects of LHRH-A on the growth of *O. niloticus*

组别 Group	PS		LHRH-A		
	雌性 Female	雄性 Male	雌性 Female	雄性 Male	
$L_0$ (cm)	11.60±0.57 <sup>a</sup>	12.14±0.69 <sup>b</sup>	11.60±0.57 <sup>a</sup>	12.14±0.69 <sup>b</sup>	
$W_0$ (g)	50.50±5.41 <sup>a</sup>	54.77±6.36 <sup>b</sup>	50.50±5.41 <sup>a</sup>	54.77±6.36 <sup>b</sup>	
2 <sup>th</sup> week	L (cm)	13.81±0.21 <sup>a</sup>	14.52±0.57 <sup>b</sup>	14.45±0.14 <sup>b</sup>	14.68±0.65 <sup>b</sup>
	W (g)	60.81±14.28 <sup>a</sup>	77.20±14.99 <sup>b</sup>	62.58±9.38 <sup>b</sup>	80.90±17.40 <sup>b</sup>
6 <sup>th</sup> week	L (cm)	16.60±0.57 <sup>a</sup>	18.84±0.66 <sup>bc</sup>	17.62±0.32 <sup>b</sup>	18.91±0.53 <sup>c</sup>
	W (g)	149.85±3.32 <sup>a</sup>	245.68±13.80 <sup>c</sup>	163.46±10.43 <sup>b</sup>	258.45±17.12 <sup>d</sup>
10 <sup>th</sup> week	L (cm)	18.51±0.35 <sup>a</sup>	21.02±0.96 <sup>b</sup>	20.25±0.35 <sup>b</sup>	21.45±1.09 <sup>b</sup>
	W (g)	199.65±32.37 <sup>a</sup>	293.35±59.16 <sup>c</sup>	221.64±34.24 <sup>b</sup>	333.85±56.90 <sup>d</sup>
10 <sup>th</sup> week HSI (%)	1.70±0.18 <sup>a</sup>	2.00±0.65 <sup>a</sup>	2.28±0.64 <sup>b</sup>	2.63±0.73 <sup>b</sup>	
10 <sup>th</sup> week CF (%)	2.47±1.02 <sup>a</sup>	3.08±1.25 <sup>b</sup>	2.97±1.14 <sup>b</sup>	3.38±1.46 <sup>d</sup>	
0—10 week $AGR_L$ (%)	9.86	12.66	12.36	13.30	
0—10 week $AGR_W$ (%)	212.14	340.33	243.57	394.61	
0—2 week $SGR_L$ (%)	1.24	1.27	1.54	1.32	
0—2 week $SGR_W$ (%)	1.33	2.43	1.52	2.71	
2—6 week $SGR_L$ (%)	0.66	0.93	0.72	0.94	
2—6 week $SGR_W$ (%)	3.20	4.13	3.42	4.18	
6—10 week $SGR_L$ (%)	0.39	0.40	0.50	0.44	
6—10 week $SGR_W$ (%)	1.03	0.64	1.09	0.89	

注: 同行中标有不同上标字母表示差异显著( $P < 0.05$ ); 下同

Note: Different superscripts indicate significant difference within the same line at 0.05 level; the same bellow

表 3 LHRH-A 对尼罗罗非鱼生长轴相关基因表达的影响  
Tab. 3 Effects of LHRH-A on genes expressions of the growth axis in *O. niloticus*

组别 Group	基因 Gene	PS	LHRH-A			
			6h	12h	24h	2 week
	<i>GH</i>	100.00±18.56 <sup>a</sup>	138.52±35.67 <sup>a</sup>	985.90±202.42 <sup>b</sup>	632.18±189.56 <sup>c</sup>	132.65±28.58 <sup>a</sup>
	<i>GHR</i>	100.00±19.43 <sup>a</sup>	89.66±25.97 <sup>a</sup>	78.21±16.35 <sup>a</sup>	158.86±24.76 <sup>b</sup>	160.27±18.94 <sup>b</sup>
	<i>IGF-I</i>	100.00±15.35 <sup>a</sup>	128.61±38.53 <sup>b</sup>	109.06±23.56 <sup>a</sup>	87.16±16.04 <sup>a</sup>	108.66±14.20 <sup>a</sup>

后 2 周采样, LHRH-A 组雄鱼肝脏 *IGF-I* mRNA 水平与对照组无显著差异( $P > 0.05$ )(表 3)。

### 3 讨论

本研究结果表明, 腹腔注射 LHRH-A 可显著上调尼罗罗非鱼生长轴相关基因(垂体 *GH*、肝脏 *GHR*、肝脏 *IGF-I*)的 mRNA 表达, 从而促进生长。

#### 3.1 LHRH-A 对垂体 *GH* mRNA 表达的影响

研究资料显示, GnRH 在离体或在体情况下都可以刺激鲤科鱼类脑垂体释放 GH 并促进鱼体的生长<sup>[2-5]</sup>。sGnRH 和 sGnRHA 以剂量依赖的方式提高鲤鱼脑垂体 *GH* mRNA 水平和促进 GH 分泌<sup>[2]</sup>, 说明 GnRH 不仅影响 GH 释放, 对 GH 合成也有调节

作用。LHRH-A 是哺乳类 GnRH 的高活性类似物, 能刺激鲤科鱼类和鲷科鱼类脑垂体释放 GH<sup>[2-7,12,13]</sup>, 但不能促进非洲鲷和革胡子鲷 GH 的分泌和释放<sup>[8,9]</sup>。本文研究结果表明, 注射 LHRH-A 6h 后雄鱼垂体 *GH* mRNA 表达无显著变化( $P > 0.05$ ), 12h 后表达量才极显著提高( $P < 0.01$ ), 24h 后略有下降但仍显著高于对照组( $P < 0.05$ ), 而注射 LHRH-A 2 周后雄鱼垂体 *GH* mRNA 表达水平与对照组无显著差异( $P > 0.05$ )。这表明 LHRH-A 在注射 12h 后可显著促进尼罗罗非鱼垂体 *GH* mRNA 表达水平, LHRH-A 对丽鱼科鱼类 GH 的合成同样具有促进作用, 但这种促进作用在注射后 2 周消失, 可能是因为 LHRH-A 作为一种小肽, 在鱼体内不能长期保留, 2 周后可能已被降解

或消耗完。研究表明拌料投喂 LHRH-A 粗制品可显著促进鲫鱼生长而不影响其营养成分<sup>[4]</sup>, 说明在生产实践中 LHRH-A 更适合以拌料投喂方式给予, 这样可以保证 LHRH-A 在体内长期起促生长作用。

### 3.2 LHRH-A 对肝脏 *GHR* mRNA 表达的影响

已有研究表明 GnRH 及其类似物对动物垂体 GH 的分泌和合成有明显的促进作用, 而 GH 对肝脏 GHR 的表达起重要调节作用, 由此推测 GnRH 及其类似物可能对动物肝脏 GHR 的水平及其基因表达起间接的调节作用, 有关这方面的研究资料较少。用 GnRH 的类似物处理大鼠后, 雄性个体肝脏 *GHR* 水平无明显改变, 雌性个体肝脏 *GHR* 水平则较对照组明显降低<sup>[14]</sup>。在鱼类中, 迄今, 只有邓利等研究过 LHRH-A 对黑鲷肝脏 GHR 的影响, 经 LHRH-A 刺激后, 鱼体内源性血清 GH 水平上升, 但肝脏 *GHR* 基因表达水平无显著变化<sup>[6]</sup>。本研究结果表明, 腹腔注射 LHRH-A 对尼罗罗非鱼肝脏 *GRH* mRNA 表达有显著促进作用, 这与在大鼠、黑鲷中研究结果不一致, 可能是因为所用的检测方法不同, 本研究采用了灵敏度极高的 Real-time PCR 检测方法, 能较准确地检测出肝脏 *GHR* mRNA 表达的差异。

### 3.3 LHRH-A 对肝脏 *IGF-I* mRNA 表达的影响

GH 是硬骨鱼类 *IGF-I* mRNA 表达的主要调节因子之一。给性未成熟虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*) 注射重组大麻哈鱼 GH 和给银大麻哈鱼 (*Oncorhynchus kisutch*) 注射牛 GH 均可显著提高肝脏组织 *IGF-I* mRNA 水平<sup>[15, 16]</sup>。给鲤鱼、草鱼和黑鲷注射 LHRH-A 亦可显著提高其血清 GH 水平和明显提高其生长速率<sup>[2-7, 12, 13]</sup>, 但有关 LHRH-A 对鱼类 *IGF-I* 调节的研究很少。华益民等通过体腔注射 LHRH-A 后发现, 幼鲤和成年鲤血清 GH 水平升高, 同时其肝脏组织 *IGF-I* mRNA 水平也明显增高<sup>[17]</sup>。石和荣等通过投喂实验发现 LHRH-A 能促进黄鳍鲷 GH 的合成和 *IGF-I* 基因的表达<sup>[7]</sup>。本研究结果表明体腔注射 LHRH-A 后, 尼罗罗非鱼垂体 *GH* mRNA 的表达明显增强, 同时肝脏 *IGF-I* mRNA 水平也显著提高, 这结果与在鲤鱼和黄鳍鲷中的一致, 证明 LHRH-A 可通过促进垂体 GH 分泌和合成间接导致肝脏 *IGF-I* mRNA 表达的增强, 从而促进生长。

综上所述, LHRH-A 对鱼类的促生长机理可能是: LHRH-A 直接促进垂体 GH 分泌和合成, 从而间接引发垂体-肝脏生长轴基因表达的上调, 即肝脏

GHR、*IGF-I* 合成的增加, 表现为肝脏 *GHR*、*IGF-I* mRNA 表达水平的提高, 使肝脏中 GHR 数量增加, 血液中 *IGF-I* 水平上升, 鱼类的生长加快。

### 参考文献:

- [1] Lin H R. The interaction of neuroendocrine regulation on reproduction and growth in fish [J]. *Zoological Research*, 2000, **21**(1): 12—16 [林浩然. 神经内分泌学调控鱼类生殖和生长的相互作用. 动物学研究, 2000, **21**(1): 12—16]
- [2] Li W S, Lin H R, Wong A O L. Effect of gonadotropin-releasing hormone (GnRH) on growth hormone (GH) secretion and gene expression in common carp pituitary [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B*, 2002, **132**(2): 335—341
- [3] Lin X W, Lin H R. In vitro studies of the effect of salmon GnRH on the growth hormone secretion by the pituitary of common carp (*Cyprinus capio* L.) [J]. *Acta Zoologica Sinica*, 1994, **40**(1): 30—38 [林信伟, 林浩然. 鲑鱼促性腺素释放激素 (sGnRH) 调节鲤鱼脑垂体生长激素分泌的离体研究. 动物学报, 1994, **40**(1): 30—38]
- [4] Long J, Liu X C, Xie J H, et al. Effects of Crude LHRH\_A administration on growth hormone release and body growth in goldfish (*Carassius auratus*) [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2004, **43**(6): 37—40 [龙进, 刘晓春, 谢嘉华, 等. 投喂 LHRH\_A 粗制品对鲫鱼生长激素释放和生长速率的影响. 中山大学学报(自然科学版), 2004, **43**(6): 37—40]
- [5] Sun Y, Chen L X, Lin H R. Effect of LHRH-A and 5-HT antagonist of growth hormone secretion and body growth acceleration in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2007, **14**(3): 473—477 [孙颖, 陈练茜, 林浩然. LHRH-A 和 5-HT 拮抗剂的协同作用对草鱼鱼种生长激素分泌活动和生长的影响. 中国水产科学, 2007, **14**(3): 473—477]
- [6] Deng L, Lin H R. Effects of Luteinizing Hormone-releasing hormone analogue injection on growth hormone and its receptor in black seabream [J]. *Journal of Shenzhen University (Science & Engineering)*, 2003, **20**(12): 60—65 [邓利, 林浩然. 腹腔注射 LHRH-A 对黑鲷生长激素及其受体的影响. 深圳大学学报(理工版), 2003, **20**(12): 60—65]
- [7] Shi H R, Zhang Y, Zhang W M, et al. Effect of cysteamine hydrochloride and luteinizing hormone-releasing hormone analog on the growth and the expression of *IGF-I* mRNA in the yellow-fin porgy *Sparus latus* [J]. *Acta Zoologica Sinica*, 2005, **51**(1): 108—116 [石和荣, 张勇, 张为民, 等. 半胱胺盐酸盐和 LHRH-A 对黄鳍鲷 *IGF-I* 基因表达和生长的影响. 动物学报, 2005, **51**(1): 108—116]
- [8] Bosma P T, Van Dijk W, Van Haren S, et al. GnRH receptors are restricted to gonadotropes in male African catfish [C]. In:

- Goetz F W, P Thomas (Eds.), Proceedings of the 5<sup>th</sup> International Symposium on Reproductive Physiology of Fish. Austin, Texas, U.S.A. 1995, 2—8
- [9] Wen H S, Lin H R, Xiao D, *et al.* Seasonal changes and neuroendocrine regulation of growth hormone secretion in feral catfish (*Silurus asotus*) [J]. *Acta Zoologica Sinica*, 2002, **48**(2): 213—220 [温海深, 林浩然, 肖东, 等. 野生鲶鱼生长激素分泌的季节变化及其神经内分泌调控. *动物学报*, 2002, **48**(2): 213—220]
- [10] Lin X, Lin S G, Wang Q X, *et al.* Study on the histochemical property of the mast cells in the digestive tract of Nile tilapia [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2011, **35**(1): 132—137 [林旋, 林树根, 王全溪, 等. 尼罗罗非鱼消化道肥大细胞的组化性质. *水生生物学报*, 2011, **35**(1): 132—137]
- [11] Ma X L, Zhang Y, Liu X C, *et al.* Effects of CSH on the growth and gene expressions of the growth axis in Nile tilapia *Oreochromis niloticus* [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2010, **41**(2): 240—245 [马细兰, 张勇, 刘晓春, 等. 半胱胺盐酸盐(CSH)对尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)生长及生长轴相关基因表达的影响. *海洋与湖沼*, 2010, **41**(2): 240—245]
- [12] Wang L, Lin H R. Effects of LHRH-A and DA on growth hormone secretion in juvenile and mature female common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Acta Zoologica Sinica*, 1997, **43**(3): 303—308 [王黎, 林浩然. 促黄体素释放激素类似物和多巴胺对鲤鱼幼鱼和性成熟雌鱼生长激素分泌的影响. *动物学报*, 1997, **43**(3): 303—308]
- [13] Lin H R, LU M, Lin X W. Effects of gonadotropin releasing hormone(GnRH) analogs and sex steroids on growth hormone (GH) secretion and growth in common carp (*Cyprinus carpio*) and grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) [J]. *Aquaculture*, 1995, **135**(2): 173—184
- [14] Gevers E F, Wit J M, Robinson I C A. Effects of long-term gonadotropin-releasing hormone analog treatment on growth, growth hormone (GH) secretion, GH receptors, and GH-binding protein in the rat [J]. *Pediatric Research*, 1998, **43**(1): 111—120
- [15] Duan C, Hirano T. Hormonal regulation of insulin-like growth factor (IGF-I) mRNA expression in coho salmon [J]. *American Zoologist*, 1992, **32**(1): 32—36
- [16] Cao Q P, Duguay S J, Plisetskaya E, *et al.* Nucleotide sequence and growth hormone-regulated expression of salmon insulin-like growth factor I mRNA [J]. *Molecular Endocrinology*, 1989, **3**(12): 2005—2010
- [17] Hua Y M, Lin H R. Differential expression and effect of LHRH-A on expression of IGF-I mRNA in juvenile and adult common carp (*Cyprinus carpio*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2001, **25**(5): 498—502 [华益民, 林浩然. IGF-I mRNA 在不同年龄鲤表达的差异和 LHRH-A 对 IGF-I mRNA 表达的影响. *水生生物学报*, 2001, **25**(5): 498—502]

## EFFECTS OF LHRH-A ON THE GROWTH AND GENE EXPRESSIONS OF THE GROWTH AXIS IN NILE TILAPIA *OREOCHROMIS NILOTICUS*

MA Xi-Lan<sup>1, 2, 3</sup>, ZHANG Yong<sup>1</sup>, ZHOU Li-Bin<sup>3</sup>, LIU Xiao-Chun<sup>1</sup> and LIN Hao-Ran<sup>1</sup>

(1. State Key Laboratory of Biocontrol, Institute of Aquatic Economic Animals and Guangdong Provincial Key Laboratory for Aquatic Economic Animals, School of Life Sciences, Sun Yat-Sen University, Guangzhou 510275, China; 2. School of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China; 3. Department of Life Science, Huizhou University and Institute of Biotechnology, Huizhou 516007, China)

**Abstract:** Regulations of synthesis and secretion of growth hormone (GH) in teleosts are based on the dual control of hypothalamic stimulators including gonadotropin-releasing hormone (GnRH), dopamine (DA), and growth hormone-releasing hormone (GHRH), and hypothalamic inhibitors including somatostatin (SS) and norepinephrine (NE). Gonadotropin-releasing hormone (GnRH) can stimulate the release of growth hormone (GH). LHRH-A is an analog of mammalian GnRH. Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*), a freshwater fish with sexual dimorphism. The effects of LHRH-A on the growth and expressions of GH, GHR and IGF-I mRNA in Nile tilapia remain unclear. Two experiments, designated as long-term and short-term experiments, were carried out. In the long-term experiment, two hundreds Nile tilapias of similar body weight were randomly assigned to the control group (intraperitoneal injection with phosphate saline) and the LHRH-A group (intraperitoneal injection with LHRH-A, 0.01  $\mu\text{g/g}$  body weight) and fed under the same conditions for 70 days. The absolute growth rates (*AGR*), specific growth rates (*SGR*), condition factor (*CF*) and hepatosomatic index (*HSI*) were obtained by measuring the body length, body weight and hepatic weight at different stages. *AGR<sub>W</sub>* and *AGR<sub>L</sub>* levels of LHRH-A-treated male and female increased by 15.95%, 14.82% and 5.06%, 25.36%, respectively, compared to control group ( $P < 0.05$ ). During the 0—2, 2—6, and 6—10 weeks, *SGR<sub>W</sub>* and *AGR<sub>L</sub>* levels of LHRH-A-treated male increased by 11.52%, 1.21%, 39.06% and 3.94%, 1.08%, 10.00%, respectively, compared to the control group ( $P < 0.05$ ); similarly, *SGR<sub>W</sub>* and *AGR<sub>L</sub>* levels of LHRH-A-treated female increased by 14.29%, 6.88%, 5.83% and 24.19%, 9.09%, 28.21%, respectively ( $P < 0.05$ ). Furthermore, *CF* and *HIS* levels of the LHRH-A group were also significantly higher than those of the control group ( $P < 0.05$ ). In the short-term experiment, 120 Nile tilapias of similar body weight were randomly assigned to the control group (intraperitoneal injection with phosphate saline) and the LHRH-A group (intraperitoneal injection with LHRH-A, 0.01  $\mu\text{g/g}$  body weight) and sampled at 6, 12, 24h, and 2 week. Real-time quantitative PCR was used to detect the expressions of GH in pituitary and GHR and IGF-I in liver at different life stages after injection. The expressions of GH in pituitary increased at 12h ( $P < 0.05$ ), and IGF-I in liver increased quickly at 6h, but soon returned to the level of control group. The expression of GHR in liver increased slowly at 24h ( $P < 0.05$ ) and maintained high at 2 week ( $P < 0.01$ ). The results indicated that LHRH-A could increase the mRNA expressions of GH in pituitary and GHR and IGF-I in liver, and significantly promote growth of Nile tilapia. Moreover, our study suggested that large scale administration of some neuroendocrine factor in diet to accelerate the growth rate of cultured fish has promising potential.

**Key words:** Nile tilapia *Oreochromis niloticus*; LHRH-A; Growth; Gene expression