.

草鱼、鲢鱼催产前后血液中促性腺激素含量的变动

姜 仁 良 黄 世 蕉 赵 维 信 (上海水产学院)

提 要

鱼类促性腺激素放射免疫测定法的建立,为此项研究工作提供了新方法。近年来,应用促黄体生成素释放激素类似物(LRH-A)进行家鱼人工催产已取得显著效果,但对其作用的生理机制,特别是引起垂体促性腺激素的释放规律及其与生殖系统的机能联系还鲜有报导。为此,我们通过对草鱼、鲢鱼催产前后垂体和血液中促性腺激素 GTH 含量的测定,以求了解鱼类在性腺发育、成熟、排卵、产卵过程中的内分泌生理机制,为进一步提高家鱼人工催产技术和研究鱼类生殖生理创造条件。

材料和方法

试验于 1977 年 5 月在福建省龙海县水产养殖场进行。亲鱼的选择、雌雄配组、催产用 LRH-A 的剂量,均按生产常规,催产期间的水温范围为 23-29°C。

试验用鲢鱼,采用鳃动脉取血法取血。收集了7尾催产前鲢鱼的血样,12尾催产后并已排卵、人工授精或产空的鲢鱼的血样。

草鱼采用尾动脉穿刺取血法取血。收集了5尾催产前和6尾产空或人工授精时的草鱼血样。

所取血样,静置凝固后离心(3000 转/分钟),取血清,低温(-20°C)保存备用。

鲢鱼和草鱼血液中 GTH 含量,都采用放射免疫测定法测定[4]。我们取草鱼、鲢鱼的血清各 20、40、60、80 和 100 微升,按鲤鱼促性腺激素放射免疫测定法检测,其与标准曲线的平行性良好(图 1),证明此法适用于草鱼、鲢鱼血清促性腺激素的测定。

试 验 结 果

测定的结果表明,在池塘内培育的草鱼、鲢鱼,性腺虽已发育至II期的雌鱼,但在催产前血液中 GTH 的含量仍然很低。7尾雌性鲢鱼血液中的 GTH 含量为7.5±5.13 毫微克/毫升 (ng/ml);5尾雌性草鱼血液中的 GTH 含量为8.9±1.1 毫微克/毫升。经过催产,无论草鱼或鲢鱼血液中 GTH 的含量都显著增加,6尾雌性草鱼的平均值为321.3±70.73毫微克/毫升,12尾雌性鲢鱼血液中 GTH 的平均值为202.5±69.75毫微克/毫升。与催产前比较,GTH 的含量增加了30—40倍。根据差别的显著性测得P值<0.01。因此,草鱼、鲢鱼催产前后血液中 GTH 含量之间存在着显著的变化。试验结果见表1,2。

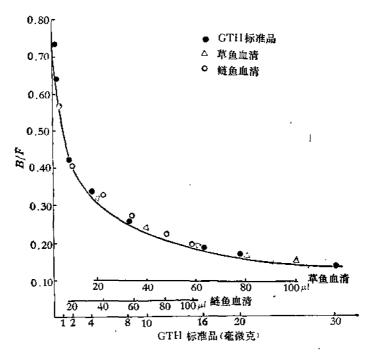


图 1 草鱼、鲢鱼血清放射免疫测试鉴定

表 1 雌鲢鱼催产前后血液中 GTH 含量

5月12日-5月19日

取	血 时	间	尾数	血液中 GTH含量(ng/ml)平均值±标准差	P	位	性腺成熟期
催	ī '	前	7	7.5±5.13	<0	,01	14 期
催产后(产空、人工授精) 1			12	202.5 ± 69.75			

表 2 雌草鱼催产前后血液中 GTH 含量

5月7日-5月19日

取	血时	间	尾数	血液中 GTH 含量(ng/ml)平均值 ±标准差	P	值	性腺成熟期
催	7**	 前	5	8.9±1.1	<0.01		IV 期
催产后(产空、人工授精) 6			6	321.3 ± 70.73			

讨 论

培育在池塘中的青鱼、草鱼、鲢鱼、鳙鱼,其性腺都有发育成熟的可能。特别在生殖 季节,垂体分泌 GTH 的细胞充实饱满[*],而且,垂体 GTH 含量高,生物活性大[*,*,10]。但 是在一般池塘的生态条件下,这些充实的细胞却未能将所含的 GTH 大量释放以促使性 腺进一步成熟。此时,如采用合成的 LRH-A 或促黄体生成素释放激素 LRH 进行人工 催产,即能激发家鱼垂体细胞GTH 的大量释放[1]。由此可见,池塘培育的家鱼不能自然 产卵的原因也许并不在于垂体的 GTH 含量不足,而是在于缺乏必要的生态刺激,触发家 鱼自身下丘脑 LRI 的合成或大量释放,以促使垂体细胞大量分泌 GTH,从而诱发家鱼 在池塘条件下向产卵状态过渡。这一点已被我们上述实验所证实,如雌性草鱼催产前血液 中 GTH 含量为 8.9 ± 1.1 毫 微克/毫升, 亲鱼注射 LRH-A 后, 经过 15—17 小时, 血液 中 GTH 达到了一个高峰(321±70.73 毫微克/毫升), 雌性鲢鱼催产前为 7.5±5.1 毫微 克/毫升,第二次注射 LRH-A 后 16-17 小时,血液中 GTH 同样达到一个高峰(202.5± 69.75 毫微克/毫升)。催产后比催产前血液中 GTH 含量显著增加,均数差别的显著性测 验P值< 0.01。由此也证实了家鱼经催产后,在临近产卵时垂体大量释放 GTH,使血液 中 GTH 的含量达到一个排卵的峰值。也就是说,只有促使垂体将大量积贮的 GTH 释 放,使血液中的 GTH 含量达到一个必要的"排卵阈值",才能促使家鱼排卵、产卵。 草鱼、 鲢鱼如此,即使是在池塘自然条件下能够自然产卵的鲤鱼也是如此,其发情产卵时血清

中 GTH 含量需达到 256±54.63 毫微 克/毫升,即血液中的 GTI含量达到基 础水平时的 30-40 倍(图2)才有产卵的 可能。 Crim 等对洄游性鲑鳟鱼类产卵 前后血浆中 GTH 水平的测定,同样表 明产卵时血浆中 GTH 含量也较产卵前 显著增加,则与我们上述实验相仿[7,8]。 因此,可以认为血液中GTH的含量急剧 增加,达到一定的"排卵阈值"水平,是促 使鱼类排卵、产卵必需具备的内在条件。 不同鱼类的"排卵阈值"可能存在着种间 的差异;同种鱼的"排卵阈值",随着年 龄、个体大小和性腺发育程度的不同也 许会有所上下,但从试验的结果表明鱼 类血液中 GTH的含量,即是否能达到它 的"排卵阈值",作为家鱼发情产卵的一 个生理指标是有意义的。

在应用 LRH-A 对鲢鱼进行心脏灌 注试验,发现在灌注后 3 分钟,血液中

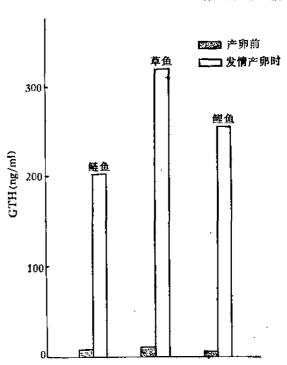


图 2 草鱼、鲢鱼(LRH-A 催产)、鲤鱼(自然产卵)产 卵前后血液中 GTH 含量(ng/ml)

GTH 的含量由原来的 2—4 毫微克/毫升迅速升高到 33—45 毫微克/毫升,在 20 分钟内持续地维持在较高水平 (图 3)。表明 LRH-A 对垂体释放 GTH 具有激发作用,也象其它脊椎动物一样存在着丘脑下部——垂体——性腺系统的调节机制。

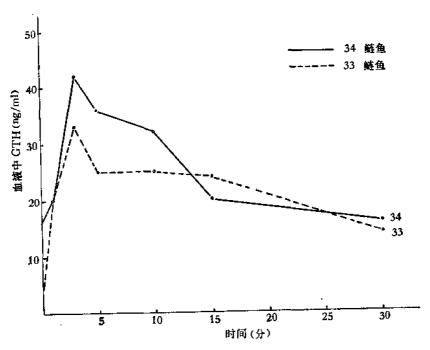


图 3 LRH-A 对鲢鱼心脏灌注兴奋试验

近年来,应用 LRH-A 作为家鱼的催产剂,特别是对于草鱼,单一使用 LRH-A 催产,取代了垂体,使催产效果显著提高。 LRH-A 对鲢鱼的催产效果,受到催产方法上的影响,和草鱼使用同剂量比较,对初产鲢用一次注射的方法,可以获得较高的催产率,但效应时间长达 24 小时左右,造成管理和产卵池周转使用上的不方便,所以目前生产上采用二次注射法,即延长注射时距(24 小时左右),效果甚为显著[6]。但总的说来,鲢鱼对LRH-A 的反应比较迟钝。从我们的试验中也可看出,用 LRH-A 催产后,血液中 GT日含量草鱼也远比鲢鱼为高,而且效应时间短,这说明草鱼对 LRH-A 比鲢鱼敏感。造成这种差别的原因,可能是草鱼垂体细胞膜的受体分子构型不同于鲢鱼,使草鱼对 LRH-A 有特别强的亲和力,能一次触发垂体大量分泌 GTH,使血液中的 GTH 含量达到"排卵阈值"水平。而鲢鱼垂体细胞膜上的受体分子构型对 LRH-A 亲和力稍差,调动垂体一次分泌量不足于达到"排卵阈值",必须作第二次注射,再次调动垂体分泌 GTH,使其达到"排卵阈值"。使之实现发情产卵。

曾有人用专一性 LRH 羧端肽鲢的抗 LRH 免疫血清对鱼类下丘脑作放射免疫测定,未能测到 LRH 免疫性相似物,由此估计至少在羧端,鱼类和哺乳类的 LRH 可能有不同 氨基酸组分。但现在应用的 LRH-A 羧端构型已发生改变,它能更有利于草鱼垂体细胞 膜受体点的结合。因此,LRH-A 对草鱼反应比较灵敏。这些问题的进一步阐明,还有待于今后研究。

参考文献

- [1] 中国科学院北京动物研究所内分泌研究室细胞组、湖北省长江水产研究所养殖研究室生殖组,1977。丘脑下 部促黄体素释放激素(LH-RH) 对草鱼的催产作用——垂体及卵巢的组织化学研究。中国科学6:594-599。
- [2] 施瑔芳、张水元、1964。草、鲢鱼脑垂体变化的组织学研究。水生生物学集刊 5(1):64-76。
- [3] 曹杰超、欧阳玉梅、1975。鲤鱼脑垂体促性腺激素含量年周期变化的研究。水生生物学集刊 5(4):535-540。
- [4] 厦门水产学院鱼类生殖生理科研小组、中国科学院上海生物化学研究所多肽激 素 组,1978。鲤 鱼(Cyprinus carpio L.) 血清促性腺激素的放射免疫测定。生物化学与生物物理学报 10(4):399—407。
- [6] 福建、江苏、浙江、上海淡水经济鱼类人工繁殖协作组、1976。合成丘脑下部促黄体生成素释放激素(LRH)的 类似物对家鱼的催情产卵。生物化学与生物物理学报、8(2):107—114。
- [6] 福建、江苏、浙江、上海淡水经济鱼类人工繁殖协作组,1977。合成促黄体生成素释放激素的类似物(LRH-A)对家鱼催产效果的进一步探讨。生物化学与生物物理学报,9(1):15—24。
- [7] Crim, L. W. et al., 1975. The plasma gonadotropin profile during sexual maturation in a variety of salmonid fishes. Gen. Comp. Endocrin., 27:62-70.
- [8] Crim, L. W. et al., 1973. Radioimmunoassay estimates of plasma gonadotropin levels in the spawning pink salmon. Gen. Comp. Endocrin., 21: 69-76.
- [9] Бурлоков А. Б., 1975. О количестве гонадотронеми гормонов в гипофизе кариа Cyprinus carpio L. Вопрем ихтиол. Том 15, вып. 4(93): 709—719.
- [10] Бурлоков, А. Б., Туреева-Преображенеан, С. В., 1977. Диналика Содержания гонадогропниов в шпофизах самок толотолобика *Hypophthalmichthys molitrix* (Val.) на разных отадиях эрелости гонад. Вопросы интиол. Том 17. Вып. 5(106): 952—955.

CHANGES OF SERUM GONADOTROPIN LEVELS BEFORE AND BEHIND INDUCED SPAWNING IN GRASS CARP AND SILVER CARP

Jiang Renlian, Huang Shijiao and Zhao Weixin
(Shanghai Fisheries College)

Abstract

The synthetic analogue of hypothalamic luteinizing hormone releasing hormone (LRH-A) has been used as a stimulant for induced spawning of fishes. Serum gonadotropin (GTH) levels have been measured by means of radioimmunoassay before and behind spawning of grass carp (Ctsnopharynodon idellus) and silver carp (Hypophthalmichthys molitrix). The experiments showed that the spawning of the carps would take place only when the serum gonadotropin levels reached to a "threshold value of ovulation", i. e. about 30—40 times higher than that before the inducement. This reveals that the mechanism of reproductive physiology of fish, is also represented by the hypothalamus-hypophysisgonad system as well as in other vertebrates.