

鲤鱼脑垂体中促性腺激素含量的周年变化

赵维信 姜仁良 黄世蕉 周洪琪

(上海水产学院)

提 要

经丙酮干制的垂体粉用40%乙醇抽提,冷冻干燥,用放射免疫测定法测定鲤鱼垂体中促性腺激素含量的周年变化。年平均含量为56.1微克/毫克。2月份临近产卵期时,雌、雄鲤鱼垂体中的促性腺激素含量都达到最大值(雌鱼为154.0微克/毫克,雄鱼为160.0微克/毫克)。雄鱼9月份含量最低(8.3微克/毫克),雌鱼10月份含量最低(3.8微克/毫克),并分别在10月份和11月份后开始逐渐上升。其周年变化并与其性腺的发育成正相关关系。

鱼类脑垂体促性腺激素是促使鱼类性腺成熟和排卵的重要激素。鱼类排卵时,垂体大量释放促性腺激素,使血液中的含量急剧升高,促使鱼类性腺成熟过程的完成。因此,进一步测定垂体中促性腺激素含量的季节变动,对深入了解鱼类繁殖机理有重要意义。鲤鱼垂体又是我国鱼类人工繁殖中最常用的鱼类催情物,研究鲤鱼垂体中促性腺激素含量的周年变化,这对掌握鲤鱼性腺成熟、繁殖规律和选择最适季节采集垂体都具有实践意义。曹杰超等^[1]用生物检测的方法对鲤鱼脑垂体中促性腺激素含量年周期变化作了研究。本工作进一步用放射免疫测定方法进行了检测,并对垂体中促性腺激素含量的状况,以及其含量的变动与性腺发育不同阶段的关系作了初步探讨。

材 料 与 方 法

自1978年2月至1979年1月,于福建省厦门地区收集鲤鱼脑垂体。一般每月下旬进行采集样品,上午9:00—11:00分别抽取血液和摘除垂体,并记录鱼的体长、体重、性腺重,以及肉眼观察性腺发育状况。实验鱼体重范围在0.5—3.0斤,每月取样品鱼10尾。垂体经丙酮处理保存待测。

垂体样品的抽提法:同月采集的雌、雄鲤鱼垂体分别合并为一组,用40%乙醇电动搅拌均匀浆,经3000转/分离心15分钟,然后将上清液倒出。用上述同样方法抽提三次,合并上清液,冷冻干燥。冷干品用0.02M, pH7.2的磷酸缓冲液溶解。

经抽提的垂体样本,用双抗体法作放射免疫测定^[4]。

结 果

从实际测得的垂体中促性腺激素(GTH)的含量(见表1),求得每毫克鲤鱼垂体中促性腺激素含量的年平均值为56.1微克(雌鲤为52.4微克/毫克,雄鲤为59.9微克/毫克)。实验表明,雌鲤鱼2、3月份脑垂体中GTH含量最高,达152.0—154.0微克/毫克。7—10月为全年中含量较低的月份,其中又以10月份的含量为全年最低的月份,仅3.8微克/毫克,11月份开始,垂体中GTH含量又逐渐回升。雄鲤鱼以2月份脑垂体中GTH含量最高为160.0微克/毫克。3、4月份的含量略下降,于5月份又出现一个较2月份稍低的峰值,为124.0微克/毫克。6—9月份的含量较低为10.0微克左右/毫克,其中以9月份的含量为全年最低,10月份开始,垂体中GTH含量又逐渐回升(见表1、图1)。

表1 鲤鱼垂体中促性腺激素(GTH)含量和成熟系数(GSI)

月 份	GTH $\mu\text{g}/\text{mg}$		GSI%	
	雌	雄	雌	雄
1	20.1	75.0	10.7	13.5
2	154.0	160.0	20.3	13.8
3	152.0	102.0	22.9	25.4
4	96.0	82.0	26.6	14.6
5	46.0	124.0	13.1	9.4
6	44.0	19.5	4.8	5.3
7	9.2	15.4	5.0	5.8
8	18.0	12.0	3.1	7.3
9	7.5	8.3	3.3	5.3
10	3.8	22.5	5.6	7.4
11	42.0	54.5	9.5	10.0
12	36.0	43.1	12.1	13.8

将鲤鱼的年繁殖周期分成产前期(11—2月),产卵期(3—5月),产后期(6—10月)三个阶段,则产卵期垂体中GTH含量较产后期高(见表2、图2),差异非常显著($P < 0.01$);产卵期的含量虽较产前期高,但统计学上的差异不显著($P > 0.05$)。另外,垂体中GTH

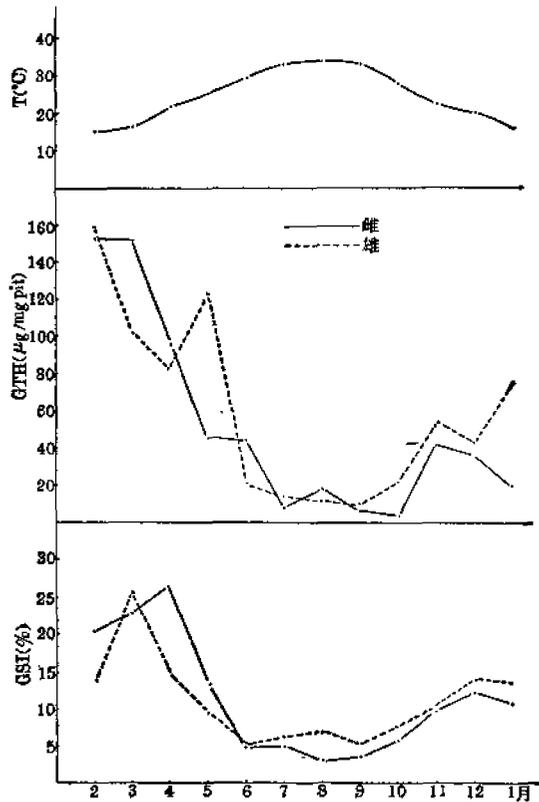


图1 鲤鱼垂体中 GTH 含量在繁殖周期中的变化

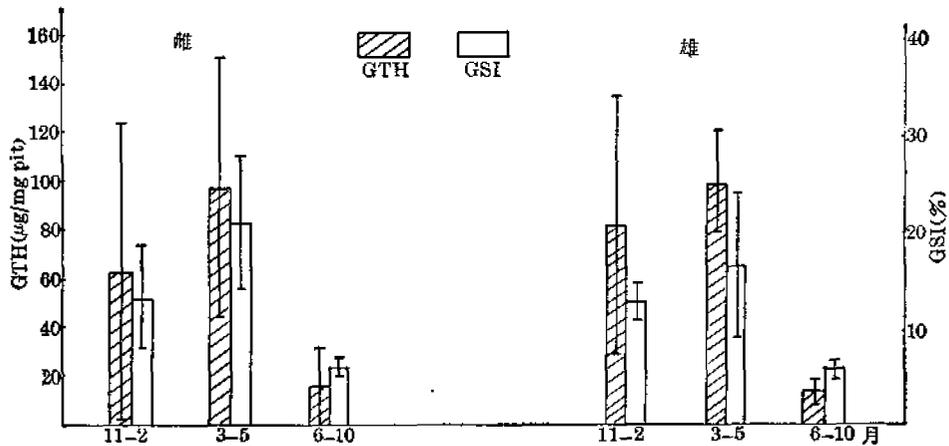


图2 鲤鱼性腺不同发育阶段垂体中 GTH 含量与成熟系数

含量的变化与成熟系数的变化,几乎是同步的。雌、雄鲤成熟系数的最大值均较垂体中 GTH 含量的最大值迟一个月(图 1),这显示出促性腺激素对鲤鱼性腺生长、发育和成熟的诱导作用。雄鱼垂体中 GTH 含量的周年变化早于雌鱼的变化,特别明显地表现在繁殖季节和性腺的复发(即配子生长期开始),这与雄鱼生殖腺先成熟相吻合。

表2 鲤鱼性腺的不同发育阶段垂体中促性腺激素(GTH)含量与成熟系数(GSI)的关系

	GTH ($\mu\text{g}/\text{mg}$)		GSI (%)	
	雌	雄	雌	雄
产前期 (11月—2月)	63.0 \pm 61.3*(14)	83.2 \pm 52.9*(18)	13.2 \pm 4.9	12.8 \pm 1.9
产卵期 (3月—5月)	98.0 \pm 53.0(11)	102.7 \pm 21.0(10)	20.9 \pm 7.0	16.5 \pm 8.2
产后期 (6月—10月)	16.5 \pm 16.2**(18)	15.5 \pm 5.7**(20)	4.4 \pm 1.1	6.2 \pm 1.1

注: * 各与3月—5月的含量相比较 $P>0.05$; ** 各与3月—5月的含量相比较 $P<0.01$; 括弧内的数, 表示实验用的垂体个数。

讨 论

所测得的鲤鱼垂体中促性腺激素含量的周年变动与用蟾蜍体外跌卵的生物鉴定法^[2]相比较, 结果基本一致。2—4月份的含量最高, 而9、10月份的含量最低。由于放射免疫测定法所测得的数据, 反映了垂体中GTH的实际含量, 即每毫克垂体中所含的GTH量(微克/毫克), 比用体外跌卵所得的GTH含量的相对值更精确, 能真正反映出垂体GTH的实际值。因此, 对我们进一步了解促性腺激素的合成、释放, 以及在促使鱼类性腺成熟、排卵和产卵时, 与其它激素的相互关系的研究创造了更有利的条件。

1. 垂体中GTH含量与性腺发育的关系

在很多文献中较详细地描述了脑垂体间叶嗜碱性细胞的比例、大小, 分泌颗粒积累及分泌状况, 反映了脑垂体与性腺发育的关系。本文从对脑垂体中促性腺激素含量周年变化的研究, 同样显示了它与性腺发育的密切关系。鲤鱼的配子发生, 一般是在前一个繁殖周期之后立即开始的, 在10月份已基本完成了增殖阶段, 而转入卵黄积累阶段。6—10月正是成熟系数最低的几个月, 此时, 精巢或卵巢由体整恢复阶段逐渐转入发育阶段, 看来, 鱼体只需要一个较低水平的促性腺激素循环量即可诱导早期配子发生的进行。这也是一年中垂体GTH含量最低的几个月。10月份后, 性腺已进入生长期, 雌鱼的卵母细胞将开始积累卵黄, 此时垂体中GTH含量伴随着缓慢地升高。可能这与刺激卵泡的颗粒细胞以及内膜细胞产生雌二醇有关^[10], 以致血液中雌二醇的水平逐渐上升^[10, 11], 由于雌二醇的作用以及其它一些因素的作用, 导致磷蛋白等合成卵黄的物质转化到卵母细胞中沉积下来。在整个卵黄积累时期, 血液中雌二醇水平不断升高, 至卵黄积累结束, 血液中雌二醇水平达到最大值^[11]。11—2月正是卵黄积累时期, 垂体中GTH的含量较配子发生早期稍高, 因此, 这一阶段GTH的作用主要是诱发卵母细胞积累卵黄。

2. 垂体中GTH含量与排卵、排精的关系

卵母细胞成熟→排卵→产卵时期, 硬头鲮(*Salmo gairdneri*)卵母细胞核偏位时, 血

液中 GTH 水平逐渐升高；鲤、鲢、草鱼及鲑鳟鱼类在排卵和产卵时，血液中 GTH 含量迅速地升高达到产卵峰值^[1,2,8,9,12]。这与垂体中相应地具有丰富的贮存量有关。鲤鱼在我国大多数地区都是春季产卵，厦门地区，鲤鱼产卵时间一般在 3—5 月（个别成熟较好的鲤鱼，2 月底已开始产卵）。本实验数据证明，3、4 月份成熟系数最大，为当地鲤鱼繁殖旺季。此时，垂体中 GTH 含量也是全年中最高。这与组织学的观察也是相一致的，产卵期脑垂体间叶嗜碱性细胞的数量较其它时期高，细胞体积增大，分泌颗粒多^[5]。所以这三者的吻合，更清楚地说明了在卵母细胞成熟的后期，排卵及产卵，这几个生理环节都紧密地与 GTH 大量合成和大量释放入血液中有关。也就是说，垂体中 GTH 大量合成，贮存是鱼类繁殖时，GTH 大量释放入血液循环引起排卵、排精的基础。

本实验分别对雌雄鲤鱼的垂体进行了测定。雄鱼垂体 GTH 的周年含量，峰值出现于雌鱼之前，这与雄鱼性腺先成熟，在卵巢发育成熟一个月前就能挤出精液是相符合的。并且，雄鱼精液在排精一次之后，又能再度产生成熟的精子，所以在 5 月份还出现一个垂体 GTH 的峰值。这与在繁殖季节，精巢内存在着不同时相的精母细胞，能不断发育成精子有关，也与雄鱼在 5 月份垂体中还保持较高的促性腺激素水平有关。所以，在自然产卵群体中，一小部份晚成熟的雌性个体仍有产卵受精的可能。而六月份由于水温过高（30℃左右），垂体中促性腺激素的合成大大减少，不能再诱发精子形成，精巢中残余的精子也将退化吸收。而雌鲤鱼，卵巢中所有发育的卵母细胞，基本上是处于同步的，卵子成熟排出后，卵巢就转为 VI 期，未排出的 IV 期卵母细胞退化吸收。另外，图 1 又指出，雄鱼垂体中 GTH 含量在配子发生早期连续几个月处于低而恒定的水平之后，又较雌鱼早一个月开始稍有升高，进入生长期。这说明在性腺的周年变化中，精巢的发育在垂体促性腺激素的影响下，快于卵巢的发育。

3. 水温对垂体中 GTH 含量的影响

不少资料指出，决定性周期变化的重要环境因子是水温。如果说，鲤科鱼类配子发生可以在一个广泛的温度范围内进行，但就排卵来说，对温度的要求则较严格。在生产实践中和许多实验资料中也反映了鲤鱼、家鱼等只有在其适宜产卵温度范围内，垂体对促黄体生成素释放激素类似物（LRH-A）的反应是敏感的^[6]，水温过高（30℃以上）或过低（18℃以下），不论用 LRH-A 催产或用鱼类垂体催产，都是很难诱发排卵的。温度主要是影响了机体内某些酶的活动，如受体细胞的腺苷酸环化酶的活力，对温度就有明显的依赖性，低温环境下，cAMP 的合成量就减少^[6]，下丘脑的促性腺激素释放激素^[7]对垂体嗜碱性细胞的作用就降低，促性腺激素的合成必然减少。所以，温度是影响促性腺激素合成的重要环境因子之一。鲤鱼等春季产卵的鱼类，高温（水温 30℃以上）可能对促性腺激素合成的抑制作用较低温（4—10℃）情况下更明显，冬季垂体中 GTH 的含量高于夏季（见图 1）。而这种对温度的适应性可能随鱼的种类而有差异性。

4. 收集鲤鱼垂体的时间

2、3、4 月份是鲤鱼垂体中 GTH 含量最高的月份，这本该是收集鲤鱼垂体最理想的时间，但国内大部分地区的水库和湖泊等水域大规模捕捞是在冬季进行，此时起捕的鱼数

量大,便于收集到一定量的垂体。从本研究结果看,11—2月份,雌鲤鱼垂体中GTH的平均含量为63.0微克/毫克;雄鲤鱼为83.2微克/毫克。因此,结合冬季大捕捞时间,收集垂体还是可采纳的。因为这时垂体中GTH的含量已开始出现回升趋势。若在接近春季前收集的话,其平均含量就更高,与产卵期的含量差异就更小。所以,每年春节前是适宜收集鲤鱼垂体的季节。

结 论

1. 鲤鱼每毫克垂体中促性腺激素年平均含量为56.1微克/毫克。雌鱼为52.4微克/毫克;雄鱼为59.9微克/毫克。

2. 雌雄鲤鱼垂体中促性腺激素含量在2月份,即临近产卵期都已达到最高峰。雌鱼的高峰值为154.0微克/毫克,雄鱼的高峰值为160.0微克/毫克。雌鱼在10月份的含量最低,为3.8微克/毫克;雄鱼在9月份的含量最低,为8.3微克/毫克。

3. 配子发生早期(6—10月)垂体中促性腺激素的含量是较低而恒定的。卵黄积累时期(11—2月)垂体中促性腺激素含量缓慢地升高,至繁殖周期最后阶段(3—5月),即卵母细胞成熟、排卵、产卵的阶段,垂体中促性腺激素含量迅速上升至相当的水平。

4. 鲤鱼垂体中促性腺激素含量呈现明显的周年变化,并与该鱼性腺发育成正相关性。

参 考 文 献

- [1] 赵维信等,1979. 鲤鱼产卵前后血清中促性腺激素含量的变动。动物学杂志 2:3—5。
- [2] 姜仁良等,1980. 草、鲢鱼产卵前后血清中促性腺激素含量的变动。水产学报,4(2):129—133。
- [3] 曹杰超、欧阳工梅,1975. 鲤鱼脑垂体促性腺激素含量的年周期变化的研究。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。
- [5] 施琼芳、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):63—72。
- [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)对家鱼催产效果进一步探讨。生物化学与生物物理学报 9(1):15—23。
- [7] 潘京秀等,1979. 鲤 (*Cyprinus Carpio*) 促性腺激素释放激素分泌核群的酶免疫细胞化学定位。实验生物学报 12(4):305—310。
- [8] 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.
- [9] Crim, L. W. et al., 1973. Radioimmunoassay estimates of plasma gonadotropin levels in the spawning pink salmon. *Gen. Comp. Endocrin.*, 21: 69—76.
- [10] Lambert, J. G. D. et al., 1978. Annual Cycle of plasma oestradiol-17 β in the female trout *Salmo gairdneri*. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, 18(4): 923—927.
- [11] Fostier, A. et al., 1978. Plasma estradiol-17 β and gonadotropin during ovulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.) 18(4): 929—936.
- [12] Billard, R. et al., 1978. Endocrine Control of the Teleost reproduction cycle and its relation to external factors: Salmonid and Cyprinid models. *Comparative Endocrinology*, Gaillard, P. J. and Boar, H. H., eds. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam.

ANNUAL CYCLE OF GONADOTROPIN CONTENT IN COMMON CARP (*CYPRINUS CARPIO* L.) PITUITARY GLAND

Zhao Weixin, Jiang Renliang, Huang Shijiao and Zhou Hongqi

(*Shanghai Fisheries College*)

Abstract

A radioimmunoassay (RIA) for annual cycle of gonadotropin (GTH) pituitary content in common carp has been made. Carp pituitary glands dried by acetone were extracted with 40% ethanol and lyophilized for assay. The annual mean content of gonadotropin in pituitary gland is 56.1 $\mu\text{g}/\text{mg}$. GTH pituitary content of both male and female reach to maximum value in February near the ovulation stage (female 154.0 $\mu\text{g}/\text{mg}$; male 160.0 $\mu\text{g}/\text{mg}$). While GTH pituitary content of male fish in September and that of female in October drop to minimum value 8.3 $\mu\text{g}/\text{mg}$ for male and 3.8 $\mu\text{g}/\text{mg}$ for female. Later on the contents of both male and female begin to increase gradually until a maximum value is reached again in next February. Seasonal variation of the GTH contents exhibit a definite cycle change and it is positively correlated with gonadosomatic index (GSI).