

鲤鱼产卵前后血清中促性腺激素含量的动态变化

赵维信 黄世蕉 姜仁良

(厦门水产学院)

近年来,应用放射免疫测定法对动物体液和组织中激素含量进行超微量测定,进一步活跃了内分泌领域的研究内容。在与鱼类生殖有关的各种激素的研究中,也开始采用这些新的测定技术。首先是对鱼类垂体分泌的促性腺激素的研究。促性腺激素不仅与鱼类的性腺发育和成熟有关,而且对排卵和产卵有着直接的关系。因此,了解和掌握促性腺激素在鱼类生殖过程中的动态变化,显得十分重要。鱼类生殖过程中,垂体释放促性腺激素的直接证据尚不多,从血液中直接测定垂体分泌促性腺激素含量变化的报告也较少。克里姆(Crim)等曾对鲑鳟鱼类性成熟时期和产卵时血浆中促性腺激素的含量作了研究。1976年8月我们建立了灵敏的鲤促性腺激素放射免疫测定法,并就鲤鱼作了这方面的初步探讨。

鲤鱼能在池塘中自然成熟和产卵,测定其产卵前后血清中促性腺激素含量的动态变化,不仅有利于弄清楚鲤鱼的生殖生理特性,而且,有利于进一步开展鲢、鳙、草、青鱼的生殖生理研究。

材料与方 法

实验用鱼为鲤鱼,1977年鲤鱼产卵季节,从厦门郊区公社渔场取全部性成熟的雌雄鲤鱼的血液。雄鱼体重250—1125克,能挤出精液;雌鱼体重350—1250克,腹部明显膨大。用尾动脉穿刺法抽取血液,待血液凝固后,放入冰桶,带回实验室,离心(3000转/分)10分钟,分离血清,保存在-20℃备用。

鲤鱼血清中促性腺激素含量的测定,是采用鲤促性腺激素放射免疫测定法¹⁾。鲤促性腺激素标准品(SG-II-1)和兔抗鲤促性腺激素血清于1976年制备,低温(-20℃)保存备用。SG-II-1的产卵有效剂量为1微克/1克泥鳅体重。抗原-抗体结合物与游离抗原分离的技术是用双抗体法。中国科学院原子能研究所供应的Na-¹²⁵I用于标记提纯的鲤促性腺激素。

各种测定试剂均用等渗磷酸缓冲液(含0.15 M NaCl的0.02 M磷酸缓冲液,pH 7.0)配制。试管内依次加入下列试剂:

	标准品组	样品组
0.1M EDTA	0.1毫升	0.1毫升
1%正常兔血清	0.4毫升	0.4毫升
等渗磷酸缓冲液	0.2毫升	0.2毫升
血清样品		0.1毫升
不同浓度的标准品(SG-II-1)	0.1毫升	
兔抗鲤促性腺激素血清	0.1毫升	0.1毫升
¹²⁵ 碘标记的鲤促性腺激素	0.1毫升	0.1毫升

充分摇匀,置4℃温育48小时后,加入0.1毫升羊抗兔γ-球蛋白血清(第二抗体),继续在4℃温育24小时。温育完毕,用FH-408自动定标器和FT-603γ井型闪烁探头计数,测得总反应液的计数率,然后离心(3000转/分)10分钟,上清液弃去,再测定沉淀物的计数率。计算B/F值。

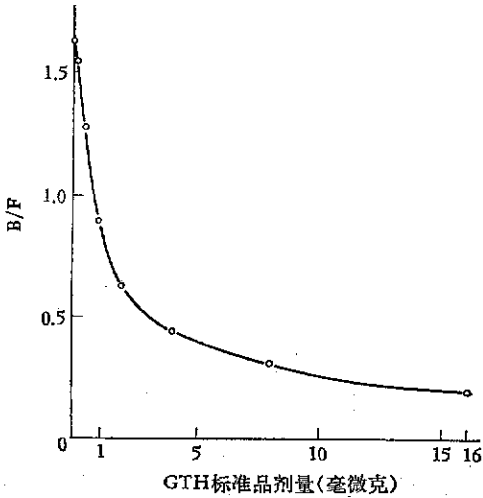
$\frac{B}{F}$ (抗原—抗体结合物的计数率)
F (游离抗原的计数率)

1) 生物化学与生物物理学报, 10,(4): 399—407, 1978。

沉淀物的计数率

总反应液的计数率—沉淀物的计数率

以标准品组的 B/F 值为纵坐标, 标准品不同浓度为横坐标作图, 得标准曲线(见图)。求出样品组各管的 B/F 值, 查对标准曲线, 即得各样品的促性腺激素含量。本测定法的最低检出量为 0.1 毫微克。



鲤促性腺激素 (GTH) 放射免疫测定之标准曲线图

结 果

鲤鱼产卵前后血清促性腺激素含量的放射免疫测定值见表 1 和表 2。

实验结果表明, 血清中促性腺激素含量在产卵前后有明显的变化。配组时, 雌雄鲤鱼血清促性腺激素的水平均较低, 雄鲤鱼的平均含量为 3 ± 1.85 毫微克/毫升, 雌鲤鱼的平均含量为 5.3 ± 3.59 毫微克/毫升。配组后 24 小时, 雌雄鱼出现追逐产卵活动。正值发情高峰时(已排卵)取血样, 测得雌鲤鱼血清促性腺激素的平均含量为 256 ± 54.63 毫微克/毫升, 与配组时的血清促性腺激素相比较, 差异显著 ($P < 0.001$), 促性腺激素的含量增加了四十多倍。产卵结束后, 血清促性腺激素的含量迅速下降, 发情高峰后 3 小时, 促性腺激素的平均含量只有高峰时的 5%。而雄鲤鱼在发情排精时, 血清促性腺激素的含量较配组时仅略有增加, 未见显著变化 ($P > 0.05$)。

表 1 雄鲤鱼排精前后血清促性腺激素 (GTH) 含量的测定值 (毫微克/毫升)

日 期	组 数	GTH 含量	P 值	生殖腺时期
3 月 11 日 10 时	4	$3 \pm 1.85^*$		挤出精液
3 月 12 日 10 时	4	4 ± 6.61	> 0.05	排 精

* 平均数士标准差。

表 2 雌鲤鱼产卵前后血清促性腺激素 (GTH) 含量的测定值 (毫微克/毫升)

日 期	组 数	GTH 含量	P 值	生殖腺时期
3 月 11 日 10 时	4	$5.3 \pm 3.59^*$	< 0.001	成 熟 卵
3 月 12 日 10 时	4	256 ± 54.63		排卵或产卵
3 月 12 日 13 时	4	12.8 ± 3.78	< 0.001	产 后

* 平均数士标准差。

讨 论

克里姆 (Crim) 等 (1973) 对产卵的驼背大麻哈鱼 (*Oncorhynchus gorbuscha*) 的研究和克里姆 (Crim) 等 (1975) 对鲑鳟鱼类性成熟时血浆促性腺激素浓度的研究中看出, 产卵时, 雌鱼血浆促性腺激素含量的变化远较雄鱼明显; 洄游性的红大麻哈鱼 (*O. nerka*) 产卵时雌鱼血浆促性腺激素浓度较洄游至淡水时高 30—40 倍。而雄鱼仅为 3 倍。与我们在鲤鱼获得的实验结果相一致。

试验结果不仅说明了鲤鱼产卵活动与促性腺激素的大量释放的密切关系, 而且还说明产卵过程的实现, 是必须以雌鱼促性腺激素的大量释放为前提, 也就是说, 雌鱼垂体分泌的促性腺激素量如果达不到一定的峰值, 则一系列的生理效应就不可能产生, 就不能出现一个从量变到质变的“飞跃”, 当然也就不会发情产卵。而雄鱼的排精, 主要是需要有雌鱼的诱导与配合。我国一些地区, 在人工繁殖生产中, 对发育良好的雄鱼并不注射催情剂, 证明在生产上是可行的, 在理论上也是可以解释的。

我国家养鱼类(鲢、鳙、草、青)人工繁殖生产中, 对雌鱼注射绒毛膜促性腺激素 (HCG) 或鱼类垂体等, 目的就在于人为地增加血液中促

性腺激素的含量；注射合成的促黄体生成素释放激素(LRH)及其类似物(LRH-A)时，则是促使鱼类本身垂体大量分泌促性腺激素，作用于靶器官——性腺，使性腺由第Ⅳ期向第Ⅴ期“飞跃”，使卵子脱巢并产出。看来，家鱼在池塘里，经过培育，性腺能够成熟，但不能自然繁殖，其关键在于家鱼下丘脑LRH缺乏或没有大量释放出来，转而激发雌鱼垂体大量分泌促性腺激素。当注射外源性LRH、LRH-A时，血清中促性腺激素水平增高到200—300毫微克/毫升，达到与鲤鱼配组后，血清中促性腺激素含量的相似水平，并在雄鱼密切配合下，才能促使发情、产卵和受精。至于其它鱼类，亦应具有相似的规律性。

鲤鱼临近产卵季节，2月份下丘脑LRH的含量最高，平均每只鲤鱼下丘脑含2毫微克LRH¹⁾。与此同时，鲤鱼垂体促性腺激素含量也是最高时期²⁾。由此可知，鲤鱼自然产卵时，促性腺激素的大量分泌，是由于产卵生态因子的存在和雌雄鱼的相互诱发，首先激发下丘脑神经分泌细胞释放LRH，转而触发垂体大量分泌促性腺激素，导致鲤鱼发情产卵。另外，又从我们进行的鲤鱼LRH-A心脏灌注试验中，证明灌注LRH-A后血液中促性腺激素含量出现明显的峰值；克里姆(Crim)等(1976)在金鱼的第二脑室注入合成的LRH或金鱼下丘脑抽提物和布雷顿(Breton)等(1973)用合成的LRH或鲤鱼下丘脑抽提物作鲤鱼心脏灌注试验，也都

激起垂体促性腺激素的大量分泌，血液中促性腺激素含量显著增高。证实了鱼类垂体促性腺激素的分泌，是受到LRH的直接控制的。并从我国家鱼人工繁殖生产中，应用LRH和LRH-A进行人工催情产卵，取得非常显著的效果，这些都说明鱼类确实存在与哺乳动物相似的下丘-垂体-性腺系统的性功能调节机制。家鱼不能在池塘里自然产卵，显然是由于池塘条件不具备在江河自然产卵时的那些生态因子(风浪翻腾与湍急水流)的刺激，从而激发LRH的释放。可以设想，如果给予亲鱼一种刺激，如电刺激，能起到产卵生态因子的那种作用，达到使下丘脑释放LRH的目的，转而触发垂体分泌大量促性腺激素，也同样能完成产卵过程。

小 结

一、鲤鱼雌鱼在排卵时，血清中促性腺激素的水平显著增高，较配组时增加四十多倍，绝对值达到 256 ± 54.63 毫微克/毫升，产卵后即迅速下降。

二、鲤鱼雄鱼排精时，血清中促性腺激素的含量大大低于雌鱼排卵时的含量。在排精前后也无显著变化，雄鱼发情排精时，血清促性腺激素含量较配组时约增高2—3倍。

三、鱼类也与哺乳动物一样，存在着下丘脑-垂体-性腺的性功能调节机制。

1) 生物化学与生物物理学报, 9, 1977, 105—111。

2) 水生生物学集刊, 5, 1975, 535—540。