

硬骨鱼类促性腺激素的分泌及其调节机制

林浩然

(中山大学生物系, 广州)

THE SECRETION OF GONADOTROPIN AND ITS CONTROL MECHANISMS IN TELEOSTS

Lin Haoran

(Department of Biology, Zhongshan (Sun Yetsen) University)

美国动物学会和加拿大动物学会为纪念著名鱼类生理学家 Dr. W.S.Hoar, 于 1980 年 12 月 28 日在美国西雅图市联合举行一次“鱼类繁殖”的专题学术会议。会上, 美国、加拿大、法国、日本和新加坡的学者围绕鱼类繁殖的行为和内分泌问题发表了十一篇科学论文和综述, 反映了当前对鱼类繁殖生理研究取得的新进展。现仅就比较普遍感兴趣的硬骨鱼类促性腺激素的分泌及其调节机制问题做一综合介绍。

硬骨鱼类的促性腺激素及其测定

从硬骨鱼类脑垂体提纯的促性腺激素 (GTH) 和哺乳类的促黄体激素 (LH) 及促滤泡激素 (FSH) 的化学结构相似, 它们都是糖蛋白。鲤鱼的 GTH 有 α 和 β 两个亚单位, 哺乳类的 LH 亦是由 α 和 β 两个不同的亚单位结合形成。Marchelidon 等(1979)^[45]的研究, 表明鲤鱼 GTH 的 β 亚单位能和牛 LH 的 α 亚单位结合, 这种鱼类-哺乳类混合形成 GTH, 其生物活性和鱼类 GTH 很相近。由此说明硬骨鱼类和哺乳类 GTH 的分子结构十分相似(其速率较牛 LH 合成稍快)。

早期的研究认为硬骨鱼类只有一种 GTH, 但最近的研究在四种硬骨鱼类 (大马哈鱼、鲤鱼、拟庸鲮和美洲拟鲮) 证明有两种 GTH^[35,36,37,46]。碳水化合物含量高的一种 (分离时为伴刀豆球蛋白 A-琼脂糖所吸收), 叫 ConA-II GTH, 能积极促进卵母细胞成熟和排卵, 精子生成, 类固醇类生成以及提高环式 AMP 的活性。碳水化合物含量低的一种 (分离时不为伴刀豆球蛋白 A-琼脂糖所吸收), 叫 ConA-IGTH, 能促进卵母细胞吸收卵黄并依种类不同而能够或多或少促进类固醇类生成和环 AMP 的活性。卵母细胞的卵黄生成阶段需要这两种 GTH, 但卵母细胞成熟和排卵, 则只需要 ConA-II GTH。

近几年来建立了鱼类 GTH 的放射免疫测定方法。由于提纯的硬骨鱼类 GTH 有限, 而且抗体对提纯的 GTH 有高度的种类特异性, 所以, 放射免疫测定只在少数几种鲑

科和鲤科鱼类中进行。到目前为止,用提纯的鲤鲫鱼 GTH 产生抗体及做为标准的放射免疫测定方法已在三个实验室建立,即法国的 Breton 等^[12,14]和加拿大的 Crim 等^[22](他们都是用相同的标准为基础建立起来的),加拿大的 Peter 等^[32]和我国的上海生物化学研究所和上海水产学院^[24]。用提纯的鲑鱼 GTH 产生抗体及做为标准以测定鲑鳟鱼 GTH 的放射免疫方法在二个实验室建立,即法国的 Breton 等^[13]和加拿大的 Crim 等^[19,20]。目前,这些放射免疫测定都是用于 ConA-IIGTH,还没有关于 ConA-IGTH 放射免疫测定的结果发表,虽然这种 GTH 的抗体已经生产并且用于生物学研究。所以,本综述介绍的放射免疫测定鱼类脑垂体和血液中 GTH 水平都是指的 Con A-IIGTH (相当于 LH)。

促性腺激素的释放激素 (GnRH) 的来源及其对 GTH 分泌的调节作用

许多硬骨鱼类下丘脑的粗制抽提物中已经证明有促性腺激素释放激素的活性,而对金鱼、美洲拟鲮和莫桑比克罗非鱼的研究则显示了 GnRH 活性在脑中的差异性分布^[18,22,42]。

最近,King 和 Millar (1979, 1980)^[41,42]系统地对哺乳类(鼠)、鸟类(鸽和鸡)、爬行类(龟和蜥蜴)、两栖类(蛙和蟾蜍)、硬骨鱼类(罗非鱼)、板鳃类(鲨鱼)的下丘脑和下丘脑以外的脑抽提物检验了 GnRH,并进行一系列免疫交叉反应研究。结果表明,下丘脑抽提物的免疫反应 GnRH 浓度要比下丘脑以外的脑抽提物大 5 倍,硬骨鱼类的 GnRH 在化学结构方面和板鳃类、爬行类以及鸟类的相似,而和哺乳类与两栖类的不同。他们的层析结果亦表明硬骨鱼类、爬行类和鸟类的 GnRH 可能是相同的。根据对各种不同抗体的 LH-RH 抗原性部位,他们认为各种不同类群脊椎动物 GnRH 的生物作用部位和分子大小都是十分相似的。此外,我们还注意到鱼类 GnRH 活性的季节性变动,在性成熟硬骨鱼类的下丘脑抽提物中可以检验到 GnRH 的活性,而在非生殖期的下丘脑抽提物中则检验不到。这和我国学者(1977)^[41]对鲤鱼的研究结果相似,即在 2 月份生殖期的鲤鱼下丘脑抽提液要比在 10 月份非生殖期的有较强的 GnRH 免疫交叉反应。

科学实验和生产实践都已证明人工合成的促黄体素释放激素和它的类似物能够刺激硬骨鱼类 GTH 分泌及诱导排卵。近几年的研究则着重于 LH-RH 的来源及它对 GTH 分泌的调节作用。

许多学者使用免疫细胞学技术检验 LH-RH,以了解 GnRH 在脑和脑垂体中的分布情况。免疫反应的物质曾在虹鳟 (*Salmo gairdneri*)、剑尾鱼 (*Xiphophorus maculatus*)、日本鳗鲡 (*Anguilla japonica*) 和东方鲀 (*Fugu niphobles*) 的侵入腺垂体的神经垂体组织中检验到。但,在脑中有免疫反应核周体的定位方面研究的结果却很不一致。Goos 和 Murathanoglu (1977)^[31]报道小的免疫反应核周体散布于虹鳟端脑中央背区 1 而免疫反应的神经纤维散布于朝向脑垂体的前下丘脑。但是, Dubois 等 (1979)^[27]和 Nozaki 等 (1979)^[47]却报道在虹鳟检验不到有免疫反应的核周体或者神经纤维。Schreibman 等 (1979)^[61]在剑尾鱼的结节外侧核 (NLT) 后部,端脑侧部和腹部腹区发现免疫反应核周体,而免疫反应的神经轴突束则在脑垂体柄和由视交叉背侧到水平缝合尾腹侧检验到。Nozaki 等 (1979)^[47]在日本鳗鲡的视前区腹侧, NLT, habenular 核和视叶发现免疫反应的

神经纤维,都没有看到有免疫反应的核周体。此外,他们研究的另外三种鱼类(虹鳟、东方鲀和青鲷)的脑部完全没有检验到有免疫反应的物质。我国潘家秀等(1979)^[3]对鲤鱼的研究,证明视前核(NPO)系统是合成与释放 GnRH 的部位,可以看到有免疫反应的核周体,而其神经纤维分布于视前核周围、前脑侧束区、视前隐窝腹侧和尖端、视交叉中间以及沿视束和下丘脑外侧区。

以上研究结果的差别可能是因为 GnRH 的分泌核群有种属的差异^[38],亦可能和各个学者使用抗 LH-RH 血清的性质不同有关。归纳这些研究结果可以看到硬骨鱼类 GnRH 分泌细胞的三个中心是: NLT, NPO 和端脑。但由于结果不一致,有必要进一步深入研究,而最好是同一种鱼,以不同的抗血清标记,或者用同一种抗血清标记不同种的鱼来进行比较。

近年来的研究^[59,64]已经弄清楚硬骨鱼类主要有 A 型和 B 型两种神经分泌纤维(它们含有的分泌颗粒大小不同)的轴突直接进入腺垂体,并且支配 GTH 细胞的分泌活动。其中有些种类(如鲫鱼、青鲷) A 型和 B 型神经分泌纤维都和 GTH 细胞有直接的突触联系;有些种类(如罗非鱼、泥鳅)只 B 型神经分泌纤维和 GTH 细胞有突触联系;而有些种类(如日本鳗鲡、康吉鳗、丁鲷等)的 A 型和 B 型神经分泌纤维都不和 GTH 细胞直接联系,它们之间为基底膜分隔开。超显微结构和细胞化学的研究表明这些神经分泌纤维可能来自 NLT 和 NPO。此外,一系列研究都说明 NLT 或 NPO 的细胞活动特点和 GTH 细胞的活动性之间有密切联系,进一步认为它们参与 GTH 分泌的调节作用。

Peter 的早期研究(1970)^[50]已经发现电流损伤 NLT 能使金鱼的性成熟系数下降,表明 NLT 参与 GTH 分泌的调节,并推想它可能是 GnRH 的来源。后来,他和 Crim(1978)^[54]发现电流损伤金鱼的 NLT 和 NPO 都使卵巢退化与性成熟系数降低。Dodd 等(1978)^[26]损伤太平洋鲑鱼(*Salmo salar*)的 NLT,亦使性成熟系数和脑垂体的 GTH 含量明显下降。最近 Peter 等(1980)^[57]用对脑部有神经毒作用的 monosodium L-glutamate (MSG)以 2.5 毫克/克体重的剂量对金鱼做腹腔注射,使 NLT 在注射后头 2 天肿大,5—8 天后坏死;在视前区的前腹侧亦有一小块细胞坏死,脑的其他部份未受影响。MSG 注射后的 2 天,金鱼血清 GTH 水平显著增高,即和 NLT 神经原肿大的时间一致。所以,血清 GTH 水平增高明显反映 NLT 神经原的 GnRH 释放作用受到了刺激。同样,成熟雌金鱼的性成熟系数在 MSG 注射后 5 天增高,亦反映了血清 GTH 水平短期性增高的影响。MSG 注射后 5—8 天,血清 GTH 水平和对照组没有明显差别。MSG 注射后的长期效果是使性成熟系数下降,并且在高剂量注射后血清 GTH 水平下降,而低剂量注射则没有明显影响。根据这些研究结果, Peter (1981)^[53]认为用电流或者 MSG 损伤 NLT,都说明它是有机能性的通过 GnRH 参与 GTH 分泌的促进作用。唯一有矛盾的是损伤 NLT 使性腺退化或阻碍性腺发育时,血清的 GTH 水平并没有同时降低。

Hontela 和 Peter (1978)^[32]发现卵巢正在发育或者已经发育成熟的雌金鱼,其血清 GTH 水平表现明显的昼夜周期性,而卵巢退化的雌金鱼则没有。由此可见血液中 GTH 水平的明显昼夜周期性对促进性腺活动是很重要的。Peter (1978)^[51]认为损伤 NLT 对金鱼卵巢发育的影响可能就是因为消除了血清 GTH 水平的昼夜周期性。他最近的研究结果(1981)^[53]是:做假手术的对照雌金鱼,血清 GTH 水平表现明显的昼夜周期性,卵

巢的性成熟系数较大,而损伤 NLT 的金鱼,血清 GTH 水平没有昼夜周期性,卵巢的性成熟系数亦较小。这就可以证明金鱼的 NLT 参与引起血清 GTH 水平的昼夜周期性;消除这种昼夜周期性而不使血清 GTH 水平下降,可能就是导致卵巢退化的原因。

促性腺激素释放的抑制因素 (GRIF)

Peter 等(1978)^[54]起初发现性成熟金鱼在 NLT 大损伤后血清 GTH 水平增高,最高峰在手术后的 2 天,有的甚至一直增高到第 12 天;同时,尽管环境条件并不适宜,这些成熟金鱼通常在手术后 2 天自行排卵。这说明性成熟金鱼可能存在某种 GRIF,一旦消除它的作用就会使脑垂体 GTH 细胞增加 GTH 的分泌,然后导致排卵。接着, Peter 等(1980)^[58]对性成熟的雌雄性金鱼的下丘脑和视前区进行一系列损伤试验,发现破坏垂体柄,下丘脑束前侧区能引起血清 GTH 水平提高和排卵,破坏整个视前区或者前围脑室视前核(nucleus preopticus periventricularis, NPP)的主要部份亦会引起血清 GTH 水平增高和排卵,破坏脑的其他部位则没有这种作用。这说明某种 GRIF 可能来源于视前区,经过外侧视前区、前侧下丘脑区和垂体柄而到达脑垂体。

Stacey 等(1979)^[62]的研究表明金鱼的自行排卵是血液中 GTH 水平急剧升高所诱导。看来,这种 GTH 排卵性剧增的调节机理包括两方面:(1)在消除 GRIF 的抑制作用后, GTH 的自动分泌;(2)在消除 GRIF 的抑制作用后, GnRH 促进 GTH 分泌。可以说明第一种调节机理的现象是性已成熟或正在成熟的雌金鱼,脑垂体的 GTH 含量要比性未成熟的高得多,而且在进行脑垂体移植时,取自性成熟雌鱼的异体移植腺垂体能够释放足够的 GTH 使受体金鱼血液 GTH 增高到产卵前的水平;而直接的证明就是破坏垂体柄使 GRIF 输送到脑垂体的通道中断后能诱导性成熟的金鱼排卵。可以说明第二种调节机理的就是给硬骨鱼类注射合成的 LH-RH 及其类似物后能诱导排卵。

至于 GRIF 在性腺发育过程中对 GTH 分泌的调节作用还不大清楚。金鱼在性腺发育早期,脑垂体的 GTH 含量就明显增加。GnRH 和类固醇性激素对脑垂体的正反馈作用可能都会参与促进金鱼在这个时期脑垂体 GTH 的增高。所以,在性腺发育期脑垂体 GTH 水平增高过程中, GRIF 对 GTH 释放的调节作用也是很重要的。

GRIF 的特性还不清楚。但是初步试验表明多巴胺能使 GnRH 对在体外的虹鳟脑垂体分泌 GTH 的促进作用降低^[53]。这方面还需进一步研究。

类固醇性激素对 GTH 分泌的反馈作用

在硬骨鱼类性腺发育期间,类固醇性激素对 GTH 的分泌有负反馈作用,在产卵期间尤为明显。例如, Billard (1978)^[61]的试验表明,鳟鱼在睾丸开始发育之前阉割、血液的 GTH 水平只略为增高,在睾丸发育早期阉割,增高约 2 倍,而在生殖期间阉割则增高约 5 倍。如果给阉割的成熟雄鳟鱼注射睾丸甾酮,或者在脑垂体植埋 11-酮-睾丸甾酮,血液中很高的 GTH 水平就会降低。

所以,注射抗雌激素物质克罗米凡柠檬酸盐 (Clomiphene citrate) 以抵消雌激素的负

反馈作用,已经证明可以诱导脑垂体未被切除的成熟金鱼、鲶鱼、泥鳅排卵以及曾为 indomethacin 阻碍的鲤鱼排卵^[53]。Billard 和 Peter (1977)^[10]在脑垂体内植埋 Clomiphene citrate 和另一种抗雌激素物质 tamoxifen,能使性成熟雌金鱼的血液 GTH 水平增高。如果在 NLT 中植埋 tamoxifen,也能使血液 GTH 水平增高,但不及在脑垂体内植埋那样明显。这说明作为类固醇性激素负反馈作用的部位,脑垂体可能比 NLT 重要些。

在性未成熟的金鱼,类固醇性激素对 GTH 分泌有正的反馈作用。Crim 和 Peter (1978)^[21]发现在脑垂体和 NLT 植埋睾丸甾酮,能使一龄大西洋鲑鱼 GTH 在血液中的浓度和在脑垂体中的含量明显增加。Crim 和 Evans (1979)对性未成熟虹鳟腹腔注射睾丸甾酮亦使脑垂体的 GTH 含量增加。Crim 等(1981)^[23]在最近的研究中表明雌激素以及可以芳化(aromatize)为雌激素的雄激素,是使虹鳟提高 GTH 分泌的有效类固醇性激素。为了证实这点,他还用一种合成的类固醇——1,4,6-androstatrien-3,17-dione 去抑制芳化酶的活性和睾丸甾酮的作用。Olivereau 等(1979)^[48,49]亦证明给未成熟的雌雄性欧洲鳊注射雌二醇后显著促进 GTH 细胞的活动性。由此看来,雌性激素的类固醇类可能在下丘脑-脑垂体轴上起作用以刺激性未成熟硬骨鱼类的 GTH 合成。而这可能就是使性腺发育或性成熟开始的作用机理的一部份。此外,Billard 等(1978)^[6]还发现虹鳟和褐鳟在配子生成开始时,血清中的雌二醇水平暂时性升高,这可能是未成熟的鳟鱼已产生适量的类固醇以便对脑垂体的 GTH 产生正反馈作用。

利用放射自显影技术已经弄清楚类固醇性激素在绿太阳鱼(*Lepomis cyanellus*)、斗鱼(*Macropodus opercularis*)、新月鱼和金鱼^[40]脑中的结合部位。在斗鱼,³H 标志的睾丸甾酮大量结合在脑垂体,此外是 NLT,侧隐窝核(nucleus peccensus lateralis),NPO 腹方,NPP 腹方以及端脑腹部腹区(the area ventralis pars ventralis, Vv)。同位素标志的雌二醇在绿太阳鱼、新月鱼和金鱼可以看到类似的结合部位,只是在金鱼,结合部位还包括后下丘脑的后围脑室核(nucleus posterioss periventricularis)和该核背方的丘脑围脑室区(thalamic periventriculer region)^[40]。总的看来,类固醇性激素在脑的主要结合部位是 NLT,视前区,端脑腹部,后下丘脑一部份和脑垂体。除了 NLT 和脑垂体参与类固醇的反馈作用之外,类固醇性激素在脑的其他结合部位的机能意义还不清楚。

促性腺激素分泌的周期性

虹鳟、褐鳟(*Salmo trutta*)、大西洋鲑鱼、溪红点鲑(*Salvelinus fontinalis*)、大鳞大麻哈鱼(*Oncorhynchus tshawytscha*)和红大麻哈鱼(*O. nerka*)等秋季产卵的鲑科鱼类,它们全年生殖周期的血液和脑垂体 GTH 水平曾为一些学者分析测定。

雄性鲑科鱼类通常在每年2—3月精子发生开始时血液的 GTH 水平最低;在精母细胞增殖时略为升高,然后保持相当稳定的水平直到7月份;由7月到11月血液 GTH 水平渐次增高而和精巢里出现精子细胞和精子相联系。但是, Sanchez-Rodriguez 等(1978)^[60]对处于精子生成时期的虹鳟每周取样测定的结果表明:血液 GTH 水平虽然升高,但并不稳定。脑垂体的 GTH 含量亦是在精子生成时期最高。在天然水域生长的红大麻哈鱼,亦是以在产卵场捕获的精子正在生成的性成熟鱼的血液 GTH 水平为高。由此可以

认为,血液 GTH 水平的逐渐升高对促进性腺发育是必要的,而精子生成时尤为需要高的 GTH 水平。

雌性鲑科鱼类一般在性未成熟时血液 GTH 水平最低,晚春当卵母细胞开始形成时,血液 GTH 水平略为升高,和雄鱼相似。以后,随着卵母细胞的发育,血液 GTH 水平亦逐渐升高。在卵母细胞成熟时,各种鲑鳟鱼类的血液 GTH 水平都显著升高^[7]。许多学者发现排卵后的鲑鳟鱼类血液 GTH 水平非常高,但所报道的水平在不同种类之间或同一种内有差别。例如, Fostier 等(1978)^[28]报道虹鳟血液 GTH 水平在排卵后数天内下降。但是, Jalabest 和 Breton(1980)^[39]发现 GTH 水平的高低和发生变化的时间受到排出卵在雌鱼体内停留的情况所影响;保留排出卵的排卵亲鱼,血液 GTH 水平在排卵后 23 天达到最高峰(约为 100 ng/ml),并且直到 41 天后还很高;而把排出卵挤出体外的雌鱼,在排卵后 23 天血液 GTH 水平只出现低峰(约为 50 ng/ml),并在 31 天后下降到产卵前的水平。所以,他们认为血液 GTH 的高水平对于保持已排出卵巢但尚在雌鱼体内的卵细胞的生育力可能是重要的;而排出卵巢的卵细胞可能通过某种途径影响下丘脑-脑垂体轴,从而使 GTH 的分泌继续保持高速率。

鲤科鱼类通常都在春季产卵。Billard 和 Breton 等(1978)^[7]曾对鲤鱼血液和脑垂体的 GTH 水平进行年周期分析测定。雄鲤的血液 GTH 水平随着性腺发育而逐渐增高。在春季接近繁殖活动时,脑垂体的 GTH 水平最高。正在生殖的雄鲤,其血液 GTH 水平比生殖前提高 2 倍多,这说明生殖期间 GTH 的分泌受到短时间刺激。雌鲤在冬季和初春,血液 GTH 下降到其年周期的最低水平。在产卵前,血液 GTH 水平急剧增高,产卵后降低。夏季雌鲤的卵巢开始重新发育,这时的血液 GTH 水平亦达到高峰^[5]。Billard 等(1978)^[8]曾报道金鱼血液的 GTH 水平随着性腺的逐渐发育而升高。Cook 和 Peter(1980)^[15]则发现夏季和秋季卵巢退化的雌金鱼,其脑垂体 GTH 水平要比冬季和春季卵巢正在发育或已经完全再次发育成熟的低。Stacey 等(1979)^[62]介绍金鱼血液 GTH 在排卵时急剧增长的情况。成熟雌金鱼移入底有沙石,水面有人造漂浮植物,水温为 21℃ 的产卵池中,排卵发生于次日的下半夜,血液 GTH 水平在排卵开始时上升,在夜间大约有 8 小时达到高峰水平,而在排卵后的早上降低,但仍比未排卵的鱼高些。Kyle 等(1979)^[44]报道雄金鱼在生殖行为开始后一小时血液 GTH 水平升高,并保持大约 3 小时,与此同时,在生殖行为开始后一小时,精液量增产。Cook 等(1980)^[17]还指出,当成熟雌金鱼的血液 GTH 增加到高峰时,血浆中的皮质甾醇亦大量增多。可以认为:金鱼在产卵时血液 GTH 水平迅速而大量的增长是保证其繁殖顺利进行的生理措施之一。因为它们在冬季的低温下性腺继续发育并较长时间地保持成熟的卵巢,在遇到适合于繁殖的环境条件时就在 1—2 天内排卵。这和虹鳟等鲑鳟鱼类不同,它们在卵巢成熟后秋季产卵,对环境条件没有特别严格的要求,并且能在产卵之前把已排出卵巢的卵保留在体内几个星期。

对丁鲷(*Tinca tinca*)和拟鲤(*Rutilus rutilus*)血液和脑垂体 GTH 水平的季节变化亦曾进行研究^[52]。它们在性未成熟时血液 GTH 水平很低,丁鲷在性腺开始发育时有短暂上升,而在产卵季节它们的血液 GTH 水平都明显增高。

环境因素对促性腺激素分泌的影响

在各种环境因素中,以光照和温度对硬骨鱼类 GTH 分泌的影响较为明显^[56]。

许多研究已经表明:缩短光周期能促进秋季产卵的鲑鳟鱼类的性腺发育^[55]。Breton 和 Billard (1977)^[11]研究了几种光周期和温度状况在 5 月到 7 月时对雄虹鳟性腺发育的影响。在较高的(16℃)和较低的(8℃)温度下,恒定的长光周期和短光周期对精子生成都没有影响,但是,处于短光周期下的两组鳟鱼完成了精子生成,而在 16℃ 中的一组(即恒定长光周期组)则有较大的精巢。鳟鱼在光周期缩短的条件下,血清 GTH 水平要比处在相同温度而光周期恒定条件下的鱼为高。到试验结束时,在 16℃ 和短光周期下的鳟鱼,其血清 GTH 水平比其他组的鱼都要高。除光周期的影响外,处于 16℃ 的鳟鱼,其血清 GTH 水平要比在相同光周期而处于 8℃ 下的为高,表现了较高温度对 GTH 分泌的促进作用。处于 16℃ 下的鳟鱼,其脑垂体 GTH 水平都比处于 8℃ 的低些,这正好说明在 16℃ 下 GTH 有较高的分泌速率。他们还发现雌虹鳟受光周期和温度变化对血清 GTH 水平产生的影响和雄虹鳟相似。

鲤科鱼类和大多数温带淡水鱼类在春季和初夏产卵,而在冬季和春季受长光周期和较高温度影响而性腺发育成熟。但亦有些种类在性腺发育开始时需要低的温度,并且还要求短光周期。由于各种鱼类能以不同的方式适应它们的生殖周期,因而对环境因素的影响亦会产生不同的反应。

金鱼在较高温度下,不管光周期或性腺状况如何,通常都有较高的血清 GTH 水平^[29,30]。但是,较高的温度对性腺的作用则取决于时间长短、光周期状况和生殖周期的不同阶段。性腺正在发育的金鱼,长时间(60 或 90 天)处于恒定的长光周期和较高或较低的温度下,能促进性腺发育^[30]。不过,较高的温度和长光周期对卵巢生长的促进作用在 9 天左右就可以看出来^[32]。春季正常成熟的金鱼,处于较高温度和短光周期下 30 天后卵巢就会退化,尽管血清 GTH 水平还比较高^[30]。同时,较高的温度对金鱼的成熟卵巢会很快产生不良影响,因为 Peter 等发现温度升高 9 天后,萎缩的卵母细胞数目增多^[32],de Vlaming 等(1977)^[25]亦发现鲤科的欧鳊(*Notemigonus crysoleucas*)处于较高温度下只 7 天左右就出现萎缩的卵母细胞。

前面已经提到,性腺发育成熟的雌金鱼,其血清 GTH 水平有明显的昼夜周期性,而卵巢退化的雌金鱼则没有。处在长光照和较高或较低的温度下,或者在短光照和较低的温度下 9 天左右,成熟雌金鱼血清 GTH 水平的昼夜周期性明显,但处于短光周期和较高的温度下则失去血清 GTH 水平的昼夜周期性。雌金鱼长时间处于较高温度和长光周期下,其成熟卵母细胞的萎缩亦是和血清 GTH 水平昼夜周期性的消失同时出现的^[34]。此外,对于性腺退化的雌金鱼,较高的温度能使血清 GTH 水平增高,但并不能刺激性腺活动性,通常亦没有血清 GTH 水平的昼夜周期性。由此可以认为:血清 GTH 水平的昼夜周期性对促进和保持性腺活动性是重要的,而较高的血清 GTH 水平则并不是必要的因素。

血清 GTH 水平昼夜周期性对促进性腺活动的重要性可能和性腺的 GTH 受体的昼

夜周期性有关。Peter (1981)^[52] 的试验指出, 金鱼是在一天的某一个时间而不是在别的时间注射, 低剂量鲑鱼 GTH (SG-G100) 或鲤鱼 ConA-II GTH 而引起性腺发育的, 这表明金鱼对 GTH 的反应有差别。此外, Kuo 等 (1978)^[43] 亦已证明用鲑鱼 GTH, LH 和前列腺素处理离体的鲑鱼卵母细胞时, 所产生的环式 AMP 量在 24 小时内有不同的变化。这些研究指出: 硬骨鱼类性腺的 GTH 受体可能有昼夜周期性, 而血清 GTH 水平的昼夜周期性和性腺受体周期之间的同步性可能对于诱导性腺作用是必要的。

温度亦影响到 GTH 的代谢清除率 (MCR) 和脑垂体的 GTH 分泌率^[15]。在 12℃, 性腺退化的雌金鱼对 GTH 的 MCR 最低, 性腺正在发育的次之, 而性腺已发育成熟的最高。而在 20℃, 性腺退化的和性腺正在发育的雌金鱼, GTH 的 MCR 比 12℃ 时分别提高 1.6 和 1.1 倍 (性腺已发育成熟的雌金鱼未测定)。以 GTH 的 MCR 和血清 GTH 水平为基础来计算, GTH 的脑垂体分泌率在 12℃ 时亦是性腺退化的雌金鱼最低, 性腺正在发育的次之, 而性腺已发育成熟的最高; 而在 20℃, 性腺退化的和性腺正在发育的雌金鱼的 GTH 脑垂体分泌率分别增高 6.3 和 2.5 倍。性腺正在成熟的和性腺已经发育成熟的金鱼卵巢比性腺退化的, 对 GTH 有较多的结合; 而且, 当温度由 12℃ 上升到 20℃, 性腺正在发育的雌金鱼对 GTH 的吸收较快^[16]。这些现象都可能和 MCR 随着卵巢发育的进展及随着温度升高而增加有关。至于卵巢的发育状况如何影响 GTH 的脑垂体分泌率, 目前还不清楚, 可能和类固醇性激素的负反馈作用有关。

Billard 等 (1981)^[9] 认为: 环境因素 (光周期、温度等) 可能直接作用于中枢神经系统以调节控制 GTH 的分泌。温度还能直接作用于性腺、生殖细胞、类固醇性激素的代谢等。例如, 温度对 GTH 分泌速率的影响可能和对代谢率的影响相类似, 即温度对下丘脑-脑垂体-性腺轴上的各个部位产生直接的效应; 而较高的温度对金鱼成熟性腺的不良影响亦可归因于代谢方面的变化以及影响到 GTH 分泌的昼夜周期性。Kime (1980)^[40] 指出温度使金鱼精巢产生的主要雄激素发生变化, 说明较高的温度直接影响到性腺是可能的。驯养于 10℃ 的金鱼, GTH 能引起血浆中类脂的浓度发生变化, 而驯养于 21℃ 的则没有这种变化^[61]。这说明温度会使类脂代谢发生变化, 并可能影响到性腺。此外, 金鱼如果长期处于较高温度下, 其性腺亦能再次发育, 说明它们对较高温度的不良影响能够产生某种补偿作用^[30]。

对鲤科和鲟科鱼类的研究证明光周期对性腺发育的影响是通过松果体和眼睛而起作用。驯养在长光周期和较高与较低温度下的, 性腺已成熟的和性腺正在发育的金鱼和欧鳊, 在切除松果体后性腺退化^[25,65]。驯养在长光周期和 18℃ 的青鳉 (*Oryzias latipes*) 在变盲或切除松果体后性腺亦发生退化^[63]。另一方面, 切除松果体能促进驯养在短光周期和较低或较高温度下的金鱼性腺发育^[24]。驯养在短光周期和较高温度下的青鳉和欧鳊亦有类似的结果^[63]。而性腺退化的金鱼切除松果体后处于各种不同的环境条件下, 对性腺情况都不引起任何影响^[65]。看来, 长光周期刺激鱼类的性腺发育, 而松果体和眼睛都在这种刺激中起了作用, 同时在短光周期对性腺发育期间的抑制作用中也起了一定的作用。

Hontela 和 Peter (1980)^[33] 发现性腺成熟的金鱼在切除松果体和盲眼后处于长光周期和较高温度下只 7—9 天就失去血清 GTH 水平的正常昼夜周期性, 性腺成熟参数亦有所下降。另一方面, 切除松果体但未盲的性成熟雌鱼处于短光周期和较高温度下能使对照

组所没有的血清 GTH 水平的昼夜周期性再现,而性腺成熟系数却未发生变化。这些结果表明:在长的或短的光周期下,松果体对性腺的促进或者抑制作用,可以部分地归因于对 GTH 分泌的昼夜周期性的影响。至于松果体和眼睛传送光周期信息是神经活动方式或是化学传递,目前还不清楚。看来,后一种可能性较大,因为注射褪黑激素(melatonin)——一种松果体激素,能抑制硬骨鱼类的性腺发育 (Peter, 1980)^[52]。

de Vlaming 和 Vodcnik (1977)^[24] 还发现切除松果体后的欧鳊,处于长光周期和较高温度下的比处于短光周期和较高温度下的,其下丘脑抽提物中的 GTH 释放活性较少,这分别和松果体在这两种情况下促进和抑制促性腺激素的效果一致。这说明切除松果体对 GTH 分泌的影响是通过神经内分泌系统而起作用的。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院上海生物化学研究所多肽激素组,上海华东医院同位素室。1977。家鱼下丘脑中 LRH 含量的一种放射免疫测定方法。生物化学与生物物理学报, 9(1): 105—111。
- [2] 厦门水产学院生殖生理科小组,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。
- [3] 潘家秀,冯敏琦,林南琴,鲍璐,徐维许,许谷星,沈仁澄, 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。
- [4] 姜仁良,黄世蕉,赵维信, 1980。草鱼、鲢鱼催产前后血液中促性腺激素含量的变动。水产学报, 4 (2): 129—133。
- [5] Bieniarz, K., P. Epler, B. Breton, and L. N. They, 1978. The annual reproductive cycle in adult carp in Poland: ovarian state and serum gonadotropin level. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 18: 917—921.
- [6] Billard, R., 1978. Testicular feedback on the hypothalamo-pituitary axis in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 18: S13—S18.
- [7] Billard, R. and B. Breton, 1978. Rhythms of reproduction in teleost fish. In "Rhythmic Activity of Fishes" (J. E. Thorpe, ed.), p. 31—53. Academic Press, New York and London.
- [8] Billard, R., B. Breton, A. Fostier, B. Jalabert and C. Weil, 1978. Endocrine control of the teleost reproductive cycle and its relation to external factors: salmonid and cyprinid models. p. 37—48. In P. J. Gaillard and H. H. Boer (eds.) *Comparative endocrinology*. Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam.
- [9] Billard, R., A. Fostier, C. Weil and B. Breton, 1981. The endocrine control of spermatogenesis in teleost fish. *Can. J. Fish. Aqua. Sci.* (in press)
- [10] Billard, R. and R. Peter 1977. Gonadotropin release after implantation of anti-estrogens in the pituitary and hypothalamus of goldfish, *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 32: 213—220.
- [11] Breton, B., and R. Billard 1977. Effects of photoperiod and temperature on plasma gonadotropin and spermatogenesis in the rainbow trout *Salmo gairdnerii* Richardson. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 17: 331—340.
- [12] Breton, B., R. Billard, B. Jalabert and G. Kann, 1972. Dosage radioimmunologique des gonadotropines plasmatiques chez *Carassius auratus*, au cours du nycthemere et pendant l'ovulation. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 18: 463—468.
- [13] Breton, B., B. Jalabert and P. Reinaud 1976. Purification of gonadotropin from rainbow trout (*Salmo gairdnerii* Richardson) pituitary glands. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.*, 16: 25—36.
- [14] Breton, B., G. Kann, E. Burzawa-Gerard and R. Billard, 1971. Dosage radioimmunologique d'une hormone gonadotrope de Carpe (*Cyprinus carpio* L.). *C. R. Acad. Sci.*, Paris. 272D, 1515—1517.
- [15] Cook, A. F. and R. E. Peter, 1980a. Plasma clearance of gonadotropin in goldfish *Carassius auratus*, during the annual reproductive cycle. *Gen. Comp. Endocrinol.* 42: 76—90.
- [16] Cook, A. F. and R. E. Peter 1980b. The metabolism of gonadotropin in goldfish, *Carassius auratus*: tissue uptake and distribution during the reproductive cycle. *Gen. Comp. Endocrinol.* 42: 91—100.

- [17] Cook, A. F., N. E. Stacey and R. E. Peter 1980. Periovulatory changes in serum cortisol levels in the goldfish, *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* **40**: 507—510.
- [18] Crim, L. W. and D. M. Evans 1980. LH-RH-stimulated gonadotropin release from the rainbow trout pituitary gland: an in vitro assay for detection of teleost gonadotropin releasing factor. *Gen. Comp. Endocrinol.* **40**: 283—290.
- [19] Crim, L. W., D. M. Evans, D. H. Coy and A. V. Schally, 1981. Control of gonadotropic hormone release in trout: Influence of synthetic LH-RH and LH-RH analogues in vivo and in vitro. *Life Sciences.* **28**: 129—135.
- [20] Crim, L. W., R. K. Meyer and E. M. Donaldson 1973. Radioimmunoassay estimates of plasma gonadotropin levels in the spawning pink salmon. *Gen. Comp. Endocrinol.* **21**: 69—76.
- [21] Crim, L. W. and R. E. Peter 1978. The influence of testosterone implantation in the brain and pituitary on pituitary gonadotropin levels in Atlantic salmon parr. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* **18**: 689—694.
- [22] Crim, L. W., R. E. Peter and R. Billard 1976. Stimulation of gonadotropin secretion by intraventricular injection of hypothalamic extracts in the goldfish, *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* **30**: 77—82.
- [23] Crim, L. W., R. E. Peter and R. Billard 1981. Onset of gonadotropic hormone accumulation in the immature trout pituitary gland in response to estrogen or aromatizable androgen steroid hormones. *Gen. Comp. Endocrinol.* (in press).
- [24] de Vlaming, V. L. and M. J. Vodienik 1977. Effects of pinealectomy on pituitary gonadotrophs, pituitary gonadotropin potency and hypothalamic gonadotropin releasing activity in *Notemigonus crysoleucas*. *J. Fish. Biol.* **10**: 73—86.
- [25] de Vlaming, V. L. and C. Paquette 1977. Photoperiod and temperature effects on gonadal regression in the golden shiner, *Notemigonus crysoleucas*. *Copeia*, 1977, 793—797.
- [26] Dodd, J. M., P. A. C. Stuart-Kregor, J. P. Sumpter, L. W. Crim and R. E. Peter 1978. Premature sexual maturation in the Atlantic salmon (*Salmo salar* L.), p. 101—104. In P. J. Gaillard and H. H. Boer [eds.] *Comparative endocrinology*. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam.
- [27] Dubois, M. P., R. Billard, B. Breton and R. E. Peter 1979. Comparative distribution of somatostatin, LH-RH, neurophysin, and α -endorphin in the rainbow trout: an immunocytochemical study. *Gen. Comp. Endocrinol.* **37**: 220—232.
- [28] Fostier, A., C. Weil, M. Terqui, B. Breton and B. Jalabert 1978. Plasma estradiol-17 β and gonadotropin during ovulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* **18**: 929—936.
- [29] Gillet, C. and R. Billard 1977. Stimulation of gonadotropin secretion in goldfish by elevation of rearing temperature. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* **17**: 673—678.
- [30] Gillet, C., B. Breton and R. Billard 1978. Seasonal effects of exposure to temperature and photoperiod regimes on gonad growth and plasma gonadotropin in goldfish (*Carassius auratus*). *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* **18**: 1045—1049.
- [31] Goos, H. J. Th. and O. Murathanoglu 1977. Localisation of gonadotropin releasing hormone (GRH) in the forebrain and neurohypophysis of the trout (*Salmo gairdneri*). *Cell Tiss. Res.* **181**: 163—168.
- [32] Hontela, A. and R. E. Peter 1978. Daily cycles in serum gonadotropin levels in the goldfish: effects of photoperiod, temperature, and sexual condition. *Can. J. Zool.* **56**: 2430—2442.
- [33] Hontela, A. and R. E. Peter 1980a. Effects of pinealectomy, blinding, and sexual condition on serum gonadotropin levels in the goldfish. *Gen. Comp. Endocrinol.* **40**: 168—179.
- [34] Hontela, A. and R. E. Peter 1980b. Synchronization of daily gonadotropin cycles with temperature, feeding and light in the goldfish. *Am. Zool.* **20**: 728 (abstract 19).
- [35] Idler, D. R., L. S. Bazar and S. J. Hwang 1975. Fish gonadotropin(s). II. Isolation of gonadotropin(s) from chum salmon pituitary glands using affinity chromatography. *Endocrine Res. Commun.* **2**: 215—235.
- [36] Idler, D. R., L. S. Bazar and S. J. Hwang 1975. Fish gonadotropin(s). III. Evidence for more than one gonadotropin in chum salmon pituitary glands. *Endocr. Res. Commun.* **2**: 237—249.
- [37] Idler, D. R. and T. B. Ng 1979. Studies on two types of gonadotropins from both salmon and carp pituitaries. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **38**: 421—440.
- [38] Jackson, I. M. D. 1979. The releasing factors of the hypothalamus, p. 721—790. In E. J. W.

- Barrington [ed.] Hormones and evolution. Academic Press, New York, San Francisco, London.
- [39] Jalabert, B. and Breton, R. 1980. Evolution de la gonadotropin plasmatique t-GtH après l'ovulation chez la truite arc-en-ciel (*Salmo gairdneri* R.) et influence de la rétention des ovules. *C. R. Acad. Sci. Paris* 290D: 799—801.
- [40] Kime, D. E. 1980. Androgen biosynthesis by testes of the goldfish *Carassius auratus* in vitro: the effect of temperature on the formation of steroid glucuronides. *Gen. Comp. Endocrinol.* 41: 164—172.
- [41] King, J. A. and R. P. Millar, 1979. Heterogeneity of vertebrate luteinizing hormone-releasing hormone. *Science* 206: 67—69.
- [42] King, J. A. and R. P. Millar 1980. Comparative aspects of luteinizing hormone-releasing hormone structure and function in vertebrate phylogeny. *Endocrinology* 106: 707—717.
- [43] Kuo, C. M. and Watanabe, W. O. 1978. Circadian responses of teleostean oocytes to gonadotropins and prostaglandins determined by cyclic AMP concentration. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 18: 949—956.
- [44] Kyle, A. L., N. E. Stacey, R. Billard and R. E. Peter 1979. Sexual stimuli rapidly increases milt and gonadotropin levels in goldfish. *Am. Zool.* 19: 854 (abstract 9).
- [45] Marchelidon, J., R. Salesse, J. Garnier, E. Burzawa-Gerard and Y. A. Fontaine 1979. Zoological origin of gonadotropin subunits and association kinetics. *Nature*, 281: 314—315.
- [46] Ng, T. B. and D. R. Idler 1979. Studies on two types of gonadotropins from both American plaice and winter flounder pituitaries. *Gen. Comp. Endocrinol.* 38: 410—420.
- [47] Nozaki, M. and H. Kobayashi 1979. Distribution of LHRH-like substance in the vertebrate brain as revealed by immunohistochemistry. *Arch. Histol. Jap.* 42: 201—219.
- [48] Oliveureau, M. and J. Oliveureau 1979a. Effect of estradiol-17 β on the cytology of the liver, gonads and pituitary, and on plasma electrolytes in the female freshwater eel. *Cell Tiss. Res.* 199: 431—454.
- [49] Oliveureau, M. and J. Oliveureau 1979b. Estradiol-positive feedback on gonadotropic (GTH) cells in freshwater male silver eels. *Gen. Comp. Endocrinol.* 39: 247—261.
- [50] Peter, R. E. 1970. Hypothalamic control of thyroid gland activity and gonadal activity in the goldfish. *Carassius auratus*, *Gen. Comp. Endocrinol.* 14: 334—356.
- [51] Peter, R. E. 1978. Regulating mechanisms of the anterior pituitary. In "Comparative Endocrinology" (P. J. Gaillard and H. H. Boer, eds.), pp. 341—352. Elsevier/North Holland, Amsterdam.
- [52] Peter, R. E. 1981. Annual and daily cycles of gonadotropin in teleosts: influences of environmental factors. *Gen. Comp. Endocrinol.* (in press).
- [53] Peter, R. E. 1981. Neuroendocrine control of reproduction in teleosts. *Can. J. Fish. Aqua. Sci.* (in press).
- [54] Peter, R. E. and L. W. Crim 1978. Hypothalamic lesions of goldfish: effects on gonadal recrudescence and gonadotropin secretion. *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.* 18: 819—823.
- [55] Peter, R. E. and L. W. Crim 1979. Reproductive endocrinology of fishes: gonadal cycles and gonadotropin. *Ann. Rev. Physiol.* 41: 323—335.
- [56] Peter, R. E. and Hontela, A. 1978. Annual gonadal cycles in teleosts: Environmental factors and gonadotropin levels in blood. In "Environmental Endocrinology" (I. Assenmacher and D. S. Farner, eds.), pp. 20—25. Springer-Verlag, Berlin and Heidelberg.
- [57] Peter, R. E., O. Kah, C. R. Paulencu, H. Cook and A. L. Kyle 1980. Brain lesions and short-term endocrine effects of monosodium L-glutamate in goldfish, *Carassius auratus*. *Cell Tiss. Res.* 212: 429—442.
- [58] Peter, R. E. and C. R. Paulencu 1980. Involvement of the preoptic region in gonadotropin release-inhibition in goldfish, *Carassius auratus*. *Neuroendocrinology* 31: 133—141.
- [59] Peute, J., G. A. Marielle, de Bruyn, R. Seldenrijk and P. G. W. J. van Oordt 1976. Cytophysiology and innervation of gonadotropic cells in the pituitary of the black molly (*Poecilia latipinna*). *Cell Tiss. Res.*, 174: 35—54.
- [60] Sanchez-Rodriguez, M., A.-M. Escaffre, S. Marlot and P. Reinaud 1978. The spermiation period in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Plasma gonadotropin and androgen levels, sperm production and biochemical changes in the seminal fluid. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 18: 943—948.
- [61] Schreiberman, M. P., L. R. Halpern, H. J. Th. Goos and H. Margolis-Kazan 1979. Identification of luteinizing hormone-releasing hormone (LH-RH) in the brain and pituitary gland of a fish by immunocytochemistry *J. Exp. Zool.* 210: 153—159.

-
- [62] Stacey, N. E., A. F. Cook and R. E. Peter 1979. Ovulatory surge of gonadotropin in the goldfish, *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* **37**: 246—249.
- [63] Urasaki, H. 1976. The role of pineal and eyes in the photoperiodic effect on the gonad of the medaka, *Oryzias latipes*. *Chronobiologia* **3**: 228—234.
- [64] Van Oordt, P. G. W. J. and B. Ekengren 1978. The gonadotropic cell in the pituitary of teleosts and the central regulation of its activity. p. 353—356. In P. J. Gaillard and H. H. Boer [eds.] *Comparative endocrinology*. Elsevier/North Holland Biomedical Press, Amsterdam.
- [65] Vodienik, M. J., R. E. Kral, V. L. de Vlaming and L. W. Crim 1978. The effects of pinealectomy on pituitary and plasma gonadotropin levels in *Carassius auratus* exposed to various photoperiod-temperature regimes. *J. Fish Biol.* **12**: 187—196.
- [66] Wiegand, M. D. and R. E. Peter 1980. Effects of salmon gonadotropin (SG-G100) on plasma lipids in the goldfish, *Carassius auratus*. *Can. J. Zool.* **58**: 957—966.