

饥饿状态下草鱼生长激素的分泌

张为民 张利红 沈文英 林浩然

(中山大学生命科学学院 广州 510275)

摘要: 以两种规格草鱼为对象, 研究了饥饿对其生长激素分泌的影响。检测由背大动脉导管抽取的连续血样的结果表明: 饥饿状态下草鱼(体重为 0.5—1.0kg)生长激素分泌仍是间歇性的, 但饥饿明显提高其总体生长激素平均值、基础生长激素平均值和其最大峰值。对于草鱼鱼种(体重为 25—30g), 饥饿也明显提高其血液中生长激素水平, 但草鱼种的肥满度系数和血糖浓度却降低。在体外灌流实验中, 饥饿的草鱼种脑垂体碎片生长激素基础分泌值明显高于正常投喂的对照组。这些结果表明: 饥饿状态下草鱼生长激素分泌增强。

关键词: 草鱼; 饥饿; 肥满度系数; 生长激素; 间歇性分泌; 血糖

中图分类号: S965.112 **文献标识码:** A **文章编码:** 1000-3207(2001)03-0236-05

在自然状态下, 由于食物的缺乏或性腺发育成熟, 鱼类有时会处于饥饿状态^[1]。在饥饿状态下, 鱼类为了生存, 需要调整其代谢, 把储存的能量用于支持生存所需的重要代谢过程^[2]。大多数鱼类在饥饿状态下首先消耗糖原和脂肪的贮能, 然后消耗蛋白的贮能, 而且鱼类首先利用的是贮存性组织中的物质, 然后才动用重要器官中的物质^[3]。沈文英等^[4]的研究结果表明: 饥饿状态下, 草鱼种消耗身体储存的糖原和脂肪。

鱼类在饥饿状态下代谢发生明显的变化, 但是这种变化的调节机制目前仍不清楚。与其他脊椎动物类似, 鱼类的代谢也受到多种激素的协同调节, 其中生长激素起着重要的作用^[5]。有关饥饿影响鱼类生长激素分泌的研究主要集中在鲤鳟鱼类^[6,7], 而在其他鱼类中研究甚少。草鱼是我国重要的淡水养殖鱼类, 研究饥饿状态下草鱼生理生化的变化将进一步加深对草鱼以至其他鱼类生物学的认识。已有的研究表明饥饿对草鱼种核酸、蛋白、脂肪、糖原等有明显的影响^[4], 本文通过在体和离体实验, 研究饥饿状态下草鱼生长激素分泌状况, 以及饥饿对其血糖含量的影响。

1 材料方法

1.1 实验用鱼 体重为 25—30g 的草鱼种和体重为 0.5—1.0kg 的草鱼购于中山大学实验鱼场。在实验室条件下暂养 2 星期后开始分组实验。25—30g 的草鱼种投喂人工配合饲料^[8], 0.5—1.0kg 的草鱼投喂豆饼、麦麸等, 并辅以适量的青草。每天分上、下午投喂两次。

收稿日期: 2000-02-03; 修订日期: 2000-11-10

基金项目: 广东省自然科学基金(990253); 国家自然科学基金(39300015)资助项目

作者简介: 张为民(1966—), 男, 江西省万载县人; 主要从事鱼类生理学的研究; 沈文英现在浙江绍兴文理学院生物化学系, 绍兴 312000

1.2 实验设计 草鱼种饥饿实验在室内水族箱中进行。120尾草鱼种分养于10个循环过滤式水族箱($70 \times 40 \times 38\text{cm}$)，其中5箱作为对照组，全程投喂，投喂量为体重的2%，另外5箱为饥饿处理组，饥饿时间分别为3、7、15、30、45d。实验过程中平均水温为 $27.8 \pm 1.4^\circ\text{C}$ 。在每次设定的饥饿时间结束时从两个水族箱中取样，其中一箱为饥饿处理组，另一箱为投喂组，取样鱼数各为12尾。

8尾体重为 $0.5 - 1.0\text{kg}$ 的草鱼分养于2个室外水泥池($3.2 \times 2.6 \times 1.3\text{m}$)，每池4尾，其中一池饥饿，另一池投喂，投饵量为鱼体重的1.5%左右。饲养过程中水温为 $14 - 20^\circ\text{C}$ 。在背大动脉插管手术前一天转移到水族箱中单独暂养。插管手术按Smith和Bell所描述的方法^[9]进行。手术恢复1d后开始取血样，每间隔15min从插管抽取 0.2mL 血样，离心后血浆样品保存在 -20°C ，而得到的血细胞通过插管再补充回鱼体。取样过程持续6h，水温约为 19°C 。

1.3 脑垂体碎片体外灌流 采用灌流鲤脑垂体碎片的方法^[10]灌流草鱼种脑垂体碎片。每一灌流柱装载相当于两个草鱼种脑垂体的碎片，其中四个柱为饥饿处理的草鱼种脑垂体碎片，另四个柱为正常投喂的草鱼种脑垂体碎片。用199培养液预灌流过夜后换成HBSS平衡盐溶液，流速为 15mL/h ，2h后开始收集样品。每5min自动收集仪收集一管灌流样品，持续2h。灌流过程中温度为 $19 \pm 1^\circ\text{C}$ 。

1.4 生长激素和血糖测定 样品中生长激素含量测定采用放射免疫分析法^[11]。标记抗原和标准品是重组草鱼生长激素(香港中文大学Walter Ho博士赠送)。血糖的测定采用邻甲苯胺法^[12]。

1.5 数据分析 草鱼种肥满度系数计算公式为 $K = (W/L^3) \times 100$ ，其中W为体重(g)，L为体长(cm)。草鱼生长激素间歇性分泌的总体平均值为各取样点生长激素水平的平均值，基础水平是指低于总体平均值的取样点生长激素的平均值。体外灌流时，草鱼种脑垂体生长激素基础分泌值是指4个灌流柱在2h中收集的灌流样品生长激素的平均值。显著性分析采用Student's t-test来进行。

2 结果

2.1 饥饿对草鱼种肥满度系数的影响

饥饿降低了草鱼种肥满度系数(表1)。在饥饿3、7d时，肥满度系数和对照组无明显差异，但饥饿了15、30、45d后，草鱼种肥满度系数分别显著低于对照组。

2.2 饥饿对草鱼种血糖浓度和生长激素水平的影响

如表1所示，草鱼种血糖浓度在饥饿3、7d时与对照组无显著差异；饥饿了15d后，草鱼种血糖浓度显著低于对照组。但是，在饥饿状态下，草鱼种血清生长激素(GH)水平却升高。饥饿了15、30、45d的草鱼种血清GH水平均显著高于对照组。

2.3 饥饿处理的草鱼种脑垂体体外灌流时生长激素的基础分泌

经45d饥饿处理的草鱼种，其脑垂体碎片在体外灌流时生长激素基础分泌值为 $35.5 \pm 3.96\text{ng/mL}$ ，显著高于对照组 $27.1 \pm 3.36\text{ng/mL}$ (n=24, P<0.05)。

2.4 饥饿状态下草鱼生长激素间歇性分泌

间隔15min持续6h的连续血样表明：饥饿增强草鱼生长激素的间歇性分泌。饥饿

表1 饥饿处理过程中草鱼种肥满度系数、血清 GH 水平和血糖浓度变化

Tab. 1 Changes of condition coefficient, serum GH levels and blood glucose during starvation of grass carp fingerling

处理时间 T reatment Time (d)	肥满度系数 Condition coefficient		血清 GH 水平 Serum GH (ng/mL)		血糖 Blood glucose (mM)	
	饥饿组 Starved	投喂组 Fed	饥饿组 Starved	投喂组 Fed	饥饿组 Starved	投喂组 Fed
3	1.89±0.016	1.91±0.041	26.7±2.8	17.8±3.1	7.03±1.29	8.2±2.8
7	1.92±0.019	1.94±0.047	27.6±2.5	17.8±2.5	6.52±1.95	7.93±1.45
15	1.72±0.028	1.86±0.028*	57.8±9.9	22.2±1.4*	6.23±1.06	8.00±0.90*
30	1.66±0.028	2.01±0.021**	66.7±11.5	28.9±2.3*	3.36±1.65	8.29±1.42**
45	1.64±0.019	1.97±0.041**	216.4±24.2	35.6±2.8**	3.68±0.82	8.31±0.92**

表中各值为平均值±标准差($n=12$)，* 表示饥饿组与投喂组间差异显著($P<0.05$)，** 表示饥饿组与投喂组间差异极显著($P<0.01$)。All values are means±SEM ($n=12$)，* significant difference between the starved and fed groups ($P<0.05$)，** very significant difference between the starved and fed groups ($P<0.01$)。

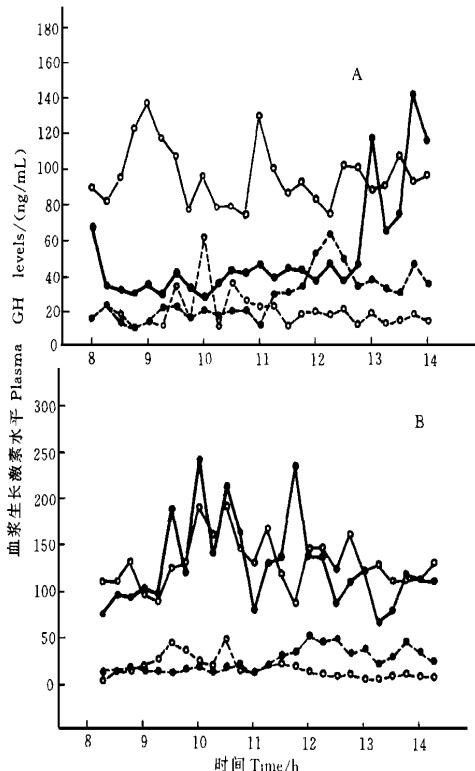


图1 饥饿对草鱼生长激素间歇性分泌的影响。A: 饥饿 15d, B: 饥饿 30d。括号内的数字为鱼编号。

Fig. 1 Effects of starvation on the episodic GH secretion of grass carp. A: starvation of 15 days,

B: starvation of 30 days. The numbers in the parentheses indicate the identity of individual grass carp.

图 A ●—● 饥饿(1); ○—○ 饥饿(2); - - ● - - ● - - 投喂(3); - - ○ - - ○ - - 投喂(4)

图 B ●—● 饥饿(5); ○—○ 饥饿(6); - - ● - - ● - - 投喂(7); - - ○ - - ○ - - 投喂(8)

15d 的草鱼, 其生长激素间歇性分泌的总体平均值和基础水平都高于正常投喂的草鱼, 最大的生长激素分泌峰值也高于正常投喂的草鱼(图 1A)。饥饿 30d 的草鱼, 其生长激素间

歇性分泌增强更为明显, 总体平均值和基础水平均高于正常投喂的草鱼, 最大的生长激素分泌峰值也高于正常投喂的草鱼, 而且各参数值比饥饿 15d 的草鱼要高(图 1B)。

3 讨论

饥饿状态下, 草鱼种体重下降, 日体重变化为负值^[4]。本研究结果表明: 饥饿还降低了草鱼种的肥满度系数。在饥饿 15d 后, 其肥满度系数显著低于一直投喂的对照组草鱼种。这些结果与虹鳟的情况类似。在虹鳟中, 饥饿也降低其体重, 但肥满度系数下降才是其饥饿最明显的指标^[2]。这可能是因为肥满度系数变化同时涉及到体长和体重两个因素, 因而它能更好地反映鱼类的饥饿状态。饥饿也影响草鱼种血糖浓度。当饥饿期短于 7d 时, 草鱼种血糖浓度有所下降, 但和对照组无显著差异; 饥饿 15d 后, 血糖浓度才显著降低, 而饥饿 30d 后血糖浓度趋于相对稳定, 不再继续下降。草鱼种肝糖原含量, 在饥饿 3d 时就显著降低^[4]。这表明草鱼种在饥饿状态下能调整其糖代谢, 维持必要的血糖浓度。结果表明: 饥饿提高了草鱼种血液中生长激素水平。在其他鱼类也观察到类似的现象^[2,6,7]。在鱼类中, 生长激素也参与糖代谢调节。鱼类生长激素对血糖的调节可能是多方面的, 一方面, 生长激素能促进胰岛素和胰岛素样生长因子 I(IGF-I) 的产生, 后两种激素在鱼类中都具有低血糖效应; 另一方面, 可能与哺乳动物类似, 生长激素本身能降低脂肪和肌肉组织对血糖的利用^[5], 产生一种升血糖效应。在饥饿状态下, 尽管鱼类血液中生长激素水平升高, 但胰岛素和 IGF-I 浓度却下降, 因而该状态下, 生长激素可能在糖代谢的调节中主要具有升血糖效应, 以维持血糖浓度。这可能是鱼类饥饿状态下糖代谢调节的一种方式, 但该过程中生长激素的确切作用及机制还需进一步研究。

与其他脊椎动物类似, 草鱼生长激素分泌也是间歇性的。由于这种间歇分泌的特性, 单个取样点所得生长激素水平的平均值有时难以反映生长激素水平的真实情况。为了更进一步准确分析饥饿对草鱼 GH 分泌的影响, 采用背大动脉插管采血法, 连续血样的生长激素放免分析结果表明: 饥饿状态下, 草鱼生长激素分泌仍是间歇性的, 但生长激素间歇性分泌的基础水平和最大峰值都明显提高, 这与哺乳动物中情况类似。

饥饿可提高鱼类血液中生长激素水平, 但这种作用的机制并不清楚。近年来研究表明鱼类生长激素的分泌也主要受到下丘脑的两种因子, 即生长激素释放激素(GRH) 和生长激素释放抑制因子(SRIF) 的影响, 其中 GHRH 是促进性刺激, SRIF 是抑制性刺激, 而且生长激素的间歇性分泌被认为是 GHRH 和 SRIF 对脑垂体生长激素分泌调节协同作用的结果; 另外, 外周血液系统中的 IGF-I 对生长激素分泌具有负反馈调节作用。在饥饿状态下, 鱼类血液中 IGF-I 水平下降, 免疫组织化学研究表明饥饿降低鳗和鲤脑垂体上 SRIF 神经纤维数目。本文结果也显示: 在体外灌流时, 饥饿处理的草鱼种脑垂体生长激素基础分泌值明显高于正常投喂的草鱼种。类似的结果在罗非鱼中也观察到, 饥饿的罗非鱼脑垂体在体外孵育时也释放较多的生长激素, 这些结果提示: 饥饿处理的鱼类脑垂体在离体状态下也具有较强的生长激素分泌能力。因此, 饥饿状态下草鱼血液中生长激素水平提高及生长激素间歇性分泌增强可能与其下丘脑、脑垂体和外周 IGF-I 等在饥饿状态下的变化有关, 但具体机制还需要进一步的研究。

参考文献:

- [1] Love R M. The Chemical Biology of Fishes [M]. New York: Academic Press, 1980
- [2] Sumpter J P, Le Bail P Y, Pickering A D, et al. The effect of starvation on growth and plasma growth hormone concentrations of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* [J]. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 1991, 83: 94—102
- [3] 谢小军, 邓利, 张波. 饥饿对鱼类生理生态学影响的研究进展[J]. 水生生物学报, 1998, 22: 181—188
- [4] 沈文英, 林浩然, 张为民. 饥饿和再投喂对草鱼种生物化学组成的影响[J]. 动物学报, 1999, 45: 404—412
- [5] Evans D H. The Physiology of Fishes [M]. New York: CRC Press, 1997, 65—97
- [6] Wagner G F, McKeown B A. Development of a salmon growth hormone radioimmunoassay [J]. *Gen. comp. Endocrinol.*, 1986, 62: 452—458
- [7] Barrett B A, McKeown B A. Sustained exercise augments longterm starvation increases in plasma growth hormone in the steelhead trout, *Salmo gairdneri* [J]. *Can. J. Zool.* 1988, 66: 853—855
- [8] 黄耀桐, 刘永坚. 草鱼种无机盐需要量之研究[J]. 水生生物学报, 1989, 13: 134—151
- [9] Smith L S, Bell G R. A technique for prolonged blood sampling in free swimming salmon [J]. *J. Fish Res. Bd Can.*, 1964, 21: 711—717
- [10] 林信伟, 林浩然. 鲤鱼促性腺激素释放激素(sGnRH)调节鲤鱼脑垂体生长激素分泌的离体研究[J]. 动物学报, 1994, 40: 30—38
- [11] 张为民, 张利红, 林浩然. 儿茶酚胺类药物对草鱼生长激素分泌的影响[J]. 水生生物学报, 1996, 20: 340—344
- [12] 方家驹. 生物化学实验教程[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1993

THE SECRETION OF GROWTH HORMONE IN STARVED GRASS CARP, *CTENOPHAR YNGODON IDELLUS*

ZHANG Weimin, ZHANG Lihong, SHEN Werrying and LIN Haoran

(School of Life Sciences, Zhongshan University, Guangzhou 510275)

Abstract: The effects of starvation on the secretion of growth hormone were investigated in juvenile and fingerling grass carp. Serial blood samples via the dorsal aorta cannulae showed that the GH secretion of starved juvenile grass carp (bodyweight 0.5—1.0kg) was still episodic, but with higher values of average GH, basal GH, and peak GH. As to the fingerling grass carp (bodyweight 25—30g), starvation increased their serum GH levels but decreased their condition Coefficient and concentrations of blood glucose. In vitro perfused pituitary fragments of starved grass carp fingerling basal GH secretion was higher than that of fed control. These results indicated that GH secretion in grass carp was being enhanced under starvation.

Key words: Grass carp; Starvation; Condition coefficient GH; Episodic secretion; Blood glucose