

鲤鱼脑垂体促性腺激素含量 年周期变化的研究*

曹杰超 欧阳玉梅

(湖北省水生生物研究所)

提 要

本文报道了用蟾蜍离体卵巢跌卵的方法来研究鲤鱼脑垂体里的促性腺激素含量的年周期变化情况,以解决我国鲩、青、鲢、鳙人工繁殖工作中应用鲤鱼脑垂体作为催产剂的质量问题。实验是在1962—1963年进行的。

实验结果表明:鲤鱼脑垂体对蟾蜍离体卵巢有明显的跌卵效果;鲤鱼脑垂体里的促性腺激素是常年存在的,但随季节的不同而含量亦有所不同。全年中以2—3月份的脑垂体里促性腺激素的含量最高,10月份为最低,其他月份则是逐渐递升与递减的关系,因而呈现出一明显的年周期变化规律,这对指导收集鲤鱼脑垂体的最适季节具有一定的实用意义。对鱼类脑垂体的生理探讨方面也提供了一些新的资料。

在鱼类中应用脑垂体促性腺激素催情,早在1930年就开始了^[1]。初期大部分的工作是研究脑垂体促性腺激素在鱼类催情上的效果;随着生产的发展,在鱼类脑垂体的组织生理学、组织化学、实验生物学等方面开展了进一步的研究^[2,11,12,13]。在鱼类催产上为了更合理地使用脑垂体进行催产,先后有人对鱼类脑垂体的生物学效价提出过“鱼单位”、“泥鳅单位”、“蛙单位”等概念,然实际应用于生产的却很少^[10]。据有关报道^[14],鳊鱼产卵后的脑垂体里可能不含促性腺激素,白鲈产卵后的脑垂体里促性腺激素含量显著地减少。这意味着,不同季节里的脑垂体,其促性腺激素的含量有较大的差异。

我国在鱼类人工繁殖生物学方面的研究,在毛主席革命路线的指引下,1958年大跃进以来,取得了辉煌的成就^[3]。与池养鱼类排卵有关的鱼类脑垂体生理学方面的工作,1959年郑镇安、苏炳仁对湖北洪湖鲤鱼脑垂体促性腺激素的“泥鳅单位”进行过测定^[4]。中国科学院水生生物研究所(现湖北省水生生物研究所)和武汉大学生物系协作,对鲩、青、鲢、鳙性腺及其相关器官的组织生理学也开展了研究,并认为这四种鱼类的脑垂体间叶里分泌细胞的季节性变化与性腺发育程度是相一致的^[5,6]。

关于我国鲤鱼脑垂体里的促性腺激素含量年周期变化的情况,过去还没有报道,而在普遍进行的鲩、青、鲢、鳙人工繁殖工作中又要求取得这方面的资料,以便能使用取自最适季节的鲤鱼脑垂体进行催产。因此,我们于1962—1963年用生物检测的方法,对鲤鱼脑

1975年4月24日收到。

* 本文曾蒙施稼芳、王祖熊、陈宏溪等同志帮助,俞豪祥、陈景松两同志参加摘取脑垂体,作者一并致谢。

垂体促性腺激素含量年周期变化的情况进行了研究¹⁾,并获得了一定的数据。这些资料可供“家鱼”人工繁殖工作的参考。

一、材料和方法

鲤鱼 (*Cyprinus carpio*) 脑垂体,是在湖北省鄂城县鸭儿湖地区收集的,选用性成熟的鲤鱼(一般体重2—10市斤),自1961年4月至1962年4月,每月按上、中、下三旬分别收集鲤鱼和摘取垂体。所有脑垂体都经丙酮干制,保存于干燥器内。干制后的垂体一般重在2—5毫克之间,平均每个垂体为3.2毫克。

蟾蜍 (*Bufo bufo gargarizans*) 均于1962年冬在武汉郊区捕得,一般体重在70—120克之间,发育正常,腹部柔软膨大,实验前保存于4—8℃冷藏库中。

采用蟾蜍卵巢离体跌卵的实验方法^[7]。于1962年12月份进行。先将已干制的鲤鱼脑垂体,每月按上、中、下三旬,选大小相近,数目相同的垂体,称重、研细,并用任氏液配成一定浓度的垂体混悬液,根据实验要求的浓度,分别注入各实验瓶中(容积为50毫升的广口小瓶),然后用任氏液稀释至50毫升,测定其pH值。对照瓶里仅有50毫升任氏液而无垂体。

然后,选取一发育正常的雌蟾蜍,剖腹取出卵巢,放在任氏液中,把卵巢用镊子小心地撕成约含50粒卵球的小块,经任氏液多次冲洗,用玻璃丝勾挂牢,悬于上述已准备好的各广口小瓶中,放入恒温培养箱,把温度控制在18±1℃;经过20小时后,数出各瓶中未跌下的和已跌下的卵数,计算其跌卵率。同时用Bataillon氏固定液将已跌下的卵球进行固定,在解剖镜下观察卵的“极区”和“极体”的情况,然后用镊子把卵剖开,确定卵核的存在或消失,以求出跌下的卵的成熟率。跌卵率(%)和成熟率(%)为本实验的主要考察指标。为了核实实验方法的可靠性,我们还将已跌下的卵球,抽取部分样品以石蜡包埋和切片,作细胞学鉴定:在实验正常情况下,跌卵效能良好,跌下的卵球大多可达到第一次成熟分裂或第二次成熟分裂的中期^[8]。

二、结 果

用上述实验方法,蟾蜍离体卵巢在鲤鱼脑垂体混悬液的作用下,经多次实验证明能引起蟾蜍离体卵巢的跌卵和卵球的正常成熟。1963年1月22日的实验结果见表1。

从表1中可以看出,鲤鱼脑垂体可以对蟾蜍离体卵巢起跌卵的作用,其跌卵率和成熟率一般来说随垂体的含量变化而不同。当实验组鲤鱼脑垂体的剂量低于4毫克/50毫升时,则不显示出其跌卵效果。经重复组证明,结果一致。因此,通过这一实验手段,就能看出鲤鱼脑垂体对蟾蜍离体卵巢跌卵的最低有效剂量。为了减少蟾蜍个体间成熟度差异对实验的影响,我们于1963年2月14日分别用5、7、8、9、10、11、12这七个月的鲤鱼脑垂体,对同一只蟾蜍的卵巢材料,进行离体跌卵实验,发现不同月份的鲤鱼脑垂体,其跌卵效能不同。结果见表2。

从表2中可以看出:5、7、8这三个月份的鲤鱼脑垂体比9、10、11、12这四个月份

1) 曾在1963年“实验动物学专业学术讨论会论文摘要汇编”中刊有摘要(第177页),但该摘要中第9行“4月”和“6月”应更正为“2月”和“3月”,第11行“3月”应更正为“1月”。

表 1 用 5 月上半月的鲤鱼脑垂体促使蟾蜍离体卵巢跌卵的结果

脑垂体剂量 (毫克/50毫升)	实 验 组				重 复 组			
	总卵数 (个)	跌卵数 (个)	跌卵百分率 (%)	跌卵成熟率 (%)	总卵数 (个)	跌卵数 (个)	跌卵百分率 (%)	跌卵成熟率 (%)
11	27	21	77	85	26	21	80	76
10	40	39	97	61	52	13	25	61
9	79	27	34	59	33	15	45	40
8	47	39	83	17	24	13	54	46
7	58	19	32	57	43	8	18	12
6	69	17	24	64	29	7	24	14
5	40	11	27	45	35	9	25	11
4	81	11	13	36	39	14	36	7.1
3	15	0	0	0	43	0	0	0
对照组	48	0	0	0	52	0	0	0

表 2 不同月份鲤鱼脑垂体处理蟾蜍离体卵巢的结果

垂体取样月份	5		7		8		9		10		11		12	
	跌卵、成熟率(%)	成 熟 率 (%)	跌 卵 率 (%)	成 熟 率 (%)	跌 卵 率 (%)	成 熟 率 (%)	跌 卵 率 (%)	成 熟 率 (%)	跌 卵 率 (%)	成 熟 率 (%)	跌 卵 率 (%)	成 熟 率 (%)	跌 卵 率 (%)	成 熟 率 (%)
脑垂体使用量(毫克/50毫升)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)
8.1							60	88	17	60	8	66	57	86
7.3							21	100	0	0	8.1	100	34	81
6.5							19	66	0	0	0	0	33	10
5.7							12	33	0	0	0	0	2.7	100
4.9	90	94	53	93	20	90	1.9	0	2.2	0	0	0	0	0
4.1	4	50	5.9	100	5.7	100	1.7	0	0	0	0	0	0	0
3.3	0	0	0	0	0	0	2.7	0	0	0	0	0	0	0
2.5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2.5	0	0	0
1.7	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3.5	0	0	0
0.8	0	0	0	0	0	0	2.7	0	0	0	0	0	0	0
对照组	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

的脑垂体的跌卵效能要好。这说明 5、7、8 三个月份的鲤鱼垂体里，其促性腺激素的含量较其它月份为高，而在这七个月份里，又以 10 月份的鲤鱼脑垂体的促性腺激素含量为最少，从而证明了不同月份的鲤鱼脑垂体里促性腺激素含量的变化。后来，我们又于 1963 年 2 月用全年 12 个月份的鲤鱼脑垂体，对同一只蟾蜍的卵巢材料进行离体跌卵，实验共 15 组，每组包括 3 个并行试验，实验结果见表 3。

根据实验结果(表 3)，全年 12 个月份的鲤鱼脑垂体，对蟾蜍离体卵巢都有一定的跌卵效果，这说明鲤鱼脑垂体里的促性腺激素是常年存在的。然而，不同月份的鲤鱼脑垂体，其促性腺激素的含量是不同的，表现为跌卵效果的不同。将促性腺激素含量最低的 10 月份与全年其它月份相比，用费雪氏对比法求其 P 值，就可以证明彼此之间的差异。

表3 鲤鱼脑垂体对蟾蜍离体卵巢跌卵的最低有效剂量

组别	脑垂体取样 (月份)	最低有效剂量 (均数±标准差(毫克/50毫升))	P 值**	组别	脑垂体取样 (月份)	最低有效剂量 (均数±标准差(毫克/50毫升))	P 值**
201	1	3.50±0.661	<0.02	209	6(下旬)	4.20±0.646	<0.1>0.05
202	2*	2.57±0.744	<0.05	210	7	3.80±0.729	<0.02
203	3	2.66±0.767	<0.001	211	8	4.12±0.473	<0.02
204	4(上旬)	2.73±0.525	<0.001	212	9	4.58±0.869	<0.1>0.05
205	4(下旬)	3.69±0.536	<0.02	213	10	5.83±0.600	
206	5(上旬)	3.57±0.861	<0.05	214	11	5.20±0.751	>0.2
207	5(下旬)	3.48±0.726	<0.05	215	12	4.50±0.417	<0.05
208	6(上旬)	4.08±1.02	<0.05				

* 2月份样品由于垂体材料不够,故只取得一个数据,其他两个数据是由1、3月份数据推导算出的。

** P 值是以10月份数据为基数,用费雪氏对比法求得。

显著。特别是2—3月份的鲤鱼脑垂体,其促性腺激素的含量约为10月份鲤鱼脑垂体的二倍以上。现将表3中的数据作成图1,以便更明显地表达出周年的变化情况。

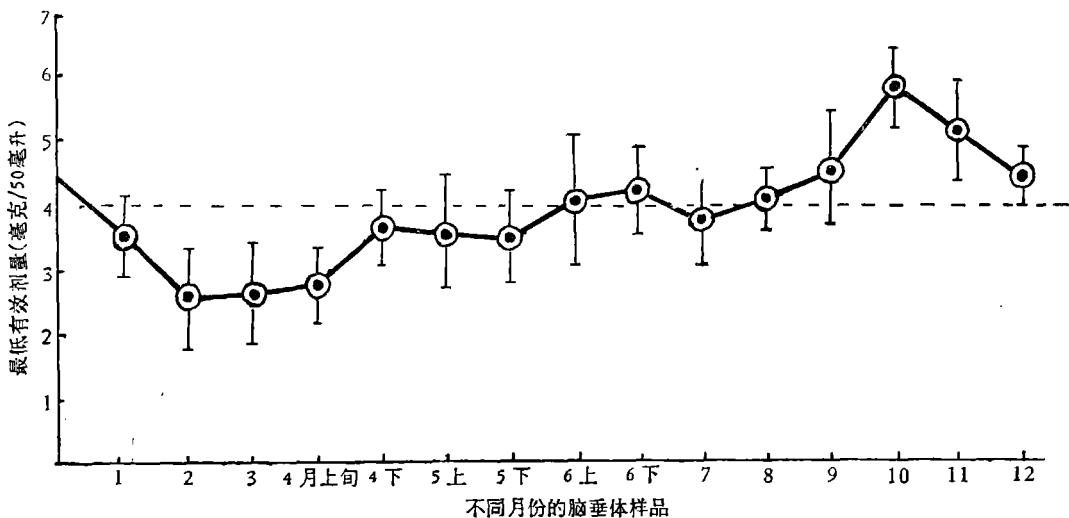


图1 鲤鱼脑垂体跌卵最低有效剂量年周期变化

从上图可以得出这样的结论:就湖北鄂城鸭儿湖地区鲤鱼种群的一般情况而论;2月到4月上旬,其脑垂体是全年中跌卵效能最高的月份,也就是说,其促性腺激素的含量此时最多。4月下旬至5月下旬,跌卵效能仍维持在较高的水平。6月至9月,效能逐渐下降。10月则是全年中效能最低的月份。从11月至来年1月,效能又逐渐回升直到最高,因而显示出年周期性的变化。如果就鸭儿湖地区个别鲤鱼而论,其脑垂体的跌卵效能的高低可能有参差,但垂体里的促性腺激素含量都有一个共同的季节性变化过程。实验所得的全年中不同月份的脑垂体最低有效剂量的曲线,反映鲤鱼脑垂体里促性腺激素含量年周期变化是有规律的。同时,还可看出:鲤鱼脑垂体里促性腺激素的积累和分泌过程的大致时间,从含量最低时期(10月)积累到含量最高时期(2—3月),所经过的时间较短,一般在3—4个月的时间里就能完成。相反,从最高量降至最低量的分泌过程,却延续

了7—8个月的时间，这一结果是与鲤鱼繁殖生物学的特征相适应的。

三、讨 论

1. 鲤鱼脑垂体促性腺激素年周期变化的规律是与鲤鱼的生殖周期有关的。据蒋一珪等^[9]在“梁子湖鲤鱼的生物学”一文中所提供的材料，3月份梁子湖鲤鱼卵巢继续发育至IV期后期阶段，4—6月是自然生殖季节，7月大部分鲤鱼都已产卵，8—10月是鲤鱼卵巢由休整恢复阶段逐渐转入发育阶段，并持续至来春4月进行产卵。本实验所用的脑垂体材料来自与梁子湖毗连的鸭儿湖，所得出的脑垂体里促性腺激素的积累和分泌周期，与鲤鱼的卵巢生殖周期相适应。当卵巢发育成熟时，脑垂体里的促性腺激素的积累已达饱和而待分泌，从生殖生理的角度来考虑这一现象也是必然的。有关作者应用组织学方法研究白鲈和鲤鱼脑垂体的形态与结构时提到：鲤鱼和白鲈与许多春季产卵的鱼类一样，脑垂体产生的促性腺激素有着分泌周期^[14]。我们用实验生物学的方法来研究鲤鱼脑垂体里促性腺激素含量年周期变化，使这个问题进一步得到论证。

2. 本文所列数据都是在实验条件正常的情况下获得的。当我们在测定鲤鱼脑垂体促性腺激素含量年周期变化的过程中，有些实验的结果也常显示出一定幅度的变动，特别是实验条件与实验材料的差异较大时，这种变动就显得突出。当实验因控制温度有所变动，或蟾蜍卵巢成熟不够，或卵巢出现退化现象时，则所获得的结果就很不一致。如1963年2月7日的实验，因培养箱温度失控，使跌下的卵球很少，其中没有一个卵成熟。又如1963年3月29日的实验，因蟾蜍卵巢对脑垂体促性腺激素失去敏感，表现为卵巢块自动跌下的卵球少，而在外力震动下跌出的卵球较多，卵球无光泽，无弹性，成熟率极低。这样的实验，就看不出规律。然而，当试验条件恒定，蟾蜍材料成熟较好时，一般都能得到比较稳定的结果。因此，必须保持实验条件的恒定和实验材料的良好，才能获得比较满意的数据。与此同时，我们也看到，尽管少数实验有时会出现一些变动，但在大部分的实验结果中都能明显地看出季节性变化的特征，这就使得我们相信，鲤鱼脑垂体里的促性腺激素含量确实存在着一个年周期变化的规律。

四、结 语

当用鲤鱼脑垂体对蟾蜍的卵巢进行离体跌卵实验时，除证明有明显的跌卵效能外，还证明了鲤鱼脑垂体里的促性腺激素是常年存在的，但随季节的不同而含量亦有所不同。在2—3月收集的鲤鱼脑垂体，其跌卵效能最高，可以认为这时期脑垂体中的促性腺激素的含量最多。10月份的鲤鱼脑垂体的跌卵效能最低，即促性腺激素的含量最少。其它月份是逐渐递升与递减的关系，因而呈现出一年周期的变化规律。从促性腺激素的积累过程来看，一般积累起来所需要的时间较短，而分泌的期间却延续得很长。促性腺激素含量年周期变化的趋势与鲤鱼种群性腺周年的变化趋势相一致。

目前我国在“家鱼”人工繁殖工作中，摘取鲤鱼脑垂体的主要季节是冬季（12月至2月），催产效果亦佳。但若论及摘取鲤鱼脑垂体的最适季节，我们认为：应当在开春后至产卵前，此时所获得的鲤鱼脑垂体，其促性腺激素的含量为最高。

参 考 资 料

- [1] 中国科学院实验生物研究所发生理研究室, 1962。脑垂体在国际鱼类养殖业上的应用, 家鱼人工生殖的研究, 313页。科学出版社。
- [2] 施慕芳、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—71。
- [3] 伍献文、钟麟, 1964。鲩、青、鲢、鳙的人工繁殖在我国的进展和成就。科学通报, (10): 900—907。
- [4] 郑镇安、苏炳仁, 1959。湖北洪湖地区鲤鱼脑垂体促性腺激素“泥鳅单位”的测定。武汉大学自然科学学报, 1959 (3): 53—58。
- [5] 武汉大学生物系实验鱼类学及养殖实验室, 1959。白鲢、鲤鱼、草鱼性腺及其相关器官在秋冬季的组织生理学资料。武汉大学自然科学学报, 1959 (3): 37—52。
- [6] 武汉大学生物系实验鱼类学及养殖实验室、中国科学院水生生物研究所, 1959。青、草、鲢、鳙性腺及其相关器官组织生理学的研究。武汉大学自然科学学报, 1959 (7): 43—76。
- [7] 朱洗等, 1951。分析蟾蜍脑垂腺对于体外跌卵和成熟的简报。科学通报, (2): 398页。
- [8] 曹杰超、欧阳玉梅, 1963。鲤鱼脑垂体促性腺激素在蟾蜍卵巢活体排卵和离体跌卵上与雄性活体排精上的不同效应(手稿)。
- [9] 蒋一珪、陈佩薰, 1960。梁子湖鲤鱼的生物学。水生生物学集刊, 1960 (1): 44—48。
- [10] Pickford, G. E. and J. W. Atz., 1957. The physiology of the pituitary gland of fishes. pp. 265—267. New York Zoological Society, New York.
- [11] Matty, A. J. & J. M. Matty., 1959. A histochemical investigation of the Pituitary glands of some teleost fish. Quart. J. Micr. Sci., 100:257—261.
- [12] Баранникова, И. А., 1950. О различий в функции базофильных клеток у гипофиза курильского осетра различных биологических групп. ДАН СССР, 74 (5): 1033—1036.
- [13] Казанский, Б. Н. и Л. М. Нусенбаум., 1947. Вьюн (*Misgurnus fossilis* L.) как объект для определения гонадотропной активности препаратов гипофиза рыб. труды лабор. осн. рыболов., I: 111—119.
- [14] Гербильский, Н. Л., 1947. Гонадотропная функция гипофиза у костистых и осетровых. Труды лабор. осн. рыболов., I: 25—95.

CYCLIC FLUCTUATION OF THE ACTIVITY OF GONADOTROPIN IN THE CARP PITUITARY

Tsao Chieh-chao and Ouyang Yu-mei

(Institute of Hydrobiology, Hupei Province)

Abstract

The method of *in vitro* ovulation of the ovarian fragments of the toad, *Bufo bufo gargarizans*, in a medium containing carp pituitary suspension has been employed to assess the gonadotropic activity of carp pituitaries collected from the same locality but in different months of the year. Results of our experimentation indicate that carp pituitaries collected from February through March have the strongest gonadotropic effect, while those collected in December the weakest. Potency of the gland decreases gradually from March onwards, and increases gradually after December until a maximum is reached in February; thus carp pituitaries exhibit a definite cyclic change in the relative amount of the gonadotropin they contain. This finding implies that in central China, early spring is the best season for collecting carp pituitaries for the use of induced spawning.