

黄鳝性别的自然反转现象与 血清蛋白关系的初步研究

刘荣臻 王 浩 苏炳仁 张非常 韩代书
(南京大学生物系)

提 要

实验采用聚丙烯酰胺凝胶电泳方法, 对 49 条黄鳝的血清蛋白进行了分析, 实验结果表明雌、雄黄鳝随着性腺的发育, 血清蛋白组分有所增加, 雌鱼性腺 III—IV 期为 10—11 条区带。雄鱼性腺 I 到 IV 期为 11—14 条区带。性别反转的黄鳝血清蛋白的区带数明显增加, 分析结果为 20 条区带, 经 CS-910 薄层色谱扫描具有较多的吸收峰, 极为有趣的是性别反转的黄鳝血清蛋白在凝胶负极一端的大分子脂蛋白和中等分子的球蛋白组分发生了很大的变化。而正极分子较小的白蛋白组分仍保持着雌鱼血清蛋白的吸收峰, 因此作者认为黄鳝性别反转作用可能与血清蛋白中较大分子组分的增加有关。

性别反转是特别有趣的生物现象, 性别分化可以同时看作为遗传学、胚胎学和内分泌学的问题, 但目前从这个角度研究得还很不够。因此深入研究与性别分化有关的一些现象, 分析性别在正常的, 没有实验干预条件下, 自然反转的机制具有重要的意义。刘建康 1944、1951 年^[3,4]发现黄鳝 (*Monopterus javanensis*) 性腺早期向雌性方向分化, 雄性较晚才出现。Liem 1963 年^[5]发现黄鳝 *M. albus* 有三种类型, 体长 28 厘米以下的所有个体均为雌性; 而从 28—45.9 厘米所有个体为雌雄间体 (intersex), 长度大于 46 厘米为雄性。以上工作都是从组织学及形态解剖证明黄鳝有性别反转的存在。然而还应该看出鱼类种群很多, 生活环境宽广, 体内物质代谢影响着性腺分化乃是内在的实质问题。而作者采用聚丙烯酰胺凝胶电泳技术, 对黄鳝性反转过程中血清蛋白的研究, 可以提高分离代谢物质的分辨力和敏感性。

材 料 与 方 法

实验中所用的黄鳝 (*Monopterus javanensis*) 是从市场上购买的, 本实验共解剖了 51 条黄鳝, 其中对 49 条能识别雌雄的黄鳝的血清蛋白进行了电泳分析。

血清的制备 先将黄鳝摔昏或用剪刀剪断其颈椎。用干布或脱脂棉擦干体表面的水, 然后在泄殖孔后用剪刀剪断尾静脉, 使血液从伤口处流入有编号的干燥的离心管中,

在室温下静置4—5小时,或放冰箱待自行分离出微黄而透明的血清,吸出上层血清存冰箱中备用。

试验按易健华^[1]方法稍加改良,凝胶浓度7%,pH 8.8的缓冲液。电压为200—300伏特,每管电流为2—3mA。电泳时间为2.5—3小时,当溴酚蓝指示剂到达距管底1厘米处停止电泳,取出胶柱,放12%三氯醋酸中固定半小时,然后放入氨基黑染液中染色45分钟,再放入7%醋酸中反复浸泡使其自然脱色,直至底色脱净为止。

结 果

对15尾性腺发育的雌鱼进行分析,其中II期4尾、III期8尾、IV期3尾,血清蛋白组分为10—11条区带(图1中第1、2、3凝胶);雄鱼共分析32尾,其中性腺发育I期4尾、II期11尾、III期8尾、IV期9尾,血清蛋白组分分别为10—11,11—12,11—14,12—14条区带(图1中第5、6、7、8凝胶)。性别反转雌、雄同体的黄鳝2尾(♀II期+♂I期和♀II期+♂II期),血清蛋白组分为19—20条区带(图1中第4凝胶,表1)。

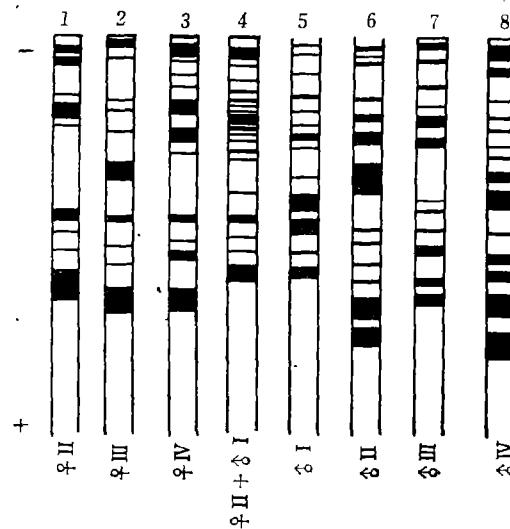


图1 示性腺发育不同时期雌、雄和性逆转黄鳝的血清蛋白的变化,

Fig. 1 Changes of serum proteins of female, male and sexreversing *Monopterus* in various stages of gonadal development

从血清蛋白及薄层色谱分析的结果,在雌雄鱼性腺分化的早期,血清蛋白组分较少,随着性腺的成熟,血清蛋白组分增多(图2—9)。在性别反转的过程中,以两性间体存在的黄鳝,血清蛋白组分发生了极为有趣的变化,从图5,830609-6号黄鳝的电泳分析的血清蛋白的组分及薄层色谱扫描的吸收峰可观察到,位于凝胶正极端的小分子白蛋白的区带仍保留着雌鱼相同的4个组分,经薄层色谱扫描显示出类似雌鱼的4个吸收峰,而在凝胶负极端的大分子脂蛋白显示为5条区带,薄层色谱扫描有5个吸收峰(雌鱼仅有3个吸收峰),这种变化的结果与雄鱼相似。位于凝胶正负两极之间的球蛋白各组分变化尤为突

表 1 黄鳍性腺发育分期及分析结果

Tab 1 Specimens of *Monopterus* grouped in terms of the stage of gonadal development
With relevant data

性腺发育时期	实验鱼编号	体长 (cm)	体重 (g)	血清蛋白区带数	图片编号
♀II	830329-9	33	28	9	图 2
	830329-1	46	95	9	
	830329-2	46	85	8	
	830329-3	47	75	8	
♀III	830410-2	50	108	11	图 3
	830511-5	28	15	10	
	830511-6	26	15	10	
	830516-1	55	184	10	
	830516-8	28.5	18	10	
	830516-9	28	16	10	
	830607-3	24	10	10	
	830607-7	39	35	11	
♀IV	830508-5	49	118	11	图 4
	830511-3	46	102	11	
	830511-4	46	85	10	
♂I	830402-1	55.6	210	11	图 6
	830402-4	53	160	11	
	830419-1	51	150	12	
	830419-4	54	135	11	
♂II	830402-2	50	150	11	图 6
	830402-3	62	216	12	
	830402-6	54.5	123	12	
	830402-7	51	117	11	
	830419-2	50	120	11	
	830419-5	50	120	11	
	830419-6	56	140	11	
	830508-1	60	225	11	
	830508-2	59	175	11	
	830516-7	26.5	15	11	
	830516-11	76	425	12	
	830410-1	44	132	13	
♂III	830410-3	52	108	14	图 7
	830410-6	52	109	14	
	830419-3	53.5	150	13	
	830508-3	50	150	10	
	830508-4	50	100	11	
	830511-1	61	265	11	
	830516-12	56	180	12	
♂IV	830508-6	38.5	39	12	图 8
	830607-1	61	285	12	
	830607-2	66	320	14	
	830607-5	48	120	13	
	830607-6	51	120	12	
	830609-1	70	385	12	
	830609-2	67	350	12	
	830609-3	53	145	13	
♀II + ♂I	830609-4	53	150	13	图 5
	830609-6	32.5	26	19—20	
♀II + ♂II	830609-7	26.5	12	20	图 5

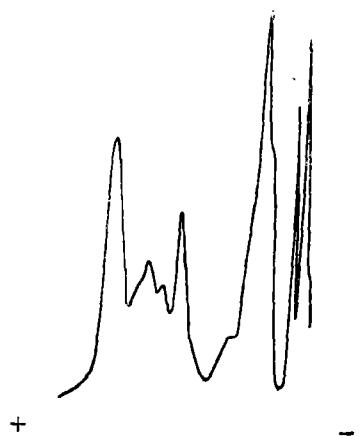


图2 雌黄鳝血清蛋白的吸收曲线 830329-1 ♀II

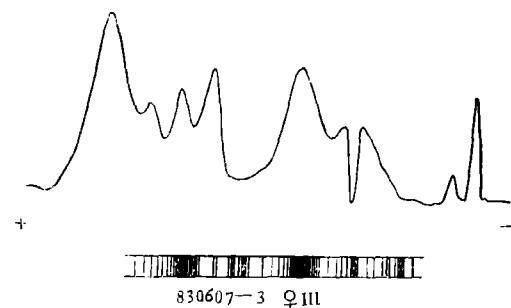
Fig. 2 Absorption curve of serum proteins in Stage II female *Monopterus*

图3 雌黄鳝血清蛋白的吸收曲线 (830607-3 ♀III)

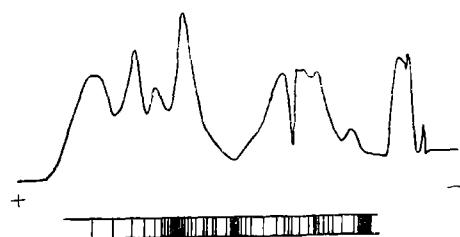
Fig. 3 Absorption curve of serum proteins in Stage III female *Monopterus*

图4 雌黄鳝血清蛋白的吸收曲线 (830511-3 ♀IV)

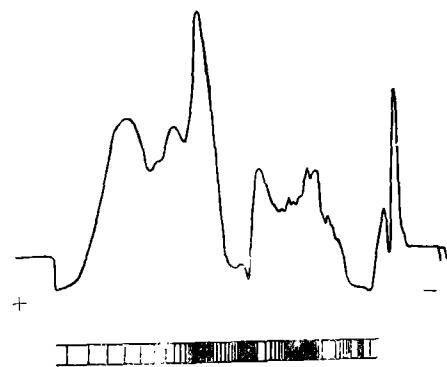
Fig. 4 Absorption curve of serum proteins in Stage IV female *Monopterus*

图5 性反转黄鳝的血清蛋白的吸收曲线 (830609-6 ♀II + ♂I)

Fig. 5 Absorption curve of serum proteins in sex-reversing *Monopterus*

出(图5),由雌鱼4个组分逐渐增加到雌雄间体的12个组分;经薄层色谱扫描也显示出在成熟雄鱼中有12个吸收峰(图9)。

讨 论

实验对49尾黄鳝进行了体长体重的测量,作者发现雌鱼体长普遍较短,雄鱼体长普遍较长,这种现象与刘建康1944年^[3]工作,黄鳝性腺早期间向雌性方向分化的观点相符合。但是,解剖的雌鱼体长为24—55厘米,雄鱼体长38.5—76厘米,而性别反转的两性兼体体长为26.5—32.5厘米,实验中还经常观察到相同体长的黄鳝其性别则不相同,这种现象说明体长不是性别判断的标准。

人工注射雌激素诱发性别反转实验,曾有许多学者报道过: Aida等1973年注射雌激

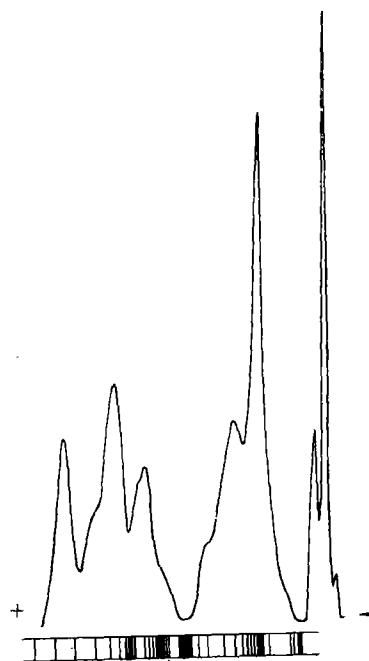


图 6 雄黄鳍血清蛋白的吸收曲线
(830402-1♂I)

Fig. 6 Absorption curve of serum proteins in Stage I male *Monopterus*

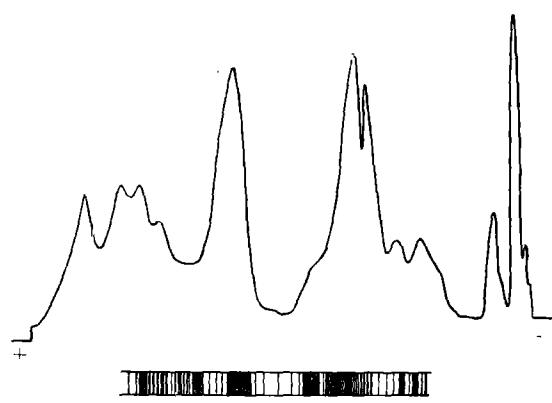


图 7 雄黄鳍血清蛋白的吸收曲线
(830402-3♂II)

Fig. 7 Absorption curve of serum proteins in Stage II male *Monopterus*

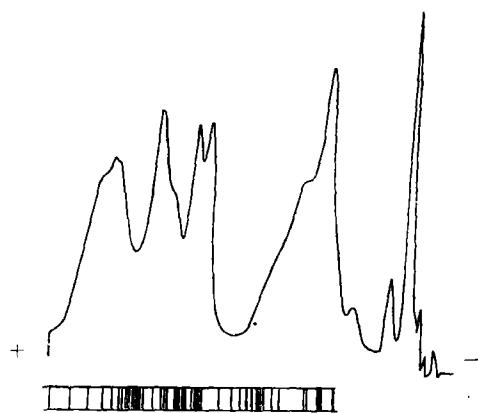


图 8 雄黄鳍血清蛋白的吸收曲线
(830516-12♂III)

Fig. 8 Absorption curve of serum proteins in Stage III male *Monopterus*

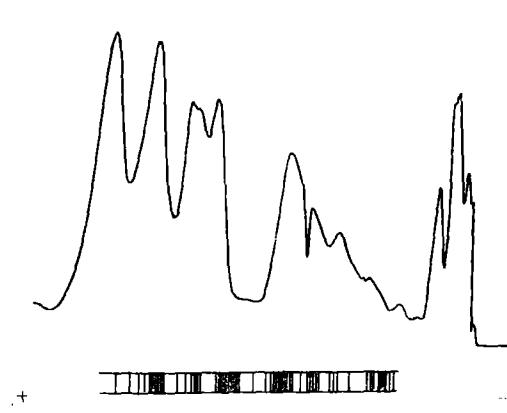


图 9 雄黄鳍血清蛋白的吸收曲线
(830607-2♂IV)

Fig. 9 Absorption curve of serum proteins in Stage IV male *Monopterus*

素诱发雄鱼血清产生雌性特异蛋白组分，该工作证实注射雌激素使性腺分化与血清蛋白组分有着密切关系^[2]。

黄鳍性别的自然反转与血清蛋白是否也存在着关系呢？幼期黄鳍的性别由雌性先成熟随着生长向着雄性转化已被较多的学者承认。本实验表明雌黄鳍血清蛋白组分较少，而雄黄鳍血清蛋白组分都高于雌鱼。作者认为这也许正是黄鳍存在着性反转作用的特性，而

反映在血清蛋白组成方面的特殊变化。

性别反转雌、雄间体的黄鳝，血清蛋白分析结果远远超过雌、雄单体的组分，电泳结果蛋白带数增加，薄层色谱扫描显示出最多的吸收峰，雌、雄兼性鱼，在阴极端脂蛋白吸收峰与雄鱼相似，这可能是雌黄鳝性反转较先变化的组分。位于两极之间的球蛋白类与运铁蛋白等在性别反转过程中分化出较多的组分，由雌性鳝4个组分而增加为雌、雄兼性体的12个组分(图5)。在性别反转的过程中，雌、雄两性的性激素同时在机体内影响机体的蛋白质代谢活动，加强了蛋白质合成与运转的速度，从而在血清蛋白中出现了较多的蛋白组分也是不难理解的。

参 考 文 献

- [1] 易健华等，1981。聚丙烯酰胺盘状电泳在鱼类分类及雌雄鉴别上的初步研究。淡水渔业，4：11—12。
- [2] Aida, K. et al., 1973. Physiological studies on gonadal maturation of fishes -I Sexual difference in composition of plasma protein of Ayu in relation to gonadal maturation. *Bull. Japan. Soc. Sci. Fish.*, 39 (11): 1091—1106.
- [3] Liu, C. K., 1944. Rudimentary hermaphroditism in the Symbranchoid eel, *Monopterus javanensis*. *Sinensis*, 15: 1—8.
- [4] Liu, C. K. and K. Y. Ku, 1951. Histological changes in the gonad of *Monopterus* during sex transformation. *Sinensis* N. S., 2 (1—2): 85—109.
- [5] Liem, K. F., 1963. Sex reversal as a natural process in the synbranchiform fish, *Monopterus albus*. *Copeia*, (2): 303—312.

RELATIONSHIP BETWEEN SEX REVERSAL AND SERUM PROTEINS IN *MONOPTERUS*

Liu Rongzhen, Wang Hao, Su Bingren, Zhang Feichang and Han Daishu

(Department of Biology, University of Nanjing)

Abstract

Whole sera of sex-reversing individuals as well as of females and males in *Monopterus* were analysed respectively through polyacrylamide gel (7%, pH 8.8) disc electrophoresis. Results show that the electrophoretic bands of serum proteins in both sexes of *Monopterus* increase with gonad development. The electrophoretic patterns obtained by 7% gel showed 10—11 serum protein bands in female *Monopterus* (gonadal stage III-IV); while those in male were 11—14 (gonadal stages I-IV). However the number of serum proteins of sex-reversing *Monopterus* has even more distinct increase, serum protein showing more than 20 bands in the electrophoretic gel. The serum albumin of inter sexual *Monopterus* had 4 bands in the electrophoretic gel, being the same as that of the female. The number of electrophoretic bands of serum lipoproteins in females, located the negative pole, was identical with that of the male individuals, having 5 bands. In intersexual fish the α -globulin and β -globulin proteins of medial molecular size were distinctly different from those of the female and the male individuals, the paper showing 11—12 bands in the former.

For this reason, the authors consider that the increase of the larger molecular sized serum

globulins is somewhat correlated to the sex-reversing process in *Monopterus*.

Key words Sex reversal, serum proteins in *Monopterus*, disc electrophoresis

简 讯

首次“淡水豚生物学和物种保护”国际学术讨论会
在中国武汉召开

The First International “Workshop on Biology and Conservation of The Platanistoid Dolphins” was Held in Wuhan, P. R. China

由国家环保局、中国科学院和国际自然与自然资源保护联合会共同举办、中国科学院水生生物研究所和南京师范大学具体组织的“淡水豚类生物学和物种保护”国际学术讨论会于 1986 年 10 月 27—30 日在武汉召开。这是世界上第一次淡水豚类的专题讨论会。到会代表有来自美国、日本、印度、巴基斯坦、尼泊尔、巴西、阿根廷等 7 个国家的 19 名国外专家和 18 名中国专家。

会议广泛交流了淡水豚类研究的最新成果。会议期间共提交报告 38 篇, 内容涉及淡水豚类的生物学、种群分布和数量、引起死亡的原因和保护对策、生态管理、声学、生物化学、行为生物学和人工饲养等重要学术领域。会议还对淡水豚类面临的最紧迫的保护问题, 特别是白暨豚的保护问题进行了深入的讨论, 提出了许多宝贵的建议。会后代表们还实地考察了拟议中的养护基地及长江中下游有关江段。

(吴建忠 Wu Jianzhong)