

絨毛膜促性腺激素对草魚卵 巢排卵和卵球成熟的作用*

浙江省淡水水产研究所

刘元楷 許谷星 叶盛钟

引 言

自从发现孕妇尿对动物生殖腺发育具有促进作用,并提取出絨毛膜促性腺激素(Chorionic gonadotrophic hormones)以后,許多学者应用这类激素进行魚类产卵的研究(Морозова, 1963年; Скадовский 和 Парфонова, 1937年; Sneed 和 Clemens, 1959年; 朱洗和王幽兰, 1962年; Anwand, 1963年等)。1958年,中国科学院实验生物研究所和浙江省淡水水产研究所等单位用絨毛膜促性腺激素促使池养白鲢(*Hypophthalmichthys molitris*)及花鲢(*Aristichthys nobilis*)产卵,也获得了成功。几年来,通过边推广边实验研究,在亲魚培育、催产和孵化等的生物学和操作技术方面进行了大量的工作,建立了比較系統的人工繁殖法(浙江省科学技术委员会, 1962年; 朱洗等, 1962年);在国内得到了广泛的推广,对淡水养殖生产起了很大的促进作用。

草魚(*Ctenopharyngodon idellus*)亦是我国重要的淡水养殖魚类,过去和白鲢、花鲢等一样不能在池塘中自然生殖。目前生产上采用鯉魚(*Cyprinus carpio*)脑垂体催产,进行人工繁殖魚苗(伍献文、钟麟, 1964)。在大規模生产时,鯉魚来源困难,因此,这一催产剂便具有一定的局限性,迫切需要改进。近年来,国内一些单位曾試用絨毛膜促性腺激素使草魚产卵,但未見有催产的效果(伍献文和钟麟, 1964)。有些工作者甚至作出絨毛膜促性腺激素对草魚催产无效的結論。

鉴于絨毛膜促性腺激素在魚类人工催产上使用和生产等方面有許多优点,早在几年以前,我們就开始应用这一激素促使池养草魚生殖的研究,并曾得到一些成效(刘元楷等,未发表记录),后因任务变更,未能继续。当看到其他工作者公布这些与我們完全相反的结果,又怎能不引起我們深思:是实验材料与方法的问题,还是有其他什么原因?这类荷尔蒙在許多魚类,尤其是习性相近的另外两种家魚——白鲢和花鲢的催产上都有良好的效果,为什么在草魚上却出现了特殊的结果?是絨毛膜促性腺激素在不同的魚类上存在着严格的种的特异性嗎?在已有的文献中,没有找到满意的答案。因此,觉得无论是从理論上,或者人工繁殖魚

* 本工作得到王幽兰先生的指导和鼓励,并承审校文稿;杭州大学江希明,中国科学院实验生物研究所王应天、刘世范、庞詩宜,上海水产学院譚玉鈞、王义强諸先生提供了宝贵意見;在本所进行毕业实习的上海水产学院韓炳炎、潘英涛、吴尔加、楊美蓉、韓丕琪和舟山水产学院彭家荣、袁巨、朱玲芬等同学在工作中給了我們不少帮助,特此一併致謝。

苗的生产实践上出发,都有进一步探索考究的必要。我們重新进行了这一工作,并且获得了肯定的結果。本文所要記述的是有关不同純度和剂量的絨毛膜促性腺激素对池养草魚卵巢排卵和卵球成熟作用的部分,希望能为草魚人工繁殖工作中,絨毛膜促性腺激素的应用提供依据。

材 料 与 方 法

实验材料是池塘培育两年以上,发育整齐的性成熟雌、雄草魚,年龄7~8龄,体重10.0~15.5公斤,体长80~100厘米。

絨毛膜促性腺激素系按修改的 Claesson 氏法(曾弥白等,1962)和 Got 氏法(1960)自提的粗制品。使用的有两种:激素 I,效价为蟾蜍离体排卵(朱洗、王幽兰,1958;王幽兰和左嘉容等,未发表记录)4毫克有效;激素 II,效价为蟾蜍离体排卵0.5~1.0毫克有效。实验对照用之脑垂体,取自体重1~2公斤,性成熟的鯉魚,冬季摘取,并經丙酮脫水保存。

激素和垂体用 Ringer 氏生理盐水配成溶液,按預定剂量,在腹鳍或胸鳍基部进行腹腔注射。一般均采用一次注射;亦曾进行过两次注射,其間隔时间为12小时。雌、雄亲魚比例一般为1.5:1。产卵池面积为150平方米左右。催产期間,給以适当流水(0.2米/秒左右)和进行生态观察;待亲魚在生理生态因素促进下,开始追逐发情时,或根据催产期間的温度,間隔一定時間进行扞捕检查排卵与否,并解剖观察卵巢发育状况。

用 Bataillon 氏液固定卵球或卵巢小块,石蜡包埋、切片,切片厚度10微米,蕃紅-亮綠染色(朱洗、王幽兰,1958)以供細胞学研究。部分材料亦曾用 Bouin 氏液固定,鉄矾苏木精染色。

排出卵球人工授精,受精卵按25,000~30,000个/平方米密度放入孵化箱,进行室外孵化,孵化期間的温度为22~27℃。分別在卵裂期、原腸期、孵化期及下塘前抽样检查統計其发育状况。

实 驗 結 果

一、絨毛膜促性腺激素对草魚卵巢排卵的作用

1. 激素 I 的排卵效果 在进行的3次13尾雌魚实验中,均无排卵反应。注射鯉垂体的对照雌魚6尾,得到排卵的有5尾,排卵率为83.3%。这些有排卵反应的雌魚,按其排卵的状况,大致可分为两类:一类是排卵順利,卵巢內长足的卵球大部分或基本上排尽,因而排卵量多,卵球质量較好;在外观上,这类亲魚腹部呈現空癩状,我們称之为“全产”。另一类雌魚,卵巢內长足的卵球一部分成熟,脱离了滤泡,而較大部分的卵球仍留在巢內;卵球的排出是断断续续的,因而排卵量較少,卵球质量亦較差;在外观上,亲魚腹部不是空癩状,而仍較丰满,呈現卵巢的輪廓,便称之为“部分产”。注射鯉垂体后,有3尾雌魚全产,占总数的50%(表1)。

2. 激素 II 的排卵效果

(1) 排卵率:用不同剂量的絨毛膜促性腺激素 II 对26尾性腺成熟的雌草魚进行催产,結果15尾魚得到不同程度的排卵反应。实验証明,效价0.5~1.0毫克蟾蜍离体排卵有效的絨毛膜促性腺激素是能够激发卵巢长足的草魚排卵的(表2)。

从表2可以看出,在激发卵巢排卵的作用中,絨毛膜促性腺激素的剂量与排卵效果关系

表 1 絨毛膜促性腺激素 I 激发草魚排卵的作用

催产剂 催产剂 量		項 目	实验魚数	排 卵 魚 数 和 百 分 比				未排卵魚数和百分比		
				全 产		部 分 产		排卵总 %	尾 数	%
				尾 数	%	尾 数	%			
激素 I	16毫克/公斤	3	0	0	0	0	0	3	100	
	20	3	0	0	0	0	0	3	100	
	40	2	0	0	0	0	0	2	100	
	60	3	0	0	0	0	0	3	100	
	80	2	0	0	0	0	0	2	100	
鯉 垂 体	2个/公斤	6	3	50.0	2	33.3	83.3	1	16.7	

表 2 絨毛膜促性腺激素 II 激发草魚排卵的作用

催产剂 催产剂 量		項 目	实验魚数	排 卵 魚 数 和 百 分 比				未排卵魚数和百分比		
				全 产		部 分 产		排卵总 %	尾 数	%
				尾 数	%	尾 数	%			
激素 II	4 毫克/公斤	6	0	0	0	0	0	6	100	
	8	3	0	0	0	0	0	3	100	
	10	2	0	0	2	100	100	0	0	
	12	6	0	0	4	66.7	66.7	2	33.3	
	16	6	3	50.0	3	50.0	100	0	0	
	20	3	1	33.3	2	66.7	100	0	0	
鯉 垂 体	2个/公斤	11	5	45.5	4	36.3	81.8	2	18.2	

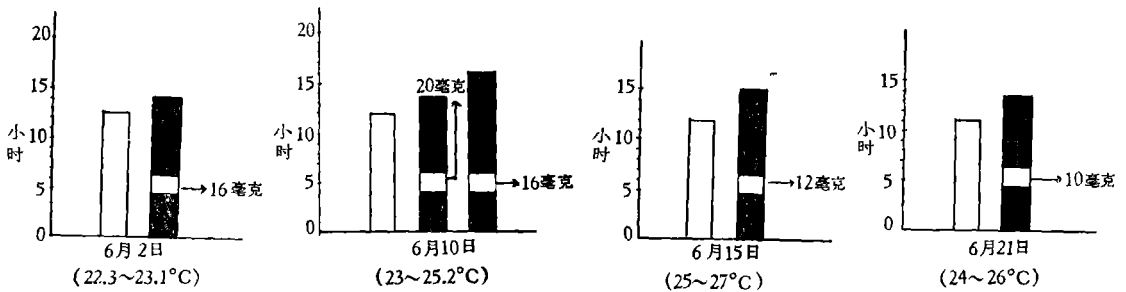
表 3 絨毛膜促性腺激素激发作用下草魚卵巢的排卵量

催产剂 实验魚 編号		項 目	体长(厘米)	体重(公斤)	排卵量(万粒)	平 均 排 卵 量	
						万粒/尾	万粒/公斤
激素 II	012	84.0	11.0	130.0	103	8.5	
	016	92.0	14.0	82.0			
	017	92.0	13.5	145.0			
	019	86.0	10.0	55.0			
鯉 垂 体	013	88.0	13.5	69.0	44.4	3.6	
	014	82.0	10.5	21.0			
	022	84.0	11.0	34.0			
	023	90.0	14.0	52.0			
	052	89.0	12.5	46.0			

甚大。注射10毫克/公斤剂量的2尾亲魚，經13.5小时(水温24~26℃)后扞捕检查，得到近10万卵球；授精后，卵球发育尚正常，孵化率为54.5%。低于此剂量的两组(4毫克/公斤和8毫克/公斤)9尾亲魚都未排卵；而高于此剂量的16毫克/公斤及20毫克/公斤两组，则获得了十分良好的效果，不仅全部雌魚都排卵，且半数左右的个体(4/9)属全产类型。看来，能够引起排卵的有效剂量是10毫克/公斤左右。

(2) 排卵量：据实验结果中全产类型亲魚的统计，注射絨毛膜促性腺激素的亲魚平均排卵量为103万粒/尾或8.5万粒/公斤，而对照組仅为44.4万粒/尾或3.6万粒/公斤(表3)。可见应用絨毛膜促性腺激素作为草魚催产剂，不仅在排卵率上，而且在排卵量上亦同样具有良好的效能，这一现象是值得引起注意的。

(3) 作用时间：6月間，水温22~27℃，用激素Ⅱ进行了四次催产实验，都得到不同程度的排卵反应；人工授精一般是在注射激素后13~16小时进行，个别曾延续到19小时。提高注射剂量，曾出现过可以减短作用时间的例子(见下图，6月10日材料)。在同一时间进行的鯉垂体对照組雌魚，激发排卵的作用时间表现较早，一般在11.5~12.5小时。倘使预先鉴定鯉垂体蟾蜍体外排卵的效价，并采用自行产卵的方法或縮短两次检查的时间間隔，那么，这些数据便将更有意义。



絨毛膜促性腺激素激发草魚卵巢排卵的作用时间

黑柱——絨毛膜促性腺激素組

白柱——鯉脑垂体組

括号内数字为催产期間水温

二、絨毛膜促性腺激素对草魚卵球成熟的作用

1. 激素Ⅰ对卵球成熟的作用 草魚接受絨毛膜促性腺激素Ⅰ注射后，虽无排卵现象，但卵巢内的卵母细胞却有不同程度的反应。据活体和切片观察的结果，基本上可归纳为三类：

(1) 卵巢内卵球无明显变化：卵巢浅黄色，卵巢重一般为体重的19~24%，卵球大小均匀、饱满，不透明，有核象可见。在切片上(图版Ⅰ.1)，卵球的直径约达1,200微米左右，卵内细胞质中充满了卵黄颗粒。卵的边周细胞质中含有成群的皮质小泡，排列成数层不等。胚泡(Germinal vesicle)很大，位偏，直径在250微米以上，核膜呈波浪形。核内有数目不等的核仁，大而圆，分布在核中心区和核边周。在核中心核仁区散布的染色质线条，甚细微，着色性亦弱，只有在高倍镜下，方能辨认。在细胞核的外周，有一个大星光，致使核周卵黄颗粒排列成辐射状。它与金魚(*Carassius auratus*)卵球核膜消失时出现的成熟单星光(Monaster of maturation, 朱洗、王幽兰, 1962)关系如何，尚待进一步考察。卵外放射膜(Zona radiata)很厚，且带有明显的放射条纹。放射膜外，还有滤泡膜(Follic-

ular membrane) 和卵巢膜 (Ovarian membrane)。近胞核处的放射膜上, 通常很容易找到精孔和紧嵌其中的精孔细胞 (Micropylar cell)。显而易见, 这类卵球是长足的初级卵母细胞, 注射绒毛膜促性腺激素 I 后, 没有引起明显的变化。

(2) 卵巢内部分卵球开始成熟分裂; 卵巢充血状, 卵巢重一般为体重的 22~24%。巢内长足的卵球可以极容易地分为两类: 一类是浅黄色的不透明的大卵, 可见核象, 切片上直径为 1,200 微米左右。细胞核偏位, 有些则进一步极化而出现在将来胚盘形成的一极卵周。后者, 由于上浮过程中不断地泄放核质, 体积已大为缩小, 核膜也更为皱曲, 减弱了原有的严密性, 但尚未完全消失; 核周的卵黄颗粒密集程度较高, 单星光似已减弱, 在接近动物极方面的光芒, 则更是短弱难见; 核内染色体着色性稍增, 它们是成对, 且相互绞缠 (图版 I .2)。

另一类大卵, 外观呈瑩晶半透明状, 深黄色, 核象消失。这类卵球通常在近注射部位较多。通过细胞学检查, 知道这类卵球已发生了极大的变化。卵内物质的分布发生了变动, 细胞质向动物极集中, 奠定将来胚盘的基础, 营养球则向相反方向集结, 卵细胞表现了明显的极化性。卵内废物部分外泄, 卵周皮质小泡层次减少。细胞核早已破裂。在精孔的附近可以找到正常的第二次成熟分裂中期图形及第一极体 (图版 I .3; 图版 II .6)。这类卵中的精孔细胞虽没有成熟发动前长足卵母细胞那么明晰, 但它确实存在, 在切片上甚易找到, 并且还可进一步洞悉其结构 (图版 II .6)。这些已发生成熟演变达到第二次成熟分裂中期的卵球没有离巢, 因而在卵巢腔内无游离卵。在切面上, 在放射膜外, 显明地看到滤泡膜和卵巢膜 (图版 I .3; 图版 II .6,7)。这种卵球已经成熟但不能从卵巢中排出现象, 在两栖类上也是常见的 (朱洗, 1947年, 1948年; 朱洗、王幽兰, 1958年; 王应天, 1963年等)。

上述两类处于不同成熟时期的图象是在已检查的 31 颗卵球上见到的; 很可能实际上存在着以胚泡至第二次成熟分裂中期之间的多种过渡阶段。

(3) 卵巢内大部和全部卵球成熟: 卵巢充血, 长足的卵球全部或绝大部分呈半透明瑩晶状, 因此卵巢为橙黄色, 但卵巢内无游离卵球。由于取材时间过晚, 卵球已开始腐化糜烂, 抽样切片检查未能找到成熟分裂图形; 但从胞核的消失, 卵黄颗粒及细胞质的形态和分布状况, 可以知道成熟分裂确已发动。

用细胞学的方法观察证明, 绒毛膜促性腺激素 I 对草鱼长足的卵巢, 虽未见到激发排卵的作用, 但能促使长足的初级卵母细胞进入成熟期, 则应是无疑的了。

2. 激素 II 对卵球成熟的作用;

用细胞学的方法抽样检查了由绒毛膜促性腺激素 II 激发排出的草鱼卵球的成熟程度, 所检查的卵球 (12 颗) 均处于第二次成熟分裂中期 (图版 II .8)。分裂的纺锤体位于精孔附近的卵周, 中轴与卵周切线相垂直, 两极无星光, 染色体整齐地排列在赤道板上。在一个卵的横切面上, 我们见到 20 余个染色体, 实际的数目可能还要多些 (图版 II .5)。在纺锤体附近, 放射膜内面的小凹中可以容易地找到第一极体。在已检查过的这些离巢成熟卵球精孔处切面上没有找到精孔细胞。是卵球经过固定、包埋及染色等一系列细胞学制片手术时脱落了呢? 还是在卵子离巢过程中, 精孔细胞已退化消失? 这是值得进一步追究的问题。

三、由绒毛膜促性腺激素激发排出之草鱼卵球的发育能力

应用脑垂体促使鱼类产卵进行人工繁殖鱼苗, 曾引起剧烈的争论和各种怀疑。在鲟鱼

(Acipenser) 上, Державин (1947年) 不止一次提出, 反对使用注射垂体的方法去获得魚卵。他认为, 就充分利用亲魚来說, 这种方法是經济的。后来 (1950年), 他还进一步提出, 由人工催产获得的魚卵要比天然产卵場的小。Садов (1950年) 則认为, 用催产的方法能使卵球质量不佳, 因而造成畸形发育魚苗的大量出現 (引自 Деглаф 和 Гинсбург, 1954年)。用絨毛膜促性腺激素促使魚类排卵, 亦曾引起不少疑虑。有人认为激素之所以能使魚类排卵, 主要是类促黄体生成素的催产作用, 因此往往会把尚未长足的卵球或过熟卵强制排出, 造成排出的卵球不成熟, 卵质不佳或幼魚多畸形等 (見陈鏡声, 1964年)。在白鲢、花鲢、鳊魚 (*Megalobrama terminalis*) 和金魚上, 已有大量事实証明这些論断的片面性 (浙江省科学技术委员会, 1962年; 朱洗等, 1962年)。現在一切已很清楚, 只要掌握好亲魚性腺发育程度催产、卵球适当成熟程度受精, 以及加强魚卵孵化和幼魚养育期間的管理等等, 就完全可以获得与天然产卵場捕获的一样优质的稚魚。

用細胞学的方法, 我們已經查明, 由絨毛膜促性腺激素激发排出的草魚卵球是处于第二次成熟分裂中期; 但这仅能标志着卵球已达到形态成熟 (Morphological maturation) (朱洗、王幽兰, 1962年)。为了进一步鉴定它們是否具有正常受精和发育的能力, 我們进行了人工授精和室外孵化实验, 并观察这些激发排出卵球的胚胎发育情况。在室外大水面孵化箱内进行受精卵的孵化, 环境条件不易人为控制, 在一定程度上会影响胚体的正常发育, 从而降低其成活率。然而, 由于这样的考察是建立在充分的数量基础上, 亦就带来了更大的可靠性。实验結果見表 4 和表 5。

表 4 絨毛膜促性腺激素激发排出之草魚卵球受精后的胚胎发育

催产剂	实验魚 編号	排卵数 (万粒)	正常胚胎发育的百分比(%)			孵出魚苗数 (万尾)
			卵裂期	原腸期	孵化期	
激素 II	012	130.0	—	93.0	82.5	107.3
	016	82.0	58.5	53.5	49.0	40.2
	017	145.0	64.8	58.5	49.5	71.8
	019	55.0	85.0	75.8	61.0	33.6
鯉垂体	022	34.0	87.5	84.0	65.9	22.4

表 5 絨毛膜促性腺激素激发排出之草魚卵球受精孵化后幼魚的发育能力

催产剂	实验魚 編号	出膜的幼魚数 (万尾)	下塘魚苗数* (万尾)	成活率 (%)
激素 II	012	107.3	78.4	73.1
	016	40.2	27.0	67.2
	017	71.8	53.0	73.9
	09	33.6	24.0	71.4
鯉垂体	022	22.4	18.0	80.3

* 指开始夏花魚苗阶段的培育, 此时的魚苗器官已基本发育建成, 并能自由游泳, 开始主动摄食。在水温 25℃ 左右, 一般是在幼魚出膜后的 4 天前后。

上述表中的数据表明，由絨毛膜促性腺激素激发排出的草魚卵球是成熟的；不但达到形态上的成熟，而且亦达到生理上的成熟(Physiological maturation)。它們具有良好的发育能力，受精后能正常地发育、孵化，长成健壮的幼魚。受精卵的切片观察(图版Ⅱ.9,图版Ⅰ.4)也补充說明了上述情况，这又再一次証实，不論是用脑垂体或是絨毛膜促性腺激素催产，只要正确地掌握了人工繁殖方法，則完全有可能得到与天然产出的一样优良的魚苗。

从事发生学工作的人們，早就注意到卵球的成熟程度与受精和胚胎发育的密切关系。在两棲类和魚类上，曾有过詳尽的研究分析报道(朱洗和王幽兰等，1959、1960、1962、1964年；庞詩宜和林秀媛，1963年)。这些工作指出，卵球的成熟程度可分为不够成熟、适当成熟及过分成熟三个时期与两个过渡阶段；只有在适当成熟期間卵球得到受精，胚胎才能正常发育。在家魚上，卵球适当成熟的期間，往往仅有短暫的1~2小时。因此，采用人工授精的方法，必須充分掌握好卵球适当的成熟程度；否則往往由于授精的时间不恰当，卵球已从适当成熟进入过度成熟，胚胎发育遂趋不良，或甚至根本不能发育。我們注意了这个问题，但由于操作上的一些困难，不能象实验室里的小动物那样随意处理，在草魚人工授精的时间上，难免略有先后，或多或少地影响了受精卵球的发育百分比。不过，这些影响，不会抹煞实验的基本結果。

討 論

一、不同效价的絨毛膜促性腺激素对草魚卵巢排卵和卵球成熟的作用問題

上述实验結果明确地指出了两种效价的絨毛膜促性腺激素对草魚卵巢排卵和卵球成熟的作用是不同的。蟾蜍离体排卵0.5~1.0毫克有效的激素Ⅱ，注射一定剂量(大約在10毫克/公斤左右)，可以促使长足的卵球成熟和排出；而蟾蜍离体排卵4毫克有效的激素Ⅰ，能激发长足的卵球发动成熟分裂，达到正常的成熟程度，但是，即使在80毫克/公斤这样高的剂量下，仍然无法激发卵巢释放出这类已經成熟的卵球。这表明了草魚卵巢对絨毛膜促性腺激素反应的敏感性，除表现在注射剂量之外，还与激素的效价有关。这一现象在白鲢、花鲢、鳊魚、金魚及其他一些魚类的工作中都未曾发现，因此，值得进一步推究。

首先，由效价不同的絨毛膜促性腺激素对草魚催产后产生的两种不同反应，显示了卵球成熟和卵巢排卵这两个过程間的复杂关系。在两棲类上早已証明，成熟与排卵在正常的状况下通常是紧密联系在一起，但在某些因素的存在下，例如在人为控制实验中的不同渗透压或温度的影响下，这两个过程却是可分离的(朱洗，1947年、1948年；朱洗、王幽兰，1958年)。現在，在草魚上这两个过程亦表现了同样的关系，表明了两棲类上成熟与排卵的这一概念，很大程度上可以引伸到魚类中来。

其次，絨毛膜促性腺激素来自孕妇尿。提取純粹的絨毛膜促性腺激素需要相当繁复手续(曾弥白等，1962年)。我們实验中采用的两种絨毛膜促性腺激素，激素Ⅱ是激素Ⅰ经过再度抽提后得到的純度較高的样品；虽还不是純粹的，但比較激素Ⅰ，其所含的杂质則要少得多。实验所用的激素Ⅰ量，按效价推算，并不比激素Ⅱ用量低。从这些意义上来说，注射激素Ⅱ能够激发草魚很好地排卵，而注射激素Ⅰ却仅使卵球成熟而未見排卵，不可能是激素Ⅰ缺乏某种促进排卵的因素(Пучков, 1953年；刘筠等，未发表资料)。很可能是由于激素Ⅰ含有更多的杂质，对卵巢释放出卵球具有一定的抑制作用，从而影响到卵巢排卵的效果。

在两棲类离体排卵实验中，有过不少关于抑制排卵的报道。例如，朱洗和王幽兰（1958年）指出，在低温（4~6℃）中卵球可以成熟，但一个亦未能排出；庄临之（1964年）报道了鋅离子的抑制作用以及鎂离子和鋅离子在蟾蜍离体排卵中的拮抗现象；张星和徐周娥（1963年）发现，pH值对絨毛膜促性腺激素的功能有很大关系，当酸度达到一定水平（pH=2.3）时可以使其完全失去活性等等。但是这些多属零星的工作，尚欠系統地深入，究竟抑制成熟卵球排出的作用性质及其机制如何，目前尚无完善和統一的认识。

最后，还应该提出，在过去的实验中，我們还曾应用过效价为蟾蜍离体排卵 2 毫克左右有效的絨毛膜促性腺激素催产，使一尾草魚排了卵，通过授精，并孵出数百尾幼苗（未发表记录）。据了解，国内其他的工作者亦有过类似的产卵记录。因此，并不能就此认定，未經重行抽提，提高純度，达到激素 II 这样效价的絨毛膜促性腺激素就不能激发草魚排卵。何况，初提操作严谨的話，也可得到蟾蜍离体排卵 0.5 毫克左右有效的激素（朱洗等，1962年）。至于究竟絨毛膜促性腺激素要有如何的純度和剂量方能促使池养草魚順利地成熟排卵，尚待进一步深入探索。

二、草魚和鱧、鱮魚对于絨毛膜促性腺激素催产反应的差异問題

看了上述的实验結果，从事家魚人工繁殖工作的人們不免要联系到其他家魚催产的情况。现将花鱧（未发表记录）和草魚两种家魚对絨毛膜促性腺激素催产的反应列入下表（表 6），以作比較。

表 6 絨毛膜促性腺激素激发草魚和花鱧排卵的有效剂量

催 产 剂	剂 量 种	可以引起排卵反应的剂量 (毫克/公斤)		达到順利排卵的剂量 (毫克/公斤)	
		草 魚	花 鱧	草 魚	花 鱧
激 素 I			5.0		5.0
激 素 II		10.0	1.0	16.0	1.0

从这一簡表，至少可以归纳出两点现象：（1）花鱧对于两种效价的激素都有良好的反应，說明花鱧卵巢和卵球能感受的激素效价范围要較草魚广泛；（2）这两种家魚对于絨毛膜促性腺激素的排卵反应有差异，草魚需要的催产剂量大大高于花鱧，据初步的結果，大致在10倍左右。草魚和花鱧（白鱧亦是如此）在許多生殖习性上甚为相近，但是对于絨毛膜促性腺激素的催产却表现不同的反应。这类差异的实质是什么？这亦涉及多方面的問題。目下，暫且根据已有的认识水平，提出一些可能的原因。

1. 卵巢发育程度的差异（亲魚培育水平的差异）：卵球的成熟和排出是一个复杂的机能，現在我們至少知道，它必須依賴内外两方面的合作：一方面，卵巢和卵球必須充分发育长足，具备接受外界刺激的内在条件，即卵巢和卵球的敏感性；另一方面，必須有适当的外界刺激条件，注射促性腺激素即是其中的一种（朱洗、王幽兰，1962年）。这类問題在蟾蜍上有过較詳尽的分析（王幽兰，1953年；朱洗、王幽兰，1958年等）。这些工作指出，如果其他条件都很正常，在促性腺激素催促下，卵球能否良好的成熟和排出，要視卵巢和卵球对激素反应的敏感度，倘使卵巢和卵球敏感度不够，或者没有什么反应，或者只能在高剂量的激素

催促下，勉强产生一反应。在蟾蜍上，还早已知道，长足的卵球只有通过低温冬眠，方能有成熟和进一步发育的可能（王幽兰，1953年等）。去除这一因素，例如在常年高温中养育，其卵巢可以在一年内长出数批足够大小的卵球，可是这些卵球在垂体促性腺激素的作用下都不能成熟。这里充分显示了外界生态条件所能给予卵巢与卵球发育的影响。目前，对草鱼和鲢、鳙鱼生殖腺发育的工作在很大程度上仅是局限于形态学方面，对其生理生化的指标，尚缺乏深入的研究。

不过，众所周知，在天然大型河川中，草鱼可以自然生殖，繁衍子裔。那么，在人工饲养环境下长成的亲鱼，经人工催产，往往不能顺利排卵，大概和我们尚未充分掌握草鱼的培育方法，尚未充分满足其生殖腺发育的生理生态条件有关。鲢、鳙鱼的人工繁殖工作，开展得比较早，对于鲢、鳙鱼的人工培育，催产和孵化，已有一套系统和完整的方法。草鱼人工繁殖的工作开展得比较晚；目前，草鱼人工繁殖的效果，较之鲢、鳙鱼总是略差一些，也是完全可以理解的。相信，只要给予时日，大家以不同的角度，分头研究、改进和提高，现存的差距是会逐渐减缩和消除的。

2. 遗传性的差异：草鱼和鲢、鳙鱼虽同属鲤科，生活和生殖习性上有某些相似性，但是，它们毕竟是不同的物种，在生长发育等一系列机能上也可能具有一定的不同性——特异性。事实上，在家养的数种鲤科鱼类中，生殖的生态条件要求就有显著差异。例如，鲤鱼和鲫鱼（*Carassius auratus*）在较小的池塘中即能自行繁殖，而草、鲢、鳙鱼却仅能在某些天然河川或水库自行繁殖。所以，草鱼和鲢、鳙鱼对绒毛膜促性腺激素反应敏感性上的差异，除了可能由于亲鱼培育水平——后天性因素外，还可能由于其固有的种性——先天性的特征。

三、绒毛膜促性腺激素对鱼类排卵的功能问题

应用绒毛膜促性腺激素促使鱼类排卵，近三、四十年来，在各种鱼类上有过许多的工作。Морозова（1936年）使用孕妇尿及绒毛膜促性腺激素注射鳊鱼（*Perca fluviatilis*），引起产卵和排精。Скадовский和Шарфенова（1937年）得到相同结果。但在*Prochilodus*和多种鱒鱼上的实验却未获得良好的效果（引自Пучков，1954年）。Пучков（1954年）就此曾设想，孕妇尿中的绒毛膜促性腺激素，由于缺乏某些激发排卵的辅助因素，因而只有很弱的作用。近年来，哈尔滨水产试验场在鲤鱼上（未发表资料），中国科学院实验生物研究所和浙江省淡水水产研究所等（1958、1959年）在白鲢、花鲢及鳊鱼上，Sneed和Clemenis（1959年）在环纹中弓鱼（*Pomoxis andaris*）及沟鲈鱼（*Ictalurus*）上，朱洗和王幽兰等（1959、1962年）在金鱼上以及Anwand（1963年）在狗鱼（*Esocidae*）上，引用绒毛膜促性腺激素催产都得到很好的效果。从上述应用绒毛膜促性腺激素促使鱼类产卵工作的历史中可以看出，虽然早期的工作中曾有过一些否定的结果，但近期的大量工作都肯定了这一激素对鱼类产卵的作用。关于绒毛膜促性腺激素对草鱼排卵的作用，也曾有过不少报道，并曾得出了比较一致的否定的结论（引自伍献文、钟麟，1964年）。现在，事实已经证明，这类仅仅根据少数而又不完整的事例，所作出的结论是错误的，绒毛膜促性腺激素非但可以促使草鱼卵巢排卵，而且，还可以促使草鱼卵球成熟。不同鱼类的卵巢和卵球对于绒毛膜促性腺激素的作用可能存在着不同程度的敏感性，但似乎并不存在着绝对的种的特异性。

結 論

1. 絨毛膜促性腺激素具有激发池养草魚排卵的作用，在卵巢发育良好的亲魚中，这一作用可以达到甚为完善的程度：排卵率 100%，排卵量 103 万粒/尾或 8.5 万粒/公斤，决不比鯉脑垂体的作用效果差。

2. 由两种不同效价的絨毛膜促性腺激素对草魚排卵作用的比較实验指明，排卵的效果与激素的质量和剂量密切相关。在一定范围内，这一关系表示为正相关：质量越好，剂量越高，排卵率越高。蟾蜍离体排卵 0.5~1.0 毫克有效的激素，注射 10 毫克/公斤左右，即可引起排卵；如果提高剂量（16~20 毫克/公斤），则效果更显良好。蟾蜍离体排卵 4 毫克有效的激素，注射 16~80 毫克/公斤，均未有排卵现象。前人用絨毛膜促性腺激素在草魚催产上没有得到明显效果，除去亲魚培育问题外，还可能是由于使用的激素质量和剂量不合适，而关于絨毛膜促性腺激素对草魚催产无效的结论，是不正确的。

3. 水温 22~27℃，草魚开始排卵的时间，大概在注射絨毛膜促性腺激素后 13~16 小时。提高注射剂量，在一定范围内可以缩短激发排卵的作用时间。

4. 细胞学的研究指明，两种不同效价的絨毛膜促性腺激素均可以促使草魚卵球成熟，抵达第二次成熟分裂中期。可知，絨毛膜促性腺激素并不缺乏促使鱼类卵巢排卵和卵球成熟的因素。致于高剂量的激素 I 未能引起排卵的原因，可能是过多的杂质产生了抑制排卵的作用。

5. 根据实验中室外大数量魚卵孵化的观察结果，表明由絨毛膜促性腺激素激发排出的卵球是成熟的，具有良好的受精能力和发育能力。这又进一步说明，不论是用絨毛膜促性腺激素，抑是用脑垂体促性腺激素进行人工催产，繁殖魚苗，只要充分应用有关繁殖生物学的研究成就，掌握各个环节，即可获得满意结果。

参 考 文 献

- [1] 浙江省科学技术委员会, 1962. 鲢、鳙鱼人工繁殖技术鉴定。
- [2] 朱洗等, 1962. 家鱼人工生殖的研究。1~324. 科学出版社。
- [3] 朱洗, 1947. 蛙卵体外成熟的新研究。学艺, 17: 290~302, 360~366。
- [4] ——1948. 蛙卵体外成熟的新研究。学艺, 18: 45~54, 125~141。
- [5] 朱洗、王幽兰, 1958. 蟾蜍体内跌卵和成熟与体外跌卵和成熟的比较研究。实验生物学报, 6: 129~182。
- [6] ——1959. 蟾蜍体外成熟卵球的人工单性发育及卵球成熟程度之不同与单性发育的关系。实验生物学报, 6: 276~298。
- [7] ——1960. 金魚和鰱魚卵球受精的细胞学研究。实验生物学报, 7: 29~46。
- [8] ——1962. 金魚和鰱魚卵球成熟的细胞学研究。实验生物学报, 8: 1~33。
- [9] ——1964. 不同成熟程度蟾蜍卵球受精后的发育。实验生物学报, 9: 101~116。
- [10] 朱洗、王幽兰、林志春, 1960. 金魚、鯉、鰱的不同成熟程度卵球的受精和胚胎发育关系。实验生物学报, 7: 47~48。
- [11] 曾弥白等, 1962. 絨毛膜促性腺激素的提取及生物检定法。家鱼人工生殖的研究, 89~101, 科学出版社。
- [12] 王幽兰, 1953. 长年控制蟾蜍生殖期的研究。动物学报, 6: 81~84。
- [13] 王应天, 1963. 絨毛膜促性腺激素和甾族激素对于蟾蜍卵巢的排卵和成熟的作用。实验生物学报, 8: 517~535。
- [14] 伍献文、钟麟, 1964. 鲢、青、鳊、鳙人工繁殖在我国的进展和成就。科学通报, 10: 900~907。
- [15] 张星、徐周娥, 1963. pH 对人胎盘絨毛膜促性腺激素功能的影响。科学通报, 5: 66~67。
- [16] 庄焰之, 1964. 锌离子对蟾蜍离体排卵的影响。科学通报, 7: 68~70。
- [17] 陈镜声, 1964. 关于家鱼人工繁殖鱼苗的质量问题, 动物学杂志, 6: 45~47。
- [18] 庞诗宜、林秀媛, 1963. 不同成熟程度的白鲢卵球的受精与发育。实验生物学专业学术讨论会论文摘要汇编, 114。
- [19] Дотлаф, Т. А. И А. С. Гинзбург, 1954. Зародишнее развитие осетровых рыб (Себряги, Осетра и Белуги) в связи с Вопросами их разведения. АН СССР.

- [20] Морозова, Т. Е., 1936. Дешетвие пролана и нестерелизованной мочи Беременной Женщины на Созревании половых продуктов окуня. *Зоол. Журн.*, 15:169.
- [21] Пучков, Н. В., 1954. Физиология рыб. Мсква.
- [22] Скадовский, С. Н., О. Н. Парфонова, 1937. Влияние Гравидана на Созревание половых продуктов Осетровых рыб. *Уч. Зап. Гос. Уч-та*, Вып. 9, Биология, 139~152.
- [23] Anwand, K., 1963. *Dtsch Fischerei Ztg*, 10: 202~207. (引自水产文摘, 1964, 1:34).
- [24] Got, R. and R. Bourrillion, 1960. Review of present Knowledge of chorionic gonadotrophin. *Patho. Biol.*, 8: 1583~1592.
- [25] Sneed, K. E. and H. E. Clemens, 1959. *Prog Fishculturist*, 21: 117~120. (引自国外水产科技文摘, 1959, 1:1~2).
- [26] Tchou-Suet (朱洗) Wang Yu-Lan (王幽兰), 1963 a. L'hibernation, facteur déterminant de la maturation Ovulaire chez le Crapaud (*Bufo bufo asiaticus*). *Sci. Sinica*, 12: 1161~1164.
- [27] ———, 1963 b. La Succession d'ovog'nése et limpossibilité de maturation ovulaire chez le Crapaud femelle e'levée dans le milieu á haute température pendant toute une année. *Sci. Sinica*, 12: 1165~1168.

THE INDUCTION OF OVULATION AND MATURATION OF THE OOCYTES OF *CTENOPHARYNGODON IDELLUS* BY HUMAN CHORIONIC GONADOTROPHIN

Fresh-water Fisheries Institute of Chekiang Province

LIU YUAN-JIE XU GU-XING YE SHENG-ZHONG

ABSTRACT

Human chorionic gonadotrophin(HCG)has been used in the study of artificial spawning of fishes by many authors(Морозова, 1936; Скаловский and Порфонова, 1937; Sneed and Clemens, 1959; Tchou and Wang, 1962; Anwand, 1963; etc). Ovulation and maturation *in vivo* has also been successfully achieved in the common freshwater cyprinids, *Hypophthalmichthys molitrix* Cuv. and Val. and *Aristichthys nobilis* Rich., by the same hormone during 1958~1963(Tchou et al, 1962)Following a series of works on the culture of female and adult fishes, the induction of spawning of the sexually mature adults and the breeding of young fry, a method for the artificial propagation of these two kinds of freshwater fishes was firmly established. This method of artificial propagation was soon popularized throughout our country and the yield of freshwater fishery was greatly promoted. However, the effect of HCG on *Ctenopharyngodon idellus* Cuv. and Val., another important freshwater fish of China, was found to be negative by Liu et al (unpublished) and Wu and Chung (1964). The present work was undertaken to reinvestigate the action of HCG on this species of freshwater fish.

Healthy and sexually mature *Ctenopharyngodon* with a body weight of about 10.0~15.5 kg. reared in small ponds was used. The chorionic gonadotrophin was extracted from the urine of pregnant women after the modified Claesson's method(Tseng et al, 1962)and Got's method(1960). Two HCG preparati-

ons with different potency expressed in *Bufo* unit (Tchou and Wang, 1958; Wang, Tso et al, unpublished) were used for intraperitoneal injection. Artificial insemination was performed at about the time of proper maturation and the fertilized eggs were reared in open rectangular containers made of hemp, which were placed in running river on a large scale. The experiments were carried out at 22~27°C, and the results obtained can be summarized as follows.

1. Human chorionic gonadotrophin can likewise induce ovulation and maturation of oocytes of *C. idellus*.

2. Within a certain limit, the effect of HCG depends on its purity and the amount injected. Better results can be obtained with purer preparation and intensified injection. Thus, the HCG preparation at a concentration of 4.0 mg.① in 30cc. Ringer's solution, can induce normal ovulation and maturation of the ovarian fragment of the common toad (*Bufo bufo asiaticus*), but can not induce ovulation of *C. idellus* even at a dosage of 80mg. per kilogram. Whereas, another preparation of HCG at a concentration of 0.5~1.0mg. in 30cc. Ringer's solution can induce ovulation and maturation of the toad oocytes as well as the present fish at a dosage of 10~20 mg. per kilogram. obviously, the failure of some authors to affect artificial spawning of *C. idellus* is probably due either to the non-availability of male and female adult fishes at proper sexual maturity or to the insufficiency in purity and amount of the hormone used, or due to both of these causes.

3. Ovulation takes place 12~15 hours after HCG injection (22~27°C). Increase in the amount of hormone injected will somehow shorten the latent period required to initiate ovulation.

4. Cytological study indicates that maturation division is initiated by human chorionic gonadotrophin. All of the ovulated eggs and sometimes a portion of ovarian eggs were found to be at the stage of metaphase of the second maturation division upon injecting the hormone (Plate I; 1~3. II; 5~8) just like those found in other fishes and vertebrates.

5. The ovulated eggs are mature in the physiological sense, since they can develop normally upon artificial insemination (Plate I; 4. II; 9). The percentage of hatchability reached 80% in large-scale experiment, and healthy fries full of vitality were obtained.

① Equal to 500 I. U. approximately.

图版说明

图版 I (1~4)

图 1 注射绒毛膜促性腺激素 I 后无明显变化的卵球, 长足的初級卵母細胞。1. 精孔細胞 (Mic. C.); 2. 卵巢膜 (M. Ov.); 3. 滤泡膜 (F. M.); 4. 放射膜 (Ch.); 5. 囊包层 (Z. Al.); 6. 胚泡 (G. V.); 7. 染色体集中区 (Z. Chr.); 8. 星光 (A.); ($\times 56$)。

图 2 胚泡上浮到卵周, 尚未破裂。1. 精孔細胞 (Mic. C.); 2. 精孔細胞核 (N. Mic. C.); 3. 精孔細胞与卵細胞的通道 (Mic. C. C.); 4. 染色体 (Chr.); 5. 核仁 (Nuc.); 6. 胚泡 (G. V.); 7. 放射膜 (ch.); 8. 滤泡膜 (F. M.); 9. 卵巢膜 (M. Ov.); 10. 囊包层 (Z. Al.) ($\times 200$)。

图 3 在绒毛膜促性腺激素 I 作用下未离巢的成熟卵球, 处于第二次成熟分裂中期。1. 下一周期发育的小卵 (O.); 2. 第二次成熟分裂中期图形 (2nd M. M.); 3. 第一极体 (Ist. P.) ($\times 100$)。

图 4 受精后 60 分钟的卵球, 已进入第一次卵裂, 发育正常 ($\times 80$)。

Explanation of Plate I (Fig. 1~4)

Cytological study of *Ctenopharyugodon* oocyte after injection of the HCG of the lower purity.

Fig 1. Ovarian oocyte with more or less intact germinal vesicle. 1. micropylar cell (Mic. C.); 2. Ovarian membrane (M. Ov.); 3. Follicular membrane (F. M.); 4. Chorion (zona radiata) (Ch.); 5. Zona cortical alveoli (Z. Al.); 6. Germinal vesicle (G. V.); 7. Zona chromosomal (Z. Chr.); 8. Aster (A.) ($\times 56$)

Fig 2. Ovarian oocyte with germinal vesicle migrating toward the animal pole. 1. Micropylar cell (Mic. C.); 2. Nucleus of micropylar cell (N. Mic. C.); 3. Communication between micropylar cell and egg proper (Mic. C. C.); 4. Chromosome (Chr.); 5. Nucleoli (Nuc.); 6. Germinal vesicle (G. V.); 7. Chorion (ch.); 8. Follicular membrane (F. M.); 9. Ovarian membrane (M. Ov.); 10. Zona cortical alveoli (Z. Al.) ($\times 200$);

Fig 3. Ovarian oocyte at metaphase of second maturation division. 1. A young ovum which will develop for the next year (O.); 2. Metaphase of second maturation division (2nd M. M.); 3. The first polar body. (Ist. p.) ($\times 100$)

Fig 4. First embryonic division of the normally ovulated oocyte, 60 minutes after fertilization. ($\times 80$).

图版说明

图版 II (5~9)

图 5 第二次成熟分裂中期卵球的横切面。1. 这里的染色体 (Chr.) 清晰可见 ($\times 900$)。

图 6 (图 3 的放大观) 1. 示第二次成熟分裂中期图形 (2nd. M. M.); 2. 第一极体 (Ist P.); 3. 精孔細胞 (Mic. C.); 4. 精孔細胞核 (N. Mic. C.); 5. 精孔細胞与卵細胞的通路 (Mic. C. C.); 6. 卵巢膜 (M. Ov.); 7. 滤泡膜 (F. M.); 8. 放射膜 (ch.) ($\times 900$)。

图 7 这一个卵球的第二次成熟分裂紡錘体。1. 稍大, 且位置不正, 可能是不甚正常的成熟图形 (2nd. M. M.); 2. 第一极体 (Ist P.) ($\times 900$)。

图 8 在绒毛膜促性腺激素 II 激发下排出的成熟卵球, 1. 示第二次成熟分裂中期图形 (2nd M. M.); 2. 第一极体 (Ist P.); 3. 放射膜 (ch.) ($\times 900$)。

图 9 受精 30 分钟的卵球, 雌雄原核结合 ($\times 320$)。

Explanation of Plate, II (Fig. 5~9)

Cytological study of *Ctenophar yugodon* oocyte after injection of the HCG of the lower purity (Fig. 6,7) and of the higher purity (Fig 8,4).

Fig 5. Cross section of another normally ovulated oocyte. 1. Showing a portion of chromosomes (chr.) of the equatorial plate. ($\times 900$).

Fig 6. Enlarged view of the polar area of Fig 3. 1. Metaphase of second maturation division (2nd M. M.); 2. The first polar body (Ist. p.); 3. Micropylar cell (Mic. C.); 4. Nucleus of micropylar cell (N. Mic. C.); 5. Communication between micropylar cell and egg proper (Mic. C. C.); 6. Ovarian membrane (M. Ov.); 7. Follicular membrane; (F. M.); 8. Chorion ch. ($\times 900$).

Fig 7. Another ovarian oocyte with somewhat abnormal maturation division spindle. 1. Metaphase of second maturation division (2nd M. M.); 2. The first polar body (Ist. p.) ($\times 900$).

Fig 8. 1. Normally ovulated oocyte at metaphase of second maturation division (2nd M. M.); 2. The first polar body (Ist. P.); 3. Chorion. (ch.) ($\times 900$).

Fig 9. Conjugation of male and female pronuclei, 30 minutes after fertilization of the normally ovulated oocyte ($\times 320$).

