

产卵季节 LRH-A* 对鲤、鲢、草鱼 促性腺激素分泌的诱导

许谷星 沈仁澄

(浙江省淡水水产研究所)

王育西 潘家秀

(中国科学院上海生物化学研究所)

提 要

多年使用 LRH-A 催产的经验说明,不同鱼类对 LRH-A 的敏感性不同。为探索催产条件的规律,我们曾测定池塘中能自然产卵的鲤和不能自然产卵的草鱼、鲢产卵季节血清促性腺激素(sGTH)的日周期变化。本文则观察和比较心脏灌注 LRH-A 后1小时和24小时之内 sGTH 的变化。

三种鱼在灌注 LRH-A 后5分钟和5—6小时出现 sGTH 高峰,说明 LRH-A 对 GTH 的释放有立即的和迟缓的二种作用。不成熟的鲢也有“5分钟”的高峰,但未见5—6小时的峰。以 LRH-A 催产后23天的鲢对灌注 LRH-A 尤为敏感,能刺激 sGTH 的大量释放。经解剖这些鱼卵巢已发育到IV。是否在适当时间、温度进行当年第二次催产是值得试验和可能对生产有重要意义的课题。

水温急剧下降的情况下灌注 LRH-A, sGTH 的高峰出现推迟,可以解释 LRH-A 催产效应时间增长的原因。

多年使用 LRH-A 催产的经验^[2,3,6]显出不同鱼类对此激素的敏感性有所不同,或者表现在效应时间上,或者表现在剂量上,有的则表现在需要促性腺激素类外源激素的辅助。为探索催产条件的规律,我们曾测定池塘中能自然产卵的鲤和不能自然产卵的草、鲢产卵季节血清促性腺激素(sGTH)的日周期变化^[4],二者有明显的差别。鲤 sGTH 日高峰值保持在较高水平,20—40毫微克/毫升血清,而草、鲢则仅达2—8毫微克/毫升血清。本文则观察和比较心脏灌注 LRH-A 以后1小时之内和24小时内 sGTH 的变化。

材 料 和 方 法

(1) 产卵季节鲤(4—5月份)、草、鲢(5—6月份)由浙江省淡水水产研究所饲养并提

* 焦谷·组·色·丝·酪·D-丙·亮·精·脯乙酰胺。

供,均选雌性,随机取样。性腺成熟者为IV期,性腺未成熟者为II、III期。产后鲢系5月27日水温22°C用LRH-A(10微克/公斤体重)催产。6月19日再次灌注LRH-A,经解剖观察性腺7/10已发育到IV期,3/10处于产后恢复期。

(2) LRH-A灌注和血清收集。剖开鱼的胸部少许,用头皮针自心脏取血作为本底对照,然后注入生产剂量(鲤50微克/公斤体重,鲢、草为10微克/公斤体重)连续间隔一定时间用头皮针取血,分离血清,-20°C低温保存直到测定。

①24小时血样:鲤、鲢、草鱼分别在同一天内分二批灌注LRH-A,一批在下午13:00—15:00,是生产中催产常用的时间,另一批在夜间的02:00—03:30。除产后鲢和低温鲤每隔2小时采血一次外,其余均为每隔1小时采血一次。

②1小时内血样:鲤、鲢、草鱼分别在同一天内分二批灌注LRH-A,一批在下午13:30—14:00,一批在夜间01:00—01:30,在第3,5,10,20,30,40,50,60分钟内各取血一次。

(3) sGTH放射免疫测定。收集的血清用聚乙二醇法作放射免疫测定^[2],sGTH的浓度系各实验的全部样本的平均值。

结 果

(1) 18—19°C性腺成熟鲤、鲢、草鱼对灌注LRH-A后的反应。注入LRH-A后,无论是在01:00或14:00,鲤和草鱼均在10分钟左右出现高峰,草鱼峰值(186毫微克/毫升血清)比鲤(41.5和52.0毫微克/毫升血清)高。鲢则在5分钟左右出现高峰(52毫微克/毫升血清)(表1)。3小时或5—6小时后出现第二次大的sGTH释放。见(图1,图2,图3),其高峰值见(表2)。与同时间日周期值相比较,鲤约高10—20毫微克/毫升血清,鲢高15毫微克/毫升血清,草鱼约高36和26毫微克/毫升血清。

表1 心脏灌注LRH-A sGTH高峰出现的时间和量
(1小时内采血)

鱼 别	注 LRH-A		Δt** (分钟)	sGTH(毫微克/毫升血清)	
	时 间	剂 量*		高 峰 值	较日周期同时 间高出值
鲤	01:00	50	10	41.5	>25
	14:00	50	10	52.0	>25
鲢	01:30	10	5	52.0	50
	13:30	10	5	52.0	50
草	01:00	10	10	186	185
	14:00	/	/	/	/

* 微克/公斤体重

** 高峰出现距灌注LRH-A的时间。

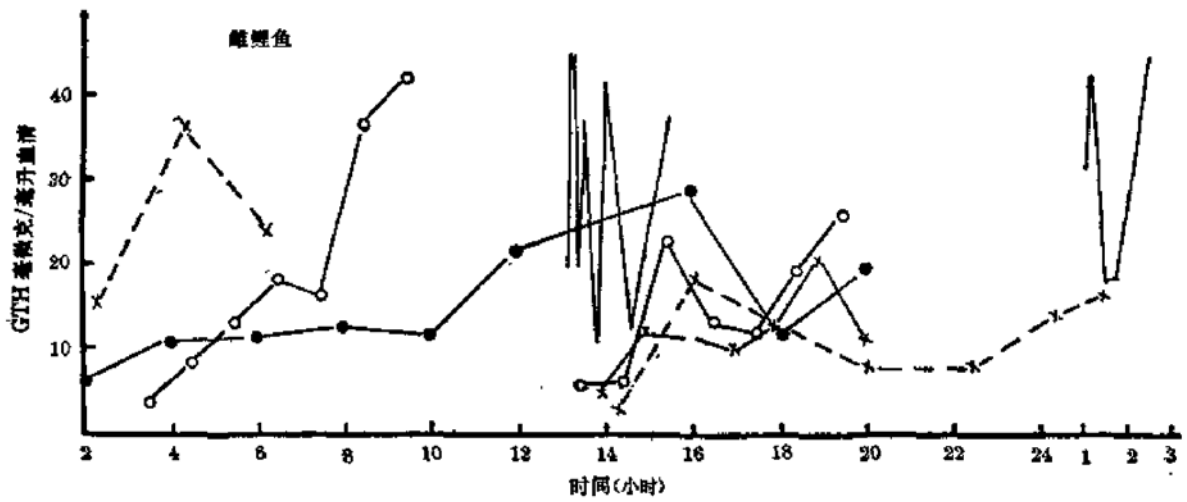


图 1 雌鲤 sGTH 释放的日周期变化

- 成熟未产卵(18—19℃, 24 小时)
- 成熟未产卵(11—13.5℃)
- 成熟未产卵(15—18℃, 1 小时)
- ×——×产过卵(18—19℃)
- ×——×成熟未产卵(11—13.5℃)

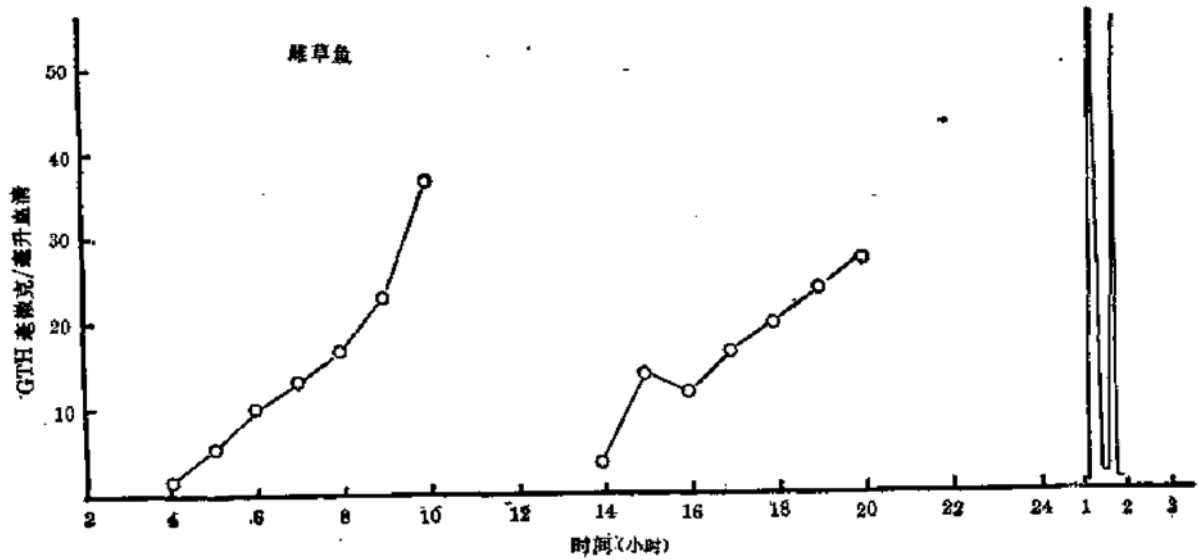


图 2 雌草鱼 GTH 释放的日周期变化

- 成熟未产卵(18—19℃, 24 小时)
- 成熟未产卵(28—28℃, 1 小时)

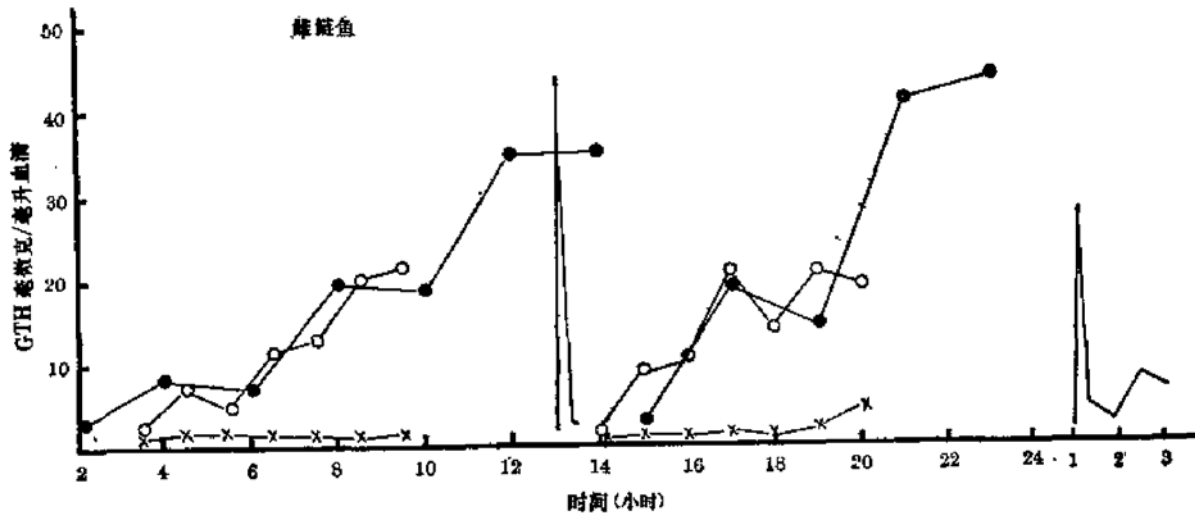


图3 雌鲢鱼 GTH 释放的日周期变化

○—○成熟未产卵(18—19℃, 24小时)
 ●—●产过卵(24—25℃)
 ————成熟未产卵(19—20℃, 1小时)
 ×—×未成熟(18—19℃, 24小时)

表2 心脏灌注 LRH-A sGTH 高峰出现的时间和量
 (24小时采血)

鱼别	日期	水温(℃)	体重(公斤)	尾数	性成熟期	注入 LRH-A		sGTH 毫微克/毫升血清**			
						时间	剂量*	本底	高峰	P	Δt (小时)***
鲤	79/5/18	18—19	0.85—1.25	6	IV	08:30	50	3.9	19.1	<0.001	3
				6	IV	13:30	50	5.7	42.4	<0.001	6
				6	IV	18:30	50	5.7	25.8	<0.05	6.5
	80/4/2	11—13.5	0.5—1.3	5	IV	02:00	50	6.4	29.1	>0.05	14
			5	IV	14:20	50	3.1	36.9	>0.05	12	
	79/5/20	18—19	0.7—0.85	3	产后	14:00	50	5.3	21.5	<0.05	5
草	79/5/20	18—19	5.3—7.2	6	IV	04:00	10	1.8	36.8	<0.001	6
				7	IV	14:00	10	3.5	27.7	<0.001	6
鲢	79/5/20	18—19	1.35—4.0	9	IV	08:30	10	2.3	17.8	<0.01	6
			1.75—4.5	9	IV	14:00	10	1.4	20.4	<0.01	3
	79/5/19	18—19	3.8—4.0	3	II, III	08:30	10	0.9	2.3	>0.05	1
									1.7	>0.05	6
			3.8—4.5	3	II, III	14:00	10	0.7	5.0	>0.05	6
	80/6/19	24—25	1.5—1.8	5	IV 产后	02:00	10	2.5	34.4	<0.01	8
5				23天	15:00	10	2.8	59.0	<0.001	8	

* 微克/公斤体重。

** 取平均值。

*** 高峰出现距灌注 LRH-A 的时间。

(2) 19°C性腺未成熟鲢对灌注 LRH-A 后的反应。

24 小时取样分析未见 sGTH 升高(表 2)。

(3) 产后鲤、鲢对灌注 LRH-A 后的反应。19°C鲤产后,即进行灌注(02:00)LRH-A, 5 小时后仍出现高峰,比日周期同时间仅高 5 毫微克/毫升血清。

产后 23 天鲢,注入 LRH-A 反应特别明显。02:00 和 15:00 注入者,间隔 5 小时和 3 小时分别出现高峰,比日周期同时间高 32 毫微克/毫升血清。解剖观察,10 尾中有 7 尾卵巢再次发育到 IV 期,卵粒发育整齐,性腺指数较第一次催产时低。3 尾卵巢处于产后恢复期。

(4) 鲤在水温较低的情况下灌注 LRH-A 的反应。

在产卵季节,水温降低至 11—13.5°C灌注 LRH-A 于性腺 IV 期的鲤,高峰出现在 12—14 小时之后,比同时间日周期值高约 10—15 毫微克/毫升血清,但是 sGTH 含量上升至下降持续时间长。

讨 论

LRH-A 心脏灌注成熟鲤、鲢、草鱼在 5—10 分钟内出现第一次 sGTH 的大量释放,与鲤心脏灌注 LRH 的效果相似^[5]。因此,LRH 和 LRH-A 的短时间内的效应是立即型的。不同之处是注 LRH-A 后,三种鱼均在 5—6 小时出现第二次 sGTH 释放,持续时间较长,注 LRH 则无此现象。已知 LRH 颅腔注射比肌肉或静脉注射催产剂量低,加用慈菇抑制剂和改用 LRH-A 也可以达到同样目的。说明 LRH 容易在体内被酰胺酶或蛋白水解酶所水解。含量迅速下降,自然不能出现第二次 sGTH 高峰。LRH-A 由于其结构有抗酶水解作用,可长时间诱导垂体 GTH 再合成和释放,导致出现 sGTH 第二次的高峰值,诱导促熟,提高催产效果。性腺未成熟的鲤尽管在注入 LRH-A 后 24 小时取血未见 sGTH 高峰,1 小时内是否有释放有待测定。未成熟鲢注入 LRH-A 后 5 分钟即有高峰出现,似乎 LRH-A 激发垂体 GTH 的立即释放是普遍规律。第二次释放则成熟的鱼和不成熟的鱼有所不同,可能反应了二者垂体受体对 LRH-A 的亲合力和数目不同^[7]。

更有意义的是鲢以 LRH-A 催产后 23 天卵巢已重新发育到 IV 期,再次灌注 LRH-A, sGTH 高峰值明显地比第一次灌注者高。上述结果是否可以说 LRH-A 有长效催熟作用,同时也反映了垂体受体对 LRH-A 敏感性的提高。利用这个现象,如果饲养、温度掌握得好,是否可以在用 LRH-A 第一次催产后的当年的适当时间进行第二次催产,是值得试验和可能对生产有重要意义的课题。

在生产过程中,我们还观察到水温急剧下降,LRH-A 催产的效应时间明显延长,此现象可以从本实验在较低温度下灌注 LRH-A, sGTH 高峰出现的时间推迟得到解释。

参 考 文 献

- [1] 王育西、潘家秀、蒋茂松, 1980。鲤促性腺激素放射免疫测定方法的改进——聚、乙二醇的应用。水产学报 4(1):39—45。

- [2] 福建、江苏、上海淡水经济鱼类人工繁殖协作组, 1976. 合成丘脑下部促黄体生成素释放激素(LRH)的类似物对家鱼的催情产卵. *生物化学生物物理学报* 8:107—114.
- [3] 福建、江苏、浙江、上海淡水经济鱼类人工繁殖协作组; 1977. 合成促黄体生成素释放激素的类似物(LRH-A)对家鱼催产效果的进一步探讨. *生物化学生物物理学报* 9:15—24.
- [4] 潘家秀、王育西、许谷星、沈仁澄、鲍璋、徐维奇, 1978. 鲤、鲢、草鱼促性腺激素垂体含量及血清浓度日周期变化的关系. *水产学报* 4(2):121—127.
- [5] Breton, B., Weil, C., 1973. Effets du LH/FSH-RH Synthétique et d'Extraits Hypothalamique de Carpe sur la Secretion d'Hormone Gonadotrope in vivo Chez la Carpe. *C. R. Acad. Scis Ser. D.* 277:2061—2064.
- [6] Cooperative Team for Hormonal Application in Pisciculture, 1977. A New Highly Effective Ovulating Agent for Fish Reproduction—Practical Application of LH-RH Analogue for the Inducting of Spawning of Farm Fishes. *Scientia Sinica*, 20: 419—476.
- [7] Zeballos, G., McCann, S. M., 1977. Increased responsiveness to LH-Releasing Hormone (LH-RH) in Rats with Median Eminence Lesions. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 154:242—245.

A COMPARATIVE STUDY ON THE EFFECT OF LRH-A TO THE SERUM GONADOTROPIN LEVELS OF FEMALE CARPS IN SPAWNING SEASON

Xu Guxing and Shen Renchen

(*Fresh-water Fisheries Institute of Zhejiang Province*)

Wang Yuxi and Pan Jiaxiu

(*Shanghai Institute of Biochemistry, Academia Sinica*)

Abstract

On the basis of species discrepancies of responsiveness to LRH-A, serum gonadotropin (sGTH) levels of the mature female carps and immature female silver carp were compared after cardiac injections of LRH-A at two different times of a day. Fish sera were sampled at intervals either within 1 hour or during a 24-hour period. The sGTH concentration was measured by radioimmunoassay. In all cases, dealing with the mature fish held under 18—20°C two distinguished peaks were observed, one within 5 minutes and the other 5—6 hours later. The second peak was not detectable in immature fish. This may signify that the second surge of GTH was more important than the first in inducing spawning. When carp was subjected to lower temperatures (11—13.5°C), the occurrence of the peaks was much delayed, which is in accordance with the fact that when water temperature drops down beyond optimum, the response to the analogue is prolonged or even suppressed as has been found in farm practice.

When silver carps receiving LRH-A 23 days after the first ovulation which was induced by the same hormone analogue, the sGTH pattern was similar but higher in

magnitude. Anatomical examination showed that ovaries had significantly proceeded to the IV stage of maturation, though the GSI values were lower than that prior to the first ovulation. The long-term effect of LRH-A in terms of acceleration of ovarian recrudescence in the postspawning phase of the reproductive cycle was apparent.