

# 雌性特异蛋白质复合物促黄鳝 性腺发育、提高黄鳝孵化率

## FEMALE SPECIFIC PROTEIN COMPOUND PROMOTING GONAD MATURATION AND INCREASING HATCHING RATE OF *MONOPTERUS ALBUS*

王浩 刘荣臻 Wang Hao and Liu Rongzhen

(南京大学生物系) (Department of Biology, University of Nanjing)

自 Aida (1973) 在香鱼的血清研究中报导了鱼的血清含有雌性特异蛋白以来, 已有许多学者对鱼的雌性蛋白的生化特性、分子量以及生化提纯进行了一些工作, 还用同位素示踪追踪  $C^{14}$  在雌性特异蛋白合成的过程<sup>[1-3]</sup>。但应用雌性特异蛋白和雌性鱼类性腺蛋白质复合物在黄鳝人工繁殖时期促进性腺发育和提高黄鳝苗的孵化率工作, 直到目前为止, 国内外还没有发现有人报导过。我们这项科研目的就是要提高黄鳝人工孵化的效果。

### 材 料 和 方 法

1987年6~9月先后在南京大学生物系组织细胞实验室及江苏省淡水研究所进行了黄鳝的卵巢蛋白质复合物的提出和促进黄鳝性腺发育及提高黄鳝苗孵化率的研究, 黄鳝是从农贸市场按实验要求购买的, 然后放实验室放养数日, 选择雌雄黄鳝分组进行实验。

#### (一) 黄鳝雌性特异蛋白质复合物能促进性腺发育的研究

选择30条雌性黄鳝, 多数体重在50~78克, (但其中有2条分别为90克和130克) 分成三组。

第一组(实验组): (表1)II(1)28条雌黄鳝, 每条黄鳝腹腔注射雌性特异蛋白复合物3毫升, 10天后称重解剖取卵巢称重, 记录卵巢成熟情况, 并做石腊切片, 测量卵泡大小并做显微照相。

第二组:(表1)实验组II(2)12条雌黄鳝, 每条黄鳝经腹腔注射雌性特异蛋白复合物3毫升, 释放素5微克/条, 做石腊切片, 用显微镜测量卵泡大小并作显微照相。

第三组(对照组): (表1)10条雌黄鳝, 大小及放养条件同实验组黄鳝, 但不注射雌性特异蛋白复合物, 只注射释放素, 10天后同实验组一同称体重、解剖、取性腺称重, 做石腊切片, 测量卵泡大小, 并做显微照相。

#### (二) 黄鳝雌性特异蛋白复合物提高黄鳝苗孵化率的实验

本项科研共选21条雌性黄鳝(表1), 体重为50~70克。共分成7组, 2组为实验组、6组为对照组。实验组取三条雌性黄鳝, 每条腹腔注射雌性特异蛋白复合物1毫升, 加入释放素5微克/条同时放进一条雄性黄鳝, 每天观察记录。

实验组 II: 取三条雌性黄鳝, 腹腔注射雌性特异蛋白1毫升, 不加入释放素, 同时放进一条雄性黄

鳊,每天观察记录。对照组共有6组,每条雌性黄鳊腹腔注射释放素5微克/条,同时每组放一条雄性黄鳊,每天观察记录。

## 实验结果

### 一、雌性特异蛋白复合物提高黄鳊孵化率的观察

实验组 I、(表 1)经腹腔注射的雌性特异蛋白复合物,66 小时后,产卵前雌黄鳊腹部柔软,有一条黄鳊产出的卵质好,游离度也好,共产卵 500 粒,卵的受精率高,最后成功地孵出 32 条黄鳊幼苗(图 1),孵化率为 6.4%、出膜时间比对照组提前 2—3 天,而对照组有 6 组,共有 18 条雌性黄鳊。

表 1 注射雌性特异蛋白后的孵化效率

Table 1 Hatching rate of *monopteras albus* after injected female specific protein

组 别	注射雌性特异蛋白量(毫升)	释放素(微克/条)	产卵数量(个)	孵出苗数(个)	孵化率(%)
实验组 I	1	5	500	32	6.4
对照组					
1	1	5	500	0	0
2	1	5	300	6	2
3	1	5	0	0	0
4	1	5	0	0	0
5	1	5	0	0	0
6	1	5	0	0	0

每条腹腔注射释放素 5 微克,其中①组有一条黄鳊产卵高达 500 个,受精率也高,但在出膜时期,全部死亡。对照组②产卵 300 粒,孵出 6 条黄鳊苗,但比实验组出苗时间推迟 2—3 天。

### 二、雌性特异蛋白复合物促进黄鳊性腺发育的观察(表 2)

实验组 II、经腹腔注射的雌性特异蛋白质复合物 3 毫升对雌性黄鳊性腺作用的效果观察(见表 1)。注射后 10 天,称体重解剖性腺称重量,从性腺重量变化情况看,注射雌性特异蛋白复合物性腺的重量比对照组重。(见表 2)

表 2 雌性特异蛋白复合物对雌性黄鳊性腺发育的观察

Table 2 The effect of injected female specific protein compound on gonad maturation of *Monopterus albus*

组 别	编 号	体重(克)	性腺重(克)	成熟系数	卵径大小(毫米)
实验组 II(1)	6	61.0	12.5	20.49	3.0
	10	58.0	10.5	18.90	
	12	58.0	12.0	20.69	3.0
实验组 II(2)	5	60.0	14.0	23.33	2.0
	8	46.8	10.0	21.35	1.4
	9	78.0	20.0	25.64	2.0
对照组	3	50.0	4.5	9.00	1.5
	7	78.0	9.0	11.53	1.0
	11	62.0	10.0	19.23	0.8

实验组 II①②都比对照组同体重的性腺发育好。如实验组 II(1)的 12 号性腺成熟系数为 20.69, 卵的

直径为 3mm,而对照组 7 号黄鳝性腺成熟系数为 11.53,卵的直径为 1mm。(图版 2,3)

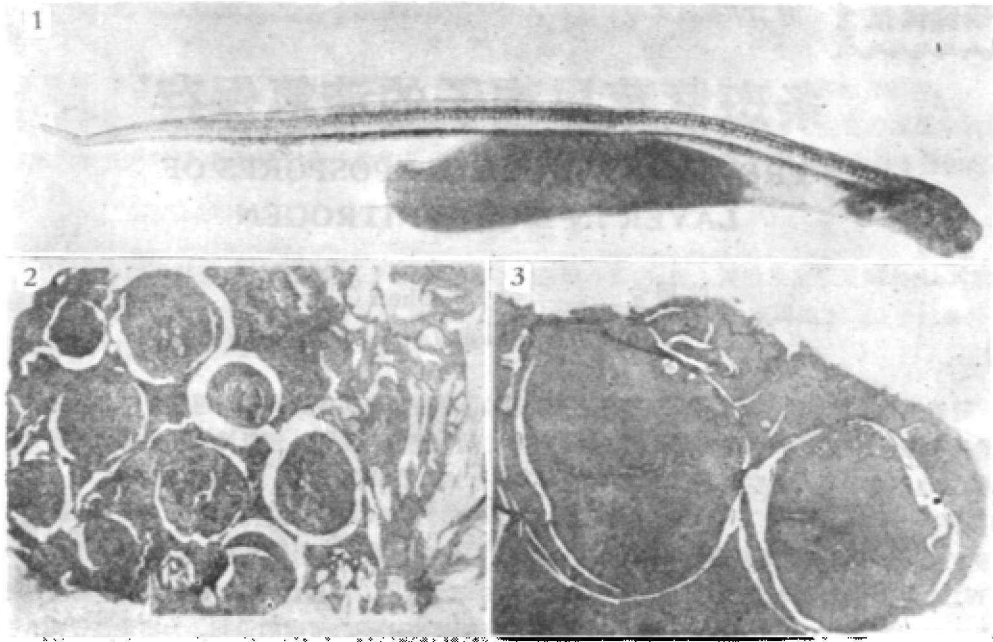


图 版 Plate

1. 示经注射 FS 蛋白后的黄鳝幼苗
2. 对照组,黄鳝性腺切片示 II、III 期卵巢( $\times 68$ )
3. 实验组,注射 FS 蛋白 10 天后黄鳝性腺切片示 IV-V 期卵巢( $\times 68$ )

## 讨 论

1. 实验组 II(1)雌性黄鳝经腹腔注射雌性特异蛋白复合物及加释放素后,孵化效率高而且明显地缩短了孵化时间,我们经过若干次实验认为这是对人工繁殖较理想的生化制剂<sup>[1]</sup>。
2. 实验组 II(2)雌性黄鳝经腹腔注射雌性特异蛋白复合物后肛门红肿,生殖孔扩大、个别自产卵,腹部松软。
3. 对照组的雌性黄鳝经腹腔注射释放素后,明显地比实验组差,卵的直径也小。
4. 关于雌性特异蛋白复合物对雌性性腺发育的作用,这是作者目前正在研究的课题。从理论上讲,鱼类性腺的发育在早期阶段主要是卵黄的形成阶段而卵黄蛋白的合成主要由肝脏细胞进行的,而通过血液在激素的直接作用下运送到性腺后经卵细胞胞饮作用进入卵泡形成卵黄,除此之外,雌性特异蛋白复合物还含有酶及核酸成分。为探讨这一复杂问题,我们现在在实验室进行十分繁杂的工作,首先测定这些大分子物质的分子量而后提纯,进行分子构型的研究。

## 参 考 文 献

- [1] 刘荣臻等,1987。雌性特异蛋白复合物促进鱼类性腺发育及提高孵化率的研究。水产养殖,(3):10-12。
- [2] 张致一,应临之,1963。激素与离体排卵。实验生物学报,(3-4):478-492。

下接第 359 页(continued on page 359)

人类白细胞超低温保存中有资料介绍 40%EG + 10%G 或 40%EG + 10%PEG 都有很好的保护效果,然而我们的试验证明,在快冻条件下,这些化合物保护效果是好的,但在慢冻条件下效果不佳,根据毒性试验分析,是由于这些化合物对孢子有较大毒性的原故。

冷冻保存生物材料的保护剂必须在使用范围无毒。而这种毒性,推测在未结冰状态(如我们在 0°C 试验的)与结冰进行过程可能是不一样的。后一状态下产生的毒性,我们无法测出,所以本试验测定毒性的资料只供参考用。

在我们的试验中,快冻比慢冻的孢子存活率显著低得多,这与大多数研究结果相一致<sup>[8]</sup>。在快冻中孢子所含自由水不能及时排出细胞,冷冻时形成胞内冰,引起细胞机械损伤,使孢子死亡,即使提高很高浓度保护剂也只能达到 50%存活率。缓慢降温能使孢子适当脱水,有效阻止胞内冰的形成,所以有较高的存活率。这也就是慢冻法被广泛应用的原因。

关于融冰复温速率对果孢子存活率没有明显影响,这与 Norman, M. S. 在盐沼藻类的液氮保存中的结果是一致的<sup>[9]</sup>。这是由于缓慢降温到 -60°C 时,孢子得到充分脱水,胞内溶液十分浓稠,在解冻复温时,无论复温速度如何,不会出现重结晶,从而避免机械损伤。

经液氮冷冻保存的果孢子萌发率略低于未冷冻组,可能是由于冻害的延续作用。但从冷冻果孢子萌发成丝状体以及生产性采苗试验看,超低温保存的果孢子再用于生产是可行的。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] 陈国宜,1980。关于坛紫菜自由丝状的培养与直接采苗的研究。水产学报,4:19-29。
- [ 2 ] 陈国宜,阙求登,1988a。红藻——坛紫菜果孢子的液氮保存。植物生理通讯,(2):32-34。
- [ 3 ] 陈国宜,阙求登,1988b。几种红藻孢子的超低温保存。热带海洋,8(1):67-72。
- [ 4 ] 简令成等,1987。甘蔗愈伤组织超低温保存中一些因素的研究。植物学报,29(2):123-131。
- [ 5 ] 曼特尔 S. H ; H. 史密斯(朱激等译),1983。植物生物工程学,165-265。上海科学技术出版社。
- [ 6 ] Finkle, B. J. et al., 1985. Cryoprotective Compounds in the viable freezing of plant tissues. In «Cryopreservation of plant cells and organs.»Kantha, K. K. CRC press p75-113.
- [ 7 ] Hwang, S. W. and Hudock, G. A., 1971. Stability of *Chlamydomonas reinhardtii* in liquid storage. *J. Phycol.*, 7: 300-303.
- [ 8 ] Norman, W.S., 1978. The preservation of salt marsh algae by controlled liquid nitrogen freezing. *Cryobiology.*, 15: 563-568.
- [ 9 ] Standwood, P. C., 1985. Cryopreservation of seed germplasm for genetic conservation. In «Cryopreservation of plant cells and organs» Kantha, K. K. CRC press. p199-226.

上接第 355 页 (continued from page 355)

- [ 3 ] 朱 洗、王幽蒲,1962。金鱼和鳊鱼卵球成熟的细胞学研究。实验生物学报,8(1):1-33。
- [ 4 ] Aida, et al, 1973. Physiological studies on gonadated Maturation of Fishes, I. Sexual difference in composition of plasma protein of ayu in relation to gonadal maturation. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 39 (11): 109.1-1106
- [ 5 ] Zwarenstein, H., 1937. Experimental induction ovulation with progesterone. *Nature*. 139: 112.