

大鳍 脑垂体和血清生长激素水平的季节变化

王德寿 林浩然 张为民

(中山大学水生经济动物研究所, 广州 510275)

摘要 根据大鳍 脑垂体匀浆和血清样品的稀释曲线与鲤生长激素(α GH)标准曲线的平行性, 采用鲤生长激素的标准品和抗血清(RAG)测定了周年中几个不同时期大鳍 脑垂体和血清样品的生长激素(GH)含量, 发现脑垂体和血清中的GH含量均表现出明显的季节变化。脑垂体的GH含量分别在3月份和8月份出现两个峰。4~7月的繁殖期和11~1月的越冬期间, 脑垂体的GH含量很低, 而且波动不大。受水温和光周期的影响, 大鳍 血清GH水平表现为从冬季(11~1月)到春季(2~4月)逐渐上升, 夏季急剧升高, 到夏末(7月底)达到最高, 一直持续到秋季。大鳍 血清GH含量的变化与生殖周期密切相关, 最低的GH含量出现在性腺静止期, 其次为性腺发育期, 再次为性腺成熟期, 在产卵期急剧升高, 最高为性腺退化期。

关键词 大鳍, 脑垂体, 血清, 生长激素, 季节变化

对生活在温带的硬骨鱼类来说, 鱼体生长率普遍存在季节性变化。鱼体生长率除受到饵料、繁殖活动以及温度和光周期等环境变化的影响外, 还受到生长激素(growth hormone, GH)及其他神经内分泌因素的调节。有关硬骨鱼类GH研究的报导多限于鲤科鱼类和鲑鳟鱼类[林浩然 1996], 而且多限于血清GH水平的测定和研究, 对脑垂体GH含量测定的报道极少[Marchant和Peter 1986]。对鲶类生长激素的研究仅Lescroart等[1994]建立非洲鲶生长激素放射免疫测定方法和Bosma等[1995]研究其GH释放调控机理, 而未见有关鲶类脑垂体和血清GH水平季节变化的报导。本文采用鲤生长激素放射免疫测定方法测定鲶形目(Siluriformes)科(Bagridae)大鳍 (*Mystus macropterus*)脑垂体和血清中的GH含量, 分析了它们季节变化的规律。

1 材料和方法

大鳍 采集于嘉陵江下游全川至重庆江段的鱼船上, 采回后在 $2\text{m} \times 1.5\text{m} \times 0.8\text{m}$ 的小水池中经2天暂养后进行实验。暂养和取样均在西南师范大学生物系完成。所有实验用鱼均测定体长、体重和性腺重等, 以便计算成熟系数GSI(性腺重 $\times 100$ /体重)和肥满度。同时肉眼观察记录性腺发育时期, 性腺分期据王德寿和罗泉笙[1992]的标准进行。

脑垂体和血清GH季节变化的材料分别在1994年4月、5月、7月、8月、11月, 1995年1月、3月、4月、5月、6月、7月定时取样。取样时先从尾静脉取血, 然后剖开颅腔取出脑垂体。取血采用1mL注射器, 血样在 4°C 下静置数小时用高速离心3~5分钟, 取上层的血清保存于一 25°C 的低温冰箱中。取出的脑垂体迅速装入样品管底部保存于低温冰箱中。血清和脑垂体

样品均在液氮中运输至中山大学鱼类室进行激素含量测定。

脑垂体测定前准确称重至微克,按 1mg 脑垂体:1mL 巴比妥缓冲液进行稀释,用超声波破碎仪进行匀浆,测定时再稀释,使之落入标准曲线的范围之内。生长激素的放射免疫测定(RIA)采用鲤生长激素放射免疫测定方法进行测定 [Marchant 等 1989]。大鳍 脑垂体匀浆和血清样品与抗鲤生长激素血清(RAG)的竞争曲线见图 1,两者均与 cGH 的标准曲线平行,说明这种 RIA 可用于大鳍 GH 含量的测定。

实验所得数据经整理后均表述为 $\bar{X} \pm \text{SEM}$ 的形式,用 Duncan 氏新复极差检验或 Student t 检验法比较基础激素分泌平均值或雌雄之间的激素分泌平均值的差异。当 $P < 0.05$ 时,认为差异显著。

2 结果

2.1 脑垂体 GH 含量的季节变化

大鳍 成鱼脑垂体 GH 含量的季节变化见表 1。雌、雄鱼脑垂体 GH 的年均含量分别为 $1.56 \pm 0.09 \mu\text{g}/\text{mg}$ 和 $1.76 \pm 0.08 \mu\text{g}/\text{mg}$, 雄鱼虽略高于雌鱼,但没有显著差异 ($P > 0.05$)。在一周年中,以 3 月份的含量最高,显著高于除 8 月份以外的其他月份,其次为 8 月份,其他月份的含量变化不大。

表 1 大鳍 脑垂体 GH 含量的季节变化 ($\mu\text{g}/\text{mg}$ PG)

Tab. 1 Seasonal changes of the GH contents in the pituitary of *M. macropterus* ($\mu\text{g}/\text{mg}$ PG)

月份	雌 性		雄 性		总 体	
	标本数	GH	标本数	GH	标本数	GH
1	4	1.34 ± 0.22	16	1.65 ± 0.18	20	1.59 ± 0.15
3	5	2.40 ± 0.35	11	2.58 ± 0.27	16	2.53 ± 0.21
4	17	1.55 ± 0.14	22	1.49 ± 0.13	39	1.52 ± 0.10
5	14	1.71 ± 0.22	7	1.20 ± 0.15	21	1.54 ± 0.16
7	6	1.43 ± 0.43	13	1.73 ± 0.22	19	1.64 ± 0.20
8	4	1.62 ± 0.37	15	2.21 ± 0.24	19	2.08 ± 0.21
11	18	1.30 ± 0.16	20	1.58 ± 0.19	38	1.45 ± 0.12
总计	68	1.56 ± 0.09	104	1.76 ± 0.08	172	1.68 ± 0.06

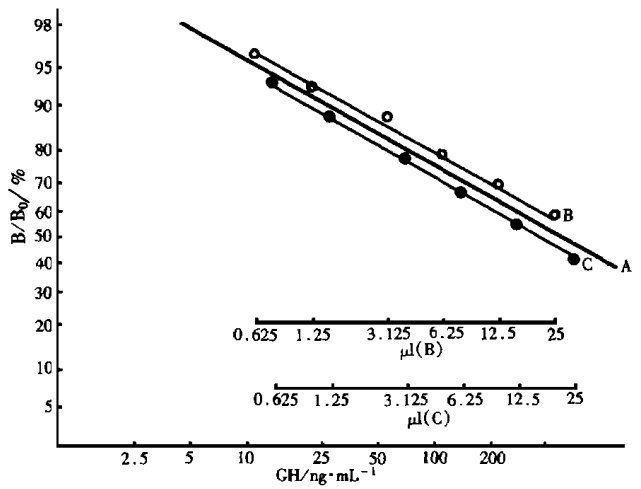


图 1 鲤生长激素的标准曲线(A)以及大鳍 血清(B)和脑垂体匀浆(C)与鲤生长激素抗血清的竞争抑制曲线

Fig. 1 Dose-response inhibition curves for carp growth hormone (A) and serial dilutions of sera (B) and pituitary homogenates (C) obtained from *M. macropterus*

2.2 血清 GH 水平的季节变化

图 2 反映了 70 尾雌鱼血清 GH 水平的季节变化。全年的血清 GH 水平以 11 月最低, 为 $(39.79 \pm 3.52) \text{ ng/mL}$ 。1~5 月, 血清 GH 水平缓慢增加, 而在 6~7 月血清 GH 水平急剧上升, 6 月初为 $(60.89 \pm 7.43) \text{ ng/mL}$, 6 月底升至 $(126.72 \pm 13.43) \text{ ng/mL}$, 7 月初已达 $(165.98 \pm 10.58) \text{ ng/mL}$, 7 月中旬升至与 8 月相近的水平为 $(227.19 \pm 19.32) \text{ ng/mL}$, 8 月为 $(227.46 \pm 17.51) \text{ ng/mL}$ 。7、8 两月血清 GH 水平极显著地高于周年中的其他月份。

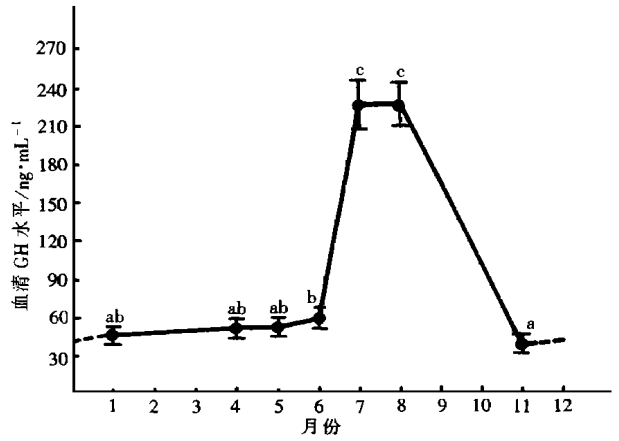


图 2 大鳍 血清 GH 水平的季节变化
Fig. 2 Seasonal changes of serum GH levels of *M. macropterus*

图上的每一个点均表示为 $X \pm \text{SEM}$, 相同的字母表示 GH 含量平均值没有显著的差异。

3 讨论

实验结果表明大鳍 脑垂体的 GH 有明显的季节变化。脑垂体 GH 含量分别在 3 月份和 8 月份出现两个峰, 这可能和该鱼春季和秋季的快速生长有关。在以前的研究中, 曾发现春季是大鳍 肥满度最高的时期[王德寿和杨松林 1993], 春季的快速生长和肥育则是为越冬作准备。在 4~7 月的繁殖期和 11~2 月的越冬期间, 脑垂体的 GH 含量很低, 且波动不大, 和这两个时期中鱼体良好的生长状况也吻合。本研究结果表明在正常情况下脑垂体 GH 的合成量少而持续, 大量合成则是突发而短暂的。另外, 脑垂体 GH 含量的两个高峰刚好位于繁殖期的前后, 也即位于脑垂体促性腺激素(GTH)峰和成熟系数峰(4~7月)[王德寿等 1997]的两端, 造成这种分配格局的适应意义值得进一步探讨。

本研究中, 血清 GH 水平从冬季(11~1月)到春季(2~4月)逐渐上升, 夏季急剧升高, 到夏末(7月底)达到最高, 一直持续到秋季。在鱼体生长最快、最肥满的春季, 血清 GH 水平相对较低, 而在该鱼的产卵期和产卵后的性腺恢复期(性腺为 VI 期), 鱼体因繁殖消耗大量能量, 肥满度低, 但血清 GH 水平却迅速升高, 达到一年中的最高峰并一直维持到秋季。这与光周期和嘉陵江水温的变化密切相关, 而与脑垂体的 GH 含量和鱼体生长率之间的关系不明显。许多研究表明, 鱼类血清 GH 水平和鱼体增长率的关系是复杂的, 在大西洋鲑(*Salmo salar*)[Björnsson 等 1989]和银大麻哈鱼(*Oncorhynchus kisutch*)[Young 等 1989]的研究发现: 初次由河入海的小鲑鱼血清 GH 水平和生长率同时升高, 而下海后的鲑鱼, 两者之间便没有正相关关系, 其生长率高时血清 GH 水平反而低[Stefansson 等 1991], 在发育迟缓的鲑情况正好相反, 生长率低而血清 GH 水平却大大升高[Bolton 等 1987]。金鱼全年中血清 GH 最高的时期在春季到初夏, 而生长最快的时期却在 7 月份[Marchant 和 Peter 1986]。同样, 金头鲷(*Sparus aurata*)最高的血清 GH 水平出现在 5 月份, 而最高的生长率却发生在夏季[Perez-Sanchez 等 1994]。一种可能的解释是, GH 的促生长作用并非完全依赖于血清 GH 水平, 还取决于 GH 清除率、受体密度以及它与其他激素和生长因子如类胰岛素生长因子(IGF)的相互作用。

大鳍 血清 GH 水平明显表现为与生殖周期密切相关。最低的血清 GH 水平出现在性腺

静止期, 其次为性腺发育期, 再次为性腺成熟期, 在产卵期急剧升高, 最高为性腺退化期, 血清 GH 峰(7~8 月)紧随血清 GTH 峰和成熟系数峰(4~7 月)[王德寿等 1997]之后。这些结果与前人对金鱼和鲤的研究结果一致[王黎和林浩然 1995, Lin 和 Wang 1995, Marchant 和 Peter 1986]。相似的报道还见于白亚口鱼(*Catostomus commersoni*), 血清 GH 水平在产卵前最低, 产卵期间显著升高, 产卵后仍维持在很高的水平[Stacey 等 1984]。鱼类的生殖和生长联系密切。从 GTH 和 GH 分泌的神经内分泌调控的角度看, 一方面, 有些参与 GH 释放的神经内分泌因子刺激 GH 释放的能力依赖于性腺的发育状况, 如胆囊收缩素(CCK)能刺激离体的金鱼脑垂体碎片释放 GH, 处于性腺退化期的金鱼尤为敏感[Himick 等 1993]。另一方面, 许多参与 GTH 分泌调节的神经内分泌因子, 如神经肽 Y(NPY)、促性腺激素释放激素(GnRH)、多巴胺(DA)和性类固醇激素特别是雌二醇(E₂)等, 同时也参与了 GH 分泌的调节[林浩然 1996]。研究表明 GnRH 及其高活性类似物能刺激金鱼和鲤离体的和在体的脑垂体释放 GH[林信伟等 1993, 林信伟和林浩然 1994, Marchant 等 1989], 但是, 在鲢 GnRH 不能刺激 GH 释放[Bosma 等 1995], 因而不是大鳍 血清 GH 水平出现与生殖周期有关的季节变化的原因。在许多鱼类, DA 可通过和 D-II 受体结合抑制促性腺激素(GTH)释放, 而通过和 D-I 受体结合刺激 GH 分泌[Wong 等 1993], 这一点在鲢也得到证实[Bosma 1995], 在鱼类产卵后的性腺退化期, GTH 的分泌释放受到较强的多巴胺能抑制, 因此, DA 通过 D-I 受体结合刺激 GH 释放可能是大鳍 血清 GH 峰紧随血清 GTH 峰的原因之一。但是, 产卵期间血清 GH 水平显著升高并在产卵后形成血清 GH 峰的原因和意义, 还有待进一步研究。

王德寿现在西南师范大学生物系工作。

参 考 文 献

- 王 黎, 林浩然. 1995. 多巴胺能药物对鲤鱼生长激素分泌活动的影响. 中山大学学报论丛, 3: 88~94
- 王德寿, 杨松林. 1993. 大鳍 的可量性状, 长重关系和肥满度. 西南师范大学学报, 17(4): 510~515
- 王德寿, 罗泉笙. 1992. 大鳍 的繁殖生物学. 水产学报, 16(1): 50~59
- 王德寿, 林浩然, Goos H J Th. 1997. 大鳍 脑垂体和血清促性腺激素(GTH)水平的季节变化. 鱼类学论文集(第六集). 北京: 科学出版社. 22~27
- 林信伟, 林浩然, 张 庆. 1993. 促性腺激素释放激素类似物促进鱼类生长激素分泌和生长. 水产学报, 17(4): 282~288
- 林信伟, 林浩然. 1994. 鲑鱼促性腺激素释放激素(sGnRH)调节鲤鱼脑垂体生长激素分泌的离体研究. 动物学报, 40(1): 30~38
- 林浩然. 1996. 鱼类生长和生长激素分泌活动的调节. 动物学报, 42(1): 69~79
- Bjornson B Th, Thorarensen T, Hirano T et al. 1989. Photoperiod and temperature effect plasma growth hormone levels, growth condition factor and hypoosmoregulatory ability of juvenile Atlantic salmon (*Salmo salar*) during parr smolt transformation. *Aquaculture*, 82: 77~91
- Bolton J P, Young G, Nishioka R et al. 1987. Plasma growth hormone level in normal and stunted yearling coho salmon *Oncorhynchus kisutch*. *J. Exp. Zool* 242: 379~382
- Bosma P T, van Dijk W, van Haren S et al. 1995. GnRH receptors are restricted to gonadotropes in male African catfish. In: *Proceedings of the 5th international symposium on reproductive physiology of fish. July 2~8, 1995. The University of Texas, Austin, Texas, U. S. A.* (Edited by F. W. Goetz and P. Thomas. Published by Fish Symp. 95, Austin). 55~57
- Himick B A, Golosinski A A, Jonsson A C et al. 1993. CCK/gastrin-like immunoreactivity in the gold fish pituitary: regulation of pituitary hormone secretion by CCK-like peptides in vitro. *Gen. Comp. Endocrinol.* 92: 88~103

- Lescroart O, Roelant I, Bergham L R et al. 1994. Purification of growth hormone from the pituitary gland of the African catfish (*Clarias gariepinus*) and development of a radioimmunoassay. Proc Int. Workshop of the Biological Bases for Aquaculture of Siluriformes. 107
- Lin H R, Wang L. 1995. Dopaminergic regulation of gonadotropin and growth hormone secretion in common carp (*Cyprinus carpio* L.). In: Proceeding of the international symposium of biotechnology application in aquaculture. Asian Fisheries Society special publication, (10): 17~28
- Marchant T A, Peter R E. 1986. Seasonal variations in body growth rates and circulating levels of growth hormone in the goldfish, *Carassius auratus*. J Exp Zool 237: 231~239
- Marchant T A, Chang J P, Nahomiak C S et al. 1989. Evidence that gonadotropin-releasing hormone also functions as growth hormone-releasing factor in the goldfish. Endocrinology, 124: 2509~2518
- Perez Sanchez J, Marti-Palanca H, Le Bail P-Y. 1994. Seasonal changes in circulating growth hormone (GH), hepatic GH-binding and plasma insulin-like growth factor-I immunoreactivity in a marine fish, gilthead sea bream, *Sparus aurata*. Fish Physiology and Biochemistry, 13(3): 199~208
- Stacey N E, Mackenzie D S, Marchant T A et al. 1984. Endocrine changes during natural spawning in the white sucker, *Catostomus commersoni*. I. gonadotropins, growth hormone, and thyroid hormones. Gen. Comp. Endocrinol 56: 333~348
- Stefansson S O, Bjornsson B Th, Hansen T et al. 1991. Growth, parr smolt transformation, and changes in growth hormone of Atlantic salmon (*Salmo salar*) reared under different photoperiods. Can J Fish Aquat. Sci 48: 2100~2108
- Wong A O L, Chang J P, Peter R E. 1993. In vitro and in vivo evidence that dopamine exerted growth hormone-releasing activity in goldfish. Am J Physiol 264(Endocrinol Metab 27): E925~932
- Young G, Bjornsson B T, Prunet P et al. 1989. Smoltification and seawater adaptation in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) plasma prolactin, growth hormone, thyroid hormones and cortisol. Gen Comp Endocrinol 74: 346~354

SEASONAL CHANGES OF THE PITUITARY AND SERUM BASAL GROWTH HORMONE LEVELS OF *MYSTUS MACROPTERUS*

WANG De-Shou, LIN Hao-Ran, ZHANG Wei-Min

(Institute of Aquatic Economic Animals, Zhongshan University, Guangzhou 510275)

ABSTRACT Dose-response inhibition curves for serial dilutions of sera and pituitary homogenates from the bagrid catfish *M. macropterus* (Bleeker) parallel that for the common carp growth hormone (cGH), so the radioimmunoassay for cGH was used to assay the blood and pituitary GH levels of the catfish. Seasonal changes were found in both pituitary GH contents and serum GH levels. Seasonal changes in pituitary GH contents were marked by two distinct peaks, one was in March and the other was in August, just anterior to and posterior to the gonadotropin (GTH) peak (April to July) of the pituitary. From April to July, the reproductive period of the fish, and from November to February, the overwinter period, the pituitary GH contents were low and with minor variations. Influenced by water temperature and photoperiod, the lowest level of serum GH was observed in winter and a progressive increase was found in spring and summer. But a significant increase was found at the end of summer (July), and remained a high level in autumn. Seasonal changes in serum GH levels were also correlated to reproductive cycle. The lowest serum GH level was observed in the resting period, elevated gradually with the recrudescence of the gonads, increased significantly at the spawning period, and got the highest value in the sexual regressed period. These results were in accordance with those obtained in common carp and goldfish.

KEYWORDS *Mystus macropterus*, pituitary, serum, growth hormone, seasonal changes