

某些环境因子对罗非鱼脑垂体催乳激素分泌细胞活动的影响*

方展强

(华南师范大学, 广州 510631)

摘要 于1986年11月—1987年2月,对冬季培育在普通池塘(矿化度150.00mg/L)和温泉池塘(矿化度89.73mg/L)的尼罗罗非鱼(*Tilapia nilotica*)脑垂体前叶超微结构观察比较的结果表明:降低水环境矿化度会导致催乳激素分泌细胞高的活性。对温泉池不同温度组罗非鱼脑垂体催乳激素分泌细胞的超微结构形态学比较以及进行细胞胞体和胞核体积测定比较的数据证明:温度变化是影响催乳激素分泌细胞活动的重要因素;在温泉环境中,催乳激素分泌细胞的体积无明显昼夜变化。

本文探讨温泉水矿化度、温度以及其它环境因子对尼罗罗非鱼(*Tilapia nilotica*)脑垂体催乳激素分泌细胞活动的影响。

一、材料与方 法

1. 实验动物

三龄的尼罗罗非鱼取自华南师范大学实验鱼塘。越冬对比实验分别在华师大实验鱼塘和广东乳源县南水水库车干水的温泉池鱼塘进行,实验处于1986年11月—1987年2月的罗非鱼自然越冬期,并以精料(玉糠、麦皮和花生麸)为主,辅以青料和粪料喂养。实验动物分组见表1。

表1 罗非鱼在普通池塘与温泉池塘越冬对比实验

Tab. 1 Comparison between *Tilapia nilotica* overwintering in normal pond and that in hot spring pond

组别	池塘	水温(°C)	实验鱼数		自然产卵尾数
			雌	雄	
A	温泉池塘	冷却至常温	12	8	—
B		29±2	12	8	4
C		26±2	12	8	12
D		20±2	12	8	3
E	普通池塘	自然水温	12	8	—

* 承蒙潘炯华教授指导,特致谢忱。

2. 垂体组织切片和透射电镜样品制备

实验结束同时摘取垂体样品。剖开颅骨,迅速摘取垂体。组织学观察的样品用 Zenker 氏液固定,石蜡包埋作连续纵切,厚 $5\mu\text{m}$,用 Heidenhaid-Azen 三色法染色,置油镜下观察。透射电镜观察的垂体样品经 0.2mol/L 磷酸缓冲液 ($\text{pH} = 7.4$) 漂洗,投入 4% 戊二醛低温固定 5h ,修块后置 1% 锇酸固定 3h ,逐级乙醇脱水,环氧丙烷透明, Epon 812 包埋剂包埋,先用 LKB 超薄切片机制备各为 $1\mu\text{m}$ 厚切片(以 1% 甲苯胺蓝染色作定位用),再切成 $400\text{--}600\text{\AA}$ 超薄切片,醋酸双氧铀及 Reynolds 柠檬酸铅液复染,最后置 H-300 型透射电镜观察及拍照。

3. 催乳激素分泌细胞胞体和胞核的形态分析

评判催乳激素分泌细胞的活动状况,分别在各组选 5 条雌鱼,每条鱼随机选 10 个细胞在油镜下观察和测定,按公式 $4/3 \cdot \pi \cdot l \cdot b^2$ (其中 l 为细胞直径的长轴; b 为短轴) 分别计算胞体和胞核体积的大小,再根据其平均标准差分别获得各个温度组不同的量。统计分析使用 Student's t -test 方法。

4. 水样理化测定

分别取华师大试验鱼塘水和广东省乳源县南水水库车干水温泉池作水样分析和放射性氩测定,部分结果见表 2。

表 2 实验池塘水质及氩含量

Tab. 2 Water quality and Rn content in experimental pond

池塘	pH	矿泉类型	氩含量 (Ci/L)	矿化度 (mg/L)	环境离子浓度 (mg/L)					
					K ⁺ , Na ⁺	Ca ⁺⁺	Mg ⁺⁺	Cl ⁻	HCO ₃ ⁻	SO ₄ ⁻
普通池塘	8.0	—	—	159.00	26.39	29.06	2.43	24.39	72.61	34.00
温泉池塘	7.9	氩泉	7.5×10^{-9}	89.73	25.45	12.22	—	3.9	67.12	4.00

二、结 果

1. 环境矿化度对催乳激素分泌细胞活动的影响

对保持在普通鱼池(E组)和迁移在温泉鱼池(A组)饲养的罗非鱼进行观察,发现均处于自然越冬状态,摄食行为时见时停,实验结束均未见产卵行为。对脑垂体前叶组织学观察比较,不同矿化度水环境明显改变腺垂体前叶与间叶相对大小的比例,迁移到温泉鱼池(矿化度较低)的罗非鱼其前叶相对明显增大,间叶则相对缩小。Azen 法染色显示前叶着色深。

2. 温度对催乳激素分泌细胞活动的影响

不同的水温对催乳激素分泌细胞的活动状态有显著差别。保持在较高水温的罗非鱼(B组),其细胞显示处于高度活动状态,表现在:(1)胞体和胞核体积比A组明显增大(分别 $P < 0.01$, 见图 1),星状细胞受挤压,体积缩小,胞突不明显;细胞核周腔加宽,与粗面内质网膜相通,核孔开放度大;核染色质密度增大,核仁大而明显,可见核仁组织者,它含有合成核仁结构的 DNA 样板;这个基因可转录核糖体 RNA,并通过核孔输送到胞质中(图版 I:1)。(2)粗面内质网扁平膜管大量增生,呈层层排列并扩大成扁平长池,形成

典型的板层状结构;有些则扩大呈椭圆形的弯曲管池状,呈一同心圆(图版 I:2);内质网池中游散的核蛋白体和多聚核蛋白体丰富,成膨胀状态,线粒体与细胞呼吸有关,其呼吸机能旺盛(图版 I:3)。(3)胞质中分布很发达的高尔基复合体,大而呈环状,位于核的附近;高尔基囊正出现许多还在浓缩的分泌颗粒,附近积聚大量光面小泡(图版 I:1),大量的分泌颗粒通常密集分布近星状细胞一极。观察期间, B 组罗非鱼仅见少数雌鱼有产卵行为。C 组的罗非鱼处于最适的生长和繁殖的水温环境。催乳激素分泌细胞的活动较 B 组减弱,但胞体和胞核体积的测定仍显示与 A 组有较大差异(分别 $P < 0.01$, 见图 1)。多数细胞胞质内质网呈波纹状,呈扁平囊状,并与细胞膜平行排列,上面附着大量的核糖体颗粒。靠近高尔基体的一面部分壁失去核糖体而变得光滑,显示“出芽”外形,形成光面小泡。高尔基体一般由四个扁平潴泡平叠而形成环状,凸面的形成面聚集众多光面小泡,有些与高尔基囊互相融合或互相汇合浓缩为液泡状颗粒;凹面为成熟面,液泡状颗粒经浓缩由高尔基囊一端脱落后排列在附近。幼稚型颗粒成熟后,移向靠近星状细胞的一极。胞质中存在多数呈囊泡状线粒体。多数细胞显示较活跃的合成和分泌活动(图版 I:4)。C 组的罗非鱼雌鱼都产卵并含口孵化出幼鱼。保持在温泉池的 D 组罗非鱼,显示催乳激素分泌细胞活动下降,胞体和胞核体积测定显示与 A 组没有十分明显区别(分别 $P > 0.05$)。细胞的超微结构比较观察,与 A 组相似,但仍显示细胞较缓慢的合成和分泌活动。D 组的罗非鱼少数雌鱼有产卵行为。

对生长在持续高温的温泉水环境罗非鱼的催乳激素分泌细胞胞体和胞核体积作昼夜测定(在 B 组同组鱼取材于夜间 12:00 和午间 12:00)分析其数据统计没有明显的差异。

结果表明,在低矿化度的温泉水中,温度是影响催乳激素分泌细胞活动的重要因素,催乳激素分泌细胞胞体体积在温泉水中不呈现昼夜变化。

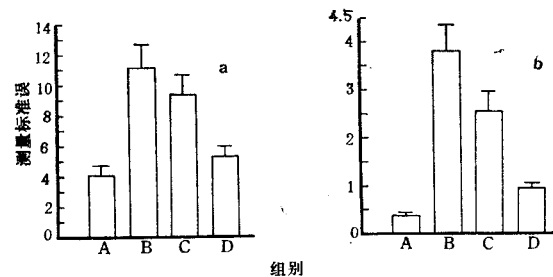


图 1 温泉池各组罗非鱼催乳激素分泌细胞胞体(a)和胞核(b)的形态分析(各组水温见表 1)

Fig. 1 Morphological analysis of cell body (a) and cell nucleus (b) of the prolactin Cells of *Tilapia nilotica* in hot spring pond

三、讨 论

Wendeluar 等^[2]对莫桑比克罗非鱼的研究证明,催乳激素在广盐性硬骨鱼类中起着调节渗透压、维持体内钠离子平衡的作用。催乳激素的分泌是由环境渗透性所决定的,一般催乳激素分泌细胞的分泌活动在等盐水中是最小的。Charles 等报道,降低外界水环境的 NaCl 能提高催乳激素的分泌率^[3],本实验的结果与之是一致的:将生活在较高矿

化度池塘水的罗非鱼转移到较低矿化度的矿泉水中,催乳激素分泌细胞明显提高其分泌活动。因此表明,降低外界水环境的矿化度将导致催乳激素分泌细胞高的活性。这与罗非鱼需要更多催乳激素去调节它们对陌生环境的适应性是一致的。较低矿化度的温泉水不影响罗非鱼的正常越冬,但高矿化度的矿泉水则不利于鱼类的繁殖和孵化,这可能是由于大量催乳激素分泌过高对其本身的其它代谢活动的抑制而引起的。

温泉环境持续的高温促使罗非鱼保持连续的催乳激素分泌。利用细胞胞体和胞核体积测定以及细胞的超微结构形态学比较,去探讨细胞的功能,也证明这一点。具有大的胞体和胞核体积,被认为是细胞的代谢活动高;由此也证明随着水温的提高,催乳激素分泌率也将同步提高。可以认为,高的水温促进罗非鱼体内的新陈代谢活动,血液中需要补充的各种离子一方面由鱼体主动摄食获得;另一方面则需要大量合成和分泌催乳激素,作用于鳃等靶器官以调节对水环境的适应性,从而也直接从水中摄取各种必需离子。温泉水环境的恒温持续性,将保持脑垂体催乳激素分泌细胞高的活性,昼夜、日长度、季节对罗非鱼则不产生明显的影响。因此,合适的水温和矿化度使处于越冬期的罗非鱼在外界较低气温(4—8℃)条件下仍能正常产卵、孵化鱼苗;但过高的水温(29±2℃)则引起高的催乳激素分泌率,从而抑制性腺的发育,导致不产卵或少产卵。

实验温泉池塘含有放射性气体氡,属氡泉,其含量为 $7.5 \times 10^{-9}\text{Ci/L}$,略超过一般在无盖水池中所允许的放射性物质的最大浓度 ($1 \times 10^{-9}\text{Ci/L}$)。氡可溶于水,半衰期为 3.8d,经 30d 会自行完全消失。氡对鱼体的影响将取决于电离辐射和它进入机体组织过程所产生的作用,但这种作用机理的研究尚不明确。对其它水质指标分析后,作者认为,在车干水的温泉适当施无机肥,使浮游生物大量生长,提供鱼苗的摄食需要,则十分适合冬季鱼类的人工繁殖及早春鱼苗的孵化生产;其次,矿泉水含 SO_4^{2-} 较高,会构成对鱼苗的毒害,但目前的数据(4.00mg/L)尚不至于对罗非鱼有较大影响。因此,在广东,开发利用热矿泉水于渔业生产,是有一定经济价值的,值得推广。

参 考 文 献

- [1] Charles, S., N. S. W. Wilson, R. Nishika and H. A. Bern, 1981. Blood and pituitary prolactin in *Tilapia* (*Sarotherodon mossambicus*, Teleostei) from different salinities as measured by a homologous redimmunosay. *Gen. Comp. Endocrinol.* 44: 365—373.
- [2] Wendeluar, B. S. E. and J. C. A. van der Meij, 1981. Effect of ambient osmolarity and calcium on prolactin cell activity and osmotic water permeability of the gills in the Teleost *Sarotherodon mossambicus*. *Gen. Comp. Endocrinol.* 43: 432—442.

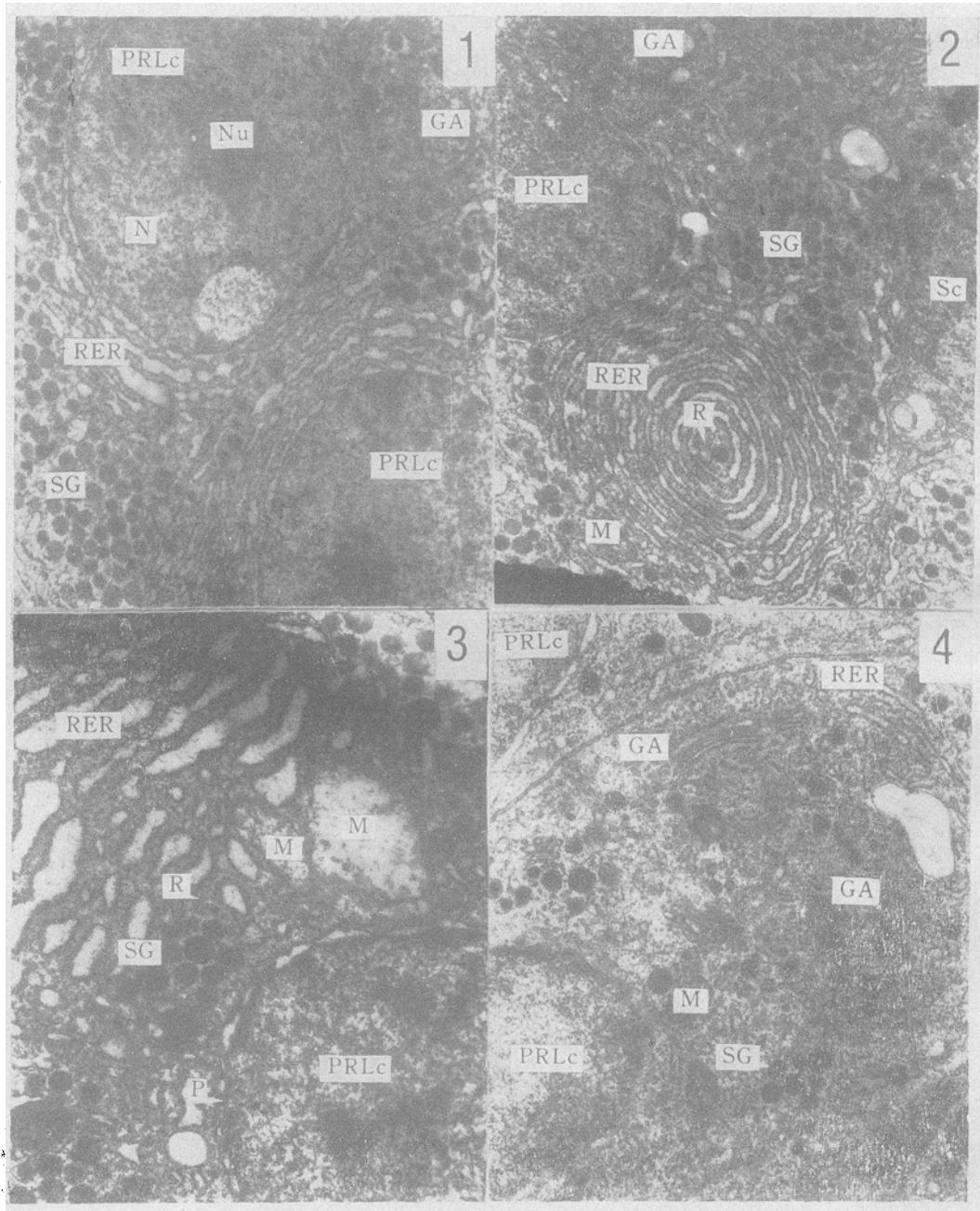
THE EFFECT OF SOME ENVIRONMENTAL FACTORS ON PROLACTIN CELL ACTIVITY IN THE HYPOPHYSIS OF *TILAPIA NILOTICA*

Fang Zhanqiang

(*South China Normal University, Guangzhou 510631*)

ABSTRACT

The cytological and ultrastructural changes in prolactin cells were observed in rostral pars distalis of hypophysis of *Tilapia nilotica* during overwintering from November, 1986 to February, 1987. The results indicate that higher cellular activity in hot spring pond-adapted fish (mineralization intensity: 89.73 mg/L) than in normal pond-adapted fish (mineralization intensity: 150.00 mg/L) is likely due to low environmental mineralization intensity. Decrease in mineralization intensity leads to high activity of prolactin cells. Furthermore, the evidences from cell and nuclear volume survements, and ultrastructural observations suggest that temperatures perhaps be a major environmental factor in the control of fish prolactin cells activity in hot spring ponds. The results also show no change in prolactin cell volume day and night in hot spring ponds.



1—3. B 组催乳激素分泌细胞: 1. 示胞质内形成的板层状内质网池和呈环状的高尔基复合体, 细胞核内具活动活跃的核仁结构, $\times 10\ 000$; 2. 示胞质内形成呈一同心圆结构的内质网池, 内含丰富的核糖体颗粒, $\times 10\ 000$; 3. 示胞质内形成的板层状内质网池和呈囊状状的线粒体, $\times 15\ 000$; 4. C 组催乳激素分泌细胞, 示胞质内分泌颗粒形成的过程, $\times 10\ 000$ 。

RER. 粗面内质网; GA. 高尔基复合体; M. 线粒体; N. 细胞核; Nu. 核仁; P. 核孔; PRLc. 催乳激素分泌细胞; R. 核糖体颗粒; Sc. 星状细胞; SG. 分泌颗粒。