

# 长江江豚某些血清生殖激素的初步研究

陈道权 赵庆中 刘仁俊

(中国科学院水生生物研究所, 武汉, 430072)

## 摘 要

本文首次报道了3~4月份长江江豚 (*N eop hocaena phocaenoides*) 某些血清生殖激素的研究结果。性成熟雄性江豚血清睾酮浓度在2.64 ng/ml和9.40 ng/ml之间波动。雌性未成熟个体不能测出血清雌二醇, 性成熟个体均能测出血清雌二醇, 妊娠个体血清孕酮浓度可达30.59 ng/ml以上。

关键词 江豚; 血清生殖激素; 睾酮; 孕酮和雌二醇

过去一些学者对江豚生殖和生殖器官进行过许多研究(张先锋, 1992; Chen等, 1982; Kasuya, 1979; Ping, 1926; Harrison, 1971)。自应用放射免疫法测定血清生殖激素以来, 许多鲸类学家通过血清睾酮 (Testosterone, T)、雌二醇 (Estradiol, E2)、孕酮 (Progesterone, P) 和黄体生成素 (Luteinizing Hormone, LH) 浓度的变化研究了动物的性周期(王克雄, 1995; 陈德勤, 1991; 陈道权等, 1994; Harrison, 1971; Cornell等, 1987; Kirby等, 1984; Richkind等, 1975; Sawyer-steffan等, 1983; Schroeder等, 1989; Yoshioka等, 1986; Wells等, 1984), 为准确诊断雌性动物的妊娠过程提供了可靠依据。到目前为止未见有长江江豚血清激素研究的报道。本文主要是通过自然生态下长江江豚某些生殖激素浓度的测定, 了解春季长江江豚血清生殖激素的分泌状况来探讨江豚的生殖规律, 为长江白暨豚和江豚的保护生物学研究提供依据。

## 材料与方法

1. 实验材料 血样采自我所1990~1993年分别从长江捕获的4批共12头江豚(见表1), 其中6头运回中科院水生所饲养, 除当天采血样外, 还在死亡之前的饲养过程中采集血样。

2. 采血样方法 采血样参照 Ridgway (1968) 和陈道权等 (1985) 白暨豚血液有形成分测定的方法。

3. 血浆和血清的制备 从江豚尾静脉取血, 注入含有肝素钠抗凝剂0.5 ml (1% 肝素钠) 于10 ml (血液) 的离心管中, 充分摇匀, 离心 (3 000转/min) 15 min, 用玻璃吸管吸取上层血浆, 分装于小塑料管内, 编号, 放入液氮内或者 - 20 °C 冰箱内保存。血清

国家自然科学基金资助项目“白暨豚的物种保存和增殖研究”的部分工作

本实验采血样得到白暨豚研究室全体同志支持, 在完成论文的过程中得到王丁博士和王克雄同志帮助; 湖北医科大学第一附属医院同位素室主任邹性初教授和蔡韵琴医师对本工作给予指导和帮助, 一并致谢

本文于1995年8月30日收到, 1996年5月27日收到修改稿

制备与血浆制备略有不同, 取出血液样品后立即注入无肝素钠抗凝剂的离心管中, 离心 (3 000转/m in) 15 m in, 静止一段时间, 弃去纤维蛋白, 再离心 (3 000转/m in) 15 m in, 取上层血清, 贮存方法同上。血清或血浆样品被测定之前, 室温化冰。

表 1 实验江豚的背景资料

Table 1 Basic materials of *N eophocaena phocaenoides* for experiments

标本号 No. Specimen	动物代号和性别 Coded animal and sex	体长 Body length (cm)	体重 Body weight (kg)	放养水域 Put in water area	备注 Remark
90-03-01	M 1	160.0		长江天鹅洲白暨豚自然保护区 Tian'e-zhou Baiji nature reserve in the Yangtze River	性成熟 Mature
90-03-02	M 2	154.0		同上	同上
90-04-01	M 3	147.0	46.0	白暨豚馆 A aquarium of Baiji dolphin in Wuhan	同上
93-03-01	M 4	152.0	57.0	同上	同上
93-03-02	M 5	155.0	54.0	同上	同上
93-03-03	M 6	142.0	41.0	同上	同上
90-04-02	F 1	129.0	33.5	同上	性未成熟 Immature
93-03-05	F 2	131.0	36.5	同上	同上
90-03-03	F 3	151.0		长江天鹅洲白暨豚自然保护区 Tian'e-zhou Baiji nature reserve in the Yangtze River	性成熟 Mature
90-04-03	F 4	145.0		同上	妊娠 Pregnancy
90-04-04	F 5	146.0		同上	同上
90-04-05	F 6	147.0		长江 Yangtze River	同上

4 测定方法和仪器 江豚血清和血浆生殖激素睾酮、雌二醇、孕酮、黄体生成素、卵泡刺激素 (Follicular Stimulating Hormone, FSH)、泌乳素 (Prolactin, PRL) 和绒毛膜促性腺激素 (Chorionic Gonadotropin, CG) 测定的试剂和方法, 按照中国天津利科生物技术与医学用品有限公司提供的放射免疫测定血清生殖激素含量的药盒和常规方法进行的。血清激素含量用西安262厂制造的 FT-603型放射免疫测定仪测定。

## 结 果

表2列出了1990年和1993年3~4月份长江江豚某些血清生殖激素的平均值和波动范围。结果表明, 雌性江豚体内存在有T、E2、P、PRL、LH、FSH和CG (雄性豚为绒毛膜促性腺激素类似物Chorionic Gonadotropin Similarity, CGS) 激素, 两性之间和同性不同生理状态下各类激素含量明显不同。雄性成熟江豚血清睾酮含量在2.64~9.40 ng/ml之间波动, 其平均含量为5.76 ng/ml。由此可见, 3~4月份性成熟雄性江豚的性腺都处于活动状态。

性成熟雄性江豚不同健康状况下血清睾酮激素含量明显不同。刚从长江捕起的健康江豚M4和M6血清睾酮激素含量分别为5.11 ng/ml和6.95 ng/ml。在人工饲养条件下, 豚体皮肤被水霉菌 (球菌) 严重感染, 体重极度下降, 行为活动异常, 在死亡前一周内采血样分析, 江豚M4和M6血清睾酮含量分别降为0.094 ng/ml和0.434 ng/ml。可见江

豚的健康状况可以直接影响睾丸分泌睾酮的活动, 进而影响其生殖功能。

表2 3~4月份长江江豚血清生殖激素平均含量

Table 2 A verage levels of serum reproductive hormone of *N eophocaena phocaenoides* in Yangtze River during March and April, 1990 and 1993

激素名称 Hormone name	成熟 Maturity (6)	未成熟 Immaturity (2)	未妊娠 Non pregnancy (1)	妊娠 Pregnancy (3)
睾丸酮 Testosterone (ng/ml)	5.76 (2.64~ 9.40)	0.0070 (0~ 0.014)	0.1145	0.1917 (0.1312~ 0.2339)
雌二醇 Estradiol (pg/ml)	3.70 (0~ 8.05)	0	1.36	8.43 (0.33~ 24.33)
孕酮 progesterone (ng/ml)	0.79 (0.41~ 1.28)	0.15 (0.05~ 0.25)	0.06	36.06 (30.59~ 41.19)
黄体生成素 Luteinizing hormone (mIU/ml)	3.17 (0.08~ 8.440)	3.80 (0.1~ 6.50)	5.83	4.44 (3.33~ 6.55)
卵泡刺激素 Follicle stimulating hormone (mIU/ml)	0.24 (0~ 0.65)	0.82 (0~ 1.64)	0.60	1.96 (1.16~ 2.57)
泌乳素 Prolactin (ng/ml)	1.20 (0~ 2.46)	0.245 (0~ 0.49)	3.16	1.66 (0.63~ 2.32)
绒毛膜促性腺激素和绒毛膜促性腺激素类似物 Chronic gonadotropin and Chronic gonadotropin similarity (mIU/ml)	3.06 (0~ 7.2)	4.90	4.8	7.93 (5.2~ 10.2)

雌性江豚 F4、F5和 F6血清孕酮激素的含量分别为36.40 ng/ml、41.19 ng/ml和30.59 ng/ml, 其他江豚血清孕酮均低于1.0 ng/ml, 前者为妊娠个体, 后者为非妊娠个体。性未成熟江豚 F1和 F2与性成熟未妊娠江豚 F3血清孕酮激素含量比较, 略有不同。

雌性江豚雌二醇激素含量变化大, 性成熟个体和妊娠个体血清雌二醇激素含量均较未成熟个体高。雌性未成熟个体血清雌二醇激素含量很低, 以致于仪器检测不出来。解剖结果证实这些江豚为未成熟个体。

## 讨 论

根据张先锋等 (1992) 报道, 雄性江豚性成熟体长为140 cm, 本文研究的雄性江豚体长为142~ 160 cm, 均为性成熟个体。Schroeder (1989) 发现人工饲养下的雄性宽吻海豚 (*Tursiops truncatus*) 血清睾酮的水平存在季节性变化, 血清睾酮浓度与其精子浓度不同步, 血清睾酮含量高时, 精子数量少, 质量亦差。一般情况下, 江豚血清睾酮含量3月份较4月份略高。按照 Schroeder 的观点推断江豚3月份精子的数量和质量可能较4月份差。江豚血清睾酮与精子数量和质量之间的关系是否象宽吻海豚一样, 还是与宽吻海豚不一样, 有待研究。Wells (1984) 也认为长吻原海豚 (*S tenella longirostris*) 血清睾酮浓度与其交配行为没有明显的联系。人工饲养下白暨豚“淇淇”血清睾酮含量与其性行为活动有一定联系 (陈道权等, 1994)。根据 Chen 等 (1982) 研究, 自然条件下江豚妊娠期一般为10.5个月。根据我们从长江移养到石首天鹅洲白暨豚自然保护区的3头妊娠江豚分别于

4月底、5月初和5月底产仔事实来反推,江豚的交配期在6~8月份。因此3~4月份江豚血清睾酮分泌高峰期也许不是其交配受孕期。

据报道,雌性江豚性成熟体长133 cm(张先锋,1992),我们研究的2头雌性江豚未达性成熟体长,未能测出血清雌二醇,血清孕酮含量亦很少,解剖结果证实卵巢很小,既无黄体又无白体。一头性成熟江豚能测出雌二醇(1.36 pg/ml),但是孕酮含量比未成熟个体还低,可能采血样时这头江豚正处于排卵周期的起始阶段或结束阶段,卵泡发育处于初级滤泡期,而那头未成熟个体此时可能处于次级滤泡期。由于资料有限,不能做出准确结论,需进一步研究。陈德勤(1991)和Cornell(1987)分别报道了宽吻海豚血清孕酮含量低于1.0 ng/ml为未受孕个体,孕酮含量高于3.0 ng/ml时,并能维持4~6周以上示为怀孕个体的研究结果。Richkind(1975)根据雌性宽吻海豚妊娠期间血清孕酮含量的变化,把宽吻海豚的妊娠期分为早期、中期、晚期三个阶段,其孕酮激素含量分别为10.40 ng/ml、15.60 ng/ml和41.6 ng/ml。本文收到三头妊娠个体的孕酮含量最高达30.59~41.19 ng/ml,与宽吻海豚妊娠晚期的孕酮含量基本一致,从而可以认为判断宽吻海豚妊娠的标准也适宜于长江江豚。据此,我们可以根据血清雌二醇和孕酮含量的多少来判别江豚的成熟个体和怀孕个体,但其成熟个体和怀孕个体血清雌二醇和孕酮含量的确切标准,还有待研究。

我们的研究表明,雄性江豚血清睾酮含量的变化除了与固有生理季节有关外,也与健康状况有密切联系。

雌雄性江豚血清中均可测出上述7种生殖激素,但它们随江豚各发育阶段不同,其浓度变化的规律还有待进一步积累资料和深入研究。

## 参 考 文 献

- 王克雄 1995 日本国水族馆海豚的饲养与繁殖技术 海洋湖沼通报, 2: 70~77.
- 陈道权, 官之梅 1985 白暨豚血液有形成分测定 动物学杂志, 20 (6): 8~11.
- 陈德勤 1991 海洋哺乳类饲养管理与疾病之诊断及治疗. 八十年野生动物疾病诊疗研讨会, 24~29.
- 陈道权, 赵庆中, 刘仁俊 1994 人工饲养条件下白暨豚雌雄个体某些血清生殖激素初步研究 水生生物学报, 18 (3): 292~295.
- 张先锋 1992 江豚的年龄鉴定、生长和生殖的研究 水生生物学报, 16 (4): 289~297.
- Chen Peixun, Liu Renjun, Harrison R J. 1982 Reproduction and reproductive organs in *N eophocaena phocaenoides* from the Yangtze River. *A quatic mammals*, 9 (1): 9~16.
- Cornell L H, Asper E D, Antrim J E, Searles S S, Yang W G, Goff T. 1987. Progress report: Results of a long-range captive breeding program for the bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus* and *Tursiops truncatus gilli*. *Zool Biology*, 6: 41~53.
- Harrison R T, Ridgway. 1971. Gonada activity in some bottlenose dolphins (*Tursiops truncatus*). *J Zool*, 165: 355~366.
- Kasuya T. 1979 The population of finless porpoise in the Inland of Japan. *Sci Rep Whales Res Inst*, 31: 1~44.
- Kirby V L, Ridgway S H. 1984. Homonal evidence of spontaneous ovulation in captive dolphins, *Tursiops truncatus* and *delphinus delphis*. *Rep Int Whal Commn (Spec ISS)*, 6: 456~464.
- Ping C. 1926 On the testis and its accessory structures in the porpoise. *A nat Rec*, 32: 113~117.
- Richkind M M sc, Frvce D, Ridgway S H, DVM, PHD. 1975. Estrogen, corticosteroid and progestagen patterns in the pregnant and nonpregnant bottlenose dolphin, *Tursiops truncatus*, Following the intramuscular and intramuscular administration of N H-Ocine-Sg. *A quatic Mammals*, 3: 15~20.
- Ridgway S. 1968 The bottlenose dolphin in biomedical research. *Methods of Animal Experimentation*, 3: 388~446.

- Sawyer-steffan J E, Kirby V L, Gilmartin W G. 1983. Progesterone and estrogens in the pregnant and non-pregnant dolphin, *Tursiops truncatus*. *Biology of Reproduction*, 28: 897- 901.
- Schroeder J P, Keller K V. 1989. Seasonality of serum testosterone levels and sperm density in *tursiops truncatus*. *Journal of Experimental Zoology*, 249: 316- 321.
- Wells R S. 1984. Reproductive behavior and hormonal correlates in Hawaiian spinner dolphins, *Stenella longirostris*. *Rep IntWhal Commn*, (Spec. ISS), 6: 465- 472.
- Yoshioka M, Estuka M, Teruo T, Katsumi A, Isao H. 1986. Annual changes in serum reproductive hormone levels in the captive female bottlenose dolphins. *Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries*, 52: 1939- 1946.

## PRELIMINARY STUDY ON SOME HORMONES OF NEOPHOCAENA PHOCAENOIDES IN THE YANGTZE RIVER

CHEN Daoquan ZHAO Qingzhong LU Renjun

(Institute of Hydrobiology, the Chinese Academy of Sciences, Wuhan, 430072)

### Abstract

The paper first reported the investigative results of some serum reproductive hormones on *Neophocaena phocaenoides* from Yangtze River during March and April. The serum testosterone levels from tested sexual active matured male animals were between 2.64 ng/ml and 9.40 ng/ml. The estradiol could not be found out from immature female animals dolphins and could be found out from mature female animals. The serum progesterone levels in pregnant female dolphins may reach as high as 30.59 ng/ml.

**Key words** *Neophocaena phocaenoides*; Serum reproductive hormone; Testosterone; Progesterone and estradiol