

促黄体生成素释放激素类似物对团头鲂 血清中促性腺激素和 17β -雌二醇含量 变动的研究*

姜仁良 黄世蕉 赵维信 周洪琪

(上海水产大学)

提要 本文报道了团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)血清中 17β -雌二醇放射免疫的测定方法,将所建立的测定方法用于鱼类血清测定,并对方法的准确性(回收率 $92.8 \pm 8.16\%$)、特异性(抗血清与雌酮、雌三醇的交叉反应分别为 $<3.20\%$ 、 $<2.99\%$)和灵敏度($2.36-2.50\text{pg}$)作了检验。标准曲线的 $r = -0.998$, $s = 0.023-0.051$,检测范围为 $10-400\text{pg/管}$ 。

团头鲂催产后血清中促性腺激素(GTH)含量增高,为产卵前的17倍左右,而未产卵个体的GTH含量则为产卵个体产卵前的3-5倍。与草鱼和鲢鱼一样,当血清中GTH达到一定浓度时,才能实现产卵。

随着团头鲂卵巢的发育,血清中 17β -雌二醇($17\beta\text{-E}_2$)含量和成熟系数同步逐渐上升,至第IV期卵巢发育成熟阶段,血清中 $17\beta\text{-E}_2$ 含量形成一个高峰,达到 $2004.11 \pm 1136.31\text{pg/ml}$,可作为卵母细胞卵黄迅速积累的指标。过后,血清中的 $17\beta\text{-E}_2$ 含量略有下降,催产前为 1392.71 ± 399.09 和 $1219.29 \pm 420.51\text{pg/ml}$,产卵后,血清中 $17\beta\text{-E}_2$ 含量在短时间内迅速下降到 346.71 ± 129.51 和 $324.28 \pm 228.00\text{pg/ml}$ 。

雄鱼则与雌鱼相反, $17\beta\text{-E}_2$ 含量随精巢发育而逐渐下降,并一直维持在一个低水平。

主题词 RIA、 17β -雌二醇、促性腺激素、团头鲂

从七十年代开始,人工合成的促黄体生成素释放激素类似物(LRH-A)作为催产剂,普遍应用于鱼类繁殖,至今已取得非常显著的效果^[1,2,3,4]。近年来,在用LRH-A对鱼类催情产卵研究中,从垂体促性腺细胞超微结构方面和垂体、卵巢的组织化学方面探讨了LRH-A的作用途径和催产机理^[5,6,7],目前,采用放射免疫测试手段对LRH-A诱导鱼类产卵前后血清中GTH含量变化的研究工作做得较多^[8,9,10,11,12,13]。在这些研究中阐明了鱼类垂体合成、释放GTH来调控生殖生理的机制。并证明鱼类的催情产卵过程和哺乳类动物相似,存在着下丘脑-垂体-性腺之间的联系^[13]。

最近,我们初步建立的团头鲂血清中 17β -雌二醇($17\beta\text{-E}_2$)放射免疫测定方法,为研究鱼类类固醇激素对性腺功能的调节控制作用提供了基础,从而为研究鱼类性腺发育、

* 参加本试验部分工作的还有杨先乐、杨斌、沈玲、李文和、杨志平、肖雨同学。蒙承上海计划生育研究所王忠兴和上海内分泌研究所张美云同志的帮助,特此致谢。

卵黄蛋白质积累的规律创造了条件。

材料和方 法

1. 材料

试验用鱼于 1979—1983 年分别采自厦门和上海等地养殖场。在不同发育时期和催产前后从尾动脉采集血样。血样静置凝集,以 3000 转/分离心 5 分钟,吸出血清,低温保存备用。

2. 方法

团头鲂血清中的 GTH 含量用双抗体法测定^[14],而血清中 $17\beta\text{-E}_2$ 则用上海市内分泌研究所药盒^[15](简称药盒 A)和上海市计划生育研究所药盒^[17](简称药盒 B)的方法,稍加改进后进行。

(1) 试剂 0.1%、0.5%明胶-磷酸缓冲液(0.1M GPBS, pH7.2)、葡聚糖加膜活性炭(D. C. C)、闪烁液的配制均按常规进行。

$17\beta\text{-E}_2$ 标准液-用倍比稀释法,每管为 400、200、100、50、25、12.5 微微克(pg)或者用 1600、800、400、200、100、50、25 毫微微克分子浓度(fmol),用于建立标准曲线。

$17\beta\text{-E}_2$ 氟标——工作液浓度为 10.0 μl \approx 13000cpm 或者用 0.1ml \approx 8000cpm。

$17\beta\text{-E}_2$ 抗血清—0.2ml 工作液,用 1:4000—1:15000 抗血清或用 0.1ml 工作液 1:8000 抗血清。

(2) 操作步骤 药盒 A 操作法:按标准曲线的检测范围稀释血清,取 0.5ml,经乙醚(3ml)抽提后,回旋振荡混匀,静置片刻速冻分层,倒出抽提液置 40—50°C 水浴中蒸干抽提液(二次抽提),然后加入氟标 $^3\text{H}\text{-}17\beta\text{-E}_2$ 10 μl \approx 13000cpm,同法蒸干后,各管加 0.2ml 1:4000 或 1:15000 抗血清,回旋振荡混匀,置 4°C 温育 16—24 小时后,将试管移入 4°C 冰水浴中,每管加 0.1ml 0.5% 的 GPBS,经片刻再加 0.5ml D. C. C (0.25%) 振摇 10 分钟后,离心 10 分钟(3000 转/分),取上清液按编号倒入闪烁杯内,再注入 8ml 闪烁液,加盖后,回旋振荡 30 秒,避光 4 小时后进行计数。

药盒 B 操作法:血清经乙醚抽提二次后,根据待测样品浓度用 0.1% GPBS 稀释血清。按下列顺序加入以下试剂:血清样品 0.5ml, $^3\text{H}\text{-}17\beta\text{-E}_2$ (0.1ml \approx 8000cpm) 0.1ml, $17\beta\text{-E}_2$ 抗血清(1:8000) 0.1ml。回旋振荡混匀后,在 4°C 温育 16—24 小时,次日在冰水浴中加入 D. C. C (0.625%) 0.2ml,以后操作法同药盒 A。

(3) 血清中 $17\beta\text{-E}_2$ 含量计算 血清样品 $17\beta\text{-E}_2$ 含量计算,按建立的标准曲线求得: $17\beta\text{-E}_2$ 的标准品的剂量对竞争抑制率 B/B_0 $\left(\frac{\text{标准管或样品管(cpm)}}{\text{零标准管(cpm)}} \times 100\% \right)$ 作图。纵座标 B/B_0 作 Logit 变换,横座标取剂量的对数(图 1)。

药盒 A 标准曲线方程为 $x = \log^{-1} \left[1.8073 - 0.4697 \ln \frac{B/B_0}{1 - B/B_0} \right]$ $r = -0.998$, 检测

范围为 10—400pg/管, $s = 0.023$, (回归线的标准差),方法灵敏度为 2.36 pg。

药盒B 标准曲线方程为 $x = \log^{-1} \left[1.8353 - 0.4616 \ln \frac{B/B_0}{1 - B/B_0} \right]$, $r = -0.998$, 检测范

围为 25 fmol (6.8pg)—1600 fmol (435pg), $s = 0.051$, 方法灵敏度为 9.1fmol(2.50pg)。

(4) 鉴定 为了验证药盒对团头鲂等鱼类血清 17β-E₂ 测定的可行性进行下列测试鉴定。

血清样品抽提率——用 0.1ml³H-17β-E₂ 与欲测血样混匀经乙醚二次抽提后,液闪计数测定,抽提率为 91%($N = 7$)。

准确性——用低浓度 17β-E₂ 的团头鲂血清,添加标准 17β-E₂ (50,100,150,200pg) 量和回收量的比值来表示回收率的高低。回收率越高,方法越准确,平均回收率为 $92.81 \pm 8.61\%$ ($N = 15$),见图 2。

分别取团头鲂血样 0.125、0.25、0.50、1.00ml 进行测定,经计算得出每管血清 17β-E₂ 的绝对量与其相对取样作图。其图形基本上是一条通过原点的直线, $r = 0.9923$ (图 3)。表明血清取样 0.125—1.00ml 时,结果基本一致,完全适用于团头鲂血清 17β-E₂ 含量测定。

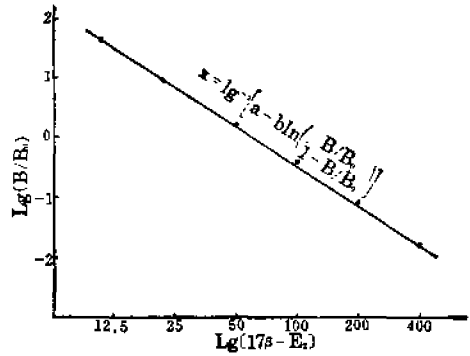


图 1 标准曲线 logit 变换
Fig. 1 Logit transformation of standard curve

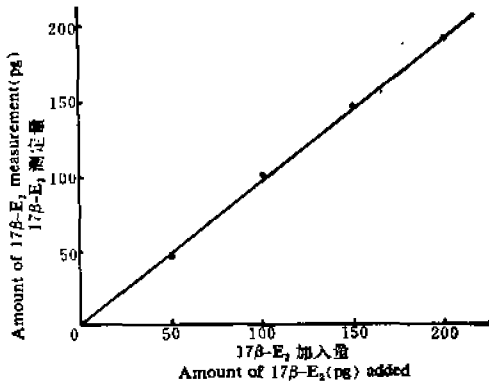


图 2 17β-E₂ 回收试验
Fig. 2 Recovery test of 17β-E₂

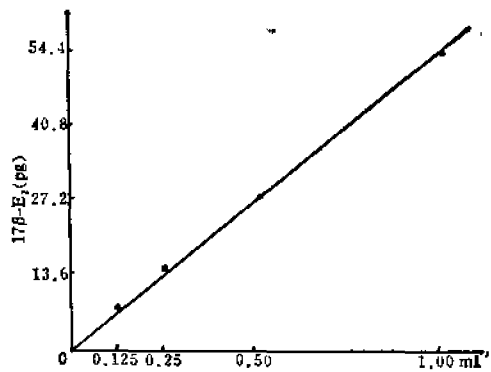


图 3 血清倍比稀释试验
Fig. 3 Dilution test of serum

抗血清的特异性——在团头鲂血清中加入一定量六种不同甾体激素对 17β-E₂ 抗血清作交叉试验,其相对结合率见表 1。

以上结果表明, 17β-E₂ 抗血清交叉程度小,专一性高,特异性强。

表1 六种甾体激素与 $17\beta\text{-E}_2$ 抗血清的相对结合率Table 1 Percentage Cross-Reaction of Six Steroids with $17\beta\text{-E}_2$ Antiserum

激素名称 Steroids	雌酮 Oestrone	雌二醇 Oestriol	孕酮 Progesterone	睾酮 Testosterone	皮质醇 Cortisol	皮质酮 Corticosterone
相对结合率 Binding Rate(%)	<3.20	<2.99	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01
样品数 N	10	8	7	8	7	5

试验结果

饲养在池塘里的雌性团头鲂,当性腺发育到第IV期且未受到外界环境因子的刺激(水流、温度等)时,不会在池塘里自行产卵,其血清中GTH含量仍然很低,为 $7.71 \pm 6.29\text{ng/ml}$ ($N=15$)。随着水温的升高(达到 25°C 左右),注射LRH-A($10\text{--}100\mu\text{g/kg}$)后,24小时内,产卵的团头鲂雌亲鱼血清中GTH的含量显著增加,为 $133.70 \pm 114.29\text{ng/ml}$ ($N=10$),比催产前增加13—17倍, P 值 <0.01 。而注射LRH-A后,未能产卵的雌鱼,其血清中GTH的含量也同样增加,为 $28.40 \pm 21.00\text{ng/ml}$ ($N=5$),与催产前相比,增加3—5倍,远比产卵雌鱼为低。催产后,产卵与不产卵团头鲂雌亲鱼血清GTH的含量有显著差异($P<0.02$)。试验结果见表2、图4。

表2 雌团头鲂LRH-A催产前后血清中GTH含量的变化

Table 2 Changes of serum GTH level in female blunt snout
bream induced spawning with LRH-A⁽¹⁾

取血时间 sampling time	血清中GTH含量 serum GTH level (ng/ml $\bar{X} \pm S. D. (N)^{(2)}$)			
	产卵 spawning	P	未产卵 unspawning	P
催产前 before induced spawning	$7.71 \pm 6.29(15)$		$7.71 \pm 6.29(15)$	
催产后 after induced spawning	$133.70 \pm 114.29(10)$	<0.01	$28.40 \pm 21.00(5)$	<0.05

(1) LRH-A注射剂量为 $10\text{--}100\mu\text{g/kg}$; (2) $\bar{X} \pm S. D. (N)$ 为“均值 \pm 标准差(检测尾数)”

(1) Injecting doses of LRH-A is $10\text{--}100\mu\text{g/kg}$; (2) $\bar{X} \pm S. D. (N)$ = mean \pm standend daviation (numbers of tested fish)

性腺发育处于第IV期发育阶段以后的雌性团头鲂,催产前血清中 $17\beta\text{-E}_2$ 的含量,分别为 $1392.71 \pm 399.09\text{pg/ml}$ ($N=6$)和 $1219.29 \pm 420.51\text{pg/ml}$ ($N=10$)。当用人绒毛膜促性腺激素加鲤鱼垂体(HCG + CPG)($1250\text{I}\cdot\text{U} + 2\text{mg/kg}$)或者用LRH-A($10\text{--}100\mu\text{g/kg}$),注射后血清中 $17\beta\text{-E}_2$ 都显著下降,分别为 $346.71 \pm 129.51\text{pg/ml}$ ($N=4$)和 $324.28 \pm 228.00\text{pg/ml}$ ($N=10$)。用两种催产剂分别催产后,血清中 $17\beta\text{-E}_2$ 的含量都比催产前下降,均值显著性测验都有明显差别, $p<0.001$,见表3、图5。

雌、雄团头鲂亲鱼性腺发育在不同阶段时, $17\beta\text{-E}_2$ 含量变动显然不同。雌鱼性腺从第II期发育到第IV期,性腺成熟系数逐渐上升,血清中 $17\beta\text{-E}_2$ 也随着性腺发育和卵黄

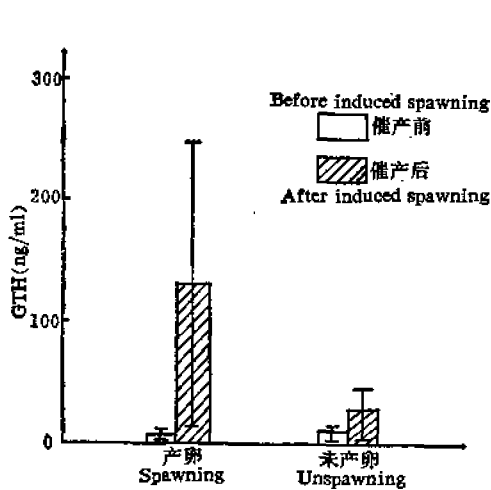


图4 雌团头鲂 LRH-A 催产前后血清中 GTH 含量的变化

Fig. 4 Changes of serum GTH level in female blunt snout bream induced spawning with LRH-A

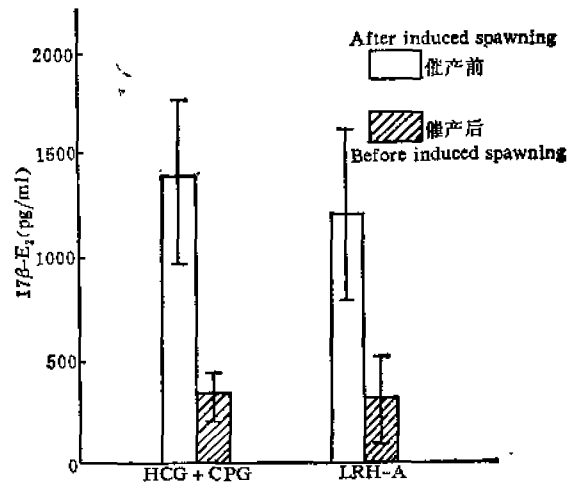


图5 雌团头鲂催产前后血清中 17 β -E₂ 含量的变化

Fig. 5 Changes of serum 17 β -E₂ level in female blunt snout bream induced spawning

表3 雌团头鲂催产前后血清中 17 β -E₂ 含量的变化

Table 3 Changes of serum 17 β -E₂ (pg/ml) level in female blunt snout bream induced spawning with LRH-A

取血时间 sampling time	HCG + CPG* (1250IU + 2mg/kg)	P	LRH-A (10-100 μ g/kg)	P
催产前 before induced spawning	1392.71 \pm 399.09(6)	<0.001	1219.29 \pm 420.51(10)	<0.001
催产后 after induced spawning	346.71 \pm 129.51(14)		324.28 \pm 228.00(10)	

* CPG 为鲤鱼脑垂体。 CPG means pituitary gland of carp

表4 团头鲂性腺不同发育阶段 17 β -E₂ 含量的变化

Table 4 Changes of serum 17 β -E₂ level during different stages of gonad development in blunt snout bream

性腺发育阶段 gonad developing stages	雄 鱼 male		雌 鱼 female		P
	X \pm S.D.(N)				
	GSI (%)	17 β -E ₂ (pg/ml)	GSI (%)	17 β -E ₂ (pg/ml)	
II	0.50 \pm 0.16(7)	233.24 \pm 88.36(7)	0.85 \pm 0.35(5)	217.76 \pm 138.37(5)	<0.01
III	2.85 \pm 0.56(5)	82.04 \pm 38.67(5)	2.92 \pm 1.23(5)	636.55 \pm 201.16(5)	<0.05
IV	3.17 \pm 1.36(10)	49.01 \pm 19.56(10)	5.53 \pm 4.18(11)	2004.11 \pm 1136.31(11)	
催情产卵后 after induced spawning		123.44 \pm 42.08(7)		350.67 \pm 191.54(27)	>0.01

迅速积累而升高,达到一个峰值。过后,略有下降,催情产卵后,显著下降。雄鱼则出现与雌鱼相反情况,性腺从第 II 期发育到第 IV 期成熟系数逐渐上升, $17\beta\text{-E}_2$ 则逐渐下降,排精后,略微上升,见表 4、图 6。

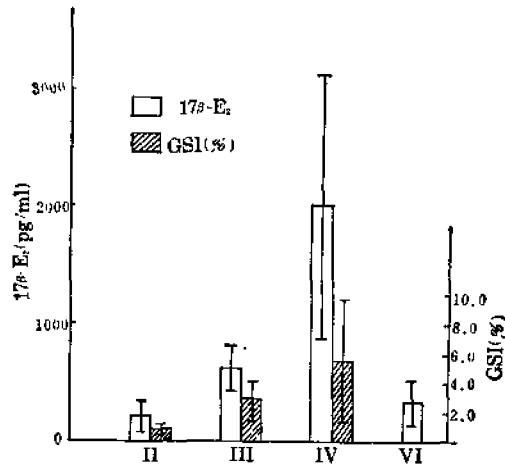


图6 团头鲂卵巢在不同发育阶段时 $17\beta\text{-E}_2$ 含量的变化
Fig. 6 Changes of serum $17\beta\text{-E}_2$ level during different stages of gonad development in female blunt snout bream

讨 论

鲑鳟鱼类和鲤科鱼类,自然产卵或人工催情产卵,都表现为产卵前血清(或血浆)的GTH水平比较低,临产时和产卵后则呈现血清(或血浆)GTH的明显上升。例如,红大麻哈鱼(*Oncorhynchus nerka*)自然产卵前血浆的GTH含量雄性为 $4.1 \pm 2.4\text{ng/ml}$,雌性为 $4.1 \pm 0.8\text{ng/ml}$,产卵时,血浆的GTH含量雄性为 $17.3 \pm 2.6\text{ng/ml}$,雌性为 $364.0 \pm 21.3\text{ng/ml}$ ^[10]。鲤鱼自然产卵也表现为产卵前低,雄性为 $3.0 \pm 1.85\text{ng/ml}$,雌性为 $5.3 \pm 3.59\text{ng/ml}$;发情排精、产卵时,雄性为 $10.0 \pm 6.61\text{ng/ml}$,雌性为 $256.0 \pm 54.63\text{ng/ml}$ ^[8]。草鱼产卵前,雌性为 $8.9 \pm 1.10\text{ng/ml}$ 、鲢鱼为 $7.5 \pm 5.13\text{ng/ml}$;产卵后,草鱼为 $321.3 \pm 70.73\text{ng/ml}$,鲢鱼为 $202.5 \pm 69.25\text{ng/ml}$ ^[9]。本试验的团头鲂也出现同样情况,产前雌性为 $7.71 \pm 6.29\text{ng/ml}$,产后为 $133.7 \pm 114.29\text{ng/ml}$,而人工催情后未曾产卵的亲鱼的GTH水平就不很高,雌性团头鲂为 $28.40 \pm 21.00\text{ng/ml}$ 。由此可见,鲑鳟鱼类和鲤科鱼类产卵时和产卵后血清(或血浆)中GTH都明显地升高,这一升高值,对某一种鱼是有一定范围,可以作为该种鱼产卵指标,这是种间差异所造成的。但也不能忽视放射免疫抗原的纯度以及抗血清专一性强弱不同所造成的测定值的差异。一般可以认为,临产时和产卵后,GTH水平总比产卵前高出十余倍乃至数十倍。所以,血清中GTH在产卵前后这一释放规律,似乎在鱼类繁殖过程中都普遍存在。它是调节、控制鱼类排精、产卵过程中起着至关重要的作用,并由它来调控性激素的合成和释放,进一步完成性腺的发育、成熟的全过程。

用不同的催产剂(HCG + CPG 或 LRH-A)进行催产,催产后, $17\beta\text{-E}_2$ 水平都未见显

著差别,似乎可以证明外源的促性腺激素与鱼类自身分泌的内源 GTH 对鱼类本身的 $17\beta\text{-E}_2$ 的释放,其生理效能是相同的。

团头鲂卵巢还未发育成熟时,血清中 $17\beta\text{-E}_2$ 的含量低,可能由于单胺氧化酶活性增强,并以儿茶酚胺为媒介抑制催乳素的释放,而增强了垂体中腺苷酸环化酶的活力,进而诱发垂体 GTH 的合成和积累;待卵巢发育成熟时,血清中 $17\beta\text{-E}_2$ 含量增高,抑制了单胺氧化酶的活性,降低了下丘脑内源性 GnRH 的大量释放和 GTH 的大量分泌^[20]。但此时,下丘脑仍然保持 GnRH 的正常释放,维持血清中 GTH 保持一个低的水平量。由此可见,即使在产卵季节,性腺已充分成熟,当还未受到外界生态条件的刺激或人工催情,就不能形成 GTH 的释放高峰,也就不能导致排卵和产卵。一旦外源 LRH 或 LRH-A 进入性腺发育已充分成熟的鱼体内或适宜的生态条件,使得垂体中已大量合成和积累的 GTH,一触即发,大量释放,形成催情产卵时血清(或血浆)中的 GTH 高峰。从本试验结果分析看来,团头鲂性腺未成熟时, $17\beta\text{-E}_2$ 可能作用下丘脑-垂体轴以刺激 GTH 的合成和积累,呈现为正反馈;当团头鲂性腺发育成熟时, $17\beta\text{-E}_2$ 抑制下丘脑-垂体轴对 GTH 的释放,呈现为负反馈作用^[21,22]。待垂体大量分泌 GTH 使得血液中出现高水平 GTH 时,则又反过来抑制性腺 $17\beta\text{-E}_2$ 的分泌,这可用高剂量 GTH 组织培养鱼卵巢块,其卵巢 $17\beta\text{-E}_2$ 释放量比用低剂量 GTH 培养为低^[23]。由此可以推断, $17\beta\text{-E}_2$ 与下丘脑-垂体轴在鱼类性腺发育与繁殖过程中,形成一套自动化的控制程序,来调节性腺的发育、成熟以至于发情、产卵的完成。

团头鲂性腺发育在不同阶段时, $17\beta\text{-E}_2$ 的含量变化规律与卵黄的形成、积累呈现密切相关性,实验表明,第 II 期卵巢时,成熟系数为 $0.85 \pm 0.35\%$, $17\beta\text{-E}_2$ 的含量处于低水平— $217.76 \pm 138.37\text{ng/ml}$,随着性腺发育到第 III 期,卵黄开始积累、成熟系数开始上升为 $2.92 \pm 1.23\%$ 时,而 $17\beta\text{-E}_2$ 的含量也出现明显上升到 $636.55 \pm 201.66\text{ng/ml}$ 。性腺发育到达第 IV 期,处于卵黄充满阶段,成熟系数为 $5.53 \pm 4.18\%$,血清中 $17\beta\text{-E}_2$ 到达一个峰值,含量为 $2004.11 \pm 1136.31\text{ng/ml}$ 。过后,血清中 $17\beta\text{-E}_2$ 含量略有下降,含量为 1392.71 ± 399.09 和 $1219.29 \pm 420.51\text{pg/ml}$,催情产卵后,血液中 $17\beta\text{-E}_2$ 的含量在短时间内迅速下降,并逐渐恢复到卵巢发育第 II 期水平,含量为 $350.67 \pm 191.54\text{ng/ml}$ 。可见,团头鲂 $17\beta\text{-E}_2$ 这一周期性的变化与性腺发育和卵巢成熟系数密切相关,特别与卵母细胞的卵黄形成和积累更为密切相关。当卵巢发育过程中,血清中 $17\beta\text{-E}_2$ 含量逐渐上升时,在 $17\beta\text{-E}_2$ 的刺激下,血浆中的特异性血浆蛋白质增高,通过血液循环,输送到卵内,作为卵母细胞卵黄形成和积累的物质基础^[16,23,25]。伴随着成熟系数的上升,卵巢进一步的发育成熟。雄鱼在性腺发育成熟过程中不存在卵黄的形成和积累过程,无需 $17\beta\text{-E}_2$ 的刺激,因此,随精巢的发育, $17\beta\text{-E}_2$ 不是上升,而是含量逐渐下降,一直维持在一个低水平。综上所述,我们可以设想,在卵黄积累阶段,某些鱼类给予一定量的外源性 $17\beta\text{-E}_2$,或许可能推进雌性卵母细胞营养物质的积累,进一步加速卵巢的发育,这在鱼类繁殖生产实践中,可能成为促使性腺发育的有效途径。

参 考 文 献

- [1] 经济鱼类激素应用总结交流会,1975。合成的丘脑下部促黄体素释放激素(LRH)对家鱼催情产卵的试验。科

- 学通报,20(1):43—48。
- [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。生物化学与生物物理学报,8(2):107—114。
- [3] 经济鱼类激素应用研究协作组,1976。一种新的高效能的鱼类催产剂——促黄体生成素释放激素类似物的应用。中国科学,4:388—393。
- [4] 福建、江苏、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。生物化学与生物物理学报,9(1):15—24。
- [5] 中国科学院北京动物研究所内分泌研究室细胞组、湖北省长江水产研究所养殖研究生殖组,1977。丘脑下部促黄体素释放激素(LH-RH)对草鱼的催产作用——垂体和卵巢的组织化学研究。中国科学,6:593—599。
- [6] 中国科学院北京动物研究所内分泌研究室细胞组、湖北省长江水产研究所养殖研究室生殖组,1977。丘脑下部促黄体素释放激素(LH-RH)对草鱼的催产作用——垂体促性腺细胞的亚显微结构研究。6:600—602。
- [7] 方永强等,1981。丘脑下部促黄体素释放激素类似物(LRH-A)的作用机制 I. 脑垂体组织生理学的研究。动物学报,27(3),203
- [8] 赵维信、黄世蕉、姜仁良,1979。鲤鱼产卵前后血清中促性腺激素含量的动态变化。动物学杂志,2:8—5。
- [9] 姜仁良、黄世蕉、赵维信,1980。草鱼、鲢鱼催产前后血液中促性腺激素含量的变动。水产学报,4(2):129—138。
- [10] 潘家秀、王育西等,1980。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。
- [11] 许谷昆、沈仁澄等,1981。产卵季节LRH-A对鲤、鲢、草鱼促性腺激素分泌的诱导。水产学报,5(2):103—109。
- [12] 林浩然,1982。硬骨鱼类促性腺激素的分泌及其调节机制。水生生物集刊,7(4):551—562。
- [13] 龚岳亭,1977。一些多肽激素与生殖之间的关系。生物化学与生物物理学报,9(1):1—13。
- [14] 厦门水产学院鱼类生殖生理科研小组、中国科学院上海生物化学研究所多肽激素组,1978。鲤鱼(*Cyprinus carpio* L.)血清促性腺激素的放射免疫测定。生物化学与生物物理学报,10(4):399—407。
- [15] 丁露等,1979。血浆雌二醇的放射免疫测定。1979年全国竞争放射分析技术交流会会议论文选编,164—170。
- [16] 会田胜美・ファン・バン・ガン・日比谷京,1973。鱼类の生殖腺成熟に関する生理学的研究—I 生殖腺成熟に伴うラアユの血浆蛋白組成の雌雄差。日本水産学会誌,39(11):1091—1106。
- [17] Programme for the Provision of Matched assay Reagents for the Radiomunoassay of Hormones in Reproduction Physiology Method manual 4 ed. Jan. 1980. 38—42。
- [18] Kraak, G.V. D., Lin, H. R. et al., 1983. Effects of LH-RH and des-Gly¹⁰ D-Ala⁶ LH-RH-ethylamide on Plasma Gonadotropin Levels and Oocyte Maturation in Adult Female Coho Salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, 49: 470—476。
- [19] Crim L. W., watts E. G. and D. M. Evans, 1975. The Plasma Gonadotropin Profile during Sexuel Maturation in a Variety of Salmonid Fishes. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 27: 62—70。
- [20] Olcese, J., de Vlaming. V., 1979. In Vitro Estradiol-17 β Actions On Hypothalamic Monoamine Oxidase Activity in the Goldfish, *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 39, 110—114。
- [21] Bommelaer Marie-Chorlotte, Billerd R., Braton B., 1981. Changes in Plasma Gonadotropin after Ovariectomy and Estradiol Supplementation at Different Stages at the End of the Reproductive Cycle in the Rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Reprod., nutr., develop.*, A21: 989—997。
- [22] Peter, R. E., 1982. Neuroendocrine Regulation of Gonadotropin at the Onset of Gonadal Development, and at Ovulation, Spermiation, and Spawning. International Symposium On Reproductive Physiology of Fish.. Netherlands 2—6。
- [23] Zhao, Wei-Xin, and Wright R. S., 1984. The Course of Steroid Release by Vitellogenic Follicles of Atlantic Salmon (*Salmo Solar*) Incubated in Vitro With and without Gonadotropin.(待发表)
- [24] Van Bohemen, Ch. G., Lambert, J. G. D., Von Oordt, P. G. W. J., 1982. Vitellogenin Induction by Estradid in Estrone-Primed Rainbow Trout, *Salmo Gairdneri*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 46, 136—139。
- [25] Lambert, J.G.D., Bosman, G. I. C. G. M., Van Den Hurk R., Van Oordt, P. G. W. J., 1978. Annual Cycle of Plasma Oestradiol-17 β in the Femele Trout *Salmo Gairdneri*. *Ann. Biol. anim. Bi-*

och, Biophys., 18(4), 923—927..

CHANGES OF GONADOTROPIN AND 17β -OESTRADIOL CONTENTS IN SERUM DURING INDUCED SPAWNING OF BLUNT SNOUT BREAM WITH LRH-A

Jiang Renliang, Huang Shijiao, Zhao Weixin and Zhou Hongqi

(Shanghai Fisheries University)

ABSTRACT Radioimmunoassay (RIA) has been applied for 17β -oestradiol (17β -E₂) in fish serum. Synthetic analogue of hypothalamic luteinizing hormone (LRH-A) has been used as a stimulant for induced spawning in blunt snout bream. Both serum gonadotropin (GTH) and 17β -E₂ levels have been measured by means of RIA. For 17β -E₂ RIA, the accuracy (recovery, $92.8 \pm 8.16\%$), specificity (cross-reactions with oestrone and oestriol < 3.20 and 2.99%) and sensitivity (Minimum measurement, 2.36 — 2.50 pg) have been determined. The standard curve, $r = -0.998$, $s = 0.023$ — 0.051 , measurement range was from 10 to 400 pg/tube. After injection of LRH-A, serum GTH level rose to about 17 times of prespawning, while only 3—5 times in unspawning fish. This showed changes in serum GTH were similar to that of grass carp and silver carp during induced spawning.

Serum 17β -E₂ levels and gonado-somatic index (GSI) rose synchronally during the development of ovary. At stage IV of ovary, serum 17β -E₂ reached to a peak level of 2004.11 ± 1136 pg/ml. That peak level may be supposed as a sign of quick accumulation of yolk in the oocytes. It was found that 17β -E₂ level slightly declined to 1392.71 ± 399.09 and 1219.29 ± 420.51 pg/ml just before induced injection. Postspawning, 17β -E₂ sharply decreased to 346.7 ± 129.51 and 324.28 ± 228.00 pg/ml. In contrast to male fish, 17β -E₂ levels progressively decreased during the development of testis, and kept in low levels.

KEY WORDS RIA, 17β -oestradiol (17β -E₂), gonadotropin (GTH), blunt snout bream