

虹鳟排卵前后血清中性类固醇 激素浓度变化的研究*

赵维信

(上海水产大学)

提要 对虹鳟(*Salmo gairdneri*) 排卵前后血清中 17β -雌二醇(17β - E_2), 睾酮(T)和 17α -羟- 20β -双氢孕酮(17α 20β P)的含量进行了测定。 17β - E_2 从排卵前15天的 18.1ng/ml 急骤下降到排卵前3—6天的 2ng/ml , 并继续下降, 至排卵时仅为 0.9ng/ml 。睾酮在虹鳟雌鱼血清中的含量很高, 血清浓度从排卵前9天的峰值水平 143.3ng/ml 缓慢下降, 排卵时为 24.3ng/ml 。 17α 20β P 的血清浓度变化明显, 排卵前15天, 该激素浓度接近于基线水平或甚至低得不能被检测, 排卵前9天开始迅速上升, 到排卵前3天达到峰值 350.6ng/ml , 排卵时为 302.2ng/ml 。本研究进一步证实了 17α 20β P 在鲑鳟鱼类卵母细胞最后成熟过程中的生理作用, 是一种诱发卵母细胞成熟的类固醇激素。临排卵前, 血清 17β - E_2 浓度的下降, 可能调节了 17α 20β P 大量分泌的时间; 17α 20β P 的大量分泌是卵母细胞达到最后成熟和排卵不可缺少的一环。注射合成的大麻哈鱼(*Oncorhynchus keta*) 促性腺激素释放激素(s-GnRH) 及其类似物(s-GnRH-A), 诱发虹鳟血清类固醇激素 17β - E_2 , 睾酮和 17α 20β P 的变化趋势与自然排卵时的变化相类似。经注射药物诱发排卵的鱼, 较对照组提早一周排卵, 而且排卵较同步和集中。

主题词 虹鳟, 血清类固醇激素, 诱导排卵, 鲑 GnRH 及其类似物

虹鳟(*Salmo gairdneri*) 是欧美以及日本、朝鲜等国家的主要养殖鱼类之一。1959年我国从国外引进后, 相继在黑龙江、吉林、北京、山西、四川和浙江等省市进行了虹鳟养殖, 并已开始逐步批量供应市场。由于虹鳟肉厚, 刺少, 所以欧美等国人民颇为喜爱。随着养殖生产的发展, 虹鳟必定也会成为我国人民喜爱的水产品之一。

关于虹鳟养殖的研究, 国外开展得较为广泛, 有关虹鳟内分泌调节方面的研究, 从六十年代开始以来迅速发展起来。 17β - E_2 与性腺发育的关系已较早地为大家所认识, 血液中 17β - E_2 的浓度随着卵黄的发生而增加, 形成卵黄发生末期的高峰值^[5, 21]。近来又发现雌鱼血液中含有相当高的雄性激素——睾酮, 其血清浓度甚至高于雄鱼, 这已在许多种性成熟雌鱼中发现, 如大西洋鲑、太平洋鲑, 鲈(*Pleuronectes platessa*), 黄盖鲈(*Pseudopleuronectes americanus*), 鳕(*Gadus morhus*) 和虹鳟等。加拿大的 Idler^[19] 第一次从红大麻哈鱼(*Oncorhynchus nerka*) 的雌鱼血液中分离和鉴定出 17α -羟- 20β -双氢孕酮(17α 20β P) 以来, 引起大家极大兴趣, 活体和离体的研究都证明这种激素在鱼类卵母细胞最

* 本文承蒙陆桂教授审阅, 提出宝贵意见, 特此致谢。

后成熟和排卵中的重要生理作用。

本试验测定了虹鳟排卵前后血清中 $17\beta\text{-E}_2$ 、睾酮和 $17\alpha\text{20}\beta\text{P}$ 的浓度变化,以便探索这些性激素在鱼类繁殖过程中的生理作用和了解鱼类卵母细胞成熟和排卵的机制,为虹鳟养殖和人工繁殖提供科学的理论依据。由于试验是在排卵前后的三个星期内连续取血样进行分析测定,因此有可能掌握自然排卵状况下,这些性激素变化的确切时间,为今后人工控制排卵奠定基础。另外本试验还对新合成的鲑促性腺激素释放激素(s-GnRH)及其类似物(s-GnRH-A)的作用进行了初步的探讨。

材料与方 法

本试验是作者在英国阿伯丁海洋研究所(DAFS, Marine Laboratory, Aberdeen)进

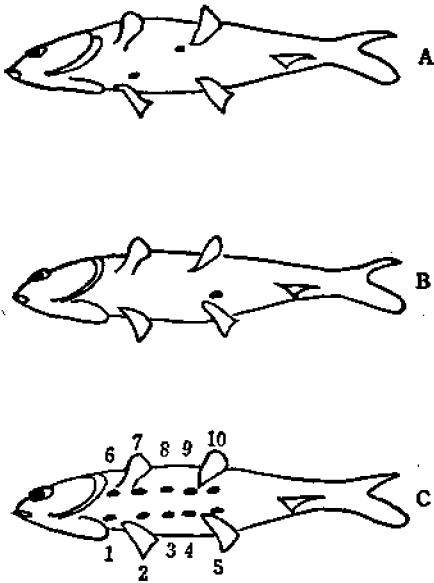


图1 虹鳟(*Salmo gairdneri*)编号示意图
Fig. 1 Rainbow trout (*Salmo gairdneri*) with marking spots.

- A. 示编号的十个基本位置 B. 示“5”号鱼
C. 示“29”号鱼
A. Ten positions of marking sport.
B. fish 5 C. fish 29

行的。22尾二龄虹鳟雌鱼,体重600—1000克,饲养在水族箱内,水深60公分,流水,送气和自然光照条件下。试验鱼每隔3—6天尾静脉抽血一次。试验鱼采用医用接种器将爱尔兰(Alcain Blue)染料喷射在鱼的腹部,进行逐条编号。共十个基本位置,为分布在左右侧胸腹鳍前后的蓝绿色斑点(见图1),不同位置的斑点的排列组合,可形成上千个编号。

每次抽血时用50ppm苯唑卡因(Benzocaine)将鱼麻醉后进行。然后分离血清, -40°C 保存。

试验分两次进行,第一次于1983年12月至1984年1月,在室内水族箱内进行,水温 10°C ,试验鱼分成两组,一组注射生理盐水作为对照组,一组注射s-GnRH-A,作为处理组。s-GnRH-A由上海水产大学合成,为九肽化合物(焦谷-组-色-丝-酪-甘-色-亮-脯-乙基酰胺),注射剂量为 $0.05\text{mg}/\text{kg}$ (第一次注射)和 $0.2\text{mg}/\text{kg}$ (间隔三天进行第二次注射)。第二次试验于1984年3月,在室外水族箱内进行,水温 5.5°C 。对照组注射生理盐水,处理组注射s-GnRH^[27],由

上海水产大学合成,为十肽化合物(焦谷-组-色-丝-酪-甘-色-亮-脯-甘-酰胺),注射剂量为 $0.04\text{mg}/\text{kg}$ (第一次注射)和 $0.1\text{mg}/\text{kg}$ (间隔三天进行第二次注射)。

测定方法 运用放射免疫测定法进行血清中 $17\beta\text{-E}_2$ 、睾酮和 $17\alpha\text{20}\beta\text{P}$ 浓度的测定。鼠标 $17\beta\text{-E}_2$ 和鼠标睾酮购自英国放射中心;鼠标 $17\alpha\text{20}\beta\text{P}$ 是根据 Wright 和 Hunt 的方法,用鼠标 17α -羟孕酮制备的^[30]。 $17\beta\text{-E}_2$ 和睾酮抗血清购自英国 Steranti Ltd, $17\alpha\text{20}\beta\text{P}$ 抗血清由英国农业、渔业、食品部,罗斯托福渔业研究所, Scott 博士赠送

的。用于测定的血清样品免去了抽提和纯化等繁琐手续,而代之以用加热处理血清样品的方法(根据 Wright^[22] 和 Scott^[25] 的方法略加修改)使内源的血浆结合蛋白灭活。用 20 μ l 血清加缓冲液至 1.5ml,经充分搅匀后,在 100°C 水浴中加热 20 分钟,然后分别取 50 μ l, 100 μ l 和 200 μ l 进行常规 17α 20 β P, 睾酮和 17β -E₂ 的放射免疫测定^[28]。各测定管加入相应的 100 μ l ³H-标记类固醇,100 μ l 相应的抗血清;在 4°C 温育过夜,再加入 0.5ml 活性炭葡聚糖, 17β -E₂ 经 15 分钟旋转混合, 睾酮和 17α 20 β P 经 40 分钟旋转混合后,离心(3000 转/分,10 分钟),各管吸出 0.4ml 上清液放入闪烁杯内,各加 10ml 闪烁液,用 β 计数器计数。

结 果

一、1983 年 12 月至 1984 年 1 月的试验,所用之鱼,经第一次注射后三天,7 尾鱼出现排卵,表明这些鱼在使用前已接近排卵,经测定 17α 20 β P, 其血清浓度已达到 185—427 ng/ml, 所以将这 7 尾鱼与非注射组鱼合并作为虹鳟自然排卵时,性激素释放规律和血清中性激素浓度变化的研究。(见图 2)

图 2 指出,排卵前 15 天, 17β -E₂ 血清浓度为 18.1 ng/ml, 随后急剧下降,排卵前 3 天,为 1.5 ng/ml, 排卵时仅为 0.9 ng/ml, 排卵后 6 天,血清 17β -E₂ 浓度 < 0.5 ng/ml。睾酮在虹鳟雌鱼血清中的浓度相当高,排卵前 15 天为 78.3 ng/ml, 约为 17β -E₂ 的四倍。排卵前 9 天,上升到 143.3 ng/ml, 然后逐渐下降,排卵时为 27.4 ng/ml, 排卵后 6 天为 12.5 ng/ml。 17α 20 β P 的血清浓度在排卵前 15 和 12 天低于 0.5 ng/ml 或检测不出。排卵前 9 天为 5.3 ng/ml, 之后 17α 20 β P 的血清浓度急剧升高,至排卵前 3 天,达到峰值 350.6 ng/ml, 排卵时(能较流畅地挤出卵), 17α 20 β P 的浓度略有下降,为 302.2 ng/ml, 排卵后 6 天降至 246 ng/ml。

二、注射 s-GnRH-A 组的 4 尾鱼

与注射生理盐水组的 3 尾鱼。经注射后 9 天, s-GnRH-A 组的 3 尾鱼出现排卵, 1 尾未排。对照组鱼均未排卵。处理组剩下的 1 尾在第一次注射后 15 天排卵,对照组的 3 尾在第一次注射后 15—21 天相继排卵。第一次注射后至第 9 天,处理组排卵的 3 尾鱼与对照组未排卵的 3 尾鱼,不同时间取血样分析,血清 17β -E₂、睾酮和 17α 20 β P 的浓度变化见

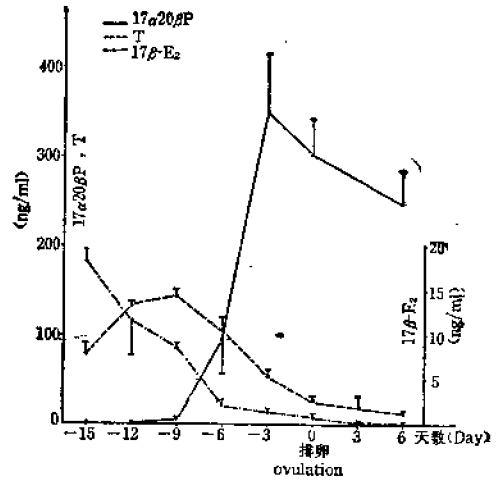


图 2 虹鳟排卵前后血清中 17β -E₂, 睾酮和 17α 20 β P 浓度变化

Fig. 2 Changes of serum levels of 17β -oestradiol (17β -E₂), testosterone (T) and 17α -hydroxy-20 β -dihydroprogesterone (17α 20 β P) during natural ovulation in rainbow trout.

各点为 10 尾鱼的平均值 \pm 标准误 Each point represents the mean \pm standard error (M \pm SE) of ten fish samples.

图 3,4,5。

1. $17\beta\text{-E}_2$ 血清浓度变化(见图 3) 经 s-GnRH-A 第一次注射后, $17\beta\text{-E}_2$ 血清浓度迅速降低,在第二次注射前的浓度仅为 3.1ng/ml;第二次注射 s-GnRH-A 后 6 天, $17\beta\text{-E}_2$ 下降到 0.9ng/ml,出现排卵。注射生理盐水的对照组,在第二次注射后 6 天, $17\beta\text{-E}_2$ 血清浓度为 2.4ng/ml,与药物处理组排卵前 6 天的水平相接近(3.1ng/ml),未出现排卵。

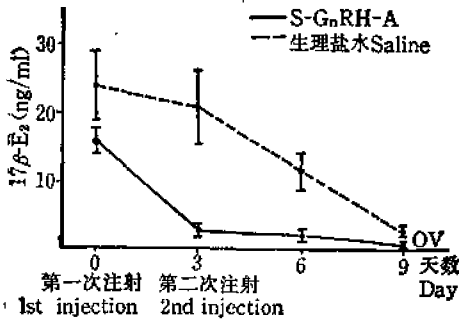


图 3 虹鳟(*Salmo gairdneri*)经注射 s-GnRH-A 后 9 天,排卵(OV)的三尾鱼与注射生理盐水未排卵的三尾鱼,血清中 $17\beta\text{-E}_2$ 浓度的变化。各点为三尾鱼的平均值 \pm 标准误(M \pm SE)。

Fig. 3 Changes of serum $17\beta\text{-E}_2$ level in three ovulated fish induced with s-GnRH-A and three control fish injected with saline. Each point represents M \pm SE ($n=3$).

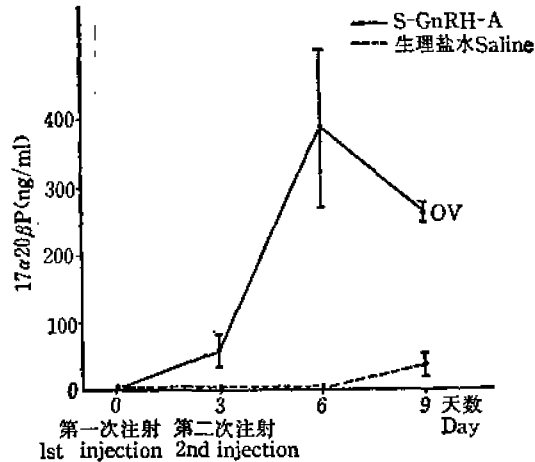


图 4 虹鳟(*Salmo gairdneri*)经注射 s-GnRH-A 后 9 天,排卵(OV)的三尾鱼与注射生理盐水未排卵的三尾鱼,血清中 $17\alpha\ 20\beta\ P$ 浓度的变化。各点为三尾鱼的平均值 \pm 标准误(M \pm SE)。

Fig. 4 Changes of serum $17\alpha\ 20\beta\ P$ level in three ovulated fish induced with s-GnRH-A and three control fish injected with saline. Each point represents M \pm SE ($n=3$).

2. $17\alpha\ 20\beta\ P$ 血清浓度变化(见图 4) 经 s-GnRH-A 第一次注射后, $17\alpha\ 20\beta\ P$ 血清浓度从基线水平迅速上升到第二次注射时的 58.4ng/ml,第二次注射后,上升幅度更显著,在三天内达到 387ng/ml 的峰值,峰值后 3 天出现排卵,此时 $17\alpha\ 20\beta\ P$ 的浓度为 260.5ng/ml。注射生理盐水的对照组,经第二次注射后 6 天,其血清 $17\alpha\ 20\beta\ P$ 浓度仅为 36.6ng/ml,未出现排卵。

3. 睾酮血清浓度变化(见图 5) 经 s-GnRH-A 第一次注射后,睾酮血清浓度的变化不大,略为下降一些。第二次注射 s-GnRH-A 后,睾酮浓度出现明显地下降,第二次注射后 6 天出现排卵,睾酮浓度为 49.8ng/ml,出现排卵。注射生理盐水组,睾酮血清浓度不断上升,第二次注射后 6 天,达到 139.5ng/ml,未排卵。

三、注射 s-GnRH 组 4 尾鱼,注射生理盐水组 5 尾鱼,水温 5.5°C,注射前一天抽血检查 $17\alpha\ 20\beta\ P$ 血清浓度均在基线水平。注射后 12 天, s-GnRH 组中 3 尾排卵,1 尾未排;对照组中 1 尾排卵,4 尾未排卵。经注射后,试验鱼血清中 $17\alpha\ 20\beta\ P$ 浓度的变化见图 6。

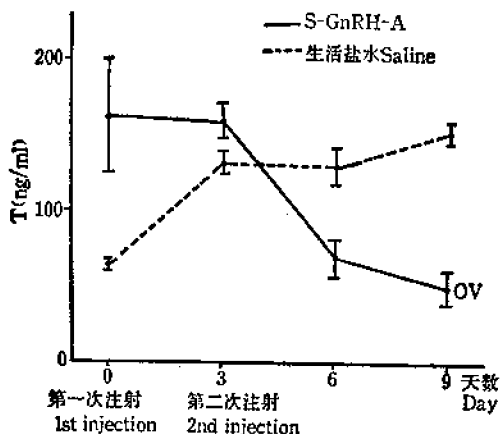


图5 虹鳟(*Salmo gairdneri*)经注射 s-GnRH-A 后9天,排卵(OV)的三尾鱼与注射生理盐水未排卵的三尾鱼,血清中睾酮浓度的变化。各点为三尾鱼的平均值±标准误(M±SE)。

Fig. 5 Changes of serum T level in three ovulated fish induced with s-GnRH-A and three control fish injected with saline. Each point represents M ± SE (n = 3).

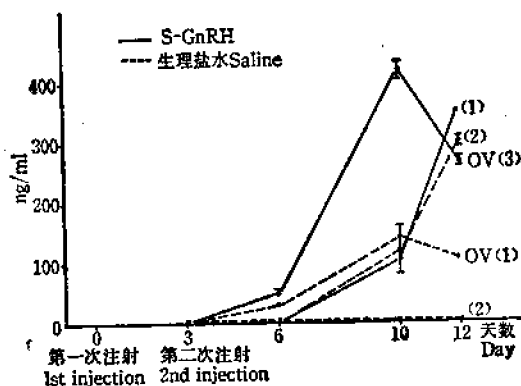


图6 虹鳟注射 s-GnRH 和生理盐水后,不同时间血清中 $17\alpha 20\beta P$ 浓度的变化,OV 表示排卵,括弧中的数表示鱼的尾数。

Fig. 6 Changes of serum $17\alpha 20\beta P$ level in rainbow trout induced with s-GnRH. The fish injected with saline as control group. OV, ovulation, number in the brackets represents the number of fish.

图6可见,药物处理组在注射后6天, $17\alpha 20\beta P$ 的血清浓度达到 50ng/ml,注射后10天达到 422.7ng/ml 峰值,之后略为下降,2天后出现排卵, $17\alpha 20\beta P$ 为 261.7ng/ml。未排卵的一尾鱼在注射后12天, $17\alpha 20\beta P$ 为 360ng/ml (见图6)。对照组中的一尾鱼,注射后12天排卵,但 $17\alpha 20\beta P$ 的峰值仅为 140ng/ml,排卵时为 105ng/ml,另外4尾鱼未排卵,其中2尾的 $17\alpha 20\beta P$ 浓度始终低得难以检测,经解剖,性腺成熟,卵子直径在 4cm 以上;另2尾的 $17\alpha 20\beta P$ 浓度在注射后12天,达到 303.8ng/ml,但还未排卵(见图6)。

讨 论

本研究关于虹鳟排卵前后血清 $17\beta-E_2$, 睾酮和 $17\alpha 20\beta P$ 的变化状况与 Scott 等^[26]的报导基本一致。虹鳟卵黄发生末期, $17\beta-E_2$ 的浓度达到峰值^[5,17],但在卵母细胞最后成熟和排卵时, $17\beta-E_2$ 血清浓度急剧下降,而促性腺激素(GTH)的血清浓度与此相反,在卵黄发生末期仍很低,之后逐渐增高至排卵^[9,25]。这在银大麻哈鱼(*Oncorhynchus kisutch*),白点鲑(*Salvelinus leucomaenis*)和鲈也都观察到类似的情况。血清 $17\beta-E_2$ 浓度的下降,意味着这时期芳香酶活力显著地减弱^[20]和类固醇激素对下丘脑和垂体的反馈抑制作用的减弱,至使下丘脑有可能促使垂体大量分泌 GTH; $17\beta-E_2$ 的下降也可能对卵巢孕激素的大量产生起作用。无疑地, $17\beta-E_2$ 的主要作用是与卵黄发生有关,而与卵母细胞最后成熟和排卵关系不大。

17α 20β P 在排卵前二周,其血清浓度接近基线水平,而在排卵前三天,已达到 350ng/ml 左右,随后导致排卵发生。 17α 20β P 在短时间内变化如此之大,正反映了卵母细胞从生长成熟到生理成熟的飞跃性变化。类似的情况在大西洋鲑(*Salmo salar*)^[30]、银大麻哈鱼(*O. kisutch*)^[30]、马苏大麻哈鱼(*Oncorhynchus rhodurus*)^[32]等鲑鳟鱼类也被发现。离体研究发现 GTH 能诱发大西洋鲑^[34]、马苏大麻哈鱼^[31,32]和虹鳟^[10,11]等的卵巢滤泡产生 17α 20β P,并进一步发展到卵核消失。在直接使用 17α 20β P 诱发离体卵巢滤泡成熟,卵核消失方面,包括数种鲑鳟鱼类^[8,14,22]、金鱼(*Carassius auratus*)和北方狗鱼(*Esox lucius*)^[14]、金鲈(*Perca flavescens*)^[12]以及香鱼 *Plecoglossus altivelis*^[23]。Jalalert 等^[16]还用 17α 20β P 进行鲤鱼催产试验获得成功。这些研究说明 17α 20β P 是一种有效的成熟诱发激素,该激素可能直接作用于卵母细胞,诱发卵母细胞最终成熟,以至卵核消失。

图 2 可见,排卵时(卵子绝大部分游离) 17α 20β P 的平均含量较排卵前三天略低一些。作者在检查试验鱼时,发现排卵往往不正是处在排卵的当天被发现的,一般为开始排卵后的第二或第三天,或更长一些时间(由于间隔 3 至 6 天检查一次试验鱼)。大多数发现排卵的鱼都已能较流畅地挤出卵子,有的试验鱼当被提出水面时,卵子自动流出。若将检查排卵和取血时间缩短到每隔一天进行一次,就有可能测到刚发生排卵时的 17α 20β P 的浓度水平。试验中发现两条试验鱼(编号分别为 6.7 和 1.5),分别在 600 和 341.3ng/ml 17α 20β P 水平时,只能挤出很少量卵子,表示刚发生排卵,三天后当能挤出较多卵子时(排卵流畅), 17α 20β P 下降到 472.5ng/ml (6.7 号鱼),很可惜另一条 1.5 号鱼死了。分析以上这些情况,说明排卵开始时, 17α 20β P 的浓度可能很接近峰值,也可能峰值水平正是发生在卵核消失的时候^[17],之后, 17α 20β P 略为下降,在 2—3 天内达到大部分或全部卵子离巢,游离在体腔内。另一情况是试验中有两条鱼充分排卵后,卵子未挤掉,让其保留在体腔内,准备以后作人工授精,三天以后血液检查发现, 17α 20β P 的浓度与发现充分排卵时的差不多,没什么变化。很可能在卵子大部分游离后, 17α 20β P 的浓度能维持 4—5 天不下降,而在这段时间内做人工授精效果较好。之后, 17α 20β P 浓度下降,卵子质量也下降,受精率就会减低。据虹鳟养殖场的科技人员反映,在体腔中滞留 4—5 天的成熟卵仍可正常授精。所以这就要求在繁殖季节,分选检查成熟鱼的间隔时间不能超过 5 天。有关这方面的研究还待做更多的工作,这将对虹鳟人工繁殖生产中,不失时机地选择成熟亲鱼,进行人工授精,防止卵子在体腔中过熟,有实际指导意义。

睾酮在虹鳟雌鱼血液中的浓度明显地高于雄鱼^[28,24],并在一些雌性两栖动物和爬行动物中也发现相当高的血清睾酮浓度。雌鱼血清中睾酮浓度高的原因之一,由于睾酮是转化成雌二醇的底物,已经证实硬骨鱼类的卵巢能合成睾酮^[19,20,34],继而睾酮在芳香酶的作用下转化成 17β -E₂。可以假设,鲑鳟鱼类卵母细胞生长完成后,血清 17β -E₂ 浓度达到峰值,一般在排卵前一个月左右^[21,26],之后,由于卵巢芳香酶活力减弱^[20],血清 17β -E₂ 浓度开始下降。本试验所测得的 17β -E₂ 浓度在排卵前 15 天为 18.1ng/ml,是正处在下降中的水平。由于 17β -E₂ 血清浓度不断降低,继而减弱了 17β -E₂ 对下丘脑和垂体的反馈抑制作用,这时垂体 GTH 分泌增加,血清浓度逐渐升高^[1-3,9,26]。GTH 继续诱发卵巢产生睾酮^[30],而由于芳香酶活力已减弱,因此只有很少一部分睾酮能继续转化成 17β -

E_2 , 所以形成了排卵前短暂的睾酮峰值。又由于睾酮(C_{19})转化成 $17\beta-E_2$ (C_{18}) 的途径受阻抑, 促使孕酮(C_{21})不再大量向睾酮转化, 而在 20β -羟类固醇脱氢酶的作用下, 经由 17α -羟孕酮的形式向着转化成 17α 20β P 的途径进行, 这无论从活体^[25,26,30,32] 和离体^[10,11,31,32,34] 的实验都证明了卵母细胞最后成熟伴随着 17α 20β P 的大量合成和分泌。结果就形成了卵母细胞卵核消失时的 17α 20β P 高峰值^[17]。

注射 s-GnRH 和 s-GnRH-A, 出现诱发提早排卵的作用趋势, 药物处理组较对照组提早排卵至少 5 天以上; 与对照组比较, 排卵也相对集中和同步。药物处理组血清中三种性类固醇激素浓度的变化与自然排卵时的变化相似, 与 Kraak 等^[17] 用哺乳动物的促性腺激素释放激素(LH-RH)及其类似物(LH-RH-A)注射银大麻哈鱼, 诱发血清 $17\beta-E_2$, 睾酮和 17α 20β P 的变化相一致。说明合成的 s-GnRH 和 s-GnRH-A 具有与内源性 GnRH 相类似的生物活性作用^[7], 能通过诱发垂体释放 GTH^[2,4,6,7,14], 作用于卵巢滤泡组织合成和分泌性类固醇激素^[33]。特别是形成 17α 20β P 高峰, 促使卵母细胞达到完全成熟。由此可见, 鱼类繁殖过程中, 下丘脑, 垂体和性腺三者在内分泌调节上的相互关系和作用。

参 考 文 献

- [1] 赵维信等, 1979. 鲤鱼产卵前后血清中促性腺激素含量的变动。动物学杂志, 2: 3—5。
- [2] 姜仁良等, 1980. 草、鲢鱼产卵前后血清中促性腺激素含量的变动。水产学报, 4(2): 129—133。
- [3] 赵维信等, 1983. 鲤鱼脑垂体中促性腺激素含量的周年变化。水产学报, 7(1): 69—75。
- [4] 林浩然, 1982. 硬骨鱼类促性腺激素的分泌及其调节机制。水生生物学集刊, 7(4): 551—562。
- [5] Billard, R. et al., 1978. Endocrine control of the teleost reproductive cycle and its relation to external factors: Salmonid and Cyprinus models. In "Comparative Endocrinology" (P. J. Gaillard and H. H. Boer, eds.), pp. 37—48. Elsevier/North-Holland, Amsterdam.
- [6] Breton, B. et al., 1983. Effects of synthetic LH-RH and analog on plasma gonadotropin levels and maturational response to 17α -hydroxy- 20β -dihydroprogesterone. *Aquaculture*, 32: 105—114.
- [7] Crim, L. W. et al., 1976. Stimulation of gonadotropin secretion by intraventricular injection of hypothalamic extracts in the goldfish, *Carassius auratus*. *Gen. comp. Endocrinol.*, 30: 77—82.
- [8] Fostier, A. et al., 1973. Action predominante d'un dérivé hydroxylé de la progesterone sur la maturation in vitro des ovocytes de la truite arc-en-ciel, *Salmo gairdnerii*. *C. R. Acad. Sci. Paris, Ser. D277*: 421—425.
- [9] Fostier, A. et al., 1978. Plasma estradiol- 17β and gonadotropin during ovulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R.). *Ann. Biol. anim. Bioch. Biophys.*, 18(4): 929—936.
- [10] Fostier, A. et al., 1981. Cinétique de libération in vitro de 17α -hydroxy- 20β -dihydroprogestérone par des follicles de Truite arc-en-ciel, *Salmo gairdnerii*. *C. R. Acad. Sci., Ser. III292*: 777—780.
- [11] Fostier, A. et al., 1981. Évolution des niveaux plasmatiques de la gonadotropine glycoprotéique et de la 17α -hydroxy- 20β -dihydroprogestérone au cours de la maturation et de l'ovulation chez la Truite arc-en-ciel, *Salmo gairdnerii*. *C. R. Acad. Sci. Paris, Ser. III293*: 817—820.
- [12] Goetz, F. W. and Theofan, G., 1979. In vitro stimulation of germinal vesicle breakdown and ovulation of yellow perch, *Perca flavescens* oocytes. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 37: 273—286.
- [13] Idler, D. R. et al., 1960. Isolation of pregn-4-ene- $17\alpha, 20\beta$ -diol-3-one from the plasma Pacific salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2(2): 133—137.
- [14] Jalabert, B., 1976. In vitro oocyte maturation and ovulation in rainbow trout (*Salmo gairdneri*), northern pike (*Esox lucius*) and goldfish (*Carassius auratus*). *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 33: 974—988.
- [15] Jalabert, B. et al., 1977. A new tool for induced spawning: The use of 17α -hydroxy- 20β -dihydroprogesterone to spawn carp at low temperature. *Aquaculture*, 10: 353—364.

- [16] Kraak, G. V. D. *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.
- [17] Kraak, G. V. D. *et al.* 1984. Effects of LH-RH and Des-Gly¹⁰ [D-Ala⁶] LH-RH-Ethylamide on plasma sex steroid profiles in adult female coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Gen. comp. Endocrinol.*, **55**: 36-45.
- [18] Kagawa, H. *et al.*, 1982. Estradiol-17 β production in isolated amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) ovarian follicles and its stimulation by gonadotropin. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **47**: 361-365.
- [19] Kagawa, H. *et al.*, 1982. Estradiol-17 β production in amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*) ovarian follicles: role of the thecal and granulosa cell. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **47**: 440-448.
- [20] Kagawa, H. *et al.*, 1984. In vitro estradiol-17 β and testosterone production by ovarian follicles of the goldfish, *Carassius auratus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **54**: 139-143.
- [21] Lambert, J. G. D. *et al.*, 1978. Annual cycle of plasma oestradiol-17 β in the female trout *Salmo gairdneri*. *Ann. Biol. anim. Biophys.*, **18**(4): 923-927.
- [22] Nagahama, Y. *et al.*, 1983. Relative in vitro effectiveness of 17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one and other pregnene derivatives on germinal vesicle breakdown in oocytes of ayu (*Plecoglossus altivelis*), amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*), rainbow trout (*Salmo gairdneri*) and goldfish (*Carassius auratus*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **51**: 15-23.
- [23] Scott, A. P. *et al.*, 1980. Seasonal variations in plasma concentration of 11-ketotestosterone and testosterone in male rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.*, **17**: 495-505.
- [24] Scott *et al.*, 1980. Seasonal variations in sex steroids of female rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *J. Fish Biol.*, **17**: 587-592.
- [25] Scott, A. P. *et al.*, 1982. Measurement of 17 α , 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one in plasma of trout (*Salmo gairdneri* Richardson): Seasonal changes and response to salmon pituitary extract. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **46**: 446-451.
- [26] Scott, A. P. *et al.*, 1983. Hormone changes during ovulation in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **49**: 128-134.
- [27] Sherwood, N. *et al.*, 1983. Characterization of a teleost gonadotropin releasing hormone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **80**: 2794-2798.
- [28] Simpson, T. H. and Wright, R. S., 1977. A radioimmunoassay for 11-oxotestosterone: its application in the measurement of levels in blood serum of rainbow trout (*S. gairdneri*). *Steroids*, **29**: 383-398.
- [29] Wright, R. S., 1976. Sexing live fish. *I. C. E. S. Anadromous and Catadromous Fish Committee*, CM/M: 21.
- [30] Wright, R. S., and Hunt, S. M. V., 1982. A radioimmunoassay for 17 α 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one: its use in measuring changes in serum levels at ovulation in Atlantic salmon (*Salmo salar*), coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*), and rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **47**: 475-482.
- [31] Young, G. *et al.*, 1982. Oocyte maturation in the amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*): In vitro effects of salmon gonadotropin, steroids, and cyanoketon (an inhibitor of 3 β -hydroxy- Δ^5 -steroid-dehydrogenase). *J. Exp. Zool.*, **244**: 265-275.
- [32] Young, G. *et al.*, 1983. Plasma 17 α 20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one levels during sexual maturation of amago salmon (*Oncorhynchus rhodurus*): Correlation with plasma gonadotropin and in vitro production by ovarian follicles. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **51**: 96-105.
- [33] Young, G. *et al.*, 1984. Role of the thecal and granulosa cell in the production of maturation-inducing steroid (MIS) by ovarian follicles of salmonid fishes. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **53**: 455.
- [34] Zhao, W. X. and Wright, R. S., 1985. The course of steroid release by intact ovarian follicles of Atlantic salmon (*Salmo salar*) incubated in vitro with and without gonadotrophin. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **57**: 274-280.

CHANGES OF SERUM STEROID LEVELS DURING OVULATION IN RAINBOW TROUT (*SALMO GAIRDNERI*)

Zhao Weixin

(Shanghai Fisheries University)

ABSTRACT Serum levels of 17β -oestradiol (17β - E_2), testosterone (T) and 17α -hydroxy- 20β -dihydroprogesterone (17α 20β P) were measured in female rainbow trouts (*Salmo gairdneri*) during their first ovulation. 17β - E_2 fell from 18.1 ng/ml 15 days to 2 ng/ml 3 to 6 days prior to ovulation, and it was 0.9ng/ml during ovulation. Testosterone reached to a peak level of 143.3ng/ml at 9 days prior to ovulation, then the level fell to 24.3ng/ml during ovulation. At 15 days before ovulation, 17α 20β P levels were either nondetectable or extremely low, but it rose rapidly from 9 days and reached to a peak level of 350.6ng/ml at 3 days before ovulation. While ovulating the level become to 302.2ng/ml. This work provides further evidence for 17α 20β P that plays an important role in final maturation of oocyte. 17β - E_2 may possibly regulate the timing of 17α 20β P surge.

Injection of synthetic chum salmon (*Oncorhynchus beta*) gonadotrophin-releasing hormone (s-GnRH) and its analogue (s-GnRH-A), the changes of serum 17β - E_2 , T and 17α 20β P levels are similar to that of natural ovulation. s-GnRH and s-GnRH-A injected fish ovulated a week earlier and synchronous than those of control.

KEY WORDS Rainbow trout, Serum steroid, Induced ovulation, Salmon GnRH and its analogue