

文章编号:1000 - 0615(2005)03 - 0333 - 06

注射 T_4 对日本鳗鲡血清、卵、早期幼苗 甲状腺激素含量变化及对幼苗存活率的影响

柳 凌, 郭 峰, 张洁明, 鲁大椿, 张 涛

(中国水产科学研究院长江水产研究所农业部淡水鱼类种质资源与生物技术重点实验室, 湖北 荆州 434000)

摘要:对产卵前的雌鳗注射了不同剂量的甲状腺素(T_4),然后利用放射性免疫法(RIA)测定了雌鳗血清、卵、胚胎及幼苗各发育时间段三碘甲腺原氨酸(T_3)和甲状腺素(T_4)的含量变化。结果发现,注射外源 T_4 24 h 后,随着雌鳗血清中的 T_4 含量达到峰值, T_3 含量也达到了峰值。说明日本鳗鲡体内存在 5'-单脱碘酶。与此同时,随着血清中 T_3 和 T_4 含量达到峰值,卵中的 T_3 和 T_4 含量也达到了峰值,进而证明母体中的 T_3 和 T_4 能够转入鳗鲡幼苗。进一步调整 T_4 的注射剂量和时间后发现,在 21℃ 水温条件下, T_4 的剂量为 $10 \sim 15 \text{ mg} \cdot (500 \text{ g})^{-1}$ 时,注射催产针前 12 h 注射的效果最好。用该方法注射 T_4 后,幼苗各发育时间段的存活率与对照组比较存在显著差异,出膜第 9 天的存活率由对照组的 1.3% 提高到 22.0%。但日本鳗鲡幼苗最终未能存活,说明甲状腺素并不是影响日本鳗鲡幼苗存活的唯一因素。

关键词:日本鳗鲡;甲状腺激素;血清;卵;幼苗

中图分类号:S962.12 **文献标识码:**A

Changes in thyroid hormone levels in serum, eggs, and larvae, and their effect on larval survival in female Japanese eel (*Anguilla japonicas*) after thyroxine injection

LIU Ling, GUO Feng, ZHANG Jie-ming, LU Da-chun, ZHANG Tao

(Key Laboratory of Freshwater Fish Germplasm Resources and Biotechnology, Yangtze River Fisheries Research Institute,
Chinese Academy of Fisheries Sciences, Jinzhou 434000, China)

Abstract:The changes of triiodothyronine (T_3) and thyroxine (T_4) levels in serum, eggs and larvae were measured by radioimmunoassay (RIA) after T_4 injection in female Japanese eel spawners at doses of 5, 10, 15 and 20 $\text{mg} \cdot (500\text{g})^{-1}$ body weight fish. As results, T_3 level reached up to peak value following T_4 level up to peak value in maternal serum after 24 h of exogenous T_4 injection. Apparently, there was conversion of T_4 into T_3 in the broodstocks which suggests the presence of the enzyme, 5'-monodeiodinase, in Japanese eel. Meanwhile, along with the T_3 and T_4 levels in serum up to peak value, the T_3 and T_4 level in eggs also reached up to peak value. It further indicated that T_3 and T_4 in maternal circulation could be transferred into the oocytes and subsequently into the larvae. After readjusting the times and doses of T_4 injection, it was discovered that the most suitable doses of exogenous T_4 injection should be 10 - 15 $\text{mg} \cdot (500 \text{ g})^{-1}$ body weight and the optimal opportunity of T_4 injection should be 12 h before spawning under the condition of 21℃ water temperature. Compared with the control, the rate of larval survival in each stage of development tended to show remarkable increase ($P < 0.01$) after spawners were treated with T_4 . The rate of 9-day-old larval survival was elevated from 1.3% of control group to 22.0% of treated group. However, the larvae could not survive ultimately. It suggests that thyroid hormone may not be the only factor of affecting the larvae survival.

Key words: *Anguilla japonicas*; thyroid hormone; serum; eggs; larvae

甲状腺素对鱼类幼苗的发育起着十分重要的作用已在许多鱼类中获得了证实^[1]。国外在应用

收稿日期:2004-02-17

资助项目:中国水产科学研究院基金项目资助(2001-1-4)

作者简介:柳 凌(1959-),男,四川成都人,研究员,主要从事鱼类生殖生理研究。E-mail:Liul@yfi.ac.cn

外源性甲状腺激素 T_3 或 T_4 影响鱼类孵化率、幼苗生长、发育及存活率方面已开展了大量的研究工作^[2-5],我国在这方面的研究报道较少^[6],且日本鳗鲡幼苗存活问题一直是一个世界性的难题。因此,作者在 1999 - 2003 年对注射外源 T_4 的日本鳗鲡血清、卵及早期发育阶段幼苗甲状腺激素含量水平进行了跟踪测定,并结合不同甲状腺激素含量条件下幼苗的存活情况,探讨了日本鳗鲡幼苗不能存活的原因,为日本鳗鲡人工育苗技术研究提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料来源

试验用亲鱼均取自珠江口的下海野生鳗,选择体质健壮,无病害的鳗鲡作为试验用鱼。雌鳗体重为每尾 550 ~ 650 g,雄鳗为每尾 250 ~ 400 g。亲鱼运回经 15 d 逐步适应海水后,养殖于盐度 30 的海水中。入海水 10 d 后,开始采用外源激素诱导性腺发育。每次注射外源激素及剂量为 0.5 mg 鲤垂体(carp pituitary, CP) + 20 IU 人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, HCG)每 500 g 雌鳗体重,雄鳗剂量减半。每次注射间隔为 12 d。经 110 d 左右,性腺发育成熟^[9]。

1.2 T_4 注射及催产

选择体长胸围比达到(60 ~ 70) (14 ~ 16) cm、除胸鳍基部还留有一点白色外,其余全部变黑、生殖孔开始扩张的雌鳗。每 3 尾为 1 组,共 5 组,分开催产。注射催产针前 42 h 注射 T_4 (3,3',5,5'-tetraiodo-L-thyronine) (Sigma 公司生产)。各组注射剂量分别为 5、10、15、20 mg · (500 g)⁻¹ 雌鳗体重, T_4 溶于 15% 二甲亚砜(dimethylsulfoxide, DMSO)中,对照组只注射 15% DMSO。注射催产针后,将雄鳗放入,雌雄比为 1 : 2。21 °C 水温条件下,16 ± 2 h 自然产卵。

1.3 样品采集

注射 T_4 后,每隔 12 h 从雌鳗尾静脉取血 1 次。血样立即用 3 000 r · min⁻¹, 4 °C 离心 10 min。取上清液, - 80 °C 冰箱保存。雌鳗产卵前,每隔 12 h 用挖卵器挖卵取样 1 次。产卵后,受精卵在 21 °C 水温下孵化,每隔 24 h 取样 1 次。同样的样品每次取 3 份,每份样品卵 100 ~ 150 粒,苗 150 ~ 200 尾。样品精确称重记数,重量均为 0.2 ~ 0.3 g, - 80 °C 冰箱保存。

1.4 样品提取及放射性免疫测定(RIA)

卵和幼苗样品按 Tagawa 和 Hirano^[4] 和 Greenblatt 等^[10]的方法制备提取物。即每份样品在 2 mL 95% 甲醇和 1.0 mmol · L⁻¹ 苯替硫脲(phenylthiocarbamide)混合液中匀浆,然后用 3 000 r · min⁻¹, 4 °C 离心 10 min,取上清液。沉淀重复上述过程。上清液经真空冷冻干燥至粉状后,用 0.075 mol · L⁻¹, pH 8.6 巴比妥缓冲液溶解至 250 μL。- 80 °C 冰箱保存,待测。样品在最初匀浆时加入一定量的¹²⁵I - T_4 或¹²⁵I - T_3 (Louis 公司生产),待全部样品提取完成后,分别测定样品的放射性强度。经计算 T_3 的提取率为 60.7%, T_4 为 66.5%。血清样品直接测定。

T_3 和 T_4 放射免疫测定药盒购自北方生物技术研究所。 T_3 药盒的灵敏度为 0.0125 ng · mL⁻¹, T_4 药盒的灵敏度为 0.5 ng · mL⁻¹。 T_3 和 T_4 的测定方法按药盒提供的方法进行。测定后,采用 AP - 208 型(北京六一仪器厂) 记数机记数。

1.5 胚胎及幼苗存活率

T_4 注射剂量与胚胎及幼苗存活率的关系

上述每组亲鳗产卵后,受精卵在 21 °C 水温下孵化,经 20 h 左右发育到原肠后期。挑选 300 粒发育正常的受精卵于 0.5 L 孵化缸中,21 °C 水温下继续孵化。每缸为 1 组,注射同一剂量 T_4 的受精卵取 3 组。每隔 12 h 换水 1 次,换水前,挑出死卵或幼苗,并记数。各发育阶段的存活率取 3 组的平均数。

T_4 注射时间与胚胎及幼苗存活率的关系

挑选出 T_4 效果最好的注射剂量,按注射催产针前 48、36、24、12 和 0 h(催产针同时)分组注射该剂量的 T_4 ,以筛选注射的最佳时间。胚胎及幼苗存活率观察与上述方法相同。

1.6 数据分析

数据分析在两个平均值之间的差异显著性用 Student 氏检验,两个以上平均值之间的差异显著性用 Duncan 氏新复极差检验, $P < 0.05$ 认为显著差异(*), $P < 0.01$ 认为极显著差异(**)。

2 结果

2.1 雌鳗血清中甲状腺激素 T_4 和 T_3 含量变化

刚注射 T_4 时,血清中的 T_4 含量在(17 ± 1.9) ~ (22 ± 3.8) ng · mL⁻¹。注射 24 h 后, T_4 含量达到高

峰期。但不同注射剂量所产生的峰值不同,注射剂量越低,血清中 T₄ 含量的峰值也越低;反之,注射剂量高,血清中 T₄ 的含量就高。注射 5 mg ·(500 g)⁻¹ T₄,在 24 h 时,血清中 T₄ 的含量为 58 ±5.3 ng ·mL⁻¹,注射 20 mg ·(500 g)⁻¹ T₄,血清中 T₄ 的含量为 215 ±9.8 ng ·mL⁻¹。24 ~ 60 h(产卵后),血清中 T₄ 含量呈下降趋势,但不同注射剂量的下降程度不同,注射 T₄ 的剂量越高,下降的幅度也越大。对照组血清中 T₄ 含量基本无变化,保持在(12 ±1.1) ~ (17 ±3.4) ng ·mL⁻¹之间(图 1)。

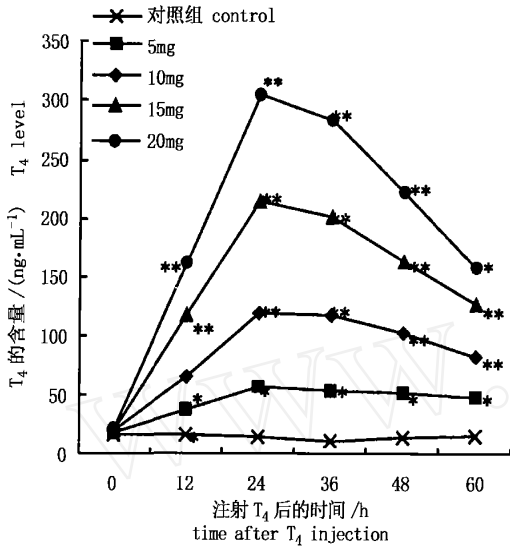


图 1 T₄ 在血清中的含量变化

Fig.1 Changes of T₄ level in serum after T₄ injection

注射 T₄ 后,血清中 T₃ 最初的内容各组均在 (5 ±0.7) ~ (9 ±1.3) ng ·mL⁻¹。从图 2 可看出,血清中的 T₃ 含量在注射 T₄ 24 h 后也达到了高峰。注射 T₄ 的剂量越高,T₃ 的峰值也越高。除 5 mg 组与对照组比较无差异 (P > 0.05) 外,其它 3 组与对照组间均存在显著差异 (P < 0.05)。但随着注射剂量的升高,各试验组间峰值的差异在减小。5 mg 组的峰值与其它 3 组的峰值存在显著差异 (P < 0.05),15 mg 组与 20 mg 组之间几乎无差异 (P > 0.05)。24 h 后,所有试验组的 T₃ 含量均呈现不同程度的下降。对照组的 T₃ 含量在测定时间内几乎无变化。

2.2 卵、胚胎及幼苗甲状腺激素 T₄ 和 T₃ 的含量变化

图 3 显示了注射 T₄ 后,卵、胚胎及幼苗中 T₄

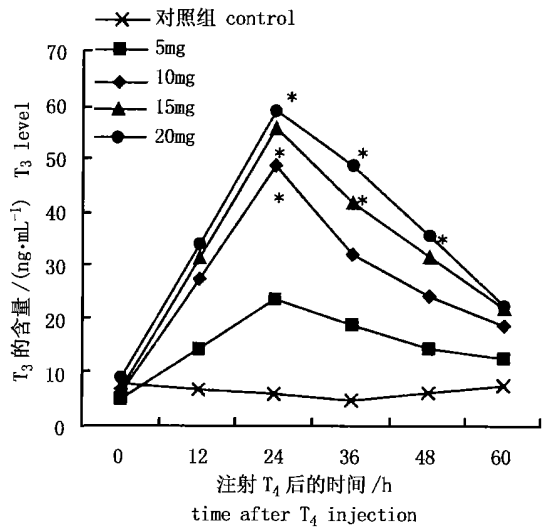


图 2 T₃ 在血清中的含量变化

Fig.2 Changes of T₃ level in serum after T₄ injection

含量变化情况。其中,0 ~ 48 h 为产卵前未受精卵 T₄ 的变化情况。在这一时间段,所有试验组的 T₄ 初始含量均在 (18 ±1.8) ~ (22 ±3.3) ng ·g⁻¹。24h 时,所有试验组的 T₄ 含量达到各自的峰值。10 mg、15 mg 和 20 mg 组与对照组间存在极显著差异 (P < 0.01),5 mg 组与对照组间存在显著差异 (P < 0.05)。24 h 到产卵前(48 h)所有试验组 T₄ 含量均呈下降趋势。在胚胎发育阶段(48 ~ 108 h),所有试验组的 T₄ 含量均有较大幅度下降。到出膜前后(108 h)时,5 mg 和 10 mg 组已降到与对照组 T₄ 含量无差异 (P > 0.05)。虽然其它 2 个试验组与对照组间仍存在显著差异 (P < 0.05),但其含量分别由 496 ±9.5 ng ·g⁻¹和 663 ±11.3 ng ·g⁻¹降到 71 ±5.7 ng ·g⁻¹和 135 ±6.1 ng ·g⁻¹。孵化出膜后,各试验组的 T₄ 含量仍继续下降。出膜后 1 d(120 h),除 20 mg 组与对照组间存在差异 (P < 0.05) 外,其它 3 个试验组与对照组间均无差异 (P > 0.05)。出膜后 2 d,所有试验组与对照组间均无差异 (P > 0.05),T₄ 含量在 (18 ±2.1) ~ (26 ±4.9) ng ·g⁻¹。

注射 T₄ 后,卵、胚胎及幼苗 T₃ 含量变化情况见图 4。其中,0 ~ 48 h 为产卵前未受精卵 T₃ 的变化情况。在这一时间段,所有试验组在注射 T₄ 时的 T₃ 含量均在 (4 ±0.8) ~ (6 ±1.3) ng ·g⁻¹。24 h 时,10 mg、15 mg 和 20 mg 组的 T₃ 含量达到各自的峰值。与对照组均存在显著差异 (P <

0.05)。24 h 到产卵前(48 h),上述 3 个试验组 T_3 含量均呈略有下降趋势。产卵后到出膜前(48 ~ 108 h)这期间,3 个试验组的 T_3 含量基本保持不变,与对照组存在显著差异($P < 0.05$)。胚胎出膜后(108 h),3 个试验组 T_3 含量均急剧下降,到出膜后 2 d(144 h),降到与对照组基本相同的含

量,差异不显著($P > 0.05$)。整个过程中,5 mg 组的 T_3 含量基本保持不变,各测试点与对照组比较无显著差异($P > 0.05$),24 h 达到峰值时也只有 $8 \pm 1.6 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 。对照组在全过程中, T_3 含量基本无变化,保持在 $(3 \pm 0.7) \sim (5 \pm 1.4) \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ 。

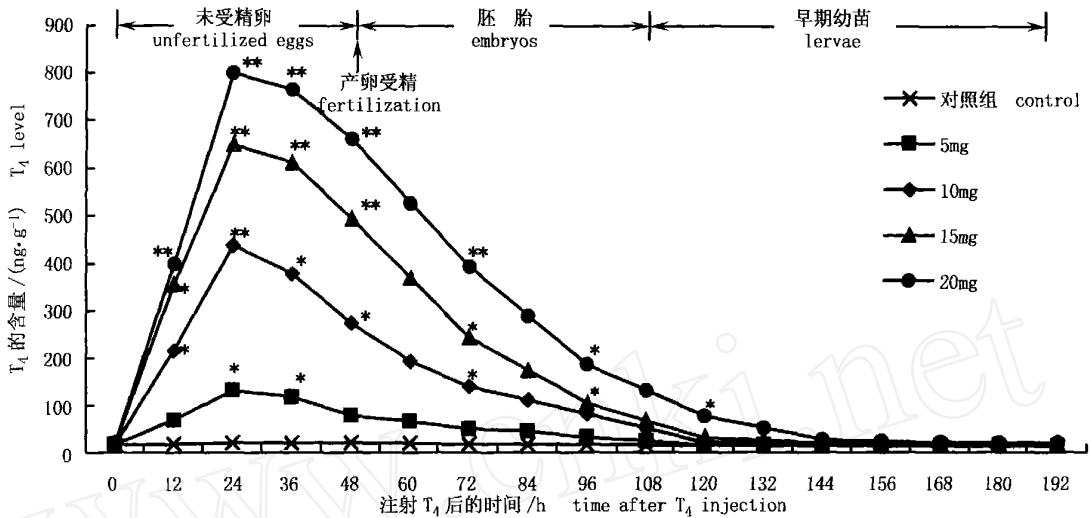


图 3 T_4 在卵、胚胎及幼苗中的含量变化

Fig. 3 Changes of T_4 level in eggs, embryos and larvae after T_4 injection

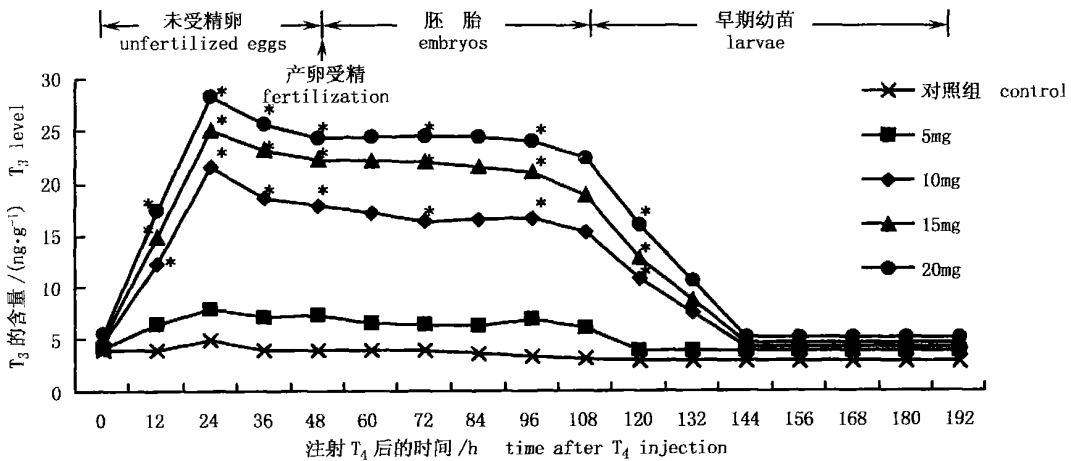


图 4 T_3 在卵、胚胎及幼苗中的含量变化

Fig. 4 Changes of T_3 level in eggs, embryos and larvae after T_4 injection

2.3 T_4 注射剂量对胚胎及幼苗存活率的影响

各试验组胚胎存活率在出膜前与对照组无差异($P > 0.05$),存活率在 90.6% ~ 95.5%。出膜

第 1 天 10 mg 和 15 mg 试验组与对照组的存活率出现显著差异($P < 0.05$)。出膜第 3 天到出膜第 9 天,10 mg 和 15 mg 组与对照组的存活率均出现

极显著差异 ($P < 0.01$), 其各时间段的存活率明显高于对照组。但 10 mg 组与 15 mg 组存活率之间无差异 ($P > 0.05$)。20 mg 组从出膜第 3 天到出膜第 7 天, 虽然存活率高于对照组 ($P < 0.05$), 但实际观察幼苗发育发现, 这一时期幼苗畸形率

很高, 约占存活幼苗的 70% 以上。5 mg 组与对照组间始终无差异 ($P > 0.05$)。表 1 显示了不同试验组在各时间段胚胎及幼苗的存活率, 由此可看出, 注射 $10 \sim 15 \text{ mg} \cdot (500 \text{ g})^{-1} T_4$ 可有效的提高这些时间段中胚胎及幼苗的存活率。

表 1 T_4 注射剂量与胚胎及幼苗存活的关系

Tab. 1 Relationship between the dose of T_4 and the survival of embryo and larvae

T_4 剂量 [mg $\cdot (500\text{g})^{-1}$] T_4 dose	各时间段胚胎及幼苗存活率 (%) survival rate of embryo and larvae various developed stage					
	出膜前 embryos	出膜第 1 天 1 d larvae	出膜第 3 天 3 d larvae	出膜第 5 天 5 d larvae	出膜第 7 天 7 d larvae	出膜第 9 天 9 d larvae
5	90.6	63.4	45.0	18.5	6.7	0.7
10	95.5	86.0 *	80.5 **	36.3 **	22.8 **	15.3 **
15	94.8	83.4 *	76.9 **	34.6 **	21.1 **	14.7 **
20	92.0	72.7	65.4 *	26.2 *	9.3 *	1.6
对照组 control	91.2	64.8	48.7	19.5	6.9	1.3

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 与对照组比

Notes: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with the control group

2.4 T_4 注射时机对胚胎及幼苗存活率的影响

根据 2.3 的结果, 试验选择了 $10 \text{ mg} \cdot (500 \text{ g})^{-1} T_4$ 作为试验剂量, 在催产前不同时间段注射 T_4 , 观察各试验组胚胎及幼苗存活率变化情况。表 2 显示了部分注射 T_4 时间的研究结果。由于通过数据分析比较发现, 在所有试验组中, 12 h 组

的效果最好, 而其它试验组与 36h 组的效果基本相同, 故表 2 只列出了 12 h 组和 36 h 组的研究结果。对照前面 T_3 和 T_4 含量测定的结果, 不难发现, 12 h 组在产卵时, 卵中 T_3 和 T_4 的含量最接近峰值。因此, 作者认为注射 T_4 的最佳时机应控制在注射催产针前 12 h。

表 2 T_4 注射时机与胚胎及幼苗存活的关系

Tab. 2 Relationship between the time of T_4 injection and the survival of embryo and larvae

T_4 注射时间(h) time of T_4 injection	各时间段胚胎及幼苗存活率 (%) survival rate of embryo and larvae in each stage of development					
	出膜前 embryos	出膜第 1 天 1 d larvae	出膜第 3 天 3 d larvae	出膜第 5 天 5 d larvae	出膜第 7 天 7 d larvae	出膜第 9 天 9 d larvae
36	95.5	86.0 *	80.5 **	36.3 **	22.8 **	15.3 **
12	96.3	89.8 **	85.5 **	47.6 **	31.9 **	22.0 **
对照组 control	91.2	64.8	48.7	19.5	6.9	1.3

注: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ 与对照组比。

Notes: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, compared with the control group

3 讨论

研究表明, 对产卵前的雌鳗注射外源甲状腺激素 T_4 , 不仅能引起雌鳗血清中甲状腺激素 T_3 和 T_4 含量升高, 还能通过母体将 T_3 和 T_4 转入日本鳗鲡的卵、胚胎及幼苗中, 使它们的 T_3 和 T_4 含量也相应升高。这与 Brown 等^[9]报道基本相同。

T_4 被注入雌鳗体内 24 h 后, 雌鳗血清中的 T_4 含量达到峰值, 同时 T_3 也达到峰值。分析认为应

该是部分 T_4 在血清中转变成了 T_3 。根据 Ayson 和 Lam^[11]的研究, 可以证明日本鳗鲡体内存在 5'-单脱碘酶。血清中的 T_4 除一部分转变成 T_3 外, 还有一部分转入了卵中, 这可从卵中的 T_4 含量在外源 T_4 注射 24 h 后即迅速升高看出。虽然雌鳗血清中的 T_4 转变成了 T_3 , 同时还要转入到卵中, 但 24 h 到 60 h, 其 T_4 的含量下降幅度并不完全相同, 24 h 时达到的峰值越高, 下降幅度就越大。这与 Ayson 和 Lam^[11]在点篮子鱼 (*Siganus*

gutlatus)中所观察到的现象略有不同,而与 Fok 和 Eales^[12]在虹鳟中的结果基本相同,作者认为原因可能是测定的雌鳗血清中存在 2 种来源的 T_4 ,外源的 T_4 随时间呈直线下降,而内源的 T_4 虽然也下降,但同时又在不断生成。 T_4 下降幅度的大小取决于这 2 种来源 T_4 在测定总量中所占的比例。当注射低剂量外源 T_4 时,内源 T_4 在测定总量中的比例相对较大,因此, T_4 的下降幅度不大。但当注射高剂量外源 T_4 后,内源 T_4 在整个测定值中的比例较小,生成的量不足以影响 T_4 总量的下降趋势,因此, T_4 的下降幅度较大。

在注射外源 T_4 后,日本鳗鲡卵中的 T_4 24 h 达到峰值,其后则急剧下降,这与 Ayson 和 Lam^[11]在点鱼子鱼中所观察到的现象基本相同。卵中的 T_3 也是在 24 h 时达到峰值,其中一部分是母源性的 T_3 ,而卵自身是否能将 T_4 转变成 T_3 尚无确凿的证据。但从 24 h 后到幼苗出膜前(108 h) T_3 含量基本保持在一个较稳定的水平来看,作者认为存在着 T_4 转变成 T_3 的可能。与 Ayson 和 Lam^[11]在点鱼子鱼中所观察到的现象不同的是,日本鳗鲡幼苗在出膜后, T_3 含量均急剧下降。说明无论是内源性的 T_3 ,还是自身转变的 T_3 均已消耗殆尽,且幼苗自身无法生成新的 T_4 和 T_3 。事实上,作者对这一阶段的幼苗进行了连续组织切片,结果未观察到甲状腺腺泡的生成。

注射外源甲状腺素 T_4 能有效的提高鱼类幼苗的存活率已在许多鱼类中获得了证实^[8-12]。但除了注射 T_4 外,还有注射 T_3 ,或用 T_4 和 T_3 浸泡幼苗的方法,也能有效的提高幼苗的存活率^[1,10,11]。作者在对日本鳗鲡的研究中,除注射 T_4 获得了较明显的结果外,其它方法均未获得有效提高幼苗存活率的结果。根据对 T_3 和 T_4 含量的测定结果,卵中 T_3 和 T_4 达到峰值所需时间是 24 h。因此,理论上注射 T_4 的最佳时机应是产卵前 24 h。试验中是催产前 12 h 组效果最好,在所有试验组中,该组从注射 T_4 到产卵所需时间为 $12 \pm 16 \pm 2$ h,最接近 24 h。但作者所有试验均是在 21 °C 水温条件下进行,如果水温条件改变,催产的

效应时间也会改变,而雌鳗血清中 T_3 和 T_4 向卵中转入的时间是否也会改变尚需进一步的研究。

综上所述,对日本鳗鲡产卵前的雌鳗注射外源 T_4 ,不仅能提高雌鳗血清中 T_3 和 T_4 的含量,而且, T_3 和 T_4 还能通过母体转入到日本鳗鲡的卵、胚胎及幼苗中,从而影响幼苗的发育。当对雌鳗注射适当剂量 $10 \sim 15 \text{ mg} \cdot (500 \text{ g})^{-1}$ 外源 T_4 后,幼苗在一定发育阶段,其存活率明显升高。但日本鳗鲡幼苗最终未能存活,说明甲状腺素并不是影响日本鳗鲡幼苗存活的唯一因素,影响日本鳗鲡幼苗存活的问题尚需做进一步的研究。

参考文献:

- [1] Brown C L, Bern H A. Thyroid hormone in early development with special reference to teleost fishes [M]. Academic Press, New York, 1989. 289 - 306.
- [2] Kobuke L, Specker J L, Bern H A. Thyroxine content in eggs and larvae of coho salmon, *Oncorhynchus kisutch* [J]. J Exp Zool, 1987, 242: 89 - 94.
- [3] Sullivan C V, Iwamoto R N, Dickhoff W W. Thyroid hormones in blood serum of developing salmon embryos [J]. Gen Comp Endocrinol, 1987, 65: 337 - 345.
- [4] Tagawa M, Hirano T. Presence of thyroxine in eggs and changes in its content during early development of chum salmon, *Oncorhynchus keta* [J]. Gen Comp Endocrinol, 1987, 68: 129 - 135.
- [5] Brown C L, Doroshov S I, Cochra M D, et al. Enhanced survival of striped bass fingerlings after maternal triiodothyronine treatment [J]. Fish Physiol Biochem, 1989, 7: 295 - 299.
- [6] 赵维信,贾江. 鳙、团头鲂和短盖巨脂鲤早期发育阶段甲状腺激素含量变化研究 [J]. 水产学报, 1997, 21 (2): 120 - 127.
- [7] 柳凌,郭峰,张洁明,等. 外源激素及环境因子对日本鳗鲡卵巢发育的影响 [J]. 上海水产大学学报, 2003, 12 (1): 6 - 11.
- [8] Greenblatt M, Brown C L, Lee M, et al. Changes in thyroid hormone levels in eggs and larvae and in iodide uptake by eggs of coho and chinook salmon, *Oncorhynchus kisutch* and *O. tshawytscha* [J]. Fish Physiol Biochem, 1989, 6: 261 - 278.
- [9] Brown C L, Doroshov S I, Nunez J M, et al. Maternal triiodothyronine injections cause increases swimbladder inflation and survival rate in larval striped bass, *Morone saxatilis* [J]. J Exp Zool, 1988, 248: 168 - 176.
- [10] Ales J G, MacLachy D L. The relationship between T_3 production and energy balance in salmonids and other teleosts [J]. Fish Physiol Biochem, 1989, 7: 289 - 293.
- [11] Ayson F G, Lam T J. Thyroxine injection of female rabbit fish (*Siganus guttatus*) broodstock: changes in thyroid hormone levels in plasma, eggs, and yolk-sac larvae, and its effect on larval growth and survival [J]. Aquac, 1993, 109: 83 - 93.
- [12] Fok P, Eale J G. Regulation of plasma T_3 levels in T_4 challenged rainbow trout, *Salmo gairdneri* [J]. Gen Comp Endocrinol, 1984, 53: 197 - 202.