

LHRH-A 缓释剂对雌性赤点石斑鱼卵巢发育、性类固醇激素分泌及脑垂体 GTH 细胞超微结构的影响

舒 琥^{1,2}, 刘晓春¹, 林浩然^{1,*}

(1. 中山大学 水生经济动物研究所暨广东省水生经济动物良种繁育重点实验室, 广东 广州 510275;

2. 广州大学 生物与化学工程学院 生物系, 广东 广州 510405)

摘要: 取 75 尾网箱养殖的 2~3 龄雌性赤点石斑鱼, 分为 3 组 (高、低剂量组和对照组), 各 25 尾。高剂量组埋植促黄体生成素释放激素类似物 (LHRH-A) 缓释剂, 剂量为 300 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重, 低剂量组为 100 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 体重, 对照组埋植不含 LHRH-A 的药丸。分别在实验开始和埋植药丸后 0、10、20、30、40 天抽血, 用放射免疫测定血清类固醇激素 (E_2 、T); 解剖鱼体测定相关指标, 计算性腺成熟系数; 取性腺和肝脏组织常规组织学切片并透射电镜观察。埋植后第 10–30 天, 两种剂量处理组的排卵率均高于对照组, 高剂量组显著高于低剂量组。在第 10 天性腺成熟系数高剂量组为 1.055%, 卵母细胞已有部分迅速发育到 IV 期末 (核偏位); 低剂量组相对缓慢。第 20 天性腺成熟系数高剂量组达 1.858%, 低剂量组为 0.987%; 处理组卵母细胞基本发育成熟。埋植后第 10 天, 两处理组血清 E_2 和 T 水平显著升高; 第 20 天显著下降; 此后 E_2 保持在较低的水平, T 显著低于对照组水平。超微结构的观察证实脑垂体 GTH 细胞在 LHRH-A 缓释剂诱导性腺发育成熟和排卵过程中处于活跃的合成与分泌状态。LHRH-A 缓释剂能有效诱导赤点石斑鱼卵巢发育成熟和排卵, 而性类固醇激素 (E_2 、T) 只与卵黄生成有关, 与排卵无关。

关键词: 赤点石斑鱼; LHRH-A; 缓释; 卵巢发育; 排卵; 性类固醇激素

中图分类号: S917; Q959.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 0254–5853 (2005) 04–0422–07

Effects of Sustained Administration of LHRH-A on Ovary Development, Sex Steroid Hormone Secretion and Ultrastructure of Gonadotropic Cell in *Epinephelus akaara*

SHU Hu^{1, 2}, LIU Xiao-chun¹, LIN Hao-ran^{1,*}

(1. Institute of Aquatic Economic Animal and Key Lab. of Guangdong for Improved Variety Reproduction of Aquatic

Economic Animals, Sun yat-sen University, Guangzhou 510275, China;

2. Department of Biology, School of Biology and Chemistry Engineering, Guangzhou University, Guangzhou 510405, China)

Abstract: Seventy-five female red-spotted grouper (*Epinephelus akaara*) of 2–3 years old were divided into three groups [control group (C), high (H) and low dose group (L), 25 fish per group]. Each group was treated as follows: high dose group [300 μg luteinizing-hormone releasing-hormone analogue (LHRH-A)/kg body weight], low dose group (100 μg LHRH-A/kg body weight) and control (no LHRH-A). Blood samples were collected on day 0, 10, 20, 30 and 40 after implantation and serum estradiol-17 β (E_2) and testosterone (T) were determined by radioimmunoassay (RIA). The fish were killed and the gonads were removed and weighed for calculation of the gonadosomatic index (GSI). The microstructure and ultrastructure of ovary, liver and pituitary were examined by both light microscope and transmission electron microscope. The results showed that the ovulation rate in the LHRH-A implantation group was significantly higher than that in the control group; that the ovulation rate of the high dose group was significantly higher than that in low dose group. The GSI was 1.055% and migrated nucleus was observed on day 10 in high dose group, ovary developed slowly in low dose group. The GSI reached a high of 1.858% and a low of 0.987% at day 20 in the mature ovary in the LHRH-A

* 收稿日期: 2005–01–19; 接受日期: 2005–04–15

基金项目: 国家海洋 863 项目 (2001AA621010); 国家自然科学基金项目 (39970586); 广东省科技计划项目 (A3050201, 2003C20308); 教育部科学技术研究重点资助项目 (02150)

* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: ls32@zsu.edu.cn

implanted group. Serum T and E₂ increased significantly after the LHRH-A implantation at day 10 and declined significantly at day 20. Serum T was significantly lower than the control group. Hypertrophied GTH cells, distinct degranulation and marked dilatation of cisternae of the rough endoplasmic reticulum suggest the release of hormone from the GTH cells. These results suggested that sustained administration of LHRH-A significantly induced ovarian maturation and ovulation in the red-spotted grouper. Sex steroid hormone is correlated with vitellogenesis, not ovulation.

Key words: *Epinephelus akaara*; LHRH-A; Sustained release; Ovary development; Ovulation; Sex steroid hormone

鱼类繁殖是在下丘脑—脑垂体—性腺轴的控制下完成的 (Lin, 1999)。利用外源激素处理是控制养殖鱼类繁殖成熟的重要可靠方法。最常用的是利用促性腺激素释放激素的类似物 (GnRHa) 刺激脑垂体释放促性腺激素 (GTH), 诱导卵巢性类固醇激素的生成和卵子的排放 (Zohar & Mylonas, 2001)。对鱼类直接注射或投喂外源激素, 会很快被代谢清除, 并且只能在短时间内刺激亲鱼大量释放 GTH, 如反复注射或投喂, 对鱼刺激大, 也浪费药品, 同时需要大量的人力、物力, 操作麻烦, 并且还会因操作过多造成对亲鱼的胁迫 (亲鱼受刺激而不吃不动, 乱撞造成鱼体擦伤, 易受感染而致病, 导致死亡等), 从而对性腺发育造成不利的影响。若使用促黄体生成素释放激素类似物 (LHRH-A) 缓释剂, 既能加快性腺发育, 又能减少操作次数、减轻对鱼体的刺激、节约药品。

赤点石斑鱼 (*Epinephelus akaara*) 为名贵海水经济鱼类, 具有病害少、生长快、肉质鲜美、营养丰富等特点, 深受各地消费者的喜爱, 是很好的养殖对象。目前, 养殖所需的种苗主要依靠捕捞天然苗和进口, 由于种苗供不应求, 赤点石斑鱼养殖受到极大的限制。从 20 世纪 70 年代开始, 国内外不少学者都致力于石斑鱼的人工繁殖研究, 多集中在石斑鱼的性转化方面 (Fang et al, 1992; Hong et al, 1994; Kou et al 1988)。在人工养殖条件下, 赤点石斑鱼同许多海水鱼类一样, 表现出不同程度的生殖功能障碍, 如雌性亲鱼卵母细胞最后成熟受阻, 不能顺利排卵和产卵 (Zohar, 1989; Peter et al, 1993)。尽管通过控制温度、光照、盐度、饵料、养殖箱体积和底质等能改善其产卵 (Zohar, 1989; Munro et al, 1990; Yaron, 1995), 但都不及激素处理效果。自 20 世纪 80 年代以来, 缓释剂在海水鱼人工养殖中得到广泛应用。研究表明, 8 次埋植甲基睾酮 (MT) 或雄烯二酮 (ADSD) 缓释剂能明显促进日本鳗鲡雌性的性腺成熟 (GSI 升高 11%) 和雄性的性腺发育 (GSI 提高 1.4%) (Lin

et al, 1998); 在人工养殖条件下 2 次注射 GnRHa 仍不能显著促进条纹狼鲈卵母细胞发育, 但使用 GnRHa 缓释剂后却能显著促进卵母细胞发育和排卵 (Mylonas et al, 1998); 同样使用 GnRHa 缓释剂也能成功诱导金眼狼鲈排卵和产卵 (Mylonas et al, 1997)。但是对利用 LHRH-A 缓释剂诱导石斑鱼性腺发育成熟和排卵及有关的生殖内分泌调控的研究尚未见报道, 这在一定条件下制约了人工繁殖的进展。本实验试图采用埋植不同剂量的 LHRH-A 缓释剂一次来诱导赤点石斑鱼性腺发育成熟和排卵, 同时探讨性腺发育成熟过程中性类固醇激素含量的变化, 旨在为石斑鱼人工繁殖提供理论依据和科学指导。

1 材料与方法

1.1 实验用鱼及养殖

实验用鱼购于广东大亚湾水产试验中心附近海域, 是网箱养殖的 2~3 龄雌性赤点石斑鱼, 共 75 尾。平均体重 460.6 g (218~554 g), 平均体长 25.5 cm (21.5~28.5 cm)。实验鱼饲养在该中心的网箱中, 海水盐度 32~33, 水温 24~30 ℃, 自然光照。

1.2 缓释剂制备及处理

实验鱼被分为对照组 (25 尾鱼) 和处理组 (高、低剂量组各 25 尾)。对照组埋植不含 LHRH-A 的药丸。处理组埋植 LHRH-A 缓释剂药丸, 低剂量组埋植剂量为 100 μg/kg 体重, 高剂量组为 300 μg/kg 体重。实验用 LHRH-A 为宁波激素制品厂产品。药丸制作参照 Sherwood et al (1988) 方法并加以修改, 将一定量的 LHRH-A 与一定比例的胆固醇、纤维素的混合物混合均匀后, 制成直径为 2 mm 的圆柱型颗粒, 用塑料瓶密封后储于冰箱中备用。用抄网将亲鱼从水池中捞起, 用经消毒的解剖刀在鱼体背部与侧线之间的肌肉划一小洞, 然后用一支特制的推进器将缓释剂药丸埋植进去, 伤口涂四环素或红霉素以防感染。

1.3 样品的采集处理

在实验开始和埋植药丸后 0、10、20、30、40 d，分别从处理组和对照组雌性亲鱼中各取 5 尾，从尾部血管抽血。血液 4 ℃放置 4~6 h 后，10 000 r/min 离心 5 min，取上清液（血清），-25 ℃保存待测性类固醇激素。解剖鱼体，测体长，称体重（BW）、性腺重（GW）和肝重（LW），分别计算性腺成熟系数（ $GSI = GW/BW \times 100\%$ ）、肝体指数（ $HSI = LW/BW \times 100\%$ ）。

取性腺和肝脏组织用波恩氏液固定，常规组织学切片，切片厚度 6~8 μm，H.E 染色，Olympus-BX40 型显微镜观察卵巢和肝脏组织结构并拍照。脑垂体的部分样品用 2.5% 的戊二醛和 1% 锇酸双固定，梯度乙醇脱水，E812 树脂包埋，LKB 超薄切片。经醋酸铀和柠檬酸铅染色后，切片置日立 H-600 型透射电镜下观察脑垂体 GTH 细胞结构并拍照。

1.4 性类固醇激素雌二醇、睾酮的测定方法

血清性类固醇激素雌二醇（E₂）、睾酮（T）水平采用放射免疫测定方法（RIA）进行测定，E₂、T 放射免疫测定试剂盒购自中国北方生物技术所，

E₂ 的测量灵敏度为 2 pg/mL，T 的测量灵敏度为 0.02 ng/mL，样品测定均采用双管平行。

1.5 数据处理

实验数据采用 SPSS12.0 统计软件包中的单因素方差分析（ANOVA）和 Duncan’s 多重比较分析。当 $P < 0.05$ 时，差异显著。所有结果均以平均值 ± 标准误（Mean ± SE）表示。

2 结 果

2.1 埋植不同剂量的 LHRH-A 缓释剂对发育和排卵的影响

埋植 LHRH-A 缓释剂后第 10、20、30 天，LHRH-A 缓释剂对赤点石斑鱼性腺发育有显著影响（ $P < 0.05$ ）（表 1）。其中两种剂量处理组的排卵率均高于对照组，高剂量组的排卵率显著高于低剂量组。高剂量组排卵率在第 10 天为 40%，第 20 天就达 100%；低剂量组第 20 天仅有 60%，对照组则无。但第 40 天埋植组和对照组的排卵率和性腺成熟系数无显著差异。各组肝体系数（HSI）变化规律不明显。

表 1 埋植不同剂量的 LHRH-A 缓释剂对雌性赤点石斑鱼卵巢发育的影响
Tab. 1 Influences of different dose sustained-release LHRH-A implantation on development of ovary in *Epinephelus akaara*

埋植后时间 Time (d)	处理剂量 Treatment dose (μg/kg)	排卵率 Rate of ovulation (%)	平均性腺成熟系数 Gonadosomatic index (%)	肝体系数 Hepatic somatic index (%)
0	0	0	0.35 ± 0.052 ^a	0.93 ± 0.082 ^{ab}
10	对照 0	0	0.402 ± 0.041 ^a	0.88 ± 0.076 ^{ab}
	埋植 100	0	0.568 ± 0.063 ^a	0.90 ± 0.114 ^{bc}
	300	40	1.055 ± 0.142 ^b	1.27 ± 0.136 ^c
20	对照 0	0	0.605 ± 0.116 ^a	0.78 ± 0.089 ^{ab}
	埋植 100	60	0.987 ± 0.164 ^b	0.72 ± 0.077 ^a
	300	100 [*]	1.858 ± 0.287 ^c	1.02 ± 0.152 ^{bc}
30	对照 0	20	0.56 ± 0.061 ^a	0.851 ± 0.095 ^{ab}
	埋植 100	40	0.693 ± 0.087 ^a	0.807 ± 0.099 ^{ab}
	300	80 [*]	1.195 ± 0.098 ^b	1.043 ± 0.125 ^{bc}
40	对照 0	0	0.39 ± 0.067 ^a	0.625 ± 0.062 ^a
	埋植 100	0	0.359 ± 0.039 ^a	0.583 ± 0.064 ^a
	300	20	0.565 ± 0.054 ^a	0.654 ± 0.073 ^a

各值为平均值 ± 标准误，同列不同上标字母表示差异显著（ $P < 0.05$ ，Duncan 氏检验， $n = 5$ ）。
Data are represented as mean ± SE, values with different superscripts indicate a significant difference ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test, $n = 5$).
* 显著高于其他各组（ $P < 0.05$ ，Duncan 氏检验）。
* Significantly higher than other groups ($P < 0.05$, Duncan's multiple range test).

2.2 埋植 LHRH-A 缓释剂后赤点石斑鱼血清类固醇激素水平的变化

埋植后第 10、20、30 天，LHRH-A 缓释剂对赤点石斑鱼血清性类固醇激素（E₂ 和 T）有显著影响（*P* < 0.05）。埋植后第 10 天，血清 E₂ 水平显著升高：对照组为（0.59 ± 0.12）pg/mL，低剂量组为（2.77 ± 0.15）pg/mL，高剂量组为（4.18 ± 2.38）pg/mL。埋植后第 20 天，处理组则显著下降：低剂量组为（0.46 ± 0.13）pg/mL，高剂量组为（0.73 ± 0.42）pg/mL，与对照组无显著差异（图 1A）。此后血清 E₂ 含量均保持在较低的水平，

且各组之间无显著差异。

埋植 LHRH-A 缓释剂后，赤点石斑鱼血清 T 水平的变化趋势（图 1B）与 E₂ 水平相似。在埋植后第 10 天，血清 T 水平显著升高：对照组为（36.75 ± 2.15）ng/100 mL，低剂量组为（52.95 ± 11.54）ng/100 mL，高剂量组为（61.22 ± 14.09）ng/100 mL。在埋植后第 20 天，高剂量组下降到（12.79 ± 1.22）ng/100 mL，显著低于对照组 [（38.34 ± 2.15）ng/100 mL] 和低剂量组 [（31.45 ± 4.96）ng/100 mL]。埋植后第 30 天，高低剂量组均显著低于对照组。到第 40 天，各组之间无显著差异。

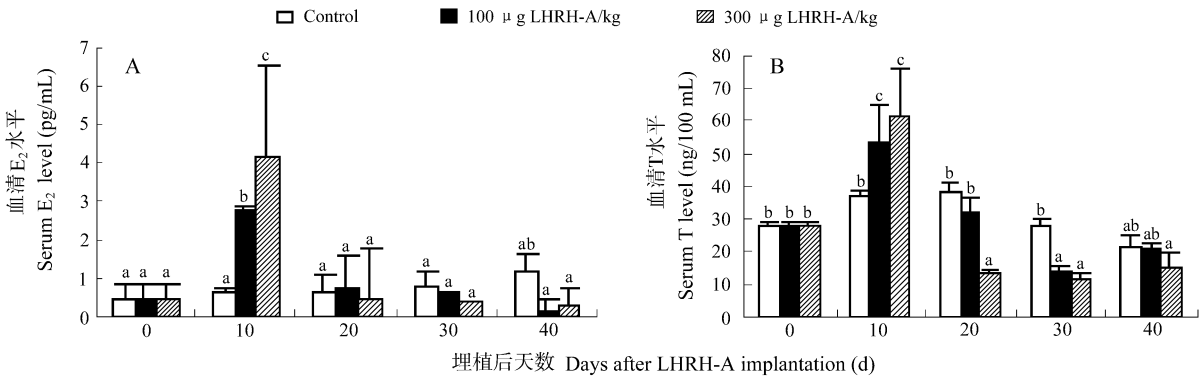


图 1 埋植 LHRH-A 缓释剂后雌性赤点石斑鱼血清 E₂ (A) 和 T (B) 含量的变化

Fig. 1 Changes in the contents of serum E₂ (A) and T (B) after the implantation of sustained released

LHRH-A in *Epinephelus akaara*

各值为平均值 ± 标准误，柱上不同字母表示差异显著（*P* < 0.05，Duncan 氏检验，*n* = 5）。

Data are represented as mean ± SE, columns with different letters indicate a significant difference (*P* < 0.05, Duncan's multiple range test, *n* = 5).

2.3 埋植 LHRH-A 缓释剂后赤点石斑鱼卵巢发育状况和脑垂体 GTH 细胞的超微结构

埋植药丸当天（0 d），对照组卵巢卵母细胞尚处在Ⅲ期（图 2：1）。第 10 天，对照组卵母细胞结构与 0 d 基本相似，而处理组卵母细胞开始发育，尤其是高剂量组已有部分迅速发育到Ⅳ期末（核偏位）（图 2：2，3），低剂量组相对缓慢。第 20 天，对照组发育到Ⅳ初，而此时处理组基本发育成熟（图 2：4）。

对照组的肝细胞略呈多角形，大小形状规则；圆形的细胞核常位于细胞中央，核仁明显；细胞质内糖原丰富，脂泡很少见。处理组肝细胞及核明显增大，反映肝细胞脂类含量的细胞质空泡化程度增大，小空泡常融合在一起，致使许多细胞内只含有一、二个大空泡而把核挤到细胞一边（图 2：5，

6）。表明肝细胞内脂类含量增加。

对照组脑垂体中的 GTH 细胞一般呈圆形或卵圆形，细胞间有膜隔开；细胞质内仅有小分泌颗粒，形状为圆形、长圆形，电子密度较高；胞内存在少量内质网，线粒体（图 2：7）。而低剂量处理组细胞界限清晰，细胞核卵圆形，较大；细胞质内电子密度高的小分泌颗粒在增生，而电子密度较低的球状分泌颗粒开始出现，内质网和线粒体开始活跃（图 2：8）；高剂量处理组细胞内球状分泌颗粒显著增加，并出现新增生的球状分泌颗粒，电子密度相对较低，小分泌颗粒仍相当丰富，并有丰富的线粒体和内质网（图 2：9）。处理组产卵后雌鱼 GTH 细胞分泌小球和分泌颗粒数量均明显减少，细胞质中充满大小空泡，细胞核变形凹陷（图 2：10，11）。

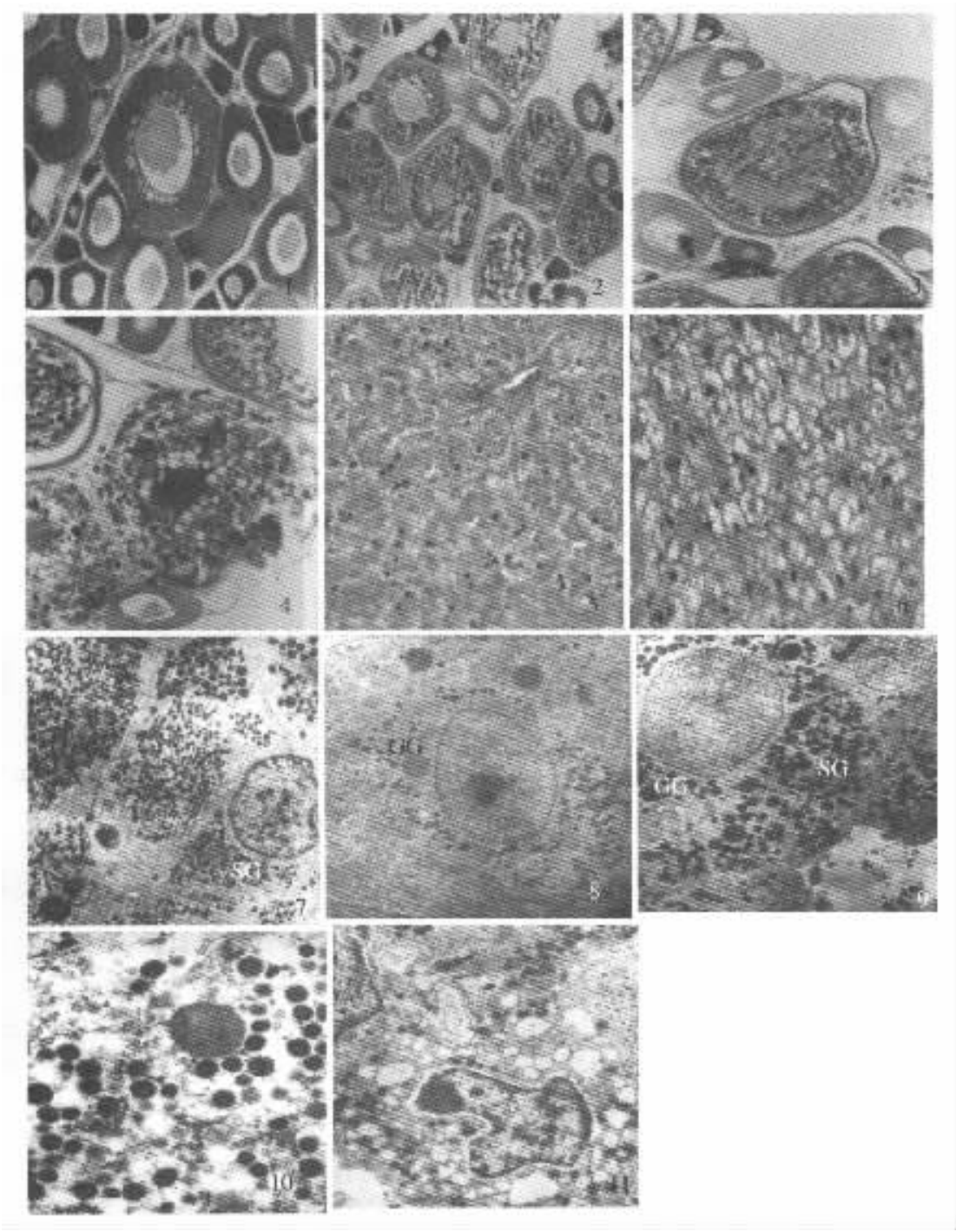


图 2 埋植 LHRH-A 缓释剂后赤点石斑鱼卵巢发育状况和脑垂体 GTH 细胞的超微结构

Fig. 2 Ovary development and ultrastructure of gonadotropic cell by implanting the sustained released LHRH-A in *Epinephelus akaara*

GG：分泌小球 (Secretory gloube)；SG：分泌颗粒 (Secretory granule)。

1. 实验当天和第 10 天的对照组卵巢，示 3 时相卵母细胞 (The ovary from control fish, showing the oocyte of phase 3) × 200；
2. 埋植高剂量 LHRH-A 缓释剂后第 10 天的卵巢，示 4 时相卵母细胞 (Fish given LHRH-A implantation, showing the oocyte of phase 4) × 200；
3. 同上 (2)，示 4 时相末的卵母细胞和核偏位 (Fish given LHRH-A implantation, the oocyte of late phase 4, showing migrated nucleus) × 200；
4. 埋植高剂量 LHRH-A 缓释剂后第 20 天，示 5 时相卵母细胞 (Fish given LHRH-A implantation, the oocyte of late phase 5) × 200；
5. 对照组肝细胞 (Liver section of control fish) × 200；

6. 埋植 LHRH-A 缓释剂后的肝细胞 (Liver section after LHRH-A implantation) $\times 200$;
7. 对照组 GTH 细胞, 示分泌颗粒 (GTH cell of control fish, showing secretory granule) $\times 6\ 000$;
8. 埋植低剂量 LHRH-A 缓释剂后的 GTH 细胞, 示分泌小球开始出现和分泌颗粒在增生 (GTH cell of low dose LHRH-A implantation, showing secretory gloube and granule) $\times 6\ 000$;
9. 埋植高剂量 LHRH-A 缓释剂后的 GTH 细胞, 示大量的分泌小球和分泌颗粒 (GTH cell of high dose LHRH-A implantation, showing large numbers of secretory gloube and granule) $\times 6\ 000$;
10. 埋植高剂量 LHRH-A 缓释剂后排卵的 GTH 细胞, 示空泡 (GTH cell of high dose LHRH-A implantation, showing vacuoles) $\times 6\ 000$;
11. 埋植高剂量 LHRH-A 缓释剂后排卵的 GTH 细胞, 示正在变大的空泡和凹陷的核 (GTH cell of high dose LHRH-A implantation, showing bigger vacuoles and sunken nucleus) $\times 8\ 000$ 。

3 讨 论

埋植高低剂量的 LHRH-A 缓释剂均能诱导卵巢成熟和排卵, 其中高剂量处理的效果最佳。但在埋植 40 天后排卵率下降, GSI 降低。提示卵巢发育停滞和开始退化。分析其原因可能是: ①本实验是在 5 月中旬至 6 月底在室外水泥池网箱中进行的, 而 6 月中旬气温升高 ($30\ ^\circ\text{C}$ 以上) 导致水温升高, 高温导致卵巢发育停滞甚至退化。②LHRH-A 缓释剂随着时间的延长, 缓释效果和作用效应逐渐减弱, 外源 GTH 分泌降低, 导致卵巢发育停止。

在繁殖季节, 养殖鱼类排卵失败是由于脑垂体不能正常释放 GTH (Zohar & Mylonas, 2001), 而 GnRHa 缓释剂在刺激雌性养殖鱼类的卵巢发育和排卵方面是有效的。因此, 卵母细胞的发育成熟和排卵可能是由于 LHRH-A 缓释剂能较长时间诱导脑垂体释放 GTH, 并使血液中 GTH 在较长时间内维持较高水平; 或是 GTH 作用于卵巢刺激性类固醇激素生成, 性类固醇激素反馈调节脑垂体分泌 GTH 的结果。本文的实验结果也证明了这一点。在实验中发现, 在卵母细胞最后成熟之前的样品, 血清性类固醇激素 (T 、 E_2) 水平高, 而在卵母细胞最后成熟和排卵时, T 、 E_2 水平急剧下降。此外, 本研究赤点石斑鱼排卵前后血清 E_2 和 T 的变化情况与

对虹鳟 (Scott et al, 1983) 及条纹狼鲈 (Mylonas et al, 1998) 的研究结果基本一致。

从卵母细胞的超微结构看, 对照组发育相对迟缓, 虽然能完成卵黄的积累, 但不能达到卵母细胞最后成熟。而埋植组由于 LHRH-A 缓释药物的持续作用保证了 GTH 细胞持续稳定分泌, 从而刺激卵母细胞的发育与最后成熟和排卵。由于 LHRH-A 促进 GTH 的分泌存在剂量依存关系, 因此, 高剂量处理效果比低剂量好。虽然本文未能测定出脑垂体和血清的 GTH 含量, 但从 GTH 细胞的超微结构可以得到佐证。我们对脑垂体超微结构的分析认为, 赤点石斑鱼只存在一种 GTH 细胞, 但细胞中具有大小两种分泌颗粒 (分泌小球和分泌颗粒)。对照组 GTH 细胞胞质内仅有小分泌颗粒, 低剂量组胞质内电子密度高的小分泌颗粒在增生, 而电子密度较低的分泌小球开始出现; 高剂量组细胞内分泌小球显著增加, 小分泌颗粒仍相当丰富。

本研究进一步证明, 埋植 LHRH-A 缓释剂操作简便 (只 1 次即可), 减少了因操作过多造成对亲鱼的胁迫。并且能显著刺激赤点石斑鱼 GTH 细胞的持续稳定分泌, 有效诱导卵巢发育成熟和排卵。因此, 采用 LHRH-A 缓释剂是诱导海水鱼类 (特别是不易驯化的海水鱼类) 性腺发育成熟和生殖的有效方法。

参考文献:

- Fang YQ, Lin QM, Qi X, Hong GY. 1992. Effects of 17α -methyltestosterone on sex reversal in *Epinephelus akaara* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 16 (2): 171 - 174. [方永强, 林秋明, 齐襄, 洪桂英. 1992. 17α -甲基睾酮对赤点石斑鱼性逆转的影响. 水产学报, 16 (2): 171 - 174.]
- Hong WS, Zhang QY, Gong MJ, Lin WX, Shanguan BM. 1994. Masculinization of red grouper (*Epinephelus akaara*) induced by exogenous hormone [J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 13 (4): 374 - 379. [洪万树, 张其永, 公茂军, 林伟雄, 上官不敏. 1994. 外源激素诱导赤点石斑鱼雄性化. 台湾海峡, 13 (4): 374 - 379.]
- Kou CM, Ting YY, Yeh SL. 1988. Induced sex reversal and spawning of blue-spotted grouper, *Epinephelus fario* [J]. *Aquac.*, 74: 113 - 126.
- Lin HR, Xie G, Zhang LH, Wang XD, Chen LX. 1998. Artificial induced of gonadal maturation and ovulation in the Japanese eel (*Anguilla japonica*) [J]. *Bull. Fr. Peche. Piscic.*, 349: 163 - 176.
- Lin HR. 1999. Fish Physiology [M]. Guangzhou: Guangdong Higher Education Press. 146 - 204. [林浩然. 1999. 鱼类生理学. 广东: 广东高教出版社. 146 - 204.]
- Munro AD, Scott AP, Lam TJ. 1990. Reproductive Seasonality in Teleosts: Environmental influences [M]. Florida: CRC Press.

254.

Mylonas CC, Mangus Y, Gissis A, Klebanov Y, Zohar Y. 1997. Reproductive biology and endocrine regulation of final oocyte maturation of captive white bass [J]. *J. Fish Biol.*, **51**: 234–250.

Mylonas CC, Woods LC, III, Thomas P, Zohar Y. 1998. Endocrine profiles of female striped bass (*Morone saxatilis*) during post-vitellogenesis, and induction of final oocyte maturation via controlled-release GnRHa-delivery systems [J]. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **110**: 276–289.

Peter RE, Lin HR, van der Kraak G, Little M. 1993. Releasing hormones, dopamine antagonists and induced spawning [A]. In: Muir JF, Robert RJ. Recent Advances in Aquaculture. Vol. IV [M]. Blackwell Scientific Publications, Oxford. 25–30.

Scott AP, Sumpter JP, Hardiman PA. 1983. Hormone changes during

ovulation in the rainbow trout (*Salmo gairdneri* Richardson) [J]. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **49**: 128–134.

Sherwood NM, Crim LW, Carolsfeld J, Walters SM. 1988. Sustained hormone release: I. Characteristics of *in vitro* release of gonadotropin-releasing hormone analogue (GnRHa) from pellets [J]. *Aquac.*, **74**: 75–86.

Yaron Z. 1995. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp [J]. *Aquac.*, **129**: 49–73.

Zohar Y. 1989. Endocrinology and fish farming: Aspects in reproduction, growth and smoltification [J]. *Fish. Physiol. Biochem.*, **7**: 395–405.

Zohar Y, Mylonas CC. 2001. Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: From hormones to genes [J]. *Aquac.*, **197**: 99–136.

《动物学研究》2006 年征订启事

《动物学研究》创刊于 1980 年。是中国科学院昆明动物研究所主办的向国内外公开发行的动物学类学报级双月刊，侧重报道进化、生态（含行为和保护）以及资源动物学研究成果。

本刊在《中文核心期刊要目总览》中一直被列为动物学类核心期刊。在中国科学技术信息研究所《2004 年版中国科技期刊引证报告》中，本刊影响因子为 0.576，在所列 55 种生物类科技期刊中排名第 16 位，在全国 1576 种科技期刊中排名第 218 位。在中国学术期刊（光盘版）电子杂志社文献检索分析中心的《中国学术期刊综合引证年度报告（2004）》（统计刊源为 5584 种）中，本刊影响因子为 0.6198，他引率为 0.9391。

本刊除了在国内 30 个省市自治区发行外，还在美国、英国、加拿大、澳大利亚等 11 个国家发行，同时与美、日、德、意和新西兰等 23 个国家和地区 75 个单位进行交换。

本刊读者对象为科研机构、大专院校等从事动物学、医学、农林牧渔研究、教学和生产，以及资源环境保护与管理的有关人员。

本刊为双月刊，双月 22 日出版。大 16 开本，每期 96 页。单价 15.00 元，全年 90.00 元。国内邮发代号：64–20，全国各地邮局（所）均可订阅，如错过订期也可汇款到本刊编辑部订阅。

编辑部地址：650223 昆明市教场东路 32 号 中国科学院昆明动物研究所

电话：(0871) 5199026 传真：(871) 5191823

E-mail: zoores@mail.kiz.ac.cn

http: //www.kiz.ac.cn

http: //www.wanfangdata.com.cn

http: //www.chinajournal.net./dwxy.html