

人工促進青點石斑性轉變之性腺類固醇激素分泌研究

葉信利·丁雲源·余玉林

Studies on the steroid secretion of blue-spotted grouper (*Epinephelus fario* THUNBERG) with hormone treatment

Shinn-Lih Yeh, Yun-Yuan Ting and John Yuh-Lin Yu

For the purpose of study steroid secretion in relation to gonadal development during sex change and maturation stage of grouper. The blue-spotted grouper (about 2 years of age) were made to induce sexual conversion with 17 β -methyltestosterone treatment. Groupers were treated from January to June, 1985 by oral application method and the fish were sampled for observation of liver, gonadal weights and blood samples. Blood estradiol-17 β and androgen were quantified by radioimmunoassays. Then, the results were summarised as follow:

1. The gonadosomatic index was highest in July, and the mature female whereas, was over 2.0 %
2. The estradiol-17 β level of grouper was highest in July (79.85 pg/ml serum, female; 73.70 pg/ml serum, male), and lowest in the begin of July (26.40 pg/ml serum, intersex).
3. The androgen level was highest in July of female (649.60 pg/ml serum) and male (1632.25 pg/ml serum).
4. The estradiol-17 β and androgen level peaked in the stage of ovary and testis final maturation but low in the intersex period.
5. The androgen levels correlated well with the gonadosomatic indice of female, and correlated well with the hepatosomatic indice of male.

前 言

青點石斑 (*Epinephelus fario* THUNBERG), 英名 trout reefcode, blue-spotted grouper, 和鮫形石斑 (*Epinephelus salmonoides* LACEPEDE), 統俗稱為朱郭魚或鱧猫魚, 為石斑魚中高級經濟海產魚種之一。頗受東南亞及本省消費者喜好, 台灣每年均大量外銷至香港。然基於市場需要日增, 而撈捕自然海域供為養殖用魚苗供應逐有不足之現象, 乃益迫切需人工繁殖技術之確立, 解決魚苗來源之問題。但石斑魚為雌雄同體雌性先熟型 (Protogynous hermaphroditism) ⁽¹⁾⁽²⁾

之魚，通常雌魚需2至5年，雄魚8至11年才會成熟⁽⁸⁾，成熟種魚之來源，尤其是雄性種魚之獲得，一直是石斑魚人工繁殖技術上之瓶頸。並且以往對於石斑魚之研究，偏重於繁殖方面及利用捕自海域天然種魚之繁殖試驗⁽⁴⁾，⁽⁶⁾，⁽⁸⁾，⁽⁷⁾，決少提及生理學方面之研究。但近年來，對於解決這人工繁殖雄性種魚來源困難，碩大不易處理方面，則正著重於利用人為方式，促進石斑魚提前性轉變，提早得到雄性種魚，並經Chen et al (1977)⁽⁸⁾對鱸滑石斑 (*Epinephelus tauvina*)，葉等 (1986)⁽⁹⁾對青點石斑、鮭形石斑，利用雄性素 (Androgen) 先後成功使雌性石斑魚性轉變成雄性石斑魚，證實了內分泌學對水產養殖上之應用與發展性。

雖目前已能成功使石斑魚性轉變，然對石斑魚性腺荷爾蒙之分泌型態及機制之報告尚缺乏，不管是天然種魚生殖週期之分泌型態或是性轉變方面之分泌型態。所以有必要對性腺類固醇激素分泌機制加以探討，本實驗即在人工促進石斑魚性轉變成功後，進一步研究性轉變過程及卵巢發育過程中，性腺類固醇激素分泌型態與性腺發育之關係，做為培育石斑種魚人工控制生殖之參考。

材料與方法

材料：

以2齡左右之青點石斑 (*E. fairo*) 52尾，平均體長46.57公分，平均體重1.69公斤分成A、B、C三組。另36尾，平均體長50.17公分，平均體重1.96公斤，分成D、E二組為試驗魚，定期採樣後測量之平均體重體長如表1所示。

方法：

1. 荷爾蒙處理：

1985年元月底至1985年6月中旬，A、C、D三組使用 17α -Methyltestosterone (Sigma) 以酒精溶於飼料內，經60°C，1小時烘乾後每日餵食一次，投餵劑量每次A、D組約1 mg / Kg 魚體重，C組約0.5 mg / Kg 魚體重，每星期投餵荷爾蒙3至5次，視石斑魚攝食情形加以控制，並於投餵後隔日收回殘餌加以計算殘餌及棄量，至實驗結果每尾魚平均累積劑量如表2所示，B、E二組為對照組，不加荷爾蒙餘處理皆同。

2. 組織學研究：

定期採樣，以組織石腊切片法，切取10~14 UM之生殖腺組織，經H & E染色後，參照Tan (1974)，曾 (1984)⁽¹⁰⁾，葉 (1986) 對石斑魚性腺發育型態加以分級。I至V為卵巢發育級，VI至VII為性轉變級，IX至XI為精巢發育級。肝臟指數 (Hepatosomatic index, HSI) 之計算為：肝重 (g) / 體重 (g) × 100%，性腺指數 (Gonadosomatic index, GSI) 之計算為：生殖腺重 (g) / 體重 (g) × 100%。

3. 性腺類固醇激素含量之分析：

每尾魚配合組織採樣時，由魚尾動脈抽取2~3 ml 血液，先置於室溫中1小時，待凝固後，移至4°C冰箱中1~2小時冷存，再以4~8°C，1500 rpm，15分，離心分離出血清，備放於零下20°C以待分析。測定時血清經乙醚萃取後以放射免疫分析法 (Radioimmunoassay, RIA) 定量性腺類固醇激素 Estradiol-17 β 及 Androgen 之含量 (余, 1986)⁽¹¹⁾。為了解所使用荷爾蒙 17α -Methyltestosterone 殘留血清中 RIA 分析時與抗體之交互反應 (Cross-reaction)，乃以抗體和舉固酮 (testosterone) 之反應定為100%，測定 17α -methyltestosterone 之交互反應為0.95%，故交互反應度 (Cross-reactivities) 可忽略不計。樣品之性腺類固醇激素含量係由標準曲線之性腺類固醇激素含量外推而來之相當量。

結 果

表 1 定期採樣之平均體重體長

Table 1 Determination of mean body weight and length of grouper at different month.

The data are expressed as Mean \pm SEM.

Group	Month		Jan.	March	May	June	July
	BW	BL					
A	BW		1.950 \pm 0.158 N=17	2.147 \pm 0.123 N=4	2.248 \pm 0.346 N=4	1.810 \pm 0.175 N=8	
	BL		49.2 \pm 0.127	50.4 \pm 0.987	51.9 \pm 3.051	51.1 \pm 1.693	
B	BW		1.360 \pm 0.120 N=17	1.533 \pm 0.115 N=4	1.925 \pm 0.179 N=4		2.020 \pm 0.250 N=6
	BL		43.5 \pm 1.357	44.5 \pm 1.236	49.25 \pm 1.974		50.1 \pm 1.583
C	BW		1.690 \pm 0.179 N=18	2.085 \pm 0.440 N=4		2.065 \pm 0.261 N=8	1.95 \pm 0.194 N=4
	BL		46.9 \pm 1.581	52.3 \pm 3.902		52.4 \pm 2.492	52.6 \pm 1.611
D	BW		1.960 \pm 0.055 N=18	2.095 \pm 0.082 N=4	1.961 \pm 0.125 N=4	1.772 \pm 0.145 N=5	1.917 \pm 0.217 N=3
	BL		50.2 \pm 0.606	51.5 \pm 0.759	52.9 \pm 0.690	53.4 \pm 1.055	53.6 \pm 1.815
E	BW		1.960 \pm 0.055 N=18	2.145 \pm 0.136 N=4	2.133 \pm 0.038 N=3		2.390 \pm 0.290 N=4
	BL		50.2 \pm 0.606	54.1 \pm 1.504	54.6 \pm 1.040		54.1 \pm 2.325

BW: KG

BL: CM

表 2 每尾魚平均荷爾蒙累積劑量

Table 2 Mean accumulative dosage of 17 α -methyltestosterone (mg/Kg Body Weight) treated for sexual conversion of every grouper, *Epinephelus fario*

Group	Feeding dosage (mg/Kg BW)	Accumulative dosage (mg/Kg BW)		
		March	May	June
A	1.0	42.08	91.28	156.61
C	0.5	19.86	43.93	69.65
D	1.0	45.95	96.66	159.42
B & E	0	0	0	0

Groups B and E: control

一、性腺指數之月變化：

青點石斑之性腺指數月變化如圖1所示，B、E二組都隨月份改變而增加，尤其E組GSI都比其他組要高，且在7月份升高至2.0以上。A、C、D三組中，A、C二組GSI值都先稍升而後即降，D組則隨月份改變下降，此情形與投藥量對GSI之影響一致（圖2），A、C組隨累積劑量增加GSI先稍升後降，D組則隨劑量累積而降，所以B、E二組雌性石斑GSI隨季節升高，於7月遽增；A、C、D三組GSI之遽降則表示投藥後，性腺經荷爾蒙作用之影響，因生殖巢性轉變而致使GSI下降。

二、性腺類固醇激素含量之月變化：

性腺類固醇激素之測定以（雌二醇）（Estradiol - 17 β ）及雄性素（Androgen）為代表。雌二醇含量之月變化如圖3所示，在雌性石斑魚（B、E二組）中，E組隨月份改變而升高，於7月時平均達79.85 pg/ml serum，B組雖隨月份先降，但亦於7月時回升。變性石斑魚A、C、D三組中，C組隨月份改變而先稍增後降。D組則隨月份改變先稍增後降，但於7月時回升至73.7 pg/ml serum。而由圖4所示，雌二醇與藥物累積之關係，則C、D二組皆顯出含量隨藥物累積而降低，C組降至平均約26.46pg/ml serum，D值為46.75 pg/ml serum。所以，雌二醇含量之月變化中，雌性石斑魚隨月別而改變，於7月時最高；變性石斑魚之E₂-17 β 含量受荷爾蒙劑量影響較巨，月別影響小。

雄性素（Androgen）含量之月變化如圖5所示，B組隨月別先降後升。E組則隨月別而增，在7月時平均達約649.6pg/ml serum。A、D二組則皆隨月別先降，至6、7月時遽增，A組6月時平均為391 pg/ml serum，D組於7月時平均則達1,632.25 pg/ml serum。而C組則隨月別變化而遽增，7月時平均1,091.875 pg/ml serum，且雄性素含量與投餵荷爾蒙吸收之累積量亦有相同之關係（圖6），A、C、D三組皆先降而後遽升。所以，雄性素（Androgen）含量之月別變化中，雌石斑魚於生殖季6、7月時達高峯；而經變性之石斑魚，不僅受季節之影響，亦受投餵之荷爾蒙影響，於6、7月時也達高峯。

三、性腺指數與生殖腺發育級之關係：

生殖腺發育級I至V為雌石斑魚發育分級，VI至VII為性轉變之過程，IX至XI為精巢發育級。圖7為性腺指數與生殖腺發育級之關係，雌石斑魚GSI隨生殖腺發育程度而增加，當達到成熟時（IV級），GSI為2.0以上。在變性過程中則GSI一直下降，直至精巢發育時（IX級）GSI才回升，顯示出，生殖腺在性轉變過程中逐漸萎縮，至精巢形成後，才逐漸增大。

四、性腺類固醇激素含量與生殖腺發育之關係：

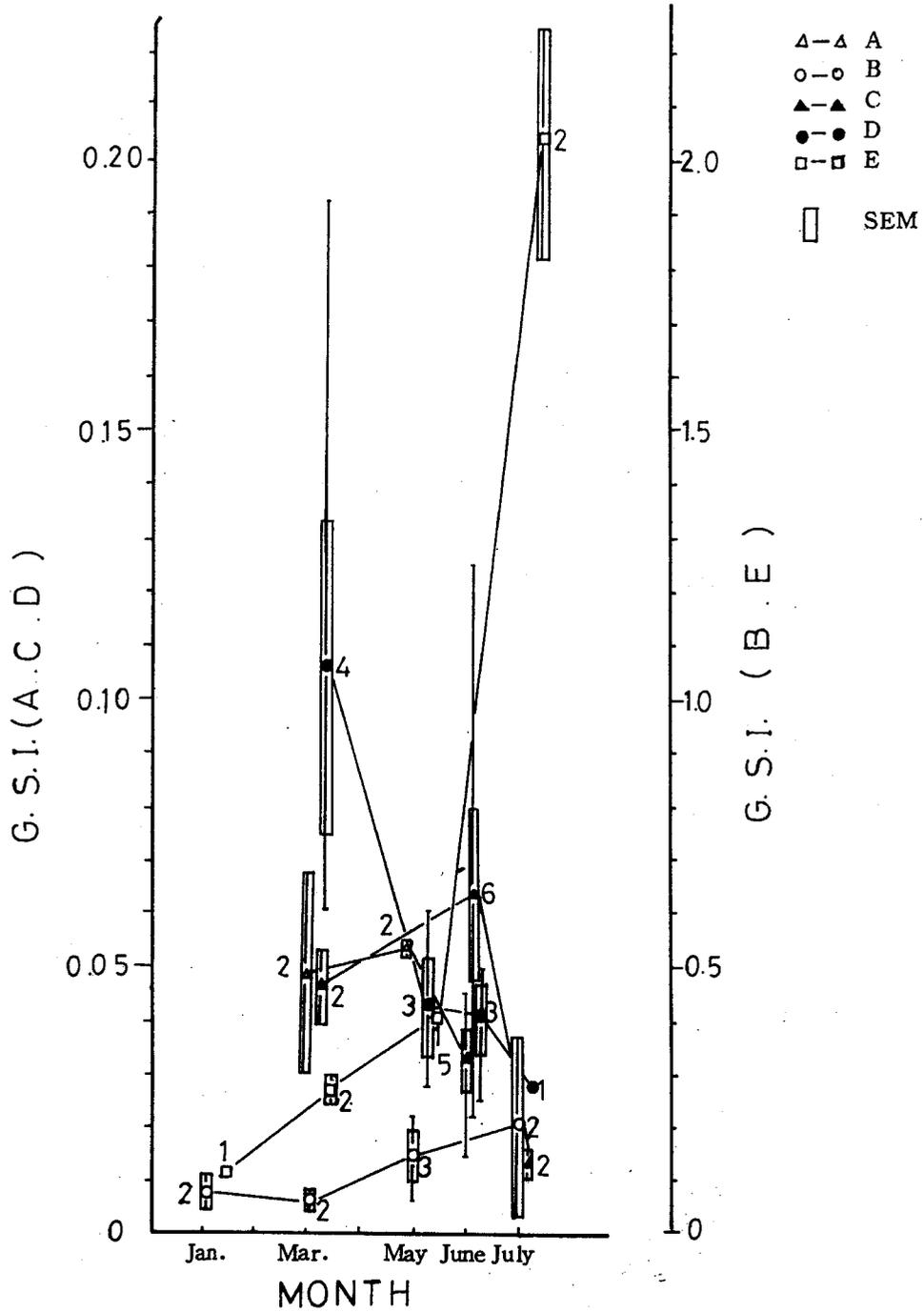


圖1 性腺指數月變化

Fig. 1 Changes in gonadosomatic index of grouper for monthly variation. The data are expressed as Mean \pm SEM. Vertical bars represent variable of the mean. The numbers represent the numbers of fish.

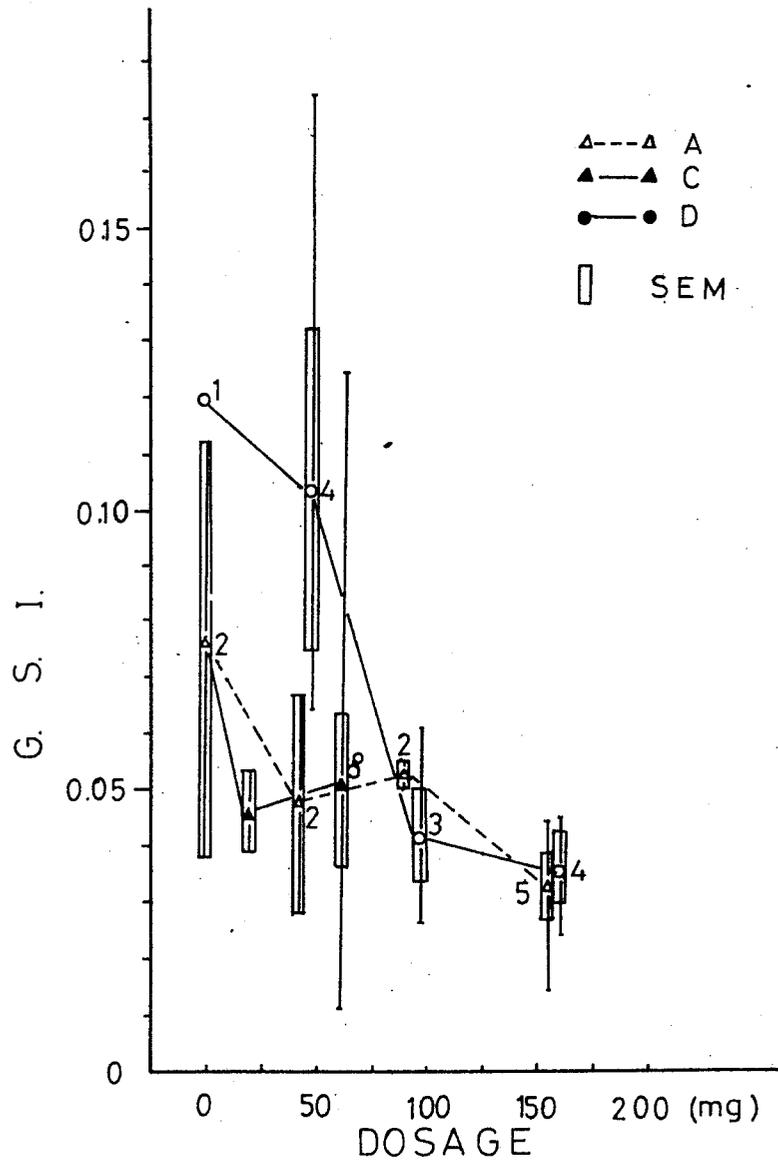


圖 2 平均荷爾蒙累積劑量與性腺指數之關係

Fig. 2 The relation changes between gonadosomatic index and mean accumulative dosage of grouper after hormone treated. The data are expressed as Mean \pm SEM. Vertical lines indicate variable range of the mean. The numbers represent the numbers of fish.

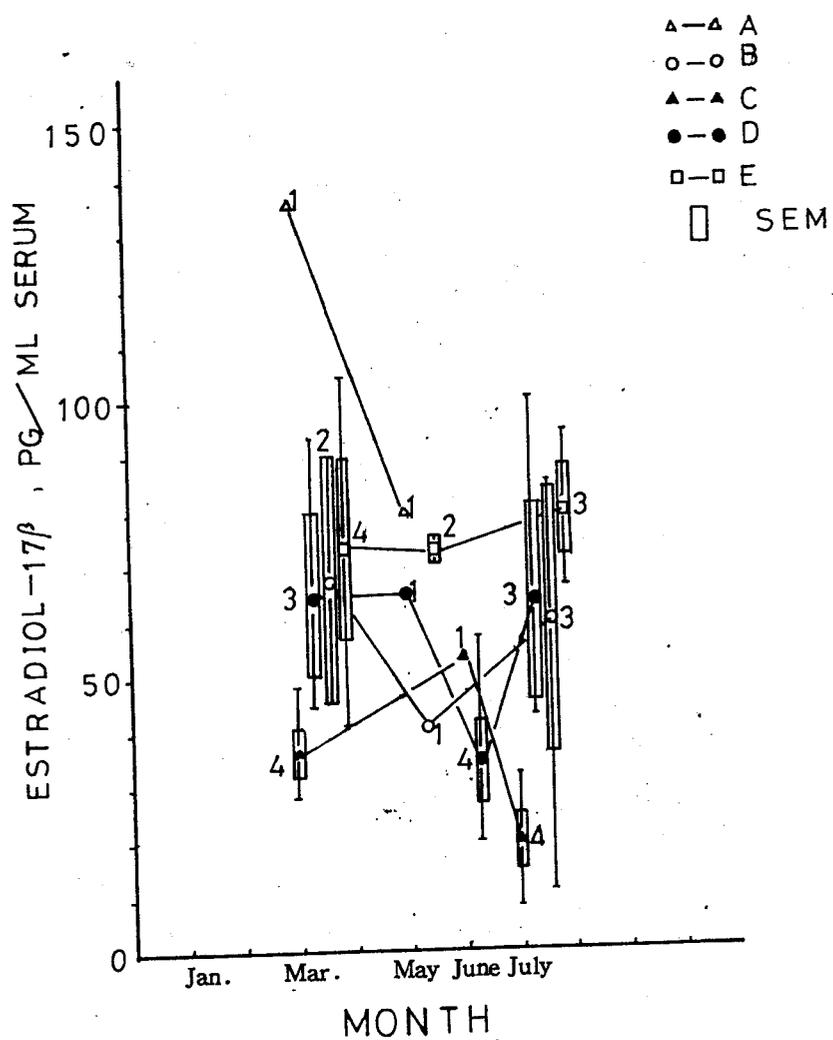


圖 3 雌二醇含量月變化

Fig. 3 Changes in estradiol-17 β level of grouper for monthly variation. The data are expressed as Mean \pm SEM. Vertical bars represent variable of the mean. The numbers represent the numbers of fish.

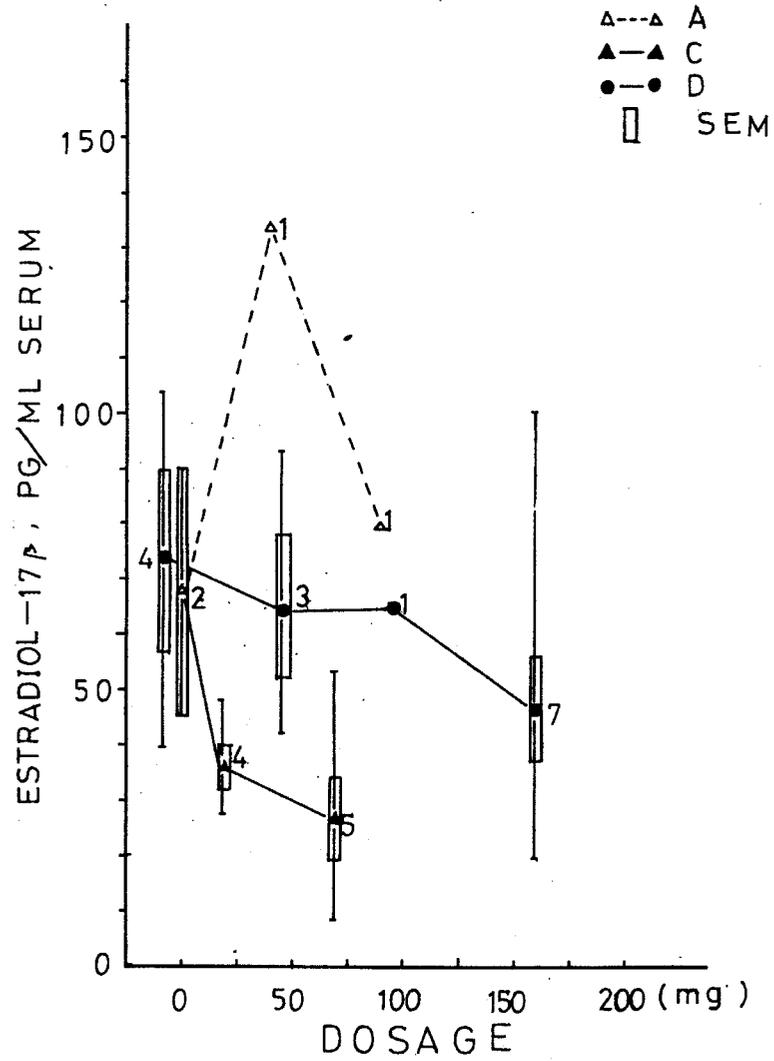


圖 4 平均荷爾蒙累積劑量與雌二醇含量之關係

Fig. 4 The relation changes between estradiol-17β level and mean accumulative dosage of grouper after hormone treated. The data are expressed as Mean ± SEM. Vertical lines indicated variable range of the mean. The numbers represent the numbers of fish.

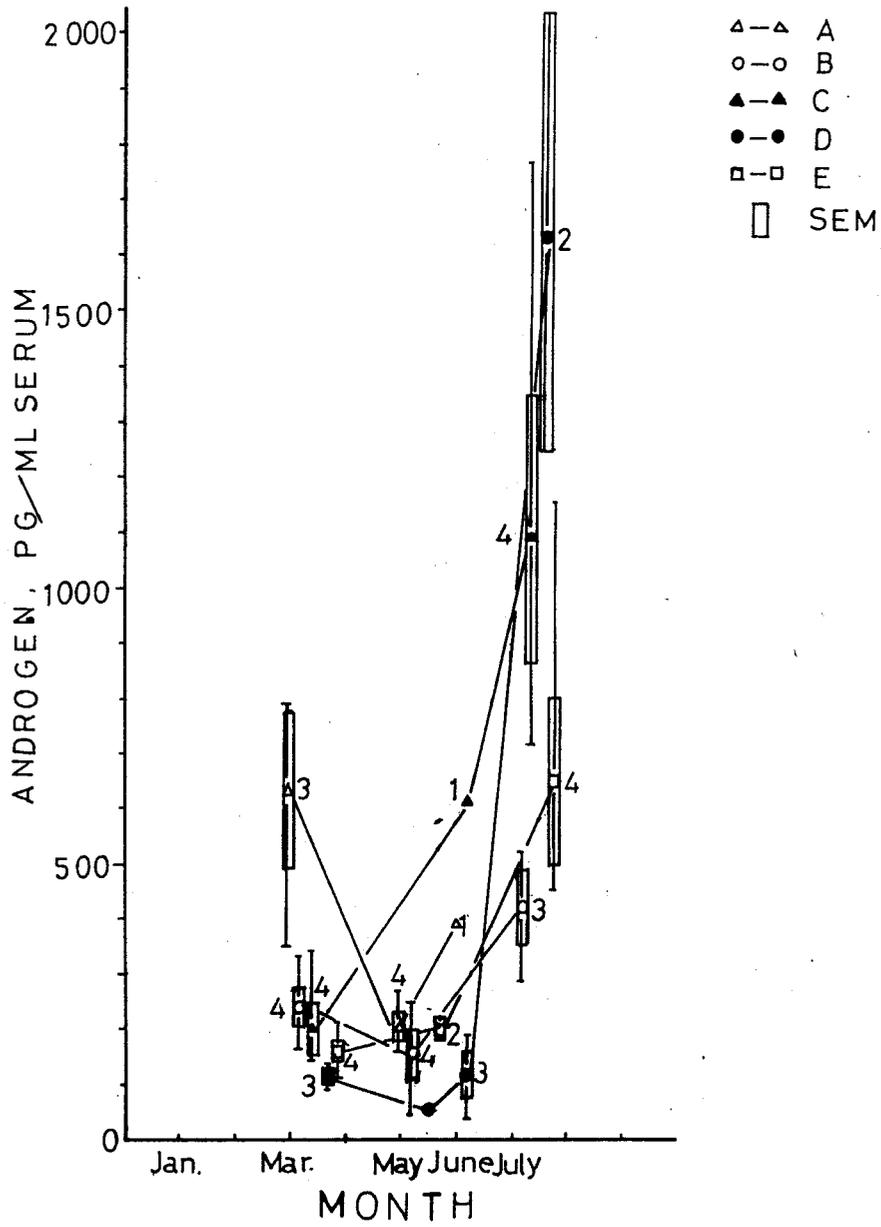


圖 5 雄性素含量月變化

Fig. 5. Changes in androgen level of grouper for monthly variation. The data are expressed as Mean \pm SEM. Vertical bars represent variable of the mean. The numbers represent the numbers of fish.

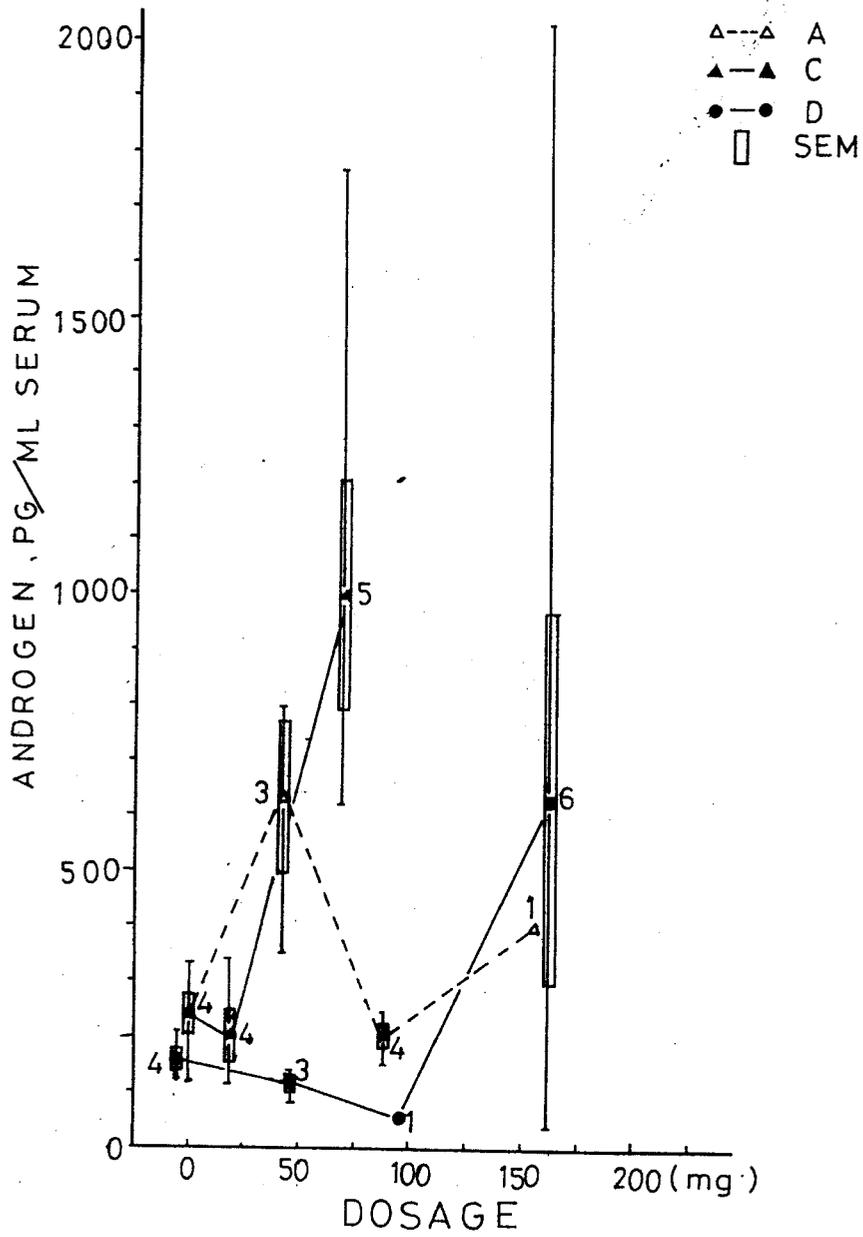


圖 6 平均荷爾蒙累積劑量與雄性素含量之關係

Fig. 6 The relation changes between androgen level and mean accumulative dosage of grouper after hormone treated. The data are expressed as Mean \pm SEM. Vertical lines indicate variable range of the mean. The numbers represent the numbers of fish.

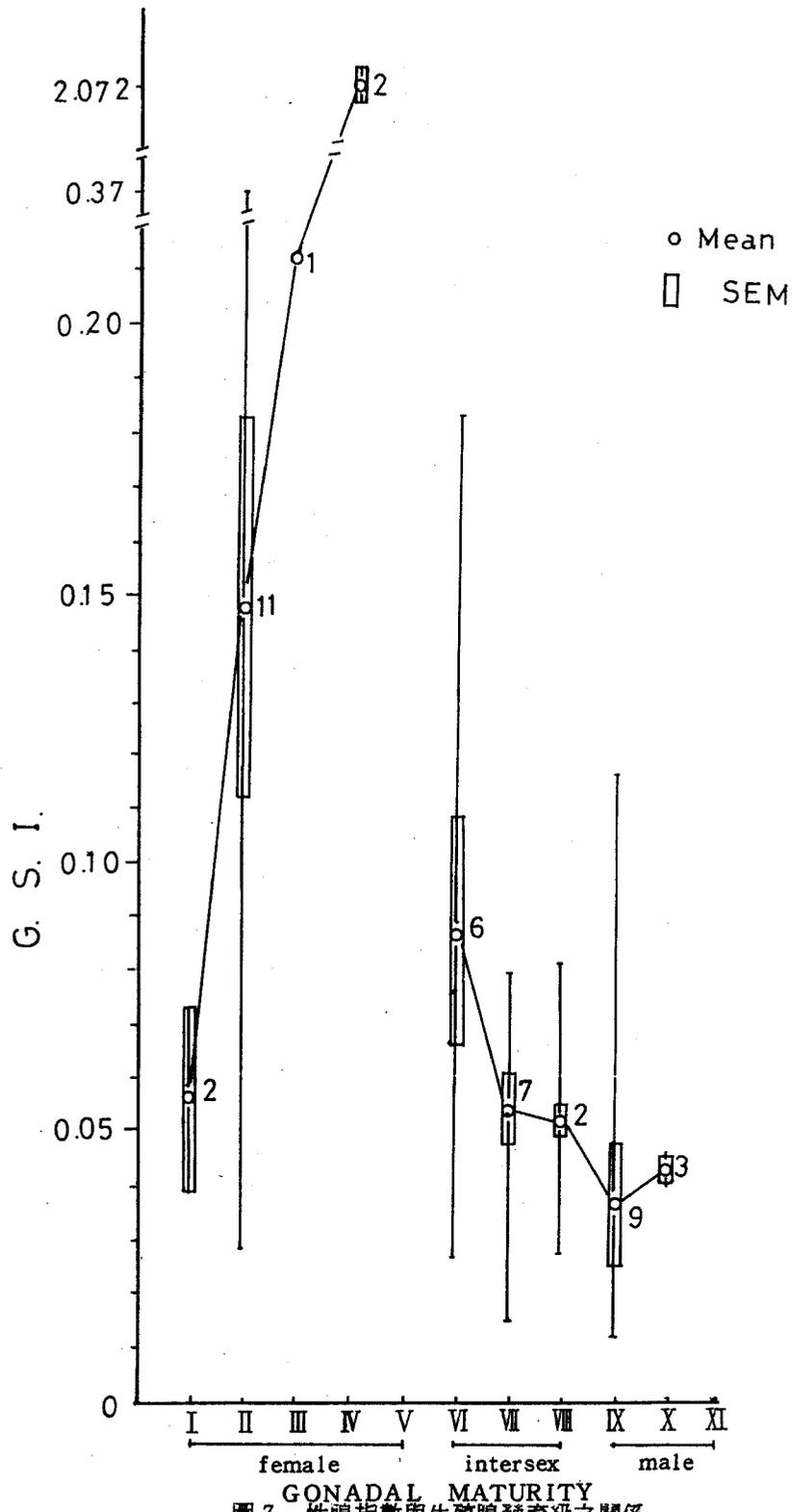


圖 7 性腺指數與生殖腺發育級之關係

Fig. 7 The relation changes between gonadal maturity and gonadosomatic index of grouper. The data are expressed as Mean \pm SEM. Vertical bars represent variable range of the mean. The number represent the numbers of fish.

$E_2 - 17\beta$ 及雄性素 (Androgen) 含量, 在石斑魚之卵巢, 精卵巢及精巢發育過程之變化如圖 8 所示。雌二醇 ($E_2 - 17\beta$) 於卵巢發育過程中含量由平均 48.7 pg/ml serum 逐漸增至 79.85 pg/ml serum。性轉變過程中則由平均 82.24 pg/ml serum 降至 27.85 pg/ml serum, 而在精巢發育過程則增至 73.7 pg/ml serum。

雄性素 (Androgen) 含量在卵巢發育過程中由 517 pg/ml serum 逐漸減少, 至卵巢成熟時才回升至平均為 693.8 pg/ml serum, 而在變性過程中逐漸減少, 至性轉變後精巢發育時則遽增至 1,632.25 pg/ml serum。

因此知, 雌石斑魚血中之雌二醇 ($E_2 - 17\beta$) 及雄性素 (Androgen) 含量都在卵巢成熟時達到高峯。而在性轉變過程中含量隨變性程度而下降, 至完成性轉變後, 才隨生殖腺發育而回升。

性腺類固醇激素含量與性腺指數、肝臟指數之關係

將測得之 GSI 及 HSI 分別對雌二醇 ($E_2 - 17\beta$), 雄性素 (Androgen) 含量, 依照生殖腺發育程度分為 I 至 XI 級, I 至 V 級, VI 至 VIII 級, IX 至 XI 級, VI 級至 XI 級等 5 組, 利用直線、曲線迴歸及相關分析, 分析每組 GSI、HSI 對性類固醇激素含量關係, 並以變方分析 (Analysis of Variance) 加以檢定。經分析後, 五組中只有在雌石斑 (I 至 IV 組), GSI 對雄性素含量有正相關存在, 其方程式為: $Y = 230.96 + 251.98X$, $r = 0.66$, $n = 11$, $F = 7.85 * > F(\frac{v_1 = 1}{v_2 = 10}, p = 0.05) = 4.96$ 。雌石斑 (IX 至 XI 組) 中 HSI 對雄性素含量, 有正相關存在, 方程式為: $Y = -414.28 + 776.94X$, $r = 0.84$, $n = 6$, $F = 11.82 * > F(\frac{v_1 = 1}{v_2 = 5}, p = 0.05) = 6.61$, 餘各組關係皆不顯著。

討 論

魚類之生殖季節推測, 除苗魚苗出現時期、體型, 頻度判斷, 以成魚性腺指數 (GSI) 之計算也是最常用及精確之方法⁹³。本研究除同樣以 GSI 變化來觀測青點石斑生殖季節外, 並嘗試以雌二醇 ($E_2 - 17\beta$) 及雄性素 (Androgen) 之含量變化, 視其與生殖月別的關係, 由結果知雌性青點石斑之雌二醇 ($E_2 - 17\beta$) 含量於 7 月份最高, 雄性素 (Androgen) 至 6、7 月份時遽增, 皆顯出類似性腺指數對季節變化之相關性。Elefthereious et al (1968)⁹⁴ 亦指出鮭魚生殖腺的發育和血漿內之雌二醇 ($E_2 - 17\beta$) 濃度相關性很大。且鮭魚在舉丸活動旺盛時期, GSI 急遽增加, 血漿內雌性素 (Estradiol) 含量增加 (Billard et al 1974)⁹⁵。又雌金魚產精前雌性素增加 (Shreck, Hopwood 1974)⁹⁶, 雌金魚於產卵季節, 雄性素與雌性素均增加。在雄性先熟 (Protandric) 之性轉變魚類黑鯛, 雌魚亦隨著卵巢之生長, 雌二醇分泌漸次增加, 其濃度之高低與性腺指數相當吻合 (余, 1986)。所以, 青點石斑雌雄魚之性腺類固醇激素含量變化似可成為生殖季節判斷之參考。

以類固醇激素含量來判別性腺發育之狀況, Pickford et al (1957) 指出通常在成熟末期排卵 (精) 前, 血漿內雄性素及雌性素含量會增加。在雌右鰈魚類雄性素及雌性素含量於生殖休止期很低, 後隨著生殖腺再成熟而逐漸增加, 雄性素於產卵高峯期剛開始達最高, 於產卵高峯期減少。雌右鰈魚除雌性素性, 餘皆類似 (Wingfield, Grimm 1977)⁹⁷。且雌金魚 *Carassius auratus* 之雄性素及雌性素在精子形成過程終了, 含量都達高峯 (Schreck & Hopwood 1974, 比目魚 (Campbell 1975, Campbell et al 1976)^{98, 99}, 鮭魚 (Billard et al 1978)¹⁰⁰, *Salmo gairbneri* (Sanchez, Rodriguez et al 1978)¹⁰¹, 鯉魚 (Sivarajah et al 1979)¹⁰² 等亦同。本實驗青點石斑血液中雌性素及雄性素皆有相同現象, 雌魚在第 I、II 級生殖腺發育級時低, 至發育成熟時 (IV 級) 回升。另於變性過程中 (VI 至 VIII 級), 激素含量一直下降, 迄精巢成熟 (X 級) 時再回升。而且本實驗雌性石斑魚雖為人工促進變性之雌魚, 但其激素分泌並無

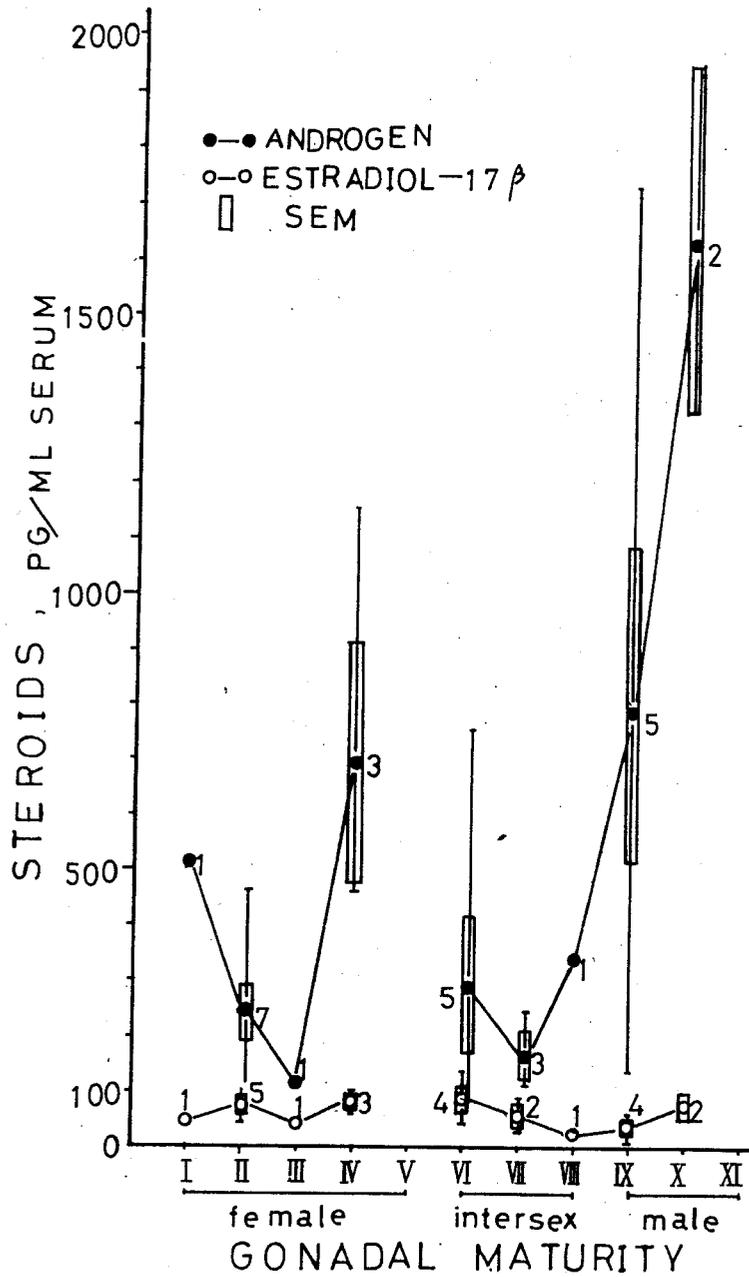


圖 8 性腺類固醇激素含量與生殖腺發育級之關係

Fig. 8 The relation changes between gonadal maturity and steroid level of grouper. The data are expressed as Mean \pm SEM. Vertical bars represent variable range of the mean. The numbers indicate the numbers of fish.

差異，可視為早熟，在大西洋鮭魚 (*Salmo salar*) 雄性素含量亦有隨早熟而增加之現象 (Dodd et al 1980, Stuart-Kregor et al 1981) ⁽²⁴⁾⁽²⁵⁾。

魚類於性成熟階段，性腺指數可代表著發育程度，肝臟亦能影響著發育過程，尤其在卵細胞成熟過程 (vitellogenesis)，肝臟接受卵巢分泌之雌二醇而引起卵黃前質 (vitellogenin) 之生成。Campbell et al (1976) ⁽²⁶⁾ 指出，於鮡 (*Pseudopleuronectes americanus*) 之舉固爾 (testosterone) 最大量發現於卵細胞成熟 (Vitellogenesis) 中，而據研究 testosterone 為許多魚類之主要雄性素。本研究亦發現在雌性石斑魚 GSI 對雄性素 (Androgen) 有正相關存在，雌性石斑魚 HSI 對雄性素亦有正相關，皆顯示出雄性素含量受生殖腺發育及肝臟之影響。然雌二醇却無法求出對應關係，究其原因可能為(1)本實驗之標本數太少，變異性大，致使原本有對應之關係，經變方檢定後無法成立。(2)雌性素於雄魚身上變化緩和，在雄金魚上亦發現此現象 (Shreck & Hopwood 1974) ⁽²⁷⁾。(3)受荷爾蒙作用之影響，於 17α -Methyltestosterone 刺激性轉變之過程中，抑制雌二醇之分泌，由圖 8 可知雌二醇在變性期中一直下降，而在對照之雌性則無此現象。

本研究為首度探討有關石斑魚成熟及變性過程中，性腺類固醇激素分泌與生殖腺發育，肝臟重量之關係。而變性過程類固醇激素分泌探討，係以人工促進性轉變之結果作研究，若有自然性轉變過程之石斑魚性腺類固醇激素分泌之型態加以配合對照，則對石斑魚生殖生理與內分泌之關係，將會有更進一步之了解。

摘 要

青點石斑 (2 齡左右) 於民國 74 年元月底至 6 月中旬，以 17α -Methyltestosterone 投餵，研究其性腺類固醇激素分泌與性腺發育之關係。血中雌二醇及雄性素以放射性免疫分析法定量，其結果大致如下：

- 一 性腺指數最高於 7 月，雌魚達 2.0 以上。
- 二 血中雌二醇含量，雌魚最高在 7 月達 79.85 pg/ml serum。變性中石斑則明顯受荷爾蒙劑量影響，逐漸降低至 7 月初 26.46 pg/ml serum，而後性轉變成雄性時再升高至 73.7 pg/ml serum。
- 三 雄性素於血中含量，雌石斑魚及變性石斑魚皆於 7 月時達高峯，雌性為 649.6 pg/ml serum，變性後石斑魚為 1,632.25 pg/ml serum。
- 四 雌二醇及雄性素含量都在卵巢發育成熟時，產生高峯，性轉變過程中降低，至變成精巢後又升高。
- 五 雌性石斑魚之性腺指數對雄性素含量，雄性石斑魚之肝臟指數對雄性素含量皆成正相關。

謝 辭

本試驗工作，非常感謝羅武雄、王村藤兩位先生之鼎力協助，中央研究院動物研究所內分泌研究室同仁協助 RIA 分析，謹此致以最深的謝忱。

參考文獻

1. Tan, S. M. and K. S. Tan (1974). Biology of tropical grouper *Epinephelus tauvina* I. A preliminary study on hermaphroditism in *E. tauvina* Singapore J. Pri Ind, 2 (2), 123 - 133.
2. Chang - Po Chen, Hwey - Lian Hsieh, Kun - Hsiung Chang (1980), Some aspects of the sex Change and Reproductive biology of the grouper, *Epinephelus diacanthus* (CUVIER ET VALENCIENSIS), Bull. Inst. Zool., Academia

- Sinica, 19 (1), 11 - 17.
3. Smith C. L. (1965), The patterns of sexuality and the classification of serranid fishes, Amer, Mus, 2207, 1 - 20.
 4. 湯弘吉、涂嘉猷、蘇偉成 (1972). 老鼠斑人工繁殖試驗, 中國水產, 324, 19 - 24.
 5. 曾文陽、何錫光 (1979), 香港紅斑之人工繁殖 (胚胎及魚花期之發育) 漁牧科學雜誌, 6, 9 - 20.
 6. 湯弘吉、涂嘉猷、蘇偉成 (1979), 鑲點石斑人工繁殖初報。台灣省水產試驗所試驗報告, 31, 511 - 517.
 7. 黃丁士、林金榮、顏枝麟、劉繼源、陳其林 (1986), 鮭形石斑魚之人工繁殖—工、種魚的催熟、採卵及胚胎的發育。台灣省水產試驗所試驗報告, 40, 241 - 258.
 8. Chen, F. Y. M. Chow, T. M. Chao and R. Lim (1977), Artificial spawning and larval rearing of the grouper, *Epinephelus tauvina* in Singapore, Singapore, J, Pri, Ind, 5 (1), 1 - 21.
 9. 葉信利、羅武雄、丁雲源 (1986), 人工促進石斑魚性轉變研究。台灣省水產試驗所試驗報告, 41, 241 - 258.
 10. 曾文陽 (1984), 石斑魚養殖學, 香港, 48 - 53.
 11. 余玉林、王俊文、王淑麗、顏枝麟、黃丁士、胡興華、劉繼源 (1986). 黑鯛生殖週期性腺類固醇激素分泌型態, 海洋生物科學學術研討會論文集, 國科會生物科學研究中心專刊 14, 113 - 121.
 12. 葉樹藩 (1977). 生物統計學, 台北, 150 - 172.
 13. 葉信利 (1972). 台灣東北部澳底近海鯨類資源及其漁場, 中國文化大學海洋研究所碩士論文, 1 - 79.
 14. Eleftheriou, B.E, Norman, R.L. and Summerfelt, R, (1968). Plasma levels of 1,3,5(10) - estratriene - 3, 17 β diol and 3, 17 β - dihydroxy 1,3,5(10) estratriene - 16 - one in the Carp Steroid 11, 89 - 95.
 15. Billard, R., Solari, A and Escaffre, A. M. (1974)., Ann, Biol. Anim. Bioch. Biophys. 14, 87 - 104.
 16. Schreck, C.B. and Hopwood, M.L. (1974)., Seasonal androgen and estrogen patterns in the goldfish *Carassius auratus*. Trans, Am. Fish Soc. 103, 375 - 378.
 17. Pickford, G.E., and Atz, J, W (1957)), The physiology of the Pituitary gland of fish, New York Zoological Society, New York.
 18. Wingfield, J.C. and Grimm, A.S. (1977), Seasonal changes in plasma cortisol testosterone and estradiol - 17 β in the plaice, *Pleuronectes platessa* L. Gen. Comp. Endocrinol, 31, 1 - 11.
 19. Campbell, C.M. (1975). PHD. Thesis Memorial Univ. of Newfoundland, st. John's Newfoundland, Canda.
 20. Campbell, C.M., J.M. walsh, and D.R. Idler (1976). Steroids in the plasma of the winter flounder *Pseudopleuronectes americanus* W.A. seasonal involvement in oocyte maturation, Gen, Comp. Endocrinol, 29, 14 - 20.
 21. Billard, R., B. Breton, A. Fostier, B. Jalabert, and C. Weil (1978). Endocrine control of the teleost reproductive cycle and its relation to external factors: Salmonid

- and Cyprinid models. In "Comparative Endocrinology" (P.J. Gaillard and H.H. Boer eds.), P.P.37 - 48. Elsevier /North-Holland Biomedical Press, Amsterdam.
- 22 Sanchez-Rodriguez, M., Escaffre, A.M., Marlot, S., and Reinaud, P (1978). The spermiation period in the rainbow trout (*Salmo gairdneri*). Plasma gonadotropin and androgen levels, sperm production and biochemical changes in the seminal fluid. *Ann. Biol. Anim, Biochem., Biophys.* **18**, 943 - 948.
- 23 Sivarajah, K., Franklin, C.S., and Williams, W.P. (1979). Some studies on the hepatic microsomal enzyme activities and steroid hormone levels in Carp. *Cyprinus carpio* exposed fish for six months. *J. Fish. Biol.* **15**, 249 - 253.
24. Dodd, J.M., Stuart-Gregor P.A.C. Sumpter, J.P., Crim, L.W., and Peter R.E. (1978). Premature sexual maturation in the Atlantic salmon *Salmo salar* L. In "Comparative Endocrinology" (P. J. Gaillard and H.H. Boer, eds.), , 101 - 104, Elsevier /North-Holland, Biomedical Press, Amsterdam.
25. Stuart-Kvegor, P.A.C., Sumpter, J.P., and Dodd, J.M. (1981). The involvement of gonadotropin and sex steroids in the control of reproduction in the parr and adults of Atlantic salmon, *Salmo salar* L. *J. Fish. Biol.* **18**, 59 - 72.