

# 17 $\beta$ -雌二醇对雄性瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachelli*)的雌激素效应\*

李云<sup>1,2</sup> 朱志强<sup>1</sup> 叶勤<sup>3</sup> 丁诗华<sup>1,2</sup> 郑凯迪<sup>1</sup>

(1. 西南大学动物科技学院 重庆 400716; 2. 水产科学重庆市市级重点实验室 重庆 400716;  
3. 西南大学化学化工学院 重庆 400716)

**提要** 以三峡库区小型经济鱼类瓦氏黄颡鱼雄鱼为对象, 研究17 $\beta$ -雌二醇对它的雌激素效应。在不同的温度和剂量条件下测定血清卵黄蛋白原、Ca<sup>2+</sup>、总磷、无机磷的含量, 以及肝胰脏RNA/DNA比率。结果表明, 与对照组相比, 当水温16 $^{\circ}$ C、剂量1.0 $\mu$ g/g, 以及水温19 $^{\circ}$ C、剂量0.1 $\mu$ g/g条件下, 17 $\beta$ -雌二醇可诱导雄性瓦氏黄颡鱼产生卵黄蛋白原, 而且其水平增加呈明显的剂量依赖; 当水温16 $^{\circ}$ C、剂量1.0 $\mu$ g/g时, 血清Ca<sup>2+</sup>含量极显著增加, 呈明显的剂量依赖; 试验组血清各种磷组分增加也呈剂量依赖; 17 $\beta$ -雌二醇也引起肝胰脏代谢指标RNA/DNA比率增加。结果表明, 雄性瓦氏黄颡对雌激素有较高的敏感性, 加上其体型适中, 容易获得等特性, 可以作为水环境雌激素内分泌干扰物检测的指示生物。血清卵黄蛋白原与Ca<sup>2+</sup>可以作为污染水体雌激素内分泌干扰物的检测指标。

**关键词** 瓦氏黄颡鱼, 钙离子, 卵黄蛋白原, 指示生物

**中图分类号** Q176

一些环境污染物(包括部分雌激素类似物), 能够对野生动物和人的内分泌功能产生影响, 尤其对生殖过程产生影响(Mercure *et al*, 2001; Halm *et al*, 2002; 宋福勇等, 2004; Porte *et al*, 2006)。近年来, 由于水体污染的加剧, 大量的激素类似物排入江河、湖泊对水生、陆生动物和人类的内分泌系统产生干扰和影响, 这方面的研究日益受到重视。对野生动物内分泌干扰物的研究多集中在鱼类(Panter *et al*, 2000; Gutjahr-Gobell *et al*, 2002; 郗欣等, 2004; 廖淘等, 2005; Saradha *et al*, 2005, 温茹淑等, 2007), 部分原因是因为鱼类对内分泌干扰物很敏感(Kramer *et al*, 1998), 加上鱼类的内分泌系统与高等脊椎动物相似(林浩然, 1999), 同时鱼类也方便进行实验等优点。研究发现许多在污染水域生活的野生鱼类种群明显存在内分泌干扰现象, 内分泌干扰物对卵巢和精巢发育, 尤其在

性腺恢复期产生较大影响(Harries *et al*, 1996; Lye *et al*, 1997)。鱼类卵黄蛋白原(vitellogenin, Vg)是卵黄蛋白的前体, 在卵生鱼类, 在17 $\beta$ -雌二醇的作用下, 卵黄蛋白原由肝(胰)脏产生(Palumbo *et al*, 2007), 卵细胞的快速生长是由于摄入卵黄蛋白前体, 卵黄蛋白原所致。受17 $\beta$ -雌二醇刺激, 卵黄蛋白原在肝细胞合成(Jung *et al*, 2006), 经过蛋白质翻译后修饰, 从肝细胞分泌进入血液循环, 卵黄蛋白原通过围绕卵细胞的滤泡层, 高亲和力结合到卵细胞表面的卵黄蛋白原受体上, 通过受体中介的细胞内吞作用被卵细胞所吸收(Yaron, 1995; Specker *et al*, 2003; King *et al*, 2003)。在自然状态下, 只有产卵的雌鱼经历这一过程, 雄鱼则没有。尽管卵黄蛋白原是雌鱼的特异性蛋白, 但是由于雄鱼肝胰脏也具有雌激素受体, 如果暴露在雌激素或者雌激素类似物中也能够产生卵黄蛋白

\* 国家自然科学基金资助项目, 30670226号; 重庆市自然科学基金资助项目, CSTC, 2006BB1348号; 教育部留学回国人员科研启动基金资助项目, 2006-331号; 西南大学博士后科研基金资助项目, 2005—2008。李云, 博士, 教授, E-mail: liyunlab@yahoo.com.cn; 朱志强, 硕士研究生, 同等贡献第一作者。

收稿日期: 2008-07-29, 收修改稿日期: 2008-09-23

原(Pait *et al.*, 2003; King *et al.*, 2003; Saradha *et al.*, 2005; 吕雪飞等, 2007)。除雌激素外, 具有雌激素活性的内分泌扰乱化学物质(environmental disrupting chemicals, EDCs)也可以诱导雄鱼卵黄原蛋白的产生, 因此, 卵黄原蛋白已成为内分泌干扰物筛选的理想生物标记物, 成为一个用于检验雄鱼暴露在雌激素内分泌干扰物条件下重要的生理标志(Kramer *et al.*, 1998; Blaise *et al.*, 1999; Marin *et al.*, 2004; Prankash *et al.*, 2007)。

三峡水利工程建成后, 在长江干流形成了一个超大型水库, 环境污染成为举世关注的问题。选择何种污染指示生物以便于及时、简便、有效地检测环境污染物的影响, 是亟待解决的问题。瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachelli*)属鲶形目、鲶科、黄颡鱼属。是三峡库区长江干支流广泛分布的一种主要的小型经济鱼类, 容易饲养, 性别易于判定, 适合作生态毒理学实验鱼类, 但是迄今为止以它作为实验动物检测环境雌激素的研究尚未见报道。本研究的目的是通过 17  $\beta$ -雌二醇作为内分泌干扰物对雄性瓦氏黄颡鱼的作用, 检测它对瓦氏黄颡鱼卵黄蛋白磷、无机磷、钙离子等水平的变化以及肝脏代谢的影响, 从而评估将这些指标作为环境雌激素的污染风险评价生物学标记, 以及将瓦氏黄颡鱼作为三峡库区环境雌激素污染检测的指标生物的可行性。

## 1 材料与方法

实验鱼采自三峡库区长江支流嘉陵江北碛江段。实验过程如下: 将体重约 30—50g 的雄性瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachelli*)随机分成 12 组, 每组 8 尾, 放养在 30L 的水族缸中, 保持在 13、16 和 19 温度下, 注射前饥饿 48h。17  $\beta$ -雌二醇(sigma)先溶解在少量的无水乙醇中, 然后再用生理盐水配制成相应的浓度, 腹腔内分别注射三种剂量 0.1、1.0、10.0  $\mu\text{g/g}$  体重的 17  $\beta$ -雌二醇, 处理 72h 后, 取血样。血清卵黄蛋白原的测定参考 van der Lingen 等(1990)的方法加以修改, 用测定卵黄蛋白原磷(Vitelogenin-phosphorus, Vtg-P)含量的方法来间接测定;  $\text{Ca}^{2+}$ 、总磷(Total phosphorus, TP)、无机磷(Inorganic phosphorus, IP)的含量参照叶勤等(2001, 2002)的方法; 肝脏组织 RNA, DNA 的含量测定参照蔡武城等(1982)的方法。

试验数据以平均值  $\pm$  标准误(Mean  $\pm$  SE)表示,

使用 SPSS for windows 13.0 统计软件进行数据统计分析, 在不同的处理组之间采用单因子方差分析 one-way ANOVA 进行方差显著性检验, 如显著差异( $P < 0.05$ ), 则作 Duncan's 多重比较分析。

## 2 结果

### 2.1 17 $\beta$ -雌二醇诱导产生卵黄蛋白原的温度和剂量效应

结果显示, 13 时, 处理组与对照组的 Vtg-P 水平无显著差异。16 (除 0.1  $\mu\text{g/g}$  剂量组外)和 19 时, 处理组比对照组有极显著增加。同一剂量下保持在 19 水中的处理组鱼比保持在 16 水中鱼效应显著, 积累的 Vtg-P 更多。注射 17  $\beta$ -雌二醇 1.0  $\mu\text{g/g}$  和 10.0  $\mu\text{g/g}$  剂量, 产生的 Vtg-P 分别为  $(31.50 \pm 4.24) \mu\text{g/ml}$ 、 $(54.04 \pm 5.00) \mu\text{g/ml}$  比 16 时两剂量下 Vtg-P 含量 [ $(17.14 \pm 3.08) \mu\text{g/ml}$ 、 $(34.09 \pm 8.55) \mu\text{g/ml}$ ] 有极显著增长。16 时, 对照组 Vtg-P 含量为  $(1.79 \pm 1.20) \mu\text{g/ml}$ , 处理组 I 与对照组无显著差异( $P > 0.05$ )。处理组 II、处理组 III 的 Vtg-P 含量分别为  $(17.17 \pm 3.08) \mu\text{g/ml}$ 、 $(34.69 \pm 8.55) \mu\text{g/ml}$ , 均比对照组和处理组 I 有极显著增加( $P < 0.01$ )。而处理组 III 比处理组 II 也有极显著增加( $P < 0.01$ )。19 时, 处理组 I、II、III 均比对照组有极显著增加( $P < 0.01$ )。各处理组间也与 16 一样, 有极显著差异( $P < 0.01$ ), 同一剂量处理 19 比 16 有极显著升高( $P < 0.01$ )。结果表明, 16 以上, 一次注射 1.0  $\mu\text{g/g}$ 、10.0  $\mu\text{g/g}$  剂量的 17  $\beta$ -雌二醇, 极显著升高了 Vtg-P 水平, 17  $\beta$ -雌二醇对 Vtg-P 的影响极为显著。Vtg-P 水平对 17  $\beta$ -雌二醇有明显的剂量依赖和温度依赖性(图 1)。

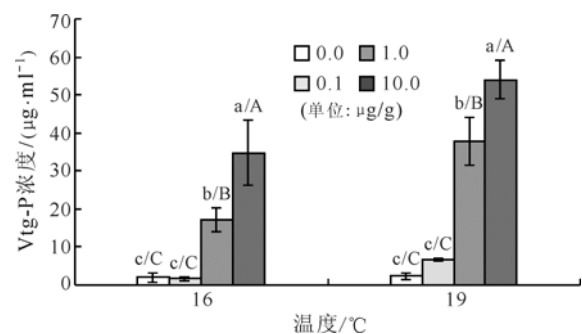


图 1 不同温度下 17  $\beta$ -雌二醇对雄性瓦氏黄颡鱼血清中 Vtg-P 含量的影响

Fig. 1 The effects of 17  $\beta$ -estradiol on the serum level of Vtg-P in male *P. vachelli* at different water temperatures

注: 小写字母表示  $P < 0.05$ , 大写字母表示  $P < 0.01$ 。下同

## 2.2 17 $\beta$ -雌二醇对血清总磷和无机磷水平的影响

在 16 时, 血清 TP 水平对照组为(404.18  $\pm$  85.45)  $\mu\text{g/ml}$ , 处理组 II、III 极显著增加到(637.33  $\pm$  125.44)  $\mu\text{g/ml}$ 、(657.53  $\pm$  98.74)  $\mu\text{g/ml}$  ( $P < 0.01$ )。但是, 处理组 II、III 间无显著差异( $P > 0.05$ )。在相同温度下, 血清 IP 水平各组间无显著差异( $F$ )。在 19 时, 处理组 II、III 的 TP 水平均比对照组有极显著增加( $P < 0.01$ )。同时, TP 水平在处理组 III 比处理组 II, 处理组 II 比处理组 I 均有显著差异( $P < 0.05$ )。在相同的温度下, 血清 IP 水平在处理组 II、III 均比对照组有极显著增加( $P < 0.01$ )。结果表明, 在水温 16 以上, 一次注射 1.0—10.0  $\mu\text{g/g}$  剂量, 能引起血清 TP 水平的极显著增加(图 2), 然而, 血清 IP 水平只有在 19 条件下, 注射剂量大于 1.0  $\mu\text{g/g}$  时才能显著增加其水平(图 3)。

## 2.3 17 $\beta$ -雌二醇对血清钙水平的影响

在 16 时, 处理组 II、处理组 III 的钙水平分别为(16.25  $\pm$  2.75)  $\text{mg/dl}$ 、(21.83  $\pm$  3.33)  $\text{mg/dl}$ , 均极显著

高于对照组(8.20  $\pm$  1.62)  $\text{mg/dl}$  和处理组 I (8.50  $\pm$  2.0)  $\text{mg/dl}$ , 然而, 处理组 I 与对照组无显著差异。19 时的各剂量处理组的统计结果与 16 时一致。在 1.0  $\mu\text{g/g}$ 、10.0  $\mu\text{g/g}$  相同剂量条件下, 19 比 16 的钙水平有显著升高( $P < 0.01$ )。结果表明, 水温 16 以上, 一次注射 17  $\beta$ -雌二醇剂量在 1.0—10.0  $\mu\text{g/g}$ 、72h, 能极显著升高血清钙离子水平, 而且这种效应有极显著的剂量和温度依赖性(图 4)。

## 2.4 17 $\beta$ -雌二醇注射对肝胰脏 RNA/DNA 比率的影响

在 16 时, RNA/DNA 在处理组 I 和对照组间无显著差异( $P > 0.05$ )。但是, 处理组 II、处理组 III 比对照组有极显著升高。19 时各剂量处理组的检验结果与 16 时一致。对相同剂量不同温度进行检验, 结果显示, 在 19 条件下三种剂量组均比 16 条件下有极显著升高( $P < 0.01$ )。结果表明, 一次注射 1.0  $\mu\text{g/g}$  以上剂量的 17  $\beta$ -雌二醇在 16 以上的温度下, 能引起肝胰脏 RNA/DNA 比率极显著升高, 见图 5。

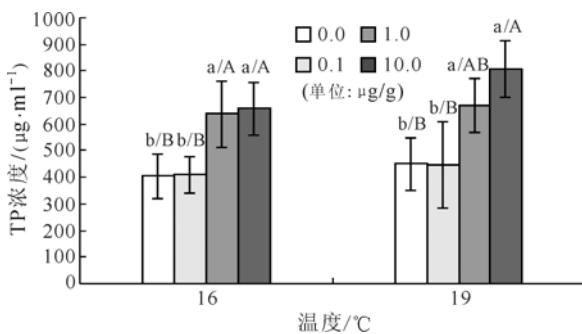


图 2 不同温度下 17  $\beta$ -雌二醇对雄性瓦氏黄颡鱼血清中 TP 含量的影响

Fig.2 The effects of 17  $\beta$ -estradiol on the serum level of TP in male *P. vachelli* at different water temperatures

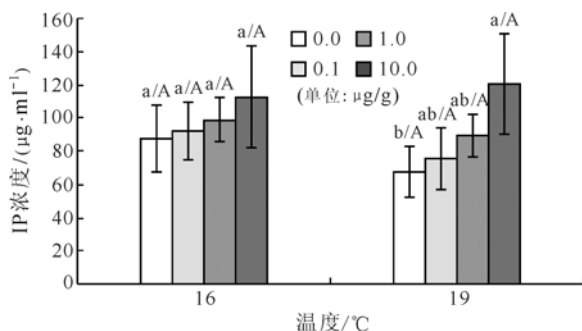


图 3 不同温度下 17  $\beta$ -E2 对雄性瓦氏黄颡鱼血清中 IP 含量的影响

Fig.3 The effects of 17  $\beta$ -estradiol on the serum level of IP in male *P. vachelli* at different water temperatures

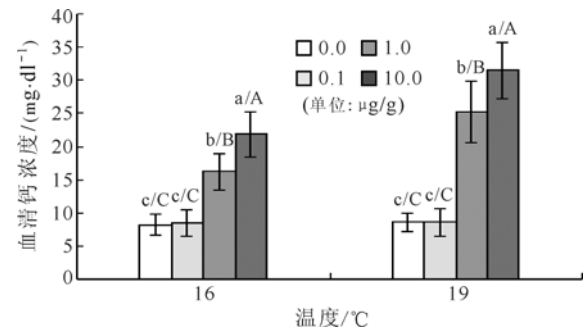


图 4 不同温度下 17  $\beta$ -雌二醇对雄性瓦氏黄颡鱼血清中  $\text{Ca}^{2+}$  含量的影响

Fig.4 The effects of 17  $\beta$ -estradiol on the serum level of  $\text{Ca}^{2+}$  in male *P. vachelli* at different water temperatures

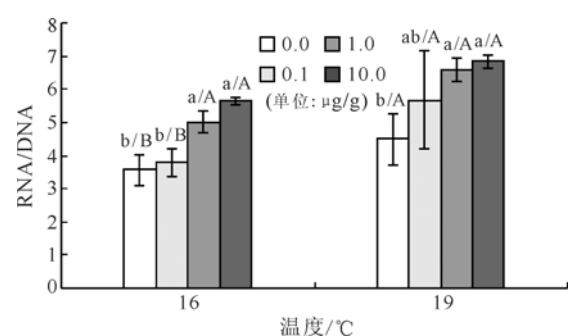


图 5 不同温度下 17  $\beta$ -雌二醇对雄性瓦氏黄颡鱼肝胰脏 RNA/DNA 比率的影响

Fig.5 The effects of 17  $\beta$ -estradiol on the RNA/DNA ratio in liver in male *P. vachelli* at different water temperatures

### 3 讨论

本实验中采用雄性瓦氏黄颡鱼为实验对象, 主要基于以下考虑: 黄颡鱼属的鱼类在我国分布广, 全年容易获得, 体型适中, 雌雄外形易于区别, 便于取材、采血, 能够在实验室大规模饲养。研究表明, 17  $\beta$ -雌二醇注射能够诱导雄性瓦氏黄颡鱼产生卵黄蛋白原。卵黄蛋白原是一种钙结合脂磷蛋白, 也是一种高磷蛋白, 是卵黄的前体, 因此在卵黄发生的雌体血浆中能够检测出高水平的蛋白结合磷, 即 Vtg-P。测定蛋白结合磷也就间接测定了卵黄蛋白原含量(van der Lingen *et al.*, 1990; Kramer *et al.*, 1998; Marin *et al.*, 2004), 因此本研究中将 Vtg-P 测定作为对卵黄蛋白原定性和定量的基础。本研究结果表明, 只要温度和剂量达到一定阈值, 所诱导产生的蛋白结合磷与注射剂量呈正相关, 蛋白结合磷的诱导水平也与温度呈正相关。这与雌性瓦氏黄颡鱼生殖周期血清卵黄蛋白原的变化相一致(叶勤等, 2002), 也与其它报道一致(Srivastav *et al.*, 1998; Blaise *et al.*, 1999; Linares-Casenave *et al.*, 2003)。因此, 瓦氏黄颡鱼的卵黄蛋白结合磷可以作为环境雌激素干扰物污染的生物学标记。

本研究中, 对雄性瓦氏黄颡鱼注射 17  $\beta$ -雌二醇, 在 13 时, 处理组与对照组的 Vtg-P 水平无显著差异。16 (除 0.1  $\mu\text{g/g}$  剂量组外) 和 19 时, 处理组比对照组有极显著增加。同一剂量下保持在 19 水中的处理组鱼比保持在 16 水中鱼效应显著, 积累的 Vtg-P 更多。注射 17  $\beta$ -雌二醇 1.0  $\mu\text{g/g}$  和 10.0  $\mu\text{g/g}$  剂量, 产生的 Vtg-P 分别为(31.50  $\pm$  4.24)  $\mu\text{g/ml}$ 、(54.04  $\pm$  5.00)  $\mu\text{g/ml}$ , 比 16 时两剂量下 Vtg-P 含量[(17.14  $\pm$  3.08)  $\mu\text{g/ml}$ 、(34.09  $\pm$  8.55)  $\mu\text{g/ml}$ ]有极显著增长。在各组中测定血清  $\text{Ca}^{2+}$  和总磷和无机磷含量, 以及肝胰脏 RNA/DNA 均得到相似的结果。

结果表明, 17  $\beta$ -雌二醇注射能够诱导雄性瓦氏黄颡鱼血液钙离子浓度的升高。本实验中测定的是血清中的离子性钙, 钙离子与磷在代谢中紧密联系, 具有多方面的生理功能。首先, 卵黄蛋白原是钙结合蛋白, 合成它需要大量的钙。由于卵黄蛋白原是一种钙结合蛋白, 而且含钙量非常丰富, 当卵黄蛋白原合成时会有大量的钙离子渗入蛋白质(Guerreiro *et al.*, 2002)。血清钙离子变化与 17  $\beta$ -雌二醇注射剂量和温度呈正相关, 与卵黄蛋白磷的变化相一致, 因此, 瓦氏黄颡鱼血清游离钙也可以作为环境雌激素干扰物污染的生

物学标记。对其它鱼类的研究报道也支持这一结论(Tsai *et al.*, 2000; Gillespie *et al.*, 2004)。尽管血液无机磷及总磷水平也呈现相似的变化, 但从结果来看它们的偏差较大, 原因可能是这两项指标容易受到营养状态等因素的影响, 因而它们不宜作为污染物检测指标。

RNA/DNA 比率是鱼类和其它水生动物生长率和代谢活动的灵敏指标(Melzner *et al.*, 2005; Speekmann *et al.*, 2006; Vidal *et al.*, 2006)。肝胰脏是鱼类主要的代谢器官, 是鱼类通过消化道吸收外源营养物质的主要代谢中心, 也是蛋白质合成中心, 卵黄蛋白原就是由肝细胞合成的。在本研究中, 注射 17  $\beta$ -雌二醇通过血液吸收到达肝细胞, 与细胞表面受体结合, 激发细胞内信号级联, 从而启动雄性瓦氏黄颡鱼肝细胞卵黄蛋白原基因大量转录 mRNA, 通过翻译合成卵黄蛋白, 在翻译后修饰过程结合大量的磷和钙离子。在这一过程中, 增加了大量的 mRNA, 卵黄蛋白质合成的增加, 要求合成蛋白质的核糖体增加, 就需要细胞提高 rRNA 和 tRNA 的转录水平, 由于启动卵黄蛋白原蛋白质合成过程所带来的一系列变化, 从而使 RNA/DNA 比率升高, 已有关于亚细胞水平的定量分析(Peute *et al.*, 1985)和基因表达研究的报道(Mackay *et al.*, 1993)支持这一推论。

综上所述, 17  $\beta$ -雌二醇可以诱导雄性瓦氏黄颡鱼产生卵黄蛋白原, 也使血清游离钙离子显著增加, 均呈明显的剂量依赖; 剂量依赖的总磷含量增加是由于各种磷组分增加所致; 注射 17  $\beta$ -雌二醇使肝胰脏代谢指标 RNA/DNA 比率的增加, 这些变化受水温条件的影响。雄性瓦氏黄颡鱼因其体型适中, 容易获得, 易于饲养, 性别特征明显, 对雌激素的敏感性等特征可以作为环境雌激素检测的指示生物, 雄鱼卵黄蛋白原与血清钙离子含量可以作为水环境雌激素内分泌干扰物的检测指标。

### 参 考 文 献

- 叶 勤, 李 云, 谢 鸣等, 2001. 鱼类血清钙的测定及含量变动研究. 西南民族学院学报(自然科学版), 27(4): 454—456
- 叶 勤, 李 云, 廖 戎等, 2002. 瓦氏黄颡鱼血清磷组分的测定及应用. 化学研究与应用, 14(2): 239—241
- 吕雪飞, 周群芳, 宋茂勇等, 2007. 17  $\beta$ -雌二醇、壬基酚及其混合物对雄性泥鳅的雌激素效应. 科学通报, 52(8): 2122—2126
- 邴 欣, 汝少国, Isoda Hiroko 等, 2004. 17  $\beta$ -雌二醇对雄性金

- 鱼卵黄原蛋白的诱导作用. 水产学报, 28(3): 236—240
- 宋福勇, 李 杰, 2004. 应用卵黄蛋白原检测内分泌干扰物质的研究进展. 环境与健康杂志, 21(4): 264—266
- 林浩然, 1999. 鱼类生理学. 广东: 广东高等教育出版社, 205—207
- 温茹淑, 方展强, 江世贵等, 2007. 17  $\beta$ -雌二醇对剑尾鱼卵黄蛋白原的诱导研究. 中国实验动物学报, 14(4): 280—285
- 蔡武城, 袁厚积, 1982. 生物物质常用化学分析法. 北京: 科学出版社, 122—124
- 廖 淘, 徐 盈, 钟雪萍等, 2005. EE2对稀有鮡鲫和斑马鱼幼鱼体内卵黄蛋白原诱导的比较. 水生生物学报, 29(5): 513—517
- Blaise C, Gagne F, Pellerin J *et al*, 1999. Determination of vitellogenin-like properties in *Mya arenaria* Hemolymph (Saguenay Fjord, Canada): A potential biomarker for endocrine disruption. Environ Toxicol, 14: 455—465
- Gillespie D K and Peyster A D, 2004. Plasma calcium as a surrogate measure for vitellogenin in fathead minnows (*Pimephales promelas*). Ecotox Environ Safe, 58: 90—95
- Guerreiro P M, Fuentes J, Canario A V M *et al*, 2002. Calcium balance in sea bream (*Sparus aurata*): The effect of oestradiol-17  $\beta$ . J Endocrinol, 173: 377—385
- Gutjahr-Gobell R E, Huber M, Horowitz D J B *et al*, 2002. A temperate reef fish, *Tautoglabrus adspersus* (Walbaum) as a potential model species for laboratory studies evaluating reproductive effects of chemical exposure. Environ Toxicol Chem, 21(2): 380—389
- Halm S, Pounds N, Maddix S *et al*, 2002. Exposure to exogenous 17  $\beta$ -oestradiol disrupts P450aromB mRNA expression in the brain and gonad of adult fathead minnows (*Pimephales promelas*). Aquat Toxicol, 60: 285—299
- Harries J E, Sheahan D A, Jobling S *et al*, 1996. A survey of estrogenic activity in United Kingdom inland waters. Environ Toxicol Chem, 15(11): 1993—2002
- Jung J H, Shim W J, Addison R F *et al*, 2006. Protein and gene expression of VTG in response to 4-nonylphenol in rockfish (*Sebastes schlegeli*). Comp Biochem Phys, 143(2): 162—160
- King H R, Pankhurst N W, 2003. Ovarian growth and plasma sex steroid and vitellogenin profiles during vitellogenesis in Tasmanian female Atlantic salmon (*Salmo salar*). Aquaculture, 219: 797—813
- Kramer V J, Richardson M, Pierens S L *et al*, 1998. Reproductive impairment and induction of alkaline-labile phosphate, a biomarker of estrogen exposure, in fathead minnows (*Pimephales promelas*) exposed to waterborne 17 $\beta$ -estradiol. Aquat Toxicol, 40: 335—360
- Linares-Casenave J, Kroll K J, Doroshov S I, 2003. Effect of ovarian stage on plasma vitellogenin and calcium in cultured white sturgeon. Aquaculture, 221: 645—656
- Lye C M, Frid C L J, Gill M E *et al*, 1997. Abnormalities in the reproductive health of flounder *Platichthys flesus* exposed to effluent from a sewage treatment works. Mar Pollut Bull, 34(1): 34—41
- Mackay M E, Lazier C B, 1993. Estrogen responsiveness of vitellogenin gene expression in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) kept at different temperatures. Gen Comp Endocrinol, 89(2): 255—266
- Marin M G, Matozzo V, 2004. Focus vitellogenin induction as a biomarker of exposure to estrogenic compounds in aquatic environments. Mar Pollut Bull, 48: 835—839
- Melzner F, Forsythe J W, Lee P G *et al*, 2005. Estimating recent growth in the cuttlefish *Sepia officinalis*: are nucleic acid-based indicators for growth and condition the method of choice? J Exp Mar Biol Ecol, 317: 37—51
- Mercure F, Holloway A C, Tocher D R *et al*, 2001. Influence of plasma lipid changes in response to 17  $\beta$ -oestradiol stimulation on plasma growth hormone, somatostatin, and thyroid hormone levels in immature rainbow trout. J Fish Biol, 59: 605—615
- Pait A S, Nelson J O, 2003. Vitellogenesis in male *Fundulus heteroclitus* (killifish) induced by selected estrogenic compounds. Aquatic Toxicology, 64: 331—342
- Palumbo A J, Linares C J, Jewell W *et al*, 2007. Induction and partial characterization of California halibut (*Paralichthys californicus*) vitellogenin. Comp Biochem Phys A, 146(2): 200—207
- Panter G H, Thompson R S, Sumpter J P, 2000. Intermittent exposure of fish to estradiol. Environ Sci Technol, 34: 2756—2760
- Peute J, Huiskamp R, van Oordt P G W J, 1985. Quantitative analysis of estradiol-17  $\beta$ -induced changes in the ultrastructure of the liver of the male zebrafish, *Brachydanio rerio*. Cell Tiss Res, 242: 377—382
- Porte C, Jane G, Lorusso L C *et al*, 2006. Endocrine disruptors in marine organisms: Approaches and perspectives. Comp Biochem Phys C, 143(3): 303—315
- Prankash O, Goswami S V, Neeta S, 2007. Establishment of ELISA for murrel vitellogenin and choriogenin, as biomarkers of potential endocrine disruption. Comp Biochem Phys, 146: 540—551
- Saradha B, Mathur P P, 2005. Effect of environmental contaminants on male reproduction. Environ Toxicol Phar, 21(1): 34—41
- Specker J L, Chandlee M K, 2003. Methodology for estradiol treatment in marine larval and juvenile fish: uptake and clearance in summer flounder. Aquaculture, 217: 663—672
- Speckmann C L, Hyatt C J, Buskey E J, 2006. Effects of *Karenia brevis* diet on RNA: DNA ratios and egg production of *Acartia tonsa*. Harmful Algae, 5: 693—704
- Srivastav S K, Srivastav A K, 1998. Annual changes in serum

- calcium and inorganic phosphate levels and correlation with gonadal status of a freshwater murrel, *Channa punctatus* (Bloch). *Braz J Med Biol Res*, 31(8): 1069—1073
- Tsai C L, Wang L H, 2000. Sex differences in the responses of serum calcium concentrations to temperature and estrogen in tilapia, *Oreochromis mossambicus*. *Zool Stud*, 39(1): 55—60
- van der Lingen C D, Peter A C, 1990. Sex determination of live galjoen (*Coracinus capensis* Cuvier) using a biochemical technique. *Aquaculture*, 86: 283—289
- Vidal E A G, DiMarco P, Lee P, 2006. Effects of starvation and recovery on the survival, growth and RNA/DNA ratio in loliginid squid paralarvae. *Aquaculture*, 260: 94—105
- Yaron Z, 1995. Endocrine control of gametogenesis and spawning induction in the carp. *Aquaculture*, 129: 49—73

## ESTROGENIC EFFECT OF 17 $\beta$ -ESTRADIOL ON MALE BAGRID CATFISH *PELTEOBAGRUS VACHELLI*

LI Yun<sup>1,2</sup>, ZHU Zhi-Qiang<sup>1</sup>, YE Qin<sup>3</sup>, DING Shi-Hua<sup>1,2</sup>, ZHENG Kai-Di<sup>1</sup>

(1. College of Animal Science and Technology, Southwest University, Chongqing, 400716; 2. Key Laboratory of Aquatic Science of Chongqing, Chongqing, 400716; 3. College of Chemistry and Chemical Engineering, Southwest University, Chongqing, 400716)

**Abstract** The present study investigates the estrogenic effects of 17 $\beta$ -estradiol as endocrinal disrupting chemicals on male bagrid catfish *Pelteobagrus vachelli*, the major commercial fish in the Three Gorges Reservoir area, China. At different temperatures and doses, the serum vitellogenin, calcium ion, phosphorous components, and RNA/DNA ratios in liver are determined. The results indicate that, comparing to the control at water temperature 16 $^{\circ}$ C, 17 $\beta$ -estradiol dose 1.0  $\mu$ g/g, or 19 $^{\circ}$ C, dose 0.1  $\mu$ g/g, vitellogenin was induced by 17 $\beta$ -estradiol injection in male fish, which is obviously dose- and temperature-dependent. At water temperature 16 $^{\circ}$ C and dose 1.0  $\mu$ g/g, the serum calcium ion level increased significantly, being obviously dose- and temperature-dependent. Similar results are observed with several serum phosphorous components in fish from the same groups. The RNA/DNA ratios in hepatopancreatic tissue increased after 17 $\beta$ -estradiol treatment. The results reveal that male *P. vachelli* is highly sensitive to estrogens. In addition to the moderate size, the availability, and the simplicity in raising and sampling procedures in laboratory, it can be used as a biomarker organism for measuring environmental estrogenic endocrine disorder. The serum vitellogenin and calcium ion in male *P. vachelli* are suitable biomarkers indicative of endocrine disruption in polluted water.

**Key words** *Pelteobagrus vachelli*, Calcium ion, Vitellogenin, Biomarker organism