

研究简报

17 α -甲基睾酮对赤点石斑鱼 性逆转的影响*

EFFECTS OF 17 α -METHYLTESTOSTERONE ON SEX REVERSAL IN *EPINEPHELUS AKAARA*

方永强 林秋明 齐襄 洪桂英

(国家海洋局第三海洋研究所, 厦门 361005)

Fang Yongqiang, Lin Qiuming, Qi Xiang and Hong Guiying

(Third Institute of Oceanography, SOA, Xiamen 361005)

关键词 赤点石斑鱼, 17 α -甲基睾酮, 雌雄同体, 精子发生

KEYWORDS *Epinephelus akaara*, 17 α -methyltestosterone,
hermaphrodite, spermatogenesis

赤点石斑鱼 *Epinephelus akaara* (Temminck et Schlegel) 是我国名贵海产经济鱼类。近几年来, 因盲目钩捕, 在东南沿海资源日益减少。因此, 国内外一些学者^[1, 4]对赤点石斑鱼性腺发育进行周年研究, 并开展了人工繁殖和育苗试验^[2, 3]。然而, 由于此鱼雌雄同体, 雌性先熟, 在六龄鱼才转变为雄鱼^[4]。由此常见因缺少雄鱼无法开展人工繁殖。所以, 作者在非繁殖季节, 试图用外源性雄激素拌入饵料中, 喂低龄和高龄赤点石斑鱼, 目的在于诱发其性逆转, 现已取得显著的效果, 这对于解决雄鱼困难, 提供科学依据。

材 料 和 方 法

(1) 材 料 赤点石斑鱼购自厦门火烧屿网箱养殖场。本实验共用45尾鱼, 其中2—3龄28尾, 体长19—23cm, 体重175—345g。3龄以上17尾, 体长23—32cm, 体重350—970g。

(2) 实 验 于1990年3月26日开始, 系在非繁殖季节进行的。实验前测鱼体长, 称重, 并检查有无精液流出, 按不同年龄组合随机分为两组, 实验组25尾, 对照组20尾, 分别放在养殖池内(长2.1m, 宽1.95m, 深2m), 充气。平均水温23.5°C。当两组鱼都恢复正常摄食后, 实验组按每公斤体重配以12.5mg 17 α -甲基睾酮(17 α methyltestosterone, 17 α MT)(美国SIGMA化学公司产品)。给药方式按前文^[1]所述方法进行, 连续58天。在第42天, 实验和对照组逐尾轻压鱼腹, 检查是否释精, 然后随机取各组部分鱼解剖处理, 计算生殖指数。在第58天时, 按上述方法全部处死动物。

* 本工作系福建省自然科学基金资助项目。
收稿年月: 1991年1月; 同年11月修改。

(3) 组织制备 首次检查和最后全部处死动物都取性腺前和中两部分,用 Bouin-Hollande 氏液固定,石蜡包埋,连续横切,厚 5—7 μm ,苏木精—伊红染色。性腺中各级生精细胞与卵细胞的数量组成比例,是统计每张切片中每个视野内生精细胞和卵细胞所占面积来确定的。同时,分析精巢中各级生精细胞的发育情况,作为判断 17 α MT 刺激睾丸生精效应的指标。卵细胞发育状况及退化卵细胞的数量作为判断 17 α MT 对卵细胞发育的影响。

结 果

17 α MT 对雌雄同体类型鱼类性腺发育的影响远比雌雄异体种类更为复杂。因此,研究 17 α MT 的作用,除以常规生殖指数做为影响标志外,更重要的是分析性腺中生精细胞效应和卵细胞退化状况为效应标志。

(一) 17 α MT 处理后,实验组的生殖指数比对照组大一倍(表 1),经统计学处理差异十分显著($P < 0.01$),此结果与前人^[1,11]报道相一致。

表 1 在非繁殖季节,17 α MT 对低龄组赤点石斑鱼的影响
Table 1 Effect of 17 α MT on gonadal development of
Epinephelus akaara during nonbreeding season

组 别	17 α MT 在食物中 剂量(mg/kgw)	鱼数量	体重(g)	生殖指数
对 照 组	0	10	248.1 \pm 41	0.24 \pm 0.07
实 验 组	12.5	12	225 \pm 43	0.48 \pm 0.01

(二) 17 α MT 对精子发生的影响

(1) 低龄组赤点石斑鱼,经 17 α MT 处理后,性腺中精巢已发育,在 12 尾鱼中有 5 尾精巢占性腺总面积的一半,4 尾占 2/3,其余 3 尾占 1/3 强。另外,组织学切片观察结果表明,精巢中精原细胞数量少,初级和次级精母细胞占多数,充满各生精小管,但精细胞和精子数量则较少(图版-1),提示此时精巢处在较旺盛生精活动时期。而对照组全部动物性腺中,卵巢占性腺总面积的 95% 左右。性腺切片观察可见卵巢中多数卵母细胞开始进入大生长期,胞质体积增大,少数卵母细胞处在小生长期,其标志为多个核仁沿核膜排列,称为核仁外周期^[10](图版-2)。(2) 17 α MT 影响生精活动的另一标志,可见高龄组(3 年以上),体重 680g 左右,经 17 α MT 处理后,性腺中精巢占绝对优势,卵巢部分仅见少数退化卵母细胞。性腺切片观察也可得到证实,从生精小管中各级生精细胞发育时期的不同比例,可反映此时性腺发育的水平。我们统计 5 尾鱼,各 15 个生精小管,其中为初级和次级精母细胞占 2 个,精细胞占优势有 3 个,其余 10 个生精小管中充满精子(图版-3),说明此鱼性腺已属功能性雄鱼。而对照组,体重 700g 高龄鱼性腺中卵巢占绝对优势,切片中可见大多数卵母细胞处在大生长期,少数为小生长期卵母细胞。性腺中精巢退居于狭小部分,在生精上皮中可见少数精原细胞(图版-4),说明这些鱼属功能性雌鱼,卵巢正处在旺盛发育时期。(3) 17 α MT 诱发性逆转,激发精子发生的另一重要标志是,在低龄和高龄组各尾鱼性腺切片中均可见早期生精细胞的分裂活动,例如,始动精原细胞的有丝分裂(图版-5),初级和次级精母细胞的成熟分裂(图版-6)以及精子形成。说明 17 α MT 是通过刺激生精细胞的增殖,使精巢发育。我们还发现 17 α MT 激发高龄组精子发生效果优于低龄组,表现在精巢中精细胞和精子占绝大多数,提示这组鱼已变为功能性雄鱼(图版-7),而低龄组性腺中仍可见一些尚未退化卵细胞,说明这组鱼处在由雌变雄的性逆转之中(图版-8)。



图版说明

Explanation of the plate

(1) 17 α MT 处理后 42 天, 体重 270g, 性腺中可见精巢发育和退化卵母细胞。×330 (2) 对照组, 体重 245g。卵巢中存在大生长期和核仁外周期卵母细胞。×330 (3) 17 α MT 处理 58 天, 体重 650g。性腺中有大量精细胞和精子。×330 (4) 对照组, 体重 700g。性腺中有大生长期卵母细胞和休止精原细胞。×330 (5) 实验组可见精原细胞的有丝分裂(箭头), ×820 (6) 实验组, 体重 680g。可见初级和次级精母细胞有丝分裂(箭头), ×820 (7,8) 高龄组雌性逆转为功能性雄鱼, 而低龄组正在逆转中。

sg—精原细胞, sc—初级精母细胞, s—精子, 箭头—精细胞。

SO—小生长卵母细胞, DO—退化卵母细胞, I.O—大生长期卵母细胞, OC—卵母细胞。

讨 论

Reinboth^[9]首先对雌雄同体,雌性先熟的海洋鱼类,用雄激素处理诱发性逆转和提早成熟做过评论。后来,Chen, *et al.*^[6]曾用添加甲基睾丸素的饲料投喂3龄巨石斑鱼,连续处理两个月可逆转为雄鱼。最近, Kuo *et al.*^[7]报道了雌雄同体,雌性先熟,7龄才变为雄鱼的蓝点鲷,使用甲基睾酮,诱发2龄鱼提早性转变为雄鱼。但是,上述学者仍未报道雄激素是如何诱发性逆转,即如何激发精子发生和使卵母细胞退化的过程。本文研究除对上述学者研究又一次提供佐证外,更重要的较详细阐明了赤点石斑鱼在性逆转中(由雌性变为雄性)各级生精细胞进行旺盛增殖活动,以及卵母细胞的退化过程(将在另文详述),这对于明了17 α MT 诱发性逆转机理有重要理论意义,同时也为赤点石斑鱼人工繁殖,用外源的激素诱变为功能性雄鱼提供有效方法和科学依据。另外,17 α MT 激发精子发生机制,我们同意 Callard^[8]的论点,雄激素可控制整个生精过程。其次,17 α MT 诱发雌雄同体鱼发生性逆转,激发精子发生要比雌雄异体的鱼类所需时间长,例如,鲱鱼^[11]喂药后两周出现释精,蓝点鲷需5个月,本文研究赤点石斑鱼约二个月,在老龄组虽已在精巢中各个生精小管大多数已充满精细胞和精子(图版一7),但仍未释精,说明雄激素诱发雌雄同体鱼的性逆转是一个较复杂的生理过程,我们认为这种复杂性可能必须在性腺中卵细胞全部退化后,才能完成性变过程有关。本文研究还证实,老龄组性逆转所需时间比低龄组短,因此建议在生产中用高龄鱼(3龄以上,体重500g左右)为材料,取得效果比低龄组好,这一点可供生产单位应用时参考。

参 考 文 献

- [1] 方永强、李正森, 1989. 17 α -甲基睾酮刺激鲷鱼精子发生机制的初步研究. 海洋与湖沼, 20: 10—14.
- [2] 张其永等, 1988. 赤点石斑鱼雌性性腺的周期发育. 台湾海峡, 7(2): 195—202.
- [3] 曾文阳、何锡光, 1979. 香港红斑之人工繁殖. 渔牧科学杂志, 7(1): 9—20.
- [4] 蔡友义等, 1988. 赤点石斑鱼雄性性腺及性转变的研究. 福建水产, (3): 24—30.
- [5] Callard, L. P. *et al.*, 1978. Testicular regulation in nonmammalian vertebrates. *Biol. Reprod.*, 18: 16—43.
- [6] Chen, F. Y. *et al.*, 1977. Artificial spawning and larval rearing of the grouper, *Epinephelus tauvina* (Forsk.) in Singapore. *Singapore. J. Prim. Ind.*, 5(1): 1—21.
- [7] Kuo, Ching-ming, *et al.*, 1988. Induce sex reversal and spawning of blue-spotted grouper, *Epinephelus fario*. *Aquaculture*. 74: 113—126.
- [8] Lofts, B. *et al.*, 1966. Effects of methyltestosterone on the testes of a hypophysectomized cyprinodont fish, *Fundulus heteroclitus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 6: 74—83.
- [9] Reinboth, R., 1970. Intersexuality of fishes, In "Hormones and Environment". *Mem. Soc. Endocrinol.*, 18: 515—544.
- [10] Wallace, R. A., 1981. Cellular and dynamic aspects of oocyte growth in teleosts. *Amer. Zool.*, 21: 325—343.
- [11] Weber, G. M. and C. S. Lee, 1985. Effects of 17 α -methyltestosterone on spermatogenesis and spermiation in the grey mullet, *Mugil cephalus* L. *J. Fish. Biol.*, 26: 77—84.