

研究简报

红罗非鱼单性化试验研究

STUDIES ON UNISEXUALIZATION IN RED TILAPIA

曹丽琴 陶永刚 谈慧珍

(上海自然博物馆, 200010)

Cao Liqin, Tao Yonggang and Tan Huizheng

(Shanghai Natural Museum, 200010)

关键词 红罗非鱼, 单性化

KEYWORDS red tilapia, unisexualization

红罗非鱼(*T. nilotica*)(♂)×(*T. mossambica*)(♀)是近年来引进的一种高产优良养殖鱼类,是鲈形目(Perciformes)鲷鱼科(Cichidae)罗非鱼属(*Tilapia*)内种间杂交选育出的新品种。由于其体形及体色酷似海中真鲷(*Pagrosomus major*),且肉质鲜美,在太平洋地区有较大市场潜力,在东南亚一带也颇受欢迎,是一个十分具有推广前景的品种。它和莫桑比克罗非鱼(*T. mossambica*)以及尼罗罗非鱼(*T. nilotica*)等一样,具有雄鱼生长快于雌鱼、性成熟周期短、繁殖力强导致繁殖过剩影响商品鱼规格等特点。因此,通过人工控制获得生长快速的红罗非鱼全雄鱼应用于生产,是既有理论意义又有经济价值的研究课题[吴融,1991;张中英等,1983]。应用性激素诱导技术控制鱼类性别,国内外已作了一些研究,国内如北京师范大学生物系[孙儒泳等,1978],湖北省水产科学研究所等单位[杨永铨,1979;杨永铨等,1980],已在莫桑比克罗非鱼获得成功。在国外,已获得性反转成功的,有奥利亚罗非鱼 *T. aurea* [Guerrero, R. D., 1975],莫桑比克罗非鱼[Clemens 和 Inslee, 1968],青鲈 *Oryzias latipes* [Yamamoto, T., 1953]和硬头鲈 *Salmogairdneri* [Okada, 1979]等。但对于红罗非鱼的研究尚未发现,本文报道了用性激素诱导红罗非鱼单性化的试验结果。

一、材料与方 法

试验材料取自杭州市水产研究所实验场,共取2800尾红罗非鱼鱼苗,平均全长为11.04mm,分为7组,每组400尾,放入7个100×100×100(cm³)网箱中饲养。其中一组为对照组,三组立即分别用含MT₅₀、MT₆₀、BE₅₀药饵投喂,剩余三组投普通饵料生长至16.56mm时,再分别以MT₅₀、MT₆₀和BE₅₀处理。

将MT和BE先溶解于95%乙醇中,然后分别均匀地混合于人工饲料中。采用MT-30μg/g饲料、MT-60μg/g饲料和BE-50μg/g饲料三种剂量,对照组不加激素。投饵量按鱼体重5—7%计算,每日喂3—4次。

实验鱼在平均水温24.7°C(21—31°C)条件下,用激素处理80天,100天后每组取标本30尾,肉眼

观察性腺发育,取性腺组织用 Bouin 氏液固定,石蜡切片厚 $7\mu\text{m}$, H. E. 染色法染色,在光学显微镜下观察,并作显微摄影。根据解剖鱼性腺构造结合组织学观察进行数理统计分析处理鱼的性别转化指标。

同时每组各取 40 尾标本,测定体重、体长和全长,比较各组生长情况。

二、结 果

(一) 甲基睾丸酮诱导红罗非鱼雄性化效应

外形观察,MT 处理试验鱼较对照组体色鲜艳,多有金黄色斑块,背尾鳍上出现荧光色斑点。

每组解剖标本 30 尾,肉眼观察第 1 组性腺多为 I-II 期,2、3 组 II 期性腺较多,4、5 组性腺发育较好,出现 III 期末性腺。镜下观察,2、3、4、5 组精巢组织发育均较好,具有精原细胞、各级精母细胞及精子细胞图像。一般细胞核较大、圆形、染色深、细胞质少,2、3、5 组各发现一尾精子细胞、卵细胞并存的♀鱼。4 与 5 组精巢总体上比 2 和 3 组的鱼发育更成熟,大部分出现已排入腔中的精子(图版 1—4)。现将实验结果列入表 1。

表 1 甲基睾丸酮诱导红罗非鱼性反转的效应

Table 1 Inducement effect of MT on sex-reversal of red tilapia

项 目 \ 组 别	1	2	3	4	5
试验鱼数(尾)	400	400	400	400	400
试验开始全长(mm)	11.04(9.5—12.5)	11.04(9.5—12.5)	16.56(13.0—18.0)	11.04(9.5—12.5)	16.56(13.0—18.0)
MT($\mu\text{g/g}$)	0	30	30	60	60
投饵量占鱼体重(%)	5—7	5—7	5—7	5—7	5—7
鱼池水温($^{\circ}\text{C}$)	24.7 ^a (21—31)	24.7 ^a (21—31)	24.7 ^a (21—31)	24.7 ^a (21—31)	24.7 ^a (21—31)
处理天数	80	80	80	80	80
取样天数	100	100	100	100	100
取样尾数	30	30	30	30	30
全长(mm)	86.7	92.9	93.8	98.6	93.9
♂(%)	76.7	96.7	96.7	100	96.7
♀(%)	23.3	3.3	3.3	0	3.3
χ^2 检验		5.621	5.621	7.856	5.621

注:表中角标“a”表示水温平均数。

由表 1 可见,用 MT_{30} 及 MT_{60} 处理全长 11.04mm、16.56mm 红罗非鱼雄性化效果好,其中用 MT_{60} 处理全长 11.04mm 组雄鱼的性逆转个体达 100%,其它组也高达 96.7%,与对照组比较差异显著($\chi_{0.05}^2 = 3.841$, $\chi_{0.01}^2 = 6.635$)。

(二) 苯甲酸雌二醇诱导红罗非鱼雌性化效应

从对照组及 BE 处理组每组各取标本 30 尾试验鱼解剖,肉眼观察表明第 6 和第 7 组鱼卵巢发育较快的百分率高于对照组。镜下观察,第 1 组雌鱼大多为 II 期卵巢,少数为 III 期,第 7 组 III 期卵巢较多,核仁除在核的中部外,多数存在于核膜边缘。细胞膜中出现放射纹,其外面有二层滤泡膜,在细胞膜内缘有多层液泡。第 6 组出现充满大量卵黄颗粒的第 4 时相卵母细胞,核膜呈波浪形,波浪突出部常存有核仁。第 6 与第 7 组中还出现较多雌雄同体鱼,这是在 BE 作用下精巢退化、卵巢发展的结果(见图版 5—8)。

由表 2 可见,用 BE_{30} 处理全长 11.04mm、16.56mm 红罗非鱼 80 天,实验组与对照组差异非常显

著($\chi^2_{0.05} = 3.841, \chi^2_{0.01} = 6.635$), 其中第 6 组雌鱼百分率由对照组的 23.3% 提高至 63.3%、第 7 组提高至 50%。

表 2 苯甲酸雌二醇诱导红罗非鱼性反转的效应

Table 2 Inducement effect of BE on Sex-reversal of red tilapia

项 目 \ 组 别	1	6	7
试验鱼数(尾)	400	400	400
试验开始全长(mm)	11.04(9.5—12.5)	11.04(9.5—12.5)	16.56(13.0—18.0)
BE($\mu\text{g/g}$)	0	50	50
投饵量占鱼体重(%)	5—7	5—7	5—7
鱼池水温($^{\circ}\text{C}$)	24.7 ^a (21—31)	24.7 ^a (21—31)	24.7 ^a (21—31)
处理天数	80	80	80
取样天数	100	100	100
取样鱼数(尾)	30	30	30
全长(mm)	86.7	85.7	86.2
♀(%)	23.3	63.3	50
♂(%)	76.7	36.7	50
χ^2 检验		24.712	8.932

注: 表中角标“a”表示水温平均数。

(三) 激素处理对红罗非鱼鱼种生长的影响

罗非鱼是受精卵在雌鱼口腔中孵育的口育性鱼类。一般认为, 在性成熟发生生殖行为时, 雌鱼由于停食进行口腔孵育而消耗大量体力, 生长受到严重影响, 雄鱼生长速度明显快于雌鱼, 但在鱼苗及苗种阶段, 则生长基本上没有差别。

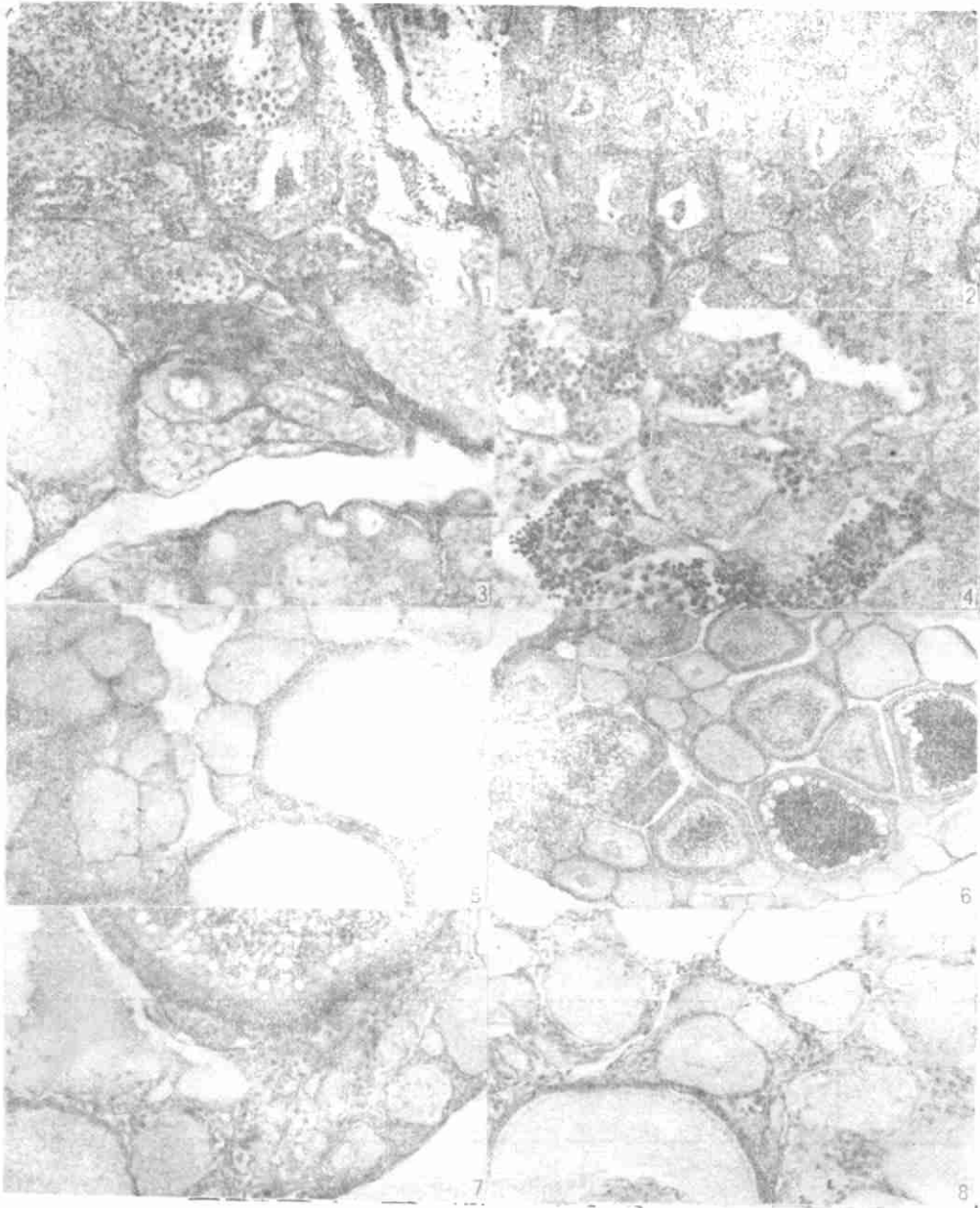
表 3 实验组、对照组生长情况

Table 3 Growth situation of experimental and contral groups

项 目 \ 组 别	1	2	3	4	5	6	7
取样鱼数(尾)	40	40	40	40	40	40	40
平均体重(克)	16.01	18.76	18.66	22.43	19.99	15.37	15.56
平均体长(mm)	70.00	74.90	75.20	79.20	75.80	68.50	70.50
平均全长(mm)	86.70	92.90	73.80	98.60	98.90	85.70	86.20

表 4 实验组和对照组体重均数显著性检验(t 检验)Table 4 Significant test of weight means between experimental and contral groups (t test)

项 目 \ 组 别	1	2	3	4	5	6	7
样本规模(n)	40	40	40	40	40	40	40
均数 \bar{x}	16.01	18.76	18.66	22.43	19.99	15.37	15.56
总和 Σx	640.4	750.4	746.3	829.8	739.8	614.6	622.2
平方和 Σx^2	11482.16	15828.12	15981.63	21604.22	17155.38	11588.30	11265.04
$S\bar{x} - \bar{x}^2$		1.352	1.451	1.712	1.579	1.471	1.344
$t = (\bar{x} - \bar{x}^1) / S\bar{x} - \bar{x}^1$		2.000	1.826	3.776	2.521	0.435	0.335



图版 用不同激素处理不同体长红罗非鱼的性腺发育状态

Plate The gonadal development situation of different body length of red tilapia treated with different hormones

1. 用 MT_{50} 处理全长 11.04mm 仔鱼 80 天后, 精巢发育良好 ($\times 200$); 2. 用 MT_{50} 处理全长 11.04mm 仔鱼 80 天, 精巢发育良好 ($\times 100$); 3. 用 MT_{50} 处理全长 16.56mm 仔鱼 80 天, 转变为♀鱼的卵巢 ($\times 400$); 4. 用 MT_{50} 处理全长 16.56mm 仔鱼 80 天, 转变为♀鱼的精巢 ($\times 400$); 5. 对照组卵巢中第 III 时相细胞 ($\times 200$); 6. 用 BE_{50} 处理全长 11.04mm 仔鱼 80 天后, 卵巢中出现 IV 时相卵母细胞 ($\times 40$); 7. 用 BE_{50} 处理全长 11.04mm 仔鱼 80 天后的♀卵巢 ($\times 200$); 8. 用 BE_{50} 处理全长 16.56mm 仔鱼 80 天后的♀鱼卵巢 ($\times 200$).

将平均全长为 11.04mm 的各实验组和对照组鱼在相同条件下饲养 100 天, 每组取 40 尾测定体重、体长和全长, 发现用 MT 处理组的鱼生长快于对照组, BE 处理组则反之 (表 3)。各实验组体重均数和

对照组体重均数的显著性; 检验结果如表4。

已知 $t_{0.05} = 2.000$, 由表4可知, 用 MT 处理的第2、4和5组实验鱼的体重均数与对照组差异显著, 第3组较为显著 ($t_{0.1} = 1.671$), 表明用 MT 处理的红罗非鱼在鱼种阶段生长明显快于对照组, 用 BE 处理的第6与第7组则差异不显著 ($t_{0.7} = 0.387, t_{0.6} = 0.527$)。

三、讨 论

关于性激素诱导鱼类性反转的机制, Yamamoto[1969]认为鱼类是较低等的脊椎动物, 性决定具有原始性、可塑性, 性决定的机制包括遗传和内分泌二方面因素, 内分泌因素作用主要是控制性原细胞通过脏壁层到性腺的过程。在鱼类个体发育性分化晚期阶段, 遗传因素占主导地位, 表现为遗传上的性别; 在性分化的早期阶段, 则是内分泌因素占主导, 外源性激素可通过抑制某些基因的活动改变原遗传性腺分化的方向, 进而导致功能性的性反转, 按外源性激素诱导的方向分化; 在遗传因素与内分泌因素相持阶段, 即性转化诱导时间较晚时, 则会出现雌雄同体现象。

我们的实验支持这个论点。依此原理, 性转化处理应在鱼苗性分化即将开始时进行, 直至性分化完全为止。对莫桑比克罗非鱼, 用于性转化的鱼种全长为 7.5—8.8mm 时, 雄性比可达 97.7%; 全长为 9.0—11.5mm 时, 雄性比降为 80.0%; 全长 14.0—18.0mm 时, 雄性化无效。对于尼罗罗非鱼, Nakamura 和 Iwahashi[1982]指出, 鱼苗在 12.0mm 以下时, 雄性比可达 100%; 11.2—14.6mm 时, 雄性比为 92—98%; 全长 13.5—20.2mm 时, 处理后雄性比仅 70%。

我们以 MT_{90} 、 MT_{60} 对全长 11.04mm 和 16.56mm 红罗非鱼苗连续处理 80 天, 雄性比均达 96.7% 以上, 这可能是杂交的红罗非鱼个体比尼罗罗非鱼及莫桑比克罗非鱼个体大的缘故。用 BE_{90} 处理 11.04mm 和 16.56mm 鱼苗, 雄性化效果显著, 但 16.56mm 组雌性率较 11.04mm 组下降较快。试验表明, 甲基睾丸酮和苯甲酸雌二醇均是诱导红罗非鱼单性化效力很强的激素。

MT 和 BE 有促进性腺发育的功效, 实验组性腺总体上均快于对照组。

对实验组、对照组鱼种体重均数的显著性检验表明, 对照组和 MT 处理组体重均数差异较显著, 与 BE 处理组的差异不显著。用 MT 处理的鱼种生长速率比对照组快 16.6—40.1%, 这可能与 MT 激素有促进鱼体蛋白质合成有关。这种生长优势在停喂药饵的成鱼生长阶段是否仍能保持, 以及实验组、对照组鱼的酶的活性有无差异还有待于进一步探索。

参 考 文 献

- [1] 孙儒泳等, 1978. 国产甲基睾丸酮对罗非鱼雄性和生产影响的研究. 北京师范大学学报(自然科学版), 4: 66—85.
- [2] 吴 融, 1991. 鱼类性别控制在水产养殖上的应用. 生物学通报, (1): 10—14.
- [3] 张中英等, 1983. 鱼类性别的人工控制研究介绍. 动物学杂志, (5): 55—57.
- [4] 杨永铨, 1979. 莫桑比克罗非鱼性别生理遗传控制的初步研究. 遗传学报, 6(3): 305—310.
- [5] 杨永铨等, 1980. 应用三系配套途径产生遗传上全雄莫桑比克罗非鱼. 遗传学报, 7(3): 241—246.
- [6] Clemens, H. and Inslee, 1968. The production of unisexual broods by *Tilapia mossambica* sex-reversed with methyltestosterone. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 97(1): 18—21.
- [7] Guerrero, Rafael D., 1975. Use of androgens for the production of all-male *Tilapia aurea* (Steindachner). *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 104(2): 342—348.
- [8] Nakamura, M. & M. Iwahashi, 1982. The practical masculinization in *Tilapia nilotica* by the oral administration of androgen. *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.*, 48(6): 763—770.
- [9] Okada, H. et al., 1979. Functional masculinization of genetic females in rainbow trout (*Salmo gairdneri*). *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish.* 45(4): 414—420.

下转本期第 84 页(Continued on page 84)

- [16] 陈月英等,1993. 维生素C的稳定性与草鱼的生长。饲料研究,(1):2—4。
- [17] 陈多序等,1990. 斜发沸石作鲤饲料矿物添加剂的研究。水利渔业,(5):3—7。
- [18] 陈昌福,许弟新,1989. 浅述鱼类的摄饵促进物质。淡水渔业,(5):44—46。
- [19] 陈建明等,1992. 沸石粉作草鱼饲料矿物添加剂的研究。水利渔业,(6):14—16。
- [20] 陈艳新,1990. 中草药饲料添加剂的研究。饲料研究,(2):16—19。
- [21] 陈维岩等,1990. 饲料中添加艾叶对鲤鱼增重的影响。水产科技情报,(6):175—177。
- [22] 陆清尔等,1992. 沸石矿补剂饲料对池养草鱼生长及某些生理指标的影响。水产科技情报,(4):107—110。
- [23] 吴文等,1991. 沸石粉喂鱼的试验。饲料研究,(2):4—5。
- [24] 吴达辉等,1989. 饲料中混合无机盐含量对尼罗罗非鱼生长的影响。淡水渔业,(3):35—37。
- [25] 杨仕懋,1988. 蚯蚓对鱼饲料的利用价值。饲料研究,(7):22—24。
- [26] ——,1993. 蚯蚓营养价值及其在水产养殖中的应用效果。现代渔业信息,(4):20—27。
- [27] 李连春,文成峰,1987. 保健药石——麦饭石,12—27. 南开大学出版社。
- [28] 张少兰等,1989. 克拉酮——新型鱼用促生长剂对鱼种养殖效果。饲料研究,(4):10—14。
- [29] 张贵后等,1993. 花粉生物活性物质对鳊鱼生长影响的研究。淡水渔业,(1):27—29。
- [30] 金龙,董娟,1991. 鱼用促生长剂应用试验,水产科技情报,(5):146—147。
- [31] 祖岫杰等,1992. 麦饭石在水产上的应用。饲料研究,(4):13—14。
- [32] 赵传纲等,1989. 鱼类的行动(第二版),72—172. 农业出版社(京)。
- [33] 赵建培,1988. 应用莨菪类药物促鱼类生长试验。水产科技情报,(5):9—10。
- [34] 夏先林等,1993. 网箱养鲤饲料添加剂的试验。淡水渔业,(2):30—32。
- [35] 徐捷等,1988. 添加蚯蚓对尼罗罗非鱼饵料配方的研究。水产科学,(1):24—27。
- [36] 钱续,1988. 氯化胆碱作为虹鳟稚鱼饲料添加剂的喂养效果。水产养殖,(4):7—3。
- [37] 顾海林,田华芬,1983. 蚯蚓和蚓粪混合喂鱼的试验。淡水渔业,(5):1—4。
- [38] 黄福珍等,1984. 蚯蚓改土及综合利用。蚯蚓的养殖与利用,23—36. 重庆出版社。
- [39] 黄耀桐,刘永坚,1988. 草鱼鱼种饲料添加剂研究。全国鱼虾饲料学术讨论会论文集,6—10. 学术期刊出版社(京)。
- [40] ——,1989. 草鱼种无机盐需要量之研究。水生生物学报,13(2):134—150。
- [41] 游文章等,1987. 草鱼饲料中盐类添加效果的研究。淡水渔业,(1):23—25。
- [42] 雍文岳等,1985. 饲料中脂肪含量对草鱼生长的影响。淡水渔业,(6):11—14。
- [43] 谭玉钧,王道尊,1988. 复合氨基酸配合饲料的养鱼效果。全国鱼虾饲料学术讨论会论文集,10—18. 学术期刊出版社。
- [44] 廖朝兴等,1992. 饲料中添加维生素对尼罗罗非鱼生长的影响。淡水渔业,(1):13—16。
- [45] 竹田正彦·潼井健三,1987. ウナギ饲料への摄饵促进物质添加效果。养殖,(3):109—112。
- [46] Ostrowski, A. C. and Garling, D. Jr., 1986. Dietary androgeneestrogen combinations in growth promotion in fingerling rainbow trout. *Prog. Fish-cult.*, (4): 268—272.

上接本期第79页(Continued from page 79)

- [10] Yamamoto, T., 1953. Artificially induced sex reversal in geotypic males of the medaka (*Oryzias latipes*). *J. Exptl. Zool.*, 123: 571—594.
- [11] ——, 1969. Sex differentiation. *Fish Physiology*, 3: 117—175. Academic Press, New York and London.