

## 草魚、團頭魴及雜交魚之性腺和血液中類固醇激素的周年變異

黃家富·劉富光

### Annual Change in Gonadosomatic Index and Plasma Levels of Steroid Hormone of Grass Carp (*Ctenopharyngodon idella*), Wu-Chang Fish (*Megalobrama amblycephala*) and Their Hybrid (*C. idella* X *M. amblycephala*)

Chia-Fu Huang and Fu-Guang Liu

This study investigated the pattern of sex steroid secretion in relation to gonadal growth during the annual change of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*); Wu-chang fish, (*Megalobrama amblycephala*); and their hybrid (*C. idella* X *M. amblycephala*). Blood samples were taken monthly from the caudal artery of the 3-year-old experimental fishes. Serum estradiol-17 $\beta$  and Testosterone were quantified by RIA (radioimmunoassays). The gonadosomatic indices of grass carp and wu-chang fish were lowest in October to November and highest in April while that of the hybrid was found low all year round. The estradiol-17 $\beta$  levels of grass carp and wu-chang fish were low from September to November and high in April whereas that of the hybrid was low from February to April. The serum androgen (testosterone) secretion patterns of grass carp and wu-chang fish were similar to that of estradiol-17 $\beta$  except that the peak was in March. The annual change of estradiol-17 $\beta$  and testosterone levels corresponded with the gonadosomatic index. The hybrid was thought to be sterile and suitable for stocking in freshwater pond, lakes and stream.

關鍵字：草魚、團頭魴、雜交魚、性腺、類固醇激素、周年變異。

Key words: *Ctenopharyngodon idella*, *Megalobrama amblycephala*, *C. idella* X *M. amblycephala*, Gonadosomatic index, Steroid hormone, Annual change.

## 前 言

我國四大淡水養殖魚種之一的草魚（鯪，*Ctenopharyngodon idella*）為東亞特產，屬草食性，可來控制淡水湖沼河川中之雜草，而提高天然水體漁業生產潛力，故在本省淡水池塘中扮演著極為重要的角色。另一種草食性魚類——團頭魴（*Megalobrama amblycephala*），原產中國內陸湖，尤以長江中游之梁子湖最負盛名，數年前引進本省，成為新興養殖魚種。因草魚具有體形大、生長快、肉刺少

之特性，但卻有肉質粗且對消化道疾病抵抗力弱之缺點；而團頭魴則具有抗病力強、易捕撈、肉量及脂肪含量高之優點，但肉刺多，卻是養殖者與消費者詬病之缺點。有鑑於此，本研究乃進行草魚與團頭魴之雜交育種，希望培育出兼具二者優點之養殖魚種，以達成淡水養殖魚種多樣化之目標。

有關草魚、團頭魴之人工繁養殖技術之研究甚多<sup>(1,2,3,4,5,6,7)</sup>，然而有關草魚、團頭魴及其雜交魚之生殖內分泌現象則尚無人研究，故本試驗將探討雜交魚與親代之生殖能力、生殖週期間各種生殖激素分泌型態及季節性差異，以供人工育種及雜交魚經濟效益評估之參考。

## 材料與方法

### 一、材料之採集

本實驗材料係取自同一親代經人工育成之3年齡草魚、團頭魴與雜交魚；由民國78年5月至79年4月，每月中甸採樣一次，每次採樣雌、雄各7尾，測體長、體重、抽取血液供測定血漿性類固醇激素之用。

### 二、實驗魚之麻醉、採血、標示魚體、性腺指數之測定方法

#### (一)標示魚體

首先以長1.5 cm、寬0.5 cm之塑膠片為標籤，並於標籤上打印魚體編號，在標籤中央打孔，以尼線穿綁於魚體鼻孔之出水孔。由於標籤在捕撈時易脫落，而後改後以剪除胸鰭與腹鰭位置來作魚體記號。

#### (二)麻醉

本實驗於測量體長、體重、採血及採生殖腺時，均先以2-Phenoxyethanol為麻醉劑，固定使用300ppm之濃度，待其失去平恆與知覺後，即進行實驗操作，操作結束後即放入清水中（以0.5 ppm之呋喃劑藥浴）使其甦醒。

#### (三)採血

採血前以0.1 M之EDTA潤濕針頭（EDTA為抗凝血劑），由魚體尾靜（動）脈以2.5 ml之塑膠針筒抽血。每尾魚每次之採血量，草魚與雜交魚為2.5 ml，而團頭魴則為2 ml；血液採集後，置於冰浴中並且在30分鐘內離心（3,000 rpm，5 min）完畢，取得血清凍存於-70℃下之冷凍櫃中，供分析性類固醇激素之用。

#### (四)性腺指數測定

另採同一年齡之草魚、團頭魴及雜交魚雌雄各2尾，測得體重及體長後，解剖魚體取出性腺並測其重量。性腺指數（Gonadosomatic Index, GSI.）=性腺重(g) / 魚體重(g) × 100%。

### 三、血清性類固醇激素之濃度分析

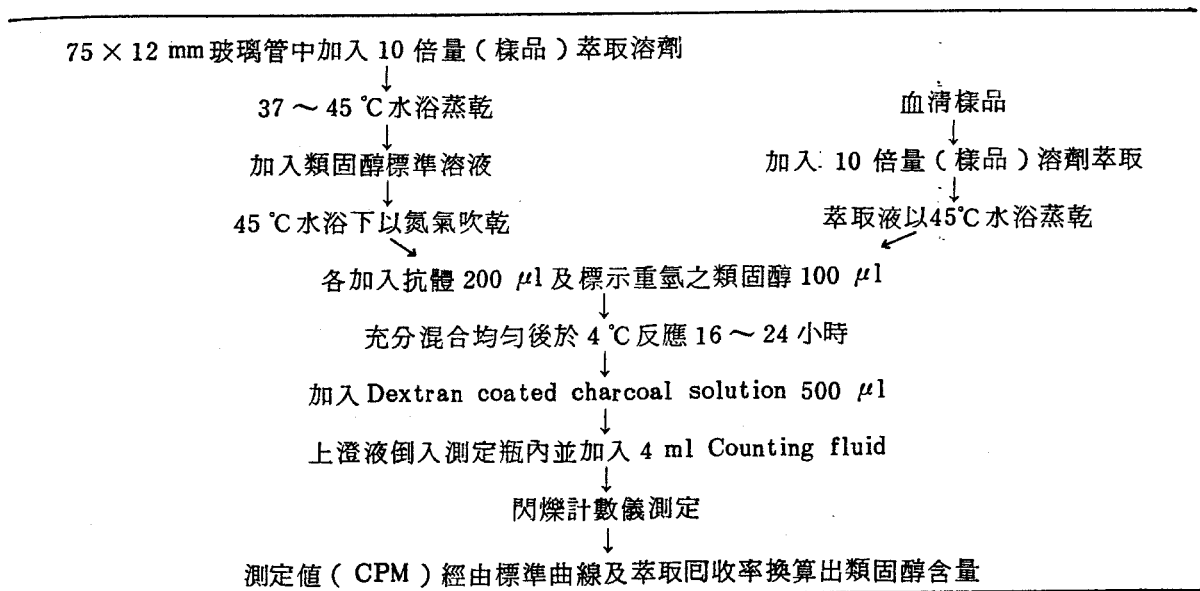
血清以放射免疫法（Radioimmunoassay）分析雌二醇（Estradiol）、睪固酮（Testosterone）及17 $\alpha$ -OHP（17 $\alpha$ -hydroxyprogesterone）。首先以乙醚（Ethyl Ether）為溶劑萃取血清中之類固醇激素。每次萃取所使用之血清量依類固醇激素濃度而異（25~200  $\mu$ l），血清與乙醚容量比例為1:10（萃取溶劑為樣品之10倍），充份振盪混合後靜置於-70℃下，使水層結冰而迅速將上層萃取溶劑倒至另一玻璃試管中（12 × 70 mm），再將萃取溶劑置於37℃~40℃之水浴中讓乙醚蒸發。乙醚蒸乾後加入200  $\mu$ l適當濃度之類固醇激素抗體（Antibody）及100  $\mu$ l含8,000~10,000 cpm標示重氫的類固醇激素，適度振盪後，在4℃靜置16~24小時，而後加入500  $\mu$ l之0.25%活性碳溶液（Detran Coated Charcoal, DCC），充份振盪並於4℃下靜置15分鐘，以低溫（4℃）3,000 rpm離心5~15分鐘，之後將管中上層液小心倒入測定瓶（Counting Vial）中，並加入4 ml Counting Fluid Hydrofluor（購自National Diagnost Co. Mancille, New Jersey, U.S.A.），以

液態閃爍計數儀 ( Liquid Scintillation Spectrophotometer, Beckmen 580 ) 測定放射性強度後，再與各種標準濃度之曲線比較，計算出 1 ml 血清中之激素含量 ( 如表 1 )。

於測定類固醇激素之同時，以不同濃度之標準類固醇激素作為標準曲線；各種激素之濃度範圍如下：雌二醇為 1.25 pg ~ 320 pg；睪固酮為 6.25 pg ~ 1,600 pg。

雄性素 ( Androgen ) 標準曲線之計算是以 Testosterone 為標準，而雌二醇 ( Estrodiol-17  $\beta$  ) 則以其本身為標準，因為其抗體反應特異性極高。

表 1 放射免疫分析法



#### 四、統計分析

本實驗各組結果均計算其平均值及標準偏差，並以 Duncan multiple test 測定各實驗組平均值之差異。

## 結 果

### 一、草魚、團頭魴及雜交魚種等生殖腺發育之月別變化

由表 2 所示，雌草魚之性腺指數於 10 ~ 11 月時最低為 0.85 % 及 0.67 %，1 月份時升高至 4.88 %，而於春季 ( 3 ~ 5 月份 ) 水溫回升後達最高 ( 19.31 % )，進入夏季後 GSI 下降；雌團頭魴與雌草魚類似，但似乎較草魚成熟稍晚一個月左右；而雜交魚之生殖腺指數一直為零，並未發現有生殖腺，在試驗解剖時曾有發現疑似生殖腺者，但經組織切片觀察，結果其非屬生殖腺組織細胞<sup>(8)</sup>。

### 二、不同季節類固醇激素變化情形

在雌二醇激素方面：

如圖 1 所示，雌草魚、雌團頭魴血液中雌二醇濃度在 10 ~ 11 月份為最低，元月份起逐漸升高，至 4 月份達最高值，平均分別為 595.1 pg/ml serum；522.05 pg/ml serum，該雌二醇濃度在 5 月份時急遽下降，平均為 72.94 pg/ml serum；79.58 pg/ml serum，與 2 月份之濃度相似。

雄草魚、雄團頭魴血液中雌二醇濃度之型態與雌魚相類似，兩魚種在 7 ~ 12 月份時血液中之雌二醇含量均極低；雄團頭魴血液中雌二醇濃度於元月起逐漸上升，而雄草魚者則於 2 月份才逐漸升高，也於 4 月份達最高值，此時雄草魚、雄團頭魴血液中雌二醇濃度平均為 30.24 pg/ml serum；38.24

表2 草魚、團頭魴和雜交魚性腺指數 (GSI%) 之月別變化

種 魚	性 別	月 別											
		'89						'90					
		5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4
草 魚	♂	9.74		5.87		0.73	0.43	0.51	0.98	1.93	6.44	10.77	10.48
	♀	18.31		8.71		1.41	0.85	0.67	1.23	3.88	8.32	12.75	19.81
團 頭 魴	♂	7.43		4.32		1.76	0.68	0.41	0.59	1.47	2.19	7.44	8.17
	♀	11.87		7.18		3.87	0.79	0.53	1.07	2.37	5.98	8.43	10.13
雜 交 魚		0		0		0	0	0	0	0	0	0	0

pg/ml serum (如圖2)。

雜交魚血中之雌二醇濃度於2~4月份有較高價值，其平均值分別為4.7、9.18、2.23 pg/ml serum，其它月份之含量極低，無法檢測出。

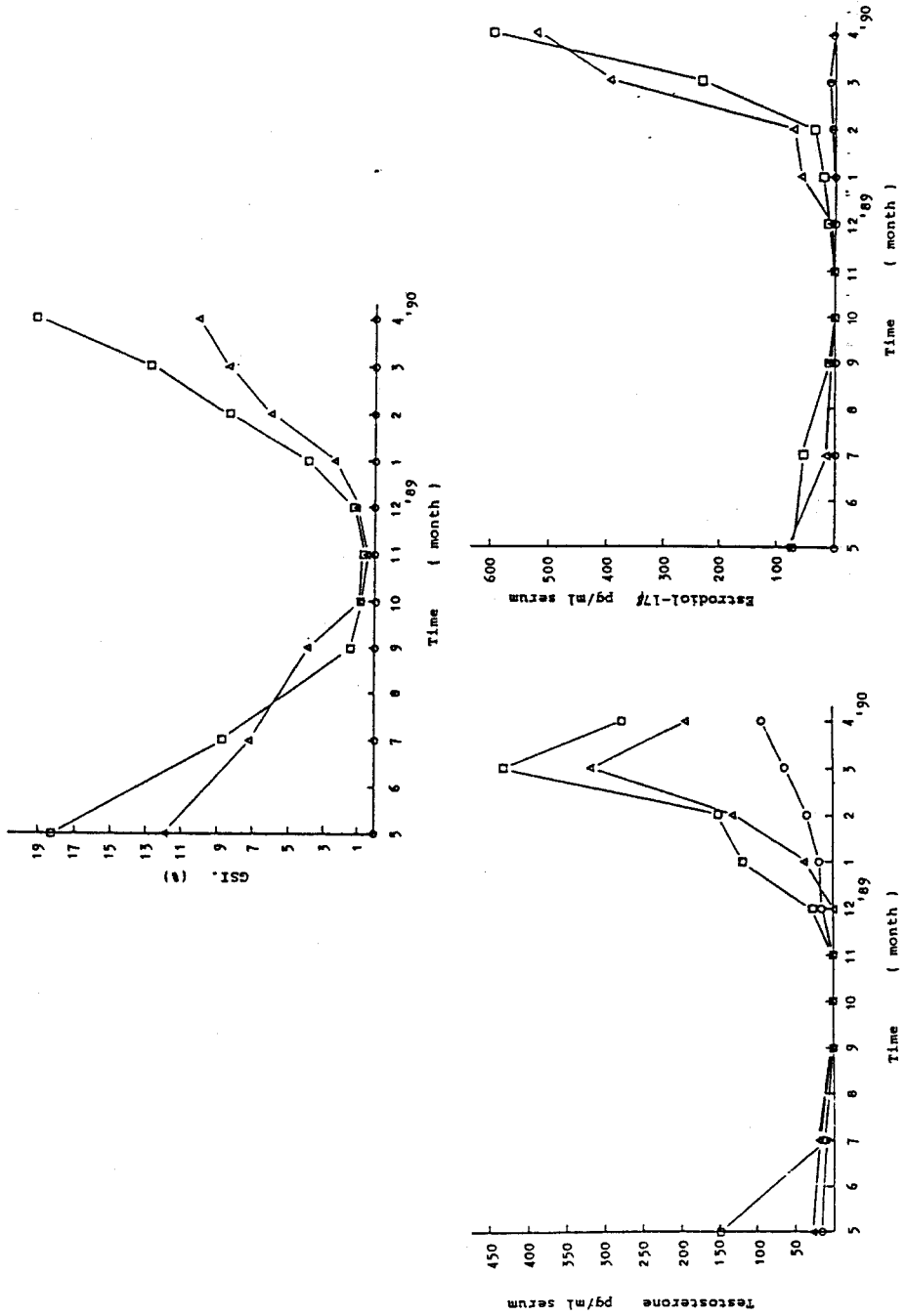
在雄性素睪固酮方面：

雄草魚、雄團頭魴血液中睪固酮濃度於9~11月均極低，於元月份起就急遽升高，至3月份達最高濃度，平均分別為830 pg/ml serum、485 pg/ml serum，而於4月份下降，其濃度與2月份者相近。於雌草魚、雌團頭魴部份，其血液中睪固酮濃度變化型態與雄魚者相似。於雜交魚方面，其血中睪固酮濃度於12月份即出現，其平均濃度為15.7 pg/ml serum，然後逐漸升高，於4月份達最高濃度91.67 pg/ml serum，5月份急速降低，其濃度與元月份相近；9~11月份其濃度極低，與雌二醇相同無法檢測(如圖1、2)。

## 討 論

魚類的生殖季節除由自然界魚苗出現期、魚體型、頻度判斷外，以成魚性腺指數(GSI)之變化為最常用及最精確的方法<sup>(9)</sup>，本研究除以性腺指數值來推測草魚、團頭魴及雜交魚的生殖季節外，也試圖以雌二醇和睪固酮之含量變化，來檢視生殖月別的關係；由結果顯示，草魚和團頭魴血中雌二醇、睪固酮之變異型態均顯示出與性腺指數對季節變化之相關性，換言之，其生殖腺與類固醇激素因不同季節而有所變化。如在雌魚方面，12~2月之間，可能是內生性卵黃質之生成期，因而造成卵細胞開始成長，生殖腺指數亦漸增，然而血中類固醇激素、雌二醇和睪固酮尚未顯著增加，直到2~3月間此二種激素才急遽增加，到4月份達最高值，而促進卵巢之發育成熟，而睪固酮為合成雌二醇之先趨物(Precursor)，因此睪固酮常比雌二醇提早出現，並在卵細胞成熟前一直維持相當的濃度<sup>(10,11,12,13)</sup>，故與黑鯛<sup>(14)</sup>、青點石斑<sup>(15)</sup>、金魚<sup>(16)</sup>、嘉臘魚<sup>(17,18)</sup>等有相同的結果。

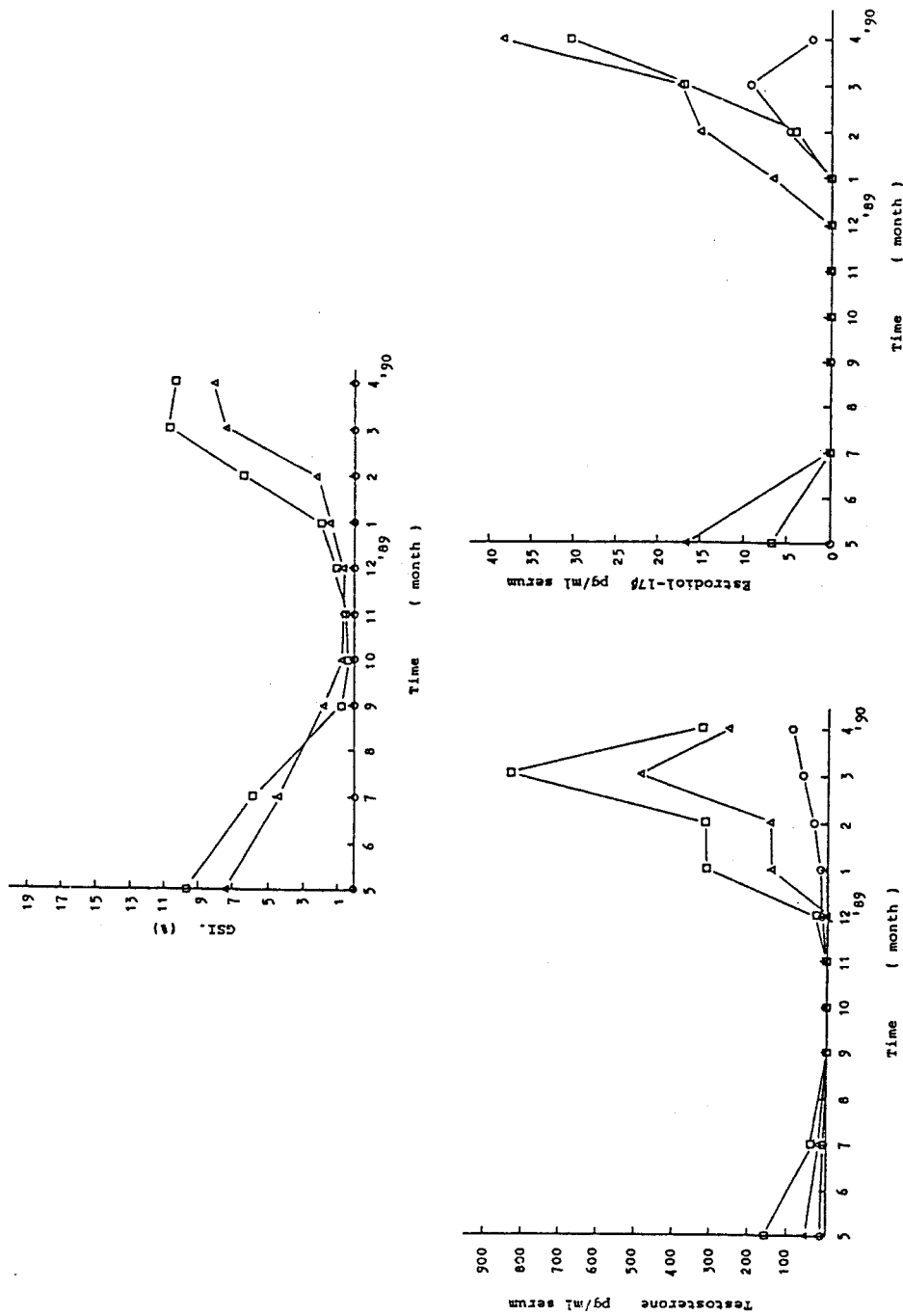
雄魚之精巢發育與精子之產生是受到腦下腺分泌之促性腺激素(GtH)之控制，但實際是透過雄性類固醇激素之直接控制<sup>(19)</sup>，在本試驗中，雄草魚與雄團頭魴血液中的睪固酮濃度，在元月份起即有較高濃度，而在3月出現高峰，4、5月份則急遽下降，但生殖腺指數(GSI)依然很高，且有排精作用，此結果似乎說明睪固酮可能影響雄性生殖腺成長並參與最期精子之生成有關<sup>(13,20,21)</sup>。另一種雄性類固醇激素——11-Keto-Testosterone被許多學者認為與晚期精子產生包括變態及排精過程有關<sup>(22,23)</sup>，本實驗並未分析11-Keto-Testosterone，所以有待分析GtH、11-Keto-Testosterone及17 $\alpha$ , 20 $\beta$ -dihydroprogesterone，此理論將更可以證實。



□ 草魚 ( *Ctenopharyngodon idella* )    △ 團頭魴 ( *Megalobrama amblycephala* )    ○ 雜交魚 ( *C. idella* × *M. amblycephala* )

圖 1 雌草魚、雌團頭魴及雜交魚的生殖腺指數 ( GSI )、雌二醇 ( Estrodol-17β ) 及睪固酮 ( Testosterone ) 之週年變異情形

Fig. 1 Annual change of gonadosomatic index, estradiol-17β and testosterone in female grass carp, *C. idella*, wu-chang fish, *M. amblycephala*, and their hybrid, *C. idella* × *M. amblycephala*.



□草魚 ( *Ctenopharyngodon* )    △團頭魴 ( *Megalobrama amblycephala* )    ○雜交魚 ( *C. idella* × *M. amblycephala* )

圖 2 雄草魚、雌團頭魴及雜交魚的生殖腺指數 ( GSI )、雌二醇 ( Estradiol-17β ) 及睪固酮 ( Testosterone ) 之週年變異情形

Fig. 2 Annual change of gonadosomatic index, estradiol-17β and testosterone in male grass carp, *C. idella*, wu-chang fish, *M. amblycephala*, and their hybrid, *C. idella* × *M. amblycephala*.

在雜交魚體內擬似生殖腺的部位採樣，並經組織切片，以 Hematoxylin 及 Eosin 染色後觀察，發現此組織並非生殖腺組織，故證實 3~4 歲之雜交魚具有不孕性。但在生殖季節時，其血液中可檢測出低量濃度的性腺類固醇激素——睪固酮和雌二醇，此等性腺類固醇激素之合成與代謝途徑及其在生殖生理上之意義，均有待進一步的探討。

## 摘 要

草魚與團頭魴之生殖腺發育由性腺指數 (GSI) 可知其性腺發育以 10~11 月份最低，而以 4~5 月份最高；種魚在養殖池中，生殖腺受溫度等之刺激可發育；性類固醇激素——雌二醇濃度於非生殖季節 (9~11 月) 時偏低，而於 4 月份達最高值；雄性素 (睪固酮) 之分泌型態與雌二醇相類似，但最高濃度出現在 3 月份；故草魚和團頭魴之性類固醇激素濃度對生殖腺指數之季節變異型態相吻合。

雜交草魚之生殖腺始終未見發育，但在生殖季節時，其血液中可檢測出低量濃度的性類固醇激素，此等性腺類固醇激素在生殖生理上之功能不明確，但可確定其具有不孕性，適合池塘、河川、湖泊之放養。

## 參 考 文 獻

1. 劉嘉剛 (1964). 池塘養殖草鯪魚之人工繁殖試驗，臺灣省水產試驗所試驗研究報告，9, 59-70.
2. 林書顏 (1973). 人工養殖草魚新經驗，中國水產，262, 2-3.
3. 黃丁郎 (1965). 鯪 (白鯪)、鱮 (大頭鯪)、鯪 (草魚) 人工繁殖的幾個關鍵，中國水產，156, 14-16.
4. 賴仲謀、黃丁郎 (1966). 鯪草魚人工繁殖試驗，臺灣省水產試驗所試驗研究報告，12, 49-59.
5. 施仁譯 (1970). 武昌魚 (團頭魴) 的繁養殖與飼育 (上)，漁友月刊 3(12), 20-23.
6. 施仁譯 (1971). 武昌魚 (團頭魴) 的繁養殖與飼育 (下)，漁友月刊 4(1), 24-30.
7. 余廷基 (1973). 團頭魴繁養殖，漁友月刊 6(9), 20-29.
8. Humason, G. L. (1977). Animal Tissue Techniques. Third Edition, Mei Ya, pp 641.
9. 葉信利 (1982). 臺灣東北部澳底近海鯪類資源及其漁場，中國文化大學海洋研究所碩士論文，pp 79.
10. Wingfield, J. C. and A. S. Grimm (1977). Seasonal changes in plasma cortisol, testosterone and oestradiol-17 $\beta$  in the plaice; Gen. Comp. Endocrinol., 31, 1-11.
11. Callard, G. V., Z. Petro and K. J. Ryan (1981). Biochemical evidence for aromatization of Androgen to estrogen in the pituitary, Gen. Comp. Endocrinol., 43, 243-255.
12. Kagawa, H., G. Young and Y. Nagahama (1983). Changes in plasma steroid hormone levels during gonadal maturation in female goldfish, *Carassius auratus*, Nippon Suisan Gakkaishi, 49, 1783-1787.
13. Pankhurst, N. W. and A. M. Conroy (1987). Seasonal changes in reproduction and plasma levels of sex steroids in the blue cod, *Parapercis colias*, Fish Physiol. Biochem., 4, 15-26.
14. 余玉琳、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專刊第十四集，113-121.
15. 丁雲源、郭欽明、葉信利 (1987). 青點石斑魚促進性轉變及產卵之研究，農委會漁業特刊第七號

- 魚類生殖與內分泌之基礎及應用研討會論文專集，162-187.
16. Makito K., E. Mohri, T. Tobayama, K. Aida and I. Hanyu ( 1986 ). Annual changes in plasma levels of goldfish, *Bull. Japan, Soc. Sci. Fish.*, 52(7), 1153-1158.
  17. 大池一臣、足立伸次、長 嘉孝 ( 1988 ). マダイ雌の性成熟に伴ら血中ステロイドホルモン量の變動，*日本水産學會誌*，54(4), 585-591.
  18. 大池一臣、足立伸次、長 嘉孝 ( 1988 ). マダイ雄の性成熟に伴ら血中ステロイドホルモン量の變動，*日本水産學會誌*，54(4), 593-597.
  19. 張清風 ( 1987 ). 雄魚精子生成作用與內分泌控制，*農委會漁業特刊第七號——魚類生殖與內分泌之基礎及應用研討會論文專集*，65-81.
  20. Schreck, C.B., L. G. Fowler ( 1981/1982 ). Growth and reproductive development in fall chinook salmon : Effects of sex hormones and their antagonists, *Aquaculture*, 26, 253-263.
  21. Resink, J.W., W.G.E.J. Schoonen and J.G.D. Lambert ( 1987 ). Seasonal change in steroid metabolism in the male reproductive organ-system of the African catfish, *Clarias gariepinus*, *Aquaculture*, 63, 157-168.
  22. Scott, A.P., V.J. Bye, S.M. Baynes and J.R.C. Springate ( 1980 ). Seasonal variations in plasma concentrations of 11-keto-testosterone and testosterone in male rainbow trout, *Salmo gairdneri*, *J. Fish Biol.*, 17, 495-505.
  23. Baynes, S. M. and A. P. Scott ( 1985 ). Seasonal variation in parameters of milt production and in plasma concentration of sex steroids of male rainbow trout, *Gen. Comp. Endocrinol.*, 57, 150-160.