

## 雄性素埋植法促進石斑魚性轉變之研究

葉信利·丁雲源·郭欽明

**Induced sex reversal of grouper (*Epinephelus salmonoides*; *Epinephelus fario*), after implantation of pelleted androgen**

Shinn-Lih Yeh, Yun-Yuan Ting and Ching-Ming Kuo

The groupers (*Epinephelus fario*; *Epinephelus salmonoides*) are popular maricultural fishes and commercial important marine foodfishes in Taiwan. For the purpose of solving the shortage and uncertain supply of mature male from the wild, research effects have been directed at implantation method for induced sex reversal aimed at achieving self-sufficiency supply of mature grouper. Six androgen hormone therapies, pellets containing 17 $\epsilon$ -methyltestosterone, testosterone, testosterone propionate, mixing androgen (17 $\epsilon$ -MT+testosterone+testosterone propionate), 17 $\epsilon$ -MT+HCG, mixing androgen+HCG, were tested to determine the best treatment for inducing sex reversal in grouper, and the results were summarized as follow:

1. Females (*Epinephelus fario*) over 3-year-old can be induced to sex reversal, and the rate reached 100%, with pellet implantation of 17 $\epsilon$ -MT at the dosage of 26.9mg/Kg BW to 117.97mg/Kg BW over 102 days duration and the value of GSI is 0.0311.
2. *Epinephelus salmonoides* over 2-year-old can be induced to sex reversal with pellet implanted of 17 $\epsilon$ -MT and mixing androgen at the dosage of 10 mg/Kg BW over 2-month duration, and the value of GSI are 0.0179 and 0.0254.
3. Hormone of mixing androgen is the most effective hormone therapy for induced sex reversal of grouper, and the effective of induced sex reversal sequence are mixing androgen > 17 $\epsilon$ -MT > testosterone propionate > testosterone with 10mg/Kg BW androgen over 74 days duration.
4. Comparison of the dosage effective for induced sex reversal with 17 $\epsilon$ -MT treated, and the results were 20 mg/Kg BW > 10 mg/Kg BW > 5 mg/Kg BW. But, that is no difference among three dosage of induced sex reversal effective with mixing androgen, and the special effective according to treatment duration.
5. *Epinephelus salmonoides* can be induced to sex reversal and the rate reached 100% with pellet implantation of mixing androgen+HCG and 17 $\epsilon$ -MT+HCG at the dosage of 5mg/Kg BW to 20 mg/Kg BW over 68 days duration and the effective one is mixing androgen+HCG > 17 $\epsilon$ -MT+HCG.
6. The sperm of grouper are 2 to 3 um in size and activity good in initial 10 minutes, whereas is added sea water. The sperm movement stop after 90 minutes later, and the number of sperm is about  $8 \times 10^7$ /ml semen.

### 前 言

石斑魚為台灣發展鹹水養殖漁業之主要海水魚種之一，然而魚苗缺乏，以及種魚來源困難一直是

其無法大量推廣之主因<sup>(1)(2)(3)</sup>，雖目前利用天然種魚已完成人工繁殖及育苗工作<sup>(4)(5)(6)(7)</sup>，以及利用雄性素 (Androgen) 使用口服法來人工促進石斑魚提前性轉變得到雄魚<sup>(8)(9)(10)</sup>，但在實際推廣應用上仍不理想，依賴天然種魚，則來源不定，受自然因素影響太大，而口服法培養種魚，不僅所使用之雄性素 (androgen) 劑量無法準確控制，就是變性效果也不一<sup>(8)(9)(10)</sup>，且必需要連續處理一段很長時間，通常2個月以上 (葉，1987)<sup>(11)</sup>，處理麻煩，耗時又耗力。

石斑魚人工促進性轉變得到雄性種魚，已為今後石斑魚人工繁殖成功及大量推廣養殖之重要關鍵 (Chen 1977)。所以，如何以最簡易之方法與最低成本，大量養成成熟雄性種魚關係著成敗，然目前慣用之變性方法，乃將雄性素摻於飼料中，再予投餵之口服法，或利用注射方式，定期將水溶性或油性雄性素注射於魚體內，但此兩方法缺點甚多，不是處理太繁、成本太高，就是對魚造成壓迫 (Stress) 太大，影響魚成長或發育，甚至荷爾蒙之效力 (Billard et al 1981; Lam 1984)<sup>(11)(12)</sup>，以及效果無法預期，成功率不一。

埋植法 (implantation) 被應用於魚類促進成熟及繁殖已有許多成功之報告<sup>(13)(14)(15)(16)(17)(18)(19)(20)(21)(22)</sup>，而且效果佳，尤其在虱目魚之人工繁殖研究上，成果斐然，其操作簡單，劑量易控制，成本亦低，最重要的是對魚類所造成之壓迫 (Stress) 低，並可減少操作次數。故為了克服口服法與注射法在促進石斑魚性轉變發生之缺點，本研究乃嘗試將雄性素製成藥粒 (pellet)，以埋植 (implantation) 方法，將藥粒植入魚體內，冀能以一次處理，讓雄性素在魚體內慢慢被吸收，而達到促進性轉變之目的。自1985年12月至1987年7月以青點石斑 (*Epinephelus fario*) 和鮭形石斑 (*Epinephelus salmonides*) 為材料，進行埋植法促進性轉變試驗，結果令人非常滿意，性轉變成功率極高。本報告為首度以埋植法 (implantation) 對石斑魚類做促進性轉變之研究。

## 材料與方法

### 材料：

1985年12月以魚塢養成之3齡青點石斑 (*Epinephelus fario*) 10尾，平均體重 2.86 kg ± 0.144 kg，平均體長為 57.66 ± 0.504 cm 為試驗魚。1986年則以2齡與3齡之鮭形石斑 (*Epinephelus salmonoides*) 16尾，平均體重 1.60 ± 0.147 kg，平均體長為 47.33 ± 1.319 cm 為材料。另在1987年之試驗用魚為2+齡之鮭形石斑 (*Epinephelus salmonoides*) 20尾，平均體重為 2.17 ± 0.066 kg，平均體長為 51.63 ± 0.498 cm。這些試驗用魚皆為魚塢養成，來源可以大量取得。

### 方法：

石斑魚以2-Phenoxyethanol 300 ppm 麻醉後，再將含有荷爾蒙之藥粒 (Pellet)，行肌肉埋植方式 (intramuscular implantation)，將藥粒植入，每個藥粒直徑為 2 mm，長度則以所需劑量多寡不定 (藥粒製法及操作方式於另篇報告詳細說明)<sup>(23)</sup>，通常藥粒每 1 cm 長，重量為 25 mg，埋植時以魚體單邊植入為主，並每尾魚以不同顏色塑膠軟管於胸鰭或背鰭基底做標識，以利區別及追蹤。

所使用藥粒 (Pellets) 以含荷爾蒙成分不同，分為甲基辜固酮 (17 $\alpha$ -methyl testosterone)，辜丸固酮 (testosterone)，丙酸辜固酮 (testosterone propionate)，混合雄性素 (17 $\alpha$ -methyl testosterone + testosterone + testosterone propionate)，甲基辜固酮加胎盤性腺激素 (17 $\alpha$ -methyl testosterone + human chorionic gonadotropin, HCG) 及混合雄性素加胎盤性腺激素 (17 $\alpha$ -MT + T. + T.P. + HCG) 等6種，另以不使用荷爾蒙而採同樣埋植操作方式之處理魚為對照組。

性轉變結果之觀察，利用定期採樣，從生殖腺觀察是否能採到精子，與利用組織石臘 (paraffin

切片法，以 Boulin's solution 固定，石臘包埋後，切取 6—10  $\mu\text{m}$  的組織，再以 H & E 染色，進行性腺細胞檢查，並計算生殖腺成熟度指數 (Gonadosomatic index, GSI)， $GSI\% = \frac{\text{生殖腺重}(g)}{\text{體重}(g)} \times 100$ 。性腺性轉變程度，乃參照 Tan (1974)<sup>(2)</sup>，曾 (1984)<sup>(2)</sup>，葉 (1986)<sup>(6)</sup> 對石斑魚性腺發育型態之分級，I 至 V 為卵巢發育級，VI 至 VIII 為性轉變級，IX 至 XII 為精巢發育級，若直接能採到精子，則其為第 X 級。

## 結 果

### 一、青點石斑埋植試驗：

青點石斑 (*Epinephelus fario*) 從 1985 年 12 月至 1986 年 4 月，以  $17\alpha\text{-MT}$  ( $17\alpha\text{-methyl testosterone}$ ) 處理，埋植劑量由 26.91 mg/kg BW 至 117.97 mg/kg BW，吸收劑量由 5.760 mg/kg BW，至 39.525 mg/kg BW (約 17.6% 至 78.5%)。其結果如表 1 所示，除 1 尾魚 (No. 3) 效果不顯外，其餘皆有促進性轉變之效能，處理時間在 48 天後，已使性腺進入性轉變期，在 102 天以上時，則完全變為雄魚，成功率 100%，其 GSI 平均則為  $0.0311 \pm 0.0055$ ；而對照組性腺發育只在卵巢成熟階段。以相關分析 (Analysis of correlation) 分析變性效果與處理時間之關係得處理時間與性轉變效果成正相關， $r = 0.876$ ， $F = 19.74^{**} > F(V_1 = 1, V_2 = 7, P = 0.01) = 12.25$ 。在性轉變作用中 GSI 與性腺發育之關係則為負相關， $r = -0.909$ ， $F = 28.49^{**} > F(V_1 = 1, V_2 = 7, P = 0.01) = 12.25$ ，而所用劑量及吸收劑量對性腺發育程度及 GSI 之關係不顯著。此分析說明本實驗所用埋植劑量及其所吸收之劑量皆已超過其所需劑量，性轉變之程度受處理時間長短影響很大。另 GSI 之值亦可代表著性轉變效果之程度。

### 二、鮭形石斑之性轉變：

參照 1985 年至 1986 年青點石斑埋植試驗之結果，1986 年 4 月至 9 月鮭形石斑 (*Epinephelus salmonides*) 之促進性轉變試驗，主要在探討以  $17\alpha\text{-MT}$  處理所需劑量與時間，以及使用不同成分雄性素促進性轉變效果之比較。所使用埋植劑量以 10 mg/kg BW 至 46 mg/kg BW 為範圍，處理時間 21 天至 83 天，經埋植試驗，其結果如表 2 所示。以  $17\alpha\text{-MT}$  處理之結果，10.63 mg/kg BW 與 40 mg/kg BW 埋植之效果皆同，均可得雄魚。處理時間以 60 天以上即可，39 天以下只達到性轉變階段 (VII 級)。吸收劑量每 7.453 mg/kg BW 就可達到促進性轉變之目的得到雄魚。性轉變後之 GSI 平均為  $0.0179 \pm 0.0021$ 。

以 testosterone 處理魚，劑量由 11.05 mg/kg BW 至 36.34 mg/kg BW，處理時間 38 至 75 天，吸收率 18.9 至 100%，然性轉變效果，性腺只達第 VII 級之中間性狀態，GSI 平均  $0.0170 \pm 0.0012$ 。用丙酸舉固酮 (testosterone propionate) 處理，劑量為 10.27 mg/kg BW 及 23.92 mg/kg BW，處理時間為 39 及 75 天，吸收百分率為 59.2 及 100%，而性轉變之性腺也只達第 VII 及 VIII 級，GSI 平均為 0.0127。

混合雄性素 (Mixing androgen) 埋植，劑量 10.55 及 10.64 mg/kg BW，時間 74 及 76 天，吸收率 59.7 及 54.0%，皆可得到雄魚採到精子，其 GSI 為 0.0219 及 0.02900 對照組則性腺發育停留在第 I 級，GSI 平均為  $0.0236 \pm 0.0024$ 。

四種雄性素比較其促進性轉變效果，以埋植每尾魚 10 mg/kg BW 之劑量，75 天處理時間論，性轉變效果以混合雄性素 (Mixing androgen) > 甲基舉固酮 ( $17\alpha\text{-MT}$ ) > 丙酸舉固酮 (testosterone propionate, T.P.) > 舉固酮 (testosterone, T.)。藥劑吸收率則以 T. > T.P. >  $17\alpha\text{-MT}$  > M.A. (Mixing androgen)。GSI 則為 M.A. >  $17\alpha\text{-MT}$  > T.P. > T.。所以，以混合雄性素及甲基舉固酮促進性轉變效果佳。

1987 年 4 月至 7 月鮭形石斑之促進性轉變試驗，是在得出以混合雄性素 (M.A.) 及甲基舉固酮

表 1 1985 年 12 月至 1986 年 4 月青點石斑之變性埋植試驗  
 Table 1 Summary of trials on sex reversal of *Epinephelus fario* after implantation of  
 pelleted androgen in December 1985 to April 1986.

| No. | Species | Body Weight (kg) | Body Length (cm) | Age | Androgen       | Implanted Dose (mg/Kg BW) | Treatment Day | Absorbent Dose (%) | Absorbent Dose (mg/Kg BW) | GSI%   | Gonadal Development |
|-----|---------|------------------|------------------|-----|----------------|---------------------------|---------------|--------------------|---------------------------|--------|---------------------|
| 1   | E. f.   | 2.88             | 59.4             | 3   | 17 $\beta$ -MT | 53.40                     | 48            | 17.6               | 9.375                     | 0.0984 | VI                  |
| 2   | E. f.   | 2.05             | 56.0             | 3   | 17 $\beta$ -MT | 57.32                     | 48            | 35.0               | 13.073                    | 0.1921 | VI                  |
| 3   | E. f.   | 3.16             | 58.5             | 3   | 17 $\beta$ -MT | 96.96                     | 48            | 40.8               | 39.525                    | 0.2046 | II                  |
| 4   | E. f.   | 2.61             | 54.0             | 3   | 17 $\beta$ -MT | 117.97                    | 102           | 25.5               | 30.038                    | 0.0347 | X                   |
| 5   | E. f.   | 2.84             | 58.0             | 3   | 17 $\beta$ -MT | 26.91                     | 103           | 78.5               | 21.129                    | 0.0308 | X                   |
| 6   | E. f.   | 2.51             | 58.3             | 3   | 17 $\beta$ -MT | 60.20                     | 103           | 58.5               | 35.219                    | 0.0500 | X                   |
| 7   | E. f.   | 3.22             | 58.5             | 3   | 17 $\beta$ -MT | 31.06                     | 106           | 40.2               | 12.484                    | 0.0194 | IX                  |
| 8   | E. f.   | 2.50             | 57.2             | 3   | 17 $\beta$ -MT | 30.08                     | 127           | 19.1               | 5.760                     | 0.0207 | X                   |
| 9   | E. f.   | 3.20             | 58.9             | 3   | Sham           | 0                         | 127           | 0                  | 0                         | 0.6010 | III                 |
| 10  | E. f.   | 3.60             | 57.8             | 3   | Sham           | 0                         | 127           | 0                  | 0                         | 1.802  | IV                  |

E. f. : *Epinephelus fario* ; 17 $\beta$ -MT : 17 $\beta$ -Methyltestosterone

表 2 1986 年以不同雌性素對鮭形石斑之埋植試驗  
 Table 2 Summary of androgen implantation for induced sex reversal trials of *Epinephelus salmonides* in 1986.

| No. | Species | Body Weight (kg) | Body Length (cm) | Age | Androgen       | Implanted Dose (mg/Kg BW) | Treatment Day | Absorbent Dose (%) | Absorbent Dose (mg/Kg BW) | GS1%   | Gonadal Development |
|-----|---------|------------------|------------------|-----|----------------|---------------------------|---------------|--------------------|---------------------------|--------|---------------------|
| 1   | E. s.   | 3.36             | 62.0             | 3   | 17 $\beta$ -MT | 7.23                      | 21            | 40.4               | 2.920                     | 0.0716 | VIII                |
| 2   | E. s.   | 1.27             | 45.8             | 2   | 17 $\beta$ -MT | 46.54                     | 35            | 45.9               | 21.339                    | 0.0388 | VIII                |
| 3   | E. s.   | 1.02             | 42.0             | 2   | 17 $\beta$ -MT | 40.00                     | 39            | 33.3               | 13.333                    | 0.0119 | VII                 |
| 4   | E. s.   | 1.47             | 44.7             | 2   | 17 $\beta$ -MT | 37.82                     | 60            | 42.6               | 16.122                    | 0.0161 | X                   |
| 5   | E. s.   | 1.02             | 42.0             | 2   | 17 $\beta$ -MT | 40.00                     | 62            | 32.1               | 12.843                    | 0.0156 | X                   |
| 6   | E. s.   | 1.90             | 50.4             | 2   | 17 $\beta$ -MT | 10.63                     | 75            | 70.1               | 7.453                     | 0.0221 | X                   |
| 7   | E. s.   | 1.20             | 45.0             | 2   | T.             | 33.83                     | 38            | 40.9               | 13.833                    | 0.0185 | VII                 |
| 8   | E. s.   | 1.12             | 41.5             | 2   | T.             | 36.34                     | 49            | 18.9               | 6.875                     | 0.0180 | VII                 |
| 9   | E. s.   | 1.90             | 49.8             | 2   | T.             | 11.05                     | 75            | 100.0              | 11.050                    | 0.0146 | VII                 |
| 10  | E. s.   | 1.20             | 44.0             | 2   | T. P.          | 23.92                     | 39            | 59.2               | 14.167                    | 0.0103 | VIII                |
| 11  | E. s.   | 1.88             | 51.8             | 2   | T. P.          | 10.27                     | 75            | 100.0              | 10.270                    | 0.0151 | VII                 |
| 12  | E. s.   | 2.00             | 51.2             | 2   | A.             | 10.55                     | 74            | 59.7               | 6.300                     | 0.0219 | X                   |
| 13  | E. s.   | 1.88             | 49.2             | 2   | A.             | 10.64                     | 76            | 54.0               | 5.745                     | 0.0290 | X                   |
| 14  | E. s.   | 1.12             | 41.8             | 2   | Sham           | 0                         | 83            | 0                  | 0                         | 0.0208 | I                   |
| 15  | E. s.   | 1.70             | 48.2             | 2   | Sham           | 0                         | 75            | 0                  | 0                         | 0.0216 | I                   |
| 16  | E. s.   | 1.60             | 47.8             | 2   | Sham           | 0                         | 73            | 0                  | 0                         | 0.0285 | I                   |

E. s. : *Epinephelus salmonides* ; 17 $\beta$ -MT : 17 $\beta$ -Methyltestosterone ; T. : Testosterone  
 T. P. : Testosterone Propionate ; A. : Androgen Mixing

( $17\alpha$ -MT)，每 10 mg/kg BW，處理 75 天以上較有效後，針對此 2 種雄性素進行確切劑量、處理時間，及添加其他荷爾蒙加強效果之探討，經試驗後結果如表 3 所示。以  $17\alpha$ -MT 處理，3 種劑量中，以每 20 mg/kg BW 效果最佳，10 mg/kg BW 亦有效，5 mg/kg BW 雖幾乎完全將藥粒吸收完，但性腺發育只達第Ⅶ而已，GSI 值也以 20 mg/kg BW 組最高。

使用混合雄性素 (Mixing Androgen) 處理，3 種劑量皆有效，但性轉變之效果以處理時間越久者越佳，劑量吸收程度以埋植 5.4 mg/kg BW 最佳，68 天後完全吸收，且其性轉變已完成，但未產生精子，GSI 為 0.0367。另 10 mg/kg BW 與 4.9 mg/kg BW 為埋植量之魚在 69 天後，皆可採到精子，劑量吸收率分別為 64.2 及 90.8%，GSI 分別為 0.0278 及 0.0177。

雄性素添加 HCG 之藥粒 (pellet) 之處理，埋植劑量仍比照雄性素未加 HCG 者，為 5 mg/kg BW，10 mg/kg BW，20 mg/kg BW，表 3 上所列者則為雄性素之劑量加上 HCG 之劑量總和，HCG 之藥粒 (pellet) 之製法參考另篇報告所述<sup>(23)</sup>，其劑量為每 100 mg 之藥粒中含 5000 IU。在 MT + HCG 及 A. + HCG 處理，3 種埋植劑皆可使石斑魚在 68 天後變成雄魚，成功率為 100%。劑量吸收程度 MT + HCG 以埋植量 9.5 mg/kg BW 之 72.6%，A. + HCG 以埋植劑量 21.9 mg/kg BW 之吸收 76.5% 為佳，但 GSI 值兩雄性素皆以埋植劑量高者之值為高，MT + HCG 為 0.0328，A. + HCG 為 0.0363。而對照組 3 個月後性腺仍停留 I 至 II 間之發育級。所以，雖  $17\alpha$ -MT 以每尾魚埋植 10 mg/kg BW，或混合雄性素 (M. A.) 植入量 5 mg/kg BW，2 個月以上處理，皆可得到雄魚，但以添加 HCG 則更具效果，成功率亦更佳，而雄性素添加 HCG 後性轉變之效果則以 A. + HCG 優於 MT + HCG。

### 三性轉變後之精子：

經植入雄性素後變性之雄魚所採到之精子，大小為 2 至 3  $\mu$ m，以過濾之純海水活化後，前十分鐘活力甚佳，移動迅速，十分鐘後，活力減慢，約在活化後 90 分鐘後停止活動，計算精子數目，約每 cc 精液中有  $8 \times 10^7$  個精子。

## 討 論

魚類性轉變之機制為雌雄同體之魚類在自然狀態下，內分泌系統中腦下腺分泌性腺刺激素 (Gonadotropin) 分不同路線作用，一為刺激 Oogonia 成熟至排卵，也就是在雌性狀態下發生。另一為性腺刺激素刺激生殖腺中之萊氏細胞 (Leyding cells)，分泌出雄性素 (androgen)，以刺激生殖腺進行精子形成作用 (spermatogenesis)。而調節魚類的生殖作用除環境因素 (Cue) 扮演重要角色外<sup>(24)(25)(27)</sup>，荷爾蒙刺激也是一個方法 (Lam, 1982)<sup>(28)</sup>，人工促進石斑魚性轉變就是利用在其自然性腺發育過程中，給予雄性素來促其加速轉化成雄魚。然無論以口服、注射或埋植等方法處理，最主要的就是能讓魚體能吸收雄性素並利用，才能達到促進性轉變之目的。以往促進石斑魚性轉變，皆採口服方式 (Chen, 1977, 葉, 1986, 1987)，而其效果也得到證明，但口服法仍有許多缺點，如需長期性處理或投餵，所用藥劑被吸收程度不一，無法確切了解每尾魚之雄性素吸收量，而且餌料因流失或被其他生物所食，所浪費劑量太多。現以埋植 (implantation) 方法則能克服上述缺點。埋植法為個別處理魚，操作時間短且只要操作 1 次即可，可避免因重覆操作的壓迫 (Stress) 使荷爾蒙效力受影響。並由其對藥粒之吸收量或吸收率，可定出標準所需劑量，以口服法言，平均每尾鱸滑石斑要 145 mg (Chen 1977)，青點石斑要 158 mg (葉, 1986)，鮭形石斑要 104 mg (葉, 1987)，而以埋植方法，青點石斑只要埋植 26.91 mg/kg BW 即可，鮭形石斑以  $17\alpha$ -MT 植入 10 mg/kg BW，混合雄性素 5 mg/kg BW， $17\alpha$ -MT + HCG 植入 9.5 mg/kg BW，A. + HCG 埋植 9.5 mg/kg BW 就可得到有精子之雄魚，而且埋植入魚體之藥粒 (pellet) 並未被完全吸收完，所以所用量比口服法低很多。而以較低劑量之  $17\alpha$ -MT 植入 (5 mg/kg BW) 則大部分完全被吸收，但未產生精子故所需之劑量應界於 5 mg/kg BW 與 10 mg/kg BW 之間。

性轉變處理時間長短關係著變性成功與否，原則上在做人工變性時需有適足的處理時間才能誘導

表3 1987年鮭形石斑之變性埋植試驗  
 Table 3 Summary of induced sex reversal trials of *Epinephelus salmonides* after implantation  
 of pelleted androgen in 1987.

| No. | Species | Body Weight (kg) | Body Length (cm) | Age | Androgen | Implanted Dose (mg/Kg BW) | Treatment Day | Absorbent Dose (mg/Kg BW) | GSIX   | Gonadal Development |
|-----|---------|------------------|------------------|-----|----------|---------------------------|---------------|---------------------------|--------|---------------------|
| 1   | E. s.   | 1.90             | 51.4             | 2+  | 17E-MT   | 10.0                      | 62            | 19.5                      | 0.0263 | IX                  |
| 2   | E. s.   | 2.06             | 50.8             | 2+  | 17E-MT   | 10.0                      | 64            | 75.7                      | 0.0180 | X                   |
| 3   | E. s.   | 2.33             | 53.8             | 2+  | 17E-MT   | 20.0                      | 65            | 98.7                      | 0.0358 | X                   |
| 4   | E. s.   | 2.24             | 52.3             | 2+  | 17E-MT   | 20.0                      | 65            | 58.7                      | 0.0297 | X                   |
| 5   | E. s.   | 2.60             | 53.6             | 2+  | 17E-MT   | 5.0                       | 73            | 4.731                     | 0.0312 | VIII                |
| 6   | E. s.   | 1.90             | 49.6             | 2+  | 17E-MT   | 5.0                       | 75            | 5.000                     | 0.0088 | VIII                |
| 7   | E. s.   | 2.30             | 52.3             | 2+  | A.       | 20.0                      | 62            | 67.4                      | 0.0242 | IX                  |
| 8   | E. s.   | 2.10             | 50.7             | 2+  | A.       | 20.0                      | 62            | 6.047                     | 0.0208 | IX                  |
| 9   | E. s.   | 2.40             | 53.0             | 2+  | A.       | 5.4                       | 68            | 5.400                     | 0.0367 | IX                  |
| 10  | E. s.   | 2.68             | 55.2             | 2+  | A.       | 4.9                       | 69            | 4.403                     | 0.0177 | X                   |
| 11  | E. s.   | 2.32             | 51.9             | 2+  | A.       | 10.0                      | 70            | 6.422                     | 0.0278 | X                   |
| 12  | E. s.   | 1.85             | 50.3             | 2+  | MT+HCG   | 20.4                      | 68            | 14.216                    | 0.0286 | X                   |
| 13  | E. s.   | 2.10             | 51.8             | 2+  | MT+HCG   | 9.5                       | 73            | 6.919                     | 0.0132 | X                   |
| 14  | E. s.   | 2.38             | 53.8             | 2+  | MT+HCG   | 41.0                      | 77            | 14.328                    | 0.0328 | X                   |
| 15  | E. s.   | 2.40             | 52.7             | 2+  | A.+HCG   | 34.5                      | 68            | 33.1                      | 0.0363 | X                   |
| 16  | E. s.   | 2.24             | 52.9             | 2+  | A.+HCG   | 21.9                      | 69            | 16.741                    | 0.0359 | X                   |
| 17  | E. s.   | 2.32             | 53.7             | 2+  | A.+HCG   | 9.5                       | 83            | 6.022                     | 0.0250 | X                   |
| 18  | E. s.   | 2.18             | 51.9             | 2+  | Sham     | 0                         | 61            | 0                         | 0.0425 | I                   |
| 19  | E. s.   | 2.25             | 51.8             | 2+  | Sham     | 0                         | 90            | 0                         | 0.0409 | II                  |
| 20  | E. s.   | 2.24             | 52.6             | 2+  | Sham     | 0                         | 90            | 0                         | 0.0406 | II                  |

E. s. : *Epinephelus salmonides* ; 17E-MT : 17E-Methyltestosterone ; A. : Androgen Mixing  
 MT+HCG : 17E-Methyltestosterone + HCG ; A.+HCG : Androgen Mixing + HCG

出具有功能的性轉變魚，如以雌性荷爾蒙處理莫三鼻克吳郭魚 (*Tilapia mossambica*) 需 6 周<sup>(29)</sup>，尼羅吳郭魚 (*Oreochromis niloticus*) 需 3 周以上<sup>(30)</sup>，均能達到性轉目的，在促進石斑魚性轉變方面，鱸滑石斑需 2 個月 (Chen 1977)，青點石斑投餵 4 個月 (葉, 1986)，鮭形石斑亦處理 2 個月 (葉, 1987) 皆可達目的，現以埋植方法，同樣在處理 2 個月後可得到性轉變之雄魚。而在 1 個月及 1 個半月却只能得到中間性轉變階段之魚。因此，欲石斑魚性轉變之處理時間仍以 2 個月為佳，讓魚體有足夠時間來性轉變，並於變性成功時能配合其繁殖季節最適。

成熟度指數 (GSI) 可做為生殖腺發育及性轉變之效果參考，石斑魚雄性種魚因精巢較小，性腺指數低，精液量亦少，如老鼠斑為 0.29<sup>(4)</sup>，紅斑在 0.16 - 0.4 間<sup>(5)</sup>，鑲點石斑亦在 0.11 - 0.30 之間<sup>(1)</sup>。天然捕獲之鮭形石斑在 0.0614 - 0.511 間<sup>(6)</sup>，經人工促進性轉變之青點石斑 GSI 值在 0.05 以下<sup>(9)</sup>，鮭形石斑為 0.025<sup>(10)</sup>，現以埋植法性轉變之青點石斑 GSI 為 0.0341，鮭形石斑為 0.025 與口服法性轉變之 GSI 相似，同樣有精液稀少現象。然本試驗，在添加 HCG 之處理，其 GSI 值都較平均值高，顯示添加 HCG 有助於性轉變之作用，故如何添加其他荷爾蒙，以增加精子及精液產生量，為今後研究工作重點。

使用荷爾蒙改變內分泌系統來調節魚類的生殖作用為一種重要方法<sup>(28)</sup>，然而荷爾蒙種類之選擇及如何使用，往往是決定性的關鍵，如 17  $\alpha$ -MT 被證明對魚類有刺激腦下腺產生性腺激素 (GTH) 之作用 (Crim and Evans, 1979, 1982)<sup>(61)(62)</sup>，最近常被使用於控制魚類生殖作用。又如最初使用埋植方法試驗於虱目魚誘導成熟之效果未顯 (Lacanilao et al 1984)<sup>(63)</sup>，所使用過荷爾蒙有 SPH (salmon pituitary homogenate)，SG-G 100 (Salmon gonadotropin)，HCG (human chorionic gonadotropin)，而後來改用 LH-RHa 及 LH-RHa + 17  $\alpha$ -MT 則效果非常佳 (Lee, 1986)<sup>(16)</sup>，單獨使用 liquid 或 Crystalline 之 17  $\alpha$ -MT 刺激虱目魚成熟無效。本實驗所使用荷爾蒙種類不同，效果亦同樣有很大差異，由魚體所吸收之劑量及性腺發育程度可以歸納出雄性成分效力之優劣，為 A.+HCG > 17  $\alpha$ -MT + HCG > M.A. > 17  $\alpha$ -MT > T.P. > T 由此可知 17  $\alpha$ -MT，T.P.，T. 3 種雄性素以 17  $\alpha$ -MT 藥效最佳，Lofts et al (1966)<sup>(64)</sup>，Borg 1981)<sup>(65)</sup>，Weber and Lee (1985)<sup>(66)</sup> 亦指出 17  $\alpha$ -MT 對烏魚，stickleback, fundulus 誘導精子形成及排精為一有效雄性素。丙酸畢固酮 (T.P.) 及畢丸酮 (T.) 在本實驗中仍具有促進性轉變之功用，但未達到生成精子之階段，這與成分之特性有很大關係，以丙酸畢固酮 (T.P.) 言，其作用緩慢，藥效較久，所以，可能也許是劑量使用不恰當或處理時間不夠久，才只能達中間性轉階段。

荷爾蒙誘導成熟過程需較長期的刺激，乃有利用多次注射來達到目的<sup>(67)(28)</sup>，但重覆操作之壓迫 (Stress) 會使荷爾蒙效力受影響，且以藥粒 (Pellet) 植入比注射能有較長期效果 (Crim 1984)<sup>(18)</sup>，所以使緩慢釋出荷爾蒙做為慢性處理減少操作次數為另一模式<sup>(18)</sup>，如 LH-RHa Cholesterol Pellets 植入 land locked salmon, 虹鱒 (Crim et al 1983)<sup>(13)</sup>，Atlantic salmon (Crim and Glebe 1984)<sup>(18)</sup>，Sea bass, rabbitfish (Harvey et al 1985)<sup>(22)</sup>，以加速這些魚之生理循環。而以埋植方式處理魚，所製做 pellet 之形式與操作方法對預期效果之好壞影響很大，本試驗雌性素皆製成藥粒 (Pellet)，埋植試驗結果佳，皆達預期目標，另曾對 4 尾鮭形石斑以 Silastic tube 內裝 Testosterone 對魚做腹腔內埋植，但於實施後 8 天全數死亡，效果未能看出，但據 Lee (1986) 以 silastic tube 內裝 LH-RHa + 17  $\alpha$ -MT 對促進虱目魚成熟有效。並且，又有以 Silastic Capsule 含 Testosterone 埋入幼鱒腹腔內可刺激腦下腺產生 GTH (Crim and Evans, 1982)<sup>(25)</sup>，皆說明此方式亦可用，所以對石斑魚性轉變之確實效果，則有待進一步探討。

綜之，本實驗已證明埋植法對於促進石斑魚性轉變之功用及效果，以及以定量雄性素植入魚體，就可得到有精子之雄魚，但每尾魚對藥劑之吸收量不同，吸收率佳者，性轉變效果未必就佳，受雌性素種類、最低需要劑量及處理時間長短左右，且植入時操作所造成傷口能否癒合，都會影響到性轉變



效果，再就吸收量之計算因魚體內吸收所剩之藥粒 (Pellet)，亦會因吸收程度不同而與肌肉混合在一起，而很難單獨挑出未被吸收之藥粒，致使在計算吸收量時，使吸收率下降等問題，都是今後研究的工作。

## 摘 要

石斑魚為台灣之鹹水養殖漁業甚具發展潛力之高級經濟魚類，如何得到成熟雄魚為今後石斑魚人工繁殖成功及大量推廣養殖之重要關鍵，本試驗首度以埋植方法使用 6 種不同成分雄性素嘗試建立促進石斑魚性轉變之新技術，青點石斑及鮭形石斑經實驗後其結果如下：

- 一 3 齡青點石斑以  $17\alpha$ -MT 處理，植入量 26.9 mg/kg BW 至 117.97 mg/kg BW，48 天後性腺達中間變性期，102 天時，則完全變為雄魚，成功率 100%，其 GSI 值為  $0.0311 \pm 0.0055$ 。
- 二 2 齡之鮭形石斑以  $17\alpha$ -MT 處理，植入劑量 10 mg/kg BW 至 46 mg/kg BW 60 天後皆可得雌魚，其 GSI 為  $0.0179 \pm 0.0021$ 。

以 Testosterone 或 Testosterone Propionate 處理，75 天後性轉變效果皆只達 VI 及 VII 級，GSI 分別為 0.0170 及 0.0127。

以混合雄性素處理，植入量 10.55 mg/kg BW，時間 74 天以上則可得雌魚，其 GSI 為 0.0254。

三 4 種雄性素以每尾鮭形石斑埋植 10 mg/kg BW，75 天處理時間，其促進性轉變效果比較為混合雄性素 > 甲基睪固酮 > 丙酸睪固酮 > 睪丸固酮，GSI 值亦同。

四 埋植劑量對性轉變效果之比較， $17\alpha$ -MT 植入量 20 mg/kg BW > 10 mg/kg BW > 5 mg/kg BW，GSI 值亦同。以混合雄性素處理，3 種劑量皆有效，但效果以處理時間越久者越佳，在此 3 種劑量試驗下，植入量之影響不顯著。

五 雌性素添加 HCG 在處理 68 天後，5 mg/kg BW 至 20 mg/kg BW 植入劑量皆能促進完全性變，成功率達 100%，其中又以混合雄性素添加 HCG 之效果更加好。

六 性轉變後之精子，大小約 2 至 3  $\mu$ m，以海水活化，前十分鐘活力甚佳，之後活力衰退，約在活化後 90 分鐘後停止活動，精子數目約每 cc，8 千萬個。

## 謝 辭

本試驗工作，得以完成，非常感謝王村藤先生之鼎力協助，及分所同仁慨借器材，提供意見，謹此致以最深的謝忱。

## 參考文獻

1. 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.
2. 曾文陽 (1984). 石斑魚養殖學。香港，48 - 53.
3. 梁志達 (1976). 鑲點石斑養殖之初步試驗。中國水產，279，2 - 24.
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. 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 - I，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.
7. 林金榮、顏枝麟、黃丁士、劉繼源、陳其林 (1986). 鮭形石斑魚之人工繁殖 - II，仔魚培育試驗

- 及形態變化，台灣省水產試驗所試驗報告，40，219 - 240.
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 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. 葉信利、丁雲源、郭欽明 ( 1987 ). 促進石斑魚性轉變及產卵之研究，台灣省水產試驗所試驗報告，43，143 - 152.
  11. Billard, R. Bry, C and Billet, C. ( 1981 ). Stress, environment and reproduction in teleost fish, In: A.P. Pickering ( Editor ). Stress and Fish, Academic Press, New York 185 - 208.
  12. Lam, T.J., ( 1984 ). Artificial propagation of milkfish, Present Status and Problems, In: J. V. Juario, R. P. Ferraris and L. V. Benitez ( Editors ). Advances in Milkfish Biology and Culture, Island Publishing House, Inc., Metro Manila, Philippines 21 - 39.
  13. Crim, L. W, Sutterlin, A. M., Evans, D. M. and Weil, C., ( 1983 ). Accelerated ovulation by pelleted LHRH analogues treatment by spring spawning rainbow trout ( *Salmo gairdneri* ) held at low temperature, *Aquaculture*, 35, 299 - 307.
  14. Lee, C - S, Tamaru, C. S. and Crim, L. W., ( 1985 ). Preparation of a luteinizing hormone-releasing hormone cholesterol pellet and its implantation in the milkfish ( *Chanos chanos* Forsskal ), In: C. S. Lee and I. C. Liao ( Editors ), Reproduction and Culture of Milkfish, Oceanic Institute, Hawaii and Tungkang Marine Laboratory, Taiwan 215 - 216.
  15. Lee, C - S, Tamaru, C. S., Banno, J. E., Kelley, C. D., Bocek, A. and Wyban, J. A. ( 1986 ). Induced maturation and spawning of milkfish, *Chanos chanos* Forsskal by hormone implantation, *Aquaculture*, 52, 199 - 205.
  16. Lee C - S., Tamaru, C. S., Banno, J. E. and Kelley, C. D. ( 1986 ). Influence of chronic administration of LH - RH - analogue and/or 17  $\alpha$  - methyltestosterone on maturation in milkfish, *Chanos chanos*, *Aquaculture*, 59, 147 - 159.
  17. Lee, C - S, Tamaru, C. S. Kelley C. D. and Banno, J. E. ( 1986 ). Induced spawning of milkfish, *Chanos chanos* by a single application of LH - RH - analogue, *Aquaculture*, 58, 87 - 98.
  18. Crim, L. W. and Glebe, B. D., ( 1985 ). Advancement and synchrony of ovulation in Atlantic salmon with pelleted LH - RH - analog, *Aquaculture*, 43, 47 - 56.
  19. Lee, C - S, Tamaru, C. S. and Kelley, C. D. ( 1986 ). Technique for making chronic-release LHRHa and 17  $\alpha$  - methyltestosterone pellets for intramuscular implantation in fishes, *Aquaculture*, 59, 161 - 168.
  20. Crim, L. W. ( 1985 ). Methods for acute and chronic hormone administration in fish, In: C - S, Lee and I. C. Liao ( Editors ), Reproduction and Culture of Milkfish Oceanic Institute, Hawaii and Tungkang Marine Laboratory, Taiwan, 1 - 13.
  21. Crim, L. W., Glebe, B. D. and Scott, A. P., ( 1986 ). The influence of LHRH analog on Oocyte development and spawning in female Atlantic salmon, *salmosalar*, *Aquacul-*

- ture , 56 , 139 - 149.
22. Harvey B., Nacario J., Crim L., Juario J., and Marte C. L., ( 1985 ). Induced spawning of sea bass *Lates cakarifer* and rabbitfish *Siganus guttatus* after implantation of pelleted LHRH analogue, *Aquaculture* , 47 , 1 - 53.
  23. 葉信利、丁雲源、郭欽明 ( 1987 ). 埋植促進石斑魚性轉變之藥粒製作及操作技術。台灣省水產試驗所台南分所，撰寫發表中。
  24. 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.
  25. Crim , L. W. and Evans, D. M., ( 1982 ). Positive testosterone feedback on gonadotropin hormone in the rainbow trout, In, C.J.J. Richter and H. J. Th. Goos (Editors ) , *Proc. Int. Symp. Reprod. Physiol. Fish*, Pudoc, Wageningen, 23.
  26. Lam, T. J. ( 1983 ). Environmental influences on gonadal activity in fish, In, W. S. Hoar, D. J. Randall and E. M. Donaldson ( Editors ), *Fish physiology*, Vol, X , Part B , Academic Press, New York, Ny , 65 - 116.
  27. Stacey, N. E. ( 1984 ). Control of the timing of ovulation by exogenous factors, In , G. W. Potts and R. J. Wooten ( Editors ), *Fish Reproduction, Strategy and Tactics* , Academic Press , London 207 - 222.
  28. Lam, T. J. ( 1982 ). Applications of endocrinology to fish culture, *Can, J. Fish , Aquat. Sci.*, 39 , 111 - 137..
  29. Guerrero R. O. III ( 1976 ). *Tilapia mossambica* and *T. zillii* treated with ethynyl-testosterone for sex reversal, *Kalikasan Philippine J. Biol*, 5 : 187 - 192.
  30. 林美蓁、劉繼源 ( 1980 ). 乙基舉丸固酮對尼羅吳郭魚的變雄性實驗，國立台灣海洋學院水產養殖系 65 級畢業論文彙集，171 - 182.
  31. Crim, L. W. and Evans D. M. ( 1979 ). Stimulation of pituitary gonadotropin by testosterone in juvenile rainbow trout ( *Salmo gairdneri* ), *Gen, Comp Endocrinol* , 37 , 192 - 196.
  32. Crim , L. W. and Evans, D. M. ( 1983 ). Influence of testosterone and/or luteinizing hormone-releasing hormone analogue on precocious sexual development in the juvenile rainbow trout *Biol. Reprod*, 29 , 137 - 142.
  33. Lacanilao, F., Marte, C. L. and Lam, T. J. ( 1984 ). Problems associated with hormonal induction of gonad development in milkfish ( *Chanos chanos* Forsskal ). *Proc*, 9 th, *Int Comp, Endocrinol. Symp.*, Hong kong, December ( 1980 ), 135 - 143.
  34. Lofts, B, Pickford, G. E. and Atz, J. W., ( 1966 ). Effects of methyl testosterone on the testes of a hypophy-sectionized cyprinodont fish, *Fundulus heteroclitus*, *Gen, Comp Endocrinol.*, 221 , 74 - 88.
  35. Borg, B., ( 1981 ). Effects of methyltestosterone on spermatogenesis and secondary sexual characteristics in three-spined stickleback ( *Gasterosteus aculeatus* L. ) *Gen. Comp Endocrino* , 44 , 177 - 180.
  36. Weber, G. M. and Lee, C-S , ( 1985 ). Effects of 17  $\alpha$ -methyl testosterone on spermatogenesis and spermiation in the grey mullet, *Mugil cephalus* L. *J. Fish Biol.*

26 , 77 - 84.

37. Yamamoto, K., Morioka, T., Hiroi, O. and Omori, M., ( 1974 ). Artificial maturation of female Japanese eels by the injection of salmon pituitary, *Bull. Jpn. Soc. Sci. Fish*, 40 , 1 - 7.