

人工促進石斑魚性轉變研究

葉信利·羅武雄·丁雲源

Studies on the sexual conversion of grouper with hormone treatment

Shinn-Lih Yeh, Wu-Shung Luo and Yun-Yuan Ting

The blue-spotted grouper (*Epinephelus fario* THUNBERG) is a popular maricultural fish and commercial important marine food fish in Southeast Asia. In this study hormone treatment were made to induce sex reversal of grouper, and the results were summarised as follow:

1. The oogenesis can be divided into 5 stages. The fifth stage is the last stage before spawning.
2. The maturation of the gonad can be divided into 11 class (I-XI). Class I to class V are maturation of ovary. Class VI to class VIII are sex reversal periods, both degenerative oocytes and testicular tissues were found in the same gonad. Class IX to class XI are maturation of testis, Their gonads were composed of cells in various stages of spermatogenesis.
3. The spawning season is July in female fishes. The sex-reversed males is appeared from June to July.
4. Females over one-year-old can be induced to sex reversal with oral application of 17α -methyltestosterone at the dosage of 1 mg/Kg over a 4-month duration.
5. Maturity factor of natural mature female whereas, is over 2, the sex reversal males is about 0.043.

前 言

石斑魚為食用魚中高級經濟魚類，頗受香港、東南亞等地消費者喜好。台灣每年均有大批石斑魚外銷，對台灣之鹹水養殖漁業言，甚具發展潛力。然此等魚類之魚苗主要來自天然海域所撈捕，產量不定、數量不足，致使價格節節上升，就養殖成本言是一項鉅大負擔，如何以人工繁殖方法供應魚苗為一迫切問題。

欲行人工繁殖，種魚來源是一大瓶頸，以石斑魚類言，其魚體性徵分化屬於雌雄同體雌性先熟型（protogynous hermaphroditism）⁽¹⁾⁽²⁾，成熟雄魚量少而且頗大不易處理⁽³⁾⁽⁴⁾，往往阻碍人工繁殖工作，故縮短雄魚成熟時間及大量獲得成熟種魚，為解決石斑魚人工繁殖之關鍵⁽⁵⁾，以往對石斑魚之研究，主要偏重於養殖⁽⁶⁾⁽⁷⁾⁽⁸⁾⁽⁹⁾⁽¹⁰⁾，及利用天然捕獲成熟種魚進行繁殖試驗⁽¹¹⁾⁽¹²⁾⁽¹³⁾，但Chen（1977）利用新加坡之石斑魚（*Epinephelus tauvina*）成功的使用荷爾蒙促使雌魚變性，成為具有生殖力之雄魚，順利完成人工繁殖，提高了從外界使用雄性荷爾蒙（Androgen）刺激使原雌性雌雄同體魚種提前轉變為雌性之可能性。

目前，一般養殖之石斑魚以鑲點石斑 (*Epinephelus amblycephalus* BLEEKER) 及青點石斑 (*Epinephelus fario* THUNBERG) 為大宗 (亦有學者認為應名為銼形石斑 (*Epinephelus samonoides* LACEPEDE) 及瑪拉巴石斑 (*Epinephelus malabaricus* BLOCH & SCHNEIDER))⁽³⁾⁽⁴⁾。此 2 種石斑魚成長快又易管理⁽⁵⁾，因此養殖業者對苗需量也大。又鑲點石斑經不斷研究，已有人工繁殖之報告⁽³⁾⁽⁴⁾，但對青點石斑之研究却一直很少。所以本實驗乃以青點石斑為材料，試進行人工促進變性實驗，詳細觀察生殖巢發育變化之過程，冀能找出荷爾蒙處理時機與處理時間，使石斑魚人工繁殖技術早日確定。

材料與方法

一、材料：

本分所培育之青點石斑 (*E. fario* THUNBERG) 52 尾，平均體長 46.57 cm，平均體重 1.69 kg，魚齡約為 1 至 2 齡間，分成 A、B、C 3 組。另購自養殖戶養殖之石斑魚 36 尾，平均體長 50.17 cm，平均體重 1.96 kg，魚齡接近 2 齡，分成 D、E 2 組。定期採樣後測量之平均體重、體長如表 1 所示。

表 1 定期採樣之平均體重、體長
Table 1 Determination of mean body weight and length of grouper at different month.

Group	Month	Jan	March	May	Jane	July
A	BW	1.690	2.148	2.248	1.810	
	BL	46.570	50.375	51.875	51.088	
B	BW	1.690	1.533	1.844		2.020
	BL	46.570	44.450	48.720		49.575
C	BW	1.690	2.085		2.065	2.850
	BL	46.570	52.325		52.388	52.550
D	BW	1.960	2.095	1.961	1.772	1.917
	BL	50.170	51.525	52.850	53.380	53.600
E	BW	1.960	2.145	2.133		2.390
	BL	50.170	54.075	54.600		54.050

BW: kg

BL: cm

二、方法：

1985 年元月底至 1985 年 6 月中旬，將分所培育之魚分成 A、B、C 三組，購自養殖戶之魚分

成D、E二組。A組17尾、C組18尾、D組18尾，則以Sigma牌之甲基辜固酮（ 17α -Methyltestosterone）投餵處理，投餵劑量A、D組約為每1mg/kg魚體重，C組為0.5mg/kg魚體重；B、E二組則為對照組不投餵荷爾蒙。投餵荷爾蒙前，先將荷爾蒙溶於95%酒精內，再以針筒注入下雜魚塊飼料內，經烤箱 60°C ，1小時烘烤後使用，對照組同樣處理，加等量酒精，但不加荷爾蒙，每日餵食1次，每星期投餵荷爾蒙3至5次，視石斑魚攝食情形加以控制，並於投餵後隔日收回殘餌加以計算殘餌及藥量，至6月每尾魚平均荷爾蒙累積劑量如表2所示。

表2 每尾魚平均荷爾蒙累積劑量

Table 2 Mean accumulative dosage of 17α -methyltestosterone (mg) treated for sexual conversion of every grouper.

Month Group	March	May	June
	A	42.080	91.281
C	19.862	43.934	69.648
D	45.950	96.658	159.417

生殖巢發育觀察則利用定期抽樣，以組織石蜡（paraffin）切片法，先將生殖腺摘取，以Bouin's solution固定，石蜡包埋後，切取 $10\sim 14\mu$ 的組織，再以Hematoxylin & Eosin加以染色，進行性腺細胞檢查，並計算生殖腺成熟度指數（Maturity factor）， $\text{MF} = (\text{GW} / \text{W}) \times 100$ ，GW：生殖腺重，W：體重；以分析季節，劑量對生殖腺發育之影響，以瞭解石斑魚變性之最適處理時宜。

結 果

一卵的發生期 (stages of oogenesis)

依據細胞的大小、原生質多寡、油球或卵黃泡的堆積，並參照曾（1984），就香港紅斑（*Epinephelus akaara*）卵的發生期而將青點石斑卵細胞發育分5個時期，分述如下：

第一卵母細胞 (Stage 1 oocyte)

卵徑在 30μ 以下呈橢圓形，細胞核（Nucleus）徑約 10μ ，正圓形，細胞質為弱嗜鹼性，核仁強嗜鹼性，照片1A。

第二卵母細胞期 (Stage 2 oocyte)

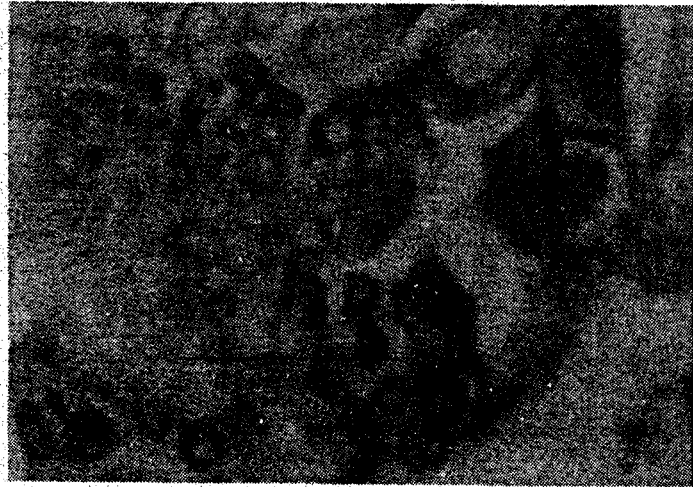
卵徑約 $30\sim 120\mu$ ，一般在 $60\mu\sim 70\mu$ 多，細胞核徑約 $20\sim 30\mu$ ，細胞核中有許多淺藍色細胞核仁排列一圈，細胞質經染色後較淺紅色，為嗜酸性，細胞外有一嗜鹼性膜，相片1B。

第三卵母細胞期 (Stage 3 oocyte)

卵徑約 $60\sim 200\mu$ ，有一大細胞核徑約 $90\sim 100\mu$ ，許多小核仁，卵黃泡（yolk vesicles）漸形成，細胞質呈弱嗜酸性，細胞核染色後色較淡，照片1C。

第四卵母細胞期 (Stage 4 oocyte)

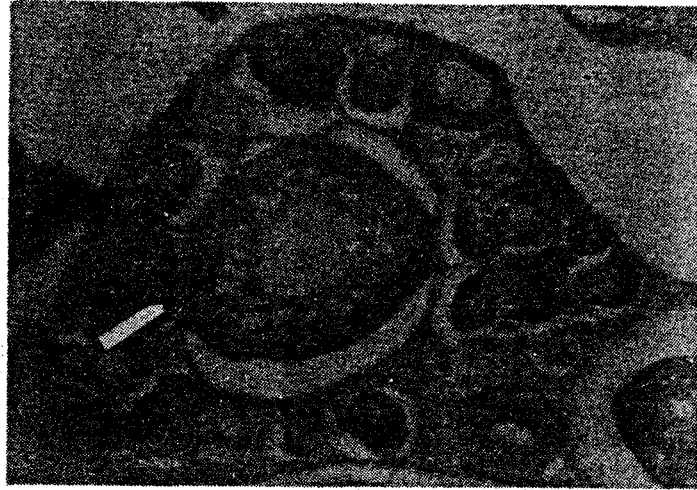
卵徑 $200\sim 500\mu$ ，多數在 $260\sim 300\mu$ 間，有很多小卵黃泡，呈強嗜酸性，照片1D和照片1E。



照片 1 A 第 1 期卵母細胞
Plate 1A Stage 1 of oogenesis 200X



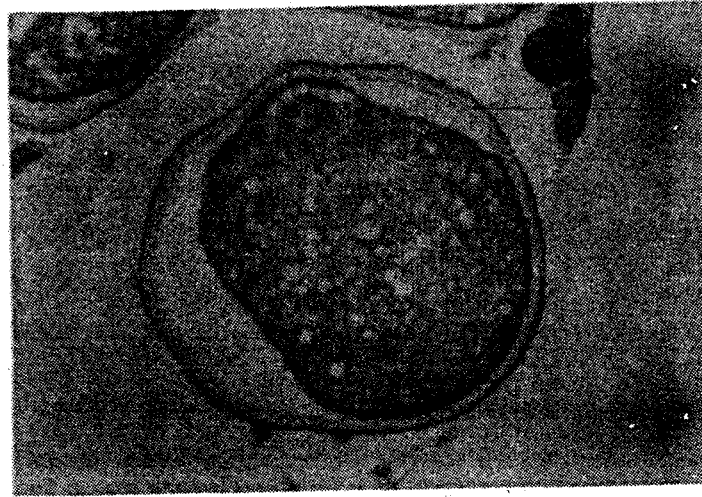
照片 1 B 第 2 期卵母細胞
Plate 1B Stage 2 of oogenesis 200X



照片 1 C 第 3 期卵母細胞
Plate 1C Stage 3 of oogenesis 200X



照片 1 D 第 4 期卵母細胞
Plate 1D Stage 4 of oogenesis 00X



照片 1 E 第 4 期卵母細胞
Plate 1E Stage 4 of oogenesis 100X

第五卵母細胞期 (Stage 5 oocyte)

卵徑 400~700 μ ，為產卵前之最後一期，細胞呈無色透明，有卵黃泡充斥整個細胞，為強嗜酸性，細胞外有一嗜鹼性膜，照片 1 F。



圖 1 F 初期第 5 卵母細胞
Plate 1F Primary Stage 5 of oogenesis
100 X

枯萎體 (Atretic body)

卵呈棕色塊 (Brownion mass)，存有幾粒卵黃泡。

生殖腺成熟級 (Class of gonadal maturation)

參照 Tan (1974) 就新加坡鱸滑石斑 (*Epinephelus tauvina*)，曾 (1984) 就香港紅斑 (*E. akaara*) 之雌雄成熟發育情形，及青點石斑卵細胞發育程度及精細胞夾雜程度，將生殖腺發育及人工促進變性級等分為 11 級。分述如下：

第一級 (Class I)

未成熟之卵巢，以第一、二期卵母細胞為多，沒有枯萎體，意即未成熟及未產過卵，照片 2 A

。

第二級 (Class II)

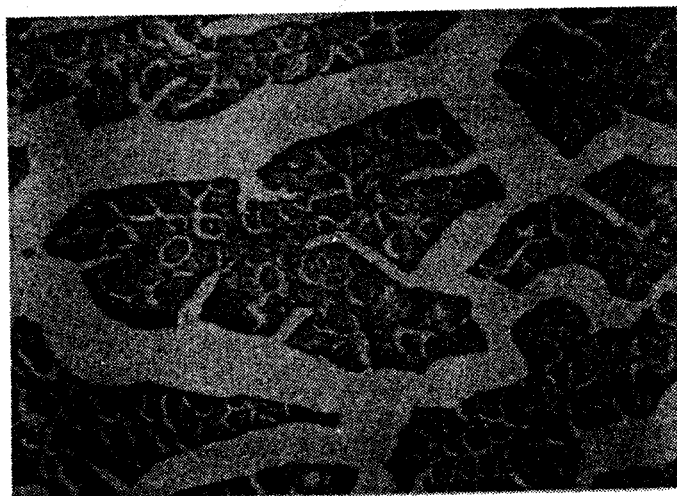
卵巢中有第一、二、三期之卵母細胞出現，但以第二期卵母細胞最多，為休止的成熟卵巢，照片 2 B。

第三級 (Class III)

此級以第三期卵母細胞為主，間存有第四卵母細胞之前期細胞及少數第二期卵母細胞，為活躍成熟卵巢的前期，照片 2 C。

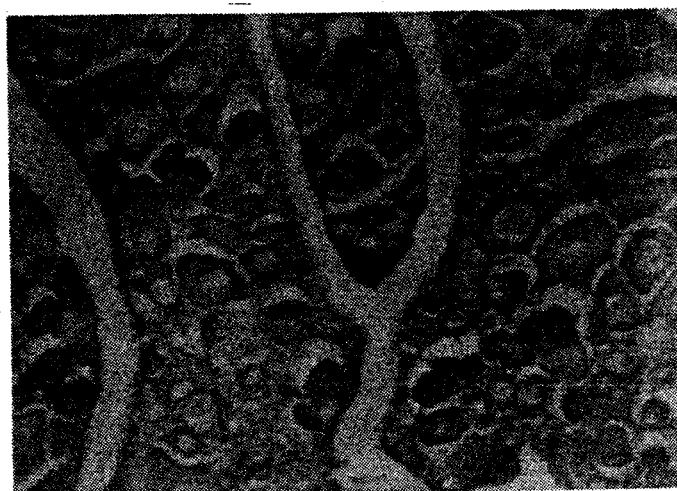
第四級 (Class IIII)

以第四、五期卵母細胞為主，由外形看，整個卵巢膨大，生殖腺成熟指數大過 2，為正活躍的成熟卵巢，照片 2 D。



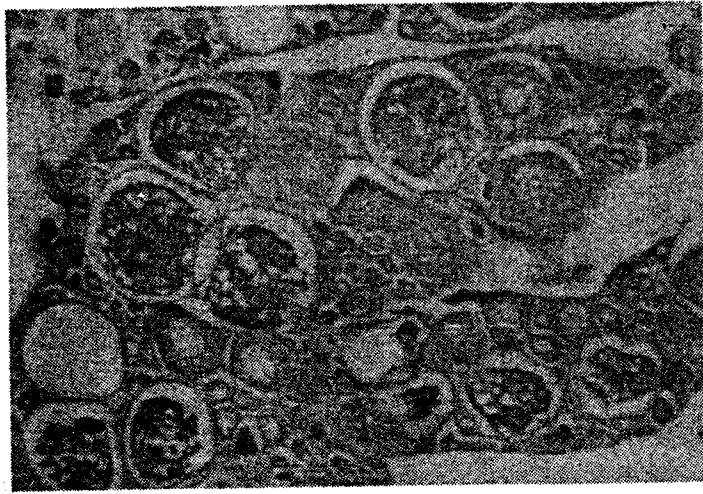
照片 2 A 生殖腺發育第一級

Plate 2A Class I of gonadal maturation 40 X

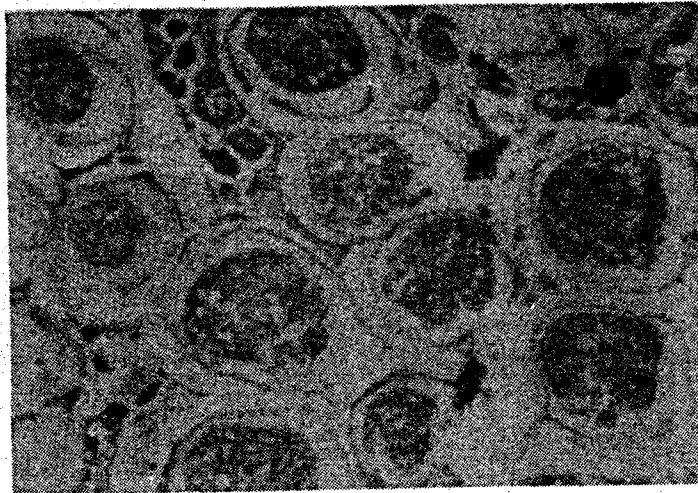


照片 2 B 生殖腺發育第二級

Plate 2B Class II of gonadal maturation 40 X



照片 2 C 生殖腺發育第三級
Plate 2C Class III of gonadal maturation 40X



照片 2 D 生殖腺發育第四級
Plate 2D Class III of gonadal maturation 40X

第五級 (Class V)

為產卵後的卵巢，卵巢大部分破裂 (Disrupt) 。

第六級 (Class VI)

即變性期 (Transitional stage) ，此級包括存在第一、二期卵母細胞及少數精小囊或精原細胞 (spermatogonia) 。卵母細胞萎縮成不規則形，核染不清楚，有如病變一般，照片 2 E 和照片 2 F 。



照片 2 E 生殖腺發育第六級

Plate 2E Class VI of gonadal maturation 100X



照片 2 F 生殖腺發育第六至第七級

Plate 2F Class VI-VII of gonadal maturation 100X

第七級 (Class VII)

包括萎縮之第一期卵母細胞及增殖之精原細胞，所佔面積由顯微鏡看約一半一半。與第六級之差別為精原細胞較多，且第二期卵母細胞甚少，照片 2 G。

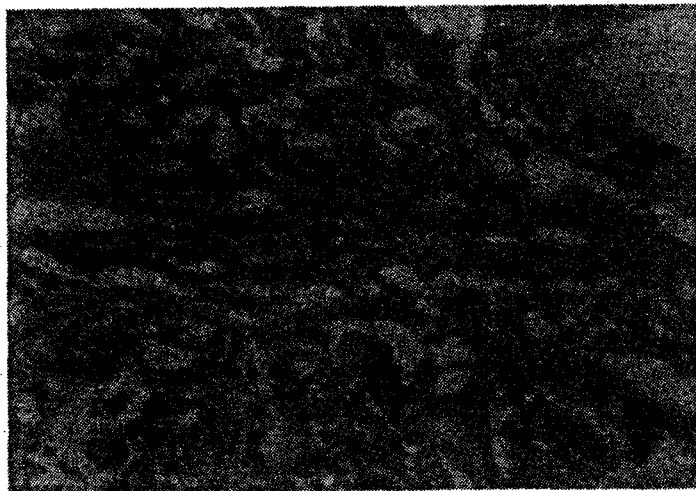
第八級 (Class VIII)

精原細胞及初期精母細胞成團狀充滿生殖巢，但乃可見到少數幾粒卵母細胞散在，生殖巢經染色觀察，幾乎已成藍色，照片 2 H。



照片 2 G 生殖腺發育第七級

Plate 2G Class VII of gonadal maturation 100X



照片 2 H 生殖腺發育第八級

Plate 2H Class VIII of gonadal maturation 100X

第九級 (Class IX)

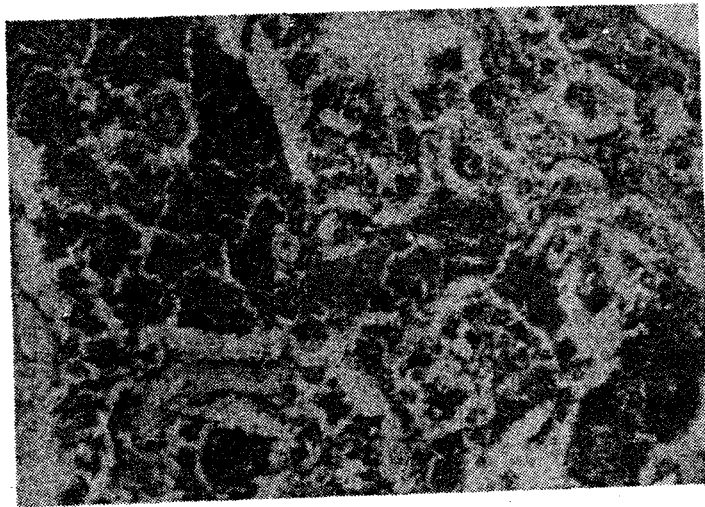
休止期的精巢，有精原細胞、初期及次級精母細胞 (Primary and secondary spermatocytes) 等出現，而且已不見任何卵母細胞存在，照片 2 I。

第十級 (Class X)

許多初級和次級精母細胞，精囊已有成熟精子 (Sperms)，為成熟活躍之精巢，照片 2 J。

第十一級 (Class XI)

排精後之精巢 (Post-spawning testis)。



照片 2 I 生殖腺發育第九級
Plate 2I Class IX of gonadal maturation 100X



照片 2 J 生殖腺發育第十級
Plate 2J Class X of gonadal maturation 100X

三 生殖腺發育級之季節變化

青點石斑之生殖腺發育級之月變化如表 3 所示，在未行變性投藥前（1 月），生殖腺成熟級數皆在 I、II 級，即未成熟之卵巢，之後成熟之卵巢（Class IV）始出現於 E 組在 7 月。經變性後（1 月），第 IX、X 級則出現在 6 至 7 月，性的轉變則在 3 月至 5 月間。經變性刺激之 A、C、D 3 組，精巢成熟級出現月份、A、D 並無多大差異，同在 6 至 7 月間；但 C 組雖 6、7 月間同樣有 IX 出現，然却一直沒發現 X 級存在。綜之，生殖腺成熟級最佳月份，雌魚在 7 月，經變性後雄魚在 6 至 7 月間。

表 3 發育級之月變化，每一羅馬數字代表 1 尾魚及發育成度

Table 3 The mature class changes in month of *E. fario* at different treatment.

Each Roman numeral represent a fish and gonadal maturity.

Month Group	Month				
	Jan	March	May	June	July
A		VI、VI	VII	IX、IX、IX X、X	
B	I、II	II、II	II、II III		II、II
C		VII、VIII		VII、VII IX、IX、IX	IX、IX
D		VI、VI、VI VI	VII、VII VII	VIII、X	IX
E	II	II、II	II		IV、IV、IV

四 生殖腺成熟度指數之季節變化

由圖 1 看出生殖腺成熟度指數之月變化，B、E 兩組都隨月份改變而增加，尤其 E 組 MF 都比其它組要高，且在 7 月份升高至 2 以上。A、C、D 三組中，A、C 兩組 MF 值都先稍升而後即降，D 組則隨月份改變下降，此情形與投藥量對 MF 之影響一致（圖 2），A、C 組隨累積劑量增加 MF 先稍升後降，D 組則隨劑量累積而降。所以 B、E 兩組 MF 隨季節升高，而於 7 月遞增；A、C、D 三組 MF 之遞降則表示投藥後，荷爾蒙之影響，因生殖巢變性而致 MF 下降。

五 生殖腺成熟級與生殖腺成熟度指數之關係

生殖腺成熟級與生殖腺成熟度指數之關係如圖 3 所示，在前四級中（卵巢發育過程），隨著級數增加，MF 值遞增，而在 VI 至 X 中（變性過程），則隨級數增加 MF 遞減，直到 X 級才回升。

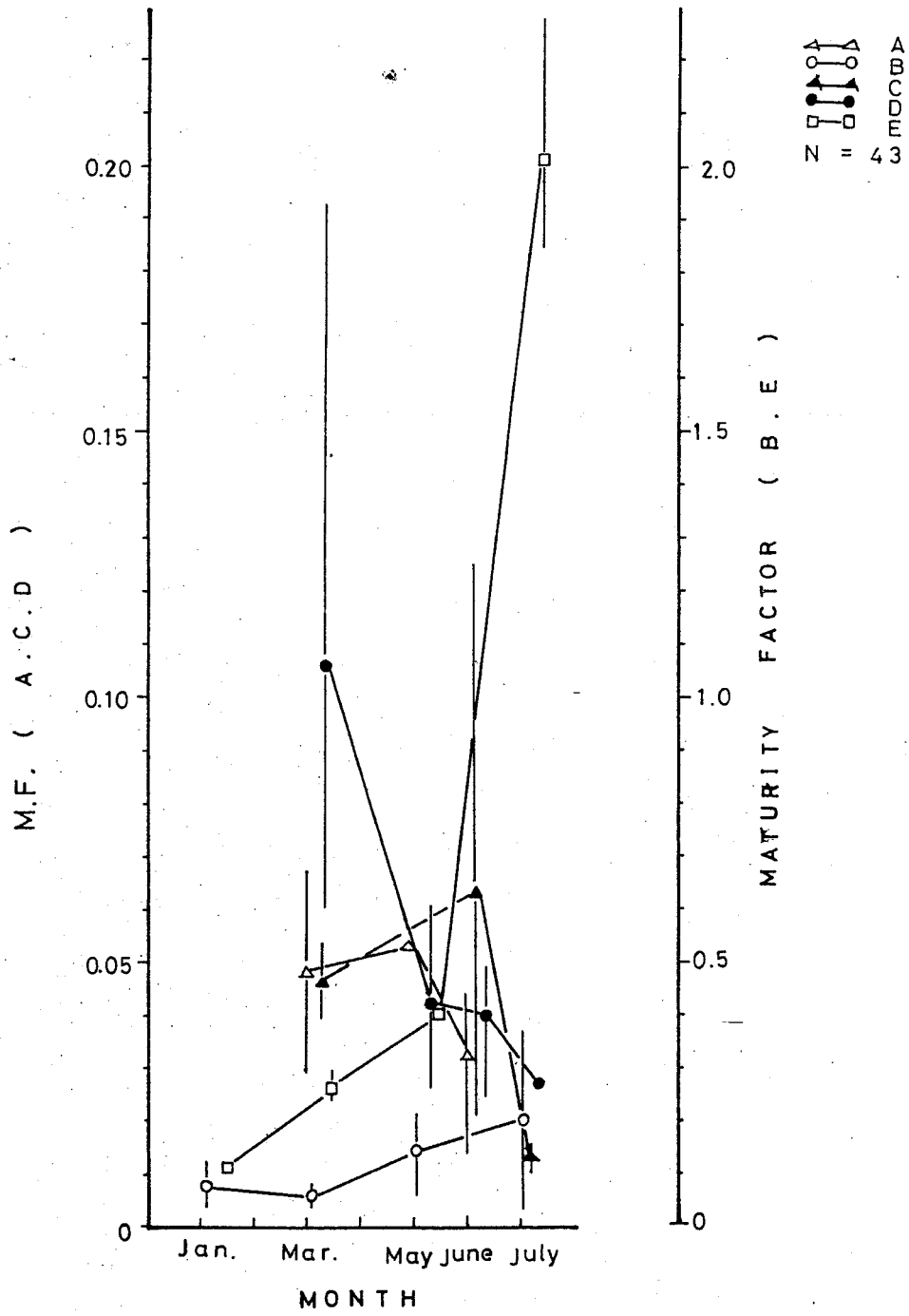


圖1 成熟度指數月變化，直線表示範圍

Fig. 1 Changes in maturity factor of grouper for monthly variation. Vertical bars represent variable of the mean.

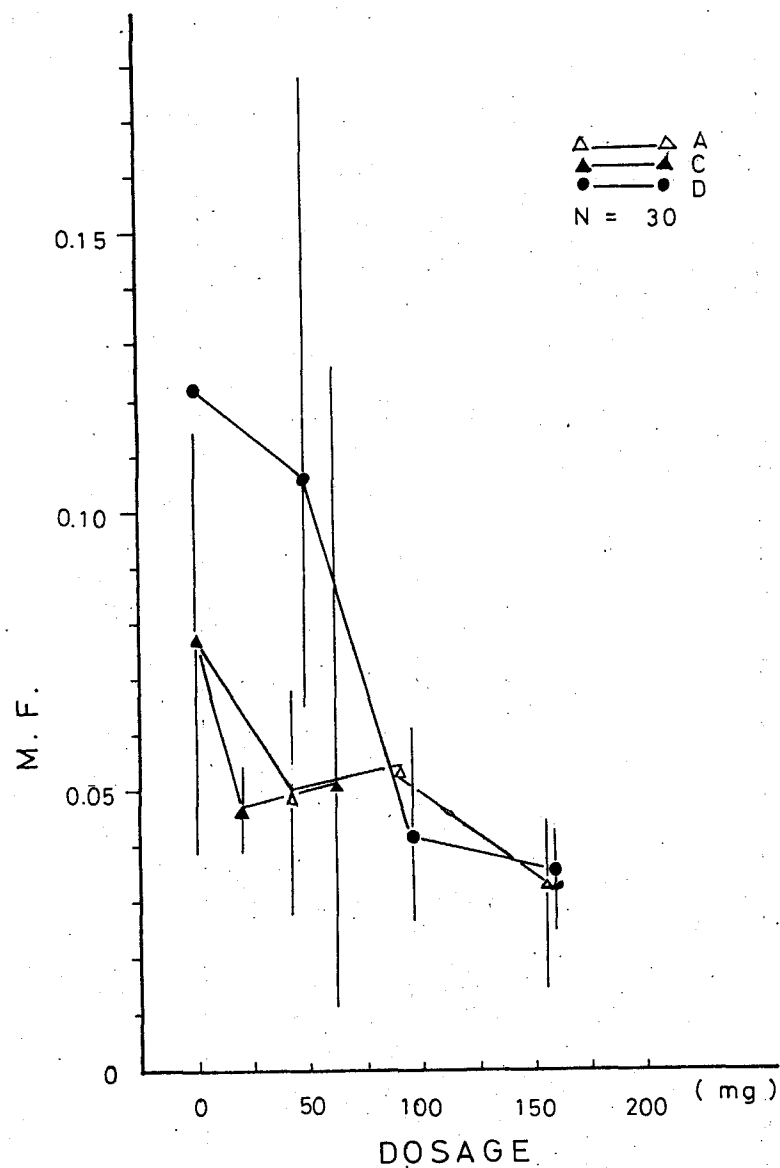


圖 2 平均累積劑量與成熟度指數之關係，直線表示範圍

Fig. 2 The relation changes between maturity factor and mean accumulative dosage of grouper after hormone treated.

Vertical lines indicate variable range of the mean.

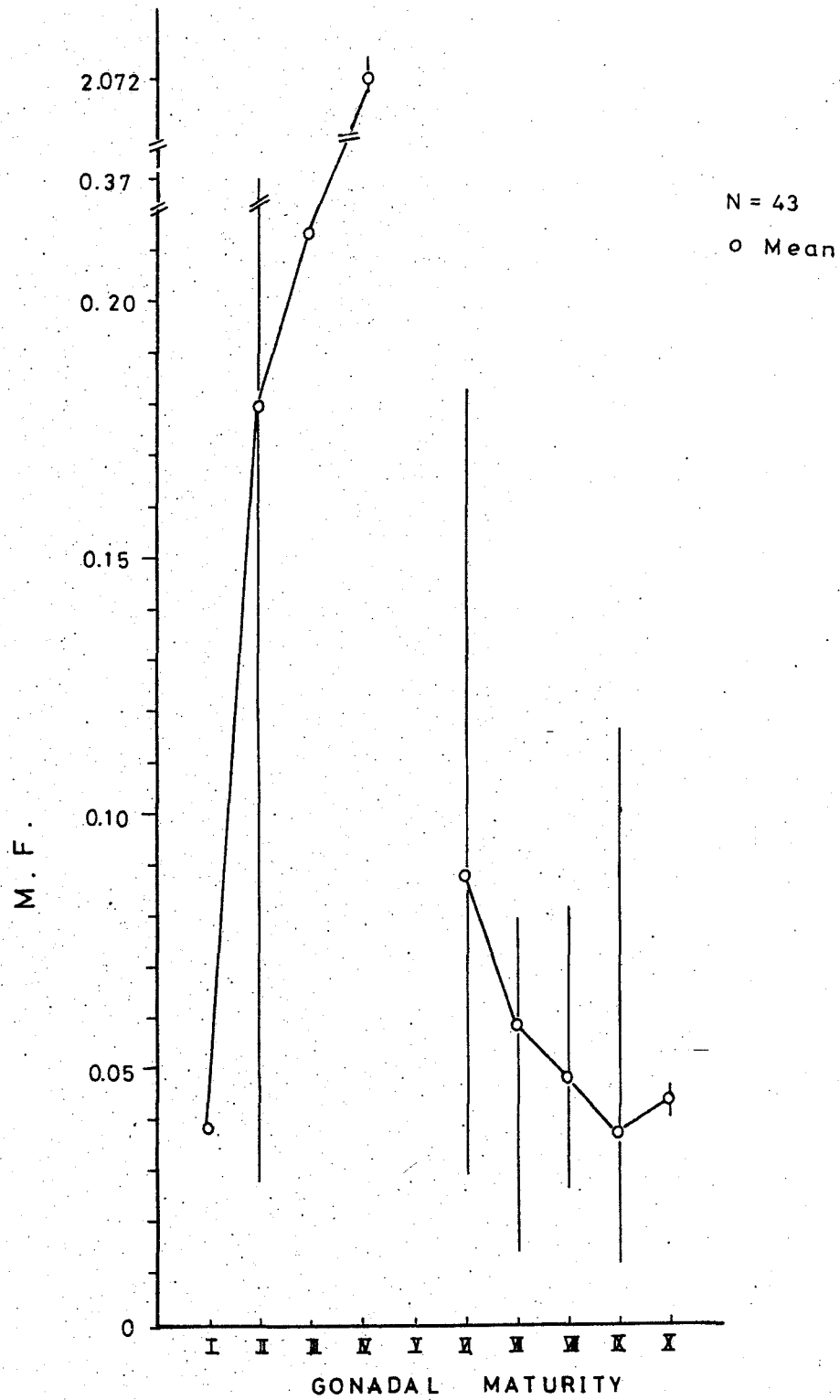


圖 3 成熟度指數與生殖腺發育級之關係，直線表示範圍

Fig. 3 The relation changes between gonadal maturity and maturity factor of grouper.

Vertical bars represent variable range of the mean.

討 論

本實驗在變性過程中，只發現到第 1、2 期萎縮卵母細胞和精囊同時出現在生殖巢中，並無第 3、4 期卵母細胞出現在變性之中間過程，此和劉 (1980)⁽¹⁷⁾ 所述當石斑魚齡增大，魚體漸長變性時，第 1 及第 2 期卵母細胞逐漸萎縮，生精囊 (Seminiferous crypts) 日益增值，繼之第 3 及第 4 期卵母細胞也漸漸瓦解收縮，大的精囊 (Sperm sinus) 一併生成，最後卵巢失去功能，精囊取代之過程有不同，這可能是由於此次在開始人工變性時，種魚之生殖腺發育期在第 1、2 期卵母細胞期，致使生殖腺受荷爾蒙作用，卵細胞從那時開始萎縮，而精細胞逐漸取代生成，且之後卵細胞不再分化，只是增殖精細胞，所以在本次變性過程中見不到第 3、4 期卵母細胞萎縮與大精囊同時存在之生殖腺，才會和天然石斑魚變性之過程不同。

雌雄同體雌性先熟的石斑魚，在天然環境下，荷爾蒙分泌偏向雌性，雌魚變為雄魚的時間很長，有的在體重 11 kg 以上才轉變為雄魚⁽¹⁾；有的則要 11 年以上才變成雄魚⁽⁸⁾；而較具經濟價值的石斑魚，如鱸滑石斑、鑲點石斑，其生物最小成熟體型分別為鱸滑石斑為 3 齡左右、體重 2.5 kg，體長在 40~50cm⁽⁵⁾；鑲點石斑則在 6 kg 左右⁽³⁾，且體長約 60 至 70cm 開始性轉變，而轉變為雄魚之年齡至少 5 至 10 年以上。新加坡 Chen (1977) 以 3 齡雌魚 (鱸滑石斑) 進行變性成功，證明荷爾蒙處理的時機可選在最小生物體型發生性轉變開始的時候，但本實驗所使用之種魚皆為未成熟之 1 齡多之魚，生殖腺級在 I、II 級 (其成熟魚齡約在 2 齡半至 3 齡、體長 54 cm、體重 2.6 kg) 進行長期投餌促進變性，亦可得到雄魚，說明了石斑魚之人工促進變性時機不僅可選在於性轉變時，亦可以提前至未成熟之魚體 (卵母細胞第 1、2 期) 時實施。

對於使用多少劑量荷爾蒙使石斑魚變性，迄今尚未定出絕對有效標準，少的劑量無效，過多劑量亦會抑制生殖巢的發育。Chen (1977) 使用劑量約為 1 mg/kg 魚體重，前後總共 145mg，本實驗亦顯示出同樣結果。A、D 組所用劑量與 Chen 相似，可得到生殖級第 X 級種魚；而 C 組所用劑量減半，則生殖級等落後且只發現 IX 級生殖腺種魚，由此可推測石斑魚刺激變性之荷爾蒙之使用量在 1 mg/kg 魚體重，累積劑量達 158 mg 左右有效。

石斑魚變性處理需下藥持續多久時間最適宜，現並無一定準則，原則上在做人工變性時需有適足的處理時間才能誘導出具有功能的性轉變魚，如以雄性荷爾蒙處理莫三鼻克吳郭魚 (*Tilapia mossambica*) 需 6 周⁽¹⁸⁾，尼羅吳郭魚 (*Oreochromis niloticus*) 需 3 周以上⁽²⁰⁾，均能達到性轉目的。Chen 對新加坡鱸滑石斑行人工促進變性時，投餌了 2 個月；本實驗則投餌 4 個月，結果仍同樣可得到雄魚。是故在尋求最適宜處理時間的長短，其先決條件是劑量，魚體狀況都必先予以考慮，而能變性成功時配合其繁殖季節最佳。

以成熟度指數做為生殖腺發育之參考，一般成熟雌性石斑魚卵巢膨大，指數在 2.0 以上⁽²⁾。雄性種魚因精巢較小，指數低，精液量亦少，如鑲點石斑之成熟度指數在 0.11~0.30，老鼠斑 0.29，紅斑 0.16~0.4 間，且 2 次腹部擠壓精液即告擠罄⁽³⁾。本實驗雌性成熟種魚成熟度指數亦有同樣結果在 2.0 以上。然雄性種魚却偏低，成熟度指數在 0.05 以下，精液之採取亦難。又結果指出在變性過程中，成熟度指數一直下降，至第 X 級後才回升，故推測係由於人工促進變性，使種魚提前由雌性變為雄性，生殖巢中卵母細胞退化，由精細胞取代後，尚需一段增殖時間。

摘 要

青點石斑經人工促進性轉變之研究，其結果大致如下：

- 一、卵的發育過程可分為 5 個卵母細胞期，第 5 卵母細胞期為產卵前最後 1 期。
- 二、生殖腺發育可分為 11 級，I 至 V 為卵巢發育級，VI 至 VIII 為生殖腺中間變性過程，IX 至 XI 為精巢發育級。
- 三、石斑魚成熟種魚出現季節，雌魚在 7 月，經變性後雄魚在 6、7 月間。

四生殖腺為卵母細胞 I、II 期之 1 齡多石斑魚已可做為人工促進性轉變之種魚。

荷爾蒙劑量對促進變性結果有影響；以每 1 mg/kg 魚體重之劑量餵飼 4 個月，累積劑量達 158mg 左右，生殖腺發育級能達第 X 級。以每 0.5 mg/kg 魚體重之荷爾蒙劑量，餵飼 4 個月，累積劑量達 69.64mg，生殖腺發育級只達 IX 級。

五成熟雌性石斑魚成熟度指數平均在 2.0 以上，變性後雄性石斑魚平均為 0.043。

謝 辭

本實驗之順利完成，非常感謝分所同仁提供意見，慨借器材，指導切片工作，並屏東農專施志民、周守育二位同學協助報告整理，謹此致以最深的謝忱。

參考文獻

1. 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.
2. 曾文陽 (1984). 石斑魚養殖學，香港，48 - 53.
3. 湯弘吉、徐嘉猷、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.
4. 曾文陽、潘敬端 (1979). 紅斑 (*Epinephelus akaara*) 和鑲點青斑 (*E. amblycephalus*) 之雜交繁殖試驗。中國水產，324，19 - 24.
5. Chen, F. Y. M. Chow. T. M. Chao and R. Lim (1977). Artificial spawning and larval rearing of the grouper, *Epinephelus tauvina* in Singapore, Singapore J. Pri, Ind, 5(1), 1- 21.
6. 曾文陽、何錫光、石堅華 (1972). 香港紅石斑之養殖，中國水產，324，8 - 11.
7. 顏枝麟 (1976). 石斑魚養殖，農牧旬刊，441，79 - 80.
8. 林美雲 (1983). 馬來西亞沙巴州鱸滑石斑魚箱網養殖實驗，中國水產 358，17 - 20.
9. 胡興華、林金榮 (1984). 不同飼料與投餌次數飼育澎湖石斑 *Epinephelus sp.* 魚苗，台灣省水產試驗所澎湖分所報彙集，4，40 - 52.
10. 林金榮、顏枝麟、胡興華 (1984). 塩度及掩蔽物對石斑魚苗之影響，台灣省水產試驗所澎湖分所報彙集，4，61 - 69.
11. 湯弘吉、徐嘉猷、蘇偉成 (1972). 老鼠斑人工繁殖試驗，中國水產，324，19 - 24.
12. 蘇偉成、曾煥仁、顏枝麟 (1978). 石斑魚及嘉臘魚之成熟度調查與種魚培養，台灣省水產試驗所試驗報告，30，523 - 529.
13. 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.
14. 益田一、尼岡邦夫、荒賀忠一、上野輝彌、吉野哲夫 (1985). 日本產魚類大圖鑑，東海大學出版社 114 .
15. 陳兼善 (1969). 台灣脊椎動物誌 (上)、台北，357.
16. 梁志達 (1976). 鑲點石斑養殖之初步試驗，中國水產，279，21 - 24 .
17. 劉富光 (1980). 魚類性轉變—特別有關石斑魚及鯛類，中國水產，332，1 - 22 .
18. Smith C. L. (1965). The patterns of sexuality and the classification of serranid fishes, Amer, Mus, Nov. (2207), 1 - 20.
19. Guerrero R. O. III. (1976). *Tilapia mossambica* and *T. zillii* treated With ethynyltestosterone for sex reversal, Kalikasan Philippine J. Biol. 5 . 187 - 192.

20. 林美蕙、劉繼源 (1980). 乙基畢丸固爾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.