

## 性類固醇激素對海鱸性別分化之效果

李彥宏<sup>1\*</sup> · 林承澤<sup>1</sup> · 黃維能<sup>1</sup> · 高鈺勛<sup>1</sup> · 周楷倫<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> 行政院農業委員會水產試驗所東港生技研究中心

<sup>2</sup> 國立高雄科技大學漁業生產與管理系

### 摘 要

魚類單一性別養殖對產業有極大幫助，而海鱸 (*Rachycentron canadum*) 是臺灣重要的箱網養殖魚種，研究其性別控制，期望能養殖全雌或全雄性海鱸，增加養殖效益及產業利益。本研究是以不同劑量的雌二醇 (17 $\beta$ -estradiol, E2) 及甲基睪固酮激素 (Methyltestosterone, MT) 添加在飼料中，對海鱸仔魚進行性別調控試驗，以了解海鱸生殖腺性別分化時間以及控制海鱸性別激素的有效濃度。經觀察海鱸生殖腺組織切片結果顯示，仔魚性別分化時期約在孵化後 (days post hatching, dph) 50 - 70 天之間。餵食 5 mg E2/kg 飼料組，95.6% 仔魚在 120 dph 為雌性；50 mg E2/kg 飼料組，則於 99 dph 達到 100% 雌性化效果，但高濃度 E2 也會造成幼魚成長緩慢。另外，餵食 45 dph 幼魚 MT 飼料 55 天 (100 dph)，25 mg 與 75 mg MT/kg 兩組之海鱸，雄性比例均為 100%，有完全雄性化效果，但也會導致幼魚成長緩慢。總之，餵食添加性類固醇激素之飼料確實能控制海鱸性別，可應用在海鱸種苗培育過程，達到生產全雌化或全雄化子代，有助於海鱸養殖產業發展。

關鍵字：海鱸、性類固醇激素、性別分化

### 前 言

臺灣在 1991 年時，將大洋捕獲的野生海鱸經人工催熟後，成功獲得受精卵，並培育出魚苗，經馴化後養殖 1 年即可達性成熟，1.5 年齡後便可自然產卵，海鱸有多次產卵及成長快速特性，臺灣南部所養殖的海鱸種魚，終年可產卵，魚苗也容易大量繁殖，生產成本低，促使海鱸養殖在臺灣開始蓬勃發展，且海鱸適合海上箱網養殖，亦成為臺灣主要的海上箱網養殖物種 (Liao *et al.*, 2001)。

在許多魚類中，雌、雄魚成長速率會有顯著的差異。黑斑蓋刺太陽魚 (*Pomoxis nigromaculatus*)、大口黑鱸 (*Micropterus salmoides*)、半滑舌鰯 (*Cynoglossus semilaevis*) 等，其雌魚生長速度及體型明顯高於雄魚 (Al-ablani *et al.*, 1997; Arslan *et al.*, 2009; Chen *et al.*, 2009)。野外捕獲的野生海鱸上，在相同年齡下，雌魚的體長與體重皆明顯高於雄

魚 (Richards, 1967)。從養殖角度考量，全雌化海鱸養殖較為有利，但海鱸箱網養殖業者反應，雌海鱸卵巢發育快，會降低取肉率，似乎以全雄性海鱸養殖較為有利。為此，我們先從控制海鱸性別進行研究，期望能生產全雌或全雄性海鱸，日後再進行養殖試驗，達成養殖的需求。

魚類性別分化容易受到外源性的性類固醇激素影響，而改變其性別比例 (Devlin *et al.*, 2002)。以雌二醇 (17 $\beta$ -estradiol, E2) 誘導大嘴黑鱸 (*Micropterus salmoides*) 分化為雌性為例，孵化後 (days post hatching, dph) 40 天魚苗，餵食含有 200 mg E2/kg 飼料 60 天，雌性化比例達 70.5% (Arslan *et al.*, 2009)。30 dph 之藍鰺太陽魚 (*Lepomis macrochirus*) 餵食含有 50 mg E2/kg 的飼料 60 天後，有完全雌性化的結果 (Wang *et al.*, 2008)；餵食 4 mg E2/kg 飼料能成功誘導黑鯛 (*Acanthopagrus schlegeli*) 雌性化 (Chang *et al.*, 1994)。

在雄性化方面，甲基睪固酮 (Methyltestosterone, MT) 是常用激素，能促使黑斑紅鱸 (*Rachycentron canadum*)、莫三鼻克吳郭魚 (*Oreochromis mossambicus*) 及三斑石斑魚

\* 通訊作者 / 屏東縣東港鎮豐漁街 67 號；TEL: (08)8324121 轉 275；FAX: (08)8320234；E-mail: yhlee@mail.tfrin.gov.tw

(*Epinephelus fario*) 等魚類雄性化 (Kuwaye *et al.*, 1993; Al-ablani *et al.*, 1997; Kuo *et al.*, 1988)。以鱸滑石斑 (*E. tauvina*) 為例, 投餵含 0.5 – 5 mg MT/kg 飼料便可誘導雄性化成功 (Chao and Chow, 1990)。

本實驗以投餵不同濃度的 E2 及 MT 飼料, 來控制海鱸的性別分化, 並以生殖腺組織切片觀察, 調查並鑑定雌雄性別比例, 了解海鱸生殖腺分化時間及有效的 E2 及 MT 添加劑量與處理時間, 期許能協助海鱸養殖發展。

## 材料與方法

### 一、性類固醇激素飼料製備

E2 (Sigma) 及 MT (勤裕企業) 皆為粉末狀, 屬脂溶性不溶於水, 因此使用 99.5% 酒精溶解, 濃度為 20 mg/ml, 置於 -20°C 保存備用。將原料均勻混合後 (除魚油外) (Table 1), 倒入打粒機之混合槽進行攪拌, 接著添加魚油 (Pesquera Pacific Star S.A.), 並將混合槽中攪拌器正轉與逆轉各 5 min。接著將類固醇溶液加入 240 ml 超純水中攪拌均勻, 再加入混合槽中攪拌 10 min。完成後, 開啟擠壓器和切粒器進行飼料打粒, 將飼料平鋪於烘盤上並置於乾燥烘箱中, 烘製溫度及時間設定為 50°C, 4 hr。

**Table 1** The composition of the experimental feed

Ingredient	g/kg feed
Fish meal	617
Soy protein concentrate	200
$\alpha$ -starch	120
Squid meal	50
Fish oil	10
Minerals	2
Vitamin	2
Calcium Phosphate	0.5
Vitamin C	0.5

### 二、性類固醇激素調控海鱸性別分化試驗

#### (一) 實驗用魚

實驗魚為本中心自行繁殖, 孵化後 (days post hatching, dph) 45 – 55 天之海鱸仔魚, 蓄養於 1 t 之圓形 FRP 桶中。

#### (二) 餵食 E2 飼料試驗

試驗共有 3 組, 每組 60 尾孵化後 55 dph 海鱸仔魚, 蓄養 1 t 之圓形 FRP 桶中, 分別餵食含有 0、5、50 mg E2/kg 飼料, 每日餵食二次, 每日餵食量約為魚總體重之 5 – 7%。實驗共進行 66 天, 期間分別於 55、71、85、99 與 120 dph 時進行採樣 (每組 10 尾), 每次均記錄體長、體重及採取部分生殖腺。

#### (三) 餵食 MT 飼料試驗

共分為 5 組, 每組蓄養 80 尾 45 dph 海鱸仔魚, 分別投餵含 0、1、5、25、75 mg MT/kg 飼料。每日餵食量約為魚體總重的 5 – 7%, 期間分別於 45、71、100、130、145 及 160 dph 時進行採樣 (每組 10 尾), 每次均記錄體長、體重以及採取部分生殖腺。

### 三、生殖腺組織切片

以飽和苦味酸 (picric acid) 溶液 750 ml、40% 中性福馬林溶液 250 ml 及冰醋酸 (glacial acetic acid) 50 ml, 調配成固定液 (Bouin 溶液)。將採樣之海鱸生殖腺浸泡至 Bouin 溶液中 (生殖腺與 Bouin 溶液比為 1 : 9), 固定 24 hr 後, 以 70% 酒精替換固定液, 直到去除苦味酸所呈現之黃色。以 80、90、95 與 99% 酒精 (重複兩次) 浸泡 1 hr, 最後再以二甲苯 (xyline) 浸泡 1 hr 完成脫水步驟, 然後將組織置於包埋盒中, 浸於 xyline : paraffin = 1 : 1 中 5 min, 再以 56°C 石蠟浸泡 30 min, 最後將組織置入裝滿石蠟之包埋模中, 在常溫下等待凝固。將包有組織之蠟塊自包埋模中取出, 將組織周圍蠟塊修整至適當大小, 便可使用樣本切片機進行連續切片。切片厚度為 5  $\mu$ m, 再於 40°C 蒸餾水中展片, 利用載玻片撈起後並以 42°C 烘乾以進行染色。切片烘乾後, 需經過脫蠟步驟: 二甲苯 (5 min)、1 : 1 比例的 99% 酒精與二甲苯 (30 sec)、99% 酒精 (30 sec)、70% 酒精 (30 sec)、流水 (2 min)。脫蠟完成後, 以蘇木紫 (hematoxylin) 染色 3 min, 以流水洗去多餘染劑 2 min, 再以伊紅 (eosin) 染色 30 sec。最後進行脫水: 95% 酒精 (30 sec)、二甲苯 (1 min; 重複一次)。完成脫水步驟後, 利用封片膠封片, 風乾後,

**Table 2** Sex differentiation in cobia after consuming feed with 17 $\beta$ -estradiol (E2) added at various doses (0 mg, 5 mg, and 50 mg/kg feed). The data represent gonadal sex percent (%); dph: days post-hatching; UN, undifferentiated (n=10)

dph	Treatments and gonadal sex percent ( $\sigma/\text{♀}/\text{UN}$ ) (%)		
	0 mg	5 mg	50 mg
55	0/0/100	0/0/100	0/0/100
71	0/30/70	0/40/60	0/70/30
85	20/70/10	10/80/10	10/80/10
99	20/80/0	10/90/0	0/100/0
120	40/60/0	10/90/0	0/100/0

便可進行顯微鏡的觀察。實驗初期所採樣之生殖腺皆以組織切片來辨別雌雄，在後期大部分海鱺之生殖腺都已明顯分化，肉眼即可判定雌雄性別。

#### 四、統計分析

資料使用 SPSS 10.5 版 (for Windows) 統計套裝軟體分析，各實驗組別計算平均值及平均值標準誤差 (standard error of mean, SEM)，以單因子變異分析法 (one-way ANOVA) 進行統計分析，顯著水準訂為 0.05 ( $p < 0.05$ )。

## 結 果

### 一、餵食 E2 飼料後海鱺生殖腺發育

採用 55 dph 的海鱺仔魚，餵食不同濃度之 E2 飼料，共分為對照組 (0 mg)、5 mg E2/kg、50 mg E2/kg 三組，採樣結果如 Table 2。在 55 dph，三組海鱺仔魚生殖腺均未性別分化，在 71 dph，海鱺開始性別分化，各組雌性比例依序為 30%、40%、70%。在 99 - 120 dph，各組海鱺已完全性別分化，對照組雌魚比例 60 - 80%，5 mg E2 組為 90%，50 mg E2 組為 100%。投餵添加 E2 之飼料的雌性化效果皆較對照組來的顯著，以 50 mg/kg 的雌性化比例最佳，為百分之百的完全雌性化 (Table 2)。生殖腺經過切片、染色後，我們可以從組織切片中發現 (Fig. 1)，在 55 dph，所採樣的生殖腺皆尚未分化，且無法辨識其構造而在孵化後第 71 天至第 85 天這段期間，我們可以從染色切片觀察到，孵化後第 71 天已有少數的海鱺性別開始分化，但其

構造上不太明顯，第 85 天，可以看出有明顯的卵巢結構已逐漸發育，形成卵巢腔且有少許的卵原細胞生成，於孵化後發育第 99 天，全數海鱺已性別分化，可肉眼分辨出精、卵巢。經 50 mg E2/kg 處理，在 99 - 120 dph，雌性比例為 100%。由此數據我們可以得知，E2 會對海鱺具促進雌性化的作用。經過為期 66 天的海鱺性激素處理 (Table 2)，劑量為 50 mg E2/kg 飼料，可百分之百的將海鱺完全轉變為雌性，且於孵化後第 99 天開始，全數的海鱺性別已完全發育為雌性，此劑量對於海鱺雖有百分之百的雌性化效果。

### 二、以 MT 誘導海鱺生殖腺發育

以 45 dph 海鱺仔魚，進行含不同濃度之 MT 飼料投餵，共分為對照組 (無添加) 與添加 1、5、25、75 mg MT/kg 飼料之五組試驗組。實驗結果 (Table 3) 顯示，在 71 dph 時，對照組、1 mg 及 5 mg 組之海鱺生殖腺均尚未性別分化，但 25 mg 與 75 mg 組之雄性化比例分別達 40% 與 30%，MT 添加之雄性化效果明顯。在 100 dph 以後，25 mg 組與 75 mg 組海鱺之生殖腺均分化為精巢 (100%)，顯示投餵添加 25 及 75 mg MT/kg 可促使海鱺雄性化，其生殖腺組織切片如 Fig. 2 所示。至於對照組、1 mg 及 5 mg 組，其生殖腺在孵化後第 130 天 (130 dph) 才完全分化，雄性比例依序為 40%、40%、80%。綜上可知，MT 具促進海鱺雄性化的作用，每公斤飼料中添加 25 - 75 mg 的 MT，可讓海鱺完全雄性化。

### 三、性別控制期間之成長變化

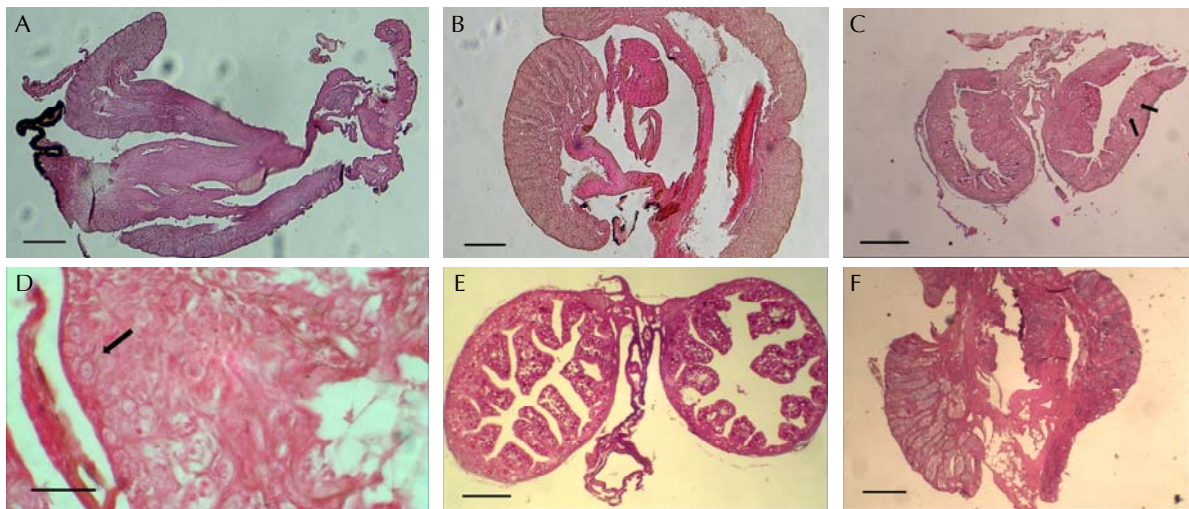
E2 對海鱺成長速率影響方面 (Fig. 3)，投餵 45

天後 (99 dph), 5 及 50 mg/kg 兩組海鱺成長明顯低於對照組, 代表 E2 可以調控海鱺性別轉變為雌性, 但同時也會抑制海鱺成長。在餵食 MT 方面 (Fig. 4), 投餵 26 天後 (71 dph), 即對海鱺成長產生抑制

效果, 低劑量 MT (1 mg/kg) 便會抑制海鱺成長作用, 且在往後的各個採樣點中, 更顯示出 MT 抑制海鱺成長的作用, 這代表 MT 可以調控海鱺性別為全雄性, 但同時也有抑制其成長的副作用。

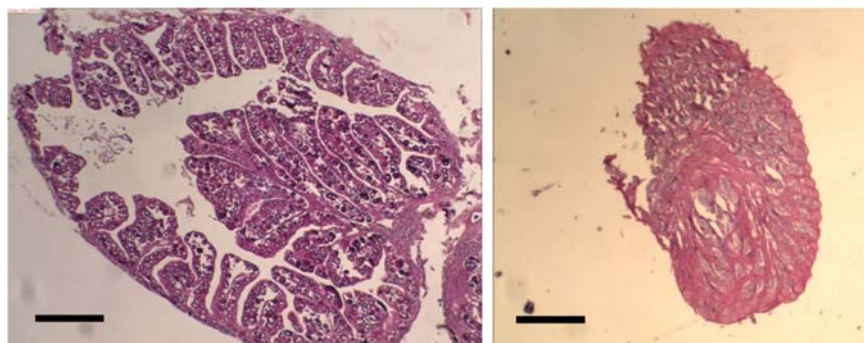
**Table 3** Sex differentiation of cobia after consuming feed with methyltestosterone (MT) added at various doses (0, 1, 5, 25 and 75 mg/kg feed). Data represent gonadal sex percent (%); dph, days post-hatching; and UN, undifferentiated (n=10)

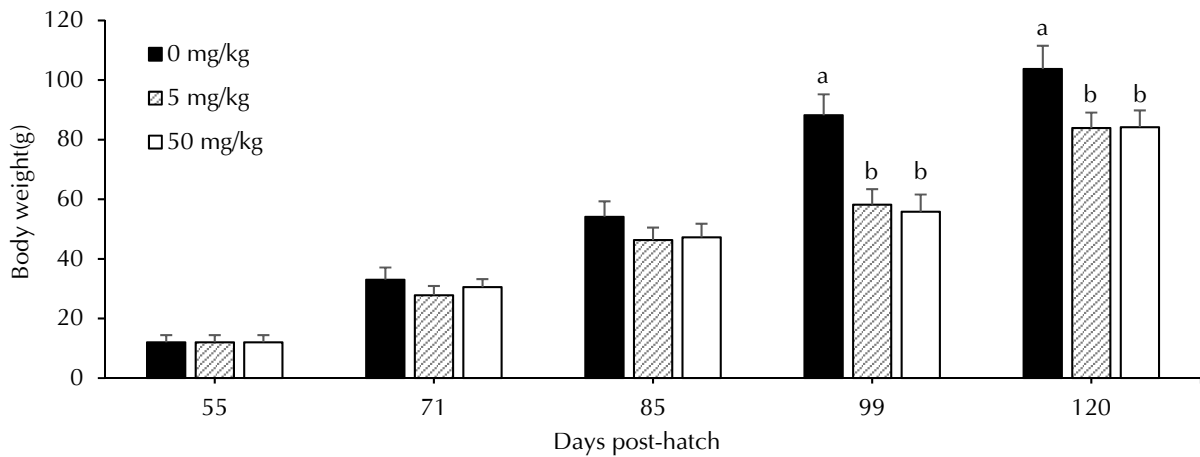
dph	Treatments and gonadal sex percent ( $\sigma/\text{♀}/\text{UN}$ ) (%)				
	MT 0 mg	MT 1 mg	MT 5 mg	MT 25 mg	MT 75 mg
45	0/0/100	0/0/100	0/0/100	0/0/100	0/0/100
71	0/0/100	0/0/100	0/0/100	40/10/50	30/0/70
100	30/50/20	50/40/10	80/10/10	100/0/0	100/0/0
130	40/50/10	30/70/0	30/70/0	100/0/0	100/0/0
145	40/60/0	40/60/0	80/20/0	100/0/0	100/0/0
160	40/60/0	40/60/0	80/20/0	100/0/0	100/0/0



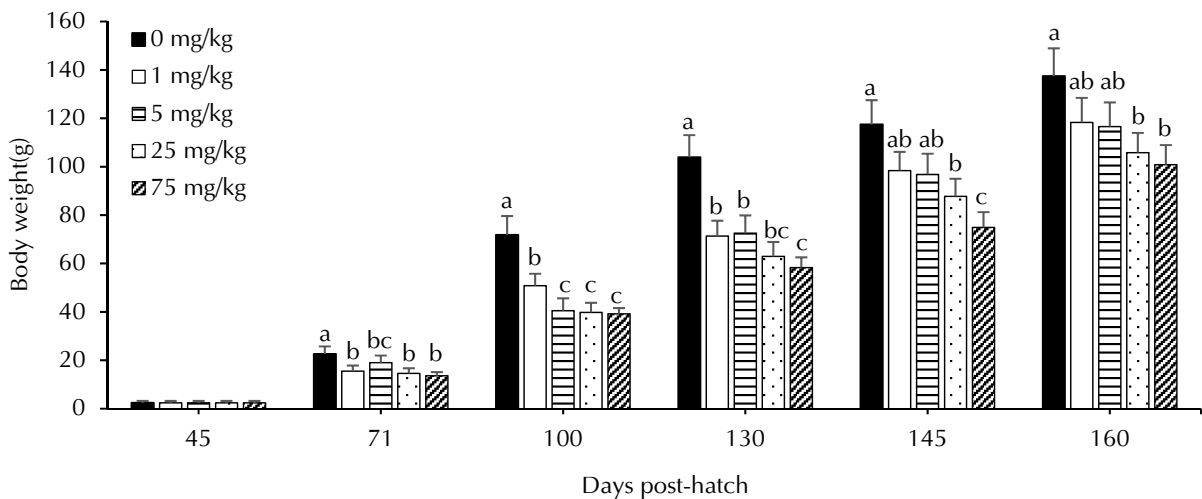
**Fig. 1** Transverse sections of cobia gonadal tissue, stained with hematoxylin and eosin, after consuming feed with 17 $\beta$ -estradiol added at various doses (0, 5 and 50 mg/kg feed). (A) 55 dph, undifferentiated gonad (0 mg/kg feed); (B) 71 dph, undifferentiated gonad (0 mg/kg feed); (C) 85 dph, differentiated gonad, arrow represents the oogonium (0 mg/kg feed); (D) 85 dph, testis, arrow represents primary spermatocyte (0 mg/kg feed); (E) 120 dph, ovary (0 mg/kg feed); (F) 120 dph, testis (0 mg/kg feed). Scale bars: A-B = 100  $\mu\text{m}$ ; C-F = 300  $\mu\text{m}$ .

**Fig. 2** Cobia gonadal tissue, stained with hematoxylin and eosin, after consuming feed with methyltestosterone (MT) at various doses (0, 1, 5, 25, and 75 mg/kg feed). (Left) Ovarian tissue of cobia fed 0 mg MT (160 dph); (Right) testicular tissue of cobia fed 0 mg MT (160 dph). Scale bars = 200  $\mu\text{m}$ .





**Fig. 3** The growth of cobia fingerlings given feed with 17β-estradiol added at various doses (0, 5, and 50 mg/kg feed) (n=10). The bars show mean ± SEM.



**Fig. 4** The growth of cobia fingerlings given feed with 17β-estradiol added at various doses (0, 5 and 50 mg/kg feed) (n=10). The bars show mean ± SEM.

## 討 論

魚類的性別分化會受到遺傳與環境因子等因素的影響 (Nakamura, 1975), 而一般魚類性別分化的研究大致可分為兩部分, 其一為利用組織切片觀察開始性別分化時期; 其二為利用性類固醇激素來控制魚類的性別分化。但在進行性別控制實驗前, 必須了解實驗物種的性別分化時期, Alablani *et al.* (1997) 在報告中指出: 魚類是否已完成性別分化, 為影響性類固醇成功控制性別的主要因素之一; Omoto *et al.* 在 2002 年也提出: 若性別控制在魚類分化性別後開始, 會明顯的降低成功率; Flynn *et al.* 在 2007 年利用 E2 誘導鱒魚

雌性化的結果也建議, 利用性類固醇誘導變性, 應在魚類性別分化之前。

本試驗的結果顯示, 海鱺對照組在孵化後 45 - 55 天時, 生殖腺尚未有性別分化發生, 到孵化後 71 天時 (E2 實驗), 已有 30% 的海鱺分化性別, 且全數為雌魚; 在孵化後 85 天時, 才開始有雄魚產生, 推估海鱺在性別分化上, 卵巢之分化時期較精巢早。大西洋鱒魚 (*Acipenser oxyrhynchus*), 在性別分化的時間上, 雌性與雄性具有明顯的差異, 鱒魚在孵化後 150 天時, 已有少數的個體分化為雌魚, 但沒有發現雄魚 Flynn *et al.* (2007); 而莫三鼻克吳郭魚則是在孵化後 20 天時開始性別分化, 此階段也皆為雌魚, 而在孵化後 50 天開始出

現雄魚 (Nakamura *et al.*, 1975)。以上報告之結果顯示，魚類在性別分化時期，會因物種不同而有所差異，另外，雌雄個體之性別分化時期也有所不同。

利用 E2 及 MT 控制海鱺性別分化的結果顯示，對照組在實驗結束後，性別比例為：雌魚 60%，雄魚 40%。餵食 E2 高劑量 (50 mg/kg) 之海鱺，在實驗結束後，達到 100% 的雌性化；低劑量 E2 為 90% 的雌性化。Arslan *et al.* (2009) 利用 200 mg/kg 劑量的 E2 誘導大嘴黑鱺後，得到 70.5% 的雌性化；藍鰓太陽魚 (*Lepomis macrochirus*) 在孵化後 30 天，投餵劑量為 50 mg/kg，得到 86.7% 的雌魚；而 100 mg/kg 時，為 95% 的雌魚；當劑量提高為 150 mg/kg 時，便得到 100% 雌性化的結果。對海鱺而言，餵食高劑量 E2 激素飼料 30 天 (50 mg/kg) (Table 2)，可達到全雌化海鱺。

在 MT 雄性化魚類方面，25 - 75 mg/kg 飼料劑量，可將海鱺完全雄性化。Al-ablani (1997) 以 30 mg/kg MT 劑量處理 40 日齡的黑莓鱺 (*Pomoxis nigromaculatus*)，得到 71% 的雄性化，而 60 mg/kg 劑量可得到 90% 的雄性化。較高劑量的 MT 可得到較好的雄性化效果。但投餵在不同物種時，MT 的作用會有所差異，例如相同劑量的 MT 投餵於大嘴黑鱺，卻只有得到 52% 的雄魚 (Arslan *et al.*, 2009)；Chew *et al.* 的報告 (1973) 結果顯示，投餵 MT 無法成功誘導翻車魚 (*Mola mola*) 雄性化。

E2 在控制單一性別上相當有效用，但可能會對魚類造成負面的影響。例如：在飼養的過程中使用不同種類的類固醇，皆有可能影響魚類的攝食、消化、吸收及代謝方面的機能 (Woo *et al.*, 1993)。另外，E2 的添加會降低許多魚類的生長速率 (Johnstone *et al.*, 1978)。MT 對海鱺雖有雄性化效果，但由於其在成長速率上相較控制組顯得緩慢，體型也較小，尤其是高劑量組 (75 mg/kg)，這代表 MT 具有可以調控性別轉變為雄性，同時也具有抑制成長的作用，這與投餵雌性素誘導海鱺雌性化的結果一樣。Johnstone *et al.* (1978) 提出，外源性添加的 E2，會導致魚類之生長速率及活存率下降；餵食含有 E2 及 MT 的飼料後，發現餵食 E2 飼料的大嘴黑鱺攝食量，明顯少於 MT 處理組，且 E2 組之成長速率，也明顯較對照組慢 (Arslan *et al.*, 2009)。

本實驗結果顯示，不管雌性化或雄性化，經過

為期 50 天的處理，可將海鱺完全轉變為全雌或全雄性，雖然在成長速率上較控制組緩慢，但並不會危害海鱺生存。未來可研究單一性別海鱺養殖，比較經濟效益及成本，來增進海鱺養殖效益，促進海鱺養殖產業的發展。

## 參考文獻

- Al-ablani, S. A. and R. P. Phelps (1997) Sex reversal in black crappie *Pomoxis nigromaculatus*: effect of oral administration 17 $\alpha$ -methyltestosterone on two age classes. *Aquaculture*, 158: 155-165.
- Arslan, T., R. P. Phelps and J. A. Osborne (2009) Effects of oestradiol-17 $\beta$  or 17 $\alpha$ -methyltestosterone administration on gonadal differentiation of largemouth bass *Micropterus salmoides* (Lacepede). *Aquacul. Res.*, 40: 1813-1822.
- Chen, S. L., Y. S. Tian, J. F. Yang, C. W. Shao, X. S. Ji, J. M. Zhai, X. L. Liao, Z. M. Zhuang, P. Z. Su, J. Y. Xu, Z. X. Sha, P. F. Wu and N. Wang (2009) Artificial gynogenesis and sex determination in half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). *Mar. Biotechnol.*, 11: 243-251.
- Chew, L. E. and J. G. Stanley (1973) The effect of methyltestosterone on sex reversal in bluegill. *Prog. Fish. Cult.*, 35: 44-47.
- Chao, T. M. and M. Chow (1990) Effect of methyltestosterone on gonadal development of *Epinephelus tauvina* (Forsk.). *Singapore J. Pri. Ind.*, 18(1): 1-14.
- Devlin, R. H. and Y. Nagahama (2002) Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture*, 208: 191-364.
- Flynn, S. R. and T. J. Benfey (2007) Effects of dietary estradiol-17 $\beta$  in juvenile shortnose sturgeon, *Acipenser brevirostrum*, Lesueur. *Aquaculture*, 270: 405-412.
- Johnstone, R., T. H. Simpson and A. F. Youngson (1978) Sex reversal in salmonid culture. *Aquaculture*, 13: 115-134.
- Kime, D. E. and M. Hyder (1983) The effect of temperature and gonadotropin on testicular steroidogenesis in *Sarotherodon (tilapia) mossambicus* *in vitro*. *Gen Comp Endocrinol*, 50: 105-115.
- Kuo, C. M., Y. Y. Ting and S. L. Yeh (1988) Induced sex reversal and spawning of blue-spotted grouper, *Epinephelus fario*. *Aquaculture*, 74: 113-126.

- Kuwaye, T. T., D. K. Okimato, S. K. Shimoda, R. D. Howerton, H. R. Lin, P. K. T. Pang and E. G. Grau (1993) Effect of  $17\alpha$ -methyl testosterone on the growth of euryhalinetilapia, *Oreochromis mossambicus*, in freshwater and in sea water. *Aquaculture*, 113: 137-152.
- Liao, I C., H. M. Su and E. Y. Chang (2001) Techniques in finfish larviculture in Taiwan. *Aquaculture*, 200: 1-31.
- Nakamura, M. (1975) Dosage-Dependent Changes in the effect of oral administration of methyltestosterone on gonadal sex differentiation in *Tilapia moaaambiaea*. *Bull Fac Fish Hokkaido Univ.*, 16(2): 99-108.
- Omoto, N., M. Maebayashi, E. Mitsuhashi, K. Yoshitomi, S. Adachi and K. Yamauchi (2002) Effects of estradiol- $17\beta$  and  $17\alpha$ -methyltestosterone on gonadal sex differentiation in the F2 hybrid sturgeon, the bester. *Fish. Sci.*, 68: 1047-1054.
- Richards, C. E. (1967) Age, growth and fecundity of the cobia, *Rachycentron canadum*, from Chesapeake Bay and adjacent mid-Atlantic waters. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 96: 343-350.
- Wang, H. P., Z. Gao, B. Beres, J. Ottobre, G. Wallat, L. Tiu, D. Rapp, P. O'Bryant and H. Yao (2008) Effects of estradiol- $17\beta$  on survival, growth performance, sex reversal and gonadal structure of bluegill sunfish *Lepomis macrochirus*. *Aquaculture*, 285: 216-223.
- Woo, N. Y. S., A. S. B. Chung and T. B. Ng (1993) Influence of oral administration of estradiol- $17\beta$  and testosterone on growth, digestion, food conversion and metabolism in the underyearling red sea bream, *Chrysophrys major*. *Fish Physiol. Biochem.*, 10: 377-387.

## Effects of Sex Steroids on Gonadal Differentiation in Cobia, *Rachycentron canadum*

Yen-Hung Lee<sup>1\*</sup>, Cheng-Tse Lin<sup>1</sup>, Wei-Neng Huang<sup>1</sup>, Yu-Syun Gao<sup>1</sup>  
and Kai-Lun Chou<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Tungkang Biotechnology Research Center, Fisheries Research Institute

<sup>2</sup>Department of Fisheries Production and Management, National Kaohsiung University of Science and Technology

### ABSTRACT

Monosex, all female or all male progenies, is important in fish production to increase the benefits to the aquaculture industry. Cobia (*Rachycentron canadum*) is a potential candidate for sea-cage culture in Taiwan. In this study, the sex steroids estradiol (E2) and methyltestosterone (MT) were added at various doses to the feed of cobia to control its sex. Gonadal sex differentiation of cobia larvae was apparent 50-70 days post-hatching (dph). Gonadal differentiation was promoted by the administration of sex steroids. The feminization rate of cobia fed a commercial feed with E2 added at doses of 5 and 50 mg kg<sup>-1</sup> was 95% and 100%, respectively; the feeding periods were 55-120 dph and 55-99 dph for the low- and high-dose treatments, respectively. The masculinization rate of cobia given feed with MT added at doses of 25 and 75 mg kg<sup>-1</sup> was 100% in both cases for a feeding period of 45-100 dph. In conclusion, our results show that the sex of cobia can be controlled by exogenous sex steroids and our protocol can be used in the breeding and reproduction process of cultured cobia.

**Key words:** cobia (*Rachycentron canadum*), sex steroids, sex differentiation

---

\*Correspondence: No.67, Fongyu St., Tungkang, Pingtung 92845, Taiwan. TEL: (08)8324121 ext 275; FAX: (08)8320234; E-mail: yhlee@mail.tfrin.gov.tw