

# 应用雄性激素诱导异育银鲫性转化的研究

张甫英, 胡 炜, 汪亚平, 朱作言

(中国科学院水生生物研究所, 淡水生态与生物技术国家重点实验室, 武汉 430072)

**摘要:** 用丙酸睾酮溶液浸泡行雌核发育的异育银鲫 (*Allogynogenetic crucian carp*) 胚胎 10~14 天, 诱导出了 11.0%~13.6% 的雄性鱼和 10.5%~27.3% 的兼性鱼。对 50 日龄的异育银鲫幼鱼投喂甲基睾酮 4 个月, 再继续饲养 182~335 天, 诱导出了 20% 以上的雄性鱼。此外, 部分实验鱼两侧卵巢的大小出现明显差异。

**关键词:** 雄性激素; 异育银鲫; 诱导; 性转化

中图分类号: Q311

文献标识码: A

文章编号: 0253-9772(2000)01-0025-27

## Methyltestosterone Induction of Sex Reversal in Allogynogenetic Crucian Carp

ZHANG Fu-ying, HU Wei, WANG Ya-ping, ZHU Zuo-yan

(State Key Laboratory of Ecology and Biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China)

**Abstract:** The embryos of allogynogenetic crucian carp were soaked in testosterone propionate for 10~14 days, 11.0%~13.6% fry were induced to be physiological males and 10.5%~27.3% fry developed into bisexual sterile. The 50-day old fish were fed diet containing methyltestosterone for 4 months and then reared for 182~335 days. More than 20% fry developed into males. In addition, the ovaries in both sides of some treated fish were significantly different in size.

**Key words:** Hormone; Allogynogenetic crucian carp; Induction; Sex reverse

银鲫 (*Carassius auratus gibelio*) 是天然雌核发育的三倍体鱼。在兴国红鲤 (*Cyprinus carpio* red variety) 精子“激动”下, 产生异精激动的雌核发育子代, 基本上均为雌性, 称为“异育银鲫”<sup>[1]</sup>。异育银鲫由于生长快而受到养殖者的欢迎。但是, 近年在异育银鲫苗种生产上出现一种令人迷惑不解的现象, 即孵化出膜的幼苗, 经发塘培育, 有时成活率极低, 甚至全部死亡。随着使用多代异育银鲫的后代作亲本, 这种现象逐年严重。最近, 本实验室通过原位杂交技术, 在异育银鲫基因组内检测到红鲤 DNA 中度重复序列, 说明红鲤精子不仅激动银鲫卵发育, 而且其 DNA 的某些成分参与了发育过程。使用异育银鲫的连续子代为亲本, 并连续用红鲤精子“激动”异育银鲫卵发育, 势必造成红鲤基因组 DNA 在其连续子代胚胎中积累。也许这种积累就是异育银鲫幼苗发育受阻的原因之一。为此, 作者试图从第一代异育银

鲫中诱导生理雄性个体, 代替雄性红鲤以解决多代异育银鲫发育受阻的理论和实践难题。国内外许多学者应用雄性激素甲基睾酮 (methyltestosterone, 简称 MT), 使遗传上的二倍体雌性鱼转化为生理功能上的雄性鱼, 取得了比较满意的效果<sup>[2~5]</sup>。本文着重报道用丙酸睾酮 (testosterone propionate, 简称 TP) 溶液浸泡异育银鲫不同发育时期的胚胎, 以及用甲基睾酮药饵饲喂 50 日龄的幼鱼, 诱导行雌核发育的异育银鲫性转化的结果。

### 1 材料和方法

#### 1.1 试验材料鱼

兴国红鲤精子激动的银鲫雌核发育子代。

#### 1.2 药品

丙酸睾酮注射液 (testosterone propionate) 50mg/ml, 广州明兴制药厂生产; 甲基睾酮素片

收稿日期: 1999-01-04; 修回日期: 1999-05-24

基金项目: 国家自然科学基金重点基金支持项目

作者简介: 张甫英 (1941-), 男, 江苏无锡人, 副研究员, 专业方向: 发生生物学。

(methyltestosterone) 5mg/片, 天津力生制药厂生产。

### 1.3 浸泡液和药饵的配制

#### 1.3.1 浸泡液的配制

取 1 ml (50 mg) 丙酸睾丸素溶于 50 ml 的酒精中搅拌半小时, 母液浓度为 1 mg/1 ml 4℃ 保存。吸 1ml 丙酸睾丸素的母液加入 1L 的 Holtfreter 液 (或贮存水) 中, 试液在使用之前配制。

#### 1.3.2 甲基睾丸素药饵的配制

用配合饲料 (鱼粉 50%, 豆饼粉 25%, 面粉 25%) 配制成每克饲料含有 20 ~ 200 $\mu$ g 的 MT 药饵, 使 MT 的添加量随鱼的生长而逐渐增加 (20 ~ 200 $\mu$ g/g)。

### 1.4 处理方法

#### 1.4.1 浸泡试验

对异育银鲫胚胎发育的各个时期进行浸泡, 受精卵处理 14 天, 肌肉效应期 13 天, 心跳期 11 天, 摄食期 10 天。

#### 1.4.2 药饵试验

对 50 日龄的异育银鲫幼鱼投喂含 MT 的药饵 4 个月。开始时, MT 药饵的日投喂量为鱼体重的 7%, 随着幼鱼生长, 日投喂量逐步调整为鱼体重的 4%。

#### 1.4.3 组织学观察

为了进一步检验性转化的结果, 除了挤压 8 ~ 13 个月龄的鱼腹部获得精液, 在显微镜下观察精子活动, 还对性腺进行组织学观察和分析。性腺用 Bouin 氏液固定, 石蜡切片, H-E 染色。

## 2 结 果

### 2.1 浸泡试验

异育银鲫不同发育时期的胚胎, 经丙酸睾丸素溶液浸泡试验, 产生 11.0 ~ 13.6% 的雄性鱼和 10.5% ~ 27.3% 的兼性鱼。各组性转换率的详细结果见表 1。

### 2.2 药饵试验

从 50 日龄开始, 对异育银鲫幼鱼投喂含有甲基睾丸素的药饵, 连续投喂 4 个月。然后在常规条件下饲养 2 个月、4 个月和 7 个月, 诱导出 20% 以上的雄性鱼, 而且有部分转性鱼的两侧性腺出现明显大小的差异。详细检测结果见表 2。

### 2.3 组织学观察

饲养 8 ~ 11 个月的各组异育银鲫, 体长达 6.3 ~ 11.2 cm。其中经处理的转性鱼轻压其腹部, 可见精液流出, 镜检可见成熟精子活动 (图 1)。解剖发现这类“雄鱼”的性腺发育成较宽的精巢 (图 2), 精巢切片中可以看到精原细胞、初级和次级精母细胞, 以及大量的精细胞。

## 3 讨 论

对行雌核发育的异育银鲫使用药饵诱导性转化的研究, 仅有两篇报道, 并且均没有提供诱导出生理雄性个体的结果。陈本德用每克饲料中含有 50 $\mu$ g 和 100 $\mu$ g 甲基睾丸酮药饵喂养孵出 3 天后的异育银鲫鱼苗 30 天, 再饲养 2 个月, 得到了 4.2% 的中性不育

表 1 异育银鲫不同发育期的胚胎经丙酸睾丸素溶液浸泡后的性转换率

胚胎发育期	处理时间 (天)	胚胎(苗) 试验数	饲养日期	试验结束时 成活鱼数	性比 (%)		
					雄性	雌性	雌雄兼性
受精卵	14	116	96.04.09 ~ 10.07	33	12.1	60.6	27.3
肌肉效应期	13	189	96.04.11 ~ 12.06	59	13.6	62.7	23.7
心跳期	11	113	96.04.11 ~ 12.06	38	13.2	76.3	10.5
摄食期	10	212	96.04.11 ~ 12.06	82	11.0	76.8	12.2
对照	0	130	96.04.11 ~ 12.06	58	0	100	0

表 2 口服 MT 的异育银鲫性转换率

组别	试验日期	试验鱼数	试验结束时 成活鱼数	性比 (%)			雌性卵巢大小不一的比例 (%)
				雄性	雌性	雌雄兼性	
试验组	1) 1995.06.16 ~ 1995.12.15	60	28	21.4	78.6		50
	2) 1996.04.23 ~ 1996.12.10	136	88	20.5	79.5		
	3) 1997.06.25 ~ 1998.05.16	120	55	21.8	69.1	9.1	
对照组	1) 1995.06.16 ~ 1995.12.15	68	32	0	100		
	2) 1996.04.23 ~ 1996.12.10	130	58	0	100		
	3) 1997.06.25 ~ 1998.05.16	120	65	0	100		

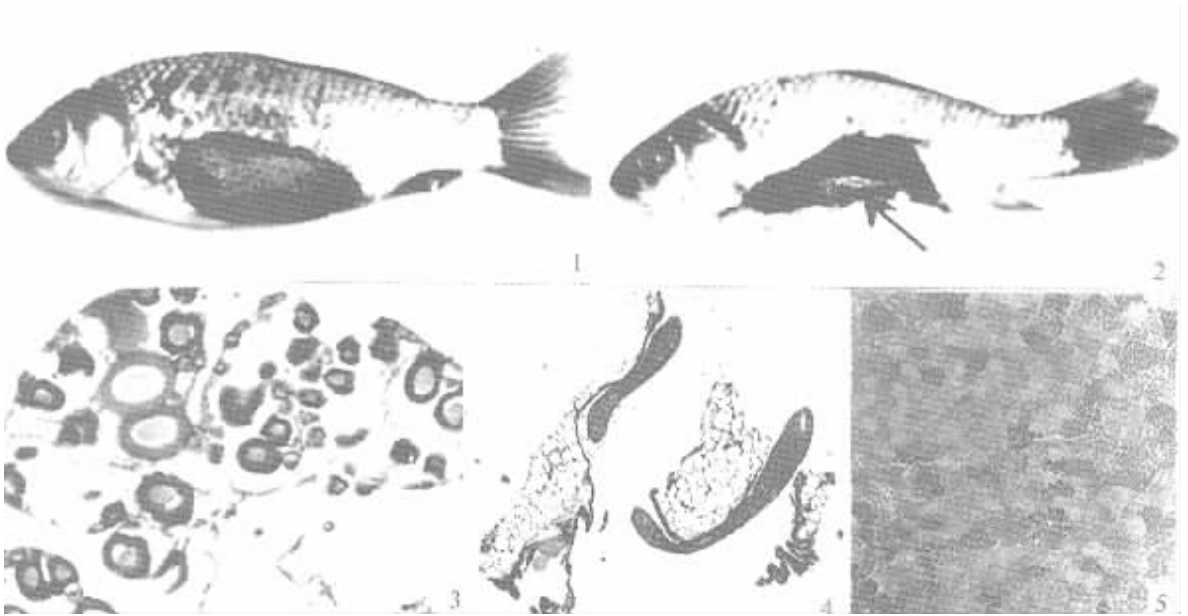


图1 正常的异育银鲫;2. 转性的异育银鲫(箭头所示精巢);3. 正常的异育银鲫的卵巢切片( $\times 135$ );  
4. 转性处理后两侧性腺的大小变化( $\times 55$ ) 5. 转性后异育银鲫精巢切片( $\times 270$ )。

鱼<sup>[7]</sup>。楼允东等用每克饲料中含有 $400\mu\text{g}$ 和 $800\mu\text{g}$   $17\alpha$ -甲基睾酮药饵喂养孵出3天后的异育银鲫鱼苗45天,再饲养1年,得到28.75%和26.35%的中性不育鱼<sup>[8]</sup>。就方法而论,两位作者都是对孵出3天的鱼苗投喂药饵进行诱导。至于鱼类的性腺分化何时开始,值得进一步研究。一方面,本研究用丙酸睾丸素溶液对异育银鲫的胚胎发育的不同时期,如受精初期、肌肉效应期、心跳期、摄食期等进行浸泡处理,让胚胎在浸泡液中发育和孵化,均诱导出雄性化鱼,而且各个时期的性诱导的雄性百分率在11.0%~13.6%之间,还产生10.5%~27.3%的兼性鱼。一些作者在孵化之后的第3天开始投喂雄激素药物,曾取得了二倍体雌鱼转换为雄性的结果。说明从胚胎分化至孵化出膜后一段时间是鱼类性腺分化的关键时期。另一方面,本研究还对50日龄行雌核发育的异育银鲫幼鱼投喂甲基睾丸素药饵,连续投喂4个月,亦得到很好的雄性化诱导效果,雄性转化率在20%以上。由此可见,作为低等脊椎动物的鱼类,性腺分化有一定可塑性。即使是50日龄的异育银鲫,卵巢已经相当发育,亦可以在理化因子作用下发生性逆转。必须指出,经雄激素处理后得到的“雄性鱼”仅是生理上的雄性,遗传上仍为雌性。转化的“雄性鱼”精巢发育较宽,镜检观察精子活跃。从精巢的切片中

可以看到不同发育期的精细胞。有部分实验鱼受雄性激素的诱导后成为雌雄同体的兼性鱼。还有一小部分实验鱼其两侧性腺出现明显的大小差异(图4)。总之,本研究成功地诱导出10%~20%的生理雄性异育银鲫,为探讨解决多代异育银鲫出膜鱼苗发育受阻的难题迈出了重要的一步。

#### 参考文献:

- [1] 蒋一,梁绍昌,陈本德,等.异源精子在银鲫雌核发育子代中的生物学效应[J].水生生物学集刊,1983,8(1):1~13.
- [2] 湖北省水产科学研究所,国家水产总局长江水产研究所.莫桑比克罗非鱼性反转实验研究(一)[J].淡水渔业,1978,2:18~25.
- [3] 邬国民,练慧英.应用甲基睾丸素诱导莫桑比州鲫雄性化的研究[J].遗传,1979,1(6):36~39.
- [4] Yamamoto T. Artificially induced sex-reversal in genotypic males of the medaka (*Oryzias latipes*) [J]. Exp Zool, 1953, 123: 571~594.
- [5] Guerrero R D. Use of androgens for the production of all male *Tilapia aurea* (Steindacher) [J]. Trans Amer Fish Soc, 1975, 104(2): 342.
- [6] 蒋一,俞豪祥,陈本德,等.鲫鱼的人工和天然雌核发育[J].水生生物学集刊,1982,7(4):29~37.
- [7] 陈本德.甲基睾丸酮诱导鲫鱼雌核发育子代性转化的研究[J].水产学报,1982,6(2):147~152.
- [8] 楼允东,宋天复,王逸妹,等.异育银鲫性别控制的研究[J].水产学报,1994,18(3):169~175.
- [9] Gmoelsky B, Cherfas N B, Peretz Y, et al. Hormonal sex inversion in the common carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. Aquaculture, 1994, 126: 265~270.