

甲基睾酮(MT)和加氢甲基睾酮(MDHT)浸泡法诱导尼罗罗非鱼仔鱼雄性化的对比研究*

陈兴汉^{1,2}, 李波¹, 叶卫³, 张勇²

(1. 阳江职业技术学院生命科学与技术系, 广东 阳江 529566;

2. 中山大学水生经济动物研究所, 广东 广州 510275;

3. 番禺国家级罗非鱼良种场, 广东 广州 511453)

摘要: 通过雄激素“浸泡法”诱导尼罗罗非鱼 *Oreochromis niloticus* 仔鱼雄性化的研究, 探索一种雄激素浸泡诱导尼罗罗非鱼仔鱼雄性化的技术方法。选用了可芳化的 MT (17α -methyltestosterone) 和不可芳化的 MDHT (17α -methyl-dihydrotestosterone) 两种雄激素进行对比试验。进行了处理时期 (1, 7, 13 DPH, Days Post Hatching), 激素剂量 (200, 600, 1 800, 5 400 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), 持续时间 (2, 4, 8 h) 3 个因素的简单比较法正交试验。结果如下: 当诱导 7 DPH 仔鱼、持续时间为 4 h 时, MT 剂量为 600 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时雄性率最高, 为 98.81%, 而剂量 1 800, 5 400 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时雄性率明显下降 ($P < 0.05$); MDHT 剂量为 600, 1 800 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 雄性率最高, 分别为 98.34% 和 98.39%, 剂量为 200, 5 400 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时雄性率没有明显下降 ($P > 0.05$)。当用 MT 诱导 7 DPH 仔鱼, 剂量为 600 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 持续时间为 4 h 的雄性率最高、而 8 h 的雄性率明显下降 ($P < 0.05$); 当用 MDHT 时, 3 种持续时间 (2, 4, 8 h) 的雄性率无明显差异 ($P > 0.05$)。总体来看, 应用 MT 和 MDHT 的雄性率都能达到生产应用需求, 但 MDHT 效果更稳定、表现出更好的应用潜力。

关键词: 尼罗罗非鱼; 雄性化; 浸泡法; 甲基睾酮; 加氢甲基睾酮

中图分类号: S96 文献标志码: A 文章编号: 0529-6579 (2014) 05-0106-06

The Comparative Study on Masculinization of Larvae Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) by Immersion in Androgen MT (17α -methyltestosterone) or MDHT (17α -methyl-dihydrotestosterone)

CHEN Xinghan^{1,2}, LI Bo¹, YE Wei³, ZHANG Yong²

(1. Life Science and Technology Department, Yangjiang Vocational and Technical College, Yangjiang 529566, China;

2. Institute of Aquatic Economic Animals, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;

3. Panyu State-level Tilapia Breeding Center, Guangzhou 511453, China)

Abstract: In this paper, we concentrated on masculinization of larvae Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) by immersion the larvae in androgens MT (17α -methyltestosterone) or MDHT (17α -methyl-dihydrotestosterone). The three factors were considered: treatment period (1, 7, 13 DPH, Days Post Hatching), hormone dose (200, 600, 1 800, 5 400 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$), and treatment duration (2, 4, 8 h). All these three factors were taken into account by simple comparison orthogonal experimental design. The main results are as follows: the 7 DPH larvae induced by MT at a dose of 600 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ with 4 h treatment duration is the best result of masculinization, male rate is 98.81%, while at a dose of 1 800 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ or 5 400 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, male rate greatly decreased ($P < 0.05$); 600 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ or 1 800 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ dose of

* 收稿日期: 2014-01-11

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30571425); 广东省教育科研“十二五”规划资助项目 (2012JK312)

作者简介: 陈兴汉 (1978 年生), 男; 研究方向: 水产经济动物繁育及分子生物学研究; 通讯作者: 张勇;

E-mail: lsszy@mail.sysu.edu.cn

MDHT present the best results of masculinization, male rate is 98.34% and 98.39% respectively, at a dose of $200 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ or $5400 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, male rate are not significantly decreased ($P > 0.05$). When 7 DPH larvae were induced by MT at a dose of $600 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 4 h is the best treatment duration, 8 h presents greatly decreased result ($P < 0.05$); When MDHT was used, three treatment durations (2, 4, 8 h) got consistent results ($P > 0.05$). The conclusion is that MT and MDHT can both achieve masculinization goals for application of production, but MDHT is more stable and show a better application value.

Key words: *Oreochromis niloticus*; masculinization; immersion; MT; MDHT

罗非鱼属于鲈形目 (Perciformes)、丽鱼科 (Cichidae)、罗非鱼属 (*Oreochromis*), 具有肉质好、生长快、抗逆性强、养殖成本低以及加工出肉率高等优点, 养殖区域已遍布世界 70 多个国家和地区。近年来我国罗非鱼产量和出口量一直稳居世界第 1 位^[1], 罗非鱼是我国主要的产业化养殖和世界大宗贸易对象^[2]。但制约罗非鱼产业化养殖推广最突出的问题是繁殖泛滥, 其性成熟早, 一年可繁殖好几代, 大大降低了商品鱼的规格, 严重浪费养殖资源, 而且造成品种混杂, 对生态安全有较大威胁^[3]。罗非鱼是雄性优势生长种类, 雄鱼比雌鱼生长快 40% ~ 50%^[4], 因此, 以单雄性的方式进行推广养殖是稳定高产的前提, 其关键技术是“通过性别控制手段以获得雄性化鱼苗”, 生产上最常用的是通过雄激素定向诱导。

用激素控制鱼类的性别, 在美国、日本、菲律宾、以色列以及我国台湾等国家和地区进行了广泛研究。到目前为止, 至少有 31 种激素在 50 种鱼类中成功进行定向诱导或诱导性逆转, 其中有大约 16 种雄激素, 成功进行雄性化诱导的鱼类有 35 种^[5], 应用最广泛的是甲基睾酮 (MT), 但 MT 的诱导效果不稳定, 主要是因为 MT 是可芳香化的^[6-7], 少量的 MT 不能起到明显提高雄性率的效果, 过量反而会使雄性率下降或导致不育^[8]。而加氢甲基睾酮 (MDHT) 的诱导效果比 MT 更稳定, Piferrer^[6]、Gale^[9] 和 Wassermann^[10] 等学者对尼罗罗非鱼的研究结果都证明了这一点。MDHT 是不可芳香化的^[6,9], 在鱼体内不会被芳香化酶催化变成雌激素而导致雌性增多, 在高 MDHT 剂量处理时, 尚未见导致不育的报道。

在处理方式上, 目前应用“投喂法”诱导雄性化最为常见, 至少已在青鳞、金鱼、鲤、花鲢、斑马鱼、虹鳟、大西洋鲑、大麻哈鱼、罗非鱼等雌雄异体鱼类中获得成功^[11]。有学者研究发现: 在鱼苗性分化前投喂一段时间的 MT 都能诱导罗非鱼雄性化^[12-14]。投喂法虽有效, 但长时间大量使用激素会导致环境污染, 极少量残留也会危害人体健

康^[15-16]。有关“浸泡法”诱导雄性化的研究, 国内只有少量浸泡催产或排卵的报道^[17-18]、尚未见“浸泡法”诱导雄性化的报道, 国外有少量研究报道^[9-10,19]。“浸泡法”是在仔鱼发育的特定时期, 在专门的容器里进行短时间的集中处理, 此法所用激素剂量小, 避免了对养殖水体的污染。本研究旨在探索一种简易、稳定又环保的雄激素“浸泡法”诱导尼罗罗非鱼仔鱼雄性化, 为生产实践提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验用鱼 尼罗罗非鱼仔鱼取样于广东省国家级罗非鱼良种场 (番禺)。选取健壮、无病, 卵颗粒大、发亮, 卵粒偏黄, 鱼体色发红的雌鱼作为母本; 同时选择健壮, 无病, 可以挤出白色精液的雄鱼作为父本。雌雄 (1:1) 饲养于 $4 \text{ m} \times 1.5 \text{ m} \times 1.2 \text{ m}$ (长 × 宽 × 深) 水泥池。投喂普通罗非鱼成鱼饲料, 保持微流水。雌鱼自行产卵孵化。在仔鱼孵出前 1 ~ 2 d, 把卵从亲鱼口腔中取出, 在孵化装置中孵化。待仔鱼全部孵出后, 饲养于规格为 $40 \text{ cm} \times 25 \text{ cm} \times 25 \text{ cm}$ (长 × 宽 × 高) 的白色塑料箱中。按孵出后天数 (DPH, Days Post Hatching) 计, 分别于 1 DPH (出膜第 1 天)、7 DPH (卵黄囊消失) 和 13 DPH 时再分组进行试验, 每组 100 尾鱼。所有的鱼池、用品都做常规消毒。

1.1.2 药品和试剂 MT 购自 Sigama (USA) 公司, MDHT 为 MD (USA) 公司产品。计算出一次实验所需 MT 或 MDHT 的总剂量, 然后称取盛放于一棕色玻璃瓶中 (体积约 15 mL), 再加入分析纯酒精 ($\varphi = 99\%$) 溶解, 使保存剂量为 $c = 10 \mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, 充分振荡溶解后放入 $4 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱保存, 实验时再取用。雌雄性腺鉴别时采用铁醋酸洋红和结晶紫染色。

1.2 实验方法

1.2.1 实验设计 MT 和 MDHT 试验设计采用简单比较法正交试验^[20], 略作修正。处理时期 (Treatment period) 分别为 1, 7, 13 DPH, 激素剂

量 (Hormone dose) 分别为 200, 600, 1 800, 5 400 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 持续时间 (Treatment duration) 分别为 2, 4, 8 h。每个处理组设两个平行, 另设两个自然对照组 (Ctr)。激素浸泡处理时, 把仔鱼分装于约 5 L 的玻璃缸后, 向每个缸里放一个充气石, 保证缸里供氧充足及激素混合均匀。准备开始进行激素浸泡处理时, 用加样枪吸取所需体积的 MT 或 MDHT 溶液 (保存剂量为 10 $\mu\text{g} \cdot \mu\text{L}^{-1}$) 加入玻璃缸, 以所需体积最大的那个缸为基准, 向其它缸里加入相应分析纯酒精 ($\varphi = 99\%$), 以补充酒精体积差值, 消除由于水体酒精剂量不同而带来的误差。处理持续时间结束时, 把仔鱼捞出, 在清水里洗两遍, 然后转到规格为 50 cm \times 50 cm \times 50 cm 的网箱中。网箱悬挂于水泥池中, 保持微流水, 每天清洗网箱一次, 每天投喂鳗鱼饲料 3 次。饲养至 60 DPH, 存活的鱼全部进行性别检测。

1.2.2 性别检测 待鱼饲养至 60 DPH 时, 通过性腺压片分辨雌雄, 人工解剖取性腺, 解剖前向鱼体腔注射约 1 mL 的 $\varphi = 5\%$ 醋酸溶液, 使性腺变

$$t = \frac{x_1/n_1 - x_2/n_2}{\text{SQRT}\{(x_1 + x_2)/(n_1 + n_2) \times [1 - (x_1 + x_2)/(n_1 + n_2)] \times (1/n_1 + 1/n_2)\}} \quad (1)$$

(1) 式中, x_1 为第一样本中某事件发生的次数, x_2 为第二样本中某事件发生的次数, n_1 为第一个样本含量, n_2 为第二个样本含量, SQRT 表示返回数值的算术平方根。

2 结果

2.1 MT 与 MDHT 浸泡诱导 1 DPH 仔鱼的雄性率

由图 1 可知: 处理时期为 1 DPH, 持续时间为 4 h 时, 不同 MT、MDHT 剂量组 (200, 600, 1 800, 5 400 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 的雄性率和对照组 (Ctr) 比较没有显著差异 ($P > 0.05$), 各组间两两比较也没有显著差异 ($P > 0.05$)。

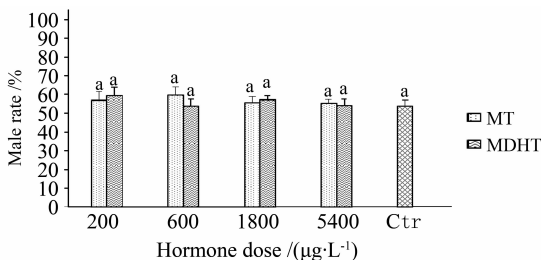


图 1 处理时期为 1 DPH, 持续时间为 4 h 时, 不同 MT、MDHT 剂量组的雄性率

Fig. 1 The male rate at different MT or MDHT dose at the disposal method of 1 DPH and 4 h

白, 以利于取出性腺。性腺取出后, 滴少许铁醋酸洋红进行染色, 压片后在 ZEISS 显微镜下观察判断雌雄。雌鱼性腺表面可见清晰卵粒, 雄鱼性腺表面无清晰细胞间隔。如压片不能清楚分辨雌雄时, 揭开盖玻片, 滴少许结晶紫溶液, 见到明显卵细胞的为雌性, 无卵细胞样的则为雄性。

1.3 数据分析

采用 Excel2003 进行数据整理, 并运用 SPSS18.0 版本进行差异显著性分析。用卡方 (χ^2) 检验^[20-21] 比较各组的雄性率的差异, 进行多重比较时, 为了降低 I 类误差, 采用 Bonferroni 校正法对显著性水平进行校正, 校正的显著性水平 $\alpha' = \alpha / \text{比较次数}$ ^[3]。

为了解 MT、MDHT 诱导 7 DPH 与 13 DPH 仔鱼雄性率的差异, 需对 7 DPH 与 13 DPH 雄性率最高的组进行两个百分数样本差异显著性 t 检验^[22], 在 Excel 2003 里编辑公式 (1), 根据公式 (1) 求得 t 值, 然后查 t 分布表, 以比较差异的显著性。

MDHT 剂量为 600 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 不同持续时间组 (2, 4, 8 h) 的雄性率和对照组比较没有显著差异 ($P > 0.05$), 各组间两两比较也没有显著差异 ($P > 0.05$)。这说明用 MT 或 MDHT 浸泡诱导 1 DPH 的仔鱼时, 激素剂量为 200, 600, 1 800 或 5 400 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 持续时间为 2, 4 或 8 h, 都不能显著提高雄性率。

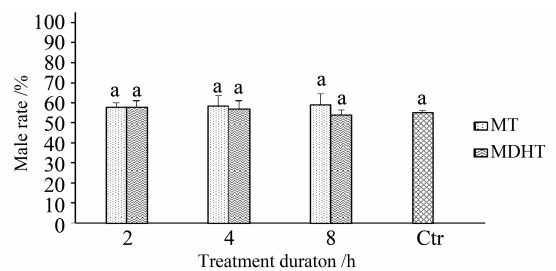


图 2 处理时期为 1 DPH, MT、MDHT 剂量为 600 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 不同持续时间组的雄性率

Fig. 2 The male rate at different treatment duration at the disposal method of 1 DPH and 600 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MT or MDHT

2.2 MT 与 MDHT 浸泡诱导 7 DPH 仔鱼的雄性率

由图 3 可知: 处理时期为 7 DPH, 持续时间为 4 h 时, 不同 MT、MDHT 剂量组 (200, 600, 1 800, 5 400 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 的雄性率都显著高于对照组 ($P < 0.05$), MT (1 800, 5 400 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 两组

由图 2 可知: 处理时期为 1 DPH, MT 或

的雄性率显著低于 MT ($600 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)、MDHT ($600, 1800 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 三组 ($P < 0.05$), MDHT 各剂量组 ($200, 600, 1800, 5400 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 两两比较无显著差异 ($P > 0.05$)。这表明当 MT 诱导 7 DPH 仔鱼的剂量为 $600 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时雄性率最高, 而剂量为 $1800, 5400 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时雄性率明显下降; MDHT 的剂量为 $600, 1800 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时雄性率最高, 同时剂量为 $200, 5400 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时雄性率没有明显下降。

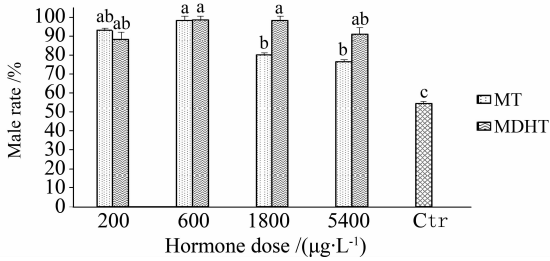


图3 处理时期为 7 DPH, 持续时间为 4 h 时, 不同 MT、MDHT 剂量组的雄性率

Fig. 3 The male rate at different MT or MDHT dose at the disposal method of 7 DPH and 4 h

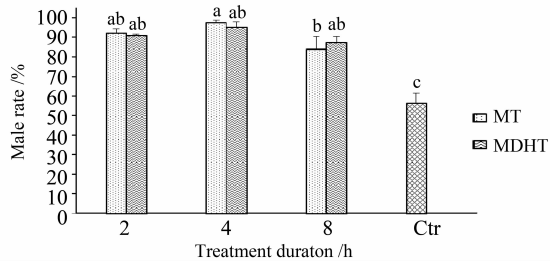


图4 处理时期为 7 DPH, MT、MDHT 剂量为 $600 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 不同持续时间组的雄性率

Fig. 4 The male rate at different treatment duration at the disposal method of 7 DPH and $600 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MT or MDHT

由图 4 可知: 处理时期为 7 DPH, MT 或 MDHT 剂量为 $600 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 不同持续时间组 (2, 4, 8 h) 的雄性率都显著高于对照组 ($P < 0.05$), MT (8 h) 组的雄性率显著低于 MT (4 h) 组的雄性率 ($P < 0.05$), MDHT 各持续时间组 (2, 4, 8 h) 两两比较无显著差异 ($P > 0.05$)。这表明当用 MT 诱导 7 DPH 仔鱼时, 持续时间为 4 h 效果最好、而 8 h 的雄性率降低; 当用 MDHT 时, 3 个持续时间组 (2, 4, 8 h) 的雄性率无显著差异。

2.3 MT 与 MDHT 浸泡诱导 13 DPH 仔鱼的雄性率

由图 5 可知: 处理时期为 13 DPH, 持续时间为 4 h 时, MT ($200, 600, 1800 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 及

MDHT ($200, 600 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 这 5 组的雄性率显著高于对照组 ($P < 0.05$), MT ($200 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 MDHT ($200 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 2 组雄性率最高、分别为 87.62% 和 82.31%。MT ($5400 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)、MDHT ($1800, 5400 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 这 3 组的雄性率和对照组比较无显著差异 ($P > 0.05$), MT ($5400 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 组的雄性率显著低于 MT ($200; 600 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 和 MDHT ($200 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 3 组 ($P < 0.05$), MDHT 各剂量组 ($200, 600, 1800, 5400 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 两两比较无显著差异 ($P > 0.05$)。

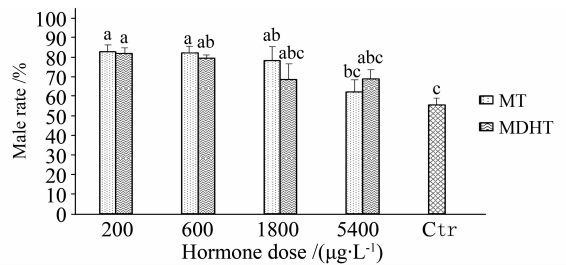


图5 处理时期为 13 DPH, 持续时间为 4 h 时, 不同 MT、MDHT 剂量组的雄性率

Fig. 5 The male rate at different MT or MDHT dose at the disposal method of 7 DPH and 4 h

由图 6 可知: 处理时期为 13 DPH, MT 或 MDHT 剂量为 $200 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, MT (2, 4 h) 和 MDHT (2, 4 h) 这 4 组的雄性率显著高于对照组 ($P < 0.05$), MT (8 h) 组的雄性率显著低于 MT (4 h) 组 ($P < 0.05$), 与 MT (2 h) 组无显著差异 ($P > 0.05$), MDHT 各持续时间组 (2, 4, 8 h) 两两比较无显著差异 ($P > 0.05$)。

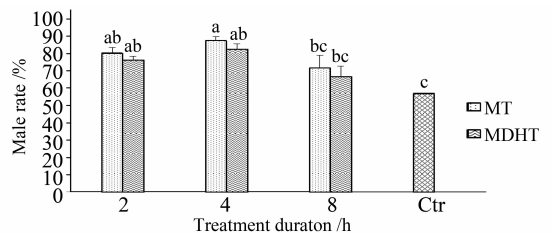


图6 处理时期为 13 DPH, MT、MDHT 剂量为 $200 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 不同持续时间组的雄性率

Fig. 6 The male rate at different treatment duration at the disposal method of 13 DPH and $200 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ MT or MDHT

2.4 MT 与 MDHT 浸泡诱导 7 DPH 与 13 DPH 仔鱼最高雄性率的 t 检验

结合图 3 - 6 可知, MT、MDHT 浸泡诱导 7 DPH 与 13 DPH 仔鱼雄性率最高的处理组合

(DPH-h- $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 分别为: MDHT (7-4-600)、MT (7-4-600)、MT (13-4-200) 和 MDHT (13-4-200) 这 4 组, 雄性率分别为 98.81%、98.34%、87.62% 和 82.31%。这 4 组分别进行了 2 个百分数样本差异显著性 t 检验 (见图 7)。结果为: MDHT (7-4-600)、MT (7-4-600) 这 2 组的雄性率显著高于 MT (13-4-200)、MDHT (13-4-200) 这 2 组 ($P < 0.05$), MDHT (7-4-600) 与 MT (7-4-600) 两组间无显著差异 ($P > 0.05$), MT (13-4-200) 与 MDHT (13-4-200) 两组间也无显著差异 ($P > 0.05$)。这证明 MT、MDHT 浸泡诱导 7 DPH 仔鱼的雄性率要显著高于诱导 13 DPH 仔鱼的雄性率。

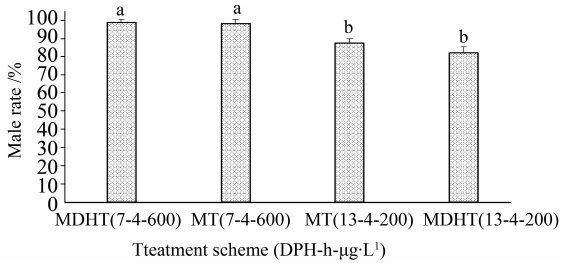


图 7 MT 与 MDHT 诱导 7 DPH 与 13 DPH 仔鱼最高雄性率的 t 检验

Fig. 7 The t test for the highest male rate when MT or MDHT induced 7 DPH or 13 DPH larvae

3 讨论

3.1 激素敏感期

激素敏感期 (Hormone sensitive period) 是指动物胚胎发育的某一特定阶段, 在该阶段内激素能对性别决定起主导作用^[23-24]。如要使用激素实现性别的定向诱导, 首先要确定激素敏感期。从本文的结果看, MT、MDHT 诱导 7 DPH 尼罗罗非鱼仔鱼的雄性率最高分别为 98.81% 和 98.34%。Gale 等^[9]用 MT 和 MDHT 分别浸泡处理了尼罗罗非鱼, 处理剂量为 $500 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、处理时期为 13 DPF (Days post fertilization, 受精后 13 d, 相当于 7 DPH)、持续时间为 3 h, 雄性率分别达 87% 和 94%; Wassermann 和 Afonso^[10]也用 MT 和 MDHT 浸泡处理了尼罗罗非鱼, 处理剂量为 $1800 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 、处理时期为 14 DPF (相当于 7~8 DPH)、持续时间为 4 h, 雄性率分别达 91.6% 和 100%。另外, 我们的研究结果通过 t 检验证明, 13 DPH 仔鱼也具有激素敏感性, 只是不如 7 DPH 仔鱼激素敏感性高。以上结果表明: 尼罗罗非鱼仔鱼的激素

敏感期应为包括 7 DPH 在内的一个“时段”。此时生殖脊开始出现、原始性腺尚未形成^[25], 推测这个“时段”应该在生殖脊开始出现到原始性腺形成之前, 此时性腺发育具有较强的两性分化可塑性^[26]。但具体确定这个“时段”还有待进一步研究。

3.2 MT 与 MDHT 的诱导效果对比

本文结果发现: MT 诱导 7 DPH 仔鱼的剂量为 $600 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 雄性率最高 (98.81%); MDHT 的剂量为 600, $1800 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 雄性率最高 (分别为 98.34%、98.39%)。当用 MT 诱导 7 DPH 仔鱼时, 持续时间为 4 h 雄性率最高; 当用 MDHT 时, 3 种持续时间组 (2, 4, 8 h) 的雄性率都较高。Gale 等^[9]所采用的 MT 和 MDHT 处理剂量为 $500 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 持续时间为 3 h, 雄性率分别为 87% 和 94%。相比较而言, 本试验的雄性率更高, 这可能是 Gale 等所采用剂量 $500 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和持续时间 3 h 与本研究的 $600 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 4 h 有所差异引起的。Wassermann 和 Afonso^[10]所采用的 MT 和 MDHT 处理剂量为 $1800 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 持续时间为 4 h, 雄性率分别为 91.6% 和 100%。这和本文结果相符。

本试验研究还发现: MT 诱导 7 DPH 仔鱼的剂量为 $1800 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $5400 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时, 雄性率相比 $200 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 和 $600 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 而言明显下降 ($P < 0.05$); 而 MDHT 各剂量组 ($200, 600, 1800, 5400 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 的雄性率无显著差异 ($P > 0.05$)。当用 MT 诱导 7 DPH 仔鱼时, 持续时间为 4 h 效果最好、而 8 h 的效果有所下降; 当用 MDHT 时, 3 种持续时间组 (2, 4, 8 h) 的雄性率无显著差异 ($P > 0.05$)。这些现象可能与 MT 可芳香化^[6-7]有关, 当 MT 剂量较高 ($1800, 5400 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 或持续时间较长 (8 h) 时, 过量的 MT 在芳香化酶的催化下产生雌二醇 (E_2)^[27], 从而导致雄性率相对降低。MDHT 是不可芳香化的^[6,9], 相对于可芳香化的 MT 而言, MDHT 剂量较高 ($1800, 5400 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 和持续时间较长 (8 h) 时, 雄性率并无显著降低, 且 MDHT 剂量较低 ($200 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$) 和持续时间较短 (2 h) 时, 雄性率也无显著降低。因此, 总体而言 MDHT 浸泡诱导雄性化的稳定性较 MT 好, MDHT 表现出更好的应用潜力。

3.3 “浸泡法”的应用前景

本文结果表明, 运用 MT 和 MDHT 浸泡诱导尼罗罗非鱼仔鱼雄性化的雄性率最高分别可达 98.81% 和 98.39%, 雄性率能够达到生产应用需求。尤其是 MDHT 表现出更好的应用潜力。诱导

雄性化不光在生产上应用, 在科研中也有着巨大的应用价值, 性反转鱼在性别决定机制、染色体组学和三系配套技术^[28-29]等研究中早有应用, 通过“浸泡法”得到的“转化系”的鱼, 必将为这些基础理论的研究提供新的研究题材。

传统的激素诱导处理方式有投喂法、注射法和埋植法。投喂法最为常见, 使用时先把激素溶解在酒精中, 然后拌入饲料中投喂, 此法虽有效, 但在鱼的消化过程中激素的效应会降低, 而且投喂法耗时长、激素用量大, 会导致环境污染, 极少量残留也会危害人体健康^[15-16]; 注射法和埋植法费时费力, 一般只在科研中有应用价值, 而且不能应用于胚胎或仔鱼, 这也限制了其推广使用; “浸泡法”是一门新兴的技术, 已在大马哈鱼中成功应用^[6,30], 其方法简便易行, 一般在专门的容器或装置进行短时间的集中处理, 由于浸泡激素呈全面均匀分散进入鱼体皮下组织内, 机体组织吸收效果好, 此法所用激素剂量小, 避免了对养殖水体的污染, 这对保护生态环境有着较为重要的意义。

参考文献:

[1] 王斌. 中国罗非鱼出口贸易国际竞争力研究[D]. 无锡: 江南大学, 2011.

[2] 李思发. 我国罗非鱼养殖业世纪展望[J]. 中国水产, 2000(1): 15-20.

[3] 陈兴汉, 刘晓春, 蒙子宁, 等. 温度调控诱导尼罗罗非鱼仔鱼雄性化的研究[J]. 中山大学学报: 自然科学版, 2013, 52(1): 94-99.

[4] 夏德全. 中国罗非鱼养殖现状及发展前景[J]. 科学养鱼, 2000(5): 1-2.

[5] PANDIAN T J, SHEELA S G. Hormonal induction of sexreversal in fish [J]. Aquaculture, 1995, 138(1): 1-22.

[6] PIFERRER F, BAKER I J, DONALDSON E M. Effects of natural, synthetic, aromatizable, and nonaromatizable androgens in infucing male sex differentiation in genotypic female Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) [J]. J Exp Zool, 1993, 91(1): 59-65.

[7] 李广丽, 刘晓春, 林浩然. 17 α -甲基睾酮对赤点石斑鱼性逆转的影响[J]. 水产学报, 2006, 30(2): 145-150.

[8] PIFERRER F, CARRILLO M, ZANUY S, et al. Induction of sterility in coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) by androgen immersion before first feeding [J]. Aquaculture, 1994, 119(4): 409-423.

[9] GALE W L, FITZPATRICK M S, LRCERO M, et al. Masculinization of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) by immersion in androgens [J]. Aquaculture, 1999, 178(3): 349-357.

[10] WASSERMANN G J, AFONSO L O B. Sex reversal in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.) by androgen immersion[J]. Aqua Res, 2003, 34(1): 65-71.

[11] 杜长斌. 我国鱼类性别控制研究进展[J]. 水产学杂志, 2000, 13(1): 74-80.

[12] 邬国民, 练慧英. 应用甲基睾酮诱导莫桑非洲鲫雌性化的研究[J]. 遗传, 1979, 1(6): 36-39.

[13] 钱晖, 杨文. 激素诱导罗非鱼雄性化的试验研究[J]. 淡水渔业, 1993, 23(4): 41-42.

[14] 李家乐, 李思发, 韩风进. 甲基睾酮诱导吉富品系尼罗非鲫雄性化的研究[J]. 水产学报, 1997, 21(12): 107-110.

[15] 穆迎春, 马兵, 宋怿, 等. 甲基睾酮对水产品质量安全和人体的影响[J]. 海洋与渔业, 2008(8): 16.

[16] OKAZAKI K, IMAZAWA T, NAKAMURA H, et al. A repeated 28-day oral dose toxicity study of 17 α -methyl testosterone in rats, based on the 'Enhanced OECD Test Guideline 407' for screening the endocrine-disrupting chemical [J]. Arch Toxicol, 2002, 75(10): 635-642.

[17] 于福才, 马丽. K⁺ 和 Li⁺ 浸泡刺激海胆的排卵反应[J]. 海洋学报, 1991, 13(6): 843-848.

[18] 胡廷尖, 王雨辰, 陈丰刚, 等. 泥鳅激素浸泡催产试验的研究[J]. 中国农学通报, 2012, 28(8): 82-86.

[19] VARADARAJ K, PANDIAN T J. Masculinization of *Oreochromis mossambicus* by administration of 17 α -methyl-5-androsten-3 β -diol through rearing water [J]. Cur Sci, 1987, 56(9): 412-413.

[20] 童一中. 生物统计法[M]. 长沙: 湖南科技出版社, 1986: 450-478.

[21] 李春善, 王志和, 王文林, 等. 生物统计学[M]. 2版. 北京: 科技出版社, 2000: 71-80.

[22] 吴仲贤. 生物统计[M]. 北京: 北京农业大学出版社, 1993: 114-119.

[23] RAYNAUD A, PIEAU C. Embryonic development of the genital system [M]. // GANS C, BILLET F. Biology of the Reptilia. Vol 15. New York: John Wiley, 1985: 149-300.

[24] 焦保卫, 王德寿, 邓思平, 等. 爬行动物温度依赖性性别决定研究进展[J]. 动物学杂志, 2002, 37(4): 74-78.

[25] 陈兴汉, 刘晓春, 蒙子宁, 等. 尼罗罗非鱼仔鱼个体发育及性腺分化发育的研究[J]. 热带生物学报, 2012, 3(3): 197-203.

[26] 刘筠, 刘国安, 陈淑群, 等. 尼罗罗非鱼性腺发育的研究[J]. 水生生物学集刊, 1983, 8(1): 17-32.

[27] LEE S T L, WLME D E, CHAO T M, et al. In vitro metabolism of testosterone by gonads of grouper (*Epinephelus tauvina*) before and after sex inversion with 17 α -methyltestosterone [J]. Gen Comp Endocrinol, 1995, 99(1): 41-49.

[28] 杨永铨. 莫桑比克罗非鱼性别生理遗传控制的初步研究. 遗传学报[J]. 1979, 6(3): 305-310.

[29] 杨永铨, 张中英, 林克宏. 应用三系配套途径产生遗传上全雄莫桑比克罗非鱼[J]. 遗传学报, 1980, 7(3): 241-246.

[30] BAKER I J, SOLAR I I, DONALDSON E M. Masculinization of Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) by immersion treatments using 17 α -Methyltestosterone around the time of hatching [J]. Aquaculture, 1988, 72(3): 359-367.