

黄颡鱼性腺分化及温度对性别分化的影响

游 鑫^{1,2} 邓 闵^{1,2} 刘全圣¹ 覃 雅¹ 何绪刚^{1,2}

1. 华中农业大学水产学院, 武汉 430070; 2. 淡水水产健康养殖湖北省协同创新中心, 武汉 430070

摘要 采用组织切片法研究黄颡鱼的性腺分化并观察温度对性别分化的影响。结果发现, (27±1)℃(中温组)条件下, 15 日龄(全长(13.99±0.24) mm)黄颡鱼性腺开始分化, 具有裂隙(即卵巢腔)的原始性腺未来发育为卵巢, 而不具裂隙的原始性腺未来发育为精巢; 精小叶和输精管最早出现于 60 日龄(全长(47.58±1.74) mm), 雌性生殖细胞的发育及分化显著早于雄性。(32±1)℃条件下(高温组)仔鱼性腺分化比中温组早 5~10 d, (22±1)℃(低温组)仔鱼发育缓慢, 性腺分化比中温组晚 25~30 d。中温组和低温组幼鱼雌雄比接近 1:1 (分别为 1:0.96 和 1:1.17); 高温组幼鱼雌雄比例为 1:2.09, 雄性率为(67.70±0.54)%。高温条件((32±1)℃)使性腺发育趋向雄性。

关键词 黄颡鱼; 性腺分化; 温度; 性比

中图分类号 Q 959.499 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2016)01-0106-08

性腺发生与分化是鱼类发育过程中的重要环节。性腺分化是指原始性腺组织通过一连串复杂的系统化分化, 最终发育成雌性或雄性性腺, 同时伴随副性征发生的过程^[1]。鱼类作为低等脊椎动物, 其胚胎发育所处环境的易变性^[2], 造成了性别分化的多样性和不稳定性^[3]。鱼类性别分化除受遗传基因的内在影响之外, 还受到各种环境因子的影响^[4], 鱼类性别决定机制因此变得更为复杂。环境因子中的光周期^[4]、温度^[5-6]、pH^[7]、盐度^[8]以及种群内部因子^[9-10]等都能影响鱼类性别分化, 其中温度是最受关注的一个环境因子。最早在海龟和鳄鱼中发现温度是影响其性腺分化的重要环境因子, 随后在蛙类等两栖类动物研究中也发现了类似现象^[11]。大量研究表明, 温度在鱼类性别分化中也起到了关键作用。目前, 温度影响鱼类性别分化的类型可归为 3 类^[12]: ①高温雄性较多, 低温雌性较多, 如大西洋月银汉鱼(*Menidia menidia*)^[13]、丽鲷科(Apistogramma)^[14]等; ②高温雌性较多, 低温雄性较多, 如尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[15]、斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)^[16]、红大马哈鱼(*Oncorhynchus nerka*)^[17]等; ③极端温度(高温或者低温)雄性较多, 如牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)^[18]等。

黄颡鱼(*Pseudobagrus fulvidraco* Richardson)

是我国重要的经济鱼类, 肉质细嫩, 营养丰富, 味道鲜美, 无肌间刺, 深受消费者喜爱。由于黄颡鱼雄性生长速度显著快于雌性, 且个体更大(最大能达到雌性个体的 3 倍), 市场对雄性苗种需求骤增, 黄颡鱼性别分化及其影响因子等问题也成为当下研究热点之一。笔者采用组织学方法, 分析不同温度条件下黄颡鱼性腺分化特征与规律, 旨在为丰富鱼类性腺分化及其影响因素等提供科学资料, 并为黄颡鱼单性调控技术的研发提供一定的参考。

置于低温(22 ± 1)℃、中温(27 ± 1)℃及高温(32 ± 1)℃水族缸中进行孵化,出苗后继续在相同温度下饲喂。孵化及饲喂均在自动增氧、自动控温(斑马鱼水槽控制系统,海圣-2012 b-a-b5,加热功率 7 000 W,降温压缩机 AW113TT-004-A4,控温范围 $10 \sim 35$ ℃)水族系统中完成。每日早晚各测量、记录水温 1 次。待仔鱼卵黄囊消失时投喂人工孵化卤虫,15 日龄开始投喂微粒配合饲料(主要成分:粗蛋白 $\geq 50\%$,粗脂肪 $\leq 8\%$,粗纤维 $\leq 3\%$,粗灰分 $\leq 16.5\%$,水份 $\leq 16.5\%$, $\Phi 480 \sim 750 \mu\text{m}$,山东升索渔用饲料研究中心生产),30 日龄开始投喂黄颡鱼配合饲料(主要成分:粗蛋白 $\geq 40\%$,粗脂肪 $\geq 5\%$,粗纤维 $\leq 10\%$,粗灰分 $\leq 12.0\%$,水份 $\leq 12.9\%$, $\Phi 800 \sim 1\,500 \mu\text{m}$,湖南清源饲料科技有限公司生产),65 日龄开始投喂大号饲料(湖南清源饲料科技有限公司生产)。每天换水 10%并吸出残饵和粪便以保证良好水质。

1.2 试验设计

受精卵孵化出苗时从每个温度组随机分出 240 尾仔鱼分成 3 个重复,每个重复 80 尾置于 300 L 的相同温度水族缸中饲养,至试验结束时作为性比统计材料;每个温度组从孵化的鱼苗中再随机分出 160 尾仔鱼养殖于 600 L 的相同温度水族缸中,用于性腺发育组织切片采样。控温时间为 $1 \sim 60$ 日龄,60 日龄后各温度组恢复到自然水温($25 \sim 28$ ℃)培育至 4 月龄。

1.3 性比统计

至试验结束时,统计各实验水族缸幼鱼成活数量,解剖全部试验鱼、统计雌雄鱼数量及性比,计算平均成活率、平均性比和雄性率,对 3 个温度组之间的雄性率、成活率使用 SAS9.3 软件包进行单因子方差分析(ANOVA)及多重比较(Duncan's), $P < 0.05$ 为差异显著水平。

1.4 取样及组织学制片

5 日龄开始至 10 日龄,每隔 2 d 采样 1 次,10~60 日龄每隔 5 d 采样 1 次,95 日龄采样 1 次,每次从各温度组 160 尾/600 L 养殖缸取 10 尾。采用鱼定安(MS-222)麻醉后称量体质量(精确至 0.01 g)和全长(精确至 0.01 mm),并用 Bouin's 液固定 24 h 后用 70%乙醇保存。其中全长小于 30.00 mm 的全鱼固定,全长超过 30.00 mm 的去掉头部和尾部后固定,全长超过 90.00 mm 的解剖后取性腺固定。样品通过梯度乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡包

埋,连续切片(切片厚度 $6 \sim 8 \mu\text{m}$),HE 染色,中性树胶封片后用 Nikon 显微镜观察并拍照记录。通过组织学观察判断不同温度组黄颡鱼性腺的形成与分化,并测量各期生殖细胞,每期测量 10 个以上。

2 结果与分析

2.1 性腺的发生和分化

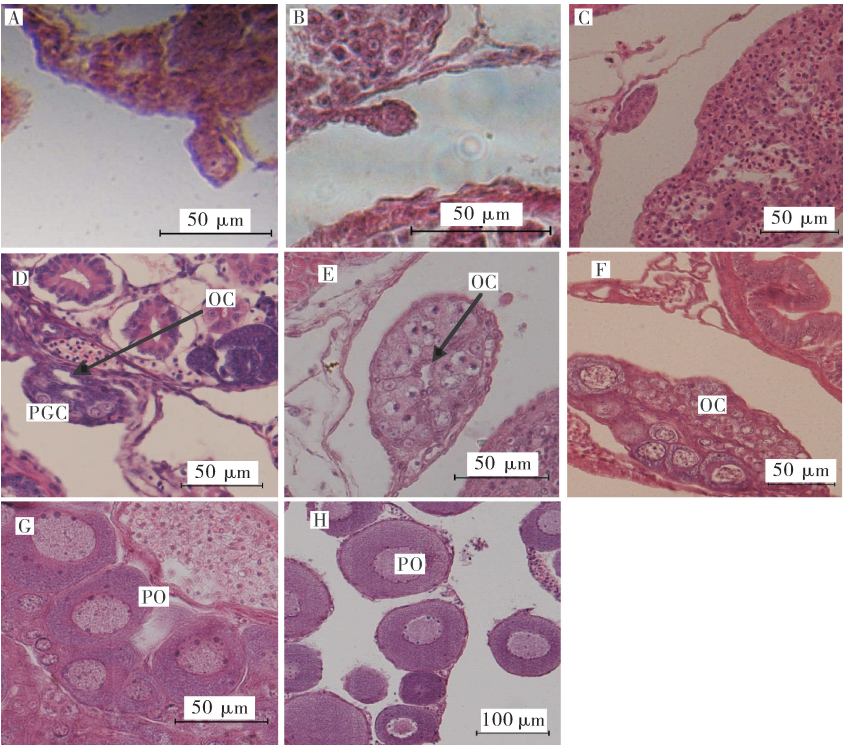
组织切片观察结果显示,不同温度组黄颡鱼性腺细胞的形态及组织结构变化过程相似,仅在发育进程上有所差异。黄颡鱼性腺发育时序为先出现卵巢、后出现精巢。本文以中温组(27 ± 1)℃仔鱼性腺发育为例,描述黄颡鱼性腺发生和分化特征。

1)原始性腺。5 日龄(全长(10.07 ± 0.59)mm),原始生殖细胞(primitive germ cell,PGC)已经迁入生殖嵴中,标志着原始性腺(primary gonad,PG)(图 1A)形成。原始性腺呈椭圆形,悬挂于肾管与肠道间隙中的腹膜上皮。原始生殖细胞呈圆形,体积明显较周围体细胞大,直径 $9 \sim 10 \mu\text{m}$,细胞质被伊红染成淡红色。细胞核透亮且占据绝大部分细胞体积,直径 $7 \sim 8 \mu\text{m}$,核膜明显,1 个被染成紫红色的核仁。7 日龄(全长(11.66 ± 0.38)mm),原始性腺体积变化不大,原始性腺仍仅有 1 个原始生殖细胞(图 1B)。10 日龄(全长(12.61 ± 0.52)mm),原始性腺的体积显著增加,原始生殖细胞数量有所增加(图 1C)。15 日龄(全长(13.99 ± 0.23)mm),原始性腺分化出 2 种类型:第一类性腺体积小,原始生殖细胞数量少,与原始性腺相似(图 1A);第二类性腺体积大,原始生殖细胞数量多,出现 1 个裂隙(即卵巢腔)(图 1D)。

2)卵巢的分化。15 日龄(全长(13.99 ± 0.23)mm),原始性腺中卵巢腔(ovarian cavity,OC)一侧有 $5 \sim 6$ 个原始生殖细胞,且处于有丝分裂期,细胞呈圆形或椭圆形,直径 $8 \sim 9 \mu\text{m}$,胞质染色浅。核大且核质分明,染色质呈网状分布,核径 $6 \sim 7 \mu\text{m}$ (图 1D)。20 日龄(全长(16.55 ± 0.43)mm),性腺体积增大,呈梨形悬于体腔膜上。在卵巢腔周围,分布着 $16 \sim 20$ 个卵原细胞,卵原细胞的胞质呈弱嗜碱性被染成淡紫色,细胞核呈嫌色性,核径 $7 \sim 9 \mu\text{m}$,核膜明显,核仁嗜碱性被染成紫色,靠核膜内侧分布(图 1E)。30 日龄(全长(20.99 ± 0.85)mm),性腺中卵原细胞数量显著增加并构成卵原细胞群,卵原细胞形态各异,随机分布于整个性腺中,胞径 $23 \sim 25 \mu\text{m}$,细胞核染色较浅,核径 $8 \sim 15 \mu\text{m}$ 。卵原细

胞正进行增殖分裂,染色质呈细丝状或网状,核内分布着 1~2 个被苏木精染成蓝紫色的核仁(图 1F)。35 日龄(全长 (21.56 ± 0.77) mm),性腺不仅可见成簇分布的卵原细胞,同时存在大量初级卵母细胞,此时初级卵母细胞进入小生长期,细胞体积显著增大,胞径 50~62 μm ,细胞质嗜碱性被苏木精染成紫色,核径 29~33 μm ,细胞核中的核仁数量增加,靠近核膜内侧分布。细胞质中强嗜碱性的深紫色团块状结

构被称为卵黄核,可能与卵黄的形成有关(图 1G)。95 日龄(全长 (75.82 ± 1.09) mm),卵巢内的卵母细胞进入大生长期,细胞体积进一步增大,胞径 120~155 μm 。细胞质嗜碱性,两层滤泡膜包被于细胞外,外层较厚,内层较薄。细胞核体积较大,核径 40~70 μm ,核膜向胞质突出以增加核质之间交换物质的接触面积,大部分核仁沿核膜内侧分布,少量分布于核中央(图 1H)。



A.5 日龄,示原始性腺位于腹膜上; B.7 日龄,示原始性腺; C.10 日龄,示原始性腺; D.15 日龄,示卵巢腔; E.20 日龄,示卵巢腔; F.30 日龄,示卵原细胞; G.35 日龄,示卵巢内大量初级卵母细胞; H.95 日龄,示卵巢内大量初级卵母细胞。PGC:原始生殖细胞; OC:卵巢腔; OG:卵原细胞; PO:初级卵母细胞。A.Showing the primitive gonad was on peritoneal at 5 days post hatch (dph); B.Showing the primitive gonad at 7 dph; C.Showing the primitive gonad at 10 dph; D.Showing the ovarian cavity at 15 dph; E.Showing the ovarian cavity at 20 dph; F.Showing the oögonia at 30 dph; G.Showing a large number of primitive oocyte in ovarian at 35 dph; H.Showing a large number of primitive oocyte in ovarian at day 95 dph.PGC:Primordial germcell; OC:Ovarian cavity; OG:Oögonia; PO:Primitive oocyte.

图 1 (27±1) °C 条件下黄颡鱼卵巢分化的组织学观察

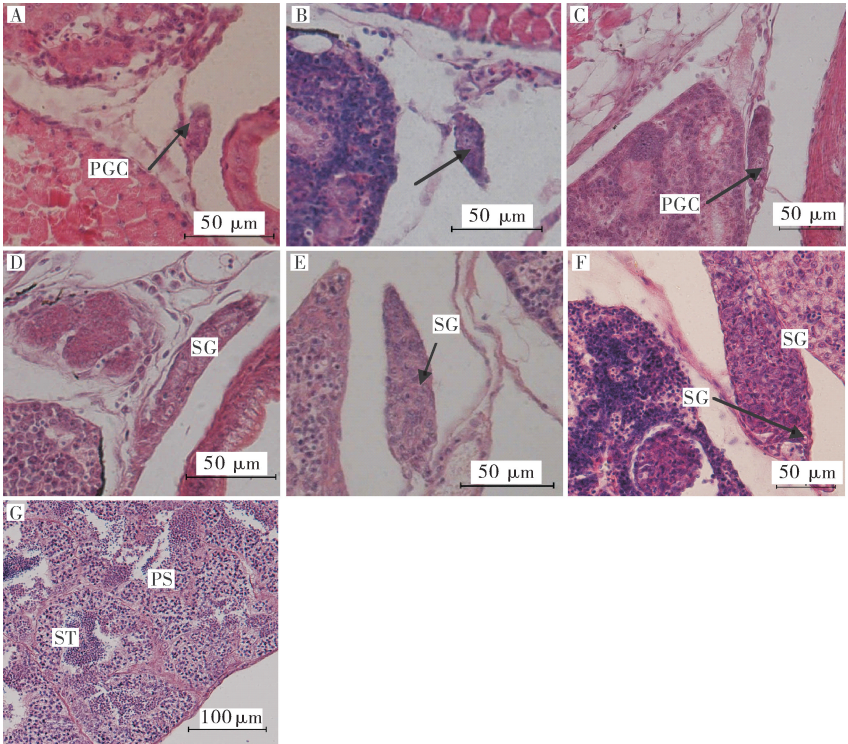
Fig.1 Histology of ovary differentiation in *P. fulvidraco* under the temperature of (27±1) °C

3)精巢的分化。15 日龄(全长 (13.99 ± 0.24) mm)性腺为第一类原始性腺,由 1 个原始生殖细胞组成,包裹于体细胞中。原始生殖细胞呈圆形,直径 4~5 μm ,细胞核体积大,直径 3~4 μm ,染色浅,核仁 1 个(图 2A)。25 日龄(全长 (19.69 ± 0.61) mm),性腺悬挂于肾管与肠道之间的体腔膜上,性腺体积略微增加,包含 1 个原始生殖细胞(图 2B)。

35 日龄(全长 (21.56 ± 0.18) mm),性腺中的原始生殖细胞呈圆形,直径 4~5 μm ,胞质染色浅、呈淡红色,核大且核质分明,直径 3~4 μm ,核内 1 个深紫色核仁(图 2C)。40 日龄(全长 (23.51 ± 0.88) mm),性腺中出现 7~8 个椭圆形的精原细胞,直径 5~7 μm ,细胞质被伊红染成淡红色,此时精原细胞正进行有丝分裂,染色质呈网状分布,核大、呈淡紫

色(图 2D)。45 日龄(全长 (29.15 ± 0.84) mm),精原细胞数量增加,呈圆形、染色浅,直径 $3 \sim 4 \mu\text{m}$,细胞核被染成蓝紫色,体积大,直径 $1 \sim 2 \mu\text{m}$ (图 2E)。60 日龄(全长 (47.58 ± 1.74) mm),性腺体积显著增加,出现输精管和精小叶,标志着解剖学上的精巢分化。精小叶分布于整个性腺,由囊状聚集态的精原细胞组成,其间由间质组织分开。精原细胞圆形或

椭圆形,胞质淡红色,胞径 $4 \sim 5 \mu\text{m}$,细胞核强嗜碱性被染成蓝紫色(图 2F)。95 日龄(全长 (75.82 ± 1.09) mm),精巢呈分支状。精巢横切面可见精小叶大部分空间被体积较小的精母细胞占据,细胞核染成深紫色,只有精小叶边缘分布少数精原细胞。小叶腔中心分布大量游离状态的精细胞,细胞核强嗜碱性呈深蓝色(图 2G)。



A.15 日龄,示原始性腺位于腹膜;B.25 日龄,示原始性腺位于腹膜;C.35 日龄,示原始性腺位于腹膜上;D.40 日龄,原始生殖细胞不规则地分散在间质细胞中;E.45 日龄,示精原细胞;F.60 日龄,精原细胞充满整个精巢;G.95 日龄,幼鱼示初级精母细胞;PS:初级精母细胞;SG:精原细胞;ST:精子细胞。A.Showing the primitive gonad was on peritoneal at 15 dph;B.Showing the primitive gonad was on peritoneal at 25 dph;C.Showing the primitive gonad was on peritoneal at 35 dph; D.Primordial germ cells irregularly scattered in mesenchymal cells at 40 dph; E.Showing spermatogonia at 45 dph; F.Spermatogonia were filled the testis at 45 dph; G.Showing primitive spermatocyte at 95 dph; PS:Primitive spermatocyte; SG:Spermatogonia; ST:Spermatid.

图 2 (27±1)℃条件下黄颡鱼精巢分化的组织学观察

Fig.2 Histology of testis differentiation in *P. fulvidraco* under the temperature of (27±1)℃

2.2 温度对生长速度、成活率和性腺分化速度的影响

不同温度组黄颡鱼都能正常生长发育,随着温度的升高其生长发育速率加快,全长(TL, total length)与日龄(t , days post hatching)拟合的生长方程表达式分别为: $TL_{(22 \pm 1)^\circ\text{C}} = 9.317e^{0.02152t}$ ($R^2 = 0.9615$)、 $TL_{(27 \pm 1)^\circ\text{C}} = 9.16e^{0.02609t}$ ($R^2 = 0.9698$)、 $TL_{(32 \pm 1)^\circ\text{C}} = 7.615e^{0.03406t}$ ($R^2 = 0.9328$)。高温组(32 ± 1)℃成活率显著高于低温组(22 ± 1)℃和中温组(27 ± 1)℃成活率($P < 0.05$)(表 1)。

各温度组黄颡鱼性腺分化进程相似但发育速度差异较大,随着温度升高发育速度加快。高温组(32 ± 1)℃性腺分化进程比中温组早 $5 \sim 10$ d;10 日龄(全长 (13.56 ± 0.41) mm)出现卵巢腔,50 日龄(全长 (39.39 ± 2.02) mm)形成精小叶和输精管,在 60 日龄(全长 (62.45 ± 1.75) mm)首次出现了初级精母细胞。低温组(22 ± 1)℃黄颡鱼性腺分化进程比中温组晚 $25 \sim 30$ d;40 日龄(全长 (24.36 ± 0.76) mm)首次出现卵巢腔,55 日龄(全长 (30.07 ± 0.62) mm)首次出现卵巢腔。

mm)卵巢中发现少量被卵原细胞包围着的初级卵母细胞,在 0~60 d 的采样期间内未出现输精管和精小叶等结构。

2.3 温度对性比的影响

幼鱼发育至 4 月龄,解剖观察性腺,统计各温度组雌雄比,结果表明(表 1):高温组(32±1)℃雌雄

比为 1 : 2.09,雄性率为(67.70±0.54)%,与中温组(27±1)℃、低温组(22±1)℃差异显著($P<0.05$)。低温组(22±1)℃雌雄比为 1 : 1.17,雄性率为(53.29±3.52)%,与中温组(27±1)℃差异不显著($P>0.05$)。说明黄颡鱼在高温(32±1)℃条件下具有雄性化趋势。

表 1 不同温度对黄颡鱼性比的影响

Table 1 The influence of different temperature on the sex ratio of <i>P. fulvidraco</i> Richardson			
温度/℃ Temperature	平均成活率/% Average survival rate	性比 Rate ♀ : ♂	平均雄性率/% Average male rate
32±1	95.42±2.08a	1 : 2.17	67.70±0.54a
		1 : 2.00	
		1 : 2.12	
27±1	69.58±7.37b	1 : 1.32	49.81±3.58b
		1 : 0.82	
		1 : 0.91	
22±1	9.58±6.55b	1 : 0.88	53.29±3.52b
		1 : 1.44	
		1 : 1.65	

注:表中字母不同表示差异显著($P<0.05$)。Note: The different letters means significant difference ($P<0.05$).

3 讨 论

3.1 黄颡鱼性腺分化特点及分化时间起点

鱼类性腺的分化表现在解剖学和细胞学 2 个方面,解剖学上的分化特点在于性腺形态结构的变化,而细胞学上的分化特点指性原(母)细胞的增殖分裂(成熟分裂)。在性腺分化的早期,从形态上很难区分精原细胞、卵原细胞和原始生殖细胞,但原始性腺分化时在形态和细胞数量上通常表现出不同类型。如泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)原始性腺横切面呈梨形的未来发育成雄性,横切面成扁带状的未来发育成雌性^[19];南方鲶(*Silurus meridionalis*)原始性腺横切面呈梨形的未来发育成雌性,横切面呈长条形的未来发育成雄性^[20];青鳉(*Oryzias latipes*)出膜时趋向发育成雌性的性腺中生殖细胞数量比趋向发育成雄性的性腺多^[21];鲫(*Carassius auratus*)^[22]原始性腺中具有初生腔,体积大的未来发育成雌性,性腺不具初生腔,体积小、呈梨形的未来发育成雄性。中温(27±1)℃条件下,15 日龄以前,黄颡鱼原始性腺未见明显差异。15 日龄开始,原始性腺形态上出现了 2 种分化:第 1 类性腺形态无明显变化,体积小,原始生殖细胞数量少;第 2 类性腺体积增大,原始生殖细胞数量多,并出现 1 个裂隙。具有裂隙的原始生殖性腺在 20 日龄切片中出

现卵原细胞,35 日龄切片中出现初级卵母细胞。由此可见,15 日龄出现的裂隙即为卵巢腔,此类原始性腺未来发育为卵巢。不具裂隙的第 1 类原始性腺,15~35 日龄形态变化不大,40 日龄出现精原细胞,60 日龄出现输精管和精小叶,之后发育成精巢。因此,可以以原始性腺出现 2 种不同形态的时间点作为性腺分化的起点。在中温(27±1)℃条件下,15 日龄是黄颡鱼性腺分化的起点时间。

一般以卵巢腔和精小叶(输精管)的出现作为鱼类性腺分化的解剖学标志,以性原细胞经成熟分裂分化成性母细胞作为性腺分化的细胞学标志。细胞学标志的出现通常滞后于解剖学标志。从黄颡鱼雌雄性腺分化解剖学标志出现的时间上分析,(27±1)℃条件下卵巢腔最早出现于 15 日龄,而精小叶和输精管最早出现于 60 日龄,表明黄颡鱼雌性的生殖细胞发育及分化显著早于雄性,这和大多数鱼类的情况相同。如大黄鱼(*Larimichthys crocea*)^[23]、莫桑比克罗非鱼(*Tilapia mossambica* Peters)^[24]、泰山螭霖鱼(*Varicorhinus macrolepis*)^[25]、稀有鮡鲫(*Gobiocypris rarus*)^[26]、石鲮(*Kareius bicoloratus* Basiewsky)^[27]等,卵巢分化均早于精巢。

3.2 温度对黄颡鱼性腺分化的影响

鱼类是一种冷血动物,其体温随着水温变化而变化,大部分鱼类的体温与其生长环境之间的温差

仅 $0.5 \sim 1.7\text{ }^{\circ}\text{C}$, 而仔鱼的体温往往与其生长环境温度相同^[28]。鱼类的胚胎发育存在一个适温范围。在适温范围内, 随着温度的升高, 发育速率加快。黄颡鱼在低温($22 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$)条件下, 性腺发育进程比在中温($27 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$)条件下晚 $25 \sim 30\text{ d}$, 在高温($32 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$)条件下比在中温($27 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$)条件下早约 5 d 。对鲫^[22]、瓦氏黄颡鱼^[29]、泥鳅^[19]等的研究也有类似报道。尹洪滨等^[30]将黄颡鱼受精卵在 $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ 孵化后再转入 $20\text{ }^{\circ}\text{C}$ 水温培育, 其仔鱼性腺的发育速率介于低温组($22 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$)仔鱼和中温组($27 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$)仔鱼性腺发育速率之间, 且更接近中温组($27 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$)仔鱼的性腺发育速率。由此可见, 温度是导致黄颡鱼生殖细胞发育和分化出现差异的重要原因。

越来越多的研究表明, 温度能影响鱼类性别分化结果并使分化发生雄性或雌性偏斜。如, 漠斑牙鲆(*Paralichthys lethostigma*)在高温 $28\text{ }^{\circ}\text{C}$ 和低温 $18\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下雄性率分别为 96% 和 78% , 而 $23\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下性比接近 $1:1$ ^[31], 半滑舌鲷家系(*Cynoglossus semilaevis*)在 $17.5 \sim 25.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下雄性率为 $60.19\% \sim 71.53\%$, $27.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ 雄性率为 43.49% , 且温度与雌性率呈正相关^[32], 金鱼(*Carassius auratus*)在 $15\text{ }^{\circ}\text{C}$ 条件下雌性率为 94.6% , ($30 \pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$) 雌性率为 7.7% ^[33]。本研究结果表明, 在高温($32 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$)条件下, 黄颡鱼雌雄比达 $1:2.09$, 雄性率达 $(67.70 \pm 0.54)\%$, 说明高温($32 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$)条件可诱导黄颡鱼向雄性偏斜。温度影响鱼类性别分化的机制尚未最后定论, 一个较为普遍认同的观点是温度影响了鱼类雌雄激素的产生, 雌激素过量则偏向雌性发育, 雄激素过量则偏向雄性发育^[34]。雌雄激素的产生是各种酶参与的一系列生化过程的结果, 其中芳香化酶(P_{450} aromatase)是雄激素向雌激素转化的关键酶。高温或低温可能抑制或促进了雄激素向雌激素转化过程^[35], 改变了鱼体中雌雄激素的含量, 从而最终影响性别分化趋势。

许多养殖鱼类雌雄个体之间的经济性状(如个体大小)存在明显差异, 人们可通过养殖具有经济性状优势的单性鱼类来增加养殖效益, 于是单性苗种需求与生产应运而生。过去人们通常采用人工挑选、性激素处理、种间杂交、雌核发育^[36-37]等方法获得单性养殖鱼苗, 但这些方法存在劳动力成本高、激素残留、操作复杂、技术难度大等缺点。如果能通过温度诱导方式使原始性腺向所需性别进行分化和发育, 即可获得大量表型性的单性鱼苗。这个方法具

有操作简单、无药物残留等优势。毫无疑问, 温度诱导方法须作用于性腺分化的关键敏感时期才能获得理想效果。Mrosovsky 等^[38]将个体早期发育特定时期内可通过温度改变性腺分化的作用时期定义为爬行动物的温度敏感期(thermo sensitive period)。温度依赖型性别决定(temperature-dependent sex determination)的鱼类与爬行动物一样存在温度敏感期或关键期。例如, 罗非鱼的温度敏感期为性腺组织学分化开始的前后一段时间并至少涵盖性腺分化的部分过程, 温度敏感期与外源激素敏感期一致^[39-40]。岳敏娟等^[22]提出以生殖嵴形成到精巢、卵巢形成作为鲫的温度敏感期, 大西洋月银汉鱼(*Menidia menidia*)的研究^[41]中发现温度敏感期与鱼体尺寸大小直接相关而非日龄, 高温条件下的温度敏感期比低温条件下的温度敏感期短。笔者认为包含性腺分化起点时间在内的前后一段时间作为黄颡鱼的温度敏感比较合理。结合高温组黄颡鱼性腺分化试验结果推测, 若要通过温度诱导生产高比例的雄性黄颡鱼鱼苗, 则需要将 5 d 龄仔鱼置于高温($32 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$)条件下连续处理 $25 \sim 30\text{ d}$ 。但诱导效果及相关技术还需要进一步试验验证和改进。

参 考 文 献

- [1] 李春歌, 赵燕, 陈红菊, 等. 高温诱导对性成熟尼罗罗非鱼性腺中性别分化相关基因表达的影响[J]. 中国水产科学, 2014, 21(2): 214-224.
- [2] SHEN Z G, WANG H P. Molecular players involved in temperature-dependent sex determination and sex differentiation in Teleost fish[J]. Genet Sel Evol, 2014, 46: 26.
- [3] BAROILLER J F, DCOTTA H. Environment and sex determination in farmed fish[J]. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol, 2001, 130(4): 399-409.
- [4] BROWN E E, BAUMANN H, CONOVER D O. Temperature and photoperiod effects on sex determination in a fish[J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2014, 461: 39-43.
- [5] ALTENA A, HÖRSTGEN-SCHWARK G. Effects of rearing temperatures on sex ratios in tilapia, *Oreochromis niloticus* L., investigations on a local population from the Lake Victoria in Kenya[M]// DEUTSCHER T. Challenges to organic farming and sustainable land use in the tropics and subtropics. Witzenhäusen: [s.n.], 2002: 184.
- [6] HAYASHI Y, KOBIRA H, YAMAGUCHI T, et al. High temperature causes masculinization of genetically female medaka by elevation of cortisol[J]. Mol Reprod Dev, 2010, 77(8): 679-686.

- [7] RUBIN D A. Effect of pH on sex ratio in cichlids and a poeciliid (Teleostei)[J]. Copeia, 1985(1): 233-235.
- [8] ABUCAY J S, MAIR G C, SKIBINSKI D O F, et al. Environmental sex determination: the effect of temperature and salinity on sex ratio in *Oreochromis niloticus* L. [J]. Aquaculture, 1999, 173: 219-234.
- [9] FRANCIS R C. The effects of bidirectional selection for social dominance on agonistic behavior and sex ratios in the paradise fish (*Macropodus opercularis*) [J]. Behaviour, 1984, 90(1): 25-44.
- [10] FRANCIS R C, BARLOW G W. Social control of primary sex differentiation in the Midas cichlid [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1993, 90(22): 10673-10675.
- [11] HAYES T B. Sex determination and primary sex differentiation in amphibians: genetic and developmental mechanisms [J]. Journal of Experimental Zoology, 1998, 281(5): 373-399.
- [12] OSPINA-ALVAREZ N, PIFERRER F. Temperature-dependent sex determination in fish revisited: prevalence, a single sex ratio response pattern, and possible effects of climate change [J]. PLoS One, 2008, 3(7): e2837.
- [13] FLEISHER D O C M. Temperature-sensitive period of sex determination in the Atlantic Silverside, *Menidia menidia* [J]. Canadian Journal of Fisheries & Aquatic Sciences, 2011, 43(3): 514-520.
- [14] RÖMER U, BEISENHERZ W. Environmental determination of sex in *Apistogramma* (Cichlidae) and two other freshwater fishes (Teleostei) [J]. Journal of Fish Biology, 1996, 48(4): 714-725.
- [15] WESSELS S, SAMAVATI S, HÖRSTGEN-SCHWARK G. Effect of early temperature treatments on sex differentiation in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* lines selected for high and low thermo-sensitivity [J]. Aquaculture, 2011, 316(1/2/3/4): 139-142.
- [16] PATIÑO R, DAVIS K B, SCHOORE J E, et al. Sex differentiation of channel catfish gonads: normal development and effects of temperature [J]. The Journal of Experimental Zoology, 1996, 276(3): 209-218.
- [17] AZUMA T, TAKEDA K, DOI T, et al. The influence of temperature on sex determination in sockeye salmon *Oncorhynchus nerka* [J]. Aquaculture, 2004, 234: 461-473.
- [18] TABATA K. Induction of gynogenetic diploid males and presumption of sex determination mechanisms in the hirame *Paralichthys olivaceus* [J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1991, 57(5): 845-850.
- [19] 陈玉红, 林丹军, 尤永隆. 泥鳅的性腺分化及温度对性腺分化的影响 [J]. 中国水产科学, 2007, 14(1): 74-82.
- [20] 张修月, 焦保卫, 吴天利, 等. 南方鲶性腺分化的组织学观察 [J]. 动物学杂志, 2005, 40(1): 41-48.
- [21] YAMAMOTO T. Artificial induction of functional sex-reversal in genotypic females of the medaka (*Oryzias latipes*) [J]. Journal of Experimental Zoology, 1958, 137(2): 227-263.
- [22] 岳敏娟, 尤永隆, 林丹军. 温度对鲫鱼性腺分化的影响 [J]. 动物学杂志, 2009, 44(1): 9-16.
- [23] 游秀容, 蔡明夷, 姜永华, 等. 大黄鱼性腺性别分化的组织学观察 [J]. 水产学报, 2012, 36(7): 1057-1064.
- [24] 陈玉琳, 胡秀敏, 朱雅珠. 莫桑比克罗非鱼幼鱼的性腺发育与分化 [J]. 水产学报, 1980, 4(4): 313-318.
- [25] 宋卉, 王树迎, 彭克美. 泰山鳊鱼原始生殖细胞的发生及性腺分化规律的研究 [J]. 动物医学进展, 2005, 26(12): 62-67.
- [26] 代丽, 刘彬, 王志坚. 稀有鮈鲫性腺分化的组织学观察 [J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 2013, 38(1): 55-61.
- [27] 王文君, 王开顺, 邵明瑜, 等. 石鲮仔、幼鱼性腺发育的组织学观察 [J]. 中国水产科学, 2007, 14(5): 843-848.
- [28] 王洪臣, 于金国. 水温对鱼类的作用与影响 [J]. 黑龙江水产, 2011(3): 30-31.
- [29] 程晓春, 林丹军, 尤永隆. 温度对江黄颡鱼性分化的影响 [J]. 动物学研究, 2007, 28(1): 73-80.
- [30] 尹洪滨, 贾中贺, 姚道霞, 等. 黄颡鱼性腺分化的组织学观察 [J]. 动物学杂志, 2008, 43(6): 103-108.
- [31] LUCKENBACH J A, GODWIN J, DANIELS H V, et al. Gonadal differentiation and effects of temperature on sex determination in southern flounder (*Paralichthys lethostigma*) [J]. Aquaculture, 2003, 216(1): 315-327.
- [32] 田永胜, 汪娜, 徐营, 等. 温度对半滑舌鳎家系生长及性别的影响 [J]. 水产学报, 2011, 35(2): 176-182.
- [33] GOTO-KAZETO R, ABE Y, MASAI K, et al. Temperature-dependent sex differentiation in goldfish: establishing the temperature-sensitive period and effect of constant and fluctuating water temperatures [J]. Aquaculture, 2006, 254: 617-624.
- [34] ROUGEOT C, KRIM A, MANDIKI S N M, et al. Sex steroid dynamics during embryogenesis and sexual differentiation in Eurasian perch, *Perca fluviatilis* [J]. Theriogenology, 2007, 67(5): 1046-1052.
- [35] NAVARRO-MARTIN L, VINAS J, RIBAS L, et al. DNA methylation of the gonadal aromatase (*cyp19a*) promoter is involved in temperature-dependent sex ratio shifts in the European sea bass [J]. PLoS Genet, 2011, 7(12): e1002447.
- [36] 刘伟成, 李明明. 人工诱导鱼类雌核发育研究进展 [J]. 水利渔业, 2005, 25(6): 12-14.
- [37] 邹杰, 马爱军, 王新安, 等. 鱼类育种技术研究进展 [J]. 渔业信息与战略, 2013, 28(3): 199-207.
- [38] MROSOVSKY N, PIEAU C. Transitional range of temperature, pivotal temperatures and thermosensitive stages for sex determination in reptiles [J]. Amphibia-Reptilia, 1991, 12: 169-179.
- [39] BAROILLER J F, CHOURROUT D. Temperature and sex chromosomes govern sex ratios of the mouthbrooding Cichlid fish *Oreochromis niloticus* [J]. Journal of Experimental Zoology, 1995, 273(3): 216-223.
- [40] BAROILLER J F, GUIGUEN Y, FOSTIER A. Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in fish [J]. Cellular and Molecular Life Sciences, 1999, 55(7): 910.

[41] CONOVER D O,FLEISHER M H.Temperature-sensitive peri-
od of sex determination in the Atlantic silverside, *Menidia*
menidia[J].Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sci-
ences,1986,43(3): 514-520.

Gonadal differentiation and effects of temperature on sex
determination in yellow catfish, *Pseudobagrus fulvidraco* Richardson

YOU Xin^{1,2} DENG Min^{1,2} LIU Quansheng¹ QIN Ya¹ HE Xugang^{1,2}

1.College of Fisheries ,Huazhong Agricultural University ,Wuhan 430070,China ;
2.Freshwater Aquaculture Collaborative Innovation Center of Hubei Province ,Wuhan 430070,China

Abstract Gonadal differentiation of yellow catfish (*Pseudobagrus fulvidraco* Richardson) under different water temperatures was investigated by histological sectioning, and the effects of different temperatures on sex determination were studied. The results showed that the histological differentiation of yellow catfish occurred firstly at 15 days post hatching (dph) under (27±1) °C. There were two types of primordial gonad and one with cavity will develop into ovary, and the other one without cavity will develop into testis. Ovarian cavity firstly appeared at 15 dpt (the total length reached 13.99±0.24 mm) and the occurrence of spermaduct and seminiferous lobule began at 60 dpt (the total length reached 47.58±1.74 mm). This experiment showed that germ cell division in the female was earlier than that in the male. Gonads of the larva reared under higher water temperature (32±1) °C differentiated about 5-10 days earlier than those under moderate temperature (27±1) °C. Gonads under lower water temperature (32±1) °C differentiated about 25-30 days later than the larva under moderate temperature (27±1) °C. The sex ratio under moderate or lower water temperature was close to 1 : 1 (1 : 0.96 and 1 : 1.17 respectively). However, the sex ratio under higher water temperature was 1:2.10, and the proportion of males were 67.70%±0.54% (*P*<0.05). This result suggested that temperature can influence gonad differentiation of *P. fulvidraco* and higher water temperature (32±1) °C can induce masculination.

Key words *Pseudobagrus fulvidraco* Richardson; gonadal differentiation; temperature; sex ratio

(责任编辑:边书京)