

## 温度对江黄颡鱼性分化的影响

程晓春, 林丹军, 尤永隆\*

(福建师范大学 生命科学学院; 发育与神经生物学高福建省等学校重点实验室, 福建 福州 350007)

**摘要:** 通过组织学方法观察江黄颡鱼原始生殖细胞 (PGCs) 迁移、生殖嵴生成和性腺分化, 并且探讨在不同温度培育下性腺分化的差异。实验结果显示: 1 日龄仔鱼 PGCs 位于鱼体中肠背方的脏壁中胚层中; 5 日龄时, PGCs 迁移到背方的腹膜上皮; 8 日龄时, 生殖嵴形成; 14 日龄时, 原始性腺形成; 23 日龄时, 性腺开始分化。从孵化后的第 10 天开始, 分别用 ( $20 \pm 0.5$ )、( $24 \pm 1.0$  自然水温、对照组)、( $30 \pm 0.5$ ) 和 ( $34 \pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$  4 种水温培育仔鱼达 25 天。实验结束后统计结果显示: 对照组和 ( $20 \pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$  组的雌、雄性比接近 1:1 (分别为 1:1.09 和 1.22:1); ( $30 \pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$  组的为 1:4.89, 雄性率达 ( $83.3 \pm 0.7$ )%; ( $34 \pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$  组的为 2.85:1, 雄性率仅为 ( $26.4 \pm 0.4$ )%。提示 ( $30 \pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$  可使幼鱼性腺发育趋向雄性, ( $34 \pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$  则使幼鱼性腺发育趋向雌性。实验结果表明, 江黄颡鱼的性分化是属于温度依赖型性别决定。

**关键词:** 江黄颡鱼; 性分化; 温度; 性比

中图分类号: Q959.4; Q958.112.4 文献标识码: A 文章编号: 0254–5853 (2007) 01–0073–08

## Influence of Temperature on Sex Differentiation of Teleost, *Pseudobagrus vachelli*

CHENG Xiao-chun, LIN Dan-jun, YOU Yong-long\*

(College of Life Sciences, Fujian Normal University; Higher Educational Key Laboratory for Developmental Biology and Neurobiology of Fujian Province, Fuzhou 350007, China)

**Abstract:** The migration of the primordial germ cells (PGCs), formation of the genital ridge, gonad sex differentiation, and their variations under different water temperatures were investigated using histological methods in the teleost, *Pseudobagrus vachelli*. The results showed that on day 1 the PGCs were at the splanchnic mesoderm above the gut. On day 5, PGCs migrated to the peritoneal epithelium. The genital ridge was formed on day 8 and lacked PGCs. The primordial gonads were formed on day 14. On day 23, the primordial gonads differentiated into ovaries or testes. From day 10 on, the larvae were cultivated in different water temperatures ( $20 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ,  $24 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ ,  $30 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ,  $34 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ) for 25 days. The control group was cultivated at natural water temperature ( $24 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ ). The sex ratio and percentage of male larvae were calculated after the experiment. At natural water temperature ( $24 \pm 1.0^{\circ}\text{C}$ ) and lower water temperature ( $20 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ), the sex ratio was approximately 1:1 (1:1.09 and 1.22:1 respectively). However in the group cultivated at  $30 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ , the sex ratio was 1:4.89 and the percentage of males was  $83.3 \pm 0.7\%$ . The sex ratio was 2.85:1 and the percentage of males was only  $26.4 \pm 0.4\%$  in the group cultivated at  $34 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ . These results suggest that water at  $30 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  influenced the larval gonad towards differentiating into a testis, and water at  $34 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$  gave the opposite result, i. e. the gonad differentiated into an ovary. This experiment showed that the sex determination of *P. vachelli* is temperature-dependent sex determination.

**Key words:** *Pseudobagrus vachelli*; Sex differentiation; Temperature; Sex ratio

动物的性别决定 (sex determination) 和性分化 (sex differentiation) 一直是生物学领域一个颇为关

注的问题。在不同的动物中, 其性别决定机制不同。高等脊椎动物的性别决定主要由受精卵的基因

\* 收稿日期: 2006–09–28; 接受日期: 2006–12–06

基金项目: 福建省自然科学基金 (B0310006); 福建省科技厅重点项目 (2003No.78)

\* 通讯作者 (Corresponding author), E-mail: ylyou@fjnu.edu.cn

型决定, 而低等脊椎动物的性别决定除受基因型决定外, 还受到环境因素(盐度、光照、水质、温度、pH值、密度、食物丰度和个体间的相互作用)的影响, 其中温度的影响十分重要。早在20世纪60年代, 人们就发现海龟、鳄鱼的性别属于温度依赖型性别决定(temperature-dependent sex determination, TSD)。随后在某些蛙、蝶螈和蜥蜴中也得到证实(Hayes, 1998; Pieau, 1996)。在鱼类中也陆续发现某些鱼类的性别决定也属于TSD型(Conover & Heins, 1987; Baroiller et al, 1999; D'Cotta et al, 2001), 如Desprez & Meland (1998)发现高温(36℃)明显诱导奥利亚罗非鱼(*Oreochromis aureus*)雄性化, 雄性率可达98%; 而某些鱼类, 如银汉鱼(*Menidia peninsulae*)中, 高温诱导雄性化不明显, 但低温可明显诱导雌性化, 在15℃时, 其雌性率达85%(Conover & Kynard, 1982)。可见, 在鱼类中, 遗传因素可能只是作为性别发育的基础, 提供了两性发育的可能性, 而两性分化则是在各种遗传因素和外部环境因子相互作用下实现的。

本文以经济淡水鱼江黄颡鱼(*Pseudobagrus vachelli*)为实验对象, 采用不同温度对其性未分化的仔鱼进行培育, 观察在所设定的温度条件下, 仔鱼、稚鱼及幼鱼的发育状况和性分化规律以及性比变化, 探讨温度对鱼类性分化的影响, 为江黄颡鱼的温度诱导性分化提供理论依据, 以期将来可能用温度诱导鱼类雄性化或雌性化, 以达到为水产养殖培育提供单性苗种的目的。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料的获得和培育

江黄颡鱼亲鱼捕获自闽江支流——尤溪水域中。作者于2005—2006年, 在江黄颡鱼生殖季节(5—6月)对其性腺发育成熟的雌雄鱼进行人工催产, 自然产卵受精或人工授精获得受精卵。将附着有受精卵的棕片置于大盆(直径100 cm)中充氧孵化, 胚胎发育温度为自然水温( $24 \pm 1.0^\circ\text{C}$ )。仔鱼孵化后取出棕片, 仔鱼留在盆中继续培育。待仔鱼卵黄囊将要吸收时开始投喂捕捞的浮游生物(枝角类和挠足类等), 10日龄起过渡到投喂鳊鲃配合饲料(福州大昌盛饲料有限公司生产)。待幼鱼发育至1月龄以上时, 移入室外养殖池中的网箱(50 cm × 100 cm)中继续培育。

以上培育的胚胎和仔鱼供观察江黄颡鱼在自然水温下的原始生殖细胞(primordial germ cells, PGCs)的迁移、生殖嵴(genital ridge)的形成和性腺分化过程。

### 1.2 不同水温培育方法

同一批次获得的胚胎按上述方法培育到10日龄, 分成4组, 每组100尾, 置于( $20 \pm 0.5$ )、( $24 \pm 1.0$ )、( $30 \pm 0.5$ )、( $34 \pm 0.5$ )℃水温培育, 其中自然水温( $24 \pm 1.0$ )℃为对照组, 其余为实验组。水温调控方法: 实验组水温高于自然水温的水, 采用可控温加热棒进行加温; 实验组水温低于自然水温的水, 则采用空调制冷控温。温度处理持续25天, 至幼鱼达35日龄止。实验结束后, 又将各实验组水温恢复到自然水温, 再移入室外养殖池的网箱中继续培育。待幼鱼发育至55日龄时统计成活率, 并通过检测性腺, 辨别卵巢和精巢确定幼鱼雌、雄性比和雄性率。以上实验重复3批次。

### 1.3 取材及制片

按上述方法另培育各实验组和对照组仔鱼, 定期取样, 进行生物学测定, 并固定实验材料。温度处理前仔鱼每2天取材6尾; 温度处理期间及温度处理后的仔鱼、幼鱼分别在第10、14、17、20、23、35、55日龄和5月龄各取材10尾。实验材料用Bouin氏液固定, 常规石蜡切片制作, 连续切片, 切片厚度为7 μm, HE染色。切片标本置OLYMPUS BX51显微镜(配冷光源数码相机OLYMPUS DP70)下观察并拍照。对各期生殖细胞进行测量, 同期细胞至少测量10个, 取平均值。

### 1.4 数据分析

实验数据采用Spss11.5软件进行单因子方差分析(ANOVA)及t检验(T-Test), 比较各实验组幼鱼的成活率和雄性率与对照组的是否有差异( $P < 0.05$ )。结果以means ± SEM ( $\bar{X} \pm SD$ )表示。

## 2 结果

### 2.1 自然水温下的性腺发生及分化

2.1.1 原始性腺的形成 1日龄仔鱼, 平均全长( $5.9 \pm 0.2$ ) mm。鱼体透明, 眼已变黑, 卵黄囊淡黄色, 呈圆形, 占据了鱼体的大部体积。仔鱼头部仍紧贴在卵黄囊的前方。在头部的下方, 未来口的两侧出现颌须原基。仔鱼连续横切片观察, 前肾和消化道已经形成。在消化道中肠靠近背方的脏壁中胚层上, 可见PGCs单个或几个细胞聚集分布(图

1a)。PGCs 呈圆形或椭圆形, 胞体较其周围的体细胞大, 其胞径均值(长径 $\times$ 短径, 下同)为  $11.2\ \mu\text{m}\times 7.45\ \mu\text{m}$ , 核径平均为  $8.9\ \mu\text{m}\times 6.0\ \mu\text{m}$ 。核大, 着色浅, 核膜清晰可见, 核仁 1—2 个。

3 日龄仔鱼, 全长 ( $7.0\pm 0.4$ ) mm。鱼体头部及背部出现黑色素。卵黄囊体积渐小, 呈扁豆状。仔鱼口形成, 上下颌可张闭, 颌须 3 对。胸鳍出现, 呈透明薄片状。此时的 PGCs 迁移至中肠上方的背肠系膜, 其胞径均值为  $13.2\ \mu\text{m}\times 8.25\ \mu\text{m}$ , 核径均值为  $9.9\ \mu\text{m}\times 6.6\ \mu\text{m}$  (图 1b)。

5 日龄仔鱼, 全长 ( $8.4\pm 0.3$ ) mm。鱼体全身布满色素, 卵黄囊还未吸收完全, 口已开启, 消化道贯通, 鳔充气, 仔鱼可上下游动。连续切片观察, PGCs 已迁移到靠近背方的腹膜上皮, 其胞径均值为  $13.4\ \mu\text{m}\times 8.2\ \mu\text{m}$ , 核径均值为  $10.1\ \mu\text{m}\times 6.5\ \mu\text{m}$ 。(图 1c)

8 日龄仔鱼, 全长 ( $10.3\pm 0.5$ ) mm。卵黄囊已完全吸收。尾鳍还未分叉, 但尾鳍条已明显可见。背鳍和臀鳍原基形成。连续切片观察, 在仔鱼两侧前肾管下的腹膜上皮上, 各出现一细胞团向腹腔突出, 此即为最初形成的生殖嵴(图 1d)。生殖嵴仅由体积较小的体细胞构成, 其中没有 PGCs。此时 PGCs 仍位于腹膜上皮上, 数量有所增加。在 1 尾仔鱼中常可见 10—15 个 PGCs, 其胞径均值为  $14.9\ \mu\text{m}\times 10.2\ \mu\text{m}$ , 核径均值为  $11.2\ \mu\text{m}\times 8.3\ \mu\text{m}$ 。

观察 10 日龄仔鱼的生殖嵴中已有少量 PGCs 迁入, 但腹膜上皮仍有 PGCs 分布。

14 日龄稚鱼, 全长 ( $13.2\pm 0.5$ ) mm。鱼体表黑色素纵向分布, 呈点状、星状相间排列。各鳍进一步分化, 胸鳍硬刺出现, 但无齿; 尾鳍出现分叉。切片观察, PGCs 已经全部进入生殖嵴, 在腹膜上皮已看不到 PGCs。生殖嵴由于 PGCs 的迁入和增殖而体积增大, 形成原始性腺 (primordial gonad)。原始性腺 1 对, 横切面观察呈倒梨形, 通过背系膜悬挂于肾管下的腹膜上皮两侧。PGCs 体积也有所增大, 其胞径为  $15.7\ \mu\text{m}\times 12.1\ \mu\text{m}$ , 核径为  $12.5\ \mu\text{m}\times 9.7\ \mu\text{m}$  (图 1e)。直到稚鱼 20 日龄时观察其原始性腺, 除了体积继续增大外, 尚未出现明显的形态结构变化。

2.1.2 性腺的分化 23 日龄稚鱼, 全长 ( $19.3\pm 0.8$ ) mm。鳍褶逐渐消失, 侧线和各鳍鳍条形成, 内部器官进一步完善, 鱼的外部形态已与成鱼相似。切片观察原始性腺, 可见两种不同的形态结

构: 一种原始性腺中央出现一个较大腔隙, PGCs 位于腔的周围 (图 1f), 其 PGCs 胞径  $18.4\ \mu\text{m}\times 15.3\ \mu\text{m}$ , 核径  $14.9\ \mu\text{m}\times 12.1\ \mu\text{m}$ ; 另一种原始性腺细胞排列紧密, PGCs 均匀分布在原始性腺中, 在生殖腺靠近系膜处有明显的毛细血管腔 (图 1g), 其 PGCs 胞径  $17.9\ \mu\text{m}\times 14.9\ \mu\text{m}$ , 核径  $14.7\ \mu\text{m}\times 1.5\ \mu\text{m}$ 。此时的 PGCs 仍为圆形或椭圆形, 核大着色浅, 从形态上尚无法判断是卵原细胞或精原细胞, 但从进一步的发育观察中发现, 凡是在原始性腺中央具有较大腔隙的将分化为卵巢, 该腔隙将发育成为卵巢腔。在原始性腺中央没有腔隙的则分化为精巢。

35 日龄幼鱼, 全长 ( $23.1\pm 1.5$ ) mm。切片观察, 已能通过性腺的形态结构区分卵巢和精巢。在卵巢中, 分布于卵巢腔周围的 PGCs 已分化形成卵原细胞。卵原细胞仍呈圆形或椭圆形, 体积较大, 其胞径  $24.6\ \mu\text{m}\times 19.5\ \mu\text{m}$ , 核径  $19.1\ \mu\text{m}\times 17.8\ \mu\text{m}$ , 核仁 1—2 个 (图 1h)。在精巢中, 精原细胞也已形成, 精原细胞通过分裂增殖, 数量较卵巢中的卵原细胞多, 但是体积相对较小, 胞径  $20.9\ \mu\text{m}\times 17.8\ \mu\text{m}$ , 核径  $15.8\ \mu\text{m}\times 12.2\ \mu\text{m}$ , 核仁 1—2 个, 细胞大多呈圆形 (图 2a)。

55 日龄幼鱼, 全长 ( $36.9\pm 1.8$ ) mm。此时卵巢中部分卵原细胞停止增殖, 进入生长期的发育, 形成早期初级卵母细胞 (图 2b), 胞径  $89.1\ \mu\text{m}\times 75.9\ \mu\text{m}$ , 核径  $46.2\ \mu\text{m}\times 33.0\ \mu\text{m}$ , 原生质增多, 细胞核着色浅, 核膜明显, 核仁增多达 6—12 个, 并且多数分布在核膜内边缘上。此时的卵巢处于发育的第 II 期。在精巢中, 精原细胞通过分裂增殖数量继续增加, 但尚未有精母细胞形成 (图 2c)。

5 月龄幼鱼, 全长 ( $85.1\pm 2.5$ ) mm。卵巢中以早期初级卵母细胞为主, 卵巢仍处于发育的第 II 期。在卵巢中产卵板形成并伸入卵巢腔中, 在产卵板中的早期初级卵母细胞体积增大, 细胞质嗜碱性增强, 着色深 (图 2d)。解剖幼鱼观察精巢外形, 在精巢的外侧已出现指状突起或分支。切片观察, 在精巢中仍只有精原细胞, 在数个精原细胞聚集的外边有结缔组织将其包围构成精小叶。在精小叶中还没有小叶腔。精巢处于发育的第 I 期 (图 2e)。

## 2.2 温度处理对性腺分化的影响

2.2.1 温度影响性腺生成和分化的进程 在不同水温中培育的幼鱼, 其生长速度差别很大, 但都能正常发育。各实验组与对照组的成活率都在 90%

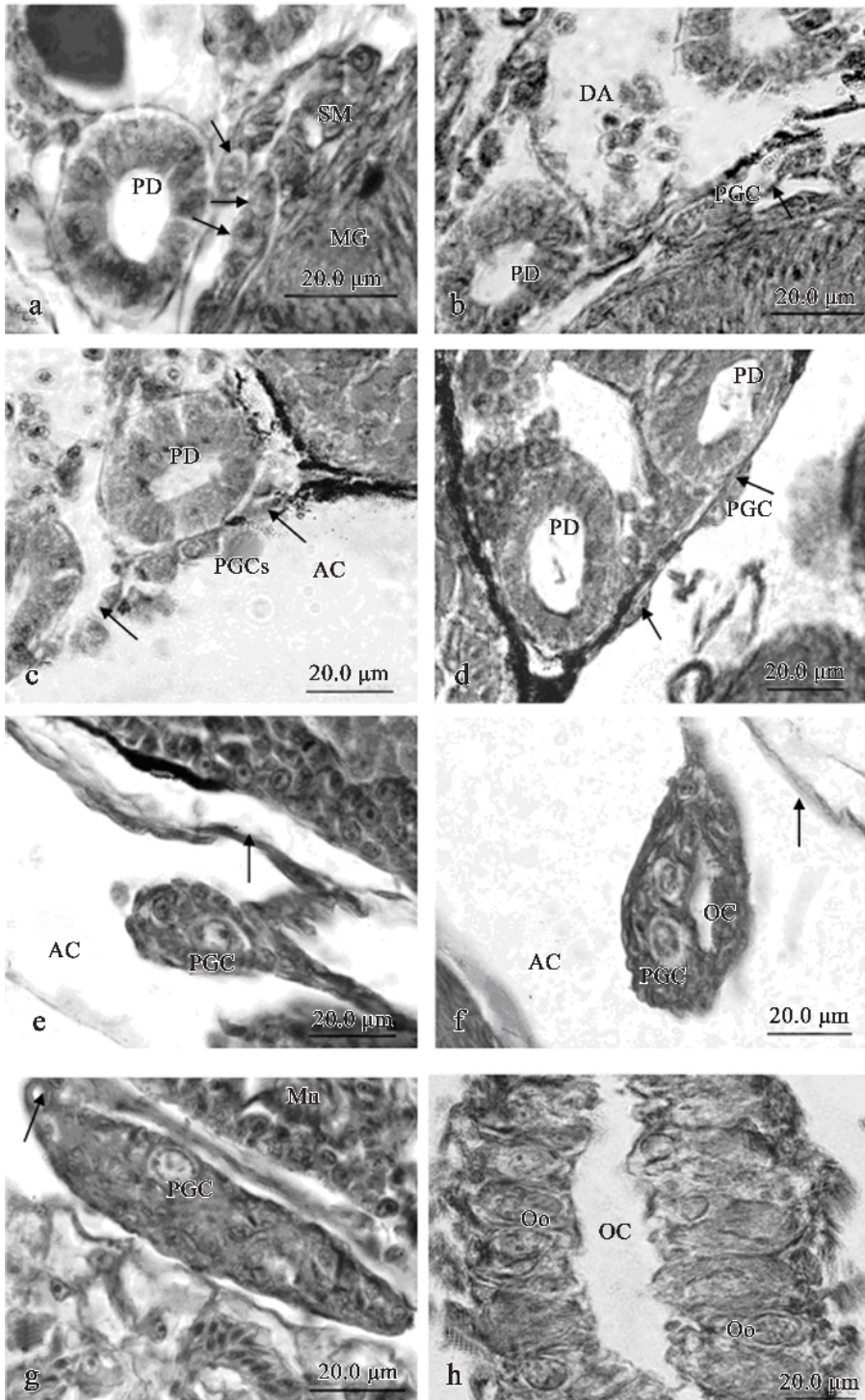


图 1 江黄颡鱼性腺的形成及分化

Fig. 1 Formation and differentiation of gonad in the teleost, *Pseudobagrus vachelli*

AC: 腹腔 (Abdominal cavity); DA: 背大动脉 (Dorsal aorta); MG: 中肠 (Middle gut); Mn: 中肾 (Mesonephros); OC: 卵巢腔 (Ovarian cavity); Oo: 卵原细胞 (Oogonia); PD: 前肾管 (Pronephric Duct); PGC: 原生殖细胞 (Primordial germ cell); PO: 初级卵母细胞 (Primitive oocyte); PS: 初级精母细胞 (Primitive spermatocyte); SG: 精原细胞 (Spermatogonia); SM: 脏壁中胚层 (Splanchnic mesoderm); ST: 精子细胞 (Spermatid); SS: 储精囊 (Seminal sac)。

a. 1 日龄仔鱼过中肠横切面, 示 PGCs (↑) 位于中肠背方的脏壁中胚层 [Transverse section of the mid-gut of a larva at day 1, showing the PGCs (↑) at the splanchnic mesoderm above the gut]。

b. 3 日龄仔鱼过中肠横切面, 示 PGCs 位于背肠系膜 (↑) [Transverse section of the mid-gut of a larva at day 3, showing the PGCs at

the dorsal mesentery (↑) ]。

- c. 5 日龄仔鱼过中肠横切面。示 PGCs 位于腹膜上皮 (↑) [ Transverse section of the mid-gut of a larva at day 5, showing the PGCs at the peritoneal epithelium (↑) ]。
- d. 8 日龄仔鱼过生殖嵴横切面, 箭头所示为生殖嵴 [ Transverse section of the genital ridge (arrow) of a larva at day 8 ]。
- e. 14 日龄仔鱼过中肾横切面, 示原始性腺。箭头示腹膜上皮 [ Transverse section of mesonephros of a larva at day 14, showing the primordial gonad. Arrow indicates the peritoneal epithelium ]。
- f. 23 日龄稚鱼过中肾横切面。示具有腔隙的性腺, 该性腺将分化成卵巢。箭头示腹膜上皮 [ Transverse section of mesonephros of a larva at day 23, showing the cavity in the gonad, which will differentiate into an ovary. Arrow indicates the peritoneal epithelium ]。
- g. 23 日龄稚鱼过中肾横切面。示无腔隙的性腺, 该性腺将分化成精巢。箭头示毛细血管 [ Transverse section of mesonephros of a larva at day 23, showing no cavity in the gonad, which will differentiate into a testis. Arrow indicates a capillary ]。
- h. 35 日龄幼鱼卵巢, 示卵原细胞和卵巢腔 [ An ovary of a fry at day 35, showing oogonia and ovarian cavity ]。

表 1 不同温度对江黄颡鱼幼鱼性比的影响

Tab. 1 Influence of different temperatures on the sex ratio of *Pseudobagrus vachelli* fry

组别 Groups (℃)	尾数 <i>n</i>	成活率 Mortality rate		性比 (Female: Male)	雄性率 Male rate	
		( $\bar{X} \pm SD$ )%	<i>P</i> *		( $\bar{X} \pm SD$ )%	<i>P</i> *
20 ± 0.5	300	90.0 ± 0.5	<i>P</i> > 0.05	1.22:1	45.3 ± 0.6	<i>P</i> > 0.05
30 ± 0.5	300	95.5 ± 1.5	<i>P</i> > 0.05	1:4.89	83.3 ± 0.7	<i>P</i> < 0.01
34 ± 0.5	300	94.8 ± 2.2	<i>P</i> > 0.05	2.85:1	26.4 ± 0.4	<i>P</i> < 0.01
24 ± 1.0 (Control)	300	95.8 ± 1.8		1:1.09	43.3 ± 0.3	

\* 为各实验组与对照组的比较结果。

\* The result of comparing the experimental group with the control group.

以上, 无明显差异 ( $P > 0.05$ ) (表 1)。组织学观察各实验组的仔鱼 PGCs 的迁移、生殖嵴的形成和幼鱼性腺分化规律都与对照组的相似, 但是在发育进程上有所差异。对照组 10 日龄仔鱼生殖嵴已形成, 并有少量 PGCs 迁入生殖嵴。14 日龄时 PGCs 已全部迁入生殖嵴, 原始性腺形成。23 日龄时性腺开始分化, 形成卵巢和精巢。水温为 ( $20 \pm 0.5$ )℃ 的实验组, 14 日龄时腹膜上皮仍有尚未迁入的 PGCs, 28 日龄时才出现性分化。培育在较高水温的 ( $30 \pm 0.5$ )℃ 实验组和 ( $34 \pm 0.5$ )℃ 实验组的仔鱼, 14 日龄时 PGCs 全部迁入生殖嵴, 原始性腺形成。与对照组不同的是在原始性腺中 PGCs 通过有丝分裂, 数量增多。在 17 日龄时, 出现性分化。可见, 在较低温度条件 [ ( $20 \pm 0.5$ )℃ ] 下发育的仔鱼 PGCs 细胞的迁移、原始性腺的形成和幼鱼性腺分化都比对照组的慢; 而在较高温度 [ ( $30 \pm 0.5$ )℃ 和 ( $34 \pm 0.5$ )℃ ] 中发育的仔鱼或幼鱼的则较快。

在幼鱼发育至 5 月龄时观察性腺的发育, 无论是对照组还是各实验组, 其卵巢都发育至第 II 期 (图 2d)。精巢的发育则不同, 对照组和 ( $20 \pm 0.5$ )℃ 实验组幼鱼的精巢处于发育的第 I 期, 精巢中只有精原细胞。但是在 ( $30 \pm 0.5$ )℃ 实验组的幼鱼, 其精巢发育较快, 精巢不仅体积较大而且具有各期生精细胞 (图 2f), 在精巢的下段还可见到呈

分支状的储精囊。储精囊中有许多单层立方上皮组成的小室, 在其一侧有由单层柱状细胞组成的输出管 (图 2g)。此外, 在 ( $34 \pm 0.5$ )℃ 实验组, 5 月龄幼鱼的卵巢切片观察中还发现, 在同一个体的 1 对卵巢中, 有一侧卵巢发育正常, 其中已有大量的早期初级卵母细胞; 而另一侧的体积明显小得多, 在性腺中有类似卵巢腔的构造, 但生殖细胞发育不正常 (图 2h)。这类雌鱼占 5.5%。

2.2.2 温度影响群体性比例 在幼鱼发育至 5 月龄时, 对各实验组和对照组幼鱼的性腺进行切片观察或直接压片观察, 以分辨雌、雄鱼, 并统计群体性比例 (表 1), 其中, 对照组和 ( $20 \pm 0.5$ )℃ 实验组中的雌、雄鱼比例接近 1:1, 两者之间的雄性率差异不显著 ( $P > 0.05$ )。 ( $30 \pm 0.5$ )℃ 实验组中幼鱼的雌、雄比例为 1:4.89, 雄性率上升, 达到 ( $83.3 \pm 0.7$ )%, 与对照组比较, 差异极显著 ( $P < 0.01$ ); ( $34 \pm 0.5$ )℃ 实验组中幼鱼的雌、雄比例为 2.85:1, 雌鱼数量是雄鱼的近 3 倍, 雄性率仅为 ( $26.4 \pm 0.4$ )%; 与对照组的雄性率比较差异也极显著 ( $P < 0.01$ )。可见在 ( $30 \pm 0.5$ )℃ 水温中培育的幼鱼有雄性化趋势, 而在 ( $34 \pm 0.5$ )℃ 水温中培育的幼鱼有雌性化的趋势, ( $20 \pm 0.5$ )℃ 水温培育幼鱼对其性比没有影响。

### 3 讨论

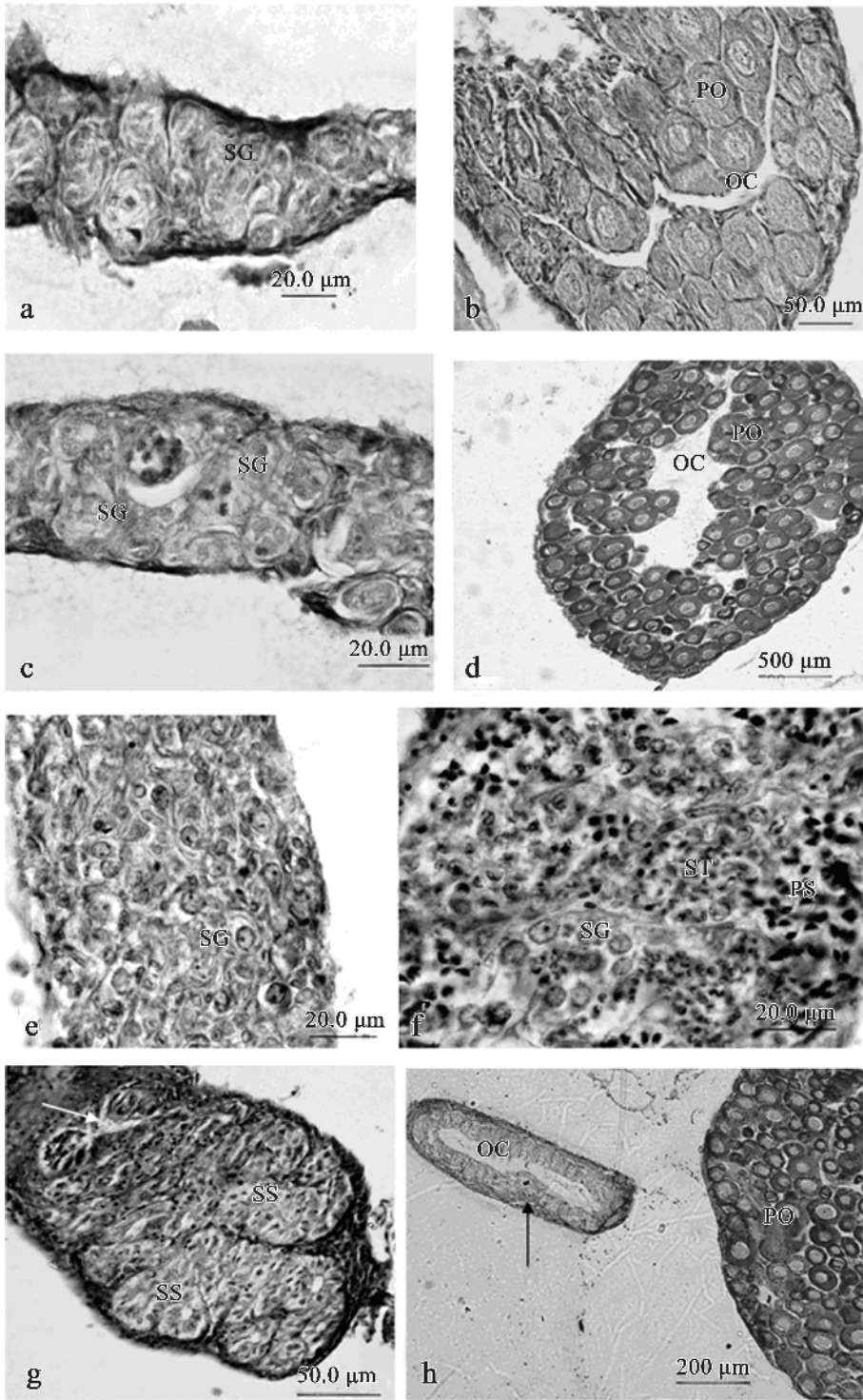


图 2 江黄颡鱼性腺分化及温度对性腺发育的影响

Fig. 2 Gonad differentiation and influence of temperature on gonad differentiation in the teleost, *Pseudobagrus vachelli*

AC: 腹腔 (Abdominal cavity); DA: 背大动脉 (Dorsal aorta); MG: 中肠 (Middle gut); Mn: 中肾 (Mesonephros); OC: 卵巢腔 (Ovarian cavity); Oo: 卵原细胞 (Oogonia); PD: 前肾管 (Pronephric Duct); PGC: 原生殖细胞 (Primordial germ cell); PO: 初级卵母细胞 (Primitive oocyte); PS: 初级精母细胞 (Primitive spermatocyte); SG: 精原细胞 (Spermatogonia); SM: 脏壁中胚层 (Splanchnic mesoderm); ST: 精子细胞 (Spermatid); SS: 储精囊 (Seminal sac)。

a. 35日龄幼鱼精巢, 示精原细胞 [A testis of a fry at day 35, showing the spermatogonia]。

- b. 55 日龄幼鱼第 II 期卵巢, 示早期初级卵母细胞和卵巢腔 [ A stage II ovary of a fry at day 55, showing the early primary oocytes and the ovarian cavity ]。
- c. 55 日龄幼鱼精巢, 示精原细胞 [ A testis of a fry at day 55, showing the spermatogonia ]。
- d. 5 月龄幼鱼第 II 期卵巢, 示早期初级卵母细胞和卵巢腔 [ A stage II ovary of a fry of 5 months old, showing the early primary oocytes and the ovarian cavity ]。
- e. 5 月龄幼鱼精巢, 示精原细胞增殖 [ A testis of a fry of 5 months old, showing spermatogonia proliferating ]。
- f. ( $30 \pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$  实验组 5 月龄幼鱼精巢, 示各期生精细胞 [ A testis of a fry of 5 months old in the  $30 \pm 0.5$  $^{\circ}\text{C}$  experiment group, showing all stages of spermatogenic cells ]。
- g. ( $30 \pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$  实验组 5 月龄幼鱼储精囊, 示由立方上皮组成的小室。箭号示输出管 [ A seminal sac of a fry of 5 months old in the  $30 \pm 0.5$  $^{\circ}\text{C}$  experiment group, showing the cellulae consisting of cuboidal epithelium. Arrow indicates an efferent duct ]。
- h. ( $34 \pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$  实验组 5 月龄幼鱼卵巢, 示一侧为第 II 期卵巢, 另一侧卵巢 (  $\uparrow$  ) 发育不正常 [ Two ovaries of a fry of 5 months old in the  $34 \pm 0.5$  $^{\circ}\text{C}$  experiment group, showing a normal ovary of stage II on the right and an abnormal ovary (  $\uparrow$  ) on the left ]。

### 3.1 江黄颡鱼性分化的特点

PGCs 是生殖细胞的前体。有关鱼类 PGCs 的来源已有一些报道, 比较多的学者认为 PGCs 来源于鱼尾侧卵黄囊内胚层细胞, 首先出现在胚胎发育的原肠晚期, 之后 PGCs 通过迁移运动到达将来生殖嵴形成的部位 (Hardisty, 1987)。据报道, 革胡子鲶 (*Clarias lazera*) PGCs 的迁移是从内胚层的背方通过脏壁中胚层到达肠系膜, 再迁移到生殖嵴的部位 (Lin & Xiong, 1995)。本文未对江黄颡鱼胚胎时期 PGCs 的起源进行追踪探讨, 实验从仔鱼孵化后的 1 日龄开始进行组织学观察, 详细描述了 PGCs 的迁移、生殖嵴和原始性腺的形成以及性分化特点。PGCs 细胞形态结构与其他鱼类的相似, 细胞体积较周围体细胞大, 染色浅, 且细胞核也较大, 极易与周围细胞区分。1 日龄仔鱼的 PGCs 已位于消化道中肠背方的脏壁中胚层中, 8 日龄时生殖嵴生成, 14 日龄时原始性腺形成, 直至 23 日龄稚鱼开始性分化。可以从性腺切面的观察判断性腺的分化。有两种不同形态的生殖腺: 一种生殖腺中央出现一个细长的腔隙, PGCs 分布于腔的外周围区域; 另一种性腺中除了出现细小的毛细血管外没有比较大的腔隙, PGCs 则在性腺中均匀分布 (图 1: f, g)。此时虽然还不能从细胞学上直接区分 PGCs 是否已分化成卵原细胞或精原细胞, 但从进一步发育的稚、幼鱼性腺结构观察中可以确定, 前者将发育成卵巢, 其中的腔隙为卵巢腔; 后者将发育成精巢。这一特点与 Lin & Xiong (1995) 在革胡子鲶 (*Clarias lazera*) 上观察的相似。据认为鱼类性腺分化首先出现解剖学上的分化, 然后才出现细胞学的分化。

一般认为, 卵巢的分化比精巢的分化更早发生 (Baroiller & Guiguen, 2001)。本文在江黄颡鱼性腺分化的组织学观察中未能作出雌雄性腺分化先后的判断, 但是在 55 日龄幼鱼的性腺观察发现, 卵巢

中除了具有卵原细胞外还出现了早期的初级卵母细胞, 卵巢已发育至第 II 期; 而精巢中只有精原细胞, 仍处于发育的第 I 期 (图 2: b, c)。此期的卵巢比精巢发育的快。

### 3.2 温度对江黄颡鱼性分化的影响

已有的研究表明, 鱼类体内雌、雄激素的多寡对性腺的早期分化影响很大。在睾酮 (testosterone) 主导下, 性腺将分化成为精巢; 在雌二醇 (estradiol) 主导下, 性腺将分化为卵巢 (Galvez et al, 1995)。温度影响鱼类性分化的现象为近年所发现, 其影响机理还在探索之中。据认为温度可能影响机体内某些与类固醇激素分泌有关的酶的活性, 从而使得类固醇激素分泌产生差异而导致了性分化的差异 (Conover & Heins, 1987)。生物体内的雌性激素是由雄性激素转化而来的, 其中, 芳香化酶 (aromatase) 在催化睾酮转化成雌二醇的过程中起到重要的作用。芳香化酶属于细胞色素 P450 家族中的一员, 是类固醇激素代谢中的重要酶类, 也是雌激素生物合成中的关键酶和限速酶 (Anderson et al, 1988)。因此, 芳香化酶的活性直接影响着性分化的方向。许多实验证明, 用芳香化酶抑制剂处理一些生活史中具有性反转特性的鱼类, 如赤点石斑鱼 (*Epinephelus akaara*) 和银大马哈鱼 (*Salmo kisutch*) 可以使已经性分化的雌鱼发生性逆转 (Li et al, 2005; Afonso et al, 1997)。

本实验表明, 江黄颡鱼的性分化是属于 TSD 类型。性分化的关键时期在 10—30 日龄之间。在此期间内对仔、稚鱼进行温度处理对其性分化有明显影响。在 ( $30 \pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$  水温培育下幼鱼的雄性率最高, 达到 ( $83.3 \pm 0.7$ )%, 在此温度下性腺有向雄性分化的趋势。可是在更高的温度即 ( $34 \pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$  水温下培育幼鱼, 则雌性鱼明显增多, 雄性率却降低, 只有 ( $26.4 \pm 0.4$ )%, 在此温度下性腺有向雌性分化的趋势。Patino et al (1996) 在叉尾鲷 (*Ic-*

*talurus punctatus*) 中发现 34℃ 高温诱导雌性化 (1.68 female:1 male  $P < 0.01$ ); 高温诱导鱼类雄性化在奥利亚罗非鱼 (*Oreochromis aureus*) (36℃) (Desprez & Meland, 1998)、褐牙鲂 (*Paralichthys olivaceus*) (25℃) (Kitano et al, 1999) 中有报道; Lin & You (2004) 曾报道在 (32 ± 1)℃ 江黄颡鱼雄性率占 78%。在同一种鱼, 不同的高温会有如此之大的差别, 还未见报道, 有必要对其机理进行进一步的探讨。

鱼类是一种低等脊椎动物, 其生活环境的千差万别决定了其性别决定方式的多样化。鱼类性别分

化受内、外环境因素的影响很大 (Strüssmann et al, 1996)。正因为鱼类性别分化具有这么大的可塑性, 因此多年来在鱼类养殖生产实践中, 人们一直探索着在一些雌、雄鱼经济性状差异较大的养殖鱼类中, 如何通过人工诱导的方式提高养殖群体中雌鱼或雄鱼的比例, 以提高养殖产量和获得经济价值高的商品鱼。目前常用性激素来诱导鱼类性分化培育单性鱼苗供水产养殖。如果能够利用温度控制达到培育雌性或雄性鱼苗, 将是一种即简便又环保的人工诱导性分化的方式。

## 参考文献:

- Afonso LOB, Campbell PM, Iwama GK, Devlin RH, Donaldson EM. 1997. The effect of the aromatase inhibitor fadrozole and two polynuclear aromatic hydrocarbons on sex steroid secretion by ovarian follicles of coho salmon [J]. *Gen Comp Endocrinol*, **106** (2): 169 - 174.
- Anderson E, Borg B, Lambert JGD. 1988. Aromatase activity in brain and pituitary of immature and mature Atlantic salmon (*Salmo salar*) parr [J]. *Gen Comp Endocrinol*, **72**: 394 - 401.
- Baroiller JF, Guiguen Y. 2001. Endocrine and Environmental Aspects of Sex Differentiation in Gonochoristic Fish [M]. Basel: Birkhäuser verlag, INC, 177 - 201.
- Baroiller JF, Guiguen Y, Fostier A. 1999. Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in fish [J]. *Gell Mol Life Sci*, **55**: 910 - 931.
- Conover DO, Heins SW. 1987. Adaptive variation in environmental and genetic sex determination in a fish [J]. *Nature*, **326** (6112): 496 - 498.
- Conover DO, Kynard BE. 1982. Environmental sex determination: Interaction of temperature and genotype in a fish [J]. *Science*, **213**: 577 - 579.
- D'Cotta H, Fostier A, Guiguen Y, Govoourou M, Baroiller J-F. 2001. Aromatase plays a key role during normal and temperature-induced sex differentiation of tilapia *Oreochromis niloticus* [J]. *Mol Rep. Dev*, **59**: 265 - 276.
- Desprez D, Meland C. 1998. Effect of ambient water temperature on sex determinism in the blue tilapia, *Oreochromis aureus* [J]. *Aquaculture*, **162**: 79 - 84.
- Galvez JI, Mazik PM, Phelps RP, Mulvaney DR. 1995. Masculinization of channel catfish *Ictalurus punctatus* by oral administration of trenbolone acetate [J]. *J World Aquacult Soc*, **26**: 378 - 383.
- Hardisty MW. 1987. The number of vertebrate primordial germ cells [J]. *Biol Rev*, **42**: 265 - 287.
- Hayes TB. 1998. Sex determination and primary sex differentiation in amphibians: Genetic and developmental mechanisms [J]. *J Exp Zool*, **281**: 373 - 399.
- Kitano T, Takamune K, Kobayashi T, Nagahama Y, Abe S-I. 1999. Suppression of p450 aromatase gene expression in sex reserved males produced by rearing genetically female larvae at a high water temperature during a period of sex differentiation in the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. *J Mol Endocrinol*, **23**: 167 - 176.
- Li GL, Liu XC, Lin HR. 2005. Aromatase inhibitor letrozole induces sex inversion in the protogynous red spotted grouper (*Epinephelus akaara*) [J]. *Acta Physiol Sin*, **57** (4): 473 - 479. [李广丽, 刘晓春, 林浩然. 2005. 芳香化酶抑制剂 letrozole 对赤点石斑鱼 (*Epinephelus akaara*) 性逆转的作用. 生理学报, **57** (4): 473 - 479.]
- Lin GH, Xiong JW. 1995. Studies on the differentiation and development in the first sex-cycle of the ovary of *Clarias lazera* [J]. *Zool Res*, **16** (4): 365 - 372. [林光华, 熊敬维. 1995. 革胡子鲇卵巢在第一次性周期内分化与发育的研究. 动物学研究, **16** (4): 365 - 372.]
- Lin DJ, You YL. 2004. A study on the artificial propagation and masculinizing technique of the teleost, *Pseudobagrus Vachellii* [J]. *J Fujian Fish*, **2004** (2): 9 - 13. [林丹军, 尤永隆. 2004. 江黄颡鱼的人工繁殖及雄性化技术探讨. 福建水产, **2004** (2): 9 - 13.]
- Patino R, Davis KB, Schoore JE, Uguz C, Strussmann CA, Parker NC, Simco B, Goudie CA. 1996. Sex differentiation of channel catfish gonads: Normal development and effects of temperature [J]. *J Exp Zool*, **276**: 209 - 218.
- Pieau C. 1996. Temperature variation and sex determination in reptiles [J]. *Bioassays*, **18** (1): 19 - 26.
- Strüssmann CA, Cota JCC, Phonlor G, Higuchi H, Takashima F. 1996. Temperature effects on sex differentiation of two south American atherinids, *Odontesthes argentinensis* and *Patagonina hatcheri* [J]. *Environ Biol Fish*, **47**: 143 - 154.