

徐思琪, 张世勇, 张文平, 等. 温度诱导斑点叉尾鲷雌性化研究 [J]. 福建农业学报, 2022, 37 (6): 741–747.  
XU S Q, ZHANG S Y, ZHANG W P, et al. Temperature-induced Feminization of Channel Catfish [J]. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*, 2022, 37 (6): 741–747.

## 温度诱导斑点叉尾鲷雌性化研究

徐思琪<sup>1,2</sup>, 张世勇<sup>1,3\*</sup>, 张文平<sup>1,2</sup>, 刘洪岩<sup>1</sup>, 王明华<sup>1,3</sup>,  
钟立强<sup>1,3</sup>, 边文冀<sup>1,2,3</sup>, 陈校辉<sup>1,2,3\*</sup>

(1. 江苏省淡水水产研究所, 江苏 南京 210017; 2. 江苏海洋大学海洋科学与水产学院, 江苏 连云港 222005;  
3. 江苏省农业种质资源保护与利用平台, 江苏 南京 210014)

**摘要:**【目的】在性别分化前利用高温诱导斑点叉尾鲷性别逆转, 探究雄性斑点叉尾鲷雌性化的合适水体温度。【方法】设置 (30±0.5) °C (T-30, CK)、(33±0.5) °C (T-33) 和 (36±0.5) °C (T-36) 3 个温度组对 1dah 试验鱼进行为期 30 d 的温度诱导。对卵巢已分化成型的 60 日龄试验鱼测量并统计生长数据、存活率、卵巢形成比例, 同时结合遗传性别鉴定结果计算各组的性逆转率。分别在解剖学和组织学水平观察各组试验鱼的性腺结构和卵母细胞发育水平。进一步采用 qRT-PCR 方法分别检测雄性性别标志基因 *dmrt1* 和雌性性别标志基因 *foxl2* 在 150 日龄 XX 雌鱼、XY 伪雌鱼卵巢中的表达水平。【结果】T-30 组、T-33 组和 T-36 组试验鱼的存活率分别为 95.33%、91.33%、82.67%; 随着温度的升高, 各组试验鱼的体长、体重先增加后减小, T-30 组、T-33 组和 T-36 组试验鱼的体长分别为 9.13 cm、10.14 cm、8.80 cm; T-30 组、T-33 组和 T-36 组试验鱼的体重分别为 6.31 g、9.76 g、6.11 g; T-30 组、T-33 组和 T-36 组试验鱼的卵巢形成比例分别为 51.00%、66.67%、77.67%。性逆转效果评估结果显示: T-30 组 XX 雌鱼和 T-33 组、T-36 组伪 XY 雌鱼卵母细胞以 II 期卵母细胞为主, T-30 组中 XX 雌鱼和 T-36 组 XY 伪雌鱼出现 III 期卵母细胞; T-33 组中 XY 伪雌鱼出现卵巢发育缓慢、轮廓不清、与体腔黏膜相连的现象。对斑点叉尾鲷性别相关基因检测显示: *foxl2* 基因在 XY 雌鱼中被激活, *dmrt1* 基因在 XY 雌鱼中的表达被抑制。【结论】对性别分化前的斑点叉尾鲷持续进行高温诱导, 可以使斑点叉尾鲷的生理性别向雌性化方向分化。

**关键词:** 斑点叉尾鲷; 性逆转; 温度; 雌性化

中图分类号: S 965

文献标志码: A

文章编号: 1008-0384 (2022) 06-0741-07

## Temperature-induced Feminization of Channel Catfish

XU Siqui<sup>1,2</sup>, ZHANG Shiyong<sup>1,3\*</sup>, ZHANG Wenping<sup>1,2</sup>, LIU Hongyan<sup>1</sup>, WANG Minghua<sup>1,3</sup>,  
ZHONG Liqiang<sup>1,3</sup>, BIAN Wenji<sup>1,2,3</sup>, CHEN Xiaohui<sup>1,2,3\*</sup>

(1. *Freshwater Fisheries Research Institute of Jiangsu Province, Nanjing, Jiangsu 210017, China*; 2. *School of Marine Science and Fisheries, Jiangsu Ocean University, Lianyungang, Jiangsu 222005, China*; 3. *The Jiangsu Provincial Platform for Conservation and Utilization of Agricultural Germplasm, Nanjing, Jiangsu 210014, China*)

**Abstract:** 【Objective】Water temperature required to induce feminization on male channel catfish fries before sex differentiation was determined. 【Method】One-dah channel catfish fries were treated for 30 d in water at the temperature of (30±0.5) °C (T-30, CK), (33±0.5) °C (T-33) or (36±0.5) °C (T-36). Growth and rates of survival, ovarian formation, and sex reversal of individual fish that had ovaries differentiated and formed in 60 d with positive genetic sex identification were measured, calculated, and recorded. In each group, the ovarian development of XX and XY females as determined by the anatomy and H&E staining sections was compared and analyzed. Subsequently, qRT-PCR was used to detect the expressions of *foxl2* and *dmrt1* in XX and XY female ovaries as well as XY male testis at 150 dahs. 【Result】The survival rates of the fries under T-30, T-33, and T-36 were 95.33%, 91.33%, and 82.67%, respectively. The body length of the fish under T-30 measured

收稿日期: 2022-03-01 初稿: 2022-05-05 修改稿

作者简介: 徐思琪 (1996-), 女, 硕士研究生, 主要从事鱼类遗传育种研究 (E-mail: 121972467@qq.com)

\* 通信作者: 张世勇 (1987-), 男, 博士, 助理研究员, 主要从事鱼类遗传育种研究 (E-mail: shiyongzhang@hotmail.com); 陈校辉 (1977-), 男, 硕士, 研究员, 主要从事鱼类遗传育种研究 (E-mail: cxiaohui416@hotmail.com)

**基金项目:** 国家现代农业产业技术体系建设专项 (CARS-46); 国家自然科学基金项目 (32102771); 江苏省农业重大新品种创制项目 (PZCZ201741); 江苏省自然科学基金项目 (BK20191487)

at 9.13 cm, under T-33 at 10.14 cm, and under T-36 at 8.80 cm, while the body weighed at 6.31 g for CK, 9.76 g for those under T-33, and at 6.11 g for those under T-36. The ovarian formation percentages were 51.00% under CK, 66.67% under T-33, and 77.67% under T-36. On sex reversal, the majority of oocytes in the XX females were at stage II under T-30, but under T-33 and T-36 in the XY females. The stage III oocytes were found in the XX females under T-30 as well as in the XY females under T-36. Under T-33, the XY female channel catfish showed slow oval development with unclear outline and coelomic mucosa. The expression of *foxl2* was upregulated and that of *dmrt1* downregulated in the XY females. 【Conclusion】 The physiological sex before sexual differentiation of channel catfish could be converted to female by continuous high-temperature induction.

**Key words:** Channel catfish; sexual reversal; temperature; feminization

## 0 引言

【研究意义】斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*), 属鲶形目 (Siluriformes) 鲷科 (Ictaluridae), 原产于北美, 是美国最主要的淡水养殖品种, 养殖产量占美国鱼类养殖产量的 60% 以上<sup>[1]</sup>。自 1984 年我国首次从美国引种, 经过三十多年的发展, 在广东、河南、江苏、湖北、四川等省份形成较大的养殖规模。随着我国斑点叉尾鲷市场需求量的不断扩大, 其养殖产量呈逐年递增的趋势。自 2013 年起, 我国的斑点叉尾鲷养殖产量超越美国, 成为世界最大的斑点叉尾鲷养殖和消费国家<sup>[2]</sup>。相较于斑点叉尾鲷雄鱼, 雌鱼生长较为缓慢, 且较大的卵巢组织一定程度上降低了其可食用比例, 因此雄鱼在流通市场上更受欢迎。性别二态性是自然界中的常见现象。在鱼类中, 大多数种类由于存在生长、性成熟年龄、体型、体色等性别二态性现象, 使得其中的一种性别具有更大的经济价值, 雌雄个体经济价值的不同在一定程度上制约了其产业的发展。因此, 越来越多的育种工作者开始探索性别控制育种, 培育具有更大经济价值的单性品种。在斑点叉尾鲷全雄鱼的选育过程中, 获得稳定遗传的 XY 伪雌鱼是最为核心的环节。为此, 课题组以培育斑点叉尾鲷全雄品种为目标, 着力开展温度诱导其 XY 型雄鱼雌性化研究。在伪雌鱼性成熟后, 通过与正常雄鱼杂交或采用雌核发育策略获得 YY 型超雄鱼, 超雄鱼再与正常雌鱼杂交即可培育出全雄鱼。【前人研究进展】大量研究表明温度的升高或降低可以诱导硬骨鱼类雌性化或雄性化。遗传性别为雌性的奥利亚罗非鱼 (*Oreochromis aureus*)<sup>[3]</sup> 在高温诱导后生理性别向雄性方向逆转, 在大鳞副泥鳅 (*Misgurnus anguillicaudatus*)<sup>[4]</sup>、斑马鱼 (*Danio rerio*)<sup>[5]</sup>、尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*)<sup>[6]</sup>、牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*)<sup>[7]</sup>、黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*)<sup>[8]</sup> 等也发现高温可使雄性率升高的现象。银汉鱼 (*Menidia beryllina*)<sup>[9]</sup> 在低温条件下雌性率可达 85%。在小黄

鱼 (*Larimichthys polyactis*)<sup>[10]</sup> 养殖过程中发现, 温度升高能使小黄鱼性腺分化速率加快, 同时小黄鱼的生理性别为雌性的比例升高。在少量的鱼类中, 也观察到高温诱导雄性向雌性逆转的现象, 高温促使鲫鱼 (*Carassius auratus*)<sup>[11]</sup>、许氏平鲈 (*Sebastes schlegeli*)<sup>[12]</sup>、江黄颡鱼 (*Pseudobagrus vachelli*)<sup>[13]</sup> 等的生理性别向雌性化方向分化。【本研究切入点】在上述研究基础上, 本项目组前期试验发现在斑点叉尾鲷中通过提高温度能够使其性腺向雌性化方向分化发育, 这为斑点叉尾鲷的性控制研究提供了新的思路。斑点叉尾鲷的卵巢分化起始于受精后的第 19 d, 而精巢的分化晚于卵巢, 一般在受精后的第 90~102 d 开始<sup>[14]</sup>。在斑点叉尾鲷的卵黄囊苗时期提高养殖水体温度, 可以诱导斑点叉尾鲷向雌性化方向分化。【拟解决的关键问题】本试验通过比较不同温度处理组生长数据, 并利用组织学切片技术观察其性腺分化与发育情况; 同时, 采用 qRT-PCR 方法分别检测雄性性别标志基因 *dmrt1* 基因和雌性性别标志基因 *foxl2* 基因在 XX 和 XY 伪雌鱼卵巢中的表达水平, 探究温度对斑点叉尾鲷生长及性腺分化的影响及不同温度对性腺分化影响的潜在机制, 为阐明温度影响斑点叉尾鲷分化机制奠定基础, 同时为日后建立环境友好型的斑点叉尾鲷性别控制育种模式提供前期探索。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

试验所选用的斑点叉尾鲷亲鱼来自国家级江苏斑点叉尾鲷遗传育种中心。健康亲鱼交配产卵后, 选取发育成熟、活力旺盛的卵黄囊苗, 在斑点叉尾鲷鱼卵流水孵化装置中孵化出苗。设置 (30±0.5) °C (T-30, CK)、(33±0.5) °C (T-33) 和 (36±0.5) °C (T-36) 3 个温度组, 初始水温为 28 °C, 使用加热棒每隔 12 h 升温 1 °C, 至水温到达设定温度后持续保持温度恒定。每个试验组设置 3 个重复, 每个重复放置 800 尾鱼苗 (规格: 52 尾·g<sup>-1</sup>), 从 1 dah 斑

点叉尾鲷的培育开始，进行为期 30 d 的温度诱导试验。待卵黄囊褪去，仔鱼上游觅食后，先投喂开口饵料，然后投喂微粒饲料（粗蛋白 $\geq 50\%$ ，粗脂肪 $\geq 8\%$ ，粗纤维 $\leq 3\%$ ，粗灰分 $\leq 16.5\%$ ，钙 $\leq 5\%$ ，总磷 $\geq 1\%$ ，水分 $\leq 12\%$ ，赖氨酸 $\geq 2\%$ ）（山东升索饲料科技有限公司），根据试验鱼的生长情况制定的开口饵料及微粒饲料调整方案如表 1 所示。结束 30 d 的温度诱导后将 30 日龄试验鱼移至室外水泥池（5 m $\times$ 5 m $\times$ 1 m）进行养殖，饲料更换为商品饲料（粗蛋白 $\geq 30\%$ ，水分 $\leq 12\%$ ，粗纤维 $\leq 10\%$ ，粗灰分 $\leq 13\%$ ，粗脂肪 $\geq 3\%$ ，总磷 $\geq 1\%$ ，赖氨酸 $\geq 1.5\%$ ）（南京市澳华生物科技有限公司）。每日上、下午各投喂一次，日投喂量为鱼体重的 3%。

表 1 开口饵料及微粒饲料调整方案  
Table 1 Particulate feed adjustment for channel catfish

| 饲料<br>Feed | 试验鱼体长<br>Body length/mm | 投喂天数<br>Feeding days/d |
|------------|-------------------------|------------------------|
| 卤虫         | 1~6                     | 3                      |
| 微粒饲料S1     | 6~10                    | 6                      |
| 微粒饲料S2     | 9~14                    | 6                      |
| 微粒饲料S3     | 13~18                   | 6                      |
| 微粒饲料S4     | 18~28                   | 6                      |

1.2 生长数据采集

在 60 日龄时，采用-氨基苯甲酸乙酯甲基磺酸盐（MS-222）（Merck，德国）浸润麻醉，统计各组中试验鱼的存活情况，从各试验组中随机选取 100 尾试验鱼，测量试验鱼的体长、体重生长数据。

1.3 遗传性别鉴定

在 60 日龄时，从各试验组中随机选取 20 尾试验鱼，剪取试验鱼的尾鳍后，将其保存在无水乙醇中，用于遗传性别鉴定。取 10~20 mg 的尾鳍组织，擦干剪碎后放置于 1.5 mL 离心管中。基因组 DNA 的提取采用 DNA Isolation Mini Kit 试剂盒（南京诺维赞生物科技有限公司），提取过程严格按照说明书进行，提取完成的基因组 DNA 样本存放于-20 ℃冰箱中保存。采用课题组前期开发的斑点叉尾鲷遗传性别鉴定方法<sup>[15]</sup>对试验鱼的遗传性别进行鉴定。

1.4 解剖学观察

在 60 日龄时，从各试验组中随机采集 100 尾试验鱼，麻醉后切断鳃盖与腮丝间的动脉，血液放干后在试验鱼的肛门处做纵向切口，根据试验鱼规格调整切口长度（约 3~4 cm），观察试验鱼卵巢形成情况。同时，采集试验鱼的尾鳍组织，提取 DNA 后

鉴定遗传性别。根据鉴定结果统计各组中试验鱼的卵巢形成比例和性逆转率（XY 伪雌鱼/XY 雄鱼 $\times 100\%$ ）。

1.5 组织学观察

取性腺保存在多聚甲醛溶液中，用于组织切片。性腺组织中的蛋白质经多聚甲醛保存后变性凝固，用低浓度到高浓度的酒精脱去性腺组织中的水分，置于二甲苯中透明后浸入融化的石蜡中，待石蜡浸入完全后进行包埋冷却。制作 5~6  $\mu\text{m}$  的切片，采用 HE 染色，最后滴上树胶封固<sup>[16]</sup>。在光学显微镜（Nikon，日本）下观察并拍照记录各试验组中性腺形成情况，在组织学水平观察 T-30 组中正常雌鱼，T-33 组、T-36 组中 XY 雌鱼的性腺发育情况。

1.6 性别分化相关基因表达分析

采用 qRT-PCR 方法检测 T-30 组、T-36 组雌雄性腺中 *foxl2* 和 *dmrt1* 基因 mRNA 的相对表达量。采集 150 日龄 T-30 组雌雄试验鱼的精巢、卵巢组织，T-36 组正常雌鱼和 XY 雌鱼的卵巢组织后，使用 RNA 提取试剂盒（Qiagen，德国）提取总 RNA，该过程严格按照说明书进行。使用 Prime Script<sup>TM</sup> RT Master Mix 试剂盒（TaKaRa，日本）合成 cDNA，cDNA 合成后存放于-80 ℃冰箱。应用 NCBI 中 Primer-BLAST 功能设计斑点叉尾鲷 *foxl2* 和 *dmrt1* 基因编码区的 qRT-PCR 反应引物，内参基因为  $\alpha\text{-tubulin}$ <sup>[17]</sup>，qRT-PCR 反应引物如表 2 所示。qRT-PCR 体系为 25  $\mu\text{L}$ ，包括 12.5  $\mu\text{L}$  TB Green 染料（Takara，日本），2  $\mu\text{L}$  cDNA，上下游引物各 1  $\mu\text{L}$ ，5  $\mu\text{L}$  H<sub>2</sub>O。qRT-PCR 程序为 95 ℃ 30 s，95 ℃ 15 s，57 ℃ 30 s，95 ℃ 15 s，60 ℃ 15 s，79 ℃ 5 s，95 ℃ 15 s，每个试验 3 次重复。采用  $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$  值法<sup>[18]</sup>计算 *foxl2* 和 *dmrt1* 基因在正常 XX 雌鱼、XY 雌鱼卵巢中的相对表达量。

1.7 数据分析

使用 Excel 软件统计生长、存活率和性逆转率等数据，试验数据以“平均值 $\pm$ 标准差（ $\bar{X} \pm \text{SD}$ ）”表示，采用 R 4.0.5 软件对所有试验数据进行单因素方差分析（one-way ANOVA）。

2 结果与分析

2.1 温度对斑点叉尾鲷生长及性逆转的影响

统计 T-30 组、T-33 组和 T-36 组 60 日龄试验鱼的生长情况及卵巢形成情况发现（表 3），温度越高，试验鱼的存活率越低，当温度达到 36 ℃ 时，试验鱼的存活率仅为 82.67%，与其他两组呈显著性差异（ $P < 0.05$ ）。T-33 组试验鱼的体长、体重均为 3 组中最高，T-36 组试验鱼的体长、体重均为 3 组中

表 2 qRT-PCR 反应引物表  
Table 2 Primers for q-PCR

| 基因<br>Gene       | 引物<br>Primers | 序列 (5'-3')<br>Sequence (5'-3') | 长度<br>Length/bp | 退火温度<br>Tm/℃ |
|------------------|---------------|--------------------------------|-----------------|--------------|
| <i>dmrt1</i>     | dmrt1-F       | GTGATTACGGCTTTGCGGTG           | 20              | 57           |
|                  | dmrt1-R       | TAGCGGGAAGGCTGACAAA            | 20              | 56           |
| <i>foxl2</i>     | foxl2-F       | TGATGCACTGCCCTTACTGG           | 20              | 57           |
|                  | foxl2-R       | CACAAGTCTCGGGTAGTGGG           | 20              | 58           |
| <i>α-tubulin</i> | α-tubulinF    | AGCCATACAATTCCATCCTGACC        | 23              | 56           |
|                  | α-tubulinR    | GCGGCAGATGTCGTAGATGG           | 20              | 58           |

最低，但是 3 组处理之间的生长数据无显著性差异（ $P>0.05$ ）。T-30 组卵巢形成比例为 51%，雌雄鱼比例接近 1:1，随着温度的提高，试验鱼的卵巢形成比例逐渐提高，性逆转率与温度呈正相关。各组在卵巢形成比例和性逆转率均呈显著性差异（ $P<0.05$ ）。

表 3 试验鱼生长特性和雌鱼比例  
Table 3 Growth and survival of channel catfish and proportion of females in each experimental group

| 组别<br>Group | 存活率<br>Survival rate/% | 体长<br>Body length/cm | 体重<br>Body weight/g | 卵巢形成比例<br>Ovarian ratio/% | 性逆转率<br>Sex reversal rate/% |
|-------------|------------------------|----------------------|---------------------|---------------------------|-----------------------------|
| T-30        | 95.33±0.94 a           | 9.13±0.75            | 6.310±1.58          | 51.00±1.03 a              | 0 a                         |
| T-33        | 91.33±1.25 a           | 10.14±1.39           | 9.761±2.80          | 66.67±1.22 b              | 31.98±1.34 b                |
| T-36        | 82.67±1.25 b           | 8.80±0.81            | 6.113±1.62          | 77.67±1.35 c              | 54.43±1.96 c                |

同列数据后不同小写字母表示差异显著（ $P<0.05$ ）。  
Means with different lowercase letters on the same column indicate significant difference ( $P<0.05$ ).

2.2 性逆转效果评估

性逆转效果评估是在鉴定试验鱼遗传性别后，根据组织学观察和解剖学观察综合分析 XY 雌鱼卵巢发育情况（图 1）。选取 T-30、T-33 组、T-36 组 XX 雌鱼和 T-33 组、T-36 组 XY 伪雌鱼的卵巢组织进行对比分析，结果发现各组的卵母细胞均呈圆形，都以Ⅱ期卵母细胞为主，T-30 组 XX 雌鱼的部分卵母细胞发育至Ⅲ期卵母细胞，而 T-33 组、T-36 组中 XX 雌鱼的卵母细胞以Ⅲ期卵母细胞为主，T-36 组 XY 伪雌鱼中存在少量Ⅲ期卵母细胞，而 T-33 组 XY 伪雌鱼中未见明显的Ⅲ期卵母细胞。T-33 组和 T-36 组 XY 伪雌鱼的卵母细胞数量少于 XX 雌鱼，且细胞内以 1~2 个核仁的卵母细胞为主，T-30 组、T-33 组和 T-36 组的卵母细胞核内主要分布 3 个以上核仁。

通过解剖学观察发现，T-30 组、T-33 组和 T-36 组之间卵巢发育无异，T-36 组中 XY 雌鱼的卵巢发育正常，但 T-33 组中 XY 雌鱼的卵巢发育缓慢，卵巢纤细，且与体腔黏膜相连，轮廓不清晰。

2.3 温度对性别分化相关基因表达量的影响

对 150 日龄 T-30 组中雌鱼、雄鱼的卵巢和精巢组织，以及 T-36 组中 XY 伪雌鱼和 XX 雌鱼卵巢组织提取总 mRNA 后，通过 qRT-PCR 方法检测雄性性

别决定基因 *dmrt1* 和雌性性别决定基因 *foxl2* 在上述组织中的相对表达量（图 2）。结果显示，*dmrt1* 基因在正常雄鱼的精巢中的表达量最高，与 T-30、T-36 组中雌鱼的卵巢组织的表达量呈显著差异（ $P<0.05$ ），与 T-36 组中 XY 伪雌鱼的卵巢组织无显著性差异。*foxl2* 基因在 T-36 组 XY 雌鱼中被激活，与 T-36 组雌鱼，T-30 组正常雌鱼、雄鱼的性腺组织呈显著性差异（ $P<0.05$ ）。

3 讨论

硬骨鱼的性别分化和形成由遗传因素和环境因素共同决定，环境因素包括温度<sup>[19]</sup>、pH 值<sup>[20]</sup>、光周期<sup>[21]</sup>、溶解氧<sup>[22]</sup>、种群密度<sup>[23]</sup>等，具有很强的可塑性<sup>[24]</sup>。其中，温度是影响硬骨鱼性别分化的最重要环境因子<sup>[25]</sup>。高温时，硬骨鱼的性别决定出现温度依赖型，即温度阈值达到 34℃ 时，硬骨鱼的性别分化向雌性或雄性的方向逆转<sup>[26]</sup>。硬骨鱼发育早期，高温通过改变体内芳香化酶活性，导致雌雄鱼体内分泌的雌二醇、睾酮等相关性激素含量出现差异，最终改变原有的性别分化方向<sup>[27]</sup>。在已报道的大部分硬骨鱼类中，高温通常诱导其性别比例偏向于雄性<sup>[28]</sup>，本试验中斑点叉尾鲷在高温诱导下性腺向雌



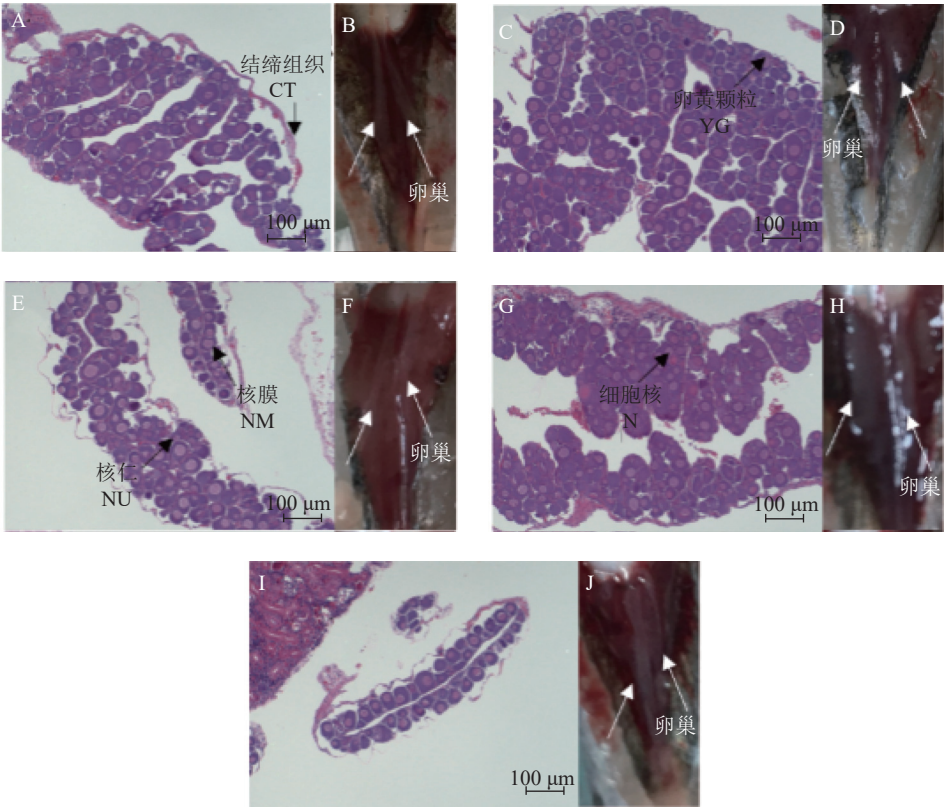
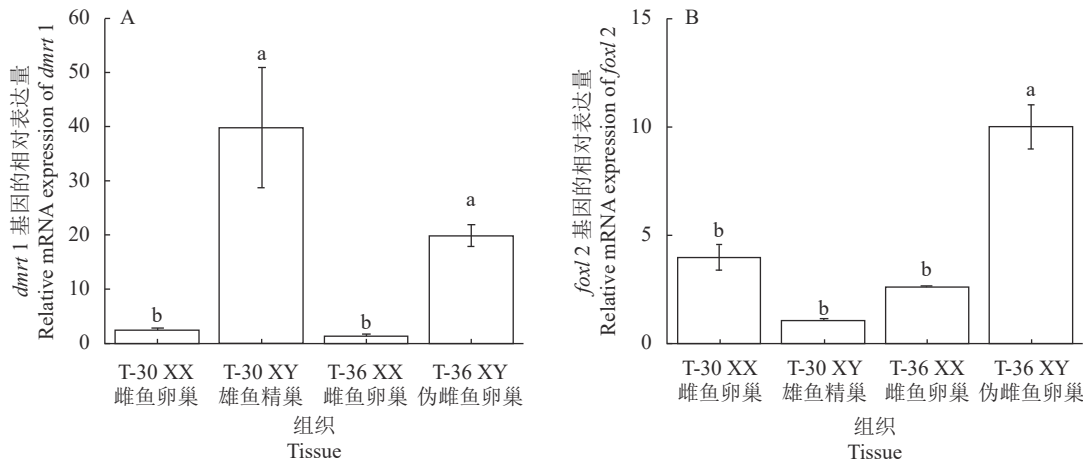


图 A、C、G 是 T-30、T-33、T-36 组中 XX 雌鱼的卵巢组织切片图，图 E、I 是 T-33、T-36 组中 XY 伪雌鱼的卵巢组织切片图；图 B、D、H 是 T-30、T-33、T-36 组中 XX 雌鱼的卵巢组织解剖图，图 F、J 是 T-33、T-36 组 XY 伪雌鱼的卵巢组织解剖图。  
A, C, and G: histological ovarian sections of channel catfish (XX) under T-30, T-33, and T-36, respectively; E and I: histological ovarian sections of sexual reversal channel catfish (XY) under T-33 and T-36, respectively; B, D, and H: ovarian anatomy of channel catfish (XX) under T-30, T-33, and T-36, respectively; F and J: ovarian anatomy of sex-reversed channel catfish (XY) under T-33 and T-36, respectively.

图 1 60 日龄斑点叉尾鲷卵巢组织

Fig. 1 Histological sections and anatomy of ovaries of 60 dah channel catfish



A 为斑点叉尾鲷雄性性别分化基因 *dmrt1* 表达图，B 为斑点叉尾鲷雌性性别决定基因 *foxl2* 表达图。图中小写字母表示显著性差异（ $P < 0.05$ ）。

A: mRNA expression of *dmrt1*; B: mRNA expression of *foxl2*. Means with different lowercase letters indicate significant difference at  $P < 0.05$ .

图 2 斑点叉尾鲷性别分化基因表达

Fig. 2 mRNA expressions of sex differentiation genes in channel catfish

性化方向分化，与鲫鱼<sup>[11]</sup>、许氏平鲈<sup>[12]</sup>等分化方向相同。

研究表明，对于广温性鱼类和暖水性鱼类而言，当养殖水体温度超过最适水体温度时，其代谢加快，饵料系数降低，鱼体生长减慢<sup>[29]</sup>。但是不同鱼类适宜的养殖水体温度略有差异，刘鉴毅等<sup>[30]</sup>研

究表明,当水温在 19~31 ℃ 时,斑点叉尾鲷的特定生长率 (SGR) 和相对增重率 (WGR) 与温度呈正相关,并基于研究推断 31 ℃ 并未达到斑点叉尾鲷的最适生长温度。在本试验中,T-33 组试验鱼的生长数据最佳,这可能与 33 ℃ 更贴近斑点叉尾鲷的最适生长温度有关。

*foxl2* 和 *dmrt1* 基因被认为是硬骨鱼类雌雄性别分化的标志基因,其在性别决定和分化中互为拮抗作用,*foxl2* 基因对卵巢的分化和促进卵母细胞的发育有着重要作用,而 *dmrt1* 基因主要参与雄性的性别决定和精巢的分化,抑制卵母细胞发育<sup>[31]</sup>。*foxl2* 和 *dmrt1* 基因通过调控 *cyp19a1*、*sox9* 等下游性别分化相关基因的表达,使雌雄硬骨鱼体内雌二醇和睾酮等类固醇激素含量出现差异<sup>[32,33]</sup>,从而达到调控雌雄性别分化的目的。研究发现,*dmrt1* 基因对雄性斑马鱼的性腺维持起着重要作用,*dmrt1* 基因的突变会导致雄性斑马鱼性逆转为可育雌性<sup>[34]</sup>;使用 CRISPR/Cas9 技术敲除异育银鲫 (*Carassius gibelio*) *foxl2* 基因,导致其卵母细胞发育缓慢甚至发生性逆转<sup>[35]</sup>。

在本研究中,*foxl2* 基因在 XY 伪雌鱼卵巢中的表达量显著高于其他 3 个组织,造成这一现象的可能原因是高温通过上调 XY 伪雌鱼 *foxl2* 基因的表达实现其性别逆转。然而,XY 伪雌鱼的 *dmrt1* 基因在卵巢中的表达量仅低于正常雄鱼精巢,其表达并没有完全被抑制。类似的现象也见于 17β-雌二醇诱导尖吻鲈 (*Lates calcarifer*) 性逆转的研究中,其性逆转鱼卵巢中 *foxl2* 基因的表达量显著上调,但 *dmrt1* 基因的表达未被完全抑制<sup>[36]</sup>。因此,推测即使 XY 雌性斑点叉尾鲷 *dmrt1* 基因虽未被完全抑制,但是受高表达 *foxl2* 基因的影响,其性腺仍旧会发育成卵巢。然而,高温诱导解除后,其性腺是否会向精巢分化仍有待于进一步研究。

## 参考文献:

- [1] 张振东,肖友红.美斑点叉尾鲷法案系统性回顾[J].海洋与渔业,2017(1):65-66.  
ZHANG Z D, XIAO Y H. Systematic review of channel catfish act in the United States [J]. *Ocean & Fishery*, 2017(1): 65-66. (in Chinese)
- [2] 钟立强,王明华,陈校辉,等.江苏斑点叉尾鲷产业现状及发展战略思考[J].中国农学通报,2021,37(17):137-143.  
ZHONG L Q, WANG M H, CHEN X H, et al. Current status and development strategy of the channel catfish industry in Jiangsu [J]. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 2021, 37(17): 137-143. (in Chinese)
- [3] DESPREZ D, MÉLARD C. Effect of ambient water temperature on sex determinism in the blue tilapia *Oreochromis aureus* [J]. *Aquaculture*, 1998, 162(1/2): 79-84.
- [4] 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.  
CHEN Y H, LIN D J, YOU Y L. Gonad differentiation in loach(*Misgurnus anguillicaudatus*) and the temperature effects [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2007, 14(1): 74-82. (in Chinese)
- [5] ABOZAIID H, WESSELS S, HÖRSTGEN-SCHWARK G. Effect of rearing temperatures during embryonic development on the phenotypic sex in zebrafish (*Danio rerio*) [J]. *Sexual Development*, 2011, 5(5): 259-265.
- [6] 王浚宇.高温和甲基睾酮联合处理对尼罗罗非鱼性别分化的影响研究[D].泰安:山东农业大学,2020.  
WANG J Y. Effects of co-treatment with high temperature and methyltestosterone on sex differentiation of Nile tilapia[D]. Taian: Shandong Agricultural University, 2020. (in Chinese)
- [7] KITANO T, TAKAMUNE K, KOBAYASHI T, et al. Suppression of P450 aromatase gene expression in sex-reversed 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]. *Journal of Molecular Endocrinology*, 1999, 23(2): 167-176.
- [8] 齐飘飘,陈敏,于跃,等.高温和皮质醇对黄颡鱼性别分化的影响[J].水生生物学报,2021,45(1):106-117.  
QI P P, CHEN M, YU Y, et al. Effects of high temperature and cortisol on sex differentiation of yellow catfish(*Tachysurus fulvidraco*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2021, 45(1): 106-117. (in Chinese)
- [9] CONOVER D O, KYNARD B E. Environmental sex determination: Interaction of temperature and genotype in a fish [J]. *Science*, 1981, 213(4507): 577-579.
- [10] 孙毅.温度对小黄鱼早期生长发育和性别分化的影响[D].舟山:浙江海洋大学,2018.  
SUN Y. Effects of temperature on early growth and sex differentiation in little yellow croaker[D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University, 2018. (in Chinese)
- [11] 岳敏娟.温度对鲫鱼性别决定的影响及分子机制探讨[D].福州:福建师范大学,2009.  
YUE M J. The study of the influence of the temperature on sex differentiation of *Carassius auratus* and the molecular mechnism[D]. Fuzhou: Fujian Normal University, 2009. (in Chinese)
- [12] 张思敏,王孝杰,李吉方,等.温度对许氏平鲉性腺分化的影响及其机制[J].水产学报,2019,43(7):1569-1580.  
ZHANG S M, WANG X J, LI J F, et al. Effects of temperature on gonadal differentiation of black rockfish (*Sebastes schlegelii*) and its mechanism [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 43(7): 1569-1580. (in Chinese)
- [13] 程晓春.温度对江黄颡鱼(*Pseudobagrus vachelli*)性分化的研究[D].福州:福建师范大学,2007.  
CHENG X C. The study of the influence of temperature on sex differentiation of teleost, *Pseudobagrus vachelli*[D]. Fuzhou: Fujian

- Normal University, 2007. (in Chinese)
- [14] 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.
- [15] ZHANG S Y, ZHANG X H, CHEN X H, et al. Construction of a high-density linkage map and QTL fine mapping for growth- and sex-related traits in channel catfish (*Ictalurus punctatus*) [J]. *Frontiers in Genetics*, 2019, 10: 251.
- [16] 牛莹月, 区又君, 蓝军南, 等. 人工培育四指马鲈组织及其早期发育 [J]. 南方水产科学, 2020, 16 (5) : 108–114.
- NIU Y Y, OU Y J, LAN J N, et al. Structure and early development of gill tissue in artificially cultured *Eleutheronema tetradactylum* [J]. *South China Fisheries Science*, 2020, 16 (5) : 108–114. (in Chinese)
- [17] ZHANG S Y, LI Y, SHAO J J, et al. Functional identification and characterization of IpMSTNa, a novel orthologous myostatin (*MSTN*) gene in channel catfish *Ictalurus punctatus* [J]. *International Journal of Biological Macromolecules*, 2020, 152: 1–10.
- [18] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the  $2^{-\Delta\Delta CT}$  method [J]. *Methods*, 2001, 25 (4) : 402–408.
- [19] HAYASHI Y, KOBIRA H, YAMAGUCHI T, et al. High temperature causes masculinization of genetically female medaka by elevation of cortisol [J]. *Molecular Reproduction and Development*, 2010, 77 (8) : 679–686.
- [20] 邹芝英, 杨弘, 李大宇. 罗非鱼性别决定和分化机制的研究进展 [J]. 中国水产科学, 2009, 16 (1) : 139–145.
- ZOU Z Y, YANG H, LI D Y. Research advances on sex determination and differentiation mechanism in tilapia [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2009, 16 (1) : 139–145. (in Chinese)
- [21] HAYASAKA O, TAKEUCHI Y, SHIOZAKI K, et al. Green light irradiation during sex differentiation induces female-to-male sex reversal in the medaka *Oryzias latipes* [J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 2383.
- [22] WU R S S, ZHOU B S, RANDALL D J, et al. Aquatic hypoxia is an endocrine disruptor and impairs fish reproduction [J]. *Environmental Science & Technology*, 2003, 37 (6) : 1137–1141.
- [23] FRANCIS R C, BARLOW G W. Social control of primary sex differentiation in the Midas cichlid [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1993, 90 (22) : 10673–10675.
- [24] 王成龙, 关文志, 李永强, 等. 17 $\beta$ -雌二醇诱导黄颡鱼雌性化的研究 [J]. 南方水产科学, 2020, 16 (3) : 25–30.
- WANG C L, GUAN W Z, LI Y Q, et al. Study on 17 $\beta$ -estradiol induced feminization of *Pelteobagrus fulvidraco* [J]. *South China Fisheries Science*, 2020, 16 (3) : 25–30. (in Chinese)
- [25] 王海贞, 王辉, 强俊, 等. 温度、盐度和pH对尼罗罗非鱼性别分化的影响 [J]. 应用生态学报, 2012, 23 (10) : 2893–2899.
- WANG H Z, WANG H, QIANG J, et al. Effects of water temperature, salinity and pH on sex differentiation of *Oreochromis niloticus* [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2012, 23 (10) : 2893–2899. (in Chinese)
- [26] CARTER A W, SADD B M, TUBERVILLE T D, et al. Short heatwaves during fluctuating incubation regimes produce females under temperature-dependent sex determination with implications for sex ratios in nature [J]. *Scientific Reports*, 2018, 8: 3.
- [27] BOWDEN R M, PAITZ R T. Temperature fluctuations and maternal estrogens as critical factors for understanding temperature-dependent sex determination in nature [J]. *Journal of Experimental Zoology Part A: Ecological and Integrative Physiology*, 2018, 329 (4/5) : 177–184.
- [28] 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.
- CHEN X H, LIU X C, MENG Z N, et al. Masculinization by temperature control in larvae Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* L [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2013, 52 (1) : 94–99. (in Chinese)
- [29] KILLEN S S. Growth trajectory influences temperature preference in fish through an effect on metabolic rate [J]. *Journal of Animal Ecology*, 2014, 83 (6) : 1513–1522.
- [30] 刘鉴毅, 宋志明, 王好, 等. 温度对点篮子鱼幼鱼生长、摄食和消化酶活性的影响 [J]. 海洋渔业, 2015, 37 (5) : 442–448.
- LIU J Y, SONG Z M, WANG Y, et al. Effects of water temperature on growth, feeding and activities of digestive enzymes of juvenile *Siganus guttatus* [J]. *Marine Fisheries*, 2015, 37 (5) : 442–448. (in Chinese)
- [31] HUANG S S, YE L P, CHEN H L. Sex determination and maintenance: The role of DMRT1 and FOXL2 [J]. *Asian Journal of Andrology*, 2017, 19 (6) : 619–624.
- [32] BAROILLER J F, GUIGUEN Y, FOSTIER A. Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in fish [J]. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 1999, 55 (6/7) : 910–931.
- [33] GUIGUEN Y, BAROILLER J F, RICORDEL M J, et al. Involvement of estrogens in the process of sex differentiation in two fish species: The rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and a tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. *Molecular Reproduction and Development*, 1999, 54 (2) : 154–162.
- [34] WEBSTER K A, SCHACH U, ORDAZ A, et al. Dmrt1 is necessary for male sexual development in zebrafish [J]. *Developmental Biology*, 2017, 422 (1) : 33–46.
- [35] GAN R H, WANG Y, LI Z, et al. Functional divergence of multiple duplicated Foxl2 homeologs and alleles in a recurrent polyploid fish [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 2021, 38 (5) : 1995–2013.
- [36] BANH Q Q T, GUPPY J L, DOMINGOS J A, et al. Induction of precocious females in the protandrous barramundi (*Lates calcarifer*) through implants containing 17 $\beta$ -estradiol - effects on gonadal morphology, gene expression and DNA methylation of key sex genes [J]. *Aquaculture*, 2021, 539: 736601.