

doi: 10.7541/2020.046

性类固醇激素对黄颡鱼雌雄生长二态性的影响

王凌宇 齐飘飘 陈敏 袁勇超 沈志刚 樊启学

(华中农业大学水产学院, 农业部淡水生物繁育重点实验室, 池塘健康养殖湖北省工程实验室, 武汉 430070)

摘要: 为了研究性类固醇激素在雌雄生长二态性中(Sexual Size Dimorphism, SSD)的作用, 文章分析了性类固醇激素对雌雄生长、性腺发育和能量代谢的影响。结果显示: 17β -雌二醇(17β -estradiol, E_2)显著抑制黄颡鱼的生长, 且 E_2 显著促进能量在肝脏中的分配, 但在摄食量上无显著影响, 所以 E_2 对黄颡鱼生长的抑制是能量分配的差异引起, 而不是能量获取差异引起。 17α -甲基睾丸酮(17α -Methyltestosterone, MT)显著促进雌鱼生长, 但抑制雄鱼生长, MT能显著促进黄颡鱼摄食和肝脏的能量分配, 显著抑制卵母细胞的发育和卵巢的能量投入。本研究发现MT通过促进摄食, 抑制卵巢发育并且减少性腺发育的能量投入, 从而促进雌鱼生长; E_2 能够显著增加雌雄鱼在肝脏中能量的投入, 最终抑制雌雄生长。实验结果只能部分解释实验中观察到的生长差异现象, 因此我们需要更进一步从能量的摄入、分配及消耗三方面来研究雌雄生长的二态性。

关键词: 黄颡鱼; 雌雄二态性; 雌雄生长差异; 雌二醇; 甲基睾丸酮; 能量获取; 能量分配

中图分类号: S965.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2020)02-0379-10

黄颡鱼(*Tachysurus fulvidraco*)隶属于鲶形目、鲶科, 广泛分布于长江、黄河、珠江及黑龙江等水域, 是我国常见的中小型养殖经济鱼类。黄颡鱼因其肉质鲜美, 无肌间刺, 营养价值高而一直深受消费者喜爱, 黄颡鱼平均含肉率为67.53%, 蛋白含量为15.37%, 必需氨基酸与非必需氨基酸比值高于常见的经济鱼类, 必需氨基酸指数(EAAI)为74.34^[1], 其中黄颡鱼EAA/TAA为38%, EAA/NEAA为60%, 均符合FAO/WHO优质蛋白的理想模型^[2]。近年来, 黄颡鱼养殖面积增长较快, 养殖产量已从2013年的5.48万吨增长至2017年的48万吨(中国渔业统计年鉴, 2018), 根据联合国粮农组织统计, 2016年黄颡鱼全世界总产值9.9亿美元, 居全世界淡水鱼产值排名第32位(FAO)。在相同养殖环境下, 雄鱼生长显著快于雌鱼。在本实验中发现, 养殖150d后, 对照组雄鱼生长比雌鱼快120%。为了提高养殖经济效益, 刘汉勤等^[3]利用激素性逆转结合雌核发育技术, 获得YY超雄黄颡鱼, 其后代雄鱼占比约为90%。Dan等^[4]随后开发出黄颡鱼雌雄特异性分子标记, 可快速鉴定黄颡鱼遗传型性别(区分XX、XY和

YY), 为黄颡鱼的育种和科研提供了很好的工具。

雌雄生长二态性(Sexual Size Dimorphism, SSD)指在种群或较大群体中雌雄个体生长存在显著差异的现象^[5], SSD是由自然选择与性别选择相互作用的结果^[6, 7], 雄性个体较大的种群中, 雄性间精子和个体间的竞争更加激烈, 大个体雄鱼能够更好地占据繁殖领地和觅食, 进而继续促进自身生长; 而在雌性较大个体中, 雌性的繁殖力和繁殖成功率都与体型成正相关, 同时雄性为了提高自身存活率会减少觅食活动, 从而避免被捕食的风险^[8, 9]。在哺乳动物^[10]和鸟类中^[11]发现, 大部分雄性比雌性生长更快。在爬行动物中, 既存在雌性生长快于雄性, 亦存在雄性快于雌性的现象^[12]。而在鱼类中, SSD同样表现出雌性大于雄性和雄性大于雌性的现象, 如: 半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis* Günther)、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)、金钱鱼(*Scatophagus argus*)等均表现出雌鱼大于雄鱼现象; 尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)雄鱼的生长速度比雌鱼大约快40%^[13], 黄颡鱼也表现出雄性大于雌性现象^[3, 14]。

性类固醇激素在雌雄生长二态性上扮演着重

收稿日期: 2019-03-15; 修订日期: 2019-08-16

基金项目: 中央高校基本科研业务费专项基金(2662017QD035); 湖北省自然科学基金(2018CFB215)资助 [Supported by the Fundamental Research Funds for the Central Universities (2662017QD035); Natural Science Foundation of Hubei Province (2018CFB215)]

作者简介: 王凌宇(1994—), 硕士研究生; 主要研究方向为鱼类遗传育种。E-mail: 437013941@qq.com

通信作者: 沈志刚(1986—), 副研究员; 研究方向为鱼类性别分化和生长二态性。E-mail: zgshen2017@mail.hzau.edu.cn

要角色,因为这种生长差异在动物性别分化后的性腺发育阶段开始逐渐突显。性类固醇激素主要是由性腺合成和分泌^[12],所以,我们推测雌雄生长二态性与性腺发育相关,而性激素主要由性腺分泌,所以雌雄生长二态性可能与性类固醇激素的差异性相关。许多研究发现,雄激素可以通过调节GH的分泌,改变GH诱导的IGF-1分泌水平^[15],控制下丘脑GHRH表达水平^[16]等途径来调控生长。在爬行动物尤其是蜥蜴中,性激素对雌雄生长影响的研究更加广泛。在雄性个体较大种群中,睾酮(Testosterone, T)能够促进雄性亚罗刺蜥蜴(*Sceloporus jarrovi*)和褐脚蜥蜴(*Anolis sagrei*)的生长^[12, 17],而在雌性个体较大种群中, T则抑制雄性东栏蜥蜴(*Sceloporus undulatus*)的生长。在硬骨鱼类中,许多研究发现雄激素能够促进IGF-1的分泌,如17 α -甲基睾酮(17 α -Methyltestosterone, MT)处理罗非鱼时发现,血液中IGF-1升高,但对GH无影响。在鲑科鱼类中,雄激素T提高肝脏组织和肌肉对GH的敏感性,从而促进IGF-1分泌量^[18]。雌激素(Estrogen)是一种由内分泌系统产生的多效性类固醇激素,与动物的生长与繁殖等生命活动密切相关。雌激素通过与特异性受体(Estrogen receptor, ER)相结合进而调节一系列基因的表达,影响生殖系统周期变化、生殖器官的发育,脑组织内分泌、骨骼生长^[19]。雌二醇(17 β -Estradiol, E₂)能够促进未成熟虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*) GH的分泌,提高血液中GH浓度。E₂能增加黄金鲈(*Perca flavescens*) GH的分泌和摄食量^[20, 21]。摘除卵巢后的小鼠表现出明显的摄食增加,用E₂注射治疗后摄食降低,说明E₂能够降低小鼠摄食^[22],敲除雌雄小鼠ER α 受体后,雌雄鼠摄食略微增加,能量支出减少,从而表现出体重的增加^[23]。这些研究表明,性类固醇激素可能通过改变雌性与雄性对能量的摄入与分配,从而影响雌雄生长的差异性。

性类固醇激素能够影响鱼类生长,但其中具体的机理以及对雌雄鱼影响的差异性并不清楚。为了研究性类固醇激素在雌雄生长二态性中的作用,我们分别比较了雄激素和雌激素对黄颡鱼雌雄鱼生长、摄食、性腺发育及能量分配的影响。

1 材料与方法

1.1 实验材料与实验鱼养殖

实验用黄颡鱼来自湖北省荆州市,选取规格大体一致、无损伤、体质健壮的普通黄颡鱼,初始体重为(5.75 $\pm$ 0.20) g,通过前期预实验,该阶段雌雄生长无显著性差异($P>0.05$)。实验鱼在华中农业大学

水产学院养殖基地流水养殖系统中暂养一个月,饥饿48h后进行正式实验。实验设计了17 α -Methyltestosterone (MT)、17 β -Estradiol (E₂)、对照3个实验组,每个实验组设计三个平行,每个平行50尾鱼,实验缸随机分配,实验温度为(23 $\pm$ 2.0) $^{\circ}\text{C}$,溶氧为(6.0 $\pm$ 0.5) mg/L。在实验期间,每日定时进行表观饱食投喂,时间为每天9:00和18:00。未吃完残饵回收,40 $^{\circ}\text{C}$ 烘干后称重,记录每个实验缸每天吃食量。投喂前后2h内,不进行任何操作,避免惊扰,摄食2h后,用虹吸法移出排泄物。实验养殖阶段持续150d,分别在0、30d、90d、150d设置取样点,每次取样前,实验鱼饥饿24h后进行取样处理。

实验饲料为黄颡鱼专用浮性饲料(粗蛋白含量42%),将性类固醇激素溶于乙醇中,与饲料均匀混合后,浓度为5 mg药物每千克饲料,对照组不添加药物直接与乙醇混合,每100 g饲料拌20—40 mL 95%乙醇。通风厨中过夜晾干,使酒精充分挥发。储存于4 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱待用。

1.2 试验样品的采集

在30d和150d两个取样时间点,以MS-222麻醉实验鱼后,称取每尾鱼体重,量取每尾鱼体长,取每尾鱼背鳍鳍条一小块保存于95%乙醇中,并解剖6尾鱼(雌雄各3尾),取血后保存于肝素钠润洗过的离心管,随后5000 r/min离心1min,取上清液保存至-80 $^{\circ}\text{C}$ 。记录肝脏重、性腺重、肠系膜脂肪重量后,取部分性腺组织保存于Boun's液,肝脏、剩余性腺组织保存至-80 $^{\circ}\text{C}$ 。第0和第90天两个取样时间点,只进行体重、体长测量和鳍条的保存。

1.3 性别鉴定

采用康为世纪通用型柱式基因组试剂盒提取鳍条DNA,采用Dan等^[4, 24]开发的黄颡鱼性别特异性分子标记:XY₁-F 5'-GATTGTAGAAGCCATCTCCTTAGCGTA-3'; XY₁-R 5'-CATGTAGATCACTGTACAATCCCTG-3',来鉴定每尾鱼的遗传型性别。PCR反应体系为20 μL :上下游引物各0.5 μL ;模板DNA 1.0 μL ; 2 $\times$ Taq PCR Master Mix 10 μL (康为世纪); ddH₂O 8.0 μL 。反应条件为: 95 $^{\circ}\text{C}$ 预变性3min, 95 $^{\circ}\text{C}$ 变性30s, 60 $^{\circ}\text{C}$ 退火30s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸30s, 34个循环; 72 $^{\circ}\text{C}$ 下彻底延伸10min。扩增完成后,取PCR产物3 μL ,以DL2000 Marker作为参照,以1.5%浓度的琼脂糖凝胶电泳检测。

1.4 组织学观察

性腺组织学样品经脱水、透明、石蜡包埋后,常规切片,厚度5—6 μm ,苏木精伊红染色(HE染色),中性树胶封片。组织切片在光学显微镜下用成像系统进行检查和拍照(Olympus DP73, Japan)。

显微镜下观察、拍照。

1.5 组织能量检测

取保存于 -80°C 的性腺、肝脏、躯壳组织,放入 60°C 烘箱中干燥至体重恒定,记录干重,干重不足 1.00 g 的组织添加标准品至 1.00 g 后进行后续操作。置于研磨机(Retsch MM400)中研磨粉碎;使用Parr6100型氧弹热量计(Calorimeter Parr6100, Parr Instrument Company, Moline, IL, USA)测定每个组织样本的能量密度(Energy Density, ED)^[25]。

1.6 数据分析

实验数据(除能量外)采用SPSS软件(Version 20.0)用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行差异显著性检验,方差分析前进行数据正态性和方差齐性检验,如不符合方差分析的条件,将数据进行对数或正弦转换。用Duncan's多重比较来确定组间差异的显著性, $P<0.05$ 时视为显著性差异。

2 结果

2.1 性别鉴定

黄颡鱼性别特异性分子标记的应用使得我们在所有取样点都清楚每尾鱼的雌雄,并将每尾鱼的雌雄与体重数据一一对应。雄鱼基因型为XY,雌鱼基因型为XX,该性染色体标记引物以黄颡鱼雄鱼基因组为模版能够扩增出两段不同大小的片段(X-片段: 955 bp , Y-片段: 826 bp),以黄颡鱼雌鱼基因组为模版能够扩增出一段 955 bp 的片段。琼脂糖凝胶电泳检验结果显示扩增出 955 和 826 bp 两条带的为雄鱼,只有一条 955 bp 带的为雌鱼。

最后一次取样时将所有黄颡鱼解剖获得表型性别与采用性别特异性分子标记鉴定得到的遗传型性别是 100% 一致的,说明在两种激素浓度下,从本实验规格的黄颡鱼开始养殖 150d 时激素处理并不会导致性逆转。

解剖性腺观察发现1、3、5、7、8、11、12、13、14、15、18、20、21、22、23、24为雌鱼,

2、4、6、9、10、16、17、19为雄鱼,与图1所表现的基因型完全一致。同时也保证每个取样点每尾鱼性别与体重数据一一对应的准确性。

2.2 性类固醇激素对黄颡鱼摄食与生长的影响

由图2可知,雄激素MT能够显著促进黄颡鱼的摄食($P<0.05$),而雌激素 E_2 对黄颡鱼摄食无显著影响($P>0.05$)。性类固醇激素能够减小组内个体间的生长差异,且雄激素组雌雄生长差异显著小于其他两组。MT显著促进黄颡鱼雌鱼的生长($P<0.05$),但抑制雄鱼的生长($P<0.05$), E_2 显著抑制雌雄鱼生长($P<0.05$)。

由图3可知,在实验进行 30d 之后,性类固醇激素均能显著促进黄颡鱼雄鱼的肥满度(CF),雄激素MT组雌鱼肥满度达到 2.06 ; MT组雌鱼性腺成熟系数(GSI)达到 3.92% ,高于对照组雌鱼的 2.44% ,但两者间差异不显著($P>0.05$), E_2 同样对雌雄GSI无显著影响; MT、 E_2 组黄颡鱼肝体比均显著大于对照组, E_2 组肝体比同样显著大于MT组。在 150d 养殖阶段,MT、 E_2 显著提高黄颡鱼雄鱼肥满度CF,但对雄鱼的GSI无显著影响($P>0.05$),但MT组雌鱼GSI为 1.51% ,显著低于其他组。MT、 E_2 组肝体比显著高于对照组($P<0.05$),且在MT组出现最大值为 3.11% 。

2.3 性类固醇激素对黄颡鱼性腺发育的影响

根据杨丽冬等^[26]的研究,由图4可知,MT组精巢发育至V期晚期,此时精巢的精小囊内除了处于边缘的精原细胞外,也有次级精母细胞,精子细胞和精子,精子几乎充满了精小囊(图4a、图4b)。 E_2 组精巢发育至IV期,精小囊中存在大量次级精母细胞和精子细胞,出现少量精子(图4c、图4d)。对照组精巢发育至V期,精巢内含有精原细胞、次级精母细胞、精子细胞和精子,精子在精小囊内大量分布(图4e、图4f)。

由图5可知,MT组卵巢发育至II期,此时卵巢中大部分卵母细胞发育至第II时相,由卵原细胞分化而来,属于初级卵母细胞的小生长期,细胞呈圆

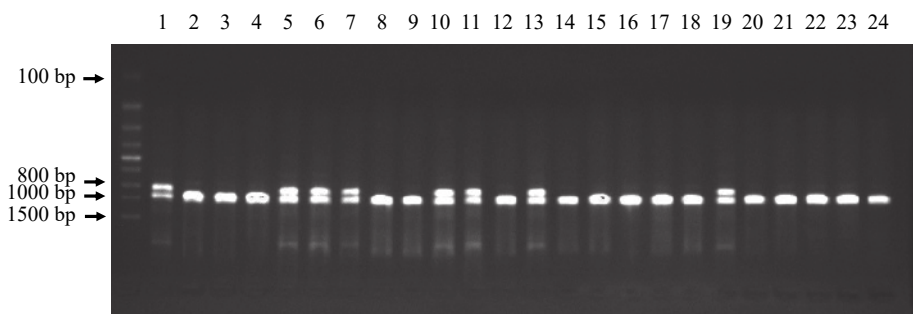


图1 黄颡鱼雌雄基因型鉴定电泳图(X- 955 bp ; Y- 826 bp)

Fig. 1 Genotypic sex identification by using sex-linked markers in yellow catfish (X- 955 bp ; Y- 826 bp)

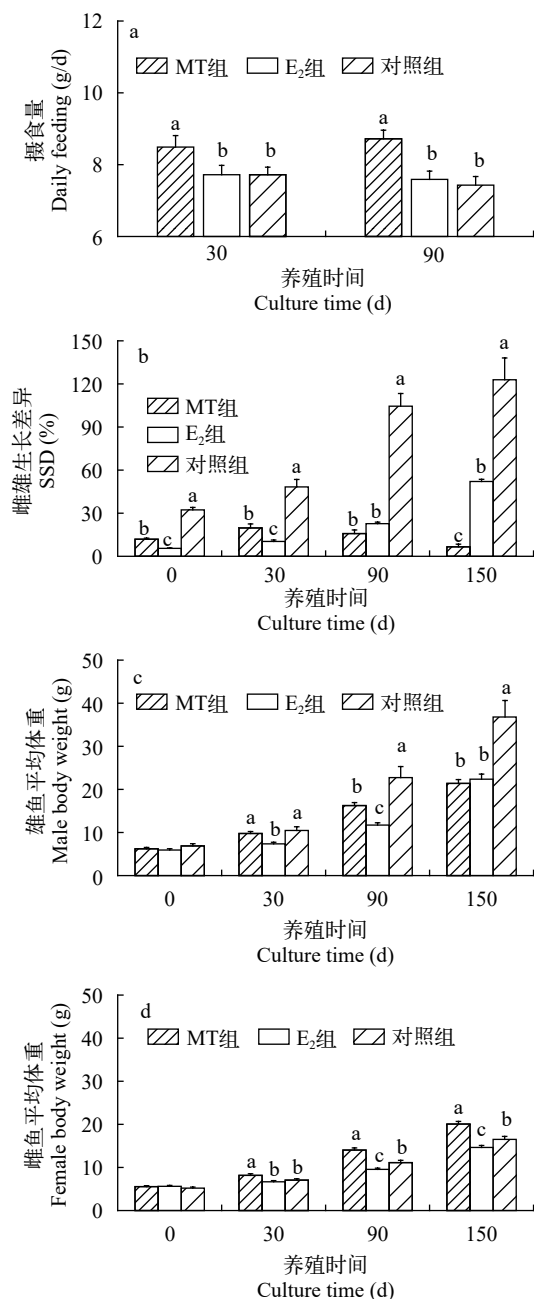


图2 性类固醇激素对黄颡鱼摄食与生长的影响

Fig. 2 Effects of sex steroid hormones on food intake and growth of yellow catfish

MT. 17 α -甲基睾丸酮(17 α -Methyltestosterone); E₂. 17 β -雌二醇(17 β -estradiol); SSD表示雌雄生长差异度, $SSD=100\% \times (W_M - W_F) / W_F$, W_M 为雄鱼体重, W_F 为雌鱼体重; 不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)

MT indicates 17 α -Methyltestosterone. E₂ indicates 17 β -estradiol. SSD indicates the index of sexual size dimorphism, $SSD=100\% \times (W_M - W_F) / W_F$, W_M means body weight of males, W_F means body weight of females. Different letters above the columns indicate significant differences between the treatments ($P < 0.05$)

形或椭圆形, 细胞膜外包围一层滤泡细胞构成的滤泡膜。细胞核位于卵母细胞中央, 核仁分布在细胞

核核膜内侧, 核仁数目较多(图 5a、图 5b)。E₂组卵巢发育至V期。此时卵巢中大部分卵母细胞发育至第IV末到第V时相阶段, 此时卵母细胞处于生长成熟阶段, 细胞明显增大, 细胞质中卵黄持续积累, 最终充满整个细胞, 大部分细胞已经完成细胞核核极化过程(图 5c、图 5d)。对照组卵巢发育至V期, 大部分卵母细胞发育至第IV末到第V时相阶段, 还有部分发育不同步的II时相卵母细胞。视野中大部分细胞完成了卵黄的积累和核极化过程(图 5e、图 5f)。三组综合比较发现, MT显著抑制了雌鱼卵巢的发育, 而雌激素E₂对雌鱼性腺发育有促进作用, 但这种促进作用不明显。

2.4 性类固醇激素对组织能量密度和总能量的影响

由图 6可知, 雄激素能够显著降低黄颡鱼雌雄鱼性腺和肝脏的能量密度, 而雌激素仅降低雄鱼性腺组织密度, 同时增加雌雄鱼肝脏组织密度。MT组雌鱼总能量为125.45 kJ, 高于对照组雌鱼的97.70 kJ, 且其用于躯体的能量占93.85%, 同样高于对照组躯体能量占比89.22%; E₂组雌雄鱼和MT组雄鱼体内总能量都低于对照组, 虽然在雄鱼中, 各组分配至躯体的总能量占比大体一致, 但由于总能量的差异, 所以分配到躯体生长的总能量依旧有很大差异。从性腺和肝脏组织的能量分配来看, MT降低了雌鱼在卵巢中的分配, 增加了肝脏中能量分配, 而E₂将更多能量分配到肝脏, 对性腺组织能量分配影响不大。

3 讨论

在鱼类中, 雌雄生长二态性表现出普遍性和多样性, 既存在雄性大于雌性, 或雌性大于雄性现象, 也存在成熟前无差异, 成熟后两性差异开始展现的情况, 研究人员推测这种差异主要来自性腺发育及性别分化引起的激素水平的不同以及其引起的一系列雌雄生理上的差异。许多研究表明雄性个体较大种群中, 雄性为了生存和获得交配权, 雄性间竞争、觅食、保护繁殖地等活动更加激烈^[27]; 而在雌性个体较大种群中, 雌鱼的繁殖力占主导地位, 雄鱼减少觅食等活动来提高自身存活率。黄颡鱼在自然界或养殖水体中均表现出显著的性别差异, 1龄时雄鱼体重超过雌本体重一倍。前期预实验发现, 黄颡鱼雌雄生长差异出现在10 g以内, 因此实验选用雌雄生长还未表现显著差异的黄颡鱼幼鱼(平均体重6.18 g), 进行了性类固醇激素MT、E₂对黄颡鱼生长二态性影响的研究。研究发现, MT组黄颡鱼生长较对照组无显著影响, 相反, E₂表现出对黄颡鱼生长的显著抑制作用, 进一步分析雌雄生长

差异发现, MT和 E_2 对雄鱼表现出显著抑制作用($P<0.05$), MT能够显著促进雌鱼的生长($P<0.05$)。这结果显然与实际水体中所表现出雄性生长显著快于雌性的现象截然相反, 马文阁^[24]指出黄颡鱼两性生长异形可能是因为雌雄个体之间性激素调节的GH/IGF信号表达差异引起的。

许多研究表明, 性类固醇激素能够通过多种方式影响生物的生长。在哺乳动物和鸟类中, 普遍认为雄激素作为一种合成代谢类固醇能够促进肌肉和骨骼的生长, 有趣的是, 一些研究发现在鸟类和哺乳动物中依旧存在一些非典型的雌性较大的物种, 此时雄激素则表现出抑制生长的作用^[28]。John-Alder等^[29]提出“雄激素双向调节假说”, 即SSD的进化演变方向与雄激素对雄性生长的影响有关, 雄激素对雄性生长表现出双重调节, 在雄性个体较大种群中, 表现促进作用, 反之则抑制雄性生长。但随后的一些研究发现, 在雄性较大种群中, 性腺的摘除和/或雄激素替代并没有对雄性生长产生任何影响^[30]。在本实验中, MT却显著抑制了黄颡鱼雄性

的生长, 促进雌鱼生长, 且马文阁^[24]用MT处理黄颡鱼发现, MT抑制雄鱼GH/IGF轴相关基因的表达, 但促进雌鱼GH/IGF轴相关基因的表达, 这个结果可以一定程度上解释了本实验中MT对雄鱼生长的抑制以及对雌鱼生长的促进作用的原因。在雄性个体较大种群中, Riley等^[31]发现 E_2 能够降低雄性罗非鱼肝脏IGF-1 mRNA表达和血液中IGF-1浓度。雌激素还能够通过受体表达和信息传递水平来调控GH^[32], 马细兰等^[33]发现罗非鱼雄鱼垂体中GH mRNA和肝脏中GHR mRNA表达水平均显著高于雌鱼。在雌性个体较大的种群中, 雄激素抑制黄金鲈生长, 而雌激素促进生长, 进一步研究发现雌激素能够促进黄金鲈GH的分泌^[20], 在金鱼中同样发现 E_2 促进垂体GH激素含量, 但不会影响GH mRNA表达量^[34]。这些结果表明, 雌激素或雄激素对鱼类两性生长差异的影响, 在进化方面与鱼类雄性生长快抑或是雌性生长快有直接关系, 从生理方面不仅与鱼类性别发育相关, 还涉及GH/IGF轴的相关通路。

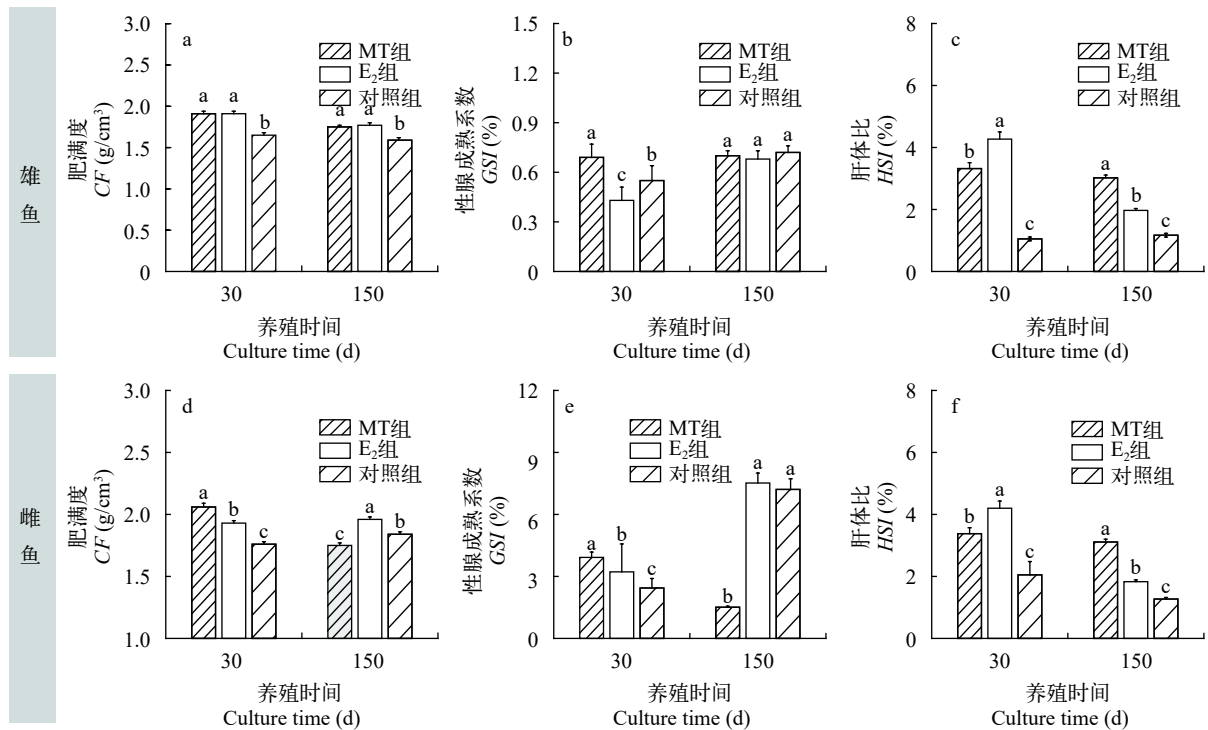


图3 性类固醇激素对黄颡鱼肥满度、性腺成熟系数及肝体比的影响

Fig. 3 Effects of sex steroid hormones on CF, GSI, HSI of yellow catfish

MT: 17 α -甲基睾酮(17 α -Methyltestosterone); E_2 : 17 β -雌二醇(17 β -estradiol); CF、GSI和HSI分别表示肥满度、性腺成熟系数和肝体比; $CF=W/L^3 \times 100$, $GSI=W_G/W \times 100\%$, $HSI=W_L/W \times 100\%$; W 、 W_G 、 W_L 、 L 分别代表体重、性腺重、肝脏重和体长; 不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

MT indicates 17 α -Methyltestosterone. E_2 indicates 17 β -estradiol. CF, GSI and HSI indicates condition factor, gonadosomatic index and hepatosomatic index respectively. $CF=W/L^3 \times 100$, $GSI=W_G/W \times 100\%$, $HSI=W_L/W \times 100\%$. W , W_G , W_L , L indicate body weight, gonad weight, liver weight, and body length respectively. Different letters above the columns indicate significant differences between the treatments ($P<0.05$)

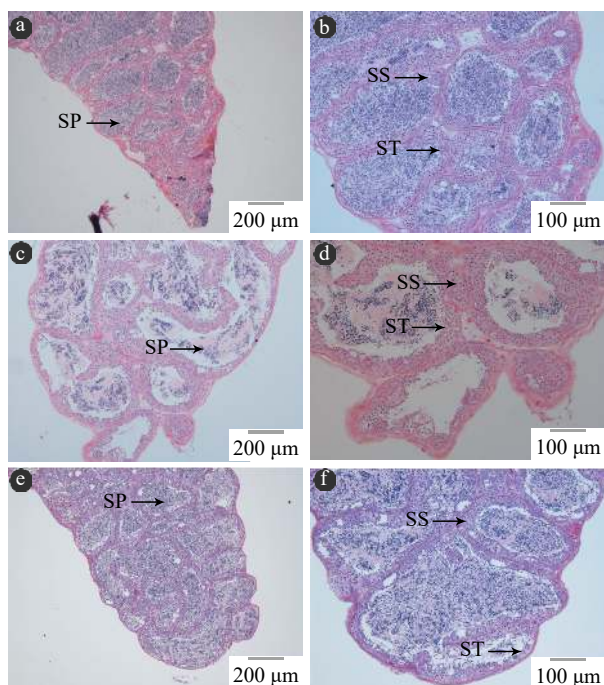


图4 黄颡鱼精巢组织学结构

Fig. 4 Testis histological structure of yellow catfish

a, b. MT组, V期精巢; c, d. E₂组, IV期精巢; e, f. 对照组, V期精巢; SP. 精子; ST. 精子细胞; SS. 次级精母细胞

a, b. MT group, testis in the stage V; c, d. E₂ group, testis in the stage IV; e, f. Control group, testis in the stage V; SP. Spermatozoa; ST. Spermatoblast; SS. Secondary spermatocytes

生物两性间生长差异主要集中在能量的获取和分配上, 如: 鱼^[35, 36]、昆虫^[37]。摄食是鱼类获取能量和营养的主要或唯一途径, 为个体存活、生长、发育和繁殖提供物质和能量基础。雄激素能通过影响摄食率调控生物生长。在雄性个体较大的种群中, 雌、雄激素能促进罗非鱼摄食量以及促摄食基因的表达(Ghrelin, NPY), 但对脂肪酶、蛋白酶影响不明显^[19, 38]。而在雌性个体较大种群中, 黄金鲈雄性为了提高自身存活率, 通过减少觅食行为降低能量的摄取^[39], 雌激素能够促进雌雄鱼摄食, 且这种促进作用在雌鱼更加明显^[21]。雄激素通过抑制欧洲鲈摄食量和饵料效率来抑制生长。黄颡鱼为多次产卵类型的鱼类, 多次产卵策略者的生殖投入以外源性投入为主, 主要来源于饵料摄食^[40]。本实验发现MT组摄食量显著高于E₂组和对照组, 表明MT能够显著促进黄颡鱼摄食, E₂对黄颡鱼摄食无影响。从总能量获取角度观察发现, MT可能通过提高摄食量和消化率促进了雌鱼的能量获取, 对雄鱼则是抑制作用。E₂对雌鱼无影响, 却抑制雄鱼能量获取。

在鱼类生活史中, 研究普遍认为获得的总能量主要分配到内环境稳态保持, 活动, 生长, 储存及繁

殖中^[41]。在早期生活史中, 鱼类的主要能量会用于体生长, 从而降低与体型大小有关的死亡率^[42], 随后能量用于生长和性腺发育。为了解释雌雄生长差异的原因, 关于“生殖成本”的假说被广泛接受, 该假说认为在雄性较大种群中, 雌性分配更多的能量在性腺发育和生殖中, 而在雌性较大种群中, 雄性则消耗更多的能量进行斗争、防御等活动来获得交配权。Bonnet等^[43]同样认为两性间生殖投入的差异是雌雄个体差异的主要原因, 而生殖投入的差异则受到性类固醇激素的影响^[17]。在雄性个体较大的种群中, Kubička等^[44]发现雌性眼镜蛇投入更多的能量在生殖中, 而雄性则不需要承担太多与生殖有关的能量消耗, 而在亚罗刺蜥蜴中, T(睾酮, Testosterone)会增加雄性活动量和保护性斗争, 从而增加能量代谢支出^[45, 46]。在雌性个体较大的种群中, T增加雄性东方强棱蜥和山刺蜥蜴日常活动时间和活动范围, 将更多的能量分配到活动上, 进而抑制雄性生长^[47]。在小型鸟类中, 静息代谢和保持体温恒定消耗的能量占日总消耗的70%, 其余30%用于正常活动。在灰蓝灯草雀中, T能够促进雄性觅食、发声等活动, 同时降低睡眠时间, 但最终不会影响日能量消耗和体重差异^[48]。肝脏是鱼类重要的能量代谢器官, 是GH/IGFs相关基因表达

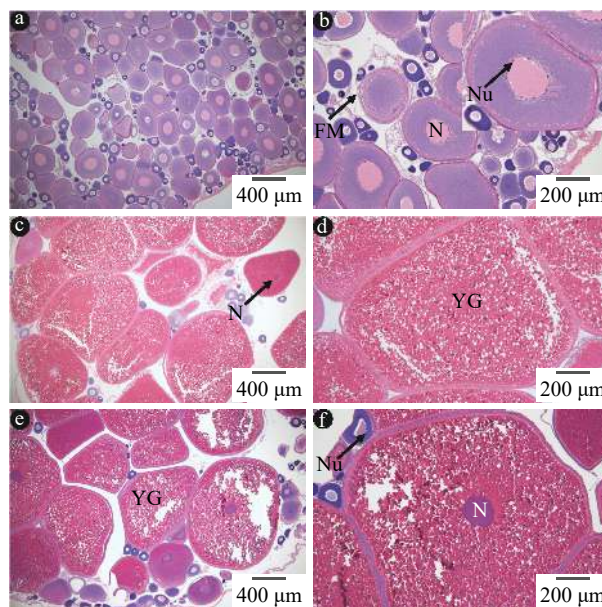


图5 黄颡鱼卵巢组织学结构

Fig. 5 Ovary histological structure of yellow catfish

a, b. MT组, II期卵巢; c, d. E₂组, V期卵巢; e, f. 对照组, V期卵巢; N. 细胞核; Nu. 核仁; YG. 卵黄颗粒; FM. 滤泡膜

a, b. MT group, the second period oocyte; c, d. E₂ group, the fourth period oocyte; e, f. Control group, the fourth period. N. Nucleus; Nu. Nucleolus; YG. Yolk granules; FM. Follicle membrane

以及卵黄蛋白原(Vitellogenin, VTG)合成的重要场所^[49]。胡青^[50]发现E₂能够促进肝脏中VTG的合成, 还可以通过抑制肝脏GH/IGFs相关通路将能量更多的分配至性腺发育。在本实验中, E₂组雌鱼在30d时肝体比 HSI 为4.2%, 在150d时降为1.83%, 而性腺成熟系数 GSI 由3.22%上升到7.52%, 说明在卵巢发育前期, E₂显著促进了能量在肝脏中的储存, 为后面合成VTG储备能量物质, 当卵巢发育至III-V期阶段, 肝脏开始大量合成VTG, 肝脏能量逐渐向卵巢转移。从能量角度分析发现, MT组雄鱼和E₂组雌鱼在肝脏上分配能量显著高于对照组雄鱼,

这种能量分配方式或许是MT对雄鱼和E₂对雌鱼生长抑制的原因之一。

综上所述, 本研究通过黄颡鱼生长指标、组织学、能量等角度, 初步阐明了雌雄激素对黄颡鱼两性生长差异的影响。研究发现, MT通过促进黄颡鱼雌鱼能量沉积, 提高GH/IGFs轴相关基因表达, 同时减少能量在性腺上的分配水平等途径显著促进雌鱼生长。MT虽然促进了黄颡鱼摄食, 但可能抑制了雄鱼对饵料的消化吸收, 或是增加雄鱼活动量, 降低雄鱼体内的能量沉积, 同时抑制雄鱼GH/IGFs相关基因表达, 显著增加肝脏上的能量分配, 减

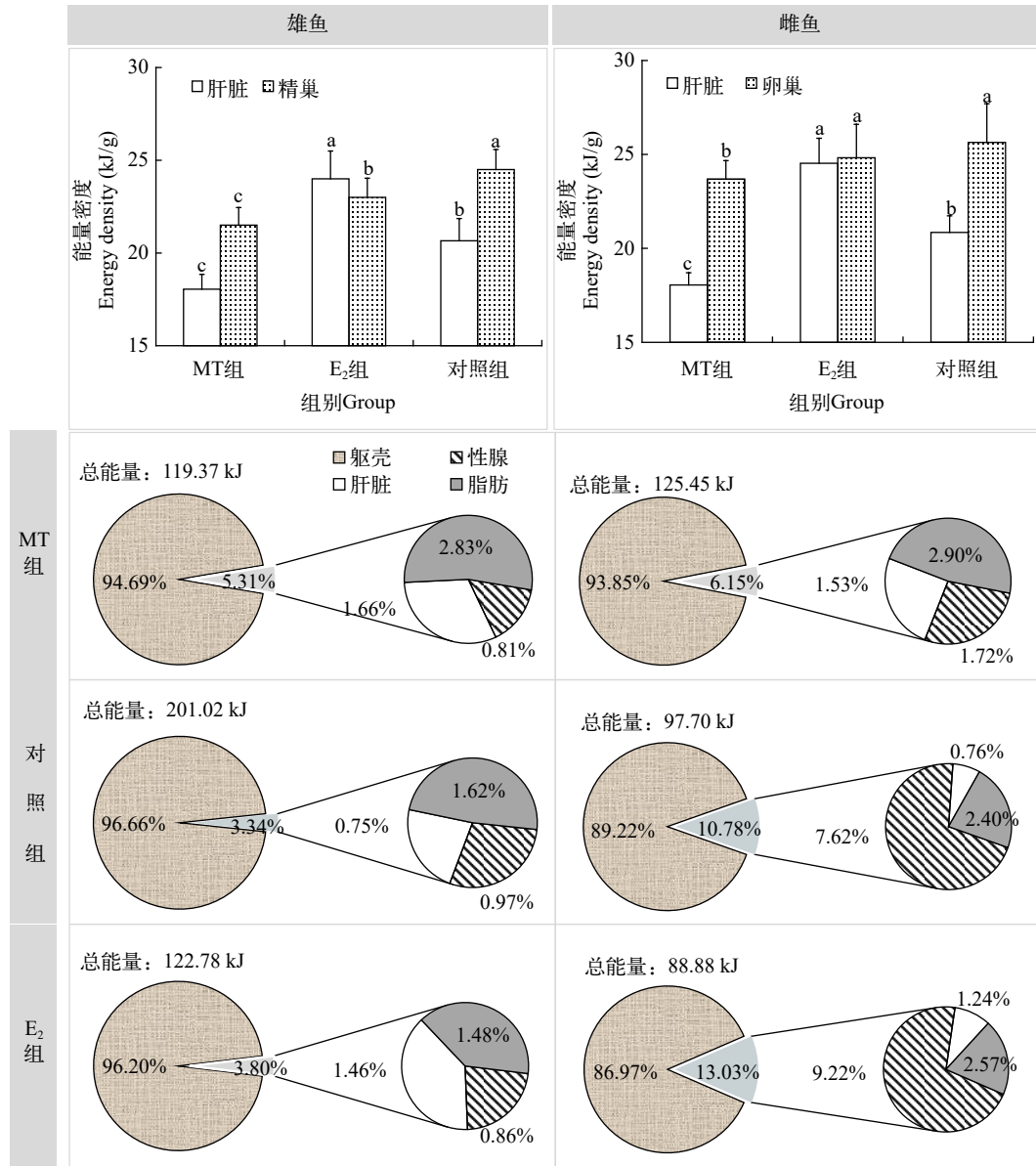


图6 性类固醇激素对黄颡鱼能量分配的影响

Fig. 6 Effects of sex steroid hormones on energy allocation in yellow catfish

MT, 17 α -甲基睾酮(17 α -Methyltestosterone); E₂, 17 β -雌二醇(17 β -estradiol); 不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)

MT indicates 17 α -Methyltestosterone; E₂ indicates 17 β -estradiol; Different letters above the columns indicate significant differences between the treatments ($P < 0.05$)

少在躯体中的能力分配,最终抑制了雄鱼的生长;E₂一方面显著增加雌雄鱼在肝脏上的能量分配,另一方面E₂降低了黄颡鱼总能量获取,同时抑制肝脏GH/IGFs轴基因表达,最终表现出E₂对雌雄生长的抑制现象。但是,我们的研究结果并不能完全解释性类固醇激素对黄颡鱼两性生长差异性的不同影响,所以需要进行更深入的研究,从能量的摄入、分配及消耗三方面来研究雌雄生长的二态性。

参考文献:

- [1] Huang F, Yan A S, Xiong C X, *et al.* Evaluation of the nutrition and the rate of flesh in the whole body of *Pelteobagrus fulvidraco* Rich [J]. *Freshwater Fisheries*, 1999(10): 3-6. [黄峰, 严安生, 熊传喜, 等. 黄颡鱼的含肉率及鱼肉营养评价 [J]. 淡水渔业, 1999(10): 3-6.]
- [2] Shao W H, Fan Q X, Zhang C M, *et al.* Comparative analysis of nutritive composition on muscle of “Huangyou No. 1”, yellow catfish and darkbarbel catfish [J]. *Journal of Huazhong Agricultural University*, 2018(2): 76-82. [邵韦涵, 樊启学, 张诚明, 等. 黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼及“黄优1号”肌肉营养成分比较 [J]. 华中农业大学学报, 2018(2): 76-82.]
- [3] Liu H Q, Cui S Q, Hou C C, *et al.* YY Supermale generated gynogenetically from XY female in *Pelteobagrus fulvidraco* (Richardson) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2007, **31**(5): 718-725. [刘汉勤, 崔书勤, 侯昌春, 等. 从XY雌鱼雌核发育产生YY超雄黄颡鱼 [J]. 水生生物学报, 2007, **31**(5): 718-725.]
- [4] Dan C, Mei J, Wang D, *et al.* Genetic differentiation and efficient sex-specific marker development of a pair of Y- and X-linked markers in yellow catfish [J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2013, **9**(10): 1043-1049.
- [5] Kokko H. Sex, size and gender roles: evolutionary studies of sexual size dimorphism [J]. *Bioscience*, 2008, **58**(5): 460-461.
- [6] Szekely T, Dreynolds J, Figuerola J. Sexual dimorphism in size in shorebirds, gulls and alcid: the influence of sexual and natural selection [J]. *Evolution*, 2000, **54**(4): 1404-1413.
- [7] Legrand R S, Morse D H. Factors driving extreme sexual size dimorphism of a sit-and-wait predator under low density [J]. *Biological Journal of the Linnean Society*, 2000, **71**(4): 643-664.
- [8] Parker G A. The evolution of sexual size dimorphism in fish [J]. *Journal of Fish Biology*, 2010, **41**(sB): 1-20.
- [9] Dunn P O, Whittingham L A, Pitcher T E. Mating systems, sperm competition, and the evolution of sexual dimorphism in birds [J]. *Evolution*, 2010, **55**(1): 161-175.
- [10] Ruckstuhl K E, Neuhaus P. Sexual segregation in ungulates: a comparative test of three hypotheses [J]. *Biological Reviews*, 2002, **77**(1): 77.
- [11] Shaffer S A, Weimerskirch H, Costa D P. Functional significance of sexual dimorphism in wandering albatrosses, *Diomedea exulans* [J]. *Functional Ecology*, 2001, **15**(2): 203-210.
- [12] Cox R M, Stenquist D S, Calsbeek R. Testosterone, growth and the evolution of sexual size dimorphism [J]. *Journal of Evolutionary Biology*, 2010, **22**(8): 1586-1598.
- [13] Zhu Y Y. Screening of the AFLP marker linked to the sex locus of *Oreochromis niloticus* and association between polymorphisms of two genes and growth traits [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2012: 1-70. [朱媛媛. 尼罗罗非鱼性别特异性AFLP标记的筛选及两个基因的多态性与生长性状的相关性分析 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2012: 1-70.]
- [14] Liu S P. A study on the biology of pseudobagrus fulvidraco in Poyang Lake [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 1997(4): 10-16. [刘世平. 鄱阳湖黄颡鱼生物学研究 [J]. 动物学杂志, 1997(4): 10-16.]
- [15] Gibney J, Wolthers T, Johannsson G, *et al.* Growth hormone and testosterone interact positively to enhance protein and energy metabolism in hypopituitary men [J]. *American Journal of Physiology Endocrinology & Metabolism*, 2005, **289**(2): E266.
- [16] Bondanelli M, Ambrosio M R, Margutti A, *et al.* Activation of the somatotrophic axis by testosterone in adult men: evidence for a role of hypothalamic growth hormone-releasing hormone [J]. *Neuroendocrinology*, 2003, **77**(6): 380-387.
- [17] Cox R M, John-Alder H B. Testosterone has opposite effects on male growth in lizards (*Sceloporus* spp.) with opposite patterns of sexual size dimorphism [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2005, **208**(24): 4679-4687.
- [18] Cleveland B M, Weber G M. Effects of sex steroids on expression of genes regulating growth-related mechanisms in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. *General & Comparative Endocrinology*, 2015(216): 103-115.
- [19] Yue M M, Zhao J L. Effects of estradiol and testosterone on digestive enzyme activity and expression of food intake genes between female and male Nile tilapia *Oreochromis niloticus* [J]. *Fisheries Science*, 2018, **37**(1): 85-92. [岳蒙蒙, 赵金良. 性激素对雌、雄尼罗罗非鱼消化酶活性和摄食基因表达的影响 [J]. 水产科学, 2018, **37**(1): 85-92.]
- [20] Roberts S, Barry T, Malison J, *et al.* Production of a recombinantly derived growth hormone antibody and the characterization of growth hormone levels in yellow perch [J]. *Aquaculture*, 2004, **232**(1): 591-602.
- [21] Malison J A, Kayes T B, Wentworth B C, *et al.* Growth and feeding responses of male versus female yellow perch (*Perca flavescens*) treated with estradiol-17 β [J]. *Journal Canadien Des Sciences Halieutiques Et Aquatiques*, 1988, **45**(11): 1942-1948.
- [22] Heine P A, Taylor J A, Iwamoto G A, *et al.* Increased adipose tissue in male and female estrogen receptor-al-

- pha knockout mice [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2000, **97**(23): 12729-12734.
- [23] Clegg D J, Riedy C A, Smith K A B, *et al.* Differential sensitivity to central leptin and insulin in male and female rats [J]. *Diabetes*, 2003, **52**(3): 682.
- [24] Ma W G. Characterization and sex-dependent expression of *GH/IGF* genes in tellow catfish [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2016: 1-49. [马文阁, 黄颡鱼 *GH/IGF* 生长轴基因的序列特征和两性表达差异分析 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2016: 1-49.]
- [25] Lin D M, Chen X J, Wei Y R, *et al.* Energy acclumulation of both somatic and reproductive tissues and its allocation to reproduction in Argentinean short-fin squid (*Illex argentinus*) [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, **41**(1): 70-80. [林东明, 陈新军, 魏嫣然, 等. 阿根廷滑柔鱼雌性个体肌肉和性腺组织能量积累及其生殖投入 [J]. 水产学报, 2017, **41**(1): 70-80.]
- [26] Yang L D, Lin Q M, Shu H. Seasonnal change of gonad development of *Pelteobagrus fulvidraco* [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2018, **46**(3): 63-67. [杨丽冬, 林绮媚, 舒琥. 黄颡鱼性腺发育的季节性变化 [J]. 安徽农业科学, 2018, **46**(3): 63-67.]
- [27] Ros A F H, Becker K, Canario A V M, *et al.* Androgen levels and energy metabolism in *Oreochromis mossambicus* [J]. *Journal of Fish Biology*, 2010, **65**(4): 895-905.
- [28] Sockman K W, Weiss J, Webster M S, *et al.* Sex-specific effects of yolk-androgens on growth of nestling American kestrels [J]. *Behavioral Ecology & Sociobiology*, 2008, **62**(4): 617-625.
- [29] John-Alder H B, Cox R M. Development of sexual size dimorphism in lizards: Testosterone as a bipotential growth regulator [J]. *Sex Size & Gender Roles*, 2007: 195-205.
- [30] Starostová Z, Kubička L, Golinski A, *et al.* Neither male gonadal androgens nor female reproductive costs drive development of sexual size dimorphism in lizards [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2013, **216**(Pt 10): 1872.
- [31] Riley L G, Hirano T, Grau E G. Disparate effects of gonadal steroid hormones on plasma and liver mRNA levels of insulin-like growth factor-I and vitellogenin in the tilapia, *Oreochromis mossambicus* [J]. *Fish Physiology & Biochemistry*, 2002, **26**(3): 223-230.
- [32] Leung K C, Doyle N, Ballesteros M, *et al.* Estrogen inhibits GH signaling by suppressing GH-induced JAK2 phosphorylation, an effect mediated by SOCS-2 [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003, **100**(3): 1016-1021.
- [33] Ma X L, Zhang Y, Huang W R, *et al.* cDNA cloning of growth hormone, growth hormone receptor and the different expression between male and female Nile tilapia (*Ochromis niloticus*) [J]. *Acta Zoologica Sinica*, 2006, **52**(5): 924-933. [马细兰, 张勇, 黄卫人, 等. 尼罗罗非鱼生长激素及其受体的cDNA克隆与mRNA表达的雌雄差异 [J]. 动物学报, 2006, **52**(5): 924-933.]
- [34] Zou J J, Trudeau V L, Cui Z, *et al.* Estradiol stimulates growth hormone production in female goldfish [J]. *General & Comparative Endocrinology*, 1997, **106**(1): 102-112.
- [35] Henderson B A, Collins N, Morgan G E, *et al.* Sexual size dimorphism of walleye (*Stizostedion vitreum vitreum*) [J]. *Journal Canadien Des Sciences Halieutiques et Aquatiques*, 2003, **60**(11): 1345-1352.
- [36] Holtby L B, Healey M C. Sex-specific life history tactics and risk-taking in coho salmon [J]. *Ecology*, 1990, **71**(2): 678-690.
- [37] Mikolajewski D, Brodin T F, Joop G. Phenotypic plasticity in gender specific life-history: effects of food availability and predation [J]. *Oikos*, 2010, **110**(1): 91-100.
- [38] Ince B W, Lone K P, Matty A J. Effect of dietary protein level, and an anabolic steroid, ethylestrenol, on the growth, food conversion efficiency and protein efficiency ratio of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) [J]. *British Journal of Nutrition*, 1982, **47**(3): 615-624.
- [39] Rennie M D, Purchase C F, Lester N, *et al.* Lazy males? Bioenergetic differences in energy acquisition and metabolism help to explain sexual size dimorphism in percids [J]. *Journal of Animal Ecology*, 2008, **77**(5): 916-926.
- [40] Mcgrath B, Jackson G. Egg production in the arrow squid *Nototodarus gouldi* (Cephalopoda: Ommastrephidae), fast and furious or slow and steady [J]. *Marine Biology*, 2002, **141**(4): 699-706.
- [41] McBride R S, Somarakis S, Fitzhugh G R, *et al.* Energy acquisition and allocation to egg production in relation to fish reproductive strategies [J]. *Fish & Fisheries*, 2015, **16**(1): 23-57.
- [42] Sogard S M. Size-selective mortality in the juvenile stage of teleost fishes: A review [J]. *Bulletin of Marine Science*, 1997, **60**(3): 1129-1157.
- [43] Bonnet X, Lorient S, Pearson D, *et al.* Which proximate factor determines sexual size dimorphism in tiger snakes [J]? *Biological Journal of the Linnean Society*, 2011, **103**(3): 668-680.
- [44] Kubička L, Schořálková T, Červenka J, *et al.* Ovarian control of growth and sexual size dimorphism in a male-larger gecko [J]. *Journal of Experimental Biology*, 2017, **220**(Pt 5): 787.
- [45] Klukowski M, Ackerson B, Nelson C E. Testosterone and daily activity period in laboratory-housed mountain spiny lizards, *Sceloporus jarrovi* [J]. *Journal of Herpetology*, 2004, **38**(1): 120-124.
- [46] Marler C A, Walsberg G, White M L, *et al.* Increased energy expenditure due to increased territorial defense in male lizards after phenotypic manipulation [J]. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 1995, **37**(4): 225-231.
- [47] Cox R M, Skelly S L, John-Alder H B. Testosterone in-

- hibits growth in juvenile male eastern fence lizards (*Sceloporus undulatus*): implications for energy allocation and sexual size dimorphism [J]. *Physiological & Biochemical Zoology*, 2005, **78**(4): 531-545.
- [48] Lynn S E, Houtman A M, Weathers W W, *et al.* Testosterone increases activity but not daily energy expenditure in captive male dark-eyed juncos, *Junco hyemalis* [J]. *Animal Behaviour*, 2000, **60**(5): 581-587.
- [49] Peng Z L, Liu M H, Fu R B, *et al.* Annual development of the wild *Oplegnathus fasciatus* testis [J]. *Marine Science Bulletin*, 2013, **32**(6): 700-703. [彭志兰, 柳敏海, 傅荣兵, 等. 野生条石鲷精巢的年周期发育 [J]. *海洋通报*, 2013, **32**(6): 700-703.]
- [50] Hu Q. Molecular cloning of the sex reversal related genes and analysis of their regulation mechanism in *Monopterus albus* [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2015: 1-138. [胡青, 黄鳝性逆转相关基因的克隆及其调控机制的研究 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2015: 1-138.]

EFFECTS OF SEX STEROID HORMONES ON SEXUAL SIZE DIMORPHISM IN YELLOW CATFISH (*TACHYSURUS FULVIDRACO*)

WANG Ling-Yu, QI Piao-Piao, CHEN Min, YUAN Yong-Chao, SHEN Zhi-Gang and FAN Qi-Xue

(Key Laboratory of Freshwater Animal Breeding, Ministry of Agriculture, Hubei Provincial Engineering Laboratory for Pond Aquaculture, College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: Sexual size dimorphism (SSD) is the evolutionary result of choosing different sizes for males and females, which is widely found in the animal kingdom. In the past few years, the yellow catfish (*Tachysurus fulvidraco*) has been studied in many fields as an important economic fish. Males grow faster and larger than females, but the mechanism is still unclear. In order to investigate the role of sex steroid hormones on the SSD in yellow catfish, we studied the effects of estrogen and androgen on the growth, gonadal development, energy acquisition, and allocation. Results showed that 17β -estradiol (E_2) administration significantly inhibited the growth of both males and females, and promoted energy allocation to the liver without significantly impacting food intake, suggesting that the growth suppression of E_2 are induced by different energy allocation rather than the acquisition of food intake. Treatment with synthetic androgen 17α -Methyltestosterone (MT) significantly increased food intake, promoted energy allocation to the liver, and reduced energy allocation to the ovary in females, which may explain the significantly increased growth in MT-treated group. These results only partially explain the different growth of the experiment group, and further study on the dimorphism may focus on the three aspects of energy absorption, distribution and consumption.

Key words: *Tachysurus fulvidraco*; Sexual dimorphism; Sexual size dimorphism; 17β -Estradiol; 17α -Methyltestosterone; Energy acquisition; Energy allocation