



黄姑鱼伪雌鱼诱导技术优化及超雄鱼培育的初步研究

方冰冰^{1, 2}, 竺奇慧², 胡伟华², 陈睿毅², 李生平^{1, 2}, 徐冬冬^{2*}

1. 浙江海洋大学, 水产学院, 浙江 舟山 316022; 2. 浙江省海洋水产研究所, 浙江省海水增殖重点实验室, 浙江 舟山 316021

前言

黄姑鱼 (*Nibea albifora*) 是我国重要的海水经济鱼类, 其性控育种对于丰富育种资源、改良种质特性以及提升产量等方面具有重要的作用。本实验旨在探究能使黄姑鱼性逆转的最适17 β -雌二醇 (E2) 浓度, 探究E2对黄姑鱼生长、性腺发育及性别相关基因表达等方面的影响; 并将其培育至性成熟, 用于生产超雄黄姑鱼的亲本。

材料方法

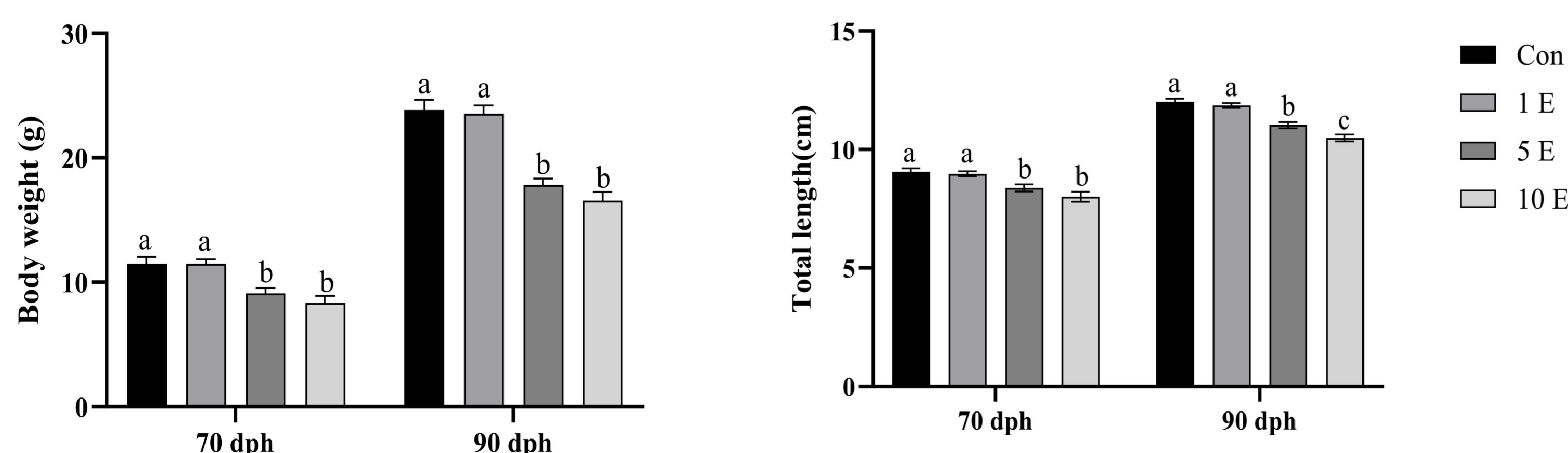
本实验设置三个实验组 (1、5和10 mg/kg E2) 以及对照组 (con), 每组设置两个重复, 每个重复随机放入600尾鱼, 共2400尾鱼。提前将鱼转入纤维增强塑料桶暂养3天, 饥饿24 h, 从30 dph到90 dph进行性逆转诱导实验。实验在西轩岛联合实验室进行, 每天四次饱食投喂, 每个纤维增强塑料桶放两个气石以确保足够的氧气供应, 每天两次吸出残饵及粪便, 每桶每天换水两次, 换水量100%。

结果

表1. 不同E2浓度下各组雌性率的统计

日龄	E2 浓度 (mg/kg)	基因型性别		表型性别		雌性率 (%)
		雌	雄	雌	雄	
70dph	0	9	11	9	11	45
	1	9	11	10	10	50
	5	8	12	13	7	65
	10	11	9	17	3	85
90dph	0	12	8	12	8	60
	1	14	6	14	6	70
	5	11	9	20	0	100
	10	12	8	20	0	100

图1. 生长数据

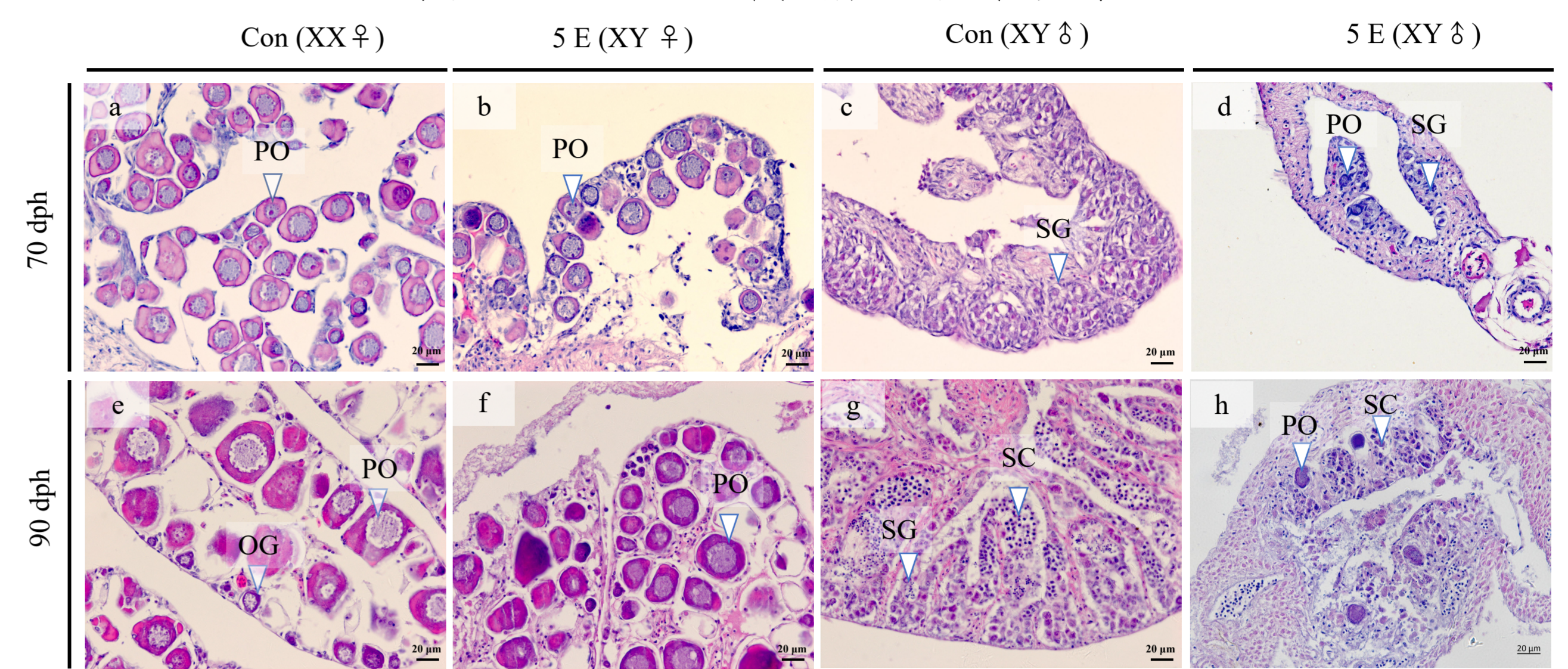


低浓度激素对其生长无显著影响, 但高浓度对其生长统计不同E2浓度下各组雌性率有抑制作用, 并且时间加长抑制作用越明显。

结论

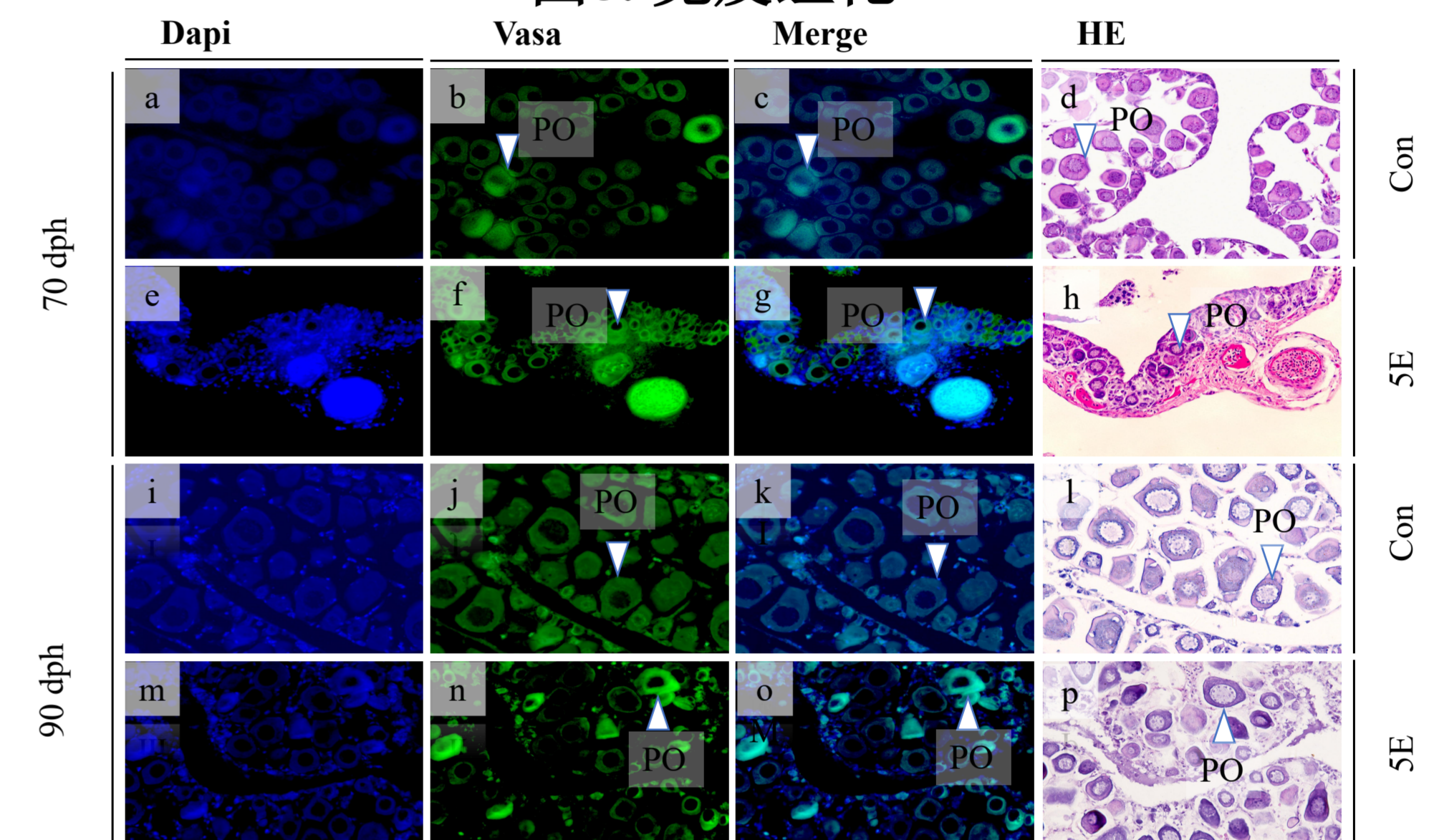
本研究建立了一种有效诱导黄姑鱼伪雌鱼并获得超雄鱼的方法, 为黄姑鱼性别决定机制解析及全雄群体的规模化培育建立了理论依据和技术支撑。

图2. 70、90日龄性腺组织学观察



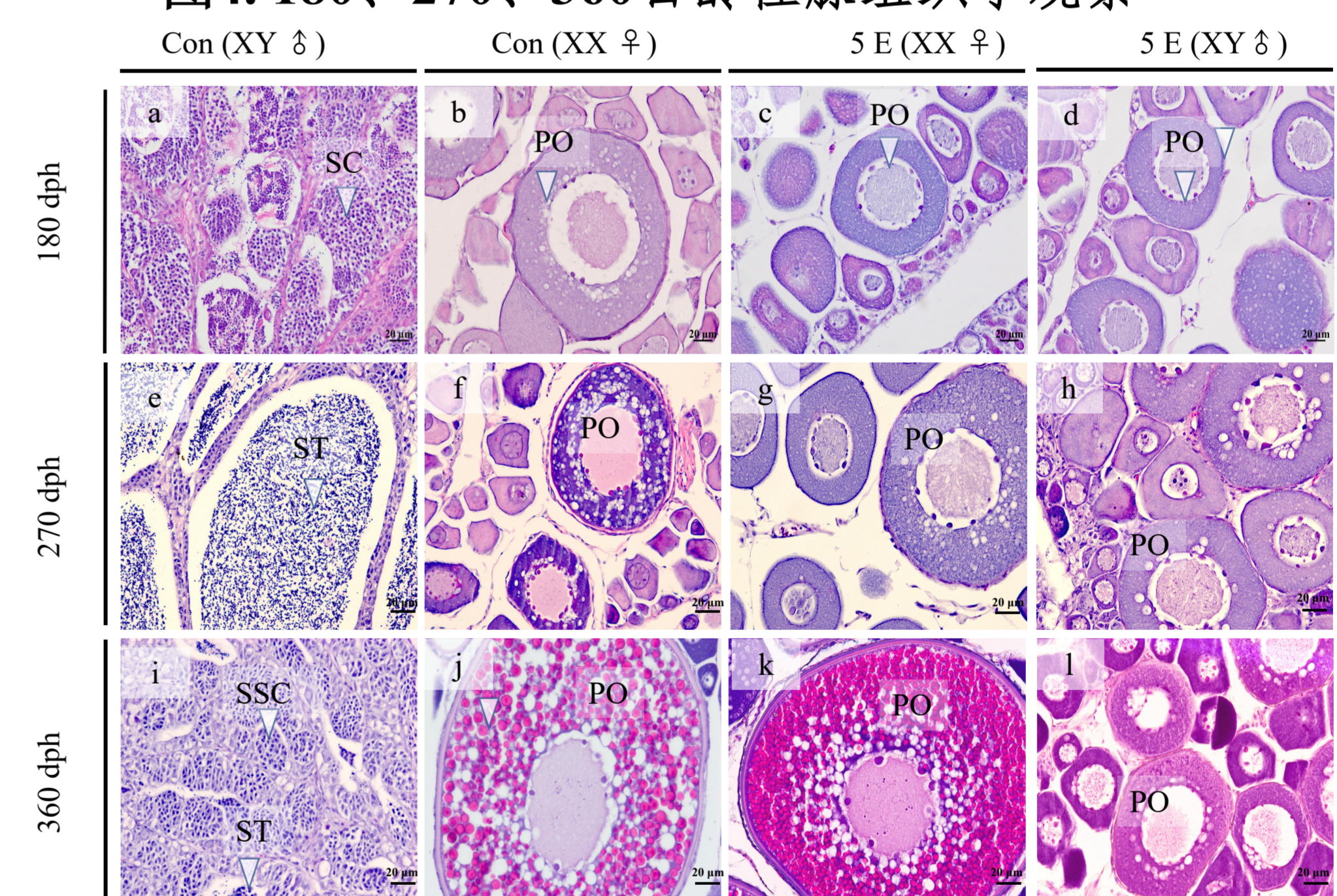
70、90日龄时, 实验组卵巢有卵原细胞和初级卵母细胞(图2b、f;)与对照组出现的卵原细胞和初级卵母细胞(图2a、e;)无显著差异。

图3. 免疫组化



在性腺发育关键时期检测到伪雌鱼性腺中Vasa蛋白信号, Vasa蛋白为细胞质蛋白, 主要在卵原细胞和卵母细胞中表达 (图3b、f、j、n)。

图4. 180、270、360日龄性腺组织学观察



180到270日龄时对照组与实验组的性腺由卵原细胞和II期初级卵母细胞组成 (图4b、c、d、f、g、h;)。在360日龄时, 在对照组与实验组中的基因型雌性的性腺中观察到III期卵母细胞 (图4j、k;)。

图5. 雌雄相关基因的表达图

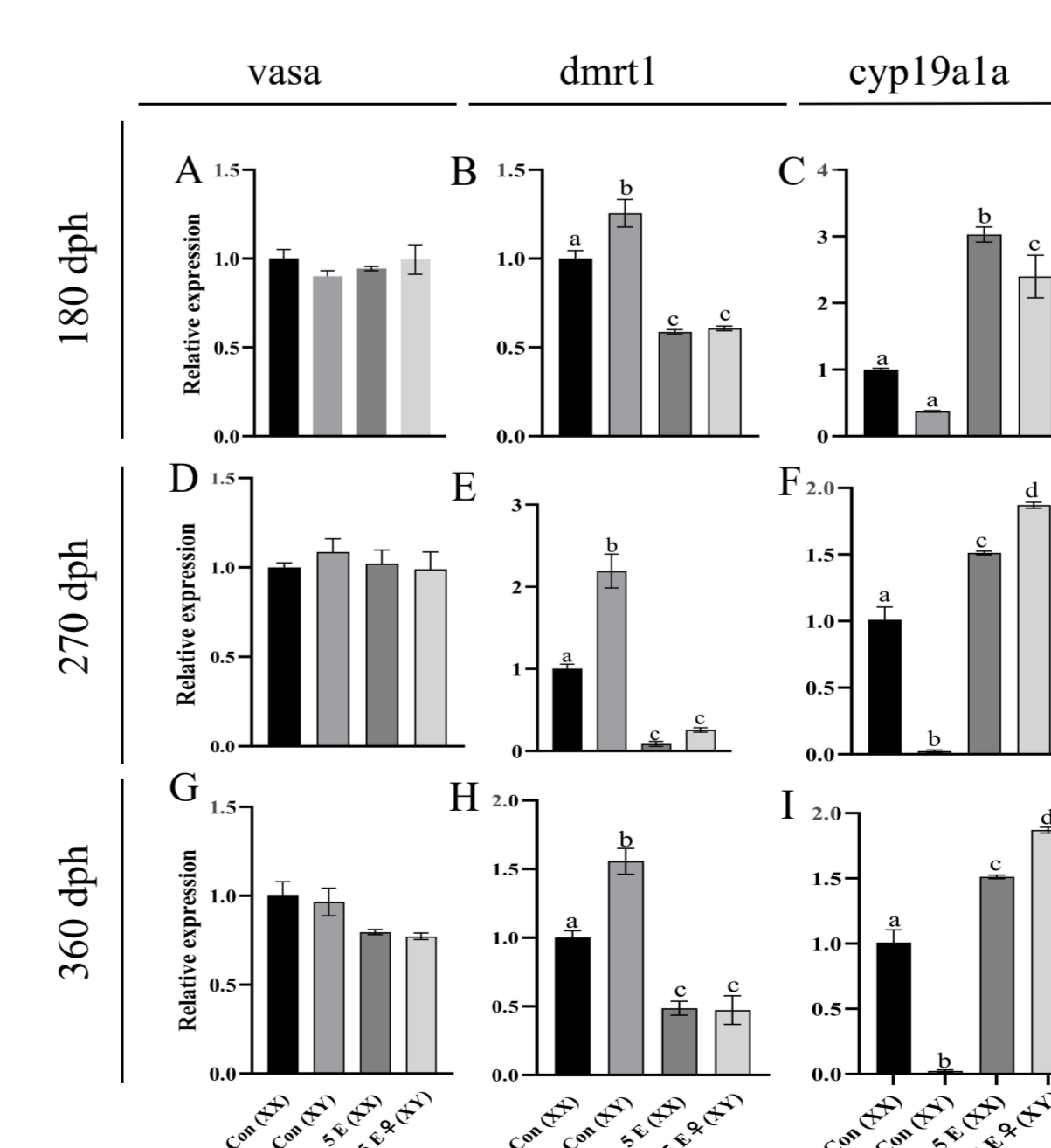
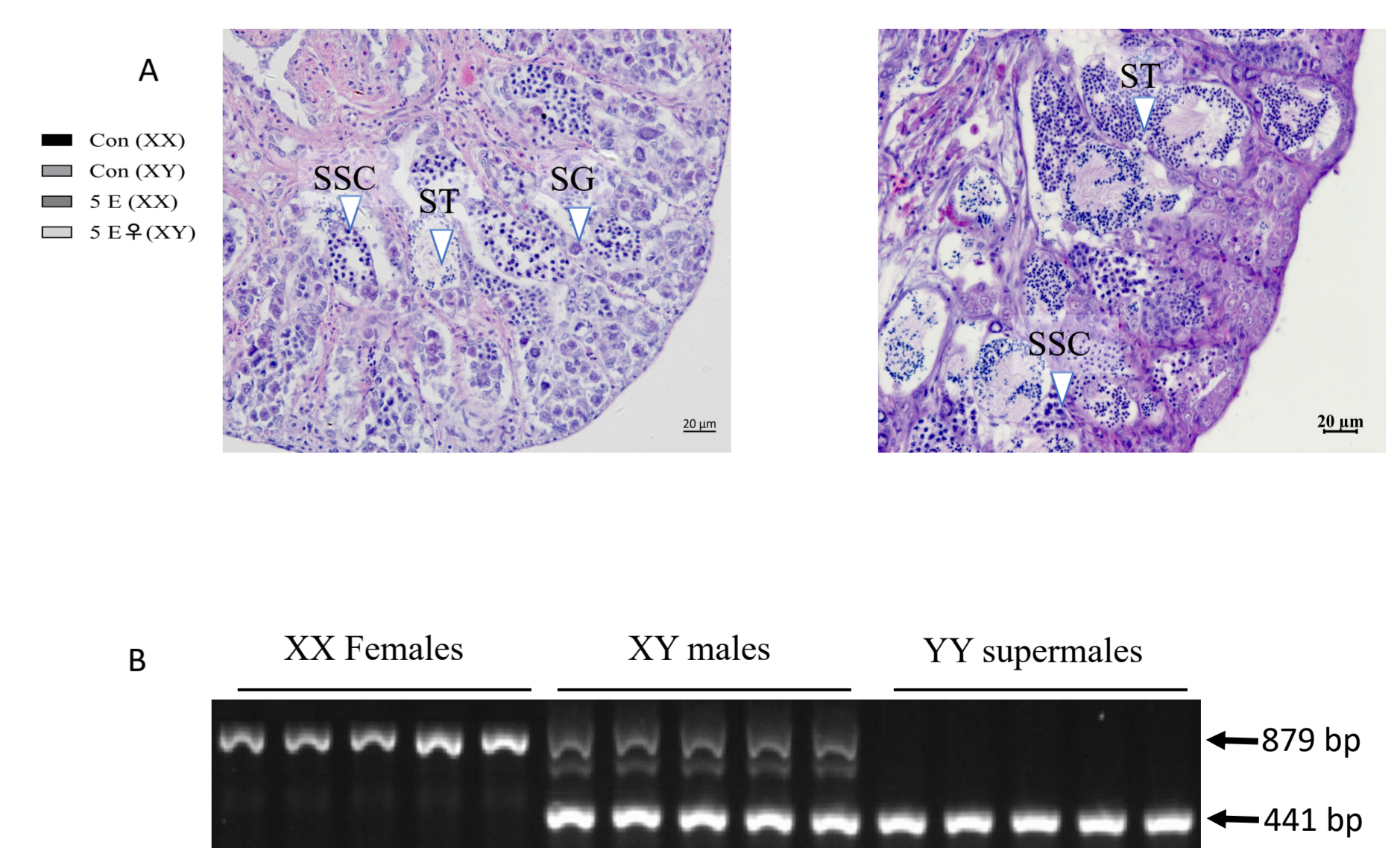


图6. 正常XY雄鱼和YY超雄鱼90日龄性腺组织学观察



将性成熟伪雌鱼与普通雄鱼交配, 采用性别分子特异标记和组织学检测成功获得了超雄鱼 (YY♂)。