

抑制氧化应激水平解救高温诱导黄颡鱼的雄性化

梁浩文 曹靖花 李涛 李斌 沈志刚

(1. 华中农业大学水产学院, 农业农村部淡水生物繁育重点实验室, 教育部长江经济带大宗水生生物产业绿色发展工程研究中心, 池塘健康养殖湖北省工程实验室, 武汉 430070; 2. 湖北黄优源渔业发展有限公司, 武汉 430299)



1. 实验背景



在全球气候变暖的背景下, 水温升高将导致鱼类雄性化, 种群性别比例极不平衡, 性二态型将导致鱼类生长差异巨大、资源分配不均, 养殖业受到很大阻碍, 从而造成巨大的经济损失。在全雌黄颡鱼群体养殖中, 受高温影响的个体占 12%。雄鱼生长快、抢食性强, 性成熟后没有繁殖能力, 造成资源极大浪费。据研究统计, 目前商业化养殖的经济鱼类品种都未能充分利用温度胁迫来解决产业困境, 而温度升高对鱼类性别分化的影响将是一个极大的致损因素。

2. 实验设计

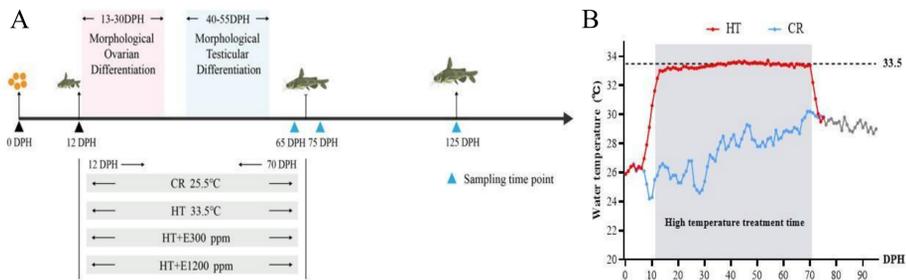


图 1. A、实验处理时间、黄颡鱼性别分化关键期和取样时间点。CR, 25.5 °C; HT, 33.5 °C; HE300, 300 mg kg⁻¹ (ppm, parts per million) 饲料, 33.5 °C; HE1200, 1200 mg kg⁻¹ (ppm, parts per million) 饲料, 33.5 °C。B, 实验处理期间的温度记录图。

3. 结果和分析

3.1 大黄素能解救高温诱导黄颡鱼的雄性化

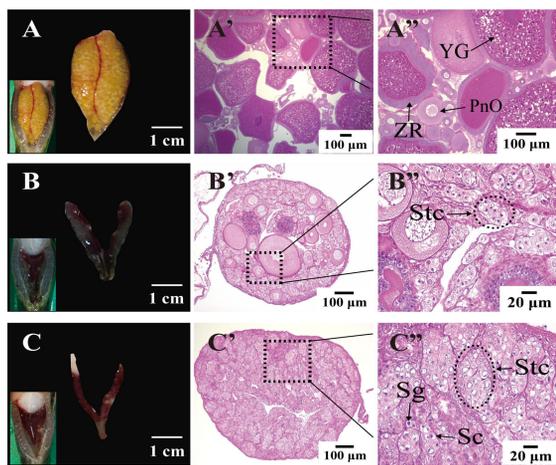


图 2 高温和大黄素条件下黄颡鱼三种性别表型的性腺组织学。FM, 雌性; IS, 间性; M, 雄性。

CR 组的所有个体均为雌性 (FM), 这验证了全雌性群体的真实性。在 65 和 75 DPH 时, HT 组中有 28.6% 发生雄性化 (10.7% 为 M, 17.9% 为 IS); 而在 HE300 和 HE1200 组中, 分别仅有 6.3% (IS) 和 8.3% (IS) 雄性化 (图 3A)。在 125 DPH 时, HT 组中有 10.3% (M 组为 7.7%, IS 组为 2.6%) 发展为雄性表型 (图 3B), 饲喂大黄素组均没有发现雄性化个体。

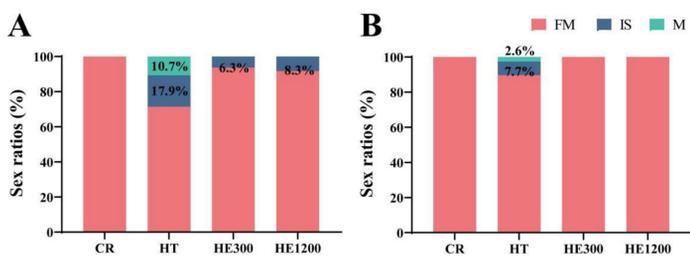


图 3 黄颡鱼的性别表型比例。A, 65 DPH 和 75 DPH 的性别表型比。CR (n = 24); HT (n = 39); HE300 (n = 24); HE1200 (n = 24)。B, 125 DPH 的性别表型比。CR (n = 24); HT (n = 39); HE300 (n = 24); HE1200 (n = 24)。

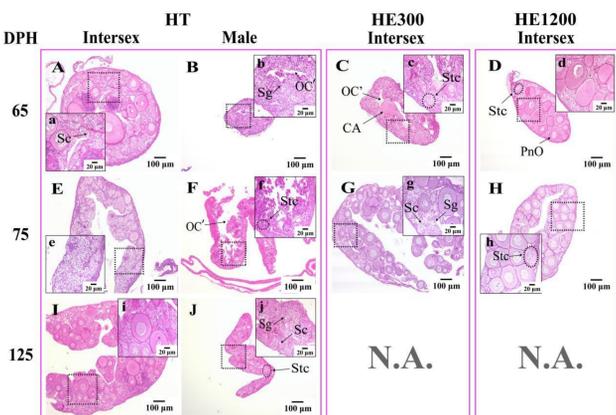


图 4. 高温和大黄素处理下黄颡鱼间性与雄性组织学。A、B、C 和 D, 65 DPH; E、F、G 和 H, 75 DPH; I 和 J, 125 DPH。OC, 卵巢卵状结构; PnO, 核周卵母细胞; Sg, 精原细胞; Sc, 精母细胞; Stc, 精小囊。

3.2 大黄素通过抑制氧化应激水平解救高温诱导的雄性化过程

高温处理期间 (65 DPH) M 和 IS 肝脏的 CAT、SOD 活性明显高于 FM 表型; M 和 IS 肝脏的 GSH-Px 活性明显低于 FM 表型; M 肝脏的 MDA 含量明显高于两组的 IS 和 FM 表型 (图 5)。处理终止后 (75 和 125 DPH) M 和 IS 肝脏的 CAT 和 SOD 活性与 FM 无明显差异, M 肝脏的 MDA 含量明显高于 FM 表型 (图 6), M、IS 和 FM 表型在氧化应激方面的差异逐渐消失。

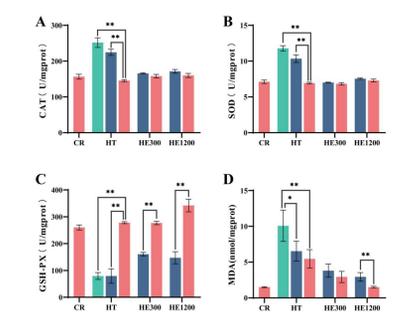


图 5 大黄素抑制氧化应激水平可解救 HT 处理期间的雄性化。A、B、C、D, 65 DPH

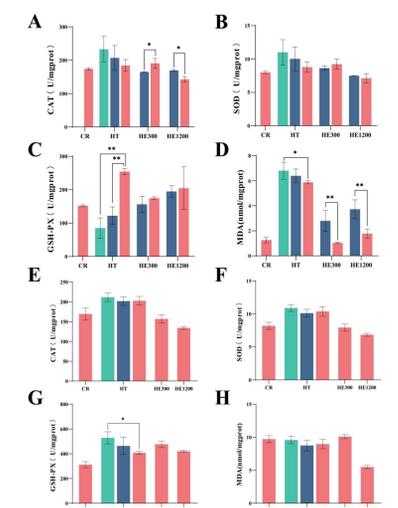


图 6 雄性 (M) 仅在高温处理期间受到较高的氧化应激。A、B、C、D, 75 DPH; E、F、G、H, 125 DPH

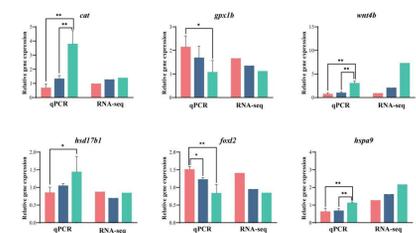


图 8 氧化应激与性别分化基因 qPCR 与转录分析的表达情况

3.5 大黄素在全雌池塘的应用

大黄素 (300mg/Kg) 利用在全雌黄颡鱼亲本培育, 115 DPH 取样性别逆转率约为 3% (N=140), 表型如右图。

3.3 高温诱导三种性别表型的性腺转录组水平上存在显著差异

FM 与 IS 之间的差异为 513, FM 与 M 之间的差异为 317, IS 与 M 之间的差异为 841。大部分与细胞代谢过程、氧化磷酸化和活性氧代谢等多种代谢通路以及转录-翻译过程有关, 我们从这些通路中选择了 30 个基因进行差异分析 (图 7)。

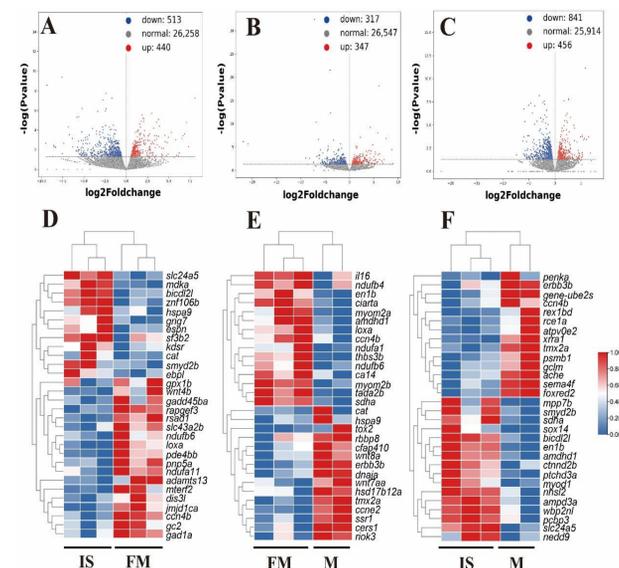
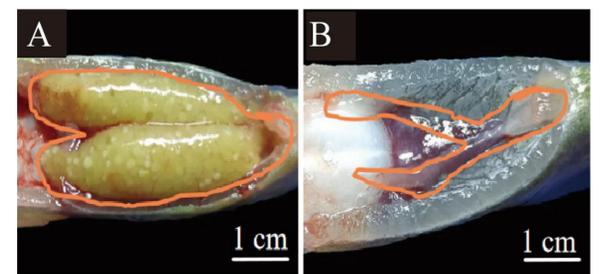


图 7 三种性别表型转录组的差异基因火山图和 30 个差异基因热图。

3.4 氧化应激和性别分化基因的相对表达量

与 IS 和 FM 相比, M 中 *cat*、*wnt4b*、*hsd17b1* 和 *hspa9* 相对表达量明显增加; 与 FM 相比, M 中 *foxl2* 和 *gpx1b* 的相对表达量明显减少 (图 8)。



4. 结论

1. 利用大黄素显著降低高温诱导黄颡鱼雄性化的比例, 肝脏氧化应激在黄颡鱼不同性别表型中存在显著差异, 使用健康安全的中草药将是最有效、最友好的方法之一。
2. 氧化应激在黄颡鱼雄性化过程中被激活并参与基因调控过程, 这将为研究高温诱导鱼类雄性化的机制提供参考。