



## 不同动物饵料对YY超雄黄颡鱼性腺发育的影响

熊 阳<sup>1</sup>, 王 帅<sup>1</sup>, 郭稳杰<sup>1</sup>, 徐 江<sup>2</sup>,  
陈丽慧<sup>2</sup>, 刘汉勤<sup>2</sup>, 梅 洁<sup>1\*</sup>

(1. 华中农业大学水产学院, 湖北 武汉 430070;

2. 武汉百瑞生物技术有限公司, 湖北 武汉 430070)

**摘要:** 通过比较近10年YY超雄黄颡鱼的生产 and 养殖记录, 发现仅近几年投喂过水蚯蚓的YY超雄黄颡鱼性腺出现问题。实验设定4组不同饵料(丰年虫、浮游动物、红虫和水蚯蚓)连续投喂YY黄颡鱼鱼苗20 d(11~30日龄), 选择60日龄统计各组YY超雄黄颡鱼的存活率、体长和体质量。水蚯蚓组YY超雄黄颡鱼的体长和体质量显著高于其他3组, 丰年虫组YY超雄黄颡鱼存活率显著低于其他3组。解剖观察60日龄和1年龄YY黄颡鱼的性腺结构并统计1年龄YY超雄鱼的受精率, 结果显示, 水蚯蚓组YY超雄黄颡鱼的性腺有75%为兼性性腺(精巢和卵巢均存在), 25%为无精小叶的精巢, 且1年龄的YY黄颡鱼受精率仅为36.70%±4.05%, 并显著低于其他3组, 而其他3组性腺发育和受精率均正常。为研究水蚯蚓引起YY黄颡鱼雌性化具体原因, 实验测量4种不同动物饵料的雌二醇含量, 发现雌二醇含量均较低, 推测YY超雄黄颡鱼雌性化的原因可能是水蚯蚓富集的环境内分泌干扰物(EDCS)导致。研究表明, 在YY超雄黄颡鱼大规格苗种培育过程中, 早期应投喂浮游动物或红虫, 不宜投喂水蚯蚓。

**关键词:** YY黄颡鱼; 水蚯蚓; 性腺; 雌性化

**中图分类号:** S 963.21

**文献标志码:** A

黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)隶属于鲇形目(Siluriformes), 鲿科(Bagridae), 黄颡鱼属, 是我国重要的淡水经济鱼类之一。在相同的养殖条件下, 雄性黄颡鱼比雌性黄颡鱼的生长速率快2~3倍, 有更高的经济价值。Wang等<sup>[1]</sup>和Dan等<sup>[2]</sup>成功分离出黄颡鱼X染色体和Y染色体连锁的分子标记, 从而开拓出一条性染色体连锁标记辅助的全雄黄颡鱼培育技术路线。基于此, Liu等<sup>[3]</sup>通过激素性逆转技术结合黄颡鱼性别连锁分子标记筛选得到XY生理雌鱼, 再进行雌核发育获得YY超雄黄颡鱼。黄颡鱼YY父本与XX母本繁殖得到的XY全雄黄颡鱼, 在2010年经国家水产原种和良种审定委员会审定, 农业农村部批

准为水产新品种黄颡鱼“全雄1号”。利用YY黄颡鱼进行单性育种成为继YY罗非鱼后规模化生产全雄鱼成功的第二例。

武汉百瑞生物技术有限公司作为全国YY超雄黄颡鱼最大生产基地, 从传统的直接下塘培育到现代工厂化循环水培苗, 大幅度提高了YY超雄黄颡鱼的存活率。使用工厂化循环水培育需对仔鱼进行人工驯化, 从动物饵料开口逐渐转食为商业饲料。黄颡鱼孵化后常用的天然开口饵料包括丰年虫(*Artemia salina*)和浮游动物, 开口1周后投喂水蚯蚓(Tubificidae)或冰冻红虫(*Chironomus plumosus*), 期间投喂少量商业微颗粒饲料进行转食。但在工厂化循环水培苗过

收稿日期: 2019-03-16 修回日期: 2019-05-29

资助项目: 国家现代农业产业技术体系专项(CARS-46)

通信作者: 梅洁, E-mail: jmei@mail.hzau.edu.cn

程中, YY超雄黄颡鱼又出现了大量精卵巢共存的兼性性腺, 阻碍了全雄黄颡鱼产业的发展。

鱼类性腺分化不仅受遗传因素控制, 也受溶解氧、光照、水温、pH、外源性激素和污染等环境因子的影响<sup>[4]</sup>, 而关于饵料对鱼类性腺分化的影响尚未见报道。在鱼类单性育种过程中, 常通过性激素拌料投喂来获得性逆转鱼, 如大鳞副泥鳅(*Paramisgurnus dabryanus*)<sup>[5]</sup>、黄颡鱼<sup>[6]</sup>、尼罗罗非鱼(*Oreochromis nilotica*)<sup>[7]</sup>、鲤(*Cyprinus carpio*)<sup>[8]</sup>和虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)<sup>[9]</sup>等。此外, 环境干扰物可导致鱼类的雌性化效应、雄性化效应和雌雄同体效应<sup>[10]</sup>。当鱼类长期暴露在双酚A(bisphenol A, BPA)下, 性腺分化受到干扰, 甚至性腺出现两性化(既有精母细胞, 又有卵母细胞)<sup>[11]</sup>; 雄鱼表现为雌性化, 成年雄鱼的精子重量下降, 精液稀少<sup>[12]</sup>。4-壬基苯酚(4-nonylphenol, 4-NP)处理后的青鳉(*Oryzias latipes*)雄鱼, 其性腺也发育成精巢和卵巢共存的兼性性腺<sup>[13]</sup>。

组织学分析发现, 黄颡鱼在13日龄时卵巢开始分化, 19日龄形成卵巢腔; 而精巢分化时间约为40日龄, 精小叶和输精管出现于55日龄<sup>[14]</sup>。故此推测性腺分化关键时期的雌激素水平升高可能是引起YY黄颡鱼雌性化的主要原因。雌激素摄入的主要途径有水浸泡和饵料摄入。对比分析不同批次的性腺发育正常和异常YY超雄黄颡鱼的生产 and 养殖记录, 发现养殖环境相同, 仅投喂水蚯蚓的YY黄颡鱼性腺出现了异常。为了确认是饵料引起YY黄颡鱼性腺退化, 实验采用连续20 d(11~30日龄)分别投喂丰年虫、浮游动物、红虫和水蚯蚓, 探讨不同饵料对YY黄颡鱼生长和性腺的影响, 以期发现导致YY黄颡鱼性腺发育异常的原因, 进而建立一套YY养殖超雄黄颡鱼早期培育技术规范, 为全雄黄颡鱼产业的发展提供技术保障。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验设计

实验鱼亲本YY超雄黄颡鱼和YY生理雌鱼均来自武汉百瑞生物技术有限公司, 并在繁殖前用黄颡鱼性别连锁分子标记进行鉴定。实验鱼苗为亲本YY♂×YY♀人工繁殖所得的超雄黄颡鱼苗。出膜后3 d用浮游动物开口养至10日龄开始

分组, 每组设置3个平行, 每个平行200尾苗。11日龄开始, 分别用丰年虫、浮游动物(桡足类和枝角类)、冰冻红虫和水蚯蚓投喂至30日龄。在11~30日龄期间, 鱼苗饲养在60 L的循环水水箱中, 每天投喂3次。到30日龄后转入4 m<sup>3</sup>的流水水泥池中, 每天用微颗粒饲料投喂2次(饲料购自湖州亿盛饲料有限公司, 主要成分: 粗蛋白≥45.0%, 粗脂肪>5.0%, 粗纤维≤6.0%, 灰分≤15.0%, 水分≤10.0%)。在实验期间, 水温保持26~29℃, 溶解氧5.5~6.8 mg/L。每天清理残饵及粪便, 及时加注新水。

### 1.2 性腺组织学观察

每组平行随机抽取50尾, 解剖取性腺, 性腺组织在显微镜下经波恩氏液(Bouin's solution)染色观察性腺并统计拍照, 经4%多聚甲醛固定后的性腺材料用酒精梯度脱水、二甲苯透明、常规石蜡包埋后做纵切片, H.E染色, 用光学显微镜观察, 显微拍照, 检查性别并统计性比。

### 1.3 受精率统计

4组中分别挑选规格相同的1年龄YY超雄黄颡鱼, 每组各9尾。每条雄鱼取出精巢, 称取0.1 g精巢于匀浆器中研磨成白色浆液10 μL, 用精子保存液(63 mmol/L NaCl、19 mmol/L KCl、1.3 mmol/L CaCl<sub>2</sub>、4.7 mmol/L MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、2.5 mmol/L NaHCO<sub>3</sub>, pH 7.4)梯度稀释到2 000倍。在显微镜(400×)下用细胞计数板统计每尾黄颡鱼的精子数目并计算每尾黄颡鱼原精液密度。用精子保存液将原精液稀释到8×10<sup>6</sup>个/μL。YY雌性黄颡鱼进行人工催产后, 用干毛巾将生殖孔附近水擦干, 左手食指和中指由头部向下握住亲鱼左右胸鳍, 右手拇指和食指从腹部由上往下轻、缓地挤压, 将所有鱼卵挤入同一钵中混合均匀。各组均用100 μL稀释精液(8×10<sup>6</sup>个/μL)配2.5 g卵(每克约500枚卵), 每组3个平行。受精后16 h在解剖镜下统计受精率(%)(受精率=计数受精卵数/计数总卵数×100%)。

### 1.4 4种饵料的雌二醇含量的检测

4种饵料样本分别称取0.5 g并加入0.5 mL的PBS, 用匀浆器充分匀浆后, 3 000 r/min离心20 min, 收集上清液定容至10 mL, 用于雌二醇的测量。

雌二醇的检测采用双抗体夹心酶联免疫

法, 试剂盒为江苏雨桐生物科技有限公司产品, 其灵敏度为0.027 pg/mL。按试剂盒步骤检测。①标准品的加样: 设置标准品孔和样本孔, 标准品孔各加不同浓度的标准品50  $\mu$ L。②加样: 分别设置空白孔和待测样本孔。在酶标包被板上待测样品孔中先加样品稀释液40  $\mu$ L, 然后再加待测样品10  $\mu$ L(稀释5倍)。③加酶: 每孔加入酶标试剂100  $\mu$ L, 空白孔除外。④温育: 用封板膜封板后置37  $^{\circ}$ C温育60 min。⑤洗涤: 小心揭掉封板膜, 弃去液体, 甩干, 每孔加满洗涤液, 静置30 s后弃去, 重复5次, 拍干。⑥显色: 每孔先加入显色剂A 50  $\mu$ L, 再加入显色剂B 50  $\mu$ L, 轻轻振荡混匀, 37  $^{\circ}$ C避光显色15 min。⑦终止: 每孔加终止液50  $\mu$ L, 终止反应(此时蓝色立即转黄色)。终止液15 min以内进行测定。⑧测定: 以空白孔调零, 450 nm波长依序测量各孔的吸光度(OD值)。每个样本3个平行, 取其均值。⑨用标准品在450 nm波长下的OD<sub>450</sub>绘制标准曲线。再根据样品的OD值采用标准曲线计算出样本中雌二醇含量。

### 1.5 数据分析

采用Excel 2010和SPSS 11.0软件统计分析数据, 采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)检验各组之间的差异显著性。实验数据为平均值 $\pm$ 标准差, 显著性水平定义为0.05。

## 2 结果

### 2.1 不同饵料对YY超雄黄颡鱼存活率及生长的影响

在11~60日龄期间, 丰年虫组的存活率为74.82% $\pm$ 5.12%, 显著低于其他3组( $P<0.05$ )。实验期间, 将该组死鱼置于解剖镜下观察, 发现有腹水且胃中有大量不能消化的丰年虫壳, 可能是丰年虫组存活率低的主要原因。60日龄时水蚯蚓组的体长和体质量分别为(6.11 $\pm$ 0.30) cm和(3.94 $\pm$ 0.34) g, 显著高于其他3组( $P<0.05$ )(表1)。

### 2.2 不同饵料对YY黄颡鱼性腺发育影响

60日龄时, YY超雄黄颡鱼外表均有雄性生殖突, 但从性腺根据形态学和组织学上可划分精小叶完整的精巢、无精小叶的精巢、精巢和卵巢同时存在的兼性性腺。精小叶完整的精巢呈锯齿状(图版-1), 切片H. E染色观察有大量精

表1 60日龄时不同饵料投喂超雄黄颡鱼的存活率、体长及体质量统计

实验组 experimental group	存活率/% survival rate	体长/cm body length	体质量/g body weight
水蚯蚓 Tubificidae	92.12 $\pm$ 0.48 <sup>a</sup>	6.11 $\pm$ 0.30 <sup>a</sup>	3.94 $\pm$ 0.34 <sup>a</sup>
红虫 <i>C. plumosus</i>	96.47 $\pm$ 0.58 <sup>a</sup>	5.76 $\pm$ 0.89 <sup>b</sup>	3.31 $\pm$ 0.68 <sup>b</sup>
浮游动物 zooplankton	96.67 $\pm$ 0.65 <sup>a</sup>	5.53 $\pm$ 0.25 <sup>bc</sup>	3.18 $\pm$ 0.44 <sup>b</sup>
丰年虫 <i>A. salina</i>	74.82 $\pm$ 5.12 <sup>b</sup>	5.30 $\pm$ 0.20 <sup>c</sup>	3.16 $\pm$ 0.32 <sup>b</sup>

注: 表中同列数据中不同字母表示有显著性差异( $P<0.05$ ), 下同  
Notes: in the same line, different letter superscripts mean significant differences ( $P<0.05$ ), the same below

原细胞SG(图版-2), 无精小叶的精巢外表细而光滑(图版-3), 且精原细胞数目相对较少(图版-4)。兼性性腺中有肉眼可见的卵粒存在(图版-5), 切片H. E染色观察到精原细胞SG和初级卵母细胞PO同时存在(图版-6)。60日龄的YY超雄黄颡鱼性腺表型统计结果显示, 红虫、丰年虫和浮游动物组的YY超雄黄颡鱼的性腺均为精小叶完整的精巢, 而水蚯蚓组YY超雄黄颡鱼的性腺有75%为精巢和卵巢同时存在的兼性性腺, 25%为无精小叶的精巢(图1)。1龄水蚯蚓组YY超雄黄颡鱼同正常雄性黄颡鱼一样存在生殖突, 解剖后观察到卵巢和精巢同时存在, 且精巢的精小叶不完整的蜷缩成一团(图版-7); 其他3组YY超雄黄颡

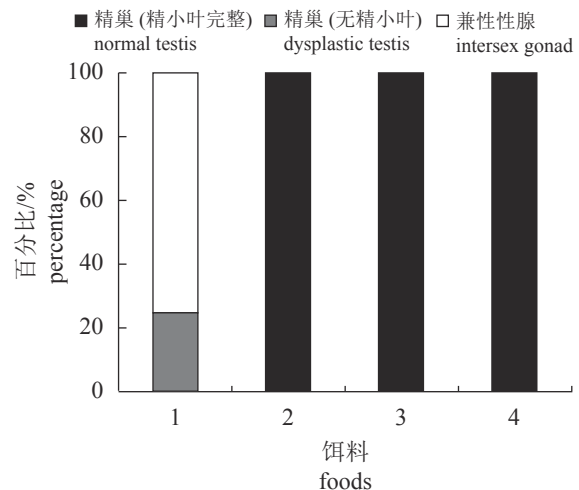


图1 60日龄性腺结构统计

1. 水蚯蚓, 2. 红虫, 3. 浮游动物, 4. 丰年虫, 下同

Fig. 1 Statistics of gonad structure on 60th day post-hatching

1. Tubificidae, 2. *C. plumosus*, 3. zooplankton, 4. *A. salina*, the same below

鱼的性腺为饱满的乳白色精巢(图版-8)。

### 2.3 不同饵料对YY超雄黄颡鱼繁殖力的影响

水蚯蚓组YY黄颡鱼精液的精子密度为 $(2.97 \pm 0.74) \times 10^7$ 个/ $\mu\text{L}$ , 显著低于其他3组( $P < 0.05$ )(表2)。将4组精液均用精子保存液稀释至 $8 \times 10^6$ 个/ $\mu\text{L}$ 用于受精实验。水蚯蚓组YY黄颡鱼受精率仅为 $36.70\% \pm 4.05\%$ 并显著低于其他3组( $P < 0.05$ ), 其他3组受精率均高于85%。以上结果表明, 早期投喂水蚯蚓导致黄颡鱼精子密度降低, 且受精率变低。

表2 一年龄YY黄颡鱼精子密度和受精率统计

Tab. 2 Sperm density and fertilization rate of one-year-old YY *P. fulvidraco*

实验组 experimental group	受精率/% fertilization rate	精子密度/( $10^7$ 个/ $\mu\text{L}$ ) sperm density
水蚯蚓 Tubificidae	$36.70 \pm 4.05^c$	$2.97 \pm 0.74^b$
红虫 <i>C. plumosus</i>	$92.66 \pm 0.71^a$	$5.42 \pm 0.58^a$
浮游动物 zooplankton	$88.79 \pm 0.29^{ab}$	$4.57 \pm 0.69^a$
丰年虫 <i>A. satina</i>	$85.38 \pm 0.56^b$	$4.81 \pm 0.72^a$

### 2.4 4种饵料的雌二醇含量

雌二醇ELISA的标准曲线的相关系数为0.9857(图2), 表明相关性较好。相同重量的4种饵料中, 水蚯蚓组的雌二醇含量最高, 为 $(14.67 \pm 0.51)$  pg/mL, 与浮游动物的雌二醇含量 $[(10.81 \pm 0.29)$  pg/mL]相差不大, 而浮游动物组YY超雄黄颡鱼性腺发育正常, 水蚯蚓组却出现兼性性腺(图3)。表明水蚯蚓体内的雌二醇含量可能不是引起YY超雄黄颡鱼性腺雌性化的主要原因。

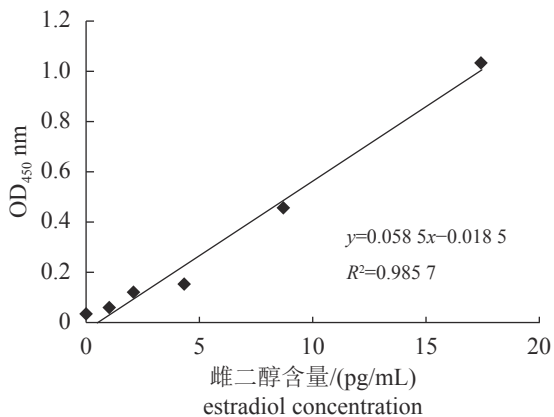


图2 雌二醇ELISA的标准曲线

Fig. 2 Standard curve of estradiol ELISA

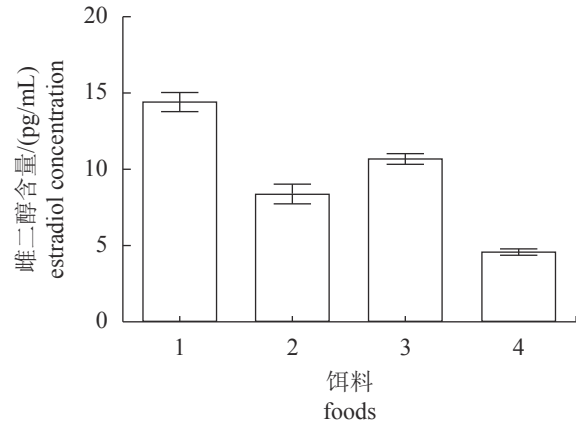


图3 相同重量的不同饵料中雌二醇含量

Fig. 3 Estradiol concentration in different baits with equal weight

## 3 讨论

水蚯蚓是环节动物门, 寡毛纲一些种类的混合群体, 由于蛋白质含量高, 是水产苗种培育过程中常见的饵料。目前苗种培育过程中喂食的水蚯蚓主要源于人工养殖或天然水域。人工养殖的水蚯蚓主要通过有机污泥和发酵好的牛粪、猪粪或鸡粪等有机粪肥培育。天然水域的水蚯蚓主要生活在腐殖质丰富的水域中, 其中往往含有大量的生活污水和工业废水。畜禽粪便等有机粪肥和腐殖质丰富的水域中通常有环境雌激素污染<sup>[15-16]</sup>。实验发现投喂有机粪肥培育的水蚯蚓造成大量YY超雄黄颡鱼出现精卵巢共存的兼性性腺, 阻碍了全雄黄颡鱼产业的发展。

杨世杰<sup>[17]</sup>研究发现, 用水蚯蚓投喂90 d的南方鲇(*Silurus meridionalis*)为全雌, 但同样喂食水蚯蚓90 d的YY超雄罗非鱼却未能逆转。董然然<sup>[18]</sup>进一步用商业化水蚯蚓喂食10 d, 即可得到全雌南方鲇。本研究用水蚯蚓喂食YY黄颡鱼20 d(11~30日龄), 有75%的鱼出现了精巢和卵巢共存的兼性性腺, 另外25%的鱼出现了无精小叶的精巢, 且受精率和精子密度均显著小于投喂丰年虫、红虫和浮游动物的YY超雄黄颡鱼。鱼类性别分化很容易受到外界因素的影响, 尤其是在性腺分化的关键时期。从解剖学角度分析黄颡鱼雌雄性腺分化上各标志出现的时间, 在13日龄卵巢开始分化, 19日龄形成卵巢腔, 精巢分化时间约40日龄, 精小叶和输精管出现于55日龄<sup>[14]</sup>。本研究投喂水蚯蚓的时期(11~30日龄)正好在黄颡鱼卵巢性腺分化的关键时期。为研究水蚯蚓

引起YY黄颡鱼雌性化的原因, 实验测量了相同重量的4种饵料中雌二醇含量, 发现水蚯蚓的雌二醇含量为 $(14.67 \pm 0.51)$  pg/mL, 与浮游动物 $[(10.81 \pm 0.29)$  pg/mL]相差不大, 水蚯蚓组的YY超雄黄颡鱼出现兼性性腺, 而浮游动物组的YY超雄黄颡鱼性腺均发育正常。基于张辉等<sup>[19]</sup>对多种环境雌激素对淡水鱼联合毒性作用进行的预测, 本研究发现水蚯蚓的雌二醇含量属于正常值。此外, 水蚯蚓雌二醇含量 $[(14.67 \pm 0.51)$  pg/mL]比逆转成YY生理雌鱼所需的雌二醇含量(200 mg/L)<sup>[3]</sup>低很多。以上分析表明, 水蚯蚓体内的雌二醇含量可能不是引起YY超雄黄颡鱼性腺雌性化的主要原因。董然<sup>[18]</sup>利用高效液相色谱法检测3个不同地域捕捞的水蚯蚓体内的环境内分泌干扰物物质(EDCS), 发现水蚯蚓体内含有双酚A、己烯雌酚( diethylstilbestrol, DES)、辛基酚(octylphenol, OP)和壬基酚(nonylphenol, NP), 并用相应EDCS拌料投喂南方鲇, 发现南方鲇逆转为全雌鱼。壬基酚能够与生物体内的雌激素受体结合而产生雌激素效应使鱼雌性化。研究表明, 2种不同浓度的辛基酚可引起斑马鱼(*Danio rerio*)的雌性化<sup>[20]</sup>。并且大量的研究显示, 在鱼类性别分化时期, EDCS可以引起性逆转或雌性间性<sup>[21-25]</sup>。因此, 水蚯蚓体内富集EDCS可能是导致YY超雄黄颡鱼性腺异常的主要原因。

综上所述, 南方鲇和黄颡鱼都隶属于鲇形目, 投喂水蚯蚓的南方鲇和YY超雄黄颡鱼的性腺都受到不同程度影响, 而YY罗非鱼却能正常发育, 可能鲇形目对水蚯蚓更为敏感。其他以水蚯蚓喂食的鱼类性腺是否受到影响需进一步研究确认。鲇形目两性生长差异较大, 如黄颡鱼、斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)、南方鲇和乌苏里拟鲿(*Pseudobagrus ussuriensis*), 进行单性育种可大幅度提升产量, 水蚯蚓则为单性育种提供了新思路。水蚯蚓营养价值高、价格便宜, 但在亲本的苗种培育过程中使用水蚯蚓可能会导致鱼苗的性腺发育异常, 成鱼的受精率和精子密度变低, 需谨慎使用。丰年虫具繁殖速率快、可人工培育等优点, 孵化不完全的卵或未滤干净的卵壳被仔鱼食用后, 会阻塞消化道, 甚至导致死亡。因此, 在培育YY超雄黄颡鱼苗种时应该以浮游动物开口, 若受其他原因干扰导致捕捞的浮游动物不足时, 可用丰年虫

代替, 使用时需反复去除卵壳, 等仔鱼口裂稍大时以商业化红虫培育几天, 在此期间适量投喂微颗粒饲料, 待转食性成功后再以不同粒径商业颗粒饲料进行工厂化育苗。

#### 参考文献:

- [1] Wang D, Mao H L, Chen H X, *et al.* Isolation of Y- and X-linked SCAR markers in yellow catfish and application in the production of all-male populations[J]. *Animal Genetics*, 2009, 40(6): 978-981.
- [2] 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.
- [3] Liu H Q, Guan B, Xu J, *et al.* Genetic manipulation of sex ratio for the large-scale breeding of YY super-male and XY all-male yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco* (Richardson))[J]. *Marine Biotechnology*, 2013, 15(3): 321-328.
- [4] Devlin R H, Nagahama Y. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences[J]. *Aquaculture*, 2002, 208(3-4): 191-364.
- [5] 李松, 何治德, 钟其渝, 等. 17 $\beta$ -雌二醇对大鳞副泥鳅生长和性腺分化的影响[J]. *淡水渔业*, 2015, 45(1): 83-87. Li S, He Z D, Zhong Q Y, *et al.* Effects of 17 $\beta$ -estradiol on sex differentiation and growth in *Paramisgurnus dabryanus* (Sauvage)[J]. *Freshwater Fisheries*, 2015, 45(1): 83-87(in Chinese).
- [6] 杨天毅, 熊阳, 丹成, 等. 利用鱼类性逆转技术创制黄颡鱼XX雄鱼的方法[J]. *水生生物学报*, 2018, 42(5): 871-878. Yang T Y, Xiong Y, Dan C, *et al.* Production of XX male yellow catfish by sex-reversal technology[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2018, 42(5): 871-878(in Chinese).
- [7] Owusu-Frimpong M, Nijjar B. Induced sex reversal in *Tilapia nilotica* (Cichlidae) with methyl testosterone[J]. *Hydrobiologia*, 1981, 78(2): 157.
- [8] Sehgal G K, Saxena P K. Effect of 17-alpha-methyl-testosterone on sex composition, growth and flesh composition in common carp, *Cyprinus carpio* (L) communis[J]. *Indian Journal of Experimental Biology*, 1995, 33: 169-172.

- [9] Olito C, Brock I. Technical notes: sex reversal of rainbow trout: creating an all - female population[J]. *The Progressive Fish - Culturist*, 1991, 53(1): 41-44.
- [10] 唐思. 四种典型环境激素对多刺裸腹溞的代际干扰效应[D]. 广州: 暨南大学, 2016.  
Tang S. Intergenerational interference effects of four typical environmental hormones on *Moina macrocopa*[D]. Guangzhou: Jinan University, 2016(in Chinese).
- [11] Sohoni P, Tyler C R, Hurd K, *et al.* Reproductive effects of long-term exposure to bisphenol A in the fathead minnow (*Pimephales promelas*)[J]. *Environmental Science & Technology*, 2001, 35(14): 2917-2925.
- [12] Kang I J, Yokota H, Oshima Y, *et al.* Effects of bisphenol A on the reproduction of Japanese medaka (*Oryzias latipes*)[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2002, 21(11): 2394-2400.
- [13] Gray M A, Metcalfe C D. Induction of testis-ova in Japanese medaka (*Oryzias latipes*) exposed to *p*-nonylphenol[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1997, 16(5): 1082-1086.
- [14] 姚道霞. 黄颡鱼性分化及激素诱导性转化研究[D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2007.  
Yao D X. Sex differentiation and hormonal sex reversal of *Pelteobagrus fulvidraco*[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2007(in Chinese).
- [15] 付银杰, 凌婉婷, 董长勋, 等. 应用UE-SPE-HPLC/FLD法检测养殖业畜禽粪便中雌激素[J]. *应用生态学报*, 2013, 24(11): 3280-3288.  
Fu Y J, Ling W T, Dong C X, *et al.* Estrogens determination of livestock dung based on UE-SPE-HPLC/FLD[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2013, 24(11): 3280-3288(in Chinese).
- [16] 龚剑, 冉勇, 杨余, 等. 珠江广州河段表层水中雌激素化合物的污染状况[J]. *环境化学*, 2008, 27(2): 242-244.  
Gong J, Ran Y, Yang Y, *et al.* Contamination of estrogenic compounds in the surface water of Guangzhou reach of the Pearl River[J]. *Environmental Chemistry*, 2008, 27(2): 242-244(in Chinese).
- [17] 杨世杰. 南方鲇人工繁殖全雌化机制的初步研究[D]. 重庆: 西南大学, 2012.  
Yang S J. Studies on mechanism of feminization of Southern catfish, *Silurus meridionalis* Chen[D]. Chongqing: Southwest University, 2012(in Chinese).
- [18] 董然然. 环境内分泌干扰物质对人工繁殖南方鲇的雌性化作用[D]. 重庆: 西南大学, 2014.  
Dong R R. Effects of EDCS on sex as demonstrated by feminization of artificially reared southern catfish[D]. Chongqing: Southwest University, 2014(in Chinese).
- [19] 张晖, 孔繁翔, 王世和, 等. 多种环境雌激素对淡水鱼联合毒性作用的预测和评价[J]. *环境科学学报*, 2008, 28(6): 1178-1185.  
Zhang H, Kong F X, Wang S H, *et al.* Prediction and assessment of the combination effects to a mixture of estrogenic chemicals on freshwater fish[J]. *Acta Scientiae Circumstantiae*, 2008, 28(6): 1178-1185(in Chinese).
- [20] Dumitrescu G, Ciochina L P, Voia S, *et al.* Histological changes induced in gonads, liver and kidney of zebra fish (*Danio rerio*) under the effect octylphenol (OP)[J]. *Lucrari Stiintifice Zootehnie Si Biotehnoigi*, 2010, 43(1): 484-489.
- [21] Prado P S, Souza C C, Bazzoli N, *et al.* Reproductive disruption in lambari *Astyanax fasciatus* from a Southeastern Brazilian reservoir[J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2011, 74(7): 1879-1887.
- [22] Barnhoorn I E J, Bornman M S, Pieterse G M, *et al.* Histological evidence of intersex in feral sharptooth catfish (*Clarias gariepinus*) from an estrogen-polluted water source in Gauteng, South Africa[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2004, 19(6): 603-608.
- [23] Jeffries K M, Jackson L J, Ikonomou M G, *et al.* Presence of natural and anthropogenic organic contaminants and potential fish health impacts along two river gradients in Alberta, Canada[J]. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 2010, 29(10): 2379-2387.
- [24] Hecker M, Tyler C R, Hoffmann M, *et al.* Plasma biomarkers in fish provide evidence for endocrine modulation in the Elbe River, Germany[J]. *Environmental Science & Technology*, 2002, 36(11): 2311-2321.
- [25] Sellin M K, Snow D D, Akerly D L, *et al.* Estrogenic compounds downstream from three small cities in eastern Nebraska: occurrence and biological effect[J]. *Journal of the American Water Resources Association*, 2009, 45(1): 14-21.

## Effects of different animal baits on the gonad development of YY super-male yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*)

XIONG Yang<sup>1</sup>, WANG Shuai<sup>1</sup>, GUO Wenjie<sup>1</sup>, XU Jiang<sup>2</sup>,  
CHEN Lihui<sup>2</sup>, LIU Hanqin<sup>2</sup>, MEI Jie<sup>1\*</sup>

(1. College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

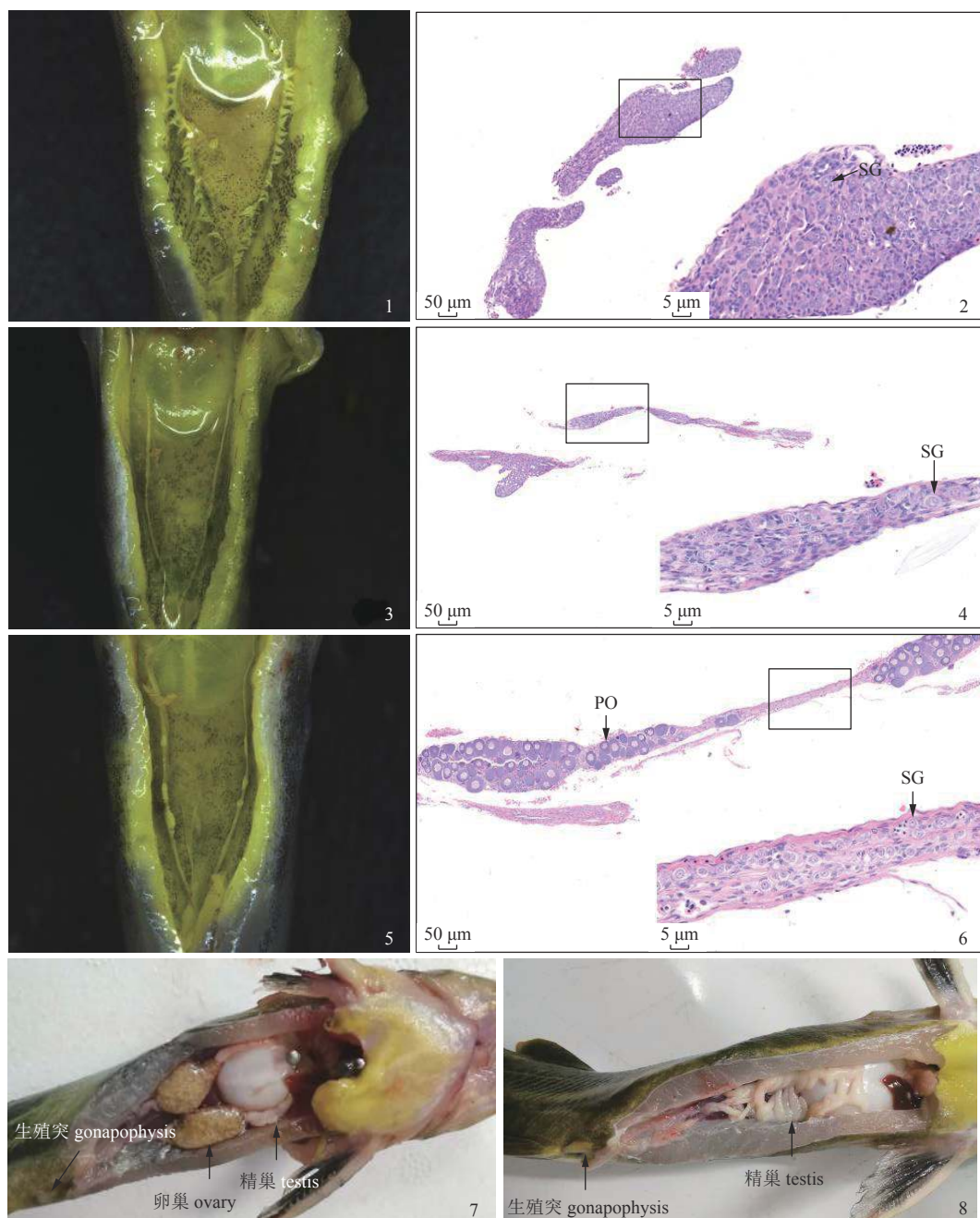
2. Wuhan BaiRui Biological Technology Co., Ltd., Wuhan 430070, China)

**Abstract:** The emergence of novel variety “All-male NO.1” dramatically promoted the development of the *Pelteobagrus fulvidraco* industry, of which the cultivation of YY super-male was a critical step. Recently, YY super-male *P. fulvidraco* with intersexual gonad emerged largely, which hindered the development of *P. fulvidraco* industry. We only found the problem of gonad development in YY super-male breeding with Tubificidae by checking the production and breeding records for nearly 10 years. Therefore, four different baits including *Artemia salina*, zooplankton, *Chironomus plumosus*, Tubificidae were used to treat YY super-male for 20 days (11 to 30 days of age post hatching). The survival rate, body length, and body weight of each group were measured at 60 dph (day post-hatching). Tubificidae treatments significantly increased the body length and weight compared with other baits, and the survival rate of fish fed with *Artemia salina* was significantly lower than fish fed with the other three baits. In addition, we performed histology analysis on gonadal structure at 60 dph and 1 year old and statistics of fertilization rate at 1 year old. As a result, the fish group fed with Tubificidae displayed 75% intersexual gonad and 25% testis without seminiferous lobule, and the fertilization rate was only 36.70%±4.05%, which was significantly lower than that of the other groups. In order to study the reasons for the feminization of YY *P. fulvidraco*, we measured the estradiol content and found that the estradiol content was low in all four different animal baits. It is speculated that the feminization of YY super-male *P. fulvidraco* may be caused by the environmental endocrine disruptors (EDCS) enriched by Tubificidae. Therefore, zooplankton or *Chironomus plumosus* should be fed in the early stage of large-scale breeding of YY-supermale *P. fulvidraco*, whereas Tubificidae should not be fed.

**Key words:** YY super-male yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*); Tubificidae; gonad; feminization

**Corresponding author:** MEI Jie. E-mail: jmei@mail.hzau.edu.cn

**Funding projects:** China Agriculture Research System (CARS-46)



图版 黄颡鱼性腺结构和组织切片

1. Bouin's液固定的60日龄精巢；2. 60日龄精巢切片H. E染色图片；3. Bouin's液固定的60日龄无精小叶精巢；4. 60日龄无精小叶精巢切片H. E染色图片；5. Bouin's液固定的60日龄兼性性腺；6. 60日龄兼性性腺切片H. E染色图片；7. 1年兼性性腺；8. 1年正常性腺；PO. 初级卵母细胞；SG. 精原细胞

#### Plate Phenotype and histology of gonad of *P. fulvidraco*

1. testis fixed by Bouin's solution at 60 days post-hatching; 2. histological analysis of at 60 days post-hatching; 3. dysplastic testis without Seminiferous lobul fixed by Bouin's solution at 60 days post-hatching; 4. histological analysis of Dysplastic testis without Seminiferous lobul at 60 days post-hatching; 5. the intersex gonad fixed by Bouin's solution at 60 days post-hatching; 6. histological analysis of intersex gonad at 60 days post-hatching; 7. gonad structure of one-year-old YY fish with intersex gonad; 8. gonad structure of one-year-old YY fish with testis; PO. primary oocyte; SG. spermatogonium