

泥鳅的性腺分化及温度对性腺分化的影响

陈玉红, 林丹军, 尤永隆

(福建师范大学 生命科学院, 福建 福州 350007)

摘要:通过组织学方法观察泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)原始生殖细胞(PGCs)的迁移、生殖嵴的生成和性腺分化,并且研究了不同温度下性腺分化的差异。结果表明:1日龄仔鱼 PGCs 位于消化管上方的脏壁中胚层中;5日龄时 PGCs 迁移到背部的腹膜上皮上;10日龄时生殖嵴生成;20日龄时 PGCs 迁入生殖嵴,形成原始性腺;25日龄时原始性腺开始向卵巢分化;30日龄时原始性腺向精巢分化。46日龄时,双侧卵巢已经合并成1个卵巢。仔鱼孵化后的25~30 d为性腺分化的关键时期。在自然水温(23~25)℃和较低水温(22±1.0)℃中培育的幼鱼,雄性率分别为(51.1±1.5)%和(48.6±1.8)%,而培育于较高水温[(27±1.0)℃, (32±1.0)℃]中的泥鳅,雄性率分别达到了(82.0±3.4)%和(90.0±2.5)%,有些个体出现了雌雄同体的现象。研究表明,温度影响泥鳅的性腺分化,高温会诱导产生雄性。[中国水产科学, 2007, 14(1): 74-82]

关键词:泥鳅;温度;性腺分化;雄性率

中图分类号:Q959.478

文献标识码:A

文章编号:1005-8737-(2007)01-0074-09

在鱼类的生殖生物学研究中,有关鱼类原始生殖细胞(primitive germ cells, PGCs)的发生、迁移以及性腺分化已有一些报道^[1-9]。在探讨性别决定或性腺分化的机制中发现,鱼类的性别决定具有原始性和可塑性,除了具有性染色体遗传机制(遗传型性别)之外还受到环境因素(温度、pH、密度和个体之间的相互作用)的影响^[10]。其中,温度对性腺分化的影响在有些鱼类已有报道^[11-15],如尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)发育时的温度升高,鱼苗的雄性比率就将上升;如果发育时的温度降低,雌性比率上升^[12]。另一些鱼类则相反,如海鲈(*Dicentrarchus labrax*)、斑点叉尾鮰(*Ictalurus punctatus*)等,发育时温度升高,鱼苗的雌性比率将上升;如果发育时的温度降低,雄性比率上升^[13-14]。还有一些鱼类,如褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*),高温和低温皆诱导出雄性个体^[15-16]。

泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)体型小,易在实验室内进行人工繁殖及养殖,是进行鱼类发育生物学研究的好材料。有关泥鳅性分化的报道很少^[2,17]。本实验以泥鳅正常发育时的性腺分化为对照,观察不同发育温度对泥鳅性腺分化的影响,为进一步探讨温度诱导性分化机制提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

泥鳅亲鱼于2005年3~5月间购自福州洪山桥市场。挑选鱼体健壮无伤的雌鱼注射催产剂,每尾剂量为鱼用促黄体生成素释放激素 A₂ (LRHA₂) 5 μg 和马来酸地欧酮(DOM) 5 μg。雄鱼不注射催产剂。经12~16 h,轻压雌鱼腹部可以挤出卵子。通过人工授精获得受精卵。将受精卵置于大盆(φ=100 cm)中充氧孵化,发育温度为自然水温(23~25℃),观察胚胎发育直至仔鱼孵化(胚胎孵化后成为仔鱼)。

1.2 实验设计

同一批次仔鱼于自然水温中发育至第5天(即5日龄仔鱼),分成4组,每组100尾,其中3组为实验组,1组为对照组,分别置于4个铝盆(φ=65 cm)中。在(27±1.0)℃和(32±1.0)℃的温度处理组中安置可控温电热棒,培育水温分别逐渐调至所需温度。(22±1.0)℃的温度处理组置于空调室中,水温降至所需温度。各实验组在所设定的温度中培育30 d,至35日龄。然后,将各实验组的温度全部调回至自然水温(23~25℃),继续养殖。对照组在

收稿日期:2006-04-17; 修订日期:2006-06-06。

基金项目:福建省自然科学基金(B0310006)。

作者简介:陈玉红(1982-),女,硕士。研究方向为鱼类繁殖生物学。E-mail: yuhong0503@163.com

通讯作者:尤永隆。E-mail: ylyou@fjnu.edu.cn

自然水温中发育。养殖方法各组相同,早期仔、稚鱼投喂水蚤等浮游动物,幼鱼期投喂人工饲料。各实验组和对照组发育至70日龄时分别计算幼鱼的成活率和雄性率。以上实验重复3次。

各实验组和对照组的雄性率通过对各组所有存活的70日龄幼鱼的性腺切片或性腺压片进行观察,确定性别,计算其雄性率。

1.3 性腺组织学制片

为了取样观察原始生殖细胞的迁移、生殖嵴的形成以及性腺分化的形态结构,每一批次仔鱼另外培育实验组和对照组,方法同上述。温度处理前,各组每天取样6尾仔鱼;在温度处理期,各组每5天取样6尾。性腺组织采用 Bouin's 液固定,常规石蜡切片,HE 染色。在 OLYMPUS BX51 显微镜(配冷光源数码相机 OLYMPUS DP70)下观察,拍照,并测量 PGCs 的直径。每次测量3尾鱼,每尾鱼测量的细胞数量视 PGCs 的数量而定,一般为2~10个。早期性腺发育分期参照刘筠^[18]的方法。

1.4 数据处理

实验数据以平均值±标准差表示,采用 SPSS11.0 软件对成活率和雄性率进行 *t* 检验(*t* test)。 $P < 0.05$ 表示有显著性差异, $P < 0.01$ 表示有极显著差异。

2 结果与分析

2.1 性腺的发生和分化

对照组(自然水温 23~25 °C)泥鳅的仔鱼或幼鱼,从1日龄(孵化后第1天)至70日龄原始生殖细胞的迁移,生殖嵴的形成和性腺分化如下述。

2.1.1 原始性腺的形成 1日龄仔鱼全长 2.0~3.0 mm。全身透明,具有较大的卵黄囊。消化道还未完全形成,消化道尾端仍是闭合的。鳔形成但尚未充气,仔鱼多在水盆的底部平游。组织学观察发现,消化道管腔很小,在消化道的上方背主动脉的两侧,PGCs 以单个细胞的形式存在于肾管下消化管上的脏壁中胚层中。PGCs 的胞体较周围的体细胞大,呈椭圆形;胞径为 $(16 \pm 0.2) \mu\text{m}$,核径为 $(7.0 \pm 0.4) \mu\text{m}$;核大,着色浅,核膜清晰可见,核仁有1~2个(图版 I-1)。

3日龄仔鱼全长 5.0~8.0 mm,鱼体全身色素分布均匀,卵黄囊还未完全吸收。口已开启,消化道贯通,可以摄食小的水蚤。此时的 PGCs 位于前肾管下方的脏壁中胚层中。PGCs 胞径为 $(14.0 \pm$

$0.6) \mu\text{m}$,核径为 $(7.0 \pm 0.2) \mu\text{m}$ (图版 I-2)。

5日龄仔鱼全长 7.0~9.0 mm,鱼体全身色素更深。卵黄囊已被完全吸收。口径变大,能灵活地摄食较大的水蚤。消化道的管腔变大,肠壁变薄,常常充满食物。此时的 PGCs 已经迁移到了两侧肾管区下方的腹膜上皮上(图版 I-3)。PGCs 数量增加,1尾仔鱼有10~15个。PGCs 胞径为 $(13.0 \pm 0.4) \mu\text{m}$,核径为 $(6.0 \pm 0.2) \mu\text{m}$ 。

10日龄仔鱼全长 1.0~1.1 cm。口须伸长。胸鳍褶达到最大面积,鳍褶基部血管密集。位于两侧肾管区下方的腹膜上皮向腹腔突出,形成1对生殖嵴(Genital ridge)。刚形成的生殖嵴较小,长8~10 μm ,为一团细胞,没有结缔组织膜包被,也没有微血管产生(图版 I-4)。PGCs 仍位于腹膜上皮上,数量继续增加,有的可观察到20个以上。

15日龄稚鱼全长 1.1~1.4 cm,口周具口须5对,颌须上仍具有细小的分枝。背鳍、臀鳍褶条开始分化,腹部两侧出现1对短小的腹鳍褶。外鳃丝已全部收缩入鳃盖内,内鳃形成。PGCs 已迁入生殖嵴,与生殖嵴共同构成原始性腺(Primordial gonad)。在原始性腺中,PGCs 通过有丝分裂不断增殖,数量增多,其胞径为 $(13.0 \pm 0.5) \mu\text{m}$,核径为 $(6.5 \pm 0.2) \mu\text{m}$ (图版 I-5)。

20日龄稚鱼全长 1.2~1.5 cm。腹鳍增大,幼鱼外形近似成体。不同个体中的原始性腺形态有差异,有2种不同的类型。一种类型的原始性腺横切面呈扁状,原始性腺的背方全部紧贴在腹膜上皮(图版 I-6);另一种类型的原始性腺横切面呈梨形,原始性腺的背方变窄呈柄状,由系膜悬挂在腹膜上皮上(图版 I-7)。但是无论是哪一种类型的原始性腺,其中的 PGCs 尚不能分辨是分化成精原细胞还是卵原细胞。

2.1.2 卵巢的分化 25日龄幼鱼全长 1.5~1.9 cm。背鳍、尾鳍、臀鳍发育完善并各自独立。鳃盖骨质化,腹鳍增大,呈长扇形。在横切面呈扁状的原始性腺的个体中,靠近腹膜上皮的一侧中生成一纵形的裂腔,PGCs 集中于腔的下方。在这种类型的原始性腺中可观察到个别细胞体积较大,细胞质着色较深,核质呈网状的生殖细胞,此为早期的初级卵母细胞,即第 I 时相卵。因此,可以确定在这种类型的原始性腺中出现的空腔为卵巢腔。卵巢腔的出现显示该原始性腺有向卵巢分化的趋势。这1对生殖腺从两侧沿着腹膜上皮逐步向躯体的中央延伸,并靠拢

(图版II-1、2)。

46日龄幼鱼全长2.0~2.7 cm。体色呈棕黄色,体侧及背部具有许多细黑点和散生的大黑斑。各鳍条全部长出,体表被细小圆鳞,富含黏液,幼鱼的形态、习性已与成鱼相似。卵巢已合并成1个。在已分化的卵巢中,生殖细胞仍以第I时相卵为主,卵巢也处于发育的第I期(图版II-4)。

70日龄幼鱼全长2.2~4.0 cm,个体生长速度差别较大。卵巢形状呈宽扁带状,位于肾脏下腹腔的中央。卵巢中由于生殖细胞的增多,卵巢腔已不易见到。生殖细胞多以第II时相卵为主,因此卵巢处于发育的第II期(图版II-6)。

2.1.3 精巢的分化 25日龄的个体中,在横切面呈梨形的原始性腺柄部(即与腹膜上皮连系的位置)出现微血管腔(图版I-8);在光学显微镜下仍不易区分PGCs和精原细胞。

30日龄幼鱼全长1.6~2.2 cm,幼鱼躯干部明显伸长,体表棕黄色,略透明,体背、体表侧面具集生的色素斑块。横切面呈梨形的原始性腺体积增大,并向腹腔中突出。在生殖腺靠近柄部的位置出现较多的微血管,但是没有纵形的裂腔出现。PGCs分布在整个生殖腺中(图版II-3),其胞径为 $(12.5 \pm 0.6) \mu\text{m}$,核径的为 $(6.3 \pm 0.5) \mu\text{m}$ 。这类原始性腺结构的变化特点表明:突向腹腔,在其中没有生成纵形裂腔的原始性腺将有向精巢分化的趋势。而且这一对生殖腺始终位于腹腔的两侧,没有向躯体中央延伸或愈合的趋势。

在46日龄的个体中,1对精巢已完全分化。在精巢中可以观察到精小囊,在精小囊外存在一些体积较大的精原细胞,为初级精原细胞。在精小囊内

还有一些体积较小,细胞核着色深,染色体呈有丝分裂相的精原细胞,为处于增殖期的次级精原细胞。此时的精巢处于发育的第I期(图版II-5)。

2.2 温度对性腺分化的影响

在不同水温中培育的仔鱼或幼鱼,其生长速度差别很大,但都能正常生长发育,各实验组与对照组成活率无显著差异($P>0.05$)。应用常规组织学方法观察各实验组仔鱼和幼鱼PGCs的迁移、性腺生成和分化,其细胞形态、组织结构及其变化与对照组相似,但是在发育进程上有所差异。在自然水温条件下生长的仔鱼(对照组),10日龄可生成生殖嵴,15日龄时PGCs迁入生殖嵴,形成原始性腺;在较低水温 $[(22 \pm 1.0)^\circ\text{C}]$ 条件下的仔鱼,10日龄时,生殖嵴尚未形成,15日龄时,生殖嵴才形成;在较高水温 $[(27 \pm 1.0)^\circ\text{C}, (32 \pm 1.0)^\circ\text{C}]$ 条件下的仔鱼,10日龄时,生殖嵴已经形成,并有少量PGCs迁移进入生殖嵴。当原始性腺生成后,在较低水温中生长的幼鱼性分化较慢,而在较高水温中生长的幼鱼性分化较快。

对各实验组和对照组幼鱼的生殖腺进行观察,发现在水温为 $(27 \pm 1)^\circ\text{C}$ 中发育的幼鱼,其雄性率为 $(82.0 \pm 3.4)\%$;在水温为 $(32 \pm 1)^\circ\text{C}$ 中发育的幼鱼的雄性率上升,达到 $(90.0 \pm 2.5)\%$;而对照组幼鱼的雄性率仅为 $(48.6 \pm 1.8)\%$,较高水温实验组和对照组之间差异显著($P<0.05, P<0.01$)。因此,在 $(27 \pm 1)^\circ\text{C}$ 及以上水温中发育可以促使泥鳅雄性化。而在 $(22 \pm 1)^\circ\text{C}$ 水温中发育的幼鱼,其雄性率为 $(51.1 \pm 1.5)\%$,接近1:1,与对照组无显著差异($P>0.5$)(表1)。

表1 不同温度对泥鳅幼鱼成活率和雄性率的影响

Tab. 1 Effects of different temperatures on survival rate and male ratio of loach(*Misgurnus anguillicaudatus*) larvae

$n=300; \bar{X} \pm \text{SD}$

温度/ $^\circ\text{C}$ Temperature	成活率/% Survival rate	P^*	雄性率/% Male ratio	P^*
22±1	48.7±7.5	>0.05	51.1±1.5	>0.05
27±1	43.6±10.2	>0.05	82.1±3.4	<0.05
32±1	41.2±8.6	>0.05	90.0±2.5	<0.01
23-25(Cont)	36.7±6.7		48.6±1.8	

注:“*”表示各实验组与对照组比较。

Note: “*” means comparison with control.

此外,通过生殖腺切片观察发现,在高温实验组幼鱼中出现一些性逆转不完全的性腺,产生雌雄同体的现象。有些个体的性腺外形为卵巢形态,呈扁带状,生殖腺中有卵巢腔痕迹,但是性腺中只有精原细胞和各级生精细胞(图版Ⅱ-7)。在另一些个体的性腺中,既有卵原细胞或早期的初级卵母细胞,也有精原细胞或其他类型的生精细胞(图版Ⅱ-8),而且,这些个体的性腺呈现雄性特征。

3 讨论

3.1 泥鳅的性分化特点

PGCs起源在不同鱼类间会存在差异,但一般认为原始生殖细胞不是起源于生殖嵴本身的上皮细胞,而是由内胚层或中胚层分化出来。如革胡子鲶(*Clarias laxera*)的PGCs起源于内胚层^[1];而杜父鱼(*Cottus gobio*)的PGCs起源于中胚层^[19]。高书堂等^[2]认为泥鳅的PGCs最先出现在原肠晚期的预定中胚层区域^[2]。本研究未对泥鳅的PGCs起源进行观察。从1日龄开始,泥鳅的PGCs以单个细胞的形式存在于肾管区腹下方、肠管上方的脏壁中胚层中。随后PGCs沿着脏壁中胚层从肠系膜迁移到腹膜上皮的生殖嵴中,形成原始性腺。

在性腺分化的早期,从细胞形态上不易区分PGCs、精原细胞和卵原细胞。但从原始性腺横切面的形态上观察,存在着两种类型:形态呈梨形的原始性腺和形态呈扁带状的原始性腺。形态呈梨形的原始性腺趋向于分化为雄性性腺,其PGCs没有明显的区域分布,原始性腺中也没有出现较大的裂腔,生殖腺始终位于肾脏下腹膜上皮的两侧,没有愈合的倾向,最终形成一对精巢。形态呈扁带状的原始性腺,其上方紧贴在腹膜上皮上,在生殖腺中出现1个纵裂腔,PGCs仅分布于腔的一侧,这类原始性腺趋向于分化为雌性性腺。原始性腺形态上的差别将导致趋向雄性或雌性分化,在其他鱼类也有报道。如中华鲟(*Acipenser sinensis*)的原始性腺,形态为半圆形的,将分化成为精巢,而形态为长条形,边缘成波浪形褶皱的将分化为卵巢^[3]。因此,解剖学上的性分化要先于细胞学上的性分化。

泥鳅卵巢的分化与精巢的分化对比,有1个显著的差异。1对原始性腺分化的结果是形成1对精巢。而在卵巢分化的过程中,1对原始性腺却仅形成1个卵巢。位于腹膜上皮两侧的早期卵巢沿着腹腔上皮分别向中央延伸,并最终愈合成一整体(图版

Ⅱ-1、4、6)。因此,从泥鳅46日龄幼鱼开始直至成鱼中卵巢只有1个。

此外,泥鳅卵巢的分化时间比精巢的早。这与南方大口鲶(*Silurus meridionalis*)性腺分化的特点相似^[4]。卵巢在25日龄幼鱼已分化,而精巢在30日龄才开始分化。但是精巢形成后的进一步发育要快于卵巢发育。70日龄幼鱼的精巢中除了精原细胞外,已出现各级的生精细胞,而同期的卵巢中则只有第Ⅰ时相卵和第Ⅱ时相卵,处于发育的第Ⅱ期。

3.2 温度影响泥鳅的性分化

温度诱导鱼类性别分化的机理尚处于探索之中。较为认同的看法是温度影响体内性激素(雄激素和雌激素)的产生。在雄性激素的作用下,鱼会趋向雄性分化;而在雌激素的作用下,鱼则趋向雌性分化^[20]。在性激素产生过程中,有一系列的酶参与其中的反应,其中芳香化酶(P_{450} aromatase)在雄激素向雌激素转化过程中起着关键的作用。酶促反应必须在适宜的温度条件下进行,高温或低温有可能通过影响芳香化酶的催化作用,最终影响鱼体内雌、雄激素的产生^[16]。有实验表明,使用某些化学试剂(如芳香化酶抑制剂)也可以得到较高比率的雄鱼^[4]。

本实验结果表明,泥鳅的性腺分化是在出膜后的第25天(卵巢分化)及30天(精巢分化),因此这段时间是性腺分化的关键时期。在性分化前后的这一段时间,将仔鱼或幼鱼培育在设定水温中,结果在 $(27\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 和 $(32\pm 1)^{\circ}\text{C}$ 这2个实验组均出现较高的雄性率($P<0.05$ 、 $P<0.01$)。因此温度可以影响泥鳅的性分化,较高的温度诱导泥鳅的雄性化。温度是否影响泥鳅芳香化酶的表达,尚没有实验证据。但是从高温诱导泥鳅趋向雄性化的结果来推断,芳香化酶的活性可能受到了抑制,不能催化睾酮转化成雌二醇(雌激素),从而阻止了泥鳅幼鱼向雌性分化。此外,在高温实验组中发现一些鱼存在雌雄同体的现象,对这一现象的解释有待进一步研究确定。

在鱼类养殖中,常常直接通过激素的作用来控制雌雄^[21]。通过间接的方法如控制温度而获得较高比率的雄鱼或雌鱼,这种手段对于今后鱼类育种将有更重要的实际应用价值。

参考文献:

- [1] 刘少军. 革胡子鲶原始生殖细胞的起源、迁移及性腺分化[J]

- . 水生生物学报, 1991, 15(1): 1—7.
- [2] 高书堂, 高令秋, 岳朝霞. 泥鳅原始生殖细胞的发生、迁移和分化[J]. 武汉大学学报: 自然科学版, 1998, 44(4): 477—480.
- [3] 陈细华, 危起伟, 杨德国, 等. 养殖中华鲟性腺发生与分化的组织学研究[J]. 水产学报, 2004, 28(6): 633—637.
- [4] 张修月, 焦保卫, 吴天利, 等. 南方鲇性腺分化的组织学观察[J]. 动物学杂志, 2005, 40(1): 41—48.
- [5] Slanchev K, Stebler J, de la Cueva-Mendez G, et al. Development without germ cells; the role of the germ line in zebrafish sex differentiation[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2005, 102(11): 4 074—4 079.
- [6] Dumstrei K, Mennecke R, Raz E. Signaling pathways controlling primordial germ cell migration in zebrafish[J]. J Cell Sci, 2004, 117(20): 4 787—4 795.
- [7] Raz E. Primordial germ cell development in zebrafish[J]. Semin Cell Dev Bi, 2002, 13(6): 489—495.
- [8] Braat A K, Speksnijder J E, Zivkovic D. Germ line development in fishes[J]. Int J Dev Bio, 1999, 43(7): 745—760.
- [9] Hamaguchi S. A light-and electron-microscopic study on the migration of primordial germ cells in the teleost, *Oryzias latipes*[J]. Cell Tissue Res, 1982, 227(1): 139—151.
- [10] Baroiller J F, Nayakama I, Foresti F, et al. Sex determination studies in two species of teleost fish, *Oreochromis niloticus* and *Leporinus elongates*[J]. Zool Stud, 1996, 35: 279—285.
- [11] Desprez D, Meland C. Effect of ambient water temperature on sex determinism in the blue tilapia, *Oreochromis aureus* [J]. Aquaculture, 1998, 162: 79—84.
- [12] Blazquez M, Zanuy S, Carillo M, et al. Effects of rearing temperature on sex differentiation in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) [J]. J Exp Zool, 1998, 281: 207—216.
- [13] Saillant E, Fostier A, Haffray P, et al. Temperature effects and genotype-temperature interaction on the sex determination in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) [J]. J Exp Zool, 2002, 192: 494—505.
- [14] Patino R, Davis K B, Schoore J E, et al. Sex differentiation of channel catfish gonads: normal development and effects of temperature[J]. J Exp Zool, 1996, 276: 209—218.
- [15] Yamamoto E. Studies on sex-manipulation and production of cloned populations in Hiramé Flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck et Schlegel) [J]. Bull Tottori Pref Fish Exp Stn, 1995, 34: 1—145.
- [16] Kitano K, Takamune T, Kobayashi Y, et al. Suppression of P450 aromatase gene expression in sex-reversed males produced by rearing the genetically female larvae at high water temperature during a period of sex differentiation in the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. J Molecul Endocrinol, 1999, 23: 167—176.
- [17] 南平, 杜启艳, 燕帅国, 等. 温度对泥鳅和大鳞副泥鳅性腺分化的影响和 *CYP19a* 基因的克隆与时空表达[J]. 中国水产科学, 2005, 12(4): 408—413.
- [18] 刘筠. 中国养殖鱼类繁殖生物学[M]. 北京: 农业出版社, 1993: 20—41.
- [19] 刘少军. 鱼类原生生殖细胞的研究进展[J]. 湖南师范大学自然科学学报, 1990, 13(2): 153—156.
- [20] 方永强, 张为民, 翁幼竹. 17β -雌二醇促进鲮鱼性腺发育的作用机制: 雌激素受体的定位[J]. 中国水产科学, 2003, 10(16): 446—449.
- [21] 郭国民, 练慧英. 应用甲基睾丸酮诱导莫桑比克非洲鲫鱼雄性化的研究[J]. 遗传, 1997, 1(1): 34—39.

Gonad differentiation in loach(*Misgurnus anguillicaudatus*) and the temperature effects

CHEN Yu-hong, LIN Dan-jun, YOU Yong-long

(College of Life Sciences, Fujian Normal University, Fuzhou 350007, China)

Abstract: Sex determination of fish was controlled by both genetic basis and environmental factors. Temperature was one of the important environmental factors. In some fish, such as *Oreochromis niloticus*, male ratio would increase if larvae were cultivated under higher water temperature. If larvae were cultivated under lower water temperature, female ratio would increase. Nevertheless, in other fish, such as *Dicentrarchus labrax* and *Ictalurus punctatus*, higher water temperature would induce higher female ratio and lower temperature would induce more male individuals. In some fish, such as *Paralichthys olivaceus*, both high and low water temperatures would induce male individuals. Temperature would influence androgen and estrogen production in the fish. And then androgen and estrogen affected the sex differentiation. Androgen and estrogen level was controlled by aromatase(P450). High or low temperature would influence aromatase gene expression, and thereby affected sex differentiation. There were few reports about gonad differentiation in the teleost, *Misgurnus anguillicaudatus*. In this paper migration of primordial germ cells(PGCs), formation of genital ridge and the gonad differentiation of *M. anguillicaudatus* were studied by histological method, and the effects of different temperatures on gonad differentiation were also studied. The results showed that on day 1, PGCs were in the splanchnic mesoderm above the gut. On day 5, PGCs migrated to the dorsal peritoneal epithelium. Genital ridges formed on day 10, and PGCs went into the genital ridges and formed primordial gonads on day 20. The primordial gonads differentiated into ovaries and testes from day 25 and day 30, respectively. In the females the two ovaries merged into a single one on day 46. The period from day 25 to day 30 was critical for gonad differentiation. Under natural water temperature(23—25 °C) and lower water temperature(22 ± 1.0 °C), the male ratio of larvae was $(48.6 \pm 1.8)\%$ and $(51.1 \pm 1.5)\%$ respectively. Under higher water temperature [(27 ± 1.0) °C and (32 ± 1.0) °C], the male ratio was $(82.0 \pm 3.4)\%$ and $(90.0 \pm 2.5)\%$ respectively. In some individuals, the gonads were hermaphroditic. The study shows temperature can influence gonad differentiation of *M. anguillicaudatus* and higher water temperature can induce masculinization. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14(1): 74—82]

Key words: *Misgurnus anguillicaudatus*; temperature; gonad differentiation; male ratio

Corresponding author: YOU Yong-long. E-mail: ylyou@fjnu.edu.cn

图版说明

AC:腹腔;DA:背主动脉;G:消化道;GR:生殖嵴;Mn:中肾;O:卵巢;Oo:卵原细胞;PD:前肾管;PG:原始性腺;PGC:原生生殖细胞;PO:初级卵母细胞;PS:初级精母细胞;SG1:初级精原细胞;SG2:次级精原细胞;ST:精子细胞;T:精巢;YS:卵黄囊

图版 I

1. 1日龄仔鱼过卵黄囊的横切面,PGCs位于内胚层上方的脏壁中胚层中,箭头示内胚层和卵黄多核层;
2. 3日龄仔鱼过消化道的横切面,PGCs位于前肾管下的脏壁中胚层中,箭头示脏壁中胚层;
3. 5日龄仔鱼过消化道的横切面,PGCs已经迁移到了两侧肾管区下方的腹膜上皮上,箭头示肠系膜;
4. 10日龄仔鱼,生殖嵴生成,箭头示腹膜上皮;
5. 15日龄仔鱼,PGCs已迁入生殖嵴,与生殖嵴共同构成原始性腺,箭头示腹膜上皮;
6. 20日龄稚鱼,示原始性腺横切面,原始性腺的背方全部紧贴在腹膜上皮上,箭头示腹膜上皮;
7. 20日龄稚鱼,原始性腺横切面呈梨形,箭头示原始性腺的背方变窄呈柄状,由系膜悬挂在腹膜上皮上;
8. 25日龄幼鱼,横切面呈梨形的原始性腺中出现微血管(箭头)。

图版 II

1. 25日龄幼鱼,左右原始性腺正分化成卵巢,并相互靠拢;
2. 25日龄幼鱼,箭头示一侧卵巢中的卵巢腔;
3. 30日龄幼鱼,示一侧原始性腺正分化成精巢;
4. 46日龄幼鱼,左右卵巢已经愈合成一个卵巢;
5. 46日龄幼鱼,一侧精巢中有初级精原细胞和次级精原细胞;
6. 70日龄幼鱼,卵巢以第II时相卵为主;
7. 70日龄幼鱼,性腺外形似卵巢,内有卵巢腔痕迹(箭头)和各级生精细胞;
8. 70日龄幼鱼,一侧性腺为精巢,另一侧性腺中有初级卵母细胞和各级生精细胞。

Explanation of Plates

AC:abdominal cavity; DA: dorsal aorta; G: gut; GR: genital ridge; Mn: mesonephros; O: ovary; Oo: oogonium; PD: pronephric duct; PG: primordial gonad; PGC: primordial germ cells; PO: primary oocyte; PS: primary spermatocyte; SG1: primary spermatogonium; SG2: secondary spermatogonium; ST: spermatid; T: testis; YS: yolk sac

Plate I

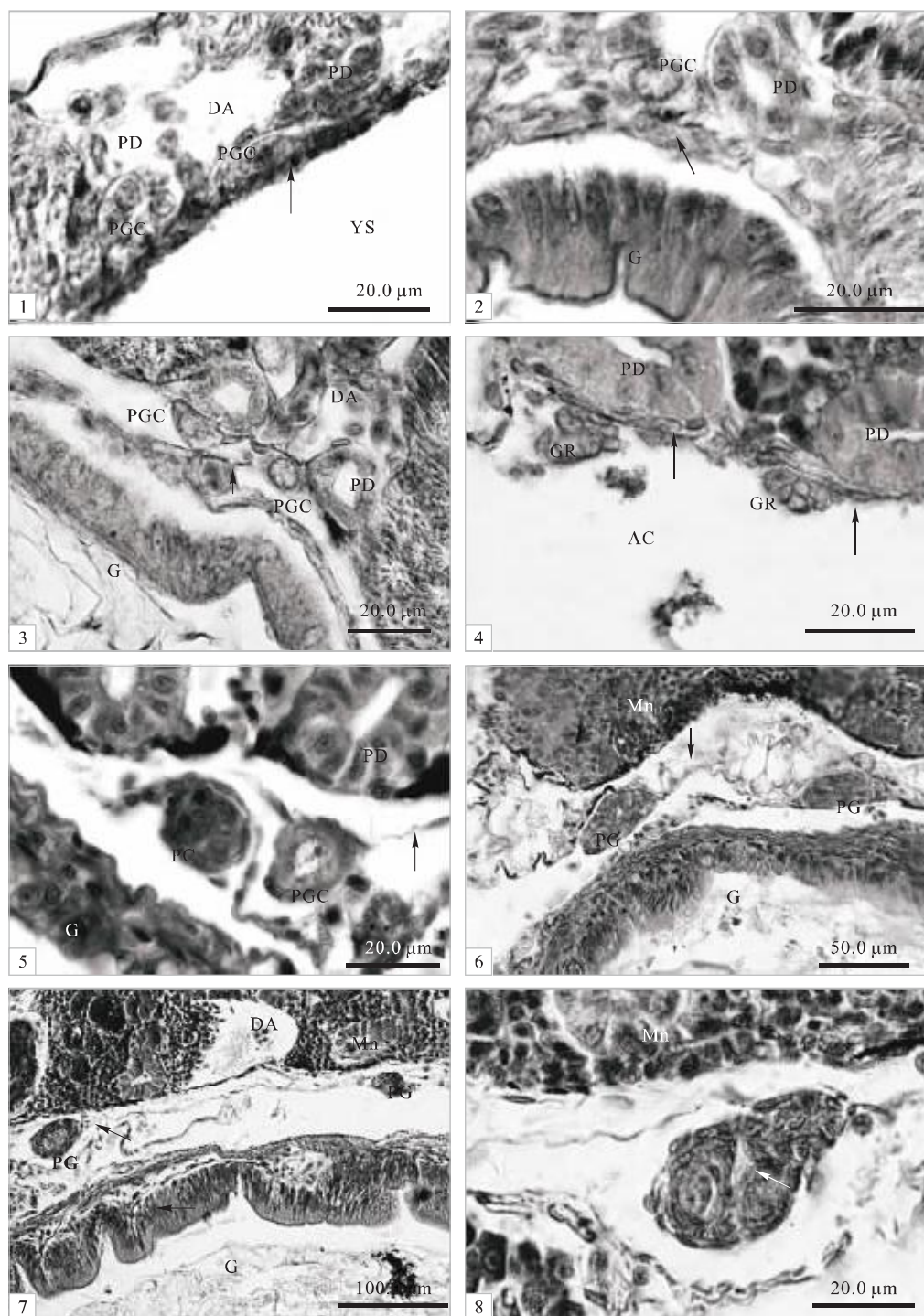
1. Cross section at the level of yolk sac of day 1 larva, PGCs were on the splanchnic mesoderm above the gut, arrow indicated endoderm and internal yolk syncytium layer;
2. Cross section at the level of gut of day 3 larva, PGCs were on the splanchnic mesoderm under the pronephric duct. Arrow indicated the splanchnic mesoderm;
3. Cross section at the level of gut of day 5 larva, PGCs had migrated into the abdominal epithelium under the nephric duct area. Arrow indicated the mesentery;
4. A larva of day 10, genital ridges had formed. Arrows indicated the abdominal epithelium;
5. A larva of day 15, PGCs had migrated into the genital ridges, and organized into gonads with the genital ridges. Arrow indicated the abdominal epithelium;
6. Cross section of primordial gonads of day 20 larva, the dorsal part of the primordial gonads stuck to the abdominal epithelium. Arrow indicated the abdominal epithelium;
7. Cross section of primordial gonad looking like a pear at day 20. Arrow indicated the handle shape of the dorsum of the primordial gonad which hang from the abdominal epithelium;
8. A larva of day 25, capillaries appeared in the primordial gonad(arrows).

Plate II

1. A larva of day 25, primordial gonads were differentiating into ovaries, and they were moving nearer to each other;
2. A larva of day 25, arrow indicated ovarian cavity in one ovary;
3. A larva of day 30, primordial gonad was differentiating into testis;
4. A larva of day 46, showing concrescence of two ovaries;
5. A larva of day 46, showing primary spermatogonia and second spermatogonia in a testis;
6. A larva of day 70, most oocytes were on stage II;
7. A larva of day 70, gonad appeared as ovary, but contained ovarian cavity trace (arrow) and all stages of spermatogenic cells;
8. A larva of day 70, one gonad was a testis and the other contained both the primary oocytes and all stages of spermatogenic cells.

陈玉红等:泥鳅的性腺分化及温度对性腺分化的影响

CHEN Yu-hong et al: Gonad differentiation in loach(*Misgurnus anguillicaudatus*) and the temperature effects

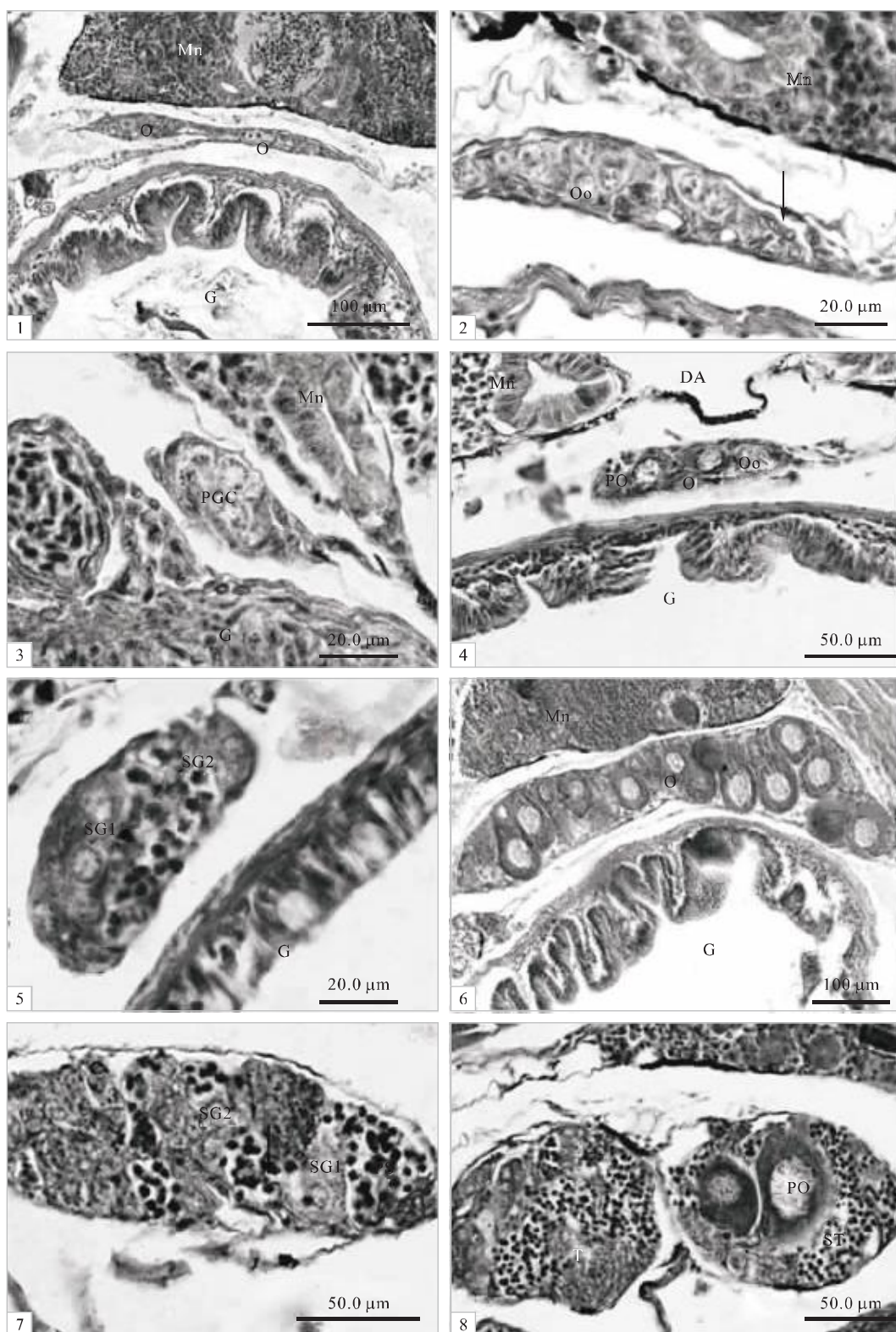


图版 I (图版说明见文末)

Plate I (Explanation at the end of the text)

陈玉红等:泥鳅的性腺分化及温度对性腺分化的影响

CHEN Yu-hong et al: Gonad differentiation in loach(*Misgurnus anguillicaudatus*) and the temperature effects



图版 II (图版说明见文末)

Plate II (Explanation at the end of the text)