

# 雌二醇在斑马鱼繁殖期性偏好中的作用\*

陶 鸿, 兰雪溶, 刘智皓

(重庆师范大学 生命科学学院 水生态健康与环境安全实验室, 重庆 401331)

**摘要:**为探究斑马鱼(*Danio rerio*)在繁殖期的性偏好及雌二醇(17 $\beta$ -estradiol, E2)在该鱼种性偏好的性别二态性中的作用,首先对成年雌、雄性斑马鱼进行繁殖期性偏好测试,随后用来曲唑和外源性E2分别处理雌鱼与雄鱼28 d后再次检测它们的繁殖期性偏好以及内源性E2、脑中5-羟色胺(serotonin, 5-HT)和多巴胺(dopamine, DA)水平的变化。结果显示:未经药物处理的雌、雄性斑马鱼在繁殖期均偏好异性,药物处理后它们在繁殖期无明显性偏好;经药物处理后,雌鱼内源性E2水平明显降低、脑中5-HT水平明显升高,雄鱼内源性E2水平明显升高、脑中5-HT和DA水平明显降低。研究结果提示雌、雄性斑马鱼在繁殖期的性偏好具有性别二态性,这种特性可能与内源性E2、脑中5-HT和DA水平有密切关联。

**关键词:**斑马鱼;性偏好;性别二态性;雌二醇;5-羟色胺;多巴胺

中图分类号:Q495.2

文献标志码:A

文章编号:1672-6693(2026)01-0064-06

性偏好是指动物个体在配偶选择过程中对特定性别、表型、行为等表现出的独特倾向,是动物性行为的重要组成部分<sup>[1]</sup>。对于有性繁殖的种群而言,性选择偏好能保证个体具有较强烈的繁殖意愿及较高的交配成功率<sup>[2]</sup>。性偏好在大多数动物中表现出明显的性别二态性,即雌性更偏好雄性个体,雄性则更偏好雌性个体<sup>[3]</sup>。有趣的是,这种性偏好的性别二态性在许多物种中并不仅仅表现为偏好异性。例如,在猕猴(*Macaca mulatta*)种群中,雄猴通常偏好异性,然而雌猴表现出同时偏好异性和同性<sup>[4]</sup>。

动物的性偏好被证明受遗传<sup>[5]</sup>、激素<sup>[6]</sup>、神经生物学<sup>[7-8]</sup>等多种因素的影响。其中,5-羟色胺(serotonin, 5-HT)和多巴胺(dopamine, DA)被证明与动物的性别认知及社交活动密切相关,且可能在动物性偏好中起到一定作用<sup>[9-10]</sup>。此外,性激素如雌二醇(17 $\beta$ -estradiol, E2)被认为是行为及生理性别二态性产生的重要因素<sup>[11-12]</sup>。尽管E2已被证明与脊椎动物的繁殖密切相关<sup>[6,13-14]</sup>,然而目前仍不清楚该物质在动物性偏好的性别二态性中究竟发挥怎样的作用。斑马鱼(*Danio rerio*)是一种被广泛使用的模式动物,以它为对象的研究结果在鱼类研究中具有较高的代表性<sup>[12]</sup>。本研究通过使用来曲唑(letrozole, LET)这种用于减少E2合成的芳香化酶抑制剂以及外源性E2改变斑马鱼体内E2水平,从而考察E2在斑马鱼性偏好中的作用,以便深入探讨动物性别认知、性别记忆的神经内分泌调控机制,也为进一步探究动物性别及性别认知的可塑性提供理论参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物

从中国斑马鱼资源中心购买成年雌、雄性斑马鱼(AB品系,180 d龄)各160尾,实验前于恒温循环水养殖系统中驯化14 d。驯化期间,将水温保持在(28 $\pm$ 0.5)  $^{\circ}$ C,每日光照时间设为14 h,平均照度控制在(800 $\pm$ 350) lx,溶解氧质量浓度维持在6.2~7.5 mg $\cdot$ L<sup>-1</sup>,水体pH范围为7.3~7.6。同时,每日投喂山东升索饲料科技有限公司生产的微粒复合饲料3次,日投喂量为斑马鱼平均体质量的1.5%。为避免种内应激,斑马鱼的饲养空间保持在每10 L驯化水体中饲养8尾斑马鱼的水平。所有鱼类实验严格按照中国实验动物学会发布的《实验动物教学用动物使用指南》(标准号:T/CALAS 29—2017)进行,并经重庆师范大学实验动物委员会批准(批准号:CKLCUFF20240701-02)。

\* 收稿日期:2025-06-18 修回日期:2025-07-11 网络出版时间:2025-09-16T16:47

资助项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(No. 31901183);重庆市自然科学基金面上项目(No. cstc2020jcyj-msxmX0805)

第一作者简介:陶鸿,女,研究方向为鱼类生理学,E-mail:1198696663@qq.com;通信作者简介:刘智皓,男,副教授,博士,E-mail:minenut@163.com

网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/50.1165.n.20250911.1157.002

## 1.2 实验仪器

本研究使用的主要实验仪器有日本索尼公司出品的 FDR-AX60 型相机、浙江新芝生物科技股份有限公司生产的 SCUENTZ-48 型高通量组织研磨器、湖南湘仪实验室仪器开发有限公司生产的 TG16-W 型微量高速台式离心机和瑞士帝肯公司出品的 Infinite<sup>®</sup> 200 Pro 型酶标仪。

## 1.3 实验方法

### 1.3.1 未经药物处理的斑马鱼繁殖期性偏好测试

驯化阶段结束后,从驯化缸中随机选取雌、雄性斑马鱼各 40 尾并分为 4 组用于繁殖期性偏好测试,其中雌性测试鱼和雄性测试鱼各 25 尾、雌性刺激鱼和雄性刺激鱼各 15 尾。如图 1 所示,实验装置主要由 1 个长×宽×高为 30 cm×30 cm×30 cm 的测试鱼缸、2 个长×宽×高均为 30 cm×20 cm×30 cm 的刺激鱼缸组成。测试鱼缸内部被均分为偏好雄鱼区域、中间区域和偏好雌鱼区域,刺激鱼缸分为雌性刺激鱼缸和雄性刺激鱼缸。刺激鱼缸位于测试鱼缸两侧且接触面对齐,同时保持接触面透明从而让测试鱼与刺激鱼之间有视觉交流。所有鱼缸的其余缸壁外表面覆盖有白纸,以减少外界环境对实验鱼的影响。每缸装有深度为 20 cm 的养殖水,测试期间保持缸内水温波动不超过 0.5 °C 以尽可能减少水温变化对实验鱼造成的影响。

在 8:00—10:00 的斑马鱼繁殖期间<sup>[15]</sup>,将所有雌性刺激鱼和雄性刺激鱼分别放入雌性刺激鱼缸和雄性刺激鱼缸并适应环境 15 min。随后,将单尾雌(或雄)性测试鱼放入测试鱼缸适应环境 15 min。在实验鱼适应环境期间,测试缸的两侧分别放置 1 张可移动的不透明白色挡板以阻隔测试鱼与刺激鱼视线。适应期结束后,用渔具轻柔地将测试鱼放入开放式的位于测试鱼缸中心的直径为 10 cm、高为 30 cm 透明圆柱桶(启动箱)内,同时移除上述挡板,并于 2 min 后移除启动箱,释放测试鱼并立即从实验装置上方拍摄测试鱼的行为,拍摄时长为 10 min (图 1)。参考文献[16]的方法,统计以下性偏好行为指标:1) 在偏好区域的时间,即测试鱼出现在偏好雌(或雄)鱼区域的总时长;2) 触碰缸壁时间,即测试鱼紧贴与雌(或雄)性刺激鱼缸接触的测试鱼缸缸壁内侧来回游动的总时长。

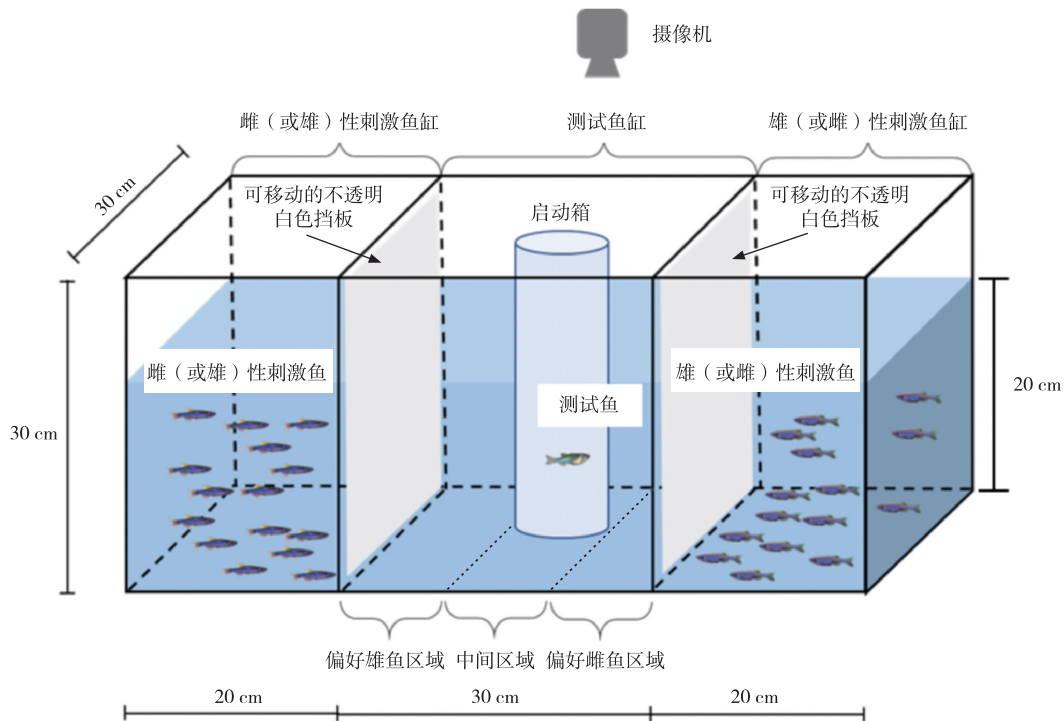


图 1 斑马鱼繁殖期性偏好测试实验示意图

Fig. 1 Experimental diagram of sexual preference test in zebrafish during reproductive period

### 1.3.2 经药物处理的斑马鱼繁殖期性偏好测试

从驯化缸中另外随机选取雌、雄性斑马鱼各 60 尾并分为 4 组即对照-雌鱼、对照-雄鱼、LET-雌鱼和 E2-雄鱼,每组均有 30 尾实验鱼。用 LET、E2 的丙酮溶液分别浸湿用于饲喂 LET-雌鱼和 E2-雄鱼的饲料,其中 LET

和 E2-雄鱼的质量分数为  $6 \text{ mg} \cdot \text{g}^{-1}$  和  $200 \text{ ng} \cdot \text{g}^{-1}$ , 用于饲喂其余 2 组实验鱼的饲料则用等体积的不含上述药物的丙酮润湿。在喂食前, 将上述处理过的饲料于室温下彻底干燥以保证丙酮完全挥发。每组实验鱼于每日 9:00、15:00 和 21:00 各喂食 1 次, 每日饲喂的饲料量为实验鱼平均体质量的 1.5%, 饲喂过程持续 28 d。

药物处理结束后, 在上述每组实验鱼中随机选取 25 尾个体作为测试鱼进行繁殖期性偏好测试, 实验步骤与 1.3.1 节基本一致, 且刺激鱼缸中放入的雌性刺激鱼和雄性刺激鱼仍为未经药物处理的实验鱼。

### 1.3.3 经药物处理的斑马鱼血浆中 E2 及脑中 E2、5-HT 和 DA 水平检测

将经过繁殖期性偏好测试的对照-雌鱼、对照-雄鱼、LET-雌鱼和 E2-雄鱼全部放回各组所在鱼缸中恢复 24 h。之后于繁殖期用胶头滴管小心地向上述鱼缸的角落处滴加质量分数为 0.1% 的 MS-222 溶液以麻醉其中所有实验鱼。使用肝素化毛细管收集 10 尾鱼的血浆作为 1 个生物样本, 每组各 3 个生物样本。将收集到的血浆在  $4 \text{ }^{\circ}\text{C}$  下以  $5000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 10 min 获取上清液, 并按照 E2 ELISA 试剂盒(美国开曼公司出品)说明书中相关说明绘制标准曲线, 并测定各组实验鱼血浆中 E2 水平。将取血后的实验鱼解剖, 取出脑组织, 每 10 个脑作为 1 个生物样本, 每组各 3 个生物样本, 参照 E2 ELISA 试剂盒、5-HT 和 DA ELISA 试剂盒(中国上海优选生物公司出品)说明书测定各组实验鱼脑中 E2、5-HT 和 DA 水平。

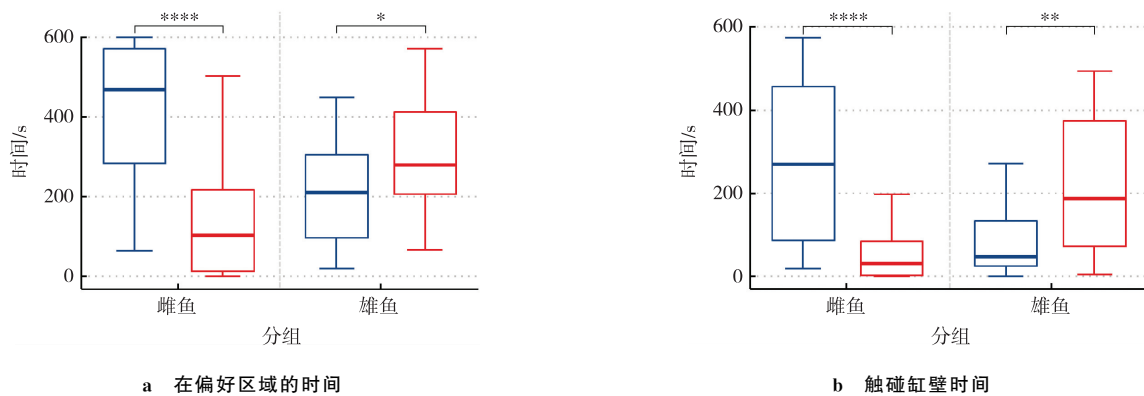
### 1.4 数据分析

实验数据均以“平均值±标准误”形式表示。对组间数据差异使用 SPSS 27.0 软件进行独立样本  $t$  检验; 当  $p < 0.05$  时, 统计结果具有统计学意义。使用 Prism 8.0.2 软件及 Hiplot 云平台绘图。

## 2 结果

### 2.1 未经药物处理的斑马鱼在繁殖期的性偏好

图 2 显示: 在繁殖期, 未经药物处理的斑马鱼更偏好异性同类, 雌(或雄)性测试鱼在偏好雄(或雌)鱼区域的时间和触碰贴近雄(或雌)性刺激鱼缸的测试鱼缸缸壁时间均有统计学意义上的差异( $p < 0.05$ )。



注: 各组样本量均为 25 尾, 蓝色与红色箱型图线分别为测试鱼对雄性刺激鱼和雌性刺激鱼性偏好行为指标数据, “\*”“\*\*”“\*\*\*\*”分别表示数据差异在  $p < 0.05$ 、 $p < 0.01$  和  $p < 0.001$  水平具有统计学意义。

图 2 斑马鱼在繁殖期的性偏好

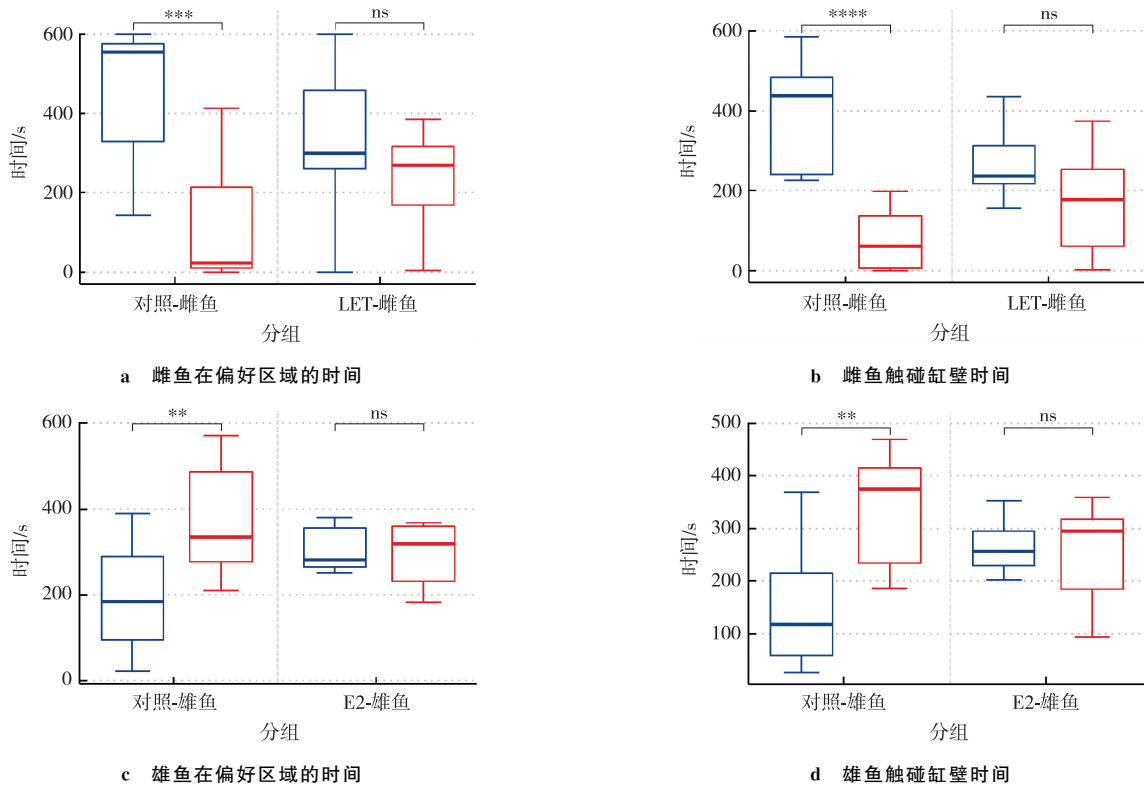
Fig. 2 Sexual preference of zebrafish in reproductive period

### 2.2 经药物处理的斑马鱼在繁殖期的性偏好

由图 3 可知: 在繁殖期, 对照-雌鱼(或对照-雄鱼)在偏好雄(或雌)鱼区域的时间和触碰贴近雄(或雌)性刺激鱼缸的测试鱼缸缸壁的时间均有统计学意义上的差异( $p < 0.05$ ), 均表现为更偏好异性同类; 而 LET-雌鱼与 E2-雄鱼均未表现出明显性偏好, 上述行为学指标数据差异无统计学意义。

### 2.3 药物处理对斑马鱼血浆中 E2 水平及脑中 E2、5-HT 和 DA 水平的影响

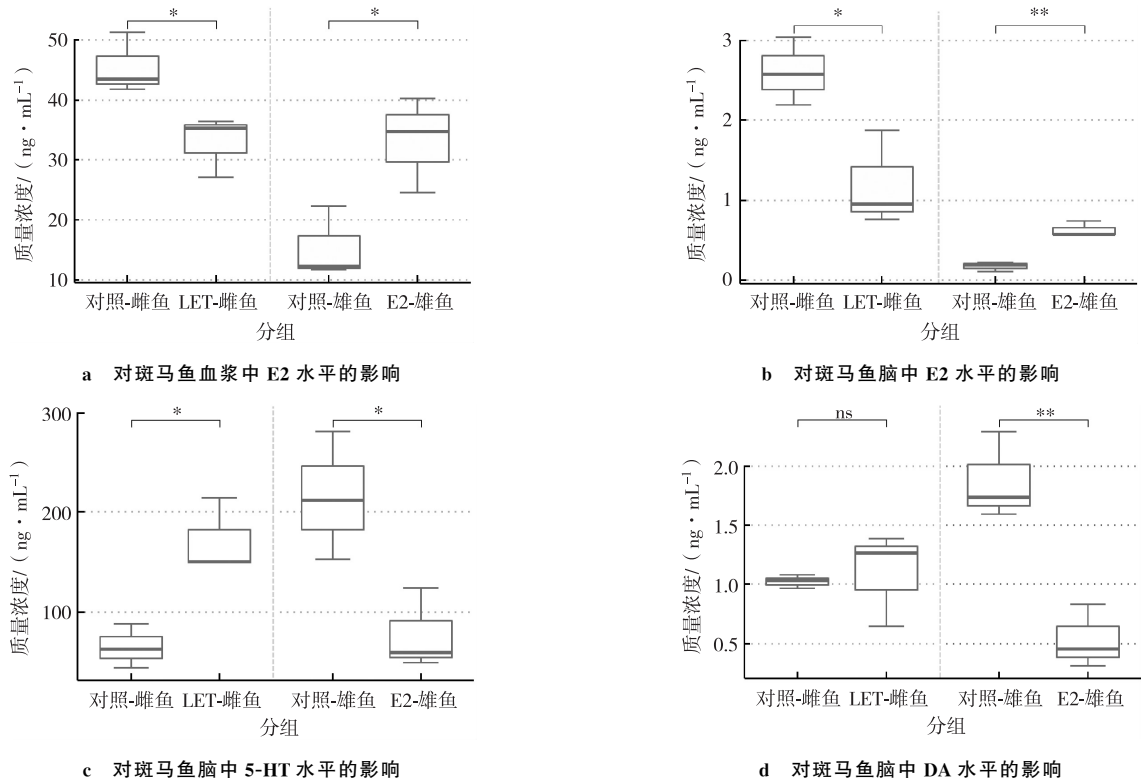
图 4a、b 显示: 与对照-雌鱼相比, LET-雌鱼血浆及脑中 E2 水平均有统计学意义上的降低( $p < 0.05$ ); 与对照-雄鱼相比, E2-雄鱼血浆及脑中 E2 水平均有统计学意义上的升高( $p < 0.05$ )。此外, 与对照-雄鱼相比, E2-雄鱼脑中 5-HT 和 DA 水平均有统计学意义上的降低( $p < 0.05$ ); 与对照-雌鱼相比, LET-雌鱼脑中 5-HT 水平有统计学意义上的升高( $p < 0.05$ ), 而 DA 水平则无统计学意义上的变化(图 4c、d)。



注:各组样本量均为 25 尾,蓝色与红色箱型图线分别为测试鱼对雄性刺激鱼和雌性刺激鱼性偏好行为指标数据,ns 表示数据差异无统计学意义,“\*\*”“\*\*\*”“\*\*\*\*”分别表示数据差异在  $p < 0.01$ 、 $p < 0.005$  和  $p < 0.001$  水平具有统计学意义。

图 3 药物处理对斑马鱼繁殖期性偏好的影响

Fig. 3 Effect of drug treatment on sexual preference of zebrafish during reproductive period



注:各组生物样本量均为 3 个(每 10 尾鱼的血浆或脑组织为 1 个生物样本),ns 表示数据差异无统计学意义,“\*”“\*\*”分别表示数据差异在  $p < 0.05$  和  $p < 0.01$  水平具有统计学意义。

图 4 药物处理对斑马鱼血浆中 E2 水平及脑中 E2、5-HT 和 DA 水平的影响

Fig. 4 Effects of drug treatment on plasma E2 levels and brain levels of E2, 5-HT and DA concentrations in zebrafish

### 3 讨论与结论

本研究结果显示,斑马鱼在繁殖期存在明显性偏好,且性偏好具有明显的性别二态性,即雌(或雄)性个体偏好雄(或雌)性个体。作为性选择的关键驱动力,这种异性相互吸引的性偏好是鱼类成功繁衍后代的基础<sup>[1,17]</sup>。许多鱼类通过异性偏好行为形成稳定的配偶关系,共同承担繁殖任务,从而有效提高繁殖成功率及后代存活率<sup>[18-19]</sup>。过去的研究表明,雌、雄性斑马鱼都具有成熟的视觉系统和良好的视觉感知能力<sup>[20]</sup>。在本研究中,斑马鱼仅仅通过视觉识别异性群体并产生偏好性。这暗示视觉线索在斑马鱼繁殖期的配偶选择中具有重要作用。对于动物种群而言,在繁殖期的性偏好具有性别二态性有利于异性个体的成功交配,对种群的延续具有重要意义。

雌、雄性个体神经通路以及激素的明显差异通常是动物表型及行为存在性别二态性的根本原因,而雌激素在其中起到了关键作用<sup>[11]</sup>。本研究结果显示,当雌(或雄)性斑马鱼血浆和脑中 E2 水平明显降低(或升高)时,它在繁殖期不再具有明显性偏好。对小鼠(*Mus musculus*)的研究发现:在繁殖期,经环境雌激素处理的雄性个体对异性的性行为明显减少<sup>[14]</sup>。由此可见,动物体内雌激素水平与它们在繁殖期的性偏好有着密切关联。

作为动物脑中关键的神经递质,5-HT 和 DA 被认为与动物的性认知及性选择密切相关<sup>[9-10]</sup>。例如,敲除与 5-HT 合成相关基因的雄性小鼠失去对异性的性偏好,同时也不表现对同性的性偏好<sup>[21]</sup>。而最近的一项研究发现,DA 通路的激活可直接或间接地影响小鼠的性偏好<sup>[9]</sup>。有趣的是,目前的研究认为 E2 与 5-HT 和 DA 之间似乎存在一系列复杂的调控关系<sup>[22-23]</sup>。本研究结果显示:在内源性 E2 水平升高的同时,雄性斑马鱼脑中 5-HT 和 DA 水平降低;而在内源性 E2 水平降低的同时,雌性斑马鱼脑中 5-HT 水平明显升高。内源性 E2 与雌、雄性斑马鱼脑中 5-HT 和 DA 的变化趋势表明 E2 可能通过调控 5-HT 和 DA 通路来调节斑马鱼的性偏好。对雌性斑马鱼而言,内源性 E2 水平的变化并未引起脑中 DA 水平的明显变化,这暗示在雌性个体中 E2 对 DA 的调控模式可能有所不同。

综上所述,雌、雄性斑马鱼在繁殖期的性偏好具有性别二态性,均偏好异性个体。内源性 E2 水平的降低或升高导致雌、雄性斑马鱼性偏好消失,表明 E2 在斑马鱼性偏好的调控中起重要作用。随着内源性 E2 水平的变化,斑马鱼脑中 5-HT 和 DA 水平也随之发生负向变化,表明 E2 可能通过负调控上述神经递质通路进而调节斑马鱼在繁殖期的性偏好。

#### 参考文献:

- [1] DARWIN C. The descent of man, and selection in relation to sex[M]. London: John Murray Press, 1871.
- [2] WAGNER W E Jr, BASOLO A L. The relative importance of different direct benefits in the mate choices of a field cricket[J]. *Evolution: International Journal of Organic Evolution*, 2007, 61(3): 617-622.
- [3] EASTWICK P W, EAGLY A H, GLICK P, et al. Is traditional gender ideology associated with sex-typed mate preferences? a test in nine nations[J]. *Sex Roles*, 2006, 54(9): 603-614.
- [4] VASEY P L. Sexual partner preference in female Japanese macaques[J]. *Archives of Sexual Behavior*, 2002, 31(1): 51-62.
- [5] BAILEY J M, PILLARD R C, DAWOOD K, et al. A family history study of male sexual orientation using three independent samples[J]. *Behavior Genetics*, 1999, 29(2): 79-86.
- [6] PARROTT R F. Courtship and copulation in prepubertally castrated male sheep (wethers) treated with 17 $\beta$ -estradiol, aromatizable androgens, or dihydrotestosterone[J]. *Hormones and Behavior*, 1978, 11(1): 20-27.
- [7] MEYER-BAHLBURG H F L, DOLEZAL C, BAKER S W, et al. Sexual orientation in women with classical or non-classical congenital adrenal hyperplasia as a function of degree of prenatal androgen excess[J]. *Archives of Sexual Behavior*, 2008, 37(1): 85-99.
- [8] ROSELLI C E, LARKIN K, RESKO J A, et al. The volume of a sexually dimorphic nucleus in the ovine medial preoptic area/ anterior hypothalamus varies with sexual partner preference[J]. *Endocrinology*, 2004, 145(2): 478-483.
- [9] LI R, LIU L, WU M. Environment impacts sexual preference; dopamine sends signals under pressure to decide which sex you like[J]. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, 2025, 10: 125.
- [10] ZHANG S S, LIU Y, RAO Y. Serotonin signaling in the brain of adult female mice is required for sexual preference[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(24): 9968-9973.
- [11] GEGENHUBER B, WU M V, BRONSTEIN R, et al. Gene regulation by gonadal hormone receptors underlies brain sex differences[J]. *Nature*, 2022, 606(7912): 153-159.

- [12] ZHANG M Q, YANG Q, SHI R, et al. Effects of long-term sex steroid hormones (estradiol and testosterone)-supplemented feeds on the growth performance of Chinese tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2022, 48(5):1365-1375.
- [13] D'OCCHIO M J, BROOKS D E. Effects of androgenic and oestrogenic hormones on mating behaviour in rams castrated before and after puberty [J]. *The Journal of Endocrinology*, 1980, 86(3):403-411.
- [14] 于承军. 环境雌激素对雄鼠行为的影响 [J]. *畜牧与饲料科学*, 2010, 31(10):3-4.  
YU C J. Effects of bisphenol A on behavior of mice [J]. *Animal Husbandry and Feed Science*, 2010, 31(10):3-4.
- [15] DARROW K O, HARRIS W A. Characterization and development of courtship in zebrafish, *Danio rerio* [J]. *Zebrafish*, 2004, 1(1):40-45.
- [16] GERLAI R, LAHAV M, GUO S, et al. Drinks like a fish: zebra fish (*Danio rerio*) as a behavior genetic model to study alcohol effects [J]. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 2000, 67(4):773-782.
- [17] SVENSSON O, KVARNEMO C. How sexual and natural selection interact and shape the evolution of nests and nesting behaviour in fishes [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B, Biological Sciences*, 2023, 378(1884):20220139.
- [18] 李娇, 公丕海, 常青, 等. 岩礁鱼类行为生态学研究进展 [J]. *渔业科学进展*, 2020, 41(6):192-199.  
LI J, GONG P H, CHANG Q, et al. Research progress on behavioral ecology of reef fish [J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2020, 41(6):192-199.
- [19] TURNER G F, ROBINSON R L. Reproductive biology, mating systems and parental care [M]//BEVERIDGE M C M, McANDREW B J. *Tilapia: biology and exploitation*. Dordrecht: Springer Netherlands, 2000:33-58.
- [20] HAUG M F, BIEHLMAIER O, MUELLER K P, et al. Visual acuity in larval zebrafish; behavior and histology [J]. *Frontiers in Zoology*, 2010, 7(1):8.
- [21] LIU Y, JIANG Y A, SI Y X, et al. Molecular regulation of sexual preference revealed by genetic studies of 5-HT in the brains of male mice [J]. *Nature*, 2011, 472(7341):95-99.
- [22] BENDIS P C, ZIMMERMAN S, ONISIFOROU A, et al. The impact of estradiol on serotonin, glutamate, and dopamine systems [J]. *Frontiers in Neuroscience*, 2024, 18:1348551.
- [23] HERNÁNDEZ-HERNÁNDEZ O T, MARTÍNEZ-MOTA L, HERRERA-PÉREZ J J, et al. Role of estradiol in the expression of genes involved in serotonin neurotransmission; implications for female depression [J]. *Current Neuropharmacology*, 2019, 17(5):459-471.

## Animal Sciences

### The Role of E2 in Sexual Dimorphic Preference During the Reproductive Period of Zebrafish

TAO Hong, LAN Xuerong, LIU Zhihao

(Laboratory of Water Ecological Health and Environmental Safety, School of Life Sciences,  
Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

**Abstract:** To investigate the sexual preference of zebrafish (*Danio rerio*) during the reproductive period and the role of  $17\beta$ -estradiol (E2) in sexually dimorphic preference, sexual preference tests were conducted on male and female zebrafish during the reproductive period. Subsequently, female zebrafish were treated with letrozole, and male zebrafish were treated with E2. After 28 days, their sexual preferences during the reproductive period were detected, along with endogenous E2 levels and brain serotonin (5-HT)/dopamine (DA) concentrations. The results show that both male and female zebrafish preferred the opposite sex during the reproductive period before drug treatment, but lost this sexual preference after treatment. Following treatment, endogenous E2 levels in females were significantly decreased, accompanied by a significant increase in brain 5-HT levels. In males, endogenous E2 levels were significantly elevated, while brain 5-HT and DA levels were significantly reduced. These findings indicate that sexual preference during the reproductive period in zebrafish exhibits sexual dimorphism, which may be closely associated with endogenous E2 levels and brain 5-HT/DA concentrations.

**Keywords:** zebrafish; sexual preference; sexual dimorphism;  $17\beta$ -estradiol; serotonin; dopamine

(责任编辑 方 兴)