

引文格式: 张浓, 李娟, 向建国, 等. 来曲唑对棘胸蛙生长、性比及性激素水平的影响[J]. 云南农业大学学报(自然科学), 2022, 37(6): 979–984. DOI: 10.12101/j.issn.1004-390X(n).202111069

来曲唑对棘胸蛙生长、性比及性激素水平的影响*

张 浓¹, 李 娟¹, 向建国^{1**}, 潘望城^{2**}

(1. 湖南农业大学 动物科学技术学院, 湖南 长沙 410128; 2. 常德大北农饲料有限公司, 湖南 常德 415400)

摘要:【目的】研究来曲唑对棘胸蛙 (*Quasipaa spinosa*) 生长、性比及性激素水平的影响, 为棘胸蛙全雄育种提供参考。【方法】投喂不同来曲唑含量 (20、100、400 和 1000 mg/kg) 的饲料 (分别记为 L₂₀、L₁₀₀、L₄₀₀ 和 L₁₀₀₀ 组) 诱导棘胸蛙蝌蚪雄性化, 并设置对照组 (CK 组), 投喂周期为 90 d。在 20~70 日龄期间, 每隔 10 d 测定各组蝌蚪的性激素 [雌二醇 (E₂) 和睾酮 (T)] 水平; 之后正常饲养至变态完成, 测定各组幼蛙的生长指标和性比。【结果】(19±1) °C 养殖水温下, 棘胸蛙雄性率较低, CK 组雄性率仅为 33.33%。投喂不同来曲唑含量的饲料均能显著提高棘胸蛙的雄性率 ($P<0.05$), L₂₀、L₁₀₀、L₄₀₀ 和 L₁₀₀₀ 组的雄性率分别为 58.49%、55.26%、48.84% 和 56.82%。不同来曲唑含量的饲料对变态幼蛙的体长、头长、头宽、前臂及手长、后肢全长和肝体比等生长指标均无显著影响 ($P>0.05$)。从原始性腺到性腺分化结束期间 (20~70 日龄), 与 CK 组相比, 各来曲唑含量处理组的 E₂ 和 T 水平总体上均显著上升 ($P<0.05$); 精巢分化期间 (40~50 日龄), 各来曲唑含量处理组的 T 水平均显著高于 CK 组 ($P<0.05$), 是诱导雄性化的关键。【结论】本试验条件下, 来曲唑可显著提高棘胸蛙后代雄性率, 但对棘胸蛙生长无影响。

关键词: 棘胸蛙; 来曲唑; 生长; 性比; 性激素水平

中图分类号: S917.4

文献标志码: A

文章编号: 1004-390X (2022) 06-0979-06

Effects of Letrozole on Growth, Sex Ratio and Sex Hormone Level of *Quasipaa spinosa*

ZHANG Nong¹, LI Juan¹, XIANG Jianguo¹, PAN Wangcheng²

(1. College of Animal Science and Technology, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China;

2. Changde Dabeinong Feed Co., Ltd., Changde 415400, China)

Abstract: [Purpose] To study the effects of letrozole on the growth, sex ratio and sex hormone levels of *Quasipaa spinosa*, providing reference for the whole male breeding of *Q. spinosa*.

[Methods] Feeding letrozole (20, 100, 400 and 1000 mg/kg) with different contents (recorded as L₂₀, L₁₀₀, L₄₀₀ and L₁₀₀₀ group, respectively), and the control group (CK group) was set up, the feeding cycle was 90 days. During the period of 20-70 days after hatching, the levels of sex hormones [estradiol (E₂) and testosterone (T)] of tadpoles in each group were measured every 10 days. After normal feeding until metamorphosis completed, the growth indicators and sex ratio of each group were measured. [Results] The male rate of *Q. spinosa* was low at (19±1) °C, the male rate of CK group

收稿日期: 2021-11-29

修回日期: 2022-01-18

网络首发日期: 2022-11-07

*基金项目: 湖南省现代农业产业技术体系项目 (5026401, 0319085)。

作者简介: 张浓 (1996—), 男, 湖南株洲人, 在读硕士研究生, 主要从事渔业资源与环境研究。

E-mail: 396132409@qq.com

**通信作者 Corresponding authors: 向建国 (1968—), 男, 湖南常德人, 硕士, 教授, 主要从事渔业资源与环境研究。E-mail: 2507467211@qq.com; 潘望城 (1989—), 男, 湖南常德人, 硕士, 工程师, 主要从事水产养殖研究。E-mail: 305425950@qq.com

网络首发地址: <https://kns.cnki.net/kcms/detail/53.1044.S.20221107.1005.002.html>



was only 33.33%. Feeding different contents of letrozole could significantly improve the male rate of *Q. spinosa* ($P<0.05$), the male rates of L₂₀, L₁₀₀, L₄₀₀ and L₁₀₀₀ groups were 58.49%, 55.26%, 48.84% and 56.82%, respectively. Different contents of letrozole had no significant effect on snout-vent length, head length, head width, forearm and hand length, hind limb length and hepatosomatic index of young frogs ($P>0.05$). From primitive gonad to the end of gonad differentiation (during 20-70 days after hatching), compared with the CK group, the E₂ level and T level of each letrozole treatment group was significantly increased ($P<0.05$). During testis differentiation (during 40-50 days after hatching), the T level of each letrozole treatment group was significantly higher than that of CK group ($P<0.05$), which was the key to induce maleation. [Conclusion] In this experiment, letrozole has no effect on the growth of *Q. spinosa*, but it can improve the male rate of offspring of *Q. spinosa* significantly.

Keywords: *Quasipaa spinosa*; letrozole; growth; sex ratio; sex hormone level

棘胸蛙 (*Quasipaa spinosa*) 主要分布于中国东南部山区和越南北部地区^[1], 是中国重要的药食同源动物^[2-3], 其营养价值高, 被美誉为“百蛙之王”。近年来, 由于栖息地的人为破坏、除草剂等农药的广泛使用及过度捕捉, 棘胸蛙野生资源不断减少, 现已被国际自然保护联盟 (IUCN) 和中国红色名录列为易危物种^[4-5]。人工养殖是保护棘胸蛙资源的有效措施之一^[6], 棘胸蛙雄性个体的经济性能优于雌性, 实现棘胸蛙的全雄养殖前景广阔。

两栖动物的性别由基因决定, 但也受温度和外源性激素等因素的影响^[7-10]。温度的作用一般表现为高温诱导两栖动物后代性比向雄性偏移, 而低温则会导致后代雌性化^[7-8]。外源性类固醇激素也会影响两栖动物的性别比率^[9-10]。研究发现: 投喂含有 17 α -甲基睾酮的饲料会显著提高棘胸蛙蝌蚪后代的雄性率, 但也会导致棘胸蛙生长受抑制, 死亡率和畸形率显著上升^[11]。因此, 寻找一种高效、安全的雄性诱导方法具有重要意义。

芳香化酶是一种类固醇合成酶, 可以催化雄性激素转化为雌性激素, 而芳香化酶抑制剂通过抑制其活性, 可以直接调节两栖动物的内源性类固醇激素水平, 诱导后代性别比向雄性偏移, 甚至可以完全雄性化, 具有比外源性激素更好的调节效果^[12-13]。来曲唑作为第 3 代芳香化酶抑制剂, 具有对芳香化酶更高的选择性和抑制潜力^[14], 但其在两栖动物中的相关研究较少^[15]。本试验以棘胸蛙为研究对象, 通过投喂含有不同来曲唑含量的饲料, 研究来曲唑对其生长、性比及性激素

(雌二醇和睾酮) 水平的影响, 以期棘胸蛙全雄育种提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 试验动物

试验用棘胸蛙蝌蚪均来自湖南省常德市正兴农业开发有限公司岩蛙繁养基地, 由同一批次受精卵孵化而来。

1.2 试验设计及样品采集

参照沈志刚^[16]的研究方法, 将来曲唑 (购自上海贤鼎生物科技有限公司) 用无水乙醇溶解后, 与黑斑蛙人工饲料 (宁波天邦股份有限公司, 粗蛋白含量 $\geq 38.0\%$ 、粗脂肪含量 $\geq 3.3\%$ 、粗纤维含量 $\leq 4.0\%$ 、粗灰分含量 $\leq 18.0\%$ 、水分 $\leq 4.0\%$ 、总磷含量 $\geq 1.0\%$ 、赖氨酸含量 $\geq 1.9\%$) 拌匀, 分别配制成 20、100、400 和 1000 mg/kg 的药饵; 对照组加入等量无水乙醇。4 ℃ 冰箱保存备用。

养殖试验水温 (19 $\pm$ 1) ℃, 微流水养殖。将刚脱膜开口后的 15 000 尾蝌蚪 (平均每尾 0.11 g) 随机分成 5 组, 每组 3 个重复, 每个重复 1 000 尾, 养殖于 1 个养殖池 (3.0 m $\times$ 3.0 m $\times$ 0.2 m) 中, 共 15 个养殖池。5 个组分别投喂对照和不同来曲唑含量的饲料, 分别记为 CK、L₂₀、L₁₀₀、L₄₀₀ 和 L₁₀₀₀ 组, 投喂周期为 90 d, 之后各组投喂正常饲料至变态完成。

在蝌蚪孵化后 20、30、40、50、60 和 70 d 时, 从各组随机取 6 尾大小一致、体质量相近 (± 0.1 g) 的蝌蚪置于液氮中速冻, 保存于 -80 ℃

冰箱备用。蝌蚪变态完成后从各组中随机取 30 尾以上幼蛙备用。

1.3 变态幼蛙生长指标及性别比例的测定

随机从各组中取幼蛙 20 只 (雌雄各 10 只) 进行生长指标的测定。幼蛙在解剖前用吸水纸吸干

体表水分, 使用电子天平称其体质量, 使用游标卡尺测量体长、头长、头宽、前臂及手长和后肢全长; 解剖后参照图 1 鉴定性别, 计算性比; 分离肝脏后称其质量, 计算肝体比。

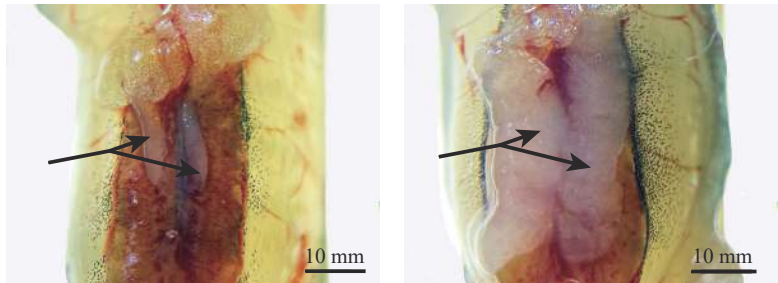


图 1 棘胸蛙变态完成时精巢 (左) 和卵巢 (右) 的形态特征

Fig. 1 Morphological characteristics of testis (left) and ovary (right) of *Quasipaa spinosa* at the completion of the metamorphosis

1.4 棘胸蛙蝌蚪雌二醇和睾酮水平的测定

由于棘胸蛙蝌蚪提取血液较难, 故采用全组织匀浆进行激素水平的测定。每个时期取 6 尾蝌蚪, 每尾为 1 个样本, 采用酶联免疫法 (ELISA) 测定棘胸蛙蝌蚪全组织匀浆中的雌二醇 (E_2) 和睾酮 (T) 含量。 E_2 和 T 酶联免疫分析 (ELISA) 试剂盒购于上海酶联生物科技有限公司, 按使用说明书进行性激素水平的测定。

1.5 数据处理

利用 Excel 2013 进行数据统计, 采用 SPSS 25.0 进行双因素方差 (two-way ANOVA) 分析, 当方差分析差异显著 ($P<0.05$) 时, 通过 Duncan 氏法对生长指标和性激素水平数据进行多重比

较; 采用卡方 (χ^2) 检验对性别比例进行差异显著性分析。试验数据均采用“平均值 $\pm$ 标准差”表示。

2 结果与分析

2.1 来曲唑对棘胸蛙幼蛙生长的影响

由表 1 可知: 添加不同来曲唑含量的饲料饲养后, 雌雄幼蛙的体长、头长、头宽、前臂及手长、后肢全长和肝体比等生长指标与 CK 组相比均无显著差异, 说明来曲唑对棘胸蛙幼蛙的生长无影响。

2.2 来曲唑对棘胸蛙幼蛙性比的影响

由表 2 可知: CK 组雄性率较低, 为 33.33%, 显著低于 4 个来曲唑含量添加的饲料组, 但不同

表 1 来曲唑对棘胸蛙幼蛙生长指标的影响

Tab. 1 Effects of letrozole on the growth indicators of young *Quasipaa spinosa*

性别 sexuality	组别 group	体长/mm SVL	头长/mm HL	头宽/mm HW	前臂及手长/mm FL	后肢全长/mm HLL	肝体比/% HSI
雌性 female	CK	21.80 $\pm$ 0.45	6.20 $\pm$ 0.09	8.39 $\pm$ 0.32	9.38 $\pm$ 0.12	31.56 $\pm$ 0.84	3.55 $\pm$ 0.18
	L ₂₀	22.67 $\pm$ 0.49	6.52 $\pm$ 0.09	8.48 $\pm$ 0.12	9.63 $\pm$ 0.18	32.17 $\pm$ 0.47	3.51 $\pm$ 0.07
	L ₁₀₀	22.11 $\pm$ 0.36	6.41 $\pm$ 0.03	8.30 $\pm$ 0.01	9.54 $\pm$ 0.08	32.46 $\pm$ 0.86	3.24 $\pm$ 0.25
	L ₄₀₀	22.14 $\pm$ 0.64	6.42 $\pm$ 0.02	8.59 $\pm$ 0.09	9.58 $\pm$ 0.06	32.64 $\pm$ 0.70	3.30 $\pm$ 0.12
	L ₁₀₀₀	21.68 $\pm$ 0.57	6.51 $\pm$ 0.31	8.51 $\pm$ 0.20	9.43 $\pm$ 0.07	32.02 $\pm$ 1.81	3.19 $\pm$ 0.22
雄性 male	CK	22.60 $\pm$ 0.12	6.27 $\pm$ 0.09	8.68 $\pm$ 0.02	9.34 $\pm$ 0.01	32.25 $\pm$ 1.40	3.58 $\pm$ 0.13
	L ₂₀	22.12 $\pm$ 0.20	6.46 $\pm$ 0.15	8.58 $\pm$ 0.26	9.36 $\pm$ 0.05	32.36 $\pm$ 0.05	3.34 $\pm$ 0.08
	L ₁₀₀	22.50 $\pm$ 0.42	6.48 $\pm$ 0.08	8.47 $\pm$ 0.12	9.29 $\pm$ 0.10	32.62 $\pm$ 0.21	3.23 $\pm$ 0.30
	L ₄₀₀	21.86 $\pm$ 0.49	6.43 $\pm$ 0.19	8.59 $\pm$ 0.09	9.43 $\pm$ 0.27	32.95 $\pm$ 1.63	3.50 $\pm$ 0.29
	L ₁₀₀₀	22.49 $\pm$ 0.75	6.46 $\pm$ 0.09	8.40 $\pm$ 0.16	9.28 $\pm$ 0.11	32.50 $\pm$ 0.43	3.45 $\pm$ 0.28
显著性 significance		ns	ns	ns	ns	ns	ns

注: ns. 无显著影响 ($P>0.05$); $n=10$ 。

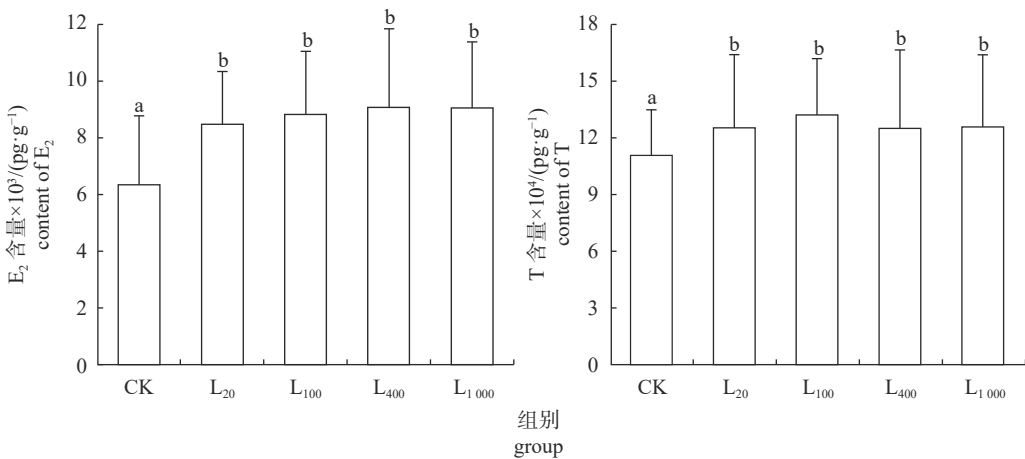
Note: ns. no significant effect ($P>0.05$). SVL. snout-vent length; HL. head length; HW. head width; FL. forearm and hand length; HLL. hindlimb length; HSI. hepatosomatic index.

表 2 来曲唑对棘胸蛙幼蛙性比的影响
Tab. 2 Effects of letrozole on the sex ratios of young *Q. spinosa*

组别 group	取样数量 sample size	雌雄比 female-male ratio	卡方值 χ^2 value	雄性率/% male rate
CK	30	20 : 10	—	33.33 a
L ₂₀	53	22 : 31	13.98	58.49 b
L ₁₀₀	38	17 : 21	7.27	55.26 b
L ₄₀₀	43	22 : 21	3.98	48.84 b
L ₁₀₀₀	44	19 : 25	9.89	56.82 b

注: $\chi^2_{0.05(1)}=3.84$, 不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$)。
Note: Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$).

来曲唑含量饲料组之间无显著差异。
2.3 来曲唑对棘胸蛙蝌蚪性激素水平的影响
由图 2 可知: 与对照组相比, 不同来曲唑含量处理组的雌二醇 (E_2) 和睾酮 (T) 水平均显著上升, 但各来曲唑含量处理组之间无显著差异。由图 3 可知: 从原始性腺到出现精巢分化期间 (20~50 日龄), 来曲唑添加组的 E_2 水平与 CK 组相比均显著性上升, 且增幅与来曲唑含量之间无明显关联; 到 60 日龄时, 来曲唑添加组的 E_2 水平下降至与 CK 组无显著差异; 到 70 日龄时, L₂₀ 和 L₁₀₀ 组的 E_2 水平与 CK 组无显著差异, 但 L₄₀₀ 组和 L₁₀₀₀ 组的 E_2 水平显著低于 CK 组。此



注: 不同小写字母表示差异显著 ($P<0.05$); 下同。
Note: Different lowercase letters indicate significant difference ($P<0.05$); the same as below.

图 2 不同处理棘胸蛙蝌蚪的雌二醇 (E_2) 和睾酮 (T) 水平
Fig. 2 Estradiol (E_2) and testosterone (T) levels of *Q. spinosa* in different groups

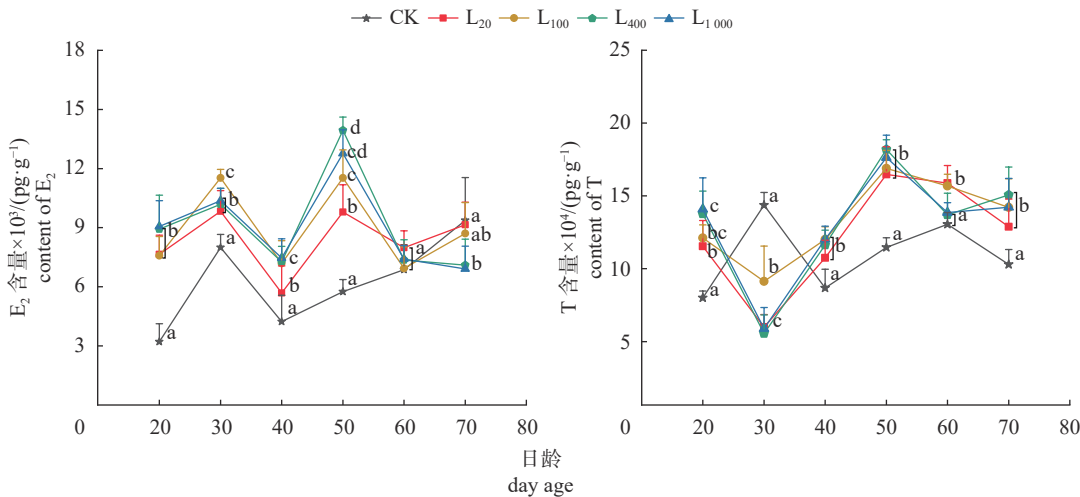


图 3 来曲唑对不同日龄棘胸蛙蝌蚪雌二醇 (E_2) 和睾酮 (T) 水平的影响
Fig. 3 Effects of letrozole on the estradiol (E_2) and testosterone (T) levels of *Q. spinosa* at different day age

外, 从原始性腺到性腺分化结束期间 (20~70 日龄), 除 60 日龄的 L_{200} 和 L_{1000} 组外, 其余各时期、各来曲唑添加组的 T 水平均与 CK 组有显著差异; 30 日龄 (卵巢分化前) 时, 各来曲唑添加组的 T 水平显著低于 CK 组, 其余各时期、各来曲唑添加组的 T 水平均显著高于 CK 组, 但 T 水平的变化程度与来曲唑含量无关。

3 讨论

3.1 来曲唑对棘胸蛙幼蛙性别比例和生长指标的影响

芳香化酶抑制剂通过抑制雄性激素转化为雌性激素, 能够使物种后代性别比例向雄性偏移。本研究投喂含有不同来曲唑含量的饲料均可显著提高棘胸蛙幼蛙的雄性率, 且各来曲唑处理组变态后代的生长指标与 CK 组均无显著差异, 说明来曲唑在提高雄性率的同时不影响棘胸蛙变态幼蛙的生长。

棘胸蛙蝌蚪高温偏向雄性, 低温趋向雌性^[17]。本试验条件下 $[(19\pm 1) ^\circ\text{C}]$, 棘胸蛙偏向雌性发育, 导致 CK 组雄性率较低 (33.33%)。虽然来曲唑饲料能够显著提高棘胸蛙蝌蚪后代的雄性率, 但与其他两栖动物相比, 来曲唑对棘胸蛙雄性率的提升效果有限。OLMSTEAD 等^[12]研究发现: 法偈唑可以使非洲爪蟾后代出现 100% 雄性; 同样地, 福美斯坦也可以诱导普通跳蛙蝌蚪后代出现全部雄性^[18]; 投喂 0.1 和 1.0 mg/g 的来曲唑饲料可分别使虎纹蛙蝌蚪后代雄性率显著提高至 83.6% 和 92.4% (对照组雄性率 54.9%), 且雄性率随来曲唑含量的增加而增加^[15], 但本研究中, 不同来曲唑含量之间的雄性率无显著差异。来曲唑不会影响两栖类物种的生长^[15], 但可提高棘胸蛙蝌蚪后代的雄性比例。因此, 在未来棘胸蛙单性育种研究中, 来曲唑诱导仍然是使棘胸蛙雄性化的重要方法。

3.2 来曲唑对棘胸蛙蝌蚪性激素水平的影响

性激素对两栖类性别分化具有重要作用, 但影响机制尚不清楚。本研究中, 20~70 日龄期间, 棘胸蛙 E_2 和 T 水平都发生显著变化, 其中, 卵巢分化前期 (20~30 日龄) E_2 水平显著上升, 精巢分化期间 (40~50 日龄) T 水平显著上升, 说明 E_2 和 T 都对棘胸蛙的性别分化产生了影响, 但二者之间与性别的关系尚不清楚。

对非洲爪蟾^[12]的研究表明: 蝌蚪持续 (受精后到变态完成) 暴露于 1~64 $\mu\text{g/L}$ 法偈唑后, 两性幼蛙血清中 E_2 和 T 质量浓度与对照组相比均无显著差异。对鱼类的研究发现: 投喂含有芳香化酶抑制剂的饲料可显著降低鱼类血清 E_2 水平^[13]。来曲唑能够直接抑制芳香化酶活性, 减缓雄性激素向雌性激素转化的速率, 但同时芳香化酶抑制剂也会使物种发生代偿反应, 通过代偿性上调芳香化酶基因表达和蛋白质翻译、增加其他参与类固醇激素合成基因的表达, 使物种 E_2 水平上升^[19-20]。在本研究中, 70 日龄时 L_{400} 和 L_{1000} 组的 E_2 水平显著降低, 而 T 水平在大多数情况下都显著升高, 说明来曲唑对棘胸蛙性激素水平产生了直接作用, 但由于代偿作用, 20~50 日龄期间不同来曲唑处理组 E_2 水平较对照组上升。40~50 日龄期间, 不同来曲唑处理组的 T 水平显著高于对照组, 这与棘胸蛙在 46 日龄开始精巢分化 (另文发表) 以及来曲唑能提高蝌蚪雄性率相符; 同时, 由于各来曲唑处理组间的 T 水平差异不显著, 导致各来曲唑处理组的雄性率差异也不显著。

4 结论

养殖水温为 $(19\pm 1) ^\circ\text{C}$ 时, 投喂添加不同来曲唑含量的饲料, 不会影响棘胸蛙幼蛙的生长; 通过显著提高棘胸蛙蝌蚪体内的睾酮水平, 能够显著提高其后代雄性率, 但与来曲唑的含量无关。未来可以搭配适当高温以及其他雄性化激素作进一步研究, 以挖掘来曲唑在棘胸蛙全雄育种研究中的潜力。

[参考文献]

- [1] YU B G, ZHENG R Q, ZHANG Y, et al. Geographic variation in body size and sexual size dimorphism in the giant spiny frog *Paa Spinosa* (David, 1875)(Anura: Ranoidae)[J]. Journal of Natural History, 2010, 44(27/28): 1729. DOI: [10.1080/00222931003632682](https://doi.org/10.1080/00222931003632682).
- [2] 高士贤. 中国动物药志[M]. 长春: 吉林科学技术出版社, 1996.
- [3] 叶昌媛. 中国珍稀及经济两栖动物[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1993.
- [4] CHAN H K, SHOEMAKER K T, KARRAKER N E. Demography of *Quasipaa* frogs in China reveals high vulnerability to widespread harvest pressure[J]. Biological Conservation, 2014, 170: 3. DOI: [10.1016/j.biocon.2013.12.014](https://doi.org/10.1016/j.biocon.2013.12.014).
- [5] DONG B J, ZHAN Z G, ZHENG R Q, et al. cDNA cloning and functional characterisation of four antimicrobial

- peptides from *Paa spinosa*[J]. A Journal of Biosciences: Zeitschrift für Naturforschung C, 2015, 70(9/10): 251. DOI: [10.1515/znc-2015-4220](https://doi.org/10.1515/znc-2015-4220).
- [6] XIANG J G, HE T Y, WANG P P, et al. Opportunistic pathogens are abundant in the gut of cultured giant spiny frog (*Paa spinosa*)[J]. Aquaculture Research, 2018, 49(5): 2033. DOI: [10.1111/are.13660](https://doi.org/10.1111/are.13660).
- [7] FLAMENT S. Sex reversal in Amphibians[J]. Sexual Development, 2016, 10(5/6): 267. DOI: [10.1159/000448797](https://doi.org/10.1159/000448797).
- [8] 唐韵, 胡英超, 郑乐舟, 等. 两栖动物的性别决定和分化[J]. 生态学杂志, 2017, 36(9): 2650. DOI: [10.13292/j.1000-4890.201709.023](https://doi.org/10.13292/j.1000-4890.201709.023).
- [9] HAYES T B. Sex determination and primary sex differentiation in Amphibians: genetic and developmental mechanisms[J]. Journal of Experimental Zoology, 1998, 281(5): 373. DOI: [10.1002/\(SICI\)1097-010X\(19980801\)281:5<373::AID-JEZ4>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-010X(19980801)281:5<373::AID-JEZ4>3.0.CO;2-L).
- [10] PIPEK R P, PECIO A, KUBIAK J Z, et al. Differential effects of testosterone and 17-estradiol on gonadal development in five anuran species[J]. Reproduction, 2012, 144(2): 257. DOI: [10.1530/REP-12-0048](https://doi.org/10.1530/REP-12-0048).
- [11] 刘志芳, 严红, 郑荣泉, 等. 17 α -甲基睾酮对棘胸蛙生长发育及性别分化的影响[J]. 浙江师范大学学报(自然科学版), 2018, 41(2): 87. DOI: [10.16218/j.issn.1001-5051.2018.02.013](https://doi.org/10.16218/j.issn.1001-5051.2018.02.013).
- [12] OLMSTEAD A W, KOSIAN P A, KORTE J J, et al. Sex reversal of the Amphibian, *Xenopus tropicalis*, following larval exposure to an aromatase inhibitor[J]. Aquatic Toxicology, 2009, 91(2): 143. DOI: [10.1016/j.aquatox.2008.07.018](https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.07.018).
- [13] SINGH A K, SRIVASTAVA P P, VERMA R, et al. Effect of dietary administration of letrozole and tamoxifen on gonadal development, sex differentiation and biochemical changes in common carp (*Cyprinus carpio* L.)[J]. Reproduction, Fertility and Development, 2015, 27(3): 449. DOI: [10.1071/RD13234](https://doi.org/10.1071/RD13234).
- [14] SHEN Z G, FAN Q X, YANG W, et al. Effects of non-steroidal aromatase inhibitor letrozole on sex inversion and spermatogenesis in yellow catfish *Pelteobagrus fulvidraco*[J]. The Biological Bulletin, 2013, 225(1): 18. DOI: [10.1086/BBLv225n1p18](https://doi.org/10.1086/BBLv225n1p18).
- [15] TANG Y, CHEN Z Q, LIN Y F, et al. The combined effects of temperature and aromatase inhibitor on metamorphosis, growth, locomotion, and sex ratio of tiger frog (*Hoplobatrachus rugulosus*) tadpoles[J]. PeerJ, 2020, 8: e8834. DOI: [10.7717/peerj.8834](https://doi.org/10.7717/peerj.8834).
- [16] 沈志刚. 黄颡鱼与蓝鳃太阳鱼性别控制及性别决定机制研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2014.
- [17] 梅祎芸, 郑荣泉, 郑善坚, 等. 棘胸蛙的性腺分化及温度对其性别决定的影响[J]. 生态学报, 2018, 38(13): 4809. DOI: [10.5846/stxb201706271159](https://doi.org/10.5846/stxb201706271159).
- [18] PHUGE S K. Effect of fromestane on gonadal sex differentiation and sex ratio in the frog, *Euphyllotis cyanophlyctis*, with undifferentiated type of gonadal differentiation[J]. Journal of herpetology, 2018, 52(2): 171. DOI: [10.1670/17-019](https://doi.org/10.1670/17-019).
- [19] VILLENEUVE D L, MUELLER N D, MARTINOVIĆ D, et al. Direct effects, compensation, and recovery in female fathead minnows exposed to a model aromatase inhibitor[J]. Environmental Health Perspectives, 2009, 117(4): 624. DOI: [10.1289/ehp.11891](https://doi.org/10.1289/ehp.11891).
- [20] VILLENEUVE D L, BREEN M, BENCIC D C, et al. Developing predictive approaches to characterize adaptive responses of the reproductive endocrine axis to aromatase inhibition: I. Data generation in a small fish model[J]. Toxicological Sciences, 2013, 133(2): 225. DOI: [10.1093/toxsci/kft068](https://doi.org/10.1093/toxsci/kft068).

责任编辑: 何承刚