

罗非鱼性别决定及分化的研究进展*

董在杰

(中国水产科学研究院淡水渔业研究中心 无锡 214081)

摘要: 对罗非鱼的性别决定和分化的研究现状和研究成果进行综述,并探讨了在罗非鱼性别决定研究上的研究趋势。

关键词: 罗非鱼;性别决定;性别分化

中图分类号: Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2004)04-100-04

Studies on Sex Determination and Sex Differentiation in Tilapia: State-of-the-Art

DONG Zai-Jie

(Freshwater Fisheries Research Centre, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China)

Abstract: The current research status and achievements on sex determination and differentiation in tilapia are reviewed. The research trends on this subject also discussed.

Key words: Tilapia; Sex determination; Differentiation

罗非鱼是一种全球性的养殖鱼类,已有 4 000 多年的养殖历史^[1]。罗非鱼是丽鱼科(Cichlidae)中许多种类鱼的俗称,它主要包括三个属:*Tilapia*、*Sarotherodon* 和 *Oreochromis*。在 100 多种罗非鱼中,只有 8、9 种具有很大的养殖潜力,其中广泛地应用于水产养殖中是属于 *Tilapia* 属的两种罗非鱼:齐氏罗非鱼(*T. zilli*)和伦氏罗非鱼(*T. rendalli*)以及属于 *Oreochromis* 属的 4 种罗非鱼:尼罗罗非鱼(*O. niloticus*)、奥利亚罗非鱼(*O. aureus*)、莫桑比克罗非鱼(*O. mossambicus*)和安氏罗非鱼(*O. andersonii*)^[2],而尼罗罗非鱼是目前最重要的热带淡水养殖品种。罗非鱼有很强的适应环境的能力,如:耐高盐、低氧和高密度;摄食天然饵料和廉价的人工饲料都能明显地生长;繁殖周期短,并在养殖环境下也能自然产卵。在热带地区,罗非鱼长到 5 个月甚至更短的时间就能达到性成熟并开始繁殖。但罗非鱼的早熟和过度繁殖会导致收获规格偏小、产量和效益的下降。可以采用多种方法来控制过大的群体数量,如人为隔离雌雄鱼、搭配掠食性鱼类、杂交、三倍体、通过激素或遗传操作进行单性(雄性)养殖^[3-7]。由于罗非鱼的单性养殖,引发了对罗非鱼性别决定的研究。下面就罗非鱼性别决定和性别分化的研究情况做一综述。

1 罗非鱼性别的遗传决定(genetic sex determination, GSD)

1.1 性别决定机制 大多数罗非鱼的性别决定通常被认为是单因子作用的,即性别决定是由性染色体上的一对性别决定基因控制。用于研究罗非鱼 GSD 的方法很多,包括用激素性转后检测后代性别、分析种间交配后代的性别比例、通过雌核发育、雄核发育或多倍体进行染色体组操作和染色体核型及差异染色等。在这些方法中,激素性转和染色体组操作是运用最多的方法。

早期的罗非鱼性别决定机制的研究都是根据种内、种间交配后代的性别比例进行推测的。通过正常的雌性(或雄性)与性转的雄性(或雌性)交配,分析后代的性别比例,就能推断出性别决定机制。在对莫桑比克罗非鱼和尼罗罗非鱼的研究中,用正常雌性与激素性转的假雄性(遗传上为雌性,但表型为雄性)交配,

* 国家留学基金资助项目(No. 21326003);

作者介绍 董在杰,男,37岁,硕士,副研究员;从事鱼类遗传及分子生物学研究;E-mail: dongzj@ffrc.cn.

收稿日期:2003-12-22,修回日期:2004-04-05

后代都是雌性,说明这两种鱼是 XX/XY 性别决定机制;而对奥利亚罗非鱼的研究则表明是 WZ/ZZ 性别决定机制,因为正常的雄鱼(ZZ)与性转的雌鱼(ZZ)交配,得到几乎 100% 的雄性后代^[8,9]。

在种间交配方面, Hickling 首先利用莫桑比克罗非鱼和桑给巴罗非鱼(*O. urolepsishornorus*)第一次产生全雄杂交后代。之后,在其它一些杂交组合中也发现了类似的结果^[10]。用雌性尼罗罗非鱼和雄性奥利亚罗非鱼交配,得到全雄性后代;反交后代的雌雄比则为 1:3。因此推测这两种鱼有相反的性别决定机制,尼罗罗非鱼为雌性同配(XX),雄性异配(XY);而奥利亚则为雄性同配(ZZ),雌性异配(WZ)。

通过分析雌核发育后代的性别比例,也能阐明罗非鱼的性别决定机制。如果雌性是同配的,雌核发育的后代为全雌;而如果雌性是异配的,则雌核发育产生数量相等的雌性和雄性。Penman 等和 Mair 等通过雌核发育验证了尼罗罗非鱼为 XX/XY 性别决定系统,奥利亚罗非鱼为 WZ/ZZ 性别决定系统^[8,9]。

1.2 性染色体的分析 如果能从染色体核型上识别性染色体的不同形态,那么就可以为性别决定机制提供直接的证据。很遗憾,在罗非鱼的有丝分裂中期相染色体核型中并不能发现形态上不同的性染色体。但是,在对减数分裂联会复合体的分析上,却取得了进展。Foresti 等^[11]和 Carrasco 等^[12]在 XY 型雄鱼的染色体切片上发现最大一对染色体(1 号染色体)上有个不配对的区域,这个不配对区域与异配性有关,是尼罗罗非鱼主要的性别决定位点。因而确定最大的一对染色体是尼罗罗非鱼的性染色体。Campos-Ramos 等^[13]对奥利亚罗非鱼的联会复合体进行分析时发现雄鱼中没有不配对的双价体,而在雌鱼和假雄性鱼中都有不配对的区域或环状区域存在,说明雌鱼是异配性的。值得注意的是,在每个这样的细胞核中虽然只有一个双价体有不配对区域,但这个双价体在有的细胞中是第一对最大的双价体,在另外的细胞中却可以是其它的某个小的双价体,即与性别决定有关的位点是分布在几个染色体上的,而不象尼罗罗非鱼仅分布在第一对染色体上。

1.3 性别决定基因在染色体上的定位 Penman 等^[8]发现在雌核发育的奥利亚罗非鱼 F1 代中雌性比例占优势,因此设想性别决定基因位于染色体臂的末端,这样,在第一次减数分裂前期,性别决定基因和中心粒发生重组,导致出现 WZ 个重组类型,使得雌性比例增加。这一假设后来通过 Avtalion 和 Don 对三代雌核发育奥利亚罗非鱼的研究得到证实。Varadaraj 和 Pandian 的研

究表明莫桑比克罗非鱼的性别决定区域(或基因)不是位于染色体臂上远离中心粒的位置。Foresti 等^[11]、Carrasco 等^[12]和 Campos-Ramos 等^[13]通过对联会复合体的分析,证明了尼罗罗非鱼和奥利亚罗非鱼的主要性别决定基因位于染色体长臂的末端。

2 常染色体位点对罗非鱼性别的影响

在尼罗罗非鱼的一些杂交组合中,后代性比出现偏差;在 XX 假雄性与正常 XX 雌性的交配后代中也发现雄性个体;在雌核发育后代和全近交克隆系中也出现雄性个体^[14]。

由于这些实验中所得到的性别比例与预期的结果不一致,所以有人提出了常染色体影响性别决定。Avtalion 和 Hammerman^[15]提出,一条常染色体上的一对等位基因(AA 或 aa)影响性染色体。根据这一模型,莫桑比克罗非鱼和尼罗罗非鱼被认为是:AAXX 为雌性,AAXY 为雄性;而奥利亚罗非鱼、巨鳍帚齿罗非鱼(*O. macrochir*)和桑给巴罗非鱼则 aaWY 为雌性,aaYY 为雄性。这个基因平衡模型假设当四条与性别决定有关的染色体和常染色体位点的作用超过某一阈值时,个体发育为雄性,低于这一阈值时,则为雌性。

这一模式对种间杂交后代的性别比例能很好地说明,但对种内杂交则不行。对于种内杂交,Mair 等提出可能在奥利亚罗非鱼中存在一个常染色体隐性性别修饰基因,它对主要的性别决定因子 W 和 Z 起上位作用。另一个假说由 Hussain 等提出,他们认为在常染色体上存在一个性别修饰位点(SR 和 sr),隐性抑制性染色体位点。当 sr 为同配型时,引起雌性向雄性转变。但这个假说又不能解释一些由激素性转的鱼交配后出现的性比偏差。于是又有人提出有多个常染色体修饰基因对性别决定发生影响作用。

Kwon* 用 Fadrazole(一种细胞色素 P450 芳香化酶的化学抑制剂)处理 YY 雄性尼罗罗非鱼苗,发现能抑制高温时的雌性化。芳香化酶是一种膜结合酶,能把雄性激素转化为雌性激素。高温引起的雌性化可能是因为高温能产生高水平的芳香化酶基因的表达。在性别分化期间,用 Fadrazole 处理遗传上雌性(XX)的尼罗罗非鱼,也可产生雄性化现象。这表明芳香化酶在罗非鱼性别分化中是一个关键因素。在其它鱼上也有相同的发现^[16]。

* Kwon J Y. Cytochrome P450 Aromatase (CYP19) and sex differentiation in the Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. PhD thesis, University of Stirling. 2000, 224.

3 温度对罗非鱼性别分化的影响

环境因素,尤其是温度作用于性别决定,在几种罗非鱼上都有报道,包括尼罗罗非鱼^[17]、莫桑比克罗非鱼^[18]和奥利亚罗非鱼^[19]。罗非鱼品种不同,对环境温度影响的敏感性也不同。尼罗罗非鱼和奥利亚罗非鱼在高温(34~37℃)时,产生较高的雄性率,而莫桑比克罗非鱼则在低温(19或20℃)时能增加雄鱼比例。

在罗非鱼中,奥利亚罗非鱼对高温最敏感。而 Abucay 等^[17]则揭示高温对尼罗罗非鱼的影响较复杂,既能引起 XX 个体向雄性转化,也能引起 XY 和 YY 个体向雌性转化。这些研究暗示在罗非鱼中存在基因型和温度间的相互作用。

4 研究趋势

目前对于尼罗罗非鱼的性别决定,已经发现了一些分子细胞遗传学的证据,即运用简并 PCR 技术制备杂交探针,对尼罗罗非鱼的有丝分裂中期相染色体进行荧光原位杂交,表明在尼罗罗非鱼中,与性别决定有关的一些基因大部分都分布在性染色体上,常染色体上的一些位点也会影响性别决定;尼罗罗非鱼的性染色体处于分化的早期阶段^[20,21]。在今后的基础研究方面,开展对鱼类性别决定基因的研究。在包括罗非鱼在内的一些鱼上,已经发现了一些与性别决定有关的基因,如 Sox 族基因和 DMRT 基因等^[22,23],接下来要研究的的就是这些基因与鱼类的性别决定到底有何种关系?是怎样调控性别决定的?是否还有其它一些与性别决定相关的基因?这些基因是如何进化的?等等,从而对性别决定机制加以阐述。在应用研究方面,寻找性别连锁及性别特异的基因和标记,从而可进行罗非鱼的早期性别鉴定,为单性养殖提供指导。性别连锁或性别特异的 DNA 标记在一些鱼类上已见报道,如鲑鳟鱼^[24]、三椎棘鱼^[25]、剑尾鱼^[26]和非洲鲶鱼^[27]。在四种鲑鳟鱼中都发现了拟生长激素基因(GH-Y)序列与性别连锁^[28]。因此,在罗非鱼上也有希望找到性别特异或性别连锁的标记。Ezaz* 在尼罗罗非鱼的一个家系中发现了性别特异的 PCR 扩增产物,只可惜在这个家系以外的个体上,这些扩增产物并不表现出性别特异。所以,在罗非鱼上寻找性别特异及性别连锁标记方面,还需进一步研究。

参 考 文 献

[1] McAndrew B J. Evolution, phylogenetic relationships and biogeography. In: Beveridge M C M, McAndrew B J, eds.

Tilapias: Biology and Exploitation. Dordrecht/Boston/London: Kluwer Academic Publishers, Fish and Fisheries Series 25, 2000, 1~32.

- [2] Edwards P, Lin C K, Yakupitiyage A. Semi-intensive pond aquaculture. In: Beveridge M C M, McAndrew B J, eds. Tilapias: Biology and Exploitation. Dordrecht/Boston/London: Kluwer Academic Publishers, Fish and Fisheries Series 25, 2000, 377~403.
- [3] Mair G C, Abucay J S, Skibinski D O F, et al. Genetic manipulation of sex ratio for large-scale production of all-male tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1997, 54:396~404.
- [4] Little D C, Hulata G. Strategies for tilapia seed production. In: Beveridge M C M, McAndrew B J, eds. Tilapias: Biology and Exploitation. Dordrecht/Boston/London: Kluwer Academic Publishers, Fish and Fisheries Series 25, 2000, 267~326.
- [5] Penman D J, McAndrew B J. Genetics for the management and improvement of cultured tilapia. In: Beveridge M C M, McAndrew B J, eds. Tilapias: Biology and Exploitation. Dordrecht/Boston/London: Kluwer Academic Publishers, Fish and Fisheries Series 25, 2000, 227~266.
- [6] 杨景峰,徐桂珠.罗非鱼全雄控制技术研究进展.内蒙古民族大学学报(自然科学版),2003,18(4):318~322.
- [7] 王扬才,陆开宏.罗非鱼的性别决定与控制.水产科技,2003(3):17~20.
- [8] Penman D J, Shah M S, Beardmore J A, et al. Sex ratios of gynogenetic and triploid tilapia. In: Tiews K, ed. The Proceedings of a World Symposium on Selection, Hybridization and Genetic Engineering in Aquaculture, Vol. 2. Rome, Italy, Copenhagen, Denmark, 1987, 267~276.
- [9] Mair G C, Scott A G, Penman D J, et al. Sex determination in the genus *Oreochromis*. I. Sex reversal, gynogenesis and triploidy in *O. niloticus* (L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 1991, 82:144~152.
- [10] Pruginin Y, Rothbard S, Wohlfarth G, et al. All-male broods of *Tilapia nilotica* × *T. aurea* hybrids. *Aquaculture*, 1975, 6:11~21.
- [11] Foresti F, Oliviera C, Galetti P M, et al. Synaptonemal complex analysis in spermatocytes of tilapia *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae). *Genome*, 1993, 36:1124~1128.

* Ezaz M T. Screen for sex-linked markers using amplified fragment length polymorphisms (AFLPs). In: Analysis of sex determination in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.): A molecular genetics approach. Ph D thesis. University of Stirling, UK: 2002, 83~122.

- [12] Carrasco L A P, Penman D J, Bromage N. Evidence for the presence of sex chromosomes in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) from synaptonemal complex analysis of XX, XY and YY genotypes. *Aquaculture*, 1999, **173**: 207 ~ 218.
- [13] Campos-Ramos R, Harvey S C, Masabanda J S, et al. Identification of putative sex chromosomes in the blue tilapia, *Oreochromis aureus*, through synaptonemal complex and FISH analysis. *Genetica*, 2001, **111**: 143 ~ 153.
- [14] Sarder M R I, Penman D J, Myers J M, et al. Production and propagation of fully inbred clonal lines in the Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* L.). *Journal of Experimental Zoology*, 1999, **284**: 675 ~ 685.
- [15] Avtalion R R, Hammerman I S. Sex-determination in *Sarotherodon* (*Tilapia*) 1. Introduction to the theory of autosomal influences. *The Israeli Journal of Aquaculture-Bamidgeh*, 1978, **30**: 110 ~ 115.
- [16] Kitano T, Takamune K, Kobayashi T, et al. Suppression of P450 aromatase gene expression in sex-reversed males produced by rearing genetically female larvae at high water temperature during a period of sex differentiation in the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Journal of Molecular Endocrinology*, 1999, **23**: 167 ~ 176.
- [17] Abucay J S, Mair G C, Skibinski D O F, et al. Environmental sex determination: the effect of temperature and salinity on sex ratio in *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, 1999, **173**: 219 ~ 234.
- [18] Mair G C, Beardmore J A, Skibinski D O F. Experimental evidence for environmental sex determination in *Oreochromis* species. In: Hirano R, Hanyu I, eds. Proceedings of the Second Asian Fisheries Forum. Tokyo, Japan, 1990, 555 ~ 558.
- [19] Desprez D, Melard C. Effect of ambient water temperature on sex determinism in the blue tilapia *Oreochromis aureus*. *Aquaculture*, 1998, **162**: 79 ~ 84.
- [20] Harvey S C, Kwon J Y, Penman D J. Physical mapping of the brain and ovarian aromatase genes in the Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus*, by fluorescence *in situ* hybridisation. *Animal Genetics*, 2003, **34**: 62 ~ 64.
- [21] 董在杰. 运用 DOP-PCR 制备鱼类染色体原位杂交探针. *中国水产科学*, 2003, **10**(7): 14 ~ 18.
- [22] Raymond C S, Shamu C E, Shen M M, et al. Evidence for evolutionary conservation of sex-determining genes. *Nature*, 1998, **391**: 691 ~ 695.
- [23] Guan G, Kobayashi T, Nagahama Y. Sexually dimorphic expression of two types of DM (Doublesex/Mab-3)-domain genes in a teleost fish, the tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2000, **272**: 662 ~ 666.
- [24] Devlin R H, Stone G W, Smailus D E. Extensive direct-tandem organization of a long repeat DNA sequence on the Y chromosome of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*). *Journal of Molecular Evolution*, 1998, **46**: 277 ~ 287.
- [25] Griffiths R, Orr K J, Adam A, et al. DNA sex identification in the three-spined stickleback. *Journal of Fish Biology*, 2000, **57**: 1331 ~ 1334.
- [26] Nanda I, Volf J N, Weis S, et al. Amplification of a long terminal repeat-like element on the Y chromosome of the platyfish, *Xiphophorus maculatus*. *Chromosoma*, 2000, **109**: 173 ~ 180.
- [27] Kovacs B, Egedi S, Bartfai R, et al. Male-specific DNA markers from African catfish (*Clarias gariepinus*). *Genetica*, 2001, **110**: 267 ~ 276.
- [28] Zhang Q, Nakayama I, Fujiwara A, et al. Sex identification by male-specific growth hormone pseudogene (GH-psi) in *Oncorhynchus masou* complex and a related hybrid. *Genetica*, 2001, **111**: 111 ~ 118.