从 XY 雌鱼雌核发育产生 YY 超雄黄颡鱼

刘汉勤[1]　崔书勤[2]　侯昌春[2]　徐　江[2]　陈宏溪[1]
(1. 中国科学院水生生物研究所, 武汉　430072; 2. 武汉康祥科技发展有限公司, 武汉　430071)

摘要: 采用激素性逆转结合雌核发育技术, 从 XY 雌鱼产生 YY 超雄黄颡鱼。与性逆转和后代测交选种技术比较, 本文的方法可以缩短两代的育种时间, 并提高超雄鱼的产出。通过测交证明, 与正常的 XY 雄鱼一样, YY 超雄黄颡鱼是能成活和有生育力的, 其后代雄鱼占 75.9%—100%, 平均 90.30%。从 29 尾雌鱼产生的雌核发育的后代 294 尾, 只有 11 尾雄鱼, 绝大多数是雌鱼; 而在 12 尾 YY 超雄鱼测交的后代出现 0—24.1% 雌鱼。从上述结果可以推测, 黄颡鱼的性决定体制是雌性配子同型(XX♀/XY♂), 但常染色体性修饰基因的影响是比较明显的。本文还对超雄鱼在商业上大量生产全雄黄颡鱼的可行性和应用前景进行简要的讨论。

关键词: 黄颡鱼; 性逆转; 雌核发育; 超雄鱼
中图分类号: S962.1　　文献标识码: A　　文章编号: 1000-3207(2007)05-0718-08

近年来, 随着市场需求的增长和人工繁殖技术的进步, 黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco* Richardson) 已经成为淡水养殖的重要对象。在　科(Bagridae) 鱼类中, 雄鱼的生长速度均比雌鱼的快得多。根据我们的调查, 在相同养殖条件下, 雄性黄颡鱼比同胞雌鱼的生长速度快 30% 左右。因此, 如能采用适当的性别控制技术, 在生产上养殖雄性群体, 用以提高渔产品的质量和产量, 应具有重要的经济意义。

生产单性雄鱼有几种方法可供选择: 如人工挑选、雄性激素直接诱导性逆转、雄核发育、种间杂交、人工诱导三倍体以及遗传学方法等[1]。但至今只有使用遗传学的方法生产 XY 全雄鱼在尼罗罗非鱼单性养殖广泛应用。这种称为 GMT 技术[2], 适用于雄性配子异型的鱼类, 方法可靠、稳定, 而且对环境友好, 无不良的影响。它是通过五代半的激素性逆转和后代测交, 最后获得 YY 超雄鱼和 YY 生理雌鱼, 并由 YY 超雄鱼和 XX 雌鱼交配生产 XY 全雄鱼。采用这种技术的育种周期较长, 而且逐代测交的试验鱼必须严格管理, 防止混杂, 才能最后取得成功。可见, 对于世代时间较长的鱼类而言, 就未必是首选的方法。

黄颡鱼在良好的养殖条件下, 一周年雌雄鱼均能达到性成熟。在　科鱼类中, 它是世代时间较短的一种养殖鱼类。我们选用黄颡鱼作为实验材料, 研究产生 YY 雄鱼的替代方法, 望能缩短育种周期, 减少人力、物力的损耗。本文报道我们采用激素性逆转结合雌核发育技术, 产生 YY 超雄黄颡鱼的初步结果, 并对其应用前景进行讨论。

1　材料与方法

1.1　材料鱼的来源　黄颡鱼与长吻　(*Leiocassis longirostris* Gunther) 购自武昌大东门水产品市场和汉口华南特种水产品市场。黄颡鱼雌鱼体重 100g 左右, 雄鱼 150g 左右。雄性长吻　体重 1kg 以上。

1.2　人工催产　按常规方法进行。

1.3　激素性逆转

激素溶液与饲料的配制　将 200mg 的 17-α 乙炔基雌二醇(EE_2, sigma) 溶于 200mL 95% 酒精中作为母液, 置于冰箱中 4℃冷冻保存备用。

另外用适量的纯酒精将 25mg、50mg、100mg 的 EE_2 溶解后, 分别与 1kg 的成年甲鱼饲料混合均匀, 于室温下放置 12—24h, 待酒精完全挥发后, 放入冰柜冷冻保存。

激素性逆转试验　取孵化后第 9 天的混性黄颡鱼鱼苗 1400 尾分成 7 组, 每组 200 尾鱼苗, 其中 6 组为实验组, 1 组为对照组。实验组用卤虫作为激素

收稿日期: 2006-02-09; 修订日期: 2007-03-16
基金项目: 湖北省重点科技攻关项目(2002P0301) 资助
作者简介: 刘汉勤(1960—), 男; 副研究员; 主要从事鱼类遗传与育种研究
通讯作者: 陈宏溪, E-mail: hxchen@ihb.ac.cn

载体[3], 分别在每升剂量各为 50μg、100μg、150μg、200μg、250μg 与 300μg 的 EE_2 溶液中, 预先浸泡 1h, 然后过滤取出卤虫作为活饲料投喂。每天投喂三次, 上、下午、晚上各一次, 投喂量以半小时内吃完为准, 连续处理 40d。对照组只投喂未经激素溶液浸泡的卤虫。

另取孵化后 15d 的鱼苗 800 尾分成 4 组, 每组 200 尾, 其中 3 组为实验组, 1 个为对照组。实验组 EE_2 剂量为每公斤 25mg、50 mg 与 100 mg 。每天投喂两次, 上、下午各一次, 饲料量以 1h 内有剩余为准, 连续处理 40d。对照组则投喂不含激素的甲鱼饲料。

激素性逆转实验结果的检查　由于黄颡鱼达到性成熟年龄时, 体重约 40—50g, 体长 10—15cm, 此时通过肉眼观察体形和泄殖孔特征, 便可以准确的鉴定雌雄。计算各组的成活率与雌性率, 并对结果进行评估。

1.4　黄颡鱼的雌核发育

精子的灭活　基本上按照吴清江等的方法[4]。

雌核二倍体的获得　将黄颡鱼成熟鱼卵与长吻鮠灭活的精子人工授精, 并在授精后 1—10min 内, 每间隔 1min 设立 1 个处理组, 共 10 组。另设正常授精对照组与单倍体对照组。采用冷休克处理方法阻断减数分裂第二极体的排出, 恢复雌核二倍体。将各组授精卵依次放入 4℃冰水中, 冷处理 20min。然后取出置于 26℃恒温培养箱中孵化。每隔 3h 用相同温度的曝气水换水一次。

受精率、孵化率以及存活率的计算　基本上按照桂建芳等[5]的方法。

杂种的鉴别　根据胡须和体表的斑纹可以准确地鉴别黄颡鱼雌核二倍体与长吻鮠 × 黄颡鱼杂种, 黄颡鱼胡须为黑色, 杂种为白色。黄颡鱼体侧斑纹 3—4 条, 自上至下水平分布, 而杂种 3—4 条自前至后垂直分布。

1.5　**YY** 超雄黄颡鱼的产生

性逆转的 **XY** 雌鱼雌核发育　经过 EE_2 性逆转处理的黄颡鱼, 可以获得大批的雌鱼, 包括性逆转的 XY 雌鱼和 XX 雌鱼。基本上按照 2.4 雌核发育的方法, 人工诱导 XY 雌鱼雌核发育, 便可以获得候选的 YY 超雄鱼。

后代测交与性别鉴定　取性成熟的候选 YY 超雄鱼与正常雌鱼测交, 从后代雌雄鱼性比推断该候选雄鱼的基因型是 YY 或 XY。每条鱼测交的后代均分别在食品箱中饲养, 一般 3 个月后即可取出一部分幼鱼, 腹腔注射冰醋酸固定液, 便可准确从形态上鉴别精巢与卵巢。

1.6　统计分析　数据以平均数 ±平均数标准差表示。性比试验值与理论值的适合性用 X^2 检验测定。

2　结　果

2.1　激素性逆转实验

从表 1 可以看出, 以活卤虫作为激素载体的成活率与雌性率均比人工配合饲料的效果好得多, 原因是甲鱼配合饲料的适口性差, 黄颡鱼苗在开口摄食 10d 后仍然不能大量摄食甲鱼饲料, 在处理期间内相继死亡。因此, 我们采用卤虫作为激素载体 (200μg/L), 在开口摄食 4d 后, 连续处理 40d, 作为黄颡鱼苗性逆转的常规方法, 一般成活率均在 60% 左

表 **1**　不同剂量的 EE_2 对黄颡鱼的成活率与雌性率的作用

Tab. 1　Effects of different doses of dietary EE_2 on survival rate and percentage of female in *P. fulvidraco*

	激素剂量 EE_2 doses	开始处理时间(摄食后/天) Starting time(post feeding. D)	持续时间/天 Duration(D)	性成熟期成活率/% Survival at sexual maturity(%)	雌性率 Percentage of female(%)
卤虫 Artemia	50μg/L	4	40	40.5 (81) *	86.5
	100μg/L	4	40	60.0 (120)	95.0
	150μg/L	4	40	89.0 (178)	97.7
	200μg/L	4	40	72.5 (145)	97.9
	250μg/L	4	40	49.5 (98)	97.9
	300μg/L	4	40	65.5 (131)	98.4
对照 Control	0	/	/	51.0 (102)	51.0
人工饲料 Artificial diet	25mg/kg	10	40	11.5 (23)	86.9
	50mg/kg	10	40	10.0 (20)	90.0
	100mg/kg	10	40	7.5 (15)	93.3
对照 Control	0	/	/	42.5 (85)	67.0

*　括弧内数字是存活的鱼苗数; The data presented in parentheses are the number of survival fish

右,转性率在95%以上。

2.2 人工雌核发育

从表2可以看出,受精后1—2min或5—6min开始冷休克处理,其原肠期胚胎、孵化期与开始摄食期正常鱼苗的成活率较高。至于空白对照出现极少数鱼苗,可能是自然加倍。根据这个试验结果,我们设计第二个试验考察不同冷休克温度与处理持续时间对成活率的影响。

表 **2** 开始处理时间对原肠期、孵化期与摄食期鱼苗成活率的影响

Tab. 2 Influences of starting treatment time on the survival rates of gastrula, hatching and feeding stage normal fries

实验编号 Exp. no.	开始处理时间(分) Starting shock time (min)	处理的总卵数 Tatal no. of eggs treated	原肠期成活率(%) Survival at gastrulastage	孵化期成活率(%) Survival at hatching stage	摄食期正常鱼苗成活率(%) Normal fries at feeding stage
A1	1	313±94.02	50.64(170)* ±31.80	45.59(64) ±16.08	15.33(27) ±4.69
A2	2	308±46.00	48.25(151) ±21.30	25.75(40) ±17.17	11.16(18) ± 9.46
A3	3	332±54.40	39.00(116) ±26.98	42.55(54) ±23.43	20.47(26) ±9.17
A4	4	290±33.91	31.18(89) ±17.13	23.06(22) ± 5.05	7.61(7) ±2.28
A5	5	299±33.46	41.19(119) ±13.31	29.16(32) ±23.52	15.40(17) ±13.95
A6	6	187±48.84	49.83(84) ±17.97	51.05(45) ±28.28	23.74(21) ±14.41
A7	7	279±91.83	46.45(111) ±21.14	21.06(21) ±13.82	10.31(10) ±7.52
A8	8	295±48.35	48.80(130) ±36.16	19.69(20) ±14.65	7.19(7) ±4.88
A9	9	275±30.75	29.38(80) ±13.75	17.85(11) ±12.62	8.00(5) ±7.36
A10	10	260±33.58	13.32(35) ± 3.64	12.99(4) ± 7.47	4.33(1) ± 2.49
Blank control[1]	/	303±48.16	60.97(185) ± 0.94	10.92(19) ± 7.88	0.57(1) ± 0.16
NC[2]	/	227± 4.75	82.13(187) ± 8.77	74.38(140) ±18.62	64.21(121) ±18.75

* 括弧中数字是成活胚胎和鱼苗数目; 1. 空白对照: 卵子与辐射遗传灭活精子授精; 2. 正常对照: 卵子与正常精子授精

* The data in parentheses are the number of survival embryos and fries; 1. Blank control: Eggs were fertilised with genetic inactivated sperms; 2. Normal control: Eggs were fertilised with normal sperms

从图1、图2、图3可以看出,黄颡鱼卵对低温十分敏感,冷休克温度对受精率的影响很大。2℃时最低,其次是3℃,而4℃和5℃的受精率比前者大约高出一倍。而休克处理持续时间太短(5′),存活率和孵化率均较低。至于开口摄食期鱼苗成活率2℃不同处理持续时间似乎比其他组的高一些,这是因为该组的受精率最低,孵化出来的鱼苗的绝对数较少,所以具有较高的成活率。因此,我们初步确定冷休克诱导黄颡鱼雌核发育,一般可采用授精后1—2min,水温4—5℃处理15—20min为宜。

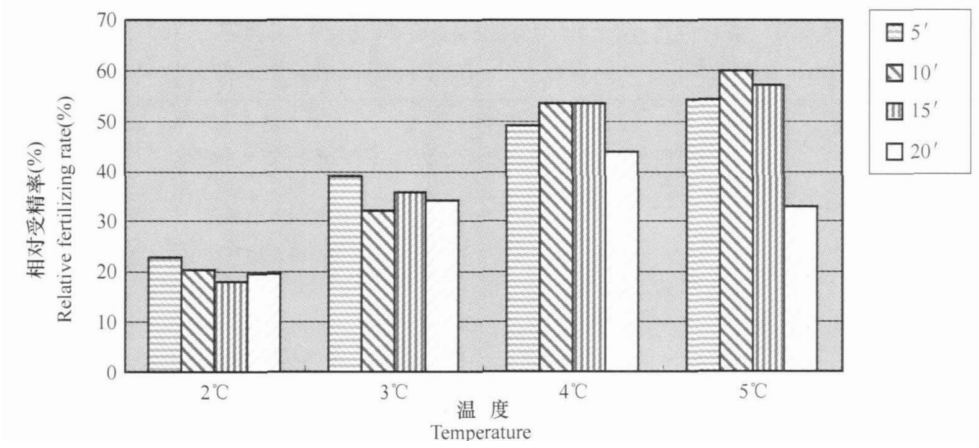


图1 不同温度及持续处理时间对黄颡鱼相对受精率的影响

Fig. 1 Influences of shock temperature and duration on relative fertilizing rate in *P. fulvidraco*

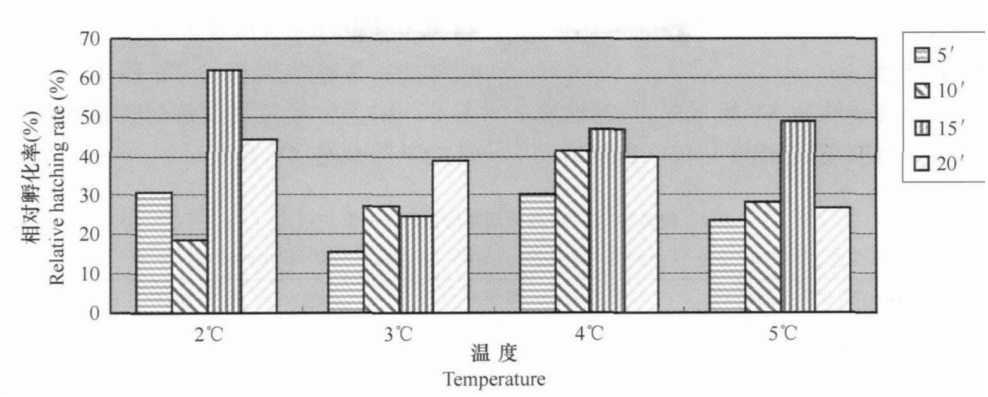


图 2　不同温度及持续处理时间对黄颡鱼相对孵化率的影响

Fig. 2　Influences of shock temperature and duration on relative hatching rate in *P. fulvidraco*

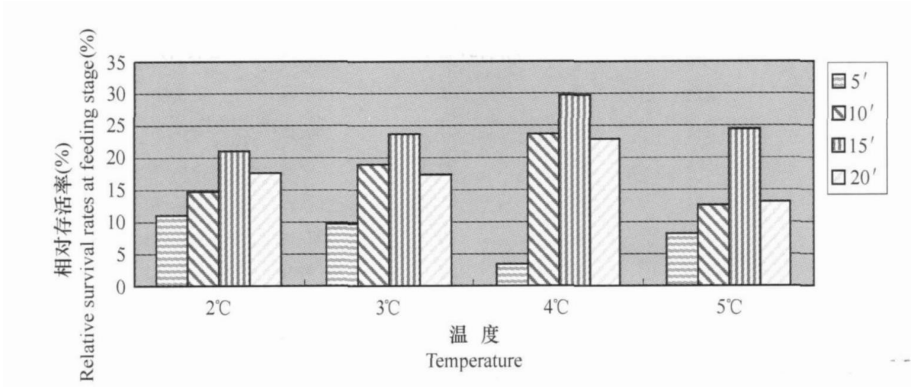


图 3　不同温度及持续处理时间对黄颡鱼苗摄食期相对存活率的影响

Fig. 3　Influences of shock temperature and duration on relative survival rate at feeding stage in *P. fulvidraco*

我们按照以上试验结果确定的条件, 进行人工诱导黄颡鱼减数分裂雌核发育的一系列试验。部分试验结果列于表 3。

根据雌核发育的结果, 可以初步推测该种鱼的性别决定体制。从表 3 中可以看出, 从 29 尾正常雌鱼雌核发育存活的后代 294 尾, 绝大多数是雌性, 只有 11 尾雄鱼。而正常对照的雌性率在 42.10% — 58.26% 之间, 家系间的性比偏差较大, 但与理论上的性比(1∶1) 仍无显著的差异。推测黄颡鱼的性别决定体制应是雌性配子同型(♀XX/♂XY), 但常染

表 **3**　正常对照与雌核发育二倍体的性比

Tab. 3　Sex ratios in normal control and gynogenetic diploid

实验编号 Exp. no.	正常对照 Normal control				雌核发育二倍体 Gynogenetic diploid			
	雌 Female	雄 Male	雌性率 Female %	X^2 值[a] X^2value for XX/XY model	雌 Female	雄 Male	雌性率 Female %	X^2 值[b] X^2value for XX/XYmodel
1	8	11	42.10	0.21	12	0	100	/
2	50	43	53.70	0.38	51	0	100	/
3	67	48	58.26	2.81	63[c]	1	98.42	/
4	47	37	55.90	0.96	195[d]	10	94.58	/
5	10	9	52.63	0.01	25[e]	0	100	/

a: $p > 0.05$, 故与理论上的性比(1∶1) 无明显的差异; b: 因为雌核发育应为全雌性, 不能计算 X^2 值; c, d, e. 分别从 9, 17 和 3 尾正常雌鱼产生的雌核发育后代

a: $p > 0.05$, not significantly different from the theoretical sex ratio (1∶1); b: Since the theoretical sex ratio is all-female, X^2 value cannot be calculated; c, d, e. Meiogynogens produced from 9, 17 and 3 normal females, respectively

色体的影响也是明显的。

2.3 YY 超雄鱼的产生

我们从 EE_2 诱导性逆转的 XY 雌鱼中, 选择性腺发育良好的雌鱼进行人工诱导雌核发育。从雌核二倍体中获得一部分雌核发育雄鱼, 从中选择 15 尾性成熟的雄鱼作为候选的 YY 超雄鱼, 通过逐尾分别与不同的正常雌鱼测交的后代性比, 推断该候选雄鱼的基因型是 XY 或 YY。

表 4 候选的"YY"雄鱼与正常雌鱼后代测交的性比

Tab. 4 Sex ratios from progeny testing of putative YY male mated with different normal female

编号 Exp. no.	幼鱼总数 Total no. of juvenile sexed	雄鱼数 Male	雌鱼数 Female	雄鱼百分率 Male %	X^2 Value	P Value	推断的基因型 Inferred genotype*
YY1	62	57	5	91.9	40.32	< 0.001	YY
YY2	34	19	15	55.9	0.12	> 0.05	XY
YY3	97	57	40	58.8	2.32	> 0.05	XY
YY4	83	63	20	75.9	20.25	< 0.001	YY
YY5	121	105	16	86.8	62.55	< 0.001	YY
YY6	111	96	15	86.5	56.23	< 0.001	YY
YY7	51	46	5	90.2	29.82	< 0.001	YY
YY8	134	125	9	93.3	96.99	< 0.001	YY
YY9	144	111	33	77.1	40.11	< 0.001	YY
YY10	42	25	17	59.5	0.86	> 0.05	XY
YY11	99	81	18	81.8	37.59	< 0.001	YY
YY12	25	25	0	100	21.16	< 0.001	YY
YY13	114	114	0	100	110.04	< 0.001	YY
YY14	72	72	0	100	68.06	< 0.001	YY
YY15	76	76	0	100	72.05	< 0.001	YY

* 基因型判断按照 Mair 的标准: $p > 0.05$= XY; $p < 0.001$= YY or XX; Genotype determined by the criteria of Mair[15] $p > 0.05$= XY; $p < 0.001$= YY or XX

按照 Mair[15] 在尼罗罗非鱼制定的标准, $p > 0.05$= XY; $p < 0.001$= YY 或 XX。从表 4 可以看出, 在供试的 15 尾雄鱼中, 后代测交的结果有 12 尾可推测为 YY 超雄鱼, 只有 3 尾是 XY 雄鱼。YY 超雄鱼的比例相当高, 它们不仅能存活, 而且是能育的。12 尾 YY 雄鱼与不同正常雌鱼测交产生的后代雄性率在 75.90% —100%, 平均为 90.03%。

现将通过激素性逆转与雌核发育相结合的技术, 持续产生超雄鱼及全雄黄颡鱼的研究技术路线, 用图 4 将其全过程作出简要的介绍:

如图 4 所示, 直接从 XY 雌鱼雌核发育产生的 YY 超雄鱼与 XX 雌鱼应各占 50%, 并可进一步将 YY 雄鱼性逆转成 YY 生理雌鱼。目前, 我们已经获得一批 YY 生理雌鱼, 其生育力如何尚在观察中。只要 YY 生理雌鱼具有良好的生育力, 便可持续生产 YY 超雄鱼与 XY 全雄鱼。

3 讨 论

3.1 激素诱导性逆转

鱼类性腺分化包括原始生殖细胞的迁移、生殖脊的形成以及最后分化为卵巢与精巢等事件[6]。根据刘文彬等[7,8]对黄颡鱼性腺发育和周年变化的研究结果显示, 黄颡鱼在 30—60 日龄时精巢、卵巢已经处于Ⅰ期。可以推测, 黄颡鱼在鱼苗孵化后至 30 日龄之前完成性腺分化。因此, 在孵化后 9 日龄开始激素处理应该仍处于未分化前的敏感期, 可以得到全雌性的诱导结果。至于激素的剂量则参照鲫鱼[6]与泥鳅[6]等世代时间相同的鱼类的剂量, 看来也是比较适宜的。而采用卤虫幼体富集性激素作为活饵料, 试验鱼的成活率和雌性率均比人工饲料的要好得多。这种激素处理的方法对于不宜直接以人工饲料为食的鱼类来说, 应该是首选的方法。虽然增加了培养卤虫、激素浸泡等工作量, 但从试验结果看, 这种处理方法还是可取的。由于本文不是重点研究黄颡鱼的激素性逆转, 性激素对生长和性腺发育的影响, 有待进一步观察和试验。

3.2 黄颡鱼的人工雌核发育

黄颡鱼的人工雌核发育至今未见报道。为了从性逆转的 XY 雌鱼产生 YY 超雄鱼, 根据前人在异囊鲇[9] (*Heteropneustes fossilis*) 与非洲胡子鲇[10] (*Clarias gariepinus*) 的试验结果, 设计黄颡鱼人工雌核发育试验, 初步获得减数分裂雌核发育的处理参数, 基本上

满足了产生 YY 超雄鱼的需要。在受精后 1—2min 开始冷休克处理, 雌核二倍体的存活率最高。这个结果与异囊鲇和非洲胡子鲇的基本一致。因为受精卵应处于第二次减数分裂的后期, 并在受精后 3—10min 内排出第二极体。所以在受精后 1—2min 或 5—6min 开始处理, 可以较好地阻断第二极体的排出, 获得较高的成活率。黄颡鱼受精卵对低温(0—2℃) 处理十分敏感, 受精率很低, 而在 4—5℃处理的效果好得多, 这与非洲胡子鲇的结果相似, 与异囊鲇的有所不同, 推测与各种鱼类卵子质量和遗传背景有关。从多次人工诱导黄颡鱼雌核发育的试验结果来看, 在受精后 1—2min, 水温 4—5℃, 处理时间 15—20min 二倍体成活率均在 10% 以上, 基本上满足了产生 YY 超雄鱼的需要。但黄颡鱼人工雌核发育的最适宜休克参数, 以及对生长、发育的影响, 还需进一步的研究。

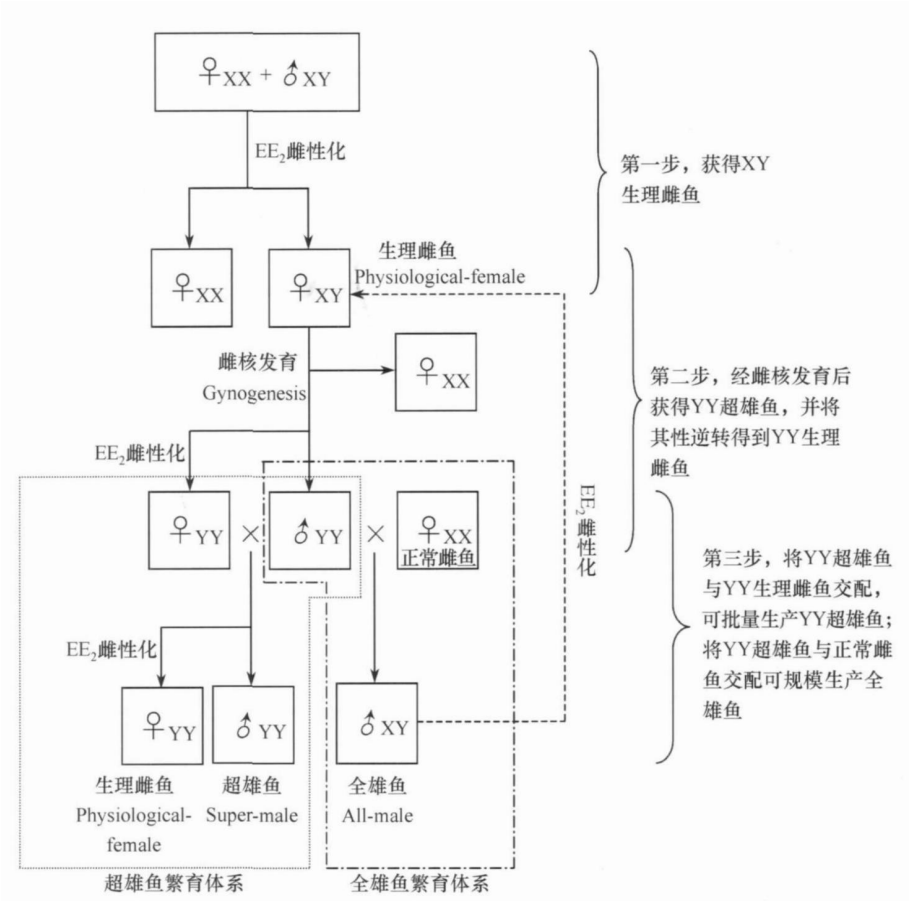


图 4　激素性逆转结合雌核发育持续生产超雄鱼与全雄鱼示意图

Fig. 4　Schematic diagram showing persistent production of supermale and all-male by integrating hormone sex revesal and gynogenetic technique

3.3　黄颡鱼的性别决定

从雌核发育与正常交配的后代性比, 可以推测该种鱼的性别决定基因的强度与分布以及性别决定的体制[11]。从表 3 的结果分析, 在 29 尾雌鱼人工雌核发育的后代, 到达性成熟期存活的雌鱼一共有 347 尾, 只有 11 尾雄鱼, 绝大多数是雌鱼。可以推测, 黄颡鱼的性别决定是雌性配子同型, 雄性配子异型(XX♀/XY ♂)。而从正常交配的后代性比看, 在 5 个家系中, 尽管与理论上的性比(1∶1) 无明显的差异, 但雌鱼占 13.3% —59.3%, 雌雄性比的差异较大, 不能排除常染色体性修饰基因或环境因数的影响。林丹军[12]等采用 32±1℃高温诱导, 使江黄颡鱼苗雄性率高达 78%, 环境温度的影响不能低估。但表 3 所列 5 个黄颡鱼家系均在基本相同的环境条件下饲养, 水温在 24—28℃之间, 所以, 水温影响的可能性不大。Penman 等[13]研究奥利罗非鱼(*Oreochromis aureus*) 减数分裂雌核发育后代的性比, 几乎是全雌性。但是以其他实验技术的研究结果[14,15], 证实该种鱼的性别决定体制是雌性配子异型(ZW♀/ZZ ♂) 并非雌性配子同型(XX♀/XY ♂)。在罗非鱼[11]中不管是 XY 或 ZW 性决定体制均出现常染色体修饰基因对性比的影响。因此, 黄颡鱼的性决

定机制的最后阐明,还需要进行一系列的深入研究和观察。

3.4 YY超雄黄颡鱼的应用前景

与尼罗罗非鱼和须[16](*Puntius conchonius*)一样,从XY雌鱼产生的YY超雄黄颡鱼也是能存活的,并且是可育的。但其生殖性能是否和正常的XY雄性黄颡鱼完全一致,需要做进一步的观察。按照Mair在尼罗罗非鱼后代性比测交的统计学检验标准,在供试的15尾候选超雄鱼中,有12尾可推测为YY基因型。它们后代的雄性率在75.9%—100%之间,平均为90.30%。不同家系间的性比有较大的差异,这和M. Tariq Ezaz[17]等在尼罗罗非鱼雌核发育YY超雄鱼后代的研究结果相似。家系之间的性比差异与常染色体性修饰基因的影响密切相关,并且可以通过对性比的选择进一步提高雄性率。

本文采用激素性逆转从XY雌鱼雌核发育产生YY超雄鱼应为50%,而从XY雌鱼与XY雄鱼测交的后代只能获得25%YY超雄鱼,不但提高了YY超雄鱼的产出,而且如图4所示可节省两代的育种时间。现已将YY雄鱼转性成YY生理雌鱼,只要YY生理雌鱼具有良好的生育力,便可持续大量生产YY超雄鱼或XY全雄鱼。预计在1—2年内可以完成全雄黄颡鱼种群的繁殖配套工作。从本文的研究结果可以推测,应用性逆转结合雌核发育的方法,有可能解决大规模生产全雄黄颡鱼的需要。但是,黄颡鱼在性成熟之前,不能从形态上区分雌雄鱼,为了减少后代测交与试验鱼的管理工作,与性别相关的分子遗传标志辅助选育种的技术方法有待进一步研究和发展。

参考文献:

[1] Beardmore J A, Mair G C, Lewis R I. Monosex male production in finfish as exemplified by tilapia: application, problems and prospects [J]. *Aquaculture*, 2001, **197**: 283—301

[2] Mair G C, Abucay J S, Skibinski D O F, *et al*. Genetic manipulation of sex ratio for the largescale production of all-male tilapia, *Oreochromis niloticus* [J]. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, **54**: 396—404

[3] Garrett G P. Hormone sex control of largemouth bass [J]. *Prog. Fish Cult.*, 1989, **51**: 146—148

[4] Wu Q J, Chen R D, Ye Y Z, *et al*. Studies on artificial gynogenesis in the carp (*Cyprinus carpio*) and use it as a new approach to establish inbred line [J]. *Acta Genetica Sinica*, 1981, **8** (1): 50—55 [吴清江, 陈荣德, 叶玉珍, 等. 鲤鱼人工雌核发育及其作为建立近交系新途径的研究. 遗传学报, 1981, **8**(1): 50—55]

[5] Gui J F, Sun J M, Liang S C, *et al*. Studies on genome manipulation in fish Ⅱ. Tetraploidy induced by hydrostatic pressure treatment and a combination of hydrostatic pressure and cold treatment in transparent colored crucian carp [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1991, **15**(4): 333—342 [桂建芳, 孙建明, 梁绍昌, 等. 鱼类染色体组操作的研究Ⅱ. 静水压处理和静水压与冷休克结合处理诱导水晶彩鲫四倍体. 水生生物学报, 1991, **15**(4): 333—342]

[6] Francesc P. Endocrine sex control strategies for the feminization of teleost fish [J]. *Aquaculture*, 2001, **197**: 229—281

[7] Liu W B, Zhang X J, *et al*. Study on the development and annual change in the ovary of *Pelteobagrus fulvidraco* [J]. *Jour Nat Sci Hunan Norm Uni.*, 2003, **26**(2): 73—78 [刘文彬, 张轩杰, 等. 黄颡鱼卵巢发育和周期变化的研究. 湖南师范大学自然科学学报, 2003, **26**(2): 73—78]

[8] Liu W B, *et al*. Study on the development and annual change in the testis, spermatogenesis and spermatoleosis in *Pelteobagrus fulvidraco* [J]. *Jour Nat Sci Hunan Norm Uni*, 2004, **27**(1): 66—70 [刘文彬, 等. 黄颡鱼精巢发育及精子的发生与形成. 湖南师范大学自然科学学报, 2004, **27**(1): 66—70]

[9] Gheyas A A, Mollah M F A, Islam M S, *et al*. Cold-shock induction of diploid gynogenesis in stinging catfish, *Heteropneustes fossilis* [J]. *J. Appl. Aquacult*, 2001, **11**(4): 27—40

[10] Volckaert F A M, Galbusera P H A, Hellemans B A S, *et al*. Gynogenesis in the African catfish (*Clarias gariepinus*). Induction of meiogynogenesis with thermal and pressure shocks [J]. *Aquaculture*, 1994, **128**(3—4): 221—233

[11] Delvin R H, Nagahama Y. Sex determination and sex differentiation in fish [J]. *Aquaculture*, 2002, **208**(3—4): 191—366

[12] Lin D J, You Y L, *et al*. A study on the artificial propagation and masculinizing technique of teleost, *Pseudobagrus vachellii* [J]. *J. Fujian Fish*, 2004, (2): 9—13 [林丹军, 尤永隆, 等. 江黄颡鱼的人工繁殖及雄性化技术探讨. 福建水产, 2004, (2): 9—13]

[13] Penman D J, Shah M S, *et al*. Sex rations of gynogenetic and triploid tilapia [A]. In: Tiews K (E.), Proceedings of the world symposium on selection, hybridization, and genetic engineering in aquaculture Ⅱ [C]. Berlin: Heenemann. 1987, 277—287

[14] Avtalion R R, Don J. Sex determining genes in tilapia: a model of genetic recombination emerging from sex ratio results of three generations of gynogenetic *Oreochromis aureus* [J] *J. Fish Biol.*, 1990, **37**: 167—173

[15] Mair G C, *et al*. Sex determination in the genus Oreochromis 2. Sex reversal, hybridization, gynogenesis and triploid in *O. aureus*. Steindachner, Theor. and Appl [J] *Genetics*, 1991, **82**: 153—160

[16] Kirankumar S, Anathy V, Pandian T J. Hormonal induction of supermale golden rosy barb and isolation of Y-chromosome specific markers [J]. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 2003, **134**: 62—71

[17] Tariq Ezaz M, Myers M, *et al*. Sex ratios in the progeny of androgenetic and gynogenetic YY male Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. [J]. *Aquaculture*, 2004, **232**: 205—214

YY SUPERMALE GENERATED GYNOGENETICALLY FROM XY FEMALE IN PELTEOBAGRUS FULVIDRACO (RICHARDSON)

LIU Han-Qin[1], CUI Shu-Qin[2], HOU Chang-Chun[2], XU Jiang[2] and Chen Hong-Xi[1]

(1. *Institute of Hydrobiology, the Chinese Academy of Sciences, Wuhan* 430072; 2. *Wuhan Kangxiang Science and Technology Development Ltd. Wuhan* 430071)

Abstract: Supermale (YY ♂) *P. fulvidraco* was generated by combining the hormone sex reversal with gynogenetic technique. Comparing with the sex reversal and progeny testing selection technique, the combination of techniques described in present paper reduced the time comsumption of selective breeding two generations and increased supermale yield. YY male genotypes proved through progeny testing to be as viable and fertile as normal XY male and sired a mean progeny sex ratio of 90.3% male, ranging from 75.9% to 100%. 294 meiogynogens produced from 29 normal females were predominately female, and merely 11 males and 12 supermales sired female progenies at the frequencies between 0 and 24.1%. From these results mentioned above, the sex determination system in *P. fulvidraco* was presumed to be female homogamety, but the influences of autosomal sex modifying genes were more obviously. The feasibility and application prospect for commercial mass production all- male *P. fulvidraco* were discussed briefly.

Key words: *P. fulvidraco*; Sex reversal; Gynogenesis; Supermale