

王扬才 陆开宏

(宁波大学生命科学与生物工程学院, 浙江宁波, 315211)

摘要 罗非鱼性别主要受遗传和环境因素共同制约的决定。遗传因素是性别决定的基础, 而温度性别决定只在临界敏感期起作用。罗非鱼性别控制的主要手段有激素诱导、种间杂交和激素诱导相结合及人工诱导雌核发育。

关键词 罗非鱼 遗传性别决定 环境性别决定 性别控制

Sex determination and sex control in tilapia

WANG Yang-cai LU Kai-hong

(Faculty of Life Science and Biotechnology, Ningbo University, Zhejiang Ningbo, 315211)

Abstract: Sexuality of tilapia is determined by genetic and environmental factors. Genetic components are still the basis of sex determination, and temperature sex determination only takes action on critical sensitive period. The primary measures of sex control in tilapia include: hormonal induce, interspecific hybridization combining with hormonal induce and artificial induced gynogenesis.

Keywords: Tilapia genetic sex determination environmental sex determination sex control

罗非鱼具有适应性强, 繁殖力高, 食性广杂, 抗病力强和肉味鲜美等特点, 已成为世界性的养殖鱼类。常见有尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)、奥利亚罗非鱼(*O. aureus*)、莫桑比克罗非鱼(*O. mossambica*)、桑给巴罗非鱼(*O. hornorum*)等, 均属鲈形目, 丽鱼科, 罗非鱼属。由于繁殖快、成熟早, 养殖过程中易造成繁殖过剩、密度过大、个体过小等不利情况, 另外, 罗非鱼的雌雄个体之间具有明显的生长差异, 从而影响产量的提高。因此, 研究罗非鱼的性别决定机制, 根据生产需要选择单性养殖, 可使罗非鱼获得高增长率、减少能量在性腺及繁殖方面的消耗, 降低相互间的争斗, 具有十分重要的意义。本文从遗传和环境因子两方面初步探讨了罗非鱼的性别决定机制, 并简要概述了当前对罗非鱼性别进行人为控制的几种方法。

1 性别决定的遗传机制

由染色体结构引起的性别决定称遗传性别决定(Genetic sex determination GSD)。决定罗非鱼类性别的性染色体有两种类型。一种是雄性异质型, 雄性由异质的 XY 性染色体决定, 而雌性由同质的 XX 性染色体决定, 如尼罗罗非鱼、莫桑比克罗非鱼等; 另一种是雌性异质型, 雄性由同质的 ZZ 性染色体决定, 而雌性由异质的 ZW 染色体决定, 如奥利亚罗非鱼。由于罗非鱼性染色体处于进化的原始状态, 性染色体与常染色体在形态上较难区分, 以前常采用细胞学以外的方法来确定配子同型或配子异型, 如基因标记法、人工雌核发育、诱发性逆转、种间杂交和分子杂交等。Carrasco 和 Penman(1999)利用电镜观察联合复合体(synaptonemal complex SC)的手段对罗非鱼进行核型分析, 发现在尼罗罗非鱼的 22 对染色体中, 性别决定基因存在于最长的染色体对(染色体 I)的末端。他们分析了 XX(性逆转雄性)、XY(常规雄性)及 YY(超雄性)三种不同基因型雄性罗非鱼的基因核型, 结果发现最长染色体末端的非成对区(unpaired segment)只在 XY 罗非鱼中找到, 而在 XX 和 YY 雄性中没有此区, 证明这个非成对区正是 XY 型性别决定的中心。对奥利亚罗非鱼染色体第一次减数分裂的联合复合体核型分析表明(Campos-Ramos et al 2001), 主要的性别决定基因可能存在于两条染色体中, W 和 Y 位于最长染色体对亚末端, W' 和 Y' 位于小染色体对上, 推断奥利亚罗非鱼的性别 ZW/ZZ、Z'W'-Z'Z'两套独立的性染色体对共同决定。

2. 环境性别决定

目前认为鱼类存在环境性别决定因子(environmental sex determination ESD)。对于性别决定起作用的非遗传因子有温度、盐、营养密度、社会因子等。相关研究表明,温度对于敏感型鱼类的性别决定是主要的控制因子,即温度性别决定(temperature sex determination TSD)。罗非鱼在不同的温度条件控制下,雌雄比例会产生明显的差异,但对于盐度、密度等环境限制因子不敏感(Aburay and 1999)。罗非鱼的性别决定存在一个临界敏感期(critical sensitive period),即在性别分化开始之前或分化期给予一定的环境压力刺激,则可以改变鱼类的性别。罗非鱼的临界敏感期始于受精后的14~24天(Barailler et al 1996)。Desroze等(1997)研究了周围小环境对尼罗罗非鱼的性别决定的影响,在鱼卵产出后9天时以21℃、27℃和34℃的高温分别处理40天、25天和25天,结果高温组的雄性率为97.8%,中温组雄性率为63.0%。雌雄比例差异不显著,而低温组的孵化成活率低且性别分化推迟。Barailler等(1995)利用高温处理临界期尼罗罗非鱼获得了高比例的雄性个体,其基因型为雌性的个体雄性化,并且XX型雄性只出现在高温处理组。他们还由激素处理临界期的罗非鱼发现只用10天的高温处理就与用激素处理21天的效率相当。罗非鱼的临界敏感期存在敏感窗口(threshold sensitive windows),即在一定温度范围内温度对性别起作用。对尼罗罗非鱼、奥利亚罗非鱼在临界期进行低温处理,发现即使使用激素对性别也不产生影响。对莫桑比克罗非鱼的试验也得出同样的结论。对孵后10天后的卵进行处理,高温组出现高比例的雄鱼,低温组对性别不起作用(Aburay et al 1999, Despre 1998, Barailler 1995)。

对于温度的性别决定机制还没有统一的结论。Spotila等(1994)认为,TSD机制是一种未分化的性腺发育的修饰过程,这种修饰过程归因于一个或多个特异DNA序列的差异表达,而这种表达又受到某一温度敏感的过程或类似于蛋白一样分子的基因产物不同作用所控制。温度作为修饰剂(媒介)改变了X分子的空间构型,在产生雄性的温度上,X结合到增强子上,这样就大大刺激了基因转录,产生大量的雄性分化所必需的基因产物,而在雌性产生温度下,分子X有不同的构型,其不能与增强子结合,从而仅有少量的基因产物,性腺则发育成雌性。

虽然罗非鱼的性别决定存在遗传性别决定和温度性别决定,却不能把TSD和GSD截然分开。因为TSD的敏感期一般就限定在胚胎、仔稚鱼期内的几周之内,超越TSD敏感期的温度控制不会逆转性别分化的方向,并且许多证据表明TSD可能在温度耐受阈的边缘地带压倒GSD的作用。性别的最终决定是遗传基因和环境等因素的共同作用的结果。也有学者认为TSD是鱼类的一种适应性,性别决定于某温度下那个性别的个体受益更多(Camner et al 1987)。

3. 人工控制

罗非鱼性别人工控制的方法主要有:种间杂交、激素诱导、染色体操纵(雌核发育和多倍化)等。根据其遗传机理采用罗非鱼种间杂交法可繁育出高雄性率的杂种鱼,种间杂交是当前国内外生产全雄或大部分雄性的罗非鱼的应用最广的一种途径。尼罗罗非鱼 $\times$ 奥利亚罗非鱼和尼罗罗非鱼 $\times$ 莫桑比克罗非鱼是目前在生产上生产单性罗非鱼应用最广泛的杂交组合。然而,种间杂交产生的后代雄性也存在不稳定的现象,尼罗罗非鱼 $\times$ 奥利亚罗非鱼所产后代雄性比例在59%到81%之间波动(Wohlfarth, 1994)。

杨永锋等(1980)用激素处理与杂交相结合的方法,得到了自然群体中所没有的、性染色体为YY型的“超雄鱼”,并发现这种莫桑比克YY型超雄鱼不但具有很高的成活率和很正常的生育力,而且可以被雌激素转化为功能正常的雌鱼。这种超雄鱼具有“杂种”和“全雄”双重优势,其生长速度比尼罗罗非鱼两性种群快38.5%,群体产量平均提高43.4%。

大量的研究表明,通过使用固醇类激素在性腺性分化的关键时期处理仔、稚鱼,可得到单性或原发单性种群。目前外源激素所采用的方法包括投喂、浸泡和注射3种,而投喂法是使用得最多的一种。利用激素

控制罗非鱼的性别决定主要是用雄激素类遗传型雌向表现型雄性转变,应用最广泛的雄激素是 17 α 甲基睾酮(17 α -methyltestosterone MT),它具有容易得到且口服时相当稳定有效。研究发现,不同含量的甲基睾酮对鱼类具有不同的生物效应。剂量为 10~50ppm 会导致罗非鱼由雌性向雄性的完全性逆转(Guerrero 1973),当剂量超过 1000ppm 时则对遗传性雄莫桑比克罗非鱼产生雌性化效应(Nakamura 1975)。

李家乐等(1997)利用在饲料中添加甲基睾酮(MT)的方法研究甲基睾酮对尼罗罗非鱼吉富品系的性比的影响,发现罗非鱼的雄性率随甲基睾酮含量增加而提高。当饲料中甲基睾酮含量为 20ppm 时雄性率即可达 100%。并且 MT 能显著提高罗非鱼的成活率,体重绝对增长率随 MT 的含量增加而提高。

人工诱导雌核发育已应用到罗非鱼的性别控制中。人工诱导雌核发育包括两个主要技术环节:精子染色体的遗传失活以及卵子染色体的二倍体化。用各种辐射或化学方法处理鱼类精子,都可以有效地破坏染色体上的遗传物质 DNA,使其失去遗传活性,但精子的细胞质组成并未发生改变。因此,这种遗传上失活的精子仍能进入卵子,它所携带的细胞分裂器能正常的起作用。卵子染色体的二倍体化常用的处理方法有物理(温度和静水压)、化学以及生物(杂交)等三种方法。XX 染色体鱼类经人工诱发的雌核发育二倍体个体在遗传上和表型上都是雌性。而在雌性配子异型(ZW)的鱼类中,人工雌核发育的结果则可产生雌性和雄性两种性别。Varadaraj 等(1989)利用定向联合性逆转和雌核发育技术使超雄性个体由 25% 增加到 50%,培育时间由 22 个月减少到 8 个月。潘锋(1994)用鳊鱼精子激活奥利亚罗非鱼卵,成功的诱导出雌核发育的个体。雌核发育鱼无论在外形上还是生化、遗传性状上都表现出亲母本性,而与鳊鱼不同。但雌核发育鱼的出苗率较低。

用温度休克和静水压处理获得罗非鱼二倍体和四倍体的试验已见报道。从所进行的实验来看,有三倍体出现频率低、仔幼鱼存活率差和结果不稳定等问题存在。如 Myer(1986)报告用压力和冷休克联合诱导的罗非鱼四倍体仔鱼在出膜后 7 天内全部死亡。容寿柏(1994)用热休克的方法,以 39.5 $^{\circ}$ C 的温度处理罗非鱼卵三分钟以诱导四倍体,仔鱼和幼鱼的四倍体诱导率分别只有 38.3% 和 30%,并且出现瞎尾、歪尾和血管畸形的胚胎和仔鱼,同时伴有大量的死亡。

4 结语

罗非鱼性别决定主要受遗传因素和环境因素共同制约。对罗非鱼的遗传性别决定机制的研究开展较早,由此产生的种间杂交方法得到全雄或大部分雄性罗非鱼在当前生产上已广泛应用。利用激素诱导、种间杂交和激素诱导相结合及人工诱导雌核发育的方法是目前应用最广的性别控制手段。关于罗非鱼性别决定的环境因素研究开展较晚,研究表明罗非鱼确实存在温度性别决定机制,而且这种温度性别决定只出现在临界敏感期。通过调控温度来生产单性罗非鱼,已显示出广阔应用前景。

参考文献:

- [1] 李家乐,李思发,韩风进. 甲基睾酮诱导吉富品系尼罗罗非鱼雄性化的研究水产学报 1997(12),24:107~110.
- [2] 杨永铨. 应用三系配基途径产生遗传上全雄莫桑比克罗非鱼遗传学报 1980,7(3):241~246.
- [3] 容寿柏,周泉安,安艳芳. 用热休克诱导罗非鱼四倍体中国实验动物学杂志 1994,4(2):97~101.
- [4] 潘锋. 异源精子诱导的罗非鱼人工雌核发育水生生物学学报 1994,18(1):90~91.
- [5] Abucay J S, Mair G C, et al. Environmental sex determination: the effect of temperature and salinity on sex ratio in *Oreochromis niloticus*. L. Aquaculture 1999, 173:219~234.
- [6] Barotiller J F, Tuguyeni A. Comparative effects of a natural steroid, 11 β -hydroxy-androstenedione (11 β -OH-A $_4$) and a synthetic androgen, 17 α -Methyltestosterone(17 α -MT) on sex-ratio in *Oreochromis niloticus*. Third International Symposium on Tilapia in Aquaculture, 1996:334~351.
- [7] Barotiller J F, Chourout D, et al. Temperature and sex chromosomes govern sex ratios of the mouthbrooding cichlid fish *Oreochromis niloticus*. J. Exp. Zool. 1995,273:216~223.