

文章编号: 1000-0615(2003)02-0169-08

• 综 述 •

鱼类性别决定的遗传基础研究概况

童金苟¹, 朱嘉濠², 关海山²

(1. 中国科学院水生生物研究所, 湖北 武汉 430072; 2. 香港中文大学生物系, 中国 香港)

关键词: 鱼类; 性别决定; 性染色体; 遗传基础

中图分类号: S917; Q344+.2 文献标识码: A

A mini-review of studies on genetic basis of sex determination in fish

TONG Jir gou¹, CHU Kar hou², KWAN Hoi Shan²

(1. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China;

2. Department of Biology, The Chinese University of Hong Kong, Hong Kong, China)

Abstract: As lower vertebrates, fishes have complex modes of sex determination. From the cytogenetic perspective, only a small proportion of fish species have heteromorphic sex chromosomes. At the present stage sex determination can only be explained via “genetics” rather than “genes” in most species. Nevertheless, genes associated with sex determination and male development were identified in a model fish medaka, *Oryzias latipes*. Sequences or genetic markers specific to certain sex chromosomes were reported in some fishes. These findings lay the groundwork for further studies on the function and regulation of sex genes aiming at elucidation of the mechanism of sex determination, and provide potential tool for sexing fish. In this mini-review, progress in the past few decades in both cytogenetic and molecular genetic studies on sex determination of fish were summarized. Prospects, significance and possible future directions of the studies on fish sex determination were also discussed.

Key words: fish; sex determination; sex chromosomes; genetic basis

动物从受精卵发育到具有不同性别特征的个体是一个奇妙而又严谨的过程,是人类长期以来试图揭示的自然现象。上世纪 90 年代初在人类 Y 染色体上发现了性别决定基因 SRY^[1],进而发现了一个新的 Sox 基因家族^[2]。上述基因的发现,促进了以哺乳类为代表的动物性别决定和分化机制研究。由于鱼类在脊椎动物中的特殊进化地位、庞大的种类数量以及显著的社会经济价值,鱼类的性别决定研究一直受到遗传和发育学者的重视。尽管离最终阐明鱼类性别决定的机制还有距离,但近 20 多年来鱼类性别决定的遗传基础研究已取得不少重要进展。本文试图根据现有文献资料,对鱼类性别决定的细胞遗传和分子遗传基础研究概况作一综述,为今后的深入研究提供参考。

收稿日期: 2002-11-05

资助项目: 国家自然科学基金项目(30271011), 淡水生态与生物技术国家重点实验室开放课题, 香港中文大学卓越研究项目(AOE)

作者简介: 童金苟(1961-),男,湖北武汉人,博士,主要从事鱼类分子遗传和遗传育种研究。E-mail: jgtong@ihb.ac.cn

1 鱼类性别决定的细胞遗传基础研究现状

1.1 鱼类的染色体性别决定类型

高等脊椎动物的性别决定系统一般较为简单,如哺乳动物的XX XY,鸟类的ZW ZZ等。几十年的细胞遗传学研究表明,鱼类性别决定几乎包括了动物的所有性染色体类型。但是在1985年前已研究过染色体组型的1600多种真骨鱼类中,只有72种被认为有性染色体^[3],而能从细胞遗传学中鉴别出性染色体的不超过30种。1989年前我国学者认为10种鱼类中有性染色体^[4],它们是鲫(*Carassius auratus*),胡子鲶(*Clarias fuscus*),革胡子鲶(*C. leather*),斑点胡子鲶(*C. macrocephalus*),蟾胡子鲶(*C. batrachus*),白缘 (*Leiobagrus marginatus*),黑缘 (*L. nigricauda*),拟缘 (*L. marginoides*),刺鲃(*Mastacembelus sinensis*)和短 鲚(*Coilia brachygnathus*),后来又发现大鳞副泥鳅(*Paramisgurnus dabryanus*)有性染色体分化^[5],加上国际上近年来发现的近20种有性染色体的种类^[6-12],据不完全统计,可能有近100种鱼类被认为有性染色体,但是在细胞遗传学上能分辨出来的、具有较好性染色体形态分化的鱼类可能只有40种左右。

综合各方面的观点,目前一般认为鱼类性别的染色体决定类型主要有5类:①XX XY型,即雌性同配、雄性异配型,为大多数鱼类的性染色体类型,例如刺鲃^[4],青 (*Oryzias latipes*)^[13];②ZW ZZ型,即雌性异配、雄性同配型,如大鳞副泥鳅^[5],*Tripportheus*^[9];在数目上ZW ZZ型少于XX XY型,据估计,XX XY与ZW ZZ型两者共占到鱼类种类的70%左右^[3];③ZO ZZ与XX XO型,即其中一个性别少1个性染色体,前者为雌性配子异配,如短 鲚^[4],后者为雄性配子异型,如褶胸鱼(*Sternopyx diaphana*)^[14];④X₁X₁X₂X₂X₁X₂Y型,即复性染色体型,该类型仅发现于鱼类,例如*Parablennius tentacularis*^[15];⑤常染色体型,即以现有技术手段未能发现任何异型性染色体,性别可能主要由常染色体决定,例如斑马鱼(*Brachydanio rerio*)^[14]。

需要说明的是,有些鱼类的性染色体之间以及性染色体与常染色体之间的差异细微,可能需要特殊染色和经验判断,以至有些种类中是否有性染色体还存在争议,例如鲫^[3,4]和黄鳍(*Monopterus alba*)^[16,17]等。鉴别鱼类异型性染色体一般用染色体显带方法(如G-和C-带等)和比较基因组杂交法(comparative genome hybridization, CGH)等方法^[18]。荧光原位杂交法(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)也是可靠的鉴定方法^[19,20],但前提条件是必须预先克隆出性别或性染色体特异的探针。

有少数鱼类具有双性别决定系统(dual sex determination),即除了正常的1对性染色体外,某些群体还有1个或1对常染色体(拟常染色体)参与性别决定,例如剑尾鱼(*Xiphophorus* spp.)的W-X-Y^[21],以及某些罗非鱼(*Oreochromis* spp.)的AA(aa)W-X-Y^[22]。剑尾鱼具有WY, WX和XX为雌性,XY和YY为雄性。由于存在不同的染色体类型,自然群体中这些具有不同染色体类型的剑尾鱼个体交配,可产生不同的性别比例。罗非鱼的种内群体或种间杂交也有类似情形。

在绝大多数鱼类中迄今鉴定不出异型性染色体。然而,对其中已进行过雌核发育或雄核发育以及人工转性,进而通过交配获得了全雌性^[23,24]或全雄性^[25]群体的一些鱼类,基本可以在遗传上确定它们具有XX XY型染色体性别决定行为。笔者认为将其称为“隐性”XX XY型是合适的^[26]。“隐性”ZW ZZ型的报道极少,因为还缺乏对这类鱼类的人工单性发育研究。

1.2 鱼类性染色体的起源、变异和可塑性

鱼类性染色体的分化主要有3个层次:①常染色体型,②隐性染色体型,③异型性染色体型^[14]。Ota等^[27]通过分子系统学和细胞遗传研究,认为Aulopiformes目中雌雄同体种类中是由于在进化中失掉了异型性染色体,进而假设鱼类的异型性染色体在进化中可能经历了多次出现与消失的过程。斑马鱼被认为是没有性染色体的类型^[14],但它究竟是因为系统发育中的原始性,或是在进化上后来失掉了异型性染色体,目前无从知晓。

利用人类X染色体特异的DNA片段为探针,对3种不同性染色体分化水平的鱼类(斑马鱼、黄鳍和刺鲃)进行的染色体组描绘发现,人类X染色体的同源片段散布于鱼类的几对同源染色体中。这些保守片段也许就是鱼类和其它脊椎动物X染色体起源和进化的物质基础^[28]。

利用红点鲑属(*Salvelinus*)鱼类的性染色体作探针的染色体描绘证实,鲑科鱼类中的大马哈鱼属(*Oncorhynchus*)、鲑属(*Salmo*)和红点鲑属之间的性染色体没有同源性^[29],因此它们的起源可能是相对不同的,或后期分化较大。Ohno^[30]提出假设,认为鱼类的异型性染色体是由常染色体融合而来。Kondo等^[31]根据青 X和Y染色体上减数分裂重组频率的差异的研究结果而支持此假说。

Nakayama等^[32]通过分子杂交证实Z和W染色体间发生了交换,形成特殊的W染色体导致性别表型和性别遗传型

不一致的个体。这也许提示这个种内雌性和雄性染色体异配系统正在渐变。Ueno 等^[8]认为大头狗母鱼(*Trachinocephalus myops*) ZZZW₁W₂ 性别系统的产生涉及到 Z 和 W 性染色体与常染色体的罗伯逊易位。

有证据显示剑尾鱼的祖先是 XX-YY 性别决定系统,而目前的 W-X-Y 系统可能是基因突变或染色体重排的结果。由于常染色体上的基因与性染色体的基因相互作用,使得性别决定基因的作用发生异常,产生与 1:1 比例不符的后代^[21]。复性染色体(X₁X₁X₂X₂-Y)类型的形成中,可能是由于某个常染色体被转移到 Y 染色体中,变成了巨大的中部着丝点性染色体^[33]。红大马哈鱼(*Oncorhynchus nerka*) Y 染色体也与 1 个常染色体发生了融合^[34]。因为这种转移和融合只发生在雄性,所以雌性比雄性多 1 条染色体。

因此,鱼类的性染色体形成和进化在不同类群可能涉及了不同的机制。从性染色体的遗传类型和变异来看,鱼类具有复杂的性别决定系统,甚至同一个种的性别决定系统也可能有异质性^[17, 19],这反映出鱼类性染色体有一定的可塑性。

2 鱼类性别决定的分子细胞学与分子遗传学研究概况

2.1 鱼类中寻找可能的性别相关基因的历程

目前人们对在鱼类性别决定与分化中起关键作用的基因或染色体区域还知之甚少,研究过程也经历了在鱼类基因组中寻找哺乳动物性别基因的同源基因,逐渐转向寻找鱼类自身的性别决定基因。以下是鱼类中先后被研究的几个基因或片段,有些被证明可能与性别决定相关,有些则不相关。

2.1.1 SRY、ZFY 和 BKM

以哺乳类、鸟类及某些爬行类中与性别决定相关的 SRY 和 ZFY 以及 BKM (banded krait minor) 片段为探针,在珊瑚鱼类不能产生性别特异性的杂交带^[35]。Tiersch 等^[36]进一步确认,在沟鲈(*Ictalurus punctatus*) 的正常雌雄个体及经过激素诱导的性逆转个体上都有与 SRY 结合的同源片段。近几年来,我国几个实验室在多种淡水鱼类(包括泥鳅、大鳞副泥鳅、刺鳅和黄鳝等)中也得到有关 SRY 基因同源性的类似实验结果^[37-39]。人的 SRY 基因还被试图定位在黄鳝的第 1 号染色体上^[40]。总的来看, SRY 等因子不是鱼类性别决定的因子。但是,它是否可能像哺乳动物那样对性别决定的下游基因(例如 Sox9 基因)有调控作用,目前还没有证据。

BKM 在鸟类和爬行类性别决定中有一定作用,也是性染色体的标志之一。鱼类也有此类重复序列的同源片段^[35, 36, 41, 42],但还没有证据显示它们具有性别决定作用^[41]。

2.1.2 Sox

Sox 基因是一类基因的统称,特点是均含有一个 SRY 样 HMG 盒(high mobility group box)。尽管 Sox 基因家族以 SRY 为代表,但其成员与 SRY 基因有着明显区别。SRY 在不同物种间有较大差异,但是 Sox 基因在进化上十分保守,在雌雄性别的基因组中均存在^[2]。在脊椎动物中已报道的 40 多个 Sox 基因中, Sox9 已被证实是参与性别决定的基因。

根据其它脊椎动物中报道的 Sox 基因序列设计兼并引物,已在虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[43]、青^[44]和两种泥鳅^[45]中克隆和研究了鱼类 Sox 同源基因。在泥鳅和大鳞副泥鳅 Sox8 和 Sox9 基因的保守性分析中,未发现性别特异性的杂交带^[45]。这两种基因被初步定位在大鳞副泥鳅的 2 个端部着丝粒染色体上^[46]。Northern 杂交分析表明 Sox9 在大鳞副泥鳅精巢中有宏量表达^[47],表明该基因与精巢形成和分化有关。有意思的是,过去报道的鱼类 Sox 基因都不含内含子,而大鳞副泥鳅中的 Sox9 基因有内含子^[47],其内含子拼接方式可能对进一步研究 Sox9 基因在鱼类性别决定和分化的作用有一定意义。

2.1.3 DMY

简单地利用哺乳动物的 SRY Sry 寻找鱼类的性别决定基因(区)的途径已经不能走通,最终还是必须从鱼类本身的基因组中去定位和寻找性别相关的基因或 DNA 标记,作为研究性别决定基因及其功能的后选基因,或作为遗传性别的鉴定工具加以利用。

这方面的研究中,以青^[48]中得到的结果最令人鼓舞。通过对青^[48] Y 染色体上的性别决定相关区段的重组和缺失分析,最后逐步缩小到 1 个 250 kb 的区域,从中找到的 1 个新基因被命名为 DMY (doublesex mab 3 domain of Y chromosome)^[48],在雌性染色体上没有它的同源序列。DMY 的表达只局限于 XY 精巢,它的突变将直接导致鱼向雌性化方向发展。DMY 基因是迄今鱼类在 Y 染色体上找到的、与精巢发生与分化直接相关证据最充分的一个性别决定功能基因。

2.1.4 DMRT1Y

紧接着 DMY 的报道,几个月后在青^[48]中克隆出了一个 DMRT1(DM-related transcription factor 1)基因的拷贝,命名为

DMRT1Y^[49],它具有与DMY有相似的性别决定作用。DMRT1本来是近年新克隆到的、被认为是脊椎动物中最原始的性别决定基因,位于常染色体上(即在雌雄性基因组中均存在),但雌雄中的表达不同,该基因的功能可能与精巢的足细胞发育有关^[50]。有意义的是,青 的复制拷贝DMRT1Y只存在于Y染色体上,X染色体上没有它的同源基因,其表达也仅限于雄性的胚胎和成体精巢足细胞。因此DMY和DMRT1Y均是青 性别决定基因的强有力的后选基因,在作用上被初步认为与哺乳动物中的SRY/Sry类似。不过它们的具体调控机制、相互关系以及进化特性等,还有待深入探讨。

在另外一些具有初步或较好异型性染色体分化的鱼类,如虹 鳞^[51]、几种太平洋鲑(*Oncorhynchus keta*, *O. gorbusha*, *O. kisutch*, *O. tshawytscha*)^[52]和罗非鱼等,也已经有了关于性染色体作图(mapping)的报道。这些工作为在更多鱼类中寻找和定位性别决定位点(区段),进而克隆和鉴定性别决定基因奠定了初步基础。

2.2 性染色体特异片段与性别遗传鉴定

除了上述性别决定基因的研究以外,通过比较基因组杂交和差减克隆研究,在鱼类中还发现了许多性别或性染色体特异的DNA片段(含重复序列),为定位和鉴定性染色体,以及鉴定鱼类遗传性别(fish sexing)奠定了基础。

在具有初步性染色体分化的大鳞大麻哈鱼(*Oncorhynchus tshawytscha*)中,发现雌性基因组比雄性多了一个生长激素基因的假基因GH-psi^[53];此外,大鳞大麻哈鱼Y染色体上的串联重复DNA是鉴定是否具有Y染色体的可靠标志^[54]。一段8 kb的重复序列片段被发现与大鳞大麻哈鱼的雄性性别决定座位(sex determining locus)紧密连锁^[55]。虹 鳞中的OmyP9是性染色体特异的序列^[56]。剑尾鱼中的Xmk(来源于黑色素瘤原癌基因)是X和Y染色体共同的标记,而XIR是Y染色体特有的末端重复序列^[41]。

依据大鳞大麻哈鱼性别特异的GH-psi片段,在鲑 鳞鱼类中实现了遗传性别鉴定^[57]。OmyP9的RSI酶切片段是鉴别虹 鳞雌雄性别的标记^[56]。利用克隆的Z和W染色体的特异序列为探针,在*Leporinus elongatus*中发现了不正常的ZW雄性个体,以及实际为雄性的ZW雌性个体。这些不正常个体是在某些情况下由于Z和W染色体交换而形成的特异性W染色体的影响而产生^[32]。在剑尾鱼^[58]和非洲 鲶(*Clarias gariepinus*)^[39]中也克隆出性染色体片段,并以此为基础实现了利用简单的PCR方法的遗传性别鉴定。据说这些性别特异性的序列和引物都有种类特异性。考虑到性别特异探针的理论和应用价值,鲑 鳞鱼类的遗传性别鉴定方法已经申请了美国专利^[57]。

由于基因组水平上的差异可能较小,在没有异型性染色体分化的鱼类中寻找性别特异片段的难度较大,迄今罕见公开报道。高度变异性的DNA指纹技术(例如AFLP^[60])在这一类物种中分离性别特异片段可能有一定潜力^[61,62]。在2种鲤科鱼类以及大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)中初步发现了基因组间有性别差异的DNA指纹图谱片段,但它们与性别或性染色体的相关性还有待研究。

3 鱼类性别决定的假说与推论

目前看来,只有在具有初步异型性染色体分化,并且已经鉴定或定位出性别决定后选基因的少数鱼类(如青 和鲑 鳞鱼类等)中,可以认为性别是由性别决定基因所控制的。对绝大部分鱼类来说,性别决定基因还有待寻找与证实,性别决定还只能从“遗传”而不是基因的角度解释^[14]。“隐性”XXXY或ZWZZ型的解释至少在目前仍有其客观合理性^[25]。一般来说,雌核发育和雄核发育可以帮助在“遗传”上确定一种鱼类的染色体性别决定类型。若雌核发育全部为雌性个体,至少可以推断雌性是同配的,而雌核发育后代中大约1半为雌性,1半为雄性,则可以推论雌性可能是异配的(即ZWZZ型)。雄核发育的情况应该正好相反。

但是鱼类的性别往往不是这样简单的。由于常染色体也有可能参与性别决定,以及可能存在的性别决定的多因子剂量效应,有时若干小的因子就会掩盖主要的性别决定因子的作用,表现为雌核发育或雄核发育的性别并不是完全与预期相符合,例如斑马鱼^[63,64]。罗非鱼也有类似情形^[65]。尽管有报道推测斑马鱼可能具有ZWZZ性别机制^[15],但新近有观点认为它可能是常染色体性别决定的代表^[13]。

上世纪60年代末期,有观点认为鱼类的性别决定并不完全取决于性染色体,常染色体可能也参与其性别决定,当占所有染色体上决定雄性的因子总和大于染色体上所有决定雌性的因子总和时,该鱼就会发育成雄性,反之则成为雌性。这种假说虽然有一定道理,但过于简单,无法说明多因子相互作用的机制。

总之,鱼类性别决定机制的研究还是一个有待深入研究和揭示的重大课题。

4 展望

目前,鱼类性别决定的研究还有许多问题有待解决,主要有:①由于鱼类性染色体分化程度较低,加之染色体细小而数目众多,凭借目前的细胞遗传学显带技术,开展更多鱼类的性染色体标记和鉴定还有较大困难;②在大多数鱼类中,

因为染色体组(基因组)雌雄性间差异小,克隆探针较难, FISH 等鉴定方法的成效不明显,性别决定基因还难以直接用物理图谱基础上的大片段克隆方法获得;③具有良好性染色体分化的鱼类较少,而且这些种类的研究成果不一定适合于更原始的性别决定类型;④性别多基因决定的作用模式不明。

然而,随着人类基因组计划和后基因组计划实施,新的研究思路以及新的分子细胞生物学和分子遗传学研究方法不断成熟,对鱼类性别决定的分子基础研究将会有很大促进作用。鱼类性别决定的分子遗传研究领域也正在不断地深入和拓宽,要准确预测今后的发展方向不太容易,但作者认为下列方面可能值得今后关注:

(1) Sox 基因的研究,特别是 Sox9 基因在鱼类性别决定中功能的证实,以及它与鱼类其它性别决定后选基因的相互作用。

(2) 对有性染色体分化的鱼类,重点研究对象仍将是 Y 染色体上性别决定基因(如 DM Y, DMRT1Y 等)的调控与功能研究;同时,应进一步开展鱼类性染色体作图和性别决定区的精细定位,克隆更多的性别决定基因位点,为研究鱼类可能的多基因性别决定奠定基础。此外,ZW ZZ 型性别决定基因的研究也应予以重视。

(3) 对没有性染色体分化的鱼类,要开发和利用更加灵敏的方法扫描基因组,筛选 DNA 片段,进而克隆性别相关基因或建立性别特异性的探针池,研究这一大类鱼类性别决定在分子水平上的模式,以及进行性别遗传鉴定的潜力。开展性别分化前后基因差异表达(differential display)的研究,将为寻找涉及鱼类性别决定与分化过程中的相关基因进而研究他们的功能提供线索。筛选差异表达基因的方法有很多,其中 SSH(suppression subtractive hybridization)^[66]是新近发展起来并使用较多的方法之一。DNAarray 和 SAGE(serial analysis of gene expression)等高通量筛选方法今后也有可能逐步应用于鱼类性别决定的分子遗传研究。

(4) 鱼类在性别决定研究方面的优势。尽管鱼类性别决定有复杂与多样的一面,但是,鱼类也有其优势:例如鱼类具有雌雄同体和雌雄异体等性别系统;鱼类性别分化期对激素很敏感,因而人工诱导性转换相对容易;另外,一些鱼类繁殖周期短(例如青和剑尾鱼),是研究性别决定基因功能和调控因子的良好模型。河(Fugu rubripes)和斑马鱼的基因组测序已经完成或接近完成,它们与人类基因组全序列一起,可以作为鱼类的性别决定后选基因或相关序列片段进行同线比较的模板。

(5) 鱼类性别决定的分子基础研究的意义

I) 对脊椎动物进化生物学的意义。通过染色体微切割和大片段克隆等方法,建立一系列探针池,鉴定鱼类性染色体,探讨性染色体进化的模式并协助克隆性别决定基因,将不仅有助于揭示鱼类性别决定的奥秘,同时对脊椎动物性染色体的起源和性别决定模式的进化等理论问题有积极意义。

II) 对于鱼类性别控制育种的意义。通过获得全雌性或全雄性鱼类是提高生长速度或控制生态环境的有效育种方法之一。但是,对性别决定的(染色体)机制的了解是该项遗传操作的前提。由于缺乏性别或性染色体特异的分子遗传标记,遗传性别的准确鉴定问题也一直是许多经济鱼类性别控制研究中的一个难点。例如,XX 型“雄性”与 XY 正常雄性,XY 型遗传雄性与 YY 超雄性不易区分。对一个群体所有个体的遗传性别进行测交的方法^[67]在实践中几乎无法实施。例如,全雄性莫桑比克罗非鱼(Oreochromis mossambica)高产育种路线虽然早已获得实验室研究成功^[68],无法推广应用的原因正是因为“YY 型超雄性”鱼鉴定问题无法较好解决。

III) 对环境生物学的意义。环境温度等对鱼类性别分化的作用已经在少数鱼类中得到证实。环境中的外源激素可以导致天然水体中的鱼类性逆转,产生性比例失调。遗传性别的鉴定,将为此类问题的研究提供比形态解剖更为精确有力的手段。例如,在野外调查中发现美国哥伦布河中的大鳞大麻哈鱼雌性异常增多。通过性别特异的分子标记证实,很高比例的雌性实际上是遗传上的雄性。主要由于河流中外源性激素等的污染,导致一些大麻哈鱼个体成长中自仔鱼阶段开始就性别发育异常^[69]。这样的环境问题在我国很可能也存在,但是相关的分子水平的研究还未能起步。

参考文献:

- [1] Sinclair A H, Berta P, Palmer M S, et al. A gene from the human sex determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif[J]. Nature, 1990, 346: 240-245.
- [2] Zhang Y, Lu X X, Shan X N. Progress in research on sex determining genes[J]. Hereditas (Beijing), 2000, 22: 328-330. [张悦,鲁晓萱,单祥年. 性别决定基因的研究进展[J]. 遗传, 2000, 22: 328-330.]
- [3] Ojima Y. Fish chromosome data retrieval list[M]. CDR file, Kwansai Gakuin University, Nishinomiya, Japan. 1985.
- [4] Yu X J, Zhou D, Li Y C, et al. Chromosomes of Chinese fresh water fishes[M]. Beijing: Science Press, 1989. [余先觉,周 敏,李渝成,等. 中国淡水鱼类染色体[M]. 北京: 科学出版社, 1989.]
- [5] Chang Z J, Yu Q X. The cytogenetic evidence of ZZ/ZW sex determination in *Paramisgurnus dabryanus*[J]. Hereditas(Beijing), 1997, 19: 17-19. [常重杰,余其兴. 大鳞副泥鳅 ZZ/ZW 型性别决定的细胞遗传学证据[J]. 遗传, 1997, 19: 17-19.]

- [6] Bom G G, Bertollo L A. An XX XY sex chromosome system in a fish species, *Haplías malabaricus*, with a polymorphic NOR-bearing X chromosome[J]. Chromosome Res, 2000, 8: 111- 118.
- [7] de Almeida Toledo L F, Daniel-Silva M F, Lopes C E, et al. Sex chromosome evolution in fish II. Second occurrence of an X₁X₂Y sex chromosome system in Gymnotiformes[J]. Chromosome Res, 2000, 8: 335- 340.
- [8] Ueno K, Ota K, Kobayashi T. Heteromorphic sex chromosomes of lizardfish (Synodontidae): focus on the ZZ:ZW₁W₂ system in *Trachinocephalus myops* [J]. Genetica, 2001, 111: 133- 142.
- [9] Artoni R F, Falcao J N, Moreira-Filho O, et al. An uncommon condition for a sex chromosome system in Characidae fish. Distribution and differentiation of the ZZ:ZW system in *Triportheus* [J]. Chromosome Res, 2001, 9: 449- 456.
- [10] de Almeida Toledo L F, Foresti F. Morphologically differentiated sex chromosomes in neotropical freshwater fish[J]. Genetica, 2001, 111: 91 - 100.
- [11] Artoni R F, Bertollo L A. Trends in the karyotype evolution of Loricariidae fish (Siluriformes) [J]. Hereditas, 2001, 134: 201- 210.
- [12] Jorge L C, Moreira-Filho O. Cytogenetic studies on *Aparádon affinis* (Pisces, Characiformes) from Parana river basin: sex chromosomes and polymorphism[J]. Genetica, 2000, 109: 267- 273.
- [13] Traut W, Winking H. Meiotic chromosomes and stages of sex chromosome evolution in fish: zebrafish, platyfish and guppy[J]. Chromosome Res, 2001, 9(8): 659- 72.
- [14] Lou Y D. Fish breeding[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1999. 196- 201. [楼允东. 鱼类育种学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999. 196- 201.]
- [15] Caputo V, Machella N, Nisr Cerioni P, et al. Cytogenetics of nine species of Mediterranean blennies and additional evidence for an unusual multiple sex chromosome system in *Parablennius tentacularis* (Perciformes, Blenniidae) [J]. Chromosome Res, 2001, 9: 3- 12.
- [16] Liu L Y. A analysis of high resolution G-banding pattern in fish chromosomes treated by BrdU[J]. Acta Genet Sin, 1988, 15: 117- 121. [刘凌云. BrdU处理鱼类染色体高分辨率G-带带型分析[J]. 遗传学报, 1988, 15: 117- 121.]
- [17] Yu Q X, Fan L C, Cui J X, et al. Preparation of high resolution G-band on bivalent chromosomes of *Monopterus alba* and construction of idiogram[J]. Sci China (Ser B), 1993, 23: 947- 954. [余其兴, 樊连春, 崔建勋, 等. 黄鳍二价体高分辨G-带制备及模式图构建[J]. 中国科学(B辑), 1993, 23: 947- 954.]
- [18] Traut W, Eickhof U, Schorch J. Identification and analysis of sex chromosomes by comparative genomic hybridization (CGH) [J]. Methods Cell Sci, 2000, 23: 157- 163.
- [19] 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[J]. Genetica, 2001, 111: 143- 153.
- [20] Iturra P, Lam N, de la Fuente M, et al. Characterization of sex chromosomes in rainbow trout and coho salmon using fluorescence *in situ* hybridization (FISH) [J]. Genetica, 2001, 111: 125- 131.
- [21] Kallman K D. A new look at sex determination in Poeciliid fishes[A]. Evolutionary genetics of fishes[C]. Plenum Press, New York, 1983. 95 - 171.
- [22] Baouiller J F, Nakayama I, Foresti F, et al. Sex determination studies in two species of teleost fish, *Oreochromis niloticus* and *Leporinus dongates*[J]. Zool Stud, 1996, 35: 279- 285.
- [23] Wu C J, Chen R D, Ye Y Z, et al. Production of all female carp and its application in fish cultivation[J]. Aquac, 1990, 85: 327.
- [24] Stanley J G, Martin J M, Jones J B. Gynogenesis as a possible method of producing monosex grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) [J]. Prog Fish Cult, 1975, 37: 25- 26.
- [25] Bongers A B J, Zandier Doukhi B, Voorthuis P K, et al. Genetic analysis of testis development in all male F₁ hybrid strains of common carp, *Cyprinus carpio*[J]. Aquac, 1997, 158: 33- 41.
- [26] Chen S L. Current status and prospects of studies on fish biotechnology in China[A]. Proc 1st Symp Young Fisheries Sci[C]. Shanghai: Tongji University Press, 1995. 11- 15. [陈松林. 我国鱼类生物技术的研究现状及前景展望[A]. 全国首届青年水产学术研讨会论文集[C]. 上海: 同济大学出版社, 1995. 11- 15.]
- [27] Ota K, Kobayashi T, Ueno K, et al. Evolution of heteromorphic sex chromosomes in the order Aulopiformes[J]. Gene, 2000, 259: 25- 30.
- [28] Yi M S, Yu Q X, Huang X, et al. Painting the chromosomes of fishes with human sex chromosome-specific DNA probes[J]. Acta Genet Sin, 2001, 28: 1- 6. [易梅生, 余其兴, 黄晓, 等. 人性染色体特异DNA对三种鱼类染色体的描绘[J]. 遗传学报, 2001, 28: 1- 6.]
- [29] Phillip R B, Konkol N R, Reed K M, et al. Chromosome painting supports lack of homology among sex chromosomes in *Oncorhynchus*, *Salmo* and *Salvelinus* (Salmonidae) [J]. Genetica, 2001, 111: 119- 123.
- [30] Ohno S. Patterns in genome evolution[J]. Curr Opin Genet Dev, 1993, 3: 911- 914.
- [31] Kondo M, Nagao E, Mitani H, et al. Differences in recombination frequencies during female and male meioses of the sex chromosome of the medaka, *Oryzias latipes*[J]. Genet Res, 2001, 78: 23- 30.
- [32] Nakayama I, Foresti F, Tewari R, et al. Sex chromosome polymorphism and heterogametic males revealed by two cloned DNA probes in the

- ZW ZZ fish *Leporinus elongates*[J]. *Chromosoma*, 103: 31– 39.
- [33] Almeida Toledo L F, Foresti F, Daniel M F, et al. Sex chromosome evolution in fish: the formation of the neo Y chromosome in Eigenmannia (Gymnotiformes) [J]. *Chromosoma*, 2000, 109: 197– 200.
- [34] Thorgaard G H. Sex chromosome in sockeye salmon: a Y-autosome fusion[J]. *Can J Genet Cytol*, 1978, 20(3): 349– 354.
- [35] Wachteld S, Demas S, Tiersch T, et al. BKM satellite DNA and ZFY in the coral reef fish *Anthias squamipinnis* [J]. *Genome*, 1991, 34: 612– 617.
- [36] Tiersch T R, Sincio B A, Davis K B, et al. Molecular genetics of sex determination in channel catfish: study on SRY, ZFY, BKM, and human telomeric repeats[J]. *Biol Reprod*, 1992, 47: 185– 192.
- [37] Zhou R J, Yu Q X, Cheng H H, et al. PCR amplification of SRY box genes in *Monopterus alba* and *Mastacembelus sinensis* [J]. *Sci Bull*, 1996, 41: 640– 642. [周荣家, 余其兴, 程汉华, 等. PCR 扩增黄鳍和刺鲃 SRY 盒基因[J]. *科学通报*, 1996, 41(7): 640– 642.]
- [38] Zhou R J, Yu Q X, Chen H H. Conservation analysis of SRY box gene in *Clarias fuscus* and *Brachydanio rerio* [J]. *Hereditas*, 1996, 18: 1– 3. [周荣家, 余其兴, 程汉华. SRY 盒基因在斑马鱼和胡子鲃中的保守性分析[J]. *遗传*, 1996, 18(1): 1– 3.]
- [39] Zhang Y, Chen C, Xu J L, et al. SRY gene is not related to sex determination in *Monopterus alba* [J]. *Prog Natural Sci*, 2001, 11: 365– 367. [张勇, 陈淳, 徐晋麟, 等. 黄鳍性别决定与 SRY 基因不相关[J]. *自然科学进展*, 2001, 11(4): 365– 367.]
- [40] Li K, Yu Q X, Zhao Z C, et al. A regional localization of SRY box gene on bivalent chromosomes of *Monopterus alba* [J]. *J Fish Sci China*, 1998, 5: 101– 103. [李奎, 余其兴, 赵则春, 等. 二价染色体上黄鳍 SRY 盒基因的高分辨率区域定位[J]. *中国水产科学*, 1998, 5: 101– 103.]
- [41] 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* [J]. *Chromosoma*, 2000, 109: 173– 180.
- [42] Lloyd M A, Field M J, Thorgaard G H. BKM minisatellite sequences are not sex associated but reveal DNA fingerprint polymorphism [J]. *Genome*, 1989, 32(5): 865– 868.
- [43] Ito M, Ishikawa M, Suzuki S et al. A rainbow trout SRY-type gene expressed in pituitary glands [J]. *FEBS Lett*, 1995, 377: 37– 40.
- [44] Fukada S, Tanaka M, Iwaya M, et al. The Sox gene family and its expression during embryogenesis in the teleost fish, medaka (*Oryzias latipes*) [J]. *Dev Growth Differ*, 1995, 37: 379– 385.
- [45] Chang Z J, Zhou R J, Yu Q X. The RFLP analysis of PdSox8 and PdSox9 in two kinds of loaches [J]. *Hereditas (Beijing)*, 2000, 22: 153– 156. [常重杰, 周荣家, 余其兴. 两种泥鳅中 PdSox8 和 PdSox9 的 RFLP 分析[J]. *遗传*, 2000, 22: 153– 156.]
- [46] Chang Z J, Zhou R J, Yu Q X. The chromosome mapping of PdSox8 and PdSox9 in two kinds of loaches [J]. *Acta Genet Sin*, 2000, 27: 377– 382. [常重杰, 周荣家, 余其兴. 两种泥鳅中 PdSox8 和 PdSox9 的染色体定位[J]. *遗传学报*, 2000, 27: 377– 382.]
- [47] Chang Z J, Zhou R J, Yu Q X. The conservative region sequence analysis of PdSox9 in *Paramisgurnus dabryanus* [J]. *Acta Genet Sin*, 2000, 27: 121– 126. [常重杰, 周荣家, 余其兴. 大鳞副泥鳅中 Sox9 基因保守区的序列分析[J]. *遗传学报*, 2000, 27: 121– 126.]
- [48] Matsuda M, Nagahama Y, Shinomiya A, et al. DMY is a Y-specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish [J]. *Nature*, 2002, 417: 559– 563.
- [49] Nanda I, Kondo M, Hornung U, et al. A duplicated copy of DMRT1 in the sex determining region of the Y-chromosome of the medaka, *Oryzias latipes* [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99: 11778– 11783.
- [50] Andrew P, Jennifer A, Marshall G. Sex chromosomes and sex determining genes: insights from marsupials and monotremes [A]. *Genes and mechanisms in vertebrate sex determination* [C]. Birkhauser Verlag, Basel, 2001. 71– 95.
- [51] Sakamoto T, Danzmann R G, Gharbi K, et al. A microsatellite linkage map of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) characterized by large sex-specific differences in recombination rates [J]. *Gene*, 2000, 155: 1331– 1345.
- [52] Devlin R H, Biagi C A, Smailus D E. Genetic mapping of Y-chromosomal DNA markers in Pacific salmon [J]. *Genetica*, 2001, 111: 43– 58.
- [53] Du S J, Devlin R H, Hew C L. Genomic structure of growth hormone genes in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*): presence of two functional genes, GH I and GH II, and a male specific pseudogene, GH psi [J]. *DNA Cell Biol*, 1993, 12: 739– 751.
- [54] Stein J, Phillips R B, Devlin R H. Identification of the Y chromosome in chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) [J]. *Cytogenet Cell Genet*, 2001, 92: 108– 110.
- [55] Devlin R H, Stone G W, Smailus D E. Extensive direct tandem organization of a long repeat DNA on the Y chromosome of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) [J]. *J Mol Evol*, 1998, 46: 277– 287.
- [56] Iturra P, Bagley M, Vergara N, et al. Development and characterization of DNA sequence OmyP9 associated with the sex chromosome [J]. *Heredity*, 2001, 86: 412– 419.
- [57] Hew C L, Du S J. Determination of genomic sex in salmonids [M]. United States Patent No. 5480774, 1996.
- [58] Coughlan T, Schartl M, Hornung U, et al. PCR-based sex test for *Xiphophorus maculatus* [J]. *J Fish Biol*, 1999, 54: 218– 222.
- [59] Kovacs B, Egedi S, Barfai R, et al. Male specific DNA markers from African catfish (*Clarias gariepinus*) [J]. *Genetica*, 2000, 110: 267–

276.

- [60] Vos P, Hogers R, Bleeker M, et al. AFLP: a new technique for DNA fingerprinting[J]. *Nucleic Acids Res*, 1995, 23: 4407- 4414.
- [61] Griffiths R, Orr K. The use of amplified fragment length polymorphism (AFLP) in the isolation of sex specific markers[J]. *Mol Ecol*, 1999, 8: 671- 674.
- [62] Wang X M, Song W Q, Chen R Y, et al. 2001. AFLP markers related to sex in a dioecious plant, *Ginkgo biloba* [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Nankaiensis*, 2001, 34: 5- 9. [王小梅, 宋文芹, 陈瑞阳, 等. 利用 AFLP 技术筛选银杏性别相关的分子标记[J]. *南开大学学报(自然科学版)*, 2001, 34(1): 5- 9.]
- [63] Streisinger G, Walker C, Lower N, et al. Production of clones of homozygous diploid zebrafish (*Brachydanio rerio*) [J]. *Nature*, 1981, 291: 293- 296.
- [64] Horstger Schwark G. Production of homozygous diploid zebrafish (*Brachydanio rerio*) [J]. *Aquac*, 1993, 112: 25- 37.
- [65] Trombka D, Avtalion R. Sex determination in Tilapia: a review [J]. *ISR J Aquacult BAMIDEGH*, 1993, 45: 26- 37.
- [66] Diatchenko L, Lau Y F, Chenchik A, et al. Suppression subtractive hybridization: a method for generating differentially regulated or tissue specific cDNA probes and libraries [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93 : 6025- 6030.
- [67] Yamamoto T A. YY male goldfish from mating estrone induced XY female and normal male [J]. *J Hered*, 1975, 66: 2- 4.
- [68] Yang Y Q, Zhang Z Y, Lin K H. Use of three line combination for production of genetic all-male *Tilapia mosambica* [J]. *Acta Genet Sin*, 1980, 7: 241- 246. [杨永铨, 张中英, 林克宏. 应用三系配套途径产生遗传上全雄莫桑比克罗非鱼 [J]. *遗传学报*, 1980, 7: 241- 246.]
- [69] Naglere J J, Bouma J, Thorgaard G H, et al. High incidence of a male specific genetic marker in phenotypic female chinook salmon from the Columbia River [J]. *Environ Health Perspect*, 2001, 109: 67- 69.