



性别特异分子标记在斑鳢全雄育种上的应用*

杨慧荣^{1,2}, 张淑瓶^{1,2}, 曾芳^{1,2}, 李水生³, 刘云³, 杨菁⁴, 黄晓声⁵, 叶树才⁵

1. 华南农业大学海洋学院, 广东 广州 510642
2. 华南农业大学中山创新中心, 广东 中山 528400
3. 广东省重要经济鱼类健康养殖工程技术研究中心 / 中山大学水生经济动物实验室, 广东 广州 510275
4. 中山市三角镇农业服务中心, 广东 中山 528445
5. 中山市农业科技推广中心, 广东 中山 528400

摘要: 为了快速筛选培育出全雄斑鳢, 本研究结合性别特异分子标记和三系配套育种技术, 开发了全雄斑鳢的育种方法。将健康的七日龄斑鳢幼鱼随机分成3组进行雌化处理, 在饲料中分别添加雌二醇(E2)100、300、600 mg/kg, 饲养60 d。利用性别特异分子标记引物M12、P2鉴定筛选出决定型为XY型斑鳢, 将XY型正常雄鱼与XY型伪雌鱼交配, 获得的子代分为两组, 一组为投喂正常饲料, 另一组进行雌激素投喂, 利用MX1和MX3引物筛选出YY超雄鱼, 最后将YY超雄鱼和正常雌鱼作为亲本交配生产出全雄斑鳢子代。结果显示, 600 mg/kg激素浓度组的性逆转率最高, 达75%, 从508尾经雌激素E2投喂的家系中筛选获得235尾具有XY基因型斑鳢。XY伪雌鱼与正常雄鱼交配获得的子代在2月龄时检测到22尾YY超雄鱼, 7月龄时检测到14尾YY超雄鱼, 筛选获得YY超雄鱼个体用于生产全雄子代。本研究方法显著提高了全雄化斑鳢育种效率, 缩短了育种周期, 展现出巨大的经济潜力和应用价值, 为其他鱼类开展性别特异分子标记辅助育种提供借鉴或参考。

关键词: 斑鳢; 生长二态性; 性别特异性分子标记; 全雄育种

中图分类号: S961.2 文献标志码: A 文章编号: 2097-0137(2025)01-0125-08

Application of sex-specific molecular markers for all-male breeding in *Channa maculata*

YANG Huirong^{1,2}, ZHANG Shuping^{1,2}, ZENG Fang^{1,2}, LI Shuisheng³,
LIU Yun³, YANG Jing⁴, HUANG Xiaosheng⁵, YE Shucui⁵

1. College of Marine Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China
2. Zhongshan Innovation Center of South China Agricultural University, Zhongshan 528400, China
3. Guangdong Provincial Engineering Technology Research Center for Healthy Breeding of Important Economic Fish / Laboratory for Aquatic Economic Animals, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China
4. Agricultural Service Center of Sanjiao Town, Guangdong Province, Zhongshan 528445, China
5. Zhongshan Agricultural Science and Technology Extension Center, Zhongshan 528400, China

* 收稿日期: 2024-06-12

录用日期: 2024-08-14

网络首发日期: 2024-09-26

基金项目: 中山市省科技专项资金项目(2021SDR003, 2022SDR001, 2023SDR006); 华南农业大学新农村发展研究院农业科技合作共建项目(2023XNYYNYKJHZGJ02, 2021XNYYNYKJHZGJ022)

作者简介: 杨慧荣(1977年生), 女; 研究方向: 水生经济动物繁殖与育种;

E-mail: hry@scau.edu.cn

张淑瓶(1999年生), 女; 研究方向: 水生经济动物分子生物学;

E-mail: 20232150017@stu.scau.edu.cn

(杨慧荣、张淑瓶并列第一作者)

全文阅读



ZR20240199

Abstract: In order to rapidly select and breed all-male *Channa maculata*, this study developed a breeding method for all-male *Channa maculata* by combining sex-specific molecular markers and the three-lines breeding technology. Healthy seven-day-old *Channa maculata* juveniles were selected for feminization, and the juveniles were randomly divided into three groups, and 100, 300 and 600 mg/kg of estradiol hormone was added to the feed for 60 d. The sex-specific molecular markers M12 and P2 were used to identify and screen out *Channa maculata* with the determinant of XY type. Next, the offspring obtained by mating XY-type normal males with XY-type pseudo-females were divided into two groups, one was fed with normal feed, and the other was subjected to estradiol hormone treatment. YY super males were screened using MX1 and MX3 primers, and finally, YY super males and normal females were mated as parents to produce all-male *Channa maculata* offspring. The results showed that the 600 mg/kg hormone concentration group had the highest sex reversal rate of 75%, and 235 *Channa maculata* with the XY genotype were screened from 508 lines fed with estrogen E2. 22 YY hypermales were detected at 2 months of age in the offspring obtained by mating XY pseudo-females with normal males and 14 YY hypermales were detected at 7 months of age. All the screened *Channa maculata* individuals were used to produce all-male offspring. The present method significantly improved the breeding efficiency and shortened the breeding cycle of *Channa maculata*, and showed a great economic potential and application value, which can be used as a reference for gender-specific molecular marker-assisted breeding in other fish species.

Key words: *Channa maculata*; sexual growth dimorphism; molecular marker-assisted; all-male fish breeding

斑鳢(*Channa maculata*)属鲈形目、鳢科、鳢属, 主要分布在海南和珠江水系, 因其肉质鲜嫩、蛋白质高、口感鲜美深受消费者青睐, 而且生长快, 产量高, 成为中国长江以南流行的养殖鱼类, 是我国重要经济淡水鱼类(Mao et al., 2017)。鱼类作为无脊椎动物和高等脊椎动物之间的进化纽带, 其性染色体系统非常多样化(Lin et al., 2021; Ou et al., 2020)。性别二态现象在鱼类中普遍存在, 并涉及生物学的许多方面, 包括体型、器官形态、体色、体长, 预期寿命以及生长速率(Leinonen et al., 2011; Rosenthal et al., 1998; Yasuda et al., 2005)。斑鳢具备显著的性别二态性(欧密等, 2022)。斑鳢的精巢比卵巢成熟晚, 性成熟后, 雌鱼吸收的能量大部分用于卵巢的发育, 而较少用于生长, 雄鱼则相反, 较多的能量用于生长, 导致雄鱼生长快于雌鱼, 在相同养殖条件下雄性斑鳢生长速度高于雌性斑鳢(刘改艳, 2011)。因此, 通过性别控制斑鳢的全雄育种能够提高斑鳢在生产实践的产率, 增加产量。目前, 传统方式培育出全雄育种的方法有很多, 但这些方法存在操作繁琐, 耗费时间长, 效果不佳等弊端, 不能够快速筛选出全雄育种的亲本基因型(Du et al., 2023)。性别特异分子标记相较于传统方法, 可用作单性

育种中快速识别鱼类性别的工具, 有效提高亲本基因型选择的准确性(Varela et al., 2021)。

分子标记辅助育种 MAS (marker-assisted selection) 是随着各种分子标记的出现而诞生的一种新型育种手段, 通过筛选出目的性状相关联的分子标记及其连锁基因, 使人们从分子水平准确分析个体的遗传组成, 从而筛选出具有优良性状的品种(Hasan et al., 2021; Song et al., 2023; 鲁翠云等, 2019)。性别特异分子标记为性别控制育种生物技术提供了重要的分子基础(Zhang et al., 2022)。该方法克服了传统育种手段选育周期长、不确定性因素多等缺点, 快速准确选育出所需的新品种(Hasan et al., 2021; Kushanov et al., 2021)。多数水产生物的重要经济性状, 如抗病力、生长速度、肉质等都表现为数量遗传性状, 难以通过传统的育种手段进行准确选育, 分子标记辅助育种的出现有效解决了这一难题(Aquaculture Genomics et al., 2017)。从1990开始, 科学家们采用了多种分子标记技术来探索鱼类的性别特异性分子标记包括限制性内切酶片段长度多态性(RFLP)、随机扩增多态性DNA标记(RAPD)、扩增片段长度多态性(AFLP)以及简单重复序列(SSR)(Liu et al., 2022; 刘洋等, 2023)。这些方法

广泛应用于探究各种鱼类的性别决定机制与育种实践, 实现了单性化养殖提高养殖鱼类的经济效益 (Kovács et al., 2000; Ninwichian et al., 2012; Wang et al., 2009)。斑鳢作为中国重要的经济鱼类, 又具有显著的生长二态性, 雄性生长速度明显快于雌性, 本研究借助分子技术手段进行性别标记的筛选并辅助三系配套技术达到全雄化养殖, 对提高育种效率, 缩短育种年限, 增加养殖效益具有重大帮助。

1 材料和方法

1.1 实验材料

本实验所选取的斑鳢均来自于广东梁氏水产种业公司(广东, 佛山)。

海洋动物基因组DNA提取试剂盒(中国天根)、无水乙醇、50×TAE电泳缓冲液、琼脂粉、波恩氏液、雌二醇(E2)、丁香酚均为分析纯国产试剂。超纯水系统为RephiLe RR400Q101(RephiLe, 中国); 凝胶图像分析系统为Tanon 1600(Tanon, 中国); PCR扩增仪为Bio-rad T100(Bio-rad, 美国); 紫外分光光度计为Nanodrop 2000C(Thermo, 美国); 冷冻离心机为Eppendorf 5804R(Eppendorf, 德国)。

1.2 实验方法

1.2.1 激素诱导性逆转 采用雌二醇(E2)诱导斑鳢性逆转, 称取相应激素溶解于200 mL无水乙醇中后与饲料混合, 分别配置成质量浓度为100、300和600 mg/kg的混合物, 均匀喷洒在1 kg饲料表面, 混合均匀后于干燥通风处过夜放置晾干, 室温密封保存。

选取性成熟雌性斑鳢和雄性斑鳢进行交配, 并收集受精卵后其分为激素投喂组及对照组。性逆转诱导前阶段, 即鱼苗孵化后1周内投喂丰年虫, 至孵化后第7天开始, 实验组投喂拌激素饲料, 对照组投喂正常饲料。投喂频率为每日早晚各投喂1次, 连续投喂60 d, 随后按照正常养殖方法将斑鳢培养性成熟(Ou et al., 2018)。

1.2.2 对照组生长数据测定 对照组同一家系正常养殖的斑鳢, 在6月龄时用30 mg/L丁香酚药浴麻醉后, 经解剖观察性腺区分其遗传表型后, 雌雄个体随机选取了60尾进行全长、体长及体质量相关数据的测量。对全长、体长及体质量采用*t*检验的统计方法($P < 0.05$)进行差异比较。

1.2.3 XY型斑鳢性别分子鉴定 注射电子便签到鱼体中, 并剪下一小块尾鳍放于装有 $\varphi=95\%$ 酒

精的离心管中, 按照海洋动物基因组DNA提取试剂盒使用说明书提取鱼体DNA。根据专利(CN202110073758.8)设计M12、P2性别分子标记引物以鉴定XY型斑鳢, 根据NCBI scaffold2711: 377-3719序列设计MX1和MX3引物, 用来将XY型斑鳢进一步区分为XX、XY和YY型斑鳢, 详情序列见表1。

表1 用于分子标记辅助选择的引物序列
Table 1 Primer sequences of 4 genes used for marker-assisted selection

基因	引物序列
M12	BL-M12_F: GCAAGCCAGTTTGTATGGAGTA
	BL-M12_R: CCAGAGGTGGATGTTCTTTATC
P2	P2Fx: CCTCTGTGTCCTCCCTGATAGCTC
	P2Rx: AAAGACCATAGCTGAGTACGGCAA
MX1	BL-MX1F: ACAATTAATAAAAAAGCCAAA
	BL-MX1R: ACTGACCAGCACATAGCAAG
MX3	BL-MX3F: CTTGGCTTGAAAGCAGAGTA
	BL-MX3R: ACTTTACCTACCCTATAACACT

以鱼体DNA为模板, 结合上述引物进行PCR反应, 反应体系为10 μ L, 包括dd H₂O 3.5 μ L, 10 μ mol/L primer-F 0.5 μ L, 10 μ mol/L primer-R 0.5 μ L, DNA template 0.5 μ L; PCR扩增条件为: 95 $^{\circ}$ C 5 min; 95 $^{\circ}$ C变性30 s, 60 $^{\circ}$ C退火30s, 72 $^{\circ}$ C延伸1 min, 共30个循环; 72 $^{\circ}$ C延伸5 min。PCR反应结束后, 取7.5 μ L点样于琼脂糖凝胶中, 以150 V电压电泳20 min。电泳完成后, 使用凝胶图像分析系统观察并拍摄条带, 保存结果图像, 并利用性别特异性引物进行结果分析和筛选XY型斑鳢。

1.2.4 XY型斑鳢生理学性别鉴定 重新选取性成熟XX型雌性斑鳢和XY型雄性斑鳢进行交配, 收集受精卵进行孵化培育后, 利用1.2.1中配置的激素饲料进行投喂诱导, 并利用通过M2、P12引物筛选XY型鱼。取XY型正常雄鱼、XY型雌鱼以及XY型伪雌鱼性腺组织于波恩氏液中固定过夜, 随后转移至 $\varphi=70\%$ 的酒精中保存。将样品依次置于 φ 为70%、80%、90%、95%、100%的酒精中, 每步在摇床上充分浸泡30 min后, 置于二甲苯中透明化处理15 min, 重复2次。随后将样品浸没于装满石蜡的包埋盒中, 并置于55 $^{\circ}$ C的烘箱中2.5~3 h。包埋结束后, 将样品放置冰中冷却2.5 h, 冷却后将样品固定于切片机上, 调试切片厚度为7~8 μ m进行切片处理, 并在切片上滴加 $\varphi=3\%$ 酒精

进行延展。组织切片染色处理用苏木素-伊红染色,具体步骤如下:将制成的切片置于二甲苯中 10 min,依次置于无水乙醇以及 φ 为 95%、80%、70%、50% 酒精中 5 min,苏木精染液中 30 s,随后流水温和冲洗 5~10 min。再将切片依次置于 φ 为 50%、70%、80%、95% 酒精中 5 min,伊红染液中染色 10 s,随后置于 $\varphi=95\%$ 酒精和无水乙醇中,无水乙醇中 5 min,二甲苯中 10 min,最后在切片上滴加中性树脂封片,镜检。

1.2.5 全雄斑鳢繁育 对所有性成熟 XY 型斑鳢根据每条鱼的体质量计算,每 kg 鱼体注射 1 500 IU 的绒毛膜促性腺激素(Human chorionic gonadotropin, HCG),其中能正常产卵的则为性逆转成功的 XY 型伪雌鱼。注射后收集 XY 型正常雄鱼与 XY 型伪雌鱼亲鱼精子和卵子进行受精并培育受精卵,对所得子代按照 1.2.1 步骤进行激素投喂。预期子代有 YY 超雄鱼、XX 正常雌鱼、XY 伪雌鱼及 XY 正常雄鱼。激素投喂 60 d 结束后,对投喂起始时间为二月龄的子代进行随机取鳍条进行基因型鉴定,以确认 YY 基因型的存在后放入养殖池塘进行培育。从投喂起始时间开始算七月龄时,捕捞斑鳢逐一注射电子便签并剪鳍条再次进行基因型鉴定。

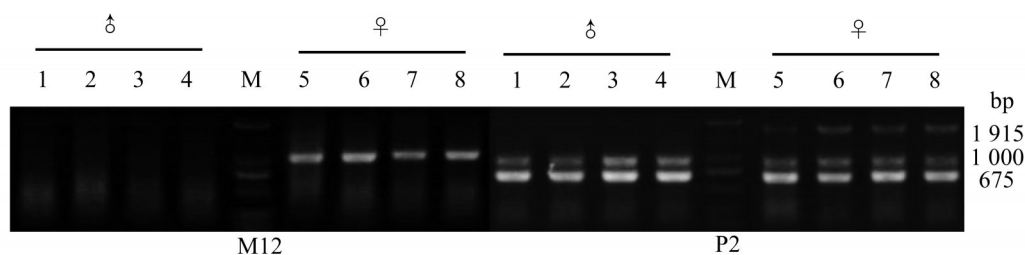


图 1 性别分子标记在雌、雄斑鳢中的琼脂糖凝胶电泳结果

Fig. 1 Results of agarose gel electrophoresis of sex-specific molecular marker in female and male *Channa maculata*

2.2 斑鳢雌雄生长差异的结果

对照组同一家系正常养殖的雌雄斑鳢各 60 尾的生长指标统计结果表明,雄性斑鳢全长、体长和体质量都显著高于雌性(图 3),该结果与此前已有的研究报道相吻合(文华康等, 2022)。

2.3 XY 型斑鳢的鉴定结果

性成熟季节,正常雌雄亲本斑鳢交配获得子代,子代性腺发育之前进行激素投喂,以达到性逆转获得伪雌鱼。理论上杂交后代 XY:XX = 1:1,经过 M12、P2 基因型鉴定分析,实际为 1.00:1.16,接近理论值,实际情况见表 3 所示。筛选所得到的 XY 型鱼中包含了 XY 型伪雌鱼和 XY 型正常雄鱼,

2 结果

2.1 性逆转率结果

通过不同质量浓度梯度的激素处理获得 XY 型伪雌鱼,结果表明最高激素质量浓度组 600 mg/kg 性逆转率也最高,具体情况见表 2。利用 M12、P2 特异性分子标记基因方法,获得了可以基于 PCR 产物电泳条带快速区分斑鳢雌雄。引物 M12 只在雄性中特异扩增,条带大小为 902 bp,在雌性中不能扩增出条带;引物 P2 在雄性中扩增出 3 条条带,分别为 1 915、1 000 和 657 bp,在雌性中只扩增 1 000 和 657 bp,不能扩增出雄性中最长 1 915 bp 条带(图 1)。通过组织切片观察 XY 型正常雄鱼、XX 型正常雌鱼和 XY 型伪雌鱼性腺组织,结果如图 2 所示,伪雌鱼性腺组织已经成功发育成卵巢组织。

表 2 性逆转率结果

Table 2 Results of sex reversal

w/(mg·kg ⁻¹)	XY(♀)	XY(♂)	性逆转率/%
100	24	13	62
300	27	11	71
600	44	14	75

待繁殖季节对所有 XY 型鱼一次性注射绒毛膜促性腺激素(HCG, human chorionic gonadotrophin),按照每 kg 体质量计算,注射量为 1 500 IU,能正常产卵的则为诱导成功的伪雌鱼,该卵子直接用于受精,受精卵含有 YY 型的群体。

2.4 YY 型斑鳢的鉴定结果

根据基因型和性别特征,选择 XY 型正常雄鱼和伪雌鱼作为亲本用以生产 YY 超雄鱼。由于输卵管异常,经 HCG 激素人工诱导后自然产卵的伪雌鱼仅有少数。但是卵子可以被挤出来,通过人工授精使精子受精。采用性别分子标记法对伪雌鱼和正常雄鱼交配产生的子代进行基因型分析,结

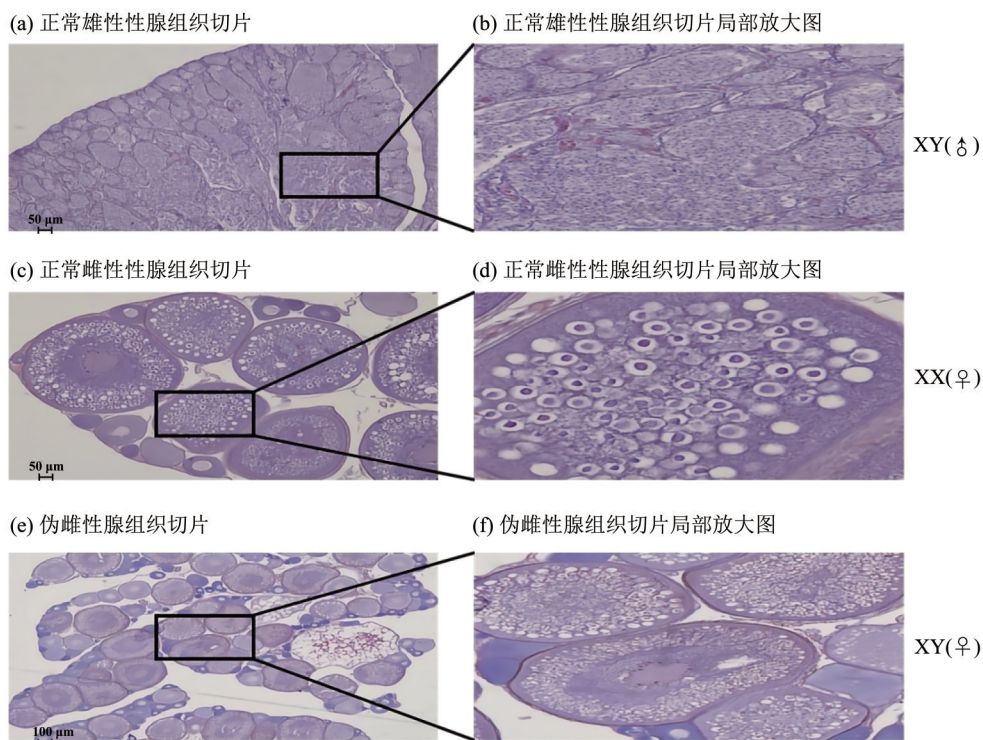
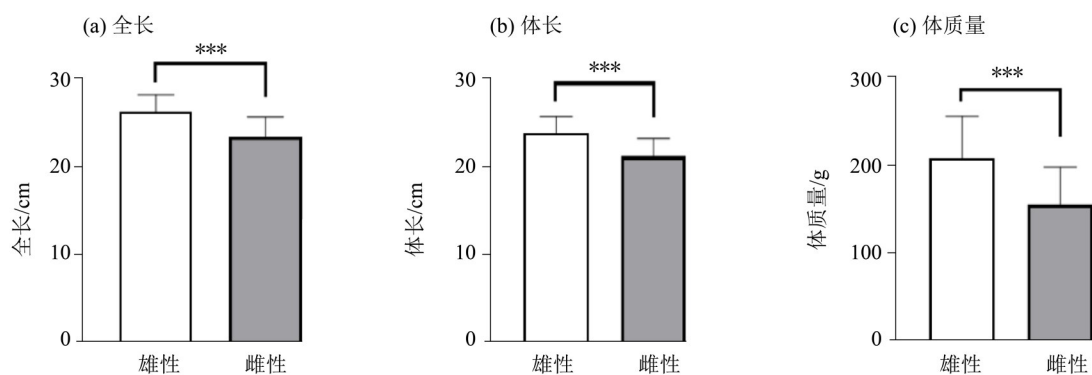


图 2 斑鳢正常雄性、雌性、伪雌的性腺组织切片

Fig. 2 Gonad sections of normal male, female and physiological female of *Channa maculata*



***表示 $P < 0.001$ 。

图 3 斑鳢雌雄生长差异图

Fig. 3 Growth difference between male and female of *Channa maculata*

表 3 XY 型鉴定结果

Table 3 Results of XY genotype identification

批次	XY	XX	性别比例(XY:XX)
1	93	135	1.00:1.40
2	142	138	1.00:1.00
总计	235	273	1.00:1.16

果显示, 在正常群体中只能检测到 2 种基因型, 而在伪雌鱼和正常雄鱼子代中可以检测到 3 种基因

型。基因型使用 $w=1\%$ 琼脂糖凝胶电泳进行分析, 可快速准确地地区分出斑鳢的 XX、XY 和 YY 基因型。引物 MX1 在 XX 扩增 1 条电泳带, 3 条 XY 电泳带, 2 条 YY 电泳带; 引物 MX3 只在 XX、XY 扩增 1 条电泳带, YY 型不扩增(图 4)。

第 1 批次 102 个个体中检测出 22 个新的基因决定型 YY 超雄鱼, $YY:XY:XX=1.0:2.4:1.2$, 接近理论值 1:2:1。第 2 批次为 7 月龄时取样鉴定的结果, $YY:XY:XX=14:52:44$ 。组织切片表型鉴定与基因型一致, 进一步增强了伪雌鱼的可靠性。

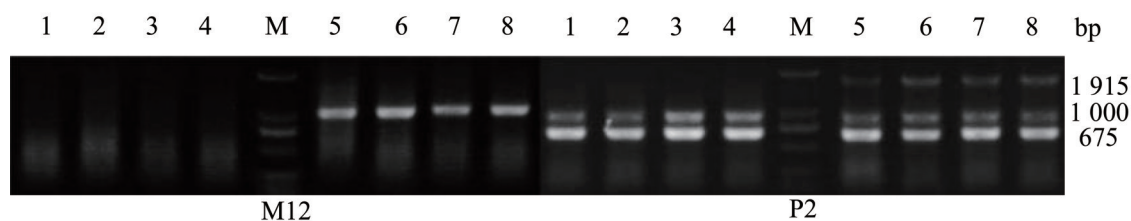


图4 性别分子标记在斑鳢中XX、XY、YY基因型中的琼脂糖凝胶电泳结果

Fig. 4 Agarose gel electrophoresis results of sex molecular markers in XX, XY and YY genotypes in *Channa maculata*

表4 YY超雄鱼鉴定结果

Table 4 The results of identification of YY genotype super male fish

批次	月龄	YY/尾	XY/尾	XX/尾	性别比例 (YY:XY:XX)
1	2	22	53	27	1.0:2.4:1.2
2	7	14	52	44	14:52:44

3 讨论

本研究通过利用性别特异分子标记技术并结合三系配套技术实现斑鳢的全雄育种,刘洋等(2023)的研究表明,性别特异性分子标记技术在水产鱼类育种中得到了广泛应用,已经推广到尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)(Chen et al., 2019)、半滑舌鲷(*Cynoglossus semilaevis*)(Liao et al., 2014)和黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)(熊阳, 2022)等水产鱼类,显著提高了鱼类单性育种效率和准确性(刘洋等, 2023)。Liao et al.(2014)通过测序手段及性别特异性分子标记,筛选出一对半滑舌鲷雌性特异SCAR引物,并结合三系配套技术成功实现了全雌化养殖。此外,Chen et al.(2019)的研究指出,分子标记辅助育种克服了传统育种效率低、育种年限长等缺点,使育种的目标和结果更可控,从而为培育更多优良新品种提供了可能。由于斑鳢雄性生长速度显著优于雌性,且后代乌斑杂交鳢在各方面性能上表现优异,培育全雄斑鳢具有巨大的经济潜力(Ou et al., 2020)。

雌二醇(E2)作为性别调控因子,并通过本实验验证了其在斑鳢性逆转过程中的重要作用。实验中,将七日龄斑鳢幼鱼分组处理,饲料中分别添加100、300、600 mg/kg的雌二醇。结果表明,600 mg/kg浓度组的性逆转率最高,达75%,这与先前研究中雌二醇通过上调*cyp19a1a*基因表达,促进雌性性腺发育的机制一致(Guiguen et al., 2010)。利用性别特异分子标记技术筛选出XY伪雌鱼与YY超雄鱼,进一步支持了雌二醇在性别分

化中的作用(Piferrer et al., 2005)。雌激素处理后的检测结果显示,在2月龄和7月龄时分别检出YY超雄鱼,证实了雌二醇在早期性别分化阶段的关键性作用,并显著提高了YY超雄鱼的筛选效率(Nakamura et al., 1998)。这些结果表明,雌二醇在斑鳢的全雄育种中具有重要应用价值,为其他鱼类的单性育种研究提供了重要参考。

在本实验中,性逆转XY型伪雌鱼和正常雄鱼的子代中出现了新的基因型,但其比例显著偏离了预期。从表型上看,雌雄比例为1:1.98,显著低于预期。在雄性组中,只有16.98%的个体是YY超雄鱼,远低于理论预期的33.3%(Mair et al., 1997)。Zhang et al.(2019)的研究显示,在半滑舌鲷中,预期带有WW染色体的超雌鱼无法存活,阻碍了全雌性种群的繁殖计划。对于典型的XY型性别决定物种,如乌鳢(*Channa argus*)和黄颡鱼,YY超雄鱼的存活和生育能力至关重要(Fjellidal et al., 2020)。伪雌鱼与正常雄鱼子代的雌雄性别比例应为1:3,约有25%的新基因型出现,YY超雄鱼低于预期的原因需要进一步研究。早在1964年,日本学者将XY型雄性青鳉(*Oryzias latipes*)与经雄激素诱导的XY功能性雌鱼交配,其子代比例也严重偏离理论值,并推测青鳉Y染色体上存在惰性位点(-),X染色体相应位置具有可行性位点(+),如果两条染色体均存在惰性位点将导致个体致死(Yamamoto, 1964)。斑鳢YY超雄鱼的稀少性可能也与青鳉相似,是性染色体特殊位点共同作用的结果(Mukai et al., 2022)。综上所述,在单性繁殖育种中,性逆转个体伪雌鱼和伪雄鱼以及新基因型超雄鱼和超雌鱼的生育能力和存活率是决定单性育种成功的关键因素。虽然目前研究尚未完全掌握其中的复杂机理,但YY超雄鱼的成功培育展示了利用分子标记辅助育种技术的巨大潜力。本研究成功繁育出YY超雄鱼并且由此获得斑鳢全雄体系,一方面推进斑鳢全雌化养殖进程,为斑鳢产业带来巨大的经济效益,另一方面为其他鱼类

的特异性分子标记的开发提供参考, 促进水产养殖业的快速发展。

参考文献:

- 刘改艳. 2011. 乌鳢、斑鳢性别差异 SSR 标记的初步筛选及其遗传多样性分析[D]. 上海: 上海海洋大学.
- 刘洋, 陈松林, 2023. 鱼类性别特异分子标记筛选及分子性控育种研究现状与展望[J]. 水产学报, 47(11): 32-41.
- 鲁翠云, 匡友谊, 郑先虎, 等, 2019. 水产动物分子标记辅助育种研究进展[J]. 水产学报, 43(1): 36-53.
- 欧密, 赵建, 罗青, 等, 2022. 鳢性别控制育种及应用研究进展[J]. 中国农业科技导报, 24(2): 11-25.
- 文华康, 马志洲, 王河林, 2022. 新品种“雄鳢1号”与杂交鳢的生长对比研究[J]. 中国水产, (9): 73-74.
- 熊阳, 2022. XX 伪雄黄颡鱼高效高质创制及 X/Y 精子差异表达基因鉴定[D]. 武汉: 华中农业大学.
- AQUACULTURE GENOMICS G A B W, ABDELRAHMAN H, EIHADY M, et al, 2017. Aquaculture genomics, genetics and breeding in the United States: Current status, challenges, and priorities for future research [J]. BMC Genomics, 18(1): 191.
- CHEN C H, LI B J, GU X H, et al, 2019. Marker-assisted selection of YY supermales from a genetically improved farmed tilapia-derived strain [J]. Zool Res, 40 (2) : 108-112.
- DU J, LIU Q, ZHENG Y, 2023. Screening and characterization of sex-specific sequences through 2b-RAD sequencing in American shad (*Alosa sapidissima*) [J]. PLoS One, 18 (3): e0282165.
- FJELLDAL P G, HANSEN T J, WARGELIUS A, et al, 2020. Development of supermale and all-male Atlantic salmon to research the vgl13 allele-puberty link [J]. BMC Genet, 21(1): 123.
- GUIGUEN Y, FOSTIER A, PIFERRER F, et al., 2010. Ovarian aromatase and estrogens: A pivotal role for gonadal sex differentiation and sex change in fish [J]. General and Comparative Endocrinology, 165 (3) : 352-366.
- HASAN N, CHOUDHARY S, NAAZ N, et al, 2021. Recent advancements in molecular marker-assisted selection and applications in plant breeding programmes [J]. J Genet Eng Biotechnol, 19(1): 128.
- KOVÁCS B, EGEDI S, BÁRTFAI R, et al, 2000. Male-specific DNA markers from African catfish (*Clarias gariepinus*) [J]. Genetica, 110(3): 267-276.
- KUSHANOV F N, TURAEV O S, ERNAZAROVA D K, et al, 2021. Genetic diversity, QTL mapping, and marker-assisted selection technology in cotton (*Gossypium* spp.) [J]. Front Plant Sci, 12: 779386.
- LEINONEN T, CANO J M, MERILÄ J, 2011. Genetic basis of sexual dimorphism in the threespine stickleback *Gasterosteus aculeatus* [J]. Heredity, 106(2): 218-227.
- LIAO X, XU G, CHEN S L, 2014. Molecular method for sex identification of half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) using a novel sex-linked microsatellite marker [J]. Int J Mol Sci, 15(7): 12952-12958.
- LIN H, ZHOU Z, ZHAO J, et al, 2021. Genome-wide association study identifies genomic loci of sex determination and gonadosomatic index traits in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) [J]. Mar Biotechnol, 23 (1) : 127-139.
- LIU B H, ZHANG Y Q, MA K Y, et al, 2022. Identification of sex-specific markers and ZW-chromosome DNA clones from the genomic BAC library of the Chinese mitten crab *Eriocheir sinensis* [J]. Aquaculture, 560: 738576.
- MAIR G C, ABUCAY J S, ABELLA T A, et al, 1997. Genetic manipulation of sex ratio for the large-scale production of all-male *Tilapia Oreochromis niloticus* [J]. Can J Fish Aquat Sci, 54(2): 396-404.
- MAO H, CHEN K, ZHU X, et al, 2017. Identification of suitable reference genes for quantitative real-time PCR normalization in blotched snakehead *Channa maculata* [J]. J Fish Biol, 90(6): 2312-2322.
- MUKAI K, HARA S, SAKIMA K, et al, 2022. Oxidative stress causes masculinization of genetically female medaka without elevating cortisol [J]. Front Endocrinol, 13: 878286.
- NAKAMURA M, KOBAYASHI T, CHANG X T, et al, 1998. Gonadal sex differentiation in teleost fish [J]. J Exp Zool, 281(5): 362-372.
- NINWICHIAN P, PEATMAN E, PERERA D, et al, 2012. Identification of a sex-linked marker for channel catfish [J]. Anim Genet, 43(4): 476-477.
- OU M, CHEN K, GAO D, et al, 2020. Comparative transcriptome analysis on four types of gonadal tissues of blotched snakehead (*Channa maculata*) [J]. Comp Biochem Physiol Part D Genom Proteom, 35: 100708.
- OU M, ZHAO J, LUO Q, et al, 2018. Characteristics of hybrids derived from *Channa argus* ♀ × *Channa maculata*

- ♂[J]. *Aquaculture*, 492: 349–356.
- PIFERRER F, BLÁZQUEZ M, 2005. Aromatase distribution and regulation in fish[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 31(2/3): 215–226.
- ROSENTHAL G G, EVANS C S, 1998. Female preference for swords in *Xiphophorus helleri* reflects a bias for large apparent size[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95(8): 4431–4436.
- SONG L, WANG R, YANG X, et al, 2023. Molecular markers and their applications in marker-assisted selection (MAS) in bread wheat (*Triticum aestivum* L.) [J]. *Agriculture*, 13(3): 642.
- VARELA E S, BEKAERT M, GANECO-KIRSCHNIK L N, et al, 2021. A high-density linkage map and sex-linked markers for the Amazon Tambaqui *Collossoma macropomum*[J]. *BMC Genomics*, 22(1): 709.
- WANG D, MAO H L, CHEN H X, et al, 2009. Isolation of Y- and X-linked SCAR markers in yellow catfish and application in the production of all-male populations[J]. *Anim Genet*, 40(6): 978–981.
- YAMAMOTO T O, 1964. The problem of viability of YY zygotes in the medaka, *oryzias latipes* [J]. *Genetics*, 50(1): 45–58.
- YASUDA N, GLOVER E I, PHILLIPS S M, et al, 2005. Sex-based differences in skeletal muscle function and morphology with short-term limb immobilization [J]. *J Appl Physiol*, 99(3): 1085–1092.
- ZHANG Q Q, WANG X B, LIU J X, 2019. Progress and prospects of sex determination and sex control in Chinese tongue sole *Cynoglossus semilaevis* [J]. *Period Ocean Univ China*, 49(10): 43–53.
- ZHANG S Q, XIONG X M, SHI R H, et al, 2022. Screening and characterization of sex-specific markers for the hybrid (*Megalobrama amblycephala* ♀ × *Ancherythroculter nigrocauda* ♂) based on 2b-RAD and transcriptome sequencing[J]. *Aquaculture*, 548: 737704.

(责任编辑 张 冰)