

## 超雄性 (YY) 尼羅吳郭魚之選育及單雄性魚苗量產的應用

陳榮華<sup>1\*</sup> · 蔡添財<sup>2</sup> · 劉富光<sup>3</sup>

<sup>1</sup> 行政院農業委員會水產試驗所淡水繁養殖研究中心

<sup>2</sup> 國立台灣海洋大學水產養殖學系

<sup>3</sup> 行政院農業委員會水產試驗所

### 摘 要

本試驗主要目的是以尼羅吳郭魚生產基因型 YY 的超雄性魚，再用 YY 超雄性魚與正常雌性魚交配大量生產全雄性魚苗供商業化養殖。以含雌性激素 (17 $\alpha$ -ethynylestradiol, 17 $\alpha$ -EE) 100 mg/kg 的飼料連續餵食正常 XY 雄性魚及 YY 超雄性魚 60 天，分別得到 93.9% 具有雌性功能的變性雌魚 (XY $\Delta$ ♀) 以及 46.88% 超雄性變性雌魚 (YY $\Delta$ ♀)，顯示正常雄性魚變性較超雄性魚容易。子代測試結果顯示變性雌魚與正常雄魚交配的子代中有 25% 的 YY 超雄性魚、YY 變性雌魚與正常雄魚交配結果，子代 XY 及 YY 雄魚各佔一半。同時 YY 變性雌魚與 YY 超雄性魚交配子代均為 YY 超雄性魚，顯示尼羅吳郭魚性染色體為 XX-XY 型。各階段子代測試過程，與 YY 超雄性魚交配所得到的子代並未完全達到 100% 雄性，顯示性別並非完全由單基因因子決定，而且顯示與交配親魚個體有關，因此推斷性別是由性染色體基因、體基因及環境 (如溫度) 等複雜的因子共同決定。本次試驗 YY 超雄性魚與正常雌魚 (XX) 交配，結果顯示魚苗的雄性比例達到 97.08%。因此本研究結果可以運用在商業化全雄性尼羅吳郭魚苗的量產，提供吳郭魚單雄性養殖。

關鍵字：尼羅吳郭魚、超雄性吳郭魚、單雄性吳郭魚、性轉變雌魚、性別決定

### 前 言

世界人口不斷增加，魚類消費需求亦隨之增加，由 1970 年至 2010 年供應人類食用的魚產量已由 40,800 萬公噸增至 128,300 萬公噸，平均年增率為 2.9%。近年來 (1970 ~ 2010) 天然捕撈漁業，在 2001 年以後，每年產量大約維持在 9,000 ~ 9,500 萬公噸之間，至 2010 年已達 68,400 萬公噸，平均年增率為 1.5%，低於同期間人口的成長率 1.6%。天然捕撈已到達極限，出現生產停滯的現象，加上天候變化，能源短缺促使漁獲成本升高，魚價上漲，養殖漁業乘勢發展以彌補天然捕撈之不足。在同時期養殖漁業產量每年則以 8.2% 的成長率增加，自 1970 年的 2,600 萬噸到 2010 年已達

59,900 萬公噸 (FAO Year Book, 2012)。

1981 年至 2006 年世界吳郭魚養殖平均年成長 8.1%，而同一期間吳郭魚飼料平均年成長 11.2%，可以看出，吳郭魚養殖生產在這段時間已悄然的快速增加 (The World Fish Center, 2009)，至 2010 年全世界生產量已超過 320 萬公噸。目前吳郭魚類已是世界上，尤其是熱帶和亞熱帶地區最主要的淡水養殖魚種，被譽為二十一世紀之魚或稱為人民之魚。

近年來由於中國與東南亞、中南美洲、非洲等地區的許多國家大力發展吳郭魚養殖，吳郭魚已成為全球養殖最多、最廣的魚種，因此也被稱為“水產之雞” (aquatic chicken) (Maclean, 1984)，代表吳郭魚養殖已經猶如陸地的家禽養殖一般的普遍，且其肉質優良，普遍被消費者接受及喜愛。目前在台灣養殖吳郭魚已不只是當初用來補充貧窮人家的動物性蛋白質，而且已是一種令人食用安心，符合衛生、安全的優質魚產品 (稱為台灣

\*通訊作者 / 彰化縣鹿港鎮海埔里 106 號, TEL: (04) 777-2175; FAX: (04) 777-5424; E-mail: CRH@mail.fwtk.tfrin.gov.tw

鯛)。是目前附加價值最高，外銷產量最多的養殖產業。依台灣漁業年報的資料，2000年台灣吳郭魚的產量為 5 萬公噸，至 2010 年產量已經達到 7.5 萬公噸左右，居台灣魚產量的第三位，佔台灣漁業總產量的 6.42%，產值為台幣 34.63 億元，總養殖面積 6,843.19 公頃，是台灣第一大養殖魚種，也是台灣最具養殖發展潛力及國際競爭性的魚種。因此行政院農業委員會在2003年將台灣鯛列為外銷旗艦產品。未來吳郭魚養殖還會繼續成長，但口孵的吳郭魚類早熟及無法有效的控制其生殖行為是吳郭魚養殖發展最大的問題 (Hickling, 1963; Hulata *et al.*, 1983)，如二個月大的莫三比克吳郭魚即能成熟產卵，尼羅吳郭魚在天然湖泊環境下約 10 ~ 12 月 (350 ~ 500 g) 達到性成熟，在養殖池塘中則在 5 ~ 6 個月 (150 ~ 200 g) 即能成熟產卵 (Jalabert and Zohar, 1982; Brummett, 1994)，因此當雌雄兩性魚混在一起養殖時，吳郭魚就會因繁殖消耗能量使成長緩慢，另一方面新生的魚苗逐漸成長，造成養殖池魚密度過高多數體形偏小，市場價格較低，且增加飼料成本 (Tuan *et al.*, 1998; Abucay *et al.*, 1999)。最普遍的解決方法就是養殖單雄性吳郭魚 (Mair *et al.*, 1997; Beardmore *et al.*, 2001)。

雄性吳郭魚的成長較快且體型較大 (Pruginin *et al.*, 1975; Hanson *et al.*, 1983; 郭和蔡, 1984, 1985)。過去試驗結果顯示不論純種或雜交種吳郭魚，雄性魚的成魚體重最大可以達到雌性成魚體重的 2.65 倍 (郭與蔡, 1986)。全雄性養殖不僅可以防止雌雄混養所衍生的問題，並能提高生產量 (Macintosh *et al.*, 1985)，是商業化養殖的最佳選擇。

全雄性吳郭魚生產之方法主要有五種，分別為：(1)人工選別法 (Guerrero III, 1982; Baroiller and Toguyeni, 1996)；(2)激素處理變性法 (Yamazaki, 1976; Macintosh *et al.*, 1985)；(3)雜交生產單雄性法 (Wohlfarth and Hulata, 1981; McAndrews and Majumdar, 1989)；(4)生產三倍體不孕性魚法 (Chourrout *et al.*, 1983; Pandian and Varadaraj, 1988) 及 (5)超雄性吳郭魚交配生產法 (Mair *et al.*, 1997)。

以雌性激素處理吳郭魚苗可以將具有 XY 染色體的雄性魚變性成外表型的雌性魚，可以成熟產卵 (但仍保有雄性魚的 XY 染色體)，用此變性

魚與正常之雄性魚交配所得子代之雌雄比例，來探討吳郭魚類的性染色體，結果顯示吳郭魚具有 XX-XY 及 WZ-ZZ 兩種不同的性染色體系統，而尼羅吳郭魚 (*Oreochromis niloticus*) 和莫三比克吳郭魚 (*O. mossambicus*) 為 XX-XY 型，雌性魚為同型配子 XX (homogamety)，雄性魚則為異型配子 XY (heterogamety)。歐利亞吳郭魚 (*O. aureus*) 和賀諾奴吳郭魚 (*O. hornorum*) 為 WZ-ZZ 型，雌性魚為異型配子 WZ，雄性魚為同型配子 ZZ (Jensen and Shelton, 1979; Mair *et al.*, 1987; Scott *et al.*, 1989; Melard, 1995)。Shah (1988) 以雌核發生 (gynogenesis) 法研究亦證明尼羅吳郭魚之雌性魚為 XX 同型配子，如此性轉變的尼羅吳郭魚雄性魚 (XX $\Delta$  $\delta$ ) 與正常雌性魚 (XX $\delta$ ) 交配所得的子代全部是雌性魚 (XX $\delta$ )，反之變性的歐利亞雌性魚 (ZZ $\Delta$  $\delta$ ) 與正常雄性魚 (ZZ $\delta$ ) 交配所有子代將全部為雄性魚 (ZZ $\delta$ )。

因此經過性轉變的尼羅吳郭魚雌性魚 (XY $\Delta$  $\delta$ ) (其基因型仍保持為 XY)，與正常雄性魚 (XY $\delta$ ) 進行交配，子代中會有 25% 的 YY 超雄性魚。這些超雄性魚 (YY $\delta$ ) 可以利用子代測試 (progeny testing) 篩選出來 (Hammerman and Avtalion, 1979; Scott *et al.*, 1989)，而後再由這些超雄性魚 (YY $\delta$ ) 與一般雌性魚 (XX $\delta$ ) 交配大量生產全雄性 (XY $\delta$ ) 魚苗 (Wohlfarth and Hulata, 1981; Purdom, 1986; Scott *et al.*, 1989)，此一過程即稱為 YY 超雄性魚的生產技術 (YY supermales production technology)，如此即能商業化生產單雄性尼羅吳郭魚苗供應養殖。

目前臺灣主要養殖之單雄性吳郭魚魚苗是由尼羅吳郭魚雌魚和歐利亞吳郭魚雄性魚雜交的子代，其雄性比率雖高，但體型、肥滿度、取肉率及成長速度並不如雄性尼羅吳郭魚 (陳等, 2008)，另外因為不同吳郭魚品系之間容易自然相互交配，要維持兩種良好的純種系統並不容易 (Pruginin *et al.*, 1975)，在商業化養殖上受到極大的限制。

本試驗使用成長快，餌料效率好，體型肥滿的優良尼羅吳郭魚品系 (陳等, 2008)，利用 YY 超雄性魚生產技術，生產超雄性尼羅吳郭魚。同時將具有 YY 之超雄性尼羅吳郭魚苗以雌性激素變性成雌性魚 (YY $\Delta$  $\delta$ )，兩者相互交配的子代都具

有 YY 之超雄性吳郭魚，養成後可做為種魚，用來大量生產單雄性尼羅吳郭魚魚苗 (XY♂)。期望能以這種遺傳方式大量生產單雄性或高比率雄性之尼羅吳郭魚種苗供業者養殖，來提高吳郭魚成長速度、增加取肉率及縮短養殖時間，達到降低成本、生產優質吳郭魚、區隔競爭市場及增加國際競爭力之目的。

## 材料與方法

### 一、試驗用魚

試驗魚採用本研究中心長期育種選拔及保存的優良尼羅吳郭魚 (*O. niloticus*)。其成長、餌料效率及取肉率等均較目前台灣養殖的其他品系或雜交種良好 (陳等, 2008)。

### 二、變性飼料的調配及魚苗飼育

將雌性激素 17 $\alpha$ -ethynylestradiol (17 $\alpha$ -EE) 以 95% 乙醇溶解後，與鰻粉混合成 100 mg/kg 濃度之飼料，置放在抽氣櫥中一天，讓乙醇揮發，再分裝於塑膠袋，並儲存於 4°C 中備用，與 Guerrero *et al.* (1975) 所述過程相同但濃度稍有修改。另對照組之飼料亦混合同量的乙醇處理但不加雌性激素。

由雌魚口中取出孵化中的魚苗，蓄養於室內 FRP 桶。待卵黃囊快要完全吸收時分成兩組，分別餵食含有 17 $\alpha$ -EE 的飼料及對照組之飼料。每天上、下午各投飼一次至飽食為止，連續投飼 60 天後將 XY 及 YY 魚苗均移至室外養殖池，以一般粒狀飼料餵食至性別檢查為止。

### 三、試驗流程

試驗流程如 Fig. 1 所示。首先以含有雌性激素的飼料投飼尼羅吳郭魚魚苗，使其變性為雌魚 (XY $\Delta$ ♀) 【註：文中所指之“ $\Delta$ ♀”係指經 17 $\alpha$ -EE 變性，有雌魚之外表型 (phenotype)，但仍具雄魚之基因型 (genotype) 的變性魚 (Mair *et al.*, 1987)】，養成後與正常雄魚 (XY♂) 交配。其後，進行子代測試 (progeny testing)，分別篩選出變性雌魚 (XY $\Delta$ ♀) 及超雄性魚 (YY♂)。再以子代測試檢查超雄性魚 (YY♂) 與正常雌魚 (XX♀)

交配後產出的雄性魚苗比例。最後將超雄性魚 (YY♂) 變性，並經由子代測試，篩選超雄性變性雌魚 (YY $\Delta$ ♀)。再以超雄性魚 (YY♂) 分別與超雄性變性雌魚 (YY $\Delta$ ♀) 與正常雌魚 (XX♀) 進行交配。

### 四、子代測試 (progeny testing)

子代測試分四階段進行，即分別篩選 (1) 具有雄性染色體 (XY) 的變性雌魚 (XY $\Delta$ ♀)；(2) 具有 YY 染色體的超雄性魚 (YY♂)；(3) 具有 YY 染色體的超雄性變性雌魚 (YY $\Delta$ ♀) 以及 (4) YY 變性雌魚 (YY $\Delta$ ♀) 與 YY 超雄魚 (YY♂) 交配後，超雄性魚所佔的比率。

#### (一) 篩選變性之雌性魚 (XY $\Delta$ ♀)

(Fig. 1 step-1)

以 17 $\alpha$ -EE 處理變性的魚苗，養成至性成熟，選擇外表體型稍大且具有雌性生殖孔的雌魚與正常雄魚 (XY)，以雌雄 1 對 1 方式配對，放養在水泥池中。繁殖之子代，飼育至體重約 50 g 以上時，從生殖孔外觀判斷性別，如無法明顯判別時，則解剖取出生殖腺確認。計算其雌雄比例，經卡方分析 (chi-square analysis) 後，當雌雄比 1:3 無顯著差異時，則判定該雌性魚為具有 XY 性染色體的變性雌魚 (XY $\Delta$ ♀)，而且此子代中會有 25% 的魚苗具有 YY 性染色體的超雄性魚。

#### (二) 篩選 YY 性染色體的超雄性魚 (YY♂)

(Fig. 1 step-2)

由變性雌魚 (XY $\Delta$ ♀) 與正常雄魚 (XY) 交配所得之雄性子代中，養成後選出雄性魚與正常雌魚 (XX) 在繁殖池中交配，檢查與計算產出之子代的雌雄比。當卡方測試之雌雄比偏離 1:1 時，如具有高比率雄性或 100% 雄性，則得知該雄性魚應為具有 YY 性染色體的超雄性魚。

#### (三) 篩選具有 YY 性染色體的變性雌魚

(YY $\Delta$ ♀) (Fig. 1 step-3)

將具有 XY 性染色體的變性雌魚 (XY $\Delta$ ♀) (step-1) 與具有 YY 性染色體的超雄性魚 (YY♂) (step-2) 交配，繁殖的子代為具有 XY 性染色體及 YY 性染色體各一半的全雄性魚苗。魚苗以 17 $\alpha$ -EE

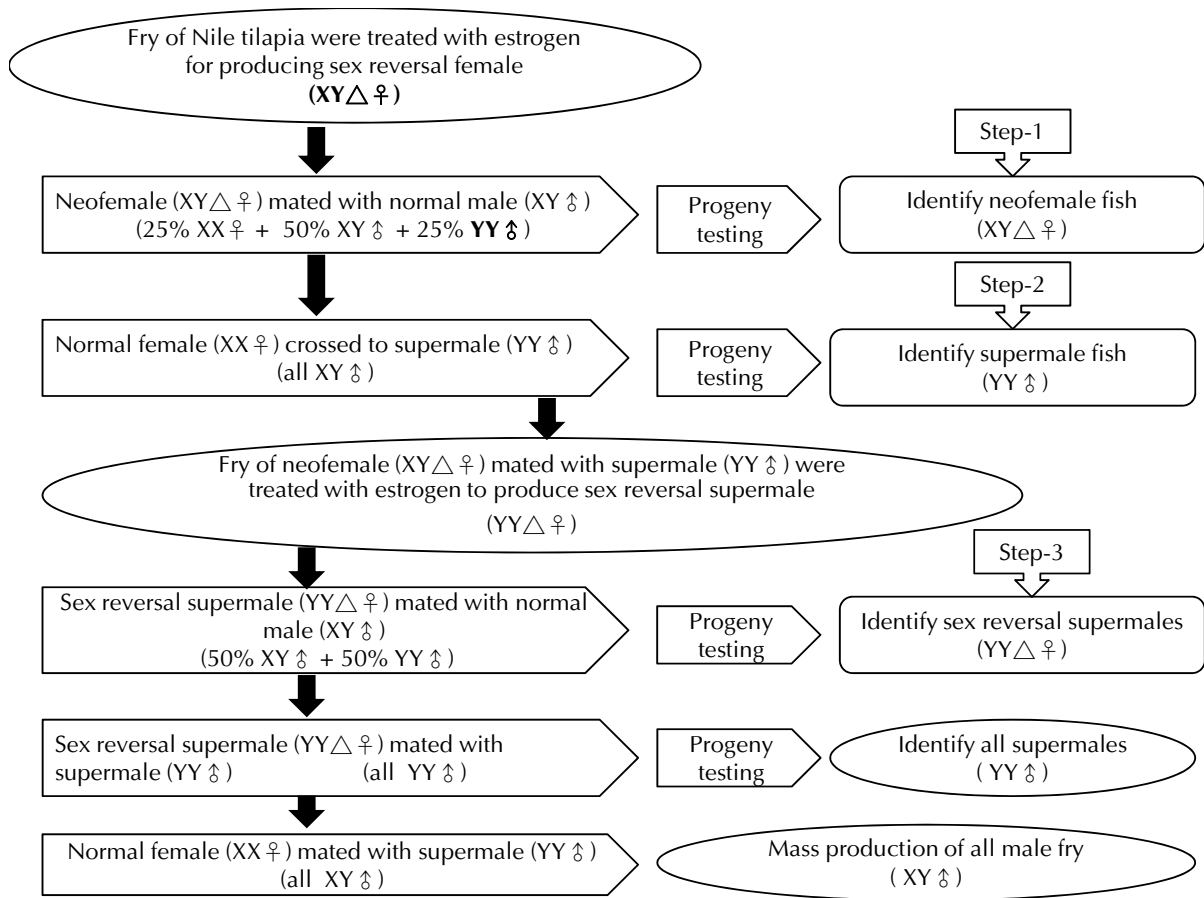


Fig. 1 Flow chart of mass production Nile tilapia supermale YY and all-male progenies.

處理變性，並飼養至性成熟。超雄性變性雌魚 (YYΔ♀) 與正常雄魚 (XY♂) 交配，檢查繁殖子代之雌雄性比。經卡方測試，雌雄比與 1:3 具有顯著差異性，且有高比率雄性或 100% 雄性時，則該雌魚就是具有 YY 性染色體的變性雌魚 (YYΔ♀)。雌雄比與 1:3 吻合則為 XY 變性雌魚 (XYΔ♀)。

#### (四) 驗證 YY 變性雌魚 (YYΔ♀) 與 YY 超雄魚交配量產之超雄性魚比率

YY 變性雌魚 (YYΔ♀) (step-3) 與 YY 超雄性魚 (step-2) 交配繁殖的子代，原則上性染色體應為 YY 型，所以養成後與正常雌魚 (XX♀) 交配，繁殖之魚苗應為高比率雄性或全雄性的子代，才能符合本試驗之期望。

## 五、統計分析

以卡方分析，檢定各組子代測試之雌雄比與期望值間之適合度 (goodness of fit)，顯著水準為  $p=0.05$  或  $p=0.001$ 。觀察所得子代的性別比例，是否與預期的相同。

## 結果

尼羅吳郭魚魚苗經含  $17\alpha$ -EE 100 mg/kg 之飼料飼育 60 天後，再移至室外池繼續養殖，存活率為 43.2%。經檢查雌雄，試驗組雌性魚為 96.34%，雄性魚為 3.66%。比較未投餵雌性激素的對照組，雌雄比為 40:60，試驗組雌性魚增加了 56.34%，應為雄性魚 (XY) 性轉變而來，變性效果 93.9% (56.34 / 60%)。另外，在超雄性 (YY♂)

**Table 1** Progeny testing for sex reversal XY female

No.	No. of progeny tested			Female/male ratio of progeny being	$\chi^2$ -value
	Female	Male	Total		
1	298	397	695	1 : 1.3	117.88
2	102	87	189	1 : 0.8	85.66
3	46	66	112	1 : 1.4	15.43
4	240	280	520	1 : 1.2	124.11
5	118	314	432	1 : 2.7	1.24*
6	191	208	399	1 : 1.1	111.04
7	88	304	392	1 : 3.5	1.36*
8	165	320	485	1 : 1.9	21.01
9	91	183	274	1 : 2.0	9.85
10	229	635	864	1 : 2.8	1.04*
11	399	473	872	1 : 1.2	200.37
12	495	688	1183	1 : 1.4	178.98

\*No significant difference from a  $\chi^2$  - test against 1:3 sex ratio (female/male) at a 5% probability level

魚苗的變性實驗對照組為 100% 雄性，活存率為 60.87%。結果只有 46.88% 雄性魚性轉變為雌性魚，變性效果遠低於一般尼羅吳郭魚雄性魚 (XY)。

### 一、第一階段子代測試

#### 篩選尼羅吳郭魚變性雌魚 (XY $\Delta$ ♀)

尼羅吳郭魚經 17 $\alpha$ -EE 處理變性後之變性雌魚 (XY $\Delta$ ♀) 與正常雄魚 (XY♂) 交配的子代測試篩選結果如 Table 1，以雌、雄比 1 : 3 的期望值進行卡方分析。12 組交配結果，第 5、7 及第 10 交配組，子代雌、雄比率分別為 1 : 2.7、1 : 3.5 及 1 : 2.8，卡方值分別為 1.24、1.36 及 1.04，與雌、雄比期望值 1 : 3 無顯著性差異 ( $p > 0.05$ )。雄性比分別為 72.69%、77.55% 以及 73.55%，所以該三尾雌魚可以被判定為變性雌魚 (XY $\Delta$ ♀)。其中第 2、3、4、6 等 4 組交配組經卡方分析對 1 : 1 期望值無顯著差異，應為 XX 雌魚。

### 二、第二階段子代測試

#### 篩選尼羅吳郭魚超雄性魚(YY)

由上階段子代測試篩選出的 3 尾變性雌魚 (XY $\Delta$ ♀) 的交配組，其子代中應有 25% 雄性魚為具有 YY 性染色體的超雄性魚 (Fig. 1)。將雄魚與正常雌魚 (XX) 配對繁殖，進行子代測試，如為 YY 超雄性魚，子代應為全雄性魚或高比例的雄性魚。篩選結果如 Table 2，其中第 8、11、12、

15、16 等交配組之卡方值均小於 3.84，與期望值 1 : 1 無顯著差異 ( $p > 0.05$ )，顯示其為基因型 XY 的雄魚。第 1、5、6-1、6-2、17 及 18 交配組，子代雄性比例由 85.03 ~ 96.78%，卡方值與期望值 (1 : 1 及 1 : 3) 均有非常顯著差異性 ( $p < 0.001$ )。明確認定這 5 尾魚是超雄性 YY，約為全部試驗組的 25% 左右，但均未出現 100% 的子代。其他各組交配結果為 XY 雄魚，但雌雄比偏離 1 : 1 或為 YY 雄魚而雄性比例偏低，無法判定。6-1、6-2 為同一尾雄魚分別與兩尾不同雌魚進行交配的結果，本次試驗僅取第 6 及第 18 兩組交配的 YY 超雄性魚繼續試驗。

### 三、第三階段子代測試

#### 篩選尼羅吳郭魚超雄性變性雌魚 (YY $\Delta$ ♀)

將 XY 變性雌魚 (XY $\Delta$ ♀) 與超雄性魚 (YY) 交配，得到之魚苗全部為雄性，其中一半為性染色體 XY 雄魚，另一半為 YY 雄魚。以雌性激素性轉變成外表型雌性魚。雌性化之魚苗長成後，與正常的雄魚 (XY) 交配，進行子代測試篩選 YY 變性雌魚 (YY $\Delta$ ♀)，如果子代雌雄比與 1 : 3 吻合，則該雌魚應為 XY 變性雌魚 (XY $\Delta$ ♀)；如有顯著差異並且有高比率雄性或 100% 雄性，則該尾雌魚應為試驗所要篩選的 YY 變性雌魚 (YY $\Delta$ ♀)。結果如 Table 3 所示。總共測試 28 尾

**Table 2** Progeny testing for sorting out the YY supermales

No.	No. of progeny tested			male ratio (%)	Female ratio (%)	$\chi^2$ -value
	Male	Female	Total			
1	630	60	690	91.30	8.70	470.87*
2	375	318	693	54.11	45.89	4.69
3	376	313	689	54.57	45.43	5.76
4	165	229	394	41.88	58.12	10.40
5	752	128	880	85.45	14.55	442.47*
6-1	156	8	164	95.12	4.88	133.56*
6-2	343	12	355	96.62	3.38	308.62*
7	124	78	202	61.39	38.61	10.48
8	86	113	199	43.22	56.78	3.66
9	112	71	183	61.20	38.80	9.19
10	77	21	98	78.57	21.43	32.00
11	43	39	82	52.44	47.56	0.20
12	56	68	124	45.16	54.84	1.16
13	127	33	160	79.38	20.63	55.23
14	276	225	501	55.09	44.91	5.19
15	303	273	576	52.60	47.40	1.56
16	63	47	110	57.27	42.73	2.33
17	159	28	187	85.03	14.97	91.77*
18	842	28	870	96.78	3.22	761.60*
19	45	17	62	72.58	27.42	12.65

\*No significant difference from a  $\chi^2$  - test against 1:1 sex ratio (female/male) at a 0.1% probability level

雌魚，其中第 2、11、13、21 及 23 等 5 個交配組卡方值均小於 3.48 ( $p > 0.05$ )，可視為 XY 變性雌魚 (XY $\Delta$ ♀)；另有 14 個交配組雄性比率在 90.54 ~ 100% 間，與期望值有非常顯著性差異 ( $p < 0.001$ )，所以這 14 尾均可判定為 YY 變性雌魚 (YY $\Delta$ ♀)，符合預期的半數 YY 變性雌魚。其中第 1、4、17 及第 18 等 4 個交配組之子代雄性比率均達到 100%，選為後續的試驗用魚。

#### 四、第四階段子代測試

驗證超雄性變性雌魚與超雄性魚交配 (YY $\Delta$ ♀  $\times$  YY♂) 子代之超雄性魚的比例

理論上 YY 變性魚 (YY $\Delta$ ♀) 與超雄性魚 (YY) 交配生產的子代，應該都是具有 YY 染色體的超雄性魚，但需要進行另一次子代測試加以驗證。以雌雄 1 對 1 或 3 對 1 配對方式與正常雌魚 (XX) 配對繁殖，若為 YY 超雄性魚其子代應具有

高比率雄性或 100% 雄性。若為 XY 雄性魚其子代測試雌、雄比率之期望值設為 1:1。大量繁殖之 YY 雄性魚隨機選取 32 尾進行檢驗，結果如 Table 4。所有 32 尾檢測魚交配生產的子代雄性比例在 88.14 ~ 100% 之間。卡方值均與 1:1 期望值有非常顯著差異 ( $p < 0.001$ )，可見檢測魚都不是具有 XY 型的雄魚，其中有 29 尾子代雄性比率在 91.88 至 100% 之間，有 23 尾子代雄性比例高於 95%，7 尾子代雄性為 100%。全部子代測試總共檢查 22,336 尾，其中雌魚 653 尾、雄魚 21,683 尾，雄性比率為 97.08%。整體雄性比率很高，符合本試驗量產高比例雄性魚苗之目標。

## 討 論

利用 YY 超雄性魚生產全雄性魚苗的技術有很多優點，除了可以解決一般廣泛存在於雌雄性混合的養殖中因早熟及無法控制的生殖行為，造成池塘

**Table 3** Progeny testing for sorting sex reversal female supermale tilapia

No.	No. of progeny tested			male ratio (%)	Female ratio (%)	$\chi^2$ -value
	Male	Female	Total			
1	378	0	378	100.00	0.00	126.00**
2	199	85	284	70.07	29.93	3.68
3	88	9	97	90.72	9.28	12.79*
4	1064	0	1064	100.00	0.00	354.67**
5	755	16	771	97.92	2.08	216.10*
6	931	14	945	98.52	1.48	278.77*
7	39	1	40	97.50	2.50	10.80*
8	589	2	591	99.66	0.34	191.70*
9	339	4	343	98.83	1.17	103.92*
10	309	151	460	67.17	32.83	15.03
11	338	127	465	72.69	27.31	1.33
12	726	330	1056	68.75	31.25	22.00
13	273	79	352	77.56	22.44	1.23
14	103	189	292	35.27	64.73	245.77
15	401	29	430	93.26	6.74	76.43*
16	312	75	387	80.62	19.38	6.52
17	565	0	565	100.00	0.00	188.33**
18	619	0	619	100.00	0.00	206.33**
19	496	16	512	96.88	3.13	130.67*
20	356	65	421	84.56	15.44	20.52
21	384	134	518	74.13	25.87	0.21
22	436	98	534	81.65	18.35	12.59
23	43	16	59	72.88	27.12	0.14
24	67	7	74	90.54	9.46	9.53*
25	182	103	285	63.86	36.14	18.86
26	229	185	414	55.31	44.69	85.57
27	609	310	919	66.27	33.73	37.37
28	693	9	702	98.72	1.28	210.62*

\*No significant difference from a  $\chi^2$  - test against 1:3 sex ratio (female/male) at a 5% probability level

\*\*All males progeny

養殖密度過高及成長停滯的情形外 (Mair *et al.*, 1995; Tuan *et al.*, 1998, 1999), 還可以不必直接使用雄性激素變性生產雄性魚苗, 節省使用變性激素的支出及減少對環境產生不良影響。還可提高養殖存活率、餌料轉換效率、縮短養殖時間、收成時體型較均勻、增加生產量及魚苗生產時節省選擇雌雄種

魚的時間等優點。唯一缺點就是生產過程中變性及子代測試取得變性 XY 雌魚及 YY 超雄性魚需要較長時間及較多的勞力, 不過在完成一次 YY 生產流程後, 就可以利用保存的超雄性變性雌魚與 YY 超雄性魚之間的交配直接大量生產超雄性魚, 對後續的量產會縮短很多的時間 (Mair *et al.*, 1997)。

**Table 4** Progeny testing of mass production YY supermales offspring

No.	No. of progeny tested			male ratio (%)	Femle ratio (%)	$x^2$ -value
	Male	Female	Total			
1	145	0	145	100.00	0.00	145.00*
2	842	28	870	96.78	3.22	761.60
3	393	3	396	99.24	0.76	384.09
4	155	0	155	100.00	0.00	155.00*
5	658	0	658	100.00	0.00	658.00*
6	282	0	282	100.00	0.00	282.00*
7	577	29	606	95.21	4.79	495.55
8	833	98	931	89.47	10.53	580.26
9	535	72	607	88.14	11.86	353.16
10	818	18	836	97.85	2.15	765.55
11	906	5	911	99.45	0.55	891.11
12	905	8	913	99.12	0.88	881.28
13	605	68	673	89.90	10.10	428.48
14	962	8	970	99.18	0.82	938.26
15	1179	19	1198	98.41	1.59	1123.21
16	895	34	929	96.34	3.66	797.98
17	734	26	760	96.58	3.42	659.56
18	632	48	680	92.94	7.06	501.55
19	963	0	963	100.00	0.00	963.00*
20	439	13	452	97.12	2.88	401.50
21	453	48	501	90.42	9.58	327.40
22	697	8	705	98.87	1.13	673.36
23	913	19	932	97.96	2.04	857.55
24	398	6	404	98.51	1.49	380.36
25	1302	0	1302	100.00	0.00	1302.00*
26	498	44	542	91.88	8.12	380.29
27	639	27	666	95.95	4.05	562.38
28	733	11	744	98.52	1.48	700.65
29	597	2	599	99.67	0.33	591.03
30	1034	0	1034	100.00	0.00	1034.00*
31	383	4	387	98.97	1.03	371.17
32	578	7	585	98.80	1.20	557.34
Total	21683	653	22336	97.08	2.92	19800.36

\* No significant difference from a  $x^2$  - test against 1:1 sex ratio (female/male) at a 0.1% probability level

\*\*All males progeny



以往研究顯示，魚類的性染色體並未完全分化，在生殖腺進行分化期間可以使用類固醇激素來改變原來分化的方向，達到變性的目的，並且發現YY超雄性魚可以存活並使用雌性激素變性，同時達到性成熟 (Yamamoto, 1955; Scott *et al.*, 1989; Bezault *et al.*, 2001)。Melard (1995) 使用  $17\alpha$ -EE 處理歐利亞吳郭魚，劑量由100 ~ 200 mg，連續投餵 40 天，得到 93 ~ 98% 的雌性魚，對照組雌魚為 53%，變性比率為 40 ~ 45%；Ridha and Lone (1995) 以100 mg 的  $17\alpha$ -EE 處理 *O. spilurus*，連續投餵 42 天，得到 92.23% 的雌性魚；Vera Cruz and mair (2000) 以diethylstilboestrol (DES) 500 mg 劑量處理尼羅吳郭魚，於10 ~ 15天內可以得到 90% 以上的雌性魚。本實驗使用  $17\alpha$ -EE，每公斤飼料中添加 100 mg 的劑量，每日投餵 2 次連續 60天。本研究較其他研究者所使用的劑量 40 ~ 100 mg 為高，且比一般投餵30 ~ 40天為久 (Rosenstein and Hulata, 1994; Mair and Santiago, 1994)，這是基於過去使用 60 mg 和投餵 30 天的變性魚，在交配過程中，會再變回原來的雄性；同時考慮 YY 雄性魚的變性較 XY 雄性魚困難，而且 YY 雄性魚在性別分化 (sexual differentiation) 時分泌較多的雄性激素 (testosterone)，因此性轉變所需的雌性素最低量也會提高，才能使原來性別分化方向改變 (Vera Cruz *et al.*, 1996)。本實驗在 XY 雄性魚的變性處理得到 96.34% 的雌性魚，與對照組比較，變性率為 93.9%，接近將 60% 的雄性魚完全變性，明確顯示增加處理時間會加強變性效果。Vera Cruz *et al.* (1996) 以DES 500 mg 及 1,000 mg 處理 YY 尼羅吳郭魚 20 天，分別得到 45.9% 及 64.1% 的變性雌魚，處理 15 天時，則只有 31.3% 及 50.8% 的變性雌魚，其中 500 mg 處理 20 天的結果與本試驗 YY 雄性魚的變性結果 46.88% 相近。但變性效果比 XY 雄性魚低了很多。顯示吳郭魚以雌性激素變性受到劑量、處理時間以及雄性基因的影響 (Nakamura, 1973; Macintosh *et al.*, 1985; McAndrew and Majumdar, 1989)。另外YY雄性魚生殖腺分化和發育較一般XY雄性魚早且快 (Herrera and Cruz, 2001)，因此處理YY雄性魚的變性可能要提早進行，以提高變性比例，這有待進一步探討。本實驗變性過程活存率偏低，應是所用劑量對魚體產生毒性，需要試驗比較其他

藥物取代或改善餵食方法及環境，以進一步提高活存率。

本試驗全部子代測試結果，篩選變性雌魚 (XY $\Delta$ ♀) 的 12 組交配結果 (Table 1)，有3組雌魚經卡方分析被判定為變性雌魚 (XY $\Delta$ ♀)、有4組應為正常雌魚 (XX)。XY $\Delta$ ♀與XY♂交配子代接近 25% 的YY超雄性魚 (Table 2)，XY $\Delta$ ♀與YY♂交配子代中，XY與YY型的雄魚各佔一半 (Table 3)，另外 YY $\Delta$ ♀ 與 YY♂ 交配的子代，測試結果全部為 YY 超雄性魚 (Table 4)，明確證明尼羅吳郭魚的染色體為 XX-XY 系統，而且顯示 YY 超雄性魚可以生存且其受精能力與正常 XY 雄魚相當，染色體也可以正常分離。試驗結果亦顯示 XY 與 YY 雄魚可以使用雌性素變性而且變性魚可以成熟產卵 (Table 1 & 3)，結果與以往研究吻合。YY 生產技術就是透過一系列的  $17\alpha$ -EE 變性及子代測試的性別操作過程，因此 YY 生產過程可以用來研究吳郭魚的性別決定因子及性分化的問題 (Herrera and Cruz, 2001)。Scott *et al.* (1989) 及 Mair *et al.* (1997) 也都認為超雄性尼羅吳郭魚 (YY) 不僅是用來生產全雄性吳郭魚苗，還可用來補充說明吳郭魚類性別決定的機制。Table 2 是 YY 超雄性魚篩選的結果，子代雄性比例在 85.03 ~ 96.78% 間，未得到 100% 雄性魚苗。Table 3 為超雄性變性雌魚篩選結果，如預期的得到半數的超雄性變性雌魚，且雄性比例在 90.54 ~ 100%，但 14 尾中只有 4 尾交配結果得到 100% 雄性子代，則明顯偏低。T

Table 4 為大量生產 YY 超雄性魚的子代測試結果，親代全部為 YY 超雄性魚，其子代雄性比例為 88.14 ~ 100% 之間，32 組交配中也只有 7 組雄性比例為100%。這些結果都顯示尼羅吳郭魚雌雄性別受到性染色體或單一性別決定因子的控制，但是影響程度低於 Mair *et al.* (1991) 試驗的結果，同時表示性別決定受到其他因子，如親魚效應 (paternal and maternal effects) 及環境因子等的影響較預期大。Tuan *et al.* (1999) 試驗結果認為交配的種魚不同，雄性魚比率會有很大的差異，也就是存在某種程度的親魚效應，這說明了性別決定除了染色體基因外，同時受到體染色體修飾基因和環境的影響。YY超雄性魚與正常雌魚各個交配組的子代間，雄性比例並未完全符合單一因子性別決定的假設，不同交配組間差異很

大。這些因子是影響性別分化 (sexual differentiation) 或是直接影響性別決定 (sexual determination) 則尚未有定論。

Beardmore *et al.* (2001) 研究認為YY超雄性魚的生產可以由：(a) 性轉變雌魚與一般雄魚交配 ( $XY\Delta\text{♀}\times XY\text{♂}$ ) 及 (b) 性轉變雌魚與超雄魚交配 ( $XY\Delta\text{♀}\times YY\text{♂}$ ) 等兩種交配方法篩選而來，由一般雄性魚交配而來的YY超雄性魚子代雄性比例變異較大。本研究所使用的YY超雄性魚即是由一般雄性魚交配篩選而來的，子代測試都未得到 100% 雄性，是否影響後來生產過程中的子代雄性比率，值得再探討比較。而這顯示了尼羅吳郭魚的性別決定機制的複雜性，不能只用單基因染色體遺傳來說明 (Lee *et al.*, 2004; Cnaani *et al.*, 2008)。已往研究者認為吳郭魚性別決定因子包括體染色體基因 (autosomal genes) (Avtalion and Hammerman, 1978; Hussain *et al.*, 1994)、多基因性別決定 (polygenic sex determination) (Shelton *et al.*, 1983)、環境影響 (Conover and Kynard, 1981; Mair *et al.*, 1990; Baroiller *et al.*, 1995; Abucay *et al.*, 1999) 以及以上各因子共同作用的結果 (Bulmer and Bull, 1982; Baroiller *et al.*, 1999)。目前的研究已了解溫度確實會影響尼羅吳郭魚的性別分化 (Baroiller and D'Cotta, 2001; Tessema *et al.*, 2006)，因此 Baroiller *et al.* (2009) 將尼羅吳郭魚的性別決定機制的系統重新歸納成三點：(1) 主要由遺傳基因主導如性染色體；(2) 某些微小因子如親代效應，以及 (3) 環境如溫度等因子共同引導性別。同時有研究認為可以對微小基因進行遺傳篩選來增進 YY 雄性魚子代的雄性比例 (Tariq Ezaz *et al.*, 2004)。這跟尼羅吳郭魚品系及交配種魚個體都有關係 (Mair *et al.*, 1997)，需要進一步研究比較及更多實驗來驗證。

目前 YY 生產尼羅吳郭魚雄性魚苗的技術尚未全面性的運用，Mair *et al.* (1997) 首先利用此技術大量生產尼羅吳郭魚雄性魚苗，平均雄性比例 95.6%；Beardmore *et al.* (2001) 的研究得到雄性比例為 96%；Jordaan (2004) 以莫三比克吳郭魚為研究對象，得到平均 94% 雄性子代；本實驗以尼羅吳郭魚作為研究，結果平均子代雄性比例為 97.08%，較以往的研究結果都高。研究顯示，如果吳郭魚雄性比例高於 96%，或者養殖族群中雌性比例低於 5%，就可以抑制養殖期間的生殖問題

(Beardmore *et al.*, 2001; Anderson and Smitherman, 1978)。本實驗大量生產的 YY 超雄性魚與正常雌魚 (XX) 繁殖之子代雄性比例平均達到 97.08%，可提供商業化養殖所需的雄性魚苗，而且還可以繼續利用遺傳育種方法提高YY種魚的子代雄性比例 (Tariq Ezaz *et al.*, 2004)，所以在吳郭魚養殖上之應用會有很大的潛力。

成功的吳郭魚商業化養殖需有兩個要件：一為供應單雄性或高比率雄性魚苗；二為養殖魚體型大、成長快。以往單雄性種苗生產方法都有其缺點，諸如人工選別雌雄，較浪費人力物力；使用雄性激素處理使魚苗變性，有違反食品安全規定及污染環境之疑慮；種間雜交生產單雄性子代 (尼羅吳郭魚♀×歐利亞吳郭魚♂)，成長速度較純尼羅吳郭魚慢；生產三倍體不孕性魚的技術並不成熟。尼羅吳郭魚是目前已知體型最大、成長最快的品種，培育成性染色體為 YY 型之超雄性吳郭魚，進而以遺傳的方式大量生產單雄性或雄性比率高之種苗，將可提升吳郭魚的成長、增加取肉率及縮短養殖時間，這是目前世界上吳郭魚養殖發展的新趨勢。

## 謝 辭

本報告承國立台灣海洋大學水產養殖學系終身特聘教授陳建初老師提供寶貴建議；並得本中心同仁吳旻益、周柏勳及張根彰先生等在試驗進行期間，協助養殖池之管理與各項測定工作，得以順利完成，謹此一併敬致衷心謝忱。

## 參考文獻

- 郭 河, 蔡添財 (1984) 紅色吳郭魚育種改良試驗—紅色吳郭魚什交育種及成長比較. 臺灣省水產試驗所試驗研究報告, 36: 69-92.
- 郭 河, 蔡添財 (1985) 紅色吳郭魚育種改良試驗-紅色吳郭魚什交育種及成長比較. 臺灣省水產試驗所試驗研究報告, 39: 1-14.
- 郭 河, 蔡添財 (1986) 紅色吳郭魚育種改良試驗-紅色吳郭魚什交育種及成長比較. 臺灣省水產試驗所試驗研究報告, 40: 173-185.
- 陳榮華, 張湧泉, 張格銓, 劉富光 (2008) 吳郭魚雜交系與自交系的成長比較—快速成長品系之研發. 水產研究, 16(2): 41-47.

- 漁業署 (2010) 民國九十九年台閩地區漁業統計年報, 行政院農委會漁業署.
- Abucay, J. S., G. C. Mair, D. O. F. Skibinski and J. A. Beardmore (1999) Environmental sex determination: the effect of temperature and salinity on sex ratio in *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, 173: 219-234.
- Anderson, C. E. and R. O. Smitherman (1978) Production of normal male and androgen sex-reversed *Tilapia aurea* and *T. nilotica* fed a commercial catfish diet in ponds. *In* Culture of Exotic Fishes Symposium Proceedings (R. O. Smitherman, W. L. Shelton and J. H. Grover eds), Fish Culture Section American Fisheries Society, Auburn, Al, 34-42.
- Asian Development Bank (2006) Annual Report 2006, Asian Development Bank.
- Avtalion, R. R. and I. S. Hammerman (1978) Sex determination in Sarotherodon (Tilapia). 1. Introduction to a theory of autosomal influence. *Bamidgeh*, 30: 110-115.
- Baroiller, J. F. and A. Toguyeni (1996) Comparative effects of a natural androgen 11- $\beta$  hydroxyandrostenedione, and a synthetic androgen 17 $\alpha$ -methyltestosterone, on the sex ratios of *Oreochromis niloticus*. *In* The Third International Symposium on Tilapia in Aquaculture, ICLARM Conference Proceedings, 41: 238-245.
- Baroiller, J. F. and H. D'Cotta (2001) Environment and sex determination in farmed fish. *Comp. Biochem. Physiol. C: Toxicol. Pharmacol.*, 130: 399-409.
- Baroiller, J. F., Y. Guigen and A. Fostier (1999) Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in fish. *Cell. Mol. Life Sci.*, 55: 910-931.
- Baroiller, J. F., D. Chourrout, A. Fostier and B. Jalabert (1995) Temperature and sex chromosomes govern sex-ratios of the mouthbrooding cichlid fish *Oreochromis niloticus*. *J. Expt. Zool.*, 273: 216-223.
- Baroiller, J. F., H. D'Cotta, E. Bezault, S. Wessels and G. Hoerstgen-Schwark (2009) Tilapia sex determination: Where temperature and genetics meet. *Comp. Biochem. Physiol. A*, doi:10.1016/j.cbpa.2008.11.018
- Beardmore, J. A., G. C. Mair and R. I. Lewis (2001) Monosex male production in finfish as exemplified by tilapia: applications, problems, and prospects. *Aquaculture*, 197: 283-301.
- Bezault, E., C. Ozouf-Costaz, A. D'Hont, J. N. Volf, X. Rognon, and J. F. Baroiller (2001) Structure and evolution of pure and hybrid genomes of Tilapia. *Chromosom. Res.*, 9 (suppl. 1): 1-30.
- Brummett, R. E. and N. C. Alon (1994) Polyculture of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*, and Australian redclaw crayfish, *Cherax quadricarinatus*, in earthen ponds. *Aquaculture*, 122: 47-54.
- Bulmer, M. G. and J. J. Bull (1982) Models of polygenic sex determination and sex ratio control. *Evolution*, 36:13-26.
- Chourrout, D. and J. Itskovich (1983) Three manipulations permitted by artificial insemination in tilapia: Induced diploid gynogenesis, production of all triploid population and intergeneric hybridization. *International Symposium on Tilapia in Aquaculture*, Nazareth, Israel, 246-255.
- Cnaani, A., B. Y. Lee, N. Zilberman, C. Ozouf-Costaz, G. Hulata, M. Ron, A. D'Hont, J. F. Baroiller, H. D'Cotta, D. J. Penman, E. Tomasino, J. P. Coutanceau, E. Pepey, A. Shirak and T.D. Kocher (2008) Genetics of sex determination in tilapiine species. *Sex. Devel.*, 2: 43-54.
- Conover, D. O. and B. E. Kynard (1981) Environmental sex determination: interaction of temperature and genotype in a fish. *Science (Wash. D.C.)*, 213: 577-579.
- Guerrero, R. D. III (1982) Control of tilapia reproduction. *In* The Biology and Culture of Tilapia (R.S.V. Pullin and R. H. Lowe McConnell eds), ICLARM, Manila, The Philippines, 434 pp.
- Guerrero, R. D. III and L. A. Guerrero (1975) Monosex culture of male and female *T.mossambica* in ponds at three stocking rates. *Kalikasan: Philipp. J. Bio.*, 4: 129-134.
- Hammerman, I. S. and R. R. Avtalion (1979) Sex determination in Sarotherodon (Tilapia). Part 2: The ratio as a tool for the determination of genotype—A model of autosomal and gonosomal influence. *Theor. Appl. Genet.*, 55: 177-187.
- Hanson, T. R., R. D. Smitherman, W. L. Shelton and R. A. Dunham (1983) Growth comparisons of monosex tilapia produced by separation of sexes, hybridization and sex reversal. *In* Proceedings of the First International Symposium on Tilapia in Aquaculture (L. Fishelson and Z. Yaron eds.), Tel Aviv University, Tel Aviv, 624 pp.
- Herrera, A. A. and R. R. Cruz (2001) Developmental Biology of the Supermale YY Tilapia (*Oreochromis niloticus*): Histogenesis of the Reproductive System. *Science Diliman (January-June 2001)*, 13: 33-40.

- Hickling, C. F. (1963) The cultivation of *Tilapia*. *Sci. Am.*, 208(5): 143-152.
- Hulata, G., G. Wohlfarth, and S. Rothbard (1983) Progeny-testing selection of tilapia broodstocks producing all-male hybrid progenies - preliminary results. *Aquaculture*, 33: 263-268.
- Hussain, M. G., B. J. McAndrew, D. J. Penman and P. Sodsuk (1994) Estimate gene centromere recombination frequencies in gynogenetic diploids of *Oreochromis niloticus* (L.) using allozymes, skin colour and a putative sex-determination locus (SDL2). *In Genetics and Evolution of Aquatic Organisms* (A. R. Beaumont ed.), Chapman and Hall, London, UK., pp. 502-508.
- Jalabert, B. and Y. Zohar (1982) Reproduction physiology in cichlid fishes, with particular reference to *Tilapia* and *Satherodon*. *In The Biology and Culture of Tilapias* (R.S.V. Pullin and R.H. Lowe-McConnell eds), ICLARM Conf. Proc., 129-140.
- Jensen, G. L. and W. L. Shelton (1979) Effects of estrogens on *Tilapia aurea*: Implications for production of monosex genetic male tilapia. *Aquaculture*, 16: 233-242.
- Jordaan, M. S. (2004) Variation in sex determination and the application of the yy male technology for the production of all-male populations of the tilapia *oreochromis mossambicus*. Assignment presented in partial fulfilment of the requirements for the degree Master of Philosophy (Livestock Industry Management: Aquaculture) at the University of Stellenbosch.
- Lee, B. Y., G. Hulata and T. D. Kocher (2004) Two unlinked loci controlling the sex of blue tilapia (*Oreochromis aureus*). *Heredity*, 92: 543-549.
- Macintosh, D. J., T. J. Varghese and G. P. S. Rao (1985) Hormonal sex reversal of wild-spawned *Tilapia* in India. *J. Fish. Biol.*, 26: 87-94.
- Maclean, N. and D. Penman (1984) The application of gene manipulation to aquaculture. *Aquaculture*, 85: 1-20.
- Mair, G. C. and L. P. Santiago (1994) Feminization of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (L.) by oral application of Diethylstilbestrol (DES). *In The Third Asian Fisheries Forum* (L. M. Chou, A. D. Munro, T. J. Lam, T. W. Chen, L. K. K. Cheong, J. K. Ding, K. K. Hooi, H. W. Khoo, V. P. E. Phang, K. F. Shim and C. H. Tan eds), Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 94-97.
- Mair, G. C., J. A. Beardmore and D. O. F. Skibinski (1990) Experimental evidence for environmental sex determination in *Oreochromis* species. *In The Second Asian Fisheries Forum* (R. Hirano and I. Hanyu eds), Asian Fisheries Society, Manila, Philippines, 555-558.
- Mair, G. C., D. J. Penman, A. G. Scott, D. O. F. Skibinski and J. A. Beardmore (1987) Hormonal sex reversal and the mechanisms of sex determination in *Oreochromis*. *Proc. World Symp. on Selection, Hybridization, and Genetic Engineering in Aquaculture*, Vol. II, 301-312.
- Mair, G. C., J. S. Abucay, J. A. Beardmore and D. O. F. Skibinski (1995) Growth performance trials of genetically male tilapia (GMT) derived from 'YY' males in *Oreochromis niloticus* L.: On-station comparisons with mixed sex and sex reversed male populations. *Aquaculture*, 137: 313-322.
- Mair, G. C., A. G. Scott, D. J. Penman, J. A. Beardmore and D. O. F. Skibinski (1991) Sex determination in the genus *Oreochromis*: I. Sex reversal, gynogenesis and triploidy in *O. niloticus* L. *Theor. Appl. Genet.*, 82: 144-152.
- Mair, G. C., J. S. Abucay, D. O. F. Skibinski, T. A. Abella and J. A. Beardmore (1997) Genetic manipulation of sex ratio for the large scale production of all-male tilapia *Oreochromis niloticus* L. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 54: 396-404.
- Majumdar K. C. and B. J. McAndrew (1986) Relative DNA content of somatic nuclei and chromosomal studies in 3 genera, *Tilapia*, *Sarotherodon*, and *Oreochromis* of the Tribe Tilapiini (Pisces, Cichlidae). *Genetica*, 68: 175-188.
- McAndrew, B. J. and K. C. Majumdar (1989) Growth studies on juvenile tilapia using pure species hormone-treated and nine interspecific hybrids. *Aquacult. and Fish. Manag.*, 20: 35-47.
- Melard, C. (1995) Production of a high percentage of male offspring with 17  $\alpha$ -ethynylestradiol sex-reversed *Oreochromis aureus*. 1. Estrogen sex-reversal and production of F2 pseudofemales. *Aquaculture*, 130: 25-34.
- Nakamura, M. K. and H. Takahashi (1973) Gonadal sex differentiation in *Tilapia mossambica*, with special regard to the time of estrogen treatment effective in including complete feminization of genetic males. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, 24: 1-13.
- Pandian, T. J. and K. Varadaraj (1988) Techniques for production all-male and all-triploid *Oreochromis mossambicus*. *In The Second International Symposium on Tilapia in Aquaculture* (R. S. V.

- Pullin, T. Bhukaswan, K. Tonguthai and J. L. Maclean eds.), ICLARM Conference Proceedings 15, 243-249.
- Pruginin, Y., S. Rothbard, G. Wohlfarth, A. Halevy, R. Moav and G. Hulata (1975) All-male broods of *Tilapia nilotica* X *T. aurea* hybrids. *Aquaculture*, 6: 11-21.
- Purdom, C. E. (1986) Genetic techniques for control sexuality in fish farming, *Fish Physio. Biochem.*, 2(1-4): 3-8.
- Ridha, M. T. and K. P. Lone (1995) Primary studies on feminization and growth of *Oreochromis spilurus* (Gunther) by oral administration of 17 $\alpha$ -ethynylloestradiol in sea water, *Aquacul. Res.*, 26: 479-482.
- Rosenstein, S. and G. Hulata (1994) Sex reversal in the genus *Oreochromis*: Optimization of feminization protocol. *Aquacult. Fish. Manag.*, 25: 329-339.
- Scott, A. G., D. J. Penman, J. A. Beardmore and D. O. F. Skibinski (1989) The 'YY' supermale in *Oreochromis niloticus* (L.) and its potential in aquaculture. *Aquaculture*, 78: 237-251.
- Shah, M. S. (1988) Female homogamety in Tilapia (*Oreochromis niloticus*) revealed by gynogenesis. *Asian Fish. Sci.*, 1: 215-219.
- Shelton, W. L., F. H. Meriwether, K. J. Semmens and W. E. Calhoun (1983) Progeny sex ratios from intraspecific pair spawnings of *Tilapia aurea* and *T. nilotica*. In *Proceedings of the International Symposium on Tilapia in Aquaculture* (L. Fishelson and Z. Yaro eds), Tel Aviv University, Israel, 270-280.
- Tariq Ezaz, M., J. M. Myers, S. F., Powell, B. J. McAndrew and D. J. Penman (2004) Sex ratios in the progeny of androgenetic and gynogenetic YY male Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* L. *Aquaculture*, 232: 205-214.
- Tessema, M., A. Müller-Belecke, G. Hörstgen-Schwarz (2006) Effect of rearing temperatures on the sex ratios of *Oreochromis niloticus* populations. *Aquaculture*, 258: 270-277.
- The WorldFish Center (2009) AsiaFish: The best can become better. PO Box 500 GPO, 10670 Penang, Malaysia.
- Tuan, P. A., D. C. Little and G. C. Mair (1998) Genotypic effects on comparative growth performance of all-male tilapia *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, 159: 293-302.
- Tuan, P. A., G. C. Mair, D. C. Little and J. A. Beardmore (1999) Sex determination and the feasibility of genetically male tilapia production in the Thai-Chitralada strain of *Oreochromis niloticus* (L.). *Aquaculture*, 173: 257-269.
- Vera Cruz, E. M. and G. C. Mair (2000) Optimization of Feminization of *Oreochromis niloticus* L. by Oral Administration of Diethylstilbestrol (DES): The Effects of Stocking Density, Treatment Duration and Environment, *Asian Fish. Sci.*, 13: 39-48.
- Vera Cruz, E. M., G. C. Mair and R. P. Marino (1996) Feminization of genotypically YY Nile tilapia *Oreochromis niloticus* L. *Asian Fish. Sci.*, 9: 161-167.
- Wohlfarth, G. W. and G. Hulata (1981) Applied genetics of Tilapias. ICLARM Studies and Reviews 6, International Center for Living Aquatic Resources Management, Manila, Philippines, 26 pp.
- World Bank (2006) Aquaculture changing the face of water. World Bank Report No.36622-GLB, Washington, DC.
- Yamamoto, T. O. (1955) Progeny of artificially induced sex-reversals of male genotype (Xy) in the Medaka (*Oryzias Latipes*) with special reference to yy-Male. *Genetics*, 40(3): 406-419.
- Yamazaki, F. (1976) Application of hormones in fish culture. *J. Fish. Res. Bd. Can.*, 33: 948-958.

## Selection of YY Supermale Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* and Its Application to Commercial Production of All-Male Progenies

Rong-Hwa Chen<sup>1\*</sup>, Tian-Tsair Tsay<sup>2</sup> and Fu-Guang Liu<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Freshwater Aquaculture Research Center, Fisheries Research Institute

<sup>2</sup>Department of Aquaculture, National Taiwan Ocean University

<sup>3</sup>Fisheries Research Institute

### ABSTRACT

The aim of this study is to develop YY supermale production of Nile Tilapia (*Oreochromis niloticus*) and mass production of all-male offspring on a commercial scale by crossing YY supermales with normal females. In this study, normal male genotype (XY) and supermales (YY) were treated with a dosage of 100 mg per kg food of 17 $\alpha$ -EE for a duration of 60 days; 93.6% sex reversal females (XY $\Delta$ ♀) and 46.88% sex reversed superfemales (YY $\Delta$ ♀) were obtained, respectively. This result demonstrated that the normal males were far easier than supermales in sexual reversal. The progeny testing procedure results of the cross between neofemales and normal males presented 25% supermales; if YY sex reversed females mated with normal males, it resulted in half XY males and half YY males. Furthermore, when the YY sex reversed females crossed with the YY supermales, we found that all supermales presented in progeny. All of these results indicated that the Nile tilapia female has homogamety genotype XX, while the male is heterogamety XY. The progeny testing demonstrated that all crosses between YY supermales to XX females, sex reversed supermales to normal males, and sex reversed YY females to YY supermales do not result in 100% male offspring. This indicated that sex determination in Nile tilapia is not only based on the monofactorial gene but on other factors as well, including the autosomal gene and environmental factors, particularly temperature. These genetic and environmental factors combine in a rather complex way to influence the sex determination of Nile tilapia. Finally, this study found that the YY supermales give a high percentage of male offspring with 97.08%, which is crossed to normal female (XX) Nile tilapia; this result was higher than in any other previous report. Therefore, mass production of YY male broodstock and application in all male Nile tilapia culture on a commercial scale is possible.

**Key words:** *Oreochromis niloticus*, supermale tilapia, monosex tilapia, sex reversal females, sex determination

---

\*Correspondence: Freshwater Aquaculture Research Center, Fisheries Research Institute, 106 Hai-Pu, Lukang 50562, Taiwan. TEL: (04) 777-2175; FAX: (04) 777-5424; E-mail: CRH@mail.fw/lk.tfrin.gov.tw