

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2013.00044

半滑舌鳎养殖群体雌雄比例与自然性逆转率

梁卓^{1,2}, 陈松林¹, 张静^{1,2}, 宋文涛^{1,2}, 杜民^{1,2}, 刘姗姗^{1,2}, 胡乔木^{1,2}

1. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室, 山东 青岛 266071;

2. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306

摘要: 利用半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis* Günther)性别连锁微卫星标记 scaffold1128_343 和性腺组织切片的方法, 研究半滑舌鳎 8 个普通家系和养殖场雄性亲鱼遗传性别与性逆转情况。首先, 8 个普通家系(28、30、38、39、40、44、57、69)遗传性别检测结果显示, 遗传雌性比例最低为 39 家系(37.93%), 最高为 38 家系和 40 家系(55.00%)。对其中 4 个家系(28、39、44、57)的两次遗传性别比例检测结果对比发现, 家系间遗传雌性比例存在差异。其次, 对 4 个家系(28、39、44、57)和养殖场雄性亲鱼的遗传与表型性别鉴定结果表明, 不同家系表型雌鱼比例为 18.75%~46.88%, 低于各家系的遗传雌性比例, 不同家系间自然性逆转率存在显著性差异($P < 0.05$)。研究还发现, 繁育场所用的普通雄性亲鱼中平均有 28.42% 的伪雄鱼。本研究结果表明, 自然性逆转现象在半滑舌鳎养殖群体中普遍存在, 半滑舌鳎不同家系的表型雌鱼比例存在显著差异, 这为培育半滑舌鳎高雌性苗种提供了理论依据。

关键词: 半滑舌鳎; 养殖群体; 家系; 雄性亲鱼; 遗传性别; 性逆转率

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2013)01-0044-06

半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis* Günther)隶属于鲽形目、鳎亚目、舌鳎科、舌鳎属, 是一种近海温水性大型底层鱼类, 具有个体大、生长快、食性温和、活动范围小、营养等级低等优点, 并具有较高的市场价值。半滑舌鳎雌性个体生长速度比雄性快 2~4 倍, 雌性成体体长是雄性的 2 倍左右, 并且有遗传雌性向表型雄性逆转的特性^[1]。因此, 提高养殖群体中雌鱼比例, 能够缩短生长期, 增大养殖产量、提高经济效益。

鱼类性别遗传决定类型原始复杂, 几乎囊括动物界所有性染色体类型。性别遗传决定模式主要是指由基因主导的性别决定。近年来, 分子生物学技术的迅猛发展为鱼类性别决定研究提供了有效的技术手段, 先后从雄性虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)^[2]、北极鲑(*Salvelinus alpinus*)、棕鲑(*Salmo trutta*)^[3]、沟鲈(*Htalurus punctatus*)^[4]、尼

罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[5]和奥利亚罗非鱼(*Oreochromis aureus*)^[6]中筛选到性别连锁的微卫星标记, 并以此鉴定遗传性别。半滑舌鳎的性别决定类型为 ZW 型, 雄性具有 ZZ 型染色体, 雌性具有 ZW 型染色体^[7]。2007 年, Chen 等^[8]利用 AFLP 技术, 筛选出半滑舌鳎雌性特异 AFLP 标记, 创建了通过 PCR 方法鉴定半滑舌鳎 ZZ 雄鱼和 ZW 雌鱼遗传性别的技术手段。最近, Chen 等^[9]又筛选到半滑舌鳎性别连锁微卫星标记, 并建立了 ZZ 雄鱼、ZW 雌鱼和 WW 超雌遗传性别鉴定的分子技术。这些技术为检测半滑舌鳎养殖群体雌鱼比例、半滑舌鳎雄性亲鱼中的伪雄鱼比例以及不同家系间遗传雌性和表型雌鱼比例奠定了基础。

环境决定模式通常为温度决定模式。已有研究表明, 在多数鱼类如鲈属(*Poeciliids*)、金鱼(*Car-*

收稿日期: 2012-05-08; 修订日期: 2012-09-14.

基金项目: 农业部公益性行业科研专项(200903046); 山东省泰山学者工程专项.

作者简介: 梁卓(1985-), 硕士研究生, 主要从事鱼类遗传育种研究. E-mail: henhen210@163.com

通信作者: 陈松林, 研究员, 博士生导师, 主要从事水产生物技术研究. E-mail: chensl@ysfri.ac.cn

assius auratus) 和鲇形目(Siluriform)中, 低温可引起雌性化, 高温可致雄性性比提高, 而斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*)^[10]、许氏平鲷(*Sebastes schlegeli*)等则是低温提高雄性比例, 高温提高雌性比例^[11]。温度对半滑舌鲷性别决定的影响已有一些研究。邓思平等^[12]通过检测半滑舌鲷不同温度处理组个体的遗传性别和表型性别, 发现高温能显著提高群体中的表型雄鱼比例。

在外界环境相同条件下, 对养殖家系之间性逆转比例还未见有研究。本研究利用性别连锁微卫星标记 scaffold1128_343^[13], 对半滑舌鲷养殖群体的遗传雌性和表型雌性比例进行分析研究, 同时对半滑舌鲷繁育场所用的雄性亲鱼的遗传性别进行了检测和性逆转分析, 以期半滑舌鲷苗种繁育和高雌性良种选育奠定基础。

1 材料与方法

1.1 材料

半滑舌鲷家系建立参照本实验室已报道的方法^[14]进行。家系为 2010 年 7–9 月在山东省莱州明波水产有限公司建立, 2011 年 3 月取其中 28、30、38、39、40、44、57、69 号 8 个普通家系, 各 58 尾作为实验鱼, 取鳍条用于基因组 DNA 提取。2011 年 6 月选取该 8 个家系中的 4 个家系 28、39、44、57, 各另取 96 尾作为实验鱼, 取鳍条和性腺分别用于基因组 DNA 提取和性腺组织切片。另外, 2011 年 3 月至 2012 年 3 月期间对海阳、莱州和昌邑半滑舌鲷养殖场中的雄性亲鱼遗传性别进行检测。

1.2 方法

1.2.1 基因组 DNA 提取 剪取鳍条约 0.1 g, 添加 500 μ L 裂解液, 20 μ L 蛋白酶 K(20 mg/mL)和 15 μ L RNase A(100 μ g/mL), 55 $^{\circ}$ C 消化 2 h 后用酚、氯仿、异戊醇(体积比 25:24:1)混合液抽提 2 次, 无水乙醇沉淀, 经 70%乙醇漂洗后, 提取物自然晾干后溶于 50~150 μ L 无菌双蒸水中, 4 $^{\circ}$ C 保存备用。

1.2.2 引物合成 引物采用陈松林等^[13]专利中所使用的微卫星标记 scaffold1128_343, 送南京金

斯瑞生物有限公司合成。scaffold1128_343 上游序列: 5'-gaggccgacaggatcgtag-3'; 下游序列: 5'-tacgacgtactccggtggtttt-3'。

1.2.3 PCR 扩增 PCR 扩增体系: ddH₂O 10.6 μ L; Buffer(10 $\times$) 1.5 μ L; dNTP (2.5 mmol/L) 0.8 μ L; 上下游引物(10 μ mol/L)各 0.5 μ L; TaqDNA 聚合酶(天根生物有限公司)0.1 μ L; (5)DNA 模版 1.5 μ L; 总体积 15 μ L。PCR 反应条件: 94 $^{\circ}$ C 4 min; 94 $^{\circ}$ C 30 s, 58 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 30 s, 共 33 个循环; 72 $^{\circ}$ C 5 min; 4 $^{\circ}$ C 保存。将已知雌雄的两个样品的 DNA 扩增产物送华大基因公司测序, 雌雄鱼共有序列为 206 bp, 雌性特异性序列为 218 bp。

1.2.4 聚丙烯酰胺凝胶电泳 PCR 产物中加入 1/2 体积的变性剂于 95 $^{\circ}$ C 变性 5 min, 快速取出立刻放在冰盒上。在 6%聚丙烯酰胺凝胶上电泳, 电压为 1 400 V, 电泳 1.5 h, 以 pBR322 DNA/Msp I (天根生物有限公司)为分子量标记, 用银染法染色。

1.2.5 性腺的石蜡组织切片 对于遗传鉴定结果为雌性的全部个体和部分遗传鉴定为雄性的个体, 进行性腺石蜡组织切片, 将固定好的性腺组织在系列脱水仪中进行脱水蜡化(Leica TP 1020), 然后在包埋仪中进行包埋(Leica EG 1160)。将包埋好的样品进行切片, 切片仪为 Leica RM 2145, 切片厚度为 6 μ m。切好的片子用蒸馏水进行展片(Leica, HI 1210), 37 $^{\circ}$ C 烘片 2 h 后 HE 染色^[15], 封片后于普通光学显微镜下观察。

1.2.6 数据处理 采用适合性测验

$$\chi^2 = \sum_{i=1}^k \frac{(|Q - E| - 0.5)^2}{E}$$

式中, Q 为实际值, E 为理论值, 对比各家系组与 1:1 分离比之间的雌雄比例差异;

$$\text{利用显著性测验 } t_C = \frac{\frac{y_1 - 0.5}{n_1} - \frac{y_2 + 0.5}{n_2}}{s_{\hat{p}_1 - \hat{p}_2}}$$

式中, y_1 为第一次结果, y_2 为第二次结果, s 为方差。比较 4 个家系两次遗传雌性比例检测结果差异, $P > 0.05$ 为差异不显著, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为差异极显著。

2 结果与分析

2.1 半滑舌鲷养殖群体遗传性别比例

2.1.1 半滑舌鲷 8 个普通家系遗传性别分析 2011 年 3 月,以鳍条基因组 DNA 为模板,用 scaffold1128_343 性别连锁微卫星雌性特异标记,鉴定 28、30 等 8 个普通家系遗传性别。结果表明,38 与 40 两个家系遗传雌性比例最高,达到 55.00% (表 1),39 家系最低,为 37.93%(表 1)。将家系遗传雌雄比例按 1 : 1 的理论值进行适合性测验,发现各家系 χ^2 值均小于 $\chi_{0.05}^2(1)$ 值 3.84, $P>0.05$,即各家系遗传雌性比例均符合 1: 1 的理论比例。图 1 所示为 40 号家系 58 尾个体遗传性别鉴定结果图片,其中 32 尾扩增出 206 bp、218 bp 2 个片段的为

遗传雌性,26 尾扩增出 1 条 206 bp 片段的为遗传雄性。

2.1.2 半滑舌鲷 4 个家系第 2 次遗传性别分析 在 2011 年 6 月,从上述 8 个家系中选出 28、39、44 和 57 这 4 个家系,各家系取 96 尾鱼进行第 2 次遗传性别检测。2011 年 6 月 4 个家系遗传雌性比例检测结果分别为 42.71%、39.58%、42.71%和 48.96%,2012 年 3 月 4 个家系遗传雌性比例检测结果分别为 41.38%、37.93%、41.38%和 38.28%, (表 2)。对普通家第遗传雌、雄比例二次检测结果进行显著性检验,当自由度 df 为 90, t 值小于 1.984 时, $P>0.05$,表明差异不显著。

2.2 半滑舌鲷表型性别比例及性逆转率

2.2.1 4 个家系表型性别比例与性逆转率 对 28、

表 1 8 个普通家系遗传性别鉴定结果
Tab. 1 Genetical sex detection results of 8 normal families

序号 no.	家系号与群体号 family and group number	遗传雌性个体 number of genetic female	实验鱼总数 total number	遗传雌性比例 genetic female ratio	适合性测验值 suitability test value, χ^2
1	28	24	58	41.38%	1.69
2	30	24	58	41.38%	1.69
3	38	32	58	55.00%	0.60
4	39	22	58	37.93%	3.33
5	40	32	58	55.00%	0.60
6	44	24	58	41.38%	1.69
7	57	28	58	48.28%	0.06
8	69	30	58	51.72%	0.06

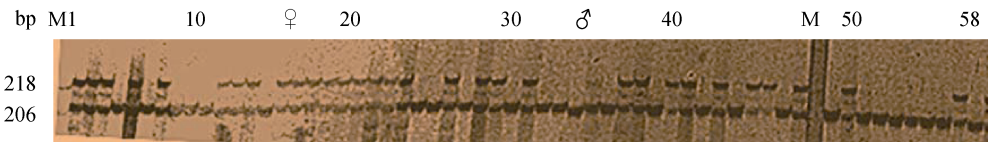


图 1 40 号家系 58 尾鱼遗传性别鉴定结果

M: 分子标记; ♀: 雌性示例; ♂: 雄性示例.

Fig. 1 Results of genetical sex detection for 58 fish of family 40
M: marker; ♀: female; ♂: male.

表 2 4 个家系 2 次遗传性别鉴定结果
Tab. 2 Results of genetical sex detection of 4 families for two times

序号 no	家系号 family code	实验鱼总数 total fish number	遗传雌性比例/% genetic female ratio		P
			6 月 Jun	3 月 Mar	
1	28	96	42.71	41.38	0.246
2	39	96	39.58	37.93	0.250
3	44	96	42.71	41.38	0.246
4	57	96	48.96	48.28	0.121

表 3 4 个家系表型雌性比例与性逆转率

Tab. 3 Results of physiological female and sex reversal ratio detected for 4 nomarl families

家系号 family code	表型雌性 number of physiological female	实验鱼总数 total fish number	表型雌性比/% physiological female ratio	遗传雌性比/% genetic female ratio	性逆转率/% sex reversal ratio
28	21	96	21.88	42.71	48.78
39	38	96	39.58	39.58	0.00
44	18	96	18.75	42.71	56.10
57	45	96	46.88	48.96	4.26

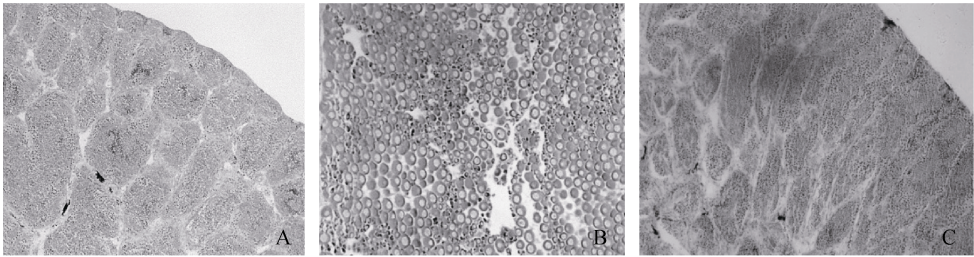


图 2 半滑舌鲷性腺切片图

A. 伪雄鱼; B. 普通雌性; C. 普通雄性.

Fig. 2 Slice of gonad for *Cynoglossus semilaevis*

A: neo-male; B: normal female; C: normal male.

39、44 和 57 这 4 个普通家系进行表型性别鉴定, 鉴定结果与遗传性别鉴定结果对比计算性逆转率, 44 家系性逆转率最高达 56.10%, 39 号家系性逆转率为 0(表 3), 表明家系间性逆转率存在显著差异。

2.2.2 半滑舌鲷雄性亲鱼遗传性别分析 本研究于 2011 年 3 月至 2012 年 3 月期间对海阳、莱州和昌邑养殖场的雄性亲鱼遗传性别进行了检测和分析。在 6 次取样调查中, 发现雄性亲鱼中有 17.49%~40.31% 的表型雄鱼具有雌性特异微卫星标记, 为伪雄鱼(表 4)。

3 讨论

鱼类性别决定和分化机制复杂多变, 由于绝

大部分鱼类在基因组水平上差异较小, 因此在没有异型性染色体的鱼类中寻找性别特异片段的难度较大。已鉴定或定位出性别决定候选基因的少数种类(如青鳉和鲑鳟类)中, 其性别通常由性别决定基因所控制。核型及带型研究表明, 半滑舌鲷的性别决定类型为 ZW 型, 雄性具有 ZZ 型染色体, 雌性具有 ZW 型染色体^[7]。

本研究利用自行开发的性别连锁微卫星标记 scaffold1128_343^[13], 首先对 8 个半滑舌鲷家系各 58 尾个体进行遗传性别鉴定, 发现 8 个家系遗传雌性比例在 37.93%~55.00% 之间(表 1), 遗传性别比例均符合 1:1 比例, 结果支持半滑舌鲷性别决定模式为 ZW 型的说法。同时结果表明不同家系

表 4 繁育场雄性亲鱼遗传性别鉴定结果

Tab. 4 Genetical sex detection results of male parents

采样时间 time	采样地点 place	遗传雌性 number of genetic females	实验鱼数 total number	遗传雌性个体比例/% genetic female ratio
2011.3.18	海阳 Haiyang	387	960	40.31
2011.4.20	莱州 Laizhou	75	384	19.53
2011.7.18	海阳 Haiyang	145	829	17.49
2012.2.25	海阳 Haiyang	93	345	26.96
2012.3.08	莱州 Laizhou	60	220	27.27
2012.3.11	昌邑 Changyi	136	384	35.42
总数 total		896	3122	28.70

遗传雌性比例有差异,故再次从这 8 个家系中选取 4 个家系各另取 96 尾个体进行遗传性别鉴定,结果与第一次鉴定结果之间未见显著性差异(表 2),不同家系遗传性别比例相对稳定。该特性表明半滑舌鲷性别决定也可能存在多因子剂量效应。

Vandeputte 等^[16]建立不同欧洲鲈(*Dicentrarchus labrax*)家系后,通过研究其后代性别比例,发现欧洲鲈后代的雌雄比例在不同家系中表现出显著性差异,由此提出欧洲鲈性别由多基因决定的假设。马洪雨等^[17]利用雌性特异性 AFLP 标记对半滑舌鲷进行遗传性别鉴定,发现雌性比例为 41.7%。以上结果均表明,常染色体可能参与性别遗传,子代雌雄比例可能取决于性染色体和常染色体的协同作用,或者 Z 和 W 性染色体间发生交换。该作用方式表现为,其后代性别比例不同于典型性染色体性别决定模式,即后代的性别比例为 1:1。目前,用于半滑舌鲷家系建立的亲鱼来自于饲养 1 年的野生亲鱼和人工养殖亲鱼^[18],由于亲本高度的遗传多样性与性状影响因子相互作用,子代可能会呈现复杂的性别遗传结果。

将 4 个家系遗传性别和表型性别鉴定结果对比分析发现,28 家系和 44 家系性反转率都在 50% 左右,39 家系和 57 家系的性逆转率则较低,39 家系甚至为 0.00%。2011 年 3 月至 2012 年 3 月间,对不同养殖场的雄性亲鱼遗传性别调查结果表明,雄性亲鱼中性逆转个体比例平均值为 28.42%,最高达到 40.31%。以上结果表明半滑舌鲷自然性逆转现象普遍存在,且不同家系之间存在差异性。季相山等^[1]2010 年发现了自然性逆转表型雄鱼,揭开半滑舌鲷性逆转现象研究序幕。邓思平等^[12]研究表明高温和低温处理均可导致半滑舌鲷遗传型雌性向表型雄性逆转。不过在相同环境条件下,遗传特性对鱼类性别的决定作用仍高于其他影响因素。张东鸣等^[19]通过实验研究发现,遗传特性对鲤(*Cyprinus carpio* L.)性别的影响较其他因素更强。Nakayama 等^[20]通过分子杂交发现 Z 和 W 性染色体曾发生交换现象,在此条件下形成特殊的 W 染色体,从而导致性别表型和性别遗传型不一致。目前有关遗传特性对半滑舌鲷性逆转的

影响还未有研究报道。本研究中,4 个家系来自同一养殖车间,实验期间养殖环境相似,由此推测半滑舌鲷性逆转率的家系间差异主要由遗传因素导致,但遗传因素在此过程中的具体作用机制还有待进一步研究。

综上所述,鱼类性别控制的技术手段对提高鱼类的养殖效益具有很高的应用价值。有目的地选择生长性能最佳的性别进行单性养殖,有利于提高养殖对象的生产量和经济价值。本研究揭示半滑舌鲷不同家系间在表型雌鱼比例和性逆转比例上存在显著差异,证明可以通过家系选育提高半滑舌鲷养殖群体的雌鱼比例,从而为半滑舌鲷性别控制和高雌性比例苗种培育提供理论依据。

参考文献:

- [1] 季相山,陈松林,马洪雨,等. 半滑舌鲷养殖群体中自然性逆转伪雄鱼的发现[J]. 水产学报, 2010, 34(2): 322-327.
- [2] 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]. Genetics, 2000, 155: 1331-1345.
- [3] Rachael A W, Karim G, Takashi S, et al. Comparative genome analysis of the primary sex-determining locus in salmonid fishes.[J]. Genome, 2003,13: 272-280.
- [4] Waldbieser G C, Bosworth B G, Nonneman D J, et al. A microsatellite-based genetic linkage map for channel catfish, *Ictalurus punctatus* [J]. Genetics, 2001,158(2): 727-734.
- [5] Lee B Y, Penman D J, Kocher T D. Identification of a sex-determining region in Nile tilapia(*Oreochromis niloticus*) using bulked segregant analysis[J]. Anim Genet, 2003, 34(5): 379-383.
- [6] Lee B Y, Hulata G, Kocher T D. Two unlinked loci controlling the sex of blue tilapia(*Oreochromis aureus*) [J]. Heredity, 2004, 92(6): 543-549.
- [7] Shao C W, Wu P F, Wang X L, et al. Comparison of chromosome preparation methods for the different developmental stages of the half-smooth tongue sole, *Cynoglossus semilaevis*. [J] Micron, 2010, 41: 47-50.
- [8] Chen S L, Li J, Deng S P, et al. Isolation of female-specific AFLP markers and molecular identification of genetic sex in half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) [J] Mar Biotech, 2007, 9(2): 273-280.
- [9] Chen S L, Ji X S, Shao C W, et al. Induction of mito-

- gynogenetic diploids and identification of WW super-female using sex-specific SSR markers in half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*)[J]. Mar Biotechnol, 2012, 14(1): 120–128
- [10] Patino R, Davis K B, Schoore J E, et al. Sex differentiation of channel catfish gonads: normal development and effects of temperature [J]. J Exp Zool, 1996, 276(3): 209–218.
- [11] Naotaka O, Yasunori K, Byungsun C, et al. Gonadal sex differentiation and effect of rearing temperature on sex ratio in black rockfish (*Sebastes schlegelii*)[J]. Ichthyol Res, 2010, 57: 133–138.
- [12] 邓思平, 陈松林, 田永胜, 等. 半滑舌鳎的性腺分化和温度对性别决定的影响[J]. 中国水产科学, 2007, 14(5): 714–719.
- [13] 陈松林, 邵长伟, 季相山, 等. 半滑舌鳎性别特异微卫星标记及其在超雌鱼鉴定中的应用: 中国, C20101060 2905.8[P]
- [14] 陈松林, 杜民, 杨景峰, 等. 半滑舌鳎家系建立及其生长和抗病性能测定[J]. 水产学报, 2010, 34(12): 1789–1794.
- [15] 高铭都, 黄义禄. 病理组织切片技术, 切片标本制作及各种染色法[M]. 石家庄: 南山堂出版社, 1988.
- [16] Vandeputte M, Dupont-Nivet M. A polygenic hypothesis for sex determination in the European sea bass *Dicentrarchus labrax*[J]. Genetics, 2007, 176: 1049–1057.
- [17] 马洪雨, 陈松林, 李静, 等. 半滑舌鳎雌性特异 AFLP 标记 CseF783 的克隆及其在遗传性别鉴定中的应用[J]. 遗传, 2009, 31(1): 88–94.
- [18] 柳学周, 庄志猛, 马爱军, 等. 半滑舌鳎繁殖生物学及繁育技术研究[J]. 海洋水产研究, 2005, 26(5): 7–14.
- [19] 张东鸣, Komen J. 饲养水平和遗传特性对 XX; mas-1/mas-+ 鲤鱼 (*Cyprinus carpio* L.) 性别决定的影响[J]. 吉林农业大学学报, 2002, 24(3): 96–101.
- [20] Nakayama I, Foresti F, Tewari R, et al. Sex chromosome polymorphism and hetero gametic males revealed by two cloned DNA probes in the (*Gymnotitormes*)[J]. Chromosoma, 2000, 109: 197–200.

Analysis of the female ratio and natural sexual reversal ratio in cultured half-smooth tongue sole families

LIANG Zhuo^{1,2}, CHEN Songlin¹, ZHANG Jing¹, SONG Wentao¹, DU Min¹, LIU Shanshan¹, HU Qiaomu¹

1. Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources Certified by the Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Qingdao 266071, China;

2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: We detected the genetic sex and the occurrence of sex reversal in eight normal families and their male parents in the half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis* Günther) using the SSR female-specific marker scaffold 1128_343 and a gonad slice. The proportion of females in eight normal families (28, 30, 38, 39, 40, 44, 57, and 69) ranged from 37.93 to 55.00%. The genetic sex of four of the eight normal families (28, 39, 44, 57) was detected twice, and the proportion of females did not exhibit significant difference between two tests ($P > 0.05$). We detected both the genetic sex and physiological sex in four of the eight normal families (28, 39, 44, and 57) and in all the male parents. The proportion of physiological females ranged from 18.75%–46.88% among the four families, and was lower than the proportion of genetic females. Our results suggest there are inter-family differences in the proportion of females undergoing sex-reversal. The present study also suggests that a significant number of male parent fishes (28.42%) are neo-males. Our results suggest that sex reversal is a natural phenomenon in the half-smooth tongue sole breeding population. Furthermore, we reveal the pedigrees of different physiological spawner ratio have significant differences. Our observations provide a theoretical basis for developing methods to culturing families that have a high proportion of female larvae.

Key words: *Cynoglossus semilaevis* Günther; rearing population; family; male parent; genetic sex; sexual reversal ratio

Corresponding author: CHEN Songlin. E-mail: chensl@ysfri.ac.cn