



· 综述 ·

雌雄同体鱼类性别分化及性转变研究进展

赵会宏^{1*}, 何琪¹, 张春丽¹, 王庆^{1,2}, 张勇³, 杨慧荣^{1,2},
林芳妹¹, 李育森¹, 石和荣⁴, 张海发⁴

(1. 华南农业大学海洋学院, 广东 广州 510642;

2. 华南农业大学, 海洋生物资源保护与利用粤港联合实验室, 广东 广州 510642;

3. 中山大学, 广东省水生经济动物良种繁育重点实验室, 广东 广州 510275;

4. 广东省海洋渔业试验中心, 广东 惠州 516081)

摘要: 在脊椎动物中, 鱼类具有多样的性别分化方式, 大致可分为雌雄异体、雌雄同体以及单性生殖 3 类。一般情况下, 鱼类性别决定后, 性腺可分化为卵巢或精巢, 并且在整个生命周期内保持不变。而在雌雄同体鱼类, 其性别可以从雌性转变为雄性、雄性转变为雌性或者在雌雄两种性别间进行多次转变。雌雄同体鱼类具有多种性别转变形式, 是研究脊椎动物性别决定与分化的理想模型。因此, 本文从性腺发育组织学变化、性激素分泌、神经内分泌、性别决定与分化基因的分子调控等方面, 综述了近年来雌雄同体鱼类性别分化与性转变相关的研究进展, 为更深入地研究鱼类性别调控机制提供参考。

关键词: 鱼类; 雌雄同体; 性别决定; 性别分化; 性腺发育; 性激素; 神经内分泌

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

动物的性别决定和分化是非常复杂的生理过程。多数脊椎动物的性别是由保守的性别决定基因决定的, 而硬骨鱼类性别决定方式具有多样性和可塑性, 其性别受遗传 (*xy*、*zw*、*dmy* 等基因)、环境等因素 (温度、盐度、pH 等) 或二者相互作用决定^[1]。性别决定 (sex determination) 是动物选择性别的一种生物学机制, 性别分化 (sex differentiation) 则描述了在性别决定后性腺发育为雄性 (精巢) 或雌性 (卵巢) 的过程。

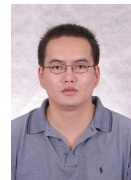
硬骨鱼种类繁多, 约有 3 万多种, 是脊椎动物数量最多的一类, 有多种性别决定方式, 包括雌雄异体、雌雄同体。秀美花鲮 (*Poecilia formosa*)^[2]

是目前唯一已知的进行单性繁殖的硬骨鱼类。雌雄异体物种的性别分化大多沿着单一的发育路径进行, 以不可逆的方向发育为雌性或雄性。然而, 在某些物种中, 个体以一种性别开始发育, 在某个特定的阶段转变为另一种性别, 该过程被称为性逆转或者性转变, 这些物种被称为雌雄同体生物^[3]。与其他高等脊椎动物不同, 硬骨鱼类在生命周期中发生性别变化是比较常见的事件, 猜测可能是由于鱼类社会群体结构的变化或达到适当的年龄、体型等原因^[4], 触发了某些开关, 引起机体一系列内分泌、组织、细胞、基因表达等多层次的连锁反应, 最终导致性别的完全逆转。雌

收稿日期: 2020-06-26 修回日期: 2020-10-28

资助项目: 国家自然科学基金 (31972768, 31972769, 41806151); 广东省自然科学基金 (2018B030311026); 广东省科技计划项目 (SDZX2020027); 广东省海洋渔业厅经济发展专项 (SDYY-2018-05); 河源市科技计划项目 (2019041); 惠州市引进科技创新团队“天鹅计划”(20170214023102296)

通信作者: 赵会宏 (照片), 从事水生动物生理学及种质资源开发利用研究, E-mail: zhaohh@scau.edu.cn



雌雄同体现象在硬骨鱼类中广泛存在。然而, 目前尚不清楚环境或生理信号在性别转变中是如何被解释、处理和传递的。阐明硬骨鱼类的性别决定与分化机理, 特别是雌雄同体鱼类, 对深入了解脊椎动物的性别决定至关重要。因此, 本文在已有研究的基础上, 对近年来(1975—2020年)雌雄同体鱼类自然性转变的研究进行了较为系统地综述。

1 雌雄同体鱼类简介

自然性逆转现象在植物和无脊椎动物中均有发生, 但在脊椎动物中仅限见于硬骨鱼类。目前, 约有 2% 的硬骨鱼类具有雌雄同体的现象, 主要集中于温带和热带水域, 至少分属于 9 目 20 科^[4]。雌雄同体鱼类的性腺通常会发生完全性逆转, 是研究脊椎动物性别决定和分化系统功能与进化的理想模型^[5]。根据雌雄同体鱼类生活史中卵巢和精巢在不同年龄阶段的发育情况, 大致可分为 3 种类型: 雌雄同体雄性先熟、雌雄同体雌性先熟、雌雄同体雌雄同步成熟^[6-11](表 1)。

1.1 雌雄同体鱼类性腺发育变化

雌雄同体雌性先熟 该类型鱼类生活史初

始阶段为具有成熟卵组织的雌鱼, 在适当的社会条件下, 会导致卵巢的退化、精巢的发育以及性行为的转变, 最终发育为功能性雄鱼^[7-8]。雌雄同体雌性先熟是鱼类雌雄同体的主要表现形式, 大约分属于 15 个科, 在具有一雄多雌系统的社会物种中尤为普遍^[4]。判断该物种是否属于雌雄同体雌性先熟有着严格的标准: 性转变过程中同时存在退化闭锁的成熟卵母细胞以及大量增殖的精母细胞、性逆转后精巢中存在残留卵巢腔、输精管等^[12-13]。海水鱼类中的石斑鱼类(*Epinephelus* spp.)、隆头鱼科(Labridae)的双带锦鱼(*Thalassoma bifasciatum*)、三斑海猪鱼(*Halichoeres trimaculatus*)、淡水鱼类中的黄鳝(*Monopterus albus*)等均属这一类型。

斜带石斑鱼(*E. coioides*)是雌雄同体雌性先熟鱼类的代表, 其性转变涉及完整的卵巢到精巢的变化过程。在斜带石斑鱼中, 性逆转过程大致可分为 3 个阶段(图 1)。主要特征: 卵巢发育成熟之后, 因某种原因, 触发卵巢退化机制, 卵泡闭锁, 成熟的卵母细胞和结缔组织变性, 精母细胞大量增殖^[13]。大部分雌雄同体雌性先熟鱼类性逆转后, 精巢中仍有残留的卵巢腔, 初级卵母细胞会在精巢中存在一段时间, 性腺壁的肌肉层会裂

表 1 雌雄同体鱼类性转变过程中的激素水平变化

Tab. 1 Gonadal transition and hormonal shifts in hermaphroditic fish

性别变化类型 sex change type	示例物种 species	性腺变化 gonadal transition	血清中类固醇水平变化 changes of serum steroid levels
雌性先熟 protandrous	蜂巢石斑鱼 <i>Epinephelus merra</i> ^[7] 黄鳝 <i>Monopterus albus</i> ^[8]	性腺首先发育为卵巢, 期间过渡为兼性性腺, 最终性逆转为精巢	由雌性到雄性的性逆转过程中, 雌激素E ₂ 以及睾酮T水平降低, 而11-酮基睾酮(11-KT)水平急剧上升
雄性先熟 protogynous	黑鲷 <i>Acanthopagrus schlegelii</i> ^[9] 黑双锯鱼 <i>Amphiprion melanopus</i> ^[10]	性腺首先发育为精巢组织为主的兼性性腺, 最终性逆转为卵巢	由雄性到雌性的性逆转过程中, 雌激素E ₂ 以及睾酮T的水平升高, 而11-酮基睾酮水平降低
雌雄同步成熟 bi-directional sex change	红点叶虾虎鱼 <i>Gobiodon erythropsilus</i> ^[11]	具有由成熟的卵巢和精巢组织组成的兼性性腺, 并能够在雌雄两个性别间多次改变性别	雌雄同步成熟的性逆转过程中, 雌性中雌激素E ₂ 含量最高, 具有明显的性二态表现模式, 而11-酮基睾酮及睾酮T含量雌雄间无差异

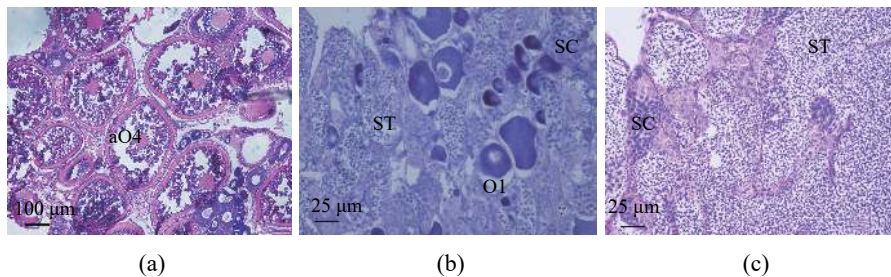


图 1 斜带石斑鱼性腺变化^[13]

(a) 卵巢, (b) 兼性性腺, (c) 精巢。aO4. 闭锁的卵黄发生卵母细胞, O1. 初级卵母细胞, ST. 精子, SC. 精小囊

Fig. 1 Gonadal sex change in the *E. coioides*^[13]

(a) ovary, (b) intersex, (c) testis. aO4. atretic vitellogenic stage oocytes, O1. primary-stage oocyte, ST. spermatid, SC. spermatogenic cyst

开形成输精窦^[14]。在性腺组织学上，雌雄同体雌性先熟鱼类的性腺变化过程一般是相似的。生活在热带水域的双带锦鱼完成由雌性到雄性的整个性腺转变过程只需要短短的 8 d，而贝氏隆头鱼 (*Labrus bergylta*)、蜂巢石斑鱼等随群体产卵季节性繁殖的雌性先熟雌雄同体鱼类，可能需要数月才能完成性转变过程^[7,14]。

雌雄同体雄性先熟 这种类型鱼类生活史初始阶段为雄性，但性腺中同时存在成熟的精巢和未成熟的卵巢组织，性别变化过程中，性腺中的精巢组织会逐渐退化，同时卵巢组织发育成熟，最终成为功能性雌性^[15-16]。大多雌雄同体雄性先熟鱼类完成性逆转后，成熟卵巢中不会存在明显的精巢组织，因此判断该物种是否为雌雄同体雄性先熟的主要特征为性转变过程中同时存在退化的精巢组织和卵黄发生期卵母细胞^[17]。鲷科 (Sparidae) 鱼类中的黑鲷、澳洲棘鲷 (*A. australis*)，雀鲷科 (Pomacentridae) 中的双锯鱼属 (*Amphiprion*) 等均属于这一类型。

雌雄同体鱼类中，大多数雄性先熟与雌性先熟有显著的不同，前者性别的改变从由结缔组织分离的精巢组织和卵巢组织组成两性生殖腺开始^[18-19]。例如，雌雄同体雄性先熟的澳洲棘鲷，在生活史前 2 年为功能性雄性，但在第 3 年可性逆转成为功能性雌性 (图 2)。在性别变化过程中，澳洲棘鲷两性生殖腺中的精巢组织在第 1~2 个繁殖季节首先发育成熟，随着第 3 个繁殖季节的临近，精巢组织完全退化，卵黄发生期卵母细胞出现，功能性雄性完全性逆转为功能性雌性^[20-22]。黑鲷等大多数雄性先熟雌雄同体鱼类的性转变过程相似，即一旦由雄性转变为成熟的雌性便不会再次发生性别转变，而且功能性雌鱼的性腺中没有明显的精巢组织残留。然而，克氏双锯鱼 (*A. clarkii*) 由功能性雄鱼性转变为成熟的雌鱼后可能会再次性转变为雄性，因为具有雌雄双向性别变化能力的生殖细胞或精原细胞仍存留在性转变后的成熟卵巢组织中^[23]。

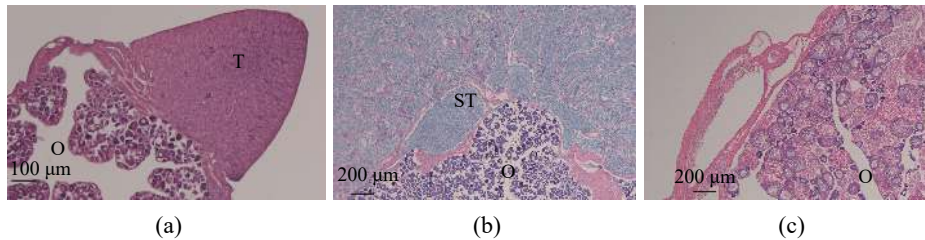


图 2 黄鳍鲷性腺变化

(a) 未成熟两性性腺, (b) 功能性雄性; (c) 功能性雌性。T. 精巢, O. 卵巢, ST. 精子, 下同

Fig. 2 Gonadal sex change in the *A. latus*

(a) immature bisexual gonad, (b) functional male, (c) functional female, T. testicular tissue, O. ovarian tissue, ST. spermatid, the same below

雌雄同体雌雄同步成熟 这种类型鱼类同时具有功能性的卵巢和精巢组织，并且能够在雌雄两个性别间多次改变性别以应对其社会地位的变化^[24-25]。雌雄同体雌雄同步成熟的硬骨鱼类大约有 5 科 10 种，其中大多是实验室条件下的雌雄同体雌性先熟鱼类^[24, 26]，在自然条件下很少见，主要为虾虎鱼科 (Gobiidae) 叶虾虎鱼属 (*Gobiodon* spp.) 的鱼类^[27-28]。

虾虎鱼科中的冲绳磨塘鳢 (*Trimma okinawae*) 是第一种被报道的雌雄同体雌雄同步成熟鱼类，这种鱼的性腺结构与其他性别变化的鱼有根本的不同^[27]。如图 3 所示，冲绳磨塘鳢性腺同时存在由结缔组织薄膜隔开具有生殖功能的卵巢和精巢两部分，并能根据当前条件在任何一个方向上快

速灵活地调整其性表型^[29-30]。例如一雄多雌交配系统中的冲绳磨塘鳢，若从群体中移除占主导地位的雄性会导致体型最大的雌性变化为雄性。而

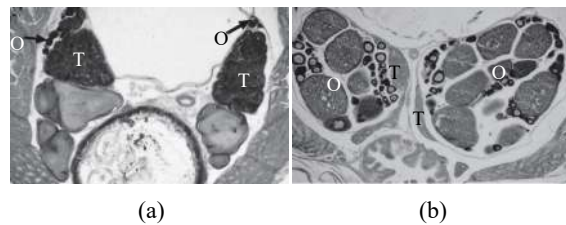


图 3 冲绳磨塘鳢不同性别阶段的性腺结构^[29]

(a) 雄性, (b) 雌性

Fig. 3 Gonadal structure of *T. okinawae* at different sex stages^[29]

(a) male, (b) female

占优势的雄性被再次送回群体, 经历性别转换的鱼又会变成雌性^[31]。雌雄同体雌雄同步成熟的鱼类在任何一个方向上反复改变性别的能力, 有利于任何两条鱼形成异性繁殖配对, 从而减少在寻找伴侣时的旅行距离、捕食风险以及繁殖的时间^[30]。

1.2 性转变过程中的激素变化

众所周知, 性激素在动物生殖发育中发挥重要的作用, 雌激素和雄激素可以调节脊椎动物的卵巢和精巢分化并维持性表型^[32]。17 β -雌二醇(E_2)、11-酮基睾酮(11-KT)分别是硬骨鱼类中主要的雌激素和雄激素。它们之间密切关联, 并具有转化途径。如图4所示, 睾酮(T)能作为一种“前激素”通过芳香化酶基因(*cyp19a1a/cyp19a1b*)转化为雌激素 E_2 或者由*cyp11b*和*hsd11b*的生物转化为雄激素11-KT^[33-34]。因此, 雌激素和雄激素分泌之间的相对平衡在很大程度上影响了脊椎动物性别分化和性腺发育^[35]。

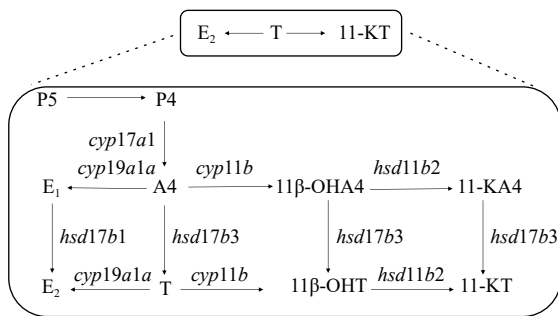


图4 硬骨鱼类性类固醇激素变化关系^[34]

P5. 孕烯醇酮, P4. 黄体酮, 11-KA4. 11-酮基雄烯二酮, 11 β -OHT. 11 β -羟基睾酮, 11 β -OHA4. 11 β -羟基雄烯二酮, 11-KT. 11-酮基睾酮, T. 睾酮, A4. 雄烯二酮, E₁. 雌酮, E₂. 17 β -雌二醇

Fig. 4 Regulation of sex steroid hormones in teleost^[34]

P5. pregnenolone, P4. progesterone, 11-KA4. 11-ketoandrostenedione, 11 β -OHT. 11 β -hydroxytestosterone, 11 β -OHA4. 11 β -hydroxyandrostenedione, 11-KT. 11-ketotestosterone, T. testosterone, A4. androstenedione, E₁. estrone; E₂. 17 β -estradiol

鱼类性腺发育方向的改变通常伴随着体内性激素的急剧变化^[35]。雌雄同体雌性先熟的鱼类, 在生殖季节性成熟雌鱼血清中 E_2 及T含量最高, 随着性别的逆转, 卵黄发生卵母细胞退化, 血清中 E_2 含量急剧下降并一直维持在较低的水平, 同时伴随着精巢组织的迅速增殖及精子的发生, 血清中11-KT水平含量逐渐升高^[35-36]。而雌雄同体雄性先熟鱼类性别变化期间性激素的变化趋势完全相反, 随着血清中11-KT含量下降, E_2 含量的

显著增加, 两性生殖腺中的精巢组织逐渐退化, 卵巢组织迅速发育^[9]。雌雄同体雌雄同步成熟的虾虎鱼中, 雌激素 E_2 含量表现为明显的性别二态模式, 雌性血清中 E_2 含量会显著高于雄性, 但雄激素11-KT浓度变化与性腺发育无明显关联, 不需要高浓度雄激素来维持雄性性腺表型^[11,37]。

目前已有大量的实验阐明了性类固醇激素在雌雄同体鱼类性别变化中的作用。例如, 用一定浓度的外源性类固醇激素(雌激素或雄激素)处理性别分化期间的斜带石斑鱼, 研究表明, 雌激素是导致雌性分化的天然诱因, 在性别分化过程中, 雌激素和雄激素的协同作用正是诱导雌雄同体雌性先熟石斑鱼性逆转为雄性的重要因素^[38]。然而, 研究发现雌性或雌雄间性黄鳝腹腔注射高剂量的雄激素, 并不会导致其性逆转为具有生殖力的雄性^[39], 这说明, 外源性类固醇激素并不能诱导所有的雌雄同体鱼类性逆转, 其中具体的作用机制有待进一步研究。值得注意的是, 性逆转后的鱼类若停止激素处理, 其性别的改变通常不会持续^[40]。这表明, 虽然性激素能调节性腺的变化, 但还是需要通过分子调控通路来适应体内性激素分泌的变化以维持性别的改变。

2 性别转变的调控机制

2.1 性分化的分子调控机制

在早期胚胎发育过程中, 性别分化过程不再被认为是一种不可逆转的单向发育过程, 而是一场争夺雄性和雌性发育优势的战争^[41]。脊椎动物中, 虽然性别决定基因是复杂多样的, 却存在一组核心下游性别分化基因, 分别在雌性化(例如*cyp19a1a*、*foxl2*、*wnt4*等)和雄性化(例如*dmrt1*、*dax1*等)的分子调控网络中共同作用, 以调控卵巢或精巢的发育^[42]。如图5所示, Piferrer等^[43]和范兆飞^[44]认为硬骨鱼类性别决定和分化分子调控通路主要涉及4个层次的基因, 第一层次是性别决定主导基因, 多数为雄性决定基因, 保守性较低, 不同的物种有不同的主性别决定基因, 它们决定了性腺分化通路的开端是雄性或雌性。如青鳉(*Oryzias latipes*)中Y染色体连锁的雄性决定基因*dmy*和*gsdfy*^[45], 尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)中的雄性决定基因为*amhy*^[46]。第二层次是性别分化的上游调控基因, 如*sf1*、*sox9*、*amh*、*dax1*、*foxl2*和*dmrt1*等, 它们能间接或直接调控下游的性类固醇基因表达, 是启动精巢或卵巢分化的初

始基因。第三层次是中游调控基因，主要是类固醇激素合成相关基因 *cyp19a1* 和 *cyp11b* 等，与性类固醇激素的合成有关，负责调节和维持性腺的分化。其中，芳香化酶基因 *cyp19a1* 和 *dmrt1* 在鱼类性别分化中占据十分重要的位置，在鱼类性腺分化过程中具有较高的保守性，它们的功能作用互相拮抗。第四层次是位于类固醇激素合成相关基因 *cyp19a1* 和 *cyp11b* 下游的响应性类固醇水平变化表达的下游调控基因，如 ER 和 AR 等。这 4 个层次的基因相互作用，在硬骨鱼类性别决定及分化过程中发挥重要的作用。

对雌性而言，较高的雌激素含量是维持卵巢功能和卵泡发育的必要条件。雌激素的产生很大程度上依赖于性腺芳香化酶-*cyp19a1a*，这是一种能将雄激素转化为雌激素的关键酶^[47]。*cyp19a1a* 通过调节脊椎动物性激素的生物合成，影响性腺分化进程和种群性别比。*cyp19a1a* 在雌性黄鳍的成熟卵巢中高表达，但在其性腺转化过程中表达下调，雌激素水平下降，导致卵泡闭锁^[48]。在硬骨鱼类中，*cyp19a1a* 启动子区域含有多种可能调

节其表达的转录因子的结合序列，这些转录因子主要包括 *foxl2*、*dmrt1*、*amh* 和 *sf1* 等，在脊椎动物的性别分化中起着重要的作用，同样也是雌雄同体鱼类性别变化的重要的协调者和潜在的启动者^[49-51]。下文将简单介绍相关转录因子在雌雄同体鱼类性别变化过程中的功能作用。

雌性相关转录因子 *foxl2* 是具有 forkhead DNA 结构域的 FOX 家族成员。大量的脊椎动物研究表明，*foxl2* 在卵巢中高表达，具有明显的性二态表达差异，它能够通过直接与 *cyp19a1* 的启动子结合或与 *sf1* 相互作用以增强 *cyp19a1* 转录从而促进雌激素的生成，在卵巢分化中起重要作用，是脊椎动物卵巢分化的标志之一^[52-53]。在硬骨鱼类性别决定和分化过程方面，研究较多的是 *foxl2* 的 2 个旁系同源基因：*foxl2(foxl2a)* 和 *foxl3(foxl2b)*，它们被认为是鱼类特有的两个副本。*foxl2* 在雌性先熟雌雄同体的三斑海猪鱼的卵巢和精巢中均高表达，无显著差异，但用芳香化酶抑制剂处理三斑海猪鱼，*foxl2* 的表达水平会随着精巢的发育有所上调，以弥补雌激素的减少，表明雌激素可能在该物种精子发生中尤为重要^[54]。而在斜带石斑鱼中 *foxl2* 存在性二态表达差异，在雌性到雄性的性别变化期间，*foxl2* 的表达量显著降低^[55]。据此推测，*foxl2* 可能对自然性别变化的鱼类有着不同的作用和功能。现有的少数研究发现，在雌雄同体的斜带石斑鱼和黄鳍中，*foxl3* 在精巢中的表达量显著高于卵巢，它在多数硬骨鱼类卵母细胞减数分裂的发生过程中或在精巢发育后期和精巢成熟过程中对雄性特定基因的调控起作用^[56-57]。*foxl3* 能中断 XX 性青鳞发育出功能精子，说明 *foxl3* 是抑制雌性生殖细胞生精所必需的^[58]。最近有研究发现，在斜带石斑鱼中，*foxl3* 可能是潜在的雄性特异调控基因，并猜测 *AR-foxl3-rec8/fbxo47* 是影响硬骨鱼类精巢发育的重要途径^[13]。然而，目前对 *foxl3* 的研究依旧十分缺乏，其在硬骨鱼类性别分化中的作用机制有待更深入地探究。

nr5a1 又称 *ad4bp/sf1*，它是核受体家族中一个不寻常的成员。在哺乳动物中，*nr5a1* 作为一种转录因子参与调控 P450_{scc}、3 β -HSD 和 P450 芳香化酶等类固醇生成酶的合成，在性腺发育中发挥重要的作用^[59-60]。近年来，*nr5a1* 基因在雌雄同体鱼类中的研究较少，大多集中在 mRNA 的表达。在雌雄同体雌雄同步成熟的冲绳磨塘鳢雌性逆转为雄性的过程中，*nr5a1* 的表达水平急剧降低，而

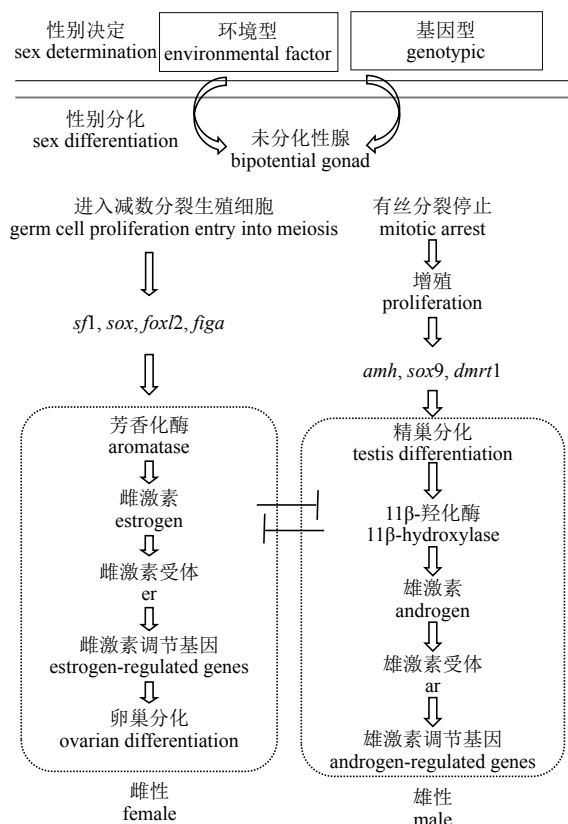


图 5 鱼类性别决定和分化分子调控模式图^[43]

Fig. 5 Molecular regulation pattern of sex determination and differentiation in teleost^[43]

在雄性逆转为雌性的性别变化过程中, *nr5a1* 只在卵巢中表达, 其表达水平也逐渐升高^[61]。同样的, 在雌雄同体雌性先熟双带锦鱼性别变化过程中, *nr5a1* 与 *cyp19a1a* 的表达都会较低^[34]。此外, *nr5a1* 能直接作用于芳香化酶基因 *cyp19a1* 启动子区域并激活 *cyp19a1* 的表达进而调控尼罗罗非鱼^[52]、虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)^[62] 等硬骨鱼类早期性别分化。若敲除雌性尼罗罗非鱼 *nr5a1* 基因, 会导致部分鱼体内芳香化酶基因 *cyp19a1a* 的表达和血清中雌激素 E_2 含量降低, 最终性逆转为雄性^[63]。目前, 关于 *nr5a1* 基因在硬骨鱼类性腺分化方面研究有限, 今后有必要进行更深入的研究。

雄性化相关转录因子 抗缪勒氏管激素 *amh* 基因是 *TGF- β* 基因超家族的成员之一, 参与脊椎动物雄性性腺分化^[64]。在哺乳动物, 抗缪勒氏管激素 AMH 能减少芳香化酶的生物合成, 从而导致缪勒氏管退化, 避免输卵管的发育^[65]。尽管硬骨鱼类没有缪勒氏管, 但 *amh* 的表达方式比高等脊椎动物更为多样化, 在一些硬骨鱼类性别分化过程中, *amh* 与芳香化酶基因-*cyp19a1* 的表达呈负相关, 能调控精原细胞的增殖, 甚至在个别鱼类中与其性别决定相关^[66]。例如, 敲除雄性尼罗罗非鱼 Y 染色体上的 *amh* 副本-*amhy* 基因会导致其芳香化酶基因的上调和卵巢分化, 而 *amhy* 在雌性尼罗罗非鱼体内的过度表达则会诱导其精巢的分化^[46]。此外, *amh* 在雌雄同体鱼类性别逆转过程中也具有重要的作用。有研究发现^[67-68], 饲喂性腺未分化的斜带石斑鱼 *amh* 质粒可促进雄性相关基因 (*sox9*、*dmrt1*、*cyp11b* 和 *hsd11b2*) 的表达而抑制雌性相关基因 (*cyp19a1a*、*foxl2*) 的表达, 同时也有利于斜带石斑鱼精原细胞的增殖及精巢的发育。因此, 他们认为 *amh* 可能通过抑制芳香化酶基因-*cyp19a1a* 的表达或通过激活雄性性别分化的表达途径, 在雌雄同体雌性先熟鱼类的性别逆转过程中发挥重要作用。此外, 有学者通过化学试剂诱导的短暂双向性别变化阶段来试图阐述 *amh* 在斜带石斑鱼性腺分化和性别维持期间的的作用, 结果表明 *amh* 能调节 A 型精原细胞的分化, 从而在斜带石斑鱼雌性到雄性的性别变化过程中调控雄性性腺的发育, 而 *amh* 在雄性到雌性的性别变化过程中会抑制早期生殖细胞的进一步分化, 这暗示 *amh* 在石斑鱼性别双向变化过程中也发挥着重要的作用^[69]。而在雌雄同体雄性先熟的鱼类中^[40], 用雌激素 E_2 处理具有两性生殖腺的

黑鲷, 研究发现 *amh* 能抑制精巢组织中卵巢的异位发育, 并维持具有两性性腺雄鱼的雄性功能。*amh* 的这一功能或许有助于解释为什么大多数雌雄同体的鱼类属于雌性先熟。以上发现都表明了 *amh* 在硬骨鱼类性腺分化中的重要作用, 但硬骨鱼类种类繁多, 需要更多的研究来阐明 *amh* 在硬骨鱼类性别分化过程中的作用机制和涉及的分子调控网络。

dmrt1 基因被认为是脊椎动物雄性决定和精子发生的关键驱动基因, 参与了雄性性腺的发育^[70]。在硬骨鱼类中, *dmrt1* 有时存在于性染色体上, 在性别决定方面具有直接作用。在青鲮中 *dmrt1* 基因有两个类似物存在, 其中一个位于 Y 染色体上的 *dmy* 雄性决定基因, 若敲除雄性个体中的 *dmy* 基因, 将会导致雄性青鲮性逆转为雌性^[71]。在其他硬骨鱼类性腺分化早期, 用雄激素处理其雌性胚胎, 会导致鱼类性逆转及 *dmrt1* 表达的上调^[72]。相反的, 用雌激素处理雄性胚胎, 将会导致 *dmrt1* 基因的表达显著降低^[73]。此外, 还发现 *dmrt1* 的表达与三斑海猪鱼、云斑尖塘鳢 (*Oxyeleotris marmorata*) 等雌雄同体鱼类的精巢分化相一致^[74-75]。这表明, *dmrt1* 不仅参与硬骨鱼类精巢的早期分化, 还与鱼类性别逆转有关。在雄性先熟雌雄同体鱼类中, *dmrt1* 的缺乏会导致精巢退化和卵巢发育。*dmrt1* 是黑鲷自然性别变化的早期分子信号, 它决定着在黑鲷第三个产卵期会变成雄性还是雌性, 此外, 外源性 E_2 会抑制黑鲷精巢中 *dmrt1* 的表达, 导致精巢退化^[20]。虽然 *dmrt1* 强烈的雄性偏向表达似乎是一种普遍趋势, 但近年来有研究发现, *dmrt1* 与卵子的发生也有一定的关系^[76]。目前已有大量的研究表明 *dmrt1* 在鱼类自然性别变化中的重要性, 但还需要更多的实验证据来阐明 *dmrt1* 的确切功能。

2.2 性分化的神经内分泌调控

众所周知, 下丘脑-垂体-性腺轴 (HPG) 是脊椎动物性腺发育的主要神经内分泌调控轴^[77]。如图 6 所示, 食物、光周期等外界环境因子最终被下丘脑视前区的促性腺激素释放激素 (GnRH) 神经元整合, 以调节 HPG 生殖轴的输出。GnRH 能作用于垂体, 促使垂体前叶分泌促性腺激素 (GtHs), 包括卵泡刺激素 (FSH) 和促黄体激素 (LH), 从而调节卵泡发育、精子发生及雄激素、雌激素等多种性类固醇激素的合成和释放^[78-80]。

大量实验证明, 调节雌激素和雄激素分泌之

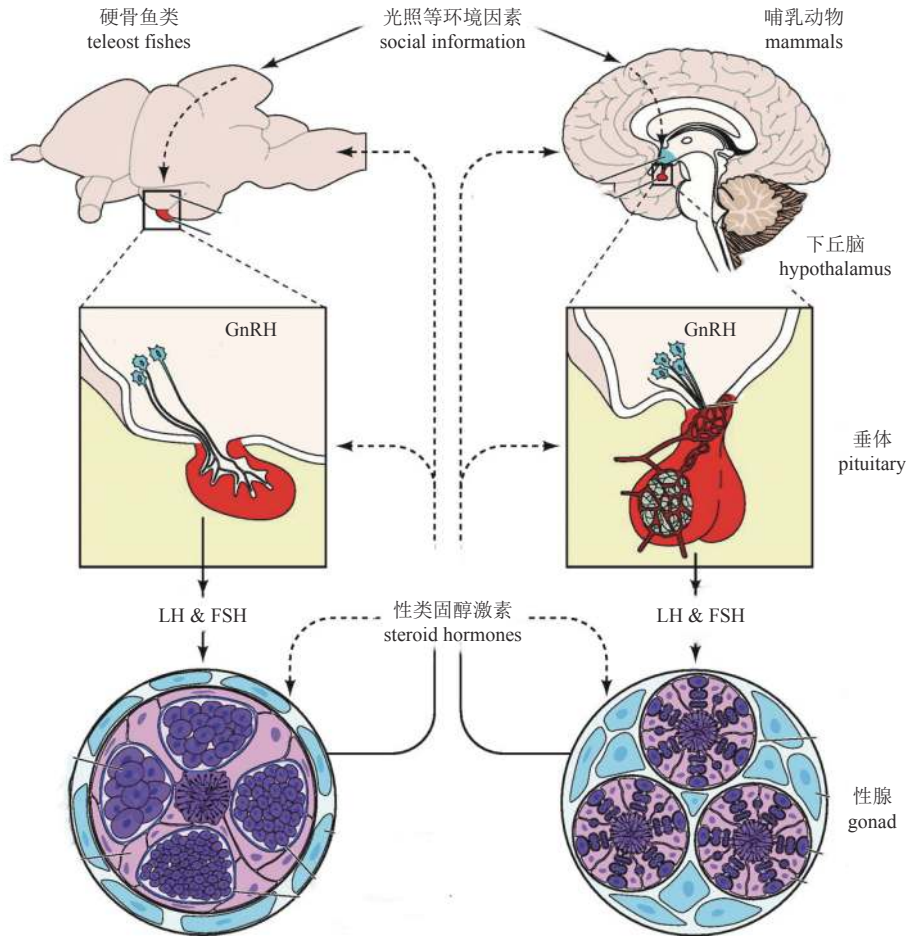


图 6 脊椎动物下丘脑-垂体-性腺轴 (HPG) 调节示意图^[77]

GnRH. 促性腺激素释放激素, LH. 促黄体激素, FSH. 卵泡刺激素

Fig. 6 Schematic representation of the hypothalamic-pituitary-gonadal axis in vertebrate^[77]

GnRH. gonadotropin-releasing hormone, LH. luteinizing hormone, FSH. follicle stimulating hormone

间的相对平衡对脊椎动物性腺分化至关重要，而性类固醇激素的生成在很大程度上受垂体产生的促性腺激素 (GtHs) 的调控。在硬骨鱼类中，卵泡刺激素 FSH 与性腺的早期发育和配子的形成有关，而促黄体激素 LH 主要参与配子的成熟及产卵、排精行为，操纵 GtHs 信号通路可诱导某些雌雄同体鱼类发生部分或完全的性别变化^[81]。研究发现，在赤点石斑鱼 (*E. akaara*) 性腺发育过程中，GtHs 亚基 (Fsh β 和 Lh β) 及其受体 GtHRs (Fshr 和 Lhcgr) 的表达均会随着其性别的变化而波动^[82]。此外，用卵泡刺激素 FSH 或促黄体激素 LH 处理雌性蜂巢石斑鱼，FSH 处理组蜂巢石斑鱼雄激素含量增加，性别发生逆转，而 LH 处理组性别无变化^[83]。同样的，研究发现促黄体激素 LH 会显著抑制棕点石斑鱼 (*E. fuscoguttatus*) 性别变化的起始阶段性类固醇生成基因 *cyp11b*、*cyp19a1a* 以及 *foxl2* 的表达，导致性别变化受到限制。因此，他

们认为 FSH 而不是性类固醇诱导了雌雄同体雌性先熟石斑鱼的性别变化，这可能涉及激素非依赖性途径，而皮质泡卵母细胞的出现正是 FSH 诱导石斑鱼性别变化的关键时期^[84]。然而，GtHs 在调节硬骨鱼类性别变化中的确切作用机制尚不清楚，GtHs 在不同鱼类性别分化阶段的作用并不一致。例如，垂体促性腺激素 GtHs，特别是促黄体激素 LH 在赤点石斑鱼卵巢早期分化过程中扮演着重要角色，但在点带石斑鱼 (*E. malabaricus*) 性腺分化过程中 GtHs 并没有发挥重要的作用，而是在卵巢分化后才开始起作用^[82, 85]。因此，为了进一步了解硬骨鱼类中 GtHs 的功能作用，在今后的研究中有必要进行深入研究。

3 总结与展望

鱼类的性别调控机制错综复杂，其性别变化

可能是多种因素在多个层次上相互作用的结果。环境因子、神经内分泌、分子调控机制及性激素等在不同的器官发挥作用, 相互作用产生同步的信号, 在生理和行为等多方面控制鱼类的性别分化, 但是性别分化的指令是从哪里开始的, 通过什么, 以及如何传递这些信息来诱导性腺的变化, 仍然是未知的。

目前为止, 对鱼类自然性别变化的研究主要集中在雌雄同体雌性先熟的石斑鱼、黄鳍和雌雄同体雄性先熟的黑鲷等鱼类。最近, 有学者以斑马鱼为模型阐述了营养代谢在动物性别转换过程中的调控作用, 他们提出了一个全新的学术概念“代谢雌性化”(metabolic feminization), 即雄性动物在性别转换过程中其代谢模式先于或同步于性腺转化发生雌性化转变的生理过程^[86], 同时, 又有研究发现, 在雌性青鳉性别分化过程中, 饥饿能通过脂类代谢影响雄性性别分化基因 *dmrt1* 的表达, 从而导致雌性青鳉性逆转为雄性^[87]。为更广泛地了解脊椎动物性别变化过程中的调控机制, 今后有必要研究更加多样化的性别变化机制, 这将极大地丰富对脊椎动物性别决定和分化调控机制的认识。

赵会宏与何琪为共同第一作者。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] Swain A, Lovell-Badge R. Mammalian sex determination: a molecular drama[J]. *Genes & Development*, 1999, 13(7): 755-767.
- [2] Dries L A. Peering through the looking glass at a sexual parasite: are amazon mollies red queens?[J]. *Evolution*, 2003, 57(6): 1387-1396.
- [3] Warner R W. The adaptive significance of sequential hermaphroditism in animals[J]. *The American Naturalist*, 1975, 109(965): 61-82.
- [4] Avise J C, Mank J E. Evolutionary perspectives on hermaphroditism in fishes[J]. *Sexual Development*, 2009, 3(2-3): 152-163.
- [5] Vega-Frutis R, Macías-Ordóñez R, Guevara R, et al. Sex change in plants and animals: a unified perspective[J]. *Journal of Evolutionary Biology*, 2014, 27(4): 667-675.
- [6] Kobayashi Y, Nagahama Y, Nakamura M. Diversity and plasticity of sex determination and differentiation in fishes[J]. *Sexual Development*, 2013, 7(1-3): 115-125.
- [7] Bhandari R K, Komuro H, Nakamura S, et al. Gonadal restructuring and correlative steroid hormone profiles during natural sex change in protogynous honeycomb grouper (*Epinephelus merra*)[J]. *Zoological Science*, 2003, 20(11): 1399-1404.
- [8] Yuan H W, Chen F, Xu Q Q, et al. Effects of exogenous melatonin on serum steroid hormones, GSI, survival ratio and sex reversal in rice field eel, (*Monopterus albus*)[J]. *Applied Mechanics and Materials*, 2011, 142: 238-242.
- [9] Lee Y H, Du J L, Yueh W S, et al. Sex change in the protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegelii*: a review in gonadal development, estradiol, estrogen receptor, aromatase activity and gonadotropin[J]. *Journal of Experimental Zoology*, 2001, 290(7): 715-726.
- [10] Godwin J R, Thomas P. Sex change and steroid profiles in the protandrous anemonefish *Amphiprion melanopus* (Pomacentridae, Teleostei)[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 1993, 91(2): 144-157.
- [11] Kroon F J, Munday P L, Westcott D A. Equivalent whole - body concentrations of 11 - ketotestosterone in female and male coral goby *Gobiodon erythrospilus*, a bidirectional sex - changing fish[J]. *Journal of Fish Biology*, 2009, 75(3): 685-692.
- [12] 王盈颖. 赤点石斑鱼和青石斑鱼性分化过程中性腺发育的研究 [D]. 厦门: 厦门大学, 2015.
- Wang Y Y. Gonad development during sexual differentiation in *Epinephelus akaara* and *E. awoara*[D]. Xiamen: Xiamen University, 2015 (in Chinese).
- [13] Lin F M, Tong F, He Q, et al. *In vitro* effects of androgen on testicular development by the *AR-foxl3-rec8/fbxo47* axis in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*)[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2020, 292: 113435.
- [14] Muncaster S, Norberg B, Andersson E. Natural sex change in the temperate protogynous Ballan wrasse *Labrus bergylta*[J]. *Journal of Fish Biology*, 2013, 82(6): 1858-1870.
- [15] Lau E L, Lee M F, Chang C F. Conserved sex-specific timing of meiotic initiation during sex differentiation in the protandrous black porgy *Acanthopagrus schlegelii*[J]. *Biology of Reproduction*, 2013, 88(6): 150.

- [16] Wu G C, Tomy S, Lee M F, *et al.* Sex differentiation and sex change in the protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegelii*[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2010, 167(3): 417-421.
- [17] Casas L, Saborido-Rey F, Ryu T, *et al.* Sex change in clownfish: molecular insights from transcriptome analysis[J]. *Scientific Reports*, 2016, 6: 35461.
- [18] Shapiro D Y. Plasticity of gonadal development and protandry in fishes[J]. *Journal of Experimental Zoology*, 1992, 261(2): 194-203.
- [19] 陈淑吟, 张志勇, 刘海林, 等. 池养黑鲷性逆转组织学观察[J]. *海洋科学*, 2017, 41(7): 51-58.
Chen S Y, Zhang Z Y, Liu H L, *et al.* Histological observation of sex change in the cultivated black porgy, *Acanthopagrus schlegelii*[J]. *Marine Sciences*, 2017, 41(7): 51-58 (in Chinese).
- [20] Wu G C, Chang C F. Primary males guide the femaleness through the regulation of testicular Dmrt1 and ovarian Cyp19a1a in protandrous black porgy[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2018, 261: 198-202.
- [21] Wu G C, Chang C F. The switch of secondary sex determination in protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegelii*[J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2013, 39(1): 33-38.
- [22] Pollock B R. The reproductive cycle of yellowfin bream, *Acanthopagrus australis* (Günther), with particular reference to protandrous sex inversion[J]. *Journal of Fish Biology*, 1985, 26(3): 301-311.
- [23] Nakamura M, Miura S, Nozu R, *et al.* Opposite-directional sex change in functional female protandrous anemonefish, *Amphiprion clarkii*: effect of aromatase inhibitor on the ovarian tissue[J]. *Zoological Letters*, 2015, 1: 30.
- [24] Kuwamura T, Kadota T, Suzuki S. Bidirectional sex change in the magenta dottyback *Pictichromis porphyrea*: first evidence from the field in Pseudochromidae[J]. *Environmental Biology of Fishes*, 2015, 98(1): 201-207.
- [25] Maxfield J M, Cole K S. Structural changes in the ovotestis of the bidirectional hermaphrodite, the blue-banded goby (*Lythrypnus dalli*), during transition from ova production to sperm production[J]. *Environmental Biology of Fishes*, 2019, 102(11): 1393-1404.
- [26] Manabe H, Toyoda K, Nagamoto K, *et al.* Bidirectional sex change in seven species of *Priolepis* (Actinopterygii: Gobiidae)[J]. *Bulletin of Marine Science*, 2013, 89(2): 635-642.
- [27] Sunobe T, Nakazono A. Sex change in both directions by alteration of social dominance in *Trimma okinawae* (Pisces: Gobiidae)[J]. *Ethology*, 1993, 94(4): 339-345.
- [28] Nakashima Y, Kuwamura T, Yogo Y. Both-ways sex change in monogamous coral gobies, *Gobiodon* spp.[J]. *Environmental Biology of Fishes*, 1996, 46(3): 281-288.
- [29] Sunobe T, Nakamura M, Kobayashi Y, *et al.* Gonadal structure and P450scc and 3 β -HSD immunoreactivity in the gobiid fish *Trimma okinawae* during bidirectional sex change[J]. *Ichthyological Research*, 2005, 52(1): 27-32.
- [30] Tomatsu S, Ogiso K, Fukuda K, *et al.* Multi-male group and bidirectional sex change in the gobiid fish, *Trimma caudomaculatum*[J]. *Ichthyological Research*, 2018, 65(4): 502-506.
- [31] Manabe H, Ishimura M, Shinomiya A, *et al.* Field evidence for bi-directional sex change in the polygynous gobiid fish *Trimma okinawae*[J]. *Journal of Fish Biology*, 2007, 70(2): 600-609.
- [32] 陈立黎. 雌、雄激素对罗非鱼性别分化和性腺基因表达的影响 [D]. 重庆: 西南大学, 2016.
Chen L L. Effects of estrogen and androgen on sex differentiation and gonadal gene expression[D]. Chongqing: Southwest University, 2016 (in Chinese).
- [33] 梁冬冬. 牙鲆性类固醇激素合成重要基因表达调控的初步研究 [D]. 青岛: 中国科学院大学 (中国科学院海洋研究所), 2017.
Liang D D. Study on steroidogenesis important genes' expression and regulation in the olive flounder *Paralichthys olivaceus*[D]. Qingdao: The Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2017 (in Chinese).
- [34] Liu H, Todd E V, Lokman P M, *et al.* Sexual plasticity: a fishy tale[J]. *Molecular Reproduction and Development*, 2017, 84(2): 171-194.
- [35] Todd E V, Liu H, Muncaster S, *et al.* Bending genders: the biology of natural sex change in fish[J]. *Sexual Development*, 2016, 10(5-6): 223-241.
- [36] 赵会宏. 斜带石斑鱼性腺发育和性别转变的神经内分泌研究 [D]. 广州: 中山大学, 2003.
Zhao H H. The neuroendocrine study on gonadal development

- opment and sex reversal of the grouper, *Epinephelus coioides*[D]. Guangzhou: Sun Yat-Sen University, 2003 (in Chinese).
- [37] Lorenzi V, Earley R L, Grober M S. Differential responses of brain, gonad and muscle steroid levels to changes in social status and sex in a sequential and bidirectional hermaphroditic fish[J]. *PLoS One*, 2012, 7: e51158.
- [38] Huang M W, Wang Q, Chen J X, *et al.* The co-administration of estradiol/17 α -methyltestosterone leads to male fate in the protogynous orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*[J]. *Biology of Reproduction*, 2019, 100(3): 745-756.
- [39] 卓孝磊, 邹记兴, 崔科, 等. 外源性甲基睾酮对雌性和间性黄鳍鲷性腺发育的影响[J]. *水生生物学报*, 2008, 32(6): 861-867.
- Zhuo X L, Zou J X, Cui K, *et al.* The influence of exogenous methyltestosterone on the gonad developmental process of female and intersexual *Monopterus albus*[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2008, 32(6): 861-867 (in Chinese).
- [40] Wu G C, Li H W, Luo J W, *et al.* The potential role of amh to prevent ectopic female development in testicular tissue of the protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegelii*[J]. *Biology of Reproduction*, 2015, 92(6): 158.
- [41] Budd A M, Banh Q Q, Domingos J A, *et al.* Sex control in fish: approaches, challenges and opportunities for aquaculture[J]. *Journal of Marine Science and Engineering*, 2015, 3(2): 329-355.
- [42] Munger S C, Capel B. Sex and the circuitry: progress toward a systems - level understanding of vertebrate sex determination[J]. *Wiley Interdisciplinary Reviews. Systems Biology and Medicine*, 2012, 4(4): 401-412.
- [43] Piferrer F, Guiguen Y. Fish gonadogenesis. Part II: molecular biology and genomics of sex differentiation[J]. *Reviews in Fisheries Science*, 2008, 16(S1): 35-55.
- [44] 范兆飞. 牙鲆 *cyp19a* 及其转录因子表观修饰和调控研究 [D]. 青岛: 中国科学院大学 (中国科学院海洋研究所), 2017.
- Fan Z F. The epigenetic modification and relationship between *cyp19a* and its transcription factors in the olive flounder *Paralichthys olivaceus*[D]. Qingdao: The Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2017 (in Chinese).
- [45] Myosho T, Otake H, Masuyama H, *et al.* Tracing the emergence of a novel sex-determining gene in medaka, *Oryzias luzonensis*[J]. *Genetics*, 2012, 191(1): 163-170.
- [46] Li M H, Sun Y L, Zhao J E, *et al.* A tandem duplicate of anti-müllerian hormone with a missense SNP on the Y chromosome is essential for male sex determination in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*[J]. *PLoS Genetics*, 2015, 11(11): e1005678.
- [47] Lubzens E, Young G, Bobe J, *et al.* Oogenesis in teleosts: how fish eggs are formed[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2010, 165(3): 367-389.
- [48] Zhang Y, Zhang W M, Yang H Y, *et al.* Two cytochrome P450 aromatase genes in the hermaphrodite rice-field eel *Monopterus albus*: mRNA expression during ovarian development and sex change[J]. *Journal of Endocrinology*, 2008, 199(2): 317-331.
- [49] Huang W, Yang P, Lv Z M, *et al.* Cloning, expression pattern and promoter functional analysis of *cyp19a1a* gene in miiuy croaker[J]. *Gene*, 2017, 627: 271-277.
- [50] Tchoudakova A, Kishida M, Wood E, *et al.* Promoter characteristics of two *cyp19* genes differentially expressed in the brain and ovary of teleost fish[J]. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2001, 78(5): 427-439.
- [51] Li M H, Yang H H, Li M R, *et al.* Antagonistic roles of Dmrt1 and Foxl2 in sex differentiation via estrogen production in tilapia as demonstrated by TALENs[J]. *Endocrinology*, 2013, 154: 4814-4825.
- [52] 张显波. Foxl2/Cyp19a1 在尼罗罗非鱼性别决定和育性中的功能研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2018.
- Zhang X B. Function of Foxl2/Cyp19a1 in sex determination and fertility of Nile tilapia[D]. Chongqing: Southwest University, 2018 (in Chinese).
- [53] Wang D S, Kobayashi T, Zhou L Y, *et al.* Foxl2 up-regulates aromatase gene transcription in a female-specific manner by binding to the promoter as well as interacting with ad4 binding protein/steroidogenic factor 1[J]. *Molecular Endocrinology*, 2007, 21(3): 712-725.
- [54] Kobayashi Y, Horiguchi R, Nozu R, *et al.* Expression and localization of forkhead transcriptional factor 2 (*Foxl2*) in the gonads of protogynous wrasse, *Halichoeres trimaculatus*[J]. *Biology of Sex Differences*, 2010, 1(1): 3.

- [55] Wu G C, Tey W G, Li H W, *et al.* Sexual fate reprogramming in the steroid-induced bi-directional sex change in the protogynous orange-spotted grouper, *Epinephelus coioides*[J]. *PLoS One*, 2015, 10(12): e0145438.
- [56] Wu G C, Jeng S R, Pan Y T, *et al.* The germline-specific expression of *Foxl3a* and its paralogous *Foxl3b* are associated with male gonadal differentiation in the Japanese eel, *Anguilla japonica*[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2019, 277: 56-65.
- [57] Lyu Q J, Hu J, Yang X K, *et al.* Expression profiles of *dmrts* and *foxls* during gonadal development and sex reversal induced by 17 α -methyltestosterone in the orange-spotted grouper[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2019, 274: 26-36.
- [58] Nishimura T, Sato T, Yamamoto Y, *et al.* *Foxl3* is a germ cell-intrinsic factor involved in sperm-egg fate decision in medaka[J]. *Science*, 2015, 349(6245): 328-331.
- [59] Clemens J W, Lala D S, Parker K L, *et al.* Steroidogenic factor-1 binding and transcriptional activity of the cholesterol side-chain cleavage promoter in rat granulosa cells[J]. *Endocrinology*, 1994, 134(3): 1499-1508.
- [60] Leers-Sucheta S, Morohashi K I, Mason J I, *et al.* Synergistic activation of the human type II 3 β -hydroxysteroid dehydrogenase/ Δ^5 - Δ^4 isomerase promoter by the transcription factor steroidogenic factor-1/adrenal 4-binding protein and phorbol ester[J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272(12): 7960-7967.
- [61] Kobayashi Y, Sunobe T, Kobayashi T, *et al.* Molecular cloning and expression of *Ad4BP/SF-1* in the serial sex changing gobiid fish, *Trimma okinawae*[J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2005, 332(4): 1073-1080.
- [62] Kanda H, Okubo, T, Omori N, *et al.* Transcriptional regulation of the rainbow trout *CYP19a* gene by FTZ-F1 homologue[J]. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 2006, 99(2-3): 85-92.
- [63] 谢庆平. SF-1 是尼罗罗非鱼性类固醇激素生成、性腺发育以及性别分化所必需的关键因子 [D]. 重庆: 西南大学, 2016.
- Xie Q P. Steroidogenic factor 1 (SF-1) is essential for steroidogenesis, gonadal development and sex differentiation in Nile tilapia[D]. Chongqing: Southwest University, 2016 (in Chinese).
- [64] Josso N, Racine C, Di Clemente N, *et al.* The role of anti-Müllerian hormone in gonadal development[J]. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 1998, 145(1-2): 3-7.
- [65] Behringer R R, Finegold M J, Cate R L. Müllerian-inhibiting substance function during mammalian sexual development[J]. *Cell*, 1994, 79: 415-425.
- [66] Rodríguez-Mari A, Yan Y L, Bremiller R A, *et al.* Characterization and expression pattern of zebrafish anti-Müllerian hormone (*amh*) relative to *sox9a*, *sox9b*, and *cyp19a1a*, during gonad development[J]. *Gene Expression Patterns*, 2005, 5(5): 655-667.
- [67] Han Y L, Peng C, Wang L, *et al.* Female-to-male sex reversal in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) caused by overexpressing of *Amh* *in vivo*[J]. *Biology of Reproduction*, 2018, 99(6): 1205-1215.
- [68] Han Y L, Zhao M, Wang, L, *et al.* Overexpression of anti-Müllerian hormone gene *in vivo* affects gonad sex differentiation in undifferentiated orange-spotted groupers (*Epinephelus coioides*)[J]. *Frontiers in Endocrinology*, 2019, 10: 210.
- [69] Wu G C, Li H W, Tey W G, *et al.* Expression profile of *amh/Amh* during bi-directional sex change in the protogynous orange-spotted grouper *Epinephelus coioides*[J]. *PLoS One*, 2017, 12(10): e0185864.
- [70] 李法君, 付春鹏, 罗永巨. *Dmrt* 基因在水生生物中的研究进展[J]. *水生生物学报*, 2016, 40(5): 1068-1077.
- Li F J, Fu C P, Luo Y J. Research progress of *dmrt* genes in hydrobiontes[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2016, 40(5): 1068-1077 (in Chinese).
- [71] Matsuda M, Shinomiya A, Kinoshita M, *et al.* *DMY* gene induces male development in genetically female (XX) medaka fish[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2007, 104(10): 3865-3870.
- [72] Raghuvver K, Senthilkumaran B. Identification of multiple *dmrt1s* in catfish: localization, dimorphic expression pattern, changes during testicular cycle and after methyltestosterone treatment[J]. *Journal of Molecular Endocrinology*, 2009, 42(5): 437-448.
- [73] Kobayashi T, Kajiura - Kobayashi H, Guan G J, *et al.* Sexual dimorphic expression of *DMRT1* and *Sox9a* during gonadal differentiation and hormone-induced sex reversal in the teleost fish Nile tilapia (*Oreochromis*

- niloticus*)[J]. *Developmental Dynamics*, 2008, 237(1): 297-306.
- [74] Kobayashi Y, Nozu R, Horiguchi R, *et al.* Histological observation of doublesex-mab 3-related transcription factor 1 (DMRT1) localization in the adult testis of three-spot wrasse[J]. *International Aquatic Research*, 2014, 6(2): 68.
- [75] Liu W, Zhang H, Xiang Y X, *et al.* A novel germline and somatic cell expression of two sexual differentiation genes, Dmrt1 and Foxl2 in marbled goby (*Oxyeleotris marmorata*)[J]. *Aquaculture*, 2020, 516: 734619.
- [76] Jeng S R, Wu G C, Yueh W S, *et al.* Dmrt1 (doublesex and mab-3-related transcription factor 1) expression during gonadal development and spermatogenesis in the Japanese eel[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2019, 279: 154-163.
- [77] 李文笙, 林浩然. 鱼类生长激素合成与分泌的内分泌调控网络: 垂体生长激素分泌细胞中的信号整合[J]. *中国科学: 生命科学*, 2010, 53(4): 462-470.
- Li W S, Lin H R. The endocrine regulation network of growth hormone synthesis and secretion in fish: emphasis on the signal integration in somatotropes[J]. *Science China Life Sciences*, 2010, 53(4): 462-470 (in Chinese).
- [78] Maruska K P, Fernald R D. Social regulation of gene expression in the hypothalamic-pituitary-gonadal axis[J]. *Physiology*, 2011, 26(6): 412-423.
- [79] Gillet C. Egg production in an Arctic charr (*Salvelinus alpinus* L.) brood stock: effects of temperature on the timing of spawning and the quality of eggs[J]. *Aquatic Living Resources*, 1991, 4(2): 109-116.
- [80] Liu H, Lamm M S, Rutherford K, *et al.* Large-scale transcriptome sequencing reveals novel expression patterns for key sex-related genes in a sex-changing fish[J]. *Biology of Sex Differences*, 2015, 6: 26.
- [81] Wang Q Q, Qi X, Guo Y, *et al.* Molecular identification of GnIH/GnIHR signal and its reproductive function in protogynous hermaphroditic orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*)[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2015, 216: 9-23.
- [82] 陈原, 洪万树, 陈仕玺, 等. 赤点石斑鱼促性腺激素及其受体基因的克隆和表达模式分析[J]. *厦门大学学报 (自然科学版)*, 2016, 55(1): 37-45.
- Chen Y, Hong W S, Chen S X, *et al.* Cloning, characterization and expression of gonadotropins and their receptors genes in *Epinephelus akaara*[J]. *Journal of Xiamen University (Natural Science Edition)*, 2016, 55(1): 37-45 (in Chinese).
- [83] Kobayashi Y, Alam M A, Horiguchi R, *et al.* Sexually dimorphic expression of gonadotropin subunits in the pituitary of protogynous honeycomb grouper (*Epinephelus merra*): evidence that follicle-stimulating hormone (FSH) induces gonadal sex change[J]. *Biology of Reproduction*, 2010, 82(6): 1030-1036.
- [84] Palma P, Nocillado J, Superio J, *et al.* Gonadal response of juvenile protogynous grouper (*Epinephelus fuscoguttatus*) to long-term recombinant follicle-stimulating hormone administration[J]. *Biology of Reproduction*, 2019, 100(3): 798-809.
- [85] Murata R, Kobayashi Y, Karimata H, *et al.* The role of pituitary gonadotropins in gonadal sex differentiation in the protogynous Malabar grouper, *Epinephelus malabaricus*[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2012, 178(3): 587-592.
- [86] Sun S X, Wu J L, Lv H B, *et al.* Environmental estrogen exposure converts lipid metabolism in male fish to a female pattern mediated by AMPK and mTOR signaling pathways[J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020, 394: 122537.
- [87] Sakae Y, Oikawa A, Sugiura Y, *et al.* Starvation causes female-to-male sex reversal through lipid metabolism in the teleost fish, medaka (*Oryzias latipes*)[J]. *Biology Open*, 2020, 9(4): bio050054.

A review of studies on sex differentiation and sex change in hermaphroditic fishes

ZHAO Huihong^{1*}, HE Qi¹, ZHANG Chunli¹, WANG Qing^{1,2}, ZHANG Yong³,
YANG Huirong^{1,2}, LIN Fangmei¹, LI Yusen¹, SHI Herong⁴, ZHANG Haifa⁴

(1. *College of Marine Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;*

2. *Joint Laboratory of Guangdong Province and Hong Kong Region on Marine Bioresource Conservation and Exploitation, College of Marine Sciences, South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China;*

3. *Key Laboratory of Aquatic Economic Animal Breeding in Guangdong Province, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;*

4. *Guangdong Marine Fishery Experiment Center, Huizhou 516081, China)*

Abstract: Among vertebrates, fishes show an exceptional range of reproductive strategies, which can be roughly divided into three categories: gonochorism, sequential hermaphrodite and partheonogenesis. In general, gonads can differentiate into ovaries or testes after sex determination, and remain unchanged throughout the life cycle. In contrast, some hermaphroditic fishes can change their sex from male to female (protandrous), female to male (protogynous), or serially (bi-directional sex change) in their life cycle. Hermaphroditic fishes have various forms of sex change, which is an ideal model to investigate the sex determination and differentiation in vertebrates. Therefore, this paper reviews the recent research progress on the sex differentiation and determination of hermaphroditic fishes from the aspects of gonadal change, sex hormone secretion, neuroendocrine, sex differentiation and molecular regulation of determining genes, so as to provide a reference for further research on the sex regulation mechanism of the fish.

Key words: fish; hermaphrodite; sex determination; sex differentiation; gonadal development; sex hormone secretion; neuroendocrine

Corresponding author: ZHAO Huihong. E-mail: zhaohh@scau.edu.cn

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31972768, 31972769, 41806151); Natural Science Foundation of Guangdong Province (2018B030311026); Guangdong Province Science and Technology Plan Project (SDZX2020027); Special Fund for Economic Development of Department of Marine Fisheries of Guangdong Province (SDYY-2018-05); Heyuan Science and Technology Plan Project (2019041); “Swan Plan” of Huizhou Science and Technology Innovation Team (20170214023102296)