

文章编号: 1004-0374(2010)10-0971-07

鱼类性别决定的影响因素

田 佳, 陈 芸, 王艺磊*, 张雅芝

(集美大学水产学院, 福建省高校水产科学技术与食品安全重点实验室, 厦门 361021)

摘 要: 鱼类的性别决定机制极其复杂, 受到外源性激素、外界环境因素和遗传因素等多方面的影响。因此, 鱼类性别决定机制的研究不仅对我们控制鱼类的性别有帮助, 也将使我们对脊椎动物性别决定的可塑性有一个全面的了解。该文对影响鱼类性别决定的各种因素及其研究前景和发展趋势进行综述。

关键词: 鱼类; 性别决定; 外源性激素; 环境因素; 遗传因素

中图分类号: Q959.4; Q756

文献标识码: A

Influencing factors of sex determination in fish

TIAN Jia, CHEN Yun, WANG Yi-lei*, ZHANG Ya-zhi

(The Key Laboratory of Science and Technology for Aquaculture and Food Safety,
Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: Sex determination of fish is extremely complex and can be affected by exogenous hormones, environmental factor and genetic system. Sex determination research in fish will help us to achieve sex control and eventually benefit the aquaculture. In particular, the research will also provided important insight into the plasticity of the sex determination process in vertebrates. In this article, we review various influencing factor of sex determination in fish and its research prospect.

Keyword: Fish; sex determination; exogenous hormones; environmental factors; genetic system

鱼类的性别决定不同于哺乳动物仅仅是由性染色体决定的, 而是在遗传物质以及外部因子相互作用下实现的, 其雌雄异体和一些雌雄同体以及发育过程中的性逆转类型导致了鱼类性别决定的复杂性。在水产养殖中, 人为的控制养殖鱼类的雌雄比例, 或者进行单性养殖可以提高经济效益。为了将鱼类性别决定很好地应用于生产实践中, 人们对其机制进行了广泛的研究, 以下就影响鱼类性别决定机制的各种因素做一些简单的概括, 主要集中在外源性激素、外界环境(温度、种群密度、pH、含氧量等等)以及遗传因素(性染色体、性别决定基因)等方面^[1-3]。

1 外源性激素

大量的研究表明, 外源性激素能够诱导鱼类发生性逆转^[4-7], 一般认为雄激素为甲基睾酮, 雌激素为雌二醇、雌酮等。石斑鱼(*Epinephelus*)存在天然

性逆转现象, 即使在雌性发育阶段, 性腺中依然存在着雄性生殖细胞, 随着雄激素的诱导, 石斑鱼便向着雄性化的方向发展。李广丽等^[8]以 10 mg/kg 剂量的 17 α 甲基睾酮处理 2 龄雌性赤点石斑鱼(*E. akaara*), 结果显示 17 α 甲基睾酮可诱导赤点石斑鱼发生不同程度的性逆转。在性激素作用机制方面, 方永强等^[9]通过对服用 17- β 雌二醇实验组和对照组幼年鲮鱼(*Mugil cephalus*)脑各部和性腺进行芳香化酶的定位, 发现 17- β 雌二醇对鲮鱼雌性化的机制可能是通过芳香化酶介导的。外源性激素浓度高低、处理时

收稿日期: 2010-04-10; 修回日期: 2010-05-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(30600467); 福建省科技重点项目(2008N0121); 集美大学创新团队基金(2008A001)

*通讯作者: E-mail: ylwang@jmu.edu.cn; Tel: 0592-6182723

间长短对鱼类的诱导会产生不同的影响,储张杰^[10]报道低浓度(10 mg/kg)的戊酸雌二醇对黄鳝的性逆转存在一定的抑制作用,但仍然存在性逆转个体。通过不同浓度的17- β 雌二醇作用于半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*),研究者发现4种浓度(1 μ g/L、3 μ g/L、10 μ g/L、30 μ g/L)的17- β 雌二醇处理后的雌性率分别为74%、82%、88%和97%,与对照组差异显著,并且认为17- β 雌二醇的作用并不影响半滑舌鳎的正常生长活动^[11]。通过使用外源性激素在性腺分化的关键时期处理鱼类,从而得到单性种群的方法,在青鳉(*Oryzias latipes*)、莫桑比克罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)、尼罗罗非鱼(*O. niloticus*)等都已获得成功^[12]。通过外源激素的作用获得高比例的单性种群鱼类使得人们认识到在鱼类个体发育过程中,外源性激素可作为鱼类性别分化的重要因素。

2 外界环境

鱼类属于变温动物,外界的环境发生较大的变动时,其性别变化也将可能随之改变,有些鱼类甚至完全依靠外界环境^[13]。因此,鱼类的性别决定有基因型性别决定(genetic sex determination, GSD)和环境型性别决定(environmental sex determination, ESD)两种类型。目前研究表明,温度、种群密度、pH、含氧量等外界环境在不同程度上影响着鱼类的性别^[14]:(1)温度。温度的研究最多,并且越来越多的鱼类被证明其性别决定受温度和基因双重调节^[15, 16]。大西洋月银汉鱼(*Menidia menidia*)在高温和低温情况下雌雄比例不一,随着温度的升高雄性比例增加,相反随着温度的下降雌性比例升高^[17],这也是首次发现环境决定鱼类性别变化的报道。岳敏娟等^[18]把12 d的鲫鱼仔鱼分成七组,分别用(16 \pm 1) $^{\circ}$ C、(20 \pm 1) $^{\circ}$ C、23~25 $^{\circ}$ C、(27 \pm 1) $^{\circ}$ C、(30 \pm 1) $^{\circ}$ C、(32 \pm 1) $^{\circ}$ C、(34 \pm 1) $^{\circ}$ C培育28 d,结果显示在(30 \pm 1) $^{\circ}$ C时雌性比例达到86%,随后向雌性发展。同样,鲶鱼(*Ictalurus punctatus*)^[19]、大马哈鱼(*Oncorhynchus nerka*)^[20]和江黄颡鱼(*Pseudobagrus vachelli*)^[21]也是随着温度的升高逐渐向雌性化发展,温度的变化导致了鱼类体内类固醇以及雌二醇激素的调节发生变化^[13]。温度决定热敏感鱼类的性别,即温度依赖型(temperature-dependent sex determination, TSD)已成为普遍接受的观点,然而, Ospina-A'lvarez等^[22]通过分析59种温度依赖型鱼类的实验数据,认为鱼类温度依赖型只是

鱼类性别变化的特例,并不是广泛存在于鱼类中,且并非完全依赖于温度。然而,一些鱼类的生育能力可能会因为温度对其性别比例的改变而受到影响。(2)种群密度。Davey等^[23]发现在日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)中高密度的养殖会导致较高的雄性比例,因此认为种群密度可能是引起日本鳗鲡性别变化的重要影响因素。Francis^[24]发现单独饲养的叉尾斗鱼(*Macropodus opercularis*)倾向发育成雄性,而群体饲养则分化为雌性。(3)pH。在pH 6.2条件下剑尾鱼(*Xiphophorus helleri*)全部发育成雄鱼,而在pH 7.8条件下有98%发育成雌性^[25]。同样,Oldfield^[26]在紫鲷(*Pelvicachromis pulcher*)中发现在pH 4~5条件下有90%向雄性变化,而在中性条件下有90%向雌性变化。(4)含氧量。Shang等^[27]通过对斑马鱼(*Danio rerio*)的缺氧实验发现,在缺氧(0.8mg O₂/L)条件下斑马鱼的雄性数量比为(74.4 \pm 1.7)%而对照组(5.8mg O₂/L)的雄性数量比为(61.9 \pm 1.6)%。缺氧已被证明可导致斑马鱼在受精24 h内细胞凋亡类型的改变,而斑马鱼细胞凋亡与卵巢向精巢的转变过程有关,所以可以利用含氧量的改变使斑马鱼雌性比例发生变化^[28]。以上的研究仅仅单独讨论一个因素对鱼类性别决定的影响,但是外界环境的多样性变化就决定了多种环境因素可协同作用于鱼类的性别变化,现在的研究还很难完全模仿外界环境,有待以后的进一步研究。环境对鱼类性别决定的影响有利于我们了解鱼类生存和生长机理,在人工养殖方面,应科学合理利用外界环境的变化影响鱼类雌雄比例,为养殖业提供帮助。

3 遗传因素

3.1 染色体

鱼类同高等脊椎动物相比其性染色体具有多种形式,动物的所有性染色体类型在鱼类都可以找到。一般认为鱼类染色体组型主要分为5种:(1)XX/XY型。这种类型同哺乳动物相似,也是很多鱼类所具有的染色体组型,属于异型雄鱼和同型雌鱼^[29-31],如大部分鲑科鱼类。(2)ZW/ZZ型。这种类型刚好与XY型相反,雌性个体的性染色体组成为ZW、雄性个体的性染色体组成为ZZ,此时,雄性个体产生的精子的性染色体只有一种——含Z染色体,雌性个体可以产生含Z或W的两种卵子,例如花鲈(*Lateolabrax japonicus*)^[32]。(3)常染色体型。此种鱼类没有性染色体,其性别是由常染色体上多个基因共同决定的,例如斑马鱼^[33]。(4)ZO/ZZ

和XX/XO型。这种类型属于雌雄异配型,前者为雌性配子异性,后者为雄性配子异性,例如短颌鲚(*Coilia brachygnathus*)^[34]。(5)X₁X₁X₂X₂/X₁X₂Y型。这种类型属于复性染色体决定型,例如新月鱼(*Xiphophorus maculatus*)^[35],该类型主要是由于常染色体和性染色体之间以及性染色体之间发生的染色体融合所致。已有学者提出了鱼类性染色体的转移机制(性别决定基因的转移、新的性别决定基因在常染色体上的转移、性染色体与常染色体之间的融合)^[36]。为了更好地了解性染色体的进化机制,Joseph等^[37]通过遗传图谱以及分子遗传学的方法分析了刺鱼科(Gasterosteidae)的多种性染色体型,发现雄性三刺鱼(*Gasterosteus aculeatus*)的19连锁群(LG19)中有异常的性染色体XY;而在九刺鱼(*Pungitius pungitius*)中LG12存在异常的性染色体XY;在黑斑刺鱼(*G. wheatlandi*)中LG12的一个拷贝与LG19衍生的一个Y染色体发生融合,从而形成了X₁X₂Y染色体型但在七刺鱼(*Culaea inconstans*)和四刺鱼(*Apeltes quadracus*)中却没有发现染色体融合现象。

3.2 性别决定基因

鱼类的性别决定和分化的分子机制一直是人们研究的重点,许多性别决定和分化相关的基因已被研究^[38-40]。Matsuda等^[41]利用青鳞研究得出两种性别连锁基因,分别是SL1和SL2。Almeida-Toledo等^[42]用C带技术发现裸背鱼目(Gymnotiformes)的雄鱼Y染色体上存在少量的G+C丰富带,并且认为可能与鱼类的性别分化有关。以下将分别阐述影响鱼类性别决定的几个主要基因。

3.2.1 Sox基因家族

1990年,Sinclair等^[43]在人体的Y染色体上克隆到了性别决定基因sry (sex determining region, Y)。在随后的研究中发现,在其他一些动物中也存在sry的同源基因,这些基因都具有HMG盒(high mobility group box)序列(编码79个氨基酸的保守序列),现在人们把sry产物及HMG基因序列区具有60%以上相似性的基因统称为sox基因(SRY-box gene)。sox基因在许多高等动物性别决定和分化以及早期胚胎发育中具有重要的作用。在鱼类,sox基因一直是人们研究性别决定机制的重点。最早在1990年,Gubbay等^[44]在鱼类中确认了sox基因的存在,其中最受重视的基因是sox9基因,并且发现sox9基因具有两个不同序列的拷贝。在斑马鱼中确认有两种sox9基因,分别命名为sox9a和sox9b,它们都具有

HMG-box,并且可以结合AACAAAG识别位点,sox9a和sox9b在斑马鱼成体中的表达模式不一样,sox9a呈现泛表达模式,在脑、肾、肌肉、精巢、胸鳍中都有表达;而sox9b仅仅在卵巢中被检测到^[45]。Takamatsu等^[46]在虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)中发现存在两种sox9基因并且只在精巢中表达。Zhou等^[47]在黄鳝(*Monopterus albus*)研究中同样发现了sox9a和sox9b两个基因且在卵巢和精巢均有表达。Chang等^[48]通过Northern杂交发现,大鳞副泥鳅(*Paramisgurnus dabryanus*)sox9基因在大鳞副泥鳅精巢中高度表达并且和精巢的形成和分化有一定的联系。Yao等^[49]在石斑鱼的研究中拟揭示sox3基因是否决定配子向两种不同的方向进行,结果证明sox3基因潜在调控卵子的发生和配子的分化。到目前为止,sox基因家族普遍存在于鱼类中,并且和鱼类的性别决定机制有重要的联系。

3.2.2 芳香化酶基因

几乎在所有的脊椎动物中都含有芳香化酶,它可以使睾酮转变成雌二醇,内源性导致雄性向雌性逆转,在类固醇代谢过程起关键作用^[50]。哺乳动物仅有一种芳香化酶,而鱼类却有脑型和性腺型两种芳香化酶^[51, 52]。在鱼类的大脑以及垂体中存在大量的芳香化酶并且比其他脊椎动物要多出100~1000倍^[53]。在斑马鱼中cyp19基因产物为芳香化酶,Chiang等^[54]报道斑马鱼的cyp19基因分为cyp19a和cyp19b两种,并且cyp19a主要在性腺表达,而cyp19b主要在脑部表达。周鹏^[55]在大黄鱼(*Larimichthys crocea*)中得到了cyp19a和cyp19b全长cDNA,通过qRT-PCR发现cyp19a在精巢和卵巢中表达量显著高于其他组织,其中卵巢的表达量要高于精巢,而cyp19b在端脑、中脑、下丘脑、脾和肝中有较高表达,在雄性大黄鱼中的血液中表达量最高。邓思平等^[56]采用同源克隆策略获得了半滑舌鳎的脑型芳香化酶基因(P450aromB)全长cDNA,通过分析得出P450aromB仅在大脑、皮肤、鳃和性腺中表达,且大脑中的表达量远远高于其他组织,在经过甲基睾酮和高温诱导的处理之后,脑中的芳香化酶表达量大大降低。李伟等^[57]同样在黄鳝中克隆得到了脑型芳香化酶基因,该基因主要集中在脑和性腺中表达,在皮肤中表达量较低,在其他组织未检测到。李广丽等^[58]同样在赤点石斑鱼中克隆出了两种芳香化酶基因,这两种芳香化酶基因在大脑和性腺中均有表达。Kitano等^[59]对日本比目鱼(*Paralichthys olivaceus*)的芳香化酶的作用机制进行了研究,他们

用两种不同的温度 18 °C 和 27 °C 来饲养比目鱼, 温度高的全部为雄性, 同时体内的芳香化酶含量也相应的下降。以上研究表明, 芳香化酶基因是影响鱼类性别决定和分化的重要因素, 研究该基因的表达以及作用机制可为将来鱼类的性别控制起重要作用。

3.2.3 *Dmrt1*基因

Dmrt1 基因是 *Dmrt* 基因家族的一个重要成员, 它具有一个锌指样的 DNA 结合结构域, 称为 DM 结构域, 在动物性别决定中发挥重要作用。Raymond 等^[60]最早在人类中克隆出 *Dmrt1* 基因, 并且认为该基因为性别分化基因, 与雌雄性别发育有关, *Dmrt1* 基因缺失会导致性逆转。在鱼类, *Dmrt1* 已从虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)、尼罗罗非鱼、斑马鱼、青鳉等^[61-64] 鱼类中克隆得到。Guan 等^[62] 在罗非鱼中的卵巢和精巢中分别克隆到了 *Dmrt1* 和 *DMO*(DM-domain gene in ova) 基因, 研究发现在 XX 雄鱼的精巢中有 *Dmrt1* 的表达, 而 *DMO* 则未检测到, 由此得出 *Dmrt1* 和 *DMO* 是性别决定的下游基因, 而 *Dmrt1* 则与精巢的形成有关。Matsuda 等^[65] 在研究青鳉性腺分化的表达形式和位点的过程中, 发现 *Dmrt1* 基因参与了精原细胞的分化, 而 *DMY* 基因调控生殖细胞的性别分化和繁殖过程。邓思平等^[66] 克隆了半滑舌鳎 *Dmrt1a* 的全长序列, 分析表明 *Dmrt1a* 仅仅在半滑舌鳎的精巢中表达, 在通过甲基酮和高温诱导成雄鱼的精巢中有表达, 而对照组却没有表达, 由此可知 *Dmrt1a* 可能与半滑舌鳎的性别决定机制有关。Nanda 等^[67] 发现青鳉中 *Dmrt1* 的同源基因 - *Dmrt1Y*, 此基因与 *Dmrt1* 基因同源性达到 85%, 含有 DM 结构域并且在青鳉的性别决定中起非常重要的作用。由以上研究推断 *Dmrt1* 基因广泛参与了鱼类的性别决定和分化过程。

3.2.4 *DAX-1*基因

在哺乳动物中 *DAX-1* 基因是参与性别决定的一个重要基因, 现在普遍认为 *DAX-1* 基因是一个较强的转录抑制子, 并且位于 X 染色体上的反转录区。*DAX-1* 的拮抗作用在哺乳动物中导致其向雌性发展。Nachtigal 等^[68] 研究表明 *DAX-1* 可能通过抑制 SF-1 和 WT-1 的相互作用来影响性别。Wang 等^[69] 在罗非鱼中发现 *DAX-1* 基因在性别分化过程中含量发生显著变化, 通过定量 PCR 发现该基因在雄性罗非鱼的大脑、肌肉、肠中的表达要高于雌性罗非鱼。目前还不能确定 *DAX-1* 是鱼类性别决定的必要基因, 但其在性别决定和分化的作用值得进一步研究。

3.2.5 *AMH*基因

AMH 基因被称为缪勒氏体抑制基因, 它的表达使雄性体内的缪勒氏管退化, 阻止其发育成雌性生殖器官。在哺乳类中, *AMH* 参与缪勒退化, 抑制性腺发育时芳香化酶的表达^[70]。鱼类虽然缺乏缪勒氏管, 但是 *AMH* 在鱼类性腺的发育中具有重要的作用。研究发现在日本鳗鲡中存在一个 *AMH* 相关基因 *eSRS21*(鳗鲡精子发生相关皮质 21 基因), 该基因主要在赛尔托利细胞(Sertoli cells), 属于细精管的一部份, 是睾丸的营养细胞。它是由促滤泡成熟激素(FSH)所启动, 并在其细胞膜上有促滤泡成熟激素受体(FSHR), 在精子发生过程中哺育成长中的精子细胞中表达, 并且对 11- 酮基睾酮进行下游调节, 从而诱导精子发生, 这表明 *AMH* 相关基因在生殖方面有重要功能, 并且可能参与性别决定和性别分化^[71]。在斑马鱼中, 已获得 *AMH* 的 cDNA, 并发现该基因专一地在性腺中表达, 通过原位杂交, 发现 *AMH* 主要在精巢的赛尔托利细胞和卵巢的卵泡层中表达^[72]。

3.2.6 *WT1*基因

在哺乳动物中, *WT1* 可以抑制细胞分裂和分化, 并且影响间质细胞形成精巢。它是一种调控尿殖发育的基因, 在胚胎发育早期尿殖管道的发育中起重要作用。*WT1* 在鱼类中也参与芳香化酶基因的调控, Nakamoto 等^[73] 发现在罗非鱼中 *WT1* 对芳香化酶 *Cyp19a* 起调控作用。*WT1* 基因可以分为 *WT1a* 和 *WT1b*, 在肾脏和性腺中都有表达。在斑马鱼中 *WT1* 基因主要在肾脏的中胚层表达, 但与性腺的分化和决定机制的关系还需要进一步的研究^[74]。

3.2.7 *Cyp11a1*基因

cyp11a1 基因编码细胞色素 P450, 从而调控体内类固醇激素的表达, 是类固醇激素重要的调控因子, 在性腺发育以及性别分化中占重要位置。在哺乳动物中 *cyp11a1* 基因主要在肾上腺以及生殖腺中表达^[75]。在成体斑马鱼中 *cyp11a1* 基因主要在肾上腺以及生殖腺中表达, 与哺乳动物相同^[76]。另外, 研究表明 *cyp11a1* 基因在斑马鱼早期卵母细胞的细胞质中表达, 在胚胎的发育中可作为母源性的转录本存在^[77, 78]。

3.2.8 其他基因

除了以上的几种基因以外, 鱼类的性别决定还需要其他各种基因的调控。存在青鳉中的 *DMY* 基因, 虽然并不是在所有的种系中存在, 但 *DMY* 与精巢的发生和分化具有直接的关系, 它的突变可以

导致鱼类向雌性方向发展^[65]。Chai等^[79]研究了斑马鱼Ftz-F1同源基因*ff1b*在发育中的表达,认为其与斑马鱼性别分化有一定的关系。Nakamoto等^[73]在青鳉鱼中发现SF1和Fox12对芳香化酶基因*cyp19a*具有调控作用,*cyp19a*的重要激活因子是SF1蛋白,而Fox12蛋白可以通过SF1蛋白结合*cyp19a*基因的启动子,从而调节其表达。由此可以看出鱼类的性别决定机制是通过多个基因共同参与的结果。

4 展望

与哺乳动物相比,鱼类在进化上非常原始,这就造成了其性别决定机制的多样性。研究鱼类的性别决定机制是一个长期而困难的任务。多种因素影响鱼类的性别变化。随着基因组学和蛋白质组学研究的不断深入,相关的基因和蛋白之间的调控网络会不断地完善,通过RNAi(RNA interference)技术高效、特异地阻断基因表达,从而获得某些基因在缺失情况下鱼类性别的变化情况,可为鱼类的性别决定机制的研究提供重要的理论依据,也必将为鱼类的养殖提供重要的指导作用。然而,鱼类从胚胎发育、生长、性腺发育到成熟等生命的各个阶段,同时需要多个功能基因的参与。仅对单个基因或少数几个基因进行分析,无法从全基因水平探讨性别决定机制。必须采用具有多样品并行处理能力、分析速度快、所需样品量少等优点的基因芯片或实时定量PCR芯片才能全面、系统地阐述性别决定机制。

[参 考 文 献]

- [1] Devlin R, Nagahama Y. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture*, 2002, 208(3-4): 191-364
- [2] Piferrer F, Blázquez M, Navarrol, et al. Genetic, endocrine, and environmental components of sex determination and differentiation in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.). *Gen Comp Endocrinol*, 2005, 142(1-2): 102-110
- [3] Luckenbach J, Borski R, Daniels H, et al. Sex determination in flatfishes: mechanisms and environmental influences. *Dev Biol*, 2009, 20(3): 256-63
- [4] 邹记兴,陶友宝,向文洲,等.人工诱导点带石斑鱼性逆转的组织学证据及其机制探讨. *高技术通讯*, 2003, 13(6): 81-6
- [5] 洪万树,方永强.鱼类芳香化酶活性研究的进展. *水产学报*, 2000, 24(3): 285-8
- [6] Shaik MJ, Sivaram V, Christopher RT, et al. Dietary vitamin A requirement of juvenile greasy grouper (*Epinephelus tauvina*). *Aquaculture*, 2003, 219(1-4): 693-701
- [7] Giménez HE, Coyula PPR, Lluch CS, et al. Historical biomass, fishing mortality, and recruitment trends of the Campeche Bank red grouper (*Epinephelus morio*). *Fish Res*, 2005, 71(3): 267-77
- [8] 李广丽,刘晓春,林浩然. 17 α -甲基睾酮对赤点石斑鱼性逆转的影响. *水产学报*, 2006, 30(2): 145-50
- [9] 方永强,张为民,翁幼竹,等. 17- β 雌二醇诱导雌性化的机制. *水产学报*, 2004, 28(2): 113-118
- [10] 储张杰. 黄鳍性逆转调控途径的研究[D]. 华中农业大学, 2008
- [11] 张晓彦,刘海金. 17 β -雌二醇对半滑舌鲷性分化和生长的影响. *东北农业大学学报*, 2009, 40(6): 67-72
- [12] Patiño R. Manipulations of the reproductive system of fishes by means of exogenous chemicals. *Prog Fish-Cult*, 1997, 59(2): 118-28
- [13] Crews D. Temperature-dependent sex determination: the interplay of steroid hormones and temperature. *Zool Sci*, 1996, 13(1): 1-13
- [14] Baroiller J, D'Cotta H, Saillant E. Environmental effects on fish sex determination and differentiation. *Sex Dev*, 2009, 3(2-3): 118-35
- [15] Conover D, Kynard B. Environmental sex determination: interaction of temperature and genotype in a fish. *Science*, 1981, 213(4507): 577-9
- [16] Baroiller J, Chourrout D, Fostier A, et al. Temperature and sex chromosomes govern sex ratios of the mouthbrooding cichlid fish (*Oreochromis niloticus*). *J Exp Zool*, 1995, 273(3): 216-23
- [17] Conover D, Heins S. Adaptive variation in environmental and genetic sex determination in a fish. *Nature*, 1987, 326(10): 496-98
- [18] 岳敏娟,尤永隆,林丹军. 温度对鲫鱼性腺分化的影响. *动物学杂志*, 2009, 44(1): 9-16
- [19] Pati OR, Davis K, Schoore J, et al. Sex differentiation of channel catfish gonads: normal development and effects of temperature. *J Exp Zool*, 1996, 276(3): 209-18
- [20] Craig J, Foote C, Wood C. Evidence for temperature-dependent sex determination in sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Aquat Sci*, 1996, 53(1): 141-7
- [21] 程晓春,林丹军,尤永隆. 温度对江黄颡鱼性分化的影响. *动物学研究*, 2007, 28(1): 73-80
- [22] Ospina-álvarez N, Piferrer F. Temperature-dependent sex determination in fish revisited: prevalence, a single sex ratio response pattern, and possible effects of climate change. *PLoS ONE*, 2008, 3(7): 2837-48
- [23] Davey A, Jellyman D. Sex determination in freshwater eels and management options for manipulation of sex. *Rev Fish Biol Fish*, 2005, 15(1): 37-52
- [24] Francis R. The effects of bidirectional selection for social dominance on agonistic behavior and sex ratios in the paradise fish (*Macropodus opercularis*). *Behaviour*, 1984, 90(1): 25-45
- [25] Rubin D. Effect of pH on sex ratio in cichlids and a poeciliid (*Teleostei*). *Copeia*, 1985, 1985(1): 233-5
- [26] Oldfield R. Genetic, abiotic and social influences on sex differentiation in cichlid fishes and the evolution of sequential hermaphroditism. *Fish Fisheries*, 2005, 6(2): 93-110
- [27] Shang E, Yu R, Wu R. Hypoxia affects sex differentiation and development, leading to a male-dominated population

- inzebrafish (*Danio rerio*). Environ Sci Technol, 2006, 40 (9): 311-8
- [28] Cole L, Ross L. Apoptosis in the developing zebrafish embryo. Dev Biol, 2001, 240 (1): 123-42
- [29] Thorgaard G. Heteromorphic sex chromosomes in male rainbow trout. Science, 1977, 196 (4292): 900-2
- [30] Thorgaard G. Sex chromosomes in the sockeye salmon: a Y-autosome fusion. Genome, 1978, 20 (3): 349-54
- [31] Phillips R, Ihssen P. Identification of sex chromosomes in lake trout (*Salvelinus namaycush*). Cytogenet Genome Res, 1985, 39 (1): 14-8
- [32] Volff J, Schartl M. Variability of genetic sex determination in poeciliid fishes. Genetica, 2001, 111 (1): 101-10
- [33] Von Hofsten J, Olsson P. Zebrafish sex determination and differentiation: Involvement of FTZ-F1 genes. Reprod. Biol Endocrinol, 2005, 3 (1): 1-11
- [34] 洪云汉. 短颌鲚的核型及其 ZZ-ZO 性染色体 [D]. 河南师范大学学报: 自然科学版, 1984.
- [35] Kallman K. Evidence for the existence of transformer genes for sex in the teleost *Xiphophorus maculatus*. Genetics, 1968, 60 (4): 811-28
- [36] Mank J, Hall D, Kirkpatrick M, et al. Sex chromosomes and male ornaments: a comparative evaluation in ray-finned fishes. Biol Sci, 2006, 273 (1583): 233-6
- [37] Ross J, Urton J, Boland J, et al. Turnover of sex chromosomes in the stickleback fishes (*Gasterosteidae*). PLoS Genet, 2009, 5 (2): 391-403
- [38] Bobe J, Nguyen T, Jalabert B. Targeted gene expression profiling in the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) ovary during maturational competence acquisition and oocyte maturation. Biol Reprod, 2004, 71 (1): 73-82
- [39] Song J, Wessel G. How to make an egg: transcriptional regulation in oocytes. Differentiation, 2005, 73 (1): 1-17
- [40] 李尚伟, 文建军, 庞岚, 等. 性逆转石斑鱼性腺差异表达基因的克隆和筛选. 中国生物化学与分子生物学报, 2004, 20 (2): 189-94
- [41] Matsuda M, Matsuda C, Hamaguchi S, et al. Identification of the sex chromosomes of the medaka, *Oryzias latipes*, by fluorescence in situ hybridization. Cytogenet Genome Res, 2000, 82 (3-4): 257-62
- [42] Almeida-Toledo L, Foresti F, Daniel M, et al. Sex chromosome evolution in fish: the formation of the neo-Y chromosome in Eigenmannia (*Gymnotiformes*). Chromosoma, 2000, 109 (3): 197-200
- [43] Sinclair A, Berta P, Palmer M, et al. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. Nature, 1990, 346 (10): 240-4
- [44] Gubbay J, Collignon J, Koopman P, et al. A gene mapping to the sex-determining region of the mouse Y chromosome is a member of a novel family of embryonically expressed genes. Nature, 1990, 346 (10): 245-50
- [45] Chiang E, Pai C, Wyatt M, et al. Two *sox9* genes on duplicated zebrafish chromosomes: expression of similar transcription activators in distinct sites. Dev Biol, 2001, 231 (1): 149-63
- [46] Takamatsu N, Kanda H, Ito M, et al. Rainbow trout SOX9: cDNA cloning, gene structure and expression. Gene, 1997, 202 (2): 167-70
- [47] Zhou R, Liu L, Guo Y, et al. Similar gene structure of two *Sox9a* genes and their expression patterns during gonadal differentiation in a teleost fish, rice field eel (*Monopterus albus*). Mol Reprod Dev, 2003, 66 (3): 211-7
- [48] 常重杰, 周荣家, 余其兴. 大鳞副泥鳅中 *Sox9* 基因保守区的序列分析. 遗传学报, 2000, 27 (2): 121-6
- [49] Yao B, Zhou L, Wang Y, et al. Differential expression and dynamic changes of SOX3 during gametogenesis and sex reversal in protogynous hermaphroditic fish. J Exp Zool, 2007, 307 (4): 207-19
- [50] Simpson E, Mahendroo M, Means G, et al. Aromatase cytochrome P450, the enzyme responsible for estrogen biosynthesis. Endocr Rev, 1994, 15 (3): 342-55
- [51] Valle L, Ramina A, Vianello S, et al. Cloning of two mRNA variants of brain aromatase cytochrome P450 in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). J Steroid Biochem Mol Biol, 2002, 82 (1): 19-32
- [52] Kishida M, Callard G. Distinct cytochrome P450 aromatase isoforms in zebrafish (*Danio rerio*) brain and ovary are differentially programmed and estrogen regulated during early development. Endocrinology, 2001, 142 (2): 740-50
- [53] Callard G, Petro Z, Ryan K. Estrogen synthesis *in vitro* and *in vivo* in the brain of a marine teleost (*Myoxocephalus*). Gen Comp Endocrinol, 1981, 43 (2): 243-55
- [54] Chiang EFL, Yan YL, Guiguen Y, et al. Two *Cyp19* (P450 aromatase) genes on duplicated zebrafish chromosomes are expressed in ovary or brain. Mol Biol Evol, 2001, 18 (4): 542-50
- [55] 周鹏. 若干大黄鱼性腺发育相关基因的克隆与表达 [D]. 集美大学, 2009
- [56] 邓思平, 陈松林, 刘本伟, 等. 半滑舌鳎脑芳香化酶基因 cDNA 克隆及表达分析. 动物学研究, 2008, 29 (1): 17-24
- [57] 李伟, 刘功银, 罗春桃. 黄鳍脑芳香化酶基因 cDNA 的克隆及组织表达特异性分析. 水产科学, 2009, 28 (8): 458-61
- [58] 李广丽, 刘晓春, 张勇, 等. 赤点石斑鱼两种芳香化酶 cDNA 的克隆及其表达的组织特异性. 动物学报, 2004, 50 (5): 791-9
- [59] Kitano T, Takamune K, Nagahama Y, et al. Aromatase inhibitor and 17-methyltestosterone cause sex-reversal from genetical females to phenotypic males and suppression of P450 aromatase gene expression in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). Mol Reprod Dev, 2000, 56 (1): 1-5
- [60] Raymond C, Shamu C, Shen M, et al. Evidence for evolutionary conservation of sex-determining genes. Nature, 1998, 391 (10): 691-4
- [61] Marchand O, Govoroun M, D'Cotta H, et al. DMRT1 expression during gonadal differentiation and spermatogenesis in the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. Biochim Biophys Acta, 2000, 1493 (1-2): 180-7
- [62] Guan G, Kobayashi T, Nagahama Y. Sexually dimorphic expression of two types of DM (Doublesex/Mab-3)-domain genes in a teleost fish, the Tilapia (*Oreochromis niloticus*). Biochem Biophys Res, 2000, 272 (3): 662-6
- [63] Brunner B, Hornung U, Shan Z, et al. Genomic organization and expression of the doublesex-related gene cluster in ver-

- tebrates and detection of putative regulatory regions for DMRT1. *Genomics*, 2001, 77 (2): 8-17
- [64] 郭一清. 斑马鱼 *Dmrt1* 和 *Dmrt5* 基因克隆和表达分析 [D]. 武汉大学, 2004
- [65] Matsuda M, Nagahama Y, Shinomiya A, et al. DMY is a Y-specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish. *Nature*, 2002, 417(10): 559-63
- [66] 邓思平, 陈松林. 半滑舌鳎 *Dmrt1 α* 基因的 cDNA 克隆及其表达. *中国水产科学*, 2008, 15 (4): 577-84
- [67] Nanda I, Kondo M, Hornung U, et al. A duplicated copy of DMRT1 in the sex-determining region of the Y chromosome of the medaka, *Oryzias latipes*. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99 (18): 11778-83
- [68] Nachtigal M, Hirokawa Y, Enyeart-VanHouten D, et al. Wilms' tumor 1 and Dax-1 modulate the orphan nuclear receptor SF-1 in sex-specific gene expression. *Cell*, 1998, 93 (3): 445-54
- [69] Wang D, Kobayashi T, Senthilkumaran B, et al. Molecular cloning of DAX1 and SHP cDNAs and their expression patterns in the Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Biochem Biophys Res*, 2002, 297 (3): 632-40
- [70] Di Clemente N, Ghaffari S, Pepinsky R, et al. A quantitative and interspecific test for biological activity of anti-Mullerian hormone: the fetal ovary aromatase assay. *Development*, 1992, 114 (3): 721-7
- [71] Miura T, Miura C, Konda Y, et al. Spermatogenesis-promoting substance in Japanese eel. *Development*, 2002, 129 (11): 2689-97
- [72] VonHofsten J, Larsson A, Olsson P. Novel steroidogenic factor-1 homolog (ff1d) is coexpressed with anti-Mullerian hormone (AMH) in zebrafish. *Dev Dyn*, 2005, 233 (2): 595-604
- [73] Nakamoto M, Matsuda M, Wang D, et al. Molecular cloning and analysis of gonadal expression of Foxl2 in the medaka, *Oryzias latipes*. *Biochem Biophys Res*, 2006, 344 (1): 353-61
- [74] Drummond I, Majumdar A, Hentschel H, et al. Early development of the zebrafish pronephros and analysis of mutations affecting pronephric function. *Development*, 1998, 125 (23): 4655-67
- [75] Hu M, Hsu H, Guo I, et al. Function of Cyp11a1 in animal models. *Mol Cell Endocrinol*, 2004, 215 (2): 95-100
- [76] Hsu H, Hsiao P, Kuo M, et al. Expression of zebrafish cyp11a1 as a maternal transcript and in yolk syncytial layer. *Gene Expr Patterns*, 2002, 2 (4): 219-22
- [77] Hsu H, Hsu N, Hu M, et al. Steroidogenesis in zebrafish and mouse models. *Mol Cell Endocrinol*, 2006, 248 (2): 160-3
- [78] Hu M, Chiang E, Tong S, et al. Regulation of steroidogenesis in transgenic mice and zebrafish. *Mol Cell Endocrinol*, 2001, 171 (2): 9-14
- [79] Chai C, Chan W. Developmental expression of a novel Ftz-F1 homologue, ff1b (NR5A4), in the zebrafish (*Danio rerio*). *Mech Dev*, 2000, 91 (2): 421-6