

综述

鱼类性转变研究的进展

ADVANCES IN FISH SEX REVERSAL

李英文 林浩然

(中山大学生命科学院, 广州 510275)

Li Yingwen and Lin Haoran

(Life Science College, Zhongshan University, Guangzhou 510275)

关键词 鱼类, 性转变

KEYWORDS fish, sex reversal

脊椎动物的性转变曾长期被动物学家看成是一种病理现象。Stephan[1901]首先明确地指出性转变实际上是真骨鱼类中极其正常的生理现象之一,这一观点被后来的发现所证实。Liu[1944]第一个研究发现淡水鱼类黄鳝(*Monopterus javanensis*)存在着性转变现象,D'-Ancona[1940/41, 1949a, 1949b, 1956]则报道鲟鱼也存在性转变现象。这些发现标志着一个大有前途的研究领域的开始,而Atz[1964]对该领域极出色的综述是一个重大的转折点,从此之后,性转变研究吸引了更多的生物学家的注意和参与。

当前,生物统计、性腺解剖和组织学方法已成为确定某种鱼类是否有性转变的非常有效的手段。80年代后又引进了一些现代研究方法,如电子显微镜技术[Bruslé, 1987; Yeung等, 1985; Nakamura等, 1989]、内分泌学方法(注射激素、放射免疫测定、离体研究等)和分子生物学方法[Shapiro, 1988]。从此,对性转变机制有了初步的认识,然而由于性转变鱼类种类繁多,因而要想从相当零碎的研究结果中得出一般性的结论还为时过早。

一、形态学研究

鱼类性转变的研究可以划分为两个时期,即70年代之前时期和70年代之后时期。前一时期的研究主要停留在对性腺组织形态进行描述的阶段,用这种经典的研究方法发现了越来越多的雌雄同体鱼类,截止1988年,已达300~400种,它们分属于8目、34科。根据研究报告,Atz[1964]提出了雌雄同体的定义,现在这一定义已被多数学者采纳。所谓雌雄同体(hermaphroditism)是指雌雄两性性腺在同一个体中出现的现象,可将其区分为三类:(1)由雌性功能转变为雄性功能的雌性先熟雌雄同体(protogynous hermaphroditism);(2)由雄性功能转变为雌性功能的雄性先熟雌雄同体(protandrous hermaphroditism);(3)雌雄两性功能同体存在的同步性雌雄同体(Synchronous hermaphroditism)。

当成鱼从雌性转变成雄性或产生相反转变时,这种变化必然是性腺结构的巨大变化的结果。并且,雄性先熟鱼类与雌性先熟鱼类性转变时其性腺结构的改变也极不相同;雄性先熟真骨鱼类在雄性活跃期就有卵子出现,且不受受精作用的干扰,但是卵子的发育不会超越核仁外周期[Reinboth, 1970]。而雌性先熟真骨鱼类,只是在真正性转变开始时才会有精子的生成,在性转变进程中卵子最终会完全消失,但在精子生成十分活跃的精巢组织中也常见到幼小卵子。然而,没有观察到卵黄卵与精子生成同时存在的情况。那些雌雄性腺成分彼此隔开的雌性先熟鱼类(如鲷科、谐鱼科),未来的精巢在雌性期处于静止状态,卵巢退化的同时,精子生成才开始启动[Reinboth, 1988]。

在形态学研究方面,我国学者也做了不少工作,Liu[1944]在研究黄鳍繁殖习性的过程中,首先注意到黄鳍的性别明显与体长和年龄有关,中小个体的黄鳍主要是雌性,而较大个体主要是雄性,雄鳍都是由雌鳍通过性别转变而来的。该发现被以后的研究所证实[刘建康和顾国彦,1951;王良臣等,1985,1986;刘修业和王良臣,1987]。

二、生态学和行为学研究

由于技术上的原因,外部环境因素对性转变影响的实验研究还很不够。比如由于通常难于长期饲养某些鱼类(尤其是占性转变鱼类多数的海水真骨鱼类),因而,就不易了解野外捕获鱼类的早期生活史;如果对其早期生活史及其整个生活环境缺乏了解,那么就on能误解鱼类对环境因素的反应[Aiken, 1969]。

鱼类生活的环境可划分为两类,其一是物理、化学环境,如水温、光照、辐射和水质等;其二是社会环境,如种内相互作用(拥挤和性别比等)。

目前,只是在一种自体受精鱼溪鲮 *Rivulus marmoratus* 中进行过环境温度对性转变影响的研究[Harrington, Jr., 1975]。这种鱼大多数是同步性雌雄同体(simultaneous hermaphrodite),极少数是原发性雄性(primary male)。在实验室里,将受精卵置于“热稳定临界期”(thermolabile critical period)开始前的亚阈值温度(subthreshold temperature)下,可以获得原发性雄鱼,其确切机制还不清楚。至于温度对真骨鱼类自然性转变时间的影响,还没有进行认真的研究。Liem[1968]推测温度会影响黄鳍的性转变,但没有提供实验依据。短日照处理是经高温诱导的 *Rivulus marmoratus* 从同步性雌雄同体向次生性雄性(secondary male)转变的触发因素。高温诱导可使精巢部份比卵巢部份增长快,增长到一定程度时,短日照处理就可触发精巢组织快速增生,卵巢组织退化,从而形成次生性精巢。辐射对性分化的可能影响则是通过垂体激素而实现的[Chan 和 Yeung, 1983],有关水质(pH、硬度)对性转变的影响还不清楚。 —

在社会环境对鱼类性转变影响方面,有不少研究表明拥挤有助于在雄性分化,这种不利因素对性别的影响还未能确证。Howell等[1980]提出在活动受限的水族箱中,鱼类性转变可能受激素、代谢废物或其它生物物质累积作用的影响。Liem[1963]推测恶劣的生态条件如周期性干旱和营养不良可导致黄鳍性转变,但仍缺乏实验证据。

Fishelson[1970]首先发表了一篇有关长棘花鳍(*Anthias squamipinnis*)“社会控制”的文章,得出“雌性先熟鱼的性转变受雄鱼存在与否的调控”的结论。他发现从一群雌鱼中移走雄鱼时,其中一尾雌鱼会改变性别,发育成典型的雄鱼(具有雄性的体色和行为),如再将这尾雄鱼移走,另一尾雌鱼又转变成雄鱼。此报道促进了许多鱼类“社会控制”方面的研究,许多研究都获得同样的结论[Warner 和 Swearer, 1991]。Fricke 和 S. Fricke [1977]指出“占支配地位的雄鱼可通过其对雌性的攻击性地位来控制其它雄鱼的产生”,而在雌性先熟鱼类,情况与此相反。然而,从生理学的观点看,此种“社会控制”并没有多少实质内容,无异于控制论中的“黑箱”(Black-box)。

Shapiro[1988]提出性别转变中可能存在两种机制,即去抑制机制(disinhibition mechanism)和刺激机制(stimulation mechanism),它们各自的内在生理机制不同。去抑制机制认为在繁殖过程中伴随卵子发育而分泌的前列腺素[Stacey, 1987]刺激下丘脑,促进垂体释放促黄体激素(LH)和催乳激素[Ojeda 和 Jameson,

1977; McMahon 等, 1979], 从而诱导卵巢提前转变成精巢[Chan 等, 1975]。当雌鱼与雄鱼相互作用时, 雄鱼的行为通过影响雌鱼的高级神经中枢而抑制上述过程的实现, 而移走雄鱼则解除了雄鱼对雌鱼的抑制。与此不同, 按刺激机制, 当雌鱼与雄鱼相互间的特异联系方式改变时, 雌鱼的高级神经中枢就会将这种改变的信息转换成下丘脑的刺激因素, 下丘脑再促使垂体释放性转变因子[Shapiro, 1985]。缺乏雄鱼还不足以激发性转变, 而雌性与雄性的分离所引起的联系方式的变化才会触发性转变。这两种机制的共同点是它们都涉及中枢神经系统、下丘脑—垂体—性腺轴。因而, 神经内分泌途径可能是外部刺激与性转变的内在变化之间的一座“桥梁”[Chan 等, 1975; Chan 和 O., 1981]。

三、内分泌学研究

早在1962年, Reinboth 就推测激素可能在性转变中起重要作用。现在尽管还未提出令人十分满意的结论, 然而激素参与性转变是无可非议的[Reinboth, 1980, 1985]。

(一) 性类固醇激素与性转变

1. 离体研究 离体研究表明, 当性腺从卵巢转变成功能性精巢或发生相反变化时, 异源组织在类固醇代谢方面明显不同, 说明性转变时类固醇合成酶类也发生变化。雌性先熟的 *Coris julis* 是雄性异型的(雄性由性转变雄性和原发性雄性组成), 在将 ^{14}C 睾酮转变成11-氧化 Δ^4 -雄激素(主要是11 β -羟睾酮和11-酮睾酮)的程度上, 次生性精巢组织显著高于原发性雄性和雌性性腺组织, 因而, 性转变时11 β -类固醇羟化酶活性必然升高[Reinboth, 1979]; 雌雄性腺均可生成雄烯二酮; 性腺组织可将睾酮转变成 A-环还原异构体及其一羟和二羟衍生物, 从5 α /5 β 类固醇比值来看, 雌性比原发性雄性和次生性雄性都高, 说明精巢生成较多的 A 环5 β 还原物[Reinboth 和 Becker, 1984]。在黄鳍性腺的离体研究中发现, 黄鳍雌性具有较高的5 α -还原活性和较低的雄激素合成能力, 性转变早期5 α -还原物和雄激素。合成量仍然很少, 大部分是雄烯二酮; 而在雄性期, 约三分之一的代谢产物是11-氧睾酮, 还有较多的肾上腺雄酮, 然而却没有5 β -还原物[Chan 和 Yeung, 1989]。可见, 同样是雌性先熟鱼类, 其性腺的类固醇代谢还存在很大差异。Chan 和 Yeung[1989]提出黄鳍11-氧睾酮合成的主要途径为: 睾酮 \rightarrow 雄烯二酮 \rightarrow 11-羟雄烯二酮 \rightarrow 肾上腺雄酮 \rightarrow 11-氧睾酮。性转变伴随着类固醇合成能力变化, 黄鳍性转变的始动是与性转变早期间质细胞开始增生一致的, 此时雄烯二酮水平升高, 然而, 对于雄烯二酮在性转变中起什么作用, 还有待阐明。

雌性先熟的海鲷 [*Pagelles acarne* (Risso)] 性转变时, 对 ^{14}C 雄烯二酮的5 β -还原作用减弱[Reinboth 等, 1986]。在另一种雄性先熟的平鲷 [*Rhabdo sargus sarba*] 性腺的 ^{14}C 睾酮的离体研究中发现, 雄性期大多数代谢产物是5 β -雄烷-3 α , 17 β -二醇; 雌性期大多数是雄烯二酮; 性转变期这两种代谢物的生成量介于雄性期与雌性期之间。11-羟睾酮与11-氧睾酮之比值随性转变而逐渐减少; 代谢物中没有5 α -还原物。Chan 和 Yeung[1989]据此提出平鲷性腺类固醇合成的主要途径为: 睾酮 \rightarrow 11-羟睾酮 \rightarrow 11-氧睾酮。

Yeung 等[1993]为了深入研究性转变时性腺类固醇合成的动态变化, 用时程(time-course)方法研究了黄鳍不同季节和不同状况性腺对放射性标记的雄烯二酮和睾酮的代谢情况。结果表明, 离体类固醇代谢随性腺发育阶段而变化, 雌性期主要产物为3 β -羟-5 α -雄烷-17-酮和其它不明代谢物; 性转变期类固醇生成模式从雌性型向雄性型转变, 11-氧睾酮生成逐渐增加, 其它不明代谢物减少; 雄性期在排精前阶段11-氧睾酮是其主要代谢物。由于11-氧睾酮的生成是与间质细胞的发育同步的, 且在精子生成十分活跃的排精前期生成显著增加, 因而, 11-氧睾酮必定与精子生成密切相关。

2. 在体研究

(1) 血液中性类固醇激素的变化 Ider 等[1976]首先发现雌雄同体鱼血液中的性类固醇激素与雌雄异体鱼有极大差异。此后对黄鳍和平鲷的研究证明血浆中性类固醇激素水平与性腺的体外培养结果也有很大差异。黄鳍血液中11-氧睾酮和11 β -羟睾酮含量很低[Yeung 和 Chan, 1987], 说明它们可能不是性腺的主要分泌产

物,或者它们仅在局部起作用,如在局部刺激精子生成[Chan等,1977]。产卵前雌性期和性转变早、中期血浆中雄烯二酮水平明显升高,而在性转变后期和雄性期又迅速下降,因此雄烯二酮可能与黄鳍性转变有关[Yeung和Chan,1987; Chan和Yeung,1989]。性转变期和雄性期雌激素(17β -雌二醇和雌酮)浓度逐渐降低,表明卵子维持正常类固醇分泌的能力正在减弱[Yeung和Chan,1987]。与黄鳍不同,雌性先熟的 *Thalassoma duperrey* 血浆中11-酮睾酮水平随着间质细胞和精细胞数量的增多而逐渐增高[Nakamura等,1989]。

雄性先熟的平鲷与黄鳍一样,血浆中11-氧睾酮和 11β -羟睾酮浓度也很低;繁殖时期的雄鱼和性转变鱼血浆中雄烯二酮水平升高,产卵前期的雌鱼血浆中雄烯二酮和雌二醇水平也升高,可见雄烯二酮与平鲷的繁殖也有关系[Yeung和Chan,1987; Chan和Yeung,1989]。

雌雄同体鱼与雌雄异体鱼在一般的性类固醇(如睾酮和 11β -雌二醇)的生成模式方面是极相似的,但雌雄同体鱼也有一些独特的类固醇生成,如雄烯二酮和 5α -还原类固醇。然而,这种独特的类固醇生成是维持性转变的必要因子,还是自然性转变的启动因子尚有得进一步阐明。

(2)外源性类固醇激素与性转变 已知性类固醇可影响鱼类的性分化[Dodd,1960; Atz,1964; Yamamoto,1969; Reinboth,1970]。给未分化的雌雄异体幼鱼注射外源类固醇激素可使其朝预期的性别发育[Yamamoto,1969]。然而用性激素诱导雌雄同体鱼提前性转变的报道还不多[Chen等,1977; Okada,1964; Reinboth,1970; Tang等,1974; 方永强等,1992],其主要原因是在此类研究中难于确知激素处理前的性腺状态,而活检(biopsy)似乎是唯一可采用的方法,遗憾的是困难不少。因而,到目前为止,仅在 *Coris julis* 和黄鳍中使用了该技术。

给尚未分化的雄性先熟黑鲷(*Sparus auratus*)注射大剂量的雌二醇试图促使其提早性转变,然而出乎预料的是精巢组织的发育受到显著抑制,而卵巢组织的发育并未受到促进,甚至还受到一定程度的破坏。至于低剂量的处理效果如何还不知道[Reinboth,1983]。给雌性先熟的 *Coris julis* 注射睾酮可使雌鱼于三周后体色变成雄性体色,四个月中其中部分雌鱼完全性转变,组织学观察发现卵巢快速退化及具有活跃精子生成的生精组织增生[Reinboth,1983]。给巨石斑鱼(*Epinephelus tauvina*)[Chen等,1977]、鲑点石斑鱼(*Epinephelus fario*)[Kuo等,1988]和赤点石斑鱼(*Epinephelus akaara*)[方永强等,1992]饲喂甲基睾酮可加快雌鱼性转变,并且从早熟的巨石斑鱼和鲑点石斑鱼雄鱼获得了精子,其中用早熟的雄巨石斑鱼精子成功地进行了人工授精。可见雄激素具有促进功能性成年雌鱼转变成功能性雄鱼的能力。但令人费解的是给黄鳍注射多种雄激素(甲基睾酮、睾酮和11-酮睾酮)却不能促进性转变[Tang等,1974]。

(二)腺垂体激素与性转变

垂体是中枢神经系统到性腺途径中一个重要的中继站。然而目前对性别转变鱼类中垂体腺所起的作用还不十分了解。Chan等[1975]被认为是给垂体促性腺激素(GtH)在性转变鱼类中可能起作用提供线索的少数几位学者。

黄鳍垂体内有两种类型的GTH分泌细胞[O和Chan,1974]。其垂体粗提物既具有卵泡刺激素(FSH)样活性也具有LH样活性[Chan,1977; Chan和Yeung,1983; Ng等,1986]。已知大多数硬骨鱼类的GTH在哺乳动物中没有活性[Channing等,1974],然而,黄鳍的垂体粗提物在哺乳动物、爬行类和两栖类都具有GTH活性[Chan和Yeung,1983]。雌鳍垂体较高的“LH活性”可触发间质细胞的发育,可能还触发静止的精原细胞的发育,从而启动自然性转变[Chan等,1975]。Tuchmann[1936]用哺乳动物垂体前叶粗提物诱导 *Coris julis* 体色由暗变亮。GtH还促进 *Thalassoma duperrey* 的体外孵育性腺合成较多的11-酮睾酮,且呈剂量依存关系[Nakamura等,1989]。但给同心鲷(*Serranus cabrilla*)[Atz,1964]和黄鳍[Tao等,1993]注射鱼垂体匀浆未能引起性转变。但哺乳动物LH和FSH则可以诱导黄鳍间质细胞和其它雄性精原细胞提前发育,尤以前者的效果为好[Tang等,1974; Chan等,1977]。然而所形成的精小叶和精子生成与自然性转变的有差异,其原因可能是所使用的GtH与内源GtH不同,或缺乏另外的刺激因子,以及可能在雄性精原细胞内缺乏一

种内源性年龄依赖反应的机制[Chan等, 1975; Chan 1977]。Yeung等[1993]进一步证实了LH的促性转变作用。鉴于LH对产卵前期的雌鳟没有诱导性转变的效果,而仅对产卵后的雌鳟有效,因而,GtH分泌增加与卵巢发育阶段之间时间上的配合可能是控制鱼类自然性转变何时启动的关键[Chan等, 1975]。

(三)下丘脑释放激素与性转变

下丘脑释放激素是脑发出的最初信使,已有足够的研究证明促性腺激素释放激素(GnRH)参与真骨鱼类繁殖的调控[Peter, 1983]。在性转变鱼类中,GnRH可能的调节作用将是未来感兴趣的研究课题。

目前涉及GnRH对鱼类性转变影响的文献仅限于Yeung等[1993]和Tao等[1993]的报道。Yeung等[1993]发现促黄体激素释放激素类似物(LHRH-A, Des-GlyS¹⁰[D-Ala⁶]-LHRH)具有刺激产卵后期和产卵前初期卵子的生长和卵黄积累的作用。但不能有效地诱导黄鳟性转变,推测LHRH-A是通过诱导垂体释放类促卵黄生成激素而实现上述作用的。然而,Tao等[1993]给黄鳟注射外源sGnRH-A([D-Ary⁶, Pro⁹Net]sGnRH)却成功地诱导黄鳟提前性转变。对于造成这种差异的原因还不清楚。

四、分子生物学研究

研究发现雌雄异体红点鱼(*Xiphophorus maculatus*)雄性性成熟的时间是受性连锁基因控制的,该基因位点的表达与腺垂体功能间有十分密切的关系[Kallman和Schreibman, 1973]。Kallman[1982]进一步发现该基因位点P通过控制下丘脑垂体轴和GtH细胞的分化来决定性成熟年龄,因而性成熟时间可能最终是受GnRH基因控制的。这些发现为探索鱼类自然性转变的启动机制开阔了思路。

H-Y抗原是异配性别动物细胞膜的组成成分[Wachtel, 1983]。控制该抗原产生的基因由靠近Y染色体短臂着丝点区(可能含有激活基因)、Xp远端区(可能含有抑制基因)及常染色体上的结构基因组成[Wachtel, 1983; Wolf, 1985];雌雄性可能都含有结构基因,但在哺乳动物中,只有具有XY染色体的正常雄性个体才具有激活基因[Wolf, 1985]。

由于H-Y抗原可能具有性别诱导作用[Wachtel等, 1983],因而也试图研究鱼类性转变中是否也存在类似的系统。研究发现*Coris julis*的精巢,无论是来自原发性雄性,或是来自次生性雄性,或是来自次生性雌性,都呈H-Y阳性,而雌性卵巢都呈H-Y阴性[Reinboth, 1983]。在同心鲴(一种同步性雌雄同体鱼类)中,精巢组织呈H-Y阳性,卵巢组织和体组织呈H-Y阴性[Zaborski, 1982]。长棘花鲴由雌性转变为雄性时H-Y抗原也由阴性变为阳性[Pechan等, 1986]。给雌性*Coris julis*注射睾酮可导致卵子的退化和精小叶的形成,注射12天后其雌性性腺组织呈H-Y阳性,且H-Y抗原的滴度随着注射时间的延长而逐渐升高,尽管还低于原发性和次生性精巢组织。因此可以认为雌性H-Y抗原的出现是睾酮处理的直接结果[Reinboth等, 1987]。对H-Y抗原参与性转变的确切机制还不清楚。虽然目前还没有有关鱼类中控制H-Y抗原产生的基因结构的知识,但是鱼类可能是具有该基因的。

Okubo等首先利用一种性别特异DNA探针(谓之Bkm DNA)来鉴别性转变鱼的雌雄性差异[Shapiro, 1988]。该探针与性染色体上的性别决定区密切相关[Jones和Singh, 1981]。用BkmDNA探针与雌性长棘花鲴的DNA和由雌性性转变成为雄性的DNA进行分子杂交证实,只有雄性DNA才含有Bkm片段,因而BkmDNA与性转变必然具有密切关系[Shapiro, 1988]。该发现增加了雌性DNA可以通过其现有片段的扩增和转位而改变的可能性,如果真是如此,那就不难理解为什么雌雄性间行为方式的改变可以诱导DNA的改变而最终导致性转变。

五、结论与展望

通过对性转变鱼类进行的形态学、生态学、行为学、内分泌学乃至分子生物学的多角度研究,现在人们对

鱼类性转变现象有了基本的认识。鱼类性转变时,性腺结构随之发生极大的变化,原有的性腺成分被相反性别的性腺成分所逐渐取代。环境中的物理、化学因素对鱼类性转变的影响程度和途径如何还没有获得太多的实验依据,而社会环境对鱼类性转变的影响效应则是确定的,即社会环境因素可能是通过中枢神经系统一下丘脑-垂体-性腺轴而起作用的。性转变鱼类性腺的类固醇生成模式与雌雄异体鱼明显不同,但是类固醇激素可能不是鱼类性转变的启动因素,而是性转变的必然后果。有间接证据表明垂体 GtH 具有促进鱼类性转变的功能。引入外源下丘脑释放激素类似物未获得一致性的促进性转变的结论。性别转变时 H-Y 抗原随之发生变化,这种变化是雄激素直接作用的结果。有趣的是,随着雌鱼向雄鱼的转变出现了一种特异的 BkmDNA 片段,可见,性别转变最终是受基因调控的。

从已有的文献来看,下丘脑、垂体水平的研究还相当薄弱,甚至还未见性转变过程中垂体、血浆 GtH 水平变化的报道;也还没有开展有关 sGnRH 的调控作用的研究,当然其原因主要是技术方面的。如果将来能建立性转变鱼类 GtH 的放射免疫测定方法(我们曾试图用鲤鱼 GtH 和抗鲤鱼 GtH β 亚单位的抗血清建立黄鳍 GtH 的放射免疫测定方法,未获成功),再结合已建立起来的 GnRH 和性类固醇的放射免疫测定方法,将能够对性转变鱼类的下丘脑-垂体-性腺轴进行同步研究,从而为揭示性转变机制提供更进一步的直接证据。另外,性别转变的基因调控也将是今后的重要研究内容之一。

鱼类性转变机制的研究不仅具有重要的理论意义,而且也具有重大的应用价值。在性转变鱼类的繁殖研究中,由于自然性转变时间通常较长,因而常常难于在资源较匮乏的鱼类中得到性转变后的成熟亲鱼,给人工繁殖带来诸多困难。而鱼类性转变机制研究所取得的重大进展,必将给性转变鱼类的人工繁殖带来新的突破。

参 考 文 献

- [1] 王良臣等,1985.黄鳍生物学因素关系的研究.鱼类学论文集(第四辑),147-153.科学出版社(京)。
- [2] ——,1986.黄鳍垂体腺嗜碱性细胞组织化学的研究.鱼类学论文集(第五辑),29-34.科学出版社(京)。
- [3] 方永强等,1992.17 α -甲基睾酮对赤点石斑鱼性逆转的影响.水产学报,16(2):171-174。
- [4] 刘建康和顾国毅,1951.鳍性别逆转时生殖腺组织的改变.中国水生生物学汇报,2:85-109。
- [5] 刘修业和王良臣,1987.黄鳍性别与年龄、体长、体重等的关系及性腺的组织变化.淡水渔业,6:12-14。
- [6] Aiken, D. E., 1969. Photoperiod, endocrinology and the crustacean molt cycle. *Science*, **14**, 149-155.
- [7] Atz, J. W., 1964. Intersexuality in fishes. pp. 145-232. In: A. J. Marshall & C. N. Armstrong (ed.) *Intersexuality in vertebrates including man*. Academic Press, New York.
- [8] Bruslé, S., 1987. Sex-inversion of the hermaphroditic, protogynous teleost *Coris julis* L. *J. Fish. Biol.*, **30**:605-616.
- [9] Chan, S. T. H., 1977. Spontaneous sex reversal in fishes. In: "*Handbook of sexology*" (J. Money and H. Musaph, eds.), pp. 91-105. Elsevier/North-Holland Biomedical Press, Amsterdam.
- [10] Chan, S. T. H. and O. W. S., 1981. *Environmental and non-genetic mechanisms in sex determination*. In: "*Mechanisms of sex differentiation in animal and man*" (C. R. Austin and R. G. Edwards, eds), pp. 55-113. Academic Press, New York.
- [11] Chan, S. T. H. and S. B. Yeung, 1983. Sex control and sex reversal in fish under natural conditions. pp. 171-222. In: W. S. Hoar, et al., (ed.) *Fish Physiology*, Vol. 9B, Academic Press, New York.
- [12] ——, 1989. Sex steroids in intersexual fishes. *Fish Physiology and Biochemistry*, **7**:229-235.
- [13] Chan, S. T. H. et al., 1975. On the gonadal and adenohipophysial functions of natural sex reversal. pp. 201-222. In: R. Reinboth(ed.) *Intersexuality in the animal kingdom*, Springer-Verlag, Berlin.
- [14] Channing, C. P. et al., 1974. Comparative activities of mammalian, reptilian and piscine gonadotropins in monkey granulosa cell culture. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **22**:137-145.
- [15] Chen, F. Y. et al., 1977. *Artificial spawning and larval rearing of the grouper *Epinephelus tauvina* (Forsk.) in Singapore*. Singapore J. Pri. Ind., **5**:1-21.
- [16] D'Ancona, U., 1940/41. Preliminary observations and considerations on hermaphroditism and sexual differentiation

- of *Sparus auratus* L. *Publ. Staz. Zool. Nap.*, **18**:313-36.
- [17] ———, 1949a. Gonad differentiation and sex reversal in sparids. *Arch. Oceanogr. Limnol.* **6**:97-163.
- [18] ———, 1949b. Hermaphroditism and sex change in Teleostei. *experientia*, **5**:381-389.
- [19] ———, 1956. Morphogenese et differentiation sexuelle chez les poissons teleosteens. *Bull. Soc. Zool. France*, **81**: 219-229.
- [20] Dodd, J. M., 1960. Genetic and environmental aspects of sex determination in cold-blooded vertebrates. *Mem. Soc. Endocrinol.* **7**:17-44.
- [21] Fishelson, L., 1970. Protogynous sex reversal in the fish *Anthias squamipinnis* (Teleostei, Anthiidae) regulated by the presence or absence of a male fish. *Nature* (London), **227**, 90.
- [22] Fricke, H. and S. Fricke, 1977. monogamy and sex change by aggressive dominance in coral reef fish. *Nature* (London), **266**, 830-832.
- [23] Harrington, R. W. Jr., 1975. Sex determination and differentiation among uniparental homozygotes of the hermaphroditic fish *Rivulus marmoratus* (Cyprinodontidae; Antherinoformes). In: "Intersexuality in the animal kingdom" (R. Reinboth, ed), pp.249-262. Springer-Verlag, Berlin and New York.
- [24] Howell, W. M. et al., 1980. Abnormal expression of secondary sex characters in a population of mosquitofish, *Gambusia affinis holbrooki*. Evidence for environmentally induced masculinization. *Copeia*, pp. 676-681.
- [25] Ider, D. R. et al., 1976. A comparison of 11-hydroxytestosterone and 11-ketotestosterone in blood of ambisexual and gonochoristic teleosts. *Gen. Comp. Endocrinol.* **30**:517-521.
- [26] Jones, K. W. and L. Singh, 1981. Conserved repeated DNA sequences invertebrate sex chromosomes. *Hum. Genet.*, **58**:46-53.
- [27] Kallman, K. D., 1982. Geneti control of sex maturation in fishes of the genus *Xiphophorus* (Poeciliidae). *Proc. Symp. Comp. Endocrinol.*, 9th, 1981 Abstrat, pp. 161.
- [28] Kallman, K. D., and M. O. Schreibman, 1973. A sex-linked gene controlling gonadotropic differentiation in determining the age of sex maturation and size of the platyfish, *Xiphophorus maculatus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **21** :287-304.
- [29] Kuo, C. M. et al., 1988. Induced sex reversal and spawning of bluespotted grouper, *Epinephelus fario*. *Aquaculture*, **74**:113-126.
- [30] Liem, K. F., 1963, Sex reversal as natural process in the Synbranchiform fish, *Monopterus albus*. *Copeia*, pp. 303-312.
- [31] ———, 1968. Geographical and taxonomic variation in the pattern of natural sex reversal in the teleost fish order Synbranchiformes. *J. Zool.*, **156**:225-238.
- [32] Liu, C. K., 1944. Rudimentary hermaphroditism in the symbranchoid eel, *Monopterus javanensis*. *Sinensia*, **15**:1-8.
- [33] McMahon, C. R. et al., 1979. Prostaglandins and the release of LHRH from hypothalamio synaptosomes. *Neuroendoorinol.*, **28**:394-401.
- [34] Nakamura, M. et al., 1989. Histological and ultrastructural evidence for the role of gonadal steroid hormones in the protogynous wrasse *Thalassoma duperrey*. *Env. Biol. Fish*, **24**: 117-136.
- [35] Ng, T. B. et al., 1986. Pituitary extract of the ricefield eel *Monopterus albus* (Synbranchidae, Teleostei) exhibits gonadotropic activity in the Mammalia, Aves, Reptilia and Amphibia. *Comp. Biochem. Physiol.* **84A**:371-381.
- [36] O, W. S. and S. T. H. Chan, 1974. A cytological study on the structure of the pituitary gland of *Monopterus albus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **24**: 208-222.
- [37] Ojeda, S. R. and H. E. Jameson, 1977. Hypothalamic areas involved in prostaglandin (PG)-induced gonadotropin release. I: Effects of PGE and PGF implants on luteinizing hormone release. *Endocrinogy*, **100**: 1585-1594.
- [38] Okada, Y. K., 1964. Effect of androgen and estrogen on sex reversal in the wrasse, *Halichoeres poecilopterus*. *Proc. Jpn. Acad.*, **40**:541-544.
- [39] Pechan, P. et al., 1986. Increased H-Y antigen levels associated with behaviorally-induced, female-male sex

- reversal in a coralreef fish. *Differentiation*, **31**:106-110.
- [40] Peter, R. E., 1983. The brain and neurohormones in teleost reproduction. pp. 97-135. In: W. S. Hoar *et al.* (ed) *Fish Physiology*, Vol. 9A, Academic Press, New York.
- [41] Reinboth, R., 1970. Intersexuality in fishes. pp. 515-543. In: K. G. Benson and J. G. Philipps (ed.) *Hormones and the environment*, memoirs soc. endocrinol. 18, Cambridge University Press London.
- [42] ———, 1979. On steroidogenic pathways in ambisexual fishes. *Proc. Indian Natl. Sci. Acad.*, Part B45, 421-428.
- [43] ———, 1980. Can sex inversion be environmentally induced? *Biol. Reprod.* **22**:49-59.
- [44] ———, 1983. The peculiarities of gonad transformation in teleosts. *Differentiation*, **23**(Suppl.):82-86.
- [45] ———, 1985. Ambisexuality in teleosts — a challenge to endocrinologists. pp. 579-581. In: B. Lofts and W. n. Holmes(eds) *Current trends in comparative endocrinology*, University Press, Hong Kong.
- [46] ———, 1988. Physiological problems of teleost ambisexuality. *Env. Biol. Fish.* **22**:249-259.
- [47] Reinboth, R. and B. Becker., 1984. In vitro studies on steroid mechanism by gonadal tissues from ambisexual teleosts. I: Conversion of ¹⁴C-testosterone by males and females of the protogynous wrasse *Coris julis* L. *Gen. Comp. Endocrinol.*, **55**: 245-250.
- [48] Reinboth, R. *et al.*, 1986. In vitro studies on steroid metabolism by gonadal tissues from ambisexual teleosts. II. Conversion of $\text{C}-\text{androstenedione}$ by the heterologous gonadal tissues of the protandric sea bream *Pagellus acarne* (Risso). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **62**:335-340.
- [49] Reinboth, R. *et al.*, 1987. The occurrence of the serological sex-specific (Sxs) antigen in the diandric protogynous wrasse *Coris julis* (L.) (*Labridae, Teleostei*). *Differentiation*, **34**:13-17.
- [50] Shapiro, D. Y., 1985. Behavioral influences on the initiation of adult sex change in oral reef fishes. pp. 583-586. In: B. Lofts and W. N. Holmes (ed.) *Current trends in endocrinology*, Hong Kong University, Hong Kong.
- [51] ———, 1988. Behavioral influences on gene structure and other new ideas concerning sex changes in fishes. *Env. Biol. Fish.* **23**:283-297.
- [52] Stacey, N. E., 1987. Roles of hormones and pheromones in fish reproductive behavior. pp. 29-60. In: D. Crews (ed.) *Psychobiology of reproductive behavior, An evolutionary perspective*, Prentice-Hall, Englewood Cliffs.
- [53] Stephan, P., 1901. De lhermaphrodisme chez les vertebres. *Ann. Fac. Sc. Marseille.* **12**:23-157.
- [54] Tang, F. *et al.*, 1974a. Effect of steroid hormones on the sex reversal in the ricefield eel, *Monopterus albus* (Zuiew). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **24**:227-241.
- [55] ———, 1974b. Effect of mammalian luteinizing hormone in the natural sex reversal of the ricefield eel, *Monopterus albus* (Zuiew). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **24**:242-248.
- [56] Tao, Y. X. *et al.*, 1993. Hormonal induction of precocious sex reversal in the ricefield eel, *Monopterus albus*. *Aquaculture*, **118**:131-140.
- [57] Tuchmann, H., 1936. L'influence de l'extrait de lobe anterieur de l'hypophyse sur le tractus genital d'un Labride. C. R. *Seances Soc. Biol. Ses. Fil.* **123**:972-975.
- [58] Wachtel, S. S., 1983. *H-Y antigen and the biology of sex determination*. Grune and Stratton, New York. 302 pp.
- [59] Warner, R. R. and S. E. Swearer, 1991. Social control of sex change in the bluehead wrasse, *Thalassoma bifasciatum* (Pisces; Labridae). *Biol. Bull.* **181**:199-204.
- [60] Wolf, U., 1985. Genes of the H-Y antigen system and their expression in mammals. pp. 81-92. In: A. A. Sandberg (ed.) *The Y chromosome*, Part A: Basic characteristics of the Y chromosome, Alan R. Liss, Inc., New York.
- [61] Yamamoto, T., 1969. Sex differentiation. In: *fish Physiology*. (W. S. Hoar and D. J. Randall, eds.), Vol. 3, pp. 117-345.
- [62] Yeung, W. S. B. and S. T. H. Chan, 1987. The plasma sex steroid profiles in the freshwater, sex-reversing teleost fish, *Monopterus albus* (Zuiew). *Gen. Comp. Endocrinol.*, **65**:233-242.
- [63] Yeung, W. S. B. *et al.*, 1985. The ultrastructural and biosynthetic characteristics of steroidogenic cells in the gonad of *Monopterus albus* (*Teleostei*) during natural sex reversal. *Cell Tissue Res.* **239**:383-394.
- [64] Yeung, W. S. B. *et al.*, 1993a. The in vitro metabolism of radioactive androstenedione and testosterone by the

- gonads of the protogynous *Monopterus albus* at different sexual phases; a time-course and seasonal study. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 89:313-322.
- [65] ———, 1993b. Effects of LHRH-analog on gonadal development and in vitro steroidogenesis in the protogynous *Monopterus albus*. *Gen. Comp. Endocrinol.*, 89:323-332.
- [66] Zaborski, P., 1982. Expression of H-Y antigen in nonmammalian vertebrates and its relation to sex differentiation. In: Richter G. J. J. ; H. J. T. Goos (eds) *Proceedings Internat Symp Reprod Physiol Fish*, Wageningen. Pudoc (Centre for Agricultural Publishing and Documentation), Wageningen, pp. 64-68.