

杨超超,屈蓉,杜妙柔,等. 鱼类雄性性别分化与精巢发育调控基因研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2023, 31(9): 1206-1216.

Yang CC, Qu R, Du MR, et al. Research progress on genes regulating male sex differentiation and sperm development in fish [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2023, 31(9): 1206-1216.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2023.09.012

鱼类雄性性别分化与精巢发育调控 基因研究进展

杨超超^{1,2}, 屈蓉^{1,2}, 杜妙柔^{1,2}, 王琪^{1,2}, 雷忻^{1,2*}

(1. 延安大学生命科学学院, 陕西 延安 716000; 2. 延安市生态恢复重点实验室, 陕西 延安 716000)

【摘要】 鱼类性别受环境与基因共同调控, 两者均可影响鱼类性腺分化、发育, 但环境如何影响性腺发育基因来调控鱼类性别尚不明确。现有研究认为, 上游基因 *sox9*、*amh* 高表达可诱导鱼类原始性腺分化为精巢, *sox9* 促进精母细胞增殖, *amh* 抑制精原细胞增殖, 下游基因 *ar*、*er* 表达水平升高可诱导鱼类精原细胞分裂、分化、精母细胞增殖以及精子发生过程; 外源雌激素抑制 *sox9*、*amh* 表达, 对 *ar*、*er* 则表现为低浓度诱导, 高浓度抑制。综上, 鱼类雄性性别分化受 *sox9*、*amh*、*ar*、*er* 共同调控, 环境因子的改变可影响这一分化过程。因此, 本文对鱼类性别分化上游主要调控基因 *sox9* 和 *amh*, 下游主要调控基因 *ar* 和 *er* 以及它们与精巢发育的关系、环境因子胁迫对这些基因和精巢组织结构的影响展开综述, 以探讨鱼类精巢发育以及环境因子对这一发育过程的基因调控作用。

【关键词】 鱼类; 精巢发育; 基因调控; 雄性生殖细胞; 环境因子

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标志码】** A **【文章编号】** 1005-4847 (2023) 09-1206-11

Research progress on genes regulating male sex differentiation and sperm development in fish

YANG Chaochao^{1,2}, QU Rong^{1,2}, DU Miaorou^{1,2}, WANG Qi^{1,2}, LEI Xin^{1,2*}

(1. College of Life Sciences, Yan'an University, Yan'an 716000, China. 2. Yan'an Key Laboratory of Ecological Restoration, Yan'an 716000)

Corresponding author: LEI Xin. E-mail: leizz66@126.com

【Abstract】 Sex determination in fish is regulated by environmental and genetic factors, both of which can affect gonad differentiation and development. However, the way in which the environment affects gonad development-related genes to regulate the sex of fish remains unclear. Current studies suggest that high expression levels of the upstream genes *sox9* and *amh* can induce primordium differentiation into spermatocytes in fish, *sox9* promotes and *amh* inhibits spermatocyte proliferation, and elevated expression levels of the downstream genes *ar* and *er* can induce spermatocyte division, differentiation, proliferation, and spermatogenesis in fish. Exogenous estrogen inhibited the expression of *sox9* and *amh* but induced *ar* and *er* at low concentration and inhibited them at high concentration. In conclusion, male sex differentiation in fish is regulated by *sox9*, *amh*, *ar* and *er*, and changes in environmental factors can affect the differentiation process. This report therefore reviews the upstream regulatory genes *sox9* and *amh* and downstream regulatory genes *ar* and *er* and their

【基金项目】 陕西省自然科学基金面上项目 (2021JM-417), 延安市科技惠民计划项目 (2017HM-05), 国家级大学生创新创业训练计划项目 (202110719021)。

Funded by Natural Science Basic Research Project of Shaanxi Province (2021JM-417), Yan'an Science and Technology Benefit People Program (2017HM-05), National Innovation and Entrepreneurship Training Program for College Students (202110719021).

【作者简介】 杨超超 (1996—), 男, 硕士, 研究方向: 动物生态学、生态毒理学。Email: yc996@qq.com

【通信作者】 雷忻, 女, 博士, 教授, 硕士生导师, 研究方向: 动物生态学、生态毒理学。Email: leizz66@126.com

relationships with sperm development. We also consider the effects of environmental factors such as stress on these genes and sperm structure, to explore sperm development and the gene-regulatory effects of environmental factors during this developmental process.

[Keywords] fish; testis development; gene regulation; male germ cell; environmental factor

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

大多鱼类性别受环境与基因共同影响,环境变化可能导致性腺决定基因异常表达,从而影响鱼类性别分化^[1-2]。现有研究表明,鱼类性别决定基因的调控分为 4 个阶段:性别主导基因决定性腺开端是雄或雌、性别分化上游调控基因、性别分化中游调控基因与响应类固醇激素调控的下游基因共同调节性腺发育。性别分化上游调控基因雄性性别相关基因 (SRY-related high mobility group-box 9, *sox9*)、抗缪勒氏管激素基因 (anti-müllerian hormone, *amh*)、Mab-3 相关转录因子 1 基因 (doublesex and mab-3 related transcription factor 1, *dmrt1*) 与响应类固醇激素调控的下游基因 (雄激素受体基因 (androgen receptor, *ar*))、雌激素受体基因 (estrogen receptor, *er*) 是影响鱼类精巢分化及发育的两个重要因子^[3-5]。本文就目前鱼类性别调控基因 *sox9*、*amh*、*ar*、*er* 及其与精巢发育调控关系、外源因子对这些基因及精巢的影响进行综述,为鱼类性腺发育的相关研究提供资料依据。

1 性别分化上游基因

1.1 *sox9* 基因

sox 是含有一个 HMG-box (high mobility group-box) 的基因家族,*sox* 对软骨形成、神经系统发育、造血、性别决定及分化等多个过程具有重要作用,1990 年在哺乳动物中发现的睾丸决定因子 *sry* 是最早的 *sox* 基因^[6]。目前的研究发现,根据结构和功能的不同,*sox* 分为从 A ~ J 族共 10 个亚族^[6]。*sox* 在大多数雄性动物体内均有存在,且在各个组织中的表达具有一定特异性,精巢中部分 *sox* 基因 (*sox4*、*sox5*、*sox6* 和 *sox9*) 的表达与精子发生过程有关,其中属于 *soxE* 家族成员的 *sox9* 是性腺分化过程中最为关键的基因,其上游基因 *sry* 可直接调节 *sox9* 表达,激活性腺发育相关基因通路,并促进精巢支持细胞和间质细胞分化、脉管系统形成和睾丸索发育^[7]。

1.1.1 *sox9* 与性腺发育的关系

sox9 位于脊椎动物常染色体上,在鱼类性别决定中具有重要作用,在黄颡鱼 (*Tachysurus*

fulvidraco)、黄鳝 (*Monopterus albus*)、斑马鱼 (*Danio rerio*) 等鱼类中均已发现 *sox9* 存在 *sox9a* 与 *sox9b* 两种亚型^[8-11]。对半滑舌鳎 (*Cynoglossus semilaevis*) 的研究报道,*sox9a* 在精巢中表达量明显高于卵巢,在 9 月龄半滑舌鳎精巢中表达水平最高,是诱导性逆转、性别分化、生精细胞形成的重要因子^[12]。斑马鱼的研究显示,精巢支持细胞中 *sox9a* 高表达,卵巢卵黄颗粒中 *sox9b* 高表达,且性腺分化期原始性腺支持细胞内 *sox9a* 可能通过抑制原始性腺卵泡 *sox9b* 表达,导致原始性腺中卵泡细胞凋亡,从而使原始性腺向精巢分化^[13]。在翘嘴鲇 (*Culter alburnus*) 的研究中,*sox9a* 在精巢中表达量显著高于卵巢,*sox9b* 仅在卵巢中表达,*sox9a* 的差异表达可能与卵巢 *sox9a* 启动子 CpG 岛甲基化有关,这提示,性腺分化阶段 *sox9a* 启动子的 CpG 岛甲基化可能是性腺向卵巢分化的原因之一^[14]。在纹东方鲀 (*Takifugu obscurus*)、大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 的研究中,*sox9a*、*sox9b* 均在精巢中高表达,且精巢分化前、精巢发育与维持阶段,*sox9a*、*sox9b* 表达量显著升高;同样,在四倍体鲫鲤 (Allotetraploid) 体内,*sox9a* 和 *sox9b* 均在精巢中高表达,在卵巢中不表达。这些均提示,*sox9a*、*sox9b* 高表达可能对鱼类精巢分化及成熟有着明显诱导作用^[15-17],二者可能在不同鱼类性腺、同种鱼类精巢和卵巢中均存在表达差异,说明 *sox9* 两种亚型在雌性和雄性鱼类性腺发育中发挥不同作用。此外,在鱼类不同发育阶段,*sox9* 也存在表达差异。随鱼类生长发育,*sox9* 表达量可能出现周期性的先升高后降低趋势,这提示,*sox9* 在性腺分化、发育和成熟过程中起阶段性作用^[12,15]。研究发现一些鱼类仅存在一种 *sox9*,如 *sox9* 在白斑狗鱼 (*Esox lucius*) 精巢、卵巢中均表达水平较高,无明显性别差异,且不同发育时期 *sox9* 表达水平也无显著变化,因此 *sox9* 不是白斑狗鱼性腺分化、发育过程中的主要影响因子,可能存在其他基因 (如 *foxl2* (Forkhead box L2)) 调节其性腺分化发育^[18]。

尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 幼鱼的研究中显示,*sox9a* 直接参与精母细胞周围体细胞增殖,

从而间接影响精母细胞增殖, *sox9b* 突变可能导致精巢发育迟滞; 而青 (*Oryzias latipes*) 中 *sox9b* 的突变可引起卵母细胞凋亡, 诱导雌鱼向雄鱼转变^[19]。提示不同鱼类性腺中 *sox9a*、*sox9b* 可能存在不同功能。但大多数鱼类 *sox9a* 主要在精巢支持细胞高表达, *sox9b* 主要在卵巢卵黄颗粒高表达^[15,17]。因此对于大多数鱼类, *sox9a* 主要诱导精巢发育, *sox9b* 则在卵巢发育中可能更加重要。此外, 2 年生俄罗斯鲟 (*Acipenser gueldenstaedti*) 的研究中, *sox9* 主要在 A 型和 B 型早期精原细胞质中高表达, 发育至 48 月龄后, 精母细胞核中也出现 *sox9* 表达产物^[20], 说明一些鱼类精巢 *sox9* 的表达与生殖细胞发育有关。研究表明, 当 *sox9* 表达量降低, *sox* 上游基因 *sry* 将激活其他精巢发育决定基因 (如 *sox8*) 并促使其分化^[21]。斜带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*) 的研究报道, *sox9* 高表达可能诱导雌性向雄性转化, 因此 *sox9* 可能是性逆转过程的重要影响因子^[22]。上述研究均提示, *sox9* 与鱼类生殖细胞发育密切相关, 尤其在精巢发育中具有更重要的作用。精巢 *sox9* 表达量降低可能导致鱼类发生由雄性到雌性的性逆转。

1.1.2 外源因子胁迫下 *sox9* 的变化

研究报道, *sox9* 上调可能加速脊椎动物未分化的生殖嵴向雄性性腺分化, 并促进其发育为精巢^[7,23]。一些外源雄激素可能诱导鱼类 *sox9* 表达^[24]。17 α -甲基睾酮 (MT) 处理的雌性大黄鱼卵巢 *sox9a*、*sox9b* 显著升高, 而 17 β -雌二醇 (17 β -estradiol, 17 β -E2) 处理的雄性大黄鱼精巢 *sox9a*、*sox9b* 则显著降低, 这表明, 外源雌激素可能抑制精巢 *sox9* 表达, *sox9* 是影响性腺分化及发育的重要因子^[16]。同时, 高浓度具有雌激素效应的阿拉特津 (atrazine, ATZ) 处理后, 斑马鱼精巢中 *sox9a* 表达量显著下调^[25]。用类雌激素污染物三氯生 (triclosan, TCS) 处理的斑马鱼, 精巢中 *sox9a* 表达量下降, 卵巢中 *sox9b* 的表达量上升^[26]。这表明, 外源雌激素对精巢内 *sox9* 的表达具有抑制作用。

1.2 *amh* 基因

Amh 又称抗缪勒氏管抑制因子, 属于 TGF- β 超家族成员, 具有影响缪勒氏管退化并抑制卵巢发育的作用, 鱼类虽然缺乏缪勒氏管, 但常染色体上存在 *amh*, *amh* 主要通过 Amh 蛋白与受体 (anti-müllerian hormone type II receptor, *amhr II*) 结合调控鱼类性腺分化及发育^[27]。1953 年, Amh 就已经在动物胚胎中被发现, 但直到 1986 年, 才通过克隆

获得牛的 *amh* cDNA 序列, 迄今为止, 在鸟类、两栖类、鱼类体内均发现 *amh* 在精巢内表达量高于卵巢^[28-29]; *amh* 在 *amhr II* 诱导下, 形成的受体聚合物是激活下游性腺发育基因表达的重要因子, 青、红鳍东方鲀 (*Takifugu rubripes*) 的研究均有相似发现, 但并非所有鱼类都存在 *amhr II* (如, 斑马鱼), 在有些鱼类中, *bmpr2* 等同源基因可能起到替代 *amhr II* 的功能^[29-30]。

1.2.1 *amh* 基因与性腺发育的关系

研究报道, *amh* 对鱼类生殖细胞增殖、精子发生及雄性性别的决定至关重要, 可通过雌性性别决定基因与雄性性别决定基因的级联效应, 构成性别调控机制模型, 从而决定鱼类性腺分化^[5]。对哺乳动物的研究表明, 在 *sry*、*sox9*、*sf1* 等基因共同调节下, *amh* 开始表达, 使原始性腺分化为精巢^[31]。在对鱼类的研究中发现 *amh* 与 *sox9* 存在协同关系, 两个基因的表达呈正相关, 可能存在一种 *amh*-*sox9* 信号通路来调节这种关系, 从而影响精巢分化^[32-34]。研究表明, *amh* 在雄性斑马鱼性腺分化完成前表达量最高^[35]。黄颡鱼精巢 *amh* 表达量显著高于卵巢, 12 月龄雄鱼精巢 *amh* 表达量显著高于 24 月龄^[36]。红鳍东方鲀中也报道, 精巢 *amh* 表达量极显著高于卵巢, 随雄鱼生长发育, *amh* 表达量出现先升高后降低再升高的趋势^[29]。以上研究表明, *amh* 是鱼类体内重要的精巢调控因子。但豆晓飞^[37]研究表明, 成年泥鳅 (*Misgurnus anguillicaudatus*) 卵巢 *amh* 表达量高于精巢, 成年大鳞副泥鳅 (*Paramisgurnus dabryanus*) 卵巢 *amh* 表达量与精巢差异不大。这提示, *amh* 表达水平存在物种、性别、性成熟度不同导致的差异, 且其在精、卵巢中发挥不同作用。*amh* 在雌鱼中可能通过下调 *cyp19a1a* 表达来抑制卵巢发育, 在雄鱼中可能通过 *dmrt1*-*amh* 负反馈通路与 *sf1*、*sox9* 等多种基因的共同作用诱导、促进精巢发育^[5]。这表明, *amh* 对许多雄鱼、雌鱼性腺发育都是必须的, 雄鱼 *amh* 的高表达可能是促进早期精巢发育的重要因素, 精巢发育阶段 *amh* 表达水平不稳定, 可能与精巢分化、发育、成熟过程有关, 而雌鱼 *amh* 起调节卵巢发育的作用。现有研究表明, *amh* 在精巢发育前期起重要作用。在尼罗罗非鱼中, *amh* 在精、卵巢中均有表达, 精巢 *amh* 主要表达于叶边细胞和支持细胞, 在精巢发育早期作用明显, 并参与精巢发生、运输过程^[38]。在黑鲷 (*Acanthopagrus schlegelii*) 中, *amh* 表达于精巢支持

细胞,对精巢 A 型精原细胞的增殖具有抑制作用^[39]。在雌性斑马鱼向雄性转变过程中,*amh* 抑制 A 型精原细胞样细胞的增殖和分化^[40]。*amh* 在大西洋鲑鱼(*Salmo salar*)未成熟精巢中表达量相对较高,精子发生期间最低,*amh* 具有抑制精子发生的作用^[41]。也有研究表明,*amh* 的高表达会抑制精子生成,同时精子也可能抑制 *amh* 的表达^[42-44]。这提示,*amh* 是重要的精巢发育调节因子,具有抑制精巢细胞分裂、分化的能力。青、斑马鱼等 21 种鱼类中也报道,*amh* 表达于精巢支持细胞和卵巢颗粒细胞,具有抑制生殖细胞增殖、分化的作用^[45]。研究表明,对雌性斜带石斑鱼进行 *amh* 质粒投喂后,其卵巢退化的同时卵巢中可发现精原细胞与精母细胞出现,同时其血清中雌二醇 (estradiol, E2) 含量下降,11-酮基睾酮 (KT) 含量上升^[46]。而 *amh* 缺失则导致斑马鱼精巢中精原细胞大量增殖,精母细胞数量减少,从而抑制减数分裂发生^[30]。赵九娥^[47] 研究表明,敲除罗非鱼 (*Oreochromis mossambicus*) *amh* 后,可导致基因型为雄性的罗非鱼形成卵巢组织,*amh* 过表达可导致基因型为雌性的罗非鱼精巢组织的出现。以上研究表明,*amh* 诱导精巢分化及早期精巢发育,但随精巢发育,*amh* 表达可能出现降低趋势,从而促进精巢生殖细胞分裂、分化,卵巢内 *amh* 高表达可能造成卵巢退化,间性性腺出现,表现出早期原始性腺的细胞组成;而 *amh* 缺失又可能造成精巢发育迟滞,甚至转变为卵巢。

1.2.2 外源因子胁迫下 *amh* 的变化

amh 在外源雄激素诱导的伪雄性虹鳟鱼 (*Oncorhynchus mykiss*) 性腺中的表达量高于精巢和卵巢^[24]。大黄鱼的研究表明,*amh* 在精巢中表达量约是卵巢中的 8 倍,而 17-KT 诱导的伪雄鱼性腺中 *amh* 表达量略低于雄鱼,这提示,外源雄激素可促进卵巢 *amh* 表达,诱导雌鱼性逆转为雄性^[48]。牙汉鱼 (*Odontesthes bonariensis*) 的研究显示,用芳香化酶抑制剂法偈唑 (fadrozole) 处理的雌鱼卵巢 *amh* 表达被诱导,外源 E2 处理的雄鱼精巢 *amh* 表达被抑制,这提示外源雌激素抑制精巢 *amh* 表达,可能通过抑制精巢生殖细胞分裂、分化,最终导致精巢退化^[49]。王静^[50] 研究表明,外源 E2 处理可导致花骨鱼 (*Hemibarbus maculatus* Bleeker) 卵巢中 *amh* 表达量下降,随时间延长,*amh* 表达量逐渐降低,低浓度处理组 *amh* 表达量下降趋势更为显著,这可能是因为外源雌激素抑制卵巢 *amh* 表达,促进卵巢发育,但

高浓度外源雌激素处理对鱼类卵巢造成组织损伤,因此卵巢 *amh* 表达较低浓度处理组更低。雌激素 ATZ 对泥鳅的胁迫研究则表明,随胁迫浓度增加,精巢 *amh* 表达量降低更加显著^[51]。这提示,外源雄激素、芳香化酶抑制剂可能诱导卵巢 *amh* 表达,外源雌激素对卵巢 *amh* 的表达具有抑制作用,*amh* 对外源胁迫的敏感性因鱼类、外源激素种类的不同而产生差异。

2 性类固醇激素调控的下游基因

2.1 *ar* 基因

雄激素是调节鱼类性别分化、性腺发育、精子发生及维持雄性生殖系统平衡的重要激素,雄激素受体 (AR) 作为核受体蛋白家族的一员,是具有配体依赖性的反转录调节蛋白,在雄激素信号调节过程中起主要转录因子作用^[52]。研究报道,*ar* 基因在黄鳝精巢间质细胞、精原细胞及精母细胞中有较高表达^[53]。*ar* 在不同物种体内表达模式不同,鸟类、哺乳类可能存在一种 *ar*,两栖类可能存在两种 *ar*,而在鱼类 *ar* 可能有多种表达类型^[54]。研究表明,斑马鱼、金鱼 (*Carassius auratus linnaeus*)、金头鲷 (*Sparus aurata*)、青石斑鱼 (*Epinephelus awoara*) 精巢内只有一种 *ar*,而虹鳟鱼、日本鳗鲡 (*Anguilla japonica*)、云纹石斑鱼 (*Epinephelus moara*)、尼罗罗非鱼、西部食蚊鱼 (*Gambusia affinis*) 等精巢内发现两种 *ar* ($ar\alpha$ 、 $ar\beta$)^[55-63]。牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 精巢内不仅发现了 $ar\alpha$ 、 $ar\beta$,还发现 $ar\alpha$ 的两种变体 ($ar\alpha 1$ 、 $ar\alpha 2$)^[64]。上述研究显示,鱼类性腺发育可能与多种 *ar* 有关。

2.1.1 *ar* 基因与性腺发育的关系

一些鱼类精巢 *ar* 表达水平与精巢发育密切相关。对弓背青鲌 (*Oryzias curvinotus*) 的研究报道, $ar\alpha$ 、 $ar\beta$ 在精巢中均有较高表达^[65]。小体鲟 (*Acipenser ruthenus*) 的研究也显示,精巢内 *ar* 具有较高表达量,可调控雄鱼生长发育^[66]。金钱鱼 (*Scatophagus argus*) 中显示,精巢发育中期 *ar* 表达量显著高于早、晚期,这可能与精巢发育中期生殖细胞的分裂、分化最旺盛有关^[67]。对绿鳍马面鲀 (*Thamnaconus modestus*) 的研究报道,*ar* 表达随精巢发育呈降低、升高趋势,这与繁殖周期、血清睾酮 (testosterone, T) 水平有关^[68]。有研究表明,11 月龄黑鲷精巢内 *ar* 表达较 6 月龄时明显降低,精巢成熟度增加可降低 *ar* 表达;*ar* 表达量可能与精子生成

量、11-KT 合成量存在正相关^[69]。对欧洲鳗鲡 (*Anguilla anguilla*) 的研究报道, $ar\alpha$ 、 $ar\beta$ 的转录水平在精子发生的早期较高, 此后下降^[70]。这表明, 精巢 ar 表达水平随精巢发育阶段变化, 鱼类精巢内 ar 阶段性表达存在物种差异, 这种差异可能受精巢发育、精子发生及激素水平等多种因素调控。对牙鲆的研究报道, $ar\alpha1$ 、 $ar\alpha2$ 和 $ar\beta$ 在精巢中的表达量均高于卵巢, 且它们均具有抑制 *cyp19a* 启动子的作用^[64]。这提示, ar 可能通过抑制雄激素向雌激素的转化, 提高雄鱼雄激素水平, 促进精巢发育。而雄激素和雄激素受体结合后又促进 ar 转录^[71]。这提示精巢内雄激素与 ar 之间可能相互促进。而雄激素与 AR 的结合对精原细胞分裂、分化具有重要作用, 且 ar 在精巢支持细胞较高表达, 可以促进精原细胞分裂、分化^[52]。而 ar 被抑制后精巢中生殖细胞数量减少, *sox9a*、*amh* 表达量显著升高^[72]。这表明 ar 可能起促进精巢发育的作用, 但不同的是, ar 促进精巢生殖细胞分裂、分化, *sox9a*、*amh* 抑制精巢生殖细胞分裂、分化, 这提示 ar 可能在精巢发育过程中起重要作用, 而 *sox9a*、*amh* 可能在诱导精巢分化时起重要作用。又有研究表明, ar 可通过 DNA 结合结构域 (DBD) 和 *sox9a* 反式激活结构域 (TA) 相互作用促进 *amh* 转录^[73]。而 *sox9-amh-cyp19a1* 之间存在一定级联效应^[74]。这提示, 可能存在一种 ar -*sox9-amh-cyp19a1* 通路调节鱼类精巢发育。

2.1.2 外源因子胁迫下 ar 的变化

环境中的一些内分泌干扰物可能影响 ar 的表达。中低浓度外源 E2 处理诱导弓背青鳉 $ar\alpha$ 表达, 高浓度则抑制其表达, 各浓度 E2 均使 $ar\beta$ 下调; 双酚 A (bisphenol A, BPA) 处理下, $ar\alpha$ 表达水平显著升高, $ar\beta$ 表达水平随浓度增加表现为不显著的降低、升高再降低趋势, 这可能是因为 $ar\alpha$ 在鱼类体内功能广泛, 低浓度外源雌激素处理可通过非配体依赖等途径影响 $ar\alpha$ 表达, 而 $ar\beta$ 功能相对保守, 精巢生殖细胞受损后其表达水平才会明显下调。这提示, BPA 对鱼类的雌激素效应低于外源 E2, 可以认定为低浓度外源雌激素, 低浓度雌激素可以促进生殖细胞增长, 诱导 $ar\alpha$ 表达, 而高浓度雌激素处理可破坏鱼类生殖系统, 抑制 $ar\alpha$ 、 $ar\beta$ 表达^[65]。同样, 溴氰菊酯 (decamethrin) 处理的稀有鮡鲫 (*Gobiocypris rarus*) 幼鱼体内 ar 表达量显著下降, ar 表达量与暴露浓度成反比^[75]。低浓度乙炔基雌二醇 (EE2) 处理的稀有鮡鲫 ar 表达量可达显著上调水平, 壬基酚

(nonyl phenol, NP)、BPA 及高浓度 EE2 处理则导致其下调^[76]。这提示, 雌激素类内分泌干扰物对鱼类 ar 表达的影响具有剂量差异性和种群差异性, 但大多数具有雌激素活性的药物都将导致鱼类 ar 表达量下降, 最终抑制鱼类精巢生殖细胞分裂、分化^[72]。

2.2 er 基因

除雄激素受体 (AR), 雌激素受体 (ER) 也是核受体蛋白家族的成员。ER 与雌激素的生理功能发挥密切相关, 雌激素与 ER 结合后, 通过结合雌激素应答元件 (ERE) 调节基因的表达或与其他核蛋白相互作用以改变基因的转录活性^[77]。鱼类体内普遍存在 $er\alpha$ 、 $er\beta1$ 、 $er\beta2$ 3 种 ER 受体基因, 在精巢中具有较高的表达量^[65,78-79]。 er 表达水平随性腺发育周期而改变, 3 种 er 在性腺发育各时期的表达水平存在差异, 它们共同调控鱼类的生长、发育及繁殖^[80]。12 月龄雄性团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*) 性腺中 $er\alpha$ 的表达量与生长率成正比, $er\beta2$ 的表达量与生长率成反比, 但 36 月龄雄性团头鲂性腺 $er\beta2$ 的表达量又与生长率成正比^[81]。因此, er 对鱼类性腺发育的影响与 ar 类似, 也受多个基因亚型的共同调控。

2.2.1 er 基因与性腺发育的关系

er 对精巢生长发育起重要作用。弓背青鳉的研究显示, $er\alpha$ 、 $er\beta1$ 、 $er\beta2$ 在性腺中均有较高表达^[65]。海水青 (*Oryzias melastigma*) 的研究也发现, $er\alpha$ 、 $er\beta1$ 、 $er\beta2$ 在雌、雄性腺均较高表达, era 表达不具明显性别差异, 但精巢中 $er\beta1$ 、 $er\beta2$ 表达水平明显高于卵巢^[82]。绿鳍马面鲈中报道, $er\alpha$ 、 $er\beta1$ 、 $er\beta2$ 在精巢内均有表达, ers 与 E2 存在一定相关性, 两者共同影响精巢的发育与成熟^[68]。E2 通过激活 era 刺激雄性罗非鱼卵黄蛋白原 (vitellogenin, VTG) 的产生^[83]。欧洲鳗鲡精巢 ers 在精子发生开始时具有最高表达水平, 之后逐渐降低, 这种现象与 E2 水平有关^[84]。欧洲海鲈 (*Dicentrarchus labrax*) 的研究表明, 雄性比雌性 $er\beta1$ 、 $er\beta2$ 的水平更高, 这与雄性海鲈性成熟早有关, $er\beta1$ 、 $er\beta2$ 在精巢发育和成熟中可能具有重要作用^[85]。大西洋鳕鱼 (*Gadus morhua*) 中, $er\alpha$ 、 $er\beta1$ 、 $er\beta2$ 首先在精巢间质成纤维细胞中表达, $er\alpha$ 、 $er\beta1$ 表达水平高于 $er\beta2$, 且 3 种 ers 表达水平均受生殖周期影响^[86]。石斑鱼 (*Epinephelus* spp.)、斑点叉尾鲷 (*Ictalurus punctatus*) 的研究中也证实, ers 与精子发生存在密切关系^[87-88]。这表明, ers 表达水平与雌激素水平、精巢发育程度密切相关, $er\beta1$ 在精巢发

育、成熟中可能起更强作用。研究发现 11 月龄黑鲷 *era* 及 *erβ1* 在成熟性腺中高表达并在性逆转时下调,这种情况可能是由于精巢退化所导致^[89-90]。*erβ* 一般存在于支持细胞、精原细胞、精母细胞及精子细胞中,且生精小管内 *erβ* 表达量高于 *era*^[91-93]。尼罗罗非鱼中报道,*era*、*erβ1*、*erβ2* 单一突变体的精子发生正常进行,但 *erβ1* 突变体精巢指数明显降低,精原细胞减少,精子数量增多,输精管减小,精原细胞周围支持细胞表达的 *erβ1* 水平明显降低^[94]。雌、雄性青鳉 (*Oryzias latipes*) *era* 基因敲除后,并未产生明显的性别分化及生殖缺陷^[95]。罗非鱼精巢内发现,*era* 对精子发生是非必须的,*erβ1* 与精子活力有密切关系,*erβ2* 与输精管发育息息相关^[96]。因此,*era*、*erβ1*、*erβ2* 可能在性类固醇激素的诱导下共同参与雄性性腺发育,*erβ1* 是精子发生的主要因子,*erβ2* 与精巢内各组织结构的形成有关,*era* 对精巢发育的影响并不显著,但其是反映精巢受损的重要指标。

2.2.2 外源因子胁迫下 *er* 的变化

外源雌激素对鱼类的研究发现,雌激素类内分泌干扰物对性腺 *era*、*erβ1*、*erβ2* 表达具有一定影响,基本表现为低浓度诱导,高浓度抑制,但外源雌激素对 *era*、*erβ1*、*erβ2* 的调控存在差异性^[75,97-100]。类雌激素呋喃丹 (carbofuran) 处理可显著升高斑马鱼精巢 *era*、*erβ1*、*erβ2* 表达^[101]。EE2 处理海水青 可诱导精巢 *era* 表达,但对 *erβ1*、*erβ2* 表达呈现先诱导后抑制的现象^[82]。E2 处理诱导弓背青鳉 *era*、*erβ1* 表达,抑制 *erβ2* 表达;BPA 处理诱导 *era*、*erβ2* 表达,抑制 *erβ1* 表达^[65]。短期菲 (phenanthrene, Phe) 处理可使雄性泥鳅精巢 *era*、*erβ* 表达量上调,且随时间延长及浓度增加,其表达量上调更为显著^[3]。Phe 胁迫可抑制斑马鱼精巢发育,降低精子成熟度,并导致精巢内 *ers1*、*esr2β* 表达量显著降低^[102]。因此,外源因子胁迫鱼类,精巢 *er* 表达也因处理浓度、时间及种群差异而不同,低浓度诱导、高浓度抑制 *er* 表达的特点值得关注。

3 外源因子胁迫下精巢组织变化

环境中多种因素(光照、温度、营养、污染物等)都会影响鱼类性腺组织结构和性腺发育^[103-104]。罗红敏^[105] 研究报道,Phe 处理对褐菖鲈精巢成熟具有明显的抑制效应。Loughery 等^[106] 表明,Phe 处理导致雄性黑头呆鱼 (*Fathead minnow*) 精巢中精原细胞数量显著高于对照组。在小黄鱼中,E2 处理导致精

巢发育迟滞,精巢内精母细胞、精子数量明显减少,甚至出现类似卵巢组织的结构^[107]。这表明,外源雌激素对精原细胞发育有显著抑制作用,环境雌激素类污染物长期胁迫可能导致鱼类精巢退化,并诱导精巢向卵巢发育。

4 展望

综上所述,目前的研究表明鱼类精巢发育中可能存在 *sox9-amh-cyp19a1* 级联效应,*ar* 和 *sox9a* 相互作用促进 *amh* 转录,*amh* 抑制 *cyp19a1* 表达,*cyp19a1* 诱导雄激素向雌激素转化,雄激素诱导 *ar* 表达。因此可能存在 *ar-sox9-amh-cyp19a1-ar* 级联效应来调控精巢发育。但同样,雌激素具有诱导 *er* 的功能。精巢内高表达的 *sox9* 通过 *sox9-amh-cyp19a1* 级联效应抑制雄激素向雌激素转化,从而降低 *er* 表达水平。*sox9*、*amh*、*ar*、*er* 均对鱼类精巢生殖细胞发育起促进作用,但 *ar* 与 *er* 除 *sox9-amh-cyp19a1* 级联效应介导的调控关系外,是否存在其他基因来调节 *ar* 与 *er* 的关系还尚未可知。对鱼类精巢内 *er* 与其他性腺发育基因关系的研究是揭示 *er* 促进鱼类精巢发育的关键。外源雌激素可能通过调控 *sox9*、*amh*、*ar*、*er* 等基因表达来实现对精巢生殖细胞发育的影响,*sox9*、*amh* 高表达可诱导原始性腺分化为精巢,但 *sox9* 促进精母细胞增殖,*amh* 抑制精原细胞增殖,而 *ar*、*er* 表达水平升高可诱导精原细胞分裂、分化、精母细胞增殖以及精子发生过程;性类固醇激素对这一途径的影响机制是揭示精巢内 *ar*、*er* 与生殖细胞关系的重要因素,对其展开深入研究有利于揭示外源胁迫下精巢多组学之间的调节关系。

参 考 文 献 (References)

- [1] Devlin RH, Nagahama Y. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences [J]. *Aquaculture*, 2002, 208(3-4): 191-364.
- [2] 韩玥, 蔺佳文, 韩英. 鱼类性别调控机制的研究进展 [J]. 黑龙江动物繁殖, 2020, 28(1): 47-51.
Han Y, Lin JW, Han Y. Research progress on sex regulation mechanism of fish [J]. *Heilongjiang J Anim Reprod*, 2020, 28(1): 47-51.
- [3] 吴航利. 菲胁迫对泥鳅性激素和雌激素受体的影响 [D]. 延安: 延安大学; 2021.
Wu HL. Effects of Phenanthrene stress on sex hormones and estrogen receptors of Loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) [D]. Yan'an: Yan'an University; 2021.

- [4] 尹德玉, 汝少国, 田华. 环境内分泌干扰物对鱼类性别决定的影响研究进展 [J]. 生态毒理学报, 2009, 4(4): 467-474.
Yin DY, Ru SG, Tian H. Advances in effects of endocrine disrupting chemicals on sex determination of fish [J]. Asian J Ecotoxicol, 2009, 4(4): 467-474.
- [5] 闫悦, 朱吴俊, 陶易凡, 等. AMH 基因对鱼类性别决定影响的研究进展 [J]. 黑龙江畜牧兽医, 2022, 65(2): 26-31.
Yan Y, Zhu HJ, Tao YF, et al. Research progress on the effect of AMH gene on sex determination in fish [J]. Heilongjiang Anim Sci Vet Med, 2022, 65(2): 26-31.
- [6] 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 [J]. Nature, 1990, 346(6281): 245-250.
- [7] She ZY, Yang WX. Sry and SoxE genes: how they participate in mammalian sex determination and gonadal development? [J]. Semin Cell Dev Biol, 2017, 63: 13-22.
- [8] Georg I, Barrionuevo F, Wiech T, et al. Sox9 and Sox8 are required for basal Lamina integrity of testis cords and for suppression of FOXL2 during embryonic testis development in mice [J]. Biol Reprod, 2012, 87(4): 99, 1-11.
- [9] Nakamura S, Watakabe I, Nishimura T, et al. Hyperproliferation of mitotically active germ cells due to defective anti-Müllerian hormone signaling mediates sex reversal in medaka [J]. Development, 2012, 139(13): 2283-2287.
- [10] 郑尧, 王在照, 陈家长. 调控鱼类性腺分化基因的研究进展 [J]. 水生生物学报, 2015, 39(4): 798-810.
Zheng Y, Wang ZZ, Chen JC. Progresses on the study of sex differentiation genes in fish [J]. Acta Hydrobiol Sin, 2015, 39(4): 798-810.
- [11] 姜文钊. 长臂鲩精子保存及性腺发育相关基因的研究 [D]. 广州: 华南农业大学; 2018.
Jiang WZ. Study on the sperm preservation and gonadal development genes of *Cranoglanis boudierius* [D]. Guangzhou: South China Agricultural University; 2018.
- [12] Dong X, Chen S, Ji X, et al. Molecular cloning, characterization and expression analysis of Sox9a and Foxl2 genes in half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) [J]. Acta Oceanol Sin, 2011, 30(1): 68-77.
- [13] 梁清仪, 王心仪, 孙冬捷, 等. 两个 Sox9 基因在斑马鱼胚胎发育和成体性腺中的动态表达特征 [J]. 山东农业科学, 2014, 46(7): 20-24, 157.
Liang QY, Wang XY, Sun DJ, et al. Dynamic expression patterns of two Sox9 genes in developing embryo and gonads of zebrafish [J]. Shandong Agric Sci, 2014, 46(7): 20-24, 157.
- [14] 贾永义, 郑建波, 顾志敏, 等. 翘嘴鲌 Sox9 基因的克隆及 CpG 岛甲基化与基因表达的关系 [J]. 水生生物学报, 2019, 43(3): 473-478.
Jia YY, Zheng JB, Gu ZM, et al. The relationship of sox9 expression and its cpG island methylation in *Culter alburnus* [J]. Acta Hydrobiol Sin, 2019, 43(3): 473-478.
- [15] 高莹莹, 刘新富, 胡鹏, 等. 暗纹东方鲀 sox9 基因的克隆和组织表达分析 [J]. 上海海洋大学学报, 2019, 28(6): 835-847.
Gao YY, Liu XF, Hu P, et al. Molecular cloning and tissue expression analysis of sox9 gene in *Takifugu obscurus* [J]. J Shanghai Ocean Univ, 2019, 28(6): 835-847.
- [16] 张梦, 朱阳阳, 李完波, 等. 大黄鱼 sox9a/b 基因的克隆与表达分析 [J]. 水产学报, 2019, 43(8): 1691-1705.
Zhang M, Zhu YY, Li WB, et al. Cloning and expression of sox9a/b gene in the large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) [J]. J Fish Chin, 2019, 43(8): 1691-1705.
- [17] 刘季芳. 异源四倍体鲫鲤性别决定相关基因 Sox9 的克隆及表达研究 [D]. 长沙: 湖南师范大学; 2004.
Liu JF. Cloning and expression of Sox9 gene related to sex determination in tetraploid hybrids of common carp (*Cyprinus carpio* L.) with red crucian carp (*Carassius auratus* red var.) [D]. Changsha: Hunan Normal University; 2004.
- [18] 唐露. 白斑狗鱼 Foxl2 和 Sox9 基因克隆及其组织表达 [D]. 乌鲁木齐: 新疆农业大学; 2020.
Tang L. Cloning and tissue expression of Foxl2 and Sox9 genes in northern Pike (*Esox lucius*) [D]. Urumqi: Xinjiang Agricultural University; 2020.
- [19] 李晓燕. Sox9 转录因子在尼罗罗非鱼性腺及软骨发育中的功能研究 [D]. 重庆: 西南大学; 2019.
Li XY. Roles of the Sox9 transcription factor in the development of gonad and cartilage in Nile Tilapia [D]. Chongqing: Southwest University; 2019.
- [20] Kamaszewski M, Gosk A, Skrobisz M, et al. Change in Sox9 protein localization through gonad development in Russian sturgeon (*Acipenser gueldenstaedtii*) [J]. Aquac Res, 2017, 48(6): 3111-3120.
- [21] Nicol B, Yao HHC. Gonadal identity in the absence of pro-testis factor SOX9 and pro-ovary factor beta-catenin in mice [J]. Biol Reprod, 2015, 93(2): 35.
- [22] Luo YS, Hu W, Liu XC, et al. Molecular cloning and mRNA expression pattern of Sox9 during sex reversal in orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) [J]. Aquaculture, 2010, 306(1-4): 322-328.
- [23] Vining B, Ming Z, Bagheri-Fam S, et al. Diverse regulation but conserved function: SOX9 in vertebrate sex determination [J]. Genes, 2021, 12(4): 486.
- [24] 谷伟, 黄天晴, 徐革锋, 等. Sox9 和 amh 基因在雌、雄虹鳟和伪雄鱼各组织中的表达模式分析 [J]. 水产学杂志, 2019, 32(3): 5-8.
Gu W, Huang TQ, Xu GF, et al. Expression profiles of Sox9 and amh genes in different tissues of pseudo-male, female and male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. Chin J Fish, 2019, 32(3): 5-8.
- [25] 程乐华. 阿特拉津对斑马鱼 (*Danio rerio*) 性激素合成相关基因表达及精巢发育的影响 [D]. 上海: 华东师范大学; 2014.
Cheng YH. Alterations of genes related to sex steroidogenesis and testicular development in zebrafish (*Danio rerio*) exposed to atrazine [D]. Shanghai: East China Normal University; 2014.

- [26] 何锦. 三氯生对斑马鱼性别分化和生殖系统的影响及其机制研究 [D]. 镇江: 江苏大学; 2019.
- He J. Effects of triclosan on sex differentiation and reproductive system of zebrafish and its mechanism [D]. Zhenjiang: Jiangsu University; 2019.
- [27] 周先文, 彭英海, 王晓清, 等. 水产动物的性别决定机制研究进展 [J]. 湖南饲料, 2021, 2: 30–33.
- Zhou XW, Peng YH, Wang XQ, et al. Research progress on sex determination mechanism of aquatic animals [J]. Hunan Feed, 2021, 2: 30–33.
- [28] Picard JY, Benarous R, Guerrier D, et al. Cloning and expression of cDNA for anti-Müllerian hormone [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1986, 83(15): 5464–5468.
- [29] 高长富, 郝薇薇, 仇雪梅, 等. 红鳍东方鲀抗苗勒氏管激素 (AMH) 基因在不同发育时期的组织表达 [J]. 大连海洋大学学报, 2016, 31(4): 390–396.
- Gao CF, Hao WW, Qiu XM, et al. Expression of anti-Müllerian hormone (AMH) gene in different tissues and developmental phases in redfin puffer *Takifugu rubripes* [J]. J Dalian Ocean Univ, 2016, 31(4): 390–396.
- [30] 林桥洪. *amh* 和 *dmrt1* 在斑马鱼生殖细胞发育和性别分化中的功能研究 [D]. 武汉: 华中农业大学; 2020.
- Lin QH. Functional analysis of *amh* and *dmrt1* in germ cell development and sex differentiation of zebrafish [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University; 2020.
- [31] 李箭, 翁静. 哺乳动物性别决定相关基因及其调控机制 [J]. 生殖医学杂志, 2015, 24(3): 245–250.
- Li X, Weng J. Genetic control of mammalian sex determination [J]. J Reproductive Med, 2015, 24(3): 245–250.
- [32] Morais da Silva S, Hacker A, Harley V, et al. Sox9 expression during gonadal development implies a conserved role for the gene in testis differentiation in mammals and birds [J]. Nat Genet, 1996, 14(1): 62–68.
- [33] Tran D, Muesy-Dessole N, Josso N. Anti-Müllerian hormone is a functional marker of foetal Sertoli cells [J]. Nature, 1977, 269(5627): 411–412.
- [34] 吴昊伟, 王倩, 荣萍, 等. 黄鳍性腺发育过程中 *Amh* 和 *SOX9* 基因的表达分析 [J]. 合肥工业大学学报(自然科学版), 2016, 39(2): 275–279.
- Wu HW, Wang Q, Rong P, et al. Expression analysis of *Amh* and *SOX9* in gonads development during sex reversal in rice field eel [J]. J Hefei Univ Technol Nat Sci, 2016, 39(2): 275–279.
- [35] Chen W, Liu L, Ge W. Expression analysis of growth differentiation factor 9 (Gdf9/gdf9), anti-müllerian hormone (*Amh/amh*) and aromatase (*Cyp19a1a/cyp19a1a*) during gonadal differentiation of the zebrafish, *Danio rerio* [J]. Biol Reprod, 2017, 96(2): 401–413.
- [36] 王乐, 程磊, 王秋实. 黄颡鱼 *Pelteobagrus fulvidraco* AMH 基因的克隆鉴定及表达 [J]. 水产学杂志, 2019, 32(3): 9–16.
- Wang L, Cheng L, Wang QS. Cloning identification and expression analysis of AMH gene in yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) [J]. Chin J Fish, 2019, 32(3): 9–16.
- [37] 豆晓飞. 黄河鲤和两种泥鳅中 AMH 基因的克隆及其表达分析 [D]. 新乡: 河南师范大学; 2013.
- Dou XF. Cloning and expression analysis of AMH gene in yellow river carp and two loach species [D]. Xinxiang: Henan Normal University; 2013.
- [38] 王婷茹. 尼罗罗非鱼 *Dmrt1*、*Amh* 和 *Cyp11b2* 抗体制备及其在正常发育和性逆转性腺中的表达研究 [D]. 重庆: 西南大学; 2013.
- Wang TR. Preparation of *Dmrt1*, *Amh* and *Cyp11b2* antibodies and their expression in the normal development and sexual reversal gonads of Nile Tilapia [D]. Chongqing: Southwest University; 2013.
- [39] Wu GC, Li HW, Luo JW, et al. The potential role of *amh* to prevent ectopic female development in testicular tissue of the protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegelii* [J]. Biol Reprod, 2015, 92(6): 158.
- [40] Wu GC, Li HW, Tey WG, 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.
- [41] Maugars G, Schmitz M. Gene expression profiling during spermatogenesis in early maturing male Atlantic salmon parr testes [J]. Gen Comp Endocrinol, 2008, 159(2–3): 178–187.
- [42] Maugars G, Schmitz M. Changes in expression profiles of genes related to sexual maturation during spermatogenesis in testes of early-maturing male Atlantic salmon parr, *Salmo salar* [J]. Internat J Ichthyol, 2008, 32(2): 167–168.
- [43] Chen YP, Wu WH, Wu HM, et al. Effects of anti-Müllerian hormone and follicle stimulating hormone levels on *in vitro* fertilization pregnancy rate [J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2014, 53(3): 313–316.
- [44] Al-Attar L, Noël K, Dutertre M, et al. Hormonal and cellular regulation of Sertoli cell anti-Müllerian hormone production in the postnatal mouse [J]. J Clin Invest, 1997, 100(6): 1335–1343.
- [45] Pfennig F, Standke A, Gutzeit HO. The role of *Amh* signaling in teleost fish-Multiple functions not restricted to the gonads [J]. Gen Comp Endocrinol, 2015, 223: 87–107.
- [46] 韩玉龙. *amh* 基因在斜带石斑鱼性别分化中的作用机制研究 [D]. 广州: 中山大学; 2019.
- Han YL. Studies on the function and signalig pathway of *amh* gene in orange-spotted Grouper (*Epinephelus coioides*) [D]. Guangzhou: Sun Yat-sen University; 2019.
- [47] 赵九娥. *Amhy/Amh* 及其受体 *Amhr II* 对尼罗罗非鱼雄性性别的决定作用 [D]. 重庆: 西南大学; 2015.
- Zhao JE. The role of *Amhy/Amh* and their receptor *Amhr II* in Nile tilapia male sex of determination [D]. Chongqing: Southwest University; 2015.
- [48] 林爱强, 谢仰杰, 徐双斌, 等. 大黄鱼 *gsdf* 和 *amh* 基因的克隆及表达分析 [J]. 南方水产科学, 2017, 13(6): 1–13.
- Lin AQ, Xie YJ, Xu SB, et al. Cloning and expression profiling of *gsdf* and *amh* genes in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*) [J]. South Chin Fish Sci, 2017, 13(6): 1–13.

- [49] Fernandino JI, Hattori RS, Kimura H, et al. Expression profile and estrogenic regulation of anti-Müllerian hormone during gonadal development in pejerrey *Odontesthes bonariensis*, a teleost fish with strong temperature-dependent sex determination [J]. Dev Dyn, 2008, 237(11): 3192–3199.
- [50] 王静. 花 *Amh* 基因克隆及雌激素对其表达影响 [D]. 新乡: 河南师范大学; 2020.
Wang J. Cloning of *Amh* gene and the effect of estrogen on its expression in *hemibarbus maculatus bleeker* [D]. Xinxiang: Henan Normal University; 2020.
- [51] 王坡, 王芳, 张瑞华, 等. 阿特拉津对泥鳅性腺及性别分化相关基因的影响 [J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2017, 45(3): 109–117.
Wang P, Wang F, Zhang RH, et al. Effects of atrazine on gonads and genes related to sex differentiation of Loach [J]. J Henan Norm Univer (Nat Sci Edit), 2017, 45(3): 109–117.
- [52] 蒲鲁鲁, 张子平, 王艺磊, 等. 硬骨鱼类雄激素受体研究进展 [J]. 动物学杂志, 2011, 46(4): 150–160.
Pu LL, Zhang ZP, Wang YL, et al. Androgen receptor in teleosts [J]. Chin J Zool, 2011, 46(4): 150–160.
- [53] 周芳. 黄鳝 AR 基因的克隆、表达及其蛋白的核质穿梭 [D]. 武汉: 武汉大学; 2010.
Zhou F. Cloning and expression of AR gene of *Monopterus albus* and its protein nuclear-cytoplasmic shuttle [D]. Wuhan: Wuhan University; 2010.
- [54] 宋明月. 兴红鲤 *ERs*、*AR* 基因的克隆表达及 *EE2*、*MT* 暴露对幼鱼肝中 *ERs*、*AR* 基因表达的影响 [D]. 上海: 上海海洋大学; 2016.
Song MY. Cloning, expression of *ERs* and *AR* genes in *Cyprinus carpio* var *singunensis* and the effects of *EE2*, *MT* on their expression in liver of Juveniles [D]. Shanghai: Shanghai Ocean University; 2016.
- [55] Ogino Y, Katoh H, Yamada G. Androgen dependent development of a modified anal fin, gonopodium, as a model to understand the mechanism of secondary sexual character expression in vertebrates [J]. FEBS Lett, 2004, 575(1–3): 119–126.
- [56] Sperry TS, Thomas P. Androgen binding profiles of two distinct nuclear androgen receptors in Atlantic croaker (*Micropogonias undulatus*) [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2000, 73(3–4): 93–103.
- [57] Sperry TS, Thomas P. Identification of two nuclear androgen receptors in kelp bass (*Paralabrax clathratus*) and their binding affinities for xenobiotics: comparison with Atlantic croaker (*Micropogonias undulatus*) androgen receptors [J]. Biol Reprod, 1999, 61(4): 1152–1161.
- [58] Todo T, Ikeuchi T, Kobayashi T, et al. Fish androgen receptor: cDNA cloning, steroid activation of transcription in transfected mammalian cells, and tissue mRNA levels [J]. Biochem Biophys Res Commun, 1999, 254(2): 378–383.
- [59] Ikeuchi T, Todo T, Kobayashi T, et al. cDNA cloning of a novel androgen receptor subtype [J]. J Biol Chem, 1999, 274(36): 25205–25209.
- [60] Takeo J, Yamashita S. Two distinct isoforms of cDNA encoding rainbow trout androgen receptors [J]. J Biol Chem, 1999, 274(9): 5674–5680.
- [61] Shi Y, Liu X, Zhang H, et al. Molecular identification of an androgen receptor and its changes in mRNA levels during 17 α -methyltestosterone-induced sex reversal in the orange-spotted grouper *Epinephelus coioides* [J]. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol, 2012, 163(1): 43–50.
- [62] Laurentino SS, Pinto PI, Tomás J, et al. Identification of androgen receptor variants in testis from humans and other vertebrates [J]. Andrologia, 2013, 45(3): 187–194.
- [63] Hossain MS, Larsson A, Scherbak N, et al. Zebrafish androgen receptor: isolation, molecular, and biochemical characterization [J]. Biol Reprod, 2008, 78(2): 361–369.
- [64] Zou Y, Peng L, Weng S, et al. Characterization and expression of androgen receptors in olive flounder [J]. Gene, 2019, 683: 184–194.
- [65] 黄顺楷. 弓背青鲮雌、雄激素受体基因对雌激素响应及雌二醇处理转录组分析 [D]. 湛江: 广东海洋大学; 2019.
Huang SK. Transcription responses of Er and Ar genes and estradiol induces a transcriptome profile in *Oryzias curvirostris* [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University; 2019.
- [66] 余晶, 董晓丽, 张颖, 等. 小体鲟 *AR* 基因克隆、序列分析及其组织 mRNA 表达 [J]. 中国水产科学, 2014, 21(6): 1146–1153.
Yu J, Dong XL, Zhang Y, et al. Cloning, sequence analysis, and mRNA expression distribution of the androgen receptor from *Acipenser ruthenus* [J]. J Fish Sci Chin, 2014, 21(6): 1146–1153.
- [67] 戴明莉. 金钱鱼雄激素受体的克隆及其表达模式的研究 [D]. 湛江: 广东海洋大学; 2015.
Dai ML. Cloning and expression of androgen receptor in *Scatophagus argus* [D]. Zhanjiang: Guangdong Ocean University; 2015.
- [68] 赵梅琳. 绿鳍马面鲈性类固醇激素受体在生殖周期中的表达机制 [D]. 青岛: 中国海洋大学; 2014.
Zhao ML. The expression mechanism of the sex steroid hormones receptors during the reproductive cycle in *navodon septentrionalis* [D]. Qingdao: Ocean University of China; 2014.
- [69] He CL, Du JL, Lee YH, et al. Differential messenger RNA transcription of androgen receptor and estrogen receptor in gonad in relation to the sex change in protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegelii* [J]. Biol Reprod, 2003, 69(2): 455–461.
- [70] Peñaranda DS, Mazzeo I, Gallego V, et al. The regulation of aromatase and androgen receptor expression during gonad development in male and female European eel [J]. Reprod Domest Anim, 2014, 49(3): 512–521.
- [71] 姚根宏, 侯亚义, 徐志宏. 雄激素对雄激素受体调节作用的研究进展 [J]. 生命科学研究, 2001, 5(1): 202–205.
Yao GH, Hou YY, Xu ZH. Advances in effects of androgen on

- androgen receptors [J]. Life Sci Res, 2001, 5(1): 202–205.
- [72] Yu G, Zhang D, Liu W, et al. Zebrafish androgen receptor is required for spermatogenesis and maintenance of ovarian function [J]. Oncotarget, 2018, 9(36): 24320–24334.
- [73] Zhai G, Shu T, Xia Y, et al. Androgen signaling regulates the transcription of *anti-Müllerian hormone* via synergy with SRY-related protein SOX9A [J]. Sci Bull, 2017, 62(3): 197–203.
- [74] Johnsen H, Tveiten H, Torgersen JS, et al. Divergent and sex-dimorphic expression of the paralogs of the Sox9-Amh-Cyp19a1 regulatory cascade in developing and adult Atlantic cod (*Gadus morhua* L.) [J]. Mol Reprod Dev, 2013, 80(5): 358–370.
- [75] 姜锦林, 吕建伟, 曹少华, 等. 溴氰菊酯对稀有鮕鲫早期生命阶段发育和内分泌干扰毒性 [J]. 中国环境科学, 2022, 42(5): 2395–2403.
- Jiang JL, Lyu JW, Cao SH, et al. Developmental toxicity and endocrine disrupting effects of deltamethrin on rare minnow (*Gobiocypris rarus*) during early life stage [J]. Chin Environ Sci, 2022, 42(5): 2395–2403.
- [76] 胡晓齐, 王晶晶, 王厚鹏, 等. 稀有鮕鲫雄激素受体基因的克隆和内分泌干扰物对其表达的影响 [J]. 西北农业学报, 2011, 20(2): 8–14.
- Hu XQ, Wang JJ, Wang HP, et al. Full-length cDNA cloning of androgen receptor gene from rare minnow (*Gobiocypris rarus*) and effect of endocrine disrupting chemicals on its mRNA expression [J]. Acta Agric Boreali Occidentalis Sin, 2011, 20(2): 8–14.
- [77] 喻亮. 三种三唑类杀菌剂对斑马鱼的内分泌干扰效应研究 [D]. 杭州: 浙江大学; 2013.
- Yu L. Endocrine disrupting effects of three triazole fungicides on zebrafish (*Danio rerio*) [D]. Hangzhou: Zhejiang University; 2013.
- [78] Cui XF, Zhao Y, Chen HP, et al. Cloning, expression and functional characterization on vitellogenesis of estrogen receptors in *Scatophagus argus* [J]. Gen Comp Endocrinol, 2017, 246: 37–45.
- [79] Amenyogbe E, Chen G, Wang Z, et al. A review on sex steroid hormone estrogen receptors in mammals and fish [J]. Int J Endocrinol, 2020, 2020: 5386193.
- [80] 管昕. 唐鱼雌激素受体 cDNA 克隆及表达分析 [D]. 广州: 华南师范大学; 2007.
- Guan X. The cDNA cloning and expression analysis of estrogen receptors in *Tanichthys albonubes* [D]. Guangzhou: South China Normal University; 2007.
- [81] 刘莉芳, 罗丽飞, 陈宇龙, 等. 雌激素受体基因调控团头鲂生长和性腺发育的初步研究 [J]. 华中农业大学学报, 2022, 41(1): 179–185.
- Liu LF, Luo LF, Chen YL, et al. Expression and regulation of estrogen receptor genes on growth and sexual maturation in blunt snout bream, *Megalobrama amblycephala* [J]. J Huazhong Agric Univ, 2022, 41(1): 179–185.
- [82] 张民, 安哲, 彭会. 海水青鳉雌激素受体基因的克隆、组织表达特性及环境雌激素 EE2 对其表达的影响 [J]. 大连海洋大学学报, 2018, 33(2): 158–168.
- Zhang M, An Z, Peng H. Molecular cloning, tissue distribution and 17 α -ethynylestradio (EE2) exposure effect on mRNA expression of three estrogen receptor genes in marine medaka *Oryzias melastigma* [J]. J Dalian Ocean Univ, 2018, 33(2): 158–168.
- [83] Davis LK, Pierce AL, Hiramatsu N, et al. Gender-specific expression of multiple estrogen receptors, growth hormone receptors, insulin-like growth factors and vitellogenins, and effects of 17 β -estradiol in the male tilapia (*Oreochromis mossambicus*) [J]. Gen Comp Endocrinol, 2008, 156(3): 544–551.
- [84] Morini M, Peñaranda DS, Vílchez MC, et al. The expression of nuclear and membrane estrogen receptors in the European eel throughout spermatogenesis [J]. Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol, 2017, 203: 91–99.
- [85] Blázquez M, González A, Papadaki M, et al. Sex-related changes in estrogen receptors and aromatase gene expression and enzymatic activity during early development and sex differentiation in the European Sea bass (*Dicentrarchus labrax*) [J]. Gen Comp Endocrinol, 2008, 158(1): 95–101.
- [86] Nagasawa K, Presslauer C, Kirtiklis L, et al. Sexually dimorphic transcription of estrogen receptors in cod gonads throughout a reproductive cycle [J]. J Mol Endocrinol, 2014, 52(3): 357–371.
- [87] Shi D, Wen HS, He F, et al. The physiology functions of estrogen receptor α (ER α) in reproduction cycle of ovoviparous black rockfish, *Sebastes schlegeli* Hilgendorf [J]. Steroids, 2011, 76(14): 1597–1608.
- [88] Xia Z, Gale WL, Chang X, et al. Phylogenetic sequence analysis, recombinant expression, and tissue distribution of a channel catfish estrogen receptor beta [J]. Gen Comp Endocrinol, 2000, 118(1): 139–149.
- [89] An KW, Nelson ER, Jo PG, et al. Characterization of estrogen receptor β 2 and expression of the estrogen receptor subtypes alpha, β 1, and beta2 in the protandrous black porgy (*Acanthopagrus schlegeli*) during the sex change process [J]. Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol, 2008, 150(3): 284–291.
- [90] Chang CF, Lee MF, Chen GR. Estradiol-17 β associated with the sex reversal in protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegeli* [J]. J Exp Zool, 1994, 268(1): 53–58.
- [91] Mäkinen S, Mäkelä S, Weihua Z, et al. Localization of oestrogen receptors alpha and beta in human testis [J]. Mol Hum Reprod, 2001, 7(6): 497–503.
- [92] Pelletier G, El-Alfy M. Immunocytochemical localization of estrogen receptors alpha and beta in the human reproductive organs [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2000, 85(12): 4835–4840.
- [93] Bois C, Delalande C, Nurmio M, et al. Age- and cell-related gene expression of aromatase and estrogen receptors in the rat testis [J]. J Mol Endocrinol, 2010, 45(3): 147–159.
- [94] Yan L, Feng H, Wang F, et al. Establishment of three estrogen

- receptors (*esr1*, *esr2a*, *esr2b*) knockout lines for functional study in Nile tilapia [J]. J Steroid Biochem Mol Biol, 2019, 191: 105379.
- [95] Tohyama S, Ogino Y, Lange, et al. Establishment of estrogen receptor 1 (ESR1)-knockout medaka; ESR1 is dispensable for sexual development and reproduction in medaka, *Oryzias latipes* [J]. Dev Growth Differ, 2017, 59(6): 552–561.
- [96] 严隆霞. 雌激素受体(*esr1*, *esr2a* 和 *esr2b*) 在尼罗罗非鱼配子发生中的功能研究 [D]. 重庆: 西南大学; 2020.
- Yan LX. The roles of estrogen receptors (*esr1*, *esr2a* and *esr2b*) on gametogenesis in Nile tilapia [D]. Chongqing: Southwest University; 2020.
- [97] 宋静文, 靳亚茹, 刘红玲. 典型酚类污染物内分泌干扰效应研究——对斑马鱼发育及核受体介导基因调控的分子影响 [J]. 中国环境科学, 2020, 40(9): 4065–4076.
- Song JW, Jin YR, Liu HL. Research on the endocrine disruption effect of typical phenolic pollutants; the embryonic development effects and molecule effects of gene regulation mediated by nuclear receptor on Zebrafish [J]. Chin Environ Sci, 2020, 40(9): 4065–4076.
- [98] Chen JR, Wu SM, Tsai SC, et al. Changes in vitellogenin and estrogen receptor expression and 17 β -estradiol concentration in male juvenile tilapia can be used to evaluate endocrine-disrupting chemicals [J]. Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol, 2020, 229: 108682.
- [99] Qiu W, Liu S, Chen H, et al. The comparative toxicities of BPA, BPB, BPS, BPF, and BPAF on the reproductive neuroendocrine system of zebrafish embryos and its mechanisms [J]. J Hazard Mater, 2021, 406: 124303.
- [100] Biswas S, Ghosh S, Samanta A, et al. Bisphenol A impairs reproductive fitness in zebrafish ovary: potential involvement of oxidative/nitrosative stress, inflammatory and apoptotic mediators [J]. Environ Pollut, 2020, 267: 115692.
- [101] 岳晴晴. 呋喃丹对斑马鱼(*Danio rerio*)的生殖内分泌干扰效应研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学; 2015.
- Yue QQ. Effects of carbofuran on reproductive endocrine disruption of zebrafish (*Danio rerio*) [D]. Qingdao: Ocean University of China; 2015.
- [102] 陈莹. 斑马鱼胚胎时期非暴露后的生殖毒性效应与机制 [D]. 厦门: 厦门大学; 2020.
- Chen Y. Reproductive toxicity caused by embryonic exposure to phenanthrene in zebrafish and its mechanism [D]. Xiamen: Xiamen University; 2020.
- [103] 牛景彦, 刘占才. 水污染对鱼类性腺及胚胎发育的影响 [J]. 北京农业, 2015, 14: 226.
- Niu JY, Liu ZC. Effects of water pollution on gonads and embryonic development of fishes [J]. Beijing Agric, 2015, 14: 226.
- [104] 牛景彦, 刘占才. 影响鱼类性腺发育的生态因素研究 [J]. 农业与技术, 2016, 36(16): 109.
- Niu JY, Liu ZC. Study on ecological factors affecting gonad development of fish [J]. Agric Technol, 2016, 36(16): 109.
- [105] 罗宏敏. 菲和 3-甲基胆蒎对褐菖鲉生殖机能的影响 [D]. 厦门: 厦门大学; 2008.
- Luo HM. Effects of phenanthrene and 3-methylcholanthrene on the reproductive function of *Calamus marmoratus* [D]. Xiamen: Xiamen University; 2008.
- [106] Loughery JR, Kidd KA, Mercer A, et al. Part B: Morphometric and transcriptomic responses to sub-chronic exposure to the polycyclic aromatic hydrocarbon phenanthrene in the fathead minnow (*Pimephales promelas*) [J]. Aquat Toxicol, 2018, 199: 77–89.
- [107] 李冰冰. 雌二醇对小黄鱼性腺发育、分化及生长影响的研究 [D]. 舟山: 浙江海洋大学; 2021.
- Li BB. Effects of estradiol on gonad development, differentiation and growth of little yellow croaker, *Larimichthys polyactis* [D]. Zhoushan: Zhejiang Ocean University; 2021.

[收稿日期] 2023-05-16