

Sexual Definition: is there a pattern in the sexuality of fish? A Revision.

Raimundo Bezerra da Costa¹; Ronaldo de Oliveira Sales³; Rodrigo Maggioni⁴; Dea Lima Vidal²; José Oriani Farias¹.

Abstract: The fish are found in the most diverse aquatic habitats, ranging from high altitudes the depressions far below sea level, which reflects a wide range of existing species. This condition is due to diversity genomics be enriched by the fusion of the gametes in the training of individuals and in sex determination. Of genetic recombinations, during the processes of cell division and reproductive strategies, which result in a broad adaptive plasticity, both biological and ecological. All this becomes possible through the playback, where also if there is a great diversity of forms, even if there is a pattern of sexual development as well defined as male or female in the majority of species, constituting the gonochorists, and a small fraction formed by types of reproductive unisexual sessile and hermaphrodites. The explanation of this diversity has as a basis the property of retaining the dual sexual potentiality of primordial germ cells, found in different stages in gonadogenesis, and by their ability to differentiate during the reproductive life, a biological base kept by teleosts, constituting all plasticity. For this reason, it was possible to observe species that show great stability and other very labile to change the sex throughout their life. These different forms of reproduction has its origin in the great variety of mechanisms responsible for both sex determination as to formation of patterns of sexual differentiation, which include a genetic basis, with monogenic and polygenic systems, and the influence of different environmental factors, mainly temperature and social interactions. Although the mechanisms of sex determination and differentiation are conserved in mammals and birds, in fish seem to be very unstable. This suggests that, in evolutionary terms, an accumulation of evidence of participatory process in favor of a unification of strategies that emphasize the genetic factors and the environment. In particular, it seems that the environmental factors govern the force responsible for sexual development and by developments in all levels, with the selection and genetic drift having been responsible for establishing a standard capable of characterizing the current sexual determination. Thus, the proposal would be: *in what way or in what level these factors contribute to driving the evolutionary process, independent of any context and in a way wholly holistic.*

Keywords: Sexuality in fish; diversity; plasticity; determination of sex; sexual differentiation; sexual evolution.

Definição sexual: existe um padrão na sexualidade dos peixes? Uma Revisão.

Resumo: Os peixes são encontrados nos mais variados *habitats* aquáticos, indo desde grandes altitudes às depressões muito abaixo do nível do mar, o que reflete uma grande amplitude de espécies existentes. Essa condição deve-se à diversidade genômica ser enriquecida pela fusão dos gametas na formação dos indivíduos e na determinação do sexo. Das recombinações genéticas, durante os processos de divisão celular e estratégias reprodutivas, resultam numa ampla plasticidade adaptativa, tanto biológica como ecológica. Tudo isto torna-se possível através da reprodução, onde também se observa uma grande diversidade de formas, mesmo existindo um padrão de desenvolvimento sexual bem definido como macho ou fêmea na maioria das espécies, constituindo os gonocoristas, e uma pequena fração formada pelos tipos reprodutivos de unissexuais e de hermafroditas. A explicação dessa diversidade tem como base a propriedade de retenção da dupla potencialidade sexual das células germinativas primordiais, encontradas em diferentes estágios na gonadogênese, e por sua capacidade de rediferenciação durante a vida reprodutiva, uma base biológica conservada pelos teleósteos, constituindo toda plasticidade. Por isso, observam-se espécies que apresentam grande estabilidade e outras muito lábeis para mudar o sexo ao longo da sua vida. Essas diferentes formas de reprodução tem origem na grande variedade de mecanismos responsáveis tanto pela determinação do sexo como de formação dos padrões de diferenciação sexual, que incluem uma base genética, com sistemas monogênico e poligênico, e a influência de diferentes fatores ambientais, principalmente temperatura e interações sociais. Apesar dos mecanismos de determinação e diferenciação sexual serem conservados em mamíferos e aves, nos peixes parecem ser muito instável. Isto sugere, em termos evolutivos, um acúmulo de evidências participativas do processo em favor de uma unificação das estratégias que enfatizam os fatores genéticos e os ambientais. Em particular, parece que os fatores de ambiente dirigem a força responsável pelo desenvolvimento sexual e pela evolução em todos os níveis, com a seleção e a deriva genética tendo sido responsáveis por estabelecer um padrão capaz de caracterizar a determinação sexual atual. Assim, a proposta seria: *qual a maneira ou em que nível estes fatores contribuem para dirigir o processo evolutivo, independente de qualquer contexto e na forma inteiramente holística.*

Palavras-chave: sexualidade em peixes; diversidade; plasticidade; determinação do sexo; diferenciação sexual; evolução sexual.

¹Laboratório de Genética e Reprodução em Peixes Dulciaquícolas –LaGePe/NUGEN-FAVET-UECE; ²Laboratório de Sistemas Semi-Áridos - LESISA/FAVET-UECE; ³Zootecnia – UFC; ⁴Laboratório de Ciências do Mar-LABOMAR-UFC

Introdução

A reprodução no reino animal possibilita ao organismo propagar, sobreviver e perpetuar-se em ambientes que sofrem constantes modificações. Essa condição deve-se ao enriquecimento genômico em diversidade pela fusão dos gametas durante na formação dos indivíduos e determinação do sexo, oriunda de recombinações genéticas dos processos de divisão celular e de estratégias reprodutivas, que os habilita a adaptação em diferentes *habitats*. Essa ampliação de diversidade genômica pode ser observada nos peixes através da plasticidade sexual apresentada, tanto biológica como ecologicamente. Eles vivem em todo *habitat* aquático e são encontrados desde altas altitudes até as grandes depressões muito abaixo do nível do mar. Algumas espécies são encontradas em águas quase destiladas, enquanto outras vivem em lagos extremamente salgados. Tilápias africanas vivem em ambientes inóspitos, quentes e com altos teores de carbonato de sódio, enquanto *trematomus* estão sob a camada de gelo na Antártida abaixo de zero. São encontrados tipos capazes de respirar o ar atmosférico e sobreviver em pântanos tropicais de água estagnada. Há, ainda, aquelas espécies que deixam seus ovos enterrados esperando a estação chuvosa seguinte para iniciar seu desenvolvimento embrionário e crescimento até tornarem-se adultos em

apenas dois meses, quando alcançam a maturidade sexual e a repetição do ciclo novamente. A diversidade ocorre de forma semelhante na reprodução, pois é encontrado na maioria das espécies um padrão de desenvolvimento sexual bem definido como macho ou fêmea, constituindo os gonocoristas, e uma pequena fração de unissexuais e de hermafroditas que ampliam essa plasticidade.

Desenvolvimento sexual em peixes

Os peixes apresentam uma grande variedade de mecanismos determinantes do sexo e de padrões de diferenciação sexual, o que tem despertado muito interesse das pesquisas científicas e dos produtores, ao longo do tempo, quando a exploração de um sexo é mais vantajosa.

A determinação do sexo de muitas espécies de peixes apresenta uma base cromossômica que envolve tanto sistemas monogênicos como poligênicos, localizados nos cromossomos autossômicos e nos sexuais, além da influência de diferentes fatores ambientais (BAROILLER *et al.*, 1999; DEVLIN & NAGAHAMA, 2002; ZHANG *et al.*, 2009). Essa diversidade na diferenciação sexual possibilita o agrupamento dos indivíduos desde a forma de reprodução gonocorista, passando pelo unisexualismo indo até o hemafroditismo. Os *gonocoristas* formam cerca da 98% das espécies de peixes existentes (NELSON, 2006), onde os indivíduos inicialmente

apresentam uma gônada bipotencial indiferenciada que se desenvolve diretamente em ovário ou testículo; um pequeno número constitui a classe *unissexual* de fêmeas que possuem óvulos haploides ou diploides, mas para iniciar o desenvolvimento embrionário necessitam da ativação por espermatozoides de espécies simpátricas (PANDIAN, 2011b); e, uma terceira classe formada por *hermafroditas*, cujos indivíduos apresentam gônadas com tecido das duas formas sexuais (bissexualidade); o padrão dessa sexualidade pode ser classificado de acordo com um maior ou menor grau do sincronismo funcional de ambos os sexos, constituindo-se no *hermafroditismo simultâneo*; e aquele em que os indivíduos adultos podem apresentar inicialmente um ou o outro sexo funcionando e subsequentemente passando a funcionar o sexo oposto, caracterizando-se como *hermafrodita sequencial* (SADOVY & SHAPIRO, 1987; AVISE & MANK, 2009; PANDIAN, 2011B).

A base genética, nos processos de determinação e diferenciação sexual em peixes, pode ser considerada como fator mais importante, no entanto a ação da temperatura ambiental, do pH e das condições sociais em que os indivíduos vivem tem influência altamente significativa sobre esses mecanismos (BAROILLER *et al.*, 1999; MUNDAY

et al., 2006A, B; SANDRA E NORMA, 2010).

Atualmente ao mesmo tempo em que novas tecnologias de manipulação genética implementa a indústria aquícola (MCANDREW & NAPIER, 2010), a poluição ambiental vem crescendo e levando o *habitat* onde vivem muitas espécies piscícolas à degradação, afetando sua capacidade reprodutiva, em função dos efeitos danoso dos contaminantes encontrados. Enquanto a produção vem crescendo com as melhorias tecnológicas, os poluentes vêm prejudicando inclusive interferindo no desenvolvimento sexual que chega a alterar a proporção sexual para um lado indesejado e resultando em prejuízo na cadeia produtiva.

Mecanismos de determinação do sexo

O conhecimento do desenvolvimento sexual teve início em estudos iniciados a partir de 1930, sendo identificados variados modelos como o balanço gênico entre cromossomos X e os autossomos, observado em *Drosophila*, o tamanho da larva caracterizando o sexo em *Dinophilis* e uma associação parasitária na determinação do sexo em *Bonelia viridis*; em insetos da ordem Hymenoptera observa-se a haplo-diploidia, enquanto em Lepidoptera ocorre o sistema ZW/ZZ. Em répteis essa determinação depende da temperatura, nas aves o sexo heterogamético define as fêmeas (ZW), enquanto em mamíferos o sistema

apresenta dois fatores (XX/XY), com o macho sendo o sexo heterogamético. Nestas espécies, aves e mamíferos, ao se estabelecer a determinação do sexo inicia-se o desenvolvimento da gônada para tornar-se ovário ou testículo (HAYES, 1998). Por outro lado, os sistemas de determinação do sexo nos peixes se apresentam amplamente variados (DEVLIN & NAGAHAMA, 2002; MANALAKOU *et al.*, 2006), podendo ser influenciados por fatores tanto genéticos como ambientais (BAROILLER *et al.*, 1999; ZHANG *et al.*, 2009). Assim, nos peixes o genótipo pode controlar o desenvolvimento do testículo ou do ovário em um indivíduo, com isto representando a determinação genotípica do sexo (genotypic sex determination, ou GSD), tendo ou não cromossomos distintos para definir cada sexo (ZZ nos machos e ZW nas fêmeas ou XY nos machos e XX nas fêmeas).

As pesquisas que buscam a identificação genética em peixes vêm utilizando o método da homologia de genes, que determinam o sexo, encontrados em outras espécies. Exemplificando esta estratégia através dos genes *wt1*, *sf-1*, *amh* e *dax1*, com papel chave na determinação do sexo em mamíferos, que apresentam apenas efeitos reguladores indiretos na via de sinalização de peixes (von Hofsten e Olsson, 2005; von HOFSTEN *et al.*, 2005; LEE E KOCHER, 2007; RAGHUVVEER *et al.*, 2011). Segundo FORCONI *et al.* (2013) estes e outros

genes, envolvidos no processo de desenvolvimento sexual, podem ser classificados nos seguintes grupos funcionais: 1) genes requisitados para o desenvolvimento da gônada bipotencial [tumor supressor-1 de Wilm (WT1), fator esteroideogênico-1 (SF-1), e proteína 4 de ligação GATA (GATA-4)]; 2) genes envolvidos na determinação do sexo em machos [fator 1 de transcrição que se expressa em gônadas indiferenciadas (DMRT1), box 9 relacionado ao SRY (SOX9), região crítica no cromossomo X, dose-sensível na reversão sexual da hipoplasia adrenal (gene 1, DAX1), fator 9 de crescimento do fibroblasto (FGF9), e “*desert hedgehog*” (DHH)]; 3) genes envolvidos na diferenciação sexual do macho [AMH, AMHR2, e receptores de andrógenos, (AR)]; 4) genes envolvidos na determinação sexual da fêmea [sítio de integração do membro 4 da família tipo Wingless MMTV (WNT4), R-spondin-1 (RSPO-1), catenina β -1 (CTNNB1), fator de transcrição de *forkhead box L2* (FOXL2), e *follistatin* (FST)]; 5) genes envolvidos na diferenciação sexual da fêmea [aromatase, conhecida como Cyp19A1 ou P450arom), receptor de estrógeno α (ER α), e receptor de estrógeno β (ER β)].

Quanto à sua funcionalidade observou-se que o gene *ff1d* no *Danio rerio*, um homólogo de *sf-1* nos mamíferos, se expressava no hipotálamo e gônadas, especialmente nas células de Sertoli e Leydig do

testículo, e podiam regular o *amh* (von Hofsten *et al.*, 2005); em peixes o *cyp19a1* participa do desenvolvimento ovariano, enquanto o *cyp19a2* está envolvido indiretamente na diferenciação sexual via eixo hipotálamo-pituitária-gônada (SAWYER *et al.*, 2006). Além destes, a expressão de outros genes, como DMRT3, DMRT6 e GSDF, os fatores de crescimento α e β derivados de plaquetas (PDGF) e seus receptores (PDGFR α , PDGFR β), 11 β -hidroxilase (CYP11B), e a redutase 5 α 1, 2 e 3 (SRD5A1, SRD5A2, SRD5A3) envolvidos no desenvolvimento sexual vem sendo detectada (HONG, 2007; GAUTIER *et al.*, 2011;) e foram encontrados no genoma de *L. chalumnae* e no transcriptoma de *L. menadoensis*; seus níveis de expressão foram detectados no fígado e no testículo de *L. menadoensis* adultos. O gene DMY, identificado no cromossomo Y, é o principal determinante do sexo no peixe medaka, *Oryzias latipes* (MATSUDA *et al.*, 2002). Segundo RAYMOND *et al.* (1998), sua expressão limita-se às células de suporte das germinativas, na gônada XY, que provavelmente são precursoras das células de Sertoli e apresentam uma proteína com um domínio DM altamente conservado, partilhado pelo doublesex (dsx) em *Drosophila melanogaster* e mab-3 em *Caenorhabditis elegans*. Semelhante à função de Sry (região que determina o

sexo no cromossomo Y) em camundongos transgênicos (KOOPMAN *et al.*, 1991), o gene DMY é capaz de promover o desenvolvimento normal de indivíduos machos após ser introduzido geneticamente em medaka fêmea (XX) (MATSUDA *et al.*, 2007). Segundo NANDA *et al.* (2002) o Dmrt1Yb/DMY surgiu de um evento de duplicação recente em uma região genômica autossômica Dmrt1, que ao se ligar no cromossomo Y adquiriu uma função nova e tornou-se o gene DMY (MATSUDA, 2003). O resultado observado foi que enquanto o camundongo XX transgênico com Sry era estéril, nos transgênicos DMY da medaka XX produziram espermatozoides férteis em 62% dos indivíduos, sugerindo que outros genes diferentes de DMY no cromossomo Y não eram necessários na à sua espermatogênese (medaka *O. latipes*).

Uma alternativa ao GSD ocorre quando o ambiente desencadeia no indivíduo o desenvolvimento de testículo ou ovário. Neste caso diz-se que o ambiente é determinante do sexo (environmental sex determination, ou ESD); outro termo utilizado, com significado equivalente para determinação do sexo, é dependência da temperatura (temperature dependent sex determination, ou TSD). Neste caso os fatores ambientais, incluindo fotoperíodo, ambiente social e temperatura, influenciam a determinação do sexo em diferentes

espécies (KORPELAINEN, 1990; GODWIN, 2009). Mesmo em condições naturais o sexo sendo determinado geneticamente, sabe-se que esse processo é muito diversificado entre peixes com a temperatura influenciando muitas espécies e alguns tipos, o que pode resultar numa proporcionalidade sexual intensamente alterada (CRAIG *et al.*, 1996; KITANO *et al.*, 1999). Em temperaturas altas (32–34°C) o nível de cortisol da medaka se eleva e inibem a proliferação de células germinativas em fêmeas e o mRNA do receptor do hormônio folículo estimulante (FSH), o que dá início à masculinização de medaka XX (FORCONI *et al.*, (2013). No *Paralichthys olivaceus* a proporção sexual cai drasticamente quando a larva é exposta a temperaturas abaixo ou acima do intervalo 17,5 a 22,5°C, durante a diferenciação sexual (LUCKENBACH *et al.*, 2003). A medaka *O. latipes*, mesmo apresentando um sistema de determinação sexual muito estável, quando colocada em água a 32°C, durante o desenvolvimento embrionário, essa temperatura promoveu a reversão sexual de fêmeas XX para machos. Estes indivíduos revertidos ao serem acasalados com fêmeas normais fertilizaram todos os ovos e cresceram normalmente (SATO *et al.*, 2005). Também foram observados efeitos dos fatores sociais sobre a determinação sexual numa população constituída por um grupo

grande de indivíduos menores de um sexo e alguns maiores do sexo oposto. Com o passar do tempo o dominante perdia o controle dos outros e um segundo indivíduo mudava de sexo, passando a ser o novo dominante que assumia o controle hierárquico (QUINITIO *et al.*, 1997).

Diferenciação e desenvolvimento gonadal

A gônada nos vertebrados superiores tem origem a partir de um estágio estrutural indiferenciado: consistindo de um córtex, derivado de células do estroma, e uma medular, originada a partir da parede peritoneal. Durante a diferenciação ovariana, ao mesmo tempo em que o córtex desenvolve-se ocorre uma degeneração da medula. Na diferenciação testicular o processo ocorre ao contrário, a degeneração acontece com as células da cortical. No entanto, em peixes observa-se que o processo de desenvolvimento das gônadas, testículo e ovário, tem sua origem unitária a partir da crista genital (PANDIAN, 2011b), uma saliência observada na cavidade celômica ventral. Sua organização acontece a partir de dois tipos distintos de células: as que produzem os gametas, originadas nas células germinativas primordiais (PGCs) da porção vegetal do óvulo não-fertilizado. Elas são transferidas do mesoderma para a crista genital por meio de movimentos morfogênicos e de atividades migratórias, ficando envolvidas por células

somatomesodermis (HAMAGUCHI, 1992). São semelhantes em ambos os sexos e permanecem indiferenciadas até que sejam induzidas por hormônio e outros fatores endógenos ou exógenos (ambiental) direcionando sua transformação em espermatogônia ou oogônia; e as células somáticas de suporte, que tem origem na camada epitelial do córtex, sendo similares em machos e fêmeas (WEI & MAHOWALD, 1994). As linhagens das células somáticas desenvolvem-se nas camadas da granulosa e da teca, formando o ovário, e também diferenciam-se nas células de *Sertoli* e de *Lydig*, na organização do testículo. Na maioria das espécies de teleósteos a diferenciação ovariana começa com a proliferação das células somáticas e germinativas e desenvolvimento inicial dos oócitos, seguida pela formação da cavidade ovariana (NAKAMURA *et al.*, 1998). O aparecimento de uma pequena fração das células germinativas ovarianas meióticas é uma das características histológicas que marca o início da diferenciação ovariana na maioria dos teleósteos (PATIÑO & TAKASHIMA, 1995). As células germinativas gonadais indiferenciadas destinadas a tornarem-se ovários ocorre em número maior que as direcionadas à formação testicular (NAKAMURA *et al.*, 1998). O aumento no número de células germinativas com indícios de meiose pode também ser um sinal evidente da diferenciação ovariana. Em

medaka as células germinativas na fêmea tornam-se diferenciadas muito mais cedo que nos machos (SAITO *et al.*, 2007). Durante a diferenciação ovariana, as células somáticas e germinativas iniciam a formação dos folículos, constituindo-se de um oócito e uma camada de células da granulosa envolvida por outra externa de células da teca (GRIER, 2000). Esse ovário nos teleósteos tem uma cavidade interna que se forma durante a diferenciação ovariana, sendo considerado do tipo cistovariano. Quanto ao testículo, ele permanece indiferenciado por mais tempo e a diferenciação somática ocorre antes do aparecimento das células germinativas (PATIÑO & TAKASHIMA, 1995), com as células germinativas permanecendo quiescentes por um período mais prolongado. As gônadas geralmente se desenvolvem bilateralmente na maioria dos teleósteos; no entanto podem desenvolver-se unilateralmente, em *Fundulus dispar* (PANDIAN, 2011b) e fundidas, em peixes vivíparos, com o ovário formando uma estrutura única e o testículo constituído por dois lobos ligados na base (Wourms, 1981; PARENTI & GRIER, 2004).

Estabilidade e herança do sexo

Nos mamíferos as gônadas se diferenciam completamente através de uma única via de desenvolvimento (CAPEL *et al.*, 1998), não podendo ser alteradas pelo tratamento com esteroides exógenos ou fatores

ambientais o que sugere estar sob o controle de um sistema de determinação sexual-XX/XY muito estável, tendo no gene *Sry*, localizado no cromossomo Y, seu determinante principal. Contrastando aos mamíferos, o desenvolvimento sexual em peixes pode ser controlado por fatores intrínsecos, esteroides e fatores do crescimento (nos gonocoristas), e pelo comportamento social (no hermafrodita natural) ou fatores ambientais extrínsecos tais como temperatura, indutores endócrinos ou poluentes. Tanto os gonocoristas como os hermafroditas são lábeis para mudar o sexo ao longo da sua vida (PANDIAN & KOTEESWARAN, 1998; DEVLIN & NAGAHAMA, 2002), o que pode ser explicado considerando a propriedade de retenção da bipotencialidade assegurada pelas PGCs, em muitos estágios da gonadogênese, e por sua potencialidade de rediferenciação durante a vida reprodutiva, uma base biológica única conservada pelos teleósteos (KOBAYASHI *et al.*, 2013).

Tem se verificado que nos peixes existe uma ampla variedade de genes envolvidos na determinação e diferenciação do sexo, com este fenômeno podendo ser explicado através de mecanismos evolutivos dos cromossomos (SCHARTL, 2004; VOLFF *et al.*, 2007). A ação final que estabelece o dimorfismo sexual tem regulação de genes *downstream*, muito conservados no peixe. Como exemplos podem ser citados a enzima

esteroidogênica, aromatase P450 do citocromo, e o fator de transcrição *dmrt1* que tem um papel central na diferenciação ovariana e testicular, respectivamente (GUIGUEN *et al.*, 2010; GUI & ZHU, 2012). Mas são observados muitos outros genes candidatos, em potencial, a participarem da diferenciação sexual que podem assegurar esse estudo em diferentes modelos.

A estabilidade da proporção sexual ideal 1:1 leva os indivíduos a adotarem uma estratégia reprodutiva que ajude na manutenção de um balanço populacional contra uma pressão de seleção natural e antropogênica. A prevalência do dimorfismo sexual no crescimento é muito comum (PARKER, 1992), o que pode influenciar a capacidade reprodutiva e o padrão de crescimento. Assim, o que se observa no gonocorismo em teleósteos pode estar apenas em função de diferenças genéticas entre os sexos inicialmente, ou da ausência dessas diferenças, mas que respondem às condições ambientais dominantes na hora da fertilização (VALENZUELA, 2008).

Algumas espécies de peixes revertem o sexo naturalmente durante seu desenvolvimento, como observado em *Epinephelus* sp., *Pagrus major* e *Monopterus albus*. BHANDARI *et al.* (2003) mostrou que o tamanho corporal de hermafroditas está correlacionado com a idade e sexo, isto levando a permanecer sempre no sexo com maior

fertilidade. Em função dessa plasticidade sexual, o mecanismo molecular da reversão sexual é considerado um tópico interessante e clássico na pesquisa da biologia reprodutiva do desenvolvimento. Assim, é fundamental o estudo dos genes *dmrt1* e os da família *SOX* pois tem participação na mudança de sexo de fêmea para macho, além da espermatogênese e oogênese. Os esteroides sexuais também estão envolvidos no desenvolvimento e manutenção do funcionamento das gônadas, porém observam-se algumas flutuações em seus níveis durante a reversão sexual. KOKOKIRIS *et al.* (2006) observaram, na mudança de sexo de fêmea para macho em protoginos (*Pagrus pagrus*), que enquanto os níveis de andrógenos (11-ketotestosterona e testosterona, 11-KT e T) no soro cresciam, os de estrógenos (estrone e 17 β -estradiol, E1 e E2) caíam. No entanto, foi observado que durante a mudança sexual de macho para fêmea nos protandros (*Acanthopagrus schlegeli*) os níveis de E2 aumentavam (CHANG *et al.*, 1994).

Padrões de sexualidade em peixes

De acordo com o “*Fish Base*” (www.fishbase.org, 2013) estão catalogadas 32.700 espécies de peixes. Esse grande número de espécies identificadas gera os diversos sistemas de acasalamentos existentes. Os três mais comuns se estabelecem como *monogamia*, onde os indivíduos vivem

em casais ou se acasalam com os mesmos indivíduos repetidas vezes nos períodos de reprodução; *poligamia* quando um indivíduo de um sexo tem múltiplos parceiros, podendo ocorrer de várias formas: na *poliandria* as fêmeas acasalam com vários machos; e, na *poliginia* o macho é o sexo poligâmico, que é a forma mais comum, podendo ocorrer, inclusive, a formação de harém, em que os machos têm um direito reprodutivo exclusivo sobre as fêmeas da sua proteção; em alguns sistemas os acasalamentos podem chegar a ter uma forma de reprodução *promíscua*, onde não existe a escolha de parceiros no momento do acasalamento ou durante os curtos períodos do coito. Ocorrem tipos de sexualidade entre e dentro das diferentes espécies de peixes, que podem variar desde as formas gonocoristas se estendendo até os unisexualistas, passando pelos variados tipos de hermafroditismo, assegurando, assim, esse crescente número de espécies (SADOVY & COLIN, 1995; SADOVY DE MITCHESON & MIN LIU, 2008; HELFMAN *et al.*, 2009; KOBAYASHI *et al.*, 2013). Os gonocoristas são predominantes e se caracterizam por apresentar um sexo definido, como fêmea ou macho, durante toda sua vida adulta. Com relação a esse processo de diferenciação sexual os gonocoristas podem ser classificados em três grupos (PANDIAN, 2011b): 1. Os *gonocoristas primários* cujo

desenvolvimento gonadal, em ovário ou testículo, acontece a partir de uma gônada indiferenciada (observada em *Cyprinus carpio*, por KOMEN *et al.*, 1992); 2. Nos *gonocoristas secundários* a gônada desenvolve-se inicialmente como ovário com oócitos, a seguir degenera na metade dos embriões, por apoptose, e as gônadas tornam-se masculinizadas (descrita em *Gambusia affinis* por KOYA *et al.*, 2003); e, 3. Um terceiro grupo constituído de *juvenis*, que possui inicialmente a gônada intersexual com bipotencialidade para desenvolver-se em ovário ou testículo (com ocorrência em *Anguilla angilla*, BEULBENS *et al.*, 1997). Por outro lado, somente um pequeno número de indivíduos constitui o grupo dos unisexos, que são híbridos, essencialmente, entre duas ou mais espécies simpátricas (PANDIAN, 2011b): originada a partir de uma combinação genômica, com uma interrupção da oogênese na meiose para produzir óvulos diploides, triploides ou tetraploides, sem a ocorrência de recombinação ou de redução da ploidia, o que promove a redução da variação do híbrido em cada geração subsequente. Consequentemente as formas ginogenética e hibridogenética de reprodução clonal e hemiclinal, com poliploidização, são comuns entre os peixes unissexuais. Na ginogênese a reprodução é estritamente clonal, com replicação e expressão integral somente do genótipo materno. Na partenogênese,

as fêmeas ginogenéticas necessitam da ação do espermatozoide dos machos de uma das espécies geradoras para ativar a embriogênese dos óvulos diploides ou triploides não reduzidos. O contrário ocorre na hibridogênese, em que a forma de reprodução hemiclinal libera somente o genoma de um dos genitores no oócito funcional, podendo ser substituído em cada geração de acasalamento subsequente, com a expressão do produto gênico do macho chegando a acontecer. Enquanto nos hermafroditas observa-se um padrão de bissexualidade no mesmo indivíduo, tendo um maior ou menor grau de sincronismo funcional entre os sexos, esses indivíduos sendo denominados hermafroditas *simultâneos*; e aqueles em que os indivíduos se desenvolvem e funcionam como um ou o outro sexo e, subsequentemente, mudando para o sexo oposto, com esses indivíduos sendo denominados de hermafroditas *sequenciais*. Nesta forma de hermafroditas pode ser envolvida uma ou duas vias no desenvolvimento para o segundo tipo. Na *protoginia* a fêmea muda para o sexo masculino, mas esses machos são descendentes de fêmeas adultas (*monandria*, ou uma única via no desenvolvimento para macho), porém observa-se que alguns machos se desenvolvem a partir de indivíduos da fase juvenil, enquanto outros descendem de fêmeas adultas (*diandria*, ou duas vias para o desenvolvimento do macho). O contrário acontece na

protandria, quando o macho muda de sexo para fêmea, e todas as fêmeas são descendentes de machos adultos (*monoginia*, ou uma única via no desenvolvimento para fêmea), observando-se ainda que algumas fêmeas desenvolvem-se a partir de uma fase juvenil, enquanto outras descendem de machos adultos (*diginia*, ou duas vias no desenvolvimento em fêmea). A mudança *serial* do sexo na vida adulta (GROBER, 1998) inclui as formas bidirecional e cíclica (KUWAMURA *et al.*, 1994), com a plasticidade sexual mais extrema caracterizando-se pela facilidade que o indivíduo tem de retornar da forma sexual mais recente para a anterior (isto é: de macho para fêmea ou vice-versa). Esta identificação tem se tornado possível com o passar dos anos (SADOVY E SHAPIRO, 1987).

Manutenção da diversidade genética

Os peixes são encontrados nos mais variados *habitats* e constituem além de 50% das espécies de vertebrados vivos (NELSON, 2006), assemelhando-se à própria diversidade reprodutiva que apresenta níveis de plasticidade sexual incomparáveis a quaisquer outros seres vivos (TABORSKY, 1994; PANDIAN, 2012). No processo da fertilização do óvulo pelo espermatozoide gera a condição necessária de recombinação dos genomas materno e paterno levando

adiante a diversidade genética produzida nas progênes. Esse mecanismo é a principal fonte que direciona a evolução, como constatado na espécie gonocorista *Poecilia latipinna* que apresenta cerca de 1,5 e 2,6 vezes mais alelos para os genes das classes I e II do MHC (major histocompatibility complex-MHC), respectivamente, que no tipo ginogênico *P. formosa* (SCHASCHL *et al.*, 2008). Consequentemente a constituição genética dos gonocoristas apresenta altos níveis de diversidade, enquanto outras estratégias de reprodução como a clonal, monogâmica ou em *haréns* podem resultar na redução da sua variabilidade genética. Porém, tem-se observado nos sistemas de reprodução monogâmica e harêmica que os peixes adotam estratégias que podem reduzir consideravelmente o parentesco múltiplo de suas progênes (MANK & AVISE, 2006), além da ocorrência de fecundações “*parasíticas*”, que acontecem quando o sêmen fecundante é liberado pelos indivíduos não parceiros, encontradas em variadas espécies (TABORSKY, 1994), ambas contribuem para ampliação da diversidade genética.

Entre os vertebrados, os peixes têm conseguido maximizar os sistemas

alternativos de acasalamentos quanto à definição de paternidade e maternidade múltiplas, possibilitando a manutenção da diversidade genética e assegurando o sucesso na fertilização. Nesse sentido, parece que nos teleosteos a mudança de monogamia para poliginia/poliandria é um processo contínuo, onde a limitação de espaço e de recursos pode impor a monogamia como sistema mais comum entre os peixes (Pandian, 2011a). As evidências experimentais sugerem que neste sistema os peixes permanecem, na maioria das vezes, apenas um único ciclo reprodutivo: em *Saratherodon galilaeus* 56% dos pares monogâmicos se separam após o primeiro ciclo reprodutivo (FISHELSON & HILZERMAN, 2002). Outra forma de reprodução pode ser observada em haréns constituídos por indivíduos gonocoristas e hermafroditas sequenciais, o que leva a grandes alterações da proporção 1:1 dos descendentes, quanto ao sexo. Os indivíduos hermafroditas chegam a direcionar o harém para o sistema de acasalamento tipo poligínico ou poliândrico (PANDIAN, 2011a), mantido por mais de dois machos sem qualquer estabilidade de dominância, segundo SHAPIRO (1981) em estudo realizado com *Anthias squamipinnis*. Foi observado ainda que a reprodução

dos peixes corais marinhos desenvolve-se entre casais ou grupos de reprodutores. Cada grupo desses reprodutores pode incluir de 5 a 20 machos primários que chegam a liberar de 50 a 80 vezes mais sêmen que os machos quando estão em casais (PETERSON *et al.*, 1992; SHAPIRO *et al.*, 1994). Por outro lado, ao mesmo tempo em que os indivíduos em casais economizam sêmen os que estão em grupos de reprodutores asseguram uma paternidade múltipla na fertilização dos oócitos. Essa diversidade ao ser verificada por HUTCHINGS *et al.* (1999), utilizando microssatélite, ficou demonstrado que os machos dominantes propagavam mais ovos fertilizados das fêmeas de *Gadus morhua*, mesmo quando estivessem circundadas por até 17 machos; ainda foi constatado que apareciam progênes descendentes de pelo menos três machos diferentes. Outros tipos morfológicos também foram observados, que se apresentavam em forma disfarçada, como satélite, imitando fêmeas ou como piratas, tanto nos indivíduos gonocoristas como nos hermafroditas.

Quanto às populações de peixes vivíparos marinhos tem se verificado, surpreendente, que de 71 a 100% das fêmeas gestam embriões descendentes

de mais de um macho, como acontece nos ovíparos. Com estas fêmeas conseguindo estocar o sêmen por períodos longos períodos (SOGARD *et al.*, 2008) e podem fertilizar seletivamente seus óvulos, utilizando-se do material de mais de um macho. Considerando esse fato como uma abrangência poligâmica, parece que esse mecanismo assegura uma paternidade múltipla nesses peixes vivíparos. Assim, desconsiderando diferenças de locais e sistemas reprodutivos os peixes parecem aumentar a multiplicidade de paternidade e consequentemente a diversidade genética entre as progênies.

ONDE CHEGAR?

O processo evolutivo de determinação do sexo em peixes parece ser muito instável, mas, por outro lado, inteiramente conservado em mamíferos e aves. Uma hipótese a ser considerada para explicar a determinação do sexo considera os variados tipos polimórficos em peixes serem simplesmente mais antigos, tendo assim um tempo mais distendido nas experiências para elaboração das mudanças evolutivas. Nessa perspectiva, os estudos de MANK *et al.* (2006) demonstraram não ser este o caso observado entre os peixes, apesar da sua origem diversa encontrada no período Devoniano (Actinopterygii), mesmo sendo coletivamente mais antigos que as aves e os mamíferos. No entanto, alguns tipos de teleósteos mais jovens, como os

cipriniformes, mostram uma diversidade ampla desses mecanismos sexuais, apesar dos seus fósseis mais antigos datarem somente do período Eoceno. Ainda, são observadas mudanças quanto aos tipos de reprodução dos indivíduos com origem mais recente, como as transições do gonocorismo para o unisexualismo no gênero *Poecilia* (AVISE *et al.*, 1992; PANDIAN, 2011a).

Outra hipótese considera a peculiaridade no desenvolvimento gonadal dos testículos, dos ovários e *ovotestis* observados em algumas espécies de teleósteos (SADOVY & SHAPIRO, 1987), com origem no mesmo tecido precursor, além de apresentar uma flexibilidade na diferenciação celular (SAOSHIRO *et al.*, 2013), podendo ser encontrado em vários estágios diferentes da vida reprodutiva do mesmo indivíduo. Isto difere da situação na maioria dos outros vertebrados incluindo as aves e os mamíferos, com a diferenciação gonadal sendo ativada no início do desenvolvimento, geralmente de forma irreversível (HOAR, 1969).

Esta plasticidade no desenvolvimento de peixes traz implicações em relação à determinação do sexo. Primeiro, o desenvolvimento gonadal e a diferenciação sexual são de certo modo separados. Segundo, na maioria das espécies de peixes falta essa vinculação genética e cromossomo, isso facilitando a diferenciação e ocorrência

de alterações sexuais durante todo o desenvolvimento, ou depois da maturidade sexual como observado nos hermafroditas sequenciais. Por apresentarem essa plasticidade reprodutiva, os indivíduos podem sofrer alterações durante o seu desenvolvimento através de induções e interferências das variações de pressão ambiental, condições ecológicas e a própria estrutura populacional (ROBERTSON, 1972; WARNER & HOFFMAN, 1980; GODWIN, 2010; SOBRINHO & DE BRITO, 2010; BÖHNE *et al.*, 2013), que juntamente com a pressão de seleção chegam a influenciar, de forma subliminar, os mecanismos de determinação do sexo, inclusive, promovendo o direcionamento da evolução genética. Por outro lado, alguns teleósteos que apresentam *ovotestis*, produzindo tanto espermatozoides como óvulos, podem ter um *fitness* mais elevado que os gonocoristas (PANDIAN, 2012), o que ajuda a explicar porque são frequentemente encontradas linhagens hermafroditas.

Os peixes ainda podem apresentar uma evolução genômica mais rápida que a maioria dos outros vertebrados, notadamente quanto à duplicação gênica e genômica (ROBINSON-RECHAVI & LAUDET, 2001; ROBINSON-RECHAVI *et al.*, 2001), notadamente em espécies mais recentes (VANDEPOELE *et al.*, 2004) e naquelas mais antigas (AMORES *et*

al., 1998), documentas em peixes ray-finned (Actinopterygii). Isto, inicialmente leva a uma redundância e aumento no potencial da replicação gênica com o envolvimento de novas vias relacionadas (PIFERRER & GUIGUEN, 2008). Assim, o aumento nesse potencial é assegurado pelas duplicações localizadas e pela ampliação genômica, provavelmente criando uma flexibilidade evolucionária adicional nas vias de determinação do sexo.

Como se constata, o sistema de determinação do sexo em teleósteos apresenta-se amplamente variado, inclusive dentre de espécies muito próximas geneticamente (Mank *et al.*, 2006). Alguns genes com participação maior nesses mecanismos, como o *sry* dos mamíferos, foram identificados há algum tempo: DMY/dmrt1bY em *Oryzias latipes* e na espécie irmã *O. curvinotus* (MATSUDA *et al.*, 2002, 2003; NANDA *et al.*, 2002); GsdfY, um membro da superfamília do fator de crescimento beta, em *O. luzonensis* (MYOSHO *et al.* 2012); sdY em truta arco-íris (YANO *et al.*, 2012); amhy (cópia do hormônio anti-Mülleriano no cromossomo-Y), na *Odontesthes hatcheri* (Hattori *et al.*, 2012); e em três espécies de Takifugu (*T. rubripes*, *T. pardalis*, e *T. poecilonotus*), uma associação entre o sexo masculino e um cromossomo proto-Y, foi encontrado um polimorfismo pontual (single nucleotide polymorphism) em um

receptor tipo II do amh (amhr2) (KAMIYA *et al.*, 2012). Os genes DMY/dmrt1bY, GsdfY, amhy e amhr2, exemplificam o cenário de uma rede gênica *downstream* envolvida na cascata de determinação do sexo e são mais requisitados a partir do ápice da hierarquia, conforme o modelo retrogrado de WILKIN (1995). Quaisquer genes importantes da determinação do sexo, controlados por promotores induzíveis, podem em teoria estar sob a influência social e ambiental. Contrariando este contexto, se a base de determinação do sexo é conservada, muito estável, não poderá ser alterada por um conjunto de condições novas, como observado em aves e mamíferos.

Os genes envolvidos na determinação do sexo (os reguladores principais), diferenciação e reprodução às vezes podem evoluir sob um regime de seleção positiva (SORHANNUS & KOSAKOVSKY POND, 2006; Sobrinho e de Brito, 2010), a partir do isolamento reprodutivo, que pode levar à especiação (Vacquier e Swanson, 2011), do conflito genômico no intersexo (Rice e Holland, 1997), da competição espermática (Pizzari e Birkhead, 2002) e da co-evolução macho-fêmea (Swanson *et al.*, 2003). Esta tendência parece ser verdadeira para indivíduos da família Cichlidae, que apresentava seleção positiva e, inicialmente, ocultava três genes com papéis subliminares no desenvolvimento sexual e na

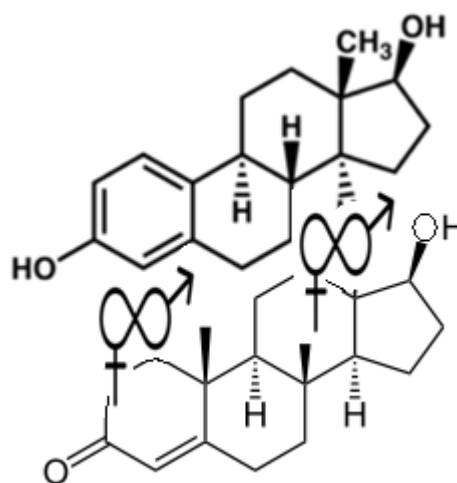
reprodução: um gene da aromatase (cyp19a1A) e um gene específico de expressão da gônada, SPP120 (Gerrard e Meyer, 2007), e um fator de maturação meiótica, 20-beta-hidroxiesteroide desidrogenase (Baldo *et al.*, 2011). Estudos em indivíduos da família Cichlidae, do Leste Africano, mostraram mudanças de comportamento, e determinadas sequências do gene cyp19a1A (aromatase) apresentaram ramificações filogenéticas conservadas que indicavam forte adaptação evolutiva (Böhne *et al.*, 2013). Certamente em futuro próximo, os achados novos elucidarão estes mecanismos, especialmente quando forem melhores integradas as bases moleculares fisiológicas com as filogenéticas oferecendo subsídios adicionais na evolução de modelos de determinação do sexo em teleósteos.

Conclusão

O processo de determinação e desenvolvimento sexual em peixes continua sendo uma área de estudo e de pesquisa complexa, precisando ainda responder muitas questões desconhecidas. As estratégias estabelecidas envolvendo estudos moleculares e dados de genética comparada sugerem uma origem evolucionária comum para determinação do sexo de todos os mamíferos, conforme vem mostrando os principais reguladores encontrados entre os organismos modernos (ex. SRY,

DMRT). Estes achados sugerem uma similaridade na fisiologia reprodutiva das espécies, pelo menos durante a organogênese, com este conhecimento tendo grande significado para saúde do indivíduo adulto. O estudo das vias e redes reguladoras desses processos metabólicos envolvidos, utilizando modelos e técnicas modernas, pode aumentar o entendimento não só reprodução como da infertilidade, o que facilitará o desenvolvimento de novas ações com intervenções terapêuticas benéficas no futuro. Em termos evolutivos das vias que determinam o sexo, as evidências parecem acumular-se em favor de uma maior unificação quanto às estratégias que incluem GSD (formação de cromossomo sexual) e ESD (TSD). Em particular, parece possível que o ambiente esteja dirigindo a força responsável pelo desenvolvimento sexual e pela evolução em todos os níveis (através do desenvolvimento do sexo e da seleção natural). Também é possível que a evolução sexual tenha sido afetada pelos fenômenos tanto da seleção como da deriva genética, chegando a estabelecer um padrão capaz de caracterizar a determinação sexual atual. Nesta perspectiva, a questão proposta não seria se o sexo é provavelmente controlado pelo ambiente ou por genes, mas sim de qual maneira ou em que nível estes fatores contribuíram para sua regulação independente do contexto. Em décadas passadas foram encontradas

evidências científicas descrevendo os níveis hierárquicos de como o sexo se estabelecia, que variavam desde constituintes cromossômicos até o desenvolvimento gonadal, secundariamente com a diferenciação das características e, finalmente, com as adaptações comportamentais e cognitiva-mentais. Portanto, dessa maneira adotava-se um conceito de dimorfismo sexual de maneira inteiramente holística.



Referências Bibliográficas

AMORES, A., FORCE, A., YAN, Y.L., JOLY, L., AMEMIYA, C., FRITZ, A., HO, R.K., LANGELAND, J., PRINCE, V., WANG, Y.L., WESTERFIELD, M., EKKER, M., POSTLETHWAIT, J.H. Zebrafish Hox gene clusters and vertebrate genome evolution. *Science* 282:1711–1714, 1998.

- AVISE, J.C., QUATTRO, J.M., VRIJENHOEK, R.C. Molecular clones within organismal clones: mitochondrial DNA phylogenies and the evolutionary histories of unisexual vertebrates. *Evolutionary Biology* 26: 225–246, 1992.
- AVISE, J.C., MANK, J.E. Evolutionary Perspectives on Hermaphroditism in Fishes. *Sex Dev*, 3:152–163, 2009.
- BALDO, L., SANTOS, M.E., SALZBURGER, W. Comparative transcriptomics of Eastern African cichlid fishes shows signs of positive selection and a large contribution of untranslated regions to genetic diversity. *Genome Biol Evol.*, 3: 443–455, 2011.
- BAROILLER, J.F., GUIGEN, Y., FOSTIER, A. Endocrine and environmental aspects of sex differentiation in fish. *Cell. Mol. Life Sci.*, 55: 910–931, 1999.
- BEULBENS, K., EDING, E.H., GILSON, P., OLIVIER, F., KOMEN, J., RICHTER, C.J.J. Gonadal differentiation, intersexuality and sex ratios of European eel (*Anguilla anguilla* L.) maintained in captivity. *Aquaculture*, 153: 135-150, 1997.
- BHANDARI, R.K., KOMURO, H., NAKAMURA, S., HIGA, M., NAKAMURA, M. Gonadal restructuring and correlative steroid hormone profiles during natural sex change in protogynous honeycomb grouper, *Epinephelus merra*. *Zool. Sci.*, 20:1399-1404, 2003.
- BÖHNE, A., HEULE, C., BOILEAU, N., SALZBURGER, W. Expression and Sequence Evolution of Aromatase *cyp19a1* and Other Sexual Development Genes in East African Cichlid Fishes. *Mol. Biol. Evol.* doi:10.1093/molbev/mst124. Advance Access publication July 24, 2013.
- CAPEL, B. Sex in the 90s: SRY and the switch to the male pathway. *Annu. Rev. Physiol.*, 60: 497-523, 1998.
- CHANG, C.F., LEE, M.F, CHEN, G.L. Estradiol-17 β associated with the sex reversal in protandrous black porgy, *Acanthopagrus schlegeli*. *J Exp Zool*, 268: 53–58, 1994.
- CRAIG, J.K., FOOTE, C.J., WOOD, C.C. Evidence for temperature dependent sex determination in sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*). *Can J Fish Aquat Sci.*, 53:141–147, 1996.
- de MITCHESON, Y.S., LIU, M. Functional hermaphroditism in teleosts. *FISH and FISHERIES*, 9: 1–43, 2008.
- Devlin, R.H., Nagahama, Y. Sex determination and sex differentiation in fish: An overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture*, 208: 191-364, 2002.

- FISHELSON, L., HILZERMAN, F. Flexibility in reproductive styles of male St. Pater's tilapia *Sarotherodon galilaeus* (Cichlidae). *Env Biol Fish.*, 63: 173–182, 2002.
- FORCONI, M., CANAPA, A., BARUCCA, M., BISCOTTI, M.A., CAPRIGLIONE, T., Buonocore, F., Fausto, A.M., Makapedua, D.M., Pallavicini, A., Gerdol, M., De Moro, G., Scapigliati, G., Olmo, E., Schartl, M. Characterization of Sex Determination and Sex Differentiation Genes in Latimeria. *PLoS ONE* 8: 2013.
- GAUTIER, A., SOHM, F., JOLY, J.S., LE GAC, F., LAREYRE, J.J. The proximal promoter region of the zebrafish *gsdf* gene is sufficient to mimic the spatio-temporal expression pattern of the endogenous gene in Sertoli and granulosa cells. *Biol Reprod.*, 85: 1240–1251, 2011.
- GERRARD, D.T., MEYER, A. Positive selection and gene conversion in SPP120, a fertilization-related gene, during the East African cichlid fish radiation. *Mol Biol Evol.*, 24:2286–2297, 2007.
- GODWIN, J. Social determination of sex in reef fishes. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 20: 264–270, 2009.
- GODWIN, J. Neuroendocrinology of sexual plasticity in teleost fishes. *Front Neuroendocrinol*, 31:203–216, 2010.
- GRIER, H. Ovarian germinal epithelium and folliculogenesis in the common snook, *Centropomus undecimalis* (Teleostei: centropomidae). *J Morphol.*, 243: 265–281, 2000.
- GROBER, M.S. Socially controlled sex change: integrating ultimate and proximate level of analysis. *Acta Ethol.*, 1: 3–17, 1998.
- GUI, J. F., ZHU, Z. Y. Molecular basis and genetic improvement of economically important traits in aquaculture animals. *Chin Sci Bull.*, 57: 1751 – 2012.
- GUIGUEN, Y., BAROILLER, J.F., RICORDEL, M.J., ISEKI, K., MC MEEL, O.M., MARTIN, S.A., FOSTIER, A. Involvement of estrogens in the process of sex differentiation in two fish species: The rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) and a tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Mol. Reprod., Dev.*, 54:154-162, 1999.
- HAMAGUCHI, S. Sex differentiation of germ cells and their supporting cells in *Oryzias latipes*. *J. Fish Biol.*, 4:11-17, 1992.

- HATTORI, R.S., MURAI, Y., OURA, M., MASUDA, S., MAJHI, S.K., SAKAMOTO, T., FERNANDINO, J.I., SOMOZA, G.M., YOKOTA, M., STRÜSSMANN, C.A. A Y-linked anti-Müllerian hormone duplication takes over a critical role in sex determination. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 109: 2955–2959, 2012.
- HAYES, T. Sex determination and primary sex differentiation in amphibians: Genetic and developmental mechanism. *J Exp Zool.*, 281: 373-399, 1998.
- HELFMAN, G.S., COLLETTE, B.B., FACEY, D.E., BOWEN, B.W. The diversity of fishes. Biology, Evolution, and Ecology. John Wiley & Sons, 2nd ed., Oxford, UK, 2009. 720p.
- HOAR, W.S. Reproduction. In: Hoar WS, Randall DJ (eds) *Fish physiology*, vol 3. Academic Press, New York, pp 1–72, 1969.
- HONG, C-S., PARK, B-Y., SAINT-JEANNET, J-P. The function of Dmrt genes in vertebrate development: It is not just about sex. *Developmental Biology*, 310: 1–9, 2007.
- HUTCHINGS, J.A., BISHOP, T.D., MCGREGOR-SHAW, C.R. Spawning behaviour of Atlantic cod *Gadus morhua*: evidence of mate competition and mate choice in a broadcast spawner. *Can J Fish Aquat Sci.*, 56: 97–104, 1999.
- KAMIYA T, KAI W, TASUMI S, *et al.* (16 co-authors). A trans-species missense SNP in amhr2 is associated with sex determination in the tiger pufferfish, *Takifugu rubripes* (Fugu). *PLoS Genet.* 8:e1002798, 2012.
- KITANO, T., TAKAMUNE, K., KOBAYASHI, T., NAGAHAMA, Y., ABE, S.I. Suppression of P450 aromatase gene expression in sex-reversed males produced by rearing genetically female larvae at a high water temperature during a period of sex differentiation in the Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). *J Mol Endocrinol.*, 23:167–176, 1999.
- KOBAYASHI, Y., NAGAHAMA, Y., NAKAMURA, M. Diversity and Plasticity of Sex Determination and Differentiation in Fishes. *Sex Dev*, 7:115–125, 2013 - (DOI: 10.1159/000342009)
- KOKOKIRIS, L., FOSTIER, A., ATHANASSOPOULOU, F., PETRIDIS, D., KENTOURI, M. Gonadal changes and blood sex steroids levels during natural sex inversion in the protogynous mediterranean red porgy, *Pagrus pagrus* (TELEOSTEI: SPARIDAE). *Gen Comp Endocrinol*, 149: 42–48, 2006.

- KOOPMAN, P., GUBBAY, J., VIVIAN, N., GOODFELLOW, P., LOVELL-BADGE, R. Male development of chromosomally female mice transgenic for Sry. *Nature* 351:117–121, 1991.
- KORPELAINEN, H. Sex ratios and conditions required for environmental sex determination in animals. *Biol Rev Camb Phil Soc.*, 65: 147–184, 1990.
- KUWAMURA, T., NAKASHIMA, Y., YOGO, Y. Sex change in either direction by growth rate advantage in the monogamous goby *Paragobiodon echnocephalus*. *Behav Ecol.*, 5: 434–438, 1994.
- LEE, B.Y., KOCHER, T.D. Exclusion of Wilms tumour (WT1b) and ovarian cytochrome P450 aromatase (CYP19A1) as candidates for sex determination genes in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Anim Genet.*, 38: 85–86, 2007.
- LUCKENBACH, J.A., GODWIN, J., DANIELS, H.V., BORSKI, R.J. Gonadal differentiation and effects of temperature on sex determination in southern flounder (*Paralichthys lethostigma*). *Aquaculture*, 216: 315–327, 2003.
- MANK, J.E., PROMISLOW, D.E.L., AVISE, J.C. Evolution of alternative sex determining mechanisms in teleost fishes. *Biol J Linn Soc Lond.*, 87: 83–93, 2006.
- MANOLAKOU P., LAVRANOS G., ANGELOPOULO, R. Molecular patterns of sex determination in the animal kingdom: A comparative study of the biology of reproduction. *Reprod. Biol. Endocrinol.*, 13: 4-59, 2006.
- MATSUDA, M., NAGAHAMA, Y., SHINOMIYA, A., SATO, T., MATSUDA, C., KOBAYASHI, T., MORREY, C.E., SHIBATA, N., ASAKAWA, S., SHIMIZU, N., HORI, H., HAMAGUCHI, S., SAKAIZUMI, M. DMY is a Y-specific, DM-domain gene, required for male development in the medaka (*Oryzias latipes*) fish. *Nature*, 417:559-563, 2002.
- MATSUDA, M. Sex determination in fish: lessons from the sexdetermining gene of the teleost medaka, *Oryzias latipes*. *Dev Growth Differ* 45:397–403, 2003.
- MATSUDA, M., SHINOMIYA, A., KINOSHITA, M., SUZUKI, A., KOBAYASHI, T., PAUL-PRASANTH, B., LAU, E.L., HAMAGUCHI, S., SAKAIZUMI, M., NAGAHAMA, Y. DMY gene induces male development in genetically female (XX) medaka fish. *Proc Natl Acad Sci USA* 104:3865–3870, 2007.
- McANDREW, B., NAPIER, J. FORESIGHT PROJECT ON GLOBAL

- FOOD AND FARMING FUTURES. Application of genetics and genomics to aquaculture development: current and future directions. *Journal of Agricultural Science*, 1-9, 2010.
- MUNDAY, P.L., BURSTON, P.M., WARNER, R.R. Diversity and flexibility of sex change strategies in animals. *Trends Ecol Evol*, 21: 89-95, 2006a.
- MUNDAY, P.L., WILSON, W., WARNER, R.R. A social basis for the development of primary males in a sex changing fish. *Proc R Soc London*, 273B: 2845-2851, 2006b.
- MYOSHO, T., OTAKE, H., MASUYAMA, H., MATSUDA, M., KUROKI, Y., FUJIYAMA, A., NARUSE, K., HAMAGUCHI, S., SAKAIZUMI, M. Tracing the emergence of a novel sex-determining gene in medaka, *Oryzias luzonensis*. *Genetics*, 191:163–170, 2012.
- NAKAMURA, M., KOBAYASHI, T., CHANG, X.-T., NAGAHAMA, Y. Gonadal sex differentiation in teleost fish. *J. Exp. Biol.*, 281:362-372, 1998.
- NANDA, I., KONDO, M., HORNUNG, U., *et al.* (12 co-authors). A duplicated copy of DMRT1 in the sex-determining region of the Y chromosome of the medaka, *Oryzias latipes*. *Proc Natl Acad Sci., U S A.* 99: 11778–11783, 2002.
- NELSON, J.S. *Fishes of the World*. 4a. Ed., 2006. 624p. ISBN: 978-0-471-25031-9
- PANDIAN, T.J. *Sexuality in Fishes*. CRC Press. Taylor & Francis Group, New York, UK. 2011a. 189p. ISBN 978-1-57808-685-6 – www.crcpress.com
- PANDIAN, T.J. *Sex Determination in Fish*. CRC Press. Taylor & Francis Group, New York, UK. 2011b. 282p. ISBN 978-1-57808-748-8- www.taylorandfrancisgroup.com.
- PANDIAN, T.J. *Genetic Sex Differentiation in Fish*. CRC Press. P.O. Box 699, Enfield, NH 03748, Taylor & Francis Group, New York, UK. 2012. 214p. ISBN 978-1-57808-799-0 - www.taylorandfrancisgroup.com.
- PANDIAN, T., KOTEESWARAN, R. Ploidy induction and sex control in fish. *Hydrobiologia*, 384:167-243, 1998.
- PARENTI, L.R., GRIER, H. Evolution and phylogeny of gonad morphology in bony fishes. *Integr Comp Biol.*, 44:333–348, 2004.
- PARKER, G.A. The evolution of sexual size dimorphism in fish. *J. Fish Biol.*, 41:1-20, 1992.
- PATÍÑO, R., TAKASHIMA, F. Gonads. In: Takashima F, Hibiya T (eds) *An atlas of fish histology, normal and*

pathological features. *Kodanska/Gustav Fisher*, Tokyo, pp 128–153, 1995.

PETERSEN, C.W., WARNER, R.R., COHEN, S., HESS, H.C., HEWELL, A.T. Variable pelagic fertilization success: implications for mate choice and spatial patterns of mating. *Ecology*, 73: 391–401, 1992.

PIFERRER F., GUIGUEN, Y. Fish Gonadogenesis. Part II: Molecular biology and genomics of sex differentiation. *R. Fish. Sci.*, 16:35-55, 2008.

PIZZARI, T., BIRKHEAD, T.R. The sexually-selected sperm hypothesis: sex biased inheritance and sexual antagonism. *Biol Rev.*, 77:183–209, 2002.

QUINITIO, G.F., CABEROY, N.B., REYES Jr., D.M. Induction of sex change in female *Epinephelus coioides* by social control. *Isr J Aquacult*, 49: 77–83, 1997.

RAGHUVEER, K., SENTHILKUMARAN, B., SUDHAKUMARI, C.C., SRIDEVI, P., RAJAKUMAR, A., SINGH, R., MURUGANANTHKUMAR, R., MAJUMDAR, K.C. Dimorphic Expression of Various Transcription Factor and Steroidogenic Enzyme Genes during Gonadal Ontogeny in the

Air-Breathing Catfish, *Clarias gariepinus*. *Sex Dev*, 5:213–223, 2011.

RAYMOND, C.S., SHAMU, C.E., SHEN, M.M., SEIFERT, K.J., HIRSCH, B., HODGKIN, J., ZARKOWER, D. Evidence for evolutionary conservation of sex determining genes. *Nature* 391:691–695, 1998.

RICE, W.R., HOLLAND, B. The enemies within: intergenomic conflict, interlocus contest evolution (ICE), and the intraspecific Red Queen. *Behav Ecol Sociobiol.*, 41:1–10, 1997.

ROBERTSON, D.R. Social control of sex reversal in a coral reef fish. *Science*, 177: 1007–1009, 1972.

ROBINSON-RECHAVI, M., LAUDET, V. Evolutionary rates of duplicate genes in fish and mammals. *Molecular Biology and Evolution*, 18: 681–683, 2001.

ROBINSON-RECHAVI M, MARCHAND O, ESCRIVA H, BARDET PL, ZELUS D, HUGHES S, LAUDET V. Euteleost fish genomes are characterized by expansion of gene families. *Genome Research*, 11: 781–788, 2001.

SADOVY, Y., COLIN, P.L. Sexual development and sexuality in the Nassau grouper. *J Fish Biol.*, 46: 962-976, 1995.

- SADOVY, Y., SHAPIRO, Y. Criteria for the Diagnosis of Hermaphroditism in Fishes. *Copeia*, 1: 136-156, 1987.
- SADOVY DE MITCHESON, Y., LIU, M. Functional hermaphroditism in teleosts. *FISH and FISHERIES*, 9: 1–43, 2008.
- SAITO, D., MORINAGA, C., AOKI, Y., NAKAMURA, S., MITANI, H., FURUTANI-SEIKI, M., KONDOH, H., TANAKA, M. Proliferation of germ cells during gonadal sex differentiation in medaka: insights from germ cell-depleted mutant zenzai. *Dev Biol.*, 310: 280–290, 2007.
- SANDRA, G.E., NORMA, M.M. Sexual determination and differentiation in teleost fish. *Rev Fish Biol Fisheries*, 20:101–121, 2010.
- SAOSHIRO, S., KAWAGUCHI, Y., HAYAKAWA, Y., KOBAYASHI, M. Sexual bipotentiality of behavior in male and female goldfish. *General and Comparative Endocrinology*, 181: 265–270, 2013.
- SATO, T., ENDO, T., YAMAHIRA, K., HAMAGUCHI, S., SAKAIZUMI, M. Induction of female-to-male sex reversal by high temperature treatment in Medaka, *Oryzias latipes*. *Zool Sci.*, 22:985–988, 2005.
- SAWYER, S.J., GERSTNER, K.A., CALLARD, G.V. Real-time PCR analysis of cytochrome P450 aromatase expression in zebrafish: Gene specific tissue distribution, sex differences, developmental programming, and estrogen regulation. *Gen Comp Endocrinol*, 147: 108–117, 2006.
- SCHARTL, M.A. A comparative view on sex determination in medaka. *Mech. Dev.*, 121:639-645, 2004.
- SCHASCHL, H., TOBLER, M., PLATH, M., PENN, DUSTIN, J., SCHLUPP, I. Polymorphic MHC loci in an asexual fish, the amazon molly (*Poecilia formosa*; Poeciliidae). *Molecular Ecology*, 17: 5220–5230, 2008.
- SHAPIRO, D.Y., MARCONATO, A., YOSHIKAWA, T. Sperm economy of a coral reef fish. *Ecology*, 75: 1334–1344, 1994.
- SOBRINHO, I., DE BRITO, R. Evidence for positive selection in the gene fruitless in *Anastrepha* fruit flies. *BMC Evol Biol.*, 10:293, 2010.
- SOGARD, S.M., GILBERT-HORVATH, E., ANDERSON, E.C., FISHER, R., BERKELEY, S.A., GARZA, J.C. Multiple paternity in viviparous kelp rockfish, *Sebastes atrovirens*. *Environ Biol Fish.*, 81:7–13, 2008.
- SORHANNUS, U., KOSAKOVSKY POND, S. Evidence for positive selection on a sexual reproduction gene

- in the diatom genus *Thalassiosira* (Bacillariophyta). *J Mol Evol.*, 63:231–239, 2006.
- SWANSON, W.J., NIELSEN, R., YANG, Q. Pervasive adaptive evolution in mammalian fertilization proteins. *Mol Biol Evol.*, 20:18–20, 2003.
- TABORSKY, M. Sneakers, satellites and helpers: parasitic and cooperative behaviour in fish reproduction. *Adv Study Behav.*, 23: 1–100, 1994.
- VACQUIER, V.D., SWANSON, W.J. Selection in the rapid evolution of gamete recognition proteins in marine invertebrates. *Cold Spring Harb Perspect Biol.*, 3:a002931, 2011.
- VANDEPOELE, K., de VOS, W., TAYLOR, J.S., MEYER, A., de PEER, Y. Major events in the genome evolution of vertebrates: paralogy and size differ considerably between rayfinned fishes and land vertebrates. *Proceedings of the National Academies of Sciences, USA* 101: 1638–1643, 2004.
- VALENZUELA, N. Sexual development and the evolution of sex determination. *Sex Dev.*, 2:64-72, 2008.
- VOLFF, J.N., NANDA, I., SCHMID, M., SCHARTL, M.A. Governing sex determination in fish: regulatory putches and ephemeral dictators. *Sex Develop.*, 1:85-99, 2007.
- von HOFSTEN, J., OLSSON, P. E. Zebrafish sex determination and differentiation: Involvement of *FTZ-F1* genes. *Reprod Biol Endocrinol.*, 3: 63, 2005.
- von HOFSTEN, J., LARSSON, A., OLSSON, P.E. Novel steroidogenic factor-1homolog (*ff1d*) is coexpressed with anti-Mullerian hormone (*AMH*) in zebrafish. *Dev Dyn*, 233: 595–604, 2005.
- WARNER, R.R., HOFFMAN, S.G. Local population size as a determinant of mating system and sexual composition in two tropical marine fishes (*Thalassoma* sp.). *Evolution* 34: 508–518, 1980.
- WEI, G., MAHOWALD, A.P. The germline: Familiar and newly uncovered properties. *Annu. Rev. Genet.*, 28:309-324, 1994.
- WILKINS, A. Moving up the hierarchy: a hypothesis on the evolution of a genetic sex determination pathway. *BioEssays* 17:71–77, 1995.
- WOURMS, J.P. Viviparity: the maternal-fetal relationships in fishes. *Am Zool.*, 21(2):473–515, 1981.
- www.fishbase.org: Busca realizada em 10/10/2013.
- YANO, A., GUYOMARD, R., NICOL, B., JOUANNO, E., QUILLET, E., KLOPP, C., CABAU, C., BOUCHEZ, O., FOSTIER, A., GUIGUEN, Y. An immune-related gene evolved into the master sex-determining gene in rainbow

trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Curr Biol.*
22:1423–1428, 2012.

ZHANG, Q., SUN, X., QI, J., WANG,
Z., WANG, X., WANG, X., ZHAI, T.
Sex Determination Mechanisms in Fish.
*J. Ocean Univ. China, (Oceanic and
Coastal Sea Research)* 8: 155-160,
2009.