

# 非哺乳类脊椎动物性别决定的研究进展\*

黄敏毅 张育辉\*\* 王宏元

(陕西师范大学生命科学学院 西安 710062)

**摘要:** 比较了非哺乳类脊椎动物和哺乳动物性别决定的差异,从影响非哺乳类脊椎动物性别决定的环境因子及其机制两方面回顾了性别决定的研究进展,分析环境因素和类固醇激素在性别决定中的作用,指出了非哺乳类脊椎动物性别决定研究中需要进一步探讨的问题。

**关键词:** 非哺乳类脊椎动物;性别决定;环境;类固醇

**中图分类号:** Q955 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2004)04-104-05

## Sex Determination in Non-mammalian Vertebrates

HUANG Min-Yi ZHANG Yu-Hui WANG Hong-Yuan

(College of Life Science, Shaanxi Normal University, Xi'an 710062, China)

**Abstract:** The differences on sex determination between non-mammalian vertebrates and mammals are compared. The effects of environmental factors on sex determination and related mechanisms, especially the effect of environment and steroids on sex determination is reviewed. The questions for sex determination that need to be further investigated are also indicated.

**Key words:** Non-mammalian vertebrate; Sex determination; Environment; Steroid

动物性别决定是发育生物学中一个重要的理论问题,对实现动物性别比例的控制具有一定的实践意义。在脊椎动物中,有关哺乳动物性别决定已有较深入的研究,而对非哺乳类脊椎动物性别决定机制尚缺系统性的归纳。一般认为,脊椎动物的性别决定具有基因型性别决定 (genetic sex determination, GSD) 和环境型性别决定 (environmental sex determination, ESD) 两种类型。GSD 指子代的性别主要由基因来决定,胚胎发育成雌性或雄性取决于其性染色体的组成,一般不受外界环境的影响。ESD 指子代的性别主要由环境因子决定的,受精卵周围的温度、湿度、pH 值和环境污染物等因素均可影响到子代的性别。

### 1 哺乳类和非哺乳类脊椎动物性别决定的区别

一般认为,哺乳动物的性别决定是典型的 GSD, Y 染色体上的性别决定区 (sex determining region of the Y, Sry) 在性别决定中起着总开关的作用,可以启动雄性性状的发育。进一步研究发现,哺乳动物的性别决定是

以 Sry 基因为主导的多基因参与的有序协调过程,除 Sry 外,已发现 Sox9、Sf-1、Wt-1、Dax-1 和 Mis 等基因均参与了胚胎性别决定的过程<sup>[1]</sup>。

在非哺乳类脊椎动物,性别决定存在 GSD 和 ESD 两种类型。在具有异型性染色体的种类,性别决定模式大多数为 GSD。但在有的种类(除鸟类),虽然具有性染色体,它们的雌雄个体之间没有性染色体的差异。一般认为,雌雄个体之间没有性染色体差异是具 ESD 机制的特征之一。在鱼类、两栖类和爬行类动物中,只有那些较为特化的种类才分化出异型性染色体,且不同物种之间具有较大的差异,有的物种雄性的配子为异型,有的则是雌性的配子为异型。作为高等脊椎动物的鸟类和哺乳类,随着物种的进化,性别决定机制也随之进化,性染色体得以高度分化。哺乳动物的雄性

\* 陕西省自然科学基金资助项目 (No. 2001 SM26);

\*\* 通讯作者, E-mail: yu-huizhang@163.com;

第一作者介绍 黄敏毅,女,24岁,硕士研究生;研究方向:两栖动物的生殖与发育。

收稿日期:2003-10-21,修回日期:2004-05-21

由异型性染色体 XY 决定,而鸟类的雌性则由 ZW 决定。但是并非所有鸟类都具有异型性染色体,在最原始的扁平胸骨鸟类,它们性染色体是相同的<sup>[2]</sup>。

在非哺乳类脊椎动物中,至今还没有在性染色体上找到与哺乳动物一致的性别决定基因 Sry。Sry 基因编码的蛋白质和 DNA 发生作用的部位是 HMG (high mobility group) 区域。Tiersch 等<sup>[3]</sup>用 Sry 基因的 HMG 区域的探针分别对鱼类、两栖动物、爬行动物和鸟类的 DNA 进行检测,发现在雌性和雄性个体所得的结果均为阳性。对海龟<sup>[4]</sup>、欧非肋突鳗<sup>[5]</sup>、壁虎和鸡<sup>[6]</sup>的基因进行克隆实验,也都得到了与 Sry 相似的基因,由它们组成 Sox 基因家族,雌雄间没有差异,这是在动物中发现的一类新的编码转录因子的基因家族,是与高度保守的 HMG 盒具有 60% 同源性的基因<sup>[7]</sup>。这些结果表明,Sox 基因虽然存在于许多非哺乳类脊椎动物中,但在雌雄个体之间没有差异,最终引导性腺分化的具体基因尚未完全鉴定出来,还需进一步的研究。

## 2 非哺乳类脊椎动物的性别决定

在对非哺乳类脊椎动物 ESD 的研究中,目前研究较多的是温度性别决定 (temperature sex determination, TSD)。在这些被研究的动物,胚胎发育几乎完全暴露于外界环境之中,每个胚胎都有发育为雄性或雌性的潜能,即性腺分化为精巢或卵巢,而对性腺分化起诱导或决定作用是环境温度的变化。

**2.1 鱼类** 非哺乳类脊椎动物中,鱼类较为低等,其性别决定机制最为原始、复杂,除受性染色体控制外,常染色体在性别决定中也起一定的作用<sup>[8]</sup>。大部分不具有性染色体分化的鱼类,在不同程度上,性别受外界环境的影响,如温度、光照、水质等,其中温度起主导地位;越来越多的研究证明,许多鱼类性别决定受温度和基因的双重调节。而且在一些极端温度下,温度甚至可以凌驾于基因型之上导致性别转变,不同种类的鱼由于生活的环境温度不同,影响性别决定的通路也不尽相同<sup>[9]</sup>。Römer 等<sup>[10]</sup>对慈鲷科南美短鲷属的 37 个种和两种硬骨鱼分别进行了研究,指出环境温度和 pH 均可影响性别比例,其中南美短鲷的 33 个种的个体性别比例主要受温度影响,高温下雄性个体比例较高,但在低温下则雌性比例较高。Patino 等<sup>[11]</sup>对海峡鲶鱼 (*Ictalurus punctatus*) 进行了研究报道,在 34℃ 高温下孵育时,雌鱼比例将升高,而在 27℃ 时,温度对性别比例没有影响。

**2.2 两栖动物** 大部分研究认为两栖动物的性别决定主要以 GSD 为主。Hayes<sup>[12]</sup>指出,虽然大多数两栖动

物缺乏形态上可区分的性染色体,但是其性别决定主要是受基因所控制的,而环境因子仅在其生存的正常温度范围以外才有影响。也有学者认为,两栖动物的性别决定还受温度及其它因素的影响,因此其性别决定可能受基因和环境的双重影响<sup>[13]</sup>。但是目前在两栖动物中有关检测出性别决定基因的报道还较少,故两栖动物性别决定还需要更多的实验来进行验证。本文作者在对两栖动物生殖细胞发育的调控进行研究时,发现所采集的中国林蛙 (*Rana temporaria chensinensis*) 成体中有具有镶嵌型的性腺标本,即同一性腺内含有发育的卵母细胞和生精细胞,虽然目前还不能确定这一现象是由何种因素所致,但至少说明,中国林蛙的原生殖细胞同时有向精原细胞和卵原细胞分化的潜能,机体内外环境的物理或化学变化可能影响到生殖细胞的分化。

**2.3 爬行动物** 爬行动物性别决定有 GSD 和 ESD 两种类型,其中 TSD 是爬行动物性别决定最普遍、最典型的方式<sup>[14]</sup>。焦保卫等<sup>[15]</sup>曾指出爬行动物的 TSD 具有与哺乳动物 GSD 相似的级联通路,而温度在这一个通路的上游起作用。到目前为止,还无法确定在爬行动物中是 TSD 还是 GSD 属于更古老的性别决定模式,有可能是 TSD 或 GSD 中某一种先出现,也可能是两者同时出现。

在爬行动物中,只有在一些种类存在异型性染色体。目前已发现,在蜥蜴目中,约 7 科 70 多种具有性染色体<sup>[16]</sup>;蛇类的性染色体分化最为明显,性染色体为 ZZ/ZW 型,其分化程度从低等到高等呈逐渐增高的趋势<sup>[17]</sup>。在鳄目,至今尚未发现有异型性染色体的种类,说明其性别决定可能为 TSD。在其它爬行动物中,性别决定机制似乎与它是否具有性染色体没有直接的关系,即性别决定机制为 TSD 的个体不一定缺少异型性染色体,而具有异型性染色体的个体可能性别决定为 TSD<sup>[18,19]</sup>。在对少于 2% 的爬行动物种的检验中,发现 TSD 在新西兰产的大蜥蜴、蚓蜥和蛇类一般是不存在的,在其它的蜥蜴类中也很少出现,但在海龟中出现较频繁,在鳄类则普遍存在<sup>[18]</sup>。

Ewert<sup>[20]</sup>将爬行动物的 TSD 分成三类:FM 型,是在高温下产生雄性个体,低温下产生雌性个体;MF 型,与 FM 型相反,即在高温下产生雌性,低温下为雄性;FMF 型,是在低温或高温下均产生雌性个体,而介于两者温度之间则产生雄性个体。FM 型多存在于鳄类和蜥蜴类中,Bull<sup>[21]</sup>指出,鼉在高温下产生的主要是雄性,而在低温下则以雌性为主,属于 FM 型。多数龟类<sup>[20]</sup>属于 MF 型。FMF 型在具有 TSD 的爬行动物中都可存在,这

可能是 FM 和 MF 型的基础或原始模型<sup>[15]</sup>。但也有人认为,爬行动物可能与 TSD 无关,由于胚胎在不同温度下的死亡率具有两性差异,所以,温度的变化可导致新生个体性别比率偏离<sup>[22]</sup>。

**2.4 鸟类** 鸟类具有明显的异型性染色体,为 ZW 型。鸟类的性别决定为 GSD,多在恒温下孵化,受外界环境因素的影响不大。

### 3 类固醇激素在性别决定中的作用

许多学者通过用不同的类固醇激素对动物的受精卵进行处理,来阐释激素与性别决定的关系。在哺乳动物中,类固醇激素对性腺的分化是不起作用的,它们只是在细胞分化时形成性腺的合成产物,可引起第二性征出现。然而在非哺乳类脊椎动物中,尽管性腺发育与哺乳动物相似,但是类固醇激素作用的结果在不同动物的性别决定和性腺发育中的作用是不同的。芳香化酶可以催化雄激素(如睾酮和雄烯二酮)转化为雌激素,这一转化过程对鱼类、两栖类、爬行类和鸟类等脊椎动物的性分化和性腺发育是有影响的。运用芳香化酶抑制剂,能够抑制芳香化酶的活性,影响雌激素的生成,使胚胎雌激素减少,睾酮浓度相对增加,从而促进睾丸的发育,有利于胚胎向雄性转化。研究中也可通过对性腺中芳香化酶含量的检测来说明激素对性别决定和性腺发育的作用。

**3.1 类固醇激素** 在鱼类,性激素能诱导性腺分化的观点已被普遍认同,但性激素作用路径是影响正常性腺分化中某一成份的功能还是干扰正常生化反应的过程尚需研究<sup>[23]</sup>。类固醇激素对两栖动物性腺分化的作用机制还不清楚,目前在其幼体性腺中尚未鉴定出类固醇激素受体,推测类固醇虽然可诱导两栖动物性腺的性别转化,但在幼体性别决定中作用不大<sup>[12]</sup>。在爬行动物的胚胎中,类固醇激素对性别决定起着重要的作用。为了研究体内类固醇对爬行动物性别决定的影响,Janzen 等<sup>[24]</sup>分别对性别决定以 ESD 和 GSD 为主的海龟卵中类固醇激素含量进行比较研究,发现类固醇激素在两种性别决定机制中的作用是不同的,在自然环境状态下,以 TSD 为主的海龟卵中的卵黄睾酮激素(大约到 300 ng/g)含量比以 GSD 为主的海龟(大约为 15 ng/g)高 20 倍,表明在这两种性别决定机制中合成类固醇激素的功能有很大区别。例如以 TSD 为主的鳄龟(*Chelydra serpentina serpentina*)胚胎在 27.6℃ 下孵化时,胚胎内含有较高的卵黄睾酮,产生的后代以雄性为主,推测体内睾酮可能会影响后代的性别比例。但与睾酮相比,雌二醇可能对发育中胚胎的作用相对较小。然

而,Crews<sup>[25]</sup>却认为,依赖 TSD 的爬行动物的性别决定可能受雌二醇生成以及类固醇激素受体的影响。鸟类的性别决定虽然以 GSD 为主,但 Smith 等<sup>[26]</sup>在研究性激素对性别决定的作用时报道,鸡胚的孕酮受体在性别形态分化之前已在未分化的性腺中表达了,可见孕酮对鸡的性腺发育过程的作用至少是暂时存在的。

**3.2 芳香化酶** 对芳香化酶作用及其基因表达的研究显示,p450 芳香化酶基因显然是影响性腺分化的较直接因素,该基因表达的调控在鱼类性别决定分子机制中起着重要的作用。研究表明,温度升高时,日本比目鱼(*Paralichthys olivaceus*)和尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)偏向于雄性化,同时体内芳香化酶的 mRNA 水平下降,雌二醇水平也降低<sup>[27,28]</sup>。Piferrer 和 Donaldson<sup>[29]</sup>发现,在鱼的早期发育中,芳香化的雄激素甲基睾酮可通过鱼体内芳香化酶作用转化为雌激素,并且雌激素可对基因型为雄性的性腺起作用。在两栖动物中,Chardard 等<sup>[30]</sup>对欧非肋突螺体内的芳香化酶进行研究,认为雌性个体在幼体发育阶段,性腺中的芳香化酶活性增加。在爬行动物中,用依赖于 ESD 的海龟进行实验,在可诱导雌性个体产生的温度下,用芳香化酶阻断剂处理受精卵,后代全为雄性个体;相反,在可诱导雄性个体产生的温度下用雌激素处理,可得到雌性个体。Desvages 等<sup>[31]</sup>报道,在可使棱皮海龟(*Dermochelys coriacea*)产生雌性个体的温度下,性腺内芳香化酶活性增加。在性别决定的期间,芳香化酶在预计可发育为精巢的性腺中表现出较低的活性。通过改变棱皮海龟生活的温度,芳香化酶活性也随着改变。随着可产生雄性的温度转变为产生雌性的温度,性腺中的芳香化酶活性也会增加。然而, Murdock 和 Wibbels<sup>[32]</sup>以红耳龟(*Trachemys scripta*)为对象,分别在产生雄性(26℃)和雌性(31℃)温度下,对处于性别决定温度敏感时期(15~26 期)胚胎的芳香化酶 P450mRNA 进行检测,其表达量没有明显差异。并指出芳香化酶的活性是在温度敏感期以后才被激活的,所以在性别决定过程中可能并不起关键作用。这与 Desvages 的报道显然是不一致的,究竟哪种说法更有说服力,有待进一步研究。在鸟类,Elbrecht 等<sup>[33]</sup>将芳香化酶阻断剂注入鸡的胚胎中,发现胚胎中睾酮的含量增加,雌二醇的含量减少,导致基因型为雌性的个体转化为雄性,而且孵化后的雄鸡在其性成熟阶段可进行正常的精子发生。但他们还指出,用芳香化酶阻断剂处理过的鸡胚在孵化期间表现出 100% 雄性的性征,但以后只有 50% 的个体精巢继续发育,为雄性个体。另 50% 的雄性在发育中第二性征逐渐减退,精巢出现不规则的形状,并且精

子的数量也在减少。

## 4 结束语

从上述众多的研究结果中可见:(1)非哺乳类脊椎动物(鸟类除外)的性别决定有两种机制,即 GSD 和 ESD。这两种机制在不同种类动物的性别决定中所占的地位是不同的,这可能是不同物种长期适应各自生存环境的结果。(2)在 ESD 中,研究最多的为 TSD。特别在鱼类和爬行动物的性别决定中,温度变化对性腺分化起着重要的影响作用。(3)在 TSD 中,温度在不同动物性别决定中所起的作用是不一致的。类固醇对一些以 TSD 为主的动物有一定的影响。其机制可能是温度的变化会影响动物体内的类固醇激素的水平或芳香化酶的活性,从而影响性腺的分化。

总之,非哺乳类脊椎动物 GSD 和 ESD 机制的研究已经取得了很大的进展,但仍有许多问题需要解决。比如,在非哺乳类脊椎动物性别决定的研究中,GSD 和 ESD 机制之间的相互联系是什么?类固醇激素是否为这两种机制的交叉点?芳香化酶在性别决定中起什么样的作用?不同的性别决定类型在动物进化中的形成机制是什么?这些问题解决,需要采用现代生物学研究的多种方法和技术,通过对更多种类的动物进行研究,找到 GSD 和 ESD 机制之间共同拥有的级联通路,建立起动物性别决定机制的模型,才能彻底揭示性别决定的机理。这样,人类才有可能按照自己的意志控制动物的性别,为社会创造更多的经济效益。

## 参 考 文 献

- [ 1 ] 邓梓,王金星. 哺乳动物性别决定的分子要素. 动物学杂志,1998,33(5):51~55.
- [ 2 ] de Boer L E. Do the chromosomes of the kiwi provide evidence for a monophyletic origin of the ratites? *Nature*, 1980, **287**: 84~85.
- [ 3 ] Tiersch T R, Mitchell M J, Wachtel S S. Studies on the phylogenetic conservation of the SRY gene. *Hum Genet*, 1991, **87**:571~573.
- [ 4 ] Spotila J R, Spotila L D, Kaufner N F. Molecular mechanisms of TSD in reptiles: a search for the magic bullet. *J Exp Zool*, 1994, **270**:117~127.
- [ 5 ] Chardard D, Chesnel A, Gozic C, et al. Pw Sox-1: the first member of the Sox gene family in Urodeles. *Nucleic Acids Research*, 1993, **21**:35~76.
- [ 6 ] Coriat A M, Valleley E, Ferguson M W, et al. Chromosomal and temperature-dependent sex determination: the search for a conserved mechanism. *J Exp Zool*, 1994, **270**: 112~116.
- [ 7 ] Hawkins J R. Sex determination. *Hum Mol Genet*, 1992, **3**: 235~238.
- [ 8 ] 董金苟,朱嘉藻,关海山. 鱼类性别决定的遗传基础研究概况. 水产学报, 2003, **27**(2):169~176.
- [ 9 ] Robert H D, Yoshitaka N. Sex determination and sex differentiation in fish: an overview of genetic, physiological, and environmental influences. *Aquaculture*, 2002, **208**:191~364.
- [ 10 ] Römer U, Beisenherz W. Environmental determination of sex in *Apistogramma* (Cichlidae) and two other freshwater fishes (Teleostei). *J Fish Biol*, 1996, **48**(4): 714~725.
- [ 11 ] Patino R, Davis K B, Schoore J E, et al. Sex differentiation of channel catfish gonads: normal development and effects of temperature. *J Exp Zool*, 1996, **276**(3):209~218.
- [ 12 ] Hayes T B. Sex determination and primary sex differentiation in amphibians: genetic and developmental mechanisms. *J Exp Zool*, 1998, **281**(5):373~399.
- [ 13 ] Charnov E L, Bull J J. When is sex environmentally determined. *Nature*, 1977, **266**: 828~830.
- [ 14 ] 王培潮. 环境决定爬行动物性别决定的进展. 生态学报, 1989, **9**:84~90.
- [ 15 ] 焦保卫,王德寿,邓思平. 爬行动物温度依赖性性别决定研究进展. 动物学杂志, 2002, **37**(4):74~78.
- [ 16 ] 侯陵. 温度决定部分爬行动物的性别. 两栖爬行动物学报, 1988, **7**(3):70~74.
- [ 17 ] Bull J J. Sex determination in reptiles. *Q Rev Biol*, 1980, **55**(3):80~88.
- [ 18 ] Janzen F J, Paukstis G L. Environmental sex determination in reptiles: ecology, evolution, and experimental design. *Q Rev Biol*, 1991, **66**(2): 149~179.
- [ 19 ] Lang J W, Andrews H V. Temperature-dependent sex determination in crocodylians. *J Exp Zool*, 1994, **270**:28~44.
- [ 20 ] Ewert M A, Nelson C E. Sex determination in turtles: diverse patterns and some possible adaptive values. *Zool*, 1991, **270**: 3~15.
- [ 21 ] Bull J J. Temperature-sensitive periods of sex determination in a lizard: similarities with turtles and crocodylians. *J Exp Zool*, 1987, **241**:143~145.
- [ 22 ] Shine R. Why is sex determined by nest temperature in many reptiles? *Trends in Ecology and Evolution*, 1999, **14**(5):186~189.
- [ 23 ] 戈贤平,夏德全,俞菊华. 鱼类性别决定的研究进展. 中国水产科学, 2002, **9**(4): 371~374.
- [ 24 ] Janzen F J, Wilson M E, Tucker J K, et al. Endogenous yolk steroid hormones in turtles with different sex-determining mechanisms. *Gen Comp Endocrinol*, 1998, **111**(3): 306~

- 317.
- [25] Crews D. Temperature-dependent sex determination: the interplay of steroid hormones and temperature. *Zool Sci*, 1996, **13**:1 ~ 13.
- [26] Smith C A, Andrews J E, Sinclair A H. Gonadal sex differentiation in chicken embryos: expression of estrogen receptor and aromatase genes. *J Steroid Biochem*, 1997, **60**: 295 ~ 302.
- [27] Kitano T, Takamune K, Kobayashi T, *et al.* 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*, 1999, **23**(2): 167 ~ 176.
- [28] D'Cotta H, Fostier A, Guiguen Y, *et al.* Aromatase plays a key role during normal and temperature-induced sex differentiation of tilapia *Oreochromis niloticus*. *Mol Reprod Dev*, 2001, **59**(3): 265 ~ 276.
- [29] Piferrer F, Donaldson E M. Dosage-dependent differences in the effect of aromatizable and nonaromatizable androgens on the resulting phenotype of coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*). *Fish Physiol Biochem*, 1991, **9**:145 ~ 150.
- [30] Chardard D, Desvages G, Pican C, *et al.* Aromatase activity in larval gonads of *Pleurodeles walt* (Urodele Amphibia) during normal sex differentiation and during sex reversal by thermal treatment effect. *Gen Comp Endocrinol*, 1995, **99**: 100 ~ 107.
- [31] Desvages G, Girondot M, Pieau C. Sensitive stages for the effects of temperature on gonadal aromatase activity in embryos of the marine turtle *Dermochelys coriacea*. *Gen Comp Endocrinol*, 1993, **92**(1):54 ~ 61.
- [32] Murdock Chris, Wibbels Thane. Cloning and expression of aromatase in a turtle with temperature-dependent sex determination. *Gen Comp Endocrinol*, 2003, **130**(2):109 ~ 119.
- [33] Elbrecht A, Smith R G. Aromatase enzyme activity and sex determination in chickens. *Science*, 1992, **255**: 467 ~ 470.