

红耳龟关键温度可塑性：季节性变化与类固醇激素的双重影响

胡胜楠¹ 张嘉俊¹ 叶银子^{1,2*}

¹ 东北林业大学野生动物与自然保护地学院 哈尔滨 150040; ² 黑龙江省生物复杂性状与蛋白质机器重点实验室 哈尔滨 150040

摘要：气候变暖日益威胁依赖温度决定性别的爬行动物。其性别比 1:1 对应的孵化温度（即关键温度）不仅存在季节性变异，也受类固醇激素调控。本研究以红耳龟（*Trachemys scripta elegans*）为模型，探究了母体产卵季节差异及外源性类固醇激素处理对胚胎关键温度可塑性的调控机制。实验在产雄温度（26.0 °C）、中间温度（28.5 °C 和 29.0 °C）及产雌温度（31.0 °C）下孵化龟卵，并施加特定外源性类固醇激素处理（醛固酮、皮质醇、雌二醇、孕酮、双氢睾酮和睾酮）。结果显示：（1）繁殖季晚期胚胎热敏感性显著增强，其关键温度较繁殖季早期胚胎降低 0.62 °C，且性别决定过渡温度范围收窄 44%；（2）外源雌二醇与孕酮表现出强烈的雌化效应，即使在雄性化温度（26.0 °C）下仍可诱导 93.3%~96.7% 的雌性后代；（3）外源皮质醇与醛固酮可精细调节关键温度阈值（最大升高 0.30 °C）和性别决定过渡温度范围宽度（0.06~0.90 °C）；（4）尤为关键的是，外源睾酮在中间温度（28.5 °C 和 29.0 °C）下均表现出显著的雌化效应。综上，本研究揭示母体季节性产卵时间与胚胎对外源性激素信号的响应协同作用，通过动态校准热敏感性阈值（关键温度和性别决定过渡温度范围），显著改变了胚胎的性别决定响应模式。

关键词：红耳龟；温度依赖性性别决定；关键温度；类固醇激素

中图分类号：Q955 **文献标识码：**A **文章编号：**0250-3263 (2026) 03-376-09

Plasticity of pivotal temperatures in Red-eared Sliders (*Trachemys scripta elegans*): Dual effects of seasonal shift and steroid hormones

HU Sheng-Nan¹ ZHANG Jia-Jun¹ YE Yin-Zi^{1,2*}

¹ College of Wildlife and Protected Area, Northeast Forestry University, Harbin 150040;

² Heilongjiang Key Laboratory of Complex Traits and Protein Machines in Organisms, Harbin 150040, China

Abstract: [Objectives] Temperature-dependent sex determination (TSD) in reptiles is increasingly threatened by climate warming. The pivotal temperature (T_{piv}) for the 1:1 sex ratio of reptiles shows seasonal variations

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 32371570, 32101252), 黑龙江省自然科学基金优秀青年项目 (No. YQ2023C022), 中国科协青年人才托举工程项目 (No. 2022QNRC001);

* 通信作者, E-mail: yexinyinzi@foxmail.com;

第一作者介绍 胡胜楠, 女, 硕士研究生; 研究方向: 两爬动物的温度感知机制; E-mail: 1375097388@qq.com.

收稿日期: 2025-07-08, 修回日期: 2025-09-10 DOI: 10.13859/j.cjz.202625128 CSTR: 32109.14.cjz.202625128

and is regulated by steroid hormones. **[Methods]** Using *Trachemys scripta elegans* as a model, this study explored how maternal laying-season differences and exogenous steroid hormone treatment affected the plasticity of embryos' critical temperature. Turtle eggs were incubated at male-producing (26.0 °C), intermediate (28.5 °C and 29.0 °C), and female-producing (31.0 °C) temperatures, with specific exogenous steroid-hormone treatments (aldosterone, cortisol, estradiol, progesterone, dihydrotestosterone, and testosterone). Inter-group differences in female sex ratio were assessed by Chi-square tests. On the basis of temperature-dependent sex ratio data, binary logistic regression models were adopted to fit the temperature-sex response curves, from which the T_{piv} and the transitional range of temperatures (T_{RT} , producing 25% ~ 75% females) were estimated. **[Results]** (1) Late-season embryos had higher heat sensitivity, with T_{piv} 0.62 °C lower and T_{RT} 44% narrower than early-season embryos (Fig. 2). (2) Exogenous estradiol and progesterone had strong feminizing effects (Table 2), inducing 93.3% ~ 96.7% female offspring even at the male-producing temperature (26.0 °C). (3) Exogenous cortisol and aldosterone finely regulated T_{piv} thresholds (max $\Delta T_{\text{piv}} = +0.30$ °C) and T_{RT} widths (0.06 ~ 0.90 °C) (Fig. 3). (4) Crucially, exogenous testosterone showed significant feminizing effects at intermediate temperatures (28.5 °C and 29.0 °C, Table 2). **[Conclusion]** This study shows that maternal seasonal laying time and embryo responses to exogenous hormone signals work together, dynamically adjusting heat-sensitivity thresholds (T_{piv} and T_{RT}) to significantly change embryo sex-determination patterns.

Key words: *Trachemys scripta elegans*; Temperature-dependent sex determination; Pivotal temperature; Steroid hormone

爬行动物演化形成的温度依赖性性别决定 (temperature-dependent sex determination, TSD) 机制, 其核心在于胚胎发育温度敏感期 (temperature sensitive period, TSP) 内巢温对性别分化的精确调控 (Bull et al. 1979, Viets et al. 1993, Valenzuela and Lance 2004)。该机制虽在稳定气候中具有适应性优势, 但对巢温的高度依赖使其在气候变暖背景下尤为脆弱——这种威胁已在多个类群中得到广泛证实 (Hawkes et al. 2010, Lockley and Eizaguirre 2021)。温度依赖性性别决定 (TSD) 系统主要分为 TSD I 与 TSD II 两类, TSD Ia 类群 (如龟鳖目) 表现为高温产雌、低温产雄; TSD Ib 类群 (如喙头蜥) 则呈现相反模式; 而 TSD II 类群 (如有鳞目、鳄目) 则在中间温度产雄, 两侧极端温度产雌 (Merchant-Larios and Díaz-Hernández 2013)。解析 TSD 的核心在于两个关键热响应参数: 产生 1:1 性别比的 thresholds——关键温度 (pivotal temperature,

T_{piv}), 以及产生混合性别的狭窄温度区间——过渡温度范围 (transition range temperature, T_{RT}) (Bull and Vogt 1979, Valenzuela and Lance 2019)。

值得注意的是, 关键温度 (T_{piv}) 并非恒定值。在小鳄龟 (*Chelydra serpentina*) (Ewert et al. 2006)、锦龟 (*Chrysemys picta*) (Bowden et al. 2000) 及红耳龟 (*Trachemys scripta elegans*) (Carter et al. 2016) 等物种中, 均观察到关键温度 (T_{piv}) 随季节和地理分布的动态变化。这些波动与卵黄内母源类固醇激素 (如雌二醇、睾酮) 浓度变化高度关联。尽管在小鳄龟 (St. Juliana et al. 2004) 和石龙子 (*Bassiana duperreyi*) (Radder et al. 2007) 中有研究未发现卵黄类固醇与子代性别比的直接联系, 但类固醇激素作为发育关键调控因子, 广泛参与代谢、稳态及性分化过程 (Radder 2007, Valli et al. 2023)。更重要的是, 实验研究明确证实, 外源性类固醇激素可直接干预脊椎动物的性别

决定路径。例如，雌二醇在多种脊椎动物中能够显著提高雌性比例（Ramsey and Crews 2007）；睾酮在龟鳖类中也表现出明显的促雌作用（Fernandino et al. 2012）；而皮质酮和醛固酮则在鱼类和爬行类中可促进雄性个体的形成（Wibbels and Crews 1995, Crews 1996, Ye et al. 2025）。这引出一个关键科学问题：在气候变暖压力下，胚胎对外源性类固醇激素信号的响应，是否构成关键温度（ T_{piv} ）和过渡温度范围（ T_{RT} ）可塑性调整的内在机制？

近期研究进一步揭示，胚胎的体温调节行为可影响其发育轨迹，包括针对亚致死热波动的性别比例调整（Du et al. 2011, Li et al. 2014, Ye et al. 2019）。胚胎在接近 T_{piv} 时通过行为调整展现出部分补偿能力，暗示热感应可能与内分泌反馈相耦合。然而，传统实验方法多采用恒温或宽温度梯度（2~4 °C 间隔），难以精确模拟自然环境中的微尺度温度波动（ $\Delta T \leq 0.5$ °C）。广泛使用的恒定温度等效（constant temperature equivalent, CTE）模型在量化此类微波动下的阈值效应方面存在局限，且微尺度温度波动与母体季节性供给（如激素水平）之间的协同调控机制尚待阐明。

为解决上述问题，本研究选取 TSD Ia 型模式物种红耳龟，分别以 26、28.5、29 和 31 °C 为孵化温度开展实验。通过整合母体产卵季节（早期 vs. 晚期）因子与外源性类固醇激素干预（包括醛固酮、皮质醇、雌二醇、孕酮、双氢睾酮、睾酮），重点探究：季节性差异如何动态重塑胚胎的 T_{piv} 和 T_{RT} ？何种特定外源性类固醇激素主导微尺度（<0.5 °C）温度波动下的 T_{piv} 与 T_{RT} 可塑性？

本文通过融合生态相关的温度模拟（包括关键阈值点及微波动环境）与外源激素干扰，旨在揭示母体季节性信号与胚胎激素响应协同调控温度依赖性性别决定（TSD）热敏感性的机制，为理解 TSD 物种应对气候变暖的潜在适应能力提供新视角。

1 材料与方法

1.1 样品收集、激素处理和孵化

本研究严格遵守东北林业大学动物伦理规范（批号：2023071）。于 2024 年繁殖季的早期（5 月）和晚期（7 月），从湖南某龟类养殖场采集新产红耳龟卵，共计 126 窝 957 枚龟卵，其中，5 月 15 窝 114 枚龟卵，7 月 11 窝 843 枚龟卵。按窝源标记后，立即运抵哈尔滨实验室。将单枚卵置于装有湿润蛭石（水势调节至 -220 kPa）的 80 ml 独立塑料杯中。使用恒温培养箱（上海智城分析仪器制造有限公司，ZXSD-R1430）在预设的关键温度点下孵化：产雄温度（26.0 °C）、中间温度（28.5 °C 和 29.0 °C）及产雌温度（31.0 °C）。孵化全程使用标准温度计进行连续监测，确保温度波动不超过 ± 0.1 °C。为探究早期和晚期繁殖季节对幼体性别比例的影响，本研究分别在早期繁殖季节（5 月，15 窝）和晚期繁殖季节（7 月，14 窝）将每一窝内的龟卵均匀分配至 26.0 °C、28.5 °C、29.0 °C、31.0 °C 四个温度中进行恒温孵化，以观察幼体性别比例情况。另 97 窝晚期卵也均匀分配至 26.0 °C、28.5 °C、29.0 °C、31.0 °C 四个温度中进行恒温孵化，在胚胎发育至第 15 期（Yntema 1968）（即胚胎发育温度敏感期 TSP 的关键窗口），再将不同温度下的卵随机分组至不同激素处理组，各处理组样本量见表 1。对照组在卵表面一次滴加 10 μl 二甲亚砜（dimethylsulfoxide, MedChemExpress 生物科技公司，美国，货号 HY-Y0320）。激素处理组滴加溶解于二甲亚砜中的 10 $\mu\text{mol/L}$ 外源性类固醇激素，同样滴加 10 μl ，滴加浓度依据前期已发表论文（Ye et al. 2025）。所用激素种类及来源如下：醛固酮（aldosterone，货号 HY-113313）、皮质醇（cortisol，货号 HY-N0583）、雌二醇（17 β -estradiol，货号 HY-B0141）、孕酮（progesterone，货号 HY-N0437）均来源于美国 MedChemExpress 生物科技公司，双氢睾酮

（dihydrotestosterone，货号 D-073）和睾酮（testosterone，货号 T5411）均来源于 Supelco，德国默克集团。

表 1 不同温度、类固醇激素处理下各样本量情况

Table 1 Sample sizes under different temperature and steroid hormone treatments

产卵季节（月份） Spawning season (month)	孵化温度（℃） Incubation temperature	激素处理 Hormone treatment	样本量 Sample size (ind)
5 月 May	26.0	二甲亚砜	27
	28.5	Dimethylsulfoxide	29
	29.0		29
	31.0		29
7 月 July	26.0	二甲亚砜	31
	28.5	Dimethylsulfoxide	31
	29.0		30
	31.0		30
7 月 July	26.0	醛固酮	31
	28.5	Aldosterone	31
	29.0		30
	31.0		30
	26.0	皮质醇	30
	28.5	Cortisol	30
	29.0		29
	31.0		29
	26.0	雌二醇	30
	28.5	Estradiol	30
	29.0		29
	31.0		29
	26.0	孕酮	30
	28.5	Progesterone	30
	29.0		30
	31.0		29
	26.0	双氢睾酮	31
	28.5	Dihydrotestosterone	30
	29.0		30
	31.0		30
	26.0	睾酮	31
	28.5	Testosterone	31
	29.0		31
	31.0		30

1.2 幼体饲养及性别鉴定

孵出幼龟饲养于塑料箱（150 mm × 100 mm × 60 mm）中，温度控制为 28.0 ℃，光周期 12L：12D，每日投喂商业饲料（广州命脉宠物用

品有限公司）。饲养至 3 月龄时，根据解剖后性腺形态鉴定性别（Pieau et al. 1999）。

1.3 统计分析

所有统计分析在 IBM SPSS Statistics 27.0 软件中进行，显著性水平设定为 $\alpha = 0.05$ 。不同处理组（季节、温度、激素）间雌性后代比例的差异，使用卡方检验。基于不同温度下的雌性比例数据，利用二元 Logistic 回归模型拟合温度-性别反应曲线，估算 T_{piv} （雌性比例 50%）及 T_{RT} （雌性比例 25% ~ 75% 对应温度范围）。

2 结果

2.1 热敏感性的季节性变异

早期繁殖季（5 月）胚胎对 0.5 ℃温差（28.5 ℃ vs. 29.0 ℃）的响应较弱，雌性比例无显著变化（28.5 ℃ 17.24% vs. 29.0 ℃ 20.69%， $\chi^2_{1,58} = 0.112$ ， $P = 1.00$ ）。而晚期繁殖季（7 月）胚胎则表现出显著的热敏感性：当温度从 28.5 ℃ 升至 29.0 ℃ 时，雌性比例从 25.81% 急剧升高至 76.67%（ $\chi^2_{1,61} = 15.779$ ， $P < 0.001$ ）。极端温度下，两个季节均维持严格的热阈值——26.0 ℃ 时无雌性个体（5 月：0/27；7 月：0/31），31.0 ℃ 时雌性比例为 100%（5 月：29/29；7 月：30/30）（图 1）。Logistic 回归分析进一步揭示，关键温度（ T_{piv} ）从早期季的 29.36 ℃ 左移至晚期季的 28.74 ℃（ $\Delta T_{piv} = -0.62$ ℃）。同时，晚期季胚胎的过渡温度范围（ T_{RT} ）显著收窄，从早期季的 0.88 ℃ 压缩至 0.49 ℃（降幅达 44%），表明其温度-性别响应曲线斜率更为陡峭（图 2）。这些结果共同证实，母体产卵时间差异动态调控胚胎热敏感性，导致晚期季胚胎 T_{piv} 阈值降低且性别决定窗口变窄。

2.2 不同温度下类固醇激素对性比的影响

在雄性化温度（26.0 ℃）下，雌二醇与孕酮展现出压倒性雌化效应，分别诱导 96.7%（雌二醇， $\chi^2_{1,61} = 60.00$ ， $P < 0.001$ ）和 93.3%（孕酮， $\chi^2_{1,61} = 53.48$ ， $P < 0.001$ ）雌性，而其他激

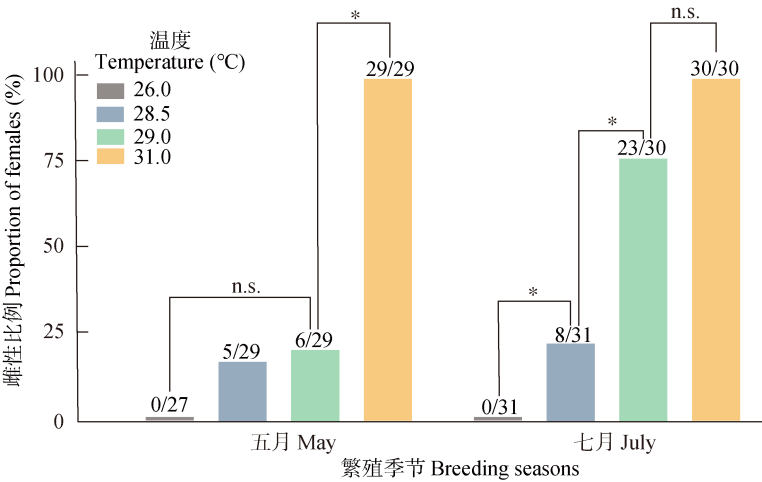


图 1 不同繁殖季节幼体性别比例

Fig. 1 Sex ratios of hatchlings from different breeding seasons

包含 26.0 °C、28.5 °C、29.0 °C 和 31.0 °C 孵化处理的柱状图。柱上方的数字表示每个处理中雌性幼体数/幼体总数。* 组间差异显著, $P < 0.05$; n.s. 组间差异不显著, $P > 0.05$

Incubation treatments included 26.0 °C, 28.5 °C, 29.0 °C and 31.0 °C. Numbers above the bars are the number of females / total number of hatchlings in each treatment. * $P < 0.05$ between groups; n.s. $P > 0.05$ between groups

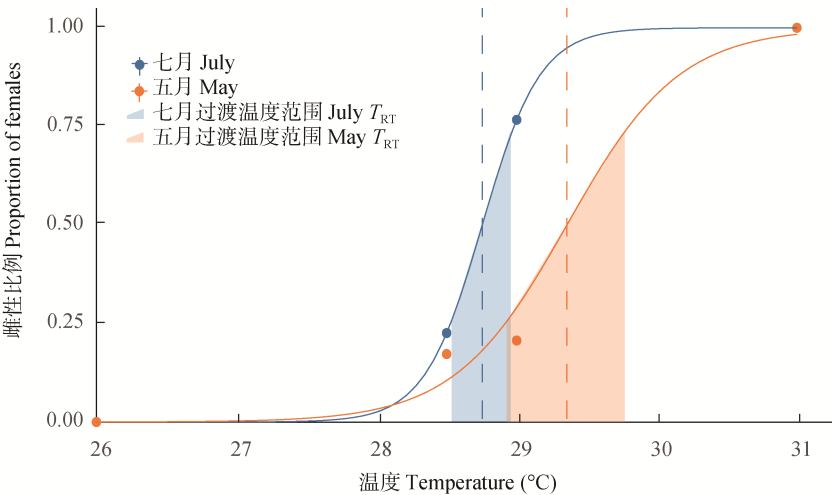


图 2 5 月 (橙色线) 和 7 月 (蓝色线) 幼体性别热响应曲线

Fig. 2 Sex ratio response curves of hatchlings in May (orange line) and July (blue line)

实线代表广义线性模型 (GLM) 预测, 阴影区域表示 25%~75% 过渡温度范围 (T_{RT})。虚线标记每个季节的关键温度 (T_{piv})。

Solid lines represent generalized linear model (GLM) predictions, and shaded areas indicate 25% ~ 75% transition range of temperatures (T_{RT}). Dashed lines mark pivotal temperature (T_{piv}) for each season.

素 (醛固酮、皮质醇、双氢睾酮、睾酮) 未显著改变性别比。在近阈值温度区 (28.5 °C 和 29.0 °C), 激素调控呈现复杂层级: 醛固酮显著抑制雌化, 使 28.5 °C 和 29.0 °C 的雌性比例

分别降至 3% ($\chi^2_{1,62} = 6.37, P = 0.021$) 和 43.3% ($\chi^2_{1,60} = 6.94, P = 0.008$); 皮质醇的雄性化效应随温度升高而增强: 在 28.5 °C 完全阻断雌性发生 (0%, $\chi^2_{1,61} = 8.91, P = 0.003$), 在 29.0 °C

使雌性比例降低 24.1% ($\chi^2_{1, 59} = 16.28, P < 0.001$)；双氢睾酮在 28.5 °C 对性比无影响（雌性 26.7%， $\chi^2_{1, 61} = 0.01, P = 0.939$ ），但在 29.0 °C 显著降低雌性比例，由对照组的 76.7% 降至 46.7% ($\chi^2_{1, 60} = 5.71, P = 0.017$)；而睾酮在 28.5 °C 能提高雌性比例（雌性 51.6%， $\chi^2_{1, 62} = 4.35, P = 0.037$ ），在 29.0 °C 性比结果与对照组无差异（83.9%， $\chi^2_{1, 61} = 0.50, P = 0.479$ ）。雌二醇与孕酮在 28.5 °C 和 29.0 °C 均诱导大于等于 96.7% 雌性（28.5 °C：雌二醇， $\chi^2_{1, 61} = 32.64, P < 0.001$ ；孕酮， $\chi^2_{1, 62} = 32.08, P < 0.001$ ；29.0 °C：雌二醇， $\chi^2_{1, 59} = 7.68, P = 0.006$ ；孕酮， $\chi^2_{1, 60} = 5.19, P = 0.023$ ）。在雌性化温度（31.0 °C）下，所有激素处理均无法覆盖温度信号，各组均产生 100% 雌性后代（表 2），证实极端高温下温度的主导地位。

表 2 不同类固醇激素处理对幼体性别比例的影响及统计检验结果

Table 2 Sex ratios of hatchlings under different steroid hormone treatments

处理 Treatment	雌性 (ind) Females	雄性 (ind) Males	总计 (ind) Total	雌性比例 (%) Proportion of females	卡方值 Chi-square	P 值 P-value
26.0 °C						
对照组 Control	0	31	31	0.0		
醛固酮 Aldosterone	0	31	31	0.0	0.00	1.000
皮质醇 Cortisol	0	30	30	0.0	0.02	0.898
双氢睾酮 Dihydrotestosterone	0	31	31	0.0	0.00	1.000
雌二醇 Estradiol	29	1	30	96.7	60.00	< 0.001
孕酮 Progesterone	28	2	30	93.3	53.48	< 0.001
睾酮 Testosterone	0	31	31	0.0	0.00	1.000
28.5 °C						
对照组 Control	8	23	31	25.8	-	-
醛固酮 Aldosterone	1	30	31	3.0	6.37	0.012
皮质醇 Cortisol	0	30	30	0.0	8.91	0.003
双氢睾酮 Dihydrotestosterone	8	22	30	26.7	0.01	0.939
雌二醇 Estradiol	30	0	30	100.0	32.64	< 0.001
孕酮 Progesterone	29	1	30	96.7	32.08	< 0.001
睾酮 Testosterone	16	15	31	51.6	4.35	0.037
29.0 °C						
对照组 Control	23	7	30	76.7	-	-
醛固酮 Aldosterone	13	17	30	43.3	6.94	0.008
皮质醇 Cortisol	7	22	29	24.1	16.28	< 0.001
双氢睾酮 Dihydrotestosterone	14	16	30	46.7	5.71	0.017
雌二醇 Estradiol	29	0	29	100.0	7.68	0.006
孕酮 Progesterone	29	1	30	96.7	5.19	0.023
睾酮 Testosterone	26	5	31	83.9	0.50	0.479
31.0 °C						
对照组 Control	30	0	30	100.0	-	-
醛固酮 Aldosterone	30	0	30	100.0	0.00	1.000
皮质醇 Cortisol	29	0	29	100.0	0.02	0.896
双氢睾酮 Dihydrotestosterone	30	0	30	100.0	0.00	1.000
雌二醇 Estradiol	29	0	29	100.0	0.02	0.896
孕酮 Progesterone	29	0	29	100.0	0.02	0.896
睾酮 Testosterone	30	0	30	100.0	0.00	1.000

雌性、雄性、总计栏中的数据单位为个体数。卡方值和 P 值表示各处理组与对照组性别比例差异的显著性检验结果。对照组作为比较基准，其卡方值和 P 值栏用 “-” 表示不适用。

Data in female, male, and total columns are presented as number of individuals (*n*). Chi-square values and *P* values represent the results of significance tests for differences in sex ratio between each treatment group and the control group. A dash (-) indicates that the value is not applicable as the control group serves as the reference for comparison.

2.3 激素对关键温度 (T_{piv}) 的特异性调节

雌二醇与孕酮因诱导全雌性群体, 导致其 T_{piv} 和 T_{RT} 无法测算。与 7 月对照组 (T_{piv} : 28.74 °C; T_{RT} : 0.49 °C) 相比, 皮质醇使 T_{piv} 向高温方向 (定义为右移) 显著移动了 0.29 °C 至 29.03 °C, 同时将 T_{RT} 压缩至 0.06 °C; 醛固酮引起中度 T_{piv} 右移 (29.04 °C, $\Delta T_{piv} = +0.30$ °C) 和 T_{RT} 收窄 (0.35 °C); 双氢睾酮使 T_{RT} 扩宽至 0.90 °C 而 T_{piv} 微幅右移 (28.99 °C); 睾酮则驱动 T_{piv} 向低温方向 (定义为左移) 移动了 0.26 °C 至 28.48 °C, 并扩大 T_{RT} 至 0.68 °C。热响应曲线 (图 3) 进一步揭示: 醛固酮与皮质醇通过降低 28.5 °C 和 29.0 °C 的雌性比例实现阈值调控; 睾酮则在 28.5 °C 提高雌性比例 (雌性 51.6%), 而在 29.0 °C 维持雌性优势 (83.9%)。

3 讨论

本研究系统解析了红耳龟温度依赖性性别决定中母体季节性适应与外源性类固醇激素的调控机制。结果表明, 繁殖季节差异动态重塑胚胎热敏感性阈值: 晚期繁殖季 (7 月) 胚胎的 T_{piv} 显著降低 ($\Delta T_{piv} = -0.62$ °C), 且 T_{RT} 压缩 44%, 暗示母体通过调控胚胎热响应曲线以应对季节性温度波动。这一发现与 Carter 等 (2016) 在红耳龟中观察到的 T_{piv} 季节性偏移模式一致, 提示降低雌性化热阈值可能是应对早期繁殖季温度不稳定性的保守策略。然而, 在气候变暖背景下, 该策略可能加剧种群风险: 夏季极端高温事件频发 (IPCC 2023) 与收窄的 T_{RT} (0.49 °C) 结合, 可能大幅压缩雄性产生的温度窗口, 导致种群性别结构失衡。

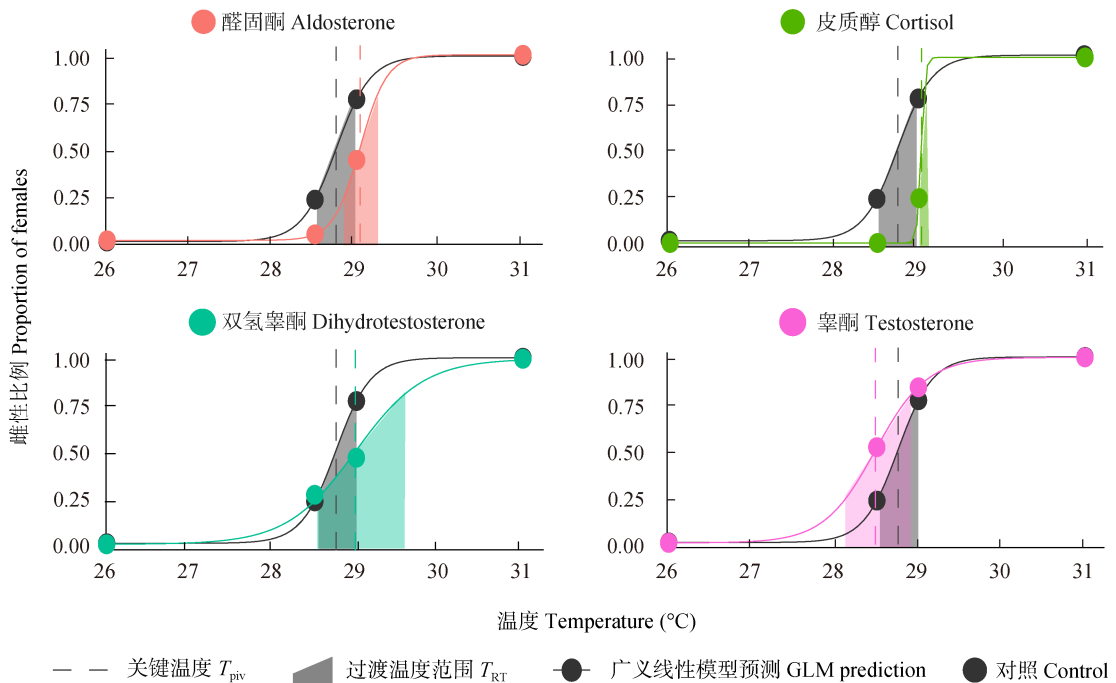


图 3 类固醇激素处理幼体的性别比例热响应曲线

Fig. 3 Sex ratio response curves of hatchlings incubated with steroid hormones

实线代表 GLM 模型预测, 虚线标记各处理的 T_{piv} , 阴影区域表示 25%~75% T_{RT} 范围。灰色实线和虚线代表 7 月对照组。

Solid lines represent GLM predictions. Dashed lines mark T_{piv} and shaded areas indicate 25%~75% T_{RT} for each treatment. Grey solid and dashed lines indicate July as the control group.

外源性类固醇激素对 TSD 的调控呈现显著层级性。第一，雌性化主导：雌二醇与孕酮在雄性化温度（26.0 °C）及中间温度（28.5 ~ 29.0 °C）均诱导不低于 96.7% 的雌性后代，其强效雌化作用完全覆盖温度信号，证实二者在 TSD 通路中的核心地位。第二，温度依赖的雄性化：肾上腺皮质激素（皮质醇、醛固酮）在近 T_{piv} 温度（29.0 °C）显著降低雌性比例（24.1% ~ 43.3%），其机制可能与激活糖皮质激素受体（NR3C1）（Johnson et al. 2024）及下游雄性化基因 *DMRT1* 有关（Adolfi et al. 2019）。皮质醇在硬骨鱼中被证实可介导环境-性别信号转导（Hattori et al. 2009）；另一方面，我们的前期研究表明，醛固酮能够通过结合红耳龟的 NR3C1 受体激活 *DMRT1* 的表达（Ye et al. 2025）。这些结果进一步凸显了这类激素在脊椎动物性别决定通路中的进化保守性。这类激素在硬骨鱼中同样被证实可介导环境-性别信号转导（Hattori et al. 2009），凸显其在脊椎动物性别决定中的进化保守性。睾酮通过芳香化转化为雌激素，在 28.5 °C 平衡性别比（雌性 51.6%）而在 29.0 °C 维持雌性优势（83.9%）；不可芳香化的双氢睾酮则显著提高雄性比例（28.5 °C 雄性 73.3%， $P < 0.01$ ）。这揭示睾酮在红耳龟中主要作为雌激素前体，而非经典雄激素受体配体。激素处理对 T_{piv} 和 T_{RT} 的调控模式各异，肾上腺皮质激素通过右移 T_{piv} ($\Delta T_{piv} \approx +0.30$ °C) 并压缩 T_{RT} (0.06 ~ 0.35 °C)，强化温度信号的雄性化输出；双氢睾酮扩宽 T_{RT} 至 0.90 °C 而维持 T_{piv} 稳定，睾酮则左移 T_{piv} 至 28.48 °C 并扩大 T_{RT} (0.68 °C)，反映其通过不同分子路径干扰性别决定。

本研究建立“季节-激素-温度”互作模型，阐明母体产卵时间与外源性激素信号协同校准 T_{piv} 和 T_{RT} 的机制。该模型为预测 TSD 物种响应气候变暖的敏感性提供了新工具，在政府间气候变化专门委员会（Intergovernmental Panel on Climate Change, IPCC）采用的共享社会经济路径 2-中等辐射强迫情景（SSP2-4.5）

下（即全球升温约 2.7 °C），晚期繁殖季种群因 T_{RT} 收窄与 T_{piv} 降低，可能面临更早的雌性化崩溃风险。肾上腺皮质激素的雄性化效应提示，环境压力（如应激）可能通过内源性皮质醇释放间接调控性别比例，这需通过测量自然繁殖巢穴中激素-温度耦合动态进一步验证。未来研究需结合转录组学与表观遗传分析，解析激素-TSD 通路的关键节点（如 NR3C1、CYP19A1）。

参 考 文 献

- Adolfi M C, Fischer P, Herpin A, et al. 2019. Increase of cortisol levels after temperature stress activates *dmrt1a* causing female-to-male sex reversal and reduced germ cell number in medaka. *Molecular Reproduction and Development*, 86(10): 1405–1417.
- Bowden R M, Ewert M A, Nelson C E. 2000. Environmental sex determination in a reptile varies seasonally and with yolk hormones. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 267(1454): 1745–1749.
- Bull J J, Vogt R C. 1979. Temperature-dependent sex determination in turtles. *Science*, 206(4423): 1186–1188.
- Carter A W, Bowden R M, Paitz R T. 2016. Seasonal shifts in sex ratios are mediated by maternal effects and fluctuating incubation temperatures. *Functional Ecology*, 31(4): 876–884.
- Crews D. 1996. Temperature-dependent sex determination: the interplay of steroid hormones and temperature. *Zoological Science*, 13(1): 1–13.
- Du W G, Zhao B, Chen Y, et al. 2011. Behavioral thermoregulation by turtle embryos. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 108(23): 9513–9515.
- Ewert M A, Lang J W, Nelson C E. 2005. Geographic variation in the pattern of temperature-dependent sex determination in the American snapping turtle (*Chelydra serpentina*). *Journal of Zoology*, 265(1): 81–95.
- Fernandino J I, Hattori R S, Kishii A, et al. 2012. The cortisol and androgen pathways cross talk in high temperature-induced masculinization: the 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase as a key enzyme. *Endocrinology*, 153(12): 6003–6011.
- Hattori R S, Fernandino J I, Kishii A, et al. 2009. Cortisol-induced

- masculinization: does thermal stress affect gonadal fate in pejerrey, a teleost fish with temperature-dependent sex determination? *PLoS One*, 4(8): e6548.
- Hawkes L A, Broderick A C, Godfrey M H, et al. 2007. Investigating the potential impacts of climate change on a marine turtle population. *Global Change Biology*, 13(5): 923–932.
- IPCC. 2023. Climate Change 2023: Synthesis Report (IPCC: Geneva, Switzerland). [EB/OL]. [2023-03-20]. https://www.ipcc.ch/report/ar6/syr/downloads/report/IPCC_AR6_SYR_LongerReport.pdf.
- Johnson T A, Fettweis G, Wagh K, et al. 2024. The glucocorticoid receptor potentiates aldosterone-induced transcription by the mineralocorticoid receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 121(47): e2413737121.
- Li T, Zhao B, Zhou Y K, et al. 2014. Thermoregulatory behavior is widespread in the embryos of reptiles and birds. *The American Naturalist*, 183(3): 445–451.
- Lockley E C, Eizaguirre C. 2021. Effects of global warming on species with temperature-dependent sex determination: Bridging the gap between empirical research and management. *Evolutionary Applications*, 14(10): 2361–2377.
- Merchant-Larios H, Díaz-Hernández V. 2013. Environmental sex determination mechanisms in reptiles. *Sexual Development*, 7(1/3): 95–103.
- Picau C, Dorizzi M, Richard-Mercier N. 1999. Temperature-dependent sex determination and gonadal differentiation in reptiles. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 55(6/7):887–900.
- Radder R, Ali S, Shine R. 2007. Offspring sex is not related to maternal allocation of yolk steroids in the lizard *Bassiana duperreyi* (Scincidae). *Physiological and Biochemical Zoology*, 80(2): 220–227.
- Radder R S. 2007. Maternally derived egg yolk steroid hormones and sex determination: Review of a paradox in reptiles. *Journal of Biosciences*, 32(2): 1213–1220.
- Ramsey M, Crews D. 2007. Steroid signaling system responds differently to temperature and hormone manipulation in the red-eared slider turtle (*Trachemys scripta* Elegans), a reptile with temperature-dependent sex determination. *Sexual Development*, 1(3): 181–196.
- St. Juliana J R, Bowden R M, Janzen F J. 2004. The impact of behavioral and physiological maternal effects on offspring sex ratio in the common snapping turtle, *Chelydra serpentina*. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 56(3): 270–278.
- Valenzuela N, Lance V. 2004. Temperature-Dependent Sex Determination in Vertebrates. Washington D.C.: Smithsonian Institution Scholarly Press, 211–227.
- Valli F E, Simoncini M S, González M A, et al. 2023. How do maternal androgens and estrogens affect sex determination in reptiles with temperature-dependent sex? *Development, Growth & Differentiation*, 65(9): 565–576.
- Viets B E, Tousignant A, Ewert M A, et al. 1993. Temperature-dependent sex determination in the leopard gecko, *Eublepharis macularius*. *The Journal of Experimental Zoology*, 265(6): 679–683.
- Wibbels T, Crews D. 1995. Steroid-induced sex determination at incubation temperatures producing mixed sex ratios in a turtle with TSD. *General and Comparative Endocrinology*, 100(1): 53–60.
- Ye Y Z, Li J M, Li W M, et al. 2025. Transcriptional control of male-specific pathway in temperature-dependent sex determination. *Science Bulletin*, 70(20): 3371–3381.
- Ye Y Z, Ma L, Sun B J, et al. 2019. The embryos of turtles can influence their own sexual destinies. *Current Biology*, 29(16): 2597–2603.e4.
- Yntema C L. 1968. A series of stages in the embryonic development of *Chelydra serpentina*. *Journal of Morphology*, 125(2): 219–251.