

# 鱼类性别决定的研究进展

戈贤平, 夏德全, 俞菊华

(中国水产科学研究院 淡水渔业研究中心, 江苏 无锡 214081)

**摘要:**有关鱼类性别决定的研究主要集中在温度、性激素、芳香化酶以及随机重复序列、核受体基因等对性别分化的调控方面。由于鱼类所处分类地位较低, 生活环境千差万别, 鱼类性别决定没有一个普遍的模式, 目前研究的鱼类又各不相同, 因此象哺乳动物那样的性别决定级联模式还未能阐述。本综述旨在阐述近几年有关鱼类性别决定机制方面的研究动态和进展, 为系统研究鱼类性别决定机制提供参考。

**关键词:** 鱼类; 性别决定; 温度; 性激素; Y-H 抗原; 性别基因

**中图分类号:** Q959.4

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1005-8737(2002)04-0371-04

鱼类生殖腺无皮质和髓质之分, 其两性输卵管的来源和结构也各不相同, 有些鱼, 如板鳃类和其他较高等脊椎动物的生殖导管一脉相承, 即雄性输精管为伍氏管, 米氏管退化, 而雌性则伍氏管退化, 输卵管为米氏管; 但有些鱼如硬骨鱼类则不同, 其输卵管是由生殖腺本身伸出1根槽形管道, 再与相邻的体腔壁贴合而成, 或仅由生殖腺本身发生的管子向后伸长, 直达生殖孔, 而不依靠任何合作。由于硬骨鱼类性腺没有双重起源以及鱼类生活环境千差万别, 决定了鱼类性别类型也多种多样。根据性腺功能可分为雌雄同体, 雌雄异体。Yamamoto<sup>[1]</sup>根据性别稳定性又把雌雄异体分为分化型或未分化型性别。Saitoh<sup>[2]</sup>报道了泥鳅存在多性别染色体系统。Yamazaki<sup>[1]</sup>则更明确地提出, 大部分没有性染色体的鱼类, 其常染色体所具有的雄性或雌性异配性别基因不仅可以使后代雌雄性别出现1:1的比率, 而且可以产生性功能上的雌雄同体。但直到20世纪90年代, 随着分子生物学的发展及人类性别决定基因位点的确定和克隆, 鱼类性别决定基因的研究才全面展开。

## 1 温度对鱼类性别的影响

鱼类性别由基因型决定, 但可受外界环境的影响, 如温度、光照、水质、个体密度、社会因素等都能在不同程度上影响鱼类的性别, 其中研究较多且普遍认同的是温度的影响, 越来越多的鱼类被证明其性别决定受温度和基因双重调节。在一些极端温度下, 温度能凌驾于基因型上导致性别转变。

收稿日期: 2001 09 28.

作者简介: 戈贤平(1963-), 男, 副研究员, 南京农业大学在读博士, 从事水产养殖研究。

如月银汉鱼(*Menidia menidia*) 在低温条件下子代雌性偏多<sup>[3]</sup>。Carlosa<sup>[4]</sup>研究了2种银汉鱼 *O. bonariensis* 和 *P. hatchery*, 发现 *O. bonariensis* 仔鱼在13~19℃时得到100%雌鱼, 25℃则29.4%为雌鱼, 27℃时则只有10%为雌鱼, 29℃时没有雌鱼; *P. hatchery* 在13℃和15℃时雌鱼占88.9%和89.5%, 17℃和23℃间雌鱼占50%; 25℃雌鱼为30.8%。欧洲海鲈(*Dicentrarchus Labrax*) 低温下雌性偏多<sup>[5]</sup>。Baroiller等<sup>[6]</sup>在尼罗罗非鱼(*Tilapia nilotica*) 性激素敏感期(不晚于受精后13d)以36℃的高温处理鱼持续10d或更长时, 得到的鱼雄性比例由53%增加到81%, 在27℃下雌雄比例为1:1, 34℃下雄性比例不明显增加。Patino<sup>[7]</sup>对斑点叉尾鲷(*Ictalurus punctatus*) 的性腺发育和温度对性别比的影响也作了研究, 发现该鱼的雌性分化早于雄性, 雌性在受精后第19天已有分化迹象, 到第22天可看到减数分裂; 雄性精巢的形成在受精后90~102d。把受精后10d的鱼分别养殖在温度为20、27和34℃14d, 以后养殖温度保持在27℃, 直到102d时鉴定性别。结果养殖温度在20、27℃的鱼类性别比不受影响, 在34℃则雌性偏多, 这和上述低温下雌性偏多不同。

温度在各种鱼的反应不同, 这也许是长期适应环境的结果。Kitano等<sup>[8-9]</sup>对日本比目鱼的研究发现, 温度能影响芳香化酶基因的表达, 但温度作用的分子机制还有待于研究, 以利今后更好地利用于生产实践。

## 2 性激素的定向诱导

性激素能定向诱导鱼类性腺分化已被普遍认同, 一般雌激素(如17 $\beta$ -雌二醇、雌酮等)是雌性诱导者, 雄激素(如甲基睾丸酮等)是雄性诱导者。但这并不是普遍规律, 在有的

鱼基因型为雌性的很难向雄性逆转。因此性激素的作用途径是影响正常性腺分化中的某一成份还是干扰正常的生化反应尚需研究。

### 3 H-Y 抗原

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

对鱼类 H-Y 抗原的研究发现较低等的鱼类如等椎类的鲑科鱼类及骨鳞类的鲤科鱼类, H-Y 抗原在雌雄鱼都有表达,说明 H-Y 抗原系统的表达可能在进化过程中逐步分化。现已知北极红点鲑(*Salvelinus alpinus*)、虹鳟(*Salmo gairdneri*)、拟鲤(*Rutilus rutilus*)、鲫(*Carassius auratus*)、虎皮鲶(*Barbus terazona*)雌雄性性腺细胞都有 H-Y 抗原,并且抗原、抗体反应程度相似,但在较高等的鱼类显示异型染色体性别具 H-Y 抗原,如青鳉(*Oryzias latipes*)、罗非鱼(*Tilapia* sp)等雄性有 H-Y 抗原,雌性则无<sup>[10]</sup>。

### 4 性别决定基因

#### 4.1 性别连锁基因

Matsuda 等<sup>[11]</sup>研究了青鳉(*Oryzias latipes*)性别决定基因,分离到了性别连锁基因 SL1 和 SL2,并用 Southern 印迹证明 SL2 为重复序列,以 SL2 为探针使用荧光原位杂交(FISH)技术得出,SL2 是双臂染色体群的共同祖先得到扩增所致。Sakamoto 等<sup>[12]</sup>绘制了虹鳟(*O. mykiss*)微卫星连锁图谱,得出雌雄鱼端区染色体重组率有差异。Almeida-Toledo 等<sup>[13]</sup>用 C 带技术分析了 Gymnotiforms 雄鱼 Y 染色体中心粒区和雌性相应端区发现 Y 染色体上存在少量 G+C 丰富带,且认为此现象可能是鱼类性别基因分化中较广泛出现的一个现象。

#### 4.2 重复序列

重复序列是基因进化的源泉之一,在性别染色体的分化进化中,它可能也起着一定的作用。Nanada 等<sup>[14]</sup>用合成的特异简单重复序列作探针在无性染色体的鳞科某些种进行杂交分析,结果出现了性别特异的杂交图谱,结合 C 带技术证明网纹鳉(*Poecilia reticulata*)雄性为异型染色体,但 *P. spersops* 雌性为异型染色体,他们认为性别染色体是通过性别特异的组织重复序列分化来的。Nanada<sup>[14-15]</sup>用重复元件 XIR 为探针能特异标识斑剑尾鱼(*Xiphophorus maculatus*)Y 染色体中期、间期核。斑剑尾鱼的性染色体被认为是处于异型化进化初级阶段,XIR 元件重复扩增很自然地是导致 Y 染色体的分化和性别决定簇重组隔离中最早出现的分子事件之一。Devlin<sup>[16]</sup>克隆和分析了大鳞大麻哈鱼(*Oncorhynchus tshawytscha*)Y 染色体上 DNA 随机重复序列 O<sub>Y</sub>8,并认为 O<sub>Y</sub>8 与性别决定簇紧密相联。Borkhsenius 等<sup>[17]</sup>

研究了正常的和矮小的红大麻哈鱼(*O. nerka*)中 Sau3A 重复序列,且证明 Sau3A 影响 *O. nerka* 的性别决定。但 Tiersch 等<sup>[18]</sup>用 Bkm (Banded krait minor) 微卫星 DNA 序列(GATA),人类端位重复序列(TTAGGG)<sub>7</sub> 作探针检测了斑点叉尾鲟(*Ictalurus punctatus*)雌雄鱼,并没发现性别差异。总之重复序列在性染色体的异型化进化中可能起着一定的作用,但其是否一定构成性别决定基因还有待研究。

#### 4.3 核受体基因家族

Fitz-F<sub>1</sub> gene1 编码核受体超家族中的孤独受体,由于孤独受体 SF-1 在哺乳类性别决定、分化及肾上腺-性腺轴中起重要作用,因此,Chai 等<sup>[19]</sup>分析了斑马鱼(*Danio rerio*)中 Fitz-F<sub>1</sub> 同源基因 ff1b 在发育中的表达,表明其在受精后 22 h 即有表达,到 36 h 达高峰,在 48 h 即消失,但其是否在斑马鱼性别决定中起作用并未明确。ZF-Y 为编码锌指结合蛋白基因,Tiersch 等<sup>[18]</sup>用其作探针证明其在斑点叉尾鲟中无性别特异性。Krisfalusi<sup>[20-21]</sup>根据雌激素对不同发育阶段虹鳟胚胎的作用,确定了雌激素的敏感期,同时检测了雌激素受体 mRNA 的表达。另外 Guan 等<sup>[22]</sup>根据性腺分化包括生殖腺体细胞、生殖细胞的分化,用已知的控制体细胞性别决定的 DM-结构域包含基因(Doublesex/Mab-3 DNA-binding motif)为探针,在罗非鱼精巢和卵巢分离到 tDMRT1 和 tDMO (DM-domain gene in Ovary),并且认为其在性别分化中起重要作用。

#### 4.4 芳香化酶基因

细胞色素 p450 芳香化酶是由雄激素合成雌激素的主要酶,而性激素在鱼类性别分化中是必需的。现已证明给予芳香化酶抑制剂能诱导产生雄鱼。Kitano<sup>[8-9]</sup>详细研究了日本比目鱼(*P. olivaceus*)p450 芳香化酶基因的表达及作用。他们用雌核发育所得鱼经雄激素诱导性逆转为雄鱼,再与正常雌鱼受精,所得为全雌子代,把这些鱼在孵化后 30-100 d 分别饲养在 18℃ 或 27℃,结果前者所得为雌鱼,后者为雄鱼,同时用 RT-PCR 检测 p450 mRNA,发现在性腺未分化时(孵化后 50 d)无差异,但性分化开始后(60 d),雌性个体 p450 芳香化酶 mRNA 明显增加,而雄性个体变化不大。他们认为,可能是温度影响了染色体结构而使表达有差异。用芳香化酶抑制剂 Fadrozole 或 17α-甲基睾丸酮同样也出现抑制芳香化酶的表达,与高温(27℃)作用相同,但作用机制可能不一样。而同时给予 Fadrozole 与 17β-雌二醇,则两者有抵消作用。他们为此得出在性分化过程中保持 p450 芳香化酶基因低表达是精巢分化所必需的。芳香化酶抑制剂导致的性逆转是由于阻止了芳香化酶基因的表达,导致雌激素量减少所引起的。

#### 4.5 SOX 基因家族

SOX 基因在哺乳类性别决定中起着较重要的作用,为此张定东<sup>[1]</sup>以 SOX 同源盒设计探针,在雌雄罗非鱼中进行 PCR 扩增,结果发现两者都有扩增带,这说明此序列在进化中较保守,在罗非鱼无性别特异性,其在罗非鱼性别决定中

的作用还不能明确。另外在斑马鱼、泥鳅、黄鳝等鱼中也有类似情况<sup>[23]</sup>。

## 5 结语

(1) 鱼类性别决定既受基因控制, 同时有较大的可塑性, 环境因素也能起到一定作用, 特别是温度。从 Kitano 等<sup>[8-9]</sup> 对日本比目鱼的研究结果来看, 温度可能是影响了芳香化酶基因的表达及作用而对性别分化起作用。但温度在各种鱼的作用又是不一致的, 因此有关温度作用的分子机制还需进一步研究。

(2) 性激素在鱼类性别控制中应用较多, 但有关其分子机制研究几乎还是空白。

(3) 芳香化酶作用及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, 研究该基因表达的调控应该是鱼类性别决定分子机制的重要部分。在人类, 芳香化酶基因表达调控研究得较详细<sup>[24]</sup>, 研究者发现该基因的表达有明显的组织特异性, 其中启动子 pⅡ 和 pⅠ 的转录物在卵巢有高表达, 而在睾丸只有 pⅡ 转录物的少量表达, 雌、雄具有明显的二态性。对 p450 芳香化酶基因表达调控的研究表明, 前列腺素 E2 (prostaglandin E2 PGE2)<sup>[25]</sup> 通过提高胞内 cAMP 的浓度, 增强由 cAMP 调节的启动子 pⅡ 的转录活性, 另外在 p450 芳香化酶基因帽子区存在顺式作用元件, 对转录该基因具有增强作用。

(4) 目前, 在有关鱼类性别基因的研究中, 除了芳香化酶的作用比较明确外, 其他尚不清楚, 或者对某些鱼有作用, 而对另一些鱼则没有作用。有关某种鱼的性别基因的系统研究, 由于鱼类个体小, 性腺样品很难得到, 因此至今尚无人进行。差异基因筛选法已被广泛地应用于医药、遗传及性别决定基因研究上。Clinton<sup>[26]</sup>、O'Neill 等<sup>[27]</sup> 用此法比较了鸡性腺分化阶段雌雄基因表达差异, 找到了 9 个性别二态表达基因和 2 个性别特异基因。在鱼类性别决定研究中, 选择、培养雌核发育、雄核发育个体, 收集定向发育的雌雄鱼, 比较其性别分化过程中的差异基因, 应是可行的。随着育种技术、分子生物学技术的发展、完善, 鱼类性别决定的分子机制在不久的将来一定能初见端倪。

## 参考文献:

- [1] Hoar W S, Randall D J. Fish Physiology (Vol IV Part B) [M]. London: Academic press, Inc Ltd., 1989.
- [2] Saitoh K. Multiple sex-chromosome system in a loach fish[J]. Cytogenet Cell Genet, 1989 52(1-2): 62-64.
- [3] Conover D O, Heins W. Adaptive variation in environmental and genetic sex determination in a fish[J]. Nature, 1987, 326: 496-498.
- [4] Carlosa Strussmann, Tsuyoshi Saito, Meisei Usui, et al. Thermal thresholds and critical period of thermolabile sexmination in two atherinid fishes, *Odontesthes bonariensis* and *Patagonina hatchery*[J]. J Exp Zool, 1997, 278: 167-177.
- [5] Pavlidis M, Koumoundouros G, Steriotti A, et al. Evidence of temperature-dependent sex determination in the European sea bass (*Dicentrarchus labrax* L.) [J]. J Exp Zool, 2000, 287(3): 225-232.
- [6] Baroiller J F, Chourrout D, Fostier A, et al. Temperature and sex chromosomes govern sex ratios of the mouthbrooding cichlid fish *Oreochromis niloticus*[J]. J Exp Zool, 1995, 273: 216-233.
- [7] Patino R, Davis K B, Schoore J E, et al. Sex differentiation of channel catfish gonads; normal development and effects of temperature[J]. J Exp Zool, 1996, 276: 209-218.
- [8] 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]. J Mol Endocrinol, 1999, 23(2): 167-176.
- [9] Kitano T, Takamune K, Nagahama Y, et al. Aromatase inhibitor and 17alpha-methyltestosterone cause sex-reversal from genetic females to phenotypic males and suppression of P450 aromatase gene expression in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. Mol Reprod Dev, 2000, 56(1): 1-5.
- [10] 吴仲庆. 水生生物遗传学[M]. 厦门: 厦门大学出版社, 1995.
- [11] Matsuda M, Matsuda C, Hamaguchi S, et al. Identification of the sex chromosomes of the medaka, *Oryzias latipes*, by fluorescence in situ hybridization[J]. Cytogenet Cell Genet, 1998, 82(3-4): 262-275.
- [12] Sakamoto T, Danzmann R G, Gharbi K, et al. A microsatellite linkage map of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) characterized by large sex-specific differences in recombination rates [J]. Genetics, 2000, 155(3): 1331-1345.
- [13] Almeida-Toledo L F, Foresti F, Daniel M F, et al. Sex chromosome evolution in fish: the formation of the neo-Y chromosome in *Eigenmannia* (Gymnotiformes) [J]. Chromosoma, 2000, 109(3): 197-200.
- [14] Nanada I, Schartl M, Epplen J T, et al. Primitive sex chromosomes in poeciliid fishes harbor simple repetitive DNA sequences [J]. J Exp Zool, 1993, 265(3): 301-308.
- [15] Nanada I, Volff J N, Weis S, et al. Amplification of a long terminal repeat-like element on the Y chromosome of the platyfish, *Xiphophorus maculatus*[J]. Chromosoma, 2000, 109(3): 173-180.
- [16] Devlin R H, Stone G W, Smailus D E. Extensive direct-tandem organization of a long repeat DNA sequence on the Y chromosome of Chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) [J]. J Mol Evol, 1998, 46(3): 277-287.
- [17] Borkhsenius S N, Chernov V M. A family of repetitive nucleotide sequences (Sau3A family) in the genome of 2 forms of the sockeye salmon *Oncorhynchus nerka* [J]. Mol Biol (Mosk),

1) 张定东. 罗非鱼 SOX 基因 PCR 扩增分析及其性别决定机制初探 [D]. 南京农业大学硕士论文, 2001.

- 1988, 22(2):439-445.
- [18] Tiersch T R, Simco B A, Davis K B, et al. Molecular genetics of sex determination in channel catfish: studies on SRY, ZFY, Bkm, and human telomeric repeats[J]. Biol Reprod, 1992, 47(2):185-192.
- [19] Chai C, Chan W K. Developmental expression of a novel Ftz-F1 homologous fflb (NR5A4), in the zebrafish *Danio rerio* [J]. Mech Dev, 2000, 91(1-2):421-426.
- [20] Krisfalusi M, Cloud J G. Gonadal sex reversal in triploid rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) [J]. J Exp Zool, 1999, 284(4):466-472.
- [21] Krisfalusi M, Nagler J J. Induction of gonadal intersex in genotypic male rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) embryos following immersion in estradiol-17 $\beta$  [J]. Mol Reprod Dev, 2000, 56(4):495-501.
- [22] Guan G, Kobayashi T, Nagahama Y. Sexually dimorphic expression of two types of DM (Doublesex/Mab-3) domain genes in a teleost fish, the Tilapia (*Oreochromis niloticus*) [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 272(3):662-666.
- [23] 常重杰. SOX 基因家族的研究现状[J]. 遗传, 2000, 22(1):51-53.
- [24] Gary D M, Mala S M, Corbin C J, et al. Structural analysis of the gene encoding human aromatase cytochrome p-450, the enzyme responsible for estrogen[J]. J Biol Chem, 1989, 264(32):19385-19391.
- [25] Luis S N, Kazuto T, Khaled M Z, et al. Prostaglandin E2 stimulates aromatase expression in endometriosis derived stromal cell [J]. J Clin Endocrinol Metab, 1997, 82(2):600-606.
- [26] Clinton M. Differentially expressed genes in the developing chick gonad[A]. 1st International Symposium on the Biology of Vertebrate Sex Determination[C]. Hawaii, 1997, 37-42.
- [27] O'Neill M J, Sinclair A H. Identification of novel sex specific transcripts in the chick genital ridge by Representation Difference Analysis[A]. 1st International Symposium on the Biology of Vertebrate Sex Determination[C]. Hawaii, 1997, 43.

## Research progress of fish sex determination

GE Xian-ping, XIA De-quan, YU Ju-hua

(Freshwater Fisheries Research center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China)

**Abstract:** Up to now, most of the studies on fish sex determination mechanism focused on regulation of temperature, sex hormone, p450 aromatase, random repetitive sequence and nuclear receptor gene on fish sex differentiation. But the sex determination cascade model as in mammalian has not been found out because fish is in lower class status and their living environment is different, so there is no popular model in fish sex determination. This review mainly discusses the research trends and development on fish sex development in recent years.

**Key words:** fish; sex determination; temperature; sex hormone; H-Y antigen; sex gene

(p378 continued)

## Progress of cultural technology of new breeds in farmed shrimp

GAO Dong-mei, LI Jian, WANG Qing-yin

(Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China)

**Abstract:** This paper introduces the current status on genetic improvement of farmed shrimp and gives a detailed analysis on some breeding techniques, such as selective breeding, cross breeding, polyploid breeding, artificial gynogenesis, etc. In addition, the paper puts forward a good solution to radical problems troubling the shrimp farming industry that the traditional farming industry should be changed by the new molecular biological technology and by combining traditional breeding technique with molecular biological technology.

**Key words:** shrimp; genetic improvement