

动物的单性生殖

杨增明 谭景和 秦鹏春

(东北农学院兽医系, 生物工程系)

动物的繁殖需要雌雄个体的共同参与才能完成, 这是大家所熟悉的。但在动物界也有一些种类的繁殖不需要雄性个体的参与就可完成, 这种繁殖方式称为单性生殖 (parthenogenesis) 或孤雌生殖。单性生殖可分为自然及人为单性生殖^[26]。

一、自然单性生殖 (natural parthenogenesis)

自然单性生殖也叫自发单性生殖 (spontaneous parthenogenesis)。是指在进行有性生殖的动物中, 卵子不经过精子的受精作用而自发地激活, 并开始胚胎发育, 产生新的个体的过程。Bonnet (1762) 最早发现在自然界中, 蚜

虫在夏天的适宜环境下营单性生殖来增加数目, 到了寒冷的冬季便开始以受精卵的形式进行增殖。自此以后, 很多学者陆续报道了在轮虫、线虫、蠕虫、环节动物、昆虫等无脊椎动物, 以及在少数蜥蜴、鸟类、哺乳类中也存在着这种繁殖方式^[7, 26]。

在很多种类动物中, 如轮虫、蜘蛛、很多膜翅目的昆虫 (包括家蜂)、鞘翅目两个科的甲虫、以及同翅目两个科的蚧虫, 由单性生殖产生的个体都为带有单倍染色体的雄性个体。在卵子发生过程中, 产生这些雄性个体的卵子仍进行正常的减数分裂, 但因缺乏由精子来的染色体, 新个体发育过程中仍具单倍的染色体。但在蚧虫 (*Lecanium putmani*) 和贝尔特威勒

(Beltville)火鸡中,单性生殖产生的雄性个体则具有双倍的染色体,这是由于单倍体核分裂时并不发生胞质分裂,两个子细胞核在以后合子的第二次分裂中形成一共同的中期赤道板^[26]。而在一些膜翅目、同翅目、双翅目、以及鞘翅目的昆虫中,单性生殖仅产生双倍体的雌性个体。在这些种类的动物,卵子发生过程中并不发生真正的减数分裂,卵细胞仍保留一双倍体的核^[26]。此外,在一些蜥蜴的单性生殖中,双倍体的恢复是通过两个减数分裂核的融合或者是由有丝分裂所产生的单倍子细胞的融合来实现的。还有一些种类的动物(如有一种昆虫 *Moraba virgo* 及蜥蜴 *Cnemidophorus uniparens*)在进行减数分裂前先将染色体加倍,经过卵子发生过程中的两次减数分裂后产生正常的双倍体单性生殖卵。这里还应提到的是果蝇 (*Drosophila mangabeirai*)。在果蝇的单性发育过程中,卵子在进行第二次减数分裂后所产生的极体充当“精子”,使卵母细胞“受精”后发育^[15]。

上述的动物由于群体中无雄性个体或其数目太少,以致于在生殖中不起明显的作用,故单性生殖便作为一种必需的生殖方式;这种单性生殖称为专单性生殖 (obligatory parthenogenesis),它几乎在所有营单性生殖的种类中都可见到。除此之外,还有一些种类的动物依环境的不同或进行单性生殖或不进行,这种单性生殖称为兼单性生殖 (facultative parthenogenesis)。如蜜蜂中,蜂王在蜂巢中所产的未受精卵注定发育为单倍体的雄蜂,而所产的受精卵则均发育为工蜂。以这种方式产生的单倍体雄蜂仍能产生精子,但不进行第一次减数分裂,由第二次减数分裂产生两个精子^[26]。在苜蓿切叶蜂 (alfalfa leaf cutter bee, *Megachile rotunda*) 中,若雌蜂要产受精卵时,卵刚产出约 2/3 腹部便停止收缩,在伴随着的间歇期将贮存的精子排入卵孔中,然后完整地排卵。雌性个体都由受精卵发育而来。如果要产形成雄蜂的卵时,排卵过程中并不发生停顿,于是卵就没有受精机会。在这种动物中,诱导受精的刺激似乎与巢管 (nesting channels) 的长度有关,产生雌性

个体的卵产在巢内深部的管中,而产生雄性的卵则产在外部的窄管中,说明一个卵是否要受精依赖于环境条件及遗传因素的共同作用。

此外,很多因素都对单性生殖的发生有很大的影响。如轮虫的食物中维生素 E 含量低时,群体中主要由非需精卵型的雌体 (amictic females) 组成,即雌性个体的卵母细胞并不经历减数分裂。这些卵母细胞在母体内以单性生殖发育为非需精卵型的雌性个体;然而,当非需精卵型的雌体在后代的早期发育期间接受高维生素 E 的食物时,后代将发育为需精卵型 (mictic) 的雌体,即雌性个体所产的卵母细胞经历减数分裂。需精卵型雌体的卵母细胞如果受精,便形成以休止型排出的卵,以后发育为非需精卵型的雌体;如果不受精,这些卵母细胞便营单性生殖而发育为雄性个体^[3]。在火鸡的繁殖中,当雌火鸡与雄火鸡隔离后,雌火鸡所产的卵以相当高的比例进行孤雌发育(有时达 41.7%),尽管有许多个体发育不正常,但仍然有少数的胚胎可发育到孵化期,而且经检查发现这些孵化的小火鸡均为雄性,在成熟后具有正常的受精能力^[22]。

从上述的自然单性生殖中,可以看出单性生殖不仅可作为一种生殖方式,产生出正常的后代;而且还可以作为一种性别决定的方式,控制着群体中雌雄个体的比例。在很多动物的单性生殖过程中,未受精卵多发育为雄性个体,而受精的双倍体卵则多发育为雌性个体。

除了上述的各种动物外,哺乳动物中也有单性生殖存在。LT/SV 品系的处女雌鼠自然排卵或给予 PMSG-hCG 后超排的卵中约有 10% 为单性发育的卵。在 LT/SV 重组系小鼠的 LT × BJ 品系中单性发育卵的比例可达 30%。这些卵不经任何刺激,自发地进行发育,有些可达桑椹期或胚泡期。如果将这些自发单性发育胚在体外使之发育到胚泡期,然后置入假孕的雌体内,同样能进行着床,但大都在妊娠期的第六或七天停止发育^[4]。关于其他品系小鼠的自发单性生殖,尚未见正式报道。另外, Austin 等^[6]发现在排卵后 18 到 22 小时收集的

仓鼠卵母细胞中,有80%已经历自发激活。以后,Barros等^[67]又证实了这一结果,他们在排卵后17到21小时收集仓鼠卵母细胞时,有81%的卵母细胞发生了自发激活,其中99%具有一或两个原核,另1%处于2细胞期。排卵30小时后的猪卵也已发现有自发激活的,其原核及胞质已开始分裂^[68]。早在1939年 Dempsey也报道猪的卵巢卵有自发孤雌活化现象。这种孤雌活化在类人猿^[69]、大鼠^[70]以及人卵中都已有所报道。Chang^[71]还在未交配过的雪貂输卵管和子宫中获得了2—6细胞期的自发单性生殖胚,且发现其染色体为单倍体的。

二、人工单性生殖 (artificial parthenogenesis)

人工单性生殖的工作最早是由 O. Hertwig 及 R. Hertwig (1896)在海胆上进行的。他们发现海胆成熟卵由氯仿或马钱子碱 (strychnide) 处理后可启动发育过程。以后其他学者陆续报道低渗或高渗的海水、各种盐、弱有机酸、脂肪溶剂(如甲苯、乙醚等)、尿素、蔗糖、机械震荡、电刺激、高温或低温等均可引起海胆卵的发育^[72]。

当用一干净的玻璃针刺蛙卵时,可引起皮层反应及第二次减数分裂的完成,但这种卵并不进一步卵裂。然而,如果刺卵用的针沾上血液或别的组织成分时,刺激后可启动卵裂过程,形成单性生殖的蝌蚪,但这种蝌蚪多较小且体质差,没有生活能力。经研究发现这种蝌蚪为单倍体的;只有当激活后经冷处理抑制第二次减数分裂,这种卵才能发育为双倍巨大的蝌蚪^[73]。我国的朱洗及陈兆熙在1934年曾用此法得到了两只生活4—7年之久的成体青蛙,但都未能产卵繁殖后代。以后,朱洗等^[74]成功地得到了单性生殖的蟾蜍,经冬眠、催青及产卵,从而培育出正常发育的没有外祖父的蟾蜍。除用针刺法外,用睾丸组织的提取物及离心后得到的成份也可引起蛙卵的单性发育。如蛙成体及胚胎、鸡和小鼠的胚胎组织,以及人的睾丸组织等的整个提取物可诱导9.7%的蛙卵发育到

囊胚期。

此外,机械刺激、温度变化、电刺激等物理刺激及酶处理、渗透压变化、麻醉剂、蛋白质合成抑制剂等化学刺激均可激活哺乳动物卵进行单性发育。Uehara等(1977)用一细玻璃针刺激卵黄膜,激活了80%以上的仓鼠卵母细胞。在有细胞外 Ca^{++} 存在时,可观察到皮质颗粒的释放及第二极体的排出,并形成单一的原核。Kaufman^[75]将C₅₇BLXCBA小鼠卵置入PBS配制的7%酒精溶液中1分钟,得到了55%的激活率,当置入时间为3、4½及7½分钟时,激活率可达90—97%。此时诱导的单性发育胚均为具一原核的单倍体。谭景和等(1988)用10%酒精处理N:NIH系小鼠排卵后6小时的卵,10分钟后也可获得很高的孤雌活化率(97%)。当把兔卵在10℃条件下于体外存放24小时后,再移入假孕的母兔输卵管时,有18%的卵子可发育到胚泡期,其中有两例单性发育的卵完成了子宫内发育,并且产出一只活胚(另一例为活胚死产)^[76]。在Pinus(1940)的实验中,将雌兔的输卵管拿出体外在冷水中冷却使卵子受到冷处理后,也已产出了活的胚胎。但是Chang等^[71]的重复实验既未发现胚胎的植入,也未观察到有发育超过胚泡期的单性发育胚。除在体外用各种处理可刺激卵发育外,在原位(即麻醉动物的输卵管内)也能诱导小鼠卵进行单性发育。如用电刺激动物的输卵管壶腹区、注射麻醉剂或少量的0.25%酒精于腹腔内,或用热处理输卵管的喇叭口部等均可激活卵使之进行单性发育^[77]。Tarkowski等^[78]用电击法诱导小鼠卵发育超过了植入期,发育程度最高的可达8个体节期。但这些实验都未能获得成活的个体。以后,Hoppe等^[79]用显微操作法除去受精卵中的雌性原核或雄性原核,然后用细胞松弛素B处理这种单倍体卵使之恢复到二倍体,再移入假孕的雌鼠体内,成功地得到了正常的个体。但由于这个实验的重复均未获得成功,其真实性仍需进一步证实。鉴于在哺乳动物中很难获得纯台子的个体,Surani等^[80]将用缺 Ca^{++} 和 Mg^{++} 的溶液激活的单性发育胚的

内胚团注入正常受精的胚泡腔内,得到了成活的嵌合胚个体,并且用这种个体的纯合子单亲本细胞作为配子来源,成功地得到了一只雌鼠。这表明一些单性生殖的细胞可在个体内存活,有时甚至可分化为有功能的配子。同时也说明虽然纯合子对正常胚胎发育很有害,但并不是对所有的细胞都是致死的。这就可能用制作嵌合胚的办法来拯救单性生殖的细胞,从而为家畜遗传育种培养优质纯系个体开辟了一条新的途径。

三、单性发育的机制初探

从上述引起单性生殖的各种刺激中,可以看出没有一种是引起激活的特异性因素,决定卵子反应特性的因子可能在卵子本身,这些刺激仅是启动卵子反应的因素之一。如果上述推论正确的话,受精过程中精子也可能仅起一与单性发育刺激相似的激动作用^[7]。因为当用干净的或带血的玻璃针刺刺激蛙卵时,均可引起皮层反应的发生。用微摩尔量的 Ca^{++} 离子载体 A 23187 处理海胆卵时,可激活大多数的卵子使之发生类似于受精卵的反应:首先卵黄膜抬起,出现氧利用峰,然后蛋白质及 DNA 的合成均开始增加^[28]。且用此法已得到了双倍体单性发育的成体海胆^[30]。但 Shen 等^[27]发现化学试剂诱导的单性发育与受精有所不同。如 10mM NH_4Cl (pH8.0) 诱导的细胞质的 pH 值升高要强于受精后的 pH 值增加,而且刺激蛋白质合成及染色质凝集的程度也与受精时不同。后来虽然有人发现各种胺(如尼古丁、普鲁卡因等)可引起细胞质碱性化、使蛋白质合成增加,诱导 DNA 合成及染色质凝集,但 Lois 等^[21]认为这些物质在诱导染色质凝集方面仍不足以模拟精子的作用,可能还需要细胞内游离 Ca^{++} 的增加才行。在仓鼠中,当用一适当的针在有 Ca^{++} 存在时可刺激仓鼠卵子发生正常的激动反应,并可发育到胚泡期^[26]。这些实验中,可能与正常胚胎发育一样,由于游离 Ca^{++} 的流入使细胞内的 Ca^{++} 浓度升高,从而引起卵子进行单性发育。因为在正常胚胎发育中,如果将 EDTA 注

入卵子中后,可阻止游离 Ca^{++} 流入卵细胞内,从而抑制了卵子代谢活性的激活^[31]。

另外,能够引起单性发育的试剂对细胞都有不同程度的破坏,如果长时间大剂量使用时可使细胞死亡。由此认为卵子激活时涉及到对卵细胞质的亚致死性损伤。而且,一些脂溶物质可能主要作用于细胞表面,引起卵细胞质皮层受到损伤,类似于受精过程中的皮层反应,从而启动卵细胞中的合成活动。这种卵细胞皮层的损伤主要是由于蛋白质的水解作用,因为在几种动物的卵子近质膜处已发现有小的溶酶体样颗粒 (Barton 等,1984)。

哺乳动物中单性发育的胚胎为何很难达到出生期,其机制目前仍不十分清楚。根据近来的研究,发育停滞主要是由于(1)形成遗传上同源的合子,使得隐性致死基因得以表达;(2)缺乏精子来的遗传物质。为了区别这两种解释, Surani 等^[30]用一些近交系和远交系小鼠进行实验,用细胞松弛素 B 抑制第二极体的排出,使受精卵包含两个雌原核及一个雄原核。这种胚胎在移植后显示其发育类似于其他三倍体胚胎,神经管不能闭合,或头区膨大胚胎不能适当地转动。当将一个雌原核从那种卵中除去后,遗传组成恢复正常,约 40% 的这种胚胎可发育到分娩期,这也证明大部分卵在操作后是有能力正常发育的。但当雄原核从那种卵中除去后,产生具两个雌性原核的卵,这种卵植入后仅有几个发育为具 25 个体节的胚胎,且总是具极稀少的滋养层细胞。这表明雄性原核的存在对胚胎的正常发育是必需的。上述具两个雌性原核的卵发育受阻是否是纯合基因所导致的?有人把雌或雄原核移植到同品系单倍体单性发育卵中时,已证实只有当引入的为雄性原核时发育才能进行到分娩期;移入的为雌性原核时其卵的发育类似于上述具两个雌原核的卵,到妊娠中期发育便夭折了,而且具很少的胚外组织。这些都说明即使不是单亲本纯合子的具两个雌原核的个体其发育也不能进行到分娩期^[31]。另外, Surani 等^[32]还发现由两个雌原核组成的卵早期发育较正常,有些可发育至具 25

个体节期,但胚外组织贫乏,而由两个雄原核组成的卵则多数经几次卵裂后发育便受阻停滞,最多只能发育到妊娠10天左右,具6—8个体节,然而这种胚胎具有发达的滋胚层组织。表明雄原核对早期发育不是很必需的,但对胚外组织的发育则是必需的,而雌性原核则在早期发育中起着重要的作用。这种雌雄原核的差异性作用主要是由于核在配子发生期间发生了“印迹(imprinting)”作用,使得雌雄原核有所分工,而一个胚胎的正常发育则需要两种原核的互补性作用才能得以完成。最后应当指出,虽然很多实验都已证实在哺乳动物胚胎发育中确实存在着核印迹作用,但这很难解释 Pinus (1940) 及 Hoppe 等^[17]的实验结果。如果这两人的实验能够得到证实。就可能是细胞质中的一些因子或别的成分使得核印迹作用得以掩盖,或者使这种印迹作用得以逆转,从而恢复了核的全能性,使胚胎发育能够正常地进行。但这仍需进一步研究。另外,他们的实验难于重复很大程度是由于隐性致死基因易于表达所致。

综上所述,我们可以看出虽然关于单性生殖的机制仍不清楚,但它为创造遗传学等学科研究所用的纯系动物开辟了一条新的途径,用人工单性发育的胚胎可以探讨胚胎发育过程中启动发育的机理、基因表达、核质关系、细胞分化等发育生物学中一系列重要的问题。因此,对动物单性生殖的研究具有很重要的理论价值及实践意义。

参 考 文 献

[1] 朱洗等 1961 世界第一只无父的母蟾蜍产卵传种。科学通报 4: 50。
 [2] 曲漱惠等 1980 动物胚胎学。43—44 页 人民教育出版社。
 [3] 谭景和 1985 猪排卵后卵母细胞老化过程的超微结构研究。畜牧兽医学报 16: 1—6。
 [4] 野口基子 1986 哺乳动物自发的单性发育。见:日本 NAME 学会编 哺乳动物的发育工程[日](谢厚祥译),116—123,湖南科学技术出版社。
 [5] Austin C. R. and A. W. H. Braden 1954 Anomalies in rat mouse and rabbit eggs. *Austri. J. Biol. Sci.* 7: 537

[6] ———— 1956 Activation of eggs by hypothermia in rats and hamster. *J. Exp. Biol.* 33: 338—347.
 [7] Balinsky B. I. 1975 An introduction to embryology, 90—92 W. B. Saunders Company.
 [8] Barros C. and R. Yanagimachi 1972 Polyspermy-preventing mechanisms in the golden hamster. *J. Exp. Zool.* 180: 251—266.
 [9] Birkey C. W. and J. J. Gilbert 1971 Parthenogenesis in rotifers: the control of sexual and asexual reproduction. *Am Zool* 11: 245—266.
 [10] Brandriff B. et al. 1978 Development and life cycle of the parthenogenetically activated sea urchin embryo. *J. Exp. Zool.* 192: 13—24.
 [11] Chang M. C. 1950 Cleavage of unfertilized ova in immature ferrets. *Anat. Rec.* 108: 31.
 [12] ———— 1954 Development of parthenogenetic rabbit blastocysts induced by low temperature storage of unfertilized ova. *J. Exp. Zool.* 125: 127—149.
 [13] Dempsey E. W. 1939 Maturation and early cleavage figures in ovarian ova. *Anat. Rec.* 75: 223.
 [14] Fankhauser G. 1945 The effects of changes in chromosome number on amphibian development. *Quart. Rev. Biol.* 20: 20—78.
 [15] Gilbert S. F., 1985. *Developmental Biology* 681. Sinauer Associates, Inc. Publishers.
 [16] Gilbert H. S. and E. C. Klostermeyer 1970 Sex control by bees: a voluntary act of egg fertilization during oviposition. *Science*, 167: 82—84.
 [17] Hoppe P. C. and K. Illmensee 1977 Microsurgically produced homozygous diploid uniparental mice. *Proc. Natn. Acad. Sci. USA* 74: 5657—5661.
 [18] Kaufman M. H. 1982 The chromosome complement of singlepronuclear haploid mouse embryos following activation by ethanol treatment. *J Embryo Exp. Morpho.* 71: 139—154.
 [19] ———— 1983 Early mammalian development: parthenogenetic Studies 44—51 Cambridge University Press.
 [20] Krafka J. 1939 Parthenogenetic cleavage in the human ovary. *Anat. Rec.* 75: 19.
 [21] Lois A. F. et al. 1983 Acid release, cytoplasmic alkalization, and Chromosome condensation during sea urchin fertilization and amine-induced parthenogenesis *Gamete Research* 7: 123—132.
 [22] Olsen M. W. 1960 Performance recorder of a parthenogenetic turkey male. *Science* 132: 1661.
 [23] Pinus G. 1939 The comparative behavior of mammalian eggs in vivo and in vitro. IV. The development of fertilized and artificially activated rabbit eggs. *J. Exp. Zool.* 92: 85—129.
 [24] ———— and H Shapiro 1940 The comparative behavior of mammalian eggs in vivo and in vitro. VII. Further studies on the activation of rabbit eggs. *Proc. Am. Phil. Soci.* 83: 631—647.
 [25] Saglik, S. 1938 Ovaries of gorilla, chimpanzee, orang-utan and gibbon. *Contr. Embryo.* 27 181.

(下转第42页)

- [26] Saunders J. W. 1982 *Developmental Biology*, 118—121 Macmillan publishing Co. Inc. and Collier Macmillan publishers.
- [27] Shen S. S. R. A. Steinhardt 1978 Direct measurement of intracellular pH during metabolic depression of the sea urchin egg. *Nature* 272: 253—254.
- [28] Steinhardt R. A. and D. Epel 1974 Activation of sea urchin eggs by a calcium ionophore. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 71: 1915—1919.
- [29] Surani M.A.H. et al. 1977 Development to term of chimeras between diploid parthenogenetic and fertilized embryos. *Nature* 270: 601—602.
- [30] Surani M. A. H. and S. C. Barton 1983 Development of gynogenetic eggs in the mouse: implications for parthenogenetic embryos. *Science* 222: 1034—1036.
- [31] Surani M. A. H. et al.: 1984. Development of reconstituted mouse eggs suggests imprinting of the genome during gametogenesis. *Nature* 308: 548—550.
- [32] Surani M. A. H. et al. 1987 Experimental reconstruction of mouse eggs and embryos: an analysis of mammalian development. *Biol. Reprod.* 36: 1—16.
- [33] Tan Jinghe (谭景和) and Qin Pengchun (秦鹏春) 1988 Effects of age of the egg and penicillin concentration in the medium on the ethanol activation of mouse eggs. *Theriogenology* 29: 316.
- [34] Tarkoski A. K. et al. 1970 Experimental parthenogenesis in the mouse. *Nature* 226: 162—165.
- [35] Uehara T. and R. Yanagimachi 1977 Activation of hamster eggs by pricking. *J. Exp. Zool.* 199: 269—275.