

# Genetika spola pri vretenčarjih

Tajda Gredar

Spol je osnovna in izredno pomembna biološka informacija živali, zato bi lahko predvidevali, da so mehanizmi določitve spola ohranjeni vsaj pri različnih skupinah vretenčarjev (ribah, dvoživkah, plazilcih, ptičih, sesalcih). Vendar temu ni tako. Študije so pokazale, da so spolni kromosomi, geni in mehanizmi, ki sprožijo razvoj enega ali drugega spola, zelo različni.

## Določitev spola pri vretenčarjih

Določitev (determinacija) spola je biološki proces, ki vodi v razvoj spola pri organizmu. V proces so vključeni številni geni, ki vplivajo drug na drugega. Pri genetski določitvi spola se ta določi ob oploditvi, pri čemer je običajno ključen en gen (angleško *master sex determination gene*). Ta sproži celotni mehanizem in zaporedje dogodkov, ki povzročijo razvoj spola. Prvi gen, ki določi spol živali, je bil odkrit leta 1990, in sicer je to bil gen *Sry*, ki pri sesalcih povzroči razvoj testisov. Gen leži na kromosomu Y in kodira prepisovalni dejavnik *Sry*, ki vpliva na izražanje gena *Sox9*, pomembnega za razvoj testisov. *Sry* še dodatno zavira razvoj jajčnikov z zaviranjem delovanja  $\beta$ -katenina. Gen *Sry* pri sesalcih obstaja že 166 milijonov let. Pri pticah se gen, ki določa spol, imenuje *Dmrt1*, ohranjen pa je že 100 milijonov let. Pri ribah so odkrili številne različne gene in njihove mehanizme delovanja, ki vodijo v določitev spola, ti geni pa so evlucijsko mlajši. Pri dvoživkah je bilo tovrstnih raziskav manj, razkrile pa so, da je lahko pri vsaki vrsti mehanizem določitve spola drugačen, saj so tovrstni geni zelo različni in so vezani na posamezno vrsto ali rod.

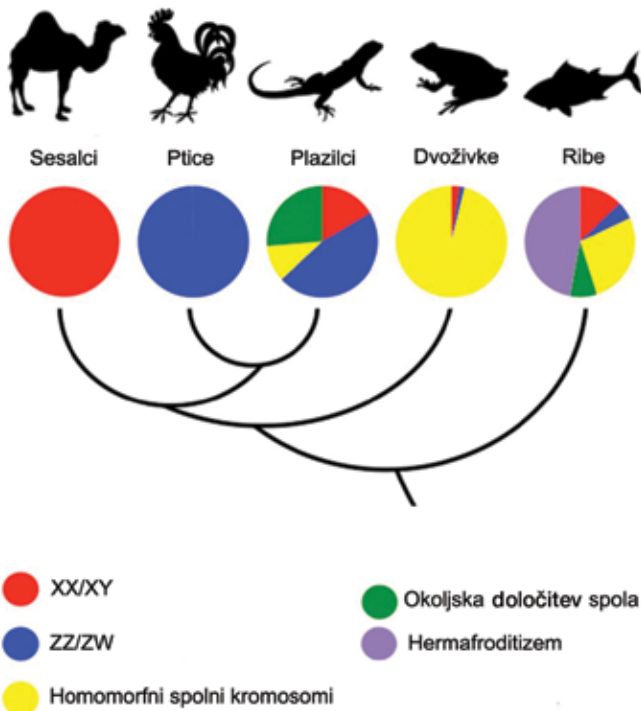
V primeru okoljske določitve spola tega določi fizikalni ali kemijski dejavnik v okolju in ne gen. Spol ni določen ob oploditvi, temveč med razvojem zarodka. Najpogostejši okoljski dejavnik je temperatura, ki vpliva

na razvoj gonad (jajčnikov ali testisov) v zarodkih v temperaturno občutljivem delu razvoja. Temperatura vpliva na delovanje encimov, ki so pomembni pri pretvorbi spolnih hormonov, ter tako vpliva na hormonsko ravnotežje v še nediferenciranih in razvijajočih se gonadah, kar seveda vpliva na njihov razvoj. Ta pojav je značilen predvsem za plazilce (vse krokodile, večino želv in nekatere kuščarje), nekoliko manj pa za dvoživke in ribe. Zanimivo je, da ima sprememba temperature različen vpliv pri različnih vrstah – pri nekaterih zvišana temperatura poruši razmerje med spoloma v prid samic, pri drugih pa v prid samcev. Določena temperatura lahko povzroči celo to, da so vsi osebki istega spola. Ena od posledic segrevanja našega planeta je tako tudi sprememba razmerja med spoloma pri nekaterih vrstah, na primer želvah. Med okoljskimi dejavniki na razvoj spola vplivajo tudi kemijski dejavniki okolja, na primer pH in slanost vode pri morskih ribah.

Pri nekaterih vrstah dvoživk na razvoj spola vplivajo hormoni, ki se nahajajo v okolju. Največkrat so to estrogeni in androgeni. Vplivajo na razvoj gonad v zarodkih, kar vodi do drugačnega spola od tistega, ki bi ga sicer določili geni tega organizma. Hormoni v okolju lahko povzročajo tudi nepravilnosti v gonadah, na primer prisotnost jajčnih celic v testisih. Problematična niso zgolj hormonska onesnažila, temveč tudi nekatere kemijske spojine, ki delujejo kot hormonski motilci. Tak je herbicid atrazin, ki poruši ravnovesje med spoloma v prid samic.

## Spol in genetika

Spolni kromosomi so nastali iz avtosomnih kromosomov, ko so ti pridobili vlogo določitve spola. Zaradi močne selekcije so spolni kromosomi velikokrat najbolj spremenljivi del živalskih genomov in njihove spremem-

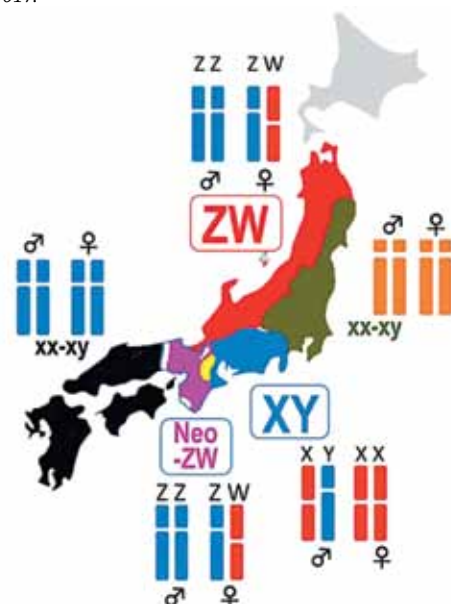


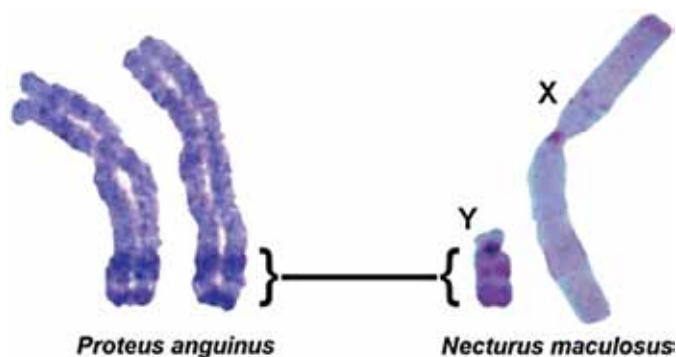
Slika 1: Prikazani so sistemi spolnih kromosomov pri različnih skupinah vretenčarjev. Spolni kromosomi so lahko heteromorfni (sem sodita oba kromosomska sistema XX/XY in ZZ/ZW) ali homomorfni (spolna kromosoma sta na videz enaka). Označeno je tudi, pri katerih skupinah se pojavljata okoljska določitev spola in hermafroditizem (bkratna prisotnost testisov in jajčnikov). Prirrejeno po Bachtrögu in sodelavcih, 2014.

be lahko povzročijo celo nastanek novih vrst. Pri vretenčarjih poznamo različne sisteme spolnih kromosomov, ki jih opredelimo glede na to, kateri spol je heterogameten (to je tak, ki tvori dva tipa gamet). Pri sesalcih so heterogametni samci (sistem XX/XY), pri pticah pa samice (sistem ZZ/ZW). Poznamo še nekaj dodatnih variacij: ena je poznana pri kljunašu, pri katerem imajo samci kar pet parov kromosomov XY, samice pa pet parov kromosomov XX.

Dvoživke imajo lahko sistem XX/XY ali ZZ/ZW, med evolucijo pa včasih pride celo do zamenjave sistemov spolnih kromosomov. Edinstven je primer žabe *Glandirana rugosa* z Japonske, pri kateri imajo različne populacije iste vrste različne kromosomske sisteme. Domnevajo, da je pri eni od populacij do zamenjave sistemov spolnih kromosomov v evoluciji prišlo kar dvakrat. Vrsta je dokaz, da evolucija mehanizmov določitve spola in spolnih kromosomov še vedno poteka. Spolni kromosomi dvoživk so v 96 odstot-

Slika 2: Različne populacije žabe *Glandirana rugosa* na Japonskem imajo različne kromosomske sisteme, kljub temu da gre za isto vrsto. V osrednjem delu je z rumeno označeno območje mešanja populacij. Prirrejeno po Miuri, 2017.





*Slika 3: Barvanje kromosomov je pri človeški ribici (*Proteus anguinus*) razkrilo homomorfne spolne kromosome in premestitev kromosoma Y na kromosom X (levo). Spolni kromosomi najbližjega živečega sorodnika človeške ribice, to je *Necturus maculosus* ali pisani nektur, so heteromorfni (desno). Prirejeno po Sessionsu in sodelavcih, 2016.*

kih homomorfni, kar pomeni, da spolnih kromosomov (na primer kromosom X od kromosoma Y) na pogled ne razločimo in tako tudi ne prepoznamo spola na podlagi kariotipa. Tudi pri človeški ribici (*Proteus anguinus*) so spolni kromosomi homomorfni, imajo pa še to posebnost, da je v evoluciji prišlo do premestitve (translokacije) kromosoma Y na kromosom X. Premestitev bi lahko bila vzrok temu, da ima človeška ribica tako poseben način razmnoževanja in da se v testisih pogosto pojavljajo jajčne celice, saj to nepravilnost zasledimo pri kar tretjini samcev.

### Proteus ali proteusinja?

Spol številnih dvoživk prepoznamo po različnih znakih. Pri nekaterih vrstah so prepoznane razlike v velikosti samcev in samic, pri repatih dvoživkah v obdobju parjenja opazimo nabreklo kloako samcev, pri samcih pupkov pa višji hrbtni greben. Samci žab imajo na sprednjih okončinah zadebeljeno plast poroženele kože, za samce plavčkov pa je značilna sprememba barve kože v času parjenja.

Pri nekaterih vrstah pa prepoznavna spola ni možna, saj nimajo izraženega spolnega dimorfizma (dvoičnosti). Tak primer je človeška ribica, pri kateri izkušeni opazovalci sicer lahko prepoznajo spol v obdobju pred parjenjem. Pri samcih se odebeli kloaka, pri samicah pa se skozi nepigmentirano kožo vidijo jajčne celice, vendar tovrstna prepo-

znava ni zanesljiva. Poznavanje spola živali pa je pomembno za raziskave, saj spol vpliva na številne fiziološke procese v organizmu. Poznavanje spola je še toliko bolj ključno za načrtno razmnoževanje človeških ribic v ujetništvu. Zato smo na Oddelku za biologijo Biotehniške fakultete v Ljubljani pričeli z razvojem pristopov, ki bi pri živih živalih omogočili zanesljivo prepoznavo spola. Uspešni smo bili pri detekciji spolno specifične beljakovine vitelogenin, ki je v krvi samic z zorečimi jajčnimi celicami. Iz vitelogenina se namreč tvori rumenjaki, ki zapolnjuje izležena jajca, zato ga pri samcih, mladičih in pri samicah zunaj obdobja aktivnega zorenja jajčnih celic ne zaznamo. Vitelogenin smo pri isti samici analizirali večkrat in ugotovili, da se njegova koncentracija v krvi spreminja. Običajno se z zorenjem jajčnih celic in večanjem količine rumenjaka v njih povečuje tudi koncentracija vitelogenina v krvi. V našem primeru pa smo zasledili nepričakovano zniževanje koncentracije te beljakovine. Pozneje smo opazili, da so jajčne celice degenerirale in propadle. Tako smo ugotovili, da je nepričakovano znižanje koncentracije vitelogenina med zorenjem jajčnih celic znak za pričetek njihove degeneracije, kar nam v ujetništvu omogoča hormonsko preprečevanje njihove nadaljnje degeneracije in posledično večjo uspešnost pri razmnoževanju živali.

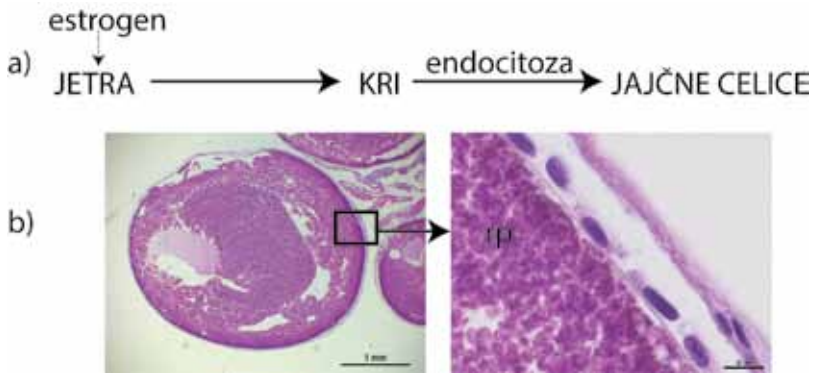
Pri odkrivanju vitelogenina in interpretaciji spola je bila potrebna previdnost, saj vite-

logenin ni le spolno specifična beljakovina, temveč je tudi pokazatelj onesnaženosti okolja z estrogenskimi hormonskimi motilci. Vitelogenin se namreč sintetizira v jetrih pod vplivom estrogena, zato ga lahko zaznamo tudi pri samcih, če so ti izpostavljeni molekulam, ki se vežejo na estrogenski receptor. Zato je določanje spola na podlagi odkrivanja vitelogenina zanesljivo samo v ujetništvu, kjer vemo, da v akvarijski vodi ni hormonskih motilcev.

Mehanizem razvoja spola človeške ribice

nam ni poznan. Sekvenčne analize genoma človeške ribice, ki so v teku, nam bodo morda razkrile, kateri gen je odgovoren za določitev spola. Morebiti nam razkrijejo tudi to, zakaj so pri številnih samcih v testisih prisotne jajčne celice. Morda pa na razvoj nepravilnosti gonad človeške ribice vplivajo onesnažila v okolju?





*Slika 5: a) Sinteza vitelogenina poteka pod vplivom estrogena v jetrih, nato se beljakovina po krvi prenese do jajčnikov, kjer z endocitozo preide v jajčne celice. b) Iz vitelogenina se v jajčnih celicah tvori rumenjaki, ki se nalaga v obliki rumenjakovih ploščic (rp), kar je vidno na sliki histološkega preparata zrele jajčne celice človeške ribice. Foto: Tajda Gredar.*



*Slika 4: Človeška ribica (Proteus anguinus) je ogrožena in zavarovana živalska vrsta, za katero želimo vzpostaviti načrtno razmnoževanje v ujetništvu. Živali nimajo spolnega dimorfizma, zato brez molekularnih analiz ne vemo, katerega spola so. Foto: Domin Dalessi, Speleološki laboratorij Oddelka za Biologijo Biotehniške fakultete Univerze v Ljubljani.*

**Literatura:**

- Bachtrög, D., in sod., 2014: *Sex Determination: Why So Many Ways of Doing It?* PLOS Biology, 12: e1001899.
- Gredar, T., Leonardi, A., Novak, M., Sepčić, K., Bizjak - Mali, L., Križaj, I., Kostanjšek, R., 2019: *Vitellogenin in the European cave salamander, Proteus anguinus: its characterization and dynamics in a captive female as a basis for non-destructive sex identification. Comparative biochemistry and physiology. Part B, Biochemistry & Molecular Biology*, 235: 30–37.
- Gredar, T., 2020: *Razvoj nedestruktivnih pristopov za prepoznavo spola močevila (Proteus anguinus, Urodela, Amphibia). Doktorska disertacija. Ljubljana: Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, 161 str.*
- Miura, I., 2017: *Sex determination and sex chromosomes in amphibia. Sexual Development*, 11 (5–6): 298–306
- Sessions, S. K., Bizjak Mali, L., Green, D. M., Trifonov, V., Ferguson-Smith, M., 2016: *Evidence for sex chromosome turnover in Proteid salamanders. Cytogenetic and genome research*, 148 (4): 305–313.

**Slovarček**

**Avtosom.** Vsak kromosom, ki ni spolni kromosom.

**Kariotip.** Celotni nabor kromosomov nekega organizma.

**Prepisovalni dejavnik (transkripcijski faktor).** Beljakovina, ki je potrebna za pričetek prepisovanja gena.

# Iskanje upognjenega šaša (*Carex curvula*) pod koto Vrh Križa v Julijskih Alpah ali kdor nima v glavi, ima v petah

Igor Dakskobler

Moja pripoved o upognjenem šašu ne bi bila potrebna, če bi bilo profesorju Tonetu Wraberju dano dočakati vsaj osemdeset let ali če bi bil vsaj malo pozoren in preudaren bralec nekaterih njegovih člankov ali besedil njegovih študentov. Žal se mi velikokrat zgodi, da kakšno zemljepisno ime (toponim), ime reke ali gore, preberem površno, po svoje in se mi napačno ime tako »usede«, da napake zelo dolgo ne spregledam. Tako se je zgodilo z imenom kote Vrh Križa v Julijskih Alpah, ki sem jo površno poistovetil z bližnjo goro Križ.

8. septembra leta 1966 je takratni kustos Prirodoslovnega muzeja v Ljubljani in skrbnik alpskega botaničnega vrta Juliana v Trenti v združbi snežnih dolinic na majhni zelenici (okoli 2.300 metrov nadmorske višine) sredi izrazito zakraselega sveta na južni strani kote Vrh Križa (2.401 metrov) vzhodno od zgornjega roba Kriške stene našel upognjeni šaš (*Carex curvula*) in svojo najdbo objavil leta 1969 v reviji *Varstvo narave*. To je bila takrat novost za rastlinstvo Slovenije in Julijskih Alp. V svoj znameniti *Seznam praprotnic in semenk slovenskega oze-*