

彭泽鲫雌核发育的细胞学研究^{*}

舒 琥^① 张海发^② 陈湘麟^③

(^①广州市教育学院生物学系 广州 510030; ^②广东省海洋与水产业厅科教处 广州 510222;

^③华南师范大学生物学系 广州 510631)

摘要 通过对彭泽鲫♀×彭泽鲫♂、彭泽鲫♀×尖鳍鲤♂“杂交”后代的细胞学观察发现,同源与异源精子在彭泽鲫卵中的发育情况基本一致。精子入卵后一般呈固缩状态,不解凝,不形成雄性原核,但都能看到未解凝精核与雌性原核接触(未融合)的现象。刚产出的成熟卵子没有看到极体,但受精10分钟有极体排出,是卵子发育排出的唯一极体。根据观察结果,彭泽鲫在细胞学上表现出典型的雌核发育行为特征,是以雌核发育方式繁殖的种群。

关键词 彭泽鲫 雌核发育 细胞学

中图分类号:Q953 文献标识码:A 文章编号:10250-3263(2000)05-12-04

A Cytological Studies on Gynogenesis of Pengze Crucian Carp

SHU Hu^① ZHANG Hai-Fa^② CHEN Xiang-Lin^③

(^①Department of Biology, Guangzhou Education College Guangzhou 510030, China;

^②Division of Scien-Tech and Education, Guangdong Province Ocean and Fishery Bureau Guangzhou 510222, China;

^③Department of Biology, South China Normal University Guangzhou 510631, China)

Abstract Eggs stimulated by the Pengze crucian carp (*Carassius auratus*) and the sharpfin carp (*Cyprinus acutidorsalis*) sperms were studied. The results showed that either homologous or heterologous sperm nucleus had the same developmental process: the sperm nucleus

* 广东省自然科学基金资助课题;

第一作者介绍 舒琥,男,35岁,讲师,硕士,研究方向:鱼类遗传育种;

收稿日期:1999-02-06,修回日期:2000-06-21

remained compact after entering the Pengze crucian carp's egg, it did not undergo decondensation or transform into male pronucleus (but no amphimixis). About 10 minutes after spawning only one polar body was extruded from the ripe egg cells. The results indicated that the Pengze crucian carp shows the typical gynogenetic characteristics on cytological level and the carps do reproduce by gynogenesis.

Key words Pengze crucian carp; Gynogenesis; Cytology

雌核发育是一种特殊的繁殖方式,同源或异源精子进入卵细胞内只刺激其发育,精子并不形成有功能的雄性原核,结果卵细胞的发育只是在一个雌性原核的参与下进行^[1]。对鱼类天然雌核发育研究比较清楚的是我国黑龙江水系的银鲫。俞豪祥^[2]、周嘉申等^[3]和葛伟等人^[4,5]对银鲫受精过程进行了大量的细胞学研究。结果表明,受精后精核在卵细胞内保持致密的状态,不能启动发育成雄性原核,不与雌性原核融合。丁军等^[6]对雌核发育银鲫受精机理进一步的研究发现,同源精子与异源精子虽然在银鲫卵中均不能发育成雄性原核,但两者的细胞学行为存在很大差异。异源精子在银鲫卵中不能进一步发育,精核高度固缩,从而呈现出典型的雌核发育过程,而同源精子进入后可以解凝,并能与卵核结合。至于彭泽鲫(*Carassius auratus*)的雌核发育,最早发现的是杨兴棋等人^[7],关于彭泽鲫雌核发育的细胞学观察,国内外尚未见报道。现将我们的研究结果报道如下,为进一步探讨彭泽鲫雌核发育机理提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料来源 彭泽鲫雌、雄鱼来自江西省水产研究所,尖鳍鲤(*Cyprinus acutidorsalis*)来自本研究室鱼塘。

1.2 “受精”组合 彭泽鲫♀×彭泽鲫♂,彭泽鲫♀×尖鳍鲤♂,每组选取体格健壮,性腺发育良好的亲本各一尾进行人工授精,配组产卵用人工注射 HCG 和 LRH-A 的方法获得彭泽鲫适当成熟的鱼卵、精液及尖鳍鲤精液,人工干法授精。各组鱼卵受精时严格分开。

1.3 标本的制备 采用干法授精,把精卵混匀

后均匀洒在盛水的小培养皿中,定期取材用 Bouin 氏液固定。从受精到受精后 10 分钟,每 2 分钟取样一次,受精后 10 分钟到 60 分钟,每 5 分钟取样一次,取样数量约为每次 30~50 粒。材料固定后用梯度酒精脱水,松油醇透明,石蜡包埋,连续切片(厚度 8~10 μm),Delafield 苏木精染色,伊红复染。封片后在 Olympus 显微镜下观察并摄影。本研究的细胞学观察材料,是 1996 和 1997 两年重复进行的,所得结果一致,两年进行了约 3 千张卵子切片,用于同源精子和异源精子授精的卵子约为 480~900 粒,观察到约 5% 的切片。

2 结果

2.1 彭泽鲫精子在彭泽鲫卵中的发育行为特征 彭泽鲫精子进入彭泽鲫卵后,刺激卵子排放极体,完成成熟分裂,进而形成雌性原核。受精 10~15 分钟,极体已经排出,雌性原核已隐约可见,直径约 5~6 μm,精核未解凝,与雌性原核相距 3 μm(图版 I:1,2);受精 20 分钟,雌性原核已经形成,呈马蹄形状,直径约 11~13 μm,精核仍呈固缩状,未形成雄性原核,与雌性原核相距 8 μm(图版 I:3);受精 30 分钟,固缩精核与雌性原核接近,星光体开始出现(图版 I:4);受精 35 分钟,进入第一次有丝分裂中期,雌性染色体清晰可见,位于赤道板上,精核仍呈固缩状,未见有膨大、解凝的迹象,其位置在赤道板端位或纺锤体侧旁(图版 I:5);受精 40~50 分钟进入第一次有丝分裂后期,星光体充分发育,几乎占满整个胚盘,固缩精核位于一星光体侧旁(图版 I:6);受精 60 分钟,卵细胞已卵裂为 2 细胞了。

2.2 尖鳍鲤精子在彭泽鲫卵中的发育行为特

征 受精4~6分钟,可见到成熟分裂末期的纺锤体(其长轴约 $18.5\mu\text{m}$,短轴约 $8.5\mu\text{m}$),染色体分成两组,各向极端,切片上仍未见到排出的极体(图版I:7);受精10分钟,极体正在外排或已排出,排出的极体呈圆球形,直径约 $9\mu\text{m}$ (图版I:8);受精20~25分钟,雌性原核已形成,呈椭圆形,直径 $10\sim 13\mu\text{m}$,精核呈固缩状,未见其膨大发育,切片中见到精核距离雌原核 $5\mu\text{m}$,部分切片见到精核与雌性原核接合(图版I:9,10);受精30分钟,可见雌性原核膨大,近圆形,直径 $14\mu\text{m}$,两侧出现双星光体,精核仍未解凝,未形成雄性原核,距雌性原核稍远($25\mu\text{m}$) (图版I:11);受精35分钟,进入第一次有丝分裂中期,雌性染色体排列于赤道板上,固缩精核位于纺锤体侧旁,仍未见其启动发育(图版I:12);受精50~60分钟,雌性原核已发展到第一次有丝分裂末期,子核已经出现,在一些切片中,有些卵子已经开始卵裂为2细胞了。

3 讨论

3.1 关于减数分裂的次数 许多学者指出,在正常情况下,鱼类的成熟卵球要进行两次成熟分裂。受精前进行第一次成熟分裂,排出第一极体;受精后,进行第二次成熟分裂,排出第二极体。但是,小林弘^[8]认为,银鲫的卵母细胞在成熟过程中,只进行一次同型核分裂,未发现三极纺锤体,因此认为只有一次减数分裂。Cherfas^[9]则认为雌核发育三倍体银鲫(*C. auratus gibelio*)具有两次减数分裂,但第一次减数分裂时同源染色体之间不配对,形成三极纺锤体,至排卵时进行第二次减数分裂,三极变成两极,接着排出第二极体,卵核的染色体仍保留三套染色体。丁军^[6]报道,大多数银鲫卵母细胞是以三极纺锤体扭转重叠、合并,形成正常中期纺锤体的方式来代替通常的第一次成熟分裂。根据作者的观察,特别是受精后30秒、1分钟、2分钟的切片均未观察到受精前排出的第一极体,也未见其痕迹存在,未发现有三极纺锤体结构存在,在切片中也只看到一个极体,是在精子入卵10分钟后才排出的,直到第一次分

裂前后还可见到。在这之前未见过外排的极体。据此,可以认为彭泽鲫的卵在成熟过程中只完成一次成熟分裂。

3.2 关于彭泽鲫的雌核发育 彭泽鲫(*Pengze Crucian carp*)是鲫鱼(*Carassius auratus*)的一个地方种群。在体型、体色、脊椎骨数和侧线鳞数等性状方面与鲫鱼有着较为明显的差异^[7]。一般的鲫鱼行有性生殖,据报道,用雌性鲫鱼与雄性鲤鱼杂交,其后代明显表现出双亲影响,杂种头部较大,侧线鳞数介于双亲之间,有1~2对口须^[10];但用彭泽鲫雌鱼与尖鳍鲤雄鱼“杂交”,其后代外形与母本十分相似。从整个受精发育过程看,异源精子进入卵质中的精核不形成雄性原核,不参与卵的分裂,卵的分裂只是在雌性原核单一参与下进行。这一研究结果与小林弘^[8]、俞豪祥^[2]、周嘉申等^[3]报道的银鲫雌核发育结果一致。同时,根据作者^[11]用PHA体内注射制备鱼类肾细胞染色体的方法,得到F1当年鱼种的染色体数为166,应属母性遗传。因此,可以初步肯定彭泽鲫是一类两性型天然雌核发育类群。至于同源精子激发雌核发育彭泽鲫后代中出现10%~20%雄性个体,这是一个非常有趣和复杂的问题,有关机制仍在探索中。

致谢 中国科学院水生生物研究所杨兴棋高级工程师,华南师范大学生物系赵俊副教授在本研究中给予了极大的帮助,特表感谢。

参 考 文 献

- [1] 洛马索夫,德·德·克·阿·哥洛温斯卡娅. 鱼类的单雌发育和远缘杂交. 动植物的远缘杂交, 1960, 496~510.
- [2] 俞豪祥. 银鲫雌核发育的细胞学观察. 水生生物学集刊, 1982, 7(4): 481~487.
- [3] 周嘉申, 沈俊宝, 刘明华. 黑龙江方正银鲫雌核发育的细胞学初步探讨. 动物学报, 1983, 29(1): 11~16.
- [4] 葛伟, 蒋一圭. 雌核发育银鲫卵抑制异源精子原核化的作用模式初探. 水生生物学报, 1985, 9(3): 203~208.
- [5] 葛伟, 蒋一圭. 鱼类的天然雌核发育. 水生生物学报, 1989, 13(3): 274~286.
- [6] 丁军, 单仕新, 葛伟等. 银鲫卵抑制异源精子核发育的初级控制作用模式研究. 中国科学B辑, 1991, 11: 160~165.

- [7] 杨兴棋,陈敏容,俞小牧等. 江西彭泽鲫生殖方式的初步研究. 水生生物学报, 1992, 16(3): 277~280.
- [8] 小林弘(杨兴棋译). 鲫鱼的分类以及银鲫中所见到的雌核发育的细胞学研究. 淡水渔业, 1981(1): 36~40.
- [9] Cherfas, N. B. Natural triploidy in female of the goldfish (*Carassius auratus gibelio*). *Genetica*, 1966, 12(5): 16~24.
- [10] 李谭桂. 鲤鲫杂种的研究. 北京师范大学学报, 1960(1): 137.
- [11] 舒琥, 陈湘麟. 异精激发彭泽鲫雌核发育后代染色体组型的研究. 华南师范大学学报(自然科学版), 1998(2): 37~40.

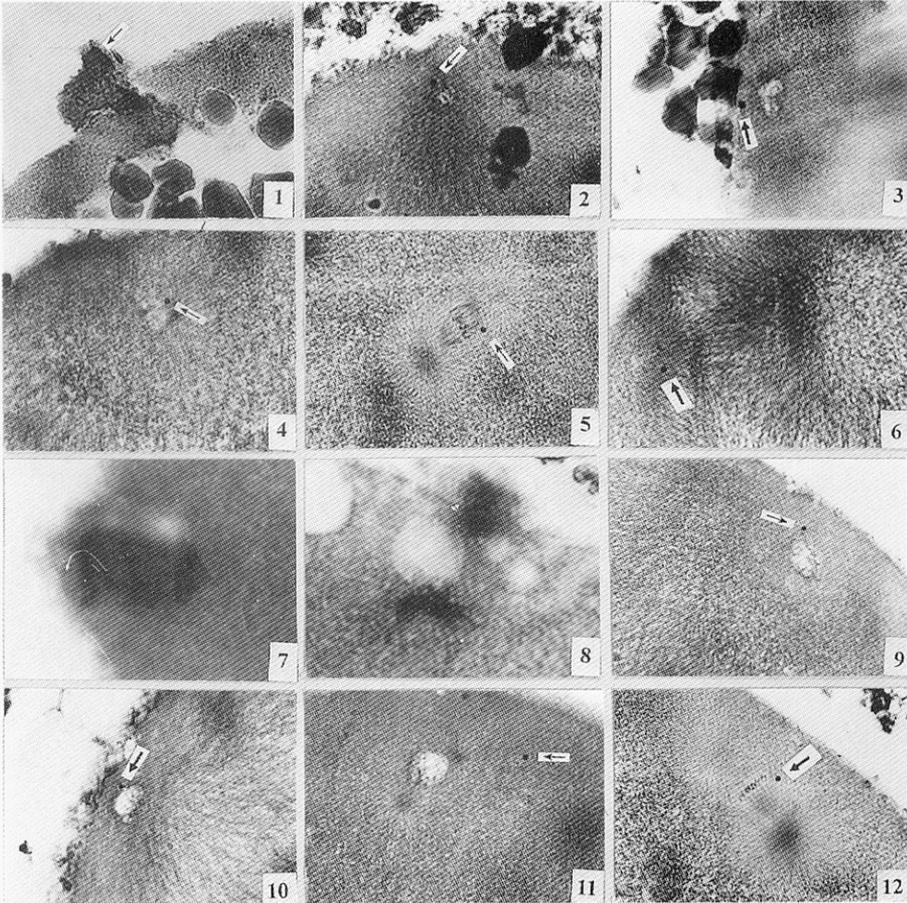


图 1~6:彭泽鲫(♀)×彭泽鲫(♂)

1. 受精 10 分钟,极体已排出,留下痕迹×400; 2. 受精 15 分钟,雌性原核已初步形成,固缩精核(箭头所示)位于侧旁×400; 3. 受精 20 分钟,雌性原核已形成,固缩精核(箭头所示)位于一旁×400; 4. 受精 30 分钟,固缩精核(箭头所示)与雌性原核接触,星光体开始出现×400; 5. 受精 35 分钟,进入第一次有丝分裂中期,固缩精核(箭头所示)位于赤道板端位×400; 6. 受精 50 分钟,进入第一次有丝分裂后期,星光体发育很大,固缩精核(箭头所示)位于一侧星光体旁×400

图 7~12:彭泽鲫(♀)×尖鳍鲤(♂)

7. 受精 4~6 分钟,可见成熟分裂末期的纺锤体×400; 8. 受精 10 分钟,雌核正在排出极体×400; 9. 受精 20 分钟,雌性原核已形成,固缩精核(箭头所示)与雌性原核十分靠近×400; 10. 受精 25 分钟,固缩精核与雌性原核接触×400; 11. 受精 30 分钟,雌性原核膨大,双星体出现,固缩精核(箭头所示)位于一侧稍远处×400; 12. 受精 35 分钟,进入第一次有丝分裂中期,雌性染色体位于赤道板上,固缩精核(箭头所示)位于赤道板侧旁×400