

# 热休克诱导虹鳟二倍体雌核发育\*

李胜忠 陈琳 杜劲松

(新疆水产科学研究所 乌鲁木齐 830000)

**摘要** 本文采用温度休克的方法进行了虹鳟二倍体雌核发育试验。发眼率为 12.66%，孵化率为 0.21%，获得雌核发育二倍体虹鳟鱼苗 17 尾。试验结果表明，只要处理方法得当就可以获得二倍体雌核发育的虹鳟幼苗。

**关键词** 雌核发育 二倍体 热休克 虹鳟

---

\* 新疆青年自然科学基金项目资助；第一作者介绍：李胜忠，男，33 岁，工程师，硕士；收稿日期：1996-04-19，修回日期：1996-11-22

雌核发育技术是 50 年代后期国外首先发展起来的单倍体育种技术。70 年代初我国才开始涉足这一领域的研究工作, 现已成功地获得草鱼、鲤鱼和鲫鱼三种雌核发育鱼<sup>[1]</sup>。由于运用雌核发育技术后, 可以将鱼类提纯复壮工作所需要时间由传统的 12 代缩短至 1 代<sup>[1]</sup>, 因此该项技术越来越受到鱼类育种专家们的重视。

本文于 1990-1992 年, 在乌鲁木齐市乌拉泊虹鳟渔场进行了热休克诱导虹鳟二倍体雌核发育试验。获得雌核发育的虹鳟鱼苗共 17 尾。现将试验结果报道如下:

## 1 材料和方法

**1.1 精液的紫外线照射处理** 挑选性成熟的雄性虹鳟 3-6 尾。采集精液 5-10ml, 吸取精

液 1ml, 移入直径为 10cm 的培养皿中, 制作成厚度为 0.5mm 的精液涂层。将培养皿置于冰水混合液中。用波长为 254nm、功率为  $5 \times 30W$  的紫外线强度照射精液 30min。照射距离为 10cm。

**1.2 采卵** 挑选性成熟雌性虹鳟 4-8 尾, 人工采卵 8000-15000 枚。随机分成 4 组备用。

**1.3 受精** 试验组的卵与紫外线处理过的精液混合, 静置 40min, 然后迅速移入 28℃ 水浴箱中, 经过 10min 热休克处理, 最后上孵化盘孵化。对照组的卵与紫外线处理过的精液混合, 静置 40min 后直接上孵化盘孵化。

**1.4 孵化管理** 将孵化盘放入冷流水孵化槽内孵化。每隔一定时间清除死卵并记数。孵化水温控制在 6-10℃。

表 1 虹鳟二倍体雌核发育试验结果

项目	受精卵枚数	各期胚胎存活数及百分率				
		囊胚期	神经胚期	发眼前	出膜期	
第一次试验	A(对照组)	787	81(10.27)	22(2.80)	0(0.00)	0(0.00)
	B	1021	564(55.24)	132(12.93)	106(10.30)	0(0.00)
	C	846	432(51.06)	101(11.93)	91(10.76)	3(0.35)
	D	965	386(40.00)	130(13.47)	112(11.61)	0(0.00)
第二次试验	E(对照组)	1205	241(20.00)	59(4.90)	0(0.00)	0(0.00)
	F	762	518(67.98)	131(17.19)	114(14.96)	1(0.13)
	G	1160	812(70.00)	220(18.97)	172(14.83)	4(0.35)
	H	928	575(61.96)	146(15.73)	129(13.90)	7(0.75)
第三次试验	I(对照组)	1064	128(12.03)	34(3.20)	0(0.00)	0(0.00)
	J	980	586(59.80)	150(15.30)	112(11.43)	0(0.00)
	K	863	466(54.00)	162(18.77)	117(13.56)	0(0.00)
	L	748	340(45.46)	110(14.71)	94(12.57)	2(0.27)
合计	对照组	3056	450	115	0	0
	试验组	8273	4679	1282	1047	17
各期胚胎平均存活率(%)	对照组		14.73	3.76	0.00	0.00
	试验组		56.56	15.50	12.66	0.21
各期胚胎平均递减率(%)	对照组		85.27	74.47	100.00	
	试验组		43.44	72.60	18.32	98.34

## 2 结 果

在本研究的若干次试验中,有三次试验获得成功,这三次试验的平均发眼率为 12.66%,平均出膜率为 0.21%,共得到雌核发育鱼苗 17 尾(见表 1)。试验组胚胎在经过 40-47d 总计 315-350 度日的积温发育后,有少部分胚胎顺利地渡过了囊胚期、神经胚期、发眼期以及出膜期,各期胚胎存活和死亡递减情况(见表 1)。

在胚胎发育过程中,试验组胚胎的死亡发生主要出现在前期阶段的囊胚期和神经胚期,以及后期阶段的出膜期。在前期阶段发育的胚胎以 43.44% - 72.60% 的速度递减,后期阶段以 98.34% 的速度递减(见表 1)。不过试验组胚胎与对照组胚胎在死亡发生上有所不同,对照组胚胎死亡多是异常卵裂所致,而试验组胚胎尽管大多为正常卵裂,但仍出现大量死亡。

在对照组中异常卵裂所占比例高达 80% - 90%,正常卵裂胚胎仅占 10% - 20%。这些正常卵裂的胚胎有的发育到了囊胚期,有的可以发育到神经胚期,但在发眼之前已全部死亡。

## 3 讨 论

虽然试验组胚胎与对照组胚胎发育时都出现大量死亡,但它们的死亡原因不同。对照组胚胎属单倍体,在发育过程中,胚胎会因细胞分裂时染色体的不平衡而死亡,这是众所周知的。至于试验组胚胎在正常卵裂下所出现的死亡,笔者认为一个主要原因是有害隐性基因的作用。我们知道雌核发育二倍体胚胎的产生属于高度近亲繁殖,隐性基因暴露的机会很大,在发育过程中,雌核发育二倍体胚胎的死亡率比一般胚胎的死亡率要高许多倍,在这种情况下,只有少数正常基因组合到一起的胚胎个体才能存活,完成整个胚胎发育。导致试验组胚胎大量

死亡的另一个原因来自热休克对胚胎的损伤作用。热休克处理对胚胎的损伤作用已被许多人的工作证实,如: Gillespie 和 Armstrong<sup>[2]</sup> 在诱导三倍体和二倍体蝾螈时发现,热休克处理对蝾螈胚胎有一定损伤作用,楼允东与 Purdom<sup>[1,3]</sup> 在诱导虹鳟二倍体雌核发育试验时证实,热休克法比静水压法对胚胎有更大的损伤作用。除此之外,所选用卵子的成熟状况也是影响胚胎存活的一个重要因素。据细胞学观察,硬骨鱼类的成熟卵一般处于第二次成熟分裂中期,为阻止第二极体的排出,温度休克在卵子第二次成熟分裂后期进行,此时温度休克最为有效,染色体的加倍易获成功。本研究第二次试验结果较为理想,很可能就是所选卵子成熟适中的缘故。

精液灭活处理的方法很多,但考虑到生产上的实用性,本研究选择了紫外线处理法。和  $\gamma$ 、 $\chi$  射线相比,紫外线的特点是价格低廉、使用安全,但是穿透力低。为了弥补紫外线穿透能力的不足,提高处理效率,试验中对 Y. D. Lou 等人<sup>[3]</sup> 的工作方法做了如下改进:(1)照射距离由 15cm 缩短至 10cm;(2)照射时间从 28min 延长至 30min;(3)精液涂层厚度由 5cm 改为 0.5mm。试验对照组胚胎在发眼期全部死亡,试验组胚胎囊胚期存活率为 56.56%,说明改进工作方法后的紫外线照射,不仅处理较为彻底,而且所灭活的精液对卵子仍有较高的激活能力。

## 参 考 文 献

- 1 楼允东,李元善. 鱼类育种学. 百家出版社, 1989.
- 2 Gillespie, L. L. & J. B. Armstrong. Induction of triploid and gynogenetic diploid axolotls, *Ambystoma mexicanum* by hydrostatic pressure. *J. Exp. Zool.*, 1979, 210: 117-122.
- 3 Lou, Y. D. and C. E. Purdom. Diploid gynogenesis induced by hydrostatic pressure in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.*, 1984, 24: 665-670.