

文章编号:1000 - 0615(2002)02 - 0111 - 04

三倍体湘云鲫性腺指数分析

刘少军, 孙远东, 黎双飞, 冯 浩, 李建中, 周工建, 张轩杰, 刘 筠

(湖南师范大学生命科学学院, 湖南 长沙 410081)

摘要:对三倍体湘云鲫和作为对照的二倍体日本白鲫的性指数进行了比较分析。三倍体湘云鲫的卵巢指数、精巢指数、脂肪型“性体”指数都分别低于日本白鲫的卵巢指数、精巢指数及两者的平均值。日本白鲫的卵巢指数是湘云鲫卵巢指数的 2.85 倍,日本白鲫的精巢指数是湘云鲫精巢指数的 1.94 倍,日本白鲫卵巢和精巢的平均指数是湘云鲫脂肪型“性体”指数的 5.60 倍。具脂肪型“性体”的湘云鲫生长速度最快,其次是雌性湘云鲫,最后是雄性湘云鲫。根据性体指数对照,说明三倍体湘云鲫的性腺发育受到不同程度的抑制,其中脂肪型“性体”中生殖细胞的发育完全被抑制;卵巢发育的抑制程度大于精巢,其主要抑制效应表现在具有卵黄的卵母细胞的大幅度减少。无论从生殖角度还是生长角度来考虑,具有脂肪型“性体”的湘云鲫是最理想的不育三倍体鱼。

关键词:三倍体湘云鲫;性腺发育;性腺指数;不育

中图分类号: S132.1;S917 **文献标识码:** A

Analysis of gonadosomatic indexes of the triploid crucian carp

LIU Shao-jun, SUN Yuan-dong, LI Shuang-fei, FENG Hao, LI Jian-zhong,
ZHOU Gong-jian, ZHANG Xuan-jie, LIU Yun

(College of Life Sciences, Hunan Normal University, Changsha 410081, China)

Abstract: The gonadosomatic indexes (GSI) of the triploid crucian carp, produced by crossing the allotetraploid hybrids () of red crucian carp (*Carassius auratus* red var.) × common carp (*Cyprinus carpio* L.) with the diploid Japanese crucian carp () (*Carassius auratus cuvieri* T. et S.), and the diploid Japanese crucian carp were compared. The indexes of the ovaries, testes and the fat tissue “gonad” found in the triploid crucian carp were respectively lower than those of the ovaries, testes and the average value of the ovaries and testes found in the Japanese crucian carp. The indexes of the ovaries and the testes in the Japanese crucian carp were respectively 2.85 and 1.94 times of the indexes of the ovaries and the testes in the triploid crucian carp. The index of the average value of the ovaries and testes in the Japanese crucian carp was 5.60 times of that of the fat tissue found in the triploid crucian carp. In the triploid crucian carp, the fish with the fat tissue “gonad” grew faster than the others. The females grew faster than the males. No germ cells in the fat tissue “gonad” were observed, suggesting that the development of the germ cells was completely repressed. The repressed degree of the ovaries in the female triploids was higher than that of the testes in the male triploids due to the absence of the yolk in the oogonium-like cells that occupy most space of the ovaries. Considering the sterility and the fast growth rate, the

收稿日期:2001-07-24

资助项目:国家“863”计划项目(国科生 1996182),湖南省重点科研项目(991065)

作者简介:刘少军(1962-),男,湖南长沙人,博士,教授,博士生导师,主要从事鱼类生殖生理研究。Tel: 0731 - 8872552, Fax: 0731 - 8872500, E-mail: lsj@hunnu.edu.cn

triploid fish with the fat tissue "gonad" were the best ones.

Key words :triploid crucian carp; gonadal development; gonadosomatic index; sterility

湖南师范大学生命科学学院与湘阴县东湖渔场合作研究的红鲫() \times 湘江野鲤() $F_3 - F_8$ 已被证明是异源四倍体($4n = 200$)^[1,2],这是世界上在脊椎动物中人工培育的第一例两性可育并形成遗传性状稳定的四倍体鱼群体。异源四倍体可育群体的获得在进化理论上具有重要的意义,它提供了在脊椎动物中通过染色体加倍来形成新种的直接证据,同时也为证明目前的一些二倍体鱼如鲤鱼^[3]、虹鳟^[4]等为古老的四倍体鱼提供了旁证。在生产应用上,异源四倍体鱼重要用途是通过与二倍体鱼的倍间交配方法来大量生产不育三倍体鱼,即用四倍体鲫鲤为父本,二倍体日本白鲫为母本,两者交配形成了三倍体湘云鲫($3n = 150$)^[1]。对异源四倍体鲫鲤、三倍体湘云鲫的染色体数目、DNA含量、血细胞核的大小等方面都已经有了报道^[1,2],有关三倍体湘云鲫在繁殖季节的性体部位的显微和亚显微结构研究也有了报道,证明三倍体湘云鲫三种性体类型(卵巢、精巢及脂肪型)都是不育的^[5],但是对三倍体湘云鲫的性体指数(gonadosomatic index)及它们与生长速度的关系研究这还是首次报道。

1 材料和方法

在1998年和1999年2月,解剖一龄湘云鲫21尾,其中10尾雌性,5尾雄性,6尾具脂肪型“性体”。解剖一龄日本白鲫8尾,其中雌性5尾,雄性4尾。称量每尾鱼的体重和性体部位组织的重量。观察性体部位组织的外形,取部分组织固定于Bouin氏液中,用于石蜡切片观察。性体指数(%)=(性体部位组织重/鱼体重) $\times 100$ 。算出上述试验样品的性体指数和鱼体重量平均值及标准误。

因湘云鲫是偏向于鲫鱼类型的三倍体鱼,而且其母本就是日本白鲫,所以我们选择日本白鲫的卵巢和精巢作为对照组。脂肪型“性体”既不同于精巢也不同于卵巢,所以取日本白鲫精巢和卵巢指数的平均值作为对照。本文将湘云鲫和日本白鲫性腺部位的组织也称为性体。

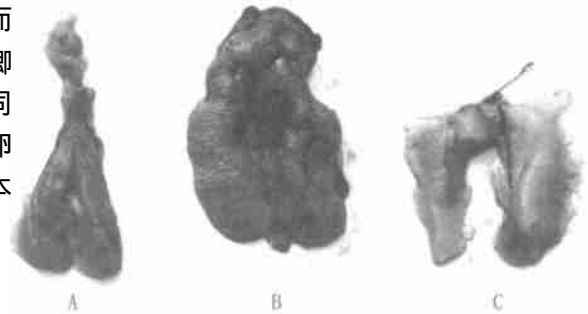


图1 湘云鲫的性腺

Fig.1 The gonad of triploid crucian carp

A:湘云鲫卵巢; B:日本白鲫卵巢; C:湘云鲫脂肪型“性体”

A:the ovary of the triploid crucian carp; B:the ovary of the

Japanese crucian carp;C:the fat tissue found in the gonad

locations of the triploid crucian carp

2 结果和讨论

湘云鲫的卵巢呈偏棒状(图1-A),其表面可见一些红色的血管,与日本白鲫卵巢(图1-B)相比,其体积要小很多。湘云鲫精巢呈线条状,体色呈淡白色,其体积比日本白鲫精巢的体积小。湘云鲫精巢与日本白鲫精巢的明显区别在于:湘云鲫精巢被剪破后,没有精液流出,而日本白鲫精巢被剪破后,有明显的精液流出。湘云鲫的脂肪“性体”(图1-C)为白色,手接触后有油腻感。本研究中的21尾湘云鲫样品中,卵巢型占47.6%,精巢型占23.8%,脂肪型占28.6%。对湘云鲫和日本白鲫的性体部位组织和体重的测量见表1。

根据表1中的数据,做出湘云鲫和日本白鲫性体指数比较的直观图(图2)。

从表1和图2可知,在同一时期,日本白鲫的卵巢指数是湘云鲫卵巢指数的2.85倍,日本白鲫的精巢指数是湘云鲫精巢指数的1.94倍,而日本白鲫的卵巢和精巢的平均指数是湘云鲫脂肪型“性体”的5.60倍。上述结果表明三倍体湘云鲫的三种类型的性体指数都低于相对应的二倍体日本白鲫的性体指数。这说明三倍体湘云鲫性体发育的能量消耗可能要低于二倍体日本白鲫,为证明不育三倍体鱼因性体发育不发达致使把原来用到生殖发育的能量有可能转到生长方面的推测提供了证据。表1说明雌性

湘云鲫生长速度快于雌性日本白鲫;雄性湘云鲫生长速度快于雄性日本白鲫,具脂肪“性体”的湘云鲫生长速度比雌性和雄性日本白鲫都快。这与以前的生长速度对比实验证明湘云鲫比日本白鲫长得快的结论^[6]是一致的。

性体指数的对照比较说明三倍体湘云鲫卵巢受抑制的程度比三倍体湘云鲫精巢受抑制的程度要大,该现象可通过组织细胞学结构来解释。通过观察湘云鲫卵巢的组织学切片^[5],可以看到湘云鲫卵巢的大部分是一些分化程度较低的小细胞,而体积较大又充满卵黄的卵母细胞的数目不多。相反,同时期的二倍体日本白鲫卵巢中的大多数卵母细胞具有较大体积而且充满卵黄。因此二倍体日本白鲫的卵巢指数与三倍体湘云鲫的差距比较大。湘云鲫具有三套染色体

($3n = 150$),在第一次减数分裂中期,三套染色体在同源染色体配对和分离时出现紊乱,造成非整倍体次级卵母细胞和非整倍体卵子的产生,这些非整倍体细胞在卵巢中呈现卵黄溶解、卵膜变形等退化特征^[5],因此雌性湘云鲫是不育的。

表 1 湘云鲫和日本白鲫的性体指数比较

Tab.1 Comparison of gonadosomatic indexes of triploid crucian carp (TC) and Japanese crucian carp (JC)

性体结构 structure of the gonads	鱼体平均重(g) ($\bar{X} \pm SD$) average weight of the samples	性体指数平均值($\bar{X} \pm SD$) average GSI
湘云鲫卵巢(ovary of TC)	459.56 \pm 241.38	3.07 \pm 1.89
湘云鲫精巢(testis of TC)	374.60 \pm 127.48	2.76 \pm 0.69
湘云鲫脂肪“性体”(fat tissue “gonad” of TC)	499.50 \pm 253.51	1.26 \pm 0.70
白鲫卵巢(ovary of JC)	405.50 \pm 212.87	8.74 \pm 0.90
白鲫精巢(testis of JC)	345.00 \pm 198.91	5.35 \pm 2.11
白鲫性体平均值(average weight of the ovary and testis of JC)		7.05 \pm 2.40

二倍体鱼在排卵之前,卵母细胞迅速增长是由于大幅度的卵黄蛋白的吸收;卵黄蛋白来源于肝脏,卵巢中产生的雌激素刺激肝脏合成卵黄蛋白,然后卵黄蛋白再运输到卵巢中被卵母细胞吸收^[7]。国外学者^[7]发现三倍体雌性个体血浆中的雌激素的水平低于二倍体雌性个体血浆中的雌激素的水平。这可能与三倍体卵巢中的大多数卵母细胞不含卵黄有关。

湘云鲫精巢的大部分是一些精子细胞,尽管没有成熟精子,但与二倍体精巢的结构相差不是很大(没有卵母细胞内卵黄的有无的差别那样大),因此它与二倍体鱼的精巢指数的差别要小一些。对于三倍体湘云鲫的精巢来说,由于有大量的精子细胞的形成,说明大多数的精母细胞都能进入减数分裂的程序,并发育到精子细胞阶段。但同样由于在第一次减数分裂中期,三套染色体在同源染色体配对和分离时出现紊乱,造成非整倍体次级精母细胞和非整倍体精子细胞的产生,这些非整倍体精子细胞在精巢中呈现细胞器和细胞核解体的退化特征,因此雄性湘云鲫也是不育的。

湘云鲫性体部位的脂肪结构中没有生殖细胞的存在,二倍体日本白鲫的卵巢和精巢的平均指数是湘云鲫脂肪型“性体”指数的 5.06 倍,差别为最大。在其它三倍体鱼的性体报道^[7]中只有精巢和卵巢两种,很少有完全为脂肪型的“性体”报道。脂肪作为能量的储存物质,对鱼体的生长和其它生理功能都会

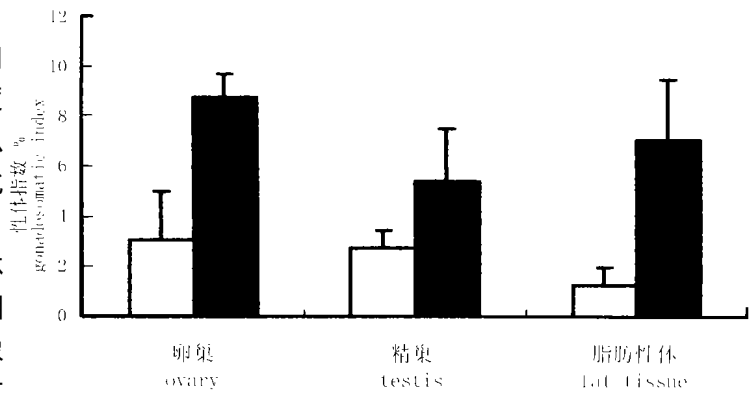


图 2 湘云鲫和日本白鲫性体指数比较

Fig.2 Comparison of GSI of triploid crucian carp and Japanese crucian carp

湘云鲫; 白鲫.

triploid crucian carp; Japanese crucian carp

产生影响。脂肪型“性体”产生的机制和原理,还有待作进一步的研究。从表1可知,具脂肪型“性体”的湘云鲫生长速度最快,其次是雌性湘云鲫,最后是雄性湘云鲫。因此无论从生殖角度还是生长角度来说,具有脂肪型“性体”的三倍体是最理想的不育三倍体鱼。湘云鲫为什么会有三种性体结构?它们是否分别属于XXX、XXY、XYX类型或是其它类型?有待今后进行进一步的研究。

关于三倍体鱼的不育机制可以用上述三套染色体在减数分裂时同源染色体配对和分离时出现紊乱的学说来解释。但是目前国内外也有三倍体鱼可育的报道^[8,9]。Cherfas等^[8]报道了鲫(♀)×鲤(♂)杂交雌性F₁与雄性鲫鱼交配产生的后代中有可育的三倍体鱼,这种三倍体鱼可通过雌核发育的形式来繁殖三倍体后代。他们的解释是:雌性三倍体中的一些早期卵母细胞经过核内复制(endoreduplication),使得DNA含量加倍达到6N,然后进行正常的减数分裂,产生3N的卵子,这种卵子营雌核发育形成三倍体的后代。显而易见,这种三倍体卵子在产生过程中,没有出现染色体在减数分裂阶段的同源染色体配对的紊乱现象。从上述情况来看,三倍体是否可育,关键在于三倍体鱼是否能进行正常的减数分裂来形成整倍体配子,如果不能进行正常的减数分裂而最终产生非整倍体配子或败育的生殖细胞,则是不育的。那么什么样的三倍体是不育的?什么样的三倍体可以通过营雌核发育来繁殖后代呢?现在还没有一致的解来回答这个问题。作者认为这可能与三倍体鱼产生的方法和其亲本有一定的关系。在Cherfas等^[8]的研究报道中,鲫(♀)×鲤(♂)杂种雌性F₁与雄性鲫鱼交配产生的后代中有可育的三倍体鱼,但是杂交雌性F₁与雄性鲤鱼交配产生的后代中的三倍体鱼都是不育的。这里可能涉及到染色体或者基因间的调控问题。湘云鲫是由四倍体(♀)与二倍体(♂)交配产生的三倍体,四倍体来源于红鲫和湘江野鲤,二倍体是日本白鲫,因此湘云鲫具有高度的异源性。除了用同源染色体配对紊乱来解释三倍体不育的原因以外,还有必要在分子水平上开展更进一步的研究。

湘云鲫的不育性通过它们具有的三种性体结构得到了证明,另外十多年的养殖实践也证明了湘云鲫的不育性。陈敏容等^[10]通过倍间交配产生的三倍体白鲫中也没有发现可育的个体。三倍体鱼的不育性可以帮助解决转基因鱼的生物安全性问题。不育的转基因三倍体鱼在自然界中不会与其它任何鱼类交配而产生后代,避免自然界中的鱼类种质资源受到干扰。

参考文献:

- [1] Liu S J, Liu Y, Zhou G J, et al. The formation of tetraploid stocks of red crucian carp × common carp hybrids as an effect of interspecific hybridization[J]. Aquac, 2001, 192(2-4): 171-186.
- [2] Liu S J, FENG H, Liu Y, et al. The measurement of DNA content of the tetraploid F₃-F₄ hybrids of red crucian carp × common carp and their triploid offspring and other related diploid fish[J]. J Hunan Normal Univ (Natural Science), 1999, 22(4): 61-68. [刘少军,冯浩,刘筠,等. 四倍体鲤鲫F₃-F₄、三倍体湘云鲤鲫、湘云鲤及有关二倍体的DNA含量[J]. 湖南师范大学学报(自然科学版), 1999, 22(4): 61-68.]
- [3] Ohno S. Gene duplication and the uniqueness of vertebrate genomes circa 1970-1999[J]. Cell Develop Biol, 1999, 10: 517-522.
- [4] Ohno S, Wolf U, Atkin N. Evolution from fish to mammals by gene duplication[J]. Hereditas, 1986, 59: 169-187.
- [5] Liu S J, Hu F, Zhou G J, et al. Gonadal structure of triploid crucian carp produced by crossing allotetraploid hybrids of *Carassius auratus* red var. (female) × *Cyprinus carpio* (male) with Japanese crucian carp (*Carassius auratus cuvieri* T. et S.) [J]. Acta Hydrobiol Sin, 2000, 24(4): 301-306. [刘少军,胡芳,周工建,等. 三倍体湘云鲫繁殖季节的性体结构观察[J]. 水生生物学报, 2000, 24(4): 301-306.]
- [6] Zhou G J, Chen X, Kang X. Comparison on culture effect in three kinds of crucian carps[J]. Inland Fishery, 1999, 24(3): 20. [周工建,程献,康学. 三种鲫鱼养殖对比实验小结[J]. 内陆水产, 1999, 24(3): 20.]
- [7] Benfey T J. The physiology and behavior of triploid fishes[J]. Reviews in Fisheries Sciences, 1999, 7(1): 39-67.
- [8] Cherfas N B, Gomelsky B L, Emei Yanova O V, et al. Induced diploid gynogenesis and polyploidy in crucian carp, *Carassius auratus gibelio* (Bloch) × common carp, *Cyprinus carpio* L., hybrids[J]. Aquac Fish Manag, 1994, 25: 943-945.
- [9] Wu Q J, Ye Y Z, Chen R D. Artificially multiple triploid carp with natural gynogenetic traits[J]. Advances in Natural Science, 1997, 7(3): 340-344. [吴清江,叶玉珍,陈荣德. 具有天然雌核发育特性的人工复合三倍体鲤鱼[J]. 自然科学进展, 1997, 7(3): 340-344.]
- [10] Chen M R, Yang X Q, Yu X M, et al. Chromosome ploidy manipulation of allotetraploids and their fertility in Japanese phytophagous crucian carp (JPCC) (♀) × red crucian carp (RCC) (♂) [J]. Acta Hydrobiol Sin, 1997, 21(3): 187-206. [陈敏容,杨兴棋,俞小牧,等. 白鲫(♀) × 红鲫(♂) 异源四倍体鱼的倍性操作及其生殖力的研究[J]. 水生生物学报, 1997, 21(3): 197-205.]