

doi: 10.7541/2019.146

黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优1号”形态及性腺发育的比较

胡伟华 丹 成 郭稳杰 樊启学 梅 洁

(华中农业大学水产学院, 武汉 430070)

摘要: 选取相同养殖条件的10月、22月和34月龄的黄颡鱼和新品种杂交黄颡鱼(黄颡鱼*P. fulvidraco*♀×瓦氏黄颡鱼*P. vachelli*♂)“黄优1号”进行形态及性腺发育的比较研究。通过形体指标测量发现“黄优1号”生长性能显著优于黄颡鱼;在22月和34月龄黄颡鱼中,雄性的体重是雌性的2倍左右,雄性生长速度显著高于雌性;而在“黄优1号”中,两性生长异形现象被显著减弱。基于性腺解剖形态分析发现雌性“黄优1号”卵巢完全退化,呈细线状结构且没有卵子产生,故“黄优1号”雌鱼完全不育;雄性“黄优1号”精巢组织呈现透明状和退化状态。精巢组织切片HE染色分析发现10月龄“黄优1号”的精小囊为空腔状几乎没有精子产生,22月和34月龄“黄优1号”的精小囊内出现极少量精子。计算机辅助精子分析系统(CASA)分析发现,相比于黄颡鱼,“黄优1号”精巢中精子量非常少,有效活力低下;经过繁殖能力测试,22月龄“黄优1号”雄鱼不具备繁殖能力。新品种杂交黄颡鱼“黄优1号”在生长性能提高上显现了杂交优势,具有推动黄颡鱼产业发展的潜力。

关键词: 黄颡鱼; 瓦氏黄颡鱼; 杂交黄颡鱼; 性腺发育; 计算机辅助精子分析系统

中图分类号: Q174 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2019)06-1231-08

黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco* Richardson)是我国一种重要的小型底栖经济鱼类,广泛分布于全国各流域水体中,因其肉质细嫩、肉味鲜美、无肌间细刺,受到广大消费者的青睐。由于黄颡鱼雄性比雌性生长快,我国学者开拓出了一条X和Y染色体连锁标记辅助的全雄鱼培育技术路线,并培育出新品种全雄黄颡鱼“全雄1号”^[1-6]。全雄黄颡鱼显著提高了养殖经济效益,其大范围推广极大推动了黄颡鱼产业的发展。近年来,亲本超雄鱼繁育系经过多代自交之后发生了退化,自交系在生长和抗病等性能方面呈现减弱的趋势,此时需要对全雄黄颡鱼进行品种改良或开发出其他黄颡鱼新品种。根据养殖情况调查和研究发现,杂交黄颡鱼(黄颡鱼*P. fulvidraco*♀×瓦氏黄颡鱼*P. vachelli*♂)形态特征与黄颡鱼接近,生长速度优于黄颡鱼^[7-9]。

杂交育种是遗传育种中最经典的方法之一,不同种间生物的杂交,有可能迅速和显著地提高杂种后代的存活率、生长速度等经济性状,继而可以经培育而成新品种^[7]。迄今为止,已通过不同种类杂

交培育出了一些在生长性能上具有显著优势的杂交鱼类品种,例如杂色鲮“东优1号”(台湾杂色鲮*Halotis diversicolor*♀和日本杂色鲮*Halotis diversicolor*♂)、湘云鲫(白鲫*Carassius auratus cuvieri*♀和异源四倍体鲤鲫*Allotetraploid hybrids*♂)以及杂交鳊“杭鳊1号”(珠江水系斑鳊*Channa maculata*♀和钱塘江乌鳊*Channa argus*♂)等^[10]。华中农业大学黄颡鱼种质资源与品种改良团队采用杂交育种的方法,选择梁子湖水域采捕并经连续3代选育的黄颡鱼为母本、长江河段中采捕并经连续2代选育的瓦氏黄颡鱼为父本,再经人工杂交获得F1代即为杂交黄颡鱼“黄优1号”。与黄颡鱼相比,一龄“黄优1号”生长速度和成活率均提高30%以上。据市场调查反应,“黄优1号”的雌雄生长速度和性腺发育情况较黄颡鱼也具有差异,对“黄优1号”的基础研究有待进一步挖掘。

由于黄颡鱼和杂交黄颡鱼的形态特征非常接近,养殖过程中会存在混杂在一起的现象,引起从事水产一线的工作人员对于杂交黄颡鱼(黄颡鱼

收稿日期: 2018-08-09; 修订日期: 2019-03-01

基金项目: 国家现代农业产业技术体系特色淡水鱼体系项目(CARS-46)资助 [Supported by the China Agriculture Research System (CARS-46)]

作者简介: 胡伟华(1989—),男,湖北黄石市人;博士研究生;主要从事鱼类遗传育种研究。E-mail: huweihua@webmail.hzau.edu.cn

通信作者: 梅洁,博士,教授; E-mail: jmei@mail.hzau.edu.cn

♀×瓦氏黄颡鱼♂)的生长性能、外观形态等的争议。最近,我们开发了一对DNA分子标记能稳定、高效识别黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼及其杂交种,为研究它们之间的差异奠定了基础^[11]。杂交后代不育现象在动植物中普遍存在,杂交黄颡鱼后代的遗传能力以及生长优势是评价其能否成为养殖新品种的重要指标之一。本研究以养殖时间10—34月龄黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优1号”为研究对象,比较分析黄颡鱼和“黄优1号”的形体指标和性腺发育情况。

1 材料与方法

1.1 材料

2014年7月、2015年7月于湖北省武汉市江夏区鲁湖养殖基地进行黄颡鱼和杂交黄颡鱼“黄优1号”的繁育,待完成饲料训食后,选取6个相同养殖条件、面积为3333.33 km²(5亩)的池塘进行养殖试验,投放规格为0.26—0.35 g/尾,养殖密度均为12000 尾/亩,黄颡鱼和“黄优1号”投喂量均相同。于2016年6月、2017年6月在池塘中随机捕捞黄颡鱼和“黄优1号”各60尾,进行采样、检测和数据处理。

1.2 形体指标测量

将实验鱼置于200 mg/L MS-222(间氨基苯甲酸乙酯甲磺酸盐)的环境中麻醉,于解剖盘上测量体长(BL)、体重(BW)、性腺重(GW)和性腺成熟系数(GSI,性腺体重比)。

1.3 鱼体解剖及形态学观察

将麻醉后的实验鱼置于解剖盘上,剪去腹部肌肉,去除内脏团,用滤纸吸取流出的血液,观察实验鱼性腺发育情况并于解剖盘上拍照记录。然后,取出完整的性腺置于4%多聚甲醛中固定。经梯度酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,连续切片厚度为8 μm。将石蜡切片用常规苏木精-伊红染色(HE)染色,用Axio Imager A2显微拍照观察。

1.4 计算机辅助精子分析系统(CASA)

实验鱼麻醉后剪开腹部肌肉,取下完整的性腺并置于洁净的定性滤纸上,去除附着在性腺上的组织液及其他物质,以免激活精子。将黄颡鱼和“黄优1号”精巢按照质量体积比=1:2添加精子保存液(精子保存液配方:63 mmol/L NaCl、19 mmol/L KCl、1.3 mmol/L CaCl₂、4.7 mmol/L MgSO₄·7H₂O、2.5 mmol/L NaHCO₃, pH 7.4)^[12],在洁净的匀浆器中均质,备用。

精子活力和运动参数利用计算机辅助精子分

析系统(CASA)检测分析,设定60帧/s,选择10×相位差进行分析每个样品中的精子移动^[13-15]。用0.45%的NaCl溶液激活测定,每个样品至少随机检测3次。精子活力的指标可以通过多个参数来显示,如轨迹速度(VCL),也称曲线速度,即精子头部沿其实际行走曲线的运动速度;平均路径速度(VAP),精子头沿其空间平均轨迹的运动速度,这种平均轨迹是计算机将精子运动的实际轨迹平均后计算出来的;直线运动速度(VSL):也称前向运动速度,即精子头部直线移动距离的速度;直线性(LIN):也称线性度,为精子运动曲线的直线分离度,即VSL/VCL;鞭打频率(BCF):也称摆动频率,即精子头部跨越其平均路径的频率。

1.5 “黄优1号”繁殖能力测试

选取同一养殖基地池塘中养殖22月龄的“黄优1号”与黄颡鱼作为亲鱼开展人工催产试验。挑选形体、体色正常,体质健壮,无疾病、无伤病和畸变的“黄优1号”和黄颡鱼雄鱼各10尾,黄颡鱼雌鱼20尾。在水温达到23—26℃时,进行“黄优1号”雄鱼和黄颡鱼雌鱼人工催产试验测试“黄优1号”繁殖能力,并以黄颡鱼作为对照。

催产方式:“黄优1号”和黄颡鱼雄鱼不注射催产药物;雌性黄颡鱼采用两次注射(胸鳍基部注射),催产药物为地欧酮(DOM)、鱼用绒毛膜促性腺激素(HCG)和促黄体激素释放激素(LRH-A2)3种药物配伍;注射计量为第一针:LRH-A2 10—16 μg + HCG 100—200 IU/kg;第二针:LRH-A2 16—20 μg + HCG 1200—2000 IU/kg + DOM 5—8 mg/kg,两针间距时间为8—12h。

采用“半干法”进行黄颡鱼人工授精,达到效应时间前2—3h检查亲鱼动态,待60%—70%的雌性黄颡鱼个体都能达到顺利完成人工挤卵时,开始人工收卵。将收集到的卵混匀,按照重量分置6个玻璃培养皿(HY-1、HY-2、HY-3;HF-1、HF-2、HF-3)中。HY-1、HY-2、HY-3用“黄优1号”精液进行人工授精,HF-1、HF-2、HF-3用黄颡鱼精液进行人工授精。完成人工授精的卵置于玻璃平皿中充气孵化。受精卵发育至原肠胚期后计算卵的总数和受精卵数量,然后继续充气孵化,鱼苗出膜后计算鱼苗出膜数量^[16]。

1.6 数据处理

采用SPSS18.0统计软件进行实验数据的统计学分析,采用单因素方差分析(One-way ANOVA)进行各组数据的组间差异分析, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

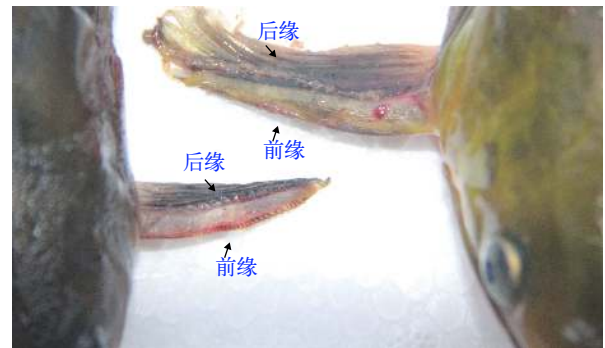
2 结果

2.1 黄颡鱼和“黄优1号”的形体指标测量

在针对生产实践中, 杂交黄颡鱼与黄颡鱼从外观形态不易区分的问题, 本实验在运用DNA分子标记识别黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼及其杂交种的基础上, 通过对比形体指标及鳍式差异, 发现黄颡鱼胸鳍前缘和后缘均有锯齿状凸起, 而“黄优1号”胸鳍前缘光滑, 仅在后缘存在锯齿状凸起(图1)。这一性状提供了简便快速区分杂交黄颡鱼“黄优1号”和黄颡鱼的方法。

养殖1年龄为养殖黄颡鱼可上市的初步规格, 2年龄为大规格黄颡鱼, 3年龄可更好地观察比较黄颡鱼性腺发育情况, 故本实验选取10月、22月和34月龄黄颡鱼和“黄优1号”进行了形体指标检测(图2)。在10—34月龄的对比试验中, 选择相同养

殖月份的形体数据做统计分析, 发现雄性黄颡鱼与“黄优1号”在体长和体重上差异不显著($P>0.05$), 雌



黄颡鱼

黄优1号

图1 黄颡鱼与“黄优1号”胸鳍前后缘的差异

Fig. 1 Phenotypic differences of anterior and posterior margin of pectoral fin between yellow catfish and hybrid yellow catfish “Huangyou No. 1”

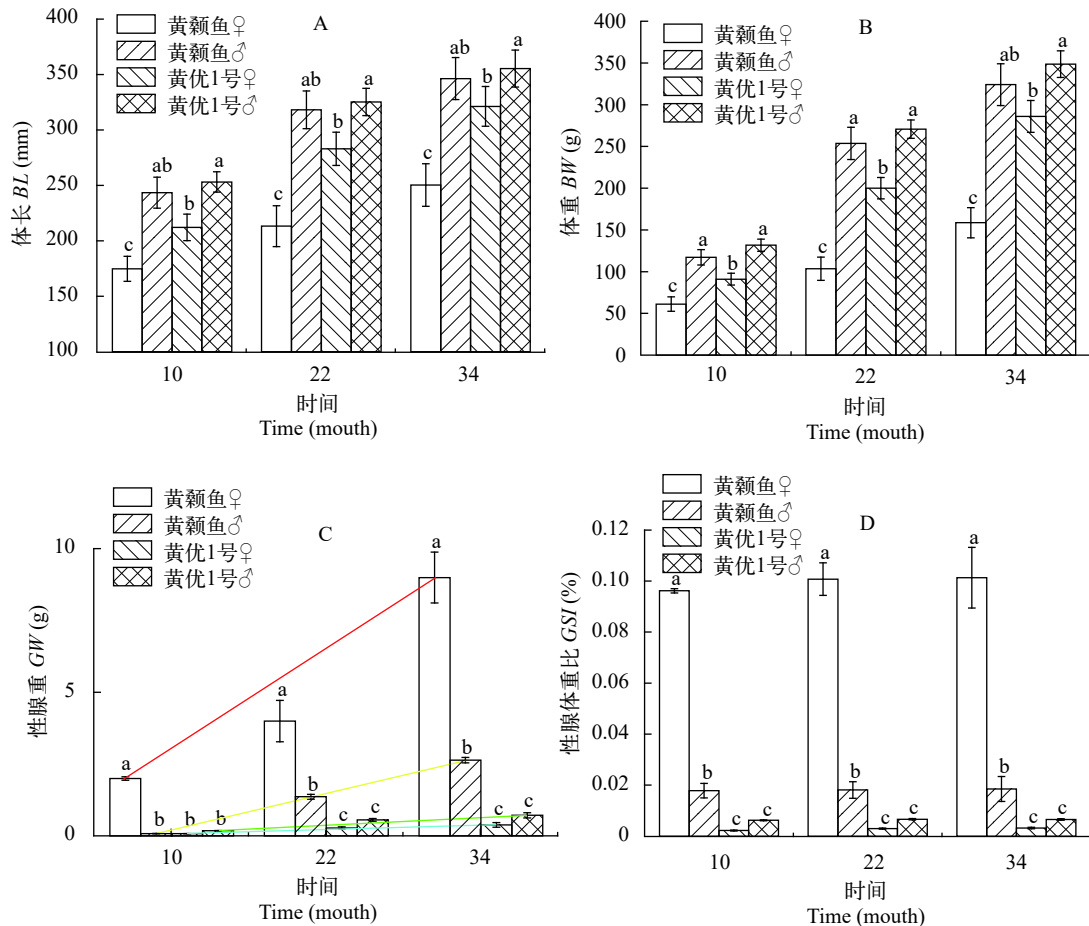


图2 黄颡鱼和“黄优1号”形体指标

Fig. 2 The physical indicators of yellow catfish and hybrid yellow catfish “Huangyou No. 1”

A. 10—34月龄黄颡鱼和“黄优1号”的体长(BL)统计结果; B. 10—34月龄黄颡鱼和“黄优1号”的体重(BW)统计结果; C. 10—34月龄黄颡鱼和“黄优1号”的性腺重(GW)统计结果; D. 10—34月龄黄颡鱼和“黄优1号”的性腺成熟系数(GSI)统计结果。不同上标小写字母表示有显著性差异($P<0.05$), 下同

A—D. Body length (BL), body weight (BW), gonad weight (GW) and gonadosomatic index (GSI) of yellow catfish and hybrid yellow catfish at age 10-34 months old. Values with different lowercase letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), the same applies bellow

性黄颡鱼与“黄优1号”则具有显著差异($P<0.05$) (图 2A), 说明“黄优1号”相较于黄颡鱼雌雄生长差异缩小。另外, 10—34月龄“黄优1号”的平均体重比黄颡鱼高28.33%—46.48%, 其中, 雄性黄颡鱼10月龄、22月龄和34月龄平均体重比雌性分别高65.16%、145.51%和119.87%, 而雄性“黄优1号”平均体重比雌性分别高46.33%、49.73%和31.90% (图 2B), 雌雄生长差异缩小。雄性“黄优1号”生长速度与雄性黄颡鱼相近, 雌性“黄优1号”生长速度比黄颡鱼提升明显, 故“黄优1号”的整体生长速度是明显提升的。同时, 雌雄生长差异缩小, 达到上市规格的比例较黄颡鱼有所提高。本实验的黄颡鱼和“黄优1号”养殖条件和投喂量一致, 不同的养殖条件实验结果也会略有不同, “黄优1号”的抢食和摄食能力均强于黄颡鱼。

黄颡鱼雌性的性腺重(GW)显著高于雄性($P<0.05$), 而“黄优1号”雌雄性腺重没有显著差异($P>0.05$)。进一步比较两者的性腺重量(GW)的增长率发现“黄优1号”性腺重量(GW)增长率显著低于黄颡鱼(图 2C; $P<0.05$); 以性腺体重比(GSI)换算而来的成熟系数, 结果为黄颡鱼成熟系数显著高于“黄优1号”(图 2D; $P<0.05$)。

2.2 黄颡鱼和“黄优1号”的性腺形态学和组织学观察

如图 3 中的黄颡鱼性腺解剖图所示, 10月、22月和34月龄黄颡鱼卵巢正常发育, 有大量的卵子发生(图 3A—3C), 而“黄优1号”的卵巢为白色线状组织呈现退化状态(图 3D—3F), 故“黄优1号”没有卵子生成表现为明显的杂交不育。10月、22月和34月龄黄颡鱼精巢正常发育, 为乳白色的精小叶结构(图 3G—3I), 而“黄优1号”的精巢为透明的精小叶结构和精巢退化状态(图 3J—3L), “黄优1号”的精巢结构需要通过组织学进一步分析。

对黄颡鱼和“黄优1号”精巢组织切片进行HE染色分析发现, 黄颡鱼在10月龄时精巢发育完全并且精小囊内存在大量精子(图 4A), 而10月龄“黄优1号”精巢中精小囊仅存在空壳, 几乎没有精子存在(图 4B)。22月龄“黄优1号”精巢中精小囊内发现少量精子存在(图 4C), 34月龄“黄优1号”精巢中出现一些类似于精原细胞和精母细胞的细胞(图 4D)。

2.3 计算机辅助精子分析系统(CASA)比较分析黄颡鱼和“黄优1号”的精子质量

如图 5 所示, 黄颡鱼的单位体积精子数量随着年龄的增长呈现递增趋势, 大约为 1×10^7 — 1×10^8 个精子/mL, 大部分为运动的精子; 而“黄优1号”的精子数量显著减少($P<0.05$), 仅为 1 — 5×10^3 个精子/mL。

同时, 相较于黄颡鱼的运动状态下精子数量占精子总数的83.00%—89.00%, “黄优1号”的活力精子数量占精子总数仅为17.61%—24.91%, 且静止状态下精子数量多于运动状态下精子数量。

在医学和动物学研究中, 计算机辅助精子分析系统(CASA)被广泛用于评价精子的质量, VAP、VSL和VCL等参数与不育男性生育能力具有显著的相关性, 是评判人类有无生育能力的重要参数^[17,18]。“黄优1号”精子的VAP、VSL和VCL等参数均显著低于黄颡鱼($P<0.05$), 但LIN(VSL/VCL)和BCF参数没有显著变化($P>0.05$; 表 1)。这些参数表明“黄优1号”的运动状态下精子的活力极其低下。

2.4 “黄优1号”雄鱼繁殖能力测试

如图 6 和表 2 所示, “黄优1号”♂与黄颡鱼♀(HY组)受精率和孵化率均为0; 而黄颡鱼♂与黄颡鱼♀(HF组)受精率最高为83.15%, 最低为71.74%, 平均值为76.71%。通过胚胎发育观察, HF组胚胎发育至2胞期时, 而HY组胚胎不能发育到2胞期。当HF组胚胎发育至原肠胚时期时, HY组胚胎都已

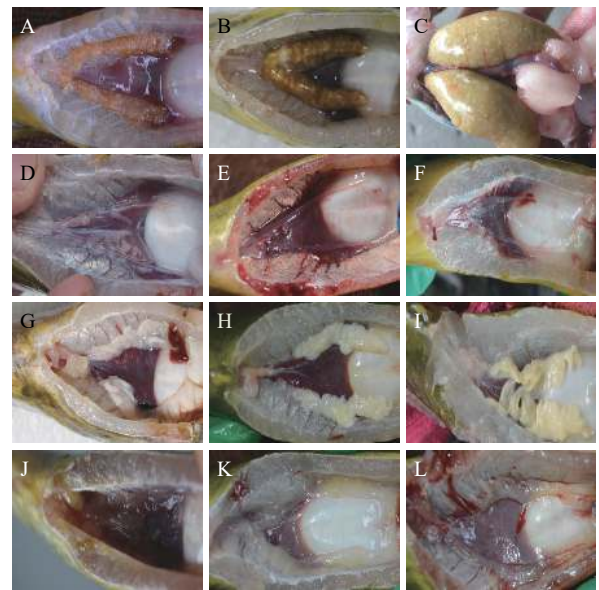


图 3 黄颡鱼和“黄优1号”性腺解剖图

Fig. 3 Anatomy of the gonad of yellow catfish and hybrid yellow catfish “Huangyou No. 1”

A—C为10月龄、22月龄和34月龄黄颡鱼卵巢图片; D—F为10月龄、22月龄和34月龄杂交黄颡鱼卵巢图片; G—I为10月龄、22月龄和34月龄黄颡鱼精巢图片; J—L为10月龄、22月龄和34月龄杂交黄颡鱼精巢图片

A—C. Ovary pictures of 10-month, 22-month and 34-month old yellow catfish; D—F. Ovary pictures of 10-month, 22-month and 34-month old hybrid yellow catfish; G—I. Testis pictures of 10-month, 22-month and 34-month old yellow catfish; J—L. Testis pictures of 10-month, 22-month and 34-month old hybrid yellow catfish

经变白,死亡。

经对比发现,22月龄“黄优1号”雄鱼不具备繁殖能力,同时“黄优1号”雌鱼未能形成囊状卵巢,不能进行人工催产,故判断“黄优1号”不具备繁殖能力。

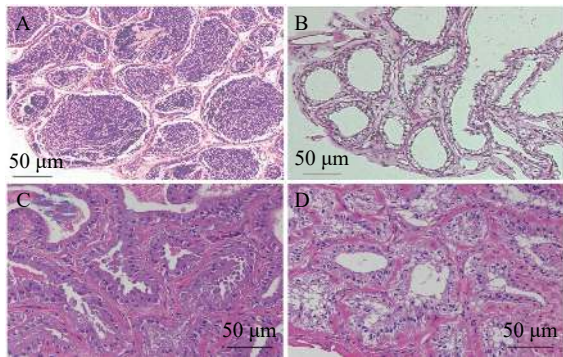


图4 黄颡鱼和“黄优1号”精巢组织切片HE染色图
Fig. 4 The HE staining results of testis sections of yellow catfish and hybrid yellow catfish “Huangyou No. 1”

A. 10月龄黄颡鱼精巢; B—D. 10月龄、22月龄和34月龄交黄颡鱼精巢
A. Testis section of 10-month old yellow catfish; B—D. Testis sections of 10-month, 22-month and 34-month old hybrid yellow catfish

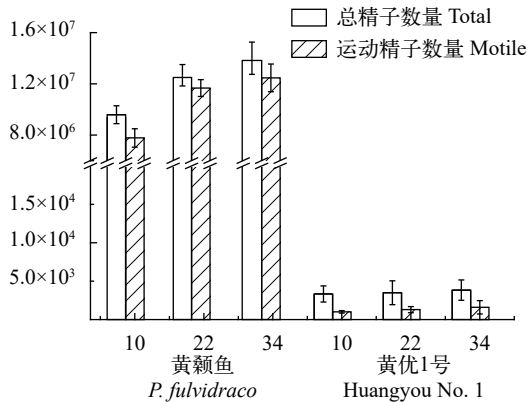


图5 黄颡鱼和“黄优1号”1 mL体积精液的精子数量(Total)和运动精子数量(Motile)

Fig. 5 The total and motile sperm per mL in yellow catfish and hybrid yellow catfish

3 讨论

据中国渔业统计年鉴统计结果显示,2017年黄颡鱼养殖产量为 4.8×10^8 kg,而瓦氏黄颡鱼的需求量非常小而被忽略没有统计。主要是由于消费者比较喜欢黄颡鱼的体型和大小,而瓦氏黄颡鱼由于其体型、大小和体色等特征消费者的需求不足。华中农业大学黄颡鱼种质资源与品种改良团队采用杂交育种的方法,选择梁子湖水域采捕并经连续3代选育的黄颡鱼为母本、长江河段中采捕并经连续2代选育的瓦氏黄颡鱼为父本,再经人工杂交获得F1代即为杂交黄颡鱼“黄优1号”。“黄优1号”从形态特征上比较接近黄颡鱼,在生长速度和上市规格整齐度等方面明显优于黄颡鱼,具有推动黄颡鱼产业的潜力。经过外观形态比较,我们发现通过胸鳍前缘和后缘的锯齿状凸起这一性状可以简便快速区分杂交黄颡鱼和黄颡鱼(图1)。

黄颡鱼和瓦氏黄颡鱼同是黄颡鱼属但为不同种^[19],该2个物种之间的杂交为远缘杂交。远缘杂交能整合双亲的优点,使后代在外形、生长速度、存活率以及抗病能力等方面表现出杂种优势^[19,20]。关于远缘杂交后代的生殖能力已有一些研究,发现一部分远缘杂交后代具有生殖能力,如红鲫(♀)×湘江野鲤(♂)、锦鲤(♀)×红鲫(♂)、团头鲂(♀)×翘嘴红鲌(♂)^[21]的正反交的远缘杂交中能获得可育的后代;一部分远缘杂交后代不具备生殖能力,如blue drum (*Nibea mitsukurii*)和white croaker (*Pennahia argentata*)^[22]、三角鲂(♂)×草鱼(♀)、团头鲂(♂)×草鱼(♀)杂种均杂交是不育的^[23]。关于杂交不育的生物学机制,主要包括以下2种情况,一种是杂交不孕(杂交不亲和)现象,即亲本杂交不能产生后代;另一种是杂种不育的现象,即亲本杂交后产生的子代不能生殖^[20—25]。其中杂种不育性不仅仅与染色体的数目和形态及其基因有关,还与异常的生理环境和生殖器官结构等有关。通常认为杂种不育性是杂

表1 黄颡鱼与“黄优1号”精子运动参数的检测

Tab. 1 The parameters of sperm motility in yellow catfish and hybrid yellow catfish (μm/s)

参数 Parameter	黄颡鱼 <i>P. fulvidraco</i>			黄优1号 <i>P. fulvidraco</i> ♀× <i>P. vachelli</i> ♂		
	10月龄 10-month-old	22月龄 22-month-old	34月龄 34-month-old	10月龄 10-month-old	22月龄 22-month-old	34月龄 34-month-old
VAP	83.12±17.91 ^a	87.60±6.19 ^a	75.38±9.05 ^a	18.35±4.22 ^b	26.71±5.11 ^b	27.13±5.84 ^b
VSL	79.12±15.88 ^a	80.39±5.17 ^a	78.16±8.44 ^a	16.71±4.08 ^b	24.33±1.31 ^b	24.04±6.54 ^b
VCL	90.42±17.40 ^a	97.05±7.43 ^a	85.44±8.45 ^a	21.02±5.11 ^b	28.48±5.61 ^b	29.81±7.24 ^b
LIN	81.37±8.29	77.51±7.12	73.28±3.33	79.44±10.26	85.67±8.25	80.32±9.23
BCF	27.43±8.83	26.34±8.64	28.01±8.09	25.73±8.01	23.01±4.09	19.94±6.89

注: 不同上标小写字母表示有显著性差异($P<0.05$), 下同
Note: values with different lowercase letter superscripts mean significant difference ($P<0.05$), the same applies bellow

种生殖细胞减数分裂过程中出现的异常同源染色体配对造成的。如牦牛与普通牛在部分常染色体和性染色体上的差异使雄性牦牛的同源染色体不能很好地配对形成精母细胞联会复合体 (Synaptonemal complex, SC), 可能是导致不育的主要原因之一^[25]。Blue drum (*Nibea mitsukurii*)和white croaker (*Pennahia argentata*)的杂交不育, 是由于杂种的原始生殖细胞发育因为有丝分裂缺陷发生了停滞而造成的^[22]。

在鱼类远缘杂交研究中, 发现当母本染色体数大于或等于父本染色体数时, 可突破杂交F1生殖难关; 当母本染色体数目小于父本染色体数目时, 难以形成存活的后代^[20-24]。当前, 鱼类远缘杂交的遗传规律研究主要集中在染色体水平机制, 核-核、

核-质之间的协调机制^[20, 21]以及RNA水平和蛋白水平的分子生物学方面的机制研究上^[26, 27]。杂交黄颡鱼(黄颡鱼♀×瓦氏黄颡鱼♂)及其父母本的核型均为2n=52, 其杂交不育的相关机制有待进一步研究。

在动物世界中, 多种动物的雌雄个体的生长速度存在明显的两性生长差异, 也叫两性生长异形 (Sexual size dimorphism)^[4], 人们发现许多鱼类的雌雄个体的性成熟年龄和生长速度存在明显差异。性成熟较早的个体, 由于在性成熟期间大部分营养物质转移至性产物的生产, 身体的增长就减慢。例如半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)和虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)等鱼类, 它们的雌性个体性成熟时间要晚于雄性个体的性成熟时间, 从而致使雌性个体的生长速度显著大于雄性个体^[28]; 相反, 如果雄性个体性成熟晚, 其生长速度就会超过雌性个体, 例如黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)和罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)等^[3, 29, 30]。本研究中, 杂交黄颡鱼(黄颡鱼♀×瓦氏黄颡鱼♂)雌雄性腺发育均存在缺陷, 性成熟期间大部分营养物质转移至身体生长, 故杂交黄颡鱼较黄颡鱼有明显的生长优势。同时, 雌雄性腺发育缺陷也导致了黄颡鱼两性生长异形的现象在杂交黄颡鱼中被显著减弱, 提高了商品鱼的上市规格整齐度。杂交黄颡鱼(黄颡鱼♀×瓦氏黄颡鱼♂)的性腺发育存在明显缺陷, 卵巢为白色线状组织呈现退化状态且没有卵子生成; 精小囊呈空腔状结果, 精子总数及精子活力远低于黄颡鱼, 低于受精精液浓度的最低阈值^[12]。根据从事水产一线工作者的经验, 养殖4—5年龄的杂交黄颡鱼雄性能产生可育的精子, 有待于进一步研究和证实。“黄优1号”在生长和生殖发育上的一些特征表明其可作为一个优良的黄颡鱼养殖品种, 大幅度提高渔民经济效益。

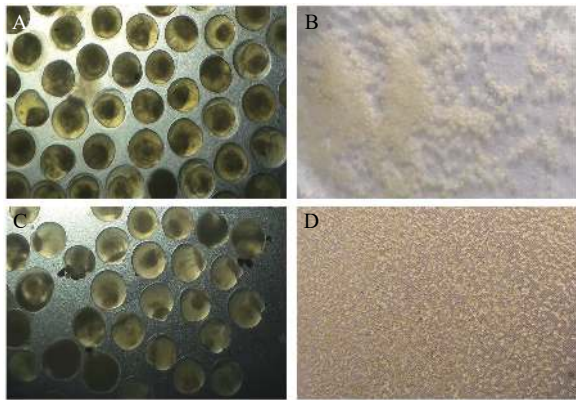


图6 黄颡鱼♀×黄优1号♂(HY)和黄颡鱼♀×黄颡鱼♂(HF)胚胎发育情况

Fig. 6 The embryo development of yellow catfish♀×“Huangyou No. 1”♂ (HY) and yellow catfish ♀×yellow catfish♂ (HF)

A. HY 组人工授精胚胎, 胚胎未发育至2胞期; B. HY 组人工授精胚胎, 受精后14h 受精卵变白; C. HF 组人工授精胚胎, 胚胎发育至2 胞期; D. HY 组人工授精胚胎, 受精后14h 发育至原肠胚期

A. HY embryos could not develop to 2-cell stage; B. HY embryos at 14 hpf; C. HF embryos developed to 2-cell stage; D. HF embryos developed to gastrula stage at 14 hpf

表2 黄颡鱼♀×“黄优1号”♂和黄颡鱼♀×黄颡鱼♂的受精率和孵化率

Tab. 2 Fertilization rate and hatching rate of yellow catfish♀×“Huangyou No. 1”♂ and yellow catfish♀×yellow catfish♂

	测卵数 Number	受精率 Fertilization rate (%)	孵化率 Hatching rate (%)
黄颡鱼♀×黄优1号	115	0	0
♂Yellow catfish♀×	120	0	0
“Huangyou No. 1”♂	115	0	0
黄颡鱼♀×黄颡鱼	127	71.74	90.65
♂yellow catfish♀×yellow	110	75.24	84.71
catfish♂	128	83.15	83.87

参考文献:

[1] Wang D, Mao H L, Chen H X, *et al.* Isolation of Y-and X-linked SCAR markers in yellow catfish and application in the production of all-male populations [J]. *Animal Genetics*, 2009, **40**(6): 978—981

[2] Dan C, Mei J, Wang D, *et al.* Genetic differentiation and efficient sex-specific marker development of a pair of Y-and X-linked markers in yellow catfish [J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2013, **9**(10): 1043—1049

[3] Gui J F, Zhu Z Y. Molecular basis and genetic improvement of economically important traits in aquaculture animals (review) [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2012, **57**(19): 1719—1729 [桂建芳, 朱作言. 水产动物重要经济性状分子基础及其遗传改良. 科学通报, 2012, **57**(19): 1719—1729]

- [4] Mei J, Gui J F. Genetic basis and biotechnological manipulation of sexual dimorphism and sex determination in fish (review) [J]. *Science China Life Sciences*, 2014, **44**(12): 1198—1212 [梅洁, 桂建芳. 鱼类性别异形和性别决定的遗传基础及其生物技术操控. 中国科学: 生命科学, 2014, **44**(12): 1198—1212]
- [5] Liu H Q, Cui S Q, Hou C C, *et al.* YY super-male generated gynogenetically from XY female in *Pelteobagrus fulvidraco* (Richardson) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2007, **31**(5): 718—725 [刘汉勤, 崔书勤, 侯昌春, 等. 从XY 雌鱼雌核发育产生YY超雄黄颡鱼. 水生生物学报, 2007, **31**(5): 718—725]
- [6] Liu H, Guan B, Xu J, *et al.* Genetic manipulation of sex ratio for the large-scale breeding of YY super-male and XY all-male yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco* (Richardson)) [J]. *Marine Biotechnology*, 2013, **15**(3): 321—328
- [7] Zhang J, Zhang G, Zhang H, *et al.* Comparative analysis of the karyotype and nutritional ingredient for the hybrids of *Pelteobagrus fulvidraco* (♀) × *P. vachelli* (♂) and their parental fish [J]. *Marine Fisheries*, 2017, **39**(2): 149—161 [张佳佳, 张国松, 张宏叶, 等. 黄颡鱼(♀)×瓦氏黄颡鱼(♂)双亲及其杂交子代核型和营养成分分析. 海洋渔业, 2017, **39**(2): 149—161]
- [8] Tang Z, Zhou G, Mao J, *et al.* Large-scale crossbreeding of yellow catfish and yellow catfish [J]. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2016, **44**(10): 303—305 [唐忠林, 周国勤, 茆健强, 等. 黄颡鱼与瓦氏黄颡鱼的规模化杂交繁殖. 江苏农业科学, 2016, **44**(10): 303—305]
- [9] Wang W M, Yan A S, Zhang Z G, *et al.* Hybridization studies of *Pelteobagrus fulvidraco* and *Pelteobagrus vachelli* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2002, **32**(3): 3—5 [王卫民, 严安生, 张志国, 等. 黄颡鱼♀与瓦氏黄颡鱼♂的杂交研究. 淡水渔业, 2002, **32**(3): 3—5]
- [10] Lou Y. Fish Breeding [M]. Beijing: China Agricultural Press. 1999, 40—106 [楼允东. 鱼类育种学. 北京: 中国农业出版社. 1999, 40—106]
- [11] Gong G, Zhang J, Dan C, *et al.* Identification of *Pelteobagrus fulvidraco*, *Pelteobagrus vachelli* and their interspecific hybrid by DNA markers [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2017, **41**(2): 321—325 [巩高瑞, 张晋, 丹成, 等. 应用DNA分子标记鉴定黄颡鱼、瓦氏黄颡鱼及其杂交种的研究. 水生生物学报, 2017, **41**(2): 321—325]
- [12] Zhang J, Ma W, Xie B, *et al.* Beneficial effect and potential molecular mechanism of chloroquine on sperm motility and fertilizing ability in yellow catfish [J]. *Aquaculture*, 2017, **468**: 307—313
- [13] Kasimanickam R, Kasimanickam V, Pelzer K D, *et al.* Effect of breed and sperm concentration on the changes in structural, functional and motility parameters of ram-lamb spermatozoa during storage at 4°C [J]. *Animal Reproduction Science*, 2007, **101**(1-2): 60—73
- [14] Gallego V, Carneiro P C, Mazzeo I, *et al.* Standardization of European eel (*Anguilla anguilla*) sperm motility evaluation by casa software [J]. *Theriogenology*, 2013, **79**(7): 1034—1040
- [15] Kwon W S, Park Y J, Kim Y H, *et al.* Vasopressin effectively suppresses male fertility [J]. *PLoS One*, 2013, **8**(1): 464—467
- [16] Li J L. Pond Fish Culture [M]. Beijing: China Agriculture Press. 2011, 159—172 [李家乐. 池塘养鱼学. 北京: 中国农业出版社. 2011, 159—172]
- [17] Ma Y F, Wang Y L, Bai H L, *et al.* Study on the relationship between the functional integrity of sperm membrane and seminal parameters related to CASA [J]. *National Journal of Andrology*, 2002, **8**(2): 103—105 [马远方, 王玉兰, 白慧玲, 等. 精子膜功能完整性与精液各参数关系的研究. 中华男科学, 2002, **8**(2): 103—105]
- [18] Wang S Y, Wang X R. Influence of TCDD on rat sperm motility evaluated by CASA system [J]. *Chinese Journal of Public Health*, 1999, **15**(5): 374—376 [王沐沂, 王心如. 用计算机辅助精子分析系统测定TCDD对大鼠精子运动能力的影响. 中国公共卫生, 1999, **15**(5): 374—376]
- [19] Chu X L, Zheng B S, Dai D Y. Fauna Sinica (Osteichthyes: Siluriformes) [M]. Beijing: Science Press. 1999, 49—98 [褚新洛, 郑葆珊, 戴定远. 中国动物志 (硬骨鱼纲·鲇形目). 北京: 科学出版社. 1999, 49—98]
- [20] Zhang Z H, Chen J, Li L, *et al.* Research advances in animal distant hybridization [J]. *Science China Life Sciences*, 2014, **44**(2): 161—174 [张卓慧, 陈婕, 黎玲, 等. 动物远缘杂交研究进展. 中国科学: 生命科学, 2014, **44**(2): 161—174]
- [21] Wang S, Tang C C, Tao M, *et al.* Establishment and application of distant hybridization technology in fish [J]. *Science China Life Sciences*, 2018, **48**(12): 1310—1329 [王石, 汤陈宸, 陶敏, 等. 鱼类远缘杂交育种技术的建立及应用. 中国科学: 生命科学, 2018, **48**(12): 1310—1329]
- [22] Yoshikawa H, Xu D, Ino Y, *et al.* Hybrid sterility in fish caused by mitotic arrest of primordial germ cells [J]. *Genetics*, 2018, **209**(2): 507—521
- [23] Lou Y D, Li X Q. Distant hybridization of fish and its application in aquaculture in China [J]. *Science China Life Sciences*, 2006, **13**(1): 151—158 [楼允东, 李小勤. 中国鱼类远缘杂交研究及其在水产养殖上的应用. 中国水产科学, 2006, **13**(1): 151—158]
- [24] Chen J, Luo M, Tao M, *et al.* A comparative study of distant hybridization in plants and animals [J]. *Science China Life Sciences*, 2016, **46**(10): 1139—1161 [陈婕, 罗觅, 陶敏, 等. 动物和植物远缘杂交比较研究. 中国科学: 生命科学, 2016, **46**(10): 1139—1161]
- [25] Hu O M, Zhong J C, Chen Z H, *et al.* A study on relationship between synaptonemal complex and male sterility of Pian Niu [J]. *Journal of Southwest Nationalities College*, 2000, **26**(1): 61—66 [胡欧明, 钟金城, 陈智华, 等. 犏牛

- 精母细胞联会复合体与雄性不育关系的研究. 西南民族大学学报(自然科学版), 2000, **26**(1): 61—66]
- [26] Liu S J. Distant hybridization leads to different ploidy fishes [J]. *Science China Life Sciences*, 2010, **53**(4): 416—425
- [27] Song C, Liu S J, Xiao J, *et al.* Polyploid organisms [J]. *Science China Life Sciences*, 2012, **55**(4): 301—311
- [28] Chen S L, Li J, Deng S P, *et al.* Isolation of female-specific AFLP markers and molecular identification of genetic sex in half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*) [J]. *Marine Biotechnology*, 2007, **9**(2): 273—280
- [29] Bye V J, Lincoln R F. Commercial methods for the control of sexual maturation in rainbow trout (*Salmo gairdneri* R) [J]. *Aquaculture*, 1986, **57**(1-4): 299—309
- [30] Beardmore J A, Mair G C, Lewis R I. Monosex male production in finfish as exemplified by tilapia: applications, problems, and prospects [J]. *Aquaculture*, 2001, **197**(1): 283—301

THE MORPHOLOGY AND GONAD DEVELOPMENT OF *PELTEOBAGRUS FULVIDRACO* AND ITS INTERSPECIFIC HYBRID “HUANGYOU NO. 1” WITH *PELTEOBAGGRUS VACHELLI*

HU Wei-Hua, DAN Cheng, GUO Wen-Jie, FAN Qi-Xue and MEI Jie
(College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: The yield of hybrid yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*♀×*Pelteobaggrus vachelli*♂) was gradually increased, but the basic research is rarely. In this study, a comparative analysis of morphology and gonad development of yellow catfish (*Pelteobagrus fulvidraco*) and hybrid yellow catfish “Huangyou No. 1” at 3 various ages was conducted. The hybrid yellow catfish has a growth advantage to yellow catfish. 22-month and 34-month-old yellow male catfish weight twice as much as females. However, sexual size dimorphism was greatly reduced in the hybrid yellow catfish. Completely degenerated ovarian with a fine line structure and no egg production were observed in female hybrid yellow catfish, indicating that the female hybrid yellow catfish is completely sterile. Testes of male hybrid yellow catfish were transparent and degenerated. The spermatogenic cyst was almost empty and had no sperm production in 10-month-old male hybrid yellow catfish, while a few sperms were observed in the spermatogenic cyst of 22-month- and 34-month-old male hybrid yellow catfish. Compared to yellow catfish, the number of sperms of hybrid yellow catfish were very small and their activities were low based on computer assisted spermatozoa analysis system (CASA). In addition, 22-month-old male hybrid yellow catfish has no reproductive capacity. The novel variety “Huangyou No. 1” has a hybrid advantage in growth performance and is expected to promote the development of yellow catfish industry.

Key words: *Pelteobagrus fulvidraco*; *Pelteobaggrus vachelli*; Hybrid yellow catfish; Gonad development; CASA