

银鲫雌核发育的细胞学观察*

俞 豪 祥

(中国科学院水生生物研究所)

提 要

在受精卵内,精子核呈凝缩状态,不形成雄性原核,没有看到两性原核融合。在刚产出的成熟卵子中没有看到极体,直到受精后10分钟(在水温 19° — 21°C)才有唯一的一个极体排出。

在同一尾银鲫产出的同批卵子中,绝大多数具有成熟分裂中期的卵核,并在精子入卵后继续进行发育(雌核发育),接着排出唯一的一个极体;授精7分钟的少数卵子具有三极纺锤体状的核。

根据现在的观察,双凤水库的银鲫是以雌核发育方式繁殖的种群。

银鲫(*Carassius auratus gibelio*)广泛分布于欧洲、苏联远东以及我国黑龙江流域^[1-4,7,12]。七十年代,我国一些地区从黑龙江省引进银鲫进行饲养,发现银鲫具有某些优良经济性状,其生长比当地野鲫(*Carassius auratus*)快一倍以上^[5,6]。为了了解银鲫的繁殖类型,从1975年起,我们在开展鲫鱼的选育研究中,对捕自黑龙江省方正县双凤水库的银鲫的繁殖进行了细胞学观察。

关于银鲫繁殖的生物学和细胞学研究已有不少报道。尼科尔斯基(1956)^[7]和余志堂(1959)^[4]报道黑龙江水系的银鲫是两性种群,雄鱼约占30%左右。Головинская (1954, 1965)^[18,19]认为黑龙江有两类不同繁殖方式的银鲫,一类以雌核发育繁殖,一类以正常两性繁殖。Черфас (1966)^[20]进而发现营正常两性繁殖的是二倍体银鲫($2n=94$),营雌核发育的是三倍体银鲫($3n=141$)。以后,小林 弘(1971)^[13]也证实黑龙江水系有二倍体银鲫($2n=100$)和三倍体银鲫($3n=156$)。Lieder (1959)^{[12]**}曾报道过欧洲有雌核发育的二倍体银鲫。根据作者对黑龙江省方正县双凤水库银鲫繁殖的细胞学观察结果,表明它们是天然雌核发育的种群,没有发现有正常两性繁殖的个体。

材 料 和 方 法

1978年5月和1979年5月,在本所关桥试验场将黑龙江省方正县双凤水库的性成熟银鲫(1976年和1977年引回)进行人工催情,催产出的成熟卵子与采得的江西兴国红鲤(*Cyprinus carpio* L. red variety)的精液进行干法人工授精。把受精卵均匀地洒粘在盛有水的解剖盘中的玻璃纸上(水温 19° — 22°C)。从卵子入水后1—20分钟内每隔1分钟,

* 本工作是在蒋一珪副教授热心指导下进行的,特此致谢;本文曾在“1979年湖北省遗传学会年会”上宣读。
1981年1月27日收到。

** 由本所德文翻译李友华同志提供。

从20—40分钟内每隔2分钟,从40—65分钟内每隔5分钟取材用 Bouin's 液^[15]固定,直至受精卵发育到2细胞期为止。

受精后的卵子用石蜡包埋,连续切片(厚度10微米),用 Delafield 苏木精染色,伊红复染^[15];部分切片用番红、亮绿进行染色观察^[8]。

结 果

银鲫卵呈球形,直径1毫米左右,卵膜厚度约5.6微米,但在受精孔位置的厚度则为11.1微米。卵周隙约58—79微米。在卵周隙内可以看到由卵内排出的物质(图版 I: 2)。卵子具单一受精孔,呈管道状(约11.1微米),管道外方没有发现精孔细胞。管道的中部略狭(约2.7微米),两端开口略宽。精孔的入口处喇叭状(约4.9微米),后端开口略小(约3.9微米)(图版 I: 1)。

动物极在开始时并不十分明显,待卵子入水4—7分钟后才愈加明显,主要由细胞质构成的动物极一般呈内突的弯月状,经常可以在动物极内见到少量分散分布的卵黄粒和待排的皮质液泡物质。

成熟卵子的纺锤体及其受精后45分钟时所见的有丝分裂器的位置,不一定是在动物极的纵轴上,惯常看到的是略有偏离。

当产出的成熟卵子或受精的卵子入水2分钟时,可见成熟分裂中期的纺锤体,这时未见外排的极体。

卵子入水4—6分钟,可见到成熟分裂末期的纺锤体(其长轴为14.5微米,短轴约为8微米),染色体明显地分成两组,各向极端,切片上仍未见到排出的极体(图版 I: 3, 4)。

卵子入水7分钟,见到三角形状的纺锤体(长轴约17.2微米),染色体分散在三极上,此时仍未见到外排的极体(图版 I: 5, 6)。

卵子入水10分钟,极体正在外排或已排出,非常清晰,极体内的染色体数目几乎可数(图版 II: 8)。排出的极体有的呈圆球形,直径约12微米。在距动物极表层8—14微米处(距极丝8微米处)可以看到约1.4微米大小的精子头部(图版 II: 7)。

卵子入水16分钟,极体已经排出,椭圆形的雌性原核(长径11.1微米,短径8微米)在距动物极的表层13.9微米处出现,在一些切片上可见到精头紧贴在核膜上。

卵子入水20分钟,仍可见到极体,雌性原核和精头相距16.6微米。

卵子入水28分钟,精头仍在略呈马蹄形状的雌性原核(长轴为19—25.8微米)的侧旁,两者相距2.2—13.7微米。而雌性原核在距动物极顶部22—37微米处(图版 II: 9)。

卵子入水45分钟,出现第一次有丝分裂的中期,染色体排列在赤道板上,精头仍在纺锤丝的侧旁或贴在雌核的核膜上(图版 II: 10)。同时,精头紧靠近第一次卵裂的分裂后期的纺锤体附近(图版 II: 11)。

卵子入水65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胞期了(图版 II: 12)。

讨 论

1. 关于精孔细胞和精核

六十年代初期,朱洗等^[10]在金鱼和鳊鱼卵球成熟的细胞学研究中明确指出:“精子入卵的时候,不但要穿过精孔细胞膜和细胞质,而且还须穿过这一细胞核,然后逐步通过小沟道,进入卵中。”看来,特化了的精孔细胞是“精虫入卵的不可少的通路。依靠这一通路才能保证两性生殖细胞的结合和子代的发生与遗传。”按 Мейен 的分期^[17],鱼类的精孔细胞在第四时相的卵母细胞中是经常见到的,因为这时的卵母细胞尚未成熟,其本身被滤泡细胞膜紧紧包住。这时的精孔细胞位于滤泡细胞膜和卵母细胞膜的受精孔之间;而成熟的卵子则是脱离了滤泡细胞膜的包裹而游离于卵巢腔内的卵巢液中或是已经产出于体外的细胞了,此时,精孔细胞不复存在是可能的。根据作者观察,在银鲫成熟卵子的受精孔外方并不存在精孔细胞。所以,精子是直接通过精孔进入卵的。

天然雌核发育的银鲫的繁殖方式的特点是精子入卵后不形成雄性原核,直至卵裂前精核一直呈凝缩状态,它不与雌性原核融合。因此,一般认为银鲫的“受精卵”是进行雌核发育的,银鲫的子代始终保持其母性遗传。

根据切片观察,精子进入银鲫卵后,精核呈凝缩状态,并位于第一次卵裂后期的纺锤体侧旁,这一点与一些学者^[12,13,18]对银鲫(*Carassius auratus gibelio*)和关东系银鲫(*C. auratus langsdorffii*)的细胞学观察的结果是一致的。至于精核入卵后的去向,Lieder 曾在8细胞期还看到过它。精核在银鲫卵的发育上究竟起何作用?按我们的实验所得结果¹⁾,作为异源精子进入卵内,可能不单是起“激动作用”,而且精核内的某些物质在不同程度上也起着某种积极作用。所以,关于精核的生物学意义是有待深入研究和讨论的问题。

2. 关于三极纺锤体

有一些学者认为,雌核发育的银鲫只排出一次极体^[11,12,18,20]。换言之,只有一次成熟分裂。但是,Lieder^[12]却认为银鲫产卵后出现的成熟分裂也有可能是第二次分裂,即卵核可能发生了减数分裂;以后,单倍体的卵核经过“自我调节”(Autoregulation),染色体在第一次卵裂(有丝分裂)前恢复至原来的数目。

根据作者的观察,始终只见排出一个极体,是在精子入卵10分钟后(20—22℃水温)才排出的;在这之前从未见过外排的极体。据此,可以认为双凤水库银鲫的卵在成熟过程中只完成一次成熟分裂。

Черфас 认为在动物极中出现“三极纺锤体”是因为卵子在第一次成熟分裂的晚前期发育不全所致,染色体分布在三个极上,各极形成了“单价(univalent)染色体”^[20]。接着,三极纺锤体发生丝间断裂,染色体又行集中,重又形成纺锤,再行唯一的一次成熟分裂,排出极体。Kobayasi 对此虽未提出明确的反对,但他强调没有看到“第一次成熟分裂的三极纺锤体结构物”^[14],因而认为关东系银鲫的卵细胞在成熟过程中可以通过“一次同型分裂”

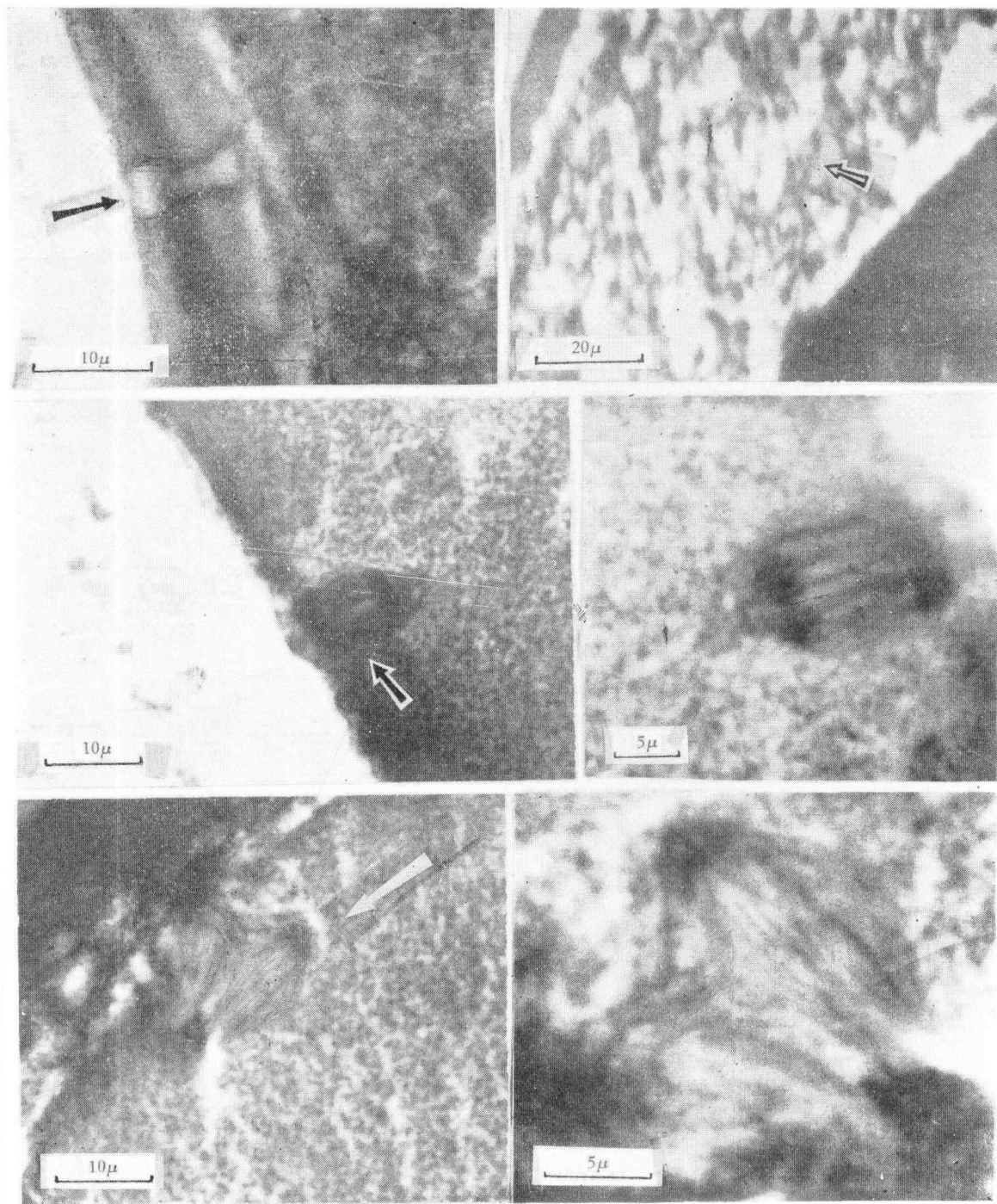
1) 蒋一珪等,1981。异源精子对于银鲫雌核发育子代的生物学效应(手稿)。

(single homoeotype division)。

作者在银鲫细胞学的观察中,看到三极纺锤体确实存在。而且在同一尾方正银鲫产出的同一批卵子中,同时存在着两种时序截然不同的卵子:大部分卵子处在成熟分裂中期而又没有排出第一极体(与 Kabayasi 所见相似);少数卵子在受精后7分钟时仍可见到具有三极纺锤体。可能表明它们是少数保持着“一次紊乱的成熟分裂”的特殊外貌。这些具三极纺锤体的卵子在受精后是否能进入正常的雌核发育?如其不然,又能否诱导出雄核发育?这是一个值得进一步研究的问题。

参 考 文 献

- [1] 余志堂等, 1959. 黑龙江流域鲫鱼的种群变异和生态资料. 水生生物学集刊, (2): 200—209.
- [2] 伍献文等, 1977. 中国鲤科鱼类志(下册). 上海人民出版社.
- [3] 黑龙江水产科学研究所品种室, 1975. 黑龙江省方正县双凤水库的鲫鱼. 淡水渔业, (8): 15—16.
- [4] 大连水产专科学校养殖系, 1975. 我国几个水域鲫鱼的主要形态性状和生长比较. 淡水渔业, (4): 9—13.
- [5] 江苏吴兴县水产养殖场, 1974. 东北鲫鱼的移殖和饲养. 淡水渔业, (5): 21—23.
- [6] 丁瑞华, 1977. 池养条件下银鲫与鲫鱼的生物学特性比较及其在生产上的意义. 水生生物学集刊, 6 (2): 163—176.
- [7] 高岫译 (Г. Б. 尼科尔斯基著), 1960. 黑龙江流域鱼类. 第285—301页. 科学出版社.
- [8] 朱洗, 王幽兰, 1958. 蟾蜍体内跌卵和成熟与体外跌卵和成熟的比较研究. 实验生物学报, 6(2): 129—180.
- [9] 朱洗等, 1960. 金鱼、鲤、鲮的不同成熟程度卵球的受精和胚胎发育关系. 实验生物学报, 7 (1—2): 47—58.
- [10] 朱洗, 王幽兰, 1962. 金鱼和鲮鱼卵球成熟的细胞学研究. 实验生物学报, 8 (1): 1—33页.
- [11] 小林 弘等, 1972. アムール河のフナ (*Carassius auratus gibelio*) の染色体について. 動物学雑誌, 81(4): 320—321.
- [12] Lieder, V. U., 1959. Über die Eientwicklung bei männchenlosen Stämmen der Silberkarausche *Carassius auratus gibelio* (Bloch). Biologisches Zentralblatt. Heft 2: 284—291.
- [13] Hiromu Kobayasi, 1971. A cytological study on gynogenesis of the triploid ginbuna (*Carassius auratus langsdorffii*). Zool. Mag., 80: 314—322.
- [14] Hiromu Kobayasi, 1976. A Cytological Study on the Maturation Division in the Oogenic Process of the Triploid Ginbuna (*Carassius auratus langsdorffii*). Japanese Journal of Ichthyology, 22(4): 234—240.
- [15] McManus, J. F. A. et al., 1960. Staining methods: Histologic and Histochemical. 21.
- [16] Stanley, J. G. et al., 1975. Gynogenesis as a possible method for producing monosex grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). The Progressive Fish-Culturist, 37(I): 25—26.
- [17] В. А. Межен, 1939. К вопросу о годовом цикле изменений яичников костистых рыб. Изв. АН СССР. Биол., 3: 389—420.
- [18] К. А. Головинская, 1954. Размножение и наследственность у серебряного карася. Тр. Всес. н.-и. ин-та прудового рыбн. х-ва, VII: 37—57.
- [19] К. А. Головинская, и Т. Д., 1965. Однополые и двуполые формы серебряного карася (*Carassius auratus gibelio* Bloch). Вопр. Ихт. 5, 4(37), 614.
- [20] Н. Б. Черфас, 1966. Естественная триплоидия у самок однополой формы серебряного карася (*Carassius auratus gibelio* Bloch). Генетика. (5): 21—22.



- 图 1 刚产出的成熟卵细胞的受精孔(箭头所示)。
 图 2 卵子受精 10 分钟,卵周隙内充满着由卵内排出的物质(箭头所示)。
 图 3 卵子受精 4—6 分钟,可见成熟分裂末期的纺锤体,而没有看见第一极体(箭头所示)。
 图 4 成熟分裂末期纺锤体的放大图。
 图 5 卵子受精 7 分钟,在一些卵子的动物极中仍可见到三极纺锤体(箭头所示)。
 图 6 三极纺锤体放大图。

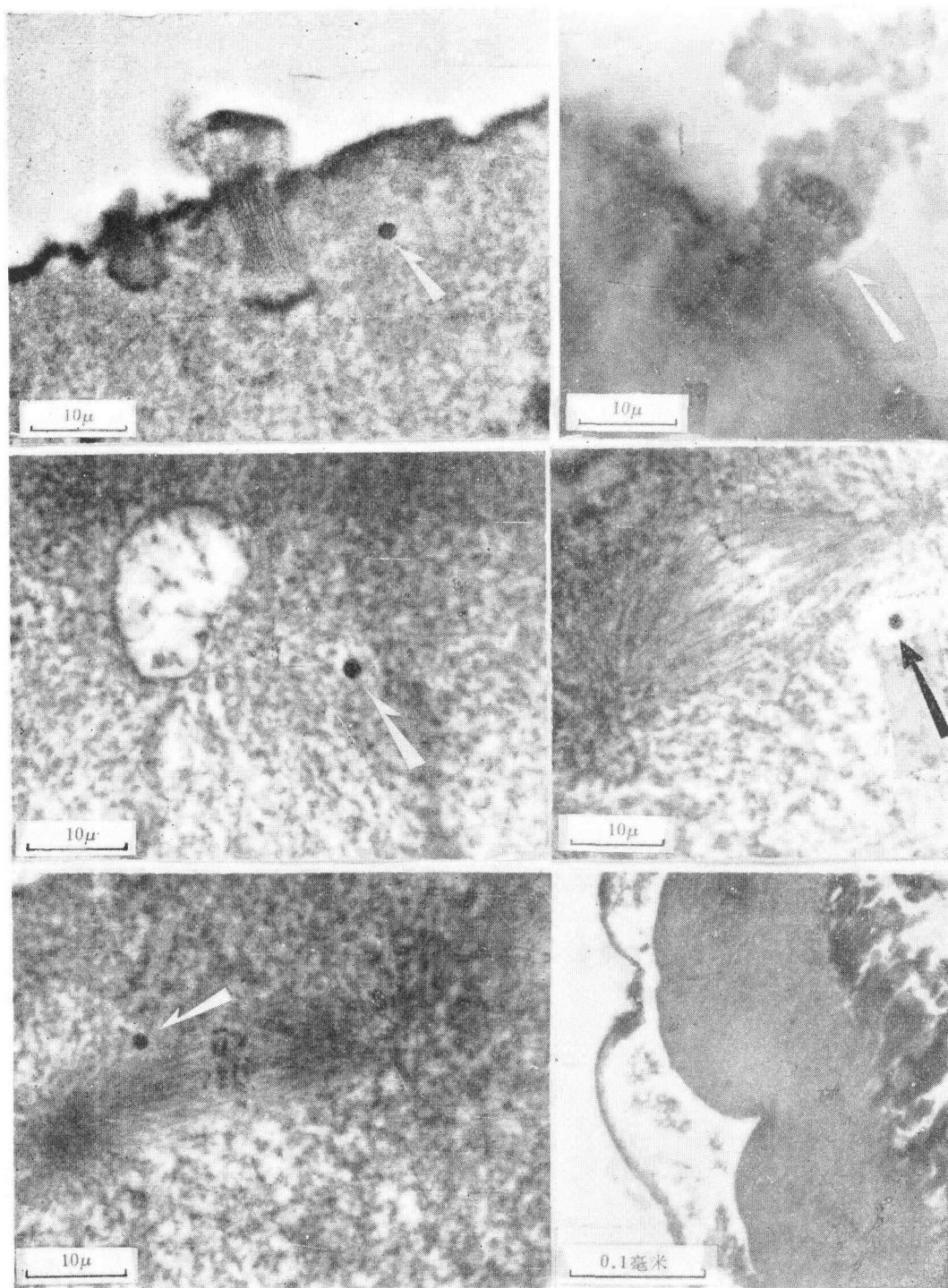


图 7 卵子受精 10 分钟，雌核正在排出极体，精核呈凝缩状（箭头所示）。图 8 卵子受精 10 分钟，极体已经排出（箭头所示）。图 9 卵子受精 28 分钟，精核仍呈凝缩状，且位于雌性原核的侧旁（箭头所示）。图 10 卵子受精 45 分钟，出现第一次有丝分裂中期，凝缩的精核位于纺锤体的侧旁（箭头所示）。图 11 卵子受精 45 分钟，凝缩的精核仍位于第一次有丝分裂后期的纺锤体附近（箭头所示）。图 12 卵子受精 65 分钟，卵子已经卵裂为二胞期了。

A CYTOLOGICAL OBSERVATION ON GYNOGENESIS OF CRUCIAN CARP (*CARASSIUS AURATUS GIBELIO*)

Yu Haoxiang

(*Institute of Hydrobiology, Academia Sinica*)

Abstract

The purpose of our investigation was to examine whether the crucian carp caught from Shuangfeng reservoir in Fangzheng County, Heilongjiang Province, would reproduce by gynogenesis. Their spawn were artificially inseminated with milt of red carp (*Cyprinus carpio* L. red variety), and a number of fertilized eggs were studied cytologically before their first cleavages. The results of observation are as follows:

1. In the fertilized eggs, the sperm nucleus remained as a condensed mass and did not transform into male pronucleus; no amphimixis was observed.

2. No polar body was found in the ripe egg cells just after spawning, and about 10 minutes after insemination (at 19°—21°C water), a single polar body was extruded.

3. In the spawn of one and the same crucian carp, a great majority of eggs contained metaphase nucleus derived from a maturation division; in these eggs development could proceed following the entrance of spermatozoon; that is, gynogenesis occurred, with the extrusion of a single polar body. However, a few eggs in the same batch contained nucleus with tripolar spindle formation at 7 minutes after insemination; such formation was probably an indication of upsetting maturation division.

The results of the present observation indicated that the crucian carp caught from Shuangfeng reservoir did reproduce by gynogenesis.