

三倍体湘云鲫繁殖季节的性腺结构观察

刘少军 胡芳* 周工建 张轩杰

何晓晓* 冯浩* 刘筠

(湖南师范大学生命科学学院, 长沙 410081)

摘要:在繁殖季节解剖37尾1龄和16尾2龄湘云鲫,用光镜和电镜观察了湘云鲫的性腺结构。在湘云鲫的性腺部位有三种类型的结构:(1)精巢型:精巢小叶内分布有许多精子细胞,精子细胞呈退化现象,没有发现有正常成熟精子。(2)卵巢型:该类型性腺的大部分为体积较小、分化程度较低的呈囊状排列的细胞,在这些小细胞中镶嵌着少量初级卵母细胞和体积较大的退化的卵母细胞。(3)脂肪型:该类型的性腺部位仅有两条脂肪组织,既没有卵巢结构,也没有精巢结构。上述三种性腺结构证明三倍体湘云鲫是不育的。

关键词: 异源四倍体鱼;三倍体鱼;性腺

中图分类号: Q954.43 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2000)04-0301-06

在湘鲫即红鲫(*Carassium auratus* red var.) (♀) × 湘江野鲤(*Cyprinus carpio*) (♂) F_1 中发现部分可育的后代^[1],目前已繁殖到第九代。通过对湘鲫 F_1 - F_8 的染色体数目、组型分析,证明湘鲫 F_1 - F_2 是二倍体 ($2n = 100$),湘鲫 F_3 - F_8 是四倍体 ($4n = 200$)。湘云鲫由雄性湘鲫 F_3 - F_8 与雌性日本白鲫交配产生,它们是三倍体 ($3n = 150$)。已用流式细胞仪对湘鲫 F_2 - F_4 、湘云鲫、日本白鲫、红鲫、湘江野鲤的红细胞以及湘鲫 F_4 的肌肉细胞的 DNA 含量进行了测定^[2],证实湘鲫 F_3 - F_4 是四倍体,湘云鲫是三倍体,而湘鲫 F_2 与日本白鲫和红鲫及湘江野鲤一样是二倍体。本文主要描述三倍体湘云鲫性腺部位的结构。

1 材料和方法

从1987至1998年,在繁殖季节(4月)解剖37尾1龄和16尾2龄湘云鲫,并解剖已达性成熟的雌、雄日本白鲫各一尾作为对照。取性腺部位的材料,固定在 Bouin's 液内,按常规石蜡切片方法脱水、二甲苯透明、包埋、切片、染色,光学显微镜下观察。取性腺部位的小块材料固定于4%的戊二醛溶液中,后固定在1%锇酸中,丙酮脱水,Epon812包埋,超薄切片厚度400—700Å,醋酸双氧铀和柠檬酸铅染色,日本H-600透射电镜观察。

收稿日期: 1999-12-29; **修改日期:** 2000-01-22

基金项目: 湖南省科委重点项目(01-961-08)

作者简介: 刘少军(1962—),男,汉族,湖南省长沙市人,湖南师范大学教授,硕士,从事鱼类生殖生理和遗传育种方面的研究。该研究得到朱桂华、杨辉同志的大力支持,在此向他们表示衷心感谢! * 分别为湖南师范大学生命科学学院94级、96级、97级的硕士研究生。

2 结果

37 尾 1 龄和 16 尾 2 龄湘云鲫的性腺结构情况如表 1。

表1 湘云鲫性腺结构
Tab.1 Gonadal structure in triploid crucian carp

性腺结构	1龄鱼	2龄鱼	合计	百分比(%)
Gonadal structure	One-year-old	Two-year-old	Total number	Percentage
精巢型 Testis	17	9	26	49.06
卵巢型 Ovary-like	12	5	17	32.07
脂肪型 Fat tissue	8	2	10	18.87

在繁殖季节,1 龄和 2 龄湘云鲫的性腺结构基本一致,分为三种类型:(1)精巢型:肉眼观察,颜色呈白褐色,常可见两边性腺不对称分布,有时一边性腺不发达甚至没有,精巢的形状经常出现粗细不均匀现象。光镜下观察,精巢内分布有很多精巢小叶,小叶内分布有精子细胞(图版 I:1),有的精子细胞内出现空泡,呈现退化的性状,没有观察到有正常的成熟精子。通过透射电镜观察,退化的精子细胞,其细胞内的物质逐渐解体、消失(图版 II:1)。观察同时期的日本白鲫精巢,其精巢小叶内却布满了成熟的精子(图版 I:2)。(2)卵巢型:卵巢型性腺也经常出现左右不对称、粗细不均匀的现象。光镜下观察,性腺的大部分为体积较小、呈囊状排列的细胞(图版 I:3,5,6),这些小细胞与日本白鲫早期精巢中呈囊状排列、发育同步的精原细胞的结构相似(图版 II:3)。电镜下观察,这些小的细胞的分化程度很低,没有卵黄的形成,看不到明显的卵细胞特征(图版 I:8)。在这些小细胞中镶嵌着少量的 II 时相初级卵母细胞和体积较大的正在退化的卵母细胞(图版 I:3,5)。退化的卵母细胞表现为卵黄出现溶解、卵母细胞的周边出现不规则的弯曲和向内收缩(图版 I:5)。作为对照的日本白鲫卵巢内的大多数卵母细胞的体积都较大而且分布有很多卵黄(图版 I:4),没有囊状排列的小细胞结构。(3)脂肪型:肉眼观察,在性腺的部位仅有两条脂肪组织,既没有精巢结构,也没有卵巢结构。光镜下观察,脂肪细胞的体积较大,直径为 50~140 μ m,细胞内充满脂肪颗粒,细胞质和细胞核被挤到一边(图版 I:7)。脂肪细胞中的脂肪颗粒在组织学制片过程中易被有机溶剂(如二甲苯)溶解而显得模糊。电镜下观察,可看到脂肪细胞内的脂肪颗粒(图版 II:2)。在这些脂肪组织结构中没有观察到有任何生殖细胞的迹象。上述脂肪型性腺的观察结果与有关脂肪细胞结构的描述相吻合^[3]。

3 讨论

国内外已有不少关于人工诱导三倍体鱼的性腺结构的报道,如三倍体鲤鱼(*Cyprinus carpio*)^[4]、鲃鱼(*Ictakurus punctatus*)^[5]、泥鳅(*Cyprinus loach*)^[6]、虹鳟(*Salmo gairdneri*)^[7,8]、罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[9]、鲮(*Pleuronectes platessa*)及鲮与川鲮的杂种(*Platichthys flesus*)^[10]、水晶彩鲫(*Carassius auratus* transparent color variety)^[11]。在这些报道中,三倍体鱼的性腺可归纳为两种:即精巢型和卵巢型。其中人工三倍体鲤鱼、三倍体鲃鱼和三倍体泥鳅的雌、雄个体都是不育的,不能产生配子。在三倍体鲮^[10]、三倍体罗非鱼^[9]、三倍体虹鳟^[7]中,雌性个体都是不育的,而有少量的雄性三倍体鱼能产生少量精子,但是这些精子与正

常的卵子结合不能产生存活的后代,说明这些三倍体鱼仍然是不育的^[12]。

湘云鲫中的精巢型和卵巢型性腺和以前报道过的结构基本一致的,在繁殖季节,精巢型的性腺只能发育到精子细胞时期,精子细胞出现退化现象不能产生成熟的正常精子。卵巢型的性腺中大部分细胞为分化程度较低的小细胞,即使在电镜下观察也难确定它们是精原细胞还是卵原细胞。因这些小细胞处在具有卵母细胞的性腺中,有人称这些小细胞为卵原细胞样细胞^[10],但这些小细胞的排列又象精巢中呈囊状排列进行同步分裂的精原细胞,因此也可认为它们是精原细胞样细胞。这种卵巢型的性腺也可以认为是一种两性嵌合体。Kobayashi 等^[8]在研究全雌型三倍体虹鳟性腺时观察到,即使卵巢中有些卵母细胞能够发育到有卵黄形成的阶段,但是这些卵母细胞中没有卵核偏位的现象,也没有排卵现象。湘云鲫卵巢型的性腺中也能看到有卵黄形成的卵母细胞,但是这些细胞出现了明显的退化特征,它们是不能形成能产生后代的卵子。以前关于人工三倍体鱼性腺结构的研究中没有脂肪型“性腺”的报道,具脂肪型“性腺”的三倍体鱼是一种生殖腺完全败育的个体,弄清楚它的发生机制是有意义的。湘云鲫中的卵巢型、精巢型及脂肪型的个体是否依次分别属于 XXX、XXY 和 XXY 的类型或是其它类型?有待进一步研究。

从理论上讲,三倍体不育是因为三套同源染色体在减数分裂的第一次分裂时随机分离造成具有非整倍体的次级卵(精)母细胞,这样的非整倍体次级卵(精)母细胞不能产生能形成后代的配子。不育三倍体鱼中的生殖细胞的最终命运都是要受抑制而停止发育或败育的,只是何时停止或败育的阶段不同,如三倍体湘云鲫精巢型的性腺中有的生殖细胞可以发育到精子细胞阶段才开始败育。即使在少数情况下,有的三倍体鱼可产生少量的精子(如上所述),但是由于它们的染色体的非整倍性使得它们不能产生存活的后代。湘云鲫卵巢型性腺中存在具卵黄的卵母细胞,但是它们出现退化的特征,最终不能形成正常的成熟卵子。卵巢型性腺中的大部分细胞为分化程度较低的细胞,从这个角度来说,三倍体鱼卵巢型中生殖细胞受抑制程度要大于精巢型。

目前除发现少数人工三倍体鱼行雌核发育外,还没有发现其它可育的人工三倍体鱼。Cherfas 等^[13]报道了鲫(♀) × 鲤(♂)杂交的雌性 F_1 与雄性鲤鱼交配产生的雌、雄三倍体鱼都是不育的,而雌性 F_1 与雄性鲫鱼交配产生的三倍体鱼中发现有能产生染色体没有减少的三倍体卵子的雌性个体,这样的卵子经过雌核发育产生了三倍体个体($3n = 150$)。这种卵子在卵巢中占的比例很小。他们推测三倍体卵子产生的原因可能是因为这些卵子在发育的早期就进行了核内复制。这种早期的核内复制,可以使卵母细胞的染色体数达到 $6N$, 然后进行减数分裂产生三倍体的卵子^[14]。用这种三倍体鱼产生的三倍体卵子与普通二倍体鲤鱼的精子结合,获得了 2 尾四倍体鱼($4n = 200$),但是这两尾四倍体鱼交配只能产生雌性的后代,没有发现有雄性的后代,他们推测具有 XXXY 染色体的雄性四倍体鱼的生存能力是很低的,同时还推测上述两尾四倍体鱼中的雄性个体可能是一种具有 XXXX 染色体的性反转个体。国内学者^[15]也报道了具有天然雌核发育特性的人工复合三倍体鲤鱼。根据上述情况,什么样的人工雌性三倍体鱼能行雌核发育,与产生这种鱼的亲本种类及产生这种鱼的方法都是有关的。另外作者在思考一个问题,在人工条件下能进行雌核发育的人工三倍体鱼,它们在自然环境下是否能行雌核发育?如果能,则有可能在自然环境中形成一个行雌核发育的三倍体鱼种群;如果不能,在自然条件下,它们仍可视作不育的。

不育三倍体鱼可避免因生殖造成的肉质退化、产后染病死亡等不良现象。由于它们不育,则它们在自然环境条件下不会与其它任何鱼交配产生后代而干扰自然资源。因不育三倍体鱼的性腺发育不良,使得用于性腺发育的能量有可能转化到生长方面,因而三倍体鱼有可能长得快。但在实际中,三倍体鱼与二倍体鱼谁长得快因鱼而异,倍间三倍体白鲫的生长速度比二倍体白鲫快^[16],三倍体大麻哈鱼在早期的生长速度要慢于二倍体^[17]。三倍体鱼是否长得快,与三倍体鱼产生的方法、是同源三倍体鱼还是异源三倍体鱼及父母本的生长速度都有关。一般认为,异源三倍体鱼比同源三倍体鱼的生长速度要快^[18]。湘云鲫是由倍间交配产生的异源三倍体鱼($3n = 150$,图版Ⅱ:4),其父本是异源四倍体,其母本日本白鲫是鲫鱼中生长速度较快的品种。通过多年的养殖实践证明湘云鲫具有生长速度快、存活率高等优点。湘云鲫的生长速度比日本白鲫和彭泽鲫分别快21.78%和70.83%,三种鱼的存活率进行比较,最高的是湘云鲫(92.3%),其次是彭泽鲫,然后是日本白鲫^[19]。

用温度休克和静水压的方法、化学的方法可用来制备四倍体。通过鱼类远缘杂交,也有获得四倍体的报道。陈敏容等^[16]用热休克的办法获得异源四倍体,但没有获得能繁殖后代的雌性四倍体鱼。他们制备的倍间三倍体白鲫中没有发现可育的个体。湖南师范大学生命科学学院与湘阴县东湖渔场合作研制的四倍体湘鲫 F_3 — F_8 是一个雌雄都能育的异源四倍体群体(图版Ⅱ:5,6;详细资料另文发表),能够使四倍体鱼代代相传,目前已繁殖到第九代。用这个四倍体鱼群体作为父本已大量成批繁殖了不育三倍体湘云鲫。湘云鲫已较大规模应用于生产。

参考文献:

- [1] 刘 筠,周工建. 红鲫(♀)×湘江野鲤(♂)杂交一代生殖腺的细胞学研究[J]. 水生生物学报,1986,10(2):102—108
- [2] 刘少军,冯 浩,刘 筠,等. 四倍体湘鲫 F_3 — F_4 、三倍体湘云鲫、湘云鲤及有关二倍体的 DNA 含量[J]. 湖南师范大学自然科学学报,1999,22(4):61—68
- [3] 上海水产学院主编. 组织胚胎学[M]. 北京:农业出版社. 1981,70—73
- [4] Gervai J, Peter S, Nagy A, et al. Induction triploidy in carp, *Cyprinus carpio* L [J]. *J. Fish Biol.*, 1980, 17:667—671
- [5] Wolter W R, Libey G S, Chrisman C L. Induction of triploidy in channel catfish [J]. *Trans. Am. Fish Soc.*, 1981, 111:312—314
- [6] Suzuki, R, Nakanish T, Oshiro T. Survival, growth and sterility of induced triploids in the cyprinid loach *Misgurnus anguillicaudatus* [J]. *Bull Jap. Soc. Sci. Fish.*, 1985, 51:889—894
- [7] Lincoln R F, Scott A P. Sexual maturation in triploid rainbow trout, *Salmo gairdneri* richardson [J]. *J. Fish Biol.*, 1984, 25:385—392
- [8] Kobayashi T, Fushiki S, Sakai N. et al. Oogenesis and changes in the levels of reproductive hormones in triploid female rainbow trout [J]. *Fisheries Science*, 1998, 64(2):206—215
- [9] Hussian, M G, Penman D J, Mcandrew B J. Effects of triploidy on sexual maturation and reproduction in Nile Tilapia, *Oreochromis niloticus* L [J]. The third international symposium on tilapia in aquaculture, *ICLARM Conf. Proc.*, 1996, 41:320—325
- [10] Linclon R F. Sexual maturaion in female triploid plaice, *Pleuronectes platessa*, and plaice× flounder, *Platichthys flesus*, hybrids [J]. *J. Fish Biol.*, 1981, 19:499—507

- [11] 桂建芳,肖武汉,陈丽等. 人工三倍体水晶彩鲫的性腺发育 [J]. 动物学报, 1991, 37(3): 297—304
- [12] Benfy T J, Solar II. Flow-cytometric confirmation of aneuploidy in sperm from triploid rainbow trout [J]. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 1986, 115: 838—840
- [13] Cherfas N B, Gomelsky B L, Emei Yanova O V, et al. Induced diploid gynogenesis and polyploidy in crucian carp, *Carassius auratus gibelio* (Bloch) \times common carp, *Cyprinus carpio* L., hybrids [J]. *Aquaculture and Fisheries Management*, 1994, 25: 943—945
- [14] Allen S K, Stanley J G. Reproductive sterility in polyploid brook trout *Salvelinus fontinalis* [J]. *Trans. Am. Fish. Soc.*, 1978, 103(3): 473—478
- [15] 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
- [16] 陈敏容,杨兴棋,俞小牧,等. 白鲫(♀) \times 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
- [17] Withler R E, Clarke W C, Blackburn J et al. Effect of triploidy on growth and survival of pre-smolt and post-smolt coho salmon (*Oncorhynchus kisutch*) [J]. *Aquaculture*, 1998, 168(1—4): 413—422
- [18] 楼允东,刘明华,沈俊宝等. 鱼类鱼种学 [M]. 北京: 中国农业出版社. 1998, 140—142.
- [19] 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

**GONADAL STRUCTURE OF TRIPLOID CRUCIAN CARP
PRODUCED BY CROSSING ALLOTETRAPLOID HYBRIDS OF
CARASSIUM AURATUS RED VAR. (♀) \times *CYPRINUS
CARPIO* (♂) WITH JAPANESE CRUCIAN CARP
(*CARASSIUS AURATUS* CAVIERI T. ET S)**

LIU Shao-jun, HU Fang, ZHOU Gong-jian, ZHANG Xuan-jie,
HE Xiao-xiao, FENG Hao and LIU Yun

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

Abstract: During breeding season (in April), three types of gonadal structure of triploid crucian carp, produced by crossing F_3 - F_8 allotetraploids (♂) of red crucian carp (*Carassius auratus* red var.) (♀) \times common carp (*Cyprinus carpio* L.) (♂) with Japanese crucian carp (*Carassius auratus* Cavieri T. et S) (♀), were found and observed under light and electron microscope. The first type was the testis that consisted of many lobules in which there were numerous spermatides. Some degenerated spermatides were found and no mature spermatozoon was observed. The second type was the ovary-like gonad consisting of many nests of small undeveloped cells and a few small growing oocytes as well as enlarged and degenerated oocytes. The third type was the fat tissue, in which case, only two strips of fat tissue located on the gonadal places, neither testis nor ovary being observed.

Key words: Allotetraploid fish; Triploid fish; Gonad

图版说明

图 版 I

1. 三倍体湘云鲫精巢型性腺, 示精巢小叶内的精子细胞, 有的精子细胞出现空泡状退化结构(箭头), $\times 513$; 2. 同时期的日本白鲫精巢, 示精巢内布满成熟的精子, $\times 513$; 3. 卵巢型性腺, 示该性腺的大部分为分化程度较低、呈囊状排列的小细胞, 在这些小细胞中能看到少量初级卵母细胞, $\times 91$; 4. 同时期的日本白鲫卵巢, 示体积较大、具有卵黄的正常卵母细胞, $\times 91$; 5. 卵巢型性腺, 此时的性腺由许多囊状的小细胞和少量的体积较大的退化的卵母细胞组成, $\times 91$; 6. 图 5 中小细胞的放大, 示它们呈囊状排列, $\times 450$; 7. 脂肪型“性腺”中的脂肪组织, 示脂肪细胞, $\times 363$; 8. 卵巢型性腺中呈囊状排列的两个细胞的超微结构, $\times 5550$.

1. The testis of triploid crucian carp, showing there were many spermatides in the lobules of the testis and there were some cavities in some spermatides (arrow), indicating that they were degenerating, $\times 513$; 2. The testis of diploid Japanese crucian carp, showing there were numerous mature sperm in the lobules of the testis, $\times 513$; 3. The ovary-like gonad of the triploid crucian carp, showing it contained many nests of small undeveloped cells and a few small growing oocytes, $\times 91$; 4. The ovary of diploid Japanese crucian carp, showing it contained many large ova that were full of yolk, $\times 91$; 5. The ovary-like gonad of the triploid crucian carp, showing it contained many nests of small undeveloped cells and a few enlarged and degenerated oocytes, $\times 91$; 6. Higher magnification of the small undeveloped cells in figure 5, showing they appeared as nests in the lobules, $\times 450$; 7. The fat tissue “gonad”, showing the fat cells, $\times 363$; 8. Two undeveloped cells in a nest of the ovary-like gonad of triploid crucian carp, $\times 5550$.

图 版 II

1. 精巢型性腺, 有些精子细胞内出现空泡状结构, 呈现退化的特征, $\times 7126$; 2. 脂肪型“性腺”中的一个脂肪细胞, 其细胞质内可见许多空泡状的脂肪颗粒, $\times 14000$; 3. 白鲫早期精巢, 示精巢内呈囊状排列、发育同步的精原细胞, $\times 1100$; 4. 湘云鲫有丝分裂中期染色体, $3n = 150$; 5. 湘鲫 F_3 有丝分裂中期染色体, $4n = 200$; 6. 湘鲫 F_8 有丝分裂中期染色体, $4n = 200$.

1. The testis of triploid crucian carp, showing there were some degraded spermatides in the lobules. $\times 7126$; 2. In the cytoplasm of a fat cell in the fat-tissue gonad, there existed numerous fat granules, $\times 14000$; 3. The early testis of Japanese crucian carp, showing it contained many nests of synchronic spermatogonia. $\times 1100$; 4. Metaphase chromosome spreads of triploid crucian carp, $3n = 150$; 5. Metaphase chromosome spreads of F_3 , $4n = 200$; 6. Metaphase chromosome spreads of F_8 , $4n = 200$.



