

文章编号: 1674-5566(2013)05-0690-08

黄姑鱼正常二倍体和雌核发育体胚胎发育及早期生长的比较研究

杨育凯^{1,2}, 简林江^{1,2}, 王志勇^{1,2}, 谢仰杰^{1,2}, 陈庆凯³

(1. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021; 2. 集美大学农业部东海海水健康养殖重点实验室, 福建 厦门 361021; 3. 福建省宁德市水产技术推广站, 福建 宁德 316100)

摘要: 对黄姑鱼正常二倍体(N)、雌核发育二倍体(G)和单倍体(H)的胚胎发育进行观察, 并对其早期生长情况进行比较。结果显示: (1) 受精率 $N > H > G$, 孵化率 $N > G > H$, 畸形率 $H > G > N$, 72 h 成活率 $N > G > H$; (2) 正常二倍体胚胎经 21 h 10 min 孵化出膜, 雌核发育二倍体和单倍体孵化出膜分别用时 23 h 10 min 和 23 h 30 min; 雌核发育二倍体发育滞后主要出现于原肠早期和孵出期, 单倍体滞后出现于原肠晚期。从形态上看, 单倍体胚胎呈现典型的单倍体综合症, 雌核发育二倍体和正常二倍体胚胎发育形态正常且两者无明显差异。各组死亡高峰均出现在原肠晚期, 单倍体组开口前全部死亡; (3) 60 日龄之前雌核发育二倍体生长速度明显慢于正常二倍体且个体间差异较大。

研究亮点: 在率先获得黄姑鱼人工诱导雌核发育成功的基础上, 首次对其正常二倍体、雌核发育二倍体和单倍体胚胎发育形态和时序进行了观察比较, 并对雌核发育二倍体和正常二倍体仔鱼的早期生长情况进行了比较研究, 为黄姑鱼雌核发育诱导条件的深入研究及遗传育种工作提供了基础资料。

关键词: 黄姑鱼; 雌核发育; 单倍体; 胚胎发育; 生长

中图分类号: Q 959.483, S 965.322

文献标志码: A

黄姑鱼 (*Nibea albiflora*) 隶属鲈形目 (Perciformes), 石首鱼科 (Sciaenidae), 黄姑鱼属 (*Nibea*), 为暖温性中下层鱼类, 主要分布于韩国、日本南部近海和我国沿海^[1]。黄姑鱼肉质鲜美, 营养丰富, 抗病力强, 经济价值高, 深受人们喜爱, 是我国重要的经济鱼类。近年来, 黄姑鱼的人工养殖受到重视, 养殖规模日益扩大, 有望成为我国东海沿岸重要的海水养殖种类。目前, 黄姑鱼的人工繁育^[2]、网箱养殖^[3]和工厂化养殖^[4]技术已发展成熟, 并且已在闽浙海区形成一定的养殖规模。由于黄姑鱼雌性生长优势明显, 开展黄姑鱼的全雌化养殖是提高养殖效益的一种有效途径。通过人工诱导雌核发育可为实现黄姑鱼全雌化养殖提供快捷途径, 缩短育种年限, 增加养殖效益。本文对黄姑鱼正常二倍体、雌核发育二倍体和单倍体胚胎的发育进行了观察比较, 并对雌核发育二倍体和正常二倍体仔鱼的早期

生长情况进行了研究, 以期为黄姑鱼雌核发育的深入研究和良种选育提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验于 2012 年 10 月在宁德市横屿岛水产有限公司育苗场进行, 亲鱼来自霞浦海区网箱中养殖 2 周年、体质健壮、无伤病的个体, 在室内暂养后使用。选取性腺发育良好的亲鱼进行人工催产, 催产所用药物为促黄体素释放激素类似物 (LRH-A3, 宁波市三生药业有限公司), 雌鱼剂量为 3~5 $\mu\text{g}/\text{kg}$, 雄鱼减半, 水温 (24 \pm 0.5) $^{\circ}\text{C}$, 效应时间约 34 h。成熟雄鱼的精液取出后经 Hank's 液稀释, 部分用于正常人工授精, 其余经紫外线照射失活后用于诱导雌核发育。

1.2 雌核发育的诱导方法

精子遗传失活方法: 取 3 mL 稀释后的精液

收稿日期: 2013-03-27 修回日期: 2013-06-03

基金项目: 福建省高校科技创新团队 (闽教科 [2012] 3 号); 集美大学创新团队科研基金 (2010A002)

作者简介: 杨育凯 (1986—), 男, 硕士研究生, 研究方向为鱼类遗传育种。E-mail: yangyukai@yahoo.cn

通信作者: 谢仰杰, E-mail: yjxie@jmu.edu.cn

于直径为 9 cm 的培养皿中,将培养皿置于盛有碎冰且表面水平的托盘上,再将托盘放在转速为 110 r/min 的摇床上,进行紫外线照射。紫外线强度为 $3\ 800\ \mu\text{W}/(\text{cm}^2 \cdot \text{s})$,照射时间为 60 s。

卵子二倍体化方法:采用冷休克抑制第二极体排放的方法,具体为授精后 2 min,于 3~4 °C 海水中冷休克 10 min。

各试验组胚胎制备方法如下。

正常二倍体组(N):精卵正常受精;

雌核发育二倍体组(G):遗传失活精子与正常卵子受精后再经冷休克处理;

单倍体组(H):遗传失活精子与正常卵子受精,不经冷休克处理。

1.3 胚胎发育观察

各试验组卵子放在半吨玻璃钢桶中孵化,微充气,孵化水温(24 ± 0.5) °C,盐度 26~27,仔鱼孵出前每 6 小时换水一次,每次换水量 30%~50%。受精后每组各取 3 000 粒上浮卵于 3 个 1 000 mL 烧杯中孵化,用于取样观察。胚胎发育的形态学观察每组每次取 50 粒卵,发育时序以 50% 的胚胎发育至某期的时间计算,Nikon 显微镜观察,SAMSUNG 相机拍照。计算各组受精率、孵化率、畸形率和 72 h 成活率(受精率为原肠期卵子数占总卵子数百分比,孵化率为出膜仔鱼数占受精卵子数百分比,畸形率为畸形苗数占出膜仔鱼数百分比,72 h 成活率为 72 h 存活仔鱼数占出膜仔鱼数百分比)。

表 1 黄姑鱼正常二倍体、雌核发育二倍体和单倍体的受精率、孵化率、畸形率和 72 h 存活率
Tab.1 Fertilization rate, hatching rate, deformity rate and 72 h survival rate of normal diploid, gynogenetic diploid and haploid of *N. albiflora*

组别	受精率/%	孵化率/%	畸形率/%	72 h 成活率/%
正常二倍体(N)	85.0 ± 2.94^a	63.4 ± 6.48^a	0.0 ± 0.00^a	56.8 ± 13.41^a
雌核发育二倍体(G)	26.0 ± 4.90^b	34.7 ± 3.77^b	2.4 ± 1.77^b	13.0 ± 5.35^b
单倍体(H)	62.0 ± 1.63^c	11.0 ± 4.97^c	100.0 ± 0.00^c	0.0 ± 0.00^c

注:同列字母不同表示差异显著($P < 0.05$)。

2.2 黄姑鱼正常二倍体、雌核发育二倍体和单倍体的胚胎发育形态特征和时序

黄姑鱼正常二倍体、雌核发育二倍体和单倍体孵化用时分别为 21 h 10 min、23 h 10 min 和 23 h 30 min。各期时序详见表 2,各试验组形态详见图版(N1~H8)。

2.2.1 胚盘形成期

黄姑鱼为端黄卵,盘状卵裂。成熟卵子为无

1.4 早期生长比较

鱼苗孵出后,仍在盐度 26~27 的过滤海水中培育,水温 24~26 °C。雌核发育二倍体组和正常二倍体组每 10 天取样一次,每次每组 30 尾,测量全长。试验所得数据采用 Microsoft excel 2003 和 SPSS 13.0 统计软件进行统计分析,使用 t 检验检验组间生长差异,并计算组内差异系数,公式如下:

$$C_v = S/\bar{x} \times 100\% \quad (1)$$

式中: C_v 为差异系数; S 为标准差; \bar{x} 为平均值。

2 结果

2.1 黄姑鱼正常二倍体、雌核发育二倍体和单倍体的受精率、孵化率和 72 h 存活率

受精率以正常二倍体组最高为 85.0%;其次是单倍体组 62.0%;雌核发育二倍体组最低,仅为 26.0%。在水温(24 ± 0.5) °C,盐度 26~27 的孵化条件下,21 h 后各组鱼苗相继孵出,正常二倍体组孵化率为 63.4%,雌核发育二倍体组和单倍体组孵化率明显较低,分别为 34.7% 和 11%。正常二倍体组形态均正常,雌核发育组有少量鱼苗畸形(2.4%),单倍体组全部畸形。72 h 成活率正常二倍体组最高 56.8%,雌核发育二倍体组为 13%,单倍体均未能开口,72 h 存活率为 0。利用 4 对微卫星引物对雌核发育二倍体子代进行鉴定,所有受检测子代在这 4 个基因座上均未发现父本等位基因,雌核发育诱导率为 100%。

色透明圆球形,浮性,卵径(0.87 ± 0.034) mm,中央有 1 个油球,黄褐色,油球径(0.26 ± 0.012) mm,部分卵子含多个油球(单倍体组居多),这种卵子发育过程中陆续死亡或发育畸形。卵子与精子结合后即开始吸水膨胀,出现受精膜和卵周间隙,受精后 5 min 原生质向动物极集中并逐渐隆起,由于重力原因,动物极在下,植物极在上,30 min 后胚盘形成(图版-1~3)。部分未受精

卵吸水后也可形成假胚盘,但其不能继续卵裂。核发育组胚盘形成稍晚些,发育时序为 $N = H > G$ 。胚盘形成期各组发育时序和形态均差异不大,雌

表 2 黄姑鱼正常二倍体、雌核发育二倍体和单倍体的胚胎发育时序

Tab. 2 Time table of normal diploid, gynogenetic diploid and haploid embryonic development of *N. albiflora*

胚胎发育时期	正常二倍体(N)	雌核发育二倍体(G)	单倍体(H)	图版
胚盘形成期				
受精	0 min	0 min	0 min	
胚盘隆起	30 min	35 min	30 min	图版 - 1 ~ 3
卵裂期				
2 细胞期	45 min	55 min	45 min	
4 细胞期	55 min	1 h 05 min	55 min	
8 细胞期	1 h 10 min	1 h 20 min	1 h 10 min	图版 - 4 ~ 6
16 细胞期	1 h 20 min	1 h 35 min	1 h 20 min	
32 细胞期	1 h 35 min	1 h 50 min	1 h 35 min	
多细胞期	2 h 20 min	2 h 40 min	2 h 20 min	图版 - 7 ~ 9
囊胚期				
高囊胚期	3 h 05 min	3 h 30 min	3 h 10 min	图版 - 10 ~ 12
低囊胚期	4 h 10 min	4 h 30 min	4 h 15 min	
原肠期				
原肠早期	4 h 50 min	5 h 20 min	5 h	图版 - 13 ~ 15
原肠中期	5 h 30 min	6 h 30 min	6 h	
原肠晚期	8 h 10 min	9 h 10 min	8 h 40 min	
胚体形成期				
卵黄栓形成	9 h 10 min	10 h 20 min	10 h 20 min	
眼泡出现	10 h	11 h 10 min	11 h 20 min	图版 - 16 ~ 18
胚孔关闭	10 h 50 min	12 h	12 h 20 min	
色素形成	11 h 20 min	12 h 30 min	12 h 50 min	
尾芽期	14 h 20 min	15 h 30 min	16 h	
晶体出现	17 h 50 min	18 h 50 min	19 h 30 min	
孵化期				
心跳期	18 h 20 min	19 h 30 min	20 h 10 min	图版 - 19 ~ 21
出膜前期	20 h 30 min	21 h 40 min	22 h 20 min	
孵出期	21 h 10 min	23 h 10 min	23 h 30 min	图版 - 22 ~ 24

2.2.2 卵裂期

受精卵胚盘形成后即进入卵裂期(图版 - 4 ~ 9),依次经过 2 细胞期、4 细胞期、8 细胞期、16 细胞期、32 细胞期和多细胞期,细胞数量继续增加,胚盘卵裂呈桑椹状,进入桑椹期。该阶段各试验组发育形态相似,各期具体特征与耿智等^[5]描述的正常黄姑鱼胚胎发育类似,但各组发育时序有所不同,雌核发育二倍体组分裂速度稍慢,发育时序为 $N = H > G$ 。该期各组胚胎死亡率均较低。从卵裂开始,单倍体组和雌核发育组的部分卵子出现分裂球大小不一的现象,出现较多的畸形卵裂,这些卵子都无法发育至原肠胚。

2.2.3 囊胚期

桑椹期之后胚盘继续卵裂,细胞体积越来越小,细胞间界限逐渐模糊,胚盘隆起呈帽状,进入

高囊胚期(图版 - 10 ~ 12);细胞继续分裂,囊胚高度下降,边缘向外扩展进入低囊胚期。除单倍体的囊胚帽稍小外,各试验组胚体形态差异不大。进入低囊胚期后,单倍体发育速度开始变缓,胚胎死亡率也有所上升,雌核发育二倍体依然滞后,各组发育时序为 $N > H > G$ 。

2.2.4 原肠期

正常二倍体组进入这一期后,囊胚层细胞继续沿着卵黄边缘扩展、下包,同时前端细胞内卷形成胚环(图版 - 13 ~ 15)。原肠早期胚环下包约 1/3,中期约 1/2,晚期约 2/3,直至出现胚体雏形。形态上,雌核发育二倍体与正常二倍体无明显差异。从原肠初期开始,单倍体胚胎发育开始出现形态异常,至原肠晚期,单倍体异常已非常明显,具体表现为胚环较薄,边缘不规则,胚盘上

凹凸不平,形成的胚体雏形也模糊不清。发育速度上,雌核发育组原肠早期滞后最为明显,至原肠晚期已累计滞后达 1 h,单倍体组已累计滞后 30 min,发育时序依旧为 $N > H > G$ 。死亡情况,至原肠晚期各试验组均达到死亡高峰,其中雌核发育二倍体组原肠早期胚胎死亡最为集中和严重,发育至原肠晚期已经死亡过半(52%),单倍体组次之(33%),正常二倍体组死亡最少(18%)。

2.2.5 胚体形成期

该期为器官形成期(图版-16~21),胚盘下包至卵黄另一端收缩成圆孔,即为胚孔,胚孔逐渐缩小,卵黄栓形成,并开始出现 1 对肌节,此时胚体形状已比较明显;继续发育,眼泡出现,胚孔逐渐关闭,体节变得清晰可见,胚体背部出现星点状色素,后端出现圆锥状尾芽,随着肌节数量和黑色素的不断增多,尾鳍褶出现,尾部从卵黄分离延长,视囊内也出现清晰可见的晶体,视囊后方出现泡状耳囊。发育形态上,雌核发育组除少数畸形外其余形态与正常组无异。单倍体胚体形成各期特征不明显,不易区分,发育延迟;至尾芽期单倍体综合症开始明显:胚体轮廓模糊,头突较大,表面颗粒感重,视囊内晶体模糊,躯干短粗,尾部短小,脊柱扭曲变形,体节不明显,肌节数量少且分化不清晰,出现部分死亡。发育速度上,雌核发育组器官形成过程与正常组发育速度基本相同,只是时序不同。单倍体组在原肠晚期之后有一个较长时间的发育停滞,之后各期发育速度明显缓慢;卵黄栓形成后单倍体组发育时序比雌核发育组还晚,至尾芽期各组发育时序为: $N > G > H$ 。死亡情况,各组死亡率均较高,单倍体组最为严重;晶体出现后,各试验组死亡率大幅下降。

2.2.6 孵化期

受精后 18 h 20 min,正常组胚胎开始出现心跳,约 110 次/min,胚体相应颤动,胚体星状色素集中成五丛,之后耳囊内出现轮廓分明的耳石;孵化前卵膜变得薄而松弛,胚体频繁扭动,尾部剧烈摆动,受精 21 h 后正常组仔鱼破膜而出(图版-22~24)。形态上,雌核发育组发育特征与正常组基本一致,只是肌肉搐动不明显,出膜后有部分仔鱼不能浮游。单倍体组该期发育呈现典型的单倍体综合症:头大、尾小、躯干弯曲,头部器官分化不清,多数晶体发育不全;色素遍布全身,心跳较弱,围心腔扩大,水肿,心血管系统发育不全,血液循环微弱,肌肉收缩较弱,破膜率低,仔鱼活力很差,不能平游并大量死亡。发育时序上,雌核发育组因部分个体肌肉无力,破膜困难,致使其出膜期明显拖长,发育时序为: $N > G > H$,各试验组孵化分别用时 21 h 10 min、23 h 10 min 和 23 h 30 min。死亡情况,从出现心跳到孵化出膜,各组又出现小的死亡高峰,雌核发育组因出膜困难死亡较多;单倍体组仔鱼很少游动,该期死亡率较难统计,随着卵黄囊的消耗,仔鱼在出膜后 3 d 内全部死亡。

2.3 雌核发育二倍体和正常二倍体黄姑鱼早期生长的比较

组间比较结果显示,总体上雌核发育组鱼苗早期平均生长速度慢于正常二倍体组,至 60 日龄平均全长与正常组差距超过 1 cm,但经统计学检验各日龄段差异均不显著($P > 0.05$)。雌核发育二倍体组个体间差异较大,其各日龄段变异系数均大于正常二倍体组;60 日龄时雌核发育组全长变异范围为 41.66~62.18 mm,变异系数 $C_V = 12.47%$;正常二倍体组个体差异相对较小,60 日龄时全长范围为 56.79~69.35 mm, $C_V = 9.18%$ 。两试验组全长数据见表 3,生长曲线见图 1。

表 3 黄姑鱼雌核发育二倍体与正常二倍体早期生长比较

Tab. 3 Comparison of early growth between gynogenetic diploid and normal diploid of *N. albiflora*

日龄/天	检测数量/尾	正常二倍体组全长/mm			雌核发育二倍体组全长/mm		
		范围	平均值±标准差	变异系数/%	范围	平均值±标准差	变异系数/%
0	30	1.89~1.98	1.95±0.042	2.15	1.87~1.97	1.95±0.055	2.82
10	30	3.08~3.63	3.28±0.105	3.20	2.94~3.55	3.19±0.187	5.86
20	30	4.07~4.90	4.52±0.236	5.22	3.92~4.88	4.28±0.250	5.84
30	30	8.90~14.23	11.56±1.350	11.68	7.82~12.04	10.23±1.745	16.91
40	30	28.65~39.00	35.08±3.025	8.62	22.26~37.45	33.82±3.764	11.83
50	30	42.32~55.60	50.36±4.302	8.54	30.38~49.81	42.39±4.334	10.22
60	30	56.79~69.35	65.17±5.985	9.18	41.66~62.18	54.96±6.855	12.47

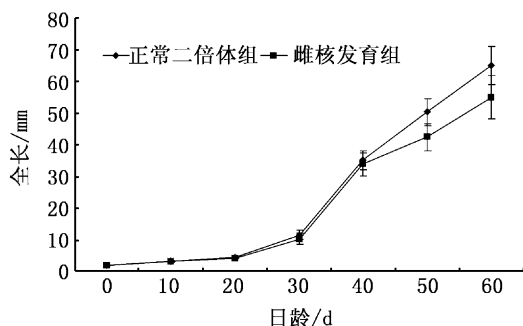


图1 黄姑鱼雌核发育二倍体与正常二倍体组早期生长曲线

Fig.1 The early growth curves of gynogenetic diploid and normal diploid of *N. albiflora*

3 讨论

3.1 黄姑鱼正常二倍体、雌核发育二倍体和单倍体胚胎发育的特点

本研究所得黄姑鱼正常二倍体的胚胎发育时序和形态特征与余方平等^[6]、耿智等^[5]所报道的差异不大,只是孵化时间较短,这可能是孵化水温和地域不同所致。余方平等^[6]、耿智等^[5]的研究均在浙江舟山近海,本研究试验地点为福建宁德近海,地域更靠南方。詹炜等^[7]研究了水温和盐度对舟山近海黄姑鱼受精卵孵化的影响并指出其适宜的孵化水温和盐度范围分别为20~29℃和25~40;本试验在水温(24±0.5)℃,盐度26~27情况下,正常组受精率、孵化率和72h成活率分别为85.0%、63.4%和56.8%,属正常水平。

本研究结果表明,雌核发育二倍体与正常二倍体黄姑鱼的胚胎发育形态特征和发育时序基本相同,但雌核发育二倍体的发育速度较慢,孵化出膜比正常二倍体晚2h,这与大黄鱼(*Larimichthys crocea*)^[8]、斑马鱼(*Danio rerio*)^[9]、牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)^[10]、大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)^[11]、半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)^[12]、条斑星鲽(*Verasper moseri*)^[13]、马粪海胆(*Hemicentrotus pulcherrimus*)^[14]等雌核发育胚胎孵化较晚的现象一致。黄姑鱼雌核发育二倍体受精卵从胚盘形成开始其发育速度均慢于正常二倍体胚胎,此后的卵裂阶段也一直滞后。一般认为冷休克处理会干扰细胞的正常代谢,使酶活性降低,细胞分裂受阻,胚盘形成推迟,甚至胚体

被冻死。ZHU等^[15]的研究发现用紫外灭活的同源精子激活的牙鲆卵在经过冷休克处理后纺锤体解体 and 中心粒复制受阻,从而阻碍了早期卵裂的进行。本研究结果也表明,黄姑鱼雌核发育胚胎在原肠早期出现长时间的发育停滞现象,胚体下包速度明显变慢。原肠期原肠作用是胚胎细胞有规律的定向迁移、排列和分化形成胚层的过程,并在此基础上逐渐分化形成各种组织和器官原基,是胚胎发育的关键时期,各试验组胚胎在该期均出现死亡高峰,其中雌核发育组死亡最多。洪一江等^[16]在研究冷休克对兴国红鲤(*Cyprinus carpio* var. *Xingguonensis*)胚胎发育的影响时发现,胚胎进入囊胚期后,某些卵质中的启动因子因冷休克而失活或活性降低或传递途径阻断而不能启动基因,细胞分化受阻,发育停滞或胚胎不能按正常途径发育而死亡。因此,冷休克也是引起雌核发育受精率、孵化率低,畸形率、死亡率高的一个重要原因。在原肠期之后的器官形成过程,雌核发育二倍体与正常二倍体的发育速度一致,死亡率也均相对较低。雌核发育二倍体的发育缓慢还表现在出膜前期,与正常二倍体顺利出膜相比,雌核发育二倍体的一些个体表现为脊索弯曲而活动无力,致使出膜期拖得较长并在该期又出现小的死亡高峰。利用冷休克抑制第二极体排放对黄姑鱼胚胎发育和器官分化影响的机制,还需进行深入研究。

黄姑鱼单倍体的受精率、孵化率均较低,胚胎发育早期的形态特征与正常二倍体无明显差异,只是部分受精卵出现多油球现象,卵裂时少数出现不均等分裂,囊胚期少量胚胎囊胚帽较小。从原肠期开始,单倍体胚胎发育出现明显异常,形成的胚体较为模糊,器官形成时各期特征不明显,至孵化出膜时呈现典型的单倍体综合症,开口前全部死亡。有关雌核发育单倍体胚胎发育的研究报道不少,几乎所有单倍体的发育速度都慢于二倍体^[17],本研究结果也不例外,黄姑鱼单倍体孵化出膜时间比正常二倍体晚2h20min。但所报道的单倍体胚胎发育时序快慢差异较大,原因可能是由于物种或是诱导方法的不同造成的,按诱导方法差异大致可分为两类:一类为异源精子诱导,其单倍体胚胎发育速度呈现先快后慢的趋势,胚盘形成期、卵裂期发育较快,原肠期出现滞后,直至出膜前全部死亡;这类大多

不能孵化出膜,如牙鲆^[10]、大菱鲆^[11]、半滑舌鳎^[12]和大鳞副泥鳅(*Paramisgurnus dabryanus*)^[18]等;两栖类^[19]也属这种情况。另一类多为同源精子诱导,胚胎发育早期与正常组同步或稍慢,后期滞后严重;这类通常可以孵化出膜,有些甚至可以活到开口前后,如斑马鱼^[9]、泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)^[20]、条斑星鲽^[13]、大黄鱼^[21]等。黄姑鱼属于后面一类,其单倍体早期胚胎发育与正常对照组基本同步,囊胚期开始发育速度放缓,原肠晚期发育严重停滞,后期也一直滞后,孵化时间延长。黄姑鱼单倍体胚胎各期死亡率都很高,死亡高峰出现在原肠晚期、出膜期和开口期。朱作言^[22]认为在鱼类胚胎发育初始阶段的卵裂期和囊胚期,形态发生是受母本 mRNA 和蛋白质调控的,没有基因的转录过程,因此卵裂的启动不需要太复杂的条件;而囊胚期后开始的细胞分化和器官分化则要受胚胎细胞的基因表达调控,单套染色体组已不能完全满足胚胎细胞分化和器官分化所需的正常基因表达的需要,致使胚胎发育减缓、形态畸形、死亡率上升。目前一般认为单倍体胚胎在早期死亡是由于隐性致死因子的出现和单倍体胚胎中核质比的下降造成的,也不排除细胞不均等分裂等细胞学因素的影响;许多胚胎不能孵化出膜可归因于胚胎的器官、系统无规则和不完善的发育所引起^[20];单倍体全部为畸形胚胎,由于受单倍体综合症的影响,仔鱼对外界刺激非常敏感,轻微的晃动都可引起卵黄囊的破裂,卵黄囊从身体脱离造成死亡,存活的仔鱼也无法开口,随着卵黄囊的消耗逐渐死亡。

3.2 黄姑鱼正常二倍体与雌核发育二倍体早期发育阶段的生长差异

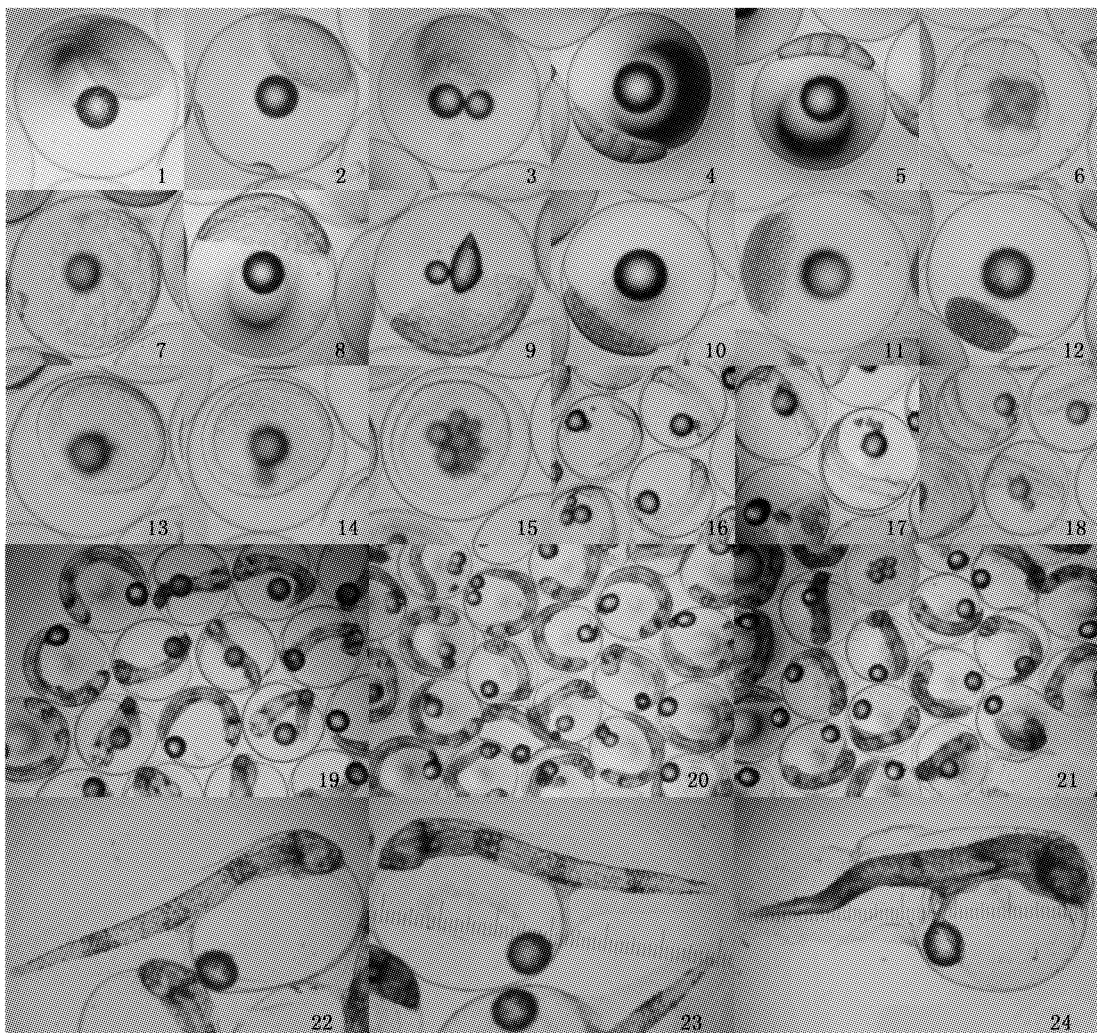
对于雌性生长优势明显的海水鱼类,其雌核发育后代是否同样保持生长优势,生长优势出现在哪个阶段,是值得研究的。然而,目前有关雌核发育鱼苗早期生长的研究报道很少。庄岩等^[23]在诱导牙鲆同质雌核发育的同时对雌核发育和正常牙鲆早期生长做了比较,结果显示:雌核发育二倍体牙鲆生长速度明显慢于正常对照组,到 6 月龄两者差异达到极显著水平($P < 0.01$)。本研究对 2 月龄雌核发育黄姑鱼和正常黄姑鱼的生长情况进行比较,发现两者差异并未达到显著水平($P > 0.05$),可以说明雌核发育鱼

苗在早期并未显示出生长优势。原因可能有两点:一是诱导雌核发育的操作,包括冷休克、静水压等处理,致使雌核发育鱼苗从受精卵起其发育就开始滞后,造成生长缓慢;另一种可能是这些鱼类雌性生长本来就是先慢后快,鱼苗前期雌鱼本来就没有生长优势。这方面尚有待于深入研究。此外,本研究发现,雌核发育黄姑鱼个体间差异较正常黄姑鱼大,该结果与庄岩^[23]的研究结果是一致的,推测这与雌核发育体有较多的基因纯合、而不同个体其纯合度不同有关^[24],但具体原因也需通过研究查明。

参考文献:

- [1] 朱元鼎,罗云林,伍汉霖. 中国石首鱼类分类系统的研究和新属新种的叙述[M]. 上海:上海科学技术出版社,1963:50-51.
- [2] 陈超,徐延康,雷霖霖. 黄姑鱼人工育苗初步试验[J]. 水产科学,1989,8(1):7-11.
- [3] 蔡厚才,林岩璇,陈传再. 南麂海区黄姑鱼网箱养殖技术研究[J]. 浙江海洋学院学报,2001,20(1):66-69.
- [4] 雷霖霖,陈超,徐延康,等. 黄姑鱼工厂化育苗技术研究[J]. 海洋科学,1992,11(6):5-10.
- [5] 耿智,徐冬冬,史会来,等. 黄姑鱼(*Nibea albiflora* Richardson)早期生长发育研究[J]. 海洋科学进展,2012,30(1):77-86.
- [6] 余方平,孙忠,程国宝. 舟山近海黄姑鱼胚胎发育及前期仔鱼形态的观察[J]. 海洋渔业,2005,27(4):265-270.
- [7] 詹炜,楼宝,耿智,等. 水温和盐度对黄姑鱼受精卵孵化的影响[J]. 水生态学杂志,2012,33(1):71-74.
- [8] 苗亮,王天柱,李星云,等. 同源和异源精子诱导大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)雌核发育的胚胎发育比较及子代 SSR 遗传标记分析[J]. 海洋与湖沼,2011,42(3):419-424.
- [9] 陈宝增. 斑马鱼雌核发育诱导及早期胚胎发育研究[D]. 石家庄:河北大学,2009.
- [10] 刘海金,王常安,朱晓琛,等. 牙鲆单倍体、三倍体、雌核发育二倍体和普通二倍体胚胎发育的比较[J]. 大连水产学院学报,2008,23(3):161-167.
- [11] 孟振,雷霖霖,刘新富,等. 不同倍性大菱鲆胚胎发育的比较研究[J]. 中国海洋大学学报,2010,40(7):36-42.
- [12] 田永胜,陈松林,邵长伟,等. 鲈鱼冷冻精子诱导半滑舌鳎胚胎发育[J]. 海洋水产研究,2008,29(2):1-9.
- [13] 李忠红,刘海金,张世奎,等. 雌核发育与正常二倍体条斑星鲽胚胎发育比较研究[J]. 水产科学,2009,28(12):752-756.
- [14] 曹学彬,丁君,常亚青. 人工诱导马粪海胆雌核发育的早期胚胎发育及细胞学观察[J]. 大连水产学院学报,2008,23(1):1-7.
- [15] ZHU X P, YOU F, ZHANG P J, et al. Effects of cold shock on

- microtubule organization and cell cycle in gynogenetically activated eggs of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*) [J]. *Marine Biotechnology*, 2006, 8(3): 312-318.
- [16] 洪一江, 胡成钰, 张丰旺, 等. 冷休克对兴国红鲤胚胎发育的影响[J]. *南昌大学学报: 理科版*, 1993, 17(2): 99-104.
- [17] 季相山, 陈松林, 武鹏飞, 等. 紫外灭活的异源和同源精子诱导的半滑舌鳎单倍体胚胎发育过程比较[J]. *水产学报*, 2009, 33(1): 60-69.
- [18] 赵振山, 吴清江, 高贵琴, 等. 大鳞副泥鳅雌核发育单倍体胚胎发育的研究[J]. *动物学研究*, 1999, 20(3): 230-234.
- [19] 吴仲庆. 单套染色体组在泽蛙雌核单倍体发育中的作用[J]. *动物学报*, 1985, 31(1): 28-32.
- [20] 张梅芬, 吴美锡, 丁汉波. 泥鳅雌核生殖单倍体胚胎发育的研究[J]. *动物学研究*, 1993, 14(4): 361-366.
- [21] 李益云. 大黄鱼雌核发育的诱导及遗传分析[D]. 厦门: 集美大学, 2007.
- [22] 朱作言. 胡子鲶的胚胎发育[J]. *水生生物学集刊*, 1982, 7(4): 445-454.
- [23] 庄岩, 蓝勋, 王志刚, 等. 牙鲆同质雌核发育二倍体的诱导及其早期生长研究[J]. *中国海洋大学学报*, 2010, 40(6): 96-102.
- [24] 叶小军, 王志勇, 刘贤德, 等. 大黄鱼连续两代雌核发育群体的微卫星标记分析[J]. *水生生物学报*, 2010, 34(1): 144-151.



图版 黄姑鱼正常二倍体(N)、雌核发育二倍体(G)和单倍体(H)胚胎发育的比较

Plate The embryonic development of normal diploid (N), gynogenetic diploid (G) and haploid (H) of *N. albiflora*

1. 正常二倍体胚盘; 2. 雌核发育二倍体胚盘; 3. 单倍体胚盘; 4. 正常二倍体8细胞期; 5. 雌核发育二倍体8细胞期; 6. 单倍体8细胞期; 7. 正常二倍体多细胞期; 8. 雌核发育二倍体多细胞期; 9. 单倍体多细胞期; 10. 正常二倍体高囊胚期; 11. 雌核发育二倍体高囊胚期; 12. 单倍体高囊胚期; 13. 正常二倍体原肠早期; 14. 雌核发育二倍体原肠早期; 15. 单倍体原肠早期; 16. 正常二倍体眼泡形成期; 17. 雌核发育二倍体眼泡形成期; 18. 单倍体眼泡形成期; 19. 正常二倍体心跳期; 20. 雌核发育二倍体心跳期; 21. 单倍体心跳期; 22. 正常二倍体孵出期; 23. 雌核发育二倍体孵出期; 24. 单倍体孵出期。

Comparison of embryonic development and early growth in normal and gynogenetic diploid of Yellow drum *Nibea albiflora*

YANG Yu-kai^{1,2}, JIAN Lin-jiang^{1,2}, WANG Zhi-yong^{1,2}, XIE Yang-jie^{1,2}, CHEN Qing-kai³

(1. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, Fujian, China; 2. Key Laboratory of Mariculture in the East China Sea, Ministry of Agriculture of China, Jimei University, Xiamen 361021, Fujian, China; 3. Fishery Technical Extension Station of Ningde City, Ningde 352100, Fujian, China)

Abstract: We observed the embryonic development of normal diploid (N), gynogenetic diploid (G) and haploid (H) of *Nibea albiflora*, and its early growth were compared. The results were as follows: (1) Fertilization rate $N > H > G$, Hatching rate $N > G > H$, Deformity rate $H > G > N$, 72 hours survival rate $N > G > H$. (2) It took about 21 hours 10 minutes for the normal diploid, for gynogenetic diploid and haploid, however, it took 23 hours 10 minutes and 23 hours 30 minutes to hatch, respectively. The embryonic development lag phenomenon were mainly appeared in early gastrula stage and hatching stage for gynogenetic diploid, in late gastrula stage for haploid. Morphologically, the haploid embryos showed typical haploid syndrome, while the gynogenetic diploid and normal diploid embryos had normal morphology and no significant difference between them. The death peak appeared in late gastrula stage for each group, all haploid larvae dead before mouth-open period. (3) Before 60 days age, the growth rate of gynogenetic diploid was obviously slower than normal diploid and individual quite different within the former group.

Key words: *Nibea albiflora*; gynogenesis; haploid; embryonic development; growth