

リリタ学界 JOURNAL OF FISHERIES OF CHINA





鳡和翘嘴鲌精子诱导彭泽鲫雌核发育子代的异精效应研究

操文杰, 张静蓉, 张庆飞, 赵玉华, 王卫民^{*} (华中农业大学水产学院,农业农村部淡水生物繁育重点实验室,湖北武汉 430070)

摘要: 为探究鳡和翘嘴鲌精子在诱导彭泽鲫雌核发育子代中的异精效应,实验分别以鳡和 翘嘴鲌精子激活彭泽鲫卵的胚胎发育获得子二代(F₂)群体: P×G(彭泽鲫♀×鳡♂)和 P×Q (彭泽鲫♀×翘嘴鲌♂),以 P×P(彭泽鲫♀×彭泽鲫♂)F₂为对照,比较各群体的染色体核型、 DNA 含量、形态学特征以及生长等。结果显示,P×G、P×Q 和 P×P 的核型分别为 3n=150= 45m+66sm+27st+12t、3n=150=54m+51sm+39st+6t和 3n=150=51m+48sm+45st+6t,与父本鳡 的核型 (2n=48=10m+24sm+12st+2t) 和翘嘴鲌的核型 (2n=48=16m+26sm+6st)明显不同; P×G和 P×Q 的 DNA 含量与 P×P 比值在 95% 的置信区间内(均为 0.97);上述结果表明, P×G和 P×Q 的 F₂群体均为雌核发育子代。基于形态学参数的主成分分析显示,P×G和 P×Q 与 P×P 散点分布区域基本无重叠;P×G和 P×Q 与 P×P 间能通过判别函数进行初步判 别(准确率达 97.8%),即存在显著的形态学差异;这表明 P×Q和 P×G 子代存在异精效应。 与 P×P 相比,P×G和 P×Q 的 F₂群体各日龄的平均体重、平均体长、增重率和增长率均表 现出优势,且 P×G 优势显著。综上所述,鳡和翘嘴鲌精子均能诱导彭泽鲫卵的雌核发育, 且不同的精子源诱导对雌核发育子代的影响不同,存在典型的"异精效应"。 关键词:彭泽鲫;雌核发育;异精效应;核型;形态学;生长性能

中图分类号: O 23; S 961.6

彭泽鲫 (C. auratus var. pengsenensis) 是江西 省水产科学研究所和九江市水产科学研究所经过 7年6代从野生鲫中定向选育出的优良养殖品种, 由于其具有体色鲜亮、肉质鲜美、生长速率快等 优点,深受消费者喜欢,是我国养殖规模较大的 淡水优良品种之一^[1]。基于杂交实验和染色体组 型分析,杨兴棋等^[2]和张辉等^[3]认为彭泽鲫是以 天然雌核发育方式进行繁殖。基于细胞遗传学分 析,杨睿姣等^[4]进一步证实了彭泽鲫为两性型天 然雌核发育三倍体鱼类。

雌核发育是鱼类单性生殖中一种生殖方式, 指卵子在精子的刺激下,依靠自身的细胞核发育

文献标志码:A

成为只具有母系遗传物质个体的一种有性生殖方 式^[5]。早在1983年,蒋一珪等^[6]在研究异源精子 在方正(异育)银鲫(*C. auratus gibelio*)雌核发育子 代中的生物学效应时发现,异源精子不仅能刺激 方正银鲫雌核发育,还能影响雌核发育子代的某 些性状,如生长速率、体色等,并由此提出"异源 精子生物学效应"这一概念。华南师范大学鱼类研 究室以尖鳍鲤(*Cyprinus acutidorsalis*)为父本,彭 泽鲫为母本,利用异精雌核发育原理培育出了生 长速率快、雌性比例高、个体均匀度高、体型好 的白金丰产鲫群体^[7]。这些研究表明,异精雌核 发育在优良品种的培育方面存在较高的应用潜力。



版权所有 ©《水产学报》编辑部(CC BY-NC-ND 4.0) 中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries Copyright © Editorial Office of Journal of Fisheries of China (CC BY-NC-ND 4.0) https://www.china-fishery.en

收稿日期: 2021-12-01 修回日期: 2022-06-07 资助项目: 江西省现代农业产业技术体系建设专项 (JXARS-03) 第一作者: 操文杰 (照片),从事水产动物遗传育种研究, E-mail: 1904452569@qq.com 通信作者: 王卫民,从事水产动物遗传育种研究, E-mail: wangwm@mail.hzau.edu.cn

孙远东等¹⁸认为,用远缘精子作为激活源,不仅 能提高雌核发育鱼的存活率,还能极大地简化对 雌核发育鱼的鉴定。

鳡 (Elopichthys bambusa) 和 翘 嘴 鲌 (Culter alburnus) 分 别 属 于 鲤 形 目 (Cypriniformes) 鲤 科 (Cyprinidae) 鳡属 (Elopichthys) 和 鲌属 (Culter), 而 彭泽鲫属于鲤科中的鲫属 (Carassius), 相互之间 亲缘关系较远。鳡 和 翘 嘴 鲌 的 染 色 体数 均 为 2n=48^[9-10], 与彭泽鲫的核型 (3n=150)^[4] 有较大的 差异。团队前期的研究发现,鳡和翘嘴鲌精子不 需要人工遗传灭活就可直接刺激彭泽鲫卵的胚胎 发育,并产生体型正常的 F₁。与彭泽鲫自交 F₁ 相 比,用鳡和翘嘴鲌精子激活彭泽鲫卵诱导产生的 F₁ 群体的生长速率存在显著优势^[11]。然而,这种 生长优势在下一代中是否存在暂不清楚。

鉴于此,本实验继续以鳡和翘嘴鲌的精子诱导上述彭泽鲫 F_1 的卵,获得雌核发育 F_2 群体: P×G(彭泽鲫 ♀×鳡♂)和 P×Q(彭泽鲫 ♀×翘嘴 鲌♂), 以 P×P(彭泽鲫 ♀×彭泽鲫♂) F_2 为对照,比较各群体的染色体核型、DNA 含量、形态学特征以及生 长特点等,探究异精雌核发育 F_2 在细胞学、形态 学和生长特性等方面的"异精效应"。研究结果为 彭泽鲫优良新品种的培育提供参考。

1 材料与方法

1.1 构建雌核发育组合

性成熟彭泽鲫母本由江西省九江市水产科学 研究所提供,共50尾,每尾体重约400g,父本 分别为汉江水系翘嘴鲌、长江水系鳡、均置于华 中农业大学水产学院南湖基地进行产前培育至性 成熟。分别以鳡、翘嘴鲌和彭泽鲫为父本, 雌性 彭泽鲫为母本,构建3组杂交组合:彭泽鲫♀×鳡 ♂、彭泽鲫♀×翘嘴鲌♂和彭泽鲫♀×彭泽鲫♂,于 2019年5月进行第一次人工繁殖,催产采用二次 腹腔注射法,第一针只注射雌鱼,剂量为1µg/kg 促黄体素释放激素 A2(LHRH-A2) 和 1 mg/kg 马来 酸地欧酮 (DOM), 10 h 后注射第二针, 雌鱼注射 剂量为4 µg/kg LHRH-A2 和4 mg/kg DOM, 雄鱼 注射剂量减半。注射后将亲本放入水泥池进行流 水诱导,8h后视亲本成熟程度进行人工授精,受 精卵经滑石粉脱黏后分别放入孵化缸进行孵化, 获得 F₁; 2020 年 5 月,选择各组合性成熟的 F₁ 雌性 50 尾为母本,再次以鳡、翘嘴鲌和彭泽鲫为

父本,用同样的方法进行人工繁殖,获得 F₂ 群体, 待平游后,放入暂养池中养殖,供实验使用。

1.2 染色体核型分析

用鳍条组织原代培养法^[12]制备染色体标本: 取长至 6~8 cm 的幼鱼,剪取少量鳍条,用 AIM 培养基清洗 3 次 (每次 30 min)后剪碎,接种于细 胞培养瓶,置于 28 °C 培养箱中静置 2 h,弃去培 养基,加入 3 mL 新鲜培养基继续培养,每 2~3 天 更换 1 次培养基。待细胞铺满瓶底约 80% 时,进 行传代培养。

取第 2~7 代细胞,用秋水仙素处理法^[12]制备 染色体标本。每个组合在倒置显微镜下选取分散 情况好、形态清晰的完整分裂相 100个,用 Adobe Photoshop CC 2018 软件进行计数,记录每 个分裂相的染色体数目。根据 Levan 等^[13]的方法 进行染色体分组,按 Matthey^[14]的方法进行染色 体臂数 (NF)的统计,中部和亚中部着丝粒染色体 的臂数计为 2,亚端部和端部着丝粒染色体臂数 计为 1,并做出染色体核型图。

1.3 DNA 含量测定

用流式细胞计数法^[15] 测定各组合子代的红细胞核 DNA 含量。随机取长至 6~8 cm 的 P×G 和 P×Q 各 20 尾,以 P×P 为对照,尾静脉采血,用 EDTA 溶液稀释后冰上保存。取 10 μL 稀释后的 血液用 DAPI 染色 5 min,用 BD FACSCalibur 流 式细胞仪进行上样检测,比较待测样本血细胞峰 值图,计算相对 DNA 含量和相对 DNA 含量比值, 均表示为平均值±标准差 (mean ± SD),确定实验 鱼的倍性。

1.4 形态学比较

随机取 180 日龄的各组合样本 30 尾,通过 观察胸鳍形状以及根据传统的腹部检查法初步确 定为雌性。用数字 X 射线成像系统 (APK525HF Plus VET DR) 拍摄鱼体 X 光照片 (图 1),用 Adobe Photoshop CC 2018 软件测量各形态学参数:吻长 (SL)、眼径 (ED)、头长 (HL)、体长 (BL)、全长 (TL)、尾柄长 (CPL)、尾柄宽 (CPW)、体宽 (BW) 等,以及框架性状: *D*₁₋₂(表示位点 1 与位点 2 之间的距离)、*D*₁₋₄、*D*₂₋₄、*D*₃₋₅、*D*₃₋₆、*D*₄₋₅、*D*₄₋₆、 *D*₅₋₆、*D*₅₋₈、*D*₆₋₈、*D*₇₋₉、*D*₇₋₁₀、*D*₈₋₉、*D*₈₋₁₀和*D*₉₋₁₀。 用 IBM SPSS Statistics 26 和 RStudio 软件对数据进 行主成分分析、聚类分析和判别分析。

操文杰,等



图 1 彭泽鲫 X 光照片及其框架性状参数示意图

 1. 胸鳍起点, 2. 吻前端, 3. 腹鳍起点, 4. 鳃盖前端上侧, 5. 臀鳍 起点, 6. 背鳍起点, 7. 臀鳍末端, 8. 背鳍末端, 9. 尾鳍腹部起点,
 10. 尾鳍背部起点; a. 吻长, b. 眼径, c. 头长, d. 体宽, e. 尾柄宽, f. 尾柄长, g. 体长, h. 全长

Fig. 1 X-ray photograph and distance measurements of *C. auratus* var. *pengsenensis*

1. origin of operculum fin, 2. tip of snout, 3. origin of pelvic fin, 4. upper side of operculum front end, 5. origin of anal fin, 6. origin of dorsal fin, 7. terminus of anal fin, 8. terminus of dorsal fin, 9. ventral origin of caudal fin, 10. dorsal origin of caudal fin; a. snout length, b. orbit diameter, c. head length, d. body width, e. caudal peduncle depth, f. caudal peduncle length, g. body length, h. total length

1.5 生长比较

从暂养池中将3组鱼各挑选出500尾,通过 控制投喂量,使3组鱼长至相似规格后,各挑选 出300尾置于室内相同条件下进行标准化养殖: 养殖桶体积约1m³,养殖用水约占3/4,每桶投放 鱼苗100尾,设置3个平行组,每天投喂3次, 定时投喂至饱食。放鱼前,每桶鱼随机选取30尾 测量全长、体长和体重数据,记为初始数据,后 每隔30天,每桶鱼随机取30尾进行数据测量, 共6次,并做好记录。全长和体长用游标卡尺测 量,精确到0.01mm,体重用电子天平称量,精 确到0.01g。根据7次测量数据,计算平均体重、 平均体长、增重率和增长率等数据。

增重率 (%) = $(W_t - W_0)/W_0 \times 100\%$

增长率 (%) = (L_t-L₀)/L₀×100%

式中, *W*₀和 *L*₀分别代表初始体重 (g) 与初始体长 (cm), *W*_t和 *L*_t分别代表时间为 *t* 时的体重 (g) 与 体长 (cm)。

数据整理与分析采用 Excel 2013及 IBM SPSS Statistics 26 软件,数据间的差异显著性采用 单因素方差分析 (One-Way ANOVA),并采用最小显著差数法 (LSD) 比较数据间差异显著性 (P < 0.05)。根据体重和体长数据进行各组合生长曲线 拟合,一般呈现幂函数关系,公式: $W = a L^b$,其

中参数 a 为常数,表示生长条件因子,反映环境的条件情况,b为指数,表示异速生长因子,能够体现生长发育过程是否均匀。

实验过程中操作人员严格遵守动物实验伦理 规范,并按照华中农业大学科学伦理委员会制定 的规章制度执行。

2 结果

2.1 染色体核型特征

 $P \times G$ 、 $P \times Q$ 和 $P \times P$ 组合 F_2 群体的代表性中期 分裂相及其核型结果显示,各组合的中期分裂相 均以150为主(占50%以上)(图版I)。虽然也有 染色体数目为156、162和166的分裂相,但其占 比较小(不到10%)(图2)。 $P \times G$ 、 $P \times Q$ 和 $P \times P$ 核型 公式分别为3n=150=45m+66sm+27st+12t、3n= 150=54m+51sm+39st+6t和3n=150=51m+48sm+ 45st+6t,染色体臂数分别为261、255和249。每 个分裂相中仅有150条染色体均能三三配组,其 余不能配对的为微型染色体。3个组合的核型公 式及臂数略有差异,但是基本染色体数目一致。 此外, $P \times Q$ 和 $P \times P$ 的t型染色体数目一样,m型 染色体占比最多,染色体核型更接近。

2.2 DNA 含量及倍性水平

以自交彭泽鲫 P×P 为对照,用流式细胞计数 法分别测量 P×G 和 P×Q 的红细胞相对 DNA 含量。 结果显示, P×P、P×G 和 P×Q 的相对 DNA 含量分 别为 297.92 ± 4.66、287.50 ± 4.66 和 288.26 ± 2.71 (图 3)。每个个体的倍性按公式: DI=处理组的相 对 DNA 含量/对照组的相对 DNA 含量来判断, 当 DI=1.00 ± 0.05 时,认为受测个体与对照组细胞 倍性一致。结果显示,P×G 和 P×Q 与 P×P 的相 对 DNA含量的比值均约为 0.97(表 1),表明 P×G 和 P×Q 与 P×P 的倍性一致,均为三倍体。

2.3 形态学特征

基于光学照片和 X 光照片, 观察外部形态发 现 P×G、P×Q 与 P×P 外部形态特征基本一致, 且 与母本彭泽鲫十分相似 (图版 II)。3 组鱼体型均为 纺锤形,头部短小,口端位,吻钝,唇较厚,无 须。背部呈深灰黑色,腹部灰白色,鳍条呈青黑 色。头后背部微微隆起,下颌底部至胸鳍基部呈 平缓弧形,无内凹。鱼鳔均具有 2 个鳔室,前鳔 室体积小于后鳔室。因此仅凭肉眼观察,无法将



图版 I P×G、P×Q 和 P×P 的 F₂ 群体代表性中期分裂相 (1~3) 和染色体核型 (4~6)









P×G, P×Q 与 P×P 进行准确区分, 需配合数据分 析进行准确辨别。

比较 P×G, P×Q 和 P×P 各参数的差异显著性, 筛选得到 19 个有显著性差异 (P<0.05) 的参数,分 別为 TL/BL、BW/BL、HL/BL、SL/BL、ED/BL、 CPW/BL、 D_{1-4} /BL、 D_{2-4} /BL、 D_{3-5} /BL、 D_{3-6} /BL、 D_{4-5} /BL、 D_{4-6} /BL、 D_{5-6} /BL、 D_{5-8} /BL、 D_{6-8} /BL、 D_{7-10} /BL、 D_{8-9} /BL、 D_{8-10} /BL和 D_{9-10} /BL (表 2)。 https://www.china-fishery.cn 将这 19个参数用SPSS 进行 KOM 与 Bartlett 球度 检验,得到 KOM=0.734, P=0.000,表明所筛选 19个参数可用于主成分分析。通过 R 语言绘制 PCA 图,结果显示, P×P 与 P×Q、P×G 散点区域 基本无重叠(图 4-a),表明 P×Q、P×G 和 P×P 存在 形态学差异。基于筛选出的 19个参数,通过 SPSS 软件进行系统聚类分析,谱系图结果显示, P×Q 和 P×G 首先聚为一支,再与 P×P 聚为一支 (图 4-b),表明 P×Q 和 P×G 的形态更相似,而与 P×P 差异较大。

用 SPSS 软件对筛选出的 19 个参数进行逐步 判别,筛选出 8 个参数,建立 3 个组合的判别函数:

$$\begin{split} \mathbf{P} \times \mathbf{P} : \quad Y &= -2 \ 564.247 + 1 \ 970.805(\mathrm{TL/BL}) + \\ 2876.397(\mathrm{SL/BL}) - 1474.709(\mathrm{ED/BL}) - 320.157(\mathrm{CPW/BL}) + \\ 1937.408(D_{2-4}/\mathrm{BL}) + 2 \ 790.733(D_{3-5}/\mathrm{BL}) + 1930.031(D_{3-6}/\mathrm{BL}) + \\ 3040.916(D_{7-10}/\mathrm{BL}); \end{split}$$

P×Q: $Y=-2\ 675.837+1\ 992.838(TL/BL)+2565.047(SL/BL)-1779.991(ED/BL)+362.413(CPW/BL)+1680.42(D_{2-4}/BL)+2753.988(D_{3-5}/BL)+2174.751(D_{3-6}/BL)+3034.954(D_{7-10}/BL);$

P×P: Y=-2 689.995+1 907.496(TL/BL)+ 2917.219(SL/BL)-2020.6(ED/BL)+191.922(CPW/BL)+







水产学报, 2023, 47(1): 019615

 $1787.359(D_{2-4}/BL)+3002.627(D_{3-5}/BL)+2157.274(D_{3-6}/BL)+3218.067(D_{7-10}/BL)_{\circ}$

随机选择 3 个群体的 90 个样本,用上述判 别函数进行判别分析,结果显示, P×G、P×Q 和 P×P 分别准确判别 30、29 和 29 个,综合判别准 确率为 97.8% (表 3),即运用以上判别函数对 97.8% 的原始个体进行了准确分类。

2.4 体长、体重生长特点

在 180 d 的实验周期内, P×G、P×Q 和 P×P 的平均体重和平均体长结果显示, P×Q 和 P×P 的 初始平均体重分别为 (3.15 ± 0.06) g、(3.19 ± 0.05) g, 平均体长分别为 (4.74 ± 0.32) cm、(4.69 ± 0.20) cm,均无显著性差异。P×G 的初始平均体重和平 均体长分别为 (2.75 ± 0.05) g 和 (4.54 ± 0.25) cm, 均显著小于 P×P(P<0.05)。180 d 实验周期内, P×G、P×Q 的平均体重和平均体长均显著大于 P× P(P<0.05)。由此可见, P×G 和 P×Q 较 P×P 均具有 显著的生长优势,且 P×G 的生长优势更为明显 (图 5)。

此外,比较了 P×G、P×Q 和 P×P 的增重率和 增长率 (图 6)。在 180 d 养殖周期内, P×G 的增重 率均显著大于 P×P(P < 0.05), P×Q 的增重率始终 大于 P×P, 但仅在 90 d 和 120 d 时具有显著性差 异 (P < 0.05); P×G 的增长率均显著大于 P×P(P < 0.05), P×Q 的增长率始终大于 P×P, 但是差异不 显著 (P > 0.05)。三者相比, P×G 的生长性能最优。

用 SPSS 对各组合的体长和体重数据进行曲 线拟合发现,各组合体长和体重最符合幂函数 关系。用 Graphpad Prism 通过幂函数对散点进行 拟合,分别获得 P×G、P×Q 与 P×P 的生长曲线 (图 7),发现各组合群体生长均符合 *W=aL^b*的特征, P×G、P×Q和 P×P 的 *R²* 值分别为 0.968 7、0.981 5和 0.982 7,均接近 1,表明吻合度较高,*b* 值分 别为 2.928 8、3.001 2和 2.994 1 (图 7),经 SPSS 单样本 *T* 检验,与 *b=*3 无显著性差异,因此为等 速增长。

3 讨论

在异源精子诱导鱼类雌核发育的育种实践中, 俞豪祥^[16]观察异育银鲫胚胎发育的细胞学发现, 当兴国红鲤 (*C. carpio* var. *singuonensis*)精子进入 异育银鲫卵后,精核呈凝缩状态,不和雌性原核 融合。通常认为,在雌核发育中,精子只起刺激 卵子发育的作用,本身并不参与发育,即雌核发

Tab. 1 The ploidy level of P×G, P×Q and P×P F ₂ progeny based on relative DNA content of flow cytometry						
样本 samples	样本数/ 个 sample no.	相对DNA含量 relative DNA content	相对DNA含量比值 ratio of relative DNA content	倍性 ploidy		
P×G	20	287.50±4.66 ^b	0.97±0.02	三倍体		
P×Q	20	288.26±2.71 ^b	0.97±0.01	三倍体		
$\mathbf{p}_{\times}\mathbf{p}$	4	297 92+4 66 ^a	1 00+0 00	三倍休		

表1 基于流式细胞仪检测数据的 $P \times G$ 、 $P \times Q = P \times P F$, 群体倍性分析结果

注: 同列数据后字母不同表示具有显著性差异(P<0.05)

Note: Different letters after data in the same column indicated significant difference (P < 0.05)



图版 II P×G、P×Q 和 P×P 的 F₂ 群体的代表性光学照片 (1~3) 和 X 光照片 (4~6)

Plate II Typical optical photographs (1-3) and X-ray transmission images (4-6) of P×G, P×Q and P×P F₂ progeny

表 2 基于 X 光照片测量的 $P \times G$ 、 $P \times Q$ 与 $P \times P F_2$ 群体形态学参数的单因素方差分析结果

Tab. 2 One-Way ANOVA results of morphological parameters of P×G, P×Q and P×P

F ₂ progenv	based of	on X-rav	transmission	images
- 2 prosenj	New Cert			

组别 groups	P×G	P×Q	P×P	组别 groups	P×G	P×Q	P×P
TL/BL	1.211±0.004 ^b	1.256±0.005ª	1.244±0.005ª	D ₃₋₆ /BL	0.388±0.002°	0.380±0.001 ^b	0.351±0.003ª
BW/BL	$0.405{\pm}0.002^{b}$	$0.403{\pm}0.002^{b}$	0.372±0.002ª	$D_{4-5}/{ m BL}$	$0.688{\pm}0.003^{\text{b}}$	$0.689{\pm}0.001^{b}$	0.676 ± 0.002^{a}
HL/BL	$0.268{\pm}0.001^{b}$	0.264±0.001ª	0.263±0.001ª	D_{4-6}/BL	0.316±0.002 ^b	$0.321{\pm}0.001^{b}$	0.302±0.002ª
SL/BL	0.070±0.001ª	0.065±0.001 ^b	0.068±0.001ª	D ₅₋₆ /BL	$0.484{\pm}0.003^{\text{b}}$	$0.485{\pm}0.002^{b}$	$0.451{\pm}0.002^{a}$
ED/BL	$0.067{\pm}0.001^{\circ}$	$0.072{\pm}0.001^{b}$	0.079±0.001ª	D_{5-8}/BL	$0.276{\pm}0.002^{\text{b}}$	0.273±0.001 ^b	$0.248{\pm}0.002^{a}$
CPL/BL	$0.128{\pm}0.002^{a}$	0.126±0.001ª	0.127±0.002ª	D_{6-8}/BL	0.351±0.003ª	$0.367{\pm}0.002^{b}$	0.355±0.004ª
CPW/BL	0.162±0.001°	0.165±0.001 ^b	0.148±0.001ª	D ₇₋₉ /BL	0.128±0.002ª	0.125±0.001ª	0.126±0.002ª
D_{1-2}/BL	$0.258{\pm}0.002^{b}$	$0.257{\pm}0.002^{ab}$	0.252±0.002ª	$D_{7-10}/{ m BL}$	0.223±0.002°	0.216±0.001 ^b	$0.206{\pm}0.002^{a}$
$D_{1-4}/{ m BL}$	$0.237{\pm}0.001^{b}$	0.241±0.001ª	0.244±0.001ª	D ₈₋₉ /BL	0.277±0.003°	$0.270{\pm}0.001^{b}$	0.257±0.002ª
$D_{2-4}/{ m BL}$	$0.210{\pm}0.001^{b}$	0.209±0.001 ^b	0.219±0.002ª	$D_{8-10}/{ m BL}$	0.195±0.002 ^b	0.182±0.002ª	0.185±0.003ª
D ₃₋₅ /BL	0.346±0.002°	0.333 ± 0.001^{b}	$0.327{\pm}0.002^{a}$	$D_{9-10/}BL$	0.162±0.001 ^b	0.164±0.001 ^b	0.147±0.002ª

注: 同栏数据后字母不同表示具有显著性差异(P<0.05)

Note: Different letters after data in the same row indicated significant difference (P < 0.05)

育子代不含有父本的遗传物质^[17]。但许多研究表明,异源精子和卵子发生了少量的遗传物质交流。 丁军等^[18]利用 DNA 斑点杂交技术发现兴国红鲤 精子的 DNA 片段可以随机掺入到异育银鲫卵 DNA 中,即二者发生片段 DNA 杂交;陈洪等^[19] 也发现异育银鲫含有与父本野鲤相同的 DNA 条带; 类似的结果在异精彭泽鲫^[20]和异精雌核发育草鱼 (Ctenopharyngodon idella)^[21]中也均有报道。这些 结果均表明,虽然父本的基因组由于雌核发育而 被整体排斥,但仍有部分父本遗传物质仍然传递 给了子代。本研究发现,P×G、P×Q和P×P3个 组合中,除150条能进行三三配对的基础染色体 中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

https://www.china-fishery.cn

6





Fig. 4 The PCA plot (a) and the Clustering analysis plot (b) of P×G, P×Q and P×P F₂ progeny

表 3 基于判别函数的 P×G、P×Q 和 P×P F₂ 群体判别分类结果

Tab. 3 Discriminant classification results of $P \times G$, $P \times Q$ and

P×P F₂ progeny based on the discriminant function

	组别	样本数/个	预测 predicated gro	准确率/%		
	groups	no.	正确 correct	错误 error	accuracy	
P×P		30	29	1	96.7	
P×Q		30	29	1	96.7	
P×G		30	30	0	100	
合计	summation	90	88	2	97.8	

外,还有若干不能配对的微型染色体,这与 Schartl等^[22]在以雌核发育方式生殖的亚马逊花鳉 (*Poecilia formosa*)中的研究结果相似,亚马逊花鳉 与黑花鳉 (*Mollienesia latipinna*)交配的子代中除 46条母本的染色体外,还有少量微小染色体。此 外,不同父本诱导产生的雌核彭泽鲫子代的染色 体核型虽然存在明显差异,但是染色体数目一致, 均为三倍体,且明显与父本鳡和翘嘴鲌不同,由 此可以判断出子代为雌核发育所获得的子代,推 测三者核型间的差异是受到"异精效应"的影响。

有研究表明鱼类雌核发育子代与自交子代存 在形态特征差异。支宇等^[23]的研究发现,青田田 鱼 (*C. carpio* var. *qingtianensis*) 雌核发育 F₁与自 交 F₁的多个形态参数存在显著性差异; Wu 等^[24] 发现减数分裂雌核发育和有丝分裂雌核发育牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 与对照组在体型上存在差 异;赵海涛等^[25]通过方差、聚类、主成分和判别 分析等方法比较牙鲆雌核发育子代、野生及养殖



图 5 P×G、P×Q 与 P×P F₂ 群体各阶段的平均体重 (a) 和平均体长 (b)

柱子上方字母不同表示具有显著性差异 (P < 0.05); 下同

Fig. 5 Mean body weight (a) and mean body length (b) of $P \times G$, $P \times Q$ and $P \times P F_2$ progeny at different periods

Different letters above the columns indicate significant differences (P < 0.05); the same below

群体的形态学特征后发现三者存在明显的差异, 相似的结果在翘嘴鲌雌核发育研究中也有报道^[26]。 本研究拍摄了 P×G、P×Q 与 P×P 的鱼体光学照片 和 X 光照片,对三者进行比对,发现 F₂ 群体在外



增长率 (b) 比较



型和体色上基本一致,且与母本彭泽鲫相似,仅 凭肉眼无法准确区分。而后基于 X 光照片,进行 主成分分析发现, P×G、P×Q 与 P×P 基本无区域 上的重叠,说明 P×G、P×Q 与 P×P 能够较好区分, 即在形态上存在明显差异。此外,采用本研究建 立的判别函数,三个雌核发育组合鱼能被很好的 区分,判别准确率达 97.8%,这表明 P×G、P×Q 与 P×P 在形态上存在差异,能够用形态学性状对 其进行初步判定。

在研究雌核发育家系的生长特点方面,潘光 碧等^[27]以标准鲢(Hypophthalmichthys molitrix)为 对照,与雌核发育鲢进行生长比较研究,发现在 相同初始体长条件下,雌核发育鲢的体重比标准 鲢的体重大,具有显著生长优势。刘永新等^[28]对 38个牙鲆选育家系进行生长对比研究,发现育种 值选留的家系比表型值选留的家系在体长、体重 等方面均提高。在异精雌核发育鱼生长对比研究 方面,舒琥等^[29]分别用白鲫、尖鳍鲤、银鲃 (Puntius gonionotus)的精子诱导彭泽鲫卵的雌核发 育,发现与自交彭泽鲫相比,异精彭泽鲫均有明 显的生长优势,其中尖鳍鲤诱导的雌核发育后代 生长优势最为明显。周森等^[11]用3种异源精子分





Fig. 7 Growth curve of P×G (a), P×Q (b) and P×P (c) F₂ progeny fitted by Graphpad Prism software

别对彭泽鲫进行诱导,发现子代生长速率具有显 著差异(P<0.05),且均优于母本。张庆飞等^[30]对 兴国红鲤诱导的彭泽鲫四倍体杂交子代的生长性

中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

https://www.china-fishery.cn

能进行研究,发现杂交四倍体比母本彭泽鲫生长 速率快。本研究分别用鳡、翘嘴鲌的精子诱导彭 泽鲫卵的雌核发育,同样发现异源精子诱导产生 的子代较自交子代生长速率快,并且鳡精子诱导 的雌核发育子代比翘嘴鲌诱导的雌核发育子代生 长速率快,即存在典型的异精效应。生长速率的 差异可能会受到鱼类雌雄性别的影响,但有研究 表明,人工雌核发育彭泽鲫后代理论上均为雌性, 因此可无需对后代性别进行区分^[31]。

大量研究表明,鱼类体长和体重的生长存在 幂函数 $W = a L^b$ 关系,在养殖实践中可用于评价 鱼类的生长状况^[32]。该函数中, a 为条件因子,反 映环境的条件情况^[33], b 为异速生长因子,反 映生长发育的不均匀性^[34],当 b>3 为正异速增长, b<3 为负异速增长,b=3 为等速增长,能反映鱼类 生长环境和饵料生物生产力的差异。本研究发现, P×G、P×Q和 P×P 的体长和体重生长均符合幂函 数 ($W = a L^b$)生长曲线,并且 R^2 均接近 1,表明曲 线拟合度好。b 值分别为 2.928 8、3.001 2 和 2.994 1,经检验与 b=3 无显著性差异 (P>0.05),说明各 群体间环境条件和饵料生物生产力无显著性差异。 因此本研究中,鳡和翘嘴鲌精子诱导的 F_2 生长速 率优于自交子代不是由环境条件导致的,而是受 自身生长性能的影响。

本研究用鳡和翘嘴鲌的精子诱导彭泽鲫卵的 发育,获得异精雌核发育彭泽鲫 F_2 群体,通过比 较各群体的染色体核型、DNA含量、形态学特征 以及生长特点等发现,异精雌核发育子代存在典 型的异精效应,本研究结果为彭泽鲫优良新品种 的培育提供数据参考。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

[1] 于瑞河.益生菌蜡样芽孢杆菌对彭泽鲫生长、营养代谢、抗氧化性及炎症反应的影响 [D]. 南昌: 南昌大学, 2020.

> Yu R H. Effects of probiotic Bacillus cereus on growth, nutrient metabolism, antioxidant and inflammatory response of crucian carp[D]. Nanchang: Nanchang University, 2020 (in Chinese).

[2] 杨兴棋,陈敏容,俞小牧,等.江西彭泽鲫生殖方式的 初步研究[J].水生生物学报,1992,16(3):277-280.

Yang X Q, Chen M R, Yu X M, et al. Preliminary stud-

中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries

ies on the mode of reproduction in crucian carp (*Carassius auratus*) of pengze[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1992, 16(3): 277-280 (in Chinese).

 [3] 张辉, 董新红, 叶玉珍, 等. 三个三倍体鲫鱼品系及野鲫 mtDNA的比较研究[J]. 遗传学报, 1998, 25(4): 330-336.

Zhang H, Dong X H, Ye Y Z, *et al.* Comparative studies of the mtDNA from three strains of triploid *Carassius auratus* and *C. auratus auratus*[J]. Acta Genetica Sinica, 1998, 25(4): 330-336 (in Chinese).

- [4] 杨睿姣, 李冰霞, 冯浩, 等. 彭泽鲫染色体数目及倍性的细胞遗传学分析[J]. 动物学报, 2003, 49(1): 104-109.
 Yang R J, Li B X, Feng H, *et al.* Cytogenetic analysis of chromosome number and ploidy of *Carassius auratus* variety pengze[J]. Acta Zoologica Sinica, 2003, 49(1): 104-109 (in Chinese).
- [5] Komen J, Bongers A B J, Richter C J J, et al. Gynogenesis in common carp (*Cyprinus carpio* L.): II. The production of homozygous gynogenetic clones and F₁ hybrids[J]. Aquaculture, 1991, 92(2-3): 127-142.
- [6] 蒋一珪,梁绍昌,陈本德,等.异源精子在银鲫雌核发育子代中的生物学效应[J].水生生物学集刊,1983,8(1):1-13.

Jiang Y G, Liang S C, Chen B D, *et al.* Biological effect of heterologous sperm on gynogenetic offspring in *Carassius auratus gibelio*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1983, 8(1): 1-13 (in Chinese).

- [7] 文华康. 白金丰产鲫[J]. 海洋与渔业, 2016(8): 49.
 Wen H K. Carassius auratus var. pengzenensis♀×Cyprinus acutidorsalis Wang♂[J]. Ocean and Fisheries, 2016(8): 49 (in Chinese).
- [8] 孙远东, 袁志栋, 谭树华, 等. 人工诱导湘云金鳙雌核 发育的研究[J]. 水产学报, 2015, 39(01): 8-15.
 Sun Y D, Yuan Z D, Tan S H, *et al.* Induction of gynogenesis in red bighead carp (*Aristichthys nobilis* red var.)[J]. Journal of Fisheries of China, 2015, 39(01): 8-15 (in Chinese).
- [9] 周密,康杨,李渝成,等. 鲤科七种鱼的银染核型研 究[J]. 动物学研究, 1988, 9(3): 225-229.
 Zhou M, Kang Y, Li Y C, *et al.* Studies on the silverstainde karyotypes of 7 species in cyprinidae (pisces)[J].
 Zoologica Research, 1988, 9(3): 225-229 (in Chinese).
- [10] 王晓艳,杨品红,李梦军,等. 翘嘴鲌染色体核型分析 及遗传学特性研究[J]. 湖南文理学院学报(自然科学 版), 2009, 21(3): 73-77.

Wang X Y, Yang P H, Li M J, *et al.* Chromosome karyotype analysis of *Erythroculter ilishaeformis*[J]. Journal of Hunan University of Arts and Science (Natural Science Edition), 2009, 21(3): 73-77 (in Chinese).

 [11] 周淼, 郭青松, 黄家锐, 等. 彭泽鲫异精雌核发育子代 生长比较研究[J]. 中国农学通报, 2020, 36(36): 125-131.

Zhou M, Guo Q S, Huang J R, *et al. Carassius auratus* var. pengsenensis produced by heterologous sperm: growth comparison of offspring[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2020, 36(36): 125-131 (in Chinese).

- [12] 祝东梅. 团头鲂三种细胞系的建立、鉴定及其初步应用[D]. 武汉: 华中农业大学, 2013.
 Zhu D M. Establishment and characterization of three cell lines from blunt snout bream, *Megalobrama ambly-cephala*, and their preliminary applications studies[D].
 Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2013 (in Chinese).
- [13] Levan A, Fredga K, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes[J]. Hereditas, 1964, 52(2): 201-220.
- [14] Matthey R. The chromosomes of the vertebrates[J]. Advances in Genetics, 1951, 4: 159-180.
- [15] Allen S K Jr. Flow cytometry: assaying experimental polyploid fish and shellfish[J]. Aquaculture, 1983, 33(1-4): 317-328.
- [16] 俞豪祥.银鲫雌核发育的细胞学观察[J].水生生物学 集刊, 1982(4):481-487.

Yu H X. A cytological observation on gynogenesis of crucian carp (*Carassius auratus gibelio*)[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1982(4): 481-487 (in Chinese).

[17] 胡海星,郑康,陈金辉,等.异源精子遗传物质对雌核 发育草鱼基因组的影响分析[J].水生生物学报,2008, 32(5):701-710.

Hu H X, Zheng K, Chen J H, *et al.* Analysis on the genetic influence of heterologous sperm in the genome of gynogenetic grass carp[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2008, 32(5): 701-710 (in Chinese).

[18] 丁军,谢岳峰,蒋一珪,等.异育银鲫及其人工杂合种 外源遗传物质的检测分析[J].水生生物学报,1993, 17(1): 22-26.

> Ding J, Xie Y F, Jiang Y G, *et al*. The analysis of heterologous genetic materials in allogynogenetic crucian carp and its artificial hybrids[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1993, 17(1): 22-26 (in Chinese).

https://www.china-fishery.cn

[19] 陈洪,杨靖,薛国雄,等. RAPD技术在异精激发方正银 鲫比较研究中的应用[J]. 科学通报, 1994, 39(7): 661-663.

Chen H, Yang J, Xue G X, *et al.* Application of RAPD in comparative study of heterogeneous *Carassius auratus gibelio*[J]. Chinese Science Bulletin, 1994, 39(7): 661-663 (in Chinese).

[20] 张海发,陈湘麟,舒琥,等.异源精子激发彭泽鲫雌核 发育产生的子一代及亲本RAPD分析[J].应用与环境 生物学报,1999,5(5):507-511.

Zhang H F, Chen X L, Shu H, *et al.* RAPD analysis of gynogenetic F_1 progeny triggering by heterologous sperms and their parents of Pengze crucian carp (*Carassius auratus*)[J]. Chinese Journal of Applied & Environmental Biology, 1999, 5(5): 507-511 (in Chinese).

 [21] 刘敏,肖调义,孙念,等.异精雌核发育草鱼F₁与普通草
 鱼的SCAR标记鉴别初报[J].水生态学杂志,2013, 34(3):94-100.

Liu M, Xiao T Y, Sun N, *et al.* Preliminary report on SCAR maker for distinguishing allogynogenesis grass carp F_1 and common grass carp[J]. Journal of Hydroecology, 2013, 34(3): 94-100 (in Chinese).

- [22] Schartl M, Nanda I, Schlupp I, et al. Incorporation of subgenomic amounts of DNA as compensation for mutational load in a gynogenetic fish[J]. Nature, 1995, 373(6509): 67-71.
- [23] 支字,刘其根,吴嘉敏,等.人工诱导青田田鱼雌核发育子代形态和遗传分析[J].上海海洋大学学报,2022,31(4):839-848.
 Zhi Y, Liu Q G, Wu J M, *et al.* Morphologic and genetic analysis of the artificially induced gynogenesisin Qingtian paddy field carp[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2022, 31(4): 839-848 (in Chinese).
- [24] Wu Q W, Wu Z H, Wang L J, et al. Comparative study on growth performance and morphological characteristics of the meio- and mito-gynogenesis olive flounder (*Paralichthys olivaceus*)[J]. Aquaculture, 2021, 535(30): 736387.
- [25] 赵海涛,范宁宁,万玉美,等. 雌核发育、野生及养殖 牙鲆形态差异分析[J]. 河北渔业, 2019(11): 1-7,27.
 Zhao H T, Fan N N, Wan Y M, *et al.* Analysis on morphological variations of gynogenesis, wild and cultured *Paralichthys olivaceus*[J]. Hebei Fishery, 2019(11): 1-7,27 (in Chinese).

[26] 刘月亮, 贾永义, 蒋文枰, 等. 雌核发育翘嘴鲌胚胎发育和形态特征的研究[J]. 上海海洋大学学报, 2017, 26(2): 203-211.
Liu Y L, Jia Y Y, Jiang W P, *et al.* Study on morpholo-

gical characteristics and embryonic development of the gynogenesis top mouth culter (*Culter alburnus*)[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2017, 26(2): 203-211 (in Chinese).

- [27] 潘光碧, 邹桂伟, 罗相忠, 等. 雌核发育鲢生长、体型的研究[J]. 淡水渔业, 2004, 34(3): 3-6.
 Pan G B, Zou G W, Luo X Z, *et al.* A study of growth and body size in silver carp by gynogenesis[J]. Freshwater Fisheries, 2004, 34(3): 3-6 (in Chinese).
- [28] 刘永新, 刘海金. 应用动物模型对牙鲆不同日龄生长 性状的遗传分析[J]. 大连水产学院学报, 2009, 24(S1):
 15-20.

Liu Y X, Liu H J. Genetic analysis of growth traits in Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* with different ages (day) by an animal model[J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2009, 24(S1): 15-20 (in Chinese).

[29] 舒琥,张海发,陈湘粦,等.异精激发彭泽鲫雌核发育 后代的比较研究[J].中山大学学报论丛,2001,21(3):5-10.

Shu H, Zhang H F, Chen X L, *et al.* Comparision on the gynogenesis offsprings of crucian (*Carassius auratus*) of Pengze produced by heterologous sperm[J]. Supplement to the Journal of Sun Yatsen University, 2001, 21(3): 5-10 (in Chinese).

[30] 张庆飞, 操文杰, 廖寿力, 等. 彭泽鲫♀×兴国红鲤♂四倍体子代与彭泽鲫子代生长性能比较[J]. 华中农业大学学报, 2021, 40(6): 134-140.

Zhang Q F, Cao W J, Liao S L, et al. Comparation of

growth performance between tetraploid offspring of *Carassius auratus* pengsenensis $\mathcal{Q} \times Cyprinus$ carpiouar singuonensis \mathcal{J} and *Carassius auratus* pengsenensis offspring[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2021, 40(6): 134-140 (in Chinese).

- [31] 郑尧,陈家长,邴旭文,等.不同养殖模式下雌核发育 彭泽鲫雌雄鱼性别分化相关基因的表达差异[J].中国 水产科学, 2015, 22(5): 986-993.
 Zheng Y, Chen J C, Bin X W, *et al.* Analysis of different gene expression profiles of sex differentiation-related genes between male and female Pengze crucian carp (*Carassius auratus* var. pengze) under different culture modes[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2015, 22(5): 986-993 (in Chinese).
- [32] 韦成昱,刘西磊,杜玉兰,等.离岸深水抗风浪网箱养 殖海鲈体长与体重的关系[J]. 安徽农业科学, 2015, 43(27): 118-119,121.
 Wei C Y, Liu X L, Du Y L, *et al.* The length-weight relationship of sea perch cultured in offshore anti-stormy

waves sea cage[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2015, 43(27): 118-119,121 (in Chinese).
1 林学群. 粤东近海雄性条尾鲱鲤体长与体重关系研

[33] 林学群.粤东近海雄性条尾鲱鲤体长与体重关系研究[J].汕头大学学报(自然科学版), 1999, 14(2): 64-71,80.

Lin X Q. Studies on the length-weight relationship of male *Upeneus bensari* in coastal waters of eastern Guangdong[J]. Journal of Shantou University (Natural Science), 1999, 14(2): 64-71,80 (in Chinese).

[34] Froese R. Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendations[J]. Journal of Applied Ichthyology, 2006, 22(4): 241-253.

Research on the allogynogenetic biological effects in the second generation gynogenetic of *Carassius auratus* var. *pengsenensis* induced with sperms from *Elopichthys bambusa* and *Culter alburnus*

CAO Wenjie, ZHANG Jingrong, ZHANG Qingfei, ZHAO Yuhua, WANG Weimin*

(Key Lab of Freshwater Animal Breeding, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China)

Abstract: The technology of allogynogenesis has great application potential in the breeding of superior varieties. Carassius auratus var. pengsenensis is a kind of hermaphroditic triploid crucian carp with natural gynogenetic reproduction and it is one of the best freshwater breeding varieties in China. The development of gynogenesis of C. auratus var. pengsenensis induced with heterologous sperms can produce normal surviving progeny. The study on allogynogenetic biological effects in progeny can provide reference for the cultivation of excellent new varieties of C. auratus var. pengsenensis. In this study, the eggs of C. auratus var. pengsenensis were fertilized with sperms from *Elopichthys bambusa* and *Culter alburnus* for two successive generations, respectively. We succeeded in obtaining their second generation offsprings, P×G (C. auratus var. pengsenensis $\mathcal{Q} \times E$. bambusa \mathcal{J}) and P×Q (C. auratus var. pengsenensis $\mathcal{Q} \times C$. alburnus \mathcal{F}). The chromosomal karyotype, DNA content, morphological traits, and growth performance of offsprings were compared with P×P (C. auratus var. pengsenensis). The findings suggest that the karyotype formulas of $P \times G$, $P \times Q$ and $P \times P$ was 3n=150=45m+66sm+27st+12t, 3n=150=54m+51sm+39st+6t and 3n=150=51m+48 sm+45st+6t, respectively. It is significantly different from the karyotype of E. bambusa (2n=48=10m+24sm+12st+2t) and of C. alburnus (2n=48=16m+26sm+6st). Furthermore, observed ratio of nuclear DNA content of P×G and P×Q to nuclear DNA content of P×P was within the 95% confidence interval (both 0.97), showing that P×G and P×Q produced by heterologous sperms were gynogenetic triploid fishes. The findings of principal component analysis based on morphological parameters reveal almost no overlap between the scatter plots of $P \times Q$ and $P \times G$ and $P \times P$; there seem to be significant morphological differences between P×Q and P×G and P×P (P<0.05) that can be made preliminary discrimination by discriminant function (the accuracy rate reached 97.8%). These findings suggest that there is a significant allogynogenetic biological effects between P×Q and P×G progeny. As compared to P×P, P×G and P×Q demonstrated benefits in terms of mean body weight, mean body length, body weight growth rate and body length growth rate at each age, and $P \times G$ had significant benefits (P<0.05). In conclusion, sperms from both E. bambusa and C. alburnus can promote gynogenic development of C. auratus var. pengsenensis eggs, and different sperm sources have varied effects on the development of gynogenic nucleus and progeny, as expected from allogynogenetic biological effects. Through the research results, we can preliminarily judge the better sperm stimulation source, which lays the foundation for the subsequent breeding of C. auratus var. pengsenensis excellent new varieties.

Key words: *C. auratus* var. *pengsenensis*; gynogenesis; allogynogenetic biological effects; karyotype; morphology; growth performance

Corresponding author: WANG Weimin. E-mail: wangwm@mail.hzau.edu.cn

Funding projects: Modern Agricultural Industrial Technology System Construction of Jiangxi Province (JXARS-03)