

雌核发育鲢鱼苗性转化试验

付立霞

(上海水产大学, 上海 200090)

摘要 报道了采用投喂甲基睾丸酮药饵的方法对雌核发育鲢鱼苗进行性转化的初步结果。用高、中、低三种剂量的甲基睾丸酮对雌核发育鲢鱼苗的性分化进行诱导, 研究不同剂量下雌核发育鲢鱼苗的存活率及其性腺分化的影响。通过饲养观察和切片证实, 鲢鱼苗摄食剂量为 30 $\mu\text{g/g}$ 的甲基睾丸酮药饵, 存活率最高, 且有性转化的可能。

关键词 雌核发育鲢鱼苗 甲基睾丸酮 存活率 性转化

鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*) 在分类学上隶属鲤形目、鲤科、鲢属, 是我国的当家养殖鱼类。在养殖品种日益多样化的今天, 鲢仍以其生长迅速、饲养方便、成本低等优点, 在水产养殖中占有不可替代的地位。正是由于这一点, 导致鲢鱼苗来源愈来愈依赖于人工繁殖。而当前苗种生产中普遍存在只注重数量, 不讲究质量的现象, 造成鲢的品质下降(主要表现为生长减慢, 性成熟提前, 个体偏小等)。

有鉴于此, 需对鲢的种质进行提纯复壮。若采用传统的选育方法, 至少需经六代左右(20多年)才能初见成效, 而应用雌核发育技术只需二代便会使鲢的基因达到纯合, 这对于我国鱼类种质资源保护及良种选育无疑具有重要意义。

鱼类的雌核发育是一种配子无融合的生殖方式: 同种或近缘种雄鱼的精子只起刺激卵子发育的作用, 精核并不形成雄性原核, 也不与雌性原核融合, 因此不参与遗传物质的传递。一般而言, 通过雌核发育产生的后代全部为雌性, 只具有母系的性状。雌核发育最早为哈布士等在 *Poecilia formosa* 上发现。20 世纪 60 年代, 前苏联学者罗马索夫等用辐射失活的精子人工诱导泥鳅、鲤、鲟成熟卵子雌核发育, 获得成功。雌核发育的后裔纯属母系遗传, 现主要用于性别控制和自交系的快速建立。雌核发育技术在我国起步较晚, 20 世纪 70 年代以后, 才有学者对鲤、鲫、草鱼的人工诱导雌核发育进行研究, 鲢的雌核发育尚未见报道。

为使雌核发育鲢的性状稳定遗传, 必须对其一部分进行性转化。当前国内外有关这方面的研究报道主要集中于罗非鱼和鲤鱼。鲢是浮游生物食性, 对其投喂药饵诱导性转化存在一定的困难, 因而鲜有报道。本文主要报道用甲基睾丸酮做药饵对雌核发育鲢鱼苗进行性转化的部分试验结果。

材料和方法

1. 材料来源

雌核发育鲢鱼苗由长江水产研究所鲤组提供, 性转化饲料主要为鳊鲌饲料, 甲基睾丸酮从美国进口。

2. 方法

(1) 雌核发育鲢鱼苗的获取 以紫外线照射获得遗传失活的鲤鱼精子, 采用低温休克方法, 阻止激活卵第二极体的形成和排出, 使其染色体加倍。按常规方法孵化, 即获得雌核发育二倍体鲢鱼苗。

(2) 药饵投喂 鱼苗出膜 4 d 后, 将其转移至 3 个水族箱饲养。水族箱体积为 0.35 m^3 (120 $\text{cm} \times 50.5 \text{ cm} \times 57.5 \text{ cm}$), 注水量为容积的 2/3, 每箱放养 120 尾鱼苗。前 3 d 用鸡蛋黄拌甲基睾丸酮投喂, 之后皆以鳊鲌饲料拌甲基睾丸酮投喂。20 d 后, 转入孵化池继续培育。孵化池容积为 4 m^3 , 注水量为容积的 2/3, 仍以鳊鲌饲料拌甲基睾丸酮投喂。甲基睾丸酮的含量设高、中、低三个浓

度梯度, 试验用水为曝气自来水, 试验期为 50 d。试验期间每天换水 2~8 次, 每次用虹吸管换去约 1/3 的底层水。

(3) 试验材料的处理 每隔 5 d, 从 3 个水族箱或孵化池中各取出 5 尾雌核发育鲢鱼苗, 用 Bouin 氏液固定, 石蜡包埋, 按常规方法制成 10 μm 厚的石蜡切片, 用 H-E 染色后, 经中性树脂封片, 然后用显微镜观察、拍照。

观 察

在雌核发育白鲢初孵仔鱼躯干中部的横切面上, 原始生殖细胞在内胚层索、前肾管和卵黄多核体之间, 以其染色较深且分叶的巨大细胞核和着色较淡的细胞质等特征区别于体细胞。

仔鱼期间, 肠管已形成, 鳔已充气, 这时原始生殖细胞单个迁移到鳔的腹面两侧腹腔上皮的下方定居(图 1)。

稚鱼期间, 包围原始生殖细胞的腹膜上皮细胞增多, 横切面呈细胞数目不多的细胞团, 此即性腺原基——生殖嵴。

结 果

1. 药饵浓度对雌核发育鲢鱼苗存活率的影响

不同药饵浓度下, 雌核发育鲢鱼苗的存活率见附表。

2. 不同剂量下雌核发育鲢鱼苗的摄食行为

鲢为浮游生物食性, 本试验中雌核发育鲢的生活水体为经过曝气的自来水, 浮游生物缺乏。投喂药饵 16 d 后, 可见中、低两浓度组的鱼苗到食台摄食, 高剂量组仍在底层活动。28 d 后, 从食台上看, 三组鱼都已摄食, 而以低剂量组摄食多。通过切片观察, 可见其肠道充塞药饵(图 2), 说明对鲢这类滤食性鱼类, 用投喂药饵的方法进行性转是可行的。

3. 雌核发育鲢鱼苗的性腺分化

出膜 10 d 后, 可在鳔腹面两侧观察到生殖嵴雏形。出膜 27 d 后, 即投喂药

附表 不同药饵浓度下雌核发育鲢鱼苗的存活率

浓度梯度	高(30 $\mu\text{g/g}$)	中(20 $\mu\text{g/g}$)	低(10 $\mu\text{g/g}$)
死亡数(尾)	24	26	43
存活数(尾)	96	94	77
存活率(%)	80.0	78.3	64.2

饵 24 d 后, 生殖嵴仍继续向雌性方向分化, 来自腹腔上皮的体细胞和原始生殖细胞分裂增殖, 并沿着其背部的腹腔上皮横向伸展, 形成横切面呈扁宽的细胞团, 有的细胞团背部裂出一个缝隙状小腔, 此为卵巢腔的雏形(图 3)。投喂药饵后 50 d, 观察到部分性腺开始转为雄性, 可见着色很深的精索(图 4)。

讨 论

1. 不同的药物剂量下, 雌核发育鲢鱼苗的摄

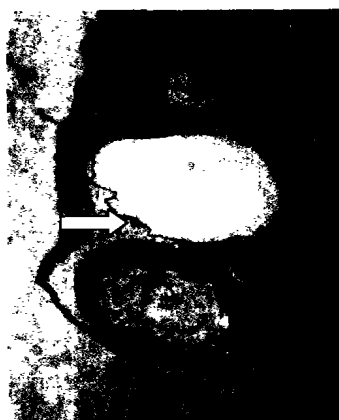


图 1 (10 $\times$ 10)



图 2 (10 $\times$ 20)



图 3 (10 $\times$ 40)



图 4 (10 $\times$ 40)

食行为表现不同,适应时间也存在差异。总的来看,低剂量组的适应时间短,摄食量大;高剂量组的适应时间长,摄食量小,但高剂量组雌核发育鲢鱼苗的存活率最高。据其他学者在罗非鱼性转化试验中的报道,以 30 $\mu\text{g/g}$ 剂量的效果为最好,过高和过低效果均不佳。可能本试验中高剂量组较为适宜。

2. 鱼类性腺的分化是一个渐进的过程,其遗传性别在受精时刻便已决定,但真正生理上的性别分化却是从生殖嵴形成后开始的。若不用药物诱导,鱼类的性别分化将受遗传性别的调控,与遗传性别保持一致。但若在生殖嵴形成前用药物诱导则可使其生理性别发生逆转。目前,从其他学者对鲤鱼及罗非鱼进行的相关研究情况来看,一般选择在出膜后 10 ~ 20 d 投喂药饵。此时卵黄囊已吸收完毕,可开口摄食,原始生殖细胞已经迁移,但尚未形成生殖嵴。本次实验中,药饵投喂选在出膜后 4 d。从实验结果来看,也是可行的。这说明,对雌核发育鲢鱼苗进行药饵投喂诱导性转

化,开始时间稍稍提前,影响不大。一般来说,诱导性转化宜早不宜迟。

致谢 本研究得到了潘光碧研究员的悉心指导,谨此表示感谢!

参考文献

1. 楼允栋. 组织胚胎学. 北京: 中国农业出版社, 1999.
2. 郑国铝. 生物显微技术. 北京: 人民教育出版社, 1979.
3. 刘建康, 何碧梧主编. 中国淡水鱼类养殖学. 北京: 科学出版社, 1992.
4. 楼允栋主编. 鱼类育种学. 上海: 百家出版社, 1988.
5. 李家乐, 李思发, 韩凤进. 甲基睾酮诱导吉富品系尼罗罗非鱼鲫雄性化的研究. 水产学报, 1997, 21(增刊): 107 ~ 110.
6. 潘光碧. 人工诱导鱼类雌核发育技术的研究. 淡水渔业, 1988 (6): 17 ~ 20.

发稿编辑 汤惠明

校对 朱大白

(上接第 122 页)

应确定合理的捕捞量,使水体中保持一定的轮虫密度,以利再生产。

五、敌害生物的防治

轮虫培养中最常见的敌害生物是纤毛虫。当轮虫排泄物较多,酵母投喂过量时,水质恶化,极易引起纤毛虫大量繁殖。因此,在轮虫的培养生产过程中,应该防止水质污染,保证轮虫种的纯净,保持培养轮虫的生长及数量优势;事先做好轮虫种的分离及保藏。这是使轮虫培养顺利、生产持续进行的关键。

若在轮虫培养初期即出现纤毛虫大量繁殖,干脆予以舍弃,重新培养。在培养过程中发生纤毛虫病,应减少酵母的投喂量,加大单胞藻的投喂量。用 200 目筛绢反复过滤,清水漂洗,可基本去除纤毛虫。

参考文献

1. 田景波, 孙广德, 张庆文. 不同饵料对褶皱臂尾轮虫种群生长繁殖的影响. 中国水产科学, 1998(4): 37 ~ 41.
2. 王金秋, 李德尚, 董双林. 面包酵母添加光合细菌和 VC 后培养轮虫的效果. 水产科技情报, 1999, 26(1): 25 ~ 27.
3. 梁英, 麦康森, 孙世春. 微藻的应用概述. 海洋湖沼通报, 1999 (2): 70 ~ 82.
4. 湛江水产专科学校主编. 海洋饵料生物培养. 北京: 农业出版社, 1980.
5. 徐鸿初, 姜家泰, 何人杰等. 养鱼饲料. 长沙: 湖南科学技术出版社, 1986.
6. 大连水产学院主编. 淡水生物学. 北京: 农业出版社, 1982.
7. 李永函, 赵文. 水产饵料生物学. 大连: 大连出版社, 2002.
8. 王家楫. 中国淡水轮虫志. 北京: 科学出版社, 1961.
9. 刘卓, 王为群. 饵料浮游动物的培养. 北京: 农业出版社, 1990.

发稿编辑 汤惠明

校对 朱大白