



鱼类的雌核发育、雄核发育和杂种发育

GYNOGENESIS, ANTROGENESIS AND HYBRIDOGENESIS IN FISHES

范兆廷 宋苏祥

(中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 哈尔滨 150076)

Fan Zhaoting and Song Suxiang

(Heilongjiang River Fishery Institute, CAFS, Harbin 150076)

关键词 雌核发育, 雄核发育, 杂种发育, 鱼类

KEYWORDS gynogenesis, antrogenesis, hybridogenesis, fish

绝大多数鱼类为两性精卵结合生殖, 但有少数几种鱼类为雌核发育或杂种发育, 偶然有雄核发育的现象。雌核发育鱼类为单一雌性或含有少量雄性的群体。这种方式因为仅需要精子激活卵子, 精子并不参与遗传而称为雌核发育或雌核生殖。与雌核发育相反, 卵子在发育中失活, 只由雄核发育为一个个体的现象称为雄核发育。杂种发育是以自然界中的两个相近血缘种的杂种形式存在的。

一、杂 种 发 育

凡是杂种发育的群体均为单雌性。在杂种形成时雌雄配子结合, 父母亲本贡献相等数量的遗传物质, 在配子生成过程中的早期, 所有来自父本的染色体均在卵原细胞形成过程中被排斥掉, 仅雌性的遗传物质得以保留并形成配子。当这样的雌性与相近血缘关系种交配时, 仅保留雌性遗传物质的雌配子与相近血缘种的雄配子结合形成该杂种群体一个新的世代。这种杂种发育的现象存在于两栖类, 如 *Rana esculenta* 和 *Lizard lacerta*, 鱼类中的杂种发育仅在鲮属(试译, 下同)(*Poeciliopsis*)中发现。主要有 *P. monacha* 与 *P. occidentalis* 的杂种(简称为 *P. m-o*), *P. monacha* 与 *P. latidens* 的杂种(简称为 *P. m-lat*), 及 *P. monacha*, *P. viroias* 和 *P. lucida*(简称为 *P. m(v)-l*)的杂种^[10, 10]。

鱼类中的杂种发育可能是鱼类雌核发育的早期形式。在减数分裂开始时对雄性染色体的排斥结果导致群体的单性生殖, 或由于在雌性减数分裂中, 非随机的雌雄性遗传物质的分离形成的结果。由杂种发育向雌核发育过渡的中间类型包括在卵成熟过程中排斥雄性遗传物质功能的丧失和受精后立即发生排斥精子染色体能力的形成^[10]。

到目前为止, 人类尚未能在其他鱼类中诱导出人工的杂种发育, 仅在实验室中台成了 *P. m-1* 的杂种发育单雌性群体^[10], 这证明这三种鲮属鱼的全雌性群体具有杂种发育的遗传倾向。

二、雌核发育

雌核发育是鱼类单性生殖中一种重要生殖方式。雌核发育依赖于血缘关系相近的雄性提供的情子激活卵子发育,但不发生雌雄原核的融合,是一种无融合或假配合的生殖方式。群体全部由雌性个体或仅含少量的雄性个体,只产生雌性的后裔,基因型则与母本相同或略有差异。

1. 自然界中鱼类的雌核发育

自从三十年代 Hubbs, C. L. and L. C. Hubbs (1932) 发现亚马逊河的花鲈科鱼类 *Poecilia formosa* 是一种天然存在的单性种群之后,人们又逐渐地发现了鲮属中的三种类型和银鲫 (*Carassius auratus gibelio*) 均为单雌性种群。除了 *Poecilia formosa* 以及另外一种银鲫 (Lieder, 1955) 为二倍体单性种群,鲮属中的三个种,某些 *Poecilia formosa*, 欧洲的银鲫,日本的银鲫 (*Carassius auratus langsdorfi*) 均为三倍体或四倍体单性种群。经研究发现这些鱼类均为雌核发育群体^[5,10,14,20]。

Poecilia formosa 栖息于墨西哥的河流之中,在全部分布区内还有 *P. latipinna* 和 *P. mexicana* 共同栖息。这两个种的雄性个体保障了 *P. formosa* 单雌性种群的雌核发育繁殖。在 *P. formosa* 自然种群内存在着与其它亲缘两性种一样的、染色体数为 46 的二倍体群体。经细胞遗传学、生化遗传学方法研究证明, *P. formosa* 是 *P. latipinna* 和 *P. mexicana* 的复合物,由这两种鱼杂交起源,其染色体系由 *P. latipinna* 的单倍体组和 *P. mexicana* 的单倍体组组成。在 *P. formosa* 中还发现了具 69 条染色体的三倍体雌性,染色体分析及电泳材料表明,三倍体类型是由 *P. formosa* 和 *P. mexicana* 杂交而产生的。三倍体的 *P. formosa* 与两性的雄性交配,仍然仅产生三倍体雌性雌核发育后代。因此 *P. formosa* 群体中的三倍体个体可能来自于三倍体的自然雌核发育及二倍体的雌性与亲缘种的杂交^[19,20]。

鲮属为卵胎生鱼类,产于墨西哥的西北部,该属中除有几种杂种发育形式外,还有三个雌核发育类型均为三倍体种群。与杂种发育类型一样,它们没有独立的分类命名而是根据染色体组中每个亲本的染色体数称为 *P. 2monacha-lucida*, *P. monacha-2lucida* 和 *P. 2monacha (viriosa)-lucida*, 分别简称为 *P. 2m-l*, *P. m-2l* 和 *P. 2m(v)-l*。从以上命名方式可以看出,这些三倍体群体是以 *P. monacha* 和 *P. lucida* 等的杂种形式存在的。前两种即 *P. 2m-l* 和 *P. m-2l* 很有可能是由 *P. m-l* 杂种发育群体演化而来的,而 *P. m(v)-l* 则为 *P. 2m(v)-l* 的祖先,*P. 2m-l* 与 *P. monacha* 栖息在一起, *P. 2m(v)-l* 则与 *P. lucida* 生活在一起,而 *P. 2m(v)-l* 则与 *P. viriosa* 生活在一起^[19,20]。

除花鲈属 (*Poecilia*) 和鲮属 (*poeciliopsis*) 鱼类外,银鲫及日本银鲫是鱼类中另外一个典型的雌核发育例证。银鲫分布于欧洲至中国东北部之间的广大水域之中,在日本分布的则为日本银鲫。在欧洲及日本分布的银鲫为单雌性雌核发育群体,但在黑龙江水系至西伯利亚地区的银鲫是以二性型种的形式存在。其中雌鱼数量占优势或绝对优势。为银鲫雌核发育提供精子的亲缘种主要是栖息于同一水域的鲫鱼,另外鲤鱼、鳊等也能为银鲫的雌核发育提供精子^[6,10]。

银鲫的染色体数为 $150 \pm$ 条,在日本还有 $200 \pm$ 条染色体的个体。根据染色体的数量以及与亲缘种鲫鱼 ($2n=100$) 染色体数量的比例,许多研究者将银鲫称为三倍体,日本具 $200 \pm$ 条染色体的银鲫则称为四倍体^[14]。事实上,鲫鱼是一种四倍体,而银鲫则为六倍体和八倍体。

银鲫的雌核发育主要是通过杂交证明的,用鲤鱼、拟鲤等数种鱼类的精液与银鲫卵子授精,由此得到的后代为完全母本型,雄性精子除激活卵子外不起任何作用^[11]。

关于三倍体雌核发育银鲫的起源至今尚不清楚。Cherfas (1981) 推测它的起源及进化也许同鲮属中的三个雌核发育群体一样,是由种间或属间杂交,然后 F_1 雌鱼又与亲本之一的雄鱼回交产生多倍体,逐渐转变成雌核发育的单性种群。但是这种转变的遗传调节机制仍然是不清楚的。无论银鲫是怎样起源的,它的亲缘种或主要亲缘种是鲫鱼 (*C. auratus auratus*), 这一点是毋庸置疑的。

2. 雌核发育鱼类的特征

天然雌核发育鱼类一般具有多倍性、单雌性和同一性三大特征。除 *P. formosa* 外,其它均为多倍体单性型,这有可能与雌核发育鱼类的杂交起源有关。通过杂交产生单性别与遗传上的差异,在多倍化的路线中,单性别使得在三倍体水平进行繁殖成为可能,避免了三套染色体组配对联合的困难,发展成为一个新的种群。由于雌核发育鱼类不进行减数分裂,且雄性遗传物质不参与任何作用,因此雌核发育的鱼类群体是比较纯的。假如雌核发育个体不经过减数分裂,且不发生染色体交换,雌核发育每个世代的近亲交配系数为 1.0。即使假定每个世代染色体间的交换率为 10%,雌核发育第二代的近亲交配系数仍然接近 0.8 已相当同胞交配七到八个世代,此时群体每个个体的基因对已接近纯合,所以世代天然雌核发育群体一般都是纯合群体。

在人工诱导的二倍体鱼类雌核发育中,经处理的精子失去了遗传活性。然而,在处理剂量适度时,精子的部分遗传物质,如部分染色体断片可能在胚胎发育中表现出转录活性。例如用经射线处理的含有正常基因型的精子和白化雌鱼的卵子授精,热休克后的虹鳟个体在皮肤上表现出色素沉着区域,这说明父系的基因在雌核发育后代中的存在和表达。在不同种间经射线处理过的精子激活非同种卵子诱发雌核发育时,非同种精子所携带的某些基因也有转移到雌核发育后代的可能性^[22]。例如,美国的研究人员就用射线处理过的精子将大马哈鱼所具有的对传染性造血器官坏死症及病毒性出血性败血症病毒的抵抗力转移到虹鳟中。在这种转移中,父本的染色体片段在胚胎发育过程的有丝分裂期间可能被排斥而丢失。

此外,我国的研究者还发现^[6,7],在天然雌核发育的银鲫群体中,当用未经任何射线处理的同种精子授精时,卵子被激活,雌核发育成为个体。在用异种精子受精时,卵子也可被激活,并按着雌核发育的途径发育为雌性个体。但当精子来源于某种鱼类如鲤鱼时,由之激活发育而生的雌性个体在生长势等方面具有一定的优势。这种由异种精子引起的生长优势现象称为异育效应。异育效应也在某种程度上说明了在雌核发育后代中,父系的遗传物质不是绝对地被排斥掉的。

3. 雌核发育的细胞学原理和性别决定

高等动物的生殖过程一般包括由减数分裂形成染色体数减半的精卵结合,使染色体数又恢复为正常数量,这保持了物种世代间的染色体数绝对稳定。毫无疑问,雌核发育鱼类世代间也需要维持染色体数目的稳定,但它们不是靠减数分裂形成配子来维持的。通过大量的细胞学研究证明,其生殖细胞学机制是相当复杂的,基本上有不发生减数分裂;减数分裂后第二极体不排出并与雌性原核的结合;第一次卵裂为核内有丝分裂及减数分裂前核内有丝分裂等等。

Cherfas(1981)对苏联银鲫研究发现,其成熟过程中不发生同源染色体的接合、互换及减数分裂,卵细胞进行两次成熟分裂。在第一次(发育不全的)分裂中形成了三极纺锤体,它后来转化为两极的纺锤体。在两极间,单价染色体相对地分布,或是以 1:2 的比例分布。后来全部单价染色体结合成三倍体的第二次(实际上是第一次)分裂的中期板,第二次是正常的分裂,此时卵细胞正处于排卵期。精子进入后,减数分裂很快即分离出第一(也是唯一的)极体而完成,在卵细胞的雌性三倍体染色体组转变为雌性原核,进而形成第一次卵裂的中期板,这期间并不发生雌雄原核的结合。从而保障了三倍体染色体数的稳定遗传。

小林弘(1978)研究认为,日本产银鲫卵成熟过程中省略了第一次成熟分裂,在不发生精卵实质性的结合时,银鲫的世代间就仍然保持了染色体数的稳定。周嘉申等(1983)对黑龙江银鲫的细胞学研究发现,受精后卵子仅排出一个极体,卵子只进行一次减数分裂。

需要指出的是,在黑龙江水域的银鲫群体中存在着一定比例的雄性,这些雄性的染色体数与雌性一致,为 $150 \pm$ 条,而这些雄性的精巢发育正常,能产生形态、泳动能力、寿命及授精能力均正常的精液。在生殖季节与雌性银鲫在一起时,有强烈的性活动,由之交配所得到的为银鲫。经 DNA 含量分析表明,雌雄性银鲫均能完成减数分裂,由此推测银鲫不是染色体不平衡的三倍体,银鲫经过长期进化已达到二倍化的程度。在二倍化过程中,银鲫逐渐地恢复了减数分裂的能力,并积累了一定量的雄性基因,这些

雄性基因的积累导致群体中出现雄性个体,这些雄性个体的出现很有可能是银鲫完成二倍化,由雌核发育生殖方式向正常二倍化生殖方式过渡的开始^[11]。

天然雌核发育的三倍体鲮属鱼类则较银鲫简单,在减数分裂之前,通过核内有丝分裂使染色体加倍,不发生胞质分裂,并接连进行一次染色体复制,由此使其染色体数目达到六倍化,经过两次正常的减数分裂产出的配子的染色体数为三倍体,与体细胞的染色体数一致,在不发生实质性的减数分裂条件下,世代间由此维持了染色体数的平衡。在这种生殖机制中,由于第一次减数分裂时同源染色体间遗传物质的交换,雌核发育后裔的遗传组成相对复杂,发生染色体交换的个体之间彼此不同,与母本也有差异^[10,20]。

在人工诱导欧洲泥鳅(*Misgurnus fossilis*)的雌核发育时,其卵子经两次正常减数分裂后产生的第二极体与雌性原核重新融合,卵子得以恢复二倍体染色体数目,这相当于第二次减数分裂的失败。事实上,人工诱导雌核发育的细胞学机制多为第二极体不排出与雌性原核融合的结果。

另外二倍体银鲫及某些人工诱导雌核发育鱼类的细胞学机制则为配子发生中减数分裂正常发生,配子(或卵子)的染色体数减半,但在第一次卵裂时,由于发生核内有丝分裂(染色体复制后不出现胞质分裂)而恢复二倍化。

在我国滇池栖息着一种三倍体鲫鱼(*C. auratus auratus* 染色体数为 $160 \pm$)^[6]。经细胞遗传学研究发现,核型中可能存在着XXY性染色体。对黑龙江的银鲫研究也证明^[6],其性别机制可能为XY型。黑龙江银鲫与其它种类“杂交”时,子代中出现的雄性比例很低,有时不出现雄性。但在自繁子代中雄性比例则占20%左右,这一点表示了黑龙江银鲫兼有两性生殖和雌核发育生殖外,还暗示了它们雄性基因和雄性染色体的存在。

鲮属中一些种的种间杂交往往出现全雌性或全雄性后裔。这种现象可能是因各个种具有不同的性别决定机制的强度不同所造成的。*P. monacha*比*P. lucida*的性别机制要强,因此能提供母本的染色体组,产生全雌性后裔,而在*P. monacha*与*P. latidens*杂交时则产生全雄性后裔。某些鱼类的性别机制是比较复杂的,它们的性别不取决于一对染色体或几对基因,而取决于全部的染色体,有些染色体可将个体的性别发育引向一方,而另一些染色体则将其引向另一方向。有些染色体对性别的作用力较强,有些则较弱,在较强的染色体存在时,其它的表现较弱或者完全不能表达。对某些已具有性染色体的鱼类而言,在其常染色体上还可能存在着具有性别决定的微效多基因,雄性基因(σ)和雌性微基因(f),在正常情况下,常染色体微基因对异染色体性别决定基因是下位的,通过遗传的改变或染色体的重组,常染色体雄性(或雌性)微基因的总和有时会压倒上位性染色体基因,因而产生罕见的雄性个体。基于以上原因,所以在*P. formosa*和银鲫的雌核发育后代中偶而出现少量的雄性^[13]。

三、人工诱导鱼类的雌核发育

由于雌核发育鱼类所具有的一系列特征,正常两性繁殖鱼类中有生命力的雌核发育后代的获取,不但可解决生物学上的一系列重大理论问题,快速增加品种遗传的同质性,还可克服无雄性的小群体材料的繁殖困难等一系列问题。因此,人工诱导正常繁殖鱼类的雌核发育是非常重要的。

将正常繁殖鱼类的卵子与同种正常精液受精是不会发生雌核发育的。根据天然雌核发育鱼类的细胞学原理,人工诱导二倍体两性繁殖鱼类的雌核发育包括两个重要的方面:一为激活单倍体(或二倍体未减数分裂的卵细胞)卵子进行发育;二为使卵子的染色体数加倍以克服单倍性胚胎不能发育至仔鱼以后而获得正常或接近正常有生命力的雌核发育后代。

早在本世纪初就有人(Opperman, 1913)成功地诱导了溪鲑(*Salmo trutta fario*)的雌核发育,后来其他一些研究者又先后在泥鳅(*Misgurnus fossilis*)、鲟科(Acipenseridae)、鲑科(Salmonidae)、鲟科(Plenroeteidae)、鲤科(Cyprinidae)等鱼类成功地诱导了雌核发育。

1. 卵子的激动技术

可用物理学或生物学方法激动卵子发育。物理学方法,如采用弱电流刺激鱼卵,沾过血清或血液的细针刺鱼卵等方法都可以激发卵子发育。但这种方法技术性较强,工作量大,而处理量小,因此使用得不普遍,一般仅在实验室中使用。现代进行大规模的人工诱导雌核发育多采用生物学方法。

生物学方法激动卵子发育通常是采用遗传失活的同种鱼类的精液与卵受精的方法进行。经过试验证明,精子内的遗传物质DNA在大剂量的物理射线如X-射线、紫外线、 γ -射线等处理后可发生实质性的变化,从而失去遗传活性。但这些射线并未能明显地改变精子的细胞质组成,因此经射线处理过的精子仍具有活动能力,且能跟正常精子一样通过卵膜或受精孔进入卵子,它所携入的细胞分裂器能正常地起作用,同时精子的染色体不参与发育,在胚胎内仅保留了母本的染色体。与自然雌核发育的区别仅为精子的头部在卵内转化成了前核,但染色体发生了固缩,且包含在第一次卵裂的中期板内。使精子失活的辐射剂量依鱼类种类、实验室条件及研究者所使用的方法等不同。但无论如何,适当的照射剂量是非常重要的。因为剂量过低时,精子不完全失活,会产生一些非雌核发育个体;当剂量过高时,精子会逐渐失去运动能力和激动卵子能力。这里需要指出的是,由于射线的作用,经辐射过的精子的活动能力和寿命都弱于正常精子,在进行雌核发育实验中,应尽量缩短照射的时间和保存精液的时间。

不同种之间的鱼类由于血缘关系不同可导致杂交不亲和,其结果多为精卵不结合所致。由此用非同种精子授精有可能导致卵子被激活,此时需进一步处理诱发卵子的染色体加倍,即雌核发育。否则卵子将以单倍体进行胚胎发育而死亡。

2. 卵子加倍技术

正常两性繁殖鱼类已排出的成熟卵子处在第二次成熟分裂中期,所以用遗传失活的精子激发的卵子发育为单倍体,然而单倍体的胚胎发育多表现胚胎缩短和扭曲,心脏积水,色素形成破坏或其他形式的畸变。单倍体的胚胎一般在出膜时死亡或以后几昼夜内死亡。因此诱导二倍体两性生殖鱼类的雌核发育关键还在于卵子染色体二倍化的方法。

温度休克方法是通过物理学方法增加二倍体胚胎出现率的最有效而常被使用的方法。所谓温度休克就是用高于或低于卵子的最适温度的方法处理胚胎的技术。当处理的温度高于卵子的正常的发育温度时称为热休克,而当处理的温度低于胚胎的正常发育温度时称为冷休克。用热休克或冷休克处理系采用非极限致死温度作用卵子,抑制卵子的第二极体排出,从而达到染色体加倍的目地。

使用温度休克法需要考虑授精后休克开始时间,休克时的水温,休克处理时间等三个因子。一般在进行雌核发育时可将失活的精子激动卵子分成两组,一组为休克或其它处理诱导染色体加倍组,而另一组则不进行任何处理为对照组。这样对照组所有卵子都因单倍体而死亡,由此可证明精子的遗传失活。对于处理组来说,温度休克的有效程度不同,能成活二倍体个体的产率也不同,因此休克的有效程度是至关重要的。

使用温度休克技术或任何其它抑制第二次减数分裂的技术处理正常精子授精的卵子也会抑制其第二次减数分裂,此时休克对精核和卵核的结合毫无影响,由于第二次减数分裂被抑制,其结果是产生三倍体个体。现在人们已运用这一原理和方法成功地诱导出许多鱼类的三倍体。事实上,诱导三倍体和诱导雌核发育的染色体加倍技术是同出一个模式,方法也是完全一致的。

对蛙科鱼类的温度休克尤其是虹鳟研究得比较充分。虽然不同的研究者所得的结果有所不同,普遍认为其最佳热休克温度为26—29°C,从受精后0—30分钟内热处理10分钟,可有效地诱导出高比率的雌核发育二倍体或三倍体。对于鲤科及其它温水鱼类,可能是因其生活环境水温相对较高,所以最佳热休克诱导温度也较高,一般25—30°C或略高才能有效地抑制胚胎的第二次减数分裂。在成功的报道中,有着一个较明显的倾向即温水鱼类采用冷休克,冷水鱼类采用热休克技术。事实上热休克在诱导温水性鱼类,冷休克诱导冷水性鱼类中也可获得较高的效率。冷休克所采用的温度变化幅度较大,最低的

仅为 0°C ,多在 4°C 左右,也有许多 $5-10^{\circ}\text{C}$ 的成功报道^[11,17]。对于红镜鲤来讲,受精后5分钟在 5°C 下冷处理20分钟获得了22.7%的雌核发育二倍体后代^[8]。罗琛等(1991)报道了用紫外线照射的鲤鱼精子诱导草鱼和鲫鱼卵子雌核发育的结果。

另外,在两栖类的研究中,静水压力方法是用来阻止第二极体排出或第一次减数分裂的有效方法。近年来,静水压力方法在鱼类中也获得了成功,静水压力与温度休克方法相比需要专门的设备,但由于它对胚胎的损伤比温度休克小的多,且成活率高,因此目前被广泛地使用。静水压力一般是在圆形金属容器内实现的,为了承受较高的压力,金属容器需具有良好的耐高压性(7500-10000磅/平方英寸)和密闭性。

化学药物也可以用来抑制受精卵的第二次减数分裂或受精卵的有丝分裂,从而诱导二倍体雌核发育或产生多倍体。用浓度为 $10\mu\text{g/ml}$ (溶于0.1%的二甲基亚砷水溶液中)的细胞松弛素B(Cytochalasin B),在受精后30-40时度(小时 \times 温度)开始处理至四细胞期止,可获得多倍体或嵌合体。麻醉剂和一些惰性气体可以干扰细胞周期和影响细胞的超微结构,因此这些化学药物可能具有诱导细胞加倍或抑制细胞分裂的潜在意义。在这方面,英国的研究者^[11]应用氧化亚氮(N_2O)在5-11个大气压条件下处理大西洋蛙获得了非常理想的结果。

四、雌核发育在鱼类育种中的意义和应用

在鱼类育种工作和遗传学研究中,诱导雌核发育可用来加快品种、种群等选育系的形成,数量性状遗传分析,基因定位等。

1. 建立近亲交配系

在传统的育种方法中,建立一个遗传纯系或选育系一般要通过连续数代的近亲交配来完成。这是一项长期而严密的工作,不单因需要养殖大量的三代,而且因鱼类成熟周期较长需要较长的时间,另外还会因近亲交配衰退及饲养条件限制对部分个体的淘汰造成部分育种材料的丢失。采用诱导雌核发育的方法可以大大的加速纯化过程,得到一个近亲交配系数为0.8-0.9的鱼类纯系,只需要2-3个连续的雌核发育世代就可以了,这相当于10个世代的同胞交配。这为育种中加速获得高度纯和系的种类提供了可能性。

如同正常的近亲繁殖一样,诱导的雌核发育第一代,由于分离出现遗传多样性,雌核发育第一代中(用符号G表示)的每个个体的基因型都是较纯的,由这些个体继续诱导雌核发育所获得的后裔有很高的纯和性($F=0.8$),并且个体间的遗传差异也很小。因此,诱导雌核发育的第二个连续世代的各个后代都可以认为是一个纯系。

在雌核发育后代中,由于高度的纯和性,可能会表现出明显的近亲交配衰退现象,因此通过雌核发育可快速淘汰劣质基因,也可挑选出较为理想的由优良基因构成的纯和性高的选育系。

对于雌性同型配子的鱼类而言,由雌核发育方法建成的选育系或雌核发育存在的一个严重缺点是群体由单一性别构成的。为了维持雌核发育系的纯合度,目前普遍采用的方法是:a)部分个体用雄性激素处理诱导产生雄性个体供雌核发育系繁殖使用;b)建立半雌核发育系,所谓半雌核发育系是由彼此有亲缘关系的雌核发育的雌鱼和正常雄鱼组成高度近亲的两性后代。即先从某一育种群体选取雌核发育的雌性,然后让它与同一育种群体的雄性交配,这样的交配需要几个世代。该方法与同胞交配的区别在于各代雄性不是与它们的“姐妹”交配,而是与它们的后代的雌核发育“女儿”交配,在这样的交配中,隐性等位基因的消失过程要比同胞交配快得多。

众所周知,生物界尤其是植物界广泛存在着杂种优势,但在鱼类中,尚未获得较为理想的杂交组合。杂种优势率在鱼类中不高的原因很有可能是由于鱼类为雌雄异体,一个品种内维持着相当高水平的杂

合度，其本身就具有了某种程度的杂种优势，当与另外的品种杂交时就不会产生更强的杂种优势。另外，根据杂种优势的理论，杂交亲本越纯，优势率越高。利用雌核发育系进行鱼类的杂种优势利用，可望大大地提高杂种优势率。顶交和系间杂交是近年来国外提出利用雌核发育系进行经济杂交的方法。

2. 基因定位

在人工诱导的雌核发育中，二倍化是第二次减数分裂被抑制或是雌性原核与第二极体融合的结果，那么其后代的每一个基因位点都可以是纯合的。因为不发生第二次减数分裂或虽发生分裂，但第二极体所包含的染色体是与雌性原核完全一致的姐妹染色体，所以它们有相同的基因组成。然而并非所有的雌核发育后代都是纯合的。在第一次减数分裂时，同源染色体之间也许会彼此交叉断裂而发生交换。其交换频率与基因在染色体上的位置有关。交换的结果是姐妹染色体中的一条染色体含有交换了的基因，而另外一条则没有，这样当不发生第二次减数分裂或第二极体不排出时，雌核发育的后代就会表现出一定的杂合性。通过计算杂合后代在群体中的比例，就可以推算交换频率。根据交换频率确定基因在染色体上的位置及基因间的距离，因而能绘制出染色体图。

3. 单性群体的利用

在鱼类的生产中，有些单性群体具有如生长速度快、可控制群体繁殖等优越性。用雌核发育方法生产的鱼类群体多为单一雌性，对其进行养殖则可降低生产成本，提高养殖效益。

4. 性别决定机制的判别

雌性同型配子的雌鱼产生的配子的性染色体是一致的，因此人工诱导雌核发育可得到全部雌性的后裔。如雌性异型配子，人工诱导雌核发育会产生雌雄各半的后裔。例如，鲤鱼是雌性同型配子，所以人工诱导雌核发育的鲤鱼产生全部雌性的后裔。反之，某种鱼经人工诱导雌核发育产生雌雄各半的后裔，则此种鱼为雌性异型配子性别决定机制。

5. 突变体的分离

在脊椎动物中，隐性突变只能在发生突变后从第二代的表现型中识别出来。雌核发育的后代在选择与分离新的突变体是很有用处的，因为在绝大多数的种群中，隐性性状的表现型频率相当于这一隐性基因的平方。而雌核发育的后代隐性性状的表现型频率相当于种群中这一基因的频率。例如，一个隐性基因的频率在亲代中有1%，那么这一隐性基因在自然繁殖后代中的表现型频率只有 $(1/100)^2=1/10000$ ，而雌核发育后代则有1%的个体将产生这一隐性基因的纯合体，两者相差100倍。因此雌核发育比较容易分离出突变体。

五、雄核发育

在鱼类的单性生殖中，除雌核发育和杂种发育，还有雄核发育。雌核发育是由雌配子发育为完整个体的生殖方式，而雄核发育则为由雄性配子发育的生殖方式。

从理论上讲，一个精子含有一个生物体所必须的全套遗传物质，因此由单个精子发育成为一个个体是完全可能的。在人工进行鱼类的远缘杂交时，偶然发现了由精子发育而来的个体，即雄核发育。目前，由精子诱发雄核发育的技术已比较完善。

人工诱导雄核发育，与雌核发育相似，首先是卵子的遗传失活，第二步则为抑制第一次卵裂的发生诱导核内有丝分裂，由此使卵子的染色体加倍发育为二倍体个体。卵子的失活是在授精前用大剂量的 γ 射线等照射，完全破坏卵子的DNA，使遗传物质失活。而同时卵内胚胎发育必不可少的核酸、酶及其它重要的蛋白质则不发生变性。这样卵子实际上是精子发育为胚胎的培养基。卵子的染色体已被破坏，受精后的胚胎只有精子带入的一套染色体组。此时使用抑制卵子第二次减数分裂的技术已无意义，胚胎的二倍化一般是通过温度休克或静水压力抑制第一次卵裂完成的。

我国的研究者刘汉勤等(1987)以机械方法挑去泥鳅 (*Misgurnus anguillicaudatus*) (σ^7) × 大鳞副

泥鳅(*Paramisgurnus dabryanus*)(♀)属间杂交受精卵的雌核,得到了泥鳅雄核发育单倍体胚胎,将这种单倍体胚胎囊胚细胞移植到大鳞副泥鳅去核卵中,获得了泥鳅雄核发育纯和二倍体。在鲤和草鱼远缘杂交中,也可获得雄核发育鱼类,但其比例仅为十万分之一^[12]。

对于雄性配子异型的鱼类,精子分为X和Y型两种。用X精子生产的鱼产生正常的XX雌性。用Y精子则产生自然界不存在的YY雄性,这种雄性为超雄性。超雄性成熟所产生的精子全部是Y精子。因而若把该种雄性与正常雌性杂交,后代就全部是XY组合产生全雄性群体。对于雄性同型配子的鱼类,雄核发育的鱼类则为全雄性个体。

在自然界中,一些鱼类的群体显著的减小,有些种类已濒临灭绝。为保护这些鱼类,过去靠世代代饲养这些种类,费时费力,仅能保存少量的个体。然而,一般的鱼类每1 ml精液中约有数十亿个的精子,若使用雄核发育技术,只需冻存其精液,就能永久的保存该物种。一旦该种灭绝,要用精子再复活该种时,当然没有该种的卵子,但可借助近亲血缘种的卵子,通过雄核发育技术使其发育达到复活该种的目的。

六、未来展望

鱼类的杂种发育是一种仅限于美国墨西哥的几种鲮属鱼类中的自然现象,其研究也仅限于美国。这种现象在其他鱼类中很难通过人工方法诱导产生,除研究其发生、进化,遗传学的理论意义外,在生产或应用上目前尚无利用的先例。

雌核发育现已成为一种自然现象,雌核发育在自然界中也偶有发生,但现在人们已经非常全面的了解雌核发育的细胞学机理,人工诱导方法也日趋完善,对雌、雄核发育的研究,可以探讨鱼类的发生、进化、生殖机制和群体构成等方面的理论基础,且在鱼类生产中,雌、雄核发育群体的单性化、高度的近亲交配系数等有很高的应用价值。例如过去已成功的应用鱼类雌雄核发育方法生产了数种单性群体,在鱼类选育种以加速鱼类的选育过程,迅速淘汰有害隐性基因,尤其由此建立的近亲交配系具有很高纯合度,而且有高度纯和性品系才能选育出具有较高杂种优势的杂交组合。因此未来关于鱼类的雌、雄核发育研究将从诱导方法,发育机制等方面逐步转向应用研究,并且会侧重于纯系的建立种质资源的保护等方面。

参 考 文 献

- [1] 刘汉勤等,1987. 泥鳅雄核发育纯合二倍体的产生. 水生生物学报, 11(3):241—247.
- [2] 李传武等,1990. 鲤和草鱼杂交中雄核发育子代的研究. 水产学报, 14(2):153—156.
- [3] 陈宏溪,1988. 鱼类的雌核生殖. 鱼类学论文集, (3):135—146. 科学出版社(京).
- [4] 罗琛等,1991. 人工诱导草鱼和鲫鱼雌核发育的研究. 湖南师范大学自然科学学报, 14(2): 154—159.
- [5] 周嘉申等,1983. 黑龙江一种银鲫(方正银鲫)雌核发育的细胞学初步探讨. 动物学报, 29(1): 11—16.
- [6] 谷瑞光,1982. 滇池两种类型鲫鱼的性染色体和G-带核型研究. 遗传学报, 9(1):32—39.
- [7] 蒋一珪等,1982. 异源精子在银鲫雌核发育子代中的生物学效应. 水生生物学集刊, 8(1):1—13.
- [8] 潘光碧,1988. 人工诱导鱼类雌核发育技术的研究. 淡水渔业, (6):17—20.
- [9] 小林弘,1978. フナノ分類ヒ, ギンブナにみられる雌原发生の細胞遗传学的検討, 遗传, 3 (7):28—38.
- [10] Cherfas, N. B., 1966. Natural triploidy in female of the goldfish (*Carassius auratus gibelio*). *Genetica*, 12(5): 16—24.
- [11] —, 1981. Gynogenesis in fishes. In "Genetic Bases of Fish Selection" (V. S. Kirpichnikov, ed.), 255—273. Springer-Verlag, Berlin and New York.
- [12] Fan, Z. and She, J., 1990. Studies on the evolution of bisexual reproduction in crucian carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch). *Aquaculture*, 84: 235—244.
- [13] Hubbs, C. L. and L. C. Hubbs, 1962. Apparent parthenogenesis in nature, in a form of fish of