

# 鲈鱼冷冻精子诱导半滑舌鳎胚胎发育

田永胜 陈松林\* 邵长伟 刘本伟 庄志猛

(农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所,青岛 266071)

**摘要** 半滑舌鳎是分布在我国黄、渤海的特有鱼类,雌鱼明显具有较雄鱼生长快的特点,利用雌核发育方法诱导产生半滑舌鳎超雌鱼,通过与正常雄鱼交配,最终可培育生长速度快、个体大的全雌性后代,对于提高养殖效益具有重要的意义。为此利用冷冻保存的异源鲈鱼精子诱导半滑舌鳎卵产生雌核发育二倍体、单倍体、杂交胚胎,利用同源精子受精产生普通二倍体,在 Olympus 显微镜下对它们的胚胎发育进行了观察比较。冷冻解冻的鲈鱼精子,在  $1\ 000\ \mu\text{j}/\text{cm}^2$  紫外线下照射  $0.2\sim 1\ \text{min}$ ,诱导半滑舌鳎卵受精,在受精后  $2\sim 5\ \text{min}$  将卵置于  $2\sim 5\ ^\circ\text{C}$  的水浴冷休克  $20\ \text{min}$ ,获得了雌核发育的胚胎和鱼苗,在  $21.7\sim 23.6\ ^\circ\text{C}$  水温中,雌核发育胚胎经过  $2\ 781\ \text{min}$  孵化出膜。普通胚胎在  $21.7\sim 23.6\ ^\circ\text{C}$  水温下,经  $2\ 621\ \text{min}$  孵化出膜。经紫外线灭活处理的鲈鱼精子诱导半滑舌鳎卵,但不经过冷休克获得的单倍体胚胎,具有明显的单倍体综合症,发育至  $1\ 949\ \text{min}$  陆续死亡。鲈鱼精子与半滑舌鳎卵杂交受精,胚胎不能正常发育,相当于胚孔封闭期后全部死亡。实验证明,鲈鱼冷冻精子可刺激半滑舌鳎卵雌核发育。

**关键词** 半滑舌鳎 鲈鱼 冷冻精子 雌核发育 胚胎发育

**中图分类号** Q81 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2008)02-0001-09

## Embryonic development of *Cynoglossus semilaevis* induced by frozen sperm of *Lateolabrax japonicus*

TIAN Yong-sheng CHEN Song-lin\* SHAO Chang-wei  
LIU Ben-wei ZHUANG Zhi-meng

(Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

**ABSTRACT** Effective methods for induction of diploid gynogenesis in tongue sole *Cynoglossus semilaevis* are needed for monosex culture, which will allow growers to benefit from the more rapid growth and larger size in females. To test methods for inducing diploid gynogenesis in tongue sole, heterologous sperm were used to induce haploid, hybrid and gynogenetic diploid; and homologous frozen sperm were used to induce diploid. Diploid gynogenesis was induced by activating egg development with sea perch sperm, which were irradiated by  $1\ 000\ \mu\text{j}/\text{cm}^2$  UV for  $0.2\sim 1\ \text{min}$  in seawater.  $2\sim 5\ \text{min}$  after fertilization, the eggs were subjected to a cold shock in  $2\sim 5\ ^\circ\text{C}$  seawater for  $20\ \text{min}$ . Observation and comparison was done for these

国家 863 国际合作项目(2005AA603110)、国家“十一五”项目(2006AA10A403)、国家自然科学基金项目(30570259)、山东省农业良种工程重大项目及山东省泰山学者工程专项共同资助

\*通讯作者。E-mail: chensl@ysfri.ac.cn, Tel: (0532) 85844606

收稿日期:2007-08-16;接受日期:2007-12-10

作者简介:田永胜(1964-),男,博士,副研究员,主要从事鱼类种质低温冷冻保存及遗传育种研究。E-mail: tianys@ysfri.ac.cn, Tel: (0532) 85844606

embryos under an Olympus microscope. Gynogenesis diploid embryos were kept in 21.7 ~ 23.6 seawater and hatched 2 781 min after fertilization. Normal diploid embryos derived from tongue sole eggs fertilized with homologue sperm were hatched 2 621 min after fertilization, at a temperature of 21.7 ~ 23.6. Abnormal haploid embryos derived from tongue sole eggs fertilized with UV-irradiated sea perch sperm without further cold shock, died of haploid syndrome (i. e., morphological deformities) 1 949 min after fertilization. Hybrid embryos derived from tongue sole eggs fertilized with sea perch sperm died after the developmental stage of blastopore closure. The study confirmed that induction of gynogenesis in tongue sole could be obtained by using UV-irradiated frozen sperm of sea perch.

**KEY WORDS** *Cynoglossus semilaevis* *Lateolabrax japonicus* Frozen sperm  
Gynogenesis Embryonic development

半滑舌鲷 *Cynoglossus semilaevis* 属鲽形目 Pleuronectiformes、舌鲷科 Cynoglossidae、舌鲷属 *Cynoglossus*, 为我国特有的近海底层的大型名贵经济鱼类, 主要分布在渤海、黄海。渤海半滑舌鲷终年栖息于海湾水域, 洄游距离短, 活动范围小, 食物层次较低, 以底栖虾、蟹类为主要饵料, 在渤海鱼类中营养级仅为 2.7, 属低级肉食性鱼类(邓景耀等 1988a), 是理想的增殖和养殖种类之一。经过近年来的养殖开发, 半滑舌鲷已成为国内海水鱼类工厂化养殖的主要品种之一, 在国内养殖公司得到广泛的推广。但是半滑舌鲷雌、雄生长差异大, 雌性比雄性生长快得多, 半滑舌鲷雌性个体的平均体长为 523 mm, 最大体长可达 800 mm 以上, 雄性个体的平均体长为 280 mm(邓景耀等 1988b)。在人工养殖条件下, 2 龄鱼雌性体重可达 600 g 以上, 雄性达 150 g, 雌、雄性鱼体重相差 4 倍(在黄海水产有限公司测定结果)。人工繁殖鱼苗中大约有一半以上为雄性, 在养殖期达不到商品规格, 致使销售不畅, 生产成本提高, 给养殖公司造成了很大的压力。为此作者进行半滑舌鲷雌核发育研究, 希望能通过此途径培育出能繁殖全雌半滑舌鲷鱼苗的超雌(WW)鱼种, 解决生产中的这一实际问题。本文主要对异源精子诱导半滑舌鲷卵雌核发育胚胎、单倍体、杂交胚胎及普通胚胎的发育情况进行了比较研究, 为半滑舌鲷胚胎的雌核发育提供细胞学方面的证据。

## 1 材料和方法

### 1.1 实验鱼类胚胎、精子

利用黄海水产有限公司人工养殖培育的半滑舌鲷亲鱼 20 尾, 在性成熟期人工采集未受精卵和精子, 将未受精卵采集到干燥的烧杯中, 采集的精子置于 1ml 塑料管中, 卵和精子分置于 20 ~ 23 室温下备用。鲈鱼 *Lateolabrax japonicus* 精子是 2002 年 11 月冷冻保存, 保存时期为 4 年。保存方法: 人工采集鲈鱼精子, 利用冷冻稀释液 MPRS + 10 %DMSO 按 1 : 1 的比例稀释, 分装于 1.8 ml 的塑料冷冻管中, 利用“精子冷冻三步法”在液氮中冷冻保存, 在 37 水浴中解冻(陈松林等 1999; Chen *et al.* 2004; Ji *et al.* 2004)。

### 1.2 雌核发育胚胎、单倍体、杂交胚胎及普通胚胎的制作

灭活鲈鱼精子诱导雌核发育胚胎: 将以上冷冻保存和解冻的鲈鱼精子利用 MPRS 稀释 10 倍, 置于直径 10 cm 的培养皿中, 利用 1 000  $\mu\text{j}/\text{cm}^2$  紫外线照射 0.2 ~ 1 min, 取以上采集的半滑舌鲷未受精卵 40 ml 与 1 ml 鲈鱼精液受精, 受精后 2 ~ 5 min 利用 2 ~ 5 的水浴冷休克 20 min, 将卵置于 21.7 ~ 23.6 海水中复温、培养。

单倍体胚胎诱导: 取半滑舌鲷未受精卵 10 ml 与 100  $\mu\text{l}$  紫外线照射处理的鲈鱼精子受精, 受精后不经过冷休克, 直接放入 23 海水中培养, 观察胚胎的发育情况。

鲈鱼冷冻解冻精子与半滑舌鲷卵杂交: 取半滑舌鲷未受精卵 10 ml 与冷冻解冻的鲈鱼精子 100  $\mu\text{l}$  杂交受精, 受精卵放入 20 ~ 23 海水中培养, 观察胚胎发育。

普通胚胎:取以上半滑舌鲷未受精卵 10 ml 与采集的 100  $\mu$ l 半滑舌鲷精子受精,受精卵放入 21.7~23.6 海水中培养,观察胚胎发育。

### 1.3 胚胎发育过程的观察和记录

以上各种胚胎在受精后,立即利用 Olympus 显微镜观察胚胎发育情况,记录胚胎发育时间进程,对卵裂期、原肠期、胚体形成、肌节、视泡、耳石、心脏发育和孵化特点等进行观察和记录,并对发育特征进行拍照。

## 2 结果

### 2.1 鲈鱼精子诱导半滑舌鲷胚胎雌核发育过程

半滑舌鲷胚胎的雌核发育过程如表 1。经紫外线灭活的鲈鱼精子诱导半滑舌鲷卵受精(图版 -1),经过冷休克 20 min 后,在 21.7~23.6 海水中培养,在受精后 79 min 胚盘形成(图版 -2),104 min 开始卵裂,第 1 次分裂沟与第 2 次分裂沟垂直,第 3 次分裂沟与第 1 次平行,经过 2 细胞、4 细胞、8 细胞等级分裂,294 min 分裂成 256 细胞(图版 -3-9),374 min 形成多细胞(图版 -10),547 min 形成桑椹胚(图版 -11),634 min 形成囊胚(图版 -12),在囊胚的周围细胞形成点状的圆圈,油球集中在囊胚周围,囊胚逐渐扩大形成低囊胚(图版 -13),在囊胚周围胚层开始向四周扩展,形成薄层状。703 min 进入原肠早期,四周胚层向内翻卷,内胚层开始形成(图版 -14),随着胚层的逐渐下包,在胚层的下缘围绕形成胚环,在一侧向动物极突起形成胚盾,1 084 min 进入原肠中期(图版 -15),胚层下包卵黄囊的 1/2。1 266 min 进入原肠后期,胚层下包至植物极形成胚孔(图版 -16),胚孔中可见卵黄栓,油球被胚层挤压向胚孔,之后胚体逐渐形成,附着在卵黄囊的一侧,进入肌节发育期。1 476 min 形成 16 对肌节,肌节分布在神经管两侧,分节清晰(图版 -17),之后肌节逐渐增多,胚体尾部形成末球,尾芽开始伸长,进入尾芽期,此时胚胎发育 1 643 min(图版 -18),形成肌节 26~30 对。尾芽开始向体轴一侧偏转,在这一时期耳囊、耳石形成,2 010 min 心包形成,2 146 min 开始心跳,胚体继续伸长,沿卵黄囊围绕,2 751 min 发育至出膜前期,胚包卵黄囊 10/12(图版 -19),胚体继续伸长,头尾几乎相接时胚体开始孵化,进入孵化期,胚胎发育 2 781 min(图版 -20),胚体头部先破膜而出。图版 -21 为孵化 1 h 仔鱼,形态发育正常,卵黄囊约占体长的 1/3,鱼苗刚孵化时侧浮于水面,之后倒悬于水中。图版 -22 为孵化后 1 d 鱼苗,卵黄囊开始收缩变小,图版 -23 为出膜后 4 d 鱼苗,卵黄囊几乎吸收完毕,身体上出现节状色素带,头后冠状棘开始形成。

### 2.2 普通胚胎发育

半滑舌鲷卵经同源精子受精后的胚胎在 21.7~23.6 水温下发育过程详细记录于表 1。胚胎在受精后 20 min 在动物极形成放射状的星状体,40 min 胚盘形成,44 min 开始卵裂,而雌核发育胚胎在受精后 104 min 开始卵裂。胚胎经过细胞分裂期、囊胚期、原肠形成、胚孔封闭、胚体形成、肌节发育、尾芽期、心跳期、胚体搐动和出膜期的发育,历时 2 621 min 完成胚胎发育,孵化出膜。图版 -1、2、3 分别为普通胚胎发育的胚孔封闭期胚,肌节胚和心跳期胚胎,普通发育胚胎 2 073 min 开始心跳,雌核发育胚胎 2 146 min 开始心跳;雌核发育胚胎的发育较普通胚胎发育迟缓。图版 -7 为普通胚胎孵化鱼苗,图版 -21 的雌核发育鱼苗与其没有差别。

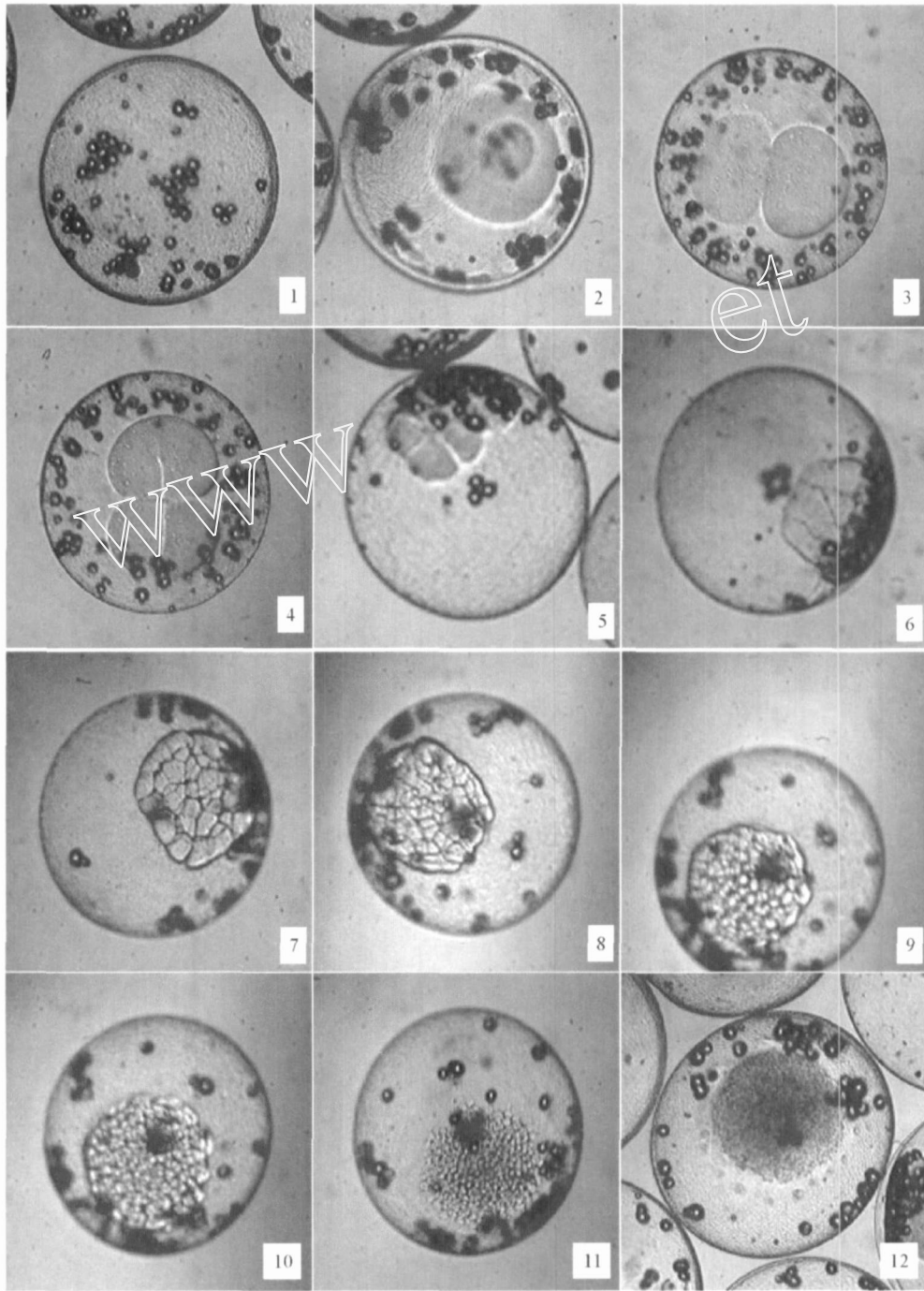
### 2.3 半滑舌鲷单倍体胚胎发育

半滑舌鲷卵与经紫外线灭活的鲈鱼精子受精,受精卵直接在 23 水浴中培养,经过 38 min 形成胚盘(表 1),42 min 开始卵裂,587 min 后完成卵裂,进入囊胚期,747 min 发育到原肠早期,1 124 min 至原肠后期(图版 -4),胚体初型形成,但胚体形态与普通胚胎(图版 -1)比较显得组织不清晰,呈弥散状。1 326 min 发育至相当于肌节期(图版 -5),但胚体短小,周围弥散,大部分胚体尾部不能收缩,而且较普通胚胎发育缓慢。1 850 min 发育至相当于尾芽期,胚胎不能形成清晰视泡、肌节,头部组织不能分辨。1 949 min 发育至相当于心跳期,但未发现心跳现象,个别胚胎尾部稍有伸长,但胚体结构不清,逐渐死亡(图版 -6)。

表1 鲈鱼冷冻精子诱导半滑舌鲷雌核发育胚胎、单倍体与普通胚胎发育进程比较

Table 1 Embryonic development of diploid gynogenesis, haploid and common embryos of *Cynoglossus semilaevis* induced by frozen sperm of *Lateolabrax japonicus*

普通胚胎发育 21.7~23.6 Common embryonic development at 21.7~23.6		雌核发育胚胎 21.7~23.6 Diploid gynogenesis embryos at 21.7~23.6		单倍体发育 23 Haploid embryos at 23	
时间 Time (min)	胚胎时期 Stage of embryonic development	时间 Time (min)	胚胎时期 Stage of embryonic development	时间 Time (min)	胚胎时期 Stage of embryonic development
0	受精卵 Zygote	0	受精卵 Zygote	0	受精卵 Zygote
20	星状体形成 Star forming			19	
40	胚盘期 Blastodisc forming	79	胚盘形成 Blastodisc forming	38	胚盘期 Blastodisc forming
44	2 细胞 2cell	104	2 细胞 2cell	42	2 细胞 2cell
69	4 细胞 4cell	135	4 细胞 4cell	66	4 细胞 4cell
98	8 细胞 8cell	159	8 细胞 8cell	97	8 细胞 8cell
125	16 细胞 16cell	188	16 细胞 16cell	123	16 细胞 16cell
152	32 细胞 32cell	206	32 细胞 32cell	150	32 细胞 32cell
166	64 细胞 64cell	236	64 细胞 64cell	164	64 细胞 64cell
185	128 细胞 128cell	271	128 细胞 128cell	183	128 细胞 128cell
205	256 细胞 256cell	294	256 细胞 256cell	203	256 细胞 256cell
226	多细胞 Multi-cells	374	多细胞 Multi-cells	264	多细胞 Multi-cells
259	高囊胚期 High blastula	547	桑椹胚 Morula		
590	囊胚中期 Middle blastula	643	囊胚 Blastula	587	囊胚期 Blastula
715	囊胚后期,胚层内卷 Late blastula, germinal layer involution				
890	原肠早期 Early gastrula	703~955	原肠早-中期 Early-middle gastrula	747	原肠早期 Early gastrula
982	原肠中期 Middle gastrula	1 084	原肠中期 Middle gastrula	1 081	原肠中期 Middle gastrula
1 067	原肠后期 Late gastrula	1 266	原肠后期 Late gastrula	1 124	原肠后期 Late gastrula
1 139	胚孔封闭期 Closure of blastopore				胚孔封闭期 Closure of blastopore
1 211	9 对肌节胚 9 Somite stage				
1 374	20 对肌节 20 Somite stage	1 476	16 对肌节 16 Somites	1 326	肌节不清 Somites unclear
1 515	未球形成 Tail-bud forming				
1 588	耳石开始形成 Otoliths forming				
1 723	尾芽伸长 Tail-bud elongation	1 643	尾芽胚 Tail-bud stage		
1 843	尾芽期 Tail-bud stage	2 010	心包形成 Pericardial cavity forming	1 850	不能形成视泡、肌节 Optic vesicle and somites not formed
2 073	心跳期 Heart-beating stage	2 146	心跳期 Heart-beating stage	1 949	胚体不伸长,头部结构不清,陆续死亡 No elongation of embryo, unclear head structure, mortality increase
2 165	胚体抖动 Embryo twist				
2 331	胚包 7/12 Embryo encircled 7/12 of yolk sac				
2 561	部分出膜 Partial hatching	2 751	出膜前期 Pre-hatching stage		
2 621	全部出膜 Hatching completed	2 781	出膜期 Hatching stage		
3 605	出膜 1 天苗 1d after hatching				

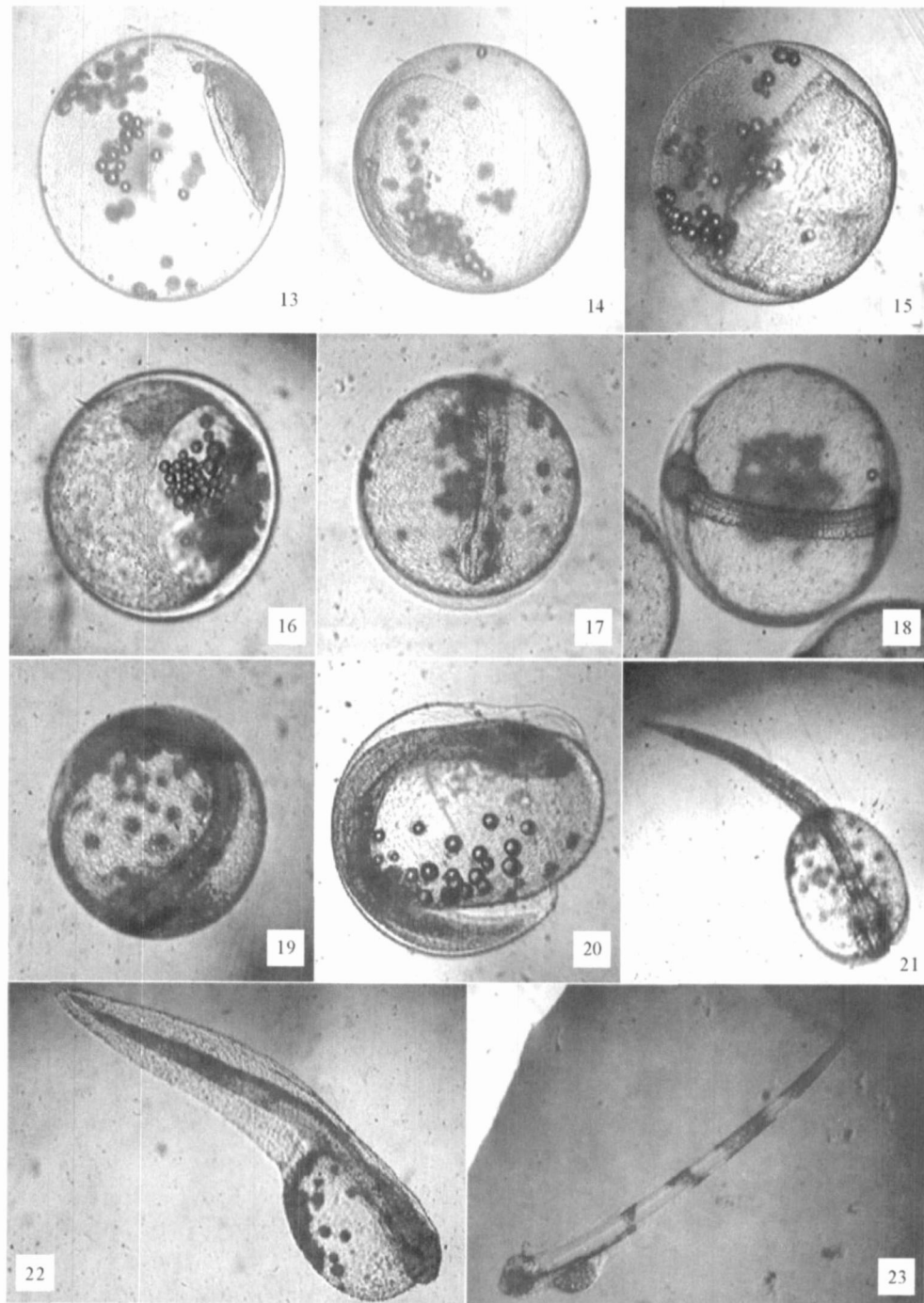


1. 灭活鲈鱼冷冻精子诱导半滑舌鳎受精卵 ×60; 2. 胚胎盘形成 ×60; 3. 2 细胞 ×60; 4. 4 细胞 ×60; 5. 8 细胞 ×60; 6. 16 细胞 ×60; 7. 32 细胞 ×60; 8. 64 细胞 ×60; 9. 128 细胞 ×60; 10. 256 细胞 ×60; 11. 多细胞 ×60; 12. 桑椹胚 ×60

1. Activating eggs with UV-irradiated sea perch sperm and cold shock in 2 ~ 5 seawater for 20min ×60; 2. Blastodisc forming ×60; 3. 2cell ×60; 4. 4cell ×60; 5. 8cell ×60; 6. 16cell ×60; 7. 32cell ×60; 8. 64cell ×60; 9. 128cell ×60; 10. 256cell ×60; 11. Multi-cells ×60; 12. Morula ×60

图版 半滑舌鳎雌核发育胚胎发育过程 (1 ~ 12)

Plate Development of tongue sole *Cynoglossus semilaevis* diploid gynogenesis embryos (1 ~ 12)

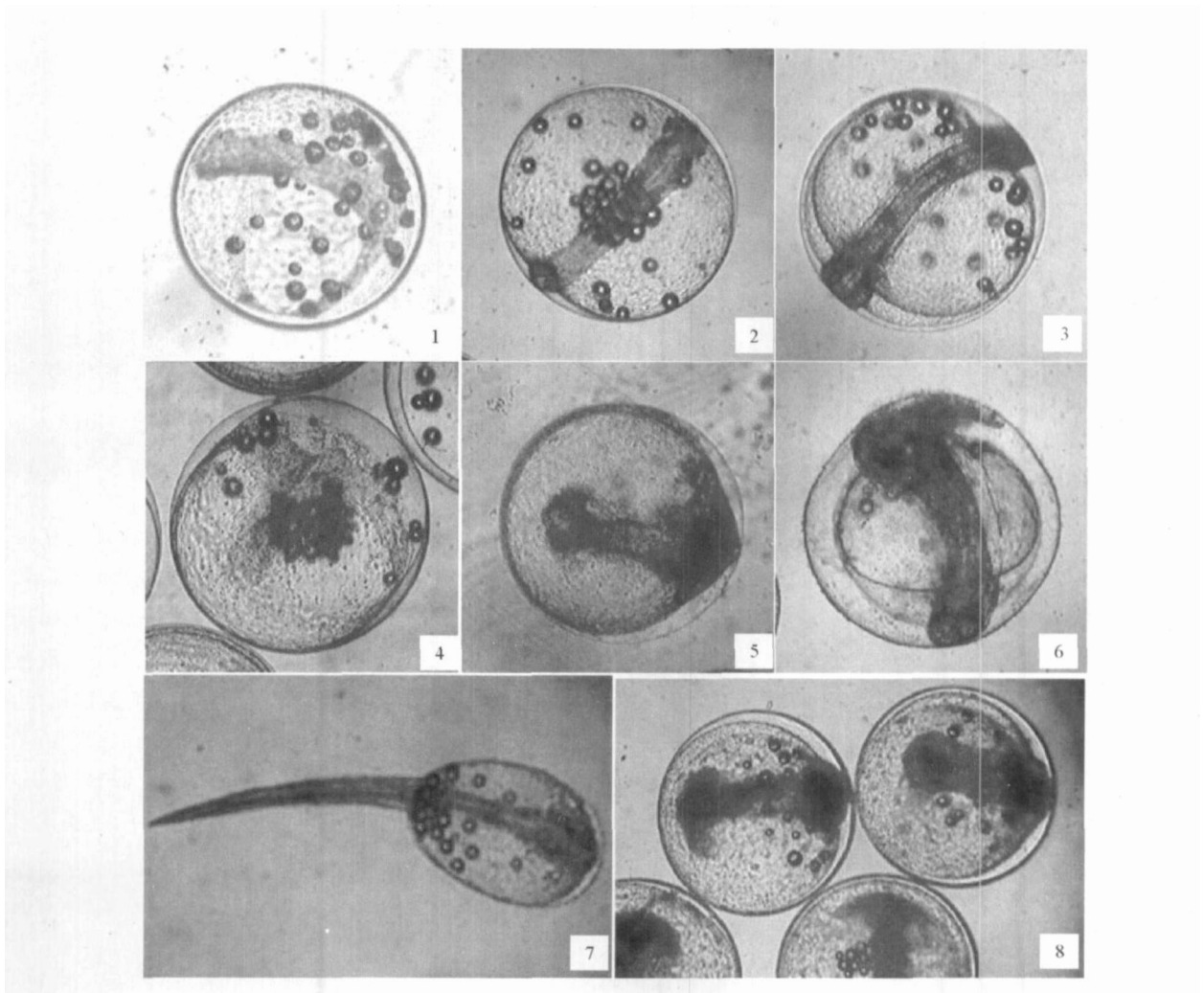


13. 囊胚  $\times 60$ ; 14. 原肠早期  $\times 60$ ; 15. 原肠中期  $\times 60$ ; 16. 原肠后期  $\times 60$ ; 17. 16对肌节胚  $\times 60$ ; 18. 尾芽胚  $\times 60$ ; 19. 心跳期  $\times 60$ ; 20. 出膜期  $\times 60$ ; 21. 孵化 1h  $\times 60$ ; 22. 出膜 1d  $\times 60$ ; 23. 出膜 4d  $\times 60$

13. Blastula  $\times 60$ ; 14. Early gastrula  $\times 60$ ; 15. Middle gastrula  $\times 60$ ; 16. Late gastrula  $\times 60$ ; 17. 16somites  $\times 60$ ; 18. Tail-bud stage  $\times 60$ ; 19. Heart-beating stage  $\times 60$ ; 20. Hatching stage  $\times 60$ ; 21. After hatching 1h  $\times 60$ ; 22. After hatching 1d  $\times 60$ ; 23. After hatching 4d  $\times 60$

图版 半滑舌鲷雌核发育胚胎发育过程 (13~23)

Plate Development of tongue sole *Cynoglossus semilaevis* diploid gynogenesis embryos (13~23)



1. 半滑舌鲷同源精子受精的普通胚胎发育至胚孔封闭 (1)、肌节胚(2)、尾芽胚(3)和孵化 1d 鱼苗(7)
2. 经紫外线照射鲈鱼精子诱导,但未经冷休克半滑舌鲷单倍体胚胎发育至胚孔封闭期(4)、肌节期(5)、尾芽期(6)
3. 未经紫外线照射鲈鱼精子与半滑舌鲷卵受精,也未经冷休克的杂交胚胎发育至胚孔封闭期(8)

1. Tongue sole embryos derived from eggs fertilized with homologous sperm , at stage of (1) blastopore closure , (2) somites stage , (3) tail-bud stage , and (7) 1d larva
2. Tongue sole haploid embryos derived from eggs fertilized with UV-irradiated sea perch sperm , without cold shock , at the stage of (4) blastopore closure , (5) somites stage and (6) tail-bud stage
3. Tongue sole embryos derived from eggs fertilized with normal frozen sperm of sea perch and eggs , without cold shock . at the stage of (8) blastopore closure

图版 半滑舌鲷正常胚胎、单倍体、杂交胚胎的发育比较

Plate Development of natural *Cynoglossus semilaevis* embryos , and haploid and hybrid embryos induced by frozen sperm of *Lateolabrax japonicus*

#### 2.4 鲈鱼精子与半滑舌鲷卵杂交胚胎的发育

鲈鱼冷冻精子直接与半滑舌鲷卵受精,其细胞分裂、囊胚形成、至原肠中期前的发育与正常胚胎没有明显的区别,说明鲈鱼精子能与半滑舌鲷卵正常受精;但原肠后期以后胚孔不能正常关闭,胚体头部和尾部组织弥散,视泡、耳囊、神经管等不清晰,镜下不能区别肌节,胚体短小,胚体周围组织不聚拢、发散,尾部不能伸长,呈组织团,之后大量死亡(图版 -8)。

### 3 讨论

半滑舌鲷是分布在黄、渤海的特有鱼类,在自然水域中分布数量相对较少,半滑舌鲷雌鱼生长速度快,肉质鲜美,经济价值高,经过近年来中国水产科学研究院黄海水产研究所及有关养殖公司的开发研究和养殖驯化,已经成为目前海水工厂化养殖的主打品种,但是由于半滑舌鲷雌、雄鱼生长差异大,2龄雌、雄鱼体重相差在4倍以上,雌鱼养殖的经济效益远远大于雄鱼,因此对半滑舌鲷进行性别控制研究,诱导和培育全雌化的养殖苗种,具有极大的科学和经济意义。至目前有关科研人员已对半滑舌鲷人工繁殖调控机制及胚胎发育与盐度、温度及光照的关系(柳学周等 2004,2005),个体发育过程中的性腺分化(马学坤等 2006),鱼苗早期阶段的摄食特性及生长特点(马爱军等 2005),以及半滑舌鲷染色体核型( $2n = 42t$ )(周丽青等 2005)和染色体带型的分析(Zhuang *et al.* 2006)等方面进行了研究,并初步断定半滑舌鲷性别决定类型为ZW/ZZ,并筛选到半滑舌鲷雌性特异的AFLP分子标记(李静等 2007),建立了半滑舌鲷遗传性别鉴定的PCR技术(Chen *et al.* 2007),但利用冷冻保存的异源精子诱导半滑舌鲷雌核发育,对不同实验条件下诱导发育的半滑舌鲷雌核胚胎、单倍体胚胎、异源精子杂交胚胎的发育特征进行系统的观察研究还属首次,在国内外均未见报道。

雌核发育是卵子经过同源或异源精子诱导激活,精子遗传物质不参与胚胎发育,卵子只依靠母系遗传物质发育成个体的有性生殖方式。利用同源精子和异源的鲮 *Mugil cephalus* 精子诱导漠斑牙鲆 *Paralichthys lethostigma* 卵雌核发育获得了正常发育的二倍体鱼苗(Luckenbach *et al.* 2004)。利用同源精子诱导大菱鲆 *Scophthalmus maximus* 卵雌核发育(Piferrera *et al.* 2004),取得了单倍体和二倍体胚胎和鱼苗,单倍体不能正常发育。本文利用冷冻保存4年的鲈鱼精子诱导半滑舌鲷卵雌核发育,成功获得正常发育胚胎和鱼苗,对其胚胎发育的过程进行了详细观察,并与诱导的单倍体胚胎、鲈鱼精子与半滑舌鲷卵杂交胚胎、正常胚胎发育进行了比较,雌核发育胚胎和鱼苗的形态与正常胚胎没有差异,雌核发育胚胎在21.7~23.6 经过2781 min完成胚胎发育,正常胚胎在21.7~23.6 经过2621 min完成胚胎发育,雌核发育胚胎的发育速度相对于正常胚胎较慢。单倍体胚胎和杂交胚胎在发育至原肠中期后大量死亡。对雌核发育胚胎、单倍体胚胎的染色体研究结果表明,雌核发育胚胎的染色体核型为 $2n = 42$ ,单倍体为 $n = 21$ ,雌核发育后代的核型与普通半滑舌鲷没有差异,详细研究结果将另文发表。

鲈鱼属于鲈形目Perciforms 鲈科Servanidae 花鲈属 *Lateolabrax*,与半滑舌鲷属于不同的目,在形态特点、分布地域、繁殖和摄食等生态生理习性方面都具有很大的差别,亲缘关系较远。利用遗传物质未灭活的鲈鱼精子与半滑舌鲷卵受精,杂交胚胎发育到胚孔封闭期后死亡。因为鲈鱼的染色体数为 $2n = 48$ (沙珍霞等 2003),而半滑舌鲷染色体数量为 $2n = 42$ (周丽青等 2005),亲本的染色体数目不同,基因组数及性质不同,从而在两性原核结合形成合子时,导致来自亲本的染色体等位基因不协调,基因调控紊乱致使正常的发育生长受阻(楼允东 1998)。鲈鱼精子利用紫外线照射后,精子的遗传物质被灭活,与半滑舌鲷卵受精后胚胎中只有原雌性的单倍染色体,在发育中胚胎因遗传缺失不能正常发育,明显的表现为“单倍体综合症”(Tvedtn *et al.* 2006)。利用静水压法诱导舌齿鲈 *Dicentrarchus labrax* 胚胎产生了性腺不完全发育的三倍体(Peruzzia *et al.* 2004),利用小体鲟 *Acipenser ruthenus* L. 正常精子与欧洲鳇 *Huso huso* L. 卵受精后进行热休克,诱导产生60.0%~73.3%三倍体雌性鲟鱼(Omotoa *et al.* 2005)。通过对冷冻保存的鲈鱼精子诱导的雌核发育胚胎、单倍体、杂交胚胎及正常胚胎发育特点的观察比较,认为冷冻保存的鲈鱼精子经过紫外线灭活后能刺激半滑舌鲷卵雌核发育。

### 参 考 文 献

- 马学坤,柳学周,温海深,徐永江,张立敬. 2006. 半滑舌鲷性腺分化的组织学观察. 海洋水产研究,27(2):55~61  
马爱军,柳学周,徐永江,梁友,庄志猛,翟介明,李波. 2005. 半滑舌鲷 *Cynoglossus ssemilaevis* 早期发育阶段的摄食特性及生长研究. 海洋与湖沼,36(2):130~138  
邓景耀,孟田湘,任胜民. 1988a. 渤海鱼类的食物关系. 海洋水产研究,9:151~171  
邓景耀,孟田湘,任胜民,邱显寅,朱建元. 1988b. 渤海鱼类种类组成及数量分布. 海洋水产研究,9:11~89



- 李 静,陈松林,邓思平,田永胜,沙珍霞,王清印,庄志猛,温海深. 2007. 半滑舌鳎雌性特异 AFLP 分子标记的筛选. 水产学报, 31(5):591~597
- 沙珍霞,陈松林,叶寒青,徐美瑜,刘 洋,季相山,唐启升. 2003. 适合花鲈的几种染色体制备方法的比较. 中国水产科学, 10(6):469~473
- 陈松林,刘宪亭,鲁大椿,章龙珍,傅朝君,方建平. 1999. 鲢、鲤、团头鲂和草鱼精液超冷冻保存的研究. 动物学报, 38(4):314~424
- 周丽青,杨爱国,柳学周,杜 伟,庄志猛. 2005. 半滑舌鳎染色体核型分析. 水产学报, 29(3):417~419
- 柳学周,庄志猛,马爱军,陈四清,孙中之,梁 友,徐永江. 2005. 半滑舌鳎繁殖生物学及繁育技术研究. 海洋水产研究, 26(3):7~14
- 柳学周,徐永江,马爱军,姜言伟,翟介明. 2004. 温度、盐度、光照对半滑舌鳎胚胎发育的影响及孵化条件调控技术研究. 海洋水产研究, 25(6):1~6
- 楼允东. 1998. 鱼类育种学. 北京:中国农业出版社
- Chen, S. L., Li, J., Deng, S. P., Tian, Y. S., Wang, Q. Y., Zhuang, Z. M., and Sha, Z. X. 2007. Isolation of female-specific AFLP markers and molecular identification of genetic sex in half-smooth tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*). Mar. Biotech. 9(2):273~280
- Chen, S. L., Ji, X. S., Yu, G. C., Tian, Y. S., and Sha, Z. X. 2004. Cryopreservation of spermatozoa from turbot (*Scophthalmus maximus*) and application to large scale fertilization. Aquaculture, 236:547~556
- Ji, X. S., Chen, S. L., Tian, Y. S., and Yu, G. C. 2004. Cryopreservation of sea perch spermatozoa and feasibility for production scale fertilization. Aquaculture, 241:517~552
- Luckenbach, J. A., Godwin, J., Daniels, H. V., Beasley, J. M., Sullivan, C. V., and Borski, R. J. 2004. Induction of diploid gynogenesis in southern flounder (*Paralichthys lethostigma*) with homologous and heterologous sperm. Aquaculture, 237:499~516
- Omotoa, N., Maebayashia, M., Adachib, S., Araib, K., and Yamauchib, K. 2005. Sex ratios of triploids and gynogenetic diploids induced in the hybrid sturgeon, the bester (*Huso huso* female  $\times$  *Acipenser ruthenus* male). Aquaculture, 245:39~47
- Peruzzia, S., Chataina, B., Saillantb, E., Haffray, P., Menu, B., and Falguière, J. C. 2004. Production of meiotic gynogenetic and triploid sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. I. Performances, maturation and carcass quality. Aquaculture, 230:41~64
- Piferrera, F., Rosa, M. C., Castora, G., Álvarez-Blázquez, B., Castro, J., and Martínez, P. 2004. Induction of gynogenesis in the turbot (*Scophthalmus maximus*): Effects of UV irradiation on sperm motility, the Hertwig effect and viability during the first 6 months of age. Aquaculture, 238:403~419
- Tvedt, H. B., Benfey, T. J., Martin-Robichaud, D. J., Martin-Robichaud, McGowan, C., and Reith, M. 2006. Gynogenesis and sex determination in Atlantic Halibut (*Hippoglossus hippoglossus*). Aquaculture, 252:573~583
- Zhuang, Z. M., Wu, D., Zhang, S. C., Pang, Q. X., Wang, C. L. and Wan, R. J. 2006. G-banding patterns of the chromosomes of tongue fish *Cynoglossus semilaevis* Günther, 1873. J. Appl. Ichthyol. 22:437~440