

doi: 10.7541/2018.040

草鱼(♀)×赤眼鳟(♂)杂交F₁倍性分析和性腺发育特点

乔庆¹ 刘巧林^{1,2} 肖调义^{1,2} 赵鑫¹ 邓亚林¹ 王荣华¹ 黎玉元¹ 何美凤¹

(1. 湖南省特色水产资源利用工程技术研究中心, 湖南农业大学, 长沙 410128;

2. 水产高效健康生产湖南省协同创新中心, 常德 415000)

摘要: 为探讨草鱼(*Ctenopharyngodon idella*♀)×赤眼鳟(*Squaliobarbus curriculus*♂)杂交F₁的倍性和生育性能, 对杂交F₁的染色体核型和红细胞核DNA含量进行分析和测定, 并运用组织学方法对繁殖期和非繁殖期共124尾杂交F₁的性腺发育特点进行研究。结果显示: (1)杂交F₁染色体2n=48, 核型公式2n=26 m+20 sm+2 st, NF=94, 未发现端部着丝点染色体、随体和次缢痕等结构; (2)杂交F₁相对DNA含量为对照组鸡血的1.29倍, 其绝对DNA含量为(3.21±0.61) pg/N, DNA指数为0.92; (3)经解剖观察和切片鉴定, 杂交F₁卵细胞分为两种类型: 一类卵细胞第I—V时相均发育正常, 可完成排卵并产生后代, 为正常发育型; 另一类卵细胞发育到第V时相后, 卵黄颗粒减少, 油滴增加, 呈无卵黄空洞状, 为异常发育型。杂交F₁精巢包括初级精母细胞、次级精母细胞和精子细胞, 无成熟精子; 部分精小囊内精细胞量极少, 多为结缔组织或脂肪组织; 生产实践中暂未发现可以排精的杂交F₁个体。研究表明, 草鱼与赤眼鳟杂交获得的杂交F₁为二倍体, 部分雌性可育, 雄性可能为败育群体。

关键词: 杂交F₁; 核型; DNA含量; 性腺; 倍性; 生育性能

中图分类号: Q343.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2018)02-0313-10

草鱼(*Ctenopharyngodon idella*), 属鲤形目、鲤科、雅罗鱼亚科、草鱼属, 是我国淡水养殖中重要的养殖鱼类之一, 年产量居四大家鱼之首。由呼肠孤病毒引起的草鱼出血病, 是造成草鱼养殖过程中危害最大的一种, 其超高的死亡率^[1], 严重制约着草鱼养殖业的发展。赤眼鳟(*Squaliobarbus curriculus*), 俗称野草鱼, 属雅罗鱼亚科、赤眼鳟属。为了改良草鱼的抗GCRV能力, 本团队自2010年起开展了草鱼与赤眼鳟的属间杂交试验, 成功获得了1—5龄草鱼(♀)×赤眼鳟(♂)杂交F₁(以下简称杂交F₁), 有试验证明赤眼鳟抗草鱼呼肠孤病毒(Grass Carp Reovirus, GCRV)感染能力优于草鱼^[2]。目前, 有关杂交F₁的研究主要集中在生物学特性^[3-5]、形态^[6]、生长^[7]、营养^[8, 9]、肉质^[10]及其与亲本的抗病能力的比较研究^[11, 12]等方面。现有研究表明, 杂交F₁在肉质、抗病能力等方面具有一定的杂种优势。

杂交育种是水产动物育种的重要方法之一, 杂种后代的遗传特性和生育性能直接影响杂交方式的选择。染色体是生物遗传物质的主要载体, 了解鱼类染色体核型对研究物种的进化、遗传组成及变异等具有重要意义, 可为物种鉴定、杂交育种、性别决定等方面提供科学依据^[13]。同一群体的DNA含量是恒定不变的, 具有物种特异性, 利用流式细胞仪测定细胞核DNA含量, 可快速且有效地鉴别物种倍型, 为生物的种质鉴定和分子遗传学提供科学依据^[14]。有关草鱼与赤眼鳟杂交后代的研究指出草鱼(♀)与赤眼鳟(♂)杂交得到的F₁具有较强的抗逆^[4]; 赤眼鳟(♀)与草鱼(♂)杂交得到的F₁体细胞染色体为2n=48, 从细胞遗传学角度证明赤眼鳟(♀)与草鱼(♂)杂交F₁为二倍体^[15]; 黎玉元^[16]对草鱼(♀)与赤眼鳟(♂)杂交F₁及其父母本染色体核型进行

收稿日期: 2017-05-09; 修订日期: 2017-07-21

基金项目: 国家自然科学基金青年项目(31402289); 国家自然科学基金面上项目(31272652和31572615)资助 [Supported by the National Natural Science Foundation of China Youth Project (31402289); the National Natural Science Foundation of China (31272652, 31572615)]

作者简介: 乔庆(1992—), 女, 湖南岳阳人; 硕士; 主要研究方向为鱼类遗传育种。E-mail: Delicateqq@163.com

通信作者: 刘巧林(1986—), 女, 讲师; 主要研究方向为水产动物遗传育种。E-mail: qiaolinliu@hunau.net; 肖调义(1964—), 男, 教授; 主要研究方向为鱼类繁育与养殖。E-mail: tyxiao1128@163.com

了比较。目前,关于草鱼(♀)与赤眼鳟(♂)杂交 F_1 染色体数目、DNA含量等的相关研究较少。鱼类远缘杂交子代的生育性能与其性腺发育情况密切相关,研究性腺结构有利于了解个体的生理发育状况,可从表观上判别杂交子代的繁育能力,为物种的繁衍、保护、利用和开发提供基础资料。在远缘杂交中,多数杂交后代的生育性能较为复杂,研究者根据性腺显微结构将其分为不同发育类型:如精巢型、卵巢型、脂肪型、两性嵌合个体、卵巢发育不正常个体、卵巢发育正常个体、精巢发育异常个体和精巢发育正常个体等^[17-19],远缘杂交得到的大部分杂交后代是不育的,但也不是绝对不育^[20]。本试验拟通过研究杂交 F_1 的染色体数量和核型,检测杂交 F_1 细胞核DNA含量,并对其性腺进行观察,以期从细胞水平、分子水平和个体水平阐明其遗传特性和性腺发育情况,探讨远缘杂交后代的生育能力,为杂交 F_1 的后期选育和远缘杂交工作提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

实验鱼来自湖南省浏阳市乌龙渔场和湖南农业大学水产养殖基地,健康状况良好,杂交 F_1 、草鱼和赤眼鳟各10尾用于染色体制备;杂交 F_1 为15尾、草鱼5尾和赤眼鳟5尾用于DNA含量测定;杂交 F_1 共124尾(1—5龄),草鱼5尾(3—5龄),赤眼鳟11尾(1—5龄)用于解剖和切片观察。所取样本体重20—3420 g,用于染色体制备和DNA含量测定的实验鱼运回实验室后在循环水养殖系统中暂养,解剖和切片观察所用鱼现场观察和取样。

1.2 染色体的制备

参照舒琥等^[21]的染色体制备方法,每尾鱼以10 $\mu\text{g/g}$ (鱼体质量)胸腔注射植物血球凝集素(PHA),12h后以15 $\mu\text{g/g}$ 再次注射,3h后再以6 $\mu\text{g/g}$ 注射PHA,此时在胸腔另一侧以4 $\mu\text{g/g}$ (鱼体质量)注射秋水仙素,1h后解剖鱼体取肾组织,制备细胞悬液,0.075 mol/L KCl低渗处理40min,卡诺固定液固定3次,每次30min,采用空气干燥制片法制作染色体标本。在显微镜下各选取100个分散良好的分裂相,统计各细胞中的染色体数目,确定染色体总数,同时选取10个分散良好、长度适中(正中期)、着丝点清晰、染色体数目与上述统计众数相一致的中期分裂相,用Adobe Photoshop 6.0进行放大,测量染色体长短臂数值,按照Levan等^[22]提出的标准对染色体进行配对和排列,完成草鱼、赤眼鳟及杂交 F_1 核

型图。

1.3 DNA含量测定

在鱼体尾静脉处用含抗凝剂的注射器采血0.2 mL,用德国Partec GmbH提供的500 μL DAPI染液(用于细胞核着色)中加入500 μL 血液和抗凝剂的混合物,避光反应5—10min,经20 μm 尼龙滤器(德国Partec GmbH提供)过滤,用德国生产的Partec流式细胞仪进行样品检测。鸡(*Gallus domesticus*)血采自翅膀静脉,处理方法同上。

以鸡的红细胞DNA含量(2.50 pg)作对照标准。DNA绝对含量计算公式如下: $P_1 = P_2 \times E_2 / E_1$ 。式中: P_1 表示检测鱼DNA绝对含量(pg), P_2 表示标准鸡DNA绝对含量(2.50 pg/N), E_1 表示鸡红细胞荧光值, E_2 表示检测鱼红细胞荧光值。按照耿波等^[23]提出的用DNA指数(DI)判别物种倍性的方法,以已知草鱼为参照,对杂交 F_1 倍性进行判定。

1.4 性腺组织观察

解剖前对每尾鱼进行拍照编号,测量鱼体体长、全长和体重,取鳞片;解剖后称取完整性腺重和去内脏重,观察并记录发育特征,计算性腺成熟指数。剪取新鲜性腺中部组织,置于含AFA固定液的10 mL离心管中固定24h,期间更换一次固定液。配制所需各种试剂,溶蜡(反复融化3次);用微流水冲洗固定好以后的样品过夜,第二天取出冲洗后的性腺组织块进行修整,使大小均匀、横切面平整,再进行脱水、透明、浸蜡、包埋、切片与粘片、脱蜡、染色、脱水、透明等处理,封片后在显微镜下进行观察。

2 结果

2.1 染色体核型

经统计,杂交 F_1 及其亲本的染色体众数均为48条,其中杂交 F_1 染色体数为48条的细胞出现频率为73%,亲本草鱼及赤眼鳟分别为62%和71%(图1)。

根据Levan等^[22]标准对杂交 F_1 及其母本草鱼和父本赤眼鳟的染色体进行分类,得到各自的染色体核型公式(表1、图2)。结果表明,杂交 F_1 染色体数目与亲本保持一致,染色体类型由中部着丝点(m)、近中部着丝点(sm)以及近端部着丝点(m)三种类型构成,无端部着丝点(t)、异型性染色体、次缢痕及随体等结构,1—2对染色体类型的配比与亲本有差异,臂数相对一致。

2.2 草鱼(♀)×赤眼鳟(♂)杂交 F_1 的DNA含量测定

以DAPI作荧光染料,应用流式细胞仪分析草

鱼、赤眼鲢和杂交F₁血细胞DNA结果。草鱼荧光强度为(50.40±7.31), 赤眼鲢荧光强度为(43.50±6.50), 杂交F₁荧光强度为(46.2±10.81)。以鸡血细胞DNA绝对含量2.30 pg作标准, 计算出草鱼绝对DNA含量为(3.50±0.66), 赤眼鲢绝对DNA含量为(3.02±0.48), 杂交F₁绝对DNA含量为(3.21±0.61)(表2)。

5尾草鱼DNA: 15尾杂交F₁ DNA约为1:0.92, 5尾赤眼鲢DNA: 15尾杂交F₁ DNA约为1:1.06。DNA指数^[23](DI)指出, 当一组细胞DNA平均含量与正常细胞相比较的数值介于1±0.1时, 该细胞为正常二倍体细胞。因此, 以已知二倍体草鱼和赤眼鲢与杂交F₁对比分析, 可以判别出杂交F₁为二倍体。

2.3 性腺观察

从2015年12月到2016年6月, 随机采取124尾杂交F₁, 繁殖季节采样84尾, 非繁殖季节采样40尾, 经

性腺解剖观察和组织切片鉴定, 样本中雌性18尾, 雄性56尾, 雌雄比约为1:3, 另50尾个体无法确认性别; 通过观察鳞片鉴定出可判断性别的个体的年龄, 并统计样本数目(表3)。其中, 2龄和5龄杂交F₁的雌雄比为1:3, 3龄和4龄杂交F₁的雌雄比约为1:3(1龄肉眼及切片无法分辨雌雄)。

卵巢 解剖观察肉眼观察3龄以上杂交F₁多数卵巢两侧大小均一, 浅粉色、扁带状, 卵粒较为饱满, 繁殖季节挤压腹部有卵粒流出; 少数卵巢发育不良, 两侧不对称, 卵粒稀少, 形态极为扁平, 组织周围附着大量脂肪。同期同龄赤眼鲢卵巢发育均匀, 呈粉红色, 卵粒充实, 轻轻挤压便有卵粒产出。繁殖季节15尾雌性杂交F₁性腺指数(GSI)均值为(1.57±0.01), 同时期雌性赤眼鲢性腺指数均值为(18.33±3.62)。

组织切片光镜下观察, 繁殖季节3—5龄杂交F₁卵巢分为两种类型: 正常发育型, 可看到 I—V 时

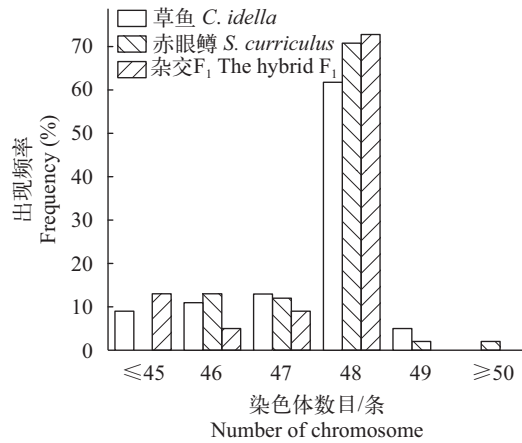


图1 杂交F₁及其亲本染色体数目

Fig. 1 Number of chromosomes of the hybrid F₁ and its parents

表1 杂交F₁及其亲本染色体核型结果

Tab. 1 Karyotype of chromosomes for the hybrid F₁ and its parents

种类 Species	核型公式 Karyotype formula	臂数The number of arms
草鱼 <i>C. idella</i>	2n=22 m+22 sm+4 st	92
赤眼鲢 <i>S. curriculus</i>	2n=24 m+22 sm+2 st	94
杂交F ₁ The hybrid F ₁	2n=26 m+20 sm+2 st	94

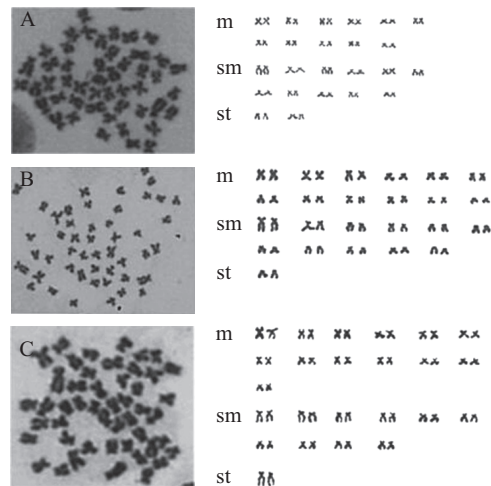


图2 杂交F₁及其亲本染色体核型图

Fig. 2 The karyotype of the hybrid F₁ and its parents

A. 草鱼染色体核型; B. 赤眼鲢染色体核型; C. 杂交F₁染色体核型; m. 中部着丝点染色体; sm. 近中部着丝点染色体; st. 近端部着丝点染色体

A. The karyotype of *C. idella*; B. The karyotype of *S. curriculus*; C. The karyotype of the F₁ hybrid; m. metacentric chromosome; sm. submetacentric chromosome; st. terminal chromosome

表2 流式细胞仪检测草鱼、赤眼鲢及其杂交F₁ DNA含量

Tab. 2 DNA content of the hybrid F₁ and its parents by flow cytometry

群体 Group	数量/尾 Number	红细胞荧光值 RBC fluorescence value	相对DNA含量比例(鱼: 鸡) Ratio of relative DNA content	绝对DNA含量 Absolute DNA content (pg/N)	倍性 Ploidy
鸡 <i>G. domesticus</i>	2	36.00±2.00	2.50	/	/
草鱼 <i>C. idella</i>	5	50.40±7.31	1.40±0.20	3.50±0.66	2
赤眼鲢 <i>S. curriculus</i>	5	43.50±6.50	1.21±0.18	3.02±0.48	2
杂交F ₁ The hybrid F ₁	15	46.20±10.81	1.29±0.29	3.21±0.61	2

表3 杂交F₁、草鱼和赤眼鲮各年龄阶段及其相应样本数Tab. 3 Number of samples of the hybrid F₁ and its parents

年龄Age	杂交F ₁ The hybrid F ₁		草鱼 <i>C. idella</i>		赤眼鲮 <i>S. curriculus</i>	
	雌性(尾) Female	雄性(尾) Male	雌性(尾) Female	雄性(尾) Male	雌性(尾) Female	雄性(尾) Male
1龄One year old	0	5	0	0	0	1
2龄Two years old	2	6	0	0	0	5
3龄Three years old	6	21	1	0	1	1
4龄Four years old	8	18	1	1	0	2
5龄Five years old	2	6	0	2	1	0

相卵母细胞(图版 I -1); 异常发育型, 细胞阶段发育均正常, 到第 V 时相, 卵黄颗粒减少, 油滴增加(图版 I -2、3), 出现无卵黄空洞状卵细胞(图版 I -4)。杂交F₁中, 同时期同个体有正常成熟卵细胞和异常成熟卵细胞(图版 I -4); 同时期与同龄赤眼鲮卵巢相比, 部分杂交F₁卵巢与之同步(图版 I -1、5), 部分发育缓慢(图版 I -6、7)。

经解剖观察和切片鉴定杂交F₁卵巢, 繁殖季节中将其分为两种类型: 正常发育型和异常发育型, 其中10尾正常发育, 5尾异常发育, 分别占繁殖季节雌性个体的66.67%和33.33%, 比例为2:1。非繁殖季节雌性个体无法判断发育是否正常, 从切片效果看, 2龄开始出现第III时相卵母细胞, 此阶段2—4龄卵细胞中只有卵原细胞、第 I 时相卵母细胞、第 II 时相卵母细胞和第III时相卵母细胞三种类型(图版 I -8—10)。

精巢 解剖观察解剖3—5龄雄性杂交F₁, 两侧精巢粗细不均匀, 呈不对称断带状, 粉红色或暗红色, 繁殖期挤压雄鱼腹部, 始终无个体有精液流出。同期同龄草鱼和赤眼鲮精巢对称发育, 乳白色, 轻轻挤压有大量精液流出。繁殖季节36尾雄性杂交F₁性腺指数(*GSI*)均值为0.87±0.003, 同时期雄性赤眼鲮性腺指数均值为1.76±0.39。

切片组织光镜下, 1—5龄杂交F₁精巢中有许多精小叶, 精小叶中的精小囊内有初级精母细胞、次级精母细胞和精子细胞, 无成熟精子(图版 II -1—5)。同期与同龄草鱼和赤眼鲮精巢结构相比, 精细胞类型基本一致, 在亲本中同样未观察到成熟精子。相同倍数下, 杂交F₁精巢中的精小囊个数较亲本多, 精子细胞数目远远少于亲本, 部分个体多为结缔组织, 精细胞量极少(图版 III -6—11)。

性别待定 部分杂交F₁性腺不明显, 被脂肪组织覆盖, 外部形态无法判断性别, 固定样品多为脂肪部分, 在光镜下几乎观察不到性腺, 多为脂肪组织和血管(图版 IV -1-4), 无法判断雌雄。

3 讨论

3.1 草鱼(♀)×赤眼鲮(♂)杂交F₁的倍性分析

染色体是生物遗传物质的主要载体, 染色体的数目、形态及结构特征代表一个物种的种属特性, 具有稳定性, 鉴定物种倍性最直观准确的方法是染色体核型分析。流式细胞仪具有制样简单、快速、准确、重复性高等特点, 现已成为分析DNA含量和鉴定倍性的常用方法^[24—26]。草鱼、赤眼鲮及杂交F₁核型和倍性结果同答瑞光等^[27]、舒琥等^[28]、金万昆^[15]研究一致, 染色体总数2n=48, 为二倍体个体, 核型和臂数略有差异, 可能是由药物浓度、处理时间或地理因素引起核型略有差异^[29]。鱼类远缘杂交后代的存活主要取决于亲本间的相容性, 一般属种间杂交的相容性较强, 如红鲫(*Carassius auratus red variety*, ♀)×湘江野鲤(*Cyprinus carpio*, ♂)^[30, 31]、方正银鲫(*Carassius auratus*, ♀)×兴国红鲤(*Cyprinus carpio* var. *Singunensis*, ♂)^[32]、青鱼(*Mylopharyngodon piceus*, ♀)×草鱼(*grass carp*, ♂)^[33, 34]、团头鲂(*Megalobrama amblycephala*, ♀)×翘嘴红鲌(*Erythroculter ilishaeformis*, ♂)^[35]等杂交均获得了后代。金万昆^[36]指出, 当父母本染色体数量相同或母本染色体数目大于父本时, 两者间的杂交是相容的, 可得到后代。本研究中华草鱼染色体数目与赤眼鲮相等, 均为48条, 两者杂交获得的后代经染色体核型分析鉴定出其染色体数目与亲本相同, 推测可能因草鱼与赤眼鲮为同一亚科, 染色体间的相容性较高, 在减数分裂时正常形成配子, 正常受精, 从而使后代染色体数与亲本保持一致。远缘杂交通常形成多种倍性后代, 如草鱼与三角鲂(*Magalobrama Tarminalis*)^[37]、草鱼与鳊鱼(*Aristichthys nobilis*)^[38]杂交产生三倍体子代, 鲤(*Cyprinus carpio*)和鲫(*Carassius auratus*)杂交可形成异源四倍体^[39]。在本研究中, 经流式细胞术检测杂交F₁细胞核DNA含量证实其为二倍体群体, 暂未发现三倍体个体, 说明双亲染色体在减数分裂过程中染色体行为可能

为均等分配、均等结合, 形成二倍体子代。

3.2 草鱼(♀)×赤眼鳟(♂)杂交F₁的育性分析

肉眼观察, 与同龄赤眼鳟相比杂交F₁的1、2龄个体性腺基本未发育, 绝大多数呈细线状或被脂肪覆盖, 难以辨认, 该现象与1、2龄黄金鲈(*Perca flavescens*)与伊犁鲈(*Perca achrenki*)杂交后代^[40]的性腺发育状况相似; 3—5龄多数两侧不对称, 雌雄性腺指数显著低于同期赤眼鳟。切片发现, 杂交F₁卵巢和精巢的前期发育程序基本正常。杂交F₁卵巢结构与赣昌鲫(*Carassius cuvieri*, ♀ × *Cyprinus carpio* var. *singuanensis*, ♂)^[18]既有相似又有不同, 相似之处表现为少数卵细胞发生卵黄消解, 不能正常发育成成熟卵子, 不同之处在于部分杂交F₁的3—5龄卵巢可产生成熟卵细胞并繁殖后代。精巢内精原细胞均可发育至精子细胞时期, 但无任何精子细胞完成变态发育成为精子, 与三倍体湘云鲫(*Carassius auratus Triploid*)^[41]精巢结构有相同点。生产中3—5龄杂交F₁中三分之二的雌性可正常排卵受精产生子代, 性成熟年龄与草鱼一致; 繁殖期挤压高龄(3—5龄)雄性F₁, 未发现排精个体, 这与兴淮鲫^[19]的性腺发育情况较为相似, 可能存在败育现象。挤压同龄草鱼(♂)和赤眼鳟(♂)腹部, 不论个体大小均有卵子和精液排出。草鱼(♀)×赤眼鳟(♂)杂交F₁性腺结构分析和实践研究证明, 部分雌性杂交F₁ 3龄开始性成熟, 具有可育性; 雄性直至5龄仍未发现排精现象, 也未发现精细胞异常, 只是暂无精子形成, 其生育性能有待进一步考究。

3.3 染色体核型与生育性能的相关性

染色体数目和核型不同的亲本杂交时会引起彼此间某些等位基因组合发生紊乱^[18], 染色体数目相同而核型不同的亲本杂交时同样会引起个别等位基因组合发生紊乱, 致使胚胎发育受阻, 影响生物个体育性^[42]。草鱼与赤眼鳟为属间杂交, 获得的杂交后代证实两亲本的染色体间存在较强相容性。在可辨别性别的杂交F₁群体中, 杂交F₁群体中雌雄比为1:3, 与亲本自然群体比例有差异, 导致性别分化的具体原因有待进一步探究。远缘杂交子代的性腺发育情况较为复杂, 本研究从个体和组织水平, 初步确定杂交F₁雌性中存在正常个体和异常个体, 推测可能是亲本间的某个等位基因存在某种抑制或干扰, 导致在不同子代个体中基因的表达有差异。从目前来看, 草鱼(♀)×赤眼鳟(♂)杂交F₁的性腺发育具有复杂性, 今后可从性别相关基因的表达、激素含量的高低以及利用SSR标记等方面对其展开进一步的深入研究。

参考文献:

- [1] Wang Q, Zeng W, Liu C, et al. Complete genome sequence of a reovirus isolated from grass carp, indicating different genotypes of GCRV in China [J]. *Journal of Virology*, 2012, **86**(22): 12466
- [2] Liu Q L. Studies on genetic characteristics and grass carp reovirus resistance of F₁ hybrids between grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) and barbel chub (*Squaliobarbus curriculus*) [D]. Thesis for Master of Hunan Agricultural University. 2013 [刘巧林. 草鱼与赤眼鳟杂交F₁遗传特征及对草鱼呼肠孤病毒抗性的研究. 湖南农业大学. 2013]
- [3] Jin X L, Jin H, Wang M L, et al. Comparison of genetic characteristics between the F₁ hybrid (*Ctenopharyngodon idella* × *Squaliobarbus curticulus*) and its parents [J]. *Life Science Research*, 1999, **3**(4): 316—320 [金燮理, 金宏, 王明龙, 等. 草鱼×赤眼鳟F₁与其亲本遗传性状的比较研究. 生命科学研究, 1999, **3**(4): 316—320]
- [4] Jin X L, Chen E M. The key biological characteristics of the F₁ hybrid (*Ctenopharyngodon idella* × *Squaliobarbus curticulus*) [J]. *Current Fisheries*, 2002, **27**(8): 19 [金燮理, 陈尔曼. 草鱼×赤眼鳟杂种一代主要生物学特征. 内陆水产, 2002, **27**(8): 19]
- [5] Jin X L, Tian X C, Zeng G Q, et al. Preliminary study for multiplication and seed cultivation of *Ctenopharyngodon idella* × *Squaliobarbus curticulus* hybridisation [J]. *Current Fisheries*, 1997, (12): 6—7 [金燮理, 田习初, 曾国清, 等. 草鱼与赤眼鳟杂交繁殖及苗种培育的初步研究. 内陆水产, 1997, (12): 6—7]
- [6] He M F, Xiao T Y, Liu Q L, et al. Morphological characteristics analysis of *Ctenopharyngodon idellus*, *Squaliobarbus curriculus* and their reciprocal hybrids F₁ [J]. *Journal of Hunan University of Arts and Science (Science and Technology)*, 2015, (4): 36—42 [何美凤, 肖调义, 刘巧林, 等. 草鱼、赤眼鳟及其杂交F₁的形态差异分析. 湖南文理学院学报(自然科学版), 2015, (4): 36—42]
- [7] Li D, Li W, Xiao T Y, et al. Comparative study on muscle texture between the crossbreed F₁ generation from grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) (♀) × barbel chub (*Squaliobarbus curriculus*) (♂) and their parents [J]. *Journal of Natural Science of Hunan Normal University*, 2016, (3): 28—33 [李迪, 李伟, 肖调义, 等. 草鱼(♀)×赤眼鳟(♂)杂交F₁与其亲本的肌肉特性比较研究. 湖南师范大学自然科学学报, 2016, (3): 28—33]
- [8] Sun N. Molecular cloning and expression analysis of troponin gene from (*Ctenopharyngodon idellus*) (♀) ×

- Barbel Chub (*Squaliobarbus curriculus*) (♂) and their parents [D]. Thesis for Master of Hunan Agricultural University. 2015 [孙念. 草鱼(♀)×赤眼鲮(♂)F₁及其亲本的肠道结构和功能比较研究. 湖南农业大学. 2015]
- [9] Li X L, Sun N, Xiao T Y. Comparative research on digestive enzyme activity of *Ctenopharyngodon idellus*, *Squaliobarbuscurriculus* and their reciprocal hybrids F₁ [C]. In: Academic annual meeting abstract of 2016 Chinese Fisheries Society, Sichuan, Chengdu. 2016, 359 [李雪林, 孙念, 肖调义. 草鱼、赤眼鲮及其杂交F₁消化酶活性比较研究. 2016年中国水产学会学术年会论文摘要集. 中国四川成都. 2016, 359]
- [10] Li W, Li D, Xiao T Y, et al. Comparison the muscle nutritional characteristics on Grass carp *Ctenopharyngodon idellus* (♀), barbel chub *Squaliobarbus curriculus* (♂) and their crossing generation F₁ [J]. *Journal of Hunan Agricultural University (Natural Sciences)*, 2017, (1): 52—57 [李伟, 李迪, 肖调义, 等. 草鱼和赤眼鲮及其正交F₁代的肌肉营养特性比较. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2017, (1): 52—57]
- [11] Peng H Z, Liu M, Liu Q L, et al. Molecular cloning and tissue expression analysis of *Mx* gene in *Squaliobarbus curriculus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2014, **38**(6): 993—1001 [彭慧珍, 刘敏, 刘巧林, 等. 赤眼鲮*Mx*基因全长cDNA克隆及其经GCRV攻毒后的组织表达分析. 水生生物学报, 2014, **38**(6): 993—1001]
- [12] Wang R H, Li W, Wang X D, et al. The difference of structural and expression characteristic against GCRV of TLR22 in barbel chub and grass carp [C]. In: Academic annual meeting abstract of 2016 Chinese Fisheries Society, Sichuan, Chengdu. 2016, 109 [王荣华, 李伟, 汪小冬, 等. 赤眼鲮和草鱼TLR22结构及GCRV感染时表达特性比较. 2016年中国水产学会学术年会. 中国四川成都. 2016, 109]
- [13] Li C, Mao H H, Jiang Y S, et al. Karyotype analysis of Siamese fighting fish *Betta splendens* [J]. *Journal of Dalian Ocean University*, 2013, **28**(6): 553—556 [李岑, 毛欢欢, 姜玉声, 等. 泰国斗鱼的染色体组型分析. 大连海洋大学学报, 2013, **28**(6): 553—556]
- [14] Li Z, Xiang K H, Zou Y C, et al. Analysis on karyotype and DNA content of *Opniocephalus argus* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2016, **46**(3): 104—108 [李中, 向科翰, 邹远超, 等. 白乌鳢染色体核型和DNA含量分析. 淡水渔业, 2016, **46**(3): 104—108]
- [15] Jin W K. Distant Hybridization Experimental Report of Freshwater Fish [M]. Beijing: Agricultural Science and Technology Press of China. 2009, 210 [金万昆. 淡水鱼类远缘杂交实验报告. 北京: 中国农业科学技术出版社. 2009, 210]
- [16] Li Y Y. The karyotype of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) (♀) × barbel chub (*Squaliobarbus curriculus*) (♂) and their parents [D]. Thesis for Master of Hunan Agricultural University, 2014, 18—41 [黎玉元. 草鱼、赤眼鲮及其杂交F₁染色体核型比较分析. 湖南农业大学, 2014, 18—41]
- [17] Liu S J, Hu F, Zhou G J, et al. Gonadal structure observation in breeding season of the triploid crucian carp [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2000, **24**(4): 301—306 [刘少军, 胡芳, 周工建, 等. 三倍体湘云鲫繁殖季节的性腺结构观察. 水生生物学报, 2000, **24**(4): 301—306]
- [18] Chen D Y, Li D, Ou Y M, et al. Gonadal structure observation in Ganchang hybrid crucian (*Carassius cuvierius* ♀×*Cyprinus carpio* var. *singuanensis* ♂) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2013, **37**(4): 698—704 [陈道印, 李达, 欧阳敏, 等. 赣昌鲫(日本白鲫♀×兴国红鲤♂)的性腺结构观察. 水生生物学报, 2013, **37**(4): 698—704]
- [19] Zhang K J, He Y M, Zhang J L, et al. Studies on the gonadal development of the Xinghuai hybrid crucian carp [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1995, **19**(1): 58—64 [张克俭, 何玉明, 张景龙, 等. 兴淮鲫(白鲫♀×散鳞镜鲤♂)性腺晚发育的研究. 水产学报, 1995, **19**(1): 58—64]
- [20] Liu S J, Sun Y D, Li S F, et al. Analysis of gonadosomatic indexes of the triploid crucian carp [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2002, **26**(2): 111—114 [刘少军, 孙远东, 黎双飞, 等. 三倍体湘云鲫性腺指数分析. 水产学报, 2002, **26**(2): 111—114]
- [21] Shu H, Cai X Y, Liu F, et al. Karyotypes analysis for three species of tetraodontiformes fishes [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2010, **45**(2): 101—106 [舒璇, 蔡晓阅, 刘锋, 等. 鲀形目3种鱼的染色体组型分析. 动物学杂志, 2010, **45**(2): 101—106]
- [22] Levan A, Fredga K, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes [J]. *Hereditas*, 1964, **52**(2): 201—220
- [23] Geng B, Sun X W. The application of Flow cytometry on the DNA content and ploidy analysis of hydrophily organisms [J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2008, **21**(2): 21—24 [耿波, 孙效文. 流式细胞术在水生生物DNA含量和倍性分析中的应用. 水产学杂志, 2008, **21**(2): 21—24]
- [24] Zhang Z S, Dong C W, Zhao J, et al. Analysis of ploidy of the Multiple Pengze Crucian carp based on DNA con-

- tents [J]. *Journal of South China Normal University (Natural Sciences)*, 2006, **1**(1): 99—103 [张之晟, 董成稳, 赵俊, 等. 基于DNA含量的复合鲫倍性分析. 华南师范大学学报(自然科学版), 2006, **1**(1): 99—103]
- [25] Yan X C, Liang L Q. The Analysis and comparison of karyotypes and DNA contents in backcross progeny of common carp and crucian carp [J]. *Chinese Journal of Fisheries*, 2014, **27**(1): 8—11 [闫学春, 梁利群. 鲤鲫杂交回交鲫染色体核型及DNA含量的分析. 水产学杂志, 2014, **27**(1): 8—11]
- [26] Wu Y Q, Chang R F, Cheng H H. The principle and method of ploidy analysis by flow cytometry [J]. *Journal of Yunnan Agricultural University*, 2006, **21**(4): 407—409 [吴雅琴, 常瑞丰, 程和禾. 流式细胞术进行倍性分析的原理和方法. 云南农业大学学报, 2006, **21**(4): 407—409]
- [27] Zan R G, Song Z. Analysis and comparison between the karyotypes of *Ctenopharyngodon idellus* and *Megalobrama amblycephala* [J]. *Acta Genetica Sinica*, 1979, **6**(2): 205—210 [咎瑞光, 宋峥. 草鱼、团头鲂染色体组型的分析比较. 遗传学报, 1979, **6**(2): 205—210]
- [28] Shu H, Liu Y B, Wei Q L, et al. Studies on chromosome karyotype, Ag-NORs and C-banding patterns of wild *Ctenopharyngodon idellus* and *Squaliobarbus curriculus* in the Pearl River [J]. *Journal of Guangzhou University (Natural Sciences)*, 2014, **13**(2): 53—59 [舒璇, 刘远波, 魏秋兰, 等. 珠江野生草鱼、赤眼鳟的核型、银染和C带比较研究. 广州大学学报(自然科学版), 2014, **13**(2): 53—59]
- [29] Zhu D M, Yang K, Wang W M, et al. Cytogenetic analysis of Chinese sucker *Myxocyprinus asiaticus* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2013, **20**(3): 682—688 [祝东梅, 杨坤, 王卫民, 等. 中国胭脂鱼的细胞遗传学分析. 中国水产科学, 2013, **20**(3): 682—688]
- [30] Liu S J. Distant hybridization generate different ploidy fish [J]. *Scientia Sinica Vitae*, 2010, **40**(2): 104—114 [刘少军. 远缘杂交导致不同倍性鱼的形成. 中国科学: 生命科学, 2010, **40**(2): 104—114]
- [31] Sun Y D, Liu S J, Zhang C, et al. The chromosome number and gonadal structure of F₉-F₁₁ allotetraploid crucian carp [J]. *Acta Genetica Sinica*, 2003, **30**(5): 414—418 [孙远东, 刘少军, 张纯, 等. 异源四倍体鲫鲤F₉-F₁₁染色体和性腺观察. 遗传学报, 2003, **30**(5): 414—418]
- [32] Qu Y J, Li J E, Zhou H T. Larval development and growth of intergeneric crossing of Sparidae fishes [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2000, **7**(2): 110—112 [区又君, 李加儿, 周宏团. 鲷科鱼类属间远缘杂交的发育和生长. 中国水产科学, 2000, **7**(2): 110—112]
- [33] Changjiang Fisheries Research Institute, Department of Biology in Wuhan University. A preliminary study on several kinds of economic fish and their hybrid chromosomes [J]. *Freshwater Fisheries*, 1975, (2): 11—13 [长江水产研究所育种室, 武汉大学生物系动物教研室. 几种经济鱼类及其杂种染色体的初步研究. 淡水渔业, 1975, (2): 11—13]
- [34] Cultivation of *Mylopharyngodon piceus* and *Ctenopharyngodon idellus* hybrids [J]. *Freshwater Fisheries*, 1973, (1): 10—14 [青鱼和草鱼杂交种的培育. 淡水渔业科技动态, 1973, (1): 10—14]
- [35] Ge L R. The Biological characteristics and Genetic analysis of the F₁ hybrid of *Megalobrama amblycephala* (♀)×*Erythroculteril ishaeformis* (♂) [D]. Thesis for Master of Hunan Normal University. 2011 [葛玲瑞. 团头鲂(♀)×翘嘴红鲌(♂)杂交F₁的生物学特征及遗传分析. 湖南师范大学. 2011]
- [36] Jin W K, Yu L, Yang J X, et al. Biological characteristics of F₁ hybrid generations from *Squaliobarbus curriculus* (♀)×*Aristichthys nobilis* (♂) [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2012, **19**(4): 611—619 [金万昆, 俞丽, 杨建新, 等. 赤眼鳟(♀)与鳙(♂)杂交子代生物学特性. 中国水产科学, 2012, **19**(4): 611—619]
- [37] Liu S Y. Studis on cytogenetics of *Ctenopharyngodon idellus*, *Megalobrama terminalis* and their triploid F₁ hybrid [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1987, **11**(1): 52—58 [刘思阳. 三倍体草鳊杂种及其双亲的细胞遗传学研究. 水生生物学报, 1987, **11**(1): 52—58]
- [38] Beck M L, Biggers C J, Dupree H K. Karyological analysis of *Ctenopharyngodon idella*, *Aristichthys nobilis*, and their F₁ hybrid [J]. *Transactions of the American Fisheries Society*, 1980, **109**(4): 433—438
- [39] Cherfas N B, Gomelsky B I, Emelyanova O V, et al. Induced diploid gynogenesis and polyploidy in crucian carp, *Carassius auratus gibelio* (Bloch), × common carp, *Cyprinus carpio* L. hybrids [J]. *Aquaculture Research*, 2010, **25**(9): 943—954
- [40] Wang J, Liu Q H, Shi Z Y. Analysis of growth and gonadal development in hybrids between *Perca flavescens* and *Perca schrenk* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2009, **39**(5): 7—12 [王佳, 刘青华, 施志仪. 黄金鲈与伊犁鲈杂交后代生长性能及杂交鲈性腺发育分析. 淡水渔业, 2009, **39**(5): 7—12]
- [41] Liu S J, Sun Y D, Li S F, et al. Analysis of gonadosoma-

tic indexes of the triploid crucian carp [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2002, **26**(2): 111—114 [刘少军, 孙远东, 黎双飞, 等. 三倍体湘云鲫性腺指数分析. 水产学报, 2002, **26**(2): 111—114]

[42] Gui J F, Zhou L. Genetic basis and breeding application of clonal diversity and dual reproduction modes in polyploid *Carassius auratus gibelio* [J]. *Science China Life Sciences*, 2010, **53**(4): 409—415

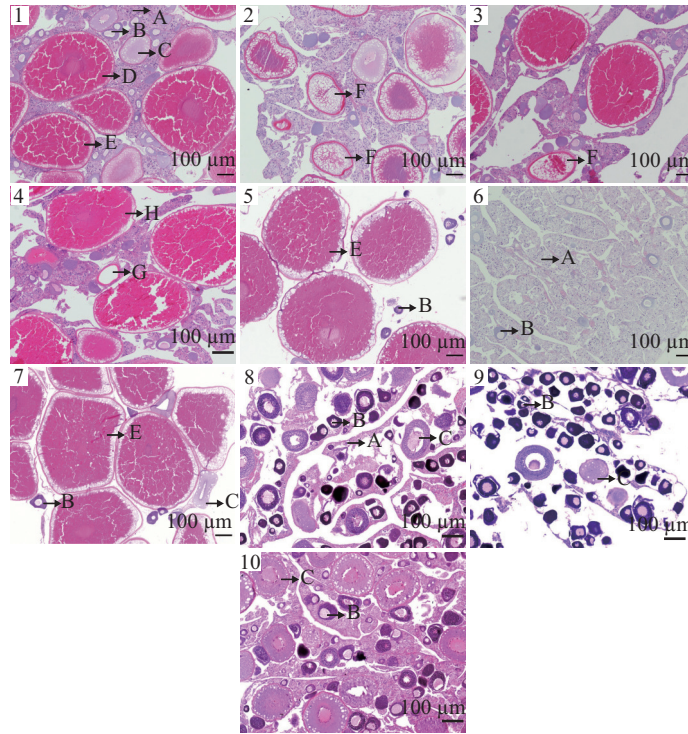
THE STUDY OF PLOIDY AND FERTILITY OF THE HYBRID F₁ OF *CTENOPHARYNGODON IDELLUS*♀× *SQUALIOBARBUS CURRICULUS*♂

QIAO Qing¹, LIU Qiao-Lin^{1,2}, XIAO Tiao-Yi^{1,2}, ZHAO Xin¹, DENG Ya-Lin¹, WANG Rong-Hua¹,
LI Yu-Yuan¹ and HE Mei-Feng¹

(1. Hunan Engineering Research Center for Utilization of Characteristics of Aquatic Resources, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. Collaborative Innovation Center for Efficient and Health Production of Fisheries in Hunan Province, Changde 415000, China)

Abstract: The chromosome karyotype, DNA content of nucleus of erythrocyte and the characteristics of gonad development were studied to explore the ploidy and fertility of the hybrid F₁ of *Ctenopharyngodon idellus*♀×*Squaliobarbus curriculus*♂ in reproduction and non-breeding seasons. The results shown that the number of chromosome was 2 n=48, and that the karyotype formula was 2 n=26 m+20 sm+2 st, NF=94, and that the terminal chromosome, satellite and the secondary constriction were not observed. The DNA content of erythrocyte in hybrid F₁ was (3.21±0.61) pg/N that was 1.29 times compared with chicken. The results of anatomical observation and histological section showed two types of ovary. One type was normally developed with different developmental stages of oocytes that could be used to produce next generation; the other type could develop to phase IV and gradually became abnormal in phase V with the degraded yolk granules or without egg yolk. The testis-type of gonad mainly included primary spermatocytes, secondary spermatocytes and spermatozoons, but without mature sperm; partial lobules were full of connective tissue or adipocyte and few androcytes. Until now, semen had not been found in the production practice. In conclusion, the hybrid F₁ is diploid; partial female is fertility and the male may be infertility.

Key words: Hybrid F₁; Karyotype; Contents of DNA; Gonad; Ploidy; Gonad development

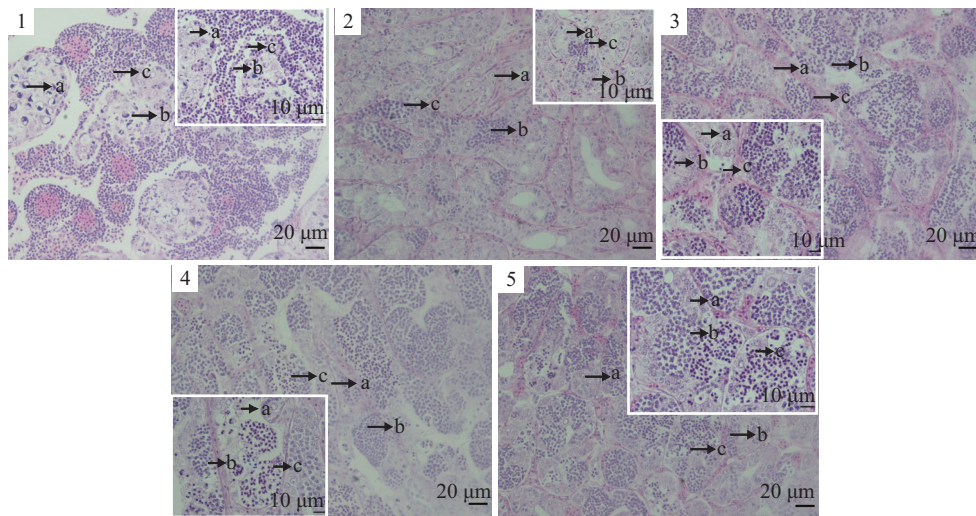


图版 I

Plate I

1. 5龄杂交F₁; 2. 3龄杂交F₁; 3、4. 4龄杂交F₁; 5. 5龄赤眼鳟; 6. 3龄杂交F₁; 7. 3龄赤眼鳟; 8. 2龄杂交F₁; 9. 3龄杂交F₁; 10. 4龄杂交F₁, 均为100倍下的视野; 图中A代表第I时相卵母细胞; B代表第II时相卵母细胞; C代表第III时相卵母细胞; D代表第IV时相卵母细胞; E代表第V时相卵母细胞; F代表卵黄颗粒减少、油滴增加的第V时相卵母细胞; G代表无卵黄空洞状卵细胞; H代表正常成熟卵细胞

1. the 5-year-old hybrid F₁; 2. the 3-year-old hybrid F₁; 3, 4. the 4-year-old hybrid F₁; 5. the 5-year-old *S. curriculus*; 6. the 3-year-old hybrid F₁; 7. the 3-year-old *S. curriculus*; 8. the 2-year-old hybrid F₁; 9. the 3-year-old hybrid F₁; 10. the 4-year-old hybrid F₁, all the pictures are at 100 times; in the figure, the letter A represents the I phase oocytes; the letter B represents the II phase oocytes; the letter C represents the III phase oocytes; the letter D represents the IV phase oocytes; the letter E represents the V phase oocytes; the letter F represents the V phase oocytes with few yolk granules and many oil droplets; the letter G represents the V phase oocytes with no egg yolk; the letter H represents the ovum

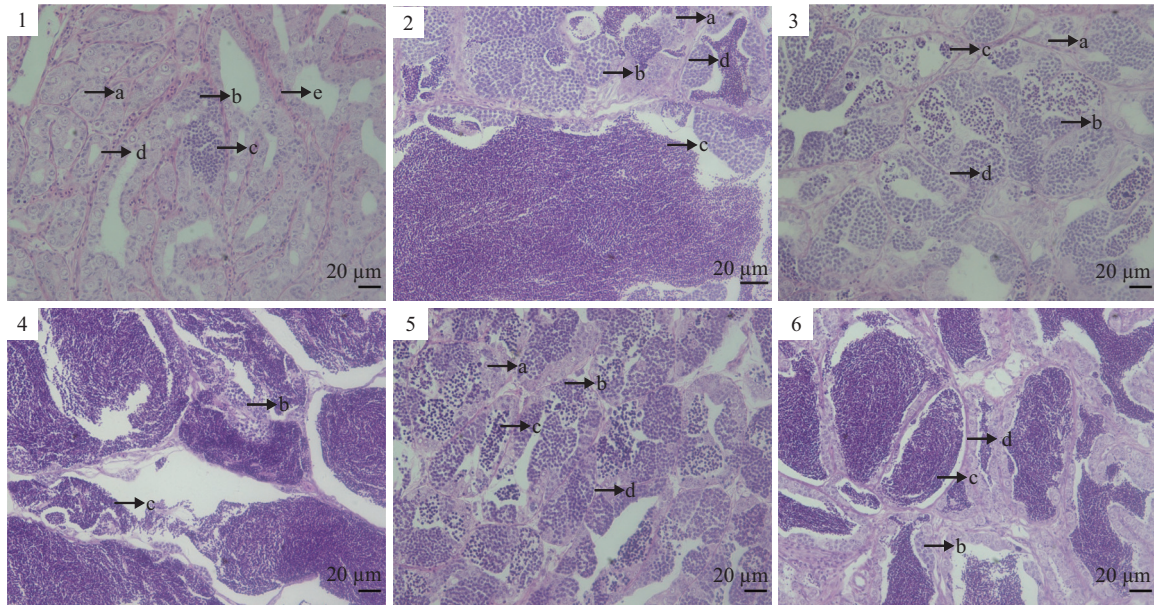


图版 II

Plate II

1. 1龄杂交F₁; 2. 2龄杂交F₁; 3. 3龄杂交F₁; 4. 4龄杂交F₁; 5. 5龄杂交F₁, 均为400倍和1000倍下视野

1. the one year old hybrid F₁; 2. the 2-year-old hybrid F₁; 3. the 3-year-old hybrid F₁; 4. the 4-year-old hybrid F₁; 5. the 5-year-old hybrid F₁. The pictures all are at 400 times and 1000 times

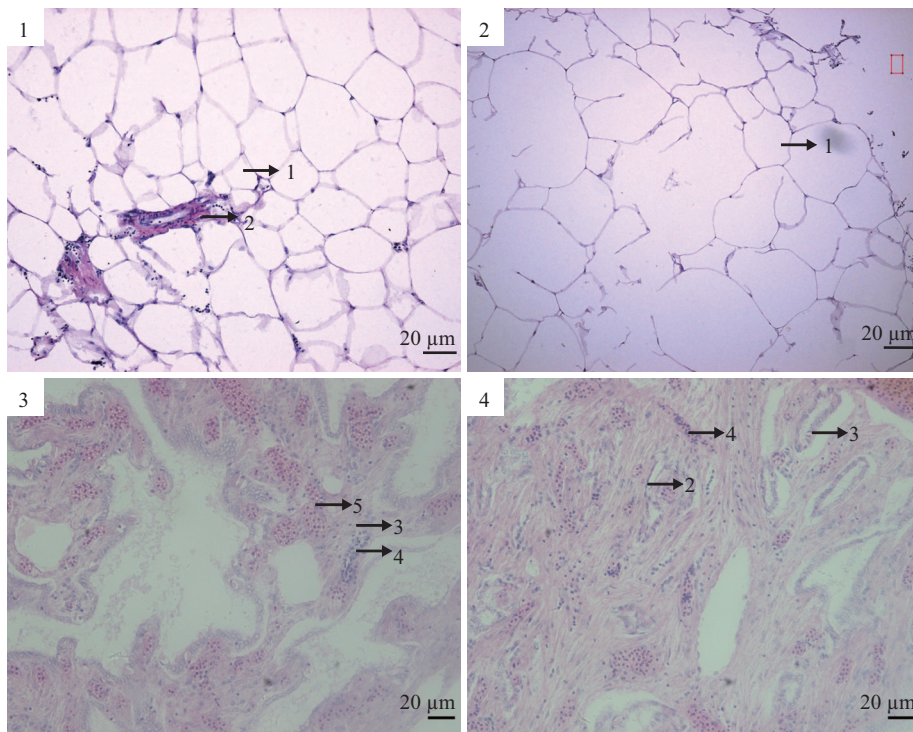


图版 III

Plate III

1、2. 杂交F₁和赤眼鳟精巢, 均为3龄; 3、4. 杂交F₁和赤眼鳟精巢, 均为4龄; 5、6. 杂交F₁和赤眼鳟精巢, 均为5龄; 1—6均为400倍下视野; 图中a代表初级精母细胞; b代表次级精母细胞; c代表精子细胞; d代表精小囊; e代表结缔组织

The pictures 1 and 2 represent 3-year-old hybrid F₁ and *S. curriculus* respectively; the pictures 3 and 4 represent 4-year-old hybrid F₁ and *S. curriculus* respectively, the pictures 5 and 6 represent 5-year-old hybrid F₁ and *S. curriculus* respectively, the pictures are at 400 times; in the figure, the letter a represents primary spermatocyte (PSC); the letter b represents secondary spermatocyte (SSC); the letter c represents spermatid (ST); the letter d represents lobules; the letter e represents connective tissue



图版 IV

Plate IV

1. 1龄杂交F₁; 2. 2龄杂交F₁; 3. 3龄杂交F₁; 4. 4龄杂交F₁, 均为400倍下视野; 图中数字1代表脂肪组织, 2代表结缔组织; 3代表初级精母细胞; 4代表次级精母细胞; 5代表血细胞

1. the one year old hybrid F₁; 2. the 2-year-old hybrid F₁; 3. the 3-year-old hybrid F₁; 4. the 4-year-old hybrid F₁; all the pictures are at 400 times; in the figure, the number 1 represents adipose tissue; the number 2 represents connective tissue; the number 3 represents primary spermatocyte (PSC); the number 4 represents secondary spermatocyte (SSC); and the number 5 represents blood cells