

金鱼单尾鳍形成的研究

I. 卵质对尾鳍发育的影响*

蔡难儿

(中国科学院海洋研究所, 青岛)

提要 应用玻璃针或微吸管对分裂的金鱼 (*Carassius auratus*) 卵子进行不同分裂面的分割, 或进行不同方向卵质的切割, 或吸去部分卵黄质。结果是: 采用上述三种方法后所发育的小鱼, 都能得到一定数量的单尾鳍鱼。更有趣的是, 一个已分裂的卵子分成两部分所形成的两条小鱼, 其中一条形成单尾鳍, 而另一条是双尾鳍。实验表明: 金鱼单或双尾鳍的形成是与卵质有着密切关系的。这是因为, 卵质中的某种物质——“调节因子”, 存在于植物性半球卵黄囊中的一侧。该调节因子负有调控双尾鳍形成的作用: 如果这种物质被分在分离的两部分卵子中, 便形成两条双尾鱼; 倘若进入其中之一, 则会产生一条双尾, 一条单尾。

关于鱼类卵子的发育能力, 已有不少研究^[1-3, 9-12]。所有的实验都集中阐明鱼类胚胎发育上的一个至关重要的问题——卵子植物性半球存在着一种能成胚胎的物质 (或称组织物质), 有此种物质的存在, 便可形成有器官分化的胚胎或个体。然而, 在以金鱼为材料的研究中, 只观察到胚胎能否形成, 或神经、脊索、肌肉组织能否分化为止, 至于手术后, 性状进一步的发育, 尤其是尾鳍的变化, 却没有予以应有的注意。

本实验是通过对卵子的分割, 卵质的切除和卵黄质的部分去除, 观察卵质对胚胎发育的影响。

一、材料和方法

以金鱼 (*Carassius auratus*)——红龙睛、黑龙睛作为实验材料。实验是1983年进行的。

在繁殖季节, 将从性成熟的鱼挤出的卵子置于培养皿中进行人工授精, 10min后, 用镊子剥去卵膜, 然后置于含有1倍的 Holtfreter 溶液的手术杯中。用玻璃针切割或用玻璃微细管吸去部分卵黄质。手术杯底部涂一层很薄的冻粉。部分卵子置于低温(4~6℃)中保存, 以备待用。

1. 分割分裂球

2-cell-1 分裂面分割, 即在 2-cell 时期, 沿第一次分裂面分割成相等的两半; 4-cell-2 分裂面分割, 即在 4-cell 时期, 沿第二次分裂面分割; 8-cell-2 分裂面分割, 即在 8-

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第 1302 号。

收稿日期: 1986年3月3日。

cell 时期,沿第二次分裂面分割。

2. 切割卵质

以第一次分裂面作为 A 面,以第二次分裂面作为 B 面,切割 2-cell 或 8-cell A 面(或

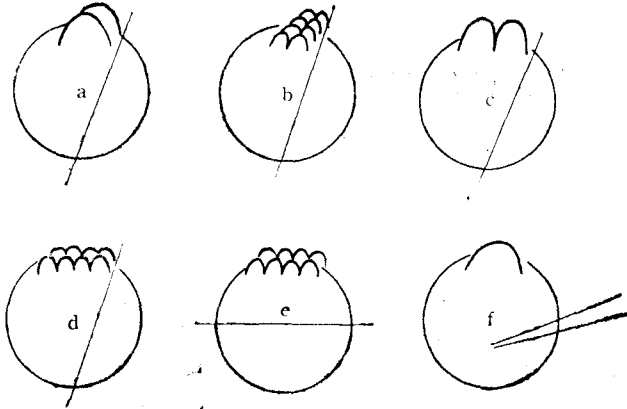


图 1 切割卵质和吸去卵黄质示意图

Fig. 1 Sketch map of cutting egg cytoplasm and sucking yolk material

a. 2-cell 期 切割第一次分裂面(A 面)一端卵质; b. 8-cell 期 切割第一次分裂面(A 面)一端卵质; c. 2-cell 期 切割第二次分裂面(B 面)一端卵质; d. 8-cell 期 切割第二次分裂面(B 面)一端卵质; e. 8-cell 期 沿赤道线切割; f. 1~16-cell 期吸去卵黄囊中卵质。

B 面)一端卵质,即在 2-cell 或 8-cell 时期,切去 A 面或 B 面两端的任何一侧卵质(从胚盘基部朝着植物极一端斜切)。图 1a, b 是以 A 面一端切割;图 1c, d 是从 B 面一端切割。切割 8-cell 半球卵质,即 8-cell 时期,在赤道线上切去植物性半球卵质,见图 1e;用玻璃微管在卵子发育不同时期,吸去卵黄囊中 1/4~1/3 卵黄质(图 1f)。

手术后 30min,将分割的卵子成对培养在冷开水中。在室温 19~23°C 下,发育 4 天或 6 天后,观察发育情况,统计尾鳍的变化。

尾鳍分单尾鳍和双尾鳍两

个类型统计,单尾鳍,包括标准型单尾鳍和尾鳍末端附有一小片鳍膜的单尾鳍鱼;双尾鳍,包括标准型双尾鳍和尾部末端有一个圆球状膨大的组织块或附有一片较大的鳍片。实验所得的单尾鳍鱼,有的培养到成鱼。

二、实验结果

1. 分割分裂球

卵子发育到不同时期,用玻璃针沿着不同的分裂面进行分割。结果见表 1。

(1) 2-cell-1 分裂面分割 共手术了 77 个卵子,只得 87 个胚胎:形成一对胚胎的有 15 对;形成一个胚胎的有 57 个。两者均能形成尾鳍的,有 46 尾小鱼,其中单尾鳍有 17 尾(15 尾标准型单尾,两尾尾鳍末端附有一小片鳍膜),占能形成尾鳍总数的 37%;其余 29 尾属于双尾鳍鱼(21 尾标准型,8 尾腹面尾鳍末端有一圆球组织块)。对照组 1 014 尾,其中单尾鳍 4 尾,占总数的 0.39%。

(2) 4-cell-2 分裂面分割 手术 25 个卵子,得 25 个胚胎。9 个能长出尾鳍,其中标准型单尾鱼有两尾,双尾鱼有 7 尾。对照组 561 尾,单尾鳍占总数的 0.18%。

(3) 8-cell-2 分裂面分割 一共实验 127 个卵子,能形成胚胎的有 114 个,其中 48 尾形成尾鳍——单尾鱼 22 尾(标准型 15 尾,附有小片鳍膜的 7 尾)占总数的 45.83%;双尾鳍 26 尾(54.17%);对照组 2 279 尾,其中单尾鳍鱼占总数的 0.26%。

三组实验表明,尾鳍的变化与卵子中的细胞质有着密切的关系。

表 1 沿第一、二次分裂面分割卵子的结果

Tab. 1 Cutting egg along 1st and 2nd cleavage plane

组别	不同时期 分割面	成胚数	尾鳍 形成数	单尾鳍		双尾鳍		对 照	
				标准型	非标准型	标准型	非标准型	单尾	双尾
1	2-cell-1 第一次分裂面	87	46	15 32.6%	2 4.4%	21 45.6%	8 17.4%	4 0.39%	1010
2	4-cell-2 第二次分裂面	25	9	2 22.2%		7 77.8%		1 0.18%	560
3	8-cell-2 第二次分裂面	114	48	15 31.25%	7 14.58%	25 52.09%	1 2.08%	6 0.26%	2273

2. 切割卵质

卵子在不同分裂面的任何一端,从胚盘基部朝着植物极一端斜切卵质,所切割的都能成活。结果见表 2。

(1) 切割 2-cell A 面一端卵质 第一次分裂面为 A 面,在其两端的任何一侧,切去卵质。一共形成 137 个胚胎,除去一尾无尾鳍外,其余均能形成尾鳍,其中形成标准型单尾鳍的鱼有 26 尾,占 19.1%;其余都是双尾(80.9%);对照组共 1402 尾,其中单尾 5 尾,占总数的 0.36%。

(2) 切割 2-cell B 面一端卵质 有 96 个卵子成胚。长出尾鳍的有 63 尾,其中两尾是单尾鳍,占 3.2%;双尾鳍的有 61 尾(96.8%);对照组共有 1143 尾,其中 4 尾为单尾鳍,占 0.35%。

(3) 切割 8-cell A 面一端卵质 有 113 个卵子长出了小鱼: 3 尾为标准型单尾, 1 尾有一小片尾鳍膜(两者占总数的 3.53%); 109 尾双尾(96.4%); 对照组 759 尾,单尾 5 尾,占总数的 0.66%。

(4) 切割 8-cell B 面一端卵质 25 个能形成尾鳍,其中两尾是单尾(8%); 23 尾是双尾(92%)。对照组 397 尾,其中出现 3 尾单尾鳍,占 0.76%。

表 2 沿第一、二次分裂面一端切割一侧卵质的结果

Tab. 2 Cutting egg cytoplasm of one side along 1st and 2nd cleavage plane

组别	不同时期 切割卵质面	实验数	尾鳍 形成数	单尾鳍		双尾鳍		对 照	
				标准型	非标准型	标准型	非标准型	单尾	双尾
1	2-cell-1 A 面一端	137	136	26 19.10%		110 80.90%		5 0.36%	1397
2	2-cell-1 B 面一端	96	63	2 3.20%		61 96.80%		4 0.35%	1139
3	8-cell-1 A 面一端	151	113	3 2.65%	1 0.88%	109 96.47%		5 0.66%	754
4	8-cell-2 B 面一端	26	25	1 4.00%	1 4.0%	23 92.00%		3 0.76%	394
5	8-cell 赤道线	46	46	1 2.17%		45 97.83%		0	350

(5) 切割 8-cell 赤道线下卵质 46 尾小鱼中只得 1 尾单尾鳍鱼, 占总数的 2.17%; 对照组 350 尾中无单尾出现。

从以上五组实验结果可以看出, 尾鳍的变化与卵质有密切的关系。在植物性半球中存在着某种物质, 这种物质负有调控双尾鳍形成的作用, 倘若缺乏此种物质, 便形成了单尾鳍鱼。该物质更多地分布在 A 面两端的一侧, 它随着胚胎的发育而逐渐流向于胚盘。

3. 分割形成一对胚胎的尾鳍变化

在分割分裂球成两半时, 多数卵子只能形成一个胚胎或一条小鱼; 另一半, 不是形成超囊胚, 就是解体死亡。但也有部分卵子分割成两半后, 却能发育成一对胚胎或一对小鱼。这些成对的小鱼, 尾鳍形态并非完全一致: 有的是双尾鳍, 有的都是单尾, 还有一条是单尾, 另一条是双尾。见表 3。

(1) 分割 2-cell 时期 手术 77 个卵子得 15 对胚胎(中途 3 对死亡), 其中一对都是单尾鳍的, 有 1 对; 一条单尾, 一条尾鳍末端膨大的, 有 1 对; 一条单尾, 一条双尾, 有 3 对; 整对都是双尾的, 有 3 对; 一条双尾, 一条无尾鳍的, 1 对; 还有头大尾小或头小尾大的不正常胚胎, 有 3 对。这一组的对照组 1 014 尾, 其中有 4 尾单尾, 占总数的 0.39%。

(2) 分割 4-cell 时期 沿第二次分裂面分割, 手术 25 个卵子, 只得 4 对胚胎, 其中 1 对是一条单尾, 一条双尾; 1 对是一条双尾, 一条无尾鳍; 两对不正常胚胎。对照组 561 尾, 其中单尾有 1 尾, 占总数的 0.18%。

(3) 分割 8-cell 时期 沿第二次分裂面分割, 分割 127 个卵子, 获得 7 对胚胎或小鱼。同样可得到 1 条单尾和 1 条双尾的小鱼。

三组实验尤其是在一对胚胎中, 有一条形成单尾, 而另一条形成双尾鱼。这个现象进一步表明: 卵质中存在一种物质, 这种物质控制着双尾鳍的形成。如果这种物质进入被分离的两部分卵子中之一, 就出现了一条单尾, 一条双尾。

表 3 一卵分割发育成两尾小鱼的尾鳍变化

Tab. 3 Changes of caudal fin in two larval fishs developed cutting one egg

组别	不同时期 切割面	手术 卵数 (个)	成对 小鱼数 (对)	两条单尾 (对)	一条单尾 一条尾膨大 (对)	一条单尾 一条双尾 (对)	两条双尾 (对)	一条双尾 一条无尾鳍 (对)	一头大尾小 一头小尾大 (对)	对照	
										单尾	双尾
1	2-cell-1 第一次分裂面	77	12	1	1	3	3	1	3	4 0.39%	1 010
2	4-cell-2 第二次分裂面	25	4			1		1	2	1 0.18%	560
3	8-cell-2 第二次分裂面	127	7		1	1	3	1	1	6 0.26%	2 273

4. 吸去部分卵黄质

胚胎发育到不同时期吸去卵黄囊中的部分卵黄质, 吸去的量约占整个卵子的 1/4~1/3。结果见表 4。

(1) 1-cell 时期吸去卵黄质 手术 33 个卵子, 能形成尾鳍的鱼有 30 尾, 其中标准型单尾鳍鱼 3 尾, 占能形成尾鳍总数的 10%。

(2) 2-cell 时期吸去卵黄质 实验 62 个卵子, 获得能长尾鳍的鱼有 29 尾, 其中标

表 4 吸去卵黄囊中部分卵黄质后尾鳍的变化

Tab. 4 Changes of caudal fin after sucking out some yolk materil in yolk sac

组别	吸去卵黄质时期	手术卵数(个)	尾鳍形成数	单尾鳍		双尾鳍	对 照	
				标准型	非标准型		单尾	双尾
1	1-cell	33	30	3 10.0%		27 90.0%	2 0.67%	295 99.3%
2	2-cell	62	29	2 6.9%	3 10.3%	24 82.8%	2 0.70%	281 99.3%
3	4-cell	7	2			2 100.0%		51 100%
4	8-cell	8	1			1 100.0%		30 100%
5	16-cell	8	4			4 100.0%		42 100%

准型单尾有两条,尾鳍末端附一小片鳍膜的有 3 尾,两者占总数的 17.2%,其余均为双尾(82.8%)。

(3) 4~16-cell 时期(3~5 组)吸去卵黄质 死亡率较高,三组共手术 23 个卵子,只得 7 条鱼,都是双尾。

实验表明:调控双尾鳍形成的物质,存在于卵黄囊之中,最初在植物性半球内,随着胚胎发育逐渐流向胚盘。

三、讨论与小结

1. 卵质中存在着调控双尾鳍形成的“调节因子”

卵子发育和分化中的一个中心议题,就是核质关系的研究。现在有证据表明,细胞核的活动是受细胞质所左右的。在卵子中的这些细胞质存在着异质性,并呈区域性分布^[1-9]。人们指出^[5]:这些异质性物质具有决定细胞分化的因子,称为“胞质决定子”,这种决定子作用于基因组,调控特定基因的表达。由于有各种“胞质决定子”的存在,所以细胞朝着不同方向分化。

现已查明,胞质决定子在动物卵子中的存在是普遍现象^[5]。然而,在以鱼类为材料的研究中,除了上述提及的,卵子中有一种建成胚胎构造的“组织物质”的存在外,其他阐述特异性决定子的存在,并未见过报道。

本文是以金鱼为材料,对卵细胞质如何影响尾鳍的分化作了实验观察。

从表 1,2 的结果可以看到,有相当一部分鱼形成了单尾,其出现率要比对照组高得多,最高可达 45% 左右(包括标准型和非标准型单尾)。更有趣的是,在 2~8 细胞时期,不论沿第一次分裂面还是第二次分裂面分割,能形成的一对小鱼中,均存在着一条是双尾而另一条是单尾的现象。这种现象,用卵质的缺失来解释,显然是很难令人满意的。因为分离或切割卵质的每个卵子,都失去一半或一部分的卵质,然而,有的发育成双尾,有的却发育成单尾。

基于上述现象,我们认为:金鱼双尾鳍或单尾鳍的形成与卵子中某种物质的存在有着密切关系,这种物质可视为“调节因子”,或者称“胞质决定子”,它负有调控双尾鳍形成的作用,或者是否可认为它负有对双尾鳍基因激活或开启的作用,使双尾鳍基因得以表达。有此种物质的存在,便可调控卵子发育成双尾鱼,否则,发育成单尾。如果这种物质或因子被分离在两部分卵子中,卵子便发育成两条双尾,倘若进入其中之一,则发育成一条双尾,一条单尾。分割卵子时,如果出现两条单尾,则有两种原因:第一,可能其本身是单尾鳍基因型,自然出现两条单尾;第二,控制双尾鳍的调节因子,手术时,可能受到破坏、损伤,因而出现两条单尾。

从这个实验可以进一步说明,控制基因的物质基础,存在于细胞质之中。胚胎所以能分化,也在于基因在不完全均质的卵细胞质中进行活动。这些异质性物质(或称胞质决定子,或称调节因子)对基因起着激活或抑制、开启或封闭的作用,致使特定基因在特定部位处于不同的活动,于是产生分化出各种不同的组织或器官。

2. 控制双尾鳍形成的调节因子在卵子中的位置

卵子中有一种调控双尾鳍形成的调节因子存在。那么,这种“因子”在卵子中位于何处呢?根据表2的实验结果:在2-cell时期,如果切割A面一端卵质,则有19.1%胚胎形成单尾鳍鱼,而切割B面一端卵质,却只有3.2%形成单尾鱼。这表明:调节因子不是均匀地分布在卵子之中,而在A面一端卵质含有更多的这种“因子”,倘若把它切掉,就会出现更多的单尾鳍鱼;而切割B面一端卵质,形成单尾甚少,说明B面一端卵质这种调节因子的分布较少。

根据吸去卵黄囊中的卵质和不同时期切割植物性半球卵质的实验,我们发现,调节因子是存在于卵黄囊之中的,而最初是靠近植物性半球一端,以后随着胚胎的发育而逐渐向胚盘流动,当卵子发育到8-cell时,它已到达胚盘了。

参 考 文 献

- [1] 王秋,1965. 鲮鱼卵子发育能力的研究. 实验生物学报 10(2): 106~111.
- [2] 童第周、吴尚勳、叶毓芬,1955. 经离心作用后鱼类卵子分割的研究. 实验生物学报 4(3,4): 365~383.
- [3] 童第周、李嘉泳、叶毓芬、吴尚勳,1951. 鱼类早期发长的研究. 山东大学学报 1(1): 40~51.
- [4] 蔡难儿、吴贤汉、吴尚勳,1985. 文昌鱼原肌球蛋白在卵球成熟过程中的出现. 实验生物学报 18: 361~367.
- [5] Davidson, E. H., 1976. Gene activity in early development. Academic press. New York, pp. 245~318.
- [6] Jeffery, W. R., 1984a. Pattern formation by ooplasmic segregation in ascidian eggs. Biol. Bull. 16: 277~289.
- [7] Maruyama, Y. K., Y. Kakaseko and S. Yagi, 1985. Localization of cytoplasmic determinants responsible for primary mesenchyme formation and gastrulation in the unfertilized egg of the sea urchin *Hemicentrotus pulcherimus*. J. Exp. Zool. 236: 155~163.
- [8] Nishikata, T., I. Mita-Miyazawa, T. Deno and N. Satoh, 1987. Muscle cell differentiation in ascidian embryos analyzed with a tissue-specific monoclonal antibody. Development 99: 163~171.
- [9] Oppenheimer, J. M., 1936b. Processes of localization in developing *Fundulus*. J. Exp. Zool. 73: 405~444.
- [10] Tung, T. C. and Y. F. Y. Tung, 1944. The development of egg fragments, isolated blastomers and fused eggs in the goldfish. Proc. Zool. Soc. Lon. 114:46~64.
- [11] Tung, T. C., C. Y. Chang and Y. F. Y. Tung, 1945. Experiments on the developmental potencies of blastoderms and fragments of teleostean eggs separated latitudinally. Proc. Zool. Soc. Lon. 115: 175~188.
- [12] Tung, T. C., C. Y. Lee and Y. F. Y. Tung, 1951. The development of constricted egg of *Carassius*. Sci. Rec. 4: 291~294.

STUDIES ON THE FORMATION OF SINGLE CAUDAL FIN OF THE GOLD FISH, *CARASSIUS AURATUS*

I. THE EFFECT OF THE CYTOPLASM ON THE DEVELOPMENT OF CAUDAL*

Cai Nan'er

(Institute of Oceanology, Academia Sinica, Qingdao)

ABSTRACT

The present paper deals with the formation of single caudal fin in the goldfish (*Carassius auratus*) by cutting the cleaving embryo, with a glass needle, into two parts along the desired plane or removing some cytoplasm from the developing embryo with a micropipette. The experiment was carried out in following three groups.

1. The fertilized egg was divided into two equal halves along the 1st or 2nd cleavage plane. The larval fish grown out of the fertilized eggs falls into three categories—(two) fish with double caudal fin, two with single caudal fin and the third group: one with double fin, one with single fin.

2. Cutting off some cytoplasm along the plane from the base of blastomeres to the vegetal pole at different stages of development. It was founded that the embryos so operated gave rise to more larval fish with single caudal fin than those in the control group.

3. Sucking out some yolk material using a micropipette. The experimental result showed that removing some yolk material induced the transformation of the caudal fin from the double to the single in the goldfish.

The available data support the hypothesis that, in the goldfish egg cytoplasm, there is a kind of substance regulating the double caudal fin formation within the vegetal yolk sac, preferentially on one side of the egg. If both of the two half embryos divided at early cleavage stage possess the substance, they would both develop into two fish with double caudal fin. If only one of them contains it, there would be only one fish having double caudal fin. The counterpart cut from the same egg with no such substance, formed single caudal fin.

* Contribution No. 1302 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.