自然科学基金项目进展专栏

论 文

不同倍性鱼肌间骨的比较分析

黎玲[†], 钟泽州[†], 曾鸣[†], 刘少军^{*}, 周毅, 肖军, 王军, 刘筠

湖南师范大学生命科学学院, 教育部蛋白质化学与鱼类发育生物学重点实验室, 长沙 410081

[†] 同等贡献^{*} 联系人, E-mail: lsj@hunnu.edu.cn

收稿日期: 2012-12-05; 接受日期: 2012-12-17

国家自然科学基金重点项目(批准号: 30930071)、国家自然科学基金重大国际合作项目(批准号: 31210103918)、湖南省自然科学基金创新研究群体基金项目(批准号: 10JJ7004)、国家公益性行业(农业)科研专项资金(批准号: 200903046)、国家高技术研究发展计划子课题(批准号: 2011AA100403)、国家重点基础研究发展计划前期项目(批准号: 2012CB722305)和国家、湖南省重点学科建设项目资助

摘要 采用常规测量法和解剖法对野生鲫(*Carassius auratus*, $2n=100$)、彭泽鲫(*Carassius auratus* variety pengze, $3n=162$)、改良三倍体鲫鱼(Triploid crucian carp, 即湘云鲫 2 号, $3n=150$)及其亲本改良二倍体红鲫(*Carassius auratus* red var, 改良红鲫, ♀, $2n=100$)和改良异源四倍体鲫鲤(Allotetraploid hybrid, 四倍体鲫鲤, ♂, $4n=200$) 5 种不同倍性鱼肌间骨的数目、形态和分布进行研究。结果显示, 野生鲫肌间骨数目在 78~83 之间, 平均值为 81 根, 彭泽鲫肌间骨数目在 80~86 之间, 平均值为 84, 四倍体鲫鲤肌间骨数目在 77~84 之间, 平均值为 82, 但是湘云鲫 2 号和改良红鲫的肌间骨数目比较少, 湘云鲫 2 号在 77~82 之间, 平均值为 79, 改良红鲫在 58~77 之间, 平均值为 71。考虑到不同倍性的鱼体大小和肌节数目的不同, 进一步统计了每一肌节的平均肌间骨数目, 野生鲫最多(0.721), 彭泽鲫次之(0.673), 改良红鲫最少(0.608), 湘云鲫 2 号次之(0.633), 四倍体鲫鲤位于中间(0.653), 除了两组湘云鲫 2 号与四倍体鲫鲤、四倍体鲫鲤和彭泽鲫外, 两两间都存在显著差异。5 种鱼的各种肌间骨有“T”形、“卜”形、“Y”形、一端多叉形、两端两分叉形、两端多叉形和树枝形 7 种类型。肌间小骨越靠前端, 形态越复杂。每条鱼左右两侧的肌间骨数目不完全相等, 但总体上两侧肌间骨的数目接近。在保持鱼的营养、形态和活动等基本生理功能的前提下, 湘云鲫 2 号的肌间刺数目比野生鲫和彭泽鲫都少, 所以它的食用价值较高。本研究结果说明, 改良二倍体红鲫和改良三倍体鲫鱼等人工培育的杂交鱼比野生鲫的肌间刺少, 为鱼类骨骼发育生物学和鱼类遗传育种提供了形态学基础。

关键词
肌间骨
髓弓小骨
脉弓小骨
形态
遗传育种

肌间骨(intermuscular bone, 又称肌间刺或肌间小骨)是指位于椎骨两侧肌间隔中的硬骨小刺, 由肌隔结缔组织骨化而成, 仅存在于真骨鱼类中, 且低等真骨鱼类(非棘鳍鱼类)也普遍存在肌间骨。根据肌间骨附着的位置可将其分为三类: 一是轴上肌肌节

之间的肌间小骨连接在髓弓上, 称为髓弓小骨(epineural bone), 二是轴下肌肌节之间的肌间小骨连接在脉弓上, 称为脉弓小骨(epipleural bone); 三是水平隔膜里的肌间小骨连在椎体上, 称为椎体小骨(epicentral bone)^[1]。这种小骨随着鱼类的演化而逐渐

引用格式: 黎玲, 钟泽州, 曾鸣, 等. 不同倍性鱼肌间骨的比较分析. 中国科学: 生命科学, 2013, 43: 189–200, doi: 10.1360/052012-353

英文版见: Li L, Zhong Z Z, Zeng M, et al. Comparative analysis of intermuscular bone in different ploidy fish. Sci China Life Sci, 2013, 56, doi: 10.1007/s11427-013-4465-5

减少, 到棘鳍鱼类的鲈形目则几乎全部消失^[2].

真骨鱼类开始出现形态比较简单的肌间骨, 随着鱼类由简单向复杂的演化, 肌间骨的形态也发生变化, 特别是演化到鲤科鱼类, 其肌间骨的形态已变得非常复杂^[3]. Patterson 和 Johnson^[2,4]对 125 属真骨鱼的代表种肌间小骨进行了详细的观察和分析, 其中描述了中国主要淡水养殖鱼类鲤科鱼中属的一种. 国内有关鱼类肌间小骨形态学的报道不多, 主要在有关鱼类系统解剖学专著中有所涉及^[5-7]. 早在 20 世纪 60 年代, 国内已经开始重视对鱼类肌间小骨的研究, 秉志^[8]报道了幼鲤(*Cyprinus carpio*)肌间小骨的形态学观察. 近年来, 董在杰等人^[9]对鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)、鳙(*Aristichthys nobilis*)、团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)和异育银鲫(*Carassius auratus gibelio*)等常见鲤科养殖鱼类肌间小骨进行了初步观察, 吕耀平等人^[10]对低等真骨鱼类肌间小骨的形态学进行了较系统地比较研究, 高维竞^[11]对草鱼肌间刺形态分布进行了初步研究, 柯中和等人^[12]对鲢鱼的肌间小骨做了形态学观察, 但对不同倍性鱼的肌间小骨形态学的观察研究报道很少. 本文以野生鲫(*Carassius auratus*, 2n=100)、彭泽鲫(*Carassius auratus variety pengze*, 3n=162)、三倍体鲫鱼(Triploid crucian carp, 即湘云鲫 2 号, 3n=150, 以雌性改良二倍体红鲫为母本、雄性改良四倍体鲫鲤为父本制备出具有显著改良性状的三倍体鲫鱼^[13])及其亲本改良二倍体红鲫(*Carassius auratus red var*, 改良红鲫, ♀, 2n=100)和改良异源四倍体鲫鲤(Allotetraploid hybrid, 四倍体鲫鲤, ♂, 4n=200), 5 种不同倍性鱼为研究对象, 对其肌间骨的数目、形态和分布进行了详细的观察和分析. 在保持鱼的营养、形态和活动等基本生理功能的前提下, 湘云鲫 2 号的每一肌节的平均肌间骨数目比野生鲫和彭泽鲫少; 改良二倍体红鲫和改良三倍

体鲫鱼比野生鲫的肌间刺少等, 为鱼类骨骼发育生物学和鱼类遗传育种提供了形态学基础.

1 材料与方法

1.1 材料来源

本实验采用的野生鲫取自洞庭水系, 彭泽鲫购自湖南师范大学二里半鱼市场, 湘云鲫 2 号、改良二倍体红鲫和改良异源四倍体鲫鲤均取自湖南师范大学教育部多倍体鱼类繁殖及育种技术工程研究中心. 实验鱼的样本数均为 15 条. 几种鱼的规格见表 1(数据结果以 $\bar{x} \pm SD$ 表示).

1.2 测量、计数、拍 X 光片

外部形态采用传统的测量方法. 用两脚规、量鱼板和游标卡尺等测量新鲜实验鱼全长、体长、头长、体重等可量形状. 将测量、计数完后的实验鱼拿到湖南省中医药研究所放射科拍摄 X 光片.

1.3 肌间骨的解剖和形态观察

肌间骨需要解剖进行离体观察. 测量新鲜实验鱼后, 用纱布将鱼包裹, 煮至九成熟, 取出, 稍冷后去掉纱布, 用镊子小心剥去鱼皮. 肌间刺的形态分布和肌肉部分的划分是连在一起的, 上下(背腹)以脊椎骨为界, 前后以腹腔后缘为界, 将鱼体划分为躯干部轴上肌、躯干部轴下肌、尾部轴上肌、尾部轴下肌 4 个部位. 先从鱼的左侧左躯轴上(将鱼的左侧分为 4 个区: 左躯轴上、左躯轴下、左尾轴上、左尾轴下)进行解剖, 依肌节剔除肌肉, 取出肌间骨, 并按照肌间骨在鱼体中的顺序和方向进行排列. 依次解剖左躯轴下、左尾轴上、左尾轴下. 右侧也如此解剖. 用 550D 佳能数码相机对取出的已排列有序的肌间骨进行排列并拍照记录.

表 1 不同倍性鱼的规格

鱼类	体重(g)		体长(cm)		肌间骨数目(根)	
	范围	平均值	范围	平均值	范围	平均值
野生鲫	42.0~58.0	48.0±5.8	11.8~12.9	12.2±0.4	78.0~83.0	81.2±1.7
彭泽鲫	250.0~477.0	327.0±61.1	20.1~24.5	21.8±1.4	80.0~86.0	83.8±1.4
改良红鲫	123.0~314.0	217.0±65.3	14.5~19.5	17.0±1.8	58.0~77.0	70.5±6.4
四倍体鲫鲤	114.0~290.0	196.0±57.3	16.2~21.5	18.7±1.5	77.0~84.0	82.3±2.5
湘云鲫 2 号	210.0~593.0	390.0±90.6	19.0~27.0	23.1±2.4	77.0~82.0	79.1±2.0

2 结果

2.1 不同鱼的总肌间骨数目比较

野生鲫肌间骨数目在 78~83 之间, 平均值为 81, 彭泽鲫肌间骨数目在 80~86 之间, 平均值为 84, 改良红鲫肌间骨数目在 58~77 之间, 平均值为 71, 四倍体鲫鲤肌间骨数目在 77~84 之间, 平均值为 82, 三倍体湘云鲫 2 号肌间骨数目在 77~82 之间, 平均值为 79(表 1).

几种鱼中, 野生鲫、彭泽鲫、四倍体鲫鲤的肌间刺最多, 湘云鲫 2 号的肌间刺次之, 改良红鲫的肌间刺最少. SPSS 软件统计分析, 彭泽鲫、四倍体鲫鲤之间的肌间刺数目差异不显著, 但是四倍体鲫鲤和湘云鲫 2 号之间的肌间刺数目差异显著($P<0.05$), 彭泽鲫和湘云鲫 2 号之间的肌间刺数目差异显著($P<0.05$), 改良红鲫与其他 3 条鱼之间的肌间刺数目差异显著($P<0.05$)(表 2, 显示同类子集中的组均值, 其样本大小为 15).

考虑到不同倍性的鱼体大小和肌节数目的不同, 进一步统计了每一肌节的平均肌间骨数目, 野生鲫最多(0.721), 彭泽鲫次之(0.673), 改良红鲫最少(0.608), 湘云鲫 2 号次之(0.633), 四倍体鲫鲤位于中间(0.653)(表 3, 显示同类子集中的组均值, 其样本大小为 15). SPSS 软件分析显示, 肌间刺数目差异不显

著的有两组, 分别为湘云鲫 2 号、四倍体鲫鲤和彭泽鲫、四倍体鲫鲤, 但是湘云鲫 2 号分别与彭泽鲫和野生鲫之间的每一肌节的平均肌间骨数目差异显著($P<0.05$), 彭泽鲫和野生鲫之间的每一肌节的平均肌间骨数目差异显著($P<0.05$), 改良红鲫与其他 4 种鱼之间的每一肌节的平均肌间骨数目差异显著($P<0.05$).

2.2 肌间骨形态比较

鱼类肌间骨形态各种各样, 根据形态的复杂程度, 吕耀平等^[10]将其归纳为 7 种类型: “T”形(没有任何分叉)、“卜”形(一端明显不等长的两分叉)、“Y”形(一端等长的两分叉)、一端多叉形(一端 3 个或 3 个以上分叉)、两端两分叉形(两端均有两分叉)、两端多叉形(两端均有 2 或 2 个以上分叉)和树枝形(两端均有 4 个以上分叉, 并且在分叉的基础上再分叉). 本实验中 5 种鱼的肌间骨均含有 7 种形态(图 1).

不同倍性鱼鱼体左侧 4 个部位的 7 种不同形态类型的肌间骨数目统计见表 4, 其中彭泽鲫、湘云鲫 2 号、四倍体鲫鲤、改良红鲫、野生鲫成体鱼体重分别为 312, 483, 196, 228 和 54 g.

鲤科鱼类含有存在于轴上肌节之间的髓弓小骨和轴下肌节之间的脉弓小骨, 不含有存在于水平隔膜里的椎体小骨. 野生鲫的髓弓小骨含有 5 种肌

表 2 不同倍性鱼肌间骨数的多重比较

	种类	N	$\alpha=0.05$ 的子集		
			1	2	3
两两间单因素方差分析	改良红鲫	15	70.500		
	湘云鲫 2 号	15		79.083	
	四倍体鲫鲤	15			82.250
	彭泽鲫	15			83.833
	显著性		1.000	1.000	0.294

表 3 不同倍性鱼每肌节平均肌间骨数的多重比较

	种类	N	$\alpha=0.05$ 的子集			
			1	2	3	4
两两间单因素方差分析	改良红鲫	15	0.6078			
	湘云鲫 2 号	15		0.6327		
	四倍体鲫鲤	15		0.6528	0.6528	
	彭泽鲫	15			0.6727	
	野生鲫	15				0.7208
	显著性		1.000	0.092	0.095	1.000

间骨形态, 分别为“T”形、“Y”形、两端两分叉形、两端多分叉形和树枝形; 脉弓小骨有“T”形、“卜”形、“Y”形和两端多叉形 4 种形态. 彭泽鲫髓弓小骨 7 种肌间骨形态均含有, 而脉弓小骨形态较髓弓小骨简单, 脉弓小骨有“T”形、“卜”形、“Y”形和树枝形 4 种形态. 改良红鲫髓弓小骨不含有树枝形的肌间骨, 其他 6 种形态均含有, 而脉弓小骨有 5 种, 分别为“T”形、“卜”形、“Y”形、一端多叉形和两端多叉形. 但本实验的 15 条

改良红鲫, 有 3 条髓弓小骨中含有树枝形的肌间骨, 即 7 种形态均含有, 占总数的 20%. 其他 3 种鱼髓弓小骨 7 种肌间骨形态均含有, 而脉弓小骨形态较髓弓小骨简单. 四倍体鲫鲤髓弓小骨 7 种肌间骨形态均含有, 而脉弓小骨有“T”形、“卜”形、“Y”形和两端多叉形 4 种形态. 湘云鲫 2 号髓弓小骨 7 种肌间骨形态均含有, 而脉弓小骨形态较髓弓小骨简单, 脉弓小骨有“T”形、“卜”形、“Y”形和两端多叉形 4 种形态. 综上所述,

图 1 不同倍性鱼肌间骨形态

A: 野生鲫; B: 彭泽鲫; C: 改良红鲫; D: 四倍体鲫鲤; E: 湘云鲫 2 号. 1: “T”形; 2: “卜”形; 3: “Y”形; 4: 一端多叉形; 5: 两端两分叉形; 6: 两端多叉形; 7: 树枝形

野生鲫髓弓小骨的肌间骨类型, 少于彭泽鲫、湘云鲫 2 号、四倍体鲫鲤(均含有 7 种肌间骨形态)的肌间骨形态类型. 5 种鱼脉弓小骨的形态均较髓弓小骨简单.

2.3 肌间骨在不同部位的分布

肌间骨都是细而长的线状骨, 即日常吃鲫鱼时所说的“乱刺”, 其长度约为肋骨的 $1/3 \sim 1/2$. 肌间骨

排列的形式, 如树枝形, 两端多叉形或两端两叉形等复杂形态的肌间刺, 由前向后很有秩序地埋藏于大侧肌的各个分节层中^[3]. 5 种不同倍性鱼成体两侧肌间小骨各种形态分布情况见图 2~6 中 C 部分所示, 髓弓小骨、脉弓小骨依次在鱼体内着生的部位从前向后排列. 左右侧各种形态的肌间小骨分布略有不同, 但差异不大. 由 5 种不同倍性鱼的 X 光片的整体骨骼图

表 4 不同倍性鱼不同形态类型的肌间骨数目(统计鱼体左侧的肌间骨)

鱼类	分布位置	各种形态类型的肌间骨数目							肌间骨总数
		"T"形	卜"形	"Y"形	一端多叉形	两端两分叉形	两端多叉形	树枝形	
野生鲫	左躯轴上	3	0	9	0	8	2	0	22
	左尾轴上	4	0	1	0	0	0	1	6
	髓弓小骨	7	0	10	0	8	2	1	28
	左躯轴下	3	0	4	0	0	0	0	7
	左尾轴下	4	1	0	0	0	1	0	6
	脉弓小骨	7	1	4	0	0	1	0	13
彭泽鲫	左躯轴上	4	3	5	3	6	1	0	22
	左尾轴上	4	0	1	0	0	0	1	6
	髓弓小骨	8	3	6	3	6	1	1	28
	左躯轴下	5	0	2	0	0	0	0	7
	左尾轴下	5	0	0	0	0	0	1	6
	脉弓小骨	10	0	2	0	0	0	1	13
改良红鲫	左躯轴上	1	1	13	4	1	1	0	21
	左尾轴上	1	2	1	0	0	0	0	4
	髓弓小骨	2	3	14	4	1	1	0	25
	左躯轴下	1	1	3	1	0	0	0	6
	左尾轴下	2	0	0	1	0	1	0	4
	脉弓小骨	3	1	3	2	0	1	0	10
四倍体鲫鲤	左躯轴上	4	2	5	3	2	7	1	24
	左尾轴上	2	1	0	0	0	1	0	4
	髓弓小骨	6	3	5	3	2	8	1	28
	左躯轴下	4	0	4	1	0	0	0	9
	左尾轴下	4	1	0	0	0	0	0	5
	脉弓小骨	8	1	4	1	0	0	0	14
湘云鲫 2 号	左躯轴上	2	2	5	0	4	8	3	24
	左尾轴上	3	0	2	1	0	0	0	6
	髓弓小骨	5	2	7	1	4	8	3	30
	左躯轴下	0	2	4	0	0	0	0	6
	左尾轴下	2	0	1	0	0	2	0	5
	脉弓小骨	2	2	5	0	0	2	0	11

图 2 彭泽鲫肌间小骨的形态学观察

A: 彭泽鲫整体骨骼 X 光图. toa: 躯干轴上; tua: 躯干轴下; ths: 尾部轴上; thu: 尾部轴下; rib: 肋骨; ns: 髓棘; hs: 脉棘; B: 图 A 方框区域放大照片. en: 髓弓小骨; ep: 脉弓小骨; C: 肌间小骨按从头到尾顺序依次排列. len: 左侧髓弓小骨; lep: 左侧脉弓小骨; ren: 右侧髓弓小骨; rep: 右侧脉弓小骨

图 3 野生鲫肌间小骨的形态学观察

A: 野生鲫整体骨骼 X 光图; B: 图 A 方框区域放大照片; C: 肌间小骨按从头到尾顺序依次排列

图 4 改良红鲫肌间小骨的形态学观察

A: 改良红鲫整体骨骼 X 光图; B: 图 A 方框区域放大照片; C: 肌间小骨按从头到尾顺序依次排列

图 5 四倍体鲫肌间小骨的形态学观察

A: 四倍体鲫整体骨骼 X 光图; B: 图 A 方框区域放大照片; C: 肌间小骨按从头到尾顺序依次排列

和细节图(图 2~6 中 A 和 B 部分), 可知髓弓小骨和脉弓小骨在体内的具体分布位置. 肌间骨的形态分布和肌肉部分的划分是连在一起的, 上下(背腹)以脊椎骨为界, 前后以腹腔后缘为界, 将鱼体划分为躯干部轴

上肌、躯干部轴下肌、尾部轴上肌、尾部轴下肌 4 个部位. 在所检测的实验鱼中, 身体左右两侧肌间骨的数目基本上不完全相等, 但总体上两侧肌间骨的数目接近. 同种鱼不同部位的肌间骨数目也有差异(表 5).

图 6 湘云鲫 2 号肌间小骨的形态学观察

A: 湘云鲫 2 号整体骨骼 X 光图; B: 图 A 方框区域放大照片; C: 肌间小骨按从头到尾顺序依次排列

表 5 不同倍性鱼类的肌间骨数目

鱼类	野生鲫	彭泽鲫	改良红鲫	四倍体鲫鲤	湘云鲫 2 号
左躯干轴上肌	22	22	21	24	24
左躯干轴下肌	7	7	6	9	6
左尾部轴上肌	6	6	4	4	6
左尾部轴下肌	6	6	4	5	5
左侧肌间骨小计	41	41	35	42	41
右躯干轴上肌	21	23	19	24	23
右躯干轴下肌	6	6	7	9	5
右尾部轴上肌	6	7	5	4	5
右尾部轴下肌	7	7	5	4	5
右侧肌间骨小计	40	43	36	41	38
平均肌间骨数目	81	84	71	83	79
平均肌间骨/每个肌节	0.721	0.672	0.608	0.653	0.633

3 讨论

中国是一个水产养殖大国, 养殖产量占世界 2/3 以上^[14]. 2010 年, 中国水产养殖产量已从 50 年前的每年不到 1 百万吨增加到 38.3 百万吨, 是农业和食品产业中增长率最快的产业. 养殖产量已占整个水产品总量的 71.3%, 达到全世界水产养殖产量的 70%^[15]. 养殖的鱼有部分需要深加工, 如制成鱼片、鱼丸等, 则鱼类肌间刺对鱼片、鱼丸的加工有较大影响, 同时影响到鲜活鱼的食用, 导致许多肌间刺较多的鱼类不受消费者青睐. 因此对鱼肌间刺的研究显得异常重要^[16]. 肌间骨的存在不仅对鱼类的经济价值和食用价值有一定影响, 而且研究认为肌间骨的主要作用是支撑大侧肌肉, 对于肉质比较疏松的鱼类, 肌间骨的数目比较多^[3]. 肌间骨的作用涉及到传导, 如肌肉力量的传导. 研究表明, 肌肉蛋白质含量较高的鱼类, 其肌肉力量的传导可能更多地靠肌纤维, 而借助肌间骨进行肌肉力量传导的要求比其他鱼低, 因而其肌间骨的数目也较少^[9], 但这只是推测, 并没有直接证据证明这种作用. 高等真骨鱼类并无肌间骨, 所以有极大的可能是鱼类无肌间骨对本身的生命活动无影响. 吕耀平等人^[10]对低等真骨鱼类肌间刺进化过程的分析表明, 肌间刺可能是一种痕迹器官, 所以今后培育无肌间刺的鱼类在理论上有很大可能, 特别是大多数的淡水鱼类(如鲤科鱼类).

3.1 不同倍性鱼总肌间骨数目的比较

通过比较表明, 本实验研究的几种鱼中, 彭泽鲫、野生鲫、四倍体鲫鲤的肌间刺最多, 湘云鲫 2 号的肌间刺次之, 改良红鲫的肌间刺最少. 同时考虑到不同倍性鱼体大小和肌节数目的不同, 进一步统计了每一肌节的平均肌间骨数目(表 3), 结果表明, 湘云鲫 2 号的每一肌节的平均肌间骨数目比野生鲫和彭泽鲫要少, 且通过 SPSS 软件统计分析得出, 湘云鲫 2 号分别与彭泽鲫和野生鲫之间的每一肌节的平均肌间刺数目差异显著. 在保持营养、形态、活动等基本生理功能的前提下, 湘云鲫 2 号的肌间刺比野生鲫和彭泽鲫都少. 由此可见, 湘云鲫 2 号不仅具有生长速度快、体型大、蛋白质含量高、肉质鲜美、不育、抗病、耐低温低氧等优良特性, 还具有肌间刺少的特点.

改良优质二倍体红鲫形成过程. 利用鱼类远缘

杂交技术和雌核发育方法获得了新型四倍体鲫鲤(G×AT). 在 G×AT 中发现, 2% 的高背型个体, 其自交后代性状发生分离并形成 3 种两性可育的二倍体鱼: 高背型红鲫、高背型双尾金鱼和青灰色鲤鱼. 其中高背型红鲫自交, 后代性状继续发生分离, 形成高背型红鲫、花鲫和青鲫. 高背型红鲫即为改良红鲫, 在外形上具有头部小、体背高、尾柄短、两性可育、一年性成熟、通过自交不断扩大群体规模等优良特征. 同时, 高背型红鲫及其自交后代在人工催产过程中表现出显著的生殖优势, 它们具有较高的受精率和孵化率、产卵(产精)量大、繁殖期长等特点. 总之, 该二倍体高背型鲫鱼群体的形成为鱼类遗传育种提供了优良的种质资源^[17]. 吕耀平等人^[10]报道过鲤鱼的每一肌节的平均肌间骨数目为 0.638, 而野生鲫为 0.721, 均大于改良红鲫(0.608). 由上述改良红鲫的形成过程, 推测可能经过鱼类远缘杂交技术等遗传改良方法可以获得肌间刺少的优良品种.

同时表明, 野生鲫的每一肌节的平均肌间骨数目比其他 4 种鱼都高, 且差异显著, 而改良三倍体鲫鱼、四倍体鲫鲤、改良红鲫均有经过人工的遗传改良方法, 如改良三倍体鲫鱼是利用远缘杂交技术并结合雌核发育方法, 经多代选育获得了改良的四倍体和改良二倍体鱼, 再通过倍间交配来制备的^[13]. 利用红鲫(♀)和鲤鱼(♂)的远缘杂交和雌核发育相结合的方法获得了两性可育, 遗传稳定的异源四倍体鲫鲤群体^[18]. 进一步说明, 通过鱼类远缘杂交技术的遗传改良方法可以获得肌间刺少的优良品种.

远缘杂交是指种间、属间乃至亲缘关系更远的生物类型之间的杂交, 可以使基因组从一个物种转移到另一个物种中, 从而导致杂交后代的表现型和基因型都发生改变^[18]. 在基因型上, 远缘杂交能导致后代的染色体组水平上的改变, 从而产生杂交二倍体、三倍体、四倍体后代; 微小染色体的出现还可导致亚染色体组水平上的改变, 产生天然雌核发育二倍体后代. 在表现型方面, 远缘杂交能整合双亲的优点, 使后代在外形、生长速度、存活率以及抗病能力等方面均表现出杂种优势^[18]. 远缘杂交形成不同倍性鱼的途径和遗传规律的探索在生物演化研究和鱼类遗传育种方面都具有非常重要的意义. 对鲫鲤远缘杂交获得多倍体鱼的途径和遗传规律进行总结, 将为通过鲤科经济鱼类或其他经济鱼类杂交选育更多优

良多倍体鱼类群提供重要的理论指导^[19]。桂建芳和周莉^[20]发现了异育银鲫仅能通过异源精子刺激、行雌核发育方式繁衍后代,而且银鲫已被证实同时存在雌核生殖和有性生殖双重生殖方式。用其他鱼类物种的异源精子激活卵子和胚胎发育的雌核生殖已经被证实,且其繁殖的异育银鲫已被广泛用于养殖。

因为远缘杂交可以把不同种属间的特征结合起来,突破种属界限,扩大遗传变异,使得后代可能在工作力、生长势、抗逆性、产量、品质等方面表现出杂种优势^[21]。利用远缘杂交技术并结合雌核发育方法,经多代选育获得了优良的四倍体和改良二倍体鱼,再通过倍间交配来制备改良三倍体鲫鱼,这样克服了选育种和简单鲫鲤杂交种所存在的问题,使其成为一种优良的养殖新品种。同时,改良三倍体鲫鱼的母本——改良二倍体红鲫,具有繁殖力高、抗逆性强、肌间刺少的特点。这些特点为产业化生产改良三倍体鲫鱼奠定了基础。更重要的是改良三倍体鲫鱼还具有肌间刺少的特点。

改良红鲫、湘云鲫 2 号、改良四倍体鲫鲤这 3 种鱼随着倍性的增加,肌间骨数目增多,于是推测鱼类肌间骨数目与鱼类的倍性成正相关关系。

3.2 不同倍性鱼肌间骨形态

关于肌间骨的形态类型,孟庆闻和苏锦祥^[7]曾把鲢的肌间骨分为 4 种类型:“T”形(包括两端没有分叉和有细小分叉)、“卜”形、“Y”形和树枝形(粗短,两端分支颇多)。董在杰等人^[9]则把其分为两种类型:“T”形和“Y”形,其他均是在这两种基础上的分化形。根据形态的复杂程度,本文采用吕耀平等人^[10]的分类方法,将其归纳为 7 种类型,有利于分析各种形态类型肌间骨的演化规律。其中根据本研究的 15 条改良红鲫,只有 3 条髓弓小骨中含有树枝形的肌间骨,占总数的 20%,而野生鲫髓弓小骨中复杂的肌间骨类型的数目,如两端多叉形和树枝形,少于彭泽鲫、湘云鲫 2 号、四倍体鲫鲤。斑马鱼的肌间小骨也是从尾部到躯体前部依次骨化^[22]。秉志^[8]对幼鲤肌间刺的形态进行了观察,发现鲤鱼大侧肌隔有骨化现象,且肌间刺为膜性硬骨,在形态发育过程中不经过软骨阶段,而是先由前体结缔组织形态分化,再由尾部向躯体前部依次骨化^[23]。秉志在幼鲤大侧肌隔骨针的观察中还发现,鲤、鲫及 4 种家鱼(青、草、鲢、鳙)的共

同点为:较幼的鱼,上轴肌最前与最后的几个隔中,因隔不太发达,肌间骨尚未出现,或只有一部分纤维开始硬化;随着鱼不断生长至较成熟时期,上轴肌隔和下轴肌隔都有骨化现象,每一隔都含有肌间骨(躯干部下轴除外)^[8]。由此表明,鱼在其幼鱼阶段的肌间刺数量与其成鱼阶段的肌间刺数量不同,一般而言,幼鱼的肌间刺较成鱼少,具体存在怎样的关系有待进一步研究。

吕耀平等人^[10]在低等真骨鱼类肌间骨的比较分析中认为,鲤科鱼类演化有两条途径:(1)“T”形-“卜”形-“Y”形-一端多叉形。根据在鲫中出现了一段多叉类型的肌间骨,而没有出现两端两分叉类型的现象,可以推断这种演化方向是存在的;(2)从“T”形-“卜”形-“Y”形-两端两分叉形-两端多叉形-树枝形。本实验结果符合肌间骨的第 2 条演化途径。本研究通过解剖同一种鱼不同大小个体的肌间骨,发现小型个体背部后面的髓弓小骨缺失,髓弓小骨是从前向后依次出现的。这与 Patterson 和 Johnson^[2,4]的解剖比较同一种鱼不同大小个体的髓弓小骨的研究结果相同。这说明形态复杂的髓弓小骨,如在鲤科鱼类的背部前面部分出现的树枝形和两端多叉形的髓弓小骨,需要经过更长时间的系统演化过程,这为鱼类骨骼发育生物学提供了形态学基础。本研究中的野生鲫的树枝形和两端多叉形的髓弓小骨明显少于彭泽鲫、改良红鲫、湘云鲫 2 号和四倍体鲫鲤,推测其原因有 2 个,一种为可能野生鲫的体形大小明显小于其他 4 种鱼,从而导致它的骨化程度不完全,所以只含有部分的肌间骨形态类型。另一种为这 4 种鱼的系统演化可能比野生鲫所需时间更长,也更高级。由此可能表明,经过鱼类远缘杂交技术等遗传改良的方法可以获得系统演化更高的改良红鲫、湘云鲫 2 号和四倍体鲫鲤。

3.3 肌间骨在不同部位的分布

本实验中不同倍性鱼身体左右两侧肌间骨的数目基本上不完全相等,但总体上两侧肌间骨的数目接近。同种鱼不同部位肌间骨数目也存在差异。

综上所述,可以通过鱼类远缘杂交技术等遗传改良方法获得肌间刺少的优良品种,如改良红鲫。野生鲫的每一肌节的平均肌间骨数目比其他 4 种鱼都高,且差异显著,同时因为这 4 种鱼均有经过人工的

遗传改良方法, 所以鱼类远缘杂交技术等遗传改良方法是培育较少肌间骨鱼类的一种重要方法. 5 种鱼的各种肌间骨均有 7 种类型, 肌间小骨越靠前端, 形态越复杂. 每条鱼左右两侧的肌间骨数目不完全相等, 但总体上两侧肌间骨的数目接近.

3.4 肌间骨研究的意义、前景与展望

以雌性改良二倍体红鲫为母本, 雄性改良四倍体鲫鱼为父本制备出具有显著改良性状的三倍体鲫鱼. 本研究结果表明, 改良二倍体红鲫和改良三倍体肌间刺比野生鲫少. 利用远缘杂交技术并结合雌核发育方法, 经多代选育获得了优良的四倍体和改良二倍体鱼, 再通过倍间交配来制备改良三倍体鲫鱼, 这样就克服了选育种和简单鲫鲤杂交种所存在的问题, 使其成为一种优良的养殖新品种^[13]. 这正是鱼类形态改良所追求的目标之一, 而且为不同倍性鱼的遗传育种研究提供了生物学形态基础.

本研究结果表明, 改良二倍体红鲫和改良三倍体鲫鱼比野生鲫的肌间刺少, 由此可知遗传改良的

方法在影响鱼类肌间刺形成方面发挥着重大作用. 本研究结果在鱼类骨骼发育生物学方面和鱼类遗传育种方面具有一定意义.

虽然目前对鱼类肌间刺的研究有了很大突破, 但大多数还停留在形态学水平上, 对于肌间刺的形成原因、演化规律、发育的分子机制、遗传机理等方面的研究尚未深入, 特别是肌间刺的具体作用并不明确.

随着对主要水产养殖动物全基因组的解析、基因组技术、体细胞核移植和干细胞技术的不断完善以及生殖、性别、生长、抗病、耐寒和耐低氧这些重要经济性状相关基因的鉴定和功能分析, 水产动物的遗传改良研究已开始步入分子设计育种研究的新时代^[15]. 鉴于基因沉默、基因敲除、荧光蛋白技术^[24-27]在鱼类(如斑马鱼)研究中的成功应用, 可以尝试通过基因敲除、遗传改良、添加基因抑制剂等技术抑制肌间刺形成, 从分子水平上研究培育出高产、优质、肌间刺少的养殖新品种, 这将为水产养殖业的可持续发展 and 渔业生物技术的创新做出贡献.

参考文献

- 孟庆闻, 苏锦祥, 李婉瑞. 鱼类比较解剖. 北京: 科学出版社, 1987. 102-103
- Patterson C, Johnson G D. intermuscular bones and ligaments of teleostean fishes. *Smithson Contrib Zool*, 1995, 559: 1-85
- 邓子真. 鲫鱼骨骼的研究. *动物学报*, 1959, 11: 236-252
- Johnson G D, Patterson C. The intermuscular system of acanthomorph fish: a commentary. *American Museum of Natural History*, 2001: 1-24
- 李思忠, 王惠民. 中国鲈形目鱼类骨骼的研究 II. 脊椎骨、肋骨、上肋骨及肌膈骨刺. *动物学报*, 1987: 267-276
- 孔晓瑜, 周才武. 中国鳊亚科(Siniperca)——七种鱼类骨骼形态特征的比较研究. *青岛海洋大学学报*, 1993, 23: 116-124
- 孟庆闻, 苏锦祥. 白鲢的系统解剖. 北京: 科学出版社, 1960
- 秉志. 幼鲤大侧肌隔骨针的观察. *动物学报*, 1962, 14: 175-178
- 董在杰, 黄代中, 李丽娟, 等. 几种常见鲤科养殖鱼类肌间刺的初步研究. *上海水产大学学报*, 2006, 15: 425-429
- 吕耀平, 鲍宝龙, 蒋燕, 等. 低等真骨鱼类肌间骨的比较分析. *水产学报*, 2007, 31: 661-668
- 高维竞. 草鱼的肌间骨(*Os. intermusculare*)形态及其分布的研究. *河北农业大学学报*, 1984: 178-184
- 柯中和, 张炜, 蒋燕, 等. 鲢肌间小骨发育的形态学观察. *动物学杂志*, 2008, 6: 88-96
- 陈松, 王静, 刘少军, 等. 改良三倍体鲫鱼的生物学特性研究. *中国科学 C 辑: 生命科学*, 2009, 39: 479-484
- FAO. The state of world fisheries and aquaculture[R]. Food and Agriculture Organization, Rome, 2004
- 桂建芳, 朱作言. 水产动物重要经济性状的分子基础及其遗传改良. *科学通报*, 2012, 57: 1719-1729
- 马良骁, 董在杰. 鱼类肌间刺的研究进展. *江苏农业科学*, 2012, 40: 234-235
- 王静, 覃钦博, 陈松, 等. 新型高背型鲫鱼的形成及其生物学特征研究. *中国科学 C 辑: 生命科学*, 2008, 38: 635-642
- 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: 104-114
- 张纯, 刘少军, 李涛, 等. 红鲫(♀) × 鲤(♂)杂交鱼的胚胎染色体组倍性研究. *水产学报*, 2011, 35: 1370-1373
- 桂建芳, 周莉. 多倍体银鲫克隆多样性和双重生殖方式的遗传基础和育种应用. *中国科学: 生命科学*, 2010, 40: 97-103
- 楼允东, 李小勤. 中国鱼类远缘杂交研究及其在水产养殖上的应用. *中国水产科学*, 2006, 13: 151-158
- Bird N C, Mabee P M. Developmental morphology of the axial skeleton of the zebrafish, *Danio rerio*. *Dev Dynam*, 2003, 228: 337-357

- 23 Karsenty G, Wagner E F. Reaching a genetic and molecular understanding of skeletal development. *Dev Cell*, 2002, 2: 389–406
- 24 韩林强, 李胜杰, 于凌云, 等. RNA 干扰技术在鱼类中的研究进展. *南方水产*, 2009, 5: 67–73
- 25 简清, 白俊杰, 叶星, 等. 斑马鱼 *Mylz2* 启动子的克隆与转绿色荧光蛋白基因鱼的构建. *中国水产科学*, 2004, 11: 391–395
- 26 Duan C M, Ding J, Peter J, et al. A zebrafish view of the insulin-like growth factor(IGF) signaling pathway. *Acta Zoologica Sinica*, 2003, 49: 421–431
- 27 陈浩, 杨健, 王跃祥, 等. 卵黄蛋白原 1(vtg1)启动子调控绿色荧光蛋白表达的转基因斑马鱼的构建. *生物化学与生物物理进展*, 2006, 33: 965–970