

异精效应在雌核发育彭泽鲫胚胎发育中的同工酶证据

赵 俊 崔 淼 陈湘

(华南师范大学生命科学学院, 广州 510631)

摘要: 采用聚丙烯酰胺凝胶垂直板电泳技术, 对同源和异源精子激发雌核发育彭泽鲫子代胚胎发育过程中四种同工酶(EST, LDH, MDH, ME)的表达情况进行了比较研究。结果表明同源和异源精子激发的胚胎在 MDH 和 LDH 同工酶表达上存在明显差异。MDH 同工酶的差异主要表现为: 在孵出期, 异源精子激发的胚胎比同源精子激发的胚胎多出两条谱带 MDH4' 和 MDH5'; LDH 同工酶的差异表现为: 在原肠中期至肌肉收缩期的五个时期中, 异源精子激发的胚胎比同源精子激发的胚胎多出 4 条谱带(LDH9'—12')。这种差异说明同源与异源精子对子代胚胎发育过程中同工酶表达的影响不同, 可能属于“异精生物学效应”的一种表现形式。

关键词: 异精生物学效应; 同工酶; 彭泽鲫; 雌核发育; 胚胎发育

中图分类号: Q953 **文献标识码:** A **文章编号:** 1009-3207(2004)01-0033-07

自从蒋一 1983 年提出“异精生物学效应”现象以来^[1], 有关这一问题的研究就一直没有间断, 其中多数研究都是以雌核发育银鲫为对象, 少数涉及到其他雌核发育鱼类。到目前为止, 仍存在两种截然不同的观点, 一种观点认为“异精效应”客观存在, 另一种观点则认为“异精效应”没有足够证据或根本不存在。在雌核发育鲫鱼中, 支持“异精效应”的证据主要表现在分子水平上^[2-5], 少数表现在受精率和生长率方面^[6]。Schartl 等^[7]在具有雌核发育生殖方式的单性鱼亚马逊帆 (*Poecilia formosa*) 中也发现了类似银鲫异精效应的现象。不支持“异精效应”的观点认为迄今为止尚未发现形态和蛋白质表型等方面的直接证据^[8-9], 甚至目前显示的分子证据也还需要进一步的验证^[10]。Zhou 等^[11]提出银鲫在应答不同来源精子时分别采用不同的生殖方式, 有助于加深对两性型雌核发育鱼类生殖方式的认知和对异精效应的理解。作者从 20 世纪 90 年代中期开始进行雌核发育彭泽鲫的相关研究, 在研究过程中也一直受到“异精生物学效应”的困扰。最近对同源和异源精子激发雌核发育彭泽鲫胚胎发育过程中的同工酶表型进行了比较研究, 发现同源精子与异源精子激发的胚胎在部分同工酶表型上存在明显差异, 这种差异有可能是异精生物学效应的一种表现形式。

1 材料和方法

1.1 材料 彭泽鲫(*Carassius auratus* of Pengze) 雌性 2 尾, 体重均为 0.8 kg, 雄性 1 尾, 体重 0.5 kg, 尖鳍鲤(*Cyprinus acutidorsalis*) 雄性 1 尾, 体重 0.6 kg, 均来自华南师范大学生命科学学院海洋生物研究所南海实验基地。经常规人工催产, 将 2 尾雌性彭泽鲫的成熟卵子混合平均分成 5 组(同时进行的还有其他实验), 本试验用其中两组, 分别与彭泽鲫或尖鳍鲤的成熟精子进行人工授精, 受精卵均匀地铺撒在孵化网片上, 在 4m × 4m 的水泥孵化池中孵化(两组在同一个池中孵化), 水温 24.8—25.3℃。

1.2 样品制备 依次按表 1 所列的发育时期取样, 按 1:5 的比例(胚胎重量/缓冲液体积)加入预冷的 0.1 mol/L pH7.0 磷酸缓冲液, 在预冷的玻璃匀浆器中匀浆充分, 匀浆液置 4℃冰箱中抽提 1h, 之后在 TGL-16G 高速冷冻离心机上离心, 4℃8000r/min。离心 30min, 酶液置-20℃低温冰箱中冷藏备用。

1.3 电泳、染色及固定 采用 7.5% 的垂直聚丙烯酰胺凝胶电泳法分析, 浓缩胶浓度为 2.5%。电极缓冲液为 pH8.3 的 Tris-甘氨酸溶液。染色按照朱蓝菲的方法^[12]并略有改变。酯酶和乳酸脱氢酶用 7% 乙酸固定, 苹果酸脱氢酶和苹果酸酶用乙醇凝胶固

收稿日期: 2002-10-12; 修订日期: 2003-06-06

基金项目: 广东省自然科学基金(950478), 广东省教育厅(2001-72-0121) 科学基金的资助

作者简介: 赵 俊(1964—), 男; 副教授; 主要从事鱼类遗传育种和鱼类系统发育的研究。E-mail: zhaojin@scnu.edu.cn

崔淼现在广州中山大学攻读博士学位

定液固定。

1.4 拍照、模式图的绘制及命名 对显色和固定好的凝胶板用 NIKON 数码相机进行拍照, 然后根据各

酶带的染色强度和相对迁移率绘制成模式图。并按向阳极泳动的快慢分别命名为 1', 2', 3'

表 1 同源和异源精子激发雌核发育彭泽鲫子代胚胎发育时序及主要特征(水温 24.8—25.3℃)

Tab. 1 Time schedule and major morphological features of samples taken from the embryogenetic stages of gynogenetic Pengze crucian carp activated by homogeneous and heterogeneous sperm

样品编号 Sample No.	发育时期 Developmental stages	受精后时间(中文为同源精子, 英文为异源精子)	主要形态特征 Major morphological characteristics
		Time after fertilization(h: m)	
		(homogeneous sperm in Chinese, heterogeneous sperm in English)	
1	未受精卵	0 00	圆球形, 卵质均匀分布
One	Unfertilized eggs	0 00	spherical, spawn is not pockety
2	受精卵	0 00	圆球形, 卵质均匀分布
Two	Fertilized eggs	0 00	spherical, spawn is not pockety
3	64 细胞期	2 30	胚盘分裂为 64 个细胞
Three	64 cell stage	2 25	Blastodisc cleaved into 64 cells
4	囊胚中期	4 35	囊胚层细胞变低, 细胞界限不清楚
Four	Middle blastula stage	4 30	The cells of blastula become lower
5	原肠中期	6 40	胎盘下包 1/2—2/3
Five	Middle gastrula stage	6 33	Blastodisc 1/2—2/3 epiboly
6	胚孔封闭期	9 55	胚孔封闭
Six	blastopore closed	9 45	blastopore closed
7	肌节出现期	14 35	出现 1—3 对肌节
Seven	somites present	14 20	1—3 somites present
8	尾鳍出现期	22 30	出现膜状鳍褶
Eight	tail fin present	22 05	crapy fin present
9	肌肉收缩期	23 55	胚体开始扭动
Nine	Stage of muscle contraction	23 10	Embryos exhibited moderate movement
10	心博期	28 40	心脏开始扭动
Ten	Heartbeat stage	28 05	Initiation of heartbeat
11	眼黑色素期	45 15	眼黑色素沉积较多
Eleven	Stage of darkly pigmented eye	44 40	Eyes darkly pigment
12	孵出期	58 45	绝大多数胚体已出膜
Twelve	Hatching	57 30	The majority of embryos hatched

2 结果

2.1 同源和异源精子激发雌核发育彭泽鲫子代的胚胎发育时序

从表 1 可以看出, 同源和异源精子激发雌核发育彭泽鲫子代的胚胎发育过程及各个发育时期的形态特征基本不存在差异。在胚胎发育的初期, 二者的发育速度也相差不大, 但总的表现为同源精子组

较异源精子组的发育速度稍慢。随着时间的推移, 到孵出时, 同源精子组较异源精子组慢一个多小时。

2.2 胚胎发育过程中同工酶的表达

2.2.1 酯酶(EST, EC 3. 1. 1. 1)

同源和异源精子激发雌核发育彭泽鲫的胚胎发育过程中酯酶同工酶的表型无明显差异。Est 1'、Est 3' 在整个胚胎发育过程中都得到表达。Est 2' 从尾鳍出现期开始表达, 并一直表达至孵出期。但同

源精子组的 Est2' 在出现早期的活性较低。(图 1)

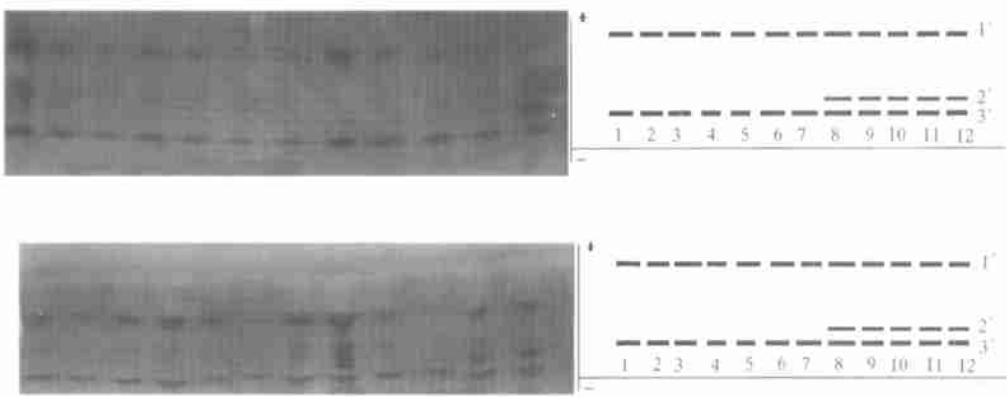


图1 同源(A)和异源(B)精子激发雌核发育彭泽鲫胚胎发育的酯酶电泳图谱及模式图
Fig. 1 Electrophoretogram of EST isozymes in the embryogenetic stages of gynogenetic Pengze crucian carp activated by homogeneous sperm (A) and heterogenous sperm (B)

2.2.2 苹果酸酶(ME, EC 1. 1. 1. 40)

鱼类的苹果酸酶分为线粒体型(nrME)和细胞质型(sME)。同源和异源精子激发雌核发育彭泽鲫胚胎发育过程中苹果酸酶的表达情况基本没有差异。无论是同源还是异源精子激发的胚胎,sME均

有三条酶带(ME1'—3')从受精卵到孵出期一直表达;nrME(ME4')的活性很低,染色很弱,同源精子激发的胚胎从受精卵表达至肌肉收缩期,而异源精子激发的胚胎从受精卵表达至心博期(图2)。

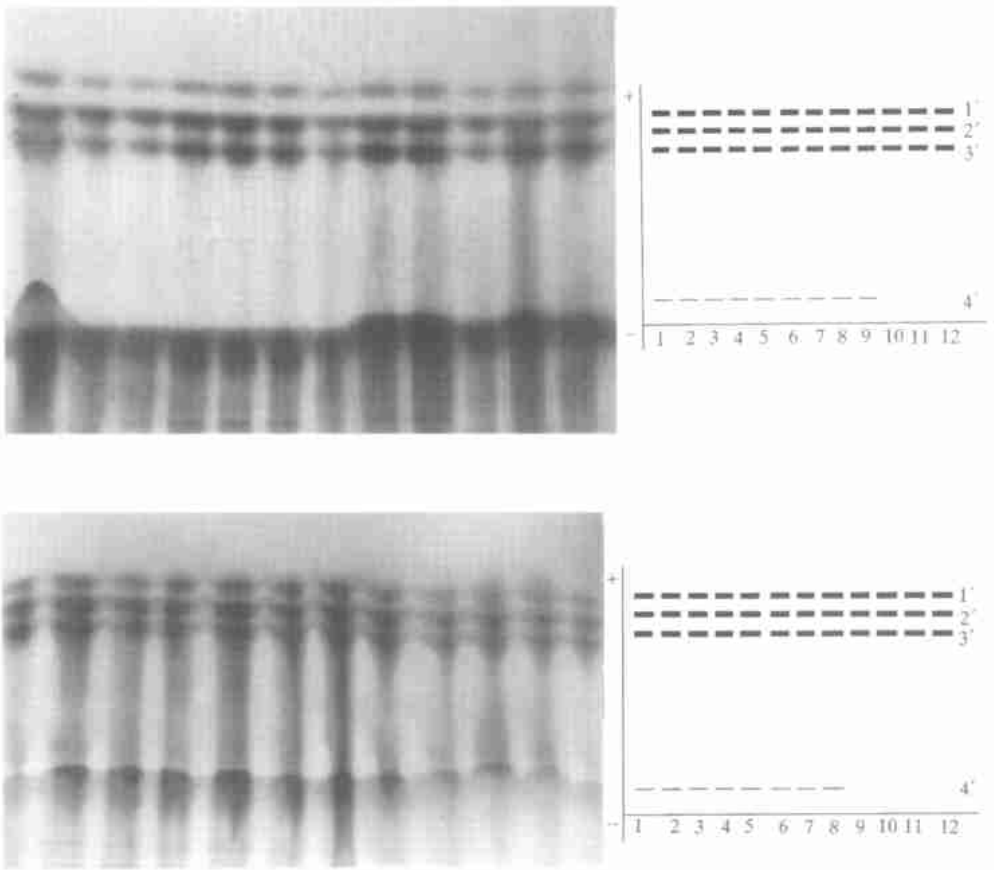


图2 同源(A)和异源(B)精子激发雌核发育彭泽鲫子代胚胎发育的 Me 电泳图谱及模式图
Fig. 2 Electrophoretogram of Me isozymes in the embryogenetic stages of gynogenetic Pengze crucian carp activated by homogeneous sperm (A) and heterogenous sperm (B)

2.2.3 苹果酸脱氢酶(MDH, EC 1. 1. 1. 37)

鱼类的苹果酸脱氢酶也分线粒体型(*mr*MDH)和细胞质型(*s*MDH)。同源和异源精子激发雌核发育彭泽鲫胚胎发育过程中苹果酸脱氢酶的表达情况存在一定的差异,主要表现在泳动较快的*s*MDH上。在孵出期,异源精子激发胚胎的*s*MDH比同源

精子激发的胚胎多出两条酶带(MDH4' 和 MDH5');而在之前的 11 个时期,二者均只有三条酶带表达(MDH1'—3')。*mr*MDH(MDH6')的活性在整个胚胎发育过程中一直很低,同源和异源精子激发的胚胎在表达上没有明显差异。(图 3)

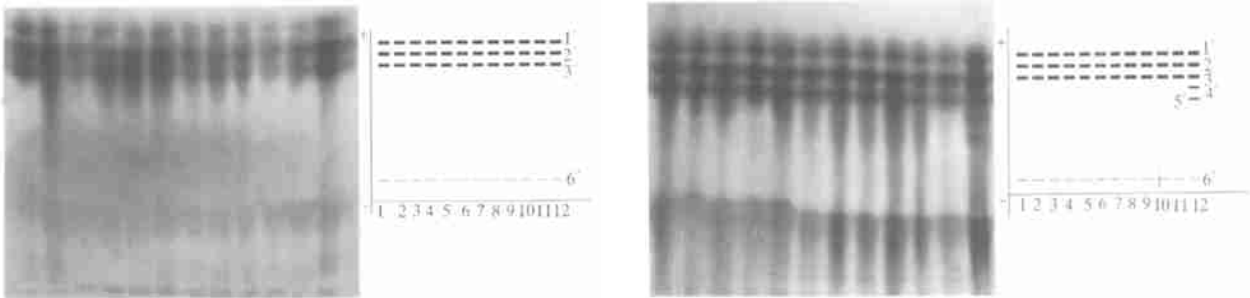


图 3 同源(A)和异源(B)精子激发雌核发育彭泽鲫子代胚胎发育的MDH电泳图谱及模式图
Fig. 3 Electrophoretogram of MDH isozymes in the embryogenetic stages of gynogenetic Pengze crucian carp activated by homogeneous sperm (A) and heterogenous sperm (B)

2.2.4 乳酸脱氢酶(LDH, EC 1. 1. 1. 27)

同源和异源精子激发雌核发育彭泽鲫胚胎发育过程中乳酸脱氢酶的表达存在明显差异。同源精子激发的胚胎在发育各个时期中LDH的表达情况基本一致,均只有LDH1'—LDH8'共8条酶带,这8条酶带在异源精子激发的胚胎中的表达情况与同源精

子激发的胚胎基本相同;但异源精子激发的胚胎从原肠中期到肌肉收缩期这五个时期中另有LDH9'—LDH12'四条酶带表达,其活性在原肠中期和胚孔封闭期较强,在肌节出现期、尾鳍出现期和肌肉收缩期较弱。总体上LDH9'—LDH12'的活性较LDH1'—LDH8'的活性要弱得多。(图 4)

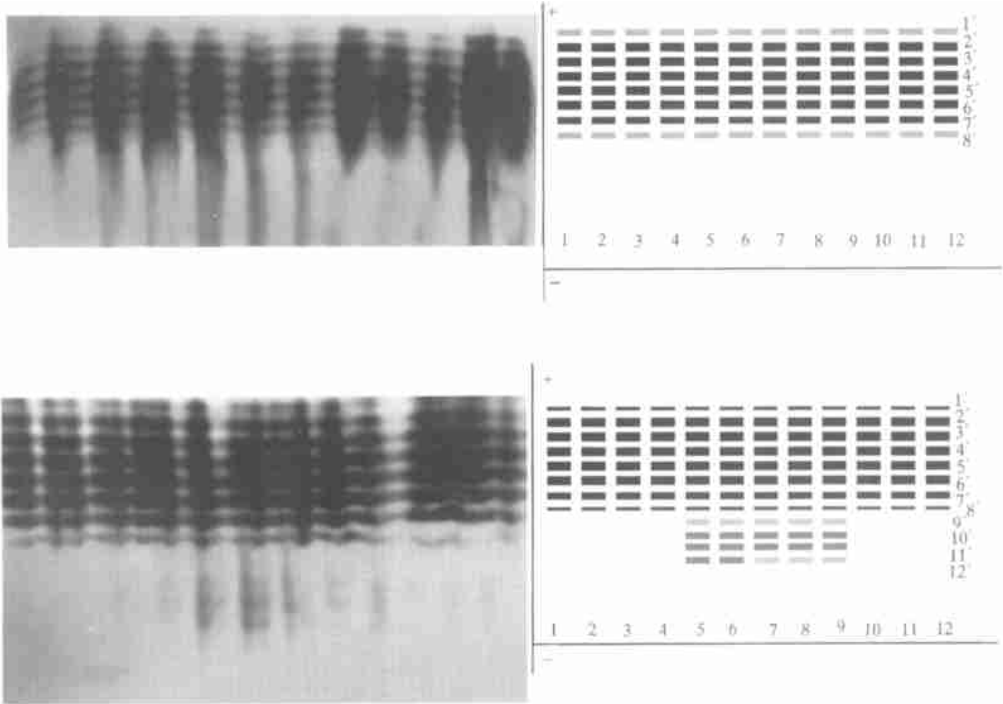


图 4 同源(A)和异源(B)精子激发雌核发育彭泽鲫子代胚胎发育的LDH电泳图谱及模式图
Fig. 4 Electrophoretogram of LDH isozymes in the embryogenetic stages of gynogenetic Pengze crucian carp activated by homogeneous sperm (A) and heterogenous sperm (B)

3 讨论

自从蒋一 发现银鲫中存在“异精生物学效应”的现象以后^[1],相继在我国其他的鲫地方种群以及最早发现的雌核发育鱼类—帆 中发现了类似的现象^[5,7]。许多研究都找到了异源精子 DNA 片段渗入子代基因组的证据^[2,4,6-7],但类似的一些研究也存在不同的结果^[8-10]。因此,对异精生物学现象存在与否仍存争议。最近,关于银鲫具有两种不同生殖方式的观点得到了染色体和 DNA 等方面的证据支持^[11,13]。这一观点阐明了多年困扰研究者的银鲫生殖方式之谜,有助于加深对雌核发育及异精雌核发育的认识和理解,但似乎并没有对异精生物学效应给予充分的解释。除了分子生物学方面的证据之外,其他方面支持异精效应的证据似乎并不足够充分,特别是在最为直接的形态学和蛋白质表型上未能发现有较强说服力的证据。这使得异精生物学效应受到部分研究者的质疑。滕春波等^[10]对这一问题的看法最具代表性,他们认为银鲫雌核发育的生殖方式是一种隔离机制,很难想象与异源精子受精时会发生有限的 DNA 片段杂交;同时他们认为当初蒋一 提出异精效应时所列举的证据并不充分,因为生长和酶的显色反应受环境影响较大,个别个体出现的红色不具普遍性,而且鲤鲫中本来就存在红色的基因突变。

看来,对银鲫生殖方式的研究虽然取得了重要的进展,但相关研究并未能对异精生物学效应做出令人信服的解释。那么异精效应是否客观存在?根据我们近年来对雌核发育彭泽鲫的研究,答案应该是肯定的。至于异精效应的具体表现形式也许比我们想象的要复杂。要在异精子代的成体中寻找异精生物学效应在形态学的表现是十分困难的。这一点不难理解,因为毕竟是雌核发育,子代的形态与母本相似是其基本特点。因此,我们从胚胎发育入手,结果发现,在同源与异源精子激发的胚胎发育过程中 MDH 和 LDH 同工酶的表达存在明显差异。MDH 的差异主要表现在孵出期,异源精子激发的胚胎比同源精子激发的胚胎多出两条酶带(MDH4 和 MDH5,图 2-A 和图 2-B);LDH 的差异主要表现在原肠中期至肌肉效应期,异源精子激发的胚胎比同源精子激发的胚胎多出四条酶带(LDH9-LDH12)。另外,在相同的条件下,从受精卵到孵化出膜,同源精子激发的胚胎发育耗时较异源精子激发的胚胎发育耗时要长。这些差异至少说明异源精子与同源精子对子代

的遗传贡献是有区别的。

最新研究认为,彭泽鲫与 A 系银鲫具有基本相似的遗传背景^[13-15],而银鲫应答同源和异源精子时分别采取两性生殖和雌核发育生殖方式^[11]。是否暗示本实验所用的彭泽鲫也与银鲫一样具有两种生殖方式,而实验得到的胚胎发育耗时及同工酶表型上的差异是由于不同的生殖方式所致?这还需要进一步的深入研究。第一,关于彭泽鲫与银鲫的关系,目前仍有不同看法。姚纪花等^[16]通过对彭泽鲫、滁州鲫、淇河鲫、滇池鲫、银鲫、草海鲫等六个鲫鱼种群的线粒体 ND5/6 片段 PCR 扩增和 RFLP 分析,得出彭泽鲫和银鲫亲缘关系较远的结论。第二,关于彭泽鲫与银鲫的染色体数目,Zhou & Gui^[13]认为彭泽鲫与银鲫的 A 系均为 156;张辉认为彭泽鲫的染色体数目是 162^[17];杨睿娇认为彭泽鲫的染色体数目是 150+,没有明显的众数^[18];而我们最近的研究表明彭泽鲫存在类似银鲫的种群内染色体分化现象(未发表结果)。上述不同的结果说明彭泽鲫与银鲫的关系还需要进一步的研究,彭泽鲫是否与银鲫一样具有两种生殖方式同样也需要进一步的深入研究。因此,我们初步认为,本实验中同工酶表达上的差异可以理解为异精生物学效应的一种表现形式。由于取材时未能得到父本的胚胎发育材料,因此不能说明异源精子激发的胚胎同工酶中多出的酶带是否在父本中存在。但即使父本中不存在这些多出的酶带,也不能说实验结果中存在的差异就一定与异精效应无关。因为异源精子的作用多数情况下是表现在 DNA 水平上,并非一定要异源精子完整的功能基因片段才会对子代产生影响,也许某些非功能基因片段的随机渗入改变了原有胚胎发育过程中某些同工酶基因的表达,从而导致差异的出现。我们同时进行了异精子代与双亲同工酶表型的比较(未发表),却没有发现子代与母本之间在相应的同工酶表型上存在差异。这一点也不难理解,已有研究表明,鱼类胚胎发育过程中某些同工酶基因表达与成体存在差异^[19]。在本文的结果中,异源 DNA 的随机渗入完全有可能只是对胚胎发育过程中某些同工酶基因表达产生影响,而对幼体和成体相应同工酶基因表达则没有影响。因此,同源和异源精子激发的胚胎在发育过程中表现出的同工酶表达上的差异,可以理解为异精生物学效应的一种具体表现形式。

参考文献:

- [1] Jiang Y G, Liang S C, Chen B D, *et al.* Biological effect of heter

- ogous sperm on gynogenetic offspring in *Carassius auratus gibelio* [J]. *Acta Hydrobiologica sinica*, 1983, **8**(1): 1—13. [蒋一, 梁绍昌, 陈本德. 异源精子在银鲫雌核发育子代中的生物学效应. 水生生物学报, 1983, **8**(1): 1—13]
- [2] Ding J, Xie Y F, Jiang Y G, *et al.* The analysis of heterologous genetic materials in allogenic crucian carp and its artificial hybrids [J]. *Acta Hydrobiologica sinica*, 1993, **17**(1): 22—26. [丁军, 谢岳峰, 蒋一 等. 异育银鲫及其人工杂合种外源遗传物质的检测分析. 水生生物学报, 1993, **17**(1): 22—26]
- [3] Ding J, Jiang Y G, Shan S X, *et al.* Cytological mechanism on the appearance of multiple tetraploid allogynogenetic crucian carp [J]. *Acta Hydrobiologica sinica*, 1992, **16**(2): 186—187. [丁军, 蒋一, 单士新, 等. 复合四倍体银鲫产生的细胞学机制. 水生生物学报, 1992, **16**(2): 186—187]
- [4] Chen H, Yang J, Xue G X, *et al.* The application of RAPD in allogynogenetic silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio*) [J]. *Chinese Science Bulletin*, 1994, **39**(7): 661—664. [陈洪, 杨靖, 薛国雄, 等. RAPD 在异精激发方正银鲫比较研究中的应用. 科学通报, 1994, **39**(7): 661—663]
- [5] Zhang H F, Chen X L, Shu H, *et al.* RAPD analysis of gynogenetic F₁ progeny triggering by heterologous sperms and their parents of Pengze crucian carp (*Carassius auratus*) [J]. *Chin J Appl Environ Biol*, 1999, **5**(5): 507—511. [张海发, 陈湘, 舒琥, 等. 异源精子激发彭泽鲫雌核发育产生的子一代及亲本 RAPD 分析. 应用与环境生物学报, 1999, **5**(5): 507—511]
- [6] Chen X L, Zhao J, Ma G Z, *et al.* Application of gynogenetic crucian carp in fish breeding [J]. *Journal of South China Normal University (Natural Science)*, 1998, supplement: 1—3. [陈湘, 赵俊, 马广智, 等. 雌核发育鲫鱼在育种上的应用. 华南师范大学学报(自然科学版), 1998, (增刊): 1—3]
- [7] Schatli M, Nandal I and Schlupp I *et al.*, Incorporation of subgenomic amounts of host species DNA in the gynogenetic Amazon molly [J]. *Nature*, 1995, **373**: 67—71
- [8] Lu Y D, Shen H, Lu J and Shi H. Comparative studies on biochemical composition in serum of allogynogenetic Qihe crucian carp and its parents [J]. *Zool Res*, 1991, **12**(2): 181—185. [楼允东, 沈, 陆君, 时宏. 异育淇鲫及其亲本血清生化组成的比较研究. 动物学研究, 1991, **12**(2): 181—185]
- [9] Zhang Y P, Liu H, Lou Y D. Electrophoresis of isozymes and muscle protein of an abnormal crucian carp [J]. *Acta Genetica Sinica*, 1990, **17**(1): 34—37. [张英培, 刘红, 楼允东. 异育淇鲫及其双亲同工酶的比较研究. 遗传学报, 1990, **17**(1): 34—37]
- [10] Teng C B, Sun X W and Shen J B. RAPD analysis of gynogenetic crucian carp activated by heterologous sperms and their parents [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1999, **23**(4): 420—423. [滕海波, 孙孝文, 沈俊宝. 利用异源精子激发雌核发育的银鲫及亲本的 RAPD 分析. 水产学报, 1999, **23**(4): 420—423]
- [11] Zhou L, Wang Y, Gui J F. Genetic evidence for gonochoric reproduction in gynogenetic silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio* Bloch) as revealed by RAPD assays [J]. *J Mol Evol*, 2000a, **51**: 498—506
- [12] Zhu L F. Gradient Gel Electrophoresis on polyacrylamide of isozymes and proteins of fishes [J]. *Acta Hydrobiologica sinica*, 1992, **16**(2): 183—185. [朱蓝菲. 鱼类同工酶和蛋白质的聚丙烯酰胺凝胶电泳法. 水生生物学报, 1992, **16**(2): 183—185]
- [13] Zhou L and Gui J F. Karyotypic diversity in polyploid gibel carp, *Carassius auratus gibelio* Bloch [J]. *Genetica*, 2002, **115**: 223—232
- [14] Zhou L, Wang Y, Gui J F. Analysis of genetic heterogeneity among five gynogenetic clones of silver crucian carp, *Carassius auratus gibelio* Bloch, based on detection of RAPD molecular markers [J]. *Cytogenet Cell Genet*, 2000b, **88**: 133—139
- [15] Li M Y, Zhou L, Yang L, *et al.* Molecular genetic analysis on Pengze crucian carp and comparison with strain A of gynogenetic silver crucian carp [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2002, **26**(5): 472—476. [李名友, 周莉, 杨林, 等. 彭泽鲫的分子遗传分析及其与方正银鲫 A 系的比较. 水产学报, 2002, **26**(5): 472—476]
- [16] Yao J H, Lou Y D, Jiang Y. A study on mitochondrial DNA polymorphism among six geographical populations of *Carassius auratus gibelio* in China [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1998, **22**(4): 289—295. [姚纪花, 楼允东, 江涌. 我国六个地区银鲫种群线粒体 DNA 多态性的研究. 水产学报, 1998, **22**(4): 289—295]
- [17] Zhang H, Dong X H, Ye Y Z and Wu Q J. Comparative studies of the mtDNA from three strains of triploid *Carassius auratus* and *Carassius auratus auratus* [J]. *Acta Genetica Sinica*, 1998, **25**(4): 330—336. [张辉, 董新红, 叶玉珍, 等. 三个三倍体鲫鱼品系及野鲫 mtDNA 的比较研究. 遗传学报, 1998, **25**(4): 330—336]
- [18] Yang R J, Li B X, Feng H, Yang C B, Sun Y D, Zhang X J and Luo S. 2003. Cytogenetic analysis of chromosome number and ploidy of *Carassius auratus* variety pengze [J]. *Acta Zoologica Sinica*, **49**(1): 104—109. [杨睿娇, 李冰霞, 冯浩, 杨楚彬, 孙远东, 张轩杰, 罗. 2003. 彭泽鲫染色体数目及倍性的细胞遗传学分析. 动物学报, **49**(1): 104—109]
- [19] Wu L Z and Wang Z X. Study on the developmental genetic of isozymes in Grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) II. Analysis of isozymes during the early development of Grass carp [J]. *Acta Genetica Sinica*, 1987, **14**(5): 387—394. [吴力钊, 王祖熊. 草鱼同工酶发育遗传学研究. 遗传学报, 1987, **14**(5): 387—394]

ISOZYME EVIDENCES FOR ALLOGYNOGENETIC BIOLOGICAL EFFECTS IN
EMBRYOGENESIS OF GYNOGENETIC CRUCIAN CARP(*CARASSIUS*
AURATUS OF PENGZE)

ZHAO Jun, CUI Miao and CHEN Xiang-Lin
(Life science college of South China Normal University, Guangzhou 510631)

Abstract: Pengze crucian carp, just like silver crucian carp, is known as gynogenetic crucian carp. It is one of the most popular cultural fishes in China. The offspring of pengze crucian carp activated by heterogeneous sperms show obvious allogynogenetic biological effects in growth, rate of fertilization and other aspects. But like in silver crucian carp, no evidences have been found that the allogynogenetic biological effects exist in morphology or protein phenotype in pengze crucian carp. That is why there are argument about the phenomenon of allogynogenetic biological effects. In this paper, the patterns of expressions in four isozymes (EST, MDH, ME and LDH) were investigated in the embryogenetic stages of gynogenetic crucian carp (*Carassius auratus* of Pengze) activated by homogenous and heterogeneous sperms, respectively, used by polyacrylamide gel electrophoresis. The material used here were collected from Nanhai Aquiculture Experiment Base, College of Life Science, South China Normal University. Both MDH and LDH showed apparent differences between the embryos activated by homogenous sperm and those by heterogeneous sperm. The main differences in MDH exist at hatching stage, which showed two more bands in the isozyme pattern of embryos activated by heterogeneous sperm than those of embryos activated by homogenous sperm. The main differences in LDH exist at five stages from middle-gastrula to muscle construction, which showed four more bands in the isozyme pattern of embryos activated by heterogeneous sperm than those of embryos activated by homogenous sperm. Meanwhile, the other two isozymes (EST and ME) detected in this paper did not show apparent differences between the embryos activated by homogenous sperm and those activated by heterogeneous sperm. Furthermore, the speed of development of the embryos activated by heterogeneous sperm is slight faster than that of the embryos activated by homogenous sperm. Although it is difficult to define the reason of the above differences, it can be considered as one form of allogynogenetic biological effects.

Key words: Allogynogenetic effects; Isozyme; Pengze crucian carp; Gynogenesis; Embryogenesis