

人工复合三倍体鲤与亲本相对 DNA 含量及倍性分析

叶玉珍 吴清江

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

摘要 本文通过显微荧光光度术测量了人工复合三倍体鲤的红细胞及亲本红鲤、红鲫与散鳞镜鲤个体的红细胞和精子的相对 DNA 含量。结果表明: 每一种亲本的精子 DNA 含量是其红细胞 DNA 含量的二分之一, 人工复合三倍体鲤 DNA 含量等于三个亲本精子 DNA 含量之和, 为三个亲本血液红细胞 DNA 含量之和的二分之一。以外周血淋巴细胞制备染色体标本, 人工复合三倍体鲤染色体数为 150, 其亲本红鲤、红鲫和散鳞镜鲤的二倍体染色体数均为 100。研究进一步证明人工复合三倍体鲤与二倍体亲本的染色体倍性和相对 DNA 含量存在着明显的相关性。

关键词 人工复合三倍体鲤 亲本 DNA 含量, 染色体

人工复合三倍体鲤鱼(以下称复合鲤)是本实验室培育出的一个鲤新品种, 它的体细胞染色体组由一组红鲤、一组红鲫和一组散鳞镜鲤的染色体构成, 因而具有鲤、鲫的优良经济性状, 表现为生长快、肉质好、生活力强、抗病力高, 并具有独特的雌核发育生殖方式, 为母系遗传^[1,2]。这在鱼类遗传育种方面无疑具有重要的科学意义和生产实际意义。由于复合鲤的染色体是来自三个不同亲本的染色体组, 因此形态发生了较大变化, 可明显区别于正常的二倍体鲤。

国内外学者对鱼类 DNA 含量的研究很多^[3-6], 而在人工诱导的多倍体中的研究并不多。本文应用显微荧光光度术测定复合鲤及其亲本的红细胞和精子的相对 DNA 含量并比较其染色体的倍性关系, 由此进一步证明复合鲤的三组染色体是来源于三个亲本, 为探明复合鲤可育性的特殊遗传机制提供基础资料。

1 材料与方 法

1.1 实验材料 各种实验鱼取自本所官桥试验基地。

1.2 实验方法 荧光显微标本制片, 每种鱼取两尾, 个体重为 0.5—1kg。具体方法是取复合鲤的血液及亲本的血液和精液直接涂于载玻片上, 自然干燥后用卡诺氏液固定, 以显示 DNA 的荧光染料 DAPI(4',6-二脒基-2-苯基吡啶)染色。各种样品在武汉大学测试中心

SMP 细胞显微分光光度仪上测定。测定条件为: DAPI 激发波长 360nm, 最大波长 50nm, 测定光源用汞灯 (CS200W-4, Philips), 目镜用 10 倍, 物镜用 40 倍。

1.3 染色体制片 按常规外周血淋巴细胞培养方法制备染色体标本, 从鱼体尾柄血管抽取血液接种于含有 20% 小牛血清的 1640 培养基中培养 72h, 收集细胞前 2h 加最终浓度为 $20 \mu\text{g} / \text{ml}$ 的秋水仙碱溶液, 以 $0.075\text{mol} / \text{L}$ KCl 低渗, 卡诺氏液固定, 气干法制片, Giemsa 氏液染色, 普通光学显微镜观察、计数、拍照。

2 结果与讨论

2.1 亲本精子与血液红细胞相对 DNA 含量 已知两性发育鱼的精子为单倍体, 其 DNA 含量为体细胞 DNA 含量的一半。经测定, 红鲤红细胞相对 DNA 含量平均为 91.19 单位, 精子平均为 44.36 单位, 两者比值为 2.1:1; 红鲫红细胞相对 DNA 含量平均为 87.84, 精子平均为 41.00 单位, 两者比值为 2.1:1; 散鳞镜鲤红细胞相对 DNA 含量平均为 90.92 单位, 精子平均为 43.34 单位, 两者比值为 2.1:1 (表 1)。从以上结果不难看出, 单倍体精子的 DNA 含量基本上是二倍体细胞 DNA 含量的一半。

表1 人工复合三倍体鲤及亲本相对DNA含量的测定结果

Tab.1 The DNA content of artificial multiple triploid carp and its parents

测定样品 Measured sample	细胞数 No. of cells	平均值 (A, U) ± 标准差 Mean and standard error	倍数 Ploidy
红鲤红细胞 Red blood cell of red carp	34	91.19±15.18	2N
红鲫红细胞 Red blood cell of red crucian carp	38	87.84±9.98	2N
镜鲤红细胞 Red blood cell of mirror carp	36	90.92±15.84	2N
复合鲤红细胞 Red blood cell of multiple triploid carp	34	137.89±25.21	3N
红鲤精子 Sperm of red carp	37	44.36±7.81	1N
红鲫精子 Sperm of red crucian carp	37	41.00±7.71	1N
镜鲤精子 Sperm of mirror carp	37	43.34±6.95	1N

* 任意单位 Arbitrary Unit.

2.2 复合鲤血液红细胞与亲本精子、红细胞相对 DNA 含量的比较

从表 1 可见, 复合鲤红细胞相对 DNA 含量平均为 137.89 单位, 基本上三个亲本单倍体精子 DNA 含量的总和, 是三个亲本红细胞 DNA 含量总和的二分之一。这一结果与理论推测值相当吻合。且进一步证明: 复合鲤染色体数目的增加和 DNA 含量是以倍性关系成比例递增的。李渝成等曾对 14 种淡水鱼类的 DNA 含量作过研究, 并阐述这些鱼类的 DNA 含量和相应的染色体数目之间存在着密切的相关性, 即 DNA 含量高的鱼类, 染色体数目一般较多; DNA 含量低的鱼类, 染色体数目一般较少。本实验结果与之完全一致。

2.3 复合鲤与亲本染色体倍性分析

染色体观察、计数结果表明,复合鲤 $3n = 150$, 红鲤、红鲫和散鳞镜鲤分别为 $2n = 100$ (图 1—4)。

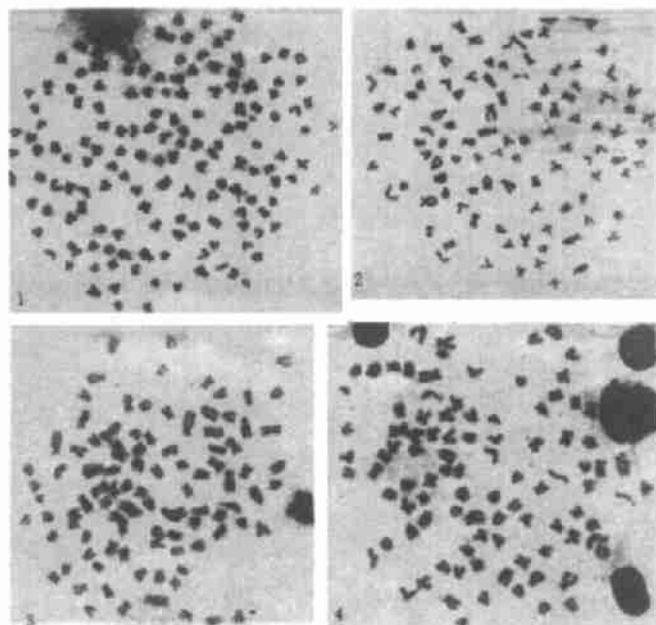


图 1 人工复合三倍体鲤的染色体

Fig.1 Chromosomes of artificial multiple triploid carp

图 2 红鲤的染色体

Fig.2 Chromosomes of red carp

图 3 散鳞镜鲤的染色体

Fig.3 Chromosomes of scatter-scaled mirror carp

图 4 红鲫的染色体

Fig.4 Chromosomes of red crucian carp

染色体倍性是指染色体组数,普通鲤、鲫的体细胞都具有两组染色体,因而称为二倍体,复合三倍体鲤具有三组不同的染色体,因而称它为三倍体,也可称人工异源三倍体。葛伟等^[7]曾对一些多倍体化类型的动物作过综述,认为自然界中营雌核发育生殖的鱼类、爬行类以及两栖类大多具高倍性的染色体组,一般为三倍体。如美洲的 *Poecilia formosa*、日本的关东鲫以及我国东北的方正银鲫等都是天然的雌核发育三倍体类型^[8-10]。本实验室的复合鲤就是近似于这一特点,后代全部为三倍体化的个体,成熟的卵子未经减数分裂,只需异源精子启动就能产生单性发育的鱼类,其性状表现出生长快、品质优的特点,根据显微荧光光度法分析 DNA 含量,它明显高于其它三个亲本,因此我们认为该种鱼为三倍体类型的鱼,它将形成一个稳定的三倍体种群。这对于克服长期以来人工定向杂交育种研究中出现的后代分离现象无疑是一个重大的突破,而且在进化和育种方面亦具有重大意义。

由于三倍体雄性不育,因此本试验未获得复合鲤的精子与亲本作比较。按一般遗传学原理分析,人工复合三倍体鲤雄性不育,可能是由于染色体在配子的减数分裂过程中配对发生紊乱而致。

参 考 文 献

- [1] Wu C, et al. An artificial multiple carp and its biological characteristics. *Aquaculture*, 1993, **111**:255—262
- [2] 叶玉珍等. 人工复合三倍体鲤卵的受精生物学研究. *水生生物学报*, 1994, **18**(1): 17—21
- [3] 李渝成等. 十四种淡水鱼的 DNA 含量. *遗传学报*, 1983, **10**(5): 384—389
- [4] 沈俊宝等. 方正银鲫体细胞、精子的 DNA 含量及倍性的比较研究. *动物学报*, 1984, **30**: 7—13
- [5] Cimino M C. The nuclear DNA content of diploid and triploid fishes of the genus *Poeciliopsis* and other poeciliid fishes with reference to the evolution of unisexual forms. *Chromosoma*, 1974, **47**(3):297—307
- [6] Hinegardner R, Rosen, D E. Cellular DNA content and the evolution of teleostean fishes. *The American Naturalist*. 1972, **106**(951):621—644
- [7] 葛伟等. 鱼类的天然雌核发育. *水生生物学报*, 1989, **13**(3):274—286.
- [8] 蒋一珪等. 异源精子在银鲫雌核发育子代中的生物效应. *水生生物学集刊*, 1983, **8**(1): 1—13
- [9] Hubbs C L, Hubbs L C. Apparent parthenogenesis in nature, in a form of fish of hybrid origin. *Science*, 1932, **76**(1983):628—630
- [10] 小林·弘. 三倍体キンナの卵形成における成熟分裂の細胞学的観察. *鱼类学杂志*, 1976, **22**: 234—240

RELATIVE DNA CONTENT MEASUREMENT AND PLOIDY ANALYSIS OF ARTIFICIAL MULTIPLE TRIPLOID CARP AND ITS THREE PARENTAL FORMS

Ye Yuzhen and Wu Qingjiang

(*Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072*)

Abstract We have used the method of fluorescence microphotometry to compare the relative DNA content of erythrocyte of the artificial multiple triploid fish with DNA contents of erythrocyte and spermatozoa of its three parental forms: red carp, red crucian carp and scatter-scaled mirror carp. The results indicated that the cellular DNA content of the triploid fish is the sum of its three parental spermatozoa DNA contents, and half the sum of the three parental erythrocyte DNA contents. Chromosome preparations made from leucocyte cultures showed that the artificial multiple triploid carp has a chromosomal number of 150, and all the three parental forms have 100. Therefore, we have proved that there is a close correlation between the artificial multiple triploid carp and its diploid parents in both chromosomal numbers and relative DNA contents.

Key words Artificial multiple triploid carp, Parents, DNA content, Chromosome