研究简报

二倍体和四倍体泥鳅染色体组型比较

印　杰[1]　赵振山[2]　陈小奇[3]　李艳秋[3]　朱丽亚[1]
(1. 湖北省水产科学研究所,武汉　430071;2. 华中农业大学,武汉　430070;3. 武汉大学,武汉　430072)

KARYOTYPE COMPARISON OF DIPLOID AND TETRAPLOID LOACH, MISGURNUS ANGUILLICANUDATUS

YIN Jie[1], ZHAO Zhen-Shan[2], CHEN Xiao-Qi[3], LI Yan-Qiu[3] AND ZHU Li-Ya[1]
(1. *Hubei Fisheries science research institude, Wuhan* 430071; 2. *Huazhong Agricultural University, Wuhan* 430070; 3. *Wuhan University, Wuhan* 430072)

关键词:二倍体和四倍体;泥鳅;染色体
Key words: Diploid and Tetraploid; *Misgurnus anguillicanudatus*; Chromosome
中图分类号:S965.1　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1000-3207(2005)04-0469-04

根据陈景星[1]的论述,分布于中国境内的泥鳅属(*Misgurnus*)的鱼类共有三种:北方泥鳅(*M. bipartitus*)、黑龙江泥鳅(*M. mohoity*)和泥鳅(*M. anguillicaudatus*)。北方泥鳅主要分布于黄河以北地区,黑龙江泥鳅仅分布于黑龙江水系,泥鳅在全国各地均有分布,并开始成为主要的养殖品种。随着泥鳅养殖业的蓬勃发展,良种泥鳅的选育显得十分重要,泥鳅的研究工作也逐渐得到深入。

泥鳅染色体的研究表明,泥鳅存在不同的地理种群,但主要分为二倍体和四倍体泥鳅[2—6]两类,四倍体泥鳅属多倍体类型。在国内已报道的淡水鱼类核型中,有 30 多种鱼类发现了多倍体类型。由于多倍体鱼个体大、生长快、适应性强,育种的潜力很大,因此多倍体鱼类的开发和利用在鱼类育种中尤其引人注意。鱼类染色体核型研究为鱼类育种开辟一个全新的领域[2]。为了选育优良的泥鳅养殖品种,本文对二倍体泥鳅和四倍体泥鳅的染色体组型进行了比较,并对泥鳅的杂交和多倍体现象进行了探讨,以期望能为泥鳅的良种选育和地理进化研究提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　材料来源与鉴别　材料鱼在 1998 年春季分别购买于湖北的神农架、宜昌、沙市和武汉的农贸市场。泥鳅各种规格都有,体长范围在 5—18cm。种类鉴定方法依据陈景星的论述[1]。

1.2　实验的方法　采用 Yamamoto 等所建立的肾组织 PHA 技术进行细胞培养,对培养基稍加改动(80%1640 培养液 + 20%小牛血清 + 15mmol/L HEPES)。用 0.037mol/L KCl 低渗液在室温下处理 30 ±3min,空气干燥法制片,Giemsa 染色。

镜检,每一种鱼至少计数 100 个完整分裂相,确定其二倍体染色体数(2n)。用显微摄影的方法测量分析 10 个以上完整的中期分裂相。并按目前常用的 Levan 等的标准[3]对臂比进行分组,确定每一种鱼的染色体组型特征。即臂比 1.00-1.70 为中部着丝点染色体(m 组),1.70-3.00 为亚中部着丝点染色体(sm 组),3.01-7.00 为亚端部着丝点染色体(st 组),7.01-∞为端部着丝点染色体(t 组)。

2　结果

2.1　四个地理种群的生长比较

通过对四个地理种群中一龄天然泥鳅的生长调查发现,宜昌和神农架的泥鳅平均体长分别为 7.6cm 和 7.3cm,而沙市和武昌的泥鳅平均体长分别为 13.4cm 和 14.2cm;宜昌和神农架的泥鳅平均体重分别为 3.8g 和 3.7g,而沙市和武昌的泥鳅平均体长分别为 25.7g 和 27.1g(表 1)。t 检验表明,宜昌和神农架的泥鳅没有差异,而沙市和武昌的泥鳅也没有差异,但宜昌与神农架和沙市与武昌的泥鳅种群之间存在显著差异(表 2)。

收稿日期:2004-04-16;**修订日期**:2005-03-20
基金项目:湖北省科技厅重点科研项目和武汉市科技局"晨光计划"资助
作者简介:印杰(1970—),男,湖北仙桃人,工程师,主要从事泥鳅遗传育种、繁殖及养殖的研究

表 1 四个地理种群一龄天然泥鳅体长与体重比较

Tab. 1 Comparison of length and weight of four one-year-old loach populations

	宜 昌		神农架		沙 市		武 昌	
	体长(cm)	体重(g)	体长(cm)	体重(g)	体长(cm)	体重(g)	体长(cm)	体重(g)
平均值	7.59 ±0.72	3.83 ±0.34	7.33 ±0.62	3.67 ±0.30	13.42 ±0.51	25.69 ±1.06	14.18 ±0.81	27.14 ±1.32
范围	6.5 —8.7	3.3 —4.4	6.3 —8.3	3.2 —4.2	12.6 —14.3	24.2 —27.8	12.9 —15.3	24.8 —28.5
样本数	28	28	28	28	28	28	28	28

表 2 四个地理种群一龄天然泥鳅体长与体重的差异分析

Tab. 2 Differences analysis of length and weight of four one-year-old loach populations

地区	宜昌	神农架	沙市	武昌
宜昌		0.1591	0.0000 *	0.0000 *
神农架	0.2604		0.0000 *	0.0000 *
沙市	0.0000 *	0.0000 *		0.0009
武昌	0.0000 *	0.0000 *	0.0019	

注:空格上方为体重的差异比较,空格下方为体长的差异比较。 *表示为差异显著。

2.2 四个地理种群的染色体组型比较

在上述四个地理种群中,染色体数出现明显的差异现象。对神农架泥鳅的 81 个分裂相进行染色体计数,占总数 68 %的分裂相染色体数目是 50;对宜昌泥鳅的 65 个分裂相进行染色体计数,占 71 %的分裂相染色体数目是 50,表明神农架和宜昌两个地理种群的泥鳅的 2n 数为 50(表 3)。分析武昌泥鳅的 80 个分裂相染色体数,占总数 82 %的分裂相染色体数目是 100;沙市泥鳅的 69 个分裂相的染色体数,占总数 84 %的分裂相染色体数目是 100,可以初步认为,沙市和武昌的泥鳅的 2n 数为 100(表 3)。

表 3 四个地理种群的泥鳅染色体计数结果

Tab. 3 Statistics of chromosome numbers in four loach populations

地理种群	鱼尾数	♀	♂	分裂相的染色体众数	众数的数量比例(%)
神农架	11	6	5	50	68
宜 昌	8	4	4	50	71
武 昌	13	7	6	100	82
沙 市	10	5	5	100	84

上述计数的分裂相中,非众数部分的染色体数目绝大部分偏向小于众数的一侧,即泥鳅的非众数部分都少于 100 或 50。非众数部分是由于处理细胞、制片和计数误差所造成的。它的不平衡分布反映出,在处理细胞和制片时,染色体丢失的情况比混杂的情况更常发生。

对四个泥鳅地理种群的染色体组型分析表明,武汉和沙市的泥鳅的核型公式为 16m + 12sm + 72t,臂数(NF)为 128;神农架和宜昌的泥鳅的核型公式为 8m + 6sm + 36t,臂数(NF)为 64。

在分析武汉的泥鳅染色体时,发现一尾泥鳅的染色体为 2n = 74,初步认定该泥鳅是四倍体泥鳅和大鳞副泥鳅(*Paramisgurnus dabryanus*)的杂交种。

在所有的标本中均未观察到与性别有关的染色体。

3 讨论

3.1 关于泥鳅的核型和地理种群

泥鳅是鳅科(Cobitidae)中分布最广泛的一种鱼,陈景星认为花鳅亚科的 6 个属中,除泥鳅属外,大多数属种地理分布的区域性是明显的[1],但根据另外一些学者[2—4]以及本文的研究表明,泥鳅存在明显的地理种群现象。采自四川、广西、黑龙江、河北、神农架、太湖等地的为 2n = 50,核型公式为 8m + 6sm + 36t. NF = 64。而采自于广东韶关、湖北武昌和沙市的居群为 2n = 100,核型公式 16m + 12sm + 72t. NF = 98。分布于日本的群体则分别为 2n = 50,75,100 等三种核型(表 4)。可以看出,泥鳅的 2n 数呈多态现象,标志着不同居群水平的核型分化。这些不同居群水平的核型分化,基本上是多倍体化或罗伯逊易位形成的。由于染色体数目不同,杂种后代难以顺利完成减数分裂和形成正常配子,使群体间具有一定的生殖隔离。但这些地理居群在形态、遗传结构上看与其他地理群体差异并不很大,尚不足以达到种或亚种水平上的差异程度。因此可看作是孟德尔式群体。但不一定有严格的地理隔离。

表 4　不同地理种群的泥鳅染色体计数结果

Tab. 4　Statistics of chromosome numbers in different loach populations

作者	采集地点	2n 数	核型公式	臂数(NF)
Hitotsumachi , 1969	日本	50	10m + 4sm + 36st ,t	64
Ojima , 1979	日本	48	12m + 4sm + 32st ,t	64
		50	10m + 4sm + 36st ,t	64
		75(3n)	15m + 6sm + 54st ,t	96
		100	20m + 8sm + 72st ,t	128
李康等 ,1983	武汉、沙市	100	16m + 12sm + 72t	128
李渝成等 ,1987	重庆、泸州	50	8m + 6sm + 36t	64
王军萍等 1993	河北易县、保定市	50	6m + 8sm + 36t	64
本文	武汉、沙市	100	16m + 12sm + 72t	128
	神农架、宜昌	50	8m + 6sm + 36t	64

3.2　关于泥鳅的杂交现象

在自然条件下,许多鱼类存在自然杂交现象。Ojima 等对泥鳅的杂交现象做了报道,在采于日本的 80 尾泥鳅中仅发现一尾 3n = 75 的类型,推测是两种杂交所产生,这种类型要进一步进行减数分裂和有性生殖则存在难以逾越的障碍。在分析武汉的泥鳅染色体时,发现一尾泥鳅的染色体为 2n = 74,推测可能是泥鳅和大鳞副泥鳅杂交的结果。因为武汉的泥鳅的染色体数为 2n = 100,而大鳞副泥鳅的染色体数为 2n = 48,杂交的结果只能是 2n = 74,这种鱼也可能存在生殖困难。因此,泥鳅的不同地理种群保持 2n = 50 和 2n = 100 两种类群稳定的主要因素可能是生殖隔离。类似情况也存在于其他一些鱼类中,如鳅科的琵琶湖花鳅(*Cobitis biwae*),即存在 2n = 48 和 2n = 98 两类种群。

3.3　关于泥鳅的多倍体化现象

多倍体化现象在高等脊椎动物中虽然极其少见,但是在鱼类这样一些较低等脊椎动物中却并不少见。在中国已报道的淡水鱼类核型中,有 30 多种鱼发现了多倍体类型[2]。近年来,一些学者相继报道了鳅科鱼类的多倍体现象,如 Uennc 和 Ojima 报道了花鳅属(*Cobitis biwae*)的多倍体化现象。Ferris 和 White 提出了沙鳅属(*Botia modesta*)的四倍体。Raicu 和 Taisescu 分析了分布于欧洲惟一的泥鳅属的纵带泥鳅(*M. fossilis*)的染色体组型,其染色体数目(2n)为 100,臂数为 136,李康等认为这是一种四倍体类型的鱼。可见,多倍体化在鳅科鱼类中是一种较普遍的现象。Hitotsumachi 等曾提出,鳅科鱼类基本的二倍体染色体数目是 50。但某些地区泥鳅的核型曾发生过 2n = 50 →2n = 100 的自然加倍过程。表 4 显示,这些地理居群的染色体数目和臂数大致呈 2∶3∶4 的比例关系,即泥鳅存在二倍体、三倍体、四倍体三个类群。分布于广东韶关、湖北武昌和沙市以及日本的部分居群就是四倍体化的较特殊的群体。由于多倍体在遗传育种上有着重要的种质价值,因此四倍体化的泥鳅存在着较大的种质潜力。从初步的观察研究,四倍体泥鳅应是一种优良的亲本,它具有生长快、耗氧率低、营养价值高等特点,可用于获得具有优良经济性状的杂种后代,它还可以作为主要的养殖品种,成为养殖户和养殖单位新的经济增长点。

3.4　关于泥鳅的性染色体

与高等脊椎动物相比,鱼类的性染色体类型最多,性别决定机制最复杂。其性别决定机制,对于水产养殖来说,具有重要的实用价值。因此,在鱼类的遗传学研究和育种实践中,常常要求鉴别其性染色体组成。目前,已发现 70 余种鱼类具有与性别有关的异形性染色体,占已有染色体报道种类的不足 5 %。在已研究过染色体的鱼类中,只有 5 目 13 种鱼类发现有异形性染色体,其中包括大鳞副泥鳅(ZZ/ ZW 型)。泥鳅是与大鳞副泥鳅进化关系最近的一个近缘种,曾被列入同一个属,因此泥鳅是否具有性染色体及其类型自然成为关心的课题。本文的研究在所有标本中均未观察到与性别有关的染色体。这与李康等、李渝成等、王军萍等的报道相同。常重杰[12]通过 C 带和银染研究也没有发现泥鳅具有与性别相关联的带型特征。泥鳅属已报道核型的种类也均未发现性染色体。一些学者对这种现象进行了解释:一是在脊椎动物中多倍体类型通常见于雌雄性别间没有分化核型的或一些能孤雌生殖、雌核发育的动物;而具有性染色体的脊椎动物中,多倍体极少见。二是四倍体在进行过程中,性染色体也可能产生分化,但分化程度可能相当低,致使高度重复序列的积累尚未达到一定的量,不足以用 C 带技术识别出来[7,8]。作者较同意后者的观点,将来借鉴分子生物学技术,采用分辨能力更强的研究技术,将会使这方面的研究进入一个新的境界。

参考文献:

[1] Chen J X. . A study on the classification of the subfamily cobitinae of China. Transaction of the Chinese Chthyological Society(No. 1) [M]. Beijing: Science Press , 1981 , 21 —32[陈景星. 中国花鳅亚科鱼类系统分类的研究. 鱼类学论文集(第一集). 北京:科学出版社,1981 ,21 —32]

[2] Ma G. The Research progress in chromosome pattern and numerical

variation of freshwater fish in China[J]. *Journal of Gansu Sciences*. 1996,**8**(3):77—80[**马纲. 中国淡水鱼类染色体形态及其数目变异的研究进展. 甘肃科学学报**,1996,**8**(3):77—80]

[3] Wang J P, Dai X J, Han X F. The karyotypes of three cobitoid fishes in HeBei province[J]. *Journal of HeBei Uniersity* (Natural Science Edition). 1993,**13**(3):51—54[**王军萍,戴秀君,韩希福. 河北省三种鳅科鱼类的染色体组型. 河北大学学报(自然科学版)**,1993,**13**(3):51—54]

[4] Chang Z J, Du Q Y Yu Q X. Studies on the Ag-NORs and C-banding of *Misgurnus auguillicaudatus*[J]. *Journal of Henan Normal University*. 2000,**28**(2):71—73[**常重杰,杜启艳,余其兴. 泥鳅的** Ag-NORs **带和** C **带研究. 河南师范大学学报(自然科学版)**, 2000,**28**(2):71—73]

[5] Chang Z J, Yu Q X. The Cytogentic Evidences of ZZ/ZW Sex Determinatin in Paramisgurnus dabryanus[J]. *Hereditas*, 1997, **19**(3): 17—19[**常重杰,余其兴. 大鳞副泥鳅** ZZ/ZW **型性别决定的细胞遗传学证据. 遗传**,1997,**19**(3):17—19]

[6] Lou Y D. Progress of fish karyotype studies in China[J]. *Journal of Fishes of China*. 1997,**21**(Suppl.):82—96[**楼允东. 中国鱼类染色体组型研究的进展. 水产学报**,1997,**21**(**增刊**):82—96]

[7] Zhao Z S, Wu Q J, Xiong B X, *et al*. The expression of LDH isozymic genes in misgurnus auguillicaudatus And *Paramisgurnus dabryanus* under different relations between nucleus and cytoplasm [J]. *Acta, Hydrobiology Sinica*, 2001,**25**(2) 167—173[**赵振山,吴清江,熊邦喜,等,两种泥鳅不同核质关系下** LDH **同工酶基因表达的研究. 水生生物学报** 2001,**25**(2):167—173]

[8] Long L Q, Zhao Z S, Alalysis of genetic variasion in hybrids between *Misgurnus auguillicaudatus* across *Paramisgurnus dabryanus* beciprocally by using RAPD. [J]. *Acta, Hydrobiology Sinica* 2000,**24**(6): 659—662[**龙良启,赵振山. 泥鳅和大鳞副泥鳅正反交子代遗传变异的** RAPD **分析. 水生生物学报** 2000,**24**(6):659—662]

www.cnki.net