杂交鳢(斑鳢♀×乌鳢♂)及其自交后代细胞核型初步分析

刘 苏[①②] 朱新平[①②] 陈昆慈[①*] 赵 建[①] 李凯彬[①] 潘德博[①]
(① 中国水产科学研究院珠江水产研究所 广州 510380; ② 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306)

摘要:对杂交鳢(斑鳢♀×乌鳢♂)(*Channa maculata* ♀×*C. argus* ♂)及其自交后代的细胞核型进行了初步分析。结果表明,杂交鳢染色体数目为2n=45,核型公式为3m+4sm+6st+32t,染色体臂数(NF)为52;杂交鳢自繁后代群体存在两种染色体核型,一是染色体数目为45,核型公式为3m+4sm+6st+32t,NF=52,另一种为染色体数目44,核型公式为2m+4sm+6st+32t,NF=50。经对比分析,在F2群体中,染色体数目为45的核型公式与杂交鳢相似,而染色体数目为44的与杂交鳢相比少了一条中部着丝点的染色体。推测杂交鳢减数分裂可能会产生染色体数目分别为23条和22条的两种配子。

关键词:杂交鳢; F2; 染色体; 核型
中图分类号:Q953 **文献标识码**:A **文章编号**:0250-3263(2011)01-100-06

Karyotype Analysis of the Hybrid Snakehead (*Channa maculata* ♀×*C. argus* ♂) and Its Inbred Progeny (F2)

LIU Su[①②] ZHU Xin-Ping[①②] CHEN Kun-Ci[①*] ZHAO Jian[①] LI Kai-Bin[①] PAN De-Bo[①]
(①*Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Fishery Academy of Sciences, Guangzhou* 510380;
②*College of Life Science and Fisheries, Shanghai Ocean University, Shanghai* 201306, *China*)

Abstract: The diploid chromosome number and karyotype of Hybrid Snakehead (*Channa maculata* ♀×*C. argus* ♂) and its inbreeding population (F2) were studied by somatic cells *in vivo* culture. The results indicated that the diploid chromosome number of hybrid snakehead was 2n=45, karyotype formula was 3m+4sm+6st+32t, and arm number (NF) was 52. The inbreeding population (F2) had two kinds of karyotype, a sort of diploid chromosome number 2n=45, and karyotype formula 3m+4sm+6st+32t, NF=52; and the other diploid chromosome number 2n=44, and karyotype formula 2m+4sm+6st+32t, NF=50. The comparative analysis showed that the karyotype formula of F2 (2n=45) was consistent with that of hybrid snakehead, however there was a metacentric chromosome missed in chromosome of some F2 individuals (2n=44) compared to hybrid snakehead. Therefore, it can be speculated that hybrid snakehead may produce two kinds of generative cells with 23 and 22 chromosomes, respectively.

Key words: Hybrid Snakehead; F2; Chromosome; Karyotype

鳢科鱼类是我国重要的淡水经济鱼类[1-2]。杂交鳢是人们在生产养殖中以斑鳢(*Channa maculata*)为母本,乌鳢(*C. argus*)为父本杂交而获得,具有生长快、易于驯食人工配合饲料、耐运输等杂种优势。近年来,杂交鳢在

基金项目 国家公益性行业(农业)科研专项(No. 200903045);
* 通讯作者,E-mail:chenkunci@yahoo.com.cn;
第一作者介绍 刘苏,男,硕士研究生;研究方向:鱼类遗传育种;E-mail:ls200000@163.com。
收稿日期:2010-05-24,修回日期:2010-11-01

珠江三角地区已发展成为一种重要的养殖品种,养殖规模还在逐步扩大[3-4]。生产实践中发现,杂交鳢是可育的,自交产生了后代。据以前的一些研究报道,杂交鳢染色体数目为45[5],杂交鳢染色体数目为单数,且又可以繁育,这是有趣的生物学现象,值得进行系统的研究。因此我们首先对杂交鳢染色体核型进行了验证,同时对其自繁后代的染色体核型进行了初步分析,以期为杂交鳢可育的遗传机理提供一些基础数据。

1　材料与方法

1.1　实验材料　杂交鳢(斑鳢♀×乌鳢♂)采自广东省中山市三角镇裕荣水产苗种繁殖场,体重 300~500 g。杂种 F2 是杂交鳢自交产生的后代,体重 20~100 g,取 10 尾。

1.2　实验方法　实验鱼先按体重的 10 μg/g 剂量体腔注射植物血凝素(phytohaemagglutinin,PHA),注射后将鱼暂养 24 h。然后再按体重的 1 μg/g 注射秋水仙素。3 h 后断尾放血,取头肾置于生理盐水中剪碎,静止 5 min,取上层细胞悬液,离心收集细胞(1 500 r/min,5 min)。再用 0.037 5 mol/L KCl 溶液低渗处理 30 min,最后用新鲜配制的卡诺氏液(甲醇:冰醋酸=3:1,体积比)固定 3 次,每次 15 min。采用冷片法滴片,空气干燥法干燥后的染色体玻片用 Giemsa 染液染色 1 h[6]。

1.3　核型分析　在 Nikon ECLIPSE E600 显微镜下观察,对染色体中期分裂相进行染色体计数,并选出清晰的中期分裂相进行显微照相和测量。在 Photoshop CS4 上测量染色体长度,并对其进行排列。染色体的类型按照 Levan 标准确定[7]。染色体相对长度计算公式为:

$$\text{染色体相对长度} = \frac{\text{实测单条长度} \times 2}{\text{全部染色体长度总和}} \times 100。$$

2　结果与分析

2.1　众数统计　在显微镜下观察处于分裂中期的细胞,对染色体进行计数统计(表 1)。杂交鳢二倍体染色体众数为 45,众数所占比例 66.94%,因此,杂交鳢染色体数目为 2n=45。在 10 个杂交鳢自交后代(F2)个体中,有 6 个个体的二倍体染色体众数为 45,众数所占比例为 58.44%~64.56%,确定其染色体数目为 2n=45;另 4 个个体二倍体染色体众数为 44,其众数所占比例为 65.82%~72.58%,可确定它们的染色体数目为 2n=44。

表 1　杂交鳢和 F2 染色体数目的统计

Table 1　Statistics of the chromosome number of Hybrid Snakehead(*C. maculata* ♀×*C. argus* ♂) and F2

实验鱼 Experimental fish	统计的中期分裂相数目 The number of metaphase cell	染色体观察值分布 Division of chromosome number (%)				
		<44	44	45	46	>46
杂交鳢 Hybrid	124	17.74	8.06	66.94	4.84	2.42
F2-1	103	19.42	69.90	7.77	2.91	0.00
F2-2	79	26.58	65.82	5.06	2.53	0.00
F2-3	96	18.75	10.42	61.46	7.29	2.08
F2-4	80	20.00	16.25	60.00	3.75	0.00
F2-5	62	19.35	72.58	6.45	1.61	0.00
F2-6	79	18.99	15.19	64.56	1.27	0.00
F2-7	77	18.18	14.29	58.44	6.49	2.60
F2-8	84	20.24	14.29	63.10	2.38	0.00
F2-9	54	24.07	66.67	7.41	1.85	0.00
F2-10	87	17.24	14.94	63.22	3.45	1.15

2.2　杂交鳢染色体组型分析　采用显微镜下拍摄的清晰的中期分裂相图片,对染色体进行重新的排列和测量(图 1)。杂交鳢有中部着丝点染色体(m)3 条,亚中部着丝点染色体(sm)4 条,亚端部着丝点染色体(st)6 条和端部着丝点染色体(t)32 条,核型为 3m+4sm+6st+32t,染色体臂数(NF)为 52(表 2)。

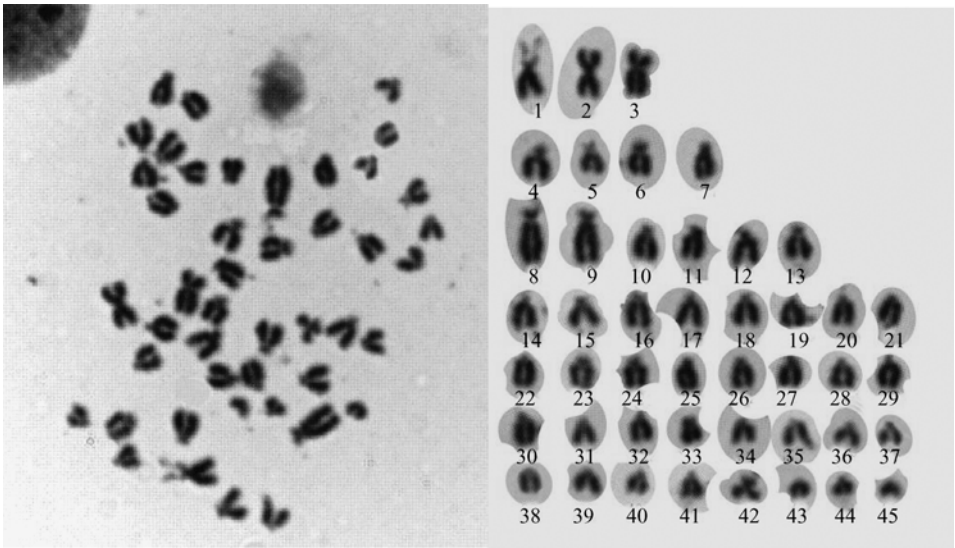

图 1　杂交鳢(斑鳢♀×乌鳢♂)有丝分裂中期染色体及核型

Fig. 1　The spread of metaphase chromosomes and the karyotype of Hybrid Snakehead (*C. maculata* ♀ × *C. argus* ♂)

表 2　杂交鳢(斑鳢♀×乌鳢♂)染色体相对长度和臂比

Table 2　The relative length and arm ratio of chromosomes of Hybrid Snakehead (*C. maculata* ♀ × *C. argus* ♂)

编号 No.	染色体相对长度 Relative length of chromosome	臂比 Arm ratio	类型 Type	编号 No.	染色体相对长度 Relative length of chromosome	臂比 Arm ratio	类型 Type
1	8.72	1.12	m1	24	4.20	∞	t11
2	6.72	1.29	m2	25	4.20	∞	t12
3	6.71	1.59	m3	26	4.20	∞	t13
4	4.62	1.75	sm1	27	4.20	∞	t14
5	5.04	2.00	sm2	28	3.89	∞	t15
6	5.04	2.20	sm3	29	3.68	∞	t16
7	5.25	2.33	sm4	30	4.20	∞	t17
8	6.91	4.12	st1	31	5.25	∞	t18
9	6.97	3.72	st2	32	3.36	∞	t19
10	4.62	3.40	st3	33	3.36	∞	t20
11	4.73	3.50	st4	34	4.10	∞	t21
12	4.41	3.20	st5	35	4.10	∞	t22
13	5.46	3.33	st6	36	4.31	∞	t23
14	4.62	∞	t1	37	3.68	∞	t24
15	4.73	∞	t2	38	4.10	∞	t25
16	4.62	∞	t3	39	4.20	∞	t26
17	4.31	∞	t4	40	3.47	∞	t27
18	4.62	∞	t5	41	3.47	∞	t28
19	4.20	∞	t6	42	3.78	∞	t29
20	3.78	∞	t7	43	2.52	∞	t30
21	4.62	∞	t8	44	2.63	∞	t31
22	4.41	∞	t9	45	2.63	∞	t32
23	4.41	∞	t10				

2.3　F2 染色体组型分析　对 F2 染色体数目为 45 的个体统计显示,其有中部着丝点染色体(m)3 条,亚中部着丝点染色体(sm)4 条,亚端部着丝点染色体(st)6 条和端部着丝点染色体(t)32 条,核型为 3m + 4sm + 6st + 32t,染色体臂数(NF)为 52(图 2,表 3)。

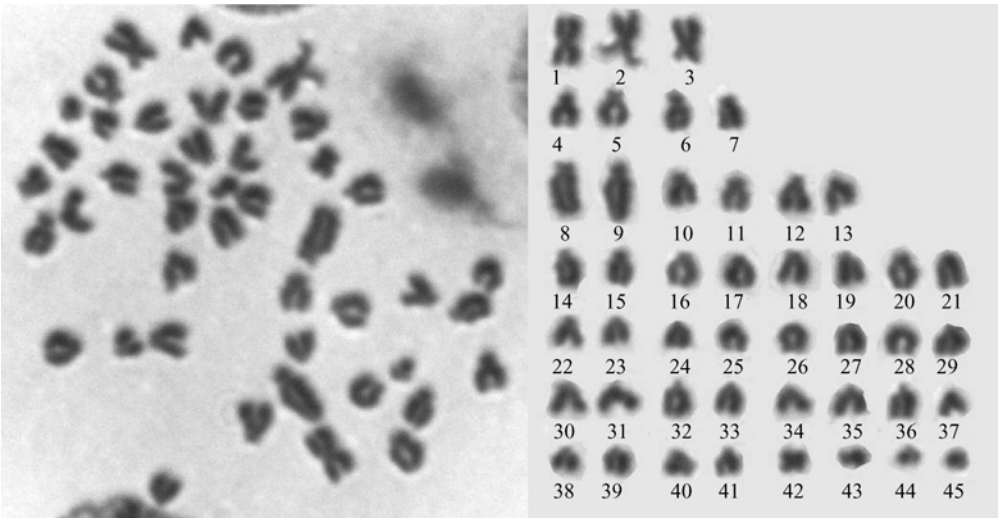

图 2　F2(2n = 45)有丝分裂中期染色体及核型

Fig. 2　The spread of metaphase chromosomes and the karyotype of F2(2n = 45)

表 3　F2(2n = 45)染色体相对长度和臂比

Table 3　The relative length and arm ratio of chromosomes of F2(2n = 45)

编号 No.	染色体相对长度 Relative length of chromosome	臂比 Arm ratio	类型 Type	编号 No.	染色体相对长度 Relative length of chromosome	臂比 Arm ratio	类型 Type
1	6.95	1.10	m1	24	3.97	∞	t11
2	6.82	1.06	m2	25	3.97	∞	t12
3	6.42	1.55	m3	26	3.97	∞	t13
4	4.97	2.00	sm1	27	3.97	∞	t14
5	4.63	2.50	sm2	28	4.30	∞	t15
6	4.77	2.60	sm3	29	3.97	∞	t16
7	4.97	2.75	sm4	30	3.97	∞	t17
8	7.08	4.35	st1	31	3.97	∞	t18
9	6.62	4.00	st2	32	3.91	∞	t19
10	4.30	3.33	st3	33	3.84	∞	t20
11	4.44	3.79	st4	34	3.71	∞	t21
12	4.37	4.50	st5	35	3.71	∞	t22
13	4.63	4.83	st6	36	3.64	∞	t23
14	5.30	∞	t1	37	3.64	∞	t24
15	5.23	∞	t2	38	3.64	∞	t25
16	4.63	∞	t3	39	3.64	∞	t26
17	4.63	∞	t4	40	3.64	∞	t27
18	4.63	∞	t5	41	3.57	∞	t28
19	4.63	∞	t6	42	3.31	∞	t29
20	4.97	∞	t7	43	3.31	∞	t30
21	4.90	∞	t8	44	2.65	∞	t31
22	4.63	∞	t9	45	2.65	∞	t32
23	4.50	∞	t10				

对 F2 染色体数目为 44 的个体统计显示，其有中部着丝点染色体(m)2 条，亚中部着丝点染色体(sm) 4 条，亚端部着丝点染色体(st) 6 条和端部着丝点染色体(t) 32 条，核型为 2m +4sm +6st +32t，染色体臂数(NF)为 50(图 3，表 4)。

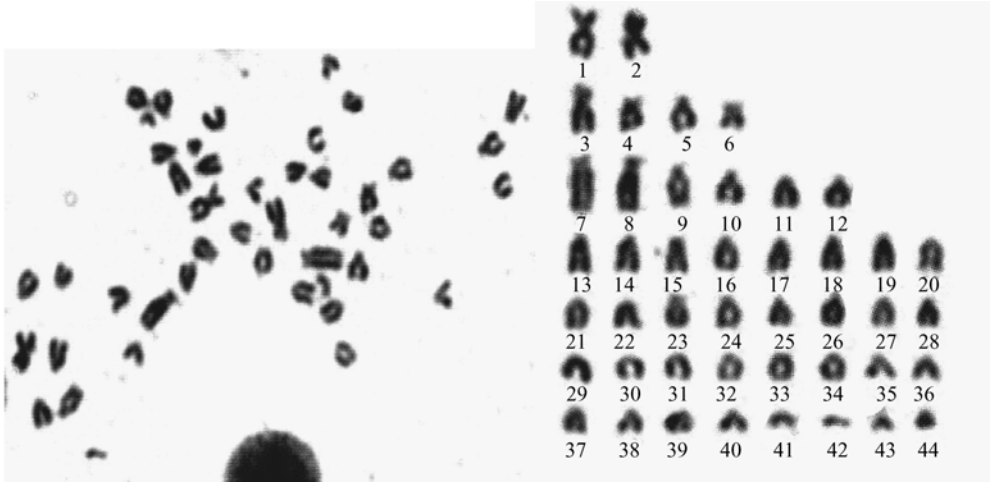

图 3　F2(2n =44)有丝分裂中期染色体及核型

Fig. 3　The spread of metaphase chromosomes and the karyotype of F2(2n =44)

表 4　F2(2n =44)染色体相对长度和臂比

Table 4　The relative length and arm ratio of chromosomes of F2(2n =44)

编号 No.	染色体相对长度 Relative length of chromosome	臂比 Arm ratio	类型 Type	编号 No.	染色体相对长度 Relative length of chromosome	臂比 Arm ratio	类型 Type
1	6.46	1.14	m1	23	4.26	∞	t11
2	6.18	1.25	m2	24	4.19	∞	t12
3	6.32	1.88	sm1	25	4.95	∞	t13
4	6.18	2.00	sm2	26	4.88	∞	t14
5	6.05	1.93	sm3	27	4.12	∞	t15
6	4.40	1.91	sm4	28	4.12	∞	t16
7	7.56	3.68	st1	29	4.12	∞	t17
8	7.08	3.78	st2	30	4.05	∞	t18
9	5.36	3.22	st3	31	3.78	∞	t19
10	5.36	3.33	st4	32	3.78	∞	t20
11	4.47	3.33	st5	33	3.98	∞	t21
12	4.47	3.33	st6	34	3.92	∞	t22
13	5.50	∞	t1	35	3.92	∞	t23
14	5.36	∞	t2	36	3.85	∞	t24
15	5.02	∞	t3	37	3.64	∞	t25
16	4.95	∞	t4	38	3.44	∞	t26
17	4.88	∞	t5	39	3.44	∞	t27
18	4.81	∞	t6	40	3.44	∞	t28
19	3.64	∞	t7	41	3.30	∞	t29
20	3.64	∞	t8	42	3.09	∞	t30
21	4.12	∞	t9	43	2.40	∞	t31
22	4.12	∞	t10	44	3.44	∞	t32

2.4　F2 与杂交鳢染色体比较　在 10 个杂交鳢自交后代 F2 中,6 个个体与杂交鳢的染色体数目均为 45,染色体核型基本一致,都为 3m + 4sm + 6st + 32t,无显著差异;而其余 4 个个体与杂交鳢相比,少了一条中部着丝点染色体,染色体数目为 44,染色体核型变为 2m + 4sm + 6st + 32t,染色体臂数也减少 2(表 5)。

表 5　杂交鳢和 F2 的染色体组型比较

Table 5　Comparison of the karyotypes between Hybrid Snakehead (*C. maculata* ♀ × *C. argus* ♂) and F2

实验鱼 Experimental fish	染色体数(2n) Diploid chromosome number	核型公式 Chromosome formula	臂数(NF) Arm number
杂交鳢 Hybrid	45	3m + 4sm + 6st + 32t	52
F2	45	3m + 4sm + 6st + 32t	52
	44	2m + 4sm + 6st + 32t	50

3　讨　论

多位学者对杂交鳢的父母本乌鳢和斑鳢的核型做了研究,发现它们染色体数目分别为 48 和 42[8-9]。杂交鳢的核型,国内已有报道[5],我们的结果在染色体数目上与其是一致的,都为 2n = 45,可以确定杂交鳢是遗传自乌鳢和斑鳢各一套染色体。我们的分析结果显示,杂交鳢的核型公式为 2n = 45 = 3m + 4sm + 6st + 32t,与张诚等[5]报道的杂交鳢核型公式 2n = 45 = 3m + 6sm + 6st + 30t 存在差异,这主要是由于染色体制备方法和所分析染色体时相不一致,以及测量和配组误差等造成的染色体分组与着丝点位置的确定上存在差异[10]。

尽管杂交鳢及其父母本的染色体核型已有报道,但至今还没有见到有关杂交鳢可以繁育以及其自交后代染色体核型的报道。杂交鳢染色体数目为 45,在减数分裂过程可能会由于染色体无法配对而不育,这也是一些杂种不育的重要原因。但是,生产实践中发现,杂交鳢是可育的,能自交产生后代 F2。对 F2 群体的染色体核型分析发现,其有两种染色体核型,染色体数目分别为 45 和 44。因此,推测杂交鳢减数分裂可能会产生 2 种配子,它们染色体数目分别为 23 和 22。

本研究中 F2 群体核型分析只做了 10 个个体,其中染色体数目 45 的 6 个,染色体数目 44 的 4 个,不同核型在后代中的比例由于研究个体较少,尚无法确定,需进一步研究。而且,暂时未发现染色体数目为 46 的个体,原因可能是实验的样本数太少或者是染色体数目为 23 的 2 个配子无法相容,这些问题都有待进一步的研究探索。本研究丰富了鱼类有性繁殖理论的内容,为鱼类遗传机理的研究提供了参考资料。

参　考　文　献

[1] 聂国兴,傅艳茹,张浩,等. 乌鳢肌肉营养成分分析. 淡水渔业,2002,32(2): 46 - 47.

[2] 杨四秀,蒋艾青. 斑鳢的含肉率及肌肉营养成分分析. 河北渔业,2007,(12): 10 - 12.

[3] 刘文奎,樊启学,朱邦科,等. 乌鳢养殖技术之一:雄性乌鳢与雌性斑鳢杂交试验. 中国水产,2007,(3): 37 - 39.

[4] 刘文奎,樊启学,朱邦科,等. 饵料密度对杂交鳢仔鱼生长、存活的影响. 华中农业大学学报,2007,26(3): 367 - 370.

[5] 张诚,刘年锋,杨小强,等. 闽香鳢(斑鳢♀×乌鳢♂)及其亲本染色体组型的比较. 上海水产大学学报,2005,14(2): 103 - 107.

[6] 余先觉,周暾,李渝成,等. 中国淡水鱼类染色体. 北京:科学出版社,1989.

[7] Levan A, Fredya K, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 1964, 52(2): 201 - 202.

[8] 秦伟,倪建国,张学斌,等. 乌鳢及鳢科鱼类染色体组型的比较研究. 水利渔业,2004,24(5): 14 - 16.

[9] 李康,李渝成,周暾. 乌鳢、月鳢和斑鳢的染色体组型和 C-带带型的研究. 遗传学报,1985,12(6): 470 - 477.

[10] 张克俭. 长体鳜、黑鳍鳚及塘鳢的染色体组型研究. 水产学报,1989,13(1): 52 - 58.