

鲤和草鱼杂交四倍体及其回交三倍体 草鱼杂种的研究

吴维新 李传武 刘国安 徐大义 刘纯善

(湖南省水产科学研究所,沅江)

谢锦云* 单茶秀*

(湖南师范大学生物系,长沙)

提 要

进行了兴国红鲤♀×草鱼♂的杂交,杂种一代染色体数为142—156,众数值为146—152,系染色体自动加倍的异源四倍体。其外形和习性接近母本,两性均能成熟,雌、雄鱼分别与草鱼进行了回交。以草鱼为母本,杂种一代为父本的回交子代全部为草鱼形,草食性。以杂种一代为母本,草鱼为父本的回交子代一部分象草鱼,一部分象鲤,但草鱼形子代成活率较低,两个回交组合的子代均为三倍体,染色体数98—100,众数值98。1983年获得的杂种一代♀×草鱼♂的鲤鱼形回交杂种,已于1986年性成熟,雌、雄鱼分别与草鱼再次回交,获得了二次回交杂种。测定了红鲤、草鱼、杂种一代及其与草鱼回交子代的乳酸脱氢酶和过氧化物酶的同工酶,它们各有不同的电泳图谱。

关键词 鲤,草鱼,杂交,三倍体,四倍体

草鱼是我国传统的优良养殖鱼类,但草鱼多病,成活率低。因此,关于草鱼抗病育种,已为国内外所重视,近十多年来,相继有过类似报道^[1,4,5,7,9,11,12]。自1973年以来,我们进行了草鱼抗病育种的探索,研究兴国红鲤♀×草鱼♂的远缘杂交(以下简称鲤草杂交),1980年获得了数量较多的杂种一代,查明是一个异源四倍体杂种^[5]。1982年,杂种一代雌、雄鱼性腺均发育成熟后,进行了杂种一代自交及杂种一代、回交子一代与草鱼连续两代的回交,获得了4个组合的回交草鱼杂种,并对鲤草杂种一代及其回交子代的形态、核型及生化遗传标记进行了观察。

材 料 与 方 法

1. 鲤草杂交及回交程序(图1)

杂种一代的获得:1978—1980年,我们进行了以兴国红鲤为母本,草鱼为父本的杂

* 承担同工酶电泳测定。

1987年1月10日收到。

交,选择的亲本体质健壮,性成熟充分。兴国红鲤雌鱼,体色全红,无杂色斑点,体重1—1.5公斤;草鱼雄鱼,8—10龄,体重8公斤以上。经人工催产,在雌鱼排卵后15分钟内进行人工授精,受精卵在滑石粉悬液中脱粘1小时,置于流水容器中孵化,水温20—22℃,试验鱼专池饲养至性成熟。杂种一代的形态、习性均偏向母本(鲤),因而必须通过回交,使杂种后代回复草鱼的性状。

回交一代的获得:1983年,用杂种一代的两性分别与草鱼的雌、雄鱼进行了交叉回交。草鱼♀×杂种一代♂的回交子代全部具有草鱼形态,草食性。杂种一代♀×草鱼♂的回交子代有两种类型:鲤鱼形和草鱼形回交子代,前者的形态和习性象鲤鱼,后者具有草鱼的形态和习性。

二次回交杂种的获得:1983年获得的杂种一代♀×草鱼♂的鲤鱼形回交子代,于1986年性成熟,分别与草鱼雌、雄鱼进行了第二次回交。其中,草鱼♀×鲤鱼形回交一代♂的子代全部具有草鱼的形态和习性,而回交一代♀×草鱼♂的子代性状发生分离,出现了草鱼形和鲤鱼形两种子代。重点培育草鱼形个体。

2. 按常规标准测定了兴国红鲤、草鱼、杂种一代及草鱼♀×杂种一代♂回交子代的形

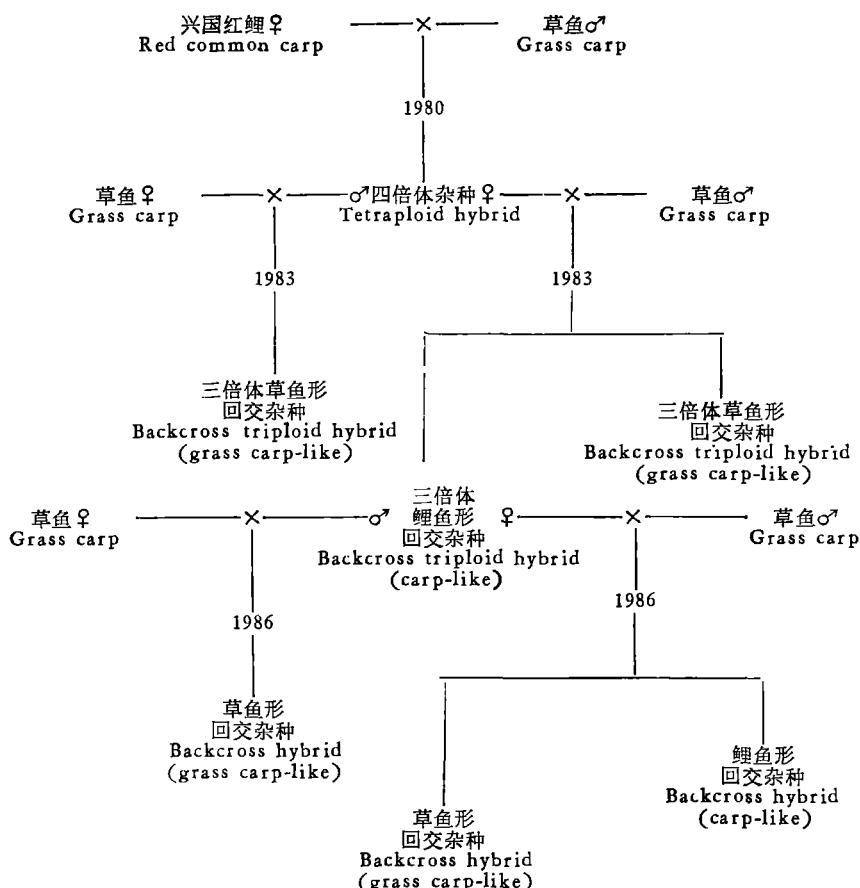


图1 鲤草杂交及回交程序

Fig. 1 The procedure of hybridization and backcross between red carp and grass carp

态特征，并进行统计分析，分别进行了兴国红鲤与杂种一代、草鱼与回交子代的形态比较。

3. 采用白细胞培养法测定染色体。取草鱼、兴国红鲤、杂种一代和草鱼形回交子代各3—5尾，用无菌的、经肝素钠处理过的微量注射器，从尾动脉抽血1毫升，在冰箱中静置1小时，分离出白血球进行组织培养。培养液成份：“199”3毫升，小牛血清蛋白液1毫升，pH A0.2毫升，三抗0.1毫升。注入链霉素瓶中，接种后在26℃恒温培养箱内培养72小时。结束前4小时注入秋水仙素液，使培养液中最终浓度为4—6微克/毫升。培养结束后，收集细胞，用0.075 mol/L KCl在28—29℃水浴中低渗处理30分钟，甲醇、冰乙酸(3:1)固定2次，每次15分钟，空气干燥法制片，Giemsa染色。在显微镜下每种鱼计数50个分裂相，选择较清晰的分裂相显微拍照，按Leven's标准分析核型。

4. 同工酶电泳 用白细胞培养时分离出的血清作材料，以2%聚丙烯酰胺凝胶在4℃下进行盘状电泳，电流2mA/管，电泳2—3小时，用Vander Helen法显示乳酸脱氢酶同工酶，用Scandliops法显示过氧化物酶同工酶。照相并扫描记录结果。

试验结果

1. 鲤草杂交及其回交子代的形态特征

兴国红鲤♀×草鱼♂杂种一代的形态特征偏向母本。大部分性状的统计参数表现为超母本范围的偏离，是一个显著特征(表1，图版I:1—3)。

杂种一代的各种比例性状、鳞式、背鳍式、臀鳍式等均接近鲤鱼，它与兴国红鲤在形态上的主要差异表现在：a. 体色青灰；b. 背鳍、胸鳍、臀鳍、尾鳍呈青灰色，接近于草鱼；c. 大多数个体前触须消失，保留一对后触须，个别个体保留有前触须的痕迹，还有个别个体无触须。与兴国红鲤比较，杂种一代触须纤细，长度大大缩短，变异范围增大。吻长/触须长，兴国红鲤为 2.81 ± 0.37 ，而杂种一代为 7.04 ± 6.74 。杂种一代的体长/体高、尾柄长/尾柄高均相对小于母本。

杂种一代属杂食性鱼类，生长速度缓慢，达到性成熟的2+龄鱼体重仅0.5—1.0公斤，但体质健壮，抗病力强。

草鱼♀×杂种一代♂回交子代的形态特征偏向母本草鱼，外形很难与草鱼区别(图版I:4)。它的许多比例性状和可数性状与草鱼相同或相近(表1)。草鱼形回交子代与草鱼相同或接近的性状有：全长/体长、体长/体高、头长/吻长、背鳍式、臀鳍式，且都无触须。但草鱼形回交杂种的头较小而尾柄相对较长。它与草鱼的主要区别在于侧线鳞数，草鱼为39—44，平均 41.6 ± 0.92 ，而草鱼♀×杂种一代♂回交子代的侧线鳞数多为38，平均 38.75 ± 1.5 。

草鱼♀×杂种一代♂回交杂种为草食性。在较好的饲养条件下，当年鱼体重达175—650克，2龄鱼1.5—3.5公斤，3龄鱼3.5—6.85公斤，4龄鱼4.8—9.6公斤。初步观察，这种鱼具有较强的抗病力，1983年，与它同池饲养的杂种一代♀×草鱼♂的鲤鱼形回交子代爆发细菌性烂鳃病，大部分死亡，而这种鱼没有染病。

表1 兴国红鲤、草鱼及其杂交四倍体。
Tab. 1 Morphological comparison between red common carp,

统计项目 statistics	鱼名 species	兴国红鲤 Red common carp					四倍体杂种 Tetraploid hybrid				
		\bar{x}	S	$S_{\bar{x}}$	P = 99.5	C.V (%)	\bar{x}	S	$S_{\bar{x}}$	P = 99.5	C.V (%)
性状 traits											
全长/体长 Total length/body length	1.23	0.021	0.014	1.24—1.22	0.1		1.28	0.037	0.016	1.35—1.21	2.9
体长/体高 Body length/body height	2.83	0.61	0.113	3.17—2.44	21		2.79	0.19	0.08	3.17—2.40	6.8
体长/头长 Body length/head length	3.61	0.62	0.13	4.0—3.22	17		3.65	0.22	0.099	4.12—3.18	6.0
头长/吻长 Head length/snout length	2.76	0.73	0.14	3.19—2.33	26		2.85	0.23	0.10	3.33—2.38	8.0
吻长/触须长 snout length/barbel length	2.81	0.37	0.078	3.05—2.57	13		7.04	6.74	3.07	21.08—0	95
尾柄长/尾柄高 Length of caudal peduncle/height of caudal peduncle	1.41	0.67	0.12	1.17—1.05	41		1.08	0.10	0.046	1.30—0.86	9.2
触须数 Number of barbel	4	—	—	4	—		2	0.01	0.27	2—0	41
侧线鳞数 Number of lateral line scale	34.93	1.7	0.32	36—34	4.8		32.2	1.25	0.56	35—30	3.9
背鳍软鳍条数 Number of soft ray of dorsal fin	16.34	1.04	0.19	17—15	6.3		16.6	0.54	0.24	18—16	3.25
臀鳍软鳍条数 Number of soft ray of anal fin	5	—	—	5	—		6	—	—	6	—

2. 鲤草杂种一代及其与草鱼回交子代的核型

兴国红鲤的染色体数 $2n = 100$, 其中 M 组 6 对, SM 组 20 对, ST 组 10 对, T 组 14 对, 染色体总臂数 172 (图 2:a)。

草鱼染色体数 $2n = 48$, 其中 M 组染色体 10 对, SM 组 6 对, ST 组 8 对, 染色体总臂数 96 (图 2:b)。

兴国红鲤♀ × 草鱼♂ 杂种一代的染色体数为 142—156, 众数值 146—152, 但有的鱼含有染色体数为 76 的二倍体细胞, 这些鱼是四倍体和二倍体的镶嵌体。用最有代表性的染色体数为 148 的分裂相进行组型分析, 发现杂种一代具有 2 组草鱼染色体和 2 组鲤鱼染色体, 即含有 M 组染色体 16 对, SM 组 26 对, ST 组 18 对, T 组 14 对, 染色体总臂数 268。没有观察到杂交可能引起的染色体形态变异 (图 2:c)。

草鱼♀ × 杂种一代♂ 回交杂种的染色体数 98—100, 众数值 98, 含有 2 组草鱼染色

草鱼形回交三倍体的形态比较

grass carp, their tetraploid hybrid and backcross triploid

草 鱼 Grass carp					草鱼形回交三倍体 Backcross triploid (Grass carp-like)				
\bar{x}	S	$S_{\bar{x}}$	P = 99.5	C. V (%)	\bar{x}	S	$S_{\bar{x}}$	P = 99.5	C. V (%)
1.13	0.04	0.013	1.19—1.07	2.6	1.13	0.014	0.007	1.5—1.11	1.2
3.98	0.099	0.044	4.19—3.77	2.48	4.23	0.17	0.085	4.46—4.0	4.0
4.33	0.24	0.10	4.84—3.22	5.5	4.86	0.31	0.155	5.29—4.43	6.3
2.72	0.11	0.05	2.96—2.48	4	2.68	0.20	0.10	2.96—2.40	7.4
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
1.34	0.17	0.099	1.91—0.97	12.6	1.67	0.07	0.035	1.77—1.57	4.1
0	—	—	0	—	0	—	—	0	—
41.6	0.92	0.41	44—39	2.2	38.75	1.5	0.75	41—37	3.8
8	—	—	8	—	8	—	—	8	—
8.2	0.44	0.20	9—7	5.3	8.5	1.0	0.5	10—7	11.7

体和 1 组鲤鱼染色体，即 10 对草鱼的 M 组染色体，6 条鲤鱼的 M 组染色体；6 对草鱼的 SM 组染色体，20 条鲤鱼的 SM 组染色体；8 对草鱼的 ST 组染色体，10 条鲤鱼的 ST 组染色体；14 条鲤鱼的 T 组染色体(图 2:d)。因此，回交子代为三倍体，但也发现有染色体数为 74—78 的二倍体细胞。

3. 兴国红鲤、草鱼、杂种一代及其与草鱼的两种回交子代的生化遗传差异

乳酸脱氢酶同工酶的差异：从图 3 可见，兴国红鲤有 9 条酶带，草鱼有 7 条酶带。杂种一代不同于双亲，酶带条数减少，幅度加宽，只呈现 3 条宽幅酶带。回交子代也只有 3 条酶带，但它们的近阳极带弱于杂种一代。扫描结果表明：杂种一代及两个组合的回交子代均有 3 条完整酶带，主峰加强，弱带有合并趋势。

过氧化物酶同工酶的差异：从图 4 可见，兴国红鲤和草鱼只有 3 条酶带，而杂种一代和两个回交子代有 4 条酶带，即在近阳极带前面出现一条特有的酶带，这也许就是反应杂

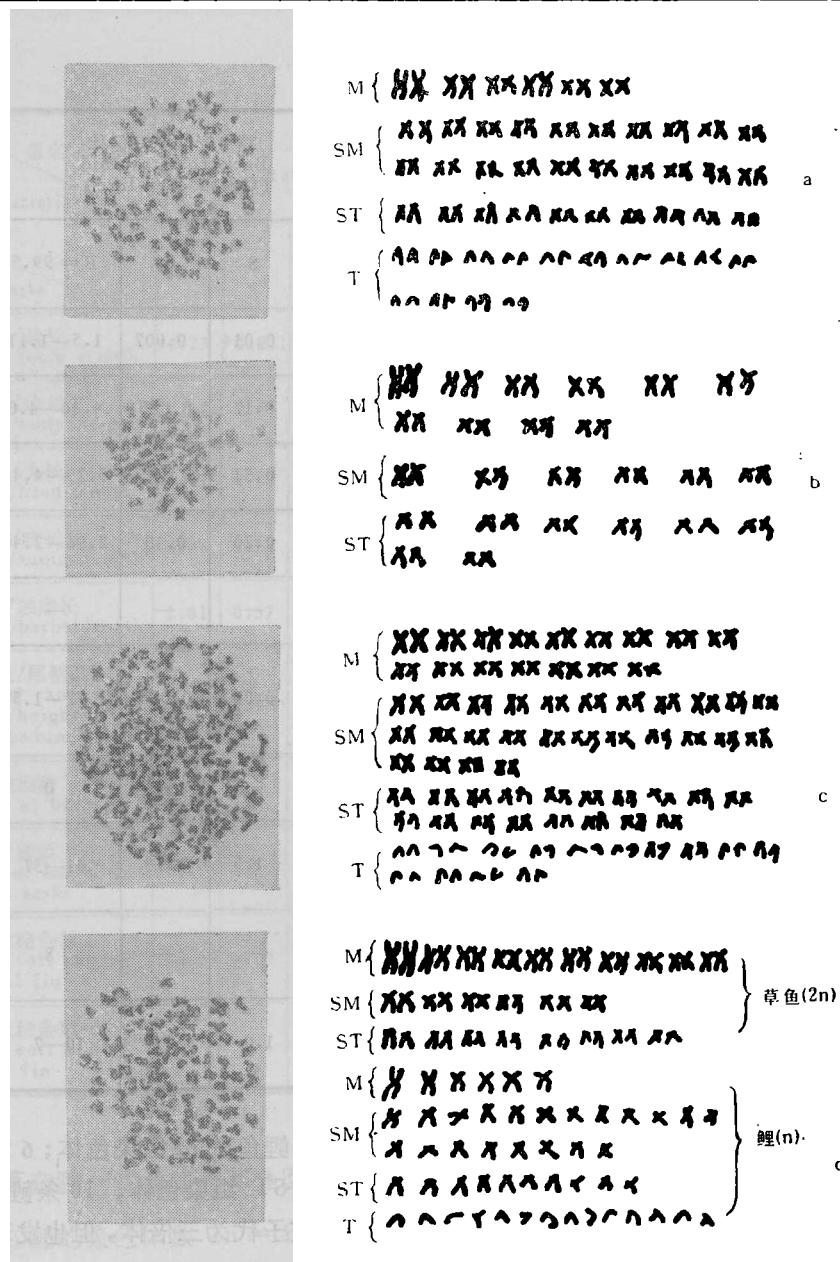


图2 兴国红鲤、草鱼、杂种一代及其与草鱼回交子代的染色体组型

Fig. 2 The karyotype of red common carp, grass carp, hybrid F₁ and backcross offspring between hybrid F₁ and grass carp

- a. 兴国红鲤的染色体组型 The karyotype of red common carp;
 - b. 草鱼的染色体组型 The karyotype of grass carp;
 - c. 杂种一代的染色体组型 The karyotype of hybrid F₁;
 - d. 草鱼形回交子代的染色体组型 The karyotype of backcross offspring

种优势的所谓“杂种酶带”。扫描结果表明：过氧化物酶同工酶也同样有主峰加强、弱带合并的趋势。

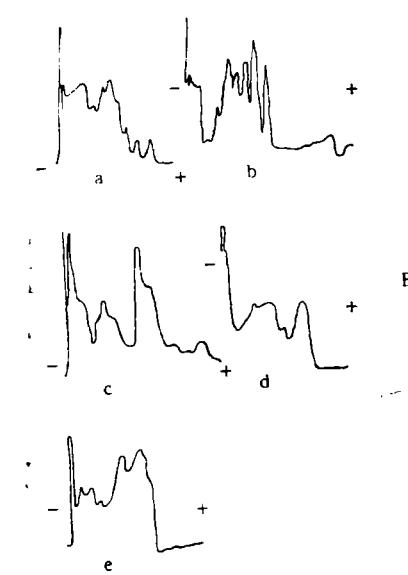
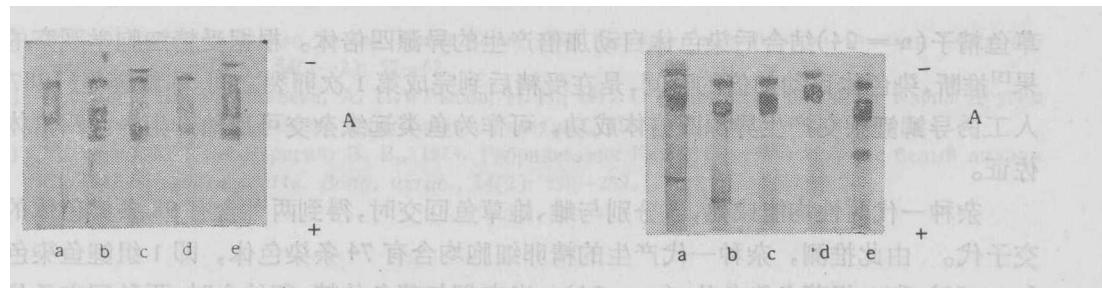


图3 兴国红鲤、草鱼、杂种一代及其与草鱼回交子代血清乳酸脱氢酶的同工酶酶谱

Fig. 3 The zymogram patterns of LDH isozymes from blood serums of red common carp, grass carp, hybrid F_1 and backcross offsprings of hybrid F_1 with grass carp

A. 电泳图谱 Electrophoretograms; B. 电泳图谱扫描 Electrophoretograms scanned; a. 兴国红鲤 Red common carp; b. 草鱼 Grass carp; c. 杂种一代 Hybrid F_1 ; d. 杂种一代 ♀ × 草鱼♂ Hybrid F_1 ♀ × Grass carp ♂; e. 草鱼♀ × 杂种一代♂ Grass carp ♀ × Hybrid F_1 ♂

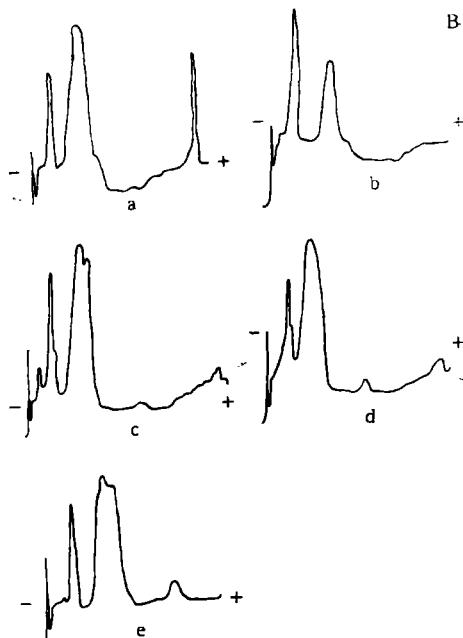


图4 兴国红鲤、草鱼、杂种一代及其与草鱼回交子代血清过氧化物酶的同工酶酶谱

Fig. 4 The zymogram patterns of Peroxidase isozymes from blood serums of red common carp, grass carp, hybrid F_1 and backcross offsprings of hybrid F_1 with grass carp

A. 电泳图谱 Electrophoretograms; B. 电泳图谱扫描 Electrophoretograms scanned; a. 兴国红鲤 Red common carp; b. 草鱼 Grass carp; c. 杂种一代 Hybrid F_1 ; d. 杂种一代 ♀ × 草鱼♂ Hybrid F_1 ♀ × Grass carp ♂; e. 草鱼♀ × 杂种一代♂ Grass carp ♀ × Hybrid F_1 ♂

讨 论

1. 兴国红鲤♀ × 草鱼♂杂交后代的染色体倍性

植物远缘杂交产生四倍体子代已早有报道^[2]。至于鱼类远缘杂交，在我们的工作之前，国内外还没有报道过自然产生的四倍体子代。吴维新等(1981)报道^[3]，兴国红鲤♀ × 草鱼♂杂种一代染色体数 142—156，标准分裂相染色体数 148，是红鲤卵子($n = 50$)和

草鱼精子($n = 24$)结合后染色体自动加倍产生的异源四倍体。根据受精细胞学观察的结果^[3]推断,染色体自动加倍的时间,是在受精后到完成第1次卵裂之间。陈敏容等(1987)^[6]人工诱导鲤鱼杂交产生异源四倍体成功,可作为鱼类远缘杂交可自然产生异源四倍体的佐证。

杂种一代两性均能成熟,当分别与雌、雄草鱼回交时,得到两种含有98条染色体的回交子代。由此推测,杂种一代产生的精卵细胞均含有74条染色体,即1组鲤鱼染色体($n = 50$)和1组草鱼染色体($n = 24$),当它们与草鱼的精、卵结合时,两种回交子代均含有1组鲤鱼染色体和2组草鱼染色体,所以,两种回交子代都是三倍体杂种。

2. 杂交后代的形态特征遗传

杂交后代的形态特征,表现了明显的趋母性遗传现象。杂种一代的形态偏向母本鲤鱼,说明细胞核在遗传中起了主导作用,因为来自母本的染色体数(100)多于父本(48)。两个回交子代的形态特征是十分有趣的,草鱼♀×杂种一代♂的回交子代全部为草鱼形,而杂种一代♀×草鱼♂的回交子代分离成鲤鱼形和草鱼形两种类型。按核型而言,两个回交子代均含有两组草鱼染色体和1组鲤鱼染色体,所以都应表现为草鱼形。以杂种一代为母本的回交子代之所以出现鲤鱼形回交子代,是因为卵细胞的细胞质遗传效应,但这种效应个体间不均衡,只有在某些细胞质遗传效应占优势的个体上,才表现出趋母性现象。

3. 杂种后代生物学习性的遗传

观察表明,杂种后代的食性总是与体形的遗传相关联。草鱼形子代总是草食性,而鲤鱼形子代则总是杂食性。由此推论,草鱼和鲤鱼的食性,是由某些性状基因控制的,或者控制食性的基因总是与性状基因相连锁的。而抗病力则不一定与体形相关。例如,1983年,同池饲养的两组回交鱼,鲤鱼形回交子代爆发细菌性烂鳃病大部分死亡,而草鱼形回交鱼未见发病。这说明抗病基因可能不与控制形态的主基因连锁,经多次杂交和回交,通过染色体互换、倒置和基因的易位、重组,而将抗病基因与表现草鱼形态的基因组合在一起,是完全可能的。这样,就为选育抗病的草鱼品种展示了良好的前景。

参 考 文 献

- [1] 中国科学院水生生物研究所二室家鱼小组, 1976。用理化方法诱导草鱼♀×团头鲂♂及草鱼三倍体、四倍体。水生生物学集刊, 6(1): 111—114。
- [2] 方宗熙, 1978。细胞遗传学。306—307页, 科学出版社。
- [3] 刘国安等, 1987。兴国红鲤同草鱼杂交的受精细胞学研究。水产学报, 11(1): 17—22。
- [4] 长江水产研究所, 1973。草鱼和团头鲂人工杂交试验。湖南水产科技情报, (1): 9—11。
- [5] 吴维新等, 1981。一个四倍体杂种——兴国红鲤♀×草鱼♂。水生生物学集刊, 7(3): 433—436。
- [6] 陈敏容等, 1987。人工诱导白鲫♀×红鲤♂异源四倍体鱼的初步研究。水生生物学报, 11(1): 96—98。
- [7] Beck, M. L. and Bigger, C. G., 1981. Karyological studies on grass carp, big head and their first generation hybrid. *Trans. Amer. Fish. Society*, 109 (4): 433—438.
- [8] Marian, T. and Krasznai, Z., 1979. Comparative karyotype studies on Chinese carp. *Aquaculture*, 18(4): 325—336.
- [9] Thomas, A. E., Carter, R. R. and Greenland, D. C., 1981. Survival of one-two year old mono-sex grass carp in small pond. *Prog. fish culturist*, 41(1): 38.

- [10] Wu, Chiugjiang, Yuzhen Ye and Ronde Chen, 1986. Genome manipulation in carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, **54**(1-2): 57-62.
- [11] Васильев, В. П., Макеева, А. П. и Рыбов, И. Н., 1975. О Триплоидий Гибридов Карпа(Другим представителями Семейства Суриниды). *Генетика*, **11**(8): 49-56.
- [12] Макеева, А. П. и Веригин, В. В., 1974. Гибридизация Карпа *Cyprinus carpio* с белый амуром *Ctenopharyngodon idella*. *Bonr. ихтио.*, **14**(2): 290-299.

STUDIES ON TETRAPLOID HYBRID BETWEEN RED COMMON CARP (*CYPRINUS CARPIO*) AND GRASS CARP (*CTENOPHARYNGODON IDELLUS*) AND ITS BACKCROSS TRIPLOID

Wu Weixin, Li Chuanwu, Liu Guoan, Xu Dayi and Liu Chunshan

(Institute of Fisheries Research of Hunan, Yunjiang)

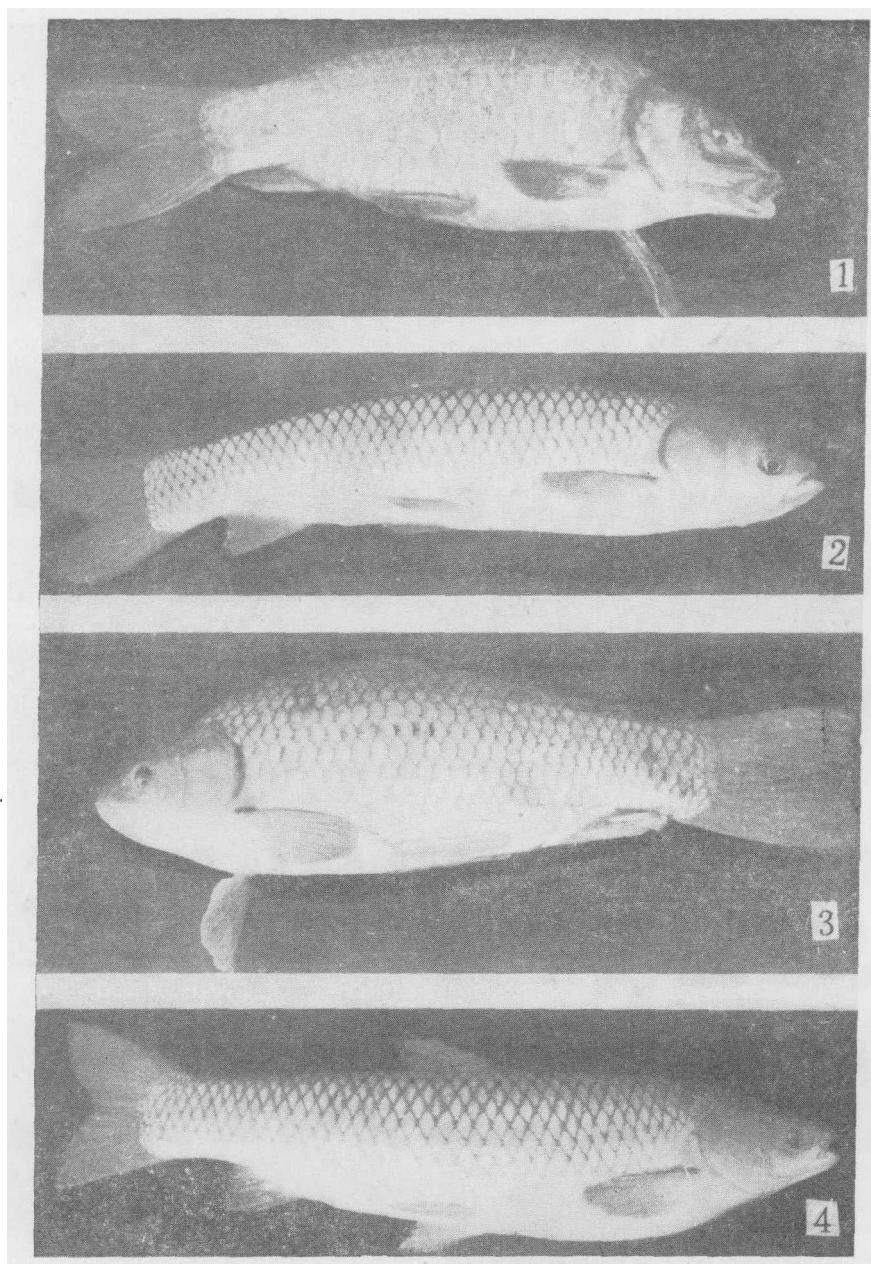
Xie Jinyun and Shan Chaxiu

(Department of Biology, Hunan Normal University, Changsha)

Abstract

Hybridization between red common carp and grass carp was conducted. The hybrid, a tetraploid through automultiplication of chromosomes, posses feature and habit like maternal parent and can develop into both sexes. The female and male hybrids F₁ when backcrossed with both sexes of grass carp, produce triploid offsprings containing 98 chromosomes, but their feature and habit are different. The backcrossing offsprings from female grass carp and male hybrid F₁ are herbivorous like grass carp. However, backcrossing offsprings from female hybrid F₁ and male grass carp separate into two types: common carp-like or grass carp-like. Common carp-Like of backcrossing hybrids are able to mature and reproduce offspring. LDH and Peroxidase isozymes of all concerned fish were determined with blood serums. The zymogram patterns of them are different.

Key words Common carp, Grass carp, Hybridization, Triploid, Tetraploid



1.兴国红鲤； 2.草鱼； 3.杂种一代； 4.杂种一代♂×草鱼♀的回交子代

1 Red common carp; 2 Grass carp; 3 Hybrid F₁; 4 Backcross
hybrid of hybrid F₁♂× grass carp ♀