

复合四倍体异育银鲫的血红蛋白和 红细胞的同工酶分析*

朱蓝菲 桂建芳 梁绍昌 蒋一桂

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

提 要

用聚丙烯酰胺梯度凝胶电泳, 分析了银鲫、复合四倍体异育银鲫和红鲤的血红蛋白及红细胞中的4种不同的同工酶(MDH、LDH、EST、SOD)。结果表明复合四倍体异育银鲫的一些座位(血红蛋白和EST、SOD), 除了银鲫的基因表达外还观察到红鲤基因的表达, 出现了银鲫原来所没有的区带或原有的区带受到抑制等现象, 显示出复合四倍体异育银鲫具有类似于杂种的遗传性状, 另一方面从4种不同的同工酶表型分析, 表明复合四倍体异育银鲫的同工酶基因表达较接近银鲫。

关键词 银鲫, 复合四倍体异育银鲫, 红细胞, 血红蛋白, 同工酶

天然水体中的银鲫 [*Carassius auratus gibelio* (Bloch)] 是由多个雌核发育系(A、B、C、D等)组成, 其中以D系银鲫为母本与雄性红鲤 (*Cyprinus carpio* red variety) 人工繁殖而得到的子代生长速度最快, 称为高体型异育银鲫^[1,2]。最初作者在其人工繁育的群体中发现了少数特殊个体, 经染色体分析证明它含有212个染色体, 也就是说它既保留了银鲫的全部染色体(162), 又融入了鲤鱼的一个染色体组(50), 称为复合四倍体异育银鲫^[3]。随后在放养异育银鲫的成鱼池中也发现了类似的特殊个体, 经统计它的出现率只有2‰左右。本研究是探讨红鲤异源基因组加入后所带来的基因表达效应。为了系统的进行遗传分析而不将鱼杀死, 以红细胞为材料, 分析了血红蛋白和4种不同的同工酶: 乳酸脱氢酶(LDH)、酯酶(EST)、苹果酸脱氢酶(MDH)和超氧化物歧化酶(SOD)。

1 材料与方法

D系银鲫和红鲤均取自本所关桥试验场, 人工复合四倍体异育银鲫(简称复合鲫)为产卵后的亲鱼, 其中编号为M₁、M₃、M₅和M₆号鱼是来自高体型异育银鲫人工繁育的群体, M₇号鱼是来自放养异育银鲫的成鱼池。采血前注射器用含有0.1%肝素的生理盐水湿润, 从尾静脉取血约0.5 ml左右, 放入盛有1%氯化钠溶液的离心管中, 以1000 r/

* 本工作得到中国科学院院长基金的特别资助。

* 武汉大学生物学系91届毕业实习生廖飒参加了部分工作。
1992年9月8日收到。

min 离心 5 min, 吸去上清液, 再将红细胞悬浮在 1% 氯化钠溶液中, 这样重复再洗三次后收集红细胞, 按其体积的 5 倍加入蒸馏水, 另外再加 1 ml 甲苯, 激烈振荡使红细胞破裂, 以 2000 r/min 离心 20 min, 底层红色透明的部分即为红细胞解离液, 将其吸出置 -20℃ 冰箱中保存备用。同工酶和血红蛋白的电泳分离及显色方法同以前的报道^[4]。

2 结果

2.1 血红蛋白 (Hb)

D 系银鲫有 6 条区带, 其中有二条泳动快的区带在红鲤中所没有的, 其余 4 条区带与红鲤中的快速区带相对应(图版 I-a)。红鲤有 8 条区带, 其中 4 条慢速区带是 D 系银鲫所没有的。复合鲫既具有 D 系银鲫所具有的快速带又有红鲤所具有的一些慢速区带, 呈 8 条带的谱式。个体间没有明显的区别。

2.2 MDH 同工酶

红细胞中的 MDH 同工酶谱如与银鲫肌肉中的相比, 它是属于细胞质型 MDH(S-MDH), 线粒体型 MDH(m-MDH) 在红细胞中不表达。S-MDH 同工酶是由两个座位编码的二聚体酶。D 系银鲫显三条带的酶谱。红鲤也显三条带, 但带的间隔比 D 系银鲫的小。两者酶谱有区别(图版 I-b)。复合鲫的酶谱与 D 系银鲫相似, 个体间酶带的相对含量不尽一致, 但均未观察到红鲤基因的影响。

2.3 LDH 同工酶

D 系银鲫的 LDH 同工酶有 10 条带, 而且在泳动较快的部分有两条显色特别深的区带。红鲤有 13 条带与银鲫有明显的区别(图版 I-C)。复合鲫个体间有两种不同的表型, 图版 I-C 之 M₁ 和 M₆ 号鱼相同并与 D 系银鲫相似, 也呈现出二条显色特别深的带, 未观察到红鲤基因的表达。M₇ 号鱼含有与红鲤相应的快速区带, 而且没有 D 系银鲫所具有的二条显色较深的带, 因而与 M₃ 号和 M₆ 号鱼的酶谱有明显的区别。

LDH 同工酶是由两个基因编码的四聚体酶, 一般呈 5 条带的酶谱, 上述 D 系银鲫和红鲤的酶谱均远远超出 5 条带, 这可能是与其多倍体起源有关。

2.4 EST 同工酶

EST 同工酶是个单聚体的酶。D 系银鲫红细胞 EST 同工酶与其它组织的酶谱比较^[1]泳动最快的编号为 Est3, 最慢的为 Est6 (图版 I-d)。红鲤图谱中没有棕色的区带, 表明其红细胞中控制 EST 同工酶的基因不表达。复合鲫的个体间出现两类完全不同的图谱。图中 M₁, M₃, M₆ 号是一类, 与 D 系银鲫的酶谱类似, 而 M₇ 号鱼又是一类。在同一类的 M₁, M₃, M₆ 号鱼之间又有一些差异, 其中 M₁ 号鱼在 Est5, Est6 都受到抑制, 完全不表达。M₃, M₆ 号鱼在 Est6 受到抑制, Est5 部分受到抑制(活性明显降低); Est3 也与 M₁ 号鱼不同。这些基因受到抑制的现象与红鲤的红细胞中 EST 同工酶的抑制表达有关。

2.5 SOD 同工酶

它是由两部分组成, 慢速部分只有很宽的一条带, 估计是由独立的基因编码, D 系银鲫、红鲤和复合鲫之间没有明显的区别 (图谱略)。而快速的部分是由两个座位编码的二聚体酶。D 系银鲫有 8 条带。红鲤有三条活性强的区带, 另外还有三条活性较弱的区带

与前者相互间隔,加上泳动最快的一条共形成 7 条带的酶谱,与 D 系银鲫有明显的区别。以上二者的酶谱均多于 3 条带,这可能也是与其多倍体起源有关(图版 I-e)。复合鲫的个体间酶谱有明显的区别, M₃ 和 M₆ 号鱼的酶谱有 6 条带与 D 系银鲫的相同,因此这一类型较接近于 D 系银鲫。除此之外还观察到有的区带为来自红鲤的基因表达;有的区带为新的杂聚体,而 D 系银鲫和红鲤中泳动最快的一条酶带在图谱中没有出现。另一种类型是 M₇ 号鱼所具有的图谱,它除了显示三条活性较强的区带外,靠阳极端还有一些不易分辨的杂合带,这些杂合带的产生可能也是因为与红鲤基因协同表达的结果。

3 讨论

鱼类远缘杂交的子代基因表达是复杂而多样的^[5-7],经常出现双亲基因的共同表达。在鲢鱼人工异源三倍体中由于增加了一套母本染色体组,基因的表达比二倍体杂交子代更接近母本^[8]。本文观察了异精雌核发育群体中出现的极少数个体——复合鲫的基因表达。在 Hb 和 EST、SOD 同工酶 3 个指标中除了银鲫的基因表达外,还出现了和红鲤相似的区带(Hb、SOD);有的还产生了一些杂聚体(SOD);在 EST 同工酶中还出现了银鲫原有的基因受到抑制等现象。这些结果表明红鲤的基因参与了表达,显示出复合鲫具有类似于杂种的遗传性状。另一方面 LDH 和 MDH 同工酶虽然在双亲中有区别,但在复合鲫中仍与母本相似,未观察到父本基因的表达。EST 和 SOD 同工酶虽然红鲤的基因参与了表达,但酶谱与银鲫相近,因此从同工酶的分析表明复合鲫也同样象异源多倍体那样,基因表达偏向于染色体组占多数的银鲫。

根据本文的实验结果表明复合鲫的个体间 LDH、EST 和 SOD 同工酶都有两种完全不同的类型,其中一种类型(M₁、M₃ 和 M₆ 号鱼)的同工酶谱都与 D 系银鲫的酶谱类似,因而与这些复合鲫是来源于高体型(D 系)异育银鲫人工繁育群体是一致的。另外一种类型(M₇ 号鱼),可能是由其它的银鲫雌核发育系与红鲤人工繁殖的群体中所产生的,因为复合鲫个体间的这种遗传异质性主要是来自银鲫种内的遗传差异^[9]。

参 考 文 献

- [1] 朱蓝菲、蒋一珪。银鲫种内的遗传标记及其在选种中的应用。水生生物学报, 1987, 11(2): 105—111。
- [2] 朱蓝菲、蒋一珪。银鲫不同雌核发育系的生物学特性比较研究。水生生物学报, 1993, 17(2): 112—120。
- [3] 桂建芳、梁绍昌、朱蓝菲等。异育银鲫人工繁育群体中复合四倍体的发现及其育种潜力。科学通报, 1992, (7): 646—648。
- [4] 朱蓝菲。鱼类同工酶和蛋白质的聚丙烯酰胺梯度凝胶电泳法。水生生物学报, 1992, 16(2): 183—185。
- [5] Beck M L, Biggers C J, Barker C J. Chromosomal and electrophoretic analyses of hybrids between grass carp and bighead carp. *Copeia*, 1984, (2): 337—342.
- [6] Danzmann R G, Down N E. Isozyme expression in F₁ hybrids between carp and goldfish. *Biochem. Genet.*, 1982, 20(1—2): 1—15.
- [7] Stanley J G, Biggers C J, Schultz D E. Isozymes in androgenetic and gynogenetic white amur, gynogenetic carp and carp amur hybrids. *J. Hered.*, 1976, 67(3): 129—134.
- [8] 朱蓝菲、桂建芳、梁绍昌等。鲢的远缘杂交子代和人工三倍体的同工酶表达。水生生物学报, 1993, 17(4): 293—297。
- [9] 朱蓝菲、廖飒、桂建芳等。复合四倍体异育银鲫个体间遗传异质性的研究。动物学研究, 1993, 14(4): 355—359。

AN ANALYSIS OF HAEMOGLOBIN AND ISOZYMES IN THE ERYTHROCYTE OF MULTIPLE TETRAPLOID ALLOGYNOGENETIC CRUCIAN CARP

Zhu Lanfei, Gui Jianfang, Liang Shaochang and Jiang Yigui
(*Institute of Hydrobiology, the Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072*)

Abstract

The haemoglobin and four different isozymes were analysed in erythrocytes of silver crucian carp, *Carassius auratus gibelio* and red common carp, *Cyprinus carpio* red variety, and their hybrid, the multiple tetraploid allogynogenetic crucian carp, *C. auratus*, using polyacrylamide gradient gel electrophoresis technique. Some loci (Hb, EST, SOD) in multiple tetraploid allogynogenetic crucian carp expressed not only the maternal but also the paternal genes. Some bands appeared which is not original in silver crucian carp, and some original bands in silver crucian carp were repressed. It is thus indicated that the multiple tetraploid allogynogenetic crucian carp exhibited features of a hybrid, and that isozyme gene expressions of the allogynogenetic crucian carp should be much closer to the silver crucian carp from the analyses of phenotypes of four different isozymes.

Key words Silver crucian carp, Multiple tetraploid allogynogenetic crucian carp, Erythrocyte, Haemoglobin, Isozyme