

研究简报

淇河鲫鱼细胞遗传学和同工酶的初步研究*

PRELIMINARY STUDIES ON CYTOGENETICS AND ISOENZYME OF CRUCIAN CARP (*CARASSIUS AURATUS*) IN QIHE RIVER OF HENAN PROVINCE

楼允东 张英培 翁忠惠 赵玲

(上海水产大学)

Lou Yundong, Zhang Yingpei, Weng Zhonghui and Zhao Ling

(Shanghai Fisheries University)

淇河鲫鱼(简称淇鲫)因产于河南淇河而得名。据汤阴县志记载^[1]：“淇鲫产于西北乡许家沟、大来店一带之淇河中，体皆双脊，形扁圆，其肉嫩肥美，片片呈蒜瓣状，汤暖尤其吸于冬日，昔在封建时代常专差向皇帝贡献，为三大贡品之一，颇受嘉许，时称可与黄河之鲤并列，故名声大噪，驰誉南北”。在古诗中也有“以其食鱼，唯淇之鲫”的佳句。另外，中科院考古研究所曾经在河南辉县从事发掘，在琉璃阁区的战国时代墓中，找出鼎、鬲等器，里面都有鱼骨，其中尤以鲫鱼为普遍^[1]。可见淇鲫在历史上久负盛名。

解放后，淇鲫资源的开发利用向来为国内鱼类学界和水产学界所关注。最早，河南省水利局曾于1974年组织水产科技人员对它作过专题调查。以后，河南师范大学单元勋等^[2]和河南省水产研究所孙兴旺^[3]在这基础上又先后对淇鲫的资源与生物学特性等进行了比较全面的调查研究。有的学者认为淇鲫可能是我国又一珍贵的养殖鱼类^[4]。为使这种优良鲫鱼能在上海地区繁殖生长，我们于1986年3月从淇鲫主要产地林县荷花村采捕到一批成鱼运到上海，除进行繁殖与生长试验外，还对它的遗传学特性作了初步研究，并与其它两种鲫鱼进行比较。现将结果报导如下。

材 料 与 方 法

本研究所用的淇鲫大部分采自河南省林县荷花村附近的淇河中，另有一部分是1986年引种上海后繁殖的1龄鱼，共21尾，其中雌性18尾，雄性3尾，体长范围为13.1—17.0厘米；方正银鲫(*Carassius auratus gibelio*)来自黑龙江水产研究所松浦实验站，共17尾，其中雌性12尾，雄性5尾，体长范围为16.2—23.0厘米；野生鲫鱼(*Carassius auratus auratus*)捕自上海青浦白鹤镇附近的天然河道中，共

* 本试验得到河南省水产研究所和黑龙江水产研究所的大力支持。先后参加本试验的还有凌国建、殷有志、孙开元和李晓震等同志；张敏、周平凡同志协助拍摄照片。特此一并致谢。

收稿年月：1987年9月；1988年10月修改。

(1) 李思忠, 1985. 淇鲫可能是我国又一珍贵的养殖鱼类. 北京水产, (3): 15.

15尾,其中雌性9尾,雄性6尾,体长范围为9.4—11.9厘米。

一、染色体计数 主要做淋巴细胞染色体,即将淋巴细胞进行短期离体培养后制成永久玻片标本。其方法与作者以前描述的相同^[10]。标本制成后,在显微镜下观察,同时选择染色体数目完整和形态清晰的分裂相进行显微照相并放大以计算染色体数目。

二、红血球大小测量 将三种鲫鱼制成血涂片。血涂片用甲醇固定和 Giemsa 染色。红血球大小测量在高倍显微镜下进行。测量项目包括红血球长径与短径以及红血球核长径与短径。每项至少测量10个数据,求其平均值。然后根据长径和短径分别算出红血球面积与体积以及红血球核面积与核体积。

计算公式是^[12]: 面积 = $a \cdot b \cdot \pi / 4$

$$\text{体积} = \frac{a^2 \cdot b}{1.91} \quad (\text{式中 } a \text{ 是短径, } b \text{ 是长径。})$$

三、同工酶分析 剖取三种鲫鱼的肌肉、肝脏、肾脏、心脏、眼球和性腺等组织于低温保存。制样时称取0.2—0.3克样品,置于匀浆管中研磨,然后按3:1比例加入辅酶 I 液,再研磨,制成匀浆。匀浆倒入塑料离心管(1.5毫升)经低温(4℃)离心(15000转/分)20分钟。肝脏离心两次,第一次离心10分钟,吸出油面下的清液再离心20分钟。上清液置于4℃保存。

电泳采用瑞典 LKB 公司产平板电泳仪和4%聚丙烯酰胺凝胶。上清液与溴酚兰溶液按4:1混合后点样。每个点样孔加5 μ l,每一样品点3个孔作为重复对照。电泳经过预电泳(点样前,电流50mA,30分钟)、前电泳(点样后,电流25mA,10分钟)和正式电泳(电压275V,1—2小时)。

缓冲系统采用 Tris-柠檬酸 (TC) 缓冲液。

染色方法主要仿照 Philipp 等 (1979)^[14] 和 Magee 等 (1982)^[13],略有改变。

结果与讨论

一、染色体计数 根据对50个中期分裂相染色体计数的结果,其分布频率为染色体数在140以下、140—155以及156以上的分别占细胞总数的10%、20%、50%和20%左右。共检查了11尾淇鲫,其中雌性9尾,雄性2尾,得到大致类似的结果,从而确定淇鲫的染色体数为156(图版,1),而分布于我国南方的普通鲫鱼,其染色体为 $2n=100$ ^[8,11]。由此可见,淇鲫与方正银鲫一样同属三倍体鲫鱼,但与孙兴旺^[2]报导的淇鲫染色体数为 $3n=162 \pm$ 略有不同。由于淇鲫染色体数目多、个体小,而且具有明显的多态现象 (Polymorphism),加上各研究者所使用的制片方法和观察染色体的时相不同,这样就给染色体计数与组型分析带来困难,从而影响其准确性。在方正银鲫也有类似情况,例如蒋一珪等^[3]报导的染色体数为 $3n \approx 162$,而沈俊宝等^[4]报导的则为 $3n=150 \pm$ 。有关淇鲫染色体计数及其组型分析的研究还有待继续深入。

二、红血球大小的测量 按照一般规律,细胞核大小与染色体数目成正比,而且为了维持恒定的核质比例,随着细胞核的增大,细胞体积也按比例增加,因此细胞大小尤其是红血球大小的测量被广泛地用来鉴别多倍体鱼类^[11]。1986—1987年,我们先后两次对三种鲫鱼的红血球及红血球核进行了测量,且得到相当一致的结果。现将1987年的测量数据列于表1。

从下表可以看出,野生鲫鱼、淇河鲫鱼和方正银鲫红血球面积之比分别为1:1.37和1:1.36,体积之比分别为1:1.60和1:1.57;而野生鲫鱼、淇河鲫鱼和方正银鲫红血球核面积之比分别为1:1.42和1:1.35,核体积之比分别为1:1.50和1:1.58。这一测量结果与二倍体/三倍体核体积预定比率应该是1:1.5和椭圆形核面积预定比率应该是1:1.3相符合^[16],也与蒋一珪等 (1983) 对方正银鲫红血球的测量结果相一致^[3],从而也确证淇河鲫鱼与方正银鲫一样同属三倍体鲫鱼。

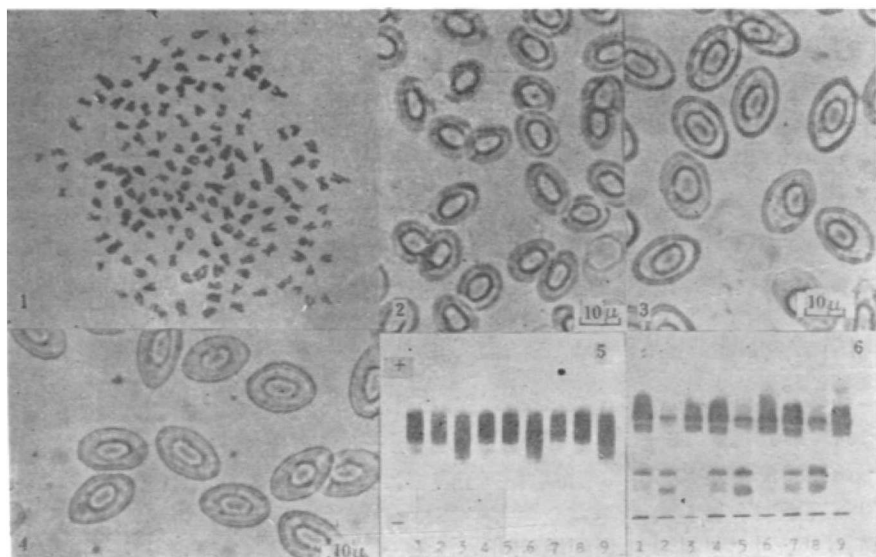
图版,2~4表示三种鲫鱼红血球在同一放大倍数下的实际大小。

附表 三种鲫鱼红血球大小的比较

Attached table Comparison of the size in erythrocytes of three crucian carps

测量项目 \ 鱼 别		野生鲫鱼(9尾)	淇河鲫鱼(8尾)	方正银鲫(5尾)
红血球	长 径	5.82±0.72 (1:)	6.81±0.21 (1.17)	6.88±0.18 (1.18)
	短 径	3.68±1.61 (1:)	4.30±0.37 (1.17)	4.24±0.23 (1.15)
	面 积	16.81±1.94 (1:)	22.99±2.19 (1.37)	22.90±1.22 (1.36)
	体 积	41.27±4.93 (1:)	65.93±13.18 (1.60)	64.76±6.70 (1.57)
红血球核	长 径	2.22±0.71 (1:)	2.97±0.16 (1.34)	2.55±0.17 (1.15)
	短 径	1.38±0.76 (1:)	1.46±0.71 (1.08)	1.62±0.19 (1.17)
	面 积	2.40±0.73 (1:)	3.40±0.60 (1.42)	3.24±0.60 (1.35)
	体 积	2.21±0.86 (1:)	3.31±0.94 (1.50)	3.50±0.90 (1.58)

*表中的数字是任意值;括弧内的数字是比率。



图版说明 Explanation of plates

1.淇河鲫鱼淋巴细胞的染色体数($3n = 156$); 2.野生鲫鱼的红血球; 3.方正银鲫的红血球;
4.淇河鲫鱼的红血球; 5.三种鲫鱼肾脏LDH同工酶电泳图谱的比较; 6.三种鲫鱼肝脏EST
同工酶电泳图谱的比较。

淇河鲫鱼 1, 4, 7; 野生鲫鱼 2, 5, 8; 方正银鲫 3, 6, 9。

三、同工酶分析

1. 三种鲫鱼乳酸脱氢酶(LDH)同工酶图谱 除肾脏外,野生鲫鱼、淇河鲫鱼和方正银鲫的其它6种组织的LDH同工酶图谱相当一致,肝脏、眼球、肌肉、心脏和性腺各有15、4、5、9和5条酶带,且迁移率也相同(图1),说明它们的亲缘关系比较接近。

三种鲫鱼肾脏的LDH同工酶显示出明显的种间差异(图1,B;图版,5)。野生鲫鱼和淇河鲫鱼各显示出相对迁移率一致的9条酶带,其中第8条酶带是一条微量带,染色不稳定,而方正银鲫却清晰地显示出11条酶带,比野生鲫鱼和淇河鲫鱼多了两条酶带,且重复性较好。因此,作者认为肾脏LDH同工酶可以作为区别这三种鲫鱼的生化标志。

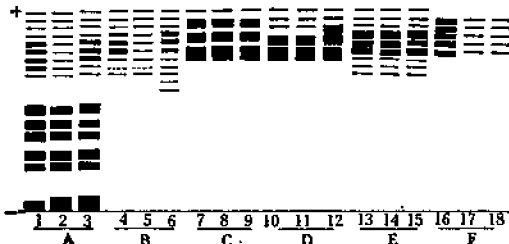


图1 三种鲫鱼LDH同工酶电泳图谱的比较
Fig. 1 Comparison of LDH isoenzyme electropherograms in three crucian carps

野生鲫鱼: 1、4、7、10、13、16;
淇河鲫鱼: 2、5、8、11、14、17;
方正银鲫: 3、6、9、12、15、18。
A. 肝脏; B. 肾脏; C. 眼球;
D. 肌肉; E. 心脏; F. 性腺。

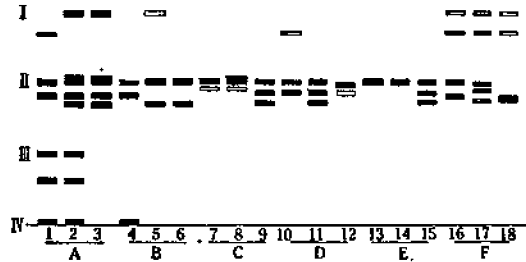


图2 三种鲫鱼EST同工酶电泳图谱的比较
Fig. 2 Comparison of EST isoenzyme electropherograms in three crucian carps

野生鲫鱼: 1、4、7、10、13、16;
淇河鲫鱼: 2、5、8、11、14、17;
方正银鲫: 3、6、9、12、15、18。
A. 肝脏; B. 肾脏; C. 眼球;
D. 肌肉; E. 心脏; F. 性腺。

2. 三种鲫鱼酯酶(EST)同工酶图谱 野生鲫鱼、淇河鲫鱼和方正银鲫6种组织的EST同工酶图谱如图2所示,唯有肝脏的EST同工酶图谱可清楚地划分为四个区段,且具有较为明显的种间差异(图2,A;图版,6):在I区段,三种鲫鱼各显示出1条酶带,其中野生鲫鱼的这一条酶带,相对迁移率小于淇河鲫鱼和方正银鲫,其染色亦浅得多;在II区段,野生鲫鱼显示出2条酶带,而淇河鲫鱼和方正银鲫则各显示出3条酶带。从图2可以看出,淇河鲫鱼和方正银鲫该区段近阳极端的那条酶带特别宽,染色也特别浓,若改变电泳条件如提高电压或延长时间,这条部分重叠带可以分离成两条染色程度相当的酶带;在III与IV区段,野生鲫鱼和淇河鲫鱼各显示2条和1条酶带,相对迁移率和染色程度也相似,而方正银鲫均未显示出酶带,且重复性较好。因此,通过III与IV区段的差异可将方正银鲫与野生鲫鱼和淇河鲫鱼区别开来;另外,又可通过I与II区段的差异而将野生鲫鱼与淇河鲫鱼区别开来。

综上所述,肾脏LDH同工酶和肝脏EST同工酶图谱表现出明显的种间差异,可以作为区别这三种鲫鱼的生化标志。除肾脏外,其余组织的LDH同工酶图谱及其相对迁移率均十分相似,从生化角度证明这三种鲫鱼的亲缘关系比较接近。

通过染色体计数、血细胞大小测定以及同工酶分析,确证淇河鲫鱼与方正银鲫一样同为三倍体鱼类,但两者的乳酸脱氢酶和酯酶同工酶图谱不尽一致。因此,可以初步认为河南的淇河鲫鱼既不同于普通的野生鲫鱼,又不同于东北的方正银鲫,它可能是在漫长的历史进程中一直被封闭在淇河这条山区性河流里所形成的一个生态类型。

参 考 文 献

[1] 中国淡水养鱼经验总结委员会,1973。中国淡水鱼类养殖学(第二版),11。科学出版社。

- [2] 孙兴旺,1986.淇河鲫的生物学特征.淡水渔业,(2):5—8。
- [3] 吴政安等,1980.鱼类细胞遗传学的研究.遗传学报,7(4):370—374。
- [4] 沈俊宝等,1983.黑龙江主要水域鲫鱼倍性及其地理分布.水产学报,7(2):87—94。
- [5] 河南省汤阴县志,一卷,1988。
- [6] 单元勋等,1985.河南淇河鲫 *Carassius auratus* 的生物学.河南师范大学学报,(3):53—62。
- [7] 管瑞光等,1980.鲤、鲫、鲢、鳙染色体组型的分析比较.遗传学报,7(1):72—76。
- [8] 蒋一珪等,1982.鲫鱼的人工和天然雌核发育.水生生物学集刊,7(4):471—477。
- [9] ——,1983.异源精子在银鲫雌核发育子代中的生物学效应.水生生物学集刊,8(1):1—13。
- [10] 楼允东等,1983.青鱼染色体组型的研究.水产学报,7(1):77—81。
- [11] 楼允东,1984.国外对鱼类多倍体育种的研究.水产学报,8(4):343—356。
- [12] Lou, Y. D. & C. E. Purdom, 1984. Polyploidy induced by hydrostatic pressure in rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson. *J. Fish Biol.*, 25 (3): 345—351.
- [13] Magee, S. M. & D. P. Philipp, 1982. Biochemical genetic analyses of the grass carp ♀ × bighead carp ♂ F₁ hybrid and the parental species. *Trans. Amer. Fish. Soc.*, 111: 593—602.
- [14] Philipp, D. P. et al., 1979. Evolution of patterns of differential gene expression: a comparison of the temporal and spatial patterns of isozyme locus expression in two closely related fish species (northern largemouth bass, *Micropterus salmoides*, and smallmouth bass, *Micropterus dolomieu*). *J. Exp. Zool.*, 210: 473—488.
- [15] Purdom, C. E. 1972. Induced polyploidy in plaice (*Pleuronectes platessa*) and its hybrid with the flounder (*Platichthys flesus*). *Heredity*, 29: 11—24.

欢迎订阅 1990 年度《中国农业文摘—水产》

《中国农业文摘—水产》杂志是综合性的中国水产文献检索刊物,由中国水产科学研究院情报所主办,公开发行。它以文摘的形式,报道国内出版的公开及内部发行的水产文献,向读者提供水产情报,为读者检索中国水产文献服务。收录范围:图书、期刊、汇编、会议录、科技报告等。

订阅本刊,将使您快速而方便地查找中国水产文献资料,及时而全面地了解当今水产产业发展水平,掌握最近成就和动向,对您的科研、教育、生产将会有很大的帮助。

本刊为季刊,16开本,72页,年报道文摘约1600条。定价1.50元,全年四期共6.00元(包括邮寄费)。现已开始征订1990年订户。需要订购者,请向本刊编辑部索取征订单。欢迎单位和个人订阅。

编辑部地址:北京市复兴路61号。 邮政编码:100360