

文章编号: 1004-7271(2004)02-0111-04

五种养殖鲟、鳊鱼 DNA 含量的比较

尹洪滨¹, 孙中武², 孙大江¹

(1. 中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070;
2. 东北林业大学生命科学学院, 黑龙江 哈尔滨 150040)

摘 要 采用德国 Partec Pas III 型流式细胞仪, 以鸡红细胞为标准 DNA(含量为 2.3pg/N), 测定了俄罗斯鲟 (*Acipenser gueldenstaedti* Brandt)、西伯利亚鲟 (*Acipenser baeri* Brandt)、史氏鲟 (*Acipenser schrencki* Brandt)、小体鲟 (*Acipenser ruthenus* Linnaeus) 和达氏鳊 (*Huso dauricus* Georgi) 的体细胞 DNA 含量。结果表明, 在上述五种鲟鱼类 DNA 含量中, 俄罗斯鲟、西伯利亚鲟和史氏鲟的 DNA 含量非常接近, 分别为 12.24pg/N, 11.60pg/N, 11.59pg/N, 三种鲟鱼相比较差异并不显著。小体鲟和达氏鳊的 DNA 含量是 6.06pg/N 和 4.77pg/N, 两种鱼相比较差异也不显著。但与上述三种鲟鱼相比较 DNA 含量几乎相差 1 倍。从测定的结果并结合已发表的有关鲟鱼类资料可以确定俄罗斯鲟、西伯利亚鲟和史氏鲟属于八倍体类型, 而小体鲟和达氏鳊则属于四倍体类型。

关键词 鲟、鳊鱼、养殖鱼类、DNA 含量、基因组大小、流式细胞仪

中图分类号 S917 文献标识码: A

Comparative study on DNA contents of five cultured fishes of Acipenseridae and Huso

YIN Hong-bin¹, SUN Zhong-wu², SUN Da-jiang¹

(1. Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries science, Harbin 150070, China;
2. Life Scientific college, Northeast Forestry University, Harbin 150040, China)

Abstract Employing flow cytometry Partec Pas III (made in Germany), we measured somatic cell DNA contents of five fishes consisting of *A. gueldenstaedti* Brandt, *A. baeri* Brandt, *A. schrencki* Brandt, *A. ruthenus* Linnaeus and *H. dauricus* Georhi, based on standard DNA content 2.3pg/N of the chicken red blood cell (RBC). The results demonstrated that the DNA contents of *A. gueldenstaedti*, *A. baeri* and *A. schrencki* are very close, which are 12.24pg/N, 11.60 pg/N and 11.59pg/N respectively, whereas the DNA contents of *A. ruthenus* and *H. dauricus* were only 6.06pg/N and 4.77 pg/N. There are no slightly significant differences between them. However, the DNA contents of the former three fishes described are twice higher than those of the latter two fishes. Finally, we determined the former three fishes belong to octoploid and the latter two fishes belong to tetraploid according to the results obtained and the documents published.

Key words Acipenseridae; Huso; cultured fishes; DNA content; genome size; flow cytometry

鲟、鳊鱼分属于鲟形目 (Acipenseriformes), 鲟科 (Acipenseridae) 的鲟属 (*Acipenser*) 和鳊属 (*huso*), 是一

收稿日期 2003-11-03

基金项目 国家“十五”攻关项目“史氏鲟全人工繁殖及全雌培育技术研究”(2001BA505B0506)

作者简介 尹洪滨 (1954-) 女, 黑龙江泰来人, 研究员, 研究方向为细胞遗传学, E-mail: hongbinyins@yahoo.com.cn

类非常古老的软骨硬磷鱼类。主要分布于北半球的北美大陆和欧亚大陆,为淡水性或溯河性鱼类。由于鲟、鳇鱼为较名贵鱼种,鱼卵颗粒大,色泽鲜艳,营养价值高,是高档鱼籽酱原料,加之人为的过度捕捞,使得鲟、鳇鱼种群数量减少,自然资源下降,有些鱼种甚至濒临灭绝。近些年来,我国的黑龙江、辽宁、北京、湖北等地均开展了鲟、鳇鱼的人工养殖研究,并取得可喜的进展。有关鲟、鳇鱼的人工养殖^[1]、生物学特性^[2]、以及遗传多样性^[3]等研究相继见报。染色体核型研究表明鲟、鳇鱼是鱼类染色体数目最多的,已报道的中华鲟染色体数为 $2n = 264 \pm$,鲟、鳇鱼不仅染色体数量多,而且染色体个体小,B染色体的数量在个体间又存在差异,这些都给染色体数目的确定带来困难^[4-8]。部分研究结果认为,鲟鳇鱼类为多倍体起源的鱼类,以染色体加倍方式进行。其染色体构成包括大染色体和微小染色体两部分。大染色体的组型特征在各种鲟鳇鱼间很相似,微小染色体与鸟类、爬行类的微型染色体类似。针对鲟、鳇鱼在染色体数量和基因组倍性研究上差异和不同见解,我们采用流式细胞仪测定了俄罗斯鲟(*Acipenser gueldenstaedti* Brandt)、西伯利亚鲟(*Acipenser baerii* Brandt)、史氏鲟(*Acipenser schrencki* Brandt)、小体鲟(*Acipenser ruthenus* Linnaeus)和达氏鳇(*Huso dauricus* Georgi)五种鲟、鳇鱼的体细胞DNA含量,进一步探讨鲟鳇鱼的基因组大小及其倍性。

1 材料和方法

1.1 材料

五种养殖鲟、鳇鱼均于2002年11月采自中国水产科学研究院北京房山鲟鱼繁育基地。每种鱼采7尾,每尾为一个实验样品,取实验鱼的尾鳍用70%酒精固定送检。鸡(*Gallus sp.*)血红细胞用作对照,鸡血红细胞为国际上公认的对照标准,其绝对DNA含量按 $2.30\text{pg}/\text{N}$ 计算。由小公鸡翅膀下采血 $0.2 \sim 0.5\text{mL}$,抗凝,分离红细胞,卡诺氏固定液固定送检。

1.2 方法

机械法切取待测样品的一定组织于小培养皿中,加入适量($10\text{mg}/\text{L}$)的DAPIP,用手术刀片剁碎组织块,震荡器中震荡,用 $20 \sim 40\mu\text{m}$ 的小筛网过滤得细胞悬液 $1.5 \sim 2.0\text{mL}$ 于样品管中,样品细胞的最终浓度为 $10^5 \sim 10^6$ 个细胞/ mL 。每种鲟鱼测7尾,测一种鱼样用鸡血标定一次。用Partec Pas III型流式细胞仪测定DNA含量,液流速度可随时调节,一般 $100 \sim 150$ 个细胞/ s 。

2 结果

五种养殖鲟、鳇鱼体细胞DNA含量检测结果列于表1。从表1所列出的检测结果可以看出,俄罗斯鲟、西伯利亚鲟和史氏鲟的DNA含量平均值分别为 $12.24\text{pg}/\text{N}$ 、 $11.60\text{pg}/\text{N}$ 和 $11.59\text{pg}/\text{N}$ 非常接近,由此可以判定三种鲟鱼的染色体倍性应当处于同一倍性范围内;小体鲟和达氏鳇DNA含量平均值分别为 $6.06\text{pg}/\text{N}$ 和 $4.77\text{pg}/\text{N}$ 较为接近,它们二者应处于同一倍性范围内。将前三者与后两者的DNA含量做一比较,比值接近于 $2:1$,可判定五种养殖鲟、鳇鱼之间存在着两种倍性关系。

3 讨论

3.1 五种鲟鳇鱼DNA含量分析

从表1所列出的检测结果可以看出,俄罗斯鲟、西伯利亚鲟和史氏鲟与小体鲟和达氏鳇的DNA含量做一比较,比值接近于 $2:1$,可判定五种养殖鲟、鳇鱼之间存在着两种倍性关系。1997年宋苏祥等人用流式细胞仪测定了史氏鲟DNA含量为 $11.73\text{pg}/\text{N}$,同时做了染色体核型分析,确定史氏鲟染色体数为 238 ± 8 ,为八倍体类型^[9]。此外,Birstein和Vasilev^[10]、张四明等^[11]研究结果也均认为染色体数为 $240 \pm$ 的鲟鱼为八倍体。根据本研究得出的结果(史氏鲟DNA含量为 $11.59\text{pg}/\text{N}$),与宋苏祥等^[9]所得结果(史氏鲟的DNA含量为 $11.73\text{pg}/\text{N}$)是非常一致的,再考虑到DNA含量与其较接近的俄罗斯鲟和西伯利

亚鲟在分类学上又同为鲟属(*Acipenser*)鱼类,所以我们判定俄罗斯鲟、西伯利亚鲟和史氏鲟为八倍体鱼类。达氏鳊和小体鲟的 DNA 含量较为一致,与上述三者的 DNA 含量比值接近于 2:1,可以判定达氏鳊和小体鲟为四倍体鱼类。

表 1 五种鲟、鳊鱼体细胞 DNA 含量

Tab.1 DNA contents of five *Acipenseridae* and *Huso*

鱼 名	样本数	消光值	对照(鸡)值	鱼鸡比	含量(pg/N)
俄罗斯鲟	7	655.27 ± 27.89	123.09 ± 9.75	5.32	12.24
西伯利亚鲟	7	751.93 ± 15.78	149.07 ± 11.58	5.04	11.60
史氏鲟	7	617.64 ± 21.39	122.51 ± 10.12	5.04	11.59
小体鲟	7	290.08 ± 10.54	112.96 ± 12.23	2.57	6.06
达氏鳊	7	272.56 ± 11.23	131.42 ± 14.59	2.07	4.77

3.2 关于五种鲟鳊鱼 DNA 含量与倍性关系的比较分析

鲟鳊鱼为多倍体起源鱼类已被研究所证明,但是有关鲟鳊鱼染色体数及其倍性的研究仍不能形成共识。Cepceprkoba^[12]分别报道了俄罗斯鲟、西伯利亚鲟和史氏鲟染色体数均为 $2n = 240$ 。Fontana 等人报道了小体鲟染色体数为 $2n = 116 \pm 4$ ^[12]。Fontana 和 Colombo 报道了达氏鳊染色体数为 $2n = 120$ ^[12]。后来又有许多研究报道了鲟、鳊鱼染色体数较上述研究结果成倍增加,而且微小染色体数误差大,难以已确定,如前宋苏祥等人报道,史氏鲟染色体数为 238 ± 8 ,DNA 含量为 $11.73\text{pg}/\text{N}$,染色体数差异主要表现在微小染色体数测量上。我们在做鲟鱼染色体组型分析研究中得出,俄罗斯鲟染色体数为 236 ± 4 ;小体鲟染色体数为 $2n = 116 \pm 4$ (论文待发表);其染色体数差异均来自于微小染色体。

测定鱼类 DNA 含量,可以真实客观地反映其基因组的大小及其倍性。本研究检测的方法及标准与宋苏祥等人的方法与标准是相同的,所得数据是一致的,可见此检测方法的稳定性。从四种鲟鱼的 DNA 检测结果来看,它们在分类学上虽同为鲟属,但俄罗斯鲟、西伯利亚鲟、史氏鲟染色体数为 $2n = 240 \pm$,而小体鲟和达氏鳊的染色体数为 $2n = 120 \pm$,DNA 含量比前三种鲟鱼低约一倍,显见其在倍性上低了一倍,为四倍体鱼类。这些研究结果均表明,鲟、鳊鱼有多种倍性的生存群体或个体。

3.3 对鱼类细胞 DNA 含量测定的点滴体会

DNA 是遗传信息的载体,是构成染色体的主要化学物质。测定鱼细胞 DNA 的含量主要是反映核 DNA 的含量。近些年来用于测定鱼类细胞 DNA 含量主要采用显微分光光度计和流式细胞仪两种方法。采用两种不同方法或仪器测得的结果必定会产生一定的差异^[13]。这些差异的产生,有的是由仪器的设计、原理、型号、功能等不同而引起的(例如,张四明等人采用显微分光光度计测定史氏鲟 DNA 含量为 6.07pg);有的是由标准的对照样品不同(可用鸡的红细胞,人淋巴细胞等)或绝对 DNA 含量标准不同(以鸡红细胞为例,有人按 $3.22\text{pg}/\text{N}$ 计算,有人按 $2.30\text{pg}/\text{N}$ 计算)产生的;细胞的分期不同也同样可以产生差异,测量时人为操作,特别是采用显微分光光度计法时的人为操作也是不可避免的因素之一。采用流式细胞仪测定鱼类 DNA 含量比采用显微分光光度计法会更准确一些。

在鱼类 DNA 含量测定时,通常都是用采血的方法进行检测。当鱼样个体较小的时候,采血往往很困难。本研究此次采用鱼的尾鳍作为被检样品同样取得了良好的结果,而且简便易行。

参考文献:

- [1] 郭忠东,连常平.中华鲟小水体养殖试验初报[J].水产科学,2001,20(2):15-16.
- [2] 王吉桥,姜志强,胡红霞.主要养殖鲟鱼的生物学特性[J].水产科学,1998,17(6):34-38.
- [3] 梁利群,孙效文,董崇智,等.5种鲟、鳊鱼基因组遗传多样性分析[J].中国水产科学,2002,25(3):273-276.
- [4] 余先觉,周敦.中国淡水鱼类染色体[M].北京:科学出版社,1989.4-9.
- [5] Arefjev V A. Issledovanie Karyotipa Osetra *Acipenser gueldenstaedti* Brandt (Chondrostei) [J]. Cytologia Genetica, 1989, 24(4):7-13.
- [6] Fontana F, Colombo G. The Chromosomes of Italian Sturgeons [J]. Experientia, 1974, 30(7):739-742.

- [7] Ojima Y ,Nakanishi Y ,Takai A. Chromosomal Studies of Cultured Cells from the Hybrids between *Huso huso* and *Acipenser ruthus*[J]. Proceedings of the Japan Academy ,1996 62(3) 87 - 90.
- [8] Rab P A. A Note on the Karyotype of the Sterlet. *Acipenser ruthus* (pisces. Acipenseridae [J]. Folia Zoologica , 1986 35(1) :73 - 78.
- [9] 宋苏祥 ,刘洪柏 ,孙大江 ,等. 史氏鲟得核型及 DNA 含量研究 [J]. 遗传 ,1997 ,19(3) 5 - 8.
- [10] Birstein V J. Vasilerv V P. Tetraploid-octoploid Relation-ships and Karyological Evolution in the order Acipenseriformes(Pisces) Karyotypes. Nucleole and Nucleolusorganizer Regions . in Four Acipenserid Species[J]. Genetica ,1987 72 3 - 12.
- [11] 张四明 ,晏 勇 ,邓 怀 ,等. 几种鲟鱼基因组大小、倍体的特性及鲟形目细胞进化的探讨 . 动物学报 [J]. 1999 45(2) 200 - 206.
- [12] Серебрякова Е В. Некоторые данные о хромосомных комплексах осетровых рыб[J]. Journal of Ichthyology ,1980 2(122) 388 - 389.
- [13] 范兆廷 ,尹洪滨 ,宋苏祥 ,等. 四种鱼类外周血红细胞细胞周期及 DNA 含量 [J]. 动物学报 ,1995 41(4) 370 - 374.

《上海水产大学学报》被评为全国中文核心期刊

根据《中文核心期刊要目总览》的入编通知《上海水产大学学报》首次被由北京大学图书馆和北京高校图书馆期刊工作研究会共同组织评选的全国中文核心期刊(2004年版)收录,列入水产渔业类核心期刊。该核心期刊的确定,是根据被索量、被摘量、被引量、它引量、被摘率、影响因子、获国家奖或被国内外重要检索工具收录等7个评价指标经过定量筛选和专家定性评审,从全国1万2千多种中文期刊中评选出1800种核心期刊。至此《上海水产大学学报》已同时被北京大学图书馆定为中文核心期刊、中国科学院文献情报中心定为中国科技论文统计源期刊、中国科学技术信息研究所定为中国科技核心期刊。