

异源三倍体鲫鲂的遗传组成和生殖特性观察

覃钦博, 戴 婧, 刘少军*, 刘 筠

(湖南师范大学生命科学学院, 湖南 长沙 410081)

摘要: 红鲫属鲤亚科, 其染色体数目为 $2n=100$; 团头鲂属于鲂亚科, 其染色体数目为 $2n=48$ 。在红鲫(♀)×团头鲂(♂)的远缘杂交 F_1 代中获得了异源三倍体鲫鲂和异源四倍体鲫鲂。本研究对异源三倍体鲫鲂进行了染色体核型分析、染色体 FISH 杂交检测和性腺结构观察, 结果表明: 1) 异源三倍体鲫鲂的染色体数目为 $3n=124$, 染色体核型公式为 $31m+45sm+26st+22t$, 染色体组由 2 套红鲫染色体和 1 套团头鲂染色体组成; 2) 利用红鲫特有重复序列为探针进行 FISH 杂交, 红鲫的 100 条染色体均被标记上荧光信号, 而团头鲂的染色体均未标记上荧光信号, 异源三倍体鲫鲂中有 100 条染色体被标记上荧光信号, 说明异源三倍体鲫鲂含有 2 套红鲫来源的染色体组; 3) 异源三倍体鲫鲂的性腺发育异常, 其卵巢型和精巢型性腺发育呈现出退化的特征。研究还讨论了异源三倍体鲫鲂的形成机制。实验结果为鱼类远缘杂交和多倍体鱼研究提供了实验数据, 在鱼类遗传育种方面具有重要意义。

关键词: 远缘杂交; 异源三倍体; 不育; FISH

中图分类号: Q 321⁺.3; S 965

文献标志码: A

远缘杂交是研制不同倍性鱼的有效方法, Rasch 等^[1]提出了三倍体脊椎动物可以通过杂交产生的证据后, 很多研究人员开展了广泛的杂交研究工作, 并在不同鱼类的杂交后代中获得了三倍体鱼。例如, Marian 等^[2]发现草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*, ♀) × 鳊 (*Aristichthy nobilis*, ♂) 之间的杂交后代是三倍体。随着鱼类远缘杂交研究的广泛开展, 关于远缘杂交产生四倍体鱼的报道也有很多, 作者实验室自 20 世纪 70 年代以来在鲤科鱼类的属间和不同亚科之间的远缘杂交中分别获得了多种多倍体鱼, 其中, 红鲫 ($2n=100$) (*Carassius auratus* red var, ♀) × 湘江野鲤 ($2n=100$) (*Cyprinus carpio*, ♂) 的 F_1 代中发现部分可育的二倍体后代, 通过多代自交, 在 F_3 代中发现部分可育的雌、雄四倍体个体并使它们自交形成了异源四倍体鲫鲤群体^[3-4]。异源四倍体鲫鲤雌、雄两性可育, 遗传性状稳定, 已经连续繁殖到 F_{23} 代。由于其四倍体性能代代相传并且具有明显

的遗传变异特征, 为形成一个染色体数目为 $4n=200$ 的新物种奠定了坚实的基础。在该远缘杂交品系形成过程中, 从亲本二倍体 ($2n=100$) 到后代四倍体 ($4n=200$) 的过渡没有任何人工诱导处理, 属于染色体自然加倍^[5], 这是世界上第一例不经过实验处理而自然产生的两性可育、遗传性状稳定的四倍体鱼群体, 在生物进化和鱼类遗传育种方面具有重要意义。近十几年来, 作者实验室在红鲫 (♀) × 团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*) (♂) 的 F_1 代中获得了大量三倍体和四倍体杂交后代, 其中异源四倍体鲫鲂通过自交获得了存活后代, 为建立新的四倍体群体奠定了坚实基础^[6-8]。本研究将对鲫鲂 F_1 代中异源三倍体鲫鲂的遗传组成和生殖特性进行研究, 包括通过染色体核型分析、染色体荧光原位杂交 (fluorescence *in situ* hybridization, FISH) 检测、性腺结构观察等揭示双亲染色体数目不同的异源三倍体鲫鲂的生殖特性和形成机制, 为鱼类多倍体育种研

收稿日期: 2013-10-24 修回日期: 2013-12-23

资助项目: 国家自然科学基金青年项目 (31201987); 教育部博士点基金 (20124306120006); 湖南省教育厅青年项目 (12B084); 湖南省自然科学基金青年人才联合培养基金 (14JJ6008); 国家自然科学基金重大国际合作项目 (31210103918); 国家自然科学基金重大研究计划培育项目 (91331105); 国家自然科学基金重点项目 (30930071); “九七三”前期项目 (2012CB722305); 高等学校博士学科点专项科研基金 (20114306130001); 湖南省生物发育工程及新产品研发协同创新中心 (20134486)

通信作者: 刘少军, E-mail: lsj@hunnu.edu.cn

<http://www.scxuebao.cn>

究提供有益的研究数据。

1 材料与方法

1.1 染色体的制备与核型分析

对 I 龄的红鲫、团头鲂、异源三倍体鲫鲂(各 10 条)的肾脏(肾细胞)染色体数目进行鉴定。肾细胞有丝分裂中期染色体制备过程:对实验鱼注射 PHA 1~3 次,每次剂量为 2~8 $\mu\text{g/g}$ 体质量,间隔时间为 12~24 h,在解剖取材前的 2~6 h 注射秋水仙素,剂量为 2~4 $\mu\text{g/g}$ 体质量;取出肾脏组织于盛有 0.8% 的生理盐水的培养皿中,用剪刀剪碎材料;移于离心管中,吹打;1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液;收集的细胞沉淀在 0.075 mol/L KCl 低渗液中低渗 40~60 min,低渗过程中不时地轻轻吹打;离心,收集沉淀;在甲醇和冰醋酸(3:1)混合液中固定、离心、再固定,重复 2~3 次;在冷冻的玻片上滴片,火焰干燥;Giemsa 染料染色,镜检,用 PixeraPro 600 ES(美国)数码显微摄像系统拍照。

每种实验鱼有 200 个分裂相(每条鱼 20 个分裂相)被分析。质量好的中期分裂相被用于进行染色体核型分析。对染色体的全长以及长臂和短臂的长度进行了测量,并通过染色体长臂和短臂的比例结合相关标准对染色体进行分类:比值在 1.0~1.7 之间的为中部着丝粒染色体,1.7~3.0 的为亚中部着丝粒染色体,3.1~7.0 的为亚端部着丝粒染色体,7.1 的为端部着丝粒染色体。

1.2 染色体荧光原位杂交

利用引物 5'-AAGCTTTTCTCTCTAGTAG-AGAAAGC-3';5'-TTGAGCAGATTTG GGCTTG-ATTTTC-3'在红鲫基因组中扩增出高度串联重复序列(序列号 JQ086761),并以该序列为模板,采用 PCR 法以 Dig-11-dUTP 间接标记探针(PCR DIG Probe Synthesis Kit, Roche, Germany),纯化探针后在各种实验鱼有丝分裂中期染色体标本上进行荧光原位杂交。染色体分裂相玻片分别在 2×SSC 和 100% 的酒精中处理后放入 75℃ 的 70% 去离子甲酰胺/2×SSC 溶液中变性,然后再从 70%(-20℃)到 100% 酒精梯度中脱水,每次 5 min,并最终在空气中干燥。37℃ 杂交过夜(杂交液为 50% 去离子甲酰胺,20×SSC,10% 硫酸葡聚糖,1~2 ng/ μL 探针),然后在 42℃ 下洗脱,并用 FITC(绿色荧光)耦联的羊抗地高辛抗体(Roche, Germany)进行特异性信号定位,DAPI

(Sigma)复染,荧光显微镜下观察并照相。

1.3 性腺组织学切片检测

在实验鱼繁殖季节,对 II 龄实验鱼的性腺结构进行观察,主要采取组织学切片观察:取部分性腺组织,用 Bouin 氏液进行固定,系列酒精脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,连续切片厚度为 6~8 μm ,H.E 染色,中性树胶封片,显微镜镜检并对部分材料进行检测。

2 结果

2.1 染色体检测和核型分析

异源三倍体鲫鲂拥有 124 条染色体(图 1-a),其染色体中期分裂相中只发现 1 条最大的亚中部着丝粒染色体,而在团头鲂的染色体中期分裂相中能够观察到 2 条类似的染色体。核型分析发现,异源三倍体鲫鲂的核型公式为 $31m + 45sm + 26st + 22t$ (图 1-b),其中 31 条中部着丝粒染色体中有 22 条来自于红鲫,9 条来自于团头鲂;45 条亚中部着丝粒染色体中有 34 条来自于红鲫,11 条来自于团头鲂;26 条亚端部着粒丝染色体中有 22 条来自于红鲫,4 条来自于团头鲂;22 条端部着丝粒染色体全部来自于红鲫。

2.2 染色体荧光原位杂交检测

以红鲫的高度串联重复序列(序列号 JQ086761)为探针,对红鲫、团头鲂和异源三倍体鲫鲂的染色体中期分裂相进行 FISH 检测。结果发现,红鲫的 100 条染色体均被标记上荧光信号(图 2-a),团头鲂的染色体均未被标记上荧光信号(图 2-b),这说明该探针能对红鲫和团头鲂的染色体进行区分。因此,异源三倍体鲫鲂的中期分裂相中来源于红鲫的 100 条染色体均被标记上荧光信号,而来源于团头鲂的 24 条染色体均未被标记上信号,说明其含有 2 套来源于红鲫的染色体(图 2-c)。

2.3 育性检测

繁殖季节,对 I 龄、II 龄和 III 龄异源三倍体鲫鲂的育性进行检测,其雌、雄个体均没有挤压出成熟的卵子和精液。在对异源 II 龄三倍体鲫鲂的性腺结构进行观察时发现了 2 种类型的性腺结构:(1)卵巢型性腺呈浅黄色,固定后呈花瓣状的分叶,卵巢的大部分被发育程度不高、体积较小的卵原细胞样细胞占据,其中有些细胞内出现空泡状结构,呈现出退化的特征(图 3-a);(2)精巢型性腺呈白色,剪刀剪开没有精液流出,这样的精巢主

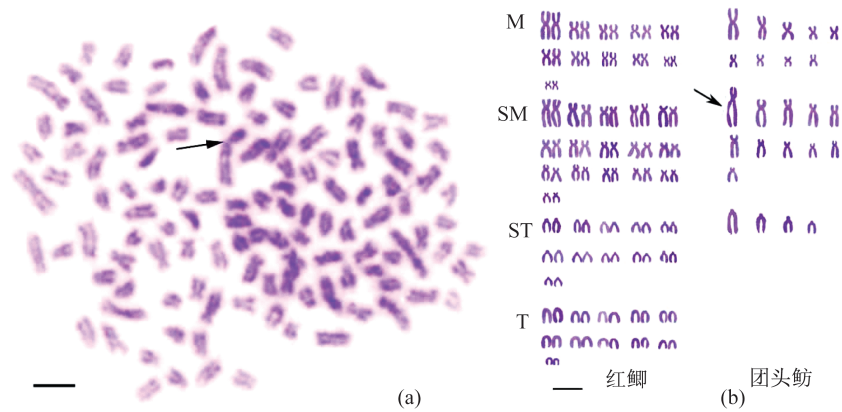


图 1 异源三倍体鲫鲂的染色体分裂相和核型图

(a) 异源三倍体鲫鲂的染色体中期分裂相有 124 条染色体, 箭头所指为来源于团头鲂的最大亚中部着丝粒染色体; (b) 异源三倍体鲫鲂的核型由 2 套红鲫和 1 套团头鲂染色体组成, 箭头所指为来源于团头鲂的最大亚中部着丝粒染色体; 标尺为 3 μm

Fig. 1 Chromosome spreads and karyotype of 3nRB

(a) The 124 chromosomes of 3nRB, in which one the largest submetacentric chromosomes is indicated (arrows); (b) The karyotype of 3nRB, which consists of two sets of chromosomes from RCC and one set of chromosome from BSB; bar is 3 μm

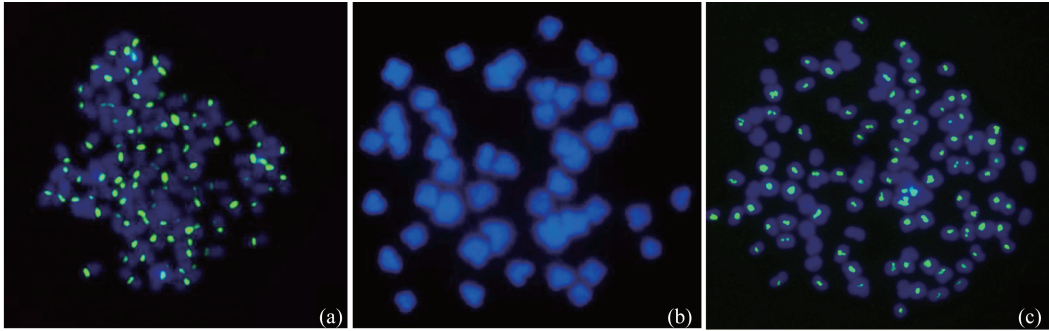


图 2 红鲫、团头鲂和异源三倍体鲫鲂染色体的 FISH 检测

(a) 以红鲫的高度串联重复序列为探针, 对红鲫的中期染色体分裂相进行 FISH 杂交, 100 条红鲫染色体均有荧光信号; (b) 团头鲂的染色体均没有荧光信号; (c) 异源三倍体鲫鲂中来源于红鲫的 100 条染色体有荧光信号

Fig. 2 Examination of hybridizing signals by FISH of chromosomes in RCC, BSB and 3nRB

(a) The species-specific repetitive sequences probe hybridized to 100 chromosomes in RCC; (b) No chromosome of BSB was hybridized; (c) The species-specific repetitive sequences probe hybridized to 100 RCC-derived chromosomes in 3nRB

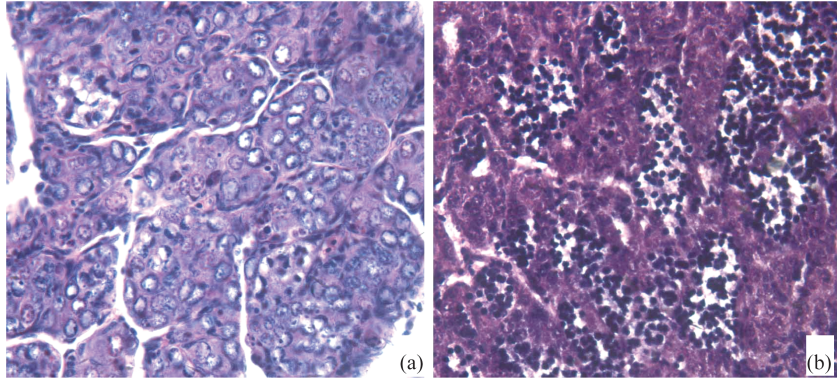


图 3 异源三倍体鲫鲂的性腺结构

(a) 异源三倍体鲫鲂的卵巢; (b) 异源三倍体鲫鲂的精巢

Fig. 3 The gonadal structure of 3nRB

(a) the ovary of 3nRB; (b) the testis of 3nRB

要由许多精细小管组成,有的精细小管内没有精子细胞,有的精细小管内可见一些精子细胞,但这些精子细胞的形状不规则,外表面轮廓不清晰,呈现退化解体现象,没有观察到成熟精子(图 3-b)。

3 讨论

远缘杂交是一种重要的遗传育种方法,通过这种方法能将不同物种的染色体整合到一起,导致杂交后代在基因型和表型上发生改变。作者实验室以前在红鲫($2n = 100$, ♀) × 团头鲂($2n = 48$, ♂)的 F_1 中获得了异源三倍体鲫和异源四倍体鲫,它们在染色体数目、遗传组成和外形等生物学特征方面有明显的差别^[6]。从染色体水平来看,染色体的数目和特殊形态的染色体都能够作为遗传标记对杂交后代染色体水平的变化以及染色体来源进行分析。本研究中,团头鲂的 1 对最大的亚中部着丝粒染色体能作为遗传标记对鲫杂交后代的染色体组成进行分析。异源三倍体鲫的染色体中期分裂相中拥有 124 条染色体,其中有 1 条染色体类似于团头鲂的最大亚中部着丝粒染色体。核型分析发现,异源三倍体鲫的核型公式为 $31m + 45sm + 26st + 22t$,其中 31 条中部着丝粒染色体中有 22 条来自于红鲫,9 条来自于团头鲂;45 条亚中部着丝粒染色体中有 34 条来自于红鲫,11 条来自于团头鲂;26 条亚端部着丝粒染色体中有 22 条来自于红鲫,4 条来自于团头鲂;22 条端部着丝粒染色体全部来自于红鲫。因此可以认为,异源三倍体鲫的染色体由 2 套红鲫染色体和 1 套团头鲂染色体所组成。

荧光原位杂交也能有效地在染色体水平上分析杂交二倍体和多倍体物种的遗传组成。本实验以红鲫的高度串联重复序列(序列号 JQ086761)为探针,对红鲫、团头鲂和异源三倍体鲫的染色体中期分裂相进行荧光原位杂交检测。结果发现,在红鲫染色体中期分裂相中能发现 100 个荧光信号,而团头鲂的染色体中期分裂相没有标记上荧光信号,因此该探针能特异地区分红鲫和团头鲂的染色体。异源三倍体鲫的中期分裂相中发现 100 个荧光信号,该研究结果说明异源三倍体鲫的基因组中含有 2 套红鲫染色体,这与核型分析结果相一致。

在红鲫(♀) × 团头鲂(♂)的杂交 F_1 后代中发现三倍体和四倍体杂交后代,但是没有发现存

活的二倍体杂交后代。其原因可能是由于母本红鲫和父本团头鲂的染色体数目差别较大,不利于胚胎发育成为存活的杂交二倍体后代。通过三倍体或四倍体化能很好地克服发育过程中的障碍,并最终发育成为存活后代。在 148 条染色体 $[(50 + 24) \times 2]$ 的异源四倍体鲫染色体组中,红鲫和团头鲂都拥有自己的同源染色体,因此后代中染色体和基因的不兼容性被大大降低;在 124 条染色体 $(50 \times 2 + 24)$ 的异源三倍体鲫染色体组中,红鲫也拥有自己的同源染色体,这样也能在一定程度上降低染色体和基因的不兼容性^[9-10]。通过遗传组成和核型分析,推测不同的多倍体鲫来源于不同的多倍体化机制:异源三倍体鲫($3n = 124$)来自于受精卵第二极体的排除被抑制,而异源四倍体鲫($4n = 148$)是来自于受精卵的第一次卵裂被抑制^[6]。另外在红鲫(♀)与团头鲂(♂)的杂交 F_1 中,还发现了两性可育的天然雌核发育红鲫($2n = 100$),这是由于红鲫卵子第二极体的排除被抑制^[5,9]。

自然界中的三倍体鱼具有可育的特征,但是表现出孤雌生殖或雌核发育^[11-13]。例如,三倍体银鲫所产卵子在异源精子的诱导下进行发育,在发育过程中雄核不参与发育调控并最终被排出^[14]。研究还发现,三倍体银鲫是一种同源三倍体鱼^[15]。大量实验表明,通过远缘杂交、冷休克和热休克以及静水压等人工方法获得异源或同源三倍体鱼^[16-19],3 套染色体组导致染色体配对混乱进而造成性腺发育紊乱而不能产生正常的配子^[20-21]。本研究中,Ⅱ龄异源三倍体鲫卵巢型性腺的大部分被发育程度不高、体积较小的卵原细胞样细胞占据,其中有些细胞内出现空泡状结构,呈现出退化的特征;其卵巢型性腺的精细小管内没有精子细胞,有的精细小管内可见一些精子细胞,但这些精子细胞的形状不规则,外表面轮廓不清晰,呈现退化解体现象,没有观察到成熟精子。以上结果从细胞水平上证明了异源三倍体鲫的不育性。在红鲫(♀) × 团头鲂(♂)杂交过程中,红鲫卵子第二极体的排除被抑制使得染色体加倍,在一定程度上降低了染色体和基因的不兼容性,有利于形成存活的异源三倍体鲫,但是 3 套染色体组将造成减数分裂过程中联会配对的紊乱^[22-25],导致异源三倍体鲫不能产生成熟的配子和不育。作者实验室通过长期研究,发现异

源四倍体鲫鲂 ($4n = 148$) 两性可育, 其自交获得了存活后代^[5-6], 并结合遗传选育形成了一个具有遗传变异特性的新型同源四倍体鱼品系 ($F_2 \sim F_7; 4n = 200$), 这在生物进化和遗传育种方面具有重要意义。

参考文献:

- [1] Rasch E M, Darnell R M, Kallman K D, *et al.* Cytophotometric evidence for triploidy in hybrids of the gynogenetic fish, *Poecilia formosa* [J]. Journal of Experimental Zoology, 1965, 160(2): 155 - 169.
- [2] Marian T, Krasznai Z. Karyological investigations on *Ctenopharyngodon idella* and *Hypophthalmichthys nobilis* and their cross-breeding [J]. Aquaculture Hungarica, 1978, 17(1): 44 - 50.
- [3] Liu S J, Liu Y, Zhou G J, *et al.* The formation of tetraploid stocks of red crucian carp \times common carp hybrids as an effect of interspecific hybridization [J]. Aquaculture, 2001, 192(2): 171 - 186.
- [4] Sun Y D, Liu S J, Zhang C, *et al.* The Chromosome Number and Gonadal Structure of $F_9 \sim F_{11}$ Allotetraploid Crucian-carp [J]. Acta Genetica Sinica, 2003, 30(5): 414 - 418. [孙远东, 刘少军, 张纯, 等. 异源四倍体鲫鲤 $F_9 \sim F_{11}$ 染色体和性腺观察. 遗传学报: 英文版, 2003, 30(5): 414 - 418.]
- [5] Liu S J. Distant hybridization leads to different ploidy fishes [J]. Science China Life Sciences, 2010, 53(4): 416 - 425.
- [6] Liu S J, Qin Q B, Xiao J, *et al.* The formation of the polyploid hybrids from different subfamily fish crossing and its evolutionary significance [J]. Genetics, 2007, 176(2): 1023 - 1034.
- [7] Liu S J. The formation of distant hybridization resulted in different ploidy fish [J]. Scientia Sinica: Vitae, 2010, 40(2): 104 - 114. [刘少军. 远缘杂交导致不同倍性鱼的形成. 中国科学: 生命科学, 2010, 40(2): 104 - 114.]
- [8] Song C, Liu S J, Xiao J, *et al.* Progress in polyploid biology research [J]. Scientia Sinica: Vitae, 2012, 42(3): 173 - 184. [宋灿, 刘少军, 肖军, 等. 多倍体生物研究进展. 中国科学: 生命科学, 2012, 42(3): 173 - 184.]
- [9] Liu S J, Qin Q B, Wang Y Q, *et al.* Evidence for the formation of the male gynogenetic fish [J]. Marine Biotechnology, 2010, 12(2): 160 - 172.
- [10] Qin Q B, He W G, Liu S J, *et al.* Analysis of 5S rDNA organization and variation in polyploid hybrids from crosses of different fish subfamilies [J]. Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution, 2010, 314(5): 403 - 411.
- [11] Gui J F, Zhu L F, Wei X H, *et al.* Genetic diversity and breeding implications of gynogenetic silver crucian carp [J]. Hereditas (Beijing), 1997, 19: 37 - 38.
- [12] Yang R J, Li B X, Feng H, *et al.* Cytogenetic analysis of chromosome number and ploidy of *Carassius auratus* variety pengze [J]. Acta Zoologica Sinica, 2003, 49(1): 104 - 109. [杨睿娇, 李冰霞, 冯浩, 等. 彭泽鲫染色体数目及倍性的细胞遗传学分析. 动物学报: 英文版, 2003, 49(1): 104 - 109.]
- [13] Yang X Q, Chen M R, Yu X M, *et al.* Preliminary studies on the mode of reproduction in crucian carp (*Carassius auratus*) of pengze [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1992, 16(3): 277 - 280. [杨兴棋, 陈敏荣, 俞小牧, 等. 江西彭泽鲫生殖方式的初步研究. 水生生物学报, 1992, 16(3): 277 - 280.]
- [14] Zhou L, Wang Y, Gui J F. Genetic evidence for gonochoristic reproduction in gynogenetic silver crucian carp (*Carassius auratus gibelio* bloch) as revealed by RAPD assays [J]. Journal of Molecular Evolution, 2000, 51(5): 498 - 506.
- [15] Zhu H P, Ma D M, Gui J F. Triploid origin of the gibel carp as revealed by 5S rDNA localization and chromosome painting [J]. Chromosome Research, 2006, 14(7): 767 - 776.
- [16] Song L M, Yang Y, Wang W M, *et al.* Induction of triploidy in yellow catfish *pelteobagrus fulvidraco* by heat shock [J]. Fisheries Science, 2010, 29(6). [宋立民, 杨毅, 王卫民, 等. 热休克诱导黄颡鱼三倍体的研究. 水产科学, 2010, 29(6): 352 - 355]
- [17] Gui J F, Liang S C, Sun J M, *et al.* Studies on genome manipulation in fish I. induction of triploid transparent colored crucian carp (*Carassius auratus* transparent colored variety) by hydrostatic pressure [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1990, 14(4): 336 - 344. [桂建芳, 孙建民, 梁绍昌, 等. 鱼类染色体组操作的研究 I. 静水压休克诱导三倍体水晶彩鲫. 水生生物学报, 1990, 14(4): 336 - 344.]
- [18] Lin Q, Wu J S, Zeng Z N. Induction of triploid in *Pseudosciaena crocea* by HY-drostatic pressure [J]. Marine Sciences, 2001, 25(9): 6 - 9. [林琪, 吴建绍, 曾志南. 静水压休克诱导大黄鱼三倍体. 海洋科学, 2001, 25(9): 6 - 9.]
- [19] Cai G X. Triploid induction of *Pagrosomus major* by

- cold shock [J]. *Tropic Oceanology*, 1997, 16 (4): 95 – 98. [蔡国雄. 真鲷三倍体诱导初步研究. 热带海洋, 1997, 16(4): 95 – 98.]
- [20] Liu S J, Hu F, Zhou G J, *et al.* Gonadal structure of triploid crucian carp produced by crossing allotetraploid hybrids of *Carassium auratus* red var. (♀) × *Cyprinus carpio* (♂) with Japanese crucian carp (*Carassius auratus* cavierit. Et s) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2000, 24 (4): 301 – 306. [刘少军, 胡芳, 周工建, 等. 三倍体湘云鲫繁殖季节的性腺结构观察. 水生生物学报, 2000, 24 (4): 301 – 306.]
- [21] Liu S J, Sun Y D, Li S F, *et al.* Analysis of gonadosomatic indexes of the triploid crucian carp [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2002, 26 (2): 111 – 114. [刘少军, 孙远东, 黎双飞, 等. 三倍体湘云鲫性腺指数分析. 水产学报, 2002, 26 (2): 111 – 114.]
- [22] Zhang C, He X X, Liu S J, *et al.* Chromosome pairing in meiosis I in allotetraploid hybrids and allotriploid crucian carp [J]. *Acta Zoologica Sinica*, 2005, 51 (1): 89 – 94.
- [23] Long Y, Tao M, Liu S J, *et al.* Differential expression of *Gnrh2*, *Gthβ* and *Gthr* gene in sterile triploids and fertile tetraploids [J]. *Cell and Tissue Research*, 2009, 338 (1): 151 – 159.
- [24] Wang J, Qin Q B, Chen S, *et al.* Formation and biological characterization of three new types of improved crucian carp [J]. *Science in China Series C: Life Sciences*, 2008, 51 (6): 544 – 551.
- [25] Long Y, Liu S J, Huang W R, *et al.* Comparative studies on histological and ultra-structure of the pituitary of different ploidy level fishes [J]. *Science in China Series C: Life Sciences*, 2006, 49 (5): 446 – 453.

Characteristics of genetic composition and reproduction in allotriploid hybrids of red crucian carp (♀) × blunt snout bream (♂)

QIN Qinbo, DAI Jing, LIU Shaojun*, LIU Yun

(College of Life Sciences, Hunan Normal University, Changsha 410081, China)

Abstract: Red crucian carp (abbreviated as RCC) with 100 chromosomes belonged to the *Cyprininae* subfamily, and the blunt snout bream (*Megalobrama amblycephala*) (abbreviated as BSB) with 48 chromosomes belonged to the *Cultrinae* subfamily. In the first generation of RCC (♀) × BSB (♂), we obtained triploid hybrids (abbreviated as 3nRB) and tetraploid hybrids (abbreviated as 4nRB). In this study, we made the analysis of karyotype of the chromosomes, FISH of the chromosomes and the gonadal development in 3nRB. The results are as follows: (1) 3nRB hybrids had 124 chromosomes with a karyotype of 31m + 45sm + 26st + 22t, which possessed two sets of RCC-derived chromosomes, and one set of BSB-derived chromosomes. (2) The species-specific repetitive sequences probe hybridized to 100 chromosomes in RCC but none in BSB. In 3nRB, the probe hybridized to 100 chromosomes, suggesting that they possessed two sets of RCC-derived chromosomes. (3) The gonad of 3nRB displayed developmental anomaly, which was considered as a retrogression trait. This paper discussed the formation mechanism of 3nRB, and provided experimental data for study of distant hybridization and polyploidy in fish, which is of importance in genetic breeding.

Key words: distant hybridization; allotriploid; sterility; FISH

Corresponding author: LIU Shaojun. E-mail: lsj@hunnu.edu.cn