



## 评述

## 动物远缘杂交研究进展

张卓慧<sup>†</sup>, 陈婕<sup>†</sup>, 黎玲, 陶敏, 张纯, 覃钦博, 肖军, 刘筠, 刘少军<sup>\*</sup>

湖南师范大学生命科学学院, 教育部蛋白质化学与鱼类发育生物学重点实验室, 长沙 410081

<sup>†</sup> 同等贡献<sup>\*</sup> 联系人, E-mail: lsj@hunnu.edu.cn

收稿日期: 2013-10-24; 接受日期: 2013-11-20

国家自然科学基金重点项目(批准号: 30930071)、国家自然科学基金重大国际合作项目(批准号: 31210103918)、国家高技术研究发展计划(批准号: 2011AA100403)、国家重点基础研究发展计划前期项目(批准号: 2012CB722305)、国家公益性行业科研专项资金(批准号: 200903046)、高等学校博士学科点专项科研基金(批准号: 20114306130001)和湖南省“生物发育工程及新产品研发协同创新中心”项目(批准号: 20134486)资助

**摘要** 远缘杂交是指亲缘关系在种间及种间以上的生物之间的杂交, 它可以使基因组从一个物种转移到另一个物种中, 从而导致杂交后代的表现型和基因型都发生改变. 如果远缘杂交后代两性可育, 则可以通过自交繁衍形成遗传变异的品系, 它们在生物进化、遗传和育种方面具有重要作用. 本文在分析和归纳大量国内外有关动物远缘杂交文献的基础上, 结合本实验室长期从事鱼类远缘杂交的研究结果, 对动物远缘杂交研究的最近概况及其相关问题进行了较全面综述, 其中介绍了动物门间、纲间、目间、科间、亚科间、属间和种间的杂交状况, 阐述了鱼类远缘杂交品系的形成规律和遗传变异特性及它们在生产上的应用等. 本文在生物进化和动物遗传育种方面具有意义.

**关键词**  
远缘杂交  
品系  
四倍体  
三倍体  
遗传育种  
应用

远缘杂交(distant hybridization)是指种间、属间乃至亲缘关系更远的生物类型之间的杂交. 远缘杂交可以使基因组从一个物种转移到另一个物种中, 从而导致杂交后代的表现型和基因型都发生改变. 在基因型上, 远缘杂交能导致后代的染色体组水平上的改变, 从而产生杂交二倍体、三倍体和四倍体后代; 另外, 远缘杂交形成的天然雌核发育二倍体后代中微小染色体的出现还可导致亚染色体组水平上的改变; 在DNA水平, 远缘杂交可以导致其后代DNA变异及出现重组. 在表现型方面, 远缘杂交能整合双亲的优点, 使后代在外形、生长速度、存活率以及抗病能力等方面均表现出杂种优势<sup>[1]</sup>.

植物通过种间杂交获得雌雄可育且能稳定遗传

的异源多倍体已有不少报道, 如萝卜甘蓝(*Raphano brassica*)是通过染色体加倍形成的异源四倍体, 普通小麦(*Triticum aestivum*)是通过杂交形成的异源六倍体<sup>[2]</sup>. 中国学者认为, 银鲫(*Carassius auratus gibelio*)经历了几轮连续的基因组多倍化, 还经历了一次额外的、在较近年代发生的基因组复制事件. 它具有多个基因组, 因而表现出其起源的遗传记号. 而且, 由于银鲫中存在基因组或亚基因组渗入现象, 以及通过人工操作可获得整入有额外基因组或染色体的异源多倍体, 因此银鲫正处于多倍体化的进化轨道<sup>[3]</sup>. 本实验室的研究结果证明, 在自然界中存在着二倍体、三倍体和四倍体鲫鱼(*Carassius auratus*)<sup>[4]</sup>. 越来越多的研究表明, 鱼类多倍化演化与远缘杂交有

引用格式: 张卓慧, 陈婕, 黎玲, 等. 动物远缘杂交研究进展. 中国科学: 生命科学, 2014, 44: 161-174

英文版见: Zhang Z H, Chen J, Li L, et al. Research advances in animal distant hybridization. Sci China Life Sci, 2014, 44: 161-174, doi: 10.1360/N052013-74

关<sup>[5-7]</sup>。远缘杂交已经被证实有利于物种的形成和辐射演化, 杂交导致异源多倍化可能是新物种发生的潜在动力<sup>[8,9]</sup>。远缘杂交后代可以包含不同物种的基因组, 为异种动物间基因的重组和交流奠定基础, 可育的远缘动物杂交品系的形成能够创造出前所未有的新变异种类, 甚至有可能形成新的物种。

在查阅大量的国内外文献的基础上, 结合本实验室的鱼类远缘杂交研究成果, 对动物远缘杂交研究的概况进行了全面的介绍和综述, 尤其对鱼类远缘杂交形成可育品系及它们的遗传变异特征等进行了阐述, 同时还描述了动物远缘杂交品系的形成及它们在生产上的应用等, 旨在为今后深入开展动物远缘杂交研究提供参考。

## 1 动物远缘杂交概况

### 1.1 门间杂交

异门动物间杂交的例子有棘皮动物门的一种海胆(*Anthocidaris crassispina*, ♀)与软体动物门的笠贝(*Acmaea nanshaensis*, ♂)和淡菜(*Mytilus edulis*, ♂)及环节动物门的环虫(*Nereis succinea*, ♂)分别杂交, 3种杂交幼虫全像海胆的幼虫, 这是因为雄性的精子入卵后, 虽然促成精虫星光的发生, 但远缘的雄核很难与雌核融合, 即使有相互融合的现象, 最终雄性的染色体也会退化, 不能参与子代的细胞核的形成, 所以幼虫全像母本<sup>[10]</sup>。

### 1.2 纲间杂交

棘皮动物门中异纲的杂交例子有海胆(♀)×海星(*Craspidaster hesperus*, ♂)的杂交, 其杂交幼虫全像母本<sup>[11]</sup>。

### 1.3 目间杂交

鲤形目的团头鲂(*Megalobrama amblycephala*, ♀)与鲈形目的鳊(*Siniperca chuatsi*, ♂)杂交<sup>[12]</sup>以及鲤形目的鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*, ♀)与鲈形目的鳙(*Pagrosomus major*, ♂)杂交<sup>[13]</sup>, 都能孵出鱼苗。

### 1.4 科间杂交

在鱼类科间杂交中, 鲈形目丽鱼科的奥利亚罗非鱼(*Oreochromis aureus*, ♀)与鲈形目鲷科中的鳊(♂)杂交的报道, 鱼苗成活率为0.3%~0.5%<sup>[14,15]</sup>。

在两栖类科间杂交中, 有法国南部的雨蛙(*Hyla arborea*, ♀)和踵甲蛙(*Pelobates cultripedis*, ♂)的杂交报道<sup>[16]</sup>, 其中极少数杂种能达到变态, 全似母本; 还有雨蛙(♀)和蟾蜍(*Bufo calamita*, ♂)的杂交报道, 其杂交后代的雄性染色体被驱逐, 不参与胚胎发育, 杂种发育良好<sup>[16]</sup>。另外, 蟾蜍(♀)和雨蛙(♂)杂交的大部分胚胎死于囊胚和原肠胚期, 只有极少数的蝌蚪能抵达变态, 性状全属于雌性; 染色体数目是双组的<sup>[10]</sup>。

以上门间、纲间、目间、科间杂交组合中都没有F<sub>1</sub>杂种中同时具有雌、雄两性可育个体的报道, 因此不能通过自交形成远缘杂交品系。本文远缘杂交品系主要指有远缘杂交F<sub>1</sub>自交形成杂种F<sub>2</sub>(及更多子代数)的家系形成。

### 1.5 亚科间杂交

鱼类中, 鲤科的亚科间杂交的例子有鳊(*Aristichthys nobilis*, ♀)×团头鲂(♂)及其反交<sup>[17]</sup>、鳊(♀)×草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*, ♂)及其反交<sup>[18,19]</sup>、草鱼(♀)×团头鲂(♂)<sup>[20]</sup>、草鱼(♀)×鲢(♂)及其反交<sup>[17]</sup>、草鱼(♀)×鲤(*Cyprinus carpio*, ♂)<sup>[17,21]</sup>、草鱼(♀)×三角鲂(*Megalobrama terminalis*, ♂)<sup>[22,23]</sup>、青鱼(*Mylopharyngodon piceus*, ♀)×三角鲂(♂)<sup>[24,25]</sup>、兴国红鲤(*Cyprinus carpio*, ♀)×草鱼(♂)<sup>[26-29]</sup>、鲢(♀)×团头鲂(♂)及其反交<sup>[17,30,31]</sup>、鲢(♀)×黄尾密鲴(*Xenocypris davidi*, ♂)<sup>[32]</sup>和鲤(♀)×鲢(♂)及其反交<sup>[33,34]</sup>。

在上述鱼类亚科间杂交组合中未见形成品系的报道。本实验室在红鲫(*Carassius auratus*, ♀)×团头鲂(♂)<sup>[35]</sup>、团头鲂(♀)×黄尾密鲴(♂)亚科间的杂交中获得了远缘杂交品系<sup>[36]</sup>, 并在红鲫(♀)×团头鲂(♂)杂交中获得了具有遗传变异特性的同源四倍体鱼品系。

### 1.6 属间杂交

鸟类中属间杂交的例子有家鸡(*Gus gallus*, ♀)×雉(*Phasianus colchicus*, ♂)<sup>[10]</sup>、越南家鸡(♀)×孔雀(*Pavo cristatus*, ♂)<sup>[10]</sup>、珍珠鸡(*Numida meleagris*, ♀)×孔雀(♂)<sup>[10]</sup>、乌鸡(*Gallus gallus*, ♀)×鹌鹑(*Coturnix coturnix*, ♂)、大雷鸟(*Tetrao urogallus*, ♀)×小雷鸟(*Lyrurus tetrix*, ♂)<sup>[10]</sup>、珍珠鸡(♀)×家鸡(♂)<sup>[10]</sup>、美洲香鸭(*Cairina moschata*, ♀)×家鸭(*Anas domestica*, ♂)以及乌鸡(♀)×珍珠鸡(♂)<sup>[37]</sup>等。

哺乳类中属间杂交的例子有羚羊和牛的杂交, 羚羊属于偶蹄目、牛科、大羚羊属(*Taurotragus oryx*),

体重达 700 kg. 将它和各种牛属动物包括家牛(*Bos taurus*)进行杂交, 均不能受孕<sup>[38]</sup>. 山羊(*Capra hircus*)与绵羊(*Ovis aries*)是不同属的家畜, 二者之间有时能自然交配, 而且也能受孕, 如在 1948 年, 在法国由山羊(♀)和绵羊(♂)产出一头活的杂种<sup>[39]</sup>. 保加利亚自 1953 年以来, 获得了存活的绵山羊杂种, 而且杂种母羊已生产第二代, 但杂种公羊不育<sup>[40]</sup>.

哺乳类中骆驼(*Camelus ferus*, 骆驼科骆驼属)和南美大羊驼(*Lama glama*, 骆驼科羊驼属)通过人工授精杂交形成了混血骆驼, 它是 1995 年于迪拜骆驼繁育中心诞生的惟一一只. 混血骆驼耳朵的长度介于二者之间, 有着像骆驼一样长长的尾巴和适宜沙漠行走的强壮的腿, 但和大羊驼一样都没有驼峰且有蓬松的长毛.

鱼类中属间杂交的例子有红鲫(♀)×湘江野鲤(*Cyprinus carpio*, ♂)<sup>[1,41,42]</sup>、方正银鲫(*Carassius auratus*, ♀)×兴国红鲤(♂)<sup>[43]</sup>、鲢(♀)×鳙(♂)及其反交<sup>[17,44,45]</sup>、长春鳊(*Parabramis pekinensis*, ♀)×三角鲂(♂)<sup>[46,47]</sup>、团头鲂(♀)×长春鳊(♂)<sup>[48,49]</sup>、青鱼(♀)×草鱼(♂)<sup>[50,51]</sup>、平鲷(*Rhabdosargus sarba*, ♀)×真鲷(*Pagrosomus major*, ♂)<sup>[52,53]</sup>、黄鳍鲷(*Sparus latus*, ♀)×平鲷(♂)<sup>[53]</sup>、平鲷(♀)×黑鲷(*Sparus macrocephalus*, ♂)<sup>[53]</sup>、细鳞斜颌鲷(*Plagiognathops microlepis*, ♀)×黄尾密鲷(♂)<sup>[54]</sup>和鲮(*Cirrhinus molitorella*, ♀)×湘华鲮(*Sinilabeo decorus*, ♂)<sup>[55,56]</sup>等.

本实验室在红鲫(♀)×湘江野鲤(♂)<sup>[41]</sup>、锦鲤(*Cyprinus carpio*, ♀)×红鲫(♂)(数据待发表)、团头鲂(♀)×翘嘴红鲌(*Erythroculter ilishaeformis*, ♂<sup>[1]</sup>)、翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂)(数据待发表)的远缘杂交中获得了杂交 F<sub>2</sub> 及更多子代数的杂交品系, 其中在红鲫(♀)×湘江野鲤(♂)杂交品系中获得异源四倍体鲫鲤品系.

上海海洋大学李思发教授领衔的研究团队在两种罗非鱼-吉富品系尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*, ♀)×萨罗罗非鱼(*Sarotherodon melanotheron*, ♂)的属间远缘杂交的正反交组合中获得杂交 F<sub>1</sub>, F<sub>1</sub> 再自交获得了杂交 F<sub>2</sub><sup>[57]</sup>.

## 1.7 种间杂交

软体动物中栉孔扇贝属(*Chlamys*)的栉孔扇贝(*Chlamys farreri*, ♀)×华贵栉孔扇贝(*Chlamys nobilis*, ♂)杂交得到的正交子一代(“蓬莱红”)<sup>[58]</sup>. 虾夷扇贝

(*Patinopecten yessoensi*, ♀)与栉孔扇贝(♂)杂交的受精细胞学研究结果表明, 无论正交反交精子都可以正常入卵, 具有正常的受精学过程, 异种精子不仅起到了激活卵子的作用, 还参与遗传物质的组成<sup>[59]</sup>.

鱼类中, 种间杂交的例子有元江鲤(*Cyprinus carpiorubrofuscus*, ♀)×柏氏鲤(*Cpellegrini pellegrini*, ♂)<sup>[60]</sup>、莫桑比克罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*, ♀)×尼罗罗非鱼(*Tilapia nilotica*, ♂)及其反交<sup>[61,62]</sup>、大口鲶(*Silurusmeri dionalis*, ♀)×鲶(*Silurusmeri asotus*, ♂)<sup>[63]</sup>和三角鲂(♀)×团头鲂(♂)及其反交<sup>[64]</sup>等.

中山大学李桂峰的研究团队进行了鳊鱼的种间远缘杂交研究, 大眼鳊(*Siniperca kneri*, ♀)×翘嘴鳊(*Siniperca chuatsi*, ♂)正交得到 F<sub>1</sub> 子代; 然后, 用杂种 F<sub>1</sub> 代自交得到 F<sub>2</sub> 子代<sup>[65]</sup>.

两栖类中种间杂交的例子有黑斑蛙(*Rana nigromaculata*)×福建金线蛙(*Rana plancyi fuienensis*)正反交都能得到小蛙<sup>[66]</sup>; 沼蛙(*Rana guentheri*, ♀)×虎纹蛙(*Rana rugulosa*, ♂)的后代中有少数蝌蚪形成<sup>[66]</sup>; 花姬蛙(*Microhyla major*, ♀)×饰纹姬蛙(*Microhyla ornata*, ♂)的正反交子代发育均良好<sup>[66]</sup>; 湖北金线蛙(*Rana plancyi*, ♀)×黑斑蛙(♂)杂交子代能发育成蝌蚪, 并且能变态成成蛙<sup>[67]</sup>.

马类动物中种间杂交的例子有马(*Equus caballus*, ♀)×驴(*Equus asinus*, ♂)的 F<sub>1</sub> 杂种骡, 驴(♀)×马(♂)F<sub>1</sub> 杂种驴骡, 有个别雌骡与雄马或雄驴交配能够繁殖<sup>[68]</sup>. 斑马(*Equus zebra*, ♀)和马(♂)交配的后代, 多像斑马; 反交的子代亦如此.

牛类动物中种间杂交的例子有黄牛(*Bos taurus domestica*, ♂)和牦牛(*Bos grunniens*, ♀)的杂种为犏牛, 雄犏牛不育. 苏联在阿尔泰地区, 以异品种家牛杂交所生的雄牛和雌犏牛交配, 然后让这些杂种自群繁殖, 已得到理想的乳肉兼用型后代<sup>[69]</sup>.

羊类动物中种间杂交的最有代表性的例子是野羊(*Ovis ammon*)和绵羊的杂交. 在苏联, 除摩弗伦野羊(*Ovis musimon*)与绵羊的杂交早被世人熟知外, 且用阿尔卡尔野羊(*Ovis ammon arcal*)与美利奴羊(*Ovis merino*)杂交, 创造出阿尔卡尔·美利奴的新品种<sup>[70]</sup>.

哺乳类中种间杂交的例子有狮子(*Panthera leo*, ♀)×老虎(*Panthera tigris*, ♂)交配产生的后代称为虎狮兽, 由老虎(♀)×狮子(♂)产生后代称为狮虎兽. 目前世界上存活的狮虎兽只有 30 只左右, 其中雌性杂种比雄性的生活力强, 但再用公狮配出来的第二代,

体格反而变小, 而且雄性的杂种都没有繁殖力<sup>[71]</sup>. 豹狮兽是狮(猫科豹属狮子, ♀)和豹(*Panthera pardus*, 猫科豹属豹, ♂)的杂交后代. 1910年, 印度一家动物园繁育过一只豹狮兽. 豹狮兽的体形跟豹差不多, 只是雄豹狮兽能长出20厘米鬃毛. 灰白熊是雄性灰熊(*Ursus arctos*, 棕熊属, 棕熊的亚种)和雌性北极熊(*Ursus maritimus*, 棕熊属, 北极熊种)杂交的后代. 尽管两种熊在基因上近似, 但它们在野外通常会彼此避开. 2006年4月16日, 一名美国猎人在加拿大北极猎杀到了一只灰白熊, 这是人们第一次在野外环境发现杂交哺乳动物, 之前的杂交熊只在动物园才能见到. 以上报道都没有形成远缘杂交品系的后续报道.

## 2 鱼类远缘杂交品系的形成

从上述情况可知, 除鱼类之外, 其他动物的远缘杂交  $F_1$  中都没发现有雌雄两性可育个体报道, 只有在绵羊和山羊杂种  $F_1$ 、马和驴的杂种(骡) $F_1$ 、黄牛和牦牛的杂种  $F_1$ (犏牛)、狮子和老虎的杂种(虎狮兽) $F_1$  中发现部分可育的雌性个体, 没有发现可育雄性个体. 导致这些脊椎动物中都没有远缘杂交形成杂交品系. 其原因可能与下列因素有关: (i) 受传统观念影响, 认为种与种之间具有生殖隔离特点, 动物远缘杂交后代是不育或者育性很低, 从而忽视对远缘杂交  $F_1$  等后代的育性进行长期而系统的观察和研究; (ii) 有些鱼类远缘杂交的早期世代(如  $F_1$  或  $F_2$ )的雄性性腺发育不是很好, 仅能挤出水样的精子, 但是确实具有受精形成后代的能力, 是否在其他脊椎动物中忽视了这种看似不育其实有生育能力的现象? (iii) 鱼类为脊椎动物中较低等的动物类群, 其遗传分化程度低于其他脊椎动物, 有利于远缘杂交后代具有较高存活率; (iv) 鱼类中的物种数目比其他脊椎动物(包括哺乳类、鸟类、爬行类、两栖类)中的物种数目多得多, 为鱼类远缘杂交形成存活后代奠定了坚实的亲本基础; (v) 很多鱼类具有体外受精的生殖特点, 为远缘杂交实验的操作和胚胎发育观察提供了方便.

鱼类具有32000多种, 是脊椎动物中物种数目最多的类群, 为鱼类的远缘杂交奠定了坚实的物种基础. 本实验室总结和归纳了318种鱼类的染色体数目<sup>[7,72-74]</sup>. 在所统计的鱼种中, 这些鱼类的染色体数

目绝大多数为偶数, 尤以染色体数目为44, 48, 50和100的种类较多(图1); 其分布呈现正态分布趋势, 其中在染色体44, 48和50区域出现一个较大的波峰, 在染色体100区域出现一个较小的波峰. 染色体数目为44的鱼有26种, 染色体数目为48的鱼有119种, 染色体数目为50的鱼有77种, 染色体数目为100的有19种; 染色体最少( $2n=24$ )的两种鱼为鲶形目、钝头鲩科的白缘鲩(*Liobagrus marginatus*)及合鳃目、合鳃科的黄鳝(*Monopterus albus*); 染色体最多的为中华鲟(*Aclpenser sinensis*,  $2n=264$ ). 许多鱼类的染色体数目之间存在倍性或接近倍性的关系, 其中有许多物种被证明是多倍体或发生过多倍化事件, 在形成过程中可能经历过远缘杂交. 由于鱼类进化过程的时间漫长, 很难获得远缘杂交形成多倍体的直接证据, 但是通过基因的拷贝数等数据可以间接推测一些多倍体化事件的发生. 通过人工设计鱼类远缘杂交并成功获得远缘杂交品系乃至四倍体鱼品系, 将为研究远缘杂交形成鱼类新物种提供研究模式及有关证据, 也为研究自然界中的多倍体鱼的发生提供系统的实验平台, 这在鱼类遗传育种和生物进化方面具有重要意义.

远缘杂交后代的不同倍性鱼的形成与双亲的染色体数目有关之外, 还可能与双亲DNA之间的相容性和协调性、细胞质之间的相容性和协调性、DNA与细胞质之间的相容性和协调性等因素有关. 在双亲染色体数目相同的鱼类远缘杂交组合中, 由于两个亲本之间的染色体数目对等, 有利于染色体的核型配对, 也有利于双亲的遗传物质在细胞的有丝分裂和减数分裂等细胞和分子水平相互协调, 最终有利于杂交后代的遗传物质共同稳定遗传. 在双亲染色体不同的鱼类远缘杂交组合中, 由于两个亲本之间的染色体数目不对等, 使得两个物种间在核-核之间的不相容性和核-细胞质之间的不相容性增加, 不利于染色体的核型配对, 也不利于杂交后代的遗传物质的共同稳定遗传, 最终导致双亲各自的遗传物质在遗传过程中出现分离, 形成例如保留母本的染色体并加倍形成具有遗传变异特性的同源四倍体鱼的现象.

在远缘杂交的亲本选择设计方面, 要考虑到远缘杂交鱼亲本之间的染色体数目、系统发育关系、生殖、外形、食性、生长速度、抗逆性等因素的相互关系, 根据不同的杂交组合以期获得具有不同特殊

性状的不同倍性鱼后代, 并通过选育研制出不同类型的优良鱼类品系. 如红鲫和鲤鱼的杂交组合考虑到双亲的染色体数目都是 100, 而且都是杂食性, 红鲫性成熟年龄为 1 年, 鲤鱼性成熟年龄为 1~2 年; 红鲫和团头鲂的杂交组合考虑到双亲的染色体数目分别是 100 和 48, 红鲫为杂食性, 团头鲂是草食性, 团头鲂的性成熟年龄为 1~2 年; 团头鲂和翘嘴红鲌的杂交组合考虑到双亲的染色体数目都是 48, 翘嘴红鲌为肉食性, 两者的性成熟年龄都是 1~2 年; 草鱼和团头鲂杂交组合考虑到双亲的染色体数目都是 48, 两者都是草食性, 草鱼的性成熟年龄是 4~5 年等. 对每一个设计好的远缘杂交组合的研究都是一个系统工程, 需要持之以恒的努力, 绝非轻而易举之事. 研制远缘杂交品系, 首先要突破杂交  $F_1$  和  $F_2$  等世代繁育的瓶颈问题, 使得杂交鱼能自交繁衍下去以形成两性可育的品系.

本实验室发现, 在鱼类远缘杂交种中, 不同倍性鱼的形成与亲本之间的遗传关系有密切联系. 其中, 当母本的染色体大于或者等于父本的染色体数目时, 远缘杂交组合易获得存活的杂交后代; 反之, 难以形成存活的杂交后代<sup>[1]</sup>, 在极其特殊的情况下可以形成非常少量的天然雌核发育后代.

当染色体数目相同的亲本进行远缘杂交时, 在

杂交第一代中容易获得杂交二倍体或杂交三倍体, 但很难获得杂交四倍体; 然而有望在该远缘杂交途径中的二倍体杂交鱼中通过二倍体不减数配子的形成及它们的自交受精来形成四倍体鱼品系. 利用该远缘杂交途径中二倍体杂交鱼和四倍体鱼品系与其他二倍体交配可以形成新型改良的二倍体鱼和三倍体鱼(图 2 和 3). 双亲染色体相同且属于属间杂交的红鲫(♀)×鲤鱼(♂)、鲤鱼(♀)×红鲫(♂)和团头鲂(♀)×翘嘴红鲌(♂)杂交组合以及它们的反交属于此类型的途径. 双亲染色体相同且属于亚科间杂交的团头鲂(♀)×黄尾密鲌(♂)的杂交组合也属于此类型的途径.

当染色体数目不同的亲本进行远缘杂交时, 在杂交第一代中可获得杂交四倍体、杂交三倍体或天然雌核发育二倍体. 其中该杂交四倍体通过自交在第二代杂交鱼中可以形成具有遗传变异的同源四倍体鱼, 在这种同源四倍体鱼中, 作为染色体数目少的原始父本的染色体将丢失, 形成主要来自作为染色体数目多的原始母本的染色体组加倍的同源四倍体鱼(图 3 和 4). 属于亚科间杂交的红鲫(♀)×团头鲂(♂)(两者具有不同染色体数目)的杂交组合归于此类型的途径, 另外红鲫(♀)×黄尾密鲌(♂)和红鲫(♀)×翘嘴红鲌(♂)的杂交组合也属于此类型的途径.

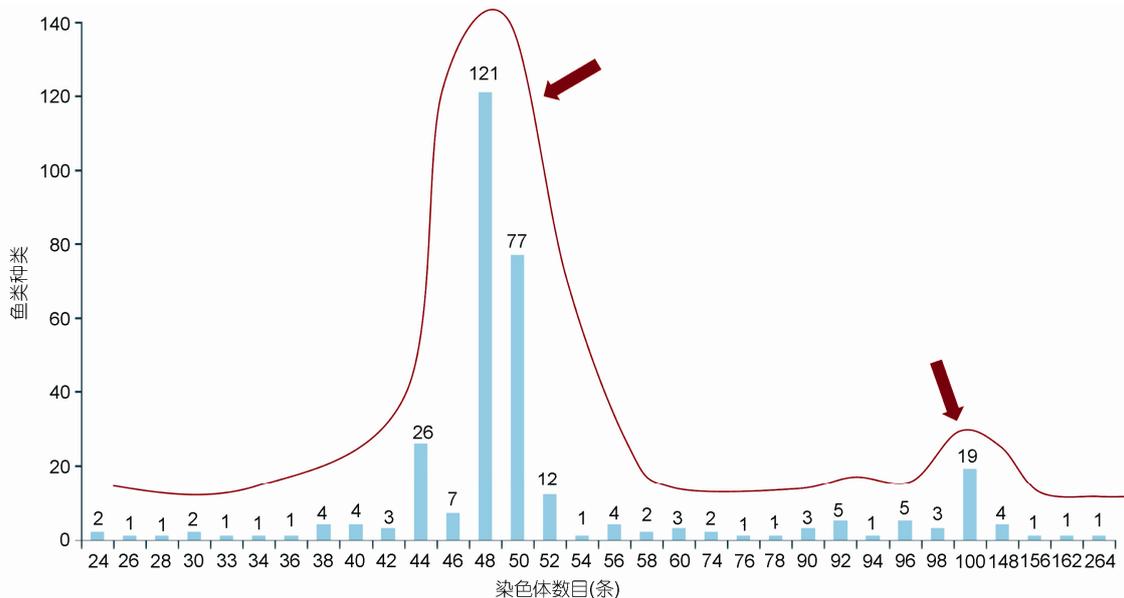


图 1 鱼类(318种)染色体数目分布

箭头表示种类较多的鱼种, 修改自宋灿等人<sup>[74]</sup>



因此它们在不干扰自然鱼类资源及苗种繁育的知识产权保护、提高质量和产量、不用或少用药、降低生产成本等方面具有优势. 通过四倍体鱼与二倍体鱼倍间交配来大规模制备不育三倍体鱼是研制三倍体鱼最理想的途径之一.

长期以来, 国内外学者都非常注重四倍体鱼的研制, 如挪威学者用细胞松弛素 B 诱导四倍体虹鳟 (*Oncorhynchus mykiss*)<sup>[75]</sup>; 美国学者用热休克法诱导四倍体鲶鱼 (*Silurus asotus*)<sup>[76]</sup>和四倍体虹鳟<sup>[77]</sup>; 法国学者用静水压和热休克法两种方法分别诱导产生四倍体虹鳟<sup>[78]</sup>; 中国学者用静水压处理和静水压与冷休克结合处理诱导水晶彩鲫 (*Carassius auratus*

transparent colored variety)四倍体<sup>[79]</sup>, 用热休克方法处理白鲫 (*Carassius auratus cuvieri*, ♀)×红鲫 (♂)杂交后代诱导产生四倍体鱼<sup>[80]</sup>和用热休克方法诱导研制四倍体团头鲂<sup>[81]</sup>; 以及用静水压方法诱导四倍体牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*)<sup>[82]</sup>. 然而, 在上述用细胞松弛素 B、静水压和热休克法等化学或物理方法来研制四倍体鱼的研究中没有产生两性可育后代并形成群体乃至品系的报道, 但这些实验为人工研究四倍体鱼提供了很好的实验结果和数据.

用化学或物理的方法来研制四倍体鱼, 与自然界中四倍体鱼的形成条件有许多差别, 经过这些人工处理, 有可能在染色体方面导致实验鱼的染色体

表 1 鱼类远缘杂交品系建立<sup>a)</sup>

亲缘关系	编号	杂交组合	遗传代数(倍性/性成熟年龄)			品系形成及特性
			F <sub>1</sub>	F <sub>2</sub>	F <sub>3</sub>	
属间	双亲染色体数目相同	1 红鲫(♀)×鲤鱼(♂) 2n=100×2n=100	2n=100 (2年)	2n=100 (2年)	4n=200 (1年)	F <sub>3</sub> ~F <sub>23</sub> (4n=200)
		2 锦鲤(♀)×红鲫(♂) 2n=100×2n=100	2n=100 (2年)	2n=100 (2年)		F <sub>1</sub> ~F <sub>2</sub> (2n=100)
		3 团头鲂(♀)×翘嘴红鲌(♂) 2n=48×2n=48	2n=48 (2年)	2n=48 (2年)	4n=96?	F <sub>1</sub> ~F <sub>3</sub> (2n=48; 4n=?)
		4 翘嘴红鲌(♀)×团头鲂(♂) 2n=48×2n=48	2n=48 (4年)	2n=48 (2年)	4n=96?	F <sub>1</sub> ~F <sub>3</sub> (2n=48; 4n=?)
亚科间	双亲染色体数目不同	1 团头鲂(♀)×黄尾密鲮(♂) 2n=48×2n=48	2n=48 (2年)	2n=48 (2年)		F <sub>1</sub> ~F <sub>2</sub> (2n=48)
		2 红鲫(♀)×团头鲂(♂) 2n=100×2n=48	4n=148 (2年)	4n=148(2年), 4n=200(1年)	4n=148(2年), 4n=200(1年)	F <sub>1</sub> ~F <sub>8</sub> (4n=148; 4n=200)

a) ?表示染色体倍性待检测

表 2 鱼类远缘杂交 F<sub>1</sub> 的建立

亲缘关系	编号	名称	杂交组合	F <sub>1</sub> 倍性、育性		
				二倍体	三倍体	四倍体
亚科间	双亲染色体数目相同	1 草鲂	草鱼(♀)×团头鲂(♂) 2n=48×2n=48	2n=48 育性待检测	3n=72 育性待检测	未发现
		2 鲮鲃	黄尾密鲮(♀)× 翘嘴红鲌(♂) 2n=48×2n=48	2n=48 可育	未发现	未发现
		3 鲮鲃	翘嘴红鲌(♀)×黄尾密鲮(♂) 2n=48×2n=48	2n=48 育性待检测	未发现	未发现
		4 鲮鲃	黄尾密鲮(♀)×团头鲂(♂) 2n=48×2n=48	2n=48 可育	3n=72 不育	未发现
		5 鲮鲃	团头鲂(♀)×鲮鱼(♂) 2n=48×2n=48	育性待检测	待检测	待检测
亚科间	双亲染色体数目不同	1 鲫鲃	红鲫(♀)×黄尾密鲮(♂) 2n=100×2n=48	2n=100 (天然雌核发育)	3n=124 不育	4n=148 可育
		2 鲫鲃	红鲫(♀)×翘嘴红鲌(♂) 2n=100×2n=48	2n=74 2n=100 (天然雌核发育)	3n=124 不育	4n=148 育性待检测
		3 鲫鲃	红鲫(♀)×鲮鱼(♂) 2n=100×2n=48	倍性、育性待检测	倍性、育性待检测	倍性、育性待检测

组不完整加倍, 形成非整数倍性个体; 也有可能对实验鱼的细胞质中的一些重要因子产生不利的影响. 这些染色体和细胞质方面的影响都有可能导致实验鱼的存活率和可育性降低.

本实验室通过长期的研究证明, 远缘杂交是研制两性可育后代并形成群体乃至四倍体鱼品系的好方法. 该方法与自然界中四倍体鱼的形成条件相吻合.

### 3 鱼类远缘杂交品系的遗传变异特性

在生物体发生进程中, 物种间的杂交与基因渐渗是一种规律发生事件, 尤其是在快速辐射生物群体中, 其推动了物种形成与进化<sup>[1,10,83-85]</sup>. 本实验室建立的鲫鲤、鲤鲫、鲫鲂、鲂鲫、鲂鲂品系在表型和基因型方面都发生了变化, 现主要介绍四倍体鲫鲤品系、四倍体鲫鲂品系和鲂鲫品系的表型和基因型的变化.

#### 3.1 四倍体鲫鲤品系的表型和基因型变化

本实验室已经建立了异源四倍体鲫鲤品系( $F_3 \sim F_{23}$ ,  $4n=200$ )<sup>[1,41,42]</sup>和同源四倍体鲫鲂品系( $F_2 \sim F_8$ ,  $4n=200$ )<sup>[35]</sup>, 这两个品系的形成为鱼类四倍体化形成提供了两条重要途径. 其中同源四倍体鲫鲂( $4n=200$ )品系不同于同一种物种的受精卵经秋水仙碱和静水压强处理获得的同源四倍体, 同源四倍体鲫鲂品系的原始亲本有两种鱼, 具备杂交亲本的遗传基础, 而来自同一物种的受精卵形成的同源四倍体鱼的原始亲本只有一种, 缺乏杂交亲本的遗传基础. 异源四倍体鲫鲤品系( $4n=200$ )和同源四倍体鲫鲂品系( $4n=200$ )两者具有相同的原始母本——红鲫, 但是它们的原始父本不相同. 这两个四倍体鱼品系在基因型和表型方面具有相似性, 也存在明显的差异性, 它们在鱼类遗传育种和生物进化方面具有重要意义.

新形成的多倍体的基因组不稳定, 并经历快速重构, 以达到多个基因组在细胞核内的和谐共存<sup>[85,86]</sup>. 如在芸苔属(*Brassica*)杂交多倍体形成后五代以内, 就发生了大量的基因组重排与片段丢失<sup>[87]</sup>. 基因组结构变化主要包括删除、插入、复制、易位和转座等<sup>[86]</sup>. 通过运用特异染色体荧光标记进行原位杂交, 在四倍体烟草(*Nicotiana tabacum*)基因组中至少发现9个基因组之间的相互易位, 并证实了烟草基

因组中绝大部分染色体都同时镶嵌了两个亲本基因组的成分<sup>[88]</sup>; 通过全基因组原位杂交(*genomic in situ hybridization*, GISH)分析, 在四倍体燕麦(*Avena sativa*)基因组中发现了5个基因组间的相互易位, 而在六倍体燕麦基因组中, 相互易位的数量多达18个<sup>[89]</sup>. 本实验室已在异源四倍体鲫鲤中证实其同时具有双亲的基因, 并通过荧光原位杂交(*fluorescence in situ hybridization*, FISH)等方法证明了异源四倍体鱼的杂交性<sup>[1]</sup>.

本实验室通过对四倍体鲫鲤中的 *HoxC9a*<sup>[90]</sup>, *Sox9a*, *Sox9b*<sup>[91]</sup>等许多有关基因的研究表明, 四倍体鲫鲤品系中继承了分别来自其原始母本——红鲫和原始父本——鲤鱼的遗传物质, 为证明不同亲本的遗传物质能够同时在四倍体鱼品系中遗传提供了证据.

本实验室与云南大学张亚平院士实验室合作对鲫鲤品系(包括二倍体鲫鲤和四倍体鲫鲤)的肝脏组织转录本的基因变异和基因重组现象进行了较系统的研究. 结果证明, 在二倍体鲫鲤  $F_1$ ,  $F_2$  和四倍体鲫鲤群体中都存在基因变异及重组现象(数据待发表).

本实验室在许多远缘杂交  $F_1$  中不但发现在转录本水平有基因变异和重组现象, 而且在核 DNA 水平也发现有基因变异和重组现象. 例如, 发现远缘杂交鲂鲫品系的  $F_1$  及其后代中在核 DNA 和转录水平都存在基因变异和重组现象, 其中包括发现鲂鲫  $F_1$  的核 DNA 的 *HoxD9a* 中存在重组现象<sup>[90]</sup>.

在鲫鲤品系中的异源四倍体鲫鲤中发现核 DNA 重组的证据有: (i) 四倍体鲫鲤 *HoxC9a* 基因除了拥有来自红鲫和鲤鱼的亚型外, 在四倍体鲫鲤 *HoxC9a* 基因中存在一种重组亚型, 交换重组发生在内含子区域, 其亚型前半部分核苷酸序列与鲤鱼一致, 后半部分核苷酸序列与红鲫一致<sup>[92]</sup>; (ii) 四倍体鲫鲤中的核 DNA 中的 *GnRH2* 基因被证明具有重组现象<sup>[93]</sup>; (iii) 利用 BAC 文库构建和长 PCR 技术, 证明在四倍体鲫鲤中的 *guanine nucleotide-binding protein G(I)/G(S)/G(O) subunit gamma-5*, *denticleless homolog*, *chemokine(C-X-C motif) receptor 7b* 和 *phosphodiesterase 11A* 4 个基因具有重组现象(数据待发表).

在远缘杂交  $F_1$  体细胞中(肝细胞)出现核 DNA 重组, 不能用生殖细胞减数分裂时的非同源染色体(异源染色体)的交换重组来解释, 因为  $F_1$  体细胞中的遗传物质不是来源于杂交个体的配子受精. 本实验室认为远缘杂交  $F_1$  体细胞核 DNA 重组的原因可以解释

为由于远缘杂交的体细胞中的遗传物质来自双亲的不同类型的基因组, 不同类型的基因组之间的一些基因在远缘杂交这种特殊环境下, 有可能产生能切断 DNA 的内切酶, 切断的 DNA 通过 DNA 的修复机制发生重组交换连接, 导致 DNA 重组. 远缘杂交  $F_1$  体细胞核 DNA 为什么易发生重组? 推测, 远缘杂交的体细胞中具有两套来自双亲的不同基因组, 如果两者一直处于不交流的状态, 可能不利于共生存. 为了有利于共生存, 两套来源不同的基因组进行重组交换, 向“合二为一”的混合基因的方向发展, 这样有利于其遗传物质的变异, 也有利于变异基因向后代遗传. 远缘杂交起源的异源四倍体鲫鲤中重组基因的“合二为一”趋势也有利于异源四倍体鱼向二倍体化的方向发展, 最终形成遗传物质加倍并发生变化及二倍体化的新型鱼类, 这种新型二倍体化鱼类的实质是遗传物质加倍的四倍体鱼. 但是什么类型的基因易发生交换, 交换的比例有多大? 还有待进一步研究. 在远缘杂交品系的  $F_1$  代以后的杂交后代中, 即  $F_2$  等后代中存在的基因重组现象与体细胞 DNA 重组和生殖细胞中非同源染色体之间的异源 DNA 重组的两种可能有关, 今后有待在这方面做更深入的研究.

鱼类远缘杂交后代中因为具有不同物种的基因组, 其体细胞中 DNA 重组现象易发现. 是否在鱼类自交或者近缘鱼类杂交后代的体细胞中也存在核 DNA 重组或者转录本水平的重组? 因为自交或近缘杂交双亲的遗传物质相似性很高, 即使有重组, 也存在因为不容易识别而没有被发现的可能, 在这方面也有待进一步研究.

基因型改变将导致表现型改变. 基因组加倍, 遗传物质增多, 多倍体的细胞体积通常会增大, 多倍体动植物演化出一些策略来协调其表型变化<sup>[94,95]</sup>. 相对于二倍体, 许多多倍体植物保持其细胞数目不变, 而增大其器官与植株大小.

在表型方面, 与原始的亲本——红鲫和鲤鱼的形态性状比较, 异源四倍体鲫鲤的口须长度介于有须的鲤鱼和无须的红鲫之间; 异源四倍体鲫鲤的标准长/体高和头长/吻长的平均值介于原始亲本之间, 而标准长/头长的平均值比原始亲本的相应值均小; 异源四倍体鲫鲤脊椎骨、鳃耙数目和侧线鳞数目以及下咽齿数目等均介于原始亲本之间<sup>[1,41]</sup>.

在细胞水平, 四倍体、三倍体和相关二倍体鱼类中, 随着倍性的增高, 其血液中的血红细胞、淋巴细

胞等细胞核的直径和细胞直径都增加<sup>[96,97]</sup>, 异源四倍体鲫鲤的红细胞核出现哑铃状的特殊现象<sup>[98]</sup>.

### 3.2 四倍体鲫鲤品系的表型和基因型变化

鲫鲤杂交  $F_1$  代中的四倍体鲫鲤( $4nF_1$ ,  $4n=148$ )是由 2 套红鲫染色体和 2 套团头鲂染色体所组成的异源四倍体, 而  $4nF_1$  自交而产生的  $F_2$  代( $4nF_2$ )四倍体鲫鲤及其自交后代中形成了由 4 套红鲫鱼染色体组成的具有变异特性的同源四倍体鱼( $F_2\sim F_8$ ,  $4n=200$ ).

在外形方面, 红鲫体色为红色, 团头鲂体色为银白色, 两者都没有口须, 而该同源四倍体鱼的体色为青灰色, 有一对明显的口须, 表现出明显的遗传变异. 从口须的特征可以看出, 通过从无口须双亲的远缘杂交途径可以形成有口须的鱼类, 该研究结果也为证明有口须的鱼类来源于无口须的鱼类的远缘杂交提供了证据.

在基因型方面, 该同源四倍体鱼表现出明显的遗传变异. 以红鲫着丝粒附近特有的重复序列为探针针对红鲫、团头鲂、 $4nF_1$  和  $4nF_2$  的染色体中期分裂相进行荧光原位杂交. 红鲫所有染色体均被标记上荧光信号, 团头鲂的染色体均未标记上荧光信号,  $4nF_1$  中来源于红鲫的 100 条染色体均被标记上荧光信号;  $4nF_2$  中被标记上荧光的染色体数日期待值应为 200, 但实际上只有 100 条染色体被标记上荧光信号, 说明未被标记上荧光信号的 100 条染色体发生了明显的遗传变异. 另外, 还发现  $4nF_1$  和  $4nF_2$  在 5S rDNA 基因簇的组成和排列上表现出明显的遗传变异和重组. 红鲫包含有 3 种 5S rDNA 结构单元(type I, type II 和 type III), 团头鲂只有一种 5S rDNA 结构单元(type IV), 这 4 种 5S rDNA 结构单元在序列长度和碱基组成上各不相同.  $4nF_1$  只继承了来源于母本的 3 种 5S rDNA 结构单元, 而父本的却完全丢失, 说明  $4nF_1$  的基因组出现了明显的变异. 通常情况下, 不同的 5S rDNA 基因簇往往分布在不同的染色体上或不同的染色体区域, 在  $4nF_2$  的基因组中发现 type I 和 type II 连接在一起而构成的二聚体结构, 在红鲫和  $4nF_1$  的基因组中均未发现类似的二聚体结构, 这说明  $4nF_2$  的染色体出现重组而将两个本分布在不同染色体上或不同的染色体区域的 5S rDNA 基因连接在一起.

作者对鲫鲤品系中的异源四倍体鲫鲤( $4n=200$ )和鲫鲤品系中同源四倍体鱼( $4n=200$ )的表型和基因

型的差异性和相似性进行了比较分析. 这两种四倍体鱼在形态上的主要差别之一在于异源四倍体鲫鲤具有 2 行下咽齿, 而来源于鲫鲂杂交的同源四倍体鱼只有 1 行下咽齿<sup>[99]</sup>. 在基因型方面, 通过转录本分析等方法对两者的遗传物质进行了比较分析, 发现两者之间存在一系列的相似和差异之处.

这两种四倍体鱼的染色体数目相同( $4n=200$ ), 母本都是红鲫, 但是不同的父本(鲤鱼、团头鲂)导致这两种四倍体鱼的肝脏 mRNA 表达的基因在相同条件下表现出一定的差异, 其中同源四倍体鲫鲂的表达基因数目高于异源四倍体鲫鲤的表达基因数目.

从功能上考察表达序列的分布情况来看, 在肝脏组织中, 同源四倍体鲫鲂在细胞部分(cell part)、“细胞器”(organelle)和“大分子复合物”(macromolecular complex)3 部分功能中的表达序列的比例大于四倍体鲫鲤中的相应比例; 而在“细胞”(cell)功能区域, 同源四倍体鲫鲂基因表达序列的比例小于异源四倍体鲫鲤的相应比例, 功能基因表达比例上的变化说明这两种四倍体鱼各自的特异性.

在共同表达的基因部分, 一些基因的核苷酸序列也存在一定的差异, 如这两种四倍体鱼中都高表达的同源基因 *bhlhe 40*(长度 1881 bp), 在结构上具有明显的差异, 它们之间的差异可以作为鉴定这两种四倍体鱼的分子标记. 在功能上, 该基因是编码碱性螺旋-环-螺旋蛋白质的基因, 广泛的表达在各个组织中, 该基因编码的蛋白质参与控制细胞分化.

双亲染色体数目相同和双亲染色体数目不同的两个远缘杂交途径形成不同倍性鱼的规律的探索研究, 尤其是形成具有双亲染色体组的异源四倍体鱼品系(如异源四倍体鲫鲤,  $4n=200$ )和形成具有单亲(母本)染色体组且有遗传变异特性的同源四倍体鱼品系(如异源四倍体鲫鲂,  $4n=200$ )的探索研究, 在鱼类遗传育种和生物进化研究方面具有重要意义. 在鱼类遗传育种方面, 它们的形成表明, 通过这两个途径可以形成两种不同类型的四倍体鱼品系, 为倍间交配制备三倍体鱼提供丰富的四倍体鱼亲本. 在生物进化研究方面, 它们的形成表明, 在自然界中的多倍体鱼类很有可能通过这两种途径来进行演化, 这两条途径的探索成功为研究鱼类远缘杂交与多倍体化的关系提供了好的模式系统.

### 3.3 鲂鲂品系的表型和基因型变化

在外形上, 二倍体鲂鲂  $F_1$  和  $F_2$  的侧线鳞数、背鳍条数、臀鳍条数都是位于其父母相应结构的数目之间; 而二倍体鲂鲂  $F_1$  和  $F_2$  腹鳍条数超过其父母的腹鳍条数<sup>[93]</sup>.

在基因结构方面, 鲂鲂及鲂鲂  $F_1$  代均遗传了亲本特异的 *its1*, 在  $F_2$  中部分个体出现了亲本特异 *its1* 丢失的情况. 在杂交第一代中, 包括二倍体鲂鲂  $F_1$ 、三倍体鲂鲂  $F_1$  以及二倍体鲂鲂  $F_1$  中均遗传了亲本双方特异的 18S rRNA 基因, 并且来源于亲本双方的 18S rRNA 基因都得到了表达. 在二倍体鲂鲂  $F_2$  中, 有些个体遗传了亲本双方的 18S rRNA 基因, 并且同时表达了亲本双方的 18S rRNA; 有些个体遗传了双亲的 18S rRNA 基因, 但仅表达了团头鲂特异的 18S rRNA; 还有些个体中仅检测到翘嘴红鲂的 18S rRNA 基因, 且在 rRNA 表达产物中也只检测到翘嘴红鲂的 18S rRNA. 二倍体鲂鲂  $F_2$  中, 有些个体中遗传并表达了团头鲂和翘嘴红鲂特异的 18S rRNA 基因; 有些个体中遗传了原始亲本双方特异的 18S rRNA 基因, 但仅表达了团头鲂特异的 18S rRNA 基因; 有些个体中遗传了团头鲂和翘嘴红鲂特异的 18S rRNA 基因, 但只表达了翘嘴红鲂特异的 18S rRNA 基因; 还有些个体中仅检测到原始父本团头鲂特异的 18S rRNA 基因型及表达型<sup>[100]</sup>.

在团头鲂、翘嘴红鲂及其杂交后代所有 5S rDNA 序列的编码区中, 都能找到包括 A 框、内部元件(internal element, IE)和 C 框在内的内部转录控制区. 团头鲂和翘嘴红鲂的 5S rDNA 序列的基因区是高度保守的. 在二倍体鲂鲂  $F_2$ 、二倍体鲂鲂  $F_1$ 、二倍体鲂鲂  $F_2$  的 II 型 5S 基因在 73 核酸位点发生了 T→C 转变, 二倍体鲂鲂  $F_1$  的 I 型 5S rDNA 在 93 核酸位点发生了 G→A 转变<sup>[100]</sup>.

比较分析团头鲂、翘嘴红鲂及其二倍体鲂鲂  $F_1$  代和  $F_2$  代、三倍体鲂鲂、二倍体鲂鲂  $F_1$  代和  $F_2$  代的非转录间隔区(nontranscribed intergenic spacer, NTS)序列, 发现了多个碱基的替换以及序列的插入. 与双亲的 NTS-I 相比, 杂交后代的 NTS-I 序列中插入了一段 polyA 序列, 在二倍体鲂鲂中还插入了一小段变异序列 CATTTC. 与翘嘴红鲂的 NTS-II 相比, 杂交后代的 NTS-II 序列变异主要是碱基的替换或缺失<sup>[100]</sup>.

对鲂鲂  $F_1$  与亲本序列比较显示, 鲂鲂  $F_1$  的 *Hox*

基因出现了碱基的替换和交换重组的现象. 在鲂鮄  $F_1$  的 *HoxD9a* 基因中交换重组发生在内含子区域, 其内含子的前部分核苷酸序列与团头鲂一致, 后部分核苷酸序列与翘嘴红鲂一致, 这种交换重组现象为鲂鮄的基因变异和多样性提供了遗传基础, 也为杂交后代对环境的适应能力和生物进化的进程提供了实验数据<sup>[90]</sup>.

#### 4 鱼类远缘杂交品系的应用

远缘杂交品系的形成在遗传育种和生物进化方面都具有重要意义. 远缘杂交品系中基因型的改变将导致其表现型的改变, 使得一些杂交优势能够代代相传. 在双亲染色体数目相同的鱼类远缘杂交组合中形成的二倍体异源杂交品系中选育优良的个体与相关二倍体鱼交配可以形成具有杂交优势的二倍体杂交鱼(图2和3). 例如, 通过选育鲂鮄品系中优良的母本与雄性团头鲂回交制备了具有多种优良性状的翘嘴鲂; 还可以在鲂鮄品系和鲂鮄品系中选育雄性优良个体与雌性团头鲂或者翘嘴红鲂交配来进一步研制其他类型的优良杂交鱼. 另外, 在二倍体异源杂交品系中可以选育出两性可育的异源四倍体鱼品系, 用异源四倍体鱼与有关二倍体鱼交配可以大规模形成具有不育等优点的三倍体鱼. 例如, 用鲫鲤杂交品系中选育出的异源四倍体鲫鲤品系分别与二倍体鲫鱼和二倍体鲤鱼交配可以分别大规模制备具有生长速度快、抗逆性强、不育等优点的三倍体鲫鱼(湘

云鲫)和三倍体鲤鱼(湘云鲤鱼). 另外本实验室利用远缘杂交和雌核发育结合的综合方法研制了改良四倍体鱼群体, 用之与相关二倍体鱼交配大规模研制了具有多种优点的改良三倍体鱼(湘云鲫2号等<sup>[101]</sup>).

在双亲染色体数目不同的鲫鲂远缘杂交组合中, 在杂交第一代中直接形成了不育的异源三倍体鱼, 也同时形成了异源四倍体鲫鲂( $4nF_1$ ,  $4n=148$ ), 然后通过  $4nF_1$  自交形成两性可育的具有遗传变异特性的同源四倍体鱼品系( $F_2$ ~ $F_8$ ,  $4n=200$ ), 利用该品系与有关二倍体鱼交配大规模制备了三倍体鱼. 另外在鲫鲂远缘杂交第一代杂交中, 还形成了具有遗传变异特性的二倍体天然雌核发育红鲫, 它们通过自交形成了具有遗传变异二倍体红鲫品系, 该品系与相关二倍体鱼交配形成了具有杂交优势的二倍体杂交鱼(图3). 另外, 四倍体鲫鲂  $F_1$  中雌性个体与雄性团头鲂回交获得了五倍体鲫鲂( $5n=172$ ), 四倍体鲫鲂  $F_1$  中雌性个体与雄性红鲫回交形成了另一种新型五倍体鲫鲂( $5n=198$ )<sup>[35]</sup>.

制备不育转基因三倍体鱼是解决转基因鱼潜在生态安全的有效措施之一. 朱作言院士实验室在转基因鱼类的研究方面已取得了突出的成绩<sup>[102,103]</sup>. 本实验室与朱院士实验室开展了转基因三倍体鱼的合作研究, 通过二倍体转草鱼生长激素基因黄河鲤(♂)与改良四倍体鲫鲤(♀)倍间杂交研制出了转基因三倍体鱼<sup>[104]</sup>, 其具有不育、生长速度快、饵料利用率高, 养殖性状优良等优点.

#### 参考文献

- 1 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: 104-114
- 2 刘祖洞. 遗传学. 北京: 高等教育出版社, 1991
- 3 桂建芳, 周莉. 多倍体银鲫克隆多样性和双重生殖方式的遗传基础和育种应用. 中国科学: 生命科学, 2010, 40: 97-103
- 4 Xiao J, Zou T M, Chen Y B, et al. Coexistence of diploid, triploid and tetraploid crucian carp (*Carassius auratus*) in natural waters. BMC Genet, 2011, 12: e20
- 5 Nolte A W, Freyhof J, Stemshorn K C, et al. An invasive lineage of sculpins, *Cottus* sp. (Pisces, Teleostei) in the Rhine with new habitat adaptations has originated from hybridization between old phylogeographic groups. Proc R Soc B-Biol Sci, 2005, 272: 2379-2387
- 6 Meyer A, Salzburger W, Scharl M. Hybrid origin of a swordtail species (Teleostei: *Xiphophorus clemenciae*) driven by sexual selection. Mol Ecol, 2006, 15: 721-730
- 7 Saitoh K, Chen W J, Mayden R L. Extensive hybridization and tetraploidy in spined loach fish. Mol Phylogenet Evol, 2010, 56: 1001-1010
- 8 Grant P R, Grant B R, Petren K. Hybridization in the recent past. Am Nat, 2005, 166: 56-57
- 9 Mallet J. Hybrid speciation. Nature, 2007, 446: 279-283
- 10 朱洗. 从受精过程讨论动物远缘杂交问题. 科学通报, 1961, 7: 1-7

- 11 Loeb J. The Fertilization of the Egg of the Sea-Urchin by the Sperm of the Starfish. Berkeley: The University Press, 1903
- 12 长江水产研究所. 家鱼人工繁殖技术. 北京: 农业出版社, 1973. 83
- 13 上海水产学院水产养殖系 1959 级学生. 池塘养鱼学讲义. 北京: 高等教育出版社, 1959. 172
- 14 俞菊华, 夏德全, 杨弘, 等. 奥利亚罗非鱼(♀)与鳊(♂)杂交后代的形态. 水产学报, 2003, 27: 431-435
- 15 杨弘, 夏德全, 刘蕾, 等. 奥利亚罗非鱼(♀)、鳊(♂)及其子代间遗传关系的研究. 水产学报, 2004, 28: 594-598
- 16 朱洗. 广州蛙类异种交配的研究. 中山大学自然科学, 1934, 6: 219-262
- 17 北京市水产试验站. 鱼类引种和杂交试验的初步总结. 淡水渔业科技动态, 1973, 3: 15-18
- 18 郭汉青, 涂福命, 王宾贤, 等. 草鱼与鳊鱼人工杂交及其后代的初步观察. 动物学杂志, 1966, 4: 188-189, 154
- 19 湖南师范学院生物系. 草鱼(♂)鳊(♀)杂交试验的初步结果和受精细胞学的研究(摘要). 淡水渔业科技动态, 1973, 6: 2-4
- 20 He W G, Xie L H, Li T L, et al. The formation of diploid and triploid hybrids of grass carp (♀) × blunt snout bream (♂) and their 5S rDNA analysis. BMC Genetics, 2013, 14: 110
- 21 叶玉珍, 吴清江, 陈荣德. 草鱼与鲤杂交的胚胎学研究. 鱼类远缘杂交核质不同步现象. 水生生物学报, 1989, 13: 234-239
- 22 刘思阳, 李素文. 三倍体草鲮杂种及其双亲的红细胞(核)大小和 DNA 含量. 遗传学报, 1987, 14: 142-148
- 23 刘思阳. 草鱼卵子和三角鲂精子杂交的受精细胞学研究. 水产学报, 1987, 11: 225-232
- 24 刘筠, 陈淑群, 王义铤, 等. 三角鲂(*Megalobrama terminalis*)精子与青鱼(*Mylopharyngodon piceus*)卵子的受精细胞学研究. 水生生物学集刊, 1981, 7: 329-340
- 25 陈淑群. 青鱼(♀)和三角鲂(♂)不同亚科之间的杂交研究 I. 青鱼(♀)和三角鲂(♂)及其子一代的比较细胞遗传学研究. 湖南师范大学学报(自然科学版), 1984, 7: 71-80
- 26 吴维新, 林临安, 徐大义. 一个四倍体杂种——兴国红鲤×草鱼. 水生生物学集刊, 1981, 7: 433-436
- 27 吴维新, 李传武, 刘国安, 等. 鲤与草鱼杂交四倍体及其回交三倍体草鱼杂种的研究. 水生生物学报, 1988, 12: 355-363
- 28 刘国安, 吴维新, 林临安, 等. 兴国红鲤同草鱼杂交的受精细胞学研究. 水产学报, 1987, 11: 17-21
- 29 李传武. 兴国红鲤、草鱼及其杂种一代血清蛋白质的电泳分析. 淡水渔业, 1991, 6: 12-14
- 30 潘光碧. 鲢鳊杂交鱼的初步研究. 淡水渔业, 1987, 1: 17-19
- 31 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: 293-297
- 32 长江水产研究所, 厦门水产学院. 两年来淡水养殖鱼类优良品种选育和基础理论研究简况. 动物学杂志, 1975, 1: 43-45
- 33 桂建芳, 梁绍昌, 朱蓝菲, 等. 鱼类远缘杂交正反交杂种胚胎发育差异的细胞遗传学分析. 动物学研究, 1993, 14: 171-177
- 34 王浩, 刘荣臻. 鲢鱼(♀)和鲤鱼(♂)杂交的研究. 南京大学学报(自然科学版), 1986, 22: 87-94
- 35 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. Genetics, 2007, 176: 1023-1034
- 36 Hu J, Liu S J, Xiao J, et al. Characteristics of diploid and triploid hybrids derived from female *Megalobrama amblycephala* Yih×male *Xenocypris davidi* Bleeker. Aquaculture, 2012, 364-365: 157-164
- 37 车启芬, 王昆明. 乌鸡和珍珠鸡杂交体胚胎脑干结构观察及形态学指标测定. 安徽农业科学, 2007, 35: 11104-11120
- 38 弗·德·特列乌斯, 叶·普·斯捷克连涅弗. 动植物远缘杂交. 莫斯科: 苏联科学院出版社, 1960. 291-306
- 39 McGovern P T. The effect of maternal immunity on the survival of goat × sheep hybrid embryos. J Reprod Fertil, 1973, 34: 215-220
- 40 勃列塔诺夫. 秦文译. 绵羊山羊远缘杂交中若干遗传性问题. 中国农业科学, 1961, 5: 53-56
- 41 Liu S J, Liu Y, Zhou G J, et al. The formation of tetraploid stocks of red crucian carp×common carp hybrids as an effect of interspecific hybridization. Aquaculture, 2001, 192: 171-186
- 42 孙远东, 刘少军, 张纯, 等. 异源四倍体鲫鲤 F<sub>9</sub>-F<sub>11</sub> 染色体和性腺观察. 遗传学报, 2003, 30: 414-418
- 43 蒋一, 梁绍昌, 陈本德, 等. 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, 1983, 8: 1-16
- 44 长江水产研究所. 鳊♀×(鳊♀×鳊♂)♂回交育种试验报告. 遗传学报, 1975, 2: 144-152
- 45 张中英, 仇潜如, 胡玫, 等. 鳊(♀)×(鳊♀×鳊♂)(♂)回交鱼胚胎、幼鱼发育研究. 动物学报, 1979, 25: 108-117
- 46 山西大学生物系, 太原市农林水利服务站. 鳊鱼人工杂交的初步研究. 淡水渔业科技动态, 1973, 5: 6-9
- 47 殷源洪, 韩荀, 韩如斋. 鳊鱼人工杂交的初步研究. 遗传学通讯, 1974, 3: 36-38
- 48 广东省佛山地区水产局. 团头鲂长春鳊杂交种. 水产科技情报, 1975, 4: 18-19
- 49 林义浩. 长春鳊、团头鲂及其杂种染色体组型的比较. 动物学研究, 1984, 5: 65-66
- 50 长江水产研究所育种室, 武汉大学生物系动物教研室. 几种经济鱼类及其杂种染色体的初步研究. 淡水渔业科技杂志, 1975, 2: 11-13
- 51 南昌市水产科学研究所. 青鱼和草鱼杂交种的培育. 淡水渔业科技动态, 1973, 1: 10-14
- 52 江世贵, 李加儿, 区又君, 等. 平鲷♀与真鲷♂的杂交研究. 海洋科学, 1997, 5: 33-38

- 53 区又君, 李加儿, 周宏团. 鲷科鱼类属间远缘杂交的发育和生长. 中国水产科学, 2000, 7: 110-112
- 54 张扬宗, 谭玉钧, 欧阳海. 中国池塘养殖学. 北京: 科学出版社, 1990. 89-120
- 55 广西水产研究所良种室鲢鱼组. 利用杂交提高鲢鱼的耐寒性. 淡水渔业, 1980, 6: 26
- 56 张锦霞, 刘肖芳, 王祖熊, 等. 湘华鲮(♂)×鲮(♀)杂交一代与其双亲染色体组型的比较研究. 水生生物学集刊, 1984, 8: 313-322
- 57 李思发, 颜标, 蔡完其, 等. 尼罗罗非鱼与萨罗罗非鱼正反交鱼都自繁后代 F<sub>2</sub> 耐盐性、生长性能及亲本对杂种优势贡献力的评估. 水产学报, 2008, 32: 335-341
- 58 刘广绪, 包振民, 胡景杰, 等. 栉孔扇贝、华贵栉孔扇贝及其种间杂交子代、种内交配子代的 ISSR 分析. 中国海洋大学学报, 2006, 36: 071-075
- 59 杨爱国, 王清印, 刘志鸿, 等. 虾夷扇贝×栉孔扇贝人工受精过程的荧光显微观察. 海洋水产研究, 2002, 23: 1-4
- 60 张建森, 马仲波, 王楚松. 元江鲤(♀)×柏氏鲤(♂)杂交一代(柏元鲤)的研究和利用. 淡水渔业, 1979, 2: 14-18
- 61 刘荣臻, 王浩, 陈洁平. 两种罗非鱼及其杂种血清蛋白的聚丙烯酰胺凝胶电泳分离及其雌性特异蛋白氨基酸的分析. 水产学报, 1985, 9: 265-273
- 62 万松良, 黄二春, 齐彩霞, 等. 莫尼杂种全雄鱼与尼罗罗非鱼生产性能的比较试验. 淡水渔业, 1987, 2: 15-16
- 63 王朝明, 邹桂伟, 罗相忠, 等. 大口鲶(♀)与鲶鱼(♂)的杂交试验. 淡水渔业, 2004, 34: 41-43
- 64 杨怀宇, 李思发, 邹曙明. 三角鲂与团头鲂正反交 F<sub>1</sub> 的遗传性状. 上海水产大学学报, 2002, 32: 3-5
- 65 卢薛, 孙际佳, 王海芳, 等. 大眼鳮与翘嘴鳮正反交及其子代自交的胚胎发育观察. 中国水产科学, 2013, 20: 975-981
- 66 丁汉波. 北京无尾两栖类杂交实验. 福建师范学院学报, 1956, 2: 1-7
- 67 刘楚吾, 罗琛, 陈信初. 四种蛙的杂交实验. 湖南师范大学自然科学学报, 1990, 13: 286-288
- 68 宗恩泽, 范庵栓, 殷海复, 等. 马和驴种间杂交二代杂种染色体的研究. 中国农业科学, 1985, (1): 83-85
- 69 弗·弗·伊万诺娃. 牦牛和大型有脚牲畜的物种间杂交. 莫斯科: 苏联科学院出版社, 1960. 340-357
- 70 Bunch T D, Foote W C, Spillet J J. Sheep-goat hybrid karyotypes. Theriogenology, 1976, 6: 379-385
- 71 Gray A P. Mammals Hybrids Commonwealth. Cambridge: Cambridge University Press, 1954
- 72 余先觉, 周瞰, 李渝成, 等. 中国淡水鱼类染色体. 北京: 科学出版社, 1989
- 73 李雅娟, 钱聪, 印杰, 等. 不同倍性泥鳅杂交后代染色体数目组成的研究. 大连海洋大学学报, 2012, 4: 326-332
- 74 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: 173-184
- 75 Refstie T. Tetraploid rainbow trout produced by cytochalasin B. Aquaculture, 1981, 25: 51-58
- 76 Bidwell C A, Chfisman C L, Libey G. Polyploidy induced by heat shock in channel catfish. Aquaculture, 1985, 5: 25-32
- 77 Thorgaard G H, Jazwin M E, Stier A R. Polyploidy induced by heat shock in rainbow trout. T Am Fish Soc, 1981, 110: 546-550
- 78 Chourrout D, Chevassus B, Krieg F, et al. Production of second generation triploid and tetraploid rainbow trout by mating tetraploid males and diploid females—potential of tetraploid fish. Theor Appl Genet, 1986, 72: 193-206
- 79 桂建芳, 孙建民, 梁绍昌, 等. 鱼类染色体组操作的研究 II. 静水压处理和静水压与冷休克结合处理诱导水晶彩鲤四倍体. 水生生物学报, 1991, 15: 333-342, 393, 394
- 80 陈敏容, 杨兴棋, 俞小牧, 等. 白鲫(♀)×红鲫(♂)异源四倍体鱼的倍性操作及其生殖力的研究. 水生生物学报, 1997, 21: 197-206
- 81 Zou S M, Li S F, Cai W Q, et al. Establishment of fertile tetraploid population of bluntnose bream. Aquaculture, 2004, 238: 155-164
- 82 李文龙, 陈松林, 季相山, 等. 半滑舌鳎四倍体鱼苗的诱导与鉴定. 中国水产科学, 2012, 19: 196-201
- 83 刘少军, 曹运长, 何晓晓, 等. 异源四倍体鲫鲤群体的形成及四倍体化在脊椎动物进化中的作用. 中国工程科学, 2001, 3: 33-41
- 84 Seehausen O. Hybridization and adaptive radiation. Trends Ecol Evol, 2004, 19: 198-207
- 85 Comai L. The advantages and disadvantages of being polyploidy. Nat Rev Genet, 2005, 6: 836-846
- 86 Chen Z J, Ni Z F. Mechanisms of genomic rearrangements and gene expression changes in plant polyploids. Bioessays, 2006, 28: 240-252
- 87 Song K, Lu P, Tang K, et al. Rapid genome change in synthetic polyploids of *Brassica* and its implications for polyploid evolution. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92: 7719-7723
- 88 Kenton A, Parokony A S, Gleba Y Y, et al. Characterization of the *Nicotiana tabacum* L. genome by molecular cytogenetics. Mol Gen Genet, 1993, 240: 159-169
- 89 Jellen E N, Gill B S, Cox T S. Genomic *in situ* hybridization differentiates between A/D-and C-genome chromatin and detects intergenomic translocations in polyploid oat species (genus *Avena*). Genome, 1994, 37: 613-618
- 90 宋祯彦. 鲟鮠 F<sub>1</sub> 及其亲本的微卫星研究和 *Hox* 基因的进化研究. 硕士学位论文. 长沙: 湖南师范大学, 2013
- 91 Liu J F, Liu S J, Tao M, et al. 2007. Isolation and expression analysis of testicular type *sox9b* in allotetraploid fish. Mar Biotechnol, 9: 329-334

- 92 邹利. 四倍体鲫鲤及其相关父母本 *Hox* 基因的进化研究. 硕士学位论文. 长沙: 湖南师范大学, 2012
- 93 王道. 不同倍性鱼 HPG 轴生殖基因的表达及性别决定的机制研究. 博士学位论文. 长沙: 湖南师范大学, 2013
- 94 Mable B K. 'Why polyploidy is rarer in animals than in plants': myths and mechanisms. *Biol J Linnean Soc*, 2004, 82: 453-466
- 95 Gregory T R, Mable B K. Polyploidy in animals. In Gregory, ed. *The Evolution of the Genome*. San Diego: Elsevier, 2005. 427-517
- 96 刘巧, 王跃群, 刘少军, 等. 不同倍性鲫鲤鱼血液细胞比较研究. *自然科学进展*, 2004, 14: 1111-1117
- 97 Lu W T, Liu S J, Long Y, et al. Comparative study on the erythrocytes of the polyploidy hybrids from various fish subfamily crossings. *Cell Tissue Res*, 2009, 336: 159-163
- 98 刘少军, 孙远东, 周工建, 等. 异源四倍体鲫鲤成熟性腺和红细胞超微结构观察. *自然科学进展*, 2003, 13: 194-197
- 99 刘维. 几种鱼类远缘杂交品系下咽齿和下咽骨的形态特征研究. 硕士学位论文. 长沙: 湖南师范大学, 2013
- 100 肖军. 异源鲂鲃杂交品系的建立及其遗传特性研究. 博士学位论文. 长沙: 湖南师范大学, 2013
- 101 陈松, 王静, 刘少军, 等. 改良三倍体鲫鱼的生物学特性研究. *中国科学 C 辑: 生命科学*, 2009, 39: 479-484
- 102 胡炜, 汪亚平, 朱作言. 转基因鱼生态风险评价及其对策研究进展. *中国科学 C 辑: 生命科学*, 2007, 37: 377-381
- 103 Hu W, Zhu Z Y. Integration mechanisms of transgenes and population fitness of *GH* transgenic fish. *Sci China Life Sci*, 2010, 53: 401-408
- 104 于凡, 肖俊, 梁向阳, 等. 转生长激素基因三倍体鲤鱼的快速生长与不育特性. *科学通报*, 2010, 55: 1987-1992