

行政院國家科學委員會專題研究計劃成果報告

果蠅微小染色體的進化

The evolution of microchromosomes in *Drosophila*

計畫編號： NSC88 -2313-B002-006

執行期限： 87 年 8 月 1 日至 88 年 7 月 31 日

主持人：張慧羽 國立台灣大學昆蟲學系

E-mail: hwei@ccms.ntu.edu.tw

一、中文摘要

雖然果蠅的微小染色體相當小但仍具有重要的遺傳功能。許多種果蠅的微小染色體在長度上有種間或種內變異的情形，而其差異來自於異染色質量的不同，推測可能是 Y 染色體轉位的結果。我們以往的研究顯示，若將印度輝顏果蠅 (*Drosophila nasuta*) 雄蟲與日本石垣島紅果蠅 (*D. albomicans*) 雌蟲做種間雜交，雜交族群的微小染色體大都會固定為紅果蠅的型式。推測也許是紅果蠅長型的微小染色體在選汰上佔優勢。本年度計畫將不同地理品系的輝顏果蠅與紅果蠅做組合配對，以建立數個種間雜交族群。再累代培養後對雜交後代進行核型分析，以了解不同長度的微小染色體是否有選汰上的差異。實驗結果顯示紅果蠅長型的微小染色體在選汰上並不佔明顯的優勢。

關鍵字：微小染色體、輝顏果蠅、紅果蠅、種間差異

Abstract

In *Drosophila*, the microchromosomes have essential genetic function in spite of their small size. Inter- or intraspecific variation in length of microchromosomes was discovered in many *Drosophila* species. The difference was contributed to different amount of heterochromatin, and it might also be due to a translocation with Y chromosome. A previous report of ours indicated when an Indian *D. nasuta* male crossed with a Okinawa *D. albomicans* female, a tendency

of reaching fixation to the *albomicans* type of microchromosome was observed in the hybrid offspring. Since the microchromosome of *D. albomicans* is larger, there may exist selective advantage. Therefore, we make interspecific crosses in order to find out whether this tendency holds. Taking the characteristics of interspecific difference in length of microchromosomes between *D. albomicans* and *D. nasuta*, hybrid populations were established by crosses between different geographical stocks of these two *Drosophila* species. Those hybrid populations have been reared by non-overlapping generation method. The result of the karyotype assay suggests no obvious selective advantage of the *albomicans* type microchromosome.

Keywords: *Drosophila albomicans*, *D. nasuta*, inter-specific difference, microchromosomes.

二、計畫緣由與目的

果蠅染色體進化的研究一直是進化學領域中相當重要的課題。因為果蠅的染色體數目少且研究的歷史相當長，所以相對於其它生物的研究而言是較多而且較完整。在遺傳背景較清楚的情況下，常被作為染色體進化研究的模式生物，為基礎研究中不可或缺的材料。在果蠅染色體進化的研究中，微小染色體 (microchromosomes) 或稱作點狀染色體 (dot chromosomes) 是較被忽略的一群，因為其體積小在整個果蠅的遺傳組成中佔的比例

也低，所以缺乏有系統的研究。事實上，微小染色體仍具有相當重要的遺傳功能，例如 Kaufmann and Gay (1969) 指出微小染色體上的異染色質 (heterochromatin) 對 X 染色體上的基因調控有交互作用 Hochman (1976) 的綜合論述中根據一些遺傳學與細胞學上的研究指出微小染色體可能源自於 X 染色體。

在生物進化的過程中，微小染色體扮演著相當重要的角色。Stone and Griffen (1939) 指出其為新著絲點 (centromere) 起源的可能性；Braverman *et al.* (1992) 的研究顯示當 *D. virilis* 與 *D. lummei* 兩種果蠅雜交時，其雜交後代在發育上出現障礙，分析後代的核型發現他們的第六對染色體 (即微小染色體) 中來自父方的那一條丟失了，進而推論發育障礙來自於微小染色體的丟失。此外 Judd (1955) 研究發現當微小染色體上的異染色質移位到 X 染色體時，會造成 X 染色體上的白眼基因的表現改變，而這種影響具有順式顯性效應 (cis-dominant effect)，也就是說這些移至 X 染色體上的異染色質只有對其本身所在染色體上附近的基因才有影響力，進而形成一個超基因 (supergene) 系統，而且因其效應為顯性，所以選汰會很快地將超基因的頻率提高。綜合以上所述，微小染色體對生物的進化確實有相當的影響力。

在果蠅科 (Drosophilidae) 中微小染色體的大小具有變異，而且這種變異在種間與種內都可發現。據觀察，這和異染色質的量與所在位置有關 (Baimai *et al.*, 1981; Hatsumi *et al.*, 1988; Wang *et al.*, 1988; Yoon and Richardson, 1978)。例如在夏威夷果蠅中的三個亞屬 (subgenus) 中，*Drosophila* 亞屬的微小染色體最短，*Antopocerus* 亞屬次之，*Engiscaptomyza* 亞屬則最長。三者微小染色體長度的差異來自於所含異染色質的量不同；而這種種間差異的情況在大果蠅種群 (*immigrans* species group) 也有記錄 (Mather, 1962; Wilson *et al.*, 1969)。另外在種內差異方面，Baimai *et al.* (1981) 指出 *repleta* 種群中的兩種果蠅 *D. serido* 與 *D. meridionalis*

在南美洲不同地區的族群在微小染色體有長度上的變化。Hatsumi (1987) 比較泰國、臺灣、日本三地的紅果蠅 (*D. albomicans*) 的微小染色體 (在此物種為第四對染色體)，發現三個地點的紅果蠅在長度上有變異，且變異也是來自於異染色質的量不同。Wang *et al.* (1988) 進一步分析不同地區紅果蠅之微小染色體與其它染色體在大小上的相對變化關係時，發現微小染色體的長與 Y 染色體的長度呈現負相關的情形，因而推測微小染色體長度上的變異可能是其與 Y 染色體間發生了染色體移位 (translocation) 的現象。雖無法確定兩者間施與受的關係，但一般認為是 Y 染色體上的異染色質移位到微小染色體上而造成其長度的增加，因為在紅果蠅所屬的輝顏果蠅種亞群 (*nasuta* species subgroup) 中短的微小染色體是較普遍的型式。

本實驗室長期探討輝顏果蠅種亞群的進化關係，當我們把日本石垣島的紅果蠅 (*D. albomicans*) 雌蟲與其同胞種印度的輝顏果蠅 (*D. nasuta*) 雄蟲雜交後，在實驗室中飼養雜交族群 45 代後檢查這些雜交後代的核型 (karyotype) 時，在 22 個雜交族群中發現其中有 18 個族群的微小染色體已達固定 (fixation) 成為較長的紅果蠅型式 (Yu *et al.*, 1997)。顯示在雜交品系中，來自於日本石垣島紅果蠅的長型微小染色體對於印度輝顏果蠅的短型微小染色體有競爭上的優勢，因此在雜交個體中絕大多數固定為紅果蠅的型式。然而在 Ramachandra and Ranganath (1986) 的研究中卻有不同的結果，他們也是以印度的輝顏果蠅與日本石垣島紅果蠅雜交，且同時進行了雙向交配 (reciprocal crosses)。Ramachandra and Ranganath (1986) 指出在雜交族群建立了 20 代後，兩種配對型式各檢查 100 隻幼蟲，發現當配對的方向為印度的輝顏果蠅雄蟲與日本石垣島紅果蠅雌蟲時，雜交個體的微小染色體固定為輝顏果蠅的型式，反之當配對的方向為日本石垣島紅果蠅雄蟲與印度的輝顏果蠅雌蟲時，雜交個體的微小染色體固定為紅果蠅的型式。由此結果看來微小染色體在競爭

上的優勢似乎和 Y 染色體有關，然而本實驗室所建立的 22 個族群中卻有 18 個固定到相反的方向。這樣的結果讓我們不禁去思考一些問題：在雜交族群中微小染色體長度上的變異是否具有選汰上的差異？如果沒有，是否有其它的因素會影響實驗的結果？如果有，又是什麼力量讓特定長度的微小染色體固定於雜交族群中？本研究計劃擬探討的便是這些問題。

Berry *et al.* (1991) 分析黃果蠅與其同胞種擬黃果蠅 (*D. simulans*) 之微小染色體 (第四對染色體) 上 *cubitus interruptus Dominant (c^f)* 基因的 DNA 序列時，發現無論是種間或是種內的差異都很低，在黃果蠅種內則完全沒有變異，由此結果作者推論可能是因為微小染色體缺乏染色體重組，加上這些物種可能在最近有選汰掃蕩 (selective sweeps) 作用於微小染色體上，使得 (*c^f*) 基因上的變異非常的低。這個例子讓我們聯想到是否在前面所提到的雜交實驗中，也有類似的選汰力量介入其中呢？本計劃欲進行不同地區的紅果蠅與輝顏果蠅的種間雜交試驗，看不同雜交組合的後代中會出現什麼樣的結果。並希望藉由本實驗對果蠅微小染色體的進化有更深入的了解。

三、結果與討論

本實驗建立兩類族群，第一類族群採用泰國清邁的紅果蠅 *D. albomicans* (# 161.3) 與肯亞的輝顏果蠅 *D. nasuta* (# 252.21) 雜交，另一類族群採用日本沖繩的紅果蠅 *D. albomicans* (# 163.5) 與印度的輝顏果蠅 *D. nasuta* (# 193.7) 雜交。為了模擬較複雜的情況，將紅果蠅雌蟲與輝顏果蠅雄蟲雜交，以及將紅果蠅雄蟲與輝顏果蠅雌蟲雜交，均以每管 3 對做配對，共配 15 管。分別收集這兩種配對所產生的未交尾雌、雄蟲後代 (5 日齡) 各 10 隻，混合飼養於同一培養管。共配 15 管 (每管 20 對)，分成 3 組。此為本實驗的起始族群 (G_0 , generation 0)。其後代即為族群第一代 (G_1 , generation 1)，經一次轉管

後每組共 10 管，隨意自每管中各取 20 隻雌、雄果蠅，平均分裝在 10 隻培養管中飼養，之後每代族群量均維持在 400 隻，以世代不重疊的方式累代培養。這種配對方式族群起始狀態為長型 (紅果蠅型) 與短型 (輝顏果蠅) 的微小染色體各半，若紅果蠅型具選汰上的優勢，預期紅果蠅型微小染色體最後會在族群中固定化 (fixation)。

第一個紅果蠅 (# 161.3) 與輝顏果蠅 (# 252.21) 雜交族群建立多代後分別在第一、第五、第十代記錄微小染色體頻率的變化 (表一)，結果顯示三次重複的染色

表一、長型微小染色體頻率的變化
括號中為取樣數

長型頻率 (%)	G_1	G_5	G_{10}
重複一	53 (48)	4 (60)	53 (59)
重複二	44 (48)	8 (60)	52 (60)
重複三	45 (47)	0 (58)	36 (56)

體變化並沒有一定的方向，有的持續上升、有的先升後降、有的則維持在 50% 左右，由十代的情形看來長型 (紅果蠅型) 染色體 並沒有出現固定化的現象，似乎並沒有明顯的選汰優勢。另外在第二個紅果蠅 (#163.5) 與輝顏果蠅 (#193.7) 雜交族群中，長型微小染色體頻率的變化 (表二) 也沒有明顯的上升趨勢。

表二、長型微小染色體頻率的變化
括號中為取樣數

長型頻率 (%)	G_1	G_5
重複一	43 (44)	42 (59)
重複二	55 (45)	61 (58)
重複三	43 (49)	47 (59)

綜合兩類雜交族群的結果來看，先建立的第一族群雖然已經紀錄到第十代，但其結果與後建立的第二族群一樣都看不出有明顯的上升違論固定化的現象，推測其可能原因有三：第一，長型染色體並沒有選汰優勢，之前看到的固定化現象純粹只是遺傳浮動 (genetic drift) 造成。第二，長型染色體確實具有選汰優勢，只是其優勢可能來自於其他對染色體的交互作用，在

之前的研究中 (Yu *et al.*, 1997) 22 個雜交品系中有 18 個達到固定化，所有取樣中長型染色體的比例高達 92%，顯示有強大的選汰力作用於微小染色體，但必須注意的是這些雜交品系中 3-X 染色體 (來自紅果蠅) 的頻率高達 66.59%，而本次實驗的第一雜交族群中來自紅果蠅的 3-X 染色體則始終維持在 50% 上下，第二雜交族群甚至更低 (大多數都在 20-30% 之間)，明顯低於之前 22 個雜交品系的結果，但因為之前配的啟始族群只有兩隻蟲，亦即一隻輝顏果蠅雄蟲配一隻紅果蠅雌蟲，而這次實驗的啟始族群有 90 隻蟲，而且同時包含雙向交配，狀況較複雜。在 3-X 染色體的頻率無法上升的情況下，間接影響到微小染色體的頻率變化 (第四對)。第三，時間效應，這次的族群中最多也只取樣到第 10 代，所以還無法判斷究竟在此較複雜的情況下是否有較弱的選汰力介入。目前第一與第二雜交族群分別已進行到第 17 代與第 9 代，接下來將分別在兩族群的第 20 代與第 10 代再進行一次微小染色體的頻率分析，看是否能得到較明確的結果。

四、計畫成果自評

在實驗室中以雜交的方式分析不同長度的微小染色體變化並不常見，這次的實驗將啟始狀態 (遺傳背景) 設定在較複雜的情況。以目前的結果推測，先前所提的兩個單向交配實驗結果相抵觸，應該是遺傳浮動所致。下一批數據收齊之後就可以分析微小染色體與 neo-X, neo-Y 之間的關係。雖然目前尚無法判斷選汰與遺傳浮動兩種力量對微小染色體變化的影響孰輕孰重，但由於國科會資助本研究室進行的下一個計劃仍然以探討染色體進化為主，重點將放在 neo-X 與 neo-Y 的變化，然該微小染色體的實驗部分仍可繼續進行下去

本實驗室長期以來對於紅果蠅與輝顏果蠅間的演化關係一直有著高度的興趣，也曾以雜交的方式建立雜交族群以分析兩者之間染色體的演化關係 (Yu *et al.*, 1997)，紅果蠅微小染色體長度多態型的

形成與演化過程是一個相當有趣的研究課題，利用紅果蠅與其同胞種輝顏果蠅 (其微小染色體皆為短型) 雜交族群的建立分析不同長度微小染色體的變化情形應該有助於釐清微小染色體與性染色體間的關係。

五、參考文獻

- Baimai, V., F. M. Sene, and M. A. Q. R. Pereira. 1981. Heterochromatin and karyotypic differentiation of some neotropical cactus-breeding species of the *Drosophila repleta* species group. *Genetica* 60: 81-92.
- Berry, A. J., J. W. Ajioka, and M. Kreitman. 1991. Lack of polymorphism on the *Drosophila* fourth chromosome resulting from selection. *Genetics* 129: 1111-1117.
- Braverman, J. M., B. Goni, and H. A. Orr. 1992. Loss of paternal chromosome causes developmental anomalies among *Drosophila* hybrids. *Heredity* 69: 416-422.
- Fung, S.-T. C., and J. W. Gowen. 1960. Role of autosome-IV in *Drosophila melanogaster* sex balance. *Genetics* 45: 988-989.
- Hatsumi, M. 1987. Karyotype polymorphism in *Drosophila albomicans*. *Genome* 29: 395-400.
- Hatsumi, M., Y. Morishice, and K.-I. Wakahama. 1988. Metaphase chromosome of four species of the *Drosophila nasuta* subgroup. *Jpn. J. Genet.* 63: 435-444.
- Hochman, B. 1976. The fourth chromosome of *Drosophila*. pp. 903-928 *in*: M. Ashburner, and E. Novitski, eds. *The Genetics and Biology of Drosophila 1b*, Academic Press, London.
- Judd, B. H. 1955. Direct proof of a variegated-type position effect at the white locus in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 40: 739-744.
- Kaufmann, B. P., and H. Gay. 1969. The capacity of the fourth chromosomes of *Drosophila melanogaster* to establish end-to end contact with the other

- chromosomes in salivary gland cells.
Chromosoma. 26: 395-409.
- Mather, B. W. 1962. Patterns of chromosomal evolution in the immigrans group of *Drosophila*. *Evolution* 16: 20-26.
- Ramachandra, N. B., and H. A. Ranganath. 1986. The chromosomes of two *Drosophila* races: *D. nasuta nasuta* and *D. nasuta albomicana* IV. Hybridization and karyotype repatterning. *Chromosoma* 93: 243-248.
- Stone, W. S., and A. B. Griffen. 1939. Studies in chromosome conversion. *Genetics* 24: 87-88.
- Wang, T.-C., C.-C. Chen, and F.-J. Lin. 1988. Intraspecific polymorphism of karyotype in *Drosophila albomicans*. *Bull. Inst. Zool., Academia Sinica* 27: 127-131.
- Wilson, F. D., M. R. Wheeler, M. Harget, and M. Kambyzellis. 1969. XIV. Cytogenetic relation in the *Drosophila nasuta* subgroup of the *immigrans* group of species. *Univ. Texas Publ.* 6918: 207-253.
- Yoon, J. S., and R. H. Richardson. 1978. Evolution in Hawaiian Drosophilidae. III. The microchromosome and heterochromatin of *Drosophila*. *Evolution* 32: 475-484.
- Yu, Y.-C., F.-J. Lin, and H. Chang.. 1997. Karyotype polymorphism in hybrid population of *Drosophila nasuta* and *D. albomicans*. *Zoological Studies* 36: 251-159.