

鄱阳湖黄颡鱼染色体核型分析及进化地位探讨

毛慧玲¹, 葛欣琦¹, 刘佳丽², 舒汉鼎¹, 陈婷婷¹

(1. 南昌大学 生命科学与食品工程学院, 江西 南昌 330031; 2. 南昌工程学院 水利与生态工程学院, 江西 南昌 330099)

摘要: 为认识黄颡鱼染色体组特征、建立种质标准和人工驯化养殖提供基础参数资料。以肾细胞制作染色体标本, 采用 PHA 和秋水仙素活体注射, 体内肾细胞培养法和空气干燥法对鄱阳湖黄颡鱼染色体核型进行分析。结果表明: 鄱阳湖黄颡鱼的 2 倍染色体数为 $2n = 52$, 核型公式为 $2n = 20m + 14sm + 14st + 4t$, 染色体总臂数 (NF) 为 86。比较分析认为, 黄颡鱼在鱼类进化史上属于低位特化类群。

关键词: 黄颡鱼; 染色体核型; 特化类群

中图分类号: Q959.483 文献标志码: A 文章编号: 1000 - 2286(2012)06 - 1222 - 04

Karyotype Analysis of *Pelteobagrus fulvidraco* in Poyang Lake and Discussion of Its Evolutionary Position

Mao Hui-ling¹, Ge Xin-qi¹, Liu Jia-li², Shu Han-ding¹, Chen Ting-ting¹

(1. College of Life Science and Food Engineering, Nanchang University, Nanchang 330031, China; 2. School of Hydraulic and Ecological Engineering, Nanchang Institute of Technology, Nanchang 330099, China)

Abstract: The study aimed to provide basic data for understanding the chromosome characteristics of *Pelteobagrus fulvidraco*, establishing its germplasm standard and its artificial domestication breeding. In order to make chromosome specimens with the kidney cells, the karyotype of *Pelteobagrus fulvidraco* in Poyang Lake was analyzed by using the methods of PHA and colchicine injection in vivo, kidney cell culture and air drying. The results showed that *Pelteobagrus fulvidraco* in Poyang Lake had a diploid number of 52 chromosomes. The karyotype formula was $2n = 20m + 14sm + 14st + 4t$. NF = 86. Compared with the karyotypes of other fishes, it is concluded that *Pelteobagrus fulvidraco* belongs to low specialization group in fish evolution history.

Key words: *Pelteobagrus fulvidraco*; chromosome karyotype; specialization group

染色体是遗传物质的主要载体, 不同生物体具有其一定数目、形态特征的染色体。Ojima 等^[1]首次成功对鱼类染色体核型进行分析以来, 给鱼类分类工作带来了便利。黄颡鱼 (*Pelteobagrus fulvidraco*, Richard) 隶属鲶形目 (Siluriformes)、鲿科 (Bagridae)、黄颡鱼属 (*Pelteobagrus*)。除西藏、新疆外, 我国各大水系均有分布。目前对黄颡鱼染色体核型的研究主要集中于黑龙江和湖北流域^[2-5]。关于鄱阳湖水域黄颡鱼染色体核型的研究曾见肖秀兰的简单报道^[6]。本文采用 PHA 和秋水仙素活体注射, 体内肾细胞培养法和空气干燥法拟对鄱阳湖水域黄颡鱼染色体核型以及生物学的进化地位进行全面分析与探讨, 旨在为认识黄颡鱼染色体组特征、建立种质标准和人工驯化养殖提供基础参数资料, 也为进一步探讨黄颡鱼系统进化地位提供参考依据。

收稿日期: 2012 - 05 - 01 修回日期: 2012 - 07 - 22

基金项目: 江西省科技支撑项目 (20112BBF60011)

作者简介: 毛慧玲 (1963—), 女, 教授, 主要从事鱼类遗传育种学研究, E-mail: huilinm6@163.com。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用鱼由江西国旺发展有限公司黄颡鱼养殖基地提供,均为成年活鱼。黄颡鱼鱼种均引自江西鄱阳湖水系。

1.2 方法

1.2.1 制备细胞悬液 取鱼,按 $10 \mu\text{g/g}$ 自胸鳍基部注射 PHA 2 次,间隔约 18 h,4 h 后按 $3 \mu\text{g/g}$ 注射秋水仙素,4 h 后断尾放血。活体解剖鱼,取出头肾,在生理盐水中撕碎、吹打,使细胞游离,过滤细胞,加生理盐水制成细胞悬液。

1.2.2 制片与染色 细胞悬液 $1\ 000 \text{ r/min}$ 离心 8 min,去上清液,收集细胞。加少量 0.075 mol/LKCl 液打散细胞至均匀,入 $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 恒温水浴低渗 30 min, $1\ 000 \text{ r/min}$ 离心 8 min。去上清液,加入少许新配制 Carnoy($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{冰乙酸}}=3:1$) 固定液吹打细胞均匀,室温静置固定 30 min, $1\ 000 \text{ r/min}$ 离心 8 min,去上清液,收集细胞。固定重复 3 次。第 3 次固定离心后,弃上清液,再加入少量新鲜 Carnoy 固定液,取 1~2 滴置冷冻玻片上滴片,酒精灯过火 3~5 个来回,空气干燥。用 10% Giemsa 液($\text{pH}=6.8$,磷酸缓冲液配制)染色 20~30 min,蒸馏水洗去多余染液,自然风干,镜检。

1.2.3 染色体核型分析 油镜下选取分散良好、数目完整、形态清楚、处于分裂中期、着丝粒清晰的染色体为观察目标,并拍照、打印、剪取各染色体,线绳-直尺结合法测量其短臂长、长臂长及全长,计算其相对长度和臂比。按照 Levan 等^[7] 提出的命名和分类标准进行染色体配对、分类和排列核型。

2 结果与分析

2.1 黄颡鱼染色体数目分布频率分析

共制作 6 尾鱼的染色体玻片,其中雌雄各 3 尾,找寻并观察了 100 个处于染色体中期分裂相的细胞(图 1),黄颡鱼染色体数介于 50~54。其中绝大多数的中期分裂相染色体数目为 52,占所分析染色体总数的 86%;为 50、54 的分别仅占 12%、2%。对于具有非众数染色体细胞,很可能是由低渗过度或制片操作中失误导致少数染色体丢失或增加所致^[8]。因此可以确定黄颡鱼体细胞的染色体数为 $2n=52$ 。

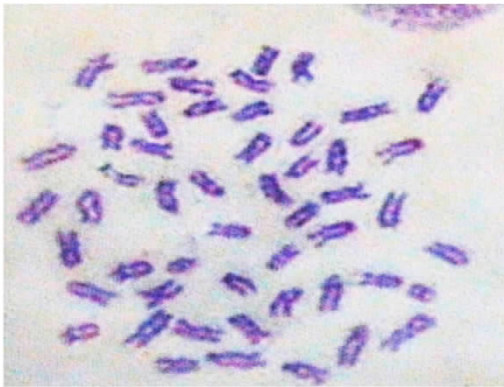


图 1 黄颡鱼染色体中期分裂相

Fig. 1 Metaphase chromosome of *Pelteobagrus fulvidraco*

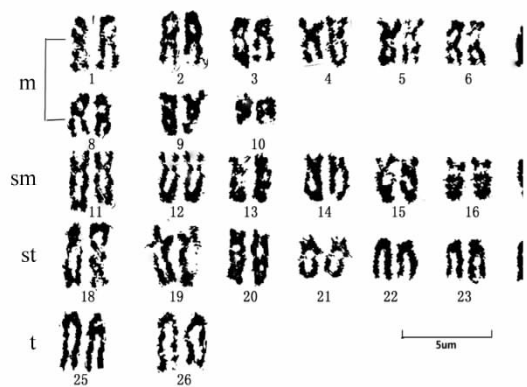


图 2 黄颡鱼染色体核型

Fig. 2 Karyotypes of *Pelteobagrus fulvidraco*

2.2 黄颡鱼染色体相对长度及核型分析

通过观察和实际测量,黄颡鱼染色体的相对长度、臂比和染色体类型(表 1)。由表 1 可知,黄颡鱼共有 52 条染色体,可两两配对成 26 对同源染色体,在 26 对染色体中,相对长度最长可达 5.19 ± 0.03 ,而最短的仅为 2.29 ± 0.46 ;其中有中部着丝点染色体(m) 20 条,亚中部着丝点染色体(sm) 14 条,亚端着丝点染色体(st) 14 条,端着丝点染色体(t) 4 条。未发现异型染色体对、次缢痕和随体等。其核型公式为 $2n=20m+14sm+14st+4t$ (图 2),染色体臂数(NF)为 86。

表 1 黄颡鱼染色体相对长度、臂比及分组类别

Tab.1 Relative length , arm ratio and classified groups of chromosomes of *Pelteobagrus fulvidraco*

序号 Number	相对长度 Relative length	臂比值 Arm ratio	染色体类型 Chromosome type	序号 Number	相对长度 Relative length	臂比值 Arm ratio	染色体类型 Chromosome type
1	4.65 ± 0.15	1.05 ± 0.02	m	14	3.75 ± 0.04	2.23 ± 0.03	sm
2	4.35 ± 0.50	1.15 ± 0.02	m	15	3.59 ± 0.16	1.99 ± 0.06	sm
3	4.31 ± 1.05	1.67 ± 0.01	m	16	3.31 ± 0.15	2.14 ± 0.03	sm
4	4.03 ± 1.10	1.39 ± 0.09	m	17	3.24 ± 0.12	1.94 ± 0.01	sm
5	3.86 ± 0.23	1.09 ± 0.02	m	18	5.19 ± 0.03	3.11 ± 0.06	st
6	3.71 ± 0.02	1.60 ± 0.01	m	19	4.72 ± 0.45	3.27 ± 0.03	st
7	3.64 ± 0.01	1.24 ± 0.04	m	20	4.20 ± 0.04	3.12 ± 0.16	st
8	3.51 ± 0.04	1.49 ± 0.01	m	21	3.52 ± 0.04	3.47 ± 0.03	st
9	3.32 ± 0.31	1.11 ± 0.10	m	22	3.35 ± 0.01	5.08 ± 0.39	st
10	2.29 ± 0.46	1.14 ± 0.11	m	23	3.06 ± 0.15	3.89 ± 0.04	st
11	4.72 ± 1.21	2.15 ± 0.04	sm	24	3.05 ± 0.64	3.37 ± 0.16	st
12	4.03 ± 0.07	1.96 ± 0.01	sm	25	4.48 ± 0.25	∞	t
13	3.86 ± 0.16	1.85 ± 0.02	sm	26	4.25 ± 0.01	∞	t

3 讨 论

3.1 不同水域黄颡鱼染色体核型的比较

目前,关于黄颡鱼染色体的数量和核型,沈俊宝^[2],薛淑群^[3],凌俊秀^[4],洪云汉^[5],肖秀兰^[6]等都有所报道,一般认为黄颡鱼染色体数为 $2n = 52$,本实验结果与上述报道在染色体数目上是一致的($2n = 52$),并且在染色体的形态上,均未发现有异型染色体及随体染色体。

不同水域黄颡鱼的核型组成有所不同。沈俊宝^[2]、薛淑群^[3]分别报道黑龙江流域黄颡鱼的核型为 $2n = 28m + 12sm + 12st$ 、 $2n = 28m + 10sm + 8st + 6t$;而凌俊秀^[4]、洪云汉等^[5]研究的湖北地区黄颡鱼核型是 $2n = 22m + 24sm/st + 6t$ 、 $2n = 24m + 14sm + 10st + 4t$;肖秀兰^[6]曾报道过鄱阳湖水域黄颡鱼的核型为 $2n = 22m + 12sm + 14st + 4t$ 。而本研究所得出的黄颡鱼核型公式为 $2n = 20m + 14sm + 14st + 4t$,这与肖秀兰^[6]研究结果很相似,仅有一对中部着丝点染色体(m)和亚中部着丝点染色体(sm)的区别,而与其他水域的报道均有明显的差异。这表明,黄颡鱼的染色体核型存在着地区性差异,这可能是不同水域环境以及长期的地理隔离和遗传等因素导致了各地黄颡鱼染色体多态现象的出现。这种核型间的差异,反映出了物种之间的亲缘关系与地理位置分布的相关性,为追溯物种的起源和染色体在进化过程中发生的演变规律提供了线索。

3.2 黄颡鱼进化与染色体的关系

鱼类的演化程度与鱼细胞染色体类型是一致的。小岛吉雄^[9]探讨了真骨鱼类进化与染色体之间的关系,认为在进化中越是处于上位,其染色体越收敛,端部着丝粒染色体多,臂数少。从本研究的黄颡鱼染色体核型来看,其端部着丝粒染色体少,臂数较多,说明黄颡鱼在鱼类系统进化上属低位类群。

李树深^[10]研究指出,在特定的分类阶元中,具有较多端部着丝粒染色体的是原始类群,而具有较多中部或亚中部着丝粒染色体的是特化类群;臂数多的类群比臂数少的类群更为特化。据报道,在鲮科鱼类中,乌苏里拟鲮核型^[11]为 $2n = 24m + 18sm + 10st$, $NF = 94$,长吻鲮核型^[12]为 $2n = 20m + 12sm + 18t$, $NF = 82$,大鳍鲮核型^[13]为 $2n = 16m + 14sm + 12st + 14t$, $NF = 86$ 。与本研究的黄颡鱼核型进行比对,发现黄颡鱼的中部和亚中部着丝粒少于乌苏里拟鲮,而多于长吻鲮和大鳍鲮,表明黄颡鱼的染色体结构在进化过程中发生了较大的变化,应该是鲮科鱼类进化过程中较晚出现的一种鱼类,推测可能是由其它原

始的鲮科鱼类染色体经易位、倒位等重组进化而致,据此,黄颡鱼在鲮科鱼类中应该归属于特化类群。

此外黄颡鱼的 $2n = 52$ 也多于其他大部分淡水鱼类 $2n = 48、50$ ^[14-16],可能是黄颡鱼为了适应其生活环境,在进化过程中发生了染色体着丝粒断裂或罗伯逊易位所导致的染色体数的增加,这在一定程度上反映了生活环境对鱼类遗传进化的影响,但有关黄颡鱼染色体核型变化对鱼类进化的影响目前尚未见报道,有待于后期进一步的研究。

3.3 黄颡鱼染色体核型研究的前景

迄今为止,关于黄颡鱼的染色体研究大多限于常规核型的分析^[17],且不同地区的黄颡鱼核型在一定程度上呈现出了多态性^[1-5]。本文在对黄颡鱼的核型进行了详尽分析报道的基础上,首次对其在进化史上的地位进行了探讨,为进一步了解黄颡鱼的物种起源和生物进化提供了新的理论依据,同时对黄颡鱼的遗传变异、性别决定以及杂交育种等均有重要意义。但常规核型的分析并不能准确地识别每一条染色体的结构特征,因而在以后的黄颡鱼染色体研究工作当中,有必要结合染色体带型分析和荧光原位杂交等现代分子细胞遗传学技术,对黄颡鱼染色体做进一步研究,从而更加准确的阐述黄颡鱼染色体核型特征,推动黄颡鱼核型的研究向深层次发展。

参考文献:

- [1] Ojima Y, Hitotsumachi S, Makino S et al. Cytogenetic studies in lower vertebrates [J]. Proc Jap Acad, 1966, 42(1): 62-66.
- [2] 沈俊宝, 范兆延, 王国瑞. 黄颡鱼的核型研究 [J]. 遗传, 1983, 5(2): 23-24.
- [3] 薛淑群, 尹洪滨. 黄颡染色体组型的初步分析 [J]. 水产学杂志, 2006, 19(1): 11-13.
- [4] 凌俊秀. 八种鱼的染色体组型的研究 [J]. 武汉大学: 自然科学版, 1982, 2(2): 109-112.
- [5] 洪云汉, 周瞰. 鲮科九种鱼的核型研究 [J]. 动物学研究, 1984, 5(3): 21-28.
- [6] 肖秀兰, 欧阳敏, 张明, 等. 鄱阳湖水系黄颡鱼若干生物学特性的研究 [J]. 江西农业学报, 2002, 14(4): 18-22.
- [7] Levan A, Fredga K, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosome [J]. Hereditas, 1964, 52(2): 201-220.
- [8] 梁拥军, 孙向军, 李文通, 等. 红白锦鲤的染色体核型分析 [J]. 安徽农业科学, 2010, 38(14): 7717-7719.
- [9] 小岛吉雄. 鱼类细胞遗传学 [M] // 林义浩, 译. 广州: 广东科学技术出版社, 1990: 8-33.
- [10] 李树深. 鱼类细胞分类学 [J]. 生物科学动态, 1981, 2: 8-15.
- [11] 薛淑群, 尹洪滨. 乌苏里拟鲮的染色体组型研究 [J]. 水产学杂志, 2008, 21(2): 75-78.
- [12] 万全, 刘恩生, 申德林, 等. 长吻鮠染色体组型分析 [J]. 安徽农业大学学报, 2002, 29(2): 182-184.
- [13] 李川, 杨明境, 姚俊杰, 等. 大鳍鱠染色体核型的研究 [J]. 贵州农业科学, 2009, 37(6): 139-141.
- [14] 余先觉, 周瞰, 李渝成, 等. 中国淡水鱼类染色体 [M]. 北京: 科学出版社, 1989: 4-29.
- [15] 楼允东. 鱼类育种学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1999: 327-343.
- [16] 楼允东. 中国鱼类染色体组型研究的进展 [J]. 水产学报, 1997, 21(增刊): 83-96.
- [17] 韩荣成, 岳永生, 姜中伸. 鱼类染色体核型分析方法概述 [J]. 水利渔业, 2003, 23(5): 38-40.