

宽体沙鳅的染色体核型与 DNA 含量分析

邹远超 袁佳玲 符鹏 文正勇 王永明 岳兴建 齐泽民 谢碧文*

长江上游鱼类资源保护与利用四川省重点实验室, 内江师范学院生命科学学院 内江 641112

摘要: 为了解宽体沙鳅 (*Sinibotia reevesae*) 的种质特征, 以野生宽体沙鳅为材料, 采用腹腔注射植物血球凝集素 (PHA) 和秋水仙素, 肾组织细胞短期培养、常规空气干燥法制备染色体标本, 并对其核型进行分析。以鸡 (*Gallus gallus*) 血细胞 DNA 含量 (2.50 pg/2c, 2c 指二倍体) 为标准, 用流式细胞仪测定宽体沙鳅外周血细胞的 DNA 含量。结果表明: (1) 宽体沙鳅的染色体数目为 $2n = 96$, 核型组成公式为 $2n = 36m + 14sm + 20st + 26t$, 染色体总臂数 $NF = 146$; 未发现与性别相关的异型染色体。(2) 宽体沙鳅的 DNA 含量为 (2.60 ± 0.36) pg/2c。通过与其他 26 种鳅科鱼类核型进行比较, 发现宽体沙鳅属于鳅科鱼类中的特化类群, 其染色体核型经历了罗伯逊易位和染色体多倍化等过程。本研究结果可为宽体沙鳅种质资源保护和细胞遗传学研究提供基础资料。

关键词: 宽体沙鳅; 染色体; 核型; DNA 含量

中图分类号: Q952 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2017) 03-441-08

Chromosome Karyotype and DNA Content of *Sinibotia reevesae*

ZOU Yuan-Chao YUAN Jia-Ling FU Peng WEN Zheng-Yong WANG Yong-Ming
YUE Xing-Jian QI Ze-Min XIE Bi-Wen*

Sichuan Provincial Key Laboratory of Conservation and Utilization of Fishes Resources in the Upper Reaches of the Yangtze River,
College of Life Sciences, Neijiang Normal University, Neijiang 641112, China

Abstract: In order to investigate the cytogenetic characters of *Sinibotia reevesae*, the chromosome number and karyotype of *S. reevesae* were analyzed using a routine method including intraperitoneal injection of PHA and colchicine, nephrocyte cultivation in vivo, and slides preparation with air-drying. Erythrocyte nuclear DNA content of *S. reevesae* was determined by using a flow cytometer (BD Accuri™ C6) with the chicken erythrocytes (their DNA content is 2.50 pg) serving as reference cells. The results showed that *S. reevesae* was diploid, the chromosome number was $2n = 96$, and the karyotype formula was $2n = 36m + 14sm + 20st + 26t$, and arms number (NF) was 146 (Table 2 and Fig. 1). The heterosomes were not observed. The DNA content of *S. reevesae* was 2.60 ± 0.36 pg/2c ($n = 10$, Fig. 2). By comparing with the chromosome karyotypes of other 26 Cobitidae species, it was concluded that *S. reevesae* should belong to specialization group, and

基金项目 四川省省属高校科研创新团队项目 (No. KYTD201009), 四川省科技厅项目 (No. 2015JY0262), 四川省科技支撑项目 (No. 2011NZ0075), 四川省大学生科研项目 (No. 201410640002);

* 通讯作者, E-mail: xiebw6873@163.com;

第一作者介绍 邹远超, 女, 博士; 研究方向: 鱼类遗传育种及种质资源保护; E-mail: zou3891@163.com.

收稿日期: 2016-08-23, 修回日期: 2016-11-24 DOI: 10.13859/j.cjz.201703010

karyotype of *S. reevesae* might evolve from the type of Cobitidae ancestors by Robertsonian translocation of chromosomes and chromosome polyploidy. Our results could provide essential data for broodstock conservation and cytogenetic research of the *S. reevesae*.

Key words: *Sinibotia reevesae*; Chromosome; Karyotype; DNA content

染色体是生物细胞中的一个重要组成部分,它是遗传信息(基因)的主要载体。染色体核型是对鱼类染色体特征的基本描述,对染色体核型的研究不仅可以揭示生物的遗传组成和变异,还可以从生物进化角度探讨物种间的亲缘关系和分类地位(桂建芳等 1985)。随着基因组学的发展,染色体核型研究作为全基因组测序的基础,对了解生物的进化地位及重要功能基因定位有着十分重要的意义(刘海映等 2016)。

DNA 是遗传信息的载体,是构成染色体的主要化学物质。DNA 含量和倍性研究对描述物种的分类和特征具有十分重要的作用(李靖等 2008)。目前,测定 DNA 含量的方法包括流式细胞术法(flow cytometry, FCM)、紫外吸收法、二苯胺法等。其中,流式细胞术法以其操作简单、结果准确等优点,已成为当前测定 DNA 含量的主要检测方法(Filipiak et al. 2012)。

宽体沙鳅(*Sinibotia reevesae*)隶属鲤形目(Cypriniformes)鳅科(Cobitidae)沙鳅亚科(Botinae)。因其体表黏液发达,在产区与中华沙鳅(*S. superciliaris*)统称为“玄鱼”。作为长江上游特有的重要经济鱼类,宽体沙鳅主要分布于岷江、金沙江、雅砻江、沱江等水系(丁瑞华 1994)。其肉嫩味美,观赏价值、营养价值和药用价值都较高,市场需求旺盛。近年来,由于水利工程、过度捕捞和环境污染等因素,宽体沙鳅的野生资源量急剧下降。目前,有关宽体沙鳅的研究主要集中在基础生物学(黄燕等 2011,王芳等 2011,岳兴建等 2011,王永明等 2014,周露等 2015,王永明等 2016)、营养成分(颀江等 2013)及功能基因的表达(覃川杰等 2013a, b)等方面。而针对宽体沙鳅

细胞遗传学的研究未见报道。本文通过对宽体沙鳅的染色体数量、核型和 DNA 含量进行研究,并与已报道的 26 种鳅科鱼类核型进行比较,探讨宽体沙鳅的演化地位,以期为其遗传育种、基因组研究和种质保护提供理论参考。

1 材料与方法

1.1 材料

实验所用宽体沙鳅来自沱江内江段,健康状况良好,雌雄各 5 尾,体重在 6~15 g 之间。实验鱼运回实验室后暂养在 24℃ 水中,停食 2 d 后开始实验。

1.2 方法

1.2.1 染色体的制备 参照林义浩(1982)的方法,稍作修改,采用体内注射植物血球凝集素(phyoemagglutinin, PHA, 达晖生物技术有限公司,广州)和秋水仙素(Sigma, USA)的方法制备染色体标本。在室温下按 8~10 μg/g 的剂量向实验鱼腹腔注射两次 PHA 溶液,两次间隔 12 h,将鱼置于 24℃ 的水族箱中饲养 12 h 后,按照 0.3~0.5 μg/g 的剂量向鱼腹腔注射秋水仙素。饲养 1.5~2 h 后将实验鱼断尾放血 10 min,解剖取肾组织置于 0.8% 的生理盐水中,剪碎并用吸管吸打(稍重)细胞组织,使细胞散开。静置 10 min,取细胞悬液转移至另一个离心管中。1 000 r/min 离心 15 min 收集细胞,加入 0.037 5 mol/L 的 KCl 溶液,反复吸打。然后将其置于 30℃ 的恒温振荡器中 800 r/min 回旋振荡 2 h,期间每隔 0.5 h 取出吸打数次,低渗处理结束后,1 000 r/min 离心 15 min 去上清液,加入现配的卡诺氏固定液($V_{\text{甲醇}}:V_{\text{乙酸}}=3:1$),轻轻吸打数次。固定 30 min 后,1 000 r/min 离心 20 min,弃上清液,重复固定两次,收集细胞加入少量新鲜固定液并敲打均

匀, 将细胞悬液在距冰冻玻片 50 cm 左右的高度滴下 (玻片呈 45° 倾斜), 空气中自然干燥。Giemsa 染液染色 30 min, 自来水冲洗, 干燥后于显微镜 (Motic BA 400) 下观察并在油镜下拍照。

1.2.2 核型分析 对 100 个数目清楚、形态清晰的染色体中期分裂相进行染色体计数统计, 并确定染色体数目。运用 Adobe Photoshop 7.0 软件对 20 个分散效果良好的染色体中期分裂相进行放大和计数, Image J 软件测量染色体的全长, 并计算其相对长度、臂比值、臂数。计算公式如下: 相对长度 = (染色体长度/染色体组总长度) × 100%; 臂比 = 长臂长/短臂长。以 Levan (1964) 提出的标准进行染色体配对和核型分析。

1.2.3 DNA 含量的测定 用经 1% 肝素钠浸润过的 1 ml 注射器从实验鱼尾静脉采血 0.2 ~ 0.5 ml, 随后加入到含有磷酸缓冲液 (PBS, pH 7.4) 的离心管中, 800 r/min 离心 6 min, 300

目筛网过滤收集红细胞, 加入 1 ml 4',6-二脒基-2-苯基吲哚 (4',6-diamidino-2-phenylindole, DAPI) 染液, 4℃ 避光染色 1 min, 用流式细胞仪 (BD Accuri™ C6) 进行样品检测。以鸡 (*Gallus gallus*) 血细胞 DNA 含量 2.50 pg/2c (2c 指二倍体) 作为标准, 宽体沙鳅 DNA 含量计算公式为 $P = 2.50E_2/E_1$, 式中, P 表示宽体沙鳅 DNA 含量 (pg/2c), E_1 表示鸡红血细胞荧光强度, E_2 表示宽体沙鳅血细胞荧光强度。

2 结果

2.1 染色体数目分析

在显微镜油镜下选取 100 个 (50♀, 50♂) 染色体中期分裂相进行染色体计数 (表 1), 染色体数目为 96 的分裂相为 85 个, 因此确定宽体沙鳅的染色体数目为 96。

2.2 核型分析

对 20 个染色体中期分裂相进行镜检和测量 (图 1), 统计宽体沙鳅染色体的相对长度、

表 1 宽体沙鳅染色体数目计数统计

Table 1 Chromosome number statistics of *Sinibotia reevesae*

	染色体数目 Number of chromosomes					总数 Sum
	≤ 94	95	96	97	≥ 98	
分裂相数目 Number of metaphases	4	6	85	2	3	100
出现频率 Percent of occurrence (%)	4	6	85	2	3	100

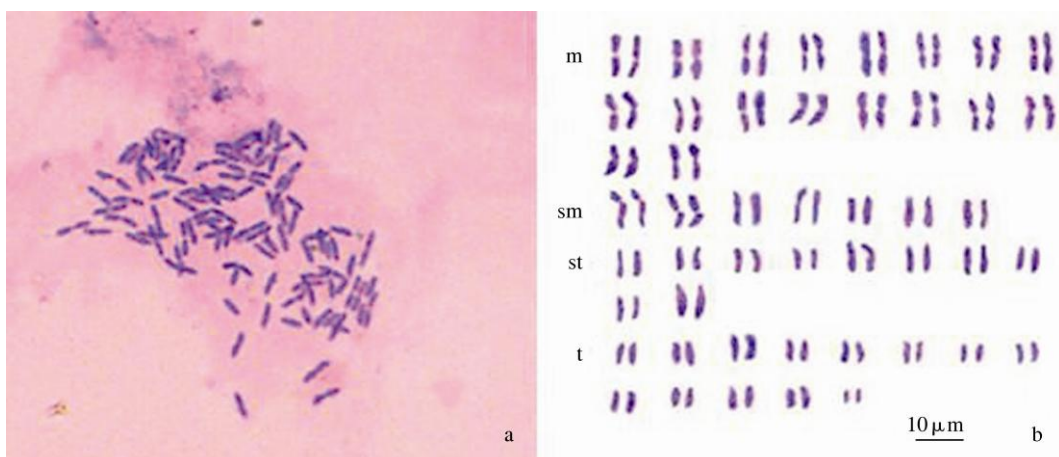


图 1 宽体沙鳅染色体的中期分裂相 (a) 及核型 (b)

Fig. 1 Metaphase chromosomes (a) and karyotype (b) of *Sinibotia reevesae*

臂比和染色体类型 (表 2), 宽体沙鳅有 18 对中部着丝粒染色体 (m), 7 对亚中部着丝粒染色体 (sm), 10 对亚端部着丝粒染色体 (st), 13 对端部着丝粒染色体 (t), 核型公式为 $36m + 14sm + 20st + 26t$, 染色体臂数 (NF) 为 146。未发现与性别相关的异型染色体。

2.3 宽体沙鳅 DNA 含量

以鸡血细胞作为参照, 测定了 10 尾宽体沙鳅的细胞 DNA 含量 (图 2)。鸡血细胞荧光强

度为 779.78 ± 5.72 ($n = 3$), 宽体沙鳅血细胞荧光强度为 809.50 ± 7.35 ($n = 10$), 宽体沙鳅的 DNA 含量为鸡血对照的 1.04 倍。由公式 $P = 2.5E_2/E_1$ 得出宽体沙鳅血细胞 DNA 绝对含量为 (2.60 ± 0.36) pg/2c。

3 讨论

根据已发表的文献资料及本研究结果统计出 27 种鳅科鱼类的染色体核型 (表 3)。27 种

表 2 宽体沙鳅染色体的相对长度、臂比及其分类类型

Table 2 Relative length, arm ratio and classification type of each pair chromosome in *Sinibotia reevesae*

染色体编号 Chromosome No.	染色体相对长度 Relative length	臂比 Arm ratio	类型 Type	染色体编号 Chromosome No.	染色体相对长度 Relative length	臂比 Arm ratio	类型 Type
1	3.90 ± 0.31	1.16 ± 0.18	m	25	2.38 ± 0.04	1.81 ± 0.10	sm
2	3.77 ± 0.24	1.19 ± 0.14	m	26	1.26 ± 0.08	3.06 ± 0.19	st
3	3.94 ± 0.21	1.15 ± 0.16	m	27	1.13 ± 0.04	4.14 ± 0.23	st
4	3.17 ± 0.20	1.15 ± 0.13	m	28	2.09 ± 0.15	3.09 ± 0.16	st
5	3.95 ± 0.22	1.18 ± 0.13	m	29	2.00 ± 0.15	3.15 ± 0.12	st
6	3.64 ± 0.21	1.16 ± 0.14	m	30	1.36 ± 0.17	3.30 ± 0.17	st
7	3.61 ± 0.14	1.52 ± 0.17	m	31	1.37 ± 0.10	4.07 ± 0.21	st
8	3.75 ± 0.12	1.13 ± 0.12	m	32	1.30 ± 0.11	3.31 ± 0.12	st
9	3.73 ± 0.11	1.35 ± 0.14	m	33	1.19 ± 0.13	4.19 ± 0.27	st
10	3.60 ± 0.11	1.36 ± 0.16	m	34	1.13 ± 0.12	3.03 ± 0.14	st
11	3.77 ± 0.10	1.03 ± 0.08	m	35	1.55 ± 0.12	4.05 ± 0.13	st
12	3.44 ± 0.19	1.29 ± 0.12	m	36	2.10 ± 0.16	∞	t
13	3.65 ± 0.18	1.28 ± 0.13	m	37	2.05 ± 0.17	∞	t
14	3.65 ± 0.11	1.32 ± 0.15	m	38	2.25 ± 0.11	∞	t
15	3.62 ± 0.16	1.10 ± 0.10	m	39	1.96 ± 0.12	∞	t
16	3.65 ± 0.13	1.19 ± 0.18	m	40	1.85 ± 0.11	∞	t
17	3.45 ± 0.16	1.20 ± 0.15	m	41	1.94 ± 0.13	∞	t
18	3.62 ± 0.18	1.30 ± 0.12	m	42	1.80 ± 0.12	∞	t
19	3.70 ± 0.12	2.89 ± 0.12	sm	43	1.78 ± 0.11	∞	t
20	3.47 ± 0.15	1.79 ± 0.17	sm	44	1.99 ± 0.14	∞	t
21	3.60 ± 0.11	1.72 ± 0.05	sm	45	1.95 ± 0.11	∞	t
22	3.62 ± 0.14	1.81 ± 0.12	sm	46	1.98 ± 0.14	∞	t
23	2.28 ± 0.16	1.85 ± 0.03	sm	47	1.99 ± 0.19	∞	t
24	2.46 ± 0.17	1.73 ± 0.05	sm	48	1.52 ± 0.01	∞	t

m 为中部着丝粒染色体; sm 为亚中部着丝粒染色体; st 为亚端部着丝粒染色体; t 为端部着丝粒染色体。∞表示臂比值趋于无穷大。

m represents metacentric chromosome; sm represents submetacentric chromosome; st represents subtelocentric chromosome; t represents telocentric chromosome. ∞ arm ratio approaches infinity.

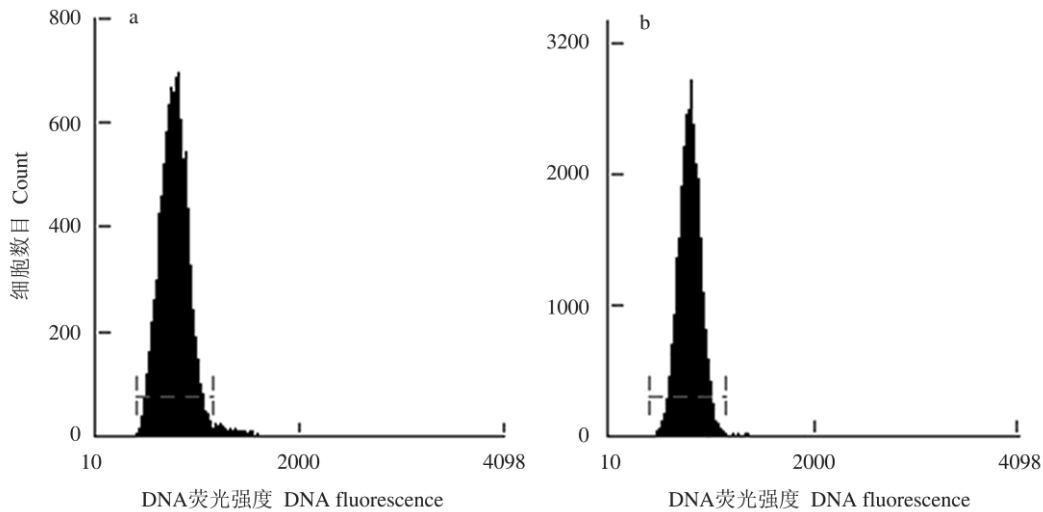


图 2 鸡血细胞 (a) 和宽体沙鳅血细胞 (b) DNA 相对含量

Fig. 2 DNA relative content of standard chicken erythrocytes (a) and *Sinibotia reevesae* (b)

图中虚线分别表示鸡血细胞 (a) 和宽体沙鳅血细胞 (b) DNA 荧光强度的分布范围。

The dotted lines in the figure indicate distribution range of DNA fluorescence strength of erythrocytes of chicken (a) and *Sinibotia reevesae* (b), respectively.

鳅科鱼类中有 19 种染色体数目为 50, 出现频率为 70.37%, $2n = 50$ 在鳅科鱼类染色体数目中占绝对优势, 这说明鳅科鱼类祖先二倍体是 $2n = 50$, 即染色体原始类型为 $2n = 50$ 。考虑到染色体数目及组成是亲缘关系远近及物种进化判断的重要依据。本研究结果表明, 中华沙鳅属的宽体沙鳅与中华沙鳅的染色体数目和核型较为接近, 因此推测两者在系统发生上具有相近的亲缘关系。这种核型反映出来的亲缘关系与分子系统发育 (唐琼英 2005, 黄燕 2014) 的研究结果一致。

从现有资料来看 (Ferris et al. 1977, 印杰等 2005), 鳅科鱼类核型的多倍体化现象在中华沙鳅属 (*Sinibotia*)、泥鳅属 (*Misgurnus*) 和花鳅属 (*Cobitis*) 中均有发现 (表 3)。相关文献 (Arai et al. 1991, 印杰等 2005, 周小云 2009) 报道了泥鳅 (*M. anguillicaudatus*) 存在天然的二倍体 ($2n = 50$)、三倍体 ($3n = 75$) 和四倍体 ($4n = 100$)。泥鳅的进化过程中出现多倍体应该是经过染色体自然加倍 $2n = 50$ 至 $2n = 100$ 转变而来。而出现 $3n = 75$ 这样的三倍

体现象则可能是 $2n = 50$ 和 $2n = 100$ 两个类群杂交产生的。鳅科鱼类染色体演化历史上有 $2n$ 由 50 至 48 再至 40 或 $2n$ 由 50 至 48 再至 96 的罗伯逊易位和自然加倍方式 (李树深 1980)。本研究发现, 宽体沙鳅的染色体数目为 $2n = 96$, 核型公式为 $36m + 14sm + 20st + 26t$, $NF = 146$ 。据鳅科鱼类染色体进化过程推测, 宽体沙鳅出现 $2n = 96$ 可能是由类似于泥鳅 $2n = 50$ 的鳅科祖先经罗伯逊易位 $2n$ 由 50 至 48, 再经自然加倍 $2n$ 由 48 至 96 而形成的。这与中华沙鳅染色体的演化模式一致 (岳兴建等 2013)。

染色体核型变化与生物进化有着极其密切的关系。李树深等 (1983) 研究指出, 在特定的分类类群中, 具有较多端部着丝粒 (t) 和亚端部着丝粒 (st) 染色体的种类为原始类群, 而具有较多中部着丝粒 (m) 和亚中部着丝粒 (sm) 染色体的是特化类群。据此, 从表 3 可以看出, 中部或亚中部着丝粒染色体最多的为中华花鳅 (*C. sinensis*) 和宽体沙鳅, 北方条鳅 (*Nemacheilus toni*) 和北鳅 (*Lefua costata*) 的最少。由此推断宽体沙鳅在进化上属于较特化

表 3 鳅科鱼类的染色体核型
Table 3 The karyotype of cobitidae fish

属名 Generic name	种名 Species	染色体数目 (2n 或 4n) Chromosome number	核型 Karyotype	臂数 Number of arm	参考文献 References
	宽体沙鳅 <i>S. reevesae</i>	96	36m + 14sm + 20st + 26t	146	本研究
中华沙鳅属 <i>Sinibotia</i>	中华沙鳅 <i>S. superciliaris</i>	96	8m + 12sm + 20st + 56t	116	岳兴建等 2013
	美丽沙鳅 <i>S. pulchra</i>	100	10m + 12sm + 14st + 64t	122	余先觉等 1989
	斑纹薄鳅 <i>S. zebra</i>	50	10m + 8sm + 14st + 18t	66	唐琼英等 2008
沙鳅属 <i>Botia</i>	广西沙鳅 <i>B. kwangsiensis</i>	50	10m + 6sm + 4st + 30t	66	余先觉等 1989
副沙鳅属 <i>Parabotia</i>	花斑副沙鳅 <i>P. fasciata</i>	50	10m + 8sm + 14st + 18t	68	余先觉等 1989
	漓江副沙鳅 <i>P. lijiangensis</i>	50	8m + 8sm + 10st + 24t	66	余先觉等 1989
	点面副沙鳅 <i>P. maculose</i>	50	8m + 8sm + 14st + 20t	66	余先觉等 1989
薄鳅属 <i>Leptobotia</i>	紫薄鳅 <i>L. taeniaps</i>	50	6m + 10sm + 8st + 26t	66	孟妍 2011
	长薄鳅 <i>L. elongata</i>	50	6m + 12sm + 18st + 14t	68	孟妍 2011
	桂林薄鳅 <i>L. guilinensis</i>	50	6m + 8sm + 8st + 28t	64	余先觉等 1989
	薄鳅 <i>L. pellegrini</i>	50	8m + 8sm + 12st + 22t	66	余先觉等 1989
花鳅属 <i>Cobitis</i>		40	20m + 10sm + 2st + 8t	70	胡可坚等 2005
	中华花鳅 <i>C. sinensis</i>	90	26m + 18sm + 16st + 30t	134	余先觉等 1989
		76	34m + 24sm + 18st, t	134	余先觉等 1989
泥鳅属 <i>Misgurnus</i>	泥鳅 <i>M. anguillicaudatus</i>	50	8m + 6sm + 36t	64	毛雯 2005
		100	16m + 12sm + 72t	128	周小云 2009
副泥鳅属 <i>Paramisgurnus</i>	大鳞副泥鳅 <i>P. dabryanus</i>	48	12m + 4sm + 32t	64	李康等 1983
		48	12m + 4sm + 33t	65	李康等 1983
小条鳅属 <i>Micronemacheilus</i>	美丽小条鳅 <i>M. pulcher</i>	50	10m + 12sm + 12st + 16t	72	余先觉等 1989
条鳅属 <i>Nemacheilus</i>	北方条鳅 <i>N. toni</i>	50	6m + 6sm + 6st + 32t	62	王军萍等 1993
	红鳍条鳅 <i>N. incertus</i>	50	8m + 8sm + 4st + 30t	66	余先觉等 1989
	短体条鳅 <i>N. potanini</i>	48	14m + 26sm + 6st + 2t	88	余先觉等 1989
南鳅属 <i>Schistura</i>	花带条鳅 <i>S. fasciolatus</i>	50	12m + 14sm + 14st + 10t	76	余先觉等 1989
		44	10m + 8sm + 10st + 16t	62	余先觉等 1989
北鳅属 <i>Lefua</i>	北鳅 <i>L. costata</i>	50	4m + 8sm + 32st + 6t	62	马涛 1994
高原鳅属 <i>Triplophysa</i>	拟鲇高原鳅 <i>T. siluroides</i>	48	10m + 18sm + 12st + 8t	76	余先觉等 1989
	叶尔羌高原鳅 <i>T. yarkandensis</i>	50	14m + 8sm + 10st + 18t	72	宋勇 2013
	湘西盲高原鳅 <i>T. xiangxiensi</i>	48	12m + 16sm + 12st + 8t	76	贺刚等 2008
	西藏高原鳅 <i>T. tibetana</i>	50	14m + 4sm + 22st + 10t	68	武云飞等 1999
	突刺高原鳅 <i>T. stewarti</i>	50	6m + 6sm + 14st + 24t	62	武云飞等 1999
	小眼高原鳅 <i>T. mictops</i>	50	16m + 12sm + 12st + 10t	78	武云飞等 1999

的类群, 北方条鳅和北鳅为较原始类群。总之, 表 3 反映出了鳅科鱼类染色体的多态性, 同时也说明了鳅科鱼类是染色体多倍化的类群, 其染色体的多样性在动物自然界中构成十分独特的系统, 因此使鳅科鱼类成为各水域中的优势类群。

流式细胞仪是 20 世纪 70 年代末发展起来的一种能准确、快速测量 DNA 含量及细胞大小的高新技术仪器, DNA 的含量和倍性研究用于描述物种的分类和系统演化具有十分重要的意义(赵书涛等 2011)。利用流式细胞术能快速准确地鉴定物种倍性。目前, 已广泛运用于鱼类、虾类等 DNA 含量和倍性检测(刘少军等 2005, Filipiak et al. 2012, 刘海映等 2016)。到目前为止, 关于鳅科鱼类 DNA 含量研究较少, 仅有文献报道了二倍体 ($2n = 50$) 和四倍体 ($4n = 100$) 泥鳅的 DNA 含量分别为 $2.8 \text{ pg}/2c$ 和 $4.6 \text{ pg}/2c$ (周小云 2009), 大鳞副泥鳅 (*Paramisgurnus dabryanus*) 二倍体 ($2n = 48$) 的 DNA 含量为 $2.2 \text{ pg}/2c$ (李渝成等 1983)。本实验检测的宽体沙鳅 DNA 含量为 $(2.60 \pm 0.36) \text{ pg}/2c$, 显示出二倍体特征, 这说明宽体沙鳅表现了二倍化行为。按照生物二倍化效应的原理(宋灿等 2012), 推测宽体沙鳅的二倍化行为是为了保证其繁殖力并维持稳定, 以利于其生存和繁衍。本研究结果为开展鳅科鱼类杂交育种及宽体沙鳅基因组学研究提供了参考。

参 考 文 献

- Arai K, Matsubara K, Suzuki R. 1991. Karyotype and erythrocyte size of spontaneous tetraploidy and triploidy in loach *Misgurnus anguillicaudatus*. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 57(12): 2167–2172.
- Ferris S D, Whitt G S. 1977. Duplicate gene expression in diploid and tetraploid loaches (Cypriniformes, Cobitinae). *Biochemical Genetics*, 15(11): 1097–1112.
- Filipiak M, Tylko G, Kilarski W. 2012. Flow cytometric determination of genome size in European sunbleak *Leucaspis dulineatus* (Heckel, 1843). *Fish Physiology and Biochemistry*, 38(2): 355–362.
- Levan A, Fredga K, Sandberg A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52(2): 201–220.
- 丁瑞华. 1994. 四川鱼类志. 成都: 四川科学技术出版社, 98–100.
- 桂建芳, 李渝成, 李康, 等. 1985. 中国鲤科鱼类染色体组型的研究 VI. 鲃亚科 3 种四倍体鱼类和鲤亚科 1 种四倍体鱼类的核型. *遗传学报*, 12(4): 302–308.
- 贺刚, 何力, 许映芳, 等. 2008. 湘西盲高原鳅种质特征的研究. *淡水渔业*, 38(2): 64–67.
- 胡可坚, 罗琛. 2005. 湘江流域中华花鳅的染色体组型. *湖南师范大学自然科学学报*, 28(4): 67–68.
- 黄燕. 2014. 长江上游特有鱼类 DNA 条形码研究. 重庆: 西南大学硕士学位论文, 18–25.
- 黄燕, 岳兴建, 王芳, 等. 2011. 沱江宽体沙鳅个体生殖力的研究. *四川动物*, 30(6): 917–921.
- 李靖, 李成斌, 顿文涛, 等. 2008. 流式细胞术 (FCM) 在生物学研究的应用. *农业基础科学*, 24(6): 107–110.
- 李康, 李渝成, 周曦, 等. 1983. 两种泥鳅染色体组性的比较. *动物学研究*, 4(1): 75–81.
- 李树深. 1980. 脊椎动物的多倍体. *动物学杂志*, 25(2): 52–54.
- 李树深, 王蕊芳, 刘光佐, 等. 1983. 八种淡水真骨鱼类的核型研究. *遗传*, 5(4): 25–28.
- 李渝成, 李康, 周曦. 1983. 十四种淡水鱼的 DNA 含量. *遗传学报*, 10(5): 384–389.
- 林义浩. 1982. 快速获得大量鱼类肾细胞中期分裂相 PHA 体内注射法. *水产学报*, 6(3): 201–204.
- 刘海映, 杨硕, 闫红伟, 等. 2016. 口虾蛄染色体核型分析及 DNA 含量. *大连海洋大学学报*, 31(1): 1–6.
- 刘少军, 赵如榕, 刘锦辉, 等. 2005. 不同倍性鱼的血细胞和精子 DNA 含量比较. *动物学报*, 5(2): 360–364.
- 马涛. 1994. 北鳅的染色体组型研究. *动物学杂志*, 29(3): 17–18.
- 毛雯. 2005. 鄱阳湖泥鳅染色体核型的研究. *江西教育学院学报: 综合*, 26(3): 18–20.
- 孟妍. 2011. 紫薄鳅染色体核型和遗传多样性研究. 合肥: 安徽农业大学硕士学位论文, 19–37.
- 宋灿, 刘少军, 肖军, 等. 2012. 多倍体生物研究进展. *中国科学: 生命科学*, 42(3): 173–184.
- 宋勇. 2013. 叶尔羌高原鳅的核型分析及外周血细胞研究. 武汉: 华中农业大学硕士学位论文, 26–43.

- 覃川杰, 陈立桥, 岳兴建, 等. 2013a. 宽体沙鳅 β -肌动蛋白基因的 cDNA 克隆与表达分析. *海洋与湖沼*, 44(2): 396–402.
- 覃川杰, 顾顺樟, 赵大显, 等. 2013b. 宽体沙鳅体克蛋白基因 70 的克隆与表达分析. *海洋与湖沼*, 44(6): 1584–1591.
- 唐琼英. 2005. 鳅超科鱼类分子系统发育研究. 武汉: 华中农业大学博士学位论文, 101–113.
- 唐琼英, 俞丹, 刘焕章. 2008. 斑纹薄鳅 (*Leptobotia zebra*) 应该为斑纹沙鳅 (*Sinibotia zebra*). *动物学研究*, 29(1): 1–9.
- 王芳, 岳兴建, 谢碧文, 等. 2011. 宽体沙鳅消化系统的结构. *四川动物*, 30(4): 569–572.
- 王军萍, 戴秀君, 韩西福. 1993. 河北省三种鳅科鱼类的染色体组型. *河北大学学报*, 13(3): 51–54.
- 王永明, 陈瑜, 胡雨, 等. 2016. 宽体沙鳅精子超微结构及 Na^+ 、 K^+ 、 Ca^{2+} 对其精子活力的影响. *四川动物*, 35(1): 38–43.
- 王永明, 谢碧文, 王芳, 等. 2014. 沱江宽体华鳅繁殖特性. *动物学杂志*, 49(5): 699–706.
- 武云飞, 康斌, 门强, 等. 1999. 西藏鱼类染色体多样性的研究. *动物学研究*, 20(4): 258–264.
- 颀江, 覃川杰, 侯平, 等. 2013. 沱江宽体沙鳅和中华沙鳅亲脂脂肪酸组成分析. *江苏农业科学*, 41(5): 290–292.
- 印杰, 赵振山, 陈小奇, 等. 2005. 二倍体泥鳅和四倍体泥鳅染色体组性比较. *水生生物学报*, 29(4): 469–472.
- 余先觉, 周墩, 李渝成, 等. 1989. 中国淡水鱼类染色体. 北京: 科学出版社, 2–3.
- 岳兴建, 王芳, 谢碧文, 等. 2011. 沱江流域宽体沙鳅的胚胎发育. *四川动物*, 30(3): 390–393.
- 岳兴建, 邹远超, 刘佳佳, 等. 2013. 中华沙鳅染色体核型. *四川动物*, 32(3): 385–388.
- 赵书涛, 武晓东, 王策, 等. 2011. 流式细胞仪的原理、应用及最新进展. *现代生物医学进展*, 11(22): 4378–4381.
- 周露, 陈瑜, 王永明. 2015. 宽体沙鳅精子生物学特性及水体和 pH 对其活力的影响. *水产学杂志*, 28(5): 8–11.
- 周小云. 2009. 湖北省多倍体泥鳅分布格局及泥鳅育种基础研究. 武汉: 华中农业大学博士学位论文, 105–112.