

兰州鲇染色体组型

王绿洲^① 李 蕾^① 李 涛^① 何 力^② 甘金花^②
杨娟宁^① 周继术^③ 周剑光^② 杨元昊^{①*}

① 陕西省水产研究所, 中国水产科学研究院黄河水产研究所 西安 710086; ② 中国水产科学研究院长江水产研究所
武汉 430223; ③ 西北农林科技大学动物科技学院 杨凌 712100

摘要: 本研究的目的在于认识兰州鲇 (*Silurus lanzhouensis*) 染色体组特征, 为兰州鲇的细胞遗传学和人工育种研究提供基础参考资料。以兰州鲇培养肾细胞为材料, 采用空气干燥法制备染色体玻片标本, 分析了兰州鲇的染色体组型。兰州鲇的染色体数 $2n = 58$, 核型公式为 $2n = 20m + 18sm + 16st + 4t$, 染色体总臂数 (NF) 为 96。通过比较分析认为, 兰州鲇在鲇属鱼类中属于较为原始的类群。

关键词: 兰州鲇; 染色体数目; 核型

中图分类号: Q953 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2015) 02-272-05

Karyotype of *Silurus lanzhouensis*

WANG Lü-Zhou^① LI Lei^① LI Tao^① HE Li^② GAN Jin-Hua^② YANG Juan-Ning^①
ZHOU Ji-Shu^③ ZHOU Jian-Guang^② YANG Yuan-Hao^{①*}

① Fisheries Research Institute of Shaanxi Province, Yellow River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Xi'an 710086; ② Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223; ③ College of Animal Science and Technology, Northwest Agriculture and Forestry University, Yangling 712100, China

Abstract: This study aimed to understand the chromosome characteristics of *Silurus lanzhouensis*, therefore providing basic data for cytogenetic and artificial breeding studies of this species. Glass specimens were prepared by utilizing cultured kidney cells of *S. lanzhouensis* and air-drying technique, and observed under microscope. The chromosomes were classified and grouped by Levan's method (1964). The results show that *S. lanzhouensis* has $2n = 58$ chromosomes; the karyotype formula is $2n = 20m + 18sm + 16st + 4t$; the total number of arms (NF) is 96 (Table 1 and Fig. 1). The chromosomes vary greatly in shape and size (Fig. 1). Second constriction could only be observed on chromosome 20 (indicated by an arrow in Fig. 1) while no satellite was observed on any chromosome. Compared with the karyotype of other fishes, it is concluded that *S. lanzhouensis* could be a more ancestral group among fishes of *Silurus*.

Key words: *Silurus lanzhouensis*; Chromosome number; Karyotype

基金项目 陕西省科学技术研究发展计划项目 (No. 2011K01-13), 陕西省水利科技项目 (No. 2011-12);

* 通讯作者, E-mail: yangyh_010@yahoo.com.cn;

第一作者介绍 王绿洲, 男, 助理研究员; 研究方向: 渔业生态、水产品质量安全; E-mail: wanglvzhou58@sina.com.

收稿日期: 2014-07-04, 修回日期: 2014-12-12 DOI: 10.13859/j.cjz.201502013

兰州鲇 (*Silurus lanzhouensis*) 隶属于鲇形目鲇科鲇属, 俗称绵鱼、大嘴娃, 是分布在我国黄河中上游的中国特有的世界濒危鱼类 (陕西省水产研究所等 1992), 已被《中国物种红色名录》列为濒危物种 (汪松等 2004)。兰州鲇野生种群数量日益减少, 资源量急剧下降, 受到国内学者的关注, 相继对兰州鲇个体繁殖力 (史丽娜等 2008)、肌肉组织成分和饲料 (杨元昊等 2009)、胚胎发育以及人工繁殖技术 (吴旭东等 2011) 等方面进行了研究。

核型 (染色体组型) 是染色体组在有丝分裂中期的表型, 具有物种的特异性并反映了物种的亲缘关系、演化历史 (余先觉等 1989), 开展染色体核型分析可进行种质资源及保护研究、鉴定远缘杂交以及了解遗传变异规律、发育机制、物种起源等 (吴仲庆 2000, 李宁 2003), 在进一步开展兰州鲇系统发育学、亲缘地理学、保护遗传学等方面的研究具有十分重要的意义。

目前关于我国鲇科鱼类染色体组型的研究, 主要集中在南方大口鲇 (*S. soldatovi meridonalis*) 等养殖品种 (洪云汉等 1983, 邹桂伟等 1997)。本文通过对兰州鲇染色体组型进行分析, 旨在为兰州鲇的细胞遗传学和人工育种研究提供理论依据。

1 材料与方法

标本鱼采自黄河陕西洽川段, 共计 15 尾, 体重为 642.4 ~ 1 046.6 g, 体长为 43.5 ~ 51.0 cm。采用肾细胞培养法和空气干燥法制备染色体玻片标本 (李渝成等 1982), 并稍加改进。取出肾, 用组织搅拌器将其捣碎, 收集细胞悬液, 以 1 000 r/min 离心 10 min 去除上清液。将沉淀物移入培养瓶中, 再加入适量含有小牛血清 (北京索莱宝科技有限公司) 的培养液, 用注射器滴加 1 g/L 的 PHA (Sigma-Aldrich, 0.7%生理盐水配制), 100 ml 培养液中滴加 2 ~ 4 ml 上述 PHA。培养箱中 29℃ 培养 72 h, 期间每天摇动 1 ~ 2 次, 终止培养前的 3 h, 加入秋

水仙素, 使其终浓度达到 0.2 ~ 0.3 mg/L。将培养液倒入 10 ml 离心管中, 以 1 000 r/min 离心 10 min, 弃去上清液。下沉的细胞用 0.375 mol/L 的 KCl 在 37℃ 下低渗处理 50 min。用卡诺氏固定液 (甲醇和冰醋酸按 3 : 1 混合) 反复固定 3 次。将固定后的样品置于玻片上, 可用镊子尖端轻轻挤压, 使细胞随滴加的固定液扩散到玻片上。干后的玻片用 5% 的 Giemsa (磷酸缓冲液配制, pH 7.0) 染色 20 min, 用清水冲去多余的染色液, 静置干燥。利用显微镜 (Olympus MS800 型) 对染色体制片进行观察, 选择染色体分散良好的中期分裂相进行计数, 统计 100 个分裂相, 以确定染色体数目, 同时选择染色体数目完整、收缩适中和形态清晰的分裂相 10 个, 进行显微摄影并放大, 剪贴、测量, 计算其长短臂比、相对长度、着丝点指数等参数。依据 Levan 等 (1964) 的分类标准进行染色体的分类和归组, 臂比为 1.00 ~ 1.70 者为中部着丝粒染色体 (m), 1.71 ~ 3.00 者为亚中部着丝粒染色体 (sm), 3.01 ~ 7.00 者为亚端部着丝粒染色体 (st), 7.01 ~ ∞ 者为端部着丝粒染色体 (t)。

2 结果

通过计数 100 个中期分裂相染色体数 (图 1), 得出其数值波动范围为 52 ~ 58, 众数为 58 (占 93%), 可以确定兰州鲇 $2n = 58$ 。根据 10 个中期分裂相染色体测量结果, 确定其染色体核型为 $2n = 20m + 18sm + 16st + 4t$ 。染色体总臂数 $NF = 96$ (m 和 sm 的染色体臂数记为 2, st 和 t 的染色体臂数记为 1)。各染色体参数详见表 1。

通过分析按中部着丝粒染色体 (m)、亚中部着丝粒染色体 (sm)、亚端部着丝粒染色体 (st)、端部着丝粒染色体 (t) 的顺序制成的染色体组型图 (图 1), 各染色体间的形态和大小差别较大, 其中第 20 对染色体 (st) 的长臂可见明显的次缢痕 (图 1b 中箭头所示), 而在其他染色体上则未观测到。此外, 所有的染色体

表 1 兰州鲇染色体相对长度、臂比及分组类别

Table 1 Relative length, arm ratio and classified groups of chromosomes of *Silurus lanzhouensis*

序号 No.	相对长度 Relative length of chromosome	臂比 Arm ratio	染色体类型 Classification of chromosome	序号 No.	相对长度 Relative length of chromosome	臂比 Arm ratio	染色体类型 Classification of chromosome
1	4.63 ± 0.12	1.44 ± 0.01	m	16	3.12 ± 0.01	2.02 ± 0.32	sm
2	4.42 ± 0.15	1.38 ± 0.07	m	17	2.94 ± 0.02	1.73 ± 0.16	sm
3	4.34 ± 0.19	1.31 ± 0.03	m	18	2.92 ± 0.14	1.78 ± 0.26	sm
4	4.21 ± 0.02	1.07 ± 0.01	m	19	2.89 ± 0.05	1.80 ± 0.01	sm
5	4.14 ± 0.03	1.13 ± 0.12	m	20	4.03 ± 0.30	3.11 ± 0.07	st
6	4.06 ± 0.05	1.25 ± 0.02	m	21	3.93 ± 0.01	4.37 ± 0.29	st
7	3.95 ± 0.16	1.30 ± 0.03	m	22	3.52 ± 0.19	3.28 ± 0.03	st
8	3.56 ± 0.09	1.19 ± 0.01	m	23	3.19 ± 0.31	3.18 ± 0.09	st
9	3.48 ± 0.09	1.46 ± 0.06	m	24	2.96 ± 0.04	3.21 ± 0.23	st
10	3.28 ± 0.12	1.28 ± 0.09	m	25	2.95 ± 0.01	3.68 ± 0.42	st
11	3.78 ± 0.03	2.19 ± 0.19	sm	26	2.81 ± 0.05	3.51 ± 0.29	st
12	3.58 ± 0.07	2.09 ± 0.03	sm	27	2.54 ± 0.12	3.34 ± 0.02	st
13	3.36 ± 0.08	1.75 ± 0.09	sm	28	2.77 ± 0.05	8.64 ± 0.50	t
14	3.35 ± 0.17	2.02 ± 0.25	sm	29	2.07 ± 0.01	8.11 ± 0.44	t
15	3.24 ± 0.06	1.76 ± 0.05	sm				

臂比 = 长臂长度/短臂长度；相对长度为每条染色体的长度占单倍体组总长度的百分比。

Arm ratio = long arm/short arm; relative length of chromosome represents the percentage of the length of each chromosome accounts for the total length of the haploid set.

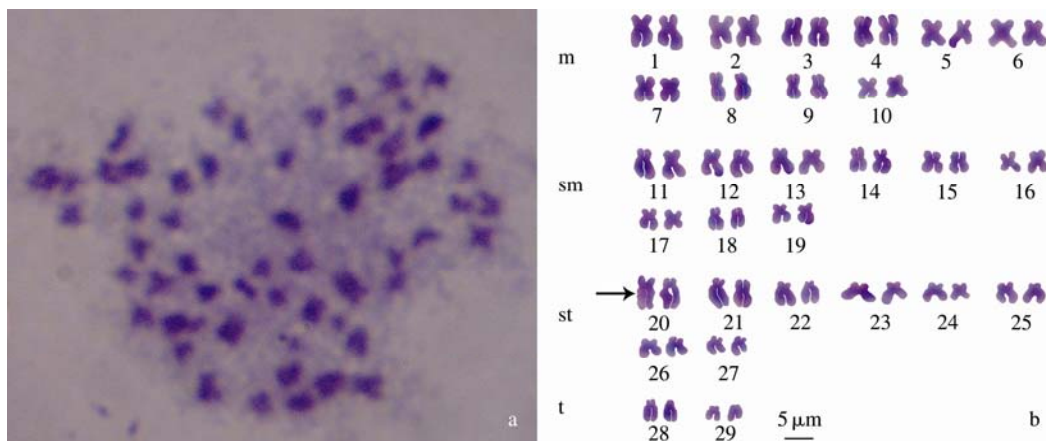


图 1 兰州鲇染色体中期分裂相 (a) 和染色体核型 (b)

Fig. 1 Metaphase chromosome (a) and karyotypes (b) of *Silurus lanzhouensis*

箭头指示次缢痕。The arrow indicates the secondary constriction.

上都没有发现随体。

3 讨论

兰州鲇染色体数 $2n = 58$, 这与已经报道的鲇 (*S. asotus*) 和南方大口鲇染色体数一致 (洪云汉等 1983, 邹桂伟等 1997)。但与鲇属其他鱼类相比, 兰州鲇的中部着丝染色体或亚中部着丝染色体较少, 而亚端部着丝染色体更多些, 这就使得兰州鲇具有较小的染色体总臂数 NF 值。此外, 兰州鲇的染色体上也未发现明显的随体, 次缢痕出现频率也较低, 均与鲇或南方大口鲇有较大区别 (洪云汉等 1983, 邹桂伟等 1997)。而与西辽河的鲇相比, 也没有发现染色体组中有特别粗大的染色体 (温海深等 1999)。由于染色体是生物遗传信息的载体, 具有相对的稳定性。染色体组型的变化, 意味着基因的增减和基因组的变化, 往往与种的分化相关 (洪云汉等 1983)。兰州鲇与鲇属其他鱼类在染色体核型上的差异性表明, 它们之间的亲缘关系较远。

根据现代鱼类核型演化的理论, 染色体结构的重排可以引起染色体总臂数 NF 值的变化。在染色体数 $2n$ 值相同的分类群之间, 具有较多端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的是特化类群, 即臂数多的类群比臂数少的类群更为特化 (李树深 1981, 李康等 1986, 余先觉等 1989)。比较兰州鲇与鲇属其他鱼类, 发现鲇的染色体总臂数 NF 值最大 (102) (洪云汉等 1983, 温海深等 1999), 而兰州鲇的染色体总臂数 NF 值最小。这说明鲇属鱼类中鲇的进化程度较高, 适应性强, 而兰州鲇则更为原始。鲇在我国的分布十分广泛, 除新疆和西藏外, 其他水域都有分布 (孟庆闻等 1995), 在适应不同水域生活环境的过程中, 鲇在选择压力的作用下其进化速度必然会加快 (法兰克汉等 2005)。而兰州鲇仅可见于黄河中上游, 再加上其作为凶猛肉食性鱼类, 在水中少有天敌, 因而所受到的选择压力要小得多, 可能保留了更多物种分化之初的原始性状。

通过对兰州鲇染色体组型的研究, 显示兰州鲇属于进化较为低等的鲇属鱼类, 由于未经人工选择干预, 其野生种群中积累的大量遗传变异很可能得以保留, 这就为兰州鲇的选择育种和杂交育种提供了丰富的遗传资源。王朝明等 (2004) 报道了南方大口鲇 (♀) 与鲇 (♂) 的杂交试验, 发现二者不存在繁殖障碍或繁殖障碍较小, 杂交后代具有类似母本的快速生长优势。杂交优势的遗传基础是杂交基因的杂合性, 亲缘关系愈远, 所产生的杂种优势通常愈大 (方宗熙等 1979)。本研究通过分析认为, 兰州鲇与鲇属其他鱼类亲缘关系较远, 因此若将其与鲇或南方大口鲇等进行杂交, 可能杂种优势会更明显。

由于鱼类染色体一般较小, 不同作者对同一种鱼所制作的染色体标本质量不同, 或存在测量误差等, 且即使是同一作者对同种鱼的核型分析先后也有可能有所调整 (邹桂伟等 1997)。为获得更加准确深入的兰州鲇染色体研究资料, 有必要采用染色体带型分析和荧光原位杂交等更为先进的分子细胞遗传学技术。而为了更有效地评估、保护与适度开发兰州鲇野生群体遗传资源, 未来还应开发微卫星、线粒体 DNA 等分子标记。

参考文献

- Levan A, Fredga K, Sandberg A A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52(2): 201-220.
- 法兰克汉 R, 巴卢 J D, 布里斯科 D A, 等. 2005. 保育遗传学导论. 北京: 科学出版社, 81-95.
- 方宗熙, 江乃萼. 1979. 遗传与育种. 北京: 科学出版社, 155-161.
- 洪云汉, 周瞰. 1983. 两种鲶鱼的染色体组型研究. *武汉大学学报: 自然科学版*, (3): 106-108, 128.
- 李康, 李渝成, 桂建芳, 等. 1986. 中国鲤科鱼类染色体组型的研究 IX: 鲇亚科 9 种鱼和鲴亚科 1 种鱼的染色体组型. *水生生物学报*, 10(2): 189-193.
- 李宁. 2003. 动物遗传学. 北京: 中国农业出版社, 339.
- 李树深. 1981. 鱼类细胞分类学. *生物科学动态*, (2): 8-15.
- 李渝成, 李康, 周瞰. 1982. 黄鲢的染色体组型研究. *武汉大学学*

报: 自然科学版, (1): 55-58.

孟庆闻, 苏锦祥, 缪学祖. 1995. 鱼类分类学. 北京: 中国农业出版社, 282-290.

陕西省水产研究所, 陕西师范大学生物系. 1992. 陕西鱼类志. 西安: 陕西科学技术出版社, 101-122.

史丽娜, 张奇, 吴旭东, 等. 2008. 兰州鲌个体繁殖力的研究. 甘肃农业大学学报, 43(1): 67-70.

汪松, 解焱. 2004. 中国物种红色名录: 第一卷 红色名录. 北京: 高等教育出版社, 165.

王朝明, 邹桂伟, 罗相忠, 等. 2004. 大口鲌(♀)与鲌鱼(♂)的杂交试验. 淡水渔业, 34(6): 41-43.

温海深, 张永春, 王亮, 等. 1999. 西辽河鲌鱼染色体组型研究. 哲里木畜牧学院学报, 9(2): 11-14.

吴旭东, 连总强, 侯玉霞, 等. 2011. 兰州鲌野生群体和人工繁育群体遗传结构的比较研究. 淡水渔业, 41(3): 34-38.

吴仲庆. 2000. 水产生物遗传育种学. 厦门: 厦门大学出版社, 7-25.

杨元昊, 李维平, 龚月生, 等. 2009. 兰州鲌肌肉生化成分分析及营养学评价. 水生生物学报, 33(1): 54-60.

余先觉, 周敦, 李康. 1989. 中国淡水鱼类染色体. 北京: 科学出版社, 11-18.

邹桂伟, 潘光碧, 梁拥军, 等. 1997. 大口鲌染色体组型和 DNA 含量的研究. 中国水产科学, 4(5): 96-99.

《动物学杂志》第十二届编辑委员会

名誉主编: 马 勇

主 编: 宋延龄

副 主 编: 赵 勇 彭景榭 孙悦华 梁 冰 (常务)

编 委: (以姓氏笔画为序)

丁长青 马 勇 马志军 马建章 王德华 计 翔 石树群 边疆晖 刘迺发
 孙青原 孙悦华 宋延龄 宋林生 宋昭彬 张正旺 张明海 张春光 张树义
 张堰铭 李 明 李枢强 李保国 李春旺 李新正 杨增明 陈广文 宛新荣
 郑光美 费 梁 赵 勇 赵亚辉 夏国良 徐宏发 桂建芳 梁 冰 彭贤锦
 彭景榭 曾治高 蒋志刚 蒋学龙 谢 锋 戴家银 魏辅文

编 辑: 梁 冰 尹 航