

## 岱衢洋大黄鱼染色体核型分析

娄剑锋<sup>①</sup> 雷世勇<sup>①</sup> 竺俊全<sup>①\*</sup> 吴雄飞<sup>②</sup>

① 宁波大学教育部应用海洋生物技术重点实验室 浙江宁波 315211; ② 宁波市海洋与渔业研究院 浙江宁波 315012

**摘要:** 为补充岱衢洋海域产大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*) 的细胞遗传学数据, 采用植物血球凝集素 (8 ~ 10  $\mu\text{g/g}$ ) 及秋水仙素 (1 ~ 2  $\mu\text{g/g}$ ) 活体腹腔注射培养, 头肾细胞制片、空气干燥法制作染色体标本, 显微观察象山港网箱养殖的岱衢洋产大黄鱼的染色体核型, 用 Micromesure3.3 软件测量染色体相对长度与臂比。结果显示, 岱衢洋大黄鱼二倍体染色体数目为 48, 核型公式为  $2n = 24st + 24t$ ,  $NF = 48$ , 染色体相对长度最长为 5.53, 最短为 2.60, 未发现异型染色体和随体。本研究的岱衢洋产大黄鱼染色体核型与以往报道的大黄鱼核型存在差异。

**关键字:** 大黄鱼; 染色体; 核型

**中图分类号:** Q952 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2015) 01-148-05

## Chromosome Karyotype of *Pseudosciaena crocea* Daiqu Population

LOU Jian-Feng<sup>①</sup> LEI Shi-Yong<sup>①</sup> ZHU Jun-Quan<sup>①\*</sup> WU Xiong-Fei<sup>②</sup>

① Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology, Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo 315211;

② Ningbo Academy of Oceanology and Fisheries, Ningbo 315012, China

**Abstract:** In order to provide more cytogenetic data of *Pseudosciaena crocea* Daiqu population, the karyotype of net-cultured *P. crocea* in Xiangshan Bay was observed via light microscopy. Phytohemagglutinin (8 - 10  $\mu\text{g/g}$ ) and colchicine (1 - 2  $\mu\text{g/g}$ ) were injected in vivo and kidney cells were subsequently collected. Then, the cells were subjected to low permeating and Carnoy's fixation. Finally, air-drying method was performed to make chromosome samples. The relative length and the arm ratio of chromosomes were measured and calculated using Micromesure3.3 software, and the karyotype was obtained by Photoshop7.0 software. The results showed that the diploid chromosome number of *P. crocea* Daiqu population was  $2n = 48$  and its karyotype formula was  $2n = 24st + 24t$  with  $NF = 48$  (Table 1). The relative length of chromosomes ranged from  $2.60 \pm 0.43$  to  $5.53 \pm 0.70$  (Table 1). Neither sex chromosome nor satellite chromosome was found. In conclusion, the karyotype of *P. crocea* Dai-qu population differed from that of previous reports, which may be due to different geographical populations, or different reproductive groups and generations within the same geographical populations. In the future, it is necessary to

**基金项目** 国家级星火计划项目 (No. 2011GA701001), 浙江省水产新品种选育专项 (No. 2012C12907-8), 宁波市科技计划重大项目 (No. 2011C11005), 宁波市科技创新团队项目 (No. 2011B82018);

\*通讯作者, E-mail: zhujunquan@nbu.edu.cn;

**第一作者介绍** 娄剑锋, 男, 硕士研究生; 研究方向: 海洋生物技术; E-mail: loujianfeng2012@163.com。

收稿日期: 2014-05-07, 修回日期: 2014-09-19 DOI: 10.13859/j.cjz.201501019

thoroughly investigate the chromosome karyotype of *P. crocea* Daiqu population by banding pattern analysis combined with fluorescence *in situ* hybridization (FISH) technique or spectral karyotyping (SKY).

**Key words:** *Pseudosciaena crocea*; Chromosome; Karyotype

染色体组型又称核型, 是细胞染色体所有可量表征的总称, 包括染色体数目、形态、长度及着丝粒位置等。鱼类染色体核型的研究已见较多报道, 同种鱼类的不同种群或群体, 染色体组型可能存在差异 (牛文涛等 2006, Accioly et al. 2008)。大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*) 隶属于鲈形目 (Perciformes) 石首鱼科 (Scieanidae) 黄鱼属, 是我国重要的海洋经济鱼类。有关大黄鱼染色体核型已见报道, 如全成干等 (2000) 和吴建绍等 (2001) 分别研究了厦门火烧屿养殖大黄鱼的核型, 邹曙明等 (2003) 研究了官井洋海域野生大黄鱼的核型, 王德祥等 (2006) 比较分析了不同地理种群大黄鱼核型差异。

2008 年, 宁波市海洋与渔业研究院从岱衢洋海域中街山渔场捕得野生大黄鱼 (2007 世代), 并以为之亲本开展良种选育及扩繁, 于 2009、2011、2013 年分别繁育第 1、第 2、第 3 代。由于大黄鱼育种材料的产地及出生世代与以往不同, 其种质遗传学特性尚未认清。因此, 有必要对岱衢洋产大黄鱼细胞遗传学特征之一的染色体核型进行研究。本文采用植物血球凝集素及秋水仙素活体腹腔注射培养、头肾细胞制片-空气干燥法制作染色体标本, 显微观察分析了象山港网箱养殖的岱衢洋产大黄鱼的染色体核型, 以期对岱衢洋大黄鱼的育种提供细胞遗传学基础资料。

## 1 材料与方 法

### 1.1 材 料

实验用岱衢洋大黄鱼 (第 3 代) 于 2013 年 11 月取自宁波象山港湾苗种有限公司养殖网箱, 雌雄鱼共 5 尾 (3♀, 2♂), 个体重 200 ~ 250 g。

### 1.2 染 色 体 标 本 制 备

采用植物血球凝集素 (phytohemagglutinin, PHA)-秋水仙素活体腹腔注射法制备染色体标本, 即先注射 PHA 8 ~ 10 μg/g, 12 h 后注射秋水仙素 1 ~ 2 μg/g, 2.5 h 后断尾放血, 解剖取头肾, 生理盐水冲洗 2 次, 剪碎后用纱布过滤收集头肾细胞制成细胞悬液。1 000 r/min 离心 8 min, 收集细胞, 经 0.075 mol/L KCl 室温下低渗处理 30 min, 离心, 弃低渗液; 用新配置的卡诺氏液 (甲醇与冰醋酸的体积比为 3 : 1) 固定 3 次, 每次 25 min, 然后滴于预冷的玻片上, 于空气中干燥, 用 10% Giemsa 染液染色 15 min, 双蒸水冲洗, 阴干。

### 1.3 核 型 观 察 分 析

用 Olympus BX-51 显微镜在油镜下观察染色体标本并拍照, 选取清晰分散良好的中期分裂相细胞 100 个 (雌雄鱼各占 50%), 计数染色体数目; 选择部分最佳中期分裂相, 进行染色体核型分析, 用 Micromasure 3.3 软件测量染色体相对长度与臂比, 用 Photoshop 7.0 软件编排染色体。染色体分类参照 Levan 等 (1964) 提出的标准, 即根据臂比将染色体分为 4 类, 臂比 1.00 ~ 1.70 为中部着丝粒染色体 (metacentric chromosome, m), 臂比 1.71 ~ 3.00 为亚中部着丝粒染色体 (submetacentric chromosome, sm), 臂比 3.01 ~ 7.00 为亚端部着丝粒染色体 (subtelocentric chromosome, st), 臂比 ≥ 7.01 为端部着丝粒染色体 (telocentric chromosome, t)。臂比 = 长臂长/短臂长, 染色体相对长度 = (染色体长度/染色体组总长度) × 100%。

## 2 结 果

### 2.1 染 色 体 数 目

雌雄个体的染色体核型未发现差异。观察

计数 100 个岱衢洋大黄鱼染色体中期分裂相 (雌雄鱼各占 50%), 染色体众数为 48 的占分裂相总数的 74%, 染色体数目少于等于 46 的占 12%, 大于等于 50 的占 5%, 为 47 的占 6%, 为 49 的占 3%。由此可以确定, 岱衢洋大黄鱼的 2 倍体染色体数为  $2n = 48$ 。

### 2.2 染色体核型

对形态清晰、着丝点易辨的中期分裂相进行相关测量及统计, 获得岱衢洋大黄鱼染色体相对长度和臂比数据 (表 1)。岱衢洋大黄鱼染色体具有 12 对亚端着丝粒染色体 (st) 和 12 对端着丝粒染色体 (t), 其核型公式为  $2n = 48$

$= 24st + 24t$ ,  $NF = 48$ 。染色体相对长度最长为 5.53, 最短为 2.60, 未发现异型染色体和随体。染色体中期分裂相及核型图谱见图 1。

### 3 讨论

鱼类染色体核型结构及其演化情况比较复杂, 一种鱼类的核型特征即染色体数目、形态及行为的稳定是相对的, 同一科属近缘种的核型不一定相似, 同种鱼类的染色体数目或形态也会出现差异。余先觉 (1989) 总结分析 200 多种淡水鱼类核型, 有 47 种存在种内核型差异; 卓孝磊等 (2007) 综述分析 77 种海水鱼类

表 1 岱衢洋大黄鱼染色体相对长度和臂比

Table 1 The relative length and arm ratio of chromosomes in *Pseudosciaena crocea*

编号 No.	相对长度 Relative length	臂比 Arm ratio	类型 Type	编号 No.	相对长度 Relative length	臂比 Arm ratio	类型 Type
1	5.07 ± 0.42	4.20 ± 0.09	st	13	5.53 ± 0.70	∞	t
2	4.94 ± 0.47	4.11 ± 0.38	st	14	5.00 ± 0.44	∞	t
3	4.78 ± 0.61	4.10 ± 0.14	st	15	4.83 ± 0.26	∞	t
4	4.62 ± 0.75	5.73 ± 0.42	st	16	4.56 ± 0.48	∞	t
5	4.58 ± 0.14	5.62 ± 0.22	st	17	4.47 ± 0.37	∞	t
6	4.47 ± 0.85	4.00 ± 0.23	st	18	4.38 ± 0.47	∞	t
7	4.39 ± 0.21	3.98 ± 0.32	st	19	4.29 ± 0.72	∞	t
8	4.23 ± 0.80	4.62 ± 0.64	st	20	3.87 ± 0.54	∞	t
9	3.98 ± 0.57	3.85 ± 0.53	st	21	3.55 ± 0.49	∞	t
10	3.55 ± 0.69	4.95 ± 0.30	st	22	3.11 ± 0.78	∞	t
11	3.32 ± 0.36	3.71 ± 0.50	st	23	2.91 ± 0.47	∞	t
12	2.92 ± 0.42	3.28 ± 0.15	st	24	2.60 ± 0.43	∞	t

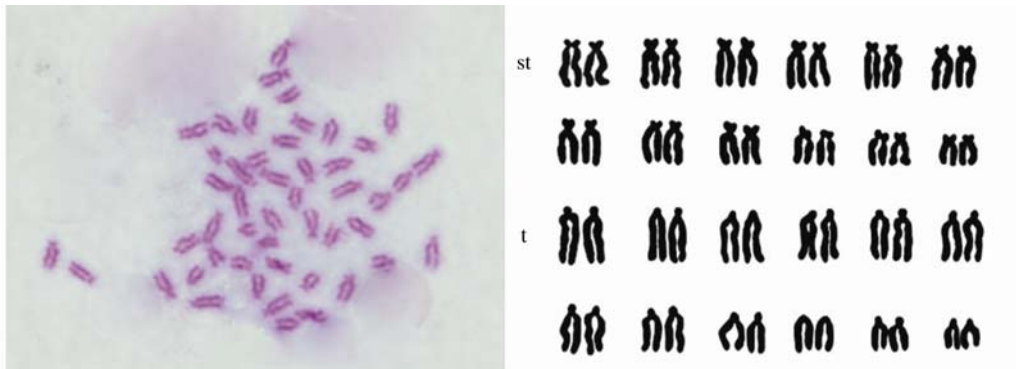


图 1 岱衢洋大黄鱼染色体中期分裂相及核型

Fig. 1 The metaphase chromosomes and karyotype of *Pseudosciaena crocea*

核型, 有 9 种存在种内核型差异。在石首鱼科中, 大部分鱼类染色体数目和结构都高度保守 ( $2n = 48t$ ) (Tripathy et al. 1988, Khuda-Bukhsh et al. 1990, 王金星等 1994, 尤锋 1998, 王德祥等 2002, 王世锋等 2003), 但亦有少数鱼类核型存在种内差异。如弗氏绒须石首鱼 (*Micropogonias furnieri*) 核型有  $2n = 6st + 42t$  (Brum 1996) 及  $2n = 48t$  (Pereira et al. 1988) 两种类型; 银色贝氏石首鱼 (*Bairdiella chrysoura*) 核型有  $2n = 48t$  (LeGrande et al. 1988) 及  $2n = 52t$  (Gregory et al. 1980), 染色体数目有差异; 云纹犬牙石首鱼 (*Cynoscion nebulosus*) 核型有  $2n = 48 = 2st + 46t$  (Fitzsimons et al. 1985) 及  $2n = 50 = 50t$  (Arkhipchuk 1999), 染色体数目及形态均有差异。大黄鱼核型也存在种内差异现象 (表 2)。

田明诚等 (1962) 把大黄鱼划分为 3 个地理种群——岱衢族 (分布于黄海南部至东海中部)、闽粤东族 (分布于东海南部、台湾海峡和南海北部) 和瓯州族 (分布于珠江口以西至琼州海峡的南海区)。不同研究者报道的闽粤东族大黄鱼核型, 染色体数一致, 染色体配组和臂数也相似, 只是分组确定有些差异。舟山养殖大黄鱼 (王德祥等 2006) 和本研究的象山港养殖的岱衢洋大黄鱼都隶属岱衢族大黄鱼, 虽与

闽粤东族大黄鱼 (全成干等 2000, 吴建绍等 2001, 邹曙明等 2003, 王德祥等 2006) 染色体数目相同, 但染色体形态差异较大。徐革锋等 (2009) 研究发现, 牡丹江和鸭绿江流域细鳞鱼 (*Brachymystax lenok*) 染色体核型存在明显差异, 认为长期的地理隔离是造成染色体核型差异的主要原因。周宸 (2010) 报道的厦门鼓浪屿纹缟虾虎鱼 (*Tridentiger trigonocephalus*) 核型与毛连菊等 (1993) 报道的大连黑石礁纹缟虾虎鱼及费志清等 (1987) 报道的舟山沿海纹缟虾虎鱼核型组成差别较大, 认为可能是由于它们的栖息场所不同以及海洋生态系统的多样性, 造成其染色体变异。大黄鱼不同地理种群生活在不同的纬度, 形态特征和种群结构也存在差异, 这可能是导致岱衢族大黄鱼与闽粤东族大黄鱼染色体差异显著的重要原因之一。而本研究的岱衢洋大黄鱼与舟山养殖大黄鱼核型间的差异可能是由于两个群体的起源亲本不同——即属于岱衢族大黄鱼种群不同的生殖群体及不同的世代。今后, 有必要通过带型分析, 结合荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization, FISH)、光谱核型分析 (spectral karyotyping, SKY) 等手段深入研究大黄鱼染色体, 进一步阐释大黄鱼染色体核型特征差异。

表 2 不同来源大黄鱼染色体核型比较

Table 2 The comparison of chromosome karyotypes among different populations of *Pseudosciaena crocea*

样本来源 Sample source	起源群体 Origin population	取样组织 Tissue	核型 Chromosome formula	文献 Reference
福建厦门火烧屿养殖大黄鱼 <i>P. crocea</i> cultured in Huoshao Island, Fujian Province	闽粤东族 Minyue stock	头肾 Head-kidney	$2n = 48 = 2st + 46t$ $2n = 48 = 48t$	全成干等 2000 吴建绍等 2001
福建官井洋野生大黄鱼 Wild <i>P. crocea</i> in Guanjingyang, Fujian Province	闽粤东族 Minyue stock	头肾 Head-kidney	$2n = 48 = 48t$	邹曙明等 2003
福建连江养殖大黄鱼 <i>P. crocea</i> cultured in Lianjiang, Fujian Province	闽粤东族 Minyue stock	头肾 Head-kidney	$2n = 48 = 6st + 42t$	王德祥等 2006
浙江舟山养殖大黄鱼 <i>P. crocea</i> cultured in Zhoushan, Zhejiang Province	岱衢族 Daiqu stock	头肾 Head-kidney	$2n = 48 = 6m + 6sm + 36t$	王德祥等 2006
浙江象山港养殖大黄鱼 <i>P. crocea</i> cultured in Xiangshan Bay, Zhejiang Province	岱衢族 Daiqu stock	头肾 Head-kidney	$2n = 48 = 24st + 24t$	本文

## 参 考 文 献

- Accioly I V, Molina W F. 2008. Cytogenetic studies in Brazilian marine Sciaenidae and Sparidae fishes (Perciformes). *Genetics and Molecular Research*, 7(2): 358–370.
- Arkipchuk V V. 1999. Nucleolar variations during the ontogenesis of diploid and tetraploid cyprinid species. *Journal of Fish Biology*, 54(3): 513–524.
- Brum M J I. 1996. Cytogenetic studies of Brazilian marine fish. *Brazilian Journal of Genetics*, 19(3): 421–427.
- Fitzsimons J M, Rogers J S, Cashner R C. 1985. Karyologic and electrophoretic studies of the genus *Cynoscion* (Sciaenidae, Perciformes) from the northern Gulf of Mexico. *Japanese Journal of Ichthyology*, 31(4): 444–448.
- Gregory P E, Howard-Peebles P N, Ellender D R. 1980. C-banding of chromosomes from three established marine fish cell lines. *Copeia*, 1980(3): 545–547.
- Khuda-Bukhsh A R, Nayak K. 1990. Karyotypic studies in six species of brackish water fishes from India. *Kromosomo*, 58(2): 1955–1960.
- LeGrande W H, Fitzsimons J M. 1988. Chromosome numbers of some Gulf Coast sciaenid fishes. *Copeia*, 1988(2): 491–493.
- Levan A, Fredga K, Sandberg A A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52(2): 201–220.
- Pereira A, Bedó G, Pereira J. 1988. Estudio cromosómico preliminar de *Micropogonias furnieri* Desmarest, 1823 (Perciformes, Sciaenidae). *Boletín de la Sociedad Zoológica del Uruguay*, (4): 23–26.
- Tripathy N K, Das C C. 1988. Karyotypes of five indian perciform fishes. *Copeia*, 1988(1): 231–233.
- 费志清, 陶荣庆. 1987. 虾虎鱼亚目四种鱼的染色体组型的初步研究. *浙江水产学院学报*, 6(2): 127–131.
- 毛连菊, 杨良滨, 秦克静. 1993. 两种虾虎鱼染色体核型的比较研究. *大连水产学院学报*, 8(1): 1–8.
- 牛文涛, 蔡泽平. 2006. 中国海水鱼类核型研究概述. *厦门大学学报: 自然科学版*, 45(增刊 2): 125–131.
- 全成干, 王军, 丁少雄, 等. 2000. 大黄鱼染色体核型研究. *厦门大学学报: 自然科学版*, 39(1): 107–110.
- 田明诚, 徐恭昭, 余日秀. 1962. 大黄鱼形态特征的地理变异和地理种群问题. *海洋学集刊*. 北京: 科学出版社, 79–97.
- 王德祥, 苏永全, 王世峰, 等. 2006. 不同地理种群大黄鱼染色体核型的比较研究. *海洋学报*, 28(6): 176–178.
- 王德祥, 王军, 郭丰, 等. 2002. 鲈状黄姑鱼染色体核型的研究. *海洋科学*, 26(11): 68–70.
- 王金星, 赵小凡, 王相民, 等. 1994. 鲱形目和鲈形目七种鱼的核型分析. *动物学研究*, 15(2): 76–79.
- 王世峰, 王德祥, 苏永全, 等. 2003. 双棘黄姑鱼染色体组型分析. *厦门大学学报: 自然科学版*, 42(5): 682–684.
- 吴建绍, 林琪, 曾志南. 2001. 大黄鱼 (*Pseudosciaena crocea*) 的染色体研究. *福建水产*, 4: 60–63.
- 徐革锋, 牟振波, 薛淑群, 等. 2009. 不同流域细鳞鱼染色体遗传多态性分析. *水生生物学报*, 35(5): 975–979.
- 尤锋, 刘静, 徐成. 1998. 美国红鱼 (*Sciaenops ocellatus*) 的核型研究. *海洋科学*, 2: 51–53.
- 余先觉. 1989. 中国淡水鱼类染色体. 北京: 科学出版社, 11–18.
- 周宸. 2010. 2种虾虎鱼染色体的核型分析. *南方水产*, 6(4): 72–76.
- 卓孝磊, 邹记兴. 2007. 我国海水鱼类核型及染色体显带研究进展. *热带海洋学*, 26(5): 73–80.
- 邹曙明, 李思发, 赵金良, 等. 2003. 福建官井洋海区大黄鱼的染色体核型分析. *上海水产大学学报*, 12(2): 179–181.