

鲀形目 3 种鱼的染色体组型分析

舒 琥^① 蔡晓阅^① 刘 锋^① 张海发^② 王云新^②

(^① 广州大学生命科学学院 广州 510006; ^② 广东省大亚湾水产试验中心 惠州 516081)

摘要: 采用胸腔注射植物血球凝集素 (phytohemagglutinin, PHA) 及秋水仙素溶液, 取活体头肾细胞经低渗、固定、空气干燥法, 分析比较了中华单角鲀 (*Monacanthus chinensis*)、黄鳍东方鲀 (*Takifugu xanthopterus*)、红鳍东方鲀 (*T. rubripes*) 的核型。结果表明 3 种海水鱼中期染色体均为二倍体, 未发现异型性染色体、随体和次缢痕。其核型如下: 中华单角鲀的核型为 $2n = 34 (34t)$, 臂数: $NF = 34$; 黄鳍东方鲀的核型为 $2n = 44 (12m + 8sm + 24t)$, 臂数: $NF = 64$; 红鳍东方鲀的核型为 $2n = 44 (14m + 6sm + 24t)$, 臂数: $NF = 64$ 。中华单角鲀的核型与后两者存在较大差异。同时, 将此 3 种鱼的核型与前人报道的其他鲀形目鱼类核型作了比较。

关键词: 鲀形目; 染色体; 核型

中图分类号: Q959.483 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2010)02-101-06

Karyotypes Analysis for Three Species of Tetraodontiformes Fishes

SHU Hu^① CAI Xiao-Yue^① LIU Feng^① ZHANG Hai-Fa^② WANG Yun-Xin^②

(^① School of Life Science, Guangzhou University, Guangzhou 510006;

^② Guangdong Daya Bay Fisheries Development Center, Huizhou 516081, China)

Abstract: The karyotypes of three species of Tetraodontiformes fishes were analyzed. The PHA and colchicine were injected *in vivo*, and kidney cells were collected and treated with lower osmotic pressure and air-drying technique. The results showed that these three marine species had diploid chromosome karyotypes, and all did not contain satellite chromosome, secondary constrictions and sex chromosome. The karyotype formula were as follows: the karyotype of *Monacanthus chinensis* was $2n = 34, 34t, NF = 34$; the karyotype of *Takifugu xanthopterus* was $2n = 44, 12m + 8sm + 24t, NF = 64$; and the karyotype of *T. rubripes* was $2n = 44, 14m + 6sm + 24t, NF = 64$; We also compared the karyotypes of the related fishes in the order of Tetraodontiformes.

Key words: Tetraodontiformes; Chromosome; Karyotype

染色体是遗传物质的主要载体, 特定的生物体具有特定数目、形态特征的染色体。研究鱼类的染色体, 对研究鱼类的遗传变异、分类、系统演化、性别决定、杂交育种以及应用生物工程技术育种等均有重要意义。目前, 国内外对鱼类染色体组型的研究主要是针对淡水鱼类^[1], 关于海水鱼类的核型研究开展得较少。据记载, 分布在我国海域的鱼类有近 3 100 种。迄今为止, 我国已进行过染色体组型研究的鱼类约为 90 种^[2], 约占我国海水鱼类的 2.9%,

且分散又不系统。因此有必要加强这方面的研究工作。

鲀形目是比较特化的真骨鱼类, 我国沿海

基金项目 广东省科技计划项目 (No. 200651900028), 广州市属高校科技计划项目 (No. 2037), 广州市教育局高校校外实习基地项目 (No. 90-2040), 广州大学产学研基金、创新团队基金项目;

第一作者介绍 舒琥, 男, 教授; 研究方向: 鱼类生理生态与发育生物学; E-mail: shuhu001@126.com.

收稿日期: 2009-08-06, 修回日期: 2009-11-09

分布较广,具有较高的经济价值。Nelson 将鲀形目分为两个亚目,共 339 种,我国有鲀形目鱼类 131 种^[3]。其中,有核型报道的种类约 10 余种^[2,4-11]。本文报道了广东近海 3 种鲀形目鱼类的染色体组型:中华单角鲀(*Monacanthus chinensis*)、黄鳍东方鲀(*Takifugu xanthopterus*)和红鳍东方鲀(*T. rubripes*),其中,中华单角鲀的核型为国内外首次报道,后 2 种东方鲀用我们人工繁殖的子一代作材料,以便了解养殖子一代核型与野生种类的差异。文章在对鲀形目 3 种鱼类的核型进行比较分析的同时,对其相关种类的核型亲缘关系进行了初步探索,为深入进行鲀形目鱼类种质鉴定及遗传资源保护提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材料 实验用的黄鳍东方鲀与红鳍东方鲀来自广东省大亚湾水产试验中心人工繁殖的子一代,各 10 尾,鱼体质量为 50 ~ 100 g;中华单角鲀 8 尾购于惠州大亚湾澳头码头,鱼体质量为 20 ~ 80 g。实验前,所有鱼均暂养在广东大亚湾水产试验中心待用。

1.2 方 法

1.2.1 前处理 参照林义浩^[12]、舒琰^[13]等方法稍加修改,实验鱼胸腔注射植物血球凝集素(PHA),剂量按照每尾鱼体质量的 12 $\mu\text{g/g}$ 一次注射,22 h 后注射秋水仙素,剂量为每尾鱼体质量的 2.5 $\mu\text{g/g}$,3 h 后断尾放血 20 ~ 30 min。

1.2.2 制备肾细胞悬液 排尽血液后取出头肾组织,于 0.8% 的生理盐水中清洗 2 ~ 3 遍,除去血块及其他组织,置于盛有少量生理盐水的培养皿中,用镊子充分拉扯、分散头肾组织,然后用 300 目的筛网过滤到另一洁净培养皿,再用吸管移入 10 ml 刻度离心管中,加入适量生理盐水,用吸管吹打使溶液均匀,制成细胞悬液。

1.2.3 低渗处理 取细胞悬液以 1 000 r/min 离心 8 min,弃上清液,收集细胞。然后加 0.075 mol/L KCl 低渗液适量,打匀后放入 37℃

恒温水浴箱中低渗 30 min,1 000 r/min 离心 8 min。

1.2.4 固定 收集低渗后的细胞,加卡诺氏固定液(甲醇与冰醋酸的体积比为 3:1 配制,现用现配)适量,吹打均匀后室温静置 30 min 固定,1 000 r/min 离心 8 min,离心后再固定,重复 3 次。

1.2.5 制片 第 3 次固定离心后,取出离心管,弃去上清液,重新加入约 1 ml 的固定液,用滴管吹打均匀,用干净的预冷冻玻片滴片,每片 1 ~ 2 滴,滴片后立即在酒精灯火焰上方过火 5 ~ 6 个来回,自然干燥。

1.2.6 染色 待片干后,用 10% Giemsa 液(pH = 6.8,磷酸缓冲液配制)染色 30 min,用蒸馏水充分冲洗,自然干燥后封片。

1.2.7 染色体计数 OLYMPUS(Japan, BX51)显微镜下拍照,选取来自不同个体的 100 个分散均匀的中期分裂相计数,根据众数确定染色体 2n 数目。

1.2.8 核型分析 选取 10 个左右数目完整、分散良好、长度适中(正中期)、着丝点清晰、2 条单体适度分开的中期分裂相放大、测量、计算,按 Levan^[14]的标准对染色体进行配对、分类排列组型,并分析其特征。

2 结 果

2.1 鲀形目 3 种鱼体细胞染色体数 对 100 个左右图像清晰、染色体分散良好的中期分裂相细胞进行计数,取其 2n 数出现最多的为众数。得出黄鳍东方鲀、红鳍东方鲀的染色体众数为 44,中华单角鲀的染色体众数为 34。分别占全部计数细胞的 72.5%、76.8% 和 76.0% (表 1)。

2.2 3 种鲀形目鱼类核型 根据 Levan^[14]的分类标准,对这 3 种海水鱼的细胞中期染色体进行测量及分析。黄鳍东方鲀的核型为 $2n = 44, 12m + 8sm + 24t, NF = 64$,染色体数为 44;红鳍东方鲀的核型为 $2n = 44, 14m + 6sm + 24t, NF = 64$,染色体数为 44;中华单角鲀的核型为 $2n = 34, 34t, NF = 34$,染色体数为 34。未发现

表 1 鲃形目 3 种鱼的染色体数目

Table 1 The number of chromosomes in 3 species of Tetraodontiformes fishes

实验鱼 Fish species	染色体数 (2n) Chromosome number	观察细胞 总数 Cell number	众数出现 频率(%) Occurrence frequency
黄鳍东方鲃 <i>Takifugu xanthopterus</i>	44	102	72.5
红鳍东方鲃 <i>T. rubripes</i>	44	82	76.8
中华单角鲃 <i>Monacanthus chinensis</i>	34	100	76.0

异型性染色体、随体染色体和次缢痕(图 1 ~

3)。核型见表 2。3 种鱼的染色体相对长度和臂比见表 3。

表 2 鲃形目 3 种鱼的核型分析结果

Table 2 Karyotype analyses for 3 species of Tetraodontiformes fishes

物种 Species	2n	核型公式 Karyotype formula	臂数 NF Arm number
黄鳍东方鲃 <i>Takifugu xanthopterus</i>	44	12m + 8sm + 24t	64
红鳍东方鲃 <i>T. rubripes</i>	44	14m + 6sm + 24t	64
中华单角鲃 <i>Monacanthus chinensis</i>	34	34t	34

表 3 鲃形目 3 种鱼的染色体相对长度、臂比及类型

Table 3 The relative length, arm ratio and type in 3 species of Tetraodontiformes fishes

编号 No.	黄鳍东方鲃 <i>Takifugu xanthopterus</i>			红鳍东方鲃 <i>T. rubripes</i>			中华单角鲃 <i>Monacanthus chinensis</i>		
	相对长度 Relative length	臂比 Arm ratio	类型 Type	相对长度 Relative length	臂比 Arm ratio	类型 Type	相对长度 Relative length	臂比 Arm ratio	类型 Type
1	5.64 ± 0.12	1.61 ± 0.09	m	6.12 ± 0.22	1.21 ± 0.02	m	4.48 ± 0.28		t
2	5.02 ± 0.09	1.47 ± 0.12	m	5.68 ± 0.16	1.46 ± 0.07	m	3.90 ± 0.23		t
3	4.81 ± 0.11	1.53 ± 0.07	m	5.20 ± 0.13	1.37 ± 0.03	m	3.75 ± 0.21		t
4	4.77 ± 0.21	1.29 ± 0.16	m	5.12 ± 0.11	1.34 ± 0.05	m	3.61 ± 0.15		t
5	4.35 ± 0.17	1.64 ± 0.11	m	4.96 ± 0.12	1.46 ± 0.03	m	3.45 ± 0.13		t
6	4.07 ± 0.16	1.46 ± 0.13	m	4.72 ± 0.11	1.55 ± 0.09	m	3.22 ± 0.21		t
7	7.71 ± 0.13	2.23 ± 0.15	sm	4.18 ± 0.09	1.18 ± 0.05	m	3.00 ± 0.16		t
8	6.14 ± 0.12	2.09 ± 0.08	sm	8.04 ± 0.25	2.73 ± 0.19	sm	2.92 ± 0.09		t
9	5.28 ± 0.23	2.89 ± 0.21	sm	5.82 ± 0.21	1.76 ± 0.13	sm	2.69 ± 0.11		t
10	4.11 ± 0.08	1.92 ± 0.19	sm	4.84 ± 0.11	2.04 ± 0.16	sm	2.60 ± 0.17		t
11	5.35 ± 0.11		t	5.78 ± 0.15		t	2.52 ± 0.22		t
12	4.91 ± 0.07		t	4.92 ± 0.09		t	2.46 ± 0.18		t
13	4.56 ± 0.14		t	4.70 ± 0.07		t	2.44 ± 0.16		t
14	4.35 ± 0.06		t	4.34 ± 0.03		t	2.37 ± 0.07		t
15	4.21 ± 0.05		t	4.00 ± 0.05		t	2.33 ± 0.09		t
16	4.17 ± 0.11		t	3.82 ± 0.07		t	2.20 ± 0.05		t
17	4.06 ± 0.09		t	3.74 ± 0.09		t	2.05 ± 0.13		t
18	3.76 ± 0.07		t	3.60 ± 0.06		t			
19	3.55 ± 0.05		t	3.20 ± 0.04		t			
20	3.38 ± 0.06		t	2.70 ± 0.11		t			
21	3.03 ± 0.03		t	2.40 ± 0.05		t			
22	2.54 ± 0.05		t	2.16 ± 0.03		t			

3 讨论

红鳍东方鲃和黄鳍东方鲃是在广东省

大亚湾水产试验中心人工繁殖的子一代幼鱼,由于幼鱼对 PHA 及注射操作适应性差,容易死亡,所以本实验采用 PHA 一次注射法,既获得

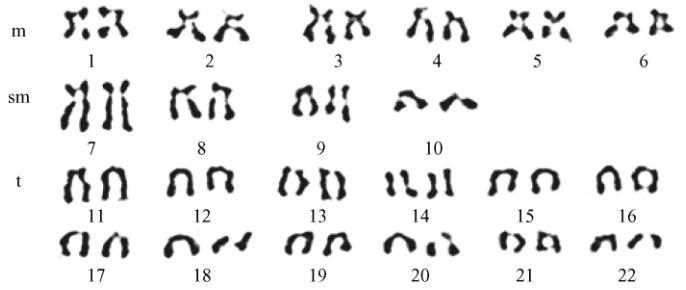
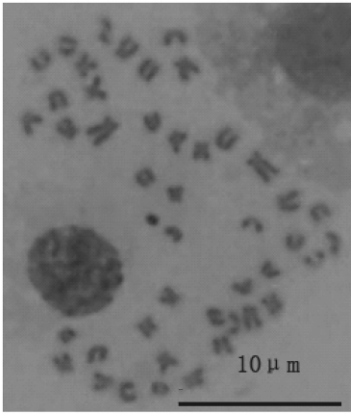


图 1 黄鳍东方鲀核型

Fig. 1 The karyotype of *Takifugu xanthopterus*

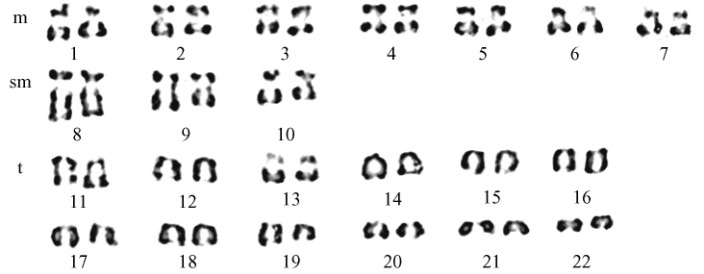
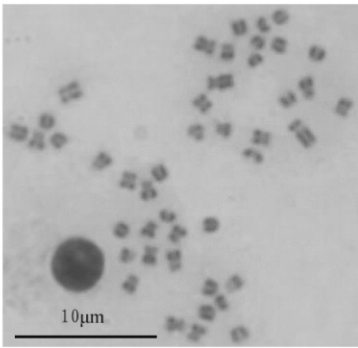


图 2 红鳍东方鲀核型

Fig. 2 The karyotype of *Takifugu rubripes*

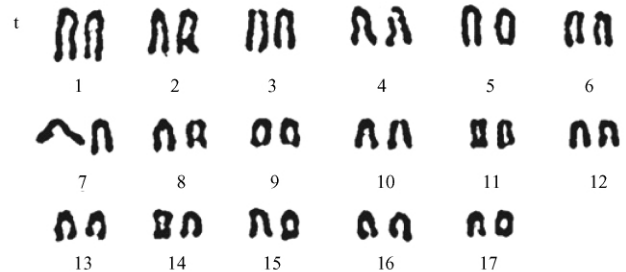
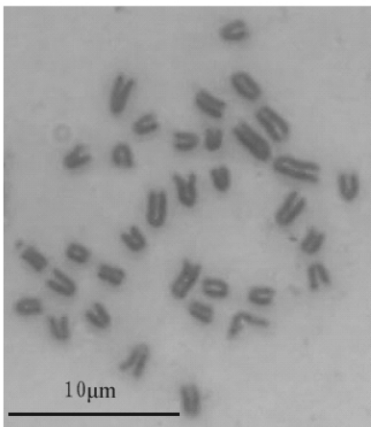


图 3 中华单角鲀核型

Fig. 3 The karyotype of *Monacanthus chinensis*

了较为理想的染色体中期分裂相,又缩短了实验处理的时间。

东方鲀属的鱼类,有多种的核型均已报道。Arai 等^[5,7]报道了星点东方鲀(*T. niphobles*)、豹

纹东方鲀 (*T. pardalis*) 和斑点东方鲀 (*T. poecilonotus*) 的核型均为 $2n = 44$, 余多慰等^[8]对暗纹东方鲀 (*T. obscurus*) 的核型进行研究, 得出其核型为 $2n = 44$, $10m + 6sm + 28t$; 范立民等^[9]对菊黄东方鲀 (*T. flavidus*) 的核型进行研究, 得出其核型为 $2n = 44$, $14m + 6sm + 24t$; 陈家长等^[10]也对菊黄东方鲀、条纹东方鲀 (*T. xanthopterus*) 和暗纹东方鲀的核型进行研究, 结果这 3 种鱼的染色体数目 $2n$ 均为 44, 其中暗纹东方鲀的核型为 $2n = 44$, $14m + 4sm + 26t$, 这与余多慰等^[8]报道的结果略有不同, 而菊黄东方鲀的核型与范立民等^[9]结果一致, 条纹东方鲀的核型为 $2n = 44$, $14m + 4sm + 26t$ 。本文报道的黄鳍东方鲀和红鳍东方鲀的染色体数目都是 $2n = 44$, 这与前人研究结果一致, 只是在 m 及 sm 染色体有一些差异。由此可见, 人工养殖的子一代的核型与野生种类基本一致, 而不同作者对同种鱼核型的研究结果存在差异, 这与海水鱼类的核型结构及其演化情况复杂有关, 也可能与实验者的取材地点、时间及操作过程、实验室条件的差异有关。但已知东方鲀属鱼类的染色体数目 $2n$ 均为 44, 这也说明其染

色体数目和系统分类是一致的。单角鲀科单角鲀属我国只有 1 种, 即中华单角鲀, 其染色体数目较少, 为 34, 全部都是端着丝粒染色体, NF 值为 34; 同为单角鲀科的绿鳍马面鲀 (*Thamnaconus septentrionalis*) 和丝背细鳞鲀 (*Stephanolepis cirrhifer*) 的核型分别为 $2n = 40$ ($40t$) 和 $2n = 33$ ($1m + 32t$), $2n$ 染色体数目相对较少^[11]。

已报道的鲀形目鱼类染色体核型见表 4, 根据本文报道的黄鳍东方鲀和红鳍东方鲀核型及表 4 得知, 东方鲀属鱼类的染色体具有以下特点: ①东方鲀属鱼类的二倍染色体数相同, 核型也基本相似, 其染色体数目 $2n$ 均为 44; ②该属鱼类核型中都具一对相对长度最大的亚中部着丝粒染色体, 可作为该属鱼类的特征性标志染色体; ③在东方鲀染色体标本制备过程中, 我们发现该属鱼类染色体均比较小, 明显小于其他鱼的染色体。这与河豚 (*Fugu rubripes*) 在已知的脊椎动物中基因组最小^[15]相吻合。单角鲀科的 3 种鱼的核型数目较少, 且端着丝粒多, 这与东方鲀属鱼类具有较多的中部和亚中部着丝粒染色体核型明显不同。

表 4 鲀形目鱼类染色体组型比较

Table 4 Comparison of the chromosome karyotypes among Tetraodontiformes

科属 Family Genus	种名 Species	$2n$	核型公式 Karyotype formula	NF Arm number	文献 References
鲀科 Tetraodontidae					
东方鲀属 <i>Takifugu</i>	黄鳍东方鲀 <i>T. xanthopterus</i>	44	$12m + 8sm + 24t$	64	本文
	红鳍东方鲀 <i>T. rubripes</i>	44	$14m + 6sm + 24t$	64	本文
	条纹东方鲀 <i>T. xanthopterus</i>	44	$14m + 4sm + 26t$	62	[10]
	红鳍东方鲀 <i>T. rubripes</i>	44	$12m + 6sm + 26t$	62	[4]
	菊黄东方鲀 <i>T. flavidus</i>	44	$14m + 6sm + 24t$	64	[10]
	暗纹东方鲀 <i>T. obscurus</i>	44	$14m + 4sm + 26t$	60	[8]
	假睛东方鲀 <i>T. pseudommus</i>	44	$12m + 8sm + 24t$	64	[5]
	星点东方鲀 <i>T. niphobles</i>	44		64	[6]
	豹纹东方鲀 <i>T. pardalis</i>	44			[7]
	斑点东方鲀 <i>T. poecilonotus</i>	44			[7]
单角鲀科 Onacanthidae					
单角鲀属 <i>Monacanthus</i>	中华单角鲀 <i>M. chinensis</i>	34	$34t$	34	本文
马面鲀属 <i>Thamnaconus</i>	绿鳍马面鲀 <i>T. septentrionalis</i>	40	$40t$	40	[11]
丝背细鳞鲀属 <i>Stephanolepis</i>	丝背细鳞鲀 <i>S. cirrhifer</i>	33	$1m + 32t$	34	[11]

参 考 文 献

- [1] 余先觉,周嗽,李渝成,等. 中国淡水鱼类染色体. 北京: 科学出版社, 1989.
- [2] 卓孝磊,邹记兴. 我国海水鱼类核型及染色体显带研究进展. 热带海洋学报, 2007, 26(5): 73 - 80.
- [3] 苏锦祥,李春生. 中国动物志:硬骨鱼纲:鲀形目等. 北京:科学出版社, 2002.
- [4] Miyaki K, Tabeta O, Kayano H. Karyotypes in six species of puffer fishes genus *Takifugu*. *Fisheries Science*, 1995, 61(4): 594 - 598.
- [5] 赵小凡, 王金星, 杨青. 五种海产鱼类的核型分析. 动物学研究, 1994, 15(增刊): 103 - 106.
- [6] Arai R, Nagaiwa K. Chromosomes of tetraodontiform fishes from Japan. *Bulletin of the National Science Museum: Series A: Zoology*, 1976, 2(1): 59 - 72.
- [7] Arai R. Karyological and osteological approach to phylogenetic systematics of tetraodontiform fishes. *Bulletin of the National Science Museum: Series A: Zoology*, 1983, 9(4): 175 - 210.
- [8] 余多慰, 华元渝, 顾志峰, 等. 暗纹东方鲀 (*Takifugu obscurus*) 核型研究. 南京师大学报: 自然科学版, 2002, 25(2): 121 - 122.
- [9] 范立民, 胡庚东, 陈家长, 等. 菊黄东方鲀核型的研究. 浙江海洋学院学报, 2005, 24(1): 70 - 72.
- [10] 陈家长, 胡庚东, 尤洋, 等. 三种东方鲀核型的研究. 中国畜禽种业, 2005, (7): 46 - 48.
- [11] 王金星, 赵小凡. 鲀形目三种鱼的染色体研究. 动物学研究, 1993, 14(4): 345 - 346.
- [12] 林义浩. 快速获得大量鱼类肾细胞中期分裂相的 PHA 体内注射法. 水产学报, 1982, 6(3): 201 - 204.
- [13] 舒琥, 何敏莲, 张海发, 等. 卵形鲳鲹染色体组型研究. 广州大学学报: 自然科学版, 2007, 6(2): 23 - 25.
- [14] Levan A, Fredge K, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 1964, 52(2): 201 - 220.
- [15] 周巍, 杨焕明, 刘国仰. 河豚鱼与人类基因组计划. 遗传, 1997, 19(6): 37 - 40.