

圆斑星鲽染色体核型分析

沙珍霞^{1,2}, 陈松林², 田永胜²

(1. 中国海洋大学 海洋生命学院, 山东 青岛 266003; 2. 中国水产科学研究院 黄海水产研究所 农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室, 山东 青岛 266071)

摘要:以圆斑星鲽(*Verasper variegatus* Temminck et Schlegel)头肾细胞为材料,采用PHA体内注射,空气干燥法制备了染色体,并对其染色体核型进行了分析。结果表明,圆斑星鲽的染色体为46条,全部为端部染色体,核型公式为: $2n=48t, NF=46$ 。在已进行过染色体核型分析的鲽形目鱼类中,只有圆斑星鲽具有该核型。[中国水产科学, 2007, 14(3): 478—481]

关键词:圆斑星鲽; 染色体; 核型

中图分类号: Q959.486

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2007)03-0478-04

圆斑星鲽(*Verasper variegatus* Temminck et Schlegel)隶属鲽形目(Pleuronectiformes)、鲽科(Pleuronectidae),主要分布于中国的黄渤海、日本中部以南和韩国西南部的沿海海域,成鱼全长可达60 cm,体质量可达4 kg,其生长速度快、可食部分多、肉味鲜美、口感好、抗病力强,是一种营养价值高、经济效益好的大型鲽类。鉴于圆斑星鲽的上述特点以及天然资源匮乏,圆斑星鲽已被日本栽培渔业协会认定为新的养殖渔业对象^[1]。在中国,圆斑星鲽的人工繁育和养殖也已开始进行,目前,国内已有关于圆斑星鲽生物学特性^[2]、胚胎发育^[3]和仔鱼消化系统形态学和组织学^[4]等方面的报道,但有关圆斑星鲽细胞遗传学和核型分析研究目前尚未见报道。本研究通过对圆斑星鲽染色体制备和核型进行研究,以期了解这一名贵鱼种的细胞遗传学特征、为今后的遗传育种和性别控制研究提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用鱼为从青岛附近海域捕获的、达到性成熟的野生雄鱼,体质量为426 g。

1.2 实验方法

1.2.1 染色体标本的制备 参照林义浩^[6]方法,略有改进。实验鱼先按10 $\mu\text{g/g}$ 剂量体腔注射PHA,

注射后将鱼放在25℃海水中培养20 h,然后再按1 $\mu\text{g/g}$ 注射秋水仙素,2 h后,断尾放血取头、肾置于生理盐水中剪碎,弃去组织碎块,离心收集细胞(1 500 r/min, 5 min),用生理盐水洗涤细胞2次,再用75 mmol/L KCl溶液低渗处理30 min,最后用新鲜配制的卡诺氏液(甲醇:冰醋酸=3:1,体积比)固定4次,每次20 min,采用冷片法滴片,空气干燥过夜。干燥后的染色体玻片用5% Giemsa染液染色25 min,显微镜观察计数。低渗处理和染色均在25℃下进行。

1.2.2 核型分析 选取100个染色体中期分裂相进行染色体计数,并选出10个清晰的中期分裂相进行显微照相、放大和测量。染色体的类型按照Levan标准^[7]确定。染色体相对长度计算公式为:染色体相对长度=(实测单条长度 $\times$ 2/全部染色体长度总和) $\times$ 100

2 结果与分析

2.1 染色体相对长度分析

圆斑星鲽的染色体相对长度、臂比及染色体类型如表1所示。从表1可以看出,圆斑星鲽具有23对端着丝粒(Telocentric)染色体,23对染色体相对长度均匀递减,相邻染色体之间长度差异不明显。相对长度最长为 5.21 ± 0.16 ,最短为 2.9 ± 0.13 。

收稿日期:2006-08-04; 修订日期:2006-09-22.

基金项目:农业部重点开放实验室开放课题(实开2005-01).

作者简介:沙珍霞(1970-),女,博士,副研究员,主要从事海洋生物分子生物学研究.

通讯作者:陈松林. E-mail: chensl@ysfri.ac.cn

表 1 圆斑星鲃各染色体的相对长度及臂比值
Tab. 1 Relative length and arm ratio of chromosomes of *V. variegatus*

染色体序号	染色体相对长度 Relative length $\bar{X}\pm SD$	臂比 Arm ratio	染色体类型 Type
1	5.21±0.16	∞	t
2	4.99±0.11	∞	t
3	4.87±0.09	∞	t
4	4.72±0.06	∞	t
5	4.64±0.06	∞	t
6	4.59±0.01	∞	t
7	4.43±0.06	∞	t
8	4.34±0.07	∞	t
9	4.32±0.02	∞	t
10	4.29±0.03	∞	t
11	4.24±0.01	∞	t
12	4.17±0.03	∞	t
13	4.13±0.02	∞	t
14	4.09±0.01	∞	t
15	3.96±0.04	∞	t
16	3.87±0.03	∞	t
17	3.85±0.04	∞	t
18	3.74±0.02	∞	t
19	3.65±0.02	∞	t
20	3.54±0.05	∞	t
21	3.29±0.02	∞	t
22	3.16±0.02	∞	t
23	2.9±0.03	∞	t

2.2 染色体核型分析

在所观察的 100 个中期分裂相中,绝大多数为中期分裂相染色体(46 条),占 81%;所观察的分裂相中,有 1 个分裂相染色体数目最少,为 33 条,占所观察的分裂相的 1%;有 1 个分裂相染色体数目最多,为 92 条,占所观察的分裂相的 1%;其他分裂相染色体数目依次为 40 条、41 条,各占 1%;具 42 条

染色体的分裂相占 6%,具 43 条、44 条、47 条染色体的各占 1%、5%、1%;未观察到圆斑星鲃具有异形染色体,46 条染色体可配对成 23 对同源染色体。染色体的分布频率、染色体形态和核型如图 1 所示。根据染色体的相对长度、着丝点的位置和特征,可以推定圆斑星鲃的核型公式为 $2n=46t$,臂指数 $NF=46$ (图 2、图 3)。

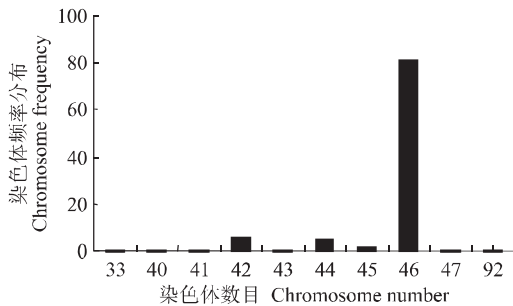


图 1 圆斑星鲃染色体频率分布
Fig. 1 Frequency distribution of chromosome of *V. variegatus*

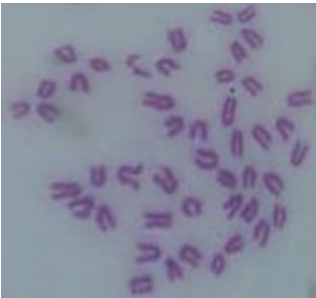


图 2 圆斑星鲃染色体中期分裂相形态
Fig. 2 Metaphase chromosomes of *V. variegatus*

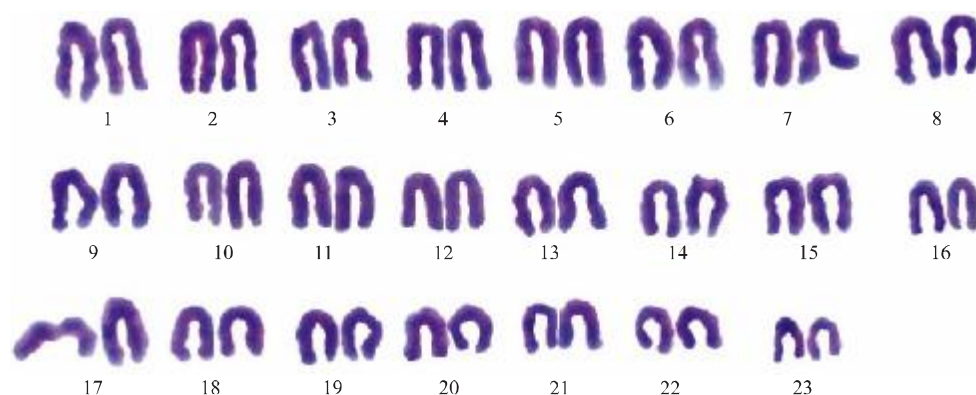


图3 圆斑星鲷染色体核型

Fig. 3 Karyotype of *V. variegatus*

3 讨论

随着海水鱼类养殖业的快速发展,海水鱼类染色体研究报道逐渐增多。迄今,中国已经进行染色体研究的海水鱼类有61种,分别隶属于7目21科。其中,研究鲈形目中的鱼类占了37种、鲷形目报道了8种、𩾐形目为6种^[8-18],这些海水鱼类主要分布在中国近海水域,大多为重要经济鱼类^[18-20]。在已报道开展染色体研究的海水鱼类中,染色体数目为48条的鱼类占到80%,其中核型 $2n=48t$ 的鱼类为24种。

鲷形目鱼类染色体核型报道较少,国内学者只对其中的8种鱼类进行了相关研究,鲆科的牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)、桂皮斑鲆(*Pseudorhombus cinnamomeus*)、鲷科的黄盖鲷(*Pseudopleuronectes yokohamae*)、石鲷(*Kareius bicoloratus*)和油鲷(*Microstomus achne*)5种鱼类属于此类核型,而角木叶鲷(*Pleuronichthys cornutus*)的染色体数目虽然为48条,但核型为 $2n=48, 12m+2sm+34t$ ^[8,18],大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)核型则是 $2n=44, NF=48$ ^[21-22],半滑舌鲷(*Cynoglossus semilaevis*)核型为 $2n=42t$ ^[23]。有学者认为,在鱼类特定的分类类群中,具有全部或较多单臂染色体的鱼类是基本类型,而具有较多的双臂染色体的鱼类是特化类型^[24];同时,染色体数目为48,且全部由端部或亚端部着丝粒染色体组成的核型为原始核型^[13]。因此,48t的核型应该是鲷科鱼类的模式(或原始)核型^[25]。Le Grande^[26]认为,鲷形目中染色体数目较少的种类应属特异类型。圆斑星鲷染色体数目介

于42~48之间,众数为46条,染色体均为单一形态的端部染色体,可以认为,圆斑星鲷属于鲷科的特化类型。

另外,Ojima^[27]报道了条斑星鲷(*Verasper moseri*)的核型为 $2n=46, 2sm+44t$,不同于圆斑星鲷 $2n=46t$ 。究其原因,可能与2种同属不同种的鱼类染色体发生了不同程度变异有关。染色体变异方式有罗伯逊易位(Robertsonian translocation)和染色体结构重排如臂间倒位(Pericentric inversion)等方式^[24],罗伯逊易位是指整臂易位,包括着丝点融合、解离和衔接融合。若为罗伯逊易位,则是那些具有单臂的端部着丝点染色体,其着丝点融合可成为具有双臂的中部或亚中部着丝点染色体,或者那些具有双臂的中部或亚中部着丝点染色体解离后成为具有单臂的端部着丝点染色体导致染色体数目非整倍性的增加或减少;臂间倒位则可使端部或亚端部着丝点染色体变为中部或亚中部着丝点染色体,只改变染色体形态,不改变染色体数目,但改变染色体总臂数^[28]。在鱼类进化过程中,圆斑星鲷的变异核型可能是通过罗伯逊易位由具有原始的48t核型的鱼类通过罗伯逊易位形成的,有关圆斑星鲷和条斑星鲷在亲缘关系和进化上的先后次序尚需进一步研究。

参考文献:

- [1] 郑惠东. 圆斑星鲷的人工繁殖及育苗技术[J]. 福建水产, 2003, 3: 15-17.
- [2] 陈四清, 于东祥, 马爱军, 等. 圆斑星鲷 *Verasper variegatus* (Temminck et Schlegel) 生物学特性研究[J]. 现代渔业信息, 2002, 17(10): 25-27.

- [3] 王开顺,张志峰,康庆浩,等.圆斑星鲽胚胎及仔鱼发育的观察[J].中国水产科学,2003,10(6):451—454.
- [4] 王思锋,张志峰,张全启,等.圆斑星鲽仔鱼变态前消化系统发生的形态学和组织学研究[J].中国水产科学,2006,13(1):1—5.
- [5] 楼允东.中国鱼类染色体组型研究进展[J].水产学报,1997,21(增):82—96.
- [6] 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[J].水产学报,1982,6(3):201—204.
- [7] Levan A, Fredga K, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes[J]. Hereditas, 1964, 52(2): 201—220.
- [8] 赵金良.我国海水鱼类和咸淡水鱼类染色体组型研究概述[J].上海水产大学学报,2000,9(4):344—347.
- [9] 吴仲庆,徐福章.真鲷和二长棘鲷染色体数目的研究[J].福建水产,1991,1:42—44.
- [10] 王金星,赵小凡.斑尾复鰺虎鱼的染色体研究[J].海洋科学,1994,4:47—50.
- [11] 尤锋,刘静,徐成.美国红鱼的核型研究[J].海洋科学,1998,2:41—53.
- [12] 全成干,王军,丁少雄,等.大黄鱼染色体核型研究[J].厦门大学学报:自然科学版,2000,39(1):107—110.
- [13] 王德祥,王军,郭丰,等.口状黄姑鱼染色体核型研究[J].海洋科学,2002,26(11):68—70.
- [14] 王世锋,王德祥,苏永全,等.双棘黄姑鱼染色体组型分析[J].厦门大学学报:自然科学版,2003,42(5):682—684.
- [15] 覃映雪,苏永全,王胜强,王德祥,王军.花尾胡椒鲷染色体组型分析[J].海洋学报,2003,25(4):147—150.
- [16] 郑莲,刘楚吾,李长玲.4种石斑鱼染色体核型研究[J].海洋科学,2005,29(4):51—55.
- [17] 庄志猛.半滑舌鲷早期胚胎发育生物学与种质资源研究[D].青岛:中国海洋大学,2006.
- [18] 王梅林,郑家声,朱丽岩,等.我国海洋鱼类和贝类染色体组型研究进展[J].青岛海洋大学学报,2000,30(2):277—284.
- [19] 喻子牛,孔晓瑜,谢宗墉.真鲷(*Pagrosomus major*)和黑鲷(*Sparus macrocephalus*)的核型及Ag-NOR带研究[J].青岛海洋大学学报,1993,23(3):107—115.
- [20] 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.
- [21] Bouza C, Sanchez L, Martinez P. 1994. Karyotypic characterization of turbot (*Scophthalmus maximus*) with conventional, fluorochrome and restriction endonuclease-banding techniques [J]. Mar Biol, 120: 609—613.
- [22] Chen S L, Ren G C, Sha Z X, et al. Establishment of a continuous embryonic cell line from Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* for virus isolation[J]. Dis Aqu Org, 2004, 60: 241—246.
- [23] 周丽青,杨爱国,柳学周,等.半滑舌鲷染色体核型分析[J].水产学报,2005,29(3):417—419.
- [24] 小岛吉雄著,林义浩译.鱼类细胞遗传学[M].广州:广东科技出版社,1985.
- [25] 喻子牛,孔晓瑜,谢宗墉.山东近海21种经济海水鱼类的核型研究[J].中国水产科学,1995,2(2):1—6.
- [26] Le Grande W H. Karyology of six species of Louisiana flatfishes (Pleuronectiformes, Osteichthyes) [J]. Copeia, 1975, (3): 516—522.
- [27] Ojima Y. The fish chromosome data retrieval list[C]. Dept of Biol Fac of Sci. Kwansei Gakuin Univ (Computer binder), 1985.
- [28] 毛连菊,李雅娟.5种海水鱼类染色体的组型分析[J].大连水产学院学报,2002,17(2):108—113.

Chromosome karyotypic analysis of spotted flounder *Verasper variegatus*

SHA Zhen-xia^{1,2}, CHEN Song-lin², TIAN Yong-sheng²

(1. College of Marine life Science, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Key Laboratory of Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, the Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Qingdao 266071, China)

Abstract: The metaphase chromosome of spotted flounder *Verasper variegatus* was prepared from head kidney by PHA and colchicine injection and air dried. The karyotype was analyzed. The results showed that there were 46 telocentric chromosomes in *V. variegatus* and the karyotype formula was $2n=46t$, $NF=46$, which was unique and different from other flatfish such as *Paralichthys olivaceus* and *Kareius bicoloratus*. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14(3): 478—481]

Key words: spotted flounder; *Verasper variegatus* Temminck et Schlegel; chromosome; karyotype

Corresponding author: CHEN Song-lin. E-mail: chensl@ysfri. ac. cn