

星突江鲽染色体核型分析

李 迪^{1,2} 陈四清² 刘志鸿^{2*} 谭 杰² 庄志猛²
张秀梅¹ 刘长琳² 常 青²

(¹ 中国海洋大学水产学院, 青岛 266003)

(² 农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

摘要 以星突江鲽 *Platichthys stellatus* Pallas 头肾细胞为材料, 采用 PHA 和秋水仙素活体注射体细胞体内培养法, 经空气干燥制备了染色体并对其染色体核型进行分析。结果表明, 星突江鲽的染色体数目为 48 条, 包括 46 条端着丝粒染色体和两条亚中部着丝粒染色体, 未发现异型染色体对和随体。核型公式为: $2n=48, 2sm+46t, NF=50$ 。

关键词 星突江鲽 染色体 核型

中图分类号 Q343.2; Q959.4

文献标识码 A

文章编号 1000-7075(2009)02-0020-06

Karyotype of *Platichthys stellatus* Pallas

LI Di^{1,2} CHEN Si-qing² LIU Zhi-hong^{2*} TAN Jie² ZHUANG Zhi-meng²
ZHANG Xiu-mei¹ LIU Chang-lin² CHANG Qing²

(¹ School of Aquiculture, Ocean University of China, Qingdao 266003)

(² Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resource, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

ABSTRACT The karyotype of *Platichthys stellatus* was prepared for its head kidney by PHA, colchicine injection and air drying method. The karyotype was analyzed. The results showed that the chromosome number of the species was $2n=48$, including 46 telocentric chromosomes and 2 sub-middle chromosomes and there was no visible evidence of the heterotypical chromosome and satellites. The karyotype formula was $2n=48, 2sm+46t, NF=50$.

KEY WORDS *Platichthys stellatus* Chromosome Karyotype

星突江鲽 *Platichthys stellatus* Pallas, 属鲽形目 Pleuronectiformes、鲽科 Pleuronectidae、川鲽属 *Platichthys* Girard。又名星斑川鲽、江鲽、珍珠鲽和黄金鲽; 英文名有 Starry flounder、Piebald flounder 等。星突江鲽分布于北太平洋的亚洲和美洲沿岸, 即北纬 $70^{\circ}\sim 30^{\circ}N$, 主要分布国有加拿大、美国、俄罗斯联邦、中国、朝鲜、韩国和日本等。我国 20 世纪 80 年代前曾经见于黑龙江绥芬河和图门江河口区沿海区域以及江苏中部以北的黄海中部海域(王波等 2006)。星突江鲽营养丰富、经济价值高, 是一种潜力巨大的高档鱼类养殖新品种。它对温度、盐度耐受能力强, 性格温驯, 海水、淡水均可存活, 生存温度 $0.5\sim 30^{\circ}C$ 、盐度 $0\sim 35$, 适合车间、网箱和池塘多种养殖模式。目前国内仅马爱军等(2006)、齐国山等(2008)对其生物学有过报道; 国外, Fukuo-

国家科技支撑计划项目(2006BAD03B08-07)和青岛市科技发展计划项目(06-2-3-18-hy)共同资助

* 通讯作者。E-mail: liuzh@ysfri.ac.cn, Tel: 13589271976

收稿日期: 2008-05-19; 接受日期: 2008-07-08

作者简介: 李迪(1983-), 男, 硕士研究生。主要从事渔业资源研究。E-mail: lidi365@163.com, Tel: 15863450361

ka 等(1970)对星突江鲮染色体进行过研究,认为其具有 $2n=48(NF=48)$ 条端部或亚端部着丝粒染色体,与作者得到的结果略有不同。本研究通过对星突江鲮染色体制备和核型分析,以期了解这一名贵鱼类的遗传特征,为今后的遗传育种和性别控制提供基础研究。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

实验用鱼于 2007 年 9 月取自青岛龙湾生物科技有限公司,基本达到性成熟(雌、雄鱼各 10 条)。雌鱼平均体重为 512.0 g,平均体长为 26.7 cm;雄鱼平均体重为 193.5 g,平均体长为 22.5 cm。其中有 5 条雌鱼和 3 条雄鱼成功的获得了大量的分散良好的染色体中期分裂相。

1.2 实验方法

1.2.1 染色体标本的制备

参照林义浩(1982)方法(略有改进)。实验用鱼先按 $10 \mu\text{g/g}$ 剂量体腔注射 PHA,注射后将鱼放在 25°C 海水中培养 17~23 h,然后再按 $1 \mu\text{g/g}$ 注射秋水仙素,3~4 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($1\ 200 \text{ r/min}$, 10 min),用生理盐水洗涤细胞两次,再用 75 mmol/L KCl 溶液低渗处理 30~60 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,50 cm 高度冷片法滴片,空气干燥过夜。干燥后的染色体玻片用 10% Giemsa 染液染色 40 min~1 h 不等。低渗处理和染色均在 25°C 下进行。试验用鱼要确认雌、雄。

1.2.2 核型分析

选取 150 个染色体中期分裂相进行计数,并选出 15 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(1964)确定。染色体相对长度计算公式为:

$$\text{染色体相对长度} = (\text{实测单条长度} \times 2 / \text{全部染色体长度总和}) \times 100$$

2 结果与分析

2.1 染色体数目分布频率和相对长度分析

在所观察的 150 个染色体中期分裂相中,绝大多数的中期分裂相(104 个)染色体数目为 48 条,占总数的 69.10%;有 1 个分裂相的染色体数目最少,为 44 条,仅占总数的 0.81%;其他的分裂相中,染色体数目分别为 45、46 和 47,分别占总数的 3.30%、8.13%和 18.66%(图 1)。

通过实际测量和观察,星突江鲮染色体的相对长度、臂比和染色体类型见表 1。从表 1 中可以看出,星突江鲮具有 48 条染色体,其中有 46 条端部染色体以及两条亚中部染色体,未发现异型染色体对、次缢痕和随体等。其中,相对长度最长的为 5.40 ± 0.31 ,最短的为 2.65 ± 0.05 ,亚中部染色体的臂比为 2.81 ± 0.03 。雌、雄鱼染色体数目和形态未发现明显差异。

2.2 染色体核型分析

48 条染色体可以两两配对成 24 对同源染色体。另外,根据染色体的相对长度、着丝点的位置和特征,可以推定星突江鲮的核型公式为 $2n=48, 2 \text{ sm} + 46 \text{ t}$,臂指数为 50(图 2 和图 3)。

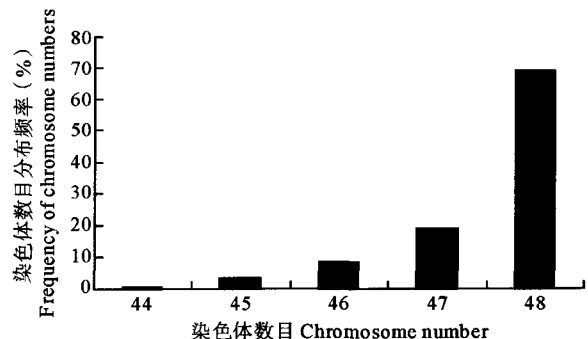


图 1 星突江鲮染色体数目分布频率
Fig. 1 Number of chromosomes of *Platichthys stellatus* Pallas

表1 星突江鲮各染色体的相对长度及臂比值

Table 1 Relative length and arm ratio of chromosomes of *Platichthys stellatus* Pallas

染色体编号 Chromosome pair No.	染色体相对长度 Relative length $X \pm SD$ (%)	臂比 Arm ratio $X \pm SD$ (%)	染色体类型 Type
1	5.40 \pm 0.31	∞	t
2	5.23 \pm 0.23	∞	t
3	5.07 \pm 0.13	∞	t
4	4.94 \pm 0.12	∞	t
5	4.80 \pm 0.08	∞	t
6	4.71 \pm 0.05	∞	t
7	4.58 \pm 0.11	∞	t
8	4.48 \pm 0.07	∞	t
9	4.38 \pm 0.01	∞	t
10	4.30 \pm 0.04	∞	t
11	4.27 \pm 0.06	∞	t
12	4.24 \pm 0.09	∞	t
13	4.10 \pm 0.08	∞	t
14	4.04 \pm 0.08	∞	t
15	3.97 \pm 0.12	∞	t
16	3.83 \pm 0.13	∞	t
17	3.78 \pm 0.13	∞	t
18	3.71 \pm 0.13	∞	t
19	3.61 \pm 0.13	∞	t
20	3.48 \pm 0.06	∞	t
21	3.27 \pm 0.03	∞	t
22	3.05 \pm 0.01	∞	t
23	2.65 \pm 0.05	∞	t
24	4.13 \pm 0.07	2.81 \pm 0.03	sm

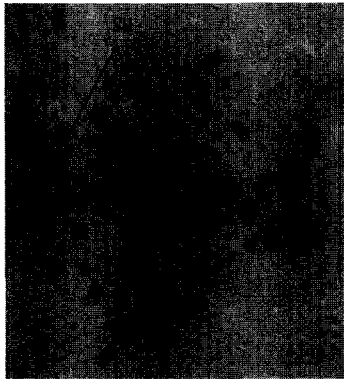


图2 星突江鲮染色体中期分裂相

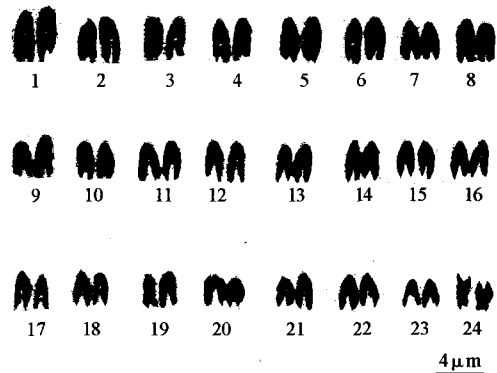
Fig. 2 Metaphase chromosomes of *Platichthys stellatus* Pallas

图3 星突江鲮染色体核型

Fig. 3 Karyotype of *Platichthys stellatus* Pallas

3 讨论

3.1 染色体核型的定义和发展

核型(Karyotype),又称染色体组型,主要包括两个内容:染色体数目和染色体形态。它代表着一个物种或个体在染色体水平上的表型,是细胞遗传学研究的基础。几乎所有的染色体研究在得出染色体数目结果时,都是使用的统计上的取众数原则,即频率最高的那个数目作为该研究对象的染色体数目。染色体的形态即大小

和形状是染色体组型的另一个要素。使用不同方法处理,染色体的形态差异很大。现在多数鱼类的染色体研究都使用 Levan 等(1964)的核型分析方法。

核型分析的发展过程有3项技术起了很重要的作用(牛文涛等 2006):一是用蒸馏水低渗处理分裂细胞可使染色体分开,便于观察;二是秋水仙素可使分裂的细胞停止在中期,便于富集中期细胞分裂相;三是植物血液凝集素(PHA)可使淋巴细胞转化为淋巴母细胞,并呈分裂状态,使以血培养方法观察动物及人的染色体成为可能;后来又发现空气干燥法可使细胞和染色体展开(翟中和 1998;韩荣成等 2003)。本试验采用的方法都运用到了这3项技术,并获得了很多较为清晰的分裂相,取得了良好的效果。

3.2 海水鱼类染色体的核型比较

据统计,目前在海水鱼中,进行过染色体核型分析的种类大约有81种,分别隶属于7个目24个科。其中,鲈形目种类研究的最多,共有51种,分别属于12个科,占有已研究海水鱼类的67.1%,其中大有花鲈、石斑鱼和大黄鱼等经济价值较高的鱼类;而且海水鱼类中染色体数目最少的锦鲷科的云鲷 *Enedrias nebulosus* ($2n = 26$)和最多的线鲷科的縵鲷 *Azuma emmion* ($2n = 56$),它们均属于鲈形目。其他的种类分别为鲉形目4科8种,鲉形目2科5种,鳗鲡目2科3种,鲱形目和鲱形目分别为1科2种(卓孝磊等 2007)。而与星突江鲮相关的鲱形目鱼类共包括3科12种。

据不完全统计,在已研究染色体核型的海水鱼中,染色体数目为48条的占67.9%(55种),而核型为 $2n = 48t$ 的鱼类为24种,占29.6%,这在鲱形目、鲱形目、鲈形目和鲱形目中均有表现。目前,关于鲱形目鱼类染色体核型的报道还比较少。国内对9个种类的染色体核型进行过报道,而国外的学者对大菱鲆 *Scophthalmus maximus* (Bouza et al. 1994; Chen et al. 2004)、褐牙鲆 *Paralichthys olivaceus* (Nogusa et al. 1960)和条斑星鲆 *Verasper moseri* (Ojima 1985)等进行过研究和分析。在这12个种类中,鲆科的桂皮斑鲆 *Pseudorhombus cinnamomeus*、漠斑牙鲆 *Paralichthys lethostigma*, 鲱科的星突江鲮、黄盖鲮 *Pseudopleuronectes yokohamae*、石鲮 *Kareius bicoloratus* 和油鲮 *Microstomus achne* 6种鱼类的核型相同,为 $2n = 48t$,臂指数 $NF = 48$ 。而木叶鲮 *Pleuronichthys cornutus* 的染色体数目虽然也为48条,但核型为 $2n = 48, 12m + 2sm + 34t$ (喻子牛等 1995;李鹏飞等 2007);另外,国内学者(喻子牛等 1995;刘静等 1995,尤锋等 1995)认为褐牙鲆具有48条端部或亚端部着丝粒染色体,与国外学者(Nogusa et al. 1960)的研究(46条)存在分歧,这可能与鱼的种质和地理隔离等因素有关(表2)。另外,在褐牙鲆和石鲮两个种类中发现了次缢痕,其中褐牙鲆是在t1号染色体,石鲮是在t8号染色体,而在鲱形目其它种类中未发现次缢痕。而在所有研究的鲱形目鱼类中只有半滑舌鲷存在异型染色体(zw/zz 型),其他种类均不存在异型染色体。

在现有数据中就染色体相对长度而言,1号染色体的相对长度长短依次为:漠斑牙鲆>星突江鲮>圆斑星鲮>褐牙鲆>半滑舌鲷,而末尾1号染色体的相对长度长短依次为:漠斑牙鲆>圆斑星鲮>星突江鲮>褐牙鲆>半滑舌鲷。可见,漠斑牙鲆1号染色体和末尾1号染色体相对长度为最长,半滑舌鲷1号染色体和末尾1号染色体相对长度为最短。

3.3 鱼类的进化与染色体的关系

随着细胞遗传学的深入发展,越来越多的生物学家认识到作为遗传信息载体的染色体,非但其数目和形态结构具有物种的特异征,而且还能反映出生物进化的历史。目前已经有不少的学者以染色体的数目讨论动物间的演化关系:稻叶明彦(1979)统计了腹足纲某些种类的染色体数和对田螺科的染色体作了分析,认为至少在田螺科染色体数目越多,则进化程度越高,表明进化与染色体数的增加有关联性。周瞰等(1988)也支持这一观点,认为从田螺科三亚科的分属地位和染色体数目相关比较,显示染色体数目较多的,有可能属于更进化的类群。Hughes等(1982)研究海螵蛸科 Nsphropidae 的结果认为存在的大量超数染色体(Supernumerary chromosome)是进化欠发达的象征,按照这种观点则染色体数目多的种类较为原始。李树深(1981)指出,在鱼类特定分类阶元中,除多倍体外,染色体数目多的应是较原始的类群,染色体数目少的应视为特化类群。比如鱼类中较原始的鲟类往往含有大量的超数染色体,似乎也支持这一观点。在鲱形目中,大多数种类为48条端

部或亚端部染色体的类型,这是鱼类进化过程中的原始类型,而鲆科中的大菱鲆和鲷科中的半滑舌鲷的染色体数目相对较少,应该是进化的种类。

表2 鲆形目鱼类的染色体核型
Table 2 Karyotype formula of *Pleuronectiformes*

科 Family	种名 Specific name	2n	NF	参考文献 Reference
鲆科 Bothidae	大菱鲆 <i>Scophthalmus maximus</i>	44	48	Bouza 等(1994) Chen 等(2004)
牙鲆科 Paralichthyidae	褐牙鲆 <i>Paralichthys olivaceus</i>	46 或 48	48 或 46	Nogusa(1960),喻子牛等(1995), 尤 锋等(1995),刘 静(1995)
	桂皮斑鲆 <i>Pseudorhombus cinnamomeus</i>	48	48	喻子牛等(1995)
	漠斑牙鲆 <i>Paralichthys lethostigma</i>	48	48	李鹏飞等(2007)
	木叶鲆 <i>Pleuronichthys cornutus</i>	48	62	喻子牛等(1995)
	黄盖鲆 <i>Pseudopleuronectes yokohamae</i>	48	48	喻子牛等(1995)
	石鲆 <i>Kareius bicoloratus</i>	48	48	喻子牛等(1995)
鲆科 Pleuronectidae	油鲆 <i>Microstomus achne</i>	48	48	喻子牛等(1995)
	圆斑星鲆 <i>Verasper variegatus</i>	46	46	沙珍霞等(2007)
	条斑星鲆 <i>Verasper moseri</i>	46	48	Ojima 等(1985)
	星突江鲆 <i>Platichthys stellatus</i> Pallas	48	48	Fukuoka 等(1970)
舌鲷科 Cynoglossidae	半滑舌鲷 <i>Cynoglossus semilaevis</i>	42	42	周丽青等(2005)

Fukuoka 等(1970)曾报道过星突江鲆的核型为 48 条端部着丝粒染色体,与作者的研究结果不同。我们可以认为这是星突江鲆染色体的多态现象(Chromosome polymorphism),同时也可能反映了两个不同的地理种群,因为 Fukuoka 的试验材料取自日本海域,而作者的试验材料来自中国附近海域。沙珍霞等(2007)在分析圆斑星鲆核型时指出,圆斑星鲆的变异核型可能是在鱼类进化过程中由具有原始的 48 t 核型的鱼类通过罗伯逊易位(小岛吉雄 1985)形成的,而所谓的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,这是染色体变异的一种形式,导致染色体数目非整倍性的增加或减少。而本人认为,星突江鲆可能是在进化的过程中发生了染色体变异的另外一种形式——臂间倒位,由具有原始的 48 t 核型的鱼类,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,因为其具有亚中部染色体,进化水平相对较高。另外,试验方法也有可能影响试验结果,但不是主要因素。关于鲆科鱼类之间的亲缘关系和进化上的次序等方面的问题还需要通过更完善的技术来进一步研究。

参 考 文 献

- 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
- 马爱军,庄志猛,李 晨,孙先领,王新安,雷霖霖. 2006. 星突江鲆生物学特性及养殖前景. 海洋水产研究,27(5):91~95
- 王 波,王宗灵,孙丕喜,刘振华,王森助. 2006. 星斑川鲆的养殖条件及发展前景. 渔业现代化,5:16~18
- 毛连菊,李雅娟. 2002. 5 种海水鱼类染色体的组型分析. 大连水产学报,17(2):108~113
- 尤 锋,刘 静. 1995. 三倍体牙鲆的核型证明. 海洋与湖沼,26(5):115~118
- 齐国山,李 迪,陈四清,庄志猛,刘长琳,宋宗诚,邓永生. 2008. 星突江鲆的形态特征及内部结构研究. 中国水产科学,15(1):1~11
- 刘 静. 1995. 牙鲆染色体组型的研究. 海洋科学,2:65~67
- 李鹏飞,刘 萍,柳学周. 2007. 漠斑牙鲆染色体组型研究. 海洋水产研究,28(4):26~30
- 李树深. 1981. 鱼类细胞分类学. 生物科学动态,2:8~15
- 沙珍霞,陈松林,田永胜. 2007. 圆斑星鲆染色体核型分析. 中国水产科学,14(3):478~481

- 林义浩. 1982. 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, 6 (3): 201~204
- 周丽青, 杨爱国, 柳学周, 杜 伟, 庄志猛. 2005. 半滑舌鲷染色体核型分析. 水产学报, 29 (3): 417~419
- 周 曦, 周 密, 吴振东. 1988. 田螺科五种螺的核型研究. 动物学报, 34(4): 364~370
- 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. 热带海洋学报, 26(5): 73~80
- 韩荣成, 岳永生, 姜中伸. 2003. 鱼类染色体核型分析方法概述. 水利渔业, 23 (5): 38~40
- 喻子牛, 孔晓瑜, 谢宗堉. 1995. 山东近海 21 种经济鱼类的核型研究. 中国水产科学, 2 (2): 1~6
- 翟中和. 1998. 细胞生物学. 北京: 高等教育出版社, 277~278
- 小岛吉雄著, 林义浩译. 1985. 鱼类细胞遗传学. 广州: 广东科技出版社
- 稻叶明彦. 陈德午译. 1979. 软体动物的染色体和系统分类. 日本动物分类学会会报, 52: 1~7
- Bouza, C., Sanchez, L., and Martnez, P. 1994. Karyotypic characterization of turbot (*Scophthalmus maximus*) with conventional, fluorochrome and restriction endonuclease-banding techniques. Mar. Biol. 120: 609~613
- Chen, S. L., Ren, G. C., Sha, Z. X. et al. 2004. Establishment of a continuous embryonic cell line from Japanese flounder *Paralichthys olivaceus* for virus isolation. Dis. Aqu. Org. 60: 241~246
- Fukuoka, H., and Niyama, H. 1970. Notes on the somatic chromosomes of ten species of pleuronectid fishes. Chrom. Infor. Ser. 11: 18~19
- Hughes, J. B. 1982. Variability of chromosome number in the lobsters *homarus americanus* and *Homarus gammarus*. Caryologia, 35: 279~289
- Levan, A., Fredga, K., and Sandberg, A. A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 52(2): 201~220
- Nogusa, S. 1960. A comparative study of the chromosomes in fishes with particular considerations on taxonomy and evolution. Memoirs Hyogo University of Agriculture. Biological Series, 3: 1~62
- Ojima, Y. 1985. The fish chromosome data retrieval list. Dept. of Biol. Fac. of Sci. Kwansai Gakuin Univ. (Computer binder)