

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20190123002

http://www.yykxjz.cn/

李安, 李高俊, 王世锋, 柳淑芳, 周永灿, 申志新, 薛献圻, 蔡岩. 海南南渡江唇鲮染色体核型和银染分析. 渔业科学进展, 2020, 41(2): 95–102

Li A, Li GJ, Wang SF, Liu SF, Zhou YC, Shen ZX, Xue XQ, Cai Y. The karyotype and Ag-NORs of *Hemibarbus labeo* from Nanduijiang River of Hainan. Progress in Fishery Sciences, 2020, 41(2): 95–102

海南南渡江唇鲮染色体核型和银染分析*

李 安¹ 李高俊² 王世锋¹ 柳淑芳³ 周永灿¹
申志新² 薛献圻¹ 蔡 岩^{1①}

(1. 海南大学海洋学院 海南省热带水生生物技术重点实验室 海口 570228;

2. 海南省海洋与渔业科学院 海口 570100; 3. 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071)

摘要 本研究以海南南渡江野生唇鲮(*Hemibarbus labeo*)为材料, 采用腹腔注射植物血球凝集素(PHA)、秋水仙素, 肾细胞直接制片法, 分析唇鲮染色体核型和银染(Ag-NORs)。结果显示, 唇鲮的二倍体染色体数目为 50, 核型公式为 $2n=18m+12sm+12st+8t$, 其染色体臂数(NF)为 80, 未发现异型染色体, Ag-NORs 出现在第 5 对和第 11 对同源染色体的短臂末端。鲟亚科鱼类染色体进化综合分析结果表明, 唇鲮具有鲟亚科鱼类的原始核型。本研究不仅补充了唇鲮的细胞遗传学数据, 为研究鲟亚科/鲮属鱼类的分类与进化提供了数据资料, 也为唇鲮的种质资源保护、种质改良等工作奠定了理论基础。

关键词 唇鲮; 染色体; 核型; 银染; 鲟亚科

中图分类号 Q343.2 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2020)02-0095-08

唇鲮(*Hemibarbus labeo*)属硬骨鱼纲(Osteichthyes)、鲤形目(Cypriniformes)、鲤亚目(Cyprinoidei)、鲤科(Cyprinidae)、鲟亚科(Gobioninae)、鲮属(*Hemibarbus*) (伍献文等, 1982; 乐佩琦, 1995), 广泛分布在我国南北各大水系, 是名贵土著品种, 国外见于朝鲜、日本、俄罗斯远东地区及越南北部(Nelson *et al*, 1976)。唇鲮以底栖无脊椎动物、虾、昆虫幼虫等为主食, 是偏肉食性鱼类, 幼鱼期以浮游动物为食, 兼食一些藻类及水生植物。唇鲮具有体形优美、杂食性、适应性强、肉质细嫩、味道鲜美等优点, 是一种经济价值较高的中小型淡水鱼类, 具有很好的养殖前景(李军等, 2015)。目前, 关于唇鲮的研究主要集中在胚胎发育

(楼允东, 1997)、机体代谢(宁博等, 2013; 吴旋等, 2012)、遗传育种(徐伟等, 2009; 练青平等, 2011)以及人工养殖(李军等, 2015; Gan *et al*, 2006)等方面。

染色体是细胞核内承载生物遗传信息的重要物质。鱼类染色体核型研究对鱼类的遗传、变异、系统分类、杂交育种以及环境污染的监测等具有重要意义(梁述章等, 2019; Sharma *et al*, 1983)。目前, 与唇鲮染色体相关的研究仅见王雪等(1989)对我国黑龙江流域唇鲮的二倍体数目的报道, 及李康等(1984)对广东韶关唇鲮的核型研究。但李康等(1984)并未对染色体上的核仁组织区分布进行研究。海南岛大约在 6500 万年前与大陆分离形成独立的海岛, 本研究以海南南渡

* 农业基础性长期性科技工作(ZX08S1623)、中央级科研院所基本科研业务费专项(20603022018009)和海南省省属科研院所技术开发研究专项(R100030.304; R100263.3)共同资助 [This work was supported by Scientific and Technological Work Information of Agricultural (ZX08S1623), Central Public-Interest Scientific Institution Basal Research Fund (20603022018009), and Hainan Province Scientific Institution Basal Research Fund (R100030.304; R100263.3)]. 李 安, E-mail: 2541431771@qq.com

① 通讯作者: 蔡 岩, 高级实验师, E-mail: azsure_caiyan@163.com

收稿日期: 2019-01-23, 收修改稿日期: 2019-02-22

江野生唇鲮为研究对象,对其染色体核型和银染(Ag-NORs)的分布进行分析,旨在补充唇鲮的细胞遗传学数据,为研究鲈亚科/鲮属鱼类的分类与进化提供数据资料,也为唇鲮的种质资源保护、种质改良等工作提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用鱼于2017年11月取自海南省南渡江定安河段,共5尾,2雄3雌,为野生唇鲮,体长范围为14~16 cm,体重为30~40 g,活体在实验前,暂养于海南大学海洋生物养殖实验室。

1.2 实验方法

1.2.1 染色体标本的制备 染色体标本的制备参考布氏石斑鱼(*Epinephelus bleekeri*)的染色体标本制备方法(蔡岩等,2012),每尾鱼按10 μ l/g 鱼体重静脉抽血,再按10 μ g/g 鱼体重剂量腹腔注射植物血凝素(PHA);3.5 h后,按照1 μ g/g 鱼体重腹腔注射秋水仙素,15 min后,剪鳃放血,取头肾制备细胞悬液,经500 r/min 离心收集细胞,加入0.075 mol/L KCl溶液,37 $^{\circ}$ C水浴低渗30 min,离心后加入新配制的卡诺氏固定液,室温固定20 min,之后重复固定2次。再次离心后取沉淀,加入适量新配制的卡诺氏固定液重悬细胞,用吸管吸取细胞悬液滴在玻片上,过酒精灯火焰3次,自然凉干,备用。

1.2.2 核型分析 染色体标本经Giemsa染液染色后,置于显微镜下进行观察拍照和统计分析。选取100个来自不同细胞的分散良好、形态清晰的中期分裂相,在显微镜下计数并记录,通过统计分析确定唇鲮的染色体数目。选取6个数目完整、形态清晰、分散良好、长度适中、着丝点清楚、2条单体适度分开的分裂相显微摄像,经放大打印后进行长度测量,参照Tan等(2004)的方法计算其染色体相对长度和臂比值,并按Levan等(1964)提出的标准进行分类、配对和排列核型,得出唇鲮的染色体核型公式。

1.2.3 Ag-NORs 显带 参考Howell等(1980)的方法,将滤纸铺于培养皿底部,用蒸馏水润湿,上面放2根牙签,置于60 $^{\circ}$ C水浴锅中保温;将制备好的新鲜玻片标本样品面朝上平放在培养皿中,玻片上加20 μ l 明胶显影液,再加40 μ l 50%硝酸银溶液,盖上盖玻片,在水浴锅中温浴至标本呈金褐色为止;用蒸馏水快速冲洗,去除盖玻片,干燥后显微镜观察和拍照。

2 结果

2.1 唇鲮的染色体核型特征

2.1.1 唇鲮二倍体染色体数目 对5尾唇鲮进行直接头肾细胞制片法获得染色体标本,选取100个形态清晰、分散良好的中期分裂相进行观察和计数,结果见表1,83%的中期分裂相中二倍体染色体数为50条,由此可以判定,唇鲮二倍体染色体数目为 $2n=50$ 。

表1 唇鲮分裂中期染色体数统计结果
Tab.1 The results of the metaphase chromosome number of *H. labeo*

项目 Items	染色体数 Number of chromosomes (2n)									
	<47	47	48	49	50	51	52	53	>53	合计 Total
中期分裂相数目 Number of metaphases	1	2	3	3	83	4	2	1	1	100
所占百分比 Percentage (%)	1	2	3	3	83	4	2	1	1	100

2.1.2 唇鲮染色体核型 唇鲮染色体相对长度和臂比的统计结果见表2,其染色体组由25对同源染色体所组成,相对长度最长为5.69,最短为2.92,最长染色体跟最短染色体的比值为1.95,总体分析,唇鲮的各染色体长度差异不大。根据Levan等(1964)提出的标准进行分类,可分为4组,m类型染色体(中部着丝粒, $r=1.0\sim 1.7$)有9对,sm类型染色体(亚中部着丝粒, $r=1.7\sim 3.0$)有6对,st类型染色体(亚端部着丝粒, $r=3.0\sim 7.0$)有6对,t类型染色体(端部着丝粒, $r=7.0\sim \infty$)有4对,其染色体核型公式为 $2n=18m+12sm+12st+8t$,臂数(NF)=80。

根据表2数据,对染色体形态和长度进行分析,整个染色体组的长度差异并不显著,按照长度由大到小排列,创建唇鲮的染色体核型图(图1)。

2.2 唇鲮的 Ag-NORs 带型

对50个唇鲮银染位点清晰、染色体数目完整的中期分裂相进行观察和统计,显示85%的中期分裂相能够清晰地观察到4个银染位点,其他的中期分裂相只能观察到低于4个银染位点或者只在同源染色体的其中一条上有显示,根据形态相似性和长度分析可知,唇鲮的银染位点位于第5对和第11对同源染色体的短臂上,且姐妹染色单体上均有银染位点。

表 2 唇鲮染色体相对长度(RL)和臂比(AR)(平均值±标准差)
Tab.2 The relative length and arm ratio of chromosome of *H. labeo* (Mean±SD)

染色体序号 Chromosome serial	相对长度 Relative length	臂比 Arm ratio	类型 Type	染色体序号 Chromosome serial	相对长度 Relative length	臂比 Arm ratio	类型 Type
1	5.40±0.04	1.20±0.06	m	14	3.66±0.06	2.08±0.10	sm
2	4.56±0.04	1.22±0.05	m	15	3.47±0.05	2.31±0.07	sm
3	4.13±0.07	1.28±0.07	m	16	3.21±0.02	2.35±0.09	st
4	4.05±0.05	1.16±0.04	m	17	5.69±0.06	4.03±0.11	st
5	3.94±0.05	1.34±0.11	m	18	4.70±0.07	4.21±0.06	st
6	3.88±0.06	1.39±0.08	m	19	4.05±0.03	3.22±0.05	st
7	3.51±0.06	1.16±0.06	m	20	3.87±0.02	3.92±0.09	st
8	3.38±0.07	1.32±0.09	m	22	3.42±0.07	3.38±0.09	st
9	3.01±0.05	1.48±0.07	m	21	3.75±0.12	∞	t
10	5.21±0.03	2.47±0.04	sm	23	4.56±0.04	∞	t
11	4.05±0.05	2.14±0.08	sm	24	3.73±0.02	∞	t
12	3.96±0.04	2.26±0.07	sm	25	2.92±0.06	∞	t
13	3.82±0.02	2.27±0.12	sm				

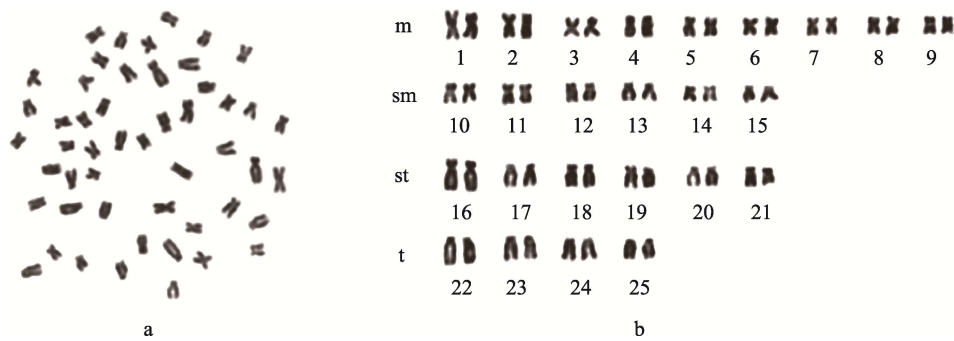


图 1 唇鲮中期分裂相及染色体核型
Fig.1 The mataphase chromosome (a) and karyotype (b) of *H. labeo*



图 2 唇鲮中期分裂相 Ag-NORs
Fig.2 Mataphase chromosome of *H. labeo* with Ag-NORs

实心箭头和空心箭头所示分别为第 5 对和第 11 对染色体的 Ag-NORs

Solid arrows and hollow arrows indicated the Ag-NORs on chromosome No.5 and No.11, respectively

3 讨论

李康等(1984)和王雪等(1989)对广东韶关和黑龙江的唇鲮进行了染色体研究,王雪等(1989)仅仅得到 $2n=50$ 的二倍体染色体数目结果,李康等(1984)则报道了唇鲮染色体核型 $2n=16m+16sm+14st+4t$ 。本研究得到的海南南渡江唇鲮二倍体染色体数目与王雪等(1989)相同,但核型研究结果($2n=18m+12sm+12st+8t$)与李康等(1984)的结果存在一定差异:在 m 型染色体上多了 1 对、sm 型染色体少了 2 对、st 型染色体少了 1 对以及 t 型染色体多了 2 对。研究结果存在差异的原因可能为:(1)不同地理群体存在的染色体多态现象。这在鲷亚科鱼类中较常见,如产于黑龙江(李康等,1984)和湖北(常重杰等,1984)以及广东(余先觉等,1989)的棒花鱼(*Abbottina rivularis*)染色体核型在地理群体上存在差异,麦穗鱼(*Pseudorasbora parva*)等

表 3 我国鲃亚科鱼类的染色体核型研究
Tab.3 Research on chromosome karyotypes of several Cyprinidae fishes in China

种名 Species	系统发育位置 Phylogenetic location	2n	核型公式 Karyotype	臂数 NF	Ag-NORs	地点 Locality	参考文献 Reference
唇鲃 <i>Hemibarbus labeo</i>	鲃属谱系 Hemibarbinini	50 18m+12sm+12st+8t	80	4	海南南渡江	本文	
花鲃 <i>Hemibarbus maculatus</i>		50 16m+16sm+14st+4t	82	-	广东韶关	李康等(1984)	
		50 16m+14sm+16st+4t	80	2	广东韶关	Ren 等(2014); Cui 等(1991)	
		50 16m+14sm+16st+4t	80	-	湖北武汉	任修海等(1996)	
		50 16m+14sm+16st+4t	80	-	江西南昌	徐亮等(2007)	
长吻鲃 <i>Hemibarbus longirostris</i>		50 16m+14sm+16st+4t	80	-	洞庭湖水系	邓玲慧等(2016)	
		50 20m+12sm+10st+8t	82	-	江苏苏州	顾若波等(2008)	
		50 18m+18sm+10st+4t	86	-	广东韶关	王雪等(1989)	
	似鲃 <i>Belligobio nummifer</i>	50 18m+20sm+10st+2t	88	-	四川岷江流域	李渝成等(1986)	
	平均臂数	82					
似刺鲃 <i>Paracanthobrama guichenoti</i>	鲃属谱系	50 18m+20sm+10st+2t	88	4	湖北沙市	王雪等(1989)	
花棘似刺鲃 <i>Paracanthobrama umbrifer</i>	Sarcocheilichthysimii group	50 20m+12sm+4st+14t	82	-	广西桂林	余先觉等(1989)	
条纹似白鲃 <i>Paraleucogobio strigatus</i>		50 14m+16sm+20st	80	-	黑龙江抚远	李康等(1984)	
短颌须鲃 <i>Gnathopogon imberbis</i>		50 22m+24sm+4st	98	-	四川岷江流域	李渝成等(1986)	
西湖颌须鲃 <i>Gnathopogon xihuensis</i>		50 22m+24sm+4st	98	-	西湖	王雪等(1989)	
圆筒吻鲃 <i>Rhinogobio cylindricus</i>		50 14m+22sm+12st+2t	86	-	武汉	王雪等(1989); 余先觉等(1989)	
吻鲃 <i>Rhinogobio typus</i>		50 14m+22sm+12st+2t	86	-	武汉	王雪等(1989); 余先觉等(1989)	
长鳍吻鲃 <i>Rhinogobio ventralis</i>		50 14m+22sm+12st+2t	86	-	四川	李渝成等(1986)	
似鲃 <i>Pseudogobio vaillanti vaillanti</i>		50 18m+22sm+8st+2t	90	-	广东	王雪等(1989); 余先觉等(1989)	
桂林似鲃 <i>Pseudogobio vaillanti guilinensis</i>		50 18m+18sm+12st+2m	86	2	桂林	李渝成等(1986)	
鲃鱼 <i>Coreius heterodon</i>		50 16m+22sm+10st+2t	88	4	湖北	王雪等(1989); 常重杰等(1995)	
圆口鲃 <i>Coreius guichenoti</i>		50 16m+22sm+10st+2t	88	-	武汉	王雪等(1989)	
江西鲃 <i>Sarcocheilichthys kiangsiensis</i>		50 18m+22sm+8st+2t	90	4	湖北武汉	常重杰等(1995)	
东北鲃 <i>Sarcocheilichthys lacustris</i>		50 18m+22sm+8st+2t	90	-	黑龙江抚远	李康等(1984)	
华鲃 <i>Sarcocheilichthys sinensis sinensis</i>		50 18m+22sm+8st+2t	90	-	武汉	王雪等(1989); 余先觉等(1989)	
小鲃 <i>Sarcocheilichthys parvus</i>		50 18m+22sm+8st+2t	90	-	广东	王雪等(1989); 余先觉等(1989)	
黑鳍鲃 <i>Sarcocheilichthys nigripinnis nigripinnis</i>		50 18m+22sm+10st	90	2	湖北	Ren 等(2014, 1992)	
		平均臂数	88.6				

续表 3

种名 Species	系统发育位置 Phylogenetic location	2n	核型公式 Karyotype	臂数 NF	Ag-NORs	地点 Locality	参考文献 Reference
细体鲮 <i>Gobio tenuicorpus</i>	鲮属谱系 Gobionini	50	18m+26sm+4st+2t	94	-	黑龙江抚远	李康等(1984)
高体鲮 <i>Gobio soldatovi</i>		50	18m+26sm+4st+2t 平均臂数	94	-	黑龙江抚远	李康等(1984)
棒花鱼 <i>Abbottina rivularis</i>	似鲮属谱系 Pseudogobionini group	50	22m+24sm+4st	96	-	黑龙江抚远	李康等(1984)
		50	24m+24sm+2st	98	4	湖北武汉	常重杰等(1995)
		50	24m+24sm+2st	98	-	广东韶关	余先觉等(1989)
		50	28m+20sm+2st	98	-	洞庭湖水系	邓玲慧等(2016)
似鲮棒花鱼 <i>Abbottina labeoides</i>		50	24m+24sm+2st	98	-	广西、广东	余先觉等(1989)
片唇鲮 <i>Platysmachellus exiguus</i>		50	24m+14sm+12st	88	-	中国广西	余先觉等(1989)
麦穗鱼 <i>Pseudorasbora parva</i>		50	18m+22sm+10t	90	2	黑龙江抚远	李康等(1984); Ren 等(2014); Cui 等(1991)
		50	20m+26sm+4t	96	-	云南昆明	余先觉等(1989)
		50	18m+22sm+10t	90	-	湖北武汉	李康等(1984)
		50	18m+22sm+10t	90	-	湖北沙市	余先觉等(1989)
突吻鲮 <i>Rostrogobio amurensis</i>		50	18m+24sm+6st+2t	92	-	黑龙江抚远	李康等(1984)
长蛇鲮 <i>Saurogobio dumerli</i>		50	18m+26sm+6st	94	-	武汉	王雪等(1989); 余先觉等(1989)
蛇鲮 <i>Saurogobio dabryi</i>		50	18m+26sm+6st	94	-	武汉	王雪等(1989); 余先觉等(1989)
光唇蛇鲮 <i>Saurogobio gymnocheilus</i>		50	18m+24sm+8st	92	-	武汉	王雪等(1989); 余先觉等(1989)
嵯县胡鲮 <i>Huigobio chenhsienensis</i>		50	24m+24sm+2st 平均臂数	98	-	广东	王雪等(1989); 余先觉等(1989)
				94.1			

也存在不同地理群体染色体多态现象(李康等, 1984; Ren *et al*, 2014; Cui *et al*, 1991; 李树深等, 1983), 另外, 比较大黄鱼(*Pseudosciaena crocea*)岱衢族和闽粤东族群体的染色体核型, 显示出 2 个地理群体间染色体核型存在显著差异, 因适应不同生长环境、长期地理隔离, 可能是大黄鱼不同地理群体间染色体核型存在显著差异的重要原因之一(王德祥等, 2006); (2) 实验方法不同导致染色体凝缩程度不同, 进而影响测量结果(王雪等, 1989; Arai, 2011; 常重杰等, 1984; 梁述章等, 2019)。在实验操作中, PHA 与秋水仙素的剂量和效应时间不易把握, PHA 作用时间过长或过短都不易得到较好的分裂相, 秋水仙素处理时间较长或浓度较高时, 染色体凝缩严重, 导致所制备的标本中染色体不同程度的皱缩(史宝等, 2017), 均可能使得分析结果存在一定的差异。唇鲮是否存在地理群体上的染色体多态性, 还需要同一实验室利用相同的实验方法和操作进行进一步的研究。

目前, 我国已对鲷亚科鱼类的染色体核型进行了较多研究(表 3)。根据表 3 可见, 鲷亚科的鱼类染色体核型虽然有所差异, 但 $2n$ 值均为 50, 染色体臂数的变动范围为 80~98, 其中, 鲷属谱系鱼类的染色体臂数平均为 82.0, 鳊属谱系为 88.6, 鲷属谱系为 94, 似鲷属谱系为 94.1。李钧祥(2008)认为, 这种染色体数目不变而染色体臂数增加是由染色体着丝粒位置颠倒所致。在特定的分类类群中, 染色体臂数少的核型被认为是原始核型(李渝成等, 1986; 王雪等, 1989; 史宝等, 2017), 因而鳊属谱系鱼类为鲷亚科鱼类中较为原始的类群。有趣的是, 以上基于染色体核型所得到的鲷亚科鱼类进化关系分析与利用分子标记技术所得到的鲷亚科鱼类的系统发育关系研究结果是高度一致的, 鲷亚科鱼类的分子系统发育研究亦表明, 鳊属谱系位于系统发育树的基部, 为较原始的类群, 其次为鳊属谱系, 然后是鲷属谱系, 似鲷属谱系位于系统发育树的最顶端, 属于最为特化的类群(杨金权, 2005)。此外, 在鳊属内的鱼类也体现了与鲷亚科一致的染色体进化特征: 唇鲮与花鲮位于系统发育树的基部, 染色体臂数亦最少(80); 长吻鲮和似鲮位于系统发育树的顶部, 染色体臂数也相对较多(分别为 86 和 88)。因此, 唇鲮为鲷亚科鱼类中的原始种类, 其染色体组成和形态特征可代表鲷亚科鱼类的原始核型特征, 即 $2n=30m(sm)+20st(t)$, $NF=80$ 。而染色体核型研究结果与分子系统发育研究结果的相互印证, 也进一步体现了传统细胞遗传学方法在生物进化研究方面的重要价值。

核仁组织区(Nucleolus organizer regions, NORs)

是具有组织形成核仁能力的染色质区, 含有多拷贝核糖体 RNA 基因, 在生物进化过程中起着至关重要的作用(任修海等, 1996; 舒琥等, 2014)。银染与染色体上的 NORs 区域的特殊蛋白质有关, 可显示出具有转录活性的 NORs, Ag-NORs 的数目、分布和形态特征也可以作为研究物种间亲缘关系和染色体进化的一个指标(李树深, 1983; Sola *et al*, 2000; 任修海等, 1993、1996)。鲷亚科鱼类在进化过程中 Ag-NORs 向减少的方向发展, 原始型具有 4 个, 特化型具有 2 个, 而基本型两种情况皆具备(Martínez-Rodríguez *et al*, 1989; Medrano *et al*, 1988; Yang *et al*, 2006; Perazzo *et al*, 2011; Natarajan *et al*, 1974)。本研究发现, 唇鲮的 NORs 共有 4 个, 分别分布在第 5 对和第 11 对染色体上。可见, 基于 NORs 的染色体进化分析亦表明唇鲮为鲷亚科鱼类的原始类群。

综上所述, 唇鲮具有鳊属鱼类的原始核型特征($2n=50$, $NF=80$), 其银染位点 4 个, 分布在 2 对染色体上。此结果补充了唇鲮的细胞遗传学数据, 从染色体水平为鲷亚科/鳊属鱼类的分类与进化提供了数据资料, 也为唇鲮的种质资源保护、改良等工作奠定了理论基础。

参 考 文 献

- Arai R. Fish Karyotypes: A check list. Springer, 2011, 55-59
- Cai Y, Zhou YC, Xie RM, *et al*. A study on the karyotype, Ag-NORs and C-banding in *Epinephelus bleekeri*. Journal of Fisheries of China, 2012, 36(5): 647-651 [蔡岩, 周永灿, 谢瑞敏, 等. 布氏石斑鱼的染色体核型、银染和 C-带. 水产学报, 2012, 36(5): 647-651]
- Chang CJ, Du QY, Lu LD, *et al*. Comparative studies on the Ag-stained karyotypes of three Gobioidae species. Journal of Henan Normal University (Natural Science), 1995(4): 66-68 [常重杰, 杜启艳, 卢龙斗, 等. 鲷亚科三种鱼银染核型的比较研究. 河南师范大学学报(自然科学版), 1995(4): 66-68]
- Cui J, Ren X, Yu Q. Nuclear DNA content variation in fishes. Cytologia, 1991, 56(3): 425-429
- Deng LH, Zou Q, Qin L, *et al*. Karyotype analysis of three Gobioidae in the Dongting Lake water system. Journal of Hunan University of Arts and Science (Science and Technology), 2016, 28(4): 69-73 [邓玲慧, 邹纤, 覃林, 等. 洞庭湖水系 3 种鲷亚科鱼类的染色体核型分析. 湖南文理学院学报(自然科学版), 2016, 28(4): 69-73]
- Gan GM, Zhang YG. Cytological study on fertilization in of *Hemibarbus labeo*. Acta Hydrobiologica Sinica, 2006, 30(3): 284-291
- Gu RB, Xu GC, Wen HB, *et al*. Chromosome karyotype and nuclear DNA contents of the spotted steed, *Hemibarbus maculatus*. Journal of Guangdong Ocean University, 2008, 28(1): 12-14 [顾若波, 徐钢春, 闻海波, 等. 花骨鱼染色体组型分析及细胞核 DNA 含量的测定. 广东海洋大学学

- 报, 2008, 28(1): 12–14]
- Howell WM, Black DA. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: A 1-step method. *Experientia*, 1980, 36(8): 1014–1015
- Le PQ. Taxonomic revision of the *Hemibarbus* fishes (Cypriniformes: Cyprinidae). *Zoological Systematics*, 1995, 20(1): 116–123 [乐佩琦. 鱼骨属鱼类的分类整理(鲤形目: 鲤科). *动物分类学报*, 1995, 20(1): 116–123]
- Levan A, Fredga K, Sandberg AA. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 1964, 52(2): 201–220
- Lian QP, Fu GQ, Hu TJ, *et al.* Morphological variations in skin carp *Hemibarbus labeo*, *H. maculatus* and their hybrid F_1 (*H. labeo*♀ × *H. maculatus*♂). *Journal of Dalian Ocean University*, 2011, 26(6): 493–499 [练青平, 宓国强, 胡廷尖, 等. 唇鱼骨、花鱼骨及其杂交 F_1 的形态差异分析. *大连海洋大学学报*, 2011, 26(6): 493–499]
- Liang SZ, Song W, Jiang KJ, *et al.* Karyotype analysis of *Collichthys lucidus*. *Progress in Fishery Sciences*, 2019, 40(4): 172–177 [梁述章, 宋炜, 蒋科技, 等. 棘头梅童鱼染色体核型分析. *渔业科学进展*, 2019, 40(4): 172–177]
- Li J, Luo XN, Jin GH, *et al.* Growth performance and models of *Hemibarbus labeo* cultured in net cages. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2015, 35(1): 99–103 [李军, 骆小年, 金广海, 等. 网箱养殖唇鱼骨的生长性能与生长模型. *广东海洋大学学报*, 2015, 35(1): 99–103]
- Li JX. Study on chromosome karyotype of spotted steed. *Journal of Anhui Agricultural Science*, 2008, 36(31): 13658–13659 [李均祥. 花鱼骨染色体核型的研究. *安徽农业科学*, 2008, 36(31): 13658–13659]
- Li K, Gui JF, Hong YH, *et al.* Study on the karyotypes of Chinese cyprinid fishes V. Karyotypes of 10 species of Gobionid fishes. *Journal of Wuhan University(Nature Science)*, 1984(3): 115–124 [李康, 桂建芳, 洪云汉, 等. 中国鲤科鱼类染色体组型的研究 V. 鮡亚科 10 种鱼的染色体组型. *武汉大学学报(理学版)*, 1984(3): 115–124]
- Li SS, Wang RF, Liu GZ, *et al.* A karyotype study of eight species of Teleostie fish. *Hereditas*, 1983(4): 25–28, 51–52 [李树深, 王蕊芳, 刘光佐, 等. 八种淡水真骨鱼类的核型研究. *遗传*, 1983(4): 25–28, 51–52]
- Li YC, Li K, Jiang JQ, *et al.* Studies on the karyotypes of Chinese cyprinid fishes X. Karyotypes of five species of Barbinae and four species of Gobioninae. *Zoological Research*, 1986(02): 183–189, 211–213 [李渝成, 李康, 蒋建桥, 等. 中国鲤科鱼类染色体组型的研究 X. 鲃亚科五种鱼和鮡亚科四种鱼的染色体组型. *动物学研究*, 1986(2): 183–189, 211–213]
- Lou YD. Progress of fish karyotype studies in China. *Journal of Fisheries of China*, 1997(s1): 82–96 [楼允东. 中国鱼类染色体组型研究的进展. *水产学报*, 1997(s1): 82–96]
- Martínez-Rodríguez G, Thode G, Álvarez MDC, *et al.* C-banding and Ag-NOR reveal heterogeneity among karyotypes of serranids (Perciformes). *Cytobios*, 1989, 58(2): 53–60
- Medrano L, Bernardi G, Couturier J, *et al.* Chromosome banding and genome compartmentalization in fishes. *Chromosome*, 1988, 96(2): 178–183
- Ning B, Wu X, Hu YH, *et al.* Effects of pH on digestive enzymes in digestive tissues of *Hemibarbus labeo*. *Journal of Tianjin Agricultural University*, 2013, 20(1): 34–36 [宁博, 吴旋, 胡玉花, 等. pH 对唇鱼骨消化组织消化酶活性的影响. *天津农学院学报*, 2013, 20(1): 34–36]
- Natarajan R, Subrahmanyam K. A karyotype study of some teleosts from portonovo waters. *Proceedings of the Indian Academy of Sciences - Section B*, 1974, 79(5): 173–196
- Nelson JS. *Fishes of the world*. *Quarterly Review of Biology*, 1976, 7(1995): 1–16
- Perazzo G, Noletto RB, Vicari MR, *et al.* Chromosomal studies in *Crenicichla lepidota*, and *Australoheros facetus*, (Cichlidae, Perciformes) from extreme Southern Brazil. *Reviews in Fish Biology & Fisheries*, 2011, 21(3): 509–515
- Ren X, Cui J, Yu Q. Chromosomal heterochromatin differentiation of cyprinid fishes. *Genetica*, 1992, 87(1): 47–51
- Ren X, Yu X. Characterization of nucleolar organizer regions of twelve species of Chinese cyprinid fishes. *Caryologia*, 2014, 46(2–3): 201–207
- Ren XH, Cui JX, Yu QX. Chromosomal nucleolar organizer regions differentiations in Chinese Cyprinid Fishes. *Wuhan University Journal of Natural Sciences*, 1996, 42(4): 475–480 [任修海, 崔建勋, 余其兴. 中国鲤科鱼类染色体核仁组织区研究. *武汉大学学报(自然科学版)*, 1996, 42(4): 475–480]
- Ren XH, Cui JX, Yu QX. Studies on NORs of 6S Peesin Cyprinidae (Pisees). *Hereditas*, 1993, 15(4): 11–13 [任修海, 崔建勋, 余其兴. 六种鲤科鱼类核仁组织区的研究. *遗传*, 1993, 15(4): 11–13]
- Sharma AK, Shar A. *Chromosomes in evolution of eukaryotic groups*. CRC Press, 1983, 434(4): 3283–3292
- Shi B, Liu YS, Liu XZ, *et al.* Study on the karyotype of yellowtail kingfish (*Seriola aureovittata*). *Progress in Fishery Sciences*, 2017, 38(1): 136–141 [史宝, 刘永山, 柳学周, 等. 黄条鲷(*Seriola aureovittata*)染色体核型分析. *渔业科学进展*, 2017, 38(1): 136–141]
- Shu H, Liu YB, Wei QL, *et al.* Studies on chromosome karyotype, Ag-NORs and C-banding patterns of wild *Ctenopharyngodon idellus* and *Squaliobarbus curriculus* in the Pearl River. *Journal of Guangzhou University(Natural Science)*, 2014, 13(2): 53–59 [舒琥, 刘远波, 魏秋兰, 等. 珠江野生草鱼、赤眼鲮的核型、银染和 C 带比较研究. *广州大学学报(自然科学版)*, 2014, 13(2): 53–59]
- Sola L, Innocentiis SD, Gornung E, *et al.* Cytogenetic analysis of *Epinephelus marginatus* (Pisces: Serranidae), with the chromosome localization of the 18S and 5S rRNA genes and of the (TTAGGG)_n telomeric sequence. *Marine Biology*, 2000, 137(1): 47–51
- Tan X, Qin JG, Chen B, *et al.* Karyological analyses on redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus*, (Decapoda: Parastacidae). *Aquaculture*, 2004, 234(1): 65–76
- Wang DX, Su YQ, Wang SF, *et al.* The karyotypes and their polymorphisms of the *Pseudosciaena crocea* from different populations. *Acta Oceanologica Sinica*, 2006, 28(6): 176–178 [王德祥, 苏永全, 王世锋, 等. 不同地理种群大黄鱼染色体核型的比较研究. *海洋学报*, 2006, 28(6): 176–178]

- Wang X, Shen JB. The study on the karyotype of the fishes in the Heilongjiang River system I. The chromosome numbers and karyotypes of 11 species of Gobioninae. *Hereditas*, 1989, 11(3): 23–25 [王雪, 沈俊宝. 黑龙江水系鱼类染色体组型研究——I. 鲃亚科 11 种鱼的染色体数和组型. *遗传*, 1989, 11(3): 23–25]
- Wu X, Jia ZC, Zhang JQ, *et al.* Effects of temperature on activity of digestive enzymes in *Hemibarbus labeo*. *Journal of Tianjin Agricultural University*, 2012, 19(4): 32–35 [吴旋, 贾志超, 张家全, 等. 温度对唇鱼骨消化组织消化酶活性的影响. *天津农学院学报*, 2012, 19(4): 32–35]
- Wu XW, Cao WX, Yi BL, *et al.* Cyprinidae fish of China (Up and down volume). Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1982, 443–446 [伍献文, 曹文宣, 易伯鲁, 等. 中国鲤科鱼类志(上下卷). 上海: 上海科学技术出版, 1982, 443–446]
- Xu L, Wang HJ, Ouyang S, *et al.* Studies on the karyotype of *Hamibarbus maculatus* bleeker. *Jiangxi Science*, 2007, 25(2): 156–157 [徐亮, 王海军, 欧阳珊, 等. 花鱼骨染色体的组型分析. *江西科学*, 2007, 25(2): 156–157]
- Xu W, Li CT, Geng LW, *et al.* Growth and reproduction of reared *Hemibarbus labeo* in the Wusuli River. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2009, 16(4): 550–556 [徐伟, 李池陶, 耿龙武, 等. 乌苏里江唇鱼骨的全人工繁育. *中国水产科学*, 2009, 16(4): 550–556]
- Yang JQ, He SP, Jörg F, *et al.* The phylogenetic relationships of the Gobioninae (Teleostei: Cyprinidae) inferred from mitochondrial cytochrome b, gene sequences. *Hydrobiologia*, 2006, 553(1): 255–266
- Yang JQ. Molecular phylogeny, evolutionary process and biogeography of the Gobioninae (Pisces: Cyprinidae). Doctoral Dissertation of Chinese Academy of Sciences (Institute of Hydrobiology), 2005: 1–128 [杨金权. 鲃亚科鱼类分子系统发育、演化过程及生物地理学研究. 中国科学院研究生院(水生生物研究所)博士研究生学位论文, 2005: 1–128]
- Yu XJ, Zhou D, Li YC, *et al.* Chinese freshwater fish chromosome. Beijing: Science Press, 1989 [余先觉, 周瞰, 李渝成, 等. 中国淡水鱼类染色体. 北京: 科学出版社, 1989]

(编辑 冯小花)

The Karyotype and Ag-NORs of *Hemibarbus labeo* from Nanduijiang River of Hainan

LI An¹, LI Gaojun², WANG Shifeng¹, LIU Shufang³, ZHOU Yongcan¹,
SHEN Zhixin², XUE Xianqiu¹, CAI Yan^{1①}

(1. Ocean College, Hainan University, Key Laboratory of Tropical Aquatic Biotechnology of Hainan Province, Haikou 570228;

2. Hainan Academy of Ocean and Fisheries Sciences, Haikou 570100;

3. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

Abstract In this study, the karyotype and Ag-NORs of wild *Hemibarbus labeo* from Nanduijiang River of Hainan were analyzed using the methods of intraperitoneal injection of phytohemagglutinin (PHA) and colchicine, and direct preparation of head kidney cells. Results showed that *H. labeo* had a diploid chromosome number of 50, the karyotype formula was $2n = 18m + 12sm + 12st + 8t$, the number of chromosome arms (NF) was 80, no heterotypic chromosome was observed, and Ag-NORs were located on the ends of the short arms of pair No.5 and pair No.11. Comprehensive analyses of the chromosomal evolution in subfamily Gobioninae indicated that *H. labeo* had the primitive karyotype of Gobioninae fish. Our study will not only supplement the cytogenetic data of *H. labeo* and provide information on the taxonomy and evolution of the subfamily Gobioninae, genus *Hemibarbus*, but will also lay the theoretical foundation for germplasm protection and germplasm improvement of *H. labeo*.

Key words *Hemibarbus labeo*; Chromosome; Karyotype; Ag-NORs; Gobioninae

① Corresponding author: CAI Yan, E-mail: azsure_caiyan@163.com