

尼罗尖吻鲈和鳊鱼染色体组型分析及比较

朱健¹ 张成锋¹ 闵宽洪¹ 王建新¹ 徐钢春¹ 张媛媛²

(1. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心,农业部淡水鱼类遗传育种和养殖生物学重点开放实验室,无锡 214081;
2. 南京农业大学无锡渔业学院,无锡 214081)

摘要:采用 PHA、秋水仙碱腹腔或背部肌肉注射,活体培养法,以前肾为材料,低渗-空气干燥法制片,进行染色体观察,运用 Micromesure version 3.3 染色体分析软件和 Photoshop 7.0 软件首次分析了尼罗尖吻鲈的染色体数目和核型,并同鳊鱼染色体数目和核型进行了分析比较,对今后拟采取的杂交尝试提供理论基础。结果显示:尼罗尖吻鲈染色体众数为 $2n = 48$,核型公式为 $2m + 4sm + 12st + 30t$,染色体臂数(NF)为 54;鳊鱼染色体众数为 $2n = 48$,核型公式为 $6sm + 12st + 30t$,染色体臂数(NF)亦为 54;两种鱼染色体短臂上均无随体,单臂染色体较多。分析表明尼罗尖吻鲈与鳊鱼杂交成功的可能性较大。

关键词:尼罗尖吻鲈;鳊鱼;染色体;核型

中图分类号:Q343.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-3207(2009)02-0195-05

尼罗尖吻鲈(*Lates nilotitus*)隶属于鲈形目、锯盖鱼科、尖吻鲈属^[1],原产非洲,分布在尼罗河流域、Mariout 湖和西非的大部分主要河流,是世界上最大的淡水鱼之一。其味道鲜美、无肌间刺;且生长速度快,具优良的养殖性状,具有广阔的养殖前景;而鳊鱼(*Siniperca chuatsi*)则属于鲈形目、科,是我国一种名贵的淡水鱼类,开展两者的杂交育种工作对于改良品种、提高养殖性状具有重要意义。

中国水产科学研究院淡水渔业研究中心 2003 年在国内首次从埃及引进尼罗尖吻鲈,目前进行了池塘养殖试验和常规指标、肌肉营养成分^[2]的测定,由于未发现雌鱼,拟尝试进行尼罗尖吻鲈(♂) × 鳊(♀)杂交试验。虽然国外已做了一些关于尼罗尖吻鲈的生物学特性、养殖技术^[3-6]和性腺发育^[7,8]等研究,但对其遗传特征的研究尚未见报道。本文首次报道了尼罗尖吻鲈的染色体组型,并与鳊鱼的染色体组型进行了比较分析,探讨其细胞学遗传特性,为尼罗尖吻鲈的种质资源保护、系统演化、进化地位以及开展杂交试验提供基础资料。

1 材料与方 法

1.1 材料 所用尼罗尖吻鲈于 2003 年 10 月从埃

及引进,驯养在中国水产科学研究院淡水渔业研究中心宜兴苗种基地。用于染色体核型分析的尼罗尖吻鲈 5 尾(♂),体长 30—45cm,体重 500—1000g;鳊鱼捕自太湖苏州湖段,5 尾(3 ♀, 2 ♂),体长 25—35cm,体重 500—800g。

1.2 方 法

1.2.1 肾细胞染色体标本的制备 采用林义浩^[9]的植物血球凝集素(PHA)体内注射法,对约 28℃ 下驯养的尼罗尖吻鲈,按 6.0μg/g 的剂量注射 PHA(购自上海伊华医学科技有限公司),12h 后,以 5μg/g 体重注射秋水仙素,4h30min 后剪断鳃部动脉在水中放血 10—15min;而鳊鱼则按 6.0μg/g 的剂量注射 PHA,24h 后,再按同样的剂量再次注射 PHA,12h 后,以 5μg/g 体重注射秋水仙素,4—5h 后断尾及鳃部动脉在水中放血 10—15min。

取出肾脏于 0.75% 的生理盐水中清洗并充分剪碎,取上层细胞悬液以转速 2000r/min 离心 7min 收集细胞,加入预热的 0.075mol/L KCl,37℃ 下低渗 60min。低渗后的细胞,打匀后加卡诺氏固定液(3 份甲醇 + 1 份冰乙酸)固定 30min,以 2000r/min 离心 10min,重复固定两次。空气干燥法制片,10% Giemsa 液(pH = 6.8,磷酸缓冲液配制)染色 15min,用

收稿日期:2008-10-10;修订日期:2008-12-10

基金项目:中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(中国水产科学研究院淡水渔业研究中心)项目(2007JBF05)资助

作者简介:朱健(1968—),男,江苏常州人,副研究员,硕士;主要从事鱼类遗传育种研究。E-mail:zhuj@ffrc.cn

通讯作者:闵宽洪,E-mail:minkh@ffrc.cn

水充分冲洗,自然干燥后封片

1.2.2 染色体数目统计及组型分析 选取来自不同个体的 100 个分散良好的细胞,用 Nikon 925 型显微成像仪进行观察统计,用显微图像分析仪逐一进行拍照,记录每个分裂相的染色体数目,统计染色体众数分布。

选择 5 个图像清晰、数目完整、形态清晰的中期分裂相,用 Micromasure version 3.3 染色体分析软件和 Photoshop7.0 测量和分析其全长、长臂长和短臂长,计算其相对长度和臂比值;照片放大后,剪下每条染色体,并按 Levan^[10]提出的标准进行配对、分类排列组型,臂数计算参照文献[11]的方法。

1.3 数据处理 所有实验数据用 SPSS11.5 统计分析,结果表示为 Mean ± S. D. 。

2 结果

2.1 染色体数目

镜检染色体中期分裂相 100 个作统计。结果(表 1)表明:尼罗尖吻鲈染色体众数为 48,出现频率为 88%,因而,确定尼罗尖吻鲈二倍体染色体的数目为 48;鳊鱼染色体众数为 48,出现频率为 84%,

鳊鱼二倍体染色体的数目也为 48。

表 1 尼罗尖吻鲈、鳊鱼染色体数目统计

Tab. 1 Statistics of the chromosome number in cells of *L. nilotitus* and *S. chuatsi*

实验鱼 Experimental fish	染色体众数分布 Division of chromosome number (%)		
	< 48	48	> 48
尼罗尖吻鲈 <i>L. nilotitus</i>	8	88	4
鳊鱼 <i>S. chuatsi</i>	10	84	6

2.2 染色体组型

根据尼罗尖吻鲈染色体臂比和相对长度(表 2)进行同源染色体配对,尼罗尖吻鲈全部染色体配成 24 对。按 Levan 命名法染色体分为 4 组,其中:具中部着丝粒染色体(m 组)有 1 对,亚中部着丝粒染色体(sm 组)有 2 对,亚端部着丝粒染色体(st 组)有 6 对,端部着丝粒染色体(t 组)15 对。核型公式为 $2n = 48 = 2m + 4sm + 12st + 30t$,染色体臂数(NF)为 54 (图 1、2)。

鳊鱼有亚中部着丝点染色体(sm)3 对,亚端部着丝点染色体(st)12 对和端部着丝点染色体(t)15 对,核型为 $6sm + 12st + 30t$,染色体臂数(NF)为 54 (表 3、4)。

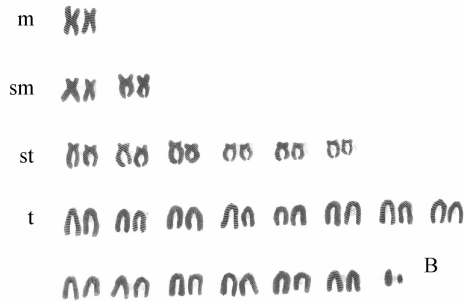
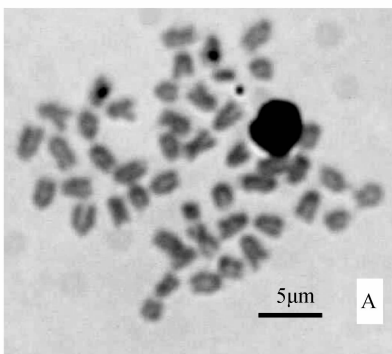


图 1 尼罗尖吻鲈染色体中期分裂相(A)及染色体组型(B)

Fig. 1 The metaphase chromosome and karyotype of *L. Nilotitus*

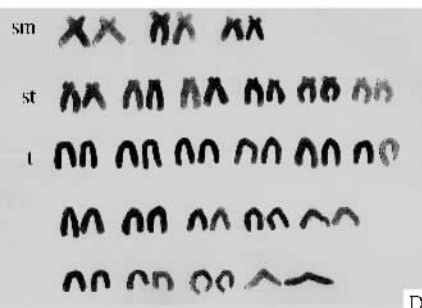
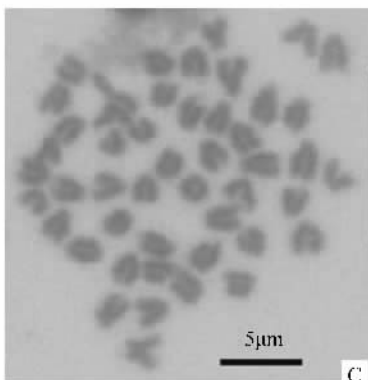


图 2 鳊鱼染色体中期分裂相(C)及染色体组型(D)

Fig. 2 The metaphase chromosome and karyotype of *S. chuatsi*

表 2 尼罗尖吻鲈染色体相对长度和臂比 (Mean ± S. E. , n = 4)

Tab. 2 The relative length and arm ratio of chromosome of *L. niloticus*

染色体相对长度 Relative length of chromosome (%)	臂比值 Arm ratio	类型 Type
5.25 ± 0.86	1.61	m ₁
4.53 ± 0.81	2.36	sm ₁
4.52 ± 0.04	2.96	sm ₂
4.76 ± 0.18	5.72	st ₁
4.51 ± 0.18	3.82	st ₂
4.36 ± 0.24	6.03	st ₃
4.30 ± 0.10	3.52	st ₄
3.80 ± 0.14	4.31	st ₅
3.77 ± 0.15	4.92	st ₆
4.98 ± 0.31	∞	t ₁
4.75 ± 0.51	∞	t ₂
4.69 ± 0.21	∞	t ₃
4.44 ± 0.17	∞	t ₄
4.32 ± 0.08	∞	t ₅
4.29 ± 0.11	∞	t ₆
4.17 ± 0.06	∞	t ₇
4.09 ± 0.07	∞	t ₈
3.95 ± 0.09	∞	t ₉
3.70 ± 0.21	∞	t ₁₀
3.62 ± 0.14	∞	t ₁₁
3.38 ± 0.08	∞	t ₁₂
3.30 ± 0.35	∞	t ₁₃
2.91 ± 0.11	∞	t ₁₄
2.25 ± 0.15	∞	t ₁₅

表 3 鳊鱼染色体相对长度和臂比 (Mean ± S. E. , n = 4)

Tab. 3 The relative length and arm ratio of chromosome of *S. chuatsi*

染色体相对长度 Relative length of chromosome (%)	臂比值 Arm ratio	类型 Type
5.75 ± 0.66	1.91	sm ₁
4.73 ± 0.75	2.60	sm ₂
4.54 ± 0.05	2.53	sm ₃
5.76 ± 0.16	3.42	st ₁
5.32 ± 0.10	4.52	st ₂
5.31 ± 0.19	3.62	st ₃
4.62 ± 0.10	4.22	st ₄
4.52 ± 0.15	4.11	st ₅
4.06 ± 0.21	4.33	st ₆
4.68 ± 0.36	∞	t ₁
4.45 ± 0.55	∞	t ₂
4.30 ± 0.31	∞	t ₃
4.25 ± 0.15	∞	t ₄
4.32 ± 0.08	∞	t ₅
4.09 ± 0.16	∞	t ₆
4.07 ± 0.06	∞	t ₇
3.83 ± 0.06	∞	t ₈
3.71 ± 0.09	∞	t ₉
3.60 ± 0.11	∞	t ₁₀
3.52 ± 0.14	∞	t ₁₁
3.43 ± 0.09	∞	t ₁₂
3.13 ± 0.35	∞	t ₁₃
3.01 ± 0.10	∞	t ₁₄
2.84 ± 0.14	∞	t ₁₅

注:m,中部着丝粒染色体;sm,亚中部着丝粒染色体;st,亚端部着丝粒染色体;t,端部着丝粒染色体;∞,无穷大;下同

Note:m,metacentric chromosome;sm,sub-metacentric chromosome;st,sub-telocentric chromosome;t,telocentric chromosome;∞,infinity;The same as follows

3 讨论

3.1 两种鱼的核型特征的比较及杂交育种问题

尼罗尖吻鲈由中国水产科学研究院淡水渔业研

表 4 尼罗尖吻鲈、鳊鱼染色体数目统计染色体组型比较

Tab. 4 Comparison of the karyotype of *L. niloticus* and *S. chuatsi*

实验鱼 Experimental fish	染色体数 Diploid chromosome number (2n)	核型公式 Chromosome formula	臂数 Arm number (NF)
尼罗尖吻鲈 <i>L. niloticus</i>	48	2m + 4sm + 12st + 30t	54
鳊鱼 <i>S. chuatsi</i>	48	6sm + 12st + 30t	54

究中心首次从埃及引进,本文在国内外首次报道了尼罗尖吻鲈的核型。由于幼鱼对 PHA 及注射操作应激性比一般淡水鱼差,容易导致幼鱼死亡,所以本实验以成鱼为样本并采用一次注射 PHA 的方法,获得了较为理想的染色体中期分裂相。

鳊鱼的染色体在国内外已有一些报道^[12,13]。本实验结果显示:染色体众数为 2n = 48,核型公式为 6sm + 12st + 30t,染色体臂数(NF)为 54。与其他研究者所得的结果在染色体数目上是完全一致的,

在染色体配组与染色体臂数方面也相似,但是在染色体分组和着丝点位置的确定上存在一定差异。这些差异可能是由于染色体制备方法和所分析染色体时相不一致,以及测量和配组误差所造成的。

从尼罗尖吻鲈和鳊鱼染色体核型来看,两种鱼的染色体数目都是 2n = 48,核型相似,无显著差异,臂数也均为 54;染色体形态上的异同点:最大染色体都为 sm;两种鱼染色体短臂上均无随体,单臂染色体较多。

一般认为,在一定的分类阶元,具有较多 t 染色体的种类为较原始而具有较多 m 和 sm 染色体者为较特化^[14]。从这两种鱼的核型来看,均属较特化类型,核型极其相似,从这点上看,它们似应有更接近的亲缘关系。同时,这一结果为制定尼罗尖吻鲈和太湖鳊鱼的种质标准和鱼类远缘杂交提供了确切的依据。

通常认为,鱼类杂交不亲和性产生的原因是双亲间基因组间的矛盾,即双亲的核型越相近,杂交越能成功,双亲间核型差异越大,杂交不亲和性越强,胚胎发育越难正常进行^[15]。从本文探讨的两种鱼来看,其核型相似且自然繁殖时间较吻合,也就预示着尼罗尖吻鲈(♂) × 鳊(♀)杂交成功可能性大些。当然,张克俭等^[16]也指出若要获得具有良好经济效益的鱼类杂交种,在亲本的选配上,特别是决定雌雄亲本的组合时必须从核型、亲和性、核质可容性等多方面综合考虑。即便是鳊鱼卵子在尼罗尖吻鲈精子刺激下进行雌核发育对鳊鱼在品种纯化和品种改良上有着极其重要意义。

3.2 关于制片过程中如何获得较多中期分裂相问题

在细胞活动和分裂旺盛的时候会得到较多的分裂相标本,但在细胞分裂几乎停止的条件下,往往很难得到分裂相,而染色体收缩形态合适、分散好的标本则更少^[17]。我们曾采用通常的一些方法,如活体注射 PHA 后再注射秋水仙素^[8,18]等,效果一般。本实验参考文献^[19]的方法,通过同步升温刺激处理,增强了其细胞分裂活动,更好地获得了分裂相,而且染色体伸缩适度、形态清晰。此外,正确掌握 PHA 和秋水仙素的浓度及处理时间,也是获得较好染色体标本的关键之一。另外,在制片过程中我们还发现离心处理也是一个重要环节。离心速度由通常的 800r/min 增加至 1200—1500r/min,离心 6—8min 制成的玻片标本中期分裂相明显增多。

参考文献:

[1] Meng Q W, Su J X, Miao X Z. Fish Taxonomy [M]. Beijing: China Agriculture Press. 1995, 42—47 [孟庆闻, 苏锦祥, 缪学祖. 鱼类分类学. 北京: 中国农业出版社. 1995, 42—47]

[2] Zhu J, Min K H, Zhang C F, et al. Analysis and comparison on the nutritional components of *Lates niloticus* with other fish species [J]. *Acta Nutrimenta Sinica*, 2007, **29**(1): 97—99 [朱健, 闵宽洪, 张成锋, 等. 尼罗尖吻鲈鱼肉营养成分的测定及评价. 营养学报, 2007, **29**(1): 97—99]

[3] Soriano M L, Moreau J, Hoenig J M, et al. New functions for the

analysis of two-phase growth of juvenile and adult fishes, with application to Nile perch [J]. *Transactions of the American Fisheries Society*, 1992, **121**(4): 486—493

[4] Mkumbo O C and Ligetvoet W. Changes in the diet of Nile perch, *Lates niloticus* (L.), in the Mwanza Gulf, Lake Victoria [J]. *Hydrobiologia*, 1992, **232**(1): 79—83

[5] Hughes N F. Changes in the feeding biology of the Nile perch, *Lates niloticus* (L.) (Pisces: Centropomidae), in Lake Victoria, East Africa since its introduction in 1960, and its impact on the native fish community of the Nyanza Gulf [J]. *Journal of Fish Biology*, 1986, **29**: 541—548

[6] Hamblyn E L. The food and feeding behaviour of Nile perch [R]. Annual report of the East African Freshwater Fisheries Research Organization, 1960, 33—41

[7] Acere T. Observations on the biology, age, growth, maturity and sexuality of Nile perch, *Lates niloticus* (Linne), and the growth of its fishery in the northern waters of Lake Victoria [R]. FAO Fisheries Report, 1984, **335**: 42—61

[8] Nicholas F H. Growth and reproduction of the Nile perch, *Lates niloticus*, an introduced predator, in the Nyanza Gulf, Lake Victoria, East Africa [J]. *Environmental Biology of Fishes*, 1992, **33**: 299—305

[9] Lin Y H. A PHA injection method in vivo for the rapid obtainment of large numbers of metaphase figures from kidney cells of teleosts [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1982, **6**(3): 201—204 [林义浩. 快速获得大量鱼肾细胞中期分裂相的 PHA 体内注射法. 水产学报, 1982, **6**(3): 201—204]

[10] Levan A, Fredga K, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes [J]. *Hereditas*, 1964, **52**(2): 201—220

[11] Yu X J, Zhou T, Li Y C, et al. Chromosomes of Chinese freshwater fishes [M]. Beijing: Science Press. 1989, 84 [余先觉, 周敏, 李渝成, 等. 中国淡水鱼类染色体. 北京: 科学出版社. 1989, 84]

[12] Yang H Y. Studies of the karyotype of *Siniperca chuatsi* [J]. *Acta Genetica Sinica*, 1982, **9**(2): 143—146 [杨慧一. 鳊鱼(*Siniperca chuatsi*)染色体组型的研究. 遗传学报, 1982, **9**(2): 143—146]

[13] Yang C, Li D. Study on the Karyotype of *Siniperca chuatsi* [J]. *Acta Agriculturae Jiangxi*, 1999, **11**(1): 52—55 [杨春, 李达. 鄱阳湖鳊鱼染色体组型的研究. 江西农业学报, 1999, **11**(1): 52—55]

[14] Li S S. Fish cellular Taxonomy [J]. *Trend of Bioscience*, 1981, **2**: 8—15 [李树深. 鱼类细胞分类学. 生物科学动态, 1981, **2**: 8—15]

[15] Wang Z X, Zhang J X, Jin G Q. Study on incompatibility of fish hybridization [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1986, **10**(2): 171—179 [王祖熊, 张锦霞, 靳光琴. 鱼类杂交不亲和性的研究. 水生生物学报, 1986, **10**(2): 171—179]

[16] Zhang K J, Gao J, Zhang J L, et al. Study on karyotypes of hybrid crucian carp (White crucian carp ♀ × Scattered mirror carp ♂) and its parents [J]. *Journal of Fisheries of China*, 1995, **19**(4): 305—309 [张克俭, 高健, 张景龙, 等. 杂交鲫(白鲫♀ × 散鳞镜鲤♂)及其双亲染色体组型的研究. 水产学报, 1995, **19**(4): 305—309]

- [17] Jia Z L, Li Z Y, Bao Z M, *et al.* On methods of increasing the metaphase of shellfish [J]. *Journal of Ocean University of Qingdao*, 2001, **31**(2):232—236 [贾志良, 李智盈, 包振民, 等. 增加贝类染色体分裂相的方法初探. 青岛海洋大学学报, 2001, **31**(2):232—236]
- [18] Li K, Gui J F, Hong Y H, *et al.* Studies in the Karyotypes of eight species of fish [J]. *Journal of Wuhan University (Natural Science Edition)*, 1984, **3**:113—121 [李康, 桂建芳, 洪云汉, 等. 中国鲤科鱼类染色体组型的研究. 武汉大学学报(自然科学版), 1984, **3**:113—121]
- [19] Gu R B, Xu G C, Wen H B, *et al.* The chromosome karyotype and cellular DNA contents of the spotted steed, *Hemibarbus maculatus* [J]. *Journal of Guangdong Ocean University*, 2008, **28**(1):11—14 [顾若波, 徐钢春, 闻海波, 等. 花 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):11—14]

THE COMPARISON AND ANALYSIS OF CHROMOSOME KARYOTYPE OF THE NILE PERCH (*LATES NILOTITUS*) AND MANDARIN FISH (*SINIPERCA CHUATSI*)

ZHU Jian¹, ZHANG Cheng-Feng¹, MIN Kuan-Hong¹, WANG Jian-Xin¹, XU Gang-Chun¹ and ZHANG Yuan-Yuan²

(1. Key Laboratory of Genetic Breeding and Aquaculture Biology of Freshwater Fishes, Ministry of Agriculture, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081; 2. College of Fisheries, Nanjing Agricultural University, Wuxi 214081)

Abstract: The Nile perch (*Lates niloticus*) naturally distribute in Africa and it was firstly introduced into China from Egypt in 2003. Nile perch is a good species for aquaculture, as it has excellent traits with rapid growth, good meat quality and huge potential in international market. After the fish was imported and stocked in Freshwater Fisheries Research Center, the center staff studied on the biological characters, growth performance, nutritional components and culture system of *Lates niloticus*, but some important genetic characteristics have not been involved, such as chromosome and other cytogenetical traits. Mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) is a famous domestic species with good quality and belongs to the same family Perciformes as Nile perch. The karyotype of *Lates niloticus* is firstly reported in this paper and compared with *Siniperca chuatsi*. The main propose of the study focused on protection of germplasm resources, systemic evolution and evolutionary status of Nile perch. Also, some basic date would be provided to discuss the possibility for hybridization of *Lates niloticus* and *Siniperca chuatsi* through this study. The mitotic chromosomes and karyotype of Nile perch and Mandarin fish were studied using PHA and colchicine intramuscular injection in the back or abdominal cavity of the Nile perch and mandarin fish. This two species was vivo-cultured and renal tissues were used with short-term culture and treated with air-drying technique referred the method used by Lin Hao-Ran, *et al.* and a slight improved. The data was analysed by using two softwares: Micromasure version 3.3 and Photoshop 7.0. The results showed that the karyotype of Nile perch was $2n = 48, 2m + 4sm + 12st + 30t$, $NF = 54$ and the kayotype of Mandarin fish was $2n = 48, 6sm + 12st + 30t$, $NF = 54$. The number of chromosomes was same, and there were no satellites in the arms of all chromosomes in these two species. The *Lates niloticus* had one pair of metacentric chromosome more than those of Mandarin fish. They all had 6 pairs of sub-telocentric chromosome and 15 pairs of telocentric chromosome and single arm chromosomes were abundant. The karyotypes of *Lates niloticus* and *Siniperca chuatsi* were similar, which indicted that these two species had very close relationship. It is possible to get the hybrid of *Lates niloticus* and *Siniperca chuatsi* and gives an academic basic for the cross breeding research. It must be mentioned here that the juvenile of Nile perch is very sensitive for injection, most of them were dead after intramuscular injection. It is sure that the ideal results can be got by using adult fish as experimental material.

Key words: *Lates niloticus*; *Siniperca chuatsi*; Chromosomes; Karyotype