

胡子鲶染色体组型的研究

罗俊烈 王正询 林兆平 杨俊慧

(广州师范学院生物系)

提要 本文介绍了用 PHA 体内注射法,以肾组织为材料,对胡子鲶染色体组型进行研究的结果。胡子鲶 $2N=56$,中部着丝点染色体为 9 对,近中部着丝点染色体为 12 对,近端部和端部着丝点染色体为 7 对,染色体总臂数(NF)为 98。在实验中还观察到第 21 对染色体在雌性个体为同型,而在雄性个体为异型,因而,这对形态明显异型的染色体的出现与性别有关,很可能是胡子鲶的性染色体,我们将其暂定为 XY 染色体,但要落实这对异型染色体确实是性染色体,还有待于进一步研究。

主题词 胡子鲶 染色体组型

胡子鲶 *Clarias fuscus*,在分类学上属鲤形目,胡子鲶科,胡子鲶属。是我国南方江河池沼常见鱼类。它肉质细嫩,味美,营养价值高,是著名的滋补食品之一^[3]。在医药方面,胡子鲶也有不少用途,可用于养血补虚,对疟疾,黄疸、慢性肝炎,小儿疳积,衄血,虚火症等均有一定疗效^[4]。由于胡子鲶幼鱼阶段生长快,适应力强,故在南方稻田中多有养殖。近年来,还发展成为家庭副业。

但是,关于胡子鲶染色体组型的研究迄今未见报道,本文以 PHA 体内注射的方法,进行了胡子鲶染色体组型的研究,现将结果报道如下:

材 料 和 方 法

实验用鱼 9 尾(4 雌,5 雄)均购自广州市农贸市场,全部为性成熟个体。实验方法是根据林义浩(1982)^[7]提出的 PHA 体内注射法加以修改,具体方法如下:

自胡子鲶胸鳍基部注射 PHA 溶液(广州市医药工业研究所出品的冻干粉剂 10mg/安瓿,用 0.7%NaCl 配制),注射剂量为 5—10 μ g/g(鱼体重),一次注射,经 2.5—3 小时后,再注射秋水仙素溶液,剂量为 0.4—0.6 μ g/g(鱼体重),也是胸鳍基部一次注射。在注射秋水仙素 1—1.5 小时后,将胡子鲶断尾放血;再经 30 分钟后,解剖鱼体,取出肾脏,用生理盐水稍洗,将肾组织块置于装有少量低渗液(0.075M KCl)的培养皿中,用镊子反复拉丝,以分散肾细胞。再加入适量的低渗液,静置 5 分钟后,吸取中上部的细胞悬浮液,移入 5 毫升的刻度离心管中,每支离心管装入 4 毫升细胞悬浮液。低渗处理时间从材料放进低渗液开始 25—30 分钟,然后加入 1 毫升新配制的固定液(甲醇:冰醋酸 = 3:1),置于冰箱内,预固定 10 分钟,用 1000 转/分离心 10 分钟,吸去上清液,沉淀物用固定液固定 20 分钟(放置于冰箱内),再经离心后,去掉上清液,按沉淀物的多少加入适量的固定液,用吸管吹散成细胞悬浮液,置于冰箱内 20 分钟,然后在预冷的载玻片上滴片,空气干燥后,用

1/10 的 Giemsa 液染色 15—20 分钟。准备观察。

将所制标本置于显微镜下观察,选择染色体分散良好的中期分裂相进行染色体计数,并选取 12 个(5 雌, 7 雄)染色体形态清晰的中期分裂期,进行显微照相、放大、测量,并用统计学方法计算每对同源染色体的相对长度和臂比,然后按 Levan 等(1964)^[14]提出的标准对染色体进行命名和分类:臂比 1.0—1.7 为中部着丝点染色体(*m*),1.7—3.0 为近中部着丝点染色体(*sm*),3.0—7.0 为近端部着丝点染色体(*st*),7.0—∞ 为端部着丝点染色体(*t*)。从中选取有代表性的雌雄个体中期分裂相各一个制成染色体组型图。

结 果

在计数的 300 个中期分裂相中,染色体数目为 56 的占 61.33%;故确定胡子鲶的染色体数目为 $2N=56$ 。在计数的基础上,仔细测量了 12 个分散良好,形态清晰的中期分裂相(5 雌, 7 雄)的每对同源染色体,并计算每对同源染色体的相对长度和臂比(长臂/短臂)等,结果见表 1 及图 1。

从表 1 可见胡子鲶的染色体组型分为三组,A 组是 9 对(第 1—9 对)中部着丝点染色体(*m*),B 组是 12 对(第 10—21 对)近中部着丝点染色体(*sm*),C 组是 7 对(第 22—28

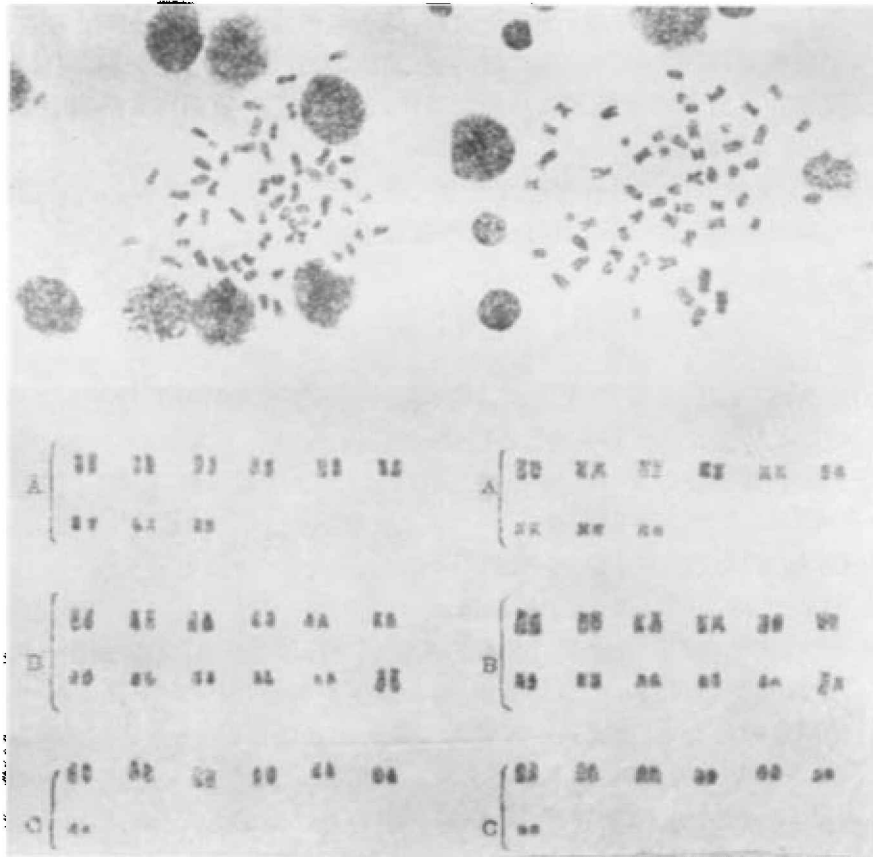


图 1 胡子鲶染色体组型(左♂,右♀,箭头示异型染色体)

Fig. 1 Chromosome type of walking catfish (Left ♂, right ♀; Arrow indicating the heteromorphic chromosome)

表 1 胡子鲶染色体相对长度及臂比
Table 1 Relative length and arm proportion of chromosoma

染色体编号 No.	相对长度 Relative length	臂比(长臂/短臂) Arm proportion($\mu\text{m}/\mu\text{m}$)	着丝点位置 Location of Centromere
1	4.26 \pm 0.06	1.24 \pm 0.05	中部 (m)
2	3.90 \pm 0.19	1.35 \pm 0.11	中部 (m)
3	3.88 \pm 0.13	1.06 \pm 0.03	中部 (m)
4	3.63 \pm 0.14	1.15 \pm 0.04	中部 (m)
5	3.56 \pm 0.14	1.30 \pm 0.08	中部 (m)
6	3.31 \pm 0.11	1.50 \pm 0.10	中部 (m)
7	3.17 \pm 0.05	1.18 \pm 0.11	中部 (m)
8	2.89 \pm 0.07	1.26 \pm 0.09	中部 (m)
9	2.70 \pm 0.12	1.28 \pm 0.18	中部 (m)
10	4.74 \pm 0.11	2.31 \pm 0.06	近中部 (sm)
11	4.40 \pm 0.21	2.46 \pm 0.17	近中部 (sm)
12	4.16 \pm 0.13	2.47 \pm 0.06	近中部 (sm)
13	3.91 \pm 0.20	1.98 \pm 0.06	近中部 (sm)
14	3.78 \pm 0.17	2.34 \pm 0.22	近中部 (sm)
15	3.55 \pm 0.13	1.77 \pm 0.03	近中部 (sm)
16	3.42 \pm 0.11	2.43 \pm 0.16	近中部 (sm)
17	3.11 \pm 0.07	2.08 \pm 0.16	近中部 (sm)
18	3.01 \pm 0.09	1.97 \pm 0.06	近中部 (sm)
19	2.87 \pm 0.02	1.94 \pm 0.06	近中部 (sm)
20	2.44 \pm 0.20	2.16 \pm 0.06	近中部 (sm)
	5.17 \pm 0.10	2.07 \pm 0.14	近中部 (sm)
21	3.46 \pm 0.07	1.46 \pm 0.23	中部 (m)
22	4.38 \pm 0.19	4.04 \pm 0.08	近端部 (st)
23	4.17 \pm 0.04	3.56 \pm 0.22	近端部 (st)
24	3.92 \pm 0.11	∞	端部 (t)
25	3.50 \pm 0.14	∞	端部 (t)
26	3.43 \pm 0.13	3.17 \pm 0.22	近端部 (st)
27	3.02 \pm 0.13	∞	端部 (t)
28	2.24 \pm 0.12	3.68 \pm 0.23	近端部 (st)

对)近端部和端部着丝点染色体(st 和 t),染色体总臂数(NF)为 98,其中 B 组有一对染色体(第 21 对)在雌性个体中为同型,而在雄性个体中却表现为异型(见图 1)。在这对异型染色体中,较大的一个臂比为 2.07 \pm 0.14,属于近中部着丝点染色体,这个染色体在雌性个体成对,而较小的一个臂比为 1.46 \pm 0.23,属于中部着丝点染色体。我们把这对异型染色体,大者暂定为 X,小者暂定为 y。

讨 论

1. 关于用 PHA 体内注射获得肾细胞中期分裂相细胞标本的方法问题 由于鱼类的染色体个体小,数目多,因此制作玻片标本较为困难。林义浩的快速获得大量鱼类肾细胞中期分裂相的 PHA 体内注射法^[7],是一种比较新的制取鱼类染色体标本的方法,用这

种方法可以免去进行体外培养,使制取鱼类染色体标本更加简便;可以增加细胞有丝分裂指数,提高实验效果;可以获得染色体分散较好,形态特征(着丝点、染色体的外部轮廓)清晰的标本。但是,如果在注射 PHA 后跟着注射秋水仙素,再经过 4—4.5 小时取材^[7],所获得的染色体标本往往收缩较厉害;如果在 PHA 注射剂量不变的情况下,在取材前 1.5—2 小时才注射秋水仙素,染色体的收缩程度则相对较小。杨慧一(1982)曾报导过:秋水仙素浓度和处理时间两种因素都会使染色体产生不同程度的收缩,从而会导致研究结果的不一^[8]。从林义浩所介绍的方法来看,其秋水仙素的浓度较高(4—6 $\mu\text{g/g}$),时间较长(4.5—5 小时),用这种方法处理胡子鲶,所获得的分裂相染色体收缩较厉害。我们将其方法加以修改,把秋水仙素的浓度降低为 0.4—0.6 $\mu\text{g/g}$ (鱼体重),并且将处理时间缩短为 1.5—2 小时,染色体的收缩程度则有所减小。因此,我们认为,用 PHA 体内注射法制取鱼类染色体标本时,正确掌握 PHA 和秋水仙素的浓度及处理时间,是获得较好的染色体标本的关键之一。

2. 关于胡子鲶的染色体组型 在胡子鲶的染色体组型中,9 对中部着丝点染色体以第一对为最大,其余第 2—8 对染色体,从相对长度看依次减小,但从统计学上来看,每相邻两对染色体之间,无显著差异($P>0.05$),但第 1 对同第 5 对以后各对比较,则 $P<0.01$ 。所以差异非常显著。从染色体的臂比看,只第 2 与第 3 对染色体间有显著差异($0.01<P<0.05$)。

在第 10—21 对近中部着丝点染色体中,以第 21 对(暂定为 X 染色体的染色体)为最大,与第 20 对及其它各对比较差异非常显著($P<0.01$)。第 10—20 对染色体,其相对长度依次减小,但每相邻两对染色体之间,其相对长度无显著差异($P>0.05$)。若从臂比看,其中第 12 与第 13 对,第 14 与第 15 对染色体均有显著差异($0.01<P<0.05$),而且第 15 与第 16 对染色体的臂比差异非常显著($P<0.01$)。

在 7 对近端部和端部着丝点染色体中,第 22—27 对染色体每相邻两对之间相对长度无显著差异($P>0.05$)。在 27 与第 28 对染色体间相对长度差异非常显著($P<0.01$),但其臂比无显著差异($P>0.05$)。

根据我们对胡子鲶同一个体的有丝分裂中期不同时相染色体的观察,其染色体组型表现为中部着丝点染色体比较稳定,而近中部着丝点染色体及近端部和端部着丝点染色体的分组在不同时相时有所不同,即在晚中期的分裂相近中部着丝点染色体有所减少,而近端部和端部着丝点染色体有所增加,这与王春元等的观察^[1]结果相同。因此,在研究染色体组型时,必须注意所选取的分裂相的时间,应选取正中期的分裂相为准,而不应以早中期或晚中期为准。

3. 关于胡子鲶的异型染色体 有关鱼类的性染色体问题,Yamamoto 等(1968)曾在利用性激素诱导金鱼性反转的遗传试验中,证明鲫鱼的性别决定机理是 xy 型而非 ZW 型。然而,在染色体组型上有否 x 与 y 异型的性染色体存在,则有不同的报导和争论。管瑞光等(1980)曾观察鲫鱼胚胎细胞时,发现在 B 组染色体中有一对形态明显异型,被暂时命名为“ x ”和“ y ”的推测是“性染色体的染色体”,并以未分化性腺的胚胎细胞来推测有“ xy ”异型染色体存在。但是王春元等(1980)^[1]在对已能区分雌雄性别的成熟鱼的研究中,异型染色体的存在没有得到证实,这与吴政安等(1980)^[5]在成年鲫鱼和金鱼中,雌雄

个体之间,并未发现与性别决定有关的异型染色体存在的结果相一致。迄今为止,关于鱼类染色体研究的报导,大部分都未发现异型染色体的存在,但是在性成熟个体中则曾有异型染色体存在的报道,如 Donahue 等(1974)就曾在鲟科鲟属的大西洋鲟 *Dasyatis Sabina* (Lesueur) 的雄性个体中,发现有异型染色体^[19]。他们认为这就表示着性染色体的存在。我们觉得,以未分化性腺的胚胎细胞来推测有 XY 异型染色体的存在毕竟是间接的,因而,我们同意王春元的意见,要断定异型染色体应以已经区分雌雄性别的鱼为准。

在进行胡子鲶染色体组型的分析过程中,我们发现雄性个体的染色体中,有 1 对(第 21 对)形态明显异型的染色体存在,其中大的暂定为 X 的一条是所有染色体中最长的一条,其相对长度是唯一超过 5 的一条。这条染色体成对地存在于雌性个体细胞中。在所分析的 5 个雄性个体的 7 个染色体的分裂相中,有异型染色体分裂相的有 6 个,而在所分析的 4 个雌性个体的 5 个分裂相中,均未发现有异型染色体的存在,我们认为这种现象不是由于染色体部份缺失所引起,因染色体畸变是随机的,不可能都只在雄性个体的染色体中发生同样性质的畸变,这说明异型染色体的出现与性别有关,很有可能是胡子鲶的性染色体。然而,要证实这对异型染色体确是性染色体,还有待于进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] 王春元,李延龄,1982. 金鱼染色体组型的研究 I. 遗传学报, 7(1):72—77.
- [2] 刘凌云,1980. 草鱼染色体组型的研究. 动物学报, 26(2): 126—131.
- [3] 伍献文、杨干荣、乐佩琦、黄宏金,1979. 中国经济动物志·淡水鱼类,第二版,科学出版社,120.
- [4] 伍汉霖、金鑫波、倪勇,1978. 中国有毒鱼类和药用鱼类. 上海科学技术出版社, 235.
- [5] 李渝成、李康、周敏, 1983. 中国鲤科鱼类染色体组型的研究 I. 鲤亚科 10 种鱼的染色体组型. 遗传学报, 10(5):216—222.
- [6] 吴政安、杨慧一, 1980. 鱼类细胞遗传学的研究 II, 鱼类淋巴细胞的培养及其染色体组型分析. 遗传学报, 7(4):370—375.
- [7] 林义浩,1982. 快速获得大量鱼类肾细胞中期分裂相的 P11A 体内注射法. 水产学报, 6(3):201—208.
- [8] 杨慧一,1982. 鳊鱼染色体组型的研究. 遗传学报, 9(2):143—146.
- [9] 周敏,1980. 鳊鱼染色体组型的研究. 实验生物学报, 13(4):419.
- [10] 管瑞光、宋峰,1980. 鲤、鲫、鲢、鳊染色体组型的分析比较. 遗传学报, 7(1):72—79.
- [11] 楼允东、张克俭、吴雅玲、王逸妹,1983. 青鱼染色体组型的研究. 水产学报, 7(1):77—81.
- [12] 谭平,1982. 家养塘虱鱼. 动物学杂志, (5):63.
- [13] Donahue, W. H., 1974. A Karyotypic Study of three species of *Rajiformes* (*Chondrichthyes*, *Pisces*). *Can. J. Genet. Cytol.*, 16: 203—211.
- [14] Levan, A. K. Freday and A. A. Sandberg, 1964. Nomenclature for centromeric on chromosomes *Hereditas*, 52: 201—220.
- [15] Yamamoto T. and T. Kajishina, 1968. Sex hormone induction of sex reversal in th goldfish and evidence for male heteroganeity *J. Exp. Zool*, 168. 215—222.

STUDIES ON THE KARYOTYPE OF *CLARIS FUSCUS*

Luo Junlie, Wang Zhengxun, Lin Siaoping and Yang Junhui

(Department of Biology, Guang Zhou Normal College)

ABSTRACT The Karyotype of *Claris fuscus* has been determined from Kidney cell

by the method of PHA pericardial Cavity injection in vivo. Slides were made by the hypotoic air drying technique with Giemse staining. The diploid number of Chromosomes is 56 (that is $2N = 56$). The total chromosome arm count is 98. They may be classified into three groups: 9 pairs are metacentric, 12 pairs submetacentric, and 7 pairs subtelo- or telocentric Chromosomes. The results are presented in table 1 and Fig 1.

It was found that No. 21 was a pairs of homomorphic chromosomes in the female, but it was a pair of heteromorphic chromosomes in the male, therefore the heteromorphic chromosomes were sex chromosomes of *C. fuscus* in all probabillity. They were tentatively designated as XY. The problem of the heteromorphic chromosomes in Pisces was thus discussed, but whether the heteromorphic chromosomes were the sex chromosomes or not awaiting for further investigation.

KEY WORDS *Clarias fuscus*, Karyotype