

文章编号:1000-0615(2005)03-0417-03

研究简报·

## 半滑舌鳎染色体核型分析

周丽青, 杨爱国, 柳学周, 杜伟, 庄志猛

(中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071)

关键词:半滑舌鳎;核型;性染色体

中图分类号:S917 文献标识码:A

### The karyotype of the tonguefish *Cynoglossus semilaevis*

ZHOU Li-qing, YANG Ai-guo, LIU Xue-zhou, DU Wei, ZHUANG Zhi-meng

(Yellow Sea Fisheries Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China)

**Abstract:** The tonguefish *Cynoglossus semilaevis* (Güther) is a rare fish species in Chinese offing, inhabiting in the warm water bottom. The metaphase chromosome preparation of the fries has been got from their fins by hot air drying methods, while the metaphase chromosomes of one year old young fish which has physiologically sex differentiation has been got from their renal tissues by the method of PHA and colchicine injection. The karyotypes were examined. The result shows that there are 42 acrocentric chromosomes in diploid and their karyotype formula is  $2n = 42t$ , and there existed heterotypic sex chromosome which belongs to ZW/ZZ type. The sex ratio in artificial bred stock is nearly 1:1.

**Key words:** *Cynoglossus semilaevis*; karyotype; sex chromosome

半滑舌鳎 (*Cynoglossus semilaevis* Güther) 隶属于鲽形目舌鳎科舌鳎属,有“鳎米”、“鳎目”和“牛舌头”等俗称,在我国沿海均有分布,其分布数量以渤海最多,黄海次之,东海和南海最少,是一种近海温水性大型底层鱼类,雌性个体大,平均体长为 523 mm,最大体长可达 800 mm 以上,雄性个体小,平均体长为 280 mm。栖息于渤海的半滑舌鳎终年不出渤海,具有活动范围小、营养等级低、食性温和、个体大、生长快和市场价值高等优良性状<sup>[1]</sup>。目前,有关半滑舌鳎的研究报道大多涉及其生长与繁殖<sup>[2-5]</sup>,在细胞遗传学特别是染色体核型研究方面尚未见报道,本文研究了半滑舌鳎染色体的核型,为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全雌鱼苗培育研究提供基础资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

首批实验用鱼为 12~50 日龄稚鱼,体长范围为 1.5~

5.0 cm,于 2002 年 10 月中、下旬取自山东省莱州市明波水产有限公司,共 68 尾。

第二批实验用鱼为一龄鱼,于 2003 年 10 月底取自黄海水产研究所小麦岛养殖基地,共 4 尾,大鱼 2 尾,体重分别为 202 g 和 192 g,小鱼 2 尾,体重分别为 61 g 和 79 g。

### 1.2 染色体标本的制备

**鱼苗染色体标本的制备** 让鱼苗在秋水仙素终浓度为 0.01% 的海水中游泳 5~8 h。剪取鳍条,置 10 mL 0.0375 mol L<sup>-1</sup> KCl 溶液中低渗约 50 min,再将鳍条挑入新配制预冷的固定液(甲醇:冰醋酸=3:1)中,每隔 30 min 更换一次固定液,共换 3 次。固定材料置 4℃ 冰箱中保存,次日取部分鳍条用 50% 冰醋酸解离约 10 min,可用滴管吹打加速解离。将未解离的鳍条挑去,然后采用热滴片法制备染色体标本。每尾鱼至少制备四张片子,10% Giemsa 染色 40 min,自来水冲洗、晾干并镜检。

**一龄鱼染色体标本的制备** 方法参照舒琰等体内注射细胞法<sup>[6]</sup>,略作修改。

收稿日期:2004-01-19

资助项目:国家自然科学基金项目(30271027);国家 863 计划项目(2002AA603011)

作者简介:周丽青(1974-),女,硕士,研究实习员,主要从事水产动物增殖和遗传育种方面的研究

通讯作者:庄志猛,E-mail:zhuangzm@ysfri.ac.cn

注射 PHA (植物血球凝集素) 和秋水仙素 自试验鱼鳃盖下沿的腹部注射 PHA 溶液 (0.7% NaCl 配置浓度为  $5 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ) 剂量  $20 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  (鱼体重), 注射 3h 后, 仍在该部位注射秋水仙素 (0.7% NaCl 配制浓度为  $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ ), 剂量  $2 \sim 3 \mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$  (鱼体重)。

断尾失血 注射秋水仙素溶液 1 小时后把实验鱼剪尾放血约 20 min, 鱼死前取出头肾, 用生理盐水洗涤。

制备细胞悬液 将肾组织块置于装有少许生理盐水的培养皿中, 用镊子反复撕拉分散肾组织, 加入生理盐水, 用 2~3 层纱布过滤至离心管中,  $1000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 8 min 并洗涤细胞。

低渗处理  $0.075 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  KCl 低渗处理 25 min 后  $1000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 8 min。

固定 弃低渗液, 加新配制预冷的固定液 (甲醇:冰醋酸 = 3:1), 用吸管吹打以充分固定, 随后  $1000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$  离心 8 min (以下时间同), 再重复固定 2 次。

滴片 冷滴片法制片, 5% Giemsa 染色 30 min, 自来水冲洗, 自然干燥。

解剖观察性腺分化情况, 鉴别雌雄。

### 1.3 核型分析

从每尾鱼的染色体制片上选出清晰的中期分裂相进行染色体计数, 并选出好的中期分裂相进行显微照相、放大和测量。就具异型染色体和不具异型染色体这两大类

鱼苗而言, 各测量 22 个清晰的中期分裂相的染色体长度。染色体的命名按照 Levan 等<sup>[7]</sup> 标准。染色体相对长度计算公式如下:

$$\text{染色体相对长度} = (\text{实测长度} / \text{全部染色体长度总和}) \times 100^{[8]}$$

## 2 结果

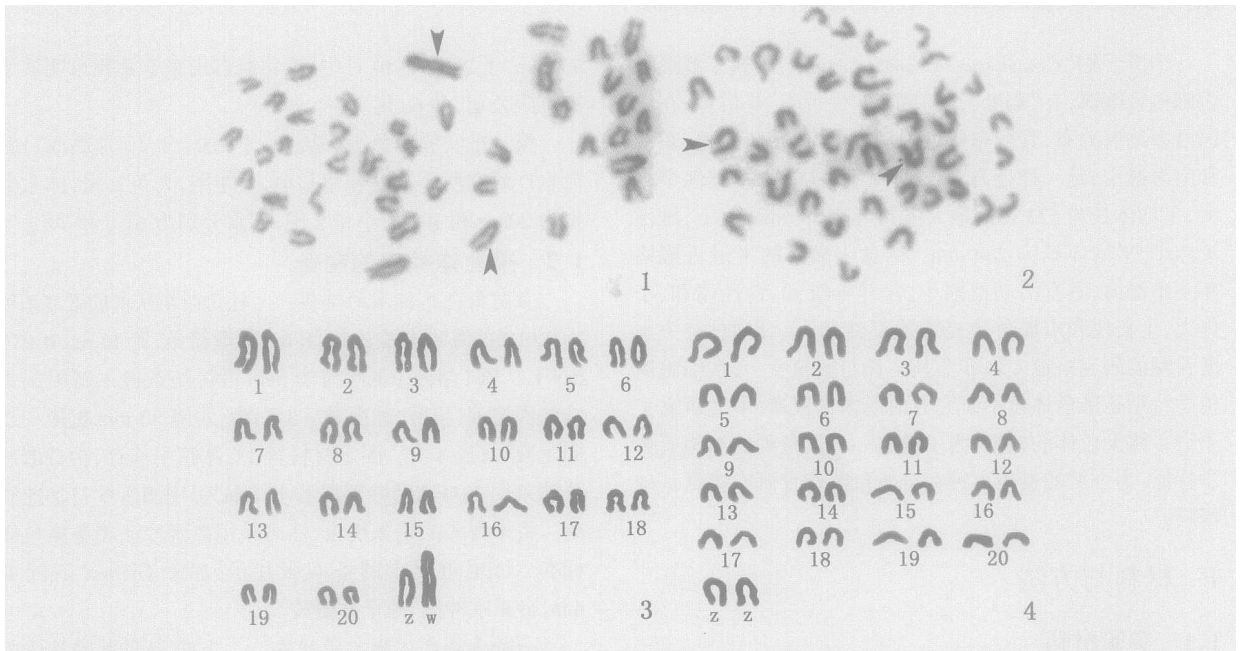
### 2.1 半滑舌鲮染色体数目的确定

能观察到清晰分裂相鱼苗数有 61 尾, 不清晰的鱼苗数有 7 尾。具异型染色体鱼苗数 26 尾; 具同型染色体鱼苗数 26 尾; 无法鉴定是否具异型染色体鱼苗数 9 尾。对 517 个中期分裂相进行染色体计数结果列于表 1。

表 1 半滑舌鲮二倍体染色体计数结果

| 染色体数目<br>number of chromosome     | 40  | 41   | 42   | 43  | 80  | 总和<br>sum |
|-----------------------------------|-----|------|------|-----|-----|-----------|
| 分裂相数目<br>number of metaphase      | 40  | 58   | 397  | 8   | 14  | 517       |
| 所占百分比 (%)<br>percent of metaphase | 7.7 | 11.2 | 76.8 | 1.6 | 2.7 | 100       |

观察结果表明, 半滑舌鲮的中期分裂相皆为二倍体, 染色体众数 42, 核型为  $2n = 42t$ , 臂数  $NF = 42$ , 具有异型性染色体 (图版)。



图版说明 Explanation of Plate

1. 具异型性染色体雌性半滑舌鲮中期分裂相染色体; 2. 具同型性染色体雄性半滑舌鲮中期分裂相染色体; 3. 具异型性染色体半滑舌鲮染色体核型; 4. 具同型性染色体半滑舌鲮染色体核型。

1. the metaphase chromosomes of the tonguefish with heterotypic sex chromosome; 2. the metaphase chromosomes of tonguefish with homotypic sex chromosome; 3. the karyotype of the tonguefish with heterotypic sex chromosome; 4. the karyotype of tonguefish with homotypic sex chromosome

## 2.2 半滑舌鲷性染色体的鉴定

通过对 4 尾已出现雌雄分化的一龄鱼进行染色体观察,发现两尾雌鱼的中期分裂相中都有异型性染色体的存在(图版 - 1)。两尾雄鱼的中期分裂相则未见有异型性染色体的存在(图版 - 2)。

## 2.3 染色体相对长度分析结果

通过测量与分析,半滑舌鲷染色体相对长度见表 2。

表 2 半滑舌鲷中期染色体相对长度

Tab. 2 Metaphase chromosome relative length in the tonguefish

| 序号<br>no. of chromosome | 相对长度 ±标准差 relative length ± SD |                                  |
|-------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
|                         | 同型(雄性)<br>homotype (male)      | 异型(雌性)<br>heterotype (female)    |
| 性染色体<br>sex chromosome  | 3.01 ±0.11 (Z)                 | 4.88 ±0.44 (W)<br>2.91 ±0.57 (Z) |
| 1                       | 3.93 ±0.12                     | 3.77 ±0.23                       |
| 2                       | 3.50 ±0.17                     | 3.34 ±0.19                       |
| 3                       | 3.23 ±0.14                     | 3.10 ±0.13                       |
| 4                       | 2.72 ±0.08                     | 2.69 ±0.13                       |
| 5                       | 2.56 ±0.08                     | 2.53 ±0.09                       |
| 6                       | 2.49 ±0.06                     | 2.43 ±0.08                       |
| 7                       | 2.42 ±0.06                     | 2.38 ±0.06                       |
| 8                       | 2.35 ±0.06                     | 2.30 ±0.05                       |
| 9                       | 2.29 ±0.06                     | 2.25 ±0.05                       |
| 10                      | 2.24 ±0.06                     | 2.20 ±0.05                       |
| 11                      | 2.18 ±0.06                     | 2.16 ±0.05                       |
| 12                      | 2.14 ±0.06                     | 2.10 ±0.06                       |
| 13                      | 2.09 ±0.04                     | 2.06 ±0.06                       |
| 14                      | 2.03 ±0.05                     | 2.02 ±0.06                       |
| 15                      | 1.98 ±0.06                     | 1.96 ±0.07                       |
| 16                      | 1.92 ±0.06                     | 1.91 ±0.07                       |
| 17                      | 1.84 ±0.07                     | 1.87 ±0.07                       |
| 18                      | 1.80 ±0.06                     | 1.78 ±0.07                       |
| 19                      | 1.72 ±0.08                     | 1.68 ±0.09                       |
| 20                      | 1.57 ±0.08                     | 1.58 ±0.12                       |

## 3 讨论

有关海洋鱼类核型报道的资料相对较少,在已有核型报道的海洋鱼类中, $2n = 48$  的占多数。鲽形目鲆、鲽 2 科 6 种鱼核型报道中,只有角木叶鲽核型  $2n = 48, 12m + 2sm + 34t$  特殊,其余 5 种核型相同,由此可见  $2n = 48, 48t$  可能是代表鲽形目鱼类的原始类型<sup>[9]</sup>,尚未见到有关性染色体的报道。而在本研究中,半滑舌鲷隶属鲽形目鲷科,染色体核型为  $2n = 42, 42t$ ,具异型性染色体,说明核型结果与它们系统分类分属不同科具有一致性。

经核型分析发现部分鱼苗中期分裂相中有异型性染色体的存在。一般情况下,在具异型性染色体的中期分裂相中,能明显区分出一条特殊染色体,该染色体大且染色深,而在具同型性染色体的中期分裂相中同源染色体形态大小相似。由于所取鱼苗为人工繁殖,且随机抽样,具异型性染色体(26 尾)和具同型性染色体(26 尾)的鱼苗数比

例约为 1:1,说明人工孵化的鱼苗中雌雄数目相当。另外,61 尾鱼中有 9 尾鱼的中期分裂相无法辨别是否具有异型性染色体,只是其中一条染色体较其他略大,或染色偏深。原因可能是制片或染色所致,或可能该鱼种本身的染色体就存在有多态性,或可能该鱼种的性别决定机制是特殊情况,有待进一步研究。一龄鱼基本上已出现大小和性别的分化,从性腺的形态特征和功能上能明显区分雌雄个体,可用来鉴定它的性别决定机制。已报道的鱼类性染色体类型,例如雄性配子异型的有  $XX/XY, XX/XO, X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y, X_1X_1X_2X_2/X_1X_1X_2, XX/X_1Y_1Y_2$ , 雌性配子异型的有  $ZW/ZZ, ZO/ZZ, ZW_1W_2/ZZ$  等<sup>[10]</sup>。综合我们两次实验结果,可初步断定半滑舌鲷的性染色体类型属于  $ZW/ZZ$  型,且 Z 染色体相对长度无论在雌性还是在雄性中排序都在第 4 位。

染色体相对长度分析如家蚕的染色体<sup>[11]</sup>,半滑舌鲷染色体全部都属端部着丝粒型染色体,形态上没有明显的区别,故相对长度成为染色体鉴别的一个基本指标。从表 2 中可以看出,除性染色体外,2~4 号染色体相对较大,相对长度大于 3;5~21 号同源染色体的相对长度呈连续性变化。同型性染色体相对长度相似,异型性染色体相对长度相差较大,W 型性染色体能与其他染色体明显区分开来。从实验计算出的标准差来看,较之其他鱼类核型分析结果要精确。可能是因为所取样本数目(22)比同类型的研究要大。

对半滑舌鲷染色体核型的分析可为该种鱼的资源调查和保护提供遗传学依据,也能为探索该种鱼的系统进化提供帮助,从而有利于该种鱼从野生到家养的驯化。

## 参考文献:

- [1] 邓景耀,孟田湘,任胜民,等. 渤海鱼类种类组成及数量分布[J]. 海洋水产研究,1988,(9): 11 - 89.
- [2] 孟田湘,任胜民. 渤海半滑舌鲷的年龄与生长[J]. 海洋水产研究,1988,(9): 173 - 183.
- [3] 姜言伟,万瑞景. 渤海半滑舌鲷的生殖习性及其产卵生态的研究[J]. 海洋水产研究,1988,(9): 185 - 192.
- [4] 姜言伟,万瑞景. 渤海半滑舌鲷早期形态及发育特征的研究[J]. 海洋水产研究,1988,(9): 193 - 201.
- [5] 姜言伟,万瑞景,陈瑞盛,等. 渤海半滑舌鲷人工育苗工艺技术的研究[J]. 海洋水产研究,1993(14): 25 - 33.
- [6] 舒 琥,顾仲坚,王云新,等. 红鳍笛鲷 (*Lutjanus erythopterus*) 的核型研究[J]. 广州大学学报(自然科学版),2003,2(1): 27 - 29.
- [7] Levan A, Fredga K, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes[J]. Hereditas, 1964, 52(2): 201 - 220.
- [8] 杨效文,张素芳,张孝毅. 不同寄主植物上烟蚜的染色体组型研究[J]. 应用与环境生物学报,2000,6(1): 56 - 60.
- [9] 相建海. 海洋动物细胞和种群生化遗传学[M]. 济南:山东科学技术出版社,1999.
- [10] 楼允东. 鱼类育种学[M]. 北京:中国农业出版社,2000.
- [11] 沈以红,向仲怀. 家蚕有丝分裂染色体研究[J]. 蚕业科学,1997,23(1): 42 - 46.