

条纹斑竹鲨染色体的核型分析

马 骞, 王世锋, 王 军, 苏永全*

(厦门大学海洋与环境学院, 福建 厦门 361005)

摘要: 采用 PHA 结合秋水仙素活体注射, 取条纹斑竹鲨(*Chiloscyllium plagiosum*)脾脏经低渗处理, 空气干燥制片法制作染色体标本, 对染色体进行 Giemsa 染色, 完成条纹斑竹鲨染色体核型分析. 研究表明, 条纹斑竹鲨的染色体组由 20 对中部着丝粒染色体、12 对亚中部着丝粒染色体、5 对亚端部着丝粒染色体和 14 对端部着丝粒染色体构成, 染色体核型公式为: $2n=102=28t+10st+24sm+40m$, 染色体臂数 $NF=166$, 其中 1 对亚中部着丝粒染色体带有明显的次缢痕. 与其他软骨鱼类相似, 条纹斑竹鲨同样具有数目众多的染色体二倍体数, 但以中部着丝粒和亚中部着丝粒染色体为主.

关键词: 条纹斑竹鲨; 染色体; 核型

中图分类号: Q 343. 22

文献标识码: A

文章编号: 0438-0479(2008)06-0894-03

软骨鱼纲包括鲨类、鳐类和银鲛类, 软骨鱼类是我国主要渔业捕捞对象之一, 具有很高的经济价值^[1], 因此, 软骨鱼类资源开发利用的前景十分广阔. 但由于大多数软骨鱼类生命周期较长、生长缓慢、性成熟晚、生殖力低, 遭到捕捞后资源恢复期比较长, 因此软骨鱼类的野生资源已大为减少, 我国已面临了如何对软骨鱼类资源进行保护及合理开发利用的问题.

染色体研究作为细胞遗传学研究的主要内容之一, 对认识和探索生物的染色体演化过程、分类系统及进化关系具有重要意义. 虽然鱼类染色体研究始于上世纪初, 但由于受软骨鱼类个体较大, 染色体数目较多, 活鱼的捕捞与暂养困难等因素限制, 软骨鱼类染色体研究进展十分缓慢, 至今为止仅有 70 种软骨鱼类的核型被研究报道, 我国尚未见软骨鱼类染色体研究的报道. 条纹斑竹鲨(*Chiloscyllium plagiosum*), 俗名狗鲨, 属软骨鱼纲、须鲨目、须鲨科、斑竹鲨属^[1]. 条纹斑竹鲨是福建沿海的常见软骨鱼种类, 具有较高的食用、药用及科研价值. 目前已有对条纹斑竹鲨基因组的 RAPD 分析^[2]及肌肉营养成分分析^[3]等相关报道. 本文首次对条纹斑竹鲨染色体核型进行研究报道, 弥补国内软骨鱼类染色体研究的空白, 研究结果不仅对软骨鱼类解剖学和系统演化学的探讨提供资料, 而且对于软骨鱼类遗传、变异和杂交育种研究也具有重要意义.

1 材料与方法

1.1 实验材料

条纹斑竹鲨活鱼购于厦门市第八市场, 体质量为 80~100 g.

1.2 实验方法

活鱼充气暂养, 参考硬骨鱼染色体核型制片方法^[4], 并在实验过程中加以改进, 采用 PHA、秋水仙碱活体注射培养, 取脾脏^[5]经低渗处理, 空气干燥法直接制片; 最后镜检、拍照, 按 Levan(1964)的染色体分类标准^[6]进行配对、分组, 作核型图.

2 结 果

选取条纹斑竹鲨 45 个分散良好的染色体中期分裂相计数, 23 个中期分裂相的染色体数目为 102, 占 51.1%, 条纹斑竹鲨的染色体二倍体数为 102, 即 $2n=102$. 具体统计结果如表 1 所示.

挑选 5 个分散良好, 形态清晰, 数目完整的染色体中期分裂相, 观察并统计每对染色体的有关参数. 核型分析结果表明, 条纹斑竹鲨染色体核型为 $2n=102=28t+10st+24sm+40m$, 臂数 $NF=166$, 即条纹斑竹鲨具有 14 对端部着丝粒染色体、5 对亚端部着丝粒染色体、20 对中部着丝粒染色体和 12 对亚中部着丝粒染色体. 在特定的中期分裂相中, 条纹斑竹鲨染色体的大小差异较大, 最小染色体相对长度为 0.56 ± 0.07 , 最大染色体相对长度为 3.48 ± 0.22 . 在 51 对染色体中有 1 对亚中部着丝粒染色体带有明显的次缢痕, 但次缢痕并不是出现在每个中期分裂相中, 即有的中期

收稿日期: 2007-11-13

基金项目: 国家自然科学基金(40776083, 40876080), 厦门市科技项目(3502Z20063022)资助

* 通讯作者: ycsu@xmu.edu.cn

分裂相中具有 1 对带次缢痕的染色体, 有的中期分裂相中只有 1 个带次缢痕的染色体, 而有的中期分裂相中没有带次缢痕的染色体出现. 表 2 为条纹斑竹鲨染色体相对长度和臂比.

表 1 条纹斑竹鲨染色体计数

Tab.1 Chromosome numbers of <i>Chiloscyllium plagiosum</i>						
染色体数	≤98	98	99	100	101	102
分裂相数	9	4	2	2	1	23
出现频率(%)	20	8.9	4.4	4.4	2.2	51.1
						8.9

3 讨 论

我国在海水鱼类染色体核型的研究中, 染色体标本的制备方法基本上沿用了淡水鱼类的研究方法. 在取材上主要为短期培养细胞, 如外周血培养细胞或肾



图 1 条纹斑竹鲨染色体核型及中期分裂相(箭头示次缢痕)

Fig.1 Karyotype and metaphase plate of *Chiloscyllium plagiosum*

PHA 短期培养细胞^[7-10]、细胞系细胞^[11-13]、活体组织^[14-16]和胚胎^[17]等细胞分裂增殖能力强的器官组织. 目前, 硬骨鱼类染色体标本的制备方法多采用头肾-PHA 注射法^[14], 即以头肾为实验材料结合 PHA

表 2 条纹斑竹鲨染色体相对长度和臂比

Tab.2 The relative length and arm ratio of chromosomes of *Chiloscyllium plagiosum*

编号	相对长度/ %	臂比	形态	编号	相对长度/ %	臂比	形态
1	2.14±0.08	∞	t1	27	1.64±0.17	1.94±0.11	sm8
2	1.74±0.07	∞	t2	28	2.20±0.15	1.88±0.12	sm9
3	1.72±0.08	∞	t3	29	2.78±0.24	1.82±0.14	sm10
4	1.54±0.38	∞	t4	30	2.47±0.25	1.82±0.17	sm11
5	1.51±0.14	∞	t5	31	2.60±0.29	1.79±0.12	sm12
6	1.38±0.06	∞	t6	32	2.28±0.23	1.67±0.04	m1
7	1.32±0.09	∞	t7	33	1.63±0.15	1.62±0.07	m2
8	1.25±0.04	∞	t8	34	3.08±0.10	1.58±0.05	m3
9	1.22±0.03	∞	t9	35	1.91±0.21	1.57±0.06	m4
10	1.18±0.03	∞	t10	36	1.84±0.14	1.45±0.12	m5
11	1.15±0.03	∞	t11	37	2.35±0.07	1.53±0.10	m6
12	1.13±0.04	∞	t12	38	1.58±0.05	1.45±0.11	m7
13	1.00±0.09	∞	t13	39	2.16±0.16	1.36±0.13	m8
14	0.56±0.07	∞	t14	40	1.54±0.16	1.28±0.08	m9
15	3.48±0.22	4.29±0.33	st1	41	1.43±0.11	1.22±0.09	m10
16	1.67±0.35	3.57±0.27	st2	42	2.27±0.19	1.22±0.14	m11
17	2.96±0.13	3.54±0.27	st3	43	1.98±0.21	1.21±0.16	m12
18	2.53±0.18	3.30±0.13	st4	44	1.84±0.20	1.13±0.09	m13
19	1.43±0.29	3.09±0.35	st5	45	1.47±0.17	1.13±0.03	m14
20	1.94±0.24	2.67±0.31	sm1	46	1.50±0.15	1.09±0.08	m15
21	2.16±0.19	2.44±0.22	sm2	47	2.02±0.19	1.08±0.08	m16
22	2.59±0.39	2.47±0.23	sm3	48	2.39±0.12	1.07±0.05	m17
23	1.82±0.26	2.18±0.21	sm4	49	2.32±0.17	1.04±0.06	m18
24	1.87±0.14	2.16±0.13	sm5	50	2.90±0.09	1.02±0.08	m19
25	3.45±0.12	1.98±0.16	sm6	51	1.56±0.03	1.02±0.04	m20
26	2.34±0.31	1.96±0.07	sm7				

和秋水仙素注射的方法来制备染色体标本. 本实验采用条纹斑竹鲨的脾脏作为实验材料, 获得很好的结果.

海水软骨鱼类血液中所含的盐分稍高于海水硬骨鱼类, 且它们的血液中还含有大量的尿素, 其体液浓度稍高于海水, 为微高渗性体液^[1], 因此海水软骨鱼类的细胞浓度高于海水硬骨鱼类. 为此, 软骨鱼类染色体制作过程中, 在细胞低渗处理时, 低渗液的浓度相对较低, 低渗时间也不宜过长.

目前有关须鲨科染色体的研究, 仅见 Rocco 报道了铰口鲨(*Ginglymostoma cirratum*)染色体 $2n=102$, 另有学者报道了点纹斑竹鲨(*Chiloscyllium punctatum*)、斑点长尾须鲨(*Hemiscyllium ocellatum*)、光鳞鲨(*Nebrius ferrugineus*)及妆饰须鲨(*Orectolobus ornatus*)和铰口鲨核 DNA 含量. 现已有报道的 31 种鲨鱼染色体二倍体数为 60~104, 其中六鳃鲨目、虎鲨目和须鲨目种类的染色体二倍体数较多, 为 102~104, 以端着丝粒和亚端着丝粒染色体居多, 占 75%~92%^[18]. 条纹斑竹鲨隶属须鲨目, 染色体核型为 $2n=102=28t+10st+24sm+40m$, 臂数 $NF=166$, 可见, 条纹斑竹鲨同样具有数量较多的染色体二倍体数, 但以中部着丝粒和亚中部着丝粒染色体为主, 占 63%, 而端部和亚端部着丝粒染色体仅占 37%.

参考文献:

- [1] 孟庆闻, 缪学祖, 俞泰济, 等. 鱼类学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1989.
- [2] 吴冰, 陈元霖, 桂慕燕. 条纹斑竹鲨基因组的 RAPD 分析初报[J]. 遗传, 1999, 21(1): 4-5.
- [3] 杨萍, 章超桦. 条纹斑竹鲨肌肉的营养成分[J]. 海洋科学, 2002, 26(2): 65-68.
- [4] 王德祥, 王军, 苏永全, 等. 鳐状黄姑鱼染色体核型的研究[J]. 海洋科学, 2002, 26(11): 68-70.
- [5] Lucia Rocco, Maria A M orescalchi, Domenico Costagliola,

et al. Karyotype and genome characterization in four cartilaginous fishes[J]. Gene, 2002, 295(2): 289-298.

- [6] 王子淑. 人体及动物细胞遗传学实验技术[M]. 成都: 四川大学出版社, 1987.
- [7] 刘凌云. 鳙鱼的白血细胞培养及其染色体组型分析[J]. 北京师范大学学报: 自然科学版, 1959, 3: 79-84.
- [8] 吴政安, 杨慧一. 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[J]. 遗传学报, 1980, 7(4): 370-375.
- [9] 周瞰. 鳙鱼染色体组型的研究[J]. 淡水渔业, 1980, 4: 3-7.
- [10] Bonza C, Sanchez L, martí nez P. Karotypic characterization of turbot (*Scophthalmus maximus*) with conventional, fluorochrome and endonuclease banding techniques[J]. MarBio, 1994, 120: 609-613.
- [11] 张念慈, 杨广智. 草鱼吻端组织细胞株 2G-7901 及其亚株 2G-7901S1 的建立和特性观察[J]. 水产学报, 1980, 5(2): 111-119.
- [12] Tong S L, Miao H Z, Li H. Three new continuous fish cell lines of SPH, SPS and RSBF derived from sea perch (*Lateolabrax japonicus*) and red sea bream (*Pagrosomus major*)[J]. Aqu, 1998, 169: 143-151.
- [13] Chen S L, Sha Z X, Ye H Q. Establishment of a pluripotent embryonic stem cell line from sea perch, *Lateolabrax japonicus*, blastula embryos[J]. Aqu, 2003, 218: 141-151.
- [14] 林义浩. 快速获得大量鱼类肾细胞中期分裂相的 PHA 体内注射法[J]. 水产学报, 1982, 6(3): 201-204.
- [15] 高建民. 鱼类染色体的白细胞 PHA 活体处理制片及其核型观察[J]. 遗传, 1986, 8(5): 42-44.
- [16] 张四明. 一种制备鱼类染色体的新方法[J]. 遗传, 1993, 15(3): 35-36.
- [17] 洪云汉. 鱼类单个胚胎染色体标本的快速制备方法[J]. 淡水渔业, 1987, 1: 35-36.
- [18] 谢仰杰, 翁朝红, 苏永全, 等. 软骨鱼类染色体研究进展[J]. 中国水产科学, 2006, 13(5): 856-866.

Analysis of the Karyotype of *Chiloscyllium plagiosum*

MA Qian, WANG Shifeng, WANG Jun, SU Yongquan*

(College of Oceanography and Environmental Science, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: The chromosome specimens of the lip shark *Chiloscyllium plagiosum* were obtained from the spleen cell by vivo injection of PHA and cultivation of colchicines, hypatoic air drying technique, and then, by studying their Giemsa stain, the analysis of the karyotype was completed. According to the chromosome centromeric index values found, the karyotype of *C. plagiosum* is composed of 20 metacentric, 12 metacentric submetacentric, 5 telocentric submetacentric and 14 telocentric pairs, and the karyotype formula is: $2n=102=28t+10st+24sm+40m$. $NF=166$, and there was one pair of metacentric submetacentric chromosomes with secondary constriction. Compared to the other cartilaginous fishes, *C. plagiosum* had high diploid chromosome number, most of which were metacentric and metacentric submetacentric chromosomes.

Key words: lip shark; *Chiloscyllium plagiosum*; karyotype