

星丽鱼和天使鱼的核型及银染和 C 带

陈友铃 汪彦 吴文珊 肖文英

(福建师范大学生物工程学院 福州 350007)

摘要:以肾细胞作材料,采用秋水仙素-低渗-空气干燥法、Howell 的方法(银染)和 Sumner 的方法(C 带),制作染色体标本。报道了星丽鱼(*Astronotus ocellatus*)、天使鱼(*Pterophyllum scalare*)的核型及银染和 C 带。结果显示,这两种热带淡水观赏鱼的 $2n$ 均为 48。星丽鱼的核型公式为 $2n = 2m + 26sm + 16st + 4t$, $NF = 76$ 。其染色体经快速银染后表明,在 sm_1 的随体上出现银染位点;多数染色体的着丝点区均显示出一个深浅不同的 C 带,随体所在位置均深染。天使鱼具有异形性染色体,其核型公式为 $\text{♀ } 2n = 4n(X) + 12sm + 12st + 20t$, $NF = 64$; $\text{♂ } 2n = 3m(X) + 12sm + 12st + 21t(Y)$, $NF = 63$ 。银染点位于 sm_3 的短臂末端和 X 染色体的短臂末端;多数染色体为着丝粒 C 带。在两种鱼中均未见到 Ag-NORs 联合现象。

关键词:星丽鱼;天使鱼;染色体组型;银染;C 带

中图分类号:Q959.7 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2005)06-84-07

Analysis of Chromosome Complement C-Banding and Ag-NORs of *Astronotus ocellatus* and *Pterophyllum scalare*

CHEN You-Ling WANG Yan-Yin WU Wen-Shan XIAO Wen-Ying

(Bioengineering College, Fujian Teachers University, Fuzhou 350007, China)

Abstract: Chromosome specimen of kidney cells was prepared by using colchicine-low concentration-air drying method, Howell's (1980) Ag-NORs staining method and Sumner's (1972) C-Banding staining method. The karyotype Ag-NORs and C-Banding of two kinds of tropic freshwater fishes, *Astronotus ocellatus* and *Pterophyllum scalare*, were observed. The results showed that these two kinds of tropic freshwater fish have a chromosome number of $2n = 48$. The karyotype of *A. ocellatus* was $2n = 2m + 26sm + 16st + 4t$, $NF = 76$. The Ag-NOR staining spots could be observed on the satellites of sm_1 ; lightly stained and darkly stained C-Banding were observed on centromeres of most chromosomes; and the satellites were darkly stained. *P. scalare* possessed sex chromosomes X and Y with a karyotype of $\text{♀ } 2n = 4n(X) + 12sm + 12st + 20t$, $NF = 64$; and karyotype of $\text{♂ } 2n = 3m(X) + 12sm + 12st + 21t(Y)$, $NF = 63$. Ag-NORs spots could be observed on the tips of short arm of sm_3 and X chromosome. The type of C-Banding in most chromosomes was centromeric. There was no Ag-NORs combination in both fishes.

Key words: *Astronotus ocellatus*; *Pterophyllum scalare*; Karyotype; Ag-NORs; C-Banding

随着我国人民生活水平的不断提高,热带淡水鱼类的饲养越来越受到人们的喜爱。星丽鱼(*Astronotus ocellatus*),俗称地图鱼。原产地在南美洲,一般全长为 25~30 cm,因其全身的花纹像一张地图而闻名。天使鱼(*Pterophyllum scalare*),俗称神仙鱼。原产地在南美洲圭亚那、巴西,一般全长为 8~10 cm,是十分名贵的丽鱼

科(Cichlidae)鱼^[1,2]。

基金项目 福建省自然科学基金(No. B0210012),福建省教育厅自然科学基金(No. JA02183);

第一作者介绍 陈友铃,男,学士,副教授;研究方向:脊椎动物学;E-mail: chenyouling2000@126.com。

收稿日期 2005-04-05,修回日期 2005-09-12

全世界已经做过分类记载和研究的鱼类约两万多种,其中做了染色体研究的约占10%,而关于热带淡水观赏鱼的核型研究的报道则更少。本文报道了同是鲈形目(Perciformes)丽鱼科的星丽鱼和天使鱼的核型、Ag染及C带。这有利于更好地认识星丽鱼、天使鱼的染色体特征,丰富热带淡水鱼类丽鱼科的细胞遗传学内容,并为它们的遗传、变异、分类、系统演化以及杂交育种提供资料和依据。现将结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 材料 实验用的星丽鱼和天使鱼均取自饲养在福建师范大学生物工程学院养鱼房水族箱内,其中星丽鱼5♂1♀,天使鱼4♂3♀。

1.2 方法

1.2.1 核型分析 按林义浩提出的植物凝集素(phytoagglutinin, PHA)体内注射法对实验用的鱼作前处理^[3]。先按4~5 μg/g鱼体重剂量向鱼的胸腔注射PHA,24 h后再向其腹腔注射秋水仙素溶液,剂量为3~4 μg/g鱼体重;其他制备染色体的方法相同。核型分析的方法按Levan的标准进行分类归组^[4]。

1.2.2 银染 按Howell的快速银染法稍加修改^[5]。将50%的硝酸银溶液与2%明胶溶液(内含1%甲酸)以2:1混合后立刻均匀滴加到染色体制片上,在60℃处理10~15 min,当整张玻片呈棕黄色时取出,自来水冲洗,干燥后镜检。

1.2.3 C-带 按Sumner的BSC(Barium hydroxide/Saline/Giemsa)法稍加修改^[6]。将染色体制片放入0.2 mol/L HCl染缸中,室温处理15 min,蒸馏水冲洗,空气干燥;再放入新配制的5% Ba(OH)₂液中在60℃处理15 min,用0.2 mol/L HCl中和后,蒸馏水冲洗,空气中干燥;再转入60℃的2×SSC液中处理1 h,蒸馏水冲洗,空气中干燥。用10%的Giemsa染色40 min,蒸馏水冲洗,空气中干燥后镜检。

2 结果

两种鱼的核型数据、染色体数目及形态划

分见表1。

2.1 星丽鱼

2.1.1 星丽鱼的染色体组型(图版I:1) 根据对100个以上中期分裂相的观察结果,确定星丽鱼 $2n = 48$, $NF = 76$,核型可分为A、B、C、D 4组。A组:1对,为中部着丝点染色体;B组:13对,为亚中部着丝点染色体,大小连续递减;其中每个分裂相中 sm_1 的一条染色体短臂上都具有明显的随体,而另一条染色体出现随体的概率约为1/3(图版I:1b)。C组:8对,为亚端部着丝点染色体;D组:2对,为端部着丝点染色体。核型组成为 $2m + 26sm + 16st + 4t$ 。

结合未发表的组型图来看, sm_1 上的随体有球状和棒状两种(图版I:1中第二对所示为棒状,a所示为球状)。在雌雄个体的细胞中,未发现与性别决定有关的异形性染色体。

2.1.2 星丽鱼的银染核型(图版I:2) 星丽鱼的银染明显。中期分裂相及间期核中最高银染点均为2点,但仅约占1/3,具有1个银染点的分裂相占绝大多数,故判定其Ag-NORs的数目为1。在每个分裂相中,银染点位于 sm_1 其中一条染色体的随体上,而在约1/3的分裂相中,另一条染色体上的银染点也同时出现。未见其有Ag-NORs联合的现象。

2.1.3 星丽鱼的C-带带型(图版I:3) 星丽鱼的48条染色体均有大小不一的着丝粒C-带,同源染色体的C-带的大小、位置及着色强度基本相同,不同染色体的C-带有一定差异(特别是在常规染色很浅的随体,在C-带染色的标本中却着色特别深)。在每个分裂相中, sm_1 的其中一条染色体除在其着丝粒部位深染外,在随体上也深染,而在约1/3的分裂相中,另一条染色体上也同时出现这种情况,显示出随体与C-带的对应关系。

2.2 天使鱼

2.2.1 天使鱼的染色体组型(图版II:1) 天使鱼雌雄各统计100个以上中期分裂相,确定 $2n = 48$,同样也可分为A、B、C、D 4组。A组:1对,为中部着丝点染色体;B组:6对,为亚中部着丝点染色体,大小连续递减;C组:6对,为亚

表 1 星丽鱼和天使鱼染色体组型分析数据

染色体编号	星丽鱼 <i>Astronotus ocellatus</i>			天使鱼 <i>Pterophyllum scalare</i>		
	相对长度	臂比值	着丝点位置	相对长度	臂比值	着丝点位置
1	4.63 ± 0.21	1.58 ± 0.05	中部	4.28 ± 0.09	1.25 ± 0.07	中部
2	5.23 ± 0.06	1.71 ± 0.06	亚中部	5.12 ± 0.15	2.32 ± 0.09	亚中部
3	5.21 ± 0.40	2.59 ± 0.13	亚中部	4.67 ± 0.11	2.43 ± 0.10	亚中部
4	5.02 ± 0.28	2.24 ± 0.07	亚中部	4.15 ± 0.13	2.41 ± 0.11	亚中部
5	4.53 ± 0.14	2.36 ± 0.08	亚中部	4.11 ± 0.12	2.64 ± 0.11	亚中部
6	4.50 ± 0.14	2.61 ± 0.21	亚中部	4.06 ± 0.14	2.67 ± 0.13	亚中部
7	4.42 ± 0.11	2.45 ± 0.08	亚中部	3.55 ± 0.14	2.36 ± 0.11	亚中部
8	4.33 ± 0.15	2.27 ± 0.15	亚中部	5.17 ± 0.13	3.91 ± 0.14	亚端部
9	4.24 ± 0.17	2.80 ± 0.18	亚中部	4.62 ± 0.12	4.17 ± 0.12	亚端部
10	4.17 ± 0.20	2.35 ± 0.21	亚中部	4.60 ± 0.10	3.20 ± 0.10	亚端部
11	4.08 ± 0.20	2.90 ± 0.23	亚中部	4.56 ± 0.12	3.66 ± 0.13	亚端部
12	3.93 ± 0.25	2.02 ± 0.21	亚中部	4.09 ± 0.11	4.87 ± 0.14	亚端部
13	3.73 ± 0.30	2.29 ± 0.08	亚中部	3.55 ± 0.09	3.68 ± 0.11	亚端部
14	3.33 ± 0.34	2.42 ± 0.18	亚中部	4.64 ± 0.14	> 7	端部
15	4.85 ± 0.24	3.27 ± 0.17	亚端部	4.09 ± 0.10	> 7	端部
16	4.78 ± 0.15	3.49 ± 0.20	亚端部	3.94 ± 0.13	> 7	端部
17	4.57 ± 0.18	3.41 ± 0.10	亚端部	3.65 ± 0.11	> 7	端部
18	4.45 ± 0.13	3.45 ± 0.10	亚端部	3.64 ± 0.12	> 7	端部
19	4.31 ± 0.15	3.24 ± 0.14	亚端部	3.55 ± 0.11	> 7	端部
20	4.03 ± 0.24	3.28 ± 0.06	亚端部	3.36 ± 0.11	> 7	端部
21	3.85 ± 0.28	3.28 ± 0.16	亚端部	3.07 ± 0.09	> 7	端部
22	3.53 ± 0.34	3.22 ± 0.07	亚端部	2.19 ± 0.09	> 7	端部
23	3.59 ± 0.33	> 7	端部	2.07 ± 0.10	> 7	端部
24	2.98 ± 0.20	> 7	端部			
X				7.15 ± 0.10	1.56 ± 0.10	中部
Y				2.28 ± 0.11	> 7	端部

端部着丝点染色体,大小连续递减;D组:11对,为端部着丝点染色体(其中X染色体为m型)。核型组成为♂ 3n(X)+12sm+12st+21t(Y),NF=63;♀ 4n(X)+12sm+12st+20t,NF=64。

在被分析过的分裂相中,未曾发现带有特殊标志特征(如随体、次缢痕等)的染色体,但发现雄鱼有一对形态明显异型的染色体对,为性染色体XY。X染色体属中部着丝粒染色体,其长度是天使鱼所有染色体中最长的,这一点我们已经在雌鱼中得到证实,雌鱼中为XX型(图版II:1)。因此,只要有关染色体的形态良好,X染色体是可以根据长度来加以识别的。Y染色体是端部着丝粒染色体。

2.2.2 天使鱼的银染核型(图版II:2) 天使鱼的银染明显。中期分裂相及间期核中最高银

染点均为2点,且所观察的分裂相绝大多数具有2个银染点,故判定其Ag-NORs的数目为2。在大部分分裂相中,银染点位于sm₃,其中一条染色体的短臂末端和X染色体的短臂末端。未见其有Ag-NORs联合的现象。

2.2.3 天使鱼的C-带带型(图版II:3) 天使鱼的48条染色体均有大小不一的着丝粒C-带,同源染色体的C-带的大小、位置及着色强度基本相同,不同染色体的C-带有一定的差异。镜检C-带染色的染色体玻片标本表明,天使鱼具有X染色体,这“X”染色体正是着丝粒被染的大染色体,这与我们之前对核型的分析是一致的。

3 讨论

3.1 性染色体 本文所报道的星丽鱼通过核

型、银染和 C-带的分析,都没有发现异形性染色体。而在天使鱼的核型中很明显地发现异形性染色体的存在,通过银染和 C-带的分析,也证实了这一点。其中 X 染色体属中部着丝粒染色体,长度是天使鱼所有染色体中最长的, Y 染色体是端部着丝粒染色体,二者在形态上明显不同(图版 II : 1)。据报道已经做过分类记载和研究的鱼类约两万多种,其中做了染色体研究的约 2 000 多种,但是被证明具有性染色体机制的种数很少,大约有 30 多种,其中能从细胞学上鉴别出性染色体的可能不超过 30 种。这种情况可能反映出鱼类的绝大多数还没有进化到具有性染色体机制的历程,具有了这种机制也不一定就有形态异形的性染色体分化。星丽鱼就是属于这种类型的鱼类。

3.2 银染 NORs 的数目、分布及形态特征可作为研究物种间亲缘关系和染色体进化的一个指标。NORs 通常分布在染色体的次缢痕和随体区域,我们的银染结果也表明,星丽鱼随体的位置、大小及形态与 NORs 的位置、大小、形态相一致。

NORs 的一个重要特征是多态性,主要表现有两种:一是数目多态;二是结构多态。银染技术是特异地显示 NORs 的有效方法,原位杂交已证明 Ag-NORs 即 18S + 28S rRNA 基因的分布区。Schmid 认为,银染方法对于有丝分裂中期染色体来说,仅仅是那些在间期有转录活性的 NORs 被 AgNO₃ 特异地染色。由于 AgNO₃ 能反映出它在间期核中的转录活性,不仅反映了 rRNA 基因的染色体定位,而且其染色体变异性还反映了 rRNA 基因数目的不同或活性差异^[7]。

本文报道的星丽鱼和天使鱼的 NORs 也呈现出多态性。在星丽鱼的每个分裂相中,银染点位于 sm₁ 其中一条染色体的随体上,呈银染阳性,而另一条染色体在没有出现随体时则没有银染位点,表现为银染阴性,这条染色体没有出现银染位点的概率约为 2/3,这与其在核型分析和 C 带的结果都是一致的。天使鱼的 sm₃ 上只观察到一条染色体的短臂末端着染,而另一条染色体没有着染(图版 I 2,图版 II 2 在图中

用箭头指示银染位置,其右的银染配对图则用横线表示),这些也正反映了 rRNA 基因转录活性的差异。虽然 Ag-NORs 联合的现象在鱼类中比较常见,但在我们的实验结果中,并未看到这种现象。

3.3 C 带 Sumner 认为,C-带染色之所以能使染色体的浅染区带和深染区带显示不同的染色现象,是由于浅染区带 DNA 经 C-带处理被抽提掉,深染区带 DNA 却大部分仍被保留。异染色质区带 DNA 与染色体蛋白质(组蛋白或非组蛋白)相互作用,使得异染色质区带 DNA 在 C-带处理过程中比常染色质区带 DNA 更耐受碱性溶液的抽提作用^[6]。

星丽鱼的随体常规 Giemsa 染色很浅,是由于其周围蛋白质对染料与 DNA 的结合有屏障作用。经 C-带处理,周围蛋白质被除掉, DNA 暴露出来,因而着色很深。随体或次缢痕往往和核仁组织区(NOR)有对应关系,经硝酸银染色技术(Ag-As 技术)被特异地染成深黑色,但被银染的物质并不是 NOR 的 rDNA 本身,而是 rDNA 转录转译的周围蛋白质。由此看来,星丽鱼随体的常规染色和 C-带染色特征与 NOR 的银染特性之间是有对应关系的。

C 带分为着丝点(centromeric)C 带、端型(telomeric)C 带和插入型(interstitial)C 带等。在识别鱼类性染色体方面,C 带技术有一定的应用价值,C 带染色技术是特异地显示结构的异染色质的方法,结构异染色质一般只分布在各染色体的着丝点及附近区域、核仁组织者及附近区域、端粒区及 Y 染色体长臂的一部或大部。C-带技术在星丽鱼和天使鱼上的应用表明,这两种鱼类的染色体(包括天使鱼的 X 染色体)就只在着丝点或着丝点附近和随体部位含有结构异染色质。显然,星丽鱼和天使鱼的染色体上的结构异染色质的分布与上述的一般分布模式是相同的。

3.4 系统演化 本文所报道的星丽鱼和天使鱼都同属于鲈形目(Perciformes)丽鱼科(Cichlidae),从核型研究来看,它们的染色体数目是一致的,2n = 48,但在形态上却有着明显的

区别(表 2)。

表 2 星丽鱼和天使鱼染色体形态的比较

种名	m	sm	st	t	特殊标志染色体	异型染色体
星丽鱼	1 对	13 对	8 对	2 对	有随体	无
天使鱼(♀)	2 对	6 对	6 对	10 对	无随体	有

鲈形目是鱼类系统演化高位的类型,是鱼类最大的一个目,星丽鱼和天使鱼都属于鲈形目鱼类。根据现代鱼类演化的理论,染色体结构的重排可以引起 NF 值的变化,在 2n 值相同的分类群之间,臂数的变化是从进化上低位类群到高位类群的表现为逐渐升高的趋势^[8~11],即具有较多端部着丝粒染色体的类型比较原始,而出现较多中部和近中部着丝粒染色体的类型比较进化,因而从表 2 可以推断星丽鱼比天使鱼更为进化。

参 考 文 献

[1] 青岛水族馆,青岛海产博物馆.淡水观赏鱼.北京:科学出版社,2002,91.
 [2] 许金.热带淡水鱼观赏鱼饲养.南京:江苏科学技术出版社,2003,38~46.
 [3] 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.水产学报,1982,1(3):201~204.

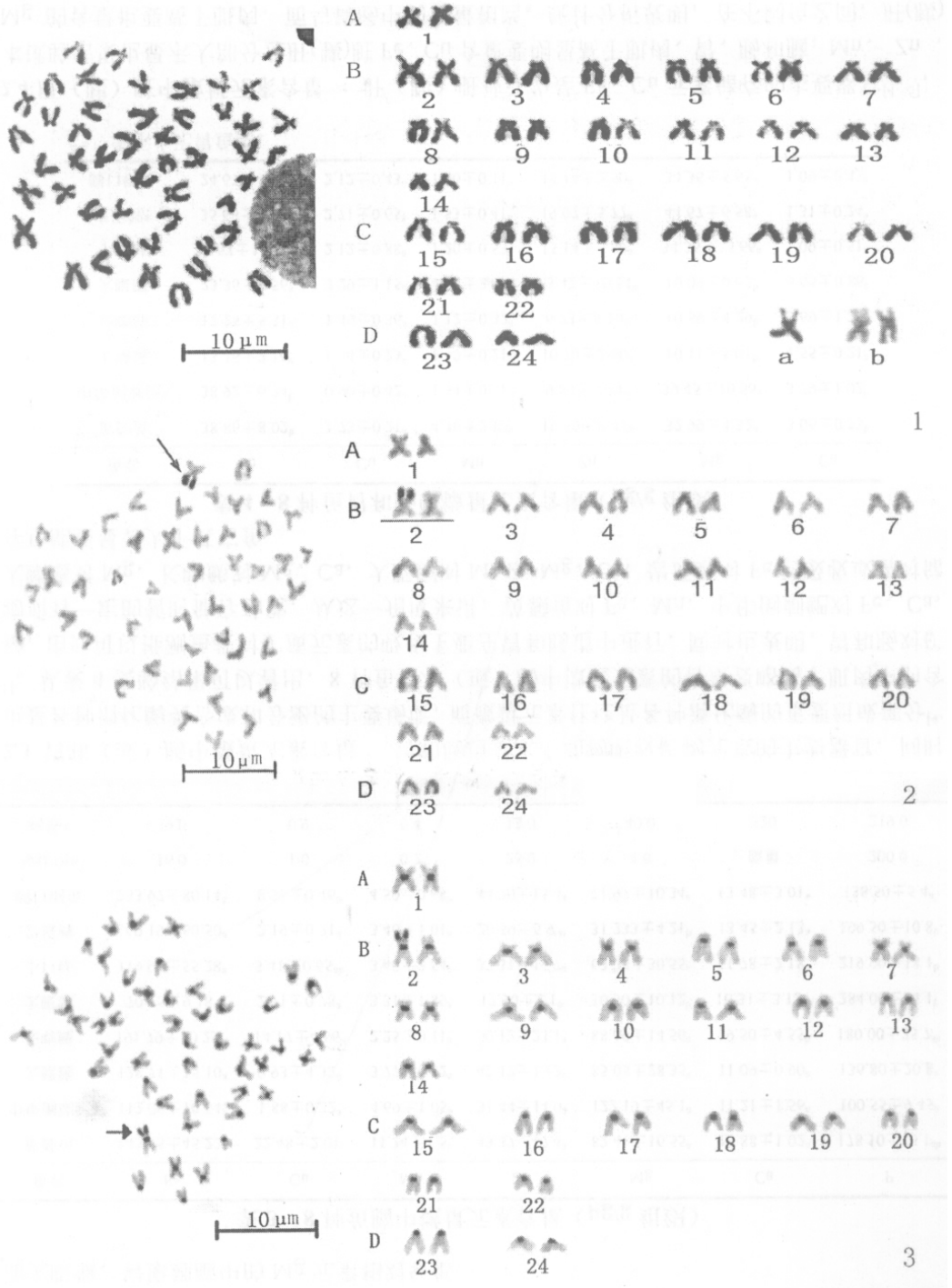
[4] Levan A D. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 1964, **52**: 201~220.
 [5] Howell W M, Black G. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a step method. *Experientia*, 1980, **36**: 1014~1015.
 [6] Sumner A T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp Cell Res*, 1972, **75**(1): 304~306.
 [7] Schmid M. Chromosome banding in amphibia. *Chromosome*, 1980, **77**(1): 83~103.
 [8] 李树深.鱼类细胞分类学.生物科学动态,1981(2):8~15.
 [9] 余先觉,周曦,李渝成等.中国淡水鱼类染色体.北京:科学出版社,1989,11~18.
 [10] 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 5 种鱼和鲴亚科 4 种鱼的染色体组型.动物学研究,1986,7(2):183~188.
 [11] 李康,李渝成,桂建芳等.中国鲤科鱼类染色体组型的研究.Ⅸ.鲴亚科 9 种鱼和鲃亚科 1 种鱼的染色体组型.水生生物学报,1986,10(2):190~193.

陈友铃等·星丽鱼和天使鱼的核型及银染和 C 带

图版 I

CHEN You-Ling *et al.*: Analysis of Chromosome Complement C-Banding and Ag-NORs of *Astronotus ocellatus* and *Pterophyllum scalare*

Plate I



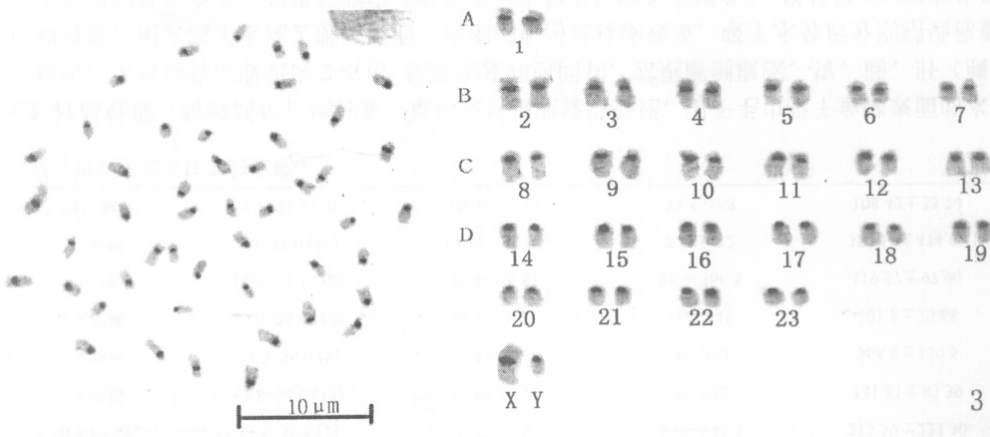
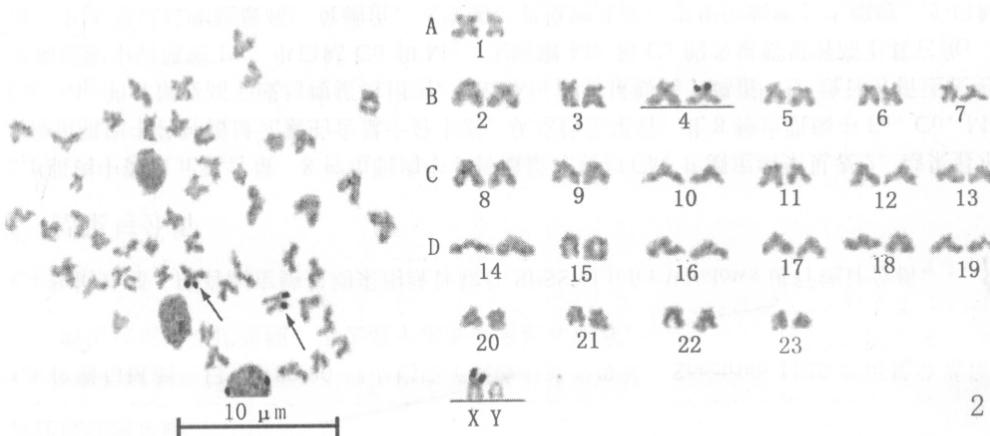
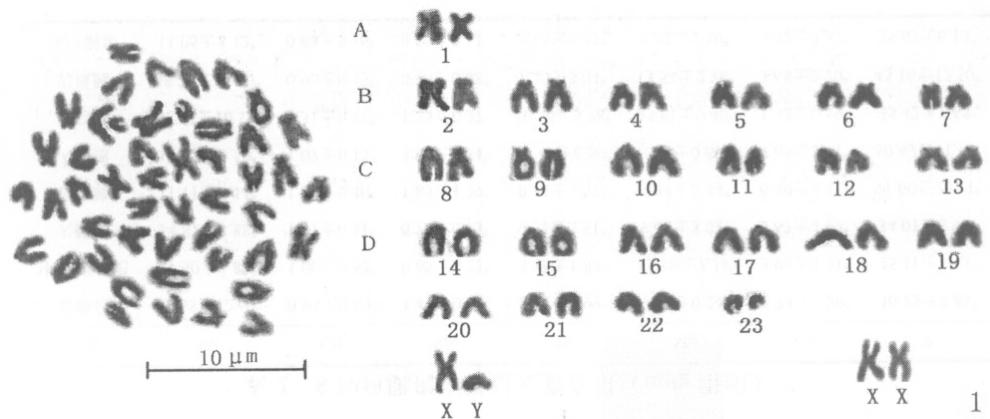
1. 星丽鱼(♂)染色体组型; 2. 星丽鱼(♂)银染 箭头所示为银染点; 3. 星丽鱼(♂)C带 箭头所示为随体。A组为m型染色体; B组为sm型染色体; C组为sl型染色体; D组为l型染色体。

陈友铃等 星丽鱼和天使鱼的核型及银染和 C 带

图版 II

CHEN You-Ling et al. :Analysis of Chromosome Complement C-Banding and Ag-NORs of *Astronotus ocellatus* and *Pterophyllum scalare*

Plate II



1. 天使鱼(♂)染色体组型; 2. 天使鱼(♂)银染, 箭头所示为银染点; 3. 天使鱼(♂)C带。
A 组为 m 型染色体; B 组为 sm 型染色体; C 组为 st 型染色体; D 组为 t 型染色体。