

美丽硬仆骨舌鱼核型分析

田媛^{①②} 牟希东^① 汪学杰^① 顾党恩^① 胡隐昌^① 罗建仁^①

① 中国水产科学研究院珠江水产研究所 农业部热带亚热带水产资源利用与养殖重点实验室 广州 510380;

② 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306

摘要: 美丽硬仆骨舌鱼 (*Scleropages formosus*) 是一种古老的具有很高经济价值的观赏鱼类。为了解该鱼的细胞遗传背景, 采用胸腔注射植物血球凝集素 (PHA) 和秋水仙素的方法, 以头肾为材料, 空气干燥法制片, 对美丽硬仆骨舌鱼的染色体进行了分析研究。结果表明, 美丽硬仆骨舌鱼的二倍体染色体数目为 50, 核型公式为 $2n = 2m + 8sm + 8st + 32t$, 臂数 (NF) 为 60。这一核型符合低等鱼类的基本特征, 研究结果可为美丽硬仆骨舌鱼的种质标准和系统演化等提供基础数据。

关键词: 美丽硬仆骨舌鱼; 染色体; 核型

中图分类号: S917.6 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2013)04-569-05

Karyotype Analysis of *Scleropages formosus*

TIAN Yuan^{①②} MU Xi-Dong^① WANG Xue-Jie^① GU Dang-En^①
HU Yin-Chang^① LUO Jian-Ren^{①*}

① Pearl River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Key Laboratory of Tropical & Subtropical Fishery Resource Application & Cultivation, Ministry of Agriculture, Guangzhou 510380;

② College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: *Scleropages formosus* is an important aquarium fish with high economic value. In order to explore its cytogenetic background, the metaphase chromosomes were observed. The phytohemagglutinin (PHA) and colchicine were injected *in vivo*, and kidney cells were collected and treated with low osmotic solution, and finally chromosome spread was prepared by air-drying technique. The karyotype was analyzed. The results showed that *S. formosus* had a diploid chromosome number of 50 and the karyotype formula was $2n = 2m + 8sm + 8st + 32t$, NF = 60. These data will be helpful for understanding the idioplasm and systematic evolution of *S. formosus*.

Key words: *Scleropages formosus*; Chromosome; Karyotype

美丽硬仆骨舌鱼 (*Scleropages formosus*) 一般被称为亚洲龙鱼 (Asian Arowana), 隶属于骨舌鱼目 (Osteoglossiformes) 骨舌鱼科 (Osteoglossidae) 坚体鱼属 (Nelson 2006), 它的自然分布覆盖了东南亚的大部分地方, 包括柬埔寨、印尼、老挝、马来群岛、菲律宾、越南和泰国 (Yue et al. 2004)。美丽硬仆骨舌鱼以其磅礴的气势、华贵的颜色以及优美的体型, 深受观赏鱼爱好者的喜爱, 被誉为“热带淡水观赏鱼之

王”。另一方面, 美丽硬仆骨舌鱼起源于侏罗纪时期, 具有“活化石”之称, 因此在鱼类进化史上具有重要的学术价值 (牟希东等 2012)。

基金项目 国家科技基础条件平台, 广东省科技计划项目 (No. 2011B060400023);

* 通讯作者, E-mail: olfishlo@163.com;

第一作者介绍 田媛, 女, 硕士研究生; 研究方向: 水产生物遗传育种; E-mail: tianyuan0000@126.com。

收稿日期: 2013-01-22, 修回日期: 2013-03-26

但是,由于该种鱼的繁殖能力较低,市场需求量大等原因,美丽硬仆骨舌鱼在其原产地的数量急剧减少,已经在1975年被濒危野生动植物种国际贸易公约(Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora, CITES)列为濒危物种(Dawes et al. 1999)。

鱼类的染色体及其组型的分析研究,对于鱼类遗传育种和分类进化的深入探索有着重要意义(马涛 1994)。目前对美丽硬仆骨舌鱼的研究主要集中在遗传结构(Yue et al. 2000, 2003, 2004, 2006, Rahman et al. 2008, Mu et al. 2011, 2012a, b)和基础生物学特性(牟希东等 2010)等方面,对其染色体组型研究尚未见报道。本文对美丽硬仆骨舌鱼染色体组型进行研究,一方面可为该鱼的种质标准提供相关参数,另一方面为进一步探讨美丽硬仆骨舌鱼的系统演化、进化地位提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 实验材料 实验用鱼于2012年8月购买自广州花地湾观赏鱼市场。鱼体形态、体色正常,体表完好无损伤。活体放入水族缸中暂养,暂养水温控制在28~30℃;pH控制在6~7;缸内放置气石和过滤棉以保证充足的溶氧和干净的水质,每周换水2次。实验用鱼共4尾(2雄, 2雌),体重1 018~1 969 g,体长375~447 cm。

1.2 染色体标本的制备 染色体玻片标本的制备参照朱新平等(1990)和余凤玲(2005)的方法,并作适当改进。按5 μg/g的剂量自美丽硬仆骨舌鱼胸鳍基部注射植物血球凝集素(phytohemagglutinin, PHA)(广州威佳科技有限公司),分2次注射,间隔24 h,第二次注射后经过约20 h,再按5 μg/g鱼体重注射秋水仙素,4 h后剪断鳃丝放血然后解剖取头肾。将头肾用生理盐水洗涤数遍后制成细胞悬液,离心收集细胞(1 000 r/min, 5 min),吸除上清液后滴加约4 ml(0.075 mol/L)KCl溶液,轻轻吹打成悬浮液,低渗处理35 min;然后用新鲜配制的固定液(甲醇与冰醋酸的体积比为3:1配制,现用现配)固定3次,每次20 min。采用冷片法滴

片,空气中干燥;最后用质量分数为5%的Giemsa染液染色10 min,用自来水冲洗后观察。选取来自不同个体、分散良好、形态清晰、数目完整的美丽硬仆骨舌鱼100个中期分裂相细胞(每尾鱼不少于10个分裂相),用显微镜进行观察并拍照统计,确定染色体的数目。低渗处理和染色均在室温下进行。

选取10个分散良好且形态清晰的中期分裂相染色体图片,测量臂长,计算其相对长度[(染色体长度/染色体组总长度)×100%]、臂比值(长臂长度/短臂长度),进行染色体的分类以及统计臂数(arm number, NF)等。染色体的分类依据Levan等(1964)的标准确定;臂数统计按杨汉民(1998)的方法进行。采用Microsoft excel软件进行统计分析。

2 结果

2.1 美丽硬仆骨舌鱼二倍体染色体数目 计数了美丽硬仆骨舌鱼100个中期分裂相,其中染色体总数小于50、等于50和大于50的分裂相细胞占全部计数细胞的百分比分别为18%、77%和5%,由此确定美丽硬仆骨舌鱼的二倍体染色体数目为 $2n=50$ 。

2.2 美丽硬仆骨舌鱼的染色体核型 美丽硬仆骨舌鱼二倍体染色体相对长度、臂比和类型的统计结果见表1。中部着丝粒染色体(metacentrics, m)1对;亚中部着丝粒染色体(submetacentrics, sm)4对;亚端部着丝粒染色体(subtelocentrics, st)4对;端部着丝粒染色体(telocentrics, t)16对。因此,确定美丽硬仆骨舌鱼的核型公式为: $2n=2m+8sm+8st+32t$,染色体总臂数NF=60。染色体相对长度为2.16%~6.82%,具连续性。在美丽硬仆骨舌鱼的染色体观察中没有发现异型性染色体和次缢痕及随体等特征。中期分裂相及其配对见图1。

3 讨论

美丽硬仆骨舌鱼按照体色不同主要分为金龙鱼、青龙鱼和红龙鱼3个种群,是一种属于古

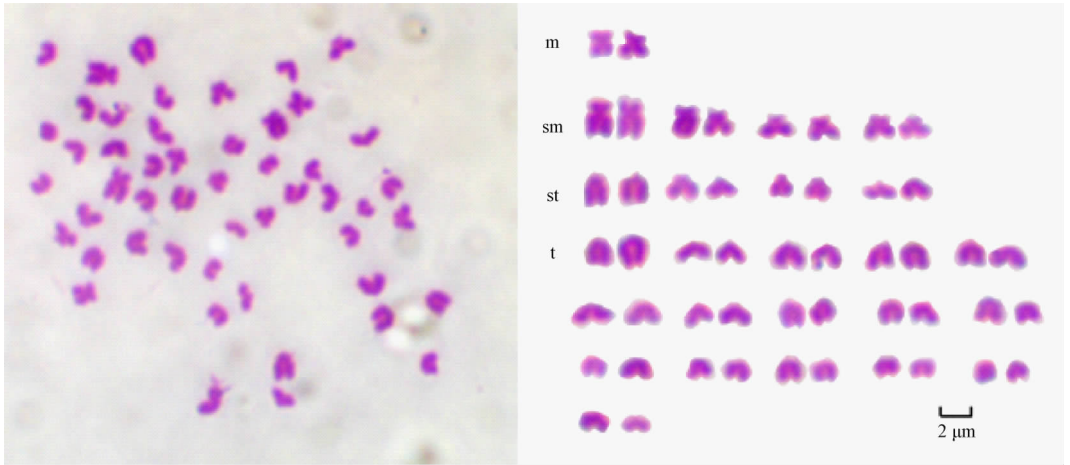


图 1 美丽硬仆骨舌鱼染色体中期分裂相及其配对

Fig. 1 The metaphase chromosomes and karyotype of *Scleropages formosus*

表 1 美丽硬仆骨舌鱼的核型参数

(平均值 \pm 标准差, $n = 10$)Table 1 The karyotype indices of *Scleropages formosus* (Mena \pm SD, $n = 10$)

序号 No. of chromosome	相对长度 (%) Relative length	臂比 Arm ratio	类型 Chromosome type
1	5.10 \pm 0.32	1.51 \pm 0.26	m
2	6.82 \pm 0.57	2.57 \pm 0.58	sm
3	5.53 \pm 0.55	2.71 \pm 0.60	sm
4	4.93 \pm 0.28	2.81 \pm 0.84	sm
5	4.27 \pm 0.16	2.68 \pm 0.66	sm
6	5.80 \pm 0.65	3.58 \pm 1.05	st
7	4.58 \pm 0.23	3.20 \pm 0.64	st
8	4.22 \pm 0.32	3.28 \pm 0.56	st
9	3.78 \pm 0.21	3.96 \pm 1.85	st
10	5.05 \pm 0.37	>7	t
11	4.60 \pm 0.23	>7	t
12	4.30 \pm 0.24	>7	t
13	3.97 \pm 0.26	>7	t
14	3.79 \pm 0.21	>7	t
15	3.65 \pm 0.13	>7	t
16	3.51 \pm 0.07	>7	t
17	3.41 \pm 0.07	>7	t
18	3.30 \pm 0.08	>7	t
19	3.20 \pm 0.11	>7	t
20	3.10 \pm 0.13	>7	t
21	2.96 \pm 0.18	>7	t
22	2.84 \pm 0.17	>7	t
23	2.66 \pm 0.20	>7	t
24	2.49 \pm 0.22	>7	t
25	2.16 \pm 0.35	>7	t

生代时期的原始鱼类 (Tang et al. 2004)。根据目前形态特征的分类 (Nelson 2006), 金龙鱼、青龙鱼和红龙鱼属于同一个种, 近年来的分子生物学研究也证明了不同体色的美丽硬仆骨舌鱼 3 个种群在 DNA 进化上没有明显的遗传差异 (Yue et al. 2004, 牟希东等 2012)。本文所用美丽硬仆骨舌鱼为金龙鱼, 所得到的结果理论上来说可以代表美丽硬仆骨舌鱼的核型。但是, 也不排除红龙和青龙的核型不同于金龙的可能性。需要今后的实验进行验证。金龙鱼的核型公式为: $2n = 2m + 8sm + 8st + 32t$, 具有较多的端部着丝点染色体; 染色体总臂数: $NF = 60$, 与其他骨舌鱼总目 (Osteoglossomorpha) 的鱼类臂数 (表 2) 相比, 其臂数处于中等数量。李树深 (1981) 研究指出, 在特定的分类阶元中, 具有较多端部着丝粒染色体的是原始类群, 而具有较多中部或亚中部着丝粒染色体的是特化类群; 臂数少的为较特化类群, 臂数多的为特化类群。因此, 我们认为美丽硬仆骨舌鱼 (金龙鱼) 为原始的、较特化的种类。

物种在进化过程中发生的遗传物质的变化, 常表现为染色体数目和结构的变化 (余先觉等 1989), 对骨舌鱼总目核型的分析, 有助于我们了解该总目鱼类的进化, 变异及种间关系。骨舌鱼总目既有现存种又有化石种, 现存种包

表 2 骨舌鱼总目已研究鱼类染色体组型
Table 2 The karyotype of Osteoglossomorpha reported

科 Family	物种 species	2n 数 Diploid Number	核型 Karyotype	臂数 Arm Number NF	参考文献 Reference
月目鱼科 Hiodontidae	金目鱼 <i>Hiodon alosoides</i>	50	$2n = 40m(sm) + 10st$	90	Uyeno 1973
骨舌鱼科 Osteoglossidae					
异耳鱼亚科 Heterotidinae	巨骨舌鱼 <i>Arapaima gigas</i>	56	$2n = 28m(sm) + 28st(t)$	84	Marques et al. 2006
	双须骨舌鱼 <i>Osteoglossum bicirrhosum</i>	56	$2n = 3st + 53t$	56	Suzuki et al. 1982
	费氏骨舌鱼 <i>O. ferreirai</i>	54	$2n = 2m + 4sm + 14st + 34t$	60	Suzuki et al. 1982
	美丽硬仆骨舌鱼 <i>Scleropages formosus</i>	50	$2n = 2m + 8sm + 8st + 32t$	60	本研究
	蝶齿鱼 <i>Pantodon buchholzi</i>	48	$2n = 12m + 12sm(st) + 24t$	72(60)	Uyeno 1973
弓背鱼科 Notopteridae	弓背鱼 <i>Notopterus chitala</i>	42	$2n = 42t$	42	Uyeno 1973
	非洲驼背鱼 <i>Papyrocranus afer</i>	34	$2n = 4sm + 30t$	38	Uyeno 1973
	光背鱼 <i>Xenomystus nigri</i>	42	$2n = 42t$	42	Uyeno 1973
长颌鱼科 Mormyridae	短鳍异吻鱼 <i>Marcusenius brachistius</i>	48	$2n = m + 4sm + 2st + 41t$	53	Uyeno 1973
	彼氏锥颌象鼻鱼 <i>Gnathonema petersii</i>	48	$2n = 10m + 6sm + 32t$	64	Uyeno 1973

分类方法依据 Nelson(2006)的分类,部分中文名称参照孟庆闻等(1995)。

括 2 目 5 科 30 属,一共约 220 种鱼类(Nelson 2006),但做过核型分析的只有 11 种(表 2),约占本总目的 5%。因此,要想全面地分析骨舌鱼总目的染色体变化情况,还有很多工作要做。

参 考 文 献

- Dawes J, Lim L L, Cheong L. 1999. The Dragon Fish. England: Kingdom Books, 7 - 21.
- Levan A, Fredga K, Sandberg A A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52(2): 201 - 220.
- Marques D K, Venere P C, Galetti Junior P M. 2006. Chromosomal characterization of the bonytongue *Arapaima gigas* (Osteoglossiformes: Arapaimidae). *Neotropical Ichthyology*, 4(2): 215 - 218.
- Mu X D, Hu Y C, Wang X J, et al. 2011. Genetic variability in cultured stocks of *Scleropages formosus* in mainland China revealed by microsatellite markers. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(5): 555 - 561.
- Mu X D, Song H M, Wang X J, et al. 2012a. Genetic variability of the Asian arowana, *Scleropages formosus*, based on mitochondrial DNA genes. *Biochemical Systematics and Ecology*, 44: 141 - 148.
- Mu X D, Wang X J, Song H M, et al. 2012b. Mitochondrial DNA as effective molecular markers for the genetic variation and phylogeny of the family Osteoglossidae. *Gene*, 511(2): 320 - 325.
- Nelson J S. 2006. *Fishes of the World*. 4th ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley & Sons, 102 - 108.
- Rahman S, Zakaria-Ismail M, Tang P Y, et al. 2008. Microsatellite analysis of wild and captive populations of Asian arowana (*Scleropages formosus*) in Peninsular Malaysia. *Journal of Biological Sciences*, 8(3): 517 - 525.
- Suzuki A, Taki Y, Urushido T. 1982. Karyotypes of Two Species of Arowana, *Osteoglossum bicirrhosum* and *O. ferreirai*. *Japanese Journal of Ichthyology*, 29(2): 220 - 222.
- Tang P Y, Sivananthan J, Pillay S O, et al. 2004. Genetic structure and biogeography of Asian Arowana (*Scleropages formosus*) determined by microsatellite and mitochondrial DNA analysis. *Asian Fisheries Science*, 17: 81 - 92.
- Uyeno T. 1973. A comparative study of chromosome in the teleostean fish order osteoglossiformes. *Japanese Journal of Ichthyology*, 20(4): 211 - 217.
- Yue G H, Chen F, Orban L. 2000. Rapid isolation and characterization of microsatellites from the genome of Asian arowana (*Scleropages formosus*, Osteoglossidae, Pisces). *Molecular Ecology*, 9(7): 1007 - 1009.
- Yue G H, Ong D, Wong C C, et al. 2003. A strain-specific and a sex-associated STS marker for Asian arowana (*Scleropages formosus*, Osteoglossidae). *Aquaculture Research*, 34(11): 951 - 957.
- Yue G H, Yang L, Limb L C, et al. 2004. Monitoring the genetic diversity of three Asian arowana (*Scleropages formosus*) captive stocks using AFLP and microsatellites. *Aquaculture*, 237(1/4): 89 - 102.
- Yue G H, Zhu Z Y, Lin G, et al. 2006. Novel polymorphic microsatellites for studying genetic diversity of red Asian

- arowanans. *Conservation Genetics*, 7(4): 627 - 629.
- 李树深. 1981. 鱼类细胞分类学. *生物科学动态*, (2): 8 - 15.
- 马涛. 1994. 北鳅的染色体组型研究. *动物学杂志*, 29(3): 17 - 19.
- 孟庆闻, 苏锦祥, 缪学祖. 1995. 鱼类分类学. 北京: 中国农业出版社, 122 - 125.
- 牟希东, 王培欣, 胡隐昌, 等. 2010. 亚洲龙鱼形态结构及幼鱼生长特性. *水产学报*, 34(9): 1379 - 1383.
- 牟希东, 宋红梅, 汪学杰等. 2012. 美丽硬仆骨舌鱼 mtDNA D-loop 区遗传变异特征. *生物技术通报*, (9): 185 - 190.
- 杨汉民. 1998. 细胞生物学实验. 2 版. 北京: 高等教育出版社, 199 - 210.
- 余凤玲. 2005. 革胡子鲶染色体标本制备及核型分析. *内蒙古科技与经济*, (6): 99 - 100.
- 余先觉, 周曦, 李渝成, 等. 1989. 中国淡水鱼类染色体. 北京: 科学出版社, 11 - 21.
- 朱新平, 鄢国民, 胡红, 等. 1990. 何氏细鲃鱼染色体组型. *遗传*, 12(3): 20 - 21.

第十届郑作新鸟类科学青年研究奖评审简报

郑作新鸟类科学基金会于 3 月 15 日在北京师范大学生命科学学院召开第十届评委会, 基金会主任郑光美院士主持了会议。会议对申报人报送的论文进行了评议并经过无记名投票, 评审出第十届鸟类科学青年研究奖三名: 杨灿朝(海南师范大学生命科学学院); 李东明(河北师范大学生命科学学院); 刘阳(中山大学生命科学学院)。

郑作新鸟类科学基金会自 1990 年成立以来, 先后有中科院动物研究所、中科院新疆地理生态研究所、中国科技大学、北京师范大学、上海复旦大学、浙江大学、武汉大学、中山大学、河北师范大学、北京林业大学、东北林业大学、海南师范学院(海南师范大学)、井冈山学院、浙江自然博物馆、北京西城青少年科技馆等来自全国各地 15 个单位共 22 位年轻的鸟类学家分别荣获《郑作新鸟类科学青年研究奖》及《郑作新鸟类科学青年科普奖》。这些年轻的获奖人学风严谨正派, 在鸟类学研究中有所创新, 并取得可喜成果, 已经成为我国鸟类科学研究、教学及科普领域中的骨干力量。同时, 此奖项使得帮助和鼓励年轻人投身鸟类科研事业、不断壮大鸟类学研究和科普队伍、促进学科发展这一郑作新院士的遗愿得以实现。

本届获奖人:

杨灿朝 男, 31 岁, 海南师范大学生命科学学院, 讲师。主要从事鸟类生态学研究。特别关注鸟类巢寄生行为的研究。自 2006 年共发表学术论文 27 篇, 其中 SCI 论文 11 篇。

李东明 男, 32 岁, 河北师范大学生命科学学院, 副教授。主要从事鸟类生理生态学研究。特别关注青藏高原鸟类对极端环境的适应研究。自 2003 年共发表学术论文 22 篇, 其中 SCI 论文 8 篇。

刘阳 男, 32 岁, 中山大学生命科学学院, 讲师。主要从事鸟类群体遗传学和系统地理学、中国鸟类区系分类与保护学研究。自 2003 年共发表学术论文 30 篇, 其中 SCI 论文 12 篇, 专著 1 部。颁奖仪式将安排在 2013 年 11 月在杭州举行的第十二届全国鸟类学术研讨会上进行。

郑作新鸟类科学基金会