

欧洲鳗鲡与日本鳗鲡的染色体组型比较

杨文¹ 邝雪梅¹ 王珏² 许英梅¹

(1 湛江海洋大学, 广东湛江, 524088; 2 汕头水产实业总公司)

摘要 采用 PHA 体内注射法, 以肾组织为材料, 结合扫描电镜研究, 对欧洲鳗鲡、日本鳗鲡的染色体组型进行了比较, 结果是: 欧洲鳗鲡 $2n = 38$, 中部着丝点染色体为 6 对, 近中部着丝点染色体为 3 对, 端着丝点染色体为 10 对, 染色体总臂数 (N_F) 为 56, t_3 染色体上有随体。日本鳗鲡 $2n = 38$, 中部着丝点染色体数为 5 对, 近中部着丝点染色体为 5 对, 端着丝点染色体为 9 对, 染色体总臂数 (N_F) 为 58。对欧洲鳗鲡、日本鳗鲡的染色体组型的分析比较, 可提供两者的分类依据及探讨它们在系统演化上的关系。

关键词 欧洲鳗鲡; 日本鳗鲡; 染色体组型; 扫描电镜
中图分类号 Q 343

鳗鲡有较好的国际市场, 促进了我国养鳗业的发展, 成为水产品出口创汇的重要项目。过去我国以日本鳗鲡 (*Anguilla japonica*) 养殖为主, 但日本鳗鲡种苗价格不断上升, 使养鳗成本不断提高。因此, 从 1995 年起, 我国大量引进苗价只有日本鳗鲡 1/10 的欧洲鳗鲡 (*Anguilla anguilla*)。余先觉等 (1989) 只报道了对日本鳗鲡染色体组型的研究, 本实验则对欧洲鳗鲡和日本鳗鲡的染色体组型进行了比较研究, 探讨这 2 种鱼在遗传物质上的某些异同点, 以及它们在系统演化上的关系, 为鱼类分类及杂交育种提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

日本鳗鲡均购自湛江市农贸市场, 欧洲鳗鲡由无锡海得生物有限公司提供。其中, 日本鳗鲡 ♀ 为 5 条, ♂ 为 2 条, 每条 300~500 g; 欧洲鳗鲡 9 条, 每条 10~20 g。

1.2 染色体标本的制作

空气干燥法制片: 参照林义浩 (1982) 及罗俊烈等 (1986) 的方法加以修改, 于活体鱼背鳍基部肌肉按每克体重 ($m_{\text{鱼}}$) 注射 PHA 5~10 μg , 2~3 h 后, 按每克 $m_{\text{鱼}}$ 注射秋水仙素 1~2 μg , 1~1.5 h 后, 断尾放血。再过 0.5 h 后, 取肾组织按常规火焰干燥法制片。

扫描电镜染色体标本制备: 用表面舒展法制备染色体标本, 参照费青等 (1988) 的方法。然后进行临界点干燥 (HCP-2 干燥器), 用 HITACHI E-1010 型喷镀仪进行喷镀, 喷镀材料为铂金, 用 PHILIPS XL-30 扫描电镜观察, 主要观察 t_3 染色体。

1.3 组型分析

在显微镜下观察并计数 200 个中期分裂相细胞以确定染色体数目, 选择染色体分散好、数目完整、收缩适中和形态清晰的分裂相细胞 12 个, 进行显微摄影和测量, 按 Levan 等 (1964) 提出的标准进行组型分析。中部着丝点染色体 (m) 为 A 组, 近中部着丝点染色体 (sm) 为 B 组, 端着丝点染色体 (t) 为 C 组, 臂数 (N_F) 以 m 和 sm 计为 2, t 计为 1。

2 结果

两种鱼的染色体数目统计见表1.

欧洲鳗鲡的染色体数为 $2n = 38$, $N_F = 56$, 由6对 m 、3对 sm 、10对 t 染色体组成(见表2). 相对长度最大的是 m_1 , 其次是 sm_1 、最小的是 t_{10} , 分别为7.88, 7.59, 2.87. 在 t_3 上有随体存在(图1、图2箭头所示处为随体).

表1 2种鳗鲡染色体数目统计

染色体数目	日本鳗鲡细胞数	欧洲鳗鲡细胞数
≤ 35	2	2
36	22	18
37	30	26
38	143	152
≥ 39	3	2

表2 欧洲鳗鲡染色体组型分析数据($\bar{x} \pm s_x$)

A组				B组			C组				
编号	类型	臂比	相对长度	编号	类型	臂比	相对长度	编号	类型	臂比	相对长度
A ₁	m	1.16 ± 0.04	7.88 ± 0.16	B ₁	sm	2.07 ± 0.12	7.59 ± 0.26	C ₁	t	∞	5.73 ± 0.09
A ₂	m	1.45 ± 0.21	6.88 ± 0.24	B ₂	sm	1.96 ± 0.09	7.16 ± 0.30	C ₂	t	7.8 ± 0.12	5.30 ± 0.12
A ₃	m	1.20 ± 0.16	6.30 ± 0.20	B ₃	sm	1.85 ± 0.18	5.87 ± 0.10	C ₃	t	∞	5.16 ± 0.22
A ₄	m	1.10 ± 0.19	5.59 ± 0.08					C ₄	t	∞	4.58 ± 0.08
A ₅	m	1.28 ± 0.24	5.01 ± 0.18					C ₅	t	∞	4.44 ± 0.11
A ₆	m	1.08 ± 0.11	4.58 ± 0.09					C ₆	t	∞	4.37 ± 0.14
								C ₇	t	∞	3.72 ± 0.18
								C ₈	t	∞	3.44 ± 0.08
								C ₉	t	∞	3.15 ± 0.12
								C ₁₀	t	∞	2.87 ± 0.10

日本鳗鲡染色体组型与余先觉等(1989)报道的基本相同, $2n = 38$, $N_F = 58$, 由5对 m 、5对 sm 、9对 t 染色体组成(见表3, 图3), 相对长度最大的是 m_1 , 其次是 sm_1 , 最小的是 t_9 , 分别为8.23、7.23、3.18.

表3 日本鳗鲡染色体组型分析数据($\bar{x} \pm s_x$)

A组				B组			C组				
编号	类型	臂比	相对长度	编号	类型	臂比	相对长度	编号	类型	臂比	相对长度
A ₁	m	1.08 ± 0.05	8.23 ± 0.08	B ₁	sm	2.38 ± 0.11	7.23 ± 0.20	C ₁	t	∞	4.76 ± 0.30
A ₂	m	1.16 ± 0.18	7.04 ± 0.09	B ₂	sm	2.25 ± 0.07	6.74 ± 0.29	C ₂	t	∞	4.67 ± 0.22
A ₃	m	1.24 ± 0.20	6.54 ± 0.18	B ₃	sm	1.96 ± 0.25	6.24 ± 0.26	C ₃	t	∞	4.46 ± 0.29
A ₄	m	1.10 ± 0.12	5.05 ± 0.21	B ₄	sm	1.89 ± 0.22	5.85 ± 0.18	C ₄	t	∞	4.36 ± 0.21
A ₅	m	1.36 ± 0.09	4.46 ± 0.10	B ₅	sm	2.18 ± 0.17	5.35 ± 0.36	C ₅	t	∞	4.16 ± 0.24
								C ₆	t	∞	4.06 ± 0.20
								C ₇	t	∞	3.87 ± 0.10
								C ₈	t	∞	3.78 ± 0.12
								C ₉	t	∞	3.18 ± 0.08

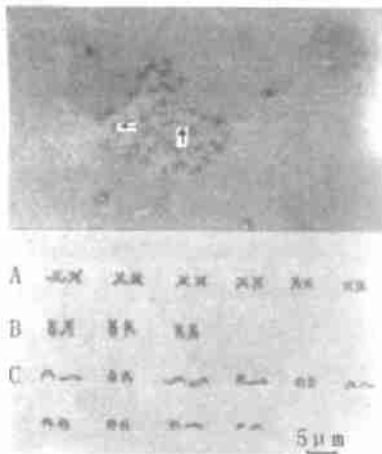


图1 欧洲鳗鲡染色体组型
(箭头所示处为随体)

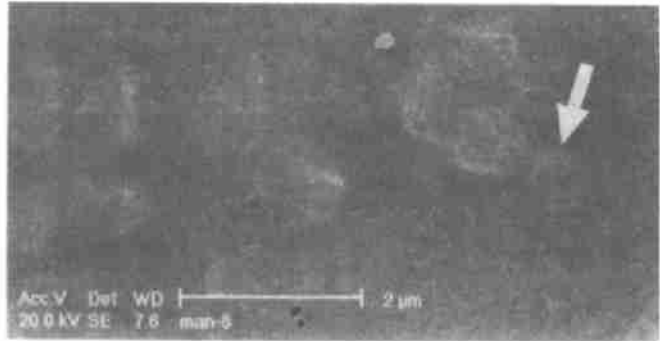


图2 欧洲鳗鲡染色体扫描电镜图
(箭头所示为随体)

由图2可见,欧洲鳗鲡 t_3 上的随体明显,且观察到染色体的螺旋结构,与费青等(1988)结果一致。而中期染色体可见约100 nm染色质纤维形成直径约300 nm的染色质纤维螺旋盘绕形成染色单体,与罗艺等(1996)及潘岛等(1996)结果基本相同。

3 讨论

3.1 两种鱼的核型特征

2种鱼染色体组型的相同之处: $2n = 38$,最大染色体为 m_1 ,其次是 sm_1 。不同之处在于欧洲鳗鲡: $N_F = 56$,核型公式为 $6m + 3sm + 10t$,且 t_3 上有随体。而日本鳗鲡: $N_F = 58$,核型公式为 $5m + 5sm + 9t$,未发现有随体,核型标志见表4。

按在一定的分类阶元具有较多 t 染色体为较原始的种类,而具有较多 m 和 sm 染色体则为较特化种类的观点(李树深,1981),从这2种鱼的核型来看,欧洲鳗鲡属于较原始的类型,日本鳗鲡属于较特化的类型。

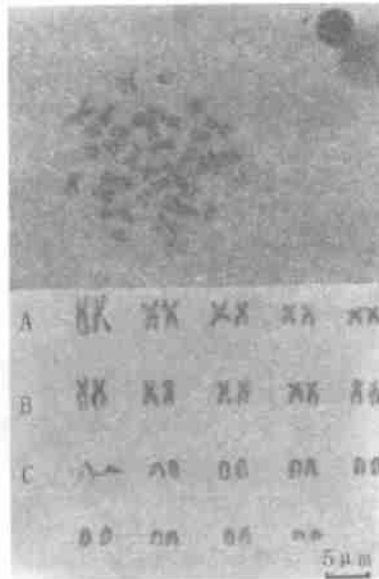


图3 日本鳗鲡染色体组型

表4 2种鳗鲡的核型标志

品种	$2n$	核型公式	臂数	随体
欧洲鳗鲡	38	$6m + 3sm + 10t$	56	t_3 染色体上见随体
日本鳗鲡	38	$5m + 5sm + 9t$	58	未见随体

3.2 不同制片方法效果比较

经多次反复比较,发现采用空气干燥法的制片效果与火焰干燥法有较大差别,用火焰干燥法时,如果用充分结霜的冰冻载玻片,立即滴片,同时在酒精灯火焰上烘干,这样可使染色体分散得更好。

按林义浩(1982)的方法,在注射完 PHA 后,紧接着注射秋水仙素,效果并不满意,染色体不但收缩明显,而且较多的分裂相染色体混杂在一起,较难获得完整的染色体数。而采用罗俊烈等(1986)的方法,虽然获得的中期分裂相不如林义浩(1982)的方法多,但染色体形态清晰,完整性好。笔者在罗俊烈等(1986)的基础上,将秋水仙素的用量按每克 $m_{\text{鱼}}$ 加大到 $1 \sim 2 \mu\text{g}$ 后,结果染色体形态清晰、完整性好,且中期分裂相又较多。

由于无法找到欧洲鳗较大的个体,因此只好用 $10 \sim 20 \text{ g}$ 的鱼苗来做实验,笔者发现,对太小的苗种只要相应减少 PHA 及秋水仙素的剂量,同样可获得效果较好的中期分裂相的染色体。

致谢 华南农业大学动物科学系傅伟龙教授审阅全文并提出宝贵意见。湛江师范学院测试中心提供扫描电镜,且在电镜观察方面屈菊兰及唐健老师给以大力支持和帮助,在此一并致谢。

参 考 文 献

- 李树深. 1981. 鱼类细胞分类学. 生物科学动态, (2): 8~15
 余先觉, 周 瞰, 李渝成, 等. 1989. 中国淡水鱼类染色体: 第 33 卷. 北京: 科学出版, 1~10
 林义浩. 1982. 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, 6(3): 201~208
 罗 艺, 刘凌云. 1996. 牛肾细胞染色体纤维的包装及 RNP 的分布. 遗传学报, 23(5): 351~356
 罗俊烈, 王正询, 林兆平, 等. 1986. 胡子鲶染色体组型的研究. 水产学报, 10(4): 441~446
 费 青, 刘凌云. 1988. 几种动物染色体超微结构的研究. 遗传学报, 15(5): 362~366
 潘 岛, 刘凌云. 1996. 早熟凝集染色体和诱导凝集的染色体扫描电镜研究. 遗传学报, 23(6): 425~430
 Levan A, Fredga K, Sandberg A A, et al. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosome. Hereditas, 52: 201~220

Comparison of Karyotypes of *Anguilla anguilla* and *Anguilla japonica*

Yang Wen¹ Kuang Xuemei¹ Wang Jue² Xu Yingmei¹
 (1 Zhanjiang Ocean Univ., Zhanjiang, Guangdong, 524088;
 2 Shantou Aquatic livestock Feeding Commercial Company)

Abstract The karyotypes of *Anguilla anguilla* and *Anguilla japonica* have been determined from the kidney cell by the method of PHA pericardial cavity injection in vivo. The chromosomes were studied by the combination of scanning electronic microscopy (SEM). The results showed that the diploid chromosome numbers of *Anguilla anguilla* and *Anguilla japonica* are the same of $38(2n = 38)$, the metacentric, submetacentric and telocentric chromosomes of *Anguilla anguilla* are 6, 3, 10 pairs and *Anguilla japonica* 5, 5, 9 pairs respectively. The total chromosomes arm count of *Anguilla anguilla* and *Anguilla japonica* are 56, 58 respectively. There is a satellite in t_3 chromosome of *Anguilla anguilla*. The comparison of karyotypes of *Anguilla anguilla* and *Anguilla japonica* can provide the basis for classifying them and study the relationship of their systematic evolution.

Key words *Anguilla anguilla*; *Anguilla japonica*; karyotype; SEM

【责任编辑 柴 焯】