

鲈鲤(*Percocypris pingi*)染色体核型 及 C-带分析*

黎 树^{1,2} 铁槐茂¹ 段 靖¹ 赵仲孟¹
杨 淞¹ 郭秀兰³ 杨世勇^{1①}

(1. 四川农业大学动物科技学院 成都 611130; 2. 四川大学生命科学学院 成都 610065;
3. 成都大学药学与生物工程学院 成都 610106)

摘要 鲈鲤(*Percocypris pingi*)为长江上游特有鱼类及四川省重点保护鱼类,为验证其倍性及丰富其细胞遗传学内容,采用植物性血凝素(PHA)体内注射肾细胞直接制片法研究鲈鲤的核型,采用改进的BSG法研究其C-带。结果显示,鲈鲤的染色体数目为98条,其核型公式为 $4n=98=42m+30sm+10st+16t$,臂数 $NF=170$ 。本研究发现,鲈鲤有16条端部着丝粒染色体,未发现小染色体及其他异型性染色体。鲈鲤C-带带纹较丰富,显示着丝粒带、端粒带和染色体居间带3种类型的C-带,部分染色体同时含有多种类型的C-带着色,如 m_2 、 st_4 同时含有以上3种C-带带纹类型。鲈鲤染色体异染色质含量高达 $(58.824\pm 0.034)\%$ 。本研究再次确认鲈鲤为四倍体,同时指出其染色体具有一定的“可塑性”,反应出鲈鲤对于地区特化的生境具有较强的适应性。

关键词 鲈鲤;核型;C-带;多倍化

中图分类号 S917.4 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2017)05-0019-06

鲈鲤(*Percocypris pingi*)隶属鲤科(Cyprinidae)、鲃亚科(Barbinae)、鲈鲤属(*Percocypris*),又称江鳊、江鲤、花鲤及花鱼等,主要分布于岷江、金沙江、雅砻江等长江上游及南盘江水系,属长江上游珍稀特有鱼类及四川省重点保护鱼类,也是产区重要的经济鱼类(丁瑞华,1994;乐佩奇,2000;刘军,2004)。目前,关于鲈鲤的研究主要涉及遗传及种质特性(Li *et al.*, 2012; Deng *et al.*, 2015; Li *et al.*, 2014; 岳兴建等, 2015)、分类和系统演化(崔桂华等, 1990; Wang *et al.*, 2012)、早期发育、组织胚胎学(马秀慧等, 2011; 何勇凤等, 2013; 王永明等, 2013)及人工增养殖(刘必生等, 2011; 鲁增辉等, 2011)等方面。目前,国内外关于鲈鲤染色体核型的研究仅见管瑞光等(1984),但该文没有阐述近端部和端部着丝粒染色体,核型图为手绘且无模式图,

且缺乏染色体C-带分析和辅助配对。本文研究了鲈鲤染色体核型及其C-带带纹的相关遗传学特性,旨在为鲈鲤的种质资源保护及遗传育种提供一定基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验鱼

样本鲈鲤采集自芦山宝剑渔业有限公司人工繁殖子一代个体,体长为 (16.6 ± 3.6) cm,体重为 (64.7 ± 11.3) g。

1.2 染色体核型制备及观察

采用略有改进的植物性血凝素(PHA)体内注射肾细胞直接制片法获得鲈鲤染色体中期分裂相(林义浩, 1982),采用Olympus倒置显微镜及其附属的Nikon

*国家自然科学基金(31401488)、四川省科技厅应用基础研究(2015JY0206)和四川农业大学大学生创新性实验计划(04060507)共同资助 [This work was supported by National Science Foundation (31401488), Applied Basic Research from Technological Office of Sichuan Province (2015JY0206), and Innovation Experimental Program for Undergraduate of Sichuan Agricultural University (04060507)]. 黎 树, E-mail: 911957684@qq.com

① 通讯作者: 杨世勇, 副教授, E-mail: yangshiyong@sicau.edu.cn

收稿日期: 2016-07-05, 收修改稿日期: 2016-07-11

拍照系统进行观察、拍照、染色体计数和臂长测量，采用 Photoshop CS6 并辅以人工校正进行核型配对。

1.3 染色体 C-带显带及观察

在 Sumner(1972)的 BSG 法(Barium hydroxide/Saline/Giemsa)略加改进基础上进行鲈鲤染色体 C-带显带，镜检和拍照同 1.2 核型制备。

2 结果

2.1 鲈鲤染色体数目

选取来自不同健康个体、分散程度好、形态清楚、便于计数的 30 个中期分裂相细胞，用显微镜进行观察统计，确定鲈鲤染色体数目为 98(表 1)。

表 1 鲈鲤染色体数目

Tab.1 Chromosome counts of *P. pingi*

染色体数目 Chromosome number	个体数 Individual number	出现频率 Frequency of occurrence (%)
96	3	10
98	27	90

2.2 鲈鲤染色体组型

结合本研究测量、计算结果及根据 Levan 等(1964)的染色体命名和分类标准，得出鲈鲤染色体的相对长度和臂比(表 2)。

根据本实验结果中的染色体相对长度及臂比，鲈鲤染色体可分为 4 组(图 1)，其中，m 组为中部着丝粒染色体，包括 42 条染色体；sm 组为亚中部着丝粒染色体，包括 30 条染色体；st 为亚端部着丝粒染色体，包括 10 条染色体；t 为端部着丝粒染色体，有 16 条染色体。鲈鲤核型公式为 $4n = 98 = 42m + 30sm + 10st + 16t$ ，臂数 $NF = 170$ 。在 m 组中，有 3 对染色体较同组其他染色体大，分别为 m_1 、 m_2 、 m_7 号。在 sm 组中， m_1 号染色体较同组其他染色体大。整个染色体组中，共 8 条大染色体，占有染色体条数的 8.16%。未发现小染色体及其他异形染色体。鲈鲤染色体模式见图 2。

本实验染色体组型结果显示，鲈鲤近端部染色体仅 10 条，端部着丝粒染色体多出 16 条。

2.3 染色体 C-带带型

鲈鲤的 98 条染色体均呈现出 C-带着色(图 3)，来自于同源染色体的 C-带着色大小、位置和强度均非常接近，而不同染色体之间的 C-带强度及类型存在差异。鲈鲤染色体 C-带可分为 3 种类型：1 类含有着

表 2 鲈鲤染色体组型数据

Tab.2 The karyotype data of *P. pingi*

染色体编号 No. of chromosomes	相对长度(平均值±标准差) Relative length (Mean±SD)	臂比 Arm ratio	染色体类型 Chromosome type
1	3.11±0.08	1.29	m
2	2.85±0.10	1.23	m
3	1.74±0.06	1.16	m
4	2.09±0.04	1.09	m
5	1.97±0.14	1.19	m
6	2.02±0.14	1.08	m
7	2.20±0.04	1.28	m
8	1.98±0.05	1.19	m
9	2.99±0.08	1.06	m
10	3.01±0.08	1.08	m
11	2.03±0.07	1.15	m
12	1.36±0.06	1.13	m
13	2.52±0.16	1.15	m
14	3.09±0.07	1.12	m
15	2.10±0.20	1.23	m
16	2.38±0.14	1.04	m
17	2.72±0.29	1.15	m
18	2.62±0.29	1.08	m
19	2.26±0.08	1.08	m
20	2.55±0.11	1.17	m
21	1.70±0.07	1.21	m
22	3.12±0.26	2.79	sm
23	2.06±0.07	2.02	sm
24	1.84±0.12	1.84	sm
25	1.50±0.10	2.26	sm
26	1.68±0.12	2.61	sm
27	1.72±0.10	1.91	sm
28	1.99±0.07	1.74	sm
29	1.52±0.06	2.61	sm
30	1.35±0.04	1.90	sm
31	3.06±0.38	1.70	sm
32	2.22±0.07	1.86	sm
33	1.86±0.08	2.22	sm
34	1.68±0.11	1.64	sm
35	1.46±0.05	2.68	sm
36	1.89±0.13	1.90	sm
37	1.90±0.04	3.38	st
38	1.29±0.06	3.22	st
39	1.53±0.11	3.11	st
40	1.89±0.19	3.59	st
41	1.54±0.17	3.16	st
42	1.65±0.10	∞	t
43	2.04±0.12	∞	t
44	1.79±0.10	∞	t
45	1.50±0.06	∞	t
46	1.34±0.10	∞	t
47	1.82±0.12	∞	t
48	1.22±0.04	∞	t
49	2.34±0.16	∞	t

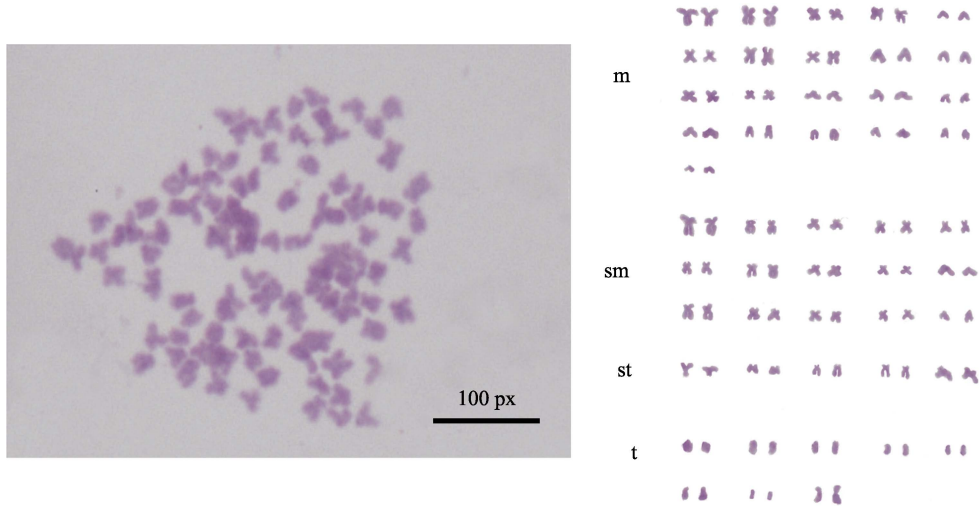


图 1 鲈鲤染色体核型
Fig.1 The karyotype of *P. pingi*

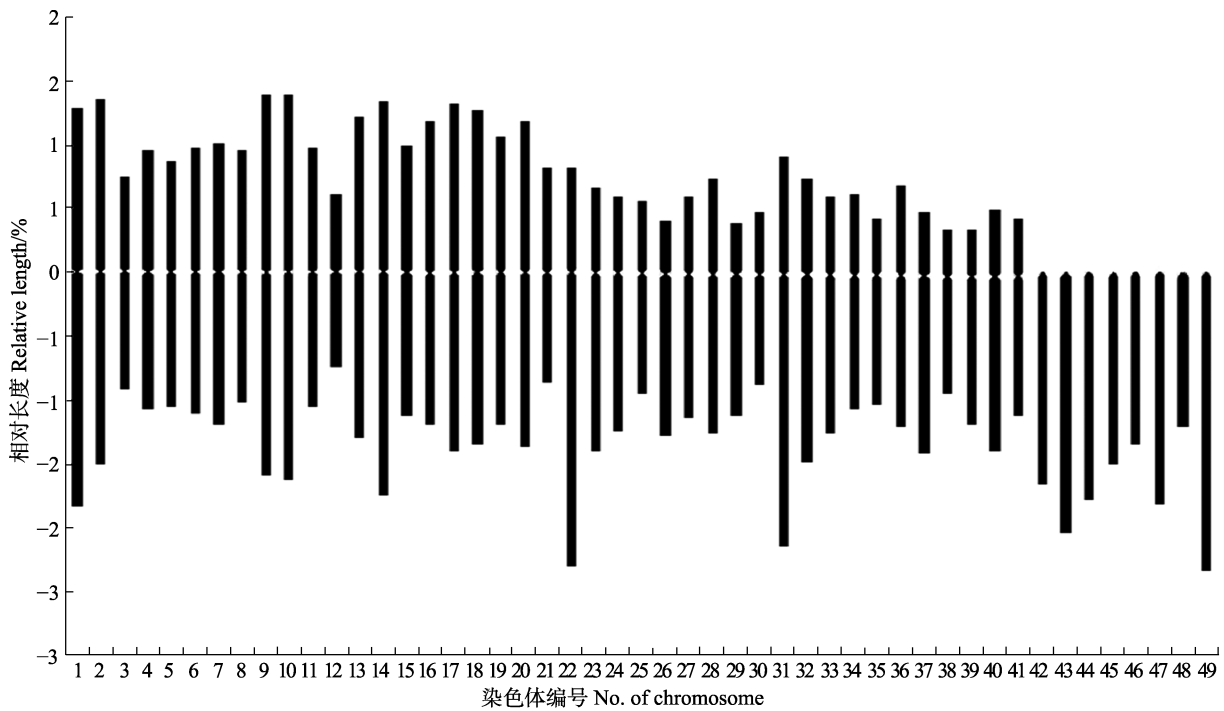


图 2 鲈鲤染色体核型模式
Fig.2 The karyotype pattern of *P. pingi*

丝粒 C-带, 2 类含有端粒 C-带, 3 类含有居间带的 C-带。部分染色体同时含有多种类型的 C-带着色。其中, m_2 、 sm_2 、 sm_5 、 st_4 同时含有居间带和着丝粒 C-带带纹; m_1 、 m_2 、 m_3 、 m_7 、 m_{11} 、 m_{12} 、 m_{17} 、 sm_1 、 sm_4 、 sm_{12} 、 sm_{13} 、 st_2 、 st_4 、 st_5 同时含有居间带和端粒 C-带带纹; m_2 、 m_9 、 m_{14} 、 sm_7 、 sm_{11} 、 st_4 同时含有着丝粒带和端粒 C-带带纹; m_2 、 st_4 同时含有以上 3 种 C-带带纹类型, 其中异染色质含量为 $(58.824 \pm 0.034)\%$ 。

根据以上观测和测量数据绘制鲈鲤核型模式图,

详细区分和研究染色体上基因重复区段以及着丝点位置与 C-带关系(图 4)。

3 讨论

3.1 鲈鲤染色体核型特点及其多倍化

本研究结果显示, 鲈鲤染色体核型公式为 $4n = 98 = 42m + 30sm + 10st + 16t$, 臂数 $NF = 170$ 。与先前鲈鲤染色体核型研究结果(咎瑞光等, 1984)相比, 其主要差异体现在是否有端部着丝粒染色体。咎瑞光等(1984)

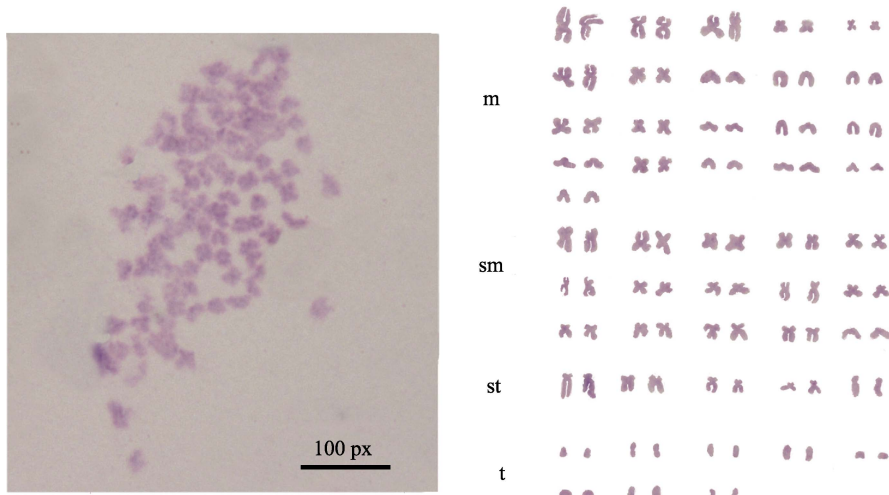


图 3 鲈鲤染色体 C-带

Fig.3 The karyotype stained by C-banding of *P. pingi*

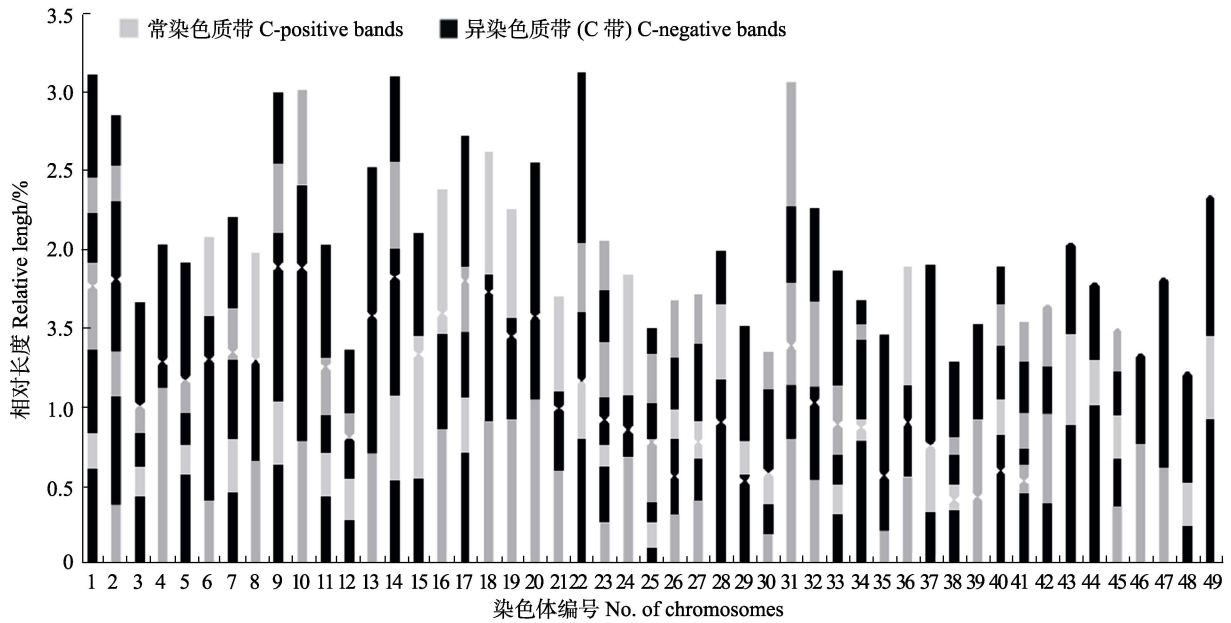


图 4 鲈鲤 C-带模式

Fig.4 The C-banding karyotype of *P. pingi*

报道鲈鲤仅有 26 条近端部着丝粒染色体，无端部着丝粒染色体，而本研究发现鲈鲤有 16 条端部着丝粒染色体和 10 条近端部着丝粒。初步分析这种差异的原因可能有以下三方面：(1)在有丝分裂中期同源染色体联会配对过程中，互相靠近较为紧密，在滴片制备染色体过程中同源染色体没有分开，导致视为近端部着丝粒染色体；(2)部分同源染色体出现交叉互换过程，而秋水仙素处理时间和浓度过高，导致染色体融合部分端部着丝粒互相拼接形成近端部着丝粒染色体；(3)由于其他遗传学影响因素，导致罗伯逊易位和着丝点融合过程发生，进而出现无端部着丝粒情况。本研究通过不同浓度实验和大量观察，发现鲈鲤端部

着丝粒染色体之间无明显着丝粒结构、染色体链接或随体结构形成。在胥瑞光等(1984)的报道中，云南光唇鱼(*Acrossocheilus yunnanensis*)、泉水鱼(*Pseudogyrinocheilus procheilus*)和墨头鱼(*Garra pingi pingi*)等鲃亚科鱼类也未见端粒染色体存在。然而有研究发现，在云南光唇鱼、泉水鱼、墨头鱼、华鲮(*Sinilabeo rendahli*)和白甲鱼(*Onychostoma sima*)等鲃亚科鱼类及部分裂腹鱼亚科鱼类中均存在不同数量的端粒染色体(李渝成等, 1986; 武云飞等, 1999; 孔磊等, 2011)。可见，鲈鲤端部着丝粒染色体确实存在，与先前研究差异的原因极可能是染色体制备方法造成。此外，鲈鲤整个染色体组中，共有 8 条大染色体，占有染色体条数的 8.16%，

未发现小染色体及其他异形染色体,与李渝成等(1986)研究原始鲃类特有大染色体结果相同。

多倍化是水生动物进化过程中的一种常见现象。目前普遍认为,鲤科鱼类二倍体基本染色体数为 50 或 48,二倍体中 $2n = 50$ 为鲤科鱼类中最为原始的一类核型(Arai, 1982; 周瞰, 1984)。本研究结果显示,鲈鲤有丝分裂中期染色体条数为 98,与咎瑞光等(1984)的结果一致。同时,鲈鲤属于原始鲃类进化分支中的一支,与裂腹鱼亚科较为相似,都具备大量单臂染色体、近端部和端部着丝粒染色体,属鱼类原始物种的染色体特征。相关研究(曹文宣等, 1981; 陈自明等, 2000)表明,原始鲃类生活于高寒地区,其染色体由 $2n = 50 \rightarrow 100$ 加倍演化出现,后来在进化或生活过程中,染色体功能机构趋于完整或其他遗传学诱因,染色体由罗伯逊易位或着丝粒融合导致 $2n = 100 \rightarrow 98$ 演化。本研究结合染色体数及其核型特征,再次确认鲈鲤为四倍体。Deng 等(2015)筛选了 12 个四核苷酸重复的鲈鲤微卫星位点,从分子遗传的角度也佐证了上述观点。

3.2 C-带特征及其遗传可塑性

C-带是常用的染色体显带技术,其基本原理是通过着丝粒型的异染色质着色的强弱程度及带纹异同分析染色体之间的细微差异(卓孝磊等, 2007)。本研究中,鲈鲤所有染色体均出现 C-带阳性着色,带纹丰富且多样化,显示着丝粒带、端粒带和染色体居间带 3 种类型的 C-带,部分染色体同时含有多种类型的 C-带着色,如 m_2 、 st_4 同时含有以上 3 种 C-带带纹类型。鲈鲤异染色质比例高达近 60%,染色体 C-带中,13、20、27、35、44 和 47 号染色体有较为丰富的异染色质区段,而异染色质区可能发生染色体突变而形成染色体重组或数量变化(Charlesworth *et al.*, 2005)。C-带带纹丰富及异染色质比例高等特征暗示鲈鲤的染色体具有一定的“可塑性”,从遗传角度也说明鲈鲤作为四倍体物种对于地区特化的生境具有较强的变异能力和适应性。同时,鲈鲤丰富的 C-带区段可为其遗传学和种质资源及良种选育提供参考。

参 考 文 献

- Arai R. A chromosome study on two Cyprinid fishes, *Acrossocheilus labiatus* and *Pseudorasbora pumila pumila*, with notes on Eurasian Cyprinids and their karyotypes. Bulletin of the National Science Museum, 1982, 8: 131–152
- Cao WX, Chen YY, Wu YF, *et al.* Origin and evolution of Schizothoracine fishes in relation to the upheaval of the Xizang Plateau. Beijing: Science Press, 1981, 118–130
- [曹文宣, 陈宜瑜, 武云飞, 等. 裂腹鱼类的起源和演化及其与青藏高原隆起的关系. 北京: 科学出版社, 1981, 118–130]
- Charlesworth D, Charlesworth B, Marais G. Steps in the evolution of heteromorphic sex chromosomes. Heredity, 2005, 95: 118–128
- Chen ZM, Chen YF. Genetic relationships of the specialized Schizothoracine fishes inferred from random amplified polymorphic and analysis. Zoological Research, 2000, 21(4): 262–268 [陈自明, 陈毅峰. 用 RAPD 技术对特化等级裂腹鱼类亲缘关系的探讨. 动物学研究, 2000, 21(4): 262–268]
- Cui GH, Zhu XL. Differentiation and distribution of the cyprinid fish *Percocypris pingi*. Acta Zootaxonomica Sinica, 1990, 15(1): 118–125 [崔桂华, 褚新洛. 鲤科鱼类鲈鲤的亚种分化和分布. 动物分类学报, 1990, 15(1): 118–125]
- Deng Y, Yang K, Gan W, *et al.* Development of 12 tetranucleotide microsatellite markers for the tetraploidy fish *Percocypris pingi* (Tchang). Conservation Genetics Resources, 2015, 7(1): 99–101
- Ding RH. The fishes of Sichuan, China. Chengdu: Sichuan Publishing House of Science Technology, 1994, 314–321 [丁瑞华. 四川鱼类志. 成都: 四川科学技术出版社, 1994, 314–321]
- He YF, Wu XB, Zhu YJ. Allometric growth pattern of *Percocypris pingi pingi* larvae. Chinese Journal of Zoology, 2013, 48(1): 8–15 [何勇凤, 吴兴兵, 朱永久. 鲈鲤仔鱼的异速生长模式. 动物学杂志, 2013, 48(1): 8–15]
- Kong L, Hu WG, Wang JJ, *et al.* Primary study on karyotype and C-banding of *Gymnodiptychus dybowskii* Kessler. Journal of Biology, 2011, 28(1): 34–36 [孔磊, 胡文革, 王佳君. 新疆裸重唇鱼染色体的核型及 C-带研究初报. 生物学杂志, 2011, 28(1): 34–36]
- Le PQ. Fauna sinica Osteichthyes Cypriniformes III. Science Press, 2000, 47–48 [乐佩奇. 中国动物志·硬骨鱼纲·鲤形目(下卷). 北京: 科学出版社, 2000, 47–48]
- Levan A, Fredga K, Sandberg AA. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 1964, 52(2): 201–220
- Li W, Pan L, Ren Z, *et al.* Development and characterization of twelve novel polymorphic microsatellite loci in the *Percocypris pingi*. Conservation Genetics Resources, 2014, 6(3): 575–577
- Li Y, Wang J, Peng Z. The complete mitochondrial genome of *Percocypris pingi* (Teleostei, Cypriniformes). Mitochondrial DNA, 2012, 24(1): 40–42
- Li YC, Li K, Jiang JQ, *et al.* Studies on the karyotypes of Chinese cyprinid fishes X. Karyotypes of there tetraploid species in barbinae and one tetraploid specie in cyprininae. Acta Genetica Sinica, 1986, 7(2): 183–189 [李渝成, 李康, 蒋建桥, 等. 中国鲤科鱼类染色体组型的研究 X. 鲃亚科五种鱼和鲃亚科四种鱼的染色体组型. 动物学研究, 1986, 7(2): 183–189]
- Lin YH. A PHA injection method *in vivo* for the rapid obtainment of large numbers of metaphase figures from kidney cells of teleosts. Journal of Fisheries of China, 1982, 6(3): 201–204 [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, 6(3): 201–204]
- Liu BS, Li J, Li ZY, *et al.* Fish rate, muscle nutrition composition and quality of *Percocypris pingi pingi*. Guizhou Agricultural

- Sciences, 2011, 39(11): 166–170 [刘必生, 李建, 李正友, 等. 鲈鲤含肉率及肌肉营养成分的测定与品质评价. 贵州农业科学, 2011, 39(11): 166–170]
- Liu J. A quantitative analysis on threat and priority of conservation order of the endemic fishes in upper reaches of the Yangtze River. *China Environmental Science*, 2004, 24(4): 395–399 [刘军. 长江上游特有鱼类受威胁及优先保护顺序的定量分析. 中国环境科学, 2004, 24(4): 395–399]
- Lu ZH, Li W, Shi P. Study on composition and generation of predominant intestinal bacteria in cultured *Percocypris pingi*. *Freshwater Fisheries*, 2011, 41(3): 29–33 [鲁增辉, 李伟, 石萍. 养殖鲈鲤肠道优势菌群组成及来源分析. 淡水渔业, 2011, 41(3): 29–33]
- Ma XH, Ren S, Wang ZJ. Histological studies on digestive system of young *Percocypris pingi*. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2011, 39(3): 172–175 [马秀慧, 任爽, 王志坚. 鲈鲤幼鱼消化系统的组织学研究. 贵州农业科学, 2011, 39(3): 172–175]
- Sumner AT. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Experimental Cell Research*, 1972, 75(1): 304–306
- Wang X, Gan X, Li J, *et al.* Cyprinid phylogeny based on Bayesian and maximum likelihood analyses of partitioned data: Implications for Cyprinidae systematics. *Science China Life Sciences*, 2012, 55(9): 761–773
- Wang YM, Yue XJ. Embryonic development of *Percocypris pingi*. *Sichuan Journal of Zoology*, 2013, 32(4): 530–534 [王永明, 岳兴建. 鲈鲤的胚胎发育. 四川动物, 2013, 32(4): 530–534]
- Wu YF, Kang B, Men Q, *et al.* Chromosome diversity of Tibetan fishes. *Zoological Research*, 1999, 20(4): 258–264 [武云飞, 康斌, 门强, 等. 西藏鱼类染色体多样性的研究. 动物学研究, 1999, 20(4): 258–264]
- Yue XJ, Shi JR, Wang YM, *et al.* Population genetic diversity of *Percocypris pingi* in Yalong River, the tributary of the Yangtze River. *Freshwater Fisheries*, 2015, 45(3): 14–18 [岳兴建, 史晋绒, 王永明, 等. 雅砻江鲈鲤种群遗传结构. 淡水渔业, 2015, 45(3): 14–18]
- Zan RG, Song Z, Liu WG. Studies of karyotypes of seven species of fish in Barbinae, with a discussion on identification of fish polyploidy. *Zoological Research*, 1984, 5(1): 82–90 [簪瑞光, 宋峥, 刘万国. 七种鲃亚科鱼类的染色体组型研究, 兼论鱼类多倍体的判定问题. 动物学研究, 1984, 5(1): 82–90]
- Zhou T. Chromosome studies in Chinese fresh-water fishes. *Zoological Research*, 1984, 5(S1): 38–51 [周墩. 鱼类染色体研究. 动物学研究, 1984, 5(S1): 38–51]
- Zhuo XL, Zhou JX. Advances in karyotype and chromosome banding studies of marine fish in China. *Journal of Tropical Oceanography*, 2007, 26(5): 73–80 [卓孝磊, 邹记兴. 我国海水鱼类核型及染色体显带研究进展. 热带海洋学报, 2007, 26(5): 73–80]

(编辑 冯小花)

The Karyotype and C-Banding of *Percocypris pingi*

LI Shu^{1,2}, TIE Huaimao¹, DUAN Jing¹, ZHAO Zhongmeng¹,
YANG Song¹, GUO Xiulan³, YANG Shiyong^{1①}

(1. College of Animal Science and Technology, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130; 2. College of Life Science, Sichuan University, Chengdu 610065; 3. College of Pharmacy Bioengineering, Chengdu University, Chengdu 610106)

Abstract *Percocypris pingi* is one of the endemic fishes in the upper reach of the Yangtze River and is one of the protected fish species in Sichuan Province. In this study, we investigated the ploidy and other cytogenetical characteristics of *P. pingi*. The karyotype of the renal tissue of *P. pingi* was examined using PHA injection with air-dry method. The C-band of *P. pingi* was displayed with modified BSG method. The results showed that the number of chromosomes of *P. pingi* was 98, and the formula could be expressed as $4n=98=42m+30sm+10st+16t$, and the arm number (NF) was 170. Sixteen telocentric chromosome of *P. pingi* was found in this study although unreported in previous studies. Neither small chromosomes nor other heteromorphic chromosomes were found. All the karyotype had the size of the C-band appeared. The types of C-bands of *P. pingi* were diverse, including centromeric band, telomere band and intermediate band. Multiple C-bands were found in some chromosomes, for example, all types of C-bands were found in m_2 and st_4 . The level of the heterochromatin was $58.824\% \pm 0.034\%$. We confirmed once again that *P. pingi* was a tetraploid fish. Its chromosomes were ‘plastic’ to some extent based on the karyotype and C-bands, indicating that *P. pingi* might be adaptable to specific habitats in different regions.

Key words *Percocypris pingi*; Karyotype; C-band; Polyploidization

① Corresponding author: YANG Shiyong, E-mail: yangshiyong@sicau.edu.cn