

## 两种方法分析大鳞鲃染色体核型的比较研究

耿龙武, 姜海峰, 徐伟\*

(中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070)

**摘要:** 染色体核型分析是细胞遗传学研究的主要内容。为了获得准确、便捷的染色体核型分析方法, 以引进耐盐碱品种大鳞鲃为实验材料, 取头肾细胞冷滴片法制备染色体标本, 采用E-ruler测量软件和Photoshop图像软件结合完成了染色体核型分析, 并与常规方法的测量结果、核型分析进行了比较。结果显示, E-ruler软件与常规方法对伸展平直染色体的测量无显著差异, 前者对弯曲形态染色体的测量结果更为准确; Photoshop图像软件能剔除染色体中期分裂相照片的背景, 准确判断着丝粒的位置, 快速、便捷地完成染色体核型图拼贴。研究表明, 利用E-ruler软件和Photoshop软件相结合可获得准确、清晰的核型分析结果, 本方法适用于其他鱼类和生物的染色体核型分析。染色体分析结果显示, 大鳞鲃的染色体组为二倍体, 未发现与性别有关的异型染色体, 核型公式为 $2n=100=12m+38sm+38st+12t$ ,  $NF=150$ 。同鲃科其他鱼类的核型相比, 大鳞鲃与国内几种倒刺鲃核型类似, 具有鲃亚科进化核型特征。

**关键词:** 大鳞鲃; 染色体核型; 分析方法; 细胞遗传学

**中图分类号:** S 917.4

**文献标志码:** A

染色体是遗传物质的主要载体, 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, 为鱼类遗传育种提供细胞遗传学依据<sup>[1]</sup>。鱼类染色体研究始于20世纪60年代, Ojima等<sup>[2]</sup>首次将空气干燥法用于鱼类的核型研究。迄今为止, 现有约1200种鱼类进行过染色体核型分析, 且集中分布在鲤形目(Cypriniforme)、鲿形目(Cyprinodontiformes)和鲈形目(Perciformes)<sup>[3]</sup>, 其中鲃亚科鱼类70余种<sup>[4-5]</sup>, 但未见大鳞鲃(*Barbus capito*)核型研究的报道。大鳞鲃属鲤科(Cyprinidae)、鲃亚科(Barbinae)、鲃属(*Barbus*), 原产于乌兹别克斯坦的咸海, 2003年黑龙江水产研究所将该鱼引入中国。近些年来有关大鳞鲃的研究主要集中在繁殖生物学<sup>[6-7]</sup>和养殖生物学<sup>[8-10]</sup>方面, 本实验通过大鳞鲃染色体核型分析, 旨在了解该物种的细胞遗传学特征, 以期为大鳞鲃种质标准制定、遗传育种提供理论

依据。

染色体核型分析是细胞遗传学研究的主要内容之一<sup>[11]</sup>, 不仅有助于了解生物的遗传组成、遗传变异规律和发育机制, 而且对于物种分类、系统发生、生物进化、基因组结构和育种等方面的研究均有重要作用<sup>[12]</sup>。目前, 核型分析方法主要有手工分析法、图像系统分析法和软件分析法<sup>[13]</sup>。手工核型分析法中染色体的测量、配对等工作全部是手工操作, 费时、费力、测量误差较大, 一定程度上影响核型分析的准确性。染色体图像系统分析法是以电脑和手工核型分析步骤为基础的核型分析系统, 能够准确、快速、方便地将原始染色体图像转变为整齐的染色体分类图像, 并将结果分析、输出及储存<sup>[14]</sup>。这些系统大多半自动化或趋于全自动化, 准确性和工作效率都有较大提升, 但是对染色体核型中期分裂相图片的质量要求较高,

收稿日期: 2017-01-10 修回日期: 2017-04-27

资助项目: 中国水产科学研究院基本科研业务费项目(2016HY-ZD0602); 中央级公益性科研院所基本科研业务费项目(HSY201403); “十二五”国家科技支撑计划(2012BAD25B09)

通信作者: 徐伟, E-mail: xwsc23@163.com

否则准确率难以保障<sup>[15]</sup>。软件分析法是借助有关软件代替手工完成染色体核型分析。蒋姗姗等<sup>[16]</sup>、薛蕊等<sup>[17]</sup>利用Photoshop软件进行了组型分析,但未涉及染色体测量工作。陈春丽等<sup>[18]</sup>采用Micro-measure version 3.3对染色体进行测量与分析,该软件功能强大、操作简单,由于测量过程是软件自动完成,细节及误差难以控制。鉴于现有染色体核型分析方法中的不足,需要寻求新的分析方法满足核型分析准确性、便捷性、适用性的要求。

《养殖鱼类种质检验国家标准第12部分:染色体组型分析》2008年修订以来,染色体核型分析方法不断得到改进和完善。本实验提供一种利用E-ruler测量软件和Photoshop图像软件结合进行染色体核型分析的方法,避免现有软件分析过程中细节及误差难以控制,对染色体中期分裂相的图片质量要求较高等问题,为广大科研工作者提供易于借鉴使用、分析准确、操作便捷的技术方法。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验鱼为黑龙江水产研究所松浦试验场培育的3<sup>+</sup>大鳞鲃鱼种,雌、雄鱼各8尾。雌鱼体重710~925 g,体长36.4~40.3 cm;雄鱼体重663~918 g,体长37.3~43.2 cm。运至实验室暂养于90 cm×50 cm×60 cm的玻璃缸内,水温(25±0.5)℃,24 h充氧,每天投喂2次,3 d后挑选无外伤、健康雌雄鱼各5尾进行试验。

### 1.2 实验方法

**染色体标本的制备** 参照林义浩<sup>[19]</sup>的植物血球凝集素(PHA)体内注射法制备染色体标本。按10 μg/g的剂量胸腔注射PHA,14 h后以1 μg/g剂量注射秋水仙素。3 h后剪鳃、水中放血15 min,然后取出头肾于0.65%生理盐水(0.65% NaCl)中洗涤并充分剪碎,用纱布过滤细胞悬液至15 mL离心管中,1000 r/min离心5 min收集细胞。用生理盐水洗涤1次,加入8 mL 0.075 mol/L的KCl溶液,轻轻吹打细胞至均匀分散后置于37℃水浴中低渗处理30 min,加入预冷的卡诺氏固定液( $V_{\text{甲醇}}:V_{\text{冰醋酸}}=3:1$ )固定45 min,每隔15 min离心、更换一次固定液。冷滴片法制片,室温干燥过夜。10%吉姆萨染色30 min,自然晾干后封片。

**核型分析** 尼康显微镜(Nikon eclipse 80i)下观察、拍照,选取来自雌雄不同个体各5尾、分散清晰的中期分裂相计数,每个个体计数10个以上,根据众数确定染色体2n数目。选择5个数目完整、分散良好、图像清晰的中期分裂相用于分析。核型分析选用2种方法:①使用E-ruler软件的多点距离测量功能,以着丝粒为起点点击第1点,顺着染色体臂的弯曲形态依次点击,到染色体臂末端为终点,双击鼠标即可得到总长度,通过比对相同倍数下标尺的测量值得出染色体的长臂和短臂实际长度(图1)。利用Photoshop软件按Levan等<sup>[20]</sup>提出的标准进行分类,使用选择、移动工具将同源染色体配对、拼贴,在参考线帮助下调整染色体位置,使着丝粒位于同一水平线上,做出大鳞鲃染色体的核型图(图2)。②参考《养殖鱼类种质检验国家标准第12部分:染色体组型分析》(GB/T 18654.12-2008),在染色体照片上测量、剪拼各条染色体。染色体臂数(fundamental number, NF)的计数,中部和亚中部着丝粒染色体的臂数计为2,亚端部和端部着丝粒染色体的臂数计为1。

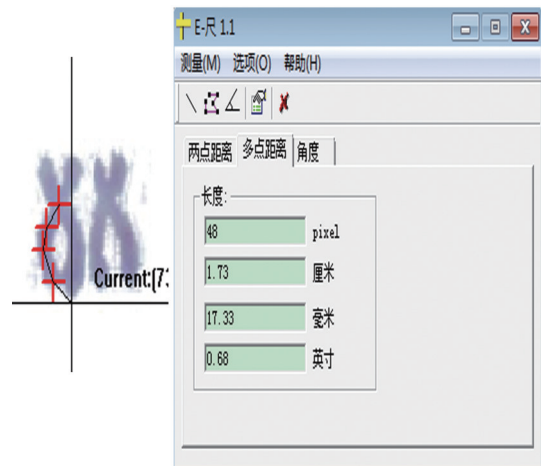


图1 E-ruler软件测量染色体臂长

Fig. 1 Chromosome arm length measured by E-ruler software

## 2 结果

### 2.1 染色体数目

观察10尾实验鱼(♂5, ♀5)染色体中期分裂相分散较好的细胞114个(♂57, ♀57),其中染色体数目为100的分裂相最多、出现频率最高

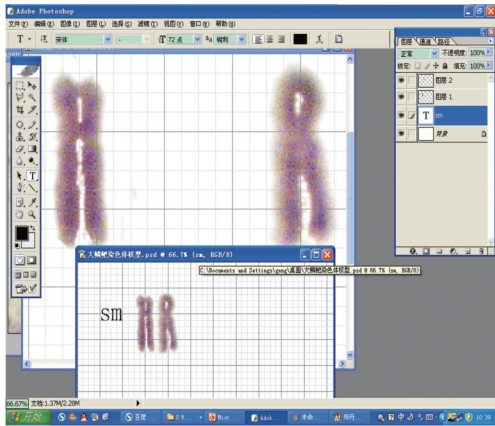


图2 Photoshop软件拼贴同源染色体

sm. 亚中部着丝点染色体

Fig. 2 Homologous chromosome assembled using Photoshop software

sm. submetacentric chromosome

(63.16%), 远高于其它染色体数目的分裂相细胞(表1)。据此确定大鳞鲃染色体的众数为100, 即 $2n=100$ 。

2.2 染色体核型

对5个(♂2, ♀3)中期分裂相进行测量和分析, 统计每条染色体的绝对长度、相对长度及臂比值(表2)。本实验中雌鱼与雄鱼的染色体组

表1 大鳞鲃染色体数目统计

Tab. 1 The statistics of chromosome number in the cells of *B. capito*

染色体数目/条 chromosome number	分裂相个数/个 division phase number	出现频率/% occurrence frequency
100	72	63.16
98	17	14.91
96	11	9.65
94	9	7.89
92	5	4.39
总数 total	114	100.00

成无明显差异, 未发现与性别有关的异型染色体。按Levan等<sup>[20]</sup>标准大鳞鲃的100条染色体可以分为4组: 中部着丝点染色体(metacentric chromosome, m)12条、亚中部着丝点染色体(submetacentric chromosome, sm)38条、亚端部着丝点染色体(acrocentric chromosome, st)38条, 端部着丝点染色体(telocentric chromosome, t)12条, 染色体臂数(NF)为150。根据染色体的相对长度、着丝点位置和特征, 100条染色体可以配成50对同源染色体(图3, 图4), 核型公式:  $2n=100=12m+38sm+38st+12t$ ,  $NF=150$ 。

表2 大鳞鲃染色体相对长度、臂比及类型

Tab. 2 The relative length, arm ratio and type of *B. capito* chromosome

编号 no.	类型 type	绝对长度/ $\mu\text{m}$ absolute length	相对长度/% relative length	臂比/% arm ratio	编号 no.	类型 type	绝对长度/ $\mu\text{m}$ absolute length	相对长度/% relative length	臂比/% arm ratio
1	m	3.008±0.23	1.211±0.03	1.59	51	st	4.020±0.20	1.618±0.05	4.02
2	m	2.902±0.26	1.168±0.09	1.62	52	st	3.858±0.21	1.553±0.05	3.65
3	m	2.863±0.28	1.153±0.06	1.10	53	st	3.813±0.16	1.535±0.04	3.33
4	m	2.737±0.24	1.102±0.04	1.01	54	st	3.967±0.20	1.597±0.04	3.29
5	m	2.695±0.14	1.085±0.02	1.47	55	st	3.410±0.18	1.373±0.02	3.04
6	m	2.808±0.24	1.130±0.05	1.40	56	st	3.468±0.46	1.396±0.13	3.26
7	m	2.219±0.23	0.893±0.06	1.20	57	st	3.389±0.29	1.364±0.03	4.27
8	m	1.942±0.11	0.782±0.02	1.56	58	st	3.161±0.69	1.273±0.21	4.14
9	m	1.814±0.15	0.730±0.01	1.18	59	st	3.143±0.12	1.265±0.04	4.30
10	m	1.958±0.09	0.788±0.03	1.01	60	st	2.879±0.32	1.159±0.07	3.92
11	m	1.350±0.11	0.544±0.02	1.49	61	st	3.007±0.14	1.210±0.03	4.55
12	m	1.337±0.15	0.538±0.03	1.57	62	st	2.722±0.11	1.096±0.03	4.78
13	sm	4.070±0.31	1.638±0.05	2.14	63	st	3.072±0.27	1.237±0.07	4.62
14	sm	4.483±0.30	1.805±0.03	2.14	64	st	2.711±0.19	1.091±0.05	4.86

· 续表2 ·

编号 no	类型 type	绝对长度/ $\mu\text{m}$ absolute length	相对长度/% relative length	臂比/% arm ratio	编号 no	类型 type	绝对长度/ $\mu\text{m}$ absolute length	相对长度/% relative length	臂比/% arm ratio
15	sm	3.865±0.24	1.556±0.07	2.19	65	st	2.528±0.26	1.018±0.05	3.19
16	sm	3.551±0.14	1.430±0.04	2.37	66	st	2.834±0.25	1.141±0.04	3.31
17	sm	3.604±0.19	1.451±0.02	2.17	67	st	2.675±0.22	1.077±0.08	4.85
18	sm	3.646±0.22	1.468±0.04	2.22	68	st	2.507±0.27	1.009±0.05	4.47
19	sm	3.394±0.16	1.366±0.03	1.98	69	st	2.539±0.17	1.022±0.02	3.14
20	sm	3.538±0.50	1.424±0.11	1.99	70	st	2.465±0.10	0.992±0.03	3.63
21	sm	3.224±0.18	1.298±0.03	2.36	71	st	2.476±0.21	0.997±0.05	3.93
22	sm	2.949±0.17	1.187±0.03	2.29	72	st	2.332±0.29	0.939±0.08	4.35
23	sm	3.211±0.37	1.293±0.06	2.15	73	st	2.198±0.10	0.885±0.02	5.91
24	sm	2.955±0.19	1.189±0.04	2.28	74	st	2.287±0.15	0.921±0.05	5.63
25	sm	3.114±0.18	1.254±0.03	2.43	75	st	2.164±0.14	0.871±0.02	3.33
26	sm	2.711±0.20	1.091±0.04	2.30	76	st	2.190±0.17	0.882±0.04	3.74
27	sm	2.947±0.15	1.186±0.02	2.16	77	st	2.073±0.10	0.834±0.02	5.61
28	sm	2.684±0.19	1.081±0.05	2.22	78	st	2.251±0.18	0.906±0.04	6.13
29	sm	2.709±0.16	1.090±0.04	2.19	79	st	2.133±0.20	0.859±0.04	4.07
30	sm	2.609±0.43	1.050±0.14	2.28	80	st	2.028±0.10	0.816±0.02	3.97
31	sm	2.601±0.32	1.047±0.07	2.50	81	st	2.088±0.24	0.841±0.06	5.53
32	sm	2.667±0.13	1.073±0.02	2.24	82	st	2.120±0.31	0.853±0.08	5.93
33	sm	2.701±0.12	1.087±0.02	2.69	83	st	2.020±0.13	0.813±0.02	6.27
34	sm	2.557±0.14	1.029±0.05	2.51	84	st	2.141±0.14	0.862±0.05	6.55
35	sm	2.580±0.24	1.039±0.03	2.40	85	st	1.154±0.09	0.465±0.02	4.51
36	sm	2.473±0.30	0.996±0.07	2.30	86	st	1.240±0.10	0.499±0.02	4.04
37	sm	2.436±0.21	0.981±0.05	2.04	87	st	1.081±0.15	0.435±0.04	4.37
38	sm	2.452±0.16	0.987±0.04	2.18	88	st	1.117±0.10	0.450±0.02	4.55
39	sm	2.410±0.31	0.970±0.10	2.05	89	t	2.319±0.11	0.993±0.03	7.54
40	sm	2.389±0.17	0.962±0.03	1.99	90	t	2.429±0.28	0.978±0.03	7.72
41	sm	2.408±0.14	0.969±0.02	2.31	91	t	1.793±0.19	0.722±0.02	8.42
42	sm	2.361±0.19	0.950±0.04	2.57	92	t	1.981±0.16	0.797±0.02	7.77
43	sm	2.348±0.18	0.945±0.04	1.90	93	t	1.782±0.13	0.717±0.03	7.42
44	sm	2.358±0.17	0.949±0.04	2.10	94	t	1.929±0.11	0.776±0.02	7.69
45	sm	2.167±0.19	0.872±0.04	2.86	95	t	1.895±0.13	0.763±0.05	8.26
46	sm	2.306±0.14	0.928±0.03	2.68	96	t	1.607±0.11	0.647±0.02	8.89
47	sm	1.445±0.14	0.586±0.03	1.95	97	t	1.322±0.17	0.532±0.04	∞
48	sm	1.214±0.19	0.489±0.04	2.14	98	t	1.204±0.18	0.485±0.04	∞
49	sm	1.110±0.09	0.447±0.01	2.52	99	t	0.953±0.13	0.383±0.03	∞
50	sm	1.152±0.19	0.464±0.05	2.82	100	t	0.900±0.10	0.362±0.03	∞



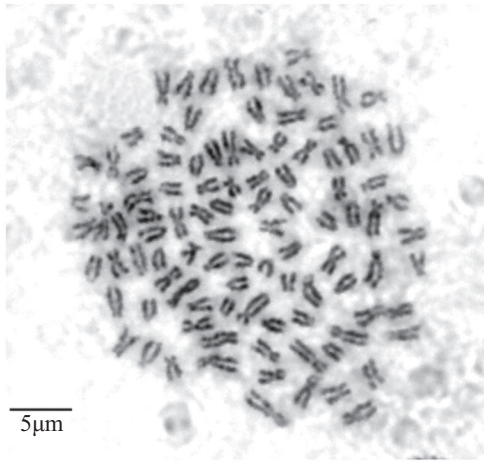


图3 大鳞鲃染色体中期分裂相  
Fig. 3 Metaphase of *B. capito*

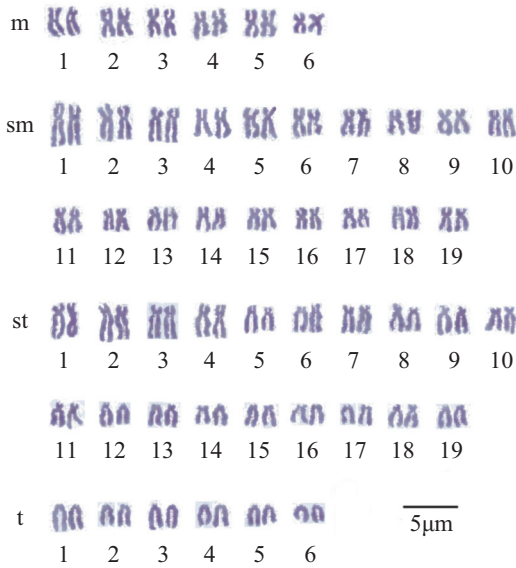


图4 Photoshop软件分析的大鳞鲃染色体核型

m. 中部着丝点染色体; sm. 亚中部着丝点染色体; st. 亚端着丝点染色体; t. 端着丝点染色体

Fig. 4 Karyotype of *B. capito* by Photoshop

m. metacentric chromosome; sm. submetacentric chromosome; st. acrocentric chromosome; t. telocentric chromosome

4组染色体平均相对长度大小依次是sm组(1.095±0.30)>st组(1.030±0.30)>m组(0.927±0.25)>t组(0.675±0.20), 组内每对染色体间相对长度差异显著(P<0.05)。m组、t组最大染色体对(1号)相对长度是最小染色体对(6号)的2.20倍和2.56倍, 组内6对染色体大小差异相对较小。sm组、st组最大染色体对(1号)相对长度是最小染色体对(19号)的3.78倍和3.58倍, 组内染色体对间大小差异相对较大。整个染色体组中, 最大染色体(sm组1号)

是最小染色体(t组6号)的4.62倍。

### 3 讨论

#### 3.1 染色体核型分析方法

本实验中染色体测量与核型分析结果采用E-ruler软件和Photoshop软件相结合, 全部在计算机上完成。结果表明, 软件操作简单、便捷, 可代替常规手工方法。染色体标本制作与核型分析是鱼类染色体细胞遗传分析中的两个重要部分。前者目前多采用林义浩<sup>[19]</sup>的PHA体内注射法, 不同鱼类只需适当调整实验步骤, 均可获得分散良好、完整清晰的染色体中期分裂相; 后者还是延续传统方法, 即将清晰的中期分裂相拍照、放大冲洗、手工测量、剪贴。此方法不仅繁琐费力, 由于染色体数量又多, 发生人为丢失的可能性较大, 并且染色体很小, 手工测量误差难以控制, 在一定程度上影响了染色体核型分析的正确性。虽然已经开发出染色体核型分析系统<sup>[14]</sup>如Karyo3.1等, 但该系统只适用于人类染色体组分析, 难以应用于鱼类染色体核型分析的根本原因在于分析系统基于染色体模型, 只有先建立模型才能进行数据处理, 对于细胞遗传参数未知的新物种则难以进行分析。蒋姗姗等<sup>[16]</sup>利用Photoshop软件进行了组型分析, 但未涉及染色体测量工作。朱建等<sup>[21]</sup>采用Micromeasure version 3.3对染色体进行测量与分析, 该软件功能强大、操作简单, 缺点是测量过程由软件自动完成, 细节及误差难以控制。本实验中采用E-ruler软件和Photoshop软件相结合, 在计算机上逐个进行染色体的测量、拼贴等数据处理。利用E-ruler的多点曲线测量工具, 可以准确、快速、便捷地测出每条染色体的短臂、长臂及全长, 再用Photoshop软件拼贴出核型图。E-rule软件最大的优势在于能直接测量多个折点曲线的全长, 给弯曲状态染色体的测量带来便利, 弥补了Photoshop中难以测量曲线的缺陷, 同时也提高了染色体测量的精度与准确度, 为染色体核型分析提供了可靠的实验数据。

从E-ruler软件与常规方法的测量结果可以看出(表3), 两种方法对伸展平直染色体(编号13、14和编号89、90)的测量无显著影响(P>0.05), 对弯曲形态染色体(编号1、2和编号51、52)的测量存在显著差异(P<0.05)。常规方法采用游标卡尺

表 3 4对染色体两种方法的测量结果

Tab. 3 Results of two methods for 4 pairs of chromosomes of *B. capito*

编号 no.	类型 type	E-ruler软件测量			常规方法测量		
		绝对长度/ $\mu\text{m}$ absolute length	相对长度/% relative length	臂比/% arm ratio	绝对长度/ $\mu\text{m}$ absolute length	相对长度/% relative length	臂比/% arm ratio
1	m	3.008±0.23	1.211±0.03	1.59	2.701±0.32	1.032±0.10	1.40
2	m	2.902±0.26	1.168±0.09	1.62	2.423±0.16	0.926±0.09	1.24
13	sm	4.070±0.31	1.638±0.05	2.14	4.185±0.47	1.652±0.02	2.00
14	sm	4.483±0.30	1.805±0.03	2.14	4.325±0.35	1.799±0.03	2.32
51	st	4.020±0.20	1.618±0.05	4.02	3.135±0.39	1.198±0.04	3.43
52	st	3.858±0.21	1.553±0.05	3.65	3.083±0.53	1.177±0.01	3.17
89	t	2.319±0.11	0.993±0.03	7.54	2.323±0.23	0.878±0.01	7.40
90	t	2.429±0.28	0.978±0.03	7.72	2.456±0.32	0.988±0.01	7.86

测量, 在测量曲线染色体时容易产生测量值偏小的结果, 如编号1、2和编号51、52染色体的绝对长度和相对长度均小于E-ruler软件测量结果。此外, 常规方法做出的染色体核型(图5)无法剔除原中期分裂相照片的背景, 影响染色体形态的观察和着丝粒位置的准确判断。而本实验采用E-ruler软件和Photoshop软件相结合, 可改善染色体核型分析中的系统误差, 获得准确的测量数据和清晰的核型结果。在分析过程中, 不受

实验物种类别和细胞遗传基础的限制, 因此本方法可适用于其他鱼类品种和生物的染色体核型分析。

### 3.2 染色体核型比较

据国内外文献报道<sup>[4, 5, 22-23]</sup>, 已研究过染色体的鲃亚科鱼类约有70种。染色体2n数最少的48, 最多的100, 70%鱼类的2n=50, 19%的2n=100, 其他的2n数分布在48、52、96和98<sup>[24]</sup>。有学者认为2n=50是鲃亚科染色体的原始类型<sup>[25]</sup>, 这与鲤科鱼类染色体的结果一致<sup>[24, 26]</sup>。Arai<sup>[23]</sup>在总结分析欧亚大陆已作过核型研究的141种鲤科鱼类基础上, 认为2n=50是鲤科鱼类最原始的核型, 并由2n=50朝几个方向演化, 即通过多倍化导致染色体数增加, 由2n=50→100; 通过罗伯逊易位、缺失导致染色体数减少, 由2n=50→48。大鳞鲃染色体数为100, 正好是50的2倍, 推测大鳞鲃可能是由2n(50)→4n(100), 然后经二倍化后形成的2n=100的四倍体物种。大多学者认为具有四倍体核型的物种, 可表现出较强的适应性<sup>[27]</sup>和较大的变异能力<sup>[28]</sup>。例如鲤科中的鲤(*Cyprinus carpio*)和鲫(*Carassius auratus*)就是适应性较强、分布较广的鱼类, 这些鱼类具有明显的优势并表现出一系列的适应变异能力, 主要原因之一就在于它们是二倍化的四倍体物种<sup>[26]</sup>。大鳞鲃原产于乌兹别克斯坦的咸海水域, 是溯河洄游鱼类, 有学者发现该鱼有定居于淡水中的种群<sup>[29]</sup>, 这种分化现象可能与大鳞鲃具有四倍体核型有关。

与鲃亚科染色体2n=100的鲃鱼相比, 大鳞

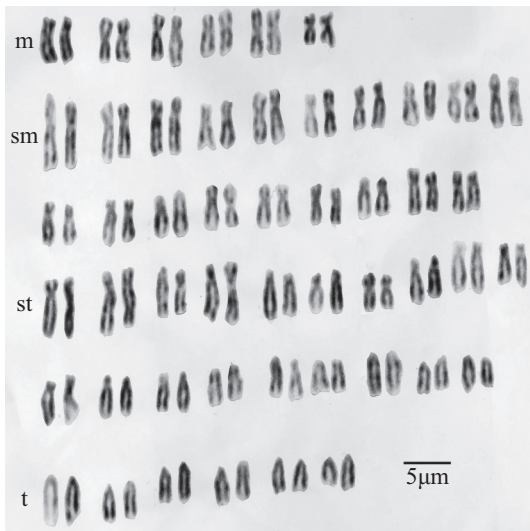


图 5 常规方法分析的大鳞鲃染色体核型

m. 中部着丝点染色体; sm. 亚中部着丝点染色体; st. 亚端着丝点染色体; t. 端着丝点染色体

Fig. 5 Karyotype of *B. capito* by traditional method

m. metacentric chromosome; sm. submetacentric chromosome; st. acrocentric chromosome; t. telocentric chromosome

鲃核型中sm染色体和st染色体较多,并且具有一对最大的亚中部着丝粒染色体。李树深<sup>[30]</sup>认为在一定的分类阶元中,具有较多端部着丝粒染色体(t)的物种较为原始,而具有较多中部(m)或亚中部(sm)着丝粒染色体的物种是特化种类。可以推测大鳞鲃在鲃亚科中属于比较特化的种类,它的进化途径可能是在不改变染色体数目的情况下通过着丝点融合机制增加了染色体的臂数<sup>[31]</sup>,即伴随着端部着丝点染色体的逐渐减少和中部、亚中部着丝点染色体的相应增多演化成现存的大鳞鲃,这与何氏细鲃(*Leptobarbus hoeveni*)的演化情况类似<sup>[32]</sup>。染色体臂数的增加暗示

着生物特化程度的上升<sup>[33]</sup>,表4中几种鲃的臂数范围是142~150,大鳞鲃的臂数是最高值150,进一步证实了该鱼具有较高的特化程度。李迪等<sup>[34]</sup>将这种只改变染色体形态和臂数不改变染色体数目的进化形式称为臂间倒位,此现象在三角帆蚌(*Hyriopsis cumingii*)<sup>[35]</sup>和花尾胡椒鲷(*Plectorhinchus cinctus*)<sup>[36]</sup>的染色体研究中得到证实。染色体形态的改变直接影响核型分析中染色体的分组结果,若形成的端部着丝粒染色体数目越多则进化位越高<sup>[37]</sup>。大鳞鲃同其他几种鲃相比,端部染色体数处于中间,表明该鱼有向演化高位进化的趋势。

表4 几种鲃亚科鱼类染色体核型(2n=100)

Tab. 4 The karyotypes of fish of Barbinae (2n=100)

种名 species	2n	核型公式 karyotype formula	NF arm number	文献 references
中华倒刺鲃 <i>Spinibarbus sinensis</i>	100	18m+32sm+26st+24t	150	[21]
倒刺鲃 <i>Barbodes (Spinibarbus) sinensis</i>	100	18m+32sm+26st+24t	150	[21]
光倒刺鲃 <i>Spinibarbus hollandi</i>	100	18m+32sm+26st+24t	150	[21]
黑脊倒刺鲃 <i>Spinibarbus caldwelli</i> Nicholes	100	18m+32sm+26st+24t	150	[38]
双角鲃 <i>Ceratobarbus biangularis</i>	100	16m+34sm+50st, t	150	[39]
触须鲃 <i>Barbus barbuis</i>	100	44m+sm+56st, t	144	[4]
凡鲃 <i>Barbus plebejus</i>	100	26m+18sm+56st, t	144	[4]
地中海鲃 <i>Barbus meridionalis</i>	100	22m+20sm+58st, t	142	[4]
大鳞鲃 <i>Barbus capito</i>	100	12m+38sm+38st+12t	150	本文 this paper

应该指出的是,核型只是为鱼类分类及演化问题提供了一个方面的依据。鱼类核型在演化中既有保守性、趋同性,又有多态现象,因此不能把核型作为分类的唯一指标,而应该用全态学的方法进行系统发育分类学的研究,力求全面、准确地解决生物演化问题<sup>[36]</sup>。此外大鳞鲃与国内几种倒刺鲃核型比较接近,根据鱼类杂交育种中核型越相近、杂交越能成功的原则<sup>[40]</sup>,大鳞鲃与几种倒刺鲃间的杂交均有较大的可行性。本研究结果为大鳞鲃的杂交育种提供了参考。

#### 参考文献:

- [1] 金万昆,俞丽,赵宜双,等.淡水鱼类远缘杂交种染色体图谱[M].北京:中国农业科学技术出版社,2007:1-3.  
Jin W K, Yu L, Zhao Y S, et al. Chromosome map on freshwater fish of distant hybrid[M]. Beijing: China Ag-

ricultural Science and Technology Press, 2007: 1-3(in Chinese).

- [2] Ojima Y, Hitotsumachi S, Makino S. Cytogenetic studies in lower vertebrates. I: A preliminary report on the chromosomes of the funa (*Carassius auratus*) and goldfish (a revised study)[J]. Proceedings of the Japan Academy, 1966, 42(1): 62-66.  
[3] 吴清江,桂建芳.鱼类遗传育种工程[M].上海:上海科学技术出版社,1999:1-3.  
Wu Q J, Gui J F. Fish genetics and breeding engineering[M]. Shanghai: Shanghai Science and Technology Press, 1999: 1-3(in Chinese).  
[4] 咎瑞光,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[J].动物学研究,1984,5(S1): 82-88, 101-102.  
Zan R G, Song Z, Liu W G. Studies of karyotypes of

- seven species of fishes in barbinae, with a discussion on identification of fish polyploids[J]. Zoological Research, 1984, 5(S1): 82-88, 101-102(in Chinese).
- [5] 楼允东. 中国鱼类染色体组型研究的进展[J]. 水产学报, 1997, 21(S1): 82-96.
- Lou Y D. Progress of fish karyotype studies in China[J]. Journal of Fisheries of China, 1997, 21(S1): 82-96(in Chinese).
- [6] 耿龙武, 徐伟, 蔺玉华, 等. 大鳞鲃人工繁育技术初报[J]. 吉林农业大学学报, 2010, 32(2): 218-220.
- Geng L W, Xu W, Lin Y H, *et al.* Technique of artificial reproduction of *Barbus capito*[J]. Journal of Jilin Agricultural University, 2010, 32(2): 218-220(in Chinese).
- [7] 徐伟, 耿龙武, 李池陶, 等. 大鳞鲃的人工繁殖、胚胎发育和耐盐碱测定[J]. 水产学报, 2011, 35(2): 255-260.
- Xu W, Geng L W, Li C T, *et al.* The artificial propagation, embryonic development and saline-alkali tolerant experiment of *Barbus capito*[J]. Journal of Fisheries of China, 2011, 35(2): 255-260(in Chinese).
- [8] 蔺玉华, 耿龙武, 王信海, 等. 池塘驯养大鳞鲃某些生物学特性研究[J]. 天津师范大学学报(自然科学版), 2009, 29(4): 72-75.
- Lin Y H, Geng L W, Wang X H, *et al.* Some biological characteristics of *Barbus capito* bred in ponds[J]. Journal of Tianjin Normal University (Natural Science Edition), 2009, 29(4): 72-75(in Chinese).
- [9] 耿龙武, 徐伟, 李池陶, 等. 盐碱对大鳞鲃血清渗透压、离子含量及鳃丝 $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATP酶活力的影响[J]. 中国水产科学, 2011, 18(2): 458-465.
- Geng L W, Xu W, Li C T, *et al.* Influence of salinity and alkalinity on serum ion concentrations, serum osmosis and gill  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPase activity of *Barbus capito*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 18(2): 458-465(in Chinese).
- [10] 耿龙武, 徐伟, 金国雄, 等. 4种常用水产药物对大鳞鲃的急性毒性试验[J]. 江西农业大学学报, 2011, 33(3): 568-572.
- Geng L W, Xu W, Jin G X, *et al.* Acute toxicity test of 4 common drugs on *Barbus capito*[J]. Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis, 2011, 33(3): 568-572(in Chinese).
- [11] 刘莉, 张岩, 陈超, 等. 棕点石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus*♀)×鞍带石斑鱼(*Epinephelus lanceolatus*♂)F<sub>1</sub>染色体制备方法及其核型分析[J]. 渔业科学进展, 2016, 37(2): 33-40.
- Liu L, Zhang Y, Chen C, *et al.* Preparation of chromosomes and analysis of karyotypes of hybrid F<sub>1</sub> (*Epinephelus fuscoguttatus*♀×*Epinephelus lanceolatus*♂) groupers[J]. Progress in Fishery Sciences, 2016, 37(2): 33-40(in Chinese).
- [12] 郑娇, 曹款, 杨安冉, 等. 黄姑鱼染色体识别与重复序列定位[J]. 水产学报, 2016, 40(8): 1156-1162.
- Zheng J, Cao K, Yang A R, *et al.* Chromosome mapping using genomic DNA and repetitive DNA sequences as probes for somatic chromosome identification in *Nibea albiflora*[J]. Journal of Fisheries of China, 2016, 40(8): 1156-1162(in Chinese).
- [13] 闫素丽, 安玉麟, 孙瑞芬, 等. 染色体核型分析及染色体显微分离技术研究进展[J]. 生物技术通报, 2008(4): 70-74.
- Yan S L, An Y L, Sun R F, *et al.* Research progress of karyotype analysis and chromosome micro-dissection technology[J]. Biotechnology Bulletin, 2008(4): 70-74(in Chinese).
- [14] 沈玉堂. 染色体核型分析系统研制与开发[D]. 杭州: 浙江大学, 2003: 5-42.
- Shen Y T. Research and development of karyotype analysis system[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2003: 5-42(in Chinese).
- [15] 谭伟. 人类染色体核型分析系统研究[D]. 杭州: 浙江大学, 2008: 31-36.
- Tan W. A research of human karyotype analysis system[D]. Hangzhou: Zhejiang University, 2008: 31-36(in Chinese).
- [16] 蒋姗姗, 梁英民, 王作军. 利用个人电脑系统及Photoshop软件进行核型分析[J]. 第四军医大学学报, 2000, 21(7): 860.
- Jiang S S, Liang Y M, Wang Z J. Karyotyping with personal computer system and Photoshop software[J]. Journal of the Fourth Military Medical University, 2000, 21(7): 860(in Chinese).
- [17] 薛蕊, 安皓, 刘清华, 等. 斑石鲷(*Oplegnathus punctatus*)雌、雄鱼核型及Ag-NORs带型分析[J]. 海洋与湖沼, 2016, 47(3): 626-632.
- Xue R, An H, Liu Q H, *et al.* Karyotype and Ag-NORs in male and female of *Oplegnathus punctatus*[J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2016, 47(3): 626-632(in Chinese).



- [18] 陈春丽, 邓于洋, 郭文武. 应用生物学软件分析四季橘染色体核型和带型[J]. 果树学报, 2012, 29(4): 690-694.  
Chen C L, Deng Y Y, Guo W W. Analyses of Citrus madurensis chromosomal karyotype and banding style by Biological Image Software[J]. Journal of Fruit Science, 2012, 29(4): 690-694(in Chinese).
- [19] 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): 201-208.  
Lin Y H. A PHA injection method *in vivo* for the rapid obtainment of large numbers of metaphase figures from kidney cells of teleosts[J]. Journal of Fisheries of China, 1982, 6(3): 201-208(in Chinese).
- [20] Levan A, Fredga K, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes[J]. Hereditas, 1964, 52(2): 201-220.
- [21] 朱健, 张成锋, 闵宽洪, 等. 尼罗尖吻鲈和鳊鱼染色体组型分析及比较[J]. 水生生物学报, 2009, 33(2): 195-199.  
Zhu J, Zhang C F, Min K H, *et al.* The comparison and analysis of chromosome karyotype of the Nile perch (*Lates nilotitus*) and Mandarin fish (*Siniperca chuatsi*)[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2009, 33(2): 195-199(in Chinese).
- [22] Manna G K, Khuda-Bukhsh A R. A checklist of chromosomes in cyprinid fishes[J]. Journal of Zoology Research, 1977, 1: 34-43.
- [23] Arai R. A chromosome study on two cyprinid fishes, *Acrossocheilus labiatus* and *Pseudorasbora pumila pumila*, with notes on Eurasian cyprinids and their karyotypes[J]. Bulletin of the National Science Museum, Series A, 1982, 8(3): 131-152.
- [24] 李渝成, 李康, 蒋建桥, 等. 中国鲤科鱼类染色体组型的研究 X. 鲃亚科五种鱼和鮡亚科四种鱼的染色体组型[J]. 动物学研究, 1986, 7(2): 183-189, 211-213.  
Li Y C, Li K, Jiang J Q, *et al.* Studies on the karyotypes of Chinese cyprinid fishes X. Karyotypes of five species of barbinae and four species of gobioninae[J]. Zoological Research, 1986, 7(2): 183-189, 211-213(in Chinese).
- [25] Ohno S, Muramoto J, Christian L, *et al.* Diploid-tetraploid relationship among old-world members of the fish family *Cyprinidae*[J]. Chromosoma, 1967, 23(1): 1-9.
- [26] 桂建芳, 李渝成, 李康, 等. 中国鲤科鱼类染色体组型的研究 VI. 鲃亚科3种四倍体鱼和鲤亚科1种四倍体鱼的组型[J]. 遗传学报, 1985, 12(4): 302-308, 331-332.  
Gui J F, Li Y C, Li K, *et al.* Studies on the karyotypes of Chinese Cyprinid fishes VI. karyotypes of three tetraploid species in barbinae and one tetraploid species in Cyprininae[J]. Acta Genetica Sinica, 1985, 12(4): 302-308, 331-332(in Chinese).
- [27] 孙远东, 袁志栋, 谭树华, 等. 人工诱导湘云金鳊雌核发育的研究[J]. 水产学报, 2015, 39(1): 8-15.  
Sun Y D, Yuan Z D, Tan S H, *et al.* Induction of gynogenesis in red bighead carp (*Aristichthys nobilis* red var.)[J]. Journal of Fisheries of China, 2015, 39(1): 8-15(in Chinese).
- [28] 仲嘉, 易少奎, 于永耀, 等. 长江流域泥鳅与大鳞副泥鳅种质资源调查与研究[J]. 水产学报, 2015, 39(8): 1089-1098.  
Zhong J, Yi S K, Yu Y Y, *et al.* Investigation of *Misgurnus anguillicaudatus* and *Paramisgurnus dabryanus* in the Yangtze River basin[J]. Journal of Fisheries of China, 2015, 39(8): 1089-1098(in Chinese).
- [29] 尼科里斯基. 分门鱼类学[M]. 缪学祖, 林福申, 田明诚译. 北京: 高等教育出版社, 1958: 186-189.  
Nikoriski. Classification of Ichthyology[M]. Liao X Z, Lin F S, Tian M C, trans. Beijing: Higher Education Press, 1958: 186-189(in Chinese).
- [30] 李树深. 鱼类细胞分类学[J]. 生物科学动态, 1981(2): 8-15.  
Li S S. Fish cell taxonomy[J]. Biological Science Trends, 1981(2): 8-15(in Chinese).
- [31] 周宸. 2种虾虎鱼染色体的核型分析[J]. 南方水产, 2010, 6(4): 72-76.  
Zhou C. Karyotype analysis of chromosome of 2 Gobioid species[J]. South China Fisheries Science, 2010, 6(4): 72-76(in Chinese).
- [32] 朱新平, 鄂国民, 胡红, 等. 何氏细鲃鱼染色体组型[J]. 遗传, 1990, 12(3): 20-21, 51.  
Zhu X P, Wu G M, Hu H, *et al.* The Karyotype of *Leptobarbus hoeeni* bleeker[J]. Hereditas (Beijing), 1990, 12(3): 20-21, 51(in Chinese).
- [33] 许红霞, 杨学芬, 杨瑞斌. 梁子湖中华沙塘鳢染色体核型和核DNA含量[J]. 华中农业大学学报, 2017, 36(1): 93-97.  
Xu H X, Yang X F, Yang R B. Karyotype and nuclear DNA content of *Odontobutis sinensis* in Liangzi Lake[J]. Journal of Huazhong Agricultural University, 2017, 36(1): 93-97(in Chinese).

- [34] 李迪, 陈四清, 刘志鸿, 等. 星突江鲮染色体核型分析[J]. 渔业科学进展, 2009, 30(2): 20-25.  
Li D, Chen S Q, Liu Z H, *et al.* Karyotype of *Platichthys stellatus pallas*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2009, 30(2): 20-25(in Chinese).
- [35] 杨品红, 杨武冬, 王晓艳. 洞庭湖区三角帆蚌染色体及核型研究[J]. 湖南文理学院学报(自然科学版), 2008, 20(1): 64-68.  
Yang P H, Yang W D, Wang X H. Research on chromosomes of *Hyriopsis cumingii* in Dongting lake area[J]. Journal of Hunan University of Arts and Science (Natural Science), 2008, 20(1): 64-68(in Chinese).
- [36] 覃映雪, 苏永全, 王胜强, 等. 花尾胡椒鲷染色体组型分析[J]. 海洋学报, 2003, 25(4): 147-150.  
Qin Y X, Su Y Q, Wang S Q, *et al.* The karyotypes of *Plectorhinchus cinctus*[J]. Acta Oceanologica Sinica, 2003, 25(4): 147-150(in Chinese).
- [37] 史宝, 刘永山, 柳学周, 等. 黄条鲮(*Seriola aureovittata*)染色体核型分析[J]. 渔业科学进展, 2017, 38(1): 136-141.  
Shi B, Liu Y S, Liu X Z, *et al.* Study on the karyotype of Yellowtail kingfish (*Seriola aureovittata*)[J]. Progress in Fishery Sciences, 2017, 38(1): 136-141(in Chinese).
- [38] 黄种持, 黄柳婷, 林学文, 等. 黑脊倒刺鲃染色体和同工酶分析[J]. 集美大学学报(自然科学版), 2008, 13(4): 295-300.  
Huang Z C, Huang L T, Lin X W, *et al.* Analysis of chromosome and isozymes for *Spinibarbus caldwelli*[J]. Journal of Jimei University (Natural Science), 2008, 13(4): 295-300(in Chinese).
- [39] 王大忠, 廖吉文. 双角鲃核型的初步研究[J]. 遵义医学院学报, 1995, 18(2): 85-86.  
Wang D Z, Liao J W. The karyotype of a cave-living fish *Ceratobarbus biangularis*[J]. Acta Academiae Medicinae Zunyi, 1995, 18(2): 85-86(in Chinese).
- [40] 楼允东, 李小勤. 中国鱼类远缘杂交研究及其在水产养殖上的应用[J]. 中国水产科学, 2006, 13(1): 151-158.  
Lou Y D, Li X Q. Distant hybridization of fish and its application in aquaculture in China[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13(1): 151-158(in Chinese).

## Comparative study on the karyotype of chromosome of *Barbus capito* with two methods

GENG Longwu , JIANG Haifeng , XU Wei \*

(Heilongjiang River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China)

**Abstract:** Chromosome karyotyping is the main content in cytogenetic study. Manual analysis, image systemic analysis and software analysis are the most commonly used methods in chromosome karyotyping. But all three methods have their own disadvantage, which are large measurement error, high quality metaphase image requirement and uncontrollable detail error, respectively. In order to obtain accurate and convenient chromosome karyotype analysis method, the introduced salt-tolerant varieties, *Barbus capito*, was used as experimental fish. The metaphase chromosomes of *B. capito* were obtained from head kidney tissue by the method of PHA and colchicine injection and then the chromosome samples were prepared by air-drying technique. We presented a method for chromosome karyotyping by combining two software E-ruler and Photoshop, and compared the measure and karyotyping results from the regular method. The results showed that there is no significant difference in the measurement of stretched straight chromosomes by E-ruler software and conventional methods, however, the former is more accurate in the measurement of curved chromosome. Photoshop software can quickly and conveniently complete the chromosome, because it can accurately judge the location of centromere by eliminating the background of karyotype. It can be concluded that E-ruler and Photoshop combining method achieved much more accurate and clear karyotyping results. As an accurate and convenient method, this new method can also be used in chromosome analysis of other fish species and even other organisms. The results showed that the chromosome ploidy of *B. capito* was diploid, and no gender-related heterotypical chromosomes were found. The karyotype formula was:  $2n=100=12m+38sm+38st+12t$ ,  $NF=150$ . Compared with other species from Barbinae family, *B. capito* has similar karyotypes to several domestic species, which shows the karyotype evolutionary characters.

**Key words:** *Barbus capito*; chromosome karyotype; analysis method; cytogenetics

**Corresponding author:** XU Wei. E-mail: xwsc23@163.com

**Funding projects:** Central-level Non-profit Scientific Research Institutes Special Funds (2016HY-ZD0602; HSY201403); National Key Technology R & D Program of the Ministry of Science and Technology of China (2012BAD25B09)