



棘头梅童鱼中期染色体物理长度的估测

罗晗娇, 刘富江, 陈俊男, 刘贤德, 刘滢溯, 蔡明夷*

(集美大学水产学院, 农业农村部东海海水健康养殖重点实验室, 福建 厦门 361021)

摘要: 为了支持棘头梅童鱼基因组学和细胞遗传学研究的发展, 本研究采用流式细胞术 (flow cytometry, FCM) 首次估测了棘头梅童鱼基因组的大小, 并利用碘化丙啶染色与图像分析软件测定棘头梅童鱼 24 对染色体的相对面积、相对长度以及相对累积荧光强度, 估算了染色体的物理长度。结果显示, 雌性和雄性棘头梅童鱼的基因组大小分别为 (802.91 ± 2.19) Mb 和 (786.52 ± 1.95) Mb。雌性基因组显著大于雄性基因组 (约 16.39 Mb)。雌性的核型公式为 $2n=48=48t$, 臂数 $NF=48$, 染色体估测物理长度为 $(22.17 \pm 0.72) \sim (46.30 \pm 1.06)$ Mb。雄性的核型公式为 $2n=47=1m+46t$, 臂数 $NF=48$ 。其中, 雄性特有的 m 染色体为 Y 染色体, 其估测物理长度为 (62.95 ± 2.89) Mb。染色体的估测物理长度与相对面积、相对长度均成正线性相关。研究结果为棘头梅童鱼染色体的识别、配对提供更丰富的信息, 为棘头梅童鱼 Y 染色体的组装及石首鱼科鱼类染色体进化提供参考数据。

关键词: 棘头梅童鱼; 基因组大小; 染色体物理长度; 图像分析

中图分类号: Q 343.2; S 917.4

文献标志码: A

棘头梅童鱼 (*Collichthys lucidus*) 属石首鱼科 (Sciaenidae)、梅童鱼属 (*Collichthys*), 为短距离洄游的浅海鱼类, 主要栖息在河口咸淡水交汇处, 生长速率快, 适温、适盐范围广^[1-2]。棘头梅童鱼终年可以捕获, 盛产期为 5—7 月的繁殖季节, 在长江口附近棘头梅童鱼最高年产量达 200 t^[3], 具有较高的经济价值, 是中国重要的海水经济鱼类。棘头梅童鱼具有特别的多性染色体系统 ($X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y$), 雄性有一条特殊的中间着丝粒 (m) 染色体^[4]。在已有核型数据的石首鱼科中, 棘头梅童鱼是唯一一种具有异形性染色体和多性染色体系统的石首鱼^[5-6]。进一步研究棘头梅童鱼性染色体的结构和进化, 将有助于理解性染色体—常染色体融合的进化驱动力、性染色体—常染色体融合对物种发生与适应力的影响, 以及性染色体进化等问题^[7-8]。目前, 染色体级的雌性棘头梅童鱼参考基因组已经组装并注释^[9],

但 Y 染色体的组装尚未完成。因此, 实验采用流式细胞术 (flow cytometry, FCM) 估测了雌性和雄性棘头梅童鱼基因组的大小, 并采用荧光染色与显微图像分析技术分析其染色体的特征、估算染色体的物理长度, 可为棘头梅童鱼性染色体的发生与进化机制的研究、以及 Y 染色体的组装提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本实验使用的棘头梅童鱼均为福建宁德三都澳海域捕捞的成年性成熟野生个体。

1.2 实验方法

鸡红细胞的制备与固定 用 1 mL 注射器 (5 mg/mL 肝素钠溶液浸润并吸入 0.7 mL) 从健康

收稿日期: 2019-12-19 修回日期: 2020-02-29

资助项目: 国家自然科学基金 (31872553, 41706157); 集美大学国家级、省级大学生创新创业训练计划 (201910390046)

通信作者: 蔡明夷, E-mail: myicai@jmu.edu.cn

雄性成年鸡 (*Gallus gallus domesticus*) 翅膀下静脉采血 0.3 mL, 随后加到 15 mL 离心管中 (内含 10 mL 生理盐水), 1 500 r/min 离心 5 min, 弃上清液, 重复该步骤 2 次。

取乙醇细胞固定液 (70 mL 无水乙醇加 30 mL 生理盐水和 10 mL 甘油) 和甲醛细胞固定液 (10 mL 35% 甲醛加 90 mL 生理盐水和 10 mL 甘油) 各 10 mL, 缓缓滴加纯净鸡红细胞悬浮液, 颠倒混匀数次, 封口后 4 °C 冰箱固定保存。

基因组大小的测定 基因组大小测定参考陈紫莹等^[10]的描述, 具体步骤: 从棘头梅童鱼尾柄取血, 同时解剖检查性腺, 判断鱼体性别; 将鱼血细胞与鸡血细胞以 2 : 1~5 : 1 的比例混合, 加入 1 mL 碘化丙锭 (propidium iodide, PI) 染色液 (5 mg/L PI、0.2 mg/L RNA 酶、1% Triton X-100、2 mmol/L CaCl₂、2 mmol/L MgCl₂ 和 146 mmol/L NaCl), 4 °C 染色 0.5 h, 样品 300 目筛网过滤; 样品在流式细胞仪 (PAS-II, Partec, German) 上进行测定, 读取棘头梅童鱼红细胞和鸡红细胞荧光强度平均值 (mean)。基因组大小计算公式: $N=X_1/X_2 \times H$, 式中, N 表示待测鱼的 DNA 含量, X_1 表示棘头梅童鱼红细胞荧光强度; X_2 表示鸡红细胞荧光强度, H 表示标准鸡红细胞 DNA 含量 (1.07 pg/C)。用 t 检验分析雌、雄性基因组大小平均值差异的显著性。

染色体的制备与核型排列 头肾细胞的准备与固定参考王德祥等^[11]描述的方法, 鱼体性别通过解剖检查性腺判断。取固定好的细胞悬液滴片, 每片滴 1~2 滴, 60 °C 条件下老化 1 h, 在染色体制片上滴加 1 μg/mL PI 抗褪色剂 10 μL, 盖上盖玻片, 用指甲油封片。在 Olympus BX53 荧光显微镜下镜检, 用 CCD (带有 DP85 电荷藕合器件图像传感器) 拍照, 选取 14 个 (7 雌 7 雄) 分散良好的中期分裂细胞进行染色体计数。染色体的长度、面积和总荧光强度 (IOD) 的测量及 3D 荧光强度展示应用 Image-pro plus 6.0 软件。棘头梅童鱼雌、雄个体的染色体数目不同^[4], 故分别排列其核型图。染色体按 Levan 等^[12]确定的标准进行分类, 按照相对长度降序排列。

染色体数据的分析 按以下公式分别计算各对染色体的相关参数:

相对长度 (%) = 染色体绝对长度 / 染色体组总长度 × 100%;

相对面积 (%) = 染色体绝对面积 / 染色体组总

面积 × 100%;

相对 IOD (%) = 染色体绝对 IOD / 染色体组总 IOD × 100%;

估测物理长度 = 基因组大小 × 染色体的相对 IOD; 并统计其平均值与标准差。Y 染色体相关参数的计算中, 所称的染色体组是指包含常染色体、X₁ 染色体和 X₂ 染色体的一组染色体。

2 结果

2.1 基因组大小

雌性棘头梅童鱼血细胞的荧光强度与鸡血细胞荧光强度的比值为 0.767 ± 0.002。据此推算, 雌性棘头梅童鱼基因组大小约为 (802.91 ± 2.19) Mb, DNA 含量约 (0.821 ± 0.002) pg。雄性棘头梅童鱼血细胞的荧光强度与作为参考的鸡血细胞荧光强度的比值为 0.751 ± 0.002。据此推算, 雄性棘头梅童鱼基因组大小约为 (786.52 ± 1.95) Mb, DNA 含量约 (0.804 ± 0.002) pg。雌性基因组比雄性基因组约大 16.39 Mb, 2 组平均值的差异达到显著性水平 ($P < 0.05$)。

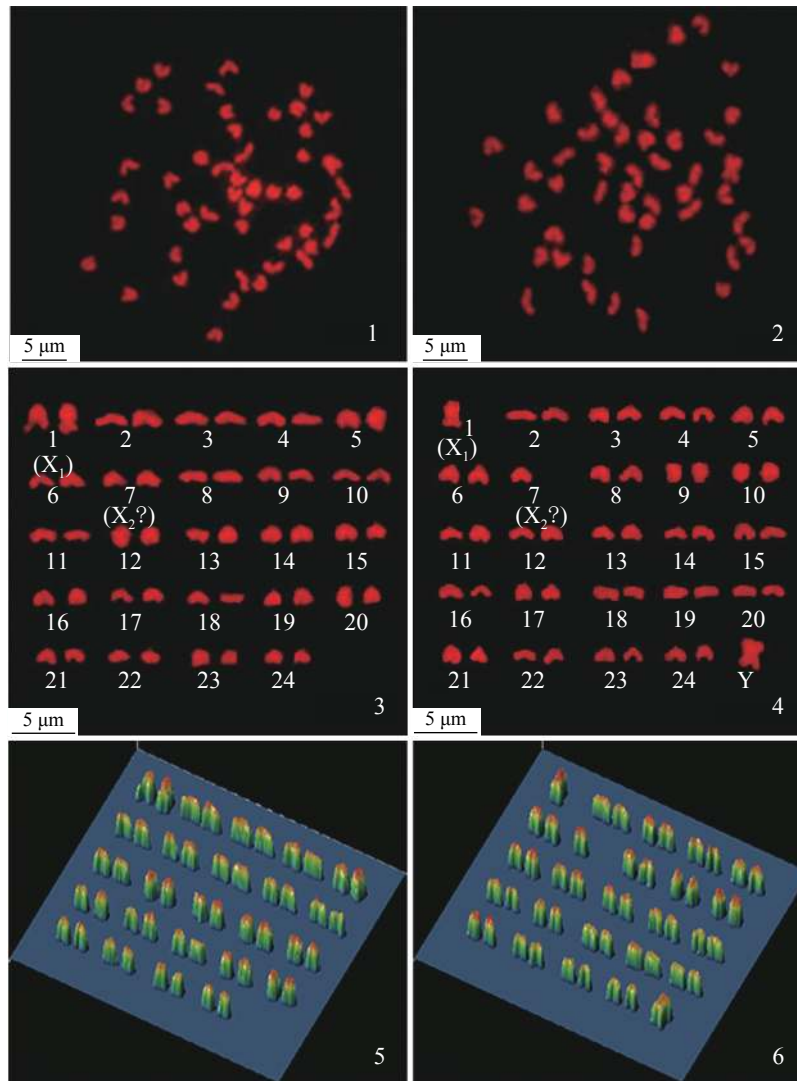
2.2 染色体组型特征

选取 14 个棘头梅童鱼 (7 雌和 7 雄) 的中期相染色体, 在荧光显微镜下观察并统计了雌、雄棘头梅童鱼染色体的数目, 结果显示, 雌性染色体组包括 48 条端部着丝粒染色体 (图版 I-1), 雄性的染色体组包括 46 条端部着丝粒染色体和 1 条中间着丝粒染色体 (图版 I-2), 根据其染色体相对长度排列雌雄染色体核型图 (图版 I-3, I-4), 通过 3D 光强度图进一步对同源染色体进行识别配对 (图版 I-5, I-6)。结果显示, 雌性核型公式为 $2n=48=48t$, 臂数 $NF=48$; 雄性核型公式为 $2n=47=1m+46t$, 臂数 $NF=48$ 。

利用 Image-pro plus 6.0 软件测量并计算, 雌性基因组染色体的物理长度为 22.17~46.30 Mb, 分布较连续 (表 1)。以单倍体染色体组 (常染色体 + X₁ 染色体 + X₂ 染色体) 数据为分母计算得到, Y 染色体的相对长度为 8.88 ± 0.30, 相对面积为 7.73 ± 0.35, 相对 IOD 值为 7.84 ± 0.36。据此计算, Y 染色体估测的物理长度约为 (62.95 ± 2.89) Mb。

2.3 染色体估测物理长度与相对长度和相对面积的关系

棘头梅童鱼染色体的估测物理长度—相对



图版 棘头梅童鱼染色体的中期相(1、2)、核型图(3、4)和3D光强度图(5、6)

1、3、5. 雌性, 2、4、6. 雄性; $X_2?$. 根据配对结果初步推测, 7号染色体为雌性棘头梅童鱼的 X_2 号染色体

Plate Metaphase spreads (1, 2), the karyotypes (3, 4) and the 3D optical density maps (5, 6) of chromosomes in *C. lucidus*

1, 3 and 5. female, 2, 4 and 6. male; $X_2?$. based on the preliminary speculation of the pairing results, chromosome 7 is the X_2 chromosome of female *C. lucidus*

长度, 以及估测物理长度—相对面积的散点图显示, 染色体物理长度和相对长度呈线性相关, 回归方程为 $y = 10.309x - 9.493 (R_1^2 = 0.982)$ 。染色体物理长度和相对面积也呈线性相关, 回归方程为 $y = 8.440x - 1.704 (R_2^2 = 0.992)$ (图 1)。

3 讨论

本研究首次利用流式细胞术估测了棘头梅童鱼基因组的大小, 结果显示, 雌性和雄性棘头梅童鱼的基因组大小分别为 (802.91 ± 2.19) Mb

和 (786.52 ± 1.95) Mb。Zhang 等^[4]曾报道, 棘头梅童鱼的性染色体系统为 $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y$, 雌性的核型公式为 $2n=48=48t$, 雄性的核型公式为 $2n=47=1m+46t$; 并基于分子细胞遗传学分析提出, X_1 和 X_2 染色体融合产生 Y 染色体, Y 染色体形成时(或后)发生了片段缺失, 丢失了 X_1 染色体上的臂间端粒。结果显示, 雌性棘头梅童鱼基因组比雄性基因组约大 16.39 Mb。这一结果证明, Y 染色体融合后, 雄鱼或雌鱼基因组结构发生了变化, 导致雄性基因组小于雌性基因组。导致

表 1 棘头梅童鱼染色体的测量数据

Tab. 1 Data of chromosomes of *C. lucidus*

编号 number	相对长度/% relative length	相对面积/% relative area	相对IOD/% relative IOD	物理长度/Mb physical length
1	5.61±0.15	5.85±0.11	5.77±0.13	46.30±1.06
2	5.04±0.05	5.30±0.06	5.37±0.09	43.11±0.69
3	4.84±0.04	5.05±0.05	5.17±0.10	41.55±0.82
4	4.65±0.03	4.88±0.04	4.90±0.07	39.34±0.58
5	4.55±0.03	4.70±0.03	4.85±0.08	38.95±0.65
6	4.48±0.02	4.58±0.02	4.63±0.03	37.20±0.27
7	4.44±0.02	4.48±0.03	4.60±0.05	36.95±0.41
8	4.38±0.02	4.41±0.03	4.42±0.07	35.53±0.54
9	4.33±0.02	4.34±0.03	4.36±0.04	35.02±0.34
10	4.28±0.02	4.28±0.03	4.35±0.05	34.90±0.42
11	4.23±0.02	4.24±0.03	4.17±0.04	33.53±0.31
12	4.19±0.02	4.16±0.03	4.20±0.06	33.76±0.48
13	4.12±0.02	4.07±0.03	4.05±0.06	32.50±0.47
14	4.07±0.02	3.99±0.03	4.00±0.05	32.12±0.40
15	4.03±0.02	3.94±0.02	3.84±0.05	30.85±0.39
16	3.96±0.02	3.87±0.02	3.84±0.05	30.80±0.43
17	3.90±0.02	3.82±0.02	3.81±0.05	30.62±0.38
18	3.84±0.03	3.75±0.03	3.68±0.05	29.54±0.39
19	3.78±0.02	3.67±0.03	3.62±0.03	29.06±0.26
20	3.71±0.02	3.61±0.02	3.55±0.04	28.50±0.34
21	3.60±0.03	3.50±0.04	3.51±0.06	28.17±0.49
22	3.48±0.04	3.38±0.04	3.33±0.06	26.76±0.52
23	3.39±0.05	3.24±0.05	3.21±0.05	25.79±0.43
24	3.10±0.09	2.88±0.08	2.76±0.09	22.17±0.72

这一差异的原因可能是原 Y 染色体的片段缺失, 但也不能排除原 X₁ 染色体的片段插入或局部扩增的可能性。

已报道基因组大小的石首鱼约 16 种 (表 2), C-值的平均值约为 (0.77±0.11) pg。本实验测得雌性棘头梅童鱼 C-值约为 (0.820±0.002) pg; 雄性棘头梅童组的 C-值约为 (0.804±0.002) pg, 均大于其近缘种大黄鱼 (*Larimichthys crocea*) 的 C-值 (0.74 pg)。棘头梅童鱼与大黄鱼的参考基因组均已组装并注释^[9, 13]。棘头梅童鱼基因组共注释到蛋白编码基因 28 602 个, 重复序列 304.4 Mb; 大黄鱼

基因组注释到蛋白编码基因 23 172 个, 重复序列 189.3 Mb。棘头梅童鱼蛋白编码基因数和重复序列含量均多于大黄鱼。可见, 与大黄鱼分化后, 棘头梅童鱼基因组 (特别是重复序列) 发生了扩增。现有的石首鱼系统发生研究结果普遍支持: 叫姑鱼亚科 (Johniinae) 是石首鱼科中最原始的类群, 然后是白姑鱼亚科 (Argyrosominae), 而黄鱼亚科 (Pseudosciaeninae) 是较晚出现的类群^[2, 14-15]。目前已有的石首鱼基因组大小数据初步显示, C-值与其亲缘关系存在一定相关性, 后生的大黄鱼和棘头梅童鱼的 C-值大于较早出现

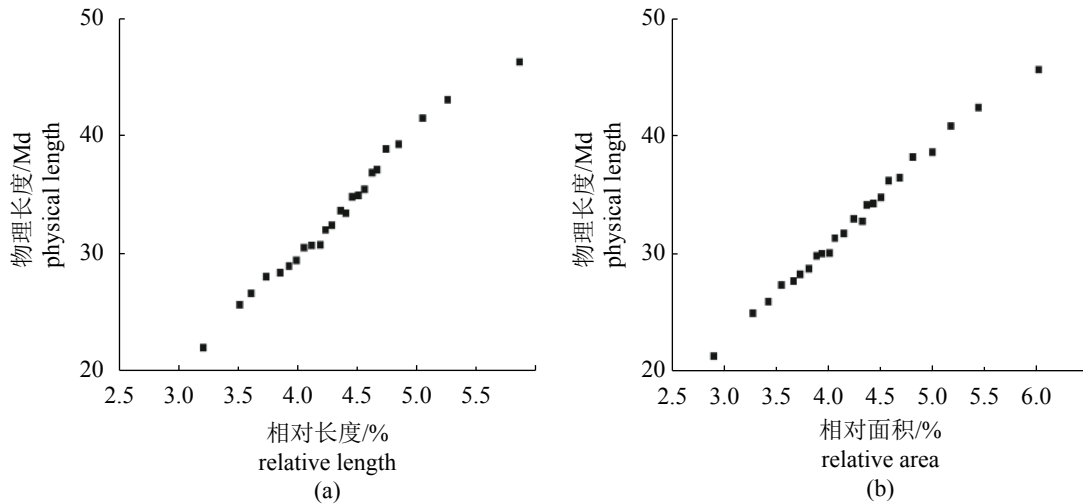


图 1 棘头梅童鱼染色体的相对长度—估测物理长度 (a) 与相对面积—估测物理长度 (b) 的散点图
 Fig. 1 Correlation scatter diagrams of the estimation physical length and the relative length (a), the relative area (b) of chromosomes of *C. lucidus*

的黄姑鱼 (*Nibea albiflora*)、箕作氏黄姑鱼 (*N. mitsukurii*)、腋斑白姑鱼 (*Argyrosomus hololepidotus*)

表 2 石首鱼科基因组大小的研究概况

Tab. 2 Summary of C-value of the Sciaenids

种类 species	C-值/pg C-value	参考文献 references
黄姑鱼 <i>N. albiflora</i>	0.61	[16]
弗氏绒须石首鱼 <i>Micropogonias furnieri</i>	0.62	[17]
箕作氏黄姑鱼 <i>N. mitsukurii</i>	0.67	[18]
腋斑白姑鱼 <i>A. hololepidotus</i>	0.67	[19]
非洲锤形石首鱼 <i>Atractoscion aequidens</i>	0.68	[19]
海湾无鳔石首鱼 <i>Menticirrhus littoralis</i>	0.68	[20]
团头叫姑鱼 <i>Johnius amblycephalus</i>	0.73	[19]
大黄鱼 <i>L. crocea</i>	0.74	[10]
	0.76	[17]
银色贝氏石首鱼 <i>Bairdiella chrysoura</i>	0.76	[21]
黑唇孔石首鱼 <i>Cheilotrema saturnum</i>	0.78	[21]
美洲无鳔石首鱼 <i>M. americanus</i>	0.79	[22]
波纹无鳔石首鱼 <i>M. undulatus</i>	0.80	[21]
美洲无鳔石首鱼 <i>M. americanus</i>	0.80	[21]
棘头梅童鱼雄性 <i>C. lucidus</i> male	0.80	本研究
棘头梅童鱼雌性 <i>C. lucidus</i> female	0.82	本研究
波纹无鳔石首鱼 <i>M. undulatus</i>	0.93	[20]
佛罗里达多须石首鱼 <i>Pogonias cromis</i>	0.98	[21]

等鱼类 (表 2), 但要总结石首鱼科 C-值的变化规律, 尚需要更多的数据。

本研究利用 PI 染色和显微图像分析测算了棘头梅童鱼染色体的物理长度 (表 1)。PI 是一种用于 DNA 定量分析的荧光染料, 其可穿过破损的细胞膜并嵌入双链 DNA 中, 对 DNA 的染色几乎没有区域选择性^[23]。PI 显微荧光法也用于估测黄姑鱼、大黄鱼和牙鲆 (*Paralichthys olivaceus*) 等鱼类的染色体的物理长度^[10, 16, 24]。通过比较本实验中所估测的棘头梅童鱼染色体的物理长度与基于 Pacbio 测序和 Hi-C 互作数据组装的染色体大小^[9], 结果发现 2 组估测值基本相符 (图 2)。这一结果证明, 利用 PI 结合图像分析测定的染色体物理长度, 可以为基因组组装提供参考标准, 特别是杂合度高、重复序列含量高的复杂基因组。目前棘头梅童鱼的参考基因组已经组装^[9], 但 Y 染色体的组装仍然很困难, 本研究所估测的棘头梅童鱼 Y 染色体的物理长度将有助于 Y 染色体的后续组装。

核型分析是分析生物染色体组结构特征的基本方法。人 (*Homo sapiens*) 和植物的核型分析均有特定的标准^[25], 但鱼类核型分析尚无标准。鱼类的染色体排列和编号通常采用 2 种方法, 一种是染色体大小降序排列、编号; 另一种方法是先按 Levan 等^[12]的分类标准将染色体分为 m、sm、st 和 t 这 4 类, 每一类再按染色体全长降序排列。因此, 在染色体的识别和排列, 全长和

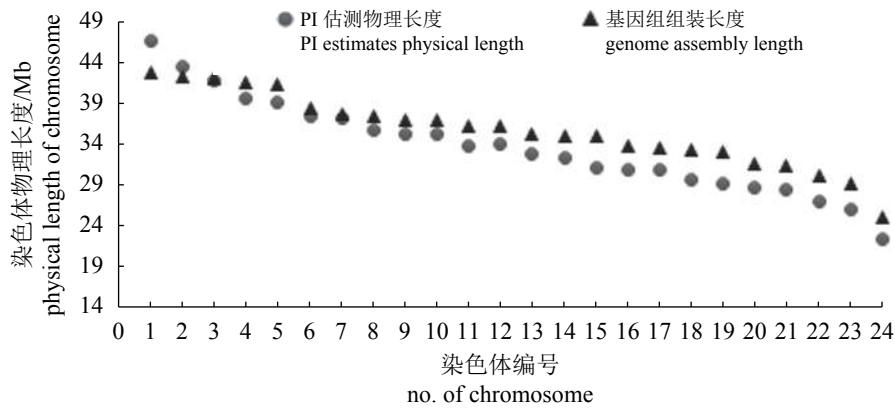


图 2 PI 法和基因组组装法估测的棘头梅童鱼染色体物理长度比较

Fig. 2 Comparison of the estimated physical lengths with PI-staining and with genome assembly

着丝粒的位置是最重要的 2 个参数。而海水鱼类染色体多为 $2n=48t^{[5]}$, 且染色体长度常常连续分布 (表 1), 识别、配对比较困难。因此, 利用染色体面积、总荧光强度和 3D 荧光强度图来辅助识别染色体^[10, 16]。本研究应用上述方法辅助棘头梅童鱼核型分析, 提高了棘头梅童鱼染色体识别与配对的效率和准确性 (图 1)。近年来, 鱼类基因组学研究发展迅速, 基因组已组装、注释的鱼类已超过 300 种^[26]。相比之下, 染色体水平的研究发展较缓慢。因此, 要支持鱼类基因组学的发展, 实现染色体与基因组研究成果的链接与互通, 亟需制定鱼类专用的核型分析标准, 并加速发展先进的染色体分析技术。

综上, 本研究首次估测了棘头梅童鱼基因组的大小, 并测定棘头梅童鱼染色体的相对长度、相对面积和相对 IOD, 以及物理长度。这些结果为棘头梅童鱼染色体识别与配对提供新的数量标记, 为研究棘头梅童鱼性染色体进化机制及 Y 染色体的组装提供参考依据。

参考文献 (References):

- [1] 吴常文, 王伟宏. 浙江近海棘头梅童鱼的分布生物学与资源变动[J]. 海洋渔业, 1991, 13(1): 6-10.
Wu C W, Wang W H. The distribution, biology and fluctuation of stock of *Collichthys lueidus* in the offshore waters of Zhejiang[J]. Marine Fisheries, 1991, 13(1): 6-10(in Chinese).
- [2] 朱元鼎, 罗云林, 伍汉霖. 中国石首鱼类分类系统的研究和新属新种的叙述 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1963: 66-67.
Zhu Y D, Luo Y L, Wu H L. Study of the classification

of the Sciaenidae fishes of China description of new genera and species[M]. Shanghai: Shanghai Scientific & Technical Publishers, 1936: 66-67(in Chinese).

- [3] 宋炜, 孟永永, 蒋科技, 等. 棘头梅童鱼七个野生群体遗传多样性的微卫星分析[J]. 水产学报, 2017, 41(1): 31-39.
Song W, Meng Y Y, Jiang K J, et al. Analysis of genetic diversity among seven wild *Collichthys lucidus* populations by using microsatellite marker[J]. Journal of Fisheries of China, 2017, 41(1): 31-39(in Chinese).
- [4] Zhang S K, Zheng J, Zhang J, et al. Cytogenetic characterization and description of an $X_1X_1X_2X_2/X_1X_2Y$ sex chromosome system in *Collichthys lucidus* (Richardson, 1844)[J]. *Acta Oceanologica Sinica*, 2018, 37(4): 34-39.
- [5] Arai R. Fish karyotypes[M]. Tokyo, Japan: Springer Science & Business Media, 2011.
- [6] 邹禹, 郑娇, 张静, 等. 鳊染色体的识别及核型特征分析[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2018, 57(2): 208-213.
Zou Y, Zheng J, Zhang J, et al. Chromosome identification and karyotype characterization of *Miichthys miuiy*[J]. Journal of Xiamen University (Natural Science Edition), 2018, 57(2): 208-213(in Chinese).
- [7] Nguyen P, Sýkorová M, Šichová J, et al. Neo-sex chromosomes and adaptive potential in tortricid pests[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(17): 6931-6936.
- [8] Kitano J, Ross J A, Mori S, et al. A role for a neo-sex chromosome in stickleback speciation[J]. *Nature*, 2009, 461(7267): 1079-1083.

- [9] Cai M Y, Zou Y, Xiao S J, *et al.* Chromosome assembly of *Collichthys lucidus*, a fish of Sciaenidae with a multiple sex chromosome system[J]. *Scientific Data*, 2019, 6(1): 132.
- [10] 陈紫莹, 王志勇, 刘贤德, 等. 大黄鱼中期染色体面积和物理长度的测定[J]. *水产学报*, 2014, 38(5): 632-637. Chen Z Y, Wang Z Y, Liu X D, *et al.* Area and physical length of metaphase chromosomes in large yellow croaker (*Larimichthys crocea*)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2014, 38(5): 632-637(in Chinese).
- [11] 王德祥, 王军, 郭丰, 等. 鳊状黄姑鱼染色体核型的研究[J]. *海洋科学*, 2002, 26(11): 68-70. Wang D X, Wang J, Guo F, *et al.* Study on the karyotype in *Nibea miichtheoides*[J]. *Marine Sciences*, 2002, 26(11): 68-70(in Chinese).
- [12] Levan A, Fredga K, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes[J]. *Hereditas*, 1964, 52(2): 201-220.
- [13] Chen B H, Zhou Z X, Ke Q Z, *et al.* The sequencing and *de novo* assembly of the *Larimichthys crocea* genome using PacBio and Hi-C technologies[J]. *Scientific Data*, 2019, 6(1): 188.
- [14] 蒙子宁, 庄志猛, 丁少雄, 等. 中国近海8种石首鱼类的线粒体16S *rRNA*基因序列变异及其分子系统进化[J]. *自然科学进展*, 2004, 14(5): 514-521. Meng Z N, Zhuang Z M, Ding S X, *et al.* Sequence variation and molecular phylogeny of mitochondrial 16S *rRNA* gene in 8 species of Sciaenidae along the coast of China[J]. *Progress in Natural Science*, 2004, 14(5): 514-521(in Chinese).
- [15] Li W W, Huang H, Lin X H, *et al.* Molecular phylogeny of the Sciaenidae based on the complete mitochondrial sequences[J]. *Mitochondrial DNA Part B*, 2018, 3(2): 1180-1182.
- [16] 曹款, 郑娇, 王志勇, 等. 黄姑鱼基因组大小和染色体物理长度的测定[J]. *南方水产科学*, 2015, 11(4): 65-70. Cao K, Zheng J, Wang Z Y, *et al.* Genome size and physical length of chromosomes in *Nibea albiflora*[J]. *South China Fisheries Science*, 2015, 11(4): 65-70(in Chinese).
- [17] 高静, 黄晓红, 曾华嵩, 等. 中国6种经济鱼类的基因组大小测定[J]. *中国水产科学*, 2010, 17(4): 689-694. Gao J, Huang X H, Zeng H S, *et al.* Genome size for six commercially important fishes in China[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2010, 17(4): 689-694(in Chinese).
- [18] Ojima Y, Yamamoto K. Cellular DNA contents of fishes determined by flow cytometry[J]. *La Kromosomo II*, 1990, 57: 1871-1888.
- [19] Hardie D C, Hebert P D N. Genome-size evolution in fishes[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 2004, 61(9): 1636-1646.
- [20] Jimenez A G, Kinsey S T. Nuclear DNA content variation associated with muscle fiber hypertrophic growth in fishes[J]. *Journal of Comparative Physiology-B: Biochemical, Systemic & Environmental Physiology*, 2011, 182(4): 531-540.
- [21] Hinegardner R, Rosen D E. Cellular DNA content and the evolution of teleostean fishes[J]. *The American Naturalist*, 1972, 106(951): 621-644.
- [22] Gomes V, de M. Vazzoler A E A, Van Ngan P Estudos cariотіpicos de peixes da família Sciaenidae (Teleostei, Perciformes) da região de Cananéia, SP, Brasil. 1. Sobre o cariотіpo de *Micropogonias furnieri* (Desmarest, 1823)[J]. *Boletim do Instituto Oceanográfico*, 1983, 32(2): 137-142.
- [23] 冯金林, 王津, 韩榕. 活体染色显微技术和绿色荧光蛋白在本科实验教学中的应用[J]. *中国细胞生物学学报*, 2017, 39(7): 926-930. Feng J L, Wang J, Han R. The application of intravital staining microtechnic and green fluorescent protein in the experimental course for undergraduates[J]. *Chinese Journal of Cell Biology*, 2017, 39(7): 926-930(in Chinese).
- [24] Fujiwara A, Fujiwara M, Nishida-Umehara C, *et al.* Characterization of Japanese flounder karyotype by chromosome bandings and fluorescence *in situ* hybridization with DNA markers[J]. *Genetica*, 2007, 131(3): 267-274.
- [25] 李懋学, 陈瑞阳. 关于植物核型分析的标准化问题[J]. *武汉植物学研究*, 1985, 3(4): 297-302. Li M X, Chen R Y. A suggestion on the standardization of karyotype analysis in plants[J]. *Journal of Wuhan Botanical Research*, 1985, 3(4): 297-302(in Chinese).
- [26] Yue G H, Wang L. Current status of genome sequencing and its applications in aquaculture[J]. *Aquaculture*, 2017, 468: 337-347.

Physical length of metaphase chromosomes in *Collichthys lucidus*

LUO Hanjiao, LIU Fujiang, CHEN Junnan, LIU Xiande, LIU Yansu, CAI Mingyi*

(Key Laboratory of Healthy Mariculture for the East China Sea, Ministry of Agriculture and Rural Affairs,
Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China)

Abstract: In order to support the development of genomics and cytogenetics of *Collichthys lucidus*, in the present study, the genome size of *C. lucidus* was determined by using flow cytometry, and the relative length, the relative area and the integrated optical density (IOD) of 24 pairs of chromosomes were determined using PI staining and microscopic image analysis software, and the physical length of chromosomes was estimated based on the values of IOD. The results showed that male and female's genome sizes were respectively estimated at (786.52±1.95) Mb and (802.91±2.19) Mb. Female genome was significantly larger than male genome (by about 16.39 Mb). The genome of female comprised 24 pairs of telocentric chromosomes, the karyotype formula is $2n=48=48t$, $NF=48$, with the physical length ranging from (22.17±0.72) Mb to (46.30±1.06) Mb. The genome of male comprised 46 telocentric chromosomes and one metacentric chromosome, the karyotype formula is $2n=47=46t+1m$, $NF=48$. The male specific metacentric chromosome was Y chromosome, with an estimated physical length of (62.95±2.89) Mb. Physical lengths of chromosomes are correlated linearly with the relative area and the relative lengths. In conclusion, new parameters of chromosomes present in this paper will facilitate to chromosome identification and pairing of *C. lucidus*, which will serve as reference data for the assembly of the Y chromosome and the evolution of chromosome in Sciaenidae.

Key words: *Collichthys lucidus*; genome size; physical length of chromosomes; image analysis

Corresponding author: CAI Mingyi. E-mail: myicai@jmu.edu.cn

Funding projects: National Natural Science Foundation of China (31872553, 41706157); National and Provincial College Students' Innovation and Entrepreneurship Training Program of Jimei University (201910390046)