

文章编号: 1005-4650(2008)02-0048-03

奥尼罗非鱼与星洲银罗非鱼染色体组型的比较研究

刘 皓¹,董秋芬¹,黄吉佳¹,林晓坤²,刘楚吾¹

(1. 广东海洋大学水产学院, 广东湛江 524025; 2 吴川市水产技术推广站, 广东湛江 524500)

摘要:以奥尼罗非鱼 (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)和星洲银罗非鱼 (*Oreochromis sp.*)为材料,胸腔注射 PHA 及秋水仙素溶液,取头肾细胞经空气干燥法制片。经核型分析,奥尼罗非鱼核型公式为 $2n=44, 6sm+28st+10t, NF=50$ 星洲银罗非鱼核型公式为 $2n=44, 10sm+20st+14t, NF=54$ 。这两种鱼都具有 1 对特大的染色体,染色体对的相对长度范围也相似,但未发现中部着丝粒染色体对和异型染色体,它们的核型与已报道的亲代相似。

关键词:奥尼罗非鱼;星洲银罗非鱼;植物血细胞凝集素;核型
中图分类号: S965.125; Q243.2⁺2 **文献标识码:** A

A Comparative Study of Karyotypes of *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* and *Oreochromis sp.*

LIU Hao, DONG Qi-fen, HUANG Ji-jia, LIN Xiao-kun, LIU Chu-wu

(Fisheries college, Guangdong Ocean University, Zhanjiang Guang dong 524025, China
Fisheries Technology Extension Station of Wuchuan, Zhanjiang Guang dong 524500, China)

Abstract The karyotypes of of *Oreochromis niloticus*, *O. aureus* and *Oreochromis sp.* were examined in renal tissues by using PHA - injection air drying method. After karyotype analysis the karyotype formula $2n=44, 6sm+28st+10t, NF=50$ was for *Oreochromis niloticus*, *O. aureus* and the $2n=44, 10sm+20st+14t, NF=54$ one was for *Oreochromis sp.*. The two fishes both had a large and long chromosome pairs and similar relative length of chromosome pairs, their karyotype formulae were similar to those of their parental generation which had been reported, but nonmetacentric chromosome pairs and heteromorphic chromosomes were not found in the two fishes.

Key words *Oreochromis niloticus*, *O. aureus*, *Oreochromis sp.*; HHA; karyotype

罗非鱼属于鲈形目 (Perciformes) 鲷鱼科 (Cichlidae), 原产非洲, 又名非洲鲫鱼。罗非鱼可分为 *Tilapia* 属, *Sarotherodon* 属和 *Oreochromis* 属^[1], 其中 *Oreochromis* 属的尼罗罗非鱼 (*O. niloticus*)、奥利亚罗非鱼 (*O. aureus*) 以及莫桑比克罗非鱼 (*O. mossambicus*) 有较大的生产应用价值^[2]。星洲银罗非鱼 (*Oreochromis niloticus* × *O. mossambicus*) 是由红色莫桑比克罗非鱼突变型与尼罗罗非鱼野生型种间杂交分离出来的^[3], 因其耐盐性强、生长速度快、味道鲜美、腥味较少, 已被广泛养殖。奥尼罗非鱼 (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*) 由尼罗罗非鱼 (♀) 与奥利亚罗非鱼 (♂) 杂交而产生, 俗称全雄罗非鱼^[4], 具有个体大、生长快、起捕率高和产量高等特点, 已经成为一个优质的养殖品种。

目前制约罗非鱼养殖业发展的突出问题是种质混杂和退化, 原因主要有基因丢失、近交衰退、遗传渐渗等^[5], 必须加紧对罗非鱼生物化学、细胞遗传学和分子遗传标记等方面的研究, 找出解决种质混杂及退化问题的途径。至今对罗非鱼染色体分析的报道主要对象为尼罗罗非鱼、莫桑比克罗非鱼^[6]和奥利亚罗非鱼^[7-12]。本实验分析, 比较了奥尼罗非鱼与星洲银罗非鱼的染色体核型, 并结合现有的

报道将它们与亲本的染色体核型进行比较, 以期为区分罗非鱼杂种与纯种、确认其来源提供依据, 为探究罗非鱼种质混杂及退化提供帮助, 并对罗非鱼的养殖推广提供一定的参考。

1 材料与方 法

1.1 材 料

实验所用的奥尼罗非鱼和星洲银罗非鱼各 10 尾, 体重各 100~250 g 为雄性, 均采自广东吴川市水产渔业局。

1.2 方 法

(1) 前处理。采用林义浩^[13]植物血细胞凝集素 (PHA) 体内注射法, 向实验鱼胸腔内注射 HHA, 剂量为 10 μg/g, 经 24 h 后注射秋水仙素, 剂量为 4 μg/g, 4~5 h 后断尾及鳃部动脉, 然后在水中放血 20~30 min。

(2) 制备肾细胞悬液。取鱼头肾于 0.75% 的生理盐水中清洗 2~3 遍, 除去血块及其它组织, 然后置于盛有少量生理盐水的培养皿中, 用小剪刀充分剪碎, 再移入刻度离心管

收稿日期: 2007-12-27

基金项目: 湛江市农业重大科技项目 (200415)。

作者简介: 刘 皓 (1981-), 男, 湖南湘乡人, 主要从事水产养殖研究

通讯作者: 刘楚吾 (1952-), 主要从事发育生物学研究。E-mail: swyis@zjyou.edu.cn

中,加入适量生理盐水,用吸管吹打数分钟,静置片刻,制成细胞悬液。

(3)低渗处理。取细胞悬液以 1 000 r/min离心 7 min 收集细胞,打匀后加入预热的 0.075 mol/L 的 KCl 溶液,37℃低渗 40 min。

(4)固定。低渗后的细胞,吸打均匀后加固定液(甲醇 3:冰醋酸 1)固定 30 min,以 1 000 r/min离心 10 min 重复固定 2 次。

(5)滴片。将细胞悬液滴于预冷载玻片上,每片 1~2 滴,自然干燥。

(6)染色。待片干后,用 10% Giemsa 液 (pH = 6.8 磷酸缓冲液配制)染色 60 min,用水充分冲洗,自然干燥后封片。

(7)染色体计数。选取来自不同个体的 100 个分散良好的细胞,用 Olympus 显微镜进行观察统计,确定染色体 2n 数目。

(8)组型分析。选取 10 个左右数目完整、分散良好、长度适中(正中期)、着丝点清楚、2 条单体适度分开、形态清晰的分裂相进行显微摄影,在相片上对每一条染色体的着丝点位置进行确认,分别测量长臂和短臂。计算其相对长度和臂比值,并按 Levan^[14]提出的标准进行配对、分类、排列组型。

2 结果与分析

2.1 奥尼罗非鱼和星洲银罗非鱼体细胞染色体数

在显微镜下对奥尼罗非鱼和星洲银罗非鱼的各 100 个清晰且分散良好的细胞的中期分裂相进行计数,两种罗非鱼的众数染色体都为 2n = 44(见表 1)。

表 1 奥尼罗非鱼和星洲银罗非鱼染色体数目

| 罗非鱼种类 | 染色体数 (2n) | 观察细胞数 / (个) | 2n = 48 细胞数出现频率 % |
|--------|-----------|-------------|-------------------|
| 奥尼罗非鱼 | 44 | 100 | 80 |
| 星洲银罗非鱼 | 44 | 100 | 86 |

2.2 奥尼罗非鱼和星洲银罗非鱼染色体核型

通过对奥尼罗非鱼和星洲银罗非鱼细胞染色体进行测量及分析,根据 Levan^[14]分类标准可以得到以下结果:奥尼罗非鱼核型公式为 2n = 44, 6sm + 28st + 10t, NF = 50, 染色体对的相对长度范围为 2.75-12.63% (表 2 和图 1, A, B); 星洲银罗非鱼核型公式为 2n = 44, 10sm + 20st + 14t, NF = 54, 染色体对的相对长度范围为 2.31-12.30% (表 3 和图 1, C, D)。

表 2 奥尼罗非鱼染色体核型参数

| 编号 | 相对长度 % | 臂比 | 类型 |
|----|-------------|-------------|----|
| 1 | 4.01 ± 0.23 | 2.73 ± 0.53 | sm |
| 2 | 3.76 ± 0.21 | 2.93 ± 0.43 | sm |
| 3 | 3.67 ± 0.26 | 1.95 ± 0.36 | sm |
| 4 | 7.19 ± 0.24 | 4.40 ± 0.51 | st |
| 5 | 4.68 ± 0.25 | 5.23 ± 0.26 | st |
| 6 | 4.34 ± 0.22 | 5.05 ± 0.15 | st |
| 7 | 4.27 ± 0.19 | 3.55 ± 0.52 | st |
| 8 | 4.18 ± 0.17 | 3.54 ± 0.23 | st |
| 9 | 4.11 ± 0.42 | 4.60 ± 0.38 | st |
| 10 | 4.10 ± 0.18 | 4.00 ± 0.34 | st |
| 11 | 4.06 ± 0.45 | 5.26 ± 0.18 | st |

| | | | |
|----|--------------|-------------|----|
| 12 | 4.03 ± 0.12 | 5.56 ± 0.15 | st |
| 13 | 3.96 ± 0.11 | 4.16 ± 0.12 | st |
| 14 | 3.86 ± 0.34 | 3.71 ± 0.30 | st |
| 15 | 3.82 ± 0.37 | 3.98 ± 0.27 | st |
| 16 | 3.60 ± 0.29 | 3.69 ± 0.24 | st |
| 17 | 2.75 ± 0.31 | 4.55 ± 0.46 | st |
| 18 | 12.63 ± 0.43 | 7.04 ± 0.39 | t |
| 19 | 5.33 ± 0.49 | 7.91 ± 0.27 | t |
| 20 | 4.98 ± 0.27 | 7.11 ± 0.37 | t |
| 21 | 3.33 ± 0.18 | 7.48 ± 0.16 | t |
| 22 | 3.31 ± 0.15 | ∞ | t |

表 3 红罗非鱼染色体核型参数

| 编号 | 相对长度 (%) | 臂比 | 类型 |
|----|--------------|--------------|----|
| 1 | 5.43 ± 0.12 | 2.29 ± 0.09 | sm |
| 2 | 4.67 ± 0.27 | 2.77 ± 0.16 | sm |
| 3 | 4.52 ± 0.16 | 2.71 ± 0.24 | sm |
| 4 | 4.25 ± 0.19 | 2.68 ± 0.29 | sm |
| 5 | 3.84 ± 0.40 | 2.65 ± 0.14 | sm |
| 6 | 6.23 ± 0.33 | 3.03 ± 0.37 | st |
| 7 | 4.79 ± 0.29 | 4.66 ± 0.18 | st |
| 8 | 4.48 ± 0.18 | 4.17 ± 0.03 | st |
| 9 | 4.44 ± 0.35 | 6.96 ± 0.24 | st |
| 10 | 4.42 ± 0.08 | 5.11 ± 0.12 | st |
| 11 | 4.09 ± 0.13 | 3.04 ± 0.07 | st |
| 12 | 4.05 ± 0.20 | 4.94 ± 0.17 | st |
| 13 | 3.72 ± 0.36 | 3.50 ± 0.23 | st |
| 14 | 3.61 ± 0.24 | 3.61 ± 0.26 | st |
| 15 | 3.34 ± 0.18 | 3.76 ± 0.14 | st |
| 16 | 12.30 ± 0.08 | 7.64 ± 0.02 | t |
| 17 | 4.62 ± 0.11 | 7.30 ± 0.28 | t |
| 18 | 4.46 ± 0.04 | 11.00 ± 0.34 | t |
| 19 | 4.15 ± 0.17 | 7.38 ± 0.16 | t |
| 20 | 3.34 ± 0.16 | ∞ | t |
| 21 | 2.91 ± 0.26 | ∞ | t |
| 22 | 2.31 ± 0.31 | ∞ | t |

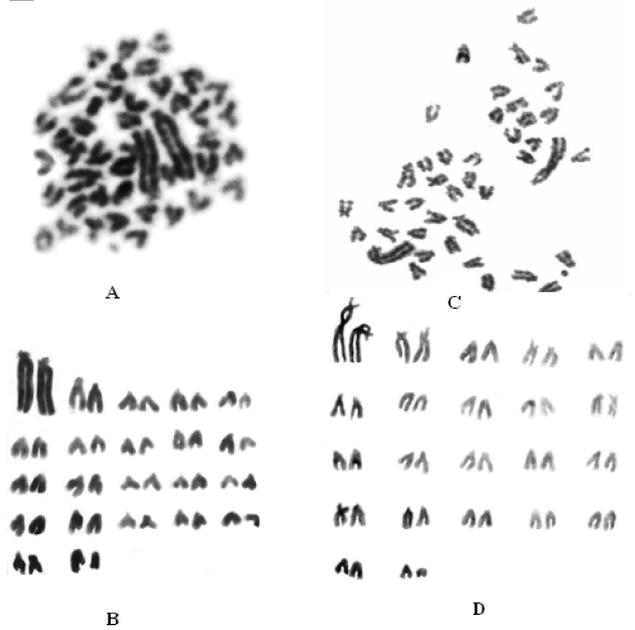


图 1 奥尼罗非鱼和星洲银罗非鱼有丝分裂中期染色体及核型

Fig 1 The spread of the metaphase chromosome and the karyo-

types of *Oreochromis niloticus* × *O. aureus* and *Oreochromis* sp
(*Oreochromis niloticus* × *O. mossambicus*)

A, B 奥尼罗非鱼有丝分裂中期染色体;

C, D 星洲银罗非鱼有丝分裂中期染色体。

A, B The spread of the metaphase chromosomes and the karyotype of *Oreochromis niloticus* × *O. aureus*

C, D The spread of the metaphase chromosomes and the karyotype of *Oreochromis* sp (*Oreochromis niloticus* × *O. mossambicus*)

3 讨 论

实验所得的奥尼罗非鱼和星洲银罗非鱼的染色体的数目相同、染色体形态、核型和染色体对的相对长度范围相似, 它们都有 1 对特大的染色体, 没有中部着丝粒染色体对和异型染色体。但是星洲银罗非鱼的亚中部着丝粒染色体对、端部着丝粒染色体对和臂数数值都比奥尼罗非鱼的大, 而后的亚端部着丝粒染色体对要比前者多 4 对, 这些不同之处与各自的亲本的核型有很大的关系, 奥尼罗非鱼是由尼罗罗非鱼(♀)与奥利亚罗非鱼(♂)杂交产生的后代, 而星洲银罗非鱼由莫桑比克罗非鱼与尼罗罗非鱼杂交分离产生的。陈敏容等^[6]通过对尼罗罗非鱼、莫桑比克罗非鱼和加俐略罗非鱼(*T. galilea*)三种罗非鱼进行核型分析发现它们的染色体组型形态基本相似, 都有 1 对特大的染色体, 二倍体染色体数目为 44 核型公式均为 $8sm + 34st + 2t$ $NF = 52$ 染色体对的相对长度范围大致为 3.14% ~ 13.15%。有关对奥利亚罗非鱼染色体研究结果的报道不尽相同, 夏德全^[8]、董元凯^[9]、刘雅娟^[10]报道奥利亚罗非鱼的核型与陈敏容等所报道的三种罗非鱼的核型一样, 都为 $8sm + 34st + 2t$ $NF = 52$ 而尹洪滨等^[7]、曹丽萍等^[11]报道奥利亚罗非鱼的核型则为 $6sm + 24st + 14t$ $NF = 50$ 染色体对的相对长度范围为 3.19~ 5.85%, 不同研究者在核型上的差异主要是由于染色体制备方法、分裂相的清晰程度、测量与配对误差而产生的。以上学者都认为奥利亚罗非鱼二倍体染色体数目都为 44, 并有 1 对特大的染色体和没有发现异染色体。根据已经报道的结果, 本实验所得的奥尼罗非鱼和星洲银罗非鱼的染色体跟亲代的染色体相比, 二倍体染色体数目相同(都为 44)、染色体基本形态相似(具有 1 对特大的染色体, 不具有中部着丝粒染色体对和异型染色体), 但在染色体分组、核型公式和染色体对的相对长度范围与亲代有所差别。上述的相似点和差异表明了奥尼罗非鱼和星洲银罗非鱼这两种杂交罗非鱼在染色体上既保持着亲代双方或者单一方的特点又出现了新的

特点, 但这些与亲代的差别都是很小的, 也就是说这两种罗非鱼的染色体在分化上还是保守的。

在池塘或网箱混养的情况下, 罗非鱼的种间杂交完全可能, 它们产生的杂交种具有繁殖力, 性状居于中间型^[15]。奥尼罗非鱼、星洲银罗非鱼与已经进行过染色体研究报道的 4 种罗非鱼可以从形态性状上加以区别, 但是从核型相似性可以得出, 要准确区分这些罗非鱼种的纯度与质量以及它们的种间杂交后代是困难的, 且不同学者的不同研究对染色体核型分析的结果不尽相同, 因此, 要准确区分和鉴定染色体数目相同、核型和形态相似的物种及其染色体的进化情况, 必须采用更为细致的生化分析和分子生物学等方法。

参考文献

- [1] TREWAVASE. Tilapiae fishers of the genera *Sarotherodon*, *Oreochromis* and *Danakilia* [M]. London: Brit Mus (Nat Hist), 1983: 583
- [2] 李思发. 中国淡水鱼类种质资源和保护 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 75.
- [3] LIAO IC, CHEN S L. Status and prospects of tilapia culture in Taiwan [C]. International Symposium on Tilapia in Aquaculture Tel Aviv university, Tel Aviv, Israel 1983, 588- 599
- [4] 陈永乐, 朱新平, 刘毅辉, 等. 奥利亚和尼罗罗非鱼的杂交应用及亲本选育 [J]. 珠江水产, 1999(2): 1- 8
- [5] 卢迈新, 黄樟翰. 罗非鱼遗传育种研究 [J]. 上海水产大学学报, 2005 2(14): 186- 191.
- [6] 陈敏容, 陈宏溪. 三种罗非鱼染色体组型的比较研究 [J]. 遗传学报, 1983 10(1): 56- 62
- [7] 尹洪滨, 范兆廷, 潘峰, 等. 核型 - 尼罗罗非鱼和奥利亚罗非鱼 [A]. 中国淡水主要养殖鱼类种质研究 [M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1998: 107- 110
- [8] 夏得全. 奥利亚罗非鱼 [A]. 主要淡水养殖鱼类种质研究 [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1991: 31- 34
- [9] 董元凯. 尼罗罗非鱼和草鱼的染色体组型与细胞核 DNA 含量的研究 [A]. 主要淡水养殖鱼类种质研究 [M]. 北京: 中国科学技术出版社, 1991: 163- 172
- [10] 刘雅娟. 六种鱼的精母细胞联合复合体电镜观察 [J]. 遗传学报, 1991, 18(5): 407- 414
- [11] 曹丽萍, 丁炜东, 贾永义, 等. 奥利亚罗非鱼♀ × 鳊♂杂交后代及其双亲的染色体核型分析 [J]. 农业生物技术学报, 2006 14(2): 187- 190
- [12] 邹曙明, 李思发. 罗非鱼染色体组操作研究现状与展望 [J]. 上海水产大学学报, 2005, 4(14): 437- 442
- [13] 林义浩. 快速获得大量鱼肾细胞中期分裂相的 HIA 体内注射法 [J]. 水产学报, 1982 6(3): 201- 204
- [14] LEVAN A. Non-enclature for centromeric position on chromosomes [J]. Hereditas 1964 52(2): 201- 220
- [15] YASHOV A, CHERVINSKY J. Hybrids of *Tilapia nilotica* × *T. galilea* [J]. Nature 1959 184: 1739.