

梅花鹿染色体 G-带及模式图*

阳 春, 蔡志华, 赵婉婷
(重庆师范大学 生命科学院, 重庆 400047)

摘 要 :采用胰酶 G-带技术,对梅花鹿的 G-带进行了研究,参照 ISCNDA(1989)的国际家畜细胞遗传学命名体制,绘制了梅花鹿的 G-带模式图。结果表明:梅花鹿单倍染色体组所显示的染色体数目为 248 条,包括 X 和 Y 染色体。

关键词 :梅花鹿;G-带;染色体

中图分类号:Q343.2

文献标识码:A

文章编号:1672-6693(2005)02-0057-04

Chromosome G-Banding Pattern of Cervus Nippon Temminck

YANG Chun, CAI Zhi-hua, ZHAO Wan-ting

(College of biology, Chongqing Normal University, Chongqing 400047, China)

Abstract :This paper uses the GTG technique to investigate the banded chromosomes of Cervus Nippon Temminck. In line with the international system for cytogenetic nomenclature of domestic animals(ISCNDA 1989),the idiogram of G-banded karyotype of Cervus Nippon Temminck are suggested. 248 bands of the chromosomes are detected per haploid set,including the X and Y ones.

Key words :Cervus Nippon Temminck;G-banding;chromosome

梅花鹿(Cervus Nippon Temminck)在我国农牧业中占有十分重要的地位。它十分珍贵、稀有,是经济价值极高的特种经济动物。梅花鹿对自然环境有较强的适应性,无论北鹿南养,还是南鹿北养,都有较好的适应性和可塑性,形成了具有许多可适应不同地区的优良品种及类型。梅花鹿属于哺乳纲(Mammalia),偶蹄目(Artiodactyla),鹿科(Cervidae),花鹿属(Cervus),主要分布在东北。鹿茸是东北"三宝"之一,有很高的药用价值和营养价值,鹿筋、鹿胎盘等也是名贵的药材和营养保健佳品。梅花鹿不仅是重要的畜牧业资源,而且为人类提供了大量的药业原料以及其它产品,在遗传上也是一个极为宝贵的基因库。

有关梅花鹿的染色体的研究与猪^[1],牛^[2],绵羊^[3]等比较,其研究报道较少。和其它家畜的染色体工作比较,梅花鹿的染色体工作还远远不够。近些年来,诸多学者先后利用结构基因座、微卫星对其开展过广泛的研究,而有关染色体水平上的研究一

直很缺乏,迄今为止,尚未见梅花鹿染色体 G-带的研究报道。通过对梅花鹿染色体的研究,不仅可以为生物的分类和系统演化提供科学依据,还有助于亲缘种的鉴定、群落结构分析等问题的探讨。本文通过对梅花鹿的染色体核型与 G-带带型进行分析,以期对梅花鹿资源积累细胞遗传学资料。

1 材料和方法

1.1 实验材料

梅花鹿 8 头(♂),来自重庆永川市松溉高级职业中学养殖场。

1.2 实验方法

(1)外周血培养及染色体制备。①采血:颈静脉采血和锯茸时取血,肝素抗凝;②综合培养液配制 RPMI-1640 40 mL,优等胎牛血清 10 mL,植物血球凝集素(PHA)0.4 mL,肝素 0.3 mL,用 5% NaHCO₃ 调 pH 至 6.8~7.0^[4];③培养:每瓶接种外周血 0.6~0.8 mL,在 37.5~38.5℃ 下培养 72 h 后,进行染

* 收稿日期 2004-11-05 修回日期 2005-03-08

资助项目:重庆市科委基金资助项目(No. 71105)

作者简介:阳春(1977-)男,重庆永川人,硕士研究生,研究方向为药用资源动物学。

染色体标本制作,在制片前2 h加入秋水仙素(最终质量浓度为 0.01mg/L)^[5]。

(2)G-显带。按Wang和Fedoroff(1975)方法,稍加修改^[5]。①空气干燥的制片,在 37°C 温箱内预处理6 h;②标本在0.25%胰蛋白酶工作液内处理60 s;③在GKN工作液内漂洗30 s;④2%Giemsa磷酸盐缓冲液染色8 min;⑤蒸馏水细流冲洗10 s,空气干燥。

(3)染色体组型分析。选择分散良好的中期分裂相进行显微摄影、放大、排列,分析并测量染色体长度,观察30个细胞,测量8个细胞,分别计算相对长度的平均值和标准误差作为染色体编号及配对的依据。

2 实验结果

2.1 核型

梅花鹿染色体核型 $2n=66$,按Levan标准,染色

体类型可简式为 $2n=31\text{T}+1\text{SM}+1\text{M}$, $\text{NF}=70$,其中X和Y为端部着丝粒染色体,X为最大的染色体,而Y为最小的染色体。染色体相对长度和性染色体的臂比指数见表1。梅花鹿染色体中期分裂见图1。

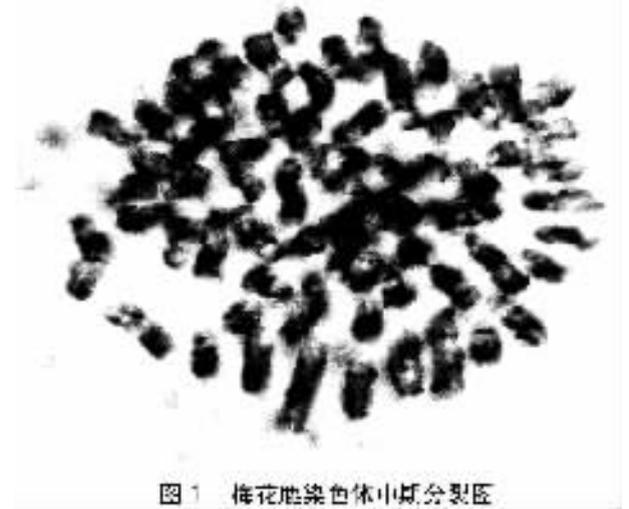


图1 梅花鹿染色体中期分裂图

表1 梅花鹿染色体相对长度、臂比指数、形态类型

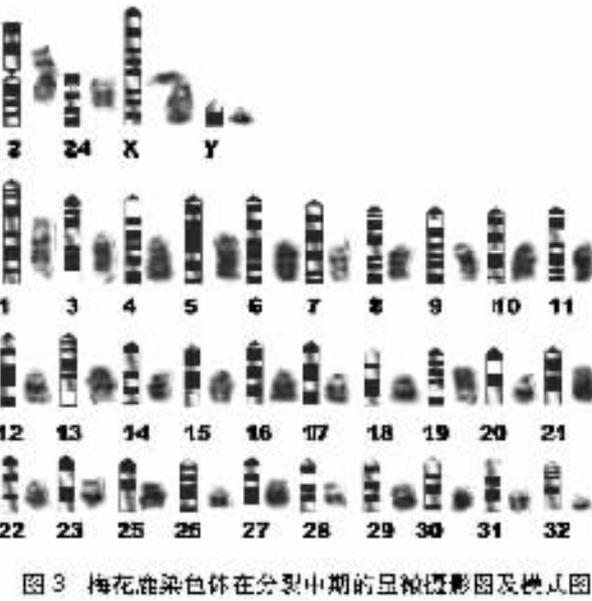
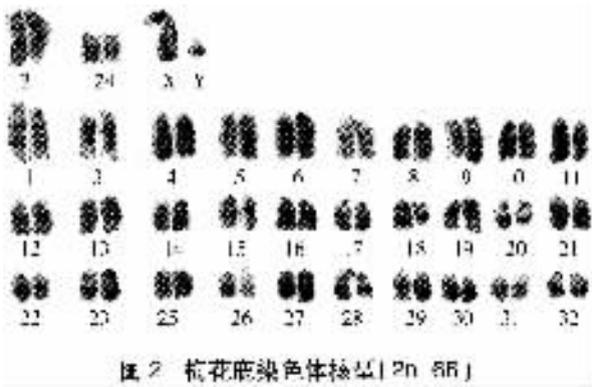
染色体号	相对长度	臂比指数	形态类型	染色体号	相对长度	臂比指数	形态类型
1	4.56 ± 0.62		T	18	2.67 ± 0.18		T
2	4.56 ± 0.56	1.04 ± 0.14	M	19	2.64 ± 0.84		T
3	3.88 ± 0.88		T	20	2.62 ± 0.54		T
4	3.87 ± 0.76		T	21	2.60 ± 0.27		T
5	3.86 ± 0.65		T	22	2.59 ± 0.18		T
6	3.85 ± 0.87		T	23	2.57 ± 0.14		T
7	3.66 ± 0.58		T	24	2.30 ± 0.16	3.01 ± 0.02	SM
8	3.43 ± 0.41		T	25	2.28 ± 0.12		T
9	3.42 ± 0.54		T	26	2.27 ± 0.58		T
10	3.41 ± 0.83		T	27	2.27 ± 0.39		T
11	3.41 ± 0.42		T	28	2.26 ± 0.17		T
12	3.19 ± 0.63		T	29	2.25 ± 0.13		T
13	3.18 ± 0.29		T	30	2.24 ± 0.06		T
14	2.80 ± 0.62		T	31	2.23 ± 0.14		T
15	2.79 ± 0.31		T	32	2.22 ± 0.16		T
16	2.78 ± 0.55		T	X	5.25 ± 0.12		T
17	2.76 ± 0.46		T	Y	1.14 ± 0.05		T

2.2 G-带核型

经G-带处理,梅花鹿染色体均显示出清晰的G-带带纹,在显微镜下观察20个中期分裂相细胞,并选择其中染色体分散良好、带纹清晰的8个细胞进行摄影、剪贴配对分析,并绘制染色体模式图,见图2、图3。

梅花鹿染色体组型 $2n=31\text{T}+1\text{SM}+1\text{M}$, $\text{NF}=70$,其中2号为中部着丝粒,24号为亚中部着丝粒,其余皆为端部着丝粒。各对染色体G-带特征描述如下:

1号染色体着丝粒深染,带纹非常丰富。长臂有7条深带,8条浅带。



2号染色体为中部着丝粒深染,长臂有2条深带2条浅带,而短臂有3条深带4条浅带,表现出明显的均匀性。

3号染色体着丝粒深染,长臂有6条深带6条浅带。其中一条宽深带被一窄浅带分隔为2。

4号染色体着丝粒深染,长臂有5条深带3条浅带。

5号染色体着丝粒深染,长臂有5条深带5条浅带。其中一条深带表现为特别宽。

6号染色体着丝粒深染,长臂有6条深带4条浅带。

7号和9号染色体着丝粒深染,长臂有5条深带5条浅带。

8号染色体着丝粒深染,长臂有6条深带5条浅带。

10号染色体着丝粒深染,长臂有4条深带5条浅带。

11号和13号染色体着丝粒深染,长臂有5条深带4条浅带。

12号染色体着丝粒深染,长臂有3条深带3条浅带。

14号染色体着丝粒深染,长臂有4条深带3条浅带。

15号染色体着丝粒浅染,长臂有2条特别宽的深带2条浅带,其中一条也特别宽,深带和浅带覆盖了整个染色体。

16号染色体着丝粒深染,长臂有3条深带4条浅带。

17号染色体着丝粒深染,长臂有3条深带2条浅带。

18号染色体着丝粒浅染,长臂有2条深带,其中一条特别宽3条浅带。

19号染色体着丝粒深染,长臂有5条深带4条浅带。

20号染色体着丝粒深染,长臂有2条深带1条特别宽的浅带。

21号染色体着丝粒深染,长臂有2条深带3条浅带。

22号染色体着丝粒深染,长臂有3条深带3条浅带。

23号染色体着丝粒深染,长臂有2条深带2条浅带。

24号染色体为亚中部着丝粒深染,长臂有3条深带2条浅带。短臂为一深染带。

25号染色体着丝粒深染,长臂有2条深带2条浅带,其中一条浅带特别宽。

26号染色体着丝粒浅染,长臂有4条深带3条浅带。

27号染色体着丝粒深染,长臂有3条深带2条浅带。

28号染色体着丝粒浅染,长臂有3条深带2条浅带。

29号和30号染色体均为着丝粒浅染,长臂有3条深带3条浅带。

31号染色体着丝粒浅染,长臂有2条深带3条浅带。

32号染色体着丝粒浅染,长臂有3条深带3条浅带,其中一条浅带特别宽。

X染色体是整个染色体中最大的一条,着丝粒深染,长臂有7条深带8条浅带,带型非常丰富,覆盖了整个染色体。

Y染色体是整个染色体中最小的一条,着丝粒

浅染,长臂有1条深带,1条浅带。

3 讨论

在整个染色体组型中有11对染色体(第1号到第10号、第13号)和X染色体的带型特征明显,带纹多且清晰、稳定。

X染色体不仅最大,而且带纹最多,共7条深带8条浅带,覆盖了整个染色体。第1号、第2号、第6号、第7号和第8号染色体带纹也很多,浅带和深带交替排列,也覆盖了整个染色体。第3号和第13号染色体在离着丝点最远处有一大的无色带,而第4号染色体在离着丝点最近处有一大的无色带。第5号染色体中部有一宽大的深带被细小的无色带分开。第9号染色体在离着丝点稍近处有一较大的无色带。第10号染色体也是浅带和深带交替排列,在染色体中部被小的无色带分开。这些染色体具有较强的标志性,即使是染色体处于近晚中期或收缩严重的情况下,这些染色体的带型特征仍然明显可见。

从已有报道梅花鹿染色体核型分析的资料中可见,王宗仁^[6]认为Y染色体是亚中部着丝染色体,是最小的染色体。根据笔者对染色体G带分析,发现Y染色体是端部着丝染色体。性染色体具有多态性现象,这在猪^[7]和牛^[8]等中已经报道。猪中的巴克夏、八眉猪Y染色体上有1~2条带纹,而关中黑、杜洛克猪Y染色体着色较浅,无带纹。中原地区黄牛的Y染色体也存在多态性,可以从染色体长短进行比较。而对梅花鹿的Y染色体没有进行研究,这应该是一个值得关注的研究方向,可以观察各种鹿的Y染色体上的带纹,相对长度,可以观察Y染色体是否具有明显的形态变异。

梅花鹿外周血培养难以成功,这或许在于梅花鹿淋巴细胞分裂指数比较低,不稳定有关。研究发现(1)小牛血清在梅花鹿淋巴细胞培养中效果很差,而优等胎牛血清的效果非常明显。(2)优等胎牛血清占20%最好。优等胎牛血清质量浓度过高影响细胞渗透压,不利于细胞生长,而质量浓度过低则因为培养液中生长因子含量不足,而使细胞处于劣势生长状态甚至死亡。(3)植物血球凝集素有效刺激梅花鹿淋巴细胞转化,使细胞分裂相增高,而伴刀豆球蛋白(ConcanvalinA)刺激梅花鹿淋巴细胞转化的效果不理想。(4)温度在37.5~37.8℃时效果

最好。(5)制备染色体片时,秋水仙素最终质量浓度不高于0.02 mg/L,作用时间应为2~3 h,时间过长,染色体将要过分收缩。

目前,国内外梅花鹿染色体的研究,参考文献资料尚不多,因此,以上的研究结果和讨论还有待于进一步深入,通过实验和查阅资料,笔者认为,应该从以下几方面对梅花鹿染色体作进一步的研究和探讨。一是建立梅花鹿染色体R带的标准带型。二是梅花鹿染色体与梅花鹿经济性状的相关研究^[9,10]。三是梅花鹿与其它鹿种染色体进化的比较研究。

致谢:本文得到重庆永川市松溉高级职业中学大力支持,特此感谢。

参考文献:

- [1] 陈文元,王子淑,王喜忠. 中国家猪高分辨带G-带及模式图[J]. 遗传学报, 1991, 18(2): 120-126.
- [2] 李积友, 韩建林. 牛属动物染色体的研究现状及其在提高牛繁殖品质上的作用[J]. 中国牦牛, 1992(4): 6-9.
- [3] IANNUZZI L, DJ MEO G P, PERUCATTI A et al. G-and R-banding Comparison of Sheep (*Ovis Aries* L.) Chromosomes[J]. Cytogenet Cell Genet, 1995, 68(1-2): 85-90.
- [4] 斯佩克特 D L, 戈德曼 R D, 莱因万德 L A. 细胞实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 2001. 3-7.
- [5] 王子淑. 人体及动物细胞遗传学技术[M]. 成都: 四川大学出版社, 1987. 112-113.
- [6] 王宗仁. 四种鹿的染色体组型[J]. 动物学报, 1982, 28: 35-39.
- [7] 柳万生, 路光中. 家猪420条带的G带模式图[J]. 畜牧兽医学报, 1990, 21(1): 36-40.
- [8] 于汝梁, 陈琳, 辛彩云. 中原地区黄牛的Y染色体多态性及其在黄牛品种分类中的意义[J]. 畜牧兽医学报, 1991, 22(2): 132-133.
- [9] BISHOP D, KAPPES S M, KEELE J W, et al. A Genetic Linkage Map for Cattle[J]. Beattie Genetics, 1994, 136: 619-639.
- [10] ROSA M, MARISOL A, ANANIASA E. Phlogeography, Population Structure and Implications for Conservation of White-tailed Deer (*Odocoileus Virginianus*) in Venezuela[J]. Journal of Mammalogy, 2002, 84(4): 1300-1315.

(责任编辑 许文昌)