

东方扁虾的染色体

朱冬发, 李少菁, 王桂忠

(厦门大学海洋学系, 福建 厦门 361005)

摘要: 以精巢为材料, 以气干法制片、Giem sa 染色对东方扁虾的染色体进行了研究。结果表明: 东方扁虾染色体数是 $n=124$, $2n=248$ 。还对东方扁虾精原细胞的核型进行了初步的分析, 未能发现异形的性染色体。

关键词: 东方扁虾; 染色体; 核型; 龙虾

中图分类号: Q 343.21

文献标识码: A

染色体数目及核型是细胞遗传学的基本内容, 是开展杂交育种、多倍体诱导和雌核发育等遗传育种研究的基础。染色体研究对繁殖发育的规律和机理的研究、分类和系统演化的研究及环境监测等具有一定的意义。与其它各类动物相比, 甲壳动物染色体的报道相对要少得多。在我国, 近 10 多年来, 随着虾、蟹增殖养殖事业的发展, 十足目甲壳动物染色体的研究受到了较多的重视^[1-6]。但迄今, 国内尚未见龙虾类有关细胞遗传学方面的报道, 国外也只有 H. Niijama 和室伏诚在龙虾科的 2 个属 3 个物种 (*Panulirus japonicus*, *P. marginatus* 和 *Jasus edwardsii*) 上报道过它们的染色体数目^[7]。而蝉虾科物种则尚无人问津。东方扁虾 [*Thenus orientalis* (Lund)] 是蝉虾科的一个代表物种, 我们以精巢为材料, 以气干法制片、Giem sa 染色对东方扁虾的染色体进行了研究。

1 材料和方法

1.1 材料

虾样取自厦门市霞溪市场和东山县渔排, 暂养于本实验室的水泥池内。池底铺 3~4 cm 厚细沙; 池中盛新鲜沙滤海水 (S: 30~34), 水位高 60 cm 左右; 连续充气。

1.2 方法

根据预备实验确定秋水仙素 (1 mg/mL 水溶液) 的注射剂量: 小雄虾 (体重 50 g) 3 μ g 秋水仙素/g 体重; 大雄虾 (体重 100 g) 2 μ g 秋水仙素/g 体重; 体重居间的注射剂量也居间。精巢组织小块的处理、染色体的气干法制片、Giem sa 染色及初步的核型分析等基本同上。

收稿日期: 2000-01-18

基金项目: 福建省自然科学基金资助项目 (C9810006)

作者简介: 朱冬发 (1970-), 男, 博士生

相建海^[2]的方法 稍作改变的是: (1) 3-1(甲醇-冰醋酸) Carnoy's 液固定时间为 2~3 h, 1-1(甲醇-冰醋酸) Carnoy's 液二次固定时间约为 1 h; (2) 染色体计数的方法: 选择染色体分散良好的细胞进行显微摄影, 将底片用幻灯机投影到白纸上计数

2 结果

2.1 染色体数

精巢组织气干法制片可获大量染色体分散良好的细胞, 其中大多数为处于减数分裂中期 I 的初级精母细胞(图版 I: a), 少数为处于有丝分裂中期的精原细胞(图版 I: b). 计数处于有丝分裂中期的精母细胞 27 个, 染色体众数为 248, 占总数的 40.7% (表 1); 计数处于减数分裂中期 I 的初级精母细胞 81 个, 双价体众数为 124, 占总数的 63% (表 2). 由此可以确定东方扁虾染色体数: $2n=248, n=124$

2.2 核型初步分析

我们获得了很少的染色体形态较清晰的精原细胞有丝分裂中期相(图版 I: c). 东方扁虾染色体很小, 长度变化范围是 0.7~2.4 μm . 仿照相建海^[2]的核型分组方法, 染色体从形态上可划分为 A、B、C、D4 组, 根据尺寸大小的顺序排列成图 1. A 组基本形状为“X”型, 共 42 对, 着丝粒位置可辩. 依据 Levan 等(1964)的染色体分类标准, 大多数为中部着丝粒染色体(m), 少数为亚中部着丝粒染色体(sm); B 组基本形状为“八”型, 共 20 对. 实际上这也是一种“X”型(可称为“拟 X 型”), 但其中间相连处染色太淡, 似断开而呈“八”型, 着丝粒位置较难确定. 这类“八”型染色体在日本新海螯虾 *Metanephrops japonicus* 及克氏螯虾 *Procambarus clarkii* 的核型中也占有相当的比例^[7]; C 组基本形状为“倒 V”型, 共 22 对, 着丝粒位置基本可辩, 为中部或亚中部着丝粒染色体(m 或 sm); D 组基本形状为棒状或点状, 共 40 对, 着丝粒位置无法辨认

尚未发现异形性染色体的存在

表 1 东方扁虾精原细胞分裂中期染色体数的出现频率

Tab 1 Frequency of chromosomal number of spermatogonium in *Thenus orientalis*

染色体数	217	226	232	234	238	243	246	247	248	250	253	总计
频率/次	1	1	1	2	1	1	1	3	11	1	3	27
百分比/%	3.7	3.7	3.7	7.4	3.7	3.7	3.7	11.1	40.7	3.7	11.1	100

表 2 东方扁虾初级精母细胞双价体数的出现频率

Tab 2 Frequency of bivalent number of primary spermatocyte in *Thenus orientalis*

双价体数	115	117	118	120	121	122	123	124	125	126	128	总计
频率/次	2	3	2	1	1	4	8	51	4	3	2	81
百分比/%	2.5	3.7	2.5	1.2	1.2	4.9	9.9	63.0	4.9	3.7	2.5	100

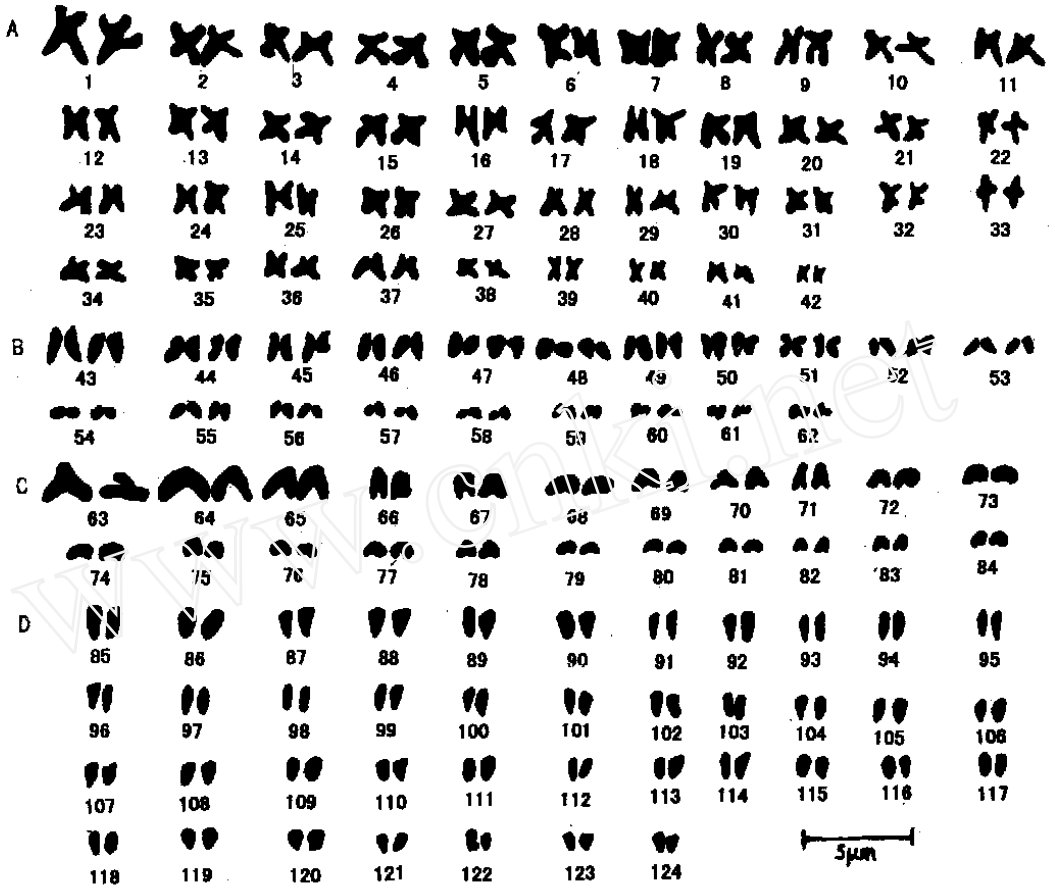


图1 东方扁虾精原细胞核型的初步分组

Fig. 1 Preliminary grouping of karyotype from spermatogonium in *Thenus orientalis*

3 讨论

3.1 染色体制备

秋水仙素溶液的注射剂量是获取分散良好的染色体制片的关键。未注射或注射剂量不够的雄虾，中期分裂相少，但较易获取到初级精母细胞减数分裂前期 I 的各个主要时相，其形态特征与日本沼虾 *Macrobrachium nipponense* 染色体研究上的描述^[5]相类似，不再多加讨论；秋水仙素注射剂量过大的雄虾，即使在油镜下观察，染色体也几乎全呈点状或杆状，偶尔还可见数目特大 (> 300) 的染色体相，我们推测这是由于过量的秋水仙素使染色体收缩、染色单体分离、断裂所致。

材料是影响染色体制片的又一重要因素。在预备实验中，我们曾对胚胎、触角腺、中肠、肝胰腺、心脏和鳃等进行气干法制片，但结果均不理想，难以准确计数，中肠、心脏及肝等甚至根本找不到一个分裂中期相。我们认为这些材料的染色体制片方法有待进一步地改进。

3.2 染色体计数

理论上是以出现的百分率 85% 的众数为该物种的染色体数, 但东方扁虾及国内已研究过的中华绒螯蟹^[1]、中国对虾^[2]、日本沼虾^[5]和罗氏沼虾^[6]等众数出现的百分率都较低 这与高等甲壳类染色体数目庞大密切相关 我们认为, 依据取众数原则及精原细胞分裂中期染色体众数正好为初级精母细胞减数分裂中期 I 双价体众数的 2 倍来确定十足类的染色体数还是科学的、可行的 当然, 进一步改进染色体制片方法, 缩小染色体数目变幅, 提高众数的百分率也是很必要的

3.3 染色体核型分析

十足类染色体数目庞大, 形状短小, 部分或全部染色体的着丝粒位置较难辨认, 因此, 核型分析比较困难 国内仅见在中国对虾^[3]、日本沼虾^[5]和罗氏沼虾^[6]等曾进行过核型分析 对于东方扁虾, 我们赞同相建海^[2]的不按常规的 Levan 等分类标准作核型分析, 而只是按形态特征及尺寸大小排序进行初步分析的作法, 尽管 42 对“X”型染色体和 22 对“倒 V”型染色体着丝位置基本可辨 事实上, 少数分散较好的精原细胞有丝分裂中期相, 在 400 倍下观察时, 点状或棒状染色体占绝大多数(图版 I: c); 而在油镜下观察时, 可见许多原来呈点状或棒状的染色体转呈“X”型、“八”型或“倒 V”型等形状(图版 I: c). 因此, 我们有理由相信, 如果能够做到在更高倍数(如电镜)下观察, 油镜下呈点状或棒状的染色体完全有可能显示出其他的具体形状, 并可以辨认出着丝粒的位置 而目前对十足类作过核型分析的研究者, 包括国外学者如室伏誠^[7]等, 大多人为地将点状或棒状染色体视为端部或亚端部染色体(t 或 st).

3.4 关于倍数性进化

室伏誠^[7]曾依据 7 科 22 种虾类染色体的资料提出了虾类染色体倍数性进化的理论, 认为染色体数目越少的核型在演化上越原始 这一理论中, 虾类被划分为 3 组: (1) $2n$ 组, 二倍体染色体数为 70~ 90; (2) $4n$ 组, 二倍体染色体数为 140~ 180; (3) $8n$ 组, 二倍体染色体数为 280~ 360 龙虾科 2 属 3 种的二倍体染色体数分别是 *Panulirus japonicus*: 112, *P. marginatus*: 118 和 *Jasus edwardsii*: 142, 被划分为 $4n$ 组 东方扁虾的二倍体染色体数为 248, 仅少于迄今为止检测到的具最多染色体数($2n=376$)的亚太螯虾 *Pacifastacus trowbridgii* 这一数值落在龙虾染色体数的倍数范围(224~ 284)内, 根据室伏誠的理论, 可以推测蝉虾科(以东方扁虾为例)的核型可能是由龙虾科核型发生倍数性进化而来的, 应列入 $8n$ 组 必须指出, 无论是蝉虾科还是龙虾科, 其染色体数及核型的资料都还很缺乏, 因而尚不可能对龙虾总科的核型演化作出全面而准确的分析

参考文献:

- [1] 堵南山, 赖伟, 薛鲁征 中华绒螯染色体的研究[J]. 动物学研究, 1986, 7(3): 293~ 296
- [2] 相建海 中国对虾染色体的研究[J]. 海洋与湖沼, 1988, 19(3): 205~ 209
- [3] Dai Jixun, Zhang Quan-qi, Bao Zhen-ming Karyotype studies on *Penaeus orientalis*[J]. J. of Ocean Univer. of Qingdao, 1989, 19(4) (I): 97~ 103
- [4] 刘萍, 麦明, 孔杰, 等 中国对虾染色体制备及染色体形态的研究[J]. 海洋科学, 1994, 1: 33~ 37
- [5] 邱高峰, 堵南山, 赖伟 日本沼虾染色体及其核型的研究[J]. 海洋与湖沼, 1994, 25(5): 493~ 498
- [6] 邱高峰 罗氏沼虾核型及长臂虾亚科演化关系的探讨[J]. 水产学报, 1996, 20(4): 294~ 300

[7] 室伏誠 エビ類の染色体数にわる倍数性進化[J] 海洋と生物, 1987, 9(1): 10~ 15

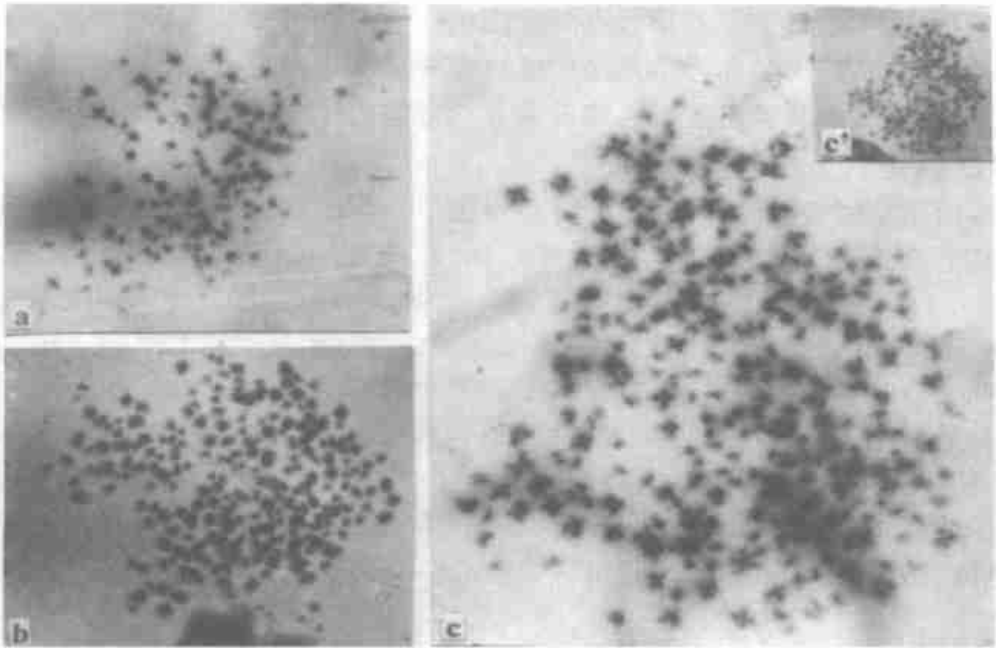
Study on the Chromosome of the Squat Lobster, *Thenus orientalis*(lund)

ZHU Dong-fa, LI Shao-jing, WANG Gui-zhong

(Dept. of Oceanography, Xiamen Univ. Xiamen 361005, China)

Abstract: The chromosome of the squat lobster, *T. orientalis*, was studied in preparation of testis, obtained by air-dry method. The chromosome number for *T. orientalis* is $2n= 248$, $n= 124$. The karyotype from mitotic metaphase of spermatogonium in the squat lobster was analysed preliminarily. No sex-chromosome of heteromorphism was observed.

Key words: *thenus orientalis*; chromosome; karyotype; lobster



图版 I 东方扁虾精巢细胞染色体的显微图相
 a, 初级精母细胞分裂中期相, $n= 124$, $\times 825$; b, c 及 c', 精原细胞
 b, 分裂中期相, $2n= 248$, $b \times 660$, $c \times 1320$, $c', \times 330$

Plate I The chromosome micrograph of testis cells in *Thenus orientalis*