

两不同地域中华鳖的核型

吴萍 楼允东 李思发

(上海水产大学渔业学院, 200090)

摘要 本文研究了江苏南京和浙江绍兴中华鳖的染色体组型。结果表明,两者核型完全一致,均为 $2n=66(4M+8SM+16T+38m)$, $NF=78$,核型模式为 $6+8+19$ 。通过对两者比较发现,两者绝对长度与相对长度均有差异,南京中华鳖第5对SM染色体为大型染色体中最小的,而绍兴中华鳖第5对SM染色体与第1对T染色体等大;另外,两者臂比指数也有差异,但差异不显著($P>0.05$)。本文还将中华鳖核型与其它龟鳖类核型作了比较,从系统演化方面进行了讨论。

关键词 中华鳖,染色体组型,不同地域

中图分类号 S917.4

在系统演化上,龟鳖类是真正陆生动物的原祖,从三迭纪中期生活至今。龟鳖类又是爬行动物中核型研究得最充分的一类。据不完全统计,国外已做过染色体研究的龟鳖类达130余种。在我国,对龟鳖类所做的染色体研究相对较少,到目前为止,仅有12种做过报道[容寿柏和李新旺 1984,高健民等 1986,林兆平等 1988,黄满盈等 1990,郭超文等 1995、1998,王蕊芳等 1998],其中中华鳖(*Trionyx sinensis*)的核型仅容寿柏和李新旺[1984]做过研究。上述研究均限于不同种或属的龟鳖类,而对于分布于不同地理区域的同一物种的核型研究则尚未见报道。核型能反映物种的遗传特性,它往往是鉴定不同物种或分类群之间近缘关系的重要依据,核型的异质性可用以区分不同的分类群。我国幅员辽阔,中华鳖的天然资源丰富,野生鳖的足迹遍布除西北及西藏等少数省区以外的中华大地,本文对产于浙江绍兴和江苏南京的中华鳖的核型作了比较研究。

1 材料和方法

1.1 试验材料

试验所用中华鳖于1996年4月分别采捕自浙江绍兴(1♂, 2♀)和江苏南京(1♂, 2♀),均为野生,无近代直接的亲缘关系。体重63~146g,背甲长7.8~10.8cm,宽6.8~8.6cm。

1.2 染色体标本的制备

取受试动物,从前肢或后肢基部向腹腔注射PHA(中科院上海生物化学研究所产品)1支,

24小时后重复注射1次;1天后,按 $2\sim 3\mu\text{g/g}$ 体重腹腔注射秋水仙素溶液。14小时后解剖,取出前后肢肱骨和股骨,清除骨表面的结缔组织,将骨剪碎于研钵内,加入适量0.4%KCl溶液,洗出骨髓,并于 34°C 下低渗处理30分钟。随后,以1000转/分的速度离心9分钟,收集沉淀,用新配制的Carnoy液(冰醋酸:甲醇=1:3)固定两次,每次15分钟。最后一次固定并离心后,弃去上清液,将沉淀物制成细胞悬液。取出预先冰冻过的干净无油脂的载玻片,滴1~2滴细胞悬液于玻片上,干燥后以Giemsa液(用磷酸缓冲液以1:5稀释,pH 7.0)染色20分钟。经二甲苯透明,中性树胶封片,制成可长期保存的染色体标本。

1.3 染色体的分类及测量

在油浸物镜下选取分散良好、形态清晰的中期分裂相,计数细胞的染色体数目。选取优良的中期分裂相进行拍照、测量,分别计算各对染色体相对长度和臂比指数。着丝点位置按Levan等[1964]的标准确定;染色体分组参照Bickham[1975]的标准;臂数的统计按Gorman[1973]进行,即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。

2 结果

经对染色体标本中期分裂相的观察、计数,发现两个地区的中华鳖均为具66条染色体的分裂相占优势,因此确定中华鳖的染色体数为 $2n=66$ 。其中6对是大型染色体,27对是小型染色体,雌雄间未见明显的异形染色体。表1为中华鳖染色体数据,图1示中华鳖大型染色体相对长度比较。

经对放大后照片上染色体长度的测量,发现江苏南京的中华鳖染色体普遍比浙江绍兴的大,长度在 $0.5\sim 8.0\mu\text{m}$ 之间,而后者仅为 $0.3\sim 5.5\mu\text{m}$ (图2,3)。

根据表1、图2和图3,可把中华鳖的染色体分为如下三组: I组,包括6对染色体,除第6对外,均为大型染色体。其中第1、2对为中部着丝粒染色体(M),是所有染色体中最大的;第3~6

对均为亚中部着丝粒染色体(SM)。II组:共有8对染色体,除第1对外,均属小型染色体,此组均为端部着丝粒染色体(T)。III组:包括19对点状染色体(m)。因此,两地中华鳖的核型公式均为 $2n=66=4M+8SM+16T+38m$,NF=78,核型模式为 $6+8+19$ 。

从表1可以看出,江浙两地中华鳖染色体的相对长度有差异,由图1可见,南京中华鳖的第5对SM染色体(I_5)是6对大型染色体中最小的一对,第4对SM染色体(I_4)和第1对T染色体(II_1)等大。而绍兴中华鳖的第5对SM染色体(I_5)则和第1对T染色体(II_2)等大。另外,南京中华鳖的两对最大的染色体相差甚远,而绍兴中华鳖则较为接近。

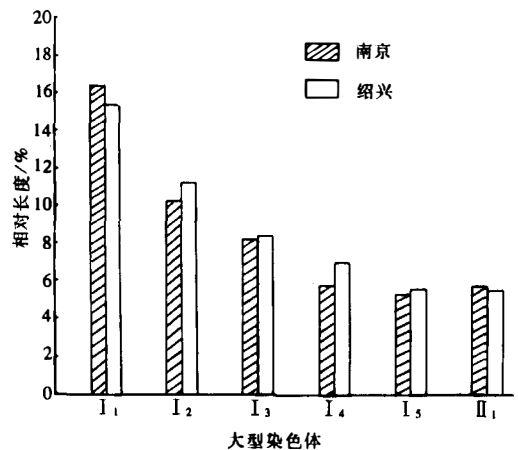


图1 中华鳖大型染色体相对长度比较

Fig. 1 The comparison of relative length of the macrochromosomes of *T. sinensis*

表1 中华鳖的染色体数据

Tab. 1 The karyotypic data of *T. sinensis*

组别	编号	南京中华鳖			绍兴中华鳖		
		相对长度	臂比指数	染色体类型	相对长度	臂比指数	染色体类型
I	1	16.53±0.85	1.44±0.03	M	15.43±0.08	1.60±0.17	M
	2	10.33±0.08	1.23±0.07	M	11.22±0.63	1.11±0.03	M
	3	8.26±0.12	2.08±0.03	SM	8.42±0.10	2.50±0.29	SM
	4	5.78±0.98	2.11±0.02	SM	7.01±0.58	2.43±0.09	SM
	5	5.37±0.18	2.25±0.08	SM	5.61±0.10	2.33±0.05	SM
	6	2.89±0.16	2.20±0.04	SM	3.09±0.18	2.25±0.02	SM
II	1	5.78±0.09	>7.00	T	5.61±0.10	>7.00	T
	2	3.10±0.22	>7.00	T	3.65±0.02	>7.00	T
	3	2.89±0.32	>7.00	T	3.37±0.16	>7.00	T
	4	2.89±0.08	>7.00	T	3.09±0.12	>7.00	T
	5	2.68±0.19	>7.00	T	3.09±0.12	>7.00	T
	6	2.68±0.11	>7.00	T	3.09±0.12	>7.00	T
	7	2.07±0.42	>7.00	T	2.82±0.10	>7.00	T
	8	2.07±0.11	>7.00	T	2.52±0.18	>7.00	T
III	1	1.86±0.12		m	1.82±0.04		m
	2	1.76±0.12		m	1.68±0.03		m
	3	1.76±0.16		m	1.54±0.01		m
	4	1.76±0.16		m	1.40±0.01		m
	5	1.55±0.05		m	1.40±0.01		m
	6	1.45±0.01		m	1.26±0.02		m
	7	1.45±0.08		m	1.26±0.02		m
	8	1.45±0.08		m	1.26±0.02		m
	9	1.45±0.08		m	1.26±0.02		m
	10	1.34±0.02		m	1.12±0.59		m
	11	1.34±0.06		m	1.12±0.04		m
	12	1.24±0.06		m	0.98±0.10		m
	13	1.24±0.06		m	0.84±0.12		m
	14	1.24±0.06		m	0.84±0.12		m
	15	1.24±0.06		m	0.84±0.12		m
	16	1.24±0.10		m	0.84±0.12		m
	17	1.14±0.04		m	0.84±0.12		m
	18	1.14±0.08		m	0.84±0.02		m
	19	1.03±0.03		m	0.84±0.02		m

注:相对长度指每条染色体长度与单倍体染色体总长度的百分数,其中点状染色体取长径的1/2为其绝对长度。

从表1还可看出,两地中华鳖虽然染色体类型没有差异,但臂比指数不尽一致。将两者第I组染色体的臂比指数进行方差分析,结果如表2所示,两者无显著差异。

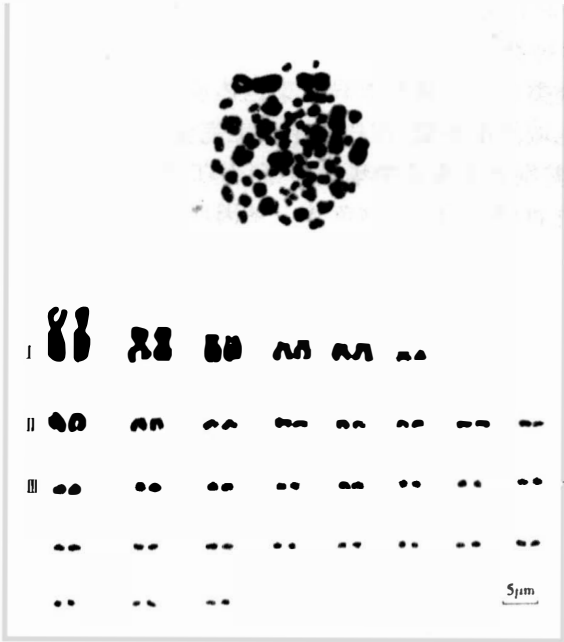


图2 中华鳖(南京)染色体中期分裂相及核型图
Fig. 2 The metaphase and karyotype of *T. sinensis* in Nanjing

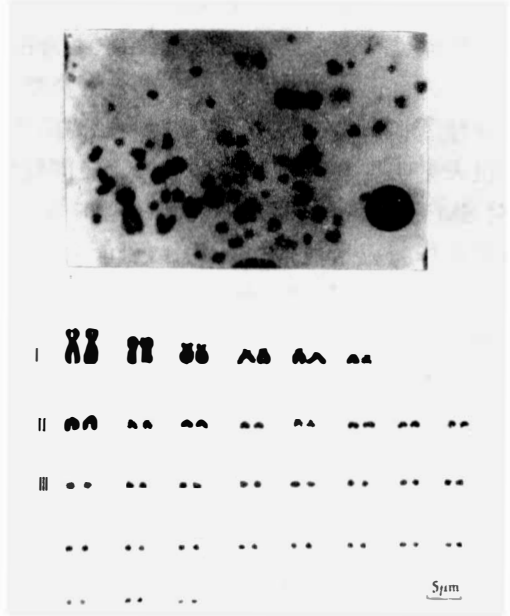


图3 中华鳖(绍兴)染色体中期分裂相及核型图
Fig. 3 The metaphase and karyotype of *T. sinensis* in Shaoxing

3 讨论

鳖科动物的核型,据手头现有的资料,均为 $2n = 66$ [容寿柏和李新旺 1984, 林兆平等 1988, 王蕊芳等 1988, Bickham 1981],这与我们的结果相一致。鳖属(*Trionyx*)在我国仅有山

瑞鳖(*T. steidachneri*)和中华鳖两种。中华鳖的核型,容寿柏和李新旺[1984]曾有所报道,其中关于染色体数目、大型染色体和小型染色体数目等与我们的结果基本相同,但在某些方面存在差异,如关于染色体的分组以及臂比指数等。产生差异的主要原因是他们对27对小型染色体没有再进行分析,而其中有一对则是亚中部着丝粒染色体。与林兆平等[1988]对山瑞鳖核型的研究结果相比,中华鳖比山瑞鳖少2对 M 染色体、2对 ST 染色体和4对 T 染色体,而多8对 m 染色体。虽然两者染色体数目相同,但因其毕竟是不同的物种,在染色体类型上存在着较大的差别。

另据搜集到的资料,龟的染色体数目集中在52~56,且大多数为 $2n = 52$ [高健民等 1986, 黄满盈等 1990, 郭超文等 1995、1998, Bickham 1975、1981, Bickham 和 Baker 1976a、1976b, Bickham 等 1980, Sties 等 1979a、1979b, Bull 和 Legler 1980]。与中华鳖的核型相比较,龟的 M 和 SM 染色体比中华鳖要多得多,而 T 染色体,尤其是点状染色体则远远少于中华鳖。在鱼类中,低位类染色体数目多于中位类和高位类,且具有较多 ST 和 T 染色体 [余先觉等 1989],

表2 中华鳖臂比指数的方差分析

Tab. 2 Analysis of variance of arm ratios of *T. sinensis*

变异来源	均方	F 值	P 值
处理间	0. 489	2. 35	>0. 05
误差	0. 208		

而爬行类是从坚头类进化来的,如果此规律对于爬行类同样适用,那么无论从染色体数目还是从染色体类型上,都可说明鳖是比龟更为古老的种类。

作为自三迭纪中期就存在的古老类群,龟鳖类动物的核型差异及染色体演化速率具高度保守性[Bickham 1981]。本文所研究的两不同地域的中华鳖,在核型组成上完全一致,臂比指数也未见明显差异($P > 0.05$)。两者之间最大的差别在于南京中华鳖的第1对T染色体大于第5对SM染色体,而绍兴中华鳖则基本等长。据此推断,这对T染色体上基因所控制的性状在南京中华鳖应表现得相对充分,可能会表现在某一方面的性状两者有所差异。普遍认为,中华鳖具保护色,其背甲的颜色因所生活环境水质条件的不同而有差异。本文所取的南京中华鳖,其背甲呈黑褐色,绍兴中华鳖背甲为黄褐色,这到底是其保护色还是因染色体差异所引起尚需要更深入的研究。

本文研究结果表明,南京中华鳖的染色体绝对长度普遍大于绍兴中华鳖,前者在 $0.5 \sim 8.0 \mu\text{m}$ 之间,而后者仅为 $0.3 \sim 5.5 \mu\text{m}$ 。从图1可看出,其相对长度也有一定的差异。具体表现在:南京中华鳖两对最大的染色体之间相差悬殊,而绍兴中华鳖则较为接近;南京中华鳖第4、5对SM染色体几乎等长,而绍兴中华鳖这两对染色体差别较大。这些特征,是因染色体多态性所引起,还是两者间确实存在差异,有待进一步的研究。

从本文研究结果来看,江浙两地中华鳖核型差异不明显,这除了因爬行类动物核型具有一定保守性外,两个地区相距较近也是一个原因。本文完成于1997年7月,后来我们又对来自台湾和上海松江的中华鳖核型作了观察,发现其在核型组成上和江浙两地中华鳖完全一致,为 $2n = 66(4M + 8SM + 16T + 38m)$,臂比指数也未见明显差异($P > 0.05$)。台湾中华鳖与其它三个地区的中华鳖差别较大,其第1对T染色体(I_1)是6对大型染色体中最小的;而在南京中华鳖,第1对T染色体(I_1)大于第5对SM染色体(I_5);绍兴中华鳖和松江中华鳖则两者等大。另外,台湾鳖的第3对和第4对SM染色体(I_3, I_4)比其它三个地区的中华鳖都要大得多。此外还发现,自南至北,各地中华鳖染色体的绝对长度逐渐增大。台湾鳖的染色体最小,仅为 $0.2 \sim 4.0 \mu\text{m}$;绍兴鳖和松江鳖比较接近,分别为 $0.3 \sim 5.5 \mu\text{m}$ 和 $0.25 \sim 5.8 \mu\text{m}$;南京鳖的染色体最大,可达 $0.5 \sim 8.0 \mu\text{m}$ 。从研究结果来看,四个地区中华鳖的核型差异不明显,相对而言,台湾鳖与其它三个地区的中华鳖染色体差异较大,而松江鳖与绍兴鳖比较接近。因此,在亲缘关系上,可能台湾鳖与绍兴鳖、松江鳖、南京鳖相距较远,而后三者之间相距较近。

照片的拍摄和冲洗得到张敏和周平凡老师的大力相助,在此表示衷心感谢。吴萍同志现在苏州大学水产学院工作。

参 考 文 献

- 王蕊芳,饶定齐,王文等. 1998. 缘板鳖染色体组型. 动物学研究, 19(1):95~96
- 余先觉,周 瞰,李渝成等. 1989. 中国淡水鱼类染色体. 北京: 科学出版社. 7~26
- 林兆平,王正询,潘坤清. 1988. 山瑞鳖染色体组型. 动物学研究, 2:161~163
- 容寿柏,李新旺. 1984. 鳖的染色体组型. 动物学研究, 5(增刊):29~31
- 高健民,叶冰莹,丁汉波. 1986. 乌龟染色体组型的初步研究. 两栖爬行动物学报, 5(2):98~101
- 黄满盈,陆含华,刘银英等. 1990. 缅甸陆龟染色体组型的研究. 动物学杂志, 25(2):13~16
- 郭超文,聂刘旺,汪 鸣. 1995. 中国四种龟的细胞遗传研究. 遗传学报, 22(1):40~45
- 郭超文,汪 鸣,聂刘旺. 1998. 三种龟类动物的细胞遗传研究. 水生生物学报, 22(1):17~25
- Bickham J W. 1975. A cytosystematic study of turtles in the genera *Clemmys*, *Mauremys* and *Sacalia*. Herpetologica, 31

(2):198~204

- Bickham J W, Baker R J. 1976a. Chromosome homology and evolution of emydid turtles. *Chromosoma*, 54:201~219
- Bickham J W, Baker R J. 1976b. Karyotypes of some Neotropical turtles. *Copeia*, (4):703~708
- Bickham J W, Bjorndal K A, Haiduk M W, et al. 1980. The karyotype and chromosomal banding patterns of the green turtle (*Chelonia mydas*). *Copeia*, (3):540~543
- Bickham J W. 1981. Two-hundred-million-year-old chromosomes, Deceleration of the rate of karyotypic evolution in turtles. *Science*, 212:1291~1293
- Bull J J, Legler J M. 1980. Karyotypes of side-necked turtles (*Testudines; Pleurodira*). *Can J Zool*, 58:828~841
- Gorman G C. 1973. The chromosomes of the Reptilia, a cytotaxonomic interpretation. In: *Cytotaxonomy and vertebrate evolution*. Edited by A. B. Chiarelli and E. Capanna. Academic Press Inc, New York
- Levan A, Fredya K, Sanderg A A. 1964. Nomenclature for centrometic position on chromosomes. *Hereditas*, 52(2):201~220
- Sites J W, Bickham J W, Haiduk M W. 1979a. Derived X chromosome in the turtle genus *Staurotypus*. *Science*, 206:1410~1412
- Sites J W, Bickham J W, Haiduk M W, et al. 1979b. Banded karyotypes of six Taxa of kinosternid turtles. *Copeia*, (4):692~698

THE KARYOTYPES OF *TRIONYX SINENSIS* FROM THE TWO DIFFERENT AREAS

WU Ping, LOU Yun-Dong, LI Si-Fa
(Fisheries College, SFU, 200090)

ABSTRACT The karyotypes of *Trionyx sinensis* in Nanjing, Jiangsu and Shaoxing, Zhejiang have been studied in this paper. The results showed that the karyotypes of them were identical. It was $2n=66=4M+8SM+16T+38m$, $NF=78$, $6+8+19$ (karyotype formulas). It have been found that the absolute length and the relative length of them were different. The fifth SM chromosome is the smallest of the macrochromosomes in the turtle of Nanjing. While it was equal long with the first T chromosome in the turtle of Shaoxing. In addition, the arm ratios of them were different, but the difference was not significant ($P>0.05$). The karyotypes of *Trionyx sinensis* and Testudinidae have also been compared in the paper. It was discussed from the field of systemical evolution.

KEYWORDS *Trionyx sinensis*, karyotype, different areas