

·研究简报·

太平洋牡蛎染色体 G 带和 Ag-NORs 研究

Studies on G-bands and Ag-NORs of Pacific oyster, *Crassostrea gigas*

郑小东 王昭萍 王如才 张海滨

(青岛海洋大学水产学院, 青岛 266003)

Zheng Xiaodong Wang Zhaoping Wang Rucai Zhang Haibin

(Fisheries College, Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003)

关键词 太平洋牡蛎, G 带, Ag-NORs, 染色体组型

Key words *Crassostrea gigas*, G-bands, Ag-NORs, karyotype

牡蛎科的种类染色体大多为 20 条, 其中又以 M/SM 染色体居多, 仅从核型较难将它们区分, 应用显带技术能反映染色体的“解剖学”特征, 以提供更多的具鉴定性特征的信息^[1]。牡蛎是我国重要的养殖贝类之一, 目前尚无有关太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)带型研究的报道。本文对其 G 带和 Ag-NORs 带作了初步探索, 为种间比较、染色体鉴定以及基因定位等基础理论研究提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

所用材料是太平洋牡蛎 4~8 细胞期的胚胎。

1.2 染色体制片

采用常规的空气干燥法进行染色体制片。G 带采用胰酶法显带^[2], 用 5% 的 Giemsa 染色后镜检; 银染法主要参照 Howell 和 Black 的快速银染法并略加修改^[3]。其过程为: 将 50% 硝酸银溶液与 2% 明胶溶液 2:1 混合后, 立即滴加到染色体制片上并覆以盖片, 在 65℃ 的温箱内处理 10~20 min, 待玻片呈棕黄色时取出, 流水冲洗, 凉干后镜检。若染色体着色不够, 可用 2% Giemsa 复染 1~2 min 即可。

1.3 染色体显带分析

选择 7 个染色体分散良好、带型清楚的胚胎细胞, 进行拍照。结合形态, 根据带型分清每 1 对同源染色体。使之配对并按长度、着丝点位置等指标排列起来, 选择 1 张清晰而标准的相片, 作成 G 带核型图。根据相片分析和显微镜确定染色体带的数量、相对位置, 同时结合染色深浅、带纹宽窄等特征测绘出它们的模式图。



图 1 太平洋牡蛎 G 带核型

Fig. 1 G-band pattern in the karyotype of *C. gigas*

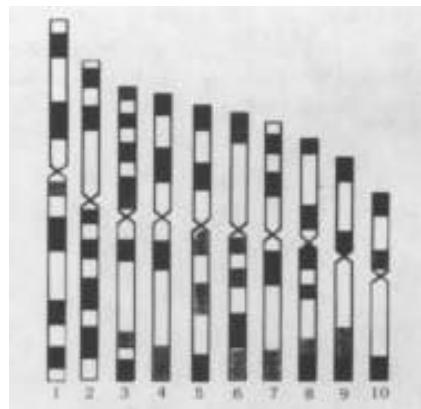


图 2 太平洋牡蛎 G 带模式图

Fig. 2 Idiogram of G-bands in *C. gigas*

2 结果

2.1 G 带

太平洋牡蛎胚胎中, 以处于细胞分裂中前期的

收稿日期: 1998-08-03

国家攀登计划 B 项目(专题编号: PD-B6-3-1)及国家高科技发展计划项目(863-819-01-01)资助

胚胎细胞的染色体带纹较为清晰(图 1)。根据染色体带纹的观察所做 G 带模式图(图 2), G 带分布情况见表 1。

表 1 太平洋牡蛎各染色体对中 G 带分布

Table 1 Distribution of G-bands in chromosomal pairs of *C. gigas*

染色体对数 chromosomal pair number	深带 black bands	灰带 grey bands	白带 white bands	总计 total
1	5	1	7	13
2	6	-	7	13
3	5	3	6	14
4	3	1	3	7
5	3	2	4	9
6	1	4	3	8
7	3	1	4	8
8	5	1	4	10
9	3	1	2	6
10	2	1	2	5
总计 total	36	15	42	93

2.2 Ag-NORs

经银染处理的牡蛎胚胎染色体的核仁组织呈深棕色或黑色,染色体呈棕黄色。NORs(箭头)在细胞间分布如表 2 所示。大多数细胞具有 2 个深染区,位于第 9 对染色体的长臂末端(图 3, 4)。

表 2 太平洋牡蛎胚胎细胞染色体的 Ag-NORs 数量

Table 2 Numbers of Ag-NORs in embryo cells of *C. gigas*

项目 item	Ag-NORs 数 numbers			
	1	2	3	4
细胞数 cell number	4	23	5	3
百分比/% percentage	11.4	65.7	14.3	8.6

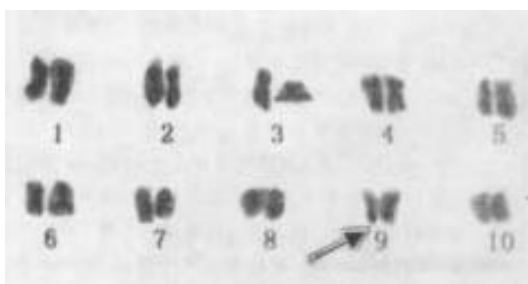


图 3 太平洋牡蛎胚胎细胞银染中期分裂相

Fig. 3 The silver-staining metaphase figure in the embryonic cells of *C. gigas* (Arrows show Ag-NORs)

3 讨论

本实验对太平洋牡蛎 G 带的分析表明,胚胎细胞前期分裂相的带纹较中期丰富,更便于作准确的带纹比较和分析。与陈瑞阳^[4]等通过显微分光光度计对川百合的第 1 对染色体扫描的结果相同,本文认为,在进行 G 带分析时,分裂前期是非常重要的时期。确定分裂期、制备较理想的染色

体片子对于显示良好的 G 带尤为重要。虽然细胞培养能获得发育同步的细胞系,可以得到较多具一致分裂期的分裂相,但在贝类中应用甚少,这也可能是导致 G 带研究远落后于人类和哺乳类的一个原因。但是, Rodriguez-Romero F^[3]以生殖腺细胞为材料对美洲牡蛎(*Crassostrea virginica*)进行了 G 带分析,王琼等^[5]对贻贝(*Mytilus edulis*)也作过 G 带研究,效果都较好。本实验通过胰酶法也得到 7 个较为理想的带纹照片,带纹的稳定性较好。

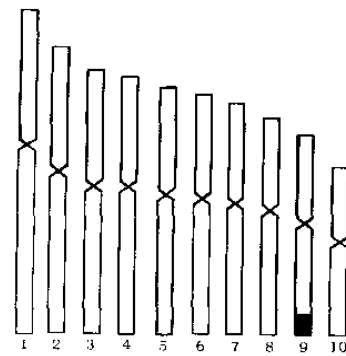


图 4 太平洋牡蛎 Ag-NORs 模式图

Fig. 4 Idiogram of Ag-NORs in *C. Gigas*

原位分子杂交实验证明, Ag-NORs 可以准确的显示 rDNA 的位置,银染是具有活性的或潜在活性的 NORs 的酸性蛋白成分,以显示具转录活性或潜在转录活性的染色质,失活的 NORs 不能被银染。动物 Ag-NORs 的一个重要特征是其多态性,包括数目、位置和形态。本研究表明,牡蛎的 NORs 在其数目和分布上具多态性,不同胚胎之间及同一胚胎的不同细胞之间都存在差异。NORs 数目多态性可能是 rDNA 转录活性差异的表现^[6],也有人提出“NORs 流动学说”,认为 NORs 可能在某些植物染色体的端部异染色质之间跳动,并指出这种跳动转位现象具有功能的和进化的意义^[1]。有关 Ag-NORs 多态性的原因有待于深入探讨。

参 考 文 献

- 1 李懋学,等. 植物染色体研究技术. 武汉: 湖北林业大学出版社, 1991
- 2 余先觉. 中国淡水鱼类染色体. 北京: 科学出版社, 1989. 145~147
- 3 Rodriguez-Romero F, et al. Distribution of "G" bands in the karyotype of *Crassostrea virginica*, Venus, 1979, 38(3): 180~184
- 4 陈瑞阳,等. 武汉植物学研究. 1986, 4: 111
- 5 王 琼, 董震亮. 贻贝(*Mytilus edulis*)核型及染色体带型分析. 动物学报, 1994, 40(3): 309~315
- 6 喻子牛,等. 真鲷 *Pagrosomus major* 和黑鲷 *Sparus macrocephalus* 的核型及 Ag-NOR 带研究. 青岛海洋大学学报, 1993, 23(3): 107~114