

细螯沼虾染色体的研究^{*}

邱 高 峰

(上海水产大学, 200090)

摘 要 以精巢为材料, 研究了细螯沼虾有丝分裂染色体及减数分裂二价体组型。细螯沼虾染色体数目 $2n=100$, $n=50$; 有丝分裂中期染色体小, 呈点状, 无法进行核型分析; 减数分裂双线期二价体呈棒状, 着丝点清晰, 染色体总臂数 $NF=172$, 核型公式为 $N=30M+6SM+14ST, T$ 。此外, 本文还对沼虾属的核型演化关系进行了初步探讨。

关键词 细螯沼虾, 染色体, 二价体, 核型

十足类甲壳动物染色体的研究开展得较早, 但进展却相当缓慢。十九世纪末, Carnoy 首次报道了褐虾 (*Crangon cataphractus*) 和滨蟹 (*Carcinus manus*) 的染色体^[10], 但对于近一万种的十足类来说, 迄今为止已研究过的种类仅约 70 多种, 26 个科, 占总数的 0.7% 左右。国内于本世纪八十年代才开始十足类细胞遗传学的研究, 堵南山等发表了以空气干燥法考察中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 染色体数目的第一篇论文^[7], 截至 1994 年, 共报道了 7 种十足类染色体^[1-5, 7, 8]。细螯沼虾 (*Macrobrachium superbum*) 在我国分布广泛, 长江中下游以南各省均很常见, 常混杂在日本沼虾 (*Macrobrachium nipponense*) 群体中被捕获, 是肺吸虫的第二中间宿主, 有关染色体的研究在国内外均不见报道。本文对其有丝分裂染色体和减数分裂二价体组型进行研究, 无疑对于医学防治和进一步研究沼虾属的核型分类或核型演化关系具有重要意义。

1 材料与方法

实验用虾采自江苏省吴县东太湖。选取活力强, 不同性成熟度的雄性个体, 从虾体腹部 1—2 节侧甲缝中注射 2mg/ml 浓度的秋水仙素水溶液^[5], 或不经秋水仙素预处理。注射过秋水仙素的虾放在水族箱中, 充氧培养 4—6 小时, 水温保持在 27℃。随后解剖取出精巢, 剪成小块后, 置于装有低渗液 (0.075M 的 KCl 溶液) 的小烧杯中, 于 37℃ 水浴低渗 30 分钟, 弃去低渗液, 加入预冷的固定液 (乙醇: 冰醋酸 = 3:1), 于 4℃ 冰箱中固定 1 小时或更长, 中途更换新鲜固定液 2 次。制片时, 用眼科镊子取出精巢小块, 置于洁净的载玻片上, 滴上固定液 1—2 滴, 用镊子、解剖针将材料捣碎, 然后在酒精灯火焰上微烤、干燥, 以 10% Giemsa 染

收稿日期: 1995-07-31。

^{*}本研究实验虾分类鉴定承蒙业师堵南山教授热情指导下完成的, 谨致谢忱!

液(pH7.2 磷酸缓冲液配制)染色 30 分钟,用蒸馏水洗去多余染液,空气中自然干燥。中性树胶封片,于光镜下镜检观察,选择染色体分散好的分裂相,统计染色体数目,并进行显微摄影。照片放大后,进行染色体测量和核型分析。

2 结果

2.1 染色体数目统计 镜检了 12 只虾,共 123 个细胞分裂相,其中精原细胞有丝分裂中期相 25 个,初级精母细胞减数分裂相 98 个。统计结果如表 1 和表 2,精原细胞染色体数目为 100 的细胞数占总数的 52%,初级精母细胞二价体数目为 50 的细胞数占总数的 66%,因此可以确定细螯沼虾染色体数目 $2n=100$, $n=50$ 。

表 1 细螯沼虾精原细胞染色体数的出现频率

Table 1 Frequency of chromosomal number of spermatogonium in *M. superbum*

染色体数 Chromosomal number	95	96	98	99	100	101	102	总计 Total
频率(次) Frequency	1	2	1	3	13	1	4	25
百分比(%) Percentage	4	8	4	2	52	4	16	100

表 2 细螯沼虾初级精母细胞“二价体”数的出现频率

Table 2 Frequency of bivalent number of primary spermatocyte *M. superbum*

二价体数 Bivalent number	45	46	47	48	49	50	51	52	总计 Total
频率(次) Frequency	2	3	2	3	12	66	9	1	98
百分比(%) Percentage	2.0	3.1	2.0	3.1	12.0	67.0	9.1	1.2	100

2.2 核型分析 与其它十足类动物一样,细螯沼虾有丝分裂中期染色体呈点状(图版 I:1),着丝点分辨不出,难以进行核型分析。减数分裂双线期二价体呈棒状,着丝点清晰(图版 I:2),故可依 Levan 等的染色体分类标准进行核型分析^[11],结果如表 3 和图版 I:3,共分为 A、B、C 三个染色体组,染色体总臂数 $NF=172$,核型公式为 $N=30M+6SM+14ST$,T,未见有具随体及异形性的染色体。

A 组(1~30)共 30 条二价体,全部为中部着丝点染色体。第 1 号二价体最长,第 2 号二价体次之,但臂率显著较高,达 1.62,接近于亚中部着丝点染色体,故两者易被鉴别。第 3~14 号及第 15~21 号、第 22~25 号及第 26~28 号二价体的相对长度相近,除第 9、14 号二价体的臂率较高外,其余二价体形态特征相仿;第 29、30 号二价体较短小,在本组中显而易见。

表 3 细螯沼虾减数分裂双线期二价体的测量值

Table 3 The measurements of bivalent at meiotic diplotene in *Macrobrachium superbum*

组 别	编号	相对长度(%)	臂 率	类型	组 别	编号	相对长度(%)	臂 率	类型
Group	No.	Relative length	Arm ratio	Type	Group	No.	Relative length	Arm ratio	Type
A	1	28.3±2.41	1.34±0.22	M	B	31	21.8±1.89	1.89±0.44	SM
	2	26.7±1.79	1.62±0.43			32	21.5±1.03	2.88±0.32	
	3	25.8±0.88	1.15±0.56			33	20.0±1.74	2.90±0.29	
	4	25.7±1.42	1.08±0.11			34	17.3±0.71	1.85±0.13	
	5	25.7±1.10	1.12±0.21			35	15.4±1.80	2.78±0.21	
	6	25.6±0.70	1.27±0.24			36	10.3±0.74	1.76±0.12	
	7	25.5±0.96	1.04±0.17		37	25.8±1.07	ST, T		
	8	25.4±0.64	1.05±0.24		38	25.5±0.98			
	9	25.3±0.32	1.45±0.33		39	22.1±1.10			
	10	25.2±0.81	1.29±0.21		40	21.8±0.84			
	11	24.1±1.10	1.37±0.59		41	21.6±0.61			
	12	23.8±0.79	1.16±0.27		42	19.6±0.75			
	13	23.5±0.43	1.21±0.05		43	19.3±0.40			
	14	23.2±0.31	1.43±0.29		44	18.9±0.23			
	15	21.9±0.92	1.06±0.18		45	17.8±0.27			
	16	21.5±2.01	1.17±0.51		46	17.3±0.25			
	17	20.0±1.33	1.32±0.09		47	17.1±0.31			
	18	19.8±0.79	1.12±0.10		48	16.9±0.33			
	19	19.7±0.83	1.40±0.08		49	16.0±0.43			
	20	19.6±0.77	1.14±0.17		50	11.5±0.17			
	21	19.5±0.58	1.21±0.33						
	22	17.3±0.68	1.19±0.12						
	23	17.0±0.16	1.22±0.24						
	24	16.7±0.23	1.14±0.51						
	25	16.5±1.10	1.26±0.20						
	26	13.7±0.77	1.09±0.32						
	27	13.6±0.50	1.13±0.19						
	28	13.3±0.51	1.06±0.07						
	29	11.8±0.29	1.08±0.04						
	30	11.4±0.20	1.02±0.04						

B组(31—36)包括6条二价体,为亚中部着丝点染色体,第32、33和35号二价体臂率高,接近亚端部着丝点染色体,故易于与本组其它二价体区别;除第36号二价体相对长度最短外,本组其余邻近二价体相对长度差别不显著。

C组(37—50)包括14条二价体,为端部或亚端部着丝点染色体,着丝粒是位于端部还是亚端部难以确认,故均归类为一组,依相对长度大小顺序排列,其中第44、45号二价体中部膨大,为同源染色体交叉部位。

3 讨论

3.1 十足类甲壳动物染色体标本制作

以精巢为材料,制作十足类动物染色体标本,不仅可获得精原细胞有丝分裂中期相,还可获得初级精母细胞减数分裂前期Ⅰ时相,这对于确定十足类庞大的染色体数目具有重要意义,因为通过比较 $2n$ 和 n 的染色体数目,可以精确地确定染色体数,不致由于统计上错误造成误差。尽管十足类动物有丝分裂中期染色体呈点状,难以用于核型分析,但减数分裂双线期二价体呈棒状,着丝点清晰可辨,用于核型分析是可行的,具有很大的优越性与实用性^[3],本研究再次证明了这一点。问题在于要获得质量高的双线期二价体标本,尚有一定难度,因为并不是每一个实验个体的精巢其减数分裂都停留在双线期,通过注射秋水仙素只

能使减数分裂大多停留在中期或终变期,因此,只有选择不同性成熟度的许多个体进行染色体标本制作。

3.2 沼虾属的核型研究与系统分类

表 4 沼虾属虾类染色体研究概况

Table 4 A survey of chromosomal studies on the prawns in the genus *Macrobrachium*

种 名 Species	染色体数目 Chromosomal number		染色体臂数 Fundamental number	研究材料 Material	研究者 Researcher
	2n	n			
<i>M. silvaticus</i>	100	50	200	精巢	Mittal 等(1971)
<i>M. superbum</i>	100	50	172	精巢	邱高峰(本文)
<i>M. formosense</i>	102		182	精巢,再生肢芽	驹形伸之等(1989)
<i>M. nipponense</i>	104	52	184	精巢,再生肢芽	驹形伸之等(1989)
	104	52	178	精巢	邱高峰(1994)
<i>M. japonicus</i>	114		154	精巢,卵巢	驹形伸之等(1989)
<i>M. rosenbergii</i>	118	59	158	精巢,再生肢芽	驹形伸之等(1989)
	114, 115			中肠腺	Malecha (1979)
	118	59	198	精巢	邱高峰(1996)

迄今为止,在沼虾属已报道过染色体的种类有 5 种(表 4),但只有日本沼虾(*M. nipponense*)核型进行过较详细分析^[3],其它种类的核型及染色体臂数仅是简单描述和大致估算。从表 4 可知,即使是亲缘关系很近的同一属种类之间,在染色体数目、臂数等方面均有明显区别。与对虾类相比,沼虾属种类的染色体数目变化范围较大,为 100—118,6 种沼虾的染色体数目(2n)竟有 5 种之多,因此可通过染色体数目区分不同分类群。例如,细螯沼虾与日本沼虾常生活在同一水域,常混杂在一起被捕获,且在外观上两者极易混淆,谈奇坤等提出利用虾类第二性征作为种的鉴定依据^[6]。本研究表明,细螯沼虾染色体数 2n=100,而日本沼虾染色体数 2n=104,故两者染色体数目的差异亦可作为种类鉴定依据。

3.3 沼虾属的核型演化

如表 4 所示,细螯沼虾与台湾沼虾(*M. formosense*)和日本沼虾(*M. nipponense*)的染色体数目相近,仅相差 1~2 对染色体,故它们之间亲缘关系较近,而与罗氏沼虾(*M. rosenbergii*)和和沼虾(*M. japonicus*)的染色体数目相差较大,说明亲缘关系较远。Murofushi 等在亚洲第二届水产大会上提出十足类染色体倍数进化的观点^[14],染色体数目较少的为原始类型,2n=100 可能为沼虾属中原始的核型。细螯沼虾与(*M. silvaticus*)的染色体数目相同,但染色体臂数存在差异,可能是染色体结构重排的结果,而其它不同种类染色体数目存在的较大差异,则是在核型演化中染色体的罗伯逊易位(Robertson translocation)造成的。

参 考 文 献

- [1] 孔凡骏,张东,1993.斑节对虾的染色体组型分析.水产学报,17(1):83-84.
- [2] 周令华,相建海,刘瑞玉,余德恭,1993.三种对虾精巢有丝分裂和减数分裂染色体的研究,甲壳动物学论文集(第三辑),190-195.青岛海洋大学出版社.
- [3] 邱高峰,堵南山,赖伟,1994.日本沼虾染色体及其核型的研究.海洋与湖沼,25(5):493-498.

- [4] 邱高峰, 1996. 罗氏沼虾核型及长臂虾亚科核型演化关系的探讨. 水产学报, 20 (4): 294 - 300.
- [5] 相建海, 1988. 中国对虾染色体的研究. 海洋与湖沼, 9 (3): 205 - 209.
- [6] 谈奇坤, 董秀英, 蒋玉玲, 1984. 长江中下游地区四种习见淡水虾第二性征研究. 安徽师大学报(自然科学版), (1): 39 - 44.
- [7] 堵南山, 赖伟, 薛鲁征, 1986. 中华绒螯蟹染色体的研究. 动物学研究, 7 (3): 293 - 296.
- [8] 戴继勋, 张全启, 包振民, 1989. 中国对虾的核型研究. 青岛海洋大学学报, 19 (4): 99 - 104.
- [9] 驹形伸之, 铃木淳志, 漆户登宇世, 近藤典生, 1989. テナガエビ科 2 属 6 種の染色体数. 日本甲壳类学会ニエース, 12, 5.
- [10] Carnoy, J. B. 1885. La cytolodierese chez les arthropodes. La Cellule, 1: 189 - 140.
- [11] Levan, A. et al. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 52: 201 - 220.
- [12] Malecha, S. R. 1977. Genetics and selective breeding. In: J. A. Hanson and H. L. Goodwin (Editors), Shrimp and Prawn Farming in the Western Hemisphere. pp. 328 - 334, Dowden, Hutchinson and Ross, Pennsylvania, PA.
- [13] Mittal, O. P. and Dhall, U. 1971. Chromosome studies in three species of freshwater decapods (Crustacea). Cytologia, 36: 633 - 638.
- [14] Murofushi, M. and Deguchi, Y. 1990. Karyotype evolution in Decapoda, Crustacea. In: R. Hirano and I. Hanyu (Editors), Proc. Second Asian Fisheries Forum. pp. 549 - 553. Asian Fisheries Society, Tokyo, Japan.

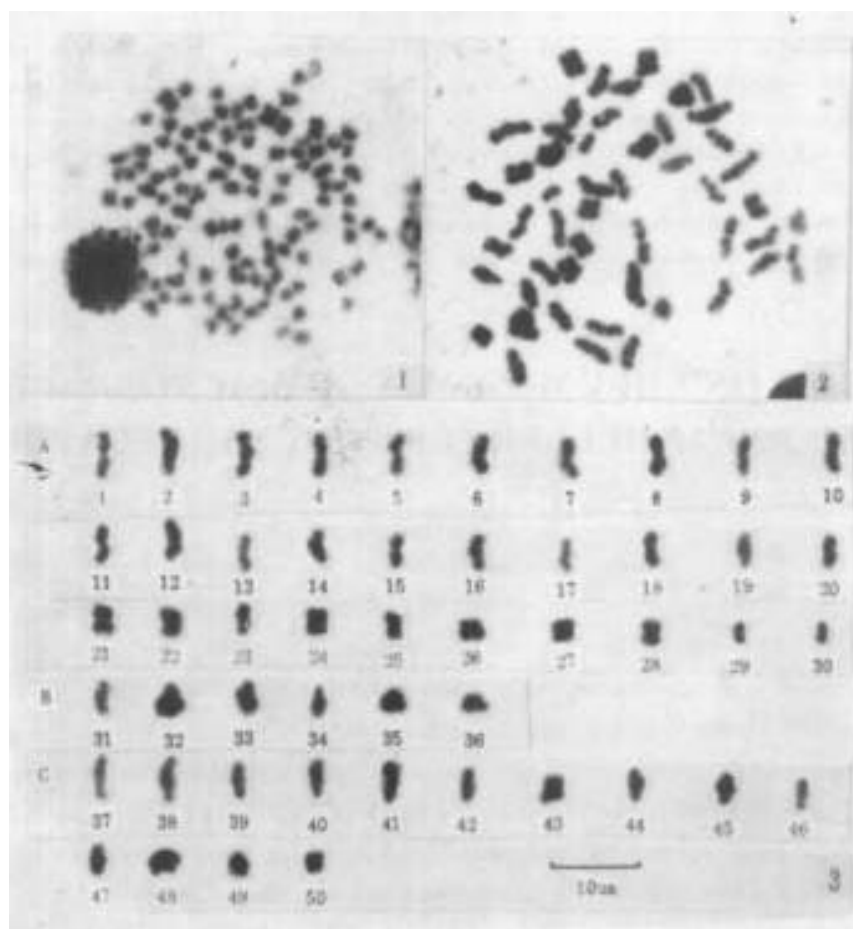
STUDIES ON CHROMOSOMES OF *MACROBRACHIUM SUPERBUM* HELLER (CRUSTACEA, DECAPODA)

Qiu Gaofeng

(Fisheries College, Shanghai Fisheries University, 200090)

ABSTRACT The mitotic chromosomes and karyotype of meiotic bivalents in the prawn, *Macrobrachium superbum* Heller, were studied with preparations of testis. The specimens were collected from the East Tai Lake, Jiangshu province, China. Both of mitotic and meiotic divisions were found in chromosomes. 123 mitotic and meiotic chromosomes were observed in 12 prawns. The diploid and haploid chromosome numbers are 100 and 50, respectively. All the mitotic chromosomes are dot-shaped, which makes it impossible to analyse karyotype from mitotic chromosome metaphase. The bivalents at meiotic diplotene are rod-shaped. Centromeres position could be identified easily on the bivalents. According to the relative length and arm ratios, the haploid set of chromosomes was divided into 3 genomes. The fundamental number of chromosomal arms (NF) was found to be 172. The chromosome formula was $N = 30M + 6SM + 14ST$. The phylogenetic relationships among the genus *Macrobrachium* were preliminarily discussed as well.

KEYWORDS *Macrobrachium superbum*, Chromosome, Bivalent, Karyotype



图版 I Plate I

1. 细螯沼虾有丝分裂中期染色体, 1000 ×
Mitotic metaphase chromosomes of *M. superbum*, 1000 ×
2. 细螯沼虾减数分裂双线期二价体, 1000 ×
Bivalents at meiotic diplotene of *M. superbum*, 1000 ×
3. 细螯沼虾减数分裂双线期核型
Karyotype from meiotic diplotene of *M. superbum*