

鲢染色体图象电脑自动核型分析*

姚红 张四明 曾勇

(中国水产科学研究院长江水产研究所, 沙市 434000)

摘要 应用 IBAS—2000 图象分析系统对鲢(*Hypophthalmichthys molitrix*)染色体进行自动核型分析, 获得比较准确的鲢染色体相对长度、臂比、着丝点指数数据和核型标准图象信息。染色体组型 $2n=48$, 核型公式 $18m+22sm+8st$, 总臂数(NF)为 88。与常规方法比较, 该方法重现性好, 准确性高, 速度快, 图形和数据能永久保存, 便于建立鱼类染色体标准图形信息库。

关键词 鲢, 染色体, 图象分析系统, 核型分析

生物染色体图象电脑分析, 在国外早期的研究多集中于分析人类染色体, 根据染色体长度、臂比等参数进行染色体核型分析。1986 年, Zimmerman 等^[7]用图象分析系统对人类 G 带染色体进行了自动分析。1989 年, Piper 等^[6]报道了老鼠染色体自动核型分析结果。

染色体电脑图象分析在我国尚属起步阶段, 江苏省农科院遗传生理研究所 1986 年开始进行植物染色体的电脑图象分析^{**}。同年, 南开大学生物系张丰德报道了人类染色体自动分析方法。迄今, 有关鱼类染色体图象电脑分析尚未见报道。我们自 1991 年起应用 IBAS—2000 型图象分析系统开始了这方面的工作, 旨在促进鱼类染色体研究, 建立我国经济鱼类染色体标准图形数据信息库。

材 料 与 方 法

(一) 染色体制片

选用鲢尾鳍组织细胞培养的第 41 代细胞为材料, 采用常规染色体制片方法制片; 或用 OPTON 万能显微镜选取有代表性的完整的中期分裂相染色体拍成照片。

(二) 染色体图象自动分析

采用西德产 KONTRON IBAS—2000 型图象分析系统对鲢染色体进行自动核型分析, 方法包括染色体前处理和染色体特征参数测量、计算、配对、分类两大步骤。首先将染色体中期玻片置于显微镜下, 自动或手动寻找具有代表性的完整中期分裂相。然后在

收稿日期: 1994—01—20。

* 淡水鱼类种质资源与生物技术国家重点实验室开放研究课题 90—3 的部分内容。

** 吕玉琦等, 1988 年。植物染色体分带图象的计算机自动分析。染色体电脑图象分析。江苏省农科院遗传生理研究所研究报告, 8—15。

100×油镜下通过电视摄像机摄取作为原始染色体图象,或直接将完好的染色体照片放在宏观器(拷贝台)上,通过摄像机摄取作为原始图象。此原始染色体图象通过图象分析系统进行模数(A/D)转换成数字图象信号存入系统内,再进行自动分析,分析流程见图 1。

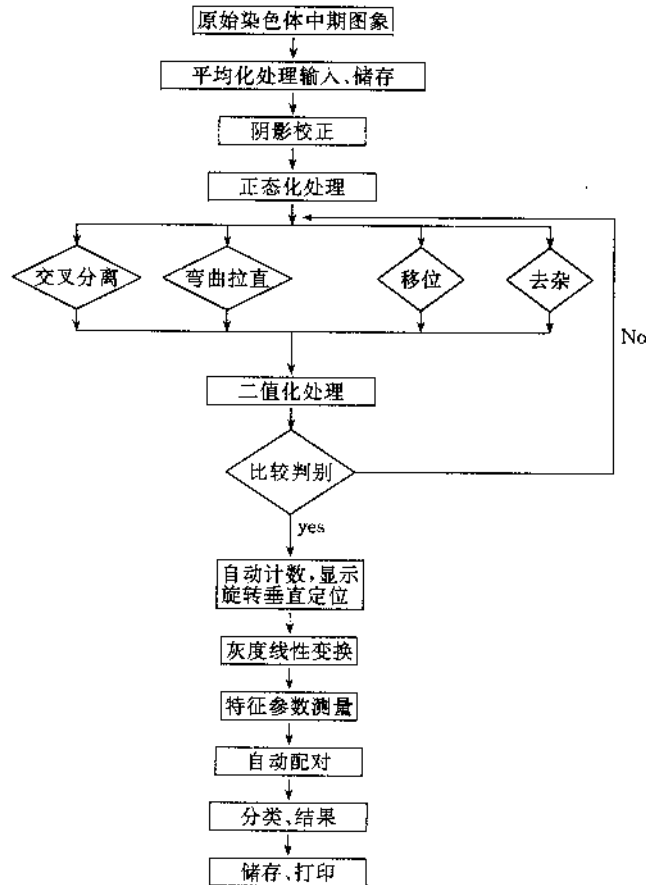


图 1 鲢染色体核型分析流程图

Fig. 1 Flow chart for automated karyotyping fish chromosomes

结 果

(一) 染色体图象前处理结果

图 2 表示电视摄像机对同一中期相摄取 10 个原始图象进行模数转换平均化处理的数字化图象,该图象具有 512×512 个几何象素点、256 个灰度等级。因光照不均,图象摄入设备的像差及制样的不均一染色等原因,导致波动和噪声,使图象灰度产生偏差。通过对图象进行阴影校正和正态化处理,灰度线性化为 0~255,图象背景反差增强,清晰度提高(图 3—4)。

染色体相互重叠、弯曲是制片过程中难以避免的现象,而核型分析首先必须提供准确的单个染色体信息,对图 4 中的信息,进行分割剪辑处理,背景的杂物被消除,交叉重叠的

染色体被分离,弯曲的被拉直,相连的被移位分开(图 5—8)。整个过程在极短时间里一次完成。



图 2 鲢染色体数字化图象
Fig. 2 Digitized original image



图 3 阴影校正处理后鲢染色体图象
Fig. 3 Chromosome image after shading correction



图 4 正态化处理结果图象
Fig. 4 Image after normalization
of grey-value



图 5 除去背景杂物后的图象
Fig. 5 Image after erasing miscellany



图 6 重叠染色体分离结果图象
Fig. 6 Image after separating touching chromosomes



图 7 弯曲染色体拉直处理结果图象
Fig. 7 Image after straightening chromosomes

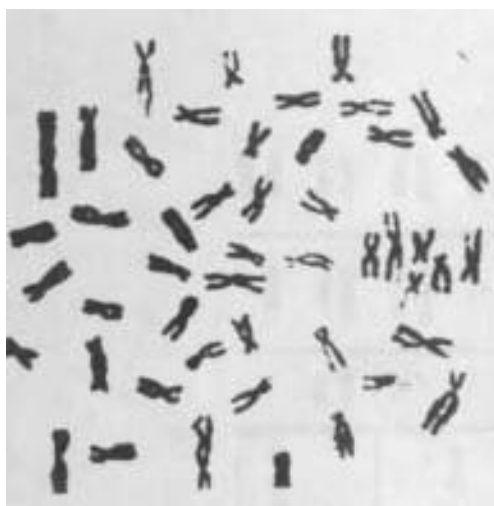


图 8 鲢染色体移位处理结果
Fig. 8 Image after moving

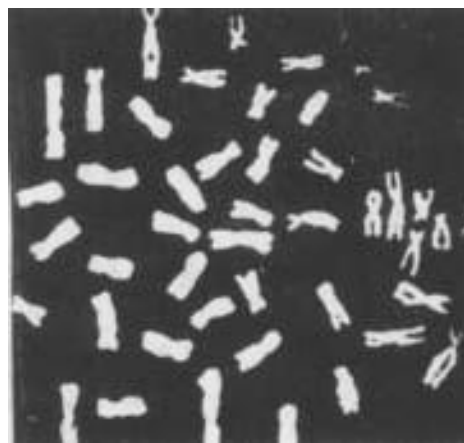


图 9 鲢染色体二值化图象
Fig. 9 Binary image

图 9 为鲢染色体的二值化图象,背景灰度值为 0,目标染色体灰度值为 255。图象信息自动计数,结果为 48 条,并自动从长至短旋转成垂直定位排列(图 10)。单个染色体灰度

区的灰度的归一化处理,使每条染色体的灰度分布线性变换为统一的灰度区即 0~255,消除了灰度分布的不一致,染色体着丝点清晰度提高(图 11),保证了测量参数的准确性。



图 10 鲢染色体旋转垂直定位排列结果
Fig. 10 Display of all chromosomes in vertical orientation, Sorted according to their length

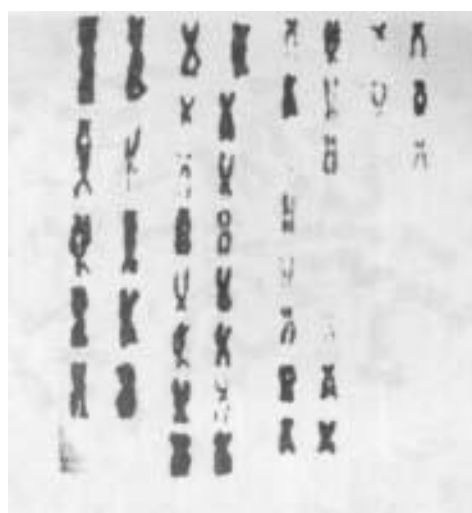


图 11 鲢染色体灰度线性变换结果
Fig. 11 Grey level normalization of chromosomes

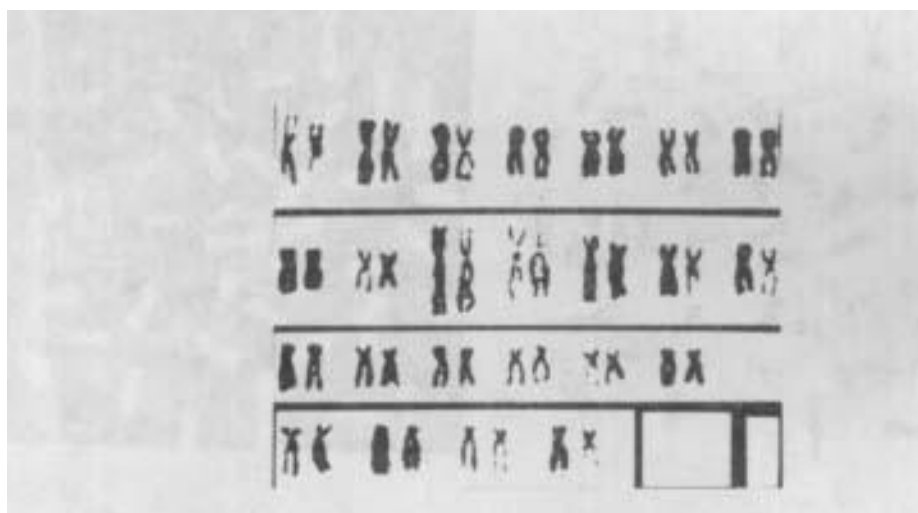


图 12 鲢染色体自动分析核型图
Fig. 12 Final karyogram of silver carp

(二) 鲢染色体特征参数测量及核型分析结果

以原始染色体图象中最长染色体长度为 100% 自动测量并计算出染色体相对长度、

着丝点指数、臂长、臂比。比较各条染色体长度、着丝点指数或臂比特征值。特征最相似的被配成一对,按照 Levan 分类标准,得到染色体核型分析图(图 12)。染色体被分成 A、B、C 三组(表 1),染色体数(2n)为 48,核型公式为 $18m+22sm+8st$,臂数(NF)为 88。该分析结果的数据和图象均可打印输出或存盘、录制保存。

表 1 鲢染色体核型分析参数表

Table 1 The parameters from automated karyotype analysis of silver carp

序号	全长	长臂	短臂	臂比	着丝点指数(%)	类型	
Order	TL	LM	SM	L/S	Centric index	type	
A组 Group A	1	76.0000	44.8400	31.1600	1.43902	41.0000	m
	2	70.0000	39.9000	30.1000	1.32558	43.0000	m
	3	69.0000	39.3300	29.6700	1.32553	43.0000	m
	4	68.0000	39.4400	28.5600	1.38095	42.0000	m
	5	66.0000	39.6000	26.4000	1.50000	40.0000	m
	6	63.0000	35.2800	27.7200	1.27273	44.0000	m
	7	56.0000	33.0400	22.9600	1.43902	41.0000	m
	8	54.0000	31.3200	22.6800	1.38095	42.0000	m
	9	54.0000	30.7800	23.2200	1.32558	43.0000	m
	10	54.0000	31.8600	22.1400	1.43902	41.0000	m
	11	53.0000	29.1500	23.8500	1.22222	45.0000	m
	12	51.0000	28.0500	22.9500	1.22222	45.0000	m
	13	49.0000	29.4000	19.6000	1.50000	40.0000	m
	14	47.0000	27.7300	19.2700	1.43902	41.0000	m
	15	45.0000	27.0000	18.0000	1.50000	40.0000	m
	16	45.0000	25.6500	19.3500	1.32558	43.0000	m
	17	41.0000	22.9600	18.0400	1.27273	44.0000	m
	18	41.0000	24.1900	16.8100	1.43902	41.0000	m
B组 Group B	1	100.0000	63.0000	37.0000	1.70270	37.0000	sm
	2	99.0000	62.3700	36.6300	1.70270	37.0000	sm
	3	88.0000	62.4800	25.5200	2.44828	29.0000	sm
	4	74.0000	52.5400	21.4600	2.44828	29.0000	sm
	5	72.0000	51.8400	20.1600	2.57143	28.0000	sm
	6	63.0000	45.9900	17.0100	2.70370	27.0000	sm
	7	59.0000	38.3500	20.6500	1.85714	35.0000	sm
	8	58.0000	38.2800	19.7200	1.94118	34.0000	sm
	9	55.0000	35.7500	19.2500	1.85714	35.0000	sm
	10	53.0000	37.6300	15.3700	2.44828	29.0000	sm
	11	52.0000	34.3200	17.6800	1.94118	34.0000	sm
	12	52.0000	36.9200	15.0800	2.44828	29.0000	sm
	13	49.0000	33.3200	15.6800	2.12500	32.0000	sm
	14	48.0000	32.6400	15.3600	2.12500	32.0000	sm
	15	48.0000	32.6400	15.3600	2.12500	32.0000	sm
	16	45.0000	30.1500	14.8500	2.03030	33.0000	sm
	17	44.0000	29.0400	14.9600	1.94118	34.0000	sm
	18	42.0000	28.1400	13.8600	2.03030	33.0000	sm
	19	41.0000	30.3400	10.6600	2.84615	26.0000	sm
	20	41.0000	30.3400	10.6600	2.84615	26.0000	sm
	21	40.0000	27.6000	12.4000	2.22581	31.0000	sm
	22	38.0000	26.2200	11.7800	2.22581	31.0000	sm
C组 Group C	1	60.0000	45.6000	14.4000	3.16667	24.0000	st
	2	58.0000	45.8200	12.1800	3.76190	21.0000	st
	3	57.0000	47.3100	9.69000	4.88235	17.0000	st
	4	55.0000	42.9000	12.1000	3.54545	22.0000	st
	5	54.0000	44.2800	9.72000	4.55556	18.0000	st
	6	53.0000	41.3400	11.6600	3.54545	22.0000	st
	7	51.0000	39.7800	11.2200	3.54545	22.0000	st
	8	51.0000	39.2700	11.7300	3.34783	23.0000	st

图 13 示出 48 条染色体全长对臂比三维频谱分布情况,臂比在 1.0~3.0 范围,峰值最多,且高峰值集中在此范围内,说明此范围染色体分布频率较大,即中部和亚中部着丝

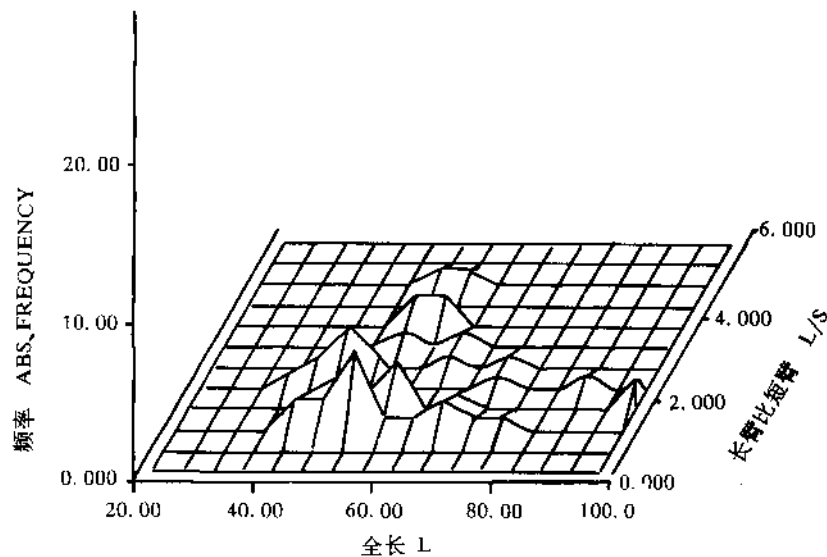


图 13. 鲢染色体全长对臂比三维频谱关系

Fig. 13 3—Drelationship among total length, arm ratio and distribution frequency of chromosomes of silver carp

点染色体所占比重较大;臂比大于 3.0 的峰值较少,且分布频率低,臂比 5.0 以上无峰值出现,说明亚端部着丝点染色体数量较少,端部着丝点染色体分布频率为零;从长度值分析,亚中部着丝点染色体长度变幅最大,最长与最短染色体均属亚中部着丝点染色体,中部着丝点染色体长度变幅为 40~80,而亚端部着丝点染色体长度变幅仅在 50~60 范围。

讨 论

本研究借鉴前人对医学生物学图象的研究结果,采用 IBAS—2000 图象分析系统对鱼类染色体进行自动核型分析,分析结果与余先觉^[3]采用常规方法分析结果一致。

关于鲢染色体组型,有不少研究者作过报道,结果各异^[1,2,5]。造成这种情况的原因,除了采用的制片方法不同外,更主要的是测量时存在人为的误差。因为核型分析的关键是准确地测定染色体的长度,精确地找出着丝点的位置。传统的测量方法是对显微放大照片的手工量度,要精确地测量各主要参数比较困难。用计算机图象分析技术对鱼类染色体进行分析,则有明显的优点。其一,基本消除了人为因素造成的误差,IBAS—2000 图象分析系统每幅图象采用 512×512 个几何象素点,256 个灰度等级,图象分辨率高,并由电脑自动测量分析,所获结果重现性好,准确性高,组型结果可靠。其二,速度快,其效率比人工分析快 100~150 倍*,且可以解决人工方法不能解决的问题,如交叉、弯曲的染色体分离、拉直等。因此,这一方法为促进鱼类染色体分析技术的发展开辟了新的途径:(1)使染色体的核型分析从一般光学显微镜下形态描述水平发展到用电脑进行科学的信息汇集与处理新阶段,使染色体遗传学的研究更加深入和科学化;(2)可以快速检测出不同种、变种及其

* 姚景侠、吕玉琦,1988。染色体电脑图象分析研究进展。染色体电脑图象分析。江苏省农科院遗传生理研究所研究报告,1—7。

突变体在遗传上的实质差异,为鱼类育种和水产生物工程提供可靠依据。

参 考 文 献

- [1] 长江水产研究所、武汉大学生物系,1975。几种经济鱼类及其杂种染色体的初步研究。淡水渔业,(2):11—13。
- [2] 刘凌云,1981。鲢鱼染色体组型的分析。遗传学报,8(3):251—255。
- [3] 余先觉,1989。中国淡水鱼类染色体。科学出版社。
- [4] 张丰德等,1986。染色体核型分析的扫描显微分光光度法。遗传,8(6):39—41。
- [5] 管瑞光、宋峥,1980。鲤、鲫、鲢、鳙染色体组型的分析比较。遗传学报,7(1):72—77。
- [6] Piper, J. and G. Breckon. 1989. An automated system for karyotyping mouse chromosomes. Cytogenet Cell Genet, (50): 111—115.
- [7] Zimmerman, S. O. and D. A., Johnston. 1986. Automated homologue matching of human G-banded chromosomes. Comput. Biol. Med., (16):223—233.

AUTOMATED KARYOTYPE ANALYSIS OF SILVER CARP CHROMOSOMES WITH IBAS—2000 IMAGE ANALYSIS SYSTEM

Yao Hong Zhang Siming Zeng Yong

(Yangtze River Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shashi 434000)

ABSTRACT Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) chromosomes were analysed with IBAS—2000 image analysis system, and more accurate data of relative length, arm ratio, centric index and karyogram were obtained. There is a diploid chromosome number of 48 in silver carp, the karyotype which consists of 9 pairs of median, 11 pairs of submedian and 4 pairs of subterminal centric chromosomes with a total number of chromosome arms amounts to 88. In comparison with the conventional methods, this one is highspeed and more accurate, and the data and karyogram obtained can be stored permanently so as to establish a data base of chromosomes in fish.

KEYWORDS Silver carp, Chromosome, Image analysis system, Karyotype analysis