

福建大头蛙的核型及带型分析

彭巧玲 王洋 许竟成 唐鑫生 张际峰 季代丽 胡丽丽 聂刘旺*

(安徽师范大学生命科学学院 芜湖 241000)

摘要:利用骨髓细胞蒸气固定法制备染色体标本,研究了福建大头蛙(*Limnonectes fujianensis*)黄山居群的核型、C-带和 Ag-NORs。结果表明,福建大头蛙核型为 $2n = 22 = 20M + 2SM$, $NF = 44$, 次缢痕位于 No.10q; 各染色体均有着丝粒 C-带, 3p、9q 出现插入型 C-带; Ag-NORs 位于 10q。

关键词:福建大头蛙; 大头蛙; 核型; C-带; Ag-NORs

中图分类号: Q953 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2005)03-77-04

Karyotype, C-band and Ag-NORs of *Limnonectes fujianensis*

PENG Qiao-Ling WANG Yang XU Jing-Cheng TANG Xin-Sheng ZHANG Ji-Feng

JI Dai-Li HU Li-Li NIE Liu-Wang

(College of Life Science, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China)

Abstract: The chromosome samples were prepared from metaphase marrow cells from *Limnonectes fujianensis* which distributes in Yellow Mountain by stream-fixation method. Then the karyotype, C-band and Ag-NORs of *L. fujianensis* were studied. The chromosome number of *L. fujianensis* is $2n = 22(20M + 2SM)$. All the chromosomes are metacentric or submetacentric ($NF = 44$), and the secondary-construction (SC) chromosome is No. 10. Each chromosome has a centromeric C-band, and there are inserted C-bands in both the short arm of No. 3 chromosome and the long arm of No. 9 chromosome. Ag-NORs are localized in the long arms of the No. 10 pair.

Key words: *Limnonectes fujianensis*; *L. kuhlii*; Karyotype; C-band; Ag-NORs

大头蛙 (*Rana kuhlii*) 广泛分布于我国长江以南诸省: 广州、福建、云南、浙江、江西、湖南、安徽、台湾等, 国外则分布在东南亚一带^[1]。关于大头蛙的分类地位, 刘承钊与胡淑琴将其归为蛙属大头蛙群; 后来, Dubois、费梁等将其上升为大头蛙属 (*Limnonectes*)^[2]。另外, 鉴于外部形态上的差异, 叶昌媛、费梁等^[3]认为中国大陆的大头蛙有两个种——大头蛙 (*Limnonectes kuhlii*) 和福建大头蛙 (*L. fujianensis* sp. nov.)。福建大头蛙在我国主要分布在福建、湖南、浙江、江西、安徽、广东、台湾等地, 大头蛙主要分布在云南、广西。

关于大头蛙的核型研究, 李树深^[4]及寇治通等^[8]曾对我国大头蛙云南勐腊居群的核型进行了研究。而有关大陆福建大头蛙的细胞遗传

学研究尚未见报道。本文研究了福建大头蛙黄山居群的核型、C-带和 Ag-NORs, 并将其与大头蛙的核型及带型^[4]进行了比较分析, 以期为大头蛙的分类问题提供细胞学依据。

1 材料与方法

1.1 材料 实验所用 10 只福建大头蛙 (4♀, 6♂) 于 2003 年 8 月采自安徽黄山。

基金项目 安徽省教育厅自然科学基金重点项目 (No. 2002kj128) 安徽省自然科学基金 (No. 01043202);

* 通讯作者, E-mail: lwnie@mail.ahnu.edu.cn;

第一作者介绍 彭巧玲, 女, 硕士研究生, 研究方向: 动物分子细胞遗传, E-mail: pql8988@etang.com

收稿日期 2004-08-10, 修回日期 2005-03-17

1.2 方法 染色体制片采用骨髓细胞蒸汽固定法。先按 0.1ml/g 体重活体腹腔注射 PHA 24 ~ 48 h 后,按 30 μg/g 体重剂量注射秋水仙素 4 ~ 5 h 后处死,取其胫、股骨,滴片、低渗、固定、染色后观察。选择 10 个分散形态好的中期分裂相进行拍照、放大、测量并计算出染色体的相对长度和臂比值。

C-带方法参照 Sumner 的 BSG 法^[5]并改进。取片龄 1~7 d 染色体分散良好的标本 0.2 mol/L HCl 室温处理 30 min 5% Ba(OH)₂ 饱和溶液 60°C 处理 2~3 min 2 × SSC 溶液中 60°C 温育 1 h。5% Giemsa 染色 15~20 min。

Ag-NORs 染色法参照 Howell 等的一步染色法^[6]并改进。将 50% AgNO₃ 溶液与 2% 明胶以

2:1 混合后,立即加到染色体标本上,盖上盖片。置于 65°C 温箱内染色 10~15 min 后,取出,流水冲去盖片,干燥后镜检。

染色体类型按 Levan 等的标准判定^[7]。

2 结果

2.1 核型分析结果 福建大头蛙黄山居群体细胞核型为 2n = 22 = 20M + 2SM, NF = 44。No. 3 为 SM 染色体,其余诸对均为 M 染色体(表 1, 图 1)。次缢痕位于 No. 10q(图 1)。各染色体的着丝粒区域均显示 C-带正染,在 No. 3p、No. 9q 均出现一条插入型 C-带(图 2)。Ag-NORs 一对,位于 No. 10q,与次缢痕位置相一致(图 3)。未发现与性别相关的异型染色体。

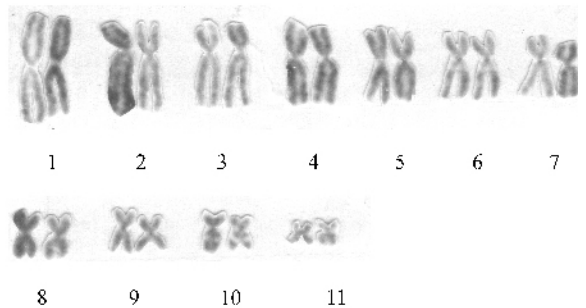
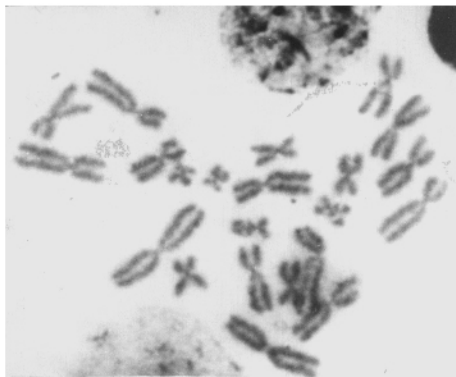


图 1 福建大头蛙黄山居群的核型

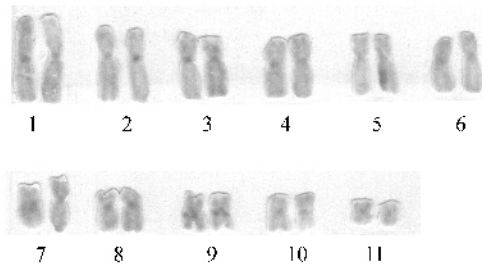
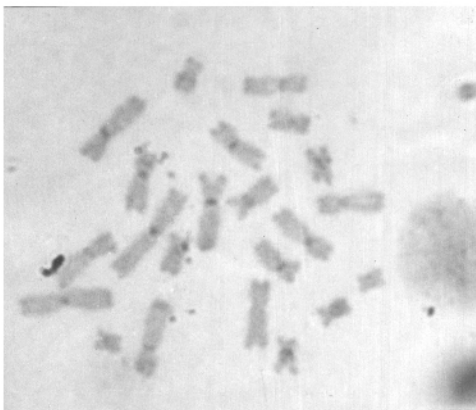


图 2 福建大头蛙黄山居群的 C-带带型

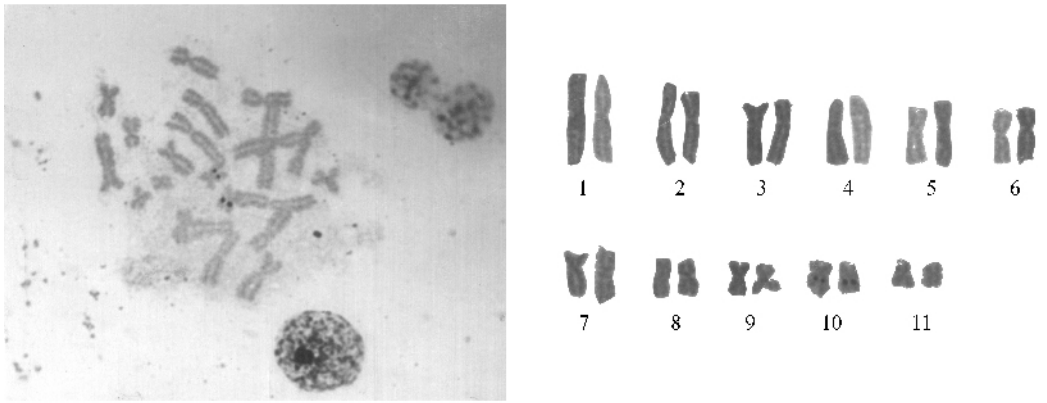


图 3 福建大头蛙黄山居群的 Ag-NORs

表 1 两种大头蛙的核型数据

No	福建大头蛙			大头蛙*		
	相对长度	臂比值	染色体类型	相对长度	臂比值	染色体类型
1	14.67 ± 0.69	1.16 ± 0.05	M	15.36 ± 0.35	1.12 ± 0.03	M
2	12.65 ± 0.45	1.50 ± 0.04	M	12.83 ± 0.12	1.46 ± 0.06	M
3	11.42 ± 0.42	1.83 ± 0.12	SM	11.50 ± 0.17	1.67 ± 0.08	M
4	10.46 ± 0.45	1.41 ± 0.09	M	9.94 ± 0.12	1.38 ± 0.06	M
5	9.60 ± 0.27	1.25 ± 0.07	M	9.65 ± 0.10	1.41 ± 0.05	M
6	9.03 ± 0.25	1.36 ± 0.09	M	9.00 ± 0.13	1.63 ± 0.08	M
7	8.44 ± 0.28	1.59 ± 0.08	M	8.37 ± 0.18	1.52 ± 0.06	M
8	6.55 ± 0.31	1.16 ± 0.06	M	8.02 ± 0.16	3.09 ± 0.16	ST
9	6.06 ± 0.26	1.22 ± 0.07	M	6.26 ± 0.15	1.31 ± 0.06	M
10	5.27 ± 0.21	1.34 ± 0.06	M	4.96 ± 0.16	1.39 ± 0.04	M
11	3.71 ± 0.15	1.05 ± 0.05	M	4.11 ± 0.07	1.03 ± 0.01	M

* 大头蛙核型数据为李树深(1981)的研究结果

3 讨论

3.1 福建大头蛙与大头蛙的核型和带型比较

从核型上来看(表 1),两种大头蛙之间存在着以下几方面的差异(1)福建大头蛙 $2n = 20M + 2SM$, $NF = 44$;大头蛙 $2n = 22 = 20M + 2ST$, $NF = 44$ 。最明显的差异体现在 No. 8 染色体上,福建大头蛙的 No. 8 为小型染色体,染色体类型为 M;大头蛙的 No. 8 为大型,染色体类型为 ST。(2) t -检验结果表明,这两个染色体相对长度达到显著差异水平的有 No. 8,臂比值有 No. 6、No. 8,共 3 项。可见,这两种大头蛙的核型存在着明显的区别。

从 C-带上来看,福建大头蛙着丝粒区域均为 C-带正染,另外在 No. 3p 和 No. 9q 均出现插

入 C-带。大头蛙除 No. 11 染色体外,其余各对染色体的着丝粒区域均被 C-带正染,未见任何插入型 C-带^[4]。因此,两种大头蛙在 C-带带型上也有明显的区别。但两种大头蛙的 C-带都不丰富,它们均无端位 C-带,大头蛙亦无插入型 C-带,福建大头蛙仅有两条插入型 C-带。

本研究显示福建大头蛙 Ag-NORs 位于 No. 10q,与大头蛙的 Ag-NORs 位置相同^[4]。

鉴于核型和 C-带上的明显差异,本文同意叶昌媛、费梁等的观点^[3],即将安徽等地的大头蛙确立为新种——福建大头蛙,学名为 *Limnectes fujianensis*。

3.2 大头蛙的进化 在已经报道的众多蛙属的核型中,除了少数几种有例外,其余种的核型均为 $2n = 26$ 。Morescalchi^[9]在分析众多的两栖

类核型以后认为：“在有尾目、无尾目，甚至所有低等脊椎动物中的核型演化中都存在着由原始向特化发展，存在着整个染色体的数目由多到少，存在着由小染色体到消失的趋势”。在蛙属的核型演化过程中，主要是通过染色体臂间倒位和着丝粒融合以减少染色体数。与迄今报道的蛙属物种的核型相比，大头蛙染色体数目最少，且它们绝大多数都是中着丝粒染色体。由此，可以认为大头蛙在蛙属中是一个较进化的类群。

参 考 文 献

- [1] 费梁主编. 中国两栖动物图鉴. 郑州: 河南科学技术出版社, 1999, 369 ~ 370.
- [2] 赵尔宓. 蛙属的划分及评价. 四川动物, 1994, 13(3): 111 ~ 115.
- [3] 叶昌媛, 费梁. 中国蛙科一个新种——福建大头蛙. 动物分类学报, 1994, 19(4): 494 ~ 499.
- [4] 李树深. 大头蛙的核型、C-带及 Ag-NORs 的研究. 遗传, 1991, 13(15): 22 ~ 23.
- [5] Sumner A T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp Cell Res*, 1972, 75: 304 ~ 361.
- [6] Howell W M, Black D A. Contraled silver-staining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia*, 1980, 36: 1014 ~ 1015.
- [7] Levan A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 1964, 52: 201 ~ 220.
- [8] 寇治通, 李文辉, 金安鲁. 蛙属中一个罕见核型——大头蛙核型及其 C-带的研究. 见: 赵尔宓主编. 从水到陆——刘承钊教授诞辰 90 周年纪念文集. 北京: 中国林业出版社, 1990, 159 ~ 163.
- [9] Morescalchi A. Cytotaxonomy and Verbrate Evolution. London: Academic Press, 1973, 233 ~ 248.