

蝙蝠科三种蝙蝠的 G-带和 C-带

李娜^① 敖磊^② 何淑艳^① 谷晓明^{①*}

(^①贵州师范大学地理与生物科学学院 贵阳 550001; ^②中国科学院昆明动物研究所 昆明 650223)

摘要:对肺、心等进行组织培养,用空气干燥法制作染色体标本,对贵州3种蝙蝠即中华鼠耳蝠(*Myotis chinensis*)、西南鼠耳蝠(*M. altarium*)和亚洲长翼蝠(*Miniopterus fuliginosus*)进行了G-带、C-带带型分析。结果表明2种鼠耳蝠的G-带基本相同,亚洲长翼蝠的G-带与两种鼠耳蝠有一定同源性;C-带核型中,中华鼠耳蝠和亚洲长翼蝠只有着丝粒带,而西南鼠耳蝠有的染色体有插入C-带和端位C-带。根据带型异同分析讨论了鼠耳蝠和长翼蝠间的进化关系。

关键词:中华鼠耳蝠,西南鼠耳蝠,亚洲长翼蝠,G-带,C-带

中图分类号:Q953 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3263(2007)02-96-06

G-bands and C-bands in 3 Species of Vespertilionidae

LI Na^① AO Lei^② HE Shu-Yan^① GU Xiao-Ming^{①*}

(^① Department of Biological Science and Biotechnology, Guizhou Normal University, Guiyang 550001;

^② Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China)

Abstract: Chromosome preparations were made from culture cells from lung and heart tissues etc. The specimens were made by the standard air drying method. The G- and C-bands of 3 species of bats (*Myotis chinensis*, *M. altarium* and *Miniopterus fuliginosus*) from Guizhou were analyzed. The G-band technique reported by Seabright (1971) and C-band technique reported by Sumner (1972) were applied. The G-bands of *Myotis chinensis* and *M. altarium* were similar and partly homologous with those of *Miniopterus fuliginosus*. As to the C-bands, all the 3 species of bats possessed centromeric heterochromatin, but interstitial heterochromatin and terminal heterochromatin distributed only in some chromosomes of *Myotis altarium*. At last, the evolutionary relationship between the 2 different genera was discussed according to their similarities and differences in banded karyotypes.

Key words: *Myotis chinensis*; *M. altarium*; *Miniopterus fuliginosus*; G-band; C-band

蝙蝠科(Vespertilionidae)是翼手目中最大的一个科,包含5个亚科48属402种^[1]。该科的核型国外研究很多,比如Bickham曾报道了11种分布于美国的鼠耳蝠核型,并研究了G-带、C-带和黑毛鼠耳蝠(*Myotis nigricans*)的G-带模式核型^[2];Volleth和Heller对蝙蝠科23个属50个种的染色体进行了带型研究,针对长翼蝠亚科是否应独立成为一个科的问题,提出长翼蝠亚科仍属于蝙蝠科,但第一个从共同主干上分支出来,并将鼠耳蝠属提升为亚科^[3];Mein和Tupinier^[4],Hoofer和Van Den Bussche^[5]等则认

为长翼蝠亚科应从蝙蝠科中分离出来,形成一个独立的科——长翼蝠科,然而,大多数分类学家并不赞同这个观点^[2],长翼蝠亚科和鼠耳蝠属的系统分类地位仍存在争议。我国的蝙蝠核型研究起步较晚,迄今为止,有关蝙蝠科核型的

基金项目 中国科学院昆明动物研究所细胞与分子进化重点实验室基金(No.5210101-A06);

* 通讯作者, E-mail: guxiaoming2000@126.com;

第一作者介绍 李娜,女,硕士研究生;研究方向:动物遗传学;E-mail: joan.lee402@163.com.

收稿日期 2006-07-13, 修回日期 2007-01-13

文章共 20 篇^[6,7] 涉及 25 种,但多是常规核型,进行带型研究的仅有中华山蝠(*Nyctalus velutinus*)的 C-带^[8]、东方伏翼(家蝠)(*Pipistrellus abramus*)的 G-带^[9]以及蹄蝠科大蹄蝠(*Hipposideros armiger*)的 Ag 带、C-带^[10]。本文着重研究中华鼠耳蝠(*M. chinensis*)、西南鼠耳蝠(*M. altarium*)和亚洲长翼蝠(*Miniopterus fuliginosus*)^[11]的 G-带和 C-带,旨在为研究其种属间进化关系提供一定的理论依据。

1 材料与方法

1.1 动物来源 本文所用 3 种蝙蝠,均采自贵州省境内(表 1)。

表 1 三种蝙蝠的采集地点

Table 1 Specimen collecting sites of three species of Vespertilionidae

种类 Species	个体数及性别		采集地点 Collecting site
	No. of samples examined		
	♂	♀	
中华鼠耳蝠 <i>Myotis chinensis</i>	1	0	贵州贵阳市乌当区 情人谷
西南鼠耳蝠 <i>M. altarium</i>	1	0	贵州贵阳市乌当区 情人谷
亚洲长翼蝠 <i>Miniopterus fuliginosus</i>	0	1	贵州安顺县郑官瞳 郑坡大洞

1.2 方法

1.2.1 成纤维细胞培养 取蝙蝠的部分新鲜肺、心等组织进行培养。在无菌条件下取出上述材料,用 1×PBS 反复洗净、剪碎、装瓶,然后加入培养基,37.5℃ 培养。培养基为 DMEM 添加 10%~15% 的胎牛血清(FBS,杭州四季清公司)、青霉素(终浓度 100 U/ml)、链霉素(终浓度 100 μg/ml)以及抗支原体的药物。

1.2.2 染色体标本片制作 收获前 30 min~1 h 加入秋水仙素(最终浓度为 0.03~0.05 μg/ml)然后以 1 000~1 200 r/min 离心 10 min,去上清,用预热至 37℃ 的 0.4% KCl 溶液低渗处理细胞 16 min 左右,用固定液(甲醇:冰乙酸为 4:1)固定 20 min,1 200 r/min 离心 10 min,去上清

液,再加少量固定液制成悬液,按常规空气干燥法制备染色体标本。

1.2.3 染色体分带和核型分析 G-带参照 Seabright^[12]的方法并略作修改,染色体玻片标本在 65℃ 通风烤箱中老化 12~24 h,接着再用 0.005%~0.01% 的胰酶/1×PBS 溶液处理 2~6 min,在 2×SSC 中洗一下,10% Giemsa(pH=7.0)染色 5 min。

C-带按 Sumner^[13]的 BSG 方法:先在室温下 0.2 mol/L 的 HCl 中处理 30 min,水洗、晾干;再用 50℃ 的 5% Ba(OH)₂ 处理 5~15 min,同温蒸馏水洗、脱水、晾干;60℃ 的 2×SSC 处理 90 min 左右,同温蒸馏水洗、晾干;10% Giemsa(pH=7.0)染色 20~30 min。

显微镜观察时,每一种蝙蝠的 G 带、C 带分裂相至少观察 80 个,以对结果进行统计。带型较好的分裂相用 CytoVision System (Applied Imaging) 软件拍摄并进行图像分析。

核型分析按 Bickham 的标准^[2],常染色体从大到小排序,性染色体放在最后。即以每条染色体臂为单位进行编号,每个序号在双臂染色体中仅代表一条染色体臂,如在鼠耳蝠核型中 1~6 号各代表双臂染色体的一条单臂,7~15 及 18~25 号则各代表一条完整的端着丝粒染色体,前三对双臂染色体分别表示为 1/2、3/4、5/6,第四对双臂染色体为 16/17,其他以此类推。

2 结果

2.1 G-带

2.1.1 中华鼠耳蝠(图 1:A) 大型染色体 1/2、3/4 长臂(q)和短臂(p)各有 5~6 条带,且有一条着丝粒带;5/6 p 有 4 条带,而 q 有 3 条带(2 条是宽带);7 号有 4 条带,第 3 条为宽带;8、9 号都有 5~6 条带,其中 2 条很浅;11 号有 5 条带,而 10、12、13 号均有 4 条带,12 号第 3 条为宽带;14、15 号各有 3 条带,15 号有 2 条宽带;染色体 16/17 有 1 条着丝粒带,q 上也有 1 条很明显的带;18 号有 4 条带;19、20 号有 3 条带,其中 18、19 号有 2 条带很浅;21 号有 3 条带;22

~25号都有2条不是很明显的带;X染色体的p有1条带,q有2~3条,另外还有一着丝粒带;Y染色体有一条不是很明显的带。

2.1.2 西南鼠耳蝠(图1:B) 西南鼠耳蝠的G-带带型基本与大鼠耳蝠相同,但所用分裂相染色体较伸展,带纹较丰富。

2.1.3 亚洲长翼蝠(图1:C) 1、2号各有3~4

条带;3号有4~5条带,4号有2条带;5、6号都有3~4条带;7、8、10号都有2~3条带;9号有4条带;中型m染色体11/12的p有1条带,q有1~2条带;13~15号均有2~3条带;16~20号均有2条带;21、22号都是1~2条带;23号有1条带;点状的24、25号显带不是很清楚;X染色体的p、q各有1条和2~3条带。

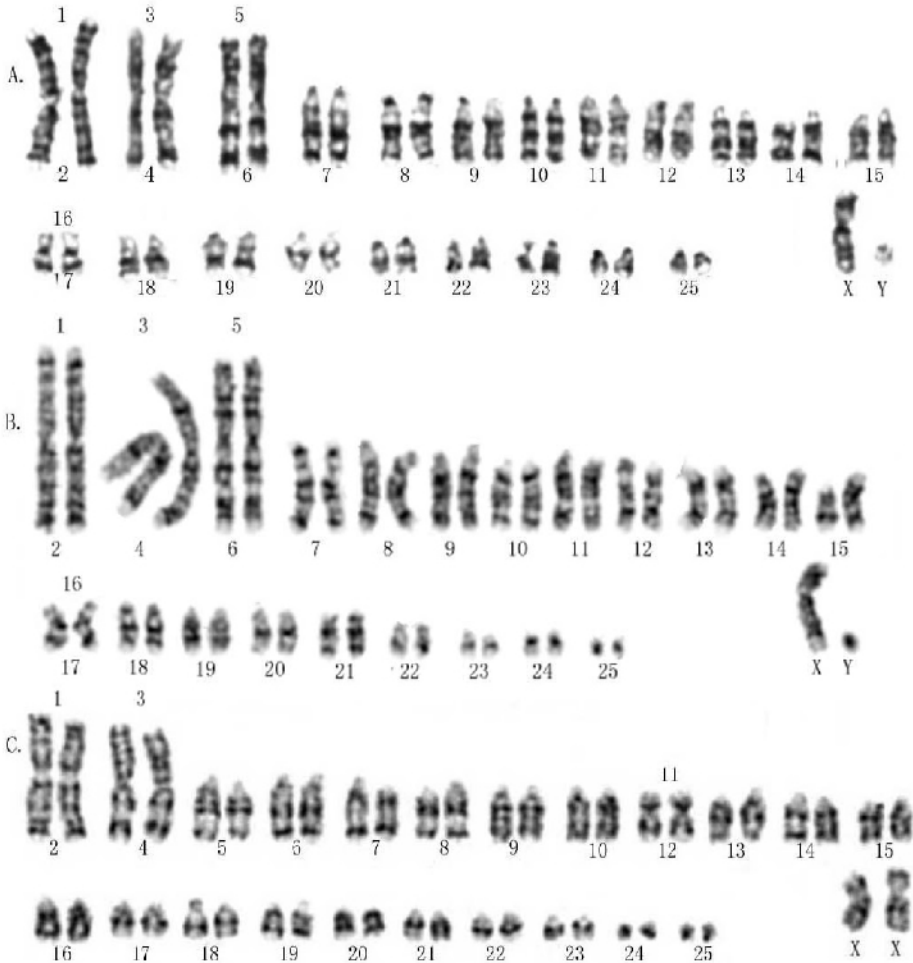


图1 3种蝙蝠的G-带

Fig.1 G-band karyotypes of three Vespertilionidae species

A. 中华鼠耳蝠 (*Myotis chinensis*) ♂; B. 西南鼠耳蝠 (*M. altarium*) ♂; C. 亚洲长翼蝠 (*Miniopterus fuliginosus*) ♀。

2.2 C-带

2.2.1 中华鼠耳蝠(图2:A) 所有染色体都有明显的着丝粒带,Y染色体几乎全部异染色质化。未发现端带和插入带。

2.2.2 西南鼠耳蝠(图2:B) 着丝粒带与中

华鼠耳蝠基本相同,但是1/2、3/4和5/6的着丝粒带不如X染色体和其他端着丝粒染色体的着丝粒带明显;1/2、3/4、5/6两端各有一条端带,7、12、14、17、18号都各有1条端带;7、18号有1条近着丝粒插入带;23~25号似乎异染色质

化, Y 染色体几乎全部异染色质化。

无端带和明显插入带; 24、25 号似乎异染色质化。

2.2.3 亚洲长翼蝠(图 2 :C) 着丝粒带明显,



图 2 3 种蝙蝠的 C-带

Fig.2 C-band karyotypes of three Vespertilionidae species

A. 中华鼠耳蝠 (*Myotis chinensis*) ♂; B. 西南鼠耳蝠 (*M. altarium*) ♂; C. 亚洲长翼蝠 (*Miniopterus fuliginosus*) ♀。

3 讨 论

中华鼠耳蝠和西南鼠耳蝠核型都是 $2n = 44$, $FN = 50$, 与大多数该属动物一致^[2, 14-21]。再次证明了该属动物具有相当稳定的核型。再者二者 G-带核型基本相同(图 1), 而且与 Bickham 的 *Myotis* G-带模式核型^[2]也基本相同, 更进一步说明这一点。

亚洲长翼蝠和 2 种鼠耳蝠的大部分染色体, 其 C-带有很明显的同源性(图 3) 如鼠耳蝠的染色体 1/2、5/6、7、8、23、24、25 及 X 染色体,

分别与长翼蝠染色体中的 1/2、3/4、6、5、23、24、25、X 染色体同源。以第二对同源比较为例, 左侧西南鼠耳蝠 5/6 和右侧的亚洲长翼蝠 3/4 的长臂均有 4 条清晰的带, 短臂也有相同或相似的带型。

相对于中华鼠耳蝠, 西南鼠耳蝠的 C-带中 1/2、3/4、5/6、7、12、14、17 和 18 号都有端带, 7、18 号有插入带, 且 23 ~ 25 似乎异染色质化。很明显, C-带所显示的西南鼠耳蝠基因组的内部结构与中华鼠耳蝠明显不同, 说明它已经明显地分化了。

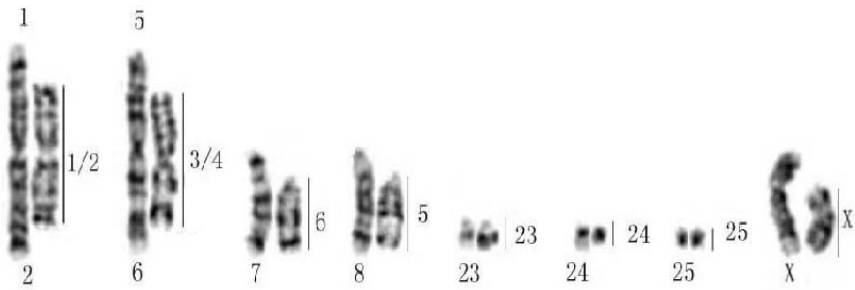


图 3 西南鼠耳蝠和亚洲长翼蝠的同源性比较

Fig. 3 G-band karyotype demonstrating presumed homology between *Myotis altarium* and *Miniopterus fuliginosus*

每一同源比较中,西南鼠耳蝠的染色体及编号位于左侧,亚洲长翼蝠的染色体及编号位于右侧,表明鼠耳蝠的染色体 1/2、5/6、7、8、23、24、25、X,分别与长翼蝠的染色体 1/2、3/4、6、5、23、24、25、X 同源。

The chromosomes on the left are from *Myotis altarium*, and those on the right are from *Miniopterus fuliginosus*. It is suggested that the autosomes 1/2, 5/6, 7, 8, 23, 24, 25 and the X chromosome in *Myotis altarium* are homologous with chromosomes 1/2, 3/4, 6, 5, 23, 24, 25 and X in *Miniopterus fuliginosus*, respectively.

长翼蝠的 C-带核型中,除 24、25 号几乎完全异染色质化外,其他的染色体均与中华鼠耳蝠 C-带带型类似——所有常染色体和 X 染色体具有一个清晰的着丝粒区 C-带,这也是鼠耳蝠属保守核型的基本特征之一^[18],反映其核型与鼠耳蝠属有一定的同源性。实际上长翼蝠与鼠耳蝠相比,都是 $FN = 50$, 唯一差异是少了一对大型中着丝粒染色体,多了两对端着丝粒染色体。

蝙蝠科核型进化的主要特征是整条染色体臂的保守性以及通过罗伯逊融合导致的染色体二倍体数目降低^[8, 18, 22~24], 即 FN 数不变, $2n$ 数减少, 而长翼蝠亚科的核型进化机制是罗伯逊断裂, 即原始鼠耳蝠的一对大型双臂染色体从着丝粒处断裂, 形成 2 对端着丝粒染色体, 从而形成了 $2n = 46$, $FN = 50$ 的长翼蝠。通过 G-带的比较, 推测可能是原始鼠耳蝠的 3/4 染色体发生断裂, 但是还不能确定断裂后形成了哪 2 对端着丝粒染色体, 要用 FISH 等方法进一步研究才能得出准确的结论。

致谢 细胞培养和带型制作过程中得到中国科学院昆明动物研究所细胞库佘文惠副研究员、王金焕高级实验师及苏伟婷、毛秀光等的帮助, 特此致谢。

参 考 文 献

- [1] Simmons N B. Order Chiroptera. In : Wilson D E, Reeder D M, eds. *Mammal Species of the World: a Taxonomic and Geographic Reference Vol. 1*, Third Edition. Baltimore and London: Johns Hopkins University Press, 2005, 312 ~ 529.
- [2] Bickham J W. Banded karyotypes of 11 species of American bats (Genus *Myotis*). *Cytologia*, 1979, **44**: 789 ~ 797.
- [3] Volleth M, Heller K G. Phylogenetic relationships of vespertilionid genera (Mammalia : Chiroptera) as revealed by karyological analysis. *Zool Syst Evolut-forsch*, 1994, **32**: 11 ~ 34.
- [4] Mein P, Tupinier Y. Formule dentaire et position systématique du Minioptère (Mammalia, Chiroptera). *Mammalia*, 1977, **41**: 207 ~ 211.
- [5] Hooper S R, Van Den Bussche R A. Molecular phylogenetics of the chiropteran family Vespertilionidae. *Acta Chiropterologica*, 2003, **5** (Suppl.) : 1 ~ 63.
- [6] 吴毅, 杨俊慧, 原田正史. 中国蝙蝠核型研究的现状. 广州大学学报 (自然科学版), 2004, **3** (6) : 504 ~ 509.
- [7] 吴毅, 杨俊慧, 原田正史. 中国蝙蝠核型研究 20 年存在的问题与展望. 动物学杂志, 2004, **39** (6) : 107 ~ 110.
- [8] 张维道. 绒山蝠的核型和 C-带初步研究. 安徽师范大学学报 (自然科学版), 1990, **13** (4) : 58 ~ 63.
- [9] 殷留勇, 谢兴夫, 史怡君等. 家蝠的染色体. 动物学报, 1985, **31** (3) : 296 ~ 298.
- [10] 谷晓明. 大蹄蝠的核型分析. 动物学杂志, 2002, **37** (3) : 19 ~ 21.
- [11] 王应祥编著. 中国哺乳动物种和亚种分类名录与分布大全. 北京: 中国林业出版社, 2003, 41 ~ 57.

- [12] Seabright M A. A rapid banding technique for human chromosome. *Lancet* ,1971 ,**11** 971 ~ 972.
- [13] Sumner A T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp Cell Res* ,1972 ,**75** 304 ~ 306.
- [14] 张维道 ,宛敏 ,周立新.毛腿鼠耳蝠和折翼蝠染色体分析.遗传 ,1983 ,**5** (6) :40 ~ 41.
- [15] 张维道.中华鼠耳蝠和绒鼠耳蝠的染色体分析.安徽师大学报(自然科学版) ,1984 ,**7** (2) :42 ~ 47.
- [16] 谷晓明 ,路静 ,韩建领等.蝙蝠科七种蝙蝠的核型.兽类学报 2003 ,**23** (2) :127 ~ 132.
- [17] 张维道.大足蝠和长胫鼠耳蝠的染色体分析.安徽师大学报(自然科学版) ,1986 ,**9** (3) :33 ~ 236.
- [18] 张维道.鼠耳蝠属染色体研究进展.安徽师范大学学报 ,1989 ,**12** (2) :71 ~ 79.
- [19] Lin L G , Motokawa M , Harada M. Karyology of ten Vespertilioid bats(Chiroptera :Vespertilionidae) from Taiwan. *Zoological Studies* 2002 ,**41** (4) :347 ~ 354.
- [20] Bickham J W. Chromosomal variation and evolutionary relationships of Vespertilionid bats. *Journal of Mammalogy* , 1979 ,**60** (2) :350 ~ 363.
- [21] Bickham J W ,Mcbee K ,Schlitter D A. Chromosomal variation among seven of *Myotis* (Chiroptera ,Mammalia). *Journal of Mammalogy* ,1986 ,**69** (4) :746 ~ 750.
- [22] Baker R J ,Patton J L. Karyotypes and karyotypic variation of North American vespertilionid bats. *Journal of Mammalogy* , 1967 ,**48** :270 ~ 286.
- [23] Sreepada K S ,Naldu K N ,Gururaj M E. Karyotypic studies of four species of *Pipistrellus* (Mammalia :Chiroptera) from India. *Mammalia* ,1996 ,**60** :407 ~ 416.
- [24] Volleth M ,Bronner G ,Göpfert M C , et al. Karyotype comparison and phylogenetic relationships of Pipistrellus-like bats(Vespertilionidae ;Chiroptera ; Mammalia). *Chromosome Res* 2001 ,**9** :25 ~ 46.