

中国 4 种蝙蝠的 G-带和 C-带

毛秀光^① 王金焕^① 苏伟婷^① 张礼标^② 赵旭东^③ 韦力^④ 佘文惠^① 杨凤堂^{①*}

(^①中国科学院昆明动物研究所 昆明 650223; ^②广东省昆虫研究所 广州 510260;

^③中国科学院动物研究所 北京 100101; ^④广西师范大学 桂林 541004)

摘要:首次报道了中国 4 种蝙蝠的 G-带和 C-带核型。大长舌果蝠(*Eonycteris spelaea*)二倍染色体数目(2n)为 36,常染色体臂数(FN)为 56;马来假吸血蝠(*Megaderma spasma*)2n = 38, FN = 70;黑髯墓蝠(*Taphozous melanopogon*)2n = 42, FN = 64;皱唇蝠(*Chaerephon plicata*)2n = 48, FN = 54。通过 C-带显示,除着丝粒异染色质外,在皱唇蝠的许多染色体臂内和马来假吸血蝠染色体的端粒处也有较多的插入异染色质,大长舌果蝠的基因组中既有臂内异染色质也有端粒异染色质。

关键词:蝙蝠;大长舌果蝠;马来假吸血蝠;黑髯墓蝠;皱唇蝠;核型

中图分类号:Q343.2 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2007)05-33-08

The G- and C-banded Karyotypes of Four Bat Species from China

MAO Xiu-Guang^① WANG Jin-Huan^① SU Wei-Ting^① ZHANG Li-Biao^②

ZHAO Xu-Dong^③ WEI Li^④ NIE Wen-Hui^① YANG Feng-Tang^{①*}

(^①Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223;

^②Guangdong Entomological Institute, Guangzhou 510260; ^③Institute of Zoology, Chinese Academy of

Sciences, Beijing 100101; ^④Guangxi Normal University, Guilin 541004, China)

Abstract The G- and C-banded karyotypes of four bat species from China were reported for the first time. *Eonycteris spelaea* (Pteropodidae) has a diploid chromosome number (2n) of 36 and a fundamental number (FN) of 56; *Megaderma spasma* (Megadermatidae) has a karyotype of 2n = 38 and FN = 70; *Taphozous melanopogon* (Emballonuridae) has a karyotype of 2n = 42 and FN = 64; *Chaerephon plicata* (Molossidae) has a karyotype of 2n = 48 and FN = 54. In addition to the centromeric regions of almost all chromosomes of *E. spelaea*, *C. plicata* and *M. spasma*, C-band positive heterochromatin was also found at interstitial loci along many chromosomal arms of *C. plicata*, at the telomeric regions of some *M. spasma* chromosomes. In contrast, both interstitial chromatin and telomeric heterochromatin were found in the genome of *E. spelaea*.

Key words Bat; *Eonycteris spelaea*; *Megaderma spasma*; *Taphozous melanopogon*; *Chaerephon plicata*; Karyotype

我国已发现的翼手目动物共有 7 科 125 种^[1-5](其中,马来假吸血蝠 *Megaderma spasma* 在国内尚未被正式报道,与张礼标博士个人交流)。但是到目前为止,仅 11 种有 G-带和 C-带型的报道^[6-9]。其中包括 蝙蝠科(Vespertilionidae)7 个种^[6-9];蹄蝠科(Hipposideridae)2 个种^[8,9];狐蝠科(Pteropodidae)和菊头蝠科(Rhinolophidae)各 1 个种^[9]。除 Ao 等^[7,9]外,在

其余研究中所做的 G-带核型都是利用骨髓细胞的中期分裂相。而从骨髓细胞中获得的中期

基金项目 科技部“国家科技基础条件平台建设”项目资助 (No. 2005DKAZ1502);

* 通讯作者, E-mail: kcb@mail.kiz.ac.cn;

第一作者介绍 毛秀光,男,硕士研究生,主要研究方向:哺乳动物细胞遗传; E-mail: maoxiuguang_1@yahoo.com.cn.

收稿日期 2007-05-30, 修回日期 2007-07-03

分裂相,由于染色体很短,所做的 G-带分辨率太低,很难准确地进行物种间染色体同源性的比较。

本研究采用体细胞培养技术,首先建立蝙蝠科的大长舌果蝠 (*Eonycteris spelaea*)、假吸血蝠科 (Megadermatidae) 的马来假吸血蝠 (*Megaderma spasma*)、鞘尾蝠科 (Emballonuridae) 的黑髯墓蝠 (*Taphozous melanopogon*) 和犬吻蝠科 (Molossidae) 的皱唇蝠 (*Chaerephon plicata*) 4 个科 4 种蝙蝠的成纤维细胞系。然后利用这些物种的成纤维细胞,制备高质量的中期分裂相,并对这些物种进行了 G-带和 C-带型(除黑髯墓蝠外)研究,结合前人已发表的蝙蝠带型研究的有关结果^[9-13],对这几个科物种间的核型进化关系进行了探讨。此外,建成的这些蝙蝠物种的细胞系可以永久地被保存,这对于稀有蝙蝠物种(如马来假吸血蝠)的遗传资源保护具有非常重要的意义。

1 材料与方 法

所用的 4 种蝙蝠,大长舌果蝠、马来假吸血蝠、黑髯墓蝠和皱唇蝠,于 2005 ~ 2006 年采于云南西双版纳和广西桂林附近的山洞内,均属于性成熟个体(表 1)。

表 1 本研究使用的 4 种蝙蝠

Table 1 Four species of bats examined in this study

种 Species	标本数 No. of specimens examined		采集地 Collection site
	♂	♀	
大长舌果蝠 <i>Eonycteris spelaea</i>	1	0	云南西双版纳
马来假吸血蝠 <i>Megaderma spasma</i>	1	0	云南西双版纳
黑髯墓蝠 <i>Taphozous melanopogon</i>	1	1	广西桂林
皱唇蝠 <i>Chaerephon plicata</i>	1	1	广西桂林

1.1 中期分裂相的制备 本研究中所使用的 4 种蝙蝠中期分裂相来源于培养的成纤维细胞。这些成纤维细胞系均储存在中国科学院昆明动物研究所细胞库中。在培养的细胞中加入

秋水仙素(终浓度为 0.025 ~ 0.05 $\mu\text{g}/\text{ml}$),处理约 40 min,将消化下来的细胞收集在 15 ml 离心管中,以 1 300 r/min 的速度离心 10 min 后,去上清,用手轻弹离心管壁将细胞团块打散,加入约 12 ml 的 0.4% KCl 低渗液,在室温或者 37 $^{\circ}\text{C}$ 处理 15 ~ 20 min,用固定液(甲醇:冰醋酸 = 4:1)固定 2 ~ 3 次,每次以 1 300 r/min 的速度离心 10 min,最后将细胞团重新悬浮于适量的固定液(同上)中,于 -20 $^{\circ}\text{C}$ 保存。

1.2 G 显带 参照 Seabright^[14] 的方法并略作修改,将空气干燥法制备的染色体玻片标本放入 65 $^{\circ}\text{C}$ 通风烤箱中老化 4 h 以上。用胰酶溶液(150 ~ 200 μl 2.5% 的胰酶加到 50 ml 1 \times PBS 溶液中)处理染色体玻片标本 2 ~ 6 min(胰酶的最终浓度及处理时间视不同物种和染色体标本的状态可进行调整),然后将染色体玻片标本置于 2 \times SSC 中,终止胰酶反应,最后于 Giemsa 染色液中(Giemsa 原液:KH₂PO₄ 缓冲液 = 1:6 稀释, pH 7.0)染色 4 min 左右,用水冲洗干净,待染色体玻片标本晾干后即可在显微镜下观察。对显带和分散较好的分裂相用 CytoVision System(Applied Imaging)软件拍摄并进行图像分析。

1.3 C 显带 参照 Sumner^[15] 的方法并略作修改(1)盐酸处理:将空气干燥法制备的染色体玻片标本置于 0.2 mol/L HCl 溶液中,室温下处理 30 ~ 60 min,然后用流水冲洗晾干(2)碱处理:将染色体玻片标本置于饱和的 5% Ba(OH)₂ 水溶液中 60 $^{\circ}\text{C}$ 处理 1 ~ 10 min(处理时间因玻片标本老化时间的长短不同而不同),然后用流水冲洗晾干(3)热盐处理:将染色体玻片标本置于 2 \times SSC 溶液中 60 $^{\circ}\text{C}$ 处理 2 h 左右,经乙醇梯度脱水后晾干(4)染色:Giemsa 染色 20 ~ 30 min,流水冲洗晾干。显微镜下观察,对显带较好的分裂相用 CytoVision System(Applied Imaging)软件拍摄并进行图像分析。

1.4 染色体命名 在 G 带核型中,黑髯墓蝠和马来假吸血蝠的染色体按照相对大小,从大到小进行排列;大长舌果蝠和皱唇蝠染色体根据已发表的相应物种^[10]进行排列。在 C 带核型

中染色体的排列方式与 G 带核型一致。

2 结 果

2.1 大长舌果蝠 染色体数目为 $2n = 36$, 包括 15 对中或亚中着丝粒染色体(1~10 号与 12~16 号染色体) 2 对亚端着丝粒染色体(11 和 17 号染色体), X 染色体是中等大小的亚端着丝粒染色体, Y 是最小的端着丝粒染色体。常染

染色体臂数为 $FN = 68$ 。次缢痕位于 7 号染色体的短臂处(图 1:A)。C 带研究表明大长舌果蝠的异染色质较为丰富,除分布在着丝粒的异染色质外,在其第 1、2、4、7 号染色体臂上均有不同程度的插入异染色质;在其第 6、8、9、10、11、12、13、16 号染色体的端粒处,以及第 14、15 号染色体的短臂也有异染色质存在(图 1:B)。

2.2 马来假吸血蝠 染色体数目为 $2n = 38$, 包

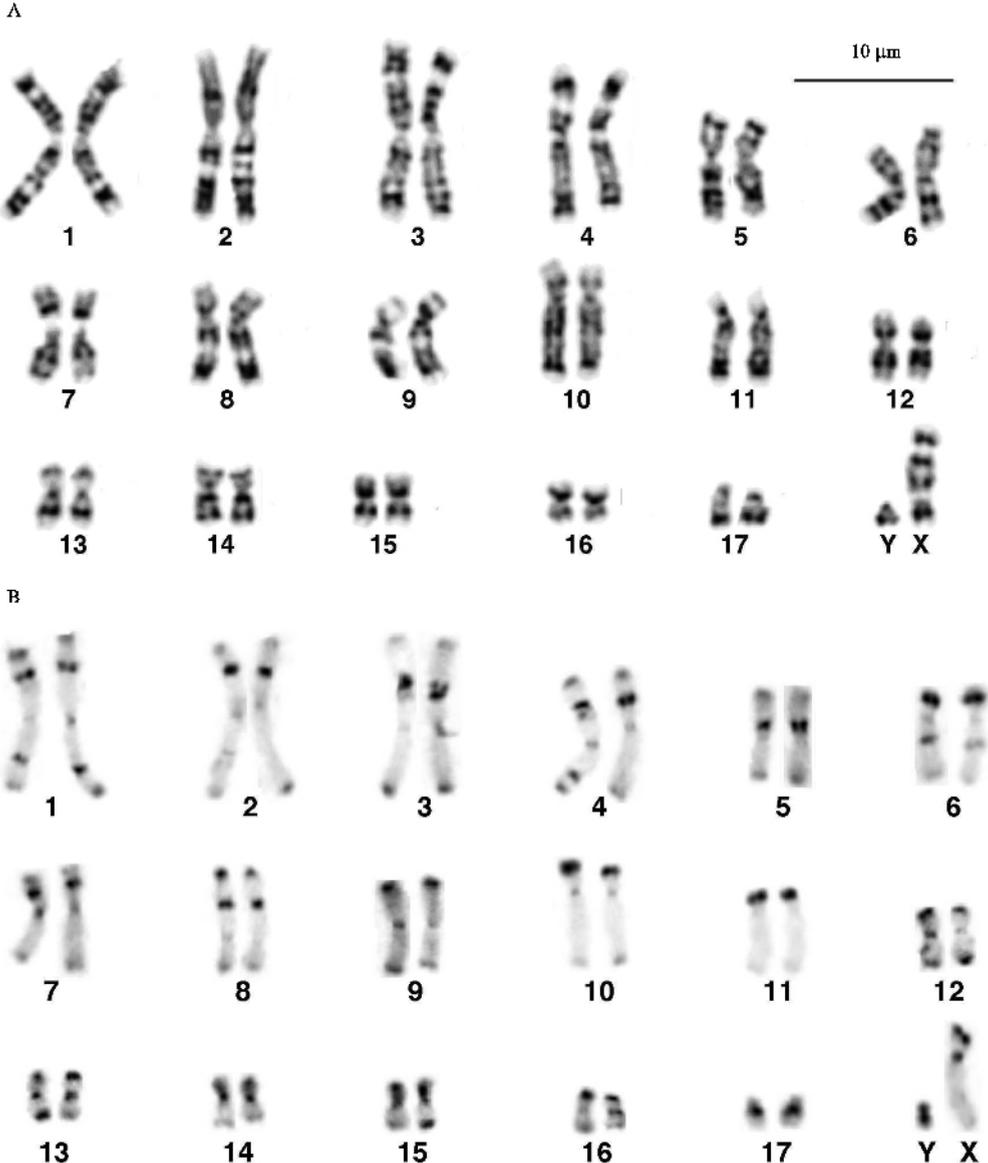


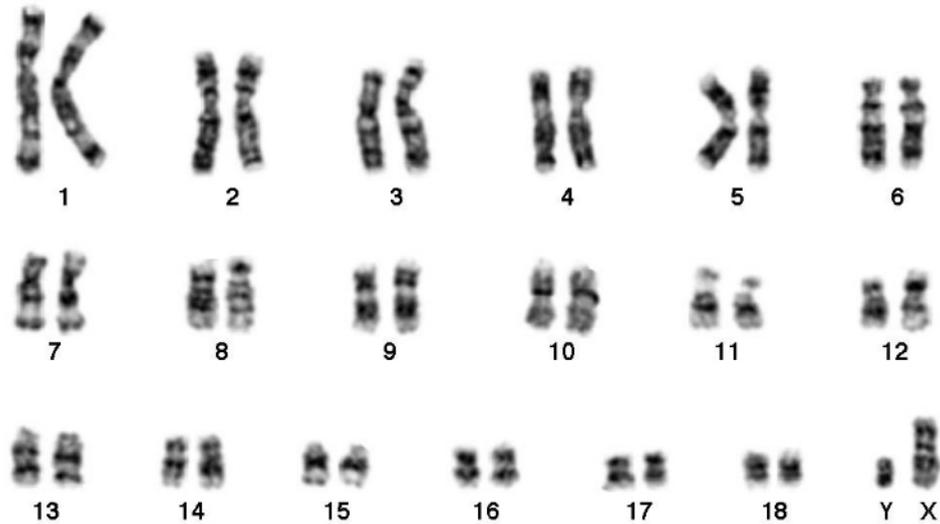
图 1 大长舌果蝠(♂)G 带(A)和 C 带(B)核型

Fig. 1 The G-(A) and C-(B) banded karyotype of *Eonycteris spelaea* (♂)

括 13 对中或亚中着丝粒染色体(1 ~ 5、8 ~ 11、14 及 16 ~ 18 号染色体), 4 对亚端着丝粒染色体(6、7、12、13 号染色体), 1 对端着丝粒染色体(15 号染色体), X 染色体是中等大小的亚端着丝粒染色体, Y 染色体是最小的端着丝粒染色

体。常染色体臂数为 $FN = 70$ 。次缢痕位于 11 号染色体的短臂处(图 2 :A)。通过 C 带显示, 异染色质除在每一条染色体的着丝粒分布外, 在第 7、8、11、12、13、15、17 号染色体的端粒处均有不同程度的异染色质存在(图 2 :B)。

A



B

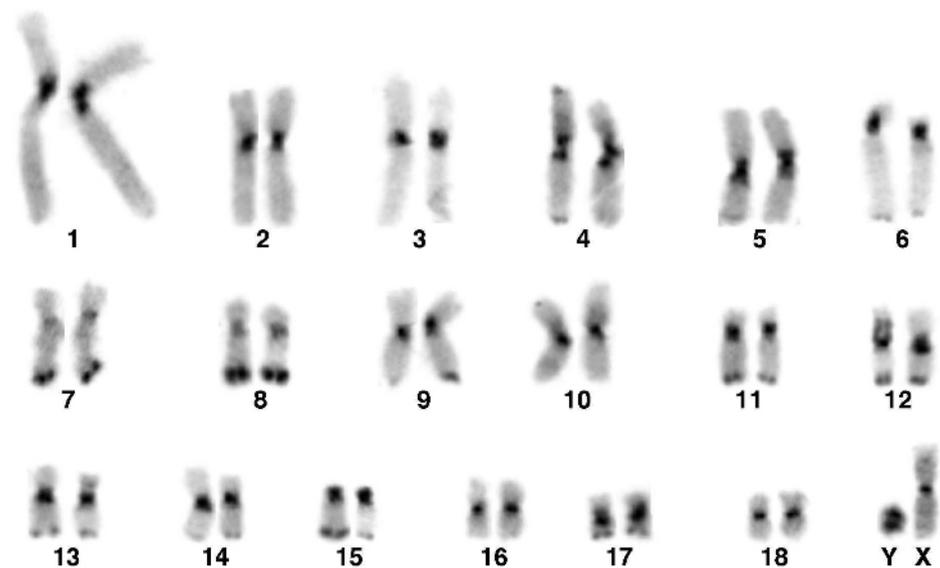


图 2 马来假吸血蝠(♂)G 带(A)和 C 带(B)核型

Fig. 2 The G-(A) and C-(B) banded karyotype of *Megaderma spasma* (♂)

2.3 黑髯墓蝠 染色体数目为 $2n = 42$, 包括 12 对中或亚中着丝粒染色体(1 ~ 8、10、11、13、

14 号染色体) 8 对端着丝粒染色体(9、12、15 ~ 20 号染色体), X 染色体是中等大小的亚中着

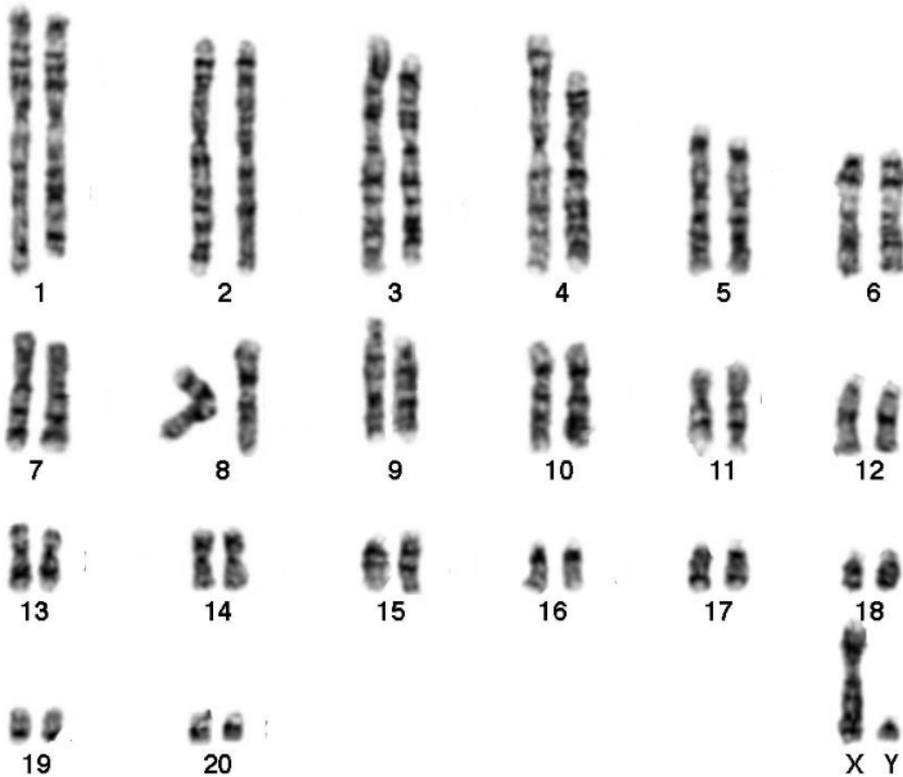


图 3 黑髯墓蝠(♂)G带核型

Fig. 3 The G-banded karyotype of *Taphozous melanopogon* (♂)

丝粒染色体, Y 染色体是最小的端着丝粒染色体(图 3)。常染色体臂数为 $FN = 64$ 。

2.4 皱唇蝠 染色体数目为 $2n = 48$, 包括 4 对中等或亚中着丝粒染色体(1~4 号染色体), 19 对端着丝粒染色体(5~23 号染色体), X 染色体是中等大小的亚中着丝粒染色体。常染色体臂数为 $FN = 54$, 次缢痕位于 6 号染色体端粒处(图 4:A)。通过 C 带显示, 异染色质除在每一条染色体的着丝粒分布外, 在第 5、6、8、9、13、16 号染色体的臂上都有插入异染色质(图 4:B)。

3 讨论

狐蝠科物种的二倍体染色体数目变化较小, 多数集中在 34、36 和 38, 常染色体臂数在 58~70 之间^[16,17]。到目前为止, 有 G-带或 C-带研究结果的狐蝠科物种共有 10 种^[9,10,17], 而在中国仅有两种: 大长舌果蝠(本研究)和犬蝠

(*Cynopterus sphinx*)^[9]。通过比较大长舌果蝠和犬蝠的 G 带核型, 我们发现其核型发生了巨大的染色体重排现象, 在这两种蝙蝠的核型中仅有一对染色体(大长舌果蝠的 15 号染色体和犬蝠的 13 号染色体)的 G 带型是完全一致的。本研究中的大长舌果蝠 G 带核型与之前报道的马来群岛的大长舌果蝠^[10]基本一致, 所不同的只是异染色质的分布。在本研究中, 大长舌果蝠的异染色质除分布于染色体的着丝粒外, 还在多数染色体臂内、端粒及两对染色体短臂处发现有异染色质的分布, 而在马来群岛的大长舌果蝠中, Volleth 等^[10]发现异染色质仅出现在 3 对染色体的短臂处。这可能是由于地理差异等原因造成的。

已有的研究表明, 假吸血蝠科在中国仅有印度假吸血蝠(*M. lyra*)一个种分布^[11], 但最近的研究表明, 马来假吸血蝠也分布在中国, 这样

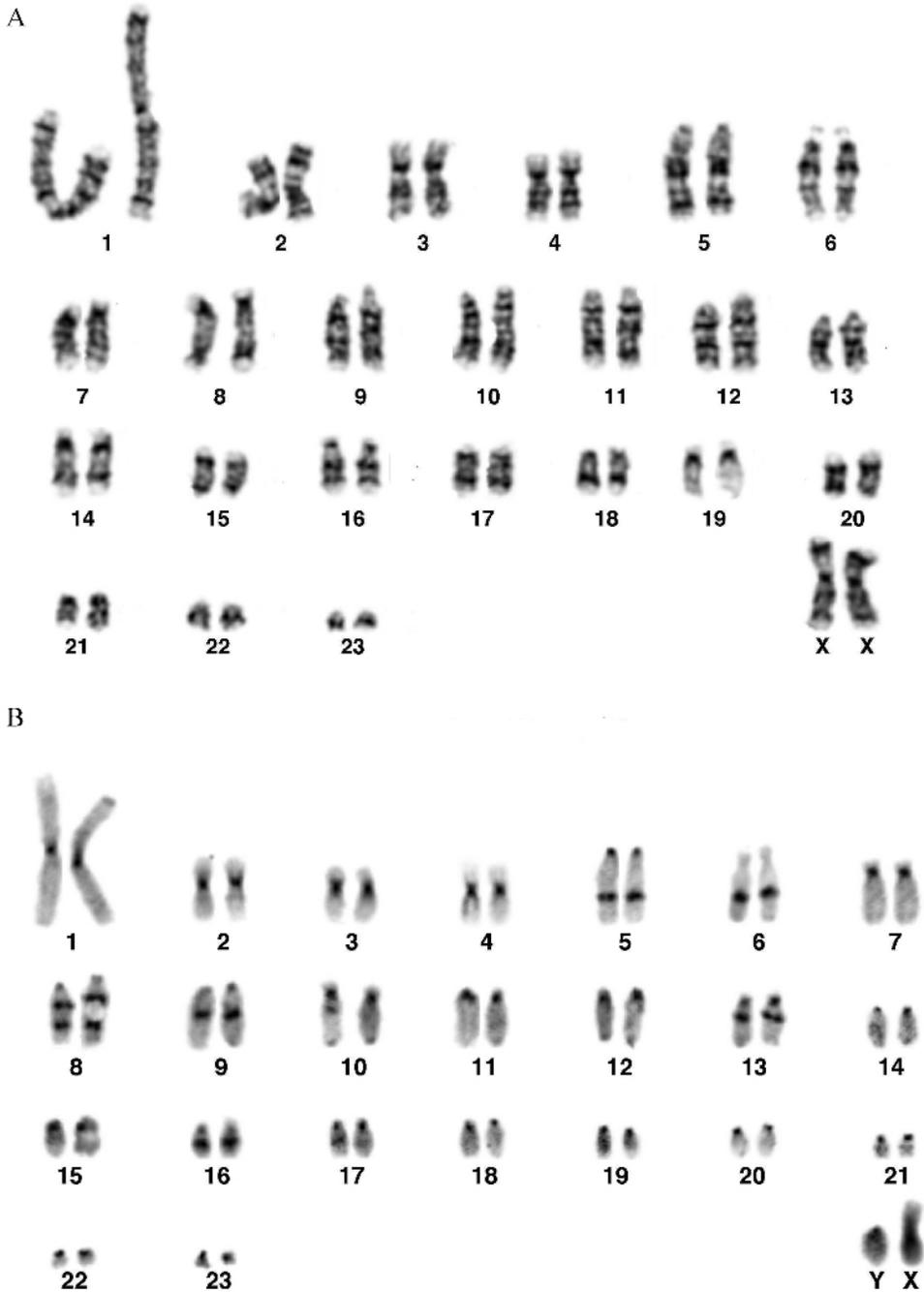


图4 皱唇蝠 G带(A, ♀)和 C带(B, ♂)核型

Fig. 4 The G-(A, ♀) and C-(B, ♂) banded karyotype of *Chaerophon plicata*

使得分布在中国的假吸血蝠科物种增加到 2 种 (张礼标等未发表的数据, 与张礼标博士个人交流)。吴毅等^[18]曾报道了在中国分布的印度假吸血蝠的核型($2n = 54, FN = 104$), 与 Naidu

等^[19]最初报道的印度假吸血蝠的核型基本一致。此外, Naidu 等^[19]还对印度假吸血蝠进行了详尽的 C-带研究, 他们发现异染色质除分布在染色体的着丝粒附近外, 在整个基因组中还

有大量散在分布的异染色质,因此,他们认为该物种的进化可能与大量异染色质的扩增有关。Hood 等^[11]曾对印度假吸血蝠和马来假吸血蝠的 G-和 C-带进行了分析。通过 C 带比较,他们发现这两种假吸血蝠的染色体间同源性很低,表明在该科物种进化过程中可能发生了较大的染色体分歧现象。通过 C-带型比较,他们发现在印度假吸血蝠中,有 6 对染色体的长臂上都出现了整臂异染色质化(与 Naidu 等^[19]的结果不同),这在翼手目中并不常见。而对于马来假吸血蝠,他们发现异染色质仅在着丝粒处有分布。在本研究中,马来假吸血蝠的核型为 $2n = 38, FN = 70$,与 Hood 等^[11]报道的马来假吸血蝠的核型一致。但本研究 C-显带结果却表明异染色质除在马来假吸血蝠染色体的着丝粒处有分布外,还出现在其 7 对染色体的端粒处(图 2:B)。通过以上分析,可以看出,异染色质在不同分布区域的印度假吸血蝠和马来假吸血蝠基因组中的含量及在染色体上的分布位置有一定的差异。

鞘尾蝠科在中国仅有 1 属 2 种^[1]。该科被普遍认为是翼手目中最古老的科之一^[20~22]。Hood 等^[12]对该科 6 个属的 9 个物种进行了 G-带和 C-带分析,发现该科不同属的物种间染色体同源片段很少,核型差异较大,如加勒比犬吻蝠属(*Molossops*)和真蝠属(*Eumops*)。而且与其他科物种的 G-带核型相比较,也几乎没有发现鞘尾蝠科与其他科物种染色体间的同源性^[12]。这可能是由于该科的现存物种都比较原始,或 G-显带技术的局限。有关该科不同属物种间及与其他科物种间的核型关系,还有待于分子细胞遗传学技术(如染色体涂色技术)的进一步证实。但该科某些属内物种间核型相对比较保守,如墓蝠属,在已研究的 3 个不同物种^[12]和本研究的黑髯墓蝠中,染色体数目($2n = 42$)和臂指数($FN = 64$)都相同,而且 G 带核型也几乎完全相同。

犬吻蝠科在中国仅有 2 种^[1]。犬吻蝠科物种的常规核型研究表明,该科的二倍染色体数目在 34 ~ 48 之间,常染色体臂数从 54 到

64^[23~26]。Morielle 等^[13]对犬吻蝠科 4 属 7 种进行了 G-和 C-带研究,结果表明犬吻蝠科属间和属内染色体具有高度的保守性。本研究的皱唇蝠与平犬吻蝠(*Mormopterus planiceps*)^[10]虽然属于不同的属,但它们的核型却几乎完全相同,由此推测,犬吻蝠科内具有相同染色体数目而来自不同属的物种间,核型也非常保守。

参 考 文 献

- [1] 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: 27~60.
- [2] 吴毅, 杨奇森, 夏霖等. 中国蝙蝠新记录——马氏菊头蝠. 动物学杂志, 2004, 39(5): 109~110.
- [3] 张礼标, 张劲硕, 梁冰等. 中国翼手类新记录——小巨足蝠. 动物学研究, 2004, 25(6): 556~559.
- [4] 张劲硕, 张礼标, 赵辉华等. 中国翼手类新记录——小褐菊头蝠. 动物学杂志, 2005, 40(2): 96~98.
- [5] 张劲硕, 张俊鹏, 梁冰等. 世界翼手目动物分类系统和种类最新报道. 动物学杂志, 2005, 40(2): 79.
- [6] 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.
- [7] 谷晓明. 大蹄蝠的核型、G-带和 C-带研究. 贵州师范大学学报(自然科学版), 2002, 20(3): 9~11.
- [8] Ao L, Gu X, Feng Q, et al. Karyotype relationships of six bat species (Chiroptera, Vespertilionidae) from China revealed by chromosome painting and G-banding comparison. *Cytogenet Genome Res*, 2006, 115: 145~153.
- [9] Ao L, Mao X, Nie W, et al. Karyotypic evolution and phylogenetic relationships in the order Chiroptera as revealed by G-banding comparison and chromosome painting. *Chromosome Res*, 2007, 15: 257~267.
- [10] Volleth M, Heller K G, Pfeiffer R A, et al. A comparative ZOO-FISH analysis in bats elucidates the phylogenetic relationships between Megachiroptera and five Microchiroptera families. *Chromosome Res*, 2002, 10: 477~497.
- [11] Hood J S, Schlitter D A, Georgiadaki J I, et al. Chromosomal studies of bats (Mammalia: Chiroptera) from Thailand. *Ann Carnegie Mus*, 1988, 57: 99~109.
- [12] Hood C S, Baker R J. G- and C-band chromosome studies of bats of the family Emballonuridae. *Journal of Mammalogy*, 1986, 67: 705~711.
- [13] Morielle-Versute E, Varella-Garcia M, Taddei V A. Karyotypic patterns of seven species of molossid bats (Molossidae, Chiroptera). *Cytogenet Cell Genet*, 1996, 72: 26~33.
- [14] Seabright M. A rapid staining technique for human chromosomes. *Lancet*, 1971, 2: 971~972.

- [15] Sumner A T. A simple technique for demonstrating centromeric heterochromatin. *Exp Cell Res* ,1972 **75** :304 ~ 306.
- [16] Haiduk M W ,Robbins L W ,Robbins R L ,et al. Karyotypic studies of seven species of African megachiropterans (Mammalia :Pteropodidae). *Annals of the Carnegie Museum of Natural History* ,1980 **49** :181 ~ 191.
- [17] Haiduk M W ,Baker R J ,Robbins L W ,et al. Chromosomal evolution in African Megachiroptera :G-band and C-band assessment of the magnitude of change in similar standard karyotypes. *Cytogenet Cell Genet* ,1981 **29** :221 ~ 232.
- [18] 吴毅 ,Harada M. 广东 7 种蝙蝠的核型研究. 兽类学报 , 2006 **26** (4) :403 ~ 406.
- [19] Naidu K N ,Gururai M E. Karyotypic aichitecture of the false vampire bat *Megaderma lyra* . *Cytologia* ,1985 **50** :913 ~ 919.
- [20] Smith J D. Systematics of the Chiroptera family Mormoopidae. Museum of Natural History , Lawrence , University of Kansas : Miscellaneous Publication ,1972 **56** :1 ~ 132.
- [21] Simmons N B , Geisler J H. Phylogenetic relationships of *Icaronycteris* ,*Archaonycteris* ,*Hassianycteris* and *Palaeochiroptera* to extant bat lineages ,with comments on the evolution of echolocation and foraging strategies in Microchiroptera. *Bulletin of the American Museum of Natural History* ,1998 , **235** :1 ~ 182.
- [22] Teeling E C ,Springer M S ,Madsen O ,et al. A molecular phylogeny for bats illuminates biogeography and the fossil record. *Science* 2005 **307** :580 ~ 584.
- [23] Baker R J , Lopez G. Karyotypic studies of the insular populations of bats of Puerto Rico. *Caryologia* ,1970 **23** :465 ~ 472.
- [24] Dulic B ,Mutere F A :Comparative study of the chromosomes of some molossid bats from Eastern Afric. *Period Biol* ,1973 **75** : 61 ~ 65.
- [25] Warner J W ,Patton J L ,Gradner A L ,et al. Karyotypic analysis of twenty-one species of molossid bats (Molossidae : Chiroptera). *Can J Genet Cytol* ,1974 **16** :165 ~ 174.
- [26] Harada M ,Minezana M ,Takada S ,et al. Karyological analysis of 12 species of bats from Thailand. *Caryologia* ,1982 **35** :269 ~ 278.