

# 河南大尾寒羊染色体核型与 G-带分析

赵淑娟, 庞有志, 邓 雯, 王玉琴, 白俊艳

(河南科技大学 动物科技学院, 河南 洛阳 471003)

**[摘 要]** **【目的】**研究河南大尾寒羊染色体核型和 G-带。**【方法】**分离培养河南大尾寒羊外周血淋巴细胞, 制备染色体标本和 G-带标本, 分析河南大尾寒羊的染色体核型和 G-带。**【结果】**河南大尾寒羊二倍体染色体数目为  $2n=54$ , 公羊核型 54, XY; 母羊核型 54, XX。27 对染色体中包括 26 对常染色体和 1 对性染色体, 常染色体中有 3 对为中着丝粒染色体, 23 对为端着丝粒染色体; 性染色体中, X 染色体为最大的端着丝粒染色体, Y 染色体为最小的中着丝粒染色体。河南大尾寒羊 G-带与其他绵羊品种的 G-带基本一致。**【结论】**河南大尾寒羊的染色体数目为:  $2n=54$ , 公羊核型 54, XY; 母羊核型 54, XX。河南大尾寒羊 G-带与其他绵羊品种的 G-带基本一致。

**[关键词]** 河南大尾寒羊; 染色体; 核型; G-带

**[中图分类号]** S826.2

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-9387(2008)03-0039-05

## Ananalysis on the karyotype and G-banding of chromosomes in He'nan large Tail Sheep

ZHAO Shu-juan, PANG You-zhi, DEN Wen, WANG Yu-qin, BAI Jun-yan

(College of Animal Science and Technology, He'nan Univrsity of Science and Technology, Luoyang, He'nan 471003, China)

**Abstract:** **【Objective】** The research is to study the karyotype and G-banding pattern of the chromosomes in Henan large tail sheep. **【Method】** The chromosome samples and G-banding samples were made by the way of the peripheral blood lymphocyte culture to analyze the karyotype and G-banding pattern of the chromosomes in Henan large tail sheep. **【Result】** The number of the chromosomes in Henan large tail sheep is  $2n=54$ , the karyotypes of male and female sheep are 54, XY and 54, XX, respectively. There are 26 pairs of autosomes and 1 pair of sex-chromosome. Among 26 pairs of autosomes, 3 pairs are metacentric chromosomes, 23 pairs are telocentric chromosomes. X chromosome is the biggest subtelocentric chromosome and Y chromosome is the smallest submetacentric chromosome. The analysis of G-banding patterns for macro-chromosome of them indicates no remarkable differences between the Henan large tail sheep and sheep of other breeds. **【Conclusion】** The number of the chromosomes in Henan large tail sheep is  $2n=54$ , the karyotypes of male and female sheep are 54, XY and 54, XX respectively. The G-banding patterns of the He'nan large tail sheep are consistent with these of other sheep breeds.

**Key words:** He'nan large tail sheep; chromosome; karyotype; G-banding

河南大尾寒羊是优良的地方品种, 具有遗传稳定、适应性较强、常年发情、多胎多产、生长发育快、产肉性能高、肉质好等优点。自 20 世纪 60 年代初

期开展绵羊杂交改良以来, 纯种河南大尾寒羊分布区域急剧缩小, 数量锐减, 最低潮时存栏量只有 2 000 余只, 已成为世界性濒危家畜品种<sup>[1]</sup>。目前,

\* [收稿日期] 2007-03-30

[基金项目] 河南省科技攻关项目(0124040025); 河南科技大学科研基金项目(2003ZY15)

[作者简介] 赵淑娟(1964—), 女, 河南巩义人, 副教授, 主要从事动物遗传育种研究。E-mail: zsj90318@163.com

国内外已对许多绵羊品种的染色体核型、G 带进行了详细的研究<sup>[2-7]</sup>,但尚未见河南大尾寒羊染色体方面的研究报道。为此,本试验对河南大尾寒羊的核型、G-带进行了分析,以期从细胞遗传学的角度揭示其种质特性,从而为该品种的保存、种质评定、经济性状的改良与利用、多羔品系的选育、遗传疾病的诊断等寻找新的途径,并为河南地方品种基因库的建立奠定基础。

# 1 材料与方法

## 1.1 材 料

1.1.1 大尾寒羊 试验用河南大尾寒羊购自其保种中心产区河南省平顶山市郏县城郊农户,体格健壮,发育正常,无亲缘关系,公母各 10 只。

1.1.2 主要试剂 RPMI Medium-1640(Gibco 公司产品),胎牛血清(三利生物制品厂生产),植物凝集素(PHA,上海伊华医学科技有限公司出品),胰蛋白酶(北京市海淀区微生物培养基制品厂生产),肝素(北京奥博星生物技术责任有限公司出品),秋水仙素(第二军医大学分装),其他试剂均为国产分析纯。

## 1.2 培养基的配制

培养基按无菌要求制备,每 1 000 mL RPMI Medium-1640 加 2 g NaHCO<sub>3</sub>,然后按 RPMI Medium-1640 培养液 4 mL、胎牛血清 1 mL、10 g/L 的 PHA 0.075 mL、2 g/L 肝素 0.15 mL、庆大霉素 1 000 U 的配比进行配制。配好后用 50 g/L NaHCO<sub>3</sub> 溶液调节 pH 为 7.2~7.4,生物膜过滤除菌后分装于培养瓶,每瓶装约 5 mL,冰箱中冷冻保存备用。

## 1.3 河南大尾寒羊血样的采集和培养

用 2 g/L 肝素钠溶液 0.5 mL 润湿经高压灭菌的注射器后,颈静脉采集河南大尾寒羊血样,每只采 8~10 mL。将血样接种培养基(每 5 mL 培养基中接种全血 0.5~0.8 mL),在(38.5±0.5)℃下培养 72 h。

## 1.4 河南大尾寒羊外周血淋巴细胞的收获与染色体标本的制备

1.4.1 收 获 收获前 3~5 h 加入秋水仙素,使其终浓度为 0.075~0.22 μg/mL。将培养后的细胞收集在离心管中,平衡后 1 000 r/min 离心 8 min,弃去上清液。

1.4.2 染色体标本的制备 (1)低渗。向离心管中加入 37℃ 0.075 mol/L KCl 溶液 8 mL,用吸管轻轻吹打混匀细胞,置于 37℃ 水浴箱中处理 30 min。(2)预固定。向离心管中滴加新配制的甲醇-冰醋酸固定液 1 mL,用吸管轻轻吹打混匀后 1 000

r/min 离心 8 min,弃去上清液。(3)固定。加入新配制的固定液 5 mL,室温静置 20 min,1 000 r/min 离心 10 min,弃去上清液。(4)制片。根据沉淀细胞量的多少,加入适量(0.5~1 mL)新鲜固定液,轻轻吹打制成细胞悬液。用滴管吸取少量细胞悬液,在距玻片约 30 cm 的空中,用滴管垂直将细胞悬液滴在冷藏的载玻片上,自然晾干。(5)染色。用 Giemsa 染液(V(Giemsa 原液):V(pH 7.38 的磷酸缓冲液)=1:9)染色 10~20 min。自来水冲洗,晾干,镜检。同法制备一些空白片子(不染色)以备做 G-带分析使用。

## 1.5 河南大尾寒羊染色体 G-带标本的制备

将常规方法制得的片子(未染色)老化 3~7 d,置 70℃ 烤箱中处理 2 h 后,断电自然冷却备用。取 25 g/L 的胰蛋白酶原液 2.5 mL 加 8.5 g/L 生理盐水至 50 mL,配成 1.25 g/L 的胰蛋白酶溶液,并用 50 g/L 的 NaHCO<sub>3</sub> 溶液调 pH 至 7.0 左右。胰蛋白酶溶液在 37℃ 水浴箱中预热后将玻片标本浸入其中,处理 1~2 min,取出用 8.5 g/L 的生理盐水漂洗 2 次,Giemsa 染液(V(Giemsa 原液):V(pH 6.8 的磷酸缓冲液)=1:9)染色 15~20 min。自来水冲洗,自然晾干,镜检。

# 2 结果与分析

## 2.1 大尾寒羊染色体核型分析

2.1.1 染色体数目的统计 挑选形态清晰、分散良好、收缩适中的染色体中期分裂相(公、母各 50 个)进行显微拍照,并统计染色体数目。结果显示,河南大尾寒羊染色体数目 2n=54 的细胞约占 91.3%,非二倍体细胞占 8.7%,确定河南大尾寒羊的染色体数为 2n=54,其中 26 对为常染色体,1 对为性染色体。河南大尾寒羊的染色体见图 1。

## 2.1.2 染色体相对长度、着丝粒指数、臂比及核型

分别测量公、母羊各 50 个体细胞染色体的短臂(P)、长臂(q)、染色体长度,用 Excel 软件处理,计算染色体相对长度、臂比和着丝粒指数后,按 Levan 等<sup>[2]</sup>的标准划分染色体形态类型。结果(表 1)显示,河南大尾寒羊共有 26 对常染色体和 1 对性染色体,在 26 对常染色体中,1~3 对为大的中部着丝点染色体;4~26 对为端部着丝点染色体;性染色体中,X 染色体是最大的端着丝粒染色体,Y 染色体是最小的中着丝粒染色体。以表 1 中的染色体参数作为染色体配对的依据,同源染色体配对后由大到小排列成核型图(图 2 和图 3),河南大尾寒羊公羊的核型

为  $2n=54,XY$ ;母羊的核型为  $2n=54,XX$ 。这与国内 外许多研究报道的绵羊染色体数目<sup>[3-11]</sup>一致。

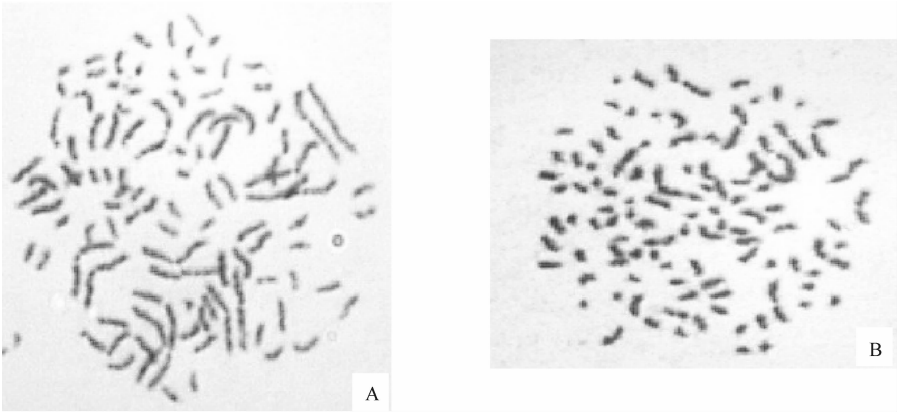


图 1 河南大尾寒羊的染色体  
A. 雄性;B. 雌性

Fig.1 Traploid of He’nan large tail sheep  
A. Male;B. Female

表 1 河南大尾寒羊染色体的 3 特征

Table 1 Chromosome characters of Henan large tail sheep

| 编号<br>No. | 雄性河南大尾寒羊<br>Male Henan large tail sheep |                 |                            |                          | 雌性河南大尾寒羊<br>Female Henan large tail sheep |                 |                            |                          |
|-----------|-----------------------------------------|-----------------|----------------------------|--------------------------|-------------------------------------------|-----------------|----------------------------|--------------------------|
|           | 相对长度<br>Relative length                 | 臂比<br>Arm ratio | 着丝粒指数<br>Centromeric index | 染色体类型<br>Chromosome type | 相对长度<br>Relative length                   | 臂比<br>Arm ratio | 着丝粒指数<br>Centromeric index | 染色体类型<br>Chromosome type |
| 1         | 9.23±0.496                              | 1.20±0.08       | 0.4554±0.018               | M                        | 9.89±0.564                                | 1.26±0.07       | 0.4436±0.013               | M                        |
| 2         | 8.49±0.547                              | 1.22±0.08       | 0.4512±0.016               | M                        | 9.02±0.329                                | 1.24±0.07       | 0.4408±0.014               | M                        |
| 3         | 7.65±0.416                              | 1.15±0.06       | 0.4653±0.013               | M                        | 8.26±0.369                                | 1.15±0.06       | 0.4665±0.014               | M                        |
| 4         | 4.41±0.137                              |                 |                            | T                        | 4.45±0.128                                |                 |                            | T                        |
| 5         | 4.25±0.121                              |                 |                            | T                        | 4.23±0.077                                |                 |                            | T                        |
| 6         | 4.04±0.119                              |                 |                            | T                        | 4.06±0.132                                |                 |                            | T                        |
| 7         | 3.89±0.115                              |                 |                            | T                        | 3.83±0.081                                |                 |                            | T                        |
| 8         | 3.78±0.114                              |                 |                            | T                        | 3.62±0.110                                |                 |                            | T                        |
| 9         | 3.62±0.083                              |                 |                            | T                        | 3.44±0.074                                |                 |                            | T                        |
| 10        | 3.54±0.077                              |                 |                            | T                        | 3.28±0.087                                |                 |                            | T                        |
| 11        | 3.42±0.071                              |                 |                            | T                        | 3.18±0.074                                |                 |                            | T                        |
| 12        | 3.26±0.094                              |                 |                            | T                        | 3.08±0.049                                |                 |                            | T                        |
| 13        | 3.14±0.066                              |                 |                            | T                        | 3.01±0.063                                |                 |                            | T                        |
| 14        | 3.04±0.099                              |                 |                            | T                        | 2.94±0.062                                |                 |                            | T                        |
| 15        | 2.95±0.103                              |                 |                            | T                        | 2.85±0.061                                |                 |                            | T                        |
| 16        | 2.88±0.115                              |                 |                            | T                        | 2.76±0.073                                |                 |                            | T                        |
| 17        | 2.82±0.103                              |                 |                            | T                        | 2.68±0.074                                |                 |                            | T                        |
| 18        | 2.73±0.110                              |                 |                            | T                        | 2.62±0.099                                |                 |                            | T                        |
| 19        | 2.61±0.119                              |                 |                            | T                        | 2.55±0.072                                |                 |                            | T                        |
| 20        | 2.53±0.142                              |                 |                            | T                        | 2.48±0.087                                |                 |                            | T                        |
| 21        | 2.47±0.140                              |                 |                            | T                        | 2.43±0.060                                |                 |                            | T                        |
| 22        | 2.37±0.084                              |                 |                            | T                        | 2.33±0.090                                |                 |                            | T                        |
| 23        | 2.26±0.104                              |                 |                            | T                        | 2.27±0.095                                |                 |                            | T                        |
| 24        | 2.16±0.102                              |                 |                            | T                        | 2.19±0.131                                |                 |                            | T                        |
| 25        | 2.04±0.110                              |                 |                            | T                        | 2.05±0.089                                |                 |                            | T                        |
| 26        | 1.88±0.097                              |                 |                            | T                        | 1.83±0.708                                |                 |                            | T                        |
| X         | 4.72±0.123                              |                 |                            | T                        | 4.76±0.130                                |                 |                            | T                        |
| Y         | 1.65±0.048                              |                 |                            | M                        |                                           |                 |                            |                          |

注：相对长度=某条染色体长度/(一套单倍体染色体长度总和+ X 染色体长度)×100%；T. 端着丝点染色体；M. 中着丝点染色体。  
Note: Relative length=chromosome length/(total length of haploid autosome + length of X-chromosome)×100%；T. Telocentric chromosome；M. Metacentric chromosome.

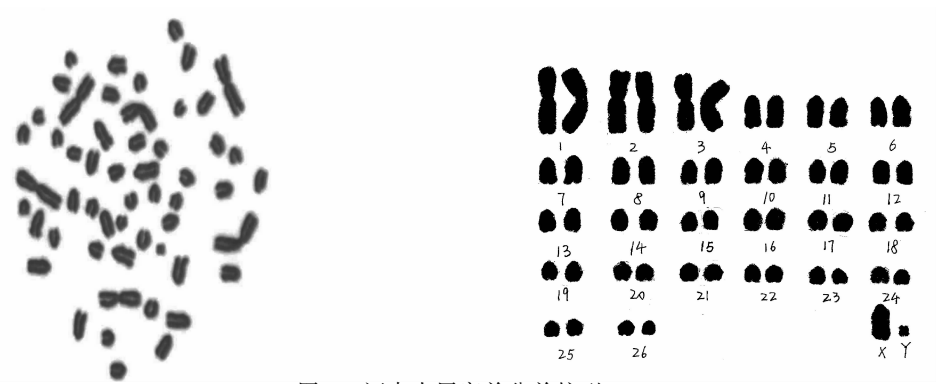


图 2 河南大尾寒羊公羊核型

Fig. 2 Karyotype of male He'nan large tail sheep



图 3 河南大尾寒羊母羊核型

Fig. 3 Karyotype of female He'nan large tail sheep

2.2 河南大尾寒羊染色体 G-带分析

河南大尾寒羊 G-带见图 4 和图 5。

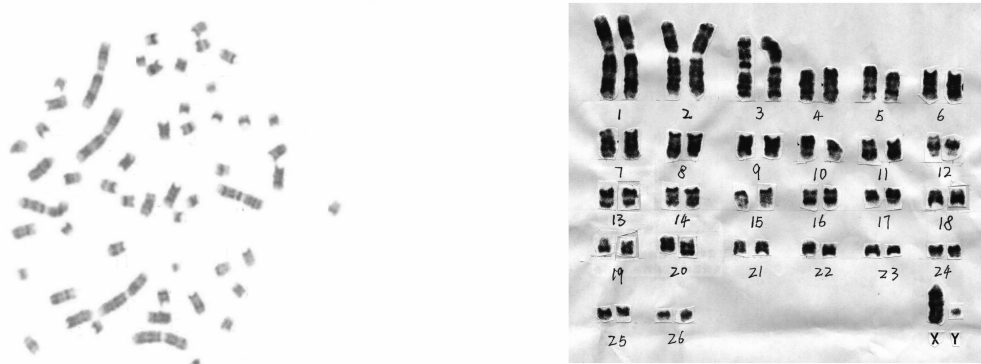


图 4 河南大尾寒羊公羊 G-带

Fig. 4 G-band of male He'nan large tail sheep

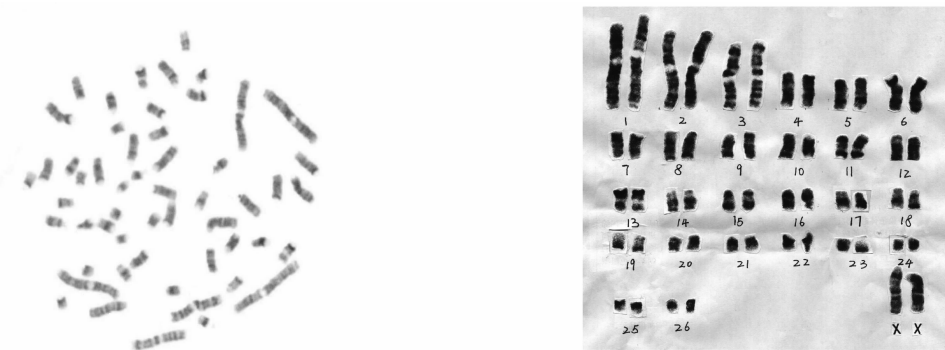


图 5 河南大尾寒羊母羊 G-带

Fig. 5 G-band of female He'nan large tail sheep

由图 4 和图 5 可以看出,除 X、Y 性染色体外,公、母羊常染色体的 G-带带纹位置、数目没有明显差异。本试验河南大尾寒羊 G-带与藏系绵羊<sup>[12]</sup>、新疆细毛羊<sup>[13]</sup>、青海细毛羊<sup>[14]</sup>的 G-带带型基本一致,从而验证了国内外关于家养绵羊不同品种间 G-带具有很高的相似性的报道<sup>[3,12,15]</sup>。

### 3 讨 论

PHA 的效价和培养基的酸碱度直接影响着接种血细胞的生长情况,绵羊外周血淋巴细胞培养最适的温度是 $(38.5 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$ ,如果温度超过 $\pm 1 ^\circ\text{C}$ ,会严重影响实验结果。

本实验结果表明,河南大尾寒羊的染色体数目为 $2n=54$ ,1~3 号常染色体和 Y 染色体均为中着丝粒染色体,4~26 号染色体和 X 染色体为端着丝粒染色体,且 X 染色体为最大端着丝粒染色体,与沈长江等<sup>[3]</sup>对滩羊和蒙古羊的研究结果一致。河南大尾寒羊存在一定比的例体细胞染色体 $2n \neq 54$ 的现象,这可能是由于体细胞染色体数目变异和结构变异,或是实验过程中低渗过度使细胞肿胀,吹打过猛使中期染色体散失,也可能是在离心时速度过快或者时间过长造成染色体堆积所致。染色体整倍性变异在国内许多绵羊中均存在<sup>[16]</sup>,生殖细胞的染色体整倍性变异常常与繁殖性能相关,而正常个体允许体细胞染色体整倍性变异的存在。

本试验在对河南大尾寒羊染色体进行 G-带分析时发现,绵羊 G-带带纹的显现与胰蛋白酶的处理时间和细胞所处的时期有关。胰蛋白酶处理时间不足,不能显示清楚的带纹;胰酶处理时间过长,染色体膨胀、变形、变淡,仍观察不到清楚的带纹。当姊妹染色单体并在一起时,容易出现明显而清晰的带纹。同时,染液的浓度及染色时间的长短均对带纹的清晰度有影响,带纹的数目和精细程度随着染色体长度的增加而增加。染色体空白片的老化时间和合适的胰蛋白酶处理时间,是获得良好带型的关键。空白片老化的时间与胰蛋白酶处理的时间成正比,但是试验条件和实验动物的不同,也决定了实验过程中存在一定的差异。如何获得更好的带型、更多的带,仍然需要进一步探讨。

### 〔参考文献〕

[1] 赵淑娟,庞有志,邓 雯,等.河南大尾寒羊的遗传资源与基因库构建[J].河南农业科学,2005(5):81-83.

- Zhao S J, Pang Y Z, Den W, et al. Genetic resources and gene bank construction of fat-tail sheep in He'nan Province [J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2005(5):81-83 (in Chinese)
- [2] Levan A, Fredge K, sandberg A. Nomenclature of great horned ovis (*Bubo virginianus*) [J]. Cytogenet Cell Genet, 1964, 28: 79-86.
- [3] 沈长江,郭爱林.关于滩羊和蒙古羊的染色体[J].畜牧兽医学报,1980,1(2):83-86.
- Shen C J, Guo A L. Chromosomes of Tan-sheep and Mongolia Sheep [J]. Chinese Journal of Animal and Veterinary Sciences, 1980, 1(2):83-86. (in Chinese)
- [4] 门正明,韩建林.滩羊染色体组型的分析[J].甘肃农业大学学报,1984,19(3):43-45.
- Men Z M, Han J L. Analysis of the karyotype in Tan-sheep [J]. Journal of Gansu Agricultural University, 1984, 19(3):43-45. (in Chinese)
- [5] 沈元新.湖羊染色体组型分析[J].遗传,1985,5(5):12-15.
- Shen Y X. Analysis of the Karyotype in Hu-sheep [J]. Hereditas, 1985, 5(5):12-15. (in Chinese)
- [6] 晁玉庆.内蒙古乌珠穆沁羊染色体组型和带型分析[J].内蒙古农牧学院学报,1986,7(1):13-19.
- Chao Y Q. Analysis of the Karyotype and Bands of chromosomes in Ujumqin sheep [J]. Journal of Inner Mongolia Agriculture and Animal Husbandry College, 1986, 7(1):13-19. (in Chinese)
- [7] 贾敬肖.同羊染色体组型研究的初报[J].畜牧兽医杂志,1986,5(4):4-6.
- Jia J X. A Preliminary Study on the Karyotype in Tong-sheep [J]. Journal of Animal Science and Veterinary Medicine, 1986, 5(4):4-6. (in Chinese)
- [8] 哈密提·哈凯莫夫.新疆阿勒泰羊染色体研究[J].新疆农业大学学报,1986,9(1):23-29.
- Ha mi-ti · Ha kai-mofu. Study on the chromosomes in Xinjiang Aletai Sheep [J]. Journal of Xinjiang Agricultural University, 1986, 9(1):23-29. (in Chinese)
- [9] 晁玉庆.内蒙古细毛羊染色体核型分析[J].内蒙古畜牧科学,1991,12(5):5-8.
- Chao Y Q. Analysis of Karyotype in Inner Mongolia Semi-fine Wool Sheep [J]. Inner Mongolia Farming Science, 1991, 12(5):5-8. (in Chinese)
- [10] 买买提依明·巴拉提.南山型新疆细毛羊染色体的研究[C]//新疆第二届青年学术年会论文集.北京:人民出版社,1995:817-818.
- Mai mai ti ming · Ba-lati. Study on the chromosome of Xinjiang Nan shan Fine Wool Sheep [C]//The second Xinjiang youth proceedings of academic annual conference. Beijing: People's publishing House, 1995:817-818. (in Chinese)