

卢氏绿壳蛋鸡染色体核型与 G 带分析

赵淑娟, 雷雪芹, 徐廷生, 庞有志, 王笑笑

(河南科技大学 动物科技学院, 河南 洛阳 471003)

[摘要] **【目的】**探讨卢氏绿壳蛋鸡染色体核型和 G 带带型。**【方法】**采用骨髓法制备卢氏绿壳蛋鸡染色体标本片, 染色后对其染色体核型和 G 带进行分析。**【结果】**卢氏绿壳蛋鸡的体细胞染色体数为 $2n=78$, 该鸡种的核型中有 10 对大染色体和 29 对微小染色体, 且微小染色体基本为端着丝粒染色体。公鸡染色体核型由 38 对常染色体和 1 对同配型性染色体 ZZ 组成, 母鸡由 38 对常染色体和 1 对异配型性染色体 ZW 组成。1、2 号和 Z、W 均为中央着丝粒(m)染色体, 4 号和 7 号均为亚中央着丝粒(sm)染色体, 3、6、8、9、10 号均为端着丝粒(t)染色体。前 10 对大染色体(包括 Z、W 染色体)的 G 带共可分为 32 个区, 118 条带。**【结论】**卢氏绿壳蛋鸡的染色体数目为: $2n=78$, 公鸡核型 78, ZZ; 母鸡核型 78, ZW。卢氏绿壳蛋鸡与其他品种鸡的 G 带存在一定的差异。

[关键词] 卢氏绿壳蛋鸡; 染色体; 核型; G 带

[中图分类号] S831.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2009)12-0034-05

An analysis of the karyotype and G banding of chromosomes in Lushi green eggshell chicken

ZHAO Shu-juan, LEI Xue-qin, XU Ting-sheng, PANG You-zhi, WANG Xiao-xiao

(College of Animal Science and Technology, Henan University of Science and Technology, Luoyang, Henan 471003, China)

Abstract: **【Objective】** The research is to study the karyotype and G-banding pattern of the chromosomes in Lushi green eggshell chicken. **【Method】** The chicken's chromosome samples were prepared by bone marrow method, and Lushi green eggshell chicken's karyotype and G band patterns after dyeing were analyzed. **【Result】** The number of chromosomes Lushi green eggshell chicken is $2n=78$, the chicken breed with 10 pairs of macro-chromosomes and 29 pairs of micro-chromosomes, and the micro-chromosomes are almost telocentrics chromosome. Male karyotype consists of 38 pairs of chromosomes and one pair of homogametic sex chromosomes ZZ, while female karyotype consists of 38 pairs of chromosomes and one pair of heterogametic sex chromosomes ZW. Lushi green eggshell chicken's No. 1, 2 and Z, W chromosomes are the metacentrics (m) chromosome, No. 4 and No. 7 chromosomes are submetacentrics (sm) chromosome, No. 3, No. 6, No. 8, No. 9 and No. 10 are telocentrics chromosome. The first 10 pairs of macro-chromosomes can be divided into total 32 zones and 118 G-bands. **【Conclusion】** The number of the chromosomes in Lushi green eggshell chicken is $2n=78$, the karyotypes of male and female chicken are 78, ZZ and ZW respectively. The G banding patterns is different from other breeds.

Key words: Lushi green eggshell chicken; chromosome; karyotype; G banding

* [收稿日期] 2009-03-18

[基金项目] 河南省重点科技攻关项目(082102130001); 洛阳市重点科技攻关项目(0701040A); 河南科技大学实验技术基金开发项目(SY0809017)

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

[通信作者] 雷雪芹(1962—), 女, 河南洛宁人, 教授, 博士, 主要从事动物遗传育种与分子生物技术研究。

E-mail: xueqinlei@163.com

卢氏绿壳蛋鸡属片羽型非乌骨系绿壳蛋品系,其主产区卢氏县地处河南西部边陲,当地独特的地理环境为卢氏鸡提供了得天独厚的天然隔离屏障及广阔的活动场地,从而形成了卢氏鸡这一优良地方品种^[1]。卢氏鸡因具有耐粗饲、抗病力强、个体轻巧、产蛋多、蛋肉品质好等优点而闻名,2001 年列入河南省优良畜禽品种资源保护录。该品种种质资源特异性高,自然状态下约有 0.9% 的个体产绿壳蛋,且所产的绿壳蛋蛋清浓,蛋黄呈橘红色,经检测具有“三高一低”(高锌、高碘、高硒、低胆固醇)特点,被誉为“鸡蛋中的人参”,因而极具开发利用价值^[2]。目前,尚未见对卢氏绿壳蛋鸡进行细胞遗传学方面的详细报道。本研究对卢氏绿壳蛋鸡染色体的核型和 G 带进行分析,拟从细胞遗传学角度揭示其种质特征,不仅对该品种的保存、种质测定、经济性状的改良及利用有重要的实际意义,而且可为河南地方鸡种基因库的建立和研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

1.1.1 试验动物 卢氏绿壳蛋鸡种蛋取自河南省卢氏县种鸡场,经 21 d 孵化获得 29 只卢氏鸡(公鸡 14 只,母鸡 15 只)作为试验动物。

1.1.2 主要试剂与仪器设备 秋水仙素,第二军医大学分装;胰蛋白酶,北京市海淀区微生物培养基制品厂生产;双目显微镜,上海彼爱姆光学仪器制造公司生产;精密恒温水浴锅,江苏省金坛市医疗仪器厂生产;电热恒温鼓风干燥箱,上海跃进医疗器械厂生产;易创 YD200 数字摄像机;Miprd 易创数字处理软件 V 2.0。

1.2 试验方法

1.2.1 染色体标本片的制备 取 5~10 日龄的健康雏鸡,称质量后腹腔注射秋水仙素 20 μg/g,作用 3~3.5 h 后宰杀取其骨髓,经 0.075 mol/L KCl 低

渗、预固定、一固定、二固定后,制备细胞悬液、滴片、Giemsa 染色,制备染色体标本片(或空白片备用),待镜检观察。

1.2.2 染色体 G 带显带处理 将制备好的染色体标本片室温下老化 3~7 d,置于 75 ℃ 的烘箱中烤片 2 h,然后用 2.5 g/L 的胰蛋白酶消化溶液处理 40~75 s,取出标本片立即用新配制的 Giemsa 染色液染色 15 min,用自来水冲洗,待其自然干燥或电吹风吹干,显微镜下观察 G 带显带情况。

1.2.3 染色体核型分析 选择染色体分散良好、形态清晰的分裂相进行显微照相,统计公鸡、母鸡各 30 个良好分裂相,以确定二倍体染色体数目。根据前 9 对大型染色体及 Z、W 染色体的大小,依次编号排列成核型图。按以下公式计算所测染色体的相对长度、臂比值和着丝粒指数,并按 Levan 等^[3]的标准划分染色体形态类型。

相对长度=[某条染色体长/1~10 染色体总长(包括 Z 染色体)]×100%;

臂比值=长臂长/短臂长;

着丝粒指数=[短臂长/(长臂长+短臂长)]×100%。

1.2.4 染色体 G 带分析 选择形态完整、染色体较长、带型清晰的公鸡、母鸡染色体显带分裂相,镜检观察并进行显微照相,经放大处理冲洗印后,进行剪贴,配对制成染色体显带核型图,确定染色体 G 带的数量及带型。

2 结果与分析

2.1 卢氏绿壳蛋鸡的二倍体(2n)细胞染色体数目 在显微镜下计数染色体数目,结果见表 1。由表 1 可知,卢氏绿壳蛋鸡体细胞 2n 众数为 78,平均占所观察细胞总数的 75%,据此可知,卢氏绿壳蛋鸡的体细胞染色体数为 2n=78。

表 1 卢氏绿壳蛋鸡骨髓细胞染色体数目(2n)

性别 Sex	试验动物数 Number of tested animals	观察细胞数 Observed number of cells	染色体 2n 数目分布 Distribution of number 2n chromosomes									2n = 78 频率/% Frequency of 2n = 78
			<74	74	75	76	77	78	79	80	>80	
♂	14	30	0	1	1	2	1	23	1	1	0	77
♀	15	30	0	1	2	1	2	22	1	1	0	73
合计 Total	29	60	0	2	3	3	3	45	2	2	0	75

2.2 卢氏绿壳蛋鸡的染色体核型

分别对公鸡、母鸡各 30 个体细胞的前 10 对染色体(包括 1 对性染色体)的长臂、短臂进行测量,计算

其相对长度、平均臂比值和着丝粒指数,结果见表 2。根据染色体的大小进行剪贴、配对,制成的核型图见图 1。图 1 显示,公鸡染色体核型由 38 对常染色体和

1 对同配型性染色体 ZZ 组成,母鸡染色体核型由 38 对常染色体和 1 对异配型性染色体 ZW 组成。

表 2 卢氏绿壳蛋鸡大染色体的特征

Table 2 Macro-chromosome characters of Lushi green eggshell chicken

染色体号 No.	相对长度/% Relative length	平均臂比值 Arm ratio	着丝粒指数 Centromeric index
1	19.69±0.37	1.49±0.10	0.41±0.02
2	15.44±0.26	1.62±0.14	0.38±0.02
3	11.18±0.21	—	0
4	10.67±0.20	2.26±0.34	0.31±0.03
5(Z)	10.34±0.18	1.11±0.09	0.48±0.02
5(W)	5.65±0.17	1.20±0.29	0.45±0.04
6	7.05±0.14	—	0
7	5.83±0.14	1.78±0.32	0.37±0.04
8	5.16±0.10	—	0
9	4.74±0.08	—	0
10	4.28±0.08	—	0

根据表 2 的测量结果,对照 Levan 等^[3]的标准进行着丝粒定位,卢氏绿壳蛋鸡的前 10 对大染色体的特征如下:1 号为中央着丝粒染色体,是最大的染色体;2 号为中央着丝粒染色体;3 号为端着丝粒染色体;4 号为亚中央着丝粒染色体;5 号 Z 染色体和 W 染色体均为中央着丝粒染色体;6 号为端着丝粒

染色体;7 号为亚中央着丝粒染色体;8~10 号为端着丝粒染色体。其余 29 对微小染色体均为大小不等的粒状染色体,从形态上很难清楚辨别确定它们是中、亚中、端或近端部染色体,但习惯上将它们均划为端着丝粒染色体。

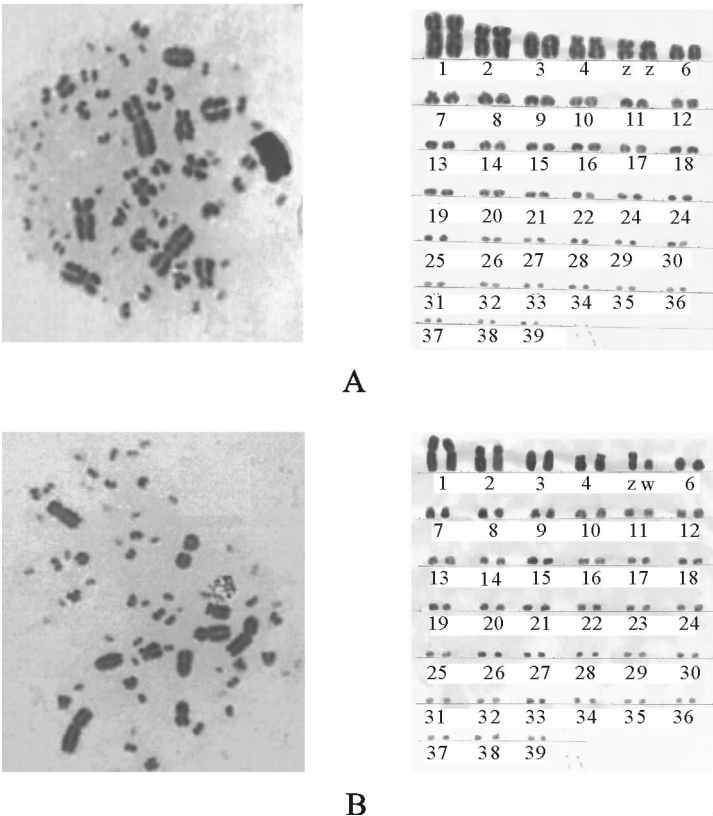


图 1 卢氏绿壳蛋鸡公鸡(A)和母鸡(B)的染色体中期分裂相与核型图(4×100)

Fig. 1 Metaphase chromosomes and karyotype of male (A) and female (B) of Lushi green eggshell chicken (4×100)

2.3 卢氏绿壳蛋鸡的染色体 G 带带型

卢氏绿壳蛋鸡公鸡和母鸡染色体 G 带带型图

见图 2。卢氏绿壳蛋鸡前 10 对大染色体早、中期 G 带带型特征描述如下。

1 号:短臂共分布 4 条带,近着丝粒处为 1 条深带,中部为 2 条窄带,远端为 1 条宽的深带;长臂共分布 8 条带,近着丝粒处为 3 条宽的深带,中间为 4 条窄带,远端为 1 条宽带。

2 号:短臂共分布 4 条带,近着丝粒处分布 1 条深的宽带,中间为 2 条窄的深带,远端为 1 条宽带;长臂共分布 5 条带,近着丝粒处为 1 条宽带,中部分布 1 条深的窄带,1 条深的宽带,远端为 2 条窄带。

3 号:共分布有 6 条带,近端分布有 2 条宽的深带,中部分布有 1 条窄带和 1 条较宽的带,远端分布有 2 条窄带。

4 号:短臂共分布 2 条带,近着丝粒处为 1 条深带,远端为 1 条窄带;长臂共分布 5 条带,近着丝粒处为 1 条深的宽带和 1 条窄带,中间为 2 条较宽的带,远端为 1 条浅的窄带。

5 号:(1)Z。短臂共分布 3 条带,近着丝粒处为 1 条较宽的深带,远端分布有 2 条窄带;长臂共分布 3 条宽带。

(2)W。长短臂各分布有 1 条深的宽带。

6 号:共分布有 5 条带,近端为 1 条深的宽带,中部为 2 条深的窄带,远端为 1 条宽带和 1 条窄带。

7 号:短臂上分布有 1 条深带;长臂上共分布有 3 条带,近着丝粒处为 1 条深的宽带,中间为 1 条窄带,远端为 1 条窄带。

8 号:共分布有 3 条带,近端为 1 条窄带,中部为 1 条深的宽带,远端为 1 条窄带。

9 号:共分布有 3 条带,近端为 1 条深带,中部为 1 条较宽的深带,远端为 1 条窄带。

10 号:共分布有 2 条带,近端为 1 条窄带,远端为 1 条深宽带。

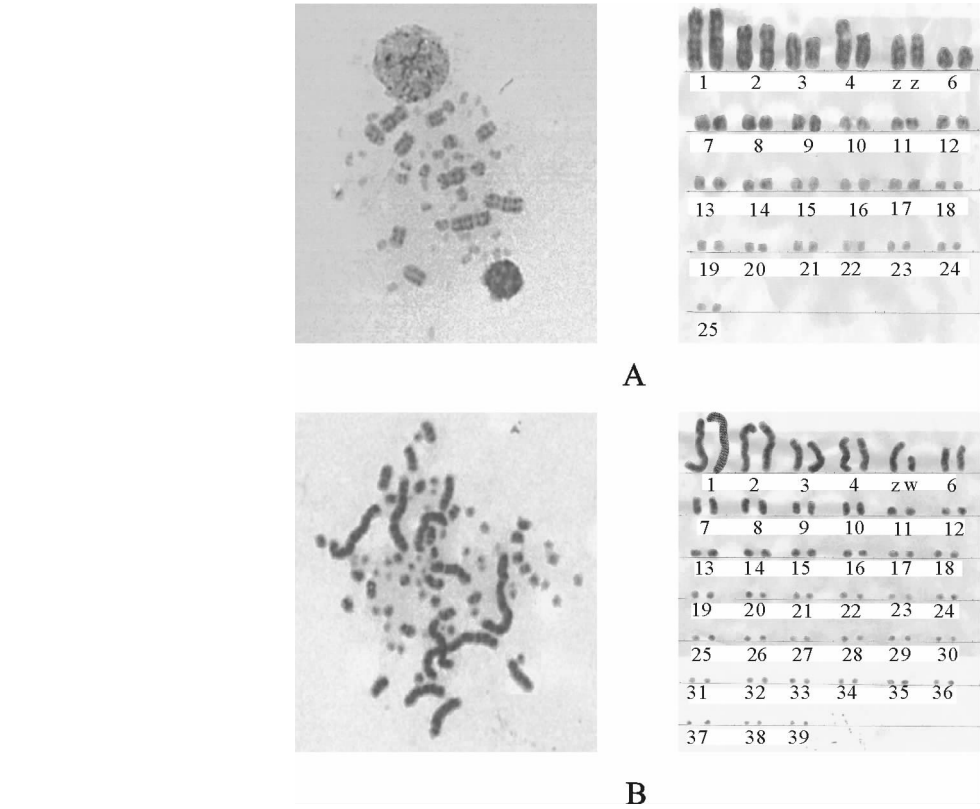


图 2 卢氏绿壳蛋鸡公鸡(A)和母鸡(B)染色体的 G 带(4×100)

Fig. 2 Chromosome G-band of male (A) and female (B) of Lushi green eggshell chicken (4×100)

3 讨 论

3.1 染色体核型分析

禽类染色体数目众多,且大部分为微小染色体,这些微小染色体易发生罗伯逊易位,在滴片过程中比较容易丢失,这给家鸡的染色体计数和形态描述

造成了一定困难。本研究在高倍显微镜下对所制备的卢氏绿壳蛋鸡染色体标本片进行镜检,测得卢氏绿壳蛋鸡染色体数目 $2n$ 众数为 78,占观察细胞总数的 75%,这与陈国宏等^[4]、刘友清等^[5]、刘蓓一等^[6]、王偕根等^[7]的研究结果接近。

卢氏绿壳蛋鸡 1 号、2 号和一对性染色体(Z、W)均为中央着丝粒(m)染色体,4 号和 7 号均为

亚中央着丝粒(sm)染色体,3、6、8、9、10 号均为端着丝粒(t)染色体,这与前人报道结果大部分相同^[4-12],但还存在一些区别,如曾养志^[8]、Stock 等^[9]认为,1 号染色体为亚中央着丝粒染色体;陈国宏等^[4]、刘蓓一等^[6]、程光潮等^[10]、嵇宝华等^[11]认为,2 号染色体为亚中央着丝粒染色体;曾养志^[8]、村松晋^[12]认为,9 号染色体为亚中央着丝粒染色体。

本研究经分析得出,W 染色体的大小介于 7 号和 8 号染色体之间,这与 Stock 等^[9]确定的 W 染色体大小与 9 号染色体相当的结论不同。这可能与鸡品种的类型不同有关,也可能与不同研究者所测的大型染色体数目不同有关。

村松晋^[12]认为,前 6 对染色体为大型染色体;Pollock 等^[13]则将前 10 对划分为大型染色体;笔者认为,将前 10 对染色体划分为大型染色体,后 29 对划分为微小染色体较为适宜。因此,本研究仅对卢氏绿壳蛋鸡的前 10 对大型染色体进行了分析。

3.2 染色体 G 带分析

禽类染色体中因有大量微小染色体,所以 G 带的制备较哺乳动物困难。影响 G 带带纹质量的因素主要有以下几个方面:(1)可能与染色体的绝对长度有关。一般而言,染色体越长,G 带带纹数目越多,带纹也越精细。(2)与胰蛋白酶的浓度及消化处理的时间有关。如果胰酶浓度过低或消化时间不够,则 G 带带纹模糊,界标也不清晰;如果胰酶浓度过高或消化时间过长,则 G 带带纹就会逐渐消失。(3)烤片温度及时间的控制。本试验中,将制备好的染色体标本片室温下老化 3~7 d,置于 75 ℃ 的烘箱中烤片 2 h,然后用胰蛋白酶浓度为 2.5 g/L 的消化液进行消化,经多次重复后最终以公鸡采用 45 s、母鸡采用 75 s 制得的 G 带标本片效果较好,这与嵇宝华等^[11]、徐琪等^[14]报道的 60 ℃ 烤片 12 h、消化 60~80 s,刘蓓一等^[6]采用的在 78 ℃ 低湿条件下烤片 2 h、消化 75 s 不同。本试验中,胰蛋白酶的消化处理时间并不固定,需要根据胰蛋白酶消化液的浓度、消化液使用的次数、染色体标本片老化时间长短,以及公母个体差异等条件的改变而变化。

本试验结果显示,前 10 对染色体共分布有 118 条深带和浅带,因目前国内尚未见卢氏绿壳蛋鸡染色体 G 带核型的报道,与前人报道的其他鸡种 G 带^[4,6,15]比较可知,差异主要表现在带纹数目、分布情况及带纹的宽度等方面。分析造成以上差异的主要原因,首先可能是卢氏绿壳蛋鸡的某些染色体与其他品种染色体有区别,造成不同鸡种间 G 带带型

存在差异,这也表明 G 带带型特征能从一定程度上反映品种特性;其次可能是不同作者采用的染色体 G 带制备方法不同,使形成的 G 带带纹精细程度不同;其三,可能是不同作者选择的染色体分裂相所处的时期不同,导致获得的 G 带带纹数目不同。

3.3 骨髓法制备染色体标本的技术条件

采用骨髓法制备染色体标本时,如果操作不当,可能使制得的染色体出现丢失、结构形态不清等问题。本研究得到试验用鸡的最佳日龄为 5~10 日龄,3、4、11、12、13 日龄经过试验也能做出结果,但染色体分裂相及染色体形态均不理想。经过几个梯度(10,15,20,25 $\mu\text{g/g}$)试验,得到的秋水仙素最佳处理剂量为 20 $\mu\text{g/g}$,与黄燕等^[16]报道的用 10 $\mu\text{g/g}$ 秋水仙素处理、汉丽梅等^[17]报道的用 2 $\mu\text{g/g}$ 秋水仙素处理的结果不一致。秋水仙素的最佳处理时间为 3~3.5 h,这与程光潮等^[10]、汉丽梅等^[17]报道的秋水仙素处理时间基本吻合。

[参考文献]

- [1] 牛岩,冯卫民,李鹏飞,等. 卢氏鸡品种资源的保护与选育开发[J]. 中国禽业导刊,2003,20(18):19.
Niu Y, Feng W M, Li P F, et al. Protection and selected breeding of variety resource for Lushi chicken[J]. Guide to Chinese Poultry, 2003, 20(18):19. (in Chinese)
- [2] 吉进卿. 卢氏鸡种质资源特性及选育进展[J]. 河南农业科学, 2006(3):100-101.
Ji J Q. Breed character and progress of selected breeding for Lushi chicken[J]. Journal of Henan Agricultural Sciences, 2006(3):100-101. (in Chinese)
- [3] Levan A, Fredge K, Sandberg A. Nomenclature of great horned owls(*Bubo virginianus*) [J]. Cytogene, Cell Genet, 1964, 28:79-86.
- [4] 陈国宏, 刘莉, 张学余, 等. 泰和乌骨鸡的核型与带型研究[J]. 遗传, 2003, 25(4):401-408.
Chen G H, Liu L, Zhang X Y, et al. Studies on ikihe silkies karyotype and band pattern[J]. Hereditas(Beijing), 2003, 25(4):401-408. (in Chinese)
- [5] 刘友清, 傅佩胜, 陈艳卿. 寿光鸡染色体的研究[J]. 山东农业科学, 1993(2):13-15.
Liu Y Q, Fu P S, Chen Y Q. Studies on chromosome of shouguang chicken[J]. Shandong Agriculture Science, 1993(2):13-15. (in Chinese)
- [6] 刘蓓一, 李国祥, 秦枫, 等. 固始鸡核型、G 带的研究[J]. 中国家禽, 2006, 28(6):16-19.
Liu B Y, Li G X, Qin F, et al. Study on karyotype and G-band of Gushi chicken[J]. China Poultry, 2006, 28(6):16-19. (in Chinese)