

海门白山羊染色体核型研究及C-带分析*

房兴堂¹, 陈宏^{1,2}, 游余群¹, 毛晓勤¹, 冯照军¹

(1 徐州师范大学 生命科学学院, 江苏 徐州 221116;

2 西北农林科技大学 动物科技学院, 陕西 杨凌 712100)

[摘要] 采用外周血淋巴细胞培养及染色体分带技术, 分析了海门白山羊的染色体核型与C-带。结果表明, 海门白山羊二倍体染色体数为 $2n=60$, 常染色体和X染色体均为端部着丝粒染色体, X染色体的大小介于1号和2号染色体之间, Y染色体最小, 为中部着丝粒染色体, 公羊核型为 $60, XY$, 母羊为 $60, XX$ 。大部分常染色体和X, Y染色体着丝粒部位显示阳性C-带, 但不同染色体的阳性C-带区域大小不同。

[关键词] 海门白山羊; 染色体; 核型; C-带

[中图分类号] S826.8⁺9

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2005)05-0019-04

控制生物性状的基因位于染色体上, 染色体是生物遗传物质的载体。有关染色体的研究主要有核型和带型分析2个方面。20世纪初, 就有人对山羊染色体数目和形态进行过研究, 随着染色体制片技术的改进和提高, 人们对家畜染色体有了更多的了解, 特别是20世纪70年代初出现染色体分带技术后, 细胞遗传学研究进入了一个高速发展阶段。染色体分带技术的发展使物种的核型分析更加精确, 而且能分析各种染色体畸变, 使物种分类得到有力证据。许多学者对不同品种山羊的染色体进行了详细分析, 如叶绍辉等^[1]对云南地区4个保种山羊群的染色体核型及显带进行了研究; 钟金城等^[2]对山谷型藏山羊染色体核型及带型进行了研究; 赵亚力等^[3]对藏山羊染色体做了研究; 班兆侯等^[4]分析了贵州山羊染色体核型和C-带多态性; 雷初朝等^[5]对山羊和绵羊的染色体核型进行了比较等等, 这些都为山羊的分类提供了重要的科学资料和依据。

海门白山羊是分布在江苏地区特有的2个地方山羊品种之一, 主产区位于江苏的长江三角洲地带, 是肉、皮、毛兼用的山羊品种, 海门白山羊在江苏饲养数量较多, 仅海门、启东、南通三县的存栏量就达110多万只。其外貌特征是: 被毛白色而富有光泽, 头大小适中, 嘴狭长, 公母羊均有角、须, 颈细长, 身体结构匀称, 背腰平直, 四肢端正, 蹄壳结实^[6]。羊肉膻味小, 肥嫩鲜美, 板皮结实、细致; 公羔颈、背部所产羊毛, 挺直有锋, 是优质笔料毛。随着对该品种保

护和进一步开发的重视, 其在国内外的知名度日益提高。海门白山羊已被列入国家畜禽品种资源保护名录, 并形成较好的产业发展基础。然而, 迄今尚未对海门白山羊的细胞遗传学特征进行研究, 对其染色体核型及C-带的研究也未见报道。本研究对海门白山羊染色体的核型和C-带进行了分析, 并与其他山羊的染色体进行了比较, 以期为更好地评价和利用海门白山羊这一遗传资源提供细胞遗传学依据, 同时也为家畜品种的遗传资源调查积累资料。

1 材料与方法

1.1 试验动物

海门白山羊(4公、4母)来自江苏海门一农户, 其种羊购自海门种羊场, 且生长健康, 发育正常。

1.2 染色体标本制作

用高压灭菌过的注射器吸取质量分数0.2%的肝素钠0.2~0.3 mL, 湿润针管, 颈静脉采血5~10 mL。每100 mL培养基含RPMI 1640培养液80 mL(美国制造), 小牛血清20 mL, 自制PHA 2 mL, 质量分数0.2%肝素钠3 mL, 青霉素和链霉素各100 U/mL, 用质量分数5% NaHCO₃调至pH为7.5, 过滤除菌, 每5 mL培养基分装于培养瓶中。每个培养瓶加血样0.5~0.7 mL, 在38.5℃下培养72 h, 收获前3~5 h加入质量分数0.001%的秋水仙素2滴。培养结束后离心收集细胞, 用0.075 mol/L KCl于37℃下处理30 min, 卡诺氏固定液固定2~3次,

* [收稿日期] 2004-07-21

[基金项目] 江苏省教育厅自然科学基金项目(03KJD230216); 徐州师范大学重点资助课题(02AXW011)

[作者简介] 房兴堂(1963-), 男, 江苏沛县人, 副教授, 主要从事应用生物技术、经济动物资源开发和动物营养研究。

每次固定 30 min, 按空气干燥法常规制片。用 1:10 (体积比) Giemsa 染液染色 30 min (留一部分白片做 C-带分析), 用清水洗净晾干。

1.3 显微照相与分析

选择分裂相好的数张染色体标本玻片用 LEICA DMRA2 相机照相。利用 ADOBE PHOTOSHOP 7.0 图像处理软件进行染色体的剪贴、排队, 按常规方法进行同源染色体的配对、测量和核型分析, 并根据 Levan 的标准命名染色体^[7]。

1.4 染色体 C-显带与分析

用 Ba(OH)₂ 法显带, 染色体标本玻片用盐酸 (0.2 mol/L) 处理 20 min, 蒸馏水漂洗 3 次, 晾干, 再用质量分数 5% Ba(OH)₂ 于 60℃ 水浴中处理 5~25 min, 经蒸馏水漂洗后自然干燥, 将玻片置于

2×SSC 溶液中, 60℃ 温浴 0.5~2 h, 自然干燥后, 用 1:10 (体积比) Giemsa 染色, 显微镜下观察。采用与核型研究相同的方法对 C-显带染色体标本进行显微照相和分析。

2 结果与分析

2.1 海门白山羊染色体数目

挑选形态清晰、分散良好、收缩适中的中期分裂相 50 个, 镜检并统计染色体数目。其结果表明, 海门白山羊染色体数目 2n=60 的细胞约占 83.1%, 因而确定海门白山羊的染色体数为 2n=60。

2.2 海门白山羊染色体相对长度与核型

分别测量 50 个细胞染色体的长度, 计算其相对长度, 得出海门白山羊染色体参数和类型见表 1。

表 1 海门白山羊染色体的相对长度及着丝粒位置

Table 1 Relative length of chromosome and position of the centromere in Haimen White goat					
染色体号 Chromosome No.	相对长度 Relative length	着丝粒位置 Position of centromere	染色体号 Chromosome No.	相对长度 Relative length	着丝粒位置 Position of centromere
1	5.62±0.530	T	17	2.97±0.127	T
2	4.92±0.249	T	18	2.90±0.125	T
3	4.77±0.227	T	19	2.81±0.151	T
4	4.58±0.175	T	20	2.71±0.159	T
5	4.41±0.173	T	21	2.64±0.178	T
6	4.26±0.209	T	22	2.56±0.219	T
7	4.14±0.190	T	23	2.47±0.194	T
8	4.01±0.201	T	24	2.37±0.195	T
9	3.92±0.182	T	25	2.30±0.200	T
10	3.80±0.148	T	26	2.21±0.169	T
11	3.68±0.126	T	27	2.08±0.181	T
12	3.53±0.141	T	28	1.88±0.170	T
13	3.43±0.136	T	29	1.56±0.306	T
14	3.33±0.116	T	X	5.05±0.212	T
15	3.21±0.129	T	Y	1.43±0.397	M
16	3.11±0.102	T			

注: (1) 相对长度为每条染色体长度占单倍体常染色体总长度加上 X 染色体长度的百分值; (2) T 代表端着丝粒染色体, M 代表中部着丝粒染色体。

Note: (1) Relative length = chromosome length / (total length of haploid autosome + length of X-chromosome) × 100%; (2) T, telocentric chromosome; M, metacentric chromosome

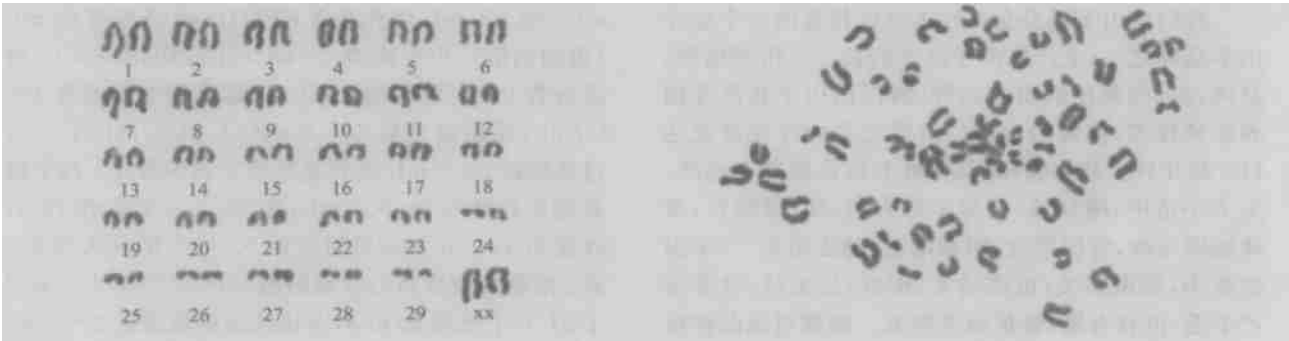


图 1 海门白山羊核型(♀)

Fig 1 Karyotype of Haimen White goat (♀)

从表 1 可以看出, 海门白山羊 60 条染色体中, 58 条是同源染色体配对的常染色体, 均为端着丝粒染色体(见图 1 和图 2), 性染色体 X、Y 为 2 条大小悬殊的染色体, X 染色体也是一个端着丝粒染色体,

其大小介于第一和第二号染色体之间。Y 染色体是一个最小的中着丝粒染色体。从图 1 和图 2 中可以看出, 海门白山羊母羊的核型式为 60, XX; 公羊的核型式为 60, XY。

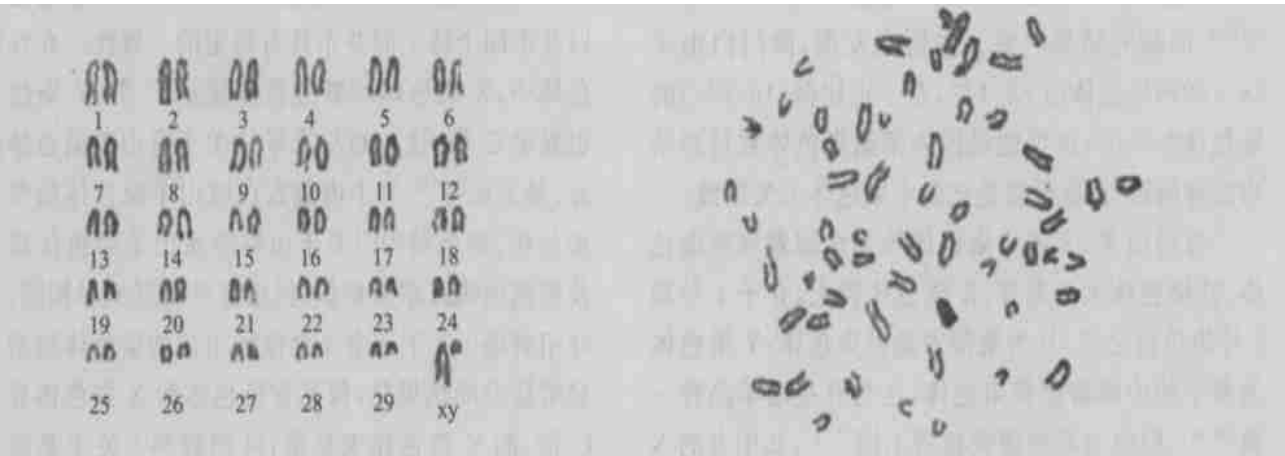


图 2 海门白山羊核型(♂)

Fig 2 Karyotype of Haimen White goat (♂)

2 3 海门白山羊染色体 C-带分析

C-显带是专显染色体的异染色质区的。观察公、母羊各 40 个细胞显示海门白山羊异染色质区的 C-显带表明, 海门白山羊的常染色体和 X、Y 染色体着丝粒部位有深染, 显示阳性 C-带, 但不同染色体的阳性 C-带区域大小不同, 见图 3 和图 4。

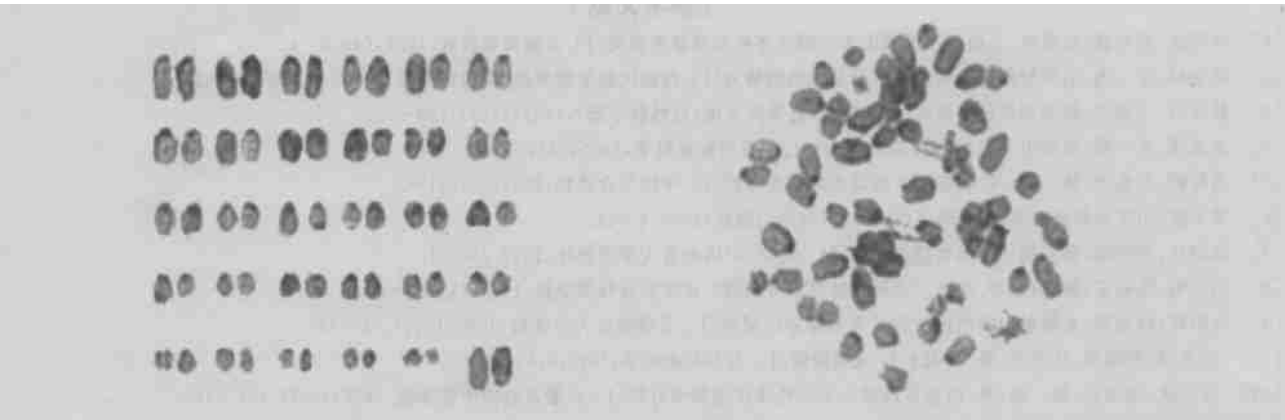


图 3 海门白山羊 C 带(♀)

Fig 3 C- band of Haimen White goat (♀)

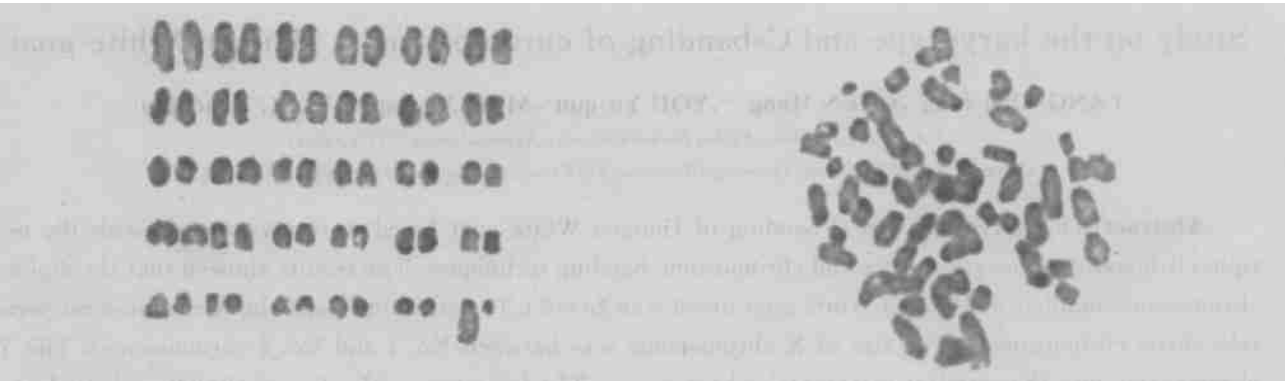


图 4 海门白山羊 C 带(♂)

Fig 4 C- band of Haimen White goat (♂)

3 讨 论

研究表明,海门白山羊染色体数为 $2n=60$,与班兆侯等^[4]、雷初朝等^[5]、门正明等^[8]、叶绍辉等^[1,9]的研究结果一致。本研究发现,海门白山羊 $2n=60$ 的染色体占 83.1%,有一定比例(16.9%)的染色体 $2n \neq 60$,这可能是因体细胞染色体数目和结构变异所致^[5],也可能是试验中染色体丢失所致。

海门山羊 58 条常染色体均为端部着丝粒染色体,性染色体大小悬殊;X 染色体较大,介于 1 号和 2 号染色体之间,且为端部着丝粒染色体;Y 染色体为最小的中部着丝粒染色体,这与有些山羊品种一致^[9-11],但也与有些研究报道不同^[3,12],其中有的 X 染色体较小,介于 2 号和 3 号之间^[2,3],而在贵州沿河山羊染色体组型研究报告中,X 染色体则为最大的一条^[12]。由此看来,X 染色体的大小在不同地方品种或培育品种之间可能存在一定的差异^[4]。

海门白山羊的大部分常染色体端部着丝粒区能显示明显的、较强的阳性 C-带,但具有不稳定的多态性,即不同的染色体染色阳性区的大小和深浅不同,个别染色体较浅,仅隐约可见,在不同细胞之间以及不同个体之间并不具有稳定的一致性。在性染色体中,X 染色体的着丝粒区显示 C-带,Y 染色体也显示 C-带,这与刘友清等^[13]关于青山羊染色体研究、晁玉庆等^[11]关于内蒙古白绒山羊染色体核型初步分析、钟金城等^[2]关于山谷型藏山羊染色体核型及带型的研究结果相似。但也有些研究不尽相同,如叶绍辉等^[1]关于云南 4 个保种山羊的染色体核型及显带研究的结果是,仅见常染色体和 X 染色体显示 C-带,而 Y 染色体未显带;叶绍辉等^[9]关于龙陵黄山羊的核型及 C-带的研究结果是,常染色体均显示 C-带,性染色体均未显带,这种不同结果是由于山羊品种之间存在差异还是因为试验所致,有待进一步深入研究。

[参考文献]

- [1] 叶绍辉,彭和禄,刘爱华. 云南四个保种山羊的染色体核型及显带研究[J]. 云南畜牧兽医, 1997, (4): 2- 4
- [2] 钟金城,王 杰. 山谷型藏山羊染色体核型及带型的研究[J]. 西南民族学院学报(自然科学版), 1995, 21(1): 39- 42
- [3] 赵亚力,王喜忠. 藏山羊染色体研究[J]. 四川师范学院学报(自然科学版), 1993, 14(2): 129- 132
- [4] 班兆侯,王 珊. 贵州山羊核型及 C-带的多态性[J]. 贵州农业科学, 1995, (3): 23- 25
- [5] 雷初朝,刘爱锋,陈 宏,等. 布尔山羊的染色体核型分析[J]. 中国草食动物, 2001, 3(1): 1- 3
- [6] 掌子凯. 山羊饲养新技术[M]. 南京: 江苏科学技术出版社, 1996. 1- 18
- [7] 张细权,李加琪,杨关福,等. 动物遗传标记[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 1997. 29- 31
- [8] 门正明,陈彩安,朝建林,等. 萨能山羊染色体组型分析[J]. 甘肃农业科学学报, 1985, (1): 36- 39
- [9] 叶绍辉,林世英. 龙陵黄山羊的核型及 C 带和银染的研究[J]. 云南农业大学学报, 1996, 11(2): 96- 99
- [10] 刘友清,傅佩胜,任宝辛,等. 青山羊 G-带型研究[J]. 山东农业科学, 1992, 4(5): 14- 16
- [11] 晁玉庆,国向东,郭 瑞,等. 内蒙古白绒山羊染色体核型初步分析[J]. 内蒙古农牧学院学报, 1992, 13(3): 107- 110
- [12] 班兆侯. 贵州沿河山羊染色体组型研究报告[J]. 贵州畜牧兽医, 1992, 17(2): 6- 7
- [13] 刘友清,刘晓晴,傅佩胜. 青山羊染色体研究[J]. 内蒙古农牧学院学报, 1993, 14(4): 116- 120

Study on the karyotype and C-banding of chromosome in Haimen White goat

FANG Xing-tang¹, CHEN Hong^{1,2}, YOU Yu-qun¹, MAO Xiao-qin¹, FENG Zhao-jun¹

(1 College of Life Science, Xuzhou Normal University, Xuzhou, Jiangsu 221116, China;

2 College of Animal Science and Technology, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: The karyotype and C-banding of Haimen White goat breed were investigated with the peripheral blood lymphocyte culture and chromosome banding techniques. The results showed that the diploid chromosome number of Haimen White goat breed was $2n=60$. The autosomes and the X chromosome were telocentric chromosomes. The size of X chromosome was between No. 1 and No. 2 chromosomes. The Y chromosome was the smallest metacentric chromosome. The karyotype of buck was 60, XY and the karyotype of ewe was 60, XX. C-bands of most autosomal and X-chromosome, Y-chromosome were exclusively centromerically located, but the size of C-banded region was different among different chromosomes.

Key words: Haimen White goat; chromosome; karyotype; C-banding