

马、驴、骡外周血淋巴细胞染色体组型的研究*

李胜利 刘安德 蔡有余 刘裕 李淑华 须昌隆

(北京军区兽医防治检验所) (中国医学科学院基础医学研究所) (四川阆中县肿瘤防治工作队)

六十年代以前,由于技术上的限制,各个学者对马 (*Equus caballus*)、驴 (*Equus asinus*)、骡 (*Mule* 和 *Hinny*) 染色体数目、染色体组型均无正确的报道,有的认为马有 51 条染色体,另一些人认为驴有 61 条染色体,均不能得出令人信服的数据。到 1960 年组织培养术和人类染色体术的突破,由罗斯菲 (Rothfel) 等人首先把这一技术用于马肾组织的培养之后,才真正确定了马的染色体数为 64 条。其后相继报道了马、驴、骡染色体数目和核型的研究^[2-3,7]。尤其是七十年代以来,染色体的各种显带技术的应用^[4-6],从进化角度探讨马科种属的起源、发展、演化等问题已成为可能而且是有意义的。

在我国有关马科染色体数目、核型分析、杂种不育和进化方面的细胞遗传等,至今尚未见报道。现将我们的实验结果报告如下:

材 料 和 方 法

(一) 材料 雌雄性成熟马各 2 头,雌雄性成年驴各 2 头,马骡和驴骡(也称馱馱)雌雄性各 1 头,均来源于北京郊区。

(二) 方法 从颈静脉取血 50—500 毫升,

转入只装有 5—10 毫升肝素 (500 国际单位/毫升) 的 250 毫升的血浆瓶内,在 4℃ 冰箱内静置 2 小时左右。按改良的吴旻^[1]培养人体外周血淋巴细胞方法,用吸管吸取上层含淋巴细胞和白细胞之血浆 10—15 毫升,移入无菌离心管内,以 800 转/分离心 5 分钟,去上层血浆,加等量的汉克斯 (Hanks 氏) 盐水洗 1—2 次,再离心 5 分钟,去掉上层汉克斯盐水,加入 1 毫升 HAM F12 培养液,用吸管打散细胞制成悬液,等分于 2 个 25 毫升长方瓶内。瓶内装有 4 毫升 HAN F12 培养液,1 毫升小牛血清,0.2 毫升自制 PHA (植物血球凝集素),青霉素 500 国际单位和链霉素 500 微克,在 37℃ 恒温箱内培养 72 小时,终止培养前 8—10 小时加入秋水仙素 (最终浓度为 0.05—0.1 微克毫升),按常规方法^[1]制作染色体标本。姬姆萨 (Giemsa) 染色,透明胶封片即得永久标本。

结 果

在低倍镜下,选择染色体分散良好,长短收

* 承吴旻教授审阅,特此感谢。

表 1 马、驴、骡染色体的计数

项目	染色体数目波动范围							合计	二倍体细胞 (%)
	59	60	61	62	63	64	65		
马 雌		2	1		4	35	1	43	80
马 雄			1	1	2	23		26	96
合计		2	2	1	6	58	1	69	88
驴 雌								12	100
驴 雄	3	1		26				30	86.6
合计	3	1		38				42	93.3
马骡 雌				3	25			28	89.3
马骡 雄		1	1		23			23	91.1
合计		1	1	3	46			51	90.6
驴骡 雌			1	3	25			28	89.1
驴骡 雄			1	2	20			23	87.9
合计			2	5	45			51	88.5

表 2 马、驴染色体的量度

染色体号数	马		驴	
	相对长度±SD	长短臂之比±SD	相对长度±SD	长短臂之比±SD
1	16.98±0.9656	1.519±0.7492	12.25±0.4028	2.21±0.2834
2	11.22±0.6069	1.449±0.0846	13.45±0.7557	1.51±0.0798
3	10.48±0.4498	1.926±0.1443	9.30±0.6096	1.87±0.0845
4	10.02±0.4888	1.6328±0.1097	7.70±0.4564	1.19±0.0015
5	9.78±0.2782	1.318±0.1334	7.40±0.4000	1.31±0.0424
6	9.28±0.3992	1.344±0.0566	7.72±0.3172	1.62±0.1513
7	9.06±0.4985	1.477±0.1296	6.95±0.3304	1.19±0.0535
8	8.86±0.4828	1.277±0.1100	6.82±0.4767	1.59±0.2434
9	8.62±0.4576	1.169±0.0761	6.80±0.3240	1.54±0.1106
10	8.08±0.3770	1.155±0.0446	6.65±0.5139	1.21±0.0728
11	6.78±0.3786	1.117±0.0735	6.37±0.4190	1.08±0.1199
12	6.28±0.2853	1.104±0.0332	5.92±0.4497	1.37±0.0493
13	5.62±0.3555	1.117±0.0650	4.67±0.6250	1.23±0.0717
14	9.94±0.5775		4.50±0.3439	1.22±0.1220
15	9.36±0.4400		4.17±0.1376	1.11±0.0031
16	8.86±0.5124		3.75±0.1322	1.09±0.0414
17	8.66±0.6329		3.70±0.2217	1.04±0.0055
18	7.66±0.4632		3.55±0.3278	1.24±0.1525
19	7.48±0.3891		3.47±0.3275	1.08±0.0352
20	7.16±0.4833		7.92±0.4728	
21	6.86±0.3586		7.10±0.2915	
22	6.21±0.2073		6.26±0.3350	
23	5.50±0.3780		5.65±0.4839	
24	5.42±0.3120		5.10±0.5582	
25	5.06±0.2925		4.85±0.4173	
26	5.04±0.1469		4.70±0.4725	
27	4.74±0.3043		4.20±0.3027	
28	4.74±0.2315		4.01±0.2345	
29	4.34±0.2112		3.67±0.3473	
30	4.12±0.0969		3.32±0.2657	
31	3.84±0.0927			
X	12.70±0.7622	1.358±0.0453	10.41±0.2601	1.20±0.01
Y	3.60±0.4000		3.30±0.2517	

缩及着色深浅适度的中期相，移在油镜下进行染色体计数(表1)。

然后分别选择马、驴、骡染色体轮廓清晰的中期相进行照像、放大。对每种雌雄动物分别剪贴5—10个中期相染色体进行配对分析，并对4头马(2雌2雄)的10个细胞和4头驴(2雌2雄)的10个细胞的染色体的相对长度、长短臂进行了测量，结果(见表2)。

马：计数69个中期相(雌性43个、雄性26个)，2倍体细胞($2n = 64$)占总数的88%，亚2倍体细胞11个，占总数的12%，31对为常染色体，1对为性染色体；雌性为XX，雄性为XY。根据染色体长短、大小和着丝粒位置可以

把32对染色体分为2组(见图1a、b)。

A组：1—13对为大小递减的中着丝粒或亚中着丝粒染色体，根据表2测量的结果，1号为特大号染色体，不经配对即能直接识别，5、9、10、11、12、13等六对为近中着丝粒染色体三对为近端着丝粒染色体，其余2、4、6、7、8各对为介于二者之间的亚中着丝粒染色体。

B组：14—31对为大小依次渐小的端或近端着丝粒染色体，在制片良好、染色体清晰的标本中可见两条染色体的长臂近着丝粒附近有明显的异染色质区(见图1b)。

X为次大的亚中着丝粒染色体。

Y为最小的近端或端着丝粒染色体，与B

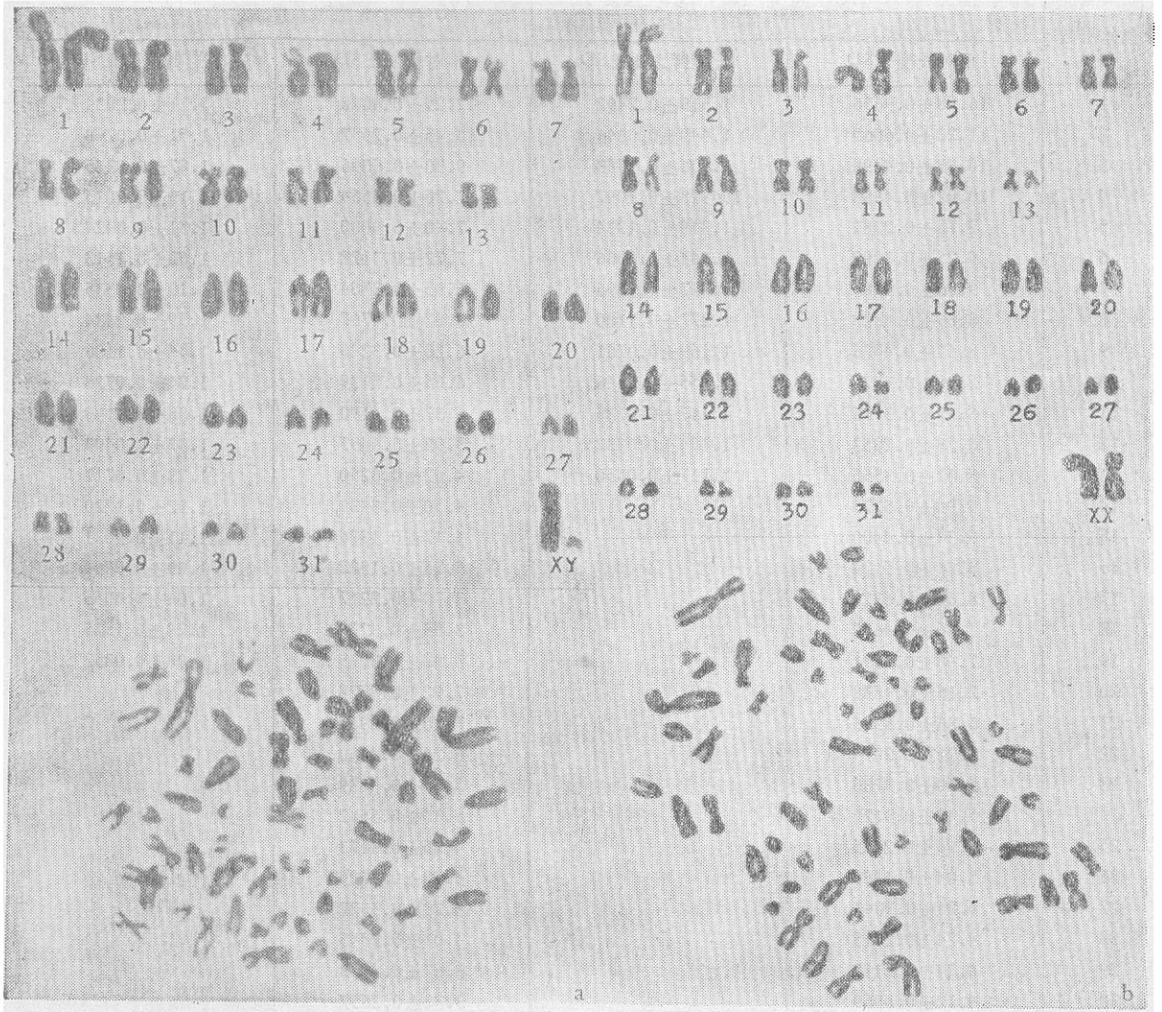


图 1

a 示雌马染色体组型 b 示雌马染色体组型

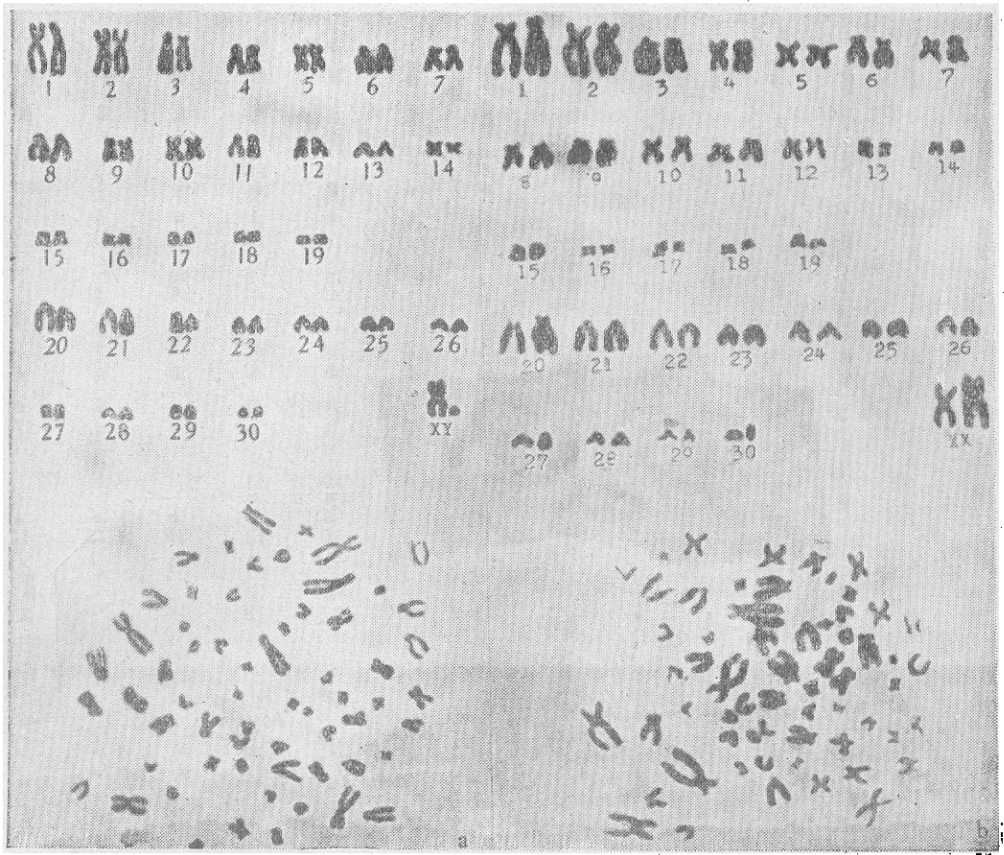


图 2

a 是雄性驴染色体组型 b 是雌性驴染色体组型

组小号染色体不能加以识别。

驴：雌雄分别计数 12 个和 30 个中期相。染色体众数为 $2n = 62$ ，占总细胞数的 93.3%，2 倍体细胞的 31 对染色体中，30 对为常染色体，1 对为性染色体（雌性为 XX，雄性为 XY）。按染色体的长短、大小与着丝粒位置，分为二组（见图 2a、b）

A 组：1—19 对为大小递减的中或亚中着丝粒染色体，其中 1、2 号为最大的染色体，但 1 号着丝粒位置靠端，2 号靠中，易于鉴别。此外，4、10 号为更靠中着丝粒染色体。3、6、8、9 为近端着丝粒染色体，13—19 七对为较小的染色体，13、15 二对比 14 对更靠近中央着丝粒染色体，其余 5、7、11、12 四对为亚中着丝粒染色体。16—19 对为小的近端着丝粒染色体。

B 组：20—30 对为十一对大小渐减的端或近端着丝粒染色体，其中 27—30 对又明显的小

于 20—26 对染色体。

X 染色体小于第 2 号但又大于第 3 号染色体，着丝粒位置比第 2 号更靠近中央，由这一特征即可把 X 染色体与第 2 号染色体鉴别开来。有趣的是两个 X 染色体大小不一，是否是螺旋化程度不一或是多态现象，有待于进一步分析。

Y 相当于 B 组小号染色体，不易于区分。

马骡和驴骡：有意义的是这两种动物染色体数目均是 63 条，经配对分析（图 3a、b，图 4a、b），其中 31 条是来源于驴的染色体（D），另 32 条是来源于马的染色体（H）。

来源于马的 X 比来源于驴的 X 相对的小，驴 X 染色体着丝粒位置比马 X 染色体更靠近中央。雌性骡的两个 X 染色体易于鉴别。雄性骡的 X 和 Y 也易于鉴别。外型是马骡头大耳长，体大，耳比驴稍短，蹄似马蹄。驴骡蹄小耳长和典型的驴尾等特征可以区别。

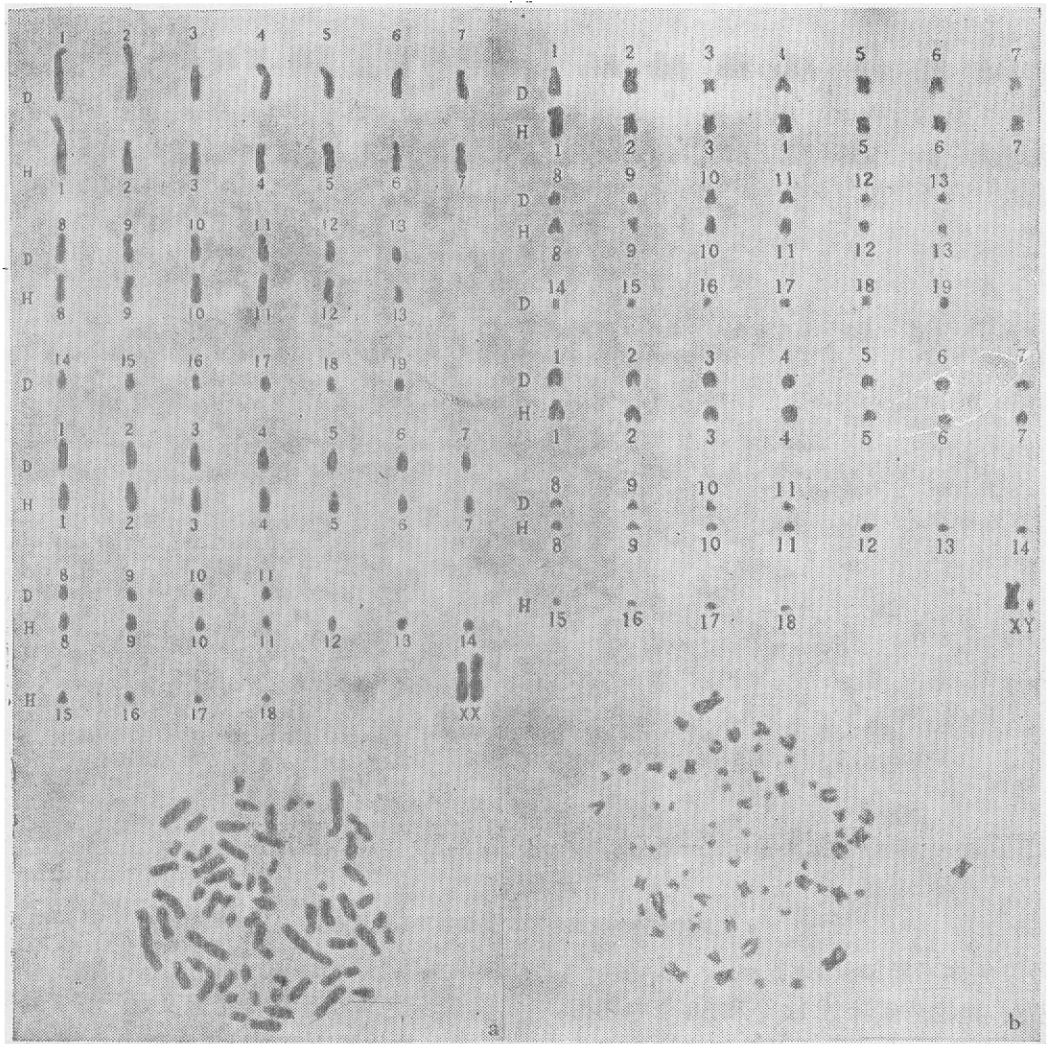


图 3
 a 示雄性马骡染色体组型 b 示雌性马骡染色体组型

讨 论

(一) 染色体配对问题 本尼茨克^[5] (Benirschke) 1962 年把马、驴的染色体排列为四组, 弗鲁吉罗^[8-9] (Frugillo) 的报道中, 又把它们分别排列为七组, 而徐氏^[7] (Hsu) 的哺乳动物染色体图谱和巴克兰^[6] (Buckland) 的 G-带和 C-带研究马科核型的特征一文把马、驴等排列为两组, 根据我们的染色体 C-带分析及配对过程的体会, 把这几种动物染色体划分为两组为宜。由于弗鲁吉罗排列过细, 同源染色体之间的差异常常大于不同对之间的差异, 加上

照像显微镜的球面差, 一般同源染色体之间的差异很难与不同对染色体之间的差异加以辨认, 如果不用显带技术很难加以鉴别。因此把马、驴、骡的染色体分别排列为两组, 有利于辨认不同种动物的核型, 易与分组。

(二) 杂种不育 很早以前就有人研究。弗鲁吉罗引用的资料说明, 在雉科研究中各种间杂种, 有相当多的证据说明, 亲带染色体不相似程度是直接和杂种后代不育有关。Lady Amherst 雉与金雉的核型是相似的, 它们交配生育的雄性杂种的生殖细胞是完全正常的, 因而它们是能育的。此外, 日本的铜雉与金雉染

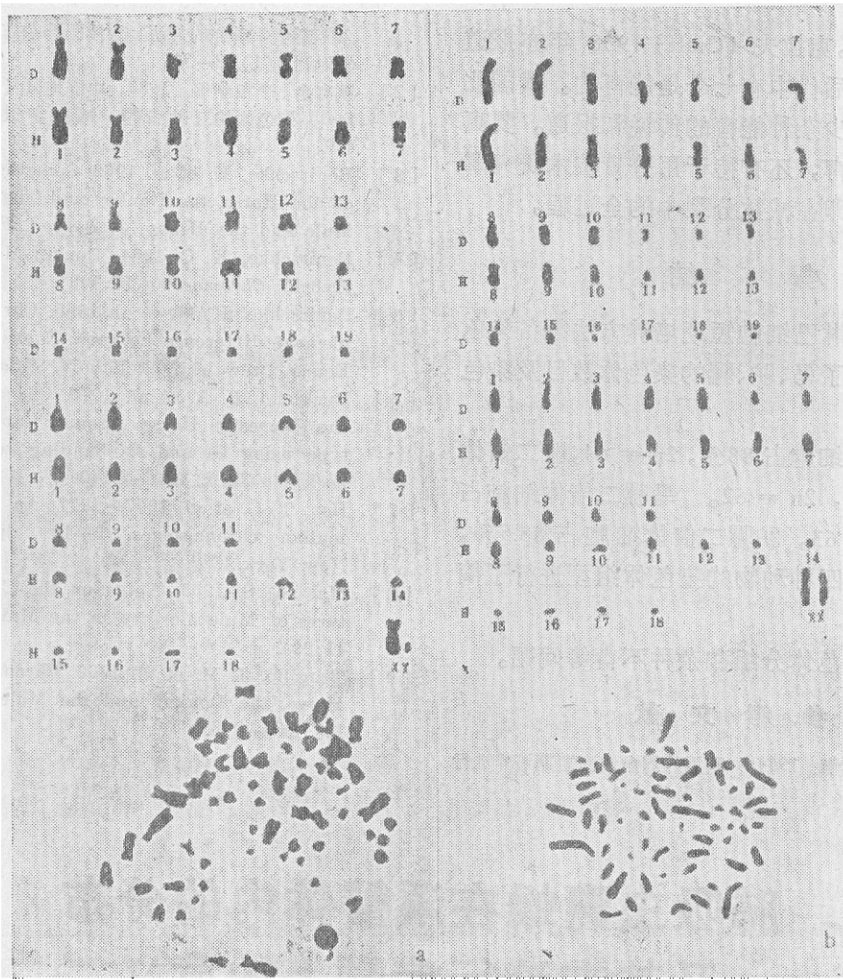


图 4

a 示雄性驴骡染色体组型

b 示雌性驴骡染色体组型

染色体成份有轻微的不同，最大的第 2 号染色体前者是明显大于后者，交配结果的雄性杂种中只有部分杂种能育，另一部分不育。究其原因可能是后一部分的生殖细胞在减数分裂时发生了困难，形成一些异常精子，所以不能育。在日本有一种家鸡，第一对和第二对最大的常染色体明显地不同于普通鸡的染色体，杂种的精原细胞不能通过减数分裂的粗线期，所以这些杂种全部是不育的。

也有人研究大量杂种不育的资料指出：杂种不育是由各种因素控制的，其中一些是与每套染色体结构不同有关，另一些可能是与基因的性质不同有关。由于马与驴染色体成份间的差别远比家鸡和普通雉大，杂种不育也是预料

之中的。最近我们从两例正常性成熟的骡子睾丸组织切片及减数分裂标本中，发现完全缺乏精虫。

雉鸟有精原细胞的分裂发生，但不能通过减数分裂形成正常精子细胞。在马、驴、骡的染色体组型比较中，马仅有一对最大的染色体，驴有两对最大号染色体，此外驴的中着丝粒染色体比马多六条，B 组中马比驴多七条端着丝粒染色体，A、B 两组形态和数目间差别甚大，很可能是减数分裂时生精细胞中的同源染色体不能配对和联会，以至不能形成正常精子，因而是不育的。

除此之外，安德森 (Anderson) 在 1930 年描述了三例杂种是完全能育的，从照片上看与

马不能相区别,克拉夫 (Craff) 1938 年亦报道了大量的杂种后代中有七个是能育的。我国北方农村也有不少杂种能育的传说和报道。要真正了解杂种不育,还有待于用分带技术研究睾丸和卵巢的精卵在减数分裂中的全过程。

小 结

用外周血淋巴细胞短期培养方法制备染色体标本。分析了马、驴、骡的染色体数目及染色体组型。

马二倍体细胞占 88%, $2n = 64$, 驴二倍体细胞占 93.3%, $2n = 62$ 。马骡二倍体细胞占 90.6%, $2n = 63$, 驴骡二倍体细胞占 88.5%, $2n = 63$ 。对四种动物的染色体组型进行了简单的描述。

讨论了染色体分组和杂种不育等问题。

参 考 文 献

[1] 吴旻、凌丽华 1964。利用外周血细胞短期培养进行

人类染色体研究的方法 天津医药杂志。输血及血液学附刊 2(1) 53—59。

- [2] 蔡有余、李淑华等 1980。中国地鼠 (*Cricetulus griseus*) 染色体的三种带型 解剖学报 11(4): 433—439。
- [3] Benirschke, K. et al. 1962. Somatic chromosomes of the Horse, the Donkey and Their hybrids the Mule and the Hinny. *J. Reprod. Fertil* 4:319.
- [4] Benirschke, K. C. 1964. Donkey-Mountain Zebra Hybrid. *Chromosoma* 15:300.
- [5] Benirschke, K. M. et al. 1965. Chromosome complement difference between *Equus Caballus* and *Equus Pzewalskii*, Poliakoff. *Science* 148:382.
- [6] Buckland, R. A. et al. 1976. Characterization of the Domestic Horse (*Equus Caballus*) Karyotype using G- and C- banding techniques. *Experientia* 32:9, 1146—1149.
- [7] Hsu, T. C. et al. 1967—1977. An atlas of mammalian chromosomes. 1—10: Springer-Verlag New York.
- [8] Makino, S. 1955. Notes on the Cytological features of Mule sterility in the Mule. *Experientia*, 11:224.
- [9] Trugillo, J. M. et al. 1962. Chromosomes of the Horse, the Donkey and the Mule. *Chromosoma*, 13: 243—248.