

二种蛙类染色体核仁组织者的银染观察

郭超文 董永文 王梅 孙丽珍

(安徽师范大学生物系)

摘要 本研究观察了斑腿树蛙和武夷湍蛙的 Ag-NOR₁。其中斑腿树蛙的一对 Ag-NOR₁ 出现在 No.10 染色体的长臂中间区。武夷湍蛙中,除 No.6 染色体长臂近着丝点区有一对 Ag-NOR₁ 外, No.12 上也有一对略小的 Ag-NOR₁,这反映了 Ag-NOR₁ 的扩增现象。从与某些近缘种相比较的结果表明,这两种蛙的次缢痕和 Ag-NOR₁ 位置,均具有本物种的特性,并且,在次缢痕与 Ag-NOR₁ 之间有对应关系,但不是绝对的(武夷湍蛙 No.11 上未见有次缢痕区)。

在真核生物的细胞分裂中期,其核仁会附着到一对或几对染色体的特定部位上,这些部位就是染色体的核仁组织者区(NOR₁)。NOR₁ 在细胞生命活动中具有重要的功能,Pardue and Gall (1969) 已证明果蝇、家鼠、人的核仁中的 rRNA 基因(rDNA)位于某些染色体的特定部位(NOR₁)上,并且这些部位就在染色体的次缢痕处。

Goodpasture^[1] 首先采用 Ag-AS 技术染色 NOR₁,后来被许多学者应用于细胞分类学、细胞遗传学和进化遗传学等方面。在无尾两栖类中, Schmid^[2]、King (1980)、王子淑等 (1983)^[3-4] 国内外学者曾作过报道。我们按 Howell^[5] 法略加改进,对斑腿树蛙 (*Rhacophorus leucomystax*) 和武夷湍蛙 (*Staurois wu-*

yiensis) 体细胞染色体 NOR₁ 进行观察,结果如下。

(一) 材料与方法

1. 材料 斑腿树蛙 18 只(7♀,11♂),武夷湍蛙 23 只(10♀,13♂),两种蛙均采自安徽黄山。

2. 方法 染色体标本的制备,按 5—8 微克/克体重腹腔注射秋水仙素溶液,5—6 小时后杀死动物。取其四肢骨。按吴政安^[6] 报道的两栖类骨髓细胞染色体标本制作法制备。

Ag-NOR₁ 染色,先配制 50% AgNO₃ 水溶液,2% 明胶(内加 1% 甲酸)。染色步骤:在空气干燥法制成的染色体玻片上滴 2 滴 2% 明胶和 4—5 滴 50% AgNO₃ (可视组织物的多少而增减),用吸管混匀后盖上盖玻片。然

后平放在培养皿垫枕上(培养皿内加少量蒸馏水,水面不能超过垫枕高度),盖好培养皿盖,放入65℃恒温箱内。30—45分钟后取出,用预热的蒸馏水(65℃)充分冲洗,晾干,镜检。

选择染色体清晰的,观察 Ag-NOR₁ 的染色体数目,统计其出现频率。

(二) 结果与讨论

观察结果见图1、2。在带有银染的细胞中,斑腿树蛙的核仁组织者银染阳性(即 Ag-NOR₁) 出现在 No.10 的长臂中间区,与此相对应的即是次缢痕区。Ag-NOR₁ 在大小及着色程度均表现一致,没有异型现象,也未发现联合或扩增现象。斑腿树蛙的 No.10 染色体上的 Ag-NOR₁ 出现率占观察中期分裂细胞总数的 78.6%。

武夷湍蛙的 Ag-NOR₁ 位于 No.6 长臂近着丝点区(见图2),其出现率为 67%。除此以外, No.12 短臂的端部也有一对略小的 Ag-NOR₁, 但出现率低,且大小随细胞的不同而有变化。No.12 染色体没有次缢痕和随体。

已知银染色测定的是蛋白质。它所反映的

是 18s + 28s rDNA 的转录活性,即银染的是有转录活性的 NOR₁, 没有活性或活性弱的是不染色的。因此,上述结果提示了,斑腿树蛙和武夷湍蛙的 rDNA 活性分别位于 No.10 和 No.6 染色体上。至于武夷湍蛙的 No.12 染色结果,则反映了 Ag-NOR₁ 的扩增现象。

常规 Giemsa 染色结果表明,斑腿树蛙 No.10 染色体的 Ag-NOR₁ 位置和武夷湍蛙 No.6 染色体的 Ag-NOR₁ 位置均为次缢痕区(见图1、2),表明次缢痕与 Ag-NOR₁ 具有对应关系,即表示为次缢痕 = NOR₁ = 18s + 28s rDNA。但是,在常规 Giemsa 染色中,武夷湍蛙的 No.12 染色体短臂上不呈现次缢痕,表明了次缢痕与 Ag-NOR₁ 的位置对应关系不是绝对的,这与谭安鸣^[4]在经甫树蛙 (*Rhacophorus chenfu*) 和刘万国等^[5]在蛙属 (*Rana*) 中的研究结果是相一致的。

另外,斑腿树蛙的次缢痕和 Ag-NOR₁ 分布与经甫树蛙不同,前者具次缢痕的染色体为 No.5 和 No.10, Ag-NOR₁ 位于 No.10 的次缢痕区。后者的 No.7 和 No.11 有次缢痕。

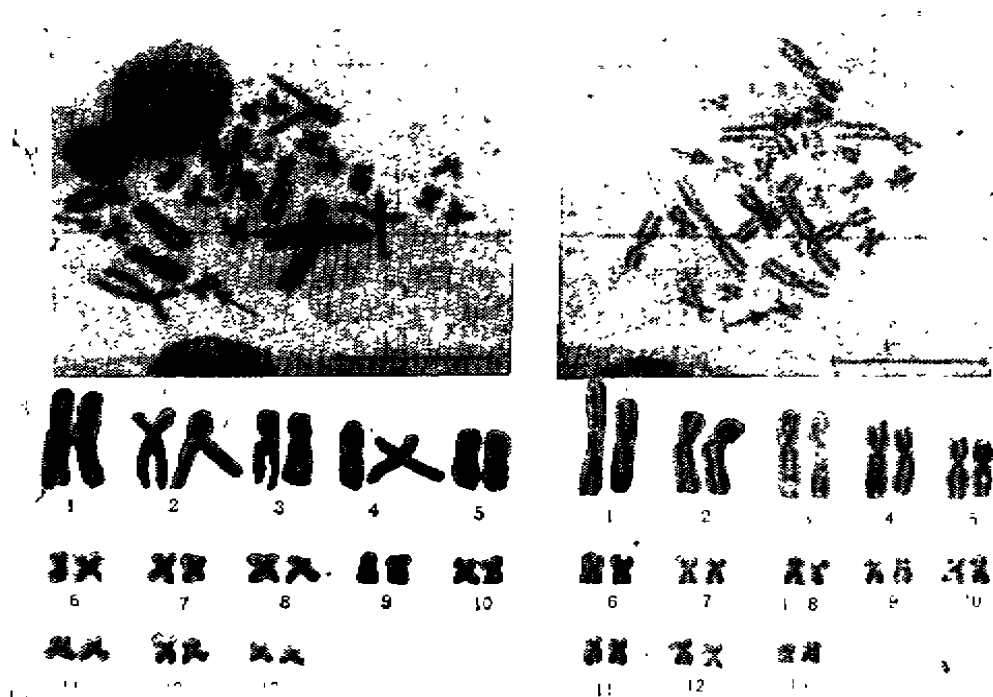


图1 斑腿树蛙的染色体组型(左)和银染核型(右),箭头所指为 No. 10 染色体

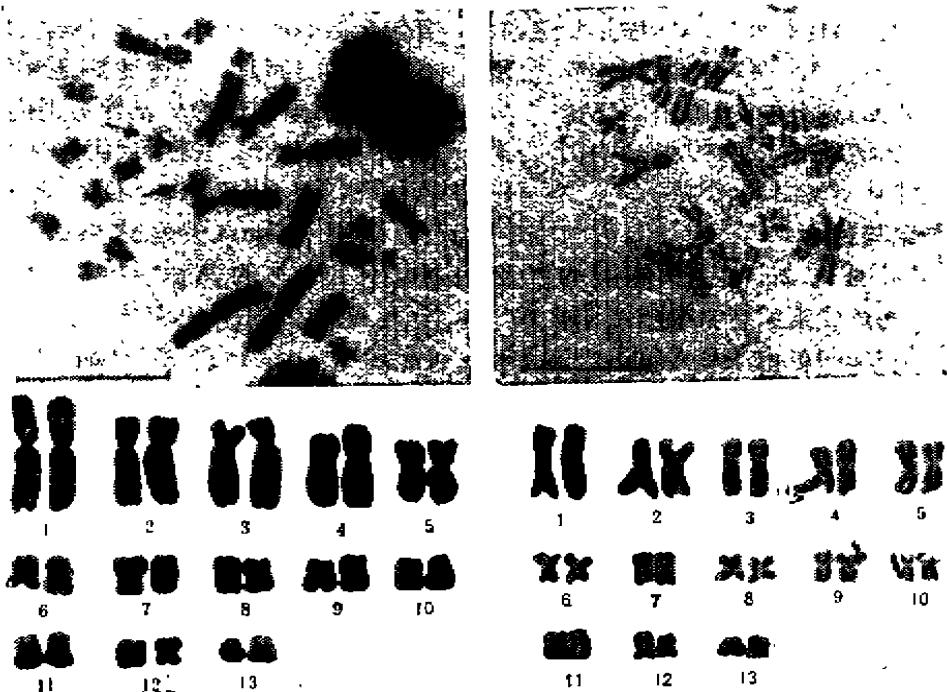


图2 武夷湍蛙的染色体组型(左)和银染核型(右),箭头所指为 No. 10 染色体

表1 树蛙属、圆蛙属的几种蛙次缢痕和 Ag-NOR 分布

种名	具次缢痕染色体	Ag-NOR 位置	资料来源
树蛙属 斑腿树蛙 经甫树蛙	No. 5, 10 No. 7, 11	No. 10 次缢痕区 No. 11 次缢痕区	本文 谭安鸣等, 1987
湍蛙属 武夷湍蛙 四川湍蛙 理县湍蛙 标点湍蛙 棘皮湍蛙	No. 6 No. 3, 6, 7 No. 3, 6, 7 No. 3, 6, 7 No. 3, 6, 7	No. 6 次缢痕区 No. 6 次缢痕区 No. 6 次缢痕区 No. 6 次缢痕区 No. 6 次缢痕区	本文 吴政安等, 1987 吴政安等, 1987 吴政安等, 1987 吴政安等, 1987

Ag-NOR, 位于 No. 11 染色体的次缢痕区(见表 1), 之间具有明显的种间差异性。当把武夷湍蛙与亲缘关系很近的几个种相比较时, 发现它们的次缢痕均在 No. 6 染色体上。但武夷湍蛙的次缢痕是位于长臂近着丝点区, 而其他湍蛙则位于短臂的中央, 这提示了我国湍蛙属的核型已经历了染色体的结构重组。从表 1 中五种湍蛙的 Ag-NOR, 均位于 No. 6 染色体次缢痕区的情况看, 则可认为次缢痕和 Ag-NOR, 的位置, 是反映湍蛙属各物种间亲缘关系的有用指标之一。至于武夷湍蛙的 No. 6 染色体次缢痕和 Ag-NOR, 位置与其他近缘种的

差异性, 可推测是由于染色体的臂间倒位的结果。

参 考 文 献

- [1] 刘万国等 1984, 四种无尾两栖类带型的分析比较以及 C 带, 银带和次缢痕间相互关系的探讨。遗传学报 11(4): 294-301。
- [2] 吴政安等 1987 横断山区四种湍蛙的细胞遗传学研究。遗传学报 14(1): 63-68。
- [3] 吴政安 1982 两栖类骨髓细胞的染色体标本制作法。遗传 4(1): 38-39。
- [4] 谭安鸣等 1987 经甫树蛙的染色体组型、C 带和 Ag-NOR, 的研究。动物学报 33(2): 105-109。
- [5] Goodpasture C. and SE. Bloom 1975 Visualization of nucleolar organizer regions in mammalian chromo-

- somes using silver staining. *Chromosoma* 53: 37—50.
- [6] Howell W. M. et al. 1980 Controlled silverstaining of nucleolus organizer regions with a protective colloidal developer: a 1-step method. *Experientia* 36: 1014—1015.
- [7] Schmid M. 1978 Chromosome banding in Amphibia. 2. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in Ranae. Microhylidae and Rhacophoridae. *Chromosoma* 68: 131—148.