

格氏线虫三个品系染色体组型的研究*

罗俊烈 王正询 王国汉

(广州师范学院生物系,510400) (华南农业大学植保系)

摘要 本文以精巢、卵巢和幼胚为材料,丙酸地衣红染色,用压片法制片,对格氏线虫 NC513、85011 和 KG 的染色体组型进行了研究。结果表明,它们的染色体数目均为雌性 $2N=10$, 雄性 $2N=9$, 其染色体组型均为: $2N = 4m + 6t(\text{♀})$, $2N = 4m + 5t(\text{♂})$ 。由此可见,它们都是属于格氏线虫的三个不同品系。

* 陈炳新、郭燕筹两同志参加部分工作。

格氏线虫 (*Neoplectana glaseri*)¹⁾ 是世界著名的昆虫病原线虫,因其寄生于昆虫体内,可使昆虫感染致死,所以是农业害虫的天敌,利用其进行生物防治虫害有重要意义。在分类学上,格氏线虫隶属小杆目、斯氏线虫科、新线虫属。已知其分布于美国、波兰和苏联等地,我国过去一直没有此种线虫资源的报道。1985年3月王国汉从广东省海陵岛的花生地土壤中,首次分离获得一种昆虫病原线虫,编号为85011,经研究鉴定为格氏线虫中国品系。关于昆虫病原线虫染色体组型的研究,国内外迄今罕见报道,美国波伊纳(Poinar 1967)在研究苹果蠹蛾线虫 DD-136 (*Neoplectana carpocapsae* DD-136) 的分类位置时,曾观察到它的染色体数目,雌性 $2N = 10$, 雄性 $2N = 9$, 但对其染色体组型没有进行研究。因此,我们对从国外引进的格氏线虫两个品系、以及从国内采集到的一个品系的线虫染色体组型进行了研究,现将结果报道如下。

材 料 和 方 法

实验用格氏线虫 NC513 (*Neoplectana glaseri* NC513) 和 KG (*Neoplectana glaseri* KG) 均为广东省昆虫研究所经澳大利亚引进繁殖保种后转赠,而格氏线虫 85011 (*Neoplectana glaseri* 85011) 为王国汉采自广东省海陵岛。

实验方法是由大蜡螟 (*Galleria mellonella*) 幼虫作寄主繁殖的线虫放入卡诺氏固定液(纯酒精 6 份、氯仿 3 份和冰醋酸 1 份)中,固定 24 小时以上,先用 70% 酒精保存,然后将线虫移入装有氢氧化铁酒精媒染液的小玻璃瓶内,在 60°C 下加热 30 分钟,并用该媒染液作为保存液,将线虫保存于冰箱中备用。制片时,选取生殖期的雌虫和雄虫各 1 条,分别放置于载玻片上,先用吸水纸将媒染液吸去,然后加上一滴丙酸地衣红染色液,染色 10 分钟,再将染色液吸去,加半滴丙酸地衣红,盖上盖玻片,并加轻微压力,在酒精灯火焰上过火数次即成。镜检时,选择雌性和雄性的幼胚细胞团和卵母细胞进行

观察,从中选出分散良好、形态清晰的中期分裂相和减数分裂中期 I 进行计数,显微摄影、放大、测量及分析,然后参考利凡(Levan.)等(1964)提出的标准对染色体进行命名和分类,每个品系选择有代表性的雌、雄个体中期分裂相各一个,排成染色体组型图进行分析研究。

结 果

在研究中,对比较小的线虫染色体着丝粒位置的确定,除了依据着丝粒含有异染色质,染色较深以外,还根据减数分裂中期 I,其双价染色体排列在赤道板上呈现的各种形状来决定,如中部着丝粒染色体往往呈 O 型,而端部着丝粒染色体呈杆状(见图 1—15,图 a—b,见附 3)。

表 1 格氏线虫三个品系雌雄个体染色体数目

染色体数目	观察细胞数						百分率(%)					
	NC513		85011		KG		NC513		85011		KG	
	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
10	52	39	45				86	78	90			
9	7	51	5	42	3	43	12	85	10	84	6	86
8		7		4		5		12		8		10
8 以下	1		6		2		2		12		4	
7 以下		2		4		2		3		8		4
合计	60	60	50	50	50	50	100	100	100	100	100	100

表 2 格氏线虫三个品系卵细胞减数分裂中期 I 的二价体数目

染色体数目	观察细胞数			百分率(%)		
	NC513	85011	KG	NC513	85011	KG
5	47	45	43	94	90	86
4	2	3	5	4	6	10
3 以下	1	2	2	2	4	4
合计	50	50	50	100	100	100

1) 关于 NC513 线虫的分类地位,国际上仍有争议。本文根据英国波伊纳(1979)的检索表,结合我们的工作,认为 NC513 属于格氏线虫。

表 3 格氏线虫三个品系染色体的相对长度、臂比指数和类型

染色体编号		1	2	3	4	5
NC513	相对长度 ($\bar{x} \pm SD$)	24.5±0.56	21.30±0.24	19.4±0.15	18.4±0.33	16.1±0.42
	臂比 ($\bar{x} \pm SD$)	∞	1.76±0.70	∞	1.21±0.62	∞
	染色体类型	T	M	T	M	T
85011	相对长度 ($\bar{x} \pm SD$)	23.08±0.34	22.13±0.15	19.42±0.31	18.04±0.24	17.34±0.44
	臂比 ($\bar{x} \pm SD$)	∞	1.25±0.41	∞	1.50±0.16	∞
	染色体类型	T	M	T	M	T
KG	相对长度 ($\bar{x} \pm SD$)	24.50±1.65	22.22±0.85	19.70±0.86	17.76±0.79	15.81±1.35
	臂比 ($\bar{x} \pm SD$)	∞	∞	1.1	∞	1.1
	染色体类型	T	T	M	T	M

我们共观察记录了格氏线虫 NC513、85011 和 KG 等三个品系的雌、雄幼胚细胞的中期分裂相各 50—60 个，卵母细胞的减数分裂中期 I 各 50 个，其染色体数目分别见表 1、表 2。

以上资料表明，格氏线虫三个品系的染色体众数均为 $2N - 10$ (♀)， $2N - 9$ (♂)，其减数分裂中期 I 的二价体数目均为 $N - 5$ (♀)。该线虫三个品系的染色体组型均可分为 A、B 两组，如表 3 和图 1。

A 组 雌、雄性格氏线虫三个品系都有两对中部着丝粒染色体，但 NC513 和 85011 为第 2、4 对，而 KG 为第 3、5 对，它们之中都是前者的相对长度较大，与后者容易区别。

B 组 雌性格氏线虫三个品系都有三对端着丝粒染色体，NC513 和 85011 为第 1、3、5 对，KG 为第 1、2、4 对。其中第 1 对染色体的相对长度在整个细胞中显著大于其它各对染色体，在显微镜下容易辨认，其余两对染色体相对长度差异也较大，彼此可以区分。雄性格氏线虫三个品系的第 1 对染色体只有 1 条，其余染色体均与雌性相同。

格氏线虫三个品系的染色体模式组型图 (见封 3 左上图)。

讨 论

在线形动物中，格氏线虫的染色体数目虽

然不多，但其个体较小，故在制作玻片标本方面有较多的困难。我们在多次重复制片的过程中，初步摸索到制片时应选取母虫体内幼胚细胞团在 10—40 个细胞时期的为最好，这样才能获得较多的中期分裂相，过大或过小的幼胚细胞团，其分裂相均较少。压片时，虫体需经充分压碎，但掌握用力要适当，以能使幼胚细胞被压散而不致破碎为宜。染色的最适合时间是 10 分钟，这样可以获得较好的制片效果。

根据观察，格氏线虫三个品系 (NC513、85011 和 KG) 的染色体数目均为 $2N - 10$ (♀)， $2N - 9$ (♂)， $N - 5$ 或 $N - 4$ 。这与波伊纳观察苹果蠹蛾线虫 DD-136 的染色体数目相同。它们的性别决定机制均为 XX-XO 型，都是第 1 对染色体为性染色体，其每对染色体的相对长度较为接近，而且染色体组型均为 $2N - 4m + 6t$ (♀)， $2N - 4m + 5t$ (♂)，可见其亲缘关系甚为密切，应属于同一个种。虽然 NC513 和 85011 的中部着丝粒染色体为第 2、4 对，端着丝粒染色体为第 1、3、5 对，而 KG 的中部着丝粒染色体为第 3、5 对，端着丝粒染色体为第 1、2、4 对，而且 NC513 和 KG 与 85011 在交合刺形态上也有差别，NC513 和 KG 的交合刺前端腹面呈钩状或“V”形凹陷，而 85011 的交合刺前端腹面呈槽形凹陷。但这些差异都只是在形态特征上的变异范围，属于

同种不同品系之间的差异。因此,根据以上这些特点,我们认为 NC513、85011 和 KG 都是属于格氏线虫的三个不同品系。

参 考 文 献

- [1] 王国汉等 1989 新线虫属三个种的核型比较研究。
动物学研究 10(1): 71—77。
- [2] Levan, A. K., Freday and A. A. Sandberg, 1964
Nomenclature for centromeric position on chromosome. *Hereditas*, 52(2): 201—220.
- [3] Poinar, G. O., Jr 1967 Description and taxonomic

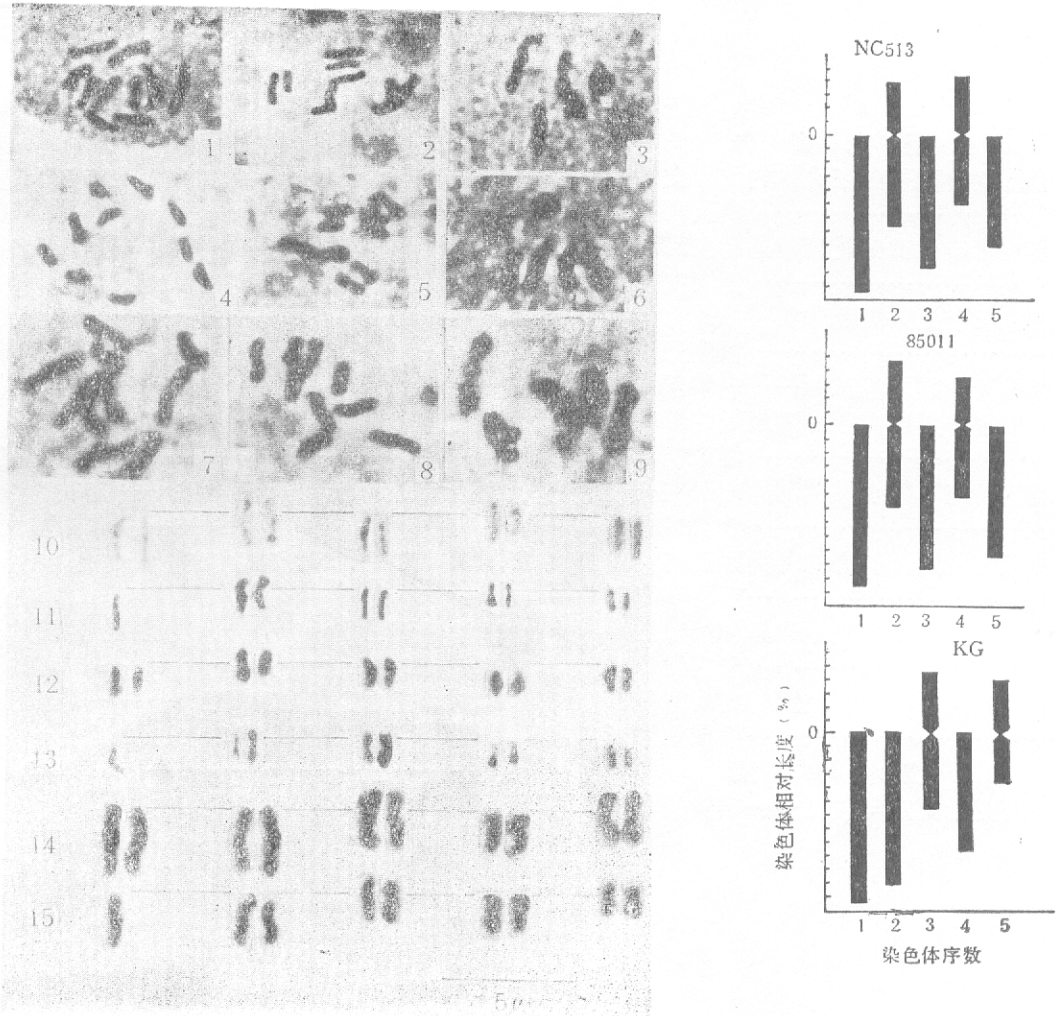
position of the DD-136 nematodes (Steinernematidae, Rhabditoidea) and its relationship to *Neoaplectana carpocapsae* weiser. *proceedings of the Helminthological Society of Washington*, 34(2): 199—209.

- [4] 1979 Nematodes for Biological Control of Insects, Boca Raton Fla. CRC Press 277.
- [5] 1985 *Neoaplectana intermedia* N. Sp. (Steinernematidae, Nematoda) from South Carolina. *Revue Nematol*, 8(4): 321—327.
- [6] Steiner G. 1929 *Neoaplectana glaseri*, N. G. n. sp. (Oxyuridae) a new nematode parasite of the Japanese beetle (*Popillia japonica* Newm.), *J. Wash. Acad. Sci.*, 18: 436—439.

《格氏线虫三个品系染色体组型的研究》

一文之附图

(正文见第 6 页)



图示：格氏线虫三个品系的染色体 图 1.2 NC513 雌雄染色体中期分裂相；图 3 NC513 的减数分裂终变期；图 4.5 85011 雌雄染色体中期分裂相；图 6 85011 减数分裂中期 I；图 7.8 KG 雌雄染色体中期分裂相；图 9 KG 的减数分裂终变期；图 10、11 NC513 雌雄染色体组型；图 12、13 85011 雌雄染色体组型；图 14、15KG 雌雄染色体组型；图 a NC513 减数分裂终变期线条图；图 b 85011 减数分裂中期 I 线条图；图 c KG 减数分裂终变期线条图