

中国小鲵的核型

卿立燕 陈勤 曾晓茂 王一丁*

(四川师范大学生命科学院 成都 610101; 中国科学院成都生物研究所 成都 610041)

摘要: 中国小鲵 (*Hynobius chinensis*) 被描述于 116 年前, 我国学者于 2005 年在模式产地湖北宜昌再次采到标本, 至此该物种的有效性得以确认。以 2007 年采于模式产地的中国小鲵胚胎为材料, 采用 Gemsa 染色方法, 对中国小鲵的核型进行了分析。结果表明, 中国小鲵的二倍体染色体数为 56, 28 对染色体按大小和形状可以分为 4 组: 第一组, 包括 Nos. 1 ~ 9, 由大型 m, sm, st 染色体组成; 第二组为中型双臂染色体组, 由 Nos. 10 ~ 13 组成, 包含 m, sm 染色体; 第三组, 包括 Nos. 14 ~ 18, 由小型 m 染色体组成; 第四组, 包括 Nos. 19 ~ 28, 由小型 t 染色体组成。与小鲵属其他物种相比, 中国小鲵核型与具染色体数为 $2n = 56$ 的类群核型大致相同, 差异出现在染色体分组和相应染色体着丝点类型上。

关键词: 中国小鲵; 核型; 小鲵属

中图分类号: Q959 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2009)04-125-04

The Karyotype of *Hynobius chinensis*

QINGLI-Yan CHEN Qin ZENG Xiao-Mao WANG Yi-Ding*

(College of Life Sciences, Sichuan Normal University, Chengdu 610101;
Chengdu Institute of Biology, the Chinese Academy of Sciences, Chengdu 610041, China)

Abstract: *Hynobius chinensis* was re-discovered by Wang *et al.* from the type locality in 2005, 116 years after its first description, which proves that *H. chinensis* is a true *Hynobius* species. In this paper, the karyotype of *H. chinensis* from the type locality was described by using embryos and staining with Gemsa. The results indicated that all individuals had a diploid number of 56 chromosomes and can be divided into four groups: the first group contained large biarmed m, sm, st chromosomes (Nos. 1 - 9); Nos. 10 - 13 composed the second, medium sized group which contained m and sm chromosomes; the third group was composed of 5 pairs of metacentric chromosomes (Nos. 14 - 18); the fourth group included 10 (Nos. 19 - 28) uniaimed microchromosomes. The results indicated that the karyotype of *H. chinensis* was similar to that of the other species with $2n = 56$ chromosomes. Although there were also some differences in the centromere type and grouping, the diploid chromosome number is not changed.

Key words: *Hynobius chinensis*; Karyotype; *Hynobius*

中国小鲵 (*Hynobius chinensis*) 是 Günther 1889 年依据 Pratt 在中国湖北宜昌采到的两号标本描述的新种^[1]。此后超过 100 年的时间里, 均未在模式产地再发现过中国小鲵标本, 致使宜昌中国小鲵的存在成为疑问^[2]。此外, 不同学者曾先后报道中国浙江义乌、镇海、萧山和温岭等地发现中国小鲵^[3]。蔡春抹等^[4]认为浙江地区的标本虽与中国小鲵的原始描述相似,

但存在较大的形态差异, 并以采自浙江义乌大陈及檀林的标本订立新种义乌小鲵 (*H. yiwuensis*), 将浙江义乌、镇海、萧山、温岭在内

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 30570250, 30870287);

* 通讯作者, E-mail: wwwyiding@163.net

第一作者介绍 卿立燕, 女, 硕士研究生; 研究方向: 两栖爬行动物细胞遗传学; E-mail: qingly@cib.ac.cn。

收稿日期: 2008-12-18, 修回日期: 2009-04-27

的小鲵属动物指认为该种的分布区。但该新种的有效性并未得到广泛的认同,部分学者认为义乌小鲵应是中国小鲵的同物异名^[5]。此后,有关中国小鲵的研究由于没有采到地模标本而停滞不前。2005年王熙等^[6]在相隔116年后,在中国小鲵的模式产地湖北宜昌高家堰采得标本共22号,经与中国小鲵全模标本的描述比较,表明与中国小鲵的形态特征一致,故湖北宜昌中国小鲵的有效性已不容质疑。

中国小鲵地模标本的再次发现,为展开其细胞遗传学研究提供了契机。相关小鲵属核型研究,已有20余种核型报道,部分物种深入到了种下居群^[7]。中国大陆现记载物种东北小鲵(*H. leechii*)^[8,9]、安吉小鲵(*H. amjiensis*)^[8,10]、挂榜山小鲵(*H. guabangshanensis*)^[11]、猫儿山小鲵(*H. maoershanensis*)^[12]、义乌小鲵(*H. yiwuensis*)^[10]均有报道。此外,“中国小鲵”福建武夷山标本核型见于1997年^[8],由于未能捕获成体标本,实验材料源自胚胎。迄今,福建武夷山“中国小鲵”的分布记载于Pope、蔡明章等、费梁等^[13-15],然而由于缺乏成体标本,福建武夷山的小鲵属物种是否为中国小鲵仍存疑问^[15,16]。换言之,福建武夷山的“中国小鲵”核型并非真正意义上的中国小鲵核型。基于此,本课题组于2007年初在模式产地采集了中国小鲵的成体及卵袋标本,进行了核型分析,旨在完善和补

充小鲵属核型资料,并为中国小鲵及其相关的系统学研究提供细胞遗传学的佐证。

1 材料与方法

1.1 材料 以2007年2月采自湖北宜昌的中国小鲵活体胚胎为实验材料。胚胎分别来自于3对卵袋。由于小鲵属每雌鲵一次产卵袋一对^[15],故可以确定本实验所取材料来自于3个不同的母本。

1.2 方法 参照曾晓茂等^[8]的方法并稍加改进,选择发育至尾芽期的胚胎,在生理盐水中剪破卵胶囊使胚胎游离,后将胚胎置于0.5%的秋水仙素中,18左右培养24~96h;用刀片将胚胎卵黄部分除去,置于少量低渗液(生理盐水 蒸馏水=1:15)中,用巴氏滴管将胚胎捣碎,低渗25min;低渗后以固定液(甲醇 冰醋酸=3:1)固定两次后滴片;Gemsa染色。

观察中期分裂相39个,确定中期二倍体染色体数。选取5个较好的中期分裂相,用Leica DMRA2显微镜对分裂相放大照相,并对染色体进行测量统计。染色体分类按1964年Levan的标准划分^[17]。

2 结果

中国小鲵的二倍体染色体数为56(表1),28对染色体按大小和形状可以分为4组(图

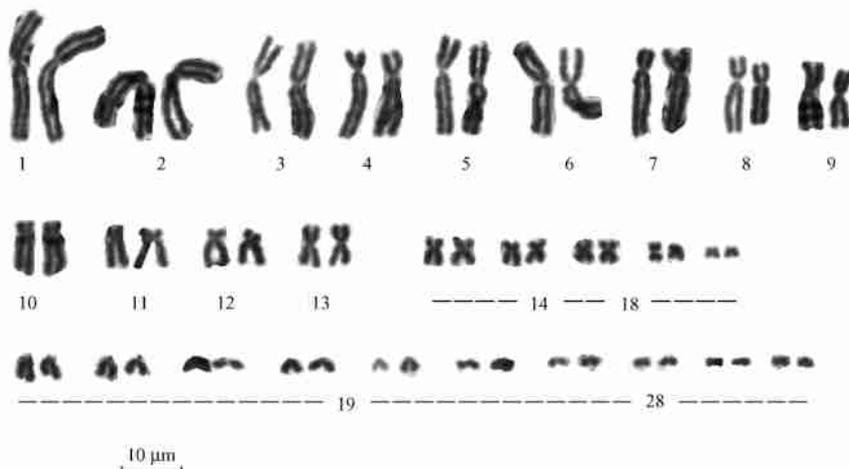


图1 中国小鲵的核型(×630)

Fig. 1 The karyotype of *Hynobius chinensis*

1):第1组为大型双臂染色体组(Nos. 1~9),包括5对中着丝点染色体(metacentric chromosome, m)(Nos. 1, 2, 3, 6, 9),3对亚中着丝点染色体(submetacentric chromosome, sm)(Nos. 5, 7, 8),1对亚端着丝点染色体(sutelocentric chromosome, st)(No. 4);第二组为中型双臂染色体组(Nos. 10~13),包括1对m(No. 13),3对sm(Nos. 10~12);第三组为小型中着丝点染色体组,为Nos. 14~18;第四组为小型端着丝点染色体组,包括Nos. 19~28,10对端着丝点染色体(telocentric chromosome, t)。

3 讨论

在分类史上,中国小鲵的早期分布记载为湖北宜昌(模式产地)、浙江地区及福建武夷山^[3]。后来,部分学者将浙江地区记载的中国小鲵改订为义乌小鲵^[4],另一部分学者则认为义乌小鲵不成立^[5]。本文将中国小鲵地模标本核型与浙江镇海的义乌小鲵核型^[10]相比较,前者No. 7为sm,后者为m;前者Nos. 2, 3, 11分别为m, m, sm,后者分别是m/sm, m/sm, sm/st,表明二者间存在较明显的差异。另外,本文作者等对中国小鲵模式产地湖北宜昌标本与义乌小鲵模式产地浙江义乌大陈的标本进行了线粒体DNA细胞色素*b*基因序列、COI基因序列分析,结果表明二者间亦存在明显遗传差异(待发表)。核型与分子证据均支持义乌小鲵为有效物种。

福建武夷山的“中国小鲵”因缺乏成体标本而无明确定论^[15]。将中国小鲵地模标本核型与福建武夷山“中国小鲵”标本核型相比较,前者Nos. 5, 19分别为sm和t,后者均为m;福建武夷山者核型较之地模核型多出一对双臂染色体。再将福建武夷山者核型与义乌小鲵核型相比较,前者Nos. 5, 7, 19分别为m, sm和m,后者为sm, m和t;福建武夷山者核型较之义乌小鲵核型多出一对双臂染色体。由此,福建武夷山者核型与中国小鲵和义乌小鲵核型间均存在明显的差异。费梁等^[15]曾将武夷山的小鲵卵袋同浙江另两种小鲵的卵袋进行比较,结

果表明,前者与后两种小鲵的卵袋形态差异明显。染色体核型比较分析的结果与费梁等的卵袋比较结果较为一致。这些差异水平所代表的福建武夷山产小鲵达到的分化程度,尚须获得成本标本,并借助其他方面的证据方可讨论。

表1 中国小鲵的染色体数据
Table 1 Chromosome characteristics of
Hynobius chinensis

染色体号数	相对长度	臂比	着丝点位置
No.	Relative length	Arm ratio	Centromere position
1	11.59 ±0.12	1.25 ±0.18	m
2	9.67 ±0.36	1.25 ±0.20	m
3	8.08 ±0.37	1.29 ±0.15	m
4	7.44 ±0.45	3.66 ±0.26	st
5	7.14 ±0.39	2.40 ±0.19	sm
6	6.76 ±0.41	1.49 ±0.12	m
7	6.41 ±0.44	2.37 ±0.23	sm
8	5.60 ±0.46	2.09 ±0.20	sm
9	5.51 ±0.48	1.24 ±0.10	m
10	4.47 ±0.47	2.08 ±0.25	sm
11	3.85 ±0.45	2.15 ±0.23	sm
12	2.85 ±0.37	2.29 ±0.27	sm
13	2.72 ±0.45	1.23 ±0.18	m
14	2.13 ±0.34	1.22 ±0.16	m
15	1.70 ±0.23	1.22 ±0.05	m
16	1.39 ±0.34	1.29 ±0.23	m
17	1.03 ±0.42	1.26 ±0.24	m
18	0.57 ±0.20	1.22 ±0.12	m
19	2.66 ±0.47		t
20	1.92 ±0.37		t
21	1.41 ±0.32		t
22	1.16 ±0.23		t
23	0.95 ±0.14		t
24	0.79 ±0.08		t
25	0.70 ±0.08		t
26	0.60 ±0.04		t
27	0.56 ±0.07		t
28	0.34 ±0.10		t

m:中着丝点染色体; sm:亚中着丝点; st:亚端着丝点染色体; t:端着丝点染色体。

m: Metacentric chromosome; sm: Submetacentric chromosome; st: Sutelocentric chromosome; t: Telocentric chromosome.

中国小鲵与中国大陆已知核型的小鲵相比^[18],总的来说,染色体数目相同,为56条,分组情形相似,可分为4组,绝大多数相应的染色体类型一致,表明中国小鲵在核型上同小鲵属物种具有同源性。此外,也存在差异,表现在相

应染色体对着丝点类型、具体分组上,但其差异未涉及到染色体数目的改变,表明臂间倒位式的染色体重组是引起着丝点类型和染色体分组差异的主要原因。有尾类核型进化主要途径是由染色体数多的二型不对称核型通过着丝点融合、臂间倒位等过渡到染色体数少的单型对称型(m型)^[19],中国小鲵同中国大陆的安吉小鲵^[8,10]、猫儿山小鲵^[12]、挂榜山小鲵^[11]及义乌小鲵(浙江镇海)^[10]相似,有较少的m而有较多的t,保留了相对较多的原始核型特征;而东北小鲵(辽宁桓仁)和福建武夷山的“中国小鲵”^[8]则有较多的m和较少的t,具更进化的核型特征。

有关小鲵属核型,日本学者有大量的研究报道。根据二倍体染色体数目,日本学者将分布于日本、韩国、中国台湾的小鲵分为三组:第一组 $2n=56$,第二组 $2n=58$,较之第一组核型多出一对微小染色体对,第三组仅有一个物种滞育小鲵(*H. retardatus*), $2n=40$ ^[7]。日本学者经研究发现,小鲵属各物种基本可归属于池塘和高山溪流两大生态型,前者主要生活在低山区并在池塘中产卵,后者生活在中、高山区,主要在溪流中产卵^[20]。有意义的是,上述小鲵属的核型分组与其生态型大致吻合,即池塘型物种多具 $2n=56$ 核型,而溪流型物种多具 $2n=58$ 核型^[21]。中国小鲵也不例外,其核型 $2n=56$,生态特征基本与日本的池塘类型相符。

致谢 感谢本室刘志君老师帮助采集标本,感谢张淑君女士在实验技术上的指导。

参 考 文 献

- [1] Günther A. Third contribution to our knowledge of reptiles and fishes from the Upper Yangtze-Kiang [= Chang Jiang river]. *Annals & Magazine of Natural History*, 1889, **6**(4): 218 ~ 229.
- [2] 赵尔宓,胡其雄. 中国西部小鲵科的分类与分布,兼记一新属. 两栖爬行动物学报, 1983, **2**(2): 29 ~ 35.
- [3] Adler K, Zhao E M. Studies on hynobiid salamanders, with description of a new genus. *Asiatic Herpetological Research*, 1990, **3**: 37 ~ 45.
- [4] 蔡春抹. 浙江有尾类两栖动物及小鲵属一新种描述. 两栖爬行动物学报, 1985, **4**(2): 109 ~ 114.
- [5] 赵尔宓, Adler K. 中国小鲵 100 年. 四川动物, 1989, **8**(2): 18 ~ 20.
- [6] 王熙, 吴敏, 张勇等. 中国小鲵在 116 年后再次发现及其描述. 四川动物, 2007, **26**(1): 57 ~ 58.
- [7] Kohno S, Kuroo M, Ikebe C. Cytogenetic and evolution of hynobiid salamanders. In: Green D M, Sessions S K eds. *Amphibian Cytogenetics and Evolution*. San Diego: Academic Press, 1991, 67 ~ 88.
- [8] 曾晓茂, 费梁, 叶昌媛等. 三种小鲵和极北鲵的核型. 动物学研究, 1997, **18**(3): 341 ~ 345.
- [9] 马连第, 高慧, 马德坤. 千山产东北小鲵的染色体组型. 动物学杂志, 1992, **27**(6): 35 ~ 37.
- [10] Ikebe C, Gu H Q, Ruan R W, et al. Chromosomes of *Hynobius chinensis* Günther and *Hynobius amjiensis* Gu from China, and comparison with those of 19 other *Hynobius* species. *Zoological Science*, 1998, **15**: 981 ~ 987.
- [11] Xiong J L, Qing L Y, Zeng X M, et al. Karyotype of *Hynobius guabangshanensis* (Urodela: Hynobiidae). *Sichuan Journal of Zoology*, 2008, **27**(2): 236 ~ 238.
- [12] Qing L Y, Wang Y D, Zeng X M, et al. The karyotype of *Hynobius maoershanensis* (Urodela: Hynobiidae), a newly described species with rare banding patterns. *The Herpetological Journal*, 2009, **18**(3): 129 ~ 135.
- [13] Pope H C. Notes on Amphibians from Fukien [= Fujian], Hainan, and other parts of China. *Bulletin of the American Museum of Natural History*, 1931, **61**(8): 379 ~ 611.
- [14] 蔡明章, 张健, 林丹军. 中国小鲵胚胎发育的初步观察. 两栖爬行动物学报, 1985, **4**(3): 177 ~ 180.
- [15] 费梁, 胡淑琴, 叶昌媛等. 中国动物志 两栖纲(上卷) 总论 蚓螈目 有尾目. 北京: 科学出版社, 2006, 143 ~ 160.
- [16] 费梁, 叶昌媛, 江建平. 中国两栖动物检索及图解. 成都: 四川科技出版社, 2005, 30.
- [17] Levan A, Fredga K, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 1964, **52**: 201 ~ 220.
- [18] 卿立燕, 王一丁, 曾晓茂. 小鲵属染色体研究进展. 两栖爬行动物学研究, 2007, **11**: 251 ~ 258.
- [19] Morescalchi A. Comparative karyology of the amphibia. *Boll Zoology*, 1971, **38**: 317 ~ 320.
- [20] Sato I. A Monograph on the Japanese Urodeles. Osaka: Nippon Shuppan-sha, 1943, 21 ~ 413.
- [21] Nishikawa K, Matsui M, Kokuryo Y, et al. Karyotype of a Japanese salamander *Hynobius katoii* and its implication on breeding ecology (Amphibia: Caudata). *Zoological Science*, 2005, **22**: 805 ~ 807.