

③
罗氏沼虾核型及长臂虾亚科核型演化关系的探讨

邱高峰

(上海水产大学, 200090)

Q957.203.5

A
摘要 以略作改进的空气干燥法制备染色体标本, 研究罗氏沼虾精巢细胞染色体数目, 首次报道了其有丝分裂中期的详细核型。罗氏沼虾染色体数目 $n = 59$, $2n = 118$, 依着丝点位置及相对长度不同共划分为 A、B、C 三个染色体组。A 组为中部、亚中部着丝点染色体, 共 40 对; B 组为亚端部着丝点染色体, 共 5 对; C 组为端部着丝点染色体, 共 14 对, 故核型公式为 $2N = 80(M, SM) + 10ST + 28T$, 染色体总臂数 $NF = 198$ 。此外, 还对长臂虾亚科核型演化关系进行了探讨。

关键词 罗氏沼虾, 染色体, 核型, 长臂虾亚科, 核型演化

罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 又名马来西亚大虾和淡水长臂大虾, 是长臂虾亚科 (Palaeomoninae) 中个体最大的种类之一, 原产东南亚和亚热带地区的淡水和半咸水水域, 具有生长快、不易患病和养殖周期短等优点。自七十年代以来, 世界各地相继开展了广泛的引种试养, 目前已成为颇具养殖规模的世界性养殖虾类。我国于 1976 年从日本引进, 次年便获得了人工育苗的成功, 至今已在十几个省区推广养殖, 经济效益十分可观。为了进一步提高养虾产量, 遗传育种成为当今发展虾类增殖不可忽视的一个重要环节, 而核型研究是进行杂交育种、诱导多倍体和雌核发育等品种改良的基础。美国夏威夷大学 Malecha 等 [1977] 首次以中肠腺为材料对不同地区的罗氏沼虾染色体数目进行了考察, 结果表明染色体数目 $2n = 114$, 但随后日本学者驹形伸之等 [1989] 及 Chavez 等 [1991] 的研究却显示其染色体数目 $2n = 118$, 至于核型分析方面因染色体太小迄今尚不见详细报道, Chavez 等 [1991] 仅对其染色体进行了初步分组。本文首次报道了罗氏沼虾的详细核型, 并对长臂虾亚科的核型演化关系进行了探讨, 可为遗传育种提供细胞遗传学基础资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

罗氏沼虾于 1995 年 5 月下旬采自上海金山县漕泾对虾养殖公司育苗场, 均为用于人工繁殖后的亲虾, 平均体长 (从眼眶后缘至尾节) 为 9.2cm。

1.2 染色体标本制作

选取活力强的雄虾, 在其腹部第 1、2 节间注射秋水仙素溶液 (每克体重注射 $2 \mu\text{g}$), 于 28°C 水族箱中暂养 4~6h 后, 解剖取出精巢, 用锋利刀片切成小块, 置于盛有 0.075M KCl 溶液的小烧杯中, 低渗 30min, 观察精巢低渗膨胀程度, 随后以 Carnoy 氏液 (乙醇:冰醋酸 = 3:1), 于 4°C

收稿日期: 1995-08-04。

下固定 2h 以上, 中途更换新鲜固定液 2 次, 以略作改进的空气干燥法进行染色体制片[邱高峰等, 1994]。于日产 Olympus BH-2 显微镜下观察, 选取染色体分散良好的分裂相拍照, 照片放大后, 挑选 10 个染色体形态清晰的有丝分裂中期相进行核型分析。

2 结果

2.1 罗氏沼虾的染色体数目

在染色体标本中, 精巢处于有丝分裂中期的精原细胞数量占大多数, 而初级精母细胞减数分裂相对却较少。镜检了 8 尾虾, 共 80 个细胞分裂相, 其中包括精原细胞有丝分裂相 60 个, 初级精母细胞减数分裂相 20 个。结果表明: 精原细胞染色体数目为 118 的细胞占其总数的比率最高, 达 65% (表 1), 二价体数目为 59 的初级精母细胞数占其总数的比率也最大, 为 55% (表 2), 故可以确定罗氏沼虾染色体数目 $2n=118, n=59$ 。

表 1 罗氏沼虾精原细胞染色体数的出现频率

Table 1 Frequency of chromosomal number of spermatogonium in *M. rosenbergii*

染色体数	100	104	105	110	113	114	115	118	120	总计
频率(次)	4	2	3	1	1	5	3	39	2	60
百分比(%)	6.7	3.3	5	1.7	1.7	8.3	5	65	3.3	100

表 2 罗氏沼虾初级精母细胞二价体数的出现频率

Table 2 Frequency of bivalent number of primary spermatocyte in *M. rosenbergii*

二价体数	52	54	55	56	57	58	59	60	总计
频率(次)	1	1	1	1	2	2	11	1	20
百分比(%)	5	5	5	5	10	10	55	5	100

2.2 罗氏沼虾的核型

同一尾的罗氏沼虾精原细胞有丝分裂染色体有两种形状, 一部分染色体为点状(图版 I -



图版 I Plate I

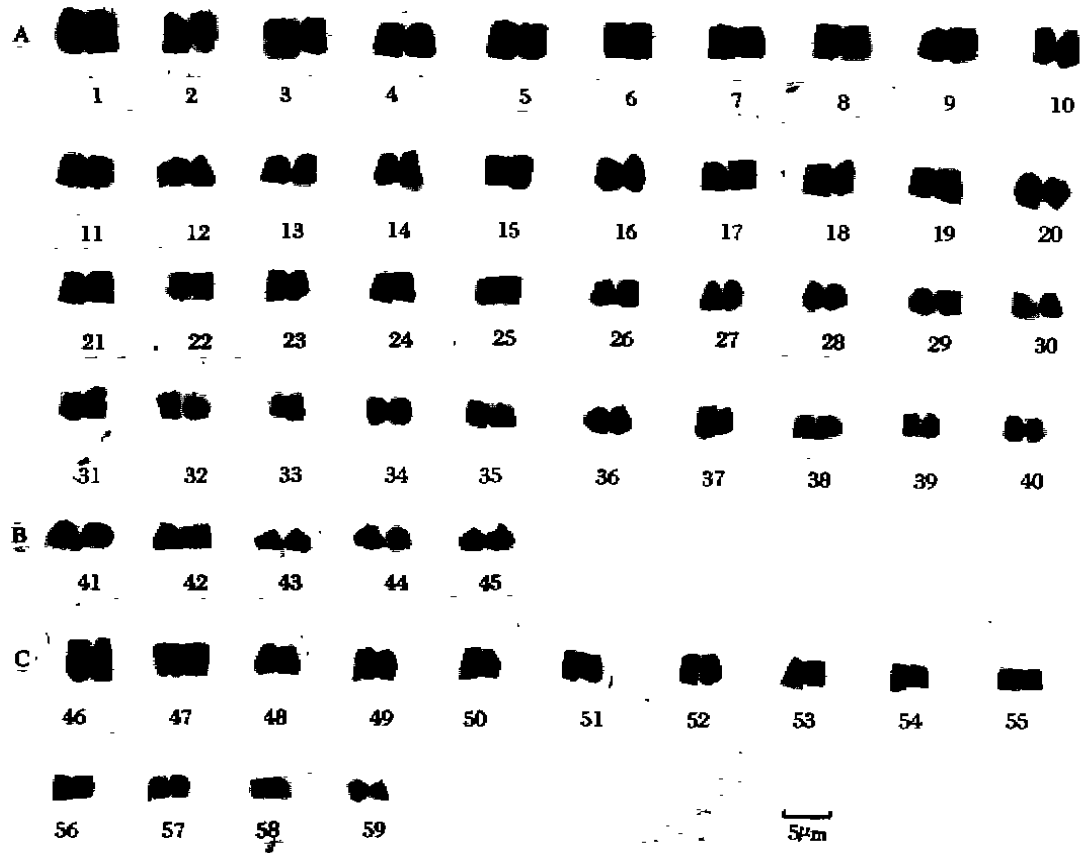
1. 有丝分裂中的点状染色体, $\times 670$; 2. 精原细胞有丝分裂中期相($2n=118$), $\times 670$

1),着丝点无法分辨,难以进行核型分析;另一部分染色体形态较分明,着丝点可辨(图版 I-2),核型分析容易。依 Levan 等[1964]染色体分类标准划分、配对:中部(M)、亚中部着丝粒染色体(SM)共有 40 对;亚端部着丝粒染色体(ST)5 对;端部着丝点染色体(T)14 对,故罗氏沼虾的核型公式为: $2N = 80(M, SM) + 10ST + 28T$,染色体总臂数 $NF = 198$ 。核型图中染色体按 (M, SM)、ST、T 顺序排列,分别归为 A、B、C 三个染色体组(表 3 和图版 II),各组内的染色体按相对长度递减顺序排列。

A 组(第 1~40 号):染色体均为“X”型,第 1、2 号分别是所有染色体组中最大和次大的染色体,易被鉴别,其余相邻染色体相对长度大小相差甚微,但第 19、21 号染色体的臂率接近于亚中部着丝点染色体,第 22、25 号染色体臂率也较大,依此可将它们与其它染色体区分开。第 13、26、33、38、39 和 40 号染色体臂率变化范围较大,难以鉴别属于中部着丝点染色体还是亚中部着丝点染色体。

B 组(第 41~45 号):染色体均为“人”型,第 45 号染色体臂率(6.12)接近于端部着丝点染色体,其余相邻 2 对染色体除相对长度略有不同外,形态特征相仿。

C 组(第 46~59 号):染色体为棒状或点状,第 46 号是同组中最大的染色体,与 A 组中第 2 号染色体相对长度相同,但前者着丝点位于染色体端部。第 57~59 号染色体的相对长度明显较小,呈点状,其余相邻染色体大小差异不明显,较难区别。



图版 II 罗氏沼虾精原细胞的核型
Plate II The karyotype from spermatogonium in *M. rosenbergii*

表3 罗氏沼虾精原细胞染色体的测量值

Table 3 The measurement of chromosomes of spermatogonium in *M. rosenbergii*

组别	染色体编号	相对长度(%)	臂率(NF)	染色体类型	染色体编号	相对长度(%)	臂率(NF)	染色体类型
A	1	27.91±1.44	1.29±0.06	M	2	25.68±0.97	1.13±0.18	M
	3	24.49±0.66	1.15±0.09	M	4	23.36±1.02	1.06±0.21	M
	5	23.02±0.48	1.23±0.12	M	6	22.79±0.55	1.10±0.19	M
	7	21.93±0.16	1.18±0.04	M	8	21.36±0.07	1.10±0.05	M
	9	20.22±0.47	1.12±0.08	M	10	20.51±0.45	1.07±0.13	M
	11	19.65±0.31	1.14±0.11	M	12	19.37±0.15	1.04±0.09	M
	13	19.08±0.52	1.47±0.78	M,SM	14	18.80±0.13	1.05±0.09	M
	15	18.71±0.23	1.04±0.07	M	16	18.51±0.33	1.19±0.06	M
	17	18.23±0.22	1.32±0.04	M	18	17.94±0.05	1.17±0.14	M
	19	17.66±0.17	1.46±0.06	M	20	17.37±0.24	1.22±0.08	M
	21	17.12±0.19	1.48±0.08	M	22	17.08±0.08	1.35±0.04	M
	23	16.81±0.23	1.18±0.09	M	24	16.52±0.27	1.23±0.07	M
	25	16.23±0.32	1.37±0.04	M	26	15.95±0.30	1.48±0.66	M,SM
	27	15.77±0.21	1.15±0.09	M	28	15.64±0.15	1.10±0.20	M
	29	15.38±0.29	1.02±0.22	M	30	15.26±0.14	1.06±0.08	M
	31	15.13±0.09	1.24±0.14	M	32	15.08±0.61	1.09±0.07	M
	33	14.81±0.43	1.52±0.51	M,SM	34	14.53±0.27	1.34±0.05	M
	35	14.24±0.06	1.32±0.08	M	36	13.67±0.12	1.13±0.09	M
	37	13.10±0.23	1.04±0.17	M	38	12.39±0.35	1.62±0.73	M,SM
39	12.10±0.16	1.58±0.89	M,SM	40	11.67±0.08	1.53±0.66	M,SM	
B	41	18.82±0.83	5.90±0.08	ST	42	15.11±0.14	4.81±0.13	ST
	43	13.96±0.21	5.37±0.24	ST	44	11.68±0.34	4.65±0.33	ST
	45	10.82±0.09	6.12±0.06	ST				
C	46	25.63±0.89	∞	T	47	22.22±1.23	∞	T
	48	21.08±0.54	∞	T	49	17.37±0.29	∞	T
	50	16.79±0.40	∞	T	51	15.95±0.12	∞	T
	52	14.81±0.07	∞	T	53	13.39±0.09	∞	T
	54	12.82±0.15	∞	T	55	12.53±0.17	∞	T
	56	11.68±0.24	∞	T	57	9.44±0.11	∞	T
	58	8.83±0.04	∞	T	59	7.69±0.07	∞	T

3 讨论

3.1 十足类动物有丝分裂染色体的形状与核型分析

染色体的形状通常与研究材料、研究者所使用的染色体制作方法有关,然而大多数十足类动物精原细胞有丝分裂染色体形状似乎与所采用的方法并无多大联系,以精巢为材料已获得的十足类动物有丝分裂染色体形状均为点状[堵南山等,1986;相建海,1988;邱高峰等,1994],且有丝分裂相非常少,核型分析极为困难。因此,十足类动物的核型分析目前主要采用幼体的触角腺和胚胎[相建海,1988;戴继勋等,1989;Chavez等,1991],或以减数分裂二价体进行核型分析[邱高峰等,1994]。以触角腺为材料获得的染色体标本并不十分理想,仅能作初步的染色体分组[Chavez等,1991]。本研究以精巢为材料却获得了可进行核型分析的有丝分裂相,这主要与取材季节有关,本研究所用的雄虾均为用于人工育苗后的亲虾,精巢处于退化阶段,

减数分裂活动减弱,而有丝分裂却较旺盛,故在染色体标本中有丝分裂相居大多数,其中一部分染色体与其它大多数十足类一样呈点状(图版 I),而另一部分有丝分裂染色体呈长形,形态分明,易于核型分析,这两种不同形状的染色体在注射过秋水仙素的同一尾虾中同时出现,可能意味着点状染色体是处于有丝分裂前中期(或更早),而不是真正的有丝分裂中期。在前中期,纺锤体已形成,秋水仙素同样能对它起作用,因此,在同一尾虾中可观察到两种不同形状的染色体。

3.2 罗氏沼虾的核型

罗氏沼虾染色体数目 $2n = 118$, $n = 59$,与驹形伸之等[1989]和 Chavez 等[1991]的研究结果相同,但三者核型存在差异。与 Chavez 等[1991]的结果相比,本研究的中部、亚中部染色体数目减少了 5 对,而亚端部着丝点染色体数目增加了 5 对。

3.3 性染色体

与前人研究结果相似[堵南山等,1986;相建海,1988;戴继勋等,1989;邱高峰等,1994],本研究未发现性染色体,但如果由此认为虾类不存在性染色体是难以令人信服的,因为虾类染色体数目庞大且形状过小,要区分性染色体与常染色体并非易事,而且在与虾类同一目的蟹类和异尾类中已发现了性染色体,因此在目前核型分析资料少,特别是无染色体带型分析的情况下,作出不存在性染色体的结论未免为时过早。

此外, Malecha 等[1992]以造雄腺移植法诱导性逆转获得的雄性(生理上雄性,遗传上雌性)罗氏沼虾与正常雌体交配产生的后代雌雄比例为 3.20:1(接近于 3:1),而未经性逆转诱导的正常雌雄个体交配产生的后代雌雄比例为 1:1.29(接近于 1:1),故推论罗氏沼虾属于雌性异配型(ZW 型),即罗氏沼虾遵循 ZW(♀) - ZZ(♂) 性别决定机制遗传,但 Malecha 等[1992]同时指出罗氏沼虾的性别决定还受环境因素的影响。

3.4 长臂虾亚科的核型演化关系

由于核型分析上的困难,使得十足类核型演化的研究进展相当缓慢,有关十足类动物核型演化关系分析方面的论文相当少,仅见 Murofushi 等[1990]在第二届亚洲水产学术会议上提出的十足类染色体倍数性进化的观点。长臂虾亚科虾类的染色体至今已报道过 2 属 9 种(表 4),本文仅就现有核型资料作初步探讨。

分析表 4 可知,大多数长臂虾亚科虾类都有较多的中部和亚中部着丝点染色体,亚端部和端部着丝点染色体较少,这一共同特征显示出它们在核型演化上的同源性;另一方面长臂虾亚科虾类染色体数目变化范围大(100 ~ 136),染色体数目最少的是沼虾属的 *M. silvaticensis* 和细螯沼虾(*M. superbum*), $2n = 100$;最多的是长臂虾属的条纹长臂虾(*Palaemon paucidens*), $2n = 136$,而且即使是同属的种间染色体数目、臂数均有明显差别,表明这一亚科的虾类核型具有种的特异性。据 Murofushi 等[1990]关于十足类染色体倍数性进化的观点,染色体数目少的核型为较原始的核型,故可推测 $2n = 100$ 是长臂虾亚科较原始的类型。随着染色体数目的增加,中部和亚中部着丝点染色体数目有总体上减少的趋势,端部和亚端部着丝点染色体数目则相应增加,即染色体总臂数(NF)相应减少,可见染色体的罗伯逊断裂在长臂虾亚科核型演化中可能起着主要作用。也有少数种类染色体数目增加,但染色体总臂数减少,因此也不排除罗伯

逊融合的作用。细螯沼虾和 *M. silvaticensis* 的染色体数目 $2n = 100$, 但核型不同, 可能是染色体之间的易位造成的。由于染色体易位只改变染色体的核型, 不会引起染色体数目的变化。综上所述, 长臂虾亚科核型演化关系较为复杂, 染色体组的重排(罗伯逊易位和染色体易位)起着重要作用。至于长臂虾亚科其它属的核型有待进一步研究, 以便对长臂虾亚科的核型演化作全面而准确的分析。

表 4 长臂虾亚科中 9 种虾类的染色体
Table 4 Chromosomal studies on the 9 species of Palaemoninae

种 属	染色体数目		核型		染色体臂数	研究者	
	2n	n	M, SM	ST, T			
长臂虾属	条纹长臂虾	136	68	72	64	208	驹形伸之等 [1969]
	锯齿长臂虾	108	54	80	28	188	驹形伸之等 [1969]
	<i>P. lamarrei</i>	118	59	8	110	126	Vishnoi [1972]
沼虾属	<i>M. silvaticensis</i>	100	50	100	0	200	Mittal 等 [1971]
	细螯沼虾	100	50	72	28	172	邱高峰 (1996)
	台湾沼虾	102		80	22	182	驹形伸之等 [1969]
	日本沼虾	104	52	80	24	184	驹形伸之等 [1969]
		104	52	74	30	178	邱高峰等 [1994]
	和沼虾	114		40	74	154	驹形伸之等 [1969]
	罗氏沼虾	114					Malecha [1977]
		118	59	40	78	158	驹形伸之等 [1969]
		118	59	90	28	208	Chavez 等 [1991]
	118	59	80	38	198	邱高峰 [1996]	

本研究是上海市高等学校青年教师学术基金资助项目的部分内容。实验虾由臧维玲教授、王丽卿同志馈赠, 实验过程中得到楼允东教授的帮助, 我校水生生物学专业 91 级戴 薇、蒋青峰同学参加部分实验工作, 张 敏、周平凡同志协助拍摄和洗印照片, 94 级研究生吴 萍同学帮助打印文稿, 在此一并表示衷心感谢。

参 考 文 献

- [1] 邱高峰等, 1994. 日本沼虾染色体及其核型的研究. 海洋与湖沼, 25(5):498~498.
- [2] 相建海, 1988. 中国对虾染色体的研究. 海洋与湖沼, 9(3):205~209.
- [3] 堵南山等, 1986. 中华绒螯蟹染色体的研究. 动物学研究, 7(3):293~296.
- [4] 戴继勋等, 1989. 中国对虾的核型研究. 青岛海洋大学学报, 19(4):99~104.
- [5] 驹形伸之等, 1969. テナガエビ科 2 属 6 種の染色体数. 日本甲壳类学会ニエース, (12):5.
- [6] Chavez, J.C. et al., 1991. Karyological studies on the freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 97:327~334.
- [7] Levan, A. et al., 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 52:201~220.
- [8] Malecha, S. R., 1977. Genetics and selective breeding. In J. A. Hanson and H. L. Goodwin (Eds.): *Shrimp and Prawn Farming in the Western Hemisphere*. 328~334, Dowden, Hutchinson and Ross, Pennsylvania, PA.
- [9] Malecha, S. R. et al., 1992. Sex-ratios and sex-determination in progeny from crosses of surgically sex-reversed freshwater prawns, *Macrobrachium rosenbergii*. *Aquaculture*, 105:201~218.

(1)邱高峰, 1996. 细螯沼虾染色体的研究。

- [10] Mittal, O. P. *et al.*, 1971. Chromosome studies in three species of freshwater decapods (Crustacea). *Cytologia*, 36:633 - 638.
- [11] Murofushi, M. *et al.*, 1990. Karyotype evolution in Decapoda Crustacea. In R. Hirano and I. Hanyu (Eds.), *Proc. Second Asian Fisheries Forum*. 549 - 553. Asian Fisheries Society, Tokyo, Japan.
- [12] Vishnoi, D. N., 1972. Studies on the chromosomes of some Indian Crustacea. *Cytologia*, 37:43 - 51.

KARYOTYPE OF THE FRESHWATER PRAWN *MACROBRACHIUM ROSENBERGII* AND KARYOLOGICAL EVOLUTION OF PALAEMONINAE (CRUSTACEA, DECAPODA)

Qiu Gaofeng

(Shanghai Fisheries University, 200090)

ABSTRACT The meiotic and mitotic chromosomes preparations from the freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*, were obtained by modified air-dry method applied to testis. The karyotype from mitotic metaphase of spermatogonium in the prawn was first analysed in detail. The number of chromosome were found to be : $2n = 118$, $n = 59$. According to the relative size and arm ratio, all the diploid chromosomes could be matched into 59 pairs and divided into 3 genomes as follows : genome A, 40 pairs of metacentric chromosomes and submetacentric chromosomes; genome B, 5 pairs of subtelocentric chromosomes; genome C, 14 pairs telocentric chromosomes. So the chromosomes formules was of $2N = 80(M, SM) + 10ST + 28T$ and the total number of chromosomal arms (NF) was 198. The karyotypes of Palaemoninae were reviewed and its evolution was discussed as well.

KEYWORDS *Macrobrachium rosenbergii*, Chromosome, Karyotype, Palaemoninae, Karyological evolution