

内蒙古乌审马染色体核型研究

张焱如, 乌尼尔夫, 白克力亚, 芒 来

(内蒙古农业大学 生物工程学院, 内蒙古 呼和浩特 010018)

摘要:采用外周血淋巴细胞培养方法和常规染色体制备技术,对内蒙古乌审马染色体核型进行了分析研究。结果表明:乌审马染色体核型 $2n=64$,雌性核型为 $64,XX$;雄性核型为 $64,XY$ 。32对染色体中,31对常染色体,1对性染色体;常染色体中,13对为亚中中着丝粒染色体,18对为端着丝粒染色体;X染色体为较大的亚中部着丝点染色体,Y染色体为最小的端着丝点染色体。通过对乌审马的染色体核型分析,为其分子原位杂交及基因定位奠定基础。

关键词:乌审马;染色体;核型

中图分类号:S821.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-7091(2005)01-0108-03

Studies on Chromosome Karyotype of Wushen Horse in Inner Mongolia

ZHANG Yan-ru, Wunerhhu, Baikeliya, Mang lai

(Faculty of Bioengineering, Inner Mongolia Agriculture University, Huhhot 010018, China)

Abstract: In this paper, chromosomal karyotype of Wushen horse in Inner Mongolia was studied by using the peripheral blood lymphocytes culture method and conventional chromosome analysis techniques. The results showed that the diploid chromosome number of Wushen horse was $2n=64$. The chromosome karyotypes of male and female horse were $64,XY$ and $64,XX$. Among 31 pairs of autosomes, of which 13 pairs were met centric or submetacentric and 18 pairs acrocentric chromosomes, X chromosome was larger submetacentric chromosome and Y was the smallest acrocentric chromosome. Karyotypes of Wushen horse may lay a foundation of insitu hybridization and location of gene.

Key words: Wushen horse; Chromosome; Karyotype

乌审马属于蒙古马中一大类群,主要分布在内蒙古鄂尔多斯南部毛乌素沙漠的乌审旗及其临近地区。该地区常年干旱,沙丘遍布,草场退化,使乌审马成为适应荒漠草原条件的类群。其具有适应性强、耐严寒、耐粗饲、抗病力、持久力强等特点,是西部荒漠牧区重要的畜种之一,也是遗传资源上一个极为宝贵的基因库,有关内蒙古乌审马的染色体核型研究国内尚未见报道。本文对内蒙古乌审马进行了染色体核型的初步研究,这对于了解乌审马品种起源、种质特性、积累中国马种染色体资源具有重要的意义,同时为乌审马的杂交、改良,优势基因的染色体定位等研究提供科学依据^[1~4]。

1 材料和方法

1.1 试验材料

选取内蒙古鄂托克旗乌审马两匹,雌雄各一匹。

1.2 试验方法

1.2.1 接种与培养 用经肝素钠湿润的一次性注射器,自马颈静脉抽取5~10 mL血液,无菌注入培养瓶。每5 mL培养基(1640)接全血0.5~0.8 mL,置37℃培养箱培养72 h。培养终止前3~5 h,加入秋水仙素,使培养液中秋水仙素终浓度为0.04~0.06 $\mu\text{g/mL}$ ^[5,6]。

1.2.2 制片

1.2.2.1 收集细胞 将上述培养物移入5 mL离

收稿日期:2004-09-09

基金项目:内蒙古人才基金项目(B62002)

作者简介:张焱如(1964-),女,山东人,副教授,在读博士,主要从事动物遗传育种研究工作;芒来为通讯作者。

心管,吸管轻轻打匀,1 000 r/min 离心 10 min,弃上清。

1.2.2.2 低渗处理 加入已预热到 37 ℃ 的 0.075 mol/L 的 KCl 溶液 5 mL,悬浮细胞,置 37 ℃ 水浴处理 20 min。

1.2.2.3 预固定 沿管壁加入 1 mL 新配制的固定液(甲醇:乙酸=3:1),打匀,1 000 r/min 离心 10 min,弃上清。

1.2.2.4 固定 进行 2 次。沿管壁加入 5 mL 固定液,悬浮细胞,室温下静置 15 min,1 000 r/min 离心 10 min,弃上清,重复此步骤。

1.2.2.5 滴片 加固定液 0.2 mL,悬浮细胞,在经高纯水冰冻的载玻片上,每片滴 2~3 滴细胞悬液,立即吹干,并在酒精灯上烘烤数次,干燥后投入 Giemsa 染色液(自来水:Giemsa=9:1)中染色 30 min,自来水冲洗后,自然干燥。

1.2.3 镜检 在显微镜下,选取染色体分散良好,

边缘清楚的中期细胞,照相。

2 结果与分析

2.1 染色体数目

两匹马共观察了 50 个中期分裂相,染色体数目为 $2n=64$ 的占 92%,说明乌审马的染色体数目为 $2n=64$ 。

2.2 染色体形态类型

利用染色体分析软件,测量了 2 匹乌审马(公、母各 1 匹)50 个分裂相细胞的染色体,按公式:

相对长度 = 每条染色体 $\times 100 / (\text{单倍常染色体长} + X \text{ 染色体长})$

臂比指数 = 长臂/短臂

着丝粒指数 = 短臂长度/染色体长度 $\times 100$

分别估算了每条染色体的相对长度、臂比指数、着丝点指数、统计标准差(S),并按 Levan(1964)标准划分染色体的形态类型。

表 1 乌审马染色体的相对长度、臂比、着丝点指数及形态类型

Tab.1 The relative length, ratio of arm, centromere index and morphology of chromosome of Wushen horse

染色体 Chromosome	相对长度 Relative length	臂比指数 Ratio of arm	着丝点指数 Centromere index	形态类型 Morphology
1	5.78±0.05	1.93±0.02	34.16±0.16	SM
2	5.22±0.10	1.88±0.09	43.89±1.70	SM
3	5.10±0.03	1.74±0.22	36.78±2.88	M
4	4.20±0.00	2.07±0.37	33.06±4.03	SM
5	3.58±0.10	1.28±0.02	43.99±0.24	M
6	2.45±0.03	1.22±0.13	45.23±2.68	M
7	2.43±0.05	2.45±0.78	38.32±0.82	SM
8	2.45±0.18	1.80±0.21	35.98±2.65	SM
9	2.40±0.08	1.52±0.15	39.86±2.36	SM
10	2.53±0.00	1.33±0.00	42.86±0.00	SM
11	2.50±0.03	1.12±0.12	47.45±2.55	M
12	1.81±0.05	1.07±0.07	48.53±1.47	M
13	1.58±0.03	1.45±0.14	41.02±2.31	M
14	3.22±0.10	1.10±0.02		T
15	3.11±0.10	1.16±0.05		T
16	4.09±0.03	1.05±0.01		T
17	4.54±0.05	1.15±0.03		T
18	4.49±0.21	1.10±0.02		T
19	3.67±0.10	1.09±0.00		T
20	3.51±0.00	1.13±0.00		T
21	3.12±0.18	1.13±0.07		T
22	2.97±0.03	1.09±0.05		T
23	2.89±0.10	1.16±0.01		T
24	2.74±0.05	1.04±0.04		T
25	2.74±0.00	1.13±0.09		T
26	3.25±0.05	1.14±0.01		T
27	2.48±0.10	1.09±0.01		T
28	2.45±0.23	1.03±0.03		T
29	1.81±0.10	1.13±0.08		T
30	2.09±0.03	1.14±0.03		T
31	1.52±0.03	1.11±0.04		T
X	5.24±0.03	1.46±0.04	40.70	SM
Y	1.41±0.06	1.20±0.07		T

注:M 为中部着丝点染色体;SM 为亚中部着丝点染色体;T 为端部着丝点染色体

Note:M. met centric chromsome;SM. submetacentric chromosome;T. telocentric chromosome

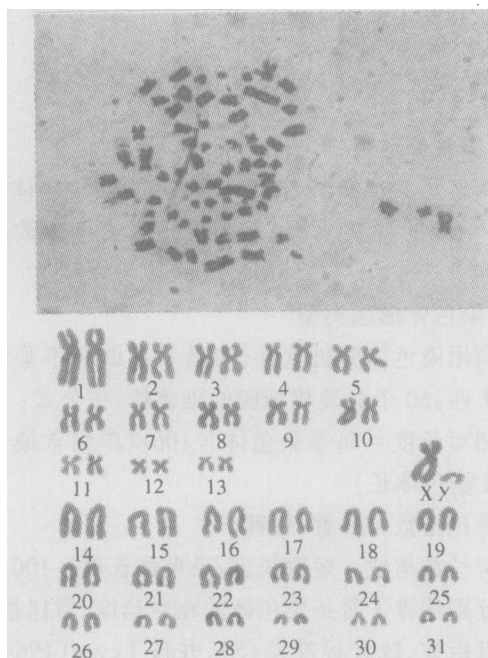


图1 乌审公马的染色体照片及染色体组型

Fig.1 Character of chromosomal karyotype
in wushen horse(♂)

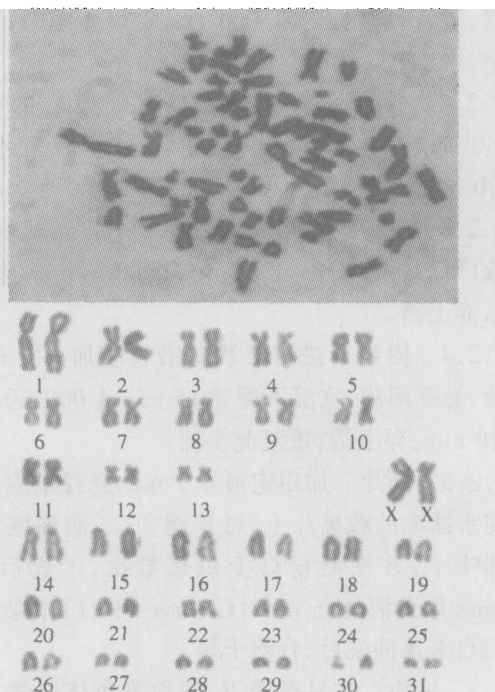


图2 乌审母马的染色体照片及染色体组型

Fig.2 Character of chromosomal karyotype
in wushen horse(♀)

依据表1的结果,将公马染色体的核型排列如图1,母马染色体的核型排列如图2。乌审马的64条染色体中,常染色体31对,包括7SM(亚中着丝点)+6M(中着丝点)+18T(端着丝点),其中1,2,4,7,8,9,10为亚中着丝粒(SM)染色体,3,5,6,11,12,13为中着丝粒(M)染色体,其余一对为性染色体。X染色体为第二长亚中部着丝粒(SM)染色体,Y染色体为最小的端着丝粒染色体。

2.3 二倍体细胞染色体核型

将乌审马的64条染色体按Levan标准排列核型,其公马核型式为64,XY;母马核型式为64,XX。

3 讨论

试验表明,内蒙古乌审马二倍体细胞染色体数目 $2n=64$,公母马核型分别为64,XY和64,XX。这与雷初朝、晁玉庆的研究结果基本一致。根据核型排列标准,将乌审马染色体划分为2组6排,其常染色体形态类型为7SM+6M+18T,13对为亚中和

中着丝粒,18对为端着丝粒。一对性染色体中,X为第二大的近中着丝粒染色体(SM),Y为很小的端着丝粒染色体(T)。本研究是采用第二届国际家畜染色体标准化会议中马染色体核型分组的方法,对乌审马染色体核型进行分组,基本符合染色体划分的国际标准。

参考文献:

- [1] 雷初朝,韩增胜,陈宏,等.关中马的染色体核型分析[J].西北农林科技大学学报(自然科学版),2001,29(4):48.
- [2] 李军祥.岩羊染色体核型分析[J].甘肃畜牧兽医,1999,(4):13-14.
- [3] 王墨清.普氏野马染色体核型及多态性研究[J].甘肃农业大学学报,1995,(6):214-218.
- [4] 刘祖洞,江绍慧.遗传学实验[M].北京:高等教育出版社,2000.
- [5] Richer C L,Power M M,Klunder L R,et al. Standard karyotype of the domestic horse (Mongolian horse)[J]. Hereditas,1990,112-293.
- [6] 李国真.染色体及其研究方法[M].北京:科学出版社,1985.