

# 四种无尾两栖类 SCE 分析

虞世嘉 钱晓薇

(浙江省温州师范学院生物系, 325003)

本文应用腹腔注射活性炭吸附 IdUR 的方法制成骨髓细胞 SCE 标本,测定出泽蛙、虎纹蛙、黑斑蛙和中华大蟾蜍的 SCE 值(雄雌)分别为  $7.81 \pm 0.42$ 、 $8.02 \pm 0.45$ 、 $4.76 \pm 0.28$ 、 $4.54 \pm 0.32$ 、 $8.79 \pm 0.34$ 、 $8.38 \pm 0.42$  和  $7.42 \pm 0.48$ 、 $7.91 \pm 0.46$ ,表明无尾两栖类体细胞的 SCE 值是比较高的。本文还观察了 SCE 在染色体上的分布,结果表明 SCE 的分布与染色体的长度有一定的关系。

**关键词:** 无尾两栖类,骨髓细胞,姐妹染色单体互换

本世纪五十年代后,由于低渗溶液、秋水仙素、植物凝血素和气干制片法等一系列制备染色体技术的发现和应用,大大推动了细胞遗传学的发展。两栖类动物是实验胚胎学研究的良好材料,由于它们的染色体数目较少、形态较大,现在又成了研究细胞遗传学较理想的实验材料。据文献报道,国内外学者对无尾两栖类的染色体组型已进行了不少的研究分析,发现染色体数目、类型和次缢痕等形态结构在无尾两栖类中都有一定的种属关系<sup>[1-5,8]</sup>,但是有关无尾两栖类的 SCE 研究却报道得很少。本文对我国四种常见无尾两栖类的 SCE 值进行了测定,并观察了 SCE 在染色体上的分布,现报道于下。

## 材料与方 法

### (一) 实验动物

泽蛙、虎纹蛙、黑斑蛙和中华大蟾蜍。虎纹蛙和黑斑蛙购自温州市农贸市场,泽蛙和中华大蟾蜍采自本校校园内。

### (二) SCE 标本的制备

参照 Kanda 所报道的方法,配制 30 毫克 IdUR + 100 毫克活性炭/毫升蒸馏水,腹腔注射,剂量 1.5 毫克/克体重,注射后经 48 小时处死动物取材,取材前 4 小时腹腔注射秋水仙素,剂量 6 微克/克体重。取四肢长骨,用灌注法冲

洗出骨髓细胞,0.075mol/L KCl 溶液在室温下处理 30 分钟,此后固定、滴片等程序按常规气干法操作。制成染色体标本在 37°C 下老化 2 天,然后用简化的 UV-Giemsa 法进行姐妹染色单体分化染色。

选择染色体分散良好、SCE 清晰的中期细胞在油镜下逐个计算 SCE 数,每个动物各计算 20—30 个中期细胞。染色体端部及着丝点处交换计 1 次,染色体中部交换计 2 次。此外,本实验还对四种无尾两栖类动物各选 20 个细胞(雌雄各半)拍照、放大,根据染色体相对长度、臂比指数进行配对编号,并结合镜下所见确定 SCE 在不同染色体上的数值。

## 结果与讨论

### (一) 四种无尾两栖类的 SCE 值

本实验对四种无尾两栖类活体内骨髓细胞的 SCE 值进行了测定,结果列入表 1。从表 1 可见,泽蛙、虎纹蛙、黑斑蛙和中华大蟾蜍的 SCE 值,雄性动物分别为  $7.81 \pm 0.42$ 、 $4.77 \pm 0.28$ 、 $8.79 \pm 0.34$  和  $7.42 \pm 0.48$ ; 雌性动物分别为  $8.02 \pm 0.45$ 、 $4.54 \pm 0.32$ 、 $8.38 \pm 0.42$  和  $7.90 \pm 0.46$ 。雌雄个体间无显著差异 ( $P > 0.05$ )。

Yu Shijia et al.: Analysis of SCE in Four Species of Anura.

本文于 1990 年 8 月 20 日收到。

表1 四种无尾两栖类的 SCE 值

动物名称	性别	动物数	观察细胞数	染色体总数	SCE总数	SCE 值		
						SCE/细胞	SCE/染色体	范围
泽蛙	♂	3	90	2320	703	7.81±0.42	0.30±0.03	3—14
	♀	3	90	2317	722	8.02±0.45	0.31±0.03	3—20
虎纹蛙	♂	2	60	1560	286	4.77±0.28	0.18±0.02	1—10
	♀	1	28	728	127	4.54±0.32	0.17±0.02	1—12
黑斑蛙	♂	3	90	2340	791	8.79±0.34	0.34±0.03	3—14
	♀	2	60	1560	503	8.38±0.42	0.32±0.03	5—25
中华大蟾蜍	♂	2	60	1320	445	7.42±0.48	0.34±0.03	5—21
	♀	2	60	1320	474	7.90±0.46	0.36±0.03	4—15

我国学者王瑞顺等应用中华大蟾蜍血液淋巴细胞培养法测得 SCE 值为  $9.68 \pm 1.60$  和  $10.00 \pm 1.95^{[6]}$ ，比我们的结果 ( $7.42 \pm 0.48$  和  $7.90 \pm 0.46$ ) 高；而温昌祥等测得中华大蟾蜍的 SCE 值为  $7.83 \pm 0.49$ 、 $8.6 \pm 0.49$  和  $8.3 \pm 0.55^{[7]}$ ，与我们的结果较接近。对同一种动物，各实验室所测得的 SCE 正常值彼此间有一些差异是比较常见的，其原因可能与获取中期分裂相的方法，IdUR (或 BrdU) 的浓度、计算 SCE 的标准以及动物个体间的差异等因素有关。温昌祥等根据所获得结果，认为中华大蟾蜍的 SCE 频率本身就较高。我们的实验结果非但支持了他们的论点，另外，从我们所测得的结果，除虎纹蛙外，泽蛙和黑斑蛙的 SCE 值也较高 (分别为  $7.81 \pm 0.42$ 、 $8.02 \pm 0.45$  和  $8.79 \pm 0.34$ 、 $8.38 \pm 0.42$ )，这似乎还揭示了多数无尾两栖类的 SCE 值都具有较高的特点。

前人的工作业已证实，蛙属染色体数目  $2n = 26$ ，且相对长度也极接近，此外在染色体类型、次缢痕的出现等在某些种群内都有一定的规律<sup>[1-3,8]</sup>。虽然 SCE 的机理及意义至今尚无定论，但是根据文献资料，各种动物的 SCE 值还是比较恒定的，我们在另一工作中还观察到 SCE 值不受胚胎发育的影响。SCE 做为一种可以观察到的结构，是否与其他一些染色体形态结构类似也有某些种属间的关系？根据我们的实验结果，同系蛙属的三种蛙中，虎纹蛙的

SCE 值明显地低于另二种蛙 ( $4.77 \pm 0.28$ 、 $4.54 \pm 0.32$  与  $7.81 \pm 0.42$ 、 $8.02 \pm 0.45$ ， $8.79 \pm 0.34$ 、 $8.38 \pm 0.42$ )， $P < 0.01$ ，差异非常显著；相反地，蟾蜍属中的中华大蟾蜍的 SCE 值却为  $7.42 \pm 0.48$ 、 $7.90 \pm 0.46$ ，与蛙属中的泽蛙、黑斑蛙的 SCE 值很接近， $P > 0.05$ ，相互间无明显差异。因此，我们的工作表明，无尾两栖类的 SCE 与种属间似乎不存在内在联系。

## (二) SCE 在染色体上的分布

SCE 在染色体上的分布规律如何，目前尚无文献可以借鉴，为了探明这个问题，本实验还对每种动物各观察了 20 个细胞 (雌雄各半)，计算出每对染色体上的 SCE 数及所占的百分率，结果列入表 2 和图 1。

前人的工作也已阐明，蛙属共有 13 对染色体，其中 1—5 对属大型染色体，而第 1 对又明显地大于其余 4 对，属特大染色体；6—13 对属小型染色体。中华大蟾蜍则有 11 对染色体，1—6 对属大型，7—11 对属小型，第 1 对也系特大型。从表 2 和图 1 可见，四种无尾两栖类中，大型染色体 SCE 的出现率在 6.8—21.8%，平均为 13.8%；而小型染色体中，只有泽蛙第 7 对染色体的 SCE 出现率达到 8.9%，其余的绝大多数都在 5% 以下，平均为 4.1%，大型比小型高 3 倍多。图 1 也明显地显示出，在大型染色体区域内，虽然虎纹蛙和中华大蟾蜍的曲线有较大的起伏，但总的还是保持在较高的水平上，

表2 四种无尾两栖类的 SCE 在染色体上的分布与百分率

动物名称	观察细胞数	SCE 总数	SCE 分布												
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
泽蛙	20	192	30	28	30	26	16	10	17	8	8	5	5	6	3
			15.6%	14.5%	15.6%	13.5%	8.3%	5.2%	8.9%	4.1%	4.1%	2.6%	2.6%	3.1%	1.6%
虎纹蛙	20	106	20	14	8	8	20	4	6	6	4	4	6	2	4
			18.9%	13.2%	7.5%	7.5%	18.9%	3.8%	5.7%	5.7%	3.8%	3.8%	5.7%	1.9%	3.8%
黑斑蛙	20	206	45	29	22	29	14	8	9	11	6	10	3	12	8
			21.8%	14.1%	10.7%	14.2%	6.8%	3.9%	4.4%	5.3%	2.9%	4.9%	1.5%	5.8%	3.9%
中华大蟾蜍	20	153	21	31	23	13	18	17	4	10	4	7	5		
			13.7%	20.3%	15.0%	8.5%	11.8%	11.1%	2.6%	6.5%	2.6%	4.6%	3.3%		

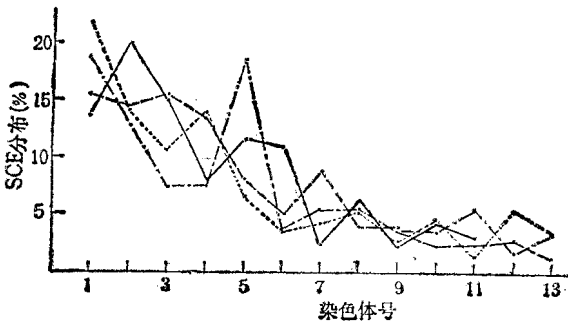


图1 四种无尾两栖类 SCE 在染色体上的分布图

-----表示泽蛙 SCE 分布  
 -·-·-表示虎纹蛙 SCE 分布  
 .....表示黑斑蛙 SCE 分布  
 ——表示中华大蟾蜍 SCE 分布

同时总的趋势都是随着染色体号数的增大(即染色体长度的减小)而逐渐下降的,一进入小型染色体区域,曲线下跌更加明显,此后各条曲线虽有些波动,但是幅度较小,水平也是低的。另外,第1对染色体系特大型,它的 SCE 出现率为 13.7—21.8%,平均为 17.5%。从图1看,除中华大蟾蜍外,其余三种动物1号都是曲线的

顶峰,其中尤以黑斑蛙更为明显。从染色体组型分析中,我们知道,除中华大蟾蜍的大型染色体比小型的多1对外,而蛙属动物均是小型多于大型。综上所述,我们认为,无尾两栖类骨髓细胞的 SCE 分布与染色体对数的多少似乎无关,而与染色体的长度却有一定的关系。致于中华大蟾蜍的峰值不在1号而在2号,虎纹蛙出现了1、5号二个等水平的双峰曲线等现象,可能与我们所观察的细胞数还不多等因素有关。此外, SCE 在染色体上分布的差异,其实质涉及到 SCE 的发生机制,问题的最后阐明,尚待进一步探讨。

### 参 考 文 献

- [1] 吴政安等: 1980. 动物学报, 26(1): 18—23.
- [2] 李树深等: 1981. 动物学研究, 2(1): 17—25.
- [3] 温昌祥等: 1982. 蚌埠医学院学报, 7(1): 22—24.
- [4] 陈文元等: 1983. 动物学研究, 4(1): 83—88.
- [5] 章菊明等: 1984. 动物学研究, 5(3): 33—38.
- [6] 王端顺等: 1986. 动物学报, 32(1): 1—7.
- [7] 温昌祥等: 1983. 遗传学报, 10(4): 291—297.
- [8] King, M.: 1980. *Chromosoma*, 80: 191—217.