

中国对虾染色体的研究*

相建海

(中国科学院海洋研究所, 青岛)

提要 本文对中国对虾 (*Penaeus orientalis*) 的染色体进行了研究, 材料采用精巢、触角腺、卵、无节幼体、中肠、肝胰脏、心脏和鳃, 以气干法制片、吉姆萨染色后进行显微镜检查和摄影。结果表明, 除心脏外的其他组织均曾观察到染色体中期相, 而以精巢和触角腺为佳。中国对虾的染色体数是 $n = 44$, $2n = 88$ 。由于染色体数目多且小, 核型分析比较困难, 本文进行了试分析。文章还与对虾属其他已作过染色体研究的种进行了比较, 并对它们之间分类学上的关系开展了讨论。本文对对虾遗传育种和进化分类研究具有一定意义。

中国对虾 (*Penaeus orientalis* Kishinouye) 是我国特有的水产资源。尽管中国对虾的形态、发育、习性、生理、生态等方面的研究报道较多, 其养殖在我国也已形成颇具规模的产业(1987年产量超过14万吨), 但至今尚未见有关其细胞遗传学方面的研究结果。事实上, 与其他各类动物相比, 大型甲壳类染色体的报道迄今很少, 在我国也仅见堵南山等^[2]的中华绒螯蟹染色体的研究论文。世界上具有较重要经济价值的对虾类不下60种, 自Niiyama 1948年采用切片法研究了日本对虾 (*P. japonicus*) 染色体数目为 $2n = 92$ 以来, 直到1976年, 美国的 Milligan^[7] 采用气干法以幼对虾的肝胰脏为材料研究了大西洋褐对虾 (*P. aztecus*)、大西洋白对虾 (*P. setiferus*) 和桃红对虾 (*P. duorarum*) 的染色体, 其数目分别是 $2n = 88$, $2n = 90$ 和 $2n = 88$ 。此后十多年来, 仅见印度的 Goswami^[6] 用压片法证实了大西洋褐对虾 (*P. aztecus*) 染色体数为 $2n = 88$; 日本的室伏诚^[4] 简要综述了世界虾类染色体研究的概况, 他本人在大型甲壳类染色体研究中进行了一年多的实践, 曾“在观察方法上进行了各种各样的尝试, 都没有得到很好的结果, 逐渐地、深深地感到该问题的难度。”作者于1986年开展了中国对虾染色体的研究, 本文为研究结果的初步报道。

一、材料与方 法

研究用对虾主要取自中国科学院海洋研究所底栖生物组养殖网箱。试验过程中, 以卵、无节幼体、幼虾到成虾的各种组织, 包括触角腺、精巢、中肠、鳃、心和肝胰脏作为材料, 都进行过观察和研究。

试验采用的基本方法是: 卵和无节幼体采用秋水仙素溶液浸泡处理。幼虾及成虾均

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第1483号。

本文承蒙刘瑞玉、吴尚黹两位先生仔细审阅并提出宝贵意见; 李光友、曹登官、张迺禹同志先后提供部分对虾材料; 李锦和同志在照像上给予协助; 周令华、李笑虹同志参加了部分工作, 特此志谢。

本课题为中国科学院青年基金项目。

收稿日期: 1988年1月6日。

从腹部一、二节间侧甲缝处,用微型注射器分别从两侧慢慢注入 2mg/ml 浓度的秋水仙素水溶液(按体重 1g: 秋水仙素 1.5 μ g 的比例),为减轻对对虾的伤害,注射时,虾体下面垫一层浸透海水的脱脂纱布。注射后的虾放在通气良好的缸中暂养 4—6 小时,然后取出解剖,并将所需组织剪碎成 2—3mm 小块置于小方杯中,慢慢加入 0.7% KCl 溶液,在室温下低渗 10—30 分钟,随时在解剖镜下观察组织的膨润状况。低渗后用吸管轻轻移出 KCl 溶液,随即加入新鲜配制的 Carnoy's 液(甲醇:冰醋酸=3:1)固定 15 分钟以上,然后再换用 1:1 的新鲜 Carnoy's 液进行第二次固定。

取出固定好的组织片一小块,放在事先已用洗液、肥皂水、清水多次刷洗并干燥好的载玻片中央,迅速用钟表镊子夹碎,旋即滴上 1—2 滴 3:1 的固定液,用镊子夹住玻片在酒精火焰上小心移过,使片上固定液着火燃烧,组织片中游离下的细胞随固定液向四周扩散并干燥。用 2% 左右的 Giemsa 染色液(磷酸缓冲液, pH = 6.8),染色 15—20 分钟后,用蒸馏水洗掉多余染液,自然干燥或 60 $^{\circ}$ C 以下温度烘干后,用中性树脂封片镜检。

选择染色体分散良好的细胞进行染色体计数(一般放大 800 倍左右即可,必要时可用油镜),计其众数值,其中较好的可及时显微摄影。为加强反差,采用了绿色滤光片、硬性 4 号放大相纸。进行组型分析时,将较好的底片用幻灯机投影到白纸上,用笔勾画出各染色体轮廓,描出形态进行分析。

二、结 果

从处理得当的精巢组织中获得了大量染色体分散良好的细胞(图版 I:1)。处于减数分裂中期 I 的初级精母细胞,最为多见(图版 I:2a, 2b); 处于有丝分裂中期的精原细胞较少(图版 I: 3a, 3b)。镜检计数 125 个初级精母细胞的双价体,众数为 44, 占总数的 76%(表 1); 镜检计数处于有丝分裂中期的精原细胞 24 个,染色体众数为 88, 占总数的

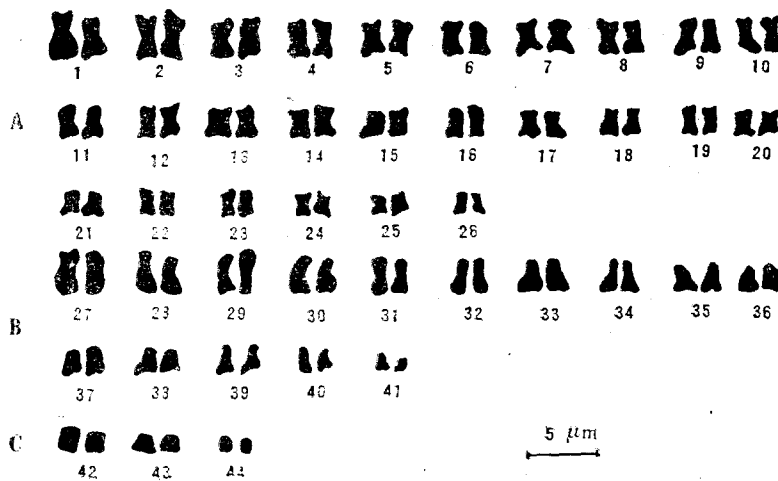


图 1 中国对虾触角腺细胞核型初步分组

Fig. 1 Preliminary grouping of karyotype from cell of antennal gland in *Penaeus orientalis*

54.2% (表 2); 由此可确定中国对虾染色体数是 $2n = 88$, $n = 44$ 。

在触角腺组织处理中, 获得了少数较好的体细胞有丝分裂中期染色体图像 (图版 1:4)。相片底片用幻灯机投影进行组型分析。由于染色体很小 (约 $0.4-4\mu\text{m}$), 着丝点位置较难确定, 故没有按常用的 A. K. Leven 分类标准进行, 只是按形态特点暂分为 A, B, C 三类, 根据尺寸大小的顺序排列成图 1。A 型基本形状为“X”型, B 型大多数为倒“Y”型 (第 27 对为明显的亚中部着丝粒型), C 型为点状染色体。

表 1 中国对虾初级精母细胞双价体数出现频率

Tab. 1 Frequency of bivalent number of primary spermatocyte in *P. orientalis*

双价体数	36	39	40	41	42	43	44	45	46	47	总计
频率(次)	1	1	2	2	5	12	95	3	3	1	125
百分比(%)	0.8	0.8	1.6	1.6	4.0	9.6	76.0	2.4	2.4	0.8	100

表 2 中国对虾精原细胞分裂中期染色体数的出现频率

Tab. 2 Frequency of chromosomal number of spermatogonium in *P. orientalis*

染色体数	78	83	84	85	86	87	88	89	总 数
频率(次)	1	1	1	2	3	2	13	1	24
百分比(%)	4.2	4.2	4.2	8.3	12.5	8.3	54.2	4.2	100

三、讨 论

1. 甲壳类染色体制片采用的组织较多, 如精巢^[2,3,5,8-10]、触角腺^[3,4]、肝胰脏^[7]、幼虾^[6]。作者尝试了用卵、无节幼体、心、鳃、中肠、肝胰脏、精巢等不同组织进行染色体制片, 除心脏外, 都获得了细胞分裂中的染色体图像 (图版 1:5,6)。但总的来看, 精巢^[2]和触角腺较易获得分散良好的中期分裂相染色体。

2. 迄今已有 200 多种甲壳类染色体被研究过, 但大型甲壳类从 1885 年开始研究至今约 100 多年来, 仅有 54 种被研究。其中虾类 7 科 22 种有过报道。室伏诚^[4]认为, 所报道的虾类 7 科 22 种中, 可信资料为: 染色体最少的为北方长额虾 (*Pandalus borealis*), 其染色体数 $2n = 68$; 染色体最多的是蟹 (河虾) 科的亚太蟹虾 (*Pacifastacus trowbridgii*), 其染色体数 $2n = 376$ 。这两个种前者属真虾类 Caridea, 后者属蟹虾类 Astacidea, 均与对虾类的亲缘关系较远。

在已进行染色体研究的五种对虾中, 白对虾 (*P. setiferus*) 和日本对虾 (*P. japonicus*) 是最特殊的两个种。白对虾仅分布于美洲西岸, 其雌性交接器为开放型, 无纳精囊; 雄性交接器也不呈一般的倒钟形: 属于美对虾亚属 *Farfantepenaeus*。日本对虾雌交接器具袋状纳精囊, “前端”横向开口, 属于囊对虾亚属 *Marsupenaeus*; 它们的染色体数分别为 90 个和 92 个, 不仅彼此不同, 而且与褐对虾 (*P. aztecus*) 和桃红对虾 (*P. duorarum*) 也不相同。后两种, 属滨对虾亚属 *Litopenaeus*, 且分布仅限于美洲大陆的东两岸, 其染色体数均为 88 个。这三个亚属的种染色体数各不相同是可以理解的, 但作者发现明对虾亚属 *Fennerropenaeus* 中分布仅局限于中国近海的中国对虾 (*P. orientalis = P. chinensis*)

其染色体数也为 88 个,与美洲沿岸的滨对虾亚属的成员染色体数相同,却是很值得作进一步研究的。此外,还应就对虾属中另外两个亚属,即对虾亚属 *Penaeus* 和海对虾亚属 *Melicertus* 的所有种以及明对虾亚属其他种的染色体,联系对虾属各亚属的亲缘关系作全面比较研究,这不仅是养殖新品种培育研究的需要,也有利于对虾类亲缘关系的进一步阐明。

3. 不同组织、不同处理方法所获得的染色体形态不尽一致。由于对虾染色体数目多、个体小 (0.4—4 μm 左右),组型及分带均有较大困难,Goswami^[6]观察到 (*P. aztecus*) 有两对具髓体的染色体,作者在中国对虾中未曾观察到。

4. 性异形染色体在哺乳动物、两栖类、昆虫等动物中是不难见到的。Niiyama^[9]也在铠甲虾科的颈刺铠甲 (*Cervimunida princeps*) 观察到 XX-Y 性染色体,但在对虾属已研究过的种中,尚未发现性染色体,是否因与铠甲虾属歪尾类 *Anomura* 的亲缘关系较远有关,还是其他原因,有待进一步探讨。

5. 从中国对虾的无节幼体组织中,作者观察到异常的大型染色体(图版 I:6)。这与双翅目昆虫幼虫的唾腺染色体有某些相似之处,但在虾类中尚未见过报道,值得深入研究。

参 考 文 献

- [1] 陈 依、崔维喜,1986. 中国对虾雌性生殖系统的结构与发育。动物学报 32(3): 255—258。
- [2] 堵南山、赖 伟、薛鲁征,1986. 中华绒螯蟹染色体的研究。动物学研究 7(3): 293—296。
- [3] 长谷川正美,1981. 甲壳类的染色体标本简易作製法。甲壳类的研究 11: 110—113。
- [4] 室伏誠,1987. エビ類の染色体数に見られる倍数性進化。海洋と生物 9(1): 10—15。
- [5] Farmer, A. S., 1974. A new technique applied to the chromosomes of *Nephrops norvegicus* (L.). *Crustaceana* 27(1): 17—21.
- [6] Goswami, U., 1985. Chromosomal studies in *Penaeus aztecus* Ives prawn larvae. *Mahasagar-Bull. Nation. Inst. Ocean.* 18(1): 75—77.
- [7] Milligan, D. J., 1976. A method for obtaining metaphase chromosome spreads from marine shrimp with notes on the karyotypes of *Penaeus aztecus*, *P. setiferus* and *P. duorarum*. Proc. VII. World Maricul. Soci. San Diego, Calif. pp. 327—332.
- [8] Niiyama, H., 1959. A chromosome study in five species of isopod Crustacea. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido.* X(2): 97—105.
- [9] Niiyama, H., 1959. A XX-Y sex-mechanism in the male of a Decapod Crustacea, *Cervimunida princeps* Benedict. *Bull. Fac. Fish. Hokkaido.* X(2): 106—112.
- [10] Saleman, H., 1979. The chromosomes of *Asellus aquaticus* (L.) ——a technique for Isopod Karyology. *Crustaceana* 36(3): 316—318.

THE CHROMOSOME STUDY ON CHINESE SHRIMP, *PENAEUS ORIENTALIS* KISHINOUE*

Xiang Jianhai

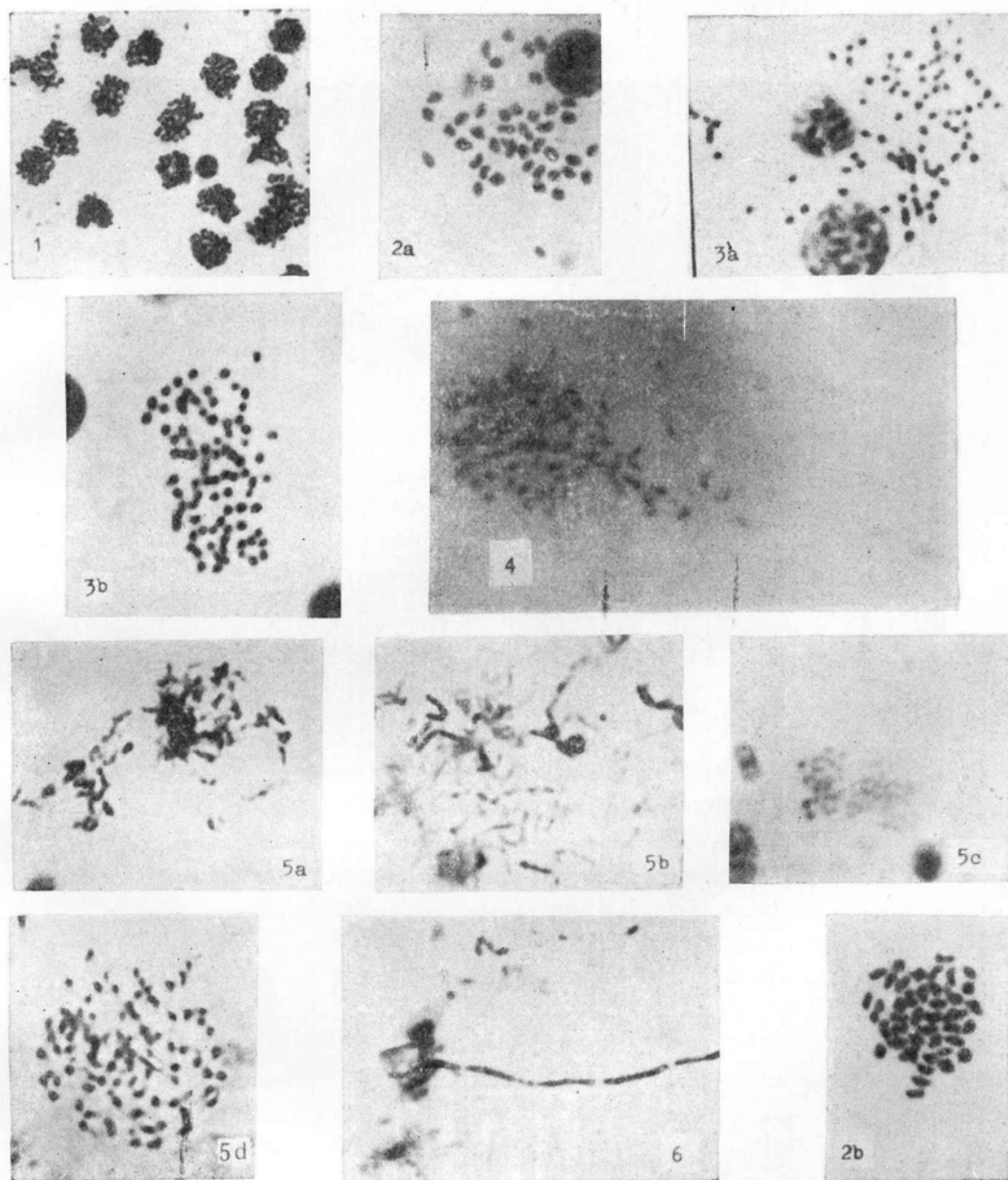
(Institute of Oceanology, Academia Sinica, Qingdao)

ABSTRACT

The chromosome of the Chinese Shrimp, *Penaeus orientalis* Kishinouye, was studied in preparations of testis, antennal gland, egg, nauplius, mid-gut, hepatopancreas, heart and branchia, obtained by air-dry methods. The procedure of preparation was as follows: 1. The shrimp were injected intramuscularly with colchicine solution at dosage of 1.5 μg per 1 g body weight; 2. 4—6 hours later the specimens were scarified, the needed tissues were removed and cut into about 3 mm pieces; 3. The tissue were placed in the 0.7% KCl solution for 10—30 minute hypotonic processing; 4. Then fixations were made in at least two changes of Carnoy's fluid for 15 minutes each time; 5. Some pieces were picked onto cleared glass slide, adding a Carnoy's fluid drop, then dried quickly by flaming; 6. Stained with 2% Giemsa (pH=6.8) for 15—20 minutes.

Excepting heart, the other tissues were found to be probably materials for chromosome studies, however the testis and antennal gland are much better. The chromosome numbers for *P. orientalis* are $2n=88$, $n=44$. Because the chromosome of Chinese Shrimp are numerous and very small in size, the karyotypical study was difficult. A preliminary grouping was tried. The chromosome numbers of some studied *Penaeus* shrimp and their systematic relationships were discussed as well.

* Contribution No. 1483 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.



图版 I 中国对虾染色体的显微图相

Plate I The chromosomes micrograph of *Penaeus orientalis*

1.大量初级精母细胞分裂中期相, $\times 320$; 2(a,b). 初级精母细胞分裂中期相, $n = 44, \times 800$;
3(a,b). 精原细胞分裂中期相, $2n = 88, \times 800$; 4.触角腺细胞分裂中期相; 5.不同组织的
细胞分裂中期相: a. 卵, b. 无节幼体, c. 中肠, d. 鳃; 6. 无节幼体中非正常的大染色体。