

· 研究简报 ·

鳢科三种鱼核仁组织者的研究

吴伟雄 庄豪

(中山大学生物学系)

陈宏溪

(中国科学院水生生物研究所)

关键词 鳢科, 核仁组织者

1. 材料和方法

参照Goodpasture^[3]的Ag-As法和Bloom^[1], Lau等^[2]的Ag法, 我们稍加改良应用于研究鱼类的NORs, 可获得较好的银染效果。具体方法如下:

①Ag-As法: 将干燥后15天左右的片子加4滴AgNO₃溶液(20—30%), 盖上长方形的玻片, 放在底部铺有润湿滤纸的培养皿中, 放于60℃恒温箱中15小时后用自来水冲洗, 干燥后加4滴As液(2gAgNO₃+5ml蒸馏水+5ml浓NH₄OH)和4滴10%福马林液(10ml福马林+2g无水醋酸钠+10ml蒸馏水, 甲酸调pH=6.8), 盖上长方形玻片立即在显微镜下观察。待染色体染成淡黄色, 着丝点呈棕色, NORs呈黑色, 用水冲洗, 干燥后进行观察分析, 并选取分散度好, 染色适中, 无银粒污染的分裂相拍照, 放大分析(AgNO₃液和As液均用棕色瓶盛装并存放冰箱中7天内可使用)。

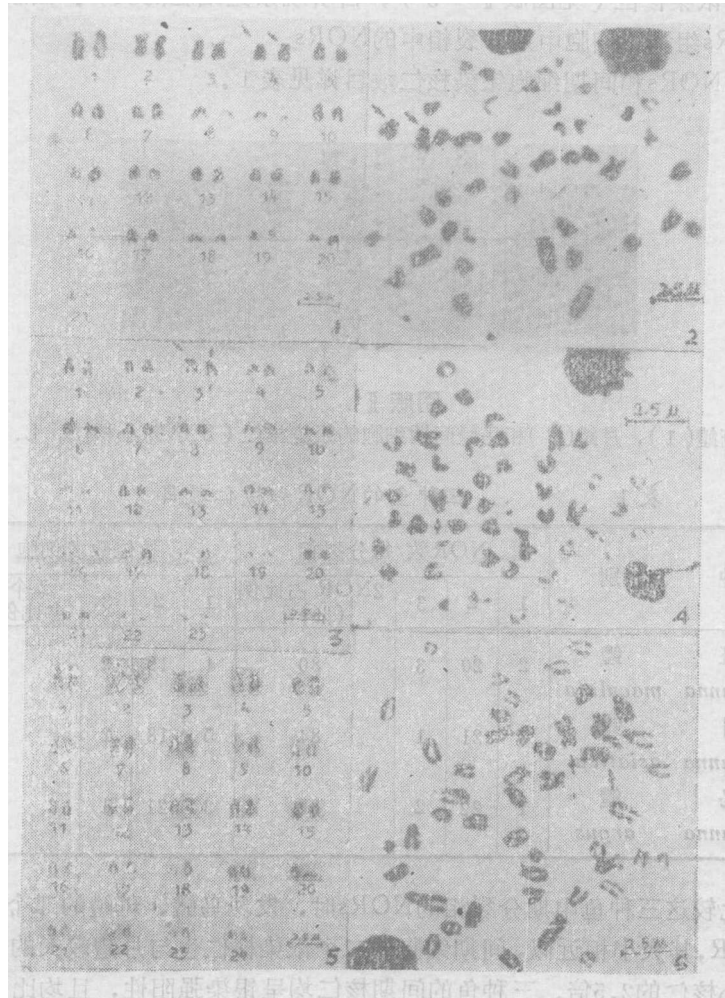
②As法: 用10—20%AgNO₃液, 染色前用三蒸馏水浸洗片子, 在37℃中镀银二天后冲洗干净, 1/20Giemsa染色1—2分钟。片子干燥后的观察分析与①法相同。

为了缓和反应速度及减少银粒的污染干扰, 我们相应降低了AgNO₃液和As液的浓度, 由50%AgNO₃降为20—30%, 含40%AgNO₃的As液改为含10—20%的AgNO₃, 可获得更为清晰、干净的银染效果, 缓和了反应速度, 以便于在显微镜下观察、掌握染色的程度。另外, 制备15天以上的片子似乎比新鲜片子效果更好些。

2. 结果

斑鳢 在25个中期细胞分裂相中, 20个分裂相具有二个大小相同的银染阳性核仁组织者, 占80%, 且恒定地分布在C组的亚端部着丝点染色体的短臂末端部位上。间期细胞同样呈现二个大小相似的银染强阳性核仁(见图版I—1), 占统计过细胞的76%。图版I—1, 2分别为该种鱼的NORs组型和中期分裂相中的NORs。

本文1984年3月收到



图版 I

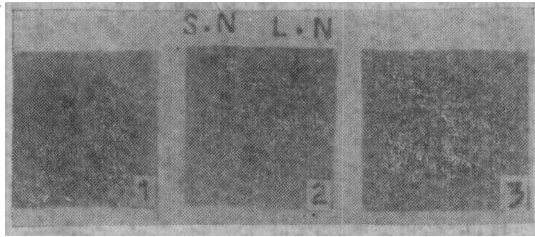
1. 斑鱧(*Channa maculatus*)的NORs组型。(箭头示NOR)
2. 斑鱧(*Channa maculatus*)细胞中期分裂相的NORs。(箭头示NOR)
3. 月鱧(*Channa asiatica*)的NORs组型。
4. 月鱧(*Channa asiatica*)细胞中期分裂相的NORs。
5. 乌鱧(*Channa argus*)的NORs组型。
6. 乌鱧(*Channa argus*)细胞中期分裂相的NORs。(箭头示NOR)

月鱧 在25个中期细胞分裂相中,有21个分裂相呈二个大小不等的NORs,占84%,分布在C组亚端部着丝点染色体3的短臂末端部位上。间期细胞也出现二个大小相异的银染强阳性核仁(见图版I—2),占所观察过细胞的72%,大的核仁为小的2.5倍。图版I—3,4分别是月鱧的NORs组型和中期分裂相中的NORs。

乌鱧 在25个细胞中期分裂相中,有22个分裂相出现二个大小相等的核仁组织者,占88%,都分布在C组亚端部着丝点染色体2的短臂末端部位上。间期细胞同样看到二

个大小相等的浓染核仁(见图版Ⅰ—3),占所观察过细胞的84%。图版Ⅰ—5,6分别是乌鳢的NORs组型和细胞中期分裂相中的NORs。

三种鱼的NORs和间期细胞银染核仁数目详见表1。



图版Ⅰ

斑鳢(1)、月鳢(2)和乌鳢间期细胞的银染核仁(S.N示小核仁,L.N示大核仁)

表1 三种鱼的NOR和核仁数目

种 别	NOR数/每分裂相				核仁数/细胞			
	1	2	3	2NOR占比例(%)	1	2	3	2个核仁占比例(%)
斑 鳢 <i>Channa maculata</i>	2	20	3	80	4	19	2	76
月 鳢 <i>Channa asiatica</i>	3	21	1	84	5	18	2	72
乌 鳢 <i>Channa argus</i>	1	22	2	88	3	21	1	84

在分析比较这三种鱼中期分裂相的NORs时,发现乌鳢、斑鳢的二个NOR与月鳢较大的那个NOR,其大小相近似,间期细胞的二个浓染核仁也与月鳢较大的核仁大小相近,约为月鳢较小核仁的2.5倍。三种鱼的间期核仁均呈银染强阳性,且均比中期染色体上的NORs银染点大得多。三种鱼的NORs都分布在C组的一对亚端部着丝点染色体的短臂末端部位,这三对染色体的相对长度和臂比也较近似。几种鱼均未见雌雄个体间的NORs在数目和分布上的差异。

3. 讨 论

在已进行过NORs研究的二十多种鱼类中,大多数具有二个NORs,且大都分布在染色体的末端部位^[2]。

我们在考察斑鳢、月鳢和乌鳢的NORs时,发现三种鱼的中期分裂相大部分具有二个NORs(见表1)。除月鳢的一个NOR较小外,其形态大小基本相似,且都较恒定地分布在一对亚端部着丝点染色体的短臂末端,即分别在斑鳢的4号,月鳢的3号和乌鳢的2号染色体上,这三对染色体上的NORs标志,为核型同源性提供了证据。在分析它们的核型进化时,涉及到一些染色体发生了罗伯逊融合引起了基因重排,但从它们的NORs数目分布和同源性看,暗示着这三对染色体在进化中是比较保守的。同时我们发

现三种鱼的间期细胞大多呈二个银染的核仁,与中期分裂相出现二个NORs相对应。

值得注意的是三种鱼间期细胞的二个核仁银染着色特别深,而且比在染色体上的NORs大得多。因此推测鱼类细胞分裂的不同时期,NORs的活性也会发生周期性的变化,间期的核仁银染区大且着色深是由于细胞分裂前rDNA活性特别强的缘故,到了中期时,rDNA基本停止活动,这时的银染阳性物质只是残留在NORs周围的一些酸性蛋白而已。根据这一现象可以证明银染能力(着色深浅,区域大小)与NORs的转录活性是正相关的,同时说明银染物质(酸性蛋白)与rDNA的活性同时出现。Schwarzacher等^[9]也曾提出过类似的想法。

在考察月鱧的NORs时,发现中期分裂相存在着二个大小不同的核仁组织者银染点。NORs异型性的出现可能是①在物种进化中发生了遗传修饰。较大的NOR起源于衔接重复、不等交换或rDNA的偶然加倍,较小的NOR没有发生改变,间期细胞出现二个大小不同的银染核仁。如鱼类的*Fundulus diaphanus*,*Eigenmania* sp出现的一个NOR约为另一个的6倍,差不多覆盖着全臂,而另一正常的NOR则是近端的。间期细胞呈二个大小不同的银染核仁,表明rDNA转录活性的明显增加^[7]。② rDNA转录活性在细胞分裂不同时期出现的先后不同,这种情况下出现的NORs异型性,间期细胞的银染核仁并无大小的差异。鱼类中的*Oryzias Latipes*和*U. limi*^[8]等都曾被观察到这种现象。③物种演化过程中,较小的NOR起因于该区域rDNA转录活性的部分失活,较大的NOR却无甚变化,与相近物种的正常NORs大小相似。间期细胞同样呈现二个大小不同的相应银染核仁。在比较人和灵长类系统发育中的NORs时,发现大猩猩的7对染色体上尽管都存在着18S+28S rDNA,其中5对染色体NORs区域上的rDNA完全失去了转录活性,不呈现NORs银染点,而只具活性的22、23二对染色体上呈NORs银染阳性,意味着发育进程中rDNA的大量失活^[4,6]。把月鱧的二个相异NORs与斑鱧和乌鱧比较,发现较大的那个NOR与它们的二个NORs大小相似,间期细胞中那个较大核仁也与它们的二个核仁相近,因此推测月鱧中那个较小NOR区域上的rDNA在进化过程中的部分失活。由此看来,乌鱧或其共同原始种向月鱧演化时,伴随着rDNA活性拷贝的减少,在向斑鱧演化时,rDNA的活性尚未见明显改变。导致rDNA失活的机理尚不清楚。

迄今为止,已研究过NORs的20多种鱼类(包括本文3种)与哺乳类、灵长类和人相比较,NORs都趋向于分布在染色体短臂的末端部位,而鱼类的NORs数目相对少而较稳定,一般来讲,哺乳类、灵长类和人的NORs数目比鱼类多,且目、科、属间的变异较大。看来有从低等生物向高等生物逐渐增加的趋势,由低等脊椎动物(鱼)向哺乳类、灵长类直到人这一漫长的进化历程中,rDNA活性的增加对生物进化可能起着一定的作用。

主要参考文献

- [1] Bloom, S. E., and C. Goodpasture, *Hum. Genet.*, 34 (1976), 199—206.
- [2] Foresti, F., Almeida Toledo, L. F. and Toledo, S. A. F., *Cytogenet. Cell Genet.*, 31 (1981), 137—144.
- [3] Goodpasture, C., Bloom, S. E., *Chromosoma (Berl)*, 53 (1975), 37—50.
- [4] Henderson, A. S. et al., *Proc. Nat. Acad. Sci. (U. S. A.)*, 69 (1972), 3394—3398.
- [5] Henderson, A. S. et al., *Chromosoma (Berl)*, 59 (1976), 147—155.
- [6] Hiroshi Uwa and Yoshio Ojima, *Proc. Japan. Acad.*, 57 (1981), ser. B, 39—43.
- [7] Howell, W. M. and Black, D. A., *Copeia*, 3 (1979), 544—546.
- [8] Lau, Y—F., R. N. Pfeiffer, F. A. Arrighi and T. C. Hsu, *Amer. J. Hum. Genet.*, 30 (1978), 76—79.
- [9] Schwarzscher H. G. et al., *Cytogenet. Cell Genet.*, 20 (1978), 24—39.

Studies on Nucleolus Organizer Regions in Three Species of *Channidae*

Wu Weixiong Chen Hongxi Zhuang Hao

Abstract

An observation of the nucleolar organizer regions (NORs) by the modified silver staining methods in *Channa maculatus*, *C. asiatica* and *C. argus* was carried out. They all present only one pair of homologs bearing NORs. The silver-stained NORs were presented as two small dark dots located on the short arms of the subtelocentric chromosome pair (group C). We therefore suggest that chromosomal rearrangements in this pair of homologs have not occurred during the process of evolution and in fishes there is generally one or at most, a few pairs of homologs involved in nucleolar organization.

An excellent correlation can be found between the number of NORs in the metaphase and the maximum number of nucleoli found in the interphase nucleoli, but the nucleoli are larger than the NORs, this difference was due to the genetic activity of rDNA. Differences in the size of NORs in the homologs and nucleoli in the interphase in *Channa asiatica* showed a change in transcriptive activity of rDNA during the evolution.

Keywords: Channidae, Nucleolus Organizer regions