

# 钉螺染色体制备方法的改进和核型分析

杨国静 周晓农 孙乐平 洪青标 吴 锋

**【摘要】 目的** 将以往钉螺染色体制备方法作进一步改进,初步分析江苏南京地区钉螺核型。**方法** 将雄性钉螺的睾丸通过秋水仙素作用、低渗、固定、滴片和染色后,镜下阅片。**结果** 江苏省江滩地区雄性钉螺的染色体数  $2n=34$ ,核型公式为  $16m+14Sm+2t$  + 性染色体。**结论** 改进的染色体制备方法可行性强,染色体清晰,可读性好,便于进行核型分析。

**【关键词】** 钉螺 染色体 核型  
**【中图分类号】** R383.2<sup>+</sup>4 **【文献标识码】** A

IMPROVEMENT OF SNAIL CHROMOSOME PREPARATION AND THE INITIAL ANALYSIS OF KARYOTYPE Yang Guojing, Zhou Xiaonong, Sun Lepin, Hong Qinbiao, Wu Feng  
Jiangsu Institute of Schistosomiasis, Wuxi 214064

**【ABSTRACT】 Objectives** To improve the snail chromosome preparation method and to analyze the karyotype of snail in Nanjing, Jiangsu. **Methods** After exposed to colchicine, the gonadial cells of male snail was performed with following procedures: hypoton, fixative, dropping slide and staining, and finally the slides were read under microscope. **Results** The chromosome number of male snail in Jiangsu is 34, and the karyotype formula is  $16m+14Sm+2t$  + sexual chromosome. **Conclusion** The improved method of chromosome preparation is feasible with the chromosome clear enough for karyotype analysis.

**【Key words】** Snail, Chromosome, Karyotype

日本血吸虫病在我国流行甚广,钉螺作为日本血吸虫的中间宿主在血吸虫病流行中起着极其重要的作用。我国钉螺按其孳生地可分为三大类型<sup>[1]</sup>,因此钉螺染色体的研究,对我国各地钉螺的分类<sup>[2]</sup>、遗传变异、杂交等方面均有重要意义,并可为血吸虫病流行病学提供更丰富的资料。目前,钉螺染色体的制备方法虽有报导,但方法上还不完善,本文试图在以往研究方法的基础上作进一步改进,以完善染色体的制备方法,并对江苏省南京市江滩钉螺的核型作初步分析。

## 材料和方法

### 1 材料

1.1 钉螺的性腺组织 钉螺采自江苏省南京地区江滩钉螺,经实验室人工饲养备用。成螺的性腺组织被用来进行细胞学观察。

1.2 试剂 本次实验选用秋水仙素作为纺锤体抑

制剂,KCL 作为低渗液,3:1 混合的甲醇-冰醋酸作为固定液,Giemsa 染液作为染色剂。

### 2 染色体标本的制备

选活动良好的雄性钉螺数只,置于浓度为 0.1 μg/ml 秋水仙素溶液中 30℃ 处理 30 min。注意避免钉螺爬出溶液而影响秋水仙素的效果。

在解剖镜下将经秋水仙素处理过的雄性钉螺睾丸取出,置于 5 ml 离心管内,然后加入浓度为 0.0256% KCL 低渗液 30℃ 低渗 45 min。

弃上清液,加新鲜 Carnoy 氏固定液(甲醇:冰醋酸=3:1)固定 15 min;弃上清液,每隔 1 h 更换新鲜固定液 1 次,共计 2 次。

弃上清液,加 1~2 滴新鲜固定液,将所有睾丸组织捣碎,并用吸管吹打成细胞悬液,将细胞悬液用吸管从 30 cm 乃至更高处滴到预冷的冰玻片上,用力吹散细胞,移至酒精灯上烘干。

待玻片全干后,用新配置的 10%Giemsa 染液染色 20 min,水冲镜检。

低倍镜观察标本,发现较好的中期分裂像细胞用油镜观察,并用照相机拍摄记录。

结 果

1 钉螺染色体数目

从染色体标本中选取 100 个分散较好的中期分裂像细胞,油镜下观察计算,确定  $2n$  数。根据观察结果,钉螺染色体的数目多数为 34 条,即  $2n=34$ 。100 个观察细胞中,82 个染色体数目为 34 条,14 个染色体数目少于 34 条,4 个染色体数目多于 34 条。

2 钉螺染色体核型

从染色体标本选取 10 个分散较好的正中期分裂像细胞,油镜下拍照放大,电脑中进行染色体配对, $n=17$ , $2n=34$ ,根据 Levan 标准,按染色体臂比值分组,性染色体排在最后,每组中再按相对长度递减排列,钉螺的核型大致分为 3 组和性染色体,其中 m 组中部着丝粒染色体为 8 对,Sm 组亚中部着丝粒染色体为 7 对,t 组近端着丝粒染色体为 1 对,性染色体为 1 对。因此江苏南京江滩地区雄性钉螺的染色体核型公式为: $16m+14Sm+2t+$  性染色体。



图 1 江苏省南京地区钉螺(雄性)核型  
Fig. 1 The karyotype of male snail in Nanjing, Jiangsu

讨 论

钉螺染色体的制备方法虽有报导,但还不十分完善。通过反复的比较实验,本次研究在以往的方法上做了部分改进,原先的方法是将钉螺睾丸离体用秋水仙素作用<sup>[3]</sup>,结果发现处于分裂中期的细胞较少,现改用活体钉螺秋水仙素作用<sup>[4]</sup>,要求钉螺活动较好,开扉,且避免爬出浸泡液。结果发现处于分裂中期的细胞明显增多,原因在于活体钉螺可将吸收的秋水仙素快速分布于全身,将细胞终止于分裂中期。另又考虑到钉螺为淡水螺类,其本身组织液浓度偏低,因此将以往浓度为 0.42%KCL 低渗液改为浓度为 0.025 6% KCL 低渗液,发现获得的染色体标本清晰,可读性好,便于进行核型分析,因此改进后的钉螺染色体制备方法具有可行性和推广价值。

Burch 曾报道过钉螺染色体数目为  $2n=34$ <sup>[5]</sup>,王国棠也曾对云南省钉螺和湖北钉螺的两个亚种进行了核型分析<sup>[3,6]</sup>。本实验对江苏南京江滩钉螺的染色体数目和染色体核型进行了分析,发现染色体的数目与以上的结果一致,但在核型上有一些差异,上述差异可能与其细胞遗传学基础有关,另外地理上的分布距离也可能是造成差异的一个原因。本次研究仅对江苏省江滩地区雄性钉螺进行了染色体核型初步分析,其染色体分带核型以及雌性钉螺的核型和分带核型分析还需进一步研究。

参 考 文 献

1 毛守白 主编·血吸虫病生物学与血吸虫病的防治[M]·人民卫生出版社,1990,300~301  
2 刘月英·关于我国钉螺的分类问题 [J]·动物学报,1974,20(3):223~230  
3 王国棠·湖北钉螺两个亚种核型的初步研究 [J]·遗传,1989,11(5):21~23  
4 Viroj Kitikoon·Study on Tricula paerta and related taxa, the snail intermediate hosts of Schistosoma makongi· IV· Chromosomal studies [J] Malacological Rivievo, 1982,15:21~42  
5 Burch JB·Chromosomes of intermediate hosts of human bilharziasis [J]·Malacologia, 1965,5(1):25~28  
6 王国棠·云南省钉螺染色体核型的研究 [J]·中国人畜共患病杂志,1991,7(3):29~30

2000-03-26 收稿 2000-09-11 修回  
(编辑:吴洪初)