

张晓明,张建春,常怀艳,等.斑腿蝗科 2 种短翅型蝗虫染色体的比较[J].江苏农业科学,2018,46(12):75-78.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2018.12.017

斑腿蝗科 2 种短翅型蝗虫染色体的比较

张晓明¹,张建春²,常怀艳¹,柳青^{1,3}

(1. 云南农业大学植物保护学院/云南省生物资源保护与利用国家重点实验室,云南昆明 650201;
2. 云南省红河热带农业科学研究所,云南河口 661300; 3. 保山学院资源环境学院,云南保山 678000)

摘要:为了解斑腿蝗科(Catantopidae)2 种短翅型蝗虫云南云秃蝗[*Yunnanacris yunnanensis* (Ramme)]和云南拟裸蝗(*Conophymacris yunnanensis* Cheng)的细胞遗传学特征,采用常规的液氮冰冻压片法和 BSG 显带法对 2 种蝗虫的染色体核型和 C 带带型进行研究。结果表明,云南云秃蝗染色体数目 $2n(\delta) = 21$,染色体臂数为 21,染色体组具有 9 对端着丝粒和 1 对亚端着丝粒染色体,性染色体 X 为端着丝粒染色体;云南拟裸蝗染色体数目 $2n(\delta) = 23$,染色体臂数为 23,染色体全部为端着丝粒染色体。染色体 C 带核型分析结果表明,云南云秃蝗染色体有 16 条 C 带带纹,其中有 11 条着丝粒带,5 条端带,染色体组异染色质总含量为 22.26%;云南拟裸蝗有 18 条 C 带带纹,其中有 12 条着丝粒带,6 条端带,染色体组异染色质总含量为 23.00%。2 种蝗虫除了具有相同的 XO 型性别决定机制外,在其他的染色体核型和 C 带带型方面均表现出一定的差异。

关键词:斑腿蝗科;短翅蝗虫;云南云秃蝗;云南拟裸蝗;染色体;C 带核型

中图分类号: Q962;S433.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2018)12-0075-04

蝗虫是蝗总科(Acridoidea)昆虫的总称,全世界记载有 10 000 多种蝗虫。斑腿蝗科(Catantopidae)是蝗总科中最大

的科,已知有 760 多个属近 4 000 种,种类多、分布广,其中有少数种类是农业、畜牧业和林业生产上的重要害虫。我国记录的有 100 多个属 430 多种斑腿蝗科昆虫,主要分布于我国南方地区^[1-2]。

染色体是生物遗传物质的载体。在各生物类群中,染色体结构特征具有相对稳定性,不同类群的染色体数目、大小、形态、组型、减数分裂行为及异染色质分布等亦有不同^[3]。因此,通过研究和分析染色体数目、结构和行为等细胞学特征,可以为昆虫近缘种的鉴别、物种演化及亲缘关系分析提供

收稿日期:2017-09-25

基金项目:国家自然科学基金(编号:31400351);云南农业大学科研启动费(编号:A2002291)。

作者简介:张晓明(1984—),男,云南保山人,博士,讲师,主要从事农业昆虫及其防控研究。E-mail:zxmalex@126.com。

通信作者:柳青,博士,副教授,主要从事昆虫细胞分类学研究。E-mail:liuqingc065@126.com。

- [7]程小梅,彭亚军,汤佳乐,等.猕猴桃采后致病菌的分离及中草药提取物对其抑菌效果初探[J].湖南农业科学,2015(5):81-83.
- [8]廖林,郭睿昕,赵欣,等.软枣猕猴桃内生真菌的分离纯化及分子鉴定[J].湖北农业科学,2016,55(6):1459-1462.
- [9]王美琴,陈俊美,薛丽,等.番茄内生拈抗细菌的分离鉴定及培养条件研究[J].中国生态农业学报,2008,16(2):441-445.
- [10]范晓静,黄未,邱思鑫,等.银杏内生细菌的分离鉴定及抑菌活性初探[J].微生物学通报,2013,40(9):1348-1368.
- [11]梁盛年,李充璧.肇庆地区柑橘内生细菌的分离及初步鉴定[J].安徽农业科学,2014,42(35):12510-12512.
- [12]王梦颖,周登博,井涛,等.不同品种香蕉内生菌分离及广谱拈抗菌的筛选[J].生物技术通报,2014(8):138-145.
- [13]Chen J, Wang H, Guo S X. Isolation and identification of endophytic and mycorrhizal fungi from seeds and roots of *Dendrobium* (Orchidaceae) [J]. Mycorrhiza, 2012, 22(4):297-307.
- [14]Ziyake A, Mijeti W, Abulizi A, et al. Isolation of the endophyte from *Alhagi pseudalhagi* Desv and the analysis of the active ingredient of its metabolite [J]. Medicinal Plant, 2013(4):7-13.
- [15]Kumar A, Singh R, Yadav A, et al. Isolation and characterization of bacterial endophytes of *Curcuma longa* L. [J]. Biotech, 2016, 6(1):1-8.

- [16]曲田丽,张淑颖,金玉兰.合欢内生菌 H8 的分离、鉴定及其抗菌代谢物质研究[J].华北农学报,2015,30(1):54-60.
- [17]东秀珠,蔡妙英.常见细菌系统鉴定手册[M].北京:科学出版社,2001:349-388.
- [18]于昕.草莓灰霉病(*Botrytis cinerea*)的分离鉴定及其拈抗菌对枇杷保鲜的研究[D].成都:四川大学,2006.
- [19]易润华,朱西儒,周而勋.简化 CTAB 法快速微量提取丝状真菌 DNA[J].湛江海洋大学学报,2003,23(6):72-73.
- [20]Zhang J F, Liu Z Q, Zhang X H, et al. Biotransformation of iminodiacetonitrile to iminodiacetic acid by *Alcaligenes faecalis*, cells immobilized in ACA-membrane liquid-core capsules [J]. Chemical Papers, 2014, 68(1):53-64.
- [21]叶乃芳,凌华志,黄颖,等.16S rRNA 序列分析技术对临床标本中疑难细菌的鉴定[J].安徽医科大学学报,2015,50(7):1000-1003.
- [22]赵跃,王锐.生物体内的天然抗菌素[J].世界科学,1995(5):17.
- [23]李杨,左国营.生物碱类化合物抗菌活性研究进展[J].中草药,2010,41(6):1006-1014.
- [24]杨澍,高杉.天然产物抗菌作用的研究进展[J].天津中医药,2016(2):125-128.

依据和参考^[4]。蝗总科昆虫因其染色体大而数目少,且材料易得,是开展此类研究的极好类群^[5]。据不完全统计,目前已有 1 000 多种蝗总科昆虫涉及染色体研究,其中斑腿蝗科中有近 1/3 的种已被相关研究报道^[2,5]。

云南云秃蝗[*Yunnanacris yunnaneus* (Ramme)]和云南拟裸蝗(*Conophymacris yunnanensis* Cheng)是在云南省境内分布的 2 种短翅型蝗虫,分别隶属斑腿蝗科云秃蝗属(*Yunnanacris*)、拟裸蝗属(*Conophymacris*),未见其染色体的相

关报道。因此,本研究采用常规的液氮冰冻压片法及 BSG 显带法对 2 种蝗虫的染色体核型和 C 带带型进行研究,以期 为蝗总科昆虫的细胞遗传学研究提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验所用标本均采自野外,具体的采集时间、采集地点和个体数量等信息见表 1。

表 1 标本来源与研究个体数量

种名	采集时间 (年-月)	采集地点及海拔 (m)	采集人	雄性个体数量 (头)
云南云秃蝗(<i>Y. yunnaneus</i>)	2016-10	云南省丽江市龙潘乡(1 960)	柳青	9
云南拟裸蝗(<i>C. yunnanensis</i>)	2017-08	云南省个旧市卡房镇(2 100)	柳青	23

1.2 试验方法

1.2.1 染色体标本制备 将采集到的蝗虫雄虫按个体编号,并依据个体大小活体腹腔注射 4~6 μL 0.05% 秋水仙素溶液,经 6~8 h 后取出精巢,放入 0.08% 生理盐水中低渗 10~15 min,再浸入体积比为 3:1 的甲醇冰醋酸固定液内固定 6~12 h,然后移入 75% 乙醇内常温保存。取出预先保存好的蝗虫精巢材料,用解剖针挑取精小管 2~3 根,置于洁净的载玻片上,除去其表面的结缔组织,然后切下精小管盲端部分。滴加 45% 冰醋酸进行软化,5~10 min 后加盖玻片压片,然后置于液氮罐中冷冻 3~5 min,取出后快速揭开盖玻片,室温下自然干燥老化 2~6 d^[1]。

1.2.2 C 带核型分析 C 带处理采用 BSG 显带法进行。将老化好的载玻片置于 5% 新配制的饱和 Ba(OH)₂ 溶液中 50℃ 恒温水浴处理 15~20 min,取出后用相同温度的蒸馏水冲洗,再经 2×柠檬酸钠缓冲液于 60℃ 恒温水浴中处理 1 h,用相同温度的蒸馏水冲洗晾干,用 5% Giemsa 染液(pH 值=6.8)染色 10~15 min,用蒸馏水冲洗后自然干燥,镜检^[6-7]。使用 Nikon ECLIPSS E800 进行显微拍照,每种蝗虫选取 5~10 个染色体形态清晰、分散良好的分裂相细胞进行染色体数目统计、测量和计算。

染色体相对长度(relative length,简称 RL)=每条染色体实测长度/染色体组总实测长度×100%;臂指数=长臂长度/短臂长度×100%;着丝点指数(centromere index,简称 CI)=短臂长度/该条染色体全长×100%;各染色体异染色质含量(heterochromatic content,简称 HC)=各条染色体 C 带带纹总实测长度/该条染色体实测长度×100%;染色体组异染色质总含量(total heterochromatic content,简称 THC)=染色体组 C 带带纹总实测长度/染色体组总实测长度×100%。

2 结果与分析

2.1 云南云秃蝗染色体 C 带核型

云南云秃蝗的染色体数目 2n(♂)=21,染色体臂数为 21。性别决定机制为 XO 型。染色体组具有 9 对端着丝粒和 1 对亚端着丝粒染色体,性染色体 X 为端着丝粒染色体(图 1)。根据染色体相对长度可将其分为 4 组:L 组(大型染色体)3 对(L₁~L₃),RL 为 10.18%~16.49%;M 组(中型染色体)6 对(M₄~M₉),RL 为 5.54%~8.91%;S 组(小型染色体)1 对(S₁₀),RL 为 4.57%;性染色体 X 属于大型染色体,RL 为 13.71%,其相对长度位居第 2。染色体组式为 3L+6M+S+X(表 2)。

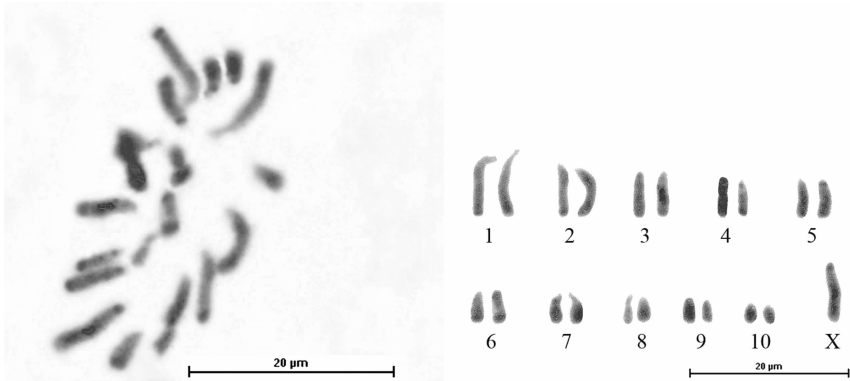


图 1 云南云秃蝗染色体 C 带核型

由图 2 可知,云南云秃蝗染色体有 16 条 C 带带纹,其中有 11 条着丝粒带,5 条端带,端带分别位于 L₁、L₂、L₃、M₄、M₆ 上,性染色体无端带。

由表 2 可知,云南云秃蝗异染色质在整个染色体组中的总含量为 22.26%,M₆ 染色体异染色质含量最高,为

48.34%,M₄ 次之,为 33.14%,M₈ 染色体的异染色质含量在整个染色体组中最低,为 13.10%,性染色体 X 的异染色质含量为 13.33%。

2.2 云南拟裸蝗染色体 C 带核型

云南拟裸蝗的染色体数目 2n(♂)=23,染色体臂数为

表 2 云南云秃蝗有丝分裂中期染色体数据测量记录结果

染色体序号	分组	实测长度 (μm)	相对长度 (%)	C 带带纹实测长度(μm)		异染色质含量 (%)	臂指数	染色体类型
				着丝粒带	端带			
1	L ₁	12.63	16.49	0.68	1.40	16.47	9.24	t
2	L ₂	9.10	11.88	0.70	1.96	29.23	∞	t
3	L ₃	7.80	10.18	1.05	1.26	29.62	∞	t
4	M ₄	6.82	8.91	1.10	1.16	33.14	∞	t
5	M ₅	6.65	8.68	1.05		15.79	∞	t
6	M ₆	5.71	7.46	1.18	1.58	48.34	∞	t
7	M ₇	4.90	6.40	0.70		14.29	3.67	st
8	M ₈	4.73	6.18	0.62		13.11	∞	t
9	M ₉	4.24	5.54	0.70		16.51	∞	t
10	S ₁₀	3.50	4.57	0.51		14.57	∞	t
X	X	10.50	13.71	1.40		13.33	∞	t
合计		76.58			17.05	22.26		

注： ∞ 表示染色体短臂长度为 0；t 表示端着丝粒染色体；st 表示亚端着丝粒染色体。下表同。

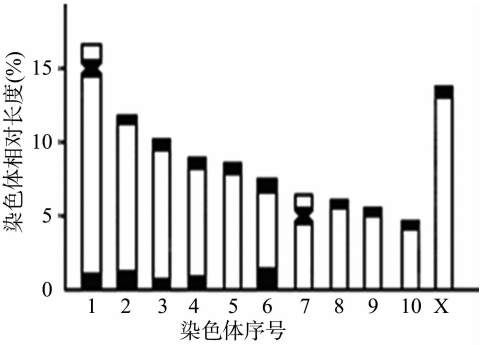


图2 云南云秃蝗染色体 C 带核型模式

23. 性别决定机制为 XO 型。染色体全部为端着丝粒染色体（图 3）。根据染色体相对长度将染色体分为 4 组：L 组（大型染色体）3 对（L₁ ~ L₃），RL 为 11.30% ~ 13.35%；M 组（中型染色体）6 对（M₄ ~ M₉），RL 为 5.50% ~ 9.74%；S 组（小型染色体）2 对（S₁₀ ~ S₁₁），RL 为 3.71% ~ 3.99%；性染色体 X 属中型染色体，RL 为 7.37%，其相对长度位居第 7。染色体组式为 3L + 6M + 2S + X（表 3）。此外，在个别细胞中还发现了超数染色体（图 3）。

由图 4 可知，云南拟裸蝗染色体有 18 条 C 带带纹，其中有 12 条着丝粒带，还有 6 条端带，分别位于 L₂、L₃、M₄、M₆、M₇、M₉ 染色体上。

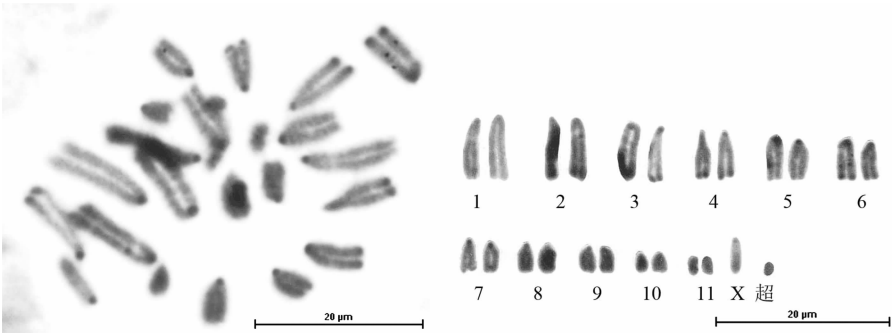


图3 云南拟裸蝗染色体 C 带核型

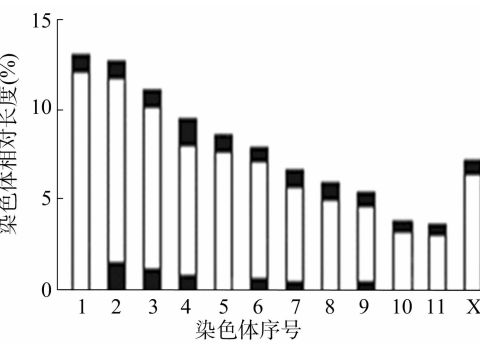


图4 云南拟裸蝗染色体 C 带核型模式

由表 3 可知，云南拟裸蝗异染色质在整个染色体组中的总含量为 22.99%，M₉ 染色体异染色质含量最高，为 41.85%，M₄ 染色体次之，为 32.20%，性染色体 X 的异染色

质含量在整个染色体组中最低，为 12.63%。

3 结论与讨论

与形态学数据一样，染色体特征资料已经成为生物鉴别分类和亲缘关系界定的基本数据之一^[8-9]。大量的研究表明，染色体的数目、组式可以作为科级或属级阶元的分类指标，而染色体 C 带异染色质分布位置、大小、数量、异染色质总含量及性染色体 X 的位次等可以作为属、种及种下阶元的分类指标^[3,10-17]。研究的 2 种短翅型蝗虫云南云秃蝗和云南拟裸蝗属同科不同属，两者除了具有相同的性别决定机制外，在染色体核型和 C 带带型等方面均表现出一定差异（表 4），研究结果进一步证实了上述观点。

斑腿蝗科是蝗总科中种类最多的一个科，同时也是染色体研究报道最多的一个类群^[1,5]。现有的研究表明，斑

表 3 云南拟裸蝗有丝分裂中期染色体数据测量记录结果

染色体 序号	分组	实测长度 (μm)	相对长度 (%)	C 带带纹实测 长度(μm)		异染色 质含量 (%)	染色体 类型
				着丝粒带	端带		
1	L ₁	12.05	13.35	1.15		9.54	t
2	L ₂	11.61	12.86	1.22	2.14	28.94	t
3	L ₃	10.20	11.30	1.25	1.61	28.04	t
4	M ₄	8.79	9.74	1.75	1.08	32.20	t
5	M ₅	7.88	8.73	1.12		14.21	t
6	M ₆	7.29	8.07	1.12	1.05	29.77	t
7	M ₇	5.98	6.62	1.02	0.70	28.76	t
8	M ₈	5.46	6.05	0.79		14.47	t
9	M ₉	4.97	5.50	1.05	1.03	41.85	t
10	S ₁₀	3.61	3.99	0.70		19.39	t
11	S ₁₁	3.35	3.71	0.58		17.31	t
X	X	6.65	7.37	0.84		12.63	t
合计		87.84		20.20		23.00	

表 4 2 种短翅蝗虫染色体性状比较

科名	属名	种名	染色体数目	染色体组式	性染色体位次	性别决定机制	染色体类型	C 带带纹数量	异染色质总含量 (%)
斑腿蝗科	云秃蝗属	云南云秃蝗	21	3L+6M+S+X	2	XO	19t+2st	16	22.26
	拟裸蝗属	云南拟裸蝗	23	3L+6M+2S+X	7	XO	23t	18	22.99

此外,研究发现云南拟裸蝗少数个体细胞中具有 1 个超数染色体,呈小点状。有关超数染色体在云南拟裸蝗种群中的起源、数量分布、遗传学意义与作用还须进行更深入地研究。

参考文献:

[1]柳青,欧晓红.斑腿蝗科两种短翅蝗虫的染色体研究[J].西南林学院学报,2005,25(2):5-7.

[2]牛瑶.中国斑腿蝗科(广义)系统分类研究(直翅目:蝗总科)[D].西安:陕西师范大学,2007:13-25.

[3]马恩波,欧晓红,乔格侠,等.蝗总科染色体研究及科级综合比较(直翅目)[J].昆虫分类学报,2000,22(1):6-10.

[4]张礼生,张清文,蔡青年,等.中国昆虫染色体研究现状与展望[J].昆虫学报,2003,46(6):773-782.

[5]欧晓红,郑哲民.中国蝗总科昆虫细胞分类学研究概况[M]//廉振民.昆虫学研究(第一辑).西安:陕西师范大学出版社,1995,216-227.

[6]Lin C, Wang N, Gao S J, et al. Comparative study of the karyotypes of two species of grasshoppers in genera *Chorthippus* Fieber and *Euchorthippus* Tarbinsky (Orthoptera: Acridoidea) [J]. Entomotaxonomia, 2015, 37(1): 1-7.

[7]许姝娟,史红全,韩亚鹏,等.辽宁雏蝗不同地理种群染色体研究[J].安徽农业科学,2017,45(13):13-15.

[8]李新江,张道川,王文强.蝗虫染色体 C-带核型研究进展(昆虫纲:直翅目)[J].河北大学学报(自然科学版),2004,24(3):332-336.

[9]郝锡联,闻鸣,张雪,等.4 种鸣虫染色体核型研究(直翅目:蝗总科)[J].吉林农业大学学报,2016,38(1):26-31.

[10]Warchańska-Głiwa E, Grzywacz B, Heller K G, et al. Comparative analysis of chromosomes in the Palearctic bush-crickets of tribe Pholidopterini (Orthoptera, Tettigoniinae) [J].

腿蝗科昆虫染色体数目有 2n(♂)=23、2n(♂)=21 等 2 种类型^[3]。普遍认为 2n(♂)=23 代表了蝗总科昆虫原始的染色体核型特征,多数斑腿蝗科类群的染色体数目都为这一类型,而 2n(♂)=21 是在前者的基础上通过染色体的端部易位或不等互换^[18]或通过染色体的着丝粒融合和臂间倒位^[19]进化而产生,主要见于秃蝗亚科(Podisminae)的小翅蝗属(*Alulacris* Zheng)、小蹦蝗属(*Pedopodisma* Zheng)、玛蝗属(*Miramella* Dovnar - Zapolskii)等以及裸蝗亚科(Conophyminae)的无翅蝗属(*Zubovskya* Dovnar - Zapolskii)^[13]。云南云秃蝗和云南拟裸蝗同属斑腿蝗科秃蝗亚科,但两者的染色体核型特征却代表了 2 个截然不同的类型。2 种蝗虫均为短翅类型,翅极度退化且完全丧失飞翔能力,因此,活动能力有限;从两者的分布范围来看,云南云秃蝗要比云南拟裸蝗分布更加广泛^[20],反映出前者比后者具有更强的环境适应能力。结合两者的染色体数据,可以推测云南云秃蝗相比云南拟裸蝗是更为特化的种类。

Comparative Cytogenetics, 2017, 11(2): 309-324.

[11]Allison A, Vilma L, Cabral - de - mello D C. Organization of some repetitive DNAs and B chromosomes in the grasshopper *Eumastusia koebelei koebelei* (Rehn, 1909) (Orthoptera, Acrididae, Leptysminae) [J]. Comparative Cytogenetics, 2016, 10(2): 219-228.

[12]Grzywacz B, Heller K G, Chobanov D P, et al. Conventional and molecular chromosome study in the European genus *Parnassiana* Zeuner, 1941 (Orthoptera, Tettigoniinae, Platycleidini) [J]. Folia Biologica, 2017, 65(1): 1-8.

[13]马恩波,郭亚平.四种斑腿蝗科昆虫染色体带型的比较[J].昆虫学报,2001,44(3):268-275.

[14]Bridle J R, Torre J D I, Bella J L. et al. Low levels of chromosomal differentiation between the grasshoppers *Chorthippus brunneus* and *Chorthippus jacobsi* (Orthoptera, Acrididae) in northern Spain [J]. Genetica, 2002, 114(2): 121-127.

[15]马恩波,郭亚平,任竹梅,等.山稻蝗不同地域种群染色体 C 带核型研究[J].动物分类学报,2002,27(2):252-259.

[16]Lin C, Wang N, Du F, et al. Comparative study of the chromosome karyotypes of two species of grasshoppers in *Megaulacobothrus* Caudell (Orthoptera: Acridoidea) [J]. Entomotaxonomia, 2012, 34(3): 503-508.

[17]Liu Q, Ou X H, Ge H J. C - banding karyotypes of two *Caryanda* (Orthoptera: Catantopidae) species with short wings from China [J]. Entomological News, 2011, 122(1): 1-9.

[18]Hewitt G M. Animal cytogenetics. Vol. 3. Insecta 1: orthoptera [M]. Berlin: Gebruder Borntraeger, 1979: 1-170.

[19]White M J D. Animal cytology and evolution [M]. 3rd ed. London: Cambridge University Press, 1973: 205-268.

[20]郑哲民.蝗虫分类学[M].西安:陕西师范大学出版社,1993: 130-131.