

硬壳蛤的核型研究

郑小东¹, 张 涛², 黄水英¹, 刘旭东¹, 王 清², 杨红生², 张福绥²

(1. 国家教育部海水养殖重点实验室, 中国海洋大学, 山东 青岛 266003; 2. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 基于硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria*(Linnaeus, 1758))是一种生长速度快、经济效益高的埋栖型双壳类, 为给生产提供更多的遗传学理论依据, 以硬壳蛤胚胎(4~8 细胞期)为材料, 通过压片法和空气干燥法进行染色体制片和核型分析。结果表明: 硬壳蛤二倍体染色体数目为 $2n=38$, 其中中部着丝粒染色体(*m*)有 14 对, 亚中部着丝粒染色体(*sm*)有 4 对, 亚端部着丝粒染色体(*st*)有 1 对, 无端部着丝粒染色体(*t*)。核型公式为 $28m+8sm+2st$, 染色体臂数=74, 未发现性染色体和随体。

关键词: 硬壳蛤 (*Mercenaria mercenaria* (Linnaeus, 1758)); 染色体; 核型
 中图分类号: Q343.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2005)08-0071-04

硬壳蛤 (*Mercenaria mercenaria* (Linnaeus, 1758)), 属软体动物门(Mollusca), 双壳纲 (Bivalvia), 异齿亚纲(Heterodonta), 帘蛤目(Veneroidea), 帘蛤总科(Veneroidea), 帘蛤科(Veneridae), 雪蛤亚科(Chioninae), 其自然栖息地位于北美大西洋沿岸, 北起圣劳伦斯湾(Gulf of Saint Lawrence), 南至墨西哥湾(Gulf of Mexico), 从潮间带至水深 15m 的海底均有其分布^[1], 是美国大西洋沿岸浅海和滩涂主要的经济双壳贝类之一, 属广温广盐种类^[2,3]。自 1997 年由中国科学院海洋研究所首次引入中国以来, 国内已有许多学者对其生态习性和苗种生产进行了研究^[4-8]。
 作者主要对硬壳蛤的染色体核型进行了研究和分析, 目的在于进一步了解其遗传学性状, 以期为硬壳蛤的引种和育种工作提供细胞遗传学资料 and 理论依据。

1 材料与方法

硬壳蛤取自胶南国家级青岛海湾扇贝良种场, 为发育至 4~8 细胞期的胚胎, 采用压片法和空气干燥法制片, 以 10%的 Giemsa (pH=6.98 的磷酸缓冲液配制) 染色约 5~10min, 镜检。在高倍镜下选取 100 个分散良好, 形态清晰, 数目完整的分裂相, 计数每个细胞的染色体数目以及计算所占百分比, 据此确定它的染色体倍数 ($2n$), 并进行显微拍照、测量, 按 Levan 等^[9]确定的标准对染色体进行分类, 统计处理测量数据, 分析其特征。

2 结果

2.1 染色体二倍数 ($2n$) 的确定
 对硬壳蛤计数了来自不同胚胎细胞的 100 个清晰的分裂相, 其中染色体众数 $2n=38$ 的分裂相细胞最多, 占全部计数细

胞的 54%左右 (如表 1 所示), 由此确定硬壳蛤的二倍体染色体数目为 $2n=38$ 。

表 1 硬壳蛤染色体数目计数结果
 Tab.1 Statistics of chromosome number of *M. mercenaria*

染色体数($2n$)	细胞数	百分率(%)
33 以下	2	2
33	3	3
34	6	6
35	5	5
36	13	13
37	10	10
38	54	54
39	6	6
39 以上	1	1

2.2 染色体核型分析
 选择 8 个染色体形态分散良好、 两条染色体适度分开、清晰的分裂相, 测量和统计硬壳蛤的二倍体染色体长臂、短臂、相

收稿日期: 2005-04-06; 修回日期: 2005-06-17
 基金项目: 国家 " 863 " 青年基金项目 (2004AA603810); 国家级星火计划项目 (2004EA741014); 山东省科技兴海项目; 青岛市重大科技项目
 作者简介: 郑小东 (1971-), 男, 山东寿光人, 副教授, 博士, 研究方向: 海洋贝类遗传育种学, 电话: 0532-82032873, Email: xdzheng@mail.ouc.edu.cn; 张涛 (1971-), 通讯作者, 男, 副研究员, 博士, E-mail: tzhang@ms.qdio.ac.cn

对长度和臂比(表2), 可以确定硬壳蛤的19对染色体分为3种类型, 即14对中部着丝粒染色体(m), 4对亚中部着丝粒染色体(sm)和1对亚端着丝粒染色体(st)。其核型公式为 $28m+8sm+2st$, 染色体臂数=76, 未发现性染色体和随体(图1)。染色体的相对长度(R.L.)范围为1.27~3.70, 臂比范围为1.01~3.09。其中 m 相对长度范围为1.76~2.99, 臂比范围为1.01~1.55; sm 相对长度范围为2.29~2.70, 臂比范围为1.78~2.61; st 相对长度约为2.50, 臂比约为3.09。

3 讨论

染色体作为细胞遗传学研究的核心, 不仅对阐明物种的遗传变异和繁殖发育规律具有重要意义, 而且也有助于对亲缘种的鉴定, 群落结构分析及系统分类等有关问题的探讨。迄今为止, 中国已有200余种淡水鱼类进行过染色体核型分析^[10], 而

双壳类中已知染色体数或核型的有160余种, 其中 $2n=38$ 的为60余种, 占已知染色体数目种类的41%以上, 为最常见染色体数^[12]。王金星^[13]认为, 双壳类原始二倍体类型可能是 $2n=38$, 在核型演化中, 二倍体数目向两个方向演化, 或者增加或者减少。从核型上看(表3), 除少数种类(如: 青蛤^[14])以外, 帘蛤科种类以 m/sm 染色体为主。 m/sm 染色体一般导致稳定的染色体组型, 而 st/t 染色体比较多变^[15], 因此, 帘蛤科种类在染色体进化上比较保守, 有稳定的细胞学特征。

表2 硬壳蛤核型分析参数

Tab. 2 Statistics karyotype analysis of *M. mercenaria*

染色体编号	相对长度	臂比	类型
1	2.99±0.71	1.25±0.19	m
2	2.98±0.72	1.42±0.07	m
3	2.90±0.41	1.28±0.05	m
4	2.87±0.43	1.33±0.07	m
5	2.85±0.85	1.12±0.13	m
6	2.81±0.58	1.41±0.07	m
7	2.74±0.17	1.18±0.10	m
8	2.73±0.37	1.31±0.05	m
9	2.70±0.41	1.37±0.18	m
10	2.66±0.59	1.47±0.16	m
11	2.54±0.64	1.55±0.13	m
12	2.51±0.52	1.24±0.06	m
13	2.29±0.35	1.16±0.11	m
14	1.76±0.49	1.01±0.16	m
15	2.70±0.45	2.08±0.29	sm
16	2.61±0.49	1.78±0.16	sm
17	2.56±0.38	1.92±0.17	sm
18	2.29±0.43	2.61±0.54	sm
19	2.50±0.16	3.09±0.09	st

贝类由于其本身染色体较小、较难获得清晰的分裂相以及研究投入相对不足等原因导致相关研究相对滞后, 至今仅33余种海洋贝类有核型报道^[11]。依据现有研究结果(表3), 帘蛤科贝类的染色体数目有 $2n=30, 36, 38$, 其中 $2n=38$ 的约占83%。

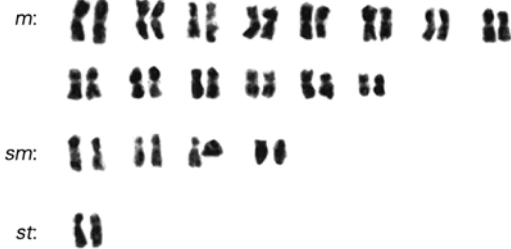
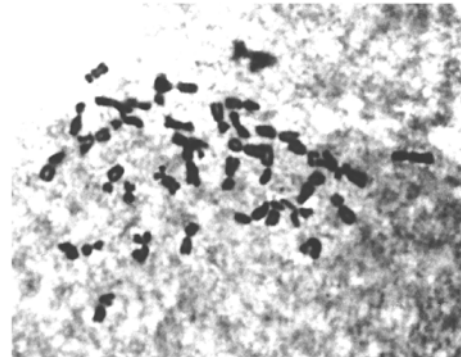


图1 硬壳蛤核型

Fig. 1. The idiogram of *M. mercenaria*

硬壳蛤二倍体染色体数目 $2n=38$, 与帘蛤科中大多数已报道染色体数目的物种一致。结合核型分析结果看, 硬壳蛤与紫石房蛤更为接近, 而与日本镜蛤相差较大。可能与石房蛤属在演化过程中亲缘关系较近, 而与蛤仔属、巴非蛤属、镜蛤属较远。文蛤是我国重要的经济滩涂贝类, 具有丰富的原良种资源, 其核型的研究报道存在差别(表3), 这与其分布的不同地域, 在染色体制备过程中的取材以及处理条件不同有关^[20]。作为外来物种的硬壳蛤与文蛤比较, 两者染色体数目一致($2n=38$), 核型方面较文蛤自身存在的差别^[17~20]相比并不显著。有关两者彼此杂交的可能性, 杂交后代可育性以及随之可能引发的基因污染等问题正在通过深入研究加以论证, 尽快为科学引种并有效保护我国优良生物资源提供依据。

另外, 本实验在处理4~8细胞期胚胎时, 0.05%秋水仙素处理比0.03%的秋水仙素处理的效果要好得多, 染色体形态清晰, 收缩适中, 更易着色。50%海水低渗比0.075mol/L的KCl溶液低渗效果好, 细胞比较完整, 破碎的较少。

表 3 帘蛤科已研究种类的染色体数目和核型

Tab.3 The chromosome numbers and karyotype of Veneridae studied

种名	二倍体染色体数	核型	臂数	参考文献
美女蛤 (<i>Circe scripta</i>)	38	38m	76	[16]
青蛤 (<i>Cyclina sinensis</i>)	36	12m+2sm+22t	50	[14]
日本镜蛤 (<i>Dosinia japonica</i>)	30	10m+12sm+8st/t	52	[17]
温和翘鳞蛤 (<i>Irus mitis</i>)	38	30m+8sm	76	[16]
硬壳蛤 (<i>Mercenaria mercenaria</i>)	38	28m+8sm+2st	74	(本文)
文蛤 (<i>Meretrix meretrix</i>)	30	12m+10sm+8st/t	52	[17]
	38	18m+20sm	76	[18]
	38	18m+14sm+6t	70	[19]
	38	24m+18sm	76	[20]
巴非蛤 (<i>Paphia vernicosa</i>)	38	38m/sm	76	[16]
紫石房蛤 (<i>Saxidomus purpuratus</i>)	38	32m+2sm+4st/t	72	[21]
<i>Ruditapes aureus</i>	38	16m+18sm+2st+2t	72	[22]
<i>R. decussatus</i>	38	12m+6sm+20st	56	[22]
菲律宾蛤仔 (<i>R. philippinarum</i>)	38	18m+20sm	76	[22]
	38	28m+10sm	76	[23]

参考文献：

- [1] McFarlane S L. The evolution of a municipal quahog (hard clam), *Mercenaria mercenaria* management program, a 20-year history: 1975-1995[J]. *J Shellfish Res*, 1998, 17: 1 015 – 1 036.
- [2] Menzel R W. The species and distribution of quahog clams *Mercenaria*[J]. *Proc Natl Shellfish Assoc*, 1970, 50: 8.
- [3] Rice M A, Peehenik J A. A review of the factors influencing the growth of the northern quahog, *Mercenaria mercenaria* (Linnaeus, 1758) [J]. *J Shellfish Res*, 1992, 11(2): 279 – 287.
- [4] 林志华, 柴雪良, 方军, 等. 硬壳蛤对环境因子适应性试验 [J]. 宁波大学学报, 2002, 15(1): 19 – 22.
- [5] 常亚青 宋坚 王国栋, 等. 硬壳蛤的人工育苗技术[J]. 中国水产科学, 2002, 9(1): 43 – 47.
- [6] 张涛, 杨红生, 刘保忠, 等. 环境因子对硬壳蛤 *Mercenaria mercenaria* 稚贝成活率和生长率的影响[J]. 海洋与湖沼, 2003, 34(2): 142 – 149.
- [7] 张涛, 杨红生, 刘保忠, 等. 硬壳蛤(*Mercenaria mercenaria*) 稚贝中间培育模式的初步研究[J]. 海洋与湖沼, 2003, 34(6): 648 – 655.
- [8] 常亚青 王国栋 王喜福, 等. 硬壳蛤稚贝的中间培育技术 [J]. 水产学报, 2004, 28(1): 68 – 73.
- [9] Levan A, Fredga K, Sandbergm A A. Nomenclature for centrometric position on chromosomes[J]. *Hereditas*, 1964, 52: 201 – 220.
- [10] 余先觉, 周敏, 李渝成, 等. 中国淡水鱼类染色体[M]. 北京: 科学出版社, 1989. 1 – 29.
- [11] 辛荣. 太平洋牡蛎核仁数目的多态性及减数分裂过程中同源染色体联会现象的观察[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2005.
- [12] 郑小东, 王昭萍, 王如才, 等. 双壳类动物染色体研究现状及进展[J]. 黄渤海海洋, 2000, 18(3): 101 – 108.
- [13] 王金星, 赵晓凡, 周岭华, 等. 中国海洋贝类细胞遗传学研究[A]. 相建海, 海洋动物细胞和种群生化遗传学[C]. 济南: 山东科学技术出版社, 1999, 44 – 56.
- [14] 王立新, 相建海, 周令华. 青蛤的染色体研究[J]. 西北农林科技大学学报, 2001, 29(1): 95 – 96.
- [15] Ahmed M. Chromosome cytology of marine pelecypod molluscs[J]. *J Sci Karachi*, 1976, 4: 77 – 94.
- [16] Ieyama H. Studies on the chromosomes in three species of the Veneridae(Bivalvia: Heterodonta)[J]. *Venus*, 1980, 39(1): 45 – 55.
- [17] 阙华勇, 齐秋贞, 邱文仁. 帘蛤目(瓣鳃纲) 4 个种类的核型研究[A]. 齐钟彦, 贝类学论文集(VIII)[C]. 北京: 学苑出版社. 1999, 75 – 85.
- [18] 常建波, 魏利平, 杨建敏, 等. 文蛤染色体核型及三倍体诱导的初步研究[J]. 水产学报, 1996, 20(3): 269 – 274.
- [19] 吴萍, 董建萍, 倪建国, 等. 文蛤染色体的研究[J]. 上海水产大学学报, 2002, 11(2): 106 – 109.
- [20] 吕振明 柴雪良 刘保忠, 等. 文蛤二倍体和三倍体染色体核型分析[J]. 中国水产科学, 2003, 10(6): 519 – 520.

- [21] 孙振兴, 郭胜超, 邵雁群, 等. 三种海产帘蛤目贝类的核型研究[J]. 海洋学报, 2004, 26(1): 88–94. decussatus (Bivalvia, Veneridae) [J]. **Aquaculture**, 1990, 90: 209–227.
- [22] Borsa P, Thiriot-Quiévreux C. Karyological and allozymic characterization of *Ruditapes philippinarum*, *R. aureus* and *R.* [23] 王金星, 赵小凡, 周岭华, 等. 三种贝类的核型分析[J]. 海洋学报, 1998, 20(2): 102–107.

The karyotype of hard clam *Mercenaria mercenaria* (Linnaeus , 1758)

ZHENG Xiao-dong¹, ZHANG Tao², HUANG Shui-ying¹, LIU Xu-dong¹, WANG Qing², YANG Hong-sheng², ZHANG Fu-sui²

(1. Mariculture Research Laboratory, Fisheries College, Ocean University of China, Qingdao 266003, China; 2. Institute of Oceanology, the Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Received: Apr., 6, 2005.

Key words : hard clam ; *Mercenaria mercenaria* ; chromosome ; karyotype

Abstract : The karyotype of *Mercenaria mercenaria* was studied using embryonic cells (4~8 cell period). The chromosomes were prepared by squashing and air-dry method. The diploid chromosome number of *Mercenaria mercenaria* is $2n=38$. The karyotype of *Mercenaria mercenaria* can be described by $28m+8sm+2st$ with $NF=74$. The sex chromosomes and the satellites were not found.

(本文编辑 : 刘珊珊)