

大獭蛤的核型研究

潘 英, 苏以鹏

(广西大学 动物科学技术学院, 广西 南宁 530004)

摘要: 以担轮幼虫(trochophore)为材料, 采用秋水仙素活体预处理-低渗-固定-热滴制片-空气干燥-染色, 制作染色体标本; 对标本进行观察、计数、显微拍照, 再运用数理统计、软件处理对大獭蛤(*Lutraria maxima* Jonas)的染色体数目及核型进行了探讨。结果显示, 大獭蛤二倍体的染色体数目为 34, 其核型公式为 $2n = 20m + 12sm + 2st$, $NF = 76$, 未发现有异型和具随体的染色体。另外本研究还分析了大獭蛤与蛤蜊科的其它种类之间的核型异同, 为探讨它们之间的亲缘关系提供科学依据。

关键词: 大獭蛤(*Lutraria maxima* Jonas); 染色体; 核型

中图分类号: Q343.2

文献标识码: A

文章编号: 1000(3096)2007(09)0087-04

大獭蛤(*Lutraria maxima* Jonas), 属瓣鳃纲(Lamellibranchia)、帘蛤目(Veneroida)、蛤蜊科(Mactridae)、獭蛤属(*Lutraria*), 在中国主要分布在广西、广东及福建、海南沿海, 以北部湾数量最多, 是中国北部湾沿海特有的一种重要经济双壳类。其壳长椭圆形(10.0~12.0 cm), 广西沿海俗称象鼻螺、牛螺, 广东称包螺。该种在近年来依靠天然苗种通过海上圈养已发展成为广西、广东沿海浅海增养殖的主要品种之一。目前广西生产性人工育苗已成功^[1], 滩涂养殖正在逐步走向规模化。贝类染色体的研究在国内外报道的并不多, 中国海产贝类已报道染色体数目及核型的种类有 36 种, 而蛤蜊科的种类已研究核型的仅有中国蛤蜊(*Mactra chinensis*)和四角蛤蜊(*Mactra veneriformis*)^[2]。

目前关于大獭蛤的染色体数目及核型分析的资料国内外未见有报道。研究大獭蛤的染色体数目和核型, 对于其细胞遗传、细胞分类及遗传育种等研究具有重要的意义。作者对大獭蛤的染色体进行了分析研究, 从染色体水平为该贝的遗传生化的进一步研究提供理论基础, 也为探讨和研究大獭蛤在贝类系统分类中的地位及其系统演化过程提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

实验贝于 2004 年 9 月购自广西北海市侨港镇,

自然海区捕捞的 2 龄以上的性成熟个体。亲贝经人工解剖取精卵授精, 在 26~28 °C 授精后 9 h 胚胎发育至担轮幼虫(trochophore)时, 用 20 μm 筛绢过滤收集担轮幼虫用于染色体研究。

1.2 方法

将采集到的担轮幼虫浓缩收集入 1.5 mL 的离心管中, 用终质量比为 0.2% 的秋水仙素海水溶液处理约 2 h, 而后用 0.075 mol/L 的 KCl 进行预低渗和低渗处理, 使细胞充分膨胀, 用新配制的 Carnoy 氏液反复固定 3 次。50% 的醋酸解离样品, 轻轻吸打。50 °C 温片滴片, 自然干燥一夜后, 用 10% 的 Giemsa 染液(pH 为 6.8)染色 40~60 min, 冲洗, 自然干燥后镜检。

选取染色体分散适度, 清晰且不重叠的细胞中期分裂相 100 个左右, 观察并记数染色体数目。选取分散较好的 10 个中期分裂相进行显微拍照, 并测出各条染色体实际长度, 相对长度(100×染色体长度/单倍体染色体总长度), 臂比(长臂/短臂)及着丝粒指

收稿日期: 2007-05-20; 修回日期: 2007-07-10

基金项目: 广西科学研究与技术开发计划资助项目(桂科攻 0537010-1C); 广西自然科学基金资助项目(桂科青 0640007)

作者简介: 潘 英 (1968-), 女, 广西南宁人, 副教授, 博士,

研究方向: 海洋贝类遗传育种学, 电话: 0771-3235635, E-mail: nnping@sohu.com

数($100 \times \text{短臂长度} / \text{染色体长度}$), 并计算出它们的平均数(mean)和标准差(SD)。依据 Levan 等^[3]确定的标准进行染色体分类, 每组再按长度递减顺序将染色体排列, 得出核型公式。

2 结果

2.1 染色体二倍数($2n$)的确定

从选取的 120 个中期分裂相进行染色体统计, 结果见表 1。

表 1 大獭蛤二倍体染色体数目的统计

Tab.1 Statistics of the diploid chromosome number of

<i>L. maxima</i>		
染色体数($2n$)	细胞数(个)	百分率(%)
< 20	7	5.83
20	1	0.83
24	4	3.33
28	7	5.83
30	6	5.00
32	12	10.00
34	63	52.50
36	10	8.33
38	2	1.67
40	3	2.50
> 40	5	4.17

从表 1 可知, 染色体众数为 34 的分裂相细胞占全部计数细胞的 52.50%, 由此确定大獭蛤的二倍体染色体数目为 $2n = 34$ (图 1)。



图 1 大獭蛤二倍体

Fig.1 The diploid of *L. maxima*

2.2 染色体核型分析

对大獭蛤染色体拍照、统计, 按染色体长度从大到小顺序编号为 1~17 对, 见图 2。

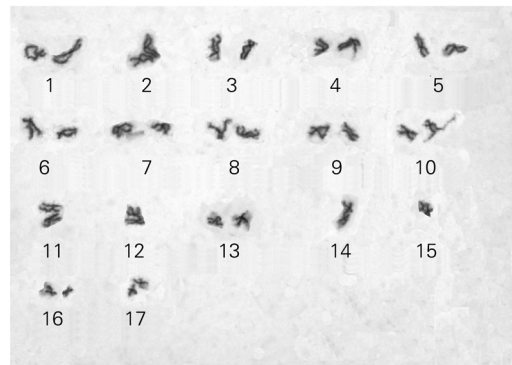


图 2 大獭蛤的核型

Fig.2 The karyotype of *L. maxima*

根据 10 个中期分裂相测量获得的二倍体染色体实际长度、相对长度、臂比和着丝粒指数的统计结果(表 2), 可以确定大獭蛤的 17 对染色体分为 3 种类型, 即第 1, 5, 7, 10, 12, 13, 14, 15, 16, 17 对为中部着丝粒染色体(m), 第 2, 3, 4, 8, 9, 11 对为亚中部着丝粒染色体(sm), 第 6 对为亚端部着丝粒染色体(st)。因此, 得出大獭蛤核型公式为: $2n = 34, 20m + 12sm + 2st$, 染色体的总臂数(NF)为 76, 染色体总长度(TCL)为 $64.23 \mu\text{m}$, 染色体实际长度(CL)范围为 $1.97 \sim 5.09 \mu\text{m}$, 平均长度为 $3.78 \mu\text{m}$ 。在所有染色体中, 第 15, 16 对和第 17 对染色体较小, 特征明显, 易于配对, 其余各对染色体之间的差异不明显。在 10 个放大的分裂相中未发现随体、次缢痕存在, 也未见到异形的性染色体。

3 讨论

贝类的染色体研究, 不仅对阐明其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、亲缘关系及系统分类等有关问题的探讨。海产贝类的染色体多以贝类成体组织、早期胚胎或幼虫、幼贝为材料进行, 尤其以早期胚胎和担轮幼虫的分裂相更为理想^[2]。到目前为止, 关于大獭蛤二倍体核型的研究还未见报道。本试验以分裂旺盛的担轮幼虫为材料进行大獭蛤的染色体研究, 较易

获得分散良好的中期分裂相。结果表明，大獭蛤的 20 m +12 sm +2 st。
二倍体染色体数目为 $2n = 34$ ，其核型公式为 $2n =$

表 2 大獭蛤核型的统计结果

Tab.2 The results of the karyotype analysis of *L. maxima*

染色体编号	染色体长度 (μm)	染色体相对长度 (%)	臂比	着丝粒指数	染色体类型
1	5.85 ± 0.72	9.10 ± 0.45	1.27 ± 0.15	43.54 ± 2.15	m
2	5.09 ± 0.71	7.91 ± 0.37	1.72 ± 0.09	33.33 ± 1.86	sm
3	4.67 ± 0.59	7.27 ± 0.31	2.17 ± 0.13	35.66 ± 0.27	sm
4	4.60 ± 0.72	7.16 ± 0.53	1.79 ± 0.08	27.41 ± 1.38	sm
5	4.49 ± 0.47	6.99 ± 0.65	1.37 ± 0.07	44.74 ± 2.85	m
6	4.38 ± 0.67	6.82 ± 0.21	3.20 ± 0.15	13.93 ± 1.26	st
7	4.38 ± 0.52	6.82 ± 0.36	1.42 ± 0.06	41.84 ± 2.90	m
8	4.03 ± 0.69	6.27 ± 0.61	2.15 ± 0.10	30.93 ± 2.36	sm
9	3.88 ± 0.64	6.04 ± 0.31	1.73 ± 0.17	33.98 ± 1.15	sm
10	3.74 ± 0.49	5.83 ± 0.32	1.13 ± 0.11	40.24 ± 0.18	m
11	3.67 ± 0.54	5.70 ± 0.42	1.72 ± 0.05	32.63 ± 1.65	sm
12	3.53 ± 0.65	5.49 ± 0.45	1.09 ± 0.06	43.24 ± 2.25	m
13	3.15 ± 0.64	4.89 ± 0.27	1.44 ± 0.05	47.54 ± 1.32	m
14	2.32 ± 0.59	3.62 ± 0.45	1.54 ± 0.08	40.14 ± 2.16	m
15	2.33 ± 0.58	3.62 ± 0.75	1.04 ± 0.04	44.50 ± 1.15	m
16	2.09 ± 0.55	3.26 ± 0.27	1.16 ± 0.03	42.58 ± 2.10	m
17	1.98 ± 0.65	3.08 ± 0.28	1.64 ± 0.15	41.64 ± 1.65	m

迄今已报道蛤蜊科 7 种的二倍体染色体数目多为 36 和 38 两种类型^[4]，而本研究发现大獭蛤的二倍体染色体数目为 34，与中国蛤蜊、四角蛤蜊在染色体条数上有较大的区别，而后两者在染色体条数则相同 ($2n = 38$)^[4,5]，这种情况有待于今后研究进一步蛤蜊科尤其是蛤蜊属其它种类的核型，方能作出解释。Ahmed^[6]认为，双壳类原始二倍体数目为 $2n = 30$ ，在核型演化中，由这个原始类型向两个方向演化，或者增加或者减少其染色体数目。本实验得出的大獭蛤二倍体染色体数目为 34，与该目其它种的染色体数目差异不大，这在一定程度上反映了近缘种之间染色体特征的相似性，也说明贝类演化过程中染色体数目变化的保守性^[2]。蛤蜊科有染色体核型报道的种类仅有中国蛤蜊和四角蛤蜊。孙振兴等^[5]报道了中国蛤蜊的染色体数为 $2n = 38$ ，核型为 $20m+16sm+2st/t$ 。与大獭蛤核型相比 ($2n = 34$, $20m+12sm+2st$)，它们都具有 10 对中部着丝粒染色体，1 对亚端部着丝粒染

色体，只是中国蛤蜊在亚中部着丝粒染色体比大獭蛤多 2 对，在核型上它们具有明显的类同特征；而同为蛤蜊科的四角蛤蜊，染色体数为 $2n = 38$ ，核型为 $14m+14sm+10st/t$ ，与大獭蛤核型相差较大。蛤蜊科已报道核型的这 2 个种类，它们的核型主要由中部 (m) 和亚中部 (sm) 着丝粒染色体构成，端部 (t) 或亚端部 (st) 染色体都占一定的比例。在核型组成上，多数贝类是以 m 和 sm 染色体为主要类型^[7]。Ahmed^[6]提出 m/sm 染色体一般导致稳定的染色体组型，而 t/st 染色体比较多变，因此，蛤蜊科种类在染色体进化上比较保守，有稳定的细胞学特征。大獭蛤的核型与此相似，表明国内已报道的多数海洋贝类似乎有比较稳定的染色体组型。由于具有较多 m/sm 着丝粒染色体核型的种比具有较多 st/t 着丝粒染色体核型的种更为高级或特化^[8]，所以在帘蛤目蛤蜊科的种类有可能是相对进化的类群。本研究得出的大獭蛤核型与中国蛤蜊相近似，结合核型分析结果看，可能暗

示大獭蛤在演化过程中与中国蛤蜊的亲缘关系较近，而与四角蛤蜊较远。

对于贝类的性染色体的研究报道很少，迄今为止，国内已报道过的贝类染色体中均未发现异形的性染色体。国外仅稻叶明彦在腹足类中发现有 XO 型或 XY 型性染色体的存在^[9]，而双壳类中仅报道了侏儒蛤的性别决定类型属于 XX (♀) -XY 型^[10]。大獭蛤的核型分析中未发现随体、次缢痕存在，亦未见到异形的性染色体。这和已有的关于软体动物的染色体研究的报道相同^[11]，说明贝类染色体属于较原始的类型，其控制性别的基因比较原始，尚处于进化的初始阶段。

参考文献：

- [1] 李琼珍, 陈瑞芳, 童万平, 等. 盐度对大獭蛤胚胎发育的影响[J]. 广西科学院学报, 2004, **20** (1): 33 - 34.
- [2] 孙振兴. 中国海洋贝类染色体研究进展[J]. 海洋通报, 2004, **23** (6): 77 - 83.
- [3] Levan A, Fredga K, Sandbergm A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes[J]. *Hereditas*, 1964, 52: 201 - 220.
- [4] 阙华勇, 齐秋贞, 邱文仁. 帘蛤目(瓣鳃纲)四个种类的核型研究[A]. 齐钟彦, 贝类学论文集(Ⅷ)[C]. 北京: 学苑出版社, 1999, 75 - 85.
- [5] 孙振兴, 郭胜超, 邵雁群, 等. 三种海产帘蛤目贝类的核型分析[J]. 海洋学报, 2004, **26** (1): 88 - 94.
- [6] Ahmed M. Chromosome cytology of marine pelecypod mollusks[J]. *J Sci Karachi*, 1976, 4: 77 - 94.
- [7] 王梅林, 郑家声, 朱丽岩. 我国海洋鱼类和贝类染色体组型研究进展[J]. 青岛海洋大学学报, 2000, **30** (2): 277 - 284.
- [8] 吕振明, 柴雪良, 刘保忠, 等. 文蛤二倍体和三倍体染色体核型的分析[J]. 中国水产科学, 2003, **10** (6): 519 - 522.
- [9] 稻叶明彦. 软体动物的染色体和系统分类[J]. 动物学杂志, 1985, 4: 44 - 48.
- [10] Guo X, Allen S K. Sex determination and polyploid gigantism in the dwarf surfclam (*Mulinia lateralis* Say) [J]. *Genetics*, 1994, 138: 1 199 - 1 206.
- [11] 王永明. 低等脊椎动物的性别[J]. 遗传, 1988, **10** (4): 45-46.

The karyotype of *Lutraria maxima* Jonas

PAN Ying, SU Yi-peng

(College of Animal Science and Technology, Guangxi University, Nanning 530004, China)

Received: Jun., 05, 2007

Key words: *Lutraria maxima* Jonas; chromosome; karyotype

Abstract: With larval chromosome as the research material, using the colchicum pretreatment of the living specimen: hypotonic - the fixing - hot dropping making - air drying - dyeing, the chromosome specimen was manufactured. Observing, numbering and photographing the specimen, and then using the mathematical statistic software, *Lutraria maxima* Jonas chromosome number and karyotype were discussed. The results show that the karyotypic formula of *Lutraria maxima* Jonas was as follows: $2n=34, 20m+12sm+2st, NF=76$. It was shown that there is no isomerism or satellite chromosome. Furthermore, the comparison of karyotype is also made between different species of *Mactridae* order, so as to lay a theoretic foundation for further researches on their evolutionary relationship.

(本文编辑: 谭雪静)