

文章编号:1005-8737(2000)02-0096-02

·研究简报·

太平洋牡蛎二倍体与三倍体的核型研究

Studies on karyotypes of diploid and triploid of *Crassostrea gigas*

郑小东,王如才,王昭萍,张海滨

(青岛海洋大学水产学院,青岛266003)

ZHENG Xiao-dong, WANG Ru-cai, WANG Zhao-ping, ZHANG Hai-bin

(Fisheries College, Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003, China)

关键词:太平洋牡蛎;二倍体;三倍体;染色体组型

Key words: *Crassostrea gigas*; diploid; triploid; karyotype

中图分类号:Q959.215.3

文献标识码:A

太平洋牡蛎(*Crassostrea gigas*)是近年我国重要海水养殖贝类之一。由于三倍体育性差、生长快、肉质好等优于二倍体的特性,故太平洋牡蛎三倍体育种目前在我国已经进入中试阶段,预计不久可实现产业化。关于二倍体太平洋牡蛎的核型已有人作过一些研究^[1-5],但在二倍体与三倍体核型的比较方面还未见报道。本文对其二倍体和三倍体的核型进行了分析比较,为多倍体育种在理论和实际应用等方面提供依据。

1 材料与方法

太平洋牡蛎取自荣城市桑沟湾养殖海区,壳长8~10 cm。蓄养成熟后,解剖取精卵,在25℃条件下人工授精。当50%的受精卵出现第1极体时,用6-二甲氨基嘌呤(6-DMAP)抑制受精卵第2极体的释放,获得三倍体胚胎;未经处理的受精卵发育为二倍体。分别取二倍体与三倍体组的4~8细胞胚胎,采用空气干燥法制片,以10%的Giemsa染色后镜检。选取分散良好、形态清晰的细胞中期分裂相进行显微拍照、测量,按Levan^[6]等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

分别选取经镜检10套二倍体和7套三倍体分散良好、

形态清晰的中期分裂相。根据染色体的相对长度、臂比、着丝粒指数的统计结果(表1,2),得出太平洋牡蛎二倍体染色体的核型为 $2n=20, 20M, FN=40$,三倍体的染色体核型为 $3n=30, 30M, FN=60$,二者染色体类型相同,均未发现有异型和具随体的染色体(图1,2)。按从长到短的顺序分别命名为1~10对染色体。

表1 二倍体太平洋牡蛎染色体的核型统计

Table 1 Statistics of karyotype analysis of diploid *C. gigas*

染色体编号 No. of chromosome	相对长度 ($\bar{X} \pm S.D.$) Relative length	臂比 ($\bar{X} \pm S.D.$) Arm ratio	着丝粒指数 ($\bar{X} \pm S.D.$) Centromeric index	类型 Type
1	13.30 ± 1.10	1.38 ± 0.14	41.95 ± 2.52	m
2	11.80 ± 0.84	1.27 ± 0.11	44.09 ± 2.08	m
3	10.93 ± 0.40	1.25 ± 0.14	44.68 ± 2.74	m
4	10.58 ± 0.28	1.33 ± 0.11	42.94 ± 2.12	m
5	10.15 ± 0.35	1.30 ± 0.13	43.67 ± 2.53	m
6	9.79 ± 0.40	1.29 ± 0.12	43.85 ± 2.46	m
7	9.45 ± 0.39	1.30 ± 0.11	43.53 ± 2.13	m
8	8.85 ± 0.25	1.36 ± 0.10	42.41 ± 1.83	m
9	8.25 ± 0.45	1.26 ± 0.09	44.40 ± 1.79	m
10	6.90 ± 0.45	1.24 ± 0.18	44.80 ± 3.33	m

3 分析与讨论

3.1 三倍体核型

本研究结果表明,尽管三倍体比二倍体太平洋牡蛎多了1组染色体,但两者核型相同,染色体类型都为中部着丝点,两者的臂比差异很小,对应序号的染色体对之间,相对长度

收稿日期:1998-12-01

基金项目:国家攀登计划B资助项目(PD-B6-3-1);国家高科技发展计划资助项目(863-819-01-01)

作者简介:郑小东(1971-),男,山东寿光人,青岛海洋大学博士生,从事贝类细胞遗传学研究。

差异浮动范围小于 $\pm 2\%$,这说明6-DMAP处理对太平洋牡蛎的遗传特征无明显的影响。这种微小差异,可能与实验材料本身的发育时期、制片过程以及测量过程中产生的误差有关,而非6-DMAP的影响。

表 2 三倍体太平洋牡蛎染色体的核型统计

Table 2 Statistics of karyotype analysis of triploid *C. gigas*

染色体编号 No. of chromosome	相对长度 ($\bar{X} \pm S.D.$) Relative length	臂比 ($\bar{X} \pm S.D.$) Arm ratio	着丝粒指数 ($\bar{X} \pm S.D.$) Centromeric index	类型 Type
1	13.09 $\pm$ 0.40	1.37 $\pm$ 0.09	42.23 $\pm$ 1.66	m
2	12.04 $\pm$ 0.45	1.29 $\pm$ 0.09	43.77 $\pm$ 1.69	m
3	11.32 $\pm$ 0.44	1.24 $\pm$ 0.09	44.62 $\pm$ 1.66	m
4	10.83 $\pm$ 0.44	1.33 $\pm$ 0.09	42.94 $\pm$ 1.57	m
5	10.25 $\pm$ 0.39	1.29 $\pm$ 0.11	43.75 $\pm$ 2.05	m
6	9.63 $\pm$ 0.32	1.29 $\pm$ 0.14	43.85 $\pm$ 2.64	m
7	9.20 $\pm$ 0.37	1.25 $\pm$ 0.16	44.55 $\pm$ 2.27	m
8	8.71 $\pm$ 0.40	1.30 $\pm$ 0.11	43.60 $\pm$ 2.20	m
9	8.00 $\pm$ 0.41	1.18 $\pm$ 0.07	45.90 $\pm$ 1.44	m
10	6.93 $\pm$ 0.91	1.21 $\pm$ 0.11	45.38 $\pm$ 2.26	m

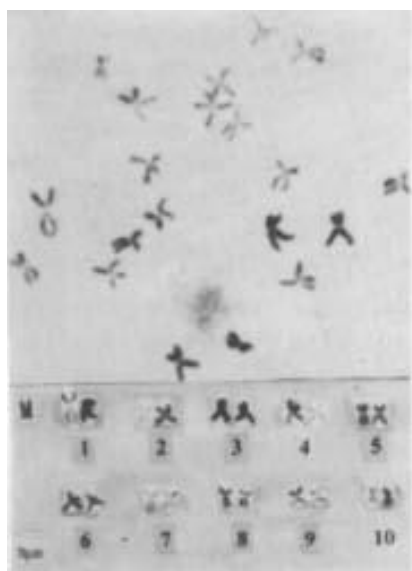


图 1 二倍体太平洋牡蛎核型

Fig.1 Idiogram of diploid *C. gigas*

3.2 二倍体核型

本文所得太平洋牡蛎染色体的核型 $2n=20$, $20M$, $FN=40$, 与许伟定^[1]、Nadamitsu 等^[2]所得结果一致, 与 Ahmed&Sparks^[3]、Thitiot - Quiévreux 等^[4]的 $16M+4SM$, Thitiot - Quiévreux^[5]的 $14M+6SM$ 略有不同。这可能是由于同一物种之间本身存在的差异或变异, 特别是地域上的差异, 导致此物种核型的变化。另外, 染色体制片过程中的处理条件也可能导致这种差异。Moynihan^[7]认为, 在制备胎

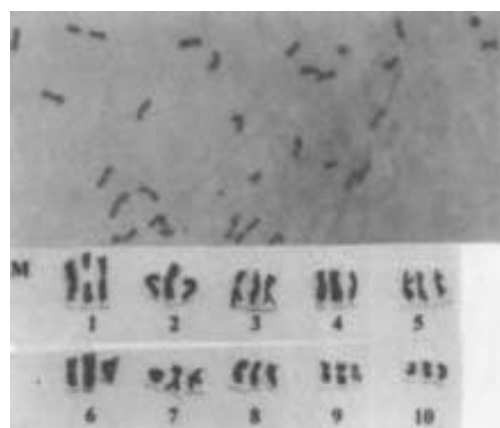


图 2 三倍体太平洋牡蛎核型

Fig.2 Idiogram of triploid *C. gigas*

贝染色体标本时, 所取实验材料、秋水仙素处理浓度和处理时间、低渗液的种类、浓度和处理时间以及滴片温差等因素对染色体相对长度以及臂长都有影响。本实验中, 对于牡蛎而言, 4~8 细胞胚胎样品, 其细胞较正常体细胞体积大, 细胞分裂更旺盛, 分裂周期短, 易获得形态良好的染色体分裂相。秋水仙素的质量分数在 0.01%~0.1% 范围内对牡蛎染色体形态影响不大, 并且都易获得较多良好的中期分裂相。实验过程中还采用 20% 海水与 0.075 mol/L 的氯化钾溶液作低渗液, 二者的低渗液效果差别不大, 但低渗液对处于旺盛分裂期的胚胎细胞作用很大, 时间太长(1 h 以上), 胚胎极易胀破, 造成在滴片过程中染色体丢失现象。滴片温差过大、片温过高也能影响染色体的长度, 使之收缩变短, 同时, 易使染色体断裂和丢失。

参考文献:

- [1] 许伟定, 等. 太平洋牡蛎染色体核型的研究[J]. 水产科学. 1992, 11(2): 14-15.
- [2] Nadamitsu S, Shinkawa H. On the chromosomes of the Japanese oyster (*Crassostrea gigas*) [J]. Chromosome Inf Serv, 1973, 15: 29-30.
- [3] Ahmed M, Sparks A K. A preliminary study of chromosomes of two species of oysters (*Ostrea lurida* and *Crassostrea gigas*) [J]. J Fish Res Bd Canada, 1967, 24(10): 2155-2169.
- [4] Thitiot - Quiévreux C, Ayraud N. Les caryotypes de quelques espèces de bivalves et de gastéropodes marins [J]. Mar Biol, 1982, 70: 165-175.
- [5] Thitiot - Quiévreux C. Les caryotypes Ostreidae et Mytilidae [J]. Malacologia, 1984, 25(2): 465-476.
- [6] Levan A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes [J]. Hereditas, 1964, 52(2): 201-220.
- [7] Moynihan E P, et al. Quantitative karyotype analysis in the mussel *Mytilus edulis* [J]. Aquaculture, 1983, 33: 301-309.