

· 研究简报 ·

文蛤二倍体和三倍体染色体核型分析

吕振明¹, 柴雪良², 刘保忠³, 方 军², 张炯明², 林志华², 李太武¹

(1. 宁波大学 生命科学与生物工程学院, 浙江 宁波 315211;

2. 浙江海洋水产养殖研究所, 浙江 温州 325005; 3. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071)

摘要:以担轮幼虫为材料, 采用热滴片法制作染色体标本, 对二倍体和三倍体的文蛤 (*Meretrix meretrix* Linnaeus) 染色体数目及核型进行探讨, 结果显示, 文蛤二倍体的核型为 $2N = 38, 24M + 14SM, NF = 76$; 三倍体的核型为 $3N = 57, 36M + 21SM, NF = 114$ 。二者染色体类型基本相同, 均未发现有异型和具随体的染色体。另外本研究还分析了文蛤与帘蛤目 (Veneroida) 及帘蛤科 (Veneridae) 的其他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:文蛤; 二倍体; 三倍体; 染色体核型

中图分类号: Q959.215

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2003)06-0520-04

文蛤 (*Meretrix meretrix* Linnaeus) 属瓣鳃纲 (Lamellibranchia), 异齿亚纲 (Heterodonta), 帘蛤目 (Veneroida), 帘蛤科 (Veneridae), 文蛤属 (*Meretrix*), 是双壳贝类, 广泛分布于我国沿海各省, 是我国滩涂养殖的主要经济贝类之一。为了更好地开展文蛤的养殖, 提高文蛤养殖业的产量和质量, 于2000年开始用化学方法对其进行三倍体诱导, 取得了一定成效。同时对文蛤二倍体和三倍体进行了染色体核型分析, 并将其与帘蛤目的其他贝类染色体组型进行了比较, 为以后该种贝类的遗传生化的进一步研究提供理论基础, 也为探讨和研究文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

实验用文蛤取自浙江省海洋水产养殖研究所, 壳长 6~8 cm。蓄养至性腺成熟后取出, 阴干加低温处理 16 h 以上, 然后雌、雄分开放入新鲜海水中待其自然排放, 26℃ 条件下人工授精。当 30% 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担轮幼虫胚胎若干, 用 0.01% 秋水仙素处理 30 min, 0.075 mol/L KCl 低渗 25 min, Carnoy's 液固定 3 次, 每

次 20 min 以上。采用热滴片法制片, Leishman 染色镜检。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, Levan 等^[1]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

由文蛤二倍体和三倍体的染色体制片中选取收缩适中比较清晰的中期分裂相若干, 进行测量分析, 统计结果显示见表 1、表 2, 二倍体文蛤的核型公式为: $2N = 38, 24M + 14SM, NF = 76$; 三倍体文蛤的核型为: $3N = 57, 36M + 21SM, NF = 114$ 。二者染色体类型均相同, 未发现异型和具随体的染色体 (图 1、2)。染色体按从长到短的顺序分别命名为 1-19 对染色体。

3 分析与讨论

到目前为止, 关于文蛤二倍体核型的研究已有报道^[2-3], 但关于其三倍体的核型分析还未见报道。本研究的结果表明, 三倍体的染色体与二倍体相比, 不仅对应序号的染色体对之间的相对长度大致相同, 而且在染色体类型上也几乎完全一致, 即 6-DMAP 的处理只是在二倍体的基础上增加了 1 套染色体, 染色体的形态并未改变。这与阎冰等^[4]对马氏珠母贝的研究及郑小东等^[5]对太平洋牡蛎的研究相似。但就二倍体的核型而言, 1996 年常建波等^[2]的研究认为文蛤二倍体核型为: $2N = 38, 18M + 20SM, NF = 76$; 而阙华勇^[3]等则认为文蛤核型为: $2N = 30, 12M + 10SM + 8ST/T, NF = 52$ 。从本研究结果看, 与前者的研究结果较相近, 至少在

收稿日期: 2003-01-20; 修订日期: 2003-07-11.

基金项目: 国家“八六三”高技术研究发展项目 (2002AA603014).

作者简介: 吕振明 (1976-), 男, 硕士研究生, 从事贝类遗传育种研究。E-mail: nblzm@163.net

通讯作者: 李太武.

表1 二倍体文蛤染色体的核型统计

Table 1 Statistics of karyotype analysis of diploid *M. meretrix*

染色体编号 No. of chromosome	相对长度 ($\bar{X} \pm SD$) Relative length	臂比 ($\bar{X} \pm SD$) Arm ratio	染色体类型 Type of chromosome
1	6.59 $\pm$ 0.38	1.75 $\pm$ 0.15	SM
2	6.15 $\pm$ 0.13	1.12 $\pm$ 0.02	M
3	6.00 $\pm$ 0.19	1.52 $\pm$ 0.03	M
4	5.82 $\pm$ 0.15	1.75 $\pm$ 0.07	SM
5	5.67 $\pm$ 0.13	1.25 $\pm$ 0.03	M
6	5.62 $\pm$ 0.18	2.31 $\pm$ 0.07	SM
7	5.51 $\pm$ 0.07	1.51 $\pm$ 0.03	M
8	5.34 $\pm$ 0.22	2.18 $\pm$ 0.15	SM
9	5.31 $\pm$ 0.19	1.13 $\pm$ 0.01	M
10	5.27 $\pm$ 0.16	1.52 $\pm$ 0.05	M
11	5.16 $\pm$ 0.14	1.44 $\pm$ 0.03	M
12	5.03 $\pm$ 0.08	1.96 $\pm$ 0.06	SM
13	4.95 $\pm$ 0.07	1.21 $\pm$ 0.33	M
14	4.92 $\pm$ 0.21	2.55 $\pm$ 0.15	SM
15	4.77 $\pm$ 0.08	1.53 $\pm$ 0.06	M
16	4.64 $\pm$ 0.21	1.41 $\pm$ 0.04	M
17	4.60 $\pm$ 0.19	1.57 $\pm$ 0.05	M
18	4.32 $\pm$ 0.22	1.28 $\pm$ 0.04	M
19	4.32 $\pm$ 0.23	2.27 $\pm$ 0.09	SM

表2 三倍体文蛤染色体的核型统计

Table 2 Statistics of karyotype analysis of triploid *M. meretrix*

染色体编号 No. of chromosome	相对长度 ($\bar{X} \pm SD$) Relative length	臂比 ($\bar{X} \pm SD$) Arm ratio	染色体类型 Type of chromosome
1	6.47 $\pm$ 0.41	2.08 $\pm$ 0.21	SM
2	6.16 $\pm$ 0.18	1.15 $\pm$ 0.02	M
3	6.10 $\pm$ 0.13	1.43 $\pm$ 0.02	M
4	5.82 $\pm$ 0.12	1.79 $\pm$ 0.01	SM
5	5.71 $\pm$ 0.11	1.22 $\pm$ 0.05	M
6	5.65 $\pm$ 0.23	2.38 $\pm$ 0.11	SM
7	5.53 $\pm$ 0.11	1.57 $\pm$ 0.05	M
8	5.51 $\pm$ 0.12	2.68 $\pm$ 0.10	SM
9	5.40 $\pm$ 0.26	1.10 $\pm$ 0.01	M
10	5.27 $\pm$ 0.16	1.50 $\pm$ 0.05	M
11	5.17 $\pm$ 0.13	1.66 $\pm$ 0.03	M
12	4.98 $\pm$ 0.09	1.79 $\pm$ 0.02	SM
13	4.97 $\pm$ 0.06	1.17 $\pm$ 0.03	M
14	4.80 $\pm$ 0.09	2.82 $\pm$ 0.23	SM
15	4.73 $\pm$ 0.08	1.62 $\pm$ 0.08	M
16	4.72 $\pm$ 0.29	1.50 $\pm$ 0.03	M
17	4.50 $\pm$ 0.24	1.69 $\pm$ 0.04	M
18	4.31 $\pm$ 0.31	1.20 $\pm$ 0.04	M
19	4.19 $\pm$ 0.16	2.25 $\pm$ 0.14	SM

二倍体的染色体总数上及只具备 M 和 SM 两种染色体类型这一条上是一致的,至于在 M 型和 SM 型的具体数目上有些出入,笔者认为可能与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有关。因为前者样品取自山东文登市,而本研究样品取自浙江温州,关于同种生物的不同地理居群在染色体组型上存在着部分差异已得到许多实验的证实^[6]。另外,在染色体制片过程中的处理条件也可能导致这种差异,因为在制作染色体标本时,秋水仙素处理浓度和处理时间、低渗液的种类、浓度和处理时间等因素都对染色体相对长度以及臂长有影响。如本例中常建波等用于染色体制片的材料是 8~16 细胞期的胚胎,而本研究所用材料为担轮幼虫。而对于阙华勇等所记录的文蛤染色体核型,不管在染色体条数上,还是在染色体类型上都与前者及本研究有较大的出入,这可能不能仅仅用地理居群之间的差异或制片误差(该研究所用材料为成体鳃)来做解释,这是否说明文蛤(*Meretrix meretrix*)中存在着“种内种”或“种间亚种”、“种间变种”的现象还有待于在形态学上和分子生物学水平上进一步的深入研究。

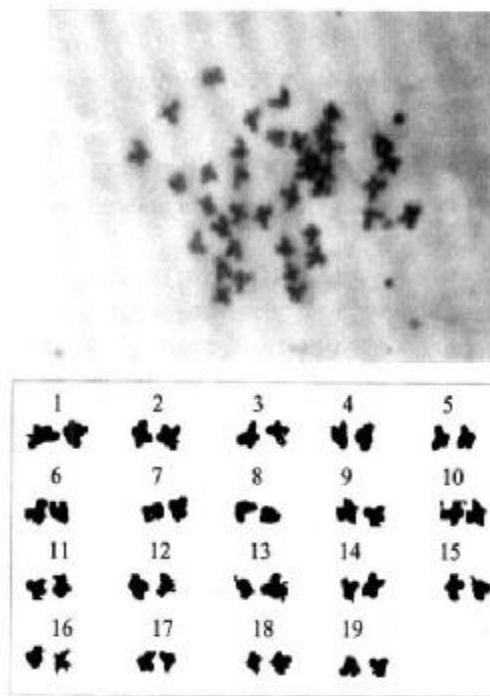


图1 文蛤二倍体的染色体及其核型

Fig. 1 Chromosomes and idiogram of diploid *M. meretrix*

除文蛤外,目前已有染色体核型报道的帘蛤科种类还有美女蛤(*Circe scripta*)、温和翘鳞蛤(*Irus mitis*)、菲律宾蛤仔(*Ruditapes philippinarum*)、漆巴非蛤(*Paphiaverrucosa*)、Venerupis aurea^[7-8]、青蛤(*Cyclina sinensis*)、日本镜蛤(*Dosinia*

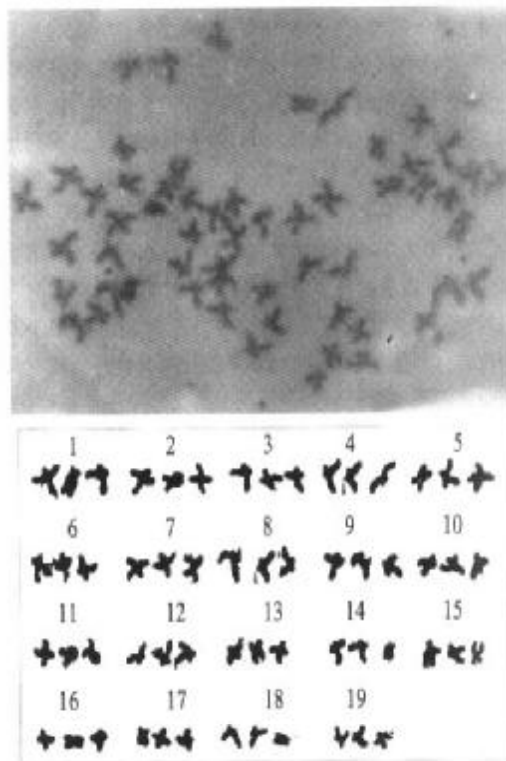


图2 文蛤三倍体的染色体及其核型

Fig.2 Chromosomes and idiogram of triploid *M. meretrix*

japonica)^[3,9]等。其中除青蛤和日本镜蛤外,这些贝类的染色体类型均为中部(M)和亚中部(SM)染色体,本研究的结果与之类似,未发现端部(T)与亚端部(ST)的染色体类型,而与同为帘蛤目的其他科的贝类差异较大,如蛤蜊科(Mactridae)的四角蛤蜊(*Mactra veneriformis*)、紫云蛤科(Psammodiidae)的中国紫蛤(*Hiatula chinensis*)^[3]、竹蛏科(Solecurtididae)的长竹蛏(*Solen strictus*)^[10]和缢蛏(*Sinonovacula constricta*)^[11]等,这些贝类的核型中端部或亚端部染色体都占有一定的比例。在动物的进化过程中,小的近端着丝粒的染色体是染色体的原始类型,而较大的具中部着丝粒的染色体是衍生类型,因此,具有较多M/SM着丝粒染色体核型的种比具有较多ST/T着丝粒核型的种更为高级或特化。所以在帘蛤目中帘蛤科的种类有可能是相对进化的类群。同样,就帘蛤科内的这些种类而言,青蛤和日本镜蛤不管是在染色体条数上,还是在染色体类型上,与其他同科种类相比都有较大差别。特别是日本镜蛤染色体条数仅有30条,Ahmed^[12]认为

2N=30是双壳纲染色体的祖先数目,由这个原始类型向2个方向演化。再加上它们ST/T型染色体所占的比例也较大,说明这两种贝类在帘蛤科中也是更原始的种类。当然仅仅用核型的资料来划分物种及科属之间的亲缘关系还是不够的,必须结合形态、生理、生化与分子生物学等指标综合分析。

另外,对于低等动物性染色体存在与否的问题,学术界已经有了较长时间的探讨,一般认为,在鱼类中大多数种类无性染色体存在,只有少数鱼类出现异形性染色体,同样,对于贝类的性染色体的研究,迄今为止也少有报道,仅稻叶明彦在腹足类中发现性染色体的存在^[13],而双壳类中尚未见报道。本研究观察了数十个担轮幼虫的分裂相,也未发现性染色体的存在,这也许说明,贝类控制性别的基因确实比较原始,仍处于进化的初始阶段^[12]。

参考文献:

- [1] Levan A, Fredga K, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes[J]. Hereditas, 1964, 52: 201-220.
- [2] 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.
- [3] 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]. 贝类学论文集(Ⅷ), 北京: 学苑出版社, 1999. 75-85.
- [4] 阎冰, 王爱民, 叶力, 等. 二倍体及三倍体马氏珠母贝核型[J]. 广西科学, 1999, 6(3): 219-221.
- [5] 郑小东, 王如才, 王昭萍, 等. 太平洋牡蛎二倍体与三倍体的核型研究[J]. 中国水产科学, 2000, 7(2): 96-97.
- [6] 钱晓薇, 朱晓元. 泽蛙、日本林蛙、饰纹姬蛙不同地理居群的核型多样性[J]. 遗传, 2000, 22(3): 144-148.
- [7] Coni M G, Trentini M. The chromosomes of *Venerupis surea* and *Ruditapes philippinarum* of the Northern Adriatic Sea (Bivalvia, Heterodonta, Veneridae) [J]. Venus, 1990, 49(3): 258-261.
- [8] Ieyama H. Studies on the chromosomes in three species of the Veneridae (Bivalvia, Heterodonta) [J]. Venus, 1980, 39(1): 49-55.
- [9] 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.
- [10] 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.
- [11] 王金星, 赵小凡, 周岭华, 等. 缢蛏的染色体研究[J]. 海洋与湖沼, 1998, 29(2): 191-196.
- [12] Ahmed M. Chromosome cytology of marine pelecypod molluscs [J]. Sci Karachi, 1976, (4): 77-94.
- [13] 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): 1-6.

(英文摘要见 519 页 For English Abstract see page 519)