

波纹巴非蛤染色体核型分析

蔡明夷¹, 郭洋¹, 柯才焕², 蔡冰冰¹, 刘贤德^{1*}

(1. 集美大学水产学院, 农业部东海海水健康养殖重点实验室, 福建 厦门 361021;
2. 厦门大学海洋与地球学院, 近海海洋环境科学国家重点实验室, 福建 厦门 361005)

摘要:取波纹巴非蛤担轮幼体为材料, 经秋水仙素浸泡、低渗处理后, 用卡诺氏固定液固定, 滴片后经 Giemsa 染色液染色镜检拍照, 利用 Photoshop 软件排列核型, Micromasure 3.3 软件测量染色体长度与臂比。结果表明, 波纹巴非蛤的染色体数为 38, 核型公式是 $2n=38=14m+12sm+4st+8t$, $NF=64$, 未发现随体染色体, 染色体绝对长度为 $1.5\sim 4.0\ \mu\text{m}$ 。所给出的波纹巴非蛤的核型, 为波纹巴非蛤的种质鉴定、资源保护与遗传育种研究提供了必要的基础资料。

关键词:波纹巴非蛤; 染色体; 核型

中图分类号: S 185

文献标志码: A

文章编号: 0438-0479(2012)05-0935-04

波纹巴非蛤 (*Paphia undulata*) 俗称油蛤、花蚶、花甲螺, 属软体动物门 (Mollusca), 双壳纲 (Bivalvia), 异齿亚纲 (Heterodonta), 帘蛤目 (Veneroida), 帘蛤科 (Veneridae), 巴非蛤属 (*Paphia*), 主要分布于印度尼西亚、马来西亚、韩国、中国, 常栖息在潮间带至潮下带 $0.5\sim 44\ \text{m}$ 的泥沙底质或软泥底质。在我国主要分布于浙江、福建南部、台湾、广西、海南北部沿海地区^[1-2]。波纹巴非蛤营养丰富, 养殖周期短、成本低、经济效益高, 是浅海增养殖的主要物种。目前, 针对波纹巴非蛤的研究报道主要集中于繁殖生物学^[3-5]、生理生态^[6-7]与增养殖技术^[8]。关于波纹巴非蛤的遗传学基础研究还相当薄弱, 仅见不同地理群体的形态差异分析^[9]及贝壳性状和韧带长与软体质量相关的研究^[10]。

染色体是遗传物质的主要载体, 了解染色体核型对于研究物种的遗传、变异、分类、系统演化、性别决定和育种等都具有重要意义。迄今波纹巴非蛤染色体核型的研究尚未见诸报道。本研究开展了波纹巴非蛤染色体核型分析, 以期了解其细胞遗传学特性, 为波纹巴非蛤的种质鉴定、资源保护与遗传育种研究提供必要的基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料

于厦门市农贸市场购买性成熟波纹巴非蛤, 鉴定种类后按吴陈州等^[8]报道的方法进行人工催产。收集受精卵, 用海水冲洗后转移至水族箱充气培养。受精后约 10 h, 胚胎发育至担轮幼体期, 用筛绢网收集幼体。

1.2 染色体标本的制备与观察

染色体标本的制备参考 Cai 等^[11]报道的方法, 波纹巴非蛤担轮幼体经筛绢网富集后, 放在质量分数为 0.05% 的秋水仙素的海水中培养 40 min, 在 0.075 mol/L KCl 溶液中低渗处理 40 min, 用卡诺氏固定液固定 3 次后, 1 000 r/min 离心 5 min, 加入适量卡诺固定液吹打后, 静置 1 min, 取悬液滴片, 每片滴 1~2 滴, 空气干燥。用体积分数为 4% Giemsa 染液染色 20 min, 自来水冲洗, 自然干燥后, 显微镜 (尼康 80i, 日本) 下观察拍照。

1.3 数据统计

随机选取 100 个以上轮廓清晰的染色体中期分裂相进行染色体计数, 根据众数确定染色体数目。选择染色体数目完全, 分散较好、形态清晰、长度适中的分裂相, 用 Micromasure 3.3 (<http://rydberg.biology.colostate.edu/MicroMeasure/>) 软件测量、计算染色体的相对长度和臂比。用 Adobe Photoshop 软件排列染色体, 参照 Levan 等^[12]提出的分组标准进行染色体分类。

收稿日期: 2011-12-27

基金项目: 福建省自然科学基金项目 (2011J01229); 海洋公益性行业科研专项 (201205021-02); 2010 年度福建省大学生创新性实验计划项目

* 通信作者: xdlu@jmu.edu.cn

2 结 果

2.1 染色体数

对波纹巴非蛤 111 个中期分裂相进行观察计数, 染色体数分布直方图如图 1 所示. 结果显示, 染色体众数为 38, 占计数细胞总数的 52.3%. 由此可以确定, 波纹巴非蛤的染色体数为 $2n=38$.

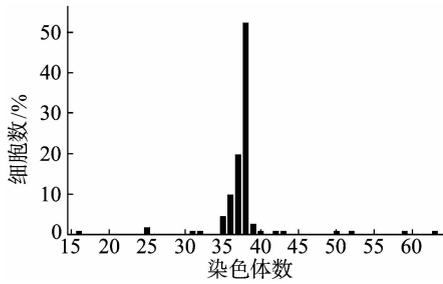


图 1 波纹巴非蛤染色体数分布直方图

Fig. 1 The histogram of chromosome count in *P. undulata*

2.2 染色体核型

波纹巴非蛤长度约为 $1.5\sim 4.0\ \mu\text{m}$. 不同中期相的核型具有多态性, 无法统一核型公式. 综合 5 个中期相的核型数据进行统计分析, 结果如表 1 所示. 根据统计结果可以判断, 波纹巴非蛤细胞的核型公式为 $2n=38=14m+12sm+4st+8t$, $NF=64$, 即中部着丝点染色体(m) 14 条, 亚中部着丝点染色体(sm) 12 条, 亚端部着丝点染色体(st) 4 条, 端部着丝点染色体(t) 8

条, 总臂数为 64. 波纹巴非蛤的中期分裂相和染色体核型图分别如图 2 所示. 基于染色体相对长度与臂比作二维分布图(图 3). 该图直观显示, 5 号、6 号和 7 号染色体臂比接近 m 和 sm 染色体的临界值 1.7, 而 9 号、10 号、12 号和 14 号染色体臂比又接近 sm 与 st 染色体的临界值 3.0.

波纹巴非蛤染色体中, 最长染色体与最短染色体的比值约为 2.75. 臂比大于 2 有 12 对, 占 63.2%. 按 Stebbins 的核型分类方法^[13]判断, 核型类型为 3 A, 属于中等对称核型. 核型不对称系数(长臂总长/全组染色体总长)为 0.72.

3 讨 论

已知染色体数的双壳类贝类中, 约 40% 的物种具有 38 条染色体, 具有一定的保守性^[14]. 帘蛤科贝类染色体数多数为 38 条, 但也有一些种类的染色体数低于 38 条^[15], 如青蛤(*Cyclina sinensis*)为 36 条^[16], 日本镜蛤(*Phacosoma japonica*)为 30 条^[17], 等边浅蛤(*Gomphina veneriformis*)为 36 条^[18]. 波纹巴非蛤的染色体数是 38 条, 与大多数已报道染色体数的帘蛤科贝类一致.

我们在研究中发现, 波纹巴非蛤幼体不同有丝分裂中期相之间没有统一的核型, 染色体核型具有多态性. 同一种贝类核型多态的现象屡有报道. Komaru 等发现同一种贝类的不同组织为材料的染色体长度有变化^[19]. 沈亦平等在近江牡蛎(*Ostrea rivularis*)染色体中曾观察到一些核型多态现象^[20]. 同一种贝类的核型

表 1 波纹巴非蛤核型数据

Tab. 1 The data of the chromosome karyotypical analysis in *P. undulata*

编号	相对长度/%	臂比	类型	编号	相对长度/%	臂比	类型
1	8.87±1.12	1.26±0.21	m	11	4.84±0.45	2.60±0.46	sm
2	7.84±1.26	1.20±0.20	m	12	4.60±0.26	2.83±0.51	sm
3	6.45±0.85	1.49±0.22	m	13	3.21±0.31	2.34±0.51	sm
4	5.69±0.82	1.13±0.13	m	14	4.60±0.09	3.24±0.21	st
5	4.83±0.36	1.63±0.23	m	15	3.93±0.42	3.72±0.48	st
6	4.35±0.67	1.45±0.16	m	16	5.60±0.77	∞	t
7	4.15±0.72	1.68±0.27	m	17	5.18±0.80	∞	t
8	6.70±0.42	2.16±0.21	sm	18	4.52±0.58	∞	t
9	5.81±0.27	2.84±0.41	sm	19	3.63±0.37	∞	t
10	5.22±0.34	2.78±0.52	sm				

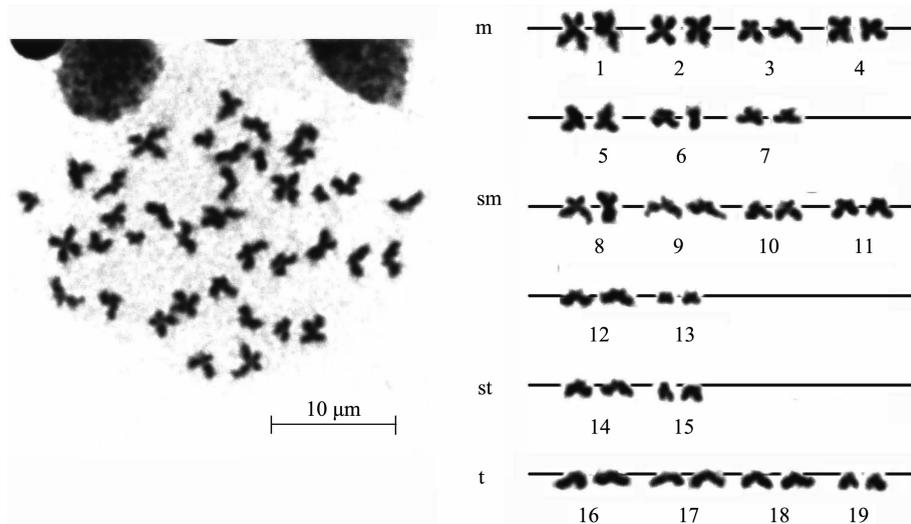


图 2 波纹巴非蛤的分裂中期相和核型图
Fig. 2 Metaphase and karyotype of *P. undulata*

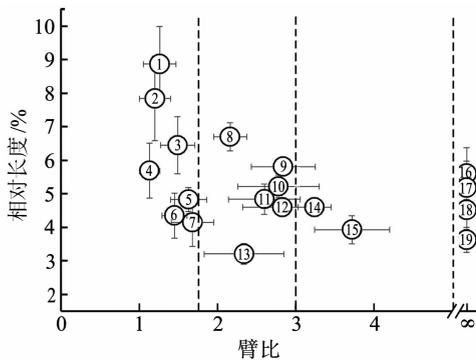


图 3 波纹巴非蛤核型相对长度-臂比二维分布图
Fig. 3 A two-dimensional reference plot of the relative chromosome length and arm ratio distribution in *P. undulata*

差异可能原因包括遗传差异和试验方法两方面:种群间差异、种群内变异和染色体变异均可能导致核型多态;秋水仙素浓度和处理时间、细胞的分裂状态,也可能影响染色体的形态和长度.本研究中,波纹巴非蛤有多条染色体的臂比邻近染色体的分类标准,如 5 号、6 号和 7 号染色体臂比接近 m 和 sm 染色体的临界值 1.7, 9 号、10 号、12 号和 14 号染色体臂比又接近 sm 与 st 的临界值 3.0. 这些染色体在不同分裂相中缢缩的程度不一样,长臂、短臂也可能发生不对称缢缩^[20], 导致它们不同的分裂相中表现为不同类型的染色体, 呈现出核型多态性.

由于多条染色体的臂比邻近分类标准,加上染色体分析本身存在的技术局限,确定波纹巴非蛤染色体核型公式具有一定困难,但根据统计结果可以判断,波

纹巴非蛤的核型公式为 $2n = 38 = 14m + 12sm + 4st + 8t$. Ahmed 曾提出, 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^[21]. 帘蛤科贝类的染色体组中以 m/sm 染色体为主,具有较稳定的细胞遗传学特征.波纹巴非蛤具有 6 对 st/t 染色体,与其他帘蛤科贝类相比,具有较多的单臂染色体^[15]. 根据核型特征,波纹巴非蛤与四角蛤蜊 (*Macetra veneriformis*) ($2n = 38 = 14m + 14sm + 10st/t$)^[17]、西施舌 (*Ceolomacetra antiqueata*) ($2n = 38 = 14m + 16sm + 8st/t$)^[23] 比较接近,而与日本镜蛤 ($2n = 30 = 10m + 12sm + 8st/t$)^[17] 等贝类的差异较大.

本研究是波纹巴非蛤染色体核型的初报,研究结果可为波纹巴非蛤的种质鉴定、资源保护与遗传育种研究提供必要的基础资料.然而,由于波纹巴非蛤中部分染色体的长度与臂比都很接近,如 9 号、10 号、11 号和 14 号染色体,用传统染色体核型分析的技术辨识难度较高,精细、准确的核型资料仍需要进一步开展带型和分子细胞遗传学研究.

参考文献:

[1] 庄启谦. 中国动物志:软体动物门,双壳纲,帘蛤科[M]. 北京:科学出版社,2001.
[2] 蔡英亚,张英,魏若飞. 贝类学概论[M]. 上海:上海科学技术出版社,1995:28-30.
[3] 黄松木,方火顺,吴和平,等. 云霄礁美海区波纹巴非蛤生物学特性及增殖研究[J]. 福建水产,1984(3):14-19.
[4] 赵志江,李复雪,柯才焕. 波纹巴非蛤的性腺发育和生殖周期[J]. 水产学报,1991,15(1):1-8.
[5] 吴洪流,王红勇. 波纹巴非蛤性腺发育分期的研究[J]. 海

- 南大学学报:自然科学版,2002,20(1):41-47.
- [6] 李俊辉,叶尚芳,杜晓东,等. 温度和规格对波纹巴非蛤耗氧率和排氨率的影响[J]. 水生生态学杂志,2010,31(5):96-99.
- [7] 王冬梅,李春强,彭明,等. 盐度、pH 对波纹巴非蛤(*Paphia undulate*)滤水率的影响[J]. 海洋通报,2009(2):23-27.
- [8] 吴陈州. 波纹巴非蛤海区增殖技术[J]. 中国水产,2005(2):60-62.
- [9] 刘建勇,吴继兴,孙成波. 我国东南沿海 5 个波纹巴非蛤(*Paphia undulata*)地理群体的形态差异分析[J]. 海洋与湖沼,2010,41(1):114-120.
- [10] 王庆恒,邓岳文,杜晓东. 波纹巴非蛤 *Paphia undulata* 表型性状通径和回归分析[J]. 热带海洋学报,2010,29(5):132-135.
- [11] Cai M Y, Ke C H, Luo X, et al. Karyological studies on the hybrid larvae of *Haliotis diversicolor supertexta* female and *H. discus discus* male[J]. J Shellfish Res, 2010,29(3):735-740.
- [12] Levan A K, Fredga K, Sanberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes[J]. Hereditas, 1964,52:201-220.
- [13] Stebbins G L. Chromosomal evolution in higher plants [M]. London, UK: Addison-Wesley, 1971.
- [14] 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.
- [15] 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.
- [16] 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:自然科学版,2001,29(1):95-96.
- [17] 阙华勇,齐秋贞,邱文仁. 帘蛤目(瓣鳃纲)四个种类的核型研究[C]//贝类学论文集(Ⅷ). 北京:学苑出版社,1999:75-85.
- [18] 于瑞海,王昭萍,邸炜鹏,等. 等边浅蛤染色体核型分析的研究[J]. 海洋湖沼通报,2010,23(6):61-64.
- [19] Komaru A, Wada K T. Karyotypes of four species in the Pectinidae (Bivalvia: Pteriomorpha) [J]. Venus, 1985, 44(4):249-259.
- [20] 沈亦平,刘汀,姜海波,等. 近江牡蛎染色体核型的研究[J]. 武汉大学学报:自然科学版,1994(4):102-106.
- [21] 王琼,童裳亮. 贻贝(*Mytilus edulis*)核型及染色体带型分析[J]. 动物学报,1994,40(3):309-316.
- [22] Ahmed M. Chromosome cytology of marine pelecypod molluscs[J]. J Sci Karachi, 1976(4):77-94.
- [23] 饶小珍,许友勤,陈寅山,等. 西施舌的核型分析 [J]. 动物学杂志,2003,38(2):2-5.

Karyotype Analysis on *Paphia undulata*

CAI Ming-yi¹, GUO Yang¹, KE Cai-huan², CAI Bing-bing¹, LIU Xian-de^{1*}

(1. Key Laboratory of Mariculture for the East China Sea, Ministry of Agriculture, Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China;

2. State Key Laboratory of Marine Environmental Science, College of Ocean & Earth Sciences, Xiamen University, Xiamen 361005, China)

Abstract: Trochophore of *Paphia undulate* was collected, and treated with colchicine, hypotonic solution and Karry's fixative. Afterwards, the chromosome specimens were prepared by dropping and stained with Giemsa solution. The length and the arm ratio of chromosomes were measured and calculated with Micromesure 3.3 software, and the karyotype was arranged with Photoshop software. The results show that the chromosome number of *P. undulate* is 38, and the karyotype formula can be summarized as $2n=38=14m+12sm+4st+8t$. The number of chromosome arm was 64. No satellite chromosome has been found in the chromosome set of *P. undulate*. The length of chromosome was about 1.5-4.0 μm . This is the first report on the karyotype of *P. undulate*, which will provide necessary information for further study on identification, resource protection and genetics and breeding.

Key words: *Paphia undulate*; chromosome; karyotype