

文章编号: 1004-7271(2002)02-0106-04

## 文蛤染色体的研究

吴萍, 董建萍, 倪建国, 崇加荣

(苏州大学水产系, 江苏苏州 215006)

**摘要:** 采用 PHA 和秋水仙素体内注射法, 以鳃组织为材料, 低渗—空气干燥法制片, 对文蛤的染色体进行了分析研究。结果表明, 文蛤染色体绝对长度较小, 为  $0.91 \sim 1.96 \mu\text{m}$ ; 其二倍体数目为  $2n = 38$ , 核型公式为  $N = 18m + 14sm + 6t$ , 染色体总臂数  $NF = 70$ 。同时, 本文还对帘蛤科种类的核型演化关系进行了初步探讨。

**关键词:** 文蛤 染色体 核型

中图分类号: S917.0343.2 文献标识码: A

### The study on chromosomes of *Meretrix meretrix*

WU Ping, DONG Jian-ping, NI Jian-guo, CHONG Jia-rong

(Aquaculture Department of Soochow University, Suzhou 215006, China)

**Abstract:** The mitotic chromosomes and karyotype of the bivalve, *Meretrix meretrix* were studied in this paper. The chromosomes were analysed by injecting PHA and colchicine in the *M. meretrix*. They were gained from the gill cells by low permeating and drying in the air. The absolute length of the chromosome was only  $0.91 - 1.96 \mu\text{m}$ . The diploid chromosome numbers were 38. According to the relative length and arm ratios, the diploid set of chromosomes was divided into 3 genomes. The chromosome formula was  $N = 18m + 14sm + 6t$ . The fundamental number of chromosome arms (NF) was found to be 70. The phylogenetic relationships among the Veneridae were preliminarily discussed as well.

**Key words:** *Meretrix meretrix*; chromosome; karyotype

染色体作为细胞遗传学的核心, 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, 我国已有 200 余种淡水鱼类进行过染色体组型分析, 而贝类由于其本身染色体较小、较难获得清晰的分裂相等原因, 染色体组型研究相对滞后, 至今仅对 22 种海洋贝类做过核型研究<sup>[1]</sup>。文蛤 (*Meretrix meretrix*) 为蛤中上品, 肉味鲜美, 素有“天下第一鲜”之美誉, 深受国内外消费者喜爱。近年来由于国际贸易的发展, 文蛤的需求量逐年上升, 促进了各地文蛤养殖事业的发展。我国文蛤苗源丰富, 又有辽阔的适于养殖文蛤的沿海滩涂, 发展文蛤养殖具有广阔的前景。目前, 对文蛤的研究主要集中于对其死亡原因的分析以及预防方法的探讨, 而其基础研究开展甚少。本文以文蛤的鳃组织为材料, 对其进行了核型研究, 并对帘蛤科的核型演化关系进行了探讨, 以期对文蛤的遗传育种提供细胞遗传学资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

试验用文蛤于 2001 年 3 月 - 5 月分 3 次购自苏州市百润发超市, 产自江苏启东, 壳长 3 ~ 5 cm, 体重 21.02 ~ 37.59 g, 带回实验室后于盐度为 25 的人工海水中暂养一天。

### 1.2 方法

采用鱼类染色体研究中常用的植物血球凝集素 (PHA) 体内注射法 (PHA 购于上海伊华临床医学科技公司), 每只文蛤注射四分之一支 PHA 24h 后, 按  $2\mu\text{g}/\text{g}$  (带壳重) 注射秋水仙素。4h 后, 解剖取鳃, 加少量  $0.075\text{mol}/\text{L}$  KCl 溶液研磨粉碎并将细胞悬液滤入烧杯, 置  $34^\circ\text{C}$  低渗 30min。随后  $1000\text{ r}/\text{min}$  离心 9min, 弃去上清液, 加入新配制的 Carnoy 液 (甲醇:冰醋酸 = 3:1) 固定 15min 后再离心 9min, 后重复固定并离心 2 次。最后一次固定并离心后, 弃去上清液, 加入 0.5ml 固定液, 制成悬液并滴于预先冰冻过的载玻片上, 干燥后用 Giemsa 液 (用  $\text{pH} = 6.8$  的磷酸缓冲液以 1:6 稀释) 染色, 二甲苯透明, 中性树胶封片, 烘干后镜检。选择分裂相较好的标本于 Olympus BH-2 显微镜下摄影。染色体分类根据 Levan 等<sup>[2]</sup> 的标准确定, 染色体分组参照 Bickhan<sup>[3]</sup> 的标准, 臂数统计按 Gornarf<sup>[4]</sup> 的方法进行, 即中部和亚中部着丝粒染色体的臂数计为 2, 亚端部和端部着丝粒染色体的臂数计为 1。

## 2 结果

### 2.1 文蛤的染色体二倍体数目

从鳃组织制片中计数 57 个中期分裂相, 其中染色体数目为 38 的, 有 34 个, 占总数的 59.65% (表 1), 由此可确定文蛤的染色体数目为  $2n = 38$ 。文蛤的中期分裂相见图 1。

### 2.2 文蛤的染色体组型分析

经对放大后照片上染色体长度的测量发现, 文蛤染色体大小为  $0.91 \sim 1.96\mu\text{m}$ , 平均长度为  $1.56\mu\text{m}$  (图 2), 未发现异形性染色体。根据二倍体染色体的相对长度和臂比的统计结果 (表 2), 可将文蛤的染色体分为 A、B、C 三组:

A 组: 1-9 号, 共 18 条染色体, 均为中部着丝粒染色体。第 1、2 号分别是同组中最大和次大的染色体, 易被鉴别。第 8、9 号染色体相对长度较小, 其余相邻染色体相对长度大小相差甚微。

B 组: 10-16 号, 共 14 条染色体, 均为亚中部着丝粒染色体。第 10 号是同组中最大的染色体, 相对长度比 A 组中第 2 号染色体大, 其余相邻染色体大小差异不明显。

C 组: 17-19 号, 共 6 条染色体, 均为端部着丝粒染色体。第 17 号是同组中最大的染色体, 易与其它染色体区分开, 第 18、19 号染色体相对长度相差不大。

因此, 文蛤的染色体核型为  $2n = 38 = 18\text{m} + 14\text{sm} + 6\text{t}$ , 染色体臂数  $\text{NF} = 70$ 。

表 1 文蛤的染色体数目

Tab.1 The chromosome number of *M. meretrix*

染色体数 ( $2n$ )	34	35	36	37	38	39	40	总数
细胞数 (个)	3	4	4	7	34	3	2	57
百分比 (%)	5.26	7.02	7.02	12.28	59.65	5.26	3.51	100

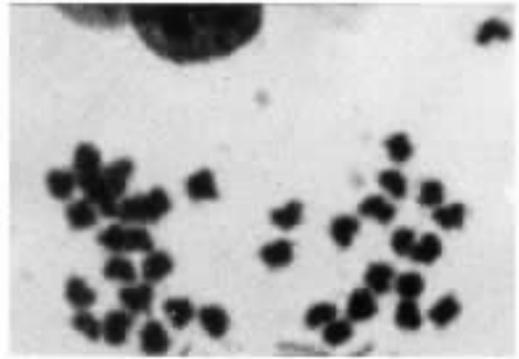


图 1 文蛤染色体中期分裂图

Fig.1 The metaphase chromosomes of *M. meretrix*

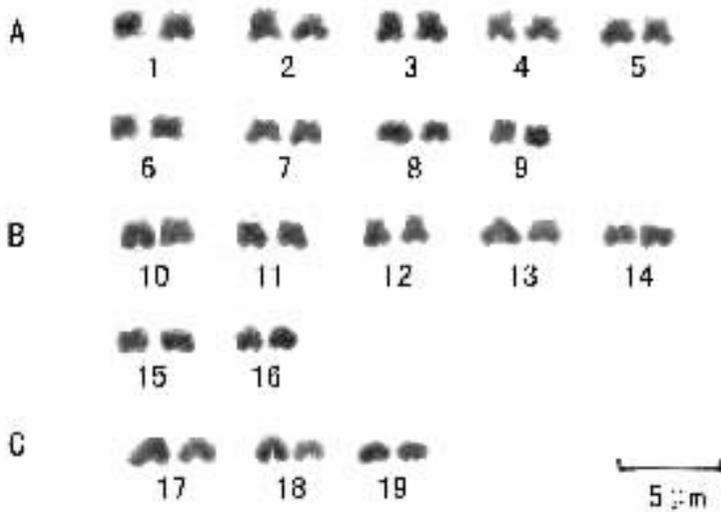


图2 文蛤核型图

Fig.2 The karyotype of *M. meretric*

### 3 讨论

#### 3.1 文蛤的核型

常建波等<sup>[5]</sup>曾报道过文蛤的二倍体染色体核型为  $2n = 38 = 18m + 20sm$ ,与本文所报道的二倍体染色体数目相同,但核型略有差异。前者报道的全为中部和亚中部染色体,而我们在研究中发现尚有6条端着丝粒染色体。由于在染色体制作过程中,用秋水仙素处理期间,其长臂和短臂往往不是成比例地缩短<sup>[6]</sup>,可能因此造成了核型上的微小差异。但是,这个差异是否提示了处于不同地理位置的文蛤可能属于不同的种群,尚有待进一步的研究。

本研究发现文蛤染色体的绝对长度较小,仅为  $0.91 \sim 1.96 \mu m$ 。由于染色体大小揭示了基因组的大小<sup>[7]</sup>,因此说明了文蛤基因组总体数目较小,这与双壳类本身在动物界的地位相吻合。此外,在制好的染色体标本中,染色体边缘不清晰,似有毛状物,说明了文蛤染色体中组蛋白的含量较高。

#### 3.2 贝类染色体的制备方法

由于现行的海洋贝类成体染色体制备技术尚不十分完善等原因,据统计,我国已进行过核型研究的贝类仅22种<sup>[1]</sup>。虽然贝类的幼体和胚胎是制备染色体的良好材料,但要受繁殖季节的限制。以鳃为材料制备染色体标本也是贝类细胞遗传学研究中的一个重要手段,并在贻贝(*Mytilus edulis*)、扇贝(*Chlamys farreri*)等多种贝类中取得了成功<sup>[6,8]</sup>。但采用这一方法时一般多用成体为试验材料,而成体动物的鳃发育基本停止,只有极少数细胞的死亡更替,所以往往制备的染色体标本分裂相比较少。王金星等<sup>[9]</sup>将鱼类染色体研究中常用的PHA注射法移植到缢蛏(*Sinonovacula constricta*)的染色体研究中,取得

表2 文蛤的染色体数据

Tab.2 The data of the chromosomes of *M. meretric*

组别	序号	相对长度	臂比	染色体形态
A	1	$6.69 \pm 0.45$	$1.29 \pm 0.28$	m
	2	$6.08 \pm 0.17$	$1.19 \pm 0.08$	m
	3	$5.88 \pm 0.27$	$1.03 \pm 0.04$	m
	4	$5.84 \pm 0.09$	$1.45 \pm 0.30$	m
	5	$5.64 \pm 0.15$	$1.64 \pm 0.11$	m
	6	$5.59 \pm 0.10$	$1.11 \pm 0.26$	m
	7	$5.02 \pm 0.26$	$1.61 \pm 0.14$	m
	8	$4.46 \pm 0.17$	$1.67 \pm 0.24$	m
	9	$4.35 \pm 0.27$	$1.10 \pm 0.08$	m
B	10	$6.17 \pm 0.37$	$2.17 \pm 0.30$	sm
	11	$5.87 \pm 0.11$	$2.10 \pm 0.06$	sm
	12	$5.69 \pm 0.12$	$2.27 \pm 0.71$	sm
	13	$5.68 \pm 0.18$	$2.03 \pm 0.45$	sm
	14	$5.57 \pm 0.18$	$2.10 \pm 0.15$	sm
	15	$5.14 \pm 0.55$	$1.89 \pm 0.45$	sm
	16	$4.93 \pm 0.39$	$2.45 \pm 0.16$	sm
C	17	$4.27 \pm 0.29$	>7	t
	18	$3.68 \pm 0.29$	>7	t
	19	$3.50 \pm 0.27$	>7	t

了较好的结果,分裂指数最高可达 1.3%,染色体收缩程度适中,分散也较好。本文采用此法也得到了较理想的分裂相。但石安静等<sup>[10]</sup>用圆背角无齿蚌(*Anodonta woodiana pacifica*)的血细胞在培养前活体注入 PHA、ConA 和在离体培养过程中加入多种浓度的 PHA、ConA 均未见细胞转化和有丝分裂相,因此,有必要找出合适的无脊椎动物的有丝分裂原,并结合细胞培养法,才可能使双壳类的核型分析能简便正确地进行。

### 3.3 帘蛤科种类的核型演化关系

迄今为止,世界上所报道的已做过染色体研究的 125 种双壳纲贝类中,40% 以上的种类都具 38 条染色体,说明了双壳纲染色体数目具有一定的保守性。其中帘蛤科的种类染色体数目都为 38 条(表 3),不同种类之间的差异主要体现在染色体类型上,即中部或亚中部着丝粒染色体、亚端部或端部着丝粒染色体数目不同,但从核型上看,多数为双臂染色体。Ahmed<sup>[14]</sup>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,因此,帘蛤科种类在染色体进化上比较保守,有稳定的

表 3 帘蛤科不同种类的核型比较

Tab.3 The comparison of karyotype of different species in the Veneridae

种类	染色体数目	双臂染色体	单臂染色体	文献
	n	m - sm	st - t	
温和翘鳞蛤( <i>Irus mitis</i> )	19	19		[11]
美女蛤( <i>Circe scripta</i> )	19	19		[11]
菲律宾蛤仔	19	19		[12]
( <i>Ruditapes philippinarum</i> )	19	19		[13]
<i>R. aureus</i>	19	17	2	[13]
<i>R. decussatus</i>	19	9	10	[13]
文蛤( <i>Meretrix meretrix</i> )	19	19		[5]
	19	16	3	

细胞学特征。不同种类在染色体组型上有一定差异,例如文蛤有 3 对单臂染色体,*Ruditapes aureus* 有 2 对单臂染色体,*R. decussatus* 有 10 对单臂染色体,其余种类都为双臂染色体。在鱼类中,低位类染色体数目多于中位类和高位类,且有较多的 st 和 t 染色体<sup>[15]</sup>,如果此规律对于贝类同样适用,那么从染色体类型上可说明文蛤是帘蛤科中比较古老的种群。文蛤与 *R. aureus* 在染色体组成上仅相差一对单臂染色体,说明两者亲缘关系较近,而与 *R. decussatus* 相差 7 对单臂染色体,则亲缘关系稍远。

本文照片的拍摄和冲洗得到吴康、李明老师的悉心指导及大力协助,谨致谢意。

### 参考文献:

- [1] 王梅林,郑家声,朱丽岩,等.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.
- [2] Levan A, Fredya K, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes[J]. Hereditas, 1964, 52(2):201-220.
- [3] Bickham J W. A cytosystematic study of turtles in the genera *Clemmys*, *Mauremys* and *Sacalia*[J]. Herpetologica, 1975, 31(2):198-204.
- [4] Gorman G C. The chromosomes of the Reptilia a cytotoxic interpretation. In 'Cytotaxonomy and vertebrate evolution'[M]. Edited by Chiarelli A B and Capanna E. Academic Press Inc, New York, 1973. 5-30.
- [5] 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.
- [6] 王琼,董裳亮.贻贝(*Mytilus edulis*)核型及染色体带型分析[J].动物学报,1994,40(3):309-316.
- [7] Macgregor H C, Verley J M. Working with animal chromosomes[M]. John Wiley & Sons, New York, 1983. 15-37.
- [8] 王梅林,郑家声,余海,等.栉孔扇贝 *Chlamys farreri* 染色体核型[J].青岛海洋大学学报,1990,20(1):81-84.
- [9] 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):191-194.
- [10] 石安静,邱安东,唐敏,等.圆背角无齿蚌血细胞培养[J].水生生物学报,2001,25(2):116-122.
- [11] Ieyama H. Studies on the chromosome in three species of the Veneriidae (Bivalvia, Heterodonta) [J]. Venus, 1980, 39(1):49-55.
- [12] 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.
- [13] Borsa P, Thiriot-Quievreux C. Karyogical and allozymic characterization of *Ruditapes philippinarum*, *R. aureus* and *R. decussatus* (Bivalvia, Veneridae) [J]. Aquac, 1990, 90, 209-227.
- [14] Ahmed M. Chromosome cytology of marine pelecypod mollusc [J]. J Sci Karachi, 1976, (4):77-94.
- [15] 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. 7-26.