

文章编号: 1004 - 7271(2008)05 - 0625 - 05

· 研究简报 ·

## 毛蚶、泥蚶、橄榄蚶的核型比较分析

陆荣茂<sup>1</sup>, 林志华<sup>1</sup>, 张永普<sup>2</sup>, 柴雪良<sup>1</sup>, 董迎辉<sup>1</sup>,  
肖国强<sup>1</sup>, 张炯明<sup>1</sup>, 方军<sup>1</sup>, 胡利华<sup>1</sup>

(1. 浙江省海洋水产养殖研究所, 浙江温州 325005;  
2. 温州大学生命与环境科学学院, 浙江温州 325027)

**摘要:**以毛蚶、泥蚶、橄榄蚶担轮幼虫为材料, 采用热滴片法, 进行染色体制备和核型分析, 结果表明: 毛蚶、泥蚶、橄榄蚶的二倍体染色体数目都为  $2N = 38$ , 核型公式分别为  $20m + 12sm + 6st$ ,  $22m + 12sm + 4st$ ,  $18m + 18sm + 2st$ , 染色体臂数(NF)分别为 70, 72, 74, 未发现性染色体和随体。从三种蚶核型不对称性的比较推测泥蚶进化程度最高, 类平均法聚类分析的结果显示橄榄蚶的进化程度在泥蚶和毛蚶之间, 并在亲缘关系上更接近于毛蚶。

**关键词:**毛蚶; 泥蚶; 橄榄蚶; 核型

中图分类号: S 917 文献标识码: A

## Comparison on the karyotypes of *Scapharca subcrenata*, *Tegillarca granosa* and *Estellarca olivacea*

LU Rong-mao<sup>1</sup>, LIN Zhi-hua<sup>1</sup>, ZHANG Yong-pu<sup>2</sup>, CHAI Xue-liang<sup>1</sup>, DONG Ying-hui<sup>1</sup>,  
XIAO Guo-qiang<sup>1</sup>, ZHANG Jiong-ming<sup>1</sup>, FANG Jun<sup>1</sup>, HU Li-hua<sup>1</sup>

(1. Zhejiang Mariculture Research Institute, Wenzhou 325005, China;

2. College of Life and Environmental Sciences, Wenzhou University, Wenzhou 325027, China)

**Abstract:** The karyotypes of diploid *Scapharca subcrenata*, *Tegillarca granosa* and *Estellarca olivacea* were studied in trochophores by means of hot-dropping method and could be described by  $20m + 12sm + 6st$  with  $NF = 70$ ,  $22m + 12sm + 4st$  with  $NF = 72$  and  $18m + 18sm + 2st$  with  $NF = 74$ , respectively. The diploid chromosome numbers were all  $2n = 38$ . The sex chromosomes and the satellites were not found. It was considered that *Tegillarca granosa* was more advanced than the other two species by the method of comparison on dissymmetry. The clustering analysis was made by group mean method, the result showed that the evolutionary degree of *Estellarca olivacea* lay between *Scapharca subcrenata* and *Tegillarca granosa* and the specific relationship of *Estellarca olivacea* and *Scapharca subcrenata* was more closer.

**Key words:** *Scapharca subcrenata*; *Tegillarca granosa*; *Estellarca olivacea*; karyotype

收稿日期: 2007-12-26

基金项目: 国家科技基础条件平台建设项目(2005DKA30470-015); 浙江省科技计划项目(2006C22010)

作者简介: 陆荣茂(1980-), 男, 浙江上虞人, 工程师, 主要从事海水贝类遗传育种方面的研究。Tel: 0577-88210966, E-mail: lrm1980@163.com

通讯作者: 林志华, E-mail: zhihua9988@126.com

蚶隶属于瓣鳃纲(Lamellibranchia),翼形亚纲(Pterimorphia),蚶目(Arcoida),蚶科(Arcidae)<sup>[1]</sup>,蚶肉含有丰富的蛋白质和维生素B<sub>12</sub>,血液中含有珍贵的滋补品——血红素,且味道鲜美,因此广受欢迎。毛蚶(*Scapharca subcrenata* Lischke)、泥蚶(*Tegillarca granosa* Linnaeus)在我国南北沿海都有分布,其中泥蚶更为我国海水养殖四大贝类之一,是浙闽一带主导养殖品种;橄榄蚶(*Estellarca olivacea* Reeve)是我国的经济贝类之一。

染色体组型研究是细胞遗传学的基础,作为遗传信息载体的染色体,其数目和形态结构具有物种的特征,而且还反映出生物进化的历史。1950年Stebbins<sup>[2]</sup>提出了核型的不对称类型理论,为以核型的不对称性比较解释物种的进化趋势提供了理论依据。在国内,谭远德等<sup>[3]</sup>于1993年提出核型似近系数聚类分析方法,并应用于10种淡水鱼的核型似近系数聚类分析,获得了与形态分类学非常一致的结果。但在软体动物中,还未见以核型的不对称性和聚类分析探讨物种间的进化趋势的报道。

本研究报道了毛蚶、泥蚶、橄榄蚶的染色体核型,其中橄榄蚶核型尚属首次报道,并以核型的不对称性和似近系数聚类分析比较代替了以往单纯根据st/t和m/sm型染色体数量的多少来推测物种进化趋势的方法,目的在于结合更为严谨的数学理论,将这三种蚶的进化趋势数字化,提供更可靠的染色体科学资料,以期为它们的种质资源保护和合理开发利用提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

毛蚶于2006年5月采自江苏启东海区,泥蚶、橄榄蚶于2006年6月分别采自浙江乐清湾滩涂和龙湾滩涂养殖区,经人工受精、孵化,取前期的担轮幼虫进行染色体制片。

### 1.2 染色体制片方法

取担轮幼虫于小试管中,以0.01%浓度秋水仙素处理样品30 min,0.075 M KCL低渗30 min,Carnoy氏液(甲醇:冰乙酸=3:1)固定3次。热滴片,空气中完全干燥后,以1:5的Leisman氏染色液染色30 min,自来水冲洗,空气干燥后镜检。

### 1.3 数据统计及核型分析

挑选清晰、臂长的染色体分裂相显微拍照计数,确定2倍体染色体数目。选取10个染色体形态较好的分裂相用软件DT2000中的曲线测量功能,测量长臂、短臂,计算相对长度、着丝粒指数和臂比,按染色体相对长度分组排队,Levan等<sup>[4]</sup>确定的标准对染色体进行分类,得出核型公式。

### 1.4 不对称性比较和聚类分析

参考Stebbins<sup>[5]</sup>的核型不对称性理论,核型不对称性系数按Arano方法<sup>[6]</sup>计算,不对称性指标包括染色体长度比(最长与最短染色体的相对长度之比)、平均臂比、臂比>2.0的染色体比(%)和不对称系数(长臂总长与全组染色体总长之比),各指标比值越大,核型显示越不对称,该物种进化程度越低。通过李峰等<sup>[7]</sup>编制的染色体核型分析系统软件用类平均法(UPGMA)对这3种蚶类的相对长度、臂比倒数、着丝粒指数和m、sm、st、t的染色体类型数量进行聚类,软件自动得出聚类图。

## 2 结果

### 2.1 二倍体染色体数目的确定

毛蚶、泥蚶、橄榄蚶分别记数114,91和103个二倍体分裂相,结果显示:38条染色体的分裂相分别占60.5%,69.9%和74.7%,占有绝对的数量优势;36条染色体的分裂相分别仅占7.9%,7.7%和6.6%,远少于前者;而40条的分裂相更少,可忽略不计(表1),因此确定毛蚶、泥蚶、橄榄蚶染色体数目都为 $2N=38$ 。

表 1 二倍体毛蚶、泥蚶和橄榄蚶的染色体数目

**Tab.1 The chromosome numbers of diploid *Scapharca subcrenata*, *Tegillarca granosa* and *Estellarca olivacea***

物种	染色体个数	<36	36	37	38	39	40
毛蚶 <i>Scapharca subcrenata</i>	细胞数(个)	9	9	15	69	12	0
	百分率	7.9	7.39	13.2	60.5	10.5	0
泥蚶 <i>Tegillarca granosa</i>	细胞数	4	6	9	68	4	0
	百分率	4.4	6.6	9.9	74.7	4.4	0
橄榄蚶 <i>Estellarca olivacea</i>	细胞数	6	8	11	72	5	1
	百分率	5.8	7.7	10.7	69.9	4.9	1

表 2 毛蚶、泥蚶和橄榄蚶的染色体核型指数

**Tab.2 The indices of karyotypes of diploid *Scapharca subcrenata*, *Tegillarca granosa* and *Estellarca olivacea***

编号	相对长度			着丝粒指数			臂比			类型		
	毛蚶 <i>Scapharca subcrenata</i>	泥蚶 <i>Tegillarca granosa</i>	橄榄蚶 <i>Estellarca olivacea</i>	毛蚶 <i>Scapharca subcrenata</i>	泥蚶 <i>Tegillarca granosa</i>	橄榄蚶 <i>Estellarca olivacea</i>	毛蚶 <i>Scapharca subcrenata</i>	泥蚶 <i>Tegillarca granosa</i>	橄榄蚶 <i>Estellarca olivacea</i>	毛蚶 <i>Scapharca subcrenata</i>	泥蚶 <i>Tegillarca granosa</i>	橄榄蚶 <i>Estellarca olivacea</i>
1	7.07±0.35	7.06±0.64	6.72±0.58	47.35±1.39	46.18±2.10	47.44±3.21	1.11±0.06	1.17±0.03	1.11±0.08	m	m	m
2	6.44±0.68	6.92±0.56	6.61±0.44	31.13±3.88	47.78±1.20	45.09±1.21	2.26±0.43	1.09±0.02	1.22±0.03	sm	m	m
3	6.21±0.22	6.50±0.45	6.42±0.57	45.57±0.91	42.17±1.30	31.18±2.12	1.19±0.04	1.38±0.18	2.21±0.15	m	m	sm
4	5.97±0.56	6.33±0.39	6.12±0.46	20.88±2.70	39.55±0.89	34.82±3.24	3.86±0.46	1.53±0.11	1.88±0.19	st	m	sm
5	5.84±0.19	6.07±0.24	5.83±0.34	48.46±0.43	32.12±0.99	31.51±1.65	1.06±0.02	2.12±0.21	2.18±0.12	m	sm	sm
6	5.80±0.38	6.05±0.36	5.48±0.45	33.79±2.05	30.21±1.21	32.78±2.36	1.97±0.18	1.80±0.15	2.08±0.15	sm	sm	sm
7	5.79±0.24	5.89±0.57	5.46±0.33	37.88±1.72	45.09±0.12	37.93±2.00	1.64±0.13	1.22±0.06	1.64±0.09	m	m	m
8	5.70±0.18	5.79±0.35	5.25±0.32	23.12±1.76	34.63±0.97	21.82±0.39	3.35±0.33	3.04±0.28	3.63±0.26	st	st	st
9	5.52±0.31	5.39±0.32	5.24±0.23	45.00±2.65	44.63±0.21	47.64±0.69	1.23±0.13	1.24±0.10	1.10±0.02	m	m	m
10	5.41±0.31	5.13±0.26	5.19±0.35	40.21±1.77	39.05±1.23	41.89±1.98	1.49±0.11	1.56±0.15	1.40±0.08	m	m	m
11	5.12±0.25	5.06±0.21	5.15±0.38	41.26±1.78	17.28±0.13	34.26±1.43	1.43±0.10	4.81±0.36	1.92±0.11	m	st	sm
12	5.09±0.53	4.83±0.31	5.14±0.26	21.49±1.52	36.80±1.34	41.94±1.90	3.67±0.35	1.73±0.12	1.39±0.05	st	sm	m
13	4.99±0.55	4.79±0.19	4.90±0.17	35.40±1.66	29.43±1.46	43.72±0.74	1.83±0.14	2.41±0.26	1.31±0.09	sm	sm	m
14	4.81±0.36	4.46±0.18	4.87±0.24	38.37±0.86	46.99±1.98	48.15±0.12	1.61±0.06	1.13±0.06	1.08±0.02	m	m	m
15	4.61±0.49	4.38±0.19	4.86±0.22	34.46±1.64	32.79±0.88	29.94±2.12	1.91±0.14	2.05±0.22	2.36±0.16	sm	sm	sm
16	4.49±0.41	3.99±0.23	4.25±0.15	30.20±3.14	43.48±2.10	33.15±1.24	2.34±0.36	1.48±0.12	2.02±0.22	sm	m	sm
17	3.76±0.50	3.94±0.34	4.23±0.16	44.85±1.87	44.61±1.42	39.99±2.15	1.23±0.10	1.24±0.10	1.50±0.12	m	m	m
18	3.71±0.47	3.75±0.22	4.22±0.22	40.77±2.96	36.13±1.12	32.45±1.88	1.46±0.19	1.77±0.12	2.10±0.18	m	sm	sm
19	3.68±0.39	3.67±0.16	4.05±0.28	31.08±2.11	45.09±1.01	25.97±1.12	2.23±0.22	1.22±0.04	2.96±0.23	sm	m	sm

2.2 染色体核型分析

毛蚶、泥蚶和橄榄蚶的二倍体染色体核型指数分别见表 2,核型公式分别为 20m + 12sm + 6st, 22m + 12sm + 4st, 18m + 18sm + 2st, 染色体臂数(NF)(m 和 sm 归为双臂, st 和 t 归为单臂)分别为 70,72,74,未发现性染色体和随体。毛蚶、泥蚶、橄榄蚶的二倍体染色体分裂相和核型分析图见图 1。

2.3 毛蚶、泥蚶和橄榄蚶的染色体不对称性比较和聚类分析

结合本研究与郑家声等<sup>[8]</sup>、王金星等<sup>[9]</sup>对毛蚶、泥蚶的核型数据,计算这 3 种蚶的各不对称性指标(t 型染色体臂比值取值 7.0 计算)(见表 3),结果橄榄蚶染色体长度比最小;平均臂比结果:毛蚶 > 橄榄蚶 > 泥蚶;臂比 > 2.0 的染色体比(%):橄榄蚶 > 毛蚶 > 泥蚶;不对称系数:毛蚶 > 橄榄蚶 > 泥蚶;对二倍体毛蚶、泥蚶、橄榄蚶的 19 对染色体统一从大到小对应排列,t 类型的臂比值以 7.0 取值,聚类

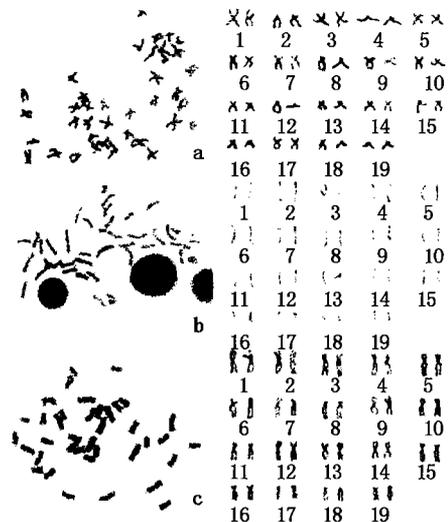


图 1 二倍体毛蚶、泥蚶、橄榄蚶的核型分析图(×1000)  
Fig.1 The karyotypes of diploid *Scapharca subcrenata*, *Tegillarca granosa* and *Estellarca olivacea*(×1000)  
a:毛蚶;b:泥蚶;c:橄榄蚶

结果见图 2。

表 3 毛蚶、泥蚶和橄榄蚶核型的不对称性比较

Tab.3 Comparison on dissymmetry among *Scapharca subcrenata*, *Tegillarca granosa* and *Estellarca olivacea*

种名	代号	核型公式	L/S	MAR	AR > 2 (%)	As. K% (%)	参考文献
橄榄蚶 <i>Estellarca olivacea</i>	E <sub>1</sub>	18m + 18Sm + 2st	1.66	1.85	42.11	62.92	本文
毛蚶 <i>Scapharca subcrenata</i>	S <sub>1</sub>	20m + 12sm + 6st	1.92	1.94	31.58	63.58	本文
毛蚶 <i>Scapharca subcrenata</i>	S <sub>2</sub>	14m + 22sm + 2st	2.06	1.87	31.58	64.14	郑家声等 <sup>[8]</sup>
毛蚶 <i>Scapharca subcrenata</i>	S <sub>3</sub>	18m + 16sm + 2st + 2t	1.39	2.09	31.58	63.62	王金星等 <sup>[9]</sup>
泥蚶 <i>Tegillarca granosa</i>	T <sub>1</sub>	22m + 12sm + 4st	1.92	1.79	26.32	61.68	本文
泥蚶 <i>Tegillarca granosa</i>	T <sub>2</sub>	28m + 10sm	2.22	1.49	10.53	58.89	郑家声等 <sup>[8]</sup>

注：“L/S”为染色体长度比；“MAR”为平均臂比值；“AR > 2.0(%)”为臂比值大于 2 的染色体所占百分比；“As. K%”为核型不对称性系数。

### 3 讨论

#### 3.1 毛蚶、泥蚶和橄榄蚶染色体对比较

结合郑家声等<sup>[8]</sup>、王金星等<sup>[9]</sup>的研究结果发现,泥蚶的第 16 对染色体都为 m 型,毛蚶、橄榄蚶都为 sm 型,可作为泥蚶和其他 2 种蚶的区分依据;第 14 对染色体都为 m 型,这可能是蚶科较原始的一对染色体。Hiroshi<sup>[10]</sup>认为蚶科有几个 st/t 染色体,本研究二倍体毛蚶、泥蚶、橄榄蚶的 st/t 染色体个数分别为 6,4,2,与他的这一观点相吻合,其中第 8 对染色体最具特征,研究结果显示毛蚶、橄榄蚶和泥蚶的这对染色体都为 st 型,仅郑家声等<sup>[8]</sup>认为泥蚶的第 8 对染色体为 m 型。作者从过去学者的研究中发现,除了扇贝以外,其他双壳贝类染色体中的 st/t 型数量要比 m/sm 型少得多,因此第 8 对染色体有可能成为蚶科属内或蚶科与其他相近科类的区分依据,这还需要更多蚶科物种染色体核型研究的证明。

#### 3.2 核型的不对称性比较及进化距离

在染色体数相同的情况下,单纯根据 st/t 和 m/sm 型染色体数量多少来推测物种的进化趋势,过于简单、草率。Stebbins<sup>[2]</sup>指出主要由大小相似的 m/sm 染色体组成的核型为对称核型,由大小差异很大或部分 st/t 染色体组成的核型为不对称核型。因此核型的不对称性差异本身已包含了 m/sm 和 st/t 型染色体数量的差异,同时它还将各条染色体的长、短臂进行更加细致的计算汇总,比单纯比较 m/sm 和 st/t 型染色体数量更精确和全面。

卞小庄等<sup>[11]</sup>认为鸟类核型染色体向匀称化方向进展;陈晓虹等<sup>[12]</sup>指出两栖类有尾目的核型演化方向:是从具有较多染色体数目的不对称核型,通过染色体重排及微小染色体的丢失过渡到染色体数目较少的对称型;在贝类研究中,孙振兴等<sup>[13]</sup>对大竹蛏(*Solen grandis*)、紫石房蛤(*Saxidomus purpuratus*)和中国蛤蜊(*Macra chinensis*)的染色体长度比、相对长度和平均臂比值作了对比,结果大竹蛏和紫石房蛤有较为对称的核型,中国蛤蜊则较为不对称,推测是由中国蛤蜊的核型演化过程中个别染色体发生移位等结构重排导致。

染色体不对称性比较的结果显示泥蚶的核型在 3 个指标上最为对称,毛蚶和橄榄蚶相对泥蚶更具不对称性,推测泥蚶在这 3 种蚶科类物种中的进化程度最高(表 3)。聚类分析的结果将郑家声等<sup>[8]</sup>、王金星等<sup>[9]</sup>和本研究的毛蚶归为一类,橄榄蚶和毛蚶最为相似,进化距离最小,泥蚶与它们的进化距离都

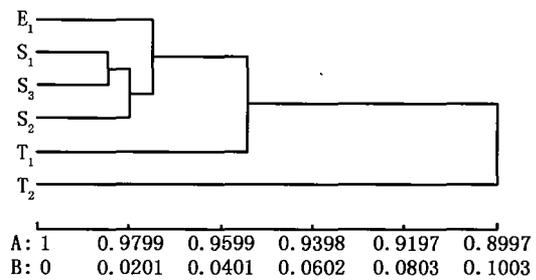


图 2 毛蚶、泥蚶和橄榄蚶的核型  
似近系数类平均法聚类图

Fig.2 The cluster figure of the karyotype resemblance-near coefficients for among *Scapharca subcrenata*, *Tegillarca granosa* and *Estellarca olivacea* by group mean method

A: 核型似近系数; B: 核型进化距离;

代号 E、S、T 注释见表 3。

较大,推测橄榄蚶的进化分类地位在泥蚶和毛蚶之间,并在亲缘关系上更接近于毛蚶。

#### 参考文献:

- [1] 王如才,王昭萍,张建中. 海水贝类养殖学[M]. 青岛: 青岛海洋大学出版社, 275.
- [2] Stebbins G L. Variation and evolution in plants[M]. New York: Columbia University Press, 1950: 442 - 475.
- [3] 谭远德,吴昌谋. 核型拟近系数的聚类分析方法[J]. 遗传学报, 1993, 20(4): 305 - 311.
- [4] Levan A, Fredya K, Sandberg A A. Nomenclature for centrometric position on chromosomes[J]. Hereditas, 1964, 52: 201 - 220.
- [5] Stebbins G L. Chromosomal evolution in higher plants[M]. London: Edward Arnold Ltd, 1971:85 - 104.
- [6] Arano H. Cytological studies in subfamily carduoideae (Compositae) of Japan IX[J]. Bot Mag (Tokyo), 1963, 76: 32 - 39.
- [7] 李 峰,潘沈元. 核型似近系数的聚类分析软件设计[J]. 徐州师范大学学报, 2005, 23(4): 64 - 67.
- [8] 郑家声,王梅林,郭丹红,等. 3种蚶染色体组型的比较研究[J]. 海洋学报, 1996, 18(3): 78 - 85.
- [9] 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.
- [10] Hiroshi K Nakamura. A review of molluscan cytogenetic information based on the CISMOCH — computerized index system for molluscan chromosomes. Bivalvia, Polyplacophora and Cephalopoda[J]. Venus, 1985, 44(3): 193 - 225.
- [11] 卞小庄,李庆伟. 鸟类核型进化的定向选择:更匀称性[J]. 辽宁动物学会会刊, 1986, 6(1): 1 - 15.
- [12] 陈晓虹,瞿文远. 我国现存有尾类及研究现状分析[J]. 河南师范大学学报, 2000, 28(1): 66 - 71.
- [13] 孙振兴,郭胜超,邵雁群,等. 三种海产帘蛤目贝类的核型研究[J]. 海洋学报, 2004, 26(1): 88 - 94.