

小荚蛭的核型分析

陆荣茂¹, 张永普², 林志华¹, 柴雪良¹, 董迎辉¹, 肖国强¹,
张炯明¹, 方 军¹

(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:以小荚蛭 (*Siliqua minimai* Gmelin) 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, 小荚蛭二倍体染色体数目为 $2n=38$, 核型公式为 $2n=12m+14sm+10st+2t$, 染色体臂数 (NF) = 64, 未发现性染色体和随体。与已经研究的大竹蛭、缢蛭和长竹蛭相比, 小荚蛭核型更不对称, st/t 类型数量更多, 推测小荚蛭较为原始。用类平均法对它们进行聚类分析, 结果小荚蛭与它们的亲缘关系最远。

关键词: 小荚蛭 (*Siliqua minimai* Gmelin); 染色体; 核型

中图分类号: Q343.2 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3096 (2007) 09-0034-05

小荚蛭 (*Siliqua minimai* Gmelin) 隶属软体动物门 (Mollusca)、瓣鳃纲 (Lamellibranchia)、真瓣鳃目 (Eulamellibranchia)、刀蛭科 (Cultellidae), 荚蛭属 (*Siliqua*), 分布于马来西亚、菲律宾和中国浙江以南沿海, 主要栖息于泥沙底和泥底的潮间带低潮区和浅海。小荚蛭是一类高蛋白、低脂肪的海产品, 且含有丰富的无机元素, 其中, 硒的质量比高达 3.36×10^{-3} mg/g^[1], 是一种有很好开发前景的健康食品。

目前, 蛭类的开发研究主要侧重于蛭科和竹蛭科, 有关小荚蛭的研究仅见张永普等^[1]的营养分析报道, 本研究首次报道了小荚蛭的染色体核型, 并以核型描述和比较分析的结果追溯核型进化的规律和机制, 为小荚蛭的细胞遗传学、分类学研究提供基础资料, 同时为海产经济贝类种质资源保护和合理开发利用提供基础数据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

小荚蛭亲贝采自浙江苍南龙港沿岸海区, 于 2006 年 6 月在浙江省海洋水产养殖研究所清江试验场人工繁殖, 受精卵在水温 26 °C 经 10 h 发育为担轮幼虫前期, 取样制片。

1.2 染色体制备方法

取小荚蛭担轮幼虫于小试管中, 以 0.01% 秋水仙素处理样品 30 min, 0.075 mol/L KCl 低渗 30 min, Carnoy 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 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 (100×染色体长度/单倍体染色体总长度)、着丝粒指数 (一条染色体短臂的长度/该条染色体的总长度) 和臂比 (长臂/短臂), 按染色体相对长度分组排队, 按 Levan 等^[2]确定的标准对染色体进行分类, 臂比指数 1.0~1.7 为中部着丝粒染

收稿日期:2007-06-18; 修回日期:2007-07-11

基金项目:国家科技基础条件平台建设项目 (2005DKA30470-015); 温州市科技计划项目 (S2004A001)

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, 电话: 0577-88210966, E-mail: lrm1980@163.com; 张永普, 通讯作者, 研究员, E-mail: zhangyongpu@hotmail.com

染色体 (m), 1.7~3.0 为亚中部着丝粒染色体 (sm), 3.0~7.0 为亚端部着丝粒染色体 (st), 指数>7.0 为端部着丝粒染色体 (t), 得出核型公式。

粒染色体, 第 2, 4, 9, 12, 16 为亚端部着丝粒染色体, 第 10 对为端部着丝粒染色体, 核型公式为 12m+14sm+10st+2t, NF=64(m 和 sm 归为双臂, st 和 t 归为单臂), 未发现性染色体和随体。

2 结果与分析

2.1 二倍体染色体数目的确定

共记数 90 个分裂相, 结果显示: 38 条染色体的分裂相占 64.4%, 因此可以确定小荚蛭染色体数目为 $2n=38$ 条; 而 36 条染色体的分裂相仅占 10%, 多于 38 条的分裂相仅占 1.1%, 如表 1 所示, 说明染色体制备过程中易发生同一染色体丢失、重叠。

2.2 染色体核型分析

把选取的 10 个分裂相在软件 DT2000 中分析, 如表 2。第 1, 7, 13, 15, 18, 19 对为中部着丝粒染色体, 第 3, 5, 6, 8, 11, 14, 17 为亚中部着丝

表 1 二倍体小荚蛭的染色体数目统计

2 倍体染色体数目	细胞个数	分裂相百分率(%)
<36	8	8.9
36	9	10.0
37	14	15.6
38	58	64.4
39	1	1.1
40	0	0

表 2 小荚蛭的染色体核型指数

Tab.2 The indices of karyotype of *Siliqua minimai*

染色体对	相对长度	着丝粒指数	臂比	染色体类型
1	6.74±0.431	38.499±3.825	1.53±0.05	m
2	6.36±0.455	20.522±1.385	3.85±0.23	st
3	6.22±0.522	34.784±2.340	1.88±0.12	sm
4	6.201±0.341	19.847±3.125	3.78±0.04	st
5	6.176±0.247	26.773±2.715	2.82±0.08	sm
6	5.955±0.420	36.790±3.122	1.71±0.14	sm
7	5.854±0.311	41.942±2.385	1.32±0.16	m
8	5.441±0.327	35.713±3.126	1.79±0.21	sm
9	5.376±0.220	24.344±1.255	3.66±0.31	st
10	5.348±0.322	12.264±2.221	7.42±0.32	t
11	5.311±0.325	35.127±0.982	1.87±0.13	sm
12	5.234±0.245	21.515±0.997	3.57±0.20	st
13	4.939±0.265	43.996±1.240	1.26±0.07	m
14	4.490±0.310	31.309±3.250	2.27±0.09	sm
15	4.322±0.244	41.445±2.220	1.46±0.12	m
16	4.310±0.125	20.408±1.365	4.27±0.23	st
17	4.302±0.142	25.872±0.275	2.76±0.08	sm
18	3.903±0.125	37.895±0.144	1.69±0.08	m
19	3.199±0.126	44.985±0.125	1.11±0.05	m

小荚蛭的染色体分裂相和核型分析见图 1。

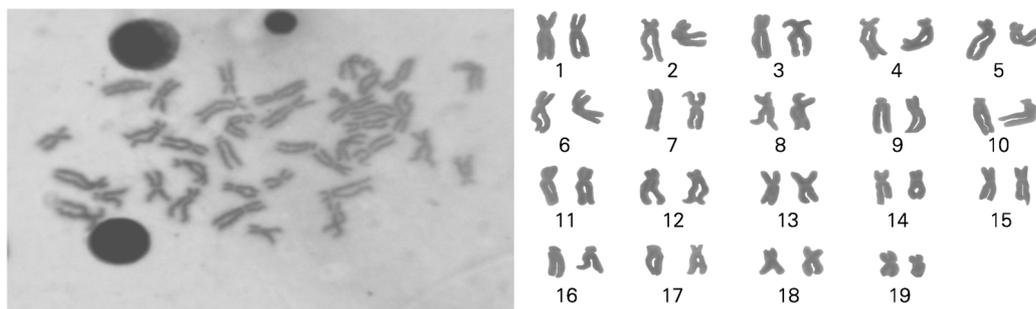


图1 小荚蛭的核型分析 (×1000)
Fig.1 The karyotype of *Siliqua minimai* (×1000)

3 讨论

3.1 小荚蛭与其它蛭类核型的不对称性比较

卞小庄等^[3]在比较 24 目 86 科 671 种鸟类核型的基础上,提出鸟类核型向染色体匀称化方向进展的模型。孙振兴等^[4]对大竹蛭 (*Solen grandis*)、紫石房蛤 (*Saxidomus purpuratus*)和中国蛤蜊 (*Mactra chinensis*) 的染色体长度比、相对长度和平均臂比值作了对比,结果大竹蛭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。参考 Stebbins^[5]

的核型不对称性理论,核型不对称性系数按 Arano 方法^[6]计算,对小荚蛭、大竹蛭^[4]、长竹蛭 (*Solen strictus*)^[7]和缢蛭 (*Sinonovacula constricta*)^[8]的数据进行计算(*t* 型染色体臂比值取值 7.0),各指标比值越大,核型显示越不对称,结果见表 3。作者通过对小荚蛭和其他竹蛭科物种核型不对称性的比较,得出结论:小荚蛭的核型在各个指标上的数值最大,最为不对称,大竹蛭和缢蛭次之,长竹蛭相对具对称性,推测小荚蛭在这 4 种蛭类物种中的进化程度最低。

表 3 小荚蛭与其他蛭科物种核型的不对称性比较

Tab.3 Comparison on dissymmetry between *Siliqua minimai*, *Solen grandis*, *Solen strictus*, and *Sinonovacula constricta*

种名	核型公式	染色体长度比*	平均臂比	臂比>2.0 的染色体 (%)	不对称系数 (%)	参考文献
小荚蛭	12m+14sm+10st+2t	2.10	2.61	47.37	69.15	本文
大竹蛭	26m+6sm+2st+4t	2.08	2.05	21.05	60.76	[4]
长竹蛭	30m+6sm+2t	1.84	1.64	10.53	57.58	[7]
缢蛭	26m+8sm+2st+2t	1.56	1.87	26.32	60.66	[8]

注: *染色体长度比,即物种二倍体核型中最长染色体对与最短染色体对相对长度之比

3.2 小荚蛭与其他蛭类核型的染色体类型比较

Ahmed^[9]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,在高等动物中具有较多 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,已有多位学者^[10, 11]引用来研究贝类的进化演化。小荚蛭与其他蛭类相比较,二倍体染色体数相同,都为 38 条,明显不同的是 st/t 类型染色体数量最多,达 12 条,明显多于大竹蛭 6

条、缢蛭 4 条和长竹蛭 2 条(表 3),这与其物种差异有关,其结果与不对称性比较的结果相吻合,进一步验证了小荚蛭的进化程度相对较低。

3.3 小荚蛭与其他蛭类核型的似近系数及进化距离

对二倍体小荚蛭、长竹蛭、缢蛭和大竹蛭的 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,通过李峰等^[12]的染色体核型分析系统用类

平均法 (UPGMA) 对这 4 种蛭类的相对长度、臂比、着丝粒指数和 m、sm、st、t 的染色体类型数量进行聚类, 聚类结果如图 2。缢蛭和大竹蛭最为相

似, 长竹蛭其次, 小菱蛭与它们进化距离最大, 亲缘关系最远。

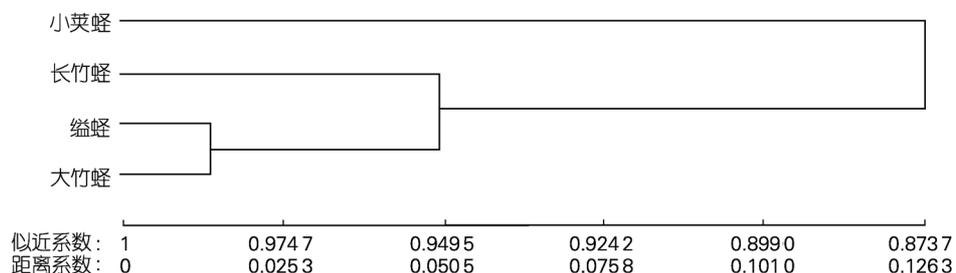


图 2 4 种蛭类的核型似近系数类平均法聚类图

Fig.2 The cluster figure of the karyotype resemblance –near coefficients between *Siliqua minima*, *Solen grandis*, *Solen strictus*, and *Sinonovacula constricta* by group mean method

从核型不对称性和染色体类型的比较上看可以推测小菱蛭在已分析的蛭类物种中最为原始, 且通过 4 种蛭类核型似近系数聚类, 得出小菱蛭与其他蛭类物种的差异较大, 因此对小菱蛭细胞分类学的进一步研究将极具价值。当然仅以染色体核型作为分类特征过于简单, 分子细胞遗传学方法能提供更精密的手段。

参考文献:

[1] 张永普. 小菱蛭肉营养成分的分析及评价[J]. 动物学杂志, 2002, 37 (6): 63-66.
 [2] Levan A, Fredga K, Sandbergm A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes [J]. *Hereditas*, 1964, 52: 201-220.
 [3] 卞小庄, 李庆伟. 鸟类核型进化的定向选择: 更匀称性[J]. 辽宁动物学会刊, 1986, 6(1): 1-15.
 [4] 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.

[5] Stebbins G L. Chromosomal evolution in higher plants[M]. London: Edward Arnold Ltd, 1971.
 [6] Arano H. Cytological studies in subfamily Carduoideae (Compositae) of Japan IX [J]. *Bot Mag* (Tokyo), 1963, 76: 32-39.
 [7] 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.
 [8] 王金星, 赵小凡, 周岭华, 等. 缢蛭的染色体研究[J]. 海洋与湖沼, 1998, 29 (2): 191-196.
 [9] Ahmed M. Chromosomes cytology of marine pelecypod mollusks[J]. *J Sci Karachi*, 1976, 4 : 77-94.
 [10] 吕振明, 柴雪良, 刘保忠, 等. 文蛤二倍体和三倍体染色体核型分析[J]. 中国水产科学, 2003, 10 (6): 519-522.
 [11] 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.
 [12] 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.

The preliminary study on karyotype of *Siliqua minimai* Gmelin

LU Rong-mao¹, ZHANG Yong-pu², LIN Zhi-hua¹, CHAI Xue-liang¹, DONG Ying-hui¹,
XIAO Guo-qiang¹, ZHANG Jiong-ming¹, FANG Jun¹

(1.Zhejiang Mariculture Research Institute,Wenzhou 325005, China; 2.College of Life and Environmental Sciences,
Wenzhou University, Wenzhou 325027, China)

Received: Jun.,18,2007

Key words: *Siliqua minimai* Gmelin; chromosome; karyotype

Abstract: The karyotype of *Siliqua minimai* was studied on its trochophore by means of hot-dropping method. The diploid chromosome number of *S. minimai* is $2n=38$ and the karyotype can be described by $12m+14sm+10st+2t$ with $NF=64$. The sex chromosomes and the satellites were not found. Compared with *Solen grandis*, *Sinonovacula constricta* and *Solen strictus*, the karyotype of *S. minimai* is more dissymmetrical and subtelocentric(st) and telocentric(t) type of chromosome number, so it was suggested that *S. minimai* is more primitive. The clustering analysis was made by group mean method among them and the result showed that there was the farthest relationship between *S. minimai* and other species.

(本文编辑: 张培新)