

# 扇贝科染色体研究进展

## Progress of Study on Pectinidae Chromosome: A Review

胡丽萍<sup>1,2</sup>, 黄晓婷<sup>1</sup>, 张玲玲<sup>1</sup>, 陆 维<sup>1</sup>, 包振民<sup>1</sup>

(1. 海洋生物遗传学与育种教育部重点实验室 中国海洋大学海洋生命学院, 山东 青岛 266003; 2. 烟台市水产研究所, 山东 烟台 264000)

中图分类号: Q343.2 文献标识码: A 文章编号: 1000-3096(2013)08-0130-07

扇贝科(Pectinidae)有300多个现存种,是双壳贝类中重要的一支,广泛分布于世界的各大洋中,并且具有重要的经济价值<sup>[1]</sup>。栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)、海湾扇贝(*Argopecten irradians irradians*)、虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*)、华贵栉孔扇贝(*Mimachlamys nobilis*)是我国主要的扇贝养殖种类,养殖年产量达120万t多,居世界首位。随着近年来扇贝养殖业的快速发展,其遗传育种研究取得显著成果,细胞遗传学是遗传育种研究的基础,也是开展遗传育种工作的重要理论依据。扇贝的细胞遗传学研究主要涉及核型分析、染色体鉴别、细胞遗传学图构建以及染色体结构和功能分析。由于扇贝染色体数目多,形态接近,很难从形态上区分不同的染色体,这在较长一段时期内,阻碍着细胞遗传学研究的深入开展。到目前为止,国内外已有核型报道的扇贝仅有14种,开展了带型研究的扇贝有8种,近年来荧光原位杂交技术在扇贝细胞遗传学中的应用,加快了扇贝染色体的研究进程,包括在扇贝染色体进化、细胞遗传学图构建、功能基因定位等方面均取得了突破性进展<sup>[2-27]</sup>。本文总结近年来扇贝染色体研究的相关文献,对扇贝染色体研究方面近年来取得的成果进行综述,并对将来的应用前景作一展望。

### 1 染色体组型研究

染色体组型代表了一个物种或个体在染色体水平上的表型,它主要包括两部分内容:染色体数目和染色体形态。由于不同研究者所采用实验条件的差异,可能导致染色体组型分析结果略有不同。因而,染色体组型只能对物种染色体的特征做出较粗略的描述。目前国内外有染色体组型报道的扇贝有14种(表1),染色体数目主要为 $2n=26, 32, 38$ ,其中具有38条染色体的有10种,32条的有3种,26条的仅有1种,为女王扇贝<sup>[19]</sup>。这些数据支持扇贝科祖先单倍

体染色体数目为19的假说<sup>[28-29]</sup>,该假说基于4个属的大部分物种单倍体染色体数目为19的事实。根据已报道的核型公式,扇贝科种类的核型变化差异较大,绝大多数既有m/sm类型又含有t/st类型的染色体,仅有海湾扇贝的染色体全部为t/st类型。我国主要养殖的4种扇贝,核型公式均有报道,栉孔扇贝的核型公式 $6m+10sm+22st$ ,虾夷扇贝的核型公式 $6m+10sm+16st+6t$ ,海湾扇贝的核型公式 $6st+2st/t+24t$ ,华贵栉孔扇贝的核型公式 $6m+26t$ 。

目前,扇贝科物种的染色体研究进展仍然比较缓慢,这与该类群染色体研究的某些限制有关。一般来说,要想获得比较满意的分裂相,以胚胎细胞取材较好,但这种取材方式受到贝类繁殖季节和取材的严重限制。此外,利用生殖腺细胞同样受到季节限制,而且这一时期的染色体长度很小,不利于进行常规核型分析<sup>[30]</sup>。如果利用成体的组织(如鳃),虽然这种取材途径具有方便、快捷,并且不受季节的限制,但是由于成体代谢速度较慢而得到的分裂相很少。培养细胞也是进行染色体研究的优良材料,但是软体动物的细胞培养技术至今也没有大的突破。另外,贝类动物的染色体通常较小,研究难度比较大,很多种类的核型差别不大,难以区分。这些因素都严重限制了贝类染色体研究的进程。

### 2 染色体带型研究

显带技术能显示染色体的内部结构,提供更多具染色体鉴定性特征的信息。它不仅能更准确地对同源染色体进行配对,而且能更精细地分析染色体

基金项目: 国家自然科学基金项目(31270047); 国家高技术研究发展计划(2012AA10A410); 国家科技支撑计划(2011BAD45B01); 现代农业产业技术体系建设专项资金资助(CARS-48)

作者简介: 胡丽萍(1985-),女,山东寿光人,博士研究生,主要从事贝类细胞遗传学研究, E-mail: liping.hu1985@163.com; 黄晓婷,通信作者,电话: 0532-82031802, E-mail: xthuang@ouc.edu.cn

的结构和变化。已在动、植物和人类染色体研究中成为鉴定染色体组或个别染色体、探讨物种进化及分析物种分类等问题的有效手段之一。关于扇贝染色体带型的报道,国内外文献均不太多,这很大程度上与贝类缺乏细胞培养体系,难以得到高质量的染色体标本有关。目前仅在少数物种中有过相关报道,见表1。

## 2.1 C 带

C 带主要显示染色体的异染色质部分,具有物种的染色体特异性,即每条染色体上带的数目、位置、宽窄及染色深浅等均具有相对的稳定性,可被用来鉴别染色体和研究染色体的结构与功能。由于 C 带的多态性,在研究物种的亲缘关系和进化上也是非常有用的。目前仅有 3 种扇贝开展了 C 带分析(表 1),扇贝的 C 带多位于着丝粒位置,如女王扇贝,其 C 带主要为着丝粒带及中间带;*Nodipecten nodosus* 的 C 带主要存在于近着丝粒,以及部分端部和中间区域;海湾扇贝的 C 带主要分布于着丝粒区、端部和少量中间区域。

## 2.2 NORs 带

NORs 显带技术是用于显示核仁组织区(NORs)的方法,最初由 Matsui 和 Sasaki 报道<sup>[31]</sup>。不少研究者发现,银染色的不是核糖体基因(rDNA)的本身,而是与核糖体转录有关的一种酸性蛋白。因此,银染色的是有转录活性的 NORs,一般 NORs 位于次缢痕的位置。不同物种 NORs 的位置和数目均不同,甚至同一种物种的不同品种 NORs 出现的频率也存在多态性。因此,常用这种方法研究物种进化、亲缘关系。NORs 带在扇贝中的研究略多于 C 带,共有 8 个物种有过报道(表 1),其中栉孔扇贝 1~2 对 NORs 带,*Hinnites distortus* 1~2 对 NORs 带,女王扇贝 1~2 对 NORs 带,*M. varia* 和南极扇贝有 1 对 NORs 带,海湾扇贝有 2 对 NORs 带,紫扇贝的 NOR 有 3~5 对 NORs 带,*N. nodosus* 有 2~4 对 NORs 带。扇贝 NORs 带出现多态现象,这在其他双壳贝类如贻贝中也报道过<sup>[32]</sup>,暗示双壳贝类个体/细胞间 rDNA 转录活性存在差异。另外, NORs 带的数目一般随演化程度的提高由少变多,扇贝 NORs 数据对揭示其进化关系有一定帮助。

## 2.3 荧光带

荧光带型是根据荧光染料(DAPI, PI, CMA<sub>3</sub> 等)在染色体不同结构区域显示的颜色深浅不同而产生

的带型,通常用于揭示染色体上的 AT/GC 富含区,该带型可作为识别特定染色体的重要标志<sup>[30]</sup>。目前共有 6 种扇贝开展了荧光带研究,包括栉孔扇贝,虾夷扇贝,*H. distortus*, 紫扇贝,海湾扇贝和南极扇贝。扇贝的荧光带主要出现在着丝粒,端部以及少量中间区域,与 C 带结果经常呈现一致的现象,都反映的是染色体上组成型异染色质区域。

## 2.4 RE 带

应用限制行内切酶(RE)特异性的识别位点,在染色体上进行原位酶切,通过染料染色使染色体表现出物种特有的带型的方法。该方法仅在南极扇贝中有过报道,分别应用 AluI, HaeIII 和 Sau3A 三种限制性内切酶对染色体进行原位酶切,仅 HaeIII 酶切后产生出与 C 带相似的带型结果。

## 3 FISH 技术在扇贝染色体研究中的应用

荧光原位杂交(Fluorescence in situ hybridization, 简称 FISH)技术是一种灵敏、快速、准确有效的染色体分析技术,已被广泛用于动植物分子细胞遗传学的研究,如染色体鉴定、基因作图及染色体进化等。随着不同种类荧光探针的获得,双壳贝类染色体的研究获得快速的发展,尤其是在 2000 年之后(表 1)。目前,该技术已应用在 10 种扇贝中,被定位的探针涉及 rDNA, 端粒序列, 基因, 大片段基因组文库克隆(fosmid, BAC)。

### 3.1 rDNA 基因的定位

利用 FISH 技术对 rDNA 的定位,可以了解基因组中的核仁组织区域(NORs)的分布状况,与 NORs 带结果一致。在扇贝中,共有 10 种扇贝的 rDNA 得到了定位(表 1)。18SrDNA 在 6 种扇贝包括女王扇贝、栉孔扇贝、华贵栉孔扇贝、欧洲大扇贝、南极扇贝和 *M. varia* 均显示 1 对位点; 3 种扇贝包括海湾扇贝、虾夷扇贝和 *H. distortus* 显示 2 对位点; 而紫扇贝染色体上显示了 6~7 个位点。5S rDNA 在女王扇贝、海湾扇贝、紫扇贝和华贵栉孔扇贝显示 2 对信号位点,但前三种扇贝的信号位点位于相同的染色体上邻近区域,而华贵栉孔扇贝的 5SrDNA 信号分别位于两条染色体上。在欧洲大扇贝、栉孔扇贝、虾夷扇贝、*M. varia* 和 *H. distortus* 均显示 1 对信号位点。rDNA 的 FISH 定位结果已被用于扇贝的进化分

表 1 扇贝科物种染色体研究概况

属名/种名	2n	核型公式	带型研究与否			FISH 定位的基因组片段	参考文献
			C	NORs	Flrc		
<b><i>Chlamys</i></b>							
栉孔扇贝 ( <i>Chlamys farreri</i> )	38	3m+1sm+6sm/st+7st+2st/t	-	-	-		[2]
		3m+5sm+11st	-	-	-		[3]
		3m+4sm+7sm/st+4st+1st/t	-	-	-	rDNA (major & minor)	[4]
		4m+5sm+10st	-	-	-		[5]
		3m+5sm+11st	-	√	-	rDNA (major & minor) and Telomeric sequence	[6]
			-	-	-	Histone H3 gene	[7]
			-	-	-	19 fosmid clones	[8]
			-	-	-	BAC clones(HSP70 基因)	[9]
			-	-	-	BAC clones(丝氨酸蛋白酶基因)	[10]
			-	-	-	BAC clones(LGBP 基因)	[11]
			-	√	-		[12]
			-	-	-	BAC clones(NDPK 基因)	[13]
			-	-	-	100 BAC clones(SSR,功能基因等)	[14]
<b>虾夷扇贝 (<i>Patinopecten yessoensis</i>)</b>							
	38	2m+1m/sm+4sm+6sm/st+3st+3t	-	-	-		[2]
		3m+5sm+8st+3t	-	-	-		[5]
		3m+5sm+8st+3t	-	-	-	Histone H3 gene	[7]
			-	√	-	rDNA (major & minor) and Telomeric sequence	[15]
<i>Himmites distortus</i>	38	3m/sm+1sm+1sm/st+14st	-	√	-	rDNA (major & minor)	[16]
<b><i>Mimachlamys</i></b>							
<b>华贵栉孔扇贝 (<i>Mimachlamys nobilis</i>)</b>							
	32	3m+13t	-	-	-		[2]
		3m+13t	-	-	-	rDNA (major)	[6]
			-	-	-	Histone H3 gene	[7]
			-	-	-	rDNA (major & minor) and Telomeric sequence	[14]
<b><i>Mimachlamys varia</i></b>							
	38	5m+10sm+4t	-	-	-		[17]
		4m+2sm/st+9st+4st/t	-	√	-	rDNA (major & minor)	[18]

续表

属名/种名	2n	核型公式	带型研究与否				FISH 定位的基因组片段	参考文献
			C	NORs	Flrc	RE		
<b>Aequipecten</b>								
女王扇贝 ( <i>Aequipecten opercularis</i> )	26	2m+4m-sm+7t	√	√	-	-	rDNA (major & minor)	[19]
紫扇贝 ( <i>Argopecten purpuratus</i> )	32	2m+7m-sm+3st+4t 5st+11t	-	-	-	-	-	[20] [21]
海湾扇贝 ( <i>Argopecten irradians irradians</i> )	32	5st+11t 3st+1st/t+11t	√	√	-	-	rDNA (major & minor) and Telomeric sequence	[13] [4] [22]
<b>Palliolium</b>								
加拿大海扇贝 ( <i>Placopecten magellanicus</i> )	38	5sm+10st+4t	-	-	-	-	-	[7] [23]
<b>Pecten</b>								
欧洲大扇贝 ( <i>Pecten maximus</i> )	38	2m+2sm+1st+14t 1m+2m/sm+1t/st+15t	-	-	-	-	rDNA (major & minor)	[24] [18]
嵌条扇贝 ( <i>Pecten albicans</i> )	38	1m+1m-sm+3sm-st+14t	-	-	-	-	-	[2]
南极扇贝 ( <i>Adamussium colbecki</i> )	38	11m+5sm+1st+2t	-	√	√	√	rDNA (major)	[25]
<i>Evola zizac</i>	38	5m+6sm+7st+1t	-	-	-	-	-	[26]
<i>Nodipecten nodosus</i>	38	6m+6sm+7st 4m+5sm+7st+3t	√	√	-	-	-	[27] [26]

注: 2n: 二倍体数目; m 为中部着丝粒染色体; sm 为亚中部着丝粒染色体; st 为亚端部着丝粒染色体; t 为端部着丝粒染色体; m/sm, sm/st 和 st/t 代表该染色体可归为两种类型; C: C 带; NORs: 银染带; Flrc: 荧光酶带; RE: 限制酶带; “√”: 该物种已开展该带型研究; “-”: 该物种未开展该带型研究; FISH: 荧光原位杂交; DNA(major): 18S 核糖体 DNA; rDNA(minor): 5S 核糖体 DNA; BAC: 细菌人工染色体

析。如根据海湾扇贝和栉孔扇贝的核型及 rDNA 的定位结果,支持扇贝科祖先的单倍体染色体数目为 19,且根据栉孔扇贝拥有 1 对 18SrDNA 位点,1 对 5SrDNA 位点且位于相同染色体上,而海湾扇贝拥有 2 对 18SrDNA 位点,1 对 5SrDNA 位点且分别位于 3 对染色体上,认为栉孔扇贝在进化地位上比较古老,而海湾扇贝为进化而来的<sup>[3]</sup>。根据南极扇贝和 *H. distortus* 拥有非端部的 rDNA 位点,且均拥有 38 条染色体,但核型公式不同,推测在染色体进化过程中发生过染色体倒位<sup>[25]</sup>。而华贵栉孔扇贝的 18SrDNA 定位在 1 对长的中部着丝粒染色体的着丝粒区域,这在扇贝科物种甚至双壳贝类中都是非常罕见的,而且该扇贝染色体数目仅有 32 条,依据扇贝科祖先单倍体染色体数目为 19 的假说,可以推测华贵栉孔扇贝的这条长的中部着丝粒染色体是通过罗伯逊融合进化来的<sup>[6]</sup>。

### 3.2 端粒序列的定位

端粒是指染色体末端所特有的帽子片段。脊椎动物的端粒大部分为(TTAGGG)的核苷酸重复。而大部分贝类的端粒序列还是未知的。应用 FISH 技术,脊椎动物端粒序列(TTAGGG)<sub>7</sub> 定位在 5 种扇贝所有染色体端部,包括栉孔扇贝,虾夷扇贝,华贵栉孔扇贝,紫扇贝和海湾扇贝,因此重复序列(TTAGGG)<sub>n</sub> 很有可能就是扇贝的端粒序列。

### 3.3 组蛋白 H3 基因的定位

组蛋白(histone)是所有真核生物染色体内与 DNA 结合的碱性蛋白质。不同生物中组蛋白基因在基因组中的排列不同,没有特定的排列方式,而在拷贝数高的基因组中(>100 拷贝),大部分的组蛋白基因呈串联重复的基因簇形式存在。应用 FISH 技术,组蛋白 H3 基因已经定位在了 4 种扇贝的染色体上(表 1),分别为栉孔扇贝的一对亚中部着丝粒染色体短臂端部,虾夷扇贝的一对亚中部着丝粒染色体的短臂中部以及一对亚端部着丝粒染色体的长臂中部,华贵栉孔扇贝的一对端部着丝粒染色体端的长臂端部,海湾扇贝的一对端部着丝粒染色体的长臂的中部,根据组蛋白 H3 基因在 4 种扇贝染色体上的位置及数目,推测基因复制/缺失、倒位和易位在扇贝科物种染色体在进化过程中发生了重要作用。

### 3.4 大片段基因组文库克隆的染色体定位

由于单/低拷贝基因常为 1 至数 kb 小片段 DNA,

进行 FISH 定位时杂交灵敏度和信号检出率严重受限。大片段基因组文库,如 Fosmid、P1、BAC、PAC 等,由于其较大的插入片段而成为实现单/低拷贝基因序列定位理想的探针来源,利用大片段基因组文库克隆制备成探针将大大提高单/低拷贝基因定位的成功率。随着近年来基因组学研究的快速发展,栉孔扇贝的 fosmid 文库<sup>[33]</sup>, BAC 文库<sup>[34-35]</sup> 得到构建。利用栉孔扇贝 fosmid 文库, Zhang 等<sup>[8]</sup> 将 19 个 fosmid 克隆进行了 FISH 定位研究,并利用其中 8 个克隆实现了栉孔扇贝 8 对染色体的识别鉴定。利用栉孔扇贝 BAC 基因组文库, 郇聘等<sup>[9-11]</sup> 和黄超等<sup>[13]</sup> 将 4 个包含抗性基因的 BAC 克隆定位到染色体上。胡丽萍<sup>[14]</sup> 利用 BAC-FISH 技术实现了栉孔扇贝 SSR 遗传连锁图谱与染色体图谱的整合,并筛选出一套可以识别栉孔扇贝所有染色体的探针组合,建立了包含 70 个标记的栉孔扇贝细胞遗传学图谱。

## 4 问题与展望

扇贝的染色体研究,相对于很多哺乳动物和植物而言还是非常滞后的,还未见关于扇贝染色体的精细结构的研究报道,扇贝染色体识别鉴定、染色体进化的研究也还处于起步阶段。随着扇贝高密度遗传连锁图谱的构建,基因组计划的开展,建立扇贝 BAC-FISH 技术体系,整合染色体图谱与遗传连锁图谱,将有助于辅助扇贝基因组的拼接组装,揭示扇贝染色体的基本结构与功能以及开展功能基因组的研究。

参考文献:

- [1] Brand A R. Scallop ecology: distributions and behavior [J]. *Developments in Aquaculture and Fisheries science*, 2006, 35: 651-744.
- [2] Komaru A, Wada K T. Karyotypes of four species in the Pectinidae (Bivalvia: Pteriomorpha) [J]. *Venus*, 1985, 44: 249-259.
- [3] 王梅林, 郑家声, 余海. 栉孔扇贝 *Chlamys farreri* (Jones & Preston, 1904) 染色体核型 [J]. *青岛海洋大学学报*, 1990, 20 (1): 81-85.
- [4] Wang Yongping, Guo Xingming. Chromosomal rearrangement in Pectinidae revealed by rRNA loci and implications for Bivalve evolution [J]. *Biological Bulletin*, 2004, 207: 247-256.

- [5] 周丽青, 杨爱国, 刘志鸿, 等. 栉孔扇贝×虾夷扇贝杂交子一代与双亲染色体核型的分析[J]. 水生生物学报, 2005, 29 (1): 105-109.
- [6] 黄晓婷. 扇贝染色体的细胞遗传学研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2007.
- [7] Zhang Lingling, Bao Zhenmin, Wang Shi, et al. Chromosome rearrangements in Pectinidae (Bivalvia: Pteriomorphia) implied based on chromosomal localization of histone H3 gene in four scallops [J]. *Genetica*, 2007, 130: 193-198.
- [8] Zhang Lingling, Bao Zhenmin, Wang Shi, et al. FISH mapping and identification of Zhikong scallop (*Chlamys farreri*) chromosomes [J]. *Marine Biotechnology*, 2008, 10: 151-157.
- [9] 郇聘, 张晓军, 李富花, 等. 栉孔扇贝热休克蛋白70(HSP70)基因的 BAC-FISH 定位[J]. 海洋科学, 2009, 33(7): 10-15.
- [10] 郇聘, 张晓军, 李富花, 等. 一种栉孔扇贝丝氨酸蛋白酶基因的染色体定位及其内部 SNP 的研究[J]. 遗传, 2009, 31(12): 1241-1247.
- [11] Huan Pin, Zhang Xiaojun, Li Fuhua, et al. Chromosomal localization and molecular marker development of the lipopolysaccharide and beta-1,3-glucan binding protein gene in the Zhikong scallop *Chlamys farreri* (Jones et Preston) (Pectinoidea, Pectinidae)[J]. *Genetics and Molecular Biology*, 2010, 33(1): 36-43.
- [12] 徐俊, 包振民, 任晓亮, 等. 栉孔扇贝 DAPI 带型和 PI 带型研究[J]. 中国海洋大学学报, 2011, 4: 77-80.
- [13] 黄超, 郇聘, 张晓军, 等. 栉孔扇贝 NDPK 基因的 BAC-FISH 定位研究[J]. 海洋科学, 2012, 36(1): 1-5.
- [14] 胡丽萍. 扇贝的染色体作图及系统进化分析[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2013.
- [15] Huang Xiaoting, Hu Xiaoli, Hu Jingjie, et al. Mapping of ribosomal DNA and (TTAGGG)<sub>n</sub> telomeric sequence by FISH in the bivalve *Patinopecten yessoensis* (Jay, 1857) [J]. *Journal of Molluscan Studies*, 2007, 73: 393-398.
- [16] López-Piñón M J, Insua A, Méndez J. Chromosome analysis and mapping of ribosomal genes by One- and Two-Color fluorescent in situ hybridization in *Hinnites distortus* (Bivalvia: Pectinidae) [J]. *Journal of Heredity*, 2005, 96: 52-58.
- [17] Baron J, Diter A, Bodoy A. Triploid induction in the black scallop (*Chlamys varia* L.) and its effect on larval growth and survival [J]. *Aquaculture*, 1989, 77:103-111.
- [18] Insua A, López-Piñón M J, Freire R, et al. Karyotype and chromosomal location of 18S-28S and 5S ribosomal DNA in the scallops *Pecten maximus* and *Mimachlamys varia* (Bivalvia: Pectinidae) [J]. *Genetica*, 2006, 126: 291-301.
- [19] Insua A, López-Piñón M J, Méndez J. Characterization of *Aequipecten opercularis* (Bivalvia: Pectinidae) chromosomes by different staining techniques and fluorescent in situ hybridization [J]. *Genes & Genetic Systems*, 1998, 73: 193-200.
- [20] Von Brand E, Bellolio G, Lohrmann K. Chromosome number of the Chilean scallop *Argopecten purpuratus* [J]. *Tohoku Journal of Agricultural Research*, 1990, 40: 91-95.
- [21] Gajardo G, Parraguez M, Colihueque N. Karyotype analysis and chromosome banding of the Chilean- Peruvian scallop *Argopecten purpuratus* (Lamarck, 1819) [J]. *Journal of Shellfish Research*, 2002, 21(2): 585-590.
- [22] Huang Xiaoting, Hu Jingjie, Hu Xiaoli, et al. Cytogenetic characterization of the bay scallop, *Argopecten irradians irradians*, by multiple staining techniques and fluorescence in situ hybridization [J]. *Genes & Genetic Systems*, 2007, 82: 257-263.
- [23] Xiang Jianhai, Desrosiers R R, Dube F. Studies on the chromosomes of the giant scallop *Placopecten magellanicus* (Gmelin) and the surf clam *Spisula solidissima* (Dillwyn) [J]. *Cytologia*, 1993, 58: 125-132.
- [24] Beaumont A R, Gruffydd D. Studies on the chromosomes of the scallop *Pecten maximus* (L.) and related species [J]. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 1974, 54: 713-718.
- [25] Odierna G, Aprea G, Barucca M, et al. Karyotype of the Antarctic scallop *Adamussuim colbecki*, with some comments on the karyological evolution of pectinids [J]. *Genetica*, 2006, 127: 341-349.
- [26] Basoa E, Alfonsi C, Perez J E, et al. Karyotypes on the scallops *Euvola zizac* and *Nodipecten nodosus* from

- the gulf of Cariaco, Sucre State, Venezuela [J]. Boletim do Instituto Oceanográfico, Venez, 2000, 39: 49-54.
- [27] Pauls E, Affonso P R. The karyotype of *Nodipecten nodosus* (Bivalvia: Pectinidae) [J]. Hydrobiologia, 2000, 420: 99-102.
- [28] White M J D. Animal Cytology and Evolution [M]. Cambridge: Cambridge University Press. 1954:454.
- [29] Shumway S E. Scallops: Biology, Ecology and Aquaculture[M]. Amsterdam: Elsevier, 1991:585-623.
- [30] 赵洋. 杂交扇贝的细胞遗传学研究[D].青岛:中国海洋大学, 2003.
- [31] Matsui S, Sasaki M. Differential staining of nucleolus organizers in mammalian chromosomes [J]. Nature, 1973, 246(5429): 148-150.
- [32] Martínez-Lage A, González-Tizón A, Méndez J. Characterization of different chromatin types in *Mytilus galloprovincialis* after C-banding, fluorochrome and restriction endonuclease treatments [J]. Heredity, 1994, 72: 242-249.
- [33] Zhang Lingling, Bao Zhenmin, Cheng Jie, et al. Fosmid library construction and initial analysis of end sequences in Zhikong scallop (*Chlamys farreri*) [J]. Marine Biotechnology, 2007. 9: 606-612.
- [34] 程洁. 栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)大片段基因组文库的构建及应用分析[D].青岛:中国海洋大学, 2010.
- [35] Zhang Yang, Zhang Xiaojun, Scheuring C F, et al. Construction and characterization of two bacterial artificial chromosome libraries of Zhikong Scallop, *Chlamys farreri* Jones et Preston, and identification of BAC clones containing the genes involved in its innate immune system [J]. Marine Biotechnology, 2008, 10(4): 358-365.

(本文编辑: 刘珊珊)