

二倍体及三倍体马氏珠母贝核型*

The Karyotype of the Diploid and Triploid *Pinctada martensii*

阎冰 王爱民 叶力 苏琼
Yan Bing Wang Aimin Ye Li Su Qiong

(广西海洋研究所 北海市长青东路92号 536000)

(Guangxi Institute of Oceanography, 92 East Changqinglu, Beihai, Guangxi, 536000, China)

摘要 二倍体马氏珠母贝为广西北海野生贝, 2龄~ 3龄。三倍体马氏珠母贝用6-DM AP诱导获得, 1.5龄。核型分析结果, 二倍体 $2N = 28$, 核型公式为 $7M+ 3SM+ 3ST+ 1T, NF = 48$; 三倍体 $3N = 42$, 核型公式为 $7M+ 3SM+ 3ST+ 1T, NF = 72$ 染色体按 Levan等人的标准分类。

关键词 马氏珠母贝 核型 二倍体 三倍体

中图法分类号 S 968.326.9; Q 343.21

Abstract The diploid individuals of *Pinctada martensii* aging 2 to 3 years old were wildness, and collected in Beihai, Guangxi. The triploid ones aging 1.5 years old were obtained by induction of 6-DM AP from the diploids. The karyotype is as follows $2N = 28$, the karyotype formula is $7M+ 3SM+ 3ST+ 1T, NF = 48$. $3N = 42$, the karyotype formula is $7M+ 3SM+ 3ST+ 1T, NF = 72$. The chromosome was classified on the criteria of Levan et al.

Key words *Pinctada martensii*, karyotype, diploid, triploid

马氏珠母贝 (*Pinctada martensii* Dunker) 属软体动物门 (Mollusca), 瓣鳃纲 (Lamellibranchia), 珍珠贝科 (Pteriidae), 是培育养殖珍珠的重要海洋双壳类, 国际市场的海产珍珠主要由这种珠母贝产生。研究它的染色体数目和核型, 对于其细胞遗传、细胞分类及遗传育种等研究具有重要的意义。1974年 Ieyama^[1]报道马氏珠母贝的染色体数为 $N = 14, 2N = 28$ 迄今已有 Wada (1976)^[2]、Komaru (1985)^[3]、姜卫国 (1986)^[4]、沈亦平 (1993)^[5]报道了他们的研究结果, 一致认为马氏珠母贝的染色体数目为 $N = 14, 2N = 28$, 但他们的核型研究结果有较大差异, 亦未见到有关三倍体马氏珠母贝核型研究的报道。我们在进行马氏珠母贝多倍体育种时, 以成贝为实验材料, 研究了二倍体及三倍体马氏珠母贝的核型, 现将结果报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料

二倍体马氏珠母贝购自广西北海市侨港镇渔民捕捞之野生贝, 2龄~ 3龄。三倍体马氏珠母贝为本实

验室诱导产生, 养殖于北海市营盘镇白龙珍珠贝养殖场, 1.5龄, 亲贝为野生贝, 每种贝做5个个体。

1.2 方法

实验用贝于0.005%秋水仙素 (海水配制) 中充气暂养处理8hr~ 10h; 割断闭壳肌, 剪取一小块鳃组织; 50%海淡水低渗30min, 然后0.075 mol/LKCL低渗25min; Carnoy氏液固定3次, 每次15min~ 20min; 50%醋酸解离20min~ 30min, 轻轻吸打; 50°C~ 54°C温片滴片; 烘干后10%Giemsa (pH值6.8) 染色30min; 冲洗, 自然干燥后镜检, 选择清晰的染色体分裂相显微拍照, 两种贝分别选取10个分裂相用于核型分析, 染色体分类按 Levan^[6]等的标准。

2 结果

2.1 二倍体马氏珠母贝的染色体数目

从二倍体马氏珠母贝的染色体制片中计数了128个分裂相, 统计结果 (表1) 显示, $2N = 28$ 占85.16%, 因此, 二倍体马氏珠母贝的染色体众数为28。

2.2 二倍体马氏珠母贝的核型分析

由二倍体马氏珠母贝的染色体制片中选取10个收缩适中比较清晰的中期分裂相, 进行测量分析, 统计结果显示 (表2), 二倍体马氏珠母贝的核型公式为 $7M+ 3SM+ 3ST+ 1T, NF = 48$ (图1 图2)

1998-12-15收稿, 1999-03-29修回

* 国家“九五”重点科技项目 (攻关) 计划 (96C010503) 和广西科技攻关项目 (桂科攻9724076) 资助。

表1 二倍体马氏珠母贝的染色体数目

Table 1 The chromosome number of diploid *P. martensii*

染色体数目 No. chromosomes	细胞数 No. cells	百分率 Percentage (%)
≤ 25	4	3.13
26	3	2.34
27	11	8.59
28	109	85.16
29	1	0.78

表2 二倍体马氏珠母贝核型分析

Table 2 The karyotype analyses of diploid *P. martensii*

染色体对 Chromosome pair	相对长度 Relative length	臂比 Arm length	着丝粒指数 Centromere index	染色体类型 Type of chromosome
1	11.36±0.63	1.20±0.08	45.65±0.99	M
2	10.4±0.57	1.28±0.12	43.92±0.87	M
3	9.59±0.42	1.98±0.06	35.42±0.66	SM
4	8.42±0.38	2.10±0.18	35.02±0.78	SM
5	7.66±0.55	3.85±0.09	20.8±81.23	ST
6	7.02±0.24	4.0±0.14	24.87±0.52	ST
7	6.96±0.87	2.80±0.16	28.76±1.16	SM
8	6.19±0.33	∞	0.00	T
9	6.1±0.45	1.15±0.07	42.43±0.74	M
10	5.98±0.32	1.40±0.11	41.73±0.83	M
11	5.76±0.26	1.35±0.05	46.56±0.68	M
12	5.6±0.59	1.42±0.17	40.69±0.92	M
13	5.12±0.40	1.33±0.13	45.32±0.88	M
14	4.68±0.77	3.38±0.04	22.88±0.67	ST

个分裂相,统计结果(表3)显示, $3N = 42$ 占 87.50%, 因此,三倍体马氏珠母贝的染色体众数为 42

表3 三倍体马氏珠母贝的染色体数目

Table 3 The chromosome number of triploid *P. martensii*

染色体数目 No. chromosomes	细胞数 No. cells	百分率 Percentage (%)
≤ 39	3	2.68
40	3	2.68
41	6	5.36
42	98	87.50
≥ 43	2	1.78

2.4 三倍体马氏珠母贝的核型分析

由三倍体马氏珠母贝染色体制片中选取 10个收缩适中,比较清晰的中期分裂相进行测量分析,统计结果(表4)显示,三倍体马氏珠母贝的染色体由 21条 M 条 SM 条 ST 条 T 组成,可配成 14组,各种着丝粒类型的染色体刚好比二倍体马氏珠母贝增加了一组,即其染色体是在二倍体的基础上增加了一个单倍性染色体组,核型公式为 $7M+3SM+3ST+1T, N=72$ (图3 图4)

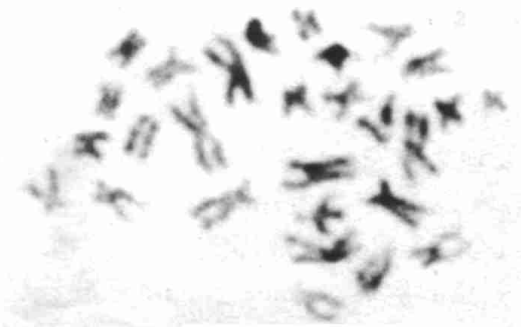


图1 二倍体马氏珠母贝成贝鳃细胞中期染色体分裂相

Fig. 1 Gill cell chromosome of adult individual of diploid *P. martensii*



图3 三倍体马氏珠母贝成贝鳃细胞中期染色体分裂相

Fig. 3 Gill cell chromosome of adult individual of triploid *P. martensii*



图2 二倍体马氏珠母贝成贝鳃细胞中期染色体核型

Fig. 2 The karyotype of gill cell of adult individual of diploid *P. martensii*

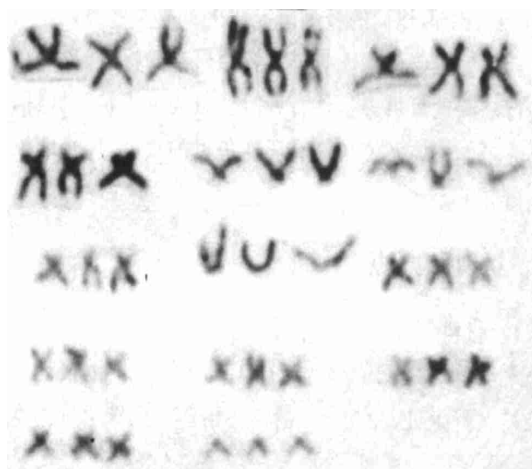


图4 三倍体马氏珠母贝成贝鳃细胞中期染色体核型

Fig. 4 The karyotype of gill cell of adult individual of triploid *P. martensii*

2.3 三倍体马氏珠母贝的染色体数目

从三倍体马氏珠母贝的染色体制片中计数了 112

表 4 三倍体马氏珠母贝核型分析

Table 4 The karyotype analyses of triploid *P. martensii*

染色体对 Chromosome pair	相对长度 Relative length	臂比 Arm length	着丝粒指数 Centromere index	染色体类型 Type of chromosome
1	10.96±0.85	1.22±0.07	46.20±0.83	M
2	10.43±0.53	1.25±0.09	44.12±0.58	M
3	9.64±0.32	1.83±0.12	33.87±0.74	SM
4	8.59±0.77	1.99±0.07	35.32±0.63	SM
5	7.85±0.34	3.94±0.06	21.67±0.44	ST
6	7.03±0.57	4.11±0.11	23.33±0.65	ST
7	6.87±0.67	2.63±0.16	29.60±0.78	SM
8	6.29±0.23	∞	0.00	T
9	6.01±0.47	1.18±0.08	44.12±0.77	M
10	5.88±0.65	1.38±0.17	40.73±0.59	M
11	5.46±0.75	1.44±0.04	41.12±0.48	M
12	5.33±0.48	1.53±0.13	39.85±0.52	M
13	4.90±0.84	1.24±0.05	42.11±0.69	M
14	3.55±0.39	3.45±0.10	21.06±0.73	ST

3 讨论

1985年, Komaru等^[3]以担轮幼虫为材料,用敲片法和火焰干燥法研究了二倍体马氏珠母贝的核型,结果为7M+ 2M- SM+ 2SM+ 2SM- ST+ 1T; 1986年姜卫国等^[4]以胚胎为材料,用压片法的研究结果为7M+ 3SM+ 3ST+ 1T; 1993年沈亦平等^[5]以成贝外套膜愈伤组织为材料,用温片法的研究结果为7M+ 2M- SM+ 4SM+ 1T,沈亦平认为上述差异是由于地域相隔或染色体制片方法不当所致。我们以马氏珠母贝成贝鳃细胞为材料,用温片法得到了与姜卫国一致的结果。目前尚未见到有关三倍体马氏珠母贝核型分析的报道,我们的研究表明,三倍体马氏珠母贝各种着丝点类型的染色体刚好比二倍体增加了一组,即在二倍体的基础上增加了一个单倍性染色体组,这又反过来证明了马氏珠母贝单倍性 $N = 14$

我们在检测鉴定三倍体马氏珠母贝成贝时,从348个检测出的三倍体个体中发现了3个非整倍体,2个41条染色体(图5),1个43条染色体(图6),



图 5 非整倍体马氏珠母贝成贝鳃细胞中期染色体分裂相, $N = 42$

Fig. 5 Gill cell chromosome of adult individual of aneuploid *P. martensii*, $N = 42$

并反复鉴定被确认,具体丢失或增加的是哪一条染色体以及它们的表型有何差异有待进一步研究,这可能预示了一条新的途径,即可通过大量筛选非整倍体研究它们的表型差异和进行染色体定位,为基因定位奠定基础

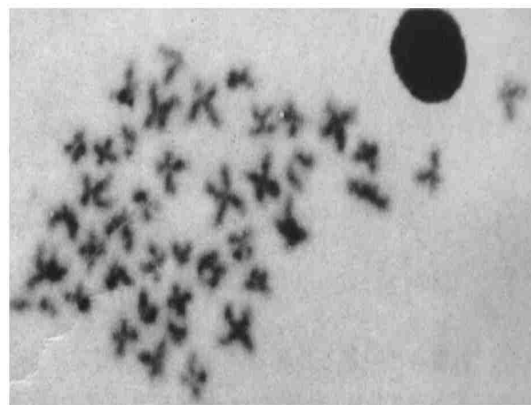


图 6 非整倍体马氏珠母贝成贝鳃细胞中期染色体分裂相, $N = 41$

Fig. 6 Gill cell chromosome of adult individual of aneuploid *P. martensii*, $N = 41$

在染色体制片过程中有两点需要特别注意,秋水仙素处理浓度要控制在0.005%以内,处理时间8h~10h,过短分裂相不多,过长染色体发毛很难计数测量;低渗要先用50%海水淡水过渡处理30min,若直接用0.075 mol/L KCl低渗处理会造成染色体丢失。

参考文献

- 1 Ieyama H, Inaba. Chromosomes of ten species in four families of Pteriomorpha (Bivalvia), Jap Jour Malac (Venus), 1974, 33 (3): 129~ 137.
- 2 Wada K T. Number and gross morphology of chromosomes in the pearl oyster *Pinctada fucata* (Gould), collected from two regions of Japan. Jap Jour Malac (Venus), 1976, 35 (1): 9~ 14.
- 3 Komaru A, Wada K T. Bull. Karyotype of the Japanese Pearl Oyster, *Pinctada fucata martensii*, Observed in the Trochophore Larvae. Natl Res Inst Aquaculture, 1985, 7: 105~ 107.
- 4 姜卫国,魏贻尧. 贝类学论文集(2). 北京: 科学出版社, 1986. 58~ 64.
- 5 沈亦平,王孝举等. 合浦珠母贝成贝外套膜染色体制备技术. 武汉大学学报(自然科学版), 1993, 5: 121~ 122.
- 6 Levan A, Fredga K, Sandbergm A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 1964, 52: 201~ 220.

(责任编辑: 蒋汉明 邓大玉)