

研究简报

栉孔扇贝×虾夷扇贝杂交子一代与双亲染色体核型的分析

周丽青 杨爱国 刘志鸿 杜方勇 王清印

(中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 青岛 266071)

KARYOTYPE ANALYSIS ON *CHLAMYS FARRERI*, *PATINOPECTEN YESSOENSIS* AND THEIR RECIPROCAL HYBRIDS

ZHOU Li-Qing, YANG Ai-Guo, LIU Zhi-Hong, DU Fang-Yong and WANG Qing-Yin

(Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Qingdao 266071)

关键词: 栉孔扇贝; 虾夷扇贝; 杂交子一代; 染色体; 核型

Key words: *Chlamys farreri*; *Patinopecten yessoensis*; Hybrid; Chromosome; Karyotype

中图分类号: S968.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2005) 01-0105-05

连续几年栉孔扇贝大面积死亡现象严重制约了北方贝类养殖业的发展,造成了巨大的经济损失。栉孔扇贝和虾夷扇贝生物学性状差异较大,可望通过杂交途径培育出抗逆性强、生长快的扇贝养殖新品种。杨爱国等^[1]和周丽青等^[2]的研究结果表明,栉孔扇贝与虾夷扇贝正反交杂交子一代(F_1)的受精和胚胎发育正常,胚胎发育速度及其形态学性状偏母本,无明显的中间性状。如何证明杂交后代为真正杂交?研究杂种的染色体组成、与双亲染色体核型的差异以及杂种染色体的归宿等,是解决这一疑问的有效方法^[3]。本文分别对栉孔扇贝、虾夷扇贝、正反交杂交子一代(F_1)的染色体核型进行了分析,期望比较分析出杂交 F_1 的染色体来源。

1 材料与方法

1.1 材料 2002年4—10月份于山东荣成和长岛分别取栉孔扇贝(*Chlamys farreri*) (壳高7—8cm)、虾夷扇贝(*Patinopecten yessoensis*) (壳高10—12cm)、栉孔扇贝♀×虾夷扇贝♂(正交)杂交 F_1 和虾夷扇贝♀×栉孔扇贝♂(反交)杂交 F_1 (壳高3—4cm),各取10—15只,实验室暂养7—10d。

1.2 制备染色体标本 参照吴宝铃^[4]的方法略有改进,活体取鳃,用0.04%秋水仙素溶液处理30min,入25%海水低渗30min,Carnoy氏液(甲醇:冰醋酸=3:1)充分固定。热滴片法制片,10% Giemsa染色30min,自来水冲洗,晾干后镜检。

1.3 核型分析与比较 在亲本和子代中,分别选取来自不同

个体、染色体收缩适中、分散较好的10个中期分裂相进行显微照相和放大测量,染色体相对长度和臂比的计算参照下式:

$$\text{相对长度} = (\text{实测长度} / \text{全部染色体长度总和}) \times 100^{[5]}$$

$$\text{臂比} = \text{长臂长度} / \text{短臂长度}$$

分别计算出它们的平均数和标准差,按Levan等^[6]确定的标准进行染色体分类,得出亲本的核型和杂交后代的染色体组成。

2 结果

2.1 栉孔扇贝、虾夷扇贝的染色体核型 根据染色体相对长度值和臂比值,把栉孔扇贝的19对染色体分为3种类型(表1):4对中部着丝粒染色体(m)、5对亚中部着丝粒染色体(sm)、10对亚端着丝粒染色体(st),染色体核型为 $2n=8m+10sm+20st$,总臂数(NF)=56(图版I:1,3)。

虾夷扇贝的19对染色体有四种类型(表1),由3对中部着丝粒染色体(m)、5对亚中部着丝粒染色体(sm)、8对亚端着丝粒染色体(st)和3对端着丝粒染色体(t)组成,染色体核型为 $2n=6m+10sm+16st+6t$,总臂数(NF)=54(图版I:2,4)。

2.2 杂交子一代的染色体核型 正反交杂交 F_1 的染色体相对长度和臂比的统计结果见表2、表3。栉孔扇贝♀×虾夷扇贝♂杂交 F_1 的38条染色体分为4种类型,由7个中部着丝粒染色体(m)、13个亚中部着丝粒染色体(sm)、15个亚

收稿日期: 2003-12-11; 修订日期: 2004-08-20

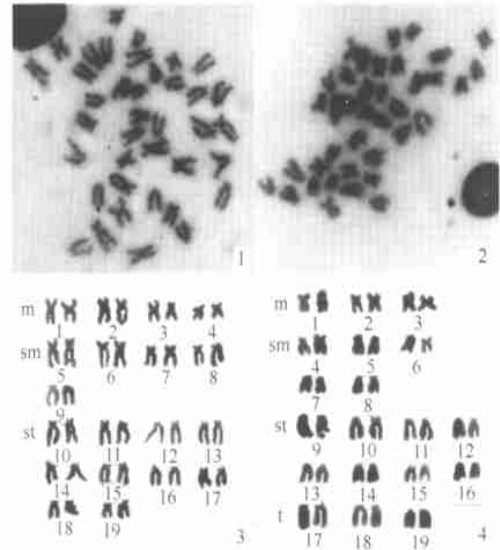
基金项目: 国家“973”重大基础研究规划资助项目(G1999012009); 国家海洋“863”资助项目(2003AA603022, 2004AA603320)

作者简介: 周丽青(1974—),女,硕士,研究实习员,主要从事水产动物增殖和遗传育种方面的研究

通讯作者: 王清印, Tel: 0532-5822959, E-mail: qywang@public.qd.sd.cn

端部着丝粒染色体(st)和3个端部着丝粒染色体组成,染色体核型为 $2n=7m+13sm+15st+3t$,总臂数(NF)=58(图版II:1,3)。虾夷扇贝♀×栉孔扇贝♂杂交F₁的38条染色体也分为4种类型,由6个中部着丝粒染色体(m)、11个亚中部着丝粒染色体(sm)、18个亚端部着丝粒染色体(st)和3个端部着丝粒染色体(t)组成,染色体核型为 $2n=6m+11sm+18st+3t$,总臂数(NF)=55(图版II:2,4)。

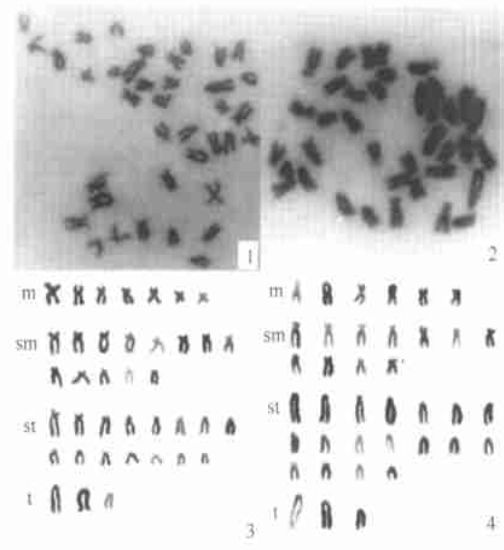
2.3 杂交扇贝与亲本染色体核型的比较 对双亲和正反交



图版I

1. 栉孔扇贝中期分裂相染色体; 2. 虾夷扇贝中期分裂相染色体;
3. 栉孔扇贝染色体核型; 4. 虾夷扇贝染色体核型
1. The metaphase chromosomes of *Chlamys farreri*;
2. The metaphase chromosomes of *Patinopecten yessoensis*;
3. The karyotype of *Chlamys farreri*;
4. The karyotype of *Patinopecten yessoensis*.

杂交F₁的染色体核型分析比较发现,杂交F₁的染色体一半与栉孔扇贝相似,另一半与虾夷扇贝相似(表2、表3)。杂交F₁中都有3条端部着丝粒染色体,这与虾夷扇贝的染色体核型吻合。最大的一条染色体为端部着丝粒染色体,在F₁的染色体中没有可与之相匹配的。



图版II

1. 栉孔扇贝♀×虾夷扇贝♂杂交F₁中期分裂相染色体;
2. 虾夷扇贝♀×栉孔扇贝♂杂交F₁中期分裂相染色体;
3. 正交F₁染色体核型; 4. 反交F₁染色体核型
1. The metaphase chromosomes of the direct cross hybrid F₁ of female *Chlamys farreri* and male *Patinopecten yessoensis*;
2. The metaphase chromosomes of the reciprocal cross hybrid F₁ of female *Patinopecten yessoensis* and *Chlamys farreri*;
3. The karyotype of the direct cross hybrid F₁;
4. The karyotype of the reciprocal cross hybrid F₁.

表 1 栉孔扇贝、虾夷扇贝的染色体核型

Tab. 1 The karyotypes of *C. farreri* and *P. yessoensis*

染色体序号 No. of chromosome	栉孔扇贝 <i>C. farreri</i>			虾夷扇贝 <i>P. yessoensis</i>		
	相对长度 Relative length	臂比 Arm ratio	染色体类型 Chromosome type	相对长度 Relative length	臂比 Arm ratio	染色体类型 Chromosome type
1	3.46±0.14	2.64±0.19	SM	3.81±0.16	7.60±0.54	T
2	3.22±0.24	4.88±1.06	ST	3.26±0.29	5.07±0.76	ST
3	3.02±0.31	2.35±0.37	SM	2.95±0.29	3.65±0.57	ST
4	2.98±0.22	1.43±0.21	M	2.91±0.32	2.41±0.42	SM
5	2.94±0.16	3.34±0.34	ST	2.88±0.19	4.39±0.98	ST
6	2.86±0.24	5.19±0.64	ST	2.81±0.27	7.70±0.44	T
7	2.78±0.14	3.51±0.50	ST	2.80±0.28	1.41±0.23	M
8	2.73±0.24	2.41±0.28	SM	2.73±0.19	2.23±0.32	SM
9	2.70±0.32	1.27±0.13	M	2.67±0.15	4.40±0.74	ST

续表						
染色体序号 No. of chromosome	栉孔扇贝 <i>C. farreri</i>			虾夷扇贝 <i>P. yessoensis</i>		
	相对长度	臂比	染色体类型	相对长度	臂比	染色体类型
	Relative length	Arm ratio	Chromosome type	Relative length	Arm ratio	Chromosome type
10	2.62±0.13	3.64±0.55	ST	2.54±0.09	3.46±0.36	ST
11	2.54±0.20	4.04±0.81	ST	2.53±0.18	4.69±0.73	ST
12	2.50±0.23	2.26±0.45	SM	2.48±0.12	1.31±0.19	M
13	2.43±0.10	3.90±0.79	ST	2.45±0.17	2.55±0.32	SM
14	2.41±0.19	4.30±1.04	ST	2.42±0.07	3.75±0.68	ST
15	2.31±0.18	1.40±0.22	M	2.36±0.26	7.38±0.38	T
16	2.25±0.15	4.45±0.96	ST	2.16±0.19	2.65±0.33	SM
17	2.13±0.30	2.32±0.28	SM	2.14±0.24	3.40±0.39	ST
18	2.08±0.18	5.53±0.77	ST	2.13±0.19	1.32±0.18	M
19	2.04±0.16	1.30±0.15	M	1.97±0.27	2.33±0.33	SM

表2 栉孔扇贝♀ × 虾夷扇贝 ♂杂交 F₁ 的染色体核型
Tab.2 The karyotype of direct cross hybrid F₁

染色体序号 No. of chromosome	杂交 F ₁ 偏栉孔扇贝部分的染色体			杂交 F ₁ 偏虾夷扇贝部分的染色体		
	The chromosome set of hybrid F ₁ similar to <i>C. farreri</i> 's			The chromosome set of hybrid F ₁ similar to <i>P. yessoensis</i> 's		
	相对长度 Relative length	臂比 Arm ratio	染色体类型 chromosome type	相对长度 Relative length	臂比 Arm ratio	染色体类型 chromosome type
1	3.37±0.20	2.35±0.26	SM	4.17±0.25	7.90±0.74	T
2	3.10±0.19	3.65±0.41	ST	3.81±0.18	5.96±0.49	ST
3	2.99±0.14	2.54±0.35	SM	3.60±0.24	4.54±0.44	ST
4	3.20±0.31	1.32±0.15	M	2.80±0.12	2.37±0.22	SM
5	2.92±0.08	4.62±0.42	ST	2.85±0.19	3.83±0.48	ST
6	2.83±0.07	4.74±0.66	ST	2.84±0.25	7.48±0.44	T
7	2.71±0.15	4.50±0.30	ST	2.87±0.24	1.37±0.25	M
8	2.59±0.20	2.57±0.34	SM	2.75±0.12	2.52±0.35	SM
9	2.72±0.13	1.35±0.18	M	2.59±0.16	4.44±0.40	ST
10	2.59±0.14	2.58±0.25	SM*	2.58±0.07	3.37±0.27	ST
11	2.58±0.22	2.48±0.38	SM*	2.51±0.10	2.60±0.21	SM*
12	2.35±0.17	2.44±0.28	SM	2.57±0.18	1.34±0.27	M
13	2.35±0.23	4.21±0.51	ST	2.45±0.10	2.39±0.32	SM
14	2.23±0.09	3.69±0.73	ST	2.41±0.11	5.77±0.51	ST
15	2.30±0.16	1.37±0.20	M	2.43±0.43	7.44±0.23	T
16	2.10±0.14	4.87±0.35	ST	2.26±0.13	2.62±0.30	SM
17	2.04±0.23	2.36±0.29	SM	2.02±0.14	3.44±0.31	ST
18	1.95±0.11	4.74±0.71	ST	1.99±0.18	1.43±0.23	M
19	1.74±0.15	1.22±0.13	M	1.82±0.23	2.19±0.21	SM

表3 虾夷扇贝♀ × 栉孔扇贝 ♂杂交 F₁ 的染色体核型
Tab. 3 The karyotype of reciprocal cross hybrid F₁

染色体序号 No. of chromosome	杂交 F ₁ 偏栉孔扇贝部分的染色体			杂交 F ₁ 偏虾夷扇贝部分的染色体		
	The chromosome set of hybrid F ₁ similar to <i>C. farreri</i> ' s			The chromosome set of hybrid F ₁ similar to <i>P. yessoensis</i> ' s		
	相对长度 Relative length	臂比 Arm ratio	染色体类型 Chromosome type	相对长度 Relative length	臂比 Arm ratio	染色体类型 Chromosome type
1	3.25±0.13	2.50±0.33	SM	3.91±0.38	7.31±0.31	T
2	3.39±0.21	4.47±0.38	ST	3.58±0.17	4.44±0.41	ST
3	3.02±0.19	2.63±0.24	SM	3.33±0.20	3.50±0.33	ST
4	2.86±0.18	1.48±0.28	M	2.90±0.14	2.49±0.25	SM
5	3.02±0.16	3.35±0.25	ST	2.98±0.38	4.48±0.43	ST
6	2.95±0.10	3.55±0.21	ST	3.25±0.25	7.28±0.27	T
7	2.74±0.13	3.32±0.29	ST	2.72±0.14	1.41±0.30	M
8	2.67±0.13	2.48±0.33	SM	2.50±0.15	2.32±0.34	SM
9	2.56±0.12	1.59±0.19	M	2.57±0.12	3.36±0.30	ST
10	2.66±0.20	4.28±0.23	ST	2.51±0.11	4.57±0.38	ST
11	2.40±0.20	3.41±0.28	ST	2.47±0.15	3.42±0.22	ST
12	2.33±0.08	2.37±0.30	SM	2.45±0.14	1.37±0.28	M
13	2.36±0.15	4.44±0.32	ST	2.44±0.13	2.42±0.35	SM
14	2.25±0.14	3.38±0.27	ST	2.17±0.13	3.34±0.31	ST
15	2.30±0.11	1.45±0.28	M	2.60±0.21	7.17±0.10	T
16	2.21±0.14	4.59±0.47	ST	2.41±0.10	2.59±0.25	SM
17	2.24±0.11	2.36±0.25	SM	2.07±0.19	4.71±0.57	ST
18	2.04±0.15	3.43±0.32	ST	2.06±0.12	2.30±0.21	SM*
19	2.03±0.17	1.55±0.36	M	1.91±0.17	2.41±0.35	SM

3 讨论

3.1 栉孔扇贝和虾夷扇贝的染色体核型比较

王梅林等^[7]对栉孔扇贝核型分析的结果是 2n= 6m+ 10sm+ 22st, 他们计算的相对长度和臂比值与本文的相似, 只出现一对染色体的区别。Komaru^[8]的研究认为虾夷扇贝的核型公式是: 2n= 38= 14(m, sm)+ 18(sm, st)+ 6t, 本结果与此相吻合。个别染色体形态的出入可能是由下面两种原因造成的, 一是实验过程中的处理不同; 二是所取材料属于不同地理种群。虾夷扇贝的核型在国内尚未见有报道。因此本文的结果可为扇贝的种属鉴定提供依据。

按照相对长度从大到小的顺序, 将这两种扇贝的染色体进行排列、比较, 它们最大的染色体类型不同, 相对长度有明显差异, 栉孔扇贝最大染色体的相对长度为 3.46, 为亚中部着丝粒染色体; 虾夷扇贝最大染色体的相对长度为 3.81, 是端部着丝粒染色体, 其他相对应染色体的相对长度都非常接近, 第二、五、八、十、十一和第十四位的染色体不仅相对长度相近, 而且染色体类型相同; 第三、四、六、十二、十三、十六、十七和第十九位的染色体臂比接近, 染色体类型相邻。相似的染色体核型是这两种扇贝远缘杂交能够顺利进行的遗传

基础。一般认为双亲间的核型愈相近, 杂交愈能成功, 双亲间核型差异愈大, 杂交不亲和性愈强, 胚胎发育愈难正常进行^[9]。因此本实验中杂交子一代胚胎能够正常发育。

3.2 正反交子一代之间及其与亲本染色体核型的比较

杂交 F₁, 无论正交还是反交, 都与亲本有相同数目的染色体——38 条。其染色体分为 4 种类型, 即中部着丝粒染色体(m)、亚中部着丝粒染色体(sm)、亚端部着丝粒染色体(st)和端部着丝粒染色体(t)。正反交 F₁ 中相对长度最长的染色体与其余染色体间的差异较大, 而且都只有一条, 又都是端部着丝粒染色体, 这可作为区分亲本和杂交 F₁ 的特征染色体。

杂交 F₁ 的染色体, 根据臂比值和相对长度, 有一半的染色体与栉孔扇贝的染色体核型相似, 另一半的染色体与虾夷扇贝的染色体核型相似, 它们最大的一条染色体为虾夷扇贝所具有的端部着丝粒染色体(t), 最大的亚中部着丝粒染色体(sm) 是栉孔扇贝所特有的, 基于上述特征, 可以确认杂交 F₁ 为异源二倍体。

多数远缘杂交研究结果^[10, 11, 12]显示, 正反交子一代之间, 及其与亲本之间, 无论是在胚胎发育上、核质相互关系上、基因表达产物上、外部形态上、还是 DNA 或染色体水平

上都会出现一定的差异。本实验结果也表明,正反交子一代间核型具有一定的差异,并出现个别与亲本不同的染色体。究其原因,大概分为两类:一类是在杂合子形成过程中染色体结构已发生变化,这种变化一般发生在性细胞形成过程中。另一类是杂合子形成过程中,来自双亲的遗传物质间相互协调而导致某基因表达方式的变化。如 DNA 在合子细胞分化中的丢失、扩增、重排、基因转录、翻译中数量、多样性、修饰方式的变化等等。一般情况下,杂种后代的性状偏向于母本,因此本研究中杂交子代之间核型的差异可能与母本胞质影响有关。

参考文献:

- [1] Yang A G, Wang Q Y, Liu Z H, *et al* . Cytological observation on cross fertilization of *Chlamys farreri* and *Patinpecten yessoensis* with fluorescent microscope[J]. *Marine Fisheries Research*, 2002, **23**(3): 1—4[杨爱国, 王清印, 刘志鸿等. 虾夷扇贝× 栉孔扇贝人工受精过程的荧光显微镜观察[J]. 海洋水产研究, 2002, **23**(3): 1—4]
- [2] Zhou L Q, Yang A G, Liu Z H, *et al* . Cytological Observations on Cross Fertilization between *Chlamys farreri* (♀) and *Patinpecten yessoensis* (♂) Scallops[J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2003, **38**(4): 20—23[周丽青, 杨爱国, 刘志鸿, 等. 栉孔扇贝(♀) × 虾夷扇贝(♂) 受精细胞学观察[J]. 动物学杂志, 2003, **38**(4): 20—30]
- [3] Zhang K J, Gao J, Zhang J L, *et al* . Study on karyotypes of hybrid crucian carp (White crucian carp× Scattered mirror carp) and its parents[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1986, **10**(2): 52—58[张克俭, 高 健, 张景龙, 等. 杂交鲫(白鲫♀ × 散鳞镜鲤 ♂) 及其双亲染色体组型的研究. 水产学报, 1986, **10**(2): 52—58]
- [4] Wu B L. Mussel reproduction and attachment metamorphosis biology [M]. Jinan: Shandong Science Technology press, 1999: 137—144 [吴宝铃. 贝类繁殖附着变态生物学[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1999: 137—144]
- [5] Yang X W, Zhang S F, Zhang X X. Karyotypes of green peach aphids from different host plants [J]. *Chinese Journal of Applied and Environmental Biology*, 2000, **6**(1): 56—60 [杨效文, 张素芳, 张孝羲. 不同寄主植物上烟蚜的染色体组型研究[J]. 应用与环境生物学报, 2000, **6**(1): 56—60]
- [6] Levan A, Fredga K, Sandberg A. A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes[J]. *Hereditas*, 1964, **52**(2): 201—220
- [7] Wang M L, Zheng J S, Yu H. The karyotype of *Chlamys farreri* (Jones & Preston, 1904) [J]. *Journal of Ocean University of Qingdao*, 1990, **20**(1): 81—85 [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]
- [8] Konaru A, Wada K T. Karyotypes of four species in the Pectinidae (Bivalvia: pteriomorpha) [J]. *Venus Japanese Journal of Malacology*, 1985, **44**: 249—259
- [9] Wang Z X, Zhang J X, Qi G Q. Study on the incompatibility of fish hybridization[J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1986, **10**(2): 171—179 [王祖熊, 张锦霞, 靳光琴. 鱼类杂交不亲和性的研究[J]. 水生生物学报, 1986, **10**(2): 171—179]
- [10] Zhu L F, Gui J F, Liang S C, *et al* . Isozyme expression of distant hybridization offspring and artificial triploid in silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1993, **17**(4): 293—297 [朱蓝菲, 桂建芳, 梁绍昌, 等. 鲢的远缘杂交子代和人工三倍体的同工酶表达[J]. 水生生物学报, 1993, **17**(4): 293—297]
- [11] Yang H Y, Li S F, Zou S M. A primary study on inheritance or morphological traits from *Megalobrama amblycephala*, *Megalobrama terminalis* to their reciprocal hybrids (F₁) [J]. *Journal of Shanghai Fisheries University*, 2002, **11**(4): 305—309 [杨怀宇, 李思发, 邹曙明. 三角鲂与团头鲂正反杂交 F₁ 的遗传性状[J]. 上海水产大学学报, 2002, **11**(4): 305—309]
- [12] Gui J F, Liang S C, Zhu L F, *et al* . Cytogenetic analysis of developmental difference in hybrid embryos between Reciprocal crosses in distant hybridization of fishes[J]. *Zoological research*, 1993, **14**(2): 171—177 [桂建芳, 梁绍昌, 朱蓝菲, 孙建民, 等. 鱼类远缘杂交正反交杂种胚胎发育差异的细胞遗传学分析[J]. 动物学研究, 1993, **14**(2): 171—177]