



水产学报  
*Journal of Fisheries of China*  
ISSN 1000-0615, CN 31-1283/S

## 《水产学报》网络首发论文

题目: 四种鲍 45S rDNA 在染色体上的比较定位  
作者: 张健鹏, 王铜毅, 骆轩, 游伟伟, 柯才焕, 蔡明夷  
收稿日期: 2018-12-20  
网络首发日期: 2019-08-07  
引用格式: 张健鹏, 王铜毅, 骆轩, 游伟伟, 柯才焕, 蔡明夷. 四种鲍 45S rDNA 在染色体上的比较定位. 水产学报.  
<http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1283.s.20190806.1339.004.html>



**网络首发:** 在编辑部工作流程中, 稿件从录用到出版要经历录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿等阶段。录用定稿指内容已经确定, 且通过同行评议、主编终审同意刊用的稿件。排版定稿指录用定稿按照期刊特定版式(包括网络呈现版式)排版后的稿件, 可暂不确定出版年、卷、期和页码。整期汇编定稿指出版年、卷、期、页码均已确定的印刷或数字出版的整期汇编稿件。录用定稿网络首发稿件内容必须符合《出版管理条例》和《期刊出版管理规定》的有关规定; 学术研究成果具有创新性、科学性和先进性, 符合编辑部对刊文的录用要求, 不存在学术不端行为及其他侵权行为; 稿件内容应基本符合国家有关书刊编辑、出版的技术标准, 正确使用和统一规范语言文字、符号、数字、外文字母、法定计量单位及地图标注等。为确保录用定稿网络首发的严肃性, 录用定稿一经发布, 不得修改论文题目、作者、机构名称和学术内容, 只可基于编辑规范进行少量文字的修改。

**出版确认:** 纸质期刊编辑部通过与《中国学术期刊(光盘版)》电子杂志社有限公司签约, 在《中国学术期刊(网络版)》出版传播平台上创办与纸质期刊内容一致的网络版, 以单篇或整期出版形式, 在印刷出版之前刊发论文的录用定稿、排版定稿、整期汇编定稿。因为《中国学术期刊(网络版)》是国家新闻出版广电总局批准的网络连续型出版物(ISSN 2096-4188, CN 11-6037/Z), 所以签约期刊的网络版上网络首发论文视为正式出版。

# 四种鲍 45S *rDNA* 在染色体上的比较定位

张健鹏<sup>1</sup>, 王铜毅<sup>1</sup>, 骆 轩<sup>2</sup>, 游伟伟<sup>2</sup>, 柯才焕<sup>2</sup>, 蔡明夷<sup>1</sup>✉

(1. 集美大学水产学院, 农业农村部东海海水健康养殖重点实验室, 福建 厦门 361021; 2. 厦门大学海洋与地球学院, 福建省海洋生物资源开发利用协同创新中心, 福建 厦门 361102)

✉通信作者 蔡明夷, E-mail: myicai@jmu.edu.cn

**摘要** 为了研究皱纹盘鲍、西氏鲍、绿鲍和杂色鲍等 4 种鲍的核型特征, 实验利用荧光原位杂交 (fluorescence *in situ* hybridization, FISH) 比较定位了这 4 种鲍的 45S *rDNA* 位点。皱纹盘鲍中, 约 83% 的中期细胞检出 2 对 45S *rDNA* 位点, 分别位于 13 号和 16 号染色体的长臂端部。西氏鲍中, 约 75% 的中期细胞检出 3 对 45S *rDNA* 位点, 分别位于 6 号染色体短臂端部、14 号和 17 号染色体长臂端部。绿鲍中, 约 85% 的中期细胞检出 3 对 45S *rDNA* 位点, 分别位于 4 号、6 号和 8 号染色体长臂的端部。杂色鲍中, 约 65% 的中期细胞检出 3 对 45S *rDNA* 位点, 分别位于 3 号、4 号和 12 号染色体短臂的端部。此外, 4 种鲍均有少数中期相的 45S *rDNA* 位点数高于众数, 这提示除了明确的 45S *rDNA* 位点外, 4 种鲍可能均有若干个不稳定的 45S *rDNA* 位点。研究结果丰富了鲍细胞遗传学研究资料, 为鲍的遗传育种研究提供了基础数据。

**关键词** 鲍; 荧光原位杂交; 染色体; 45S *rDNA*

文献标志码 A DOI: 10.11964/jfc.20181211591

## Comparative chromosome mapping of 45S *rDNA* in four species of abalone

ZHANG Jianpeng<sup>1</sup>, WANG Tongyi<sup>1</sup>, LUO Xuan<sup>2</sup>, YOU Weiwei<sup>2</sup>, KE Caihuan<sup>2</sup>, CAI Mingyi<sup>1</sup>✉

(1. Key Laboratory of Healthy Mariculture for the East China Sea, Ministry of Agriculture and Rural, Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China; 2. Fujian Collaborative Innovation Center for Exploitation and Utilization of Marine Biological Resources, College of Ocean and Earth Science, Xiamen University, Xiamen 361102, China)

✉CAI Mingyi. E-mail: myicai@jmu.edu.cn

**Abstract** Abalone is not only precious seafood in China, but also important mariculture shellfish. In recent years, the genetic breeding research of abalone has made rapid progress, but the research data of cytogenetic analysis is still in lack. Therefore, this study used the fluorescence *in situ* hybridization (FISH) to compare the distribution of 45S *rDNA* clusters in *Haliotis discus hannai*, *H. gigantea*, *H. fulgens*, and *H. diversicolor*. In *H. discus hannai*, 83% of the metaphase had 2 pairs of 45S *rDNA* sites, locating at terminal of the long arm ends of chromosomes 13th and 16th, respectively. In *H. gigantea*, about 75% of the metaphase had 3 pairs of 45S *rDNA* sites, locating at the terminal of the short arm of chromosome 6th, and at the terminal of the long arm of chromosomes 14th and 17th, respectively. In *H. fulgens*, about 85% of the metaphase cells detected three pairs of 45S *rDNA* sites located at the terminal of the long arms of chromosomes 4th, 6th, and 8th. In *H. diversicolor*, about 65% of the metaphase had 3 pairs of 45S *rDNA* sites, locating at the terminal of the short arms of chromosomes 3th, 4th, and 12th. In addition to the main mode, there were other low-frequency modes in all the 4 species of abalone, suggesting that these abalone may have several unstable 45S *rDNA* sites besides the unambiguous sites. The number and the location of 45S *rDNA* loci in abalone showed a high level of intraspecific variation in general. These findings enrich the cytogenetic research data of abalone and provide basic data for the further studies of genetic breeding in abalone.

**Key words** *Haliotis*; fluorescence *in situ* hybridization; chromosome; 45S *rDNA*

收稿日期: 2018-12-20 修回日期: 2019-04-01

基金项目: 国家基金委促进海峡两岸科技合作联合基金 (U1605213)

Funding project: National Natural Science Foundation of China (U1605213)

网络首发时间: 2019-08-07 16:50:38 网络首发地址: <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1283.s.20190806.1339.004.html>

鲍 (*Haliotis*), 在分类学上隶属于软体动物门 (Mollusca)、腹足纲 (Gastropoda)、前鳃亚纲 (Prosobranchia)、原始腹足目 (Archaeogastropoda)、鲍科 (Haliotidae), 是我国传统的海珍品。迄今为止, 全世界已发现的现存种类有近百种, 已命名的约 56 种<sup>[1]</sup>, 已查明染色体组型的鲍约 17 种<sup>[2]</sup>。现有的核型数据显示, 鲍属的染色体数目与其地理分布具有明显的相关性, 地中海地区的鲍种  $2n=28$ ; 印度-太平洋亚洲地区鲍种  $2n=32$ ; 北太平洋地区鲍种、南非-澳大利亚鲍种染色体数目均为  $2n=36$ <sup>[3]</sup>。可见, 染色体进化可能在鲍属的物种发生与进化中具有重要作用<sup>[4]</sup>。然而, 目前鲍属的染色体研究主要局限于核型分析, 以及少量带型与重复序列 FISH 定位研究<sup>[4]</sup>。

荧光原位杂交 (fluorescence *in situ* hybridization, FISH) 是一种将分子生物学方法与细胞遗传学方法相整合的技术<sup>[5]</sup>, 近 30 年内得到了长足发展, 为精细研究贝类染色体形态、结构提供了有力工具。鲍染色体的 FISH 研究尚处于起步阶段, 研究资料匮乏, 阻碍了鲍属染色体进化机制研究的深入, 也无法支持鲍遗传育种研究的迅速发展<sup>[6-10]</sup>。因而, 本研究利用 FISH 比较定位了我国 4 种重要的养殖鲍类——皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai*)、西氏鲍 (*H. gigantea*)、绿鲍 (*H. fulgens*) 和杂色鲍 (*H. diversicolor*) 的 45S *rDNA*, 为深入研究鲍的染色体进化与遗传育种提供必要的基础数据。

## 1 材料与方法

### 1.1 样品的采集

皱纹盘鲍主要分布于太平洋西北区<sup>[1]</sup>, 实验用亲鲍为引自我国东北外海的底播养殖群体的多代繁殖后代。西氏鲍主要分布于太平洋西北区<sup>[1]</sup>, 实验用亲鲍为引自日本野生群体的多代繁殖后代。绿鲍主要分布于太平洋东北区<sup>[1]</sup>, 实验用亲鲍为引自美国野生群体的多代繁殖后代。杂色鲍主要分布于印度洋-太平洋亚洲区<sup>[1]</sup>, 实验用亲鲍为捕自台湾海峡的多代繁殖后代。以上亲鲍均由中国福建省晋江市福大鲍鱼养殖场提供。

紫外线水刺激亲鲍催产, 精卵排放后按一定比例混合进行人工授精。受精卵在室温下孵育, 孵化为担轮幼虫时, 即使用 300 目筛绢网进行鲍鱼幼体的收集。同时取鲍鱼肌肉固定于无水乙醇中备用。

### 1.2 DNA 提取与染色体的制备

取鲍鱼成体肌肉约 30 mg, 使用 DNA 提取试剂盒 (上海捷瑞生物工程有限公司) 提取鲍鱼全基因组 DNA。按 Arai 等的方法制备鲍鱼染色体<sup>[11]</sup>。

### 1.3 荧光原位杂交 (fluorescence *in situ* hybridization, FISH)

**探针制备** 实验以 45S *rDNA* 部分序列 (18S *rDNA* 编码区的一个保守区段) 为模板制备探针。这一区段序列通过 PCR 获得, 引物为贝类 18S *rDNA* 通用引物 18F (5'-AACCTGGTTGATCCTGCCAGT-3')、18R (5'-TGATCCTTCTGCAGGTTCA-3')<sup>[12]</sup>。扩增产物采用缺口平移法标记上生物素, 具体操作参照试剂盒说明书 (罗氏集团有限公司)。

**探针变性** 将已知浓度的探针加入到 35  $\mu\text{L}$  杂交缓冲液 (50% 硫酸葡聚糖、去离子甲酰胺、20 $\times$ SSC) 中, 使探针终浓度约为 2 ng/ $\mu\text{L}$ 。将混合液置于 72  $^{\circ}\text{C}$  水浴锅中变性 8 min, 然后置于冰上 10 min 以上。

**染色体变性** 74  $^{\circ}\text{C}$  水浴锅中加热变性缓冲液 (去离子甲酰胺、20 $\times$ SSC、蒸馏水) 约 5 min, 将老化过的染色体载玻片置于变性缓冲液处理 2~3 min, 变性过的染色体载玻片在梯度乙醇 (70%、80%、90%、100% 和 100%) 中脱水各 30 s, 最后将脱水后的玻片风干。

**分子杂交** 在风干后的玻片样本位置上滴加变性过的探针杂交混合液, 均匀平整的盖上封口膜, 置于湿盒 (内有少量 2 $\times$ SSC 溶液) 内, 37  $^{\circ}\text{C}$  (恒温箱或杂交炉) 杂交过夜 (12~16 h)。

**洗涤及信号放大** 揭去封口膜, 将杂交后的玻片依次置于洗脱缓冲液 (去离子甲酰胺、20 $\times$ SSC、蒸馏水) (37  $^{\circ}\text{C}$ )、4 $\times$ SSC (室温)、4 $\times$ SSC (室温) 中各处理 5 min, 以便洗脱未杂交成功的残余探针。完成上述步骤后甩去玻片表面液体, 将 100  $\mu\text{L}$  的探针的一抗溶液 (Avidin-Alexa Fluor 488 溶液) 滴加在样品上, 盖上封口膜放于湿盒中, 37  $^{\circ}\text{C}$  恒温箱中温育 30 min。黑暗环境揭掉载玻片上封口膜, 将玻片依次置于室温下的 4 $\times$ SSC-Triton、4 $\times$ SSC、4 $\times$ SSC 中各洗涤 5 min。最后用双

蒸水轻轻冲洗，置于避光处风干。

**负染、镜检及图像处理** 用 10  $\mu\text{L}$  的 PI 负染 10 min，使用 Olympus BX53 荧光显微镜完成观察与拍照。通过相应荧光滤片组观察 FISH 荧光信号。用带有 DP73 电荷耦合器件图像传感器 (CCD) 拍摄图像，使用 CellSens 软件摄像机采集图像，并进行图像的多通道组合及初步处理，后期再用 Image-pro plus 6.0 等生物学图像软件进行精确的染色体核型结构与信号位点等分析与测量。参照 Levan 等<sup>[13]</sup>提出的分组标准进行染色体分类，同一类染色体按相对长度递减顺序排列。

## 2 结果

利用 FISH 技术定位皱纹盘鲍、西氏鲍、绿鲍和杂色鲍中期染色体上 45S rDNA 的位置，染色体被 PI 染为红色，45S rDNA 位点呈现黄绿色荧光信号。每个物种取 100 个中相细胞进行观察、计数，获得 45S rDNA 基因簇数目直方图。其中，西氏鲍、绿鲍和杂色鲍等 3 种鲍的 45S rDNA 基因簇数目的众数均为 3 对，而皱纹盘鲍为 2 对 (图 1)。

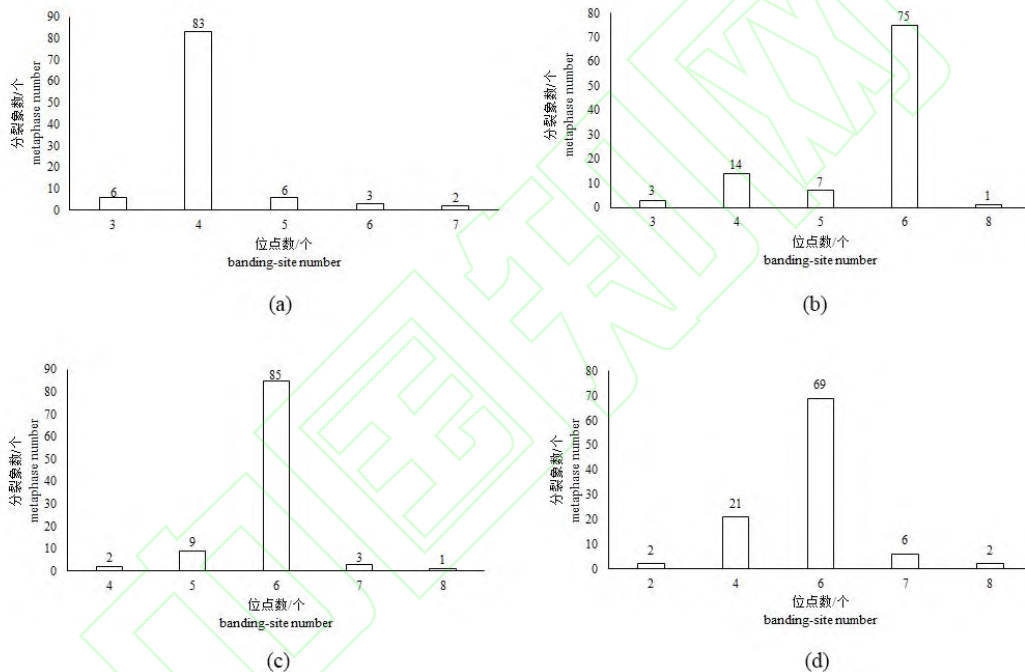


图 1 四种鲍的 45S rDNA 位点数直方图

(a) 皱纹盘鲍 45S rDNA 位点分布; (b) 西氏鲍 45S rDNA 位点分布; (c) 绿鲍 45S rDNA 位点分布; (d) 杂色鲍 45S rDNA 位点分布

Fig. 1 Histogram of 45S rDNA loci in 4 species of abalone

(a) 45S rDNA sites distribution in *H. discus hannai*; (b) 45S rDNA sites distribution in *H. gigantea*; (c) 45S rDNA sites distribution in *H. fulgens*; (d) 45S rDNA sites distribution in *H. diversicolor*

取染色体数目和 45S rDNA 位点数都与其众数相符的中期相进行核型分析 (图 2)。皱纹盘鲍核型公式为  $2n=36=20m+16sm$ ，约 83% 的中期细胞检出 2 对 45S rDNA 位点，分别位于 13 号染色体 (sm) 长臂和 15 号染色体 (sm) 长臂的端部 (图 2-1, 2)。西氏鲍的核型也为  $2n=36=20m+16sm$ ，约 75% 的中期细胞检出 3 对 45S rDNA 位点，其中 2 对位于 14 号染色体 (sm) 长臂和 17 号染色体 (sm) 长臂的端部，1 对位于 5 号染色体 (m) 短臂端部 (图 2-3, 4)。绿鲍的核型公式为  $2n=36=16m+16sm+4st$ ，约 85% 的中期细胞检出 3 对 45S rDNA 位点，全部位于 m 染色体 (4 号、6 号和 8 号) 长臂的端部 (图 2-5, 6)。杂色鲍的核型公式为  $2n=32=16m+14sm+2st$ ，约 69% 的中期细胞检出 3 对 45S rDNA 位点，其中 2 对位于 m 染色体 (3 号和 4 号) 短臂端部，1 对位于 sm 染色体 (12

号)短臂端部(图 2-7, 8)。除了主要模式外, 4 种鲍的 45S *rDNA* 信号还有其他出现频率较低分布方式(图 3)。

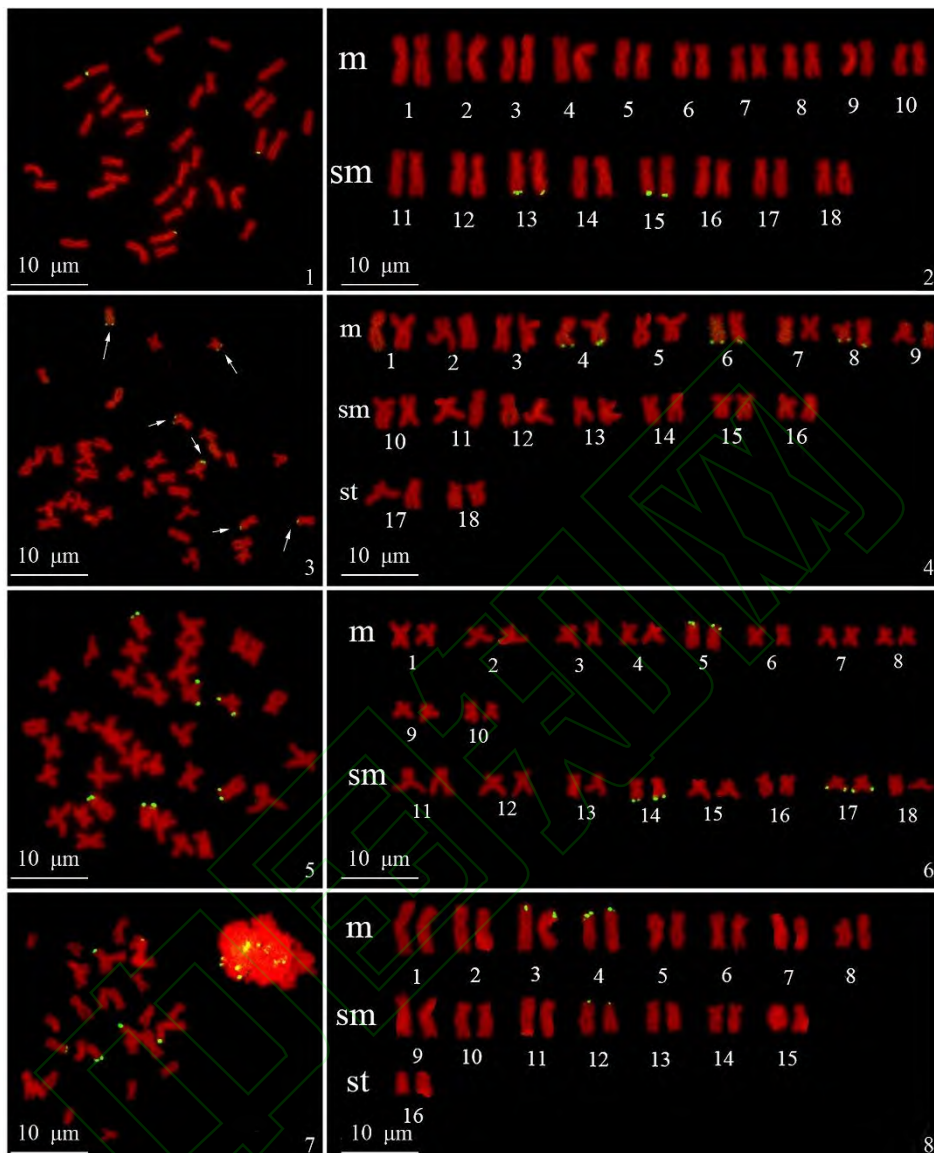


图 2 4 种鲍的 45S *rDNA* 的 FISH 及核型排列图

Fig. 2 FISH mapping of 45S *rDNA* and karyotype of 4 species of abalone

1、3、5、7 四幅图左侧分别为皱纹盘鲍、西氏鲍、绿鲍和杂色鲍的 45S *rDNA* 中期分裂相图, 右侧为对应的染色体核型排列图; m. 中部着丝粒染色体, sm. 亚中部着丝粒染色体, st. 近端部着丝粒染色体; 绿色信号为 45S *rDNA*

The four left figures (1, 3, 5, 7) were FISH mapping of 45S *rDNA* gene in *H. discus hannai*, *H. gigantea*, *H. fulgens* and *H. deiversicolor*, respectively; the four right figures were the corresponding karyotype arrangement of four species abalone; m: metacentric ;sm. submetacentric, st. subtelocentric; the green signal was the 45S *rDNA* gene

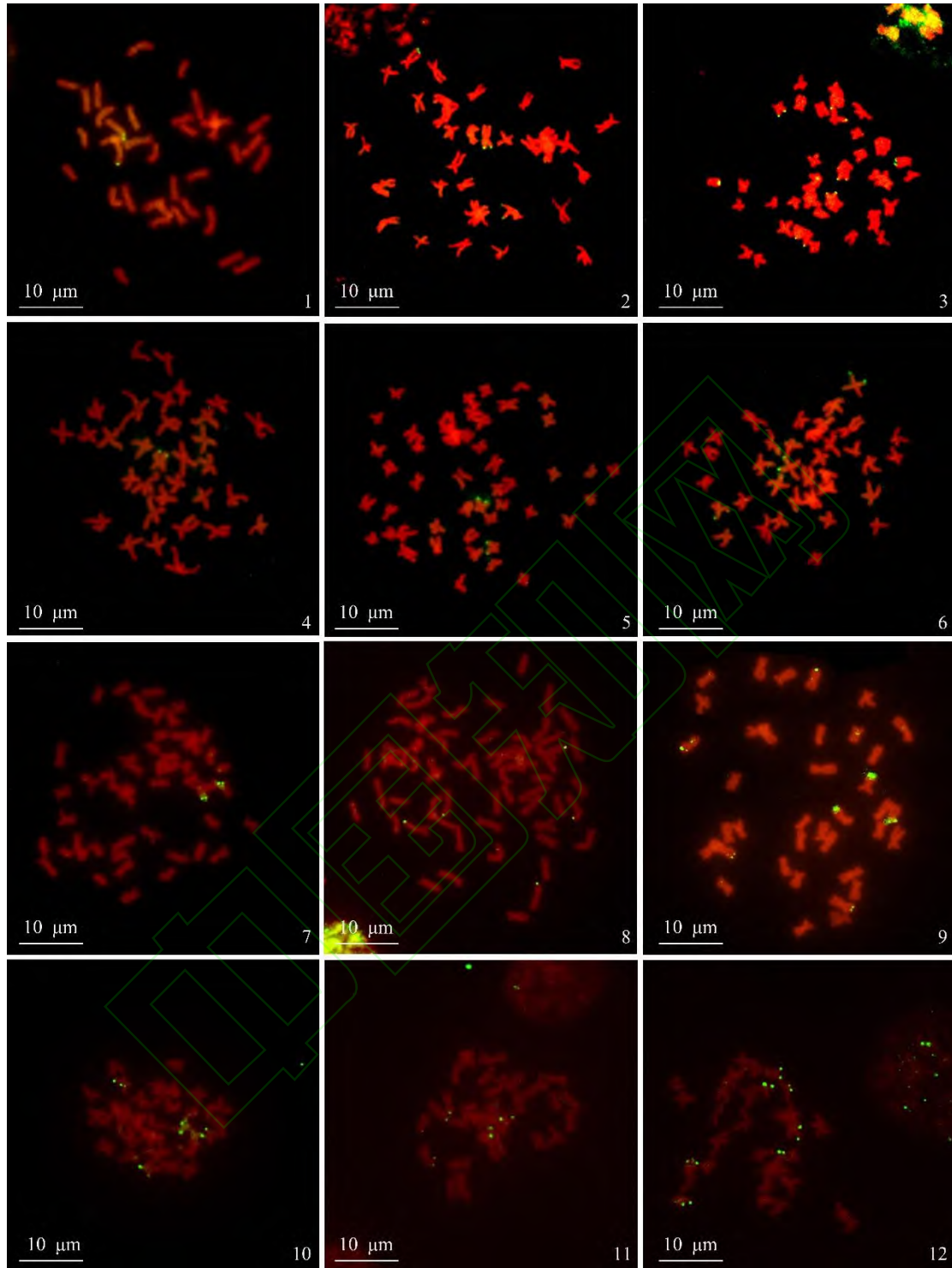


图3 4种鲍中45S rDNA位点的其他模式  
Fig.3 Other patterns of 45S rDNA loci in 4 species of abalone

1、2、3 三幅图为皱纹盘鲍 45S rDNA 中期分裂相图；4、5、6 三幅图为西氏鲍 45S rDNA 中期分裂相图；7、8、9 三幅图为绿鲍 45S rDNA 中期分裂相图；10、11、12 三幅图为杂色鲍 45S rDNA 中期分裂相图；绿色信号为 45S rDNA

The 1, 2, 3 three figures were FISH mapping of 45S rDNA gene in *H. discus hammai*; the 4, 5, 6 three figures were FISH mapping of 45S rDNA gene in *H. gigantea*; the 7, 8, 9 three figures were FISH mapping of 45S rDNA gene in *H. fulgens*; the 10, 11, 12 three figures were FISH mapping of 45S rDNA gene in *H. deiversicolor*; the green signal was the 45S rDNA gene

### 3 讨论

染色体核型指的是染色体组在有丝分裂中期的表型，包括染色体数目、大小、形态特征<sup>[4]</sup>。在本研究中，4种鲍核型均符合前人报道<sup>[4]</sup>，所有种类均含有中部着丝粒染色体和亚中部着丝粒染色体，绿鲍和杂色鲍还含有亚端部着丝粒染色体。虽然关于这4种鲍的核型已有多篇报道，但是不同的报道结果之间略有不同<sup>[4]</sup>。同一物种的染色体核型多态的现象在贝类中较为常见<sup>[4]</sup>，此现象原因可能包括两方面：染色体制备方法可能会影响染色体的形态；低等动物种群内或种群之间由于染色体变异而导致染色体多态。由于这些不确定因素的存在，我们需要开发更多的染色体标记提高这4种鲍的染色体辨识度。

真核生物中，45S *rDNA* 基因是编码核糖体 RNA 的串联重复序列，由 18S、5.8S 和 28S *rDNA* 组成。45S *rDNA* 通常在基因组中成簇排列<sup>[14]</sup>。45S *rDNA* 编码序列在种间具有极高的保守性，且不同重复单元序列高度一致，是研究重复序列分子进化机制的模型<sup>[15]</sup>。在细胞遗传学研究中，45S *rDNA* 位点研究也是最多的细胞遗传标记，在一些物种中还可能与性别决定区域相关联<sup>[16]</sup>。45S *rDNA* 的染色体分布可以通过银染、CMA 染色或 DAPI 染色等方法来显示，更直接的方法是以 45S *rDNA* 或其中部分序列(如 18S *rDNA*)为探针作 FISH 定位<sup>[17]</sup>。

表1 鲍类45S *rDNA* 位点定位研究概况  
Tab.1 Summary of location of 45S *rDNA* in abalone

种类 species	核型 karyotype	45S <i>rDNA</i> (or 18S <i>rDNA</i> )		文献 reference
		对数 pair	位置 location	
皱纹盘鲍 ( <i>H. discus hannai</i> )	14 m+6 m/sm+16 sm	4	2 th, TER; 7 th, TER; 12 th, TER; 18 th, TER	[3]
	20 m+ 16 sm	2	14 th, TER; 17 th, TER	[17]
	20 m+16 sm	2	13 th, TER; 15 th, TER	本研究
西氏鲍 ( <i>H. gigantea</i> )	20 m+16 sm	3	9 th, TER; 12 th, TER; 14 th, TER	[9]
	20 m+16 sm	3	5 th, TER; 14 th, TER; 17 th, TER	本研究
绿鲍 ( <i>H. flugens</i> )	16 m + 16 sm + 4 st	2	4 th, TER; 11 th, TER	[6]
	16 m+16 sm+4 st	3	4 th, TER; 6 th, TER; 8 th, TER	本研究
红鲍 ( <i>H. rufescens</i> )	16 m+18 sm+2 st	2	4 th, TER; 5 th, TER	[8]
粉红鲍 ( <i>H. corrugata</i> )	20 m+14 sm+2 st	2	2 nd, TER; 4 th, TER	[6]
杂色鲍 ( <i>H. deiversicolor</i> )	16 m+14 sm+ 2 t	3	3 rd, TER; 4 th, TER; 12 th, TER	本研究

注: 相对位置参考朱齐春(2017)<sup>[18]</sup>; TER=端着丝粒染色体着丝粒末端或者亚端着丝粒染色体的短臂端部

Notes: the relative locations refer to the Zhu (2017)<sup>[18]</sup>; TER=centromeric termini of acrocentric chromosomes or terminal on the p-arms

目前，已利用 FISH 定位 45S *rDNA* (或 18S *rDNA*) 的鲍共 6 种(表 1)，结果表明，鲍类 45S *rDNA* 位点的数目和位置普遍存在较大的种内变化。以皱纹盘鲍为例，现有的 3 篇报道结果互不相同。蔡明夷等<sup>[3]</sup>以 2 个质粒(含人类的 18S *rDNA*、5.8S *rDNA*、28S *rDNA* 和一段 7.3 kb 间隔序列片段)制备杂交探针作 FISH，共检出 4 对阳性信号。Wang 等<sup>[17]</sup>以 PCR 扩增 18S *rDNA* 部分编码区制备杂交探针作 FISH，发现 81% 的细胞具有 2 对信号，分别位于 14 号和 17 号染色体长臂端部；同时，还存在着其他低频率位点分布模式，表现出较高的种内多态性。本研究中，皱纹盘鲍 45S *rDNA* 位点染色体定位结果与 Wang<sup>[17]</sup>的结果相近，也检出 2 对阳性信号，少于蔡明夷等<sup>[3]</sup>所报道的 4 对阳性信号。造成这些结果差异的主要原因可能是，蔡明夷等<sup>[3]</sup>用以制备探针的 DNA 片段较长，因而检出的灵敏度相应较高。综合现有研究结果可以推测，皱纹盘鲍至少存在 2 对大的 45S *rDNA* 位点，FISH 信号稳定；同时可能还存在若干对小的 45S *rDNA* 位点，FISH 信号不稳定。Gallardo-Escárate 等<sup>[6-8]</sup>在红鲍、绿鲍和粉红鲍也观察同样的结果，3 种鲍的中期染色体中均有 2 对信号明确的和若干对不稳定的 45S *rDNA* 信号。在现有动物细胞遗传学研究资料中，约有 12% 的物种表现出 *rDNA* 数目和

分布位置的种内变化<sup>[19]</sup>。基因组中，低于 FISH 检测灵敏度下限的 rDNA 位点的扩增，或者失去活性的 rDNA 逐渐被排除，可能是导致 rDNA 位点数目和位置多态的重要原因。此外，不同实验室 FISH 程序的检测灵敏度差异也可能导致 45S rDNA 定位结果的变动。

目前已报道的动物核型中，约 60% 具有单对 45S rDNA 位点，但几乎在所有类群中都存在多对位点的核型<sup>[19]</sup>。贝类核型中，45S rDNA 位点的众数为 1 对，平均数为 3.18 对<sup>[19]</sup>。鲍一般具有 2~3 对明确的 45S rDNA 位点和若干对不稳定的小位点，为多对位点模式（表 1）。目前认为，多倍化<sup>[20]</sup>、种间杂交<sup>[21]</sup>、非同源位点间重组<sup>[22]</sup>、转座子的作用<sup>[23]</sup>、环出扩增 rDNA 的重新插入<sup>[24]</sup>等原因可能导致 45 rDNA 位点数目增多。自然状态下，鲍易发生种间杂交，而且杂交子代常获得明显的杂种优势<sup>[25]</sup>。Cai 等<sup>[4]</sup>在分析杂色鲍×皱纹盘鲍杂交子代核型时发现，杂交 F<sub>1</sub> 复合染色体组很不稳定<sup>[4]</sup>。杂种染色体组不稳定是导致 rDNA 位点获得或丢失的重要原因<sup>[21]</sup>。然而，鲍属中，究竟是什么因素导致其 45S rDNA 位点数目普遍高于贝类 45 rDNA 位点的众数，以及 45S rDNA 位点的扩张的生物学意义是什么？解答这些问题尚需更多的研究数据。

虽然鲍 45S rDNA 的位点数目扑朔迷离，但其染色体分布区域非常稳定，全部信号均分布于染色体端部（表 1）。真核生物中，45S rDNA 位点分布染色体端部是主流模式。Roa 等<sup>[26]</sup>和 Gornung<sup>[15]</sup>分别综述了植物和鱼类 45S rDNA 定位研究资料，研究表明，超过 50% 的被子植物和约 43% 的鱼类具有染色体端部分布的 45S rDNA 位点。Sochorov 等<sup>[19]</sup>统计了 54 种贝类的 45S rDNA 定位结果，发现 67% 的位点为染色体端部分布<sup>[19]</sup>。研究人员认为，rDNA 分布于染色体端部利于其发生同源重组，而同源重组可能 rDNA 协同进化的重要维持机制<sup>[27]</sup>；染色体端部分布也便于 rDNA 位点在染色体间扩增与重排<sup>[28]</sup>；此外，端部分布串联重复 rDNA 可能还具有保护染色体的作用，与端粒作用类似<sup>[29]</sup>。

综上所述，皱纹盘鲍、西氏鲍、绿鲍和杂色鲍等 4 种鲍均具有多对 45S rDNA 位点，其中 2~3 对位点信号明确，全部位于染色体端部。鲍的 45S rDNA 位点的数目和分布位置普遍表现出较高水平的种内变化，位点数目与物种的地理分布之间未发现明显的相关性。与鲍的经济价值及其遗传育种研究的发展状况相比，现有鲍的细胞遗传学研究水平明显落后。要支持鲍染色体进化研究、以及杂交育种和多倍体育种，有必要开展更多的分子细胞遗传学研究。

#### 参考文献：

- [1] Franchini P, Slabbert R, Van Der Merwe M, et al. Karyotype and genome size estimation of *Haliotis midae*: Estimators to assist future studies on the evolutionary history of haliotidae[J]. Journal of Shellfish Research, 2010, 29(4): 945-950, doi: 10.2983/035.029.0428.
- [2] 郭战胜, 侯旭光. 鲍科染色体研究进展[J]. 水产科学, 2016, 35(5): 597-602.  
Guo Z S, Hou X G. Research progress on chromosome in family haliotidae[J]. Fisheries Science, 2016, 35(5): 597-602 (in Chinese).
- [3] 蔡明夷, 刘贤德, 陈紫莹, 等. 皱纹盘鲍染色体 C 带和 rDNA 定位[J]. 水产学报, 2013, 37(7): 1002-1008.  
Cai M Y, Liu X D, Chen Z Y, et al. Characterization of Pacific abalone (*Haliotis discus hannai*) karyotype by C-banding and fluorescence in situ hybridization with rDNA[J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(7): 1002-1008 (in Chinese).
- [4] Cai M Y, Ke C H, Luo X, et al. Karyological studies of the hybrid larvae of *Haliotis diversicolor* supertexta female and *Haliotis discus discus* male[J]. Journal of Shellfish Research, 2010, 29(3): 735-741, doi: 10.2983/035.029.0327.
- [5] 权洁霞, 戴继勋. 荧光原位杂交技术 (FISH) 在鱼类遗传学研究中的应用及前景[J]. 动物学研究, 1999, 20(3): 225-229.  
Quan J X, Dai J X. Current and future application of fluorescence in situ hybridization (FISH) techniques to FISH genetics: A review[J]. Zoological Research, 1999, 20(3): 225-229 (in Chinese).
- [6] Gallardo-Escárate C, Álvarez-Borrego J, Del Río-Portilla M A, et al. Karyotype analysis and chromosomal localization by FISH of ribosomal DNA, telomeric (TTAGGG)<sub>n</sub> and (GATA)<sub>n</sub> repeats in *Haliotis fulgens* and *H. corrugata* (Archeogastropoda: Haliotidae)[J]. Journal of Shellfish Research, 2005, 24(4): 1153-1160, doi: 10.2983/0730-8000(2005)24[1153:KAACLB]2.0.CO;2.
- [7] Hernández-Ibarra N K, Ibarra A M, Cruz P, et al. FISH mapping of 5S rRNA genes in chromosomes of North American abalone species, *Haliotis rufescens* and *H. fulgens*[J]. Aquaculture, 2007, 272 Suppl 1: S268, doi: 10.1016/j.aquaculture.2007.07.086.
- [8] Gallardo - Escárate C, Álvarez - Borrego J, Ángel Del Río - Portilla M, et al. Fluorescence in situ hybridization of rDNA, telomeric (TTAGGG)<sub>n</sub> and (GATA)<sub>n</sub> repeats in the red abalone *Haliotis rufescens* (Archaeogastropoda: Haliotidae)[J]. Hereditas, 2005, 142(2005): 73-79, doi: 10.1111/j.1601-5223.2005.01909.x.
- [9] 王海山. 三种鲍种间杂交的细胞遗传学研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2014.  
Wang H S. Cytogenetic characterization of interspecies hybrids in three species of abalone[D]. Xiamen: Xiamen University, 2014 (in Chinese).
- [10] 刘圆圆. 杂色鲍与皱纹盘鲍及其杂交子代的分子细胞遗传学研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2016.  
Liu Y Y. Molecular Cytogenetic Studies on *Haliotis diversicolor diversicolor*, *H. discus hannai* and the interspecific hybrid[D]. Xiamen: Xiamen University, 2016 (in Chinese).
- [11] Arai K, Tsubaki H, Ishitani Y, et al. Chromosomes of *Haliotis discus hannai* INO and *H. Discus* REEVE[J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1982, 48(12): 1689-1692.



- [12] 杨文杰, 黄勃, 王仁恩, 等. 海南不同地理群体羊鲍 18S rDNA 的克隆与序列分析[J]. 安徽农业科学, 2012, 40(20): 10370-10373.  
Yang W J, Huang B, Wang R E, *et al.* Cloning and sequence analysis of *Haliotis ovina* 18S rDNA in the different geographical populations of Hainan[J]. Journal of Anhui Agricultural Sciences, 2012, 40(20): 10370-10373 (in Chinese).
- [13] Levan A, Fredga K, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes[J]. Hereditas, 1964, 52(2): 201-220, doi: 10.1111/j.1601-5223.1964.tb01953.x.
- [14] Martins C, Wasko A P. Organization and evolution of 5S ribosomal DNA in the fish genome[M]//Williams C R. Focus on Genome Research. New York: Nova Science Publishers, 2004: 335-363.
- [15] Gornung E. Twenty years of physical mapping of major ribosomal RNA genes across the teleosts: A review of research[J]. Cytogenetic and Genome Research, 2013, 141(2-3): 90-102, doi: 10.1159/000354832.
- [16] Yano C F, Poltronieri J, Bertollo L A C, *et al.* Chromosomal mapping of repetitive DNAs in *Triplotheus trifurcatus* (Characidae, Characiformes): Insights into the differentiation of the Z and W chromosomes[J]. PLoS One, 2014, 9(3): e90946, doi: 10.1371/journal.pone.0090946.
- [17] Wang H S, Luo X, You W W, *et al.* Cytogenetic analysis and chromosomal characteristics of the polymorphic 18S rDNA of *Haliotis discus hannai* from Fujian, China[J]. PLoS One, 2015, 10(2): e0113816, doi: 10.1371/journal.pone.0113816.
- [18] 朱齐春, 郑娇, 张静, 等. 眼斑拟石首鱼重复 DNA 序列的染色体定位[J]. 水生生物学报, 2017, 41(6): 1218-1224.  
Zhu Q C, Zheng J, Zhang J, *et al.* Location of repetitive DNA sequences on the chromosome of *sciaenops ocellatus*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2017, 41(6): 1218-1224 (in Chinese).
- [19] Sochorová J, Garcia S, Gálvez F, *et al.* Evolutionary trends in animal ribosomal DNA loci: Introduction to a new online database[J]. Chromosoma, 2018, 127(1): 141-150, doi: 10.1007/s00412-017-0651-8.
- [20] Gromicho M, Coelho M M, Alves M J, *et al.* Cytogenetic analysis of *Anaocypris hispanica* and its relationship with the paternal ancestor of the diploid-polyploid *Squalius alburnoides* complex[J]. Genome, 2006, 49(12): 1621-1628, doi: 10.1139/g06-121.
- [21] Książczyk T, Taciak M, Zwierzykowski Z. Variability of ribosomal DNA sites in *Festuca pratensis*, *Lolium perenne*, and their intergeneric hybrids, revealed by FISH and GISH[J]. Journal of Applied Genetics, 2010, 51(4): 449-460, doi: 10.1007/BF03208874.
- [22] Cazaux B, Catalan J, Veyrunes F, *et al.* Are ribosomal DNA clusters rearrangement hotspots? A case study in the genus *Mus* (Rodentia, Muridae)[J]. BMC Evolutionary Biology, 2011, 11: 124, doi: 10.1186/1471-2148-11-124.
- [23] Symonová R, Majtánová Z, Sember A, *et al.* Genome differentiation in a species pair of coregonine fishes: An extremely rapid speciation driven by stress-activated retrotransposons mediating extensive ribosomal DNA duplications[J]. BMC Evolutionary Biology, 2013, 13: 42, doi: 10.1186/1471-2148-13-42.
- [24] Cohen S, Agmon N, Sobol O, *et al.* Extrachromosomal circles of satellite repeats and 5S ribosomal DNA in human cells[J]. Mobile DNA, 2010, 1(1): 11, doi: 10.1186/1759-8753-1-11.
- [25] Leighton D L, Lewis C A. Experimental hybridization in abalones[J]. International Journal of Invertebrate Reproduction, 1982, 5(5): 273-282, doi: 10.1080/01651269.1982.10553479.
- [26] Roa F, Guerra M. Distribution of 45S rDNA sites in chromosomes of plants: Structural and evolutionary implications[J]. BMC Evolutionary Biology, 2012, 12: 225, doi: 10.1186/1471-2148-12-225.
- [27] Kovarik A, Dadejova M, Lim Y K, *et al.* Evolution of rDNA in *Nicotiana allopolyploids*: A potential link between rDNA homogenization and epigenetics[J]. Annals of Botany, 2008, 101(6): 815-823, doi: 10.1093/aob/mcn019.
- [28] Pedrosa-Harand A, De Almeida C C S, Mosiolek M, *et al.* Extensive ribosomal DNA amplification during Andean common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) evolution[J]. Theoretical and Applied Genetics, 2006, 112(5): 924-933, doi: 10.1007/s00122-005-0196-8.
- [29] Pich U, Fuchs J, Schubert I. How do Alliaceae stabilize their chromosome ends in the absence of TTAGGG sequences?[J]. Chromosome Research, 1996, 4(3): 207-213, doi: 10.1007/BF02254961.