

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20200324001

http://www.yykxjz.cn/

李凤辉, 边力, 史会来, 周丽青, 陈四清, 葛建龙, 刘长琳, 卢斌, 常青. 真蛸染色体核型分析. 渔业科学进展, 2021, 42(5): 132-138

LI F H, BIAN L, SHI H L, ZHOU L Q, CHEN S Q, GE J L, LIU C L, LU B, CHANG Q. Karyotype analysis of the East Asian common octopus, *Octopus sinensis*. Progress in Fishery Sciences, 2021, 42(5): 132-138

真蛸染色体核型分析*

李凤辉^{1,2} 边力^{2,3} 史会来⁴ 周丽青² 陈四清^{2,3①}
葛建龙^{2,3} 刘长琳^{2,3} 卢斌⁴ 常青^{2,3}

(1. 上海海洋大学水产科学国家级实验教学示范中心 水产动物遗传育种中心上海市协同创新中心 上海水产养殖工程技术研究中心 上海 201306; 2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所 农业农村部海洋渔业可持续发展重点实验室 山东 青岛 266071; 3. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室 山东 青岛 266071; 4. 浙江省海洋水产研究所 浙江省海水增养殖重点实验室 浙江 舟山 316021)

摘要 以东海沿海捕获的野生真蛸(*Octopus sinensis*)为实验材料,用含秋水仙素终浓度为0.005%的海水活体暂养的方法,取鳃和肾脏细胞,利用热滴片法制备染色体标本,对其核型进行分析。结果显示,真蛸的二倍体染色体条数为60条,核型公式为 $2n=14m+26sm+12st+8t$,其染色体臂数(NF)为100。未发现带有随体和次溢痕的染色体和异型染色体,推断真蛸可能为常染色体性别决定类型。本研究可为蛸属的细胞遗传学研究及真蛸种质鉴定和资源保护提供基础资料和参考依据。

关键词 真蛸; 染色体; 核型

中图分类号 Q343.2 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2021)05-0132-07

真蛸(*Octopus sinensis*, d'Orbigny, 1841)隶属于软体动物门(Mollusca)、头足纲(Cephalopoda)、二鳃亚纲(Dibranchiata)、八腕目(Octopoda)、蛸科(Octopodidae)、蛸属(*Octopus*),主要分布于北太平洋西部的温带浅海海域,特别是中国、韩国和日本沿海,成体营底栖生活(Amor *et al.*, 2017; Gleadall, 2016)。*O. sinensis*过去常与分布于大西洋和地中海等海域的真蛸(*Octopus vulgaris*)视为同种异名(Iglesias *et al.*, 2007; Okumura *et al.*, 2005; Warnke *et al.*, 2004)。近年来,基于分子生物学和外部形态特征,在物种水平上将*O. sinensis*和真蛸(*O. vulgaris*)分离开来,英文命名

为 East Asian common octopus (*O. sinensis*) (Amor *et al.*, 2019, 2017; Gleadall, 2016)。鉴于国内没有重新定名,本文暂沿用真蛸。蛸类是海洋大型经济鱼类的重要饵料,作为捕食者和被捕食者,在海洋生态系统食物链中扮演着重要角色;其味道鲜美,营养丰富,备受消费者青睐,具有较高的经济价值(廖永岩, 2006)。随着头足类海洋捕捞量的逐渐减少和消费量的逐渐增大,蛸类人工养殖将是必然,市场前景广阔(叶守建等, 2014)。*O. sinensis*具有生命周期短、产卵量大、食物转化率高和生长速度快等特点,是极具潜力的海水增养殖品种(Dan *et al.*, 2019)。目前,中国、日本等

* 财政部和农业农村部现代农业产业技术体系专项资金(CARS-49)、中国水产科学研究院基本科研业务费(2020GH02)和浙江省海洋水产研究所科技计划项目(2019F302)共同资助 [This work was supported by China Agriculture Research System of MOF and MARA (CARS-49), Central Public-Interest Scientific Institution Basal Research Fund, CAFS (2020GH02), and Science and Technology Program of Zhejiang Marine Fisheries Research Institute (2019F302)]. 李凤辉, E-mail: 18763903510@163.com

① 通讯作者: 陈四清, 研究员, E-mail: chensq@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2020-03-24, 收修改稿日期: 2020-04-11

国家已经开始进行 *O. sinensis* 人工养殖技术的研究 (Dan *et al.*, 2019; 徐大凤等, 2019)。

染色体是生物遗传信息的载体, 是两性生物进化、遗传变异的物质基础, 研究染色体数目和核型, 对了解生物遗传变异规律、亲缘关系、进化地位、性别决定机制等均具有重要意义 (史宝等, 2017; Amores *et al.*, 2014)。同时, 可为生物的种质鉴定、雌(雄)核发育、多倍体诱导、杂交育种等技术的研究以及染色体水平的基因组组装提供参考依据 (Molina-Luzón *et al.*, 2015)。现存的头足类大约有 700 余种, 但对其染色体核型的研究相对较少。目前, 国内外仅对 10 种头足类的染色体进行了研究: 金乌贼 (*Sepia esculenta*)、虎斑乌贼 (*Sepia pharaonis*)、拟目乌贼 (*Sepia lycidas*)、莱氏拟乌贼 (*Sepioteuthis lessoniana*)、长枪乌贼 (*Heterololigo bleekeri*)、剑尖枪乌贼 (*Photololigo edulis*)、商乌贼 (*Sepia officinalis*)、短蛸 (*Octopus ocellatus*)、长蛸 (*Octopus minor*) 和真蛸 (王晓华等, 2011; Papan *et al.*, 2010; Gao *et al.*, 1990; Vitturi *et al.*, 1982; Inaba, 1959)。目前, 国内外对 *O. sinensis* 的研究主要集中在分类、发育生物学以及人工养殖技术等方面, 对其染色体核型的研究未见报道 (Amor *et al.*, 2017、2019; Gleadall, 2016; Dan *et al.*, 2019)。本研究对 *O. sinensis* 的染色体核型进行分析, 旨在丰富其细胞遗传学数据, 以期为其种质鉴定、资源保护和人工养殖等研究提供理论基础。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验用真蛸为 2019 年 10 月在浙江省舟山市附近海域捕获的野生群体幼体, 根据右侧第 3 腕足确定其雌雄 (图 1B、C), 雌雄各 5 只, 雌性体重为 (169.25±4.03) g, 全长为 (34.05±3.46) cm, 生殖腺指数为 1.31±0.62; 雄性体重为 (345.60±5.32) g, 全长为 (41.20±4.35) cm, 性腺指数为 2.31±0.89。按照 Amor 等 (2017) 的研究, 基于线粒体 COI 基因部分序列对随机选取的 5 只章鱼进行分子生物学鉴定, 鉴定结果为 *O. sinensis* (图 1D)。实验在浙江省舟山市浙江省海洋水产研究所试验基地进行。实验开始前, 车间暂养 30 d, 暂养水温为 22℃~24℃, 盐度为 30~33, pH 为 7.8~8.4, DO>6 mg/L。饲以菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 和日本蟳 (*Charybdis japonica*), 日投饵 1 次, 投饵量为体重的 5%~10%, 采用流水养殖, 日换水量为 100%~200%。

1.2 染色体标本制备

染色体标本制备参照金乌贼染色体核型分析方法 (王晓华等, 2011), 略作修改。预处理: 将 *O. sinensis* 活体置于含秋水仙素终浓度为 0.005% 的过滤海水中暂养 2 h, 暂养水温为 22℃~24℃, 暂养过程中持续充气。处理: 解剖并取鳃和肾脏组织于过滤海水配制的秋水仙素溶液 (终浓度为 0.04%) 中浸泡 30 min。低渗: 将处理后的鳃和肾脏组织切成小块, 并置于 50 ml 浓度为 0.075 mol/l 的 KCl 溶液中 (蒸馏水配制) 处理 50 min。固定: 将低渗后的组织转移至预冷的卡诺氏液 (甲醇: 冰醋酸=3:1) 中, 每隔 15 min 更换固定液, 重复 3 次。固定后的组织 4℃ 保存过夜。解离: 固定后的组织于 50% 的冰醋酸 (蒸馏水配制) 中解离, 解离时间视组织解离状态而定, 待解离组织近乎透明, 终止解离, 剔除未解离的组织, 并用吸管轻轻吹打解离液 2 min。滴片: 采用热滴片法制备染色体标本。染色: 载玻片在空气中自燃干燥后, 用 10% 的吉姆萨染液染色 30 min, 蒸馏水冲洗, 晾干后镜检。整个实验过程雌雄各重复 5 次。

1.3 染色体核型分析

使用 Nikon ECLIPSE 80i 显微镜对 *O. sinensis* 染色体标本进行观察并拍照。选取 200 个染色体分散较好的中期分裂相进行数目统计。再从中选取 20 个着色较好、轮廓清晰、收缩适中的染色体中期分裂相经放大打印后进行测量和分析, 并计算相对长度和臂比。相对长度=(实测染色体长度/全部染色体长度总和)×100; 臂比=长臂长度/短臂长度; 按照 Levan 等 (1964) 提出的标准进行核型分析, 按臂比将染色体分为 4 种类型: 中部着丝点染色体 (m, 臂比 1.00~1.70)、亚中部着丝点染色体 (sm, 臂比 1.71~3.00)、亚端部着丝点染色体 (st, 臂比 3.01~7.00)、端部着丝点染色体 (t, 臂比 ≥7.0)。中部着丝粒染色体 (m) 和亚中部着丝粒染色体 (sm) 臂数为 2, 亚端部着丝粒染色体 (st) 和端部着丝粒染色体 (t) 臂数为 1。

2 结果与分析

2.1 染色体数目的确定

利用 *O. sinensis* 的鳃和肾脏组织均能获得中期分裂相 (图 2A), 雌雄各选取 100 个分散较好的分裂相进行数目统计 (表 1)。统计结果显示, 200 个分裂相中, 染色体条数为 60 的分裂相有 156 个, 占比为 78%, 由此确定 *O. sinensis* 的二倍体染色体条数为 2n=60。

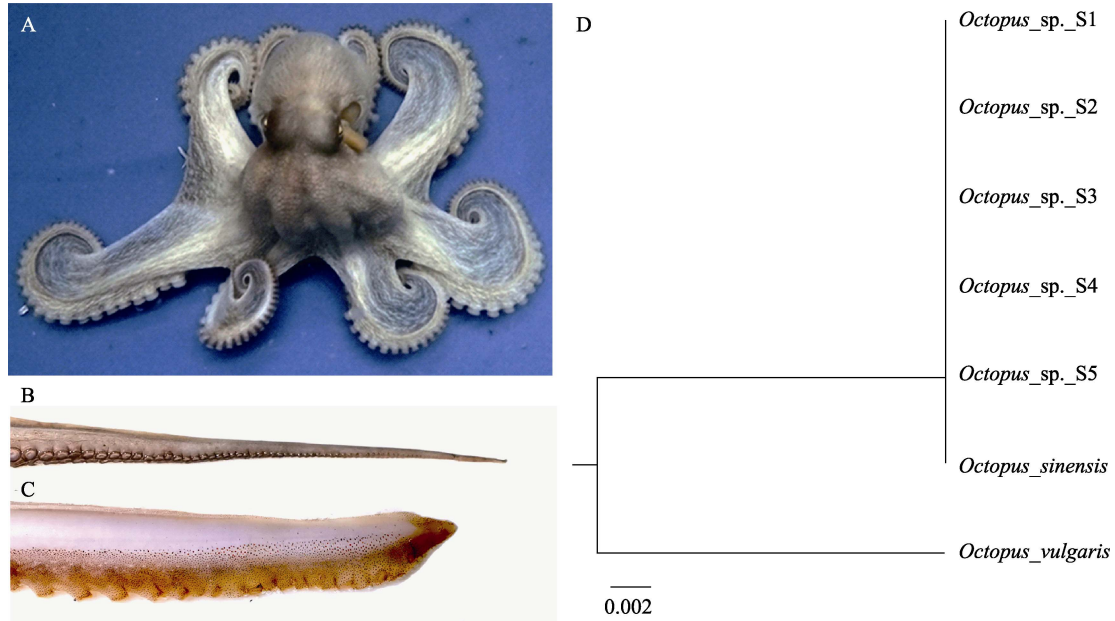


图 1 *O. sinensis* 外部形态及分子生物学鉴定
Fig.1 External morphology and molecular identification of the *O. sinensis*

A: *O. sinensis*; B: 雌性右侧第 3 腕足; C: 雄性右侧第 3 腕足; D: 基于线粒体 *COI* 基因部分序列的系统发育树。*O. sinensis* 和真蛸 *COI* 基因序列为从 NCBI 下载, 序列号分别为 NC006353 和 KF844029; *Octopus* sp. S1~S5 为本研究所用章鱼
A: *O. sinensis*; B: The third right arm of female *O. sinensis*; C: The third right arm of male *O. sinensis*; D: the phylogenetic tree constructed based on partial sequence of the mitochondrial *COI* gene. The *COI* gene sequences of *O. sinensis* and *O. vulgaris* were downloaded from NCBI with accession number NC006353 and KF844029, respectively. *Octopus* sp. S1~S5 was the octopuses used in this study

表 1 *O. sinensis* 二倍体染色体数目频率分布
Tab.1 Frequency distribution of *O. sinensis* diploid chromosome number

项目 Items	染色体数目 Number of chromosome					总和 Sum
	≤56	58	60	61	≥62	
分裂项数目 Number of metaphase	8	11	156	3	22	200
所占百分比 Percentage of metaphase /%	4.0	5.5	78.0	1.5	11	100

2.2 染色体相对长度及核型分析

染色体相对长度和臂比统计结果见表 2。根据相对长度和臂比, *O. sinensis* 的 60 条染色体可配对的 30 对(图 2B), 其中, 7 对为中部着丝粒染色体(m), 13 对为亚中部着丝粒染色体(sm), 6 对为亚端部着丝粒染色体(st), 4 对为端部着丝粒染色体(t)。最长和最短的染色体相对长度分别为 3.76±0.05 和 0.70±0.13, 均为亚中部着丝粒染色体。雌雄染色体类型一致, 未发现性别相关的异型染色体, 也没发现次溢痕和随体。确定本研究 *O. sinensis* 的染色体核型为 2n=14 m+

26 sm+12 st+8 t, 臂数(NF)为 100。

3 讨论

现存头足类有 700 余种, 但仅有 7 种报道了染色体核型(表 3)。头足类染色体的研究最早见于 Inaba (1959)的报道, 采用精原细胞和初级精母细胞对长蛸和真蛸的染色体进行制备并分析染色体数目, 并未报道核型。染色体标本多采用生物细胞分裂能力较强时期或组织进行制备, 像鱼类的头肾、鳃等, 细胞分裂指数高, 更易获得较多的中期分裂相。已知头足类染色体核型的研究多采用性细胞、受精卵、正在发育的胚胎等(王晓华等, 2011; Papan *et al*, 2010; Gao *et al*, 1990; Vitturi *et al*, 1982; Inaba, 1959)。性腺和受精卵能够获得中期分裂相, 但制备过程中细胞极易破裂, 容易造成染色体丢失, 同时, 受精卵因含有较多的卵黄组织, 会影响染色体分散及染色(王晓华等, 2011; Vitturi *et al*, 1982; Inaba, 1959)。正在发育的胚胎细胞分裂旺盛, 所制备的染色体标本中期分裂相较多, 染色体分散好, 轮廓清晰, 极适用于头足类染色体标本的制备(王晓华等, 2011)。在胚胎时期, 头足类性别尚未分化, 难以确定头足类的染色体性别决定机制。本

表 2 *O. sinensis* 中期染色体类型、相对长度和臂比值(平均值±标准差)

Tab.2 Relative length and arm ratio of metaphase chromosome in *O. sinensis* (Mean±SD)

编号 No.	相对长度 Relative length	臂比值 Arm ratio	类型 Type
1	2.67±0.04	1.18±0.03	m
2	1.63±0.05	1.65±0.02	m
3	1.62±0.02	1.10±0.04	m
4	1.48±0.08	1.11±0.03	m
5	1.31±0.01	1.23±0.04	m
6	1.00±0.13	1.06±0.03	m
7	0.86±0.11	1.12±0.04	m
8	3.76±0.05	2.94±0.22	sm
9	3.65±0.12	2.95±0.15	sm
10	2.14±0.22	2.70±0.53	sm
11	1.65±0.16	2.46±0.42	sm
12	1.44±0.20	2.82±0.24	sm
13	1.28±0.09	2.49±0.56	sm
14	1.23±0.10	2.53±0.02	sm
15	1.16±0.21	2.31±0.23	sm
16	1.03±0.12	2.28±0.09	sm
17	1.00±0.10	2.37±0.32	sm
18	0.94±0.11	2.05±0.23	sm
19	0.79±0.07	1.93±0.03	sm
20	0.70±0.13	2.06±0.35	sm
21	2.40±0.10	3.61±0.33	st
22	2.22±0.04	4.68±0.09	st
23	2.20±0.06	4.58±0.13	st
24	1.93±0.09	4.41±0.96	st
25	1.57±0.09	3.02±1.25	st
26	1.50±0.11	4.70±0.96	st
27	2.87±0.10	∞	t
28	2.23±0.85	∞	t
29	0.86±0.23	∞	t
30	0.82±0.05	∞	t

研究利用 *O. sinensis* 幼体鳃和肾脏组织, 采用活体浸泡秋水仙素暂养的方法, 成功获得雌雄个体分散较好、轮廓清晰、收缩适中的染色体中期分裂相(图 2A)。首先, *O. sinensis* 幼体处于生长期, 细胞分裂相对旺盛, 且已出现性别分化, 有利于结合染色体核型分析其染色体性别决定机制。其次, 采用含秋水仙素海水暂养的方法对活体进行预处理, 保证在组织细胞活性下获得实验样本, 提高有丝分裂指数。但与胚胎相比, 幼体鳃和肾脏有丝分裂指数相对较低, 可通过多次重复实验来弥补不足。

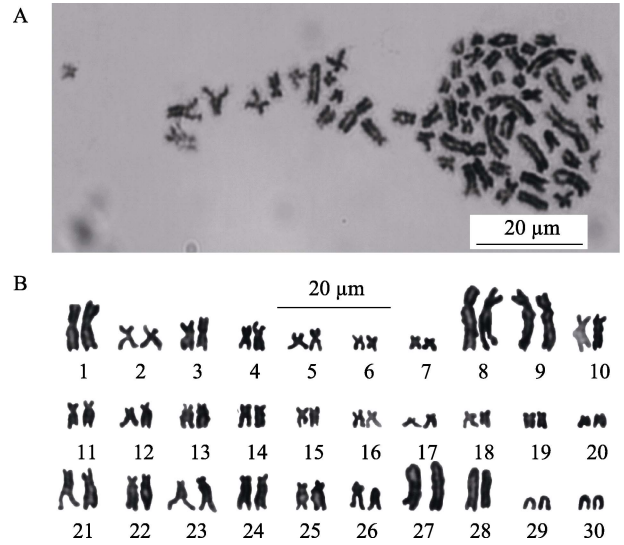


图 2 *O. sinensis* 中期分裂相染色体及核型
Fig.2 Metaphase chromosome and karyotype of *O. sinensis*

- A: *O. sinensis* 中期分裂相染色体;
- B: *O. sinensis* 染色体核型
- A: Mataphase chromosomes of *O. sinensis*;
- B: Karyotype of *O. sinensis*

两性分化与有性生殖推动了生物的遗传和变异过程。异形染色体(性染色体)对在生物性别决定过程中发挥重要作用。根据异形染色体对在两性中的存在形式, 可将目前已知的生物染色体决定模式分为 XX/XY 型、ZW/ZZ 型、ZO/ZZ 和 XX/XO 型以及复性染色体型(尚晓莉等, 2010)。部分生物的性别决定模式除受到性染色体调控外, 常染色体也发挥一定的调控作用, 即常染色体性别决定类型(童金苟等, 2003)。常染色体性别决定类型是指在现有的技术条件下未能发现异形染色体(尚晓莉等, 2010)。目前, 国内外对软体动物染色体性别决定机制的研究较少, 国内仅见栉江珧(*Atrina pectinata*)。周丽青等(2018)利用愈伤组织制备栉江珧染色体标本, 分析发现栉江珧的染色体性别决定机制为 XX/XY 型。国外研究发现, 在腹足类中可能存在 XO 或 XY 型性染色体(陈宇, 2007)。国内外未见头足类染色体存在异形染色体的报道。本研究通过分析 *O. sinensis* 雌雄个体染色体核型亦未发现异形染色体, 推断头足类染色体性别决定模式可能为常染色体性别决定类型。Twyman(2002)认为, 大部分雌雄异体动物原始性别及第二性征是由性染色体决定的。蛸类外部形态已出现雌雄性的差异, 即第二性征, 具体表现为雄性右侧第 3 腕足特化为交接腕(图 1B、C)。因而, *O. sinensis* 是否存在性染色体有待通过优化实验条件, 染色体带型分析方法进一步探究。

表 3 国内外头足类染色体核型研究
Tab.3 Study on karyotype of chromosome of cephalopod

科 Family	种名 Species	染色体数(2n) Chromosome number	染色体 总臂数 NF	染色体核型 Karyotype	参考文献 Reference
乌贼科 Sepiidae	金乌贼 <i>S. esculenta</i>	92	164	48 m+24 sm+14 st+6 t	Gao 等(1990)
	拟目乌贼 <i>S. lycidas</i>	92	172	66 m+14 sm+10 st+2 t	王晓华等(2011)
	虎斑乌贼 <i>S. pharaonis</i>	48	—	—	Papan 等(2010)
	商乌贼 <i>S. officinalis</i>	104	—	—	Vittur 等(1982)
	长枪乌贼 <i>H. bleekeri</i>	92	166	54 m+20 sm+18 st	Gao 等(1990)
枪乌贼科 Loliginidae	剑尖枪乌贼 <i>P. edulis</i>	92	160	50 m+18 sm+16 st+8 t	Gao 等(1990)
	莱氏拟乌贼 <i>S. lessoniana</i>	92	156	54 m+10 sm+24 st+4 t	Gao 等(1990)
蛸科 Octopodidae	短蛸 <i>O. ocellatus</i>	60	120	32 m+28 sm.	Gao 等(1990)
	真蛸 <i>O. vulgaris</i>	60	76	14 m+2 sm+8 st+36 t	Gao 等(1990)
		56	—	—	Vittur 等(1982)
		56	—	—	Inaba (1959)
	长蛸 <i>O. minor</i>	56	—	—	Inaba (1959)
	真蛸 <i>O. sinensis</i>	60	100	14 m+26 sm+12 st+8 t	本研究 This study

表 3 显示, 在蛸科中, Gao 等(1990)报道的真蛸 (*O. vulgaris*)二倍体染色体条数为 60 条, 与 Vitturi 等(1982)和 Inaba (1959)的研究结果(56 条)存在差异。Gao 等(1990)认为产生该种差异的原因为不同地理群体的生物存在染色体的种内变异。鉴于本研究 *O. sinensis* 的染色体条数也为 60 条, 作者认为产生上述差异的原因更可能为染色体制备方法的差异。研究表明, 取样材料对头足类染色体制备的影响较大(王晓华等, 2011)。本研究发现, *O. sinensis* 性腺细胞在染色体制备过程中极易破裂, 容易造成染色体的丢失。在乌贼科中, Gao 等(1990)与王晓华等(2011)对金乌贼染色体核型分析所得的染色体条数一致(均为 92 条), 但染色体核型有差异, 主要体现在中部着丝粒染色体、亚中部着丝粒染色体和亚端部着丝粒染色体数目上的差异。该差异的产生可能有 2 个原因: 1) 实验方法不同导致染色体收缩程度不同, 进而影响到测量结果; 研究显示, 秋水仙素浓度过大或处理时间过长均会导致染色体收缩严重, 进而影响到测量结果和后期染色体分型(梁述章等, 2019); 2) 鱼类中不同地理群体的个体存在染色体多态性现象(Ren *et al.*, 2014), 头足类也可能存在类似现象。

染色体是生物遗传信息的载体, 染色体的核型能够反映物种的进化历史和种间亲缘关系的远近(Vitturi *et al.*, 1982)。乌贼科的金乌贼和拟目乌贼与枪乌贼科的长枪乌贼、剑尖枪乌贼和莱氏拟乌贼的二倍体染色体条数均为 92 条, 而蛸科的 *O. sinensis*、短蛸

和真蛸为 60 条, 说明乌贼科与枪乌贼科的亲缘关系可能更近, 而与蛸科的亲缘关系较远。本研究 *O. sinensis* 的染色体核型为 $2n=14 m+26 sm+12 st+8 t$, 与真蛸(*O. vulgaris*)($2n=14 m+2 sm+8 st+36 t$)相比, *O. sinensis* 的染色体核型主要由中部着丝粒染色体和亚中部着丝粒染色体构成, 说明 *O. sinensis* 的染色体核型更为稳定(Ahmed, 1976), 染色体核型的差异也为二者的区分提供了另一个判定依据。短蛸(*O. ocellatus*)的染色体核型为 $2n=32 m+28 sm$, 不存在亚端部和端部着丝粒染色体, 说明在蛸类进化过程中, 染色体可能存在易位或倒置现象(Gao *et al.*, 1990)。从染色体核型特征上可以看出, *O. sinensis* 与真蛸(*O. vulgaris*)的亲缘关系更近, 而与短蛸(*O. ocellatus*)的较远。头足纲是软体动物门中最高等的类群, 其染色体条数(48~104)比其他软体动物(18~70)多(Vitturi *et al.*, 1982; 王梅林等, 2000; 孙振兴, 2004), 结果支持 Patterson (1978)的推断: 越原始的软体动物, 染色体条数越少。在蛸科、乌贼科和枪乌贼科中, 蛸科的染色体条数最少, 推断蛸科的进化地位更为原始。

参 考 文 献

- AMOR M D, DOYLE S R, NORMAN M D, *et al.* Genome-wide sequencing uncovers cryptic diversity and mitonuclear discordance in the *Octopus vulgaris* species complex. bioRxiv, 2019. doi: <https://doi.org/10.1101/573493>
- AMOR M D, NORMAN M D, ROURA A, *et al.* Morphological

- assessment of the *Octopus vulgaris* species complex evaluated in light of molecular-based phylogenetic inferences. *Zoologica Scripta*, 2017, 46(3): 275–288
- AMORES A A, CATCHEN J, NANDA I, *et al.* A RAD-tag genetic map for the platyfish (*Xiphophorus maculatus*) reveals mechanisms of karyotype evolution among teleost fish. *Genetics*, 2014, 197(2): 625–641
- CHEN Y. The study on cytology of *Lamprotula fibrosa*. Master's Thesis of Huazhong Agricultural University, 2007 [陈宇. 绢丝丽蚌细胞学研究. 华中农业大学硕士研究生学位论文, 2007]
- DAN S, IWASAKI H, TAKASUGI A, *et al.* Effects of co-supply ratios of swimming crab *Portunus trituberculatus* zoeae and *Artemia* on survival and growth of East Asian common octopus *Octopus sinensis* paralarvae under an upwelling culture system. *Aquaculture Research*, 2019, 50(4): 1361–1370
- GAO Y M, NATSUKARI Y. Karyological studies on seven cephalopods. *Venus*, 1990, 49(2): 126–145
- GLEADALL I G. *Octopus sinensis* d'Orbigny, 1841 (Cephalopoda: Octopodidae): Valid species name for the commercially valuable East Asian common octopus. *Species Diversity*, 2016, 21(1): 31–42
- IGLESIAS J, SÁNCHEZ F J, BERSANO J G F, *et al.* Rearing of *Octopus vulgaris* paralarvae: Present status, bottlenecks and trends. *Aquaculture*, 2007, 266(1–4): 1–15
- INABA A. Notes on the chromosomes of two species of octopods (Cephalopoda, Mollusca). *Japanese Journal of Genetics*, 1959, 34: 137–139
- LEVAN A, FREDGA K, SANDBERG A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. *Hereditas*, 1964, 52(2): 201–220
- LIANG S Z, SONG W, JIANG K J, *et al.* Karyotype analysis of *Collichthys lucidus*. *Progress in Fishery Sciences*, 2019, 40(4): 172–177 [梁述章, 宋炜, 蒋科技, 等. 棘头梅童鱼染色体核型分析. 渔业科学进展, 2019, 40(4): 172–177]
- LIAO Y Y. Effect of production and consumption of octopus and cephalopoda on aquaculture of octopus. *Modern Fisheries Information*, 2006(6): 3–6 [廖永岩. 章鱼(Octopus)及头足类(Cephalopoda)的生产和消费对章鱼养殖的影响. 现代渔业信息, 2006(6): 3–6]
- MOLINA-LUZÓN M J, LÓPEZ J R, ROBLES F. Chromosomal manipulation in Senegalese sole (*Solea senegalensis* Kaup, 1858): Induction of triploidy and gynogenesis. *Journal of Applied Genetics*, 2015, 56(1): 77–84
- OKUMURA S, KURIHARA A, IWAMOTO A, *et al.* Improved survival and growth in *Octopus vulgaris* paralarvae by feeding large type *Artemia* and Pacific sand eel, *Ammodytes personatus*: Improved survival and growth of common octopus paralarvae. *Aquaculture*, 2005, 244(1): 147–157
- PAPAN F, JAZAYERI A, EBRAHIMIPOUR M. The study of Persian gulf cuttlefish (*Sepia pharaonis*) chromosome via incubation of blood cells. *Journal of American Science*, 2010, 6(2): 162–164
- PATTERNSON C M. Chromosomes of pulmonate molluscs. *Pulmonates 2A: Systematics, Evolution and Ecology*, 1978, 171: 540
- REN X, YU X. Characterization of nucleolar organizer regions of twelve species of Chinese cyprinid fishes. *Caryologia*, 2014, 46(2–3): 201–207
- SHANG X L, QU X C. Advances in the mechanisms of sex determination and sex differentiation in fishes. *Jiangsu Agricultural Sciences*, 2010(4): 245–248 [尚晓莉, 曲宪成. 鱼类性别决定和性别分化机制研究进展. 江苏农业科学, 2010(4): 245–248]
- SHI B, LIU Y S, LIU X Z, *et al.* Study on the karyotype of yellowtail kingfish (*Seriola aureovittata*). *Progress in Fishery Sciences*, 2017, 38(1): 136–141 [史宝, 刘永山, 柳学周, 等. 黄条鲷染色体核型分析. 渔业科学进展, 2017, 38(1): 136–141]
- SUN Z X. Progress on the chromosome study of marine mollusks in China. *Marine Science Bulletin*, 2004, 23(6): 77–83 [孙振兴. 中国海洋贝类染色体研究进展. 海洋通报, 2004, 23(6): 77–83]
- TONG J G, ZHU J H, GUAN H S. A mini-review of studies on genetic basis of sex determination in fish. *Journal of Fisheries of China*, 2003, 27(2): 169–176 [童金苟, 朱嘉濠, 关海山. 鱼类性别决定的遗传基础研究概况. 水产学报, 2003, 27(2): 169–176]
- TWYMAN R M. Instant notes in developmental biology. Molecular Biotechnology Unit. John Innes Centre, Norwich, UK. Bios Scientific Publishers Limited, 2002, 151–159
- VITTURI R, RASOTTO M B, FARINELLA-FERRUZZA N. The chromosomes of 16 molluscan species. *Bollettino di Zoologia*, 1982, 49: 61–71
- WANG M L, ZHENG J S, ZHU L Y, *et al.* Advances on karyotype study of marine fish and shellfish in China. *Journal of Ocean University of Qingdao (Natural Science)*, 2000, 30(2): 277–284 [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. 青岛海洋大学学报(自然科学版), 2000, 30(2): 277–284]
- WANG X H, WU B, LI Q, *et al.* Karyotype analysis of golden cuttlefish *Sepia esculenta*. *Chinese Journal of Zoology*, 2011, 46(2): 77–81 [王晓华, 吴彪, 李琪, 等. 金乌贼染色体核型分析. 动物学杂志, 2011, 46(2): 77–81]
- WARNKE K, SOLLER R, BLOHM D, *et al.* A new look at geographic and phylogenetic relationships within the species group surrounding *Octopus vulgaris* (Mollusca, Cephalopoda): Indications of very wide distribution from mitochondrial DNA sequences. *Journal of Zoological Systematics and Evolutionary Research*, 2004, 42(4): 306–312
- XU D F, LIU Y S, CHANG Q, *et al.* Morphology, growth and development in the early life of *Octopus vulgaris*. *Progress in Fishery Sciences*, 2019, 40(5): 145–154 [徐大凤, 刘永胜,

常青, 等. 真蛸早期发育形态特征及生长规律研究. 渔业科学进展, 2019, 40(5): 145–154]

YE S J, ZHOU J W, YANG M X, *et al.* Exploitation of cephalopod resources in the world and development

suggestion. Fishery Information and Strategy, 2014, 29(1): 11–17 [叶守建, 周劲望, 杨铭霞, 等. 全球头足类资源开发现状分析及发展建议. 渔业信息与战略, 2014, 29(1): 11–17]

(编辑 冯小花)

Karyotype Analysis of the East Asian Common Octopus, *Octopus sinensis*

LI Fenghui^{1,2}, BIAN Li^{2,3}, SHI Huilai⁴, ZHOU Liqing², CHEN Siqing^{2,3①},
GE Jianlong^{2,3}, LIU Changlin^{2,3}, LU Bin⁴, CHANG Qing^{2,3}

(1. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai Engineering Research Center of Aquaculture, Shanghai Collaborative Innovation for Aquatic Animal Genetics and Breeding, Shanghai 201306, China; 2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Qingdao, Shandong 266071, China; 3. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao, Shandong 266237, China; 4. Zhejiang Province Key Laboratory of Mariculture and Enhancement, Marine Fisheries Research Institute of Zhejiang, Zhoushan, Zhejiang 316021, China)

Abstract Comparative studies of the karyotypes of closely related species may aid our understanding of the mechanisms of chromosomal evolution relevant to speciation. It may also help to clarify phylogenetic relationships. In the present study, we analyzed the karyotypes of ten wild immature East Asian common octopus (*Octopus sinensis*; 5 male and 5 female) from the coastal regions of the East China Sea. *O. sinensis* were held in seawater containing 0.005% colchicine for 2 h, and then the gill and kidney were collected for chromosome sample preparation via the hot-dropping method. The results showed that the diploid chromosomal number of *O. sinensis* is 60, and the karyotype formula is $2n = 14m + 26sm + 12st + 8t$, $NF = 100$. No satellite, secondary constriction, or heteromorphic chromosomes of sex were observed. Therefore, we speculate that the sex determination mechanism of *O. sinensis* is autosomal. This study provides basic data for cytogenetic studies of Octopus and serves as a valuable reference for *O. sinensis* germplasm identification and conservation.

Key words *Octopus sinensis*; Chromosome; Karyotype

① Corresponding author: CHEN Siqing, E-mail: chensq@ysfri.ac.cn