

我国海洋浮游动物染色体研究进展*

ADVANCES IN CHROMASOME RESEARCH IN MARINE ZOOPLANKTON IN CHINA

曹文清 方旅平 林元烧 侯宇博

(厦门大学海洋系 厦门 361005)

中图分类号 Q95, Q958, Q813 文献标识码 A 文章编号 1000-3096(2003)12-0023-04

海洋浮游动物是海洋生态系统中非常重要的一大生态类群,种类组成繁杂、数量大、分布广,有着极其重要的生态学研究意义^[1]。过去,这类动物的生物多样性研究重点主要在物种多样性的丰度和数量表达及其与环境因子的关系方面,积累了大量资料,但是在遗传多样性研究方面的资料则十分匮乏。我国海洋南北地理跨度较大,各海域地理环境、生态条件不尽相同,不仅有着各自的浮游动物群落面貌和特征,其共有种在各自栖息的环境条件中经自然选择以及在遗传漂移过程中常出现遗传趋异,有的种群可能已完全适应其生态环境,产生了独特的基因型和遗传结构^[2]。传统分类学通常是以形态差异、生理、生态特征及地理分布作为区分物种的基础,但浮游动物中许多种类在不同的地理区域常出现个体大小或卵型之间的种种差异,其形态学特征没有发生变化。对此,国内外学者采用细胞染色体和分子标记等方法进行种群遗传学研究,发现桡足类等浮游动物存在隐性物种分化^[3-6]。目前,许多浮游动物(如水母类等)的系统发生正在调整之中,一些依据形态学特征难以确定的物种分类问题尚需其它研究手段加以印证。开展海洋浮游动物染色体研究,从细胞染色体水平探讨物种的分类位置或种群分化,以及环境对浮游动物遗传变异的影响,具有一定的科学意义,既丰富了生物多样性的内涵,又拓展了海洋浮游动物的研究深度和广度。近10年来,我国这方面的研究工作逐步得到重视,并取得初步研究成果,作者得知许多研究者想介入该研究领域,但苦于研究资料比较零散,研究方法难以掌握。为此,本文主要综述迄今为止我国海洋浮游动物染色体的研究进展,并对研究方法作一简介,为推进该项工作的进展提供参考资料。

1 研究历史简述

国外在20世纪30年代即开始了水生生物的染色体研究。因当时固定方法、制片技术不完备以及这类生物染色体既小又多,所以早期的研究结果可信度较低。50年代后,人类染色体的制备方法与技术不断改进和完善,其染色体组型和带型分析等技术也逐步应用于各类动物,极大地推进了动物细胞遗传学的发展。同样,水生动物染色体组型的研究手段和水平也有很大提高,研究对象不断拓展,但主要对象还是鱼类、经济软体动物和甲壳动物^[7]。国内,海洋动物染色体研究工作,在80年代以后才开始起步,且至今进展较为缓慢。

与其它水生生物相比,海洋浮游动物染色体研究成果欠丰。这一研究领域成果在国外主要集中于70年代以后,迄今全世界约有百余种浮游动物染色体被研究报道,其中以桡足类居多,成果较突出的是印度学者Goswami等人,这个研究组1972~1984年先后对60多种桡足类的染色体数目与核型做了分析报道,提出同一种类不同地理种群的染色体分化和日蚀等环境突变会造成染色体丢失以及桡足类染色体多态性与分类学的关系等^[8-11];其他学者对桡足类染色体也有一些研究工作,如Lazzaretto报道了桡足类的虎斑猛水蚤两个地理种群间染色体差异^[4];Vass报道了

* 国家自然科学基金基础研究重大项目 G1999043708 号。

第一作者:曹文清,出生于1954年,副教授。研究方向:海洋浮游动物生理生态学和浮游动物多样性。电话:0592-2189433;E-mail:yslin@xmu.edu.cn

收稿日期:2003-08-04;修回日期:2003-09-07

真宽水蚤 (*Eurytemora*) 染色体核型^[5]; 而大型浮游甲壳类研究较少, 仅见 Yabu 报道了南极磷虾 (*Euphausia superba*) 染色体数目^[12], 其它类别研究也比较零散^[13, 14]。国内浮游动物染色体研究, 90 年代前几乎无人问津, 近十几年来, 才陆续见到零星报道, 截至 2003 年, 我国已进行过染色体数目及组型分析的海洋浮游动物仅有 15 种(含 2 种高盐种类)。

2 浮游动物染色体组型

2.1 染色体组型研究内容和意义

染色体组型又称核型, 主要包括两个内容, 即染色体数目和染色体形态。染色体核型主要代表了一个物种或个体在染色体水平上的形态表现, 因此, 核型具有物种的惟一性。染色体是生物遗传信息的重要载体, 其数目和核型具有保守性, 在一定程度上负有保持种间生殖隔离和物种整合性 (integrity) 的使命, 它作为一种比较性的资料, 在分类学中有着特殊的作用。许多研究表明, 在生物属间、种间、甚至种内, 染色体常有不同程度的分化^[7], 这为探讨属间和种间的进化关系以及种内的变异格局提供重要的依据。因此, 从现存物种的染色体组型分析和比较, 来研究与探讨种群的进化路线和亲缘关系, 不仅对于分类学和系统发生学研究有着十分重要的意义, 而且对于现代分子生物学中的基因定位、原位杂交、种间杂交鉴定和多倍体育种等方面也有重要意义。

2.2 我国海洋浮游动物染色体数目与核型

在我国, 浮游动物染色体研究较受关注的是水

产养殖中重要饵料生物——高盐水域的卤虫 (*Artemia*), 1990~1991 年先后有张润生、王壬学、郭保庆等学者报道了卤虫的染色体数目与核型及倍性分析结果^[15, 16]。其它饵料生物方面, 曹文清等 1995 年对采自深圳盐田实验基地和厦门九龙江口水域的多刺裸腹蚤 (*Moina macocopa*) 染色体作了分析研究, 并结合外部形态的比较, 指出两地的多刺裸腹蚤未产生地理上的生态隔离现象^[17]; 1999 年又对蒙古裸腹蚤 (*Moina mongolica*) 染色体组型作了研究, 并与国外 Trentini 对蚤属 (*Daphnia*) 6 个种类染色体的研究结果作了比较, 发现蚤属与裸腹蚤属的染色体数目比较接近^[18]。

与国外一样, 我国海洋浮游动物染色体研究仍以桡足类居多(表 1), 曹文清等 1994~2001 年间曾对 5 种我国沿海常见桡足类染色体进行分析研究, 结果表明它们之间染色体数目大都在 20~24 条之间, 不同目、科、属、种及不同种群之间存在着染色体多态性^[2, 6, 19]。毛连菊等分析大连黑石礁沿海的挪威小星猛水蚤 (*Microsetella norvegica*) 和硬鳞暴猛水蚤 (*Clytemnestra scutellate*) 染色体数目均为 $2n=20$, 但核型公式却不同^[20]。

有关水母类染色体研究, 郭平 1994 年首次利用水螅幼体和水母形态的蝶状幼体细胞制样, 初步分析了海蜇 (*Rhopilema esculenta*) 的染色体数目为 42 条^[21]; 曹文清等 1994~2001 年采用水母体细胞制片, 分析厦门隔膜水母 (*Leuckartiara hoepplii*) 和球型侧腕水母 (*Pleurobrachia globosa*) 的染色体数目都是 30

表 1 国内已见报道的浮游动物染色体的数目与核型

物种名称	染色体数	核型公式	研究者
刺尾纺锤水蚤 (<i>Acartia spinicauda</i>)	20	14m + 6sm	曹文清 ^[6]
太平洋纺锤水蚤 (<i>Acartia pacifica</i>)	20	20m	曹文清 ^[6]
火腿许水蚤 (<i>Schmackeria poplesia</i>)	24	14m + 6sm + 2st + 2t	曹文清等 ^[19]
锥形宽水蚤 (<i>Temora turbinata</i>)	2n = 20	12m + 8sm	曹文清(待发表)
中华哲水蚤 (<i>Calanus sinicus</i>)	22	12m + 6sm + 2st + 2t	林元烧等 ^[2]
挪威小星猛水蚤 (<i>Microsetella norvegica</i>)	20	20m	毛连菊等 ^[20]
硬鳞暴猛水蚤 (<i>Clytemnestra scutellate</i>)	20	12m + 8sm	毛连菊等 ^[20]
海蜇 (<i>Rhopilema esculenta</i>)	42		郭平 ^[21]
厦门隔膜水母 (<i>Leuckartiara hoepplii</i>)	30		曹文清等 ^[22, 23]
崂山杯水母 (<i>Phialidium changshanense</i>)	24		曹文清等 ^[22, 23]
球型侧腕水母 (<i>Pleurobrachia globosa</i>)	30	16m + 8sm + 2st + 4t	曹文清等 ^[22, 23]
百陶箭虫 (<i>Sagitta bedoti</i>)	16	10m + 20sm + 4st	曹文清等 ^[24]
卤虫 (<i>Artemia</i>)	42, 84, 105		张润生等 ^[15]
	42		王壬学等 ^[16]
多刺裸腹蚤 (<i>Moina macocopa</i>)	2n = 22		曹文清等 ^[17]
蒙古裸腹蚤 (<i>Moina mongolica</i>)	2n = 24	10m + 2sm + 12t	曹文清等 ^[18]

条,嵎山杯水母 (*Phialidiumchengshanense*) 染色体数目为 24 条^[22, 23]。这些研究表明,水母类的染色体数目与形态的多样性较为丰富(表 1),其实,水母的分类本身就十分复杂,其染色体多态性很值得深究。

此外,曹文清等还报道了厦门港百陶箭虫 (*Sagitta bedoti*) 染色体核型的分析结果^[24]。

3 浮游动物染色体的制备方法

纵观国内外浮游动物染色体研究,无论从深度和广度而言,均落后于其它海洋动物,究其原因染色体制备难度大是一个重要方面。在此,作者将综述研究方法的几个关键问题。

3.1 取材问题

浮游动物个体小,一般采取整体制样,但许多小型浮游甲壳动物表面具有柔韧、致密的几丁质壳,在进行秋水仙素处理时,由于几丁质外壳的阻隔,会造成秋水仙素在体细胞内浓度分布不均匀,使各细胞内染色体收缩程度不同,影响了观察和统计的结果。林元烧等 2000 年在对中华哲水蚤染色体研究中,先剥离开个体几丁质外壳,再进行整体浸泡取得满意效果。对于个体稍大的浮游动物(如箭虫或磷虾等),可以直接取其生殖腺。

3.2 秋水仙素的浓度和低渗时间

若要使得分裂相多,染色体长短适宜且分散良好,成功的关键在于秋水仙素的浓度和低渗时间的掌握。一般,秋水仙素的浓度在 0.05%~0.1%较为合适,浸泡时间 1~1.5 h。水母类由于体质柔软,透性好,且原生质中胶质较多,含水量大,处理方法不同于其它类别的动物。Kubota^[14]及国内有些学者^[21-23]采用降低秋水仙素浓度、延长浸泡时间(即秋水仙素浓度约 0.005%,处理时间 20~30 h)等方法获得满意效果。低渗时间的掌握也很重要,它关系到染色体的分散状况,时间不够,染色体散不开,重叠堆积在一起,无法计数和分析,时间过长细胞膜涨破,染色体一盘散沙,细胞之间染色体混杂分布,同样无法进行计数和分析。大多学者低渗时间掌握在 40~50 min。

4 研究展望

我国海洋浮游动物资源极其丰富,但已知染色体数目和组型的浮游动物与现存种类数相差甚远。与国外相比,国内浮游动物染色体研究工作晚了约 20 年,究其原因,主要是浮游动物个体微小,染色体分析工作难度较大,尽管几位学者有些零散研究,却难形成有一定规模和系统的研究。此外,近年来国家在快速发展经济的大气候下,基础理论研究的重视程度有所下降,该研究难获经费支持也是一个重要原因之一。

相信,随着人们对浮游动物染色体研究的逐步了解、重视及研究方法的掌握,将会有更多研究者为我国浮游动物染色体数据库提供资料。

值得提出的是,目前国内外染色体核型分析大都采用 Levan^[25]的方法,但研究者在其制片过程、观测方法以及所研究中期染色体的收缩程度等不尽相同都可能导致不同的结果。为此,常规的核型分析中,若能采用分带技术,以染色体带纹为标志,就能更准确地识别染色体,确定同源染色体,使物种的核型标准化,从而构建染色体物理图谱。染色体分带技术是 1968 年以后发展起来的细胞学新技术,染色体经过特定的处理后,呈现出具有独特个性的横向带纹,以反映各自固有的结构,因而能显示出同一细胞内不同染色体之间的差异。现在,分带技术已发展出 C-带法、G-带法和 Q-带法等常用的方法。这些技术已经成功应用于国内鱼类等海洋动物的核型分析,目前为止,还没有学者将显带技术应用于海洋浮游动物染色体的研究之中。此外,浮游动物染色体研究也不能仅停留在一般的核型分析上,应该发展以染色体研究所获资料为基础的物种生物学(biosystematics),还应与其它浮游生物学研究紧密配合,使其成为现代浮游生物分类学和浮游生物生态学的一个新的生长点。

参考文献

- 1 李少菁,许振祖,黄加祺,等.海洋浮游动物学研究.厦门大学学报(自然科学版),2001,40(2):574-585
- 2 林元烧,曹文清,姚津津.厦门港中华哲水蚤染色体组型.厦门大学学报(自然科学版),2000,39(6):826-830
- 3 McLaren I A. Polyteny: A source of cryptic speciation among copepods. Science, 1966, 153: 1641-1642
- 4 Lazzaretto I, Libertini A. Karyological investigations of two populations of *Tigriopsis* (Copepoda, Harpacticoida) from the Kerguelen region. Crust Biol, 1985, 5(2): 330-333
- 5 Vass P, Pesch G G. A karyological study of the calanoid *Eurytemora affinis*. J Crust Biol, 1984, 4(2): 248-251
- 6 曹文清.厦门港海区两种常见纺锤水蚤染色体研究.厦门大学学报(自然科学版),1994,33(增刊):125-128
- 7 吴仲庆.水生生物遗传育种学.厦门:厦门大学出版社,2000.12-18
- 8 Goswami U, Goswami S C. Karyological studies in the genus *Acartia* (Copepoda). Current Science, 1973, 42(7): 242-243
- 9 Goswami U, Goswami S C. Karyology of the genus *Labidocera* Lubbock from the Laccadive Sea (Lakshadweep). Indian Journal of Marine Sciences, 1979, 8: 259-261
- 10 Goswami U, Goswami S C. Chromosomal aberrations found in *Pamcalanus aculeatus* (Giesbrecht) at the time of solar eclipse. Mahasagar - Bull. Nation - Inst. Ocean, 1982, 15(1): 59-62

- 11 Goswami U, Goswami S C. A note on chromosomes of *Pontellopsis hendmani* and *Pontella princeps* (Copepoda) from the Laccadive Sea. *Mahasagar - Bulletin of the National Institute of Oceanography*, 1984, 17 (2): 129 - 132
- 12 Yabu H. Chromosomes of *Euphausia superba*. *Bull Plankton Soc Japan*, 1984, 31 (1): 61 - 63
- 13 Trentini M. Karyologic observations on some cladocera of lake trasimeno(Perugia). *Rivista di Idrobiologia*, 1979, 18 (3): 369 - 378
- 14 Kubota S. Chromosome number of a bivalve - inhabiting hydroid, *Eugymnanthea japonica* (Leptomedusae: Eirenidae) from Japan. *Publ Seto Mar Biol Lab*, 1992, 35 (6): 383 - 386
- 15 张闰生. 卤虫染色体倍性组成的研究. *动物学报*, 1990, 36 (4): 412 - 419
- 16 王壬学. 华北盐场孤雌生殖卤虫克隆及其染色体研究. *海洋与湖沼*, 1991, 22 (1): 1 - 7
- 17 曹文清, 林元烧, 王永聪. 多刺裸腹蚤染色体研究. *台湾海峡*, 1994, 14 (3): 284 - 287
- 18 曹文清, 林元烧, 郭东晖, 等. 蒙古裸腹蚤染色体组型研究. *台湾海峡*, 1999, 18 (1): 71 - 76
- 19 曹文清, 张跃军. 火腿许水蚤染色体组型的初步研究. *厦门大学学报(自然科学版)*, 1994, 33 (6): 853 - 856
- 20 毛连菊, 张从尧, 赵文. 二种桡足类的染色体组型分析. *中国水产科学*, 2002, 9 (2): 129 - 132
- 21 郭平. 海蜇染色体组型分析. *水产学报*, 1994, 18 (3): 253 - 255
- 22 曹文清, 王崇民, 许振祖. 厦门隔膜水母染色体研究. *福建水产*, 1994 (4): 25 - 27
- 23 曹文清, 林元烧. 厦门港球型侧腕水母染色体组型研究. *厦门大学学报(自然科学版)*, 2001, 40 (3): 804 - 806
- 24 曹文清, 张跃军, 林加涵. 厦门百陶箭虫染色体核型研究. *厦门大学学报(自然科学版)*, 1994, 33 (增刊): 121 - 124
- 25 Levan A, Fredgn K, Sandbergm A A. Nomenclature for centrometric position on chromosomes. *Hereditas*, 1964, 52 (2): 201 - 220

(本文编辑: 刘珊珊)