

5种裸腹蚤的核型及亲缘进化关系的研究

张鹏, 赵文, 孙静娴

(大连水产学院 辽宁省水生生物学重点实验室, 辽宁 大连 116023)

摘要: 以 5 种裸腹蚤 *Moina* 为试验材料进行了染色体数目和核型的研究。染色体制片采用气干法, 依据 Levan 等和 Stebbins 的标准进行染色体分类。结果表明: 蒙古裸腹蚤 *M. mongolica* 的核型公式为 $2N = 6M + 18T$, $NF = 30$, 1A; 多刺裸腹蚤 *M. m. acrocopa*, $2N = 10M + 12T$, $NF = 32$, 1A; 直额裸腹蚤 *M. rectirostris*, $2N = 12M + 12T$, $NF = 36$, 1B; 微型裸腹蚤 *M. m. icnura*, $2N = 10M + 14T$, $NF = 34$, 1A; 近亲裸腹蚤 *M. affinis*, $2N = 12M + 14T$, $NF = 38$, 1B。在此基础上进一步探讨了 5 种裸腹蚤的亲缘进化关系, 认为 5 种裸腹蚤按进化地位的高低顺序依次为直额裸腹蚤 > 近亲裸腹蚤 > 多刺裸腹蚤 > 微型裸腹蚤 > 蒙古裸腹蚤。

关键词: 裸腹蚤; 染色体; 核型; 亲缘进化关系

中图分类号: S963.21; Q953

文献标志码: A

裸腹蚤 *Moina* 是一种世界性分布的种类, 多数分布在淡水, 少数种类分布在盐水中, 湖泊、池塘种群数量颇丰。中国现有裸腹蚤 10 种^[1-2], 其生长方式是间歇性的, 生长与蜕壳交替进行, 生殖方式分为孤雌生殖 (单性生殖) 与两性生殖两种。因其具有分布广、数量大、营养价值高、生活周期短、生殖力强和易于培养等特点, 已成为许多水产经济动物幼苗期重要的天然饵料, 且能减少水质污染, 提高育苗的存活率和生长率, 降低饵料成本, 提高经济效益, 对养殖业发展具有重要的意义。

目前, 关于裸腹蚤属的研究主要集中于水温、饵料等对其生长、生殖的影响以及耐盐性、海水驯化、室外规模培养等方面^[3-6], 但对其物种间遗传变异程度及种群进化方面的研究长期以来一直开展的较少, 仅见曹文清等^[7]对蒙古裸腹蚤的染色体数目进行过报道。本试验中, 作者对 5 种裸腹蚤即蒙古裸腹蚤 *Moina mongolica*、多刺裸腹蚤 *M. m. acrocopa*、直额裸腹蚤 *M. rectirostris*、微型裸腹蚤 *M. m. icnura* 和近亲裸腹蚤 *M. affinis* 的染色体数目和核型进行研究, 旨在寻求染色体水平上裸腹蚤属的种间差异, 探讨 5 种裸腹蚤的亲缘关系和物种演化路线, 并与蚤属 *Daphnia*、拟蚤属 *Daphniopsis* 几个种类的核型结果进行了分析比较。

1 材料与方法

1.1 材料

试验用蒙古裸腹蚤在实验室内用盐度为 30 的海水培养, 投喂用海水培养的蛋白核小球藻 *Chlorella pyrenoidesa*, 其他 4 种裸腹蚤在淡水中培养, 投喂用淡水培养的蛋白核小球藻 (表 1)。

表 1 蚤种来源及生殖方式

Tab. 1 The origin and reproductive pattern in water fleas *Moina*

种类 Species	采集地点 Collection sites	采集日期 Date	生殖方式 Reproductive pattern
蒙古裸腹蚤 <i>M. m. mongolica</i>	内蒙古锡林郭勒	2002 - 10	孤雌生殖
多刺裸腹蚤 <i>M. m. acrocopa</i>	辽宁大连	2003 - 06	孤雌生殖
直额裸腹蚤 <i>M. rectirostris</i>	山东东营	2003 - 05	孤雌生殖
微型裸腹蚤 <i>M. m. icnura</i>	辽宁大连	2003 - 06	孤雌生殖
近亲裸腹蚤 <i>M. affinis</i>	河北唐山	2004 - 05	孤雌生殖

1.2 样品制备

参照文献 [7] 的方法略有改动。用 0.5 g/L 的秋水仙素处理 15 ~ 30 min, 37 °C 下低渗处理 1.5

收稿日期: 2008 - 03 - 18

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30371112); 辽宁省自然科学基金资助项目 (20022100)

作者简介: 张鹏 (1979 -), 男, 博士研究生。

通信作者: 赵文 (1963 -), 男, 教授。E-mail: zhaowen@dlfu.edu.cn

~3 h, 固定 3 次后冷藏过夜。用解剖针将蚤体轻轻撕碎, 冷藏解离 6 h, 制成细胞悬液后, 进行热滴片、自然干燥和 Giemsa 染色。

1.3 计数和核型分析

在显微镜下选取 5 个分散良好的中期分裂相拍照, 用 Photoshop 图像处理软件进行染色体计数。核型分析依据 Levan 等^[8]和 Stebbins^[9]的分类标准。

2 结果

2.1 染色体的数目

每个种类选取 100 个以上分散良好的细胞统计众数百分率, 确定染色体的数目 (表 2)。

表 2 5 种裸腹蚤染色体数目的统计结果

Tab. 2 The number of chromosomes in 5 species of water fleas *Moina*

种类 Species	统计细胞数 Cell number	众数百分率 / % Mode percent	染色体数目 Number of chromosomes
<i>M. mongolica</i>	102	70.6	2n = 24
<i>M. macrocopa</i>	109	78.9	2n = 22
<i>M. rectirostris</i>	106	81.1	2n = 24
<i>M. m. icnura</i>	103	84.5	2n = 24
<i>M. affinis</i>	108	81.5	2n = 26

2.2 染色体的核型

5 种裸腹蚤染色体的中期分裂相及核型图见图 1, 核型结果见表 3、表 4。

表 3 5 种裸腹蚤的核型结果

Tab. 3 The karyotypes in 5 species water fleas *Moina*

种名 Species	核型公式 Karyotype formula	总臂数 Total arms	染色体长度比 Ratio of the longest chromosome to the shortest	臂比大于 2 的染色体 / % Proportion of chromosome with arm ratio > 2	对称类型 Type
<i>M. mongolica</i>	2N = 6M + 18T	30	1.81	0	1A
<i>M. rectirostris</i>	2N = 12M + 12T	36	2.41	0	1B
<i>M. affinis</i>	2N = 12M + 14T	38	2.31	0	1B
<i>M. macrocopa</i>	2N = 10M + 12T	32	1.84	0	1A
<i>M. m. icnura</i>	2N = 10M + 14T	34	1.68	0	1A

3 讨论

染色体数目是核型分析的一项重要指标。染色体数目在不同科或属间具有一定的变化, 但在种内或种群内具有相对的稳定性, 并在此基础上通过染色体断裂而引起数量的增加, 或通过染色体合并而引起数量的减少, 从而衍生出各种不同数目。所以可根据不同阶元染色体数目的变化程度, 推断科属以及更高等级类群间的亲缘关系和演化路线^[10]。

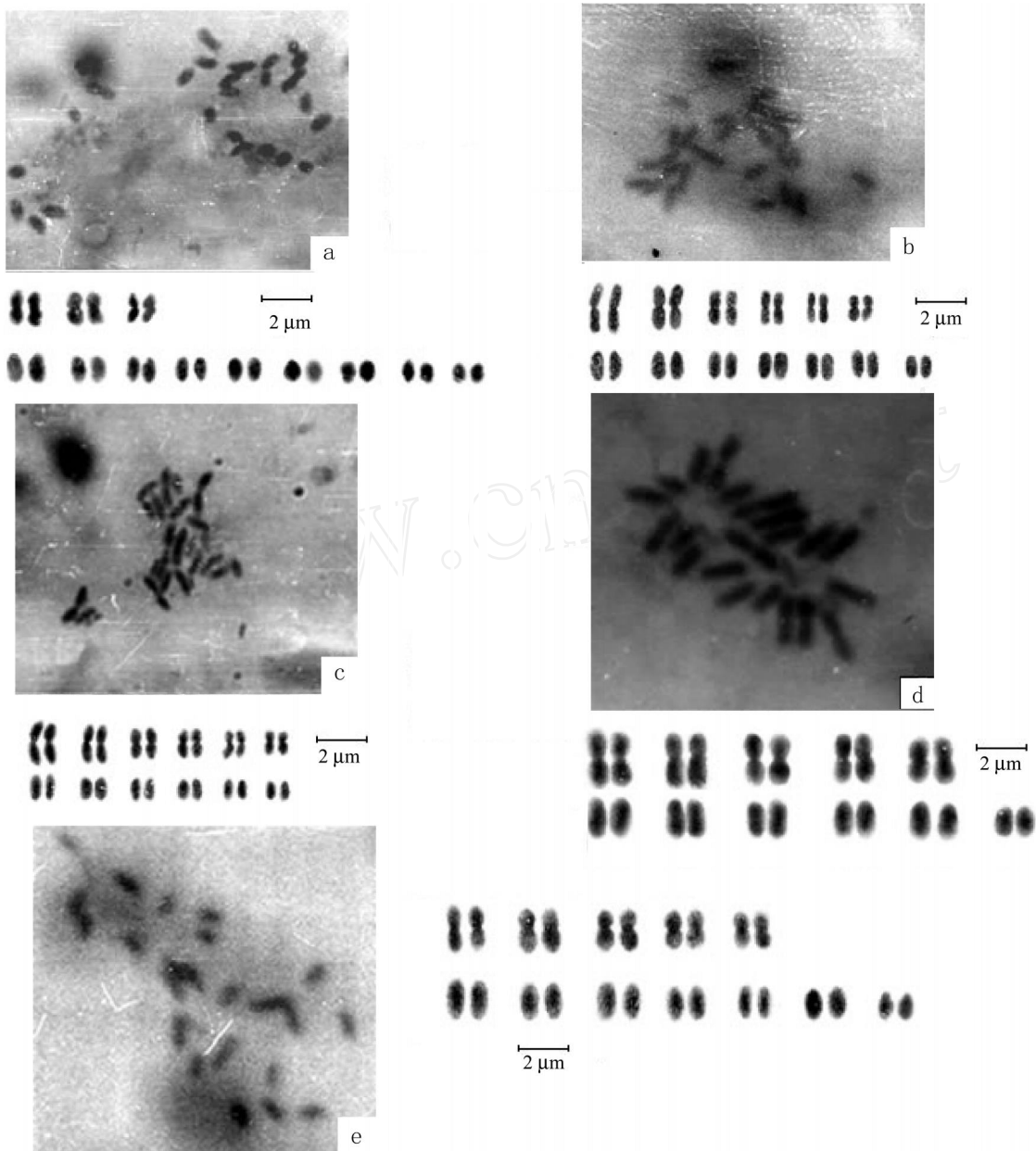
本研究中, 5 种裸腹蚤染色体数目为 2n = 22 ~ 26, 以 2n = 24 居多。Trentini^[11]研究了秘鲁 Trasinmeno 湖的蚤属 *Daphnia* 6 个种类的染色体数目, 其中 *D. ongispia* 和 *D. hyalina* 为 2n = 20, 而 *D. pulex*, *D. obtuse*, *D. galeate* 和 *D. m. iddendorffiana* 皆为 2n = 24。赵文等^[12]曾经对采自西藏北部的西藏拟蚤 *Daphniopsis tibetana* 染色体进行了研究, 结果表明, 西藏拟蚤染色体数目为 2n = 24。可见, 裸腹蚤属和蚤属以及拟蚤属的染色体数目较为接近。裸腹蚤属属于裸腹蚤科, 拟蚤属和蚤属都属于蚤科, 三者同属于盘肠蚤总科, 在分类阶元上较近。染色体的研究结果说明这 3 个属之间的亲缘关系较为密切,

这与传统的形态分类结果也是一致的。由此可见, 染色体水平的研究在推断科属以及更高等级类群间的亲缘关系方面可以提供一定的依据。另外, Kato 等^[13]克隆了编码多刺裸腹蚤血红蛋白链的两个结构域的 cDNA, 并测定了它们的核苷酸顺序。由核苷酸顺序推导出氨基酸顺序并与蚤属的血红蛋白链相比较, 结果表明, 两者的血红蛋白链的 N 末端信号肽都富含苏氨酸, 第一和第二结构域的氨基酸顺序差异性很低。这表明枝角类血红蛋白基因的形成发生在裸腹蚤科和蚤科分化之前, 两者很可能起源于同一支进化路线。Sergeev 等^[14]认为, 拟蚤属在形态结构上介于蚤属和低额蚤属之间, 且拟蚤属更接近蚤属。这些研究结果都进一步验证了本文作者的推断。

曹文清等^[7]确定蒙古裸腹蚤的染色体数目为 2n = 24, 与本研究结果相符。不同的是本研究中蒙古裸腹蚤的核型公式为 2N = 6M + 18T, 曹文清等^[7]所得核型公式为 2N = 10M + 2SM + 12T。这可能与所用品系不同有关, 本研究中所用的蒙古裸腹蚤为内蒙品系, 而曹文清等^[7]所用为晋南品系, 说明蒙古裸腹蚤各种群间具有核型多样性。

表 4 5种裸腹蚤的核型指数
Tab. 4 Indices of karyotype in 5 species water fleas

种类 Species	编号 No.	相对长度 / % Relative length / %	臂比 Arm ratio	着丝粒指数 Centromeric index	类型 Type
蒙古裸腹蚤 <i>M. mongolica</i>	1	11.44 ± 0.20	1.11 ± 0.15	47.56 ± 3.45	M
	2	11.16 ± 0.14	1.05 ± 0.07	48.80 ± 1.70	M
	3	10.10 ± 0.43	1.06 ± 0.02	48.49 ± 0.36	M
	4	9.32 ± 0.20		0	T
	5	8.26 ± 0.32		0	T
	6	7.89 ± 0.09		0	T
	7	7.61 ± 0.32		0	T
	8	7.35 ± 0.01		0	T
	9	7.02 ± 0.12		0	T
	10	6.80 ± 0.02		0	T
	11	6.75 ± 0.03		0	T
	12	6.32 ± 0.29		0	T
多刺裸腹蚤 <i>M. macrocopa</i>	1	11.86 ± 0.09	1.15 ± 0.04	46.52 ± 0.92	M
	2	11.66 ± 0.09	1.06 ± 0.01	48.69 ± 0.25	M
	3	10.86 ± 0.14	1.02 ± 0.03	49.55 ± 0.64	M
	4	10.20 ± 0.39	1.03 ± 0.04	49.18 ± 1.02	M
	5	9.80 ± 0.09	1.10 ± 0.03	47.65 ± 0.65	M
	6	8.45 ± 0.05		0	T
	7	8.13 ± 0.20		0	T
	8	7.64 ± 0.02		0	T
	9	7.51 ± 0.02		0	T
	10	7.45 ± 0.05		0	T
	11	6.44 ± 0.02		0	T
直额裸腹蚤 <i>M. rectirostris</i>	1	13.53 ± 1.03	1.08 ± 0.08	48.08 ± 1.95	M
	2	12.13 ± 0.08	1.09 ± 0.05	47.86 ± 1.24	M
	3	9.74 ± 0.22	1.02 ± 0.03	49.42 ± 0.82	M
	4	9.11 ± 0.30	1.12 ± 0.09	47.12 ± 2.03	M
	5	8.58 ± 0.04	1.02 ± 0.02	49.61 ± 0.40	M
	6	7.55 ± 0.60	1.03 ± 0.05	49.19 ± 1.14	M
	7	7.86 ± 0.16		0	T
	8	6.87 ± 0.04		0	T
	9	6.77 ± 0.03		0	T
	10	6.27 ± 0.19		0	T
	11	5.96 ± 0.08		0	T
	12	5.60 ± 0.22		0	T
微型裸腹蚤 <i>M. micrura</i>	1	10.62 ± 0.46	1.03 ± 0.05	49.16 ± 1.19	M
	2	10.14 ± 0.06	1.14 ± 0.03	46.72 ± 0.71	M
	3	9.56 ± 0.24	1.22 ± 0.11	45.15 ± 2.18	M
	4	8.88 ± 0.08	1.05 ± 0.07	48.89 ± 1.57	M
	5	7.92 ± 0.20	1.09 ± 0.07	47.88 ± 1.71	M
	6	8.84 ± 0.18		0	T
	7	8.08 ± 0.02		0	T
	8	7.82 ± 0.06		0	T
	9	7.65 ± 0.02		0	T
	10	7.23 ± 0.06		0	T
	11	6.94 ± 0.18		0	T
	12	6.32 ± 0.10		0	T
近亲裸腹蚤 <i>M. affinis</i>	1	12.46 ± 0.07	1.01 ± 0.02	49.69 ± 0.45	M
	2	11.24 ± 0.38	1.06 ± 0.05	48.66 ± 1.13	M
	3	8.89 ± 0.02	1.08 ± 0.06	48.15 ± 1.37	M
	4	8.33 ± 0.20	1.09 ± 0.03	47.83 ± 0.72	M
	5	7.70 ± 0.38	1.05 ± 0.01	48.88 ± 0.20	M
	6	6.69 ± 0.09	1.10 ± 0.03	47.66 ± 0.69	M
	7	7.08 ± 0.07		0	T
	8	6.75 ± 0.13		0	T
	9	6.58 ± 0.02		0	T
	10	6.52 ± 0.02		0	T
	11	6.33 ± 0.24		0	T
	12	6.05 ± 0.02		0	T
	13	5.39 ± 0.02		0	T



注：a蒙古裸腹蚤 *Moina mongolica*；b近亲裸腹蚤 *M. affinis*；c直额裸腹蚤 *M. rectirostris*；d多刺裸腹蚤 *M. macrocopa*；e微型裸腹蚤 *M. micrura*。

图 1 5种裸腹蚤染色体的中期分裂相及核型图

Fig. 1 The metaphase and karyotype in 5 species water fleas *Moina*

蒙古裸腹蚤、多刺裸腹蚤和微型裸腹蚤染色体核型的对称类型为 1A 型，而直额裸腹蚤和近亲裸腹蚤的对称类型为 1B 型。Stebbins^[9]根据染色体的形态和大小的差异，将核型分为对称和不对称两种类型，认为对称核型是比较原始的类型，而不对称核型是从对称核型衍生出来的，是比较进化的类型。据此判断，与蒙古裸腹蚤、多刺裸腹蚤和微型裸腹蚤相比，直额裸腹蚤和近亲裸腹蚤较为进化。

在动物的进化过程中，小的近端着丝粒的染色体是染色体的原始类型，而较大的具中部着丝粒的

染色体是衍生类型，也就是说，具有较多 M/SM 着丝粒染色体核型的种比具有较多 ST/T 着丝粒核型的种更为高级或特化^[15-16]。蒙古裸腹蚤端部着丝粒染色体所占比例为 75%，在 5 个种类中比例最大，应属于最为原始的类型；其次为微型裸腹蚤和多刺裸腹蚤，端部着丝粒染色体所占比例分别为 58.3% 和 54.5%，属于较为原始的类型；而近亲裸腹蚤和直额裸腹蚤两者端部着丝粒染色体所占比例分别为 53.8% 和 50%，与其它 3 种裸腹蚤相比属于较为进化的类型。综上所述，5 种裸腹蚤按进

化地位的高低顺序应为直额裸腹蚤 > 近亲裸腹蚤 > 多刺裸腹蚤 > 微型裸腹蚤 > 蒙古裸腹蚤。

物种间的亲缘进化关系可以从形态到 DNA 各个不同水平上得以体现, 因此对其检测的方法也是建立在不同层面上的。各种研究方法互不排斥, 都能提供很多有价值的信息。染色体是遗传物质的载体, 是基因的携带者, 其数目和结构的变异往往导致 DNA、蛋白质甚至形态方面发生变异, 是生物遗传变异的重要来源, 也是物种进化重要方式之一。因此, 从染色体水平检测物种间遗传变异程度, 推断其亲缘进化关系具有坚实的理论基础和科学依据。但也应看到, 由于其揭示的信息量相对于 DNA、蛋白质水平来说要少, 而物种进化又是一个极为复杂的过程, 因此, 染色体指标应与形态指标、蛋白质及 DNA 指标相结合, 相互补充验证, 从而得出较为确切的结论。张鹏等^[17]应用 RAPD 分析技术研究了上述 5 种裸腹蚤种间及种内不同种群间的遗传变异程度, 在种间亲缘关系的判断上与染色体水平的研究结论总体上存在一致性。

概括地认为, 直额裸腹蚤和近亲裸腹蚤进化地位较高, 多刺裸腹蚤处于进化的中间过渡阶段, 而微型裸腹蚤与蒙古裸腹蚤则最为原始。

参考文献:

- [1] 蒋燮治, 堵南山. 中国动物志: 淡水枝角类 [M]. 北京: 科学出版社, 1979.
- [2] 李永函, 赵文. 水产饵料生物学 [M]. 大连: 大连出版社, 2002: 28 - 132.
- [3] 何志辉. 温度对多刺裸腹蚤的繁殖力和内禀增长能力的影响 [J]. 大连水产学院学报, 1983(1): 13 - 20.
- [4] 何志辉. 食物条件对蒙古裸腹蚤生长、生殖和内禀增长率的影
- [5] 响 [J]. 大连水产学院学报, 1988, 3(3, 4): 21 - 26.
- [6] 徐善良, 王丹丽. 三种淡水枝角类海水驯化的比较研究 [J]. 上海水产大学学报, 1998(3): 253 - 257.
- [7] 许长安. 蒙古裸腹蚤生产性培养的初步研究 [J]. 海洋科学, 1998(4): 12 - 13.
- [8] 曹文清, 林元烧, 郭东晖, 等. 蒙古裸腹蚤染色体组型研究 [J]. 台湾海峡, 1999, 18(1): 71 - 75.
- [9] Levan A, Fredga K, Sandberg A A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes [J]. Hereditas, 1964, 52(2): 201 - 220.
- [10] Stebbins G I 植物的变异和进化 [M]. 复旦大学遗传学研究所, 译. 上海: 上海科学技术出版社, 1963.
- [11] 王义平, 吴鸿, 卜文俊. 中国小花蜻核型研究 (半翅目: 花蜻科) [J]. 浙江林学院学报, 2002, 19(1): 68 - 71.
- [12] Trentini M. Karyologic observations on some cladocera of Lake Trasimeno (Perugia) [J]. Ria Hydrobiol, 1979, 18(3): 369 - 378.
- [13] 赵文, 张鹏, 霍元子, 等. 西藏拟蚤的染色体核型研究 [J]. 大连水产学院学报, 2004, 19(3): 167 - 170.
- [14] Kato K, Tokishita S I, Mandokoro Y, et al. Two - domain hemoglobin gene of the water flea *Moina macrocopa*: duplication in the ancestral Cladocera, diversification, and loss of a bridge intron [J]. Gene, 2001, 273(1): 41 - 50.
- [15] Sergeev V, Williams W D. *Daphniopsis pusilla* Serventy (Cladocera: Daphniidae), an important element in the fauna of Australian salt lakes: a redescription with notes on distribution [J]. Hydrobiologia, 1983, 100: 293 - 300.
- [16] 陈宜峰, 罗丽华, 单祥年, 等. 中国灵长类染色体 [M]. 北京: 科学出版社, 1981: 182 - 185.
- [17] 喻子牛, 谢宗塘. 真鲷 *Pagrosomus major* 和黑鲷 *Sparus macropcephalus* 的核型及 Ag - NOR 带研究 [J]. 青岛海洋大学学报, 1993, 23(3): 107 - 114.
- [18] 张鹏, 赵文, 孙静娴. 5 种裸腹蚤群体遗传变异及亲缘进化关系的初步分析 [J]. 大连水产学院学报, 2007, 22(3): 180 - 183.

The karyotype and evolutionary relationship among 5 species water fleas *Moina*

ZHANG Peng, ZHAO Wen, SUN Jing-xian

(Key Laboratory of Hydrobiology in Liaoning Province's University, Dalian Fisheries Univ., Dalian 116023, China)

Abstract: The chromosomal numbers and karyotypes of 5 species water fleas *Moina* were studied by the air-drying method. The chromosomes were classified by the methods of Levan et al and Stebbins. The karyotype formula was found as following: $2N = 24 = 6M + 18T$, $NF = 30$, $1A$ in *M. mongolica*; $2N = 22 = 10M + 12T$, $NF = 32$, $1A$ in *M. macrocopa*; $2N = 24 = 12M + 12T$, $NF = 36$, $1B$ in *M. rectirostris*; $2N = 24 = 10M + 14T$, $NF = 34$, $1A$ in *M. icnura*; $2N = 26 = 12M + 14T$, $NF = 38$, $1B$ in *M. affinis*. Furthermore, the evolutionary relationship among 5 species of *Moina* was discussed, and the comparable result revealed that the phylogenetic status was descendantly arranged as the following: *M. rectirostris* > *M. affinis* > *M. macrocopa* > *M. icnura* > *M. mongolica*.

Key words: *Moina*; chromosome; karyotype; evolutionary relationship