

海南岛 3 采集地淡水三角涡虫染色体数目及核型分析

董自梅, 李欣, 刘倩倩, 陈广文, 刘德增

(河南师范大学 生命科学学院, 河南 新乡 453007)

摘要:利用空气干燥法对采自海南岛黎母峰主峰、鹦哥嘴黑榄桥、尖峰岭天池 3 个采集地淡水三角涡虫的染色体数目及核型进行了分析,结果表明:海南岛三个采集地三角涡虫种群体细胞染色体基数均为 8,其中,黎母峰主峰三角涡虫种群体细胞染色体以二倍体为主,占比 82.24%,核型公式为 $2n=2x=16=16\text{ m}$;鹦哥嘴黑榄桥三角涡虫种群体细胞染色体以三倍体为主,占比 94.17%,核型公式为 $2n=2x=16=16\text{ m}$;尖峰岭天池三角涡虫种群体细胞染色体为二倍体和三倍体的混合倍体,多数为二倍体,占比 55.2%,少数为三倍体占比 33.6%,核型公式分别为 $2n=2x=16=16\text{ m}$ 和 $2n=2x=24=24\text{ m}$ 。

关键词:海南岛;三角涡虫;染色体;核型

中图分类号:Q953

文献标志码:A

淡水三角涡虫隶属于扁形动物门(platyhelminthes),涡虫纲(Turbellaria),三肠目(Tricladida),三角涡虫属(*Dugesia*),是动物界最早出现两侧对称、三胚层,营自由生活的动物类群^[1],在我国分布广泛,其染色体数目和核型呈现多倍性及多态性。同时,由于淡水涡虫具有极强的再生能力,因此成为细胞遗传学、发育生物学和再生生物学研究良好的生物模型^[2-4]。国外对淡水涡虫染色体的研究较深^[5-6],国内关于淡水涡虫染色体和核型的研究近年来也有不少报道^[7-11]。关于海南岛的淡水涡虫,刘德增在琼中百花岭、通什度假村等地发现有三角涡虫分布^[12],但是关于海南岛淡水涡虫染色体和核型的研究尚未见报道。海南岛位于中国南部,以琼州海峡与大陆相隔,是中国唯一一个距离大陆架不远又深受海洋季风影响的真正的海岛^[13]。该岛地处低纬度热带地区,经纬度范围为 $18^{\circ}20'N\sim 20^{\circ}10'N$, $108^{\circ}37'E\sim 111^{\circ}03'E$,受海洋气候的影响,该岛屿年温差较小,动植物资源丰富,成为我国生物多样性研究的热点地区之一。本文对海南岛黎母峰主峰、鹦哥嘴黑榄桥和尖峰岭天池 3 个采集地淡水三角涡虫(*Dugesia* sp.)的染色体数目及核型进行分析,以为海南岛淡水涡虫的分类、遗传、进化等方面研究提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用淡水三角涡虫(*Dugesia* sp.)分别采自海南岛黎母峰主峰、鹦哥嘴黑榄桥、尖峰岭天池 3 个采集地(表 1)。活体带回实验室,20℃恒温培箱避光培养,每两周喂食新鲜牛肝 1 次,实验前至少饥饿 1 周。

1.2 实验方法

染色体制备 参照 Chen 等^[8]的空气干燥法和马克世^[14]的重悬法执行。

染色体计数 每个采集地随机选取 10 个以上个体制备染色体,在显微镜下从中挑选 100 个以上染色体分散良好的中期体细胞,统计染色体数目。

核型分析 在所观察的中期体细胞中,每个采集地选出 5 个中期细胞,要求来自不同个体、分散良好、数

收稿日期:2018-03-25;修回日期:2018-09-10.

基金项目:国家自然科学基金(31570376;31471965;31170357;U1604173);河南高校创新科技团队(18IRTSTHN022).

作者简介:董自梅(1968-),女,河南浚县人,河南师范大学教授,博士生导师,研究方向为淡水涡虫中枢神经系统的再生机制,E-mail:dzmhx@163.com.

通信作者:陈广文,教授,博士生导师,E-mail:chengw@sina.com.

目完整、形态清晰,在 100 倍油镜下观察、拍照,并利用染色体分析系统(AxioScopeA1+Ikaros,德国)进行测量、计算、分组、编号以及核型分析,着丝点分类标准按 Levan 等^[15]的方法确定。

表 1 海南 3 个采集地淡水三角涡虫(*Dugesia sp.*)生态数据一览表

采集地	种群代号	海拔/m	经纬度 N/E	t/°C	pH
黎母峰主峰	LMF	834	N:19°10'52" E:109°45' 17"	25	5.4
鹦哥岭黑榄桥	HLQ	280	N: 19°6'46" E: 109°32' 33"	15	5.7
尖峰岭天池	TC	822	N:18°44'37" E: 108°51'45"	25	5.4

2 实验结果

2.1 海南岛 3 个采集地淡水三角涡虫体细胞染色体数目统计

显微镜下观察海南岛 3 个采集地三角涡虫(*Dugesia sp.*)的体细胞中期分裂相,并对其染色体数目进行统计,结果见表 2。

表 2 海南岛 3 个采集地淡水三角涡虫(*Dugesia sp.*)体细胞染色体数目统计表

采集地	染色体数目比例/%			观察细胞总数
	16	24	其他	
黎母峰主峰	82.24	0	17.76	107
黑榄桥	0	94.18	5.82	103
天池	55.20	33.60	11.20	125

2.2 海南岛 3 个采集地淡水三角涡虫体细胞染色体核型分析

2.2.1 黎母峰主峰淡水三角涡虫(*Dugesia sp.*)体细胞染色体核型分析

黎母峰主峰淡水三角涡虫(*Dugesia sp.*)体细胞中期分裂相中,染色体数目主要为 16 条,在全部中期分裂相的比例是 82.24%,8 组染色体均为中部着丝粒类型,核型公式为 $2n=2x=16=16m$;其中,最大组染色体与最小组染色体相对长度的比值为 2.41,大于 2,核型类型为 2B 核型.该采集地淡水三角涡虫(*Dugesia sp.*)体细胞染色体核型参数见表 3,体细胞中期分裂相及核型图见图 1。

表 3 黎母峰主峰淡水三角涡虫(*Dugesia sp.*)染色体核型参数

编号	相对长度	臂比	着丝粒指数	染色体类型
1	19.46±0.44	1.40±0.23	42.58±3.65	m
2	15.98±0.98	1.28±0.12	44.06±2.35	m
3	13.24±0.80	1.33±0.20	43.37±3.64	m
4	11.77±0.46	1.60±0.20	38.99±3.04	m
5	11.48±0.62	1.48±0.23	40.82±3.97	m
6	10.22±0.32	1.30±0.15	43.92±2.65	m
7	9.42±0.41	1.40±0.09	41.88±1.59	m
8	8.07±0.64	1.23±0.10	44.98±1.98	m

2.2.2 鹦哥岭黑榄桥淡水三角涡虫(*Dugesia sp.*)体细胞染色体核型分析

黑榄桥淡水三角涡虫(*Dugesia sp.*)体细胞中期分裂相中,染色体数目主要为 24 条,在全部中期分裂相的比例是 94.17%,8 组染色体均为中部着丝粒类型,核型公式为 $2n=3x=24=24m$;其中,最大组染色体与最小组染色体相对长度的比值为 2.49,大于 2,核型类型为 2B 核型.该采集地淡水三角涡虫(*Dugesia sp.*)体细胞染色体核型参数见表 4,体细胞中期分裂相及核型图见图 2。

2.2.3 尖峰岭天池淡水三角涡虫(*Dugesia sp.*)体细胞染色体核型分析

尖峰岭天池淡水三角涡虫(*Dugesia sp.*)体细胞中期分裂相中,染色体数目多数为 16 条,占全部中期分裂相的 55.2%;少数为 24 条,占全部中期分裂相的 33.6%。所有染色体均为中部着丝粒染色体,其核型公式

为 $2n=2x=16=16\text{ m}$ 或 $2n=3x=24=24\text{ m}$ 。其中,最大组染色体与最小组染色体相对长度的比值为 2.38,大于 2,核型类型为 1B 核型。该采集地淡水三角涡虫 (*Dugesia* sp.) 体细胞染色体核型参数见表 5,体细胞中期分裂相及核型图见图 3。

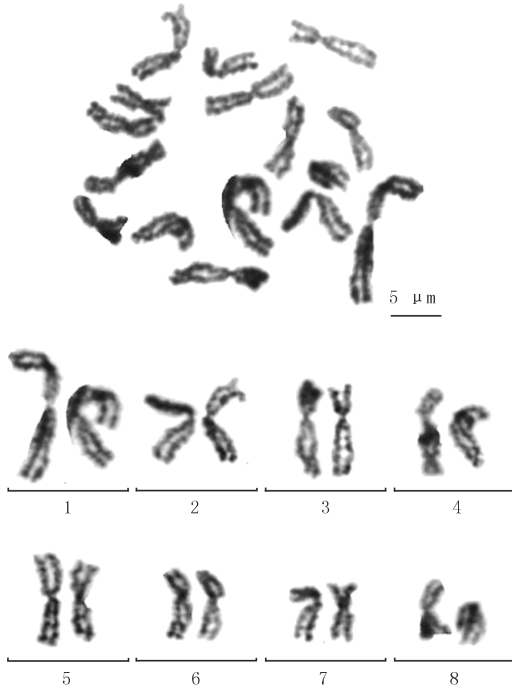


图1 海南岛黎母峰主峰淡水三角涡虫 (*Dugesia* sp.) 体细胞中期分裂相及核型图 (二倍体)

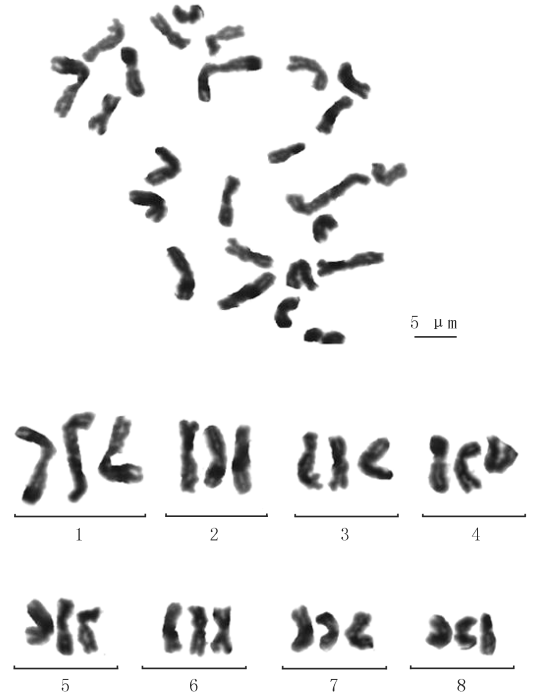


图2 海南岛鹦哥岭黑榄桥淡水三角涡虫 (*Dugesia* sp.) 体细胞中期分裂相及核型图 (三倍体)

表4 鹦哥岭黑榄桥淡水三角涡虫 (*Dugesia* sp.) 染色体核型参数

编号	相对长度	臂比	着丝粒指数	染色体类型
1	19.79±1.06	1.13±0.01	46.99±0.12	m
2	15.48±0.48	1.24±0.03	44.84±0.64	m
3	13.14±0.62	1.68±0.11	37.82±1.58	m
4	11.84±0.23	1.31±0.04	43.37±0.72	m
5	11.77±0.61	1.28±0.11	44.12±2.19	m
6	10.47±0.13	1.33±0.11	43.27±1.86	m
7	9.55±0.29	1.25±0.08	44.56±1.55	m
8	7.95±0.74	1.27±0.03	44.15±0.72	m

表5 尖峰岭天池淡水三角涡虫 (*Dugesia* sp.) 染色体核型参数

编号	相对长度	臂比	着丝粒指数	染色体类型
1	18.51±0.57	1.25±0.13	44.82±2.46	m
2	15.98±0.69	1.18±0.12	46.06±2.47	m
3	14.01±0.84	1.35±0.11	42.81±2.13	m
4	12.43±0.43	1.27±0.17	44.33±3.25	m
5	11.36±0.44	1.23±0.10	45.17±2.09	m
6	10.41±0.48	1.34±0.10	43.07±1.56	m
7	9.52±0.55	1.16±0.06	46.53±1.21	m
8	7.78±0.86	1.26±0.12	44.33±2.23	m

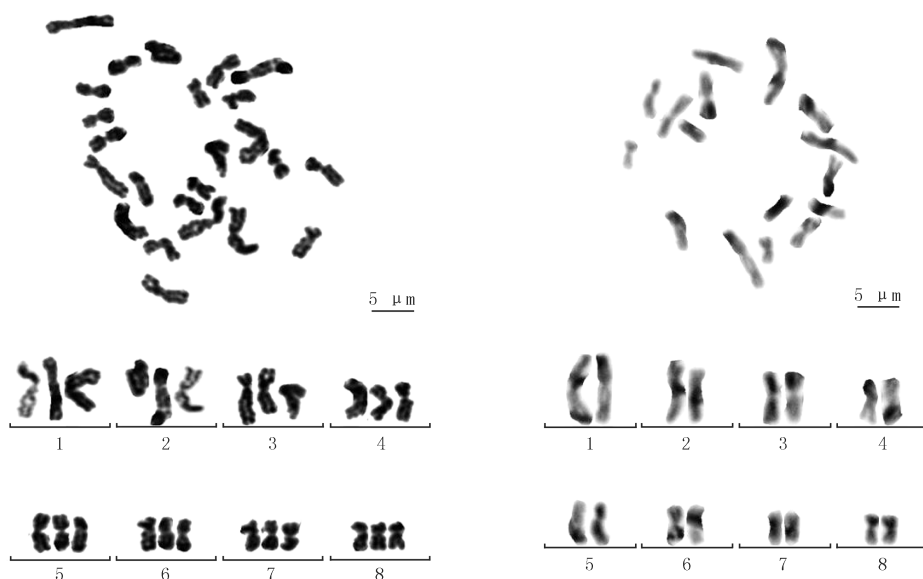


图 3 海南岛尖峰岭天池淡水三角涡虫体 (*Dugesia* sp.) 细胞中期分裂相及核型图

左图 (三倍体), 右图 (二倍体)

3 讨论

3.1 涡虫染色体的变异

生物体内染色体的倍性关系与性状密切相关^[16]. 涡虫体细胞染色体广泛存在多倍性及多态性, Benazzi^[17] 在研究 *Dugesia benazzi* 和 *Dugesia lugubris* 两种三角涡虫的染色体时发现, 除二倍体外, 两种三角涡虫还存在三倍体、四倍体、五倍体及六倍体等, 其主要原因是这些群体中由于多倍体之间杂交, 而导致后代染色体数目不稳定. Kawakatsu^[18] 对日本三角涡虫 (*Dugesia japonica*) 体细胞染色体研究时发现, 有二倍体、三倍体共存即混倍体现象, 另外由于栖息环境影响而产生大 B 和小 B 染色体现象. 马金友等^[19] 提出不同采集地三角涡虫生殖方式的不同、生殖方式的改变、季节和温度的变化等因素均会导致涡虫染色体的变化. Zadesenets 等^[20-21] 利用 FISH 标记手段对大口涡虫 (*Macrostomum lignano*) 的染色体进行研究, 揭示了非整倍体涡虫形态、行为未见明显异常且能够成功繁殖的原因: 染色体融合和染色体重排现象. Sven 等^[22] 对细涡虫 (*Phagocata vitta*) 和多目涡虫 (*Polycelis felina*) 的染色体进行研究认为: 多倍体和单性生殖为一个物种具有广泛生态耐受性提供了很大的优势, 并且随着纬度的增高, 年平均温度下降, 其平均染色体数目逐渐增加; 因此提出并验证了这样一个假设: 多倍体有利于物种应对高纬度地区恶劣的气候条件, 无性繁殖和杂交是造成多倍体产生的原因之一, 染色体的不规则行为在高纬度地区恶劣的环境中更加常见.

3.2 海南岛三角涡虫染色体的特殊性

Stebbins^[23] 曾根据染色体的形态和大小的差异将核型分为对称核型和不对称核型, 并提出在植物界核型进化趋势是由对称向不对称发展的; 而 Rieger 等^[24] 和 Schmid 等^[25-27] 认为动物的核型进化一般由不对称向对称方向发展并伴随着染色体数目的减少. 本文中黎母峰主峰、鹦哥岭黑榄桥和尖峰岭天池三个采集地三角涡虫体细胞染色体基数均为 8, 黎母峰主峰三角涡虫种群体细胞染色体以二倍体为主, 鹦哥嘴黑榄桥三角涡虫种群体细胞染色体以三倍体为主, 尖峰岭天池三角涡虫种群体细胞染色体为二倍体和三倍体的混倍体, 三个采集地 8 组染色体均为中部着丝粒. 研究结果表明: 上述海南岛的 3 个采集地淡水三角涡虫染色体明显存在多态性, 但染色体变异程度均较低, 核型基本属于对称性核型, 倍性较低. 目前发现, 该地区三角涡虫种群染色体多为 16 条或者 24 条, 未发现有非整倍体, 大 B 及小 B 染色体; 与之对比, 2016 年李小艳^[28] 在对内陆秦岭地区三角涡虫染色体进行分析时, 除了二倍体、三倍体还出现四倍体、非整倍体甚至多种混倍体的情况, 且着丝粒类型多样, 核型不对称性明显, 秦岭地区位于北纬 32°~34°, 位于我国南北分界线、亚热带和暖

温带过渡区域,南北地理气候差异显著,环境较为复杂.在我国,地域广袤,随着纬度的增高,冬夏季温差愈加分明,气候愈加恶劣,而海南岛比较特殊,位于低纬度热带地区,常年温差小,环境稳定,因此,这可能是造成该地区三角涡虫种群染色体组成较为简单的原因.总之,淡水涡虫染色体核型与环境因素关系紧密,其多倍性和多态性一方面受纬度、环境适宜及稳定程度等多种因素的影响,另一方面也为之提供了适应多种环境的可能性.

参 考 文 献

- [1] 陈广文,陈晓虹,吕九全.中国淡水三角属涡虫研究的历史与进展[J].动物学杂志,1999,33(3):37-41.
- [2] Mehlhorn H,Scholtyssek E.The taxonomic status of *Dugesia biblica* from Israel and Turkey (Platyhelminthes, Tricladida, Dugesidae) [J].Zookeys,2015,506(506):1-12.
- [3] Alvarez-Presas M,Baguñà J,Riutort M.Molecular phylogeny of land and freshwater planarians (Tricladida, Platyhelminthes): From freshwater to land and back[J].Molecular Phylogenetics & Evolution,2008,47(2):555-568.
- [4] Sluys R,Kawakatsu M,Winsor L.The genus *Dugesia* in Australia, with its phylogenetic analysis and historical biogeography (Platyhelminthes, Tricladida, Dugesidae)[J].Zoologica Scripta,2010,27(4):273-290.
- [5] Stocchino G A,Sluys R,Manconi R.A new and aberrant species of *Dugesia* (Platyhelminthes, Tricladida, Dugesidae) from Madagascar [J].Zookeys,2014,425(425):71.
- [6] Novikova O A,Naumova T V,Timoshkin O A.Karyotypes and current approaches to the systematics of endemic Baikal representatives of *Bdellocephala*, genus (Turbellaria, Dendrocoelidae)[J].Hydrobiologia,2006,568(1):183-191.
- [7] 陈广文,马克世,刘德增.中国淡水三角涡虫的染色体研究[J].动物学报,2005,51(增刊):276-280.
- [8] Chen G W,Wang Y L,Wang H K,et al.Chromosome and karyotype analysis of *Polycelis wutaishanica* (Turbellaria-Tricladida) from Shanxi Province, China[J].Acta Zootaxonomica Sinica,2008,33(3):449-452.
- [9] 陈广文,董自梅,田士瑞,等.河北3产地日本三角涡虫的染色体变异与核型多样性分析[J].动物学杂志,2010,45(6):85-91.
- [10] 陈广文,董自梅,武丽敏,等.河南两产地日本三角涡虫的染色体和核型多样性分析[J].河南师范大学学报(自然科学版),2011,39(1):146-149.
- [11] 陈广文,田士瑞,刘涛,等.中国云南三产地淡水三角涡虫核型分析[J].水生生物学报,2011,35(2):333-339.
- [12] 刘德增.中国淡水涡虫[M].北京:北京师范大学出版社,1993.
- [13] 张兰生等.中国古地理[M].北京:科学出版社,2012.
- [14] 马克世,王永立,高磊.“重悬法”制备低等动物染色体[J].生物技术世界,2013,9:1.
- [15] Leván A,Fredya K,Sandberd A.Nomenclature for centromeric position on chromosomes[J].Hereditas,1964,52(2):201-220.
- [16] 黎波涛,石玉珍,龚举武,等.多环境下陆地棉染色体片段代换系及 F1 皮棉产量与纤维品质的表型分析[J].棉花学报,2016,28(1):75-80.
- [17] Benazzi M,Benazzi L G.Platyhelminthes[M].In: B. John, (ed.), Animal Cytogenetics, Gebruder Borntraeger, Berlin-Stuttgart; 1976, 1-77.
- [18] Kawakatsu M, Oki I, Tamura S. Taxonomy and geographical distribution of *Dugesia japonica* and *Dugesia ryukyuensis* in the Far East [J].Hydrobiologia,1995,305:55-61.
- [19] 马金友,陈广文,刘德增.中国淡水三角涡虫染色体变化与生殖的关系[J].动物学杂志,2004,39(5):25-29.
- [20] Zadesenets K S,Schärer L,Rubtsov N B.New insights into the karyotype evolution of the free-living flatworm *Macrostomum lignano* (Platyhelminthes, Turbellaria)[J].Scientific Reports,2017,7(7):6066.
- [21] Zadesenets K S,Ershov N I,Berezikov E,et al.Chromosome Evolution in the Free-Living Flatworms: First Evidence of Intrachromosomal Rearrangements in Karyotype Evolution of *Macrostomum lignano* (Platyhelminthes, Macrostomida)[J].Genes,2017,8(11):293-312.
- [22] Sven Lorch,Dirk Zeuss,Roland Brandl & Martin Brandle.Chromosome numbers in three species groups of freshwater flatworms increase with increasing latitude[J].Ecology and Evolution,2016,6(5):1420-1429.
- [23] Stebbins G L.Chromosomal evolution in higher plants[M].London: Edward Arnold,1971,87-90.
- [24] Rieger C.Skelett und Muskulatur des Kopfes und Prothorax von *Ochterus marginatus* Latr-eille[J].Zoomorphologie,1976,83:109-191.
- [25] Schmid M.Chromosome banding in Amogbin. I. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in *Bufo* and *Hyla*[J].Chromosoma,1978,66:361-368.
- [26] Schmid M.Chromosome banding in Amogbin. II. Constitutive heterochromatin and nucleolus organizer regions in Ranidae Microhylidae and Rhacophoridae[J].Chromosoma,1978,68:131-148.
- [27] Schmid M.Chromosome banding in amphibia, IV. differentiation of GC- and AT-rich chromosome regions in anura[J].Chromosoma,1980,77:83-103.
- [28] 李小艳.中国秦岭二十二产地淡水涡虫染色体核型及系统进化研究[D].新乡:河南师范大学,2016.

Chromosome Numbers and Karyotype Analysis of *Dugesia* sp. from Hainan Island

Dong Zimei, Li Xin, Liu Qianqian, Chen Guangwen, Liu Dezeng

(College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China)

Abstract: The chromosome numbers and karyotypes of *Dugesia* sp. from Limufeng, Heilanjiao and Tianchi of Hainan Island were studied with air-drying method. The results show that the cardinal number of chromosome of *Dugesia* sp. from 3 localities of Hainan Island is 8. The most cells of *Dugesia* sp. from Limufeng have the diploid chromosome number of 16 with the karyotype formula of $2n=2x=16=16\ m$ and the percentage of diploid cells is 82.24%. The most cells of *Dugesia* sp. from Heilanjiao have the triploid chromosome number of 24 with the karyotype formula of $2n=3x=24=24\ m$ and the percentage of diploid cells is 94.17%. While the cells of *Dugesia* sp. collected from Tianchi have diploid ($2n=2x=16=16\ m$) and triploid ($2n=3x=24=24\ m$) and their percentages are 55.2% and 33.6%.

Keywords: Hainan Island; *Dugesia* sp.; chromosome; karyotype

[责任编辑 王凤产]