

中国淡水三角涡虫染色体变化与生殖的关系*

马金友^{①②} 陈广文^{②**} 刘德增^③

(① 河南科技学院动物科学系 新乡 453003; ② 河南师范大学生命科学学院 新乡 453002;

③ 黑龙江省科学院自然资源研究所 哈尔滨 150031)

摘要: 利用空气干燥法对淡水三角涡虫的染色体进行研究。结果表明:三角涡虫的染色体数目为 $n = 8$, $2n = 16$, $2n = 24$, 为二倍体 $2n = 2x = 16$ 、三倍体 $2n = 3x = 24$ 和混合倍体 $2n = 2x = 16$, $2n = 3x = 24$, 有时也可见到非整倍体。以有性生殖为主的类群, 有性生殖期间有性个体大量存在, 生殖器官比较发达, 染色体为二倍体; 以无性生殖为主的类群, 很少出现有性个体, 染色体为三倍体; 既有有性生殖又有无性生殖的类群, 有性生殖期间, 生殖器官发育稍差, 染色体主要为混合倍体, 有时出现二倍体或三倍体。本文对影响三角涡虫性成熟的因素也进行了讨论。

关键词: 染色体; 生殖; 淡水三角涡虫; 中国

中图分类号: Q953 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2004)05-25-05

The Relationship between the Reproduction and the Chromosomal Variation of Freshwater Planarians (*Dugesia*) in China

MA Jin-You^{①②} CHEN Guang-Wen^② LIU De-Zeng^③

(① Dept. of Animal Science, Henan Institute of Science Technology, Xinxiang 453003;

② College of Life Science, Henan Normal University, Xinxiang 453002;

③ Institute of Natural Resources, Heilongjiang Academy of Science, Harbin 150031, China)

Abstract: The chromosomes of *Dugesia* sp. from various stations were studied by air-drying technique. The results have shown that the chromosome numbers of *Dugesia* sp. were $n = 8$, $2n = 16$, and $2n = 24$. Their karyotype included diploid $2n = 2x = 16$, triploid $2n = 3x = 24$ and mixoploid $2n = 2x = 16$, and $2n = 3x = 24$. Aneuploidic karyotype may occur. Sometimes, there were accessory chromosomes in some specimens. The reproduction included sexual and asexual reproduction, sexual reproduction in winter, and asexual reproduction in summer. The chromosomes in groups whose reproductive organs are well-developed are diploid during the reproduction. The chromosomes in some groups, whose reproduction are mainly asexual, are triploid. The chromosomes in groups whose reproductive organs are less-developed mainly are mixoploid, and sometimes are diploid or triploid. The factors of influence on the living sexually mature of *Dugesia* sp. were discussed in the article.

* 国家自然科学基金(No. 30170119), 河南省杰出青年科学基金(No. 0312001100), 河南省自然科学基金(No. 004011800)资助项目;

** 通讯作者;

第一作者介绍 马金友, 男, 36岁, 硕士, 讲师; 研究方向: 动物资源及动物生态; E-mail: Marsjy@hvttc.edu.cn。

收稿日期: 2004-02-10, 修回日期: 2004-07-20

Key words: Chromosome; Reproduction; Freshwater Planarian; *Dugesia*; China

涡虫是动物界最早出现两侧对称、三胚层、营自由爬行生活的动物类群,在动物系统演化中占有重要地位。在我国,淡水三角涡虫目前仅发现于除青海省、内蒙古和新疆维吾尔自治区以外各省(区)的河川、小溪、冷水泉、湖沼、水井和许多洞穴的水中。Kawakatsu 等人认为,我国的三角涡虫目前只有日本三角涡虫(*Dugesia japonica*) 1 种^[1]。

涡虫的生殖包括无性生殖和有性生殖两种方式。无性生殖通常以横分裂的方式进行,其分裂面常发生在咽后方。有性生殖主要在冬季和春初进行,但不同的地区略有差异,性成熟前没有生殖器官产生,性成熟的个体有两性生殖器官存在,为雌雄同体但异体受精的动物^[2]。我国淡水三角涡虫的染色体主要为二倍体、三倍体和混合倍体等^[3]。关于我国淡水三角涡虫染色体与生殖关系的研究,国内外文献中迄今未见报道。本文从染色体变化和生殖关系的角度对我国淡水三角涡虫进行了研究,结果如下。

1 材料与方 法

1.1 材料 实验材料分别采自浙江省杭州市龙井村,北京市樱桃沟,河南省淇县石老公、鱼泉,修武县云台山,罗山县涩港和济源市上架、不老泉等地。

1.2 方法 染色体制备参照李光鹏的空气干燥法^[4],并作适当改进,具体如下:选取健康涡虫,停止饲喂,饥饿一周,于咽前和咽后横切为三段,切得的涡虫片段于室温下(15~20℃)在蒸馏水中培养 3 d;用消毒的锋利刀片切取涡虫断面的再生组织 1 mm 左右,用吸管轻轻地将组织块转入盛有蒸馏水的称量瓶中;将称量瓶中的蒸馏水吸去,用 0.02% 秋水仙素冲洗一次,然后,加入 0.02% 的秋水仙素于冰箱冷藏室中处理 2.0~3.0 h;经秋水仙素处理过的组织块,用蒸馏水冲洗两次后,转入 0.1% 的 KCl 低渗液中,处理 0.5~2.0 h(15~20℃);用吸管将经低渗处理的再生组织转移到载玻片上,加入几滴

固定液(酒精:冰醋酸 = 1:1),稍微固定后,弃去旧液,加入几滴新鲜的固定液,用解剖针迅速分离组织块,并涂布均匀,使细胞分散,再加入几滴新鲜固定液,固定约 30 s,吸去多余的固定液,室温干燥;干燥后的玻片,用 5% 的 Giemsa 染色液染色 10~15 min,然后用缓冲液慢慢冲掉多余的染液,室温干燥。

在显微镜下选取染色体分散良好的细胞 100 个以上,统计染色体数目。在核型分析时,来自不同个体的样本中,选取 5~10 个着丝点清楚、分散好、背景清晰、染色体比较平直的细胞进行拍照,放大,并计算分析。

生殖器官检查采用石蜡切片法,具体方法如下:标本固定(波恩氏固定)→去苦味酸(水洗 4 次,蒸馏水冲 3 次)→10% 苏木精染色 10~16 h→蓝化 12~24 h→30% 酒精 1 h→50% 酒精 1 h→70% 酒精 + 0.5% 曙红 12 h→80% 酒精 1 h→95% 酒精 1 h→100% 酒精 I 1 h→100% 酒精 II 40 min→1/2 100% 酒精 + 1/2 二甲苯 1 h→二甲苯 I 1 h→二甲苯 II 1 h→1/3 蜡 + 二甲苯 1 h→1/2 蜡 + 二甲苯 1 h→纯蜡 I 1 h→纯蜡 II 1 h→包埋→修块→切片→粘片→烤片→脱蜡→封片。

2 结果与讨论

2.1 淡水三角涡虫的染色体组成和变化 浙江省杭州市龙井村,河南省淇县石老公、鱼泉的三角涡虫染色体为二倍体 $2n = 2x = 16$;北京市樱桃沟,河南省济源市不老泉、罗山县涩港的三角涡虫染色体为三倍体 $2n = 3x = 24$;河南省修武县云台山、济源市上架的三角涡虫染色体为二倍体 $2n = 2x = 16$ 、二倍体与三倍体的混合倍体 $2n = 2x = 16, 2n = 3x = 24$ 和三倍体 $2n = 3x = 24$ (图 1)。不同产地三角涡虫的染色体基数均为 $n = 8$ 。从所检查的染色体看,染色体的变化较复杂,主要有二倍体、三倍体及二倍体和三倍体的混合型,有的个体出现非整倍体的现象,有的有小 B 染色体存在。在所研究不同产地的

三角涡虫中,二倍体所占比例为 37.5%,二倍体和三倍体的混合型所占比例为 25%,三倍体所占比例为 37.5%(表 1),四倍体出现的机会较少,仅发现有一个产地的一个个体为四倍体。

这一结果与 Oki 等^[5]及 Tamura 等^[6]报道的远东三角涡虫染色体变化基本一致,但体细胞染色体倍性的比例有所差别,可能是由于研究产地少的缘故。

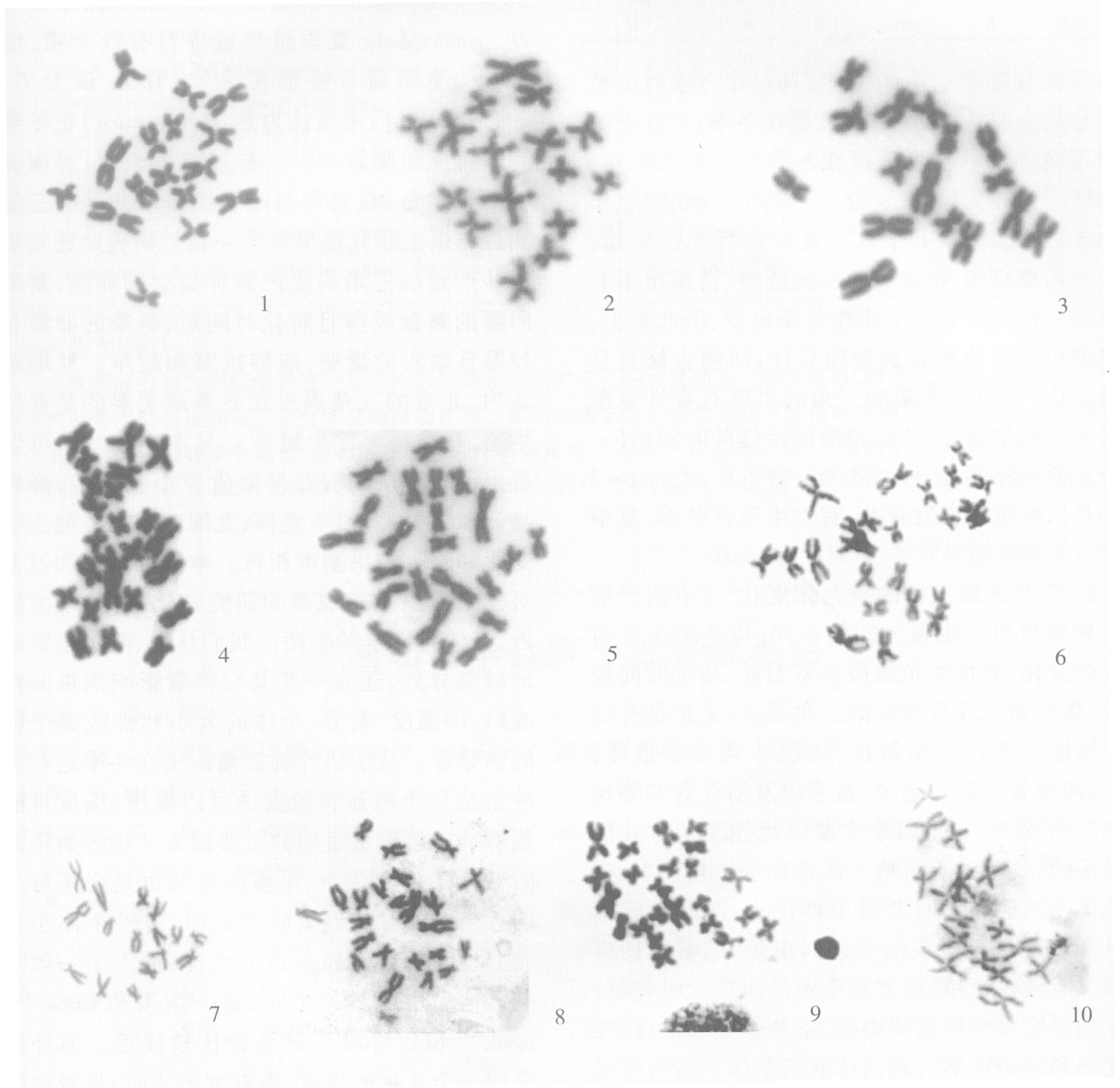


图 1 不同产地三角涡虫的染色体

1. 石老公三角涡虫二倍体染色体; 2. 鱼泉三角涡虫二倍体染色体; 3. 龙井三角涡虫二倍体染色体; 4. 不老泉三角涡虫三倍体染色体; 5. 樱桃沟三角涡虫三倍体染色体; 6. 罗山县涩港三角涡虫三倍体染色体; 7. 济源市上架三角涡虫二倍体染色体; 8. 济源市上架三角涡虫三倍体染色体; 9. 修武县云台山三角涡虫二倍体染色体; 10. 修武县云台山三角涡虫三倍体染色体

2.2 淡水三角涡虫生殖的季节性变化 涡虫的生殖包括无性生殖和有性生殖两种方式。根

据室内饲养观察、野外采集和生殖解剖学研究发现,河南省淇县石老公、鱼泉的三角涡虫一年

表 1 三角涡虫产地及染色体数目统计表

核型	产地	所占比例 (%)	检查标本数目		
			总数	有性个体	无性个体
二倍体	3	37.5	59	41	18
三倍体	3	37.5	78	5	73
混合倍体	2	25	56	13	43
总数	8	100	193	59	134

四季都有有性生殖的个体,只有在冬季时生殖器官最为发达,有性生殖主要在冬季;浙江省杭州市龙井村的三角涡虫在冬季时为有性生殖,持续时间较长(一般从前一年的 11 月到第二年的 5 月,大约 5~6 个月),夏季进行无性生殖;北京市樱桃沟,河南省罗山县涩港、济源市不老泉的三角涡虫有性个体在冬季出现,但非常少,主要以无性生殖方式繁殖后代;河南省修武县云台山、济源市上架的三角涡虫既有有性生殖又有无性生殖,有性生殖阶段持续的时间短(一般从前一年的 12 月到第二年的 3 月,大约 1~3 个月),生殖器官发育差,有性生殖在冬季,夏季进行无性生殖。

2.3 不同生殖类群的染色体变化 不同产地三角涡虫由于生殖方式的不同,染色体出现明显的变化:有性生殖阶段非常明显、持续时间较长、生殖器官发育较好的三角涡虫,无论是无性生殖还是有性生殖阶段,染色体均为二倍体,如:河南省淇县石老公、鱼泉以及浙江龙井等地的三角涡虫;一年四季主要以无性生殖方式繁殖后代,几乎没有有性个体存在的三角涡虫,染色体为三倍体,如:北京市樱桃沟,河南省罗山县和济源市不老泉的三角涡虫等;既有有性生殖又有无性生殖,但有性生殖阶段持续时间短,生殖器官发育稍差的类群,染色体为二倍体、二倍体和三倍体的混合倍体或三倍体,如:河南省修武县云台山和济源市上架的三角涡虫等。另外,在研究中还发现一个奇特的现象:河南省修武县云台山、济源市上架的三角涡虫在完全无性生殖阶段,染色体为三倍体;当虫体逐渐性成熟时,其染色体为二倍体和三倍体的混合型;随着虫体逐渐充分性成熟,染色体又由混合型转变为二倍体的个体,关于这种情况目前还未见报道,其发生机制尚有待进一步探讨。

2.4 淡水三角涡虫生殖方式的变化及影响其性成熟的因素 关于淡水三角涡虫生殖方式和季节性变化,Stoppenbrink 认为 *Dugesia gonocephala* 的有性生殖只有在夏季^[7]。Steinmann 认为,Stoppenbrink 的结论不完全正确,他发现 *D. gonocephala* 夏季虽然也进行有性生殖,但冬季的生殖器官特别发达^[8]。Hsiao 认为 *D. gonocephala* (后来被认为是 *D. japonica*) 在冬季产卵而夏季则较少^[9]。本文结果表明:河南省淇县石老公、鱼泉和浙江省杭州市龙井的三角涡虫与以上研究结果较为一致。研究中还发现这些产地的三角涡虫产两种类型的卵囊,夏季卵囊的囊壁较薄且孵化时间短,冬季的卵囊有较厚且结实的囊壁,能够抗寒和耐旱。杜增瑞认为,北京的三角涡虫在冬季最主要的是有性生殖,夏季是无性生殖^[10]。从本文的结果可以看出,北京市樱桃沟,河南省罗山县涩港,修武县云台山,济源市不老泉、上架三角涡虫的生殖变化和这一结果基本相符。本研究结果和过去对三角涡虫生殖规律的研究相比,有的较为接近,有的有一定的差距。我们认为,除了生活的地域差异外,还有一些其它因素影响涡虫的性成熟,即温度、营养、个体的大小和性成熟个体的诱导等。从所研究的三角涡虫在冬季进行有性生殖且生殖器官较发达可以看出,温度可能是影响三角涡虫生殖的主要因素。但较为丰富的营养条件和洁净、平缓的水流也是必不可少的。当涡虫生殖器官较发达时,有性个体小于充分发育无性生殖阶段的个体,而大于一般时期无性生殖阶段的个体,这一结果和 Cutis^[11]、Kenk^[12] 和杜增瑞^[10] 的结论比较接近。另外还发现一个有趣的现象:当温度适当时,性成熟的个体对未成熟个体的生殖腺发育有促进作用,对这方面的研究目前还未见报道,出现这种现象的机理需要进一步探讨。

参 考 文 献

- [1] Kawakatsu M, Oki I, Tamura S. Taxonomy and geographical distribution of *Dugesia japonica* and *D. ryukyensis* in the Far East. *Hydrobiologia*, 1995, 305:55~61.

- [2] 陈广文, 吕九全, 马金友等. 我国的淡水涡虫. 生物学通报, 2000, 35(7): 11 ~ 13, 封四.
- [3] 马金友, 吕九全, 陈广文等. 中国淡水三角涡虫 (*Dugesia* sp.) 的染色体研究 (I). 遗传学报, 2003, 30(11): 1 045 ~ 1 050.
- [4] 李光鹏. 淡水涡虫染色体的制备方法. 动物学杂志, 1992, 27(5): 30 ~ 31.
- [5] Oki I, Tamura S. Karyological and taxonomic studies of *Dugesia japonica* Ichikawa et Kawakatsu in the Far East. *Hydrobiologia*, 1981, 84(1): 53 ~ 68.
- [6] Tamura S, Oki I, Kawakatsu M. A review of chromosomal variation in *Dugesia japonica* and *D. ryukyuensis* in the Far East. *Hydrobiologia*, 1995, 305: 79 ~ 84.
- [7] Stoppenbrink F. Die geschlechtsorgane der Süßwasser Tricladen im normalen und im Hungerzustande. *Verh Naturhist Ver d preuss. Rheinlande*, 1904, 61: 27 ~ 36.
- [8] Steimann P, Bresslau E. Die Strudelwürmer (Turbellaria). *Monographien einheimischer Tiere*, 1913, 5. Leipzig.
- [9] Hsiao S D. A preliminary study of the seasonal changes in the reproductive system of *Planaria gonocephala* (Dugès). *Peking Nat Hist Bull*, 1935, 6: 161 ~ 196.
- [10] 杜增瑞. 扁虫及其生殖. 教育与科学, 1949, 2(6): 1 ~ 3.
- [11] Cutis W C. The life history of the normal fission and the reproductive organs of *Planaria maculata*. *Proc Boston Soc Nat Hist*, 1902, 30: 515 ~ 559.
- [12] Kenk R. Studies on Virginian Triclads. *J Elisha Mitchell Sci Soc*, 1935, 51: 79 ~ 125.