

辽宁省卤虫核型的研究

蔡含筠 侯 林

(海洋资源研究所)

摘要 以辽宁省五大海水盐场卤虫的初孵无节幼虫为材料,用空气干燥制片法,制做染色体标本,对卤虫的多倍体及染色体的核型进行了初步研究。结果表明,这些盐场的卤虫都为孤雌生殖型,多倍体细胞的出现率占被检染色体总数的17.2%,体细胞染色体的数目为 $2n=42$, $3n=63$, $4n=84$, $5n=105$, $9n=189$ 。营口、金州和锦州盐场卤虫的核型公式为 $2n=16(m/sm)+26t$,复州湾和旅顺盐场卤虫的核型公式为 $2n=32(m/sm)+10(t/st)$ 。营口盐场卤虫 $4n$ 和 $5n$ 部分别有 8 套 (m/sm) 和 13 套 t 。本文对卤虫的进化分类和遗传育种具有一定的意义。

关键词 卤虫, 染色体, 核型, 分类

中图分类号 Q343

1755年, Schlosser 在英国的 Lymington 盐池里首先发现卤虫, 1819年由 Leach 定名为 *Artemia salina*。^[1]

关于卤虫属的分类问题, 曾进行过很多研究, 由于卤虫的形态结构差别不大, 所以在很长的时间里, 它曾被认为是一个种。1939年, Kuenen 首先发现加里福尼亚和 Sardinia 两地的卤虫存在着生殖隔离现象。1968年, Halfer 和 Cervini 等发现, 生活在墨西哥 San Bartolomeo、Sardinia 和 Hidalgo 的卤虫, 即使在同个盐场的卤虫间也存在着生殖隔离现象。根据生殖隔离现象, 两性生殖卤虫已被分辨出 6 个种,^[2] 然而孤雌生殖卤虫则不能用这种方法来分类, 在国际卤虫报告中确定了 17 个地理品系的卤虫。^[3]

以往卤虫属的分类方法, 很多学者多依靠对卤虫卵、幼体以及成体的形态学测量^[2], 但这是很不够的。近年来, 卤虫染色体的研究愈来愈引起人们的重视, 如 Barigozzi 和 Bowen 等都对卤虫染色体的研究做了大量的工作, 但多停留在计数水平上, 进行核型分析的研究工作还进行的不多。^[4-8]

作者从 1986 年起开展了对辽宁省卤虫的多倍体及染色体核型的研究, 本文是对这一研究结果的初步报道。

1 材料与方法

1.1 卤虫卵的孵化与卤虫的培养

分别称取每个盐场的卤虫卵 2g, 各放入高 10cm, 直径 21cm, 盛有新鲜海水的圆形玻璃缸中, 置于早产儿培养箱中孵化, 温度为 25℃, 充气, 并充分光照, 用孵化 36h 的卤虫无节幼虫, 制做染色体标本。将孵化好的各个盐场的无节幼虫, 分别置入盛有盐度为 100‰ 海水的上述圆形玻璃缸中, 在 25℃ 早产儿培养箱或夏季放于室温中进行培养,

向小杯内加入适量培养卤虫用的海水,再加入少许精面粉,搅成稀糊状,用吸管加入卤虫培养缸的底部,作为卤虫的饵料。3~5天换一次水,经过半个月左右的培养,即可长成成虫。此时,从每个培养缸中随机各取100个卤虫,以检查各盐场卤虫的性比。分别从各盐场的卤虫卵中,随机取20粒球形卵,测其直径,求其平均值。

1.2 染色体标本的制备步骤

将秋水仙素加入盛有200ml 0.5%柠檬酸钠溶液的烧杯中,秋水仙素的终浓度为0.03~0.04g/l,然后将滤出的无节幼虫加入该溶液中,置入0℃冰箱中4h(当处理完毕时,幼虫仍然是活的)。将幼虫滤出,用Ringer's液洗净,置于小研钵中,加入少许Ringer's液,将幼虫研磨成细胞悬液,并移入离心管,再加入6~7ml Ringer's液,用吸管将细胞团吹散打匀,以800~1000r/min离心10min(以下离心相同),弃去上清液,加入0.075mol/l KCl溶液7~8ml,用吸管混匀,然后置于25℃恒温水浴中,低渗20min,离心,弃去上清液,加入新配制的Carnoy's液5ml,用吸管混匀,立即离心,再加入Carnoy's液8ml,用吸管混匀,置于25℃恒温水浴中固定20min,离心后,保留离心管底部约1~2ml细胞悬液,用吸管混匀。将细胞悬液滴在洁净的冰载玻片上,每张3~4滴为宜,用热风吹干,再用新配制的磷酸缓冲液(pH=6.8)9份与Giemsa原液1份,混合成10%的Giemsa染液,染色15min,自来水冲洗,空气干燥,镜检。

选择分散良好的中期分裂相,在油镜下进行计数,显微摄影。根据Levan等(1964)体制将染色体分类,进行核型分析。每个盐场随机取50个分散良好的中期分裂相(个别染色体丢失者不计算在内),以统计其倍性组成。

2 结 果

2.1 卤虫染色体的倍性组成、性比和卵的直径 详见附表。

附表 卤虫染色体的倍性组成、性比和卵的直径

产地	倍 性 组 成						性比(%)		卵直径(mm)
	2n	3n	4n	5n	9n	总数	雌	雄	
营 口	42	0	3	5	0	50	100	0	0.241
	84%	0	6%	10%	0				
复 州 湾	39	1	6	4	0	50	100	0	0.243
	78%	2%	12%	8%	0				
旅 顺	40	0	7	2	1	50	98	2	0.241
	80%	0	14%	4%	2%				
金 州	41	0	5	4	0	50	100	0	0.245
	82%	0	10%	8%	0				
锦 州	45	0	1	4	0	50	100	0	0.242
	90%	0	2%	8%	0				

2.2 卤虫的中期染色体及其核型分析

通过对各盐场卤虫体细胞的大量中期分裂相的观察,除极少数染色体有丢失外,绝大多数染色体都是 $2n=40$,XX,可排成21对。营口、金州和锦州盐场卤虫的核型公式为 $2n=16(m/sm)+26t$ 。复州湾和旅顺盐场卤虫的核型公式为 $2n=32(m/sm)+10$

(t/st)。营口盐场卤虫多倍体 $3n=63$, $4n=84$, $5n=105$, $9n=189$ 。营口盐场卤虫 $4n$ 和 $5n$ 部分别有 8 套(m/sm)和 13 套 t。其染色体中期分裂相及其核型, 营口盐场卤虫二倍体晚前期染色体及其早中期染色体详见下图。

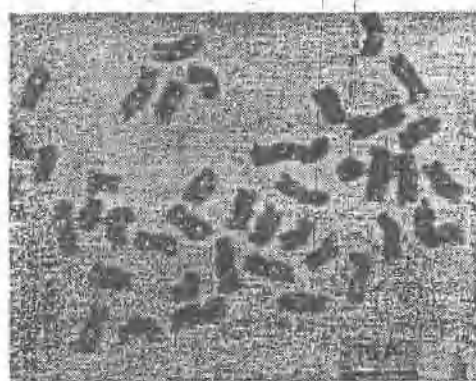


图1 营口盐场卤虫二倍体
中期分裂相

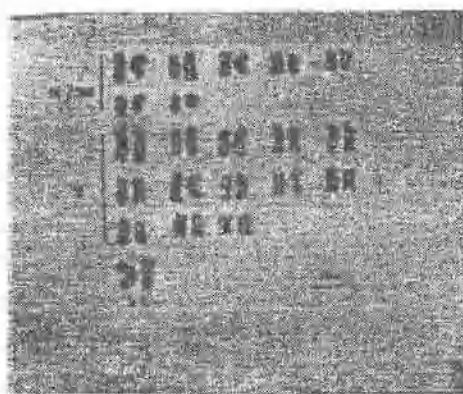


图2 营口盐场卤虫二倍体
核型

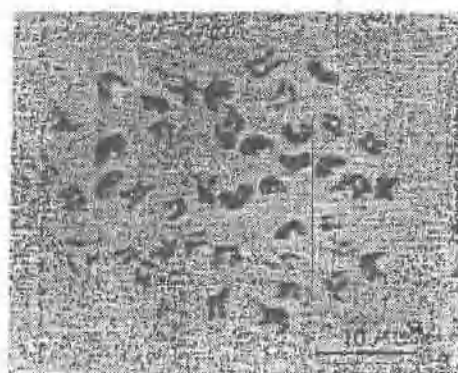


图3 复州湾盐场卤虫二倍体
中期分裂相

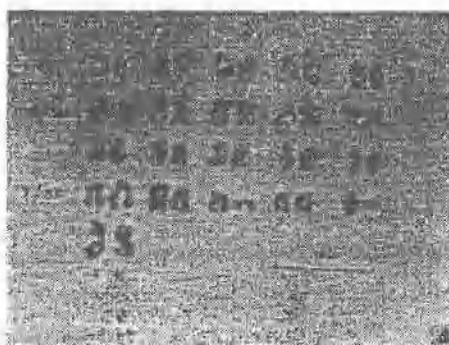


图4 复州湾盐场卤虫
二倍体核型

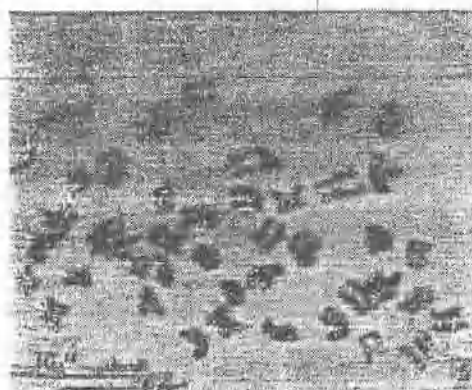


图5 旅顺盐场卤虫二倍体
中期分裂相

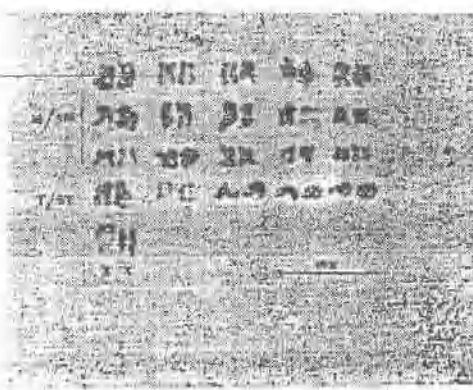


图6 旅顺盐场卤虫二倍体
核型

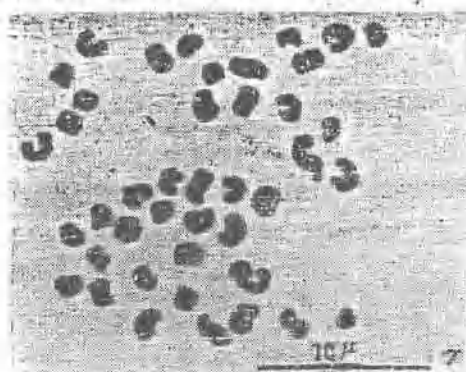


图7 金州盐场卤虫二倍体
中期分裂相

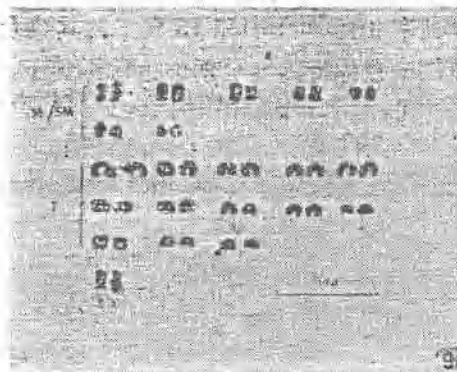


图8 金州盐场卤虫二倍体
核型

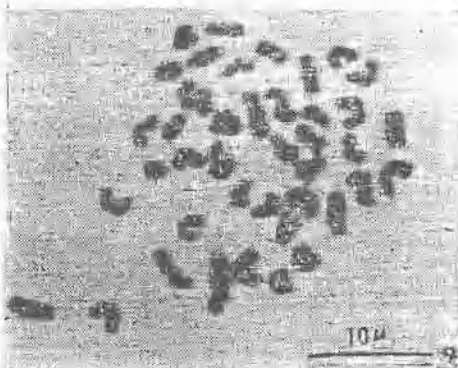


图9 锦州盐场卤虫二倍体
中期分裂相



图10 锦州盐场卤虫二倍体
核型

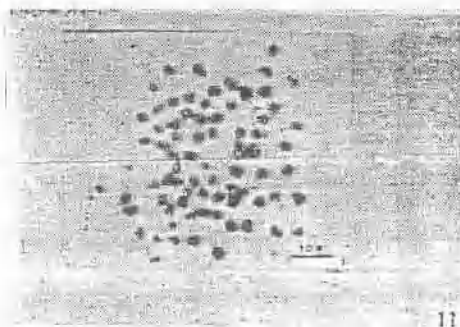


图11 复州湾盐场卤虫三倍体
中期分裂相

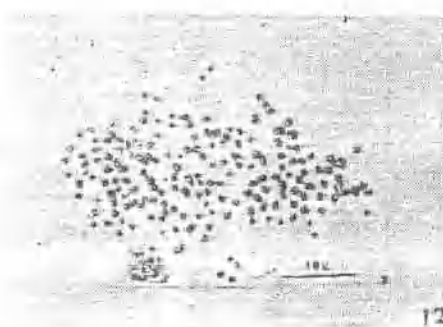


图12 旅顺盐场卤虫九倍体
中期分裂相

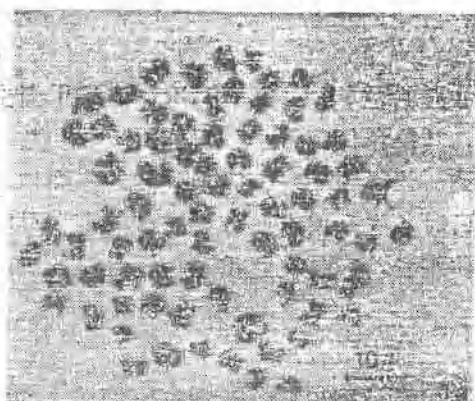


图13 营口盐场卤虫四倍体
中期分裂相

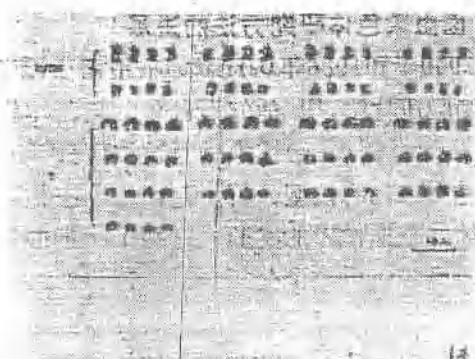


图14 营口盐场卤虫四倍体
核型

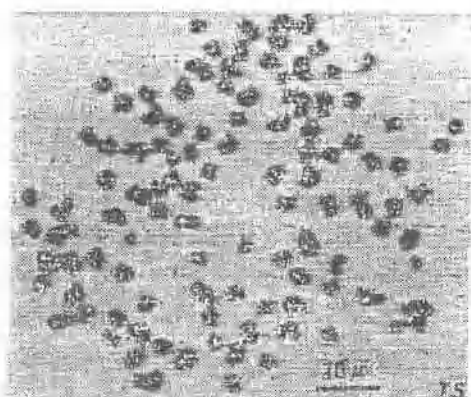


图15 营口盐场卤虫五倍体
中期分裂相

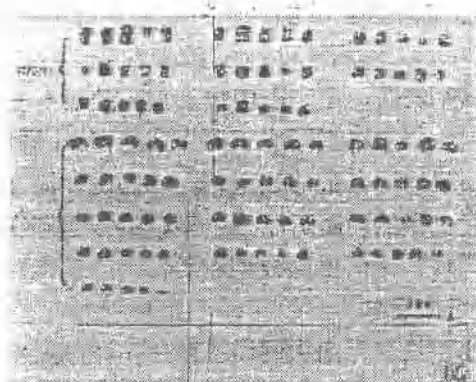


图16 营口盐场卤虫五倍体
核型

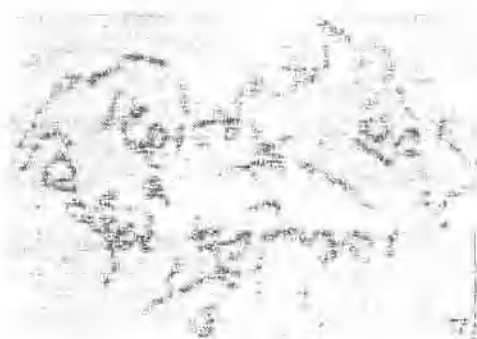


图17 营口盐场卤虫二倍体
晚前期染色体

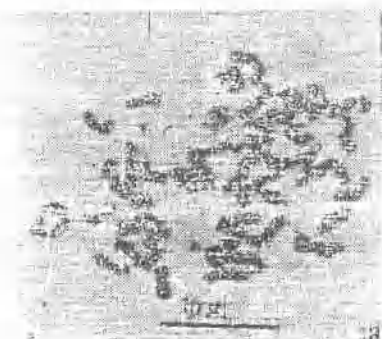


图18 营口盐场卤虫二倍体
早中期染色体

3 讨论与结论

3.1 卤虫染色体研究方法的进展

1940年和1986年Barigozzi采用卤虫无节幼虫压片法,^[5,8] 1963年Stefani采用卤虫的卵母细胞压片法,^[9] 他们所制做的染色体标本,其染色体都很小,只能用于计数,后来Barigozzi用C-带技术进行过核型分析的尝试,曾得到一些未完全分散的分裂相,故未能进行准确的核型分析,他认为,在核型分析时,应采用有丝分裂的晚前期和早中期染色体。根据作者的实验,这两个时期的染色体细长,容易交互重迭,而且着丝点难于辨认,很难进行核型分析(见图17、18)。

作者从1986年开始对卤虫染色体进行研究,先后采用卤虫的无节幼虫及四细胞至囊胚期胚胎进行压片,均未得到满意的效果。后来用无节幼虫,以Giemsa染色,气干法制片,获得了较多分散良好的体细胞有丝分裂中期染色体分裂相,从中选出染色体较长者进行核型分析,但个别染色体着丝点的位置仍不够清晰,对核型的精确分析带来了一定的困难。由于卤虫染色体的制片方法有较大的难度,有待今后作进一步改进。

3.2 辽宁省卤虫种群的分析

1986年,蔡亚能认为,孤雌生殖的卤虫,绝大多数是雌体,有极少雄体。^[10] 我们的实验结果表明,辽宁省卤虫除旅顺盐场存在极少数雄体外,其它盐场的卤虫全部为雌体,因此,它们都同属孤雌生殖型卤虫,同时,它们的染色体数目都相同,其中营口、锦州和锦州盐场卤虫的核型相同,而复州湾和旅顺盐场卤虫的核型基本相同,因此,辽宁省的卤虫虽然同属孤雌生殖型,但核型存在两种不同类型,而复州湾和旅顺盐场卤虫与山西运城盐湖卤虫的核型相类似,它的核型为 $2n=28m+4sm+10t$ 。^[11]

3.3 性染色体

由于辽宁省卤虫同属孤雌生殖型,其性染色体XX确定为全部染色体中最大的一对中部着丝点染色体。

参 考 文 献

- 1 Barigozzi C et al. Brine Shrimp *Artemia* Vol 1. Belgium: Universa Press, 1980:147~152
- 2 Bowen S T et al. Brine Shrimp *Artemia* Vol 1. Belgium: Universa Press, 1980:155~167
- 3 Tobias W J et al. Brine Shrimp *Artemia* Vol 3. Belgium: Universa Press, 1980:383~392
- 4 Barigozzi C et al. Chromosome(Berl), 1984:-(90): 332~337
- 5 Barigozzi C. Artemia Newsletter, 1986; (3): 32~33
- 6 Barigozzi C. Artemia Newsletter, 1988; (7): 9
- 7 Bowen S T. Genetics, 1965; (52): 695~710
- 8 Abatzopoulos T J et al. Greek Artemia Populations, 1987; (1): 107~114
- 9 Barigozzi C. Evol Biol, 1974; (7): 221~252
- 10 蔡亚能. 山东海洋学院学报, 1986; 16(3): 52~59
- 11 邵保庆等. 遗传, 1990; 12(2): 28~29
- 12 Barigozzi C et al. Rend Acc Naz Lincei, 1982; (73): 139~143
- 13 Zhang Runshen et al. Artemia Newsletter, 1989; (11): 42~43
- 14 李国珍. 染色体及其研究方法. 北京: 科学出版社, 1985: 46~56
- 15 Vannaeck P et al. Brine Shrimp *Artemia* Vol 1. Belgium: Universa Press, 1980:393~406
- 16 Iwasaki T. Jap J Genetics, 1969; 44(2): 105~106
- 17 Renzo S. Caryologia, 1963; 16(3): 625~635