

动物分类和物种分化研究中扫描电镜的应用

周 伟

(中国科学院昆明动物研究所, 昆明 650107)

Q959

自 70 年代以来,扫描电镜技术日益广泛地应用于动物学研究。大量研究报告散见于全球各类刊物,作者从文献的海洋中撷取几片浪花奉献给读者。这难免管中窥豹,但希望窥一斑而见全豹,对大家有所启迪。

(一) 光镜与扫描电镜 扫描电镜与光镜相比较,有其独到之处,表现为:

1. 高分辨率 理论研究表明,分辨率与照明波长(λ)成比例,只有减小 λ 值,方能使分辨率提高。可见光的波长为 $0.4-0.7\mu$;电子波的波长约为 0.05\AA ($1\text{\AA} = 10^{-10}\mu$),比光的波长短几万倍。因此,扫描电镜的分辨率必然比光镜的高得多。

2. 大景深 随着放大倍率的提高,光镜的景深逐渐变小,观察到的图像层次减少,趋于二维平面结构。相比之下,扫描电镜的景深比光镜的大几百倍,可以提供层次丰富、更为逼真的三维立体结构。

3. 成像倍率范围广 光镜成像倍率变化多为跳跃式,如果连续变倍的话,则变化范围有限。扫描电镜则可任意变更放大倍率,可从较大的观察范围一直集中到只有几百 \AA 的微小区域,方便了观察。

4. 制样技术复杂 扫描电镜样品一般要经过清洗、固定、干燥、粘胶和表面金属化处理等步骤,任一步的疏漏都可能影响观察结果或导致前功尽弃。

正是因为扫描电镜具有光镜不可比拟的优越性,加之 70 年代后生物样品制作技术的改进和提高,扫描电镜很快普及到动物学研究中,并得到格外的青睐。

(二) 新证据的提供和视野的扩大 鱼类

某些类群鳞片的宏观性状(整体形态、鳞焦位置、辐射沟数目等)被用于较低分类阶元的分类研究,视为较好的分类指标之一。扫描电镜技术的应用,揭示还有一些性状可用于分类研究,如鳞纹表面有无齿状粒突,齿状粒突的形态及排列方式等可能成为较好的分类鉴别特征^[1]。鸟卵的形态、大小、颜色的差异也早已被注意,利用扫描电镜观察卵壳,发现种间闪光层分布的气孔形状和气孔密度不同,可作为鸟类分类的一项指标^[2]。弹尾目等节蟻科(Isotomidae)种类个体极小,电镜研究发现其表皮结构类型比较复杂,等节蟻一个科所包括的表皮结构类型比目内其它各科的都要复杂,虽然不能只凭一项分类特征就否定已有分类系统,但等节蟻中一些属的隶属问题却引人深思^[3]。有的教科书及文献称血吸虫尾蚴体的前端具口吸盘,而扫描电镜显示其前端系特化的头器结构,澄清了概念错误^[4]。

显然,扫描电镜技术引入动物学研究,扩大了科学工作者的视野,提供了大量新的分类和分化研究的证据,更正了一些错误的传统概念,加深了对研究对象的认识。在不同的动物门类中,用于扫描电镜观察的部位或器官各有千秋,无论选择任何部位或器官进行研究,都应遵循这样一条原则,即观察到的特征要稳定,在不同个体要能重复。与宏观形态结构一样,并不是所有的微观结构都是稳定的,也有一部分是个体变异的结果,如果稍有不慎,就可能误入歧途;反之,稳定且差异显著的特征可为分类工作提供新证据,甚至为研究系统进化和物种分化提供线索,使传统的经典分类和物种分化研究焕发出新的活力。

(三) 扫描电镜与分类研究 昆虫鸣声常具高度专一性, 鸣声差异与发音器构造差异密切相关。对中国雏蝗属 (*Chorthippus*) 40 个种发音器音齿电镜观察, 证实种内不同个体的音齿形状、排列方式、音齿列的长度和密度等是稳定的, 种间则不同, 如果把音齿的形态特征与其它特征结合起来, 可以解决一些疑难种的鉴定问题^[9]。对昆虫卵的研究表明, 受精孔区的花饰形状在科与科, 甚至更低的阶元, 各不相同, 可用于分类研究^[22]。上述两例虽然研究的类群及分类等级均不相同, 观察的内容也不一样, 但它们都从理论上阐述了扫描电镜应用于分类实践的可能性。这从一个侧面反映了 70 年代至 80 年代初期扫描电镜技术引入分类学研究起步阶段的研究工作的基本特点。如果研究仅停留在这一步, 那么扫描电镜结果就成了一种装饰, 扫描电镜技术与分类研究的结合就只是纸上谈兵。事实上, 许多研究工作者在不同程度和范围内进行了具体的分类尝试。鱼类鳞纹表面齿状粒突的形态差异就被作为辅助证据, 用于疑难种的鉴别区分^[8]。有的工作在新种描述时, 利用扫描电镜提供准确、详细的分类特征, 使新种建立在更可靠的基础上^[24]。微观形态特征也可作为一种线索, 使隐匿在老种名下未被记述的新种暴露出来^[7]。

如何把扫描电镜技术用于较大类群的系统分类? 实际工作中也不乏这样的范例。革鲃科 (*Aluteridae*) 鱼类在中国有 12 属 19 种, 苏锦祥等^[7]应用扫描电镜技术研究了其中 10 属 14 种的鳞片构造, 归纳为不同类型, 并依此列出了系统检索表。研究婆罗洲森林区的蝌蚪时, Inger^[26]对 63 种蝌蚪的分类检索中就用了口部的大量微观形态特征。有的工作甚至以图谱的形式表达对一个类群的电镜研究结果^[24]。

(四) 扫描电镜与系统进化研究 许多微观形态特征不仅有分类识别的意义, 而且也是研究系统进化的线索。有的工作虽不专论研究对象系统进化问题, 但扫描电镜结果却留下了伏笔, 如中华绒螯蟹 (*Eriocheir sinensis*) 精子表面伸出的辐射臂约为 20 条^[23], 该属其它种

类精子的辐射臂有 3 条的、8 条的等等, 无疑辐射臂的多少是分类识别的特征之一, 那么, 辐射臂数目的变化又何尝不是研究十足类动物系统发育的线索之一呢? 蚊科的进化已有学者提出了各种见解, 对蚊科 12 种幼蚊上颚形态扫描电镜观察得到了丰富的素材, 柯昭喜^[20]以此为依据, 提出了自己的看法, 认为按蚊不可能进化为伊蚊和库蚊, 按蚊亚科、库蚊亚科和巨蚊亚科是从蚊科的原始祖先分化出的三支, 库蚊亚科又因生活习性的不同分为二支独立发展。

扫描电镜用于系统进化研究的报道还不多, 这在一定程度上反映了该方面工作的艰难性, 但深入研究得出的结果却十分鼓舞人心, 必将极大丰富系统进化研究的内容, 为传统的进化研究增光添彩。

(五) 物种分化的微观表达 形态结构差异是动物在漫长演化过程中留下的烙印, 它为分类和进化研究提供了线索, 但它更重要的意义和作用还在于保证动物自身在自然界的生存和繁衍。物种分化的微观表达可能是多方面和多层次的。有时微观形态的分化在不同性别都可能表现出来。电镜观察显示, 雌、雄棉红铃虫触角感觉器的类型、数量、着生位置等均不相同, 很可能这就是雌、雄两性对性激素反应灵敏度不同的结构基础^[2]。鞘翅目的雄性个体具刚毛性斑, 这可能与外激素的产生、释放、散布及交配时的联合或抱握有关。

在物种分化中食性分化起着不可低估的作用。为了避免激烈的食物竞争, 随食性分歧摄食器官也常相伴发生分化。扫描电镜研究表明, 由蚊幼虫上颚细微结构的差异可推测它们食性分歧的情况^[20]。有的工作则是利用电镜技术研究动物在个体发育的不同时期, 摄食器官发生的相应变化。摄食器官微观结构的差异也可能反映动物栖息小环境的差异。口部唇乳突上与味蕾相伴着生的表皮刷 (*epidermal brushes*) 的分布情况及多少可能反映了各种甲鲇 (*Loricarid*) 生活河段的基底情况, 野外采集证实各种甲鲇栖息河段基底确实不同, 证明了依电镜观察结果推测结论的正确性^[27]。

用扫描电镜结果探讨物种分化与环境适应的关系,是一件耐人寻味的工作。日本血吸虫(*Schistosoma aponicum*)尾蚴头器结构的巧妙配置就象一部设计杰出的“钻探机”,有利于它的寄生生活^[6]。电镜观察显示,褶鳃(*Pseudocheneis*)鱼类胸部吸着器横褶和腹鳍羽状皱褶的表面均为密密丛丛的钩状突起,突起端部指向体后方^[19],褶鳃伏卧水底时就利用这些钩状突紧紧地“抓住”附着面,抵御湍急流水的冲击。在多数脊椎动物,味蕾分布于口、咽、舌等部位,是近距离食物种类辨别的接受器。然而,在鲇类(silurid)味蕾还分布在唇、须,甚至分布到身体表面和鳍表面^[17-18],味蕾似为一长距离化学接受器,味觉起着引导它们觅食的作用。味蕾的这种分布显然与鲇类生活于水环境中不无关系。鱼鳃的功能之一是调节体内外环境平衡。鳃表面泌氯细胞(chloride cell)的密度以及或有或无与鱼类生活的环境有关,生活于海水与咸淡水的底鳃(killifish)的泌氯细胞密度就不一样^[15],淡水中的鲤鱼鳃上就未发现泌氯细胞^[11]。

从微观角度探讨物种分化问题,已有大量的报道,尽管研究的动物类群不同,观察部位各异,但这类研究工作的基本特点是运用结构-功能-适应综合分析方法,阐述物种分化的表达机理,有可能更深入地认识和理解动物是如何利用自身的结构适应世界上千变万化的自然环境。

(六) 生殖隔离与受精 生殖隔离历来是热门话题之一。地理隔离是生殖隔离的一种保障,若物种为同域型分化,尤其是体外受精的种类,隔离机制是怎样保障的呢?扫描电镜提供的素材,为隔离机制的讨论增添了新的证据。Wicker^[20]观察了三种鱼的精子,发现它们头部大小各不相同,具显著性差异,且每一种精子头部的变异系数极低,据此他提出假设,如果精子入卵的通道——精孔管(micropylar canal)与同种动物精子头部的直径约相等,且不同种精子头部直径存在显著性差异,那么精孔管大小这一物理障碍就会起到阻止它种精子进入的作

用,防止杂交。对尼罗罗非鱼(*Tilapia nilotica*)的研究证实精孔管大小确实与精子头部大小相似,支持了这一假说。然而,这一假说还不能圆满解释防止杂交的全部机理,如大的精孔管如何阻止小精子进入?精子头部的形态并不完全相同,精孔开口的形态也各异^[4],在精、卵相互识别,防止杂交的机理中,它们或许具有一定的意义。

如果说生殖隔离研究的是物种间的相互关系,而受精过程探讨的就是生命形成的开端。受精过程十分有趣,对几种鱼卵的观察证实,一枚精子入卵后,精孔管立刻就被絮状或膜状物质堵塞,避免发生病理多精受精,这是硬骨鱼较普遍的受精过程^[4]。而尼罗罗非鱼卵受精后并未发现精孔管被堵塞,尚不知卵子怎样阻止其它精子继续进入。中华鲟成熟卵与一般硬骨鱼卵不同,它的动物极圆形极斑上排列着9—15个受精孔,每个受精孔都能接纳多个精子,精子头部入卵后,尾部绕成网状,遗留在受精孔内;受精5分钟后,受精孔内仍未见其它堵塞物^[3]。上述受精过程的差异是否暗示着受精过程的演化历史呢?由于现在的报道多为零星种类的研究,尚缺乏对一定类群的系统比较,因此,希望将来涌现佳作,以回答这一问题。

(七) 小结 以上的陈述仅是扫描电镜技术在动物分类和物种分化研究中的一个粗浅概述,但它已显示了电镜结果在研究中的惊人魅力。电镜结果揭示了许多奥秘和问题的本质,使我们对动物、对自然的认识由表及里、由浅入深。研究结果也给我们留下了许多回味和思索。事实表明,扫描电镜技术在动物分类和物种分化研究中的应用方兴未艾,具有广阔的前景。

参 考 文 献

- [1] 王瑞霞等 1984 家养鱼类受精生物学的研究II.几种淡水鱼类成熟卵球的精孔器与精子入卵通路的光镜与扫描电镜观察 水生生物学集刊 8(2): 171—182。
- [2] 尹文英等 1980 棉铃铃虫触觉感觉器的扫描电镜观察 昆虫学报 23(2): 123—129。
- [3] 许雁等 1988 中华鲟受精过程扫描电镜观察 动物学报 34(4): 325—328。

- [4] 许维枢等 1985 白冠长尾雉和白颈长尾雉蛋壳扫描电子显微镜的观察 北京自然博物馆研究报告(32): 1—4。
- [5] 陈本铨 1985 等节跳(弹尾目)表皮超微结构的观察 昆虫学研究集刊(5): 329—331。
- [6] 何毅勋等 1985 日本血吸虫尾蚴的组织化学及扫描电镜观察 动物学报 31(1): 6—11。
- [7] 苏锦祥等 1988 革鲐科鳞片构造的扫描电镜观察和比较研究 动物学报 34(2): 110—117。
- [8] 张其永等 1987 多齿蛇鲭鳞片表面结构的扫描电镜观察 动物学报 33(2): 162—165。
- [9] 金杏宝等 1981 发音器在蝗虫分类中应用的初步研究 昆虫学研究集刊(2): 183—185。
- [10] 柯昭喜 1988 我国12种蚊幼虫上颚形态和鉴别特征的研究 昆虫学报 31(1): 67—72。
- [11] 郭淑华等 1988 鲤鳃表面结构扫描电镜研究 水生生物学报 12(1): 54—58。
- [12] 夏邦颖 1984 几种蛾卵受精区特征的扫描电镜观察 动物世界 1(1): 3—8。
- [13] 堵南山等 1987 中华绒螯蟹精子的研究 I. 精子的形态及超微结构 海洋与湖沼 18(2): 119—125。
- [14] Cressey R. & H. B. Cressey 1980 Parasitic copepods of mackerel and tuna-like fishes (Scombridae) of the world. Smithsonian Institution Press.
- [15] Hossler F. E. *et al.* 1985 Surface ultrastructure of the gill arch of the killifish, *Fundulus heteroclitus*, from seawater, with special reference to the morphology of apical crypts of chloride cell. *J. Morph.* 185: 377—386.
- [16] Inger R. F. 1985 Tadpoles of the forested regions of Borneo. *Fieldiana (Zool.) n. s.* (26): 1—89.
- [17] Ono D. 1980 Fine structure and distribution of epidermal projections associated with taste buds on the oral papillae in some loricariid catfishes (Siluroidei: Loricariidae). *J. Morph.* 164: 139—159.
- [18] Ovalle W. K. & S. L. Shinn 1977 Surface morphology of taste buds in catfish barbels. *Cell Tiss. Res.* 178: 375—384.
- [19] Roberts T. R. 1982 Unculi (Horny projections arising from single cells), an adaptive feature of the epidermis of ostariophysan fishes. *Zoologica Scripta* 11(1): 55—76.
- [20] Wicker A. M. 1982 Morphology of bluegill (*Lepomis macrochirus*), chain pickerel (*Esox niger*) and yellow perch (*Perca flavescens*) spermatozoa, as determined by scanning electron microscopy. *Copeia* (4): 955—957.