

软体动物系统学和进化生物学的 细胞和分子生物学水平研究

孙 涛* 陈 德 牛 苏 小 记

(中国科学院动物研究所 北京 100080) (陕西省植保总站)

关键词 染色体组型 DNA RNA 线粒体 DNA 同源子

1758年,瑞典博物学家林奈(Linnaeus)的巨著《自然系统》第十版问世,奠定了近代分类学的基础。这时的软体动物学家们热衷于物种记述和区系调查。1859年,达尔文(Darwin)的《物种起源》一书的出版,又将他们的注意力转向软体动物的系统发育。大量的新属、新种不断被发现和描述(陈宜瑜,1992)。本世纪初,遗传学的进展,则为软体动物学家们展现了新的领域,为软体动物系统学和进化生物学研究注入了生机。

软体动物染色体(Chromosome)的研究,尤以腹足纲(Gastropoda)的种类较为深入。从染色体数目到核型,积累了大量资料,为分类研究及确定种的进化地位提供了较可靠的依据。研究软体动物的DNA,可更为准确地确定种间的亲缘关系。RNA的研究,则解决了软体动物起源的问题。软体动物线粒体DNA(Mitochondrial DNA,简称mtDNA)的研究,虽然工作做得很少,但对探讨物种的起源、种间亲缘关系、分歧年代和演化过程是个有意义的尝试。同源子(Homobox)在动物界中广泛存在,同样引起了软体动物学家的关注,研究软体动物的起源和形态多样性又有了新的视角。

1. 软体动物染色体的研究

Waldeyer(1888)首先定名了细胞核中的染色体(汪德耀,1988)。本世纪初以来,细胞生物学家进行了大量染色体结构和功能的研究,但直至30年代,软体动物染色体的报道依然很少。仅Perrot, J. L. 和M. Perrot(1937)报

道了*Helix Pomatia*的染色体数为 $n = 27$ 。之后, M. Perrot又陆续报道了*Helicinae*亚科的染色体数为 $n = 22 - 27$ 不等(Akihiko Inaba, 1959)。这个时期软体动物染色体研究之所以进展缓慢,一是还没有找到一个较好的染色体固定方法,难以得到可信赖的结果。(Akihiko Inaba, 1979);一是软体动物新陈代谢较缓慢,活组织中处于分裂期的细胞较少,而且软体动物染色体较其他动物小。

Burch在软体动物染色体研究上做出了重要贡献,尤其在染色体制片技术上有所突破。1968年,他以*Helix Pomatia* ($2n = 54$)的性腺组织为材料,采用压片法(Squash Method)得到了较好的结果。之后,空气干燥法(Air-drying)、火焰干燥法(Fire-drying)的广泛应用,使得方法更为简便,结果更为准确。在实验材料的选取上,除性腺组织外,以胚胎为材料(R. Tatewaki, 1987)亦得到较好的结果。

染色体数目资料的积累,为进一步确定种的类群和种的分类地位,提供了重要依据。Patterson(1971)在研究琥珀螺科(Succineidae)染色体同时,对壳形、齿舌、颚片、肉体颜色、生殖系统等分类指标进行了详细研究,对这一类群进行了重新分类(Inaba, 1979)。

对于某一生物个体而言,染色体数目是相对稳定的,并能反映其进化地位。但不能说染色体数目多,就更为进化。不过在琥珀螺科中,

* 现在在中国医学科学院实验动物研究所工作。

原生琥珀螺亚科染色体数为 $n = 5-6$, 是软体动物中发现染色体数最少的类群, 也属于较原始的类群。较进化的琥珀螺属 (*Succinea*) 和小琥珀螺属 (*Succinella*) 染色体数则为 $n = 15-19$ (陈德牛, 1985)。说明染色体数越多的种群确属于较进化的种群。田螺科 (Viviparidae) 中, 环棱螺亚科 (Bellamyinae) 被视为中腹足目中最原始的, 其染色体数在 $n = 8-11$ 之间。我国的三种环棱螺 *Bellamyia angularis*, *B. aeruginosa*, *B. quadrata* 的染色体数均为 $n = 8$ (周敏, 1988), 是该亚科中最低数, 也的确具较原始的属性。

如果单就染色体数目进行动物系统学研究已显不够。70年代末, 更多趋向于染色体组型 (Karyotype) 的研究。如测出每条染色体长臂、短臂长度及染色体全长, 计算长短臂臂比指数, 确定染色体着丝粒的位置, 得出核型公式等。还可进一步进行染色体 G 带、C 带分析。这些均使软体动物染色体研究更为细致、深入, 依据染色体对软体动物进行分类更为准确、可靠。

染色体数目和组型的变化有规律可循。通过染色体数目、组型和带型的研究, 可以找出进化地位相差较大的种间, 遗传上存在的差异; 对于依据形态学指标难以分类的种, 通过染色体研究可以得到较可信的指标。但染色体研究也有一定局限性, R. Tatewaki (1987) 对 *Euhadra dixonii* 和 *Euhadra amaliae* 研究的结果表明, 他们染色体组型完全相同, 但形态上却存在差异。在组型上很接近的种, 若单以组型为分类指标, 则难以区分鉴定。因此, 研究软体动物染色体数目、组型的同时, 结合形态学指标, 才能得到系统学上较准确的结果。

2 软体动物 DNA、RNA 的研究

软体动物种系发生 (Phylogeny) 的研究, 长期以来一直依赖于比较解剖学、胚胎学和古生物学所获得的数据 (Katharine G. Field, 1988)。这些数据曾很好地解决了种系发生的许多问题。但由于解剖学上的特征来源于动物功能上的需求, 集中的进化能够在不相关的物

种间产生相似的结构, 这不能不引起人们对建立在比较解剖学基础上的种系发生关系产生怀疑 (Charles G. Sibley, 1986)。软体动物的化石记录, 为研究动物系统进化树分支发生时间, 提供了一定的证据。但化石记录的不完整, 使软体动物学家难以准确确定。

现生活种的遗传关系反映了物种的进化历史, 而 DNA 正是遗传的物质基础。因此, 80年代以后, 人们将注意力更多地转向了 DNA 的研究。

基于 DNA 双链碱基配对原则, 利用 DNA 杂交技术 (DNA-DNA hybridization) 可准确地得到物种间亲缘关系, 并可重建动物的分支系统。V. Brock (1989) 通过比较 DNA 重复序列的非相似系数, 复核了 *Cardium edule*, *C. lamarcki* 和 *C. glaucum* 三个种的遗传关系, 得出 *C. lamarcki* 和 *C. glaucum* 为同种, 但 *C. glaucum* 和 *C. edule* 在遗传上更接近。

动物的核糖体 RNA (rRNA) 的大亚单位 (沉降系数 60S) 由 28S, 5S, 5.5S 三种 rRNA 分子组成。其中 5S rRNA 在原核、真核生物中均存在, 且结构相似, 因此可以认为 5S rRNA 是同一起源的分子 (Hiroshi K. Nakamura, 1989)。这为研究动物起源又提供了一个可靠依据。根据 Gates (1986) 建立的核酸序列分形模型, 得出在由简单的原核生物向复杂的真核生物演化过程中, 5S rRNA 结构趋于复杂, 且伴着随机涨落的过程 (黄京飞, 1992)。

对软体动物来说, 研究最有意义的还是 18S rRNA。rRNA 小亚单位 (40S) 由 18S rRNA 和 30 多种蛋白质组成。通过对大批细胞 18S rRNA 序列的测定, 得到了 18S rRNA 极为保守的序列部分, 这对种系发生的比较极为有效。通过对 18S rRNA 的研究, 使长期争论的软体动物起源问题得到解决 (K. G. Field, 1988)。否定了软体动物和其他真体腔动物独立地起源自分离的无体腔动物的观点, 确定了软体动物起源于真体腔动物。

但是, 即使 18S rRNA 的序列全知道, 也仅有部分可用于种系发生的研究。因此, 分子

生物学上的数据也存在局限性,不能完全取代形态学和胚胎学的研究,但却为软体动物进化的研究提供了较好的判断依据。

3 软体动物线粒体 DNA 的研究

80年代以来,动物线粒体 DNA 的研究也成为热点,以确定种内群体间的遗传关系。mtDNA 的限制性内切酶酶切图谱的研究,相当一部分是比较不同来源的 mtDNA,探索物种的进化。(陈关君,1984)。

mtDNA 具有很多特殊的性质。mtDNA 结构简单,比一般动物的核基因组碱基对小 25000 倍。mtDNA 在不同物种间的基因排列顺序相对稳定,主要转录产物在数量和大小上似乎均相同,而种间的变异主要表现在基因组的大小和碱基组成上。mtDNA 同时具有广泛的种内、种间多态性,且为母性遗传,即 mtDNA 是通过卵细胞质传递给后代的(桂建芳,1990)。

分布于美国弗吉尼亚州列克星敦的 *Cepaea nemoralis*, 其多种壳色已很好地描述过,但如何确定他们是来源于欧洲的英国还是意大利,却一直没有结果。O. Colin Steine (1989) 利用 mtDNA 限制性酶切分析的方法,证明了其 mtDNA 序列主要部分的高度保守性,得出了他们更可能来源于英国而非意大利的结果,从而确定了 *Cepaea* 起源于英国的观点。

V. Brock 等(1989)通过测 mtDNA 的长度大小和限制性酶切后的重复片段比较,得出了 *Cardium edule* 比 *C. lamarcki* 和 *C. glaucum* 更为原始,且后二者中 *C. lamarcki* 更为进化。并认为产生这样的结果与他们地理分布相关。

总体上说,软体动物 mtDNA 的研究较少。根据 mtDNA 的特有性质及已获得的结果看,在研究物种间的亲缘关系,分歧年代和演化过程时,通过种间的 mtDNA 可以获得可靠的证据。

4 软体动物同源子的研究

发育生物学家在研究果蝇 (*Drosophila*) 的发育变异时,发现了其 DNA 的同源基因(homeotic gene) 片段,并称之为同源子。Ho-

meobox 对应于 60 个氨基酸,即有 180 个核苷酸碱基对长度。它是一个插入其他基因的进化单位,是一个高度保守的蛋白质结合序列(William, 1984)。

极为有趣的是,Homeobox 不仅存在于果蝇中,在无脊椎动物和脊椎动物中,以及人类中都广泛存在,并行使相似的功能。

在 *C. elegans* 胚胎后期的发育中, *mab-5* 基因控制着后期胚胎特异性形态形成(Michael Costa, 1988)。它主要控制着表皮、神经元和中胚层细胞的分化及细胞的迁移方向。这便找到了控制 *C. elegans* 形态的一个基因。让人兴奋的是 *mab-5* 基因中也存在 Homeobox 片段,这提示人们 Homeobox 和动物形态形成的关系。

由于 Homeobox 在动物界中的广泛存在,并位于控制动物形态的基因上,我们推测,在所有动物体中,有着共同的机理控制着动物的形态特征。我们知道,尽管动物形态特征上千变万化,但却离不开基因的调控。在漫长的进化过程中,由于环境及其他因素的作用,使控制动物形态形成的基因发生某些突变,但控制形态形成的机制并没改变,这些突变可能直接表达或被自然选择固定下来,因此产生了动物的分支,产生了各种形态上的分化。

Homeobox 的发现和对其意义的进一步认识,越来越吸引着人们的注意。无疑,Homeobox 为研究动物的起源、形态多样性及其原因,提供了新的线索。在软体动物上,这方面的工作做得很少,提出的观点也基于已有结果的推论,但这的确是个有意义的方向。

软体动物系统学和进化生物学的研究,已不能仅满足于形态描述的水平。细胞遗传学和分子生物学的发展,将软体动物系统学和进化生物学引入了一个新的领域,学科间的交叉、渗透越发明显,并呈现相互促进、相互影响的趋势。

参 考 文 献

- 1 汪德耀,陈睦传,洪满贤等. 普通细胞生物学. 上海科学

(上接第 56 页)

- 技术出版社, 1988, 278—284。
- 2 陈关君, 陈彩云, 王尔中。遗传学报, 1984, 11(2): 141—146。
 - 3 陈宜瑜。动物学杂志, 1992, 27(3): 50—56。
 - 4 陈德牛。四川动物, 1985, 4(1): 34—37。
 - 5 周敏, 周密, 吴振东。动物学报, 1988, 34(4): 364—370
 - 6 桂建芳。动物学杂志, 1990, 25(1): 50—55。
 - 7 黄京飞, 刘次全, 王莹。动物学报, 1992, 38(3): 334—337。
 - 8 Akihiko Inaba. *Journal of Science of the Hiroshima University* 1959, 18: Art. B.
 - 9 ———— Chromosome and Phylogeny of Mollusca. *Japanese Society of Systematic Zoology Circular* 1979, No. 52.
 - 10 Charles G. Sibley and Jon E. Ahlquist. *Scientific American* 1986, 254 (2): 68—77.
 - 11 Hiroshi K. Nakamura. *The Japanese Journal of Malacology* 1989, 48 (3): 198—207.
 - 12 Katharine G. Field *Science* 1988, 239: 748—753.
 - 13 Michael Costa et al. *Cell* 1988, 55: 747—756.
 - 14 O. Colin Stine *Malacologia* 1989, 30(1—2): 305—315
 - 15 R. Tatewaki and J. Kitada *Genetica* 1987, 74: 73—80.
 - 16 V. Bruck and G. Christiansen *Marine Biology* 1989 102: 505—511.
 - 17 William McGinnis et al. *Cell* 1984, 37: 403—408