

# 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

陈广文 董自梅 田士瑞 王清华 刘涛 刘德增

(河南师范大学生命科学学院 新乡 453007)

**摘要:**利用空气干燥法,对采自河北省邯郸市漳河、朝阳湖和邢台市秦王湖 3 产地日本三角涡虫 (*Dugesia japonica*) 染色体核型进行了研究,结果表明,日本三角涡虫漳河种群与秦王湖种群体细胞中染色体数目以 16 条为主 ( $2n = 2x = 16 = 16m$ ),分别占 81.07% 和 68.47%,少数为 24 条 ( $2n = 3x = 24 = 24m$ ),分别占 8.28% 和 11.71%,为二倍体和三倍体的混合倍体;日本三角涡虫朝阳湖种群体细胞中染色体数目以 24 条为主 ( $2n = 3x = 24 = 24m$ ),占 64.60%,少数为 16 条 ( $2n = 2x = 16 = 16m$ ),占 7.45%,为三倍体和二倍体的混合倍体。值得注意的是朝阳湖种群部分体细胞中染色体在结构上发生变异,使其核型呈现多型性。文中根据核型分析结果对上述 3 产地日本三角涡虫染色体及核型的多样性作了初步讨论。

**关键词:**日本三角涡虫;染色体;核型;多样性;河北;中国

**中图分类号:**Q953 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3263(2010)06-85-07

## Diversity of Chromosomes and Karyotypes of the *Dugesia japonica* from Hebei Province, China

CHEN Guang-Wen DONG Zi-Mei TIAN Shi-Rui WANG Qing-Hua

LIU Tao LIU De-Zeng

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

**Abstract:** The diversity of chromosomes and karyotypes of the freshwater planarians, *Dugesia japonica*, collected from Zhanghe River of Yuecheng Town and Chaoyang Lake in Handan City, Qinwang Lake in Xingtai City of Hebei Province were studied using the air-drying method. The results showed that most cells of *D. japonica* collected from both Zhanghe River and Qinwang Lake had the diploid chromosome number of 16 with a karyotype formula of  $2n = 2x = 16 = 16m$  while a small proportion showed triploid of 24 chromosomes with a karyotype formula of  $2n = 3x = 24 = 24m$ . The percentages of diploid cells were 81.07% and 68.47%, while those of triploid cells were 8.28% and 11.71% in the two local populations, respectively. *D. japonica* collected from Chaoyang Lake had both the triploid ( $2n = 3x = 24 = 24m$ ) and the diploid ( $2n = 2x = 16 = 16m$ ) cells and their percentages made up 64.60% and 7.45%, respectively. In addition, the karyotype of *D. japonica* from Chaoyang Lake showed polymorphism. Based on the above results, the diversity of chromosomes and karyotypes of the *D. japonica* from the three places was discussed.

**Key words:** *Dugesia japonica*; Chromosome; Karyotype; Diversity; Hebei; China

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 30870368, 30670247, 30170119), 教育部高等学校博士点基金项目 (No. 20080476003), 河南省杰出青年基金项目 (No. 0312001100), 河南省创新人才基金项目 (No. 2005126);

第一作者介绍 陈广文,男,教授,博士;研究方向:中国淡水涡虫资源及涡虫再生机理;E-mail:chengw0183@sina.com。

收稿日期:2010-04-30,修回日期:2010-08-29

三角涡虫 (*Dugesia*) 属于扁形动物门 (Platyhelminthes), 是涡虫纲 (Turbellaria) 的代表动物, 广泛分布于世界各地的淡水泉溪中, 在水底自由爬行, 是动物进化史上最早出现两侧对称体制和三胚层的动物类群, 因此, 在动物的起源与演化中占有重要地位。同时, 因三角涡虫具有强大的再生能力, 使其成为再生生物学、细胞遗传学和进化生物学研究的好材料<sup>[1]</sup>。

真核生物体内, 染色体是遗传物质的主要载体, 染色体数目和结构的变化是物种进化的重要因素之一, 因此, 染色体研究与核型分析在分类学、遗传学和进化生物学研究方面具有重要意义。通常情况下, 染色体数目异常会导致物种倍性的变化, 形成非整倍体、多倍体等核型<sup>[2]</sup>; 染色体结构的变异可能造成物种核型上的差异, 使其呈现多型性。关于三角涡虫染色体, 国外早已有研究, 其染色体基数包括  $x = 4$ 、 $x = 7$ 、 $x = 8$  和  $x = 9$  四种类型<sup>[3-8]</sup>。近年来, 我国对三角涡虫的染色体也有报道。马金友等<sup>[9]</sup>、陈广文等<sup>[10]</sup>、马克世等<sup>[11]</sup>先后对我国部分产地三角涡虫 (*Dugesia* sp.) 的染色体进行了研究, 发现我国三角涡虫的染色体基数为  $x = 8$ , 以二倍体 ( $2n = 2x = 16$ ) 和三倍体 ( $2n = 3x = 24$ ) 的混合倍体为主, 另有三倍性非整倍体 ( $2n = 3x + 1 = 24 + 1$ ) 存在, 不同产地的三角涡虫其体细胞染色体数目及核型存在较大差别; 张栩等<sup>[12]</sup>报道湖北省武汉市珞珈山、江苏省太湖东山岛和贵州省遵义市凤凰山三角涡虫的染色体分别为二倍体 ( $2n = 2x = 16$ )、三倍体 ( $2n = 3x = 24$ ) 和混倍体; 高艳等<sup>[13]</sup>报道云南昆明海源寺龙潭、安徽肥东龙泉山、滁州琅玕山和湖北恩施龙洞河 4 产地三角涡虫的染色体为二倍体 ( $2n = 2x = 16$ )、三倍体 ( $2n = 3x = 24$ ) 和四倍体 ( $2n = 4x = 32$ ) 或二倍体 ( $2n = 2x = 16$ ) 和三倍体 ( $2n = 3x = 24$ ) 的混倍体。目前, 关于三角涡虫染色体的结构变异及核型多型现象报道不多, 值得深入研究。本文对采自我国河北省邯郸市漳河、朝阳湖和邢台市秦王湖 3 产地日本三角涡虫 (*D. japonica*) 的染色体及核型进行了研究, 并对朝阳湖三角涡虫种群体细胞中出现

的染色体变异现象作了初步分析, 以期为我国淡水涡虫分类学、进化生物学和遗传多样性研究提供基础资料。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 实验用三角涡虫分别于 2009 年 2 月 16 ~ 18 日采自河北省邯郸市岳城镇漳河 (N 36°16.678', E 114°12.758', 海拔 97 m, 水温 3°C, 气温 1°C, pH 6.2)、邯郸市朝阳湖大坝 (N 36°50.146', E 113°49.702', 海拔 663 m, 水温 1°C, 气温 -4°C, pH 6.2) 和邢台市秦王湖大坝 (N 36°57.456', E 114°07.367', 海拔 311 m, 水温 3°C, 气温 -3°C, pH 6.2) 3 个产地。经石蜡切片、组织学和生殖系统解剖学鉴定为日本三角涡虫。

### 1.2 方法

**1.2.1 染色体制备** 染色体制备方法参照 Chen 等<sup>[14]</sup>的方法进行。

**1.2.2 染色体计数** 在显微镜下每个产地随机选取 10 个以上个体制备染色体, 从中挑选染色体分散良好的中期细胞 100 个以上, 统计染色体数目。

**1.2.3 核型分析** 在所观察的细胞中, 每个产地选出 5 个来自不同个体、背景清晰、染色体分散好、平直、着丝点清楚的中期细胞进行拍照、放大、测量, 算出每一染色体的相对长度、臂比和着丝点指数, 根据测量结果进行染色体分组和编号。着丝点位置按 Levan 等<sup>[15]</sup>的方法确定。

## 2 结果

**2.1 河北 3 产地日本三角涡虫体细胞中期分裂相染色体数目统计** 显微镜下, 观察 3 产地日本三角涡虫体细胞中期分裂相, 并进行染色体数目统计, 结果见表 1。

**2.2 河北 3 产地日本三角涡虫体细胞染色体核型分析** 经测量和统计分析, 3 产地日本三角涡虫核型参数见表 2 ~ 4, 中期分裂相、核型及核型模式图见图 1 ~ 3, 体细胞染色体变异类型中期分裂相及核型图见图 4。

表 1 河北 3 产地日本三角涡虫体细胞染色体数目统计表

Table 1 The statistical data of the chromosome numbers of somatic cells of *Dugesia japonica* from Zhanghe River, Qinwang Lake and Chaoyang Lake, Hebei Province

产地 Locality	观察细胞总数 No. of cells observed	染色体数目百分比 Percent of chromosome numbers (%)			
		16	24 正常 24 Normal	其他 Others	24 变异 24 Variation
岳城镇漳河 Zhanghe, Yuecheng Town	169	81.07	8.28	10.65	0
秦王湖 Qinwang Lake	111	68.47	11.71	19.82	0
朝阳湖 Chaoyang Lake	161	7.45	64.60	14.91	13.04

日本三角涡虫漳河种群体细胞中期分裂相中,染色体数以 16 条为主,占 81.07%,为二倍体  $2n = 2x = 16$ ,核型公式为  $2n = 2x = 16 = 16m$ ;少数为 24 条,占 8.28%,为三倍体  $2n = 3x = 24$ ,核型公式为  $2n = 3x = 24 = 24m$ 。8 组染色体中,最大组与最小组的染色体相对长度比值小于 2,全为中部着丝点染色体(图 1:A、B),属 1A 核型。

日本三角涡虫秦王湖种群体细胞中期分裂相中,染色体数以 16 条为主,占 68.47%,为二倍体  $2n = 2x = 16$ ,核型公式为  $2n = 2x = 16 = 16m$ ;少数为 24 条,占 11.71%,为三倍体  $2n = 3x = 24$ ,核型公式为  $2n = 3x = 24 = 24m$ 。8 组染色体中,最大组与最小组的染色体相对长度比值小于 2,全为中部着丝点染色体(图 2:A、B),属 1A 核型。

日本三角涡虫朝阳湖种群体细胞中期分裂相中,染色体数以 24 条为主,占 64.60%,为三

倍体  $2n = 3x = 24$ ,核型公式为  $2n = 3x = 24 = 24m$ ;少数为 16 条,占 7.45%,为二倍体  $2n = 2x = 16$ ,核型公式为  $2n = 2x = 16 = 16m$ 。8 组染色体中,最大组与最小组的染色体相对长度比值略小于 2,全为中部着丝点染色体(图 3:A、B),属 1A 核型。

值得注意的是,日本三角涡虫朝阳湖种群变异体细胞中期分裂相占 13.04%,染色体数目虽然也为 24 条,但其第 6 组(图 4:A)或第 3 组(图 4:B)染色体中有一条为亚中部着丝点染色体。其中,第 6 组染色体中,第三条亚中部着丝点染色体的臂比值达到了 2.33,核型公式为  $2n = 3x = 24 = 23m + 1sm$ ,臂比大于 2 的染色体的比例为 0.04,属 2A 核型;在第 3 组染色体中,第一条亚中部着丝点染色体的臂比值达到 1.78,核型公式为  $2n = 3x = 24 = 23m + 1sm$ ,臂比大于 2 的染色体的比例为 0,属 1A 核型。

表 2 日本三角涡虫漳河种群的核型参数

Table 2 The karyotype parameters of *Dugesia japonica* from Zhanghe River population, Handan City

编号 No. of chromosome	相对长度 Relative length	臂比 Arm ratio	着丝点指数 Centromere index	染色体类型 Chromosome type
1	17.51 ± 0.40	1.10 ± 0.04	47.73 ± 0.90	m
2	15.05 ± 0.67	1.09 ± 0.05	47.81 ± 1.16	m
3	13.72 ± 0.51	1.09 ± 0.04	47.85 ± 0.83	m
4	12.57 ± 0.39	1.40 ± 0.04	41.69 ± 0.78	m
5	11.18 ± 0.26	1.29 ± 0.07	43.70 ± 1.36	m
6	10.53 ± 0.28	1.20 ± 0.08	45.56 ± 1.79	m
7	9.91 ± 0.23	1.25 ± 0.08	44.59 ± 1.50	m
8	9.53 ± 0.38	1.23 ± 0.11	45.06 ± 2.13	m

表 3 日本三角涡虫秦王湖种群的核型参数

Table 3 The karyotype parameters of *Dugesia japonica* from Qinwang Lake population, Xingtai City

编号 No. of chromosome	相对长度 Relative length	臂比 Arm ratio	着丝点指数 Centromere index	染色体类型 Chromosome type
1	17.34 ± 0.49	1.17 ± 0.10	46.27 ± 2.02	m
2	15.20 ± 0.24	1.05 ± 0.03	48.79 ± 0.74	m
3	13.75 ± 0.40	1.13 ± 0.08	46.99 ± 1.60	m
4	12.64 ± 0.30	1.21 ± 0.17	45.41 ± 3.26	m
5	11.31 ± 0.13	1.21 ± 0.14	45.42 ± 2.80	m
6	10.47 ± 0.31	1.28 ± 0.11	44.13 ± 2.07	m
7	9.87 ± 0.21	1.17 ± 0.05	46.18 ± 0.94	m
8	9.43 ± 0.31	1.19 ± 0.05	45.71 ± 1.10	m

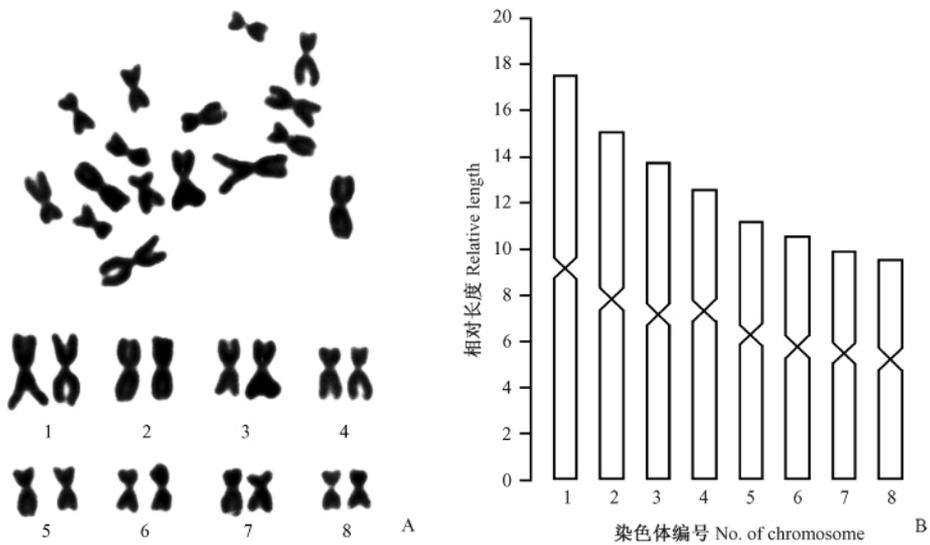


图 1 日本三角涡虫漳河种群体细胞中期分裂相、核型 (A) 及模式图 (B)

Fig. 1 The metaphase karyotype (A) and idiogram (B) of *Dugesia japonica* from Zhanghe River population

表 4 日本三角涡虫朝阳湖种群的核型参数

Table 4 The karyotype parameters of *Dugesia japonica* from Chaoyang Lake population, Handan City

编号 No. of chromosome	相对长度 Relative length	臂比 Arm ratio	着丝点指数 Centromere index	染色体类型 Chromosome type
1	18.13 ± 0.75	1.20 ± 0.06	45.53 ± 1.21	m
2	15.09 ± 0.33	1.08 ± 0.03	48.10 ± 0.66	m
3	13.52 ± 0.21	1.16 ± 0.11	46.54 ± 2.15	m
4	12.50 ± 0.17	1.21 ± 0.10	45.52 ± 2.03	m
5	11.24 ± 0.15	1.23 ± 0.09	45.12 ± 1.82	m
6	10.39 ± 0.28	1.30 ± 0.16	44.08 ± 2.39	m
7	9.94 ± 0.19	1.16 ± 0.08	46.39 ± 1.65	m
8	9.19 ± 0.24	1.19 ± 0.07	45.81 ± 1.52	m

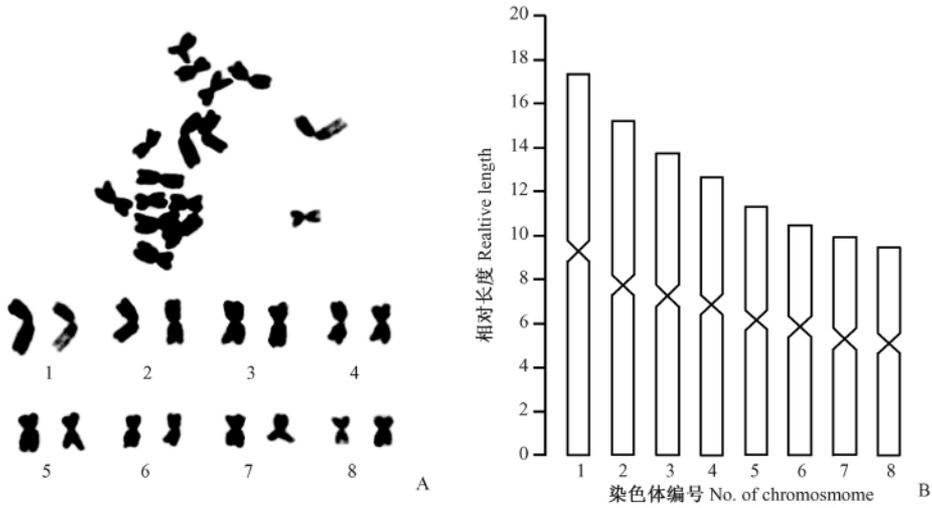


图 2 日本三角涡虫秦王湖种群体细胞中期分裂相、核型(A)及模式图(B)  
 Fig. 2 The metaphase karyotype(A) and idiogram(B) of *Dugesia japonica* from Qinwang Lake population

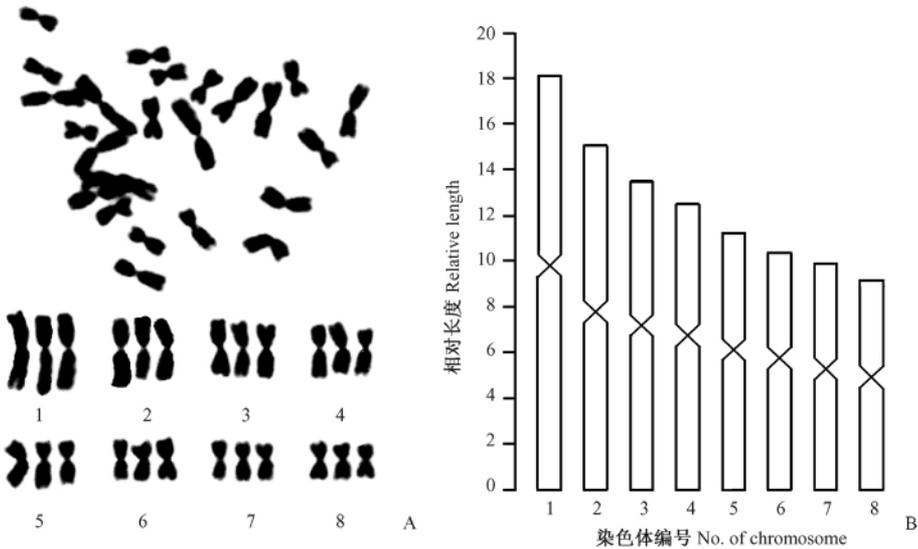


图 3 日本三角涡虫朝阳湖种群体细胞中期分裂相、核型(A)及模式图(B)  
 Fig. 3 The metaphase karyotype(A) and idiogram(B) of *Dugesia japonica* from Chaoyang Lake population

### 3 讨 论

三角涡虫染色体基数包括 4、7、8、9 四种类型,并且有多倍性、混合型和染色体数目多态性等现象<sup>[8]</sup>。分布于亚洲的三角涡虫染色体基数包括 7 和 8 两种类型,我国三角涡虫染色体

基数为 8<sup>[9]</sup>。Oki 等<sup>[16-17]</sup>对日本各地、台湾和朝鲜一些产地的日本三角涡虫的核型研究发现,产地不同核型有所差异,三倍体或二倍体与三倍体共存的现象相当普遍,而且还有 0~3 条大 B 染色体(LB)和相当数量的小 B 染色体(SB),核型极易受栖息环境的影响。同时,Oki



图4 日本三角涡虫朝阳湖种群二变异类型体细胞中期分裂相及核型图(A)和(B)

Fig. 4 Two variation metaphase karyotype (A) and (B) of *Dugesia japonica* from Chaoyang Lake population

等<sup>[16-17]</sup>把日本三角涡虫的核型分为6类:①二倍体(2n)和二倍性(2n+1LB);②二倍性非整倍体[(2n-1)+1LB];③三倍体(3n)和三倍性(3n+1LB);④三倍性非整倍体[(3n-1)+αLB, α=1, 2];⑤整倍性混合体(2n & 3n, 2n & 4n, 2n & 3n & 4n);⑥混合性异倍体[(3n+α)+βLB & (3n+α')+β'LB, α, α', β, β'=0, 1, 2...]。另外,同一个体中,2n与3n、2n与4n或2n、3n与4n共存现象也广泛存在<sup>[4, 18-20]</sup>。本文结果表明,日本三角涡虫漳河种群、秦王湖种群与朝阳湖种群体细胞染色体基数均为8。其中漳河种群、秦王湖种群体细胞染色体以二倍体为主(2n=2x=16=16m),同时其体细胞中含有一定数量的三倍体细胞(2n=3x=24=24m),存在混倍体现象;朝阳湖种群体细胞染色体以三倍体(2n=3x=24=24m)为主,同时其体细胞中含有一定数量的二倍体细胞(2n=2x=16=16m),也存在混倍体现象。3产地日本三角涡虫种群体细胞染色体属于二倍体和三倍体的整倍性混合体(2n & 3n, 3n & 2n)。

令人感兴趣的是,日本三角涡虫朝阳湖种群变异体细胞中期分裂相占13.04%,体细胞染色体数目虽然也为24条,但其第6组或第3组染色体中有一条为亚中部着丝点染色体(图

4:A、B),核型公式为 $2n = 3x = 24 = 23m + 1sm$ 。其中,第6组染色体中,第三条亚中部着丝点染色体的臂比值达到了2.33。研究表明,低等动物的染色体与核型并不像高等动物那样稳定,生活环境和生殖周期等因素均可能造成染色体倍性及结构的变化<sup>[21]</sup>。对三角涡虫而言,原始的二倍体个体极易因不同的生存环境产生趋异进化,染色体变异可能导致基因群的丢失、增加或者是取代,这将进一步引起一系列的表型变化甚至新物种的产生<sup>[22]</sup>。当染色体的结构发生突变时,变异的部位常常发生在一对或多对亚中部或亚端部着丝点染色体上<sup>[3-4]</sup>。朝阳湖种群出现两类变异核型,变异部位发生在第3组和第6组的亚中部着丝点染色体上,推测可能是中部着丝点染色体发生臂间倒位造成的。日本三角涡虫漳河种群、秦王湖种群与朝阳湖种群地理分布区的经纬度相近,造成3个种群染色体数目和核型多样性的原因可能主要是海拔和环境因子(水温等)的影响,其具体形成机制尚需进行染色体显带分析等进一步研究。

染色体数目与结构变异是物种分化和新物种产生的重要原因,许多重要的染色体结构变异是通过核型分析发现的。本文从细胞遗传学的角度进一步证实了不同生态环境下三角涡虫

体细胞染色体数目和核型多型现象,研究结果对进一步深入探讨三角涡虫的分类、起源、演化和物种多样性具有重要意义。

### 参 考 文 献

- [ 1 ] 陈广文,陈晓虹,刘德增. 中国涡虫纲分类学研究进展. 水生生物学报, 2001, 25(4): 406 - 412.
- [ 2 ] Albertini R J, Anderson D, Douglas G R, et al. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. Mutation Research/Reviews in Mutation Research, 2000, 463: 111 - 172.
- [ 3 ] Benazzi-Lentati G, Deri P, Puccinelli I. Karyometric analysis on populations of *Dugesia benazzii* (Turbellaria, Tricladida) evidencing a chromosomes polymorphism. Atti Soc Tosc Sci Nat Mem: Serie B, 1987, 94: 357 - 368.
- [ 4 ] Gourbault N. The karyotypes of *Dugesia* species from Spain (Turbellaria, Tricladida). Hydrobiologia, 1981, 84: 45 - 52.
- [ 5 ] Kawakatsu M, Oki I, Tamura S. Taxonomy and geographical distribution of *Dugesia japonica* and *Dugesia ryukyuensis* in the Far East. Hydrobiologia, 1995, 305: 55 - 61.
- [ 6 ] Kawakatsu M, Oki I, Tamura S, et al. Studies on morphology, karyology and taxonomy of the Japanese freshwater planarian *Dugesia japonica* Ichikawa & Kawakatsu, with a description of a new subspecies, *Dugesia japonica ryukyuensis* subsp. nov. Bull Fuji Women's College, 1976, 14: 81 - 126.
- [ 7 ] Pala M, Casu S, Stocchino G. Karyology and karyotype analysis of diploid freshwater planarian populations of the *Dugesia gonocephala* group (Platyhelminthes, Tricladida) found in Sardinia. Hydrobiologia, 1999, 392: 113 - 119.
- [ 8 ] Tamura S, Oki I, Kawakatsu M. A review of chromosomal variation in *Dugesia japonica* and *D. ryukyuensis* in the Far East. Hydrobiologia, 1995, 30: 79 - 84.
- [ 9 ] 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): 1045 - 1050.
- [ 10 ] 陈广文,马克世,刘德增. 中国淡水三角涡虫 (*Dugesia* sp.) 的染色体研究( II ). 动物学报, 2005, 51(增刊): 276 - 280.
- [ 11 ] 马克世,陈广文,刘德增. 中国淡水三角涡虫 (*Dugesia* sp.) 的染色体研究( III ). 四川动物, 2008, 27(5): 751 - 753.
- [ 12 ] 张栩,黄诗笺. 中国淡水三角涡虫染色体组型的研究. 水生生物学报, 2007, 31(3): 393 - 396.
- [ 13 ] 高艳,高媛,张世聪,等. 中国淡水三角涡虫的核型分析. 氨基酸和生物资源, 2009, 31(1): 40 - 43.
- [ 14 ] Chen G W, Wang Y L, Wang H K, et al. Chromosome and karyotype analysis of *Polycelis wutaishanica* (Turbellaria: Tricladida) from Shanxi Province, China. Acta Zootaxonomica Sinica, 2008, 33(3): 449 - 452.
- [ 15 ] Levan A, Fredya K, Sandberd A. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 1964, 52(2): 201 - 220.
- [ 16 ] Oki I, Tamura S. A freshwater planarian with heterogeneous cell populations of two different chromosome numbers. Ibid, 1975, 84: 61 - 63.
- [ 17 ] Oki I, Tamura S. Karyological and taxonomic studies of *Dugesia japonica* Ichikawa et Kawakatsu in the Far East. Hydrobiologia, 1981, 84(1): 53 - 68.
- [ 18 ] Benazzi M. Cytotaxonomical study of *Dugesia indonesiana* Kawakatsu (Tricladida, Paludicola). Accad Sc Lin: Ser 8, 1975, 111: 237 - 243.
- [ 19 ] Kawakatsu M, Mitchell R W. Morphological, karyological and taxonomic studies of freshwater planarians from South Brazil. *Dugesia anderlani* sp. Nov. (Turbellaria, Tricladida, Paludicola), a new species from Sao Leopoldo in Estado de Rio Grande do Sul. Annot Zool Jap, 1983, 56: 196 - 208.
- [ 20 ] Oki I, Tamura S. Karyological and taxonomic studies of freshwater planarians in Brazil 2. Chromosome of *Dugesia* species from South Brazil. Ibid, 1980, 89: 628.
- [ 21 ] Teshirogi W, Ishida S, Hasebe K. Chromosomal polymorphisms of a freshwater planarian, *Polycelis auriculata*. Jap J Genetics, 1981, 56: 469 - 481.
- [ 22 ] Weinberg R A. The retinoblastoma protein and cell cycle control. Cell, 2001, 81: 323.