

镜湖萼花臂尾轮虫种群等位酶分析和生殖参数的季节变化

江东海 席贻龙 刘胜国 张雷 董丽丽

(安徽师范大学生命科学学院, 重要生物资源的保护和利用研究安徽省重点实验室, 安徽省高校生物环境与生态安全省级重点实验室, 芜湖 241000)

摘要: 应用聚丙烯酰胺垂直平板凝胶电泳分析了镜湖萼花臂尾轮虫春季和夏季种群的葡萄糖磷酸异构酶(GPI)、苹果酸脱氢酶(MDH)和葡萄糖磷酸变位酶(PGM)三种酶系统, 检测出GPI和MDH酶谱在两季节种群间存在着明显的差异: 根据酶谱的不同可以把春季种群内的24个克隆划分为6个基因型不同的克隆群, 夏季种群内的10个克隆划分为7个基因型不同的克隆群; 春、夏两个季节种群内具有2个基因型相同的克隆群; 各基因型在轮虫种群内的发生频率不尽相同。对轮虫两季节种群内共13个具有不同基因型的轮虫克隆在4个温度(15℃、20℃、25℃和30℃)下的种群增长率、种群中的混交雌体率和混交雌体受精率以及休眠卵产量等生殖参数所作的研究结果表明, 各克隆的生殖参数对升高温度的反应不尽相同, 温度和克隆以及两者间的交互作用对轮虫各生殖参数具有极显著的影响; 这可能是镜湖萼花臂尾轮虫种群丰富的遗传变异得以维持的原因之一。上述结果显示, 镜湖萼花臂尾轮虫种群不仅在生化遗传特征方面存在着显著的季节变异, 在孤雌生殖速率(以种群增长率为指标)以及有性生殖的发生、过程和结局-混交雌体的产生、受精作用和休眠卵形成等生态特征方面还具有丰富的季节分化。

关键词: 萼花臂尾轮虫; 季节种群; 等位酶分析; 温度; 生殖

中图分类号: Q176 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2008)06-0908-08

轮虫是各类水体中广泛分布的一类浮游动物, 在水生态系统的结构组成、物质循环和能量流动过程中具有重要的作用。在对各类水体中轮虫种群动态的长期研究过程中, 人们大多把轮虫种群内的个体在生态特征和遗传组成等方面视为同质。自20世纪70年代起, 随着轮虫生态遗传学研究的开展, 人们陆续发现同一时期栖息于浅水湖泊或池塘等水体的大肚须足轮虫(*Eu-*chlanis dilatata**)、盖氏晶囊轮虫(*A. *splanchna girardi**)、褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*)和萼花臂尾轮虫(*B. *calyciflorus**)种群内的部分克隆间不仅具有遗传差异^[1-4], 而且具有明显的生态分化^[1, 4, 5]。此外, 同一水体中轮虫种群内不同基因型的克隆群还随着季节的更替出现交替现象^[6],

这表明轮虫种群遗传结构存在着季节变化。但季节变化的程度如何? 克隆多样性存在的可能机理是什么? 对这些问题的研究是我们正确认识轮虫种群遗传结构季节变化的机制和种群适应季节性变化的水环境机理的前提和基础。

轮虫等位酶电泳技术的日益成熟使人们能够对轮虫种群遗传结构的季节变异进行研究; 而对此问题进行研究时, 人们自然会想到水温变化对轮虫种群的影响, 因为水温是季节性变化特征最明显的生态因子之一。为此, 本实验利用等位酶电泳技术, 分析了萼花臂尾轮虫的春季和夏季种群内各克隆的3种等位酶系统, 并对两季节种群内不同基因型的轮虫克隆在不同温度下的种群增长率、混交雌体率、混交雌体受精率和休眠卵产量等生殖参数进行了比较

收稿日期: 2006-11-06 修订日期: 2007-09-12

基金项目: 国家自然科学基金(30270221); 安徽省优秀青年基金(04043050, 08040106904); 安徽省教育厅自然科研基金重点项目(2004sy003); “重要生物资源的保护和利用研究”安徽省重点实验室专项基金项目资助

作者简介: 江东海(1982—), 男, 安徽庐江人; 硕士; 主要从事浮游动物生态学研究

通讯作者: 席贻龙, E-mail: ykl965@yahoo.com.cn

研究, 旨在从遗传和生态两方面对不同季节种群进行分析, 为探讨轮虫种群遗传结构季节变化的机制及轮虫种群数量变动和种群适应季节性变化的水环境的机理积累资料。

1 材料与方法

1.1 轮虫的采集和培养 实验用萼花臂尾轮虫分别于 2005 年春季 (3 月 16 日—5 月 25 日, 候平均气温 10—22℃) 和夏季 (5 月 26 日—9 月 20 日, 候平均气温 > 22℃) 采自芜湖市镜湖, 野外采集分别于每周二、周四、周六下午进行, 用 25 号浮游生物网以斜对角线方式由南岸拖至北岸^[5], 重复数次。每次采集的水样置于特定容器中, 后于实验室内随机挑取带卵的非混交雌体, 参照采样时水温分别于 15℃ 和 25℃ 的光照恒温培养箱内进行“克隆”培养, 最终建立春季 24 个克隆和夏季 10 个克隆。轮虫培养基采用 Gilbert 配方^[7] (pH 7.3), 所用的饵料为 HB-4^[8] 培养基培养的、处于指数增长期的斜生栅藻 (*Scenedesmus obliquus*)。培养时间在 2 个月以上。

1.2 等位酶分析

1.2.1 样品制备 当轮虫培养至较高密度 (200—300 ind./mL) 时进行收集, 为避免其消化道内可能存在的藻类食物等对等位酶分析的影响, 收集前先将轮虫饥饿 1d^[9], 再用 30 μm 筛绢过滤, 过滤后的轮虫先后用蒸馏水和 Tris-HCl (0.05 mol/L, pH 8.0) 缓冲液清洗数次, 放入塑料离心管中, 置于低温冰箱 (-30℃) 中保存待用。电泳前将样品取出, 在冰浴下于玻璃匀浆器中匀浆, 匀浆液移入塑料离心管中, 再于 4℃ 下 12000 r/min 离心 18 min, 取上清液立即进行电泳。

1.2.2 电泳方法 应用垂直平板聚丙烯酰胺凝胶连续电泳分析了葡萄糖磷酸异构酶 (GPI, EC 5.3.1.9)、苹果酸脱氢酶 (MDH, EC 1.1.37) 和葡萄糖磷酸变位酶 (PGM, EC 2.7.5.1) 三种酶系统。具体方法主要参考文献 [29—11] 并稍加改进。以克隆 SP1 作为每次电泳的电泳标记。

1.2.3 染色 染色参照文献 [9, 12] 并稍加改进。染色后立即将凝胶放入 1% 冰醋酸中固定保存、拍照, 并描绘出模式图。酶谱相对迁移率的计算参照文献 [9, 11] 的方法, 以电泳酶谱中等位基因迁移距离最远的定为 100, 其他等位基因的迁移距离为与

之相比的百分数。

1.3 不同温度下各基因型轮虫的生殖差异研究 由两季节种群内不同基因型的轮虫克隆群中各随机选取的一个克隆为对象, 以密度为 3.0×10^6 cells/mL 的斜生栅藻为轮虫的食物, 在 15℃、20℃、25℃ 和 30℃ 四个温度下研究它们的生殖差异。实验前分别在上述 4 种温度下, 于 12 mL 的玻璃刻度试管中对轮虫进行预培养, 培养液体积均为 10 mL; 预培养的温度、光照等条件同 1.1; 预培养过程中, 每天喂食并更换培养液一次, 每 12 h 悬浮沉淀于试管底部的藻类食物一次, 同时通过去除一部分轮虫个体使轮虫种群始终处于指数增长期; 预培养持续 1 周以上。

实验时, 由预培养的各试管中分别随机吸取带卵的非混交雌体若干个置于培养皿中并于各相应温度和食物密度下进行培养, 2 h 后由各培养皿中分别随机吸取 30 个轮虫幼体 (龄长 0—2 h), 于 12 mL 试管中进行群体累积培养实验, 培养液体积为 10 mL, 实验设置 3 个重复。实验时的温度、光照等条件均与预培养相同。72 h 后, 对各试管中轮虫的未携卵雌体、非混交雌体、混交雌体和休眠卵分别计数, 用以计算轮虫种群瞬时增长率和休眠卵产量, 计数后的轮虫返回原培养液中继续培养; 24 h 后再对产雄卵的混交雌体和产休眠卵的混交雌体分别计数, 用以计算混交雌体率和混交雌体受精率。各参数的计算方法同张雷等^[4]。

应用双因素方差分析法分析了克隆和温度对轮虫的种群瞬时增长率、种群中的混交雌体率、混交雌体受精率和休眠卵产量的影响, 应用 SNK-q 检验法对各克隆轮虫的生殖参数均数作多重比较。

2 结果与分析

2.1 两季节种群的等位酶分析

通过对春季的 24 个克隆和夏季的 10 个克隆所进行的等位酶分析发现, PGM 电泳谱带在各克隆间并未显现任何差异, 而 GPI 和 MDH 在春季和夏季的克隆中均存在明显的差异。

GPI 在春季和夏季克隆群中均检测出三种酶型: AA、AA' 和 A'A' (图 1、图 2); 酶谱显示 GPI 具有一个位点、2 个等位基因 A (100) 和 A' (82), 三条带的杂合体表明 GPI 是一个二聚体酶。

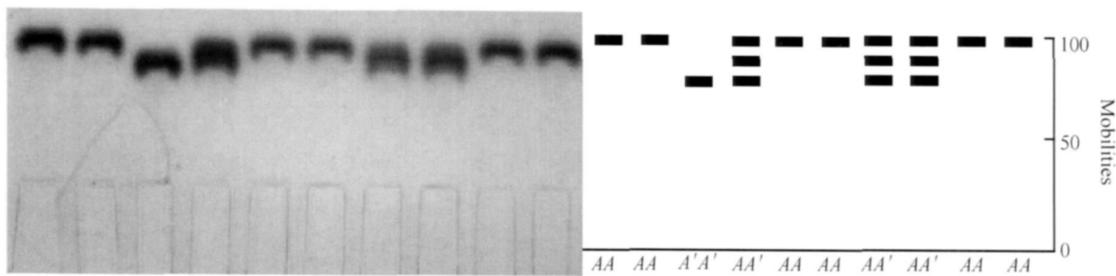


图 1 春季种群 10 个克隆的 GPI 等位酶酶谱(左为电泳图谱,右为模式图)

Fig. 1 Electromorphs of glucose phosphate isomerase (GPI) of 10 clones from the spring population (The left is electromorphs, and the right is diagram)

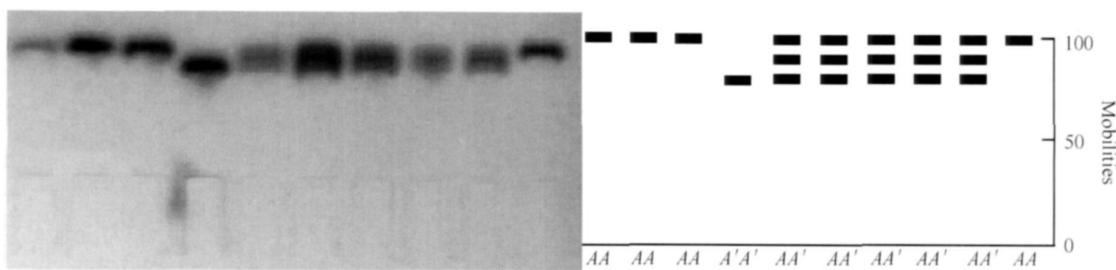


图 2 夏季种群 10 个克隆的 GPI 等位酶酶谱(左为电泳图谱,右为模式图)

Fig. 2 Electromorphs of glucose phosphate isomerase (GPI) of 10 clones from the summer population (The left is electromorphs, and the right is diagram)

MDH 电泳酶谱表达了三个位点: MDH-1 MDH-2 和 MDH-3, 其中 MDH-2 MDH-3(分别用等位基因 B (63) 和 A (100) 表示)位点仅在部分克隆中检测出来, 且电泳图谱显示两位点的等位基因均为同型合子 (BB 和 AA)。MDH-1 位点(用等位基因 C (33) 和 C' (20) 表示)在所有克隆中均有表达, 但春季种群各克

隆均表现为纯合体(用等位基因 C 和 C' 表示), 而夏季种群中杂合体占较大比例(约 50%)。在春季种群的克隆中检测出六种酶型: C'C', AA-BB-C'C', AA-CC, BB-CC, AA-BB-CC 和 CC(图 3), 在夏季种群的克隆中也检测出六种酶型: AA-CC', AA-BB-CC', AA-BB-C'C', CC', CC 和 BB-CC(图 4)。

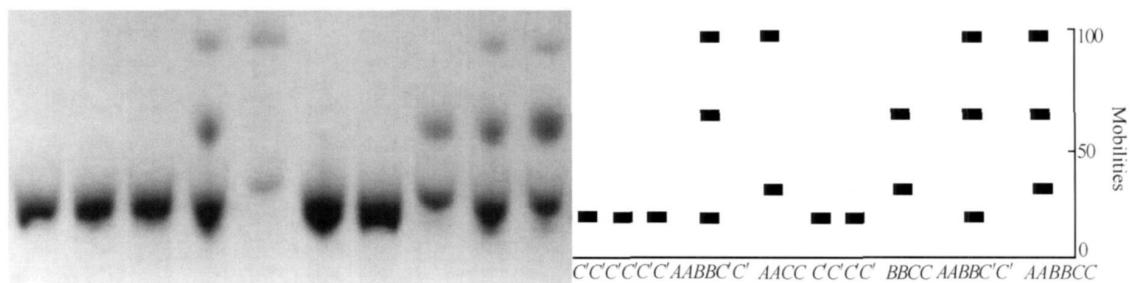


图 3 春季种群部分克隆的 MDH 等位酶酶谱(左为电泳图谱,右为模式图)

Fig. 3 Electromorphs of malica dehydrogenase (MDH) of some clones from the spring population (The left is electromorphs, and the right is diagram)

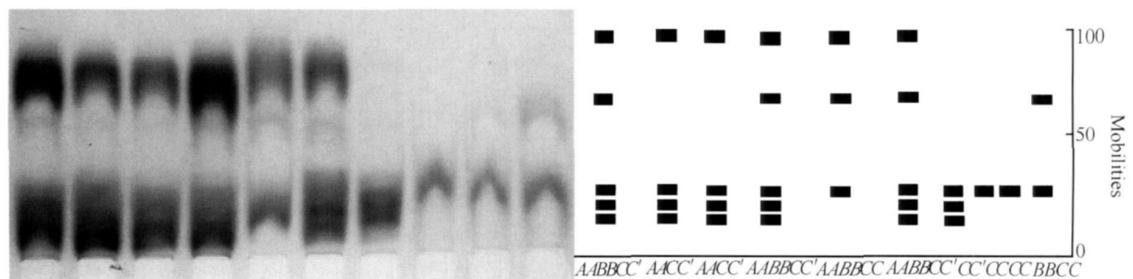


图 4 夏季种群 10 个克隆的 MDH 等位酶酶谱(左为电泳图谱,右为模式图)

Fig. 4 Electromorphs of malica dehydrogenase (MDH) of 10 clones from the summer population (The left is electromorphs, and the right is diagram)

根据 GPI 和 MDH 酶型的组成情况可将春季种群分为 6 个不同的克隆群 (SP1, SP2, SP3, SP4, SP5, SP6), 夏季种群分为 7 个不同的克隆群 (SU1, SU2, SU3, SU4, SU5, SU6, SU7)。春季种群内所存在的 6 个互不相同的克隆群与夏季种群内所存在的 7 个互

不相同的克隆群间, 除了克隆群 SP4 和 SU7 的基因型相同以外, 其他克隆群的基因型均不相同。此外, 同一基因型在种群内的发生频率也因季节的不同而异。克隆 SP4 的发生频率为 0.0833 而 SU7 的发生频率为 0.2(表 1)。

表 1 所研究的克隆群的相关数据

Tab. 1 Data on studied clonal groups

种群 Population	克隆群 Clonal group	酶谱组成 Electromorph		发生频率 Frequency	采样日期 Collection date	采样温度 Temperature
		GPI	MDH			
春季种群 Spring population	SP1	AA	AA-BB-CC	0.1667	2005. 4. 27	12°C
	SP2	AA'	AA-BB-C'C'	0.1667	2005. 5. 6	15°C
	SP3	AA	BB-C'C'	0.0833	2005. 5. 6	15°C
	SP4	AA	AA-CC	0.0833	2005. 5. 13	15°C
	SP5	AA	C'C'	0.1667	2005. 5. 13	15°C
	SP6	A'A'	AA-BB-CC	0.3333	2005. 5. 20	16°C
夏季种群 Summer population	SU1	AA	BB-CC	0.1	2005. 6. 12	20°C
	SU2	AA'	CC	0.2	2005. 6. 12	20°C
	SU3	AA'	CC'	0.1	2005. 6. 14	20°C
	SU4	AA'	AA-BB-CC'	0.1	2005. 6. 21	26°C
	SU5	AA'	AA-BB-CC	0.1	2005. 6. 24	26°C
	SU6	A'A'	AA-CC	0.2	2005. 7. 3	26°C
	SU7	AA	AA-CC	0.2	2005. 7. 10	28°C

2.2 两季节种群内各基因型轮虫的生殖差异

春季种群内 6 个不同基因型的轮虫克隆 (分别编号为 SP1—SP6) 和夏季种群内 7 个不同基因型的轮虫克隆 (分别编号为 SU1—SU6) 在 15°C、20°C、25°C 和 30°C 下的种群增长率、种群中的混交雌体

率、混交雌体受精率和休眠卵产量列于表 2—表 5。由表可见, 各克隆轮虫的各生殖参数对升高温度的反应不尽相同。双因素方差分析显示, 克隆、温度以及两者间的交互作用均对上述各参数具有极显著的影响 ($p < 0.01$)。

表 2 四温度下各基因型的轮虫克隆的种群增长率 (Mean \pm SE)

Tab. 2 Population growth rates (/d) of rotifer clones with different genotypes at four temperatures

克隆 Clone	15°C	20°C	25°C	30°C
SP1	0.011 \pm 0.011 ^{ab}	0.155 \pm 0.020 ^{ab}	0.770 \pm 0.142 ^{abcd}	1.128 \pm 0.016 ^{bc}
SP2	-0.012 \pm 0.012 ^a	0.000 \pm 0.000 ^a	0.379 \pm 0.096 ^{ab}	1.190 \pm 0.106 ^c
SP3	0.052 \pm 0.052 ^{abc}	0.118 \pm 0.057 ^{ab}	0.533 \pm 0.059 ^{abc}	1.086 \pm 0.008 ^{abc}
SP4	-0.054 \pm 0.045 ^a	0.359 \pm 0.034 ^{bc}	0.281 \pm 0.085 ^a	1.122 \pm 0.007 ^{bc}
SP5	0.060 \pm 0.016 ^{abc}	0.212 \pm 0.026 ^{ab}	0.959 \pm 0.029 ^{cd}	1.443 \pm 0.026 ^d
SP6	-0.026 \pm 0.031 ^a	0.119 \pm 0.016 ^{ab}	0.548 \pm 0.095 ^{abc}	0.854 \pm 0.090 ^a
SU1	0.092 \pm 0.036 ^{abc}	0.549 \pm 0.069 ^{cd}	0.727 \pm 0.051 ^{abcd}	0.896 \pm 0.041 ^{ab}
SU2	0.074 \pm 0.04 ^{abc}	0.806 \pm 0.030 ^d	1.133 \pm 0.058 ^d	0.915 \pm 0.122 ^{ab}
SU3	-0.025 \pm 0.025 ^a	0.402 \pm 0.202 ^{bc}	0.624 \pm 0.312 ^{abcd}	0.944 \pm 0.01 ^{ab}
SU4	0.358 \pm 0.051 ^e	0.702 \pm 0.112 ^d	1.050 \pm 0.021 ^{cd}	1.324 \pm 0.000 ^{cd}
SU5	0.279 \pm 0.053 ^{de}	0.766 \pm 0.027 ^d	0.862 \pm 0.032 ^{bc}	1.271 \pm 0.013 ^{cd}
SU6	0.199 \pm 0.033 ^{cd}	0.357 \pm 0.072 ^{bc}	0.936 \pm 0.037 ^{cd}	0.862 \pm 0.035 ^a
SU7	0.153 \pm 0.033 ^{bed}	0.707 \pm 0.034 ^d	0.826 \pm 0.004 ^{bc}	0.860 \pm 0.050 ^a

* 多重比较 (SNK-q 检验法): 具相同字母表示同一列数据的组间无显著差异, 下同。

* Multiple comparison of SNK-q test. The same letter indicates that there are no significant differences among the groups in the same column. Below is the same.

表 3 四温度下各基因型的轮虫克隆的混交率 (Mean \pm SE)

Tab. 3 Mating rates of rotifer clones with different genotypes at four temperatures

克隆 Clone	15°C	20°C	25°C	30°C
SP1	0.49 \pm 0.21 ^a	0.45 \pm 0.06 ^b	0.11 \pm 0.03 ^{ab}	0.21 \pm 0.04 ^{bc}
SP2	0.28 \pm 0.04 ^a	0.43 \pm 0.03 ^b	0.02 \pm 0.01 ^a	0.17 \pm 0.07 ^{abc}
SP3	0.42 \pm 0.10 ^a	0.23 \pm 0.10 ^{ab}	0.05 \pm 0.02 ^a	0.02 \pm 0.00 ^a
SP4	0.88 \pm 0.12 ^b	0.21 \pm 0.05 ^{ab}	0.41 \pm 0.12 ^c	0.25 \pm 0.02 ^c
SP5	0.17 \pm 0.06 ^a	0.26 \pm 0.04 ^b	0.05 \pm 0.01 ^a	0.05 \pm 0.01 ^{ab}
SP6	0.26 \pm 0.12 ^a	0.12 \pm 0.03 ^a	0.20 \pm 0.07 ^{abc}	0.08 \pm 0.02 ^{ab}
SU1	0.06 \pm 0.06 ^a	0.20 \pm 0.06 ^{ab}	0.33 \pm 0.07 ^{bc}	0.08 \pm 0.05 ^{ab}
SU2	0.17 \pm 0.17 ^a	0.12 \pm 0.02 ^a	0.16 \pm 0.04 ^{ab}	0.03 \pm 0.02 ^{ab}
SU3	0.33 \pm 0.09 ^a	0.24 \pm 0.07 ^{ab}	0.25 \pm 0.03 ^{abc}	0.21 \pm 0.06 ^{bc}
SU4	0.11 \pm 0.02 ^a	0.12 \pm 0.03 ^a	0.18 \pm 0.04 ^{abc}	0.05 \pm 0.01 ^{ab}
SU5	0.11 \pm 0.11 ^a	0.17 \pm 0.03 ^a	0.19 \pm 0.01 ^{abc}	0.08 \pm 0.02 ^{ab}
SU6	0.19 \pm 0.03 ^a	0.16 \pm 0.07 ^a	0.11 \pm 0.01 ^{ab}	0.10 \pm 0.00 ^a
SU7	0.10 \pm 0.07 ^a	0.29 \pm 0.07 ^{ab}	0.31 \pm 0.04 ^{bc}	0.00 \pm 0.00 ^a

表 4 四温度下各基因型的轮虫克隆的混交雌体受精率 (Mean \pm SE)

Tab. 4 Fertilization rates of female females from rotifer clones with different genotypes at four temperatures

克隆 Clone	15°C	20°C	25°C	30°C
SP1	1.00 \pm 0.00 ^b	0.71 \pm 0.05 ^{bc}	0.69 \pm 0.04	0.33 \pm 0.33 ^{ab}
SP2	0.67 \pm 0.33 ^{ab}	0.17 \pm 0.16 ^{abc}	0.67 \pm 0.33	0.00 \pm 0.00 ^a
SP3	1.00 \pm 0.00 ^b	0.20 \pm 0.20 ^{abc}	0.49 \pm 0.25	0.00 \pm 0.00 ^a
SP4	0.33 \pm 0.33 ^{ab}	0.46 \pm 0.15 ^{abc}	0.89 \pm 0.05	1.00 \pm 0.00 ^b
SP5	1.00 \pm 0.00 ^b	0.75 \pm 0.13 ^c	0.74 \pm 0.12	0.00 \pm 0.00 ^a
SP6	0.00 \pm 0.00 ^a	0.17 \pm 0.16 ^{abc}	0.47 \pm 0.11	0.33 \pm 0.33 ^{ab}
SU1	0.00 \pm 0.00 ^a	0.28 \pm 0.10 ^{abc}	0.33 \pm 0.04	0.10 \pm 0.09 ^a
SU2	0.00 \pm 0.00 ^a	0.19 \pm 0.03 ^{abc}	0.30 \pm 0.02	0.33 \pm 0.33 ^{ab}
SU3	0.30 \pm 0.05 ^{ab}	0.10 \pm 0.05 ^a	0.41 \pm 0.07	0.97 \pm 0.01 ^b
SU4	0.83 \pm 0.16 ^{ab}	0.13 \pm 0.03 ^{ab}	0.31 \pm 0.09	1.00 \pm 0.00 ^b
SU5	0.05 \pm 0.04 ^a	0.46 \pm 0.15 ^{abc}	0.23 \pm 0.09	0.89 \pm 0.05 ^b
SU6	0.72 \pm 0.16 ^{ab}	0.27 \pm 0.11 ^{abc}	0.23 \pm 0.01	0.94 \pm 0.01 ^b
SU7	0.33 \pm 0.33 ^{ab}	0.03 \pm 0.01 ^a	0.26 \pm 0.01	0.33 \pm 0.16 ^{ab}

表 5 四温度下各基因型的轮虫克隆的休眠卵产量 (Mean \pm SE)

Tab. 5 Resting egg productions (ind /10mL•3d) of rotifer clones with different genotypes at four temperatures

克隆 Clone	15°C	20°C	25°C	30°C
SP1	0.0 \pm 0.0 ^a	11.3 \pm 1.2 ^{bc}	40.3 \pm 14.7 ^{abc}	65.0 \pm 3.5 ^{bcd}
SP2	0.0 \pm 0.0 ^a	1.3 \pm 1.3 ^a	0.7 \pm 0.3 ^a	129.7 \pm 34.8 ^e
SP3	0.0 \pm 0.0 ^a	4.0 \pm 4.0 ^{ab}	4.0 \pm 2.1 ^a	0.0 \pm 0.0 ^a
SP4	0.0 \pm 0.0 ^a	11.3 \pm 4.8 ^{bc}	15.7 \pm 5.5 ^{abc}	34.0 \pm 1.5 ^{ab}
SP5	0.0 \pm 0.0 ^a	5.7 \pm 1.2 ^{abc}	28.0 \pm 7.2 ^{abc}	96.3 \pm 17.9 ^e
SP6	0.0 \pm 0.0 ^a	0.3 \pm 0.3 ^a	29.7 \pm 15.7 ^{abc}	64.0 \pm 5.8 ^{bcd}
SU1	0.0 \pm 0.0 ^a	3.3 \pm 0.9 ^{ab}	9.0 \pm 2.0 ^{ab}	89.0 \pm 16.6 ^{cde}
SU2	0.0 \pm 0.0 ^a	1.7 \pm 0.3 ^a	52.0 \pm 9.8 ^{bc}	7.3 \pm 6.4 ^{ab}
SU3	0.0 \pm 0.0 ^a	1.0 \pm 0.6 ^a	59.3 \pm 16.7 ^e	100.7 \pm 20.8 ^{de}
SU4	1.0 \pm 0.6 ^b	1.0 \pm 0.0 ^a	27.7 \pm 15.3 ^{abc}	51.7 \pm 2.4 ^{abcd}
SU5	0.0 \pm 0.0 ^a	12.7 \pm 3.2 ^e	15.7 \pm 2.2 ^{abc}	6.3 \pm 2.7 ^{ab}
SU6	0.3 \pm 0.3 ^a	0.3 \pm 0.3 ^a	12.7 \pm 0.7 ^{ab}	52.7 \pm 1.2 ^{abcd}
SU7	0.0 \pm 0.0 ^a	0.3 \pm 0.3 ^a	37.7 \pm 1.5 ^{abc}	11.0 \pm 1.5 ^{ab}

3 讨 论

参照张雷等^[4]对 2004年夏季镜湖萼花臂尾轮虫种群的等位酶分析方法, 本研究对 2005年从镜湖采集的春季和夏季萼花臂尾轮虫种群进行了 GPI M DH 和 PGM 三种酶系统的电泳分析。GPI和 MDH 电泳酶谱的差异表明同一季节种群内存在着不同基因型的轮虫克隆, 即“克隆共存”现象; 这与 King 和 Zhao^[3]和张雷等^[4]有关大肚须足轮虫、盖氏晶囊轮虫、褶皱臂尾轮虫和萼花臂尾轮虫等季节种群的研究结果相似。本研究还发现, 镜湖萼花臂尾轮虫种群遗传结构存在着显著的季节变异。春季种群内存在着 6个互不相同的克隆群, 夏季种群内存在着 7个互不相同的克隆群; 两季节种群间, 除了其中的两个克隆群 (SP4 和 SU7) 的基因型相同以外, 其他克隆群的基因型均不相同。此外, 同一基因型在种群内发生频率也因季节的不同而异。

King^[1]、King 和 Serra^[6]曾提出重叠模型 (Overlap model 亦称为不完全的遗传不连续性假说) 和不重叠模型 (Nonoverlap model 亦称为完全的遗传不连续性假说) 来描述轮虫种群遗传结构的季节分化程度。依据上述模型或假说, 镜湖萼花臂尾轮虫种群遗传结构的季节变化符合重叠模型。

GPI和 MDH 在 2004年夏季镜湖萼花臂尾轮虫种群中均表现出两种酶型^[4]。与其不同的是, 本研究中, GPI在 2005年夏季轮虫种群中检测出三种酶型, 而 MDH 检测出六种酶型。尽管本研究所使用的等位酶及其电泳方法和张雷等^[4]完全相同, 但凝胶制备等过程中室温间的差异是否导致了上述结果间产生差异有待研究。为了避免环境条件的不同可能会对电泳结果产生的影响, 本研究对两个季节的轮虫克隆在完全相同的条件下同步进行了电泳分析, 所得的结果应该是客观可靠的。项贤领等^[13]对同样两个季节的克隆轮虫 mtDNA 所作的 RAPD 分析也间接验证了本研究结果。此外, 采于 2004年夏季镜湖中的萼花臂尾轮虫 16个克隆包括 4个互不相同的克隆群^[4], 而采于 2005年夏季镜湖中的萼花臂尾轮虫 10个克隆包括 7个互不相同的克隆群。可见, 相同季节的轮虫种群遗传结构也因年代的不同存在着较大的差异; 这与 King and Zhao^[3]对褶皱臂尾轮虫种群遗传结构的研究结果相似。

与已有的有关轮虫和枝角类种群遗传结构的等位酶分析结果相似^[1-4, 14, 16, 17], 镜湖萼花臂尾轮虫种群也具有丰富的遗传变异。Lynch^[17]认为池塘内网

纹溞 (*Daphnia pulex*) 种群丰富的遗传变异的维持归因于水环境的时间异质性, Weider^[14]通过生命表实验证实了 Lynch^[17]的上述推测。本研究中, 升高的温度对各基因型轮虫克隆的生殖参数的影响不尽相同, 克隆和温度间极显著的交互作用表明不同时期的水环境对不同克隆轮虫的生殖影响不同; 这可能是镜湖萼花臂尾轮虫种群丰富的遗传变异得以维持的原因之一。此外, 食物资源的时间异质性也是镜湖萼花臂尾轮虫种群丰富的遗传变异得以维持的另一重要原因^[4]; Snell^[18]也曾得出与此一致的结论。

温度是影响轮虫孤雌生殖速率和有性生殖发生及其幅度的重要外源性因素, 而遗传因素则是重要的内源性因素。已有的研究结果表明, 温度对不同种类的轮虫或同种不同品系或克隆轮虫的孤雌生殖速率和有性生殖发生及其幅度的影响不同^[19-23]。本研究结果再次证实了上述结论。由于轮虫的孤雌生殖速率和有性生殖发生幅度间在一定程度上存在着相互制约的关系^[24], 因此温度的变化在导致轮虫有性生殖发生幅度显著提高的同时, 势必会抑制轮虫的种群增长并最终导致自然水体中轮虫种群密度的显著下降甚至几近消失。Li_u et al.^[25]对 2006年 3月镜湖萼花臂尾轮虫种群密度及其生殖参数进行研究时发现, 3月 28日采自镜湖的萼花臂尾轮虫在接近当时的湖水温度 (19℃) 下进行培养时, 其种群中的混交雌体百分率高达 55.8%; 当培养温度升高至 25℃时, 种群中的混交雌体百分率达 77.2%; 这或许是 3月末镜湖萼花臂尾轮虫种群密度急剧下降、4月初轮虫种群几乎从湖泊中消失的重要原因。而随着季节的更替, 轮虫种群在水体中重新出现; 但此时的轮虫个体大多源自底泥中的休眠卵孵化和随后的孤雌生殖。由于底泥中可能存在大量遗传组成不同的休眠卵, 因此由休眠卵孵化和随后的孤雌生殖所产生的轮虫种群在遗传结构上和前一季节存在于水体中的轮虫种群存在较大的差异是完全可能的, 本研究结果也验证了上述推测。由此可见, 季节的更替特别是随之出现的水温的变化在导致轮虫种群遗传结构季节变化过程中具有重要的作用。

镜湖萼花臂尾轮虫种群不仅具有丰富的遗传多样性, 而且在孤雌生殖速率 (以种群增长率为指标) 以及有性生殖的发生、过程和结局-混交雌体的产生、受精作用和休眠卵形成等方面还具有丰富的生态分化。这与 King^[1]、Zhao 和 King^[5]和张雷等^[4]的研究结果相似。

在种群遗传结构分析中, 样本量 (枝角类个体

或轮虫克隆)的不足可能会导致不精确结果的出现^[3 14 15]。本研究中,作者用春季采集的大量轮虫个体建立了24个克隆,而用夏季采集的大量轮虫个体最终只建立了10个克隆。由镜湖中采集的萼花臂尾轮虫个体尤其是于夏季采集的轮虫个体进行克隆培养的成功率较低,这与由美国内华达州Soda湖中采集的褶皱臂尾轮虫情况相似^[3],其原因目前尚不明了。一般认为,萼花臂尾轮虫是一广温性种类。本研究结果表明,已建立的镜湖萼花臂尾轮虫克隆大多数能够耐受10—30℃的水温,从而证明了其对温度具有较大的耐受范围;但不同轮虫克隆的孤雌生殖所需的最适温度不同预示由镜湖水体中采集的大量轮虫个体未能成功地进行克隆培养可能与特定的培养温度不利于其孤雌生殖有较大的关系。

参考文献:

- [1] King C E. Adaptation of rotifers to seasonal variation [J]. *Ecology*, 1972, **53**: 408—418
- [2] King C E. Genetics of reproduction variation and adaptation in rotifers [J]. *Arch. Hydrobiol. Beih.*, 1977, **8**: 187—201
- [3] King C E, Zhao Y. Coexistence of rotifer (*Brachionus plicatilis*) clones in Soda Lake, Nevada [J]. *Hydrobiologia*, 1987, **147**: 57—64
- [4] Zhang L, Xi Y L, Dong L L, et al. A allozyme analysis on the summer population of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera) in Lake Jinghu and reproductive variation among clones [J]. *Acta Zool. Sin.*, 2005, **51**(4): 678—684 [张雷, 席贻龙, 董丽丽, 等. 镜湖萼花臂尾轮虫夏季种群等位酶分析以及克隆间的生殖差异. 动物学报, 2005, 51(4): 678—684]
- [5] Zhao Y, King C E. Ecological genetics of the rotifer *Brachionus plicatilis* in Soda Lake, Nevada USA [J]. *Hydrobiologia*, 1989, **185**: 175—181
- [6] King C E, Serra M. Seasonal variation as a determinant of population structure in rotifers reproducing by cyclical parthenogenesis [J]. *Hydrobiologia*, 1998, **387/388**: 361—372
- [7] Gilbert J J. Mictic female production in rotifer *Brachionus calyciflorus* [J]. *J. Exp. Zool.*, 1963, **153**: 113—124
- [8] Zhang Z S, Huang X F. Method for study on freshwater plankton [M]. Beijing: Science Press, 1991, 410—411 [章宗涉, 黄祥飞. 淡水浮游生物研究方法. 北京: 科学出版社, 1991, 410—411]
- [9] Fu Y, Hayama K, Natsukari Y. Genetic divergence between S and L type strains of the rotifer *Brachionus plicatilis* O. E. Miller [J]. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 1991, **151**: 43—56
- [10] Snell T W. Intraspecific competition and population structure in rotifers [J]. *Ecology*, 1979, **60**: 494—502
- [11] Mao S X, Xiang H. Introduction to genetic isoenzymes [M]. Beijing: Capital Normal University Press, 2000 [毛盛贤, 向华. 同工酶遗传学引论. 首都师范大学出版社, 2000]
- [12] Hu N S, Wan X G. The technology of isoenzymes and its application [M]. Changsha: Hunan Science and Technology Press, 1985 [胡能书, 万贤国. 同工酶技术及其应用. 湖南科学技术出版社, 1985]
- [13] Xiang X L, Xi Y L, Hu H Y. Seasonal changes in the genetic diversity of *Brachionus calyciflorus* population in Lake Jinghu [J]. *Acta Ecol. Sin.*, 2007, **27**(6): 2443—2448 [项贤领, 席贻龙, 胡好远. 镜湖萼花臂尾轮虫种群遗传多样性的季节变化. 生态学报, 2007, 27(6): 2443—2448]
- [14] Weider L J. Spatial and temporal genetic heterogeneity in a natural *Daphnia* population [J]. *J. Plankton Res.*, 1985, **7**: 101—123
- [15] H ebart P D N, Ward R D. Enzyme variability in natural populations of *Daphnia magna*. IV. Ecological differentiation and frequency changes of genotypes at Audley End [J]. *Heredity*, 1976, **36**: 331—341
- [16] H ebart P D N, Crease T J. Clonal coexistence in *Daphnia pulex* (Leydig): an other planktonic paradox [J]. *Science*, 1980, **207**: 1363—1365
- [17] Lynch M. Ecological genetics of *Daphnia pulex* [J]. *Evolution*, 1983, **37**: 358—374
- [18] Snell T W. Blue-green algae and selection in rotifer population [J]. *Oecologia*, 1980, **46**: 343—346
- [19] Hu H Y, Xi Y L, Geng H. Effects of temperature on life history strategies of three strains of *Brachionus angularis* Gosse [J]. *Acta Hydrobiol. Sin.*, 2004, **28**(3): 284—288 [胡好远, 席贻龙, 耿红. 温度对三品系角突臂尾轮虫生活史策略的影响. 水生生物学报, 2004, 28(3): 284—288]
- [20] Dong L L, Xi Y L, Liu G Y, et al. Effect of temperature and food concentration on the population dynamics of three *Brachionus calyciflorus* strains [J]. *Chin. J. Appl. Ecol.*, 2004, **15**(11): 2165—2169 [董丽丽, 席贻龙, 刘桂云, 等. 温度和食物浓度对三品系萼花臂尾轮虫实验种群动态的影响. 应用生态学报, 2004, 15(11): 2165—2169]
- [21] Xi Y L, Dong L L, Ge Y L, et al. Resting egg production of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera) at different water temperatures [J]. *J. Freshwater Ecol.*, 2004, **19**(4): 567—573
- [22] Xi Y L, Ge Y L, Chen F, et al. Life history characteristics of three strains of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera) at different water temperatures [J]. *J. Freshwater Ecol.*, 2005, **20**(4): 707—713
- [23] Dong L L, Xi Y L, Zhang L. Life history traits of different clones from summer population of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera) in Lake Jinghu [J]. *Acta Hydrobiol. Sin.*, 2007, **31**(5): 611—617 [董丽丽, 席贻龙, 张雷. 镜湖萼花臂尾轮虫夏季种群内不同克隆的生活史特征. 水生生物学报, 2007, 31(5): 611—617]
- [24] Xi Y L, Cao M, Huang X F. Relationship between sexual reproduction population growth and resting egg production of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* [J]. *Chin. J. Appl. Ecol.*, 2002, **13**(12): 1649—1654 [席贻龙, 曹明, 黄祥飞. 萼花臂尾轮虫有性生殖、种群增长和休眠卵产量间的关系. 应用生

态学报, 2002, 13(12): 1649—1654]

[25] Liu S G, X iY L, Jiang D H. Temporal differences in reproductive

characteristics of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera) from LakeJinghu China [J]. *J. Freshwater Ecol.*, 2007, 22: 13—15

ALLOZYME ANALYSIS ON *BRACHIONUS CALYCFLORUS* (ROTIFERA) POPULATION IN LAKE JINGHU AND SEASONAL VARIATION OF THEIR REPRODUCTIVE PARAMETERS

JIANG Dong-Hai, XI Y iLong, LIU Sheng-Guo, ZHANG Lei and DONG L iLi

(College of Life Sciences, Anhui Normal University; Provincial Laboratories of Conservation and Utilization for Important Biological Resource in Anhui & Biotic Environment and Ecological Safety, Wuhu 241000)

Abstract Three isozyme including glucose phosphate isomerase (GPI), malic dehydrogenase (MDH) and phosphoglucomutase (PGM) were selected and vertical polyacrylamide gel electrophoresis was used to screen 24 and 10 *Brachionus calyciflorus* clones established respectively from the spring and summer collections from Lake Jinghu. Electrophoresis revealed three electromorph patterns for PGI and six ones for MDH in the clones from both spring and summer collections. Patterns of GPI and MDH enzymes revealed variations existed in the two seasonal populations. Six different clonal groups from the spring population and seven different ones from the summer population were identified by combining isozymes variations. Two clonal groups with same genotype existed in the spring and the summer populations. The frequency of the same genotype in the rotifer population differed with season, with that in the spring population being 0.0833, and the summer population 0.2. The variation in population structure of *Brachionus calyciflorus* in Lake Jinghu from spring and summer could be described by overlap model (incomplete genetic discontinuity). The results of reproductive experiments made at 15°C, 20°C, 25°C and 30°C on thirteen clones representing different composite electromorphs in spring and summer collections showed that population growth rate, mictic rate, fertilization rate and resting egg production of rotifers varied from -0.054 to 1.443/d, 0 to 0.88, 0 to 1.0, 0 to 129.7 ind./10mL·3d, respectively. The responses in population growth rate, mictic rate, fertilization rate and resting egg production of rotifers to increasing temperature were different among thirteen clones, and temperature, genotypes and their interactions all affected significantly population growth rate, mictic rate, fertilization rate and resting egg production, which might be one of the reasons that contribute to maintain the high genetic variations in the rotifer population. The results stated above indicated that the bio-chemically genetic characteristics of *B. calyciflorus* population in Lake Jinghu differed with season, and the ecological trait including rate of asexual reproduction (with the population growth rate as an endpoint), occurrence, course and result of sexual reproduction-formation and fertilization of mictic females, and resting egg production of *B. calyciflorus* population differentiated between the two seasons.

Key words *Brachionus calyciflorus*, Seasonal population, Allozymes analysis, Temperature, Reproduction