

北京西海萼花臂尾轮虫 (*Brachionus calyciflorus*) 种群休眠卵库的遗传分化

李 黎, 牛翠娟*, 马 蕊

(生物多样性与生态工程教育部重点实验室, 北京师范大学生命科学院, 北京 100875)

摘要: 利用线粒体细胞色素氧化酶 I 亚基 (COI) 序列片段 (543bp) 对孵化自西海萼花臂尾轮虫休眠卵库的 46 个克隆进行分析, 共发现 6 个单倍型, 平均遗传距离为 0.032, 分别聚在 2 个分支。选取 4 个出现频率较高的克隆群, 分别对其在 3 种食物浓度 (蛋白核小球藻 *Chlorella pyrenoidosa*, 1×10^6 cells/ml, 6×10^6 cells/ml, 12×10^6 cells/ml) 和 3 种温度 (15°C, 25°C, 35°C; 蛋白核小球藻 *Chlorella pyrenoidosa*, 6×10^6 cells/ml) 下的适合度特征 (R_0 和 r_m) 以及个体大小 (背甲长和背甲宽) 进行比较研究。生命表实验结果显示, 单倍型与食物浓度的交互作用 ($R_0: P=0.038; r_m: P=0.027$) 以及单倍型与温度的交互作用 ($R_0: P=0.006; r_m: P=0.000$) 对种群增长均有显著影响, 这 4 个单倍型克隆群对环境条件具有不同的偏好, 并且各个克隆群对于环境变化有不同的生殖反应。形态测量结果显示, 单倍型与温度的交互作用 (背甲长: $P=0.033$; 背甲宽: $P=0.000$) 以及单倍型与温度的交互作用 (背甲长: $P=0.027$; 背甲宽: $P=0.000$) 对个体大小均有明显的影响。结合生命表及形态数据, 探讨了休眠卵库中各个克隆群的生态位及形态分化以及可能对种群结构的动态变化产生的影响。

关键词: 萼花臂尾轮虫; 休眠卵库; 遗传多样性; 分化; 种群增长; 个体大小

文章编号: 1000-0933(2009)02-0606-07 中图分类号: Q145, Q178, S931.1 文献标识码: A

Genetic differentiation in resting-egg bank of the rotifer *Brachionus calyciflorus* population in Xihai Pond, Beijing

LI Li, NIU Cui-Juan*, MA Rui

Ministry of Education Key Laboratory for Biodiversity Science and Ecological Engineering, College of Life Sciences, Beijing Normal University, Beijing 100875, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(2): 0606 ~ 0612.

Abstract: Genetic structure in the resting-egg bank of the rotifer *Brachionus calyciflorus* were investigated in Xihai pond, Beijing, using segmental mitochondria cytochrome c oxidase subunit I (COI) gene (543bps) as the marker. We got a total of 6 haplotypes in 46 clones hatching from the sediment collected in April. To make further insight into the genetic differentiation of the resting-egg bank, we selected four haplotype clonal groups with higher frequency to compare their fitness characteristics and body size at different food (*Chlorella pyrenoidosa*) density of 1×10^6 cells/ml, 6×10^6 cells/ml and 12×10^6 cells/ml (temperature: 25°C) or under different temperatures of 15°C, 25°C and 35°C (food: 6×10^6 cells/ml), respectively. Both the interactions of haplotype vs. food ($R_0: P=0.038; r_m: P=0.027$) and that of haplotype vs. temperature ($R_0: P=0.006; r_m: P=0.000$) had obvious effect on growth responses of the clonal groups. Moreover, there was significant interaction of haplotype vs. temperature (lorica length: $P=0.033$; lorica width: $P=0.000$) and haplotype vs. temperature (lorica length: $P=0.027$; lorica width: $P=0.000$) on body size of the clonal group. Combining with the life table and body size data, niche differentiation and morphodifferentiation of the clonal groups and the possible influence on the population structure dynamics were discussed.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (No. 30470309)

收稿日期: 2007-09-10; 修订日期: 2008-04-07

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: cjniu@bun.edu.cn

Key Words: rotifer *Brachionus calyciflorus*; resting egg bank; genetic diversity; differentiation; population growth; body size

休眠卵库相当于植物的种子库,是可以在环境中长期保存的休眠卵的总和^[1]。周期性孤雌繁殖动物由于个体小、寿命短、扩散能力低、生活在季节性、临时或极小的栖息地,采用这种生活策略可以分散局部灭绝的危机、及时传播后代直到遇到适宜的环境^[2-4]。轮虫、桡足类和枝角类中均发现了长时间保存下来的休眠卵库^[5-7]。现有的大多数研究都是围绕甲壳类休眠卵库展开^[4],而轮虫休眠卵库则较少受到关注。尽管如此,人们还是在湖泊、池塘及河口的沉积物中发现了轮虫的休眠卵库,并且这些休眠卵库具有高度的遗传多样性^[6, 8, 9]。近些年,国外学者开始利用分子标记进一步调查轮虫休眠卵库的遗传结构。Ortells 等^[10]首次利用等位酶分析方法研究了西班牙东部褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*)物种复合体的休眠卵库,发现轮虫的休眠卵库表现出相当大的遗传变异,表明休眠卵库在保存种群的遗传多样性方面具有重要作用。Gómez & Carvalho^[11]采用微卫星分析方法调查了一个临时性水体中褶皱臂尾轮虫休眠卵库和生活种群的遗传结构,研究不仅发现休眠卵库基因型达到 Hardy-Weinberg 及连锁平衡、包含高度基因型多样性,还发现休眠卵的等位基因组成与生活种群不同,表明休眠卵孵化具有一定生态偏好。此外,Gómez 等^[12, 13]还相继用线粒体 DNA (COI) 序列以及微卫星作为分子标记分析了伊比利亚半岛 47 个水体中的褶皱臂尾轮虫休眠卵库,发现各个水体之间休眠卵库的遗传分化很高, N_s 值平均为 0.81,表现出高度的地理差异。

前人的研究多次提出,休眠卵库的存在对种群结构和种群动态都具有重要影响^[14-16]。但是现有轮虫休眠卵库研究均以海水种——褶皱臂尾轮虫为研究对象,并且调查大多着眼于遗传组成和地理分化,并未深入探讨休眠卵库“如何影响种群结构动态变化”的问题。本研究利用线粒体细胞色素氧化酶 I 亚基(COI)序列片段研究了西海蓼花臂尾轮虫(*Brachionus calyciflorus*)休眠卵库的遗传结构,并对具有遗传差异的 4 个克隆群在不同食物浓度或温度下的适合度特征(R_0 和 r_m)以及个体大小进行了比较,旨在从遗传和生态方面分析淡水轮虫种群休眠卵库中的克隆分化,为探讨轮虫休眠卵库的组成结构对种群空间及时间变化产生的影响积累资料。

1 实验材料和方法

1.1 实验材料

4 月份于北京市西海采集底泥,加入培养液置于光照培养箱,依次于 10℃、20℃、30℃ 各孵育 3d,每隔 6h 检查是否有轮虫幼体孵出,将其中典型的蓼花臂尾轮虫挑出,作单克隆培养。培养温度(25 ± 1)℃、光照强度 900lx、光照周期 16L:8D。培养液采用 Gilbert^[17]的配方,饵料为蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*),藻种来源于中国科学院典型培养物保藏委员会淡水藻类库(FACHB)。经过上述步骤,从休眠卵库中共得到 46 个蓼花臂尾轮虫克隆。

1.2 休眠卵库遗传多样性测定

1.2.1 DNA 提取、PCR 扩增及序列测定

参照董云伟等^[18]的方法,采用 Wizard™ 基因组 DNA 纯化试剂盒(Promega, USA)提取轮虫总 DNA。PCR 反应体系(10μl):dNTPs 200mmol/L(TaKaRa, Japan),引物 10pmol/L,2μl DNA 模板,0.5U Taq 酶(TaKaRa, Japan)。线粒体 COI 基因片段的 PCR 扩增所用引物序列为^[19]:LCO1490(5'-GGTCAACAAATCATA-AAGATATTGG-3')和 HCO2198(5'-TAAACTTCAGGCTGACCAAAA AATCA-3')。PCR 产物以 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增产物的大小及纯度,切取含有目的片段的凝胶块,用纯化回收试剂盒(上海华舜公司)回收。使用 ABI PRISM® 3100 全自动测序仪(ABI, USA)测定序列,使用试剂盒为 BigDye™ Terminator Kit(Perkin-Elmer)。

1.2.2 系统发生关系分析

利用 DNASTar 软件包(DNASTAR Inc., 1996)中的 Editseq 和 Seqmen 程序进行序列编辑,并用 Megalign 程

序对所得的序列进行排序。用 Mega 2.1^[20] 统计不同样本之间的核苷酸组成,用 Kimura 双参数模型计算不同单倍型之间的遗传距离。以方形臂尾轮虫 (*Brachionus quadridentatus*) 为外群,用邻接法 (NJ) 和最大简约法 (MP) 构建系统树,系统树各分支的置信度进行 1000 次 bootstrap 重复检验。

1.3 生命表实验及形态参数测量

在遗传多样性测定结果的基础上,选取 4 个单倍型克隆群进行生命表实验以及形态参数测量,每个单倍型 6 个克隆。

生命表实验中,在 25℃ 下设置了 3 个食物浓度梯度(蛋白核小球藻, 1×10^6 cells/ml, 6×10^6 cells/ml, 12×10^6 cells/ml),同时在 6×10^6 cells/ml (蛋白核小球藻) 的食物浓度下设置了 3 个温度梯度(15, 25, 35℃)。正式实验前,将轮虫置于各种设定的实验条件下预培养 48h。分别从各个克隆中吸取出生 4h 以内的幼虫于相应条件下开始实验,每个玻璃培养皿中接入 15 只个体。实验过程中,每隔 12h 检查、记录每组轮虫初始实验个体的存活数和产幼数,并移去幼体,更换培养液,实验至全部个体死亡为止。

净生殖率 (R_0)、内禀增长率 (r_m) 的计算方法参考文献^[21,22]:

$$\text{净生殖率}(R_0) = \sum_0^{\infty} l_x \times m_x \quad \text{内禀增长率}(r_m) \sum_{x=0}^n e^{r_m x} l_x m_x = 1$$

从各实验条件下的不同克隆取若干 4h 以内的幼虫,于相应条件下培养 48h 后,以 5% 体积的甲醛固定并在显微镜下挑取携一枚雌卵的轮虫,测量其背甲长和背甲宽,每个克隆随机吸取 5~10 只个体测量。

本文数据均采用 $\bar{x} \pm \text{SE}$ 表示。用 Two-Way ANOVA 分析单倍型、食物浓度(或温度)以及二者交互作用对种群增长参数和形态指标的影响。之后,用 One-Way ANOVA 及最小显著差数法(LSD)分别对相同实验条件下不同单倍型之间的差异以及相同单倍型在不同食物浓度或温度下的差异进行多重比较。所有统计分析使用 SPSS Ver11.0 统计软件包进行处理,显著性水平设置为 0.05。

2 结果

2.1 休眠卵库遗传结构分析

我们对休眠卵孵化得到的 46 个克隆的线粒体 COI 基因进行测序,得到长度为 543bp 的序列片断。这段序列 A+T 含量较高,平均为 67%,并且 A+T 的分布并不均衡,在密码子的第 1、2、3 位上的 A+T 含量分别为 57.7%、58.1%、85.5%。46 个克隆中共有 6 个单倍型,其中 EB1 和 EB6 这两个单倍型出现频率最高。

表 1 西海蓼花臂尾轮虫休眠卵库 6 个单倍型的频率、GenBank 登录号及其中的多态位点

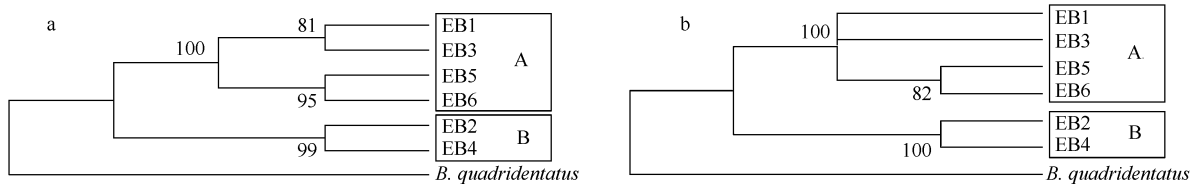
Table 1 Frequency, GenBank Accession Number and Mutation positions of COI sequences among the 6 haplotypes of *B. calyciflorus*

单倍型 Haplotype	频率 Frequency (%)	GenBank 登录号 GenBank accession No.	多态位点 Mutation positions			
			11111111	222233333	4444445555	55
			3701256789	5559012478	2566890112	44
			6527662795	2584787521	0989684060	03
EB1	30.43	EU523638	GCCCAACTAC	ATTCTACCT	TATCCACCAC	AT
EB2	4.35	EU523645	ATTTGGTAGT	C. CTCCTTT.	CGCTT. TGGT	G.
EB3	19.57	EU423647C.....C
EB4	6.78	EU523648	ATTTGGTAGT	C. CTCCTTT.	CGCTT. TG. T	G.
EB5	13.04	EU523649T...CG....	..
EB6	26.09	EU523652T...CGG....	..

这些序列中共有 32 个变异位点(表 1),占核苷酸总数的 5.89%。不同单倍型之间有 1~28 个碱基之间的差异,遗传距离在 0.002~0.058 之间,平均遗传距离为 0.032。各单倍型之间的系统发育关系见图 1。用 NJ 法和 MP 法构建的系统树基本一致,这 6 个单倍型分为 A、B 两个分枝,EB1 和 EB3、EB5 和 EB6 聚成 A 枝,EB2 和 EB4 聚成 B 枝。

2.2 不同单倍型的种群增长差异

25℃ 时,EB1、EB3、EB5 及 EB6 克隆群分别在 3 个食物浓度水平下的 R_0 和 r_m 见表 2。Two-way ANOVA 分

图 1 用 NJ 法(a)和 MP 法(b)构建的萼花臂尾轮虫(*B. calyciflorus*)系统树Fig. 1 NJ tree (a) and MP tree (b) describing relationships among 6 haplotypes of *B. calyciflorus*

析结果显示,单倍型($P=0.007$)、食物浓度($P=0.000$)及二者交互作用($P=0.038$)对克隆群的 R_0 影响显著,其中单倍型和食物浓度的独立影响尤为明显;单倍型($P=0.005$)、食物浓度($P=0.000$)及其交互作用($P=0.027$)对克隆群的 r_m 也均有显著影响,且独立因子影响极为显著。随着食物浓度升高,各克隆群的 R_0 和 r_m 值逐渐升高,one-way ANOVA 分析结果显示,各克隆在不同食物浓度下的 R_0 和 r_m 值差异显著。食物浓度为 1×10^6 cells/ml 时,EB1 和 EB6 克隆群的种群增长较快,且 EB6 克隆群的 R_0 和 r_m 值显著高于 EB5 克隆群;食物浓度为 6×10^6 cells/ml 时,EB1 克隆群的 R_0 和 r_m 值最高,而 EB5 克隆群的 R_0 和 r_m 值最低;食物浓度为 12×10^6 cells/ml 时,EB1 克隆群的 R_0 值显著高于 EB6 克隆群,但 4 个克隆群的 r_m 值无显著差异。

表 2 4 个单倍型在不同食物浓度下的种群增长参数

Table 2 Population growth of *Brachionus* of four studied haplotype at three food density levels

食物浓度 Agal density ($\times 10^6$ cells/ml)	测量参数 Parameters	单倍型 Haplotype			
		EB1	EB3	EB5	EB6
1	R_0	7.44 ± 0.73^a	6.18 ± 0.60^{ab}	5.27 ± 0.85^b	7.63 ± 0.79^{ab}
	r_m	0.58 ± 0.03^a	0.57 ± 0.02^{ab}	0.48 ± 0.06^b	0.61 ± 0.03^a
6	R_0	13.04 ± 1.25^a	12.00 ± 1.23^{ab}	6.97 ± 0.91^c	9.62 ± 0.73^{bc}
	r_m	0.86 ± 0.04^a	0.76 ± 0.02^a	0.58 ± 0.06^b	0.81 ± 0.04^a
12	R_0	16.73 ± 2.04^a	14.45 ± 0.05^{ab}	15.08 ± 1.40^{ab}	10.73 ± 0.98^b
	r_m	1.16 ± 0.06^a	1.02 ± 0.07^a	1.13 ± 0.03^a	1.06 ± 0.05^a

数据用平均值 \pm 标准误表示,不同上标表示组间两两比较具有差异显著($P=0.05$) Data are represented as mean \pm SE; The letters listed in top right corner represent the results of one-way ANOVA analysis for transverse data; Means with no common letter are significantly different ($P < 0.05$)

表 3 所示为食物浓度为 6×10^6 cells/ml 时 EB1、EB3、EB5 及 EB6 克隆群分别在 3 个温度下的 R_0 和 r_m 值。Two-way ANOVA 的结果显示,单倍型($P=0.001$)、食物浓度($P=0.000$)及二者交互作用($P=0.006$)对克隆群的 R_0 影响均极显著;而单倍型($P=0.000$)、食物浓度($P=0.000$)及其交互作用($P=0.000$)对克隆群的 r_m 也均有极显著影响。随着温度升高,各克隆群的 r_m 值均显著升高,但 R_0 值变化情况有所不同,其中温度变化对于 EB5 的 R_0 值则没有影响。15 $^\circ\text{C}$ 与 25 $^\circ\text{C}$ 时,EB5 克隆群的 R_0 和 r_m 值均为最低,并且与其他 3 个克隆群有显著差异;35 $^\circ\text{C}$ 时,EB3 克隆群的 R_0 和 r_m 值最低,显著低于 EB1 和 EB6 克隆群。

表 3 4 个单倍型在不同温度下的种群增长参数

Table 3 Population growth of *Brachionus* of four studied haplotype at three temperature levels

温度 Temperature($^\circ\text{C}$)	测量参数 Parameters	单倍型 Haplotype			
		EB1	EB3	EB5	EB6
15	R_0	13.67 ± 1.23^a	14.62 ± 0.46^a	9.11 ± 1.06^b	13.02 ± 1.13^a
	r_m	0.54 ± 0.02^a	0.53 ± 0.01^a	0.47 ± 0.02^b	0.53 ± 0.02^a
25	R_0	14.24 ± 1.25^a	14.75 ± 1.37^a	9.07 ± 2.08^b	10.02 ± 0.71^b
	r_m	0.89 ± 0.03^a	0.80 ± 0.05^a	0.61 ± 0.07^b	0.84 ± 0.04^a
35	R_0	10.81 ± 0.46^a	7.68 ± 1.05^b	9.53 ± 0.75^{ab}	10.14 ± 0.67^a
	r_m	2.09 ± 0.04^a	1.59 ± 0.10^b	1.91 ± 0.04^a	2.02 ± 0.04^a

数据用平均值 \pm 标准误表示,不同上标表示组间两两比较具有差异显著($P=0.05$) Data are represented as mean \pm SE; The letters listed in top right corner represent the results of one-way ANOVA analysis for transverse data; Means with no common letter are significantly different ($P < 0.05$)

2.3 不同单倍型克隆群的个体大小差异

表 4 所示为 25 $^\circ\text{C}$ 时 EB1、EB3、EB5 及 EB6 克隆群分别在不同食物浓度下的个体大小比较。Two-way

ANOVA 分析结果显示,单倍型($P=0.006$)、食物浓度($P=0.000$)及二者交互作用($P=0.033$)对背甲长影响显著;而单倍型($P=0.001$)、食物浓度($P=0.000$)及其交互作用($P=0.000$)对背甲宽影响极显著。在各种食物浓度条件下,EB3 和 EB5 克隆群的个体较大,EB1 和 EB6 克隆群的个体较小。

表 4 4 个单倍型在不同食物浓度下的个体大小

Table 4 Body size of four studied haplotype at three food density levels

食物浓度 Agal density ($\times 10^6$ cells/ml)	测量参数 Parameters	单倍型 Haplotype			
		EB1	EB3	EB5	EB6
1	背甲长 length	204.89 \pm 7.94 ^b	225.97 \pm 5.16 ^a	191.14 \pm 10.57 ^b	207.83 \pm 2.30 ^{ab}
	背甲宽 width	129.99 \pm 4.24 ^b	146.53 \pm 3.20 ^a	134.04 \pm 1.82 ^b	137.94 \pm 1.96 ^{ab}
6	背甲长	242.14 \pm 5.07 ^{ab}	248.53 \pm 2.62 ^{ab}	251.81 \pm 4.70 ^a	238.25 \pm 5.23 ^b
	背甲宽	166.72 \pm 3.21 ^b	167.99 \pm 0.84 ^b	178.50 \pm 3.22 ^a	160.78 \pm 3.73 ^b
12	背甲长	239.26 \pm 3.21 ^b	253.04 \pm 2.85 ^a	248.10 \pm 5.67 ^{ab}	244.21 \pm 6.49 ^{ab}
	背甲宽	168.23 \pm 2.53 ^{ab}	173.12 \pm 2.95 ^a	165.15 \pm 1.50 ^b	164.36 \pm 1.77 ^b

数据用平均值 \pm 标准误表示,不同上标表示组间两两比较具有差异显著($P=0.05$) Data are represented as mean \pm SE; The letters listed in top right corner represent the results of one-way ANOVA analysis for transverse data. Means with no common letter are significantly different ($P < 0.05$)

EB1、EB3、EB5 及 EB6 克隆群分别在不同温度下的个体大小见表 5。Two-way ANOVA 分析结果显示,单倍型($P=0.000$)、食物浓度($P=0.000$)及二者交互作用($P=0.027$)对背甲长有显著影响;单倍型($P=0.000$)、食物浓度($P=0.000$)及其交互作用($P=0.000$)对背甲宽则有极显著影响。其中,15 $^{\circ}\text{C}$ 和 25 $^{\circ}\text{C}$ 时,EB3 克隆群个体最大;35 $^{\circ}\text{C}$ 时,EB5 克隆群个体最大;而 EB6 克隆群在 3 个温度下个体均为最小。

表 5 4 个单倍型在不同温度下的个体大小

Table 5 Body size of four studied haplotype at three temperature levels

温度 Temperature($^{\circ}\text{C}$)	测量参数 Parameters	单倍型 Haplotype			
		EB1	EB3	EB5	EB6
15	背甲长 length	220.73 \pm 4.82 ^{bc}	235.37 \pm 4.85 ^a	231.18 \pm 2.31 ^{ab}	217.98 \pm 3.33 ^c
	背甲宽 width	137.96 \pm 3.47 ^d	165.48 \pm 2.29 ^a	157.09 \pm 1.54 ^b	147.88 \pm 2.73 ^c
25	背甲长	241.23 \pm 3.00 ^{bc}	253.47 \pm 2.71 ^a	250.29 \pm 3.59 ^{ab}	233.35 \pm 3.22 ^c
	背甲宽	165.47 \pm 1.59 ^{ab}	170.52 \pm 1.27 ^a	171.91 \pm 2.90 ^a	160.40 \pm 3.24 ^b
35	背甲长	247.59 \pm 5.27 ^a	252.86 \pm 3.65 ^a	256.99 \pm 4.71 ^a	219.75 \pm 4.90 ^b
	背甲宽	164.55 \pm 3.29 ^b	170.76 \pm 0.91 ^{ab}	173.84 \pm 2.06 ^a	148.46 \pm 3.39 ^c

数据用平均值 \pm 标准误表示,不同上标表示组间两两比较具有差异显著($P=0.05$) Data are represented as mean \pm SE; The letters listed in top right corner represent the results of one-way ANOVA analysis for transverse data. Means with no common letter are significantly different ($P < 0.05$)

3 讨论

对西海萼花臂尾轮虫休眠卵库中孵化的轮虫克隆的线粒体 COI 序列进行测定后,发现了 6 个单倍型,单倍型之间的遗传距离为 0.002 ~ 0.058,平均遗传距离为 0.032。同年 9 月到 10 月间,采集了 4 次萼花臂尾轮虫生活种群(每周 1 次),对线粒体 COI 序列片段进行测定后共发现 15 个单倍型,单倍型之间的遗传距离为 0.002 ~ 0.131,平均遗传距离为 0.069^[23]。尽管休眠卵库中发现的单倍型在秋季的生活种群中均有出现,休眠卵库中的单倍型不管是数量、还是遗传分化水平都远远低于秋季的生活种群。出现这种现象的原因可能是:(1)诱导休眠卵孵化的实验室条件对一些单倍型无效,因而休眠卵库孵化不够充分;(2)采样时,湖中休眠卵已经有大规模的孵化,从而导致休眠卵库的损耗;(3)休眠卵在底泥中的分布不均,而在湖中选取的采样点较少,不足以代表整个湖中的轮虫种群休眠卵库。

已有的研究表明,遗传因素是影响轮虫种群增长的重要内源性因素^[24]。不仅同种轮虫不同品系间的种群增长率存在显著差异^[25],同种轮虫不同品系(或克隆)种群增长所需的最适食物浓度以及种群瞬时增长率达最大之时所需的食物浓度也有所不同^[26-28]。本研究发现,遗传背景对于同一种群内不同克隆群个体的适合度特征也有重要的影响。在本研究设定的所有实验条件下,EB1 克隆群的生长相对来说比较有优势,能够较好地适应多种环境,推断该单倍型可能是种群中的“宽生态位者(ecological generalist)”。同年 9 月到

10 月间,4 周里 EB1 出现的频率及数量最高,是西海种群中的“优势单倍型”^[23]。EB3 克隆群在高温(35℃)条件下的 R_0 和 r_m 值明显低于其他单倍型,种群增长较慢,说明 EB3 克隆群可能不太适应于高温环境。多数实验条件(食物浓度梯度: 1×10^6 cells/ml、 6×10^6 cells/ml, 25℃; 温度梯度为 15、25℃, 食物浓度 6×10^6 cells/ml)下,EB5 克隆群的 R_0 和 r_m 值明显低于其他单倍型,该单倍型可能是种群中的“窄生态位者(ecological specialisation)”——除了在高温(35℃)环境中具有较高种群增长率,其他环境条件下都无法在种群中占据优势。EB6 克隆群的 R_0 值在 12×10^6 cells/ml 食物浓度下远远低于其他单倍型,可能该单倍型在高食物浓度条件下对食物的利用效率较低。另外,25℃时,EB6 克隆群的 R_0 值明显低于 EB1 和 EB3 克隆群,但 15℃和 35℃时 R_0 和 r_m 值均较高,可能该单倍型与其他单倍型相比更适应于较极端环境温度,中间温度(25℃)下反而不具备生长优势。由此看来,西海萼花臂尾轮虫休眠卵库中的各个克隆群出现了一定的生态位分化。还发现,温度梯度实验组中,这 4 个单倍型的 R_0 值随温度的变化趋势明显不同。比如,EB1 和 EB3 克隆群的 R_0 值在高温(35℃)时才会受到抑制,EB6 克隆群的 R_0 值则在 25℃时即开始明显降低,而 EB5 克隆群的 R_0 值对温度变化并不敏感,说明不同的克隆群对于环境温度的变化有不同的生殖反应,这或许也是种群内部出现生态位分化的原因之一。克隆群的生态位分化对于种群的空间分布以及时间演替具有重要影响。对于一年中大部分时间都出现于某一湖泊或池塘的种群,其周围的物理、化学及生物环境会发生一系列空间及时间上的变化。同一时间内,生态位分化允许不同的克隆群在水体中占据不同的“微环境”,从而使不同克隆群形成空间上的共存;当环境随着季节改变而发生剧烈波动时,适应能力较强的克隆群(比如“宽生态位者”)可以继续存活,而那些无法耐受这种环境变化的克隆群(比如“窄生态位者”)则从水体中消失,被其他克隆群所取代,从而形成克隆群在时间上的演替。

Serra 等^[29]指出,轮虫被甲的形态和大小受生态因子和遗传背景双重因素的决定。本研究中,单倍型和生态因子(食物浓度和温度)及二者交互作用对个体大小均有重要影响。在相同的实验条件下,不同克隆群的个体大小有一定的显著差异。食物浓度梯度组实验中,EB1 克隆群的个体明显较小,这与其较高的 R_0 和 r_m 值相对应。Savage^[30]等认为,个体大小决定生物的代谢率,而生物的代谢率决定着种群的增长率,通常较小的个体具有较高的种群增长率,因此选择作用可能会倾向于较小的个体。EB5 克隆群的个体偏大, 1×10^6 cells/ml 和 6×10^6 cells/ml 食物浓度下,其 R_0 和 r_m 值显著低于其他 3 个克隆群;而 EB6 克隆群个体较小, 1×10^6 cells/ml 和 6×10^6 cells/ml 食物浓度下,种群增长较快,但在 12×10^6 cells/ml 食物浓度下 R_0 和 r_m 值则为最低。Stemberger 等^[34]的研究结果显示,体型较小轮虫的阈食物水平较低,且维持较高种群增长率所需的食物水平也较低,适应生活在食物匮乏的环境中;而体型较大的轮虫仅适应于食物丰富的环境,但由于繁殖能力较高,能够稳定地快速增长。这与我们的实验结果是吻合的。温度梯度组实验中,EB6 克隆群的个体在三种温度条件下均为最小。Miracle & Serra^[31]分析 King & Miracle^[32]和 Serra^[33]的数据表明,个体越小,与温度关联的生长率越高。EB6 克隆群的这种现象可能与该单倍型在各种温度条件下 R_0 和 r_m 值较高有关。而 EB5 克隆群在 15℃和 25℃时个体较大,也可用相应条件下 R_0 和 r_m 值较低来解释。另外,Serra 认为^[33],高温下,个体较小的世系其生长率常常比个体较大的世系高得多。这与 35℃时的实验结果相符。研究表明,轮虫的个体大小不仅出现了分化,并且这种分化与其适合度特征相对应。EB3 克隆群的个体较大,但 15℃和 25℃时,其 R_0 和 r_m 值较高。轮虫的繁殖数量和种群增长除了与个体大小有一定关系,还有其他的适应机制作用参与其中,比如混交模式。

References:

- [1] De Stasio B T. The seed bank of a freshwater crustacean: copepodology for the plant ecologist. *Ecology*, 1989, 70: 1377 - 1389.
- [2] Belmonte G, Rossi V. Resurrection and time traveling: diapause in crustaceans (and others). *Trend in Ecol & Evol*, 1998, 13: 4 - 5.
- [3] Hairston N G. Zooplankton egg banks as biotic reservoirs in changing environments. *Limnol Oceanogr*, 1996, 41: 1087 - 1092.
- [4] Hairston N G, Cáceres C E. Distribution of crustacean diapause: micro- and macroevolutionary patterns and processes. *Hydrobiologia*, 1996, 320: 27 - 44.

- [5] Carvalho G R, Wolf H G. Resting eggs in *Daphnia* I. Distribution, abundance and hatching of resting eggs collected from various depths in lake sediments. *Freshwater Biology*, 1989, 22: 459 — 470.
- [6] Marcus N H, Lutz R, Burnett W, *et al.* Age, viability, and vertical distribution of zooplankton resting eggs from an anoxic basin: evidence of an egg bank. *Limnol Oceanogr*, 1994 39: 154 — 158.
- [7] Hairston N G, Van Brunt R A, Kearns C M. Age and survivorship of diapausing eggs in a sediment egg bank. *Ecology*, 1995, 76: 1706 — 1711.
- [8] Nipkow F. Die R dertiere im Plankton des Z richsee und ihre Entwicklungsphasen. *Schweiz. Z. Hydrol.*, 1961, 23: 398 — 461.
- [9] Snell T W, Burke B E, Messur S D. Size and distribution of resting eggs in a natural population of the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Gulf Research Reports*, 1983, 7: 285 — 287.
- [10] Ortells R, Snell T W, Gómez A, *et al.* Patterns of genetic differentiation in resting egg banks of a rotifer species complex in Spain. *Arch. Hydrobiologia*, 2000, 149: 529 — 551.
- [11] Gómez A, Carvalho G R. Sex, parthenogenesis and genetic structure of rotifers: microsatellite analysis of contemporary and resting egg bank populations. *Molecular Ecology*, 2000, 9: 203 — 214.
- [12] Gómez A, Carvalho G R, Lunt D H. Phylogeography and regional endemism of a passively dispersing zooplankton mtDNA variation in rotifer resting egg banks. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 2000, 267: 2189 — 2197.
- [13] Gómez A, Adcock G A, Lunt D H, *et al.* The interplay between colonization history and gene flow in passively dispersing zooplankton: microsatellite analysis of rotifer resting egg banks. *Journal of Evolutionary Biology*, 2002, 15: 158 — 171.
- [14] Hairston N G, De Stasio B T. Rate of evolution slowly by a dormant propagule pool. *Nature*, 1988, 336: 239 — 242.
- [15] Hairston N G, Kearns C M, Ellner S. Phenotypic variation in a zooplankton egg bank. *Ecology*, 1996, 77: 2382 — 2392.
- [16] Brendonck L, De Meester L. Egg banks in freshwater zooplankton: Evolutionary and ecological archives in the sediment. *Hydrobiologia*, 2003, 491: 65 — 84.
- [17] Gilbert J J. Mictic female production in rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Journal of Experimental Zoology*, 1963, 153: 113 — 124.
- [18] Dong Y W, Niu C J, Bao L, *et al.* Method for extracting DNA from single rotifer and sequencing partial mitochondria cytochrome oxidase subunit I (CO I) gene. *Zoological Research*, 2002, 23(1): 81 — 83.
- [19] Folmer O, Black M, Hoeh W, *et al.* DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrate. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 1994, 3: 294 — 299.
- [20] Kumar S, Tamura K, Jakobsen I B, *et al.* MEGA: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Software, Version 2. 1. Arizona: Arizona State University, 2001.
- [21] Krebs C J. *Ecology. The experimental analysis of distribution and abundance.* 3rd edn. New York: Harper and Row, 1985.
- [22] Pianka E R. *Evolutionary Ecology.* 3rd edn. New York: Harper and Row, 1988.
- [23] Li L. Temporal variation of population genetic structure and genetic differentiation in resting-egg bank of *Brachionus calyciflorus*. Beijing: Beijing Normal University, 2005.
- [24] Lubzens E. Raising rotifers for use in aquaculture. *Hydrobiologia*, 1987, 147: 245 — 255
- [25] Xi Y L, Liu G Y, Jin H J. Population growth, body size, and egg size of two different *Brachionus calyciflorus* strains fed different algae. *Journal of Freshwater Ecology*, 2002, 17: 185 — 190.
- [26] Guisande C, Mazuelos N. Reproductive pattern of *Brachionus calyciflorus* Pallas at different food concentrations. *Journal of Plankton Research*, 1991, 13 (2): 279 — 286.
- [27] Xi Y L, Huang X F, Wang B Q, *et al.* The effect of environment factors on the population dynamics of *Brachionus calyciflorus*. *Journal of Anhui Normal University (Natural Science)*, 2000, 23(4): 334 — 338.
- [28] Zhang L, Xi Y L, Dong L L, *et al.* Allozyme analysis on the summer population of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera) in lake Jinghu and reproductive variation among clones. *Acta Zoologica Sinica*, 2005, 51(4): 278 — 284.
- [29] Serra M, Galiana A, Gómez A. Speciation in monogonont rotifers. *Hydrobiologia*, 1997, 358: 63 — 70.
- [30] Savage V M, Gillooly J F, Brown J H, *et al.* Effects of body size and temperature on population growth. *The American Naturalist*, 2004, 163 (3): 429 — 441.
- [31] Miracle M R, Serra M. Salinity and temperature influence in rotifer life history characteristics. *Hydrobiologia*, 1989, 186/187 (Dev. Hydrobiol. 52): 81 — 102.
- [32] King C E, Miracle M R. A perspective on aging in rotifers. *Hydrobiologia*, 1980, 73 (Dev. Hydrobiol. 1): 13 — 19.
- [33] Serra M. Variaci n morfom trica, isoenzim ticay demogr fica en poblaciones de *Brachionus plicatilis*: diferenciaci n gen ticay plasticidad fenot pica. Ph. D. dissertation, University of Valencia, Valencia, Spain, 1987.
- [34] Stemberger R S, Gilbert J J. Body size, food concentration and population growth in planktonic rotifers. *Ecology*, 1985, 66 (4): 1151 — 1159.

参考文献:

- [18] 董云伟,牛翠娟,鲍蕾,等. 单只轮虫 DNA 提取及细胞色素 C 氧化酶 I 亚基部分序列测定. *动物学研究*, 2002, 23(1): 81 ~ 83.
- [23] 李黎. 蓼花臂尾轮虫 (*Brachionus calyciflorus*) 种群遗传结构的时间变化及休眠卵库的遗传分化模式研究. 北京: 北京师范大学, 2005.
- [27] 席贻龙, 黄祥飞, 汪本勤, 等. 环境因子对蓼花臂尾轮虫种群动态的影响. *安徽师范大学学报(自然科学版)*, 2000, 23(4): 334 ~ 338.
- [28] 张雷, 席贻龙, 董丽丽, 等. 镜湖蓼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.