

中国两性生殖卤虫卵及无节幼体的数值分类*

周可新^{1,2} 许木启¹ 管越强² 印象初^{2**}

(1: 中国科学院动物研究所, 北京 100080; 2: 河北大学生命科学学院, 保定 071002)

提 要 本文用数值分类的方法对来自我国山西、内蒙古以及青藏高原的共 15 个两性生殖卤虫品系的卵、无节幼体进行了研究. 通过卵和无节幼体的聚类分析, 青藏高原卤虫品系和其它品系得到很好的分离. 发现青藏高原卤虫品系的卵有三个特征, 即卵径大, 卵壳厚, 卵呈紫红色, 这些特征均是对那里高寒环境的适应. 研究表明, 随着分布区海拔的升高, 中国各卤虫品系的卵和无节幼体有增大的趋势. 其中西藏拉果错卤虫的卵和无节幼体是世界上所有已知品系中最大的.

关键词 中国 两性生殖卤虫 卵 无节幼体 数值分类

分类号 Q959.223+.12

卤虫的地理品系不同, 在遗传育种和水产养殖中往往具有不同的意义. 因此, 迅速而准确地鉴别卤虫品系至关重要. 不同产地卤虫卵的卵径和无节幼体体长有其固定的分布范围, 并且卵壳的厚度也有区别, 因此, 可利用卤虫的卵径和无节幼体体长进行统计比较和归类, 初步确定卤虫卵的来源, 以辅助卤虫品系的鉴定工作. Vanhaecke 等^[1]对分布于世界各地的主要卤虫品系的卵径进行了全面的分析和比较, 根据卵的直径和壳的厚度, 将不同虫卵分为三大类: 第一类以旧金山卤虫卵为主, 卵径较小; 第二类以分布于欧亚大陆的孤雌生殖卤虫为主, 卵径较大; 第三类以美国大盐湖及加拿大卓别林湖的卤虫为代表, 基本上为薄壳卤虫卵. 唐森铭^[2]利用主成分分析(principal component analysis)和多元排列法(multi-dimensional scaling)对已发表资料和国内部分卤虫卵的卵径进行了分析比较, 分析结果表明, 中国沿海孤雌生殖卤虫卵通过分组得到很好分离, 显示卵径随卤虫分布区南移而增大. 赵彩霞^[3]对中国西北地区内陆盐湖卤虫卵径进行了测定.

有关中国卤虫分类地位的研究工作始于 1988 年, 蔡亚能将山西运城盐湖的卤虫定名为中华卤虫(*Artemia sinica*). 高明君等^[4]根据遗传相关性分析的结果, 认为新疆阿尔泰的两性生殖卤虫也属于中华卤虫. 杨光等^[5]经生殖隔离测定, 认为内蒙古杭锦旗、吉林工农湖两品系卤虫与中华卤虫为同一个种. 侯林等^[6]的研究结果表明内蒙古努合图等 7 个品系及河北尚义的品系与中华卤虫间不存在生殖隔离, 它们也为中华卤虫(*Abatzopoulos*)等^[7]将西藏拉果错的卤虫品系订了一个新种, 名为西藏卤虫(*Artemia tibetiana*). 许多学

* 国家自然科学基金项目(30170159、39970138), 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-SW-102)和知识创新工程领域前沿项目(KSCX3-10Z-02)联合资助.

2002-12-15 收稿, 2003-03-08 收修改稿. 周可新, 男, 1974 年生, 在读博士生.

** 通讯作者.

者对中华卤虫是否存在提出过怀疑,认为其有可能就是 *Artemia urmiana*, 如 Abreu-Grobois^[8]和 Browne^[9]. Sorgeloos 等^[10]、Pilla 等^[11]的实验结果也证明中华卤虫与 *Artemia urmiana* 间并不存在生殖隔离. 但侯林所做的二者间的杂交实验没有成功^[12]. 孙易等^[13]利用 RAPD (随机扩增多态 DNA) 和 AFLP (扩增片段长度多态性) 技术对不同种及种群卤虫的关系进行分析, 认为中华卤虫和西藏卤虫均为独立的种. 印象初等^[14]对西藏卤虫是否存在提出了疑问. 可见, 有关中国两性生殖卤虫的分类地位问题, 不同学者观点不同. 而青海苟鲁错、新疆鲸鱼湖、西藏其香错这几个高海拔分布的卤虫品系, 本文为第一次报道, 其分类地位更是无从谈起. 本研究不仅能对我国西部地区卤虫资源的开发提供帮助, 更为最终解决中国两性生殖卤虫品系的分类地位问题提供重要依据.

本实验在显微镜下测量了山西运城解池、内蒙古杭锦旗盐海子、青海小柴旦、苟鲁错、新疆鲸鱼湖、西藏其香错、拉果错等 7 个卤虫品系的干卵径、水合卵径、脱壳卵径、无节幼体体长, 每个品系测 100 个样, 计算平均值. 计算出各品系卤虫卵的卵壳厚度, 并与已发表的资料做比较, 用 SPSS 统计软件做聚类分析.

1 材料与方法

1.1 材料

各两性生殖卤虫品系采集地盐湖的名称、所属政区、经纬度、面积、水深、海拔、种名及代号见表 1.

表 1 卤虫卵及其来源

Tab. 1 *Artemia* cysts and their sources

采集地点	所属政区	经度	纬度	面积 (km ²)	海拔 (m)	种名	代号
解池	山西	110.8° E	34.9° N	28.0	320	<i>A. sinica</i>	XC
盐海子	内蒙古	108.5° E	40.1° N	18.0	1177	<i>A. sinica</i>	YHZ
额吉淖尔	内蒙古	116.5° E	45.2° N	26.0	830	<i>A. sinica</i>	EJ
桑根达莱淖尔	内蒙古	115.8° E	42.6° N	3.5	1300	<i>A. sinica</i>	SGDL
北大池	内蒙古	107.4° E	38.0° N	20.0	1292	<i>A. sinica</i>	BDC
浩勒报吉淖尔	内蒙古	108.6° E	38.7° N	5.5	1335	<i>A. sinica</i>	HLBJ
巴彦淖尔	内蒙古	115.6° E	43.9° N	8.1	1046	<i>A. sinica</i>	BY
达格淖尔	内蒙古	116.0° E	42.5° N	1.5		<i>A. sinica</i>	DG
伊和淖尔	内蒙古	115.3° E	42.7° N	2.6		<i>A. sinica</i>	YH
呼和陶勒盖淖尔	内蒙古	108.6° E	39.0° N	2.0		<i>A. sinica</i>	HHTLG
小柴旦	青海	95.4° E	37.4° N	64.0	3172	<i>A. sinica</i>	XCD
苟鲁错	青海	92.5° E	34.6° N	30.0	4600	未定	GLC
鲸鱼湖	新疆	89.9° E	36.3° N	300.0	4720	未定	JYH
其香错	西藏	90.0° E	32.5° N	165.0	4660	未定	QXC
拉果错	西藏	84.1° E	32.0° N	92.0	4490	<i>A. tibetiana</i>	LGC

1.2 方法

1.2.1 干卵径的测量 将卤虫卵放入干燥器内干燥 2d 后, 置于显微镜下用目微尺测量, 每个品系测 100 粒, 计算平均值.

1.2.2 水合卵径的测量 将干卵置于自来水中浸泡 4h, 视其充分吸水后在显微镜下用目微尺测量, 每个品系测 100 粒, 计算平均值.

1.2.3 脱壳卵径的测量 将卤虫卵放入 28°C 自来水中吸水 1h 后, 加入等体积次氯酸钠溶液 (最终浓度为 2.6% 左右), 混合 30min, 再自来水冲洗 5min, 即获脱壳卵. 在显微镜下用目微尺测量, 每个品系测 100 粒, 计算平均值. 卵壳厚度以水合卵径与脱壳卵径之差的 1/2 计算.

1.2.4 无节幼体体长的测量 将卤虫卵放入 30‰ 盐度的孵化液中孵化, 当孵出的无节幼体数达到可孵出总数的约 90% 时, 取出无节幼体, 用氯仿麻醉后在显微镜下用目微尺测其体长, 每个品系测 100 只, 计算平均值.

1.2.5 聚类分析 将测量结果在 SPSS 软件下做聚类分析. 选择最近邻法 (Nearest neighbor) 为聚类方法, 即首先合并最近的和最相似的两项, 用两类间最近点间的距离代表两类间的距离. 选择欧几米得距离的平方 (Squared Euclidean distance) 作为距离的测度, 即两项之间的距离是每个变量值之差的平方和. 把数值标准化到 Z 分数. 即标准化后变量均值为 0, 标准差为 1. 系统将每一个值减去正被标准化的变量或观测量的均值, 再除以其标准差. 如果标准差为 0, 则将所有值置为 0.

2 结果与讨论

各卤虫品系测量平均值间的差异非常大, 如干卵径最大的拉果错品系比干卵径最小的盐海子品系大约 50%, 卵壳最厚的其香错品系是最薄的盐海子品系的近 3 倍 (表 2).

经比较, 山西和内蒙古的两性生殖卤虫品系在卵和无节幼体的大小上较为相似, 属于同一类型的卤虫品系. 这些卤虫品系分布区的海拔均在 2000m 以下. 而青藏高原 5 个卤虫品系的干卵径、水合卵径、脱壳卵径、卵壳厚度及无节幼体体长的平均值分别为 267.79 μm , 307.01 μm , 276.80 μm , 15.11 μm , 595.86 μm , 比来自山西、内蒙古卤虫品系的相应平均值要大得多. 它们分布区的海拔均在 3000m 以上. 由此可看出, 至少对于中国的卤虫而言, 它们的卵径及无节幼体有随分布区海拔增高而变大的趋势, 这是符合生态学基本规律的. 其中西藏拉果错卤虫 (*Artemia tibetiana*) 的卵和无节幼体是世界上所有已知品系中最大的. 表 3 为卤虫卵及无节幼体的相似性矩阵.

从图 1 中可看出, 16 个卤虫品系基本上可以分为两类, 一类为山西、内蒙古的卤虫品系, 即中华卤虫 *Artemia sinica*. 它们的特点是卵径小, 卵壳薄, 无节幼体体长较短. 另一类为青藏高原的卤虫品系, 它们的特点是卵径大, 卵壳厚, 无节幼体体长较长, 其中, 小柴旦和苟鲁错品系较为接近, 鲸鱼湖、拉果错和其香错品系较为接近.

值得注意的是, 分布区海拔在 4000m 以上的青海苟鲁错、新疆鲸鱼湖、西藏其香错、西藏拉果错等几个卤虫品系的卵均呈紫红色, 这是对青藏高原高寒生境的适应, 可有效防止紫外线对胚胎活力和卤虫发育的危害. 青海小柴旦卤虫卵的颜色也较红, 但比以上几个品系卵的颜色浅些. 低海拔分布区卤虫品系卵的颜色最浅.

由此, 可以总结出青藏高原卤虫品系卵的三个特点: (1) 卵径大; (2) 卵壳厚; (3) 卵呈紫红色. 这与刘俊英等的观点是一致的^[15].

表 2 各卤虫品系卵及无节幼体的生物学测定值

单位: μm Tab. 2 The biological determination of cysts and nauplii of each *Artemia* strains

品系	干燥卵径	水合卵径	脱壳卵径	卵壳厚度	无节幼体体长	资料来源
XC	220.25 ± 12.99	246.99 ± 11.99	230.74 ± 15.30	8.13	506.86 ± 37.38	本文
YHZ	201.15 ± 14.43	239.56 ± 15.18	224.09 ± 13.56	7.74	461.26 ± 29.31	本文
EJ	212.40 ± 9.40	241.00 ± 11.20	219.00 ± 12.30	11.00	425.80 ± 8.10	文献[3]
SGDL	216.40 ± 9.60	244.50 ± 18.80	230.40 ± 19.90	7.05	480.70 ± 16.40	文献[3]
BDC	213.90 ± 10.10	242.20 ± 11.10	221.90 ± 11.00	10.15	443.90 ± 12.90	文献[3]
HLBJ	217.10 ± 9.80	249.00 ± 13.30	231.30 ± 14.60	8.85	438.00 ± 12.00	文献[3]
BY	215.00 ± 11.60	235.80 ± 17.40	223.10 ± 15.50	6.35	414.80 ± 9.80	文献[3]
DG	211.60 ± 9.80	244.50 ± 13.70	231.70 ± 13.50	6.40	470.30 ± 13.30	文献[3]
YH	214.80 ± 13.80	245.50 ± 12.00	231.00 ± 12.00	7.25	478.00 ± 14.70	文献[3]
HHTLG	218.20 ± 10.70	246.00 ± 13.40	223.50 ± 8.70	11.25	425.10 ± 17.90	文献[3]
XCD	238.34 ± 11.78	274.65 ± 14.26	251.60 ± 14.13	11.53	528.80 ± 33.21	本文
GLC	264.03 ± 13.33	292.15 ± 13.95	266.90 ± 18.10	12.63	568.77 ± 30.82	本文
JYH	279.16 ± 15.24	326.08 ± 12.38	292.09 ± 14.50	17.00	624.18 ± 29.84	本文
QXC	254.61 ± 14.45	304.64 ± 16.37	264.64 ± 12.56	20.00	588.58 ± 30.61	本文
LGC	302.79 ± 20.39	337.55 ± 22.33	308.77 ± 21.32	14.39	668.96 ± 41.78	本文

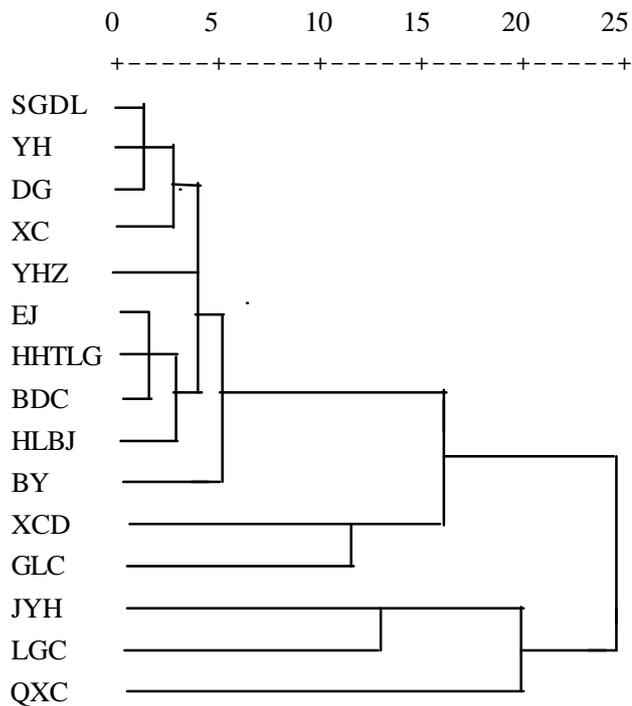


图 1 卤虫卵及无节幼体聚类分析的树形图

Fig. 1 Dendrogram of hierarchical cluster analysis for *Artemia* cysts and nauplii

表 3 卤虫卵及无节幼体的相似性矩阵

Tab.3 Proximity matrix for *Artemia* cysts and nauplii

	XC	YHZ	EJ	SGDL	BDC	HLBJ	BY	DG
XC		0.870	1.861	0.206	1.066	0.819	1.792	0.495
YHZ	0.870		1.042	0.429	0.606	0.600	0.703	0.346
EJ	1.861	1.042		1.655	0.113	0.588	1.411	1.854
SGDL	0.206	0.429	1.655		0.921	0.516	0.875	0.072
BDC	1.066	0.606	0.113	0.921		0.277	1.070	1.120
HLBJ	0.819	0.600	0.588	0.516	0.277		0.718	0.593
BY	1.792	0.703	1.411	0.875	1.070	0.718		0.677
DG	0.495	0.346	1.854	0.072	1.120	0.593	0.677	
YH	0.219	0.366	1.526	0.008	0.828	0.436	0.864	0.068
HHTLG	1.765	1.343	0.090	1.662	0.169	0.472	1.605	1.927
XCD	2.398	5.265	4.882	3.542	4.038	3.410	6.767	4.306
GLC	7.539	12.663	11.798	9.485	10.594	9.450	14.300	10.702
JYH	21.405	29.097	26.971	24.709	25.586	24.123	32.132	26.546
QXC	15.533	21.018	17.589	18.602	17.066	17.124	24.595	20.383
LGC	29.536	39.234	38.264	33.145	36.110	33.596	41.869	35.125

	YH	HHTLG	XCD	GLC	JYH	QXC	LGC
XC	0.219	1.765	2.398	7.539	21.405	15.533	29.536
YHZ	0.366	1.343	5.265	12.663	29.097	21.018	39.234
EJ	1.526	0.090	4.882	11.798	26.971	17.589	38.264
SGDL	0.008	1.662	3.542	9.485	24.709	18.602	33.145
BDC	0.828	0.169	4.038	10.594	25.586	17.066	36.110
HLBJ	0.436	0.472	3.410	9.450	24.123	17.124	33.596
BY	0.864	1.605	6.767	14.300	32.132	24.595	41.869
DG	0.068	1.927	4.306	10.702	26.546	20.383	35.125
YH		1.532	3.476	9.467	24.588	18.366	33.168
HHTLG	1.532		3.961	10.181	24.441	15.791	35.217
XCD	3.476	3.961		1.659	9.667	6.324	16.142
GLC	9.467	10.181	1.659		3.769	3.667	7.616
JYH	24.588	24.441	9.667	3.769		2.833	1.862
QXC	18.366	15.791	6.324	3.667	2.833		9.130
LGC	33.168	35.217	16.142	7.616	1.862	9.130	

鉴于青海苟鲁错、新疆鲸鱼湖、西藏其香错等三个卤虫品系在卵和无节幼体的特征上与西藏卤虫较为相似, 同时, 它们的地理分布也较为接近. 因此, 这三个卤虫品系很可能是西藏卤虫的地理亚种, 其具体分类地位尚需做进一步的研究.

青藏高原盐湖星罗棋布, 据初步资料统计, 盐度适合卤虫繁衍的盐湖在 59 个以上, 面积达数千平方公里, 蕴藏着丰富的卤虫资源^[16,17]. 这些盐湖多位于高寒偏僻地区, 无人干扰, 湖中浮游生物密度大, 水体 COD 值高, 具有丰富的营养源. 由于生态环境稳定, 因而卤虫和卤虫卵的氨基酸、脂肪酸的组成与含量处于较稳定状态, 这是保证卤虫卵质量的先决条件. 目前我国已调查的卤虫品系中, 以高原盐湖卤虫营养成分含量为最高^[18], 如青海小柴旦和尕斯库勒湖卤虫卵的质量甚至优于美国大盐湖卤虫卵^[19]. 但由于海拔高、交通不便, 大多数盐湖的卤虫资源尚未被开发, 有的甚至至今还不为所知, 如本实验所用的青海苟鲁错、新疆鲸鱼湖、西藏其香错等三个卤虫品系就是首次被研究, 它们分布区的海拔

高度均在 4000m 以上,而在此之前国内所研究过的海拔超过 4000m 的卤虫品系只有拉果错。现在开发大西北,盐湖生物资源也应开发,而小小的卤虫蕴藏着巨大的经济效益,本研究将对西部地区卤虫资源的开发提供科学依据。

致谢 解池卤虫卵由张道川副教授采集,拉果错卤虫卵由中国制盐工程技术研究院于秀玲同志提供,小柴旦、苟鲁错、其香错的卤虫卵均由印展同志采集,在此一并致谢。

参 考 文 献

- 1 Vanhaecke P, Sorgeloos P. International Study on *Artemia*. IV. The biometrics of *Artemia* strains from different geographical origin. In: The Brine shrimp *Artemia*. Vol. 3. Ecology, Culture, Use in Aquaculture. Universa Press, Wetteren, Belgium, 1980:393—405
- 2 唐森铭. 卤虫卵径的分组和比较. 海洋学报, 1997, 19(1):81—86
- 3 赵彩霞. 中国西北地区内陆盐湖卤虫卵径研究. 水产学杂志, 1998, 11(1):40—46
- 4 高明君, 葛 兰, 蔡亚能. 不同地理品系卤虫的同工酶变异初步研究. 青岛海洋大学学报, 1994, 24(1):40—46
- 5 杨 光, 蔡含筠, 侯 林. 中国六个盐湖卤虫品系生物学特征的研究. 海洋湖沼通报, 1995, (3):39—47
- 6 侯 林, 杨 光, 蔡含筠. 中国两性生殖卤虫 11 个品系间的生殖隔离. 海洋湖沼通报, 1997, (1):48—52
- 7 Abatzopoulos T J, Zhang B, Sorgeloos P. *Artemia tibetiana*: preliminary characterization of a new *Artemia* species found in Tibet (People's Republic of China). International Study on *Artemia*. LIX. *International Journal of Salt Lake Research*, 1998, 7:41—44
- 8 Abreu-Grobois F A, Beardmore J A. Genetic characterization and intra-generic relationship of *Artemia monica* Verrill and *A. urmiana* Günther. *Hydrobiologia*, 1991, 21(2):151—168
- 9 Browne R A. Population genetics and ecology of *Artemia*: Insights into parthenogenetic reproduction. *Trends in Ecology & Evolution*, 1992, 7(7):232—237
- 10 Borgeloos P. Classification with regard to the taxonomic status of bisexual *Artemia* from Asia. *Larviculture and Artemia Newsletter*. March, 1991, 19: 45
- 11 Plla E J S. Beardmore J A. Genetic and morphometric differentiation in Old World bisexual species of *Artemia* (the brine shrimp). *Heredity*, 1994, 73:47—56
- 12 侯 林, 蔡含筠, 邹向阳等. 中国两性生殖卤虫同工酶基因的表达及分类地位. 动物学报, 1997, 43(2):184—191
- 13 孙 易, 宋文芹, 钟贻诚等. 用 RAPD 和 AFLP 的方法对中国卤虫(*Artemia*)种及亲缘关系的研究. 遗传学报, 2000, 27(3):210—218
- 14 印象初, 印 红, 周可新等. 高原盐湖盐藻和卤虫资源的开发和利用. 盐湖研究, 2001, 9(1):4—8
- 15 刘俊英, 郑绵平, 罗 健. 西藏拉果错卤虫——1. 生物学特征. 湖泊科学, 1998, 10(2):92—96
- 16 郑绵平. 论“盐湖农业”. 地球学报, 1995, 4:404—418
- 17 马志珍, 陈汇远, 武振彬等. 中国内陆盐湖卤虫资源开发利用的研究. 海洋水产研究, 1996, 17(1):1—14
- 18 刘俊英, 罗 健, 郑绵平. 西藏拉果错卤虫——2. 营养成分. 湖泊科学, 1999, 11(3):283—288
- 19 有索瑞. 卤虫(*Artemia*)卵营养成分的比较研究. 高原生物学集刊第 13 集, 1997: 147—152

Numeric Taxonomy Using Cysts and Nauplii of Bisexual *Artemia* from China

ZHOU Kexin^{1,2}, XU Muqi¹, GUAN Yueqiang² & YIN Xiangchu²

(1: Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100080, P. R. China;

2: College of Life Sciences, Hebei University, Baoding 071002, P. R. China.)

Abstract

We studied cysts and nauplii of 15 bisexual *Artemia* strains from Shanxi, Inner Mongolia and Qinghai-Xizang Plateau of China by using the method of numeric taxonomy. Through cluster analysis, cysts and nauplii of Qinghai-xizang Plateau were well separated from other strains. Compared with other strains, cysts of *Artemia* strains from Qinghai-Xizang Plateau are big, and their shells are thick with the color of purplish red, which are the adaptations to the plateau special environments. Both cyst and nauplius of Lagkor Co are the biggest ever recorded for both bisexual and parthenogenetic species.

Keywords: China; bisexual *Artemia*; cyst; nauplius; numeric taxonomy