

中国六个盐湖卤虫品系生物学特征的研究

杨 光

(大连医科大学组胚教研室)

蔡含筠 侯 林

(辽宁师范大学海洋资源研究所)

摘 要

本文对中国六个盐湖卤虫卵的孵化速率, 卵、脱壳卵、无节幼体的生物学测定值, 成体的形态及染色体倍性组成进行了研究。结果表明, 运城盐湖、工农湖、杭锦旗盐湖卤虫为两性生殖类型, 均为二倍体。艾比湖、巴里坤湖、尕斯库勒湖卤虫为孤雌生殖类型, 除二倍体外还有四倍体, 其中巴里坤湖卤虫还有五倍体。两性生殖卤虫间无生殖隔离现象。两性生殖卤虫与孤雌生殖卤虫在生物学特征的诸方面均存在较大差异。

关键词: 卤虫, 盐湖, 生物学特征, 染色体倍性。

前 言

卤虫(*Artemia*)是一类生活于高盐水体中的鳃足纲甲壳动物, 广布于全世界含有氯化钠硫酸盐、碳酸盐等高盐水域中。卤虫是水产养殖业的一种重要的饵料生物, 同时又是基础理论研究的良好实验动物。卤虫属包括许多姊妹种, 其性状差异较大。即使同一种卤虫的不同地理品系由于生活环境的差异, 其性状也有所不同。

我国卤虫资源极为丰富, 从沿海盐田到内陆众多的盐湖均有卤虫分布。有关我国盐田卤虫的生物学测定值曾见报导^{[3][4]}, 但对内陆盐湖卤虫间生物学特征的比较尚未见。本文对我国内陆六个盐湖卤虫的生物学测定值、卵的孵化特性、成体形态及染色体倍性进行报导, 旨在利用生物学特征为配合细胞学及生化研究作为卤虫分类的参考。同时也为开发我国的卤虫资源, 为水产育苗中的实际应用提供一定的参考。

材 料 和 方 法

一、材料

1. 取材: 研究用卤虫卵分别采自山西运城盐湖(SY)、内蒙杭锦旗盐湖(NH)、吉林工农湖(JG)、新疆艾比湖(XA)、新疆巴里坤湖(XB)、青海尕斯库勒湖(QG)。其中, 工农湖为硫酸钠型碱湖, 其它为硫酸钠型盐湖。

2. 孵化及培养: 卤虫卵于海水中在25~28℃、连续光照1000Lux, 连续充气的条件下

孵化出工龄无节幼体。幼体置10波美度的盐水中于 $20 \pm 3^\circ\text{C}$ ，光线充足的地方培养，饵料为盐藻(*Dunaliella sp.*)。

二、方法

1. 生殖方式的确定：随机取培养卤虫成体500只以上，测雌雄比例。

2. 孵化速率测定：在1000ml海水中精确数入1000粒卵，在前述条件下孵化，幼体孵出后用吸管吸出，自第一个无节幼体孵出每隔2小时计数至48小时。实验重复3次。

3. 生物学测定值

(1) 卵径及脱壳卵径的测定：干卵置于自来水中室温下浸泡4小时取沉卵测直径，每个品系测100个卵。再取沉卵置脱壳液中制成脱壳卵^[23]，测脱壳卵直径，每个品系测100个脱壳卵。

(2) 无节幼体体长测定：按Vanhaecke P.等^[12]方法，在孵出无节幼体达到孵出总数的90%时取无节幼体，用饱和氯仿海水麻醉后测其体长。每个品系测100个无节幼体。

(3) 统计学处理：实验所得数据用方差分析的方法经q检验同时比较各盐湖卤虫间同一生物学测定值的差异显著性。

4. 培养卤虫的形态：取培养卤虫成体置饱和氯仿海水中麻醉，在解剖镜下观察其尾叉及雄体抱器的形态。

5. 染色体数目观察：以1龄无节幼体为材料，采用空气干燥法制片，Giemsa染色后观察。

6. 两性生殖卤虫间生殖隔离测定：培养卤虫至性分化后，于交配前将雌雄卤虫分开培养两周，确定雌卤虫未怀卵后，将各品系雌、雄卤虫单对组合进行交配，正反交各做一组，每组进行10个组合。在看到繁殖前至少保持两周。产生 F_1 代的组合，取出亲本继续培养，观察是否有 F_2 代产生。

结 果

1. 各盐湖卤虫的生殖方式

运城盐湖、工农湖、杭锦旗盐湖卤虫行两性生殖，其雌雄比分别为52/48、54/46、47/53。艾比湖、巴里坤湖、杂海湖卤虫行孤雌生殖，培养中无雄体出现。

2. 卵的孵化速率

不同盐湖卤虫卵的孵化速率差异较大(图1)。

从孵化开始到孵出无节幼体数达孵出总数的90%所需时间可以说明卤虫卵孵化速度的快慢^[11]，六个盐湖卤虫卵所需时间(小时)分别为JG: 27.6、SY: 29.2、NH: 32.5、XB: 34.7、QG: 36.7、XA: 40.4，从第一个无节幼体破壳到孵出无节幼体数达孵出总数的90%所需时间可以说明卤虫卵孵化的整齐程度^[11]，六个盐湖卤虫卵所需时间(小时)分别为JG: 10.6、SY: 13.2、NH: 16.5、QG: 16.7、XB: 17.7、XA: 24.4。可见两性生殖类型比孤雌生殖类型的卤虫卵孵化速度较快且较整齐。

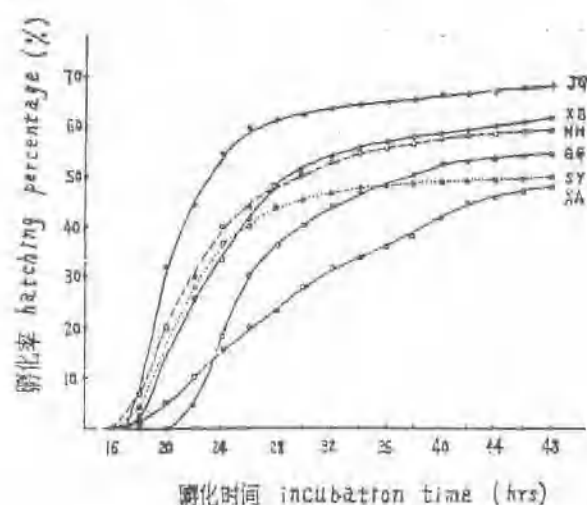


图1 各盐湖卤虫卵的孵化速率曲线

Fig. 1 Hatching rates for the cysts of *Artemia* from six salt lakes.

3. 生物学测定值

测量结果如表1。

表1 各盐湖卤虫的卵径、脱壳卵径、无节幼体体长的生物学测定值

Table 1. The values of biomeasurement for the cysts diameter, decapsulated cysts diameter and the length of nauplii of *artemia* from six salt lakes.

项 目 各品系	卵 径 (μm) ($\bar{X} \pm S$)	脱壳卵径 (μm) ($\bar{X} \pm S$)	壳厚 (μm)	无节幼体体长(μm) ($\bar{X} \pm S$)
NH	228.54 $\pm$ 12.39	219.81 $\pm$ 12.48	4.37	491.1 $\pm$ 44.6
JG	238.22 $\pm$ 13.15	222.42 $\pm$ 12.28	7.50	475.4 $\pm$ 26.9
SY	242.23 $\pm$ 12.48	228.34 $\pm$ 10.42	6.45	543.3 $\pm$ 47.1
XA	248.28 $\pm$ 22.21	223.37 $\pm$ 18.23	7.36	604.1 $\pm$ 83.8
XB	254.97 $\pm$ 23.80	241.24 $\pm$ 16.75	8.82	550.2 $\pm$ 83.4
QG	258.24 $\pm$ 15.22	233.08 $\pm$ 11.14	12.64	581.2 $\pm$ 43.6

经方差分析检验差异的显著性,表明各盐湖卤虫间卵径、脱壳卵径及无节幼体体长差异较大(表2)。其中两性生殖卤虫的卵径,脱壳卵径均较孤雌生殖卤虫的小。卵径、脱壳卵径及壳厚之间并不成比率关系,表明壳厚与卵径大小无关。而无节幼体体长以工农湖、杭锦旗盐湖卤虫的较小,艾比湖卤虫的最大。从无节幼体体长与卵径或脱壳卵径大小的关系来看两者之间无规律。

图2绘出了六个盐湖卤虫卵径的分布,可见两性生殖卤虫的卵径分布比孤雌生殖卤虫的较集中,说明两性生殖卤虫卵的大小比孤雌生殖卤虫的均匀。其中巴里坤湖卤虫卵除直径为225~255 μm 的含量较多外,直径在275~295 μm 的含量也较多,在卵径分布图上出现了明显

表 2 各盐湖卤虫卵径(a)、脱壳卵径(b)、无节幼体体长(c)的差异显著性分析

Table 2. Statistical comparisons for the diameters of the cysts (a), the decapsulated cysts (b) and the body lengths of nauplii (c) of *artemia* from six salt lakes.

品系 显著性	NH	JG	SY	XA	XB
QG	a ₁ b ₁ (+ +) c ₁	a ₂ b ₂ (+ +) c ₂	a ₃ (+ +) b ₃ (+ +) c ₃ (-)	a ₄ (+ +) b ₄ (-) c ₄ (+ +)	a ₅ (-) b ₅ (+ +) c ₅ (-)
XB	a ₁ b ₁ (+ +) c ₁	a ₂ b ₂ (+ +) c ₂	a ₃ (+ +) b ₃ (+ +) c ₃ (-)	a ₄ b ₄ (+ +) c ₄	
XA	a ₁ b ₁ (+ +) c ₁	a ₂ b ₂ (+ +) c ₂	a ₃ b ₃ (+ +) c ₃		
SY	a ₁ b ₁ (+ +) c ₁	a ₂ (+) b ₂ (+ +) c ₂ (+ +)			
JG	a ₁ (+ +) b ₁ (+ +) c ₁ (+)				

注: -, 差异不显著, +, 差异显著($P=0.05$), ++, 差异极显著($P=0.01$)

的两个高峰。

4. 培养卤虫的形态特征

培养条件下各盐湖卤虫的尾叉在形态、长短、两尾叉间距离及其刚毛数目上存在差异。其中孤雌生殖卤虫尾叉间距离较宽,与腹部连接处有明显的缢痕。两性生殖类型尾叉间距离较窄且与腹部连接处无缢痕,其中运城盐湖、工农游卤虫腹部末端及尾叉形态相似。两性生殖卤虫雄体抱器的形态,运城盐湖卤虫与工农湖卤虫的相似,其“前节”均为圆形,而杭锦旗盐湖卤虫雄体抱器末节外缘有一缺刻,“前节”为椭圆形。(图3)。

5. 染色体倍性组成

实验所研究的六个盐湖卤虫的染色体基数均为 $n=21$,但各盐湖卤虫的染色体倍性组成不尽相同(表3)。两性生殖卤虫均为二倍体。孤雌生殖卤虫除二倍体外还有四倍体卤虫存在,其中巴里坤湖卤虫还有较多的五倍体个体。

6. 两性生殖卤虫间生殖隔离测定

杂交组合后各品系雌雄卤虫间均出现抱持现象。杂交结果(表4)表明运城盐湖、工农湖、杭锦旗盐湖卤虫间无生殖隔离现象。

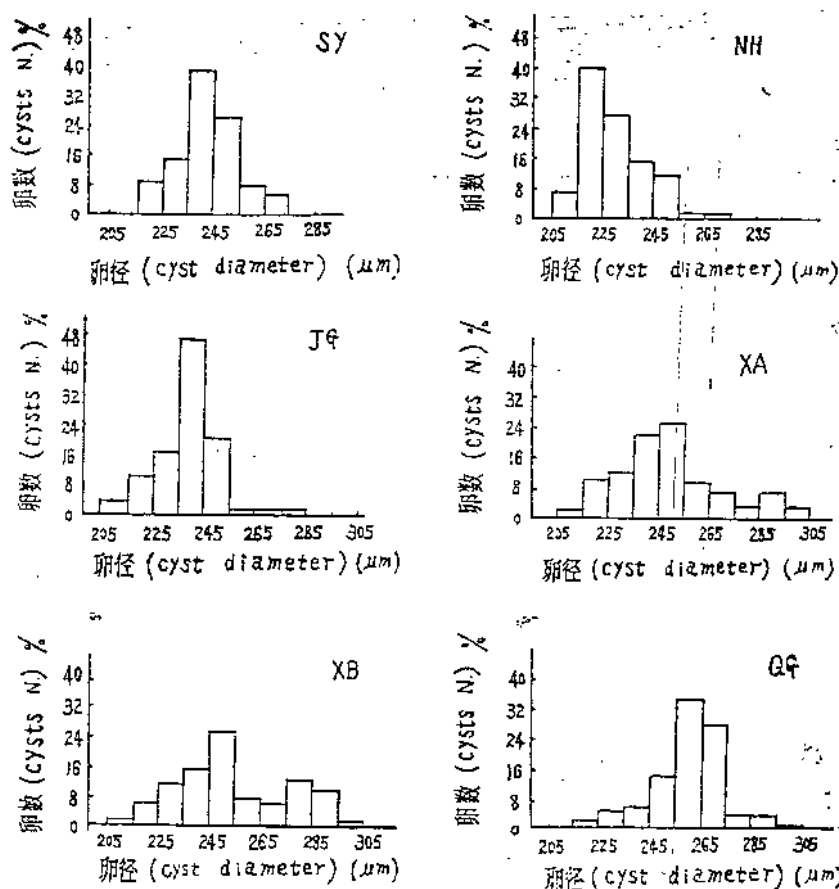


图2 各盐湖卤虫卵径的分布

Fig. 2 Diameter distribution for the cysts of *Artemia* from six salt lakes.

表3 各盐湖卤虫的倍性组成

Table. 3 Ploidy-compositions of *artemia* from six salt lakes

品 系	不 同 倍 性 的 细 胞 数 及 百 分 比						观察细胞 总 数
	1N	2N	3N	4N	5N	8N	
SY	2 (1.60)	124 (96.8)	0	2 (1.60)	0	0	128
NH	1 (1.14)	82 (93.18)	2 (2.27)	2 (2.27)	0	1 (1.14)	88
JG	1 (0.05)	104 (99.05)	0	0	0	0	105
XA	1 (0.69)	132 (91.03)	0	12 (8.28)	0	0	145
XB	0	45 (27.44)	2 (4.38)	62 (37.3)	49 (29.88)	0	164
QG	1 (0.81)	113 (91.13)	0	10 (8.06)	0	0	124

注: 括号内的数字为百分比

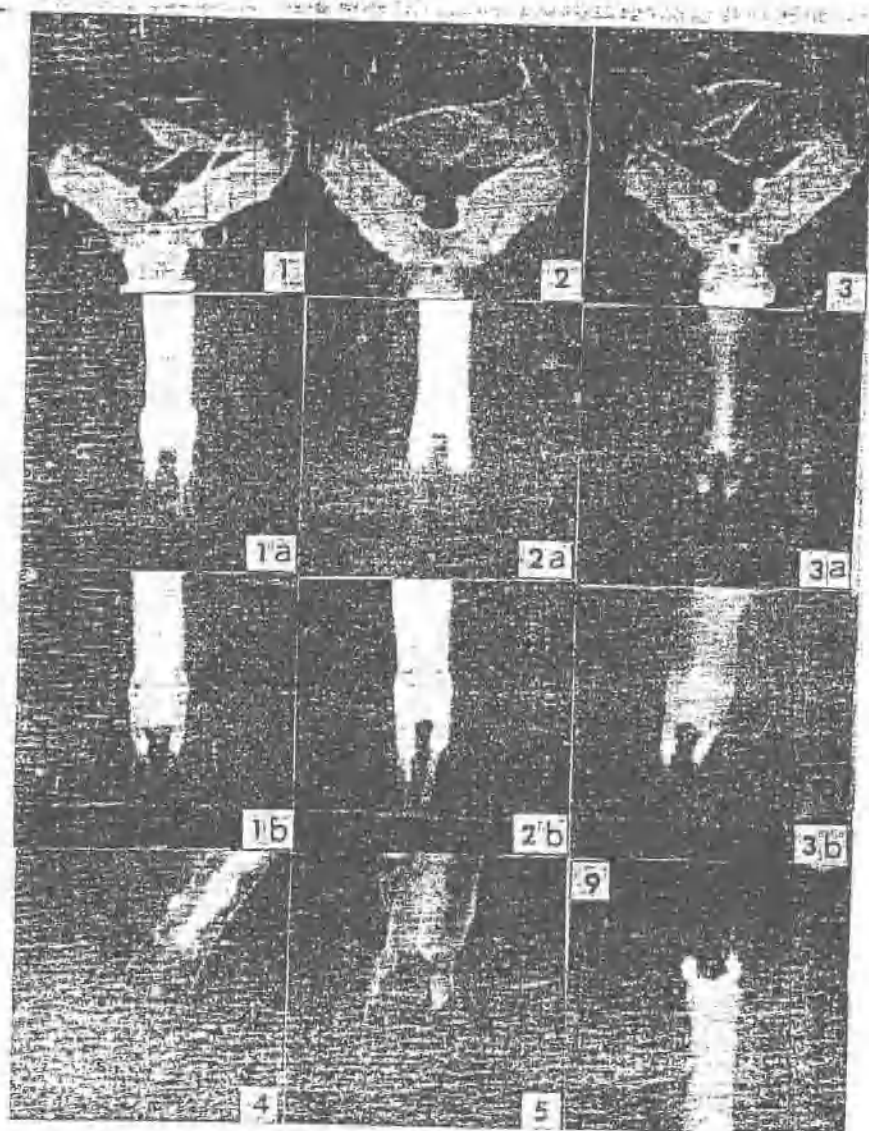


图3 各盐湖卤虫尾叉及两性生殖卤虫雄体抱器形态

Fig. 3 The morphology of the furca and male clasper of *Artemia* from six saline lakes.

- 1: 运城盐湖卤虫雄体抱器(1)、尾叉(1a)和雌体尾叉(1b)
- 2: 工农湖卤虫雄体抱器(2)、尾叉(2a)和雌体尾叉(2b)
- 3: 咸海盐湖卤虫雄体抱器(3)、尾叉(3a)和雌体尾叉(3b)
- 4: 艾比湖卤虫的尾叉
- 5: 巴里坤湖卤虫的尾叉
- 6: 海湖卤虫的尾叉

要大,说明卵径与其生活环境盐度有一定关系。因此卤虫卵径大小除受染色体倍性的影响外,很可能还受到盐度等环境因素的影响。

表 4 两性卤虫间杂交结果

Table. 4 Results of crosses among bisexual populations of *artemia*

杂交亲本(♀×♂)品系	亲本死亡组合数	产生F ₁ 对数/亲本对数	产生 F ₂
SY×NH	0	5/10	+
NH×SY	1	3/9	+
JG×SY	3	3/8	+
SY×JG	3	4/7	+
NH×JG	2	1/8	-(F ₁ 死亡)
JG×NH	1	3/9	+

讨 论

本文对中国内陆六个盐湖卤虫的生物学特征进行了研究,其中工农湖是碳酸钠型碱湖,这是在我国首次发现碱湖中存在卤虫。

卤虫的生物学特征对于水产养殖业有重要的参考价值。目前脱壳卵、无节幼体已广泛应用于水产育苗中。不同养殖对象及同一养殖对象幼苗发育的不同时期要选择不同大小的脱壳卵或无节幼体。在生产上卤虫卵的孵化是否整齐一致是很重要的,因为无节幼体孵出数小时后就蜕皮变态发育为Ⅱ龄、Ⅲ龄无节幼体,这一过程要消耗幼体内贮备的能量约20%^[11]。因此生产上要尽量选择孵化整齐的卤虫卵,以便在短时间内完成孵化过程获得绝大多数处于Ⅰ龄的无节幼体。从这点上来看,运城盐湖、工农湖卤虫要明显优于其它盐湖的卤虫卵。

我们所得的生物学测定值表明不同盐湖卤虫的各项生物学测定值均有差异。有文献报导,不同产地的卤虫卵壳厚不同^[4]。这与我们的结果相同,而且壳厚与卵径的大小无关。无节幼体体长与卵径或脱壳卵径大小的相关性也较低。从孵化速度与壳厚的关系来看,两者之间无规律,是否孵化速度与卵中所含破壳所需酶的含量有关待进一步研究。

1979年第一届国际卤虫会议把卤虫分辨出六个种:五个两性生殖种和一个孤雌生殖种^[9]。另外Bowen等把苏联奥德萨卤虫也列为两性姊妹种^[6],但尚有疑问^[5],蔡亚能认为山西运城盐湖卤虫为一个新的姊妹种并命名为 *Artemia sinica*^[7]。据作者的结果来看,两性生殖卤虫与孤雌生殖卤虫在卵的孵化特性,卵径,无节幼体的生物学测定值,成体的形态及染色体倍性组成上均有较大差异。两性生殖卤虫间的生殖隔离测定结果表明运城盐湖、工农湖、杭锦旗盐湖卤虫为同一个种。但杭锦旗盐湖与运城盐湖、工农湖卤虫在性比,卵的孵化特性、壳厚,成体的形态等方面存在一定的差异。这可能由于不同的生态环境造成同一种卤虫的不同地理品系在生物学特征上的差异。

卤虫的卵径与染色体倍性有着复杂的联系,王壬学认为多倍体卵径大于二倍体卵^[11]。本实验中孤雌生殖卤虫中均含有一定数目的多倍体卤虫,其卵径较两性生殖卤虫的大。尤其是巴里坤湖卤虫中多倍体比例较大,除四倍体外还有五倍体,其卵径分布图中出现了两个峰(图2)。可以看出多倍体卵径比二倍体卵径要大。进一步还应在克隆化的基础上加以验证。至于卤虫卵径是否与其生活环境的盐度有关尚有争议^{[12][8]}。据报导艾比湖、巴里坤湖、奈海湖的盐度比运城盐湖高几倍^[10],本实验中前三个盐湖卤虫卵径均比运城盐湖卤虫的卵