

Dong K S, Han X K, Zhang R, *et al.* The impact of introducing *Artemia franciscana* from San Francisco Bay on the morphological and genetic structure of *Artemia* populations in Tangu and Chengkou saltworks of Bohai Bay [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2026, 50(1): 012613. [董考帅, 韩学凯, 张睿, 等. 接种旧金山卤虫对渤海湾塘沽和埕口盐场卤虫种群形态和遗传结构的影响 [J]. 水生生物学报, 2026, 50(1): 012613.]

接种旧金山卤虫对渤海湾塘沽和埕口盐场卤虫种群形态和遗传结构的影响

董考帅¹ 韩学凯^{1,2*} 张睿¹ 刘雪¹ 张波¹ 隋丽英^{1*}

(1. 天津科技大学海洋与环境学院, 亚洲区域卤虫参考中心, 天津 300457;

2. 西藏自治区农牧科学院水产科学研究所, 拉萨 850002)

摘要: 为探究卤虫 *Artemia franciscana* 在人工接种渤海湾盐场并与本地孤雌生殖卤虫种群共存的30余年间, 其混合种群遗传多样性、遗传结构及形态学特征是否发生变化, 本研究选取1990—2021年收集的美国旧金山 (San Francisco Bay, SFB) *A. franciscana*、越南永州人工养殖的 *A. franciscana*、中国渤海湾 (Bohai Bay, BHB) 的土著孤雌生殖卤虫种群 (Parthenogenetic *Artemia* population) 及 SFB *A. franciscana* 接种后的渤海湾盐场混合种群的卤虫卵进行孵化和培养, 待其生长至成体时进行形态学测量和比较。利用 *COI* 基因序列分析不同群体接种前后的遗传多样性变化, 并探讨不同群体间的遗传结构及其在新栖息地的适应性变化。结果表明, 旧金山卤虫接种并定植于中国渤海湾盐田后, 导致该地区卤虫种群的遗传多样性升高, *A. franciscana* 已经取代当地孤雌卤虫群体成为渤海湾盐田的优势种, 而渤海湾本地孤雌种群正面临着灭绝的风险。旧金山原始种群与接种后的渤海湾埕口种群和塘沽种群无显著遗传分化, 表明这两个种群均从旧金山种群直接接种引入。形态学测量分析发现, 旧金山卤虫的引入造成渤海湾卤虫混合群体卵径不断下降, 雄虫体长显著增加; 同样旧金山卤虫引入越南后也出现卵径下降的现象。这表明旧金山卤虫具有较强的环境适应性和形态可塑性, 以满足其定殖及在共存竞争中获取更宽的生态幅。研究结果为科学认识和合理保护渤海湾盐田生态系统生物多样性、制定生态环境保护策略提供科学依据。

关键词: *COI* 基因; 遗传多样性; 群体遗传结构; 形态学测量值; 卤虫

中图分类号: Q178.53 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2026)01-012613-11

doi: 10.3724/1000-3207.2025.2025.0240 CSTR: 32229.14.SSSWXB.2025.0240



卤虫 (*Artemia*) 在全球沿海盐池和内陆盐湖高盐水体中广泛分布, 是卤水生态系统食物链的重要组成部分和生物调节者^[1]。卤虫幼体具有较高的营养价值, 是水产动物苗种生产中重要的生物饵料。目前普遍认为卤虫有6个两性种及多个孤雌生殖种群, 其中美国旧金山 (San Francisco Bay, SFB) 卤虫 (*Artemia franciscana* Kellogg, 1906) 具有卵径小、孵化率高、耐高温、易去休眠和适应性强等优良的品系特性^[2]。20世纪70年代后期开始, 人们开始

将其逐步引入其他地区以补充当地卤虫资源, 改善当地卤虫种群的种质特性。如今 SFB 卤虫在美洲大陆及欧亚大陆都有广泛分布, 在满足水产苗种需求的同时, 也不可避免地造成了一系列生物入侵的问题^[3-5]。

遗传多样性对于种群的适应度很重要, 较高的遗传多样性能帮助入侵种通过快速进化适应新环境, 以利于其在新生境中定居和扩散^[6-8]。通常外来物种进入新环境后会因奠基者效应而导致遗传

收稿日期: 2025-07-11; 修订日期: 2025-09-09

基金项目: 国家自然科学基金地区基金(32460154); 中国博士后科学基金(2023MD734227); 天津市科技计划项目资助(23YFZCSN00050) [Supported by the Regional Fund of the National Natural Science Foundation of China (32460154); China Postdoctoral Science Foundation (2023MD734227); Tianjin Science and Technology Program Project (23YFZCSN00050)]

作者简介: 董考帅(1996—), 男, 硕士研究生; 研究方向为海卤水生物资源开发利用。E-mail: dongkaoshuai200012@163.com

通信作者: 韩学凯, 助理研究员; E-mail: hanxk@tust.edu.cn 隋丽英, 教授; E-mail: suily@tust.edu.cn *共同通信作者

多样性的降低。有研究发现, SFB卤虫引入新栖息地后, 在无当地种群的情况下会发生遗传多样性的降低^[9, 10]。也有研究发现, 相比于原产地的SFB卤虫群体, 引入亚洲地区的*A. franciscana*卤虫种群却表现出相对更高的遗传多样性, 并认为这可能是由于人类活动在亚洲大规模传播过程中多次引入的结果^[11]。此外, 表型可塑性(Phenotypic plasticity)也是生物适应环境变化的有效方式, 生物体能够在短时间内产生不同的表型以适应周围环境的变化, 这对生物个体适应快速多变的生存环境具有重要的意义^[12, 13]。但是目前针对SFB卤虫入侵种表型可塑性的研究较少, 有研究指出越南永州地区引入的SFB卤虫, 经过长时间的环境适应产生了一些生理生化方面的适应性变化, 具有卵径更小和更加适合较高温度环境的特征^[9], 这说明卤虫可能通过整合多个特征的可塑性和进化反应来适应快速变化的环境。

我国卤虫资源丰富, 其中渤海湾盐田是中国卤虫成虫和卤虫卵的重要产地, 渤海湾盐田原始卤虫种群为孤雌生殖种群。为满足我国水产养殖业对高质量卤虫卵的需求, 1991—1993年间SFB卤虫被陆续引入渤海湾多个盐场, 接种卤虫有效地提高了当地卤虫卵产量^[14], 使渤海湾滩涂成为我国高品质卤虫卵重要产区。相关研究表明, 目前渤海湾盐场卤虫群体呈现美国SFB群体和本地孤雌种群共存状态^[15], 但针对接种后渤海湾卤虫群体遗传学研究较少, 仅见于少量关于河北唐山地区的SFB卤虫种群研究^[16, 17]。并且, 由于渤海湾区域广泛, 尤其是作为卤虫卵重要生产基地的天津和山东地区, 目前还未见有关SFB卤虫群体的相关研究。此外, 由于缺乏不同年代卤虫群体的纵向对比, 人们对SFB卤虫引种到渤海湾盐场后的遗传多样性及遗传结构的变化过程仍然未知; 而SFB卤虫在与当地孤雌生殖卤虫种群的竞争过程中, 其休眠卵径和卤虫外部形态是否发生适应性变化, 其成功入侵的遗传学机制及对本地种群的影响也知之甚少。

基于此, 本研究选择1990年渤海湾卤虫原种群

和1990年SFB卤虫原种群, 以及2010和2021年渤海湾卤虫混合种群。通过对入侵前后不同卤虫群体的卤虫卵和成虫进行形态学及群体遗传学比较分析, 一方面解析SFB卤虫引种至渤海湾盐田后种群遗传多样性和遗传结构变化, 另一方面通过与已产生适应性进化的越南永州卤虫进行比较, 探究卤虫入侵种的遗传分化、表型可塑性及适应性进化之间的关系, 从而为入侵种卤虫适应性演化和入侵机制研究奠定基础, 并对渤海湾盐田生物资源的保护提供帮助。

1 材料与方法

1.1 卤虫培养

本研究选择天津科技大学亚洲区域卤虫参考中心卤虫种质库中保藏的卤虫卵样本: 1990年天津塘沽盐场的渤海湾原始种群(Parthenogenetic *Artemia*, 1990-BHB)、2010年山东埕口盐场(2010-BHB)和2021年塘沽盐场(2021-BHB)渤海湾混合种群(Parthenogenetic *Artemia*和*A. franciscana*)、1990年的美国SFB卤虫种群(*A. franciscana*, 1990-SFB)和2018年的越南永州卤虫种群(*A. franciscana*, 2018-VT; 表 1)。卤虫卵孵化条件: 温度28℃, 盐度30 g/L, 光照2000 lx, 持续曝气。孵化24h后, 收集无节幼体, 转移至1 L锥形瓶培养, 密度为0.5只/mL。培养条件: 温度28℃, 盐度30 g/L, 光照2000 lx。每天投喂适量小球藻藻液, 每3天换1次水。

1.2 水合卵径和成虫形态特征测量及分析

选取上述5个群体的卤虫卵, 在盐度30 g/L海水中水合2h, 使用卢戈氏液固定并过夜。利用光学显微镜对300—500个水合卤虫卵径进行测量。当卤虫生长到成虫阶段时(雌雄卤虫发育到15龄期), 在光学显微镜下分别对雌雄各30只成虫进行形态学测量。雌性测量指标: 体长、腹长、体宽、复眼间距、复眼直径、第二触角长和卵囊直径; 雄性测量指标: 体长、腹长、体宽、复眼间距、复眼直径、抱握器外周长、额结节直径和阴茎长。

将获得的5个种群的形态学测量值数据导入到

表 1 样品来源和信息

Tab. 1 Sample sources and information

样品缩写 Sample abbreviation	样品采集地 Sample source	采集年份 Collection year	种质库编号 Cysts Bank ID	说明 Note	种名 Species name
1990-BHB	天津塘沽	1990	CHN-SW-19	渤海湾卤虫原种	parthenogenetic <i>Artemia</i>
2010-BHB	山东埕口	2010	CHN-SW-9	渤海湾卤虫混种	parthenogenetic <i>Artemia</i> <i>A. franciscana</i>
2021-BHB	天津塘沽	2021	CHN-SW-75	渤海湾卤虫混种	parthenogenetic <i>Artemia</i> <i>A. franciscana</i>
1990-SFB	美国旧金山湾	1990	USA-SW-1	旧金山湾卤虫原种	<i>A. franciscana</i>
2018-VT	越南永州	2018	VN-SW-3	越南卤虫种群	<i>A. franciscana</i>

SPSS 22.0软件进行单因素方差分析。通过卡方检验和Kolmogorov-Smirnov检验^[18]每个群体的数据是否正态, 通过Levene检验确定方差的同质性。利用SPSS软件对数据进行标准化及分析后, 导入Origin软件进行主成分分析, 生成散点图。

1.3 成虫DNA的提取及基因扩增

随机选取每个群体的30只成虫提取DNA, 将单只成虫放置在1.5 mL EP管中, 利用天津兰瑞生物公司的组织基因组DNA提取试剂盒, 对COI基因进行扩增, 引物序列为 COI-F: 5'-ATTCTACGAATCACAAGGATATTGG-3', COI-R: 5'-TACACTTCAGGATGGCCAAAAATCA-3'^[19]。反应体系(25 μ L): 1 μ L 模板DNA, 12.5 μ L Premix Taq DNA 聚合酶(日本TaKaRa公司), 上下游引物各1 μ L, 9.5 μ L无菌ddH₂O。扩增反应: 94℃预变性5min; 94℃变性1min, 54℃退火1min, 72℃延伸1.5min, 30个循环; 72℃延伸10min。后将符合要求的扩增产物送至北京华大基因公司进行Sanger双向测序。

1.4 群体遗传学分析

将测序得到的基因序列利用NCBI在线工具Blast进行比对, 确定卤虫种的信息。导入MEGA软件进行比对, 分别对不同种群的基因序列的碱基组成、多态性位点数、变异位点数等进行分析。利用DnaSP 6.0软件分析种群内单倍型数、核苷酸多样性、单倍型多样性、平均核苷酸差异数、Tajima's D值。利用NETWORK软件绘制单倍型网络图, 通过Arlequin 3.5软件^[20]进行遗传分化指数(F_{st})的计算及分子方差分析(AMOVA)。将序列导入到MEGA软件中, 遗传距离使用最大复合似然法计算, 并使用Kimura 2参数模型进行分析。进化树构建使用最大似然法, 自展检测(Bootstrap test)设置为1000次。

2 结果

2.1 不同种群的雌雄比统计分析

在相同条件下对5个种群的卤虫进行培养, 同时对不同种群的雌雄比进行统计, 结果与预期一致: 1990-BHB种群全部为雌性; 而1990-SFB和2018-VT种群雌雄比接近1; 在引种后, 2010-BHB和2021-BHB群体雌雄比大于1.5 (表2), 说明渤海湾地区为孤雌种群和两性种群的杂合群体。

2.2 卤虫形态学测量值分析

不同卤虫种群的水合卵径测量分析 不同种群卤虫水合卵径均呈正态分布。从1990到2021年, 渤海湾种群的水合卵径从254.56 μ m减小至238.76 μ m, 甚至小于1990-SFB卤虫水合卵径(244.96 μ m)。2018-VT卤虫种群的水合卵径最小, 且显著小于渤海湾种群(1990-BHB、2010-BHB和2021-BHB)和1990-SFB种群($P<0.05$; 表3)。

雌雄成体形态 对雌性成虫而言, 在3个不同年代渤海湾卤虫群体中, 1990-BHB种群雌性成虫形态较大, 在体长、体宽、卵囊直径、复眼间距、复眼直径及第二触角长方面显著大于2010-BHB和2021-BHB种群个体($P<0.05$), 而2010-BHB种群的卤虫形态最小。此外, 1990-SFB原种群卤虫在多个形态学测量值上显著小于1990-BHB和2021-BHB种群雌虫个体($P<0.05$), 但与2010-BHB雌虫形态差异较小。1990-SFB种群与2018-VT种群在多个形态指标上无显著差异(图1A)。

对雄性成虫而言, 2010-BHB和2021-BHB群体雄性卤虫体长显著大于1990-SFB和2018-VT种群($P<0.05$)。此外, 2010-BHB与2021-BHB种群雄虫在腹长、体宽和额结节直径上也有显著差异($P<0.05$)。2018-VT种群雄虫在腹长、阴茎长、复眼间

表2 养殖卤虫种群的雌雄数量及比例

Tab. 2 Number and ratio of female and male in the cultured *Artemia* populations

种群 Population	1990-BHB	1990-SFB	2010-BHB	2021-BHB	2018-VT
雌虫数:雄虫数 Females number: males number	33:0	20:15	147:88	38:21	23:20
雌雄比 Ratio of female to male	33:0	1.33:1	1.68:1	1.81:1	1.15:1

表3 不同卤虫种群的水合卵径

Tab. 3 Hydrated cyst diameter of different *Artemia* populations

种群 Population	1990-SFB	1990-BHB	2010-BHB	2021-BHB	2018-VT
水合卵径 Hydrated cysts diameter (μ m)	244.96 $\pm$ 18.75 ^c	254.56 $\pm$ 14.38 ^a	250.35 $\pm$ 19.16 ^b	238.76 $\pm$ 19.22 ^d	234.39 $\pm$ 12.01 ^e
测定卵径数量 Number of measured cysts	627	562	295	232	574

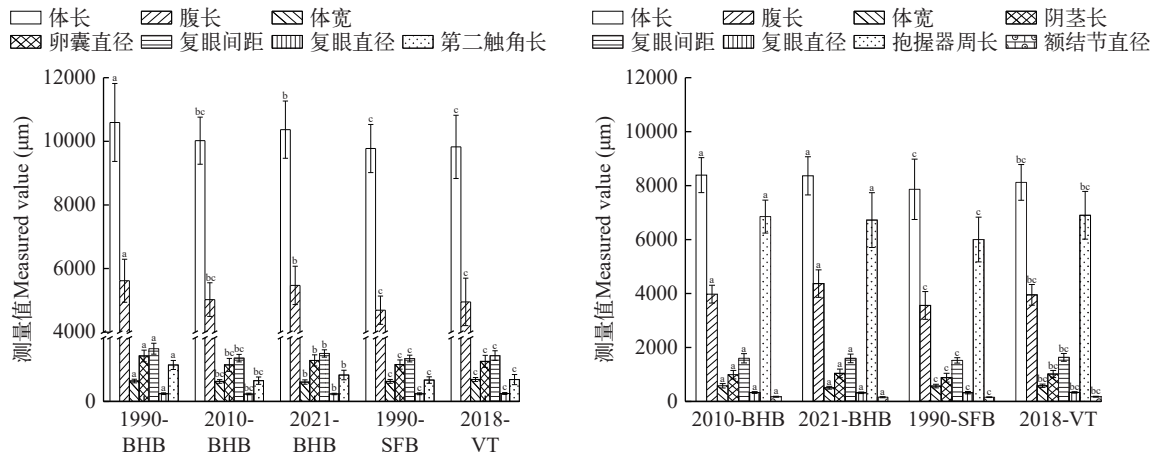


图1 雌性和雄性卤虫的形态学测量值

Fig. 1 Morphometrics of female and male *Artemia*A, 雌性; B, 雄性; 不同字母代表具有显著性差异($P < 0.05$)A, female; B, male; Different letters represent significant differences ($P < 0.05$)

距、抱握器外周长和额结节直径上显著大于1990-SFB种群($P < 0.05$; 图1B)。

雌雄卤虫形态数据主成分分析 雌性卤虫形态学测量值数据主成分分析结果显示, 总共得到3个主成分, 累积贡献率为93.01%, 其中主成分1、2和3的贡献率分别为66.72%、15.20%和11.09%。利用3个主成分绘制散点图后发现, 1990-BHB种群与其他四个种群重叠程度最小, 说明形态学测量值上差异较大。而另外4个种群之间整体形态相似度较大(图2)。根据图中向量箭头(图2)发现, 复眼间距、卵囊直径、体长、腹长等指标在PC1轴上投影较大, 说明这些性状对第1个主成分轴的贡献率高; 体宽、复眼直径、腹长等指标对第2个主成分轴的

贡献率高, 而体宽、腹长、体长等指标对第3个主成分轴的贡献率高。

雄性形态特征数据的主成分分析也获得3个主成分, 累计贡献率为76.648%。其中主成分1、主成分2和主成分3的贡献率分别为47.46%、18.81%及10.39%。利用3个主成分绘制散点图发现2010-BHB、1990-SFB和2018-VT种群之间的重叠程度较大, 说明整体形态相似度较高。而2021-BHB与另外3个种群间整体形态相似度较小。此外我们发现2018-VT和2021-BHB两个种群间重叠度最小, 说明整体形态学测量值差异最大(图3)。由图3中向量箭头发现, 抱握器外周、阴茎长、体长、复眼直径等指标在PC1轴上投影较大, 说明这些性状对第1个主成分轴的贡献率高; 腹长、体宽、额结节、体长等指标对第2个主成分轴的贡献率高; 复眼间距、体宽等指标对第3个主成分轴的贡献率高。

2.3 群体遗传学分析

COI基因序列分析

本研究测序获得5个种群的79条COI基因序列, 序列长度为592 bp, 其中2010-BHB与2021-BHB碱基组成差异最小, 且与1990-SFB种群较相似。在5个种群间, 1990-SFB、2010-BHB和2021-BHB种群发生序列变异的位点数较多, 2018-VT和1990-BHB种群序列变异较少(表4)。Blast比对分析显示, 1990-BHB、2010-BHB和2021-BHB种群中孤雌生殖卤虫与*A. franciscana*比例分别为14:0、0:25和1:9(表4), 说明在旧金山卤虫引种到渤海湾后已成为当地绝对优势种。

不同种群间遗传多样性分析

基于COI基因的遗传多样性参数分析结果显示, 相比于其他群体, 1990-BHB种群的遗传多样性参数均最小, 而2021-

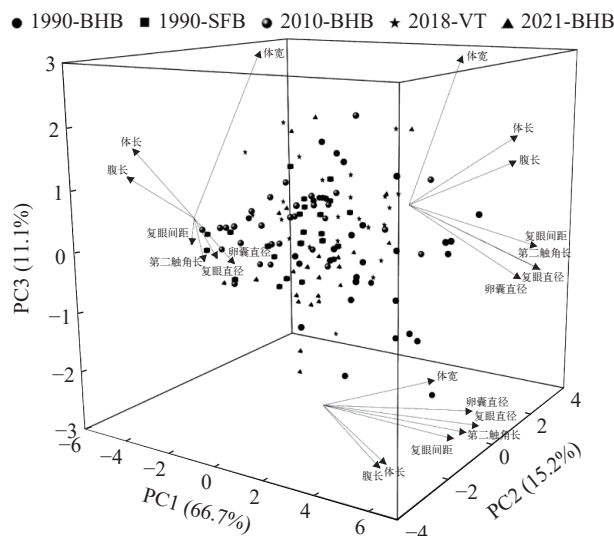


图2 雌性成虫形态学测量值数据主成分分析

Fig. 2 Principal component analysis of morphometric data for female *Artemia* adults

BHB群体具有更高的单倍型多样性和核苷酸多样性, 而且在2021-BHB种群测序结果中, 发现孤雌生殖卤虫与*A. franciscana*比例为0:25, 这表明SFB卤虫入侵并定植于中国天津塘沽盐场后, 可能已经很大程度上完成对当地孤雌生殖卤虫的替代并表现出更高的遗传多样性水平。5个群体的遗传多样性整体呈现2021-BHB>2010-BHB>1990-SFB>2018-VT>1990-BHB的递减趋势, 且2021-BHB、2010-BHB和1990-SFB属于高单倍型多样性种群(表5)。

单倍型分析 基于5个种群的79条*COI*基因序列进行单倍型分析, 共检测出22个单倍型(表6)。其中H2、H4、H6和H11为主要单倍型, 分别占17.72%、25.32%、15.19%和16.46%。其中, H2型和H4型是1990-SFB、2010-BHB和2021-BHB种群所共享的单倍型, H6型是2010-BHB、2021-BHB和2018-VT种群所共享的单倍型, H11和其他18个单倍型是种群独有单倍型。渤海湾原始种群样本

1990-BHB主要分布于H11和H12两个单倍型中, 其中H11型占比92.85%。而旧金山原始种群样本1990-SFB分布于8个单倍型中, 主要为H2型(27.27%)和H4型(36.36%)。2010-BHB渤海湾混合种群分布于10个单倍型中, 主要单倍型为H2型(20.83%)和H4型(41.67%)。2021-BHB渤海湾混合种群分布于6个单倍型中, 主要单倍型为H2型(30.00%)、H4型(20.00%)和H6型(20.00%)。而2018-VT越南种群分布于2个单倍型中, 主要单倍型为H6(88.89%)。单倍型分布模式表明, 渤海湾原始种群1990-BHB与其他种群之间有明显遗传分化, SFB原始种群1990-SFB与2018-VT越南种群存在明显遗传分化(图4)。

群体遗传结构分析 基于*COI*基因分析发现, 1990-BHB种群与其他4个种群间的遗传距离较大(0.22022—0.22221), 其他3个种群间的遗传距离均较小, 最小遗传距离存在于2010-BHB种群与1990-SFB种群间。种群间的遗传分化系数 F_{st} 如表7所示, 其中1990-BHB与2018-VT种群间的遗传分化系

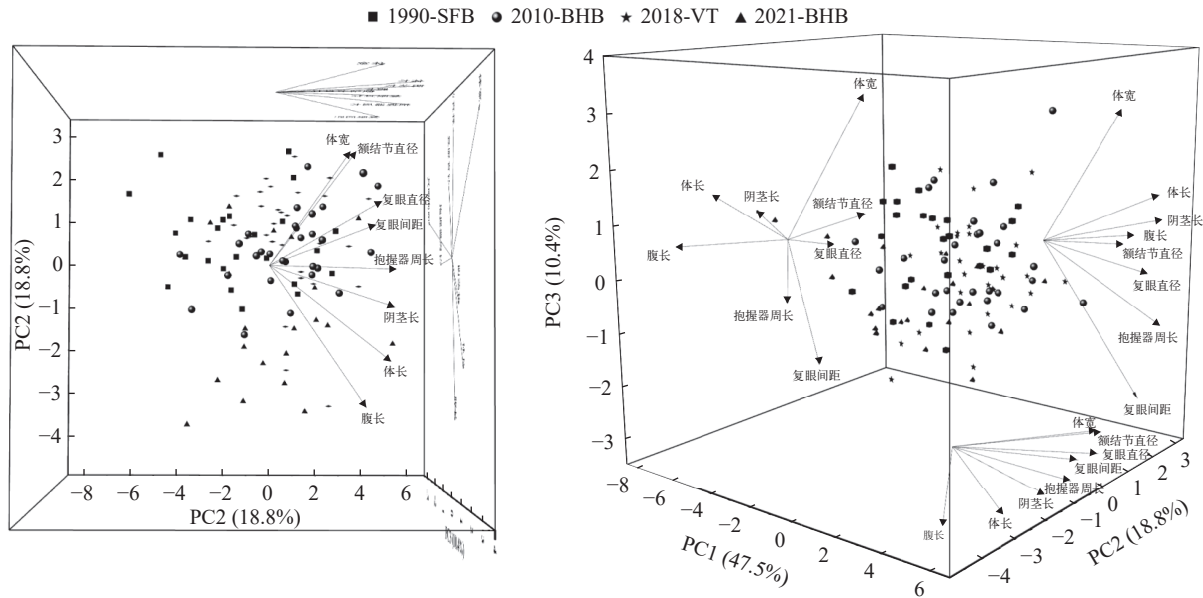


图3 雄性成虫形态学测量值数据主成分分析
Fig. 3 Principal component analysis of morphometric data for male adults
A. 俯视图top view; B. 主视图main view

表4 *COI*基因序列群体遗传变异信息

Tab. 4 Information on population genetic variation in <i>COI</i> gene sequences						
种群 Population	序列数量 (测序成功率) Sample size (success rate for sequencing)	孤雌生殖卤虫:旧金山卤虫 parthenogenetic <i>Artemia</i> : <i>A. franciscana</i>	保守位点 Conservative sites	可变位点 Variable sites	单位点突变 Single nucleotide mutation	简约信息位点 Parsimony informative sites
1990-BHB	14 (47%)	14:0	590	1	1	0
2010-BHB	25 (83%)	0:25	566	25	19	6
2021-BHB	10 (33%)	1:9	581	10	4	6
1990-SFB	21 (70%)	0:21	579	12	8	4
2018-VT	9 (30%)	0:9	590	1	1	0

表 5 不同种群的遗传多样性参数

Tab. 5 Genetic diversity parameters of different populations

种群 Population	样本数量 Sample number	单倍型数量 Haplotype number	多态位点数量 Polymorphic site number	单倍型多样性 Haplotype diversity	核苷酸多样性 Nucleotide diversity	平均核苷酸差异数 Mean nucleotide difference number
1990-BHB	14	2	1	0.1429	0.0002	0.1429
2010-BHB	25	11	20	0.8133	0.0053	3.0767
2021-BHB	10	6	9	0.8889	0.0056	3.2667
1990-SFB	21	8	11	0.7925	0.0040	2.2000
2018-VT	9	2	1	0.2222	0.0004	0.2222

表 6 不同种群中的单倍型分布

Tab. 6 Haplotype distribution in different populations

单倍型 Haplotype	种群 Population	样本数量 Sample size	比例 Percentage (%)
H1	2021-BHB	1	100.00
H2	1990-SFB	6	42.85
	2010-BHB	5	35.71
	2021-BHB	3	21.43
H3	2021-BHB	1	100
H4	1990-SFB	8	40.00
	2010-BHB	10	50.00
	2021-BHB	2	10.00
H5	2021-BHB	1	100
H6	2010-BHB	2	16.67
	2021-BHB	2	16.67
	2018-VT	8	66.67
H7	2018-VT	1	100
H8	1990-SFB	1	100
H9	1990-SFB	1	100
H10	1990-SFB	2	100
H11	1990-BHB	13	100
H12	1990-BHB	1	100
H13	1990-SFB	1	100
H14	1990-SFB	1	100
H15	1990-SFB	2	100
H16	2010-BHB	1	100
H17	2010-BHB	1	100
H18	2010-BHB	1	100
H19	2010-BHB	1	100
H20	2010-BHB	1	100
H21	2010-BHB	1	100
H22	2010-BHB	1	100
总计Total		79	

数最大, 2010-BHB与2021-BHB间的遗传分化系数最小。

利用MEGA 10构建进化树, 结果发现2018-VT、1990-SFB、2010-BHB和2021-BHB聚为一大支, 而1990-BHB形成单独的分支(图 5), 说明1990-BHB群体与其他4个群体存在明显遗传分化, 这与

单倍型分析结果及形态学测量值结果相吻合。分子方差分析显示, 94.98%的变异来自种群间差异, 仅有5.02%的变异来自种群内, 表明主要遗传变异源自5个种群之间(表 8)。

3 讨论

3.1 遗传多样性变化

遗传多样性是研究物种遗传结构的核心, 在探索物种的进化潜力、进化过程和抵抗不利环境的能力方面起着重要作用^[21, 22]。生物入侵历程中的种群遗传多样性以及适应性进化是外来物种入侵机理研究的主要关注点^[23]。生物种群通常是由少数个体入侵而发展起来的, 这种现象常常会导致奠基者效应和瓶颈效应发生, 从而使得入侵种群的遗传多样性显著低于原产地^[24]。本研究发现, 1990-SFB群体单倍型多样性和核苷酸多样性要高于2018-VT群体, 这表明美国SFB卤虫引入越南永州地区后确实出现了遗传多样性的降低, 这与之前的研究结果类似^[9, 10]。与越南永州地区引入SFB卤虫情况不同的是, 中国渤海湾盐场在引入SFB卤虫前已有本地孤雌生殖卤虫群体的存在, 在引种后发现其遗传多样性水平呈现1990-BHB<1990-SFB<2010-BHB<2021-BHB逐渐增加的趋势。这表明早期的渤海湾孤雌生殖卤虫种群和SFB原始种群本身遗传多样性较低, 而SFB卤虫引入渤海湾盐场后其混合种群出现遗传多样性水平的提升。也有研究表明, SFB原始种群引入并定植于地中海地区以及中国渤海湾唐山南堡地区后, 其卤虫种群表现出更为丰富的遗传多样性^[17, 25]。这一方面可能是由于渤海湾地区曾多次引入不同地区来源的SFB种群, 另一方面可能是引入种群具有较高环境适应性, 并在新环境的长期选择压力下发生遗传变异所导致^[26, 27]。

3.2 种群替代与遗传结构变化

本研究发现2010-BHB和2021-BHB群体所测样本中, 孤雌生殖卤虫与*A. franciscana*比例分别为0:25和1:9, 说明SFB卤虫在进入渤海湾盐场后, 很有可能已经成为当地优势种。而近年来基于COI分

子标记对唐山地区和黄骅地区渤海湾盐场卤虫群体研究也发现, 当地卤虫基本上已经被SFB卤虫所取代^[16, 17], 这暗示着渤海湾地区众多盐场已受到 *A. franciscana* 入侵的危害。鉴于 *A. franciscana* 与孤雌卤虫属于不同物种, 这种替代过程很可能是单向完全替代的过程而不会出现杂交所导致的基因渗透, 这也可能导致本地孤雌卤虫面临完全灭绝的风险。本研究发现个别群体样本存在扩增和测序成功率较低的问题, 这主要是由于分析群体来源

比较复杂, 涉及不同卤虫种、不同时间以多个地点, 而这些群体之间存在的遗传差异可能会导致扩增和测序困难。本研究同样发现在之前一些卤虫群体遗传学研究中, 经常会出现个别群体样本较少的情况, 但并不会影响群体遗传分析的准确性^[11, 19, 28, 29]。

亚洲现存 *A. franciscana* 种源地可能包括美国 SFB、美国大盐湖种群以及欧洲群体^[13]。SFB 卤虫于 1991—1993 年被陆续引入渤海湾多个盐场, 然而我国渤海湾地区盐场众多, 虽然同为 *A. franciscana*,

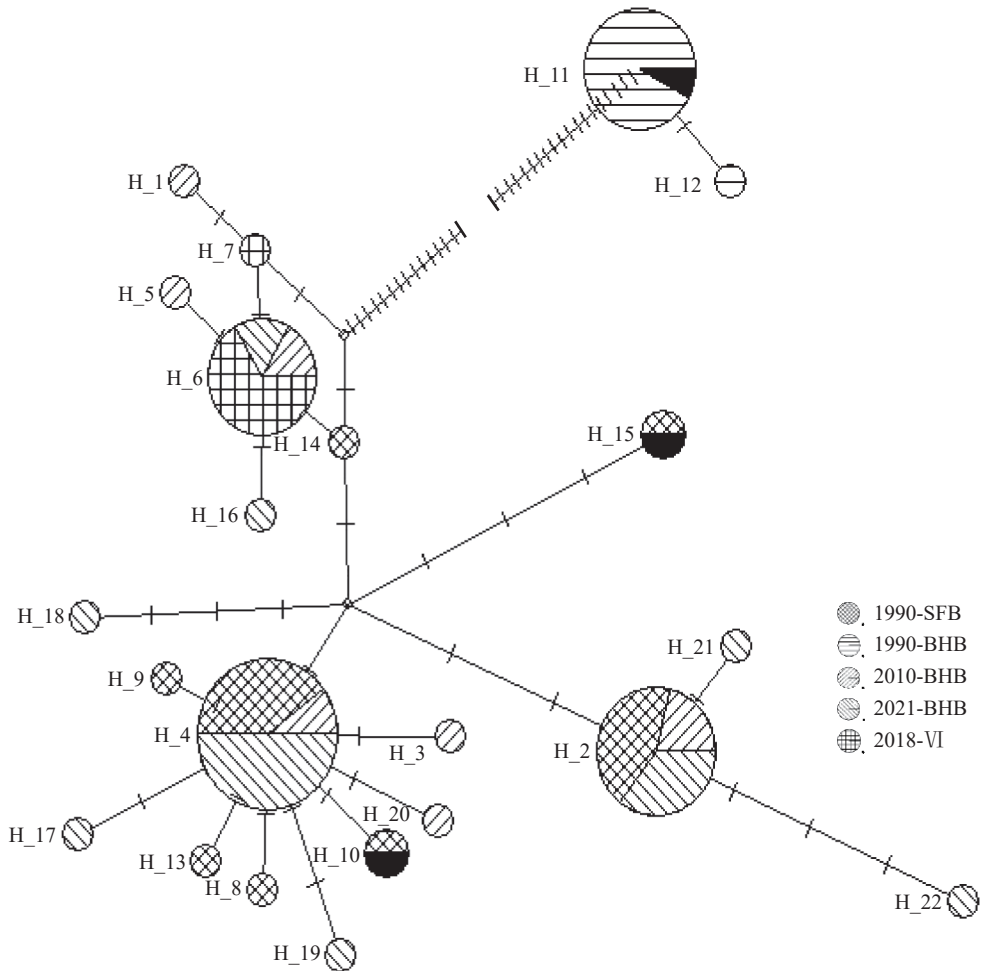


图 4 基于 *COI* 基因序列构建的卤虫种群单倍型网络图

Fig. 4 Haplotype network map of *Artemia* populations based on *COI* gene sequences

表 7 基于 *COI* 基因序列的五个种群间遗传距离和遗传分化系数

Tab. 7 Genetic distances and genetic differentiation coefficients among five populations based on *COI* gene sequences

种群 Population	2018-VT	1990-SFB	1990-BHB	2010-BHB	2021-BHB
2018-VT		0.0079	0.2222	0.0078	0.0055
1990-SFB	0.2542		0.2202	0.0050	0.0059
1990-BHB	0.6915	0.3257		0.2216	0.2214
2010-BHB	0.2013	0.0081	0.2966		0.0065
2021-BHB	0.1884	0.0038	0.3421	0.0029	

注: 右上角为遗传距离, 左下角为遗传分化系数
Note: The genetic distance is indicated in the upper right, while the genetic differentiation coefficient is shown in the lower left

但是在多次引种过程中,不同盐场引入SFB卤虫的种源地可能不尽相同。之前的研究表明,在渤海湾地区, *A. franciscana* 南堡种群和黄骅种群与美国原产地种群(大盐湖种群和SFB湾种群)存在显著的遗传分化,表明 *A. franciscana* 南堡和黄骅种群并非

是从美国原产地种群直接引入^[16, 17]。然而本研究发现, SFB原始种群1990-SFB与引种后渤海湾塘沽种群2010-BHB和埕口种群2021-BHB之间的主要单倍型比较相似,遗传距离无较大差异,表明这3个种群间无显著遗传分化,渤海湾塘沽种群和埕

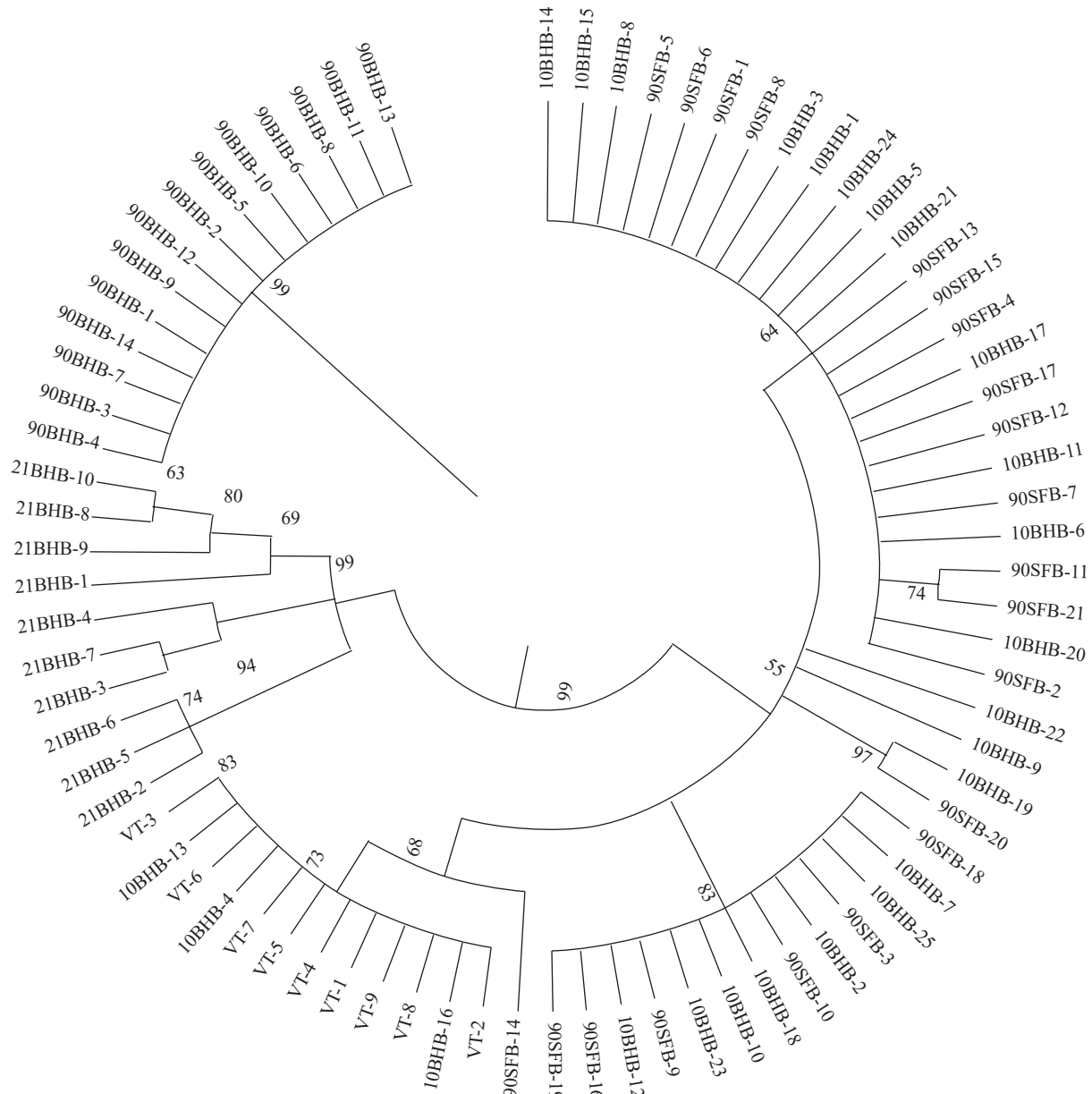


图5 基于COI基因序列构建最大似然树

Fig. 5 Construction of Maximum likelihood tree based on COI gene sequences

表8 五个卤虫种群间的分子方差分析

Tab. 8 Analysis of molecular variance among different *Artemia* populations

变异来源 Variation source	自由度 Degrees of freedom	方差和 Sum of squares	变异组分 Variance component	变异贡献率 Contribution rate (%)
种群间 Among populations	4	1269.18	20.08	94.98
种群内 Within populations	76	80.64	1.06	5.02
总计 Total	80	1349.82	21.14	100

口种群确实是从SFB种群*A. franciscana*这个主要种源地引进繁衍形成的。这表明由于渤海湾沿岸盐场众多, 不同盐场在早期的引种*A. franciscana*的原产地确实存在差别。进一步研究发现渤海湾原始种群1990-BHB与其他4个种群不但在主要单倍型以及遗传距离方面均存在较大差异, 而且进化树上也与其他种群处于不同分支。此外, 1990-BHB与其他种群间的遗传分化系数均大于0.25, 这些都表明渤海湾原始卤虫种群与其他种群存在显著遗传分化。这也预示着SFB卤虫引种定殖于中国渤海湾塘沽和埕口地区后, 很大程度上已实现对本地孤雌生殖卤虫种群的替代, 并造成该地区孤雌卤虫土著种的生存危机及生物多样性的丧失。本研究还发现, SFB原始种群1990-SFB与2018-VT越南种群主要单倍型存在显著差异, 遗传分化系数大于0.25, 表明两个种群间也出现显著遗传分化。这可能是由于越南永州地区在引入了SFB卤虫后, 经过不断的人工选育和环境适应, 已经表现出与原始引入种群明显的遗传分化, 以实现其对当地环境的快速适应。

3.3 表型可塑性与形态适应性进化

在生物入侵过程中, 表型可塑性往往是促进入侵能力的重要方式。这主要是由于表型可塑性不仅可以影响种群的演变和种间关系, 还有助于物种具有更强的环境耐受性, 进而适应更加多样的生境, 最终成为生态位理论中的广幅种^[30-32]。针对不同群体卤虫卵径测量发现, SFB卤虫在引入越南永州地区后, 其卵径显著小于SFB原始种群及其他渤海湾卤虫种群, 这主要是源于该地区针对卤虫卵径这一关键经济性状长期选育及环境适应的结果^[9]。此外, 2018-VT种群雄虫在腹长、阴茎长、复眼间距、抱握器外周长和额结节直径上显著大于1990-SFB种群, 这些都表明SFB卤虫在入侵越南永州后确实发生了形态适应性变化。最新研究表明SFB卤虫引入越南永州24年后, 表现出对变暖的表型耐受性增加, 但是这些变化不是由线粒体遗传变异引起的, 并推测这可能是表观遗传所导致^[33]。而渤海湾原始种群卵径和个体形态最大, 在SFB卤虫入侵渤海湾后, 其混合卤虫群体卵径呈不断下降趋势, 而卤虫体长相较于原始SFB群体均有所增加, 尤其雄虫体长增加显著。这一方面原因是SFB卤虫卵径和个体形态相对渤海湾孤雌卤虫群体更小^[34], 而在其引入渤海湾后, 与本地种形成的混合种群中卤虫卵径和形态大小都会有所下降; 而后SFB卤虫在入侵渤海湾并与本地孤雌生殖卤虫共存过程中, 为更好地提升其竞争和捕食能力, 进而发展出的形态适应性变化^[35]。这也说明SFB卤虫可能通过整

合多个特征的可塑性和进化反应来适应快速变化的环境。

4 结论

SFB卤虫种群在引入中国渤海湾后, 其混合种群获得遗传多样性水平的提升, SFB原始种群与塘沽种群和埕口种群无显著遗传分化, 这表明塘沽种群和埕口种群确实是从美国大盐湖和SFB种群这两个主要种源地引进繁衍形成的。SFB卤虫入侵渤海湾后群体卵径不断下降, 雄虫体长显著增加, 推测可能是混种及SFB卤虫形态适应性进化的结果。考虑到SFB卤虫已成为世界多个地区的入侵种, 以及其在引种到渤海湾地区后展现出较高的适应性和对渤海湾原始种的威胁, 本文建议在兼顾卤虫卵产量的同时, 制定相应的物种保护策略, 以保证渤海湾盐田生态系统生物多样性和本地孤雌种群的延续性。

(作者声明本文符合出版伦理要求)

参考文献:

- [1] Dattilo A M, Bracchini L, Carlini L, *et al.* Estimate of the effects of ultraviolet radiation on the mortality of *Artemia franciscana* in naupliar and adult stages [J]. *International Journal of Biometeorology*, 2005, **49**(6): 388-395.
- [2] Triantaphyllidis G V, Pouloupoulou K, Abatzopoulos T J, *et al.* International study on *Artemia* XLIX. Salinity effects on survival, maturity, growth, biometrics, reproductive and lifespan characteristics of a bisexual and a parthenogenetic population of *Artemia* [J]. *Hydrobiologia*, 1995, **302**(3): 215-227.
- [3] Amat F, Hontoria F, Ruiz O, *et al.* The American brine shrimp as an exotic invasive species in the western Mediterranean [J]. *Biological Invasions*, 2005, **7**(1): 37-47.
- [4] Amat F, Hontoria F, Navarro J C, *et al.* Biodiversity loss in the genus *Artemia* in the western Mediterranean region [J]. *Limnetica*, 2007, **26**(2): 387-404.
- [5] Horváth Z, Lejeune C, Amat F, *et al.* Eastern spread of the invasive *Artemia franciscana* in the Mediterranean Basin, with the first record from the Balkan Peninsula [J]. *Hydrobiologia*, 2018, **822**(1): 229-235.
- [6] Shen H, Liu D Y. Summary of genetic diversity [J]. *Journal of Biology*, 2001, **18**(3): 4. [沈浩, 刘登义. 遗传多样性概述 [J]. 生物学杂志, 2001, **18**(3): 4.]
- [7] Li M, Chen S, Shi S, *et al.* High genetic diversity and weak population structure of *Rhododendron jinggangshanicum*, a threatened endemic species in Mount Jinggangshan of China [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 2015(58): 178-186.
- [8] Cui Z X, Zhang T, Song L S, *et al.* Progress of genetic

- diversity of important marine animals in China [J]. *Biodiversity Science*, 2011, **19**(6): 815-833. [崔朝霞, 张岷, 宋林生, 等. 中国重要海洋动物遗传多样性的研究进展 [J]. 生物多样性, 2011, **19**(6): 815-833.]
- [9] Kappas I, Abatzopoulos T J, Van Hoa N, *et al.* Genetic and reproductive differentiation of *Artemia franciscana* in a new environment [J]. *Marine Biology*, 2004, **146**(1): 103-117.
- [10] Asem A, Schuster R, Eimanifar A, *et al.* Impact of colonization of an invasive species on genetic differentiation in new environments: a study on American *Artemia franciscana* (Crustacea: Anostraca) in the united Arab emirates [J]. *Journal of Ocean University of China*, 2021, **20**(4): 911-920.
- [11] Eimanifar A, Van Stappen G, Marden B, *et al.* *Artemia* biodiversity in Asia with the focus on the phylogeography of the introduced American species *Artemia franciscana* Kellogg, 1906 [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 2014(79): 392-403.
- [12] Price T D, Qvarnström A, Irwin D E. The role of phenotypic plasticity in driving genetic evolution [J]. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*, 2003, **270**(1523): 1433-1440.
- [13] Lajoie G, Vellend M. Characterizing the contribution of plasticity and genetic differentiation to community-level trait responses to environmental change [J]. *Ecology and Evolution*, 2018, **8**(8): 3895-3907.
- [14] Zhang B, Guo J C. Introduction of *Artemia franciscana* from San francisco bay in China [J]. *Sea-Lake Salt and Chemical Industry*, 1993(3): 7-9. [张波, 郭金昌. 旧金山湾卤虫(*Artemia franciscana*)在中国渤海湾地区的引种 [J]. 海湖盐与化工, 1993(3): 7-9.]
- [15] Li R C, Sui L Y, Zhang B, *et al.* Ecological investigation of *Artemia* population in Tianjin tanggu saltworks [J]. *Journal of Tianjin University of Science & Technology*, 2018, **33**(5): 57-62. [李荣超, 隋丽英, 张波, 等. 天津塘沽盐场卤虫种群生态调查 [J]. 天津科技大学学报, 2018, **33**(5): 57-62.]
- [16] Fu C Z, Wang H, Asem A, *et al.* Study on genetic Diversity and genetic differentiation of invasive *Artemia franciscana* based on *COI* gene [J]. *Hebei Fisheries*, 2022(2): 1-6. [付春正, 王晖, Asem A, 等. 基于*COI*基因的入侵物种旧金山卤虫遗传多样性与遗传分化研究 [J]. 河北渔业, 2022(2): 1-6.]
- [17] Cao Y, Fu C Z, Xue W, *et al.* Research on genetic diversity of *Artemia franciscana* population in the Huanghua City, Hebei Province [J]. *Journal of Guangxi Academy of Sciences*, 2023, **39**(3): 254-260. [曹赢, 付春正, 薛伟, 等. 河北省黄骅市旧金山卤虫种群遗传多样性研究 [J]. 广西科学院学报, 2023, **39**(3): 254-260.]
- [18] Campbell R C, Sokal R R, Rohlf F J. Biometry: the principles and practice of statistics in biological research [J]. *Journal of the Royal Statistical Society Series A (General)*, 1970, **133**(1): 102.
- [19] Eimanifar A, Van Stappen G, Wink M. Geographical distribution and evolutionary divergence times of Asian populations of the brine shrimp *Artemia* (Crustacea, Anostraca) [J]. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 2015, **174**(3): 447-458.
- [20] Excoffier L, Lischer H E L. Arlequin suite ver 3.5: a new series of programs to perform population genetics analyses under Linux and Windows [J]. *Molecular Ecology Resources*, 2010, **10**(3): 564-567.
- [21] Wuyun T, Amo H, Xu J, *et al.* Population structure of and conservation strategies for wild *Pyrus ussuriensis* maxim. in China [J]. *PLoS One*, 2015, **10**(8): e0133686.
- [22] Liu F, Qu Y K, Geng C, *et al.* Analysis of the population structure and genetic diversity of the red swamp crayfish (*Procambarus clarkii*) in China using SSR markers [J]. *Electronic Journal of Biotechnology*, 2020(47): 59-71.
- [23] O'Hanlon, Peakall, Brieese. A review of new PCR-based genetic markers and their utility to weed ecology [J]. *Weed Research*, 2000, **40**(3): 239-254.
- [24] Shi W, Geng Y P, Ou X K. Genetic diversity and invasion success of alien species: where are we and where should we go [J]? *Biodiversity Science*, 2010, **18**(6): 590-597. [施雯, 耿宇鹏, 欧晓昆. 遗传多样性与外来物种的成功入侵: 现状和展望 [J]. 生物多样性, 2010, **18**(6): 590-597.]
- [25] Muñoz J, Gómez A, Figuerola J, *et al.* Colonization and dispersal patterns of the invasive American brine shrimp *Artemia franciscana* (Branchiopoda: Anostraca) in the Mediterranean region [J]. *Hydrobiologia*, 2014, **726**(1): 25-41.
- [26] Dlugosch K M, Parker I M. Founding events in species invasions: genetic variation, adaptive evolution, and the role of multiple introductions [J]. *Molecular Ecology*, 2008, **17**(1): 431-449.
- [27] Vikas P A, Sajeshkumar N K, Thomas P C, *et al.* Aquaculture related invasion of the exotic *Artemia franciscana* and displacement of the autochthonous *Artemia populations* from the hypersaline habitats of India [J]. *Hydrobiologia*, 2012, **684**(1): 129-142.
- [28] Subramani T, Gunasagaran K, Natesan M. Genetic diversity and population structure of *Artemia franciscana* from southeast coast of India [J]. *Journal of Sea Research*, 2021(178): 102127.
- [29] Pang H, Zheng K, Wang W, *et al.* The morphological differentiation and evolutionary origins of *Artemia* in China [J]. *Diversity*, 2024, **16**(3): 144.
- [30] Berg M P, Ellers J. Trait plasticity in species interactions: a driving force of community dynamics [J]. *Evolutionary Ecology*, 2010, **24**(3): 617-629.
- [31] Turcotte M M, Levine J M. Phenotypic plasticity and species coexistence [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2016, **31**(10): 803-813.

- [32] Pérez-Ramos I M, Matías L, Gómez-Aparicio L, *et al.* Functional traits and phenotypic plasticity modulate species coexistence across contrasting climatic conditions [J]. *Nature Communications*, 2019(10): 2555.
- [33] Pais-Costa A J, Lievens E J P, Redón S, *et al.* Phenotypic but no genetic adaptation in zooplankton 24 years after an abrupt +10°C climate change [J]. *Evolution Letters*, 2022, 6(4): 284-294.
- [34] Asem A, Sun S C. Morphological differentiation of seven parthenogenetic *Artemia* (Crustacea: Branchiopoda) populations from China, with special emphasis on ploidy degrees [J]. *Microscopy Research and Technique*, 2016, 79(4): 258-266.
- [35] Agrawal A A. Phenotypic plasticity in the interactions and evolution of species [J]. *Science*, 2001, 294(5541): 321-326.

THE IMPACT OF INTRODUCING *ARTEMIA FRANCISCANA* FROM SAN FRANCISCO BAY ON THE MORPHOLOGICAL AND GENETIC STRUCTURE OF *ARTEMIA* POPULATIONS IN TANGGU AND CHENGKOU SALTWORKS OF BOHAI BAY

DONG Kao-Shuai¹, HAN Xue-Kai^{1,2}, ZHANG Rui¹, LIU Xue¹, ZHANG Bo¹ and SUI Li-Ying¹

(1. Asia Regional *Artemia* Reference Center, College of Marine and Environmental Sciences, Tianjin University of Science and Technology, Tianjin 300457, China; 2. Institute of Fisheries Science, Xizang Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Lhasa 850002, China)

Abstract: The brine shrimp *Artemia* inhabit hypersaline ecosystems of salt lakes and coastal saltworks around the world. Being a small zooplankton, *Artemia* serves not only an important part of the food chain and biological regulator in the brine ecosystem, but also a crucial live food item in marine fish and crustacean larviculture. This study aimed to investigate whether the population genetic diversity, genetic structure, and morphological characteristics of *Artemia franciscana* originated from San Francisco Bay saltpan have been changed during the coexistence with local parthenogenetic *Artemia* populations after artificial inoculation in the Bohai Bay saltworks. Five batches of *Artemia* cysts collected in previous years (1990—2021) included *A. franciscana* population from SFB, USA in 1990, *A. franciscana* population from Vinh Chau saltworks, Vietnam in 2018, parthenogenetic *Artemia* population from BHB Chengkou saltworks in 1990 (before inoculating *A. franciscana*), and two populations from BHB Tanggu saltworks in 2010 and BHB Chengkou saltworks in 2021 (after inoculating *A. franciscana*). The cysts were hatched separately and *Artemia* nauplii were reared till adult for morphometric measurement. Genomic DNA was extracted from each adult, followed by amplification and sequencing of the *COI* gene. The genetic diversity and genetic structure of different populations before and after inoculation were analyzed by using the *COI* gene sequences, and the genetic structure among different populations and their adaptive changes in new habitats were explored. The results showed that the inoculation and colonization of SFB *A. franciscana* in Bohai Bay saltworks has led to an increase in the genetic diversity of local *Artemia* population. *A. franciscana* has outcompeted the BHB indigenous parthenogenetic *Artemia* population as a dominant species, putting the native parthenogenetic population at risk of extinction. The fact that SFB population had no significantly genetically differentiation from the BHB Chengkou and Tanggu populations, confirming that these populations were directly introduced from the SFB population. Morphometric analyses revealed that introduction of the SFB *Artemia* into BHB saltworks resulted in decreasing cyst diameter and increasing male body length in the mixed BHB *Artemia* population. Similarly, the decrease of cyst diameter also occurred after the introduction of the *A. franciscana* into Vinh Chau, Vietnam. These results indicate that *A. franciscana* possesses strong environmental adaptability and morphometric plasticity, which supports its establishment and broader ecological amplitude during competitive coexistence. This study provides valuable insights into biodiversity in saltworks ecosystem and offers guidance for the conservation and management of *Artemia* germplasm resources.

Key words: *COI* gene; Genetic diversity; Population genetic structure; Morphometrics; *Artemia*