

文章编号: 1674-5566(2010)05-0622-05

## 臂尾轮虫属的数值分类研究

卢亚芳<sup>1,2</sup>, 邢颜丽<sup>2</sup>, 张红燕<sup>1</sup>

(1. 中国水产科学研究院淡水渔业研究中心, 农业部淡水渔业遗传育种和养殖生物学  
重点开放实验室, 江苏 无锡 214081;  
2. 集美大学水产学院, 福建 厦门 361021)

**摘要:** 应用数值分类方法, 将 13 种臂尾轮虫 (*Brachionus*), 十指平甲轮虫 (*Platyias militaris*), 盘状鞍甲轮虫 (*Lepadella patella*) 等 15 种轮虫作为分类单元, 选取它们的 45 项性状作为变量, 以卡方距离类平均的聚类方法进行聚类分析, 建立的聚类树状图将 14 种臂尾轮虫分为 3 个类群, 其结果与遗传分析方法的结果基本一致, 并支持裂足臂尾轮虫 (*B. diversicomis*), 十指平甲轮虫隶属于臂尾轮虫属。研究表明, 数值分类可以较好地反映臂尾轮虫属的自然系统关系和分类地位。

**关键词:** 臂尾轮虫; 形态特征; 聚类分析; 数值分类

中图分类号: Q959.18 文献标识码: A

## Study on numerical taxonomy of *Brachionus* in China by cluster analysis

LU Ya-fang<sup>2</sup>, XING Yan-li, ZHANG Hong-yan

(1. Key Laboratory of Genetic Breeding and Aquaculture Biology of Freshwater Fishes, Ministry of Agriculture, Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Science, Wuxi 214081, China;  
2. Fisheries College, Jimei University, Xiamen 361021, China)

**Abstract:** Methods based on hierarchical cluster analysis, numerical taxonomy was first applied to 13 kinds of *Brachionus*, *Platyias militaris* and *Lepadella patella*. A total of 45 characters was evaluated from specimens in 15 Operational Taxonomic Units (OTU). The results of hierarchical cluster analysis show that relation and the taxonomic position of 13 (OTU) kinds of *Brachionus*, *Lepadella patella* and *Platyias militaris*. It was so concluded that *Platyias militaris* and *B. diversicomis* was assigned to *Brachionus*. The results of numerical taxonomy could objectively reflect the taxonomic position of *Brachionus*.

**Key words:** *Brachionus*; morphologic character; hierarchical clustering analysis; numerical taxonomy

数值分类 (numerical taxonomy) 是一门应用数学理论和计算机技术确定生物分类的边缘学科, 它是通过数学方法将所有的分类性状加以处理, 再以性状间的相似性来进行归类, 由于它借助电子计算机对大量、多元数据进行综合分析,

分类效率和分类的客观性都比传统分类方法大为提高, 使生物分类比以往的传统分类更接近自然的进化分类系统<sup>[1]</sup>。

20 世纪 50 年代开始, 国外就开展了生物数值分类的研究, 如今已达到自动化鉴定的水

收稿日期: 2010-05-02

基金项目: 农业部淡水鱼类遗传育种和养殖生物学重点开放实验室项目 (BZ2009-26)

作者简介: 卢亚芳 (1963-), 女, 副教授, 主要从事水生生物学方面的研究。E-mail: xny63@sina.com

平<sup>[2]</sup>, 我国的生物数值分类研究起步于 20 世纪 80 年代, 现在数值分类方法已被应用于动植物、微生物的分类研究中<sup>[3-5]</sup>。臂尾轮虫属的系统发生和分类地位的研究在国内已有一些报道, 但都只限于利用 DNA 序列等分子分析方法<sup>[6-12]</sup>, 而利用数值分类的方法对臂尾轮虫属系统发生和分类地位的研究目前尚未见报道。

臂尾轮虫属 (*Brachionus*) 是一类分布广泛, 数量较多的世界性分布的小型浮游动物, 隶属于轮虫动物门 (*Rotifera*)、臂尾轮虫科 (*Brachionidae*), 本属的许多种类由于形态构造存在周期性或地方性的变异<sup>[12]</sup>, 中间的过渡类型较多, 不少学者对臂尾轮虫属种间的分类界线认识仍不统一。裂足臂尾轮虫、壶状臂尾轮虫 (*B. urceolaris*)、红臂尾轮虫 (*B. rubens*) 和褶皱臂尾轮虫 (*B. plicatilis*)、十指平甲轮虫等在种类归属和

系统发生上一直存有争议<sup>[6-21]</sup>。鉴于臂尾轮虫属传统形态分类学中存在的问题, 本文利用数值分类方法对其进行研究, 并与 DNA 序列分析结果进行比较, 探讨臂尾轮虫属种间的亲缘关系和系统发生, 为其自然分类地位的确立提供新的科学理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 分类单元及材料来源

选取我国常见的 13 种臂尾轮虫、十指平甲轮虫和盘状鞍甲轮虫共 15 种生物作为分类单元 (operational taxonomic units, OTU) (表 1), 其中盘状鞍甲轮虫作为外群种用于比照分析。研究材料以固定标本为主, 这些标本分别来自中国广西、上海、福建、安徽等各个省区的不同水体。

表 1 用于分析的分类单元名称与编号

Tab 1 Numbers and names of taxa used as OTUs

| 编号 | 中文名    | 拉丁名                              | 编号 | 中文名    | 拉丁名                          |
|----|--------|----------------------------------|----|--------|------------------------------|
| 1  | 角突臂尾轮虫 | <i>Brachionus angularis</i>      | 9  | 壶状臂尾轮虫 | <i>Brachionus urceolaris</i> |
| 2  | 萼花臂尾轮虫 | <i>Brachionus calyciflorus</i>   | 10 | 变异臂尾轮虫 | <i>Brachionus variabilis</i> |
| 3  | 蒲达臂尾轮虫 | <i>Brachionus budapestensis</i>  | 11 | 镰状臂尾轮虫 | <i>Brachionus falcatulus</i> |
| 4  | 剪形臂尾轮虫 | <i>Brachionus forficula</i>      | 12 | 褶皱臂尾轮虫 | <i>Brachionus plicatilis</i> |
| 5  | 尾突臂尾轮虫 | <i>Brachionus caudatus</i>       | 13 | 矩形臂尾轮虫 | <i>Brachionus leydigi</i>    |
| 6  | 裂足臂尾轮虫 | <i>Brachionus diversicomis</i>   | 14 | 十指平甲轮虫 | <i>Platyasmilijaris</i>      |
| 7  | 方形臂尾轮虫 | <i>Brachionus quadridentatus</i> | 15 | 盘状鞍甲轮虫 | <i>Leptodella patelella</i>  |
| 8  | 红臂尾轮虫  | <i>Brachionus rubens</i>         |    |        |                              |

### 1.2 分类指标的选择和测定

臂尾轮虫的外部形态结构 (图 1) 比较复杂, 本文依据数值分类的原则, 从传统分类特征和各种度量法中, 筛选出种内相对稳定的 45 项性状作为分类性状<sup>[1-5]</sup>, 其性状分 3 种: 二元性状 (简称“T”); 数量多态性状 (简称“Q”); 定性多态性状 (简称“M”) (表 2)。

在光学显微镜下对 15 个分类单元 (OTU) 轮虫标本的 45 项分类性状进行观察及测量, 每种轮虫分别测定 30 个样本, 并记录结果, 最后取平均值作为分类性状的原始数据参加分析运算。少数性状参照文献记载。

### 1.3 聚类分析

#### 1.3.1 数据的处理

将上述 15 个分类单元的 45 项分类性状构成

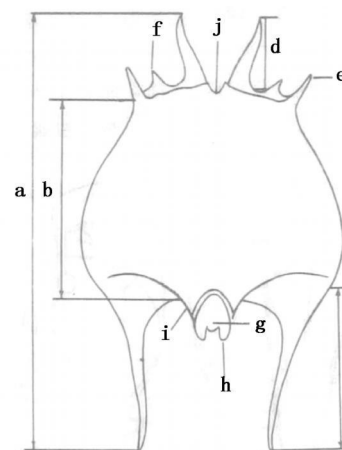


图 1 臂尾轮虫被甲模式图

Fig 1 The Picture of *Brachionus* s Lorica in dorsal view

a 全长; b 体长; c 后棘刺; d 前中棘刺;  
e 前侧棘刺; f 前次中棘刺; g 足孔;  
h 后中棘刺; i 足管; j 被甲腹缘。

一个原始数据矩阵,为了使不同量纲、不同数量级的数据能在一起进行比较,对原始数据矩阵进行标准化变换处理<sup>[21-24]</sup>。

表 2 分类性状及其编码  
Tab 2 Taxonomic characters and codes

| 编号 | 性状     | 赋值方法          | 类型 | 编号  | 性状       | 赋值方法               | 类型 |
|----|--------|---------------|----|-----|----------|--------------------|----|
| 1  | 总长     | 实测值           | Q  | 24  | 背甲棘数     | 实际数量               | Q  |
| 2  | 体长     | 实测值           | Q  | 25  | 腹甲峰形态    | 平-0,尖-1            | M  |
| 3  | 体宽     | 实测值           | Q  | 26  | 腹甲峰侧有无凹陷 | 有-0,无-1            | T  |
| 4  | 前缘宽    | 实测值           | Q  | 27  | 腹甲峰数     | 无-0,1对-1,2对-2,3对-3 | M  |
| 5  | 足孔深度   | 实测值           | Q  | 28  | 最长背棘位置   | 中央-0,第二-1          | M  |
| 6  | 足孔最宽   | 实测值           | Q  | 29  | 前刺基部形态   | 宽-1,窄-0            | T  |
| 7  | 背中央前棘长 | 实测值           | Q  | 730 | 前刺有无坚固的脊 | 无-0,有-1            | T  |
| 8  | 背中央前棘宽 | 实测值           | Q  | 31  | 前中刺的形态   | 直-0,弯-1,不定-2       | M  |
| 9  | 前次中间刺长 | 实测值           | Q  | 32  | 前中刺的方向   | 靠近-0,直-1,分开-2      | M  |
| 10 | 前侧刺长   | 实测值           | Q  | 33  | 被甲两侧有无棘刺 | 无-0,有-1            | T  |
| 11 | 腹前凹深   | 实测值           | Q  | 34  | 被甲后刺的数目  | 无-0,有-1,两-2        | M  |
| 12 | 腹前凹宽   | 实测值           | Q  | 35  | 被甲后刺的长短  | 无-0,相等-1,不等-2      | M  |
| 13 | 足孔棘长   | 实测值           | Q  | 36  | 足孔位置     | 腹-1,背-0,后部-2       | M  |
| 14 | 后侧刺的长  | 实测值           | Q  | 37  | 足孔的形态    | V型-0,半圆-1,圆-2,扁圆-3 | M  |
| 15 | 休眠卵宽   | 实测值           | Q  | 38  | 足环纹      | 无-0,有-1            | T  |
| 16 | 休眠卵长   | 实测值           | Q  | 39  | 足分节      | 无-0,有-1            | T  |
| 17 | 最大宽度位置 | 实测值           | Q  | 40  | 足有无分叉    | 无-0,有-1            | T  |
| 18 | 被甲的硬软  | 硬-0,软-1       | T  | 41  | 足鞘的有无    | 无-0,有-1            | T  |
| 19 | 被甲是否透明 | 透明-0,不透明-1    | T  | 42  | 趾形态      | 管状-0,钳状-1,爪-2      | M  |
| 20 | 被甲是否光滑 | 光滑-0,不光滑-1    | T  | 43  | 分布       | 广生-0,特生-1          | M  |
| 21 | 背甲形态   | 稍突-0,较突-1,突-2 | M  | 44  | 足刺的长短    | 无-0,相等-1,不等-2      | M  |
| 22 | 腹甲形态   | 平-0,少突-1,突-2  | M  | 45  | 足孔棘的圆尖   | 无-0,尖-1,圆-2        | M  |
| 23 | 背棘形态   | 尖-0,圆-1       | M  |     |          |                    |    |

1.3.2 计算距离系数

计算各 OTU 之间的距离,本文采用卡方距离作为 OTU 间亲疏程度的数量指标。

$$\text{卡方距离: } d_j = \sum_{k=1}^m \{ (x_{jk} - e_{jk})^{2/e_{jk}} + (x_k - e_{jk})^{2/e_{jk}} \} \quad (1)$$

其中:  $e_{jk} = (x_{jk} - x_k) \frac{T_i}{T_{ij}}$  (2)

$$T_i = \sum_{k=1}^m x_k, T_{ij} = T_i + T_j \quad (k=1, 2, \dots, m; i, j=1, 2, \dots, n) \quad (3)$$

式中: m 为变量数; n 为样本数; x 为性状值。

1.3.3 系统聚类

根据 OTU 间亲疏程度的数量指标对 OTU 进行归类。聚类方法是将相似系数最大或距离最近的两个类群先归为一类,然后计算这个新类和其他各类之间的相似系数或距离,再将距离最近的两类合并,如此,直至所有的类归为一类为止。

本文采用类平均法进行聚类,它是用两类之间的平均平方距离作为两类之间的距离<sup>[22-24]</sup>。

$$\text{平均平方距离: } D_{pq} = \frac{1}{n_p n_q} \sum_{G_p \in G_q} d_{ij}^2 \quad (4)$$

当  $G_p$  与  $G_q$  合并为新类  $G_r$  时,即  $G_r = \{ G_p, G_q \}$ , 且有  $n_r = n_p + n_q$  则任一类  $G_k$  与  $G_r$  的距离为:  $D_{kr} = \frac{n_p}{n_r} D_{kp}^2 + \frac{n_q}{n_r} D_{kq}^2$ 。

2 结果

通过计算卡方距离,采用类平均法进行系统聚类<sup>[22]</sup>,结果见表 3 和图 2。

由表 3 可以看出,盘状鞍甲轮虫与其他轮虫的卡方距离最远,与角突臂尾轮虫卡方距离为 4.427 6 而红臂尾轮虫和壶状臂尾轮虫的卡方距离最短,为 1.879 4 裂足臂尾轮虫与角突臂尾轮虫卡方距离 3.214 0。

表 3 15个 OTU卡方距离类平方法聚类结果

Tab 3 The result of cluster in 15 OTU

| 类      | 类      | 合并的两类之间的卡方距离 | 新类中 OTU的数量 |
|--------|--------|--------------|------------|
| OTU 9  | OTU 8  | 1.879 4      | 2          |
| OTU 4  | OTU 1  | 1.957 1      | 2          |
| OTU 12 | OTU 10 | 2.080 5      | 2          |
| OTU 5  | OTU 1  | 2.245 9      | 3          |
| OTU 11 | OTU 3  | 2.363 1      | 2          |
| OTU 10 | OTU 2  | 2.594 4      | 3          |
| OTU 3  | OTU 1  | 2.700 7      | 5          |
| OTU 13 | OTU 7  | 2.760 9      | 2          |
| OTU 8  | OTU 2  | 2.910 7      | 5          |
| OTU 14 | OTU 7  | 3.105 0      | 3          |
| OTU 6  | OTU 1  | 3.214 0      | 6          |
| OTU 7  | OTU 2  | 3.747 9      | 8          |
| OTU 2  | OTU 1  | 3.942 3      | 14         |
| OTU 15 | OTU 1  | 4.427 6      | 15         |

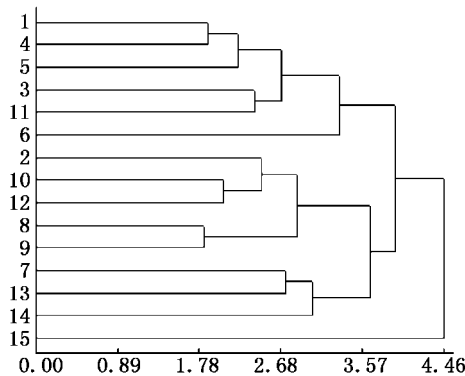


图 2 15个 OTU的聚类树状图

Fig 2 The cluster dendrogram of 15 OTU

由图 2可见, 盘状鞍甲轮虫与其他 14种轮虫都不聚合, 成为独立的一类, 其他 14种轮虫划分为 3大类群。角突臂尾轮虫、剪形臂尾轮虫、尾突臂尾轮虫、普达臂尾轮虫、镰状臂尾轮虫、裂足臂尾轮虫为第一类群; 萼花臂尾轮虫、变异臂尾轮虫、红臂尾轮虫、壶状臂尾轮虫、皱褶臂尾轮虫为第二类群; 第三类群是方形臂尾轮虫、矩形臂尾轮虫、十指平甲轮虫。

### 3 讨论

从表 3和图 2可以看出, 盘状鞍甲轮虫与其他的轮虫亲缘关系最远, 最独立, 支持盘状鞍甲轮虫和其他轮虫归为不同属的分类结果。

图 2的聚类树状图显示, 除盘状鞍甲轮虫外, 其他 14种轮虫分为 3大类群, 而 3大类群在形态和分布上表现出相同性。

第一类群除镰状臂尾轮虫、裂足臂尾轮虫

外, 皆为小型轮虫, 被甲前端都具有 1—2对的前棘刺, 喜有机质丰富的小型水体, 都属于乙型—中腐性水体分布的种类<sup>[13, 25]</sup>。

第二类群为中等大小的轮虫。除萼花臂尾轮虫外, 被甲前端都具有 3对前棘刺, 被甲的后棘刺都不发达, 其中壶状臂尾轮虫和红臂尾轮虫形态极为相似, 早期曾被认为是同一种—壶状臂尾轮虫 (*B. urceus*)<sup>[13]</sup>; 后来学者依据轮虫被甲前端棘刺两侧对称性及眼点形状的差异性将其分为两个不同的种: 壶状臂尾轮虫和红臂尾轮虫<sup>[15, 18]</sup>, 聚类树状图表明此两种的亲缘关系很近。

第三类群十指平甲轮虫、方形臂尾轮虫、矩形臂尾轮虫皆为形态较大, 营底栖生活的种类, 被甲呈长方形, 被甲的后棘刺都特别发达, 形态不符合典型臂尾轮虫被甲为方形的形态特征。第二类群、第三类的轮虫大都属于甲型—中污性的种类或碱性水体分布的种类<sup>[13, 25]</sup>。

比照数值分类方法和分子分析方法的研究结果, 发现用两种不同方法获得的臂尾轮虫属的亲缘关系树具有较高的一致性, 反映出轮虫系统发生的某种规律性: 角突臂尾轮虫、剪形臂尾轮虫、尾突臂尾轮虫亲缘关系较近, 它们都明显聚合在一起, 构成一个类群, 本研究结果与 Xiang等<sup>[10]</sup>利用 ITS序列、程双怀等<sup>[12]</sup>利用 COI 序列、28S rDNA序列、16S rDNA分析获得的结果相一致<sup>[6-12]</sup>。

壶状臂尾轮虫、红臂尾轮虫和萼花臂尾轮虫、皱褶臂尾轮虫、变异臂尾轮虫、方形臂尾轮虫、矩形臂尾轮虫的亲缘关系较近, 构成一个大

的类群,其中又以壶状臂尾轮虫和红臂尾轮虫关系最为紧密。此结果与鲍蕾、程双怀等利用 COI 序列、28S rDNA 序列、16S rDNA 序列结果基本一致<sup>[6-12]</sup>。

由图 2 可见,裂足臂尾轮虫和十指平甲轮虫的都未直接与其他轮虫聚类,相对比较独立。裂足臂尾轮虫的分类长期以来一直存在分歧,有的学者因其具有槌型咀嚼器,须足轮虫型的头冠,有环状沟纹分节的可伸缩的长足,足有趾等臂尾轮虫属的一些显著特征将其归入臂尾轮虫属<sup>[15,18]</sup>,而裂足臂尾轮虫的被甲纵长,不像臂尾轮虫属的种类呈方形,其足末端 1/3 分叉,在分叉的末端各有一对不正常的钩状趾,因此也有学者认为应将其另立为裂足轮虫属 (*Schizocorca*)<sup>[13]</sup>。聚类树状图 2 显示,虽然裂足臂尾轮虫与其他臂尾轮虫亲缘关系较远,但仍未达到划分不同属的程度,支持将裂足臂尾轮虫归入臂尾轮虫属。

十指平甲轮虫的分类学地位一直有争议,1965 年 Wulfer 将十指平甲轮虫归入臂尾轮属;90 年代后 Tumer 和 Seiger 等将该种另立为新属—扁甲轮虫属 (*Platonus*)。本次的聚类研究表明,十指平甲轮虫与其他臂尾轮虫具有较近的亲缘关系,支持将十指平甲轮虫归入臂尾轮虫属。此结果与程双怀等利用 16S rDNA 以及 Wulfer 和 Kostec 应用传统的分类学方法所得的研究结果一致,不支持 Tumer 和 Seiger 等将它另立新属的观点<sup>[11-12,16-21]</sup>。

以上研究表明,数值分类方法可以较好地反映臂尾轮虫属的自然系统关系和分类地位。如结合相关的基因序列分析,将有助于解决轮虫传统形态分类学中存在的问题,促进轮虫分类学的研究和发展。

#### 参考文献

- [1] 徐克学. 数量分类学 [M]. 北京: 科学出版社, 1994: 1-340.
- [2] Pankhurst R J. Practical Taxonomic Computing [M]. Cambridge: Cambridge University Press, 1991: 110-161.
- [3] 阳含熙, 卢泽愈. 植物生态学的数值分类方法 [M]. 北京: 科学出版社, 1981: 1-420.
- [4] P. 史尼斯, R. 索卡尔. 数值分类学—数值分类的原理和应用 [M]. 赵铁桥, 译. 北京: 科学出版社, 1984: 1-407.
- [5] 喻泓, 肖曙光, 李海涛. 数值分类在我国昆虫分类工作中的应用 [J]. 河南林业科技, 2004, 24(4): 32-34.
- [6] 鲍蕾, 牛翠娟, 马蕊, 等. 裂足轮虫还是裂足臂尾轮虫 [J]. 北京师范大学学报: 自然科学版, 2003, 39(3): 397-401.
- [7] 鲍蕾, 牛翠娟, 马蕊, 等. 四种臂尾轮虫线粒体 COI 基因部分序列及系统发育关系 [J]. 动物学研究, 2003, 24(3): 200-204.
- [8] Fömer O, Black M, Hoch W, et al. DNA templates for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates [J]. Mol Mar Biol Biotechnol, 1994, 5: 294-299.
- [9] 董云伟, 牛翠娟. 萼花臂尾轮虫 *Brachionus calyciflorus* COI 基因序列变异及种群遗传结构分析 [J]. 海洋与湖泊, 2004, 35(5): 473-480.
- [10] Xiang X L, Xi Y L, Hu H Y. Phylogenetic relationships of *Brachionus rotifers* based on DNA ITS 1 gene sequences [J]. Acta Zoologica Sinica, 2006, 52(6): 1067-1074.
- [11] 程双怀, 席貽龙, 项贤领, 等. 从线粒体 COI 基因序列探讨臂尾轮属的系统发生关系 [J]. 动物分类学报, 2007, 32(2): 328-334.
- [12] 程双怀, 席貽龙, 项贤领, 等. 基于 28S rDNA 基因序列研究十种臂尾轮虫的系统关系和分类地位 [J]. 动物分类学报, 2007, 32(3): 599-605.
- [13] 王家楫. 中国淡水轮虫志 [M]. 北京: 科学出版社, 1961: 1-288.
- [14] 梁象秋, 方纪祖, 杨和荃. 水生生物学 [M]. 北京: 北京农业出版社, 1996: 193-206.
- [15] 诸葛燕. 中国典型地带轮虫的研究 [D]. 武汉: 中国科学院水生生物研究所, 1997.
- [16] Tumer P. The rotifer genus *Platias* Harring (1913) in the neotropics [J]. Acta Limnol, 1990, 3(2): 741-756.
- [17] Huelsenbeck J P, Ronquist F. MrBayes: Bayesian inference of phylogeny [J]. Bioinformatics, 2001, 17(8): 754-755.
- [18] 章宗涉, 黄祥飞. 淡水浮游生物研究方法 [M]. 北京: 科学出版社, 1991: 252-287.
- [19] Wulfer K. Revision der Rotatorien-Gattung *Platias* Harring [J]. Limnologica, 1965, 3(1): 41-64.
- [20] Kostec W, Shiel R J. Rotifera from Australian inland waters II. Ephyraeidae and Brachionidae (Rotifera: Monogononta) [J]. Invertebr Taxon, 1987, 1(7): 949-1021.
- [21] Segers H, Munoz G, Dumont H J. On the taxonomy of the Brachionidae: description of *Platonus* n. gen. (Rotifera: Monogononta) [J]. Hydrobiologia, 1993, 268(1): 1-8.
- [22] 唐启义, 冯明光. 实用统计分析及其计算机处理平台 [M]. 北京: 中国农业出版社, 1997: 1-250.
- [23] 王学民. 应用多元分析 [M]. 2 版. 上海: 上海财经大学出版社, 2004: 192-230.
- [24] 何晓群. 多元统计分析 [M]. 2 版. 北京: 中国人民大学出版社, 2008: 1-415.
- [25] 日本生态学会环境问题专门委员会. 环境和指示生物 [M]. 卢全章, 译. 北京: 中国环境科学出版社, 1987: 113-137.