

研究简报

大型溞培养中栅藻密度的几种临界值研究与应用

STUDY AND APPLICATION ABOUT SEVERAL CRITICAL VALUES OF DENSITY OF *SCENEDESMUS* SP. IN THE *DAPHNIA MAGNA* CULTURE

黄 诚 陈建秀

(南京大学, 210093)

HUANG Cheng and CHEN Jian-Xiu

(Nanjing University, 210093)

郭晓鸣

(中国科学院南京地理与湖泊研究所, 20008)

GUO Xiao-Ming

(Nanjing Institute of Geography & Limnology, 210008)

关键词 大型溞, 栅藻密度, 临界值

KEYWORDS *Daphnia magna*, Density of *Scenedesmus*, Critical value

有关大型溞的生长发育等生物学的研究国内外学者已做过许多工作[孙美娟等 1991, 庄德辉和梁彦龄 1986, 宋大祥 1962, Green 1954, Muller 1980, Smith 1963], 但培养过程中其饵料密度的动态过程及其控制尚未有过详细报道。饵料密度因子与枝角类生长发育密切相关, 在集约化培养中必须掌握幼溞发育及成溞生长所需的最低密度, 生殖(产卵)所需的最低密度(一次性投饵后能持续培养多久), 这些参数正是本文所要探索的。研究材料虽然只是大型溞, 但其方法也可用于其它枝角类与相关饵料的研究。

1 材料与方法

实验用大型溞种引自中科院水生生物研究所, 栅列藻由南京大学生物科学与技术系藻菌工程室提供。

大型溞与栅藻密度关系研究设立三组实验: 1. 为确定大型溞正常摄食所需的最低饵料密度, 在二个 500mL 容器中, 投入 270mL 栅藻密度为 $56 \times 10^4 \text{ ind/L}$ 培养液, 然后再从正常培养的稳种群中随机各抽取 90 只大型溞分别投入两容器中, 其中 10 日龄个体占 20%, 幼溞(小于 5 日龄)占 80%; 每隔 30 分钟测定栅藻密度并记录其经时变化。测至平稳时, 建立藻密度与时间的回归方程。该实验设计源于 Sorgeloos 等 [1986] 研究卤虫培养中最小投饵量之确定技术。2. 为确定一次性投饵且不再追加饵料条件下可维持大型溞存活时间从而确定投饵间隔, 设置了不同初始投饵密度, 观察成溞及幼溞存活时间, 并取半数死亡时刻为死亡界限。由于每一群溞个体差别较大, 有的实验组开始就发生了一些死亡, 余者存活时间比其它要长。为消除这些影响, 取半数死亡前各时区的活体数与时间积数之和, 即 $n_i t_i$ 为应变量, 栅藻密度为自变量拟合曲线。3. 依刘卓和王为祥 [1987], 投饵量与产卵率之间的关系可以下式表示:

$$Y = A \{ 1 - (a/x)^b \}$$

式中, a 和 b 均为待定参数

设置 6 组不同栅藻密度的培养瓶(容积 2 000mL), 每组投放均匀大小的均在 2 个日龄的大型溞 100 只, 每隔 1 天添换培养液, 维持其栅藻密度恒定, 经 11 天培养, 镜检产卵率。求出关系式中的参数 a 和 b, 并计算其产卵起 点临界值和过半数产卵之饵料密度值。

2 结果与讨论

二个 270mL 培养液中接种 90 只不同大小的大型溞, 其栅藻密度经时变化如图 1 所示。该曲线存在两个陡降区及两个平缓区, 说明存在两个摄饵密度临界值, 用直线方程分段表示如下:

$$\begin{aligned}
 D &= - 16.34t + 48.6 & (1) & \quad 0 < t < 2.26, r = - 0.946 3^* * \\
 D &= - 2.0t + 16.33 & (2) & \quad 2.26 < t < 3.52, r = - 0.960 8 \\
 D &= - 9.0t + 41.0 & (3) & \quad 3.52 \leq t \leq 4.93, r = - 1.0 9710^* * \\
 D &= - 1.25t + 9.77 & (4) & \quad *
 \end{aligned}$$

直线(1)与(2)之交点及直线(3)与(4)之交点分别为两个陡降区与平缓区 之交界, 即两个摄饵密度临界值。第一个临界值为 11.82×10^4 ind/ mL, 即溞种群正常生长所需的最低投饵密度。第二个临界值为 4.69×10^4 ind/ mL, 即溞种群极端区间临界值。在低于该密度时, 有死亡发生。经用多项式拟合与检验, 曲线为四次多项式:

$$D = 0.064 66x^4 - 1.313 4x^3 + 9.761 4x^2 - 34.068 0x + 53.917 0$$

函数 D(x) 的一阶导数 D'(x) 既是栅藻密度递减速率, 也是大型溞摄食量变化函数, 以 f(x) 表示, 则其函数为:

$$f(x) = - D' = - 0.258 6x^3 + 3.940 2x^2 - 19.522 8x + 34.068 0$$

f(x) 有两个极值点: (4.29, 2.41)、(5.87, 2.93), 第一极值为极小值, 第二极值为极大值。由栅藻密度经时变化函数 D(x) 导出的摄食量变化函数 f

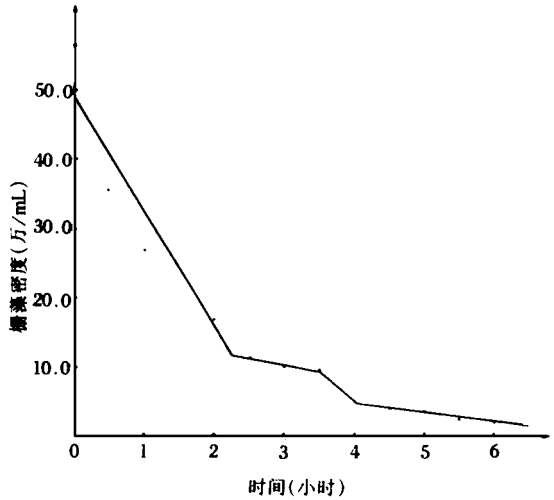


图 1 18~ 20℃ 下饲喂大型溞时栅藻密度与时间关系

Fig. 1 The relation between density of *Scenedesmus* and time in the condition of feeding *D. magna* at 18~ 20℃

(x) 可知: 在正常滤食速率情况下, 滤食量是不断减少的, 当函数 D(x) 出现第一个拐点(4.3, 5.6)时, 滤食量降至最低点(4.3, 2.4)。当 D(x) 出现第二个拐点(5.9, 1.4)时, 滤食量反而达到极大值(5.9, 2.9)。这个极值的存在 揭示了一种规律, 即当饵料密度过低时, 在某一时刻反而引起枝角类滤食速率提高, 随之而来的结果是容器中饵料密度急速下降, 大型溞开始死亡。

在 270mL 培养液, 水温 18~ 20℃ 条件下, 以不同的初始栅藻密度培养(一次性投饵, 不再追加饵料), 观察大型溞存活时间。因存活时间与大型溞密度有关, 故取存活时间与各时段活体数积数之和, 即 $S = \sum n_i t_i$ 为应变量, 求和至半数个体死亡时刻为止。分成溞与幼溞两项实验, 成溞为 19 日龄且已产卵者, 一旦发现实验过程中产仔, 立即把幼体吸取出来; 幼溞为 2 日龄者。测得各组数值如表 1 所示, 存活积数和与初始栅藻密度的函数关系为:

$$\begin{aligned}
 \text{成溞} \quad S &= 19.140 8d - 174.303 4 & r &= 0.978 3^* * , df = 5; \\
 \text{幼溞} \quad S &= 12.338 8d - 33.405 1 & r &= 0.992 5^* * , df = 7
 \end{aligned}$$

实验表明栅藻密度过高, 对大型溞有抑制作用, 如表 2 中 120×10^4 ind/ mL 使大型溞存活积数和下降。各组积数和均需减去零组积数和, 因为零组虽然能使溞存活一定时间, 但这种零点状态是大型溞处于饥饿的不良状态。而正常生物学临界值应取已拟合出的方程之零解。d₀(成溞) = 9.11×10^4 ind/ mL, 幼溞临界值为

$2.71 \times 10^4 \text{ ind/mL}$ 。结果说明幼蚤生长发育所需食物比成蚤生长生殖所需为低。这一结论与何志辉等 [1988] 所研究的食物条件对 *Moina mongolica* 生长生殖影响的结论相一致。

表 1 不同初始栅藻密度条件下, 大型蚤存活时间与活体数量的积数和 ($18 \sim 20^\circ\text{C}$; 至 50% 个体死亡时)

Table 1 The sum of the product of survival time multiplied by living number of *D. magna* at different initial density of *scenedesmus* until the time when 50% individuals died ($18 \sim 20^\circ\text{C}$)

实验初始栅藻密度 d	0	2	4	8	16	32	52	64	84	100	120
成蚤活积数和 S (16 只/30mL)	226	-	-	272	470	640	904	1 078	1 664	2 148	1 7686
S(d) - S(0) (16 只/30mL)	0	-	-	46	244	414	678	852	1 438	1 922	1 560
幼蚤存活积和 S	750	760	762	810	990	1 032	1 328	1 524	1 682	2 028	-
S(d) - S(0)	0	10	12	60	240	282	578	774	9 32	1 278	-

取 2 日龄大型蚤于 23°C 水温, 密度为 20 ind/L 条件下, 各组每日追加饵料一次, 使每日初始栅藻密度恒定, 连续培养 8 天后, 开始取出大型蚤, 逐个在显微镜下检查并记录各组产卵率 (F), 结果列于表 2。到第 11 天时, $25 \times 10^4 \text{ ind/mL}$ 组的大型蚤 F 达 90%, 其余各组均未达此值, 为消除时间对栅藻密度不足的补偿作用, 取第 11 天的各组 F 与栅藻密度之数值建立日投饵密度与产卵率之关系如: $F = 1 - (5.67/d)^{1.2013}$ 。由函数 $F(d)$ 可知, 当日投栅藻密度 $d < 5.67 \times 10^4 \text{ ind/mL}$ 时, 经 11 天培养的大型蚤不能产卵, 即临界值 5.67 意味着大型蚤维持生命所需的饵料量。这数值又比之结果 2.2 的成蚤生存临界值 $S(d)$ 函数的 $d_0 = 9.11$ 为小蚤, 这是由于 $S(d)$ 函数建立是在实验开始时就产卵成蚤, 在实验过程中又几乎都产仔, 而 $F(d)$ 函数中 d_0 则是指不达性成熟的蚤的生存临界值。由 $F(d)$ 函数计算可以知, 要使种群半数以上都产卵, 则饵料密度 $d > 10.10 \times 10^4 \text{ ind/mL}$; 要使种群的 80% 产卵, 则 $d > 21.65 \times 10^4 \text{ ind/mL}$ 。在实验中我们发现当栅藻密度超过 $25 \times 10^4 \text{ ind/mL}$ 以后, 产卵率反而下降。这与宋大祥 [1962] 研究的“2.5L 天然水中投 10 个大型蚤, 则 $4.5 \times 10^4 \text{ ind/mL}$ 栅藻已敷需要”之结果有一定的差异, 但我们认为这是与宋大祥的实验条件不同而致。

表 2 在恒定的栅藻密度条件下, 大型蚤抱卵率 (F) (23°C)

Table 2 The brood proportion of *D. magna* (23°C ; everyday initial density of *scenedesmus* constant)

每日起始栅藻密度	4	8	12	16	20	25	30	35
第 8 天 F	0	0	0	0	0	30	40	0
第 9 天 F	0	0	0	0	20	40	40	30
第 10 天 F	0	0	10	10	30	40	50	50
第 11 天 F	0	10	30	50	80	90	80	60
第 12 天 F	0	20	30	50	80	90	80	70
第 13 天 F	0	20	40	80	90	90	80	70
第 14 天 F	10	40	50	90	100	100	90	70

3 小结

在水温 $18 \sim 20^\circ\text{C}$, 蚤密度 0.3 ind/mL 条件下, 大型蚤种群正常摄食所要求的临界栅藻密度为 $11.8 \times 10^4 \text{ ind/mL}$, 而大型蚤所能耐受的极端区下限为 $4.7 \times 10^4 \text{ ind/mL}$ 。栅藻密度在极端区间内大型蚤能产生适应而不致死亡。使大型蚤产卵的最低栅藻密度值为 $5.67 \times 10^4 \text{ ind/mL}$, 此仅对 23°C 蚤密度 0.02 ind/mL 培养条件而言, 若蚤密度为 0.3 ind/mL 时, 则不能产卵。

大型蚤在本培养条件下最早出现产卵个体为第 8 天, 宋大祥 [1962]、庄德辉和梁彦龄 [1986] 的研究表明在第 6 天即有产卵个体出现, MacArthur [宋大祥 1962] 研究表明 28°C 时雌体第 8 天开始产卵, 这些差异出现的原因是由于不同培养条件所致。要使得培养过程中至少半数存活, 大型蚤成蚤所需密度必须 $d > 9.1 \times 10^4 \text{ ind/mL}$, 幼蚤则为 $2.7 \times 10^4 \text{ ind/mL}$ 。

水体中各生态因子相互影响,如光照、水温、大型溞本身大小及密度等因素对各项临界值的大小都有影响。饵料本身状态也值得注意。每日加饵培养实验中发现,新鲜的 8 细胞排列状态的栅藻饲喂效果,不及衰老呈雾状(多数为单个或 2 细胞排列状态)的栅藻。一次性投饵培养实验中,当栅藻老化呈片状时,即使水体中悬浮栅藻量很小,大型溞生长状况仍然良好。这正如代田昭彦[1975]提出的,老化的栅藻易于被消化吸收,饲喂效果反而好。因此,根据实际情况,需对引用的溞种及饵料品种进行预备实验,重新确定各项临界值参数,以便在大量培养过程中进行有效的动态控制。

本研究属江苏省科委下达的“枝角类集约化培养”课题之部分,该项工作得到了中国科学院水生生物研究所黄祥飞先生的指导和帮助。

参 考 文 献

- 孙美娟,张甬元,蔡俊鹏. 1991. 一种耐高温大型溞 HB 的培养和生物学的初步研究. 水生生物学报, 15(2): 168~ 173.
- 刘 卓,王为祥编译. 1987. 饵料浮游动物培养, 182~ 184. 北京: 农业出版社.
- 庄德辉,梁彦龄. 1986. 大型溞生长、生殖和种群增长的研究. 水生生物学报, 10(1): 24~ 30.
- 宋大祥. 1962. 大型溞 (*Daphnia magna Straus*) 的初步培养研究. 动物学报, 14(1): 49~ 62.
- 何志辉,闫立光,张 毅. 1988. 食物条件对蒙古裸腹溞生长、生殖和内禀增长率的影响. 大连水产学院学报, (3~ 4): 21~ 27.
- 代田昭彦. 1975. 水产饵料生物学. 东京: 恒星社厚生阁.
- Green J. 1954. Size and reproduction in *Daphnia magna* (Crustacea: cladocera). Proc Zool Soc Lond. 124: 535~ 545.
- Muller H G. 1980. Experience with test systems using *Daphnia magna*. Ecotoxicology and environmental safety, 4(1): 21~ 25.
- Smith E. 1963. Population dynamics in *Daphnia magna* and new model for population growth. Ecology, 44: 651~ 663.
- Sorgeloos P, Lavens P, Leger Ph. 1986. Manual for the culture and use of brine shrimp *Artemia* in aquaculture. The belgium administration for development cooperation, 319pp.