

密度和雌雄比例对隆线蚤混交雌体生殖方式的影响

单喜双¹, 崔晓翠², 王建国¹, 王洲¹, 陈俊杰¹

(1. 江苏农牧科技职业学院水产科技系, 江苏泰州 225300; 2. 江苏省淡水水产研究所, 江苏南京 210017)

摘要 [目的] 研究密度及雌雄比例对隆线蚤混交雌体生殖方式的影响。[方法] 将产过1次冬卵的隆线蚤雌体按不同密度和不同雌雄比例进行分组, 研究不同密度及雌雄比例对隆线蚤混交雌体生殖方式的影响。[结果] 当密度为0.1、0.2、0.5、0.8、1.0个/mL时, 冬卵率和夏卵率无显著差异; 当密度为2.0个/mL时, 冬卵率显著高于其他5组($P < 0.05$), 而夏卵率显著低于其他5组($P < 0.05$)。不同雌雄比例对隆线蚤混交雌体产冬卵的量没有显著影响($P > 0.05$)。[结论] 该研究结果可为将枝角类作为水产动物饵料生物的开发利用奠定基础。

关键词 隆线蚤; 混交雌体; 密度; 冬卵; 生殖方式

中图分类号 S963.21*4 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2017)15-0120-02

Effect of Density and Female-male Ratio on the Reproduction Ways of *Daphnia carinata* Mictic Female

SHAN Xi-shuang¹, CUI Xiao-cui², WANG Jian-guo¹ et al (1. Department of Aquatic Science and Technology, Jiangsu Agri-animal Husbandry Vocational College, Taizhou, Jiangsu 225300; 2. Freshwater Aquaculture Research Institute of Jiangsu Province, Nanjing, Jiangsu 210017)

Abstract [Objective] To study the effects of density and female-male ratio on the reproduction ways of *D. carinata* mictic female. [Method] Female *D. carinata* oviposited once of dormant eggs were divided according to different density and female-male ratio. The effects of density and female-male ratio on the reproduction ways of *D. carinata* mictic female were studied. [Result] When the density was 0.1, 0.2, 0.5, 0.8 and 1.0 ind./mL, there was no significant difference of dormant egg rate ($P > 0.05$). When the density of *D. carinata* was 2.0 ind./mL, its dormant egg rate was significantly higher than that of other five groups ($P < 0.05$), and its aestival egg rate was significantly lower than that of other five groups ($P < 0.05$). Different female-male ratio had no significant effects on the amount of dormant eggs of *D. carinata* mictic female ($P > 0.05$). [Conclusion] The research results can provide foundation for the development and utilization of Cladocera as baits of aquatic animals.

Key words *Daphnia carinata*; Mictic female; Density; Dormant eggs; Reproduction ways

枝角类隶属节肢动物门甲壳纲鳃足亚纲枝角目, 是浮游动物的重要组成部分之一, 是水产动物重要的饵料生物^[1]。我国淡水养鱼业历史悠久, 枝角类作为渔业养殖的优质饵料, 是一类经济价值很高的水生动物。枝角类体内不仅含有大量的蛋白质, 而且含有鱼类营养所需要的多种必需氨基酸、钙质、维生素等, 可用于防治水生动物因缺乏各种维生素而产生的疾病^[2]。此外, 枝角类作为一种无脊椎动物饵料, 其体内富含脂肪, 水生动物吞食后可增加肥度, 从而提高鱼、虾类的食用价值^[3]。同时, 枝角类对水中有害物质的存在较为敏感, 因此是指示水体污染较为理想的实验生物, 已成为国际标准化组织及世界各国水质必测项目之一^[4]。枝角类的生活史由交替进行的孤雌生殖世代与两性生殖世代组成, 在漫长的进化过程中针对不同生境所发展起来的孤雌生殖和有性生殖2种生态对策对其种群的延续与发展具有重要意义。进行有性生殖的雌体被称为混交雌体, 混交雌体以减数分裂的方式产生单倍染色体的需精卵, 一部分需精卵不受精, 产生雄卵, 孵出雄枝角类。雄枝角类与其他混交雌体交配、受精后在混交雌体内形成厚壳的休眠卵一般称为冬卵。冬卵可以对抗各种不良环境长达数月之久, 待环境转好时再孵化成非混交雌体, 又可以进行孤雌生殖。孤雌生殖有助于枝角类在适宜环境中迅速扩大种群, 占据生态位; 有性生殖有助于枝角类度过恶劣环境^[5]。关于枝角类繁殖方式的影

响因素较多, 温度、食物条件、种群密度等都在一定程度上影响其繁殖方式^[6-9]。目前, 关于产过1次冬卵的隆线蚤的生殖方式报道较少, 而研究不同密度对枝角类混交雌体生殖方式的影响对于探究枝角类的种群繁殖在水产养殖业中的应用具有重要作用。笔者阐述了不同密度及不同雌雄比例对产过一次冬卵的枝角类混交雌体生殖方式的影响, 以期为实现工厂化培育枝角类奠定基础。

1 材料与方法

1.1 蚤类采集 试验所用隆线蚤为实验室内长期保存的蚤种, 原种采自江苏省泰州市引凤河。

1.2 培养液 从市场上购买炒熟的大豆粉, 经400目筛绢筛滤, 加入经曝气的自来水, 配制成浓度20 mg/L的培养液, 备用。

1.3 隆线蚤的预培养 选取1个健康的隆线蚤幼蚤雌体, 放入盛有培养液的250 mL烧杯中培养, 使其连续进行孤雌生殖, 定期换水, 在密度较大时培养容器换成1 000 mL烧杯, 最后用玻璃鱼缸(50 cm × 40 cm × 30 cm)进行培养。约20 d时种群达到较高密度, 此时减少换水次数, 隆线蚤种群中出现混交雌体, 当发现怀有冬卵的混交雌体而数量很少时, 将其挑出弃之不用, 直到第1次出现大量带有冬卵的混交雌体时, 取出单独培养, 使其将冬卵产下后作为试验蚤, 备用。

1.4 试验方法 以100 mL烧杯为培养容器, 在其中装入50 mL培养液, 然后根据密度和雌雄比例分别分组进行试验。按照不同密度梯度分为6组(0.1、0.2、0.5、0.8、1.0、2.0个/mL), 每组分别放入5、10、25、40、50、100个雌蚤。按照雌雄比例分为4组, 即全雌、5:1、2:1和1:1, 分别放入

基金项目 江苏农牧科技职业学院科研项目(NSF201613)。

作者简介 单喜双(1988—), 男, 吉林扶余人, 助教, 硕士, 从事特种水产动物养殖工作。

收稿日期 2017-04-12

24 ♀, 20 ♀、4 ♂, 16 ♀、8 ♂, 12 ♀、12 ♂, 分别记为 M_0 、 M_1 、 M_2 、 M_3 , 每组 5 个重复。将烧杯置于恒温光照培养箱(宁波东南仪器有限公司 GXZ 型光照培养箱)内, 温度设置为 25 ℃, 光照强度为 1 350 lx, 光照时间 L:D = 12 h: 12 h。每天 2 次观察试验蚤的产卵情况及死亡个体数量, 同时每天补充适量培养液, 保持培养液体积稳定在 50 mL。试验连续进行 7 d。

按照以下公式计算冬卵率(E_1)和夏卵率(E_2):

$$E_1 = R / (R + S) \times 100\% \quad (1)$$

$$E_2 = S / (R + S) \times 100\% \quad (2)$$

式中, E_1 为冬卵率(%), E_2 为夏卵率(%), R 为怀冬卵试验蚤(个), S 为怀夏卵试验蚤(个)。

1.5 数据统计与分析 数据处理使用 Excel 2007 软件, 数据统计分析采用 SPSS 17.0 统计软件, 结果均以平均值 ± 标准差表示, 组间差异采用 Duncan's 多重比较, 显著水平为 0.05。

2 结果与分析

由表 1 可知, 试验蚤在不同试验密度(0.1、0.2、0.5、0.8、1.0、2.0 个/mL)下培养, 都能再次产冬卵或直接产夏卵, 当密度为 0.1、0.2、0.5、0.8 和 1.0 个/mL 时冬卵率无显著差异, 冬卵率分别为 9.23%、13.33%、15.45%、17.30%、21.44%。当密度为 2.0 个/mL 时, 冬卵率提高到 89.61%, 与其他 5 组差异显著。密度为 0.1、0.2、0.5、0.8、1.0 个/mL 的 5 个处理组夏卵率差异不显著; 当密度为 2.0 个/mL 时, 夏卵率仅为 10.39%, 显著低于其他 5 组($P < 0.05$)。

表 1 不同密度对隆线蚤产卵方式的影响

Table 1 The effects of different density of *D. carinata* on its reproduction ways %

密度 Density // 个/mL	冬卵率 Dormant egg rate	夏卵率 Aestival egg rate
0.1	9.23 ± 12.45 b	90.77 ± 12.45 a
0.2	13.33 ± 10.82 b	86.67 ± 10.82 a
0.5	15.45 ± 7.09 b	84.55 ± 7.09 a
0.8	17.30 ± 5.32 b	82.70 ± 5.32 a
1.0	21.44 ± 3.99 b	78.56 ± 3.99 a
2.0	89.61 ± 7.99 a	10.39 ± 7.99 b

注: 同列不同小写字母表示差异显著($P < 0.05$)

Note: Different small letters in the same column indicate significant difference ($P < 0.05$)

从图 1 可以看出, 过高的密度对试验蚤的存活率有影响。当密度为 0.1、0.2、0.5、0.8、1.0 个/mL 时, 隆线蚤的存活率都在 86% 以上。当密度达到 2.0 个/mL 时, 存活率降至 77%。

由表 2 可知, M_0 组冬卵率高于 M_1 、 M_2 、 M_3 组, 而 M_0 组夏卵率低于 M_1 、 M_2 、 M_3 组。总体来看, 不同雌雄比例对隆线蚤混交雌体的生殖方式没有显著影响($P > 0.05$)。

3 讨论与结论

研究表明, 温度、食物条件、种群密度对于枝角类生殖方式和冬卵的产生有重要影响^[10-12]。据报道, 蒙古裸腹蚤在大幅变温(16~30 ℃)和高温(30 ℃)下冬卵的发生率明显

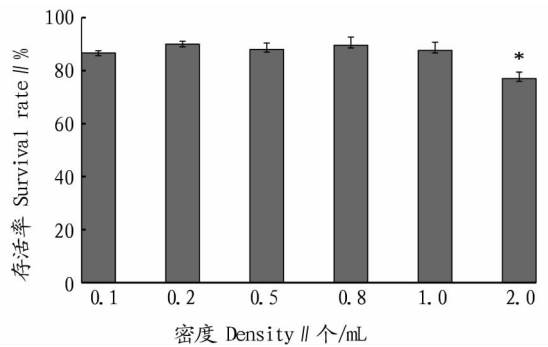


图 1 不同密度对隆线蚤混交雌体存活率的影响

Fig. 1 The effects of different density on the survival rate of *D. carinata*

表 2 不同雌雄比例对隆线蚤混交雌体生殖方式的影响

Table 2 The effects of different female-male ratio on the reproduction ways of mictic female of *D. carinata* %

组别 Group	冬卵率 Dormant egg rate	夏卵率 Aestival egg rate
M_0	78.15 ± 8.30	21.85 ± 8.30
M_1	77.78 ± 9.17	22.22 ± 9.17
M_2	69.44 ± 5.70	30.56 ± 5.70
M_3	62.50 ± 6.67	37.50 ± 6.67

高于其他温度, 而孤雌生殖的最适水温为 25 ℃, 低温则不利于获得大量冬卵^[13]。陆开宏等^[14]也发现食物数量影响隆线蚤(*D. carinata*)的生殖方式, 处于半饥饿状态能诱发冬卵产生。种群密度是影响枝角类繁殖方式的一个重要影响因子, 天然水域中雄体与混交雌体一般在枝角类种群密度最高或生物量最大时出现^[15]。通常, 冬卵产生的多少与培养密度呈正相关^[16]。种群密度能强烈地诱导枝角类生殖转化可能是种群密度高, 个体间的碰撞几率增大, 代谢产物积累, 食物耗尽, 生活环境恶化所致^[17]。该研究得到了相似的结论, 当密度达到 2.0 个/mL 时进行两性生殖的个体明显增多, 但若密度过高会使隆线蚤的存活率下降。该试验结果表明, 当密度达到 2.0 个/mL 时试验蚤的存活率显著降低。笔者发现在低密度下仍有部分隆线蚤进行有性生殖, 可能与隆线蚤的蛋白质和基因有关。该研究结果与 Banta 等^[18]报道相一致。

在隆线蚤生存空间存在雌性时, 由于环境因素, Innes^[19]认为雄体的出现刺激了两性雌体(Sexual female)的产生。在正常情况下, 蚤属雄体与两性生殖雌体交配后, 进行受精作用, 两性生殖雌体排出 1 个或 2 个受精卵进入卵鞍内, 即形成冬卵^[20]。即使环境中不再有雄性枝角类的存在, 混交雌体仍然可以继续产生冬卵^[15]。该试验得到相同的结论, 全雌组的隆线蚤在群体中没有雄性隆线蚤的情况下仍然有 17.34% 的混交雌体可以产冬卵。并且雄性个体的数量对产卵方式的影响并不明显。

在生产中, 如果需要对枝角类进行保种, 适当增大密度就可以得到更多的冬卵。当需要大量的枝角类作为饵料时, 可以适当扩大生存空间减少密度, 促使枝角类进行有性生殖产生夏卵, 种群数量迅速增大。

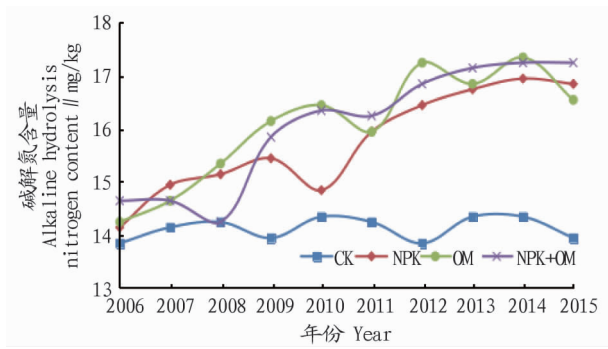


图3 2005—2015年长期定位施肥土壤碱解氮含量

Fig.3 Soil alkaline hydrolysis nitrogen content of long-term located fertilization in 2005 - 2015

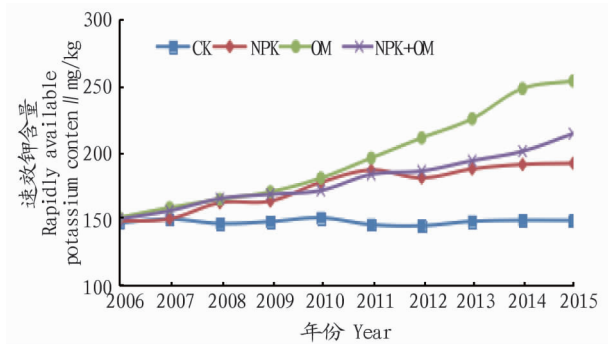


图4 2005—2015年长期定位施肥土壤速效钾含量

Fig.4 Soil rapidly available potassium content of long-term located fertilization in 2005 - 2015

施用有机肥后土壤有效钾含量高于施用无机肥。

在不施肥情况下土壤肥力指标在短期几年内有所下降,同时所种植小麦产量无明显变化,这与 Li 等^[10]的研究结果基本一致。由于该试验仅考虑产量与土壤这两者情况,没有考虑长期定位施肥给土壤与作物带来的污染与影响,故利用长期定位施肥试验进行有针对性的施肥,还需要进行重金属以及其他污染物的定期监测,保证土壤与食品安全。

参考文献

- [1] 王改玲,李立科,郝明德,等.长期定位施肥对土壤重金属含量的影响及环境评价[J].水土保持,2010,11(3):60-63,70.
- [2] ALGOZIN K A,BRALTS V F,RITCHIE J T.以农作物产量、水和能量利用关系为基础的灌溉策略选择[J].灌溉排水,1989,11(4):37-41.
- [3] 孙波,朱兆良,牛栋.农田长期生态过程的长期试验研究进展与展望[J].土壤,2007,39(6):849-854.
- [4] 李贵华.国外近百年来的长期肥料定位试验[J].新疆农业科学,1990(3):140-142.
- [5] 程艳丽,邹德乙.长期定位施肥残留养分对作物产量及土壤化学性质的影响[J].土壤通报,2007,38(1):64-67.
- [6] GALANTINI J,ROSELL R. Long-term fertilization effects on soil organic matter quality and dynamics under different production systems in semiarid Pampean soils[J]. Soil & tillage research,2006,87(1):72-79.
- [7] 沈善敏.长期土壤肥力试验的科学价值[J].植物营养与肥料学报,1995,1(1):1-9.
- [8] 王希通,李梦醒,刘淑英.土壤化学分析方法[M].石家庄:河北人民出版社,1980.
- [9] 鲍士旦.土壤化学分析[M].北京:中国农业出版社,2000.
- [10] LI J M,GAO J S,MA Y B,et al. Phosphorus accumulation in soils in rice-cropping systems with chemical fertilizer application: Modeling and validation[C]//GILKES R,PRAKONGKEP N. Proceedings of the 19th world congress of soil science, Brisbane, Australia; Soil solutions for a changing world. Crawley: International Union of Soil Sciences,2010:224-227.
- [11] FITZSIMMONS J M,INNES D J. Inter-genotype variation in reproductive response to crowding among *Daphnia pulex* [J]. Hydrobiologia,2006,568(1):187-205.
- [12] SMITH A S,ACHARYA K,JACK J. Overcrowding, food and phosphorus limitation effects on ephippia production and population dynamics in the invasive species *Daphnia lumholzi* [J]. Hydrobiologia,2009,618(1):47-56.
- [13] 卢芳野,何志辉.蒙古裸腹蚤休眠卵诱发规律的研究[J].大连水产学院学报,1999,14(1):18-19.
- [14] 陆开宏,钱云霞,丁士芳.隆线蚤 *Daphnia carinata* King 冬卵诱发试验[J].浙江水产学院学报,1992,17(1):10-15.
- [15] CARVALHO G R,HUGHES R N. The effect of food availability, female culture-density and photoperiod on ephippia production in *Daphnia magna* Straus (Crustacea: Cladocera) [J]. Freshwater biology,1983,13(1):37-46.
- [16] EL MOGHRABY A I. A study on diapause of zooplankton in a tropical river; The blue Nile [J]. Freshwater biology,1977,7(3):207-212.
- [17] GREBELNYI S D. Influence of parthenogenetic reproduction on the genotypic constitution and evolutionary success of population and species [J]. Hydrobiologia,1996,320(1/2/3):55-61.
- [18] BANTA A M,BROWN L A. Control of sex in Cladocera: I. Crowding the mothers as a means of controlling male production [J]. Physiological and biochemical zoology 1929,2(1):80-92.
- [19] INNES D J. Sexual reproduction of *Daphnia pulex* in a temporary habitat [J]. Oecologia,1997,111(1):53-60.
- [20] WINSOR G L,INNES D J. Sexual reproduction in *Daphnia pulex* (Crustacea: Cladocera): Observations on male mating behavior and avoidance of inbreeding [J]. Freshwater biology,2002,47:441-450.

(上接第121页)

参考文献

- [1] 杨四秀. 枝角类繁殖生物学研究概况 [J]. 水利渔业,2004,24(4):12-22.
- [2] 孟琼. 几种生态因子对大型蚤两性生殖影响的研究 [D]. 上海: 上海海洋大学,2008.
- [3] 杨仕懋. 鱼类摄饵促进物质与先进养鱼业 [J]. 水产学报,1994,18(1):80-83.
- [4] 吴永贵,黄建国,袁玲. 利用水蚤的趋光行为监测水质 [J]. 中国环境科学,2004,24(3):336-339.
- [5] 邓道贵,孟琼,殷四涛,等. 温度和食物浓度对大型蚤 *Daphnia magna* 种群动态和两性生殖的影响 [J]. 生态学报,2008,28(9):4268-4276.
- [6] HEBERT P D N. The population biology of *Daphnia* (Crustacea, Daphniidae) [J]. Biological reviews,1978,53:387-426.
- [7] MARTINEZ-JERONIMO F,VILLASEÑOR R,RIOS G,et al. Effect of food type and concentration on the survival, longevity, and reproduction of *Daphnia magna* [J]. Hydrobiologia,1994,287(2):207-214.
- [8] KHMELEVA N N,GOLUBEV A P,KIDAVA A. Growth and reproduction of *Daphnia magna* under changing photoperiod and temperature conditions [J]. Doklady akademii belarusi,1995,39(3):71-74.
- [9] BROWN D,CROUDACE C P,WILLIAMS N J,et al. The effect of phthalate ester plasticisers tested as surfactant stabilised dispersions on the reproduction of the *Daphnia magna* [J]. Chemosphere,1998,36(6):1367-1379.
- [10] CARVALHO G R,HUGHES R N. The effect of food availability, female culture-density and photoperiod on ephippia production in *Daphnia magna* Straus (Crustacea: Cladocera) [J]. Freshwater biology,1983,13:37-46.