

生活周期毒性试验动物 ——方形网纹溞的生物学*

庄德辉

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

提 要

在实验室条件下研究方形网纹溞的生物学。试验时水温 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 饲以斜生栅藻。初生幼体平均体长 0.40mm, 第 1 成龄 0.96mm, 最大体长可达 1.45mm。体长增长 (l_t , 单位 mm) 与年龄 (t , d) 的关系可以表达为 $l_t = 1.43 - e^{-0.268t}$, 平均寿命 22.73 (17.10—25.00) d, 其中包括 3 个幼龄和 13 个成龄。在 3.91d 达到性成熟。7d 内生殖 3 胎, 产仔 40 (19—47) 个。一生生殖 222.0 个幼体, 平均每胎 18.5 (4.8—23.6) 个。生殖量最大出现在第 6 成龄。这时溞的年龄 11.05d, 体长 1.375mm。从初始 10 个个体的种群计算, 种群生长曲线呈 Logistic 型, 可以如下表达

$$y = \frac{2220}{1 + e^{6.239 - 0.572t}}$$

式中 y 表示总个体数, t 表示时间 (d)。内禀增长能力 (r_m) 为 0.540 / 个 / d, 净增殖率 (R_o) 147.360 / 世代, 世代平均周期 (T) 9.246d, 周限速率 (λ) 1.716 / 个 / d。

关键词 方形网纹溞, 实验种群, 生物学

自从 1984 年美国 Mount and Norberg^[1]提出网纹溞的生活周期毒性试验之后, 受到全世界的关注。嗣后, 大量有关网纹溞的研究先后发表^[2—5]。我国对网纹溞的研究则刚刚开始, 除对试验方法作一般介绍外^[6], 尚未进行系统研究。本文拟以方形网纹溞 [*Ceriodaphnia quadrangula* (O.F.Müller)] 为代表, 系统地研究其存活、生长和生殖等, 为深入研究生活周期毒性试验提供必要的可比性资料。

1 材料和方法

试验用方形网纹溞采自四川成都郊区池塘, 经分纯后, 挑选数 10 个孤雌生殖雌体单个培养, 从中选择一个个体大, 繁殖量多, 所产仔体健壮, 用于扩大繁殖和培养, 所有试验

* 本研究属国家自然科学基金资助项目。项目编号: 38970190。

1991 年 6 月 20 日收到。

均用这一个溞的后代。试验开始时溞龄 22 ± 2 h。培养和试验过程中溞饲以斜生栅藻 [*Scenedesmus obliquus* (Turp.) Kütz]。栅藻用水生 4 号培养基培养^[7]。培养和试验用水均为经活性碳过滤的自来水，并经静置 24h 以上。水中 DO $7.5-8.2$ mg / L, pH $7.95-8.05$, 电导率 $290\mu\text{s} / \text{cm}$ 左右, 总硬度 6.86 德国度, 总碱度 $1.99\text{meq} / \text{L}$, 照度 2060—3290lx, 每天光照 9—10h。试验在恒温水浴中进行, 水温 25 ± 1 ℃。试验用 25ml 烧杯装过滤水 15ml, 每杯置溞 1 个, 10 个平行。每天统计存活数和产仔数, 并将幼体移出, 加入

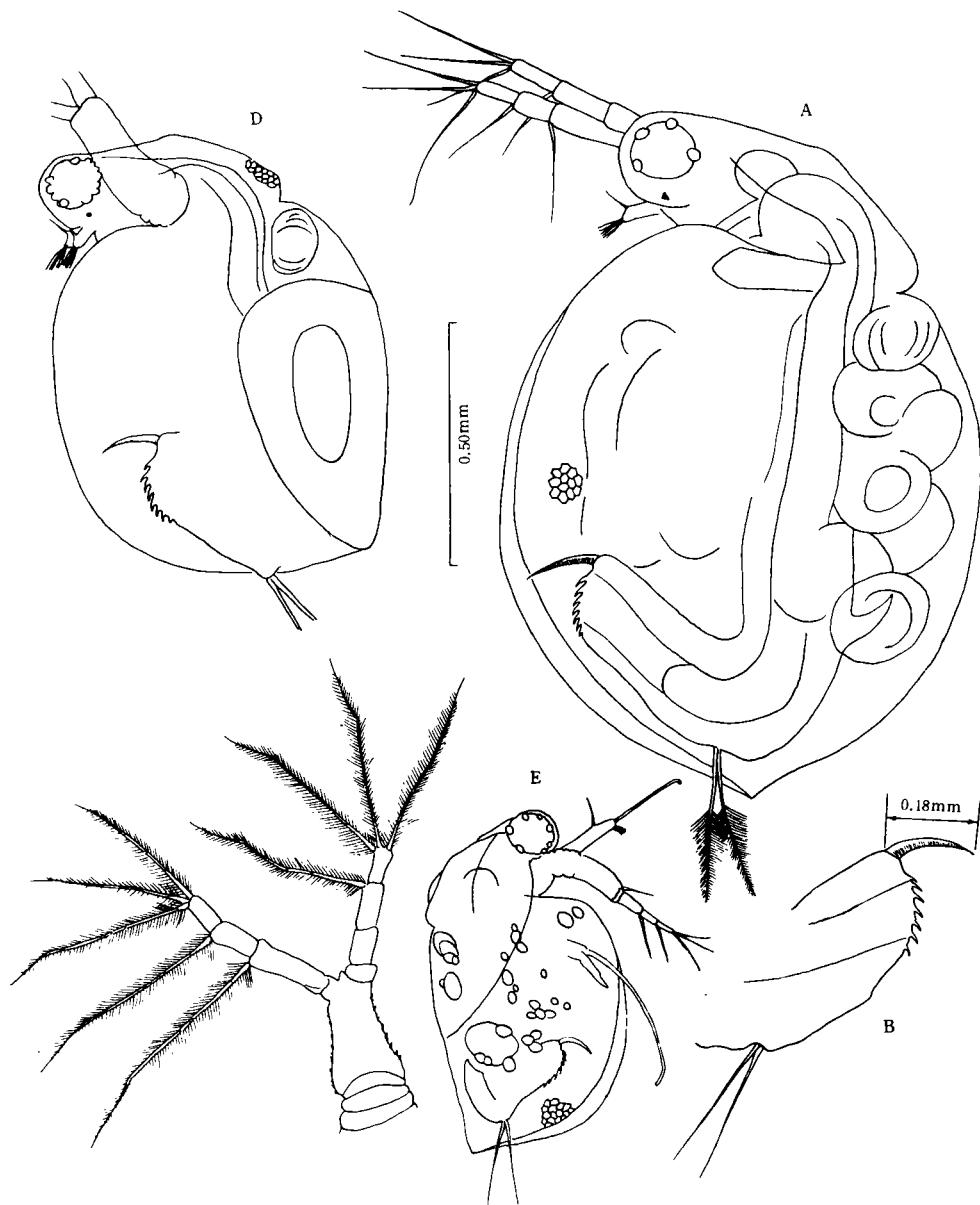


图 1 方形网纹溞 Fig1 *Ceriodaphnia quadrangula*

A.整体, ♀; B.后腹部, ♀; C.第二触角, ♀; D.整体, 带卵鞍, ♀; E.整体, ♂

栅藻液, 维持栅藻细胞密度 5 万个 / ml 左右。试验中 2d 换水一次。试验开始前和每次脱壳后测量体长。试验结果用梁彦龄等^[8]的方法计算内禀增长能力(r_m)和其它各参数。

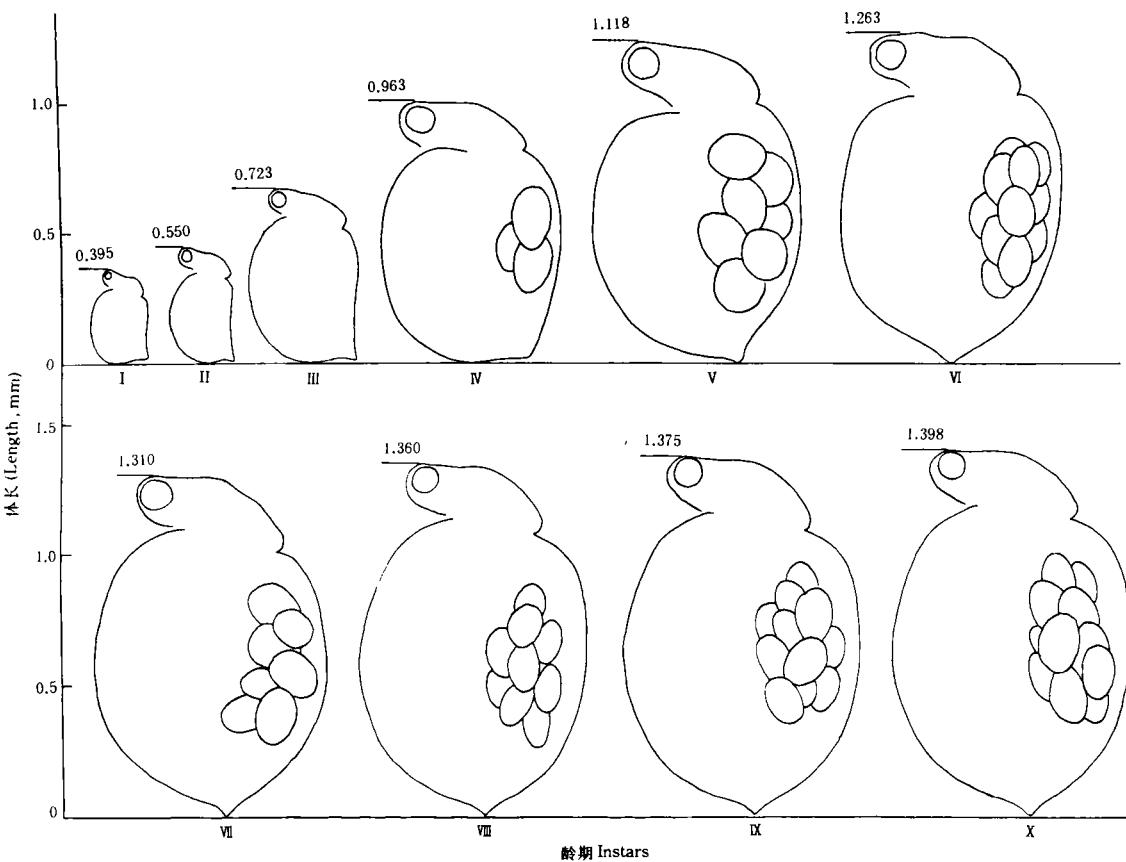


图 2 方形网纹溞各龄的形态变化

Fig.2 Morphological change in *Ceriodaphnia quadrangula*

2 结果

2.1 形态及其变化

孤雌生殖雌体幼体刚出生时体长约 0.40mm, 随着每次脱壳体长逐渐增长, 最大体长可达 1.45mm(图 1、2)。壳瓣形状随生长和发育起变化。幼龄时壳瓣腹缘和后缘连成弧形, 背缘比较平直, 后背角成一角状突出。成龄时, 随着怀卵量的增多, 壳瓣背缘向外凸出, 状如后背角移至后缘中部。复眼充满头顶的大部分。单眼小, 位于复眼后面。颈沟无论在幼体或成体都十分明显。第一触角短小, 靠近中部前侧生一触毛, 末端有一束嗅毛(图 1, A)。第二触角外肢 4 节, 内肢 3 节, 游泳刚毛式: 0—0—1—3 / 1—1—3(图 1, C)。后腹部与本属其它种类相比, 较为匀称, 中部不特别宽阔。肛刺 7—9 个, 各个大小差异不显著。尾爪有一列细梳状毛, 无栉刺列(图 1, B)。腹突 1 个^[9]。两性生殖雌体体长约

表 1 方形网纹溞在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 下各龄的持续时间、平均体长、生殖力和存活率Tab.1 Duration of instars, mean length, fecundity and survival rate of *Ceriodaphnia quadrangula* (O.F.Muller) at $25 \pm 1^\circ\text{C}$ (Mean \pm SD)

龄 期 Instar number	每龄持续时间 Duration of each instar (h)	累计持续时间 Cumulative duration of each instar in hours (days)	平均体长 Mean length (mm)	每胎产仔数 Number of young / brood	累计产仔数 Cumulative production of young	存活率 Survival (%)	
						存活率 Survival (%)	
1	19.80 \pm 1.08	19.80(0.83)	0.395 \pm 0.015			100	
2	20.30 \pm 1.19	40.10(1.67)	0.550 \pm 0.022			100	
3	24.10 \pm 0.30	64.20(2.68)	0.723 \pm 0.028			100	
4	29.70 \pm 2.10	93.90(3.91)	0.963 \pm 0.026	4.80 \pm 1.40	4.80	100	
5	33.90 \pm 0.70	127.80(5.33)	1.118 \pm 0.065	16.40 \pm 3.72	21.20	100	
6	33.30 \pm 0.90	161.10(6.71)	1.263 \pm 0.017	18.80 \pm 4.35	40.00	100	
7	34.70 \pm 1.79	195.80(8.16)	1.310 \pm 0.032	20.50 \pm 3.20	60.50	100	
8	34.10 \pm 0.83	229.90(9.58)	1.360 \pm 0.039	22.60 \pm 3.77	83.10	100	
9	35.30 \pm 0.90	265.20(11.05)	1.375 \pm 0.034	23.60 \pm 3.20	106.70	100	
10	35.00 \pm 1.18	300.20(12.51)	1.398 \pm 0.041	22.90 \pm 5.92	129.60	100	
11	35.90 \pm 1.37	336.10(14.00)	1.418 \pm 0.034	20.70 \pm 4.36	150.30	100	
12	36.86 \pm 0.83	372.96(15.54)	1.423 \pm 0.031	20.50 \pm 7.45	170.80	100	
13	38.29 \pm 0.70	411.25(17.14)	1.430 \pm 0.022	20.60 \pm 7.51	191.40	100	
14	37.25 \pm 1.30	448.50(18.69)	1.425 \pm 0.019	19.90 \pm 3.87	211.30	80	
15	48.00 \pm 0.82	496.50(20.69)	1.408 \pm 0.024	10.80 \pm 2.73	222.10	50	
16	49.00 \pm 0.82	545.55(22.73)	1.450 \pm 0.000			20	

表2 方形网纹溞在 $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 下饲以斜生栅藻时的生物学参数

寿命 (days) Longevity	龄 期				成 龄					
	幼 龄 Preadult instars		成 龄 Adult instars		幼 龄 No. of stadium		成 龄 Total duration (days)			
2.73	No. of stadium	发育持续时间 Duration of development (days)	平均每龄持续时间 Mean duration of each stadium (days)	年龄 No. of stadium	总持续时间 Total duration (days)	平均每龄持续时间 Mean duration of each stadium (days)				
	3	2.68	0.89	13	20.05	1.54				
从出生至第1次 生殖平均天数 Mean time from birth to first repro- duction (days)	累计产仔数 (范围) Cumulative produc- tion of young (range)	平均每胎 幼体数 Mean number of young per brood (range)	最大体长 Max. body-length (mm)	年龄 Age (days)	体长 (mm) Body length	成龄期 Specific adult instar	平均最大产仔量时 Mean period of maximum progeny			
3.91	222(145—268)	18.5(4.8—23.6)	1.45	11.05	1.375	6	产仔个数 Size of brood			
¹⁾ r_m	²⁾ λ	³⁾ T	⁴⁾ R_0							
0.540	1.716	9.246	147.360							

1) r_m = 内禀增长能力; 2) λ = 增限速率; 3) T = 世代平均周期(d); 4) R_0 = 净增殖率(代)

0.93mm, 卵鞍前钝后尖, 略呈三角形, 储冬卵 1 个(图 1, D)。雄体体长约 0.71mm, 壳瓣背缘较平直, 腹缘和后缘相连成弧形, 后背角明显, 位于壳瓣后背处, 体形跟孤雌生殖雌体的幼体比较相近(图 1, E)。壳纹网状、清晰(另两种个体亦同)。第一触角较长, 末端具一根长触毛, 其顶端呈钩形。第一胸肢有细钩与长鞭毛^[9]。

2.2 寿命和龄期

在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 下, 喂以斜生栅藻(密度 5 万个细胞 / ml 左右)的方形网纹溞孤雌生殖雌体平均寿命 22.73(17.10—25.00)天, 其中包括 3 个幼龄和 13 个成龄(表 1, 2), 各龄体形变化见图 2。幼龄每龄平均持续时间 21.40(19.80—24.10)h, 成龄 37.02(29.70—49.00)h。平均持续时间, 无论是幼龄或成龄, 均呈随年龄增加而逐渐延长的趋势。

2.3 生长特性

在本试验中, 方形网纹溞的体长增长模型表达为: $l_t = 1.43 - e^{-0.268t}$

式中 t 为时间(d), l_t 为 t 时间的体长(mm)(图 3)。

在 2 至 6 龄体长增长最快, 平均每龄增加 0.174(0.155—0.240)mm; 7 至 11 龄增长减缓, 平均每龄增加 0.031(0.020—0.050)mm; 12 龄以后增长缓慢, 有时甚至出现负增长现象。体长增长率也是同样的, 在 2 至 6 龄每龄增长率最大, 为 26.58(13.0—39.2)%; 7 至 11 龄增长率减少, 为 2.32(1.10—3.80)%; 12 龄以后增长率甚小或为负数(表 1)。

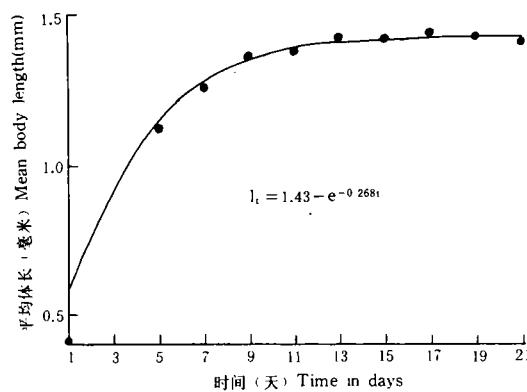


图 3 方形网纹溞在 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 下饲以斜生栅藻时体长与时间的关系

Fig.3 Growth curve of *Ceriodaphnia quadrangula* fed *Scenedesmus obliquus* at $25 \pm 1^\circ\text{C}$

2.4 生殖特性

经过 3 个幼龄(个别 4 个幼龄)之后, 第 4 龄(即第 1 成龄)开始生殖, 第 1 次生殖平均在出生之后 3.91d, 产仔数 4.80 个; 第 2 次生殖在 5.33d, 产仔数 16.40 个; 第 3 次生殖在 6.71d, 产仔数 18.8 个。即, 在 7d 试验时间内, 方形网纹溞可产 3 胎, 合计产仔 40.0 个, 符合生活周期试验 7d 内需产仔 9 个以上的要求。最高产仔量在 11.05d, 第 9 龄(即第 6 成龄), 平均产仔数 23.60 个(表 1, 2)。产仔高峰期过后, 产仔数就逐渐下降, 但个别个体也有在第 14—15 龄仍保持较高产仔量。方形网纹溞一生可产仔 10—13 胎, 合计产仔数 222.1(145—268) 个。平均每胎产仔数 18.5(4.8—23.6) 个。

2.5 种群增长型

从初始为 10 个个体的种群计算, 方形网纹溞的年龄和生殖量之间相互关系的种群增长曲线呈罗辑斯蒂型(图 4), 可作如下表达:

$$y = \frac{2220}{1 + e^{6.239 - 0.572t}}$$

式中 y 为累计生殖量(个), t 为时间(d)。

按列的生命表和出生表(略)计算各参数: 内禀增长能力(r_m)为 0.540 / 个 / d, 净增殖率(R_o)147.360 / 世代, 世代平均周期(T)9.246d, 周限速率(λ)1.716 / 个 / d(表 2)。

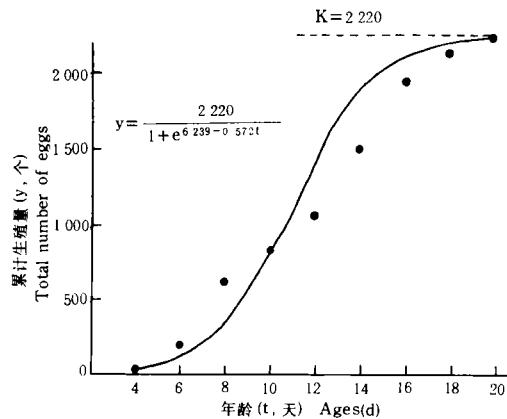


图 4 方形网纹溞累计生殖量与年龄之间的相互关系(初始种群为 10 个个体)

Fig.4 The logistic curve showing relation between age and cumulative young production of 10 individuals of *Ceriodaphnia quadrangula*

3 讨论

枝角类(Cladocera)中溞属(*Daphnia*)种类, 特别是大型溞(*D. magna*)已广泛应用于水环境质量评价和毒物的毒性强度测定等各方面。溞属种类用作测试生物, 具有许多优点, 在实践中亦已建立起一整套成熟的试验工作方法。网纹溞属与溞属一样, 同属于枝角亚目溞科^[9], 生活习性相近, 往往同时出现在同一份采集标本中。它们对毒物的敏感性也相近。网纹溞属种类的分布甚至比溞属种类更加广泛。网纹溞最大的特点是生活周期短, 寿命约 30d, 在 7d 的试验中可以繁殖 3 胎, 产仔 10—40 个, 在 7d 内就可以进行慢性试验, 这是鱼类和溞属种类所不及的。在同等条件下节省时间和费用, 使得这个工作方法具有竞争力。所以自从 1984 年一被推出就受到广泛的重视。

现将国内已经用于毒性试验的溞属和网纹溞属的生物学资料列表作比较(表 3)。从表中可以看到, 三种网纹溞的寿命, 分别不到大型溞的一半。隆线溞的寿命也长于网纹溞, 表中列出隆线溞寿命 24d, 这是因为在 28—31℃ 进行的试验, 温度高寿命短这个普遍规律所致。实际做毒性测试很少在 28—31℃ 下进行。网纹溞的初龄一般为 3 龄, 而溞属(*Daphnia*)有 4—5 个幼龄, 幼龄龄数少, 也就决定了它在 7d 内就能繁殖 2—3 胎, 并能提

表3 用于毒性试验的五种枝角类生物学资料的比较

Tab.3 Comparative data on five species of Cladocerans used in toxicity tests

种类 Species	幼龄数 No. of preadult instars	成龄数 No. of adult instars	寿命 Longevity (days)	平均体长 Mean length (mm)	每胎产卵数 No. of eggs / brood	累计产卵数 Cumulative number of eggs	产卵率 a value	温度 Temperature (℃)	资料来源 Sources
大型溞 <i>Daphnia magna</i>	4	23	68.4	4.580	19.5	449.6		25	庄德辉等, 1984 ^[10]
隆线溞 <i>D. carinata</i>	5	8	24.0	2.900	17.8	142.4	1.769	28—31	Murugan et al., 1976 ^[13]
角突网纹溞 <i>Ceriodaphnia cornuta</i>	3	8	19.0	0.690	6.2	49.7	1.417	25	黄祥飞, 1983 ^[12]
模糊网纹溞 <i>C. dubia</i>	3	14	30.0	—	6.9	64.9		25	本研究
方形网纹溞 <i>C. quadrangula</i>	3	13	22.7 (17.1—25.0)	1.330	18.5	222.0		25	本研究

表4 我国5种网纹溞的分布和体长的比较^{*}

种类 Species	体长 Length (mm)	雄体 Males	适温类型 Thermotolerance	分布区 Distribution	
				大区** Major Area	省内分布 Intra-provincial Distribution
方形网纹溞 <i>Ceriodaphnia quadrangula</i>	0.44—1.00	0.61—0.65	广温性世界种 Pantropical	8	18
角突网纹溞 <i>C. cornuta</i>	0.45—0.51	0.30—0.39	嗜暖性南方种 Tropical	7	17
宽尾网纹溞 <i>C. laticaudata</i>	0.60—0.90	0.53—0.61	广温性世界种 Pantropical	6	13
棘体网纹溞 <i>C. setosa</i>	0.63—0.83	约0.5	嗜寒性北方种 Temperate	4	4
棘爪网纹溞 <i>C. reticulata</i>	0.58—0.67	0.50—0.57	广温性世界种 Pantropical	5	6

* 本表摘自蒋燮治、堵南山编著“淡水枝角类志”，科学出版社，1979。

** 按上述书划分为8个大区。

供统计学处理所必需的数据。网纹蚤虽然体长小于蚤, 但不需用其它仪器, 试验时凭肉眼观察仍然可以方便地操作。方形网纹蚤是网纹蚤属中个体较大的种类, 出生时体长0.40mm, 性成熟0.96mm, 平均体长1.33mm, 最大体长1.45mm, 操作完全没有问题。

我国已记载的网纹蚤属有10种^[9], 常见的有5种(表4), 除角突网纹蚤(*C. cornuta*)是嗜暖性南方种和棘体网纹蚤(*C. setosa* Matile)是嗜寒性北方种外, 其余3个种均是广温性世界种, 其中方形网纹蚤分布特别普遍。据蒋燮治和堵南山的“淡水枝角类”志记载, 在我国, 按枝角类分布划分成8个大区均有分布, 18个省有过记录。论体长, 按表4所列, 方形网纹蚤个体最大, 可达1mm, 在人工培养条件下, 可以长得更大, 作者培养出1.45mm的个体。作者曾对我国东北、华北、西南、华中和华南采集网纹蚤, 经鉴定方形网纹蚤分布最为普遍。推荐用方形网纹蚤作为我国的生活周期毒性试验生物是有希望的。

参 考 文 献

- [1] Mount D I, Norberg T J. A Seven-day life-cycle Cladoceran toxicity test. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1984, 3: 425—434.
- [2] Zhuang D. Growth, reproduction and population growth of *Ceriodaphnia cornuta* Sara and comparison of 7-day fecundity with *Ceriodaphnia dubia* Richard. *Chin. J. Oceanol. Limnol.* 1989, 7(2): 104—111.
- [3] Horning W B, Weber C I. *Ceriodaphnia* survival and reproduction test method. EPA / 600 / 4-85 / 614, 1985: 58—75.
- [4] Knight J T, Waller W T. Incorporating *Daphnia magna* into the seven-day *Ceriodaphnia* effluent toxicity test method. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1987, 6: 635—645.
- [5] Winner R W. Evaluation of the relative sensitivities of 7-D *Daphnia magna* and *Ceriodaphnia dubia* toxicity tests for cadmium and sodium pentachlorophenate. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 1988, 7: 153—159.
- [6] 庄德辉. 水环境生物监测新方法——网纹蚤(*Ceriodaphnia*)生活周期毒性试验. 中国环境科学, 1990, 10(1): 61—66.
- [7] 黎尚豪、朱蕙、夏宜珍. 单细胞绿藻的大量培养试验. 水生生物学集刊, 1959, (4): 463—472.
- [8] 梁彦龄、张国馨. 隆腹蚤(*Daphnia carinata* King)的内禀增长能力. 水生生物学集刊, 1984, (1): 31.
- [9] 蒋燮治、堵南山. 中国动物志, 淡水枝角类. 北京: 科学出版社. 1979: 130—143.
- [10] 庄德辉、梁彦龄、孙美娟. 六六六对大型蚤(*Daphnia magna* Straus)生态学的影响. 水生生物学集刊, 1984, 8(3): 259—269.
- [11] —————. 大型蚤生长、生殖和种群增长的研究. 水生生物学报, 1986, 10(1): 24—31.
- [12] 黄祥飞. 温度对近亲裸腹蚤发育、生长和卵的生产量的影响. 水生生物学集刊, 1983, 8(1): 105—112.
- [13] Murugan N. Laboratory studies on the longevity, instar duration, growth, reproduction and embryonic development in *Scapholeberis kingi* Sars (Cladocera: Daphnidae). *Hydrobiologia*, 1976, 50(1): 75—80.

**BIOLOGY OF *CERIODAPHNIA QUADRANGULA*,
(O.F.MULLER), AN EXPERIMENTAL ANIMAL
FOR LIFE-CYCLE TOXICITY TEST**

Zhuang Dehui

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences Wuhan 430072)

Abstract

Biology of parthenogenetic females of *Ceriodaphnia quadrangula* (O.F.Müller) was studied under laboratory conditions at $25 \pm 1^\circ\text{C}$. *Scenedesmus obliquus* (Turp.) Kütz was used as food for the animals during the experiments. The mean body-length of neonates of *C. quadrangula* was 0.40mm and that of the first adult instar 0.96mm. A maximum length of 1.45mm was attained. The growth in body-length (l_t , in mm) in relation to age (t , in day) can be described as $l_t = 1.43 - e^{-0.268t}$

The mean longevity was found to be 22.73 (17.10—25.00) days for 3 preadult and 13 adult instars.

Sexual maturity was reached in 3.91 days. 40 (19—47) young from 3 broods were obtained in 7 days. The mean number of young per brood was 18.5 (4.8—23.6). The total offspring production by one adult reached 222.1 during its life-span. The maximum reproduction period occurred during the 6th adult instar. At this age, the animals were 11.05 days old, and had a body length of 1.375mm.

In a population originated from 10 individuals, the population growth curve of *C. quadrangula* was shown to be logistic and may be expressed as

$$y = \frac{2220}{1 + e^{6.239 - 0.572t}}$$

in which y denotes total number of individuals and t , days.

The innate capacity for increase (r_m) was 0.540 per female per day, the net reproduction rate (R_0) was 147.360 per generation, the mean length of a generation (T) was 9.246 days, and the finite rate of increase (λ) was 1.716 per female per day.

Key words *Ceriodaphnia quadrangula, Experimental population, Biology*