

不同温度下稀土元素对萼花臂尾轮虫的影响*

杨 家 新**

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

摘要 15℃时, 稀土元素对轮虫种群增长具有明显的促进作用, 随着稀土元素含量的增加, 轮虫种群密度随之上升, 后代混交百分率呈逐渐上升趋势, 稀土浓度为 0.005mgL^{-1} 时, 种群平均携卵率量高于其它浓度组, 混交率居中。25℃和30℃时, 稀土适宜浓度为 0.001mgL^{-1} , 在该浓度下种群密度最大、混交率较低, 平均携卵量居中。30℃时, 0.010mgL^{-1} 对种群增长具抑制作用。

关键词 萼花臂尾轮虫, 温度, 稀土元素

稀土元素是钪、钇和镧系元素的泛称, 在有机体内含量虽少, 但对生命活动具有重要调节作用^[1]。自70年代人们揭示了稀土元素的作用效果后, 稀土元素常常以添加剂的形式被广泛用于农业、畜牧业和水产养殖业, 它能抑制一些致病菌的生长^[2], 促进鱼类身体创伤的愈合, 提高鱼类品质。在饵料中添加稀土元素可促使鱼类增重4%, 成活率提高5—7%左右^[3]。稀土元素通过不同的方式进入到有机体, 调节和改善机体代谢过程, 在不同水体的鱼、虾体内各部位都发现了稀土元素的存在^[4]。稀土元素对低等藻类和原生动物的影响有过报道^[5,6], 对浮游动物, 尤其是对轮虫的影响国内外尚属空白。

水产养殖业上, 轮虫大规模培养时期望获得较高的种群密度、较低的混交百分率, 然而往往事与愿违。采用外源添加物质, 人为地改变轮虫种群结构引起了广泛注意^[7]。

本研究旨在研究稀土元素对轮虫实验种群的密度、卵雌比和混交雌体百分率的影响, 探讨稀土元素用于轮虫生产的可行性, 以期为轮虫的大规模培养提供可供选择的促生长的添加剂。

1 材料与方法

1.1 实验材料的培养

利用萼花臂尾轮虫(*Brachionus calyciflorus* Pallas)休眠卵, 用 $30\mu\text{m}$ 筛绢过滤后的湖

* 国家自然科学基金资助项目 编号: 39270098

** 现在华东师范大学生物学博士后流动站工作(200062)

1997-02-28收到; 1998-10-14修回。

水在 25℃下进行萌发。挑选一刚孵出的幼轮虫转移到 500mL 的三角烧瓶中, 利用配制的无机培养液 Gilbert^[8]以小球藻为食物 (HB₄培养基), 在实验室内进行“克隆”培养。为避免小球藻培养基的影响。投喂前用轮虫培养液反复冲洗 3、4 次 (用离心机在 4,000r/min 下离心 30min), 然后再用轮虫培养液把小球藻密度调至 $2 \times 10^6 \text{ Cells mL}^{-1}$, 光照强度约 4,000lx, 昼夜比 L:D = 18:6, 温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$, 培养期间每天更换一次培养液并检查轮虫产卵状况, 轮虫种群密度维持在 1.0 ind. mL^{-1} 左右。

1.2 稀土元素配制

把稀土用双蒸水配成 1.0 mg L^{-1} 的母液, 试验中用轮虫培养液分别配至 0.001, 0.005, 0.010 mg L^{-1} , 设一不含稀土元素的对照组, 食物浓度同 1.1

1.3 培养试验

在三组试管中各加入 100mL 按 1.2 配制的培养液, 移入从 1.1 中挑出的幼轮虫, 密度为 1.0 ind. mL^{-1} , 轮虫接入之前分别在各温度下预培养 1h, 各组分别在 $15 \pm 1^\circ\text{C}$, $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 和 $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 温度下进行实验培养, 光照条件同 1.1。

1.4 轮虫的鉴别和计数

每隔 24h 取 5mL 样品, 在解剖镜下活体计数, 计数后的样品重新放回培养试管中。轮虫和卵类别的鉴定见^[9]。混交百分率和卵雌比计算方法同 Paloheimo^[10]:

$$\text{混交百分率} = \frac{\text{MF} + \text{MPF}}{\text{MF} + \text{MPF} + \text{AF}} \times 100\% \quad \text{卵雌比} = \frac{\text{AE}}{\text{AF} + \text{MF} + \text{MPF}} \times 100\%$$

MF——混交雌体 (Mictic female); AF——非混交雌体数 (Amictic female); MPF——产雄雌体 (Male-producing female); ME——混交卵 (Mictic egg); AE——非混交卵 (Amictic egg)。

2 结果

2.1 15°C 稀土对种群动态、混交雌体百分比和卵雌比的影响

表 1 为 15°C 时, 各浓度组和对照组萼花臂尾轮虫种群密度、卵雌比和混交雌体百分比的变化情况。

表 1 可看出对照组的种群密度除 4d 至 9d 间略有增长外, 整个试验阶段没有明显变化, 最大密度仅为 6.4 ind. mL^{-1} , 基本处于稳定状态。可以把 15°C 作为萼花臂尾轮虫“实验种群生物学零度”。添加稀土元素的各实验组, 种群密度均明显增加: $0.005 \text{ ind. mL}^{-1}$ 组种群增长速度明显高出其它组, 从 6d 开始直线上升, 10d 达 $52.4 \text{ ind. mL}^{-1}$; 0.001 和 0.010 mg L^{-1} 组密度也随着培养时间增加而逐渐上升, 各组的增长态势在整个试验阶段较为接近, 最大密度均为 $29.8 \text{ ind. mL}^{-1}$ 。可以看出: 15°C 时添加稀土元素可促进萼花臂尾轮虫种群的增长, 尤以 0.005 mg L^{-1} 对种群增长最为有利。

由于需精卵常常以受精后形成休眠卵的方式离开种群, 同时受精后的混交雌体一般每次只带 1 枚休眠卵, 而卵雌比是种群中单位时间内非需精卵的绝对数与雌体总数的相对比值, 所以卵雌比可以认为是种群的平均产卵量, 它基本能反映出种群对环境适应的动态过程, 种群加速增长期, 由于生物生殖力强, 绝对产卵量大, 卵雌比逐渐上升。当种群密度增加到最大时, 生物对食物和生存空间的绝对占有量降低使产卵量减少, 卵雌比在种群

表1 15℃时稀土元素对轮虫密度、卵雌比和混交雌体百分率的影响

Tab.1 The effect of rare earth-element (REE) on rotifer density, rate of egg to female and percentage of mictic female of *B. calyciflorus* at 15℃

稀土元素浓度 Concentration of REE($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	类别 Type	1	2	3	4	5	6	7	8	9	实验时间 Experimental time (d)		
											10	11	12
对照组	密度	2	1.8	2	3	3.8	4.4	6.4	5.2	3.8	2.4	2.4	2
0.001	(Ind. mL^{-1})	2	1.6	1.6	4.4	8.4	13	17	21.2	26	24.4	25.8	29.8
0.005		2	2	2.4	5.8	8.2	17.8	26.6	36.8	41.2	52.4	50.2	48
0.010		2	1.8	2.4	2.8	5.4	8.2	19.2	20	24.2	29.8	26.8	27.2
对照组	卵雌比	0	0.44	0.50	0.50	0.46	0.28	0.27	0.78	0.17	0.58	0.20	0.20
0.001	(Egg/female)	0	0.50	1.33	1.02	0.79	0.59	0.45	0.51	0.28	0.56	0.67	0.63
0.005		0	0.63	1.75	1.39	1.09	0.49	0.73	1.22	0.25	1.30	0.58	0.55
0.010		0	0.89	1.00	1.01	1.12	0.61	0.67	0.27	0.27	1.08	0.74	0.58
对照组	混交雌体	0	0	10	5.26	0	0	0	0	0	0	0	0
0.001	百分率	0	0	8.33	4.88	3.37	4.51	14.67	23.79	16.29	11.16	20.00	0
0.005	(Prcentage of	0	0	12.50	1.89	4.62	5.88	20.75	24.62	15.57	20.16	19.46	0
0.010	mictic female)	0	0	13.00	0	2.44	12.50	20.00	26.33	32.89	34.33	38.97	37.25

高峰期前后降至最低,使种群密度维持在一定范围。

15℃时卵雌比呈波浪状波动,对照组在前6d一直较低,在0.4左右上下波动,至第8d最高(为0.78),在整个试验阶段,该组卵雌比最低。0.010 mgL^{-1} 组第5d增加至最大(1.12),随后降低,但第10d又上升为1.08;0.001和0.005 mgL^{-1} 组第3d达到最高(分别为1.33和1.75),0.005 mgL^{-1} 组第8d,10d又出现两个次高峰(分别为1.22和1.30);各组均在第9d降至最低(0.17—0.28左右)。

由于轮虫在环境优良时行孤雌生殖,环境恶劣产生需精雌体,形成休眠卵。因此混交雌体百分率是轮虫种群生长中一项指标,它的高低可指示环境的优劣。15℃时,混交雌体百分率变化呈现波浪状上升的规律,对照组混交率除在第3d,4d分别为10%和5.26%以外,其它阶段没有混交雌体出现;0.001,0.005和0.010 mgL^{-1} 组也在第3d出现混交雌体,其百分率分别为8.33%,12.50%和13.00%,除对照组外,各组均在第5d降至最低,然后呈上升趋势,0.010 mgL^{-1} 组在以后的培养时间内直线上升至38.97%,远远高于其它组。

2.2 25℃时稀土元素对轮虫种群密度、混交百分率和卵雌比的影响

表2则显示轮虫种群在25℃时,1d到5d各组种群密度均逐渐上升至最大值,其中以0.001 mgL^{-1} 组增加最快,密度达92.4ind. mL^{-1} ,其次为0.005 mgL^{-1} ,为70ind. mL^{-1} ,再其次为对照组,为50.4ind. mL^{-1} ,0.010 mgL^{-1} 组最低,仅为28ind. mL^{-1} 。随后的几天除0.001 mgL^{-1} 组的密度维持在80ind. mL^{-1} 以上外,其它几组的密度急剧降至30ind. mL^{-1} 以下,其中以0.01 mgL^{-1} 组下降最快。由此可见:在25℃时稀土元素的浓度为0.001 mgL^{-1} 为佳;0.005 mgL^{-1} 时虽可促进种群密度增加但持续时间较短,0.010 mgL^{-1} 组在整个试验阶段密度一直低于30ind. mL^{-1} ,对促进种群增长的效果不明显。

表2 25℃时稀土元素对轮虫种群密度、卵雌比和混交雌体百分率的影响

Tab.2 The effect of rare earth-element on density, rate of egg to female and percentage of mictic female of *B. calyciflorus* at 25℃

稀土元素浓度 Concentration of REE($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	类别 Type	实验时间 Experimental time (d)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
对照组	密度 Ind. mL^{-1}	2	8.4	16.6	21.2	50.4	20.4	9.8	3.2
0.001		2	11	18.8	50.8	92.4	79.2	81.2	6.4
0.005		2	6.8	14.2	41.2	70	14.8	1.4	0.6
0.010		2	9.6	18.2	21	28	3	4.8	5.8
对照组	卵雌比 Egg/female	0	0.48	0.50	0	0.06	0.06	0	0
0.001		0	0.46	0.15	0	0	0	0	0
0.005		0	0.25	0.11	0.05	0	0	0	0
0.010		0	0.32	0.20	0.07	0	0	0	0
对照组	混交雌体 Percentage of mictic female	0	0	10.71	0	2.04	0	0	0
0.001	百分率 Percentage of mictic female	0	9.31	0	0	0	0	0	0
0.005		0	5.71	5.41	0	0	0	0	0
0.010		0	0	0	0	0	0	0	0

25℃时,各组卵雌比只有一次明显的高峰期,对照组前两天的比值一直高于其它组,(分别为0.48,0.50),0.001 mgL^{-1} 组次之;0.005和0.010 mgL^{-1} 组的变动趋势一致但前者略低于后者。除对照组外,其它组的卵雌比均在2d最高,0.001,0.010和0.005 mgL^{-1} 诸组分别为0.46,0.32,0.25;3d急剧降至0.1—0.2之间,而对照组达最高值。高密度时卵雌比降低的结果反映出了轮虫种群自我调节的机制。

25℃时,混交雌体百分比的变动趋势与卵雌比相似,除0.010 mgL^{-1} 组外,各实验组第2d开始出现混交雌体,对照组0.001和0.005 mgL^{-1} 组分别为10.71%,9.31%和5.71%;0.010 mgL^{-1} 组在整个实验阶段无混交雌体出现,这与该组种群密度较低有关。

在实验后两天种群中均为不携带卵的非混交雌体,这种现象与Gilbert^[8]的结果相符。

2.3 30℃时稀土元素对轮虫种群密度、混交百分率和卵雌比的影响

从表3看出:当温度为30℃时,种群对接种环境的适应期缩短,轮虫接种后的第2d各组种群密度便迅速增长,分别于第4d,5d达到最大。对照组、0.005 mgL^{-1} 和0.010 mgL^{-1} 组第4d密度最大,分别为84和126和31ind. mL^{-1} ;0.001 mgL^{-1} 组第5d种群密度最大(154ind. mL^{-1})。从第5d各组均呈现缓缓下降趋势。从密度变化趋势可看出:0.001 mgL^{-1} 组在整个试验阶段高于其它各组,密度超过30ind. mL^{-1} 的时间达6d(从第3d到第8d);0.010 mgL^{-1} 组在整个实验阶段密度一直低于31ind. mL^{-1} ,第6d种群彻底崩溃。可以看出:30℃时,0.001 mgL^{-1} 的稀土元素不仅可使轮虫种群密度大大提高,而且可以使种群高峰期的时间延长,但浓度高于0.010 mgL^{-1} 时不仅不能使轮虫种群密度增加反而对种群增长具抑制作用。

表3 30℃时稀土元素对轮虫密度、卵雌比和混交雌体百分率的影响

Tab.3 The effect of rare earth-element(REE) on rotifer density, rate of egg to female and percentage of mictic female of *B. calyciflorus* at 30℃

稀土元素浓度 Concentration of REE($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)	类别 Type	实验时间 Experimental time (d)							
		1	2	3	4	5	6	7	8
对照组	密度 Ind. mL^{-1}	2	9.40	38	84	35	38	25	6.40
0.001		2	9.00	34.8	133	154	104.2	93.2	53.4
0.005		2	14.4	46.8	126	52	30.4	12.6	3.80
0.010		2	4.60	27	31	13	0.4	0	0
对照组	卵雌比 Egg/female	0	0.09	0.45	0.46	0.03	0.16	0	0
0.001		0	0.58	1.08	0.29	0	0	0	0
0.005		0	0.63	0.91	0.15	0	0	0	0
0.010		0	0.39	1.30	0	0	0	0	0
对照组	混交雌体 Percentage of mictic female	0	0	21.95	16.84	11.91	0	0.23	0
0.001	百分率	0	0	5.41	13.59	6.58	0	0	0
0.005		0	0	0	26.50	10.32	0	0	0
0.010		0	0	17.39	7.41	0	0	0	0

30℃时,各试验组的卵雌比只在第3d和4d出现一次最大值。对照组卵雌比第4d最大(0.46),此时种群密度为40—80ind. mL^{-1} 左右,接种后的前两天卵雌比只有其它组的一半左右。卵雌比最大值与最大密度同时出现,变幅较狭,其它各组第3d达到最大;0.001,0.005和0.010 mgL^{-1} 组分别为1.08,0.91和1.30,其最高比例出现在种群高峰期的前一天,此时种群正处于加速增长阶段,与对照组相比,添加稀土元素后,轮虫绝对产卵量提高,使种群密度迅速上升并维持较长的时间。但随最大种群密度的出现,环境代谢废物增加、食物、生存空间的相对占有量降低,相对产卵量减少,第5d各试验组的卵雌比下降至0.1左右。

30℃时混交百分率的变动显示,对照组和0.010 mgL^{-1} 组在接种后的第3d最高,分别为21.95%和17.39%;在整个试验阶段,对照组的混交率除第4d低于0.005 mgL^{-1} 组外,其它时间一直高于其它组;0.001 mgL^{-1} 组居中。0.005 mgL^{-1} 组第4d才开始出现混交雌体,但其混交率明显高出其它各组(26.5%)。可以看出:对照组和各浓度组种群出现最高混交雌体比例和最大种群密度并不是同一天,前者比后者早一天。

综上所述可看出,温度为15℃时,添加稀土元素可促使种群增长,其中以0.005 mgL^{-1} 时种群密度最大,增长效果最明显。在渔业生产的前期阶段,水温较低,鱼苗开口饵料不足,可通过添加稀土元素的方式提高饵料生物的丰度。温度25℃和30℃时,0.001 mgL^{-1} 的稀土浓度可促进种群在短期内迅速增长,尽管高峰持续时间较短,但通过添加适量稀土元素,培养饵料生物,可满足鱼苗对开口饵料的应急之需。当浓度高于0.005 mgL^{-1} 时稀土元素对种群增长有抑制作用。随着温度升高,稀土适宜浓度趋于降低。

3 讨论

3.1 稀土应用于轮虫大规模培养的可行性和作用机制

目前, 轮虫实验种群的培养主要包括恒化器连续培养(Chemostat, Cs)、半连续培养(Semicontinuous culture, SCs)、分批投喂培养(Fed-batch culture, FBCs)和恒浊器培养(Turbidostat)四种方式^[11], 收获率一般在 $100\text{ind} \cdot \text{mL}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ 左右^[12]; 在室外培养时种群密度一般在 $50\text{ind} \cdot \text{mL}^{-1}$ 左右, 且常常因为对轮虫繁殖生物学所知甚少, 一些培养条件控制不当造成种群崩溃收获甚微^[13]。若能找到一种外源物质, 使种群生存环境的质量得以改善, 增加种群密度, 可以提高轮虫产量, 以降低生产成本。本试验结果表明: 在不同的温度条件下, 添加适宜浓度的稀土元素可促进种群增长, 提高种群密度。就我国一般渔业区而言, 鱼类苗种培育的前期, 水温在 15°C 左右, 饵料的多寡常常影响苗种的成活率、生长速度、体质状况。该温度条件下, 添加适宜浓度稀土元素可大幅度提高饵料轮虫的产量, 为鱼苗提供适口饵料。另一方面, 从不同水域的各种鱼体内均可检测出稀土元素存在的事实, 也说明稀土在鱼体内具有一定的生理作用。由此可见, 稀土元素用于培育鱼类饵料生物的可行性。

稀土元素可增强鱼类的食欲, 使饵料系数降低 14.6% ^[14]; 促进低等藻类的光合放氧率色素和蛋白合成^[15]; 提高动物体内的激素水平, 促进体外培养细胞的生长和 DNA 的合成^[16]。但稀土对轮虫实验种群的促进作用的机理尚缺乏实验证据, 据推断可能有两方面的原因: 一是稀土可抑制轮虫培养液中的细菌生长, 使小球藻分裂速度和光合放氧量增加。二是稀土元素可调节轮虫代谢水平。

3.2 种群最大密度和混交雌体百分率的关系

最高混交比例究竟是在种群最大密度时出现, 还是在其它时间出现一直存在争议, Carlin 认为: 疣毛轮虫(*Synchaeta lakowitziana*), 尾突叶轮虫(*Notholca caudata*), 长肢多肢轮虫(*Polyarthra dolichoptera*), 冷淡龟甲轮虫(*Keratella hiemalis*)的混交雌体与种群最大密度同时出现; 前节晶囊轮虫(*Asplanchna priodonta*), 较大三肢轮虫(*Filinia major*)的混交雌体随季节变化呈一定节律与种群密度无直接关系^[17]。有研究者认为: 萼花臂尾轮虫的混交雌体在种群最大密度时出现且比例较高^[18, 19]。本研究结果显示: 混交雌体的出现通常是在种群的加速增长期, 在最大密度到来前一天混交比最大, 在种群最大密度时, 混交雌体百分率反而较低。

参 考 文 献

- [1] 熊炳昆. 稀土生物功能化合物的应用研究. 中国稀土学报, 1994, 12(4): 538—365
- [2] 闫贵龙. 稀土对血粉发酵菌增殖的影响. 饲料研究, 1995(10): 21—22
- [3] 尹文稚, 宁加贵. 稀土在农业上的应用效果. 长沙: 湖南科技出版社, 1988.
- [4] 李明德. 梭鱼的稀土元素. 在: 水生生物论文集. 北京: 海洋出版社, 1991, p82—86
- [5] 储钟稀等. 氯化铈对螺旋藻光合放氧、色素和蛋白形成的影响. 中国稀土学报, 1992, 10(4): 344—347
- [6] 肖广庆等. 稀土对四膜虫的异常作用研究. 中国环境科学, 1992, 12(4): 292—294
- [7] Gilbert J J. Alpha tocopherol control of sexuality and polymorphism in the rotifer *Asplanchna*. Science, 1968, 159: 734—736

[8] Gilbert J J. Mictic female production in the rotifer *Brachionus calyciflorus*. *J. Exp. Zool.*, 1963, **153**:113—124

[9] 杨家新, 黄祥飞. 温度和密度对萼花臂尾轮虫产卵量和混交雌体形成的影响. 湖泊科学, 1996, **8**(4):367—372

[10] Paloheimo J E. Calculation on instantaneous birth rates. *Limnol. Oceanogr.* 1974, **19**:692—694

[11] Walz N. Plankton Regulation Dynamic. Berlin: Springer-Verlag, 1993, pp308

[12] James C M. Use of rotifer chemostats in aquaculture. In: Walz N. (ed.) Plankton Regulation Dynamic. Berlin: Springer-Verlag, 1993, pp253—264

[13] 赵玉珩. 萼花臂尾轮虫的培养. 河南水产, 1994, **3**:29—31

[14] 唐永华. 稀土鱼药防病效果好. 科学养鱼, 1990, **6**:18—19

[15] 沈博礼. 稀土对植物细胞内细胞分裂素的影响. 新疆大学学报, 1992, **9**(1), 68

[16] 王丽华. 低剂量氯化钐对大鼠血清激素水平的影响. 中国稀土学报, 1996, **14**(2):186—188

[17] Carlin B. Die planktonrotatorien des Motalström. Zur Taxonomie und ökologie der Planktonrotatorie. *Medd. Lunds Univ. Limnol. Inst.*, 1943, (5):1—256

[18] Buchner H. Experimentelle Untersuchungen über den Generationswechsel der Räderterre. *Zool. Jb. Physiol.*, 1941, (60):279—344

[19] Gilbert J J. Mictic female production in monogonont rotifers. *Arch. Hydrobiol. Beih. Ergebn. Limnol.*, 1977, (8):142—155

THE EFFECT OF RARE EARTH-ELEMENT ON *BRACHIONUS CALYCIFLORUS* (ROTATORIA:MONOGONONTA) AT DIFFERENT TEMPERATURES

Yang Jiaxin

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

Abstract The population density, rate of egg to female and percentage of mictic female produced by rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas cultured in various concentrations of rare earth-elements (REE) were studied at $15 \pm 1^\circ\text{C}$, $25 \pm 1^\circ\text{C}$ and $30 \pm 1^\circ\text{C}$, respectively. The density increased with increase of the concentration of REE at 15°C . The optimum concentration was 0.005 mgL^{-1} , the rotifer population density was $92.4 \text{ ind. mL}^{-1}$ and higher in this concentration than in others. At 25°C , the rotifer densities increased quickly at concentration of 0.001 mgL^{-1} , and was higher and the percentage of mictic female was lower than in others. Although the rotifer population density increased quickly in short-term at concentration of 0.005 mgL^{-1} at 30°C , the duration of highest density was cut down. The rotifer population density decreased at the concentration of 0.010 mgL^{-1} .

Key words *Brachionus calyciflorus*, Temperature, Rare earth-element