

# 微波对蚤状溞耐盐性的诱导作用

王丹丽, 陆开宏, 徐继林, 林霞

(宁波大学生命科学与生物工程学院, 浙江 宁波 315211)

**摘要:** 在温度  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  及牛粪 + 稻草 + 沃土为食物的条件下, 采用微波辐射方法对蚤状溞 (*Daphnia pulex* Leydig) 的耐盐性进行诱导实验, 观察了分别辐射 5, 10, 15 s 后蚤状溞在盐度为 2, 4, 6, 8, 10 下的生殖和生存情况。结果表明, 经微波辐射诱导后, 蚤状溞的生殖上限可从盐度 4 上升至盐度 6, 在盐度 10 中最多可存活 4 h。辐射效果以 10 s 最好。

**关键词:** 蚤状溞; 微波辐射; 耐盐性; 生殖; 生存

**中国分类号:** Q958.8    **文献标识码:** A    **文章编号:** 1000-3096(2004)03-0032-03

淡水枝角类营养丰富、繁殖快、适应性强, 可以作为海水鱼虾蟹苗种活饵料。作者等<sup>[1,2]</sup>曾对老年低额溞 (*Simacephalus vetulus* Straus)、蚤状溞 (*Daphnia pulex* Leydig) 和多刺裸腹溞 (*Moina macrocopa* Straus) 的耐盐性进行过初步研究。有关淡水枝角类的耐盐性诱导研究尚未见报道。微波在生物学上主要用于杀菌、刺激植物种子发芽生长, 由于微波诱变设备简单、方法易行、操作安全、诱变效果好, 也见报道用于工业微生物菌种选育上<sup>[3]</sup>。作者以蚤状溞为实验材料进行微波辐射诱导, 研究提高淡水枝角类的耐盐性的途径。

## 1 材料和方法

### 1.1 溞种和用水

溞种于 2002 年 3 ~ 4 月采自宁波大学附近小河, 经鉴定分离后接种于培养液 (1.5 g 牛粪 + 2 g 干稻草 + 20 g 沃土 + 1 000 mL 培养用水) 中, 待大量繁殖后, 取新生幼溞作为实验材料。采用自然海水 (盐度 25、进行砂滤) 用培养用水稀释成不同盐度作为实验用水。

### 1.2 实验条件

微波炉最大功率 700 W, 脉冲频率 2 450 MHz, 以辐照不同的时间 (5, 10, 15 s) 对蚤状溞进行诱变处理。培养温度为  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 自然光照。

### 1.3 实验方法

用不同的辐照时间处理蚤状溞观察其致死效应, 确定适宜的辐照时间。实验设置了 2, 4, 6, 8, 10 共 5 个盐度梯度, 分 2 组进行。

**A 组:** 取淡水新生幼溞, 分别用微波辐射 5, 10, 15 s 后直接进行各盐度实验。

**B 组:** 取淡水新生幼溞, 微波诱导后接种到盐度为 2 的培养液中进行选择培养, 待蚤状溞繁殖几代后, 再进行各盐度实验。

另设 2 个对照组, (1) 取淡水新生幼溞, 直接进行各盐度实验。(2) 取短期驯养于盐度为 2 培养液中的淡水新生幼溞, 直接进行各盐度实验。

每一盐度各取 20 只幼溞, 培养于 100 mL 培养液中。每组实验重复 3 次。

## 2 结果

### 2.1 微波辐射对蚤状溞生存的影响

用微波辐射蚤状溞, 处理时间为 5, 10, 15, 20, 25, 30 s, 其在 24 h 内的致死效应见图 1。从图 1 可知, 在 5 ~ 15 s 时间内, 蚤状溞的存活率分别为 100%、85%、63%; 辐照时间为 20 s 时存活率为 32%; 25 s 时存活率仅为 5%; 30 s 时存活率为 0, 致死效果明显。微波辐射诱导对蚤状溞生存的影响也较为明显。由表 1 可见, 辐照诱导后, A, B 组的半致死时间  $LT_{50}$  和全致死时间  $LT_{100}$  大多有了提高, 特别是 B 组更为明显。在各组中, 随着盐度的升高,  $LT_{50}$  和  $LT_{100}$  均呈下降趋势;

收稿日期: 2002-10-18; 修回日期: 2003-03-10

基金项目: 浙江省自然科学基金资助项目 (300280); 浙江省教委资助项目 (20000014)

作者简介: 王丹丽 (1962-), 女, 浙江宁波人, 中国海洋大学硕士研究生, 副教授, 主要从事水产饵料生物学和海水养殖研究, E-mail: Wdanl@sina.com



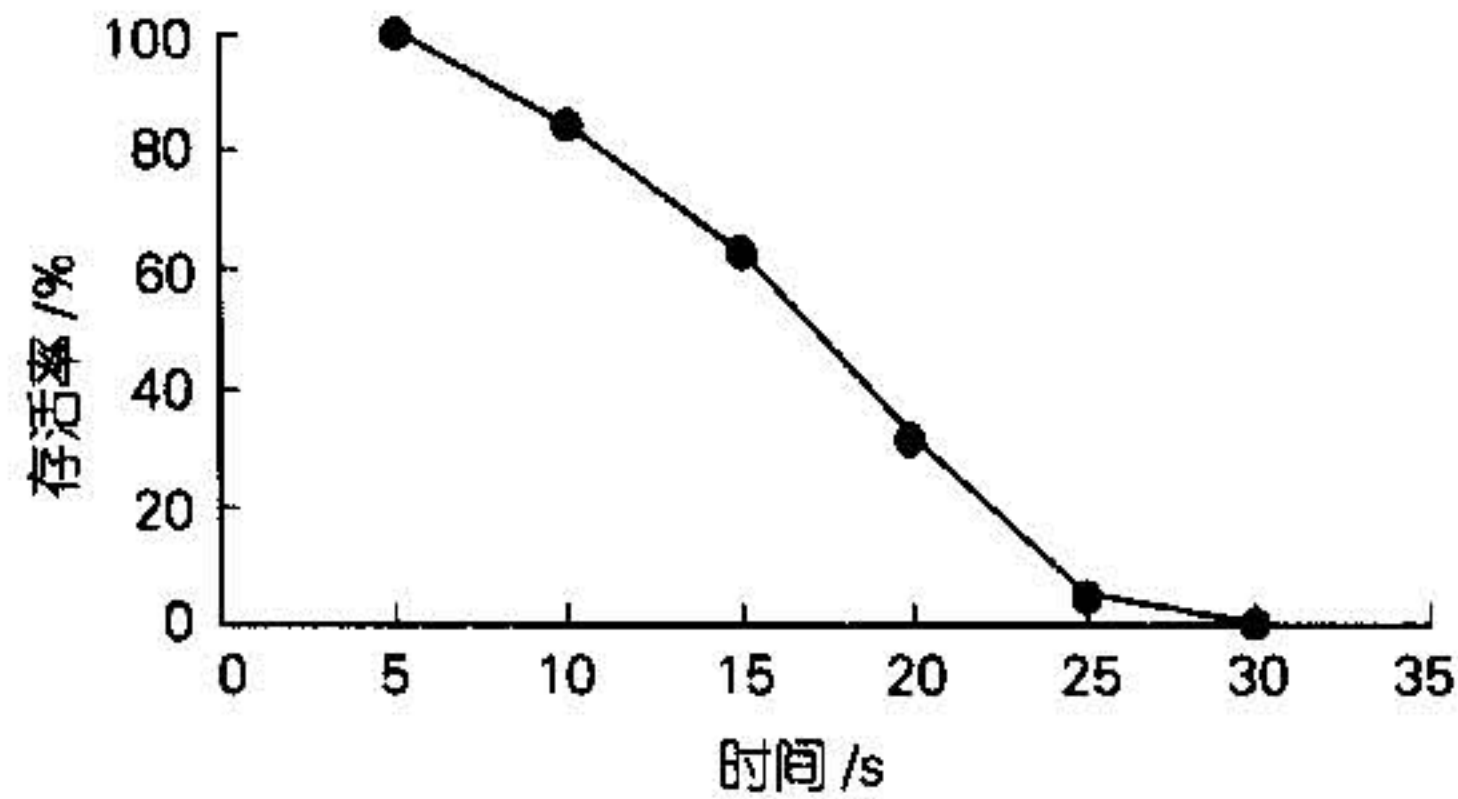


图1 微波辐射条件下蚤状溞的存活率

Fig.1 Survival percentage of *Daphnia pulex* by microwave irradiation

在辐射时间相同的条件下, B组诱导效果明显好于A组 ( $P < 0.05$ ), 而A组与对照组除2, 8盐度组外, 它们之间的差异不显著 ( $P > 0.05$ )。从辐照时间长短来看, 以10 s组最好, 5 s组次之, 15 s组较差; 在2组对照组中, 短期驯养于盐度为2的培养液中的一组在盐度4中生存时间明显好于另一淡水组 ( $P < 0.05$ ), 但当盐度大于6后, 2组的生存时间相差不大 ( $P > 0.05$ )。

### 2.2 微波辐射对蚤状溞生殖的影响

由表2可见, 微波诱导对蚤状溞生殖的影响也比较明显。诱变处理后, 在盐度为4时, 蚤状溞在5 s的B组和10 s的B组均能怀卵产仔, 第一次怀卵日

表1 微波诱导对蚤状溞生存的影响

Tab.1 Effects of microwave irradiation on survival of *Daphnia pulex*

盐度		2	4	6	8	10					
对照组(1)		11 d	13 d	1.25 d	4 d	5.5 h	11.5 h	6 h	8 h	0.6 h	1 h
对照组(2)			3 d	6.5 d	7 h	12 h	6.5 h	8 h	0.5 h	1.2 h	
5 s	A组	7 d	20 d	3 d	6 d	7 h	13.5 h	4 h	6 h	0.8 h	1.5 h
	B组			3.5 d	6 d	12 h	4 d	6 h	8.5 h	1 h	3 h
10 s	A组	8 d	14 d	3 d	6.5 d	7 h	15 h	3.5 h	5 h	0.6 h	1.2 h
	B组			4 d	7.5 d	16 h	4.5 d	7.5 h	9.5 h	1.5 h	4 h
15 s	A组	5 d	10 d	3 d	5 d	6 h	13 h	1 h	3.5 h	0.5 h	1 h
	B组			3 d	6 d	9 h	2.5 d	3 h	6 h	1 h	2 h

注:表中各盐度组数据,前者为LT<sub>50</sub>,后者LT<sub>100</sub>。

为3.5~4 d, 以10 s组产仔量为大, 每溞平均产仔量为1.25个, 但两组之间的差异不显著 ( $P > 0.05$ ), 而其余各诱导组均不能产仔; 在盐度6时, 辐射5 s的B组和10 s的B组均能怀卵, 第一次怀卵日为4~4.5 d, 但不能正常产仔; 盐度大于8时, 各组均不能怀卵、产仔。在对照组中, 短期驯养于盐度2中的一组在盐度4中能怀卵、产仔, 但盐度达到6时, 不能怀卵、产仔。

### 3 讨论

实验结果表明, 微波辐射诱导效果较好, 诱变处理以后蚤状溞在各盐度的存活时间大都提高, 特别经过短期选择培养后在盐度10时存活时间可达4 h。同时, 其生殖上限可由盐度4提高到盐度6, 但第一次怀卵日由3.5 d延迟到4.5 d。这是由于淡水枝角类将摄取的能量更多地用于调节体内渗透压的平衡, 以适应盐度的变化。从实验中还可以看到, 诱导后经过在盐度2培养液中选择培养的蚤状溞其耐盐性明显好

于未驯养组, 这是因为一方面, 通过几代的繁殖稳定了诱变的性状; 另一方面, 短期的驯养增强了溞的适应能力, 这一点在对照组中也能看出。蚤状溞在宁波地区春末夏初为繁殖盛期, 并形成优势种。此时也正是许多鱼、虾、蟹的人工繁殖季节。因此培育出能在一定盐度中生长繁殖的蚤状溞, 扩大活饵料的来源, 将会给海水养殖业带来一定的经济效益。此外, 由于溞类行孤雌生殖, 每个溞可繁衍成带有完全相同遗传物质的群体, 或者说多个克隆体。因此, 它不仅是经济鱼虾类育苗中的好饵料, 也是进行遗传学、发育生物学等研究的好材料。作者认为, 不同年龄的个体其生殖力及对环境的适应能力有一定的差异, 所以接种材料的种类、年龄组成及诱导时间的选择等都会对实验结果产生不同的影响, 这有待于以后的进一步研究。

目前, 运用理化手段诱导多细胞动物的研究日渐增多, 如:耐低温轮虫品系筛选的研究<sup>[4]</sup>, 对虾中子辐照刺激增产技术研究<sup>[5]</sup>, 以及Cadoret<sup>[6]</sup>用电脉冲、



表 2 微波诱导对蚤状溞生殖的影响

Tab.2 Effects of microwave irradiation on reproduction of *D. pulex*

组别	盐度	第一次怀卵日 (d)	产仔量 (个)	每溞平均产 仔量(个)	
对照组(1)	2	4	110	5.5	
	4	4			
	≥6				
对照组(2)	4	3.5	11	0.55	
	6				
	≥8				
5s	A组	2	4	124	6.2
		4	5		
		≥6			
10s	B组	4	4	7	0.35
		6	4		
		≥8			
15s	A组	2	4.5	119	5.95
		4	4		
		≥6			
15s	B组	4	3.5	25	1.25
		6	4.5		
		≥8			
15s	A组	2	5	28	1.4
		4	4		
		≥6			
15s	B组	4	4.5		
		6			
		≥8			

Downing<sup>[7]</sup>用细胞松弛素 B 诱导牡蛎三倍体等。但一些理化因子的诱导机制尚不十分清楚,本实验从微波的诱导效果来看还不错,但它的作用机制及耐盐性提高后的性状是否能长期保持下去,还有待于以后的深入研究。微波诱导操作简便,省时又省力,能大大缩短驯养周期,因此不失为一种提高溞类耐盐性的好方法。

致谢:钱波同志在本研究中做了部分工作,特此感谢。

参考文献:

- [1] 王丹丽,李明云,杨天勇,等. 温度与盐度对老年低额溞和蚤状溞生长及生殖的影响[J]. 水产学报,1996,20(4):379-383.
- [2] 王丹丽,徐善良,彭士伟. 多刺裸腹溞在不同盐度下的种群增长参数及其驯化[J]. 水生生物学报,2000,24(1):56-57.
- [3] 李永泉,贺薇蓉. 微波诱变和激光诱变相结合选育金霉素链霉素的菌株[J]. 生物工程学报,1998,14(4):445-448.
- [4] 张学成,谭桂英,于春燕,等. 耐低温轮虫品系筛选的研究[J]. 海洋学报,1995,17(5):130-135.
- [5] 马天云,孙安利,柳盛典,等. 对虾中子辐照刺激增产技术研究[J]. 水产科技情报,1995,22(3):111-116.
- [6] Cadoret J P. Electric field - induced polyploidy in mollusc embryos[J]. *Aquaculture*, 1992,106:127-139.
- [7] Downing S L. Hybridization triploidy and salinity effects on crosses with *Crassostrea gigas* and *Crassostrea virginica*[J]. *J Shellfish Res*,1989,8(2):447.

## Inductive effects of microwave irradiation on the salt - resistant of *Daphnia pulex*

WANG Dan - li, LU Kai - hong, XU Ji - lin, LIN Xia

(College of Life Science and Biological Engineering, Ningbo University, Ningbo 315211, China)

Received: Oct., 18, 2002

Key words: *Daphnia pulex*; microwave irradiation; salt - resistance; reproduction; survival

**Abstract:** At 25 °C ± 1 °C and cow dung + rice straw + good soil of food, the reproduction and survival of *Daphnia pulex* under 2, 4, 6, 8, 10 and 5, 10, 15 s with microwave irradiation were studied. The results indicated that the induced effect was significant. After microwave irradiation, the lethal upper salinity limit of reproduction was improved from 4 to 6. The survival time of *D. pulex* may reach 4 h in 10. The induced effect was the best at 10 s.

(本文编辑:张培新)