

除草剂百草枯对褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*)摄食和实验种群动态的影响*

谢志浩 屠燕萍 俞泓伶 郑 琴

(宁波大学 应用海洋生物技术教育部重点实验室 宁波 315211; 宁波大学海洋学院 宁波 315211)

摘要 采用实验生态学方法研究了除草剂百草枯对褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*)的摄食和种群动态的影响。结果表明,百草枯对褶皱臂尾轮虫的 24h LC_{50} 为 9.17mg/L,对褶皱臂尾轮虫的摄食具有明显的抑制作用。实验浓度下褶皱臂尾轮虫对小球藻的滤水率和摄食率随百草枯浓度的增加先下降后升高。百草枯对褶皱臂尾轮虫种群动态影响显著,使轮虫的胚胎发育时间、繁殖前期和繁殖后期延长,繁殖期和平均寿命缩短,产卵量和繁殖率降低。轮虫的净生殖率和世代时间均低于对照,不同百草枯浓度下轮虫能够维持一定的种群增长。

关键词 百草枯;褶皱臂尾轮虫;摄食;种群动态

中图分类号 Q1781.1

轮虫具有适应力强、生长快、繁殖迅速、培养成本低、分布广泛等优点,受到研究者的青睐而被广泛应用于水生态毒理学研究,利用褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*)和萼花臂尾轮虫(*B. calyciflorus*)作为水环境监测生物的研究越来越多(Rao *et al.*, 1986; Snell *et al.*, 1995; Kim *et al.*, 2000; Xi *et al.*, 2003; Teresa *et al.*, 2004; 徐晓平等, 2005)。Louis 等(2008)研究了褶皱臂尾轮虫全原位杂交的情况,发现褶皱臂尾轮虫非常适合作为实验材料。在种群遗传结构、发育以及毒物浓度、温度、盐度、pH 值、DO、光照和食物等因子对轮虫的影响也有大量报道(Sarma *et al.*, 1987, 2001; 黄祥飞, 1989; Walz *et al.*, 1991; 席贻龙等, 2000; 董云伟等, 2004; Xi *et al.*, 2002; 张雅芝等, 2005; Xie *et al.*, 2008)。百草枯(paraquat)是一种毒性较强的快速灭生性除草剂,属联吡啶杂环化合物,由于其快速准确的触杀效果,满足了众多发展中国家农业生产快速发展和解决日益严重的粮食危机的迫切需求,在世界上 130 多个国家和地区注册使用,销售量位居世界农药销售量第二。其作用于植物的绿色组织,有效成分对叶绿体层膜破坏力极强。易溶于水,

喷洒使用过程中极易通过地表水进入水体,造成水体污染。目前,关于其水生态毒理学方面的研究主要涉及藻类、原生动物、枝角类、鱼类等,而水体中另一重要生物类群轮虫为研究对象的甚少。本文以褶皱臂尾轮虫为受试生物,采用生命表实验方法研究了不同浓度百草枯对褶皱臂尾轮虫的摄食和生活史特征的影响,为探明百草枯对褶皱臂尾轮虫种群动态的影响规律,利用轮虫监测水环境污染物提供依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物和试剂

实验用褶皱臂尾轮虫由山东省海水养殖研究所提供,为实验室常年培养种,以小球藻(*Chlorella* sp.)投喂,光照培养箱中培养,培养条件为光照强度 3000 lx,光暗比 12h:12h,温度(20±1)℃,pH 为 8.0±0.1,盐度为 30±1.0。实验前,对褶皱臂尾轮虫进行 2 周以上的预培养。除草剂百草枯浓度为 200g/L,北京啄木鸟新技术发展公司生产,购于宁波庄市农贸市场。

1.2 急性毒性实验

用灭菌海水将百草枯配制成浓度为 100mg/L 的

* 浙江省科技厅项目, 2009C32021 号; 浙江省自然科学基金项目, LY12C03001 号; 宁波大学科研基金项目, XKL115 号、XKL11D2100 号; 胡岚博士基金项目, 2010.01—2010.12。谢志浩, 博士, 副教授, E-mail: xiezhihao@nbu.edu.cn

收稿日期: 2011-12-30, 收修改稿日期: 2012-03-26

母液。实验时,先按等比数列设计百草枯浓度进行勘探实验,根据勘探实验结果,将百草枯浓度设置为 2.00、4.00、6.00、8.00、10.00 和 12.00mg/L 共 6 个实验组,另设 1 个对照组,每组 3 个重复。

实验在 50ml 烧杯中进行,每个烧杯加入体积为 30ml 的百草枯溶液(内含藻密度为 2.0×10^6 cells/ml 的小球藻),放入活泼且大小均匀的 10 个轮虫个体,检查记录每个烧杯中轮虫个体的存活数。根据几率单位法计算 24h LC_{50} 值。

1.3 褶皱臂尾轮虫对小球藻的摄食率和滤水率

实验方法同 1.2。百草枯浓度设置为 0.125、0.25、0.50、1.00 和 2.00mg/L 五个浓度梯度,每个烧杯加入 300 个轮虫,每实验组设 3 个平行样,另设不加轮虫的对照组 2 个。为防止藻细胞生长用纸盒将实验烧杯罩住,在光照培养箱中培养 24h,培养条件同 1.1。24h 后,血球计数板计数并计算藻细胞密度。

1.4 百草枯对褶皱臂尾轮虫实验种群动态的影响

实验在特制的 24 孔塑料培养板中进行,正式实验前将轮虫分别放入实验液(藻密度为 2.0×10^6 cells/ml 小球藻+不同浓度百草枯)内预培养 48h,吸取刚出生 4h 以内的幼体,单个培养于每孔中,每孔加入 2ml 实验液,每个实验组使用 12 个轮虫幼体。实验在光照培养箱中进行,培养条件同 1.1。每隔 4—6h 观察、记录轮虫的产卵数、孵化出的幼体数及母体的存活数,移走新孵出的幼体,并轻轻吹动沉于培养孔底部的藻细胞,每隔 24h 更换 1 次实验液,以保证较为准确的藻密度,实验至全部个体死亡时为止。百草枯的浓度设置同 1.3,以不加除草剂的小球藻液(藻密度为 2.0×10^6 cells/ml)作为对照。

1.5 观测参数与计算方法

1.5.1 摄食率和滤水率的计算 摄食率 IR [cells/(ind·h)]是指每个浮游动物单位时间内过滤的饵料细胞数。滤水率 CR [ml/(ind·h)]是指一定水样中浮游动物个体或总个体数在单位时间内滤过的含有一定数量浮游植物的水样量。轮虫对藻类滤水率(CR)和摄食率(IR)的计算按照 Frost(1972)的公式进行,其中 V 为实验水样体积, N 为每个实验瓶中浮游动物的个体数, C_0 为起始饵料密度(cells/ml), C_t 为对照瓶中的最终饵料密度(cells/ml), C_{tf} 为实验瓶中的最终饵料密度(cells/ml), t 为摄食时间(h)。

计算公式为:

$$\text{滤水率 } CR = (V/N)(\ln C_t - \ln C_{tf})/t$$

$$\text{摄食率 } IR = CR(C_{tf} - C_0)/(\ln C_{tf} - \ln C_0)$$

1.5.2 生活史参数和种群增长参数 生活史参数:胚胎发育时间,指从卵的产出到幼体孵出所经历的时间;繁殖前期,指从幼体孵出到其产出第一枚卵所经历的时间;繁殖期,指从第一枚卵产出到最后一枚卵产出所经历的时间;繁殖后期,指轮虫产出最后一枚卵到其死亡所经历的时间;平均寿命,为繁殖前期、繁殖期和繁殖后期之和。

种群增长参数:特定年龄存活率(l_x)为 X 年龄组开始时存活个体的百分数;特定年龄繁殖率(m_x)为 X 年龄组平均每个个体所产的雌性后代数;净生殖率(R_0)为种群经过一个世代后的净增长率;内禀增长率(r_m)为种群在特定实验条件下的最大增长率;周限增长率(λ)为一段时间内种群的增长倍数。

计算公式为:

$$\text{净生殖率 } R_0 = \sum l_x m_x$$

$$\text{内禀增长率 } r_m = \ln R_0 / T$$

$$\text{世代时间 } T = \sum x l_x m_x / \sum l_x m_x = \sum x l_x m_x / R_0$$

$$\text{周限增长率 } \lambda = e^r$$

实际观察值均采用平均值±标准误表示。

2 结果与分析

2.1 百草枯的急性毒性实验

从图 1 中可以看出,随着百草枯浓度的增高,轮虫的死亡率呈上升的趋势。24h LC_{50} 为 9.45mg/L。

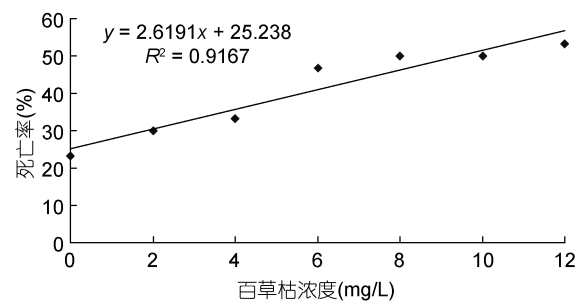


图 1 百草枯对褶皱臂尾轮虫的急性毒性影响
Fig.1 The acute toxicity of paraquat on *B. plicatilis*

2.2 百草枯对褶皱臂尾轮虫滤水率和摄食率的影响

与对照组相比,不同浓度的百草枯溶液对褶皱臂尾轮虫的滤水率和摄食率均产生了明显的影响,较对照组明显下降(图 2)。滤水率和摄食率在浓度为 0.25mg/L 时最低,分别为 0.24×10^{-3} ml/(ind·h)和 0.344×10^3 cells/(ind·h);浓度为 1.00mg/L 时最大,分别为 1.56×10^{-3} ml/(ind·h)和 2.579×10^3 cells/(ind·h)。滤水率和摄食率的整体变化趋势均随除草剂溶液浓度

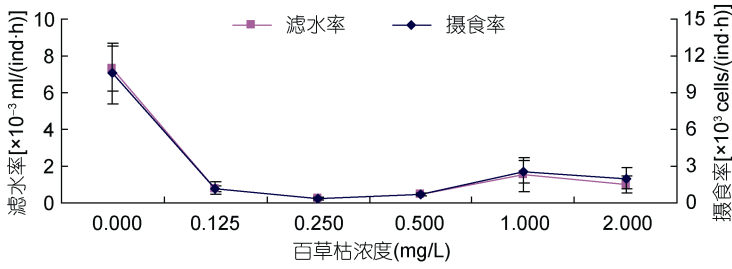


图2 褶皱臂尾轮虫在不同浓度百草枯下的滤水率和摄食率
Fig.2 The clearance and ingestion rates of *B. plicatilis* at different concentrations of paraquat

的增加而升高。

2.3 百草枯对轮虫主要发育阶段历时和产卵量的影响

由表1可以看出,百草枯对褶皱臂尾轮虫的繁殖前期、繁殖期、繁殖后期、平均寿命和产卵量均有显

著的影响。0.50mg/L 实验组轮虫的胚胎发育时间较对照组缩短,其它组较对照组有所延长;与对照组比较,实验组轮虫的繁殖前期有所延长、繁殖期则明显缩短,除0.25mg/L 实验组外,其它组的繁殖后期延长;平均寿命则明显缩短;各实验组轮虫的产卵量明显下降,且随着浓度的升高产卵量逐渐减少。

2.4 不同浓度百草枯对轮虫存活率和繁殖率的影响

1.00mg/L 组轮虫存活率开始下降的时间为第10天,其它实验组均为第6天。0.125和0.25mg/L 组轮虫存活时间为17d,0.50、1.00和2.00mg/L 组存活时间分别为15d、14d和15d,均少于对照组的18d(图3a)。

表1 不同浓度百草枯对褶皱臂尾轮虫发育阶段历时、平均寿命与产卵量的影响

Tab.1 Durations of developmental stages, mean lifespan and number of eggs of *B. plicatilis* at different concentrations of paraquat

浓度(mg/L)	胚胎发育(h)	繁殖前期(h)	繁殖期(h)	繁殖后期(h)	平均寿命(h)	产卵量(eggs/ind)
对照	31.85±19.49	25.03±20.46	295.17±116.24	46.45±14.81	366.65±94.26	25.64±5.80
0.125	32.01±15.45	34.63±24.08	190.33±102.37	49.62±11.01	265.08±34.35	16.91±7.79
0.25	33.04±15.49	28.17±22.03	205.92±68.77	39.68±17.51	273.77±84.22	15.58±7.15
0.50	26.43±10.75	25.39±14.31	231.72±47.24	53.10±19.59	310.21±59.20	13.00±6.19
1.00	34.51±16.55	25.27±17.63	173.03±52.34	86.12±11.91	284.42±88.92	11.33±3.14
2.00	35.62±15.87	30.81±13.33	100.89±26.92	100.71±27.60	232.41±79.46	5.84±3.44

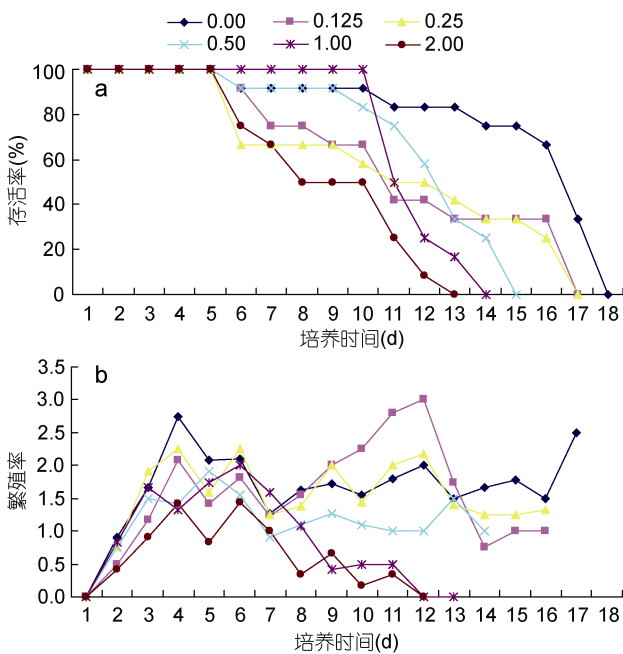


图3 不同浓度百草枯下褶皱臂尾轮虫的存活率和繁殖率
Fig.3 Survival and reproductive rates of *B. plicatilis* at different concentrations of paraquat
注: a. 存活率, b. 繁殖率

0.125mg/L 实验组的轮虫繁殖率在第12天达到最大值3,0.25mg/L 组在第4天和第6天均达到最大值2.25,0.50mg/L 组在第5天达到最大值1.92,1.00和2.00mg/L 组在第6天分别达到最大值2和1.44。除1.00mg/L 组外,以高浓度组峰值较小,低浓度组峰值较大,呈现出一定的浓度效应。除0.125mg/L 组之外,其它组峰值均低于对照组的2.75。达到各自峰值之后,各实验组的繁殖率总体呈下降趋势(图3b)。

2.5 不同浓度百草枯下轮虫的主要种群增长参数

不同浓度百草枯下,轮虫的主要种群增长参数见表2。轮虫种群的净生殖率 R_0 在一定浓度范围内随着浓度的升高而减小,当浓度为0.25mg/L 时,净生殖率达到最大值15.75,各浓度下的 R_0 值均显著低于对照组。世代时间随着浓度的升高而减小,均低于对照组。百草枯对褶皱臂尾轮虫的周限增长率没有显著的影响,各组周限增长率与对照组相近。内禀增长率所受到的影响也较小,除1.00mg/L 组较对照组稍大外,其它组与对照组相近。

表 2 不同浓度百草枯下褶皱臂尾轮虫的种群增长参数
Tab.2 Parameters of population growth of *B. plicatilis* at different concentrations of paraquat

浓度(mg/L)	净生殖率 R_0 (ind^{-1})	世代时间 T (d)	内禀增长率 r_m (d^{-1})	周限增长率 λ (d^{-1})
对照	23.83	8.76	0.36	1.44
0.125	15.67	7.78	0.35	1.42
0.25	15.75	7.34	0.38	1.46
0.50	13.00	6.81	0.38	1.46
1.00	11.42	5.61	0.43	1.54
2.00	6.00	5.11	0.35	1.42

3 讨论

3.1 百草枯对褶皱臂尾轮虫的摄食率和滤水率的影响

绝大部分浮游性轮虫都是滤食性种类,通过头冠纤毛的运动激起水流来收集食物。轮虫对饵料藻的摄食研究报道较多,饵料藻密度对摄食率有显著的影响。关于轮虫的摄食与饵料藻密度之间的关系,不同学者提出了不同的模式,其共同点是在较低饵料密度范围内,摄食率随着饵料密度的提高而增加,直至最大值;不同点在于摄食率饱和点之后的规律变化,或者下降,或者保持恒定,或者不存在饱和点,持续上升(Frost, 1972; Marshall, 1973; Deason, 1980; Kirk, 1997)。这一结果可能是由于轮虫的摄食潜力所引起的,而摄食潜力又随着温度、食物丰度、动物个体大小和生理状态等内外因素的不同而异。由于影响轮虫摄食潜力的因素是变化的,摄食模式也就无法固定。

本实验中除草剂浓度是影响褶皱臂尾轮虫摄食的重要因子,在不考虑对轮虫毒性的前提下,随着百草枯浓度的增加,轮虫的摄食率随之增大。实验结果显示,褶皱臂尾轮虫的摄食能力是不稳定的,摄食率在实验浓度范围内有波动。褶皱臂尾轮虫的滤水率随着百草枯浓度的增加而增大,这是因为通过滤水率的增加才能满足轮虫对食物能量的需求。褶皱臂尾轮虫提高对小球藻的摄食率,一方面用于满足生命活动的能量需要,另一方面可能用于降低百草枯对自身的不良影响。当百草枯浓度为 1.00mg/L 时摄食率出现饱和点,即轮虫的摄食率达某一峰值,百草枯浓度再升高,摄食率则呈现下降的趋势。

3.2 百草枯对褶皱臂尾轮虫发育和种群增长的影响

关于轮虫的发育历期和种群增长参数的研究国内外的报道比较多,徐晓平等(2005)报道了杀虫剂溴氰菊酯对萼花臂尾轮虫生活史特征存在明显的影响。

Gregor 等(2007)研究发现诱导剂等化学物质对轮虫的产卵和发育存在影响;Sarma 等(2005)通过在轮虫的培养液中添加重金属发现,随着镉和铅浓度的增加,种群增长率逐渐降低。席贻龙等(1999, 2000)发现温度、食物的种类和密度等能够显著影响轮虫的胚胎发育时间和生殖前期历时,马蕊等(2004)研究发现饵料密度对方形臂尾轮虫发育历期与实验种群增长参数均有明显影响。种群的增殖速率不仅与其净生殖率有关系,而且与胚胎发育速率、生命的早期阶段历时以及存活率有关系(Pourriot, 1986)。轮虫孤雌生殖过程中,在食物充足的条件下,轮虫的繁殖前期历时和胚胎发育时间比轮虫净生殖率对轮虫种群增长速率的影响更大。本实验结果表明,在各种群增长参数中以 R_0 改变最大,实验组是对照组的 25.18%—66.09%,世代时间受影响也较大,均小于对照组。与对照组相比,百草枯对褶皱臂尾轮虫胚胎发育时间、各发育阶段历时、平均寿命和每雌产卵量都有影响:胚胎发育时间延长,繁殖期和平均寿命缩短,产卵量降低,这最终可能影响了轮虫的种群增长。从不同浓度百草枯对褶皱臂尾轮虫的种群影响来看,浓度越高,对各参数的影响越大。

3.3 百草枯对褶皱臂尾轮虫发育和种群增长影响的原因分析

百草枯对褶皱臂尾轮虫发育和种群增长存在明显影响,导致轮虫的产卵量降低,平均寿命缩短,净生殖率和世代时间下降,种群增长速度减缓,随着百草枯浓度的增加变化更为明显。比较产卵数发现,实验组只有对照组的 25.17%—66.08%,这可能意味着实验组轮虫繁殖能力的下降并不仅仅因为进行生殖的时间缩短了,还可能因为生殖生理方面受到抑制,本实验所用百草枯是毒性较大的除草剂,我国对百草枯的毒性分级定为“中度毒性”,调查研究表明也是人类急性中毒死亡率最高的除草剂,其对轮虫的生理机能可能会造成影响。这一点从实验组繁殖率最

大值出现时间不一致也可看出。除草剂对植食性浮游动物(如轮虫)种群增长的不利影响有可能造成物质和能量在食物链间传递和流动的障碍, 最终可能影响生态系统的平衡, 并危害渔业资源, 值得今后进一步深入研究。

参 考 文 献

- 马蕊, 牛翠娟, 鲍蕾等, 2004. 食物浓度对方形臂尾轮虫发育历期与实验种群增长参数的影响. *动物学报*, 50(5): 753—758
- 张雅芝, 谢仰杰, 胡家财等, 2005. 不同饵料和接种密度对褶皱臂尾轮虫种群增长的影响. *集美大学学报(自然科学版)*, 10(1): 1—7
- 徐晓平, 席贻龙, 储昭霞等, 2005. 溴氰菊酯对萼花臂尾轮虫实验种群动态的影响. *动物学报*, 51(2): 251—256
- 席贻龙, 黄祥飞, 1999. 食物种类和密度对壶状臂尾轮虫实验种群动态的影响. *水生生物学报*, 23(3): 227—234
- 席贻龙, 黄祥飞, 2000. 温度对壶状臂尾轮虫实验种群动态的影响. *海洋与湖沼*, 31(1): 23—28
- 黄祥飞, 1989. 武汉东湖若干轮虫卵和胚后发育时间的观察. *海洋与湖沼*, 20(2): 184—191
- 董云伟, 牛翠娟, 2004. 萼花臂尾轮虫(*Brachionus calyciflorus*) COI 基因序列变异及种群遗传结构分析. *海洋与湖沼*, 35(5): 473—480
- Deason E E, 1980. Grazing of *Acartia hudsonica* (*A. clausi*) on *Skeletonema costatum* in Narragansett Bay (USA): Influence of food concentration and temperature. *Marine Biology*, 60: 101—113
- Frost B W, 1972. Effects of size and concentration of food particles on the feeding behavior of the marine planktonic copepod *Calanus pacificus*. *Limnology and Oceanography*, 17: 805—815
- Gregor F F, Gregory K, Mahmoud L, 2007. Incomplete induction of mixis in *Brachionus calyciflorus*: patterns of reproduction at the individual level. *Hydrobiologia*, 593: 111—119
- Kim D, Sato Y, Oda T *et al*, 2000. Specific toxic effect of dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama* on the rotifer *Brachionus plicatilis*. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 64(12): 2719—2722
- Kirk K L, 1997. Egg size, offspring quality and food level in planktonic rotifers. *Fresh Water Biology*, 37: 515—521
- Louis A B, Gregor B, 2008. Whole-mount *in situ* hybridization in the rotifer *Brachionus plicatilis* representing a basal branch of lophotrochozoans. *Dev Genes Evol*, 218(8): 445—451
- Marshall S M, 1973. Respiration and feeding in copepods. *Advances of Marine Biology*, 11: 57—120
- Pourriot R, 1986. Les rotifers—Biology. *Aquaculture*, 1(5): 201—221
- Rao T R, Sarma S S S, 1986. Demographic parameters of *Brachionus patulus* Muller (Rotifera) exposed to sublethal DDT concentrations at low and high food levels. *Hydrobiologia*, 139: 193—200
- Sarma S S S, Hilda F, 2005. Effects on the population dynamics of *Brachionus rubens* (Rotifera) caused by mercury and cadmium administered through medium and algal food *Chlorella vulgaris*. *Acta Zoologica Sinica*, 51(1): 46—52
- Sarma S S S, Nandini S, 2001. Life table demography and population growth of *Brachionus variabilis* Hempel 1896 in relation to *Chlorella vulgaris* densities. *Hydrobiologia*, 446/447: 75—83
- Sarma S S S, Rao T R, 1987. Effect of food level on body size and egg size in a growing population of the rotifer *Brachionus patulus* Muller. *Arch Hydrobiol*, 111: 245—253
- Snell T W, Janssen C R, 1995. Rotifers in ecotoxicology: a review. *Hydrobiologia*, 313/314: 231—247
- Teresa R P, Sarma S S S, Nandini S, 2004. Effects of Mercury on the life table demography of the rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifera). *Ecotoxicology*, 13: 535—544
- Walz N, Rothbucher F, 1991. Effect of food concentration on body size, egg size and population dynamics of *Brachionus angularis* (Rotatoria). *Verh Internat Verein Limnol*, 24: 2750—2753
- Xi Y L, Hu H Y, 2003. Effect of thiophanate-methyl on the reproduction and survival of the freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 71: 722—728
- Xi Y L, Liu G Y, Jin H J, 2002. Population growth, body size of two different strains of *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifera) fed different algae. *Journal of Freshwater Ecology*, 17(2): 185—190
- Xie Z H, Xiao H, Tang X X *et al*, 2008. Interactions between red tide microalgae and herbivorous zooplankton: effects of two bloom-forming species on the rotifer *Brachionus plicatilis* (O. F. Muller). *Hydrobiologia*, 600: 237—245

EFFECTS OF PARAQUAT ON FEEDING AND EXPERIMENTAL POPULATION DYNAMICS OF *BRACHIONUS PLICATILIS*

XIE Zhi-Hao, TU Yan-Ping, YU Hong-Ling, ZHENG Qin

(Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology of the Ministry of Education, Ningbo University, Ningbo, 315211;
College of Oceanology, Ningbo University, Ningbo, 315211)

Abstract In this paper, effects of paraquat on the feeding and population dynamics of *Brachionus plicatilis* were studied by method of experimental ecology. The results show that the 24h LC_{50} of paraquat on *B. plicatilis* was 9.17mg/L. The paraquat had significant effects on the feeding of *B. plicatilis*. The ingestion rate (*IR*) and clearance rate (*CR*) decreased first and then increased with increasing concentration of paraquat. The herbicides showed significant effects on the growth and development of *B. plicatilis* by expending the durations of its pre-reproductive period, post-reproductive period, and the rotifer's embryonic development, shortening the durations of its reproduction and mean lifespan, and reducing its egg-laying and fecundity. The net reproduction rate and generation time of *B. plicatilis* decreased significantly, in comparison with those of control. However, *B. plicatilis* could maintain certain population increase at the presence of different concentration of paraquat.

Key words paraquat; *Brachionus plicatilis*; feeding; population dynamics