

方海平,陈再忠.光照诱导对摇蚊产卵的影响[J].江苏农业科学,2013,41(10):327-330.

光照诱导对摇蚊产卵的影响

方海平, 陈再忠

(上海海洋大学水产与生命学院,上海 201306)

摘要:试验深入细致探讨光照对摇蚊产卵的影响,结果表明,摇蚊幼虫羽化后,利用 $>100\text{ lx}$ 的强光照射 12 h ,然后换成 20 lx 左右弱光照射 4 h 左右,是摇蚊完成婚飞并产卵的最佳光照条件。

关键词:摇蚊;光照;产卵;影响

中图分类号: Q965 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)10-0327-03

摇蚊隶属于节肢动物门昆虫纲双翅目长角亚目摇蚊科,种类多、分布广、生物量大(约占底栖生物重量的 $70\% \sim 80\%$ ^[1])、营养价值高,因此备受诸多肉食和杂食性鱼类的青睐,引起养殖户和科研人员的关注。早在 1961 年,日本代田昭彦对背摇蚊幼虫人工采卵做了详细研究^[2],为后来诸多研究奠定了基础,而对摇蚊幼虫的利用可以追述到更早的 1951 年,前苏联建立了专门的摇蚊幼虫养殖场,养殖摇蚊幼虫为鲟鱼提供饵料,后来,由于人工配合饲料的广泛应用,诸如摇蚊幼虫之类的生物饵料一度几近被遗忘,相关的研究更多的集中在生态学、分类学。

近年来,随着名特水产品工厂化养殖的迅速发展,饵料问题日趋突出。人工配合饲料虽然加工和贮藏方便,使用非常广泛,但它易使水质恶化,诱发疾病,从营养和环保角度都不及活饵料,生物饵料重新得到了重视。在我国,对摇蚊的研究起步较晚,且主要集中在分类学和污染控制方面,仅有极少量的研究针对摇蚊人工采卵和养殖。本试验在前人研究的基础上,针对摇蚊婚飞和产卵中光照因素做了研究,旨在解决工厂化养殖过程中摇蚊产卵问题。

1 材料与方法

1.1 试验材料

试验在深圳共鳞实业有限公司完成,所用摇蚊幼虫来自广东惠州虫田,大小在 $1 \sim 1.5\text{ cm}$ 之间,约为 200 只/g ,放养后可在 12 h 后开始化蛹并羽化。

1.2 仪器设备

养殖箱:长 \times 宽 \times 高为 $55\text{ cm} \times 45\text{ cm} \times 38\text{ cm}$ 的灰色胶箱 7 个,暂养摇蚊幼虫;羽化箱:长 \times 宽 \times 高为 $76\text{ cm} \times 42\text{ cm} \times 15\text{ cm}$ 黑色胶箱 5 个,用于摇蚊蛹的羽化;光源:9 W 白炽灯 1 个,25 W 白炽灯 4 个等;照度计 1 台,测定光照强度;体视显微镜 1 台,用于镜检确定摇蚊卵的受精状况。

1.3 饲料

豆粕与麸皮按 $1:3$ 混合熟化,粉碎至 35 目。投喂前先用少量水浸湿,室温下放置 2 d 发酵;投喂时将处理好的饲料加水搅拌,然后将饲料均匀洒在培养箱中。

1.4 控制条件

摇蚊幼虫养殖箱底泥 2 cm ,水深 20 cm ,水温 $26 \sim 28\text{ }^{\circ}\text{C}$, pH 值 $6.0 \sim 7.0$ 之间,气泵充氧,以保证水中溶氧量;羽化箱水深 10 cm ,无底泥, pH 值 $6.0 \sim 7.0$ 之间,水温 $27 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$,空气温度 $29 \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$,空气湿度 $>75\%$ 。

1.5 试验设计

1.5.1 敞开式单向光照试验 本试验在 $9\text{ m} \times 4\text{ m} \times 4\text{ m}$ 的实验室进行,将 7 个养殖箱并排放置,编号为 $1 \sim 7$,加好底泥和水后,打开气泵养水 2 d ;待水质澄清后,测定并调整水质参数,测得水温为 $26.5\text{ }^{\circ}\text{C}$, pH 值为 6.5 ,溶氧 $>5\text{ mg/L}$,氨氮和亚硝酸含量为 0 。将从惠州带回的 500 g 4 龄幼虫均匀分洒在 7 个胶箱中进行养殖,每天投喂 2 次,换去 $1/3$ 的水。试验开始后,观察摇蚊的婚飞情况,每 24 h 记录 1 次产卵总数,试验历时 7 d 。光源摆放位置如图 1 所示。由于光照在空气中的衰减,各箱光照强度均不一样,测得光照强度如表 1 所示。

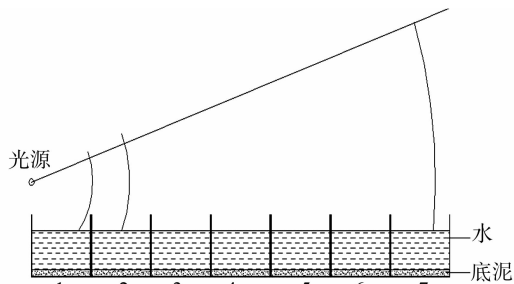


图1 敞开式单向光照试验装置示意图

1.5.2 封闭条件光照试验 封闭采卵箱如图 2 所示,采卵箱顶部为透明塑料板,以便外置光源透过;四周以黑色不透光材料密封,留一活动窗口用于添加原料和观察;底部放置羽化槽,用于盛放将要羽化的蛹,并且收集摇蚊卵;在内部悬挂湿毛巾以保持湿度。

将从惠州取回的摇蚊幼虫分洒在养殖箱中, 12 h 后开始有大量幼虫化蛹;将蛹取出迅速转移到羽化槽,记录数量;在羽化槽中 3 h 内可完成羽化,刚羽化的摇蚊具有很强的趋光性,会停歇在光照较强的区域,此时分别记录雌雄羽化数量;

收稿日期:2013-03-07

基金项目:上海市海洋湖沼学会资助项目(编号:D8006-12-0050)。

作者简介:方海平(1987—),男,江西吉安人,硕士,主要从事摇蚊幼虫人工养殖研究。E-mail:happyfa2006@163.com。

通信作者:陈再忠,副教授,硕士生导师,主要从事水产动物繁殖生物学和观赏鱼繁殖研究。E-mail:chenzz@shou.edu.cn。

表 1 各个光照面光照强度

光源 (W)	光照强度 (lx)													
	养殖箱 1		养殖箱 2		养殖箱 3		养殖箱 4		养殖箱 5		养殖箱 6		养殖箱 7	
	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b	a	b
9	76.0	11.7	24.5	6.1	10.4	5.4	7.5	3.6	5.3	2.8	3.8	2.1	3.0	1.7
25	190.7	15.6	92.4	8.4	72.4	7.2	52.4	6.7	35.6	6.1	24.9	5.4	20.5	3.6

注:a 为向光面;b 为背光面。

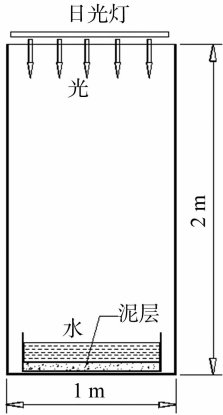


图 2 封闭采卵箱装置示意图

待试验蛹全部羽化之后,定时观察摇蚊的婚飞和产卵情况,并记录数据。封闭采卵箱光照方式、温湿度控制条件等如表 2 所示。

表 2 光照和温、湿度控制条件

光照方式	组别	光照条件
1. 持续光照	A	<1 lx 持续光照
	B	1~50 lx 持续光照
	C	50~150 lx 持续光照
	D	>150 lx 持续光照
2. 强弱光周期性交替光照	A	4 h 强光、1 h 弱光交替
	B	8 h 强光、1 h 弱光交替
	C	12 h 强光、1 h 弱光交替
	D	16 h 强光、1 h 弱光交替
3. 先强光照,再换成弱光	A	强光 8 h 后换成弱光
	B	强光 12 h 后换成弱光
	C	强光 16 h 后换成弱光
	D	强光 20 h 后换成弱光
	E	强光 24 h 后换成弱光

注:光照方式 1 为 24 h 内持续性光照,每 3 h 观察并记录 1 次;光照方式 2 为 24 h 内交替光照,强光 >100 lx,弱光 <20 lx,每 1 h 观察并记录 1 次;光照方式 3 为 24 h 内,先强光照,再换弱光,强光 >100 lx,弱光 <20 lx,每 1 h 观察记录 1 次。所有处理温度均为 (27±1)℃,相对湿度均为 72%~85%。

1.6 数据记录及其分析

试验记录开始产卵时间、产卵持续时间、产卵高峰出现时间、产卵率、受精率等,在 Excel 2007 中进行图表处理。

2 结果与分析

2.1 敞开式单向光照试验

单向光照产生不同强度的光照区域,各养殖箱所处的光照区域都不一样,并且向光面与背光面的光强有着明显的差别。由图 3 可见,摇蚊产卵对光照的选择极强,随着光强的增

加,产卵量急剧减少;摇蚊产卵主要集中在光强 <20 lx 的区域。在试验过程中还发现,婚飞对光照也有明显选择性,刚羽化的摇蚊并不立即婚飞产卵,而是在强光照区域停歇一段时间,多集中在光强 <50 lx 区域,且在 <20 lx 区域尤为集中。

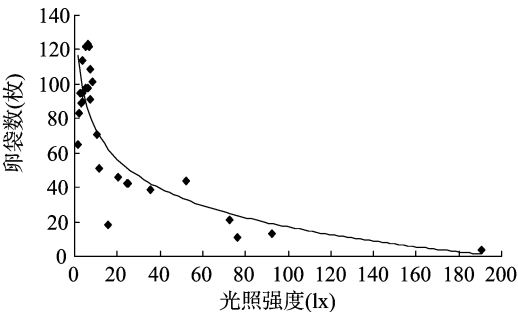


图 3 敞开式单向光照摇蚊产卵情况

2.2 封闭条件光照试验

2.2.1 开始产卵时间 由表 3 可见,持续光照条件下,随着光照强度的增加,开始产卵的时间逐步提前;强弱光周期交替照射与持续强光照相比,产卵时间有所提前;在强光照一段时间后切换成弱光的情况下,5 个组别均可在变换成弱光后 3~4 h 内开始产卵。从整个开始产卵时间来看,弱光可诱导摇蚊完成婚飞产卵,而在婚飞之前的强光照也必不可少。

表 3 不同光照方式对摇蚊开始产卵时间的影响

组别	不同光照方式开始产卵时间(h)		
	1	2	3
A	70	20	11
B	41	20	14
C	30	23	18
D	31	25	22
E	—	—	23

注:开始产卵时间是从试验开始到获得第 1 卵袋经历的时间,表中数据为平均数取整的结果。1 为持续光照,2 为周期变换光照,3 为强光照一定时间后切换成弱光;表 4 同。

2.2.2 受精率和产卵 由表 4 可见,在持续强光(>150 lx, D 组)和持续弱光(<1 lx, A 组)光照条件下,难以完成有效的婚飞,受精率偏低,分别为 12% 和 17%,其余光照条件对受精率影响较小,均在 90% 以上;持续光照条件下产卵率总体偏低,持续光照时间越长,摇蚊越难以完成有效的产卵。

2.2.3 产卵持续时间和产卵高峰 产卵持续时间:由图 4 可见,持续光照条件下,产卵持续时间最长,在 27~30 h 之间。由图 5 可见,在强光照一定时间后切换成弱光的情况下,摇蚊在开始产卵后均可以在 5~7 h 内完成产卵,其中以 E 组即强光照 24 h 后换弱光照,持续时间最短,可在 5 h 内迅速完成婚飞和产卵。

表 4 不同光照方式对摇蚊受精率和产卵率的影响

组别	受精率(%)			产卵率(%)		
	1	2	3	1	2	3
A	17	99	94	*	78	61
B	99	99	98	64	77	64
C	96	100	99	59	77	79
D	12	99	99	23	76	69
E	—	—	96	—	—	77

注: * 为由于光线过弱,未能分别统计雌雄羽化数,因而无数据。

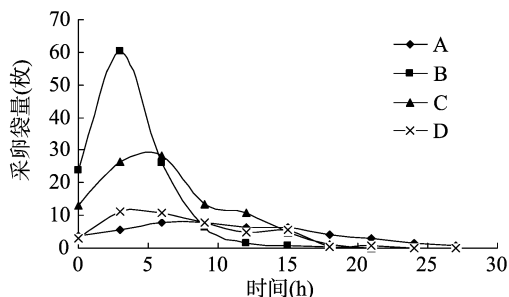


图4 持续光照对摇蚊产卵持续时间和产卵高峰的影响

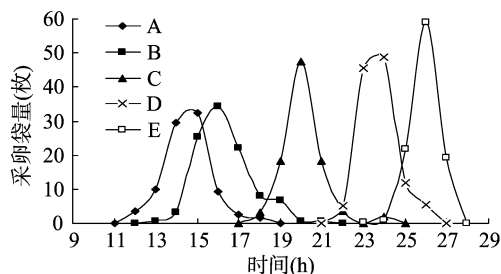


图5 先强光后弱光照射对摇蚊产卵持续时间和产卵高峰期的影响

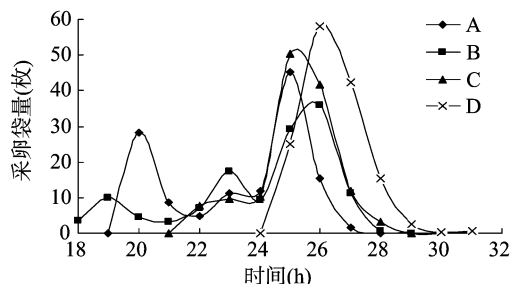


图6 强弱光交替光照对摇蚊产卵持续时间和产卵高峰期的影响

产卵高峰:由图4可见,持续光照条件下,各组别摇蚊产卵高峰期主要集中在光照开始后3~10 h。由图6可见,强弱光周期交替照射条件下,均在24 h后弱光时间内出现产卵高峰。由图5可见,在强光切换到弱光下,各组都有明显的产卵高峰,强光24 h后换成弱光约2 h产卵量最高,约为60枚。

3 讨论

3.1 试验原料选择

有关摇蚊人工采卵的研究,最早见于代田昭彦^[2],其试验原料选择的是未化蛹的摇蚊幼虫,或是从野外捕捉回来的摇蚊。随后诸多研究如细长摇蚊(*Tendipes attenuates*)生物学及人工采卵技术的研究^[3]、羽摇蚊(*Tendipes plumosus*)人工采

卵的研究^[4],所选原料均为野外采集的摇蚊幼虫。从前人研究试验结果来看,有个共同的特点就是产卵率和受精率都很低,笔者认为除摇蚊密度、试验空间等因素外,偏低的产卵率和受精率与试验材料的选择有很大关系。

以摇蚊幼虫作为原材料,摇蚊幼虫生长发育阶段是不同的,这就使得幼虫化蛹和羽化时间不统一,大量摇蚊精卵成熟的时间彼此错开,由此造成一种假象,即能观察到的婚飞摇蚊看似达到了一定的数量,但其实际情况是其中许多摇蚊并未达到理想的婚飞状态,从而导致受精率和产卵率均偏低。若直接从野外捕获摇蚊来完成试验,在摇蚊被捕获时本身正处于婚飞状态,捕获的操作对其影响大小不得而知。为避免此类事情发生,本试验选择即将羽化的蛹作为原材料,其可在2~3 h左右羽化,由此保证试验中摇蚊所处发育期大体相同。

3.2 婚飞和产卵的光强要求

在自然条件下,摇蚊既不会在大白天婚飞产卵,也不会的夜晚婚飞,而是选择在黄昏时分和黎明时分婚飞,随后产卵,光照在诱导摇蚊完成婚飞和产卵中起到了重要的作用。在单向光照试验中,利用光强的衰减造成不同的光照区域来诱导摇蚊婚飞和产卵,结果表明,摇蚊婚飞主要集中在光照10~50 lx之间的区域,尤其集中在20 lx左右的区域,摇蚊产卵主要集中在光照强度小于10 lx的区域。此外,通过观察发现,婚飞均在贴近水面,最高处不超过1.5 m。

刚羽化的摇蚊需在强光区域(>100 lx)停歇一段时间,然后才在弱光区域婚飞产卵。对比持续强光和强光切换成弱光的试验结果发现,同样强度光照条件下,持续强光开始产卵在27 h后,而如果在强光8 h后切换成弱光,却可以最短在第10 h开始产卵,可能原因是刚羽化的摇蚊精卵并未达到完全成熟,强光可以诱使摇蚊更快达到成熟,而后弱光诱导摇蚊完成婚飞和产卵,当然,证明这一猜测需要对4龄摇蚊幼虫、蛹、刚羽化的成虫以及婚飞前的成虫性腺进行解剖观察。

3.3 光照方式和时间

无光和持续强光下,是难以获得摇蚊受精卵的,这点在代田昭彦的试验中已经得以证实^[2]。本次试验进一步进行验证,在<1 lx和>100 lx的光强下,摇蚊产卵率和受精率也极低。实现摇蚊人工采卵,光照方式即强、弱光变换最为关键,代田昭彦采用是24 h内灭灯数次,每次30 min来验证其效果,这种方法存在一些问题;其一,灭灯后,其光照值具体是多少?观察发现,当光照强度过暗,摇蚊很难完成婚飞;其二,在光照强度骤变情况下,摇蚊是否能在30 min内完成婚飞和产卵?摇蚊完成婚飞,首先要聚集一定的数量,在自然界中,由于光线是渐变变化的,这个聚集的过程大概要持续1 h后,并仍然需要持续一定时间进行空中交配,这个过程至少要30 min,此外,在本次试验中发现,当光照由弱光突然变换成强光时,原来停在水边准备产卵或正在产卵的摇蚊都会变得焦躁不安,甚至带着卵袋飞走;其三,对比了24 h内不同灭灯次数的摇蚊产卵量,发现摇蚊产卵随灭灯次数而增加,那么这个变化是由灭灯次数变化引起,还是由累计灭灯时间引起的呢?

本试验主要涉及了3种光照方式:不同强度光照持续照射试验、24 h内强弱光间歇循环照射试验、先强光持续照射

杨建香,邱声祥,余志刚,等. 南海红树林内生真菌 GX-5b 代谢产物研究[J]. 江苏农业科学,2013,41(10):330-332.

南海红树林内生真菌 GX-5b 代谢产物研究

杨建香^{1,2}, 邱声祥¹, 余志刚², 林永成²

(1. 中国科学院华南植物园植物资源保护与可持续利用重点实验室, 广东广州 510650; 2. 中山大学化学与化学工程学院, 广东广州 510275)

摘要:采用反复硅胶柱色谱法、Sephadex LH-20 凝胶色谱法等进行分离纯化, 研究南海红树林内生真菌 GX-5b 的代谢产物, 并通过理化常数测定和光谱分析鉴定其化学结构。结果表明: 从南海红树林内生真菌 GX-5b 的培养液中首次分离得到 6 个代谢产物, 分别为 3-(羟甲基)-6,8-二甲氧基香豆素、二甲基异喹啉、(E)-4,5-二羟基-3-(丙烯基)环戊-2-烯酮、2,8-二羟基-3,4-二氢萘酮、环(脯-甘)二肽、麦角甾醇。初步药理活性显示, 化合物 1 对口腔癌细胞 KB、KBv200 的抗肿瘤活性分别为 8.5、13.0 $\mu\text{g/mL}$ 。

关键词:南海; 红树林; 内生真菌; 代谢产物; 化学结构

中图分类号: O629 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2013)10-0330-03

海洋微生物由于生活在高盐、高压的特殊环境中, 具有独特的代谢方式^[1]。据报道, 绝大多数海洋真菌都与红树林有着紧密的联系^[2-3], 而海洋微生物中的红树林是生长在热带亚热带海岸潮间带、受周期性潮水浸淹、以红树植物为主体的潮滩湿地木本生物群落, 是海洋环境中特有的高等植物^[4]。红树林具有独特的生理生态, 使其具有独特的代谢过程、代谢产物和独特的共生菌, 这些共生菌同样能产生极其丰富的新

的活性次级代谢产物。近十几年来, 笔者所在的课题组已经对中国南海红树林内生真菌进行了系统的研究, 从中分离获得一系列结构新颖或药理活性良好的海洋天然化合物^[5-8]。本试验对南海红树林内生真菌 GX-5b 代谢产物进行研究, 从培养液中分离得到 6 个化合物, 并通过理化常数测定和光谱分析鉴定其化学结构, 为南海红树林内生真菌代谢研究提供了参考。

1 材料与方法

1.1 仪器和试剂

INOVA-500NB 超导核磁共振谱仪和 INOVA-300NB 核磁共振仪(美国 Varian 公司); VG ZAB-HS 双聚焦质谱仪, Thermo DSQ 电子轰击电离质谱仪, Thermo MAT95XP 高分辨质谱仪; X-4 数字显示显微熔点测定仪(北京泰克仪器有限公司)。所用试剂均为广东省广州化学试剂厂生产, 为化学纯, 溶剂经重蒸后使用。柱色谱硅胶为山东省青岛海洋化

收稿日期: 2013-03-21

基金项目: 国家自然科学基金(编号: 31100260); 中国科学院知识创新工程重要方向项目(编号: KSCX2-YW-R-217、KSCX2-EW-J-28); 广东省广州市科技局项目(编号: 12C14061559); 广西壮族自冶区教育厅科研项目(编号: 201204LX497)。

作者简介: 杨建香(1979—), 女, 山西原平人, 博士, 副教授, 从事天然产物的提取和分离。Tel: (020) 37082553; E-mail: 791011@126.com。

一段时间后转换成弱光照射试验。在持续光照条件下, 摇蚊经历至少 26 h 才开始产卵, 强光照射 10 h 条件下, 摇蚊精卵已经成熟, 不是 24 h 内周期性光照影响着受精率和产卵率, 而是摇蚊有效的完成婚飞和产卵。此外, 间歇性弱光光照导致在真正产卵高峰出现之前, 出现了一些产卵的峰值, 摇蚊不能在 1 h 之内全部完成婚飞和产卵, 如果摇蚊已经完成婚飞准备产卵, 而此时突然转换成强光, 摇蚊便会停止产卵, 并等待下一次弱光的出现。不合理的光周期直接延长了摇蚊产卵的持续时间, 这可能是由于刚羽化的摇蚊精卵都未完全成熟, 强光照可以起到催熟的效果, 而弱光可以诱导摇蚊完成婚飞, 且摇蚊产卵也需要在弱光条件下完成。试验结果表明, 摇蚊精卵成熟对强光照射时间的要求, 12 h 强光照射应该是最理想的。

3.4 密度与受精率和产卵率

代田昭彦认为密度对受精率有着显著的影响^[2]。本试验未对摇蚊的密度做精确控制, 但从试验结果来看, 受精率和产卵率都未因此表现出太大差异。不同摇蚊婚飞时要求的数量是不同的, 在试验过程中均可观察到婚飞现象, 至于不同摇

蚊婚飞密度要求, 有待进一步验证。

4 结论

在人工采卵实际应用中, 要求摇蚊产卵时间早且集中、产卵高峰突出、受精率和产卵率高。综合本次试验结果, 得出人工诱导摇蚊产卵的最佳光照条件是: 在摇蚊幼虫羽化后, 利用 >100 lx 的强光照射 12 h, 然后换成 20 lx 的弱光照射 4 h 左右。

参考文献:

- [1] Armitage P D, Cranston P S, Pinder L V. The chironomidae biology and ecology of non biting midges [M]. London: Chapman and Hall, 1995.
- [2] 代田昭彦. 摇蚊幼虫的研究: 养鱼饵料的饲育培养法[M]. 鲁守范, 韩书文, 译. 北京: 农业出版社, 1968: 52-57.
- [3] 陆开宏, 钱云霞. 细长摇蚊 *Tendipes attenuates* 生物学及人工采卵技术的研究[J]. 浙江水产学院学, 1995, 14(4): 247-253.
- [4] 贺蓉, 唐琼英, 尹晓波, 等. 羽摇蚊(*Tendipes plumosus*) 人工采卵的研究[J]. 四川畜牧兽医学院学报, 2000, 14(3): 32-35.