

温度和食物浓度对萼花臂尾轮虫休眠卵形成的影响

席贻龙 黄祥飞

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

摘要: 应用群体累积培养法, 在3种温度(20℃、25℃和30℃)和3种斜生栅藻浓度(6.0×10^6 cells/mL, 3.0×10^6 cells/mL和 1.5×10^6 cells/mL)共9个条件组合下对萼花臂尾轮虫休眠卵形成的研究表明, 温度为20℃和食物浓度为 6.0×10^6 cells/mL的条件组合下轮虫休眠卵的产量和形成效率最大, 此为轮虫休眠卵规模化生产的最适条件; 6.0×10^6 cells/mL和 3.0×10^6 cells/mL的食物浓度分别是25℃和30℃下轮虫休眠卵生产的最适食物浓度。20℃时轮虫的混交雌体百分率显著大于25℃和30℃时, 而温度和食物浓度以及两者间的交互作用均对混交雌体受精率无显著的影响。

关键词: 萼花臂尾轮虫, 休眠卵, 产量, 形成效率, 温度, 食物浓度

中图分类号: Q959.181 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2000)02-0107-07

温度和食物浓度是影响轮虫种群增长和繁殖的主要生态因子。有关温度和食物浓度对轮虫休眠卵形成的研究报道较少。Snell等研究了温度、食物浓度等环境因子对褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis* Muller)混交雌体产生的影响^[1], 杨家新等报道了藻类食物的浓度等对萼花臂尾轮虫(*Brachionus calyciflorus* Pallas)后代混交雌体百分率的影响^[2]; Hagiwara等研究了相同食物浓度下温度对褶皱臂尾轮虫休眠卵形成的影响^[3-5]。鉴于不同温度下轮虫休眠卵形成时所需的最适食物浓度可能不同, 因此研究不同温度和食物浓度组合下轮虫休眠卵的形成是必要的。本文以武汉东湖的萼花臂尾轮虫为对象, 研究了不同的温度和食物浓度组合下其休眠卵的形成情况, 旨在为该种轮虫休眠卵的规模化生产提供参考。

1 材料和方法

1.1 轮虫的来源和培养 实验用萼花臂尾轮虫于1997年3月由武汉东湖沉积物中的休眠卵孵化而得。实验室于温度为 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 、自然光照(光照强度约30lx, L:D=14:10)下进行“克隆”培养, 培养液采用Gilbert(1963)的配方^[6], 所用饵料为HB-4培养基^[7]培养的、处于指数增长期的蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*)。培养时间在2个月以上, 以其所产休眠卵保种。

收稿日期: 1999-04-01; 修订日期: 1999-07-15

基金项目: 国家自然科学基金资助项目: 轮虫休眠卵形成和萌发机理的生态学研究(39870158)

作者简介: 席贻龙(1965—), 男, 安徽肥东县人, 副教授, 博士, 从事淡水浮游动物生态学研究

1.2 群体累积培养实验 实验在3种温度(20°C 、 25°C 和 30°C)、3种食物浓度($6.0 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 、 $3.0 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 和 $1.5 \times 10^6 \text{ cells/mL}$)共9个条件组合下进行,每组合3个重复。以容积为15mL的磨口称量瓶为培养容器,培养物体积为10mL。以HB-4培养基培养的、处于指数增长期的斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*)为轮虫的食物。实验于恒温水浴(自然光照强度约120lx,L:D=16:8)中进行。实验前,将轮虫置于各条件组合下预培养48h以上。实验时,用玻璃微吸管随机吸取龄长在2—4h以内的幼体,待其产出第一枚非混交卵时接种至各培养容器内开始实验,接种密度为1ind./mL。实验过程中,每12h用玻璃微吸管轻轻吹浮沉积于培养容器底部的藻类食物;每24h对培养液中轮虫各类型雌体、雄体及休眠卵计数一次,并吸出培养容器底部的沉积物和休眠卵,投喂饵料。实验过程中,原则上不更换轮虫培养液。实验至各温度下多数组内轮虫休眠卵的形成完成第一个周期性变化为止,由 20°C 至 30°C 的实验时间依次为13d、9d和7d。

1.3 其他 雌体类型的划分和鉴别、轮虫及其休眠卵的计数方法、有关参数的定义和计算方法均与文献[8]相同。

2 结果

2.1 轮虫的种群动态

20°C 和 25°C 下,轮虫总雌性种群的密度具有随着食物浓度的升高而增大的趋势。而 30°C 下,在轮虫种群达最大密度之前, $3.0 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 和 $1.5 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 组间无显著的差异, $6.0 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 组种群增长最缓慢。同一食物浓度下,种群增长达最大值的时间随着温度的升高而缩短,惟 30°C 、 $6.0 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 组例外;而最大种群密度随着温度的升高而减小。各条件组合下,轮虫总雌性种群的最大密度和特定种群增长率列于表1。双因子方差分析表明,温度、食物浓度以及两者间的交互作用均对最大种群密度具有极显

表1 不同培养条件下萼花臂尾轮虫的最大种群密度和种群增长率

Tab.1 Population growth rate and maximum population density of *B. calyciflorus* under different culture conditions

| 温度 Temperature ($^{\circ}\text{C}$) | 食物浓度 Food concentration ($\times 10^6 \text{ cells/mL}$) | 最大种群密度 Max. population density (ind./mL) | 种群增长率 Population growth rate |
|---|--|--|---------------------------------|
| 20 | 1.5 | 161.11 \pm 56.21 | 0.4194 \pm 0.0335 |
| | 3.0 | 254.44 \pm 91.43 | 0.4991 \pm 0.1240 |
| | 6.0 | 331.11 \pm 28.35 | 0.6015 \pm 0.0381 |
| 25 | 1.5 | 44.78 \pm 13.83 | 0.6880 \pm 0.1663 |
| | 3.0 | 73.11 \pm 16.39 | 0.6749 \pm 0.1635 |
| | 6.0 | 137.77 \pm 8.39 | 0.5930 \pm 0.0454 |
| 30 | 1.5 | 53.67 \pm 7.68 | 0.9940 \pm 0.0360 |
| | 3.0 | 60.89 \pm 23.86 | 0.7354 \pm 0.3189 |
| | 6.0 | 40.66 \pm 0.58 | 0.5294 \pm 0.0001 |

著的影响($p < 0.01$);而温度对种群增长率具有显著的影响,温度和食物浓度的交互作用亦对其具有显著的影响($p < 0.05$)。

产雄卵的混交雌体的种群变动趋势表现为: 同一温度下, 其最大种群密度随食物浓度的升高而增大, 惟30℃、 6.0×10^6 cells / mL组例外; 而同一食物浓度下, 其最大种群密度出现的时间随温度的升高而缩短, 30℃、 6.0×10^6 cells / mL组再次例外。

雄体和产休眠卵的混交雌体的种群变动趋势与产雄卵的混交雌体的种群相似。

2.2 轮虫休眠卵的数量动态

轮虫休眠卵日生产量的最大值出现的时间随着温度的升高而缩短, 之后日生产量下降的幅度随着温度的升高而增大, 高食物浓度下更为显著; 同一温度下, 最大值也随食物浓度的增大而增大; 30℃、 6.0×10^6 cells / mL组例外(图1)。

在轮虫休眠卵的第一个形成周期内, 各条件组合下休眠卵的产量和形成效率列于表2。当培养温度分别为20℃和25℃时, 休眠卵产量随食物浓度的升高而极显著增大($p < 0.01$); 30℃下, 3.0×10^6 cells / mL组休眠卵产量最大, 6.0×10^6 cells / mL组次之, 1.5×10^6 cells / mL组最小, 三组间也具有极显著的差异($p < 0.01$)。对休眠卵形成效率进行的双因子方差分析表明, 温度和食物浓度以及两者间的交互作用均对休眠卵形成效率具有极显著的影响($P < 0.01$)。多重比较(LSR法)显示, 轮虫休眠卵形成效率以20℃下的3个浓度组和30℃、 3.0×10^6 cells / mL组最大, 25℃下的3个浓度组和30℃、 1.5×10^6 cells / mL组次之, 30℃、 6.0×10^6 cells / mL组最低。

休眠卵形成效率(E)与温度(Y, ℃)和食物浓度(X, $\times 10^6$ cells / mL)间的关系为:

$$E = 26.0157X^{-0.3105}e^{-0.1004Y}$$

$$R^2 = 0.5332, P < 0.01$$

2.3 轮虫种群中的混交雌体百分率和受精率

各条件组合下, 轮虫种群中的混交雌体百分率和受精率的平均值列于表3。双因子方差分析显示, 温度对混交雌体百分率具有显著的影响($p < 0.05$), 而食物浓度以及温度和

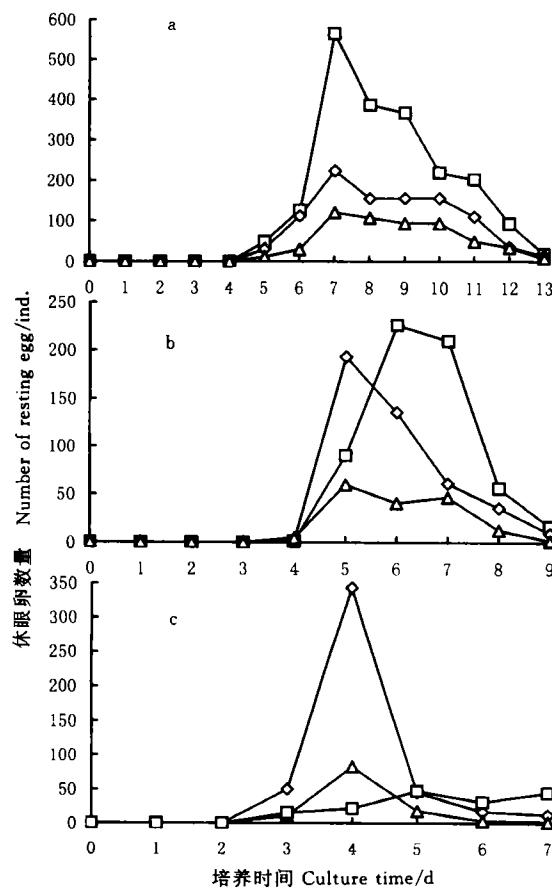


图1 不同培养条件下萼花臂尾轮虫休眠卵的数量动态

Fig.1 Quantity dynamics of resting eggs of *B. calyciflorus* under different culture conditions

□ 6.0×10^6 cells / mL组 ◇ 3.0×10^6 cells / mL组 △ 1.5×10^6 cells / mL组

a: 20℃ b: 25℃ c: 30℃

表2 不同培养条件下萼花臂尾轮虫休眠卵产量和形成效率

Tab.2 Production and formation efficiency of resting eggs of *B. calyciflorus* under different culture conditions

| 温度 Temperature (℃) | 食物浓度 Food concentration ($\times 10^6$ cells/mL) | 培养时间 Culture time (d) | 休眠卵产量 Production (10mL·d) | 形成效率 Formation efficiency (ind./ 10^6 cells algae) |
|--------------------------|---|-----------------------------|---------------------------------|--|
| 20 | 1.5 | 13 | 559.00±81.43 | 2.87±0.42 ^a |
| | 3.0 | 13 | 1004.33±198.89 | 2.60±0.49 ^a |
| | 6.0 | 13 | 2032.33±141.50 | 2.61±0.18 ^a |
| 25 | 1.5 | 9 | 167.67±7.51 | 1.24±0.06 ^b |
| | 3.0 | 9 | 438.67±34.53 | 1.62±0.13 ^b |
| | 6.0 | 9 | 600.67±81.05 | 1.11±0.15 ^b |
| 30 | 1.5 | 7 | 118.33±8.02 | 1.13±0.08 ^b |
| | 3.0 | 7 | 469.33±120.08 | 2.23±0.57 ^a |
| | 6.0 | 7 | 159.67±8.08 | 0.38±0.02 |

注: 多重比较 (LSR法): 相同字母示组间无显著差异。

Multiple comparison of Least Significant Rank: The same letters indicated that there were no significant differences among the groups.

表3 不同培养条件下萼花臂尾轮虫的平均混交雌体百分率和受精率

Tab.3 Mean mixis and fertilization rate of *B. calyciflorus* under different culture conditions

| 温度 Temperature (℃) | 食物浓度 Food concentration ($\times 10^6$ cells/mL) | 混交雌体百分率 Mixis rate (%) | 混交雌体受精率 Fertilization rate (%) |
|--------------------------|---|------------------------------|--------------------------------------|
| 20 | 1.5 | 29.84±7.22 | 53.99±1.15 |
| | 3.0 | 27.10±2.80 | 53.07±8.04 |
| | 6.0 | 30.89±0.70 | 58.90±4.81 |
| 25 | 1.5 | 19.27±6.70 | 52.83±10.43 |
| | 3.0 | 23.69±4.69 | 54.54±11.23 |
| | 6.0 | 20.92±1.28 | 50.42±2.58 |
| 30 | 1.5 | 15.95±1.55 | 47.69±7.72 |
| | 3.0 | 26.30±6.71 | 55.31±11.98 |
| | 6.0 | 23.88±2.85 | 62.34±4.69 |

食物浓度的交互作用均对其无显著的影响 ($p > 0.05$)。多重比较 (LSR 法) 显示, 20℃ 时的平均混交雌体百分率极显著地大于 25℃ 时, 显著大于 30℃ 时; 25℃ 和 30℃ 间无显著的差异。而温度和食物浓度以及两者间的交互作用皆对平均混交雌体受精率无显著的影响 ($p > 0.05$)。

3 讨论

3.1 温度和食物浓度对轮虫种群增长的影响

已有研究结果表明, 在同一温度下, 萼花臂尾轮虫种群密度随食物浓度的升高而增

大^[9, 10]。本研究结果表明, 20℃ 和 25℃ 下的种群增长状况与其一致, 但 30℃ 下却不尽相同。究其原因, 可能与较高温度下较高的食物浓度对低密度的种群增长具有抑制作用有关。

在同一食物浓度下, 种群密度随温度的升高而增大^[10]。本研究中, 除 30℃、 6.0×10^6 cells/mL 组外, 其余各组在培养的前 4d 内与其一致; 但自此之后却逐渐显示出相反的趋势。黄祥飞^[11]研究发现, 萼花臂尾轮虫种群的最大密度随温度的升高而有所增加, 而种群达到高峰所需的时间则随着温度的升高而缩短。本研究结果表明, 虽然种群达到高峰所需的时间也随着温度的升高而缩短, 但种群的最大密度却随着温度的升高而减小。这可能是由于实验过程中培养液不予更换从而导致培养液中轮虫代谢废物等逐渐增多, 在较高温度下其对轮虫种群增长的影响大于较低温度下的缘故。

3.2 温度和食物浓度对轮虫混交雌体百分率和受精率以及休眠卵形成的影响

目前已知, 褶皱臂尾轮虫种群中的混交雌体百分率随着温度的升高而降低^[3—5, 12]。本研究表明, 20℃ 下萼花臂尾轮虫的混交雌体百分率显著大于 25℃ 和 30℃ 下的混交雌体百分率, 而 25℃ 和 30℃ 间无显著的差异。较低温度下轮虫的混交雌体百分率较高可能是由于培养液中诱导混交雌体产生的物质的浓度较高造成的^[12]。Hagiwara 等^[5]研究表明, 温度对褶皱臂尾轮虫的混交雌体受精率无显著的影响, 本研究结果与其一致。

至于食物浓度对混交雌体百分率和受精率的影响, 已有资料表明, 一定范围内的食物浓度对轮虫的混交雌体百分率和受精率无显著的影响^{[13] 1)}。本研究结果再次证实了这一点。温度对轮虫休眠卵形成效率的影响常因种而异。就 *B. rotundiformis* Schugunoff 而言, 其休眠卵形成效率随着温度的升高而增大; 而褶皱臂尾轮虫却与之相反^[5]。本研究结果表明, 20℃ 和 25℃ 下食物浓度对休眠卵的形成效率皆无显著的影响, 30℃ 下除 6.0×10^6 cells/mL 组外, 其余两组的休眠卵形成效率随食物浓度的增大而减小。

表4 轮虫休眠卵的最大形成效率及其出现的时间

Tab.4 Maximum formation efficiency and time of its appearance of resting eggs of *B. calyciflorus*

| 温度 Temperature (℃) | 食物浓度 Food concentration ($\times 10^6$ cells/mL) | 最大形成效率 Max. formation efficiency | 出现时间 Time of its appearance (No.d) |
|--------------------------|---|-------------------------------------|--|
| 20 | 1.5 | 3.11 ± 0.51 | 11 |
| | 3.0 | 2.88 ± 0.43 | 11 |
| | 6.0 | 2.91 ± 0.23 | 11 |
| 25 | 1.5 | 1.45 ± 0.11 | 7 |
| | 3.0 | 1.87 ± 0.13 | 7 |
| | 6.0 | 1.26 ± 0.27 | 7 |
| 30 | 1.5 | 1.58 ± 0.23 | 4 |
| | 3.0 | 3.29 ± 1.19 | 4 |
| | 6.0 | 0.38 ± 0.02 | — |

1) 席贻龙、黄祥飞, 1998。食物种类和浓度对萼花臂尾轮虫休眠卵形成的影响。动物学报(待刊)

3.3 本研究的实践意义

由本研究结果可知,在温度为20℃、食物浓度为 $6.0 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 的条件组合下萼花臂尾轮虫休眠卵的产量和形成效率最大,因此可以认为,该条件组合应是人工控制条件下轮虫休眠卵规模化生产的最适条件。但鉴于规模化生产中降温比升温所需的条件高,因此根据不同时期的环境温度状况,选择略高于环境温度的条件进行生产是较为简单易行的。在此情况下, $6.0 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 、 $6.0 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 和 $3.0 \times 10^6 \text{ cells/mL}$ 应分别是20℃、25℃和30℃下休眠卵规模化生产的最适食物浓度。此外,根据各条件组合下休眠卵的最大形成效率及其出现的时间(表4),适时终止并重新开始新的培养,可进一步提高休眠卵规模化生产的经济效益。

参 考 文 献

- [1] Snell T W, Hoff F H. The effect of environmental factors on resting egg production in the rotifer *Brachionus plicatilis* [J]. *J. World Soc.*, 1985, **16**: 484—497
- [2] 杨家新、黄祥飞. 藻类食物对萼花臂尾轮虫繁殖的影响 [J]. 湖泊科学, 1998, **10**(1): 43—48
- [3] Hagiwara A, Hino A, Hirano R. Effect of temperature and chlorinity on resting formation in the rotifer *Brachionus plicatilis* [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1988a, **54**(4): 569—575
- [4] Hagiwara A, Hino A, Hirano R. Comparison of resting egg formation among five Japanese stocks of the rotifer *Brachionus plicatilis* [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1988b, **54**(4): 577—580
- [5] Hagiwara A, Lee C S. Resting egg formation of the L-and S-type rotifer *Brachionus plicatilis* under different water temperature [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1991, **57**(9): 1645—1650
- [6] Gilbert J J. Mictic female production in rotifer *Brachionus calyciflorus* [J]. *J. Exp. Zool.*, 1963, **153**: 113—124
- [7] 章宗涉、黄祥飞. 淡水浮游生物研究方法 [M]. 北京: 科学出版社, 1991, 340—344
- [8] 席贻龙、黄祥飞. 光照对萼花臂尾轮虫休眠卵形成的影响 [M]. 见: 中国动物学会主编,《中国动物科学的研究》. 北京: 中国林业出版社, 1999, 312—318
- [9] Sarma S S S, Rao T R. Effect of food level on body size and egg size in a growing population of the rotifer *Brachionus patulus* Muller [J]. *Arch. Hydrobiol.*, 1987, **111**(2): 245—253
- [10] 王金秋. 影响萼花臂尾轮虫种群增长的生态学因子的研究——温度和饵料密度的影响 [J]. 海洋湖沼通报, 1995, (4): 21—27
- [11] 黄祥飞. 温度对萼花臂尾轮虫卵的发育、种群增长和生产量的影响 [J]. 水生生物学报, 1985, **9**(3): 232—240
- [12] Kagone T, Hagiwara A, Imaizumi K. Temperature conditions enchanting resting egg production of the euryhaline rotifer *Brachionus plicatilis* O. F. Muller (Kamiura strain) [J]. *Hydrobiologia*, 1997, **358**: 167—171
- [13] Snell T W, Hoff F H. Fertilization and male fertility in the drotifer *Brachionus plicatilis* [J]. *Hydrobiologia*, 1987, **147**: 329—334

EFFECT OF TEMPERATURE AND FOOD CONCENTRATION ON RESTING EGG FORMATION OF FRESHWATER ROTIFER *BRACHIONUS CALYCIFLORUS*

XI Yi-long and HUANG Xiang-fei

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

Abstract: The effect of temperature and food concentration on resting egg formation of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus* was studied by accumulative population culture under 9 treatments of 3 temperature gradients (20°C, 25°C and 30°C) and 3 food concentration gradients (1.5×10^6 cells / mL, 3.0×10^6 cells / mL and 6.0×10^6 cells / mL). The results showed that under the culture condition of temperature 20°C and food concentration 6.0×10^6 cells / mL, the production and formation efficiency of resting egg were 2032.33 ± 141.50 ind. / (10mL·13d) and 2.61 ± 0.18 ind. / 10^6 cells algae, respectively, and were both biggest among all the conditions. This condition was optimal for mass production of resting eggs. At temperature 25°C and 30°C, the food concentration of 6.0×10^6 cells / mL and 3.0×10^6 cells / mL was also optimal for the production of resting eggs, respectively. At the temperature 20°C, the mixis rate was bigger than that of 25°C and 30°C. There was no significant effect of temperature, food concentration and their interaction on the fertilization rate.

Key words: *Brachionus calyciflorus*, Resting egg, Production, Formation efficiency, Temperature, Food concentration