

环境因子对萼花臂尾轮虫休眠卵 萌发率的影响

杨家新^{1,2} 黄祥飞²

(1 南京师范大学, 南京 21009);

(2 中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

摘要: 萼花臂尾轮虫 (*Brachionus calyciflorus* Pallas) 休眠卵在不同萌发条件下累积萌发率的结果显示: 保存在休眠卵形成的原液中, 温度为 20℃—30℃ 时萌发率均较高, 30℃ 时用过滤湖水萌发时的萌发率最高 (65%); 保存在无机培养液中的休眠卵, 用曝气自来水萌发时最高, 用湖水次之, 无机液萌发效果较差; 20℃ 和 25℃ 时三种萌发液中的萌发率接近; 母体投喂小球藻形成的休眠卵的累积萌发率高于投喂混合藻组, 且以过滤湖水为孵化液时效果较佳; 累积萌发率与光照时间的长短并无直接关系 ($P > 0.05$); 休眠卵在 5℃、无光、缺氧贮存 20—60d 时的平均萌发率在 45.00%—54.25% 之间。

关键词: 萼花臂尾轮虫; 休眠卵

中图分类号: Q959.181 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2000)04-0331-09

轮虫是淡水水体中重要类群之一, 在渔业生产上, 绝大部分鱼苗从内源性营养向外源性营养转化阶段, 轮虫是其最适口的优质饵料^[1-3], 有些鱼类可终身摄食轮虫, 因而池塘水体中轮虫出现与否, 及出现的数量对鱼苗的生长具有重要意义, 在培育鱼苗时, 清塘后轮虫休眠卵的萌发决定着池塘中轮虫的数量增长, 进而影响鱼苗的生长^[4]。

由于轮虫在同一环境条件下形成的休眠卵的生理特性较为一致, 差异较小, 所以, 在水生态毒理学研究中, 一般采用从休眠卵孵化出的第一代非混交雌体轮虫作为理想的实验材料。使用休眠卵时比使用利用克隆培养的轮虫的精确度更高, 所以轮虫在水生态毒理学研究领域中日益引起人们的重视。轮虫休眠卵的保存和萌发的研究被赋予了新的意义^[5-8]。

对于影响休眠卵萌发率的环境条件的研究, 国内外学者曾从不同的角度进行过研究^[4, 9-19], 但研究结果存在较大的差异, 本实验主要研究休眠卵形成时的食物条件、保存方式以及不同萌发液对其萌发率的影响, 旨在为工厂化生产过程中的“保种”方式和萌发提供理论依据。

收稿日期: 1998-07-29; 修订日期: 2000-01-28

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (批准号3927009)

作者简介: 杨家新 (1964—) 男, 副教授, 主要从事浮游动物学和水产饵料生物学研究。

1 材料与方法

1.1 休眠卵的采集 把东湖底泥放入曝气后的自来水中,待蓴花臂尾轮虫休眠卵萌发出来后,挑选一携卵的非混交雌体在实验室进行“克隆”培养,在 500ml 的三角烧瓶中加入轮虫培养液,培养液配方为:1000mL $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{-Na}_2\text{HPO}_4$ 缓冲液(浓度为 0.002mol/L pH 值 7.3),其中含 100mg KNO_3 ,40mg K_2HPO_4 ,62mg $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 和 144mg $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ^[14]。用离心浓缩的小球藻(HB_4 培养基),把食物浓度调至 $2 \sim 4 \times 10^6 \text{ cells mL}^{-1}$ 。培养温度为 25℃,光照强 4,000lx,光照昼长比(LD)为 16:8,使种群在短时间内迅速增殖。利用微吸管移出一定培养液,使种群相对密度短期内迅速提高数倍,以利轮虫产生休眠卵。把同一天内产生的休眠卵吸出,转移到带盖小瓶中,各瓶分别加入新鲜的轮虫培养液,和克隆培养皿中的液体(原液),然后置入冰箱中(约 5℃)在无光条件下保存,保存时间分别为 10,20,30,60,120,180,240,360,540 天。

1.2 不同食物条件下休眠卵的收集 从克隆中挑出带卵的非混交雌体转移到另二个培养皿中,分别喂以小球藻和杂藻(混有席藻、栅藻),按照 1.1 的操作方法使其形成大量的休眠卵,收集并按 1.1 方法保存。

1.3 休眠卵在不同萌发液中的萌发 取两组带凹槽的有机玻璃平板培养皿(24 孔,每孔容积为 2.0ml),分别注入曝气两天的自来水、轮虫无机培养液和用孔径 35 μm 的筛绢过滤后的湖水,各加入 30 个用原液和轮虫无机培养液保存的休眠卵(已存放 30d),在光照强度 4,000lx,LD = 16:8,在温度 10℃,20℃,25℃,30℃,35℃下进行孵化,每天更换一次孵化液。

1.4 不同食物条件下形成的休眠卵的萌发 另取两组培养皿,分别加入 30 粒投喂小球藻和混合藻时形成的休眠卵,按 1.3 的方法进行萌发。

1.5 不同光照时间的萌发实验 取存放 30 天的休眠卵分别放入培养皿中,温度为 25℃,光照强度 4,000lx,光照时间昼长比(LD)分别为 24:0,18:6,12:12,6:18,0:24 上述培养过程中每 12h 摇动几次以防休眠卵长时间堆积在一起。

1.6 不同保存时间的休眠卵的萌发 把不同保存时间的休眠卵分别加入培养皿中,每个培养皿中加入 30 个卵,在 25℃下进行萌发,光照条件同上。

以上各组萌发试验均为 3 个平行样,时间均延续 240h

1.7 累积萌发率的计算 累积萌发率按下述公式计算见^[9]。

累积萌发率 = Σ 萌发的幼体数/休眠卵总数 $\times 100\%$

2 结果

2.1 不同保存液对休眠卵萌发率的影响

2.1.1 原液保存时不同温度下的累积萌发率 在休眠卵原形成的液体中保存一月后,用曝气自来水孵化时,轮虫休眠卵的萌发率在不同温度下基本接近,一般在 30—53.33%之间,20℃时最高,为 53.33%,30℃时萌发率最低,只有 30%,25℃和 35℃时居中(均为 50%);用无机培养液萌发时 25℃孵化率最高,为 63.33%,35℃时次之,为 43.33%,20℃和 30℃时的孵化率基本接近,分别为 26.67% 和 25.00%,15℃时萌发率为 0;用过滤湖水孵化

时, 30℃ 时最高, 为 65%, 20℃ 次之 (60%), 25℃ 和 35℃ 下的孵化率较接近, 分别为 46.67% 和 43.33%, 15℃ 最低, 仅为 3.33%。

表1 保存在休眠卵形成原液中的休眠卵的累积萌发率 (%)
Tab.1 Accumulative hatching rate of resting eggs stored in medium where they formed

温度 Temperature	曝气自来水 Aerated tap water	无机液 Inorganic media	过滤湖水 Filtered lake water
15℃	40.00±5.77	0	3.33±3.33
20℃	53.33±8.82	26.67±6.67	60.00±11.55
25℃	50.00±10.00	63.33±12.02	46.67±3.33
30℃	30.00±10.00	25.00±5.00	65.00±25.00
35℃	50.00±5.77	43.33±3.33	43.33±12.02

同样是保存在原液中的休眠卵, 用不同的介质孵化的结果差异较大, 在同一温度下的最高萌发率变化很大, 如 15℃ 时曝气自来水的萌发率可达 40%, 利用轮虫无机培养液时一直不能孵化, 过滤湖水仅能萌发出 3.33%, 曝气自来水在低温下的萌发率显著高于其它两种; 在 20℃ 下, 各孵化液中的萌发率以过滤湖水最高 (60%), 自来水次之 (53.33%), 轮虫培养液的萌发率最低 (26.67%); 在 25℃ 条件下各组的萌发率以无机培养液效果最好 (63.33%), 自来水效果次之 (50%), 过滤湖水也有近一半的萌发率 (46.67%)。可见在温度为 20℃—25℃ 时, 不论是采用何种萌发液, 萌发率均较高, 因而是较适合的萌发温度, 30℃ 时用过滤湖水萌发时的萌发率可达 65%, 其它的萌发率低于 30%, 而在 35℃ 时萌发率均在 40—50% 之间。

2.1.2 无机液保存的休眠卵的萌发 从表 2 中数据可以看出, 保存在无机液中的休眠卵, 用曝气自来水萌发时在 35℃ 下萌发率最高, 为 50%, 20℃ 和 25℃ 下的萌发率较接近, 分别为 46.67% 和 43.33%, 30℃ 时为 30%, 15℃ 下萌发率最低, 为 16.67%; 用无机液萌发时, 15℃ 下休眠卵不能萌发, 20℃ 下为 43.33%, 25℃—35℃ 下较接近, 依次为 33.33%, 25% 和 33.33%; 用过滤湖水萌发时, 20℃ 下萌发率最高, 为 46.67%, 25℃ 和 35℃ 均为 43.33%, 30℃ 时却不能萌发, 其原因尚难说明, 有待进一步试验。

表2 保存在无机培养液中的轮虫休眠卵在不同萌发液中, 不同的温度下的累积萌发率
Tab.2 Accumulative hatching rate of resting eggs stored in inorganic media at different temperature.

温度 T	曝气自来水 Aerated tap water	无机液 Inorganic media	过滤湖水 Filtered lake water
15℃	16.67±12.02	0	6.67±6.67
20℃	46.67±6.67	43.33±3.33	46.67±8.82
25℃	43.33±6.67	33.33±8.82	43.33±14.53
30℃	30.00±10.00	25.00±15.00	0
35℃	50.00±5.77	33.33±6.67	43.33±12.02

从不同温度下累积萌发率的相对高低可看出, 对保存在无机培养液中的休眠卵, 用曝气自来水萌发时各温度梯度下最高, 用湖水次之 (30℃ 时除外), 无机液萌发效果较差。但

在温度为 20℃ 和 25℃ 时,用上述三种萌发方法的萌发率基本接近。这种萌发结果在生产上具有一定实际应用价值,因为在生产中自来水经曝气后就能直接用于休眠卵的萌发,无需另行配制专用的萌发剂,是一种简便,经济的萌发手段。

2.2 食物条件对轮虫休眠卵萌发的影响

表 3 为投喂小球藻和混合藻培养萼花臂尾轮虫形成的休眠卵的累积萌发率。在 15℃、20℃、25℃、30℃ 和 35℃ 下,分别用曝气自来水,无培养液和过滤湖水进行萌发,仅前 96h 有休眠卵陆续被萌发出来,在 15℃ 下以小球藻为食物和混合藻形成的休眠卵的累积萌发率较为接近,但用过滤湖水萌发的效果为佳。

表3 投喂小球藻和混合藻时萼花臂尾轮虫的累积萌发率的比较

Tab.3 Comparison of accumulative hatching rate of resting eggs produced by *Brachionus calyciflorus* cultured in medium of *Chlorella* and mixed algae

萌发温度 Hatching temperature	曝气自来水		无机液		过滤湖水	
	Aerated tap water		Inorganic media		Filtered lake water	
	小球藻	混合藻	小球藻	混合藻	小球藻	混合藻
	<i>Chlorella</i>	Mixed algae	<i>Chlorella</i>	Mixed algae	<i>Chlorella</i>	Mixed algae
15℃	6.67	13.33	13.33	10.00	23.67	25.00
20℃	36.67	30.00	66.67	46.67	56.67	36.67
25℃	40.00	30.00	6.67	46.67	56.67	36.67
30℃	60.00	36.67	40.00	40.00	56.67	6.67
35℃	46.67	20.00	40.00	40.00	60.00	10.00

20℃ 时,小球藻组的累积萌发率均高于混合藻组,利用无机液 (66.67%) 和过滤湖水 (56.67%) 萌发最佳。

25℃ 时,除用无机液萌发时小球藻组较低外,也以小球藻组较高,用曝气自来水为 40%,过滤湖水为 56.67%。

在 30℃ 下,除利用无机液萌发者获得相同萌发率 (40%) 外,其它两组亦以投喂小球藻组的萌发率高,利用曝气自来水萌发时,投喂小球藻为 60%,投喂混合藻时的休眠卵仅萌发出 36.67%,用过滤湖水萌发时分别为 56.67% 和 6.67%。

在 35℃ 下进行萌发时,无机液萌发时的孵化率均为 40%,而用曝气自来水萌发时,萌发率分别是 46.67% 和 20%;用过滤湖水萌发时则分别为 60% 和 10%。

从上述结果可看出,在小球藻为食物时,形成的休眠卵的萌发率高于混合藻组,且以过滤湖水为孵化液时效果较佳,可见休眠卵的萌发率明显受母体所处环境中食物条件的影响。

2.3 光照时间对休眠卵萌发的诱导作用

表 4 为在温度 25℃,光照强度 4,000lx,光照昼长比 (LD) 分别为 24:0, 18:6, 12:12, 6:18, 0:24 时,萼花臂尾轮虫休眠卵 240h 的累积萌发结果。

各组间的平均萌发率以 L:D 为 12:12 和 0:24 下稍高于其它各组,分别为 50%, 53.67%, 但统计结果表明,各组间的累积萌发率与光照时间的长短并无直接关系 ($P > 0.05$)。由此可见,光照并非是萼花臂尾轮虫休眠卵萌发的必需条件。

表4 不同光照时间下萼花臂尾轮虫累积萌发率

Tab.4 The hatching rate of resting eggs of <i>Brachionus calyciflorus</i> at different photoperiods					
昼夜比 (L:D)	24:0	18:6	12:12	6:18	0:24
累积萌发率 (%)	48.00	46.33	50.00	46.67	53.67
±S. E	1.15	4.91	5.09	3.33	6.17

2.4 不同保存时间萼花臂尾轮虫的萌发率

从表 5 中可看出,不同温度下的萌发结果均与休眠卵的贮存时间有关,在温度为 15℃ 时,累积萌发率以贮存 30—60d 者较高,达 40%,贮存 90d 以上的萌发率呈下降趋势,贮放 360d 的萌发率为 5%,540d 时仅为 2%。

表5 不同保存时间萼花臂尾轮虫休眠卵累积萌发率 (%)

Tab.5 Hatching rate of resting eggs stored for different periods								
萌发温度	保存时间 (d) Perservation time							
Hatching temperature	10	20	30	60	90	180	360	540
15℃	20	25	40	40	35	21	5	2
25℃	35	53	64	48	31	17	22	11
30℃	69	62	73	71	43	32	25	13
35℃	21	40	40	36	14	8	1	3
平均 (X)	36.25	45.00	54.25	48.75	30.75	19.5	13.25	7.25
±SE	11.44	8.05	8.43	7.82	6.12	4.97	6.00	2.78

在 25℃ 下萌发时,贮存 10—60d 的休眠卵的萌发率均可达 40% 以上,且以贮存 30d 者最高,为 64%,贮存 90d 时仅为 11%,180d 时为 17%,360d 时为 22%,540d 时为 11%。

在 30℃ 下萌发时,贮存 10—60d 的休眠卵的萌发率分别为 69%,62%,73%,71%,贮存 90—540d 时分别为 43%,32%,25% 和 13%。

在 35℃ 温度下萌发时,贮存 20—30d 的休眠卵时萌发率较高,为 40%,贮存 90,180,360,540d 时萌发率急剧下降,保存 180d 时仅为 8%,360d 时仅为 1%,540d 时仅 3%。

从萌发结果看出,轮虫休眠卵在 5℃ 无光、缺氧的条件下保存时间的长短影响其萌发率,在 5℃、贮存 20—60d 时,在不同温度下萌发的平均萌发率在 45.00—54.25% 之间。保存 180d 或者更长时间时,轮虫休眠卵的萌发率急剧降低。

3 讨 论

3.1 影响轮虫休眠卵的萌发主要因子

轮虫休眠卵必须经历一定的滞育期,接受足够的刺激才能萌发。即使在理想条件下,轮虫休眠卵也须经几天或几周时间才能萌发^[1, 16—18, 20]。如:三肢轮虫(*Filinia*)、卜氏晶囊轮虫(*Asplanchna brightwelli*)在室温的水槽中分别可存活三到五年和十几个月,卜氏晶囊轮虫在 4℃ 下放九个月^[12, 13];沉积物中长肢多肢轮虫的休眠卵经历二十二年的休眠期仍可萌发出新个体,存放十五年的泥中仍能萌出前节晶囊轮虫(*A. priodonta*)、梳状疣毛轮虫(*Synchaeta pectinata*)、刺盖异尾轮虫(*Trichocerca capucina*)和螺形龟甲轮虫(*Keratella*。

cochlearis)。梳状疣毛轮虫在 19℃ 下 (LD = 16:8) 的平均滞育 14d, 且低温 (5℃ 下) 不能打破其休眠阶段^[21]。蓼花臂尾轮虫 (25℃) 最短发育时间至少需一天, 龙大椎轮虫 (*Notommata copeus*) 需要的时间更长。

环境条件对轮虫休眠卵萌发的影响因种类而异, 轮虫休眠卵休眠期的长短和萌发能力由于种间的差异和栖息环境不同存在很大差异, 环境因子可通过不同的方式影响不同种轮虫的休眠卵过程和休眠期的长短及萌发率的高低。

单巢目种类中, 蓼花臂尾轮虫的休眠卵至少可存活一年以上, 且随保存时间延长, 其萌发百分率降低。如, 存放在 - 5℃ 时, 1—3d 时萌发率为 15—41%, 4 个月时为 0.1%, 5 月时为 1.4%, 存放 6 月时萌发率为 0%^[11]。

Hyman 等人认为把轮虫休眠卵从陈腐培养液转到新鲜培养液、从低温环境转到高温时均可诱导休眠卵的萌发^[22, 23];

表 6 为两种不同保存方法的休眠卵的累积萌发率的比较。从表中可看出用曝气自来水萌发时, 原液保存的休眠卵在 15—25℃ 下的累积萌发率均高于用无机液保存者, 但 30—35℃ 时, 两种保存方法的累积萌发率均相同; 用无机液萌发时, 原液保存的休眠卵的累积萌发率仅在 25℃ 和 35℃ 下高于用无机液保存者; 用过滤湖水萌发时, 原液保存者在 20℃—30℃ 下的累积萌发率也均高于无机液保存者, 这与 Hyman 观点相符。

表6 保存在不同介质中的休眠卵在不同温度下累积萌发率的比较
Tab.6 Comparison of accumulated hatching rate of resting eggs stored in different media at various temperatures

萌发液		曝气自来水		无 机 液		过滤湖水	
Hatching media		Aerated tap water		Inorganic media		Filtered lake water	
保存液	原 液	无机液	原 液	无机液	原 液	无机液	
Store media	Originall media	Inorganic media	Originall media	Inorganic media	Originall media	Inorganic media	
温度	15℃	40.00±5.77	16.67±12.02	0	0	3.33±3.33	6.67±6.67
	20℃	53.33±8.82	46.67±6.67	26.67±6.67	43.33±3.33	60.00±11.55	46.67±8.82
	25℃	50.00±10.00	43.33±6.67	63.33±12.02	33.33±8.82	46.67±3.33	43.33±14.53
	30℃	30.00±10.00	30.00±10.00	25.00±5.00	25.00±15.00	65.00±25.00	0
	35℃	50.00±5.77	50.00±5.57	43.33±3.33	33.33±3.33	43.33±12.02	43.33±12.02

通过比较作者认为, 利用形成休眠时的培养液来保存休眠卵是较适宜的办法, 一方面其累积萌发率较高; 另一方面, 原液保存可以减少挑选轮虫休眠卵时的繁杂工序, 在轮虫商品化生产中, 可节约相当的劳力和成本投入, 而且用该法保存的休眠卵用过滤湖水就能获得较高的累积萌发率, 具有可行性, 但这种保存方法的可能需占用较大的空间, 是它的局限性。

休眠卵形成时母体的生理状况、环境条件对轮虫休眠卵的萌发力具有较大的影响, 如雌体所摄食的食物类型和质量。由于休眠卵形成时需要大量的营养, 所以母体的营养状况影响休眠卵萌发率的高低^[11]。对在酵母 (*Rhodotonla*) 和裸藻 (*Euglena*) 中培养的蓼花臂尾轮虫形成的休眠卵进行同样处理后, 前者萌发率为 83%, 后者为 96%, 且前者萌发速度低于后者, 这是由于不同培养介质中食物造成轮虫卵黄营养不同所致, 本研究结果也可看出: 母体投喂小球藻时所产休眠卵的萌发率高于投喂混合藻组。因此, 在轮虫休眠卵生产

时,选择合适的饵料藻类是保证休眠卵质量的重要环节之一。

光照时间和光照强度是影响轮虫休眠卵萌发率高低的主要因子。红臂尾轮虫(*Brachionus rubens*)的休眠卵必须在一定的光照条件才能萌发出来;角突臂尾轮虫(*Brachionus angularis*)和浦达臂尾轮虫(*Brachionus budapestinensis*)休眠卵的萌发过程不受光照的影响,而一定的光照条件对萼花臂尾轮虫休眠卵的萌发能力有益但不是必需的^[19,24,25]。从本试验结果也可以看出,不同昼长比下的累积萌发率基本接近,与上述结论相符。

另外,Lubzens 发现:脱水、-10℃下,把休眠卵贮存 12 周时,萌发率不受影响,16 周后损失 40%,预先进行降低能量处理后再贮存 25 周时,萌发率仍为 100%^[26,27]。

本研究结果也出现了难以解释的现象,15℃下,保存在无机培养液和原液中的休眠卵,和 30℃下用过滤湖水萌发时,经历 10d 仍然不能萌发出来。据分析可能是由于休眠卵在发育过程中,出现阻滞现象(Blocking)和萌发时间相对较短所致。Gilbert 认为:大部分轮虫均会产生形态与休眠卵形态相近但不能萌发的滞育卵(Diapause egg),滞育卵的产生主要与母体食物可得性相关^[17,28]。萼花臂尾轮虫休眠卵是否存在该现象还有待研究。

3.2 休眠卵萌发在养殖业上的实际意义

轮虫休眠卵以何种方式贮存最好?贮存多长时间的萌发率最高?何种生态条件下能使轮虫休眠卵在短时间内同步萌发?上述问题决定着轮虫商品化生产是否可行、能否被广泛应用。在生产上,人们非常关心休眠卵的累积萌发率,因为,绝大部分休眠卵在短时间内孵化出来进入孤雌生殖阶段,迅速使轮虫种群密度增加,在鱼苗下塘时保证水体中有足够的轮虫满足其需要。

水生态毒理学研究中,为减少实验误差,提高实验精度,必须使用同批萌发出的幼轮虫,在短时间内获得足够的实验材料。同步萌发型式尤其显得重要。

可见,深入研究环境因子对轮虫休眠卵萌发的影响对轮虫商品化生产是否可行、能否被广泛应用是十分重要的。

参考文献:

- [1] 王家楫. 中国淡水轮虫志 [M]. 北京: 科学出版社, 1961, 228
- [2] Lubzens E. Tandler A & C Minkoff. Rotifers as food in aquaculture [J]. *Hydrobiologia*. 186/187:387—400
- [3] 黄祥飞, 胡春英, 伍焯田. 1985. 武汉东湖的轮虫 [J]. 水生生物学报, 1989, 9(2):129—143
- [4] 李永函. 养鱼池轮虫休眠卵分布和萌发的研究 [J]. 水生生物学报, 1985, 9(1):20—30
- [5] Snell T W, Persoone G. Acute toxicity bioassays using rotifers. A freshwater test with *Brachionus rubens* [J]. *Aquat. Toxicol.* 1989a, 14:81—92
- [6] Snell T W, Moffat B D et al. Acute toxicity test using rotifers. 4. Effects of cyst age, Temperature, and salinity on the sensitivity of *Brachionus calyciflorus*[J]. *Ecotoxicol Envi Safety*, 1991, 21:308—317
- [7] Snell T W, Moffat B D. A two-day life cycle test with *Brachionus calyciflorus*[J]. *Enviro Toxicol Chem*, 1992, 11:1249—1257
- [8] Snell T W, Janssen C R. Rotifers in ecotoxicology: a review[J]. *Hydrobiologia*, 1995, 313/314:231—247
- [9] 金送笛, 李永函. 几种轮虫需精卵休眠时间的初步研究 [J]. 中国水产科学, 1996, 3(4):66—73
- [10] 陈菊芳, 周洁, 黄祥飞. 萼花臂尾轮虫休眠卵萌发研究 [J]. 应用生态学报, 1998
- [11] Bogolvosky A S. Materials to the study of the resting eggs of rotifers[J]. Communication I Byull Mosk

- Obshch Ispyt Prir, 1963, 68:50—67
- [12] Bogolvosky A S. Materials to the study of the resting eggs of rotifers[J]. Communication II Byull Mosk. Obshch Ispyt Prir. 1967, 72:46—67
- [13] Bogolvosky A S. Materials to the study of the resting eggs of rotifers[J]. Communication III Byull Mosk. Obshch Ispyt Prir. 1969, 74:64—79
- [14] Gilbert J J. Mictic female production in the rotifer *Brachinorus calyciflorus*[J]. *J Exp Zool*, 1963, 153:113—124
- [15] Gilbert J J. Dormancy in rotife[J]. *Trans. Ame Micros Soc*, 1974, 93:490—513
- [16] Gilbert J J. Rotifera, In: Reproductive Biology of Invertebrates. (Eds. K G and R G Adiyodi), Vol.6, Part A, Asexual Propagation and Reproductive Strategies[M]. Oxford & IBH Publishing Co. PVT. LTD. New Delhi, 1993, 231—263
- [17] Gilbert J J. Structure, development and induction of a new diapause stage in rotifers[J]. *Freshwater Biology*, 1995a, 34:263—270
- [18] Gilbert J J. Induction of diapausing amictic eggs in *Synchaeta pectinata*[J]. *Hydrobiologia*, 1995b 313/314: 345—350
- [19] Pourriot R Snell. T W. Resting eggs in rotifers[J]. *Hydrobiologia*, 1983, 104:213—224
- [20] Pennak R W. Freshwater invertebrates of the United States (3rd.)[M]. The Ronald Press Company, New York, 1991, 157—207
- [21] Nipkow F. Die Rädertiere im Plankton des Zürichsees und ihrer Entwicklungsphasen[J]. *Schweiz Z Hydrol*, 1961, 23:398—461
- [22] Hyman L H. Rotifera. In: The Invertebrates Vol. III: Acanthocephala, Aschelminthes and Entoprocta[M]. New York: McGraw-Hill book Comp. Inc. 1951, 52—151
- [23] Lite J C. & D D Whitney. The role of aeration in the hatching of fertilized eggs of rotifers[J]. *J Exp Zool*, 1925, 43:1—9
- [24] Pourriot R. Rougier C Benest. D Hatching of *Brachionus rubens* Muller resting ggs (rotifers)[J]. *Hydrobiologia*, 1980, 73:51—55
- [25] Pourriot R Cléme P nt. Action de facteurs externes sur la reproduction et le cycle reproducteur de Rotifers[J]. *Acta Oecol Oecol Gen*, 1981, 2:135—151
- [26] Lubzens E. Rotifer resting eggs and their application to marine aquaculture[J], *Pub eur Maricut Soc*, 1981, 6:163—180
- [27] Lubzens E. Fishler R, Berdugo-White. Induction of sexual reproduction and resting production in *Brachionus plicatilis* reared in seawaters[J]. *Hydrobiologia*, 1981, 73:55—58
- [28] Gilbert J J Schreiber. D K Asexual diapause induced by food limitation in the rotifer *Synchaeta pectinata*[J]. *Ecology*, 1998, 79(79)4:1371—1381

EFFECTS OF ENVIRONMENTAL FACTORS ON THE HATCHING RATE OF RESTING EGGS OF *BRACHIONUS CALYCIFLORUS* (ROTATORIA: MONOGONONTA)

YANG Jia-xin^{1,2} and HUANG Xiang-fei²

(1 *Nanjing Normal University, Nanjing 210097*);

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

Abstract: The accumulative hatching rate of resting eggs (RE) of rotifer *Brachionus calyciflorus* was observed under different environmental conditions. The rates of RE stored in medium where they were formed were higher at temperature varying from 20°C to 30°C and the highest rate was observed when RE hatched in aerated tap water at 30°C. The rate of RE stored in rotifer culturing medium was highest when hatching in aerated tap water. In contrast, the lowest was found in rotifer culturing medium. At 20°C and 25°C, the rates were similar as in tap water, culturing medium and in filtrated lake water. The rate of RE produced by rotifer fed on green algae *chlorella* was higher than that produced by rotifer fed on mixed algae. The accumulative rate was not associated with photoperiod. The rates were in range of 45 to 54.2% when stored in dark for 20 to 60 days at 5°C.

Key words: *Brachionus calyciflorus*; Resting eggs