

维生素 B₁₂对萼花臂尾轮虫种群的影响

杨家新

(南京师范大学生命科学学院, 南京 210097; 中国科学院水生生物研究所 武汉 430072)

摘要: 温度为 15℃ 时, 添加 20, 40, 80 和 100 μg/mL 维生素 B₁₂ 后, 萼花臂尾轮虫 (*Brachionus calyciflorus*) 种群密度随时间增加而增长, 其回归方程依次为: $y = e^{(0.175t + 0.2974x)}$, $y = 4.6765x^{1.2079}$, $y = 7.7798x^{1.0175}$ 和 $y = e^{(0.617t + 0.3469x)}$, 密度显著高于对照组 ($t = 4.56, 8.15, 8.53$ 和 9.86 ; $P < 0.01$)。对照组和添加组最大混交雌体百分率依次为 57.69, 76.09, 73.81, 60.00 和 45.15%, 最大卵雌比依次为 0.53, 0.73, 0.62, 0.50 和 0.70; 25℃ 时, 密度和时间的显著正相关分别为 $y = 8.5477x^{1.4366}$, $y = 7.7461x^{1.6533}$, $y = 6.3611x^{1.7790}$ 和 $y = 9.064x^{1.6872}$, 对照为 $y = 7.5902x^{1.50192}$ 。各添加组的密度均显著高于对照组 (t 值分别为 16.12, 10.17, 5.83 和 5.86; $P < 0.01$)。最大混交比率分别为 11.00%, 5.56%, 12.50% 和 6.03%, 对照组为 13.40%。最大卵雌比分别达到 1.86, 2.00, 0.73 和 1.81, 对照组为 1.31; 30℃ 时, 密度和时间的显著关系分别为 $y = e^{(0.137t + 0.4395x)}$, $y = e^{(0.2032t + 0.4866x)}$, $y = 3.4615x^{1.9322}$ 和 $y = e^{(0.0220t + 0.48074x)}$ 。对照组除了和 20 ng/mL 组间没有统计差异外 ($t = 0.34$, $P > 0.05$), 其他各实验组密度显著高出对照组 (t 值分别为 3.66, 10.23 和 2.13)。最高混交率分别为 18.18%, 7.60%, 18.18% 和 16.67%, 对照为 66.70%。最大卵雌比依次为 0.70, 1.90, 0.91, 1.09, 对照组为 0.95。

关键词: 维生素 B₁₂; 萼花臂尾轮虫; 密度; 混交雌体; 卵雌比

中图分类号: Q178.51

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2005)04-0385-08

维生素在有机体的代谢活动中具有重要作用, 对水生生物的代谢调控亦具有重要意义, 如鱼类缺乏维生素 B₁₂ 时常造成食欲不振、生长缓慢和贫血等症状, 缺少 V_E 时存活率降低、肌肉萎缩。这些维生素鱼类本身不能合成或很少合成, 必须从饲(饵)料中补充, 尤其在鱼类高密度、集约化生产中更为重要^[1-3]。利用酵母、微藻培养轮虫时, 添加适量维生素 B₁₂ 和其他维生素类物质, 已经成为海水育苗生产者的共识^[4]。

维生素对轮虫繁殖生物学的影响研究, 主要集中在 V_E 对晶囊轮虫 (*Asplanchna*) 的形态变化和混交雌体发生率上^[5-10]。维生素 B₁₂ 对海水轮虫种群密度的影响报道极少; 对淡水轮虫种群密度、混交雌体百分率和卵雌比率诸项种群参数的影响则尚未见报道。

1 材料与方法

1.1 试验材料的“克隆”培养 从武汉东湖底泥萌发出的第 1 代非混交雌体轮虫里, 挑选活动正常的母体, 在实验室进行“克隆”培养。轮虫培养液采用修改后的 Gilbeirt 配方^[11]。以蛋白核小球藻 (HB4 培养基) 为食

物, 投喂前用轮虫培养液在 4 000 r/min 下反复离心冲洗几次, 再用轮虫培养液把小球藻浓度调至 1.0—2.0 × 10⁶ cells/mL, 培养条件同杨家新^[12-14]。

1.2 维生素液的配制 把 250 μg 维生素 B₁₂ (分析纯) 用双蒸馏水配成 10 μg/mL, 使用时与轮虫培养液和离心浓缩的小球藻配成不同的浓度梯度。

1.3 轮虫的实验培养 以容量为 30 mL 的玻璃试管为培养管, 设 5 个实验组, 维生素 B₁₂ 浓度梯度为 0 (对照), 20, 40, 80 和 100 μg/mL。各培养管中小球藻浓度均为 2 × 10⁶ cells/mL, 每个培养管中加入两个轮虫, 放入光照培养箱中进行培养, 培养条件同 1.1, 设置 5 个重复。

1.4 轮虫雌体类型和卵的鉴定与计数 间隔 24 h 镜检, 并按混交雌体、非混交雌体、混交卵、非混交卵和雄性个体归类计数, 然后更换培养液和食物继续培养。类别鉴定和混交雌体百分率、卵雌比 (Egg ratio) 的计算方法同 Paloheimo^[15]。

2 结果

2.1 15℃ 时, 添加维生素 B₁₂ 对种群密度、混交百分

率和卵雌比的影响

2.1.1 对轮虫种群密度的影响 表1显示: 15℃时, 各组种群密度均较低, 增长速度缓慢。但添加维生素后, 密度和增长趋势明显优于对照组。如, 添加20μg/mL B₁₂后, 前期基本没有变化, 6d后密度增加明显, 添加的维生素 B₁₂ 浓度继续提高时, 种群密度从第3d开始逐步上升。t 检验也表明: 20μg/mL, 40μg/mL, 48μg/mL 和 100μg/mL 显著高于对照组 (t

= 4.56, 8.15, 8.53 和 9.86; P< 0.01); 其回归方程依次为 $Y = e^{(0.1757 + 0.2974X)}$ (r = 0.85, P< 0.01), $Y = 4.6765X^{1.2079}$ (r = 0.87, P< 0.01), $Y = 7.7798X^{1.0175}$ (r = 0.88, P< 0.01) 和 $Y = e^{(0.611676 + 0.346944X)}$ (r = 0.94, P< 0.01)。

对照组前5d的种群密度一直维持在2—3.40 ind/mL 之间, 最大密度只有11.80 ind/mL, 种群密度与时间之间没有明显相关性。

表1 不同浓度维生素 B₁₂对萼花臂尾轮虫种群密度的影响

Tab. 1 Effect of vitamin B₁₂ on population density (ind/mL) in *B. calyciflorus* at different concentration

培养时间(d) Culture time	密度 Rotifer density (ind./mL)				
	对照 Control	20ng/mL	40ng/mL	80ng/mL	100ng/mL
1	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
2	2.00	1.80	3.80	5.00	3.00
3	2.20	2.40	5.80	6.40	5.40
4	2.80	2.20	9.80	12.60	8.40
5	3.40	4.60	13.00	13.40	10.20
6	10.80	11.00	37.40	31.80	28.40
7	9.60	14.20	52.20	25.60	35.00
8	11.80	37.60	13.20	10.00	17.40
9	9.00	15.60	28.00	23.40	44.44
10	5.20	9.20	16.80	17.00	41.40

各实验组的结果分析显示: 对照组种群增长速度缓慢且种群密度较低; 添加维生素 B₁₂后均可促使种群密度不同程度地提高, 40ng 组效果较佳, 其他各添加组的效果较为接近。同时, 还发现各实验组的加倍增长期出现的时间不尽一致。

2.1.2 对轮虫种群混交百分率的影响 表2显示: 实验进行到4—5d, 种群进入加速增长期并开始出现混交雌体, 且后期混交雌体百分率较高。统计分

析表明: 对照组和80ng 组的混交雌体百分率没有太大差异 (t = 0.65) 却显著高于100ng 组 (t = 9.04), 但又明显低于20ng 和40ng 组 (t = 3.25; 5.64)。

上述实验结果表明, 15℃时, 混交雌体出现较迟, 但在实验的后期, 混交百分率居高不下。添加不同浓度的维生素 B₁₂后, 种群中混交百分率均有不同程度地提高。说明在低温环境下, 即使种群密度不高, 也会诱导混交雌体出现。

表2 不同浓度维生素 B₁₂对萼花臂尾轮虫混交雌体百分率的影响

Tab. 2 Effect of vitamin B₁₂ on percentage of mictic female in *B. calyciflorus* at different concentrations

培养时间(d) Culture time	百分率 Percentage of mictic female				
	对照 Control	20ng/mL	40ng/mL	80ng/mL	100ng/mL
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	10.00	0.00	0.00	0.00	0.00
3	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
4	0.00	0.00	4.08	4.76	7.14
5	5.88	13.04	7.69	2.99	7.84
6	5.56	7.27	10.70	11.95	10.56
7	41.67	30.99	41.76	29.69	21.14
8	40.68	31.38	40.91	60.00	34.48
9	41.89	69.23	71.43	56.41	29.28
10	57.69	76.09	73.81	40.00	45.15

2.1.3 对轮虫卵雌比的影响 20ng 时, 第 4d 最高(0.73), 第 6d 次之, 为 0.67; 40ng 时, 最大值出现在第 3d(0.62), 第 5d、6d 分别为 0.49 和 0.45, 其余各天均低于 0.40; 80ng 组只有在第 3d 达到 0.50; 100ng 组的卵雌比值变化较简单, 前 6d 呈上升状态(第 5d

除外), 第 6d 达到最大(0.70), 随后下降, 第 10d 为 0; 对照组中, 卵雌比最大值出现在第 5d(0.53)。对照组和各实验组整个实验期间的卵雌比没有显著差异($t = 0.37, 0.69, 1.01$ 和 0.53)。

表 3 不同浓度维生素 B₁₂对萼花臂尾轮虫卵雌比的影响
Tab. 3 Effect of vitamin B₁₂ on egg ratio of *B. calyciflorus* at different concentrations

培养时间(d) Culture time	卵雌比(Egg ratio of rotifer)				
	对照 Control	20ng/mL	40ng/mL	80ng/mL	100ng/mL
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.30	0.22	0.16	0.20	0.07
3	0.46	0.08	0.62	0.50	0.30
4	0.14	0.73	0.35	0.22	0.48
5	0.53	0.39	0.49	0.31	0.39
6	0.32	0.67	0.45	0.26	0.70
7	0.50	0.02	0.17	0.38	0.47
8	0.20	0.37	0.17	0.04	0.13
9	0.11	0.17	0.05	0.21	0.06
10	0.50	0.07	0.06	0.31	0.00

2.2 25℃时添加维生素 B₁₂种群密度、混交百分率和卵雌比动态变化

2.2.1 对轮虫种群密度的影响 各组种群在第3d 进入快速增长期, 前8d随着培养时间缓慢而持续上升, 但增加幅度差异较大。种群最大密度和较高密度(如 $d > 50 \text{ ind./mL}$) 延续时间差异也较大, 超过 100 ind./mL 的时间也明显不同, 尤其是添加剂量较多的实验组更加

明显(表4)。各添加组的密度均显著高于对照组(t 值分别为 16.12, 10.17, 5.83 和 5.86; $P < 0.01$), 密度和培养时间呈显著正相关。20ng 到 100ng 组回归方程依次为 $Y = 8.5477X^{1.4866}$ ($r = 0.89, P < 0.01$), $Y = 7.7461X^{1.6533}$ ($r = 0.86, P < 0.01$), $Y = 6.3611X^{1.7790}$ ($r = 0.93, P < 0.01$) 和 $Y = 9.064X^{1.6872}$ ($r = 0.87, P < 0.01$)。对照组为 $Y = 7.5902X^{1.5019}$ ($r = 0.87, P < 0.01$)。

表 4 不同浓度维生素 B₁₂对萼花臂尾轮虫种群密度的影响
Tab. 4 Effect of vitamin B₁₂ on population density in *B. calyciflorus* at different concentration

培养时间(d) Culture time	密度 Rotifer density (ind./mL)				
	对照 Control	20ng/mL	40ng/mL	80ng/mL	100ng/mL
1	2.00	2.00	2.00	2.00	2.00
2	2.60	4.20	3.60	3.20	3.20
3	13.20	18.60	17.20	18.60	19.00
4	31.80	40.80	46.00	55.40	80.00
5	65.20	58.60	64.20	74.80	74.00
6	51.40	14.40	38.20	44.80	63.00
7	82.80	26.20	101.80	119.80	139.00
8	152.40	50.00	236.00	140.00	130.00
9	130.00	116.00	149.40	130.20	123.00
10	15.20	65.60	26.00	74.20	45.60
11	30.00	55.40	54.00	101.00	78.40
12	77.00	71.40	137.00	118.00	119.00

表 5 不同浓度维生素 B₁₂对萼花臂尾轮虫混交雌体百分率的影响
Tab. 5 Effect of vitamin B₁₂ on percentage of mictie female in *B. calyciflorus* at different concentration

培养时间(d) Culture time	百分率(Percentage of mictie female)				
	对照 Control	20ng/mL	40ng/mL	80ng/mL	100ng/mL
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	0.00	0.00	5.56	12.5	0.00
3	7.57	2.15	4.65	1.08	0.00
4	11.30	5.88	4.35	3.97	3.50
5	13.40	11.00	1.25	3.20	1.35
6	10.10	8.06	3.14	0.89	6.03
7	8.70	2.76	3.73	5.18	5.17
8	2.36	2.00	1.70	2.14	0.00
9	2.00	2.24	2.00	1.00	0.00
10	1.80	3.35	4.62	0.27	0.00
11	1.33	0.00	2.59	1.39	3.06
12	11.70	0.28	2.19	0.87	2.52

2.2.2 对轮虫混交雌体比率的影响 接种轮虫后的第2—4d, 各组陆续出现混交雌体。总体呈现两头高、中间低(表 5)。对照组混交峰值为 13.40%。添加维生素 B₁₂后, 百分率显著低于对照组(t 值分别为 7.98, 16.10, 16.88 和 15.05; $P < 0.01$)。

2.2.3 对轮虫卵雌比的影响 20ng 组, 卵雌比在第 2d 最高(1.86), 培养后期一直较低(仅在第 11d 上升

到 0.34); 40ng 组的卵雌比第 2d 最高(2.00) 经历迅速下降后, 7d 和 11d 分别又回升到 0.44 和 0.32; 80ng 组仅在第 3d 达 0.73, 其他阶段均较低; 100ng 组, 第 2d 最高(1.81) 其他时间均较低; 对照组第 2d 达 1.31。结果表明: 除 80ng 组显著低于对照组外 ($t = 2.51, P < 0.05$), 其他各组较为接近 (t 值分别为 0.57, 0.24 和 0.17, $P > 0.05$)。

表 6 25℃时不同浓度维生素 B₁₂对萼花臂尾轮虫卵雌比的影响
Tab. 6 Effect of vitamin B₁₂ on egg ratio at different concentrations in *B. calyciflorus* at 25℃

培养时间(d) Culture time	卵雌比 Egg ratio of rotifer				
	对照 Control	20ng/mL	40ng/mL	80ng/mL	100ng/mL
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
2	1.31	1.86	2.00	0.38	1.81
3	0.64	0.76	0.73	0.73	0.60
4	0.40	0.38	0.31	0.21	0.08
5	0.08	0.01	0.01	0.01	0.01
6	0.11	0.00	0.27	0.30	0.21
7	0.48	0.15	0.44	0.39	0.25
8	0.06	0.17	0.03	0.04	0.03
9	0.00	0.01	0.00	0.02	0.11
10	1.05	0.08	0.31	0.15	0.79
11	0.68	0.34	0.32	0.22	0.52
12	0.29	0.16	0.02	0.11	0.11

2.3 30℃时添加维生素 B₁₂的轮虫种群密度、混交百分率和卵雌比动态变化

2.3.1 对轮虫种群密度的影响(表 7) 添加维生素 B₁₂的各试验组, 第 6d 种群迅速增长, 但对照组的密

度, 除在第 9、10 两天分别达到 43.20 和 67.20, 其他时间一直低于 7.0。对照组与 20ng 组间没有显著差异外 ($t = 0.34, P > 0.05$), 其他各组显著高于对照 (t 值分别为 3.66, 10.23 和 2.13)。

表 7 不同浓度维生素 B₁₂对萼花臂尾轮虫种群密度的影响
Tab. 7 Effect of vitamin B₁₂ on population density at different concentration in *B. calyciflorus* at 30℃

培养时间(d) Culture time	密度 Rotifer density (ind. / mL)				
	对照 Control	20ng/mL	40ng/ mL	80ng/mL	100ng/ mL
1	2. 00	2. 00	2. 00	2. 00	2. 00
2	3. 80	4. 40	2. 00	4. 40	2. 40
3	3. 60	2. 00	2. 60	15. 60	2. 20
4	4. 00	2. 20	8. 80	19. 60	4. 80
5	1. 80	6. 60	15. 80	36. 80	11. 20
6	2. 00	38. 00	58. 80	110. 20	31. 80
7	3. 60	84. 40	101. 20	119. 80	77. 60
8	6. 60	93. 80	89. 60	106. 60	77. 60
9	43. 20	105. 00	122. 80	149. 60	86. 00
10	67. 20	15. 40	32. 00	67. 40	40. 40

实验组的回归方程依次为: $y = e^{(0.1376+0.4395x)}$ ($r = 0.80, P < 0.01$), $y = e^{(0.2032+0.4856x)}$ ($r = 0.88, P < 0.01$), $y = 3.4615x^{1.9522}$ ($r = 0.96, P < 0.01$) 和 $y = e^{(0.0220+0.4807x)}$ ($r = 0.92, P < 0.01$)。

可以看出: 30℃时, 添加维生素 B₁₂, 各试验组的种群密度均高于对照组, 在 20—80ng 范围内, 随着添加浓度增加, 种群密度也增大, 并能持续较长的时间。

2.3.2 对轮虫混交雌体百分率的影响 从表8可看出: 20ng 组混交雌体第 2d 开始出现, 且高达 18.18%, 随后逐渐下降; 40ng 组一直低于 10%; 80ng 组仅在第 2d 混交雌体百分率为 18.18% 外, 后期没有出现混交雌体; 100ng 组第 2—4d 的混交百分率均为 16.67%, 最后 2d 消失; 对照组前 5d 的上升幅度很大, 第 4d、5d 分别达 40.00% 和 66.70%。不难看

出: 30℃时, 添加维生素 B₁₂可使混交百分率显著下降($t = 20.01, 22.94, 21.15$ 和 $18.78, P < 0.05$)。添加 40—80ng 维生素 B₁₂, 不仅能提高轮虫的种群密度, 而且能减少有性生殖的发生。

2.3.3 对轮虫雌体卵雌比率的影响 20ng/ mL 组, 卵雌比一直较低, 但比较稳定, 除第 3d 较高(0.70) 和 9d 较低(0.01) 外, 其他各天均在 0.2—0.5 范围变动; 40ng/ mL 组最高值为(1.90), 其次为 1.23; 80ng/ mL 组也在第 2d 最高(0.91), 随着培养时间延续, 逐渐下降; 100ng/ mL 组除第 2d、5d 分别为 1.09 和 0.45 外, 其他时间均低于 0.22; 对照组的卵雌比第 2d 达到最高(0.95), 渐渐下降后, 第 7d、8d 重新上升到 0.89 和 0.88。各组间没有显著差异($t = 0.92, 0.05, 0.92$ 和 $1.21; P > 0.05$)。

表 8 不同浓度维生素 B₁₂对萼花臂尾轮虫混交雌体百分率的影响
Tab. 8 Effect of vitamin B₁₂ on percentage of mictic female at different concentrations in *B. calyciflorus*

培养时间(d) Culture time	百分率 Percentage of mictic female				
	对照 Control	20ng/mL	40ng/ mL	80ng/mL	100ng/ mL
1	0. 00	0. 00	0. 00	0. 00	0. 00
2	0. 00	18. 18	0. 00	18. 18	16. 67
3	22. 22	10. 00	7. 60	1. 28	16. 67
4	40. 00	9. 09	0. 00	14. 29	16. 67
5	66. 67	9. 09	3. 80	3. 26	5. 36
6	0. 00	6. 32	1. 02	0. 00	0. 63
7	0. 00	6. 64	0. 58	0. 00	6. 19
8	15. 15	3. 84	1. 58	0. 00	2. 58
9	6. 94	0. 91	0. 00	0. 00	0. 00
10	5. 95	0. 00	0. 00	0. 00	0. 00

表 9 不同浓度维生素 B₁₂对萼花臂尾轮虫雌体卵雌比的影响
Tab. 9 Effect of vitamin B₁₂ on egg ratio at different concentrations in *B. calyciflorus* at 30℃

培养时间(d) Culture time	轮虫卵雌比 Egg ratio of rotifer				
	对照 Control	20ng/mL	40ng/mL	80ng/mL	100ng/mL
1	0.00	0.00	0.00	0.00	0.04
2	0.95	0.23	1.90	0.91	1.09
3	0.39	0.70	1.23	0.54	0.08
4	0.05	0.27	0.00	0.37	0.16
5	0.00	0.42	0.08	0.23	0.45
6	0.00	0.35	0.17	0.11	0.13
7	0.89	0.33	0.08	0.08	0.13
8	0.88	0.34	0.16	0.17	0.00
9	0.22	0.01	0.01	0.01	0.01
10	0.08	0.47	0.20	0.14	0.22

3 讨论

在海水微型生物和一些浮游动物的纯培养实验中,添加维生素能起到改善培养基质量和促进种群增长的作用。如在轮虫的大量培养过程中,添加混合维生素(维生素 A、维生素 E、维生素 D 和维生素 B₁₂)和单一维生素均能起到预防种群突然崩溃的作用,并能不同程度地促进微藻种群的增长^[3]。维生素最早应用到轮虫培养主要基于解决水产育苗中的实际问题。最早在用酵母单独培养褶皱臂尾轮虫(*B. plicatilis*)时,轮虫常常缺乏鱼类生长所需的饱和脂肪酸,影响鱼苗的体质状况。人们开始尝试添加维生素来改变这种营养缺乏^[16-19]。许多学者在研究添加维生素对养殖对象的影响的同时也发现了维生素对海水轮虫种群增长的影响,如, Yu 认为培养褶皱臂尾轮虫时添加维生素 B₁₂或在轮虫培养介质中加入能合成维生素 B₁₂的细菌时,轮虫的种群增长率(r)和净增长率(R₀)均得到显著提高。Hirayama 也发现:添加维生素 A、维生素 E、维生素 D 和维生素 B₁₂能使种群密度迅速提高,在进行单个体培养时,添加维生素 B₁₂和不添加时的种群增长率 r/r 为 0.39/0.23,种群净生殖量 R₀/R₀ 为 3.20/1.93,批量培养时接种起始密度为 20.00 ind./mL,3 天后不添加维生素 B₁₂和添加组的种群密度分别为 33.00 ind./mL 和 44.00 ind./mL 第 6d 则分别为 33.00 ind./mL 和 54.50 ind./mL^[19]。目前,在饵料生产(如微藻)中,添加一定量维生素已经得到大家认同。

3.1 B₁₂对萼花臂尾轮虫种群增长和延长种群高峰期的效果

B₁₂族维生素对淡水轮虫的种群增长和生殖过

程同样具有调节作用,如:在萼花臂尾轮虫恒化连续培养时必须要在培养基中添加一定剂量的维生素 B₁₂^[18-19],尽管轮虫的种群增长受培养基的 C 源所限制,但添加维生素 B₁₂常常可提高种群最大密度^[20]。利用 Chet-10 培养液恒化连续培养萼花臂尾轮虫时,若不添加维生素 B₁₂,恒化器中轮虫不能很好繁殖。Θδ ιης Γ 的研究表明:不同剂量的维生素 B₁₂在不同温度条件下对种群的增长具促进作用,并认为在 30℃时加入 50ng/mL 时可使种群密度迅速提高,培养数量在 5d 内可比对照组高 78.7%,且在低食物浓度(5×10⁶ cells/mL)下比高浓度下(5×10⁷ cells/mL)下效果更显著,并提出种群培养初期,30—35℃添加 50—100ng/mL 最宜,并能提高饵料利用率。

现实生产中,轮虫种群密度上升到一定程度时,往往使培养介质中出现一种物质 Dfm,诱导种群密度在短期内(1—2d)骤然降低,甚至崩溃,导致培养失败^[11]。高密度培养和长时间维持其高峰期是目前轮虫生产中一直没有解决的难题。在本实验发现,添加维生素 B₁₂后,不仅可明显提高轮虫种群密度,而且还可以延长高峰持续时间。如,低温添加维生素 B₁₂后,密度比对照组高出 3 倍以上,尤其是当剂量为 40ng/mL 时,最大密度约为对照组的 4.4 倍(52.20/11.80),而对照组最大密度从未达到过 20ind.。我国淡水育苗生产早期一般在 4 月左右,此时的池塘水温大多在 20℃以下,生物饵料培养受到温度的限制,饵料密度很难满足鱼苗需要。若添加一定剂量的维生素 B₁₂培养轮虫,可以不同程度地提高轮虫密度,缓解生产中苗种的开口饵料问题。

温度在 25℃时,添加维生素后,尽管种群密度

变化不甚明显,但是高峰期延续时间却明显延长。对照组和各实验组轮虫密度超过 50ind./mL 的时间接近,但超过 100ind./mL 的时间明显不同,如,对照组只有 2d,而 40ng 组 4d,80ng 组 5d;100ng 组 4d;当温度为 30℃时,添加维生素后种群密度明显高于对照组的同时,高峰期延续时间也随之增加,如对照组只有一天时间高于 50.00ind./mL,而其他组为 3—5d,且 20ng,40ng 和 80ng 组轮虫密度有 1—4d 的时间超过 100ind./mL。不难看出:较高温度下培养轮虫时,添加维生素 B₁₂不失为解决目前生产难题的优选措施。

3.2 对轮虫休眠卵的影响

轮虫休眠卵是轮虫有性生殖的必然产物,观察种群混交雌体比率的重要依据就是计算休眠卵和产雄雌体的数量。目前的相关报道集中在环境因子对休眠卵形成的诱导上,而对于以提高种群密度和维持种群高峰期为目的的培养操作中的休眠卵的变化规律尚未见报道。一般规律是:随着种群密度增加,绝对怀卵量上升的同时,相对产卵量(卵雌比)减低,休眠卵开始形成,然后在一定范围内波动,种群处于相对稳态^[3,7,8,11]。如果这种稳态的持续时间就是种群高峰期的延续时间。在生产中,轮虫培养到一定时间,会出现混交雌体,继而形成休眠卵,种群出现消退迹象。使用维生素 B₁₂是否具有促进种群密度提高和抑制混交雌体的发生的双重效果呢?本研究结果显示:温度 15℃时各组混交雌体变化规律基本接近:出现时间稍迟且前期较低,后期居高不下;但在 25℃呈现出另一种格局:两头高中间低;30℃时的表现为先期较高后期一直较低或者消失。此时,轮虫的种群密度却处于相对高峰期或高峰延续阶段。可以推断:在温度较高季节,使用维生素作为轮虫生产的添加剂既能促进种群密度在短时间内急剧上升,也可以使种群有性生殖的比率维持在较低水平。此时,轮虫处于以单性生殖为主,快速扩充种群,辅助以两性生殖,达到调节种群自身处于相对稳定的状态。然而维生素 B₁₂是一种辅酶,它能参与调节机体的代谢过程,增加酶的活性提高机体新陈代谢效率。但维生素 B₁₂对轮虫种群增长的研究极少,作用机理尚不清楚了,关于这方面的工作尚待进一步深入研究。

参考文献:

[1] Liu J K. Cultivation of the Chinese Freshwater Fishes(Third Edition) [M]. Beijing: Science Press, 1992, 1—745[刘建康. 中国淡水鱼类养殖学. 北京: 科学出版社, 1992, 1—745]

[2] Zhang Z Y, Tan Y J, Ou Y H. Cultivation of the Chinese Pond Fishes [M]. Shanghai Science & Technology Press, 1993, 167—447[张宗

扬, 谭玉均, 欧阳海. 中国池塘鱼类养殖学. 上海: 上海科技出版社, 1993, 167—447]

[3] Fulks W, Main K L Rotifer and microalgae culture systems. Proceedings of a U. S-A Asia workshop [M]. Honolulu. Hawaii, 1991, 1—362

[4] Litton J R Jr, Gilbert J J. Analysis of tocopherol in *Rhodotorula glutinis*, *Agarius conopseus* and *Euglena gracilis* using spectrofluorometry and rotifer bioassay[J]. J. Gen. Appl. Microbiol. 1976, **21**, 345—354

[5] Gilbert J J. Control of sexuality in the rotifer *Asplanchna brightwelli* by Dietary lipid of plant origin[J]. Prol. scio. Nat. Acad. Sci. U. S. A., 1967, **157**: 1218—1225

[6] Gilbert J J. Alpha tocopherol and sexual reproduction in the rotifer morphism in the *Asplanchna* [J]. Science. 1968, **159**: 734—736

[7] Gilbert J J. Dietary control of sexuality in the rotifer *Asplanchna brightwelli* Gosse [J]. Physiol. Zool. 1968, **41**: 14—43

[8] Gilbert J J. Some notes on the control of sexuality in the rotifer *Asplanchna sieboldi* [J]. Limnol. Oceanogr. 1971, **16**: 309—319

[9] Gilbert J J. α -tocopherol in male of the rotifer *Asplanchna sieboldi*: Its metabolism and its distribution in the testis and rudimentary gut [J]. J. Exp. Zool. 1972, **181**: 117—128

[10] Gilbert J J. Dietary tocopherol and sexual reproduction in the rotifers *Brachionus calyciflorus* and *Asplanchna sieboldi* [J]. J. Exp. Zool. 1975, **194**: 485—494.

[11] Gilbert J J. Mictic female production in the rotifer *Brachionus calyciflorus* [J]. J. Exp. Zool. 1963, **153**: 113—124

[12] Yang J X, Huang X F. The effects of density and temperature on the egg and mictic female produced by *Brachionus calyciflorus* (Rotatoria: Monogononta) [J]. Journal of Lake Sciences, 1996, **8**(4): 367—372

[13] Yang J X. The effect of rare earth element on *Brachionus calyciflorus* (rotatoria: monogononta) at different temperatures[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1999, **23**(1): 34—40[杨家新. 不同温度下稀土元素对萼花臂尾轮虫的影响. 水生生物学报, 1999, **23**(1): 34—40]

[14] Yang J X, Huang X F. Effects of environmental factors on the hatching rate of resting eggs of *Brachionus calyciflorus* (rotatoria: monogononta) [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2000, **24**(4): 331—339[杨家新, 黄祥飞. 环境因子对萼花臂尾轮虫休眠卵萌发率的影响. 水生生物学报, 2002, **24**(4): 331—339]

[15] Paloheimo J E. Calculation on instantaneous birth rates [J]. Limnol. Oceanogr. 1974, **19**: 692—694

[16] Yu J P, Hino A, Hirano R and Hirayama K. Vitamin B₁₂ producing bacteria as a nutritive complement for a culture of a rotifer *Brachionus plicatilis* [J]. Nippon Suisan Gakkaishi. 1988, **54**: 1875—1880

[17] Yu J P, Hino A, Ushiro M and Maeda M. Function of bacteria as vitamin B₁₂ producers during mass culture of the rotifer *Brachionus plicatilis* [J]. Nippon Suisan Gakkaishi. 1989, **55**(10): 1799—1806

[18] Fyhn H J. First feeding of marine fish larvae: are free amino acids the source of energy? [J]. Aquaculture, 1989, **80**: 111—120

[19] Hirayama K, Satuito C G. The nutritional improvement of baker's yeast for the growth of the rotifer *Brachionus plicatilis*. In: Rotifer and microalgae culture systems[R] Honolulu. Hawaii, 1991, 153—162

EFFECT OF VITAMIN B₁₂ ON POPULATION OF ROTIFER *BRACHIONUS CALYCIFLORUS*

YANG Jia-Xin

(School of Life Sciences, Nanjing Normal University, Nanjing 210097; Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

Abstract: The population density of rotifer *Brachionus calyciflorus* increased with the culture time increased when 20, 40, 80 and 100ng ml⁻¹ of vitamin B₁₂ were added into medium at 15 °C, and the regress equation was $y = e^{(0.1757 + 0.2974x)}$, $y = 4.6765x^{1.2079}$, $y = 7.7798x^{1.0175}$ and $y = e^{(0.6117 + 0.3469x)}$, respectively. The density of rotifer in experimental groups were significantly higher than that in the control ($t = 4.56, 8.15, 8.53$ and 9.86 respectively: $P < 0.01$). The maximum percentage of mictic female were 57.69%, 76.09%, 73.81%, 60.00% and 45.15%, respectively in the control and in treatment group. The mean eggs were 0.53, 0.73, 0.62, 0.50 and 0.70 at 15 °C respectively. At 25 °C, The positive correlation ($y = 8.5477x^{1.4366}$, $y = 7.7461x^{1.6533}$, $y = 6.3611x^{1.7790}$ and $y = 9.064x^{1.6872}$) was found in treatment groups and $y = 7.5902x^{1.50192}$ in the control. The density in treatment groups were higher than that in the control (t value was 16.12, 10.17, 5.83 and 5.86: $P < 0.01$). The highest percentage of mictic female were 11.00, 5.56, 12.50 and 6.03%, respectively, in treatment groups of 20ng ml⁻¹, 40ng ml⁻¹, 80ng ml⁻¹ and 100ng ml⁻¹, and was 13.40% in the control. The egg ratios were 1.86, 2.00, 0.73 and 1.81 under this temperature. At 30 °C, the positive correlation ($y = e^{(0.1376 + 0.4395x)}$, $y = e^{(0.2032 + 0.4856x)}$, $y = 3.4615x^{1.9522}$ and $y = e^{(0.0220 + 0.48074x)}$) exist in treatment groups of 20, 40 and 100ng ml⁻¹, and the density were higher in treatment groups ($t = 3.36, 10.23$ and 2.13) than that in the control but for the group of 20ng ml⁻¹ ($t = 0.34$). The highest mictic percentages were 18.18, 7.60, 18.18 and 16.67%, respectively in treatment groups, and in the control was 66.70%, the maximum egg ratios was 0.70, 1.90, 0.91, 1.09 in treatment group and was 0.95 in the control.

Key words: Vitamin B₁₂; *Brachionus calyciflorus*; Density; Mictic female; Egg ratio