

## 不同品系萼花臂尾轮虫休眠卵的形态特征\*

刘桂云 席贻龙<sup>\*\*</sup>

(安徽师范大学生命科学学院重要生物资源保护和利用研究安徽省重点实验室,安徽省高校生物环境和生态安全省级重点实验室,芜湖 241000)

**【摘要】** 对采自青岛和芜湖两地的萼花臂尾轮虫在3种温度(20℃、25℃和30℃)和2种藻类食物浓度( $1.0 \times 10^6$  和  $5.0 \times 10^6$  cells · ml<sup>-1</sup>)下所产休眠卵的长径、短径和体积等形态特征进行了显微测量、计算和分析。结果表明,2种食物浓度下,培养温度以及培养温度和品系间的交互作用均对轮虫休眠卵的长径、短径和体积具有显著影响。当食物浓度分别为  $1.0 \times 10^6$  和  $5.0 \times 10^6$  cells · ml<sup>-1</sup>时,轮虫在20℃下所产休眠卵的长径、短径和体积均最大;在25℃和30℃下所产休眠卵的短径和体积均最小。品系对轮虫休眠卵长径、短径和体积的影响也取决于食物浓度。当食物浓度为  $1.0 \times 10^6$  cells · ml<sup>-1</sup>时,芜湖品系轮虫的休眠卵长径、短径和体积(156.00 μm, 99.95 μm 和 12 269.11 μm<sup>3</sup>)均显著大于青岛品系轮虫的休眠卵(145.13 μm, 91.97 μm 和 10 498.19 μm<sup>3</sup>);而当食物浓度为  $5.0 \times 10^6$  cells · ml<sup>-1</sup>时,芜湖品系轮虫的休眠卵长径、短径和体积(155.68 μm, 100.85 μm 和 12 348.59 μm<sup>3</sup>)均与青岛品系轮虫的休眠卵(156.63 μm, 98.04 μm 和 12 054.20 μm<sup>3</sup>)之间无显著差异。两品系中,仅芜湖品系轮虫休眠卵的长径、短径和体积分别与温度呈曲线相关。同一温度下,两品系轮虫的休眠卵体积均随着食物浓度升高而增大;但30℃下芜湖品系轮虫所产休眠卵体积却随着食物浓度的升高而减小。

**关键词** 萼花臂尾轮虫 品系 休眠卵 形态特征 温度 食物浓度

**文章编号** 1001-9332(2006)07-1344-04 中图分类号 Q959.181 文献标识码 A

**Morphological characteristics of resting eggs produced by different *Brachionus calyciflorus* strains.** LIU Guiyun, XI Yilong (*Provincial Key Laboratories of Conservation and Utilization for Important Biological Resource and Biotic Environment and Ecological Safety in Anhui, College of Life Science, Anhui Normal University, Wuhu 241000, China*). -*Chin. J. Appl. Ecol.*, 2006, 17(7): 1344~1347.

In this paper, the Qingdao and Wuhu strains of *Brachionus calyciflorus* were cultured at 20℃, 25℃ and 30℃, and fed with  $1.0 \times 10^6$  and  $5.0 \times 10^6$  cells · ml<sup>-1</sup> of *Scenedesmus obliquus*. The morphological study of their produced resting eggs showed that at the two food concentrations, the resting eggs produced at 20℃ were the largest in length, width and volume, while those produced at 25℃ and 30℃ were the smallest. The effects of strain on the morphological characteristics of resting eggs also depended on food concentration. When the food concentration was  $1.0 \times 10^6$  cells · ml<sup>-1</sup>, the length, width and volume of the resting eggs produced by Wuhu strain and Qingdao strain were 156.00 μm, 99.95 μm and 12 269.11 μm<sup>3</sup>, and 145.13 μm, 91.97 μm and 10 498.19 μm<sup>3</sup>, respectively, while when the food concentration was  $5.0 \times 10^6$  cells · ml<sup>-1</sup>, the corresponding values were 155.68 μm, 100.85 μm and 12 348.59 μm<sup>3</sup>, and 156.63 μm, 98.04 μm and 12 054.20 μm<sup>3</sup>, respectively. For test strains, only Wuhu strain showed a marked curvilinear correlation in the length, width and volume of its resting eggs with temperature. At the same temperature, the volumes of the resting eggs produced by both Qingdao and Wuhu strains were increased with increasing food concentration, with the exception that the resting eggs produced by Wuhu strain at 30℃ decreased with increasing food concentration.

**Key words** *Brachionus calyciflorus*, Strain, Resting egg, Morphological characteristics, Temperature, Food concentration.

### 1 引言

轮虫的形态和生态特征受一系列外源性因素(如温度、食物的种类和密度等)和内源性因素(如品系等)的影响。有关轮虫品系间形态和生态特征的差异研究已有一些报道<sup>[1~5,8~13,15,16]</sup>。其中,对轮虫品系间的形态差异的研究主要集中在褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*)、角突臂尾轮虫(*B. angularis*)和萼花臂尾轮虫(*B. calyciflorus*)等种类,内容涉及轮虫的个体大小和非混交卵体积等方面<sup>[8~3,15,16]</sup>,而对轮虫休眠卵形态等的差异研究却极少<sup>[14]</sup>。休眠卵是轮虫

有性生殖的产物,具有抵抗不良环境条件的能力。本文以不同品系的萼花臂尾轮虫为对象,研究其在不同食物浓度和温度下所产的休眠卵的形态差异,为轮虫休眠卵的规模化生产提供理论指导。

\* 国家自然科学基金项目(39870158, 30270221)、安徽省优秀青年基金项目(04043050)、安徽省自然科学基金项目(00042416)、安徽省高等学校省级重点实验室重点科研基金项目(2004sys003)和重要生物资源保护和利用安徽省重点实验室基金资助项目。

\*\* 通讯联系人。E-mail: ylx1965@yahoo.com.cn  
2005-06-01 收稿, 2006-04-21 接受。

## 2 材料与方法

### 2.1 供试材料

试验用芜湖(WH)和青岛品系(QD)萼花臂尾轮虫分别由芜湖市镜湖和青岛市中山公园池塘内水体沉积物中的休眠卵孵化而得,实验室通过培养建立种群。所用的轮虫培养液采用 Gilbert<sup>[6]</sup>的配方,所用的饵料系由 HB-4 培养基<sup>[18]</sup>培养的、处于种群指数增长期的斜生栅藻(*Scenedesmus obliquus*);斜生栅藻经离心浓缩后用轮虫培养液配制成所需浓度后使用。

### 2.2 研究方法

**2.2.1 轮虫休眠卵的获得** 实验分别在温度为 20 ℃、25 ℃ 和 30 ℃ 的 3 个恒温水浴内进行,以直径为 3 cm、长径为 10 cm 的玻璃刻度试管为培养器皿,以密度分别为  $1.0 \times 10^6$  和  $5.0 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \mu\text{ml}^{-1}$  的斜生栅藻为轮虫的食物。实验前,分别在上述条件下对两品系轮虫进行为期 1 周的预培养。预培养过程中,每 12 h 用玻璃微吸管悬浮沉积于试管底部的藻类食物,每 24 h 更换轮虫培养液并投喂饵料 1 次,同时通过去除一部分个体,使轮虫种群始终处于指数增长期。预培养结束时,分别从预培养的试管中吸取带卵的非混交雌体置于 10 ml 玻璃刻度试管中进行培养,轮虫的接种密度为  $2 \text{ ind} \cdot \text{ml}^{-1}$ 。培养条件与预培养相同,培养过程中原则上不更换培养液。培养 4 d 后,于轮虫种群处于指数增长阶段,每天收集沉积于试管底部的轮虫休眠卵,以轮虫培养液作为保存液,将休眠卵置 5 ℃ 冰箱内保存,待测其形态特征。

**2.2.2 轮虫休眠卵形态特征测量和体积计算** 将不同条件下两品系轮虫所产的休眠卵置于显微镜下,在 10 × 物镜下对休眠卵的长径和短径分别进行显微测量;并参照 Serrano 等<sup>[14]</sup>的方法,应用公式  $V = (\pi/12)(3WL - W)$  计算轮虫休眠卵的体积。式中,V 为休眠卵的体积,W 为休眠卵的短径,L 为休眠卵的长径。

## 3 结果与分析

### 3.1 不同食物浓度下两品系轮虫休眠卵的形态差异

**3.1.1  $1.0 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$  浓度时两品系轮虫休眠卵形态** 由表 1 可见,培养温度和品系以及两者间的交互作用均对轮虫休眠卵的长径、短径和体积具有显著影响( $P < 0.05$ )。20 ℃ 下形成的休眠卵的长径显著大于 25 ℃ 和 30 ℃,而后 2 个温度下形成的休眠卵的长径间无显著的差异;20 ℃ 下形成的休眠卵的短径和体积均最大,25 ℃ 下最小;两品系间,芜湖品系轮虫的休眠卵长径、短径和体积均显著大于青岛品系轮虫的休眠卵。

芜湖品系轮虫休眠卵的长径、短径和体积均分别与温度呈显著的曲线相关(表 2),而青岛品系轮虫休眠卵的长径、短径和体积与温度的相关性均较低(相关系数分别为 0.2298、0.3548 和 0.3417)。

**3.1.2  $5.0 \times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$  浓度时两品系轮虫休眠卵形态** 培养温度以及温度和品系间的交互作用均对轮虫休眠卵的

长径、短径和体积具有显著影响(双因素方差分析, $P < 0.05$ ),而品系对轮虫休眠卵的长径、短径和休眠卵体积无显著影响( $P > 0.05$ )(表 1)。20 ℃ 下形成的休眠卵的长径、短径和体积均最大,30 ℃ 下形成的休眠卵的长径、短径和体积均最小。

芜湖品系轮虫休眠卵的长径、短径和体积均分别与温度呈显著的曲线相关(表 2),而青岛品系轮虫休眠卵的长径、短径和体积与温度的相关性均较低(相关系数分别为 0.1194、0.0600 和 0.1141)。

### 3.2 同一温度下食物浓度对轮虫休眠卵形态的影响

分别对同一温度下两品系轮虫在 2 种食物浓度时产生的休眠卵的长径、短径和体积进行了 t-检验。结果发现,仅在 20 ℃ 下芜湖品系轮虫休眠卵的长径以及青岛品系轮虫休眠卵的短径受食物浓度的影响不明显。青岛品系轮虫在各温度下所产的休眠卵体积都随着食物浓度的升高而明显增大。这除了在 20 ℃ 下归因于卵的长径增大外,其他温度下均是卵的长径和短径共同增大的结果。芜湖品系轮虫在 20 ℃ 下所产的休眠卵体积也随着食物浓度的升高而明显增大,可能是卵的短径增大的结果;25 ℃ 下所产的休眠卵体积也随着食物浓度的升高而明显增大,却是卵的长径和短径共同增大。

表 1 不同温度和食物浓度下两品系萼花臂尾轮虫休眠卵的形态特征

Table 1 Morphological characteristics of resting eggs produced by two *B. calyciflorus* strains cultured at different temperatures and food concentrations ( $\pm \text{SE}$ )

温度 Temperature (℃)	食物浓度 Food concentration ( $\times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ )	品系 Strain	休眠卵形态参数 Morphological parameter of resting eggs		
			长径 Length (μm)	短径 Width (μm)	体积 Volume ( $\mu\text{m}^3$ )
20	1.0	A	151.80 ± 16.99	97.70 ± 6.18	11651.28 ± 1573.50
		B	163.15 ± 12.07	104.56 ± 4.35	13350.37 ± 966.61
	5.0	A	161.27 ± 5.13	100.03 ± 4.15	12645.03 ± 794.47
		B	165.70 ± 7.37	109.73 ± 7.71	14266.63 ± 1438.72
25	1.0	A	146.57 ± 15.43	92.53 ± 9.41	10701.11 ± 2019.47
		B	143.48 ± 8.74	91.18 ± 6.78	10272.86 ± 1255.34
	5.0	A	156.23 ± 12.38	97.20 ± 6.64	11921.51 ± 1501.86
		B	154.13 ± 7.79	99.80 ± 6.29	12057.81 ± 1068.58
30	1.0	A	137.03 ± 9.93	84.90 ± 7.12	9142.19 ± 1269.02
		B	161.37 ± 7.36	104.10 ± 7.17	13184.10 ± 1383.99
	5.0	A	152.40 ± 11.06	96.90 ± 5.87	11596.05 ± 1320.47
		B	147.20 ± 11.75	93.03 ± 6.54	10721.33 ± 1104.90

A: 青岛 Qingdao; B: 芜湖 Wuhu, 下同 The same below.

表 2 芜湖品系轮虫休眠卵的长径(L)、短径(W)和体积(V)与温度(T)之间的关系

Table 2 Relationship between length (L), width (W) as well as volume (V) of resting eggs produced by Wuhu strain of *B. calyciflorus* and temperature (T)

食物浓度 Food concentration ( $\times 10^6 \text{ cells} \cdot \text{ml}^{-1}$ )	回归方程 Regression equation	显著性检验 Significant test
1.0	$L = 617.55 - 37.75T + 0.75T^2$	$R^2 = 0.4699, P < 0.05$
	$W = 421.07 - 26.35T + 0.53T^2$	$R^2 = 0.5064, P < 0.05$
	$V = 85548.00 - 6005.40T + 119.78T^2$	$R^2 = 0.5834, P < 0.05$
	$L = 258.34 - 6.49T + 0.09T^2$	$R^2 = 0.4165, P < 0.05$
5.0	$W = 181.09 - 4.83T + 0.06T^2$	$R^2 = 0.5072, P < 0.05$
	$V = 31825.40 - 1226.90T + 17.45T^2$	$R^2 = 0.5834, P < 0.05$

表3 食物浓度升高引起的休眠卵增幅

Table 3 Extent of increment of resting eggs caused by rise of food concentration (%)

温度 (℃)	品系 Strain	休眠卵形态参数		
		体积 Volume (μm³)	长径 Length (μm)	短径 Width (μm)
20	A	8.53	6.24	2.38
	B	6.86	1.56	4.94
25	A	11.40	6.59	5.05
	B	17.38	7.42	9.45
30	A	26.84	11.22	14.13
	B	-18.68	-8.78	-10.63

的结果;但在30℃下,该品系轮虫的休眠卵体积却随着食物浓度的升高而减小,其原因在于卵的长径和短径同时减小(表1).统计分析结果表明,在20℃下由食物浓度升高而导致的青岛和芜湖品系轮虫休眠卵体积发生变化的主要原因是卵长径和短径的变化,而25℃和30℃下两品系轮虫休眠卵的长径和短径的变化幅度相近(表3).

#### 4 讨 论

研究表明,温度是影响轮虫休眠卵大小的主要环境因素之一<sup>[14]</sup>.本研究结果再次证实了这一结论.温度对轮虫休眠卵大小等形态特征的影响还常与其他外源性因素及轮虫的品系有关.当培养液的盐度为24‰和9‰时,CU品系的褶皱臂尾轮虫在20℃下所产的休眠卵最大,25℃和30℃下较小,且两者间无显著差异;而SPO品系的褶皱臂尾轮虫在20℃下所产的休眠卵最大,30℃下最小.当培养液的盐度为12‰时,CU品系的褶皱臂尾轮虫在20℃下所产的休眠卵最大,25℃下最小;而SPO品系的褶皱臂尾轮虫在20℃和30℃下所产的休眠卵较大,25℃下最小<sup>[14]</sup>.本研究发现,温度对萼花臂尾轮虫休眠卵大小的影响还因食物浓度的不同而异.当斜生栅藻的浓度为 $1.0 \times 10^6$  cells·ml<sup>-1</sup>时,青岛品系的萼花臂尾轮虫在3种温度下所产的休眠卵体积无显著差异,而芜湖品系的萼花臂尾轮虫在20℃和30℃下所产的休眠卵较大,25℃下较小.但当食物浓度为 $5.0 \times 10^6$  cells·ml<sup>-1</sup>时,青岛品系的萼花臂尾轮虫在3种温度下所产的休眠卵体积仍无显著差异,而芜湖品系的萼花臂尾轮虫所产休眠卵体积则随温度的升高而减小.

食物浓度和培养液盐度也是导致轮虫休眠卵大小等形态变化的主要因素.本研究发现,随着食物浓度的升高,芜湖和青岛品系的萼花臂尾轮虫所产的休眠卵体积均发生显著变化,但变化的幅度却随着温度和轮虫品系的不同而异.在20℃和30℃下,青岛品系轮虫休眠卵变化幅度大于芜湖品系,25℃下则相反.Serrano等<sup>[14]</sup>认为,培养液盐度的变化导致褶皱臂尾轮虫休眠卵体积发生变化,主要是由于休眠卵长径的变化.本研究结果发现,导致萼花臂尾轮虫休眠卵大小变化的直接原因在于休眠卵长径或短径的变化,而间接原因在于培养温度和轮虫品系.20℃下,导致青岛和芜湖品系轮虫休眠卵体积发生变化的主要原因是卵长径和短径的变化,而25℃和30℃下卵的长径和短径的变化幅度相近.

与其他动物一样,轮虫将由食物中获得的能量主要用于存活和生殖两方面.通常情况下,轮虫非混交雌体可以根据环境中现存的食物状况,通过产出体积较大而数量较少,或体积较小而数量较多的非混交卵,以最大限度地提高其种群增长率<sup>[3,7,9,10,13]</sup>.与非混交雌体不同,受精的混交雌体主要通过产出休眠卵以维持不利环境条件下轮虫种的生存<sup>[17]</sup>.因此,休眠卵大小等形态特征不仅涉及到受精的混交雌体在不同环境状况下的生殖对策,还可能与休眠卵的萌发率有关.在对不同品系轮虫不同环境状况下所产的休眠卵形态特征进行研究的基础上,进一步研究其生殖对策和休眠卵的萌发率,将是轮虫生活史对策研究的重要内容.

#### 参考文献

- Chen F, Xi YL, Ge YL, et al. 2005. Life history traits of mictic females in two strains of *Brachionus calyciflorus* (Rotifera). *J Freshw Ecol*, 20: 321~326
- Dong L-L (董丽丽), Xi Y-L (席贻龙), Liu G-Y (刘桂云), et al. 2004. Effect of temperature and food concentration on the population dynamics of three *Brachionus calyciflorus* strains. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), 15(11): 2165~2169 (in Chinese)
- Ge Y-L (葛雅丽), Xi Y-L (席贻龙), Chen F (陈芳). 2005. A comparative study on feeding intensity of two rotifer *Brachionus calyciflorus* strains. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), 16(10): 1956~1961 (in Chinese)
- Ge Y-L (葛雅丽), Xi Y-L (席贻龙), Chen F (陈芳), et al. 2005. Effects of food concentration on the duration of reproductive period and the formation of mictic female in different strains of freshwater rotifer *Brachionus calyciflorus*. *Acta Ecol Sin* (生态学报), 25(8): 1831~1837 (in Chinese)
- Geng H (耿红), Xi Y-L (席贻龙), Hu H-Y (胡好远). 2003. Effect of food component and concentration on population growth, body size, and egg size of freshwater rotifer *Brachionus rubens*. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), 14(5): 753~756 (in Chinese)
- Gilbert JJ. 1963. Mictic female production in rotifer *Brachionus calyciflorus*. *J Exp Zool*, 153: 113~124
- Guisande C, Mazuelos N. 1991. Reproductive pattern of *Brachionus calyciflorus* Pallas at different food concentrations. *J Plankton Res*, 13: 279~286
- Hagiwara A, Kotani T, Snell TW, et al. 1995. Morphology, reproduction, genetics, and mating behavior of small, tropical marine *Brachionus plicatilis* strains (Rotifera). *J Exp Mar Biol Ecol*, 194: 25~37
- Hu H-Y (胡好远), Xi Y-L (席贻龙), Geng H (耿红). 2002. Effect of food concentration on population growth, body size, and egg size of different strains of *Brachionus angularis*. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), 13(7): 875~878 (in Chinese)
- Hu H-Y (胡好远), Xi Y-L (席贻龙), Geng H (耿红). 2002. Effects of food concentration on population growth, body size and egg volume in three strains of *Brachionus angularis*. *Zool Res* (动物学研究), 23(5): 384~388 (in Chinese)
- Hu H-Y (胡好远), Xi Y-L (席贻龙), Geng H (耿红). 2003. Comparative studies on individual growth and development of three *Brachionus angularis* strains. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), 14(4): 565~568 (in Chinese)
- Hu H-Y (胡好远), Xi Y-L (席贻龙), Geng H (耿红). 2004. Effect of temperature on population growth, body size, and egg size of different strains of *Brachionus angularis*. *Acta Hydrobiol Sin* (水生生物学报), 28(3): 284~288 (in Chinese)
- Liu GY, Xi YL. 2003. Effect of food level on population growth, body size, and egg size of two different strains of *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifera). *J Freshw Ecol*, 18: 175~177
- Serrano L, Serra M, Miracle MR. 1989. Size variation in *Brachionus*

- us plicatilis* resting eggs. *Hydrobiologia*, **186/187**: 381 ~ 386
- 15 Snell TW, Carrillo K. 1984. Body size variation among strains of the rotifers *Brachionus plicatilis*. *Aquaculture*, **73**: 359 ~ 367
- 16 Xi YL, Liu GY, Jin HJ. 2002. Population growth, body size, and egg size of two different strains of *Brachionus calyciflorus* Pallas (Rotifera) fed different algae. *J Freshw Ecol*, **17**: 185 ~ 190
- 17 Xi Y-L (席贻龙), Chao M (曹明), Huang X-F (黄祥飞). 2002. Relationship between sexual reproduction, population growth and resting egg production of freshwater *Brachionus calyciflorus*. *Chin J Appl Ecol* (应用生态学报), **13**(12): 1649 ~ 1654 (in Chinese)
- 18 Zhang Z-S (章宗涉), Huang X-F (黄祥飞). 1991. Method for Study on Freshwater Plankton. Beijing: Science Press. 410 ~ 411 (in Chinese)

**作者简介** 刘桂云,女,1965年出生,硕士,副研究员。主要从事淡水无脊椎动物学研究,发表论文10余篇。E-mail: xuekejsh@mail.ahnu.edu.cn

**责任编辑** 李凤琴

## 欢迎订阅 2007《南京林业大学学报(自然科学版)》 CN32-1161/S 国内外公开发行 ISSN1000-2006

《南京林业大学学报(自然科学版)》由南京林业大学主办,创刊于1958年,是以林业为主的综合类学术期刊。本刊主要报道森林资源与环境、水土保持与荒漠化、木材工业与技术科学、林业机械与电子工程、林产化学与工业、园林植物与风景园林、林业经济与管理、土木工程等以及有关边缘学科的研究成果;另设置专栏,集中报道重点项目、基金项目及重大课题的研究成果。

本刊为国家科学技术部中国科技论文统计源期刊;中国科学引文数据库来源期刊;中国学术期刊综合评价数据库来源期刊;中国自然科学核心期刊;《中国学术期刊(光盘版)》首批入编期刊、万方数据(China info)系统入编期刊。本刊被国际国内著名检索刊物如《CA》、《FA》、《FPA》、《国际农业与生物科学研究中心(网络版)》、《剑桥文摘》等数据库收录。1992年以来,本刊先后获得全国优秀科技期刊三等奖、全国高校优秀学术期刊一等奖、江苏省优秀自然科学发展奖一等奖等多项荣誉。

本刊为双月刊,单月末出版,大16开本,每期定价10元,全年60元,在全国各地邮政局(所)均可订阅。邮发代号:28-16;国外发行:中国国际图书贸易总公司(北京399信箱);发行代号:Q552。读者也可通过全国非邮发中心联合征订服务部办理订阅手续:天津市大寺泉集北里别墅17号,邮编:300385。

如有需要近年过刊的读者,请直接与本刊编辑部联系:210037 南京市龙蟠路南京林业大学学报编辑部。

电话(传真):025-85428247;E-mail: xuebao@njfu.edu.cn,xuebao@njfu.com.cn