

5种淡水浮游藻对萼花臂尾轮虫饵料效果的比较研究

——藻的最适投喂密度及轮虫相应的种群增长*

王金秋 李德尚 曹吉祥

(青岛海洋大学水产学院 青岛 266003)

提要 于1993年9月在山东省胶南市鱼苗繁殖地池塘采得萼花臂尾轮虫,采用种群累积培养法,对其摄食5种淡水浮游藻的最适密度及其相应的种群增长进行研究。结果表明,该轮虫摄食这5种藻的最适密度($\times 10^6$ cell/ml)分别是:蛋白核小球藻,45;斜生栅藻,25;小球衣藻,5;卵形隐藻,0.2;中型裸藻,0.1。导出了藻的细胞大小(x)和最适投喂密度(y)之间的回归方程为: $y = -15.5 + 216/x$ ($r = 0.9826$, $P < 0.01$)。在5种藻的最适密度下比较了投喂轮虫的饵料效果,结果是,5种藻中以蛋白核小球藻和斜生栅藻为最优,其它依次为卵形隐藻、小球衣藻和中型裸藻。据此,认为蛋白核小球藻和斜生栅藻是该轮虫批量培养乃至工厂化培养的首选饵料。

关键词 萼花臂尾轮虫 饵料藻类 最适密度 饵料效果

学科分类号 S963.21

饵料在萼花臂尾轮虫培养中起重要作用。以往关于藻类作为轮虫饵料方面的研究主要包括藻的细胞大小、种类及其对轮虫生长、产量的影响等,但藻密度对轮虫影响方面的研究结果分歧较大(Bogden *et al*, 1982; Эрман, 1962; Halbach *et al*, 1974; Овиникова и др, 1972¹⁾; Borrás, 1983; Starkweather, 1980; Duncan *et al*, 1983²⁾)。以往的工作仅限于轮虫对各种藻的摄食及单一藻饵料效果的研究,缺乏在同一条件下对多种藻饵料效果的比较研究。在本研究中,选择了几种典型的淡水浮游藻作饵料,采用群体累积培养法,研究萼花臂尾轮虫摄食不同藻的适宜密度及各种藻在最适密度下的饵料效果,为进行该轮虫工厂化培养筛选饵料奠定基础。

1 材料和方法

1.1 材料

*山东省科委基金资助项目,941406号。王金秋,出生于1962年1月,博士,现在复旦大学环境和资源生物学系,上海200433, Fax: 0086-021-62576217

1) Овиникова В В, Глазачева Н В, 1972. Индустриальные Методы Рыбоводства, 1: 171—180

2) Duncan A, Gulati R D, 1983. Limnology of Parakrama Samudra-Sri Lanka: a case study of an ancient man-made lake in the tropics. In: Scimer F ed. 117—123

收稿日期: 1995-01-01, 收修改稿日期: 1997-04-30

蓴花臂尾轮虫(*Brachionus calyciflorus*) (以下简称轮虫)于1993年9月采自山东省胶南市鱼苗繁殖场池塘,其保存方法见王金秋(1995)。采用5种常见的淡水浮游藻作饵料。藻种购于中国科学院水生生物研究所。实验室条件下培养,各种藻名、细胞大小、形状和所用培养液见表1。培养采用24h光照,光照度为2000—3000 lx,培养温度为25—30℃。各种藻均培养至指数增长期,经LXJ-II型离心机浓缩后置冰箱中冷藏(4℃,不超过48h),实验时配成所需密度的藻液。

1.2 5种藻的最适密度实验

将轮虫分别在5种藻液中预培养48h,取培养物作为实验接种材料,预培养和实验时轮虫的接种密度为1 ind/ml,培养体积为30ml,饵料藻的密度见表1。每天调整2次饵料密度,以保持相对恒定。每个处理重复3次。培养用过滤自来水,室内自然曝气;以WMZK-01型温度指示控制仪控温32℃;100W白炽灯照明,配合室内光照,水面光照度为1000—1200 lx,光照周期L:D=12:12。实验时间48h。

1.3 5种藻对轮虫种群增长影响的实验

为消除预培养时饵料种类对本实验结果的影响,每批实验中以实验藻以外的同一种饵料为预培养饵料,以1.2中得出的5种藻的最适密度作为此实验藻的密度;实验时间为72h。其它均同上述实验。

表1 实验用5种藻的细胞大小(ESD)、形状、培养液及其投喂密度

Tab.1 Cell sizes (ESD), shapes, culture media and feeding rotifer (*B. calyciflorus*) densities of five algae

藻 类	ESD ¹⁾ (μm)	形状 培养液	投喂密度(×10 ⁶ cell/ml)	
			预培养	实 验
绿藻 蛋白核小球藻(<i>Chlorella pyrenoidosa</i>)	3.78	球形 HB4 ²⁾	5—10	5,25,45和65
斜生栅藻(<i>Soenedesmus obliquus</i>)	4.91	纺锤形 HB4	5—10	0.5, 5.0, 25.0和45.0
鞭毛藻 小球衣藻(<i>Chlamydomonas microspheara</i>)	8.91	球形 HB4	0.1—1.0	0.5, 1.0, 5.0和10.0
卵形隐藻(<i>Cryptomonas ovata</i>)	13.88	椭圆形 WC ³⁾	0.01—0.1	0.01, 0.05, 0.10, 0.20和0.50
藻 中型裸藻(<i>Euglena intermedia</i>)	17.91	圆柱形 E ⁴⁾	0.01—0.1	0.05, 0.10, 0.20, 0.40和0.80

1)相当于球体的直径。2)黎尚豪等,1959。3)Guillard等,1972。4)E配方(g/L): NH₄NO₃, 0.5; KH₂PO₄, 0.5; Mg-SO₄, 0.025; NaCl, 0.1; FeSO₄, 0.004; 尿素, 0.2

2 结果

2.1 5种藻的最适密度

以不同密度的5种藻投喂轮虫,其种群的瞬时增长率见图1。可见,投喂5种藻在较低密度下,轮虫种群的瞬时增长率均随藻密度的增加而增加,在藻密度达一定时得到峰值,之后下降。该轮虫种群瞬时增长率达峰值时5种藻的密度(×10⁶ cells/ml)分别是:蛋白核小球藻,45;斜生栅藻,25;小球衣藻,5;卵形隐藻,0.2和中型裸藻,0.1。可以认为,上述密度是轮虫摄食这5种藻的最适密度;适宜密度范围分别为:25—65, 25—45, 0.5—5.0, 0.05—0.20, 0.05—0.20(图1)。

差异显著性检验结果表明,除小球衣藻外,其余4种藻的F值均呈显著或极显著差异(见表2),说明轮虫摄食5种藻时,藻的密度对其种群的增长确有影响,结果可信。至于小球衣藻的不显著可能因实验精度所限之故。对5种藻的细胞大小(x)与最适密度(y)进行

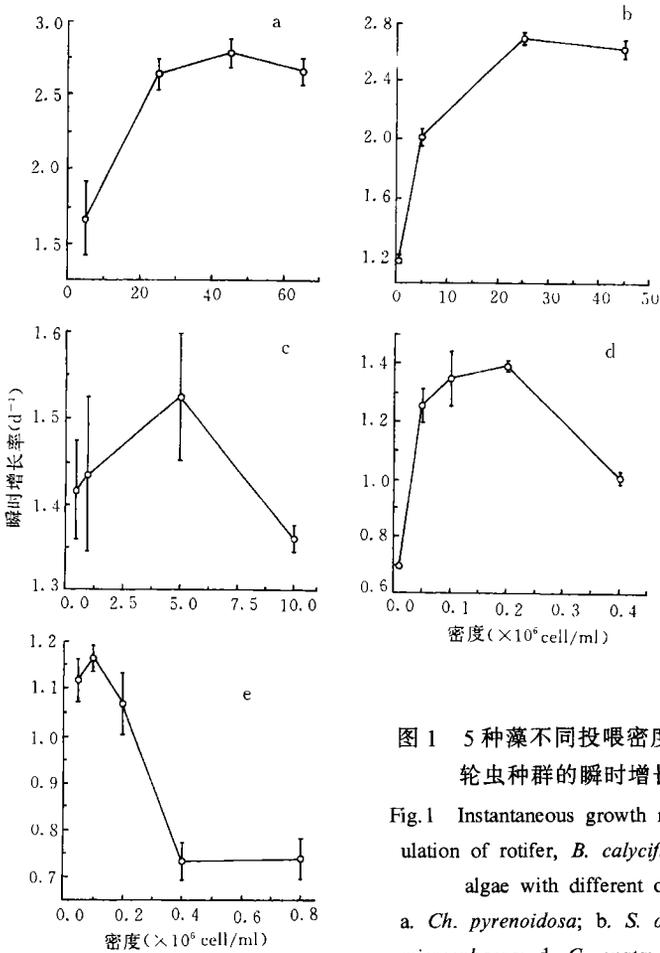


图1 5种藻不同投喂密度时萼花臂尾轮虫种群的瞬时增长率(r)

Fig.1 Instantaneous growth rate (r) of population of rotifer, *B. calyciflorus*, fed five algae with different densities

a. *Ch. pyrenoidosa*; b. *S. obliquus*; c. *C. microspheara*; d. *C. ovata*; e. *E. intermedia*

回归分析,得到拟合曲线(见图2)的回归方程为: $y = -15.5 + 216 / x$ ($r = 0.9826$, $P < 0.01$)。可见,藻的细胞大小与最适密度之间呈双曲线关系,且两者相关极显著。

2.2 5种藻对轮虫种群增长的影响结果

以蛋白核小球藻为标准,统计了该轮虫摄食这5种藻时种群的相对密度及相对瞬时

表2 萼花臂尾轮虫摄食不同密度的5种藻时其种群瞬时增长率的方差分析结果
和相对密度、相对瞬时增长率

Tab.2 Results of varince analysis for instantaneous growth rate, and relative densities and relative instantaneous growth rates of population of *B. calyciflorus* ingesting five algae with different densities

藻名	F	F _{0.005}	显著性	相对密度(%)	相对瞬时增长率(%)
蛋白核小球藻	10.05	F _{0.005} =06.59	显著	100	100
斜生栅藻	669.47	F _{0.001} =16.17	极显著	91.7±15.02	98.7±2.41
小球衣藻	0.44	F _{0.005} =06.59	不显著	34.7±16.84	80.3±5.92
卵形隐藻	6.59	F _{0.005} =05.19	显著	37.4±0.26	81.3±0.48
中型裸藻	30.82	F _{0.001} =11.40	极显著	19.6±3.82	71.4±2.29

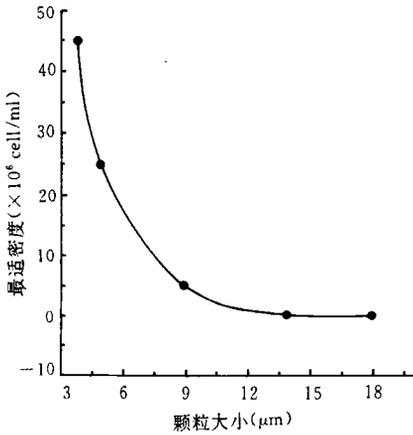


图2 5种藻的细胞大小与最适密度之间的回归曲线

Fig.2 The regression of five algae size with its optimum densities

时,均采用等生物量或等密度的饵料相比较的方法,与之比较本研究有独到之处。王金秋(1995)在研究中发现,同一种饵料的不同密度对萼花臂尾轮虫的种群增长有极显著的影响。本研究结果也显示了不同种的饵料各有不同的最适密度。本文所运用的轮虫是靠纤毛的摆动来滤取食物的,细胞大小和密度直接影响其滤食机制(Rothhaupt, 1990b),为此,如不考虑这两者之间的关系,在等生物量或等密度下进行饵料效果的比较,便不可能真实地反应出不同饵料效果的差异。

3.2 关于轮虫摄食藻的最适密度

本实验的结果表明,萼花臂尾轮虫对高饵料密度有较强的耐受性,如蛋白核小球藻的密度为 $(45-65) \times 10^6$ cell / ml时对其种群的增长有促进作用, 45×10^6 cell / ml则是最适饵料密度。斜生栅藻也同样表现出高饵料密度的优势。以往在这方面的研究结果分歧较大。Эрман(1962)和Halbach等(1974)认为,萼花臂尾轮虫摄食蛋白核小球藻时,繁殖速度在密度为 1×10^6 cell / ml时最快,超过这一密度时,则随着饵料密度的增加而下降。Овиникова等(1972)¹⁾则认为,该轮虫摄食小球藻(*Ch. vulgaris*)和尖细栅藻(*S. acuminatus*)的密度分别为 9×10^6 和 6×10^6 cell / ml时,产量最大。Boraas(1983)的结论是,该轮虫摄食蛋白核小球藻的小型个体($14\mu\text{m}^3$, ESD = $3.0\mu\text{m}$)和大型个体($55-70\mu\text{m}^3$, ESD = $4.72-5.16\mu\text{m}$)的密度分别是 $(10.6-28.5) \times 10^6$ 和 $(5.7-7.9) \times 10^6$ cell / ml时生长速度最快。作者认为,这些分歧可能主要是实验方法、所控制的实验条件、饵料藻的状态和实验持续时间所致。在本实验中发现,采用群体累积培养法,实验前期高饵料密度优势不大,只是在培养后期,逐渐显示出优势。其原因在于,种群的密度制约因素,即饵料的保障程度在起作用(Гапковская и др, 1988)。所以在大批量培养时,应采用较高饵料密度,以获高效培养。

增长率(见表2)。结果显示,这5种藻的两项指标从大到小的顺序分别为蛋白核小球藻、斜生栅藻、卵形隐藻、小球衣藻和中型裸藻。

2.3 5种藻在最适投喂密度下的生物量

计算5种藻在对萼花臂尾轮虫最适投喂密度下的生物量(g/L)得到:蛋白核小球藻, 1.26;斜生栅藻, 1.55;小球衣藻, 1.85;卵形隐藻, 0.28;中型裸藻, 0.30。前3种藻最适密度下的生物量相差不大,但与后2种之间的差别较大。

3 讨论与结论

3.1 关于比较饵料效果的实验方法

本研究先测定了5种藻的各自的最适密度,而后在此最适密度下比较了萼花臂尾轮虫种群的增长参数。以往的作者在进行同类研究

1) 见15页脚注1)。

3.3 5种藻细胞大小和营养组分对轮虫种群增长的影响

在本实验中,小规格的蛋白核小球藻、斜生栅藻的饵料效果呈绝对优势,而小球藻则效果极差;另一方面非鞭毛藻优于鞭毛藻,鞭毛藻中以卵形隐藻最佳。原因在于,藻的细胞大小、可得性和营养价值均影响其饵料效果。Rothhaupt(1990a)认为,萼花臂尾轮虫相对其它臂尾轮虫喜食较大颗粒的饵料。在藻的细胞大小为 $12\mu\text{m}$ 时,萼花臂尾轮虫的滤水率最大;其摄食藻的最适细胞大小为 $10\mu\text{m}$ 左右。小球藻的细胞大小也在 $10\mu\text{m}$ 范围内,但它与蛋白核小球藻、斜生栅藻相比活动能力较强,可得性较差,以至于轮虫摄食时消耗相对多的能量,种群密度仅为摄食蛋白核小球藻的 $1/3$,瞬时增长率低 $1/5$ 。卵形隐藻和中型裸藻两种鞭毛藻,除活动能力强外,其个体大于 $10\mu\text{m}$,增加了轮虫摄食的难度,饵料效果较差。

比较3种鞭毛藻的蛋白质和氨基酸含量¹⁾发现,卵形隐藻和中型裸藻粗蛋白的含量相差不大(分别占藻干重的64.54%和62.75%),小球藻较低(占藻干重的52.13%);3种鞭毛藻的总氨基酸含量(占藻干重的百分比)则相差不大(卵形隐藻,37.5;中型裸藻,38.8;小球藻,37.3)。比较之,卵形隐藻、中型裸藻虽营养价值较好,但因个体大,可得性差,饵料效果最差;小球藻虽颗粒大小适宜,但营养价值较低,所以饵料效果也差。由此可见,评价某种藻对轮虫的饵料效果时,应从多项指标综合考虑。除上述提到的几项指标外,可能还有其它因素的作用,如,非蛋白氮、脂肪酸等的影响。

3.4 5种藻细胞大小和最适密度的关系

本研究结果表明,轮虫摄食几种藻的细胞大小和最适密度之间存在着明显的双曲线关系。在轮虫培养实践中,此模型可作为推断不同藻最适密度的依据,可省去寻找各种藻最适密度时的大量工作。Duncan等(1983)²⁾也曾提出饵料的临界密度与细胞大小之间呈一定的关系。本研究结果与其结论相一致。

3.5 5种藻的最适密度与生物量之间的关系

本研究所用的5种藻中,蛋白核小球藻、斜生栅藻和小球藻的细胞大小均在萼花臂尾轮虫摄食的适宜范围内,而卵形隐藻和中型裸藻则超出这一范围。分析最适密度下的生物量数据发现,前3种藻最适密度下的生物量相差不大,而后两种与前3种则相差极大。这意味着,在藻适宜细胞大小范围内,轮虫可正常摄食,因而对藻最适密度的要求实质上是对适宜生物量的要求,而在藻适宜细胞大小范围以外,似乎不存在这一联系。这方面的问题还需进一步探讨。

参 考 文 献

王金秋,1995.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.海洋与湖沼通报,4:21—27

黎尚豪 朱惠 夏宜琤等,1959.单细胞藻类的大量培养试验.水生生物学集刊,4:462—472

Bogden K G, Gilbert J J, 1982. Seasonal patterns of feeding by natural populations of *Keratella*, *Polyarthra* and *Bosmina*: clearance rates, selectivities, and contributions to community grazing. *Limnol Oceanogr*, 27(5): 918—934

1) 所引用的数据系本实验直接测得,详细结果在后文发表; 2) 见15页脚注2)

- Boraas M E, 1983. Population dynamics of food-limited rotifers in two-stage chemostat culture. *Limnol Oceanogr*, 28(3): 546—563
- Guillard R R L, Lorenzen C J, 1972. Yellow green algae with chlorophyllide C. *J Phycol*, 8: 10—14
- Halbach U, Halbach-keup G, 1974. Quantitative beziehungen zwischen Phytoplankton und der populations Dynamik des Rotifers *Brachionus calyciflorus* Pallas. Befunde aus Laboratoriums-experimenten und Freilanduntersuchungen. *Arch Hydrobiol*, 73(3): 273—309
- Rothhaupt K O, 1990a. Differences particles size dependent feeding efficiencies of closely related rotifer species. *Limnol Oceanogr*, 35(1): 16—23
- Rothhaupt K O, 1990b. Changes of the functional responses of the rotifers *Brachionus rubens* and *Brachionus calyciflorus* with particle sizes. *Limnol Oceanogr*, 35(1): 24—32
- Starkweather P L, Gilbert J J, 1980. Feeding in the rotifer *Brachionus calyciflorus* II. Effect of food density on feeding rates using *Euglena gracilis* and *Rhodotorula glutinis*. *Oecologia*, 28(2): 133—139
- Галковская Г А, Митянина И Ф, Галовчид В А, 1988. Эколого-биологические основы массового культивирования коловраток. Минск: Наука и Техника. стр. 90—95
- Эрман Л А, 1962. Околический стороне питания и пищевой избирательности планктонной коловратки *Brachionus calyciflorus* Pall. *Зоол Журн*, 41(1): 34—47

COMPARATIVE STUDIES ON FEED EFFICIENCY OF FIVE FRESHWATER PLANKTONIC ALGAE FOR THE ROTIFER *BRACHIONUS CALYCIFLORUS*

—OPTIMAL ALGAL DENSITIES AND CORRESPONDING POPULATION INCREASES OF THE ROTIFER

WANG Jin-qi, LI De-shang, CAO Ji-xiang

(Fishery College, Ocean University of Qingdao, Qingdao, 266003)

Abstract Studies on optimum densities of five freshwater planktonic algae for the ingesting and growth of the rotifer, *Brachionus calyciflorus*, collected from the Jiaonan Fry Productive Farm (Shandong Province) in September, 1993 were conducted using population accumulative culture method, under the conditions of temperature 32°C, duration of culture 48 and 72 hour, intensity of illumination 1 000—1 200 lx illumination period L:D = 12:12 and regulating food densities twice a day. The seeds of five algae i. e. *Chlorella pyrenoidosa*, *Scenedesmus obliquus*, *Chlamydomonas microsphaera*, *Cryptomonas ovata* and *Euglena intermedia*, were purchased from the Institute of Hydrobiology, the Chinese Academy of Sciences, and cultured in lab under the conditions of that temperature 25—30°C, intensity of illumination 2 000—3 000 lx and illumination period 24h. The algae in the exponential phase of growth were concentrated and refrigerated in refrigerator (4°C, within 48h). Cell size (ESD), shapes, culture media and feeding densities for rotifer of five algae used in the experiment are shown in Tab.1. A comparative test of food efficiency of five algae for rotifer were undertaken on the basis of its experiment of optimal densities. The results show that

optimum densities ($\times 10^6$ cell / ml) of the algae were 45 for *Ch. pyrenoidosa*, 25 for *S. obliquus*, 5 for *C. microsphaera*, 0.2 for *C. ovata* and 0.1 for *E. intermedia* (Fig.1). A relationship between the algal cell sizes (x) and the optimum densities (y) was found to be: $y = -15.5 + 216 / x$ ($r = 0.9826$, $P < 0.01$) (Fig.2). In culture of the rotifer, the model may provide a scientific basis for reducing optimum algae density. In the comparative test of food efficiency of the five species of the algae for *B. calyciflorus*, the optimal densities of each alga for the rotifer were used; this was more accurate and reliable than that using the equal biomass or equal density. The sequence of food efficiency, shown by the greatest density (%) and instantaneous growth rate (%) of population of the rotifer fed with them, were *Ch. pyrenoidosa* (100 and 100), *S. obliquus* (91.7 and 98.7), *C. ovata* (37.4 and 81.3), *C. microsphaera* (34.7 and 80.3), and *E. intermedia* (19.6 and 71.4) (Tab.2). Thus, *Ch. pyrenoidosa* and *S. obliquus* are the best food for culture of the rotifer. In addition, because the rotifer is tolerable to a high food density, it can be cultured under high density conditions.

Key words *Brachionus calyciflorus* Feed freshwater algae Optimum density Feed efficiency

Subject classification number S963.21