

pH 值对萼花臂尾轮虫种群增长及繁殖的影响*

王金秋** 李德尚 罗一兵 王 芳 (青岛海洋大学水产学院, 青岛 266003)

【摘要】 采用种群积累培养法, 实验观察了 pH 在 3.5~11.5 之间(间隔 1)萼花臂尾轮虫(*Brachionus calyciflorus*)种群的增长及繁殖. 结果表明, 该轮虫种群在 pH 6.5~8.5 之间增长较快, 8.5 时增长最快, 即瞬时增长率 r 和种群密度较大和最大; pH 在 3.5~4.5 和 9.5~10.5 之间, 种群为负增长, 即 r 为负值; pH 在 5.5~9.5 之间种群为正增长, 即 r 为正值. 该轮虫存活的 pH 上限为 11.5, 下限为 3.5. 在种群增长最适 pH(8.5)条件下, 该轮虫的繁殖最快, 即绝对带卵量最高(132 个 $\cdot\text{ml}^{-1}$); pH 在 9.5 时, 其相对带卵量最高, 为其它 pH 值条件下的 2~4 倍. 本研究结果可为淡水轮虫的大批量培养提供可靠的 pH 值技术指标.

关键词 萼花臂尾轮虫 种群增长 瞬时增长率 繁殖 带卵量

Influence of medium pH on population growth and reproduction of *Brachionus calyciflorus*. Wang Jinqiu, Li Deshang, Luo Yibing and Wang Fang (Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003). -Chin. J. Appl. Ecol., 1997, 8(4): 435~438.

With the method of population accumulation culture, the population growth and reproduction of rotifer (*Brachionus calyciflorus*) were observed in pH 3.5~11.5 media with an increment of 1 pH unit. The results show that rotifer population grows faster at pH 6.5~8.5 and fastest at pH 8.5, indicating that in this pH range, the instantaneous rate(r) is fast and the density is the maximum. At pH 5.5~9.5, the r value is positive, but at pH 3.5~4.5 and 9.5~10.5, it is negative, i.e., the population shows a negative growth. Rotifer can survive at pH 3.5~11.5, but the optimum pH for population growth is 8.5, where the rotifer shows a maximum reproductive speed, and the absolute egg density is the highest (132 cells $\cdot\text{ml}^{-1}$). The relative egg density is the highest at pH 9.5, 2~4 times larger than that at other pH values.

Key words *Brachionus calyciflorus*, Population growth, Instantaneous growth rate, Reproduction, Egg density.

1 引言

萼花臂尾轮虫(*Brachionus calyciflorus*)是生活在富营养水体中且能耐受较高 pH 的生物, 其致死 pH 上限接近 11.0^[4]; 其种群增长率高峰时 pH 在 8.5~9.5 之间^[5]. 但上述研究未能得出 pH 影响的下限. Mitchell^[6]在较宽的 pH 范围(2.5~11.5)内进行了这方面的研究, 但就 pH 对轮虫种群的影响, 未能得出可重复的、规律性的结果. 本研究用种群累积培养法, 研

究了 pH 3.5~11.5 之间(间隔 1)对轮虫种群增长的影响, 目的是找出 pH 影响得出上限、下限和最适值, 为其大批量培养提供可靠的技术指标.

2 材料与方法

2.1 轮虫

萼花臂尾轮虫(以下简称轮虫)见文献[1].

* 山东省自然科学基金资助项目(941406).

** 现在华东师范大学生物系工作, 上海 200062.
1996 年 7 月 12 日收稿, 1997 年 2 月 18 日接受.

实验种群个体大小为:长 $230.0 \pm 44.38 \mu\text{m}$, 宽 $156.8 \pm 10.18 \mu\text{m}$.

2.2 轮虫的饵料

选用蛋白核小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*) ($ESD^1 = 3.78 \mu\text{m}$) 和啤酒酵母(*Saccharomyces carlsbergensis*) ($ESD = 6.31 \mu\text{m}$) 混合物作为饵料. 藻种购于中国科学院水生生物研究所, 实验室条件下培养至指数增长期, 经离心浓缩后冰箱中保存(4°C , 不超过 48 h) 待用. 采用 HB 4 培养液^[2] 培养; 24 h 光照, 强度为 2000~3000 Lx; 培养温度 $25\sim 30^\circ\text{C}$. 啤酒酵母为青岛啤酒厂出产的鲜品, 实验前先配成母液, 与蛋白核小球藻同样条件保存待用. 投喂时 2 种饵料的密度分别是 5×10^6 个 $\cdot\text{ml}^{-1}$ (两者混合物的总密度为 10×10^6 个 $\cdot\text{ml}^{-1}$).

2.3 轮虫的培养

2.3.1 预培养 50 ml 的烧杯为培养容器, 培养液体积 30 ml. 蛋白核小球藻为饵料, 饵料密度为 $1 \sim 5 \times 10^6$ 个 $\cdot\text{ml}^{-1}$; 轮虫的接种密度为 1 个 $\cdot\text{ml}^{-1}$, 光照强度 1000~1200 Lx; 控温 32°C , 培养 48 h 左右.

2.3.2 累积培养 实验选择 pH 3.5~11.5 之间, 每间隔 1.0 设一个梯度(共设 9 个梯度), 每个梯度 3 个重复. 实验用过滤自来水, pH 为 8 左右; 用 60 ml 的磨口瓶作为培养容器, 培养液体积为 40 ml; 用雷磁 PHS-2c 型酸度计(精度为 ± 0.02) 测定 pH; 实验温度及光照条件同预培养. 用稀酸(HCl)和稀碱(NaOH)将实验瓶中的培养液调至所设计的 pH 梯度后, 接种轮虫, 其接种密度为 1 个 $\cdot\text{ml}^{-1}$. 每间隔 2 h 测定一次 pH 并调至实验初始值. pH 测定与调节时均借助于磁力搅拌器使培养物迅速混合均匀, 防止酸或碱局部长时间滞留对轮虫产生影响, 同时保证 pH 测定的准确性. 每隔 12 h 测定一次饵料密度, 并将其调至实验的初始水平, 同时观察各 pH 梯度下轮虫的存活情况. 持续培养 72 h. 实验终止时计数轮虫的密度及雌体的带卵数.

3 结 果

3.1 pH 值对轮虫个体存活的影响

表 1 可见, 实验 12 h 时, pH 为 3.5 和

11.5 两个梯度的轮虫已死亡(检查 5 ml 培养物, 只见死亡轮虫, 未见存活个体, 以下均同), 说明该 pH 梯度是轮虫急性致死浓度. pH 为 4.5 和 10.5 梯度下的轮虫 70~80% 在 12~24 h 时死亡, 其它梯度下的轮虫未见死亡. 实验 24~60 h 时, pH 为 4.5 和 10.5 梯度下的培养物中一直可检出活体轮虫, 但在 72 h 时已不见有轮虫存活. 其它 pH 梯度下的培养物中轮虫种群增长良好. 结果表明, 轮虫存活的 pH 上限为 11.5, 下限为 3.5; 不适上限为 10.5, 下限为 4.5.

表 1 pH 对萼花臂尾轮虫个体存活及种群增长的影响
Table 1 Effect of the medium pH on individual survivorship and population growth of *Brachionus calyciflorus*

pH	实 验 时 间 Time(h)					
	12	24	36	48	60	72
3.5	-	-	。	。	。	。
4.5	+、-	+	↓	↓	↓	。
5.5	+	+	↑	↑	↑	↑
6.5	+	+	↑	↑	↑	↑
7.5	+	+	↑	↑	↑	↑
8.5	+	+	↑	↑	↑	↑
9.5	+	+	↑	↑	↑	↑
10.5	+、-	+	↓	↓	↓	。
11.5	-	-	。	。	。	。

注: “+”示检出的轮虫全部为活体; “-”示检出的轮虫全部为死体; “+、-”示同时检出轮虫的活体和死体; “↑”示轮虫的种群已增长, 即检查时的种群密度高于接种密度; “↓”示轮虫的种群已下降, 即检查时的种群密度低于接种密度; “。”示检查时已无轮虫.

3.2 pH 值对轮虫种群密度的影响

pH 4.5 和 10.5 梯度下的轮虫在培养 72 h 时已全部死亡, 在实验结束时, 其种群密度计为 0. pH 5.5~9.5 时, 轮虫种群密度明显增大(图 1). 由图 1 可见, pH 8.5 时, 轮虫的种群密度最大, 其次依次为 $7.5 > 6.5 > 5.5 > 9.5$. 方差分析结果表明, 各 pH 值条件下轮虫种群密度之间的差异显著($F > F_{0.05}$, $P < 0.05$), 说明在轮虫培养时 pH 值的高低对其种群密度有显著的影响. 多重比较(q 检验法)结果是: pH 6.5、7.5 和 8.5 时轮虫种群密度极显著地高于

1) 即相当于球体的直径.

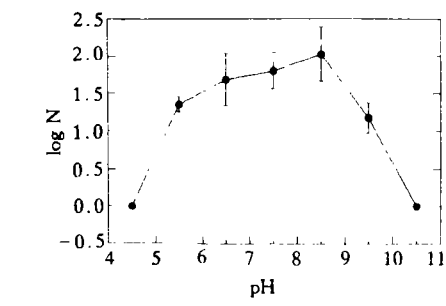


图1 蓼花臂尾轮虫种群密度与 pH 值的关系
Fig.1 Relationship between population density of the rotifer *Brachionus calyciflorus* and pH.

pH 5.5 和 9.5 时(各 pH 值下的差数大于最小显著极差 $LSR_{0.01}$), pH 8.5 时又显著高于 pH 6.5 和 7.5 时(各 pH 值下的差数大于最小显著极差 $LSR_{0.05}$). 可以认为, pH 6.5~8.5 是适宜范围, 且 pH 8.5 是最适范围; 而 pH 5.5 与 9.5 之间, 轮虫的种群密度差异不显著($F < F_{0.05}$, $P > 0.05$).

3.3 pH 值对轮虫种群瞬时增长率的影响

从表 1 可以看出, pH 10.5 和 4.5 时轮虫种群为负增长, 即种群瞬时增长率 r 为负值, 说明轮虫种群增长的 pH 值上限为 10.5, 下限为 4.5. pH 在 5.5、6.5、7.5、8.5 和 9.5 时为正增长, 其种群瞬时增长率 r 与 pH 的关系曲线见图 2. 由图 2 可见, 随 pH 升高, r 值增大, pH 8.5 时 r 达高峰, pH 再升高, r 则急剧下降. 方差分析表明, 各 pH 值条件下轮虫种群的瞬时增长率之间的差异显著($F > F_{0.05}$, $P < 0.05$), 说明 pH 的高低对轮虫的种群增长速度有显著的影响. 多重比较结果是, pH 8.5 时轮虫种群的 r 值极显著地大于其它 pH 值

条件下, pH 7.5 时又显著地大于 pH 5.5、6.5 和 9.5 时. 可以认为 pH 8.5 是最适值, 在该 pH 值条件下轮虫种群的增长速度最快; pH 7.5~8.5 是适宜范围, 这与 pH 对种群密度影响的实验结果基本一致.

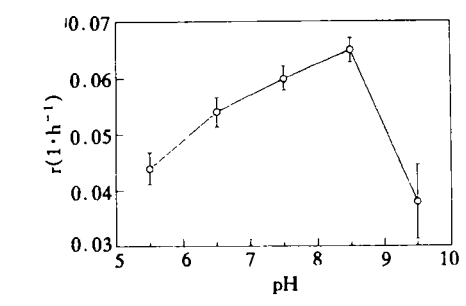


图2 蓼花臂尾轮虫种群瞬时增长率与 pH 值的关系
Fig.2 Relationship between instantaneous growth rate of population of the rotifer *Brachionus calyciflorus* and pH.

3.4 pH 值对轮虫繁殖的影响

从绝对带卵量(单位体积卵密度, 个· ml^{-1})和相对带卵量(单位体积孤雌生殖卵数/雌体数比值)两方面测定了 pH 对轮虫种群繁殖的影响. 由表 2 可见, 上述两项指标因不同 pH 而异. pH 8.5 时, 绝对带卵量最大, 可达 132.5 个· ml^{-1} , 其次为 6.5 和 7.5, 而 pH 5.5 时为最低. 方差分析结果表明, 各 pH 梯度下, 其绝对带卵量的差异极显著($F > F_{0.01}$), 说明 pH 对轮虫卵的绝对产出量的影响极大. 通过多重比较可以认为, pH 8.5 时, 轮虫卵的绝对产出量明显大于其它 pH 条件下, pH 5.5 时, 则明显低于其它 pH 值条件下, 其余的差异不显著. 由此可见, pH 8.5 是最适值. 相对带卵量以 pH 9.5 时最大, 最高值可达

表2 不同 pH 值条件下轮虫的绝对带卵量(个· ml^{-1})和相对带卵量(卵/雌比)
Table 2 Egg amounts(ind. ml^{-1}) and egg/female ratio under different pH values

	pH				
	5.5	6.5	7.5	8.5	9.5
绝对带卵量 Absolute density of egg	15.0±2.24	95.0±14.4	87.5±10.61	132.5±67.18	37.5±2.83
相对带卵量 Relative density of egg	0.7±0.16	1.3±0.21	0.8±0.12	0.8±0.21	3.1±1.00

3.9, 是其它 pH 条件下的 1.5~7.8 倍, 其平均值为 3.1, 是其它 pH 条件下平均值的 2~4 倍, 其次为 pH 6.5 时. 但方差分析结果却显示各 pH 条件下相对带卵量之间的差异不显著, 说明 pH 对轮虫的相对带卵量虽有影响, 但不显著.

4 讨 论

4.1 实验方法

本实验采用累积培养法, 与以往研究^[6]相比, 培养物水体较大(40 ml), pH 值调节间隔时间短, 相对稳定性高(波动在 $\pm 0.03 \sim 0.3$ 之间), 实验结果准确性强.

4.2 轮虫种群增长的 pH 值范围

Mitchell^[6]用个体培养法研究的结果表明, pH 3.5~4.5 时, 轮虫种群为负增长, pH 5.5 和 6.5 时, 轮虫的种群为正增长, 这一结果的可信度极低, 可能是实验误差导致上述的错误结果. 而本研究得出, pH ≤ 3.5 和 ≥ 11.5 时, 轮虫在 12 h 内全部死亡, 即该 pH 范围为急性致死范围; pH 3.5~5.5 和 9.5~10.5 时, 种群均为负增长, 个体在 12~72 h 内全部死亡, 在此期间, 未见轮虫繁殖后代, 可以认为, pH < 5.5 和 > 9.5 是该轮虫繁殖界限. 在上述 pH 值范围内, 轮虫死亡的原因可能有二: 一是由于较高或较低的 pH 使其慢性致死; 二是自然死亡, 即在生理寿命时死亡, 依据该轮虫生命表显示, 其最长生理寿命为 72~78 h; pH 6.5~8.5 是该种群增长的适宜范围, 最适为 8.5. 与以往的研究相比, 本实验轮虫存活及种群增长的 pH 范围都较窄, 可能是由于实验轮虫未经各 pH 梯度下预培养所致.

4.3 Na^+ 的作用

与以往研究^[5,6]相比, 我们在碱性条件下测得轮虫种群的密度和瞬时增长率都较低, 可能是在调节 pH 值时, 加入 NaOH

后, Na^+ 浓度增加所致. 以往的研究表明, 培养液的化学组成对多种轮虫的繁殖和寿命有影响^[3,7~8], 但本实验中是否 Na^+ 对轮虫产生了影响, 尚需研究.

4.4 卵密度与种群增长的关系

在本研究中, pH 在 8.5 时, 轮虫卵的绝对密度最大, 即带卵量较高, 所以其种群增长速度快, 即种群瞬时增长率 r 最大, 种群密度也最大. 在 pH 6.5 和 9.5 条件下, 轮虫种群中的卵/雌比相对较大, 这是由于种群中产卵个体比例较大所致, 但不排除该酸、碱条件对轮虫卵的孵化有延缓作用. 在 pH 对该轮虫卵孵化影响的实验中发现, pH 9.5 时, 虽然孵化率与其它 pH 值条件下相差不大, 但孵化时间却明显延长, 可能由于该 pH 条件下卵的孵化速度较慢, 所以其种群增长速度最慢, 进而种群密度也最低, 这在本实验中已显示出. 有关方面的问题还需要进一步探讨.

参考文献

- 1 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. 海洋湖沼通报, (4): 21~27.
- 2 黎尚豪等. 1959. 单细胞绿藻的大批量培养试验. 水生生物季刊, 4: 463~464.
- 3 Enesco, H. E., Holzman, F. 1980. Effect of calcium, magnesium and chelating agents of the life span of the rotifer *Asplanchna brightwelli*. *Exp. Gerontol.*, 15 (5): 389~392.
- 4 Metcalf, S. A. 1986. Experiences with outdoor semi-continuous mass culture of *Brachionus calyciflorus*. *Aquaculture*, 51: 289~297.
- 5 Metcalf, S. A. and Joubert, J. H. B. 1986. The effect of elevated pH on the survival and reproduction of *Brachionus calyciflorus*. *Aquaculture*, 55: 215~220.
- 6 Metcalf, S. A. 1992. The effect of pH on *Brachionus calyciflorus* Palla (Rotifera). *Hydrobiologia*, 245: 87~93.
- 7 Sincock M. 1974. Calcium and aging in the rotifer *Mytilina brevispina* var. *redunca*. *J. Gerontol.*, 29 (5): 514~517.
- 8 Галковская, Г. А., Митянина, И. Х., Головниц, В. А. 1988. Бактериологические Основы Массового Культивирования Коловраток. Наука и Техника, Минск. С. 90~95.