

42-48

藻类食物对萼花臂尾轮虫繁殖的影响

Q959.181

杨家新 黄祥飞

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

提 要 椭圆卵囊藻培养轮虫时, 轮虫平均产卵量均低于 4.0 个, 随着食物浓度增加, 后代混交雌体百分率降至 12.50%。投喂蛋白核小球藻, 轮虫的平均产卵量从 6.00 增加到 11.40 个, 后代混交雌体百分率降至 4.58%。小球藻和卵囊藻混合培养轮虫, 轮虫平均产卵量少于 5.00 个, 后代个体混交百分率下降。当小球藻浓度增加到 8.0×10^6 cells/mL 时, 平均产卵量下降至 8.33 个, 混交百分率也明显升高。

关键词 萼花臂尾轮虫, 食物, 产卵量, 混交百分率

分类号 Q959.181 Q949.2

藻类食物

轮虫

轮虫是淡水浮游动物中的一个重要类群, 它分布广泛, 生长迅速, 周转速度快, 在食物链中起着重要作用, 也是虾、蟹等无脊椎动物幼体和鱼苗的良好开口饵料。由于对轮虫繁殖生物学研究甚少, 一些重要环境因子(如食物)对轮虫种群中混交雌体的形成到底有何影响, 轮虫种群的消长和食物浓度有没有直接关系一直是轮虫学家关注的问题^[1-6]。种群密度增加到一定程度时, 种群食物供应受到限制, 最终导致混交雌体的产生^[6]。食物中极微量的生育酚(Tocopherol)就可诱导母体产生大量混交雌体后代^[4]。自然环境中的疣毛轮虫 *Synchaeta* 在其食物资源中, 当直径大于 $30\mu\text{m}$ 的藻类居主要地位时, 种群出现大量雄轮虫^[7]。轮虫食物由无色藻类改喂绿色藻类时, 种群中也会出现高比例的混交雌体^[8,9]。混交雌体的出现可诱导休眠卵的形成, 进而使种群数量急剧下降直至种群完全消失。可见, 如能搞清食物物质和量对轮虫繁殖的影响, 在集约化、高密度培养淡水轮虫时, 可通过改善培育条件促进轮虫种群在短期内迅速增长, 而在需要保种时则可通过施加不利因子促使其形成大量休眠卵为再生产提供“种源”。为此, 本研究以淡水中常见的、具有培养利用价值的萼花臂尾轮虫为研究对象, 探讨小球藻和卵囊藻及其浓度对轮虫繁殖的影响以供参考。

1 材料与方方法

1.1 试验材料的培养

湖水温度 25°C 左右时, 用 25 号浮游生物网从武汉东湖($114^\circ 23' \text{E}$, $30^\circ 33' \text{N}$)中捞取样品, 在解剖镜下挑选一个活泼健壮、携带非混交卵的雌体为试验亲体, 在实验室进行“克隆”培养。轮虫培养液采用 Gilbert 的配方^[2], 以小球藻(水生 4 号培养基)为食物, 投喂前用轮虫培养液在 $4000\text{r}/\text{min}$ 下反复离心冲洗几次, 再用轮虫培养液把小球藻浓度调至 1.0×10^6 cells/mL, 光照强度约 4000lx , 昼长比 $\text{LD} = 18:6$, 温度 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 。培养期间, 每天更换一次培养液并检查轮

* 国家自然科学基金资助项目(39270098)。收稿日期: 1997-01-20; 收到修改稿日期: 1997-07-28。
杨家新, 男, 1964 年生, 现在华东师范大学生物系博士后流动站工作。

虫的产卵状况,轮虫密度控制在 1.0 个/mL 左右。

1.2 性别鉴定

试验组轮虫产的卵孵化后,立即移至一培养皿中进行隔离培养,根据它们成熟后携带卵的大小、每次携带卵的数目以及卵的胚胎发育状况鉴别雌体类型。雄性卵数目较多,每次携带的卵均在 5 个以上,且个体较小,它的大小只相当于非混交卵的 1/8-2/3。非混交卵无色、透明、可见胚胎发育过程,长、宽分别为 100-110 μm 和 70-85 μm ;混交雌体受精后产下暗褐色、个体较大的体眠卵,卵长径一般超过 150 μm 以上^[2,9,10-12]。

1.3 不同食物种类的影响

从上述的培养液中用微吸管挑出 50-100 个龄期少于 4h 的幼轮虫,用经 0.4 μm 的滤膜过滤后的湖水预培养 1-2d。把蛋白核小球藻 *Chlorella pyrenoidosa* 和椭圆卵囊藻 *Oocystis elliptica* 用轮虫培养液反复离心冲洗 3-4 次,然后调至 1×10^6 cells/mL;混合藻中小球藻与卵囊藻混合比例为 1:1,取 3 组容积为 2.0mL 的凹槽玻璃培养皿,每组 4 个,分别加入上述藻液 2.0mL,实验时每个培养皿中加入一个幼轮虫,并按上述条件,在光照培养箱中培养和进行类别鉴定。

1.4 不同食物浓度的培养试验

按上述方法,用轮虫培养液把小球藻调成 0.125×10^6 , 0.25×10^6 , 0.5×10^6 , 1.0×10^6 , 2.0×10^6 , 4.0×10^6 , 6.0×10^6 , 8.0×10^6 cells/mL 等 8 个不同的浓度梯度,取 8 个培养皿,每个培养皿中分别加入 2mL 含上述小球藻浓度的轮虫培养液,随后各加入一个轮虫进行培养。

2 结果

2.1 食物类型对轮虫平均产卵量及混交雌体形成的影响

表 1 给出了投喂不同浓度卵囊藻时,轮虫的平均产卵量和后代混交百分率。平均产卵量 2.0×10^6 组显著高于 1.0×10^6 组 ($P < 0.05$),与其它两组基本接近。统计分析表明:卵囊藻浓度对轮虫平均产卵量的影响不显著 ($P > 0.05$); 2×10^6 组的混交百分率显著低于 0.25×10^6 组 ($P < 0.05$)。混交雌体比例和藻类浓度呈显著负相关 ($r = -0.97$, $P < 0.05$),回归方程为:

$$Y = 37.3148 - 13.1384X$$

式中, Y 为混交百分率, X 为藻浓度。

投喂小球藻和卵囊藻混合液(表 2)时,平均产卵量略高于单独投喂卵囊藻组,各浓度间差异不显著 ($P > 0.05$);随着投喂浓度增加,后代混交百分率迅速降低,两者亦呈显著负相关 ($r = -0.99$, $P < 0.01$),回归方程为:

$$Y = 33.1778 - 16.5683X$$

单独投喂小球藻时(表 3), 0.25×10^6 组和 0.5×10^6 组与 2.0×10^6 组间的差异较大 ($P = 0.07$ 和 $P = 0.06$),小球藻浓度对轮虫平均产卵量具显著影响 ($P = 0.05$);后代混交百分率随着小球藻浓度增加而急剧下降, 2.0×10^6 组与 0.5×10^6 组和 0.25×10^6 间的差异显著 ($P < 0.03$)。小球藻浓度对轮虫后代混交雌体百分率具显著影响 ($P < 0.03$)。

比较上述结果可看出:在各食物浓度下投喂小球藻时,平均产卵量都高于投喂卵囊藻和混合藻,而混交百分率均低于前两组,尤其在 1.0×10^6 cells/mL 和 2.0×10^6 cells/mL 下更为显著,通过试验结果可得出:小球藻作为轮虫饵料效果最佳,卵囊藻不宜作轮虫食物。

表 1 投喂不同浓度卵囊藻时轮虫平均产卵量和混交雌体百分率
Tab. 1 The mean eggs and percentages of mictic female produced by rotifer
fed on *Oocystis elliptica* at different concentrations

食物浓度 ($\times 10^6$ cells/mL)	项目 ¹⁾	试 验 序 号						平均值($\bar{x} \pm SE$)
		1	2	3	4	5	6	
0.25	MF	2	1	1	1	1	1	1.17 \pm 0.17
	AF	2	3	3	2	1	2	2.17 \pm 0.31
	PE	4	4	4	3	2	3	3.33 \pm 0.33
	MF%	50.00	25.00	25.00	33.33	50.00	33.33	36.11 \pm 4.65
0.5	MF	1	1	2	1	1	0	1.00 \pm 0.26
	AF	3	3	2	1	2	3	2.33 \pm 0.33
	PE	4	4	4	2	3	3	3.33 \pm 0.33
	MF%	25.00	25.00	50.00	50.00	33.33	0.00	30.55 \pm 0.67
1.0	MF	0	2	1	0	1	0	0.66 \pm 0.33
	AF	1	1	3	2	2	1	1.67 \pm 0.33
	PE	1	3	4	2	3	1	2.33 \pm 0.49
	MF%	0.00	66.67	25.00	0.00	33.33	0.00	20.83 \pm 0.92
2.0	MF	0	0	1	1	0	1	0.50 \pm 0.22
	AF	5	4	3	3	2	3	3.33 \pm 0.42
	PE	5	4	4	4	2	4	3.83 \pm 0.40
	MF%	0.00	0.00	25.00	25.00	0.00	25.00	12.50 \pm 5.59

1) MF:混交雌体;AF:非混交雌体;PE:产卵量;MF%:混交百分率 以下同。

表 2 不同浓度卵囊藻、小球藻混合培养液时轮虫平均产卵量和混交雌体百分率

Tab. 2 The mean eggs and percentages of mictic female produced by rotifer fed on mixed
medium of *Chlorella* and *Oocystis* at different concentrations

食物浓度 ($\times 10^6$ cells/mL)	项目 ¹⁾	试 验 序 号						平均值($\bar{x} \pm SE$)
		1	2	3	4	5	6	
0.25	MF	1	1	1	2	1	2	1.33 \pm 0.21
	AF	3	1	4	5	3	6	3.67 \pm 0.71
	PE	4	2	5	7	4	8	5.00 \pm 0.89
	MF%	25.00	50.00	20.00	28.42	25.00	25.00	28.90 \pm 4.36
0.5	MF	1	1	1	2	1	1	1.17 \pm 0.17
	AF	4	4	3	3	4	3	3.50 \pm 0.22
	PE	5	5	4	5	5	4	4.67 \pm 0.21
	MF%	20.00	20.00	25.00	40.00	20.00	25.00	25.00 \pm 3.16
1.0	MF	1	0	1	1	0	1	0.67 \pm 0.21
	AF	3	4	3	3	2	3	3.00 \pm 0.26
	PE	4	4	4	4	2	4	3.67 \pm 0.33
	MF%	25.00	0.00	25.00	25.00	0.00	25.00	11.67 \pm 5.27
2.0	MF	0	0	0	0	0	0	0.00 \pm 0.00
	AF	4	5	5	4	6	4	4.67 \pm 0.33
	PE	4	5	5	4	6	4	4.67 \pm 0.33
	MF%	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00 \pm 0.0

表 3 投喂不同浓度小球藻轮虫平均卵量和混交雌体百分率

Tab 3 The mean eggs and percentages of mictic female produced by rotifer fed on *Chlorella pyrenoidosa* at different concentrations

食物浓度 ($\times 10^6$ cells/mL)	项目 ¹⁾	试验序号						平均值($\bar{x} \pm SE$)
		1	2	3	4	5	6	
0.25	MF	-	1	1	2	0	-	1.00 \pm 0.41
	AF	-	1	4	7	8	-	5.00 \pm 1.58
	PE	-	2	5	9	8	-	6.00 \pm 1.58
	MF%	-	50.00	20.00	22.22	0.00	-	23.06 \pm 10.28
0.5	MF	1	1	-	2	2	-	1.50 \pm 0.29
	AF	4	7	-	5	5	-	5.25 \pm 0.63
	PE	5	8	-	7	7	-	6.75 \pm 0.63
	MF%	20.00	12.50	-	28.57	28.57	-	22.41 \pm 3.87
1.0	MF	1	1	1	1	0	-	0.80 \pm 0.20
	AF	13	11	4	13	11	-	10.40 \pm 1.66
	PE	14	12	5	14	11	-	11.20 \pm 1.66
	MF%	7.14	8.33	20.00	7.14	0.00	-	8.52 \pm 3.23
2.0	MF	1	0	1	0	1	-	0.60 \pm 0.24
	AF	11	5	10	13	15	-	0.80 \pm 1.69
	PE	12	5	11	13	16	-	11.40 \pm 1.81
	MF%	8.33	0.00	8.33	0.00	6.25	-	4.58 \pm 1.91

2.2 食物浓度对轮虫产卵量和后代混交雌体百分率的影响

轮虫在不同食物浓度下,产卵数量较不稳定(表 4),在 $0.125 \times 10^6 - 2 \times 10^6$ cells/mL 范围内,产卵量呈逐渐上升趋势, 2.0×10^6 cells/mL 时的平均产卵量较高,其次是 1.0×10^6 cells/mL 时,产卵数为 9.33 个,最低数为 0.25×10^6 cells/mL 时(4.0 个)和 0.125×10^6 cells/mL 时(4.17 个)。

表 4. 不同小球藻浓度下轮虫的平均产卵量和后代混交雌体百分率

Tab 4 The mean number of eggs and percentage of mictic females produced by rotifer cultured in various concentrations of food

食物浓度($\times 10^6$ cells/mL)	0.125	0.25	0.5	1.0	2.0	4.0	6.0	8.0
混交百分率(%)	32.00	25.00	21.62	7.14	4.28	53.57	48.00	34.13
平均产卵量(个)	4.17	4.00	7.50	9.33	13.67	9.33	8.33	14.00

当小球藻浓度从 0.125×10^6 cells/mL 增加到 2.0×10^6 cells/mL 时,后代混交雌体百分率下降趋势明显;而在 $4.0 \times 10^6 - 8.0 \times 10^6$ cells/mL 范围内混交百分率都很高, 1.0×10^6 cells/mL 和 2.0×10^6 cells/mL 时较低(分别为 7.14% 和 4.28%)。

从结果可看出,食物浓度超过 2.0×10^6 cells/mL 时,产卵量虽然较高但后代混交百分率很高,食物浓度低时母体产生混交雌体高且平均产卵量非常低。由此看来,若想维持稳定的产卵量和低比率的混交雌体后代,食物浓度以 $1.0 \times 10^6 - 2.0 \times 10^6$ cells/mL 为宜。

3 讨论

3.1 食物类型及其数量对轮虫产卵量和后代混交百分率的影响

3.1.1 食物类型对轮虫平均产卵量的影响 轮虫出生后不再形成新的卵囊,臂尾轮虫的最大生殖潜力不超过 30 个^[11-15],最大生殖潜力的实现程度受环境因子的影响,由于绝大部分浮游轮虫都是滤食性种类,通过头冠纤毛的运动激起水流来收集食物,所以食物的可得性及食物丰度是轮虫实现其生殖潜力的首要条件^[10-17],由于轮虫的头冠型式、咀嚼器的差异,轮虫对食物有选择性,食物的种类、形状、个体大小及营养成分的差异影响轮虫的生殖前期、生殖期、生殖后期的长短和生殖期产卵量和卵的类型^[17],进而又影响轮虫的种群变动.目前已知的轮虫的平均产卵量都是在实验室培养条件下获得的,一部分学者认为萼花臂尾轮虫的平均产卵量为 3.0-6.0 个^[11,18],另有人认为萼花臂尾轮虫的平均产卵量为 13 个左右^[2],作者在试验中所用卵囊藻的长和宽为 $22\mu\text{m} \times 13\mu\text{m}$,细胞外有膨大且胶化的母细胞壁,轮虫在各食物梯度下的平均产卵量极低且基本接近,产卵量在 2-4 个左右,这和何志辉^[18]的观点一致. 2.0×10^6 cells/mL 组和 1.0×10^6 cells/mL 组间平均产卵量显著性差异 ($P=0.04$) 的原因是 1.0×10^6 cells/mL 组内各重复间的标准变异过大所致.投喂的小球藻都是单细胞个体、长宽比只有 $9.0\mu\text{m} \times 10\mu\text{m}$ 左右,相同食物浓度梯度下,轮虫的平均产卵量明显高出前者;投喂两种藻的混合物时的平均产卵量高于单独投喂卵囊藻组,但低于单独投喂小球藻组,且各组间平均产卵量也较为接近.萼花臂尾轮虫可根据食谱组成中藻类细胞的性质而调节其对该种食物的摄食率^[19].从本试验结果可看出:投喂混合藻时,平均产卵量介于单独投喂两种藻类之间,原因可能是:当卵囊藻中加入等量的小球藻时,萼花臂尾轮虫以摄食小球藻为主,但混合液中小球藻的浓度又不能完全满足轮虫的需求,卵囊藻作为食物补充,由此可见食物类型对轮虫平均产卵量具有明显影响.

3.1.2 食物类型对后代混交雌体百分率的影响 食物丰度对轮虫后代混交雌体的出现与否起着重要作用,自然水体中轮虫的世代交替现象有时是与种群的高峰期同时出现的,但有时在种群数量很低的情况下也会出现,这是因为轮虫的适口饵料因生物演替被其它种类替代,而替代种对轮虫并不适口,轮虫种群中开始出现雄体和混交雌体^[6,9,17,20].从试验结果可以看出:各浓度梯度,混交雌体比例均以卵囊藻组最高,混合藻组次之,小球藻组最低.

3.2 轮虫培养的最佳食物浓度

在培养轮虫时,选择适宜的藻类浓度是非常重要的,小球藻浓度适宜时有助于轮虫实现最大生殖潜力^[16,22,23],食物浓度过低时,轮虫的摄食不能满足生殖所需的能量. Halbach 发现:小球藻浓度为 $0.5 \times 10^6 - 1.0 \times 10^6$ cells/mL 时,萼花臂尾轮虫的平均产卵量从不到 1 个增加到为 15 个左右^[20].本试验结果与 Halbach 的结果相似,食物为 2×10^6 cells/mL 时,平均产卵量为 13.6 个,同时,混交百分率降到 4.28%.当食物浓度继续增加 8.0×10^6 cells/mL 时,产卵量趋于下降,混交雌体百分率又急剧上升.食物浓度过高时,藻类代谢积累产生的毒素能抑制 DO 浓度、改变 pH 值,进而抑制轮虫生长^[22]. Starkweather 发现萼花臂尾轮虫摄食行为随食物类型、大小和浓度的改变而发生改变.在高浓度食物悬液中,萼花臂尾轮虫在口漏斗的上方形成“滤筛”(Screens),通过独特的伪轮盘(pseudotrochal cirri),把已经摄入的食物重新排出口腔,使其摄食率下降^[19].研究者认为:在大批量培养轮虫时,小球藻浓度范围在 $1.0 \times 10^6 - 2.0 \times$

10^6 cells/mL 时轮虫产卵量较高(9.33, 13.67 个)而混交百分率最低(7.14% 和 4.28%)。

参 考 文 献

- 1 Koste W. Rotatoria. Vol 1. Gbruder Borntraeger. Berlin; Stuttgart. 1978
- 2 Gilbert J J. Mictic female production in the rotifer *Brachionus calyciflorus*. *J Exp Zool*, 1963, 153:113 - 124
- 3 Gilbert J J. Mictic female production in monogonont rotifer. *Arch Hydrobiol Beih Ergeb Limnol*, 1977, 8:142 - 155
- 4 Gilbert J J. Sexual reproduction in the rotifer *Asplanchna girodi* effects of tocopherol and population density. *J Exp Zool*, 1978, 204:113 - 122
- 5 Gilbert J J. A note on the effect of cold shock on mictic female production in *Brachionus calyciflorus*. *Arch Hydrobiol Beih Ergeb Limnol*, 1977, 8: 158 - 160
- 6 D' Abramo I. R. Ingestion rate decreases the stimulus for sexuality in population of *Maina macrocopa*. *Limnol Oceanogr*, 1980, 25(3):422 - 429
- 7 Johansson S. Factors influencing the occurrence of males in natural population of *Scynchaet* sp. *Hydrobiologia*, 1987, 147:323 - 327
- 8 Whitney D D. Influence of food in controlling sex in *Hydatina*. *J Exp Zool*, 1914, 17:30 - 36
- 9 Hyman L H. The Invertebrates; Acanthocephala, Aschelminthes and Entoprocta. New York; McGraw-Hill Book Company Inc. 1951 59 - 151
- 10 王家骥. 中国淡水轮虫志. 北京:科学出版社, 1961
- 11 Pennak R W. Freshwater invertebrates of the United States. New York; The Ronald Press Company, 1991 157 - 207
- 12 Ruttner-Kolisko A. Plankton rotifers. biology and taxonomy. *Binnengewasser Suppl*, 1974. 1 - 146
- 13 Gilbert J J. Rotifera. In: Adiyodi K G, R G Adiyodi. eds. Reproductive biology of invertebrates (Vol 6. Part A), asexual propagation and reproductive strategies. New Delhi; Oxford & IBH Publishing Co PVT Ltd, 1993. 231 - 263
- 14 Gilbert J J. Rotifera. In: Adiyodi K G, R G Adiyodi. eds. Reproductive biology of invertebrates (Vol 1), oogenesis, oviposition, and oosorption. New York; John Wiley & Sons, 1983. 181 - 221
- 15 Gilbert J J. Rotifera. In: Adiyodi K G, R G Adiyodi. eds. Reproductive biology of invertebrates (Vol 2), spermatogenesis and sperm function. New York; John Wiley & Sons, 1983 181 - 191
- 16 Galindo M D. The reproductive biology of mictic females in *Brachionus calyciflorus* Pallas. *Journal of Plankton Research*, 1993, 15(7):803 - 808
- 17 Dumont H J. Biotic factors in the population dynamics of rotifers. *Arch Hydrobiol Beih Ergeb Limnol*, 1977, 8:98 - 122
- 18 何志辉. 淡水生物学(上册·分类学部分) 北京:农业出版社, 1982. 163
- 19 Starkweather P L. Behavioral determinants of diet quantity and diet quality in *Brachionus calyciflorus*. In: King W C, ed. Evolution and ecology of zooplankton communities. New Hampshire; University Press of New England, 1980. 151 - 157
- 20 Halbach U. Einfluss der Nahrungsqualität und -quantität auf die Populationsdynamik des planktischen Radertieres *Brachionus calyciflorus* im Labor und im Freiland. *Verh Dtsch Zool Ges*, 1972, 65:83 - 88
- 21 Nauwerck A. Die Beziehungen zwischen Zooplankton und Phytoplankton in See Erken. *Symb Bot Upsal*, 1963, 17:1 - 163
- 22 Pilarska J. The dynamics of growth of experimental populations of *Brachionus rubens* Ehrbg. *Pol Arch Hydrobiol*, 1972, 19, 265 - 277
- 23 Pilarska J. Eco-physiological studies on *Brachionus rubens* Ehrbg (Rotatoria). II: production and respiration. *Pol Arch Hydrobiol*, 1977, 24:329 - 341

The Effect of Algae on the Reproduction of Rotifer *Brachionus calyciflorus* (Rotatoria)

Yang Jiaxin Huang Xiangfei

(Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

Abstract

Brachionus calyciflorus (Rotatoria) were cultured on single alga *Chlorella pyrenoidosa*, *Oocystis elliptica*, and mixed at densities of 0.25, 0.5, 1.0 and 2.0×10^6 cells/mL, respectively. Experiments were conducted at 25°C in a photoperiod (LD18:6) with light intensity about 4000 lx. The results show that the average values of eggs produced in medium of *Chlorella pyrenoidosa* were 6.00, 6.75, 11.20 and 11.40 ind., respectively. The percentages were 23.06%, 22.41%, 8.52% and 4.85%, respectively. The mean eggs increased and the percentage decreased with the increases of food concentration.

The mean eggs were 3.33, 3.33, 2.33, and 3.83 ind. in medium of *Oocystis elliptica*, the percentages were 36.11%, 30.55%, 20.83% and 12.50%, respectively.

The mean eggs per female cultured on mixture medium (mixed *Chlorella* with the same quantity *Oocystis*) were 5.00, 4.67, 3.67 and 4.67 ind., respectively. The percentages of mictic females were 28.90%, 25.00%, 16.67% and 0%, respectively.

When rotifer growing on medium of *chlorella* at densities varied from 0.125×10^6 to 8×10^6 cells/mL, the mean eggs increased gradually from 4.17 ind. to 13.67 ind., and the percentages of mictic females decreased from 32.00%, 25.00% to 4.48%. In range of 4.0×10^6 to 8.0×10^6 cells/mL, the mean eggs decreased to 8.33 ind. (8.0×10^6 cells/mL excluded) and the percentage of mictic female increased to 48.00% again.

The correlation between mictic percentage (Y) and concentration of food (X) was significantly negative in medium of *Oocystis* ($r = -0.97$), and in mixture ($r = -0.99$), the equation of regression was $Y = 37.3148 - 13.1348X$ (in medium) and $Y = 33.1778 - 16.5683X$ (in mixture).

Key Words *Brachionus calyciflorus*, *Chlorella pyrenoidosa*, *Oocystis elliptica*, mictic female egg