

## 輪蟲 *Brachionus plicatilis* 休止卵的誘發

胡興華

Inducing Dormant Eggs of Rotifer, *Brachionus plicatilis*

Sing-Haw HU

The effects of external conditions on the production of dormant eggs of rotifer, *Brachionus plicatilis*, were investigated.

More dormant eggs were produced under condition of high density, starving, changing of water temperature and specific gravity. But there was no clear evidence that the dormant eggs will increase at a density under 500 ind./ml. The rotifers died rapidly when water temperature and specific gravity changed dramatically. It was suggested that gentle, graduate way of increasing density and starving should be used to improve producing of dormant eggs. It appeared more parthenogenetic eggs than dormant eggs were found in the cultural medium in the beginning of experiments. Dormant eggs tends to sink to the bottom and mixed with trashes which caused difficulty in collection. This experiment does not take into consideration of the effects of genetic factors which could be major role in dormant eggs formation.

### 前 言

輪蟲之生殖可分為孤雌生殖 (parthenogenetic reproduction) 與有性生殖兩大類，一般在環境合適的時候，輪蟲不經交配產卵，卵孵化之後繼續繁衍，但如在環境惡劣或生活條件不適時，即行有性生殖，產生休止卵 (dormant egg)，此種休止卵可長時期抵抗外在環境的變化，一直到環境變為適當的時候，再行孵化繁殖，故就輪蟲之大量繁殖來說，應保持輪蟲在適當的環境下，繼續行孤雌生殖，防止休止卵之產生，以持續輪蟲之增殖，才能達到密度高、期間長的培育目的。但就另一方面來說，由於休止卵對外界的惡劣環境抗力強，適合於長久保存，在日後需要時隨時給予良好的環境來孵化，可做為大量繁殖的種子。培養純種輪蟲，通常都是經由含餌料生物的天然水源中，一次再一次的篩濾、收集、挑選等繁雜的過程，費時費力，且在短期內難以完全避免如枝角類、橈腳類等有礙輪蟲增殖的微小生物混入。如利用輪蟲休止卵做為繁殖的原種，不但省力、方便，可隨身攜帶至任何需要的場所，且原種純，無其他生物滲入，減少增殖中之困擾。是故，在輪蟲的培養之中，如何供給輪蟲良好的環境、充足的餌料，使其繼續孤雌生殖，防止休止卵的產生，以維持其增殖及如何在適當的時機改變輪蟲的培養環境，刺激輪蟲使其產生大量休止卵，收集處理保存起來，做為日後之用，兩者都是研究輪蟲培養的重要問題，而這兩個問題正好為一體之兩面性。

影響輪蟲增殖的因素有溫度、塩度、pH、氧氣、光線、密度、餌料、培養液<sup>(1)(2)</sup>等等，這些因子亦正是刺激輪蟲促進產生休止卵的條件，在大量培養中，一切可能引起有性生殖的情況均應盡量避免，但對輪蟲的需求消失時，即應立即改變環境條件，刺激輪蟲大量產生休止卵，收集備用。本篇乃是在輪蟲 *Brachionus plicatilis* 大量培養中改變其生活條件，如密度、比重、餌料、水溫等，檢視輪蟲密度之變化，孤雌生殖卵及休止卵在水中及沉澱物中產生的情形，以做為在輪蟲培養中防止或促進產生休止卵之參考。

### 材 料 與 方 法

本試驗係1978年10月至12月間，先在室內利用容量1噸之塑膠桶在鹽分比重1.010下培養輪虫*B. plicatilis*。每日以麵包酵母每百萬個輪虫投2g來飼養，由密度10隻/ml培養至100隻/ml後再利用此輪虫進行試驗，在試驗室中以直徑30cm，高45cm之玻璃缸為容器，分別給予不同之環境條件，檢視輪虫、卵之變化。試驗項目如下：

1. 在4個玻璃缸中分別以密度125隻/ml、250隻/ml、375隻/ml與500隻/ml繼續培養，每日同樣以每百萬隻2g之麵包酵母投飼，再每日計算水溶液及沉澱物中之輪虫數、孤雌生殖卵及休止卵，11日後停止，因沉澱中雜質及輪虫腐敗之驟然很多，難以適當的估算，故僅計算一定體積中孤雌卵與休止卵的比例來比較。

2. 以250隻/ml、375隻/ml、500隻/ml及1000隻/ml 4種密度之輪虫置於玻璃缸中，不投餌。每日計算水溶液及沉澱物中每ml所有之輪虫，孤雌生殖卵及休止卵數至10日為止。

3. 將海水稀釋為鹽度比重1.002、1.005、1.010、1.105及1.020 5種比重，各以107隻/ml密度放入水缸中，予以打氣、不投餌，每日計算溶液及沉澱物中之輪虫及卵數至9日為止。

4. 密度107隻/ml，溫度分別為5°C、10°C、15°C及20°C下打氣、不投餌，每日計算溶液中之輪虫、孤雌生殖卵、休止卵等9日結束。

輪虫、孤雌生殖卵及休止卵計算的方式為實驗開始後每日上午九時，以吸管吸取，在解剖顯微鏡下觀察而得，每日每組計算2次，每次取1ml，以其平均值作為當日輪虫密度與孤雌卵、休止卵的數量。

## 結 果

以4種不同密度培育，在每日投餌的情況下，檢視培養液中輪虫之密度與帶卵數之變化如 Fig. 1，由原密度125隻/ml繼續培養，發現8日內輪虫尚有增加的情形，第7日達204隻/ml，為原密度之1.63倍，第9日急速減少為45隻/ml，第10、11日密度在10隻/ml以下。調整密度為250隻/ml，即原培養密度2.0倍來觀察，輪虫在7日內的變化不大，密度保持在200隻/ml左右，以後逐漸減少。當培養密度為原密度3倍即375隻/ml時，輪虫在第4日曾逐減至190隻/ml，約為原密度 $\frac{1}{2}$ ，但第6日又上升至380隻/ml才逐漸減少。密度500隻/ml時，3日內尚十分穩定密度在450隻/ml至500隻/ml之間，此後繼續減少，第7日雖略回升，亦僅有320隻/ml。4種密度輪虫帶卵數的變化與密度十分吻合，在輪虫密度大幅上昇或下降之前，帶卵數先行增加或減少。培養液中輪虫9日內皆有抱卵，帶卵全部以孤雌卵為主，休止卵出現極少，原密度125隻/ml最高抱卵率0.242，密度250隻/ml最高抱卵率0.182，密度375隻/ml及500隻/ml最高抱卵率皆為原培養放種時之抱卵率0.160為最高 (Table 1)

在培養溶液中及沉澱物兩者相比較，在水溶液中輪虫帶孤雌生殖卵數遠超過休止卵數，特別是在密度250隻/ml以下時，孤雌卵數全部在70%以上，但在沉澱物中則有明顯的差別，沉澱物中在5日內孤雌卵皆多於休止卵，6日以後休止卵多於孤雌卵，至9、10日，沉澱物中只見休止卵而無孤雌卵，這可能是因為孤雌卵逐漸孵化而休止卵無變化的緣故 (Fig. 2)。

不投餌的條件下，4種不同密度之輪虫數與帶卵數之變化如 Fig. 3，除了密度250隻/ml於第3日大減以外，其餘375隻/ml、500隻/ml、1000隻/ml 3種密度都在48小時內劇降，此後雖有小幅增加亦無多大之改變，帶卵數變化也與輪虫密度變化相似，但密度250隻/ml及375隻/ml於第6日，而500隻/ml與1000隻/ml於第8日就未曾發現孤雌卵。另雖然各組輪虫的孕卵率很高，會高孕卵率都在0.382以上，但這些卵中休止卵所佔的比率都很高 (Table 2)。水中輪虫帶孤雌卵於前5日內多於休止卵，5日後則相反。沉澱物中由第1日開始休止卵即多於孤雌卵，休止卵之比例隨時間之增加而增加，至第9日後，4種密度的沉澱中全部為休止卵 (Fig. 4)。

Table 1: Parthenogenetic egg and dormant egg found in medium of different density.

Days	125		250		375		500									
	no of rotifer	$\frac{\text{eggs}}{\text{D.}}$	eggs/rotifer	no of rotifer	$\frac{\text{eggs}}{\text{D.}}$	eggs/rotifer	no of rotifer	$\frac{\text{eggs}}{\text{D.}}$								
0	125	20	0	0.160	250	40	0	0.160	375	60	0	0.160	500	80	0	0.160
1	139	19	0	0.136	228	41	0	0.197	344	43.5	0	0.126	516	71	0	0.137
2	138	23	1	0.173	252	40	1.5	0.164	358	40.5	4	0.122	525	66	1	0.127
3	130	7	1.5	0.065	218	32	1	0.151	287	13	1	0.048	470	50	1.5	0.109
4	117	13	3	0.136	209	11	1	0.057	190.5	5.5	1	0.034	319	10	4	0.043
5	156	29	1	0.192	181	20	0.5	0.113	258	11	1.5	0.063	298	22.5	2.5	0.083
6	167	39	1.5	0.242	175.5	32	0	0.182	292	20	8	0.095	162.5	35.5	0.5	0.219
7	204	5	0.5	0.026	201	11	0.5	0.057	199	15	2	0.085	340	20.5	4.5	0.073
8	131.5	3	0	0.022	125	6.5	1	0.060	114	2	1.5	0.030	105	3	0	0.028
9	45.5	0.5	1	0.032	58.5	4	0.5	0.076	35.5	0	2.5	0.072	131.5	3.5	4.5	0.061
10	15	0	0	0	13.5	0.5	0	0.037	0	0	0	—	4.5	0	0	0
11	17	0	0	0	16	0	0	0	0	0	0	—	0	0	0	—

P. : Parthenogenetic eggs      D. : Dormant eggs

Table 2: Parthenogenetic egg and dormant egg found in medium at density changing and starving.

Density (ind/ml)	250		375		500		1,000	
	no of rotifer	$\frac{\text{eggs}}{\text{rotifer}}$	no of rotifer	$\frac{\text{eggs}}{\text{rotifer}}$	no of rotifer	$\frac{\text{eggs}}{\text{rotifer}}$	no of rotifer	$\frac{\text{eggs}}{\text{rotifer}}$
0	250	0.124	375	0.136	500	0.136	1,000	0.136
1	250	0.308	307	0.315	464	0.312	832	0.250
2	225	0.475	171	0.327	250	0.460	139	0.561
3	94	0.138	70	0.214	84	0.226	79	0.329
4	76	0.131	101	0.089	139	0.330	75	0.186
5	96	0.239	180	0.383	112	0.116	137	0.051
6	29	0	62	0.033	131	0.022	103	0.029
7	15	0.066	49	0	96	0.062	53	0.132
8	23	0	23	0	50	0.020	50	0
9	11	0	17	0	13	0	15	0
10	0	0	0	0	0	0	11	0

P. : Parthenogenetic eggs      D. : Dormant eggs

Table 3: Parthenogenetic egg and dormant egg found in medium at specific gravity changing and starving.

Days	1.002		1.005		1.010		1.015		1.020		
	no of rotifer	eggs P.R.	eggs/rotifer	no of rotifer	eggs P.R.	eggs/rotifer	no of rotifer	eggs P.R.	eggs/rotifer	no of rotifer	
0	107	20 3	0.212	107	20 3	0.212	107	30 3	0.212	107 20 3	0.212
1	86	15 2	0.197	117	24 7	0.264	112	20 3	0.205	60 12 2	0.233
2	53	14 6	0.377	67	30 15	0.671	62.5	9 0	0.144	45 17 0	0.377
3	67	18 9	0.403	104	9 15	0.230	73	12 16	0.383	71 20 4	0.338
4	21	2 1	0.412	20	2 1	0.150	20	1 0	0.050	8 0 0	0 0 0
5	25	3 4	0.280	37	9 3	0.324	19	1 0	0.052	13 0 0	0 0 0
6	11	0 0	0	18	0 0	0	17	1 0	0.059	9 0 0	0 0 0
7	11	0 0	0	10	0 0	0	2	0 0	0	1 0 0	0 0 0
8	4	0 0	0	7	0 0	0	0	0 0	0	3 0 0	0 0 0
9	2	0 0	0	2	0 0	0	2	0 0	0	0 0 0	0 0 0

P. : Parthenogenetic eggs      D. : Dormant eggs

Table 4: Parthenogenetic egg and dormant egg found in medium at water temperature changing and starving.

W.T. (°C)	5°C			10°C			15°C			20°C						
	No. of rotifer	eggs P.E	$\frac{\text{eggs}}{\text{D.E}}$	No. of rotifer	eggs P.E	$\frac{\text{eggs}}{\text{D.E}}$	eggs/rotifer	No. of rotifer	eggs P.E	$\frac{\text{eggs}}{\text{D.E}}$	eggs/rotifer	No. of rotifer	eggs P.E	$\frac{\text{eggs}}{\text{D.E}}$		
0	107	20	3	0.214	107	20	3	0.214	107	20	3	0.214	107	20	3	0.214
1	96	14	13	0.281	116	19	11	0.258	113	17	10	0.238	112	20	5	0.223
2	1	0	0	0	2	0	1	0.500	40	8	9	0.425	85	26	10	0.423
3	0	0	0	—	2	0	1	0.500	54	3	4	0.129	96	8	12	0.208
4	0	0	0	—	0	0	0	—	5	0	1	0.20	42	2	1	0.071
5	0	0	0	—	0	0	0	—	2	0	0	0	36	4	3	0.194
6	0	0	0	—	0	0	0	—	0	0	0	—	21	0	0	0
7	0	0	0	—	0	0	0	—	0	0	0	—	10	0	0	0
8	0	0	0	—	0	0	0	—	0	0	0	—	4	0	0	0

P. : Parthenogenetic eggs

D. : Dormant eggs

原培養液比重鹽度 1.010，改變其培養液為 1.002、1.005、1.010 及 1.015 等不同比重條件下，不投餌，其每 ml 中所含輪蟲數的變化圖形十分相似，都是減少後略為增加再降低，但比重 1.020 時輪蟲密度劇減，第 2 天即減至 10 隻/ml，輪蟲抱卵數的增減情形亦同，各組帶卵數的變化很相似 (Fig. 5)。各種比重下輪蟲的孕卵率都很高，一般都在 0.2 以上，但孕卵時間短，比重 1.002 及 1.005 於第 6 日，1.015 於第 4 日，1.020 第 3 日即無抱卵，且各組輪蟲所帶之卵中休止卵數量皆逐漸在增加 (table 3)。在各比重水溶液中孤雌生殖卵皆遠多於休止卵，但有隨時間的增加而降低的趨勢，沉澱物中除在比重 1.002 之第 2 日孤雌卵多於休止卵以外，其餘各種 1.002、1.005 與 1.010 都是在第 9 日時沉澱中全部為休止卵，但比重 1.015 第 7 日即無孤雌卵發現，比重 1.020 時於第 6 日時沉澱中全部是休止卵。(Fig. 6)

在不同水溫，原密度 107 隻/ml 溫度 20°C 時，密度則未上升，3 日內保持 85 隻/ml 以上，第 4 日以後即急速減少；水溫 15°C 第 2 日降至 40 隻/ml，第 4 日在 5 隻/ml 以下；水溫 10°C 與 5°C 第 2 日即降至 2 隻/ml 以下，3 日後水中輪蟲全部死亡。帶卵後的增減與輪蟲密度曲線變化十分相似，其變化如 Fig. 7。帶卵率雖然都很高，但休止卵數多，休止卵所佔的比率隨時間而增加 (Table 3)，本實驗未取沉澱物來計算孤雌卵與休止卵的比率。

## 討 論

在輪蟲大量培養中，餌料與環境因子如水溫、比重、pH、溶氧、密度、光線等常是研究人員追逐的目標<sup>(1)(2)</sup>，但 Hino & Hirano 在他們的實驗中認為 *B. plicatilis* 有性生殖的產生同時受到內在與外在因子的影響<sup>(3)</sup>，也就是遺傳因子與環境因子同時為產生有性生殖的因素。輪蟲有性生殖後，產生休止卵而成為安定的休止狀態，因而增殖率降低。在 500 隻/ml 以下 4 組不同密度實驗中，雖然各組輪蟲的增殖率有不同，密度低者輪蟲增加倍率較高，孕卵率也以密度低者較大，但各組培養液中，休止卵發現的數目很少 (Table 1)，即使在沉澱中，在第 6 日以後休止卵數才超過孤雌卵 (Fig. 2) Theilacker & McMaster 認為輪蟲密度 200 隻/ml 尚不致影響生殖<sup>(4)</sup>，而且在本省及日本皆有培養至 1000 隻/ml 以上之記錄<sup>(5)(6)</sup>。故由本實驗結果可認為在密度 500 隻/ml 以下對休止卵之產生應無影響。

Edmonson 實驗中證實輪蟲卵的產生必需要有足夠的餌料，但食物的供應超過一定的限度後雖然繼續增加，亦對生殖無影響<sup>(7)</sup>。Theilacker & McMaster 亦認為輪蟲相等密集後即使餌料再多亦無法減少輪蟲加倍的時間<sup>(4)</sup>。Hino 等<sup>(8)</sup> 實驗中發現 *B. plicatilis* 有性生殖階段中 mictic female 之產生與密度有關，但可藉不斷地換新培養液而降低 mictic female 的產生，他們認為可能的解釋是輪蟲分泌某種化學物質而促使 mictic female 產生；福所等亦有高密度接種，輪蟲廢物增加而使增殖率降低的說法<sup>(9)</sup>，吳羽<sup>(10)</sup> 認為輪蟲的增殖與水質淨化有關，且給餌量與輪蟲數及帶卵數二者皆有關係；古川等<sup>(6)</sup> 提出一種收取輪蟲培養法 (Culture method of the rotifer by thinning)，每週收取 25—30%，保持輪蟲的增殖以獲得足夠之輪蟲，亦是避免輪蟲密度過高。本實驗中提高輪蟲之密度至 1000 隻/ml 且不投餌，輪蟲密度減少的速度很快，密度愈高密度下降的速度也愈快 (Fig. 3)，即使與前次實驗相同密度下投餌培養相比較，亦有明顯的不同，另外亦發現帶卵中休止卵的比例很大 (Table 2)，水溶液中休止卵於 4—5 日時超過孤雌卵，在沉澱物中由第 1 日開始各組休止卵的數目皆較孤雌卵為多 (Fig. 4)，故可看出飢餓與高密度皆會促使休止卵的產生。

*P. plicatilis* 為廣鹽性，本省過去試驗中曾建議以 1.010、1.015 等比重來培養<sup>(11)</sup>，但日本許多大量培養輪蟲都使用純海水<sup>(6)(9)(10)</sup>，但未曾提到比重鹽度改變後所發生的影響。本實驗中以原比重 1.010 之輪蟲，改放在數種不同之比重中，包括原比重 1.010，相同的情況下，輪蟲的密度都降低，但其中以比重 1.020 較為特殊，直接受到鹽度差異的影響 (Fig. 5)。輪蟲孕卵率高，休止卵的數目也相當多 (Table 3)，沉澱中明顯有大量休止卵，由於 1.010 比重也有相同的情況，故休止卵的產生可能也與飢餓有關。

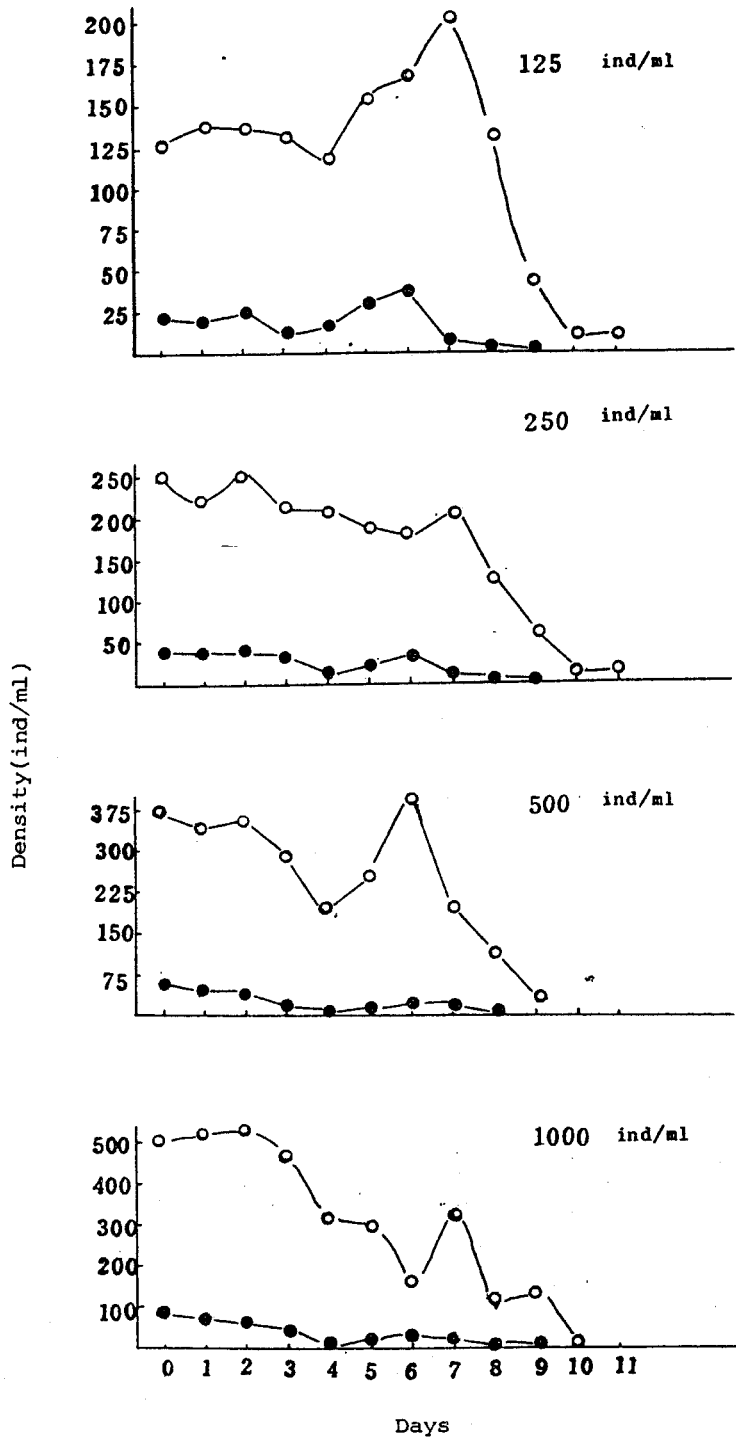


Fig. 1. Change of rotifer and egg at density changing and starving.  
 Circle: No. of rotifers    Dot: No. of eggs



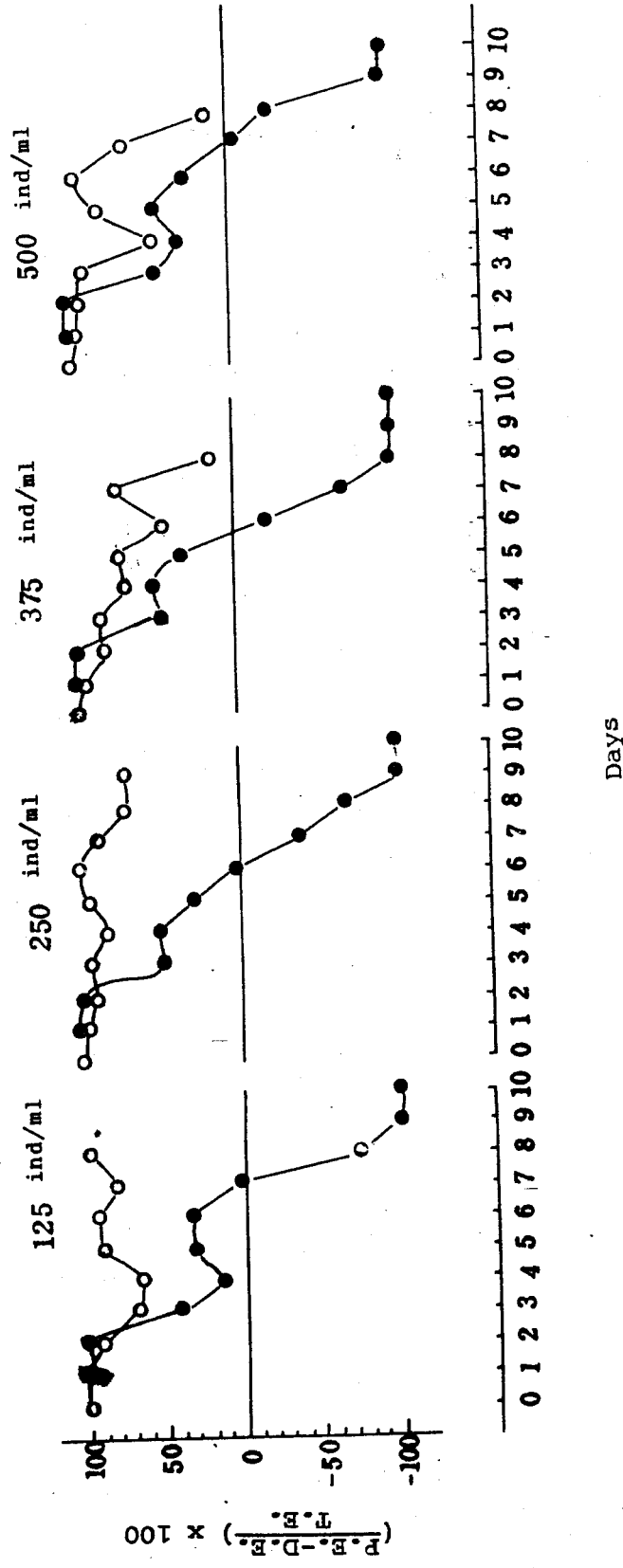


Fig. 2. The ratio of difference between parthenogenetic egg (D.E.) and dormant egg (D.E.) to total eggs (T.E.) found in medium and sediment of different density rotifers.  
 Circle: in medium    Dot: in sediment

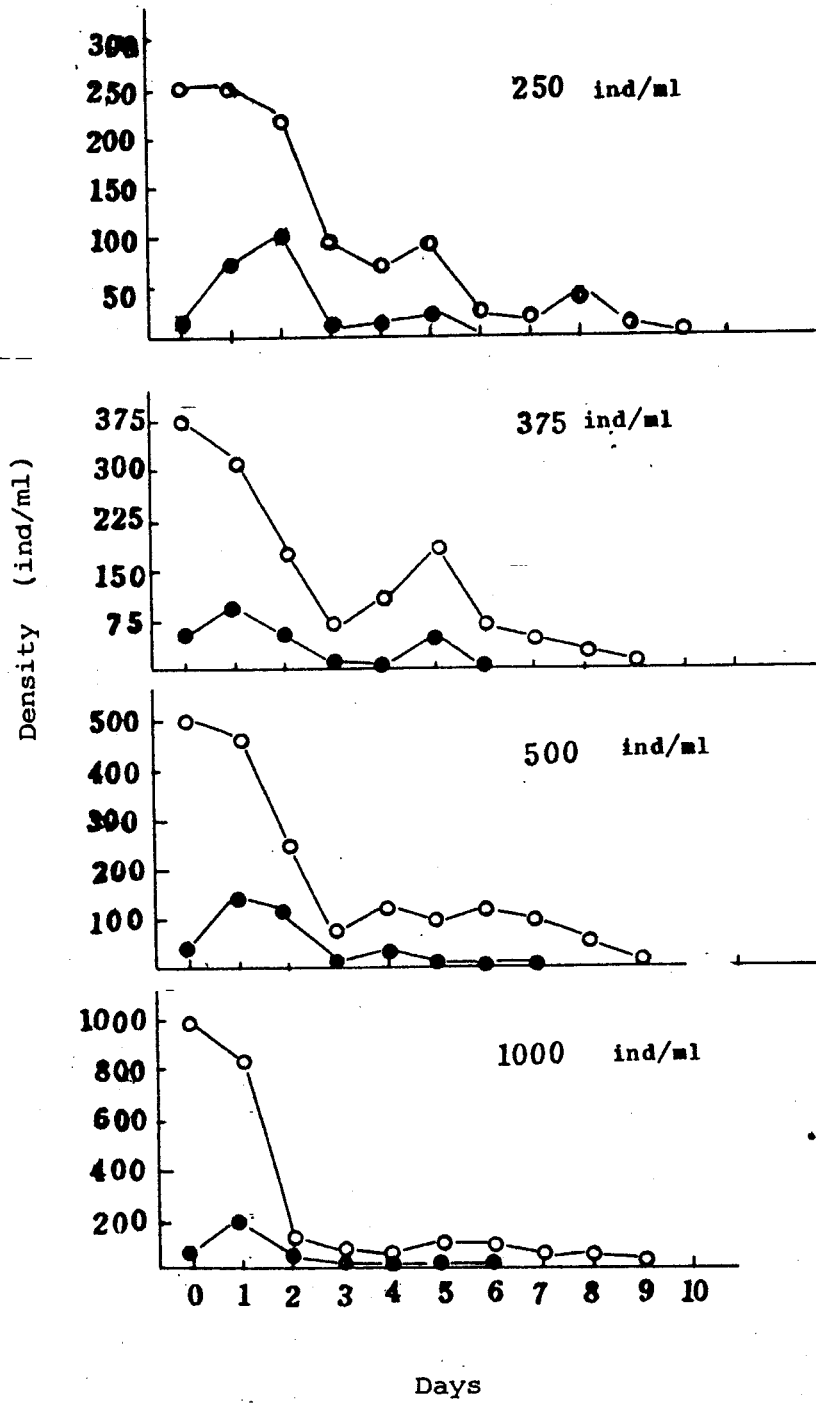


Fig. 3. Change of rotifer and egg at density changing and starving.  
 Circle: No. of rotifers      Dot: No. of eggs

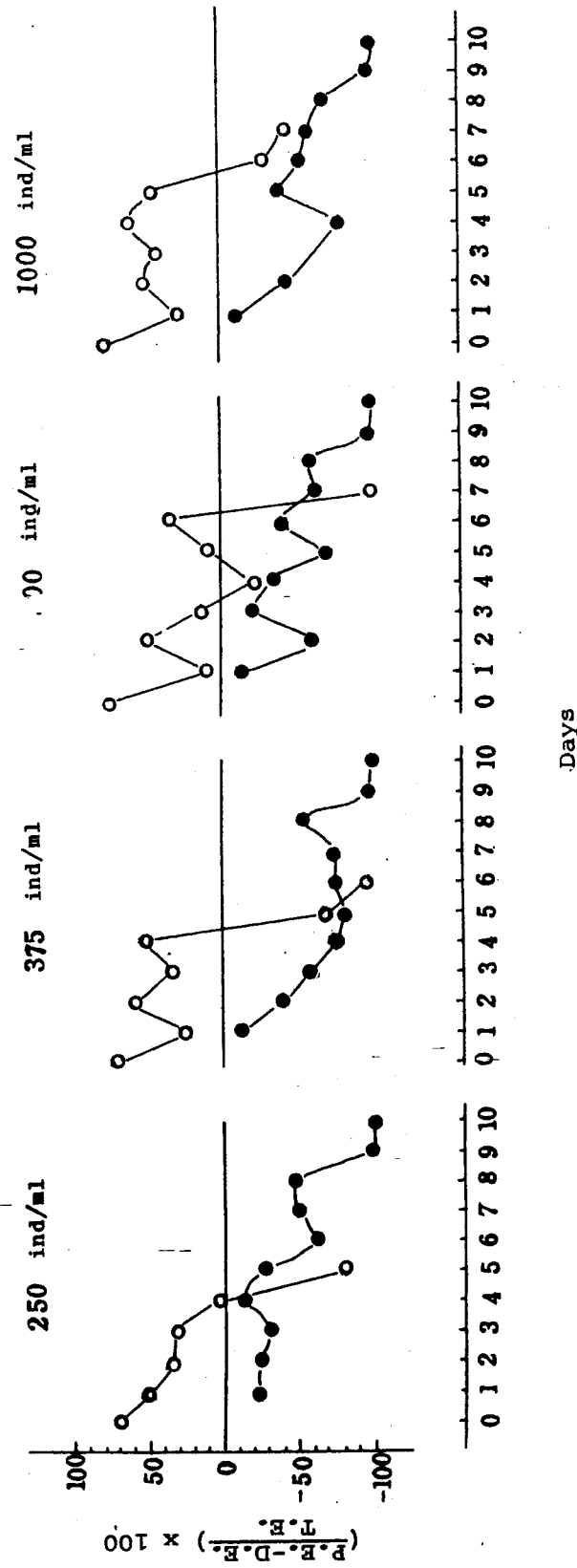


Fig. 4. The ratio of difference between P.E. and D.E. to T.E. found in medium and sediment of density changing and starving.  
 Circle: in medium      Dot: in sediment

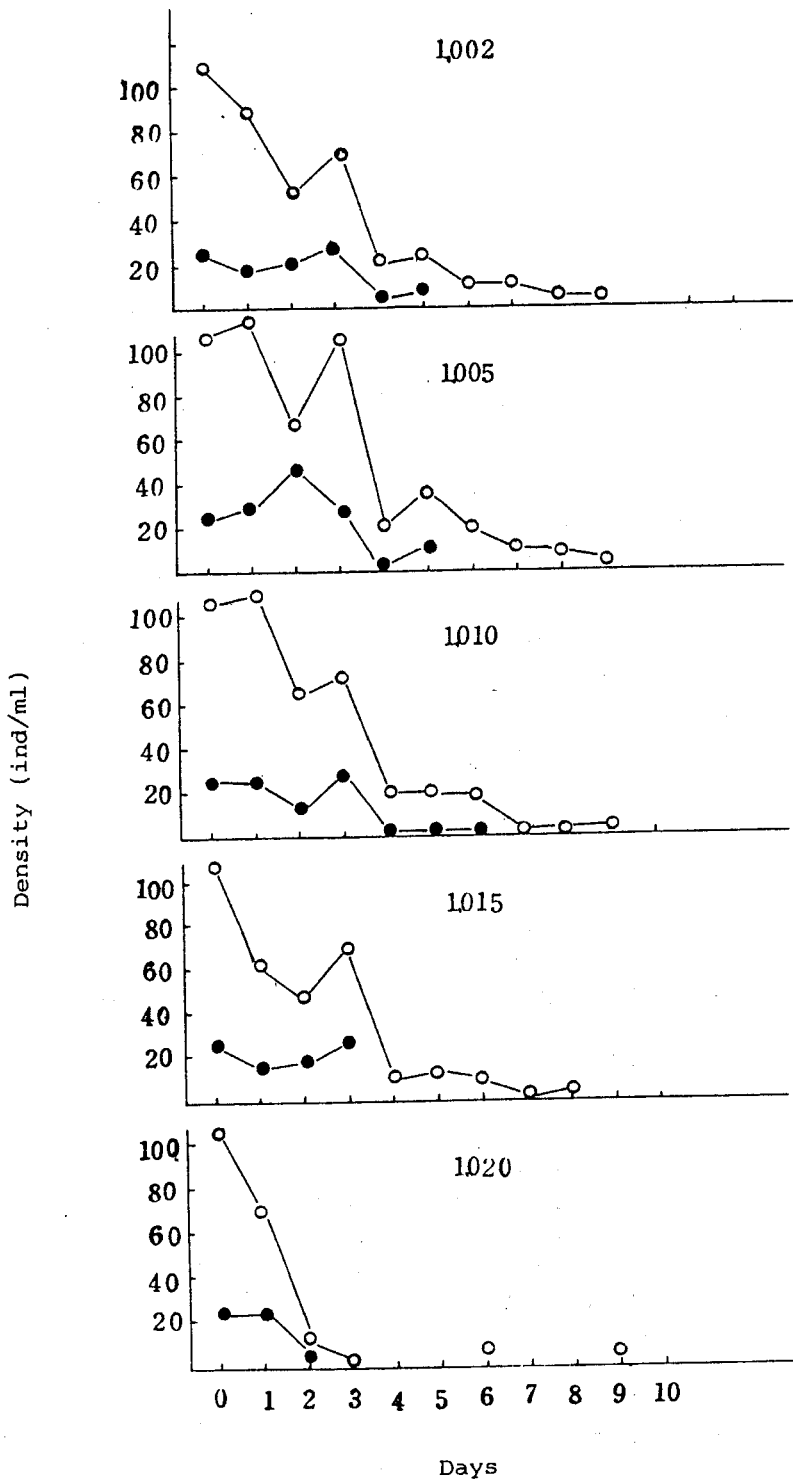


Fig. 5. Change of rotifer and egg at specific gravity changing and starving.  
 Circle: No. of rotifers      Dot: No. of eggs

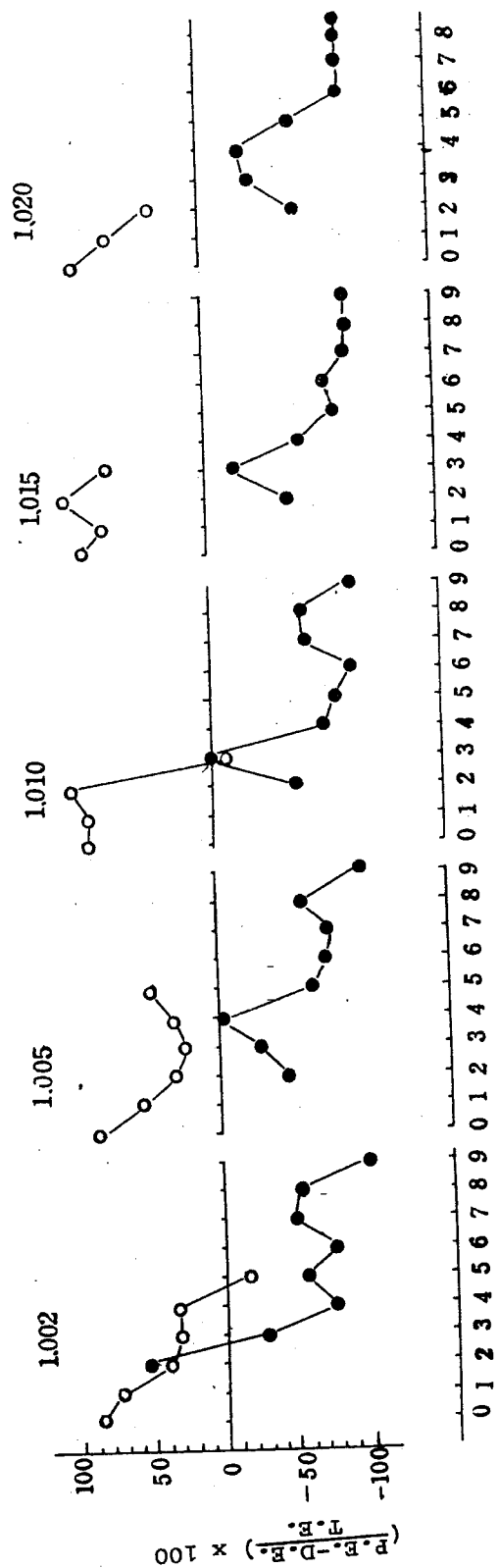


Fig. 6. The ratio of difference between P.E. and D.E. to T.E. found in medium and sediment of specific gravity changing and starving. Circle: in medium Dot: in sediment

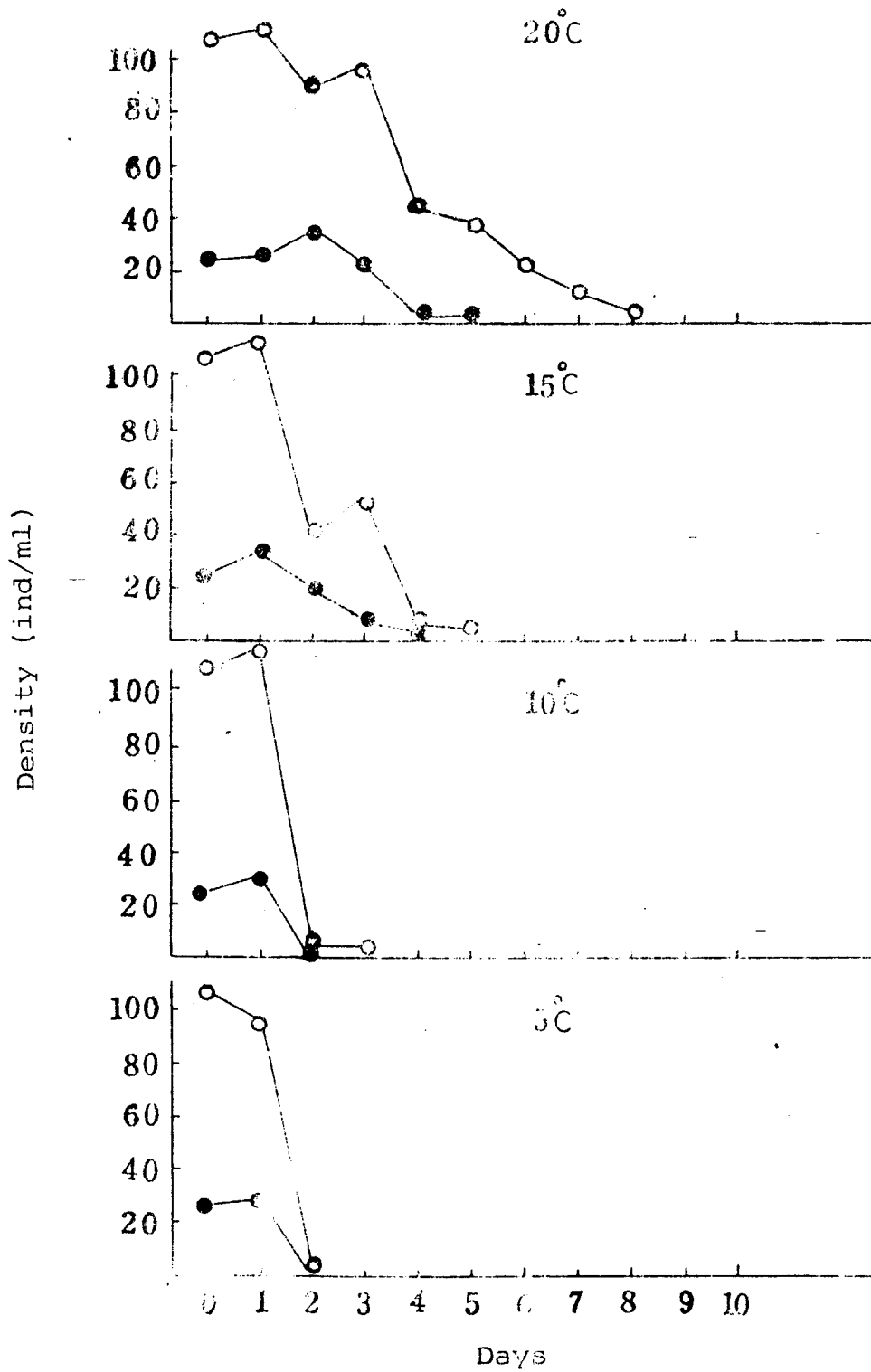


Fig. 7. Changes of rotifer and egg at water temperature changing and staru starving.  
 Circle: No. of rotifers      Dot: No, of eggs

水溫為培養輪蟲的主要因子，古川等<sup>(6)</sup>培育*B. plicatilis*在水溫12—15°C密度可達1000隻/ml以上，並認為水溫超過23°C時增殖降低；而林<sup>(12)</sup>認為29°C為最適溫。吳等<sup>(6)</sup>曾在30°C±1°C下培養近1500隻/ml。可見*B. plicatilis*屬廣溫性，可適應的溫度範圍很廣，慶德<sup>(13)</sup>認為在輪蟲培養中，提高水溫可使輪蟲的增加率、抱卵輪蟲數等增加，但如在短時間內急激上升水溫，會使輪蟲大量死亡。本實驗中由原20°C±1°C的水溫中降低水溫來培養，發現溫度愈低，輪蟲密度減少也愈快（Fig.7），孕卵中所帶休止卵的比例也隨溫度降低而有增加（table 3）。由於輪蟲有性生殖是與內在之遺傳因子與外在環境因子兩者均有關連<sup>(8)</sup>。Hino等<sup>(9)</sup>更認為輪蟲一再反覆行孤雌生殖為產生有性生殖的原因；世代愈多有性生殖出現也愈多，這也可說為種源及已繁殖之世代不同，有性生殖出現的遲早亦有異。本實驗的輪蟲雖為同一種源，但時間上有早遲，如500隻/ml以下密度實驗開始時所放的輪蟲孕卵率為0.160，未有休止卵，在高密度飢餓實驗所使用之輪蟲孕卵率僅0.124，其中休止卵佔所有孕卵數11.7%，比重與水溫改變實驗孕卵率為0.212，休止卵比率為13.0%，雖然各實驗的條件不同應有不同的結果，但輪蟲原種中沒有休止卵在實驗中密度上持續較久，休止卵的產生數量較少，故可能因已繁殖世代不同而產生影響，筆者亦有種源不同，休止卵產生情形也不同的經驗。但無論如何，本實驗各項環境因素之變化，除密度500隻/ml以下尚無明顯影響外，其餘如飢餓、比重、水溫等之改變皆多少影響到休止卵的產生。欲改變環境因素使產生大量休止卵，應該注意到輪蟲是否能繼續活存而產生更多休止卵，如本實驗中比重增至1.020，水溫降至5°C，輪蟲孕休止卵數雖有增加，但許多輪蟲尚未能產生休止卵即已死亡，故休止卵量反而減少。故欲使輪蟲產生休止卵，改變環境，應是以漸進的方式，提高密度配合飢餓，應是最簡單易行的方法。

### 摘 要

改變環境因子，提高密度、飢餓、塩度比重、水溫等皆會促使輪蟲產生休止卵，但密度500隻/ml以下而繼續投餌將不會促使輪蟲休止卵增加。環境如溫度、塩度改變過鉅，會引起輪蟲大量迅速死亡，而減少休止卵的產生，擬取溫和漸進的方法，提高密度配合飢餓，可得較佳的效果。輪蟲休止卵都因輪蟲死亡後沉澱，休止卵與大量雜質，輪蟲驅壳相混雜，應設法清除收集處理。本實驗進行外在環境變化的影響，但內在遺傳因子如種源、已繁殖世代的不同應會影響到實驗的結果。

### 謝 辭

本實驗之完成蒙本所李所長燦然之鼓勵與提供資料，另劉富光技士及林彥萍小姐協助計算與記錄，在此僅致謝忱。

### 參 考 文 獻

1. 代田昭彥(1975) 水產餌料生物學。恒星社厚生閣，pp 403—456.
2. 遠藤和雄(1977) 稚魚用餌料生物の培養。養殖，14 (9) : 94—95.
3. Hino, A. & R. Hirano (1976) Ecological Studies on the Mechanism of Bisexual Reproduction in the Rotifer *Brachionus plicatilis* — I General Aspects of Bisexual Reproduction Inducing Factors. Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries, 42 (10): 1093—1099.
4. Theilacker, G. H. & M. F. McMaster (1971) Mass culture of the Rotifer *Brachionus plicatilis* and its Evaluation as a Food for Larval Anchovies. Marine Biology, 10: 183—188
5. 吳焜灶、余廷基(1979) 餌料生物：綠藻、海洋酵母、輪蟲之大量培養方法。中國水產321: 7—13.
6. 古川、一郎、日高、勝義(1973) ワムシの大量生産に關する技術的問題點日本プランクトン學會報，20 (1) : 61—71.

7. Edmondson, W. T. (1965) Reproductive Rate of planktonic Rotifers as Related to Food and Temperature in Nature. *Ecological Monographs*, 35 (1): 1—111.
8. Hino, A. & R. Hirano (1977) Ecological Studies on the Mechanism of Bisexual Reproduction in the Rotifer *Brachionus plicatilis*—II Effects of Cumulative Parthenogenetic Generation on the Frequency of Bisexual Reproduction. *Bulletin of the Japanese society of scientific Fisheries*, 43 (10): 1147—1155.
9. 福所邦彦、原修、吉尾二郎 (1976) 大型水槽でのワロレライースト併用にすむウムシの量産・水産増殖, 21 (3): 96—101.
10. 吳羽尙壽 (1979) ウムシの個體群繁殖に關する實驗的研究。水産増殖, 26 (4): 178—182.
11. 蔡碧心、湯弘吉、黃丁郎 (1977) 輪蟲之純粹培養及生長環境及其室外大量培養之研究。臺灣水產學會刊, 5 (2): 68—72.
12. 林森榮 (1977) 海水輪蟲大量培養。中國水產, 293: 2—4.
13. 慶德尙壽 (1979) ウムシの個體群に關する實驗的研究 IV 上昇レフある水溫の影響。水産増殖, 27 (3): 142—144.