

颤蚓在活性污泥中的生长研究

诸晖, 魏源送*, 刘俊新

(中国科学院生态环境研究中心, 北京 100085)

摘要: 以颤蚓为研究对象, 活性污泥为底物, 通过批量培养实验, 考察了颤蚓在20℃和25℃2个不同温度下的生长状况。在16周的培养过程中, 颤蚓在活性污泥中的生长较好地符合Logistic曲线; 25℃更适于颤蚓生长, 颤蚓个体在25℃下体重和体长的增长速率分别是 $0.047\ 0\text{mg}\cdot(\text{条}\cdot\text{d})^{-1}$ 和 $0.193\ 6\text{ mm}\cdot(\text{条}\cdot\text{d})^{-1}$ 。同时, 颤蚓在25℃下的体重-体长关系式为 $W=0.008\ L^{2.028}$ ($R^2=0.868\ 5$), 符合颤蚓科蠕虫体重-体长关系式的一般规律。与其它底物相比, 以活性污泥为底物时的颤蚓生长并未表现出明显差别。

关键词: 活性污泥; 污泥减量; 颤蚓生长

中图分类号: X703 文献标识码: A 文章编号: 0250-3301(2008)05-1342-06

Growth of Tubificidae in Activated Sludge

ZHU Hui, WEI Yuan-song, LIU Jun-xin

(Research Center for Eco-Environmental Sciences, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100085, China)

Abstract: The growth of Tubificidae was investigated from juvenile to adult stage for 16 weeks by cultivating Tubificidae with activated sludge as substrate in batch tests at two different temperatures (20℃ and 25℃), monitoring changes of body length and wet weight of Tubificidae. Results showed that the growth of Tubificidae well fit the Logistic curve. Temperature of 25℃ was more suitable for worm growth than of 20℃, with the growth rates of wet weight and body length of $0.047\ 0\text{ mg}\cdot(\text{ind}\cdot\text{d})^{-1}$ and $0.193\ 6\text{ mm}\cdot(\text{ind}\cdot\text{d})^{-1}$, respectively, at 25℃. Meanwhile, the relationship between body length and wet weight of Tubificidae at 25℃ was determined as $W=0.008\ L^{2.028}$ ($R^2=0.868\ 5$), which was well in accordance with the common regulation concluded in previous studies. Compared with other substrates, Tubificidae showed little difference on growth when fed with activated sludge.

Key words: activated sludge; sludge reduction; growth of Tubificidae

基于生物捕食的原理, 直接向活性污泥系统中投加寡毛类蠕虫来减少污泥产生量, 被认为是一种经济有效的新方法^[1~17]。活性污泥工艺的运行条件主要是保证细菌等微生物对有机污染物的降解, 并不完全适合原、后生动物, 尤其是寡毛类蠕虫的生长, 因此, 寡毛类蠕虫在活性污泥中生长不稳定, 受时节和工艺运行条件影响显著, 从而导致污泥减量效果不理想^[1~6]。因此, 清楚认识寡毛类蠕虫在活性污泥系统中的生长规律, 维持蠕虫的稳定存在是保证污泥减量效果和效率的重要前提。

目前, 用于污泥减量研究的寡毛类蠕虫主要包括: ①游离型蠕虫, 如颤体虫科(Aeolosomatidae)和仙女虫科(Naididae)^[1, 2, 4~6, 12, 15, 17]; ②附着型蠕虫, 如颤蚓科(Tubificidae)^[3, 6, 10~12, 14~16]。其中, 颤蚓因个体较大, 处于水生系统捕食食物链高端, 可能具有更大的污泥减量潜力; 又由于其附着生长、有性繁殖以及耐高污染的生活习性, 相比游离型蠕虫在接种入活性污泥后能更长期、稳定地存在, 加之在全世界范围内广泛存在, 获取方便, 因此成为近年来污泥减量研究中首选的捕食者生物^[7]。以往的学者大多通过野外

观测和利用面粉、莴苣等淀粉、纤维素类食物进行实验室饲养来考察颤蚓的生长情况^[18~30], 但这些研究结果并不能简单地等同于以活性污泥为底物时颤蚓的生长规律, 至少需要实验加以验证。因此, 本研究的目的是以颤蚓为对象, 活性污泥为底物, 通过批量培养实验, 考察颤蚓在不同温度下, 从幼蚓到成蚓的发育过程中, 体长和体重随时间的变化趋势, 明确颤蚓在污泥减量过程中的生长规律, 以为颤蚓污泥减量工艺的研究与开发提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 颤蚓的选取

本研究选取从花鸟鱼虫市场购得的颤蚓(俗称鱼虫)作为实验对象。经过中国科学院水生生物研究所的鉴定, 此类颤蚓实为混合种, 包括霍夫水丝蚓(*Limnodrilus hoffmeisteri*)、苏氏尾鳃蚓(*Branchiura*

收稿日期: 2007-05-24; 修订日期: 2007-06-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(5040821); 国家高技术研究发展计划(863)项目(2007AA06Z347)

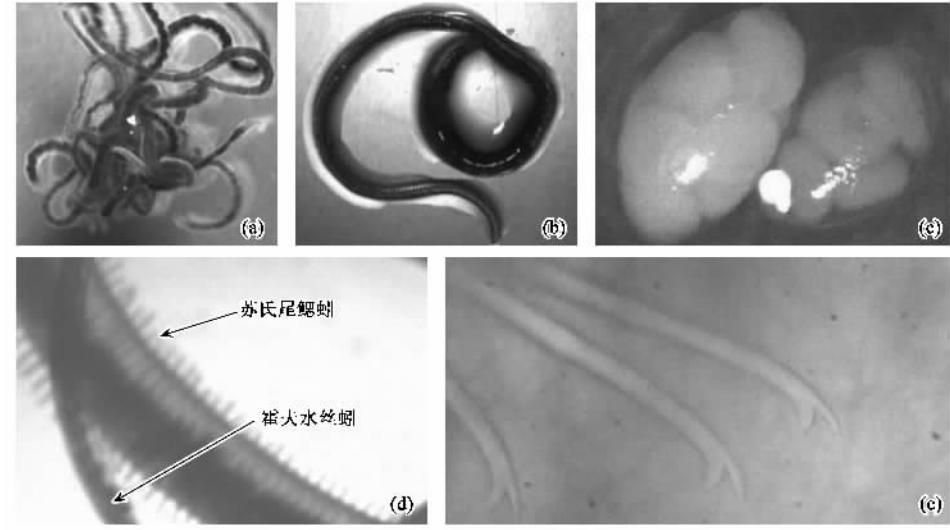
作者简介: 诸晖(1982~), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为水污染控制和污泥处理与处置, E-mail: zhuhui82@gmail.com

* 通讯联系人, E-mail: yswei@rcees.ac.cn

sowerbyi)和正颤蚓(*Tubifex tubifex* Müller)等,其中霍夫水丝蚓占主要组分。这3个种属均是最常见、全世界分布最广的颤蚓科蠕虫,并且耐污染,常作为有机污染水体和富营养化水体的指示生物,同时也是污泥减量研究中最常用的颤蚓种类。霍夫水丝蚓的群体及个体形态、蚓卵和蚓茧、以及纲毛特征等显微照片如图1所示。

由于这3种颤蚓的体态特征、生命周期、生活方式各有不同,理论上需将它们分离后单独培养。然

而,在新生幼虫阶段,能够用来区分这3种颤蚓的刚毛和尾鳃等器官尚未发育完全,很难将它们分离纯培养。而且,购自市场的颤蚓绝大多数为霍夫水丝蚓(*L. hoffmeisteri*),并且,在相关污泥减量的研究和应用中也是直接投加此类混合种颤蚓。因此,本研究将随机挑取此类颤蚓的新生幼虫开始培养,并通过平行实验来平衡种属之间的差别,从而反映出应用于污泥减量时颤蚓的生长情况。文中如不加特别说明,将用“颤蚓”指代这类从市场购得的混合种颤蚓科蠕虫。



(a)霍夫水丝蚓群体; (b)霍夫水丝蚓个体, $6\times$; (c)霍夫水丝蚓蚓卵, $12\times$
(d)霍夫水丝蚓和苏氏尾鳃蚓, $12\times$; (e)霍夫水丝蚓刚毛, $1000\times$

图1 所选颤蚓的形态特征

Fig.1 Pictures of the selected *Tubificidae*

1.2 培养方法

颤蚓培养通常从蚓卵阶段开始,但由于自市场购得的颤蚓中少有蚓卵,若通过实验室培养成虫来繁殖蚓卵,不仅实验周期长,而且也不易大量得到发育阶段保持同步的蚓卵。同时,考虑到颤蚓在活性污泥中发挥捕食能力并非处于蚓卵发育阶段,因此,本研究挑取5 mm左右的新生幼虫开始培养,并通过3组平行实验来平衡颤蚓个体间的生长差异。

颤蚓培养在25 mL烧杯中进行,每个烧杯作为1个培养单元。每个培养单元中放置10条未性熟、体长均一、且小于5 mm的颤蚓幼虫,随后向每个培养单元中投加活性污泥混合液15 mL。活性污泥混合液来自于本实验室用于处理生活废水的传统活性污泥工艺(CAS)曝气池,污泥指标为:pH 6.19; TSS 2.92 g·L⁻¹; VSS/TSS 0.72; COD 2 789 mg·L⁻¹; SCOD 41.26 mg·L⁻¹。培养实验分别置于20℃和25℃度控温振荡器中,振荡速率为50 r·min⁻¹。每个培养温度

下分别设培养单元60个。培养过程中,每星期换活性污泥1次,每次换泥时将培养单元中10条颤蚓取出、洗净后,重新投加污泥混合液15 mL(TSS ≈ 3 g·L⁻¹),以保证食物的充足和新鲜。

1.3 取样和指标测量

自颤蚓培养实验启动开始,每1周(7 d)从2个培养温度下的所有培养单元中随机取出3个培养单元作为3个平行样,进行破坏式测量。将每一培养单元中所有10条颤蚓取出,在蒸馏水中冲洗干净,加入1 mL 10% 福尔马林(formalin)固定。放置30 min后,测定每条颤蚓的体长L和体重W。对每个培养单元,取10条颤蚓体重和体长的平均值作为此培养单元中颤蚓的生长数据,然后再对3个平行样中的颤蚓生长数据求其平均值和标准差,最终确定为相同培养温度,相同取样时刻下颤蚓的生长数据。

体重W测量:每条颤蚓在显微照相后,立即转移至滤纸上(以免在显微镜灯光下照射过久发生

体干裂),用滤纸吸干其体表水分后,使用测量精度为0.0001的电子分析天平测量其湿重。电子分析天平为美国 Ohaus 公司出品的 Adventurer, 型号为 AR2140 的电子分析天平, 最大量程 210 g, 精度 0.0001 g。

体长 L 测量:采用显微照相^[30]和软件测量长度的方法,放大倍数 6 倍。所用显微镜为 Motic 公司的 K-400L 体视显微镜(PK43000200), 所用测量软件为 Motic 公司的 Motic Images Advanced 3.2.

2 结果与分析

2.1 不同温度下颤蚓体重和体长变化趋势

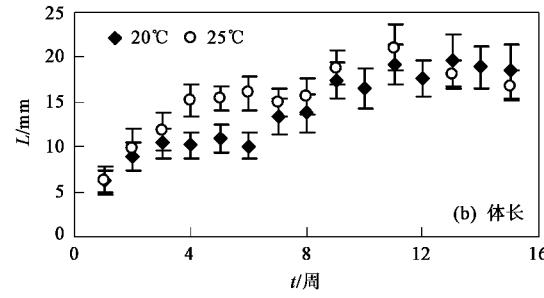
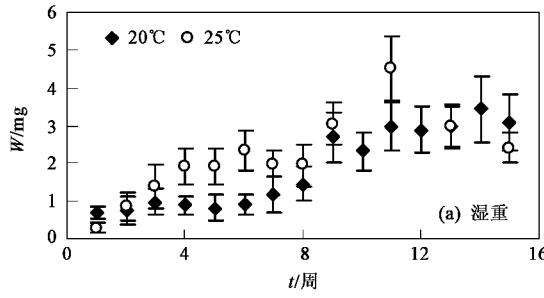


图 2 不同温度下颤蚓体长和湿重的变化趋势

Fig. 2 Variations of wet weight and body length of *Tubificidae* at two different temperatures

始发育的前 4 周, 生长最为迅猛, 而后体长和体重进入缓慢增长和波动起伏阶段, 这与颤蚓进入性成熟和产卵期有关。待 12 周以后, 20℃ 下培养的颤蚓生长进入稳定期; 而 25℃ 下颤蚓生长更快, 但由于大量产卵和进入衰老期, 其体重和体长反而有所下降。

2.2 生长曲线和生长速率

参考有关文献, 寡毛类蠕虫的生长趋势一般符合 Logistic 函数^[24, 25]。利用 Origin7.5 数据分析软件, 将颤蚓在 20℃ 和 25℃ 下的体重和体长变化曲线以 Logistic 方程进行拟合, 拟合时体长和体重的上限(upper bound)取其培养过程中体长和体重的最大值,

表 1 颤蚓在不同温度下体重和体长的 Logistic 回归方程和生长速率

Table 1 Logistic regression and increase rate of wet weight and body length of *Tubificidae* at two different temperatures

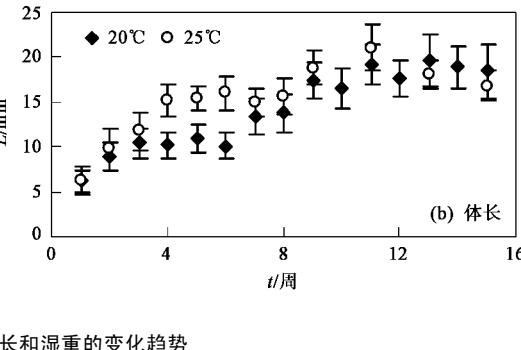
指标	温度/℃	Logistic 回归方程	R ²	生长速率
体重 W/mg	20	$W = 3.7 / (1 + 11.474 \cdot 2e^{-0.0429t})$	0.9158	$0.0354 \text{ mg} \cdot (\text{条} \cdot \text{d})^{-1}$
	25	$W = 4.7 / (1 + 7.798 \cdot 9e^{-0.0435t})$	0.8213	$0.0470 \text{ mg} \cdot (\text{条} \cdot \text{d})^{-1}$
体长 L/mm	20	$L = 21 / (1 + 2.602 \cdot 5e^{-0.0323t})$	0.9230	$0.1407 \text{ mm} \cdot (\text{条} \cdot \text{d})^{-1}$
	25	$L = 22 / (1 + 2.238 \cdot 3e^{-0.0404t})$	0.8718	$0.1936 \text{ mm} \cdot (\text{条} \cdot \text{d})^{-1}$

颤蚓体重 W 和体长 L 之间的关系也是一项重要指标, 这为表征和测量颤蚓生物量的不同指标之间的转化提供了依据。根据以往文献中颤蚓体重和

根据相关文献报道, 20~25℃ 是颤蚓生长、繁殖最适宜的温度^[27~29], 并且以往对颤蚓的培养也大多在这 2 个温度附近进行, 因此, 本研究选取 20℃ 和 25℃ 作为培养颤蚓时的温度, 有利于对实验结果的分析和比较。

图 2 表示以活性污泥为底物时, 分别在 20℃ 和 25℃ 下, 在大约 16 周的时间内, 颤蚓从新生幼体到成虫期的体长 L 和体重 W 的增长趋势。由图 2 可知, 在 25℃ 下, 颤蚓的生长较在 20℃ 下要快得多, 这与多数文献报道的一致: 25℃ 是霍夫水丝蚓、正颤蚓等种属最适宜的生长温度^[23~29]。

此外, 颤蚓的生长并不保持线性规律, 在幼体开



拟合结果见图 3。需要说明的是, 由于颤蚓在 25℃ 下, 12 周后的体重和体长数据均发生下降, 因此, 此处只对 25℃ 颤蚓在 12 周之前的数据进行 Logistic 拟合。F 检验表明, 颤蚓生长数据的 Logistic 拟合结果均在 p < 0.01 的水平上显著相关。

本研究中, 颤蚓体重和体长变化的 Logsite 回归方程, 及由此得到的颤蚓在线性生长期表现出的生长速率总结于表 1。由生长速率可以看出, 25℃ 下颤蚓体重和体长的增长速率均大于 20℃ 下相应的增长速率。

2.3 颤蚓体重 W 和体长 L 关系

体长之间的关系式, 对本研究中颤蚓在不同温度下培养时所有个体的体长和体重数据进行幂函数拟合, 结果见图 4。从中可见, 在 20℃ 和 25℃ 温度下, 颤

蚓体重(W)和体长(L)关系相近,分别为 $W = 0.016 L^{1.7489}$ ($R^2 = 0.7359$) 和 $W = 0.008 L^{2.028}$ ($R^2 = 0.8685$),且以幂函数对体重体长数据进行拟合时的相关性较高.

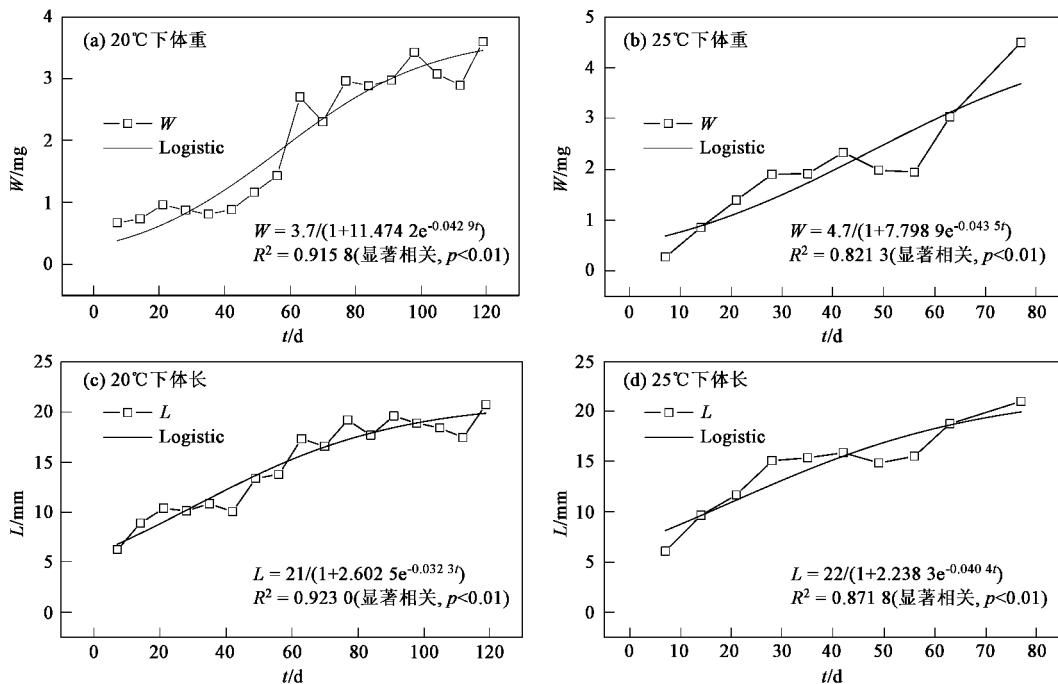


图3 不同温度下颤蚓体长和湿重的 Logistic 回归分析

Fig. 3 Logistic regression analysis of body length and wet weight of *Tubificidae* at two different temperatures

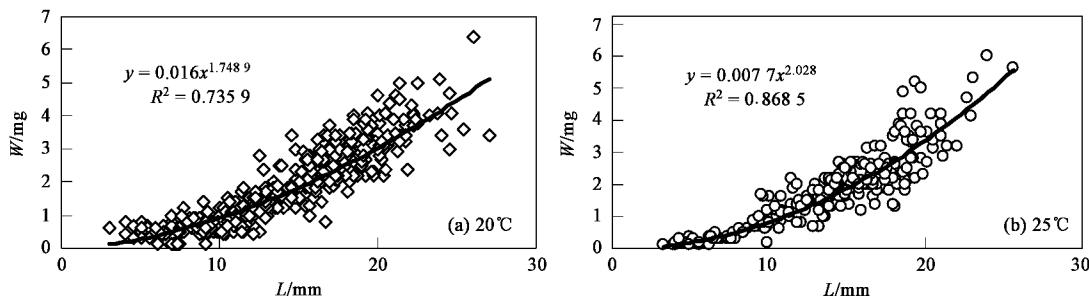


图4 不同温度下颤蚓体长和湿重的相互关系

Fig. 4 Relationship between body length and wet weight of *Tubificidae* under different temperatures

3 讨论

在以往的研究中,实验室培养颤蚓科蠕虫时多数采用正颤蚓(*T. tubifex* Müller)作为实验对象^[19, 20, 23~25, 28],并且大多喂以莴苣、面粉和大豆粉等非活性的高淀粉、高纤维素类食物^[23, 24, 26].只有Finogenova等^[25]曾使用活性污泥和淤泥分别作为正颤蚓的生长底物,比较了不同营养水平的底物对正颤蚓生长繁殖的影响,发现以活性污泥为底物时正颤蚓的生长速率是以淤泥为底物时的2倍.

表2总结了以往文献,以湿重增长来表征的寡

毛类蠕虫的生长情况.从表2中可以看出,本研究得出的颤蚓(绝大多数为霍夫水丝蚓)在25°C下,以活性污泥为底物时的生长速率约为0.0470 mg•(条•d)⁻¹,与Kosiorek^[23]以莴苣在相似温度下培养正颤蚓得到的生长速率相仿或略低[0.069~0.078 mg•(条•d)⁻¹],说明与其他底物相比,颤蚓在以活性污泥为食时的生长并无明显差别.因此,利用颤蚓进行污泥减量并不是由于其对活性污泥的特殊、高效的捕食选择性.然而,同样是以活性污泥为底物,本研究的结果却只是Finogenova等^[25]所得结果的1/5[0.25~0.28 mg•(条•d)⁻¹],这也许是和颤

蚓种属(Finogenova 等研究中的颤蚓为正颤蚓,本研究中的颤蚓以霍夫水丝蚓为主)、活性污泥性质等因素不同有关。

关于颤蚓体重 W 和体长 L 之间的关系,本研究的实验结果与以往文献中相关数据的比较列于表 3。可以看出,本研究得出的颤蚓体重-体长关系与文献中的相关报道基本一致,符合颤蚓科蠕虫生物学的一般规律;并且主要的 3 种颤蚓科蠕虫(正颤蚓、苏氏尾鳃蚓和霍夫水丝蚓)的体重-体长关系极为近似,这说明作为同科生物,颤蚓科蠕虫的形体形态类似趋同,生长发育过程中体重和体长发育规律相似。

需要说明的是,本研究在测量颤蚓体重体长时,采用了福尔马林固定法来处理颤蚓样品。Kosiorek^[23]认为用福尔马林固定后测量体长,容易使蚓体蜷缩,不易测量,因而他采取乙醚麻醉的方法进行测量。但是,考虑到过多的手工操作极易破坏颤蚓脆弱、微小的身体,因此,本研究采用将颤蚓在体视显微镜下拍照、软件测量的方法,这样既能避免对颤蚓的损伤,也能轻松解决个别颤蚓身体蜷缩引起的测量误差。至于用福尔马林固定颤蚓是否带来蚓体长度上的收缩,只要实验自始至终采用同一种测量方法和标准,那么仍可反映颤蚓体长的相对增长趋势。

表 2 文献中颤蚓科蠕虫的生长速率

Table 2 Literature data of the growth rate of some species of Tubificidae

种类	温度/℃	食物	生长速率或生长速率方程	文献
正颤蚓 <i>T. tubifex</i> Müller	24	莴苣	$0.069 \sim 0.078 \text{ mg} \cdot (\text{条} \cdot \text{d})^{-1}$	[23]
	15		$W = 6.87 / (1 + 136.48 e^{-0.0612t})$	
	20	大豆粉、面粉和莴苣混合物	$W = 5.99 / (1 + 118.8 e^{-0.0918t})$	[24]
	25		$W = 6.82 / (1 + 135.28 e^{-0.1389t})$	
	20.5	活性污泥	前 15 d: $W = 0.044 e^{0.276t}$; $0.25 \sim 0.28 \text{ mg} \cdot (\text{条} \cdot \text{d})^{-1}$ 15 ~ 80 d: $W = [1.922 \sim 0.664 e^{-0.071(t-15)}]^{4.425}$	[25]
颤蚓 Tubificidae		淤泥	$(0.015 \pm 0.006) \text{ mg} \cdot (\text{条} \cdot \text{d})^{-1}$	
	20	活性污泥	$W = 3.7 / (1 + 11.474 2 e^{-0.0429t})$	
	25		$W = 4.7 / (1 + 7.798 9 e^{-0.0435t})$	本研究

表 3 文献中部分颤蚓科蠕虫体重-体长关系式

Table 3 Literature data of the relationship between wet weight and body length of some species of Tubificidae

种属	温度/℃	体重-体长关系式	文献
正颤蚓 <i>T. tubifex</i> Müller	20.5	$W = (0.013 \pm 0.005) L^{1.801 \pm 0.128}$	[25]
	24	$W = 0.006 L^{1.76 \pm 0.3}$	[23]
苏氏尾鳃蚓 <i>B. sowerbyi</i>	野外	$W = 0.020 L^{1.94}$	[31]
颤蚓科 Tubificidae (以霍夫水丝蚓 <i>L. hoffmeisteri</i> 为主)	20	$W = 0.016 L^{1.749}$	
	25	$W = 0.008 L^{2.028}$	本研究

4 结论

(1)以活性污泥为底物培养颤蚓,其体重(湿重)和体长的增长较好地符合 Logistic 曲线规律。温度对颤蚓的生长有影响,25℃比20℃更有利于颤蚓的生长,其在25℃下湿重增长和体长增长的速率分别是0.0470 $\text{mg} \cdot (\text{条} \cdot \text{d})^{-1}$ 和0.1936 $\text{mm} \cdot (\text{条} \cdot \text{d})^{-1}$ 。但与其它底物相比,颤蚓以活性污泥为底物时的生长,并未表现出明显差别。

(2)20℃和25℃下,颤蚓体重-体长关系式分别为 $W = 0.016 L^{1.7489}$ ($R^2 = 0.7359$) 和 $W = 0.008 L^{2.028}$ ($R^2 = 0.8685$),符合颤蚓科蠕虫体重-体长关系式的一般规律。

参考文献:

- [1] Ratsak C H, Kooijman S A L M, Kooi B W. Modelling the growth of an oligochaete on activated sludge[J]. Water Research, 1993, 27(5): 739-747.
- [2] Ratsal C H. Grazer induced sludge reduction in wastewater treatment [D]. Amsterdam: Free University, 1994.
- [3] Rensink J H, Rulkens W H. Using metazoa to reduce sludge production[J]. Water Science and Technology, 1997, 36(11): 171-179.
- [4] Wei Y S, van Houten R T, Borger A R, et al. Comparison performances of membrane bioreactor and conventional activated sludge processes on sludge reduction by Oligochaete [J]. Environmental Science & Technology, 2003, 37(14): 3171-3180.
- [5] 魏源送,樊耀波. 蠕虫污泥减量效果及其影响因素分析[J]. 环境科学, 2005, 26(1): 76-83.

- [6] Lumxy B S, Kubo T, Yamamoto K. Sludge reduction potential of metozoa in membrane bioreactors [J]. Water Science and Technology, 2001, **44**(10): 197-202.
- [7] Wei Y S, van Houten R T, Borger A R, et al. Minimization of excess sludge production for biological wastewater treatment [J]. Water Research, 2003, **37**: 4453-4467.
- [8] 梁鹏, 黄霞, 钱易. 污泥减量化技术的研究进展[J]. 环境污染治理技术与设备, 2003, **4**(1):44-52.
- [9] 魏源送, 樊耀波. 污泥减量技术的研究及其应用[J]. 中国给水排水, 2001, **17**(7):23-26.
- [10] Wei Y S, Liu J X. The discharged excess sludge treated by Oligochaeta[J]. Water Science and Technology, 2005, **52**(10-11): 265-272.
- [11] Wei Y S, Liu J X. Sludge reduction with a novel combined worm-reactor[J]. Hydrobiologia, 2006, **564**: 213-222.
- [12] Liang P, Huang X, Qian Y, et al. Determination and comparison of sludge reduction rates caused by microfaunas' predation [J]. Bioresource Technology, 2006, **97**: 854-861.
- [13] Ratsak C H, Verkuilen J. Sludge reduction by predation activity of aquatic oligochaetes in wastewater treatment plants: science or fiction? A review[J]. Hydrobiologia, 2006, **564**: 197-211.
- [14] Elissen H J H, Hendrickx T L G, Temmink H, et al. A new reactor concept for sludge reduction using aquatic worms[J]. Water Research, 2006, **40**: 3713-3718.
- [15] 梁鹏. 利用微型动物减少剩余污泥产生量的研究[D]. 北京: 清华大学, 2004.
- [16] Huang X, Liang P, Qian Y. Excess sludge reduction induced by *Tubifex tubifex* in a recycled sludge reactor [J]. Journal of Biotechnology, 2007, **127**: 443-451.
- [17] Liang P, Huang X, Qian Y. Excess sludge reduction in activated sludge process through predation of *Aeolosoma hemprichi* [J]. Biochemical Engineering Journal, 2006, **28**: 117-122.
- [18] Bonacina C, Bonomi G, Monti C. Progress in cohort culture of aquatic Oligochaeta[J]. Hydrobiologia, 1987, **155**: 163-169.
- [19] Bonacina C, Bonomi G, Monti C. Population analysis in mass of *Tubifex tubifex*[J]. Hydrobiologia, 1989, **180**: 127-134.
- [20] Bonacina C, Bonomi G, Monti C. Density-dependent processes in cohorts of *Tubifex tubifex*, with special emphasis on the control of fecundity[J]. Hydrobiologia, 1989, **180**: 135-141.
- [21] Kennedy C R. The life history of *Limnodrilus hoffmeisteri* Clap. (Oligochaeta: Tubificidae) and its adaptive significance[J]. Oikos, 1966, **17**: 158-168.
- [22] Cassellato S. Life cycle and karyology of *Branchiura sowerbyi* Beddard (Oligochaeta, Tubificidae) [J]. Hydrobiologia, 1984, **115**: 65-69.
- [23] Kosiorek D. Development cycle of *Tubifex tubifex* Müller in experimental culture[J]. Pol Arch Hydrobiologia, 1974, **21**: 411-422.
- [24] 李仁熙. 正颤蚓的生长发育及繁殖生物学的研究[J]. 水生生物学报, 2001, **25**(1): 14-20.
- [25] Finogenova N P, Lobasheva T M. Growth of *Tubifex tubifex* Müller (Oligochaeta, Tubificidae) under various trophic conditions [J]. International Revue der gesamten Hydrobiologie, 1987, **72**(6): 709-726.
- [26] 陈旭, 朱琳, 王启山, 等. 红虫生长发育及繁殖的生物学研究[J]. 给水排水, 2005, **31**(6): 38-40.
- [27] Reynoldson T B. The role of environmental factors in the ecology of tubificid oligochaetes-an experimental study[J]. Holarctic Ecology, 1987, **10**: 241-248.
- [28] Reynoldson T B, Rodriguez P, Madrid M M. A comparison of reproduction, growth and acute toxicity in two populations of *Tubifex tubifex* (Müller, 1774) from the North American Great Lakes and Northern Spain[J]. Hydrobiologia, 1996, **334**: 199-206.
- [29] Aston R J. The effect of temperature on the life cycle, growth and fecundity of *Branchiura sowerbyi* (Oligochaeta: Tubificidae) [J]. Journal of Zoology, 1968, **154**: 29-40.
- [30] Abrahamsen G. Studies on body-volume, body-surface area, density and live weight of Enchytraeidae (Oligochaeta) [J]. Pedobiologia, Bd, 1973, **13**(S): 6-15.
- [31] Liang Y L. Annual production of *Branchiura sowerbyi* (Oligochaeta: Tubificidae) in the Donghu Lake, Wuhan, China [J]. Chinese Journal of Oceanology and Limnology, 1984, **2**: 102-108.