

# 光、温对鼠尾藻卵子排放和幼孢子体生长的影响

梁洲瑞<sup>1,2</sup> 孙修涛<sup>1</sup> 王飞久<sup>1\*</sup> 汪文俊<sup>1</sup> 丁昌玲<sup>1</sup> 李涛<sup>1</sup> 刘坤<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup>农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

(<sup>2</sup>上海海洋大学水产与生命学院, 201306)

**摘要** 以成熟的鼠尾藻生殖托为材料, 研究了不同温度(13~23 °C)、光照度(3 000~12 000lx)和光照周期(15 L : 9 D, 12 L : 12 D, 9 L : 16 D)对鼠尾藻排卵及幼孢子体生长的影响。结果显示, 温度在20~23 °C范围, 有利于鼠尾藻卵子的排放; 在3 000~12 000lx范围内, 光照度越高, 越有利于鼠尾藻卵子的排放; 光周期不是影响卵子排放的主要因素, 光照度是鼠尾藻幼孢子体生长的重要因子; 温度是制约鼠尾藻幼孢子体生长的关键因子, 水温低于16 °C时不利于幼孢子体的快速生长。

**关键词** 鼠尾藻 卵子 孢子体 温度 光 排放

**中图分类号** Q945.53, Q945.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2012)01-0109-05

## Effects of light and temperature on egg releasing and young sporophyte growth of *Sargassum thunbergii*

LIANG Zhou-ru<sup>1,2</sup> SUN Xiu-tao<sup>1</sup> WANG Fei-jiu<sup>1\*</sup> WANG Wen-jun<sup>1</sup>

DING Chang-ling<sup>1</sup> LI Tao<sup>1</sup> LIU Kun<sup>1,2</sup>

(<sup>1</sup> Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resources, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

(<sup>2</sup> School of Aquatic and Life, Shanghai Ocean University, 201306)

**ABSTRACT** The mature receptacles of *Sargassum thunbergii* were used as materials in this experiment. The effects of temperature(13~23 °C), illumination (3 000~12 000lx) and photoperiod (15 L : 9 D, 12 L : 12 D, and 9 L : 16 D) on egg releasing and young sporophyte growth of *S. thunbergii* were investigated. It was found that it is conducive to releasing eggs at 20~23 °C. Between 3 000~12 000lx, higher illumination was more favorable for releasing eggs. Photoperiod was not the main factor of affecting the egg releasing speed. Illumination was an important but not a key factor for the growth of *S. thunbergii* young sporophyte. Temperature was a key factor for the growth of young sporophyte. Temperature below 16 °C was not conducive to the growth of young sporophyte.

**KEY WORDS** *Sargassum thunbergii* Egg Sporophyte Temperature

国家“863”项目(2006AA10A416, 2012AA100813)和公益性行业(农业)专项(200903030)共同资助

\* 通讯作者。E-mail: wangfj@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2011-02-01; 接受日期: 2011-04-21

作者简介: 梁洲瑞(1986-), 男, 硕士研究生, 主要从事海藻生物学研究。E-mail: liangzhou Rui@163.com, Tel: 15553208252

## Light Releasing

鼠尾藻 *Sargassum thunbergii* 属于褐藻门、马尾藻属。鼠尾藻的有性生殖重要阶段——精子、卵子的产生,是人工育苗的关键。卵子排放的数量和排放的快慢直接影响了育苗效率的高低,从而影响到养殖效益。鼠尾藻受精卵早期发育(即幼孢子体阶段)的好坏也直接影响到幼苗后期的生长。另外,如果由于室内养殖条件的不成熟或其他原因,需要延迟鼠尾藻的采苗时间,也需要探索出适宜的排卵延迟条件。因此,对鼠尾藻排卵机制及幼孢子体生长的研究极其重要。

国内已有学者做过一些关于鼠尾藻幼孢子体生长所适宜的光温条件的初步探索(王飞久等 2006;赵凤娟 2007;赵自国 2008;崔志峰 2009;许博 2009)。但对于鼠尾藻排卵机制及限制因子还了解得不够,对于幼孢子体生长受光、温影响也研究得不够全面。为进一步了解鼠尾藻排卵及幼孢子体生长的规律和适宜条件,并期望实现人为地控制卵的排放,为鼠尾藻的人工繁育和养殖生产提供科学依据。

### 1 材料和方法

#### 1.1 材料

实验所用海水为青岛近岸的海水。于2010年7月中旬在青岛太平角潮间带礁石区采集近成熟的鼠尾藻雌、雄藻体,室内在显微镜下检查生殖托的成熟情况,选择还没有排放卵的个体,用海水洗刷数次后,置于低温室暂养。培养液采用灭菌海水,添加营养盐( $\text{NO}_3^-$ -N:3 mg/L,  $\text{PO}_4^{3-}$ -P:0.3 mg/L)。

#### 1.2 方法

实验材料置于GXZ智能型光照培养箱(宁波江南仪器厂),在每个250 ml的烧杯中放入适量鼠尾藻雌雄生殖托(雌托30~60个,雌:雄=3:1),烧杯底部放入两层灭菌纱布,用于受精卵的附着和收集。幼孢子体长度的测量使用测微尺。以下每个处理组设置3个重复。

##### 1.2.1 温度对鼠尾藻卵子排放及幼孢子体生长的影响

据王飞久等(2006)研究的结果,本研究将温度设定为13、16、20、23℃4个组,光照周期为15L:9D,光强3000~3500lx,每3d更换1次培养液。每天在显微镜或解剖镜下观察,检测并记录4项指标:1)开始有卵产生所需天数;2)开始排卵当天,有卵生殖托的比例;3)开始排卵当天,卵子覆盖生殖托面积在50%以上的生殖托比例;4)卵子受精后培养至第7天时幼孢子体的长度( $n=30\sim50$ )。

##### 1.2.2 光周期对鼠尾藻卵子排放、卵子死亡率及幼孢子体生长的影响

从藻体分离适量鼠尾藻雌托(30~60个)与雄托,分成两组,培养温度均为20℃。1组进行雌托的单独培养,两组进行混养(雌:雄=3:1)。每一组都设置15L:9D,12L:12D,9L:16D的3个光照周期。光照度均为3000~3500lx,每3d更换1次培养液。对于雌托单独培养组,培养一定天数(3、5、7d)后,取部分生殖托,用镊子夹住并摇动,收集卵子,显微镜下统计卵子死亡率。对于混养组,检测并记录3项指标:1)开始有卵产生所需天数;2)开始排卵当天,有卵生殖托的比例;3)卵子受精后培养至第7天时幼孢子体的长度( $n=30\sim50$ )。

##### 1.2.3 光照度对鼠尾藻卵子排放的影响

设置10000~12000、5000~6000、3000~3500lx共3个光照度组。温度设置为18℃,光照周期均为12L:12D,每3d更换1次培养液。每天在显微镜或解剖镜下观察,检测并记录4项指标:1)开始有卵产生所需天数;2)开始排卵当天,有卵生殖托的比例;3)全部生殖托都有卵排放所需天数;4)卵子受精后培养至第7天时幼孢子体的长度( $n=30\sim50$ )。

### 1.3 数据处理

数据分析采用Excel、SPSS软件(用One-Way ANOVA法进行显著性差异分析),作图采用GraphPad

Prism 软件。 $P < 0.05$  表示显著差异,  $P < 0.01$  表示极显著差异。

## 2 结果

### 2.1 不同光温条件对鼠尾藻卵子排放的影响

#### 2.1.1 不同温度对鼠尾藻卵子排放的影响

20 和 23 °C 下,鼠尾藻雌托有卵排放仅需约 6、5 d(均是取平均数,下同);13 和 16 °C 下,约分别在 26、17 d 后才开始排卵,与 20 和 23 °C 两个温度处理组的对比均有显著差异( $P < 0.05$ )。13 和 16 °C 下,开始排卵当天,排卵生殖托的比例与 20、23 °C 相比,也均有显著差异( $P < 0.05$ )(图 1)。20 和 23 °C 下,卵覆盖托面积在 50% 以上的生殖托比例分别约为 20%、60%;13 和 16 °C 下,卵覆盖托面积在 50% 以上的生殖托比例均为 0(表 1)。由此可知,13~23 °C 的范围内,鼠尾藻雌托均能排卵;温度越高,卵子排放越早,排放量越大。20~23 °C 是卵子排放的适宜温度范围。

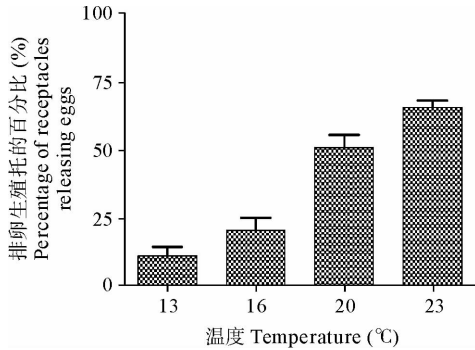


表 1 不同温度下,开始排卵当天卵覆盖托面积在 50% 以上的生殖托比例

Table 1 Percentage of receptacles releasing eggs covering areas above 50% at different temperature

温度 Temperature(°C)	13	16	20	23
生殖托 Receptacle	0	0	20%	60%

图 1 不同温度下,开始排卵当天有卵生殖托比例

Fig 1 Percentage of receptacles releasing eggs at different temperature

#### 2.1.2 不同光周期对鼠尾藻卵子排放、卵子死亡率的影响

同为 20 °C,不同光周期下,卵开始排放所需天数均为 6 d。15 L : 9 D 与 9 L : 16 D 两个不同的光照周期处理组对比,开始排卵当天有卵生殖托比例呈现显著性差异( $P < 0.05$ ),见图 2。由图 3 可知,不同光周期下,培养一定天数后未受精的卵子的死亡率有所不同。同样的培养天数下,长时间光照组的卵子死亡率略低于短时间光照组。但到了第 7 天后,所有组的卵子死亡率都达到了 90% 以上,说明几乎所有的卵子都已死亡。

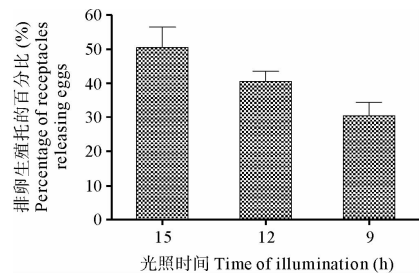


图 2 不同光周期,开始排卵当天有卵生殖托比例

Fig. 2 Percentage of receptacles releasing eggs at different photoperiod

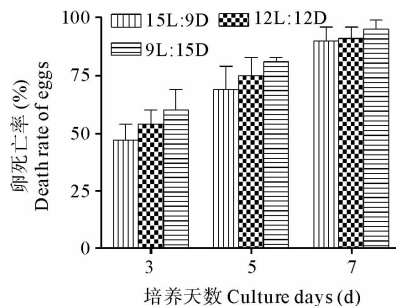


图 3 不同光周期,数天后未受精的卵子的死亡率

Fig. 3 Death rate of eggs unfertilized at different photoperiod after several days

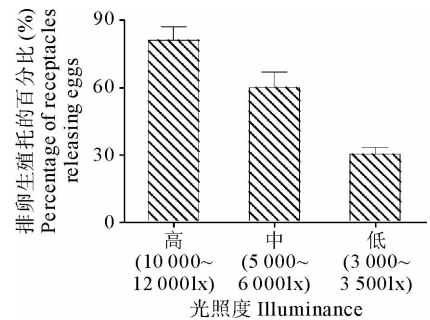


图 4 不同光照度,开始排卵当天有卵生殖托的比例

Fig. 4 Percentage of receptacles releasing eggs at different illuminance

### 2.1.3 不同光照度对鼠尾藻卵子排放的影响

在 3 000~12 000lx 的光照度范围内,光照度越强,卵子排放越早,排放量越大。18 °C,高(10 000~12 000lx)、中(5 000~6 000lx)、低(3 000~3 500lx)3 个不同光照度下,卵开始排放所需天数分别约为 14、16、17 d (均是取平均数,下同)。高、低两个光照度处理间对比,开始排卵当天有卵生殖托的比例呈显著差异( $P < 0.05$ ),见图 4。高、中、低 3 个不同光照度下,自开始有卵排放起约 24、36、60 h 后,全部生殖托都排卵;高、低两个光照度处理间对比也呈显著差异( $P < 0.05$ ),见表 2。

## 2.2 不同光温条件对鼠尾藻幼孢子体生长的影响

本研究中,不同环境条件下,从幼孢子体产生到幼孢子体落托所需时间都是:24~48 h 内少量落托;第 3 天后大量落托。

### 2.2.1 不同温度对鼠尾藻幼孢子体生长的影响

由表 3 可知,在 13~23 °C 范围内,温度越高,鼠尾藻幼孢子体生长越快。13 °C 处理组,自卵子受精后培养至第 7 天,幼孢子体的长度与 20 °C 组相比呈显著性差异( $P < 0.05$ ),与 23 °C 组相比呈极显著性差异( $P < 0.01$ )。16 °C 处理组,自卵子受精后培养至第 7 天,幼孢子体的长度与 23 °C 组相比呈显著性差异( $P < 0.05$ )。

### 2.2.2 不同光照周期、光照度对鼠尾藻幼孢子体生长的影响

由图 5 可知,不同的光周期对鼠尾藻幼孢子体的生长有一定影响,但影响程度不大。经过  $T$  检验,3 个不同的光周期处理间对比,鼠尾藻幼孢子体的长度差异不显著( $P > 0.05$ )。由图 6 可知,中等光照度较利于幼孢子体的生长,高光照度处理下的幼孢子体长度最短。经  $T$  检验,中、高两个不同的光照度处理间对比,鼠尾藻幼孢子体的长度差异显著( $P < 0.05$ );中、低两个不同的光照度处理间对比,鼠尾藻幼孢子体的长度没有显著差异( $P > 0.05$ ),但低光照度组的幼孢子体长度略小于中等光照度组。

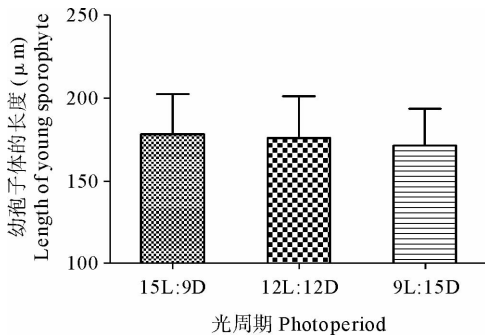


图 5 不同光周期下,自卵子受精后培养至第 7 天时鼠尾藻幼孢子体的长度

Fig. 5 Length of *S. thunbergii* young sporophyte after 7 days at different photoperiod

表 2 不同光照度下,全部生殖托都有卵排放所需时间

Table 2 Time needed when all receptacles release eggs at different illuminance

光照度 Illumination(lx)	10 000~12 000	5 000~6 000	3 000~3 500
自开始出现卵排放起, 全部生殖托都有卵排 放所需时间	约 24 h 后	约 36 h 后	约 60 h 后

表 3 不同温度下,自卵子受精后培养至第 7 天时鼠尾藻幼孢子体的长度

Table 3 Length of *S. thunbergii* young sporophyte after 7 days at different temperature

温度 Temperature (°C)	培养 7 d 后鼠尾藻幼孢子体的平均长度±标准差 (μm)
13	166.91±20.32
16	169.54±21.25
20	175.79±25.17
23	186.66±20.45

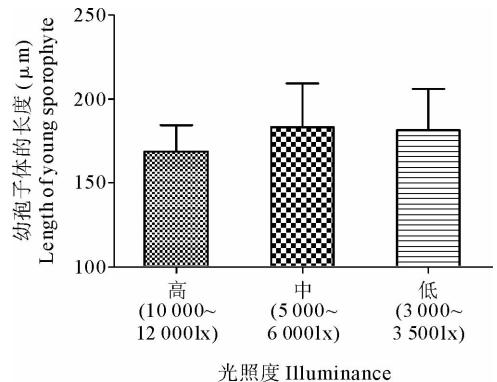


图 6 不同光照度下,自卵子受精后培养至第 7 天时鼠尾藻幼孢子体的长度

Fig. 6 Length of *S. thunbergii* young sporophyte after 7 days at different illuminance

### 3 讨论

张鑫(2007)对羊栖菜光合作用研究的结果表明,长光照周期可以促进羊栖菜卵子的排放,延长羊栖菜卵子的存活时间,提高卵子的受精效率。王军等(1999)的研究表明,温度与光照度对海带配子体的生长具有相互补偿的作用;温度是影响海带配子体成熟的主要因子,光照度只是辅助因子。本研究发现,在短光周期培养条件下,鼠尾藻卵子腐烂脱落较快,卵子的活性时间短,生命力弱。这表明光周期对于鼠尾藻卵子生长存活的重要性。但同样的培养天数下,不同光周期组的鼠尾藻的卵子开始排放所需天数是一样的,卵子死亡率有差异但并未达到显著程度,幼孢子体的生长也无明显的影响,这表明光周期可能只是鼠尾藻的卵排放及幼孢子体生长的辅助因子。卵子的成熟和排放是一种需要较多营养和能量的过程(Zou *et al.* 2006)。在本实验条件下,10 000~12 000 lx 的高光照度并没有抑制鼠尾藻生殖托的排卵,反而有促进作用,原因可能是在此光照度下藻体可保持较强的光合速率,从而为卵子的发育和排放提供足够的能量,也可能与温度设置有关。温度与光照度对鼠尾藻卵子的成熟和排放是否具有相互补偿的作用,这有待于通过正交设计或均匀设计等实验方法来进一步验证。

3 000~3 500 lx 下,温度在 20~23 °C 范围,有利于鼠尾藻卵子的排放。这表明在一定温度范围内,较高的温度可能使鼠尾藻生殖托新陈代谢加快从而促进卵子的成熟和排放,相关机制有待深入探讨。由此,在鼠尾藻排卵季节,应尽量把鼠尾藻置于水的上层适宜水温下培养。如果要延迟鼠尾藻的排卵时间,可采集基本本长大成形、生殖托未排放卵的鼠尾藻,将其置于低温、弱光条件下培养,在需要进行采苗时,再将其置于适宜温度下培养。另外,在实验中还发现,在 20~23 °C 范围内,有少部分生殖托开始排卵后,第 2 天所有的生殖托(无论个体的大小)均有排放。这说明鼠尾藻生殖托的大小并不影响其排卵的速度,部分生殖托的排卵可能会促进其他生殖托的排卵。

梁军等(2005)的研究表明,条斑紫菜孢子体在温度 18 °C,光照度 2 320 lx 时具有最高的 PS I 和 PS II 活性。张鑫(2007)对羊栖菜幼孢子体的研究结果表明高光强对幼孢子体有一定损伤作用。而本研究也发现,高光照度条件下,鼠尾藻幼孢子体的生长受到了影响,这可能是由于较高的光照度使其光合过程受到抑制,相关机制有待深入探讨。由此可得,鼠尾藻幼孢子体不适合在强光条件下生长,在鼠尾藻排卵初期可以进行强光照,其后应降低光照度。

温度是制约鼠尾藻幼孢子体生长的关键因子。有研究认为,温度增加,叶绿素 a 含量增加(Topinka 1978)。大部分海藻的光合作用适宜温度是 20 °C(Tseng *et al.* 1957)。当水温低于 16 °C 时,鼠尾藻幼孢子体生长缓慢,这可能与其光合作用受抑制有关,有待于通过叶绿素荧光、光合速率等参数的测定来验证。在种苗生产中,对鼠尾藻幼孢子体的生长来讲,温度是优先考虑的因子,需要放于适宜生长的水层,使其正常生长。

### 参 考 文 献

- 王飞久,孙修涛,李 锋. 2006. 鼠尾藻的有性繁殖过程和幼苗培育技术研究. 海洋水产研究,27(5): 1~6
- 王 军,张泽宇,张晓东. 1999. 温度与照度对利尻海带配子体及幼孢子体的影响. 中国水产,(2): 39~41
- 许 博. 2009. 鼠尾藻(*Sargassum thunbergii*)繁殖生态学. 见:中国海洋大学博士研究生学位论文
- 朱明远,吴荣军,李瑞香,岳国锋,孙丕喜, Jean-Marc Deslous-Paoli, Isabelle Auby. 2004. 温度对海带幼孢子体生长和光合作用的影响. 生态学报, 24(1): 22~27
- 李宏基,李庆扬. 1966. 裙带菜孢子体的生长发育与温度的关系. 海洋与湖沼,(2): 140~152
- 张 鑫. 2007. 羊栖菜有性繁殖与光合作用研究. 见:汕头大学硕士研究生学位论文
- 赵凤娟. 2007. 马尾藻种群遗传及早期发育的研究. 见:中国科学院博士研究生学位论文
- 赵自国. 2008. 三种大型海藻的早期发育研究. 见:东北师范大学博士研究生学位论文
- 胡敦清. 1984. 光照强度对巨藻幼孢子体生长的影响. 海洋水产研究,(6): 21~26
- 胡敦清,王飞久. 1986. 光照时间与巨藻配子体和幼孢子体生长关系的研究. 海洋水产研究,(7): 17~26
- 梁 军,张海霞, Guenter F., Hartmut, M., 彭国宏. 2005. 温度、光强和 pH 对条斑紫菜孢子体和配子体类囊体膜上光系统活性的影响. 海洋科学,29(9): 14~18
- 崔志峰. 2009. 烟台沿海鼠尾藻的生态学研究. 见:中国农业科学院硕士研究生学位论文
- Topinka, J. 1978. Nitrogen uptake by *Fucus spiralis* (Phaeophyceae). Journal of Phycology, 14(3): 241~247
- Tseng, C. K., Wu, C. Y., and Sun, G. Y. 1957. The impacts of temperature on growth and development of *Laminaria japonica* sporophytes. Acta Botanica Sinica, 6(2): 103~130
- Zou, D. H., Gao, K. S., and Ruan, Z. X. 2006. Seasonal pattern of reproduction of *Hizikia fusiformis* (Sargassaceae, Phaeophyta) from Nanao Island, Shantou, China. Journal of Applied Phycology, 18(2): 195~201