

鼠尾藻幼苗的室内培养及有性生殖同步化

王丽梅^{1*}, 李世国^{1,2}, 柴雨¹, 高杉¹, 宋广军¹

(1. 辽宁省海洋水产科学研究院, 辽宁 大连 116023;

2. 辽宁师范大学生命科学学院, 辽宁 大连 116029)

摘要: 为了优化鼠尾藻幼苗生长与同步生殖的室内培养条件, 实验以长度为5 cm左右的鼠尾藻幼苗为材料, 在培养箱中给予不同的温度、光照强度和营养盐配比[$\text{KNO}_3(\text{mg}) : \text{KH}_2\text{PO}_4(\text{mg})$]等生长条件, 通过跟踪测量生长情况, 观察记录幼苗形态变化、生殖器官形成及生殖特点, 寻找有利于幼苗室内生长和繁殖的适宜组合条件, 实现生殖托提前发育和受精作用的同步化。实验结果表明, 培养条件对鼠尾藻幼苗长度增长率的影响为温度 > 营养盐配比 > 光照强度; 对质量增长率的影响为温度 > 光照强度 > 营养盐配比。培养温度越低气囊出现时间越早。侧枝的生成与营养盐配比具有一定的关系, 总体上营养盐中 KH_2PO_4 所占比例越高侧枝出现时间越晚。生殖托生成的时间受到温度的影响最为显著。实验中受精卵的形成与脱落也明显受到温度的调节, 温度越高生殖托生长越缓慢, 卵受精时间越晚。光照越强藻体色素含量越低。室内培养的鼠尾藻完成繁殖过程比自然生长的个体提前3~4个月, 并且平均每克藻体可以采苗约300棵。

关键词: 鼠尾藻; 有性生殖; 幼苗培育; 同步受精

中图分类号: Q 968.42⁺⁹; S 917.3

文献标识码: A

鼠尾藻(*Sargassum thunbergii*)主要生长在中潮带和低潮带的岩石上和石沼中^[1], 在我国, 北至辽东半岛、南至雷州半岛的沿海均有分布, 具有较高的耐受潮间带环境胁迫的能力。鼠尾藻藻体营养成分均衡、含胶量低、淀粉含量较高^[2-3], 与其他马尾藻属海藻相比主干短小, 鳞状叶叶质肥厚, 在海参养殖生产中被作为优质饵料, 具有显著的经济价值, 市场需求量不断攀升。进行人工养殖之前, 人们收割自然种群满足生产需要, 由于人为过量采集造成部分沿海鼠尾藻种质资源遭到严重破坏, 有些海域甚至濒临灭绝。与此同时, 鼠尾藻作为海藻牧场的组成物种, 生殖能力强、生物量大, 对维护海岸带生态系统起着重要的调节作用, 其生物量的锐减, 势必对生态平衡造成影响。解决鼠尾藻资源短缺问题需要开展相应的人工养殖, 因此, 近些年来在浙江、山东和辽宁等沿海地区正逐步开展规模化养殖实验^[4-7], 对鼠尾藻繁

殖生物学与幼苗培育技术^[2-3, 8-11]、生长特性与生化组成^[12-15]、种群遗传结构^[16-18]等方面也有了一定的研究报道。

种苗来源是鼠尾藻人工养殖过程中的关键问题和瓶颈, 规模化优质苗种生产成为藻类学工作者努力的方向。鼠尾藻雌雄异株, 具有有性生殖和无性生殖(假根繁殖)两种维持种群生物量和遗传结构的生存方式。利用有性繁殖方式进行人工幼苗培育, 所获得的后代植株数量较多, 遗传多样性丰富, 又可以避免由于大量采集野生鼠尾藻假根造成的资源破坏。然而, 野生鼠尾藻雌雄生殖托的性成熟具有不同步性, 受到各种海洋环境因素的影响^[7], 这在一定程度上影响了人工苗种的数量和质量。

实验以鼠尾藻幼苗为材料, 在室内培养箱中给予不同的温度、光照强度和营养盐配比等生长条件, 通过跟踪测量生长情况、观察记录幼苗形态

收稿日期:2010-10-16 修回日期:2011-01-05

资助项目:辽宁省海洋与渔业科研项目(200801);大连市科技兴海示范工程(2007BNC065)

通讯作者:王丽梅, E-mail:Meizi4687@sina.com

变化、生殖器官形成及生殖特点等一系列数据,寻找有利于幼苗室内生长和繁殖的适宜条件,实现生殖托提前发育和受精作用的同步化。

1 材料与方 法

1.1 幼苗采集与处理

鼠尾藻幼苗于2010年6月大潮时采集自大连市长海县大长山岛海域,采集时海水表面温度14℃,盐度35.5,幼苗平均长度5cm。利用随机采样法收集生长旺盛且个体完整的鼠尾藻,立即盛于低温采集箱中运回实验室。灭菌海水冲洗后在实验室翻滚水箱中恢复培养一周:光照强度、温度及光周期随室内自然条件。实验前藻体用灭菌海水冲洗3次,1%聚维碘酮浸泡3min,继续使用灭菌海水冲洗3次去除杂质和菌类污染,材料备用。

1.2 培养条件

实验中设置3个影响因素:光照强度、温度和营养盐配比。各个变量设置水平温度:15、20、25℃;光照强度:60、100、160、200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$;营养盐配比 $[\text{KNO}_3(\text{mg}):\text{KH}_2\text{PO}_4(\text{mg})]=1:5、1:10、5:1、10:1$ 。将消毒处理后的鼠尾藻个体置于1000mL烧杯中,每个烧杯中放置鼠尾藻幼苗5棵,测量初始藻体的长度和质量并控制长度在 (5 ± 1) cm,添加1000mL含有不同比例营养盐的培养液,在智能型光照培养箱中通气培养,光周期12h:12h(L:D),每隔3天更换相同成分的培养液。

1.3 数据测量与分析

实验开始后每周测量鼠尾藻生长发育相关指标:藻体长度利用直尺测量;藻体鲜重利用天平测量,测量前用灭菌滤纸吸收表面水分;实验过程中观察记录气囊出现时间及数量、侧枝出现时间和数量、生殖托出现时间和数量、生殖托成熟时间、受精卵脱落时间等有性繁殖数据。将鼠尾藻育苗布条缠绕在载玻片上,藻体成熟后将载玻片置于烧杯底部以使脱落的受精卵附着,统计附着的受精卵发育后生成的幼苗数量。

实验结束后按下面公式计算生长率和增重率^[19]: $[(W_2/W_1)^{1/t} - 1] \times 100\%$ 。其中: W_1 为藻体初始鲜重(g)或长度(cm); W_2 为实验结束时藻体鲜重(g)或长度(cm); t 为实验时间(d)。

从每个烧杯的5棵鼠尾藻中随机选择3棵,剪取0.1g藻体测量色素含量:灭菌滤纸吸干水分,盛于研钵中,向研钵中加入80%丙酮2mL以

及少许无水碳酸钙和石英砂,研磨藻体成匀浆,转移至2mL离心管中,再加入80%丙酮冲洗研钵,在暗处静止5min后,将提取液于4000r/min下离心15min,取上清液,用80%丙酮在棕色容量瓶中定容至25mL,摇匀。把色素提取液倒入光径1cm的比色皿内,以80%丙酮为参比对照,于480、510、639、647、664nm波长下测定吸光度。色素浓度及含量按照下面公式计算^[20]:

$$\text{叶绿素 a 浓度 (mg/L)} = 11.85 \times \text{OD}_{664} - 1.54 \times \text{OD}_{647} - 0.08 \times \text{OD}_{639};$$

$$\text{黄色素浓度 (mg/L)} = 7.60 \times (\text{OD}_{480} - 1.49 \times \text{OD}_{510});$$

$$\text{色素含量 (mg/g)} = (\text{色素的浓度} \times \text{提取液体积} \times \text{稀释倍数}) / \text{样品鲜重}$$

对所得的数据进行单因素方差(One-Way ANOVA)计算,分析差异显著性,比较光照强度、温度和营养盐配比对鼠尾藻长度增长率、质量增长率和色素含量的影响。

2 结果与分析

2.1 温度、光照强度和营养盐对鼠尾藻生长发育的影响

如表1所示,营养盐配比对藻体长度增长率影响最为显著,总体上 KNO_3 比例越高藻体增长率越大,温度15、20℃时生长速度快于25℃。受三因素共同影响,最大增长率为3.98%,培养条件:15℃、营养盐配比 $[\text{KNO}_3(\text{mg}):\text{KH}_2\text{PO}_4(\text{mg})]=5:1$ 、光照强度200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$;最小增长率为1.08%,培养条件:25℃、营养盐配比 $[\text{KNO}_3(\text{mg}):\text{KH}_2\text{PO}_4(\text{mg})]=10:1$ 、光照强度160 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,两者增长率相差3.69倍。温度对鼠尾藻藻体质量增长率影响极其显著,25℃培养30d后藻体质量为15和20℃培养温度下的2~3倍。其中最大质量增长率为14.21%,培养条件:25℃、营养盐配比 $[\text{KNO}_3(\text{mg}):\text{KH}_2\text{PO}_4(\text{mg})]=1:5$ 、光照强度200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,最小增长率为3.39%,培养条件:15℃、营养盐配比 $[\text{KNO}_3(\text{mg}):\text{KH}_2\text{PO}_4(\text{mg})]=1:10$ 、光照强度200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,两者增长率相差4.19倍。培养条件对气囊出现时间的影响不是十分显著,但温度低气囊出现较早。培养至第13天时,15、20和25℃培养条件鼠尾藻气囊出现的比例分

表 1 不同培养条件对鼠尾藻幼苗生长和繁殖的影响
 Tab. 1 Effects of different culture conditions on seedling growth and reproduction of *S. thunbergii*

温度(°C) temperature	光照强度 [$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$] illumination intensity	营养盐比例/ [$\text{KNO}_3(\text{mg})$]: [$\text{KH}_2\text{PO}_4(\text{mg})$] nutrient ratio	生长指标 growth index		气囊	侧枝	生殖托	受精卵 fertilized egg	
			长度增 长率 (%) growth rate of length	质量增 长率 (%) growth rate of mass	出现时间 (d) emergence time of pneumathode	出现时间 (d) emergence time of branch let	出现时间 (d) emergence time of receptacle	脱落 时间 (d) release time	采苗 数量 (棵) number of seedlings
15	60	10:1	2.35	3.79	13	13	20	30	1 763
		5:1	2.28	3.73	13	20	32	30	217
		1:5	1.30	3.44	3	13	20	30	1 963
		1:10	1.67	4.46	13	20	25	30	4 001
	100	10:1	2.91	6.15	3	20	20	30	7 334
		5:1	2.68	5.59	13	13	25	30	6 117
		1:5	1.62	5.51	17	20	25	30	2 210
		1:10	2.67	5.39	13	20	25	30	3 562
	160	10:1	2.51	5.71	3	13	20	30	2 965
		5:1	2.19	5.54	3	13	20	30	2 528
		1:5	1.85	5.61	3	13	25	40	2 000
		1:10	1.84	4.80	13	13	20	40	1 564
200	10:1	2.41	5.78	17	13	25	40	1 287	
	5:1	3.98	7.39	25	13	32	40	3 267	
	1:5	1.09	6.23	17	20	32	40	1 118	
	1:10	1.97	3.39	17	13	32	40	5 489	
60	10:1	1.97	3.55	3	13	25	30	1 771	
	5:1	2.18	5.09	13	13	20	30	1 484	
	1:5	2.97	5.79	20	25	25	40	2 783	
	1:10	2.41	4.12	3	20	20	40	2 451	
100	10:1	2.03	5.71	20	13	20	30	987	
	5:1	2.63	7.55	3	13	20	30	716	
	1:5	1.39	5.57	20	13	20	30	2 671	
	1:10	2.27	5.66	20	13	20	30	1 421	
160	10:1	2.69	6.98	20	13	20	30	2 403	
	5:1	1.88	6.74	3	3	20	30	2 655	
	1:5	1.62	5.89	3	13	25	30	3 004	
	1:10	1.73	6.56	20	13	25	30	1 584	
200	10:1	2.66	8.11	3	20	20	30	3 551	
	5:1	1.94	7.70	3	13	25	30	1 904	
	1:5	1.63	3.89	13	13	20	30	812	
	1:10	1.60	5.59	17	13	20	30	1 843	
60	10:1	1.26	10.37	25	13	-	-	-	
	5:1	1.61	12.14	13	13	20	-	-	
	1:5	1.29	9.64	20	13	20	-	-	
	1:10	1.22	12.07	25	20	-	-	-	
100	10:1	2.44	9.84	3	13	20	40	984	
	5:1	1.72	11.12	20	13	20	40	1 867	
	1:5	2.93	11.34	25	20	32	40	1 946	
	1:10	2.05	12.44	3	25	25	40	3 120	
160	10:1	1.08	9.99	13	13	20	30	2 187	
	5:1	1.22	12.81	20	13	25	40	562	
	1:5	1.48	12.44	25	25	32	40	684	
	1:10	1.65	12.37	20	13	25	40	1 128	
200	10:1	1.44	10.69	25	13	25	40	467	
	5:1	2.25	11.49	3	13	32	40	577	
	1:5	1.52	14.21	20	13	25	40	471	
	1:10	1.56	11.78	13	20	25	40	1 562	

注:“-”表示藻体溃烂,未测量数据。

Notes:“-”indicated the algae thalli had festered and data were not measured.

别为 68.75%、56.25% 和 37.5%。侧枝的生成与营养盐配比具有一定的关系, KH_2PO_4 比例高时侧枝出现时间相对较晚, 同样培养至第 13 天时, 在 KH_2PO_4 含量为 1、5、10 mg 时侧枝生成的比例分别为 87.5%、58.3% 和 50%; 生殖托则受到温度的影响较为显著, 20 °C 培养 20 d 时大部分可见生殖托生长, 3 种温度条件培养至第 20 天时生殖托生成的比例分别为 37.5%、68.75% 和 31.25%, 可见 20 °C 为诱导生殖托生成的适宜温度, 而光照强度和营养盐的作用则没有明显变化和规律。卵的形成与受精卵的脱落也明显受到温度的调节, 温度越高生殖托生长越慢, 卵受精时间越晚。培养至第 30 天时观察到有受精卵脱落,

这时在 15、20 和 25 °C 条件下受精卵脱落比率分别为 62.5%、87.5% 和 6.25%, 因此可知 20 °C 是受精卵脱落的适宜温度。同时在 25 °C 低光照强度时出现藻体和生殖托同时溃烂现象。室内采苗结果显示, 温度对采苗数量有一定影响, 15 和 20 °C 成活幼苗数量较高, 而 25 °C 明显偏低。每 1 克藻体(种菜)平均出苗约 300 棵, 最高可附苗 821 棵。

单因素方差分析表明(表 2), 不同环境因素对鼠尾藻幼苗长度增长的影响效果顺序为温度 > 营养盐配比 > 光照强度; 而对质量增长的影响顺序则为温度 > 光照强度 > 营养盐配比。

表 2 鼠尾藻长度和质量增长率的单因素方差分析
Tab. 2 One-Way ANOVA for the growth rates of length and mass of *S. thunbergii*

测量指标 measured index	因素 factors	偏差平方和 sum of squares	自由度 df	F 值 F value	F 临界值 F critical value	P 值 P value
长度 length	温度 temperature	0.000 259	2	4.044 201	3.204 317	0.024 254 < 0.05
	营养盐配比 nutrient ratio	0.000 181	3	1.749 733	2.816 466	0.170 757 > 0.05
	光照强度 illuminate intensity	0.000 154	3	1.458 320	2.816 466	0.238 920 > 0.05
质量 mass	温度 temperature	0.039 112	2	127.551 000	3.204 317	2.88E-19 < 0.01
	营养盐配比 nutrient ratio	0.000 508	3	0.163 626	2.816 466	0.920 284 > 0.05
	光照强度 illuminate intensity	0.001 758	3	0.582 532	2.816 466	0.629 620 > 0.05

2.2 温度、光照强度和营养盐对鼠尾藻色素含量的影响

培养过程中, 光照强度对鼠尾藻藻体色素含量的影响最为显著 ($P < 0.01$), 黄色素含量的变化(图 1-A)比叶绿素 a 含量的变化(图 1-B)趋势明显。光照强度越高, 藻体色素含量越低, 同时表现出外表颜色逐渐呈亮黄色。黄色素含量最高值为 1.21 mg/g, 培养条件: 25 °C、营养盐 [KNO_3 (mg): KH_2PO_4 (mg)] = 5:1、光照强度 60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; 最低值为 0.06 mg/g, 培养条件: 20 °C、营养盐 [KNO_3 (mg): KH_2PO_4 (mg)] = 1:5、光照强度 160 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 两者相差 20.17 倍。叶绿素 a 含量最高值为 2.11 mg/g, 培养条件: 25 °C、营养盐 [KNO_3 (mg): KH_2PO_4 (mg)] = 5:1、光照强度 60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$; 最低值为 0.28 mg/g,

培养条件: 20 °C、营养盐 [KNO_3 (mg): KH_2PO_4 (mg)] = 5:1、光照强度 160 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 两者相差 7.54 倍。在同一光照强度时 15 和 25 °C 条件下藻体色素含量比 20 °C 时略高, 这与姜宏波等^[14]的报道有一定的差异。

2.3 鼠尾藻有性繁殖过程的差异

经过一年的跟踪调查观察到, 大长山岛海域野生鼠尾藻个体 4 月份平均长度达到 5 cm 左右, 这时生长速度明显加快, 并且以有性繁殖的个体居多; 5 月藻体发生形态变化, 颜色由深褐色逐渐变浅, 茎伸长, 出现叶柄, 少许个体出现气囊, 而假根新生苗生长速度较慢; 6 月出现侧枝, 藻体长度达到最高值; 生殖托 7 月份生成, 这时藻体质量达到最高值; 8、9 月份藻体开始腐烂, 与 7 月相比长度没有变化但质量急

剧下降;10月可见有单株鼠尾藻幼苗生长;11月至下一年3月份,鼠尾藻生长基本停滞,这时也是该海域温度最低的季节,某些时间甚至潮间带有结冰现象。野生鼠尾藻个体从5 cm 幼苗开始到新的幼苗生成需要5~6个月时间(4~10月),而实验中室内培养的鼠尾藻幼苗完成同样的繁殖过程仅需要48 d,最优化的培养条件下只需35 d左右肉眼即可见幼苗附着于布条上,提前100~130 d,大大缩短了育苗周期。在所有实验组合中气囊出现时间最早,为培养开始后第3,25天内全部出现;侧枝出现时间最早为第13,25天内也全部长出;生殖

托最早出现在培养后的第20,32天时全部出现;受精卵在第30天时开始脱落,10 d内脱落完毕。可见鼠尾藻器官出现的时间顺序为气囊、侧枝、生殖托(图2)。

野生鼠尾藻种群的生殖托发育是不同步的,同一海域的不同位置、同一位置的不同个体、同一个体的不同部位都表现出生殖托成熟和受精卵脱落的非同步性。而实验室中培养的鼠尾藻却具有发育同步的特性,无论是生殖托还是受精卵能够在短时间内达到发育的一致,受精卵在生殖托上的发育状况如图3。

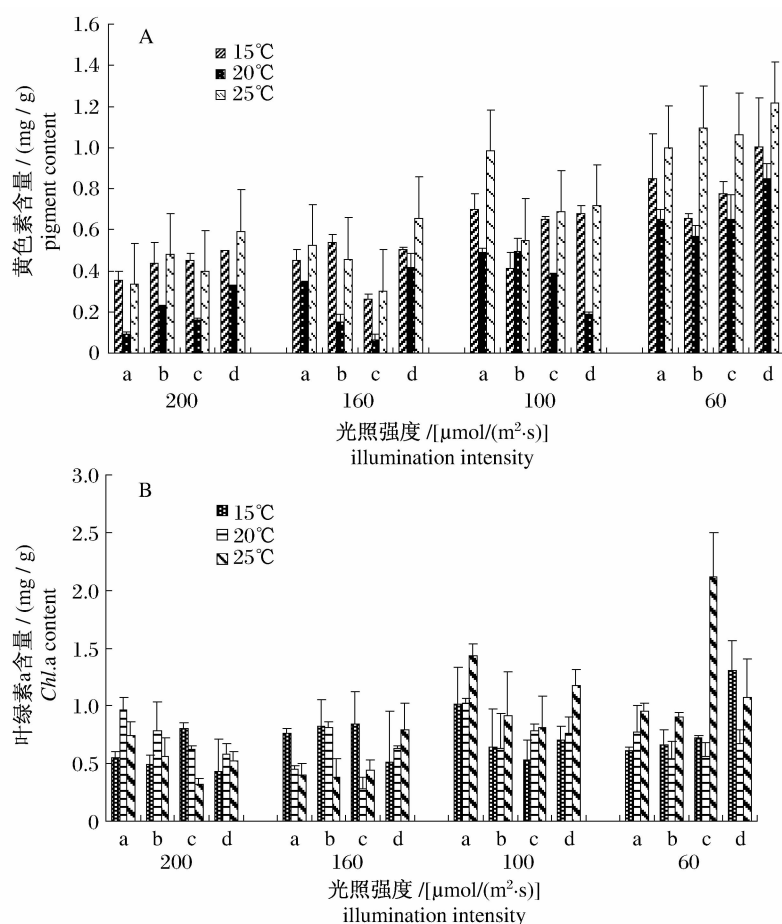


图1 不同培养条件下鼠尾藻藻体的色素含量变化

a、b、c、d 分别代表营养盐配比为 $[KNO_3(mg):KH_2PO_4(mg)] = 10:1, 1:10, 1:5, 5:1$ 。

Fig. 1 Pigment content of *S. thunbergii* under different culture conditions

a, b, c and d represent the ratio of nutrients $[KNO_3(mg):KH_2PO_4(mg)] = 10:1, 1:10, 1:5, 5:1$.

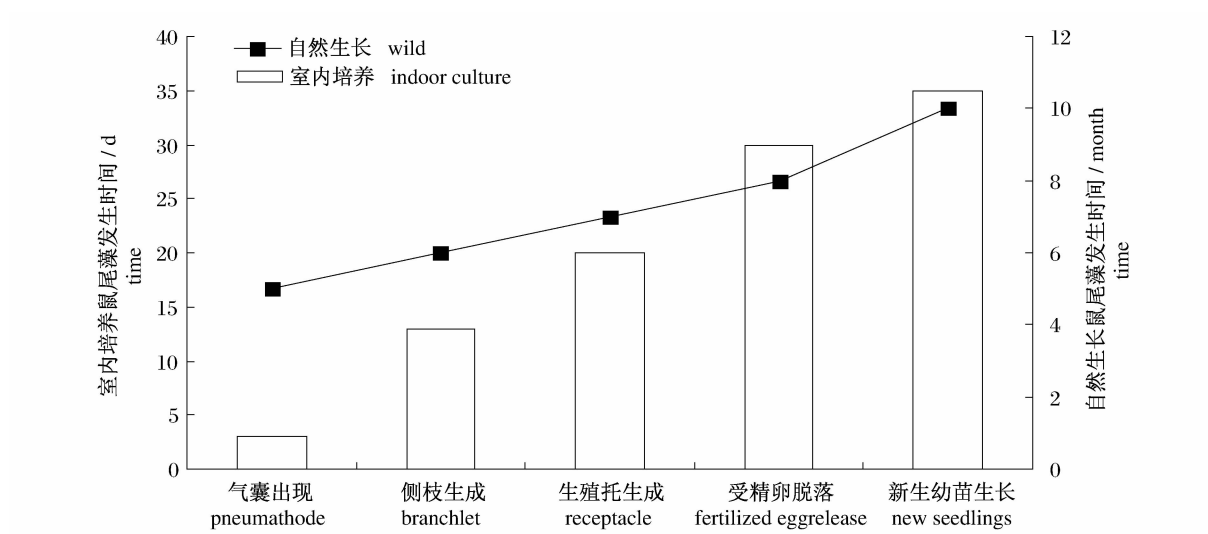


图2 野生与室内培养鼠尾藻幼苗繁殖周期比较

Fig. 2 Reproductive cycle comparison between wild and indoor cultured *S. thunbergii* seedlings

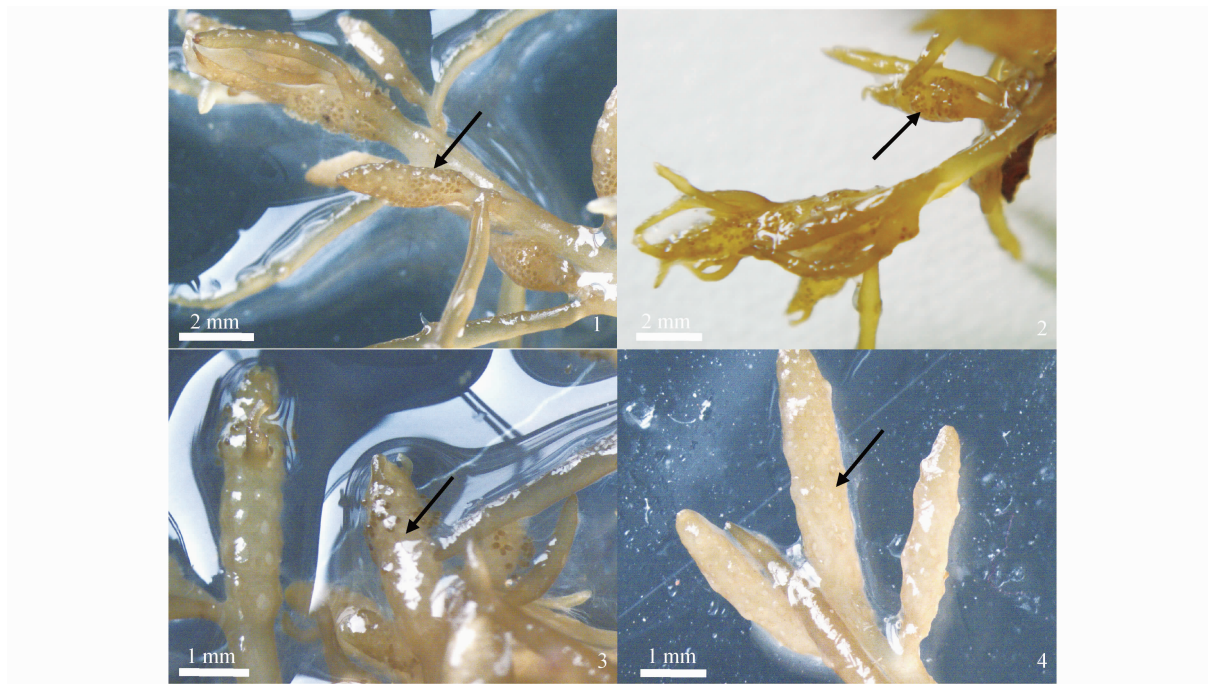


图3 鼠尾藻生殖托的同步发育

1 和 2: 同步发育的生殖托; 3: 脱落中的受精卵; 4: 受精卵完全脱落的生殖托; 箭头所指为生殖托。

Fig. 3 Synchronous development of *S. thunbergii* receptacles

1 and 2: synchronous development of receptacles; 3: fertilized eggs release; 4: the receptacles after fertilized eggs complete release. The arrows indicated the receptacles.

3 讨论

3.1 影响鼠尾藻生长发育的环境因子

潮间带是海岸带环境变化最为剧烈的区域, 温度和光照强度的交替变化十分明显, 分布在这一区域的海藻在长期的自然选择之后都具有较强

的耐受各种环境胁迫的能力。在室内通过调节光照、温度等环境因素逐步实现了羊栖菜 (*Hizikia fusiforme*)^[21-23] 和铜藻 (*Sargassum horneri*)^[24] 卵和精子的同步排放及同步受精, 提高了受精率, 缩短了育苗周期。鼠尾藻与羊栖菜以及铜藻具有相似的生殖结构和繁殖特点, 因此通过调节培养条

件也能够控制精子和卵的排放从而优化人工苗种规模化生产的流程。充分了解鼠尾藻幼苗在室内人工控制条件下无附着基培养的生长特点和有性繁殖过程是建立人工育苗技术的基础和前提条件。ZHAO 等^[13]指出在鼠尾藻的卵受精后 8 周内温度对幼苗早期生长率的影响是最大的,尤其是在 15 和 20 °C 培养条件下更为明显。实验中选用了长度大于 5 cm 的鼠尾藻个体,在生长发育阶段上与上述实验形成了承接。温度在鼠尾藻幼苗生长后期仍然是长度和质量增长速度的决定性因素,对气囊和生殖托的生成也都起到诱导作用,这一因素的影响范围贯穿了鼠尾藻生活史的始终。由于培养容器体积的制约,与野生群体相比藻体长度偏小,长度增长速率随温度的变化没有质量增长率显著。同一温度条件下光照强度越强的实验组鼠尾藻个体质量增长率越大,这与姜宏波等^[14]的实验结果相同。实验中鼠尾藻长度和质量增长率的单因素方差分析结果(表 2)与孙修涛等^[12]对鼠尾藻 2~4 cm 新生枝条生长速度测量的实验结果一致,对微劳马尾藻(*Sargassum fulvellum*)的研究也显示出光照强度和温度在植株发育过程中起到重要的作用^[25]。营养盐配比中硝态氮盐比例对鼠尾藻藻体的生长速度和侧枝形成的影响十分明显,藻体通过光合作用所积累的物质趋于横向分散,侧枝所占质量比重增加,有利于吸收的营养向生殖器官供给,保证生殖结构的营养分配。

鼠尾藻个体的不同器官对所设定条件的敏感程度是不同的,器官生成的时间也有很大的区别(表 1),因此根据不同的实际要求进行培养条件的合理搭配,从而实现对不同器官的诱导具有可行性。

3.2 鼠尾藻的有性繁殖特性

虽然鼠尾藻具有假根繁殖的特性,但仅仅依靠单一的营养繁殖方式无法维持种群的遗传多样性和进化能力,也不能够满足人工养殖对种菜的需求。与海带(*Laminaria japonica*)和裙带菜(*Undaria pinnatifida*)等褐藻不同,鼠尾藻没有世代交替的生活史,生殖托是有性生殖的唯一器官。在长期日照条件下通过人工诱导生殖托成熟的方法能够实现羊栖菜和铜藻幼苗的提前发育,在夏季高温季节来临之前幼苗的长度达到 1 mm 以上,使之更加耐受高温等不良环境,提高了苗种的

抗性^[21-24]。鼠尾藻生殖托同样可以诱导成熟,在实验处理组中,最快 20 d 即可形成生殖托,40 d 时所有鼠尾藻受精卵脱落完毕,该过程持续一个半月左右。在高温季节来临之前幼苗可以长到几毫米长度,既提高了幼苗的抵抗能力又能够防止杂藻和敌害的侵袭,这一经验在鼠尾藻养殖生产中是可以借鉴的。与相同采集地点的野生种群相比,实验室内培养的鼠尾藻幼苗生长和发育速度明显加快,受精卵脱落提前 1~2 个月(图 2)。鼠尾藻在烧杯中随气流的翻滚,藻体接受的培养条件均一,营养吸收充分,从而卵和精子同步排放、同步受精,使得整棵鼠尾藻不同部位的生殖托和同一生殖托的上下两端同步发育,大大提高了单位生殖托上受精卵的数量,保证了后代幼苗的产量和质量(图 3)。实验结果显示,平均每 1 克藻体出苗约 300 棵,最高可采苗 821 棵,这一结果比羊栖菜实验室培养获得合子的数目低(2 000~5 000 个)^[21-22],但合子在后期生长发育过程中并不是全部存活。

采集自青岛汇泉湾的鼠尾藻在水温高于 22 °C 时生殖托开始发育,水温达到 26 °C 时观察到排卵现象^[11];采集自青岛太平角的鼠尾藻生殖高峰出现在 18~23 °C,高于 24 °C 生殖托开始腐烂^[2];大连河口海域鼠尾藻种群的繁殖高峰期水温 17 °C,高于 23 °C 时生长停滞^[3]。虽然这些结果之间有一定的差别,但总体上青岛地区的鼠尾藻繁殖时期的温度偏高。鼠尾藻在我国沿海的分布区域远比其他海藻广泛,形成了一系列生理和分子机制适应当地的海岸带环境,完成生活史过程。青岛的地理位置与大连相比纬度低,常年海水温度高于大连,这一海域的鼠尾藻在气候特征的影响下生殖器官的发育可能需要较高温度。

3.3 鼠尾藻室内培养过程中色素含量的变化

野生鼠尾藻在长度大于 5 cm 时会出现藻体颜色的改变,但没有室内培养过程明显。实验中观察到,鼠尾藻茎和叶片颜色随着培养时间的延续逐渐变浅,藻体的叶绿素 a 和黄色素含量随光照强度的增加逐渐降低,黄色素的变化最为显著(图 1,图 3),这些都与其他几种海藻^[26-27]在强光照条件下色素含量变化趋势相同。张栩等^[20]测定鼠尾藻的叶绿素 a 含量为 0.72 mg/g 左右,黄色素含量 0.1 mg/g 左右;马尾藻属另一种海藻海黍子(*Sargassum muticum*)的叶绿素 a 含量在

0.74 mg/g左右,与于志刚等^[28]的测量结果1.71~1.72 mg/g差距较大,这些结果的获得与实验方法、样品采集地点、提取效率等都有着密切的联系,本实验得出的叶绿素 a 含量大小位于两个报道数值之间,黄色素含量偏高,具有可信度。在光照强度较弱时,鼠尾藻叶绿素 a 含量的增加有利于提高用于吸收光能的色素蛋白的相对含量,从而提高光能利用率。与绿藻不同,褐藻不含叶绿素 b,藻体多为褐色,鼠尾藻中的黄色素主要包含叶黄素(墨角藻黄素)和 β -胡萝卜素。黄色素含量是鼠尾藻藻体颜色的决定因素,因此其含量下降就会导致颜色逐渐变浅。色素含量的自我调节使鼠尾藻在不同季节、不同潮间带位置的光合作用效率保持在同一正常水平,维持自身生长的稳定性,进而适应瞬息变化的海洋环境。在室内培养过程中,马尾藻属的其他海藻同样具有非正常发育的表型。YOSHIDA 等^[29]培养大托马尾藻(*Sargassum macrocarpum*)时,在 15 h:9 h、12 h:12 h 和 9 h:15 h 光周期条件下新生叶片不遵循轴性、辐射状发生的规律,而是无规则的生长。以上变化并不影响鼠尾藻生殖托发育,仍然可以实现短期内由营养生长向生殖生长阶段的转化。

我国经济海藻养殖业迅猛发展,然而马尾藻属海藻的应用价值还没有被充分挖掘,在养殖技术、种质保存与改良、新品种开发等方面存在巨大的发展空间,一些基础性的难题亟待解决。鼠尾藻的实验室培养与大规模养殖生产之间存在一定的区别,后者的影响因素更为复杂。在室内进行尝试性探索,获得的数据和经验能够为进一步在养殖生产中大规模培育优质的鼠尾藻幼苗提供理论参考和可行的技术路线。

参考文献:

- [1] 曾呈奎. 中国黄渤海海藻[M]. 北京:科学出版社, 2009:395.
- [2] 王飞久,孙修涛,李锋. 鼠尾藻的有性繁殖过程和幼苗培育技术研究[J]. 海洋水产研究, 2006, 27(5):1-6.
- [3] 张泽宇,李晓丽,韩余香,等. 鼠尾藻的繁殖生物学及人工育苗的初步研究[J]. 大连水产学院学报, 2007, 22(4):255-259.
- [4] 李美真,丁刚,詹冬梅,等. 北方海区鼠尾藻大规模育苗提前育成技术[J]. 渔业科学进展, 2009, 30(5):75-82.
- [5] 邹吉新,李源强,刘雨新,等. 鼠尾藻的生物学特性及筏式养殖技术研究[J]. 齐鲁渔业, 2005, 22(3):25-29.
- [6] 原永党,张少华,孙爱凤,等. 鼠尾藻劈叉筏式养殖试验[J]. 海洋湖沼通报, 2006, (2):125-128.
- [7] 孙修涛,王飞久,汪文俊,等. 基于有性繁殖的鼠尾藻规模化繁育实验[J]. 渔业科学进展, 2010, 31(1):84-91.
- [8] 詹冬梅,李美真,丁刚,等. 鼠尾藻有性繁育及人工育苗及技术的初步研究[J]. 海洋水产研究, 2006, 27(6):55-59.
- [9] 许博. 鼠尾藻繁殖生态学研究[D]. 青岛:中国海洋大学, 2009.
- [10] 潘金华,张全胜,许博. 鼠尾藻有性繁殖和幼孢子体发育的形态学观察[J]. 水产科学, 2007, 26(11):589-592.
- [11] 王增福,刘建国. 鼠尾藻有性生殖过程与育苗[J]. 海洋与湖沼, 2007, 38(5):453-457.
- [12] 孙修涛,王飞久,刘桂珍. 鼠尾藻新生枝条的室内培养及条件优化[J]. 海洋水产研究, 2006, 27(5):7-12.
- [13] ZHAO Z G, ZHAO F J, YAO J T, et al. Early development of germlings of *Sargassum thunbergii* (Fucales, Phaeophyta) under laboratory conditions [J]. J App Phycol, 2008, 2(20):925-931.
- [14] 姜宏波,田相利,董双林,等. 温度和光照强度对鼠尾藻生长和生化组成的影响[J]. 应用生态学报, 2009, 20(1):185-189.
- [15] 包杰,田相利,董双林,等. 温度、盐度和光照强度对鼠尾藻氮磷吸收的影响[J]. 中国水产科学, 2008, 15(2):293-330.
- [16] 王志芳,张全胜,潘金华. 烟台芦湾鼠尾藻种群生物量结构的季节变化[J]. 中国水产科学, 2008, 15(6):992-998.
- [17] 王萌,李世国,侯和胜,等. 大连沿海鼠尾藻野生种群遗传结构的 ISSR 分析[J]. 生态学杂志, 2010, 29(6):1181-1186.
- [18] ZHAO F J, WANG X L, LIU J D, et al. Population genetic structure of *Sargassum thunbergii* (Fucales, Phaeophyta) detected by RAPD and ISSR markers [J]. J App Phycol, 2007, 19(5):409-416.
- [19] HIRAOKA M, OKA N. Tank cultivation of *Ulva prolifera* in deep seawater using a new "germling cluster" method [J]. J App Phycol, 2008, 20(1):97-102.
- [20] 张栩,张沂萍,吕培顶,等. 几种海藻叶绿素含量的测定与比较[C]. 第九届全国生物化工学术会议,

- 2000:9.
- [21] PANG S J, CHEN L T, ZHUANG D G, *et al.* Cultivation of the brown alga *Hizikia fusiformis* (Harvey) Okamura: enhanced seedling production in tumbled culture [J]. *Aquaculture*, 2005, 245 (4): 321-329.
- [22] PANG S J, GAO S Q, SUN J Z. Cultivation of the brown alga *Hizikia fusiformis* (Harvey) Okamura: controlled fertilization and early development of seedlings in raceway tanks in ambient light and temperature [J]. *J App Phycol*, 2006, 18 (6): 723-731.
- [23] PANG S J, LIU F, SHAN T F, *et al.* Cultivation of the brown alga *Sargassum horneri*: sexual reproduction and seedling production in tank culture under reduced solar irradiance in ambient temperature [J]. *J App Phycol*, 2009, 21(4): 413-422.
- [24] 逢少军, 费修缙, 肖天, 等. 通过控制卵子和精子的排放实现羊栖菜人工种苗的规模化生产 [J]. *海洋科学*, 2001, 25(4): 53-54.
- [25] HWANG E K, PARK C S, BAEK J M. Artificial seed production and cultivation of the edible brown alga, *Sargassum fulvellum* (Turner) C. *agardh*: Developing a new species for seaweed cultivation in Korea [J]. *J App Phycol*, 2006, 18 (3-5): 251-257.
- [26] 林贞贤, 宫相忠, 李大鹏. 光照和营养盐胁迫对龙须菜生长及生化组成的影响 [J]. *海洋科学*, 2007, 31(11): 22-26.
- [27] 刘静雯, 董双林. 光照和温度对细基江蓠繁枝变型的生长及生化组成的影响 [J]. *青岛海洋大学学报*, 2001, 31(3): 332-338.
- [28] 于志刚, 张经, 张耀红, 等. 提取测定大型海藻叶绿素 a 的新方法 [J]. *海洋科学*, 1997, 5: 1-2.
- [29] YOSHIDA G, UCHIDA T, ARAI S, *et al.* Development of adventive embryos in cauline leaves *Sargassum macrocarpum* (Fucales, Phaeophyta) [J]. *Phycol Res*, 1999, 47: 61-64.

Indoor culture and sexual reproduction synchronization of *Sargassum thunbergii* young seedlings

WANG Li-mei^{1*}, LI Shi-guo^{1,2}, CHAI Yu¹, GAO Shan¹, SONG Guang-jun¹

(1. Liaoning Ocean and Fishery Science Research Institute, Dalian 116023, China;

2. College of Life Sciences, Liaoning Normal University, Dalian 116029, China)

Abstract: In order to optimize the indoor culture conditions of growth and synchronous reproduction of *Sargassum thunbergii*, young seedlings with 5 cm length were used as materials to investigate the effects of different temperatures (15, 20, 25 °C), illumination intensity [60, 100, 160, 200 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$] and nutrient ratio [KNO₃ (mg) : KH₂PO₄ (mg) = 10 : 1, 5 : 1, 1 : 5, 1 : 10] on the growth and sexual reproduction synchronization by measuring the growth index, observing the morphological changes as well as the formation of reproductive organs and reproductive characteristics. This investigation focused on the optimal combinative conditions of indoor growth, reproduction of seedlings, early development of receptacles and synchronization of fertilization. The results indicated that the gradation of different environment factors that influenced the length growth rate of *S. thunbergii* was temperature > nutrient ratio > illumination intensity, and the factors that influenced the growth rate of mass was temperature > illumination intensity > nutrient ratio. Low temperature could induce the rapid emergence of pneumatode. The formation of branchlets had more relation to nutrient ratio and in general, the higher proportion of KH₂PO₄ in nutrients resulted in later emergence of branchlets. Temperature effect was more significant for receptacles emergence time in our results and zygotes formation and release were also regulated by temperature conspicuously. The higher the culture temperature, the slower the growth rate of receptacles and the later the time of egg fertilization. The pigment content decreased with increasing the illumination intensity. Using culture conditions control for the alga thalli, indoor culture of this species could be done 3–4 months earlier than thalli matured in nature to complete its life cycle. For mature thalli of 1g wet, an average of about 300 seedlings could be collected from the substrate well. So it was possible that the generation of different positions and organs of *S. thunbergii* could be induced by controlling the culture conditions in laboratory to achieve early development of receptacles and synchronization of fertilization. The data could be used for theoretical and practical references for the technical route of large-scale cultivation of high-quality *S. thunbergii* seedlings.

Key words: *Sargassum thunbergii*; sexual reproduction; seedling cultivation; synchronous fertilization

Corresponding author: WANG Li-mei. E-mail: Meizi4687@sina.com