

## 五种培养液对萱藻丝状体生长发育的影响

洪丽珍<sup>1</sup>, 官相忠<sup>1\*</sup>, 张文健<sup>1</sup>, 高 伟<sup>1</sup>, 张必达<sup>2</sup>

(1. 中国海洋大学海洋生命学院, 山东 青岛 266003;

2. 长岛爱华海藻食品有限公司, 山东 烟台 265800)

**摘要:**以实验室保存的萱藻丝状体为材料,采用实验生态学方法,探讨了 L1、PES、F1、f/2 以及 ESNW 5 种培养液对萱藻丝状体生长发育的影响,并以去除氮或磷成分的 L1 培养液为基础,研究了不同外加浓度氮和磷对萱藻丝状体生长发育的影响。结果显示:(1)5 种培养液中,L1 培养液最有利于萱藻丝状体的生长发育,经 L1 培养液培养的萱藻丝状体呈深褐色,细胞质充盈,培养 28 d 后,丝状体生物量增重倍比可达(560.48% ± 0.73%),孢子囊枝比例高达(46.88% ± 0.41%),孢子囊直径为(18.95 ± 0.89) μm;(2)萱藻丝状体生长发育最适添加 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 浓度为 6.00 mg/L,在此 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 浓度条件下,萱藻丝状体生长速度最快,丝状体呈深褐色,培养 20 d 后,孢子囊枝比例高达(46.78% ± 0.14%),孢子囊直径可达(18.78 ± 2.45) μm。在添加 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 浓度为 0 mg/L 和高氮(96.00、192.00 mg/L)条件下,萱藻丝状体生长速度均相对较慢,丝状体色素淡,培养 20 d 后,孢子囊枝比例分别仅为(0% ± 0%)、(9.06% ± 0.32%)和(7.65% ± 0.45%),孢子囊直径仅 9.00 ~ 10.00 μm;(3)萱藻丝状体生长发育的最适外加 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 浓度为 1.32 mg/L,在此 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 浓度条件下,萱藻丝状体生长速度最快且丝状体呈深褐色,培养 20 d 后,孢子囊枝比例高达(47.12% ± 0.26%),孢子囊直径可达(18.89 ± 0.98) μm。外加 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 为 0 mg/L 时,萱藻丝状体色素淡,培养 20 d 后,孢子囊枝比例仅为(10.12% ± 0.27%),孢子囊直径仅有(9.78 ± 1.32) μm。外加 PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>-P 高于 15.84 mg/L 时,丝状体出现“不良”生长状况——变绿、细胞解体、附着解体的丝状体碎屑且没有孢子囊枝的形成。研究证明,在萱藻丝状体的生长发育过程中,应选择一种合适的培养液以及适时地控制硝酸盐与磷酸盐的浓度,使其维持在一定范围内,从而促进萱藻丝状体的快速生长,提高其孢子囊枝比例、增大孢子囊直径。

**关键词:**萱藻;丝状体;培养液;生长;发育

**中图分类号:**S 968.4

**文献标志码:**A

萱藻 (*Scytosiphon lomentaria*) 隶属于褐藻门 (Phaeophyta), 褐子纲 (Phaeosporeae), 萱藻科 (Scytosiphonaceae), 系泛温带性海藻,在我国北起辽东半岛,南至广东省海陵岛之间的沿海海域均有分布。萱藻具有异形世代交替的生活史,即大型的配子体(叶状体)世代与微观的孢子体(丝状体、垫状体、类垫状体)世代<sup>[1]</sup>。萱藻味道鲜美,营养价值高,蛋白质含量高达 19.71%,远高

于羊栖菜 (*Hizikia fusiformis*) (14.90%) 及海带 (*Laminaria japonica*) (8.70%)<sup>[2]</sup>,同时对疱疹病毒 (*Herpes simplex*)、辛德毕斯病毒 (*Sindbis*) 的抗性强<sup>[3-4]</sup>,对 A-549 和 HL-60 两种肿瘤细胞的抑制率均高达 80.00%<sup>[5-6]</sup>,并且对亚油酸过氧化有较强的抑制作用<sup>[7]</sup>。因此,萱藻是一种极具开发潜力的经济海藻。

萱藻丝状体作为微观孢子体世代的存在形式

收稿日期:2014-10-17 修回日期:2014-11-25

资助项目:国家“八六三”高技术研究发展计划(2012AA10A413)

通信作者:官相忠,E-mail:gxzhw@163.com

之一,是萱藻工厂化育苗的种质,它能够形成单室孢子囊并释放游孢子,进而形成叶状体。因此,是否能获得数量充足且发育优良的萱藻丝状体是萱藻工厂化育苗能否成功的关键之一。培养液能为海藻种质的生长发育提供必需的氮、磷等大量营养元素、铜、铁等微量金属元素以及维生素,从而促进海藻种质快速生长,提高紫菜等海藻的丝状体孢子囊枝比例,增加海带等海藻的配子体细胞直径。据报道,PES 和 ESNW 培养液为改良版的 ES 培养液,L1 培养液为改良版的 f/2 培养液,这 3 种改良版的培养液不仅能促进海带、裙带菜配子体及紫菜丝状体的快速生长,还能增加海带和裙带菜配子体细胞直径,提高紫菜丝状体孢子囊枝比例<sup>[8-12]</sup>。另外,f/2 培养液是一种普遍使用的加富海水培养液<sup>[12]</sup>,它一方面能促进小球藻(*Chlorella*)等绿藻的细胞分裂<sup>[13]</sup>,另一方面也能促进条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*)等红藻的自由丝状体快速生长以及向孢子囊枝转化<sup>[14-15]</sup>。因此,从众多培养液中选出一种既能促进萱藻丝状体快速生长,又能提高其孢子囊枝比例、增大孢子囊直径的培养液十分重要。

据高伟等<sup>[16]</sup>的研究报道,F1 培养液能够促进萱藻丝状体快速生长发育。但至目前为止,国内外尚未有比较 F1 培养液与其他培养液对萱藻丝状体生长发育影响的相关研究报道。本研究以萱藻丝状体为材料,探讨了 L1、PES、F1、f/2 以及 ESNW 5 种培养液对萱藻丝状体生长发育的影响,并以去除氮或磷成分的 L1 培养液为基础,研究了不同外加浓度氮和磷对萱藻丝状体生长发育的影响,以期对萱藻丝状体生长发育和工厂化育苗过程中培养液的选择与优化提供理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

实验所用萱藻丝状体取自本实验室萱藻种质库。在充气扩增培养条件下获取足量的萱藻丝状体,扩增条件为温度 $(22 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ ,光周期 L:D = 14:10,光照强度  $86.4 \sim 97.2 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ ,培养液为 F<sub>1</sub> 培养液<sup>[16]</sup>。

### 1.2 实验方法

**培养液实验** 将生长良好的萱藻丝状体,经高速打碎机点切 4~6 次,获得长度为 300~400  $\mu\text{m}$  的丝状体藻段,用 200 目筛绢过滤并用消

毒海水冲洗两次以去除碎屑,分别加入 L1<sup>[12]</sup>、PES<sup>[17]</sup>、F1<sup>[16]</sup>、f/2<sup>[12]</sup> 和 ESNW<sup>[12]</sup> 培养液配成密度为 $(0.60 \pm 0.05) \text{mg/mL}$  的萱藻丝状体藻液,取丝状体藻液 300 mL 置于 500 mL 的三角烧瓶中,每种培养液设置 3 个平行样,静置培养。培养温度、光周期及光照强度同“1.1 实验材料”。每天定时人工摇瓶 3 次,每隔 7 天全量更换培养液。实验所用海水(盐度为 30)取自青岛栈桥附近海域,经脱脂棉过滤,121  $^\circ\text{C}$  高压蒸汽灭菌 30 min,冷却至 22  $^\circ\text{C}$  后备用。以萱藻丝状体生物量增重倍比<sup>[18]</sup>、孢子囊枝比例<sup>[19]</sup>及孢子囊直径<sup>[18]</sup>作为丝状体生长速度和发育质量的评价指标。实验周期为 28 d,增重倍比  $P$  的计算公式如下:

$$P(\%) = [(N_t - N_0)/N_0] \times 100$$

式中, $P$  表示萱藻丝状体的增重倍比, $N_t$  表示第  $t$  天的萱藻丝状体鲜重(mg); $N_0$  表示初始鲜重(mg)<sup>[12]</sup>。

**氮浓度实验** 以 L1 去氮培养液为基础,分别配置  $\text{NO}_3^-$ -N( $\text{NaNO}_3$ ) 浓度梯度为 0、3.00、6.00、12.00、24.00、48.00、96.00 和 192.00 mg/L 的培养液,每种梯度设置 3 个平行样。实验周期为 20 d。实验及检测方法同“1.2 培养液实验”。

**磷浓度实验** 以 L1 去磷培养液为基础,分别配置  $\text{PO}_4^{3-}$ -P( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ) 浓度梯度为 0、0.33、0.66、1.32、2.64、5.28、15.84 和 95.04 mg/L 的培养液,每种梯度设置 3 个平行样。实验周期为 20 d。实验及检测方法同“1.2 培养液实验”。

### 1.3 数据处理

应用 Microsoft Excel 表格进行数据统计与标准差分析,运用 IBM SPSS Statistics 19 进行数据差异显著性分析,使用 Sigmaplot 10.0、ACDSee 进行数据处理并作图。

## 2 结果

### 2.1 培养液对萱藻丝状体生长发育的影响

实验结果表明,PES、f/2、F1、ESNW 以及 L1 5 种培养液在萱藻丝状体的生长速度方面表现出明显差异(表 1)。在实验周期内,随培养时间的延续,各实验组丝状体生物量增重倍比均呈逐渐增大的趋势。在培养后的第 28 天,5 种培养液条件下生物量增重倍比依次为 $(256.39\% \pm 0.83\%)$ 、 $(120.95\% \pm 0.64\%)$ 、 $(372.33\% \pm$

1.08%)、(132.21% ± 0.49%)和(560.48% ± 0.73%),特别在 L1 培养液中,萱藻丝状体生物量增重倍比显著高于其他 4 种培养液( $P < 0.05$ )。

表 1 五种培养液对萱藻丝状体生物量增重倍比(%)的影响  
Tab.1 Effects of five culture media on increasing ratio of biomass of filaments of *S. lomentaria*

| 培养液<br>culture medium | 时间/d time                  |                           |                            |                             |                             |                             |
|-----------------------|----------------------------|---------------------------|----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
|                       | 1                          | 3                         | 7                          | 14                          | 21                          | 28                          |
| PES                   | 9.23 ± 0.02 <sup>a</sup>   | 15.96 ± 0.14 <sup>a</sup> | 41.07 ± 0.32 <sup>a</sup>  | 100.08 ± 0.27 <sup>a</sup>  | 189.23 ± 0.83 <sup>a</sup>  | 256.39 ± 0.83 <sup>a</sup>  |
| f/2                   | 3.45 ± 0.26 <sup>ab</sup>  | 9.37 ± 0.30 <sup>b</sup>  | 33.89 ± 1.13 <sup>b</sup>  | 43.11 ± 1.53 <sup>b</sup>   | 92.10 ± 0.78 <sup>b</sup>   | 120.95 ± 0.64 <sup>b</sup>  |
| F1                    | 9.98 ± 1.69 <sup>abc</sup> | 32.45 ± 0.59 <sup>c</sup> | 93.21 ± 0.88 <sup>c</sup>  | 142.20 ± 0.78 <sup>ac</sup> | 258.34 ± 0.64 <sup>ac</sup> | 372.33 ± 1.08 <sup>c</sup>  |
| ESNW                  | 2.12 ± 0.40 <sup>abd</sup> | 6.97 ± 0.19 <sup>bd</sup> | 16.42 ± 0.74 <sup>d</sup>  | 66.98 ± 0.66 <sup>bd</sup>  | 100.01 ± 0.55 <sup>bd</sup> | 132.21 ± 0.49 <sup>bd</sup> |
| L1                    | 22.33 ± 0.60 <sup>e</sup>  | 43.56 ± 1.06 <sup>e</sup> | 156.45 ± 0.79 <sup>e</sup> | 200.31 ± 0.58 <sup>e</sup>  | 345.39 ± 0.55 <sup>ce</sup> | 560.48 ± 0.73 <sup>e</sup>  |

注:同列中具有不同字母的表示差异显著( $P < 0.05$ ),具有相同字母的表示差异不显著( $P > 0.05$ ),下同  
Notes:The different letters in each column mean significant differences( $P < 0.05$ ),the same letters mean no significant differences( $P > 0.05$ ),the same as the following

培养液不仅影响萱藻丝状体的生物量增重倍比,而且影响丝状体的发育质量。在培养后的第 28 天,通过显微镜观察,在 L1、F1 和 PES 培养液中,萱藻丝状体呈深褐色,细胞质充盈,念珠状孢子囊细胞比例高(图版-1,2,3),孢子囊直径分别可达(18.95 ± 0.89)、(16.78 ± 1.12)和(17.45 ± 1.21) μm,同时孢子囊枝比例依次高达(46.88% ± 0.41%)、(41.38% ± 0.67%)和(40.50% ± 0.45%)(图 1),然而在 f/2 和 ESNW 培养液中,萱藻丝状体的长势与其他培养液相比相差甚远,不仅丝状体色泽较淡,而且细胞质缢缩,细胞长筒状(图版-4,5),孢子囊直径仅为 8.00 ~ 10.00 μm,孢子囊枝比例分别仅有(10.15% ± 0.32%)和(8.05% ± 0.78%)(图 1),各实验组孢子囊直径差异显著( $P < 0.05$ )。

综合考虑萱藻丝状体的生物量增重倍比及丝状体的发育质量,L1 培养液最有利于萱藻丝状体的生长发育,f/2 和 ESNW 培养液不适合萱藻丝状体的生长发育。

2.2 氮浓度对萱藻丝状体生长发育的影响

通过实验得出不同外加 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 浓度对萱藻丝状体生物量增重倍比的影响(表 2)。在实验周期内,随培养时间的延续,外加 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 浓度为 0 mg/L 时,丝状体生物量增重倍比在培养后的第 15 ~ 20 天呈下降的趋势;外加 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 浓度为 3.00 ~ 96.00 mg/L,各实验组丝状体生物量增重倍比均呈逐渐增大的趋势;外加 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 浓度为 192.00 mg/L 时,生物量增重倍比在培养后的第 15 ~ 20 天开始降低。在培养后的第 20 天,随外加 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 浓度的逐渐增大,不同外加 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 浓

度实验组丝状体生物量增重倍比依次为(83.25% ± 0.14%)、(288.67% ± 0.32%)、(378.13% ± 0.28%)、(311.88% ± 0.35%)、(235.32% ± 0.24%)、(124.41% ± 0.21%)、(100.00% ± 0.29%)和(87.44% ± 0.13%)。尤其是外加 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 浓度为 6.00 mg/L 时,生物量最终增重倍比分别为外加 NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N 浓度为 0、192.00 mg/L 的 4.54 和 4.32 倍,与其他各实验组差异显著( $P < 0.05$ )。

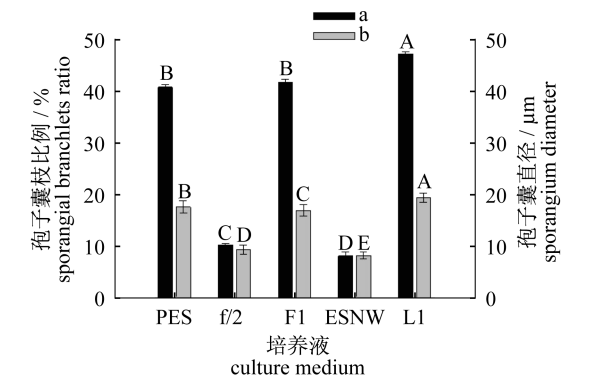


图 1 培养 28 d 后五种培养液对萱藻丝状体孢子囊枝比例及孢子囊直径的影响  
a 表示的是孢子囊枝比例,b 表示的是孢子囊直径,上标不同大写字母表示存在显著性差异( $P < 0.05$ ),下同  
Fig.1 Effects of five culture media on sporangial branchlets ratio and sporangium diameter of filaments of *S. lomentaria* after being cultured for 28 days  
a indicates the sporangial branchlets ratio, b indicates the sporangium diameter,the different capital letters mean significant differences( $P < 0.05$ ),the same as the following

表 2 不同外加  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度对萱藻丝状体生物量增重倍比 (%) 的影响Tab.2 Effects of adding different concentrations of  $\text{NO}_3^-$ -N on increasing ratio of biomass of filaments of *S. lomentaria*

| 浓度/(mg/L)<br>concentration | 时间/d time                   |                              |                             |                               |                              |                              |
|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-----------------------------|-------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                            | 1                           | 3                            | 5                           | 10                            | 15                           | 20                           |
| 0                          | 7.12 ± 0.65 <sup>a</sup>    | 16.00 ± 0.36 <sup>a</sup>    | 47.23 ± 0.17 <sup>a</sup>   | 85.08 ± 0.45 <sup>a</sup>     | 90.29 ± 0.28 <sup>a</sup>    | 83.25 ± 0.14 <sup>a</sup>    |
| 3.00                       | 17.24 ± 0.39 <sup>b</sup>   | 24.33 ± 0.23 <sup>b</sup>    | 78.10 ± 0.21 <sup>b</sup>   | 111.42 ± 0.26 <sup>b</sup>    | 234.43 ± 0.55 <sup>b</sup>   | 288.67 ± 0.32 <sup>b</sup>   |
| 6.00                       | 20.98 ± 0.57 <sup>bc</sup>  | 43.48 ± 0.36 <sup>c</sup>    | 86.24 ± 0.14 <sup>c</sup>   | 156.22 ± 0.39 <sup>c</sup>    | 278.41 ± 0.27 <sup>bc</sup>  | 378.13 ± 0.28 <sup>c</sup>   |
| 12.00                      | 18.45 ± 0.17 <sup>bcd</sup> | 35.49 ± 0.10 <sup>d</sup>    | 81.96 ± 0.23 <sup>cd</sup>  | 134.49 ± 0.23 <sup>b</sup>    | 220.13 ± 0.28 <sup>d</sup>   | 311.88 ± 0.35 <sup>bd</sup>  |
| 24.00                      | 15.34 ± 0.50 <sup>bde</sup> | 21.41 ± 0.20 <sup>e</sup>    | 65.31 ± 0.19 <sup>e</sup>   | 93.21 ± 0.30 <sup>ac</sup>    | 156.24 ± 0.16 <sup>e</sup>   | 235.32 ± 0.24 <sup>e</sup>   |
| 48.00                      | 9.97 ± 0.33 <sup>acf</sup>  | 18.92 ± 0.26 <sup>ef</sup>   | 56.34 ± 0.40 <sup>f</sup>   | 87.00 ± 0.23 <sup>acf</sup>   | 98.18 ± 0.32 <sup>af</sup>   | 124.41 ± 0.21 <sup>af</sup>  |
| 96.00                      | 8.03 ± 0.13 <sup>acg</sup>  | 17.32 ± 0.18 <sup>afg</sup>  | 47.12 ± 0.35 <sup>ag</sup>  | 76.30 ± 0.22 <sup>acfg</sup>  | 91.06 ± 0.17 <sup>afg</sup>  | 100.00 ± 0.29 <sup>afg</sup> |
| 192.00                     | 7.19 ± 0.20 <sup>aeqh</sup> | 18.00 ± 0.05 <sup>afgh</sup> | 49.56 ± 0.27 <sup>agh</sup> | 82.01 ± 0.17 <sup>acfgh</sup> | 92.38 ± 0.35 <sup>afgh</sup> | 87.44 ± 0.13 <sup>afgh</sup> |

外加  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度为 3.00 ~ 48.00 mg/L, 萱藻丝状体保持大致相同的生长状态, 在培养后的第 20 天, 萱藻丝状体呈深褐色, 细胞质充盈, 念珠状孢子囊细胞比例高, 孢子囊直径可达 15.00 ~ 20.00  $\mu\text{m}$ , 孢子囊枝比例依次为 (41.25% ± 0.15%)、(46.78% ± 0.14%)、(42.23% ± 0.21%)、(40.05% ± 0.36%) 和 (41.12% ± 0.26%) (图 2), 尤其以外加氮浓度为 6.00 mg/L 时, 丝状体长势最佳 (图版-6), 与其他各实验组在孢子囊枝比例、孢子囊直径方面差异显著 ( $P < 0.05$ )。在外加  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度为 0 mg/L 条件下, 萱藻丝状体不仅色素极淡, 细胞长筒状, 且没有孢子囊枝的形成 (图版-7)。同时外加  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度高于 96.00 mg/L 时, 萱藻丝状体的长势差, 丝状体色素淡, 细胞质缢缩, 细胞长筒状, 直径仅为 9.00 ~ 10.00  $\mu\text{m}$  (图版-

8, 9), 孢子囊枝比例低, 分别仅有 (9.06% ± 0.32%) 和 (7.65% ± 0.45%) (图 2)。

综合考虑萱藻丝状体的生物量增重倍比及丝状体的发育质量,  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度为 6.00 mg/L 最适于萱藻丝状体生长发育。

### 2.3 磷浓度对萱藻丝状体生长发育的影响

在 0 ~ 5.28 mg/L 外加  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 浓度范围内, 各实验组萱藻丝状体生物量增重倍比随培养时间的延续均呈逐渐增大的趋势, 然而外加  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 浓度高于 15.84 mg/L 时, 在培养后期第 15 ~ 20 天, 生物量增重倍比却呈降低的趋势 (表 3)。在培养后的第 20 天, 随外加  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 浓度的逐渐增大, 各实验组生物量增重倍比分别为 (121.29% ± 0.34%)、(212.33% ± 0.37%)、(289.16% ± 0.23%)、(378.34% ± 0.17%)、(298.06% ± 0.14%)、(205.00% ± 0.23%)、(134.34% ± 0.08%) 和 (127.31% ± 0.33%), 其中外加  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 浓度为 1.32 mg/L 时, 对萱藻丝状体的生长促进效果最好, 生物量最终增重倍比显著高于其他各实验组 ( $P < 0.05$ )。

通过实验结果分析不同外加  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 浓度对萱藻丝状体孢子囊枝比例和孢子囊直径的影响 (图 3)。外加  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 浓度为 0.33 ~ 5.28 mg/L, 培养 20 d 后, 萱藻丝状体呈深褐色, 细胞质充盈, 念珠状孢子囊细胞比例高, 孢子囊直径高达 16.00 ~ 19.00  $\mu\text{m}$ , 孢子囊枝比例分别可达 (45.45% ± 0.35%)、(45.78% ± 0.45%)、(47.12% ± 0.26%)、(46.45% ± 0.23%) 和 (38.88% ± 0.20%), 特别是外加  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 浓度为 1.32 mg/L 时, 萱藻丝状体长势最佳 (图版-11), 与其他各实验组在孢子囊直径、孢子囊枝比例差异显著 ( $P < 0.05$ )。外加  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 浓度为 0 mg/L

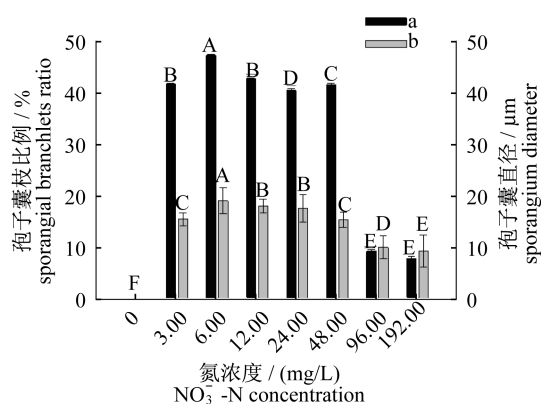


图 2 培养 20 d 后不同外加  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度对萱藻丝状体孢子囊枝比例及孢子囊直径的影响  
Fig.2 Effects of adding different concentrations of  $\text{NO}_3^-$ -N on sporangial branchlets ratio and sporangium diameter of filaments of *S. lomentaria* after being cultured for 20 days



时,丝状体发育较差(图版-10),在培养后的第 20 天,孢子囊枝比例仅为(10.12% ± 0.27%),孢子囊直径仅(9.78 ± 1.32) μm(图 3)。同时外加  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 浓度过高,达 15.84 mg/L 和 95.04 mg/L

时,丝状体出现“不良”生长状况——变绿、细胞解体、附着解体的丝状体碎屑并且没有孢子囊枝的形成(图版-12,13)。

表 3 外加不同  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 浓度对萱藻丝状体生物量增重倍比(%)的影响

Tab.3 Effects of adding different concentrations of  $\text{PO}_4^{3-}$ -P on increasing ratio of biomass of filaments of *S. lomentaria*

| 浓度/(mg/L)<br>concentration | 时间/d time                  |                            |                             |                            |                             |                              |
|----------------------------|----------------------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|
|                            | 1                          | 3                          | 5                           | 10                         | 15                          | 20                           |
| 0                          | 10.23 ± 0.22 <sup>a</sup>  | 25.07 ± 0.16 <sup>a</sup>  | 46.23 ± 0.17 <sup>a</sup>   | 62.09 ± 0.18 <sup>a</sup>  | 89.11 ± 0.23 <sup>a</sup>   | 121.29 ± 0.34 <sup>a</sup>   |
| 0.33                       | 12.32 ± 0.27 <sup>ab</sup> | 33.95 ± 0.18 <sup>b</sup>  | 51.41 ± 0.19 <sup>ab</sup>  | 78.13 ± 0.17 <sup>b</sup>  | 181.45 ± 0.24 <sup>b</sup>  | 212.33 ± 0.37 <sup>b</sup>   |
| 0.66                       | 18.09 ± 0.16 <sup>c</sup>  | 46.18 ± 0.11 <sup>c</sup>  | 67.25 ± 0.23 <sup>c</sup>   | 89.21 ± 0.54 <sup>c</sup>  | 200.23 ± 0.13 <sup>c</sup>  | 289.16 ± 0.23 <sup>c</sup>   |
| 1.32                       | 21.41 ± 0.28 <sup>d</sup>  | 50.43 ± 0.44 <sup>d</sup>  | 74.31 ± 0.17 <sup>d</sup>   | 94.45 ± 0.32 <sup>cd</sup> | 256.31 ± 0.15 <sup>d</sup>  | 378.34 ± 0.17 <sup>d</sup>   |
| 2.64                       | 16.89 ± 0.07 <sup>e</sup>  | 44.00 ± 0.42 <sup>ce</sup> | 67.98 ± 0.31 <sup>ce</sup>  | 76.31 ± 0.11 <sup>be</sup> | 234.42 ± 0.16 <sup>e</sup>  | 298.06 ± 0.14 <sup>ce</sup>  |
| 5.28                       | 13.00 ± 0.18 <sup>bf</sup> | 38.25 ± 0.43 <sup>f</sup>  | 59.43 ± 0.33 <sup>f</sup>   | 63.97 ± 0.23 <sup>af</sup> | 185.91 ± 0.32 <sup>bf</sup> | 205.00 ± 0.23 <sup>bf</sup>  |
| 15.84                      | 7.21 ± 0.17 <sup>g</sup>   | 37.97 ± 0.36 <sup>fg</sup> | 52.33 ± 0.10 <sup>bg</sup>  | 58.22 ± 0.08 <sup>ag</sup> | 156.02 ± 0.21 <sup>g</sup>  | 134.34 ± 0.08 <sup>ag</sup>  |
| 95.04                      | 5.12 ± 0.17 <sup>gh</sup>  | 28.32 ± 0.09 <sup>h</sup>  | 46.21 ± 0.16 <sup>abh</sup> | 50.34 ± 0.66 <sup>h</sup>  | 132.13 ± 0.48 <sup>h</sup>  | 127.31 ± 0.33 <sup>agh</sup> |

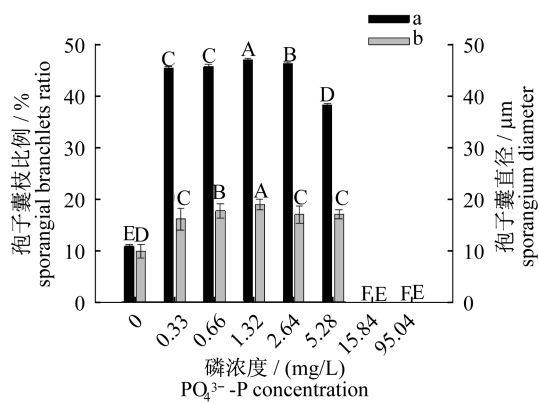


图 3 培养 20 d 后不同外加  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 浓度对萱藻丝状体孢子囊枝比例及孢子囊直径的影响

Fig.3 Effects of adding different concentrations of  $\text{PO}_4^{3-}$ -P on sporangial branchlets ratio and sporangium diameter of filaments of *S. lomentaria* after being cultured for 20 days

综合考虑萱藻丝状体的生物量增重倍比及丝状体的发育质量, $\text{PO}_4^{3-}$ -P 浓度为 1.32 mg/L 最有利于萱藻丝状体的生长发育。

3 讨论

培养液促进海藻的生长发育并不是单一营养元素调节作用的结果,而是由多种营养盐、维生素及微量金属元素共同作用的结果。不同培养液中营养盐、维生素以及微量金属元素的种类及含量不尽相同,因此选择一种合适的培养液,是萱藻丝状体快速生长发育的前提。本研究结果表明,L1 培

养液最有利于萱藻丝状体的生长发育,f/2 和 ESNW 培养液不适合萱藻丝状体的生长发育。这可能与 f/2 培养液中磷浓度过高以及 ESNW 培养液中氮和磷浓度相对过低有关。在 f/2 培养液中,磷浓度高达 13.33 mg/L,该浓度远高于本研究所获得的萱藻丝状体生长发育的最适磷浓度 1.32 mg/L,这可能使萱藻丝状体出现高磷限制的现象。此外,f/2 培养液中氮磷比为 1:1,氮磷营养盐比例偏低,据 Berges 等<sup>[20]</sup>关于氮磷营养盐对海藻细胞生长发育的研究报道,氮磷营养盐比例偏低将导致海藻细胞等出现磷限制的现象。因此,经 f/2 培养液培养的萱藻丝状体也发生了磷限制的现象,表现为丝状体发育不良、色泽较淡、细胞质缢缩及细胞长筒状。在 ESNW 培养液磷浓度为 0.71 mg/L,磷的浓度相对较低,我们认为这将会破坏营养盐体系的平衡,继而不能满足萱藻丝状体对营养盐的需求。因此,f/2 和 ESNW 培养液不利于萱藻丝状体的生长发育。而据 Hafting<sup>[14]</sup>和王萍等<sup>[15]</sup>的报道,裙带菜配子体和条斑紫菜自由丝状体在 f/2 培养液中能够快速生长,这可能是由于相比于裙带菜配子体和条斑紫菜丝状体而言,萱藻丝状体对磷的需求量相对较低,适合在低磷浓度的条件下生长。所以不同藻类必须选择不同培养液,从而高效地促进其生长<sup>[21]</sup>。

氮和磷是影响海藻生长的主要因子<sup>[22]</sup>。本研究表明, $\text{NO}_3^-$ -N 浓度为 6.00 mg/L, $\text{PO}_4^{3-}$ -P 浓度为 1.32 mg/L 最有利于萱藻丝状体生长发

育。据报道,条斑紫菜自由丝状体生长的最适  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度范围为 20.00 ~ 60.00 mg/L,  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 浓度范围为 1.50 ~ 5.00 mg/L<sup>[23]</sup>; 海带配子体快速生长的  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度为 6.00 mg/L,  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 浓度为 0.50 mg/L<sup>[24]</sup>。以上 3 种海藻最适生长的氮、磷浓度不同,可能是与海藻本身的生理状态(如海藻的形态、不同部位、年龄、营养史及内部营养库等)以及各种环境条件(如光照、温度及海水 pH 值等)有关,从而表现出复杂的吸收动力学特征<sup>[25]</sup>,其作用机理有待进一步研究。

外加  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度为 0 mg/L 和  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度过高(96.00 mg/L 及 192.00 mg/L)时,萱藻丝状体长势差,色泽淡;外加  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度在 3.00 ~ 48.00 mg/L 范围内,丝状体长势良好,色泽加深。该实验结果与 Harries<sup>[26]</sup> 的氮浓度对海带配子体生长发育的实验结果相似,即低浓度氮的条件下促进海带配子体的生长,色泽正常,当氮的含量过低或过高时,配子体的色泽淡,生长延缓,发育推迟。外加  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度为 0 mg/L 时,依靠海水中的本底硝酸盐(本实验所用海水,  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度约 0.96 mg/L),萱藻丝状体也能维持一定的生长,但由于丝状体生物量的增加,仅靠海水中的本底硝酸盐不足以满足丝状体对氮的需求,氮源供应不足,最终导致藻体细胞的叶绿素含量降低,藻体细胞光合作用受到限制,从而影响丝状体的生长。同时外加  $\text{NO}_3^-$ -N 浓度超过 96.00 mg/L 时,萱藻丝状体生物量的增重倍比在培养后期反而降低,丝状体色素淡,细胞质缢缩,细胞长筒状,作者认为这可能是高氮限制造成的结果。在高氮条件下,藻体细胞壁较薄,抵抗力减弱,易受细菌感染<sup>[27]</sup>,因此出现“不良”生长状况。同时在高氮条件下,不仅会影响光合磷酸化解偶联作用的 ATP 酶复合体亲水性蛋白偶联因子的形成,抑制光合作用,同时氮浓度过高,在细胞内会转化成铵离子,铵离子大量积累时会造成 NADH 的大量消耗,使能量供应受阻<sup>[17]</sup>,最终导致萱藻丝状体因能量供应不足而发育不良,生长缓慢。

外加  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 浓度为 0 mg/L 时,萱藻丝状体生长速度相对较慢,培养 20 d 后,孢子囊枝比例仅为 10.12%,孢子囊直径仅有 9.78  $\mu\text{m}$ ;外加  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 浓度在 0.33 ~ 5.28 mg/L 范围内,萱藻丝状体生长速度相对较快,培养 20 d 后,孢子囊直径可达 16.00 ~ 19.00  $\mu\text{m}$ ,孢子囊枝比例高达 38.00% ~

48.00%;外加  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 浓度超过 15.84 mg/L 时,均没有孢子囊枝的形成。由此可见,磷浓度对萱藻丝状体的生长发育具有重要影响。磷是能量调节者,能够促进糖类代谢、蛋白质代谢和脂肪代谢的正常进行与海藻生殖细胞的形成<sup>[27]</sup>。当缺磷时,蛋白质合成受阻,新的细胞质和细胞核形成较少,从而影响细胞分裂,生长缓慢。而当磷浓度过高时,又会抑制 ATP 反应的进行,使能量供应受阻<sup>[28]</sup>。因此,当磷浓度过低时,不利于萱藻丝状体营养细胞的分裂与生殖细胞的形成,同时磷浓度过高时,又会因能量供应不足而抑制其营养细胞的分裂。因此在实际应用中,一方面在萱藻丝状体的营养生长阶段,适时地控制磷酸盐浓度,使其维持在一定范围内,另一方面在萱藻丝状体的生殖生长阶段,适时、适量地增加磷酸盐的浓度,这样才最有利于萱藻丝状体的生长发育。

综上所述,L1 培养液最有利于萱藻丝状体的生长发育,外加  $\text{NO}_3^-$ -N、 $\text{PO}_4^{3-}$ -P 浓度分别为 6.00 和 1.32 mg/L 时,对萱藻丝状体的生长发育有最佳的促进效果。因此,在萱藻丝状体生长发育过程中,要适时地控制硝酸盐与磷酸盐的浓度,使其维持在一定范围内,从而促进萱藻丝状体快速生长,提高其孢子囊枝比例、增大孢子囊直径。此外,本研究是在 L1 培养液基础上,探讨了氮浓度和磷浓度对萱藻丝状体生长发育的影响,而实际上,影响丝状体生长发育的因素不仅只有这些。除需对氮、磷的浓度进行调控之外,氮磷比在海藻的生长发育过程中也有着重要影响<sup>[29-32]</sup>。再者,据 Martha 等<sup>[33]</sup>的报道,金属元素对海带配子体的生长发育具有重要影响。氮磷比以及金属元素对萱藻丝状体生长发育的具体影响程度有待进一步研究。

#### 参考文献:

- [1] Xing Y Z, Gong X Z, Yin B S, et al. The morphology and life history of *Scytosiphon lomentaria* [J]. Periodical of Ocean University of China: Natural Science, 2010, 40(8): 98 - 103. [邢永泽, 宫相忠, 尹宝树, 等. 萱藻不同发育阶段形态学及生活史的研究. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 2010, 40(8): 98 - 103.]
- [2] Zhang Y, Fu X T, Lin H, et al. Analysis and evaluation of nutritional quality of *Scytosiphon lomentaria* [J]. Acta Nutrimenta, 2011, 33(6):

- 619-623. [张宇,付晓婷,林红,等.萱藻营养品质的分析和评价.营养学报,2011,33(6):619-623.]
- [3] Hudson J, Kim J, Lee M, *et al.* Antiviral compounds in extracts of Korean seaweeds: Evidence for multiple activities [J]. *Journal of Applied Phycology*, 1998, 10 (5): 427-434.
- [4] Kanagasabhapathy M, Sasaki H, Haldar S, *et al.* Antibacterial activities of marine epibiotic bacteria isolated from brown algae of Japan [J]. *Annals of Microbiology*, 2006, 56(2): 167-173.
- [5] Hiroyuki N, Hideomi A, Koichi A, *et al.* Antitumor activity of marine algae [J]. *Hydrobiologia*, 1990, 204/205(1): 577-584.
- [6] Xu N J, Fan X, Han L J, *et al.* Screening marine algae from Shandong coast for antitumor activity [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2001, 32 (4): 408-413. [徐年军,范晓,韩丽君,等.山东沿海海藻抗肿瘤活性的筛选.海洋与湖沼,2001,32(4):408-413.]
- [7] Kuda T, Tsunekawa M, Hishi, *et al.* Antioxidant properties of dried 'Kayamo-Nor', a brown alga *Scytosiphon lomentaria* (Scytosiphonales, Phaeophyceae) [J]. *Food Chemistry*, 2005, 89 (4): 617-622.
- [8] Li D P, Zhou Z G, Liu H H, *et al.* A new method of *Laminaria japonica* strain selection and sporeling raising by the use of gametophyte clones [J]. *Hydrobiologia*, 1999, 398/399: 473-476.
- [9] Bionda Morelissen, Bruce D D, Shane W G, *et al.* Gametophyte reproduction and development of *Undaria pinnatifida* under varied nutrient and irradiance conditions [J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2013, 448: 197-206.
- [10] Zhang M R, Lu Q Q, Hu C M, *et al.* A study on effect of nutrient concentration and other factors on the germplasm amplification of *Porphyra yezoensis* Ueda [J]. *Modern Fisheries Information*, 24(4): 3-6. [张美如,陆勤勤,胡传明,等.营养盐浓度等因子对条斑紫菜种质扩增影响的研究.现代渔业信息,2009,24(4):3-6.]
- [11] Li D P, Xiong Y. Sensitivities of gametophytes of brown seaweed *Undaria pinnatifida* to four antibiotics [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2005, 36 (3): 255-260. [李大鹏,熊艳.裙带菜(*Undaria pinnatifida*)配子体对四种抗生素的敏感性研究.海洋与湖沼,2005,36(3):255-260.]
- [12] Andersen R A. *Algal culturing techniques* [M]. Amsterdam: Academic Press, 2005.
- [13] Yuan T K, Xuan X Z, Jin M, *et al.* Effect of two kinds of culture medium on growth of *Chlorella vulgaris* [J]. *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2010, 38(16): 8475. [袁天昆,宣雄智,金敏,等.2种培养液对小球藻生长的影响.安徽农业科学,2010,38(16):8475.]
- [14] Hafting J T. Effect of tissue nitrogen and phosphorus quota on growth of *Porphyra yezoensis* blades in suspension cultures [J]. *Hydrobiologia*, 1999, 398/399: 305-314.
- [15] Wang P, Zhang Y J, Li X S, *et al.* The effects of plant hormones on the growth and development of filaments of *Porphyra yezoensis* [J]. *Reservoir Fisheries*, 2008, 28(2): 35-37. [王萍,张玉婧,李信书,等.植物激素对条斑紫菜丝状体生长发育的影响.水利渔业,2008,28(2):35-37.]
- [16] Gao W, Gong X Z, Zhang B D. Effect of environmental factors on spore releasing of filaments of *Scytosiphon lomentaria* [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2012, 42(2): 244-248. [高伟,宫相忠,张必达.环境因子对萱藻(*Scytosiphon lomentaria*)丝状体孢子放散的影响.海洋与湖沼,2012,42(2):244-248.]
- [17] Deng H L. Study on gametophyte culture and cAMP system of *Undaria pinnatifida* [D]. Fuzhou: Fujian Agriculture and Forest University, 2012: 34-36. [邓海临.裙带菜配子体培养及其cAMP系统研究.福州:福建农林大学,2012:34-36.]
- [18] Gao W. Effect of environmental factors on filaments amplification and sporangia development of *Scytosiphon lomentaria* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2012: 17-20. [高伟.环境因子对萱藻丝状体扩增及孢子囊发育的影响.青岛:中国海洋大学,2012:17-45.]
- [19] Yellow Sea Fisheries Research Institute *Porphyra* Group. The breeding of *Porphyra haitanensis* and *Porphyra yezoensis* [M]. Beijing: Beijing Agricultural Press, 1979: 36-43. [黄海水产研究所紫菜组.坛子菜与条斑紫菜养殖.北京:北京农业出版社,1979:36-43.]
- [20] Berges J A, Franklin D J, Harrison P J. Evolution of an artificial seawater medium: Improvements in enriched seawater, artificial water over the last two decades [J]. *Journal of Phycology*, 2001, 37 (6): 1138-1145.
- [21] Brezo M, Lorena S P, Jose M R. Nutrient uptake and growth responses of three intertidal macroalgae with perennial, opportunistic summer-annual strategies

- [J]. Aquatic Botany, 2012, 96(1): 14–22.
- [22] Morelissen B, Dudley B D, Geange S W, *et al.* Gametophyte reproduction and development of *Undaria pinnatifida* under varied nutrient and irradiance conditions [J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 2013, 448: 197–206.
- [23] Luo Q J, Lu D, Fei Z Q, *et al.* Effect of ecological factors on growth of free-living conochocelis of *Porphyra yezoensis* Ueda in Zhejiang [J]. Fisheries Science, 1999, 18(4): 6–9. [骆其君, 卢冬, 费志清, 等. 生态因子对条斑紫菜自由丝状体生长的影响. 水产科学, 1999, 18(4): 6–9.]
- [24] Chen S, Qi H. Photolithotrophic cultivation of *Laminaria japonica* gametophyte cells in a silicone tubular membrane-aerated Photobioreactor [J]. Plant Cell Tissue Organ Culture, 2008, 93(1): 29–38.
- [25] Zou D H, Xia J R. Nutrient metabolism of marine macroalgae and its relationship with coastal eutrophication: A review [J]. Chinese Journal of Ecology, 30(3): 589–595. [邹定辉, 夏建荣. 大型海藻的营养盐代谢及其与近岸海域富营养化的关系. 生态学杂志, 2011, 30(3): 589–595.]
- [26] Harries R. An investigation by cultural methods of some of the factors influencing the development of the gametophytes and early stages of the sporophytes of *Laminaria digitata*, *L. saccharina* and *L. cloustoni* [J]. Annals of Botany, 1932, 46(184): 894–928.
- [27] Zeng C K, Wang S J, Liu S J, *et al.* Marine algae cultivation [M]. Shanghai: Shanghai Scientific and Technical Publishers, 1984: 30–33. [曾呈奎, 王素娟, 刘思俭, 等. 海藻栽培学. 上海: 上海科学技术出版社, 1984: 17–33.]
- [28] Zhao R, Chen S Y, Zhang B H, *et al.* Effects of constant nitrate and phosphate concentration on perfusion culture of *Laminaria japonica* gametophytic cells in stirred-tank photobioreactor [J]. Chinese High Technology Letters, 2005, 15(11): 91–95. [赵锐, 陈思晔, 张宝红, 等. 氮磷浓度对灌注搅拌式光生物反应器连续培养海带配子体细胞的影响. 高技术通讯, 2005, 15(11): 91–95.]
- [29] Mizuta H, Ogawa S, Yasui H. Phosphorus requirement of the sporophyte of *Laminaria japonica* (Phaeophyceae) [J]. Aquatic Botany, 2003, 76(2): 117–126.
- [30] Oyama H, Kitadai Y, Kadowaki S. Production of cultured *Laminaria japonica* and its nitrogen and phosphate uptake in a coastal fish farm Yatsushiro Sea [J]. Memoirs of Faculty of Fisheries Kagoshima University, 2005, 54: 29–34.
- [31] Rhee G Y. Effects of N:P atomic ration and nitrate limitation on algae growth, cell composition and nitrate uptake [J]. Limnology and Oceanography, 1978, 23(1): 10–25.
- [32] Chen Y, Pei L Q, Yan X J, *et al.* Effect of phosphorus on sporangial branchlets formation of *Porohyra haitanensis* [J]. Aquaculture, 2005, 26(5): 4–7. [陈烨, 裴鲁青, 严小军, 等. 磷对坛紫菜孢子囊枝形成的影响. 水产养殖, 2005, 26(5): 4–7.]
- [33] Martha G, Malcolm N, Stephen J H, *et al.* The toxicity of copper (II) species to marine algae, with particular reference to macroalgae [J]. Journal of Phycology, 1997, 33(1): 2–11.

## 图版说明 Explanation of Plate

### 图版

1. L1 培养液中的萱藻丝状体; 2. F1 培养液中的萱藻丝状体; 3. PES 培养液中的萱藻丝状体; 4. f/2 培养液中的萱藻丝状体; 5. ESNW 培养液中的萱藻丝状体; 6. 氮浓度为 6.00 mg/L 培养的萱藻丝状体; 7. 氮浓度为 0 mg/L 培养的萱藻丝状体; 8. 氮浓度为 96.00 mg/L 培养的萱藻丝状体; 9. 氮浓度为 192.00 mg/L 培养的萱藻丝状体; 10. 磷浓度为 0 mg/L 培养的萱藻丝状体; 11. 磷浓度为 1.32 mg/L 培养的萱藻丝状体; 12. 磷浓度为 15.84 mg/L 培养的萱藻丝状体, 箭头所指为附着在藻丝表面的分解的丝状体碎屑; 13. 磷浓度为 95.04 mg/L 培养的萱藻丝状体; 图版-1, 2, 3, 4, 5 为培养 28 天的萱藻丝状体, 图版-6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 为培养 20 天的萱藻丝状体

### Plate

1. The filaments of *S. lomentaria* in L1 culture medium; 2. The filaments of *S. lomentaria* in F1 culture medium; 3. The filaments of *S. lomentaria* in PES culture medium; 4. The filaments of *S. lomentaria* in f/2 culture medium; 5. The filaments of *S. lomentaria* in ESNW culture medium; 6. The filaments of *S. lomentaria* in the concentration of  $\text{NO}_3^-$ -N 6.00 mg/L; 7. The filaments of *S. lomentaria* in the concentration of  $\text{NO}_3^-$ -N 0 mg/L; 8. The filaments of *S. lomentaria* in the concentration of  $\text{NO}_3^-$ -N 96.00 mg/L; 9. The filaments of *S. lomentaria* in the concentration of  $\text{NO}_3^-$ -N 192.00 mg/L; 10. The filaments of *S. lomentaria* in the concentration of  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 0 mg/L; 11. The filaments of *S. lomentaria* in the concentration of  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 1.32 mg/L; 12. The filaments of *S. lomentaria* in the concentration of  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 95.04 mg/L, attaching on the surface of the filaments were the decomposition of the filaments, Arrowed; 13. The filaments of *S. lomentaria* in the concentration of  $\text{PO}_4^{3-}$ -P 95.04 mg/L. Plate-1, 2, 3, 4, 5 were the filaments of *S. lomentaria* that cultured for 28 days, plate-6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 were the filaments of *S. lomentaria* that cultured for 20 days

## Effects of five culture media on the growth and development of the filaments of *Scytosiphon lomentaria*

HONG Lizhen<sup>1</sup>, GONG Xiangzhong<sup>1\*</sup>, ZHANG Wenjian<sup>1</sup>, GAO Wei<sup>1</sup>, ZHANG Bida<sup>2</sup>

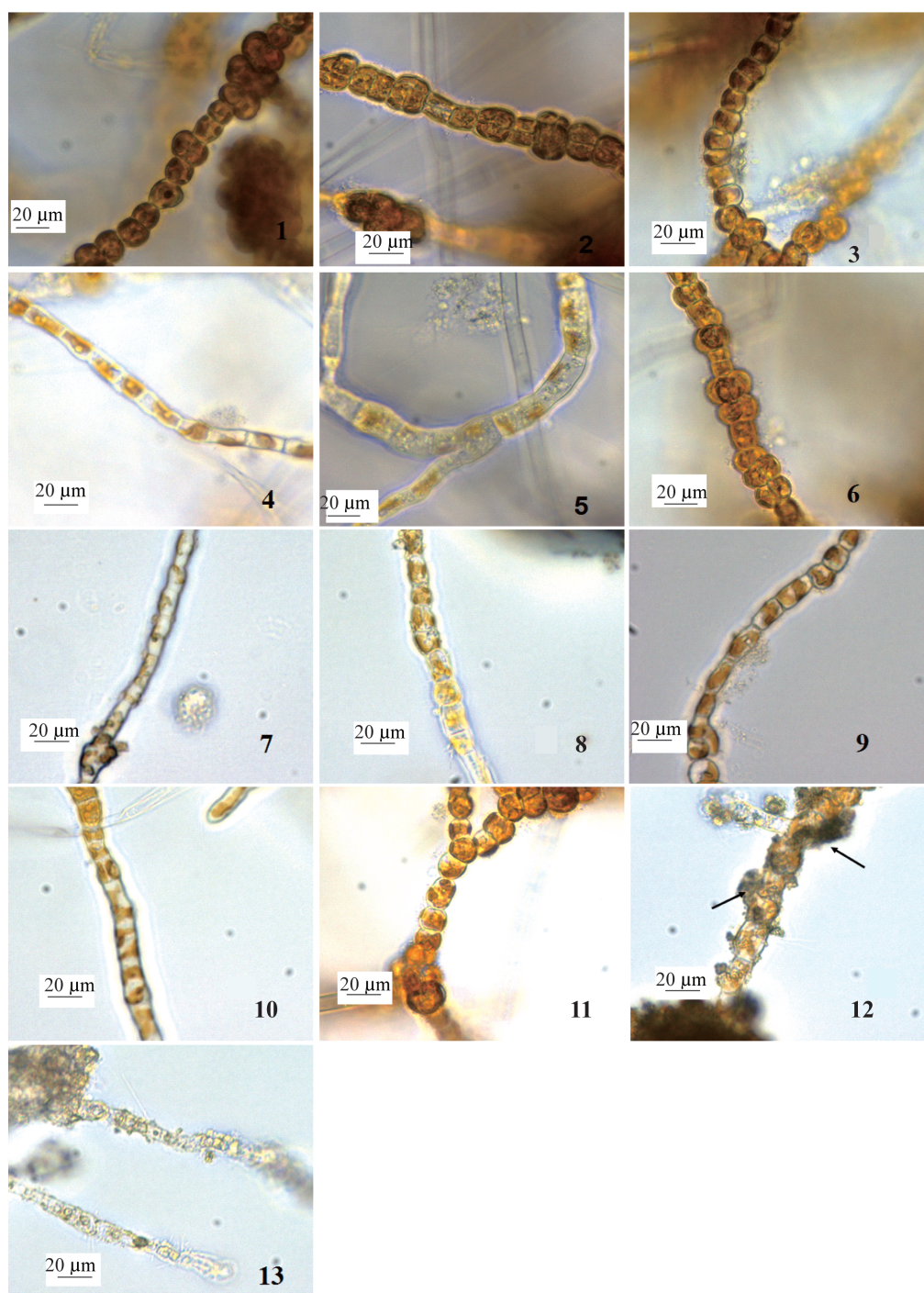
(1. College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, China;

2. Changdao Aihua Seaweed Foodstuff Co., Ltd., Yantai 265800, China)

**Abstract:** The filaments of *Scytosiphon lomentaria* preserved in our laboratory were used as the experimental material, and the effects of five culture media L1, PES, F1, f/2 and ESNW on the growth and development of filaments of *S. lomentaria* were studied, meanwhile, the effects of the different concentrations of nitrate and phosphate based on  $\text{NO}_3^-$ -N and  $\text{PO}_4^{3-}$ -P free of L1 culture medium on the growth and development of filaments of *S. lomentaria* were also studied by the experimental ecology methods in this paper. Results showed as follows: (1) L1 was the optimal culture medium for the growth and development of filaments of *S. lomentaria* in the five culture media. The filaments of *S. lomentaria* were dark brown and the cytoplasm was plentiful cultured in L1 medium, the increasing ratio of filament biomass was  $(560.48\% \pm 0.73\%)$ , the sporangial branchlets ratio and the sporangium diameter could reach up to  $(46.88\% \pm 0.41\%)$  and  $(18.95 \pm 0.89) \mu\text{m}$ , respectively, after being cultured for 28 days in L1 culture medium; (2) The optimal concentration of  $\text{NO}_3^-$ -N for the growth and development of filaments of *S. lomentaria* was 6.00 mg/L. Under this concentration, the filaments could grow rapidly and the filaments of *S. lomentaria* were dark brown, moreover the sporangial branchlets ratio could achieve  $(46.78\% \pm 0.14\%)$  and the sporangium diameter could increase to  $(18.78 \pm 2.45) \mu\text{m}$  after being cultured for 20 days. Whereas, the filaments grew slowly and pigment of the filaments of *S. lomentaria* was light with the addition of  $\text{NO}_3^-$ -N at the concentrations of 0, 96.00 and 192.00 mg/L, the sporangial branchlets ratio were  $(0\% \pm 0\%)$ ,  $(9.06\% \pm 0.32\%)$  and  $(7.65\% \pm 0.45\%)$ , respectively, and the sporangium diameter were only about 9.00 – 10.00  $\mu\text{m}$  after being cultured for 20 days; (3) The optimal addition concentration of  $\text{PO}_4^{3-}$ -P for the growth and development of filaments of *S. lomentaria* was 1.32 mg/L. Under the concentration, the filaments could grow rapidly, moreover, the filaments of *S. lomentaria* were dark brown, the sporangial branchlets ratio could achieve  $(47.12\% \pm 0.26\%)$ , the sporangium diameter was 18.89  $\mu\text{m}$  after being cultured for 20 days. However, the sporangial branchlets ratio was only  $(18.89 \pm 0.98) \mu\text{m}$  and the sporangium diameter was just  $(9.78 \pm 1.32) \mu\text{m}$  after being cultured for 20 days with the addition of  $\text{PO}_4^{3-}$ -P at 0 mg/L, and the filaments of *S. lomentaria* were turned virescent, the cells were cytoclasis and there was no formation of the sporangial branchlets with the addition of  $\text{PO}_4^{3-}$ -P exceeding 15.84 mg/L. The results mentioned above revealed that it was good for the filaments of *S. lomentaria* to grow rapidly, enhance the sporangial branchlets ratio and magnify sporangium diameter based on selecting a suitable culture medium and controlling the concentration of nitrate and phosphate within limits in the stage of growth and development of filaments of *S. lomentaria*.

**Key words:** *Scytosiphon lomentaria*; filaments; culture medium; growth; development

**Corresponding author:** GONG Xiangzhong. E-mail: gxzhw@163.com



图版 培养液对萱藻丝状体生长发育的影响  
Plate Effects of culture medium on the growth and  
development of the filaments of *S. lomentaria*