



光因子对方斑东风螺胚胎和幼虫发育的影响

钟茂程¹, 刘璐瑶¹, 禤梓杰¹, 熊乐¹, 张玉婷¹,
窦熙茵¹, 张元¹, 刘志刚^{1,2}, 吕文刚^{1,2*}

(1. 广东海洋大学水产学院, 广东 湛江 524088;

2. 广东海洋大学, 广东省无脊椎动物科技创新中心, 广东 湛江 524088)

摘要: 为研究光因子对方斑东风螺胚胎受精孵化过程的影响, 实验采用析因实验设计法研究了光照强度、光质和光周期等不同光条件对方斑东风螺胚胎发育过程中受精率 (FR)、孵化率 (HR) 和变态率 (MR) 的影响, 通过回归模型, 优化光条件, 找到利于胚胎发育的最佳光质、光强和光周期。结果显示, 不同光质条件下, 光照强度和光周期一次效应、交互效应和二次效应均呈显著水平, 三者存在互作效应。在绿光条件下, 光照强度为 $13.70 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 光照时间为 15.54 h 时, 其 FR、HR 和 MR 达到最优值, 其值分别为 91.36% 、 88.64% 和 92.02% , 优化后绿光促进东风螺胚胎发育效果最为明显, 其次是红光和白光。在蓝光条件下, 其光照强度和光周期任意组合水平下 FR、HR 和 MR 与其他光质比较均较低, 且随着光照强度增加和光照时间延长, 三项指标值下降越明显, 因而表明蓝光对胚胎发育起到抑制作用。实验表明, 合适的光照强度和光周期能与光质协同作用, 可以提高方斑东风螺育苗效率和苗种品质。

关键词: 方斑东风螺; 光照强度; 光周期; 光质; 胚胎发育

中图分类号: S 968.9

文献标志码: A

方斑东风螺 (*Babylonia areolata*) 属于软体动物门 (Mollusca) 腹足纲 (Gastropoda) 新腹足目 (Neogastropoda) 蛾螺科 (Buccinidae) 肉食性海洋底栖贝类, 主要分布在中国东南沿海, 是我国名贵海洋经济动物之一^[1]。目前, 由于捕捞过度和海区污染, 野生资源受到了极大威胁^[2], 同时随着养殖技术的不断提高, 养殖规模不断扩大^[3-4], 种质退化的问题日益显现。因此, 人们开始方斑东风螺种质创新研究, 并取得了较大成就^[5]。然而, 东风螺种质培育过程中, 环境因子对其胚胎发育、生长等具有较大影响, 因此, 开展环境因子对东风螺全生活史的影响研究能够为其种苗生产和新种质的创制提供理论数据支持。目前, 方斑东风

螺环境因子研究主要集中在温度^[6-7]、盐度^[8-9]、重金属离子^[10-11]、海洋酸化^[12]等方面, 而对于光环境研究相对较少。

光照条件包含光质、光照强度和光照周期 3 个因素, 光照由光质 (光谱)、光照强度和光照周期组成, 能直接或间接影响水生动物生存^[13]、生长发育^[14]、能量代谢^[15]、抗氧化和免疫^[16-17]、昼夜节律^[18]、迁徙^[19]等行为。大部分鱼类繁殖季节与自然光周期的季节变化间存在明显相关性, 在进化上有利于后代在适宜季节出生以保障幼体成活率^[20]。周爽男等^[21]发现光照强度和光周期能显著影响虎斑乌贼 (*Sepia pharaonis*) 胚胎孵化率、培育周期和孵化周期, 在低光强 $30 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 和半

收稿日期: 2021-05-21 修回日期: 2022-03-16

资助项目: 广东海洋大学博士启动资金 (R20051); 国家重点研发计划“蓝色粮仓”科技创新专项 (2018YFD0901401); 国家自然科学基金 (31702325)

第一作者: 钟茂程 (照片), 从事贝类生理与生态学研究, E-mail: mcheng0618@163.com

通信作者: 吕文刚, 从事贝类遗传育种与生态毒理研究, E-mail: lvwengang2007@163.com



日光照更孵化效果更佳。张永胜等^[22]发现, 光强和光周期对仿刺参 (*Stichopus japonicus*) 幼体生长发育具有显著影响, 光强 $9 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 光周期 14L : 10D 明显影响其生长速率, 光强 $0.9 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 光周期 10L : 14D 处理组变态率最高, 全黑暗条件下存活率最低。Gao 等^[23-24]发现蓝绿光对皱纹盘鲍 (*Haliotis discus hannai*) 孵化率和变态率更高 ($P < 0.05$), 存活率更高, 变态时间短, 并随着光强的增加而降低, 随着红橙光光强增加, 畸形率和变态率增加, 变态时间延长。白光条件下, 幼虫生长明显低于其他各组 ($P < 0.05$)。Mallet 等^[25]将海湾扇贝 (*Argopecten irradians*) 暴露在 4 种不同光周期下, 发现光照超过 8 h 后性腺成熟, 光照 16 h 处理组配子成熟度最高。可见, 光照能明显影响软体动物胚胎发育。目前, 关于光因子对方斑东风螺生活史研究相对较少, 魏永杰^[26]发现方斑东风螺幼虫在光照强度大于 $55 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 时, 面盘幼虫沉底率大于 60%, 在光照强度为 $180 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 条件下, 面盘幼虫摄食率最高, 且光照强度显著影响幼体摄食节律。郑纪盟^[27]发现方斑东风螺稚螺阶段在蓝光和绿光条件下, 特定生长率最高, 而黑暗条件和橙光更低。

本实验采用析因分析法研究不同光质、光照强度和光周期水平组合对方斑东风螺胚胎发育的影响效应, 通过研究找出利于该种东风螺胚胎发育的最佳光照条件, 为其规模化种苗生产提供基础资料。

1 材料与方 法

1.1 实验材料与设备

实验所用亲螺为方斑东风螺新品种“海泰 1 号”(GS-01-008-2018), 其规格为 $(45.5 \pm 1.0) \text{ mm}$ 。实验光照设备是由杭州勇电照明有限公司定制生产的 LED 灯具 (型号为 OUGE-YZXTY-18, 额定电压 24 V), 实验箱体为具有 20 个分格小箱 ($0.5 \text{ m} \times 0.5 \text{ m} \times 0.5 \text{ m}$) 的黑色不透明玻璃缸 ($5.0 \text{ m} \times 1.0 \text{ m} \times 0.5 \text{ m}$) (图 1)。实验所需的其他设备主要包括分光辐射仪、卵囊收集铲、卵囊收集框、孵化框、充气机、增氧机、充气管与气石、光学显微镜等。

1.2 实验设计及操作

本实验采用析因设计, 其光因子包括 4 种光质分别为红光 620 nm、绿光 565 nm、蓝光 450 nm、白光 460 nm、黑暗 [设定为 $0 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$], 光照强度为 $2 \sim 32 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 光照时间 (L : D=光照 :



图 1 多分格实验箱体截图

Fig. 1 Screenshot of multi-grid experimental box

黑暗) 分别为 6L : 18D、12L : 12D、18L : 6D 和 24L : 0D, 实验共计 80 组, 前后共重复 2 次。其光条件调控操作方法为在玻璃箱内装入 LED 灯, 灯与灯之间采用并联电路连接, 在实验过程中, 整体置于黑暗条件中, 并将对应的光质 LED 灯悬挂在水体上方, 采用分光辐射仪调节灯与水体之间的距离来控制光照强度。

选取方斑东风螺亲螺, 要求活力好, 个体无损伤、无病害。选取雌性个体 100 只, 雄性个体 100 只, 雌雄个体间差异不显著 ($P > 0.05$)。实验过程中室内温度用空调控温 (25 ± 2) $^{\circ}\text{C}$, 盐度用海水水晶控制在 29.34~31.47, 溶解氧 6.64~7.15, pH 7.78~7.89。在前期养殖过程中, 选取冰鲜牡蛎、杂鱼和鱿鱼对亲螺进行促熟, 在每日 17:00~18:00 期间投食, 投喂量为亲螺体重的 5%~10%, 隔日清晨清除残饵, 并换水清污。每周倒池 1 次, 并用 5×10^{-6} 高锰酸钾对底质进行消毒。亲螺在夜间进行交配, 交配结束后, 产出卵囊。待卵囊固定在沙面后, 结合换水时间排干水, 用收集铲收集卵囊置于 60 目收集框, 用干净海水洗去沙子留下卵囊, 然后用 5×10^{-6} 高锰酸钾消毒卵囊 30 s, 用干净海水轻轻冲洗 1 min 后待用。

每组先随机抽取 3 个卵囊, 在显微镜下观察受精情况并根据受精卵数量计算受精率以及总卵粒数。其次, 每个箱子中分别放入孵化框 (孔径 0.3 cm), 每个孵化框用绳子系上泡沫, 保证不与玻璃箱底部相接触, 往箱子中加入干净海水, 温度和盐度与雌螺条件一致。按照表 1 条件设置好光因子条件, 并每组选取 10 个卵囊于孵化框中, 并将其分散开, 避免堆积造成缺氧死亡。实验开始后, 每天观察卵粒发育情况, 当第 1 只幼虫出膜后, 每天采样统计各组孵出幼虫数, 待幼虫全部出膜后计算幼虫孵化率。待幼虫变态为稚螺后, 收集各组稚螺统计变态率。

表 1 光照对方斑东风螺的受精率、孵化率和变态率影响效应

Tab. 1 Effect of light factory to FR、HR and MR of *B. areolata*

序号 no.	光照强度/[$\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$] light intensity	光周期/h photoperiod	光质 light quality	FR	HR	MR
				(平均值 \pm 标准差)/% mean \pm SD		
1	8	24	B	32.11 \pm 1.61	25.15 \pm 0.76	24.82 \pm 2.54
2	4	12	G	66.62 \pm 4.46	65.34 \pm 4.91	66.12 \pm 3.38
3	32	24	G	59.81 \pm 3.33	60.33 \pm 3.17	63.51 \pm 2.29
4	16	24	B	20.62 \pm 1.62	19.64 \pm 1.01	20.52 \pm 0.93
5	8	18	R	72.34 \pm 5.29	76.90 \pm 4.44	75.01 \pm 3.85
6	8	12	R	74.32 \pm 6.32	78.81 \pm 6.69	77.43 \pm 3.85
7	8	24	W	39.52 \pm 2.21	40.11 \pm 1.54	38.41 \pm 2.36
8	4	6	W	77.41 \pm 4.48	70.22 \pm 3.96	61.63 \pm 5.89
9	2	12	W	76.54 \pm 6.02	77.90 \pm 4.41	70.68 \pm 3.38
10	2	12	R	67.36 \pm 3.65	55.24 \pm 2.28	52.79 \pm 2.96
11	4	24	W	40.48 \pm 1.95	44.38 \pm 4.92	46.77 \pm 3.31
12	2	18	R	67.41 \pm 5.78	61.22 \pm 3.39	59.90 \pm 2.28
13	8	18	B	40.19 \pm 1.16	37.92 \pm 2.95	30.63 \pm 3.44
14	16	6	B	32.48 \pm 3.59	29.74 \pm 5.42	29.78 \pm 3.47
15	8	6	R	78.53 \pm 6.02	76.56 \pm 4.59	76.59 \pm 7.13
16	16	24	G	70.59 \pm 6.13	65.62 \pm 4.15	66.81 \pm 4.30
17	16	18	G	73.90 \pm 2.86	77.11 \pm 5.53	84.33 \pm 5.29
18	32	12	W	55.28 \pm 2.29	60.25 \pm 6.68	61.24 \pm 2.94
19	8	6	W	70.34 \pm 4.21	65.43 \pm 3.33	62.65 \pm 5.53
20	2	18	W	74.09 \pm 3.67	69.36 \pm 4.96	66.12 \pm 7.73
21	8	18	G	78.91 \pm 6.68	82.58 \pm 5.32	83.90 \pm 5.15
22	32	6	W	58.93 \pm 3.27	63.82 \pm 4.78	60.13 \pm 4.20
23	16	12	G	89.84 \pm 6.66	90.34 \pm 6.53	91.49 \pm 6.59
24	32	18	R	49.52 \pm 5.58	57.29 \pm 6.06	49.33 \pm 7.71
25	4	24	B	40.48 \pm 5.86	32.46 \pm 4.38	30.62 \pm 3.49
26	4	18	G	78.88 \pm 6.51	80.23 \pm 9.03	75.74 \pm 8.86
27	2	18	G	70.27 \pm 6.64	78.12 \pm 3.39	70.58 \pm 7.13
28	32	12	G	77.90 \pm 5.14	83.64 \pm 6.71	79.09 \pm 5.55
29	32	6	B	22.58 \pm 1.24	20.66 \pm 0.88	19.82 \pm 3.49
30	4	24	R	62.43 \pm 4.49	70.70 \pm 3.38	69.91 \pm 1.63
31	2	24	B	40.27 \pm 7.73	38.88 \pm 3.81	35.6 \pm 2.29
32	8	12	W	77.28 \pm 5.25	80.63 \pm 6.91	89.32 \pm 4.48
33	32	18	B	20.31 \pm 5.94	19.51 \pm 1.30	15.79 \pm 3.36
34	8	24	R	69.03 \pm 2.26	70.50 \pm 7.98	67.7 \pm 6.11
35	2	24	G	72.51 \pm 7.78	77.02 \pm 4.58	73.63 \pm 5.53
36	4	18	R	76.78 \pm 5.22	79.12 \pm 4.49	72.64 \pm 3.31
37	16	18	W	79.89 \pm 9.94	82.82 \pm 3.37	80.51 \pm 8.82
38	16	12	R	76.23 \pm 5.43	78.24 \pm 3.31	75.74 \pm 4.42
39	16	24	R	76.61 \pm 6.06	78.08 \pm 7.10	79.17 \pm 5.55
40	8	12	B	30.57 \pm 6.14	32.11 \pm 5.17	29.66 \pm 2.10

· 续表 1 ·

序号 no.	光照强度/[$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$] light intensity	光周期/h photoperiod	光质 light quality	FR	HR	MR
				(平均值 \pm 标准差)% mean \pm SD		
41	16	18	B	20.51 \pm 3.36	19.58 \pm 2.02	17.80 \pm 3.83
42	8	6	B	38.53 \pm 4.49	40.69 \pm 5.39	42.17 \pm 5.11
43	32	24	R	40.91 \pm 6.72	50.03 \pm 3.41	41.33 \pm 6.53
44	4	18	B	30.34 \pm 2.24	32.07 \pm 5.44	29.88 \pm 3.19
45	4	6	B	36.72 \pm 7.79	40.79 \pm 8.30	39.53 \pm 8.15
46	4	24	G	60.48 \pm 3.36	62.09 \pm 2.29	63.81 \pm 1.87
47	4	6	G	82.56 \pm 6.74	80.33 \pm 5.42	79.80 \pm 8.82
48	2	24	W	60.39 \pm 5.55	49.91 \pm 3.96	50.22 \pm 5.02
49	4	18	W	85.29 \pm 7.72	80.59 \pm 5.85	86.26 \pm 9.85
50	16	24	W	30.21 \pm 4.33	33.27 \pm 3.21	39.48 \pm 4.53
51	4	12	R	71.23 \pm 8.80	68.90 \pm 6.92	68.20 \pm 5.43
52	16	18	R	82.61 \pm 10.02	84.57 \pm 6.63	85.63 \pm 4.01
53	8	24	G	79.80 \pm 9.97	83.52 \pm 8.31	84.03 \pm 3.25
54	2	6	R	60.46 \pm 3.41	49.00 \pm 6.27	41.17 \pm 5.33
55	2	12	G	79.88 \pm 5.14	80.51 \pm 2.21	81.24 \pm 3.01
56	32	18	W	40.08 \pm 7.14	46.33 \pm 6.42	50.65 \pm 2.07
57	2	6	B	49.71 \pm 5.55	50.26 \pm 4.40	43.49 \pm 3.39
58	8	6	G	88.23 \pm 2.98	83.65 \pm 5.45	89.90 \pm 3.43
59	32	18	G	67.70 \pm 3.38	65.47 \pm 2.21	67.52 \pm 3.94
60	32	12	B	22.34 \pm 1.20	20.61 \pm 3.26	19.69 \pm 4.21
61	16	12	B	25.12 \pm 0.93	22.93 \pm 4.32	20.61 \pm 2.01
62	2	12	B	40.24 \pm 3.32	39.80 \pm 4.05	37.46 \pm 2.94
63	2	24	R	43.61 \pm 5.18	44.22 \pm 1.93	39.90 \pm 2.22
64	4	12	B	37.60 \pm 3.48	38.79 \pm 4.19	35.83 \pm 3.38
65	8	12	G	80.34 \pm 4.47	81.22 \pm 6.01	82.27 \pm 2.97
66	32	12	R	50.40 \pm 3.33	49.66 \pm 2.88	46.83 \pm 3.10
67	4	12	W	70.72 \pm 4.32	73.48 \pm 4.39	75.54 \pm 7.16
68	16	6	G	88.36 \pm 3.92	89.81 \pm 2.15	90.33 \pm 1.13
69	16	12	W	80.53 \pm 2.94	81.84 \pm 5.14	83.80 \pm 3.39
70	16	6	W	78.89 \pm 7.40	80.33 \pm 5.52	83.91 \pm 3.38
71	4	6	R	63.00 \pm 6.06	63.70 \pm 6.17	64.88 \pm 4.49
72	8	18	W	68.93 \pm 5.86	68.38 \pm 2.85	71.17 \pm 3.03
73	32	6	R	60.46 \pm 4.74	62.72 \pm 5.13	50.83 \pm 6.62
74	2	6	G	70.09 \pm 4.54	69.48 \pm 2.89	68.11 \pm 1.95
75	2	18	B	39.75 \pm 5.13	38.53 \pm 0.84	33.66 \pm 2.97
76	2	6	W	70.42 \pm 6.66	72.53 \pm 4.27	70.06 \pm 4.18
77	32	24	W	30.22 \pm 3.02	29.63 \pm 2.24	24.71 \pm 1.38
78	32	6	G	70.47 \pm 5.18	71.58 \pm 6.25	77.28 \pm 3.30
79	32	24	B	18.13 \pm 1.95	15.34 \pm 2.31	13.69 \pm 1.11
80	16	6	R	78.60 \pm 2.97	71.77 \pm 4.43	68.56 \pm 5.04

注: R. 红光, G. 绿光, B. 蓝光, W. 白光, FR. 受精率, HR. 孵化率, MR. 变态率。

Notes: R. red light, G. green light, B. blue light and W. white light, FR. fertilization rate, HR. hatching rate, MR. metamorphosis rate.

1.3 数据分析

利用 design expert 12.0 软件进行数据分析。所有数据经以 10 为底对数转换, 比较分析目标性状差异, 主要分析指标计算公式及方法:

$$\text{受精率(fertilization rate,FR, \%)} = \frac{N_{FO}}{N_{TO}} \times 100\%$$

$$\text{孵化率(hatching rate,HR, \%)} = \frac{N_{IH}}{N_{FO}} \times 100\%$$

$$\text{变态率(metamorphosis rate,MR, \%)} = \frac{N_{JB}}{N_{TI}} \times 100\%$$

式中, N_{FO} 指卵囊受精卵数(枚), N_{TO} 指卵囊内总卵数(枚), N_{IH} 指孵出幼虫数(只), N_{JB} 指稚螺数(只), N_{TI} 指总幼虫数(只)。

采用逐步回归方法, 建立以光质、光照强度和光周期为自变量, 以光质为分类变量, 受精率、孵化率和变态率为因变量的响应曲面模型, 其模型通式:

$$Y = \beta_0 + \sum_i^n \beta_i x_i + \sum_j^n \beta_j x_j^2 + \sum_k^n \beta_{kkk} k_k^3 + \sum_{ij}^n \beta_{ij} x_{ij} + \sum_{ik}^n \beta_{ik} x_{ik} + \sum_{jk}^n \beta_{jk} x_{jk} + \sum_{ijk}^n \beta_{ijk} x_{ijk} + e$$

式中, β_0 为回归方程截距, β_i 、 β_j 和 $\beta_k - \beta_{ijk}$ 为回归方程系数, 由应变量对自变量反应实际值获得, x_i 、 x_j 和 x_k 表示变量光质 (Q)、光照强度 (I) 和光周期 (P), x_{ij} 、 x_{jk}^2 、 x_{ij} 、 x_{ik} 和 x_{ijk} 表示光质、光照强度和光周期对方斑东风螺受精率、孵化率和变态率影响的一次、二次和互作效应, e 为残差。

通过方差分析确定回归方程模型, 采用决定系数 (determination coefficient, R^2)、校正系数 (Adj- R^2) 等检验模型的拟合度, 同时采用 F 测验来确定其统计显著性。响应曲面图和相应的等高线图用来分析不同光质条件下光照强度和光周期对方斑东风螺胚胎发育影响效应。本研究获得广东海洋大学实验动物管理和使用伦理委员会批准 (20230324), 实验过程中操作人员严格遵守广东海洋大学伦理规范, 并按照广东海洋大学伦理委员会制定的规章制度执行。

2 结果

2.1 模型构建与显著性检验

在不同光照条件下, 方斑东风螺胚胎发育过程中 FR、HR 和 MR 具有明显差异 (表 1)。在绿

光条件下 FR、HR 和 MR 最大值显著高于红光和白光, 对胚胎受精、孵化和变态具有极高的促进作用, 而在蓝光条件下效果较差, 3 项指标最大值显著低于另外 3 种光质。

经统计分析构建因变量回归模型方程如方程 (1)、(2) 和 (3) 所示, 方程 Y_{FR} 、 Y_{HR} 和 Y_{MR} 为效应值, I 、 P 和 Q 分别代表光照强度 [$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]、光周期 (h) 和光质。

$$Y_{FR} = 1.76 - 0.088 0I - 0.044 5P - 0.028 07Q - 0.025 6IP + 0.004 833IQ + 0.023 4QP - 0.042 0I^2 - 0.040 6P^2 + 0.007 067IPQ + 0.026 3I^2P - 0.003 43I^2Q + 0.003 8IP^2 + 0.031 767P^2Q + 0.012 5I^3 - 0.040 8P^3 \quad (1)$$

$$Y_{HR} = 1.76 - 0.111 0I - 0.032 9P - 0.034 93Q - 0.024 7IP - 0.000 47IQ + 0.024 533QP - 0.037 4I 0.053 0P^2 + 0.007 9IPQ + 0.023 7I^2P - 0.000 667I^2Q + 0.000 9IP^2 + 0.032 833P^2Q + 0.048 2I^3 - 0.049 4P^3 \quad (2)$$

$$Y_{MR} = 1.77 - 0.126 1I - 0.045 3P - 0.045 07Q - 0.030 1IP - 0.001 27IQ + 0.022 7QP - 0.066 6I^2 - 0.052 7P^2 + 0.011 967IPQ + 0.015 4I^2P - 0.002 633I^2Q - 0.005 5IP^2 + 0.040 3P^2Q + 0.065 9I^3 - 0.031 4P^3 \quad (3)$$

从表 2~表 4 及回归模型方程 (1)~(3) 得知, 其 R^2 、Adj- R^2 和 Pred- R^2 值分别为 0.949 0~0.967 2、0.922 6~0.950 2 和 0.843 8~0.908 3, 且 Pred- R^2 和 Adj- R^2 之间差异小于 0.2%, 各回归方程拟合度较好, 未知实验因素对实验结果干扰较小。各模型 F 值变动为 35.86~56.82, P 值均小于 0.000 1, 说明模型有极显著性意义, 能反映出各种光照条件对 FR、HR 和 MR 影响情况。实验所得各回归方程的残差图上, 线性密集分布在线上, 且异常值较少, 说明各模型假设合理 (图 2)。

表 2 中显示, 光照强度、光周期和光质对方斑东风螺胚胎发育中受精率影响的一次项效应均呈现极显著水平 ($P < 0.01$), I 和 P 有明显互作效应 ($P < 0.05$), 且分别与 Q 有极显著互作效应 ($P < 0.01$), 但三者无显著共同互作效应 ($P = 0.696 6 > 0.05$), I 和 P 二次项效应呈现极显著水平 ($P < 0.01$), 且二者二次项效应与光质一次项效应呈现显著水平 ($P < 0.01$), 但二次项互作效应不显著, 经迭代后剔除。

表 3、表 4 中显示了光照条件对孵化率和变态率影响效应, 可发现光照条件对 HR 和 MR 影响的一次项效应均呈现极显著水平 ($P < 0.01$), I 、

表 2 受精率三次模型方程方差分析

Tab. 2 ANOVA for cubic model of FR

方差来源 source	平方和 sum of squares	自由度 df	均方 mean square	F值 F-value	P值 P-value	显著性 significant
模型 model	2.580 0	27	0.095 4	35.86	<0.000 1	**
A-light intensity	0.243 5	1	0.243 5	91.50	<0.000 1	**
B-photoperiod	0.146 8	1	0.146 8	55.17	<0.000 1	**
C-light quality	1.790 0	3	0.596 9	224.36	<0.000 1	**
AB	0.014 4	1	0.014 4	5.42	0.023 8	*
AC	0.111 1	3	0.037 0	13.92	<0.000 1	**
BC	0.060 7	3	0.020 2	7.60	0.000 3	**
A ²	0.023 0	1	0.023 0	8.64	0.004 9	**
B ²	0.027 6	1	0.027 6	10.37	0.002 2	**
ABC	0.003 8	3	0.001 3	0.48	0.696 6	
A ² B	0.004 6	1	0.004 6	1.73	0.193 7	
A ² C	0.084 7	3	0.028 2	10.61	<0.000 1	**
AB ²	0.000 1	1	0.000 1	0.05	0.831 3	
B ² C	0.059 9	3	0.020 0	7.50	0.000 3	**
A ³	0.000 2	1	0.000 2	0.07	0.790 2	
B ³	0.005 3	1	0.005 3	1.98	0.165 3	
残差 residual	0.138 4	52	0.002 7			
全相关系数 cor total	2.710 0	79				
R ² =0.949 0, Adj-R ² =0.922 6, Pred-R ² =0.843 8						

注: A. 光照强度、B. 光周期、C. 光质, ** P<0.01, * P<0.05; 下同。

Notes: A. light intensity, B. photoperiod, C. light quality; ** P<0.01, * P<0.05; the same below.

表 3 孵化率三次模型方程方差分析

Tab. 3 ANOVA for cubic model of HR

方差来源 source	平方和 sum of squares	自由度 df	均方 mean square	F值 F-value	P值 P-value	显著性 significant
模型 model	2.890 0	27	0.107 0	50.41	<0.000 1	**
A-light intensity	0.192 8	1	0.192 8	90.78	<0.000 1	**
B-photoperiod	0.37 3	1	0.137 3	64.64	<0.000 1	**
C-light quality	2.050 0	3	0.683 6	321.95	<0.000 1	**
AB	0.013 4	1	0.013 4	6.33	0.015 0	*
AC	0.162 7	3	0.054 2	25.54	<0.000 1	**
BC	0.090 1	3	0.030 0	14.14	<0.000 1	**
A ²	0.023 5	1	0.023 5	11.07	0.001 6	**
B ²	0.044 8	1	0.044 8	21.11	<0.000 1	**
ABC	0.006 0	3	0.002 0	0.94	0.427 3	
A ² B	0.003 7	1	0.003 7	1.76	0.190 2	
A ² C	0.098 2	3	0.032 7	15.42	<0.000 1	**
AB ²	0.0074 3	1	0.0073 1	0.00	0.953 1	
B ² C	0.055 9	3	0.018 6	8.78	<0.000 1	**
A ³	0.002 8	1	0.002 8	1.34	0.252 7	
B ³	0.007 7	1	0.007 7	3.63	0.062 3	
残差 residual	0.110 4	52	0.002 1			
全相关系数 cor total	3.000 0	79				
R ² =0.963 2, Adj-R ² =0.944 1, Pred-R ² =0.885 1						

表 4 变态率三次模型方程方差分析

Tab. 4 ANOVA for cubic model of HR

方差来源 source	平方和 sum of squares	自由度 df	均方 mean square	F值 F-value	P值 P-value	显著性 significant
模型 model	3.310 0	27	0.122 7	56.82	<0.000 1	**
A-light intensity	0.213 1	1	0.213 1	98.72	<0.000 1	**
B-photoperiod	0.134 7	1	0.134 7	62.38	<0.000 1	**
C-light quality	2.360 0	3	0.787 2	364.64	<0.000 1	**
AB	0.020 6	1	0.020 6	9.54	0.003 2	**
AC	0.164 0	3	0.054 7	25.32	<0.000 1	**
BC	0.079 6	3	0.026 5	12.29	<0.000 1	**
A ²	0.069 3	1	0.069 3	32.09	<0.000 1	**
B ²	0.041 1	1	0.041 1	19.04	<0.000 1	**
ABC	0.010 3	3	0.003 4	1.59	0.202 0	
A ² B	0.001 6	1	0.001 6	0.73	0.396 7	
A ² C	0.112 1	3	0.037 4	17.30	<0.000 1	**
AB ²	0.000 3	1	0.000 3	0.12	0.733 1	
B ² C	0.095 5	3	0.031 8	14.75	<0.000 1	**
A ³	0.005 3	1	0.005 3	2.46	0.123 1	
B ³	0.003 1	1	0.003 1	1.44	0.235 3	
残差 residual	0.112 3	52	0.002 2			
全相关系数 cor total	3.420 0	79				

R²=0.967 2, Adj-R²=0.950 2, Pred-R²=0.908 3

P 和 Q 彼此间一次项互作效应呈现显著 ($P < 0.05$) 或极显著水平 ($P < 0.01$), 但三者一次项协同互作效应不显著 [$P = 0.427\ 3$ (HR) 和 $0.202\ 0$ (MR) > 0.05], I 和 P 对 HR 和 MR 二次项效应均呈现极显著水平 ($P < 0.01$), 两者二次项与一次项间无显著互作效应 ($P > 0.05$), 但二者的二次项水平与光质一次项水平互作效应呈现显著水平 ($P < 0.01$), 再者, 光质为分类变量, 其对结果的影响只呈现一次项效应, 故模型方程只保留其直线性水平, 同时, 因 I 和 P 二次项互作效应经过迭代后仍无现显著性水平, 故在模型方程中剔除

2.2 不同光质条件下光照强度和光周期对方斑东风螺胚胎发育的影响

红光质条件下光照强度和光周期对胚胎发育的影响 红光条件下, 不同光照强度和光周期组合对方斑东风螺胚胎发育过程中受精率、孵化率和变态率影响值结果显示, 在红光条件下, 在光周期 18L : 6D, 光照强度 $16\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 条件下, FR、HR 和 MR 分别为 82.61%、84.57% 和 85.63%, 显著高于其他光周期和光照强度组合。其中, FR、HR 和 MR 最低值出现在光照强度为 $16\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 光周期为 24L : 0D 组合下, 其值分别为 43.61%、44.21% 和 39.90% (表 1)。统计分析构建回归方程

(4~6) 和影响效应结果显示, 红光条件下, 模型拟合可信度在不同水平组合下均较高 ($d > 99\%$, 图 3-a), 不同光照强度和光周期对 FR、HR 和 MR 影响, 发现在红光条件下, 随着胚胎发育进行, 图线由椭圆形向圆形渐变 (图 3-b~d), 说明光照强度和光周期影响效应逐渐增加, 在变态期等高线在光照强度 $12\sim 16\ \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 光照时间在 16~18 h 时出现峰值。

$$Y_{R-FR} = 1.757\ 67 + 0.032\ 416I - 0.015\ 812P - 0.000\ 685IP - 0.001\ 072I^2 + 0.001\ 929P^2 + 0.000\ 013I^2P + 3.144\ 51IP^2 + 3.696\ 00I^3 - 0.000\ 056P^3 \quad (4)$$

$$Y_{R-HR} = 1.713\ 43 + 0.040\ 683I - 0.022\ 647P - 0.000\ 546IP - 0.001\ 616I^2 + 0.002\ 544P^2 + 0.000\ 012I^2P + 7.759\ 22IP^2 + 0.000\ 014I^3 - 0.000\ 068P^3 \quad (5)$$

$$Y_{R-MR} = 1.596\ 01 + 0.046\ 016I - 0.004\ 639P - 0.000\ 249IP - 0.002\ 002I^2 + 0.001\ 314P^2 + 7.596\ 36I^2P - 4.533\ 43IP^2 + 0.000\ 020I^3 - 0.000\ 043P^3 \quad (6)$$

绿光条件下光照强度和光周期对胚胎发育的影响 在绿光条件下, 方斑东风螺具有较高 FR、HR 和 MR, 说明绿光对于方斑东风螺生命活

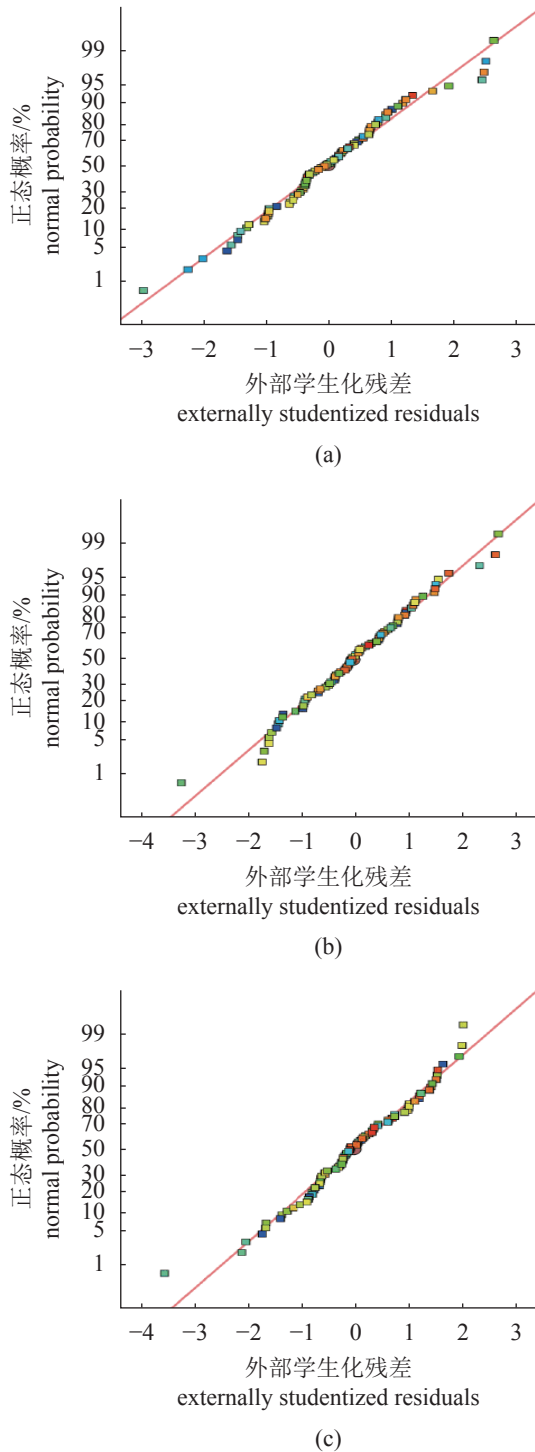


图 2 FR 回归方程残差图

(a)FR, (b)HR, (c)MR; 残差图FR/HR/MR 数值进行 10 的对数转换, 其中蓝色代表数值低, 红色代表数值高, 黄色介于二者之间; 下同。

Fig. 2 Externally studentized residuals for regression equation of FR

(a) FR, (b) HR, (c) MR; the numerical value of FR/HR/MR has transformed by logarithm in residuals plot, among which blue color represented low value, red color represented high value, the value of yellow color between other two color; the same below.

动有显著性影响, 在光周期 12L : 12D, 光照强度 16 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 条件下, FR 为 89.84%, HR 为 90.34%及 MR 为 91.49%(表 1)。绿光条件下, 模型拟合可信度在不同水平组合下均较高 ($d>99\%$, 图 4-a), 在绿光条件下, 光照强度为 8~20 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 随着光照时间延长, FR、HR 和 MR 呈现上升趋势(图 4-b~d)。然而, 当光照强度大于 20 或小于 8 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 光照时间延长 3 个效应值呈现下降趋势, 说明在适当范围内, 绿光对东风螺胚胎发育有促进作用。

$$Y_{G-FR}=1.929\ 42+0.019\ 593I-0.026\ 782P-0.000\ 631IP-0.000\ 658I^2+0.002\ 267P^2+0.000\ 013I^2P+3.14\ 451IP^2+3.69\ 600I^3-0.000\ 056P^3 \quad (7)$$

$$Y_{G-HR}=1.906\ 02+0.024\ 639I-0.028\ 551P-0.000\ 633IP-0.001\ 106I^2+0.002\ 684P^2+0.000\ 012I^2P+7.759\ 22IP^2+0.000\ 014I^3-0.000\ 068P^3 \quad (8)$$

$$Y_{G-MR}=1.880\ 20+0.027\ 842I-0.021\ 052P-0.000\ 294IP-0.001\ 389I^2+0.001\ 770P^2+7.596\ 36I^2P-4.533\ 43IP^2+0.000\ 020I^3-0.000\ 043P^3 \quad (9)$$

蓝光质条件下光照强度和光周期对胚胎发育的影响 在蓝光条件下, 在光照强度和光周期各处理组中, 方斑东风螺具有较低 FR、HR 和 MR (表 1), 说明蓝光能抑制方斑东风螺胚胎发育。光周期 6L : 18D, 光照强度 2 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 时, 其 FR、HR 和 MR 达到最大值, 分别为 49.71%、50.26% 和 43.49%。统计分析构建回归方程 (10~12) 和影响效应结果显示, 蓝光条件下, 模型拟合可信度在不同水平组合下均较高 ($d>99\%$, 图 5-a)。等高线图 (图 5-b~d) 显示在蓝光条件下, 在光照时间较短, 随着光照强度增强, 蓝光抑制胚胎发育越明显, 当蓝光光照强度处于较低水平, 随着光照时间延长, 胚胎发育速率逐渐减慢。

$$Y_{B-FR}=1.859\ 48-0.010\ 237I-0.044\ 941P-0.000\ 705IP-0.000\ 026I^2+0.002\ 878P^2+0.000\ 013I^2P+3.144\ 51IP^2+3.696\ 00I^3-0.000\ 056P^3 \quad (10)$$

$$Y_{B-HR}=1.896\ 57-0.009\ 792I-0.048\ 681P-0.000\ 459IP-0.000\ 480I^2+0.003\ 130P^2+0.000\ 012I^2P+7.759\ 22IP^2+0.000\ 014I^3-0.000\ 068P^3 \quad (11)$$

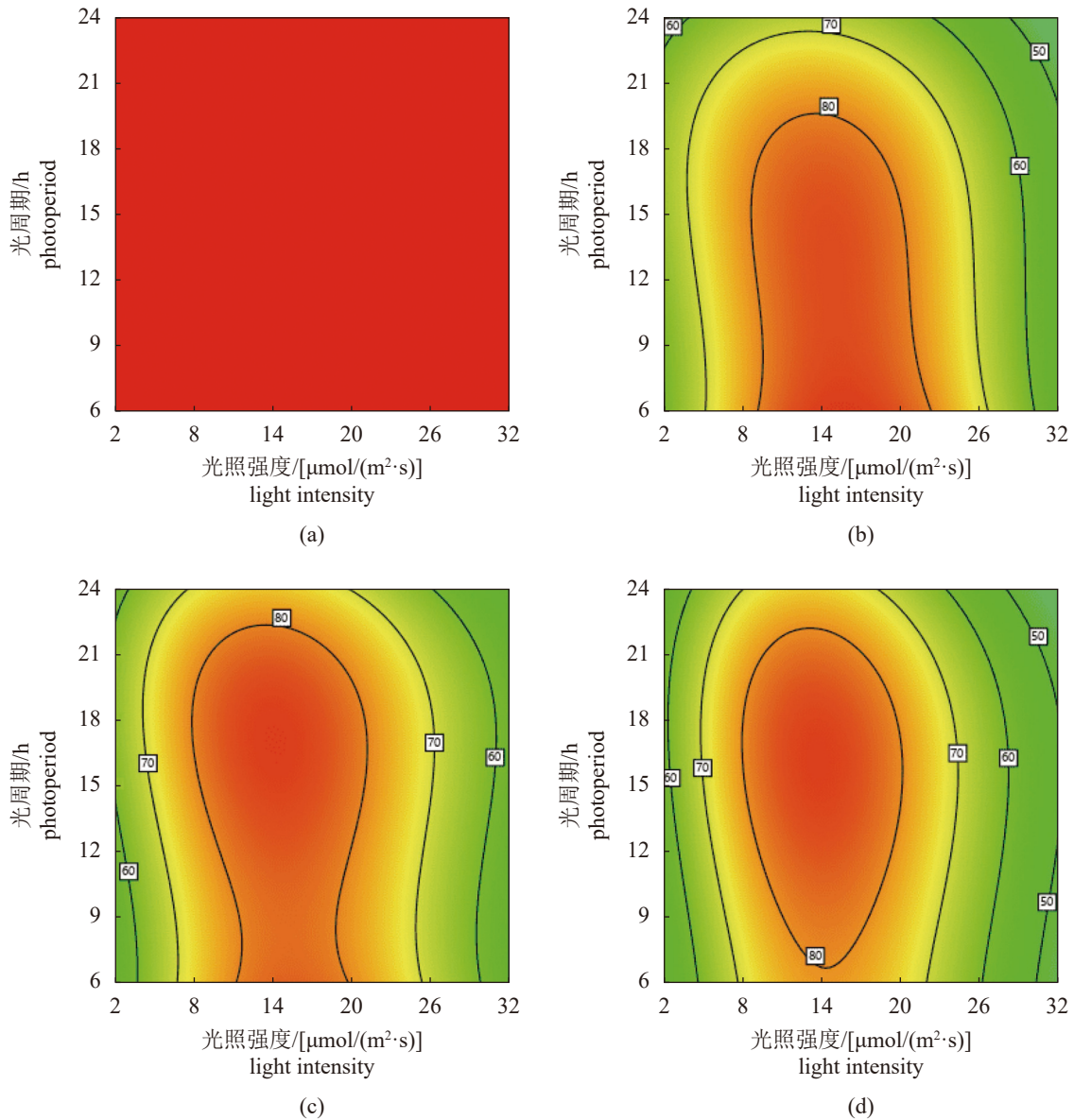


图3 红光条件下光照强度和光周期对方斑东风螺胚胎发育影响效应的等高线图 and 可信度 (a) 可信度水平, (b) 受精率 (FR), (c) 孵化率 (HR), (d) 变态率 (MR); 图中颜色从蓝色、黄色到红色数值依次变大; 下同

Fig. 3 Contour and reliability of effects of light intensity and photoperiod on embryo development of *B. areolata* under red light

(a) desirability level, (b) fertilization rate (FR), (c) hatching rate (HR), (d) metamorphosis rate (MR); the number value increased from blue to yellow to red; the same below

$$\begin{aligned}
 Y_{B-MR} = & 1.878\ 56 - 0.004\ 978I - 0.048\ 722P - \\
 & 0.000\ 228IP - 0.000\ 789I^2 + 0.002\ 499P^2 + \\
 & 7.596\ 36I^2P - 4.533\ 43IP^2 + 0.000\ 020I^3 - \\
 & 0\ 000\ 043P^3 \quad (12)
 \end{aligned}$$

白光条件下光照强度和光周期对胚胎发育的影响 在白光条件下, 光周期 18L : 6D, 光照强度 4 μmol/(m²·s) 条件下, 其 FR、HR 和 MR 有最大值, 分别为 85.29%、80.59% 和 86.26% (表 1)。白光条件下, 模型拟合可信度在不同水平

组合下均较高 (*d*>99%, 图 6-a)。等高线图 (图 6-b~d) 显示在白光条件下, 随着光照强度和光周期逐步增强, FR、HR 和 MR 值逐渐降低, 说明胚胎发育速率逐渐减慢。同一光照强度下, 随着光照时间延长, 胚胎发育速度逐渐减慢, 尤其在高光照强度下, 减慢效果越明显。光照时间在 10~14 h, 光照强度 2~8 μmol/(m²·s) 条件下, FR 出现峰值。光照时间在 9~15 h, 光照强度 8~14 μmol/(m²·s) 条件下, FR 和 MR 出现峰值。由图

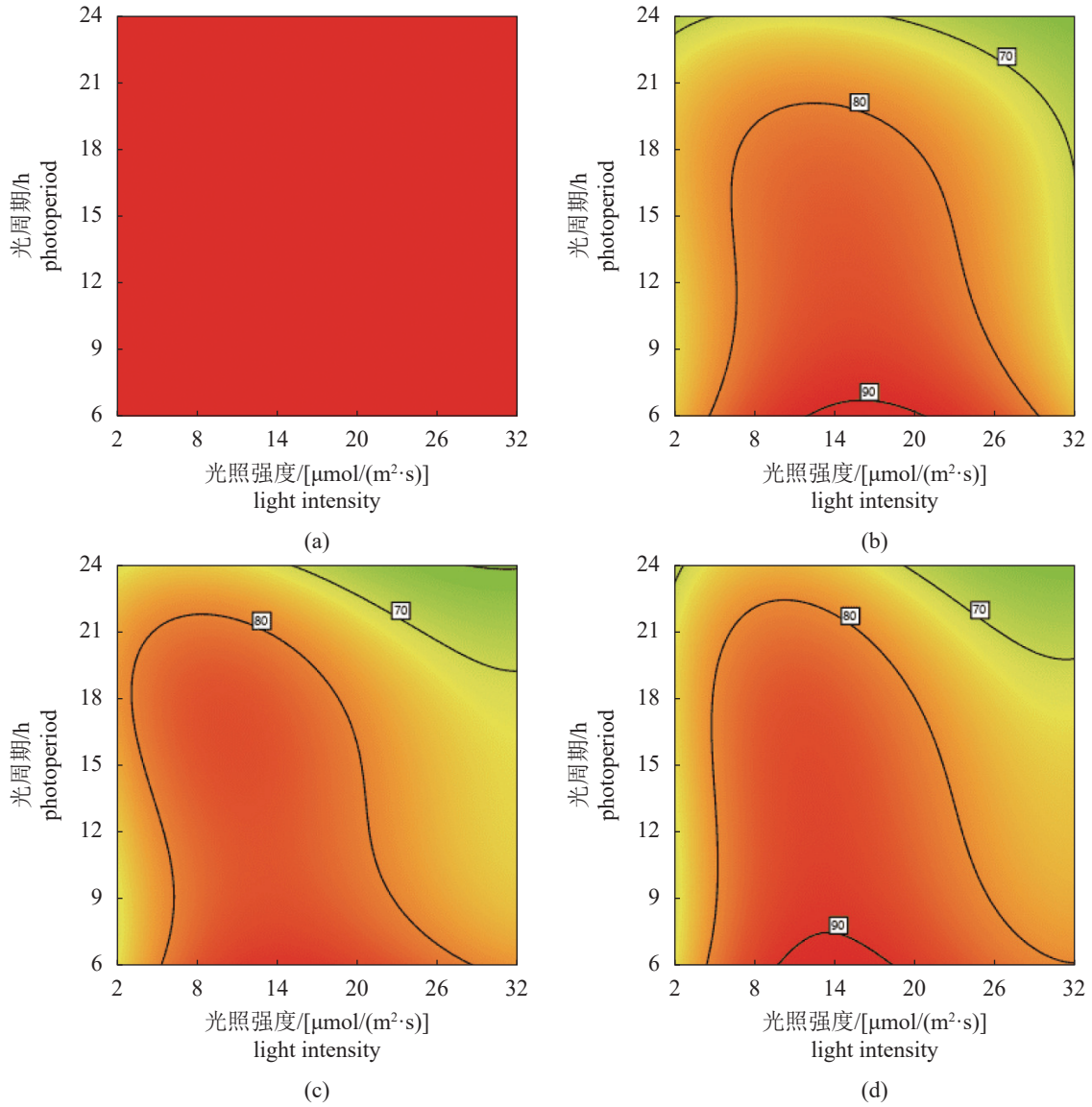


图 4 绿光条件下光照强度和光周期对方斑东风螺胚胎发育影响效应的等高线图和可信度
Fig. 4 Contour and reliability of effects of light intensity and photoperiod on embryo development of *B. areolata* under green light

可见在白光条件下, 发育早期需要较低光照强度和较短光照周期, 在胚胎发育中后期需要光照强度逐渐增加, 光照周期也逐渐延长。

$$Y_{W-FR} = 1.75035 + 0.013704I + 0.011050P - 0.000883IP - 0.000525I^2 + 0.000789P^2 + 0.000013I^2P + 3.14451IP + 3.69600I^3 - 0.000056P^3 \quad (13)$$

$$Y_{W-HR} = 1.71216 + 0.022543I + 0.008407P - 0.000779IP - 0.001079I^2 + 0.001165P^2 + 0.000012I^2P + 7.75922IP^2 + 0.000014I^3 - 0.000068P^3 \quad (14)$$

$$Y_{W-MR} = 1.55930 + 0.030196I + 0.030819P - 0.000611IP - 0.001440I^2 - 0.000129P^2 + 7.59636I^2P - 4.53343IP^2 + 0.000020I^3 - 0.000043P^3 \quad (15)$$

2.3 光条件优化

当光质这一分类变量因光照强度不同而赋予影响效应值时, 联合优化 I 、 P 和 Q 对 FR、HR 和 MR 影响效应趋势, 绘制成响应曲面(图 7)。该结果表明, 任何光质条件下光照强度和光周期对方斑东风螺 FR、HR 和 MR 的影响均有交互作用, 且在一定范围内有峰值。基于此, 利用 Mont-

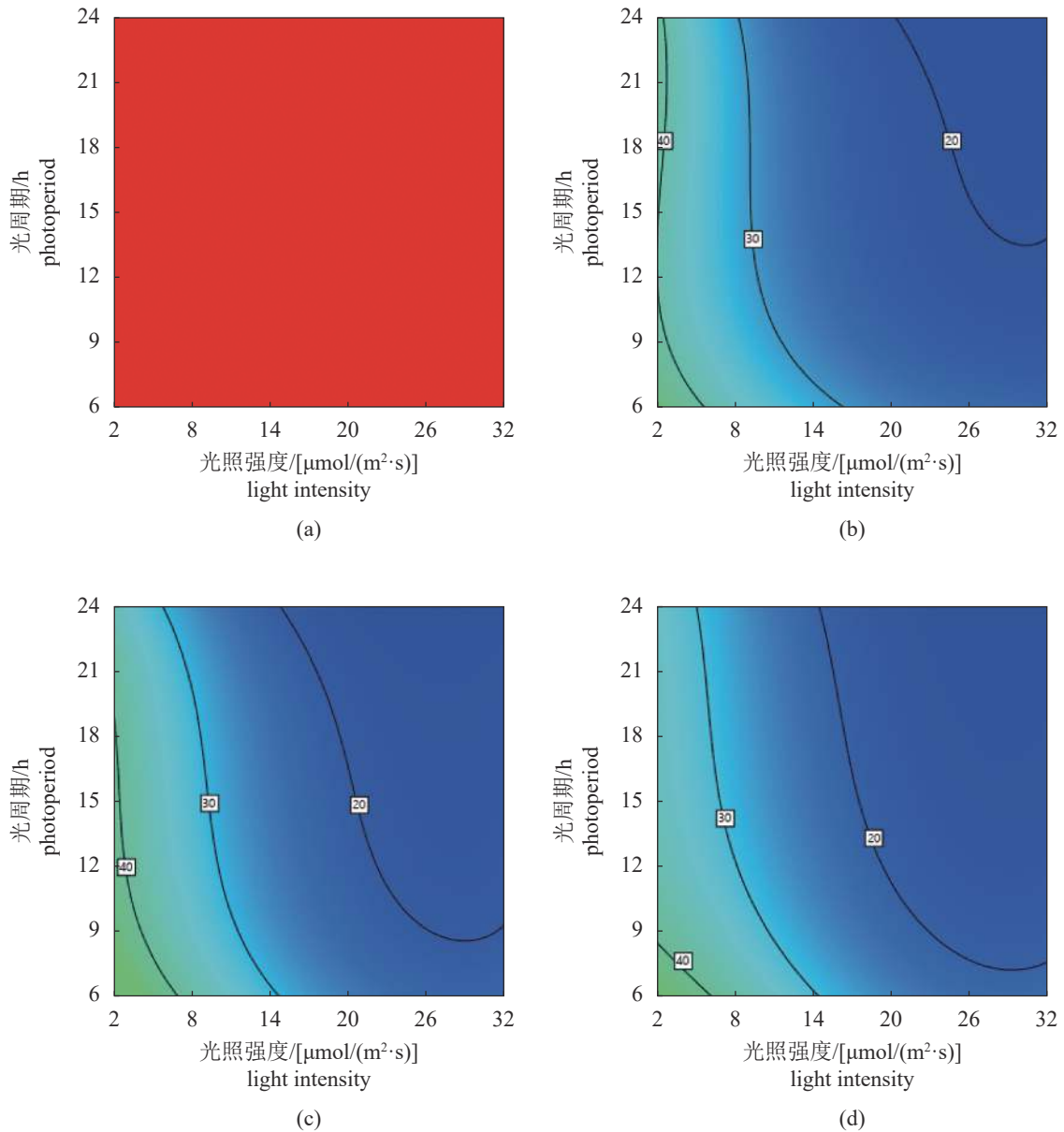


图 5 蓝光条件下光照强度和光周期对方斑东风螺胚胎发育影响效应的等高线图 and 可信度
Fig. 5 Contour and reliability of effects of light intensity and photoperiod on embryo development of *B. areolata* under blue light

gomery (2005) CI 统计量和可信度函数优化东风螺胚胎发育最佳光照条件。而不同光质条件下, 光照强度和光周期对方斑东风螺胚胎发育的影响最佳条件优化结果显示, 在绿光条件下, 光照强度和光照时间分别为 13.70 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 和 15.54 h 时, FR、HR 和 MR 值达到最优, 分别为 91.36%、88.64% 和 92.02%, 其可信度值为 98.02%。相比其他光质, 在优化后的条件下, 绿光促进东风螺胚胎发育效果最为明显, 其次为红光和白光, 蓝光效果最差, 起到抑制胚胎发育的作用 (表 5)。

3 讨论

3.1 光照强度对方斑东风螺胚胎受精率、孵化率和变态率的影响

本实验研究 4 种光质在光照强度和光周期对方斑东风螺 FR、HR 和 MR 的影响, 发现不同波长光质在中低光照强度能够促进方斑东风螺胚胎受精孵化和变态, 而高光照强度则会产生抑制作用。细鳞裂腹鱼 (*Schizothorax chongi*)^[28], 紫海胆 (*Anthocardia crassispina*)^[29], 马氏珠母贝 (*Pinctada*

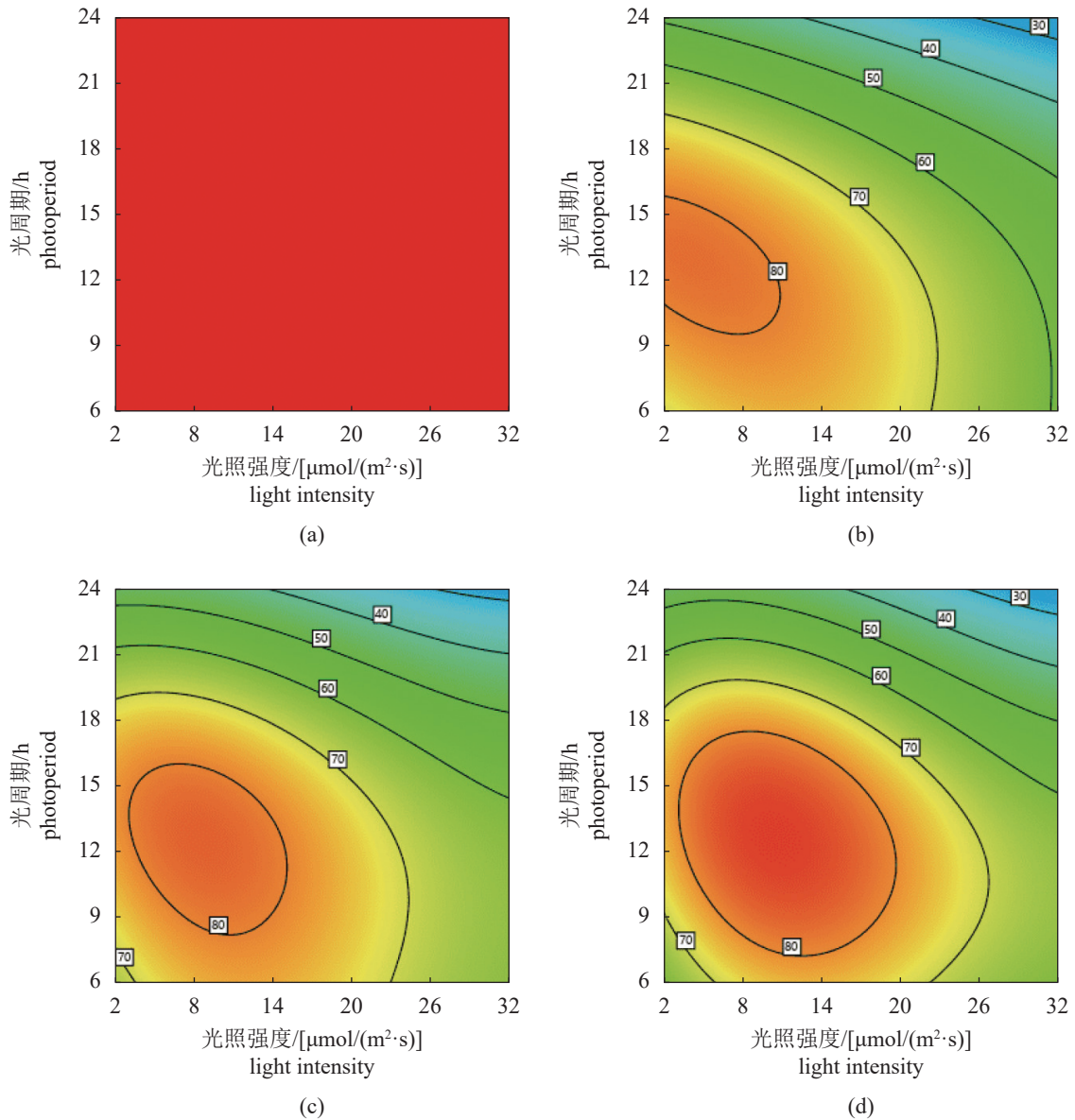


图 6 白光条件下光照强度和光周期对方斑东风螺胚胎发育影响效应的等高线图 and 可信度

Fig. 6 Contour and reliability of effects of light intensity and photoperiod on embryo development of *B. areolata* under white light

martensi)^[30], 长竹蛭 (*Solen strictus*)^[31], 九孔鲍 (*H. diversicolor aquatilis*)^[32] 等幼体均在较低光照强度下生长发育更优。较高光照强度不利于胚胎发育的机理尚未明确, 使得其存在多种猜想。温度随着光照强度增强而产生更多热量, 影响胚胎内部酶活性或基因表达, 进而影响孵化率和存活率^[33]。其次, 生物体生活习性不同, 部分水生生物具有趋光性, 而部分则属于喜暗生活, 当改变环境光条件时, 使得胚胎或幼体期需要花费更多能量去适应环境, 从而导致不能正常发育乃至死亡^[34-37]。高强度光照能加快细胞或者幼体生命活动, 营养

物质消耗增加, 部分受精卵内营养物质无法撑起这种能量消耗, 从而导致死亡, 相反则能适应高光照强度照射^[38]。同样, 部分水生生物在胚胎发育时, 会表现为高光照强度更有利于其孵化及变态发育^[39], 可能是以上 3 种共同作用的结果。方斑东风螺受精卵被卵囊包裹, 使得其孵化特点与同为卵囊孵育的物种相似。Gallardo 等^[40] 研究了同样具有卵囊孵育特点的腹足动物 *Chorus giganteus*, 表明在傍晚或夜晚条件下其孵化率最高, 且幼虫在黑暗条件下活动能力最强, 说明该物种具有背光性特点。

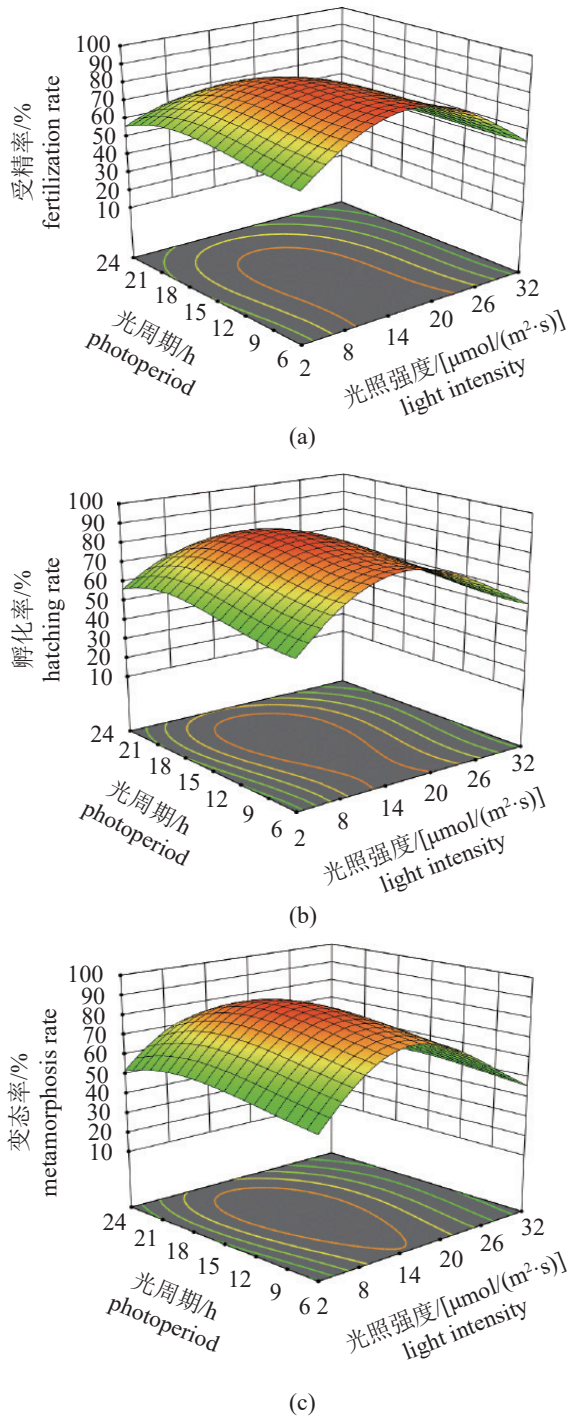


图7 模型拟合分析光质、光照强度和光周期对方斑东风螺受精率、孵化率和变态率联合影响趋势

(a) FR, (b) HR, (c) MR; 当颜色由蓝色逐步变化为红色时, FR/HR/MR 数值逐步增大。

Fig. 7 The effects of light quality, light intensity and photoperiod on fertilization rate, hatching rate and metamorphosis rate of *B. areolata* were analyzed by model fitting

(a) FR, (b) HR, (c) MR; when the color changed from blue to red, the value of FR/HR/MR increased.

3.2 光质对方斑东风螺胚胎受精率、孵化率和变态率的影响

在本实验中, 绿光能明显影响方斑东风螺胚胎 FR、HR 和 MR, 而蓝光处理下 FR、HR 和 MR 值均较低, 说明在该光质条件下, 不利于方斑东风螺胚胎受精及孵化和变态发育。绿光波长能有效维持或调节鱼类生理稳态 (<https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/homeostasis>), 减轻暴露于有害环境的压力, 相比之下, 红光波长增加鱼体压力, 并对鱼类的生理功能产生负面影响^[41-42]。Gao 等^[23]发现蓝绿光能有效提高皱纹盘鲍 (*H. discus hannai*) 担轮幼虫的附着且缩短变态时间, Villamizar 等^[43]研究欧洲舌齿鲈 (*Dicentrarchus labrax*) 及卤虫时发现, 在绿光下卤虫孵化率均高于红光和黑暗条件。Wei 等^[44]研究罗氏沼虾 (*Macrobrachium rosenbergii*) 对光因子的响应过程发现, 白绿光相较于红蓝光更有利于其变态和存活。Sierra-Flores 等^[45]发现大西洋鳕 (*Gadus morhua*) 和大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 在 5 种光质条件下, 蓝绿光更有利于这 2 种鱼类幼虫生长。蓝绿光在胚胎幼体发育过程中更有利于其生长存活。有研究表明在蓝光条件下, 皱纹盘鲍的粪便能量消耗明显较高, 呼吸能损失最高, 占总能量收支的 49.22%, 说明在蓝光条件下, 皱纹盘鲍对于能量利用率低, 不利于进行生命活动^[46]。在蓝光条件下方斑东风螺各数值较低是否也是由于排泄能量较高, 导致由于生命活动受限, 值得进一步进行研究。

3.3 光周期对方斑东风螺胚胎受精率、孵化率和变态率的影响

光周期是指昼夜节律中光照期和黑暗期的交替变化, 在本实验中各光质下光周期为 6L : 18D, 其 FR、HR 和 MR 达到最大值, 在白光下, 6L : 18D 条件下 MR 值相对于 12L : 12D 低, FR 和 HR 相差不大。自然界中光暗周期大体上处于 12L : 12D 阶段, 因此部分水生生物光周期在 12L : 12D 有利于幼体发育, 如日本龙虾 (*Panulirus japonicus*) 随着光照周期延长变态时长缩短, 变态平均时长降低, 短光照周期则抑制变态^[47], 欧洲鳗鲡 (*Anguilla anguilla*) 幼体同样在 12L : 12D 条件下存活率更高^[48]。有研究表明在光照时间较低时, 生物体摄食更多且排泄和呼吸代谢能量减少^[49]。方斑东风螺作为昼伏夜出且营底栖生活贝类, 对光

表 5 模型优化最佳光条件对 3 个响应指标影响效应

Tab. 5 Model optimized the best combination of factors for three response

优化类型 optimal type	因素 factors			响应 response	优化值/% optimized value	置信区间 95% CI		可信度/% desirability
	<i>Q</i>	<i>I</i>	<i>P</i>			low	high	
单因素同步优化 single-simultaneous optimization	R	2.03	6.01	FR	84.21	64.12	109.04	97.72
				HR	86.18	67.60	108.63	
				MR	87.33	68.36	110.28	
	B	14.00	6.00	FR	45.28	33.84	59.75	98.89
				HR	47.69	36.79	61.13	
				MR	45.04	34.66	57.85	
	G	13.70	15.54	FR	91.36	68.69	119.81	98.02
				HR	88.64	68.74	113.01	
				MR	92.02	71.22	117.55	
W	9.50	13.02	FR	80.25	61.33	103.53	95.65	
			HR	83.11	65.42	104.42		
			MR	88.29	69.34	111.12		

注: 表中*Q*、*I*和*P*分别代表光质、光照强度和光周期。
Notes: *Q*, *I* and *P* represented the light quality, light intensity and photoperiod.

需求量相对较少, 光照周期处于较低值时便能满足自身需求。

光照强度、光谱和光周期三者是相互依赖关系, 并不存在三者相互独立的情况。当光照条件不适合生物体生长发育时, 其受精卵孵化、幼虫变态发育时间增长, 死亡率增高。在幼体发育早期, 光照强度对生物体的影响远大于光照周期^[50], 相较之下, 光质对植物体的影响显得更为重要, 而在动物体中的相关报道较少。在本实验中, 采用全因子分析, 实验条件和水平组合排列能考虑到各种可能, 使得实验设计更加全面科学。

3.4 其他环境因子对实验的影响

在生物幼体阶段, 光照^[37, 47]和温度^[51-52]通过影响摄食活动和体内代谢进而影响其生长发育、存活和行为等。在本实验中, 光因子为主要研究的环境因子, 其他环境因子在总体上控制稳定, 但在实验过程中, 光因子能直接或间接地改变其他环境因子。光因子中光照强度能较大程度上影响温度的变化, 一般而言温度随着光照强度的增加而增加, 在光照强度 182 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 处理组温度比 0.2 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 处理组提高了 0.8 $^{\circ}\text{C}$ ^[31]。在本实验中, 采用最高光照强度为 32 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 同时采用空调控温, 因此能在较大程度上削减光照强度产生热量对实验的影响。

密度在较大程度上能影响存活率和变态率, 方斑东风螺实际育种过程中, 幼虫密度一般控制

在 0.08~0.20 只/mL^[53], 在本实验中水体体积约为 50 L, 孵化后的幼虫密度总体上处于该密度区间。同时, 本实验是一个连续性的光照实验, 难以精确控制幼虫数目, 且调整幼虫数目容易造成应激反应导致个体死亡。

总而言之, 光照通过改变生物体基因表达、酶活性以及激素水平等途径来影响生命活动, 同时两两之间具有交互作用 ($P<0.05$)。通过本实验可以得知在方斑东风螺实际育苗生产中可以采用绿光照射 6~12 h, 有利于幼虫的生长发育, 提高在育苗过程优质种苗的获得, 同时该实验可以为后续研究方斑东风螺稚螺生长发育奠定基础。

(作者声明本文无实际或潜在的利益冲突)

参考文献 (References):

- [1] 杨蕊, 吴开畅, 于刚, 等. 养殖模式对方斑东风螺生长及主要环境因子的影响[J]. 水产科学, 2019, 38(5): 610-615.
Yang R, Wu K C, Yu G, et al. Effects of culture model on growth and main environmental factors in snail *Babylonia areolata*[J]. Fisheries Science, 2019, 38(5): 610-615 (in Chinese).
- [2] 姚高友, 吴浩敏, 谭杰, 等. 不同人工饵料对方斑东风螺幼虫生长及存活的影响[J]. 水产科学, 2018, 37(1): 115-119.
Yao G Y, Wu H M, Tan J, et al. Effects of different arti-

- ficial diets on growth and survival of larval snail *Babylonia areolata*[J]. *Fisheries Science*, 2018, 37(1): 115-119 (in Chinese).
- [3] Dobson G T, Duy N D H, Southgate P C. Utilisation of organic matter from Babylon snail (*Babylonia areolata*) culture sediments by cultured juvenile sandfish (*Holothuria scabra*)[J]. *Aquaculture Reports*, 2020, 18: 100532.
- [4] 翁文明, 蔡岩, 卢明辉, 等. 方斑东风螺工厂化半循环水养殖试验[J]. *科学养鱼*, 2021(3): 64-65.
Weng W M, Cai Y, Lu M H, *et al.* Experiment on industrialized semi-recirculation culture of areolate babylonia[J]. *Scientific Fish Farming*, 2021(3): 64-65 (in Chinese).
- [5] 柯才焕, 游伟伟, 骆轩, 等. 方斑东风螺“海泰1号”[J]. *中国水产*, 2020(5): 101-106.
Ke C H, You W W, Luo X, *et al.* *Babylonia areolata* “Haitai 1”[J]. *China Fisheries*, 2020(5): 101-106 (in Chinese).
- [6] 刘建勇, 罗俊标. 几种环境因子对方斑东风螺稚螺生长与存活的影响[J]. *海洋科学*, 2008, 32(7): 15-19.
Liu J Y, Luo J B. Influences of some environmental factors on growth and survival of *Babylonia areolata* juveniles[J]. *Marine Sciences*, 2008, 32(7): 15-19 (in Chinese).
- [7] Lü W G, Shen M H, Fu J Q, *et al.* Combined effects of temperature, salinity and rearing density on growth and survival of juvenile ivory shell, *Babylonia areolata* (Link 1807) population in Thailand[J]. *Aquaculture Research*, 2017, 48(4): 1648-1665.
- [8] Xue M, Ke C H, Wang D X, *et al.* The combined effects of temperature and salinity on growth and survival of hatchery-reared juvenile spotted Babylon, *Babylonia areolata* (Link 1807)[J]. *Journal of the World Aquaculture Society*, 2010, 41(S1): 116-122.
- [9] 张伟, 刘志刚, 章启忠. 方斑东风螺对盐度适应性的研究[J]. *南方水产*, 2008, 4(3): 20-26.
Zhang W, Liu Z G, Zhang Q Z. Study on adaptability of *Babylonia areolata* to salinity[J]. *South China Fisheries Science*, 2008, 4(3): 20-26 (in Chinese).
- [10] Liu S, Liu Y L, Yang D F, *et al.* Trace elements in shellfish from Shenzhen, China: implication of coastal water pollution and human exposure[J]. *Environmental Pollution*, 2020, 263: 114582.
- [11] Vedamanikam V J, Hayimad T. Effect of mixtures of metals on the spotted Babylon snail (*Babylonia areolata*) under different temperature conditions[J]. *Toxicological & Environmental Chemistry*, 2013, 95(8): 1388-1394.
- [12] 郭笑宇. 几种海产经济贝类对 CO₂ 驱动的海洋酸化的响应研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2017.
Guo X Y. Effects of ocean acidification driven by rising CO₂ on several economic marine mollusks[D]. Xiamen: Xiamen University, 2017 (in Chinese).
- [13] Honryo T, Kurata M, Okada T, *et al.* Effects of nighttime light intensity on the survival rate and stress responses in juvenile Pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis* (Temminck and Schlegel)[J]. *Aquaculture Research*, 2013, 44(7): 1058-1065.
- [14] Davie A, Mazorra de Quero C, Bromage N, *et al.* Inhibition of sexual maturation in tank reared haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) through the use of constant light photoperiods[J]. *Aquaculture*, 2007, 270(1-4): 379-389.
- [15] Gao X L, Zhang M, Tian H Q, *et al.* Effect of LED light quality on respiratory metabolism and activities of related enzymes of *Haliotis discus hannai*[J]. *Aquaculture*, 2016, 452: 52-61.
- [16] Noureldin S M, Diab A M, Salah A S, *et al.* Effect of different monochromatic LED light colors on growth performance, behavior, immune-physiological responses of gold fish, *Carassius auratus*[J]. *Aquaculture*, 2021, 538: 736532.
- [17] Hou Z S, Wen H S, Li J F, *et al.* Effects of photoperiod and light spectrum on growth performance, digestive enzymes, hepatic biochemistry and peripheral hormones in spotted sea bass (*Lateolabrax maculatus*)[J]. *Aquaculture*, 2019, 507: 419-427.
- [18] Baekelandt S, Mandiki S N M, Schmitz M, *et al.* Influence of the light spectrum on the daily rhythms of stress and humoral innate immune markers in pikeperch *Sander lucioperca*[J]. *Aquaculture*, 2019, 499: 358-363.
- [19] Ramenofsky M, Németh Z. Regulatory mechanisms for the development of the migratory phenotype: roles for photoperiod and the gonad[J]. *Hormones and Behavior*, 2014, 66(1): 148-158.
- [20] Bairwa M K, Saharan N, Rawat K D, *et al.* Photoperiod, melatonin and its importance in fish reproduction[J]. *Central European Journal of Experimental Biology*, 2013, 2(4): 7-15.
- [21] 周爽男, 吕腾腾, 陈奇成, 等. 光照强度与光周期对虎斑乌贼胚胎发育的影响[J]. *应用生态学报*, 2018,

- 29(6): 2059-2067.
- Zhou S N, Lyu T T, Chen Q C, *et al.* Effects of light intensity and photoperiod on the embryonic development of *Sepia pharaonis*[J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2018, 29(6): 2059-2067 (in Chinese).
- [22] 张永胜, 董双林, 王芳, 等. 光照对刺参幼体存活、生长、发育和附着变态的影响[J]. *海洋湖沼通报*, 2014(1): 36-41.
- Zhang Y S, Dong S L, Wang F, *et al.* The effects of light intensity and photoperiod on the growth, survival, development and metamorphosis of sea cucumber (*Apostichopus japonicas*) larvae[J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2014(1): 36-41 (in Chinese).
- [23] Gao X L, Zhang M, Li X, *et al.* Effects of light quality and intensity on the growth, survival and metamorphosis of *Haliotis discus hannai* Ino larvae[J]. *Aquaculture Research*, 2017, 48(7): 3369-3382.
- [24] Gao X L, Li X, Zhang M, *et al.* Effects of LED light quality on the growth, survival and metamorphosis of *Haliotis discus hannai* Ino larvae[J]. *Aquaculture Research*, 2016, 47(12): 3705-3717.
- [25] Mallet A L, Carver C E. The effect of photoperiod on the reproductive development of the northern bay scallop, *Argopecten irradians irradians*[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2009, 374(2): 128-133.
- [26] 魏永杰. 方斑东风螺幼体摄食的生理生态研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2007.
- Wei Y J. Studies on larval feeding ecophysiology of ivory shell, *Babylonia areolata* link[D]. Xiamen: Xiamen University, 2017 (in Chinese).
- [27] 郑纪盟. 方斑东风螺工厂化养殖环境因子调控与RAS构建技术研究[D]. 青岛: 中国科学院研究生院(海洋研究所), 2015.
- Zheng J M. Research on regulatory environment factor in *Babylonia areolata* industrial aquaculture and RAS construction technologies[D]. Qingdao: Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, 2015 (in Chinese).
- [28] 秦希获, 刘国勇, 鄢玉娇, 等. 光照对细鳞裂腹鱼受精卵孵化率及仔鱼生长、摄食的影响[J]. *水生生态学杂志*, 2017, 38(5): 97-102.
- Qin X H, Liu G Y, Wu Y J, *et al.* Effects of light intensity on the hatching rate of fertilized *Schizothorax chongi* eggs and on the growth and feeding of larvae[J]. *Journal of Hydroecology*, 2017, 38(5): 97-102 (in Chinese).
- [29] 陈吉圣, 席世改, 秦传新, 等. 光照强度对紫海胆浮游幼体生长及消化酶活性的影响[J]. *渔业科学进展*, 2021, 42(3): 125-131.
- Chen J S, Xi S G, Qin C X, *et al.* Effects of light intensity on growth and digestive enzyme activities of sea urchin (*Anthocidaris crassispina*) larvae[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2021, 42(3): 125-131 (in Chinese).
- [30] 劳赞, 黄海立, 符韶, 等. 珠母贝人工繁育优化技术的研究[J]. *海洋科学*, 2009, 33(10): 31-35.
- Lao Z, Huang H L, Fu S, *et al.* Study on optimum artificial breeding technology of *Pinctada margaritifera*[J]. *Marine Sciences*, 2009, 33(10): 31-35 (in Chinese).
- [31] 郑升阳. 长竹蛭室内人工育苗技术[J]. *水产科技情报*, 2006, 33(4): 154-156.
- Zheng S Y. Artificial indoor rearing techniques of *Solen gouldii*[J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2006, 33(4): 154-156 (in Chinese).
- [32] 严正凛, 陈建华, 吴萍茹, 等. 光照强度对九孔鲍幼虫及幼鲍生长存活的影响[J]. *水产学报*, 2001, 25(4): 336-341.
- Yan Z L, Chen J H, Wu P R, *et al.* The influence of light intensity on the growth and survival of the larvae and juvenile abalone of *Haliotis diversicolor aquatilis*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2001, 25(4): 336-341 (in Chinese).
- [33] 刘海林, 张志勇, 张志伟, 等. 光照、温度对黑鲷(♀)×真鲷(♂)杂交子代受精卵孵化效果的影响[J]. *海洋科学*, 2018, 42(5): 108-115.
- Liu H L, Zhang Z Y, Zhang Z W, *et al.* Effect of illumination and temperature on zygote hatching and larval survival of hybrids obtained from *Acanthopagrus schlegelii* (♀) × *Pagrosomus major* (♂)[J]. *Marine Sciences*, 2018, 42(5): 108-115 (in Chinese).
- [34] 王成友, 杜浩, 吴金明, 等. 光照对川陕哲罗鲑受精卵孵化的影响[J]. *淡水渔业*, 2019, 49(1): 62-65.
- Wang C Y, Du H, Wu J M, *et al.* Effect of illumination on the hatching of Sichuan taimen (*Hucho bleekeri* Kimura) eggs[J]. *Freshwater Fisheries*, 2019, 49(1): 62-65 (in Chinese).
- [35] 秦志清, 林越超, 张雅芝, 等. 光照对漠斑牙鲆仔鱼摄食、生长与存活的影响[J]. *集美大学学报(自然科学版)*, 2009, 14(3): 224-228.
- Qin Z Q, Lin Y J, Zhang Y Z, *et al.* Effects of light on feeding, growth and survival of larval *Paralichthys lethostigma*[J]. *Journal of Jimei University (Natural Science Edition)*, 2009, 14(3): 224-228.

- Science), 2009, 14(3): 224-228 (in Chinese).
- [36] Villamizar N, Vera L M, Foulkes N S, *et al.* Effect of lighting conditions on zebrafish growth and development[J]. *Zebrafish*, 2014, 11(2): 173-181.
- [37] Tian H Y, Zhang D D, Xu C, *et al.* Effects of light intensity on growth, immune responses, antioxidant capability and disease resistance of juvenile blunt snout bream *Megalobrama amblycephala*[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2015, 47(2): 674-680.
- [38] Downing G, Litvak M K. Effects of light intensity, spectral composition and photoperiod on development and hatching of haddock (*Melanogrammus aeglefinus*) embryos[J]. *Aquaculture*, 2002, 213(1-4): 265-278.
- [39] 田传远, 夏珮伦, 张嘉荣, 等. 疣荔枝螺(*Thais clavigera* Kuster)人工繁育技术研究[J]. *海洋科学*, 2020, 44(6): 122-130.
- Tian C Y, Xia P L, Zhang J R, *et al.* Study on artificial breeding technique of *Thais clavigera* Kuster[J]. *Marine Sciences*, 2020, 44(6): 122-130 (in Chinese).
- [40] Gallardo J A, Brante A, Cancino J M. The effect of light intensity and tidal cycle on the hatching and larval behaviour of the muricid gastropod *Chorus giganteus*[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2013, 440: 69-73.
- [41] Choi Y J, Yang S G, Jung M M, *et al.* Effects of waterborne selenium on toxic and physiological stress response in goldfish, *Carassius auratus*[J]. *Molecular & Cellular Toxicology*, 2015, 11: 35-46.
- [42] Choi Y J, Song J A, Shin H S, *et al.* Effect of LED light spectra on circadian rhythms in goldfish *Carassius auratus*: expression profiles following thermal stress[J]. *Biological Rhythm Research*, 2014, 45(6): 895-908.
- [43] Villamizar N, García-Mateos G, Sánchez-Vázquez F J. Behavioral responses of European sea bass (*Dicentrarchus labrax*) larvae and *Artemia* sp. exposed to constant light or darkness vs. light/dark cycles of white, red or blue wavelengths[J]. *Aquaculture*, 2011, 317(1-4): 197-202.
- [44] Wei J, Tian L, Wang Y K, *et al.* Effects of salinity, photoperiod, and light spectrum on larval survival, growth, and related enzyme activities in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*[J]. *Aquaculture*, 2021, 530: 735794.
- [45] Sierra-Flores R, Davie A, Grant B, *et al.* Effects of light spectrum and tank background colour on Atlantic cod (*Gadus morhua*) and turbot (*Scophthalmus maximus*) larvae performances[J]. *Aquaculture*, 2016, 450: 6-13.
- [46] Gao X L, Zhang M, Li X, *et al.* Effects of LED light quality on the growth, metabolism, and energy budgets of *Haliotis discus discus*[J]. *Aquaculture*, 2016, 453: 31-39.
- [47] Matsuda H, Abe F, Tanaka S. Effect of photoperiod on metamorphosis from phyllosoma larvae to puerulus postlarvae in the Japanese spiny lobster *Panulirus japonicus*[J]. *Aquaculture*, 2012, 326-329: 136-140.
- [48] Politis S N, Butts I A E, Tomkiewicz T. Light impacts embryonic and early larval development of the European eel, *Anguilla anguilla*[J]. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 2014, 461: 407-415.
- [49] Gao X L, Zhang M, Li X, *et al.* Light cycle effects on *Haliotis discus hannai* Ino growth, energy budget, and related gene expression[J]. *Aquaculture*, 2018, 483: 213-222.
- [50] Wang H, Shi W J, Wang L, *et al.* Light conditions for commercial hatching success in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*)[J]. *Aquaculture*, 2019, 509: 112-119.
- [51] Qiang J, Yang H, Wang H, *et al.* Interacting effects of water temperature and dietary protein level on hematological parameters in Nile tilapia juveniles, *Oreochromis niloticus* (L.) and mortality under *Streptococcus iniae* infection[J]. *Fish & Shellfish Immunology*, 2013, 34(1): 8-16.
- [52] Pandit N P, Bhandari R K, Kobayashi Y, *et al.* High temperature-induced sterility in the female Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*[J]. *General and Comparative Endocrinology*, 2015, 213: 110-117.
- [53] 冯永勤, 周永灿, 李芳远, 等. 方斑东风螺规模化苗种繁育技术研究[J]. *水产科学*, 2009, 28(4): 209-213.
- Feng Y Q, Zhou Y C, Li F Y, *et al.* Technology for large-scale breeding of spiral shell *Babylonia areolata*[J]. *Fisheries Science*, 2009, 28(4): 209-213 (in Chinese).

Effect of light condition on embryo and larva development of *Babylonia areolata*

ZHONG Maocheng¹, LIU Luyao¹, XUAN Zijie¹, XIONG Le¹, ZHANG Yuting¹,
DOU Xiyin¹, ZHANG Yuan¹, LIU Zhigang^{1,2}, LÜ Wengang^{1,2*}

(1. College of Fisheries, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China;

2. Invertebrate Science and Technology Innovation Center, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, China)

Abstract: *Babylonia areolata* is well-liked and has great market value, but its embryonic development success rate is very low and it is difficult to meet the market demand. In this study, the effects of light intensity, light quality and photoperiod on fertilization rate (FR), hatching rate (HR) and metamorphosis rate (MR) during embryonic development of *B. areolata* were researched by factorial design. In addition, the result was analyzed by establishing regression models to optimize light conditions and find the best combination level of light quality, light intensity and photoperiod for embryonic development of *B. areolata*. The results showed that compared with other light conditions, green light had a better promoting effect on embryo incubation, and FR, HR and MR had maximum of 89.84%, 90.34% and 91.49%, respectively when photoperiod was 12L : 12D and the light intensity was 16 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$. However, under the condition of blue light, FR, HR and MR were lower than other light qualities for any combination of light intensity and photoperiod levels, with maximum values of 49.71%, 50.26% and 43.49%, respectively. With the increase of light intensity and the extension of light time, the three indexes decreased more and more obviously, which indicated that blue light inhibited embryonic development of *B. areolata*. Through the establishment of model analysis found that under different light quality conditions, FR, HR and MR were significantly affected by the linear, interaction and quadratic effects of light intensity and photoperiod, that is, under any light quality condition, there was interaction effect between light intensity and photoperiod. The optimal light conditions were optimized when the light quality was used as a classification variable, it was found that under the condition of green light, the light intensity was 13.70 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, and the illumination time was 15.54 h, the FR, HR and MR reached the optimal value, which were 91.359 %, 88.637 % and 92.023 %, respectively. However, under blue light conditions, at a light intensity of 14 and a light duration of 6 h, the values of FR, HR and MR were 45.28 %, 47.69 % and 45.04 %. Compared with other light qualities, under the optimized conditions, the effect of green light on the embryonic development of *B. areolata* was the most obvious, followed by red, white light and blue light. In summary, appropriate light intensity and light duration can act synergistically with light quality, and in actual production, green light conditions can effectively improve the emergence efficiency and seedling quality of *B. areolata*, and blue light has an inhibitory effect on embryo development.

Key words: *Babylonia areolata*; light intensity; photoperiod; light quality; embryonic development

Corresponding author: LÜ Wengang. E-mail: lvwengang2007@163.com

Funding projects: Doctoral Scientific Research Foundation of Guangdong Ocean University (R20051); Chinese Ministry of Science and Technology through the National Key Research and Development Program of China (2018YFD0901401); National Natural Science Foundation of China (31702325)