

文章编号: 1674-5566(2014)02-0200-08

培养条件对铜藻幼苗生长发育的影响

张 鹏^{1,2}, 王铁杆^{1,2}, 谢起浪^{1,2}, 张华伟^{1,2}, 严兴洪³, 陈孟静⁴

(1. 浙江省海洋水产养殖研究所,浙江 温州 325005; 2. 浙江省近岸水域生物资源开发与保护重点实验室,浙江 温州 325005; 3. 上海海洋大学 水产与生命学院,上海 201306; 4. 温州医科大学,浙江 温州 325000)

摘要: 通过室内培养,研究了温度、光强、光照周期、盐度和密度对日龄为 60 d 的铜藻 [*Sargassum horneri* (Turner) C. Agardh] 幼苗生长发育的影响,旨在了解铜藻幼苗的适宜培育条件。结果显示:铜藻幼苗在 15~30 ℃ 范围内,均能存活,适宜温度为 20~25 ℃;在 500~7 500 LX 下均能生长,生长的适宜光强为 2 500~4 500 LX;长光照条件(18L:6D)更有利于幼苗的生长;幼苗在盐度为 10~40 下均能存活,适宜盐度为 30。另外,幼苗的密度越低,越有利于幼苗的生长和发育,5~25 棵/L 的密度有益于幼苗的生长和叶片分生。上述研究结果为铜藻幼苗室内渡夏培养提供了基础技术数据。

研究亮点: 本研究以浙江南麂岛人工繁育的铜藻幼苗为材料,在室内悬浮培养条件下研究环境因子对其生长的影响,得出了铜藻幼苗适宜的生长环境范围,为铜藻幼苗室内渡夏培养提供基础数据,可以在一定程度上摆脱自然环境的限制,保证铜藻苗种的有效供应。

关键词: 铜藻; 幼苗; 培养条件; 生长

中图分类号: S 968.4

文献标志码: A

铜藻 [*Sargassum horneri* (Turner) C. Agardh] 属于褐藻门(Phaeophyta),墨角藻目(Fucales),马尾藻属(*Sargassum*),为北太平洋特有的暖温带性海藻,在我国不连续分布于辽宁省大连、金县东岸,浙江省中街山列岛、嵊泗群岛,福建平潭、莆田(湄洲岛、南日岛)、厦门、漳浦、东山岛,广东省惠来、饶平、南澳、海丰等地沿岸^[1-2];在国外,日本和朝鲜半岛沿岸分布较广,越南、俄罗斯千岛群岛等地沿岸也有分布;最近,有学者在美国和墨西哥西海岸也发现了铜藻的踪迹^[3-4]。

铜藻是一种较为高等的海洋藻类,具有类似于高等植物根(固着器)、茎、叶等的分化,常见于潮间带低潮区以及近岸浅海区^[5]。铜藻具有生长快速和生物量巨大等特点,是生态学家用来进行人工藻场重建和生态修复的重要海藻之一^[6-8]。苗种培育是进行铜藻增养殖及构建人工藻场的基础。但是,一直以来,铜藻的繁殖受到

自然条件的限制,幼苗渡夏难度较大,影响了苗种的供应。为解决上述问题,本研究以浙江南麂岛人工繁育的铜藻幼苗为材料,在室内悬浮培养条件下,研究了环境因子对其生长的影响,得出了铜藻幼苗适合的生长环境范围,为铜藻幼苗室内渡夏培养提供了基础技术数据,对今后开展人工增养殖和建设人工藻场具有一定的参考价值。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验使用的铜藻幼苗,是在浙江南麂岛上通过人工培育获得的 60 日龄的幼苗。挑选大小相近的健康幼苗,每棵鲜重为 (0.011 ± 0.005) g,藻体叶片 3~4 片,平均长度为 (4.24 ± 0.04) mm(图 1)。实验所用海水经过暗沉淀和二级沙滤处理,经煮沸冷却后使用。使用的培养基为 PES I^[9]。

收稿日期: 2013-08-23 修回日期: 2014-01-10

基金项目: 国家海洋公益性行业科研专项(201105008-4);浙江省科技计划项目(2012F20028)

作者简介: 张 鹏(1982—),男,助理研究员,研究方向为海洋生物生理生态学。E-mail: zhangpeng20011918@163.com

通信作者: 王铁杆, E-mail: wtg605@163.com

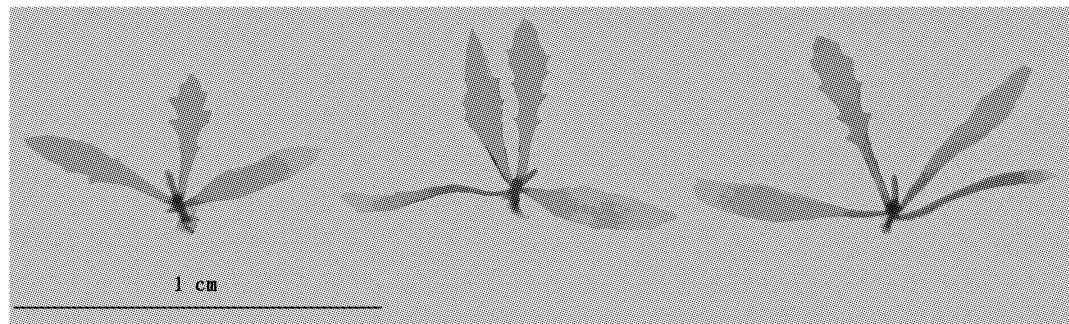


图 1 实验使用的铜藻幼苗

Fig. 1 *Sargassum horneri* seedlings used in the experiments

1.2 培养条件的设定

实验温度设 15、20、25、30、35 ℃ 等 5 组, 光照强度设 500、1 500、2 500、3 500、4 500、5 500、6 500、7 500 LX 等 8 组, 光照周期设 0L: 24D、6L: 18D、12L: 12D、18L: 6D、24L: 0D (L: D, 明期: 暗期) 等 5 种, 盐度组分 10、20、30、40、50 等 5 组, 培养密度实验设 5、10、25、50、100、200 棵/L 等 6 组。除生态因子测试实验外, 其他实验的培养条件为 (20 ± 1) ℃, 2 500 ~ 3 500 LX (12L: 12D), 盐度 27 ~ 29。所有实验每 5 天更换一次培养液。培养方式为室内充气悬浮培养, 培养密度为每升 25 棵。每个实验设置 3 个重复组, 实验周期为 20 d。

1.3 相对生长率及相对增重率

实验中, 每 5 天测量一次长度。培养结束时, 记录实验个体的湿重 (g)、长度 (mm) 和叶片数, 选取最大叶片并拍照。根据初始和最终的长度计算幼苗的相对生长率 (R_{GR})^[10], 根据初始和最终的重量计算幼苗的相对增重率 (R_{WG})。

$$R_{GR} (\%) = \frac{100 \ln(L_t/L_0)}{t} \quad (1)$$

式中: L_0 为铜藻幼苗初始长度; L_t 为实验结束时铜藻幼苗长度; t 为实验周期。

$$R_{WG} (\%) = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100\% \quad (2)$$

式中: W_0 为铜藻幼苗初始重量; W_t 为实验结束时铜藻幼苗重量。

1.4 数据统计及分析

利用 Excel 软件将定期测定的铜藻幼苗长度做成长度变化曲线以反映藻体长度的变化; 实验结束后, 利用 Excel 软件将叶片增加数、 R_{GR} 、 R_{WG} 做成柱形图, 并用 SPSS 19.0 软件进行 Duncan's

多重比较, 以说明不同处理间的差异。

2 结果与分析

2.1 温度对铜藻幼苗生长的影响

不同培养温度下的铜藻幼苗的长度变化如图 2 所示。铜藻幼苗在 15 ~ 30 ℃ 下叶片长度都有所增加; 温度 30 ℃ 时, 幼苗生长受到抑制, 生长率极低。当温度为 35 ℃ 时, 幼苗叶片脱落, 颜色变浅, 培养 15 d 即死亡 (图 3, 图版 I)。20 ~ 25 ℃ 组的铜藻幼苗的相对生长率明显高于其它温度组 (图 3), 25 ℃ 组的相对增重率最高 (图 4, $P < 0.05$)。15 ~ 25 ℃ 组, 幼苗叶片分生的速度较快 ($P < 0.05$), 由最初的 2 ~ 4 片生长到 9 ~ 10 片 (图 3), 最大叶片多数出现二级分支, 且叶片边缘裂痕较深 (图版 I - 4); 温度升至 30 ℃ 时, 叶片颜色较深, 叶片边缘裂痕较浅, 多为一级分支 (图版 I - 1, 2, 3); 温度升至 35 ℃ 时, 叶片逐步脱落, 颜色变白, 最后全部死亡 (图版 I - 5)。

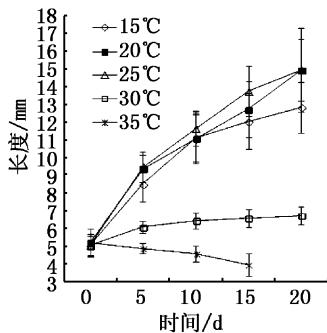


图 2 培养在不同温度下的铜藻幼苗体长

Fig. 2 Length of *Sargassum horneri* seedlings grown at different temperatures

2.2 光照强度对铜藻幼苗生长的影响

铜藻幼苗适光范围较广, 在 500 ~ 7 500 LX 之间均能生长 (图 5)。在 2 500 ~ 4 500 LX 之间

铜藻幼苗增长速度较快($P < 0.05$, 图6)。在3 500~5 500 LX范围内铜藻幼苗增重明显高于其它光照组($P < 0.05$, 图6)。4 500 LX组的铜藻幼苗叶片分生速度最快,2 500、3 500和5 500 LX三组次之,其余光照组,叶片分生速度较慢($P < 0.05$, 图7);500 LX组的叶片较小,边缘裂痕较浅,且多为一级分支,1 500~7 500 LX条件下,叶片边缘裂痕较深,且多数出现二级分支;低于5 500 LX的各组,其叶片一级分支逐渐变细,7 500 LX组的叶片稍部均出现损伤(图版Ⅱ)。

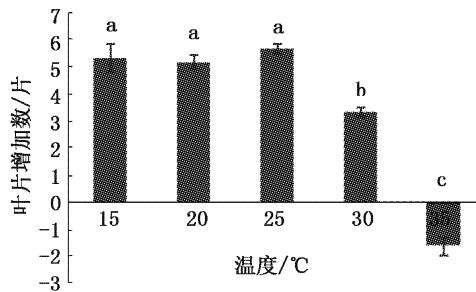


Fig. 3 Increased leaf number of *Sargassum horneri* seedlings at different culture temperatures

图中相同的字母表示差异不显著($P > 0.05$);不同字母表示差异显著($P < 0.05$)。下同。

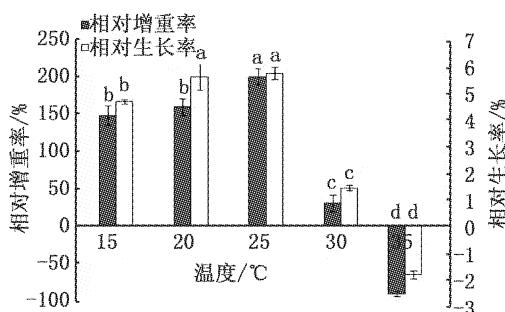


图4 不同温度下培养的铜藻幼苗的相对生长率和相对增重率

Fig. 4 R_{GR} and R_{GW} of *Sargassum horneri* seedlings grown at different temperatures

2.3 光照周期对铜藻幼苗生长的影响

铜藻幼苗在不同的光照周期下均能存活(图8),在日光照时间不低于12 h下,铜藻幼苗生长较快($P < 0.05$, 图9)。当全黑暗时,铜藻幼苗停止生长,叶片颜色变浅(图版Ⅲ-1)。在日光照时间大于12 h时,铜藻幼苗的相对生长率较高($P < 0.05$);光照周期0L:24D时,为负增长(图9)。光照时间长短对相对增重率影响也较明显,光照周期18L:6D时增重效果明显($P < 0.05$),

全黑暗条件下,重量出现负增长(图9)。光照时间对叶片分生也有促进作用,叶片在长光照时间条件下分生速度明显快于短光照时间($P < 0.05$),在全黑暗条件下,叶片基本停止分生(图10);另外,光照时间超过12 h时,叶片二级分支明显,整个叶片呈纤细状(图版Ⅲ)。

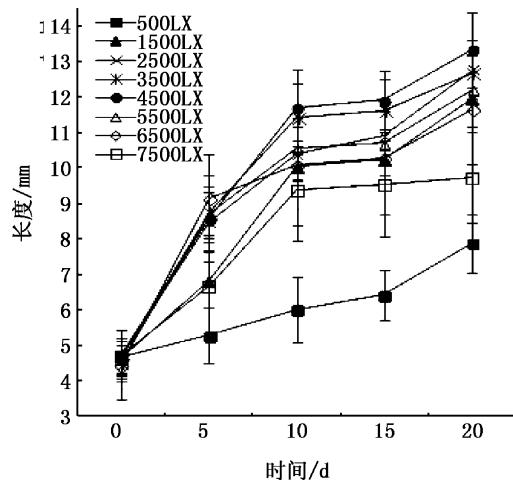


Fig. 5 Length of *Sargassum horneri* seedlings grown at different light intensities

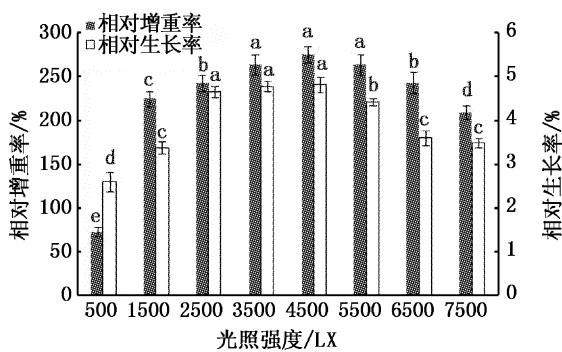


Fig. 6 Effect of light intensity on R_{GR} and R_{WG} of *Sargassum horneri* seedlings

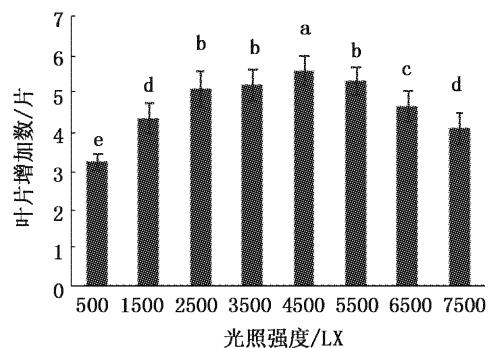


Fig. 7 Increased leaf number of *Sargassum horneri* seedlings at different light intensities

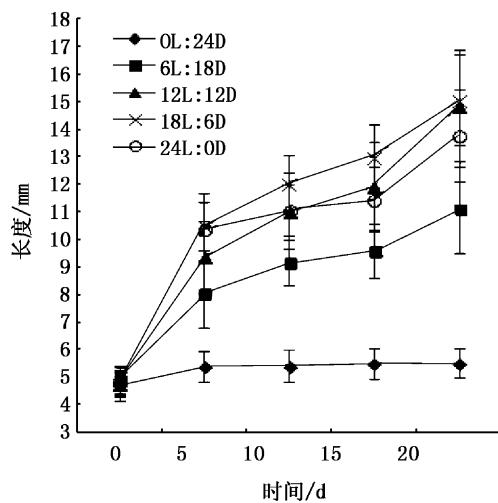


图8 培养在不同光照周期下的铜藻幼苗体长

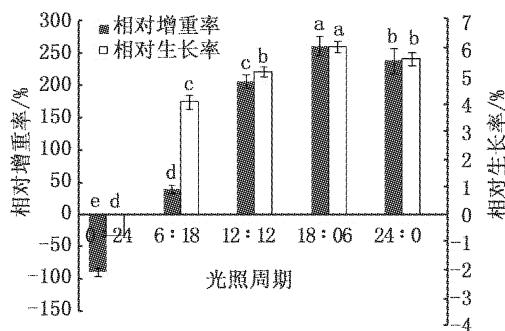
Fig. 8 Effect of light period on *Sargassum horneri* seedlings length

图9 不同光照周期下铜藻幼苗的相对生长率

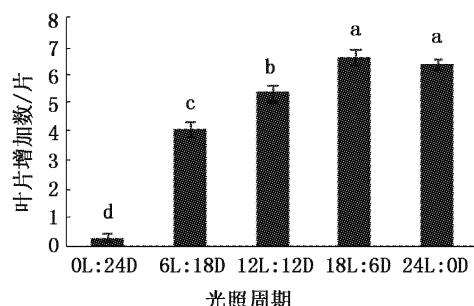
Fig. 9 R_{GR} and R_{WG} of *Sargassum horneri* seedlings at different light periods

图10 不同光照周期下铜藻幼苗的叶片增加数量

Fig. 10 Increased leaf number of *Sargassum horneri* seedlings at different light periods

2.4 盐度对铜藻幼苗生长的影响

铜藻幼苗在盐度10~40范围内长度均有所增加(图11)。在盐度为30时铜藻幼苗生长明显快于其它盐度,其次为20和40,盐度10的增长缓慢,50出现负增长($P < 0.05$,图12)。盐度30的铜藻幼苗增重明显高于其它组,盐度50出现

负增长($P < 0.05$,图12)。在盐度30时,叶片分生速度最快;其它盐度组的叶片分生速度较慢;盐度50组叶片出现脱落($P < 0.05$,图13)。盐度30组的幼苗叶片颜色为正常的金黄色,叶片分生正常,边缘裂痕明显,多有二级分支出现,其它盐度组,叶片颜色为棕黄色,叶片边缘裂痕较少(图版IV)。

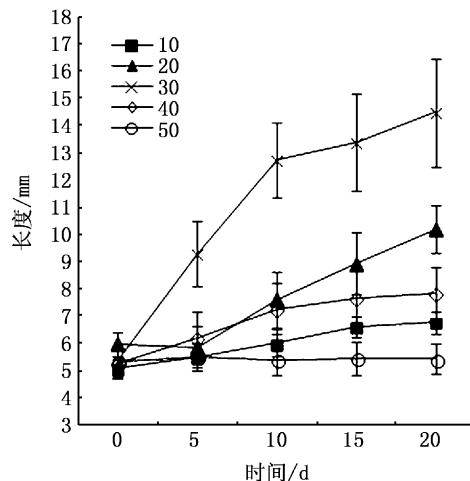


图11 不同盐度下的铜藻幼苗体长

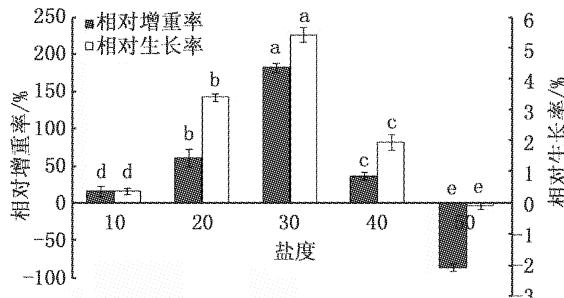
Fig. 11 Effect of salinity on *Sargassum horneri* seedlings length

图12 不同盐度下铜藻幼苗的相对生长率

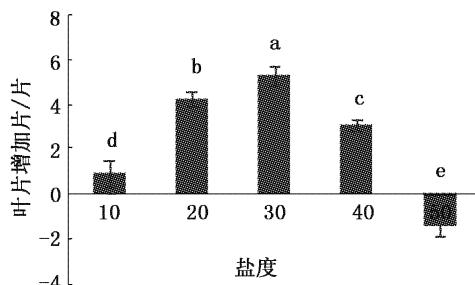
Fig. 12 R_{GR} and R_{WG} of *Sargassum horneri* seedlings at different salinity levels

图13 不同盐度下铜藻幼苗的叶片增加数量

Fig. 13 Increased leaf number of *Sargassum horneri* seedlings at different salinity levels

2.5 培养密度对铜藻幼苗生长的影响

密度为5~100棵/L时,幼苗长度增加较快。在培养密度超过100棵/L时,幼苗生长明显受到影响($P < 0.05$,图14,15),5~100棵/L下幼苗的相对生长率无明显差异($P > 0.05$,图15)。但培养密度对幼苗的重量的增加影响较为明显($P < 0.05$,图15)。在培养密度5~100棵/L时,叶片分生速度明显快于200棵/L密度组($P < 0.05$,图16)。此外,培养密度对幼苗的叶片外形影响较为明显,低密度(5~25棵/L)培养,叶片一级分支较宽,颜色多为深黄色,高密度(50~200棵/L)培养,幼苗叶片一级分支逐渐呈纤细状,颜色由金黄色变为淡金黄色(图版V)。

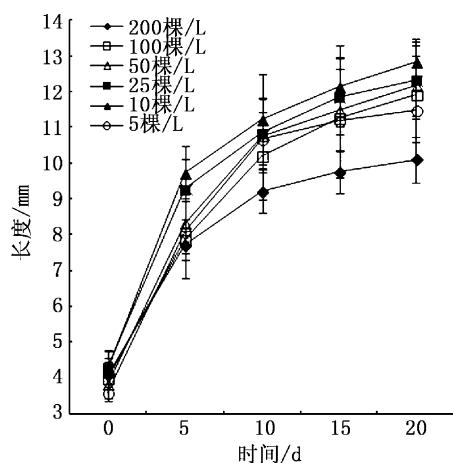


图14 不同培养密度下铜藻幼苗的长度
Fig. 14 Effect of culture density on *Sargassum horneri* seedlings length

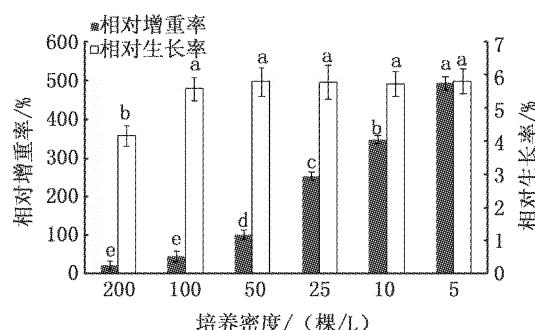


图15 不同培养密度下铜藻幼苗的相对生长率
Fig. 15 R_{GR} and R_{WG} of *Sargassum horneri* seedlings at different culture densities

3 讨论

3.1 温度对铜藻幼苗生长的影响

温度是影响海藻分布和生长发育的一个重要因子,特别是对幼苗需要“渡夏”的大型海藻影

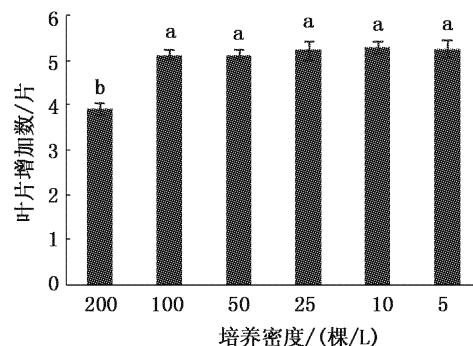


图16 不同培养密度下铜藻幼苗的叶片增加数量

Fig. 16 Increased leaf number of *Sargassum horneri* seedlings at different culture densities

响更为突出,例如,羊栖菜^[12~13],鼠尾藻^[14~15]等。而铜藻有性繁殖产生的幼苗同样必须经历夏季的高温。目前,羊栖菜人工苗种通过“北方渡夏”的手段来减少高温的影响,已经形成成熟的模式^[13]。为了进一步开展浙南地区铜藻的增养殖及开发利用,探索铜藻幼苗可行的“渡夏”模式,就必须首先摸清铜藻幼苗的温度耐受能力。本研究表明,铜藻幼苗可以耐受30℃高温,且能缓慢生长,与孙建璋等通过实地调查研究,发现南麂岛铜藻的生存水温为8~30℃的结果一致^[7],因此出于保存苗种的目的,浙南普通育苗车间的铜藻幼苗室内渡夏培养可把培养温度控制在30℃以下。

3.2 光强对铜藻幼苗生长的影响

一般认为,铜藻不同生长阶段对光强的需求有所不同,孙建璋等认为铜藻的合子附着后,幼孢子体对强光的耐受力下降^[8],本研究也发现,该生长阶段的铜藻幼苗对6 500 LX以上的强光耐受力较差,特别是顶部新生组织的伤害较大。因此,在铜藻幼苗培养过程中,应当尽量减少较强光照对其的伤害。

3.3 光照周期对铜藻幼苗生长的影响

CHOI等^[15]在对铜藻进行环境因子试验时,发现成年铜藻适合在长光照条件下生长,而张婧等^[16]在对铜藻幼孢子体培养时也发现长光照周期对其生长有促进作用。上述研究与本实验结果相同,且研究表明,铜藻幼苗的渡夏培养应以18L:6D的光照周期为适宜。

3.4 盐度对铜藻幼苗生长的影响

铜藻作为生长在浅海的大型海藻,多分布在远海盐度稳定的区域,河口区较难发现铜藻的自

然分布,而本实验结果显示,铜藻幼苗有较宽的盐度耐受范围,在盐度10~40内均能存活,该结论与张玉荣等^[17]利用叶绿素荧光技术揭示人工培育的铜藻幼苗对胁迫温度、光照和盐度的反应的结果类似,说明幼苗对低盐和高盐都有一定的耐受能力。实验结果显示铜藻幼苗适宜盐度为30,在铜藻幼苗培养过程中,还是应将盐度控制在20~30范围内。

3.5 培养密度对铜藻幼苗生长的影响

铜藻幼苗培养密度试验结果显示,不同的培养密度对铜藻的长度、 R_{GR} 、 R_{WG} 、叶片分生数等都有不同程度的影响,特别是 R_{WG} 影响较为突出,并且 R_{WG} 随着密度的增加而减少,造成以上结果的原因主要是在培养容器体积相同,营养盐重量相等的条件下,幼苗密度越高,单棵幼苗分得的营养盐越少,因此较高密度的幼苗藻体普遍为纤细状,因此单棵藻体重量较轻, R_{WG} 偏小;但室内培养空间有限的条件下,若以此作为苗种生产的一种补充手段,势必要发挥养殖容器的最大效率,本实验结果发现在不影响幼苗长度的条件下,该阶段铜藻幼苗可选择100棵/L的培养密度进行培养。UCHIDA^[18]和PANG等^[19]对铜藻幼苗的室内培养研究过程中,悬浮培养的幼苗,也可生长至3 cm以上,达到海区夹苗筏养的规格,可在室内进行铜藻幼苗的小规模生产。

4 结论

综上所述,日龄为60 d的铜藻幼苗的培养条件应当控制在以下范围:温度20~25℃,光照强度2 500~4 500 LX,光照周期18L:6D,盐度20~30。另外,铜藻幼苗的培养密度越低,越有利于幼苗的生长和发育;在不影响幼苗长度的条件下,该阶段铜藻幼苗可以选择100棵/L的培养密度。

参考文献:

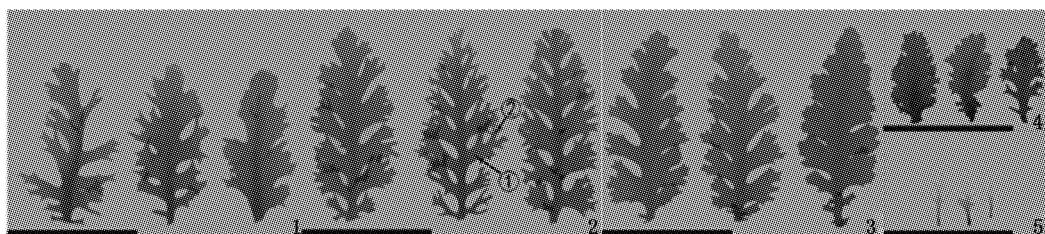
- [1] 杭金欣,曾呈奎.浙江海藻原色图谱[M].杭州:浙江科学技术出版社,1983:43.
- [2] 曾呈奎,陆保仁.褐藻门:墨角藻目//中国海藻志.北京:科学出版社,2000:43~44.
- [3] MILLER K A. Seaweeds of California. updates of california seaweed species list [M]. Berkeley: University of California Jephson Herbarium, 2012:1~59.
- [4] MILLER K A, ENGLE J M, UWAI S, et al. First report of the asian seaweed *Sargassum filicinum* harvey (Fucales) in California, USA [J]. Biological Invasions, 2007, 9(5): 609~613.
- [5] 孙建璋,庄定根,陈万东,等.铜藻 *Sargassum horneri* 繁殖生物学及种苗培育的研究[J].南方水产,2008,4(2):614.
- [6] CHOI C G, KIM H G, SOHN C Y. Transplantation of young fronds of *Sargassum horneri* for construction of sea-weeds beds [J]. Journal of the Korean Fisheries Society, 2003, 36(5): 469~473.
- [7] 孙建璋,陈万东,庄定根,等.中国南麂列岛铜藻 *Sargassum horneri* 实地生态学的初步研究[J].南方水产,2008,4(3):58~63.
- [8] 孙建璋,庄定根,王铁杆,等.南麂列岛铜藻的研究[J].现代渔业信息,2009,24(5):19~21.
- [9] 王素娟.海藻生物技术[M].上海:上海科学技术出版社,1994:20~21.
- [10] HUNT R. Plant growth analysis (Studies in Biology) [M]. London: Edward Arnord, 1978: 96.
- [11] 李生尧.羊栖菜生产性育苗技术研究[J].浙江海洋学院学报:自然科学版,2001,20(3):251~265.
- [12] 张立宁,骆其君,林少珍,等.羊栖菜幼苗北方海区渡夏培育的研究[J].宁波大学学报:理工版,2012,25(4):6~9.
- [13] 王飞久,孙修涛,李峰.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.
- [14] 张泽宇,李晓丽,韩余香.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.
- [15] CHOI H G, LEE K H, YOO H I, et al. Physiological differences in the growth of *Sargassum horneri* between the germling and adult stages [J]. Journal of Applied Phycology, 2008, 20(5): 729~735.
- [16] 张婧,严兴洪,章守宇.铜藻受精卵的早期发生与幼孢子体发育观察[J].水产学报,2012,36(11):1706~1716.
- [17] 张玉荣,刘峰,单体锋,等.利用叶绿素荧光技术揭示人工培育的铜藻幼苗对胁迫温度、光照和盐度的反应[J].南方水产,2009,5(2):1~9.
- [18] UCHIDA T. The life cycle of *Sargassum horneri* (Phaeophyta) in laboratory culture [J]. Journal of Phycology, 1993, 29(2): 231~235.
- [19] PANG S J, LIN 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]. Journal of Applied Phycology, 2009, 21(4): 413~422.

Effects of environment factors on growth of *Sargassum horneri* seedlings under indoor conditions

ZHANG Peng^{1,2}, WANG Tie-gan^{1,2}, XIE Qi-lang^{1,2}, ZHANG Hua-wei^{1,2}, YAN Xing-hong³, CHEN Meng-jing⁴
 (1. Zhejiang Mariculture Research Institute, Wenzhou 325005, Zhejiang, China; 2. Zhejiang Key Laboratory of Exploitation and Preservation of Coastal Bio-resource, Wenzhou 325005, Zhejiang, China; 3. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 4. Wenzhou Medical University, Wenzhou 325000, Zhejiang, China)

Abstract: In order to get suitable cultivating conditions, the effects of environmental factors on growth of the 60-days-old *Sargassum horneri* seedlings were investigated in laboratory. The results showed that, *S. horneri* seedlings survived at 15 to 30 °C, and suitable temperature range was from 20 to 25 °C. The seedlings grew up under light intensity from 500 to 7 500 LX, and the better light intensity range was from 2 500 to 4 500 LX. Seedlings could grow in the salinity range from 10 to 40, and the suitable salinity was 30. Long photoperiod (18L:6D) was more beneficial to growth of *S. horneri* seedlings. The low cultivation density ($5 - 25 \cdot L^{-1}$) was beneficial to growth and development of the seedlings. These results provided basic technical data for artificial seeding of *S. horneri* to spend summer indoors.

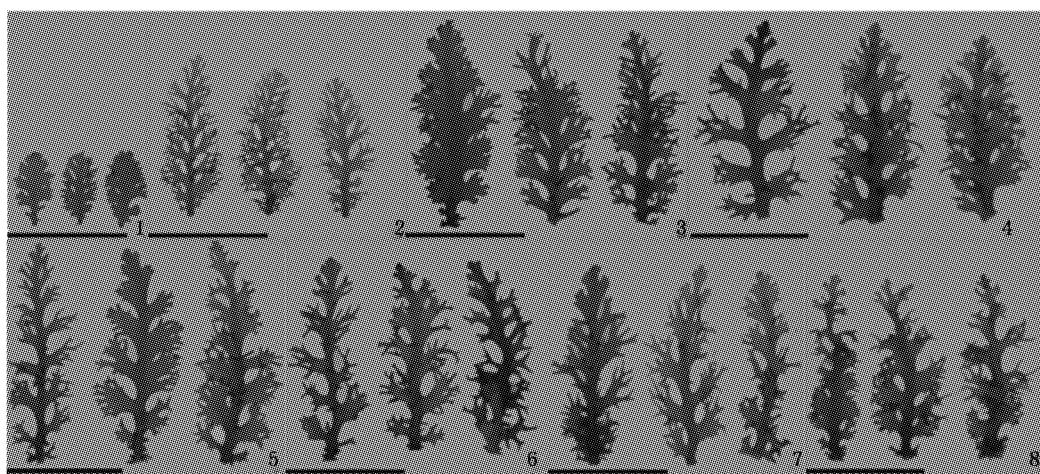
Key words: *Sargassum horneri*; seedlings; environmental factors; growth



图版 I 在不同温度(15, 20, 25, 30, 35 °C)下培养的铜藻幼苗叶片

Plate I Leaves of *S. horneri* seedlings after being cultured at different temperature for 20 days

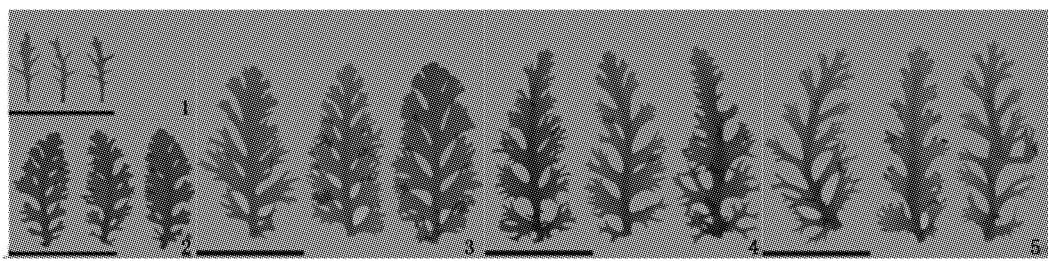
1-5. 为分别在15, 20, 25, 30, 35 °C下培养20 d后的铜藻幼苗叶片。图中标尺均为1 cm, 下同。以2中叶片为例, ①叶片第一次分支记为一级分支; ②一级分支上的再次分支记为二级分支。下同。



图版 II 在不同光照强度(500, 1500, 2500, 3500, 4500, 5500, 6500, 7500 LX)下培养的铜藻幼苗叶片

Plate II Leaves of *S. horneri* seedlings after being cultured at different light intensity for 20 days

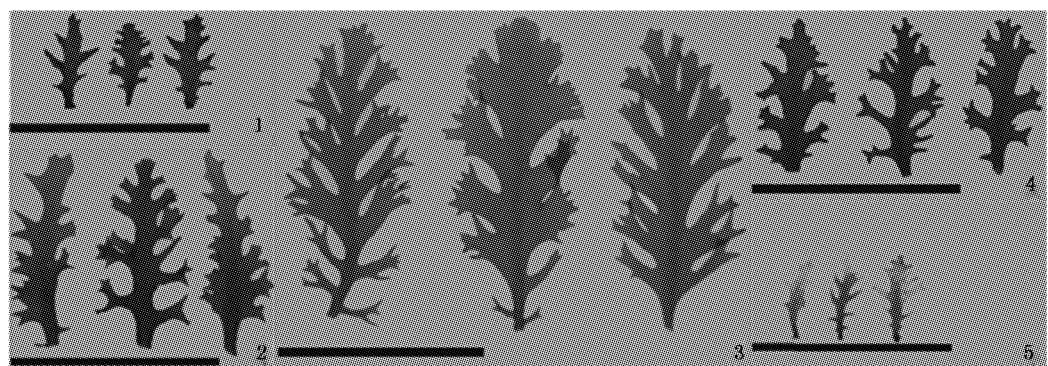
1-8. 为分别在500, 1500, 2500, 3500, 4500, 5500, 6500, 7500 LX下培养20d后的铜藻幼苗叶片。



图版III 在不同光照周期(0L:24D, 6L:18D, 12L:12D, 18L:6D, 24L:0D)培养条件下铜藻幼苗的叶片

Plate III Leaves of *S. horneri* seedlings after being cultured at different light regime for 20 days

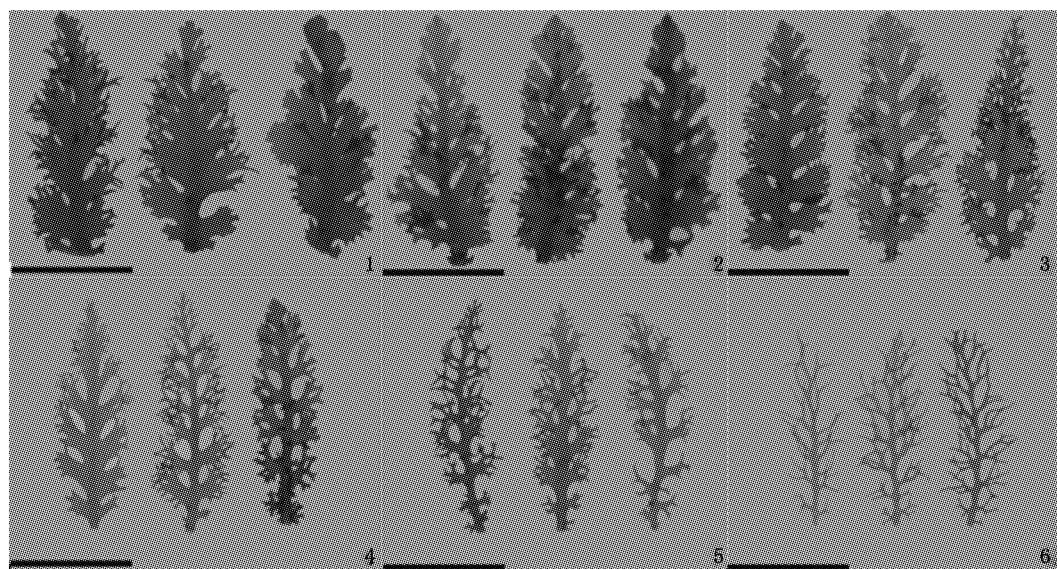
1-5. 为分别在0L:24D, 6L:18D, 12L:12D, 18L:6D, 24L:0D下培养20 d后的铜藻幼苗叶片。



图版IV 在不同盐度(10, 20, 30, 40, 50)培养条件下铜藻幼苗的叶片

Plate IV Leaves of *S. horneri* seedlings after being cultured at different salinity for 20 days

1-5. 为分别在10, 20, 30, 40, 50盐度下培养20 d后的铜藻幼苗叶片。



图版V 在不同培养密度(5, 10, 25, 50, 100, 200 棵/L)条件下铜藻幼苗的叶片

Plate V Leaves of *S. horneri* seedlings after being cultured at different culture density for 20 days

1-6. 为分别在5, 10, 25, 50, 100, 200棵/L培养密度下培养20 d后的铜藻幼苗叶片。