

④
19-24

裙带菜配子体采苗及育苗的研究

张泽宇, 曹淑清, 邵魁双, 邬玉净

S968.423

(大连水产学院 养殖系, 辽宁 大连 116023)

摘要: 报道了在 10、15、20℃条件下配子体生长的适宜温度为 20℃, 适宜发育成熟温度为 15℃, 120μm 为配子体切断最适长度。采用配子体采苗方法进行了育苗实验, 完成了采苗、育苗、海区暂养全过程, 培育出藻体长度 1.0~2.0cm, 幼苗密度为 58~120 株/cm 裙带菜苗种绳 100 余 m。

关键词: 裙带菜; 配子体采苗; 人工育苗; 海区暂养

中图分类号: S968.42*3

文献标识码: A

裙带菜 *Undaria pinnatifida* (Harvey) Suringar 是经济价值较高的大型褐藻, 在中国北方有较大的栽培规模, 除国内市场销售外, 还销往日本市场, 是出口创汇的重要水产品之一。关于裙带菜的苗种生产目前国内外都采用孢子采苗方式进行^[1,2]。由于采苗时间受种藻繁殖季节限制, 育苗时间较长, 在大连等北方海区室内育苗时间近 3 个月, 山东以南沿海则需 4 个月以上^[3]。不仅育苗成本高, 而且出苗不稳定, 制约了裙带菜栽培生产的发展。裙带菜的生活史由孢子体世代和配子体世代相互交替所组成^[4]。将室内培养的雌雄配子体在适宜时期切碎并使其附着在基质上进行配子体采苗可省略孢子采苗中配子体生长、配子体度夏阶段的培养时间而直接进入配子体成熟阶段, 使育苗时间缩短为 1 个月。此种方式不仅可大幅度降低育苗生产成本, 提高育苗生产效益, 而且可以根据生产需要多次采苗, 增强了苗种生产的稳定性。

国内李大鹏等^[5]使用裙带菜无性繁殖系采苗及育苗获得成功。日本秋山和夫^[6]等报道了裙带菜配子体采苗的基本程序。具体采苗及育苗方法未见报道。作者于 1998 年使用室内人工培养的裙带菜雌雄配子体进行不同温度对配子体生长发育影响试验, 并探讨了裙带菜配子体室内培养技术, 采用配子体切碎的方法进行了配子体采苗, 利用 1 个月时间培育出藻体长度 300 μm 的裙带菜幼孢子体, 经海区暂养后培育成藻体长度 1.0~2.0 cm、幼苗附着密度 58~120 株/cm 裙带菜苗种绳 100 余 m。

1 材料与方 法

1.1 材 料

试验材料系 1998 年 6 月从成熟种藻获得游孢子培养的雌雄配子体, 藻株平均直径

收稿日期: 1999-03-25

基金项目: 大连市科委资助项目

作者简介: 张泽宇 (1950-), 男, 副教授。

2.0 mm。配子体保存培养温度 20℃, 照度 2000 lx, 光时为 12 h/d, 光源为日光灯。培养液为自然海水经过滤后 1 L 中添加 100 mg NaNO_3 、20 mg Na_2HPO_4 和微量元素 P I^[6,7] 溶液 1 mL, 加热灭菌后使用, 每 15 d 全量交换 1 次。

1.2 方法

1.2.1 配子体的切断长度与附着率 取雌雄配子体各 5 mg (湿重) 移入 250 mL 灭菌海水的搅拌机 (SANYO.SM - G321) 中, 切断时间设定为 10、20、40、60、90、120 s, 在测定配子体切断长度后, 用吸管各吸取 0.1 mL 移入直径 9.0 cm 培养皿内, 添加培养液后静置培养, 4 d 后检查配子体的附着率和死亡率。

1.2.2 不同温度对配子体生长和成熟的影响 温度设定为 10、15、20℃。光源为日光灯, 光强为 2500 lx。光时为 12 h/d。配子体切断方法与“1.2.1”同。切段时间为 60 s。在测定切段长度后, 用吸管各吸取配子体液 0.1 mL 移入直径 12 cm 培养皿内培养。生长试验每 7 d 全量交换 1 次培养液, 每 5 d 测定 1 次配子体长度, 方法是将雌雄配子体各测 50 个体取平均值。成熟试验每 3 d 全量交换 1 次培养液, 从第 10 d 开始每 5 d 测定 1 次成熟率, 雌雄配子体各取 50 个体按成熟个体的百分比计算。

1.3 配子体采苗

所用附着基为直径 3.0 mm 维尼纶苗绳缠绕在边长 40 cm 正方形聚乙烯框架制成的育苗器, 苗绳长度 25 m。采苗时间分别为 8 月 10 日, 8 月 20 日, 8 月 27 日, 9 月 2 日 4 组, 每组 2 个育苗器。方法是将育苗器摆放在水槽内并使海水浸过育苗器, 把“1.2.1”相同方法切断的配子体均匀地洒在育苗帘上, 4 d 后用相同方法采育苗器的另一面, 采苗密度为 30 个/视野 ($\times 100$) 左右。静置 2 d 后垂挂在培育池内培养。同池内垂挂对照组孢子采苗的育苗器, 采苗时间为 7 月 10 日, 孢子附着密度为 60 个/视野 ($\times 100$) 左右。

1.4 幼苗培育

育苗器垂挂在长 2.0 m、宽 1.0 m、高 0.5 m 的玻璃钢水槽内, 光照为自然光, 添加的营养盐为 NaNO_3 20 g/m^3 , Na_2HPO_4 10 g/m^3 , 培养液每 3 d 全量交换 1 次。每 5 d 测定 1 次配子体的成熟率或幼孢子体长度, 每 7 d 苗帘倒置 1 次。

1.5 幼苗暂养

暂养时间为 9 月 25 日, 配子体采苗育苗器 4 个, 幼孢子体平均长度 300 μm 。孢子采苗育苗器 1 个, 幼孢子体平均长度 220 μm 。暂养方法是将育苗器一端苗绳剪断垂挂在浮筏上, 初挂水层 1.0 m, 10 d 后提至 0.6 m。每 7 d 测定 1 次幼苗长度, 1 个月后检查幼苗密度。

2 结果

2.1 配子体的切碎长度与附着率

由图1可以看出,当配子体切断长度大于 $120\mu\text{m}$ 时,配子体的附着率较低;配子体的切断长度小于 $120\mu\text{m}$ 时,虽然配子体的附着率大幅度提高,但死亡率也急骤增加,在显微镜下可见许多受伤个体。因此,配子体切断的适宜长度以 $120\mu\text{m}$ 左右为宜。

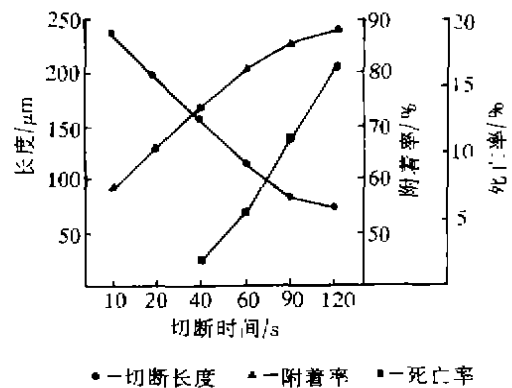


图1 不同切断时间下配子体长度与附着率、死亡率的关系

2.2 不同温度对配子体生长和成熟的影响

2.2.1 配子体生长 不同温度对配子体影响

如图2所示。在所设定的3个温度条件下配子体都能生长但差异明显,在 20°C 时生长最快, 15°C 次之, 10°C 最慢。

2.2.2 配子体成熟 在设定的3个温度下以 20°C 雌、雄配子体发育成熟率最高, 15°C 次之,但两者相差较小。 10°C 下配子体的发育成熟率最低(图3)。

2.3 配子体采苗

切断后的配子体依靠破碎细胞溢出的原生质附着在基质上。4~5 d后随着细胞活力的恢复,配子体逐渐增加与基质的接触面积便可牢固地附着。配子体的附着密度一般要求20个/视野($\times 100$)左右。考虑部分脱落和死亡因素以30个/视野($\times 100$)为宜。采苗时要求配子体泼洒要均匀,采苗后要抽样检查附着密度,附着密度不足要补采。采苗后4~5 d内配子体易脱落,因此,此期间除减少移动防止配子体脱落外,还要低照度培养,以避免因光合作用过强,使配子体产生气泡上浮导致附着密度不足,本试验培养照度在 $800\sim 1000\text{ lx}$ 。

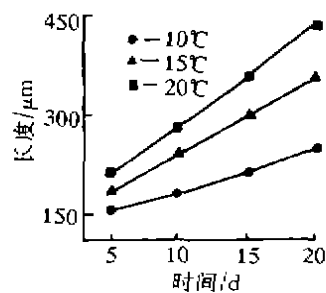


图2 不同温度对配子体生长的影响

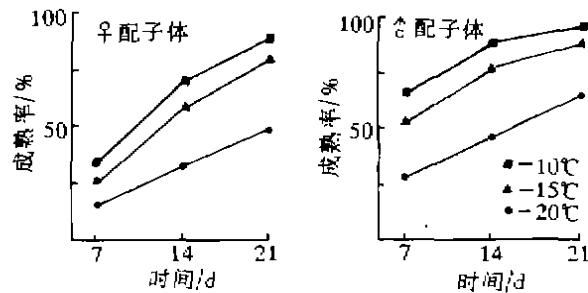


图3 不同温度对配子体发育成熟的影响

2.4 幼苗培育

附着在维尼纶绳上的配子体在移入培养池内1周后恢复正常。当水温降至 22°C 以

下时陆续发育成熟。雌配子体枝端细胞开始拉长,原生质向细胞前端移动使细胞前端逐渐膨大形成卵囊并排出卵。雄配子体则在细胞周缘产生锯齿状突起并逐渐突出于细胞表面形成精子囊后放出精子。卵受精后经3次横分裂形成7个单列细胞的幼孢子体,再经多次横纵分裂形成多细胞幼孢子体。当藻体长度达 $100\mu\text{m}$ 以上时,由叶片基部细胞分生出假根丝附着在基质上。不同采苗时间雌雄配子体的成熟率及与水温的关系如表1所示。

表1 不同采苗时间雌雄配子体的成熟率与水温的关系

采苗时间	配子体	测定日期及水温			
		09-05 21.8℃	09-10 21.2℃	09-15 20.6℃	09-20 20.2℃
08-10	♀	28	80	95	100
	♂	36	85	100	
08-20	♀	24	78	90	100
	♂	30	84	100	
08-27	♀	12	52	82	100
	♂	18	68	90	100
09-02	♀	0	18	52	78
	♂	0	24	74	92
对照	♀	8	32	42	64
	♂	10	40	56	74

不同采苗时间幼孢子体生长与水温的关系,由图4可以看出,8月10日和8月20日采苗的幼孢子体由于配子体熟时间早普遍个体较大,10月5日测定其幼孢子体的长度分别达到和接近 $800\mu\text{m}$ 。

2.5 幼苗暂养

幼苗在下海后1周内,由于受浮泥附着的影响和对海区环境的不适应,生长较慢,一周后其生长速度明显加快。10月11日测定配子体采苗和对照组的孢子采苗的幼苗长度分别为 0.7cm 和 0.5cm ,10月18日测定分别为 1.4cm 和 1.0cm ,暂养1个月后的10月25日测定配子体采苗幼苗长度为 1.8cm ,孢子采苗的幼苗

长度为 1.4cm ,均达到了分苗标准。在海区暂养了1个月后,本试验对幼苗密度进行了测定,配子体采苗苗绳的幼苗密度为 $58\sim 120$ 株/cm,平均为 89 株/cm,远远高于孢子采苗苗绳 $42\sim 98$ 株/cm,平均 70 株/cm的幼苗密度。

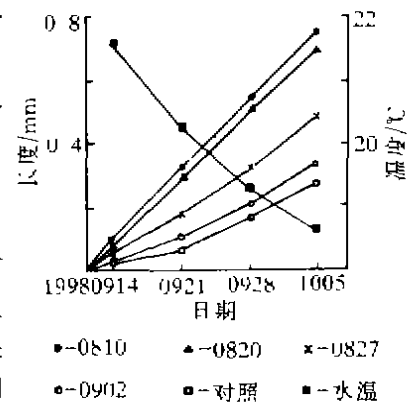


图4 不同采苗时间幼孢子体长度

3 讨论

3.1 配子体的附着密度

配子体的适宜附着密度是育苗成功的重要环节,与孢子采苗相比,由于切断的配子体个体较大,每个雌配子体可形成多个卵,采苗密度可相对少一些。本试验结果表明:配子体的附着密度达40/视野($\times 100$)以上时,会导致配子体相互重叠而脱落外,还会因密度过大使配子体发育成熟时间延后。配子体附着密度小于20个/视野($\times 100$)时,除附着密度不均造成苗绳局部苗量不足外,苗绳上的空间较大导致蓝藻、硅藻大量繁衍,增大了育苗难度。而采用30个/视野($\times 100$)的配子体附着密度获得了较好的育苗效果。另外,附着密度还与配子体的切断长度有关,切断配子体较长,分枝较多附着密度可小些,反之则附着密度要大一些。但配子体的切断长度超过200 μm 以上时,则附着率明显下降且在培养中极易脱落;配子体切断长度小于100 μm 时,虽然配子体的附着率大幅度提高,但死亡个体数也急骤增加,受伤个体恢复时间较长,加之破碎细胞增多导致细菌大量繁衍,为育苗带来了困难。作者认为120 μm 为切断配子体的适宜长度,在此长度下配子体采苗的适宜附着密度为30个/视野($\times 100$)。

3.2 配子体采苗的附着时间

本试验结果表明,在20 $^{\circ}\text{C}$ 时切断的配子体在基质上附着牢固约需4 d时间。由于裙带菜人工育苗采用立体培育方式,配子体采苗时需采育苗帘两面的苗绳,如附着4 d则一面苗绳上配子体在暗光照下时间过长致使成熟时间延后,苗绳两面出苗时间产生差异造成幼苗密度下降或出苗不均。本试验采用一面苗绳采苗后附着4 d,另一面苗绳采苗后附着2 d则移入培养池,缩短了第一面苗绳配子体在暗光照下的培育时间,使育苗帘两面苗绳的配子体能同时发育成熟,获得了苗绳两面出苗均匀的良好效果。虽然第二面苗绳上的配子体由于附着时间短有少数脱落,但适当地增大采苗密度和在培育中避免水流冲击及减少振动,可保证较好的出苗密度。

3.3 出库暂养藻体的适宜长度

裙带菜孢子采苗培育的幼孢子体出库暂养藻体的适宜长度一般要求在200 μm 以上^[6]。配子体采苗培育的幼孢子体出库暂养的藻体长度应大于孢子采苗幼孢子体出库暂养的藻体长度。其原因主要是由孢子形成的雌配子体的藻体长度一般在30 μm 以下,卵受精后形成的幼孢子体距基质距离较近,藻体基部细胞形成的假根丝能很快地附着在基质上并将藻体拉向基质,当藻体长度达到200 μm 以上时,藻体基部已靠近基质,由藻体基部细胞生出的多条假根丝使藻体牢固地附着在基质上,此时出库暂养不会造成藻体脱落。而配子体采苗切断的配子体是120 μm 左右的分枝丝状体,雌配子体成熟后在枝端形成的卵受精萌发的幼孢子体距附着基质距离较远,藻体基部细胞形成的假根丝需较长时间才能附着在基质上,当藻体长度为200 μm 左右时,在显微镜下观察虽有数条假根丝使藻体附着在基质上,但由于藻体基部距基质较远附着不牢固,此时出库暂养幼孢子体易

脱落。而当藻体长度达到 300 μm 以上时,在显微镜下可见藻体基部伸出的多条假根丝牢牢地附着在基质上并将藻体拉近基质,此时出库下海暂养不会造成藻体脱落。本试验进行了 200 μm 与 300 μm 藻体长度出库暂养效果的比较,结果也表明了幼孢子体藻体长度达 300 μm 以上时,出库暂养能获得良好的出苗效果。

[参考文献]

- [1] 曾呈奎,王素娟,刘思俭等. 海藻栽培学[M]. 上海:上海科学技术出版社,1985. 122~134.
- [2] 岩本康三,三浦昭雄. 水产植物学[M]. 东京:恒星社厚生阁,1963. 526~537.
- [3] 德田广,大野正夫,小河久郎. 海藻资源养殖学[M]. 东京:绿书房,1987. 133~144.
- [4] 堀辉三. 藻类的生活史集成第2卷:褐藻、红藻类[M]. 东京:内田老鹤圃,1993. 125~137.
- [5] 李大鹏,刘海航,彭光等. 日本品系裙带菜无性繁殖系生产性育苗技术[J]. 海洋科学,1998,(5):4~5.
- [6] 三浦昭雄. 食用藻类的栽培[M]. 东京:恒星社厚生阁,1992. 35~51.

Study on the seed collecting of gametophytes and seedling rearing for *Undaria pinnatifida*

ZHANG Ze-yu, CAO Shu-qing, SHAO Kui-shuang, WU Yu-jing
(Dept. of Aquaculture, Dalian Fisheries Univ., Dalian 116023, China)

Abstract: This paper deals with the artificial seedling rearing for *Undaria pinnatifida* by seed collecting of gametophytes. Experiments under 10, 15 $^{\circ}\text{C}$ and 20 $^{\circ}\text{C}$ showed that the optimum temperature for the growth and maturity of gametophytes is 20 $^{\circ}\text{C}$ and 15 $^{\circ}\text{C}$. The optimum length of gametophytes cut is 120 μm . The seedling string over 100 m with young seedlings 1.0~2.0 cm in length and 58~120 individuals/cm in density is produced through seed collecting, seedling rearing and holding culture offshore.

Key words: *Undaria pinnatifida*; seed collecting of gametophytes; artificial seedling rearing; holding culture offshore