

环境因素和繁殖特性对真江蓠受精效率的影响*

张赢月, 杨金鑫, 齐 聪, 杜启睿, 徐 涤**

(中国海洋大学海洋生命学院, 海洋生物遗传学与育种教育部重点实验室, 山东 青岛 266003)

摘 要: 真江蓠(*Gracilaria vermiculophylla*)是一种重要的产琼胶海藻,为了解决江蓠生产实践中的孢子育苗问题,加深对其受精过程的研究,本文选择了真江蓠精子数量、共培养时间(雌、雄配子体)、精子放置时间和雄配子体脱水时间作为繁殖特性因素,温度、光照强度和光照周期作为外界环境因素对真江蓠受精效率的影响进行探究。结果表明,7个因素均对真江蓠受精过程有显著影响,受精过程最适条件为温度 25℃、光照强度 25 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、光照周期 14L/10D。而且精子数量的增加、配子体共培养时间的增加、精子脱离雄配子体时间的减少以及对于雄配子体适当的脱水刺激,均有利于提高受精效率。此外,真江蓠还显示出精子与果胞能够在短时间(约 0.5 h)内快速受精的能力。本研究结果有助于解决藻体营养繁殖而产生的苗种退化问题,对江蓠孢子育苗具有重要的指导意义。

关键词: 真江蓠; 受精; 配子体; 影响因素; 繁殖特性

中图法分类号: S968.43

文献标志码: A

文章编号: 1672-5174(2024)03-070-06

DOI: 10.16441/j.cnki.hdxh.20220170

引用格式: 张赢月, 杨金鑫, 齐聪, 等. 环境因素和繁殖特性对真江蓠受精效率的影响[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2024, 54(3): 70-75.

Zhang Yingyue, Yang Jinxin, Qi Cong, et al. Effects of reproduction characteristics and environmental factors on the fertilization efficiency of *Gracilaria vermiculophylla*[J]. Periodical of Ocean University of China, 2024, 54(3): 70-75.

作为广泛分布在沿海潮间带的大型海洋红藻,真江蓠(*Gracilaria vermiculophylla*)具有重要的经济价值。与近源物种龙须菜(*Gracilariopsis lemaneiformis*)一样,真江蓠也可作为提取琼胶的重要原料,其琼胶含量高达 16%~28%,且藻胶质量较高,属于重要的海洋生物资源^[1-2]。此外,真江蓠提取物具有对黄嘌呤氧化酶和酪氨酸酶进行抑制作用药用价值^[3-4]。真江蓠对氮磷营养物质和重金属具有较强的吸收能力,可显著降低海水富营养化,改善水质环境,抑制有害赤潮藻的生长^[5-6]。

据报道,江蓠已成为栽培规模超 1 万 hm^2 的全国第二大栽培海藻,年产约 36 万 t 干品^[7]。目前国际上对江蓠的养殖,无论是智利江蓠(*G. chilensis*)还是龙须菜都是采用依赖营养繁殖的夹苗生产方式^[8-9],优点是增殖速度快,对养殖户来说操作简单易行。但随着养殖范围的扩大以及养殖品种栽培时间和密度的增加,栽培海区会出现病害频现和藻种性状退化的问题。此外,栽培季节苗种需求量的不断增加也制约着产业的发展。而这些问题的解决方法之一就是需要建立以

有性繁殖为基础的采孢子育苗体系,这涉及对江蓠的生活史及发育调控的深入研究。

真江蓠拥有真红藻纲(Florideophyceae)典型的三代型生活史,包括二倍体的四分孢子体世代(Tetrasporophyte)和果孢子世代(Carposporophyte),以及单倍体的配子体世代(Gametophyte)^[10-12]。真江蓠的四分孢子体及雌、雄配子体尽管属于等世代的分枝状藻体,但成熟后特征明显,表观上很容易区分,可分别观察到深红色的四分孢子囊、突出的果孢子体和开口较大的精子囊窝^[13],是进行江蓠科物种发育研究的好材料。

要实现完全人工可控的孢子采苗必须能在实验室保存优良品系并建立起成熟的促进孢子形成和释放的方法和流程。但到目前,对孢子放散过程和存活率影响条件的研究较多^[14-16],而对孢子形成过程的影响因子研究较少。常用于采苗的果孢子是由江蓠雄、雌配子体分别产生的精、卵受精后形成的果孢子体产生和释放的,因此其产量会受到决定受精效率的各种因素的影响。本实验将研究真江蓠的繁殖特征因素(如精子数量、共培养时间(雌、雄配子体)、精子放置时间、配

* 基金项目:现代农业产业技术体系专项(CARS-50);宁波市重大科技专项(2019B10009)资助

Supported by the China Agriculture Research System(CARS-50); the Key Program of Science and Technology Innovation of Ningbo (2019B10009)

收稿日期:2022-03-20; 修订日期:2022-04-14

作者简介:张赢月(1997—),女,硕士生,研究方向:藻类遗传育种。E-mail: 1026344492@qq.com

** 通信作者:徐 涤(1972—),女,博士,副教授。E-mail: dixu@ouc.edu.cn

子体脱水时间)和环境因素因素(温度、光照强度、光照周期)对受精效率的影响,以期为其依赖有性生殖的采孢子育苗以及杂交育种提供数据和理论支持。

1 材料与方法

1.1 用于杂交实验的真江蓼雌、雄配子体

本实验所用真江蓼雌配子体和雄配子体的成熟藻株于 2021 年 6 月采自青岛浮山湾潮间带(36°0'N, 120°2'E)。材料采集回实验室后首先使用毛刷进行清理,去除杂藻及其它附生物,然后用消毒海水多次冲洗。下列实验若无特殊说明则培养条件为:改良的 f/2 海水培养基、温度 23 °C、光照 35 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 、光照周期 12L/12D。实验前将真江蓼雌、雄藻株在恒温培养箱中预培养两周,使藻体适应实验室环境,同时排除采集时雌配子体上可能已有果胞受精而引起的实验误差。

实验时所用雌、雄配子体藻段都是保留有尖部生长点且长度大约为 3~4 cm 的一、二级分枝,平均分配到每个实验组,以消除分枝间可能出现的个体差异。

1.2 真江蓼雌、雄配子体的受精实验设置

下列实验如无特别说明都采用雌、雄配子体共培养的方式完成受精过程,具体设置如下:将预培养的真江蓼雄配子体和雌配子体藻段各 3 段放在一个三角瓶中共培养,每日手动摇晃 3 次,7 d 后每 3 d 更换一次培养基,30 d 后对每条雌配子体上形成的果孢子体进行计数,结果取平均值。所有实验设 3 个平行样。

1.3 精子数量对受精效率的影响

真江蓼雄配子体藻枝表面遍布精子囊窝,为避免藻枝从尖端到基部不同位置精子成熟度不同,本实验中只取成熟度相似的藻枝中段大约 5 cm 的部分进行实验。将不同长度的雄配子体与共培养的雌配子体藻枝进行受精,其长度分别为 2、6、10、14、16 cm,由 1 条或多条藻枝组成。

1.4 雌、雄配子体共培养时间对受精效率的影响

在雌、雄配子体共培养的时间为 0.5、1、3、5 h 时,分别取出雌配子体,沥干水分后放入到新的含 150 mL f/2 海水培养基的三角瓶中继续培养。

1.5 精子放置时间对受精效率的影响

选取总长度约 90 cm 的成熟雄配子体藻段置于 500 mL 锥形瓶中,加入 400 mL f/2 海水培养基,100 r/min 摇床振荡 6 h 促进精子释放,然后取出雄配子体,获得精子悬液。将该精子悬液平均分装后分别静置 0、2、4、6、12 h,放入雌配子体藻枝进行受精,7 d 后开始每 3 d 换一次水,30 d 后进行计数。

1.6 雄配子体脱水时间对精子放散的影响

用吸水纸吸去成熟雄配子体藻段的表面水分后,平均分为 4 组,分别干燥脱水 0、0.5、1、2 h,然后将各

组藻枝分别放入三角瓶中 100 r/min 摇床振荡 6 h,使精子放散。将振荡获得的精子悬液平均分装到 3 个 150 mL 三角瓶中,每瓶 100 mL,分别放入 3 根成熟雌配子体藻段,于摇床上温和旋转的情况下,与精子共培养 12 h,后进行换水和计数,过程同上。

1.7 温度对受精效率的影响

按温度 15、20、25 °C 将实验材料分为 3 组,对真江蓼雌、雄配子体进行共培养。

1.8 光照强度对受精效率的影响

按光照强度 15、25、35、45 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 将实验材料分为 4 组,对真江蓼雌、雄配子体进行共培养。

1.9 光照周期对受精效率的影响

按光照周期 8L/16D、12L/12D、14L/10D、16L/8D、24L/0D(全光照)将实验材料分成 5 组,对真江蓼雌、雄配子体进行共培养。

1.10 受精效率计算方法及统计学分析

据报道和观察,真江蓼雌配子体果胞顶端的受精丝不延伸出藻体表面,显微观察无法直接判断受精情况,因此只能间接使用单位长度藻枝上形成的果孢子体数量来表示受精效率。

各实验组在培养 30 d 后记录每条雌配子体上形成的果孢子体数量,然后取平均值。数据采用 ANOVA 分析及 t-检验来确定各实验组果孢子体数的差异, $P < 0.05$ 为差异显著, $P < 0.01$ 为极显著。各图数据上都标明标准误差(SD)误差线。

2 结果

2.1 精子数量对受精效率的影响

如图 1 所示,以不同雄配子体长度代表的精子数量对受精效率影响显著($P < 0.05$)。前 4 组的果孢子体数目随着雄配子体长度的增加而显著增加,在雄配子体长度为 14 cm 时,果孢子体数量出现最大值,而当雄配子体长度增加到 16 cm 时,果孢子体数没有明显增长。

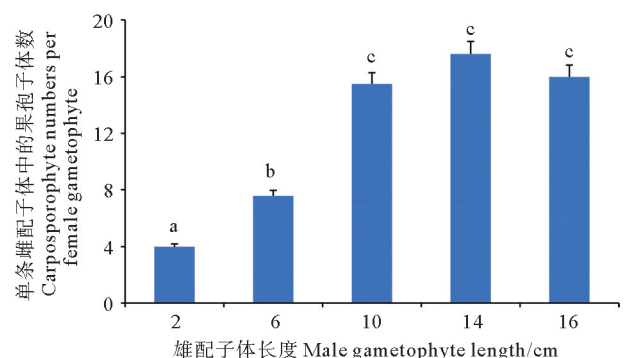


图 1 精子数量对真江蓼受精效率的影响

Fig. 1 Effect of spermatium number on the fertilization efficiency of *G. vermiculophylla*

2.2 雌、雄配子体共培养时间对受精效率的影响

如图2所示,雌、雄配子体共培养的时间对受精效率有极显著影响($P < 0.01$),随着共培养时间的逐渐延长,果孢子体数目呈现增加趋势。本实验在雌、雄配子体的共培养时间仅有0.5 h时,雌配子体上就可以形成果孢子体,而在5 h时果孢子体数目出现最大值。

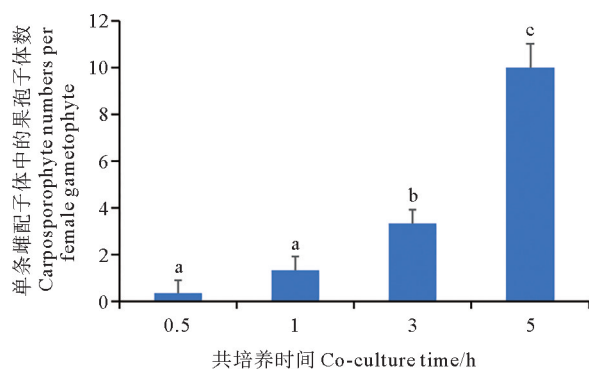


图2 真江菼雌、雄配子体共培养时间对受精效率的影响

Fig. 2 Effect of co-culture time of female and male gametophytes on the fertilization efficiency of *G. vermiculophylla*

2.3 精子放置时间对精子活性的影响

如图3所示,精子放置时间对其受精效率有显著的影响($P < 0.05$)。精子释放后随着放置时间的增加,雌配子体上产生的果孢子体数逐渐减少,说明精子活力逐渐降低。放置12 h后,共培养的雌配子体上已没有果孢子体形成。多重比较结果可知,在放置2 h时,精子仍能保持较高活性,同对照组相比无显著性差异($P > 0.05$);而4、6、12 h处理组均同0 h对照组有显著性差异($P < 0.05$)。

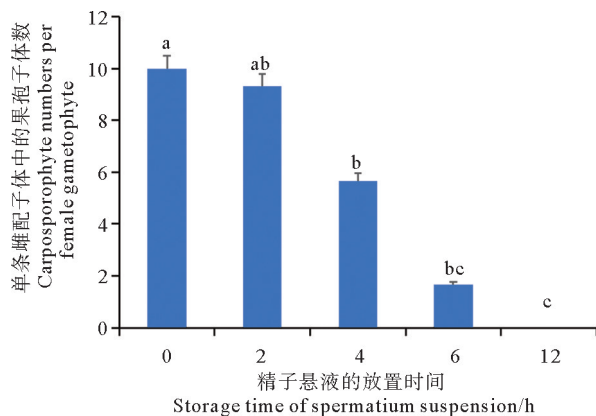


图3 真江菼精子悬液放置时间对精子活性的影响

Fig. 3 Effect of storage time of spermatium suspension on the spermatium viability of *G. vermiculophylla*

2.4 雄配子体脱水时间对受精效率的影响

如图4所示,真江菼雄配子体的脱水时间对受精效率有极显著影响($P < 0.01$),说明放散的精子量差异显著。多重比较可知,2 h处理组同0、0.5、1 h处理组果孢子体数均有显著性差异,而0、0.5、1 h处理组间没有显著差异。结果表明脱水处理2 h后可显著刺激精子的释放。

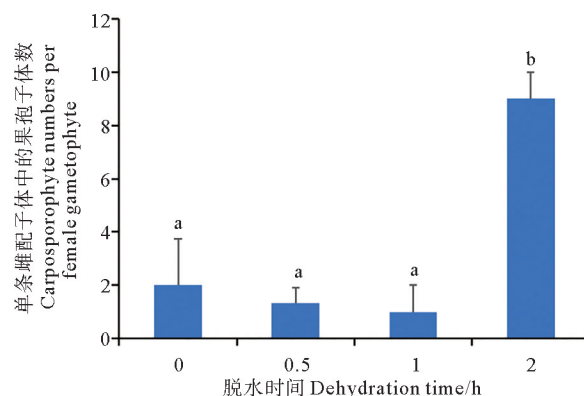


图4 真江菼雄配子体脱水时间对受精效率的影响

Fig. 4 Effect of dehydration time of male gametophytes on the fertilization efficiency of *G. vermiculophylla*

2.5 温度对真江菼受精效率的影响

如图5所示,温度对真江菼受精效率影响极显著($P < 0.01$)。20和25℃条件下真江菼能正常受精,而15℃组中没有果孢子体形成。25℃时雌配子体形成的果孢子体数量最高,是20℃组的2倍左右。因此,本实验中25℃是真江菼受精的最适温度。

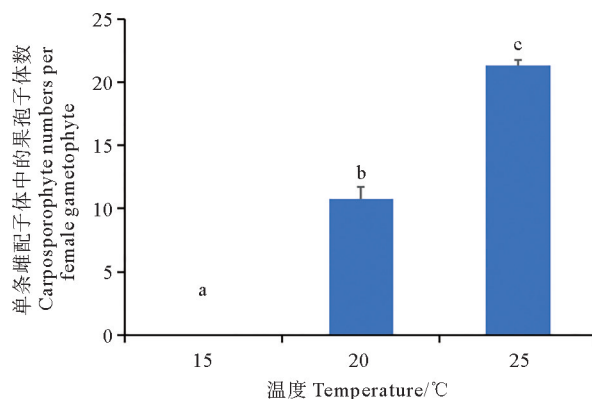


图5 温度对真江菼受精效率的影响

Fig. 5 Effect of temperature on the fertilization efficiency of *G. vermiculophylla*

2.6 光照强度对真江菼受精效率的影响

如图6所示,光照强度对真江菼受精存在显著影响($P < 0.05$)。结果显示,光照强度为 $25 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ 时,果孢子体数量出现最大值($P < 0.01$),为真江菼受

精的最适光照强度,而更低和更高的光强并不适合真江蓠的受精过程。

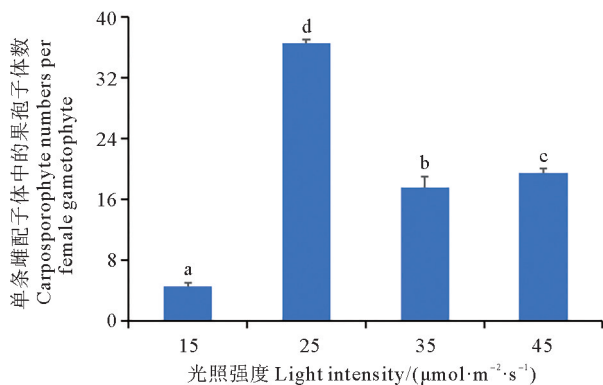


图6 光照强度对真江蓠受精过程的影响

Fig. 6 Effect of light intensity on the fertilization efficiency of *G. vermiculophylla*

2.7 光照周期对真江蓠受精效率的影响

如图7所示,光照周期对真江蓠受精具有显著影响($P<0.05$)。随着光照时间的延长,雌配子体上的果孢子体数呈现先上升后下降的趋势。当光照周期为14L/10D时,雌配子体上的果孢子体数出现最大值,为真江蓠受精的最适光照周期。

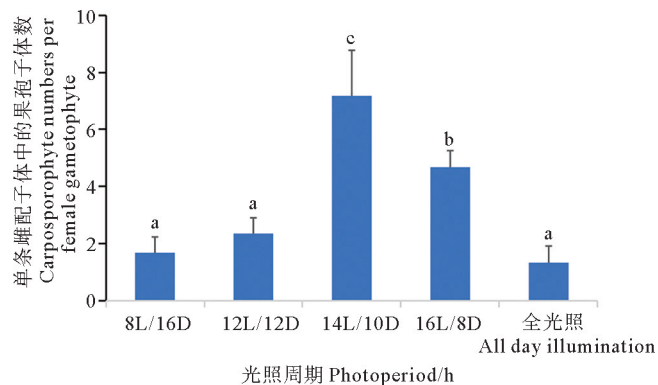


图7 光照周期对真江蓠受精效率的影响

Fig. 7 Effect of photoperiod on the fertilization efficiency of *G. vermiculophylla*

3 讨论

江蓠孢子育苗的研究主要集中在孢子放散和培育后期的条件优化。例如有研究显示,温度、光照强度和盐度对真江蓠四分孢子放散和发育具有显著影响($P<0.05$)。温度20~25℃、光照强度15~60 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、盐度28~36等环境条件有利于真江蓠四分孢子的放散和成活^[17]。另有研究表明,同真江蓠情况相似,温度、光照强度和盐度对龙须菜果孢子的释放也具有显著的影响($P<0.05$)^[15]。但孢子的形成过程也会受到各种

条件的影响,例如四分孢子的形成同减数分裂这一有性繁殖中心事件相关,而果孢子的形成会受到决定受精效率的各种因素的影响。本实验室针对江蓠受精过程的影响以及在该过程中的一些繁殖特征进行了系列研究。

本研究结果证明,在真江蓠的受精过程中,温度、光照强度和周期这3个外界条件因素都会产生显著影响。但是根据单因素方差分析结果显示,温度的影响极显著,对真江蓠受精过程的影响大于光照强度和周期,该结果同在龙须菜中的实验结果一致^[18]。温度是影响大型藻类生长、发育和繁殖的重要因素之一,可能通过改变光合作用相关的酶活性,导致藻体不同的生理状态^[19]。本单因素影响实验的结果显示,25℃、25 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、14L/10D是最适合真江蓠受精的条件。

以往对龙须菜的研究发现,雌配子体的不同分枝间生殖力有差异,一级分枝最高且最尖端也可以形成大量果孢子体^[18],这同龙须菜四分孢子体的生殖力非常相似,有研究发现80%以上的龙须菜四分孢子囊生长在其一级分枝上^[20]。然而针对江蓠受精特征的研究较少,故本文对于真江蓠自身受精过程进行探究,进而揭示了3条规律:(1)精子放散出来后活性会不断降低,本实验使用的精子悬液在放置了12h后同雌配子体杂交就再没有果孢子体产生,4个实验组均同对照组有显著差异,说明精子释放后活性大约可保持6h;(2)精子同受精丝的识别和融合所需的时间可以很短,例如在一种丝状红藻丽丝藻(*Aglaothamnion oosumiense*)中的研究显示,30min内即可完成精子同受精丝的细胞膜融合^[21],在本实验所设的0.5h组也观察到已有果孢子体生成。不过随着受精时间的延长,果孢子体数目也极显著地增加,说明多数精子完成受精的过程可能需要几个小时。(3)在实验所设置的受精小体系中,采用增加雄配子体的长度来增加产生精子的量,当长度达到14cm时,在设置的200mL体系中受精产生的果孢子体数量已达到最高,而2cm组产生的果孢子体数量远大于14cm组的1/7,说明精子放散数量超过了雌配子体接受的上限值,不再成为受精过程的限制因素。以上几点可能共同表示真江蓠存在着快速受精的现象,以保证大量活性精子可参与受精作用,提高受精效率^[22]。此外有研究结果还显示,对雄配子体进行适当的脱水刺激有利于精子的释放,这同经过干燥刺激可以促进孢子放散的结果相似^[23-24]。有研究证明,果孢子的放散机制是果孢子囊内水动力环境的改变,产生黏液,黏液推动了孢子放散^[25-26],由此推测,雄配子体脱水后重新浸入水中,生殖窝中精子的附属物可能发生了水合作用,从而推动了精子的放散。

本实验通过对真江蓠受精过程内在繁殖特性与外

界环境因素影响的探究,加深了对江蓼受精的了解,以期提高受精效率。同时,这也为建立全程可控的雌、雄配子体杂交受精体系提供了理论依据与技术支持,使大规模栽培产业所需同步成熟孢子的数量得以满足。

参考文献:

- [1] 温珊珊, 张寒野, 何文辉, 等. 真江蓼对氨氮去除效率与吸收动力学研究[J]. 水产学报, 2008, 32(5): 794-803.
Wen S, Zhang H, He W, et al. Study on NH₄-N removing efficiency and kinetics in *Gracilaria asiatica* [J]. Journal of Fisheries of China, 2008, 32(5): 794-803.
- [2] 张耀光, 关伟, 李春平, 等. 渤海海洋资源的开发与持续利用[J]. 自然资源学报, 2002, 17(6): 768-775.
Zhang Y, Guan W, Li C, et al. A study on the exploitation and the sustainable utilization of marine resources in the Bohai [J]. Journal of Natural Resources, 2002, 17(6): 768-775.
- [3] 常宝. 孔石莼和真江蓼提取物对黄嘌呤氧化酶抑制作用及对高尿酸血症小鼠降尿酸效果研究[D]. 青岛: 中国海洋大学, 2014.
Chang B. Studies of Inhibitory Capability of Extracts from *Ulva pertusa* and *Gracilaria verrucosa* Against Xanthine Oxidase and Anti-Hyperuricemia in Mice [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2014.
- [4] 孙晓梅. 真江蓼和孔石莼提取物对酪氨酸酶活性抑制作用的研究 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2011.
Sun X. Studies on Inhibition Effects of Extracts from *Gracilaria asiatica* and *Ulva pertusa kjellm* on the Tyrosinase Activity [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2011.
- [5] Neori A, Chopin T, Troell M, et al. Integrated aquaculture: Rationale, evolution and state of the art emphasizing seaweed biofiltration in modern mariculture [J]. Aquaculture, 2004, 231: 361-391.
- [6] Riosmena R R, Talavera S A, Acosta V B, et al. Heavy metals dynamics in seaweeds and seagrasses in Bahía Magdalena, BCS, Mexico [J]. Journal of Applied Phycology, 2009, 22: 283-291.
- [7] 农业农村部渔业渔政管理局, 全国水产技术推广总站, 中国水产学会. 2021 中国渔业统计年鉴 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2021: 17-50.
Fishery Administration of the Ministry of Agriculture and Rural Affairs, National Fisheries Technology Extension Center, China Society of Fisheries. China Fisheries Statistical Yearbook 2021 [M]. Beijing: China Agriculture Press, 2021: 17-50.
- [8] Provasoli L. Media and prospects for the cultivation of marine algae [M]//Watanabe A, Hattori A. Cultures and Collections of Algae. Hakone: Japanese Society for Plant Physiology, 1968: 63-75.
- [9] Buschmann A H, Correa J A, Westermeier R, et al. Red algal farming in Chile: A review [J]. Aquaculture, 2001, 194 (3/4): 203-220.
- [10] Ogata E, Matsui T, Nakamura H. The life cycle of *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyceae, Gigartinales) [J]. Phycologia, 1972, 11(1): 75-80.
- [11] Polifrone M, De Masi F, Gargiulo G M. Alternative pathways in the life history of *Gracilaria gracilis* (Gracilariales, Rhodophyta) from north-eastern Sicily (Italy) [J]. Aquaculture, 2006, 261 (3): 1013.
- [12] 于瑞雪. 大型海藻真江蓼的早期发育机制和人工养殖的应用 [D]. 天津: 天津科技大学, 2016.
Yu R. The Early Development Mechanism of Macroalgae *Gracilaria* and Application in Artificial Breeding [D]. Tianjin: Tianjin University of Science and Technology, 2016.
- [13] 李凤婷. 真江蓼受精过程影响因子的研究和世代相关基因 *gmf01* 的表达分析 [D]. 青岛: 中国海洋大学, 2020.
Li F. Study on Affecting Factors for the Fertilization Process and the Transcription Assay of Phase-Relative Gene *gmf01* in Different Phases of *Gracilaria vermiculophylla* [D]. Qingdao: Ocean University of China, 2020.
- [14] Glenn E P, Moore D, Fitzsimmons K, et al. Spore culture of the edible red seaweed, *Gracilaria parvispora* (Rhodophyta) [J]. Aquaculture, 1996, 142: 59-74.
- [15] Zhou W, Sui Z H, Wang J G, et al. An orthogonal design for optimization of growth conditions for all life history stages of *Gracilariopsis lemaneiformis* (Rhodophyta) [J]. Aquaculture, 2013, 392-395: 98-105.
- [16] Sukumaran S, Kaliaperumal N. Sporulation in *Gracilaria crassa* Harvey ex. J. Agardh at different environmental factors [J]. Seaweed Res Utilisat, 2001, 23: 1-2.
- [17] 王雨凡, 王津果, 王静文, 等. 不同环境因子对真江蓼四分孢子放散和发育的影响 [J]. 江苏农业科学, 2021, 49(14): 160-165.
Wang Y, Wang J, Wang J, et al. Influence of different environmental factors on tetrasporic release and development of *Gracilaria asiatica* [J]. Jiangsu Agricultural Sciences, 2021, 49 (14): 160-165.
- [18] 杨金鑫, 张赢月, 杨泽, 等. 影响龙须菜果孢子体形成内外因素的初步研究 [J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2021, 51(3): 65-69.
Yang J, Zhang Y, Yang Z, et al. A preliminary study on the internal and external factors affecting the formation of carposporophytes in *Gracilariopsis lemaneiformis* [J]. Periodical of Ocean University of China, 2021, 51(3): 65-69.
- [19] 丁柳丽. 几种大型海藻生理生化特性对大气 CO₂ 浓度和温度变化的响应 [D]. 广州: 华南理工大学, 2013.
Ding L. Responses of Physiological and Biochemical Traits to the Change of CO₂ Concentrations and Temperature in Marine Macroalgae [D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2013.
- [20] Ye N H, Wang H X, Wang G C, et al. Formation and early development of tetraspores of *Gracilaria lemaneiformis* (*Gracilaria*, Gracilariaceae) under laboratory conditions [J]. Aquaculture, 2006, 254: 219-226.
- [21] Kim G H. Gamete recognition and signal transduction during fertilization in red algae [J]. Algae, 1997, 12(4): 264-268.
- [22] 邹定辉, 夏建荣. 海藻有性繁殖生态学研究进展 [J]. 生态学报, 2004, 24(12): 2870-2877.
Zou D H, Xia J R. Studies progresses of sexual reproductive ecology in seaweeds [J]. Acta Ecologica Sinica, 2004, 24(12): 2870-2877.
- [23] 田素敏, 刘德厚. 江蓼孢子放散的观察 [J]. 海洋湖沼通报, 1989 (3): 46-49.
Tian S M, Liu D H. Observation on shedding of *Gracilaria verrucosa* spores [J]. Transactions of Oceanology and Limnology, 1989(3): 46-49.

- [24] Xu D, Song X W, Li F T, et al. Effects of desiccation, diurnal temperature changes and irradiance on archeospore production of *Pyropia yezoensis*[J]. *Aquaculture*, 2019, 509: 167-170.
- [25] Boney A, Mucilage; The ubiquitous algal attribute[J]. *British Phycological Journal*, 1981, 16(2): 115-132.
- [26] 宋志民, 陈伟洲, 刘涛. 温度、光强和盐度对舌状蜈蚣藻果孢子子分散与附着的影响[J]. *海洋湖沼通报*, 2013(1): 90-96.
- Song Z M, Chen W Z, Liu T. Effect of temperature, irradiance and salinity on the release and attachment of carpospore of *Gracilaria lemaneiformis* [J]. *Transactions of Oceanology and Limnology*, 2013(1): 90-96.

Effects of Reproduction Characteristics and Environmental Factors on the Fertilization Efficiency of *Gracilaria vermiculophylla*

Zhang Yingyue, Yang Jinxin, Qi Cong, Du Qirui, Xu Di

(The Key Laboratory of Marine Genetics and Breeding, Ministry of Education, College of Marine Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: *Gracilaria vermiculophylla* is an important agaric alga producing seaweed. To solve the problem of spore nursery in *G. vermiculophylla* production practice and deepen the study of its fertilization process, 4 reproductive characteristics were selected including spermatium number, co-culture time of female and male gametophytes, storage time of spermatium suspension and dehydration time of male gametophytes, and to investigate the effect of external environments such as temperature, light intensity and photoperiod on the fertilization efficiency of *G. vermiculophylla*. The results showed that all seven factors had significant effects on the fertilization process, and the optimum conditions for fertilization were 25 °C temperature, 25 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$ light intensity, and 14L/10D photoperiod. In addition, the increase of spermatium number and gametophyte co-culture time, the decrease of sperm detachment time from male gametophyte, and the appropriate dehydration stimulation for male gametophyte were beneficial to the improvement of fertilization efficiency. In addition, the results also suggested that sperm and carpogonium were able to fertilize rapidly in a short period (0.5 h). The results of this study can help to solve the problem of seedling degradation due to algal trophic reproduction, which is an important guideline for red algae spore nurseries.

Key words: *Gracilaria vermiculophylla*; fertilization; carposporophyte; affecting factors; reproduction characteristics

责任编辑 高 蓓