

通过控制卵子和精子的排放实现羊栖菜人工种苗的规模化生产

MASS PRODUCTION OF THE ARTIFICIAL SEEDS OF *Hizikia fusiformis* BY CONTROLLING THE LAYING OUT OF THE OVULES AND SEMENS

逢少军 费修绶 肖天 王继成

(中国科学院海洋研究所, 开放实验室(EMBL) 青岛 266071)

羊栖菜 (*Hizikia fusiformis*) 是一种重要的经济海藻, 隶属于褐藻门, 墨角藻目, 马尾藻科, 羊栖菜属, 自然分布在太平洋的西海岸。在我国北至大连南到海南岛都广有分布, 尤其以浙江和福建等地区分布最广^[1]。羊栖菜藻体黄褐色, 生长在潮间带, 株高一般在 30~60 cm, 藻体自下而上包括假根, 茎, 叶片, 气囊和生殖托(繁殖季节)等部分组成。羊栖菜雌雄异株, 属暖水性多年生海藻, 靠残留的假根度过冬季, 次年春天由假根再生植株。每年的繁殖季节(5~10月份), 雌雄生殖托自叶茎处生成。雌雄生殖托分别排放卵子和精子, 受精后的受精卵萌发成幼孢子体, 形成假根生长在附着基上, 适宜的生长水温为 20~25℃。

羊栖菜菜体肉质肥厚多汁, 有很高的药用和食用价值, 我国的《神农本草经》和《本草纲目》中都有记载。进入 90 年代以来, 在羊栖菜的提取物中发现多种有效的抗肿瘤和刺激人体免疫细胞活性的成分^[2], 因此在国际市场上的价格很高, 刺激了人工养殖业的发展。我国羊栖菜人工养殖业的研究和开发始于 80 年代, 成规模的养殖始于 90 年代。在这个过程中, 由于羊栖菜的全人工育苗技术没有实质性的突破, 所以扩大的养殖规模主要以消耗分布在潮间带的自然种群为代价, 养殖户高价收购野生种菜作为种苗, 使得我国北起大连, 南至海南岛的自然种群遭到巨大的破坏, 很多地区的自然种群已经濒临绝迹, 业内人士虽多次呼吁, 但是于事无补。

解决这个问题, 除了需要加强对自然资源的管理以外, 更加重要的是要发展新的羊栖菜的种苗生产技术。目前羊栖菜的种苗生产方式主要有两种, 一种是依靠假根再生的特点, 利用营养藻体繁殖, 这种方式仍然需要大量的野生或养殖藻体; 另外是利用有

性繁殖方式收集受精卵或者幼孢子体的方法。由于对羊栖菜有性繁殖的科学规律尚不是很清楚, 所以利用有性繁殖进行的种苗生产仍然停留在非常原始的水平, 育苗效率很低, 所培养的苗只占种苗生产量的不足 5%, 在实际的生产中只好利用假根扩大生产。目前利用这种养殖方法进行羊栖菜的商业化养殖已经达到了 533 ha, 苗种来源几乎完全依靠自然种群。

羊栖菜种苗问题是一个世界性的难题, 日本和韩国两个主要开展羊栖菜人工养殖和利用的国家也没有很好的解决这个问题^[3]。这样一种状况自开展羊栖菜人工养殖之日起就一直存在(Masao Ohno, 个人交流)。目前的羊栖菜养殖面积的扩大是一种以牺牲自然资源为代价所换来的。我国先后有朱家彦, 石岛海带育苗场, 孙建璋等, 个人和企业曾经开展过人工育苗和增殖研究, 但是利用有性繁殖规律进行规模化的种苗生产仍然没有在生产实际中发挥作用。

利用羊栖菜有性繁殖规律能否实现种苗的规模化生产依赖于我们是否已经完全地了解其自然繁殖规律, 比如卵子和精子的排放规律, 受精的特点, 受精卵的脱落机制, 以及幼孢子体的自然生长规律等等, 而这方面的研究, 根据笔者所掌握的情况, 始终没有能够深入和详细的开展, 我们对羊栖菜有性繁殖规律的认识还不是很全面, 彻底地掌握羊栖菜的生殖规律, 尤其是卵子和精子的内生的排放规律, 受精过程的生物学规律是我们在开始这项研究的第一个目的, 在这个基础上发展实用的种苗生产技术, 解决羊栖菜种苗生产中的实际问题是我们的第二个目的。因此掌握羊栖菜有性繁殖规律根据作者在 1999 年的研究表

收稿日期: 2001-02-01; 修回日期: 2001-02-28

明^[2],如果能够彻底、完整地了解羊栖菜有性繁殖的规律并加以合理的利用,建立适宜于羊栖菜规模化的种苗生产技术已经不是遥远的事情。现将作者对羊栖菜有性繁殖的新近的研究结果报告如下。

1 最近的研究进展

羊栖菜的受精过程包括卵子、精子的排放,精子穿过多核卵的透明胶质黏膜和多核中的一个进行受精的过程。简单地讲,雌生殖托上卵子的排放自下及上,在不同的时间成熟并排放,卵子排出后,挂在生殖托上,卵子至少可以存活 2~3 d。精子自雄生殖托的排放是一个逐渐的过程,精子在 5~8 μm 之间,能够快速地游动。

羊栖菜精致的受精过程表明,采用类似于其他经济海藻的粗放式的采苗方式会面临许多实际的困难。如 1988 年石岛海带育苗场曾经报道过在实际的采苗过程中,遇到了排卵不排精的实际困难,他们观察到精子和卵子的排放有一定的周期性。那么,离体的生殖托是否可以在实验室的条件下,利用组织培养技术,完成只有在自然条件下才能实现的生殖托成熟的过程?更进一步,如果离体的生殖托在离体的条件下,能够达到正常的成熟状况,卵子和精子的排放能否实现人工控制?有效的受精是否同样能够实现?假设上述的实验设想都能够变成现实,在这些基础上,能否发展出一条能够在生产实际中行之有效的新的种苗生产技术?作者在 1999 年的多次室内实验结果表明,(1) 离体培养的雌雄生殖托可以在离体的培养条件下达到成熟,并分批,有一定的间隔排放精子和卵子;(2) 排放的卵子和精子能够和生长在整个植株一样完成受精的过程,受精卵可以正常萌发形成幼孢子体;(3) 通过控制培养条件,可以实现卵子和精子的同步排放;(4) 悬浮卵子的受精率和挂托的卵子没有区别。用一个典型的生殖托的离体培养结果来概括上述主要的实验结果如下。

表 1 生殖托悬浮培养的各项生物指标

指标	各项生物和计算参数
雌生殖托数	120
雄生殖托数	60
培养体积(ml)	250
获取卵子数(个)	24 000
受精率(%)	66

室内培养实验结果表明,常用的阴干的方法对于这种海藻并不是促进卵子和精子排放的必须手段。生殖托即使培养在水体中,也能够完成卵子和精子的排放。多次的室内实验观察结果表明,卵子和精子的排

放有一定的周期性,生殖托需要一定的培养周期才能完成排卵,其中的生物学机制现在还不完全清楚。大体上来看,有两个阶段是必定无疑的,第一个阶段是卵子和精子的同步成熟,第二个阶段是一定环境条件诱导卵子和精子的排放。根据已有的资料和这项研究的结果所推测的可能生物学过程是,在同一批成熟的雌生殖托当中,部分前期排放卵子,引发其他生殖托的排放(正反馈过程)。排放的卵子和同时分泌的黏液中含有某种能够促进精子的排放或者激活精子的化学物质,使得精子能够和卵子结合完成受精过程。这个假设需要进一步的实验证实。

表 2 1 000 m 苗绳所需要的相关参数

指标	参数
生殖托数量(雌+雄)	4 000 个(雌:雄=2:1)
苗绳上苗密度(棵)	3/c m
总苗量(棵)	300 000

无论具体的生物学和生物化学过程如何,离体的生殖托可以在控制的条件下完成性成熟,并完成多次排卵和受精表明,利用离体培养的生殖托来实现高效率的受精和种苗生产是可能的。同直接使用正株藻体进行采苗相比,使用离体培养的生殖托的最大优点可以很容易地实现卵子和精子的性成熟诱导以及同步诱导排放,从而可以有效地利用有限的种菜采集幼体,实现高效率的种苗培育;其次,受精卵的采收技术可以保证每一个受精卵都能发育生长成正常的植株;最后,生殖托离体培养在技术上使得不同品系之间的杂交变得容易实现,为今后的遗传改良打下了基础。

2 存在的问题和未来的研究思路

作者认为,在将这项有产业化发展前景的应用基础研究结果全面推向实际生产之前,仍然有两个基本问题需要进一步研究,首先是要搞清楚卵子和精子同步成熟的生物调控机制;其次是研究和发展从实验室走向实用的规模化种苗生产技术,即能够将实验室成功的模式有效地转化成富有生产力的实用技术。目前,我们正在进行这方面的努力。

参考文献

- 1 曾呈奎. 中国经济海藻志. 北京: 科学出版社. 1961
- 2 逢少军等. 海洋科学, 2000 年, 24(3): 1~3
- 3 Liu J. N., Yoshida Y. *et al.*. *INT. J. IMMUNOPHARMACOL*, 1997, 19(3): 135~142
- 4 Hwang E. K. *et al.*. *J. Korean Fish. Soc.*, 1999, 32(1): 112~116

(本文编辑:张培新)