

基于响应面法分析温度和盐度对虎斑乌贼受精卵孵化的联合影响

黄建盛 陈刚* 张健东 王忠良 周晖 汤保贵 吴富华

(广东海洋大学水产学院, 广东湛江 524088)

摘要 根据中心复合试验设计(CCD)原理,在单因素试验的基础上,采用响应曲面分析法,观察了温度(24~32℃)与盐度(25~35)对虎斑乌贼受精卵孵化率及平均孵化时间的联合影响。结果表明:温度和盐度的一次、二次及交互效应对孵化率与平均孵化时间均有显著影响($P<0.05$),随着温度的升高,孵化率呈先上升后下降的趋势,平均孵化时间呈减少的趋势;随着盐度的上升,孵化率呈先上升后下降的趋势,平均孵化时间呈先下降后上升的变化;所考察的因子与孵化率、平均孵化时间之间二次多项模型的决定系数分别达到0.9791和0.9774;回归方程优化结果显示,温度为27.6℃和盐度31.1时,孵化率最大值为88.11%;温度26.2℃和盐度29.6时,平均孵化时间最小值为21.8 d,两模型的可信度均高达0.985。建议虎斑乌贼受精卵在温度26~28℃,盐度29~31条件下进行孵化,以提高生产效率。

关键词 虎斑乌贼; 孵化率; 平均孵化时间; 中心复合设计; 响应曲面

Combined effects of temperature and salinity on hatchability of fertilized eggs of *Sepia pharaonis* based on response surface methodology. HUANG Jian-sheng, CHEN Gang*, ZHANG Jian-dong, WANG Zhong-liang, ZHOU Hui, TANG Bao-gui, WU Fu-hua (Fisheries College, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524088, Guangdong, China).

Abstract: Using central composite design (CCD) and response surface methodology, the combined effects of temperature (24–32 °C) and salinity (25–35) on hatchability and average hatching time of fertilized eggs from *Sepia pharaonis* were evaluated on the basis of single-factor tests. The results showed that the linear and quadratic effects of temperature and salinity and their interactive effects significantly affected hatchability and average hatching time ($P<0.05$). The hatchability increased first and then decreased as temperature or salinity increased. The average hatching time decreased as temperature increased, while it increased after an initial increase as salinity increased. The model equation of hatchability and average hatching time towards temperature and salinity were established, with the coefficients of determination (R^2) being 0.9791 and 0.9774, respectively. The optimized results of regression equation based on a reliability of 0.985 showed that the hatchability was 88.11% when temperature was 27.6 °C and salinity was 31.1, and the average hatching time was 21.8 d when temperature was 26.2 °C and salinity was 29.6. Our results suggest that the hatching of fertilized eggs of *S. pharaonis* can be improved by rearing with an optimal combination of temperature and salinity with the range of 26–28 °C and 29–31, respectively.

Key words: *Sepia pharaonis*; hatchability; average hatching time; central composite design; response surface.

水产动物受精卵孵化的过程,实质上是受精卵本身发生的一系列生理、生化反应的过程,这一系列反应过程通常需要适宜的外界环境条件,包括温度、盐度、光照、pH等。温度对受精卵孵化影响主要是孵化酶活性受到影响,从而会直接影响孵化周期(王宏田等,1998;蒋霞敏等,2013)。盐度主要是通过调节受精卵卵膜内外渗透压来影响孵化效果,当盐度过高或过低时,卵膜难以调节细胞与外界介质之间的物质平衡,会导致卵发生损失(王宏田等,1998)。关于温度与盐度对头足类受精卵孵化的影响报道较少。蒋霞敏等(2010)报道,曼氏无针乌贼(*Sepiella maindroni*)野生卵最佳孵化温度为27~29℃,最佳孵化盐度为24.5~32.0;刘建勇等(2010)指出,虎斑乌贼(*S. pharaonis*)受精卵孵化最适温度范围为24~30℃;黄建盛等(2012)报道了虎斑乌贼(*S. pharaonis*)受精卵孵化适宜盐度范围为27.0~33.0;蒋霞敏等(2013)报道了拟目乌贼(*Sepia lycidas*)胚胎发育适宜温度为21~30℃,最适温度为24℃。Daniello等(1989)发现,欧洲枪乌贼(*Loligo vulgaris*)受精卵可以在盐度34~42正常孵化。以上研究主要以单因子实验为主,而单因子实验往往只能在其他影响因素相同条件下进行,具有很大的局限性。在尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)(Likongwe et al.,1996;强俊等,2012b)、牙鲆(*Paralichthys dentatus*)(Malloy et al.,1991)、斑点狼鱼(*Anarhichas minor*)(Magnussen et al.,2008)的研究中,发现温度和盐度对鱼类的影响存在互作效应。然而,在头足类中尚未见相关报道。

虎斑乌贼具有生长快、个体大、肉质鲜美等特点,是一种极具前景的养殖种类(Minton et al.,2001),近几年来受到国内外学者的关注(刘建勇等,2010;文菁等,2011;谢晓晖等,2011;黄建盛等,2012;陈道海等,2013;蒋霞敏等,2014;乐可鑫等,2014)。研究表明,温度或盐度影响虎斑乌贼受精卵孵化效果(刘建勇等,2010;黄建盛等,2012),但关于温度和盐度对其孵化的二次效应及是否存在互作效应尚未见有相关报道。中心复合设计具有试验次数少、预测性好及精密度高等优点,是近几年来应用较多的一种过程优化方法(强俊等,2012a)。响应曲面法把因子与试验结果的关系函数化,依次对函数进行面分析,定量地分析各因素及其交互作用对响应值的影响,是研究因子间互作的一种工具(Ambati et al.,2001),近年来已成功应用于水产动

物研究中(强俊等,2012a,2012b;桑士田等,2012;Wang et al.,2012)。本研究拟通过建立因子与响应值间的回归模型,研究温度与盐度对虎斑乌贼受精卵孵化率、孵化时间的一次、二次及互作效应,并通过优化分析找到温度与盐度的最佳组合,旨在优化孵化条件,建立更为合理与高效的孵化技术体系,为完善其人工繁育技术工艺提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 试验材料

虎斑乌贼亲体来源于2013年3月湛江沿海海域捕获的野生群体,挑选性腺成熟的亲体饲养在湛江硇洲岛鱼排网箱(110.56°E,20.89°N),表层水温23~26℃,盐度29~31,pH 7.8~8.2,DO≥6 mg·L⁻¹。每天投喂一次冰鲜杂鱼,在网箱饲养条件下亲体自然产卵。当日产出的受精卵用薄膜袋充氧运输回实验室,挑选处于原肠后期的发育正常的受精卵用于实验。

1.2 试验设计与分组

在温度、盐度单因子预实验结果和刘建勇等(2010)、黄建盛等(2012)的文献基础上,确定虎斑乌贼受精卵正常孵化的温度和盐度范围。采用中心复合试验设计和二因素五水平的响应曲面分析方法,因子为温度(24~32℃)和盐度(25~35),分别以 T 和 S 表示,响应指标为孵化率和平均孵化时间,分别以 H 和 AHT 表示。试验设计见表1,共13个试验点,其中8个为析因点,5个为中心点,中心点重复5次,以估计误差(国蓉等,2006)。次序随机,每个试验组合设置4个平行。

1.3 试验方法

试验在52个50 L的塑料桶中进行,每个桶添加30 L已调节至试验设计的温度与盐度组合的试验用水。温度采用电子恒温棒和冰袋控温,温差在±0.1℃范围内,高盐度采用海水晶与沙滤后的自然海水进行调节,低盐度采用经曝气3 d的自来水与沙滤后的自然海水进行调节,用WXY-II折射式盐度计测定盐度。每个桶内放入100粒卵并置于塑料篮子($\Phi=30$ cm, $h=10$ cm)中悬浮水中孵化。整个孵化过程连续充气,溶氧保持在5 mg·L⁻¹以上,自然光周期,pH值为7.8~8.0,每天换水50%,保持换水前后温差在±0.5℃范围,实验过程中自然水体的温度26~29℃。每天9:00观察胚胎发育,并记录每天每桶孵出幼体个数和孵化时间。以各组最后一

粒卵孵化后 7 d 内不再有幼体孵出为实验结束时间。

1.4 响应值测定

孵化率(H)指孵出幼体的个数与受精卵总数的比值(蒋霞敏等,2010,2013;黄建盛等,2012)。采用以下公式计算:

孵化率=孵化出膜个数/总卵个数×100%

平均孵化时间参考文献(蒋霞敏等,2010),采用以下公式计算:平均孵化时间=Σ(每天孵化出膜个数×孵化时间)/总孵化出膜个数。

1.5 数据处理

试验设计、数据分析和模型建立采用软件 Design-Expert (version 8.0) 进行,并通过软件对回归方程的解析以及响应曲面的分析获得最佳温度、盐度组合。

2 结果与分析

2.1 模型的建立及其显著性检验

利用 Design-Expert(version 8.0) 软件对表 1 实验数据进行多元回归拟合,得到虎斑乌贼受精卵孵化率(H)和平均孵化时间(AHT)分别与温度(T)、盐度(S)之间实际的二次多项回归模型为:

$$H = -1565.18 + 81.51T + 34.01S + 0.52T \times S - 1.77T^2 - 0.78S^2 \tag{1}$$

$$AHT = 355.60 - 11.77T - 9.47S + 0.12T \times S + 0.11T^2 + 0.09S^2 \tag{2}$$

上述方程(1)中, $R^2 = 0.9791$,校正系数 $R^2 = 0.9641$,说明模型(1)能解释 97.91% 响应值的变

化,仅有总变异的 2.09% 不能用此模型解释,精密度(Adeq precision)是有效信号与噪声的比值,大于 4.0 视为合理,模型(1)中精密度达到 21.859;模型(2)中 $R^2 = 0.9774$,校正系数 $R^2 = 0.9612$,精密度达到 24.8,说明上述两个模型拟合程度良好。

表 2 显示,模型(1)的 $F = 65.51, P < 0.001$,模型(2) $F = 54.57, P < 0.0001$,表明回归模型极显著;模型(1)的失拟项 $F = 6.15, P > 0.05$,模型(2)的失拟项 $F = 0.46, P > 0.05$,说明所建立的模型有效。说明可以用模型(1)和模型(2)分别来分析和预测温度与盐度对虎斑乌贼受精卵的孵化率和平均孵化时间的结果。

两个模型的 95% 置信区间的截距编码值局限均大于零,说明建立的两个模型是有意义的(王海贞等,2012)。由表 3 数据显示,温度对虎斑乌贼受精卵孵化率的一次效应和二次效应均极显著($P < 0.01$);盐度对孵化率的一次效应和二次效应均极显著($P < 0.01$);温度与盐度对孵化率的互作效应极显著($P < 0.01$)。由表 3 可知,温度对虎斑乌贼受精卵平均孵化时间的一次效应、二次效应极显著($P < 0.01$);盐度对平均孵化时间的一次效应和二次效应均极显著($P < 0.01$),温度与盐度对平均孵化时间的互作效应显著($P < 0.05$)。

2.2 响应曲面分析

由图 1 可知,随着温度或盐度的上升,虎斑乌贼受精卵孵化率呈先上升后下降的变化趋势,温度在 24~28 ℃ 和盐度 25~31 范围内呈上升变化,温度 28~32 ℃ 和盐度 31~35 范围内呈下降趋势。等高

表 1 试验设计与结果
Table 1 Experimental design and results

组合	编码值		实际值		孵化率 (%)	平均孵化时间 (d)
	温度 T (℃)	盐度 S	温度 T (℃)	盐度 S		
1	α	0	32.0	30.0	46.75±3.10	21.65±2.09
2	0	0	28.0	30.0	85.50±3.04	24.32±0.83
3	0	$-\alpha$	28.0	25.0	55.25±5.66	28.82±0.99
4	$-\alpha$	0	24.0	30.0	68.50±2.59	32.02±1.22
5	0	0	28.0	30.0	85.00±2.12	25.04±1.06
6	0	0	28.0	30.0	88.75±3.10	25.29±1.06
7	1	1	30.8	33.5	70.50±3.79	23.02±1.72
8	-1	1	25.2	33.5	67.50±2.32	29.15±1.26
9	0	α	28.0	35.0	77.75±4.19	25.83±0.58
10	0	0	28.0	30.0	86.25±3.60	23.79±1.36
11	0	0	28.0	30.0	87.75±2.11	25.86±0.58
12	-1	-1	25.2	26.5	66.75±2.33	33.32±2.20
13	1	-1	30.8	26.5	48.75±2.37	22.25±1.12

数值为均值±标准差。 $\alpha = 1.414$ 为星号臂值,中心点重复 5 次。

表 2 温度与盐度对虎斑乌贼受精卵孵化率、平均孵化时间的回归模型方差分析
Table 2 Analysis of variance for the effect of temperature (*T*) and salinity (*S*) on hatchability and average hatching time of *Sepia pharaonis* embryos

变异源		平方和	自由度	均方	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
孵化率	模型	2581.75	5	516.35	65.51	0.0001
	残差	55.17	7	7.88		
	失拟项	45.35	3	15.12	6.15	0.0558
	纯误差	9.82	5	2.46		
	总和	2636.92	12			
	$R^2 = 0.9791$ Adj $R^2 = 0.9641$ Adeq precision = 21.859					
平均孵化时间	模型	154.75	5	30.95	60.52	<0.0001
	残差	3.58	7	0.51		
	失拟项	0.93	3	0.31	0.46	0.7223
	纯误差	2.65	4	0.66		
	总和	158.33	12			
	$R^2 = 0.9774$ Adj $R^2 = 0.9612$ Adeq precision = 24.807					

线的性状可反映出两因子交互效应的强弱,椭圆形表示两因子交互效应显著,而圆形则表示两因子交互效应不显著(强俊等,2012a)。本实验条件下,由图 1A 的等高线可以看出,呈椭圆形,表明温度与盐度之间的交互作用对孵化率的影响显著。

图 2 显示,温度在 24~32 ℃ 范围内,随着温度的上升,虎斑乌贼受精卵平均孵化时间呈缩短的趋势;在盐度 25~30 范围内,平均孵化时间不断缩短,之后随着盐度的上升,平均孵化时间则有延长的趋势。由图 2A 的等高线呈现椭圆形,表明温度与盐度之间的交互效应对平均孵化时间影响显著。

表 3 温度与盐度对虎斑乌贼受精卵孵化率、平均孵化时间的模型回归方程系数显著性检验
Table 3 Significance test of correlation coefficient of regression model about temperature (*T*) and salinity (*S*) on hatchability and average hatching time of *Sepia pharaonis* embryos

变异源		回归系数	标准误差	95%置信下限	95%置信上限	<i>P</i> 值
孵化率	截距	86.65	1.26	83.68	89.62	
	<i>T</i>	-5.72	0.99	-8.07	-3.37	0.0002
	<i>S</i>	6.79	0.99	4.44	9.14	0.0007
	<i>T</i> × <i>S</i>	5.25	1.40	1.93	8.57	0.0073
	<i>T</i> ²	-14.18	1.06	-16.70	-11.67	<0.0001
	<i>S</i> ²	-9.75	1.06	-12.26	-7.23	0.0001
平均孵化时间	截距	24.86	0.32	24.10	25.61	
	<i>T</i>	-3.98	0.25	-4.58	-3.39	0.0001
	<i>S</i>	-0.95	0.25	-1.55	-0.36	0.0070
	<i>T</i> × <i>S</i>	1.24	0.36	0.39	2.08	0.0106
	<i>T</i> ²	0.95	0.27	0.31	1.59	0.0099
	<i>S</i> ²	1.20	0.27	0.56	1.84	0.0031

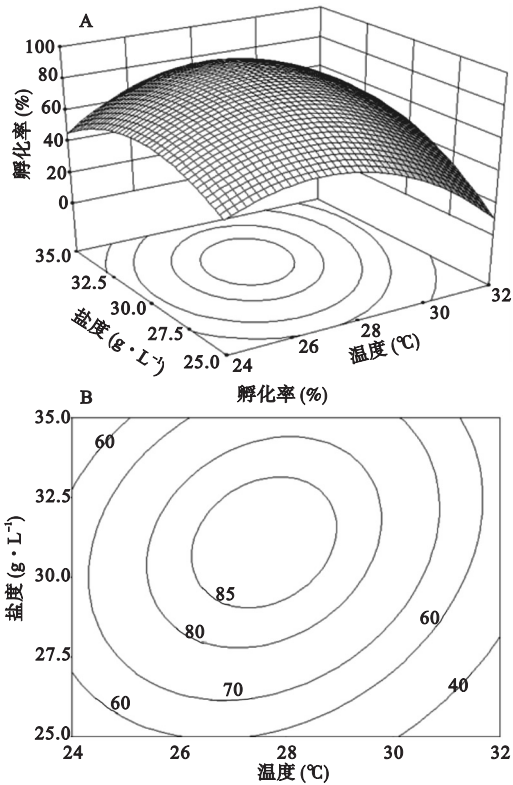


图 1 温度与盐度及其交互作用对虎斑乌贼受精卵孵化率影响的等高线 (A) 和响应面 (B)
Fig.1 Response of contour plot (A) and its surface plot (B) of the effects of temperature (*T*) and salinity (*S*) and their interactions on hatchability of *S. pharaonis* embryos

2.3 模型优化

根据 Deniz(2007)的方法对虎斑乌贼受精卵孵化率和平均孵化时间的回归模型进行优化(表 4),结果显示,孵化率估计最优预测的 95%置信区间下限为 85.20,上限为 91.03,获得温度和盐度最优组合

表 4 温度与盐度对虎斑乌贼受精卵孵化率和平均孵化时间影响的优化置信区间
Table 4 Optimization of confidence interval of the effect of temperature and salinity on hatchability and average hatching time of *Sepia pharaonis* embryos

响应值	预测值	标准差	标准误均值	95%置信下限	95%置信上限	可信度
孵化率(%)	85.53	2.81	1.23	82.63	88.43	0.985
平均孵化时间(d)	21.8	0.765	0.399	20.70	22.59	0.985

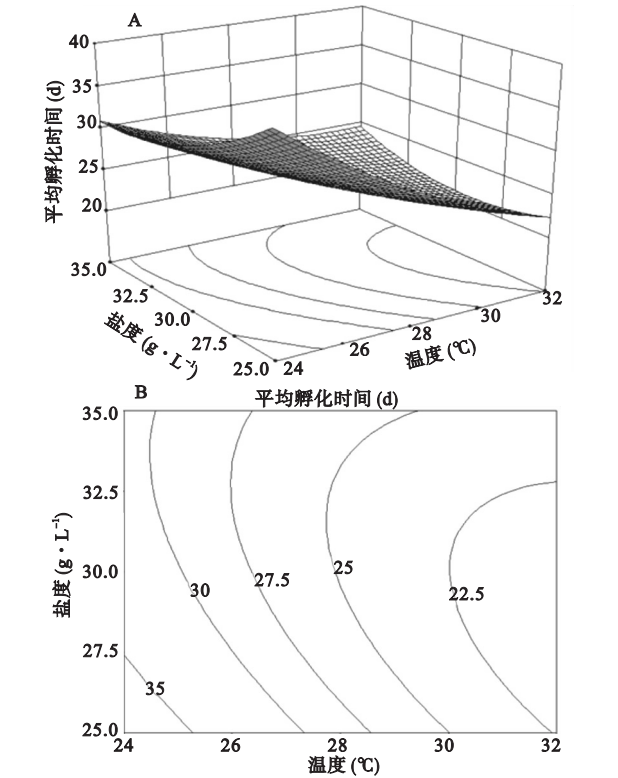


图 2 温度与盐度及其交互作用对虎斑乌贼受精卵平均孵化时间影响的等高线 (A) 和响应面 (B)
Fig.2 Response of contour plot (A) and its surface plot (B) of the effects of temperature (T) and salinity (S) and their interactions on average hatching time of *Sepia pharaonis* embryos

为 27.6 ℃ 和 31.1, 在此最优条件下, 孵化率为 88. 11%, 可信度达到 0. 985。

对虎斑乌贼受精卵平均孵化时间的回归模型进行优化(表 4), 结果显示, 在温度 26.2 ℃, 盐度 29.6 时, 平均孵化时间最小值为 21. 8 d, 可信度达到 0. 985。

3 讨 论

3.1 温度对虎斑乌贼受精卵孵化的影响

温度主要通过加快或减缓孵化酶的反应速度影响水产经济动物受精卵的孵化率、孵化时间等(黄永春等, 2006)。本试验结果发现, 在盐度 30, 温度 24~28 ℃ 条件下, 虎斑乌贼受精卵孵化率随温度升

高而上升, 表明该温度范围, 孵化酶活性随之增大, 细胞内各种生化反应和代谢效率随之增高, 因此, 孵化过程能够以较快的速度正常发育, 获得较高的孵化率。当温度高于 28 ℃ 时, 孵化率呈下降趋势, 这与蒋霞敏等(2013)、刘建勇等(2010)的研究结论相似。其原因可能与高温抑制孵化酶的活力, 或长时间高温使胚胎内的能量物质过早消耗有关(柳学周等, 2005), 故而导致部分胚胎发育终止, 降低孵化率。这与刘建勇等(2010)在虎斑乌贼中的研究结论相似。温度 24~32 ℃ 条件下, 虎斑乌贼受精卵平均孵化时间随温度升高而缩短的研究结果, 与曼氏无针乌贼(*Sepiella maindroni*) (蒋霞敏等, 2010)、拟目乌贼(*Sepia lycidas*) (蒋霞敏等, 2013)的研究有相似结论。在其他水产动物的研究中, 如豹纹石斑鱼(*Mycteroperca rosacea*) (Gracia-López *et al.*, 2004)、大西洋鲈鱼(*Scomber scombrus*) (Mendiola *et al.*, 2006), 也发现受精卵在适宜的温度范围内, 孵化时间随温度的升高而缩短的现象。

3.2 盐度对虎斑乌贼受精卵孵化的影响

与鱼类一样, 虎斑乌贼属卵生水生动物, 其整个受精卵孵化过程受环境渗透压影响。本研究中, 在适宜的温度(24~28 ℃)和盐度(25~31)范围内, 虎斑乌贼受精卵孵化率随盐度上升而提高, 这可能是由于随着盐度的上升, 用于维持卵内外渗透压平衡所消耗的能量越少, 能量用于胚胎发育物质的积累, 以致孵化率提高, 平均孵化时间缩短; 而当盐度较高时(如超过 31), 高渗环境改变了卵内渗透压的稳定, 为调节自身渗透压平衡卵内能量消耗增大, 供给胚胎发育所需能量物质减少, 孵化酶活力受到抑制, 导致胚胎发育缓慢, 表现为较低孵化率, 和较长的孵化时间。但也有学者认为其可能与胚胎细胞在高渗作用下运动过程受阻有关(吴贤汉等, 1998; 蔡文超等, 2010)。本文研究结果与黄建盛等(2012)得出的虎斑乌贼最适孵化盐度范围为 30~33 存在一定差异, 同时也说明, 温度与盐度互作效应对虎斑乌贼受精卵孵化率、平均孵化时间有显著影响。文菁等(2011)指出, 虎斑乌贼幼体在盐度 28 的环境下存

活率最高,说明虎斑乌贼受精卵孵化与幼体存活适宜盐度范围较高,这与其生态习性相吻合。虎斑乌贼分布在北纬 35°至南纬 30°海区,地理位置属热带和亚热带,海水蒸发量大,盐度高,故虎斑乌贼适宜在一定范围的高盐度环境中生活。另有研究表明,海水鱼类胚胎发育在高盐环境下会促进胚胎发育进程,使孵化时间缩短,如斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*) (张海发等,2006);也有资料表明,海水鱼类受精卵的孵化时间不受盐度的影响,如条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*) (施兆鸿等,2009),本研究结果与之存在不一致的结论,这反映了不同海水品种的胚胎内渗透压各不相同,当环境渗透压与胚胎内渗透压相同时,胚胎的能量可全部用于生长发育,这将有助于提高孵化率,缩短孵化时间。

3.3 温度与盐度对虎斑乌贼受精卵孵化的互作影响

水产动物生长发育过程受到外界各种环境因子的影响,当环境因子发生变化时,依靠本身特有的调控机制在不同生化、生理水平上进行适应性反应 (Spanopoulos-Hernandez *et al.*, 2005)。以往的研究表明,外界环境因子对水产动物生长发育有重要的影响,但环境因子之间的互作效应更应受到关注。如 Likongwe 等 (1996)、Imsland 等 (2001) 和强俊等 (2012a)、分别在研究温度与盐度对尼罗罗非鱼 (*O. niloticus*) 饲料利用率、大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 饲料转化率、尼罗罗非鱼 (*Oreochromis niloticus*) 生长及抗氧化酶活力、均发现两者存在互作效应。本试验考察了温度与盐度的交互作用,研究结果首次揭示了温度与盐度对虎斑乌贼受精卵孵化率及平均孵化时间均有显著的互作效应 (P 值分别为 0.0073, 0.0106)。从方程回归系数显著性来看 (表 3), 温度效应对孵化率及平均孵化时间的影响要比盐度明显。温度二次效应极显著影响 ($P < 0.01$), 盐度二次效应显著影响 ($P < 0.05$), 这说明温度和盐度对受精卵孵化有最优值。因此,可以根据温盐最优组合,合理控制受精卵孵化过程的水质条件,提高其孵化率。

3.4 建立模型的意义

仅仅针对某个环境因子的几个孤立来分析水产动物受精卵孵化条件具有很大局限性。而传统正交试验方法虽能寻找最佳因子水平组合,但不能建立因子与响应值间明确的函数关系,从而无法找到最优响应值。响应曲面法可以把因素和试验结果的关

系函数化,确定因子与响应值之间、因子与因子之间的相互关系,并进行优化,找到最佳因子组合 (国蓉等,2006)。本研究中,采用响应曲面法建立了温度与盐度对孵化率及平均孵化时间的连续变量曲面模型,回归模型均极显著 ($P < 0.01$), 回归方程决定系数高 (表 2), 模型失拟项检验结果不显著 ($P > 0.05$), 模型中各项效应的估算可靠 (表 3), 以上结果表明建立的模型有意义,可用于分析与预测。根据 Deniz (2007) 的方法,获得影响孵化率最佳温度和盐度最优组合为 27.6 °C 和 31.1, 最优孵化率为 88.11%, 可信度达到 0.985。获得影响平均孵化时间最佳温度和盐度最优组合为 26.2 °C 和 29.6, 平均孵化时间最小值为 21.8 d, 可信度达到 98.5%。这也是响应曲面法在头足类受精卵孵化研究中的首次成功应用,并回归了高精度的数学模型。该方法具有试验次数少、灵活、方便、全面考察各因素及因素间的交互作用等优点,在实际应用中大大节约了试验时间及费用,可提前达到预期的实验目的,为我们提供了一种新的数学分析方法。

在实际的生产育苗中,可以通过加适当海水与曝气后的自来水、利用锅炉加热等措施将水体的盐度、温度调控在最佳的水平,这样能更好提高虎斑乌贼受精卵的孵化效果,提高生产效益。同时还应关注其他环境因子的影响,如 pH、光照强度及周期、氨氮等。因此,还有待进一步深入研究这些环境因子的影响及因子间是否存在互作影响,以便更好地指导生产实践。

参考文献

- 蔡文超, 区又君, 李加儿. 2010. 盐度对条石鲷胚胎发育的影响. 生态学杂志, 29(5): 951-956.
- 陈道海, 郑亚龙. 2013. 虎斑乌贼 (*Sepia pharaonis*) 繁殖行为谱分析. 海洋与湖沼, 4(5): 931-936.
- 国蓉, 李剑君, 国亮, 等. 2006. 采用响应曲面法优化甘草饮片中甘草酸的超声提取工艺. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 34(9): 187-192.
- 黄建盛, 陈刚, 张健东, 等. 2012. 盐度对虎斑乌贼 (*Sepia pharaonis*) 受精卵孵化及幼体活力的影响. 广东海洋大学学报, 32(1): 35-38.
- 黄永春, 胡石柳, 周泽斌, 等. 2006. 鮟状黄姑鱼早期发育特征及对温盐度的适应性. 中国海洋大学学报: 自然科学版, 36(1): 101-106.
- 蒋霞敏, 陆珠润, 何海军, 等. 2010. 几种生态因子对曼氏无针乌贼野生和养殖卵孵化的影响. 应用生态学报, 21(5): 1321-1326.
- 蒋霞敏, 罗江, 彭瑞冰, 等. 2014. 水泥池养殖条件下虎斑

- 乌贼的生长特性. 宁波大学学报: 理工版, **27**(2): 1-6.
- 蒋霞敏, 彭瑞冰, 罗江, 等. 2013. 温度对拟目乌贼胚胎发育及幼体的影响. 应用生态学报, **24**(5): 1453-1460.
- 乐可鑫, 蒋霞敏, 彭瑞冰, 等. 2014. 4种生态因子对虎斑乌贼幼体生长与存活的影响. 生物学杂志, **31**(4): 33-37.
- 刘建勇, 许光林, 简润超, 等. 2010. 温度对虎斑乌贼受精卵孵化及幼体存活的影响. 广东海洋大学学报, **30**(6): 87-90.
- 柳学周, 徐永江, 马爱军, 等. 2005. 温度、盐度、光照对半滑舌鳎胚胎发育的影响及孵化条件调控技术研究. 海洋水产研究, **25**(6): 1-6.
- 强俊, 任洪涛, 徐跑, 等. 2012a. 温度与盐度对吉富品系尼罗罗非鱼幼鱼生长和肝脏抗氧化酶活力的协同影响. 应用生态学报, **23**(1): 255-263.
- 强俊, 徐跑, 何杰, 等. 2012b. 温度与盐度对吉富品系尼罗罗非鱼仔鱼生长与存活的联合影响. 中国水产科学, **18**(6): 1299-1307.
- 桑士田, 闫喜武, 杨鹏, 等. 2012. 菲律宾蛤仔稚贝最适生长环境条件的响应面法分析. 水产学报, **36**(9): 101-108.
- 施兆鸿, 彭士明, 尹彦强, 等. 2009. 不同盐度下条石鲷胚胎及卵黄囊仔鱼的形态变化. 生态学杂志, **28**(3): 471-476.
- 王海贞, 王辉, 李瑞伟, 等. 2012. 温度和盐度对吉富罗非鱼幼鱼肠道两种抗氧化酶活力的联合效应. 广东海洋大学学报, **32**(1): 47-53.
- 王宏田, 张培军. 1998. 环境因子对海产鱼类受精卵及早期仔鱼发育的影响. 海洋科学, **4**(1): 50-52.
- 文菁, 曹观蓉, 李施颖, 等. 2011. 环境因子对虎斑乌贼幼体存活率及行为的影响. 水产科学, **30**(6): 321-324.
- 吴贤汉, 张宝禄, 曲艳梅. 1998. 温度和盐度对青岛文昌鱼胚胎发育的影响. 海洋科学, **4**(1): 66-68.
- 谢晓晖, 黄国光, 梁伟峰, 等. 2011. 虎斑乌贼幼体的摄食、排泄及不可逆点的研究. 大连海洋大学学报, **26**(4): 352-355.
- 张海发, 刘晓春, 王云新, 等. 2006. 温度、盐度及pH对斜带石斑鱼受精卵孵化和仔鱼活力的影响. 热带海洋学报, **25**(2): 31-36.
- Ambati P, Ayyanna C. 2001. Optimizing medium constituents and fermentation conditions for citric acid production from palmyra jaggery using response surface method. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, **17**: 331-335.
- Deniz B, Boyaci H. 2007. Modeling and optimization. I: Usability of response surface methodology. *Journal of Food Engineering*, **78**: 836-845.
- Daniello A, Donofrio G, Pischetola M, et al. 1989. Effect of pH, salinity and Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^{+} and SO_4^{2-} ions on hatching and viability of *Loligo vulgaris* embryo. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, **94**: 477-481.
- Gracia-López V, Kiewek-Martinez M, Maldonado-Garcia M. 2004. Effects of temperature and salinity on artificially reproduced eggs and larvae of the leopard grouper *Mycteroperca rosacea*. *Aquaculture*, **237**: 485-498.
- Imsland AK, Foss A, Gunnarsson S, et al. 2001. The interaction of temperature and salinity on growth and food conversion in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*). *Aquaculture*, **198**: 353-367.
- Likongwe JS, Stecho TD, Stauffer JR, et al. 1996. Combined effects of water temperature and salinity on growth and feed utilization of juvenile Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Linnaeus). *Aquaculture*, **146**: 37-46.
- Magnussen AB, Imsland AK, Foss A. 2008. Interactive effects of different temperatures and salinities on growth, feed conversion efficiency, and blood physiology in juvenile spotted wolffish, *Anarhichas minor* Olafsen. *Journal of the World Aquaculture Society*, **39**: 804-811.
- Malloy KD, Targett TE. 1991. Feeding, growth and survival of juvenile summer flounder *Paralichthys dentatus*: Experimental analysis of the effects of temperature and salinity. *Marine Ecology Progress Series*, **72**: 213-223.
- Mendiola D, Alvarez P, Cotano U, et al. 2006. Effects of temperature on development and mortality of Atlantic mackerel fish eggs. *Fisheries Research*, **80**: 158-168.
- Minton JW, Walsh LS, Lee PG, et al. 2001. First multi-generation culture of the tropical cuttlefish *Sepia pharaonis* Ehrenberg, 1831. *Aquaculture International*, **9**: 379-392.
- Spanopoulos-Hernandez M, Martinez-Palacios CA, Vanegas-Perez RC, et al. 2005. The combined effects of salinity and temperature on the oxygen consumption of juvenile shrimps *Litopenaeus stylirostris* (Stimpson, 1874). *Aquaculture*, **244**: 341-348.
- Wang H, Zhu X, Wang Y, et al. 2012. Determination of optimum temperature and salinity for fertilization and hatching in the Chinese pearl oyster *Pinctada martensii* (Dunker). *Aquaculture*, **358**: 292-297.

作者简介 黄建盛,男,1981年生,博士,研究方向为水产经济动物养殖生理生态学. E-mail: huangjs@gdou.edu.cn
责任编辑 李凤芹