

温度对海带配子体生长发育的影响*

曾呈奎 吴超元 任国忠

(中国科学院海洋研究所)

在海带人工养殖研究工作中,首先遇着的就是从“采孢子”(使孢子附着在一定的人工基质上)起到幼孢子体生长出来这期间的一系列问题;从问题的实质看来,这就是等于农业上的从播种到萌发这一关键性阶段的问题。由于海带具有大型的孢子体和从孢子萌发所形成的微观的配子体两个独立阶段,这个问题的中心是配子体的生长和发育,但同时也必然联系到游孢子附着后所形成的胚孢子的萌发。因此,从1951年开始进行海带研究工作起,我们就开展了对这些问题的研究。

早在1951年,我们在初步研究中就观察到,一直培养在水温20°C或以上条件下的配子体,始终不能发育、形成孢子体¹⁾。类似情况,在前人的海带类植物的配子体研究工作中也有了一些报导。1929年,殖田三郎在 *Laminaria religiosa* 配子体生长发育与温度关系的试验报告中,证明6—9°C是这种海带配子体发育的适温,温度超过12.4°C时,配子体就不能发育形成孢子体²⁾。1930年, Schreiber 在报告中,也提到海带类配子体在16—18°C的较高温度条件下虽然能够生活,但不能正常发育³⁾。1932年, Harries 在 *Laminaria cloustonii*, *L. digitata* 和 *L. Saccharina* 等种海带的配子体培养试验中,观察到这三种海藻的配子体在16°C以上的温度不能形成卵囊⁴⁾。1936年,木下虎一郎等进行了海带及其他两种海带属植物 (*L. fragilis* 和 *L. cichorioides*) 的配子体在不同温度条件下的生长发育试验,观察到海带配子体在12°C以上的温度中不能发育为孢子体,发育的适温约在0.8—9°C范围内⁵⁾。

由此可见,我们的观察与前人的报导有一个共同点,就是海带配子体在一定的温度范围以上不能发育为孢子体,但具体地在发育温度上却相差甚多。我国养殖的海带虽是从日本引种的,但由于海带这个物种很复杂,而所用的研究方法也不一样;这些都可能导致实验结果上的差异。因此,我们在1954—1955年,进行了较为系统的海带配子体生长发育与水温关系试验,同时,对游孢子的活动时间及附着和胚孢子的萌发与水温关系也做了一些观察。

一、实验材料和方法

实验用的材料是在青岛团岛湾筏式养殖的健康而具有丰富成熟孢子囊群的种海带。实验前,将海带表面附着生物洗净,放在10—15°C气温条件下阴干3—4小时(最多不超过12小时),然后把种海带放在煮沸消毒的海水中使其放散游孢子,水温维持在10°C左右。事先,在海水中放置若干玻片做为孢子的附着基质。一般在7—8小时后,则将附有丰富

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第155号。

1) 当时参加工作的还有前中央水产试验所索如瑛同志。

孢子的玻片取出进行实验。

玻片用同温海水冲洗,以便洗掉附着不牢固的孢子,然后安置于特制小竹架上,放在盛有约 40 升培养液的普通玻璃水族培养箱的中部。实验在 4°C 左右的低温室内进行,用温度调节器把培养箱的水温分别控制在 5、10、15、20°C,有的实验还增加了一个 18°C 的培养箱。培养用水取自鲁迅公园低营养区(实验时,营养盐平均值,NO₃-N 约 3.7 mg/m³, PO₄-P 约 12.5 mg/m³),经棉花过滤后再加 KNO₃ 和 KH₂PO₄,使 NO₃-N 和 PO₄-P 的浓度分别达到 2,800 mg/m³ 和 640 mg/m³。培养液每天更换总体积的 1/3 左右。培养光照完全用日光色日光灯,每个培养箱的两侧各放 15W 灯管两支,光强调节在 1,000 米烛左右,每日光照 10 小时。为了使培养箱内上下水层温度一致、气体和营养盐均匀,在培养箱内装有自动控制搅拌设备两套,轮流搅动培养液,使其不停地流动。这样,培养液的温度误差都控制在大约 ±0.5°C 以内。玻片定期取出用相差显微镜进行活体检查,每次检查一般不超过 10 分钟,在这时间内温度稍有变动,但相差不太大。

二、实验及结果

I. 游孢子的游动、附着和胚孢子的萌发与水温关系

首先我们进行了在不同温度条件下海带游孢子的游泳及附着情况的显微镜观察。根据初步观察结果,在水温 20°C 以下,游孢子的游动时间长短与水温高低成反比例。例如,在 5°C 左右,大部分游孢子长时间游动而不太附着,游动时间可以达到 48 小时,而在 20°C 左右,游泳时间缩短到几分钟,有的游孢子甚至在离开孢子囊时就失去了游动能力,附着能力很低,甚至没有附着能力。在 10—15°C 条件下,游孢子很活跃,多数在 2 小时内附着在玻片上。

游孢子附着后则形成球形的胚孢子,而胚孢子在几天内就萌发形成配子体。我们把附着在玻片上的胚孢子放在 5、10、15、20°C 条件下进行培养,观察其萌发情况。附着两天后的显微镜检查表明,所有培养的胚孢子都是正在萌发过程中,胚孢子的膨大部分直径一般为 4—8 微米,但在 20°C 条件下,有的略为大一些。附着 3 天后的检查表明;除了在 5°C 条件下,胚孢子尚在萌发过程中,其余的培养都已形成了配子体,细胞直径可达到 10—11 微米。

从以上的简单实验和初步观察可以看出:从游孢子离开孢子囊开始,一直到配子体的形成,前后三天左右适温是 10—15°C;因为在 5°C 条件下,游孢子虽然活动能力很强,游动时间很长,但附着 3 天后,胚孢子还在萌发中,尚未能形成配子体,而在 20°C 条件下,虽然附着后的生长与 5°、10°C 基本一样,但游孢子的游动和附着能力很差,能够形成胚孢子的比例很小。

II. 温度对配子体生长发育的影响

在上述实验基础上,我们进行了一系列的试验,以观察从胚孢子所形成的配子体在 5°、10°、15°、20°C 等温度条件下的生长和发育情况,以寻找它们的生长发育的最适宜水温。我们前后一共进行了 6 次实验,分别在 1954 年 6 月 16 日、11 月 26 日及 12 月 26 日和 1955 年 5 月 11 日、6 月 30 日及 11 月 4 日开始进行。1954 年的实验,在开始后一般每 2—6 天用显微镜检查一次;1955 年的实验在开始后每天检查一次。为了进一步探索

影响发育的温度界限,在 1954 年 11 月及 12 月的实验里,还增加了 18°C 的培养实验。

雌配子体一般为单一细胞所组成。刚形成的时候,细胞直径一般只有 6—7 微米,在我们试验的条件下,一般长到 22 微米就停止生长;因此,从生长的角度看,最适宜生长的温度是在这个温度下,雌配子体在最短时间内达到细胞直径 22 微米。和雌配子体不同,雄配子体形成后就不断地进行细胞分裂,形成一个多细胞藻体,而在雄配子体成熟的时候,藻体一般可以达到 10 个细胞左右。因此,最适宜雄配子体生长的温度是在这个温度下,雄配子体在最短时间内细胞数达到 10 个以上。根据上述标准,我们把 1955 年 5 月 11 日及 11 月 4 日两次实验的情况,把雌配子体的及雄配子体的生长情况分别列为表 1 和表 2。

表 1 海带雌配子体在不同温度下的细胞直径增长(微米)
Table 1. Growth in diameter (μ) of the cells of the *Laminaria japonica* female gametophytes under different temperatures

I. 1955 年 5 月 11 日采苗

A 采苗后天数	7	8	9	10	11	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	25
B 培养水温(°C)																
5	6.9	8.3	9.7	9.7	11.1	13.9	13.9	15.3	16.7	18.1*	18.1		19.5	20.9		22.2
10	9.7	9.7	11.1	12.5	12.5	16.7	16.7	18.1	19.5*		19.5	22.2				
15	11.1	11.1	11.1	13.9	16.7	16.7	18.1	19.5			22.2		*			
20	9.7	11.1	11.1	13.9	13.9			16.7	16.7	18.1	19.5		22.2			

I I. 1955 年 11 月 4 日采苗

A	2	3	4	7	8	9	10	12	13	14	15
B											
5	8.3						13.9	15.3	18.1	22.2	*
10	8.3	9.7	12.5	12.5	13.9	16.7	19.5	19.5*	20.9	22.2	
15	8.3	11.1	13.9	16.7		16.7	22.2			*	
20	11.1	11.1	13.9	16.7		16.7	22.2				

* 已出现幼孢子体(Young sporophytes having appeared);

A=Days after spores collecting;

B=Culture water temperature(°C).

从表 1 可以看出,如果以细胞直径达到 22.2 微米的最少天数来衡量生长的适温,则以 15°C 为最适宜,因两次实验都是以这个温度生长最快,其次是 10°C 及 20°C;而两次实验都证明,在 5°C 条件下,雌配子体生长最缓。从表 2 同样可以看出,15°C 是雄配子体生长最快的温度,而在 5°C 下,生长最缓,在这两个温度之间 20°C 和 10°C 差不多。这些实验说明了 15°C 是海带配子体的生长最适温。

根据我们多次的观察,精子的排出在一定程度上是以卵子的排出为先决条件的,也就是说,在排卵以前,雄配子体一般并不排精子^[1]。卵子排出后一般都能很快地受精成长为幼孢子体,因此,在确定配子体发育所需的时间,不必把雌、雄配子体分别考虑,而是以幼孢子体的出现作为发育的标志,幼孢子体出现的早晚作为衡量最适温的根据。从表 1 还可以看出,配子体的发育并不一定在细胞直径达到 22.2 微米以后才能进行,而且,即便细

表 2 海带雄配子体在不同温度下的细胞数
Table 2. The number of cells of the *Laminaria japonica* male gametophytes under different temperatures

I. 1955 年 5 月 11 日采苗

A 采苗后 天数 B 培养 水温(°C)	5	7	8	9	10	11	12	13	14	16	19	23
	5	1	1	2	3	4	4	4	5	5	6	6
10	1	2	2	5	6	6	6	7	>10			
15	1	2	4	4	6	10	>10					
20	1	2	3	4	5	5	5	5	5	5	7	>10

II. 1955 年 11 月 4 日采苗

A B	2	3	4	5	6	8	9	10	12	13	14	15
	5								5	5	6	7
10	1	1	2	4	5	5	6	7	7	>10		
15	1	1	2	4	6	6	7	7	>10			
20	1	1	2	4	5	6	7	7	>10			

A=Days after spores collecting;

B=Culture water temperature (°C).

胞直径达到 22.2 微米并不一定就能发育,发育的快慢及能否,还因不同温度而有所差异。例如,在 5 月 11 日的实验,10°C 的雌配子体在第 16 天已经长出幼孢子体,但细胞直径只 19.5 微米,到第 19 天才达到 22.2 微米,而 15°C 的雌配子体在第 18 天细胞直径已达到 22.2 微米,在第 20 天才长出幼孢子体。11 月 4 日的实验也有类似情况(见表 1)。

为了便于比较在不同温度条件下,配子体发育所需要的时间,我们把所进行的 6 个实验的情况列表 3。

表 3 海带配子体在不同温度下发育为孢子体所需时间(天数)
Table 3. Time required (in days) for *Laminaria japonica* gametophytes to develop into sporophytes under different temperatures

A 采孢子时间 B 培养水温(°C)	1954			1955			C 平均
	VI.16	XI.26	XII.26	V.11	VI.30	XI.4	
5	21	12	18	17	17	15	16.7
10	13	12	15	16	13	12	13.5
15	21	18	15	20	15	14	17.2
18		×	22				
20	×	×	×	×	×	×	

×=不能发育为孢子体(Unable to develop into sporophytes);

A=Date when spores were collected;

B=Culture water temperature (°C);

C=Average.

从表 3, 我們可以得出下列几点結論:

1. 配子体在 20°C 是不能发育的。
2. 配子体在 18°C 有时不能发育, 有时可以发育, 但需要較长时间, 因此, 可以认为 18°C 是海带配子体发育与不发育的分界綫, 在 18°C 以上, 海带配子体不能发育。
3. 不同实验有不同发育时间, 一般从 12 天到 21 天, 但所有的实验有一个共同点: 在 10°C 条件下发育所需要的时间最短。如果把发育所需要的天数平均, 则 10°C 为 13.5 天, 5°C 为 16.7 天, 15°C 为 17.2 天。显然, 10°C 是海带配子体的发育最适温。

在 20°C 条件下培养的配子体虽然不发育, 但是我们也观察到少数雌配子体可以形成卵囊的一级突起和二级突起¹⁾, 不过, 形成不久即死亡。也就是说, 配子体所以在 20°C 条件下不能发育, 是因为在这温度下不能形成卵囊和精子囊, 当然也就谈不到排卵、排精、形成孢子体了。我们还观察到, 在 20°C 培养的配子体大量死亡, 留下少数雌配子体, 细胞一般为深褐色, 比在較低温培养的多, 直径大小并不停留在 22 微米左右, 而是继续长大到 30 微米左右; 随着培育时间的加长, 雌配子体的细胞壁也逐渐变厚, 部分配子体在厚壁内分裂为 2 个或 4 个无壁的细胞。实验证明, 如培育温度下降到 15°C 或以下, 这些细胞都可以排出一个卵子。

三、討論与結語

根据上述試驗所得到的結果, 几个实验温度对海带配子体生长发育的影响可以总结如下:

1. 5°C: 海带配子体在这个水温条件下能够正常地生长、发育, 但比之其他实验水温, 生长较为緩慢, 发育为孢子体所需要的时间也比 10°C 較长, 与 15°C 差不多。因此, 配子体的生长发育适温显然都在 5°C 以上。

2. 10°C: 海带配子体在这个水温条件下能够正常地生长、发育, 发育为孢子体所需要的时间比之其他实验温度都較短, 但生长比之 5°C 以外的其他温度都較慢。因此, 10°C 是配子体的发育最适温, 但生长最适温显然是在 10°C 以上。

3. 15°C: 海带配子体在这个水温条件下能够正常地生长、发育, 生长比之其他实验水温都較快速, 但发育为孢子体所需要的时间比之 10°C 較长, 与 5°C 差不多。因此, 15°C 是配子体生长的最适温, 但不是发育最适温。

4. 18°C: 海带配子体形成后的初期在这水温条件下生长良好, 当雌配子体细胞直径达到 13.9—16.7 微米时, 开始大量死亡。沒有死亡的配子体有时能发育为孢子体, 有时则不能; 很可能这现象是由于实验水温的誤差($\pm 0.5^\circ\text{C}$)所引起的。因此可认为, 18°C 或者略为高一些的温度是配子体发育温度的上界, 在这温度以上, 配子体不能发育为孢子体。

5. 20°C: 海带配子体在这个水温条件下生长情况, 有时比在 10°C 还要好些, 甚至和 15°C 的一样好, 但死亡数量比 18°C 的还要多。在这个温度培育的配子体肯定地不能发育为孢子体, 因此, 配子体的生长发育最适温都在 20°C 以下。

总结起来, 不同温度对海带配子体生长的相对适宜性是: $15^\circ\text{C} > 20^\circ\text{C} > 10^\circ\text{C} > 5^\circ\text{C}$ ²⁾,

1) 根据我們在海带配子体形态研究的資料。

2) 以“>”代表較适宜的生长或发育水温。

而对发育的相对适宜性是: $10^{\circ}\text{C} > 5^{\circ}\text{C}$ 和 15°C , $5^{\circ}\text{C} > 18^{\circ}\text{C}$ 。从温度关系总的情况看, 配子体生长适温高于发育适温, 相差至少在 5°C 左右或以上。

为什么会产生这种现象? 我们认为, 可以从海带在原产地的生活情况及水文条件一年内的变化来解析这个现象。

据推测, 海带可能发源于日本北海道东北部, 然后顺着海流向南分布到北海道南部及本州北部; 再向西分布到北海道的西岸以及日本海其他地区^[1]。中国现在所养殖的海带是从日本北海道西部及本州北部引种的^[2]。这些地区的水文情况具有典型的温水性, 一年中的水温变化幅度很大, 冬季可以低到 5°C 以下而夏季可以高达 22°C 以上。在其原产地, 海带渡过高温的夏季后就大量产生孢子囊羣, 放散游孢子、形成配子体, 在晚秋期间发育为孢子体; 整个过程虽然只跨两个月左右, 但水温的变化都是很大的, 大致从 $21-22^{\circ}\text{C}$ 以上温度逐渐下降到 10°C 左右。由于长期适应这样大幅度的水温变化的结果, 海带配子体的不同生长、发育阶段也必然形成了不同的适温特点, 具体地表现在这个过程的前期, 也就是配子体的生长适温较高而后期的发育适温较低的遗传性。

在中国的生产实践也充分地证明了上述论证。以青岛地区的海带养殖为例子, 9月底表面水温下降到 $21-22^{\circ}\text{C}$ 左右, 孢子囊则开始大量出现, 大约10月中旬水温下降到 20°C 以内就开始采孢子, 一般在11月底水温可以降到 10°C 左右, 幼孢子就大量长出。所以, 尽管青岛与日本北海道及本州北部远隔千里, 但从水温条件看来, 两地的海带的不同阶段对水温的要求, 基本上是一致的。

参 考 文 献

- [1] 曾呈奎、任国忠、吴超元, 1959. 关于海带配子体的排卵和排精现象及精子形态。科学通报1959(4): 129—130。
- [2] 曾呈奎、吴超元, 1954. 海带的养殖与存在的问题。科学通报 1954(5): 48—52。
- [3] 曾呈奎、张峻甫, 1960. 关于海藻区系性质的分析。海洋与湖沼 3(3): 177—187。
- [4] 木下虎一郎, 1947. コンブとワカメの増殖に関する研究。日本札幌北方出版社。
- [5] Harries, R., 1932. An investigation by cultural methods of some of the factors influencing the development of the gametophytes and early stages of the sporophytes of *Laminaria digitata*, *L. saccharina* and *L. cloustonii*. *Ann. Bot.*, 46(184): 893—928.
- [6] Schreiber, E., 1930. Untersuchungen über Parthenogenesis, Geschlechtsbestimmung und Bastardierungsvermögen bei Laminarien. *Planta*, 12: 331—358.
- [7] Ueda, S(殖田三郎), 1929. On the temperature in Relation to the development of the gametophyte of *Laminaria Religiosa* M. *J. Imp. Fish. Inst. Tokyo*, 24: 174—180.

THE INFLUENCE OF TEMPERATURE ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF THE HADAI (*LAMINARIA JAPONICA*) GAMETOPHYTES

C. K. TSENG, C. Y. WU AND K. Z. REN
(Institute of Oceanology, Academia Sinica)

(ABSTRACT)

Observations have been made on the liberation and attachment of the zoospores of

the haidai (*Laminaria japonica*). It was shown that the zoospores were most active at 10–15°C and mostly adhered to the substrata provided, becoming the rounded embryo-spores within 2 hours, whereas at 5°C they swam for as much as 48 hours without effecting adherence to the substrate and at 20°C, they were active for only a few minutes, with very low adhering ability. It was also observed that germination of the embryo-spores to gametophytes was completed within 3 days at 10°, 15° and 20°C, whereas at 5°C it took much longer time for the entire germination process.

Studies have been made on the influence of the temperature factor on the growth and development of the haidai gametophytes. The following results have been obtained:

1. At 5°, 10°, 15°, and 20°C, the haidai gametophytes grew normally. The optimal temperature for growth was judged by the shortest time (in term of the numbers of days) required for the cells to reach a certain diameter (22.2 μ) in the case of the usually single-celled female gametophytes and to exceed a certain number (>10) in the case of the many-celled male gametophytes. This was found to be about 15°C, at which growth proceeded the fastest. At 5°C, growth proceeded most slowly; at 10°C and 20°C growth proceeded much faster and at about similar rate, slightly better at 20°C.

2. At 5°, 10° and 15°C, the haidai gametophytes were able to develop normally. The optimal temperature for development was judged by the shortest time (in term of the number of the days) required for the appearance of very young sporophytes, and was found to be at about 10°C. At the other two temperatures, development proceeded at about similar rate, slightly better at 5°C.

3. At 18°C, the haidai gametophytes grew normally, sometimes developing to the sporophytic generation and sometimes not; it was assumed that the different results under the same temperature were caused by temperature error ($\pm 0.5^\circ\text{C}$) as allowed by the experiments. Hence it was suggested that 18°C was the upper limit of the developmental temperature of the *Laminaria* above which the gametophytes were unable to develop to sporophytes.

4. At 20°C, the haidai gametophytes grew well, somewhat better than at 10°C and sometimes similarly well as the optimal growth temperature 15°C. However, none of the gametophytes were able to develop to sporophytes.

It is apparent, therefore, that the optimal growth temperature (ca. 15°C) is several degrees higher than the optimal reproductive temperature (ca. 10°C) for the gametophytes of *Laminaria japonica*. An explanation for such a phenomenon was offered. The haidai now under cultivation in China originally came from Western Hokkaido and northern Honshu of Japan. At these places, the summer surface water temperature is rather high, reaching 22°C or higher, whereas the winter surface water temperature quite low, usually lower 5°C. In nature, it takes the *Laminaria* about two months (from early to late autumn) to complete the part of the life history from the formation of sporangial sori and the liberation of the zoospores to the formation of juvenile sporophytes. During this period, the surface water temperature drops from 21–22°C to about 10° or lower. Long time adaption to the temperature characteristics of the regions under discussion naturally results in different optimal temperatures for the vegetive growth and development stages, higher in the former and lower in the latter. This assumption is well supported by the current practice of haidai cultivation in China.