

光温与坛紫菜自由丝状体生长发育的关系*

汤晓荣 费修绶

(中国科学院海洋研究所, 青岛 266071)

提要 于1993年3月—1994年4月,在实验室内可控条件下,用坛紫菜自由丝状体为材料,研究温度(13—33℃)、光强[5—40 $\mu\text{mol} / (\text{m}^2 \cdot \text{s})$]和光周期(8—24 h)对其生长发育的影响。结果表明:(1)17—21℃,丝状体生长快速健康;25—29℃,适于孢子囊枝的形成,27℃较佳;丝状体在温度高于29℃时开始死亡,丝状藻丝对高温的耐受力比孢子囊枝差;17—21℃,适于壳孢子的形成。(2)丝状体的生长随着光强的增加和光照时间的延长而加快。(3)实验光强下,光周期 ≤ 12 h,孢子囊枝的形成量随光照时间的增加而增加;光周期长于12 h,孢子囊枝基本不形成。(4)藻丝的色泽随光强的增加由红色趋于黄色,不同温度下,形态和色泽与生长速度和发育程度有关。(5)在实验光强下,壳孢子的形成量与光强关系不大。认为坛紫菜自由丝状体的生长发育与光温条件密切相关,据此,可以调控丝状体的生长发育进程,获得理想的生长发育阶段的材料。

关键词 坛紫菜 丝状体 光 温度 生长 发育

近年来,随着紫菜栽培面积的扩大,紫菜苗源问题成了藻类学家研究的热点之一。传统的贝壳育苗方式费时、费力,时间长达5个月。为了变革这一育苗方式,近年来,藻类学家一直在寻找不需在贝壳上培养即可育出紫菜苗的途径。基于这一目的,在70年代末80年代初,郑宝福等(1979)对条斑紫菜贝壳丝状体生长发育的光温条件作了研究。陈国宜等(1980,1984)对坛紫菜自由丝状体的生长发育条件作了报道,他们的研究结果,为自由丝状体在生产上的直接应用提供了可能性,但仍是在自然条件下进行的,均未在生产上应用。作者在前人工作的基础上,认为光温对紫菜丝状体发育的影响因种而异,而且与实验材料的来源有关。作者用实验室来源一致的坛紫菜丝状体品系作材料,对其生长发育与光温的关系做较系统的研究,目的是进一步了解紫菜丝状体的生长发育规律,在实验室内人为地控制丝状体的生长发育进程,为科研和生产提供比较均一的材料。

1 材料和方法

实验于1993年3月—1994年4月进行。实验海洋生物学开放研究实验室种质种苗组选育的坛紫菜(*Porphyra haitarensis*)自由丝状体品系(丝状藻丝 $> 90\%$),用打碎机打碎到每段长约0.5—1mm,在不同实验条件下培养,经常摇动,每周检查生长发育情况。

* 中国科学院重点基金资助项目,KS85-302-03号。实验海洋生物学开放研究实验室研究报告第131号。汤晓荣,女,出生于1967年12月,博士生。

收稿日期:1996年3月20日,接受日期:1996年12月5日。

实验条件: 温度: 13—33℃; 光强: 5—40 $\mu\text{mol} / (\text{m}^2 \cdot \text{s})$; 光周期: 每日光照 8—24h。海水暗沉淀一个月以上, 加热至刚沸腾, 冷却后加入 PESI 营养盐即在 Provasoli(1968)的配方中加入 0.0079mmol / L 的 KI。不同温度和光强实验的光暗比为 10h:14h。

生长发育的指标参照中国科学院海洋研究所藻类实验生态组、藻类分类形态组(1978)和黄海水产研究所紫菜组(1979)的报道。

藻丝的湿重: 将藻丝与培养液用筛绢滤后静置约 10s, 用镊子挑到称量盒中, 用电子天平(OHAUS CT 200-S8828)称重。用 $(5-10) \times 10^{-6} \text{g} / \text{ml}$ GeO_3 溶液抑制硅藻(Chen et al., 1970; Kapraun et al., 1980)。接种时加入, 以后更换的培养液不再加入。

由于实验条件的限制, 本研究的辐照度上限只有 40 $\mu\text{mol} / (\text{m}^2 \cdot \text{s})$, 与自然差别很大, 只能定性地反映所用实验材料的生长发育与光强的关系, 光强的上限需进一步的研究。

2 结果

2.1 温度对坛紫菜自由丝状体生长发育的影响

2.1.1 温度对自由丝状体生长的影响 在实验开始后的一周内, 丝状体只有藻丝的生长, 基本上不形成孢子囊枝。这一阶段的生长包括: 1) 藻丝的伸长; 2) 藻丝的分枝; 3) 藻丝的加粗。13—25℃, 藻丝的生长主要是数量的增加; 25—29℃, 藻丝的生长主要是体积的增加, 为进一步的发育做准备。17—21℃, 是坛紫菜丝状藻丝生长较适宜的温度, 镜检可以看到这样的藻丝颜色较浅, 藻丝舒展, 细胞的长宽比大。观测表明, 17—21℃是藻丝生物量增长最快的温度范围, 这是藻丝分枝数量多和长度增加多的共同结果, 而在此温度范围内孢子囊枝形成很少(见表 1), 所以, 生物量的增加主要是丝状藻丝的生长引起。

表 1 坛紫菜自由丝状体在不同温度下的生长发育状况

Tab.1 Growth and development of free living conchocelis of *P. haitanensis* at different temperatures

温度(℃)		13	17	21	25	29	
培 养 时 间	二 周	孢子囊枝数量(%)	1—5	1—5	1—5	15	50
		转化状态的藻丝量(%)	1—5	<1	<1	5	5
三 周		孢子囊枝数量(%)	<1	<1	5	45	75
		丝状体色泽	淡黄	黄	黄	黄	褐黄
		丝状体数量	++	++	+++	++	++

+为本底数, 表3、表4、表5同。

2.1.2 温度对丝状体发育的影响 丝状藻丝发育的结果是向孢子囊枝的转化, 在大生产培养条件下, 时间约需 5—6 个月。实验室适宜的培养条件下, 3—4 周内就可以完成转化, 而温度条件是制约转化的重要因素之一。

通过表 1 可以看出, 25—29℃是孢子囊枝形成的适宜温度范围。实验二周后, 总体上, 29℃能形成较多孢子囊枝, 而且转化状态的藻丝量也非常多; 25℃, 这两种藻丝都存在, 但总量相对 29℃较少。

在较高温度下, 孢子囊枝的量在 27℃最多, 29℃时次之(表 2)。从发育阶段来看, 温度越高(实验范围内), 转化状态的藻丝量越多, 后期形成的孢子囊枝也越多(表 1)。镜检看来, 温度和光强越高, 孢子囊枝细胞越接近圆形, 色素砖红色, 较均匀, 呈现向壳孢子转化前的状态, 说明这样的藻丝发育越充分。

2.1.3 温度对自由丝状体形态的影响

从表 1 可以看出,藻丝随温度的升高和发育程度的提高,颜色由淡黄趋向褐黄色。发育的藻丝除了受光影响外,由于孢子囊枝的形成改变了丝状体的组成,总的来看,藻丝的颜色趋向于褐色,孢子囊枝的颜色由最初的褐黄色变为枣红色,而且越来越趋向于砖红色。

丝状藻丝是絮状的,而孢子囊枝是弥散、均匀的“微粒”状态,随着温度的升高和培养时间的延长,孢子囊枝的转化程度越高,微粒化程度越大,藻落呈细小的颗粒状。藻球的大小与微粒的大小有关,微粒越大,藻球越大。

2.1.4 藻丝对高温的耐受力 高温(29—33℃)下,藻丝死亡较多。首先死亡的是未发育的丝状藻丝,而孢子囊枝及处于转化状态的丝状藻丝存活时间要长一些。

表2 坛紫菜丝状体在较高温度下的生长发育情况(培养二周)

Tab.2 Growth and development of free living conchocelis of *P.haitanensis* at higher temperatures (cultured for two weeks)

温度(℃)	25	27	29	31	33
藻丝健康状况	良好	良好	部分死	少部分死	大部分死
孢子囊枝数量(%)	25±0	45±0	38±0	—	—

表3 坛紫菜孢子囊枝形成壳孢子的适宜条件(培养二周)¹⁾

Tab.3 Optimal conditions for conchospore formation from sporangial branchlets of *P. haitanensis* (cultured for two weeks)

温度(℃)	13	17	21	25	29
壳孢子形成量	+	+++	++++	+	0

1) 实验材料的孢子囊枝比例>95%。

簇小紫菜,说明孢子囊枝是在此温度下可以形成壳孢子并放散,镜检也有少量壳孢子形成。

2.2 光强对坛紫菜丝状体生长发育的影响

2.2.1 光强对丝状藻丝生长的影响 光强的影响以显微镜观察为主(表 4)。结果表明,在一定的温度和光周期下,光强越高,丝状藻丝的生长越快。17℃时,较高光强组的藻丝比低光组的颜色淡些,藻丝分枝多(接种一周后尤其明显),藻丝长而舒展,高倍镜下,藻丝细胞长宽比大,液泡较小,色素浓度小,黄绿色;而低光强组的藻丝细胞近似长方形,在两个细胞的横壁处有缢进,细胞长宽比较小,整个藻丝边缘呈波纹状,细胞内液泡较小,色素趋于红色(表 5)。光照时间大于 12h 时,适宜的温度(如 25℃)下,实验范围内,光强愈高,生长越快。

2.2.2 光强对孢子囊枝形成的影响

实验条件下,光强对孢子囊枝形成的影响仅限于光照时间不长于 12h, 25—29℃内,孢子囊枝的形成速度和形成量随光强的提高而增大(表 5、表 6),最高光强组

[40μmol / (m² · s)]的孢子囊枝量最多,而最低光强组 [5μmol / (m² · s)]只有很少孢子囊枝形成。所以,孢子囊枝形成适宜的光强范围是 10—40μmol / (m² · s)。不同光强孢子囊枝

表4 17℃下不同光强坛紫菜丝状体的生长和壳孢子的形成量(培养二周)

Tab.4 Growth of conchocelis and formation of conchospore of *P. haitanensis* in different light intensity at 17℃ (cultured for two weeks)

光强[μmol/(m ² · s)]	5	10	20	40
藻丝量	++	+++	+++	++++
壳孢子量	+	++++	+++	+++

细胞的发育程度没有明显差别。

表5 29℃下不同光强坛紫菜丝状体的生长发育情况

Tab.5 Growth and development of conchocelis of *P. haitanensis* in different light intensity at 29℃

光强[$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]		5	10	20	40	
培 养 时 间	二周	孢子囊枝数量(%)	5—10	25	40	50
		转化状态的藻丝量(%)	10—15	10	10	5—10
三 周		孢子囊枝数量(%)	5	35	75	75
		色泽	红褐	红褐	红黄褐	黄褐
		藻丝量	++	++	++	++

表6 27℃下,不同光强坛紫菜丝状体的发育情况(培养二周)

Tab.6 Development of conchocelis of *P. haitanensis* in different light intensity at 27℃ (cultured for two weeks)

光强[$\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$]	5	10	20	40
孢子囊枝数量(%)	个别	13±3	83±3	85±4

2.3 光周期对坛紫菜丝状体生长发育的影响

2.3.1 光周期对自由丝状体发育的影响 为了探索光周期对坛紫菜自由丝状体发育的影响,本实验选用温度在25℃,依据是:前面的实验结果表明,25℃下能形成孢子囊枝(光暗比10h:14h),尽管27℃的形成得更快更多,但在此温度下形成的孢子囊枝发育程度比较高,这种藻丝往往会很快成熟或死亡。为了得到生活力较强、可长期保存的孢子囊枝,故选较低的25℃。实验二周后,最高光强组的结果如表7,光暗比12h:12h的最高光强组已形成相当量的孢子囊枝。

实验三周后的结果表明(图1折线4,5,6),25℃下,8—12h的日照时间,三个光强组的孢子囊枝数量随光照时间的增加而增多,长光照下不

见新的孢子囊枝形成,但有少量接种时带入的孢子囊枝,这样的孢子囊枝细胞壁厚,液泡小,有的长出丝状藻丝,与新形成的孢子囊枝差别很大,且量少难以估计。丝状藻丝色较淡,藻丝舒展如发,长势良好。光暗比16h:8h和全光照下的藻丝长势非常好,没有新的孢子囊枝形成。综合以上结果,可以得出:(1)光照时间小于或等于12h,孢子囊枝都能形成,形成量随光照时间的延长而增加。(2)长光照下,尽管温度适合孢子囊枝的形成,但孢子囊枝没有形成。

2.3.2 光周期对自由丝状体生长的影响 实验三周后,不同实验组生物量的差别如图1竖条所示。由图1可以看出,总的来说,长光照的生物量比中、短光照的多,而且长光照中,光照时间越长,长势越好,生物量越多。短光照下,相应光强生物量的差别不大,生物量的增加相对要慢一些,比较代表孢子囊枝量的折线和代表藻丝湿重的竖条可以看出,孢子囊

2.2.3 光强对孢子囊枝发育的影响 17℃时,10—40 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的光强对壳孢子形成量影响不明显(表4),低于5 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 的光强的,壳孢子基本不形成。

表7 不同光周期下坛紫菜丝状体的发育状况(培养二周)

Tab.7 Development of conchocelis in different light period of *P. haitanensis* (cultured for two weeks)

光暗比(h:h)	8:16	10:14	12:12	16:8	24:0
孢子囊枝数量(%)	<5	<5	18	<5	<5

枝量最多的组,重量没有明显增加,反而有降低的趋势。总的来看,孢子囊枝量越多的组,藻丝湿重越少;反之,湿重最大的组,孢子囊枝的量最少(如 24h 光照组)。这一结果在三个光强组表现相同。

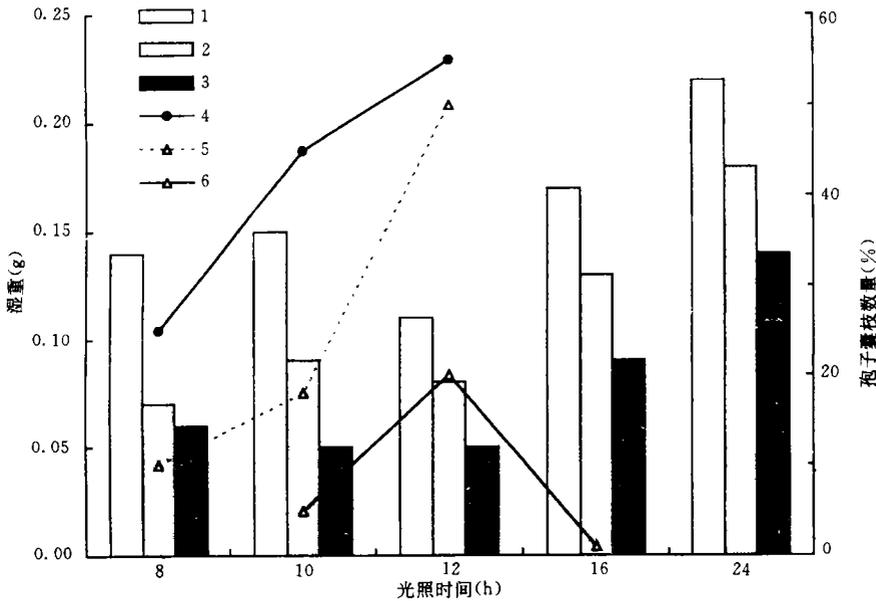


图 1 不同光周期下坛紫菜丝状体的孢子囊枝数量(%)和湿重(g)(培养三周)

Fig.1 Sporangial branchlets quantity (%) and wet weight (g) of conchocelis of *P. haitanensis* in different light period (cultured for three weeks)

1 为 $40 \mu\text{mol} / (\text{m}^2 \cdot \text{s})$; 2 为 $20 \mu\text{mol} / (\text{m}^2 \cdot \text{s})$; 3 为 $10 \mu\text{mol} / (\text{m}^2 \cdot \text{s})$; 4 为 $40 \mu\text{mol} / (\text{m}^2 \cdot \text{s})$; 5 为 $20 \mu\text{mol} / (\text{m}^2 \cdot \text{s})$; 6 为 $10 \mu\text{mol} / (\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 。1, 2, 3 为湿重; 4, 5, 6 为孢子囊枝数量。

3 讨论与结语

本研究的结果显示了坛紫菜自由丝状体的生长发育进程与光温变化密切相关,这是紫菜长期适应自然界的体现,为进一步对紫菜的生长发育进行调控提供科学依据。

温度既影响丝状体的生长,又影响丝状体的发育。在孢子囊枝形成的温度,丝状藻丝除了生长物质的积累外,某些物质的量积累到一定程度,可以启动发育的“开关”,使丝状藻丝变为孢子囊枝。有超微结构照片表明:孢子囊细胞的红藻淀粉比丝状藻丝细胞大得多(王素娟,1991),这是发育在量上的表现。而孢子囊枝细胞藻胆体的组成与丝状藻丝也不同,色素组成也有差别,前者藻红素最多,后者则是藻蓝素为主¹⁾,这是发育的质的表现;不同的温度下,藻丝的发育程度有差别,可能是某些有关发育的酶的活性与培养温度有较严格的对应关系,表现在形态上,即孢子囊枝细胞处于不同的发育阶段。

孢子囊枝对高温的耐受力比丝状藻丝强,这与它们在自然界的适应性有关。丝状藻丝生活在春夏季节,温度不高于 25°C ;孢子囊枝生活在夏季和初秋,温度 $25-27^{\circ}\text{C}$ 开始大

1) 彭国宏,1994,几种海藻的发育和光合作用,博士学位论文。

量形成,所以能忍受较高的温度。

光强与藻丝的光合作用密切相关。适宜的生长温度下,光强越高,光反应为暗反应提供足够的原料,藻丝生长快。适宜发育的温度下,产物的量的积累主要表现在孢子囊枝的形成量上,同一温度的不同光强下,孢子囊枝细胞的发育程度没有明显差别。极端温度下,光强不足以满足光合作用合成的产物大于呼吸作用消耗的物质,藻丝生长不良甚至死亡。不同光强下藻丝的颜色有差别,这是光强影响代谢水平和生长速度导致色素浓度和成份发生了改变引起的,镜检高光下的藻丝比低光下的透明度大,液泡也大。以前的研究亦表明,强光下藻丝生长较快,细胞内含物较贫乏,液泡增大,色素体小;弱光下藻丝生长较慢,细胞内含物饱满,液泡小,色素体较大(王素平等,1983)。

光周期对发育的影响主要是坛紫菜在自然界长期适应的结果。一些研究者用不同种类得出的结果差异很大。由于他们所用材料的自然生长地域的环境条件差别很大,材料对生态因子的长期适应性也不同。在坛紫菜的自然生长地区,坛紫菜丝状藻丝一般在早春(1—2月)就出现,光照时间10.5—11h(平潭县南日岛的纬度约25.5°N,光照时间根据天文年历计算出);孢子囊枝一般在初秋开始形成,光照时间在12—14h之间(刘恬敬等,1981)。刘恬敬等的研究表明,坛紫菜丝状体在光照时间少于14h下都能形成孢子囊枝,12h形成最多,10h次之,长于14h的光照和全光照下也能形成,但出现的时间迟,数量少。本文没有做14h光照组,而且培养时间较短(不超过2个月),所以这一结果可能不明显。本实验结果与Kurogi等(1962),Dring(1967),Rentschler(1967),Kapraun等(1987)的结果一致。但与Iwasaki(1961)的结果差别很大,他在长光照下用甘紫菜作材料得出了复杂的发育途径,可能是由于他对实验材料进行了紫外线预处理的原因;与Waaland(1987)等工作结果不同,他认为光周期对壳孢子囊的形成没有影响。

本研究所用的材料是自由丝状体,实验条件完全由人工控制,不受自然条件的限制,有别于前人的工作(陈国宜,1980;陈国宜等,1984);另外,自由丝状体的生长方式不同于贝壳丝状体,其生长发育条件有一定差别,所以不能简单地套用贝壳丝状体的生长发育条件。

参 考 文 献

- 中国科学院海洋研究所藻类实验生态组、藻类分类形态组, 1978, 条斑紫菜的人工养殖, 科学出版社(北京), 70—71.
- 王素平, 姜红如, 1983, 海洋水产研究, 5: 77—99.
- 王素娟, 1991, 中国经济海藻超微结构研究, 浙江科学技术出版社(杭州), 144—146.
- 刘恬敬等, 1981, 海洋水产研究, 3: 1—67.
- 陈国宜, 1980, 水产学报, 4(1): 19—29.
- 陈国宜等, 1984, 水产学报, 8(2): 115—124.
- 郑宝福等, 1979, 海洋与湖沼, 11(4): 362—369.
- 黄海水产研究所紫菜组, 1979, 坛紫菜与条斑紫菜养殖, 农业出版社(北京), 43.
- Chen, L. C-M et al., 1970, *Can. J. Bot.*, 48: 385—389.
- Dring, M. J., 1967, *J. Mar. Bio. Ass. U. K.*, 47: 501—510.
- Iwasaki, H., 1961, *Biol. Bull.*, 12: 173—187.
- Kapraun, D. F., Luster, D. G., 1980, *Bot. Mar.*, 23: 449—450.
- Kapraun, D. F., Lemus, A. J., 1987, *Bot. Mar.*, 30: 483—490.
- Kurogi, M., Sato, 1962, *Bull. Tohoku Reg. Fish. Res. Lab.*, 20: 127—137.
- Provasoli, L., 1968, Proc. U.S. Japan Conf. Hakone, Sept., 1966, *Jap. Soc. Plant Physiol.*, 63—75.
- Rentschler, H-G., 1967, *Planta (Bel.)*, 76: 65—74.
- Waaland, J. R. et al., 1987, *J. Phycol.*, 23: 399—406.

RELATIONSHIP BETWEEN LIGHT, TEMPERATURE AND GROWTH, DEVELOPMENT OF CONCHOCELIS OF *PORPHYRA HAITANENSIS*

Tang Xiaorong, Fei Xiugeng

(Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071)

Abstract This March 1993 to April 1994 study conducted under controlled conditions of temperature (13—33°C), light intensity [5—40 μmol / (m² · s)] and light period (8—24h), used free living conchocelis of *P. haitanensis* from Experimental Marine Biological Laboratory, Chinese Academy of Sciences. Primary conchocelis had 90% filament. Conchocelis was blended to 0.5—1 mm per filament and cultured in nutrients supplemented seawater, under the above conditions and shaken regularly. The state of growth and development was examined weekly. Seawater was precipitated in the dark for more than one month. Improved PES (0.0079 mmol / L KI was added) was added to boiled seawater. Standards of growth were conchocelis state observed under microscope (experiments in different light intensity and temperature) and wet weight of conchocelis (experiments in different light period). Standard of development was sporangial branchlets area percentage of total conchocelis estimated microscopically.

$(5-10) \times 10^{-6} \text{ g / ml GeO}_2$ was used to inhibit diatoms and not added when culture liquid was changed next. Because of the limitation of experimental conditions, the upper limit of light intensity was $40 \mu\text{mol} / (\text{m}^2 \cdot \text{s})$ and not high enough to match that of nature. The results only reflected qualitatively the relationship between light intensity and growth and development. Results were as follows: (1) At $17-21^\circ\text{C}$, conchocelis grew fast and healthily; $25-29^\circ\text{C}$ was suitable for formation of sporangial branchlets; 27°C was optimum. The conchocelis began to die at temperature higher than 29°C . Filaments could not tolerate so high temperature as sporangial branchlets. Conchospore formed at $17-21^\circ\text{C}$. (2) Growth of conchocelis increased with increase of light intensity and light period. (3) In experimental light intensity, sporangial branchlets increased in number with increase of light period not more than 12h and could not form when the light period was more than 12h. (4) Conchocelis turned yellowish from reddish with increase of light intensity; and the conchocelis morpha and color related to growth speed and degree of development at different temperatures. At the temperature range of development, the higher the temperature, the deeper the conchocelis color and the nearer to 1 was the cell's length-to-width ratio. (5) Quantity of conchospore formation had little relation to light intensity at its experimental range. Conclusion: The growth and development of free living conchocelis of *P. haitanensis* are closely related to light and temperature, and so, can be controlled artificially to obtain ideal materials at different developmental stages.

Key words *Porphyra haitanensis* Conchocelis Light Temperature Growth Development