

4-碘苯氧乙酸在海带夏苗培育中的应用*

缪国荣 陈家鑫**

(山东海洋学院)

刘启顺

(山东省荣成县海带育苗场)

提 要

本文报道了4-碘苯氧乙酸(4-IPOAA)在海带夏苗培育中应用的试验结果。4-IPOAA对海带配子体和幼孢子体的生长发育有着明显的影响,高剂量的4-IPOAA(500mg/L)对配子体的发育有明显的抑制作用;解除4-IPOAA对配子体的抑制,配子体在短期内即能正常排卵、排精并受精形成孢子体;低浓度的4-IPOAA(25mg/L以下)能促进幼孢子体的生长。这项试验结果表明,有可能利用4-IPOAA对配子体的抑制特性,来改进目前所采用的低温、自然光条件下培育海带夏苗的工艺。作者建议把海带夏苗培育工艺改为以下步骤:(1)在常温下采苗;(2)在18°C以下水温条件下培育配子体;(3)在配子体成熟前用4-IPOAA处理,使其停止发育,在较高水温(20°C左右)条件下静水培养被抑制的配子体;(4)在计划夏苗出库前40—50天,解除4-IPOAA对配子体的抑制,恢复最适条件下流水培育;(5)肉眼见苗后及时下海暂养。

4-碘苯氧乙酸(4-IPOAA)对海带配子体和幼孢子体的生长发育有明显的影响:(1)高剂量的4-IPOAA(500mg/L)对配子体的发育起抑制作用,使配子体不能产生配子,不能进入孢子体阶段;(2)当解除4-IPOAA对配子体的抑制,使配子体恢复到正常海水培养液中培养后,配子体在短期内就能进行正常的排卵、排精和受精并长出孢子体;(3)低浓度的4-IPOAA(25mg/L以下)能促进幼孢子体的生长^[1]。

本文所介绍的这项试验,是利用4-IPOAA的这些特性来改进当前海带夏苗生产的工艺,以期达到优质、高产和低成本的目的。在低温、自然光条件下培育海带夏苗,是1958年开始应用于生产的,经过二十多年的实践,已经形成了一套比较成熟的生产工艺。但这种夏苗生产工艺,需要消耗大量的电力来降低培育海水的温度(从28°C左右降到10°C以下),成本较高。因此,如何缩短室内低温培育的时间,或适当提高培育水温,一直是改进海带夏苗生产工艺的一个重要课题。

* 本文承蒙山东海洋学院方宗熙教授、张定民副教授,上海水产学院王素娟副教授审阅初稿并提出了修改意见,特此致谢。

** 陈家鑫同志现在黄海水产研究所工作。

材 料 和 方 法

1979年和1980年,在青岛进行了二次小型实验,配子体的培养和处理是在小低温室内进行的。1981年又在山东省荣成县海带育苗场进行了生产性试验。

1979年6月初,我们在山东海洋学院海水养殖试验场,从大面积养殖的海带中挑选了10棵色浓、体壮、叶片上已大面积形成孢子囊群的个体做种海带。然后按夏苗生产的常规方法把种海带再挂到养殖筏上促熟。到6月26日,叶片表面出现“脱皮”,孢子囊已大批成熟时,立即进行阴干刺激采苗。附着基是经过消毒处理的玻片。附着密度约为300个/(8×15)视野游孢子。然后将附有孢子的玻片移入消毒处理过的海水培养液中培养。培养液中加入有4ppm的 NO_3^--N 和0.4ppm的 $\text{PO}_4^{3-}-\text{P}$ 。培养光照强度是 $1500 \pm 200\text{Lux}$,水温是 $15 \pm 2^\circ\text{C}$ 。10天后,配子体已长到能明显区分雌雄,即将进入排精、排卵期。此时,将附有配子体的玻片分为两组:一组是对照组,仍然在原培养条件下继续培养;另一组是试验组,将其移入含有500mg/L的4-IPOAA的海水培养液中培养。二组的培养条件(光照强度、光照时间、水温等)均相同。每7—10天换一次培养液。换培养液时,试验组仍加入同一浓度的4-IPOAA。60天后,对照组已长出0.5cm左右长度的幼苗,而试验组仍然停留在配子体阶段。此时,用毛笔将配子体从玻片上刷下,疏散稀释,使其重新附着在20×30cm的棕绳育苗器上,附着密度为8—10个/(8×15)视野。附着两天后,将育苗器移入正常海水中培养。培养条件同前。在室内培育到见苗后,移到海上暂养。1980年用同样方法进行了重复试验。

1981年又进行了生产对比性试验,于7月24日采苗,直接用大生产中的孢子水进行附着。试验的附着基,一种是玻璃板,另一种是棕绳育苗器。采苗后,分别置于水族箱内静水培养。水族箱放在流水的育苗池中,以保持低温($9-10^\circ\text{C}$)。培养10天后,分别用500mg/L的4-IPOAA处理,配子体立即进入被抑制状态停止生长发育。附着在玻璃板上的配子体,继续在 $9-10^\circ\text{C}$ 水温的水族箱中培育。附着在棕绳育苗器上的配子体分成三组,每组二个育苗器,一组置于室温($20-26^\circ\text{C}$)下培养,一组置于育苗间在室温下培养($14-17^\circ\text{C}$),另一组置于育苗生产时的水温($9-10^\circ\text{C}$)条件下培养。到9月2日同时解除4-IPOAA对配子体的抑制,将其恢复到正常培养液中培养。附着在玻片上的配子体,同时用毛笔将其刷下,使其重新附着在棕绳育苗器上。其它组培养条件与生产的相同,并以大生产的苗做对照。此时的培育水温均是 $5-7^\circ\text{C}$ 。

• 结 果

1979—1981年的三年试验,我们取得了下列结果:

1. 不用4-IPOAA处理的对照组,即一直在正常海水中培养的海带幼体,不管是在青岛的实验室条件下,还是在荣成育苗场的生产条件下,配子体的生长发育都很正常,采苗后半个月左右就排卵、排精和受精,30—45天后即可肉眼见苗。

2. 用500mg/L的4-IPOAA处理的配子体,停止生长发育,长期处于被抑制状态,

不能形成配子。在培育期间,我们每隔 10 天进行一次镜检,在被 4-IPOAA 抑制状态下,没有发现排卵、排精的配子体,也没有发现幼孢子体。这说明 500mg/L 的 4-IPOAA 对海带配子体的抑制是完全有效的。在这种抑制状况下,配子体虽然不生长发育,但其形态和色泽均正常,未出现死亡现象。

3. 在解除 4-IPOAA 对配子体的抑制,将配子体移入正常海水中,在水温 10°C 以下条件下培养后,配子体很快发育,产生配子,并能正常排卵、排精和受精,最后长出幼孢子体。表 1 是 1979 年的实验结果,是在 10 月 5 日恢复到正常海水培育之后的第 7、10、15 和 30 天的幼孢子体的形成率(随机计算 200 个个体中幼孢子体的百分率)。从表 1 可以看出:恢复到正常海水中培养 10 天后,就有 42% 的配子体转化为幼孢子体;30 天内,孢子体的形成率达到了 95%。在 1981 年的实验中,配子体经 4-IPOAA 处理 40 天,再恢复到正常条件下培养后,配子体也同样能排卵、排精和受精。根据上述结果,我们认为,用 500mg/L 的 4-IPOAA 对海带配子体,经 40—60 天的处理,不会对其有性生殖过程产生不良影响。

表 1 恢复正常培养后(10°C左右)幼孢子体的形成率(%)*

恢复正常海水培养后的天数	7	10	15	30
孢子体的平均形成率(%)	12(3.0)	42(5.3)	77(6.1)	95(3.4)

* 表中值为三组的平均数,每组观察 $N = 200$,括号内为标准差

4. 1979 和 1980 年两次实验的最后出苗率都达到了夏苗生产标准(平均每厘米棕绳上为 8 棵苗)。重新附着在棕绳育苗器上的配子体,从 9 月 2 日到 10 月 15 日,经过室内 45 天的静水培育,肉眼就能见苗。到 10 月 25 日当自然水温下降到 20°C 以下时,将试验苗帘移到海上,挂在海带架上暂养。暂养 15 天后,较大苗的长度就达到了 1 厘米。表 2 是这两年实验的最后出苗数。从表 2 可以看出,1979 年的出苗率为平均每厘米棕绳出苗 158 棵,其中体长 1 厘米以上的 17 棵。1980 年的实验结果虽然比 1979 年稍差,每厘米棕绳只出苗 133 棵,但体长 1 厘米以上的苗数相差不大。这两年的出苗率都达到了夏苗生产的出库标准。以山东的出苗标准为例,在分苗时每厘米苗绳出苗 8 棵即为一类产品,我们实验的出苗率完全能达到这个标准。

表 2 平均每厘米棕绳的出苗数(棵)

年 份	1.5cm以上	1.0—1.5cm	0.5—1.0cm	0.5cm以下至肉眼可见	合 计
1979	3	14	37	104	158
1980	4	11	25	93	133

在进行出苗率统计时,我们对幼苗的形态进行了镜检。同用常规方法所培育的幼苗比较,在形态上没有发现差异,分苗后长出的大孢子体也未发现有任何变异。这说明,用 500mg/L 的 4-IPOAA 长时间处理配子体,不会产生不良影响,使用是安全的。

5. 1981 年在生产条件下试验的结果见表 3。其中的出苗率是 10 月 15 日夏苗出库时统计的结果。从表 3 可以看出,1981 年的试验结果,比 1979 和 1980 年的差,比当年的对照组也差。但我们认为 1981 年的实验结果是有价值的,以出苗率最低的室温组(20—

26°C)来说,出岸时的可见苗数虽然只有5棵/厘米,但它证明,用4-IPOAA处理配子体在26°C以下的室温条件下保存一个月后,解除4-IPOAA的抑制恢复到正常条件下(10°C)培养,配子体仍能很快地进入发育阶段,能正常地排卵、排精和受精,并长出正常的幼孢子体。

表3 1981年不同温度条件下用4-IPOAA处理后的结果

组别	项目	采苗日期	4-IPOAA处理日期	恢复正常培养日期及正常培养水温	肉眼见苗日期	每厘米棕绳出苗棵数*
棕绳育苗器	室温组(20—26°C)	7月24日	8月8日	9月2日,9—10°C	10月1日	5
	育苗室内室温组(14—17°C)	7月24日	8月8日	9月2日,9—10°C	9月22日	23
	低温组(9—10°C)	7月24日	8月8日	9月2日,9—10°C	9月20日	37
	先附着于玻片上,后重新附着在棕绳上(9—10°C)	7月24日	8月4日	9月2日,9—10°C	9月22日	16
	对照(5—7°C)	7月24日			8月22日	127

* 出苗数系指肉眼可见苗数。

讨 论

1. 三年实验的结果说明:4-IPOAA在高浓度下(500mg/L),能有效地抑制海带配子体的生长发育,配子体既不能生长,也不能发育产生配子。当解除4-IPOAA的抑制后,配子体能迅速的产生配子,并能正常地发育成为幼孢子体。4-IPOAA的这一作用,为保种提供了手段。从我们的实验可以看出:配子体在高浓度的4-IPOAA处理下,便进入休眠状态,从而便可以长期保存。

2. 1981年的试验结果之所以比前两年的差,是由于一直在静水条件下培养和在见苗后未下海暂养所造成的结果。前两年在实验室内虽然也是静水培养,但见苗后我们移到海上暂养了一段时间,自然海区条件就比静水条件好,因而最后出苗数多。

3. 我国目前海带夏苗培育方法的主要特点是:低温、自然光和流水培育。对培育海水的降温,是夏苗生产的最大一项开支,一个年产4亿株苗的育苗场,一天的降温费就超过千元。如果象南方一些育苗场采用大水量、大流量法育苗,其降温费更高。因此,各育苗场都要求缩短室内低温培育的时间,或提高培育水温,以降低生产成本。如山东省的几个育苗场,近年来采取推迟选种、推迟采苗等措施,使室内低温培育的时间缩短20天左右。福建采用培育度夏苗的办法(即在室内低温培育种海带和育苗),来解决室内培育时间过长的问題。

海带夏苗的室内培育是一种集约式的生物培养方式。这种方式在海带夏苗生产上,关键是低温条件。低温加上较弱的光照,可以抑制杂藻的繁生,防止某些病害的发生,并控制海带幼体的生长,以待自然水温的下降。所以在育苗生产中给予幼体的低温并不是其生长发育所需要的最适温。因为需要控制幼体的生长,实际生产所给予的温度比海带幼体生长发育所需要的最适水温要低得多。如果生产上能给予幼体最适培养条件,那么从采孢子到肉眼见苗,大体只要45天左右时间。但如果在7月中、下旬采苗后,就给幼体

最适条件进行培养,那么到8月底至9月中,幼苗就能长到出库标准。但是,这时正是自然水温的高温期。自然水温要下降到幼苗能出库所要求的 20°C 以下,在北方海区最早也要到10月中,在南方海带则要到11月下旬至12月上旬。幼苗既然不能出库下海暂养,室内培育条件又满足不了幼苗生长的需要,就可能发生烂苗。所以在现行的海带夏苗培育方法中,不得不用低温控制幼体的生长(当然还有适当的低光照)。

4. 我们三年的试验结果证明:用4-IPOAA处理配子体,使其处于被抑制状态下,在较高水温条件下度过自然水温的高温期,然后在适当时候解除4-IPOAA对配子体的抑制,使配子体迅速恢复正常生长发育,并给予最适培育条件,则能达到出库标准。根据我们试验作初步估算,在北方海区,可把夏苗室内低温培育时间缩短一个月左右。在南方可用这方法替代度夏苗的培育,或者直接由北方运输浓缩保存的被抑制的配子体进行重新附着来育苗,这样就可把低温育苗时间缩短到55天左右。

5. 根据上述实验和讨论,我们可把夏苗培育的工艺改成下述几步:

- (1) 在常温下采苗;
- (2) 在 18°C 以下水温条件下培育配子体;
- (3) 在配子体成熟前,用4-IPOAA处理,使其停止生长发育,并在较高水温(20°C 左右)条件下静水培养被抑制的配子体;
- (4) 在计划夏苗出库前40—50天,解除4-IPOAA对配子体的抑制,恢复到最适条件下流水培育;
- (5) 肉眼见苗后及时下海暂养。

6. 我们的实验所用的4-IPOAA是人工合成的一种苯氧类的植物生长激素。许多的研究说明^[2]:苯氧类及其它植物激素,对藻类和对高等植物一样,在高浓度下能抑制其生长发育,在低浓度下则有促进生长发育的作用。因此,用苯氧类及其它植物激素来替代4-IPOAA处理海带配子体也会取得相同的结果。另外,根据一些研究者的报告^[4,5,6]:用 CuSO_4 、低光照和高水温等方法,都有抑制海带配子体生长发育的作用,都可以考虑用来改进夏苗的生产工艺。但我们实验所选用的4-IPOAA有一个特性是其它激素或理化因子还未发现的,这就是4-IPOAA能有效地抑制硅藻的生长,而硅藻正是夏苗生产中的一大敌害。这也是我们选用4-IPOAA做实验的一个原因。

参 考 文 献

- [1] 陈家鑫、缪国荣、方宗熙,1981。4-碘苯氧乙酸对海带配子体和幼孢子体生长发育作用的研究。海洋学报,3(4):610—616。
- [2] 曾呈奎、吴超元主编,1962。海带养殖学,84—72。科学出版社。
- [3] 中国科学院海洋研究所海藻遗传育种组,1978。海带室内保种的研究。海洋科学,2:35—36。
- [4] 缪国荣,1982。海带配子体的室内保存方法。海洋渔业,4(1):19—20。
- [5] Yabu, H., 1964. Early development of several species of Laminariales in Hokkaido. Mem. Fac. Fish. Hokkaido Univ. 12: 1—72.
- [6] Provasoli, L. and Carlucci, A. F., 1974. Vitamins and growth regulators. Algal Physiology and Biochemistry, ed. by W. D. P. Stewart, 741—787.

A STUDY ON THE APPLICATION OF 4-IPOAA TO CULTURE THE SUMMER SEEDLINGS OF *LAMINARIA*

Miao Guorong Chen Jiaying

(Shandong College of Oceanology)

Liu Qishun

(Rongcheng Sea-weed Rearing Station of Shandong Province)

Abstract

This paper is based on the result of preliminary study on the application of 4-IPOAA to culture summer seedlings of *Laminaria*, for the purpose of improving the technique of summer seedlings. The experiments were carried out three times in 1979—1981.

The common method, in rearing the summer seedlings is usually by lowering temperatures, natural sunlight exposure and running seawater in a green house, from June to October the natural temperature of the seawater are not suitable for the growth of *Laminaria*, the above method would take about 80—150 days for the rearing of summer seedlings in green house. It is also rather expensive.

This study was made to devise a new method in improving the technique. The main problem in the new method was to find a suitable concentration of 4-IPOAA in order to inhibit the development of the gametophytes for a certain period. The result of the experiment are summarized in following steps:

1. to collect zoospores under ordinary temperature;
2. to rear gametophytes under lower temperature for several days;
3. to treat gametophytes with 4-IPOAA before the formation of gametes;
4. to stop the treatment with 4-IPOAA and culture gametophytes under optimal conditions;
5. to culture seedlings about 50 days.

The seedlings thus reared was found to be very healthy and grow normally. A large scale experiment will be carried out to find the possibility of using this method for cultivation industry.