

海藻生物技术的现状和前景

吴 融

(浙江省海洋水产养殖研究所,温州 325000)

近十年来对海藻生物技术的研究有了一定的进展。通过细胞培养或体细胞的营养繁殖,解决某些藻类种苗是一条可行途径。已有的资料表明,种间的融合细胞很难再生为完整的藻体。有关海藻的基因工程,现在正在寻求一种能作为藻类基因转移的载体,并试图通过选择获得一种营养缺陷型或耐药的突变型,这有助于藻类上宿主——载体系的建立。

I. 组织和细胞培养

陈钦明等^[1]首先在角叉菜上进行髓部组织培养的研究,发现髓部组织也能再生发育为完整的藻体。同年,嵯峨直恒等^[2]在狭叶海带上进行髓部组织离体培养的研究,从形成的类愈伤组织上分离的单细胞也能发育为完整的海带。据报道,在海藻上已进行过组织和细胞培养研究的有 23 个属 35 个物种。

关于获得海藻无菌品系的方法,嵯峨直恒介绍的是一步选择法 (One-step selection method),其操作过程见图 1。

值得注意的,最近国内外都用酶法进行紫菜营养细胞分离和培养的研究,发现部分细胞能再生发育为正常的叶状体^{1),[2,4-7,12]}。

关于用无性繁殖的方法来解决海藻苗种大量生产的问题,Waaland^[6]曾用切下杉藻的碎片,经筛绢过滤后,再捻在多股尼龙绳上,也使之长出藻体。达种无性繁殖方法^[6]具有以下优点: 1)不用常规的配子或孢子繁殖; 2)可维持藻体的原染色体数目; 3)在遗传上是一致的; 4)易于保持原来品种的优良性; 5)只要有营养组织就可进行繁殖; 6)有利于进行直接和快速的

1) 卢澄清等,紫菜叶状体营养细胞的研究 I. 条斑紫菜营养细胞分离,培养和长成小紫菜的观察. 1979 年第一届藻类学术讨论会论文集. 45~55。

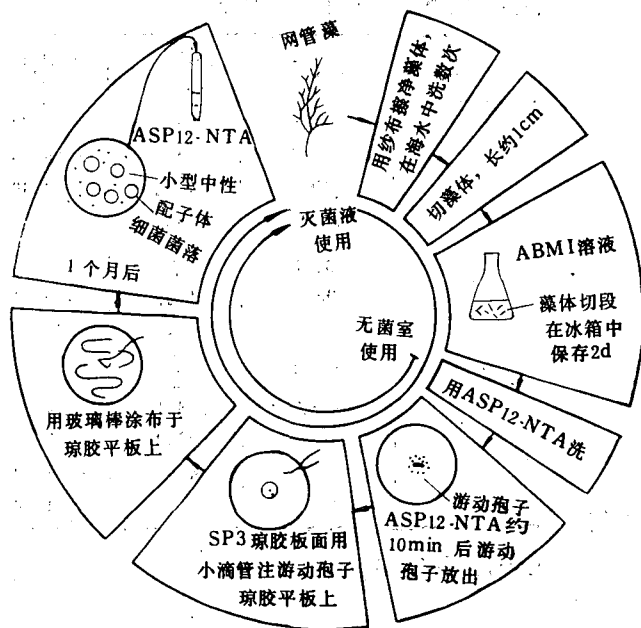


图1 一步选择法程序

选种。

嵯峨直恒^[9]也曾提出, 如果先利用海藻切段的组织培养获得的愈伤组织, 再由愈伤组织分离的单细胞, 通过培养可获得大量拷贝的无性繁殖藻体, 这对从一株具有特定优良性状的藻体获得所需的大量种苗是有意义的。

II. 海带单倍体克隆的建立和利用

按照孟德尔遗传学, 多细胞植物和动物经过减数分裂后所产生的孢子或配子都是单倍体, 单倍体细胞的染色体数目如果加倍为二倍体的个体, 这就是纯种。因此单倍体在育种上有其价值。

已知海藻的孢子体是雌雄同体的, 所产生的孢子萌发为雌孢子体、雄配子体各有一半。据方宗熙等(1978)报道, 分离培养海带雌配子体能通过染色体自然加倍成为二倍体($2n = 44$), 有趣的是这些孤雌生殖所长的孢子体全部是雌性的, 即所放散的孢子全部萌发生长为雌配子体。后来, 在裙带菜上也发现有此孤雌生殖的现象。这一发现, 不但在理论上说明海带的性别决定也有它的遗传基础, 更重要的是: 1) 通

过染色体加倍产生的是纯种, 再通过选择可获得我们所需的新品种; 2) 为进行海带品种的杂交研究提供了方便。这显示了单倍体育种也是一种切实可行的海带育种方法。

III. 原生质体和细胞融合

已知构成海藻细胞壁的多糖类与高等植物的不同, 褐藻上含有褐藻胶, 墨角藻多糖, 红藻上含有木聚糖、甘露聚糖、紫菜聚糖、角叉菜多糖。因此仅用纤维素酶和果胶酶来分解褐藻和红藻的细胞壁是困难的。

目前所用的酶一般是从海胆、海螺、鲍等的肝脏中提取的复合酶^[1,10]。Millner 等(1979)首先从绿藻肠浒苔上得到分离的原生质体。到目前为

表1 获得原生质体的海藻

| 物 | 种 |
|----------------------------------|---------|
| 红藻 | |
| <i>Porphyra suborbiculata</i> | (圆紫菜) |
| <i>P. perforata</i> | (孔紫菜) |
| <i>P. yenoensis</i> | (条斑紫菜) |
| <i>P. haitanensis</i> | (坛紫菜) |
| <i>Gracilaria tikvahiae</i> | (江蓠) |
| <i>G. lemaneiformis</i> | (龙须菜) |
| 褐藻 | |
| <i>Limnaria japonica</i> | (海带) |
| <i>Macrocystis pyrifera</i> | (巨藻) |
| <i>Sargassum muticum</i> | (马尾藻) |
| <i>Dictyota dichotoma</i> | (网地藻) |
| <i>Dictyopterus undulata</i> | (波状网翼藻) |
| <i>D. prolifera</i> | (育叶网翼藻) |
| <i>Undaria pinnatifida</i> | (裙带菜) |
| 绿藻 | |
| <i>Enteromorpha intestinalis</i> | (肠浒苔) |
| <i>E. linza</i> | (长浒苔) |
| <i>Uva pertusa</i> | (孔石莼) |
| <i>U. linza</i> | (长石莼) |
| <i>Monostroma angicava</i> | (袋礁膜) |
| <i>Monostroma zostericola</i> | (小礁膜) |
| <i>Acetabularia cliftonii</i> | (伞藻) |
| <i>Bryopsis plumosa</i> | (羽藻) |
| <i>Boergesenia forbesii</i> | (香蕉藻) |
| <i>Monostroma nitidum</i> | (礁膜) |

止, 从海藻上获得的原生质体已有 14 个属 23 个物种(表 1)。

关于获得的原生质体是否能再生为正常的藻体, 据现有的资料, 除紫菜外, 鹧鸪菜、孔石莼也能再生为正常的藻体。

现在有待研究的是进一步用红外光谱学和浊度测定法了解构成海藻细胞壁的化学组成, 提高海藻原生质体存活率的分离和培养方法的改进, 以使更多的海藻能产生具有再生能力的原生质体, 这就需有分解细胞壁的新型混合液, 并积累海藻的渗透调节, 质膜的稳定性和细胞壁长成的知识。最近, Polne 等^[14,15]提出可利用海藻上的致病细菌、真菌、变形虫分解一些特殊的细胞壁组成。

已知在高等植物上, 用化学的 NaNO_3 法、高 pH-高 Ca 法、PEG 法、PVA 法和 Dextran 法, 或用物理的电融合法都可进行细胞融合。在海藻上利用原生质体进行细胞融合研究的有嵯峨直恒等 (1986) 在肠浒苔上用电融合的方法。Cheney^[13] 在江蓠上见有自发的原生质体融合。载继勋等^[2]报道, 先从条斑紫菜和坛紫菜上获得不同颜色的原生质体, 然后用 PEG 法进行融合试验, 发现其中有两个融合细胞经过一星期后长成新的细胞壁, 并进行细胞分裂, 两个月后形成一团愈伤组织, 但目前还未得到分化的藻体。通过异种间的原生质体的融合, 得到的融合细胞有异核体和同核体两种。但并不是所有的体细胞杂种都具有我们所需的性状组合, 因此要有一种筛选具有所需性状组合杂种的方法。(图 2)。借助于单克隆抗体有助于筛选, 但在海藻上, 只有个别的研究使用单克隆抗体。

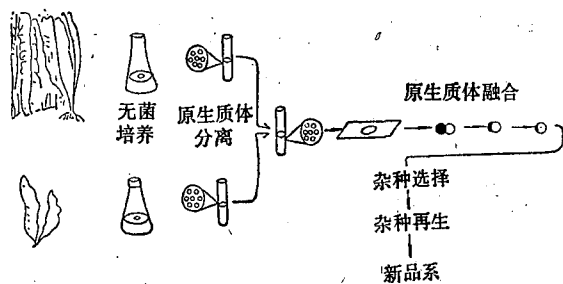


图 2 体细胞杂交对海藻进行遗传改良的程序

IV. 基因工程

在海藻上进行基因工程的研究, 首先要获得没有细胞壁的原生质体, 这样才有通过载体将外来的基因进入细胞体内发生性状改变的可能。目前还未见在海藻上进行基因工程研究的报道。对转化作用研究成功的还只有 1 种单细胞的淡水衣藻 (*Chlamydomonas reinhardtii*) 上的报道, 用的是酵母的质粒 $p\text{Ye}arg^+$ 作为载体 (Rochaix 等)。

开展海藻基因工程的研究, 要求掌握海藻的 DNA 克隆技术; 通过诱导处理获得具有营养缺陷型或耐药的突变型作为转化作用研究的宿主; 找到一种适宜作为海藻基因作用的载体; 载体的导入法; 性状转换细胞的筛选法等。

V. 结语

随着对生物技术的深入研究, 作者认为在海藻养殖上可以: 1) 通过对细胞的培养, 从改进培养基的配方或在培养基中加入一些能促进细胞分裂和分化的物质, 可望用这种 Micro-propagation 的方法获得大量相同的具有优良性状的藻体; 2) 通过对海藻细胞壁的成分和分子结构的研究, 以期找到更多的分解特定多糖的酶的细菌或真菌; 3) 通过对原生质体的诱变处理或体细胞杂交产生对真菌有抗性的品系, 如由真菌 (*Pythium*) 引起紫菜的红点病; 4) 研究原生质体融合产生的种间杂种细胞, 是否能再生发育为完整的藻体; 5) 据报道, 通过石花菜和一种江蓠愈伤组织的培养能产生琼胶, 100g 干的愈伤组织能生产 75g 琼胶, 但江蓠果孢子体和四分孢子体的琼胶含量只有 29% 和 26% (Misawa, 1977)。作者认为用这种愈伤组织培养的方法来生产琼胶是否有经济效益是值得探讨的, 但通过海藻的组织培养产过有用的药物是人们感兴趣的; 6) 海藻生物技术的发展, 有待于对组织和细胞的培养, 原生质体的分离, 细胞融合, 愈伤组织形成, 再生, 基础分子生物学和 DNA 重组技术的进一步研究。

参考文献

- [1] 唐延林, 1982. 紫菜营养细胞和原生质体的分离和培养. 山东海洋学院学报 12(4): 37~50.
- [2] 载继勋等, 1988. 坛紫菜原生质体的发育研究. 遗传学报 15(4): 299~302.
- [3] 载继勋等, 1990. 紫菜原生质体的纯系培育、诱变处理和种间细胞融合的研究. 海洋与湖沼 21(3): 293~296.
- [4] 王素娟等, 1986. 坛紫菜营养细胞和原生质体培养的研究 I. 海洋与湖沼 17(3): 217~221.
- [5] 王素娟等, 1987. 紫菜营养细胞和原生质体培养研究 II. 直接育苗下海养殖实验研究. 海洋科学 11(1): 1~7.
- [6] 陈菊琦, 1989. 坛紫菜不同部位营养细胞分离培养的比较研究. 厦门水产学院学报 11(1): 1~9.
- [7] 严兴洪、王素娟, 1989. 紫菜体细胞发育与分化的研究. 海洋科学 13(6): 28~32.
- [8] 嵯峨直恒, 1987. 藻类のパイオテクノロジー. 遗传 41(4): 85~71.
- [9] 嵯峨直恒, 1988. 海藻の生物学. 遗传 42(7): 23~27
- [10] 山口邦子等, 1989. 海产动物内臓の海藻細胞壁溶解酵素. θ 水誌 55(1): 105~110.
- [11] Chen, L. and Taylor, A., 1978. Medullary tissue culture of the red alga *Chondrus crispus*. *Can. J. Bot.* 56: 883-886.
- [12] Chen, L. C.-M., 1986. Cell development of *Porphyra miniata* (Rhodophyceae) under axenic culture. *Bot. Mar.* 29: 435-439.
- [13] Cheney, D. P. E., N. Saga, and J. Van der Meer., 1986. Protoplast isolation and cell division in the agar-producing seaweed *gracilaria* (Rhodophyta). *J. Phycol.* 22: 238-243.
- [14] Polne-Fuller, M. et al., 1987. Calluses and callus-like growth in seaweeds: Induction and culture (Abstract). *ASFA Aquaculture Abstracts* 7(2): 1943-3Q7.
- [15] Polne-Fuller, M. et al., 1987. Microorganisms as digestors of seaweed cell walls (abstract). *ASFA Aquaculture Abstracts*, 7(2): 1927~3Q7.
- [16] Waaland, J. R. et al., 1983. Cloning marine algae for mericulture. *J. World Maricul. Soc.* 14: 404--414.