

海带丝状雌配子体孤雌生殖的初步研究*

白逢伟¹ 秦松² 李永祺¹

(¹ 青岛海洋大学 266003)

(² 中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

提要 比较了两种温度、两种光照强度、4种培养基对海带丝状雌配子体孤雌生殖的影响,实验结果表明,温度为 10.0 ± 0.5 °C、光照强度为3 000 lx、含铁氮磷营养海水培养基是适宜孤雌生殖的条件。在温度、光照强度和培养基3种因素中,培养基组成是影响孤雌生殖速度和效率的最重要因素;通过比较找到了3个孤雌生殖速度较快的丝状雌配子体品系。

关键词 海带, 雌配子体, 孤雌生殖

* 1978年方宗熙等报道了海带的孤雌生殖现象,即海带的雌配子体可以在适宜的诱导条件下发育成孢子体。但当外部条件不适宜时,雌配子体不能孤雌生殖形成孢子体,而细胞却不断分裂,形成多细胞的营养繁殖系(丝状体)。海带丝状雌配子体在外部条件适宜时又可再生为孢子体。丝状雌配子体寿命长,营养生长同步且速度快,在实验室中可长期保存,可用作基础研究的材料^[1],秦松等报道海带雌配子体可以作为海带基因工程的受体,利用其孤雌生殖的特性获得转基因植株^[2]。本文的目的是了解影响丝状雌配子体孤雌生殖的外部条件:温度、光照强度、培养基等,找到孤雌生殖速率快的品系。

1 材料和方法

1.1 材料与培养方法

丝状雌配子体品系002, 003, 018, 019, 026, 027, 029, 030, 033,由中国科学院海洋研究所蒋本禹老师提供;使用4种培养基,其组成为,培养基A:过滤后煮沸海水加 NaNO_3 0.286 mmol, KH_2PO_4 0.015 mmol/L。培养基B:上述海水加 NaNO_3 0.572 mmol, KH_2PO_4 0.029 mmol/L。培养基C:取1g(湿重)026品系丝状雄配子体,放入-70 °C冷冻,取出立即研磨,加10 ml上述海水,过滤后储存在-20 °C备用。使用时,在每30 ml培养基A中加入240 μl 该提取物。培养基D:上述海水加 NaNO_3 0.286 mmol, KH_2PO_4 0.015 mmol/L,柠檬酸铁 0.002 mmol/L, VB_{12} 0.5 $\mu\text{g/L}$ 。

实验在温度为 $T_1 = 10.0 \pm 0.5$ °C和 $T_2 = 12.0 \pm 0.5$ °C,光暗比为10 h:14 h的两个光照培养箱中进行。

1.2 孤雌生殖条件的研究

取002品系海带丝状体,用两灭菌载玻片压磨,使之散开,放入直径9 cm灭菌培养皿中,分

* 国家攀登计划B(PDB6-4-1)资助项目。
收稿日期:1998-08-14

别加入 4 种培养基。

组别编号为 $Tn-Ln-Nx$, 其中, T 为温度; L 为光照强度, L_1 为 3 000 lx, L_2 为 1 500 lx; N 为培养基; n 分别为 1, 2; x 分别为 A, B, C, D。共 16 组。

从培养第 17 天始, 每隔两天统计一次。统计时在显微镜(16× 4)视野下, 随机取 3 个视野, 统计卵细胞数、孢子体数、丝状体数。

排卵比率= (卵细胞数+ 孢子体数)/丝状体数

孢子体生成比率= 孢子体数/丝状体数

1.3 品系之间差异的比较

采用培养基 D, 温度为 $T_1(10.0 \pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C})$, 光照强度约为 2 000 lx 条件下, 比较了上述 9 个品系的排卵比率。每个品系设 3 个平行组, 从培养第 10 天起, 每隔一天统计一次。

2 实验结果

2.1 不同培养条件下丝状雌配子体的排卵效率和孤雌再生孢子体的效率

培养第 17 天, N_A, N_B, N_C 各组丝状雌配子体排卵比率均为零; N_D 中的排卵比率, $T_1-L_2-N_D$ 组最高, 为 0.46; $T_2-L_2-N_D$ 组最低, 为 0.18。诱导至第 35 天时, N_A, N_B, N_C 各组仍无排卵现象, N_D 各组中 $T_1-L_1-N_D$ 组丝状体排卵率最高, 达 0.72, $T_2-L_2-N_D$ 组排卵率最低, 为 0.66。从图 1 可以看出, N_D 各组不论在光照强度 L_1 , 还是光照强度 L_2 , 温度为 T_1 的排卵率均大于 T_2 ; 在 T_2 各组中, 光照强度为 L_1 时的排卵率大于 L_2 ; 而在 T_1 组中, 光照强度对丝状雌配子体排卵的影响无明显差别。

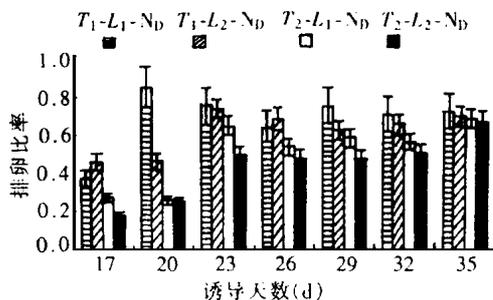


图 1 培养基 D 各组排卵比率

Fig. 1 Ratio of ovulated cells in medium D

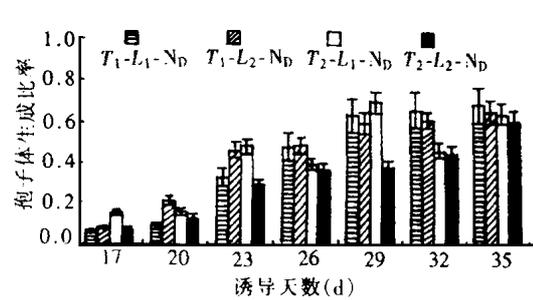


图 2 培养基 D 中各组孢子体生成率

Fig. 2 Ratio of generated sporophytes in medium D

从图 2 可以看出, 在 N_D 各组中, 温度为 T_2 时, 光照强度 L_1 的孢子体生成率大于 L_2 ; 而在温度为 T_1 时, 光照强度对孢子体生成率的影响则不明显。

2.2 不同品系丝状雌配子体孤雌生殖速率的比较

从图 3 可以看出, 诱导至第 22 天时, 品系 029 的排卵比率最高, 达 0.73, 其次是 003, 再次为 030, 分别为 0.64 和 0.50。

2.3 培养基对丝状雌配子体色素和形态的影响

培养基对丝状雌配子体的色素和形态影响较大。用培养基 D 培养 1 周后, 无论是肉眼还是用显微镜观察, 都可以看出细胞色素明显加深, 丝状体变短、变粗, 细胞数量增殖减慢或停止。而其他 3 种培养基中的丝状雌配子体相对于培养基 D 中的有一个共同特点: 细胞色素浅, 细胞分裂速度快, 丝状体细长。但 3 组丝状体色素之间也有细微差别, 培养基 C 中丝状体色素深于培养

基 B 中的丝状体, 培养基 A 中的丝状体色素最淡。

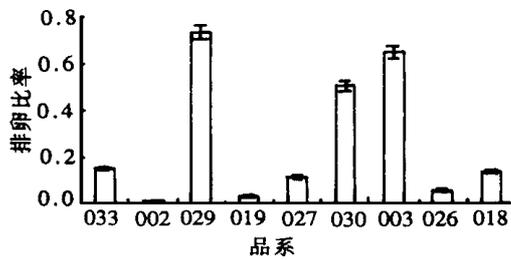


图3 诱导第22天时9个品系的排卵比率

Fig. 3 Ratio of ovulated cells after 22 day's induction in 9 female gametophyte strains

3 讨论

通过比较两种温度、两种光照强度和4种培养基对丝状雌配子体孤雌生殖的影响可以看出, N_D 各组中孢子体生成的比率至少为0.60; 而在其他培养基中, 不论温度是 T_1 还是 T_2 , 也不论光强是 L_1 还是 L_2 , 在实验35 d时仍未观察到排卵现象, 只进行营养增殖。这说明, 在温度、光照强度、培养基这些影响海带雌配子体孤雌生殖的外界条件中, 培养基

成分是影响最大因素。曾呈奎等1962年认为, 海带雌配子体在正常光照条件下12~15 d就可以发育为孢子体, 这可能是由于单细胞雌配子体与多细胞的丝状体孤雌生殖所要求的环境条件不同。与其他3种培养基成分相比较, 培养基D除了含有N, P, K等营养盐之外, 还含有柠檬酸铁和 VB_{12} 两种成分, 这两种成分究竟是哪一种成分促进了孤雌生殖? 还是两种成分协同的作用? 有待于进一步研究。

据观察, 丝状雌配子体排卵前, 要经过细胞分裂减慢、色素加深、内含物向顶端集中这一过程。培养基C中含有雄配子体提取物, 其丝状雌配子体色素比培养基B和培养基A中的稍深, 这说明雄配子体提取物有一定的促进孤雌生殖的作用, 可能是加入的量太少而效果不明显, 有待深入研究。

曾呈奎等1957, 1962年认为, $10\text{ }^\circ\text{C}$ 是配子体发育的最适温度。温度升高时, 有一部分雌配子体形成丝状体。从作者的实验来看, $10.0\pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$ 比 $12.0\pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$ 更适于丝状雌配子体的孤雌生殖。在 $12.0\pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$ 时, 光强为 $3\ 000\text{ lx}$ 的丝状雌配子体排卵率大于光强为 $1\ 500\text{ lx}$ 的排卵率。而在 $10.0\pm 0.5\text{ }^\circ\text{C}$ 时, 光照强度对排卵率影响则无明显规律。

主要参考文献

- 1 秦松等. 海洋与湖沼, 1995, 26(5, 增刊)126~129
- 2 Qin Song *et al.*. In: (B. Morton ed.) The Marine Biology of the South China. Hong Kong: Hong Kong University Press, 1997. 3~11

STUDY ON PARTHENOGENESIS OF FILAMENTOUS GAMETOPHYTES OF *Laminaria japonica* (Phaeophyta)

BAI Feng-wei¹ QIN Song² LI Yong-qi¹

(¹*Ocean University of Qingdao*, 266003)

(²*Institute of Oceanography, Chinese Academy of Science*, 266071)

Received: Aug. 14, 1998

Key Words: *Laminaria japonica*, Filamentous gametophytes, Parthenogenesis

Abstract

In this article, the effect of temperature, illumination intensity and medium on parthenogenesis of nine filamentous female gametophyte strains of *Laminaria japonica* was studied. The result showed that 10.0 ± 0.5 °C, 3 000 lx and Fe containing media are suitable conditions for parthenogenesis. Medium ingredients of media are the most important factor influencing the speed and efficiency of the parthenogenesis. Three effective strains were found.