

秋水仙碱对坛紫菜体细胞苗生长发育的影响

严兴洪 王素娟
(上海水产大学)

收稿日期: 1989 年 1 月 11 日

关键词 秋水仙碱, 坛紫菜, 体细胞, 发育

提要 秋水仙碱能有效地抑制紫菜体细胞的分裂, 并对细胞后代的发育和分化有较大的影响。经秋水仙碱处理之后, 体细胞苗生长变快, 外形呈细长形, 假根发达, 正常苗数量增多。幼苗经秋水仙碱处理后, 生长速度也大大加快。

海藻体细胞和原生质体的培养工作比高等植物要落后得多, 但近几年取得了不少进展^[1,2,6,7]。紫菜是一种经济海藻, 国内外对紫菜体细胞和原生质体的发生发育做了较多的研究^[4,3,8]。我们在摸清坛紫菜体细胞较复杂的发育分化规律之后, 进一步探讨了外界因子对坛紫菜体细胞发育分化的影响。秋水仙碱作为植物多倍体的有效诱变剂, 早在四十年代就被广泛用于高等植物, 并且取得了巨大成就^[5]。但还未见秋水仙碱被用于处理海藻体细胞的报道。我们在研究利用坛紫菜体细胞采苗的时候, 发现坛紫菜体细胞苗由于本身存在着复杂的发育分化途径以及内外因子对它们的影响, 掉苗现象较严重。为此用秋水仙碱处理坛紫菜体细胞和幼苗, 结果证明秋水仙碱对它们的发生、生长、发育等均有较大作用。下面将试验结果报告如下:

I. 材料与方 法

I.1. 材料来源和处理

试验材料是坛紫菜 (*Porphyra haitanensis*), 采自福建省连江水产综合场的养殖架上。种菜有两种, 一种体长为 20~25cm, 另一种体长为 3.0~5.0cm。种菜采集后立即冷藏在一 20℃ 的冰箱内, 使用时提前一周把种菜从冰

箱中取出, 浸泡在自然海水中 (加 N:P = 10:1 10⁻⁶), 在 20℃, 1500lx 下培养, 使藻体恢复, 然后切下所需藻体片段, 用毛笔洗刷干净。藻体上的海水用滤纸吸干, 再加 1.5mol/L 葡萄糖液洗二次, 然后用 2mol/L 的葡萄糖液洗一次。将藻体切成碎片, 投入酶液中酶解。

I.2. 酶、培养基、细胞分离法, 同于王素娟的报告^[2]

I.3. 试验方法

秋水仙碱溶解在比重为 1.025 的 MES 培养液内, 处理细胞的试验分二次进行。每次处理时间为 24h, 然后换入 MES 培养液培养。

第一次试验, 秋水仙碱分别在细胞培养至第 4、5、6 天处理, 每次处理浓度为 0.01, 0.05, 0.2% 三种。

第二次试验, 秋水仙碱在培养的第 4 天处理细胞, 处理浓度为 1.6, 0.8, 0.4, 0.2 及 0.05% 五种。

秋水仙碱处理幼苗的试验也分两次进行。

第一次试验, 试验材料用体长为 20~25cm 的藻体, 取基部 8cm 做不同切段体细胞培养。切段取 0.0~0.2, 0.2~2.0, 2.0~4.0, 4.0~6.0, 6.0~8.0cm 五组。细胞培养至第 8 天, 幼苗已形成, 在 0.2~2.0, 2.0~4.0, 4.0~6.0cm 组中分别加入 0.5, 0.2, 和 0.02% 的秋水仙碱培养

液,处理 48h 后,除去秋水仙碱,换上 MES 培养液。

第二次试验,是用体细胞长成的正常苗作为材料。当幼苗长至 2800~3000 μm 时,取 4 组材料,每组 40 棵小苗,其中的三组分别用 0.4, 0.2, 0.05% 的秋水仙碱处理 72h, 随后除去秋水仙碱,把小苗从培养皿移至烧杯里进行冲气培养,其培养条件为:温度 $20 \pm 1^\circ\text{C}$, 光照强度 2000~3000lx, 光时 12D:12L。

II. 结 果

II.1. 秋水仙碱对体细胞分裂、发育、分化和叶状体生长的影响

坛紫菜体细胞对于秋水仙碱的反应相当敏感。经秋水仙碱处理后的细胞分裂情况如表 1 所示。0.2, 0.05% 二组抑制细胞分裂的作用非常强烈, 0.01% 组对细胞分裂的抑制作用较弱。

表 1 秋水仙碱处理后细胞存活和分裂情况

Tab. 1 Effect of colchicine on the cells survival and split

秋水仙碱浓度(%)	四分细胞(%)	二分细胞(%)	单个细胞(%)	死亡细胞(%)	检查细胞数(个)
0.2	0.9	11.3	61.0	27.0	944
0.05	1.0	8.1	66.6	24.4	1129
0.01	0.9	26.3	44.0	28.8	1006
对照组	5.4	37.3	36.0	21.3	1181

秋水仙碱处理时,细胞分裂受抑制,但除去秋水仙碱后,细胞马上恢复分裂,长成的正常苗大部分呈细长型,假根发达,生长速度比对照组快(见图 1.1)。如图 2 所示,培养至第 62 天,0.2, 0.5, 0.01% 组(第 4 天处理)和对照组的正常苗平均体长分别为 5200, 3800, 3600 和 718 μm , 0.2% 组的体长是对照组的 6 倍多。用 0.2% 的秋水仙碱分别在第 4, 5, 6 天处理细胞,其正常苗平均体长在第 62 天分别为 5200, 2553, 1809 μm , 处理时间越早,正常苗生长越快。用 0.05% 和 0.01% 的秋水仙碱做不同培养时间的处理,也得到类似结果。

秋水仙碱对体细胞的发育分化也有较大影响。如图 3 所示,0.2, 0.05, 0.01% 三个试验组(第 4 天处理)中,检查 110 个 150 倍视野里的正常苗个数分别为 141, 99 和 102 个,对照组只有 21 个。相同浓度的秋水仙碱在不同时间处理,正常苗个数分别为 141, 63, 30 个;第 4, 第 5 天处理作用较明显,第 6 天处理作用较小。

经秋水仙碱处理过的细胞所长成的正常苗往往较细长(见图 1.2)。在第 4 天处理的试验组中,0.2, 0.05, 0.01% 三组的正常苗体长与体宽

之比分别为 6:1, 6:1:1, 7:1; 对照组为 4.2:1。经 0.01% 秋水仙碱处理过的正常苗有的非常细长,长与宽之比达 150:1 (见图 1.3)

II.2 秋水仙碱对幼苗生长的影响

幼苗经秋水仙碱处理后,其生长速度大大加快。培养 7 天的幼苗经秋水仙碱处理后再培养 3 周,苗的生长情况如图 4 所示。经秋水仙碱处理过的正常苗平均体长比对照组长 125~67%, 畸形苗长 200~300%, 在各对照组中,正常苗体长都比畸形苗长,而试验组中,畸形苗体长比正常苗长,见图 4。这说明秋水仙碱对畸形苗的促进生长作用比正常苗大。

平均体长为 2800 μm 的幼苗经秋水仙碱处理后,用冲气法培养 11d, 0.4, 0.2, 0.05% 三组的正常苗平均体长分别是对照组的 1.48, 1.54, 1.92 倍, 0.05% 组生长最快,秋水仙碱促进小苗生长的作用也相当显著(见图 5)。

秋水仙碱对正常苗假根发生的影响如图 6 所示。从图 6 可以看出,试验组的正常苗假根数目都比对照组高,0.05% 和 0.2% 组最多,是对照组的 1.7 倍。另外秋水仙碱处理后使假根呈盘状形的正常苗百分率增加,1.6, 0.8, 0.4,

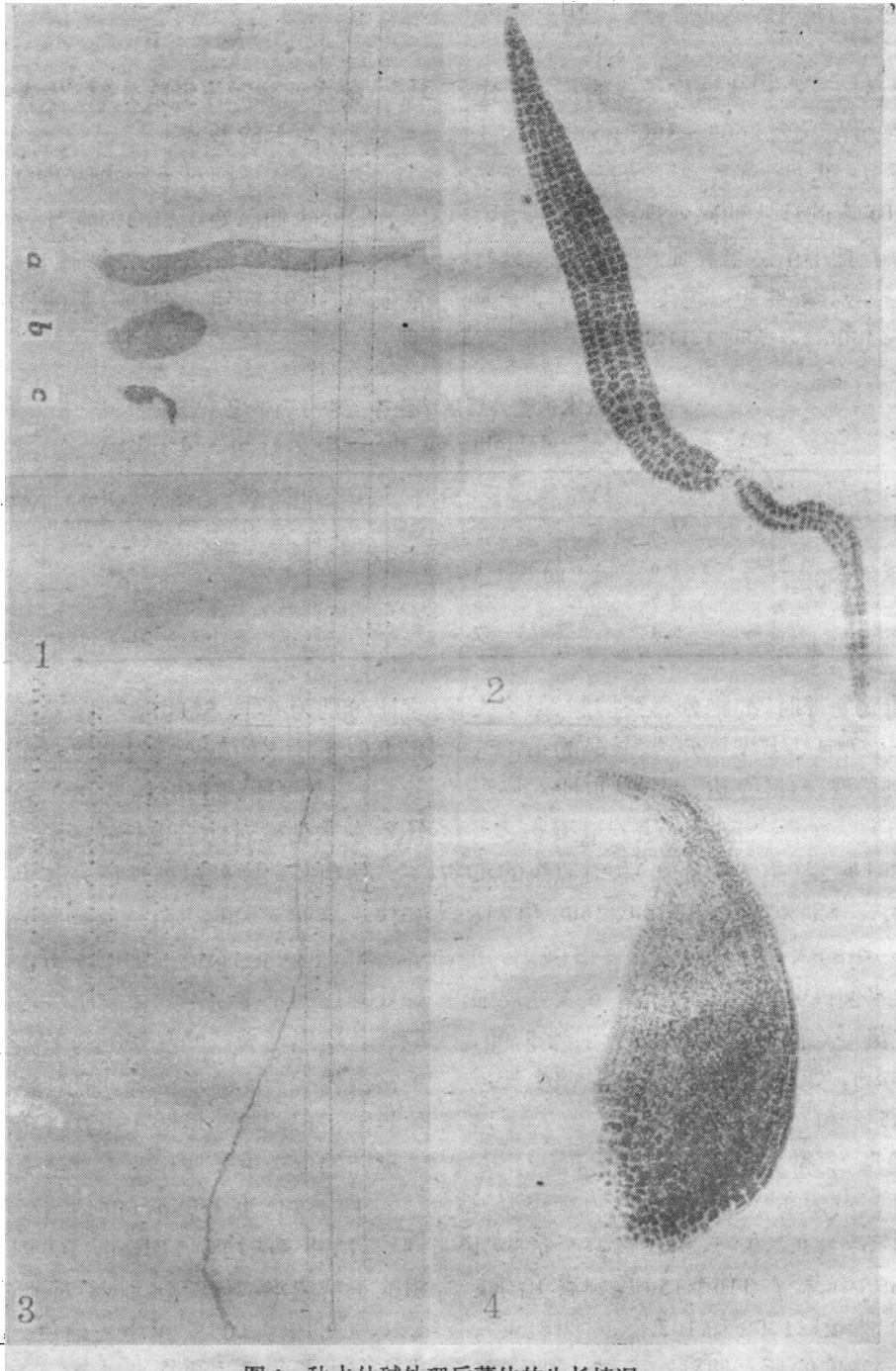


图 1 秋水仙碱处理后藻体的生长情况

Fig. 1 The effect of colchicine on the *P. Haitanensis*

1.a. 经秋水仙碱处理之后长成的细长苗; b,c. 对照组的正常苗; 2,3. 经处理后长成的细长苗;
4. 具盘状假根的正常

0.2, 0.05%, 五个组分别是对照组的 1.54, 1.97, 1.27, 1.94, 2.76 倍。假根呈盘状形的苗附着力很强, 不易脱苗(见图 1.4)。秋水仙碱对假根的生长也有较明显的作

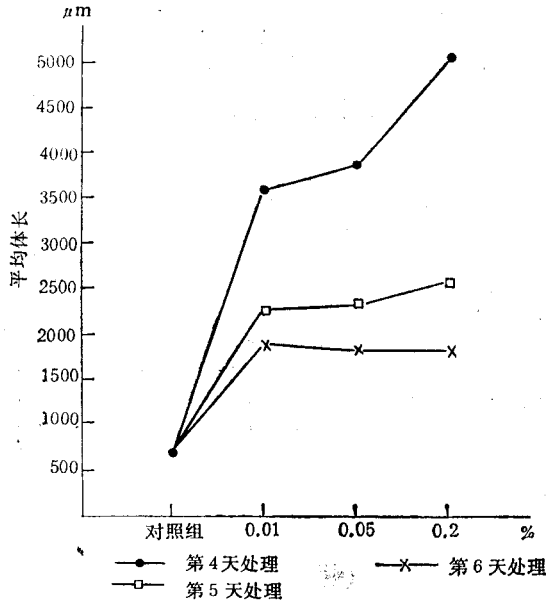


图2 秋水仙碱处理对正常苗生长的影响
Fig. 2 The effect of colchicine on the growth of the normal buds developed from somatic cells

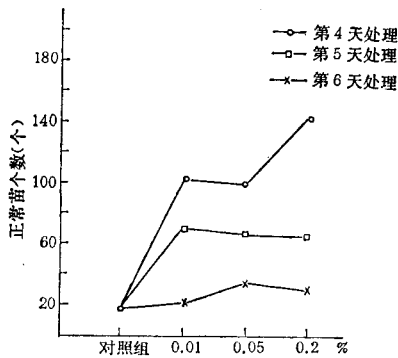


图3 秋水仙碱对正常苗数量的影响
Fig. 3 The effect of colchicine on the numbers of the normal buds

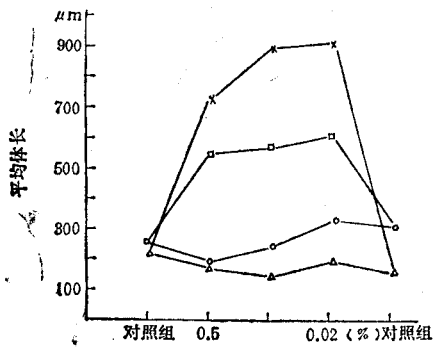


图4 秋水仙碱对幼苗生长的影响(7d)
Fig. 4 The effect of colchicine on the growth of buds which grow for 7 days

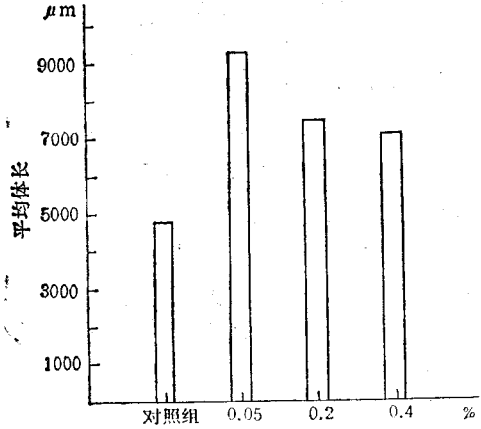


图5 秋水仙碱对幼苗生长的影响(40d)

Fig. 5 The effect of colchicine on the growth of buds which grow for 40 days

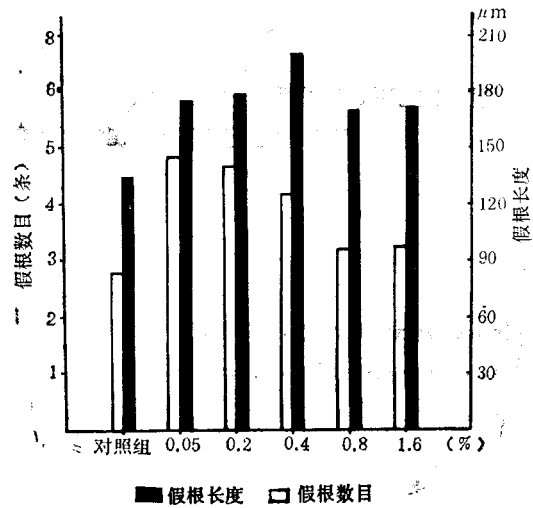


图6 秋水仙碱对假根发生和生长的影响

Fig. 6 The effect of colchicine on the generation and growth of rhizoids

用。如6图所示,培养20天,1.6,0.8,0.4,0.2,0.05%五组的假根长度分别为169,166,193,175,172 μm ,对照组仅为132 μm 。0.04,0.2,0.05%三组的促进作用最显著。

III. 结 语

秋水仙碱对坛紫菜体细胞的分裂具有明显的抑制作用。体细胞经秋水仙碱处理之后,它们后代的生长、发育与对照组相比都有较大的

差异。其中以秋水仙碱促进幼苗生长、促进假根的发生和生长效果最为显著。秋水仙碱的另一个作用是促使细胞团释放类单孢子、使正常苗数量增加。另外经秋水仙碱处理的体细胞所长成的正常苗其形状较细长,苗的颜色深,生长快。秋水仙碱的这些促进作用是否是由于它使细胞染色体加倍所致,还有待进一步研究。用秋水仙碱处理放散后不久的坛紫菜和条斑紫菜的果孢子也表现出强裂的抑制细胞分裂,促使膨大藻丝大量早出现,有关这方面的研究还在继续进行。

参 考 文 献

[1] 中国科学院上海植物生理研究所细胞室编译,1978。植

- 物组织和细胞培养。上海科学技术出版社 100~250。
 [2] 王素娟等,1986。坛紫菜营养细胞与原生质体培养的研究 I。海洋与湖沼 17(3): 217~221。
 [3] 卢澄清等,1983。紫菜叶状体营养细胞的研究 I,条斑紫菜营养细胞的分离、培养和长成小紫菜的观察。1979年第一届中国藻类学术讨论会论文集 45~55。
 [4] 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 2(4): 37~50。
 [5] 鲍文奎等译,1959。植物多倍体。科学出版社。
 [6] 嵯峨直恒,1985。海藻の组织培养。北水研ニユース 33: 1~5。
 [7] Chen, L. C.M., 1986. Cell development of *Porphyra miniata* (Rhodophyceae) under axenic culture. *Botanica Marina* 29:435-439.
 [8] Polne-Fuller, M., and A. Giber, 1986. Developmental study in *Porphyra*. I. Differentiation and protoplast regeneration in *Porphyra perforata* (Rhodophyta). *J. Phycol.* 20:609-616.

THE EFFECT OF COLCHICINE ON THE GROWTH AND DEVELOPMENT OF THE SOMATIC CELLS FROM *P. HAITANENSIS*

Yan Xinghong and Wang Sujuan
 (Shanghai Fisheries University)

Received: Jan. 11, 1989

Key Words: *P. haitanensis*, Somatic cell, Development, Colchicine

Abstract

The effect of colchicine on the development and differentiation of the somatic cells from *Porphyra haitanensis* as well as on the growth of the buds and rhizoids is described. Colchicine effectively inhibits the cell division and greatly influence the development and differentiation of the somatic cells. After somatic cells was treated by colchicine, (1) the shape of buds got thinner and longer, (2) the rhizoids of the buds greatly developed, (3) the growth rate of buds became fast and the number of the normal buds increased.