

坛紫菜体细胞培养中类单孢子的观察

王素娟 严兴洪

(上海水产大学)

提要 本项研究于 1984—1987 年进行。用酶解法将坛紫菜叶状体体细胞分离出来,然后用液体培养基培养。试验结果表明:少数体细胞可以直接萌发成正常叶状体,而大部分体细胞则分裂成不定形的多细胞团。培养三周之后,部分细胞团的外壁融化,里面的细胞游离出来,它们当中的少数细胞再萌发成具有假根的正常叶状体,本文称这些细胞为“类单孢子”。类单孢子发生成叶状体的方式与壳孢子基本相同。另外,还发现种藻越大,由多细胞团放散的种类单孢子越多。用 20—25 cm 长藻体的不同部位进行试验,在基部 0.2—15.0 cm 之间,随着藻体部位的上移,由类单孢子长成的小苗逐渐增多。坛紫菜由壳孢子长成的叶状体一直认为是不形成单孢子的。本文首次报道了由体细胞形成的多细胞团放散类单孢子的现象。

坛紫菜 (*Porphyra haitanensis*) 和条斑紫菜 (*Porphyra yezoensis*) 是我国目前紫菜的两个主要养殖种,其生活史类型是不同的:坛紫菜的生活史中过去认为叶状体上不形成单孢子,而条斑紫菜生活史中有单孢子。单孢子直接萌发成叶状体,在生产上已得到利用^[1]。条斑紫菜的单个体细胞在离体培养下,部分细胞通过放散单孢子和多个孢子的途径长成叶状体^[2]。用酶解法分离出来的坛紫菜叶状体体细胞,在液体培养基中培养,其发生分化途径较复杂^[3],一部分体细胞直接萌发成叶状体,另一部分发育成多细胞团。从 1984 年开始,我们在研究用坛紫菜体细胞采苗工艺的生产性试验中,发现采好苗的网帘在培养三周之后,随着培养时间的延长,苗绳上的苗数目增多;并且增加的小苗与原来由体细胞长成的大苗相比,大小相差较大。起初搞不清这部分小苗的来源,经过连续四年的试验观察,至 1987 年底终于摸清楚这部分小苗是由部分细胞团放散的种类单孢子长成的。类单孢子的发现,对于坛紫菜生活史的新认识,利用坛紫菜类单孢子进行遗传育种,以及进一步完善坛紫菜体细胞采苗工艺均具有一定意义。

一、材料与方 法

坛紫菜种菜采自福建省连江县水产综合场的养殖架上。第一批材料体长为 1—7 cm;第二批材料为 20—25 cm。材料采集后,经阴干一段时间后,再冷藏于 -20℃ 的冰箱中。使用前提前一周将材料解冻,浸入自然海水中(加 N,P,其比为 10:1),在 20℃, 1500 lx 下培养,让藻体恢复至正常颜色。用毛笔洗刷种藻数次,直至显微镜下检查无污物和杂藻为止;用滤纸吸干藻体上的海水,然后用 1.5 mol/L 的葡萄糖液洗两次,再用 2 mol/L 的葡萄糖液洗一次。将藻体切成细小的碎片,投入到酶液中酶解。第一批材料用整株藻

体作为酶解材料,第二批选用基部 8 cm 藻体作为酶解材料,从藻体基部依次取 0—0.2, 0.2—2.0, 2.1—4.0, 4.1—6.0, 6.1—8.0 cm 五组切段,分别酶解。

试验用酶,选用青岛海洋大学生产的海螺酶。酶解方法、细胞悬浮液制备、培养基以及培养方法同于文献[1]。

二、观察结果

离体的坛紫菜体细胞在培养两周后,部分体细胞发育成多细胞团,其颜色呈浅黄绿色。培养三周之后,细胞团外壁逐渐融解,里面的细胞游离出来。放散出来的细胞,大部分萌发成丝状体,一少部分萌发成具有假根的正常叶状体,见图版 I:1。这部分细胞刚放散出来时,色素较淡;放散后 1—2 天,细胞颜色变成鲜紫红色,形状变圆,开始第一次两极分裂。一个细胞横分为二,其中一个细胞继续分裂成为叶片,另一个细胞形成原始假根。它们的发生方式类似于壳孢子。本文称它们为类单孢子(Monospore-like)。有的细胞团只含有两个细胞,细胞不向外放散,其中一个萌发成丝状体,另一个长成正常小叶状体,两者都破膜而出(图版 I:2,3)。有的细胞团含数个细胞,但只有其中的 1—2 个细胞长成正常小叶状体,其余解体死亡,见图版 I:4。

无论是从大的还是从小的藻体里分离出来的体细胞,都有部分体细胞产生类单孢子。体长为 3—7 cm 的藻体,产生类单孢子的主要是含 2—8 个细胞的细胞团,它们放散的类单孢子全部长成正常叶状体,所以常常发现几棵小叶状体长在一起,见图版 II:1;另外,少数细胞团放散的细胞,部分长成叶状体,部分长成丝状体,见图版 II:2。体长为 20—25 cm 的藻体,细胞团放散的细胞,少部分长成正常叶状体,部分长成丝状体,部分细胞死亡。从大的藻体和小的藻体能培养出相同数目的体细胞,但来自大藻体的体细胞所产生的类单孢子数量比来自小藻体的体细胞所产生的多。因为大藻体体细胞形成细胞团的比例和能放散类单孢子的细胞团比例都比小藻体的高。极少数的体细胞培养数天后,原来的细胞体积显著增大,细胞壁也扩大,最后这个细胞转化成类单孢子,从原来的细胞壁里面破壁而出,萌发成一个正常叶状体,见图版 II:3。类单孢子萌发成的小苗多数在培养至三周之后才出现,所以其大小与由体细胞直接长成的大苗相差较大,见图版 II:4。培养至第 35 天,大苗平均体长已达 894 μm , 宽度为 77 μm , 而小苗平均体长只有 157 μm , 宽度为 35 μm ; 大苗与小苗的体长之比为 5.7:1, 体宽之比为 2:1。做藻体(长 20—25 cm)切段试验时发现:第 21 天在计算的 50 个视野内(60 倍)有具假根的正常叶状体, 0.2—2.0 cm, 2.1—4.0 cm, 4.1—6.0 cm, 6.1—8.0 cm 各组的数目分别为 96, 43, 38, 13 个, 其结果是随着藻体部位的上移,正常叶状体数目减少;但培养至第 50 天,同样计算 50 个视野内(60 倍)的正常叶状体个数,上述四组分别为 117, 158, 179, 330 个,结果是正常叶状体绝对数随着藻体部位上移而增多。这是由于三周之后,细胞团放散的类单孢子长成了正常叶状体,从而使正常叶状体数量增多的缘故。用 20—25 cm 的藻体做整体切段试验,发现在藻体基部 0.2—15.0 cm 的范围内,随着藻体部位上移,由类单孢子长成的正常叶状体数目增加,这类小苗的出苗可达 3.6—6.6%,其中以 13—15 cm 组的为最高。

综上所述,虽然传统认为坛紫菜生活史中叶状体阶段不产生单孢子,但在坛紫菜叶状体体细胞的离体培养中却有部分体细胞先分裂成不定形的细胞团,然后由细胞团放散一

些细胞,它们直接萌发成具有假根的正常叶状体,所以本文称这类细胞为类单孢子。另外,类单孢子形成的数量同种藻的大小和藻体部位有关。种藻越大,产生的类单孢子越多;体长为 20—25 cm 的藻体,在基部 0.2—15.0 cm 之间,随着藻体部位上移,类单孢子数量增加。

三、讨 论

须藤俊造指出^[7]:“大多数未受精的果孢逐渐衰亡,但有些则发育成类似果孢子(carpospore-like),这些细胞不发育成丝状体而萌发成叶状体”^[7]。在我们的试验观察中,部分坛紫菜体细胞分裂成多细胞团,再由它们放散出数个细胞,直接萌发成正常叶状体的现象与须藤俊造的报道相似。这类细胞放散后,外形有一个从长圆形变成圆形的过程,萌发的第一次分裂呈典型的两极分裂;另外,从一个细胞团里放散出数个细胞,所以我们称这类细胞为类单孢子;至于它们同条斑紫菜由壳孢子长成的叶状体上所产生的单孢子有什么本质区别,还有待进一步研究。坛紫菜由壳孢子萌发的叶状体是不产生单孢子的,但从体细胞的培养结果来看,又能产生类单孢子,所以这一发现对坛紫菜生活史的认识有新的意义。

一般认为,紫菜果孢只有受精后才能形成果孢子^[8]。某个体细胞分裂成两个子细胞,如果这个体细胞是已受精的果孢,那么这两个子细胞应该全部发育成果孢子并萌发成丝状体;如果这个体细胞是一个尚未受精的果孢,那么两个子细胞应全部发育成类单孢子,长成正常叶状体;但实际情况却是一个子细胞长成叶状体,另一个萌发成丝状体,见图版 1:2,3。此外,由这类细胞萌发的丝状体能否形成膨大藻丝,产生壳孢子再长成叶状体,完成生活史循环,也有待进一步研究。

用坛紫菜体细胞采苗,一部分苗是由体细胞直接萌发长成的;在室内的育苗后期,出现了另外一部分苗,它们是细胞团所放散的类单孢子长成的。这类苗形状多数呈披针形,假根发达,固着能力强,不易掉苗,并且生长快。所以在坛紫菜体细胞采苗工艺中,这类小苗是一个很好的苗源。类单孢子的出苗率最高达 6.6%,比由体细胞直接长成正常苗的出苗率高,因此,继续深入研究如何利用这部分类单孢子苗,对于完善坛紫菜体细胞采苗工艺来讲是很有意义的。

参 考 文 献

- [1] 王素娟等,1986。坛紫菜营养细胞与原生质体培养的研究。海洋与湖沼 17(3): 217—221 页。
- [2] 中国科学院上海植物生理研究所细胞室编译,1978。植物组织与细胞培养。上海科学技术出版社,200—250 页。
- [3] 卢澄清,1983。紫菜叶状体营养细胞的研究 I. 条斑紫菜营养细胞的分裂、培养和长大成小紫菜的观察。1979 年第一届中国藻类学术讨论会论文集,45—55 页。
- [4] 唐延林,1982。紫菜营养细胞与原生质体的分离和培养。山东海洋学院学报 12(4): 37—50 页。
- [5] 曾呈奎等,1985。海藻栽培学。上海科学技术出版社,135—202 页。
- [6] 嵯峨直恒,1985。海藻の組織培養北水研ニユ一ス 33: 1—5。
- [7] Shunto, 1963. Intergeneric and interspecific crossing of the lavers (*Porphyra*). *Bull. Jap. Soc. Scient. Fish.* 29(8): 739—748.
- [8] Wang Sujian, Sun Yulong, Lu Anming, et al., 1987. Early stage differentiation of thallus cells of *Porphyra haitanensis* (Rhodophyta). *Chin. J. Oceanol. Limnol.* 5(3): 217—221.

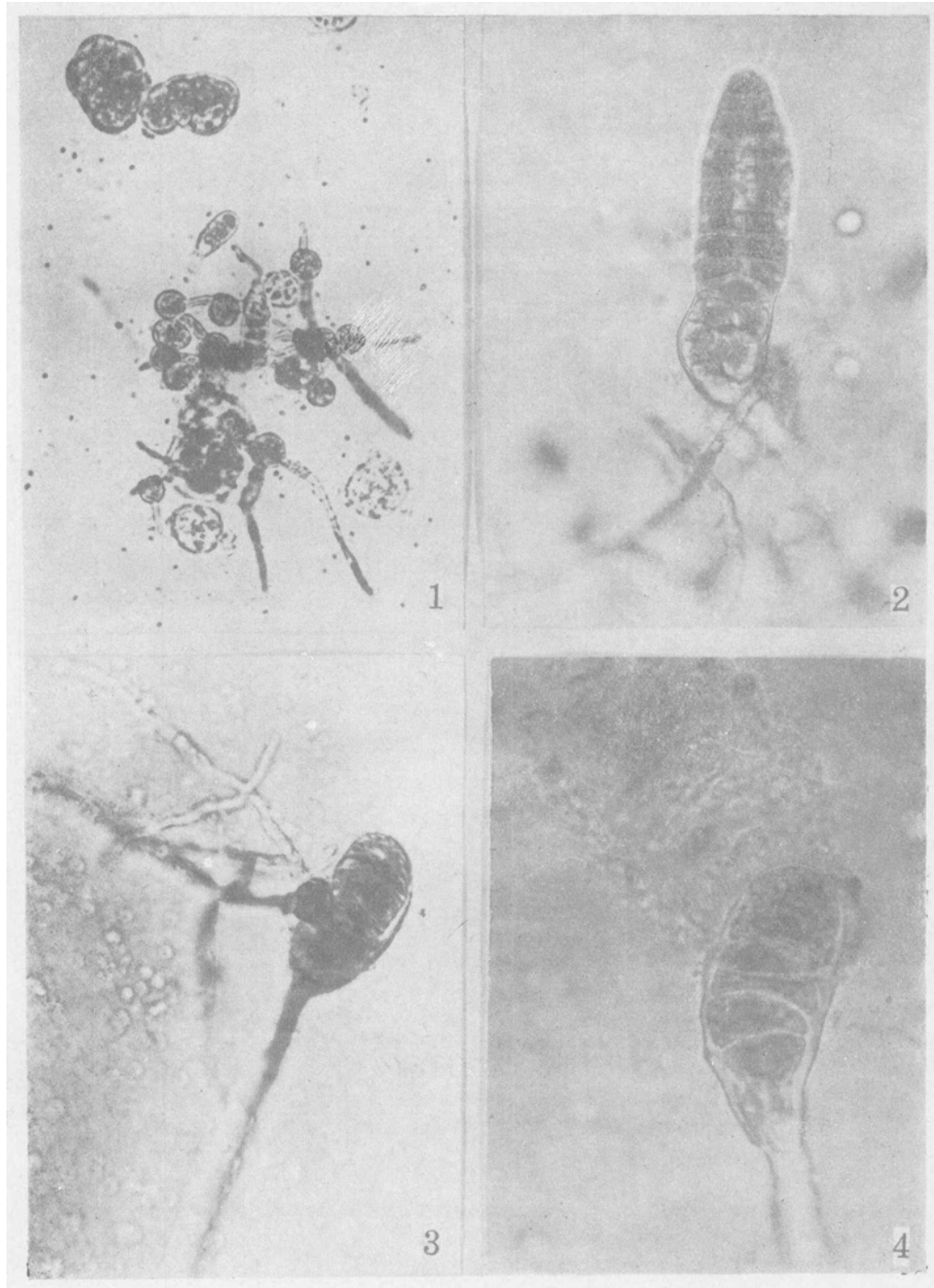
**OBSERVATIONS ON THE MONOSPORE-LIKE CELLS IN THE
SOMATIC CELL CULTURE OF *PORPHYRA*
HAITANENSIS (RHODOPHYTA)**

Wang Sujuan and Yan Xinghong

(Shanghai Fisheries University)

ABSTRACT

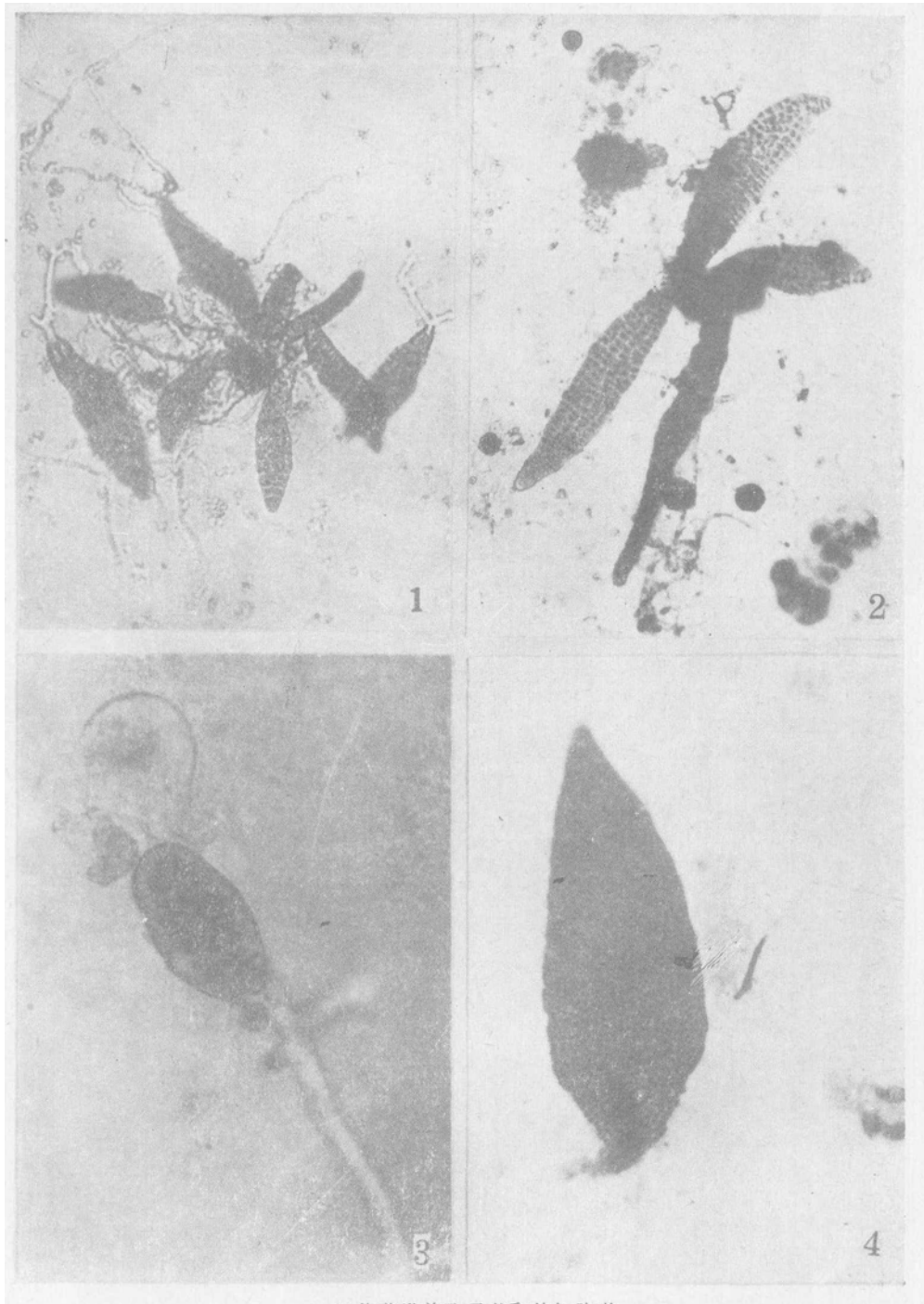
The study was carried out in 1984—1987. The somatic cells of thallus were isolated by enzymolysis from *Porphyra haitanensis*, then cultivated in MES medium. Most of the somatic cells developed into something like morpha cell-masses, only a few of somatic cells were able to germinate into normal buds. Some of cells released from cell-masses could develop into normal buds with rhizoids in three weeks. We call these cells monospore-like cells. Others were transformed into carpspores or decay. The development of monospore-like cells was similar to that of conchospore. The longer the source material were, the more the monospore-like cells were released. While testing the effect of different parts of thallus on the release of monospore-like cells with 20—25 cm long thalli, it was found that as the part of thallus cut from 0.2 to 25 cm up from the base, the numbers of buds formed from monospore-like cells increased gradually. The monospore-like cells released from the cell-masses of somatic cells in *P. haitanensis* has not been reported elsewhere up to date.



坛紫菜类单孢子苗和丝状体

The buds germinated from monospore-like cells and the filaments from the cells released from the cell-masses in *P. hairanensis*

1. 细胞团释放的细胞长成正常苗和丝状体; 2, 3. 同一细胞团内长出正常苗和丝状体; 4. 细胞团的一个细胞长成正常苗, 其余细胞解体死亡。



坛紫菜类单孢子苗和体细胞苗

The buds germinated from monospore-like cells and the buds from the somatic cells in *P. haitanensis*

1. 细胞团放散类单孢子全部长成正常苗; 2. 五棵类单孢子苗; 3. 一个细胞破壁而出, 长成正常苗; 4. 大苗是由体细胞直接长成的, 小苗是类单孢子苗。