

# 离体海带柄部“色环区”的再生实验\*

李家俊 谭塾之

(中国科学院海洋研究所)

海带是一种大型的经济海藻,其孢子体由三种“器官”组成——叶片、柄和假根。海带是间生长。一般认为生长部在叶片的基部。生长部的细胞具有很强的分生能力,在海带生长过程中,不断地从叶片基部分生出新组织推动老组织向前延伸。在适宜环境条件下,新组织增长速度超过叶尖部老组织的脱落速度,结果就形成了海带叶片的生长。

受精卵分裂后,一直到约100个细胞左右的小海带,藻体所有的细胞都有分裂能力。孢子体长到5cm左右时,生长部即分化出来<sup>[1]</sup>。Saga等(1977)认为,体长3cm的小海带已经是由分化明显的不同器官所组成,在离体状态下,柄部只能分生假根,不能再重新长出新的叶片。

但在生产实践中,小海带柄部如果夹在绳内太深,藻体不仅长不大,而且出现畸型。这就暗示了海带柄部在海带个体生长过程中可能起着一种尚未被人们认识的重要作用。因此,从1980年11月起,我们进行了海带柄部的离体培养,现将实验结果报道如下:

## 一、材料和方法

### 1. 材料的处理

从培养在青岛栈桥东海湾夏苗育苗绳上,取下体长10—25cm的小海带,用手术刀在柄上端叶片基部下约0.1cm处和柄下端第一个假根上方,分别切去叶片和假根,在消毒海水中,用画笔轻轻洗涮柄周围,清除杂藻,用消毒海水冲洗数遍后,再用含有氯霉素(2.5mg/ml)的无菌海水泡15分钟,取出冲洗,放入含有培养基的三角瓶中培养。瓶口用塑料薄膜封盖。

### 2. 培养基

选用适宜的培养基,这是组织培养成败的因素之一。本实验所用的培养基系用青岛汇泉湾的海水经过滤后,加入适量的无机盐、有机营养物和植物激素等配制而成。表1是LT-25培养基中加入的各类物质。培养基配好后经煮沸、冷却、再分装。分装时,每100ml的三角瓶中含有培养基60ml左右。

### 3. 培养条件

试验材料放在摇床上,每小时摇动20分钟、停40分钟,摇床振次50次/分,摇动幅度

\* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第882号。

本文曾在1981年全国藻类学会议上宣读。本所冯明华同志绘图,特此致谢。

收稿日期: 1982年7月1日。

表 1 LT-25 培养基的组成分

| 化 合 物                                  |       | 植物激素   |        |
|--|-------|--------|--------|
| NaNO <sub>3</sub>                      | 7mg   | 甘油磷酸钠  | 1.2mg  |
| KNO <sub>3</sub>                       | 8mg   | 甘露醇    | 2.0mg  |
| MgSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O  | 6mg   | 苯多酸钙   | 0.4mg  |
| KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>        | 4mg   | 氨基醋酸   | 1.0mg  |
| H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>         | 4mg   | 烟酸     | 0.6mg  |
| KI                                     | 2mg   | 盐酸硫胺   | 1.0mg  |
|  |       | 核黄素    | 1.0mg  |
|  |       | 肌醇     | 1.2mg  |
|  |       | 盐酸吡多醇  | 0.4mg  |
| *FeSO <sub>4</sub> · 7H <sub>2</sub> O | } 2ml | 对氨基苯甲酸 | 0.01mg |
| Na—EDTA                                |       | 胸腺嘧啶   | 1.2μg  |
| 加过滤海水                                  |       | 1000ml |        |
| pH = 7.6—7.8                           |       |        |        |

\* 每毫升母液中含有 FeSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.8mg; Na—EDTA 1.0mg。

为 6cm。培养水温 8—12℃。光强为 2200—3500Lux，连续光照。培养基每月更换一次，每次换 1/3。

## 二、实验结果

### 1. 海带柄部再生长出新的叶片

切去原有叶片和假根的海带柄部，放入 LT-25 培养基中培养 25 天左右，柄部色泽加深，在柄上端切口处，有的明显加粗，向两侧扩展；有的在柄上端的切口处长出新的组织向一侧或两侧延伸；还有的中部膨胀加粗、逐渐变扁向切口处的上端延长(图版 I: 1)，培养 50 天后，加粗变扁部分呈叶状，生长三个月后，最大个体的叶长已达 2cm 左右，比原来柄长净增 1.5—3 倍(图版 I: 2)。在柄部上端形成叶片的同时，柄部另一端切口处也开始加粗，但不形成叶片，呈瘤状物，另有一些无色透明的细胞从切口处或周围附近长出，所有这些细胞分裂都非常缓慢。也有极少数材料直接从新生叶的基部长出突起，形成假根，成为一棵植株(图版 II: 1)。

表 2 海带柄部不同部位再生新叶片的能力

| 柄部位 | 总数<br>(个) | 柄 部 变 化    |         |       | 切口处细胞变化 |
|-----|-----------|------------|---------|-------|---------|
|     |           | 成活数<br>(个) | 色 泽     | 长出新叶片 |         |
| 柄上部 | 46        | 38         | 黄褐色或深褐色 | 31    | 下端细胞分裂慢 |
| 柄中部 | 47        | 45         | 同上      | 0     | 二端细胞分裂慢 |
| 柄下部 | 47        | 29         | 同上      | 0     | 二端细胞分裂慢 |

为进一步弄清柄部再生新叶片的原因,用同样方法将柄部均分为上、中、下三段,培养条件不变。诱导 25—30 天,柄上端大部分个体长出叶片。中段或下段两端切口处细胞分裂缓慢,没有一个实验材料能够直接再长出新的叶片。表 2 是两次试验的结果(接种后 25—30 天)。

以上结果表明,在 LT-25 培养基中,海带柄部具有再生出新叶片的能力,但再生的潜力只限于柄上段某一范围,不是柄部任何部位都可以直接分生出新叶片。

**2. 海带柄上部“色环”的功能**

在密集条件下,生长的小海带,黄褐色的柄上端一处较细,但颜色较浓,形成一个小圈,好似一个环套在柄上,我们称之为“色环”。“色环”宽约 0.1—0.2cm 左右(图 1)。与“色环区”外柄中段相比较,“色环区”内的表皮细胞内含有较多的色素,皮层细胞比较小,细胞与细胞之间的排列比较紧密,内皮层细胞含有较多的内含物,原生质较浓(图 2),纵面观,内皮层细胞的宽度小(图 3)。染色后观察,“色环区”内细胞的细胞核与“区”外细胞核大小差异不显著。如果切除是在“色环区”外下方进行,这样的柄部上段材料经过 50 多天的培养,仍然长不出新的叶片。相反,如果切除是在“色环区”内 1/2 处进行,不仅柄上段的上端可以长出叶片,而且连在叶片基部的部分柄也变扁,形成叶片,新、旧叶片之间的界限很明显(图版 II:2)。上述情况表明,海带

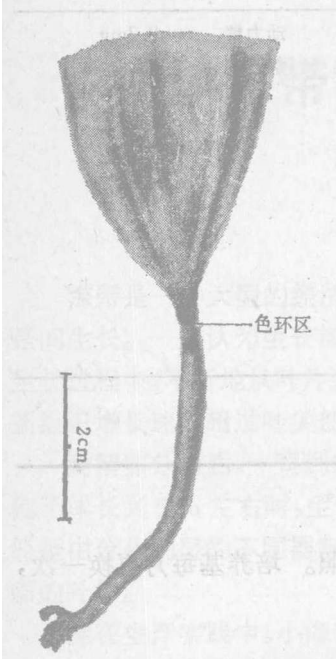


图 1 小海带的柄部

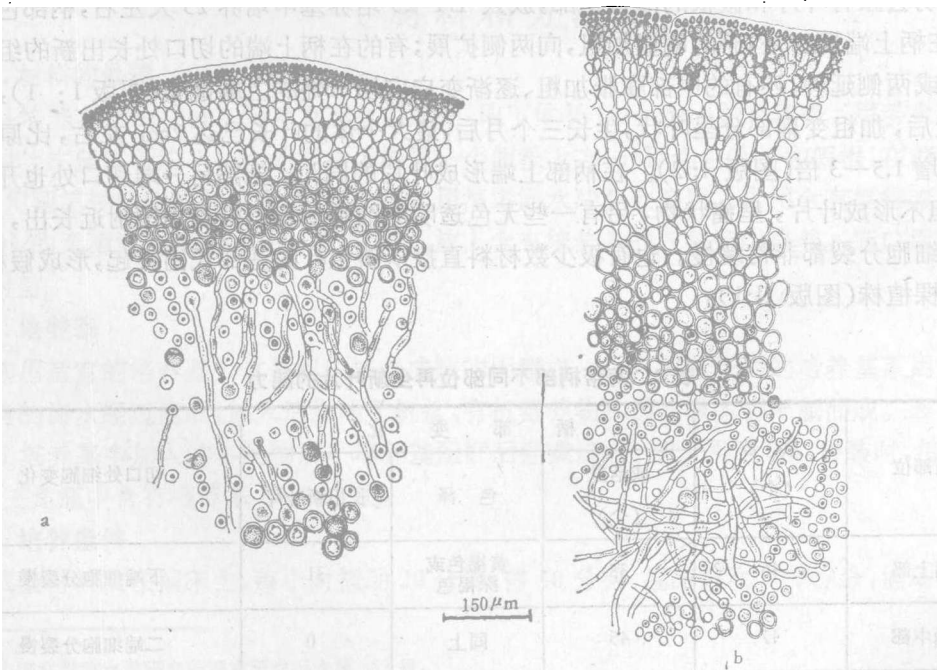


图 2 小海带柄部横切面  
a. 色环区; b. 柄部中段。

柄上部“色环区”也可能是一个重要的原始分生区,在海带个体叶片长度增长过程中,同样也起着一种非常重要的作用。这也说明了,为什么在移植小海带时,如果柄部夹在绳内太深,藻体不仅长不大,而且会出现畸型。

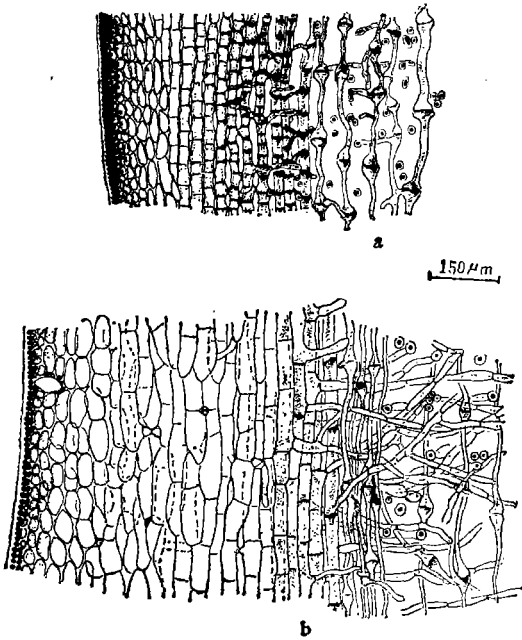


图3 小海带柄部纵切面  
a. 色环区; b. 柄部中段。

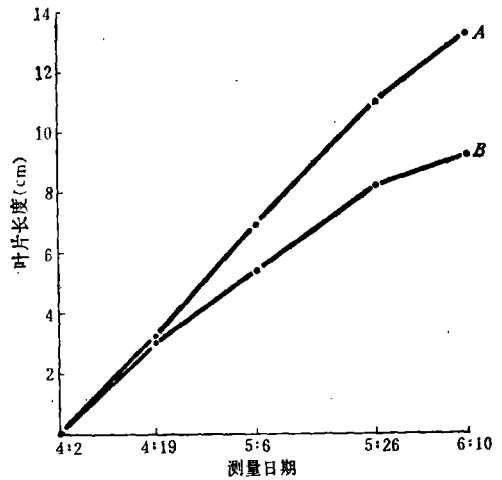


图4 柄部“色环区”对海带叶片长度增长的影响

### 3. 海面切割试验

为进一步了解,在一般栽培条件下,柄部“色环区”对海带叶片长度增长是否也发生作用,从4月上旬开始,取体长1m的海带新品种860号数棵分为两组:第一组,在柄与叶片基部连接处切除柄部(即切除“色环区”),再从基部起向上5cm处,切去叶片的其余部分;第二组,从柄上端“色环区”下0.5cm处切去柄和假根,同时也从叶片基部起向上5cm处切去叶片。两组的实验材料都单个分装在特制的小网笼内,分挂在同一台筏子上,培养水深为1m,以后,定期测量其生长速度,每次测量后,对所有实验材料再在叶片上端切割一次,以统一长度,避免因藻体长度不等而造成生长速度上的差异,结果如图4。

从图4可以看出,切割后第17天,两种不同处理方法的实验材料,叶片长度的增长虽然出现差异,但不明显,带有“色环区”的叶片比不带有柄部“色环区”的叶片,仅多长了0.2cm,可是随着培养时间继续延长,两组材料的叶片增长速度差就愈来愈明显,到了第53天,带有“色环区”的叶片比不带有“色环区”的叶片多长了3cm左右。以后,在水温逐渐升高的情况下,带有“色环区”的叶片生长速度一直保持着优势。这表明,即使在一般条件下,柄部“色环”对海带叶片长度的增长,确实起了重要的作用,参与了新叶片的分生,这可能是海带叶片新组织分生的界线。由于实验是在海水温度逐渐上升时进行的,实验时间较短,所以对柄部“色环”的功能尚需进一步实验观察。

### 三、讨 论

#### 1. 海带柄部在海带叶片增长过程中的作用

近年来,对海带叶片性状的研究已逐渐增多,但对海带柄部性状的研究还很少。柄在海带个体生长过程中的作用,没有引起人们的注意和研究。造成这种情况的主要原因是:第一,海带柄部在海带个体中占的比例太小,就其经济价值说来,远不如叶片那么重要;第二,过去一直认为柄在海带个体生长期间所起的作用,一是分化假根;二是支持藻体。海带的“生长部”是在叶片基部。这就是说,柄在海带个体生长期间的作用及其经济价值都已基本上清楚,因而忽略了对它的研究。

但是,长期以来,人们并没有注意到海带柄部存在有“色环区”,更没有认识到“色环区”对海带叶片长度增长起着重要作用。现在,我们从离体培养中看到了带有“色环区”的柄部,在 LT-25 培养基中能够普遍地重新长出叶片,这是否表明柄部在海带个体叶片长度增长期间起着重要作用呢?

切割实验表明,即使在一般培养条件下,带有“色环区”的叶片基部在生长速度上一保持着优势。这种差异,既不能用遗传性的不同来解释(因为实验材料是经过 20 多年培育的自交系),又不能用栽培条件来说明(因为其栽培条件基本相似,都培养在同一个海区的同一台筏子上,培养水层又基本相似),所以两组生长速度的差异只能归因于“色环区”,是“色环区”直接参与分生新组织的结果。

目前虽然对于柄部“色环区”在海带个体生长过程中的作用还没有完全搞清楚,但至少可以说“色环区”是属于分生组织范围,对叶片的生长有着重要作用。也即是说,柄部在海带个体生长期间不只是分化假根和支持藻体;而且参与了新叶片组织的形成。

#### 2. 柄部“色环区”的形态变化

一棵体长 1—2cm 的小海带,在黄褐色的柄上端,靠近叶片基部的地方突然变细,颜色较深。以后,随着藻体叶片的生长,柄的长度也相应延长,“色环区”逐渐呈现。体长 10cm 以上的海带,“色环区”非常明显,“色环区”宽约 0.1—0.2cm。距离叶片基部约 0.1cm。但是,随着藻体叶片长度的增长,柄部也逐渐加粗,柄的颜色也逐渐加深,“色环区”变得愈来愈不明显。最后,在柄部不论是从色泽上或是粗细上,都已分不出哪里是“色环区”了。

“色环区”究竟哪里去了?它是不是还在继续发挥作用呢?

根据观察,一棵正常生长着的海带,在柄部“色环区”呈现期间以及“消失”后的一段时间内,叶片基部是有变化的。幼苗体长在 20cm 左右时,叶片基部平坦,叶片的中带部与两边没有明显界线。但是,随着海水温度的下降,小海带生长速度加快后,叶片基部就变得不平坦,叶片的中带部与叶片的两边厚度有了明显的界线,这时,柄部的“色环区”与叶片基部的距离缩短,直至两者紧密相连(图 1),海带柄部“色环区”上端的这种变化现象,与室内培养中所看到的某些情况相类似,即“色环区”上端柄部向两侧延伸,加大宽度,最后扁成叶片(图 2: b)。当海带生长进入厚成期后,叶片长度增长速度大大降低,叶片厚度逐渐增加,这时期叶片基部的中带部与两侧的界线也逐渐消失,叶片基部又变得平坦、光滑,与此同时,海带柄部加粗,颜色加深,“色环区”也逐渐“消失”。所以,从叶片基部形态变化过程来看,“色环区”的形态变化与藻体年龄有密切关系,但就其性质来说,“色环

区”似乎并没有发生变化，它仍然是叶片增长的重要分生组织。

### 参 考 文 献

- [1] 曾呈奎、吴超元等, 1962. 海带养殖学. 科学出版社, 71—74 页。
- [2] 方宗熙、蒋本禹、李家俊, 1962. 海带柄长的遗传. 植物学报 **10**(4): 327—335。
- [3] 方宗熙、蒋本禹, 1963. 密植对海带柄长影响的初步观察. 山东海洋学院学报 **1**: 68—74。
- [4] 方宗熙、蒋本禹, 1963. 海带叶片长度的遗传. 海洋与湖沼 **5**(2): 172—182。
- [5] 方宗熙、蒋本禹、李家俊, 1965. 海带叶片长度遗传的进一步研究. 海洋与湖沼 **7**(1): 59—66。
- [6] 方宗熙、蒋本禹、李家俊, 1965. 海带遗传和育种的研究. 高等学校自然科学学报(生物学版), 392—400 页。
- [7] 方宗熙、蒋本禹、李家俊, 1966. 海带长叶品种的培育. 海洋与湖沼 **8**(1): 43—50。
- [8] 中国科学院海洋研究所海藻遗传育种组、青岛海洋水产研究所藻类养殖组, 1976. 高产高碘海带新品种的培育. 中国科学 **5**: 512—517。
- [9] 张景镛、方宗熙, 1980. 海带叶片厚度遗传的初步研究. 遗传学报 **7**(3): 257—262。
- [10] 方宗熙、阎祚美、王宗诚, 1982. 海带和裙带菜组织培养的初步观察. 科学通报 **27**(11): 690—691。
- [11] Sanbonsuga, Y. and S. Toii, 1973. On the morphological characteristics of *Laminaria japonica* var. *japonica* studied by transplanting experiments, I. On local forms of *L. japonica* var. *japonica*, *Bull. Hokkaido Reg. Fish. Res. Lab.* **39**: 61—82.
- [12] ———, 1974. On the local variation of morphological characteristics in *Laminaria japonica* Areschoug var. *japonica*. *ibid.* **40**: 48—59.
- [13] Sanbonsuga, Y., 1978. On the morphological characteristics of *L. japonica* var. *japonica* studied by transplanting experiment. II. On the varieties of *L. japonica* Aresch. *ibid.* **60**: 79—88.
- [14] Saga, N. and Sakai, Y., 1977. Studies on the morphogenesis of Laminariales plants, I. Regeneration of fragments from sporophytes of *Laminaria japonica* Aresch. *Bull. Jap. Soc. Phycol.* **25**: 297—301. (in Japanese)
- [15] Saga, N., T. Uchida and Y. Sakai, 1978. Clone *Laminaria* from single isolated cell. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* **44**(1): 87.

## REGENERATION POTENTIALITY OF YOUNG SPOROPHYTIC STIPE OF *LAMINARIA JAPONICA* ARESCH. *IN VITRO*\*

Li Jiajun and Tan Shuzhi

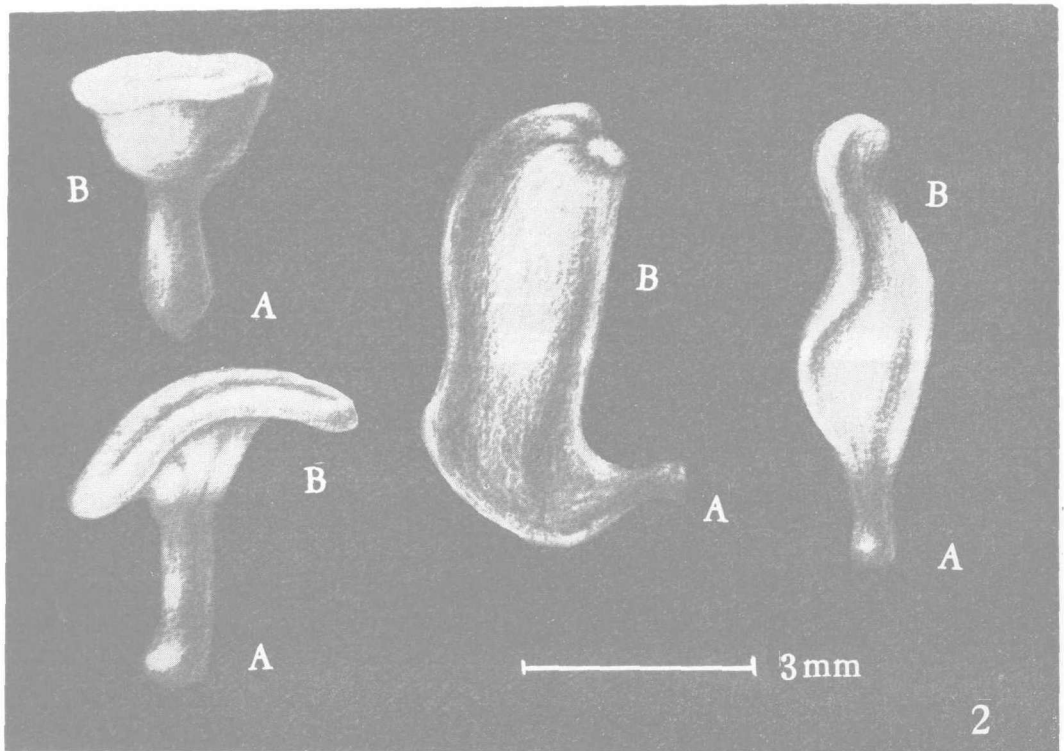
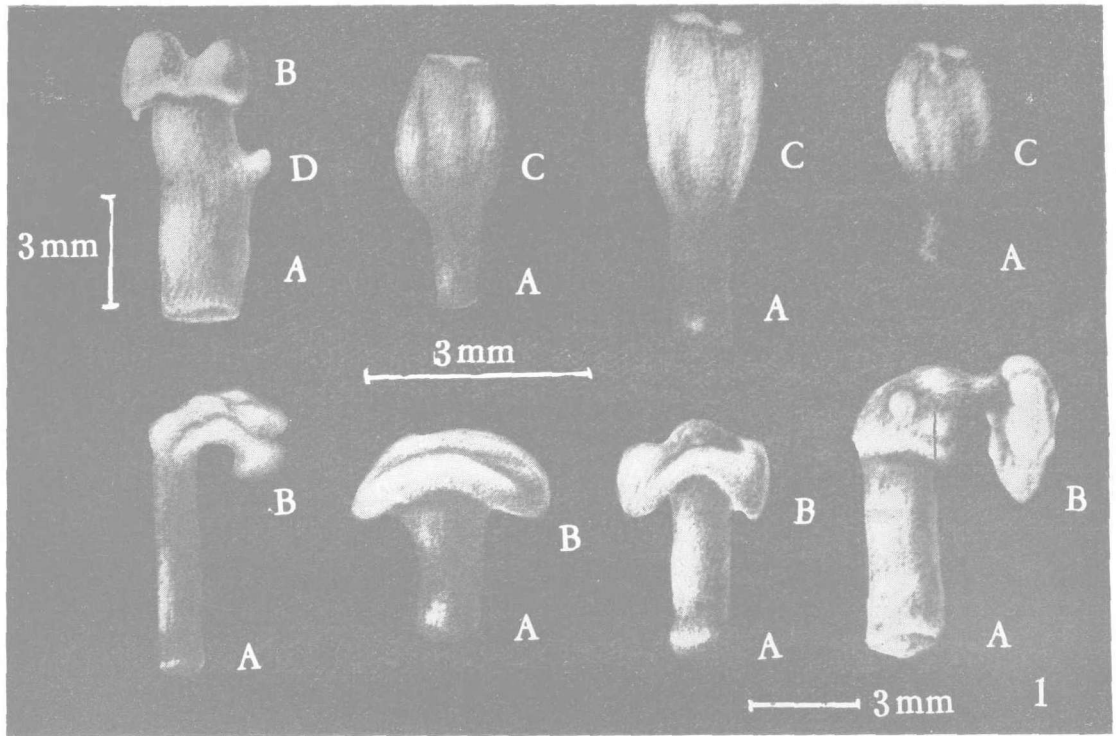
(Institute of Oceanology, Academia Sinica)

### ABSTRACT

The regeneration potentiality of the stipe of *L. japonica in vitro* was studied in laboratory. From the present experiments the following results were obtained:

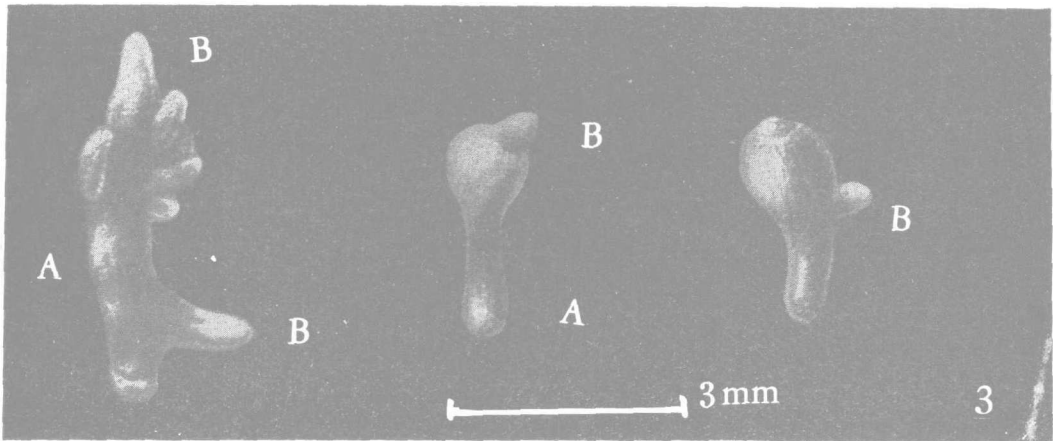
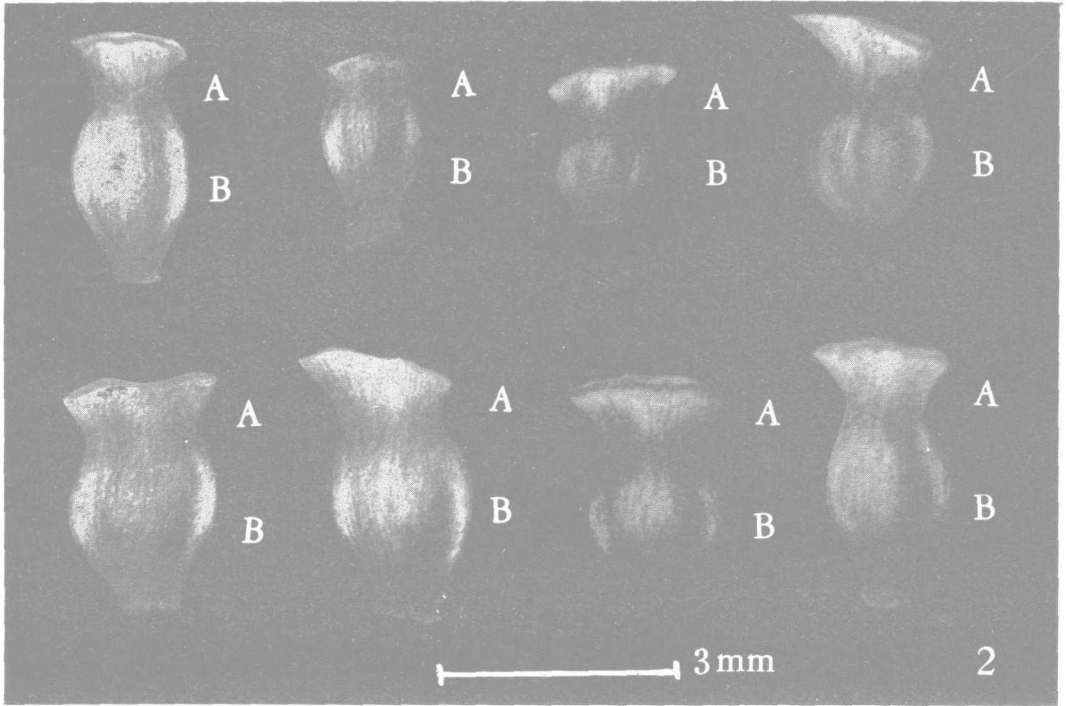
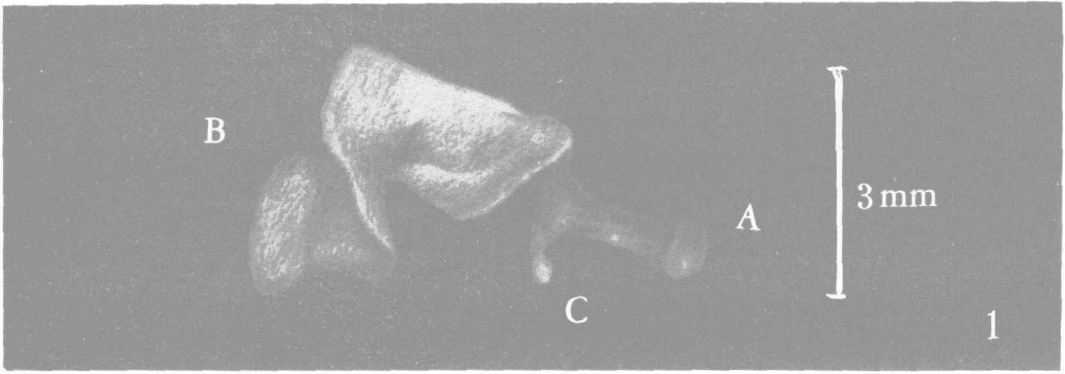
1. Most of the upper part of stipes are capable of regenerating a new blade, but not the middle and lower parts of the stipe.
2. The coloured-ring region of the upper part of stipe is very important in new blade regeneration. If the coloured-ring region is cut off, the remaining part of the stipe will lose its potentiality to regenerate.
3. The stipe can also regenerate the holdfast.

\* Contribution No. 882 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.



柄部上端再生的新叶片

1. 培养 25 天后柄上端变化 (A. 原来的柄部; B. 柄上端细胞分裂后长出新组织; C. 柄向两侧扩展形成叶片; D. 长出的新假根); 2. 培养 50 天后柄上端变化 (A. 原来的柄; B. 由柄上端长出的新叶片)。



1. 柄部分生出的新叶片和假根 (A. 原来的柄部; B. 新长出的叶片; C. 新长出的假根); 2. 柄部“色环”上端形成叶片 (A. 原来的叶片基部; B. 由柄形成的叶片); 3. 柄部分生出的假根 (A. 原来的柄; B. 新长出的假根)。