

江蓠幼苗的早期发育过程*

陈美琴 任国忠

(中国科学院海洋研究所, 青岛)

提 要

作者观察了江蓠幼苗的早期发育过程,根据发育过程中的形态特征,将其划分成四个发育时期:(1)孢子初分时期;(2)“半球状体”时期;(3)盘状体时期;(4)幼苗时期。三个不同的发育途径:(1)具有盘状体的幼苗发育;(2)不具有盘状体的幼苗发育;(3)幼苗的畸形发育,和出现两种幼苗。并讨论了盘状体的“愈合”现象和江蓠幼苗在发育过程中有关“假根”的问题。

近年来,江蓠 *Gracilaria verrucosa* (Huds.) Papenfuss 作为一种重要的琼胶原料已受到人们的重视。随着藻胶工业的不断发展,江蓠的自然资源已不能满足生产所需。人工栽培扩大资源已成为当前迫切要解决的问题。幼苗的培育是江蓠人工栽培的基础,详细了解江蓠幼苗的早期发育过程在理论和生产实践上都有重要意义。Komiyama^[5] 等报道了江蓠的孢子附着和早期发育的研究;1972年, Ogata^[6] 在实验室条件下完成了该种的生活史研究,属于典型的多管藻类型 (Polysiphonia-type); Oza(1975)^[7] 也报道了关于印度产江蓠果孢子和四分孢子的萌发及其早期发育的研究结果。我国藻类学家曾呈奎等^[1] 发表了关于江蓠的繁殖习性和幼苗的室内培育研究报告。此外,一些海水养殖单位也作了这方面的工作。近年来,不少单位又在开展这一方面的研究工作。在当前江蓠栽培事业中,存在的主要问题是苗源问题。所以只有人工采孢子培育苗源,才能保证江蓠栽培大发展的需要。

我们的实验目的是探索江蓠四分孢子和果孢子的放散、附着和萌发,了解幼苗的早期发育过程,为人工育苗提供理论依据。本文着重报道了我们两年来对江蓠幼苗发育过程的实验观察结果。

材 料 与 方 法

实验自1980年9月开始。实验用的江蓠 *Gracilaria verrucosa* (Huds.) Papenfuss 采自青岛湛山湾海区,藻体自然生长在潮间带石头上或埋于沙质土中。每次大潮在定点范围内进行观察和采取种菜,分期分批采苗达20次,对孢子放散、附着、萌发和幼苗发育进行了观察。

种菜采回后,放在盛有消毒海水的搪瓷盘内,在显微镜下挑选具有成熟四分孢子囊和

* 中国科学院海洋研究所调查研究报告第1150号。本文承曾呈奎、吴超元教授和费修绩副教授提出宝贵意见,谨致谢意。

收稿日期:1984年7月4日。

囊果的藻体,用毛笔轻轻地在空中擦除藻体表面的污泥及杂藻,经消毒海水反复冲洗 5—6 次后,将枝条切成等长(2—3cm)若干段,取 2—4 段枝条放在载玻片上,一起放入盛消毒海水的培养皿中,静候孢子放散,24 小时后将枝段取出。这时在载玻片上能见到在原来的枝条下面有一条孢子“红印”,镜检时可以看到无数孢子已经附着。载玻片连同培养皿事先经高压消毒。培养皿放置在温度为 15—20°C 的恒温室内,用 40W 日光灯作光源,光照强度约 2000lx 左右,每天光照 10 小时。培养液含有 0.5 毫克分子的 KNO_3 和 0.05 毫克分子的 KH_2PO_4 ,每周更换新液一次。采用定点和连续定时镜检观察相结合的方法,用显微摄影记录孢子的萌发和幼苗的发育情况。四分孢子与果孢子的采苗方法相同,但需严格隔离培养。每次实验样品为 3—5 个。

观察孢子的早期细胞分裂只需 1—3 周;从孢子萌发至幼苗形成需要较长的时间,通常要 1—2 个月;当幼苗培育到长 1—2mm 时,本实验告一段落。

实验结果

1. 孢子的放散、附着与萌发

江蓠的四分孢子体和果孢子体(附生在雌配子体上)均能大量地放散孢子;每一株藻体的放散量并不相同。把一株藻体切成均等的几段,平卧在玻片上停留一天,平均每平方厘米玻片上四分孢子体放散 3.5—5 万个四分孢子,果孢子体放散 3—4.2 万个果孢子。这些孢子一旦从母藻体上释放出来就附着在玻片上或其它基物上,其中约有 20—30% 的孢子,在附着后死亡或流失,其余的孢子很快就萌发。释放出的四分孢子和果孢子形态均为圆球状,一般直径 30—40 μm ;部分孢子较大,直径为 40—50 μm ,部分孢子较小为 25—30 μm 。刚放出的孢子其色素体呈星状,集中在细胞的中央部位。首次细胞分裂为均等分裂;第二次分裂发生在与第一次分裂相垂直的平面上,少数与第一次平行,然后每个细胞继续分裂。以上所观察的江蓠孢子初期发生过程基本上和中国科学院海洋研究所 1960 年的实验相符合¹⁾。

2. 幼苗的发育过程

在实验条件下,江蓠的四分孢子苗(配子体)和果孢子苗(孢子体)的发育过程基本相同。根据发育过程中的形态特征,我们把全部过程大体上划分成四个发育时期。

(1) 孢子初分时期: 孢子自母藻体上放散并附着在基物上,至进行首次细胞分裂的时期。这时期的特点是孢子均等分裂为两个半球状的细胞,但体积并不增大,历时一般为 15 分钟至一天(图版 I:1—2, II:1—2)。

(2) “半球状体”时期: 在完成孢子初分时期的发育后,每个细胞继续分裂至形成多细胞的“半球状体”(图版 I:3—5, II:3—5)。这时期的特点是细胞数逐渐增多,开始出现顶端和基部的初步分化,但其直径并没有明显增大。顶端部分一般由 3—4 个平列突起的细胞组成(图版 I:5, II:5 长白箭头所示),这些细胞之间略为低凹(图版 I:5, II:5 短白箭头所示)。在一般情况下,大多数的“半球状体”的基部细胞全部附着在附着基物上;但

1) 中国科学院海洋研究所植物研究室,关于江蓠孢子的发生和幼苗的生长发育。全国沿海七省一市江蓠现场会议材料。

也有部分“半球状体”开始时仅一侧的基部细胞附着在基物上(图版 III:3—4 长白箭头所示),但随着生长,另一侧的基部细胞会自行附着到基物上。这一发育时期持续的时间较长,一般培育第二天起至第七天。

(3) 盘状体时期: “半球状体”出现顶端和基部分化以后,其基部细胞开始出现辐射状排列(图版 I:6, II:6 短粗黑箭头所示),并向周围分泌一种透明的胶质状物质(图版 I:6, II:6 短白箭头所示)。基部细胞继续分裂,形成多层次的辐射状排列的盘状体(图版 I:7, II:7),其直径明显增大,一般为 43.8—87.5 μm 。培养 7—10 天后即可出现盘状体。

(4) 幼苗时期: 在盘状体直径不断地增大过程中,其中央部位逐渐突起并延伸形成幼主枝(图版 I:9—10, II:8—12)。这时期的顶端仍为 3—5 个细胞(如图版 I:8)。有一小部分幼苗,无论果孢子苗或四分孢子苗在盘状体时期都能发育出两个幼主枝(图版 II:10, 12)。一般培养 30 天后即可长成幼苗(直立体)。

3. 幼苗的发育途径

观察表明,江蓠四分孢子苗或果孢子苗存在三个不同的发育途径和两种不同的幼苗。只有一部分藻体具有盘状体时期的发育,部分藻体不经过盘状体时期而直接形成幼苗,还有一部分藻体发育不正常,最后夭亡。分述如下。

(1) 具有盘状体的幼苗发育: 在所有萌发的孢子中,只有一部分(10—20(40)%)通过盘状体发育时期完成幼苗发育过程(图版 I:1—10, II:1—12),这部分幼苗的基部细胞具有旺盛的分裂能力,形成一个多层次的同心圆状盘状体,牢固附着于基物上(图版 I:6—7, 9—10, II:6—12, 图版 III:1—2 长黑箭头所示)。以后长成的幼苗生长正常、健康。

(2) 不具有盘状体的幼苗发育: 许多四分孢子或果孢子在完成孢子初分时期和“半球状体”时期的发育后,不经过盘状体时期而直接发育形成幼主枝(图版 III:2 长白箭头所示, 5, 6)。这些幼苗在“半球状体”时期也是有顶端和基部的初步分化,但其基部细胞相对来说没有旺盛的分裂能力,因而不形成多层次的同心圆状盘状体(图版 III:1—2 短白箭头所示)。所以,这些幼苗的基部只有少数原来的基部细胞附着在基物上,其附着能力远远不能承受正在发育长大的江蓠幼苗。在镜检过程中常格外小心才能避免这些幼苗脱落。这类幼苗开始时有较多的数量,约占全部藻体的 30—40(50)%。但实际上,每当实验结束时,这些幼苗的残存率已不足 2—4%。一般在培养至 20—60 天掉苗最多。个别藻体也能形成两个幼主枝(图版 III:6)。

(3) 幼苗的畸形发育: 这类在形态上畸形的藻体,主要发生在“半球状体”时期(图版 III:7—12)。在镜检过程中随时可以观察到,约占全部藻体的 10—20%。这些藻体的细胞发生一系列不正常分裂,形成肿瘤状的细胞团块(图版 III:10—12)。这些藻体在培养 10—30 天大部分自行消亡,少数能持续存活超过两个月。

4. 盘状体的“愈合”现象

两个或多个相邻幼苗的盘状体彼此紧密粘连一起形成一个共同的盘状体(图版 IV:1—5),这种盘状体大约有 1—5%。它们是由两、三个,甚至 10 个孢子彼此粘连在一起以后形成的,各自的顶端细胞多数能形成幼主枝。这类幼苗大都发育正常,生长良好。

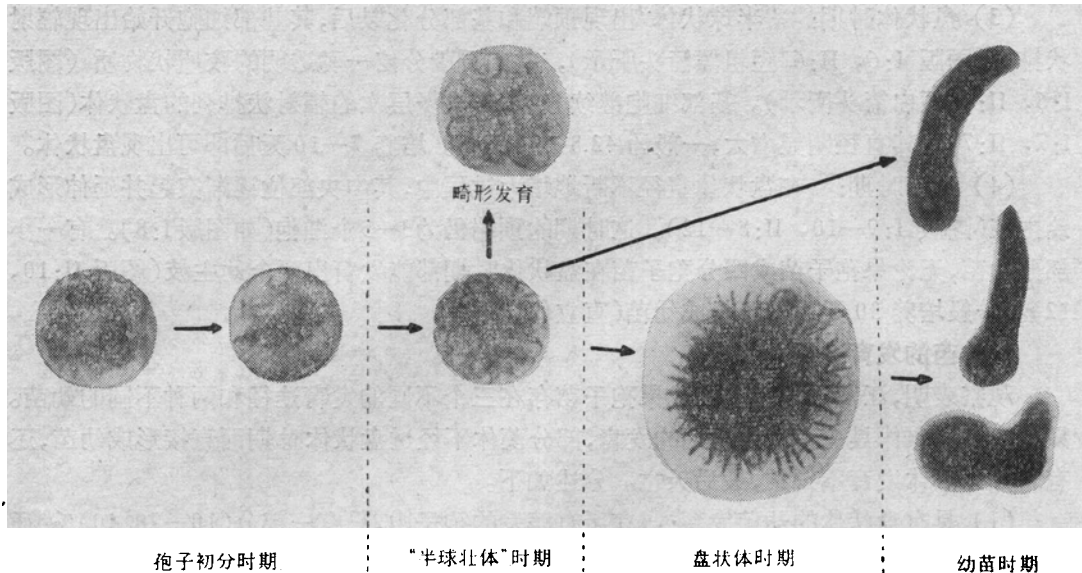


图1 江蓐幼苗的早期发育过程(显示四个发育时期,三个发育途径和两种幼苗)

讨 论

目前,关于江蓐的四分孢子和果孢子幼苗培育的研究还是很少的。我们的实验基于对江蓐四分孢子和果孢子萌发及幼苗发育的全面观察,获得了进一步的认识。江蓐幼苗在不同的培育时间具有不同的形态特征,根据这些特征把幼苗的发育过程划分成四个发育时期,在理论上和实践中都有重要意义。如图1所示,江蓐幼苗存在三个不同的发育途径、两种形态不同的幼苗。我们认为具有盘状体的幼苗是自然条件下孢子的正常发育途径,也是今后江蓐人工栽培的主要栽培对象。而不具有盘状体的幼苗,因其附着能力差,在自然条件下会因海浪的冲击而流失。这类幼苗可能不适宜于一般的海上栽培方法,然而这类幼苗的生长速度相对要比具有盘状体的幼苗快,这就有可能被利用作为水池悬浮培养的栽培对象。形成这两种幼苗的原因,可能与孢子本身有关,这有待进一步去研究。至于幼苗的畸形发育,是一种病态表现,多发生在“半球状体”时期,形态呈肿瘤状细胞团块,尚未在盘状体时期发现这类病变。这种畸形藻体可能是发育不全的孢子形成的。这种病态藻体虽然不多,但也有一定数量,应引以重视。

Harvey (1849, Pl.65) 认为 *G.verrucosa* 的盘状固着器附有假根^[2], Oza^[7] 也描述过假根状细胞(参见 Oza, Pl. I:H)。我们在实验中,对盘状体的顶面和底面进行了反复观

察,没有发现“假根”,特别是底面观察(图版 IV:6—9)表明,其底面为规则的辐射状细胞排列成的圆盘状形态,其周围的细胞紧密地贴附基物,而中央部位上凹,形成一个穹形间隙(图版 IV:6,7 长白箭头所示)。在盘状体形成初期周围只有一层细胞。以后随着盘状体的生长,继续进行细胞分裂形成多层细胞以加强盘状体日益增长的固着能力。我们认为江蓠的幼苗在发育过程中不存在“假根”,而是由盘状体行使其固着作用。

Oza 所用的材料是 *Gracilaria corticata*, 但在他的报告中并没有明确地谈到盘状体这一重要构造。我们所观察到的盘状体,基本上和 Ogata 所报道的相同。我们的实验观察表明,这种盘状体构造恰恰是江蓠幼苗正常发育的主要标志之一。

关于盘状体的“愈合”现象。在我们的实验中,能经常见到这一类的藻体,它的形成与刚释放附着的孢子密度有关。当两个或多个孢子聚集在一起时便容易形成这种藻体。当两个或多个盘状体相互靠在一起时,盘状体之间相邻的基部细胞便逐渐紧密地粘连一起,形成一个共同的盘状体,而在各自的盘状体上也能生长出幼主枝。这点基本上与 Komiyama^[5] 报告中所提到的现象相符合。也与 Jones^[4] 的说明相类似,他认为这种现象有利于幼主枝从卵筏 (raft) 摄取更多的营养或生长激素,加快幼主枝的生长;并发现卵筏上的幼主枝数目与“愈合”孢子数的比例为 1:5。Jones 报道曾观察到多达 50 个孢子聚集一起以后形成一个共同的盘状体现象,但在我们的实验中一般都比较少,最多不超过 10 个孢子。并且大多数在 2 或 3 个孢子相聚形成的共同盘状体上长出 2 或 3 个幼主枝。

江蓠幼苗的盘状体“愈合”现象既然在实验室条件下能发生,在自然条件下也应存在。江蓠的配子体是雌雄异体,但在自然界往往能采集到一株个体,其部分“枝条”为雌性,而部分“枝条”为雄性的怪现象,以及在四分孢子体上长有果孢子体枝和幼苗。通过“愈合”盘状体的观察,解释这一现象就比较容易了。当雌雄两性的四分孢子相聚一起以后发育成幼苗,其植株必定包括既有雌配子体又有雄配子体的“枝条”。其实这两种异性“枝条”只不过是两个异性四分孢子苗生长在同一个盘状体上的结果,它们同样经历了四分孢子苗发育的全过程。如果不清楚这种幼苗形成的原因,往往会被一些表面假象所迷惑。

参 考 文 献

- [1] 曾呈奎、陈椒芬, 1959. 真江蓠的繁殖习性和幼苗的室内培育. 科学通报 6: 202—203.
- [2] 张峻甫、夏邦美, 1976. 中国江蓠属海藻的分类研究. 海洋科学集刊 11: 91—166.
- [3] 猪野俊平, 1947. 海藻の發生. 株式会社北隆館, 255 pp.
- [4] Jones, W. E., 1956. Effect of spore coalescence in the early development of *Gracilaria verrucosa* (Huds.) Papenfuss. *Nature* 178: 426—427.
- [5] Komiyama, T., and M. Sasamoto, 1957. Studies on the Propagation of *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Panenfuss I. On the settling of the spores and development of the early stage. *Report of the investigations on the Ariake Sea* 4: 25—34.
- [6] Ogata, E., T. Marsui and H. Nakamura, 1972. The life cycle of *Gracilaria verrucosa* (Rhodophyceae, Gigartinales) in vitro. *Phycologia* 11(1): 75—80.
- [7] Oza, R. M., 1975. Studies on Indian *Gracilaria* I. Carpospore and Tetraspore Germination and Early Stages of Development in *Gracilaria corticata* J. Ag. *Botanica Marina* 18: 199—201.

THE DEVELOPMENT PROCESS OF SPORELINGS OF *GRACILARIA VERRUCOSA* (HUDSON) PAPENFUSS*

Chen Meiqin and Ren Guozhong

(Institute of Oceanology, Academia Sinica, Qingdao)

ABSTRACT

An attempt has been made to observe the development process of sporelings of *Gracilaria verrucosa* (Hudson) Papenfuss in detail.

Mature plants of tetraphyte and carpophyte were collected in 1980—1982 from the intertidal zone of Zhanshan Bay, Qingdao. The plants were brought to the laboratory, washed thoroughly with sterilized sea water, wiped and cleaned with paper towel, then excised and incubated on cover glasses in small petri dishes containing sea water at 15°—20°C under 2000 lx illumination provided by 40W fluorescent light for 10 hours daily in the culture room. After satisfactory spore release the thalli were removed, and the released spores adhered to the cover glasses and germinated. Incubation of spores went on in sea water enriched with KNO_3 0.5 mM, KH_2PO_4 0.05 mM. The medium was changed weekly.

The development processes of sporelings of both tetraphyte and carpophyte that closely resemble each other are in 4 stages, primary division stage, "hemisphere body" stage, basal disc stage, and young sporeling stage.

In the primary division stage, the spore just liberated was spherical in shape, and splitted at first into two equivalent halves (Pls. I: 1—2, II: 1—2). Germination occurred in 15 minutes to one day after being liberated from the mature plants.

In the "hemisphere body" stage, each cell divided and formed hemisphere body continuously (Pls. I: 3—5, II: 3—5). The sporeling was seen roughly in two parts: the basal part with which the sporeling was attached to the substratum and the top part that consisted of 3—4 cells (Pls. I: 5, II: 5). This stage lasted about 2—7 days.

In the basal disc stage, a distinct disc was formed at the basal part as described by Ogata (1972), and there was a distinct increase in diameter of basal disc, i.e. from 43.8 μm to 87.5 μm (Pls. I: 6—7, II: 6—7). This stage generally occurred after culturing for 7—10 days.

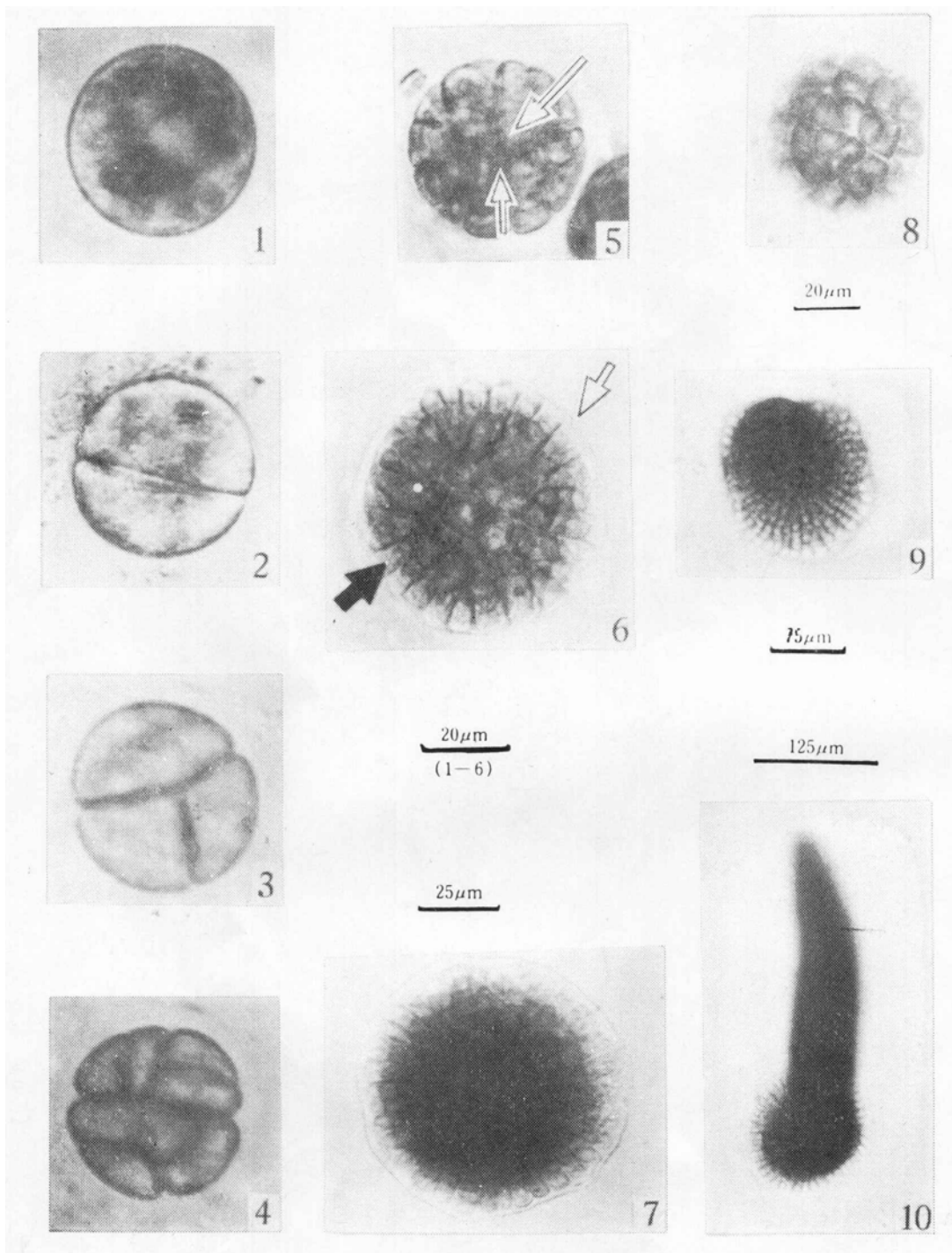
In the young sporeling stage, the center of the disc began to arch slightly, then one or more upright fronds projected gradually from there after culturing for 30 days (Pls. I: 9—10, II: 8—12).

Our observation showed that there are three different ways of development for the two kinds of sporelings. About 10—20% (up to 40%) of the spores passed through the above-mentioned four development stages forming sporelings with distinct basal disc. These sporelings have strong attaching ability and are traditionally used by ordinary *Gracilaria* cultivation on the sea. Another 30—40% (up to 50%) of the sporelings dir-

* Contribution No. 1150 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.

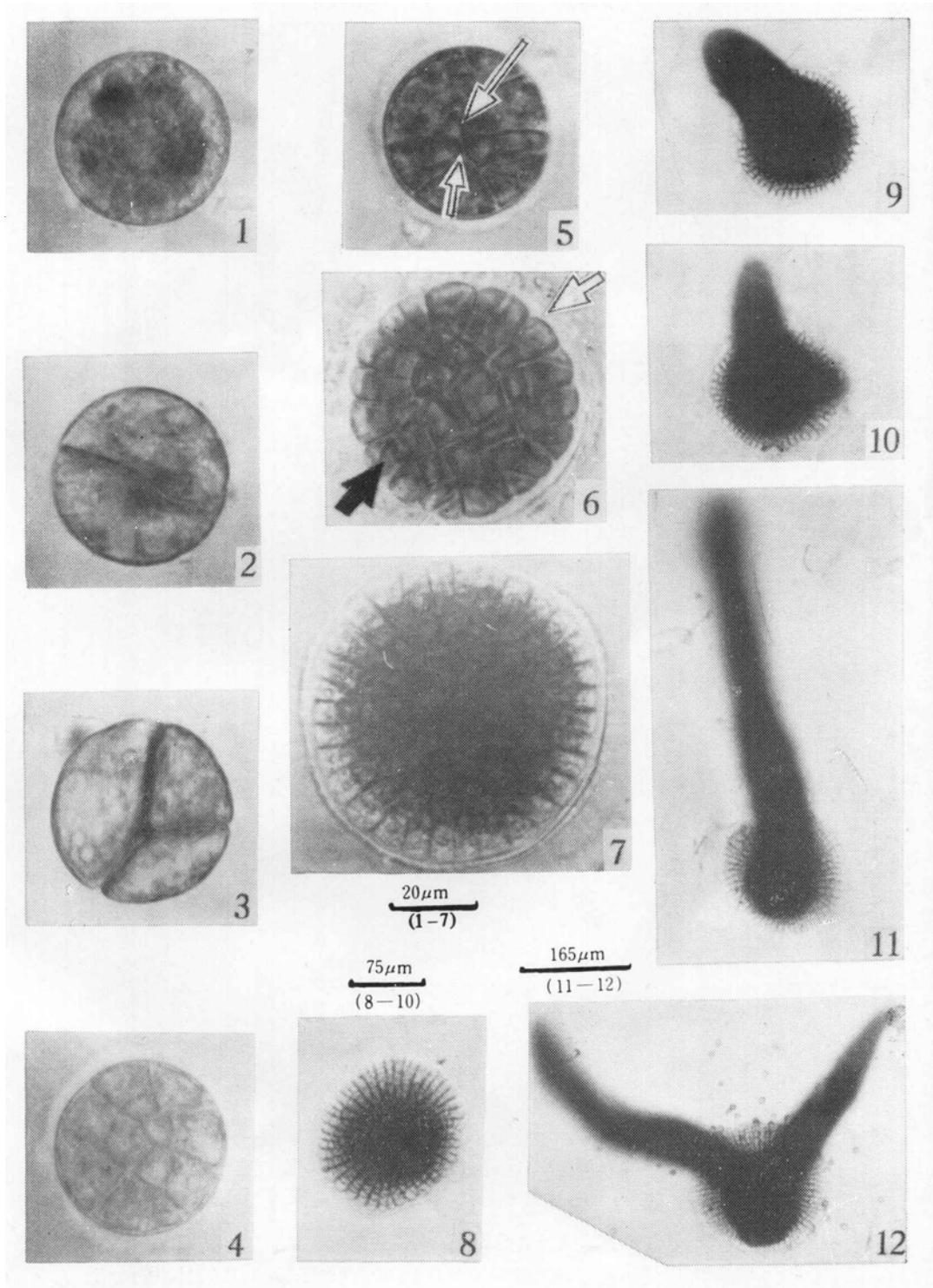
ectly developed from the "hemisphere body" without basal disc, explaining why these sporelings were often found floating in the culture medium. Although these sporelings are not suitable for the present attachment cultivation method, they might be suitable for other culture methods such as free floating method. Some 10—20% of the sporelings showed teratological development during the second stages, with irregular cell division forming a tumour-like cell aggregate which eventually failed to survive.

Some 1—5% of the sporelings showed "coalescence" in the basal disc stage, 2—10 sporelings were seen to "coalesce" together with one single basal disc.



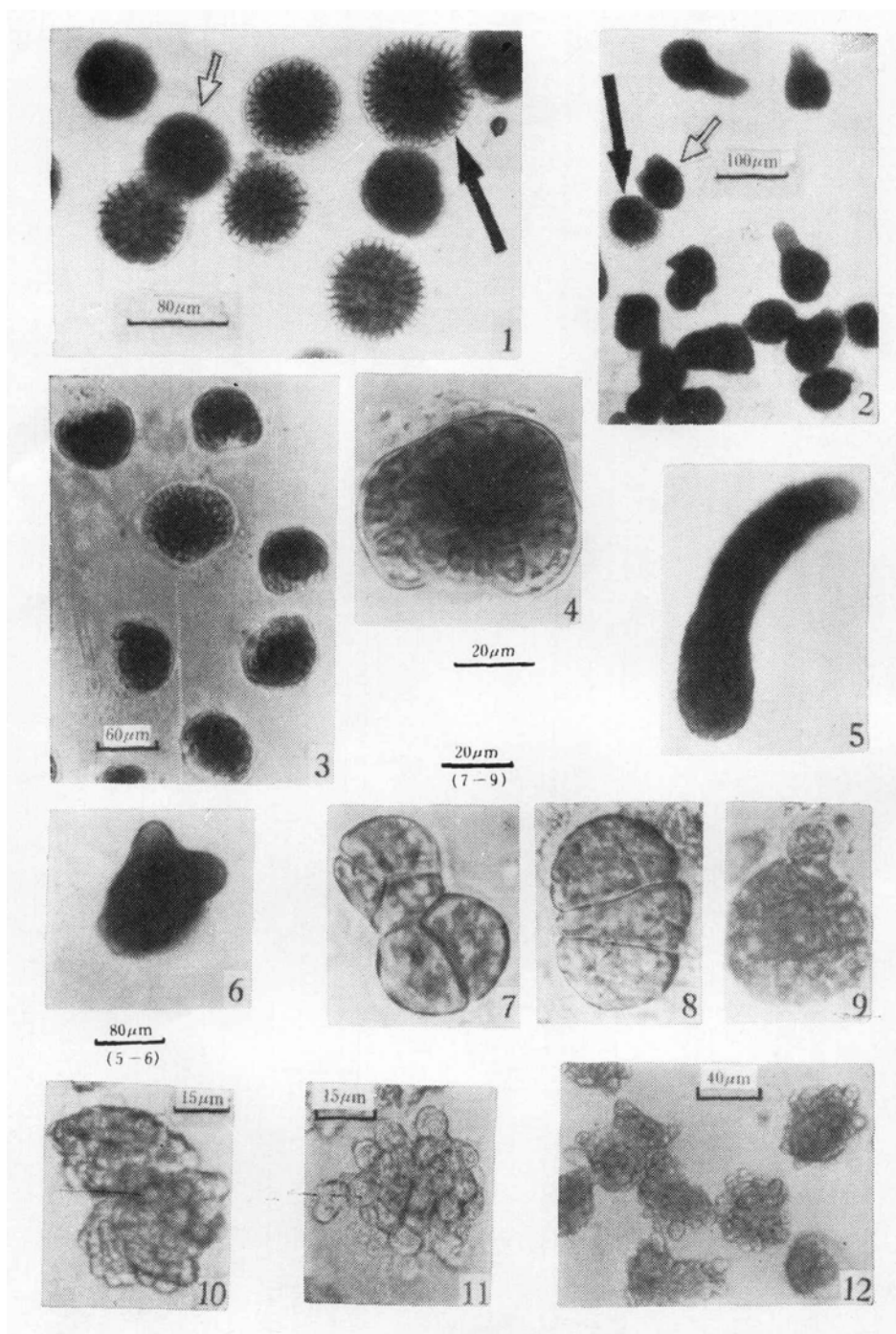
江蕨四分孢子苗(配子体)的发育过程

1—2. 孢子初分时期 (孢子刚放出一小时后); 3—5. “半球状体”时期 (培养 1—3 天)
6—7. 盘状体时期 (培养 10—30 天); 8. 直立体的顶端细胞; 9—10. 幼苗时期 (培养 37—41 天)



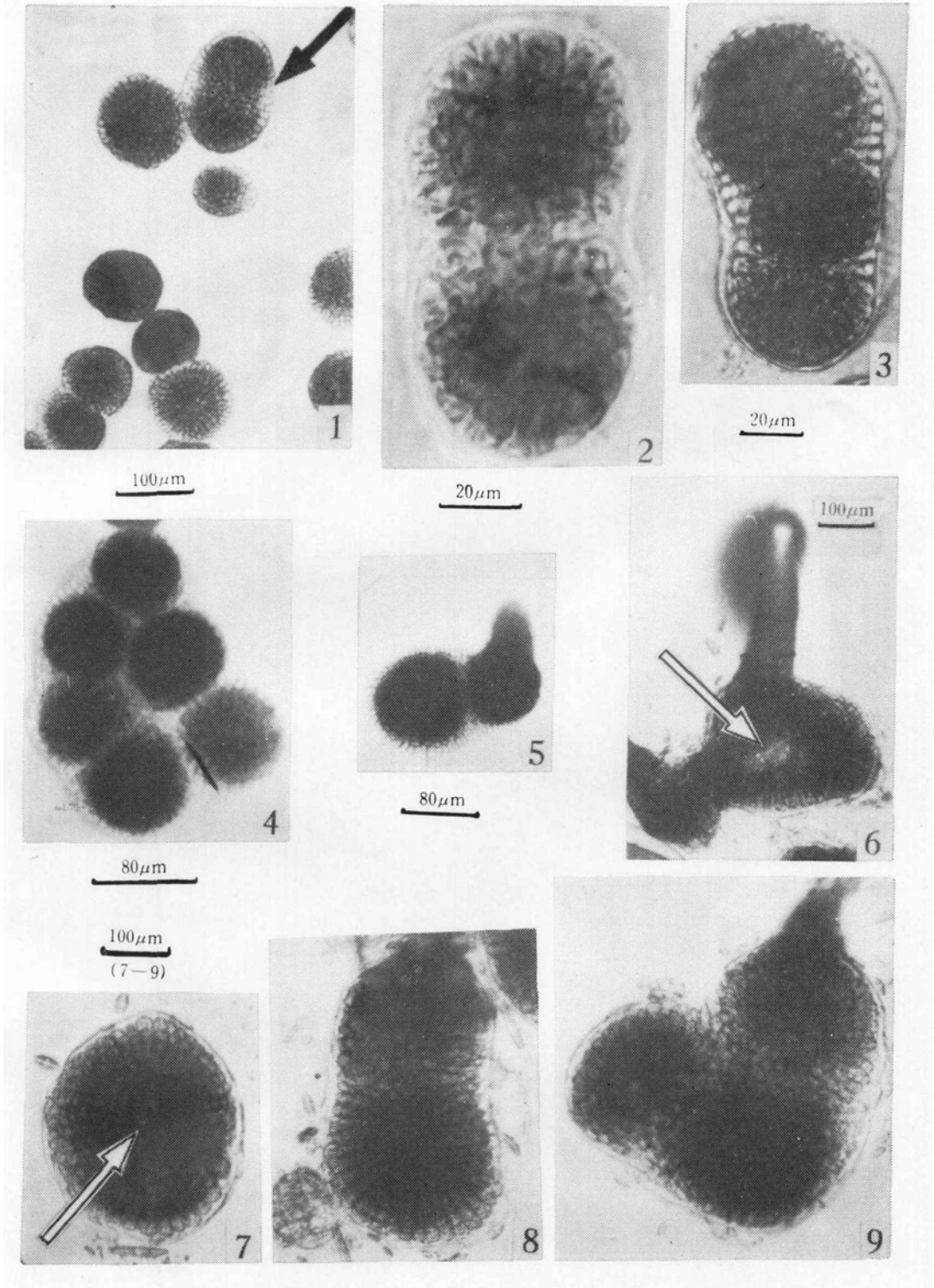
江蕨果孢子苗(孢子体)的发育过程

1-2. 孢子初分时期(孢子刚放出一17小时); 3-5.“半球状体”时期(培养1-3天); 6-7. 盘状体时期(培养7-21天); 8-12. 幼苗时期(培养27-74天)



不具有盘状体的幼苗和幼苗的畸形发育

1-2. 一群幼苗(培养 30-37 天)。显示不具有盘状体的幼苗(白箭头), 和具有盘状体的幼苗(长黑箭头) 3-4. 显示孢子的不正常附着; 5-6. 不具有盘状体的幼苗(培养 27-37 天); 7-12. 幼苗的畸形发育(培养 1-50 天)



盘状体的“愈合”现象

1. 一群幼苗, 显示盘状体的“愈合”现象(长黑箭头); 2-5. 显示盘状体的愈合现象(培养 7-37 天);
6-9. 盘状体的底部观察(培养 90 天)