

文章编号: 1000- 0615(2004)02- 0145- 10

条斑紫菜叶状体细胞的发育与分化

严兴洪¹, 刘新轶¹, 张善霖²

(1. 上海水产大学农业部水产种质资源与养殖生态重点开放实验室, 上海 200090;
2. 福州市水产技术推广站, 福建 福州 350005)

摘要: 条斑紫菜壳孢子经室内 10~ 80d 培养后长成的叶状体分别被酶解成单个细胞, 后者在液体培养基中发育成正常叶状体、畸形叶状体、细胞团、性细胞囊等 10 种不同类型的再生体, 它们的形态与结构、细胞排列与大小、放散单孢子难易程度及最终发育结果等均不同。来自日龄不同的种藻的细胞, 其再生体类型的数目和各类再生体的百分数不同。当种藻日龄为 10~ 30d 时, 在它们的单离细胞再生体中出现了极少的细胞团, 正常叶状体和具假根畸形叶状体的百分数随着种藻日龄的增加, 急剧减少, 但不具假根的畸形叶状体百分数却随着种藻日龄的增加而增加。当种藻日龄大于 40d 以后, 它们的单离细胞就几乎不能直接再生成正常叶状体。随着种藻日龄的增加, 细胞再生体中不具假根的畸形叶状体百分数也显著减少, 而细胞团的百分数急剧上升, 精子囊和果孢子囊的数量也逐渐上升。来自同一藻体不同部位的细胞, 在它们的再生体中, 随着细胞所处藻体部位的上移, 正常叶状体和畸形叶状体的百分数急剧减少, 而细胞团百分数却不断增加。上述结果说明, 在离体条件下, 条斑紫菜叶状体的单离细胞发育成不同类型的再生体, 是由于它们在种藻里处于不同分化阶段的缘故; 同时, 初步得出在条斑紫菜叶状体的发育过程中, 从壳孢子细胞分化成性原细胞的过程可分为 8 个不同的分化阶段。

关键词: 条斑紫菜; 叶状体; 单离细胞; 再生植株; 发育分化

中图分类号: S917.3 **文献标识号:** A

Development and differentiation of gametophytic blade cells in *Porphyra yezoensis* Ueda

YAN Xing2hong¹, LIU Xin2yi¹, ZHANG Shan2pi²

(1. Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Aquacultural Ecosystem Certified by
the Ministry of Agriculture, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China;
2. Fuzhou Fisheries Technical Extension Center, Fuzhou 350005, China)

Abstract: From the gametophytic blades of *Porphyra yezoensis* Ueda which developed from conchospores and aged 10 to 80 days by culturing in the laboratory, the single cell were enzymatically isolated and regenerated into plants showing ten developmental types, such as normal blades, abnormal blades, cell2masses, sexual cell2masses and others. They did not only have the different morphological and structural features, but also were different in cell size and cell arrangement, monospore2release and their final developmental results. When the single cell were isolated from the mother blades in different ages, the numbers and the percentages of their developmental types were different, respectively. When the age of the mother blades increased from 10 to 30 days, among the plants

收稿日期: 20030504

资助项目: 上海市教委发展基金重点项目(2000ZB13); 教育部留学回国人员科研启动基金项目

作者简介: 严兴洪(1958-), 男, 浙江义乌人, 教授, 博士, 主要从事藻类生物技术和遗传育种研究。E2mail: xhyan@shfu.edu.cn

regenerated from the single cell, only a few of cell masses appeared, and the percentages of the normal blades and abnormal blades with rhizoids sharply decreased, but the percentage of the abnormal blades without rhizoids increased. When the mother blades aged more than 40 days, among the plants regenerated from the single cells, the normal blades did not appear, and the percentages of the abnormal blades without rhizoids also sharply decreased in addition to the significant increase of cell masses, and the percentages of both spermatangia and caposporangia gradually increased with the increase of the ages of mother blades. When the single cells were isolated from different parts of a long blade, among the regenerated plants from them, the percentages of both normal and abnormal blades significantly decreased, but with increasing of percentage of the cell masses. These results suggested that the single cell isolated from the gametophytic blade of *P. yezoensis* regenerated into different types of plants in vitro are attributed to the difference of the differentiation stages of the cells in vivo. The differentiation period of the gametophytic blade cells from the conchospore cell to sexual cell, can at least be divided into eight differentiation stages.

Key words: *Porphyra yezoensis* Ueda; gametophytic blade; single cell; regeneration plant; development and differentiation

条斑紫菜 (*Porphyra yezoensis* Ueda) 是世界上重要的海水养殖品种之一, 在中国, 日本和韩国等地被广泛养殖, 年产值近 10 亿美元。国内外学者对它的养殖和遗传育种等作了大量研究^[1-7]。条斑紫菜的生活史中有微型的丝状体和大型的叶状体 2 个阶段, 叶状体被大规模养殖供食用。它的成熟叶状体产生精子和果胞并通过有性生殖形成果孢子并萌发成丝状体, 由成熟丝状体产生的壳孢子经细胞减数分裂后再发育成叶状体; 此外, 叶状体也可以通过无性生殖产生单孢子, 再发育成叶状体^[7]。所以, 条斑紫菜的单孢子也是生产上大规模养殖叶状体的重要苗源之一, 单孢子放散多与少对生产极为重要。另一方面, 如果叶状体过多产生单孢子, 也会影响其生长和产量, 对生产不利。有关条斑紫菜单孢子的生长发育和单孢子采苗等已有不少报道^[8-11]。但是, 对于条斑紫菜单孢子的形成机理以及如何来诱导和抑制单孢子的大量产生等基础理论问题还没有解决。搞清楚条斑紫菜叶状体细胞的系统发育分化过程, 将是解决上述理论问题的重要基础研究之一。

用生物工具酶分离出紫菜叶状体的单个细胞或原生质体, 在离体条件下培养, 通过观察其再生植株的形态与结构、发育方式以及最终发育趋势等来研究紫菜叶状体的细胞发育分化途径是有效的方法之一^[12-16]。严兴洪和王素娟^[16]利用此方法较系统地研究了坛紫菜叶状体的细胞发育分化

过程, 得出从壳孢子细胞分化成性原细胞的过程可被划分为 7 个不同的分化阶段。日龄小于 20d 的坛紫菜叶状体其细胞基本处于尚未分化的状态, 即绝大多数从叶状体被分离出来的单个细胞与原来的壳孢子一样能发育成 1 个完整的叶状体。对条斑紫菜叶状体的细胞分离和再生培养也作了不少研究。卢澄清等^[17]首次报道了用海洋细菌腐烂法得到的条斑紫菜营养细胞有 3 种再生发育途径; 严兴洪和王素娟^[16]报道了用海螺酶获得的条斑紫菜叶状体细胞有 5 种再生发育途径。何培民和王素娟^[18]报道了条斑紫菜叶状体离体细胞的两条主要发育途径和作为苗源的应用可能性。但上述研究使用的紫菜材料均为从自然海区采回的叶状体, 日龄和大小不同, 无法系统地对条斑紫菜叶状体细胞的发育与分化进行较深入的研究。本文利用室内人工培养的叶状体和单离细胞再生技术, 对条斑紫菜叶状体细胞的系统发育分化过程进行了较详细的研究。

1 材料和方法

1.1 条斑紫菜叶状体室内人工培养

本试验所用材料为野生型条斑紫菜 (*Porphyra yezoensis* Ueda), 株名为 U2511。该株采自条斑紫菜的养殖群体, 以自由丝状体的方式保存在室内 20 多年^[6]。室内保存培养方法同文献^[19]。培养液用 MES 培养基^[13]。用自由丝状体采壳孢子

以及室内叶状体培养方法同文献[6]。

1.2 叶状体单个细胞的分离和再生培养

条斑紫菜自由丝状体壳孢子经培养长成一定大小的叶状体后, 选择健康的叶状体作为分离单个细胞的种藻。分离细胞所用的工具酶是海螺酶^[12], 细胞分离方法: 用新鲜海水和毛笔清洗种藻3遍, 然后用 $1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖溶液洗去藻体表面的盐分; 用刀片将种藻切碎后, 投入预先配好的酶液中酶解。酶液由 $2\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 葡萄糖溶液加入 $0.5\% \sim 1.0\%$ 酶配成。酶解温度为 22e , 酶解时间 $1 \sim 2\text{h}$ 。细胞和酶的混合液经 100 目的筛绢网过滤, 过滤液经离心 ($1000\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 5min), 除去上清酶液, 保留细胞沉淀, 并加入高比重海水 (比重 = 1.040), 再次离心 ($1000\text{r}\cdot\text{min}^{-1}$, 5min) 洗涤细胞。用相同的办法连续离心和洗涤细胞 3 次后弃上清液, 收集沉淀细胞并加入 MES 培养液 (比重 = 1.030) 调成细胞悬浮液。取一定数目的细胞培养在直径为 9cm 的培养皿中, 加入 25mL 左右的培养液进行培养; 2 天后, 补加比重较低的 MES 培养液 (比重 = 1.025)。单离细胞培养条件: 温度 18e , 光照密度前期为 $20\text{lmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 2 周后增至 $30\text{lmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 光周期为 12L12D。培养液每周换 1 次。

1.3 其它实验方法

不同日龄的叶状体单离细胞再生植株培养

附着在尼龙丝上的壳孢子在 18e 、光强为 $90\text{lmol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ (12L: 12D) 的条件下, 进行充气培养, 并分别在培养了 10、15、20、30、40、50、60、70 和 80d 时, 依次取适量的叶状体进行酶解, 把获得的单离细胞培养成株。细胞培养方法和条件同上。

叶状体不同部位细胞再生植株培养 所用种藻的日龄为 50d , 体长 19cm 。从藻体基部开始, 依次取 $0 \sim 1$, $1.1 \sim 3$, $5.1 \sim 7$, $9.1 \sim 11$, $13.1 \sim 15$, $17.1 \sim 19\text{cm}$ 等 6 个切段的藻块, 并分别酶解获得单离细胞, 进行培养。细胞培养方法和条件同上。

2 结果

2.1 条斑紫菜叶状体细胞的离体发育分化类型

根据酶解单离细胞再生植株的形状, 有无假根, 假根中是否含色素, 叶片细胞的大小和排列方

式, 单孢子放散难易程度, 以及它们的最终发育趋势等, 条斑紫菜叶状体细胞的离体发育分化类型可分成 10 种, 也就是说从叶状体分离到的细胞有 10 类处于不同分化阶段的细胞。

第 N 类细胞: 在离体条件下, 它们发育成正常叶状体, 其发生和发育方式与壳孢子极为相似, 第 1 次细胞分裂为极性分裂, 产生两个极性细胞, 其中的 1 个细胞色素体较小, 液泡较大, 成为原始假根细胞, 逐渐伸长并变成假根, 另 1 个细胞色素体较大, 细胞质浓, 先进行数次的细胞横分裂形成单列细胞的叶片, 然后, 再进行纵分裂, 发育成由多列细胞构成的叶状体。再生叶状体的外形结构和由壳孢子长成的叶状体很相似, 绝大多数为单一叶片, 多为细长型, 具短而发达的透明状正常假根, 假根较粗大, 附着牢固; 叶片的细胞富含光泽, 较小, 大小均匀, 排列整齐, 叶片边缘光滑 (图版 I - 1)。这类叶状体较难放散单孢子。

第 O 类细胞: 它们在离体条件下发育成具假根的畸形叶状体, 其发生和发育方式与壳孢子极为相似。再生叶状体的外形和由壳孢子长成的叶状体很相似, 但假根很细长, 长度数倍于正常假根, 多为单根, 附着不牢固; 叶片的形状, 细胞大小和排列与正常叶状体很相似 (图版 I - 2)。这类叶状体较容易放散单孢子, 当长到一定大小后, 有时整张叶片的细胞几乎都变成单孢子放散出来 (图版 I - 3)。

第 O 类细胞: 它们在离体条件下发育成具类假根的畸形叶状体。叶片不同于正常叶片, 形状呈多种形状, 多数为不规则形, 细胞的大小均匀且排列紧密。它们具细长且内含色素的类假根, 多为单根, 附着力很差, 几乎不能附着而飘浮在水中 (图版 I - 4)。这类叶状体也较容易放散单孢子, 当长到一定大小时, 整个叶片的细胞几乎全变成单孢子放散出来。有时, 这类叶状体的细胞也会全部分化成精子囊, 随着精子的逐渐成熟和放散, 最后整张叶片消失。

第 O 类细胞: 在离体条件下, 它们发育成畸形叶状体。叶片不同于正常叶片, 呈多种不规则状, 叶片的细胞排列松散, 不规则; 叶片边缘的细胞外突, 不光滑; 具单根或多根的假根或类假根

(图版 I- 5)。它们难以长成大的叶状体,因为叶片部细胞往往在培养的早期就全变成单孢子放散出来(图版 I- 6)。

第 0 类细胞:它们在离体条件下发育成无假根的畸形叶状体。这类细胞的第一次分裂是近均等分裂,第二次是十字形分裂,形成四个细胞(图版 I- 7),随着细胞分裂次数的增加,逐渐发育成不具假根的畸形叶状体。它的叶片部细胞大小均匀,排列紧密,叶片边缘光滑,与正常叶状体相似(图版 I- 8)。它们较难长成大的叶状体,因为很容易放散单孢子,流失掉(图版 I- 9)。有时它们也会逐渐长出类假根,但最终叶片的细胞都将变成单孢子放散出来。

第 0 类细胞:它们在离体条件下发育成细胞团。细胞经多次分裂后形成细胞团,其细胞的大小,色泽和色素体大小与正常或畸形叶状体的细胞相似,但细胞排列无序,呈堆积状,外缘细胞突起,细胞团形状多样化(图版 I- 10)。它们的细胞往往在培养的早中期就全变成单孢子放散出来(图版 I- 11)。

第 X 类细胞:它们在离体条件下也发育成细胞团。细胞经多次分裂后形成细胞团;细胞团内的细胞,被一层较厚的外壁包被,比由前面六类细胞长成的正常叶状体或细胞团的细胞大且较长,无序堆积状排列;细胞团多数呈卵圆形和园形(图版 I- 12)。培养一定的时间后,这类细胞团的最外层壁就会融解,里面的细胞全部放散出来。刚释放出来的细胞形状不规则,无细胞壁,然后逐渐变成园形,再生出细胞壁,然后像单孢子一样,发育成正常叶状体(图版 I- 13)。

第 0 类细胞:它们在离体条件下发育成果孢子囊。它们先发育成由几十个细胞组成的细胞团,其细胞比正常叶状体的细胞稍大,排列不规则,光泽较暗。培养一定时间后,细胞色素体中央转红,细胞团外壁破裂,细胞全部释放出来,并萌发成丝状体(图版 II- 1)。

第 U 类细胞:它们在离体条件下发育成精子囊团。它们也先发育成由 8~ 16 个细胞组成的细胞团,其细胞比正常叶状体的细胞稍大,排列不规则,光泽较暗。培养到一定时间,细胞团内的细胞颜色发黄变浅,每个细胞再经几次分裂发育成 1 个精子囊,成熟的精子破壁释放出来(图版 II-

2)。随着精子的不断成熟和释放,整个细胞团消失。

第 U 类细胞:它们原位于藻体的基部,为根丝细胞。刚被单离出来时,形状多为梨形,在较细的一端具 1 根丝。培养中细胞分裂速度较慢,1 周后,细胞才发生第 1 次极性分裂,产生的两个细胞,1 个连续分裂发育成叶片,另 1 个分裂伸长构成假根,假根较粗长,且内含一轴丝。这类细胞长成的叶片,多数为园扇状,一般长到数十个细胞就停止生长,并逐渐衰老(图版 II- 3),无法长成大的叶片。

2.2 叶状体的细胞分化与藻体日龄的关系

来自不同日龄叶状体的单离细胞,在离体条件下的发育情况如表 1 所示。日龄小于 20d 的藻体,在他们的细胞再生体中只出现了正常叶状体,畸形叶状体(具假根或不具假根),以及根丝细胞叶状体,没有细胞团等出现。随着日龄的增加,其它细胞再生体的类型数出现。正常叶状体百分比随着种藻日龄的增加,而逐渐减少;日龄只有 10d 的种藻,尽管它们只含几十个细胞,被单离出来的细胞中,只有 7.6% 的细胞能再生成正常叶状体。当种藻日龄增至 40d 以上,它们的单离细胞就基本不能直接再生成正常叶状体。在细胞再生体中,具假根的畸形叶状体数量随着种藻日龄的增加而减少,尤其是当种藻日龄超过 30d 后,就急剧地减少。当种藻日龄在 10~ 30d,细胞再生体中不具假根的畸形叶状体数量随着种藻日龄的增加而增加,但种藻日龄大于 40d 后,却随着种藻日龄的增加而减少,与此同时,再生体中细胞团的数量急剧上升,精子囊和果孢子囊的数量逐渐上升。

2.3 叶状体细胞分化与细胞所在部位的关系

来自同一叶状体但所处藻体部位不同的细胞,其离体培养结果如表 2 所示。从表 2 可看出,正常叶状体只出现在来自藻体基部 3cm 以下的细胞再生体中。具假根和不具假根的畸形叶状体 8 比率随着细胞所处藻体部位的上移,而急剧下降。除基部一段的细胞团数量较少外,其余切段的细胞团数量约占一半,无明显差异;而精子囊的数量却随着细胞所处藻体部位的上移而迅速上升;果孢子囊的数量也呈上升趋势。由此可见,在一棵藻体上,不同部位的细胞所处分化状态是不同的,细胞所处部位越是靠上,细胞的分化阶段越是接近性母细胞。

表 1 条斑紫菜不同日龄叶状体单离细胞的发育类型和比例(培养 9d)

Tab. 1 Development types and their percentages of the single cells isolated from *Porphyra yezoensis* blades of different ages after being cultured for 9 days

日龄 (d) day old	细胞发育类型和百分比(%)								检查 总个体数 total examined individuals
	正常 叶状体 normal blades	具假根畸形 叶状体 abnormal blades with rhizoid	不具假根畸 形叶状体 abnormal blades without rhizoid	细胞团 cell masses	精子囊 spermat 2angium	果孢子囊 carpospo 2rangium	根丝细胞 再生叶状体 blades regenerated from rhizoid cells	放散个体* released individuals	
10	7.6	53.1	39.3						583
15	2.0	40.8	57.2						814
20	1.6	28.0	69.7				0.7		867
30	0.3	19.4	77.7	1.2			0.8	0.6	1186
40	0.3	3.5	57.5	29.8	7.1		0.8	1.0	1010
50	0.3	3.3	31.8	51.8	10.9	0.3	0.7	1.0	1004
60		3.0	15.7	63.3	14.8	1.9	0.8	0.5	1097
70		1.8	9.6	65.4	17.8	3.5	0.3	1.6	1030
80		1.7	6.7	67.1	18.6	4.0	0.5	1.4	1033

注: * 绝大多数为细胞团

Notes: * means most were cell masses

表 2 条斑紫菜叶状体不同部位单离细胞的发育类型和比例(培养 9d)

Tab. 2 Development types and their percentages of the single cells isolated from different parts of a blade in *Porphyra yezoensis* after being cultured for 9 days

藻体切段 部位* (cm) parts	细胞发育类型和百分比(%)								检查 总个体数 total examined individuals
	正常 叶状体 normal blades	具假根畸形 叶状体 abnormal blades with rhizoid	不具假根畸 形叶状体 abnormal blades without rhizoid	细胞团 cell masses	精子囊 spermat 2angium	果孢子囊 carpospo 2rangium	根丝细胞 再生叶状体 blades regenerate d from rhizoid cells	放散个体* * released individuals	
0~ 1	1.7	33.6	24.1	32.8	4.6		3.2		1158
1~ 3	0.7	4.1	16.8	53.2	22.8	0.5	0.7	1.2	1150
5~ 7		0.1	7.3	54.6	35.9	1.7		0.4	1149
9~ 11		0.1	6.2	49.2	36.3	1.8		6.4	1019
13~ 15		0.1	2.4	49.6	40.5	2.5		4.9	1072
17~ 19		0.2	0.6	54.0	43.3	0.8		1.1	1068

注: * 从基部开始取; * * 绝大多数为细胞团

Notes: * means from the base of the blade; * * means most were cell masses

3 讨论

3.1 条斑紫菜叶状体细胞的分化途径

条斑紫菜叶状体细胞分化与上述离体细胞的关系见图 1。根据来自不同日龄种藻的细胞的再生体中出现的发育类型数目不同,各发育类型出现的先后次序不同,以及各发育类型之间百分比的相关变动情况等,可以认为离体细胞再生体的不同发育类型是由于它们在种藻中所处的分化阶段不同所致。如图 1 所示,条斑紫菜叶状体的细胞从壳孢子开始发育分化成性母细胞的过程可大致分为 8 个阶段。

壳孢子细胞处于发育分化的最原始阶段,它具有发育成完整叶状体的能力。随着壳孢子的萌

发,叶状体的生长和发育,不仅细胞数目大量增加,而且细胞的分化也在逐步进行。壳孢子最初的几次细胞分裂所产生的细胞类似于动物的原胚细胞,细胞分化几乎还没有开始,即细胞处于第 1 个分化阶段,被称为第 0 类细胞。它们被分离出来后,在离体培养条件下可以像壳孢子一样发育成正常的叶状体。随着叶状体的生长发育,大部份细胞被分化,进入第 2 个分化阶段,第 0 类细胞在离体培养条件下发育成具假根的畸形叶状体,表现为假根变细长不发达,附着力变差,叶片细胞容易放散单孢子。当藻体的细胞进入第 3 个分化阶段,第 0 类细胞在离体培养条件下发育成具类假根的畸形叶状体,表现为假根变长且内含色素,无附着力,叶片形状不规则但细胞排列规则,叶片

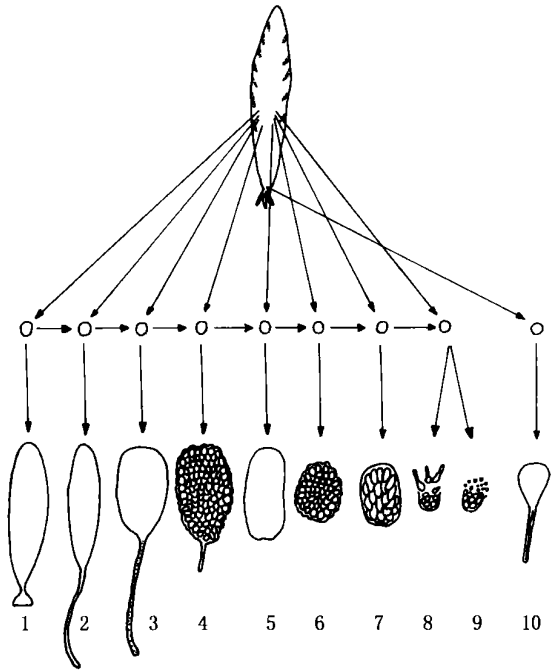


图1 条斑紫菜叶状体的单离细胞再生体类型和细胞分化途径示意图

Fig. 1 Schematic drawing of regeneration types of single cells isolated from the gametophytic blades in vitro and differentiation paths of the blade cells in vivo in *Porphyra yezoensis*

1. 正常叶状体; 2. 具假根畸形叶状体; 3. 具含色素假根的畸形叶状体; 4. 具假根且细胞排列不规则的畸形叶状体; 5. 无假根畸形叶状体; 6. 细胞排列不规则但具星状色素体的细胞团; 7. 细胞较大的细胞团; 8. 果孢子囊; 9. 精子囊; 10. 假根细胞的再生叶状体
1. Normal blade; 2. Abnormal blade with rhizoid; 3. Abnormal blade with pigmentation rhizoid; 4. Abnormal blade with irregularly arranged cells and rhizoid; 5. Abnormal blade without rhizoid; 6. Cell masses with irregular arranged cells and star like chromatoplast; 7. Cell masses having big cells; 8. Carposporangia; 9. Spermatangia; 10. Plant regenerated from rhizoid cell

细胞更容易放散单孢子。随着藻体细胞继续分化进入第4个分化阶段, 它们(第0类细胞)在离体培养条件下发育成具类假根且叶片部的细胞排列不正常的畸形叶状体, 表现为类假根短, 无附着, 叶片细胞极容易放散单孢子。当藻体细胞进入第5个分化阶段, 第0类细胞在离体培养条件下发育成不具假根的畸形叶状体, 叶片细胞很容易放散单孢子。当藻体细胞进入第6个分化阶段, 第0类细胞在离体培养条件下只能发育成细胞团, 细胞排列不正常, 但细胞的大小, 色泽和色素体大小与正常叶状体的细胞相似。这类细胞团

的细胞往往很早就变成单孢子, 放散掉。当藻体的细胞进入第7个分化阶段, 第X类细胞在离体培养条件下也发育成细胞团, 细胞排列不正常, 且细胞的体积变大, 色泽变浅, 与前6类细胞再生体的细胞不同。这类细胞团的细胞很容易变成单孢子, 放散掉。当藻体的细胞进入第8个分化阶段, 细胞起了质的变化, 已分化成性母细胞, 细胞颜色变淡。在离体培养条件下, 第0类细胞如果是已受精的雌性母细胞(果胞), 就发育成果孢子囊; 如果是未受精的雌性母细胞, 不进行分裂, 只是细胞体积增大颜色变红, 色素体呈块状(图版II-4), 培养一定的时间后, 它们逐渐退色, 变空, 解体掉; 如果是雄性母细胞(第0类细胞), 先分裂形成几个细胞的细胞团, 而后每个细胞再进行数次分裂, 形成一个成熟精子囊。从条斑紫菜叶状体分离到的另一类细胞是假根细胞(第0类细胞), 细胞数目较少。它们来自壳孢子的第一次极性分裂产生的原始假根细胞。在离体条件下, 虽然它们也可以再生成正常叶状体, 但叶片部生长能力很弱, 长到几十个细胞就停止分裂, 无法长成大的叶状体, 也难以放散单孢子, 假根部发达, 说明它们的分化程度很高, 与其它体细胞不同。

3.2 条斑紫菜和坛紫菜的叶状体细胞分化途径比较

坛紫菜的叶状体细胞发育分化途径已有详细报道^[16]。在条斑紫菜和坛紫菜的叶状体细胞的离体再生发育类型中, 均有正常叶状体、具假根和不具假根的畸形叶状体、细胞团等类型; 另外, 比较条斑紫菜和坛紫菜的各类细胞再生体的比例变动情况后, 可以认为条斑紫菜和坛紫菜的叶状体细胞分化途径大致相似。不同点是条斑紫菜叶状体细胞的前7类再生体均具放散单孢子的特性, 产生的单孢子数量很多; 而坛紫菜只有极少数的细胞团能放散类单孢子长出一些正常苗^[20], 其数量远及不上条斑紫菜。

3.3 室内培养和自然海区的条斑紫菜叶状体的细胞再生植株异同点

使用从自然海区采集的条斑紫菜叶状体进行单离细胞培养的研究中^[16-18], 均报道部分体细胞再生细胞壁后不分裂, 放散后, 才开始分裂并发育成正常叶状体, 它们被认为是单孢子细胞。本试验使用室内培养的条斑紫菜叶状体, 它们的离体细胞始终没有发现单个细胞像单孢子似地直接

发育成正常叶状体。但用来自自然海区栽培的条斑紫菜叶状体做验证实验时,发现在它们的单离细胞中确实有部分单孢子细胞,放散后直接发育成正常叶状体(图版 II- 5、6)。由于室内培养和海区栽培条斑紫菜叶状体的最大条件差异是前者不干露而后者每天2次干露在空气中数小时,所以,我们认为上述单孢子细胞有无的差异可能主要是由于种藻生长条件不同所致,即自然海区每天一定的干露可能是促使条斑紫菜叶状体单孢子分化的重要因素之一。

3.4 条斑紫菜叶状体的细胞分化速度快慢与单孢子放散量和生长的关系

利用人工诱变获得的1个条斑紫菜突变体,它的叶状体生长速度和快速生长期明显比野生型快而长。对该突变体不同日龄叶状体的单离细胞进行离体再生培养,结果发现在相同的培养条件和相同的日龄下,其叶状体的细胞分化速度明显比野生型慢,细胞再生体放散单孢子增加几百倍;同时,叶状体的生长速度远快于野生型,这说明条斑紫菜叶状体的细胞分化速度快慢对单孢子放散量及生长有重要影响,其详细结果将在另文报道。

参考文献:

- [1] Miura A, Kunifuji Y. Genetic analysis of the pigmentation types in seaweed *Sargassum* (*Porphyra yezoensis*) [J]. *Iden*, 1980, 34: 14- 20 (in Japanese).
- [2] Ohme M, Miura A. Tetrad analysis in conchospore germlings of *Porphyra yezoensis* (Rhodophyta, Bangiales) [J]. *Plant Sci*, 1988, 57: 135- 140.
- [3] Zhang Y J, Yang Y X, Wang Q Y, et al. Studies on the breeding and genetics of *Porphyra yezoensis* Ueda [J]. *Tran Ocean Limnol* 1985, 4: 44- 51. [张佑基, 杨以勋, 王清印, 等. 条斑紫菜 (*Porphyra yezoensis* Ueda) 遗传和育种的研究 [J]. 海洋湖沼通报, 1985, 4: 44- 51.]
- [4] Xu P. Inducement of pigmentation mutants and genetic characters of *Porphyra* [D]. Ph. D thesis, Institute of Oceanology, Chinese Academy Sciences, 1997, 14- 81. [许璞. 紫菜色素突变体诱导与遗传特征 [D]. 中国科学院海洋研究所博士论文, 1997, 14- 81.]
- [5] Yan X H, Fujita Y, Aruga Y. Induction and characterization of pigmentation mutants in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta) [J]. *J Applied Phycology*, 2000, 12: 69- 81.
- [6] Yan X H, Aruga Y. Genetic analysis of artificial pigmentation mutants in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta) [J]. *Phycological Research*, 2000, 48: 177- 187.
- [7] Phycological Research Group, Institute of Oceanology, Institute of Oceanology, Chinese Academy Sciences. Artificial cultivation of *Porphyra yezoensis* Ueda [M]. Beijing: Science Press, 1978. 1 - 19. [中国科学院海洋研究所藻类实验生态组和藻类分类形态组. 条斑紫菜的人工养殖 [M]. 北京: 科学出版社, 1978. 1- 19.]
- [8] Wang S J, Zhang J R, Liu J J. Preliminary study on the natural cultivation of *Porphyra yezoensis* Ueda [J]. *J Fish China*, 1964, 1 (1- 2): 285- 294. [王素娟, 章景荣, 刘家驹. 条斑紫菜自然育苗养殖的初步研究 [J]. 水产学报, 1964, 1 (1- 2): 285- 294.]
- [9] Wang S J, Zhang J R, Chen G Y, et al. Elementary study on culture of nature- attached seedling of *Porphyra yezoensis* Ueda in Zhoushan [R]. Research report of *Porphyra* cultivation experiments in Zhoushan, Shanghai Fisheries College. 1965. [王素娟, 章景荣, 陈国宜, 等. 舟山地区条斑紫菜自然育苗人工养殖试验初步研究 [R]. 上海水产学院, 舟山地区紫菜养殖试验报告. 1965.]
- [10] Li S Y, Cun G F. An observation of the growth and development of sporlings from conchospores and monospores of *Porphyra yezoensis* [J]. *Oceanol et Limnol Sin*, 1980, 11 (4): 370 - 373. [李世英, 崔广法. 条斑紫菜单孢子和壳孢子幼苗生长发育的初步观察 [J]. 海洋与湖沼, 1980, 11 (4): 370- 373.]
- [11] Li S Y, Xu P, Wang M. The influence of density of seawater on the discharge and adherence of monospores of *Porphyra yezoensis* Ueda [J]. *Marine Science*, 1986, 10 (6): 38- 43. [李世英, 许璞, 王敏. 海水密度对条斑紫菜单孢子放散和附着的影响 [J]. 海洋科学, 1986, 10 (6): 38- 43.]
- [12] Tan Y L. Isolation and cultivation of the vegetative cells and protoplasts of *Porphyra suborbiculate* Kjellm [J]. *J Shandong Coll Oceanol*, 1982, 12 (4): 37- 50. [唐延林. 紫菜营养细胞和原生质体的分离和培养 [J]. 山东海洋学院学报, 1982, 12 (4): 37- 50.]
- [13] Wang S J, Zhang X P, Sun Y L, et al. Studies on the cultivation of the vegetative cells and protoplasts of *Porphyra haitanensis* [J]. *Ocean et Limnol Sin*, 1986, 17 (3): 217- 221. [王素娟, 张小平, 徐云龙, 等. 坛紫菜营养细胞和原生质体培养的研究 I [J]. 海洋与湖沼, 1986, 17 (3): 217- 221.]
- [14] Wang S J, Sun Y L, Lu A M, et al. Early stage differentiation of thal us cells of *Porphyra haitanensis* (Rhodophyta) [J]. *Chin J Oceanol Limnol*, 1987, 5 (3): 217- 221.
- [15] Di J X, Bao Z M. Developmental studies on protoplasts of *Porphyra haitanensis* [J]. *Acta Genetica Sinica*, 1988, 15 (4): 299 - 302 [戴继勋, 包振民. 坛紫菜原生质体的发育研究 [J]. 遗传学报, 1988, 15 (4): 299- 302.]
- [16] Yan X H, Wang S J. Studies on the development and differentiation of the somatic cells from *Porphyra* spp. (Rhodophyta) [J]. *Marine Sciences*, 1990, 3 (2): 195- 208.
- [17] Lu C Q, Li Y Q, Hu Z M, et al. Study on the somatic cells of *Porphyra* thal us I Observation on isolation, culture and bud forming of the somatic cell from *P. yezoensis* [A]. Proceeding of the 1st Chinese Phycological Symposium (1979), Chinese

- Phycological Society, Qingdao[C], 1983. 45- 55. [卢澄清, 李永祺, 胡增森, 等. 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[A]. 第一届中国藻类学会讨论会文集[C], 1983. 45- 49.]
- [18] He P M, Wang S J. Study on the differentiation and development of cells isolated from thallus of *Porphyra yezoensis* Ueda[J]. *Acta Botanica Sinica*, 1992, 34(11): 874- 877. [何培民, 王素娟. 条斑紫菜离体细胞分化发育的研究[J]. 植物学报, 1992, 34(11): 874- 877.]
- [19] Kato M, Aruga Y. Comparative studies on the growth and photosynthesis of the pigmentation mutants of *Porphyra yezoensis* in laboratory culture[J]. *Jap J Phycol*, 1984, 32: 334- 347.
- [20] Wang S J, Yan X H. Study on monosporelike cells from *Porphyra haitanensis* [J]. *Chin J Oceanol Liminol*, 1990, 8(1): 92- 94.

图版说明 Explanation of Plates

图版Ñ 条斑紫菜叶状体单离细胞的再生植株

1. 正常叶状体(培养 17d); 2. 具假根畸形叶状体(17d); 3. 具假根畸形叶状体放散单孢子(15d); 4. 具含色素假根的畸形叶状体(17d); 5. 细胞排列无规则的具假根畸形叶状体(14d); 6. 细胞排列无规则的具假根畸形叶状体放散单孢子(15d); 7. 四细胞团(培养 7d); 8. 无假根畸形叶状体(15d); 9. 无假根畸形叶状体放散单孢子(18d); 10. 细胞排列无规则但具星状色素体的细胞团(14d); 11. 细胞团放散单孢子(12d); 12. 细胞较大的细胞团(16d); 13. 来自细胞团的单孢子苗(19d)。图中标线均代表 50 Lm

PlateÑ Regeneration plants of single cells from the gametophytic blades in *Porphyra yezoensis*

1. A normal blade (Aged 17d); 2. An abnormal blade with rhizoid (17d); 3. Monospores released from abnormal blade with rhizoid (15d); 4. An abnormal blade with pigmentation rhizoid (17d); 5. An abnormal blade with irregularly arranged cells and rhizoid (14d); 6. An abnormal blade with irregularly arranged cells and rhizoid releasing monospores (15d); 7. A 4cellmasses (7d); 8. An abnormal blade without rhizoid (15d); 9. An abnormal blade without rhizoid releasing monospores (18d); 10. Cellmasses with irregularly arranged cells and starlike chromatoplast (14d); 11. Cellmasses releasing monospores (12d); 12. Cellmasses having big cells (16d); 13. Monospore germlings of cellmasses (19d). Scale bar: 50 Lm

图版Ò 条斑紫菜叶状体单离细胞的再生植株

1. 放散的果孢子和萌发体(培养 11d); 2. 精子囊和放散的精子(10d); 3. 假根细胞的再生叶状体(14d); 4. 含块状色素体的大细胞(7d): 上面 1 个是压碎后的细胞, 下面 2 个为培养的大细胞; 5. 单孢子在原细胞内萌发长成的正常苗(11d); 6. 单孢子放散后长成正常苗(11d)。图中标线均代表 50 Lm

Plate Ò Regeneration plants of single cells from the gametophytic blades in *Porphyra yezoensis*

1. Released carpospores and their germlings (11d); 2. Spermatangia and the releasing sperms (10d); 3. Bud regenerated from the isolated rhizoid-cell (14d); 4. The large cells having block chromatoplast (7d); The above one is the crashed large cell and the other two were cultured cells; 5. A monospore germling germinated in original cell (11d); 6. A monospore germling after released (11d). Scale bar: 50 Lm

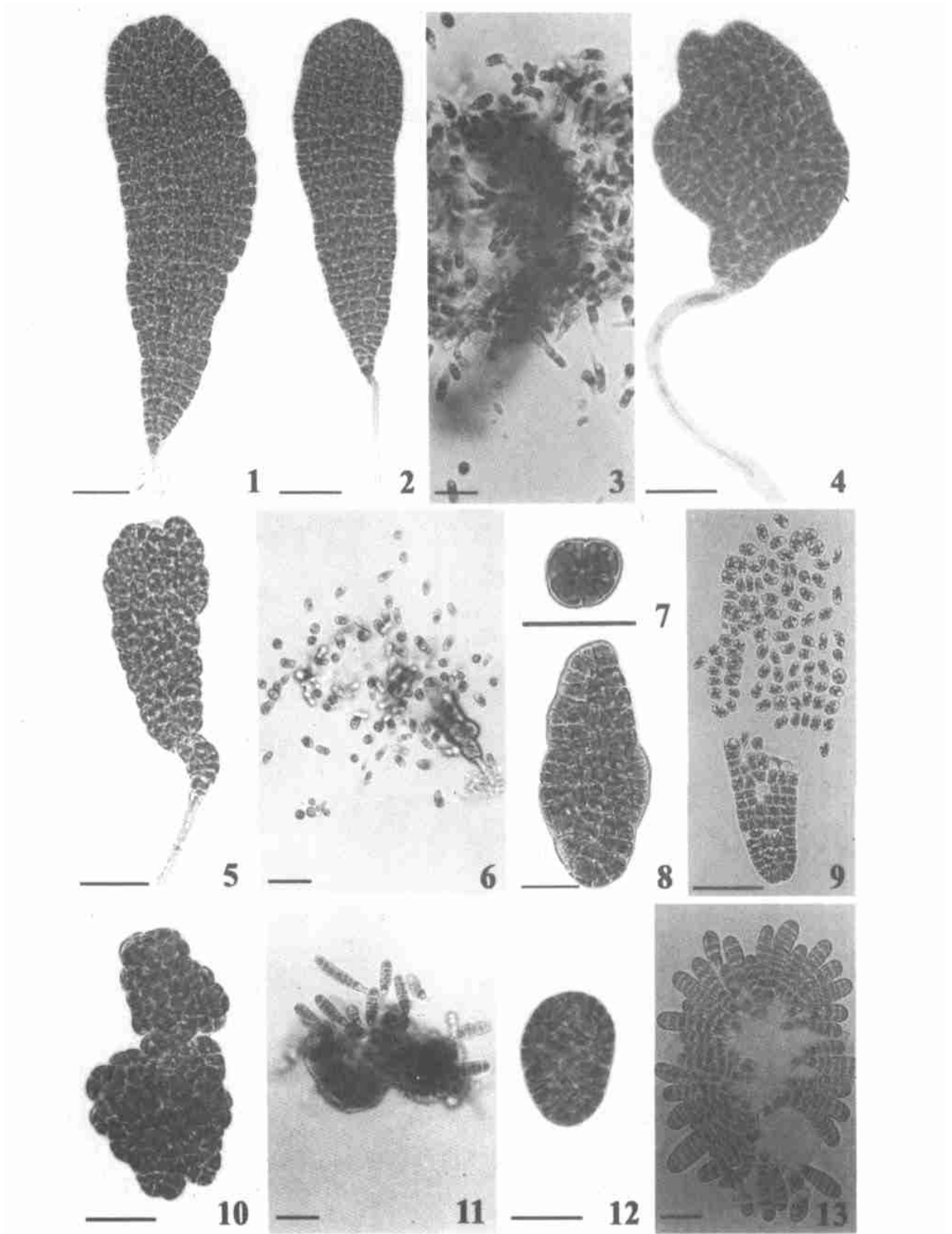
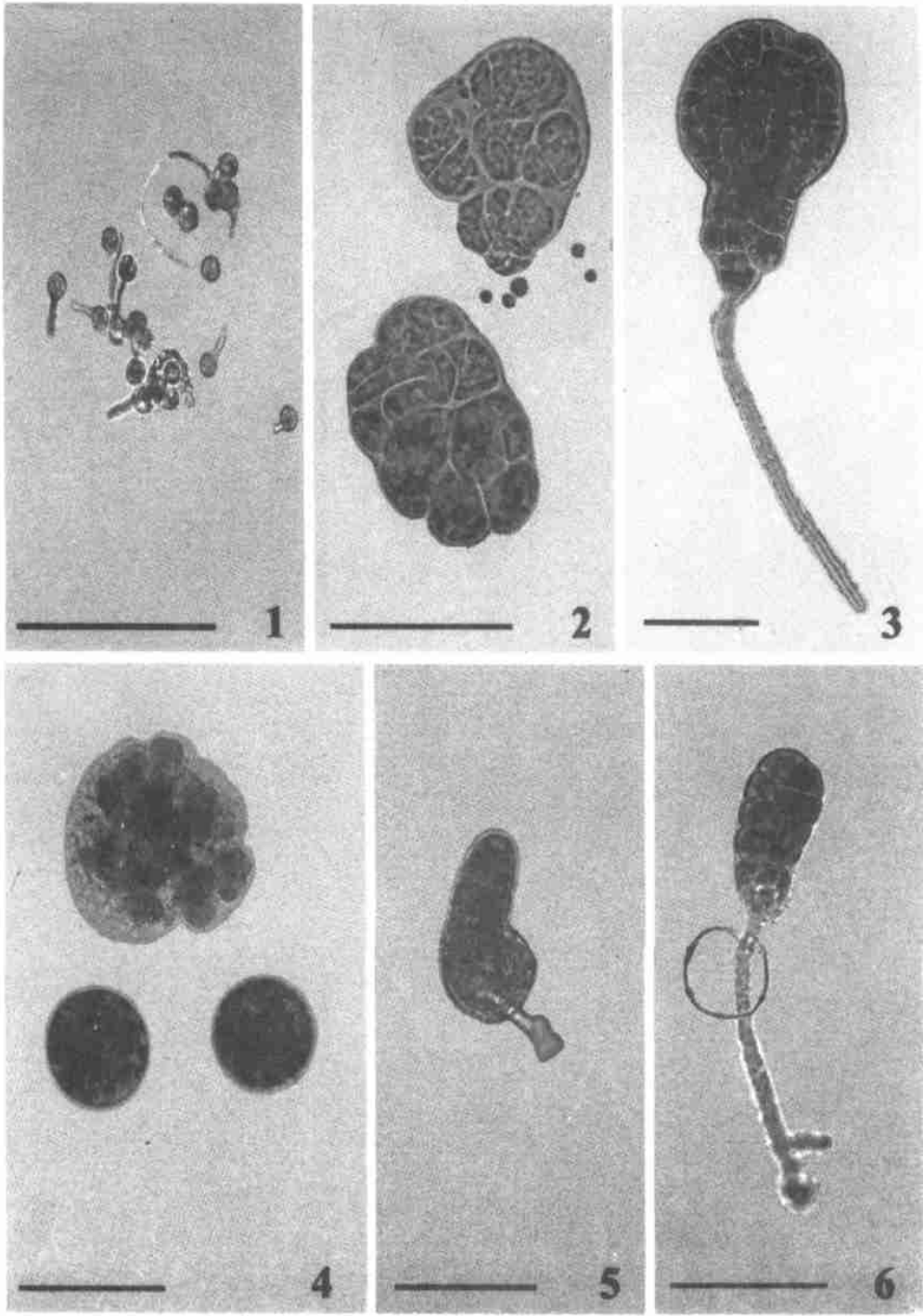


图 版 13

Plate 13



图版 0 Plate 0