

文章编号:1000-0615(2007)02-0184-09

坛紫菜雌雄叶状体的细胞分化比较

严兴洪, 刘旭升

(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, 上海高校水产养殖学 E-研究院, 上海 200090)

摘要:以室内培养 20~90 d 的坛紫菜雌雄叶状体为研究材料,用酶解法分别获取单离细胞进行再生培养。在雌雄叶状体的体细胞再生体中,都出现 9 种不同发育类型。再生体发育类型的数目和比例与种藻日龄密切相关等结果,证实了离体培养的单离细胞发育成不同形态的再生体是基于其离体前处于不同分化时期所致;由壳孢子分化成性母细胞大致可划分成 8 个不同阶段。雌雄叶状体的细胞分化途径大致相同,但也有一定差异,雌性叶状体的细胞最终分化成雌性性母细胞,并产生大量的丝状体;而雄性叶状体的细胞最终分化成雄性性母细胞,绝大部分生成精子,但极少数产生丝状体。在雌雄叶状体的细胞再生体中,均产生“类单孢子”并长成正常叶状体。雄性叶状体成熟较雌性早,与其细胞分化速度较快有关。成熟期不同的雌性品系观察结果表明,叶状体成熟越早、生长期越短,其体细胞分化速度也越快。

关键词:坛紫菜;叶状体;分化;单离细胞;再生体;发育类型

中图分类号:S 917

文献标识码:A

Comparison on cell differentiation of male and female blades in *Porphyra haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta)

YAN Xing-hong, LIU Xu-sheng

(Key Laboratory of Aquatic Genetic Resources and Aquacultural Ecosystem Certificated by the Ministry
of Agriculture, Aquaculture Division, E-Institute of Shanghai Municipal Education Commission,
Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

Abstract: Both female and male blades of *Porphyra haitanensis* Chang et Zheng were obtained by culturing conchospores of different strains in the lab for 20 to 90 days, and were used to isolate enzymatically single cells, respectively. Nine distinct developmental and morphological patterns were observed among the regenerating plants of the single cells of female or male blades. The numbers and percentages of the developmental patterns are clearly related with the ages of blades used to isolate the single cells, suggesting that distinct developmental patterns of the single cells originally came from the differentiation of cells on the blades. Generally, there are at least eight differentiation stages from conchospore cell to sexual cell in the female and male blades. But, some differences existed on cell differentiation between the female and male blades. The cells of the female blade differentiate into sexual cells and produce conchocelis, while the male

收稿日期:2006-04-11

资助项目:国家“八六三”高新技术发展计划(2002AA603023, 2006AA10A413);国家自然科学基金项目(30170734, 30571443);上海市自然科学基金项目(05RZ14110);上海市重点学科建设项目(Y1101);上海市 E-研究院水产养殖学科特聘研究员项目(E030090);上海水产大学校长基金项目(2001-01)

作者简介:严兴洪(1958-),男,浙江义乌人,博士,教授,博士生导师,主要从事海洋生物生理生态,海藻生物技术和遗传育种研究。
E-mail: xhyan@shfu.edu.cn

blade cells mostly differentiate into sexual cells to produce spermatangia, but also yielding a few conchocelis. The monospore-like cells developing into normal blades were observed among the cultures of single cells of female and male blades. Comparatively speaking, the maturation of male blade is earlier than that of female blades, and is related with the faster cellular differentiation. The earlier the maturation of the blades, the shorter the growth period and the faster the cell differentiation existed among the female strains.

Key words: *Porphyra haitanensis*; gametophytic blade; differentiation; single cell; regenerating plant; developmental pattern

坛紫菜(*Porphyra haitanensis*)被广泛养殖于我国福建、浙江和广东等地,其产量约占全国紫菜产量的75%。在坛紫菜生活史中,有大型的叶状体和微型的丝状体2个阶段;叶状体阶段的绝大多数个体是雌雄异体,少数为雌雄同体^[1]。雌雄叶状体成熟后分别产生果胞和精子,通过有性生殖产生果孢子,后者萌发成丝状体;丝状体成熟后释放出壳孢子,后者经过细胞减数分裂发育成叶状体^[1]。在人工养殖的坛紫菜群体中,雌雄叶状体混合生长,一般雄性叶状体成熟早,个体较小,而雌性叶状体成熟较晚,个体较大。坛紫菜叶状体成熟后,生长速度变慢,颜色变淡,菜饼质量下降。因此,开展坛紫菜雌雄叶状体成熟早晚差异的研究,不仅对海藻生长发育和细胞分化有理论上的研究意义,而且对开展坛紫菜遗传育种也有重要参考价值。

用生物工具酶分离出紫菜叶状体的单离细胞或原生质体,在离体条件下培养,通过观察其再生体的形态与结构,发育方式及最终发育分化趋势等研究紫菜叶状体的细胞发育分化途径是有效的方法之一^[2-8]。研究发现,坛紫菜叶状体离体细胞的再生体中存在着多种发育类型^[3-4]。严兴洪等^[5]较系统地研究了坛紫菜叶状体的细胞发育分化过程,通过培养来自多棵雌雄叶状体的离体细胞,得出由壳孢子细胞分化成性母细胞的过程可划分为几个不同的分化阶段。但上述研究所使用的材料均是从养殖群体中采回的雌雄混合叶状体,在成熟之前无法区分雌雄,因此,不能判断某种发育类型是来自雌性还是雄性叶状体,及雌雄叶状体细胞分化途径的异同点。本实验将以坛紫菜单雌和单雄的野生型品系及成熟变早的单雌突变体品系为材料,用酶解法分别获得雌雄叶状体的单离细胞进行再生培养,通过比较再生体的发育类型和最终发育分化趋势差异,研究坛紫菜雌雄叶状体的细胞分化异同点,以及叶状体的成熟

与体细胞分化速度的关系,从细胞水平探讨坛紫菜雌雄叶状体成熟差异的原因。

1 材料和方法

1.1 坛紫菜品系和叶状体的室内培养

实验用单雄品系(*wt-m1*)和单雌品系(*wt-w2*)分别是采自自然海区的坛紫菜叶状体通过单性生殖获得的野生型品系;成熟变早的人工突变体(*wt-q1*)是雌性品系^[5];它们的叶状体世代其性别均为单性,即均为全雄或全雌^[6]。壳孢子采苗和室内叶状体培养的方法同于文献^[7],培养液用过滤自然海水加MES培养基^[8]配成。叶状体的培养条件:温度24℃,光照密度为85 $\mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$,光周期为10 L:14 D,培养液每周换1次。

1.2 叶状体的单离细胞分离和再生培养

由贝壳丝状体释放的壳孢子经过一定时间培养发育成叶状体,在培养的20~90 d期间,每隔10天,取正常健康的叶状体作为酶解材料,以海螺酶^[7]为工具酶,分离出单离的细胞,进行再生培养。

1.3 叶状体的生长测定

叶状体的生长测定从壳孢子培养第20天开始,每隔10天测量1次,每次测定20个个体,计算出平均体长。

2 结果

2.1 坛紫菜雌雄叶状体离体细胞的发育分化类型

根据单离细胞再生体的外形,有无假根,细胞颜色,细胞的大小和排列方式,色素体的形状以及再生体的最终发育分化趋势,坛紫菜雌性叶状体的离体细胞发育类型可分为9种。

第1种发育成正常叶状体(图版I-1)。叶状体多呈披针形,深红紫色,细胞体积较小且规则排列,色素体呈星状,具有透明假根,非常像壳孢子

萌发体。

第2种发育成具类假根的畸形叶状体(图版 I-2)。叶状体不具真正的假根,含一至数个含色素的类假根。叶片的颜色,细胞的大小和排列方式,色素体的形状与正常叶状体基本相同,但形状没有正常叶状体规则,培养一段时间后,少数叶片可分化出真正的假根,转化成正常叶状体。

第3种发育成无假根的畸形叶状体(图版 I-3)。叶片基部光滑,边缘细胞不外突。叶片的颜色,细胞的大小和排列方式,色素体的形状与正常叶状体基本相同,但叶片形状不如正常叶状体规则。培养4~5周后,有的叶片其细胞颜色逐渐变淡,星状色素体变成弥散状,随着藻胶质层自行融解,细胞被释放出来,萌发成丝状体。

第4种发育成I型细胞团(图版 I-4)。细胞团的细胞体积约为正常叶状体细胞的1.5倍。细胞色素体也呈星状,但细胞排列不规则,最外层细胞呈凹凸状。培养4~5周后,大多数可在近边缘处分化出一至数个的生长点,逐渐长出新芽,而细胞团的其余细胞则颜色逐渐变淡,内含物变空。少数细胞团的细胞色素体变成弥散状,细胞释放出来,萌发成丝状体。

第5种发育成II型细胞团(图版 I-5)。细胞团的细胞数目相对较少,细胞体积也比正常叶状体的细胞大,多数呈卵圆形,有的边缘细胞呈放射状排列,色素体呈弥散状,颜色较淡。这类细胞团有3种发育趋势:一是像第I型细胞团那样,在细胞团近边缘处长出新生芽,其余细胞逐渐变白衰亡(图版 I-6);二是细胞的色素体颜色逐渐变深变红,细胞变圆,最后所有细胞释放出来,萌发成丝状体(图版 I-7);三是细胞逐渐变白衰亡。

第6种发育成III型细胞团(图版 I-8)。这类细胞团的颜色与II型细胞团相类似,但更淡;细胞膨大状呈卵型,色素体呈弥散状。这类细胞团有3种发育趋势:一是细胞的色素体发生凝集,细胞变红,释放后萌发成丝状体(图版 I-9);二是细胞内含物变空后死亡;三是细胞团解体并释放出细胞,其体积增大,颜色变红加深,但它们不能再分裂,始终悬浮在培养液中,直至死亡。

第7种发育成IV型细胞团。细胞排列松散,呈黄绿色,色素体呈块状。培养一段时间后,细胞团外壁融化破裂,细胞全部释放出来。来自同一个细胞团的细胞,有的发育成丝状体,有的发育成

一个正常叶状体(图版 I-10)。这类细胞团与III型细胞团的主要区别在于细胞排列呈堆积状,更容易解离放出单细胞。

第8种发育成果胞细胞团,它们可能是由未受精的果胞细胞发育而来,在快成熟的叶状体的单离细胞再生体中,它们的百分比急剧上升。培养约1周,它们就开始放散细胞,后者萌发成丝状体(图版 I-11)。

第9种发育成根丝细胞叶状体(图版 I-12),由根丝细胞发育而来,其数量较少。它们的生长能力较弱,叶片一般由几十个细胞构成,假根粗而长,内含一条根丝。

2.2 坛紫菜雄性叶状体的离体细胞发育分化类型

在雄性叶状体的离体细胞再生体中也存在9种发育分化类型:

第1,2,3,9种发育类型分别与雌性叶状体离体细胞的第1至第3种及第9种发育类型基本相同(图版 II-1,2,3;12),只是少数不具假根的畸形叶状体最终分化形成精子囊(图版 II-4)。

第4种发育成I型细胞团(图版 II-5),与雌性叶状体离体细胞的第4种发育类型基本相同,只是,一部分细胞团最终分化成精子囊。

第5种发育成II型细胞团(图版 II-6)与雌性叶状体离体细胞的第5种发育类型基本相同,但最终的发育分化趋势不同:绝大多数细胞团分化成精子囊;少数细胞团在边缘处长出新生芽,其余细胞逐渐变白衰亡(图版 II-7);极少数细胞团先释放出细胞,再萌发成丝状体。

第6种发育成III型细胞团(图版 II-8),与雌性叶状体离体细胞的第6种发育类型基本相同,但最终发育分化趋势不同:大多数细胞团最终分化成精子囊;少数细胞团的细胞不再分裂而逐渐死亡,极少数细胞团先释放出细胞,再萌发成丝状体(图版 II-9)。

第7种发育成IV型细胞团,与雌性叶状体离体细胞的第7种发育类型基本相同,但最终发育分化趋势不同:绝大多数分化成精子囊;极少数先放出细胞,其中的一些细胞发育成正常苗,另外一些细胞萌发成丝状体(图版 II-10)。

第8种发育成精子囊细胞团,可能是由精母细胞发育而来。培养1周左右,它们就分化成精子囊,释放出精子(图版 II-11)。

2.3 坛紫菜雌雄叶状体的生长与成熟比较

单雌野生型品系 (*wt-w2*) 和成熟变早的单雌突变体品系 (*wt-q1*) 所释放的壳孢子, 均全部发育成雌性叶状体, 而单雄野生型品系 (*wt-m1*) 所释放的壳孢子, 全部发育成雄性叶状体, 它们的生长情况如图 1。

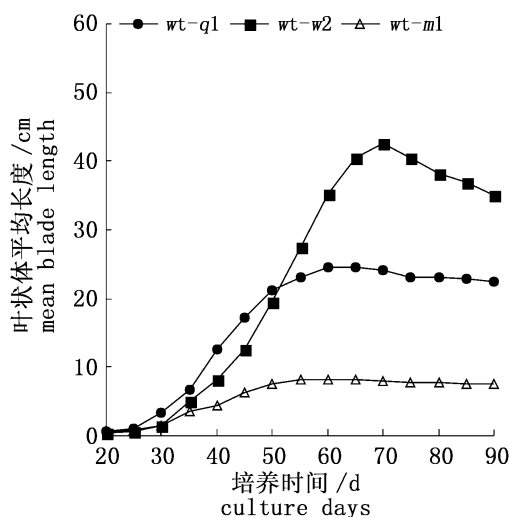


图1 坛紫菜不同品系 (*wt-w2*, *wt-m1*, *wt-q1*) 的叶状体生长比较

Fig. 1 Growth comparison of gametophytic blades developed from conchospores of the female wild-type (*wt-w2*), the male wild-type (*wt-m1*) and the female mutant (*wt-q1*) strains of *Porphyra haitanensis*

单雌野生型品系 (*wt-w2*) 和单雌突变品系 (*wt-q1*) 的叶状体生长均比野生型单雄品系 (*wt-m1*) 叶状体快。培养到第 20–50 天, 叶状体平均大小的次序为: 单雌突变品系 > 单雌野生型品系 > 单雄野生型品系。但 50 d 后, 叶状体的平均大小次序为: 野生型单雌品系 > 单雌突变品系 > 野生型单雄品系, 两个雌性品系的生长均比雄性品系快, 雄性品系的叶状体性成熟明显快于两个雌性品系。培养 27 d, 雄性叶状体的基部就出现了极少量的精子囊, 到 40 d 左右精子囊大量出现, 50 d 左右, 叶状体生长就基本停止。而单雌突变体品系到 40 d 左右才出现果胞, 50 d 左右果胞大量出现, 60 d 左右叶状体的生长基本停止。单雌野生型品系到 50 d 才出现果胞, 到 60 d 果胞大量出现, 到 70 d 叶状体基本上停止生长。由此可见, 单雌突变品系的叶状体成熟明显快于单雌野生型品系。

2.4 坛紫菜雌雄叶状体的细胞发育分化与藻龄的关系分析 3 个品系的壳孢子经过一段时间培养后发育成叶状体, 在培养的第 20–90 天之间, 每隔 10 天取每个品系的叶状体进行酶解, 获得单离细胞进行离体培养。单雌突变品系 (*wt-q1*) 和野生型单雌品系 (*wt-w2*) 叶状体的单离体细胞发育情况分别见图 2 和图 3。

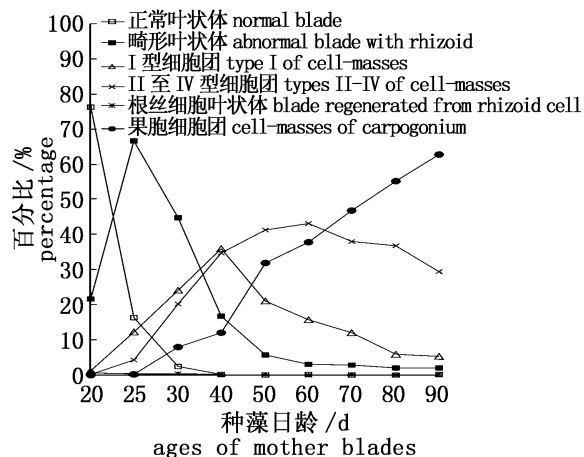


图2 坛紫菜不同日龄叶状体单离细胞的发育类型及比例 (*wt-q1* 品系)

Fig. 2 Developmental patterns and their percentages of the single cells isolated from *Porphyra haitanensis* blades (*wt-q1* strain) aged for 20–90 days

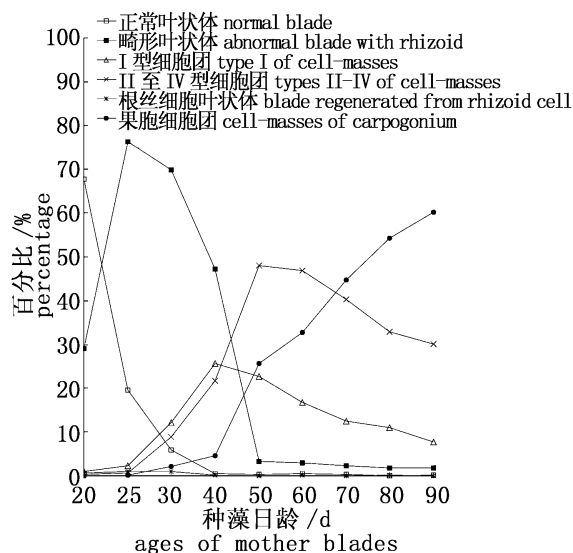


图3 坛紫菜不同日龄叶状体单离细胞的发育类型及比例 (*wt-w2* 品系)

Fig. 3 Developmental patterns and their percentages of the single cells isolated from *Porphyra haitanensis* blades (*wt-w2* strain) aged for 20–90 days

图2表明,单雌突变品系(*wt-q1*)的单离细胞再生体中,正常叶状体比例随着种藻日龄的增加而急剧下降,当种藻日龄为40 d时,其比例很低。畸形叶状体比例先增加后降低,种藻日龄为25 d时其比例达到最高,以后随着种藻日龄的增加而急剧下降。而I型细胞团的比例先增加后降低,日龄为40 d时,其比例达到最高;II至IV型细胞团的比例也是先增加后降低,日龄为60 d时其比例达到最高。果胞细胞团比例则随着其它细胞团比例的下降而逐渐增加,特别当种藻日龄超过40 d之后,其比例呈直线增加。

从图3可看出,野生型单雌品系(*wt-w2*)的单离细胞再生体中,各种发育类型出现的早晚及比例变化与单雌突变品系(*wt-q1*)基本相同。

从图2和图3可以看出,成熟早的单雌突变品系的叶状体,其细胞分化速度明显比雌性野生型叶状体快,当日龄为30 d时,在其单离细胞再生体中,I型细胞团、II至IV型细胞团和果胞细胞团的比例分别为24.16%、20.34%和7.92%(图2),而在来自相同日龄的野生型单雌品系叶状体的单离细胞再生体中,它们的比例则分别只有12.16%、8.93%和2.1%(图3),这一结果暗示叶状体细胞的分化速度与叶状体的成熟快慢相关。

图4表明,雄性野生品系(*wt-m1*)的单离细胞再生体中,当藻龄为20 d时,正常叶状体的比例最高;随着藻龄的增加,正常叶状体的比例迅速降低;当藻龄为30 d时,其比例已降到很低的水平。畸形叶状体的比例先增加后降低,当藻龄为25 d时,其比例达到最高,之后随着藻龄的增加而急剧下降。而I型细胞团和II—VI型细胞团的比例先增加,当种藻日龄为30 d时,其比例达到最高,以后它们的比例逐渐降低。而精子囊细胞团的比例,则随着其它细胞团比例的下降而急剧增加。雄性叶状体成熟明显比雌性叶状体早,在27 d就已观察到精子囊。叶状体的日龄超过25 d后,其单离细胞的再生体中,精子囊细胞团比例呈直线上升,相应的正常叶状体、畸形叶状体和细胞团的比例则大幅度降低。

3 讨论

3.1 坛紫菜叶状体细胞的分化途径

通过比较坛紫菜雌雄叶状体单离细胞的发育

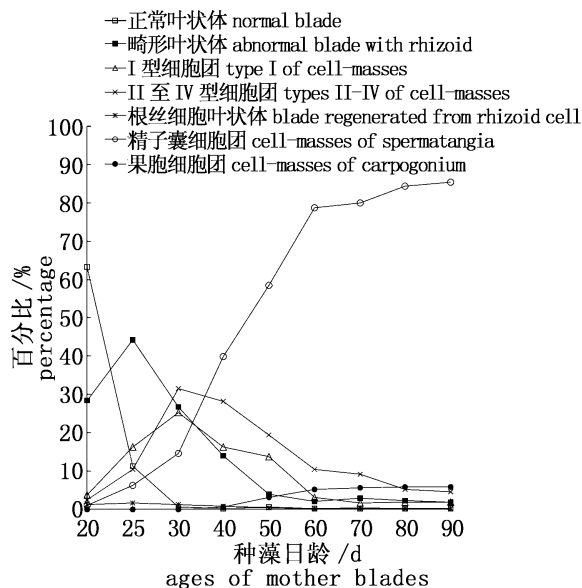


图4 坛紫菜不同日龄叶状体单离细胞的发育类型及比例(*wt-m1* 品系)

Fig. 4 Developmental patterns and their percentages of the single cells isolated from *Porphyra haitanensis* blades (*wt-m1* strain) aged for 20–90 days

分化类型,发现雌雄叶状体的细胞分化途径相似。由于种藻的日龄不同,其单离细胞再生体中出现的发育类型数目也不同,各发育类型出现有先后,各发育类型比例的变化存在着一定的相关关系。所以,我们认为坛紫菜单离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。坛紫菜壳孢子相当于动物的受精卵,处于完全未分化的最原始状态,具有发育成完整叶状体的能力。壳孢子萌发的第1次分裂是横分裂,产生2个子细胞,上位的子细胞继续快速分裂,将来发育成叶状体的绝大部分,下位的子细胞分裂较慢,产生根丝细胞将来构成假根的绝大部分。壳孢子第1次分裂产生的上位细胞最初进行的数次分裂所产生的子细胞类似于动物的原胚细胞,细胞处于原始的分化阶段,即细胞处于第1个分化阶段,被称之为第1类细胞,它们被分离出来进行离体培养时,可以像壳孢子一样发育成完整的正常叶状体。随着叶状体的继续生长发育,大部份细胞开始分化,进入第2个分化阶段,形成第2类细胞。它们在离体培养条件下发育成具类假根的畸形叶状体,表现为没有真正的假根,只含带色素的类假根。当藻体细胞进入第3个分化阶段,产生第3类细胞,它们在离体培养条件下发育成无

类假根的畸形叶状体。随着藻体细胞继续分化进入第4-8个分化阶段,它们在离体培养条件下只能发育成细胞团。与前3类叶状体相比,I-IV型细胞团的细胞体积明显比叶状体细胞大且排列不规则,细胞数减少,星状色素体逐渐变成弥散状,更易释放出细胞萌发成丝状体,或先分化成精子囊后再释放出精子。由来自雌性种藻的IV型细胞团释放的细胞,有的萌发成丝状体,而有的发育成正常叶状体;但如果种藻是雄性,则释放的细胞,有的发育成精子囊,而有的萌发成丝状体;或者,有的萌发成丝状体,有的发育成正常叶状体。

3.2 坛紫菜雌雄叶状体细胞发育分化的异同点

本研究获得的坛紫菜叶状体离体细胞的发育类型及比例变化规律,与严兴洪和王素娟^[5]报道的结果基本一致,但不同点在于他们所使用的材料是从养殖群体中采回的雌雄混合叶状体,在成熟之前无法区分雌雄,因此,也无法判断某种发育类型是来自雌性还是雄性叶状体,也无法比较出雌雄叶状体细胞的分化途径的异同点。本文通过使用3个坛紫菜单性遗传纯系产生的单性别叶状体,得到明确的雌雄叶状体离体细胞的发育类型的异同点,其主要异同点在于:在雌雄叶状体的单离细胞再生体中,均出现正常叶状体,畸形叶状体,根丝细胞叶状体,I型、II型、III型和IV型细胞团以及性原细胞产生的细胞团;其出现的先后次序是正常叶状体,畸形叶状体,I型细胞团,II型细胞团,III型细胞团,IV型细胞团,性原细胞产生的细胞团;随着藻龄的增加,细胞发育类型数目越来越多,先出现的发育类型比例越来越少,而后出现的发育类型比例越来越多;某一种发育类型的比例减少会引起后一类发育类型的比例增加;根丝细胞叶状体是较特殊的发育类型,不管种藻的日龄大小,在单离细胞的再生体中都会出现,另外,它们的比例均很低。雌性叶状体细胞的最终分化成雌性性原细胞,在离体条件下它们发育成细胞团,后者释放出的细胞萌发成丝状体。而雄性叶状体细胞最终分化成雄性性原细胞,它们在离体条件下先发育成细胞团,然后每个细胞分裂形成精子囊,释放出精子,但少数细胞团可先释放出细胞,后者有的发育成精子囊,有的萌发成丝状体。这类丝状体可能是单性生殖产生的,因为单个培养的坛紫菜雌雄叶状体均可进行单性生殖^[10]。本文首次发现,在日龄较大的雌性或雄性

叶状体的单离细胞再生体中,少数细胞团释放的细胞,有的长成正常叶状体,有的萌发成丝状体,这类能发育成正常叶状体的细胞被称之为“类单孢子”^[11],曾庆国等^[15]也在坛紫菜叶状体的单离细胞再生体中发现了这种“类单孢子”,但他们没有发现雄性叶状体的单离细胞再生体中也存在这种“类单孢子”。

3.3 坛紫菜叶状体细胞发育分化与成熟的相关性分析

研究表明,坛紫菜叶状体细胞发育分化与成熟存在正相关关系,坛紫菜叶状体的细胞分化速度越快,成熟也就越早。雄性野生型品系(*wt-m1*)的叶状体成熟明显比其它2个雌性品系早,其叶状体在27 d就形成了精子囊,而雌性品系叶状体到40 d左右才出现果胞。在日龄为30 d的雄性叶状体单离细胞再生体中,各种细胞团比例已达到最高;当种藻日龄超过20 d后,性原细胞团的比例呈直线上升,当种藻日龄为60 d时,性原细胞团的比例已超过80%。但在雌性叶状体的单离细胞再生体中,各类细胞团的比例在种藻日龄为40~50 d时才达到最高,当种藻日龄为60 d时,性原细胞团的比例达到30%~40%。在2个雌性品系中,单雌突变体品系(*wt-q1*)的叶状体成熟比单雌野生型品系(*wt-w2*)早,*wt-q1*品系的叶状体稍部出现果胞的时间大约比*wt-w2*品系早10 d。当种藻日龄从25 d增至30 d时,在*wt-q1*品系叶状体的单离细胞再生体中,畸形苗从66.61%降至44.84%,而I型细胞团的比例从12.21%增至29.16%;但对*wt-w2*品系来讲,当种藻日龄从25 d增至30 d时,在单离细胞再生体中,畸形苗从76.24%降至69.97%,而I型细胞团的比例从2.31%增至12.61%;比较II至IV型细胞团比例增加情况发现,*wt-q1*品系与*wt-w2*品系之间也存在很大的差异。这表明坛紫菜叶状体的细胞分化速度越快,性成熟也越早,生长期也就相对越短。

参考文献:

- [1] 福建省水产局. 坛紫菜人工养殖[M]. 福州:福建人民出版社,1979:1-101.
- [2] 唐延林. 紫菜营养细胞和原生质的分离和培养[J]. 山东海洋学院学报,1982,12(4):37-49.
- [3] Wang S J, Sun Y L, Lu A M, et al. Early stage differentiation of thallus cells of *Porphyra haitanensis* (Rhodophyta) [J]. Chin J Oceanol

- Limnol, 1987, 5, (3): 217 – 221.
- [4] 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.
- [5] 严兴洪,王素娟. 紫菜体细胞发育与分化的研究[J]. 海洋科学, 1989, 6: 28 – 32.
- [6] 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.
- [7] 严兴洪,刘新铁,张善霖. 条斑紫菜叶状体细胞的发育与分化[J]. 水产学报, 2004, 28(2): 145 – 154.
- [8] 梁志强. 坛紫菜遗传育种的初步研究[D]. 上海水产大学硕士学位论文. 上海, 2004: 1 – 50.
- [9] 严兴洪,李琳,陈俊华,等. 坛紫菜的单性生殖与遗传纯系分离[J]. 高技术通讯, 2007(出版中).
- [10] 严兴洪,梁志强,宋武林,等. 坛紫菜人工色素突变体的诱变与分离[J], 水产学报, 2005, 29(2): 166 – 172.
- [11] 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[J]. 海洋学报, 1986, 17(3): 217 – 221.
- [12] Yan X H, Aruga Y. Genetic analysis of artificial pigmentation mutants in *Porphyra yezoensis* Ueda (Bangiales, Rhodophyta) [J]. Phycological Research, 2000, 48: 177 – 187.
- [13] 严兴洪,李琳,陈俊华,等. 坛紫菜的遗传与育种[C]. 国家“八六三”计划资源环境技术领域第一届海洋生物高技术论坛论文集, 2003: 107 – 113.
- [14] Wang S J, Yan X H. Study on monospore – like cells from *Porphyra haitanensis* [J]. Chin J Oceanol Limnol, 1990, 8(1) 92 – 94.
- [15] 曾庆国,刘必谦,杨瑞,等. 坛紫菜单个体细胞克隆的丝状体途径[J]. 中国水产科学, 2004, 11(6): 549 – 553.

图版说明 Explanation of Plates

图版 I 坛紫菜雌性叶状体单离细胞的再生植株

1. 正常叶状体; 2. 具有类假根的畸形叶状体; 3. 不具假根的畸形叶状体; 4. I 型细胞团; 5. II 型细胞团; 6. II 型细胞团长出新生芽; 7. II 型细胞团的细胞变红后释放出来萌发成丝状体; 8. III 型细胞团; 9. III 型细胞团的细胞变红后释放出来萌发成丝状体; 10. IV 型细胞团的细胞释放出来萌发成丝状体和正常叶状体; 11. 果胞细胞团; 12. 根丝细胞叶状体; 图中标线均代表 50 μm

图版 II 坛紫菜雄性叶状体单离细胞的再生植株

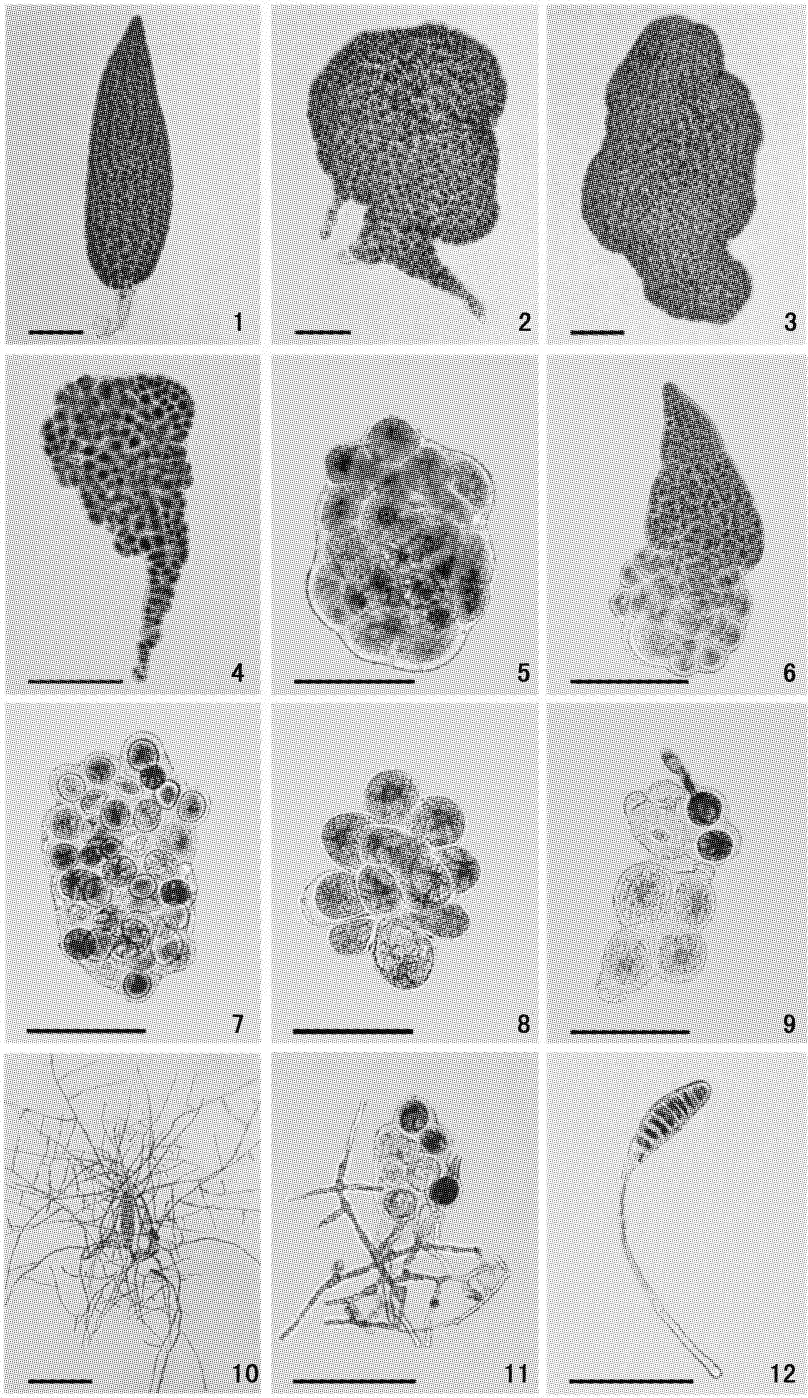
1. 正常叶状体; 2. 带类假根的畸形叶状; 3. 不带假根的畸形叶状体; 4. 畸形苗的细胞分化成精子囊; 5. I 型细胞团; 6. II 型细胞团; 7. II 型细胞团长出新生芽; 8. III 型细胞团; 9. III 型细胞团的部分细胞变红后释放出来将萌发成丝状体; 10. IV 型细胞团的细胞释放出来萌发成丝状体和正常叶状体; 11. 精子囊细胞团; 12. 根丝细胞叶状体. 图中标线均代表 50 μm

Plate I Regenerating plants of single cells isolate from the female blades of *Porphyra haitanensis*

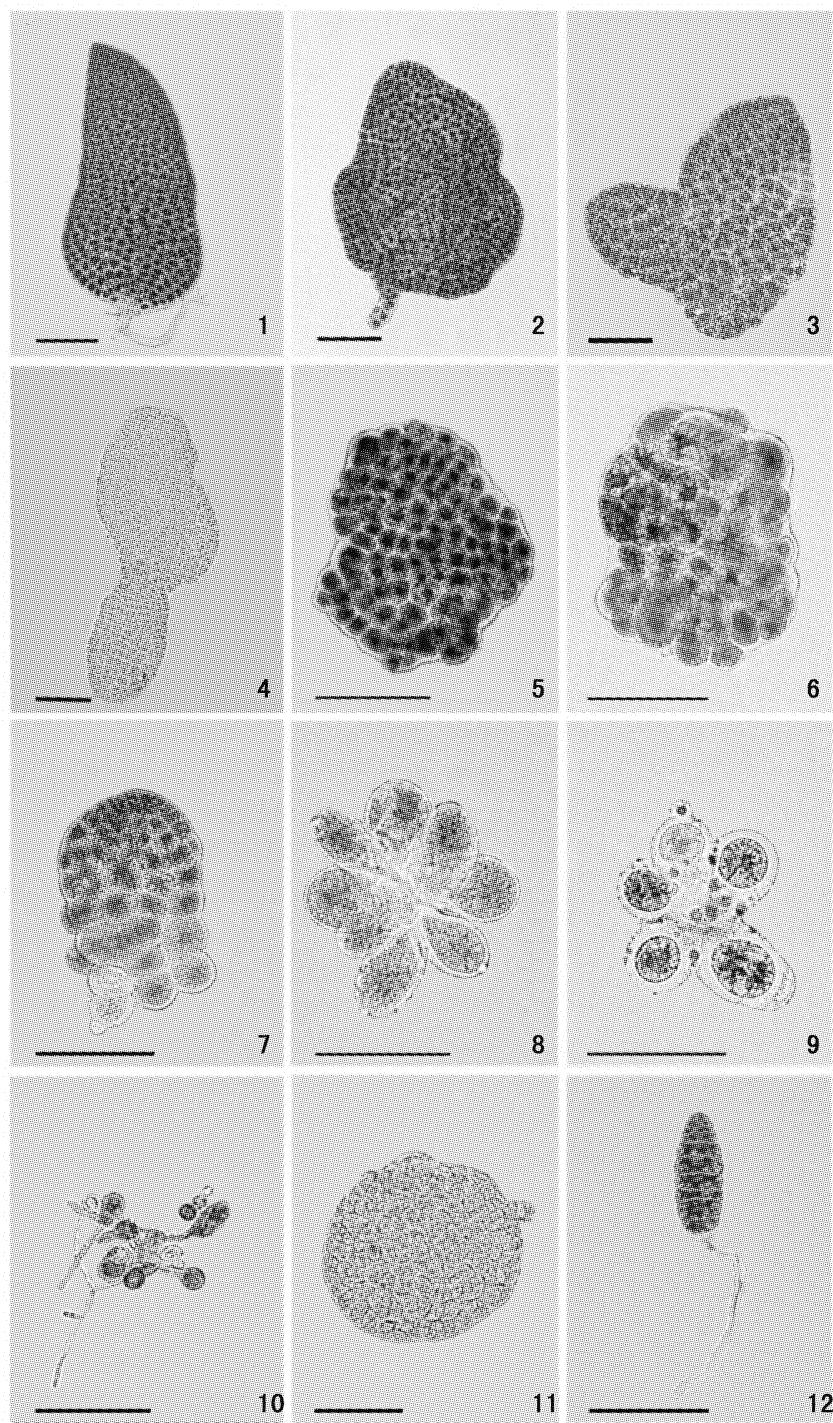
1. A normal blade; 2. An abnormal blade with pigmentation rhizoid; 3. An abnormal blade without rhizoid; 4. A cell-masses of type I; 5. A cell-masses of type II; 6. A new bud growing on the cell-masses of type II; 7. The cells released from a cell-masses of type II, germinating into conchocelis; 8. A cell-masses of type III; 9. The cells released from a cell-masses of type III, germinating into conchocelis; 10. Conchocelis and a normal blade developed from the cells released from cell-masses of type IV; 11. A cell-masses of carpogonia; 12. A blade regenerated from a rhizoid cell. Scale bar: 50 μm

Plate II Regenerating plants of single cells isolated from the male blades of *Porphyra haitanensis*

1. A normal blade; 2. An abnormal blade with pigmentation rhizoid; 3. A abnormal blade without rhizoid; 4. All cells of abnormal blade developed into spermatangium; 5. A cell – masses of type I; 6. A cell-masses of type II; 7. A new bud growing on a cell-masses of type II; 8. A cell-masses of type III; 9. The cells of a cell-masses of type III, became to be reddish and will germinate into conchocelis; 10. The cells released from a cell-masses of type IV, germinating into conchocelis and normal blades; 11. A cell-masses of spermatangia; 12. A blade regenerated from a rhizoid cell. Scale bar: 50 μm



图版 I Plate I



图版 II Plate II