

文章编号:1000-0615(2015)10-1479-08

DOI:10.11964/jfc.20150409858

印度产紫菜 *Pyropia chauhanii* 的细胞学观察

宋洁婷¹, 严兴洪^{1,2*}

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 上海海洋大学省部共建水产种质资源发掘与利用教育部重点实验室, 上海 201306)

摘要: 本研究对印度产紫菜 *Pyropia chauhanii* 不同生活史阶段的染色体进行了系统的细胞学观察。分别对室内培养的 *P. chauhanii* 各生活史阶段的活体组织进行固定和用醋酸铁苏木精染色后进行观察, 结果表明: 叶状体阶段的营养细胞、精子囊内未成熟精子和果胞均为单倍核型($n=3$); 而丝状体阶段的果孢子、丝状体的营养细胞和膨大细胞均为双倍核型($2n=6$); 由丝状体产生的壳孢子在萌发初期发生减数分裂后, 由双倍核型($2n=6$)变成了单倍核型($n=3$)。当叶状体进行单性生殖产生丝状体时, 游离出来的类果孢子发生了染色体自然加倍, 其萌发体和随后形成的丝状体的营养细胞和膨大细胞均为双倍核型($2n=6$)。当叶状体放散单孢子进行无性繁殖时, 单孢子和其萌发体的细胞均为单倍核型($n=3$)。

关键词: *Pyropia chauhanii*; 染色体; 叶状体; 丝状体

中图分类号: S 968.4

文献标志码:A

紫菜(*Pyropia*)作为一种重要的经济型海藻, 在东南亚各国被大量种植^[1]。1881年, Murray^[2]第一次对印度半岛海域的紫菜种进行报道, 随后, 又对包括 *Pyropia chauhanii* 在内的印度产7个紫菜物种做了分类学研究。在1997年和2005年, Kumar等^[3-4]分别对 *P. chauhanii* 的外形、长度、宽度和厚度等进行了初步研究。

紫菜细胞学研究是紫菜基础生物学的重要内容之一, 对分类学和遗传育种均有意义。至今, 已报道了56种紫菜的核型与染色体数目, 其中, 单倍体具有3条染色体的物种有25个, 具有4条的物种有12个, 具有5条的物种有9个, 具有2条的物种有8个, 具6条和7条的物种各有1个, 以上研究结果为紫菜分类提供了重要依据^[5-9]。

藻类学家对紫菜生长发育中各个时期的染色体数目持有不同的见解。曾呈奎等^[10]认为果胞受精后直接进行减数分裂, 因此果孢子及发育而来的丝状体均为单倍核型。Migita^[11], Mumford

等^[12]和Hawkes^[5,13]等认为丝状体阶段都是二倍体。Ma等^[14], Burzycki等^[15], Tseng等^[16]和孙爱淑等^[17]据细胞学观察结果, 认为紫菜减数分裂发生在壳孢子萌发时期。严兴洪等^[18]根据遗传杂交实验结果与分析, 得出紫菜减数分裂发生在壳孢子第一次分裂时期的结论。目前, 学者们对紫菜减数分裂发生的时期基本达成共识, 认为是发生在壳孢子萌发初期。

目前, 对印度产紫菜 *P. chauhanii* 的细胞学研究仍未见报道。该紫菜叶状体很薄, 可忍受28℃的高温, 同时可释放单孢子, 具有可人工栽培的潜力^[19]。为此, 本实验对该紫菜的不同生长阶段的组织进行了染色体观察, 旨在确定它们的染色体数, 为今后开展该紫菜的遗传育种提供基础生物学知识。

1 材料与方法

1.1 实验材料

P. chauhanii 采自印度半岛^[20], 保存条件: 18

收稿日期:2015-04-28 修回日期:2015-06-23

资助项目: 国家“八六三”高科研究发展计划(2012AA10A411); 国家自然科学基金(31072208); 农业部公益性专项(200903030); 国家农业科技成果转化资金(2013GB2C220537); 上海市科委重点科技攻关项目(10391901100); 国家海洋局公益专项(201105008, 201105023); 上海高校水产学一流学科建设专项; 福建省科技重大专项(2011NZ0001-1); 福建省省长专项基金(2014S1477-10)

通信作者: 严兴洪, E-mail: xhyan@shou.edu.cn

℃、光密度 $5 \mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$ 、光周期 14L: 10D。

1.2 实验方法

贝壳丝状体的培养与促熟 取适量的自由丝状体,粉碎后均匀撒入已灭菌的文蛤(*Meretrix meretrix*)壳表面,培养液为添加 MES 营养盐^[21]的海水。随后将其放入 23 ℃ 的培养室内,遮光培养 4 d,随后恢复光照,光密度为 $20 \mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光周期 10L: 14D,其他条件不变。10 d 后清除贝壳表面的丝状体,待壳内丝状体长满整个贝壳后,进行加温和缩光促熟培养。

促熟的培养条件:温度 (28 ± 1) ℃,光密度 $10 \mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光周期为 8L: 16D。另外培养液改用添加 N: P = 1: 10 的灭菌海水。若干天后用柏兰尼液(10% 硝酸: 95% 无水乙醇: 0.5% 铬酸 = 4: 3: 3)将贝壳溶解后观察壳内膨大细胞形成率,待发育出大量双分细胞,马上开始采集壳孢子。壳孢子放散条件为温度 (23 ± 1) ℃,光密度 $40 \mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光周期 10L: 14D,充气刺激,放入棉线以供壳孢子附着。

叶状体培养 收集到的壳孢子萌发后长至 1 cm 左右的叶状体,将其取下放入充气瓶内继续培养成为成熟的叶状体,培养条件为 (23 ± 1) ℃,光密度 $40 \sim 60 \mu\text{mol photons}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光周期 10L: 14D,培养液为添加了 MES 营养盐的海水,每 5 d 更换 1 次。

1.3 染色体观察

材料固定 取该紫菜不同生长阶段的分裂旺盛时的组织,遮光处理后 3 h 内,每间隔 30 min 用卡诺氏固定液(无水乙醇:冰乙酸 = 3: 1)固定 1 次样品,24 h 后移至明亮处放置,直至固定的材料变成无色,以便染色观察。

收集的壳孢子和单孢子材料的固定方法同参考文献[9]。

染色体观察 将少量经过褪色处理的组织或细胞,在 4 ℃ 的蒸馏水中软化 5 ~ 10 s,吸干水分后置于载玻片上,滴加醋酸铁苏木精染色液^[22],染色时间根据材料不同控制在 5 ~ 10 min。制片前用酒精灯将组织块略微加热以软化,可用橡皮头轻轻敲打防止细胞重叠,吸去多余染色液。如细胞质染色太深而影响染色体观察,可通过滴加 45% 冰醋酸,使细胞质染色减淡^[23]。

不同组织的染色体数目观察统计和拍照等均

使用尼康显微镜(Nikon Eclipse 90i)。

2 结果

2.1 *P. chauhanii* 性别与生殖多样性观察

P. chauhanii 的室内培养结果证实,它的叶状体为雌雄同体,在较复杂的生活史中,叶状体上的精子与果胞受精后发育成果孢子,后者再萌发成丝状体的有性生殖;同时,叶状体还能产生单孢子,直接发育成叶状体,进行无性生殖;另外,叶状体还能进行单性生殖,即不通过雌雄性细胞的结合,叶状体梢部的营养细胞逐渐由红褐色变成浅黄褐色,随着藻胶层和细胞壁逐渐分解融化,细胞以原生质体的形式释放出来,随后长出细胞壁,形状变圆,颜色加深,变成红褐色的类果孢子,类果孢子萌发成丝状体,后者产生的壳孢子也能长成正常的叶状体。该紫菜的叶状体极易放散大量的单孢子,叶状体较难长大,但很容易进行单性生殖。

2.2 *P. chauhanii* 生活史不同阶段的染色体观察

叶状体的营养细胞 *P. chauhanii* 的叶状体营养细胞为单倍核相($n = 3$),分裂间期显示一个正常的细胞核(图版 I - 1, 图 1 - 1),分裂中期能观察到 3 条染色体(图版 I - 2, 图 1 - 2)。

有性生殖细胞 由营养细胞分化而来的果胞具有一个正常的间期核(图版 I - 3, 图 1 - 3),显示单倍核相,在有丝分裂中期能观察到 3 条染色体(图版 I - 4, 图 1 - 4)。同样由营养细胞分化形成的精子囊母细胞的 4 个子细胞也均显示单倍核相,分裂中期能观察到清晰的 3 条染色体(图版 I - 5, 图 1 - 5);数次分裂后已成熟的精子囊中,也能观察到 3 条染色体(图版 I - 6, 图 1 - 6)。果胞与精子结合后,产生合子,合子发育成果孢子囊,囊内细胞分裂前期可观察到 3 对同源染色体,进入中期时染色体分离,6 条染色体两两配对排列在赤道板上(图版 I - 7, 图 1 - 7);染色单体后期分成 2 组向两极移动。

果孢子萌发 果孢子显示双倍核相($2n = 6$),在分裂中期可观察到 6 条染色体排列在赤道板面上(图版 I - 8, 图 1 - 8)。细胞萌发时出现单向极性(图版 I - 9, 图 1 - 9),进入分裂后期,染色体单体分成 2 组,其中的一组移到萌发管内(图版 I - 10, 11, 图 1 - 10, 11),萌发管细胞继续进行有丝分裂长成丝状体(图版 I - 12, 图 1 -

12),而原始细胞凋亡后脱落。

丝状体的营养细胞 丝状体的营养细胞分裂在中前期,染色丝逐渐缩短加粗,出现带状的染色质线(图版 I - 13,图 1 - 13)。进入分裂中期后,能观察到 6 条染色体,沿细胞长轴排列在赤道板上,同源染色体之间的距离相对之前变大,但仍然相互对应(图版 I - 14,图 1 - 14)。后期,染色单体分成 2 组向两极移动,随后在中间形成新的细胞壁,分裂成 2 个细胞。

丝状体的膨大细胞 丝状体的营养细胞开始发育时,细胞逐渐变粗,长度变短,发育成膨大的细胞,且分枝形成侧枝,细胞间具有纹孔连丝(图版 I - 15,图 1 - 15)。在膨大细胞的分裂前期至中期,同源染色体进行配对,形成 3 个聚集在一起的染色体。中期时同源染色体分离,6 条染色体排列在赤道板面上(图版 I - 16,图 1 - 16)。分裂后期,染色体分成 2 组,向细胞两极移动。

随着膨大细胞进一步发育成熟,细胞的长宽比进一步缩小,细胞间仍存在纹孔连丝,在细胞的分裂中期 6 条染色体清晰可见(图版 II - 1,图 1 - 17)。

壳孢子与壳孢子萌发阶段 膨大藻丝细胞成熟后形成双分细胞,释放后成为壳孢子,附着后马上进行萌发。壳孢子附着后细胞呈梨型,细胞核体积明显变大,核内染色丝之间相互缠绕,无法清楚地观察到有几条染色体,为细线期(图版 II - 2,图 1 - 18);紧接着染色质进一步凝集,为偶线期(图版 II - 3,图 1 - 19);粗线期 2 条同源染色体互相紧靠并缠绕,成为一条短而粗的染色体(图版 II - 4,图 1 - 20);进入双线期后,可明显观察到 3 对交叉的染色体,多呈 Y 形(图版 II - 5,图 1 - 21);在分裂中期,同源染色体分离成 2 组,每组 3 条染色体;进入后期,2 组染色体向两端移动,由纺锤丝牵引成对的同源染色体向两极移动(图版 II - 6,图 1 - 22);在分裂末期,染色体在细胞两极重新聚集(图版 II - 7,图 1 - 23)。整个过程有显著的减数分裂特征,表明第一次减数分裂发生在壳孢子萌发形成二细胞时期,在 2 细胞阶段,基部和顶端的细胞均含 3 对染色体(图版 II - 8,图 1 - 24)。

单性生殖中的染色体与行为观察 发生单性生殖时,在类果孢子的分裂前期,同源染色体相互缠绕,两两之间联系紧密,并不能明显地区分开

来(图版 II - 9,图 1 - 25);在分裂中期,同源染色体的距离变大,可清楚地观察到 6 条染色体排列在赤道板面上(图版 II - 10,图 1 - 26)。在细胞分裂后期,细胞出现单向极性,染色体单体分离后,其中一组移至萌发管内(图版 II - 11,12,图 1 - 27,28),萌发管细胞则继续分裂,方式与果孢子极为相似,最后发育成丝状体,为双倍核相($2n = 6$)(图版 II - 13,图 1 - 29);另一组留在原细胞内,随着萌发管的不断生长,原细胞逐渐凋亡。

单孢子的染色体 由叶状体放散的单孢子,附在基质上后就直接长成叶状体。单孢子细胞显示单倍核相($n = 3$),在细胞分裂的中期能清楚地观察到 3 条染色体(图版 II - 14,15,图 1 - 30,31),由单孢子长成的叶状体营养细胞也含有 3 条染色体(图版 II - 16,图 1 - 32)。

3 讨论

本研究结果表明, *P. chauhanii* 的精子囊细胞、果孢子和丝状体的细胞分裂是有丝分裂,戴继勋^[7]在对边紫菜 (*Porphyra marginata*) 的研究中得出同样的结论。本研究对 900 多个叶状体和精子囊的细胞染色观察后发现,在处于有丝分裂中期的叶状体营养细胞和精子囊细胞中,78.5% 左右含有 3 条染色体,其余为 2 条或 4 条,可以判断其染色体数为 3 条,同时也证明为单倍体(n)。同样观察了大量的果孢子、丝状体的营养藻丝和膨大细胞后发现,绝大多数细胞的染色体数为 6 条,少数细胞含 4~5 条或多于 6 条,这说明其染色体数为 6 条,且每对染色体两两紧密聚合,是双倍体($2n$),孙爱淑等^[24]在描述丝状体细胞分裂的详细过程时指出:该细胞核内颗粒逐渐增大,然后出现疏松盘卷着的染色质丝,染色质丝逐渐缩短加粗,在中前期,出现带状的染色质线,这与本实验的观察结果(图版 I - 13,图 1 - 13)是相吻合的。

刚释放的 *P. chauhanii* 的壳孢子为双倍核型,染色体数目为 6 条;而在壳孢子的第 1 次细胞分裂产生的 2 个细胞中,其染色体数目发生减半,变成 3 条。3 个细胞以后的壳孢子萌发体和大叶状体的营养细胞和精子细胞,其染色体均为 3 条,证明其核相是单倍(n)。因此,该紫菜的减数分裂发生时期与其他紫菜相同^[9,13~15],发生在壳孢子萌发初期。

在单性生殖的过程中,从叶状体游离出来的类果孢子发生了染色体自然加倍,它的核型为双倍核型($2n=6$),它所萌发长成的丝状体营养细胞和膨大细胞也均为双倍体。在该紫菜的无性生殖过程中,其细胞核型全部为单倍核型($n=3$)。

P. chauhanii 在细胞学方面有些特征与条斑紫菜(*P. yezoensis*)是相同的,如单倍体均含3条染色体,也可释放单孢子,而且叶状体也很薄,但在叶状体含边缘刺、生殖细胞器结构等方面与条斑紫菜存在明显的差异。*P. chauhanii* 原产于印度,可以耐受28℃的水温,极易释放单孢子,同时能进行单性生殖形成二倍体的丝状体,具有被培育成可耐高温的薄型紫菜栽培种的可能性。

参考文献:

- [1] Zhang W B, Xu J D, Duanmu Y Y, et al. Analysis of laver industry in Japan and South Korea [J]. Food Science and Technology, 2006 (10) : 9 - 12. [张卫兵, 徐加达, 端木怡燕, 等. 日韩两国紫菜产业分析及启示. 食品科技, 2006 (10) : 9 - 12.]
- [2] Murray J A. The Plants and Drugs of Sind [M]. London: Trubner, 1881, 219.
- [3] Kumar C A, Panikkar M V N. Indian species of *Porphyra* (Rhodophyceae, Bangiales) [J]. Feddes Repertorium, 1997, 108 (5 - 6) : 419 - 423.
- [4] Kumar C A, Rao P S N. A new species of *Porphyra* (Rhodophyta, Bangiales) from the Malvan coast of Maharashtra (India) [J]. Feddes Repertorium, 2005, 116 (3 - 4) : 222 - 225.
- [5] Hawkes M W. A field, culture and cytological study of *Porphyra gardneri* (Smith and Hollenberg) comb. Nov. (Rhodophyta, Bangiales) [J]. Phycologia, 1977, 16: 457 - 469.
- [6] Dai J X, Fang Z. Observation on chromosome of *Porphyra tenera* Kjellman [J]. Journal of Wuhan Botanical Research, 1985, 3 (4) : 471 - 473. [戴继勋, 方宗熙. 甘紫菜的染色体观察. 武汉植物学研究, 1985, 3 (4) : 471 - 473.]
- [7] Dai J X. The chromosomes of *Porphyra marginata* Tseng et Chang [J]. Journal of Shandong College of Oceanology, 1987, 17 (1) : 113 - 116. [戴继勋. 边紫菜的染色体. 山东海洋学院学报, 1987, 17 (1) : 113 - 116.]
- [8] Zeng C K, Sun A S. Cytological studies on *Porphyra*—Chromosome numbers for seven species in the genus *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) from China [J]. Chinese Science Bulletin, 1986, 31 (1) : 67 - 70. [曾呈奎, 孙爱淑. 紫菜属 (*Porphyra*) 的细胞学研究——中国产的七种紫菜叶状体染色体数目的研究. 科学通报, 1986, 31 (1) : 67 - 70.]
- [9] Yan X H, He L H, Huang J, et al. Cytological studies on *Porphyra haitanensis* Chang et Zheng (Bangiales, Rhodophyta) [J]. Journal of Fisheries of China, 2008, 32 (1) : 131 - 137. [严兴洪, 何亮华, 黄健等. 坛紫菜的细胞学观察. 水产学报, 2008, 32 (1) : 131 - 137.]
- [10] Zeng C K, Zhang D R. Studies on *Porphyra* III. Life history of *Porphyra tenera* Kjellman [J]. Journal of Integrative Plant Biology, 1955, 4 : 153 - 166. [曾呈奎, 张德瑞. 紫菜的研究 III. 紫菜的有性生殖. 植物学报, 1955, 4 : 153 - 166.]
- [11] Migita S. Cytological studies on *Porphyra yezoensis* Ueda [J]. Bulletin Faculty Fisheries Nagasaki University, 1967, 24 : 55 - 64.
- [12] Mumford J, Cole K. Chromosome numbers for fifteen species in the genus *Porphyra* (Bangiales, Rhodophyta) from the west coast of North America [J]. Phycologia, 1977, 16 (4) : 373 - 377.
- [13] Hawkes M W. Sexual reproduction in *Porphyra gardneri* (Smith et Hollenberg) Hawkes (Bangiales, Rhodophyta) [J]. Phycologia, 1978, 17 (3) : 329 - 353.
- [14] Ma J H, Miura A. Observations of the nuclear division in the conchospores and their germlings in *Porphyra yezoensis* Ueda [J]. Japanese Journal of Phycology. 1984, 32 : 373 - 378.
- [15] Burzycki G M, Waaland J T. On the position of meiosis in the life history of *Porphyra torta* (Rhodophyta) [J]. Botanica Marina, 1987, 30 : 5 - 10.
- [16] Tseng C K, Sun A. Studies on the alternation of the nuclear phases and chromosome numbers in the life history of some species of *Porphyra* from China. [J]. Botanica Marina, 1989, 32 : 1 - 8.
- [17] Sun A S, Zeng C K. Cytological studies on *Porphyra*—an observation on nuclear division during the fertile cell row development and conchospore germination [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 1987, 18 (4) : 329 - 336. [孙爱淑, 曾呈奎. 紫菜属的细胞学研究——膨大细胞和壳孢子萌发核分裂的观察. 海洋与湖沼, 1987, 18 (4) : 329 - 336.]
- [18] Yan X H, Li L, Chen J H. Parthenogenesis and isolation of genetic pure strains in *Porphyra haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta) [J]. Chinese

- High Technology Letters, 2007, 17(2): 205 – 210.
[严兴洪,李琳,陈俊华.坛紫菜的单性生殖与遗传纯系分离.高技术通讯,2007,17(2):205 – 210.]
- [19] Dai J X. Development of *Porphyra* cultivation with cell engineering [J]. Progress in Biotechnology, 2000, 20(6):3 – 4,8. [戴继勋.用细胞工程技术发展我国的紫菜养殖业.生物工程进展,2000, 20(6):3 – 4,8.]
- [20] Zhang C, Yan X H. Isolation and characterization of new strains of *Pyropia churhanii* (Bangiales, Rhodophyta) [J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(9):1457 – 1464. [张聪,严兴洪. *Pyropia churhanii* 新品系的分离与特性分析.水产学报,2014,38(9):1457 – 1464.]
- [21] Wang S J, Zhang X P, Xu Z D, et al. A Study on the cultivation of the vegetative cells and protoplasts of *P. haitanensis* I [J]. Oceanologia Et Limnologia Sinica, 1986, 17(3):217 – 221. [王素娟,张小平,徐志东,等.坛紫菜营养细胞和原生质体培养的研究 I.海洋与湖沼,1986,17(3):217 – 221.]
- [22] Wittmann W. Acto – iron – haematoxylin – chloral hydrate for chromosome staining. Biotechnic & Histochemistry, 1965, 40(3):161 – 164.
- [23] Wang J. Study on the meiosis and apomixis of *Porphyra* [D]. Qingdao: Chinese Ocean University, 2006, 71 – 85. [王娟.紫菜减数分裂与单性生殖的研究.青岛:中国海洋大学,2006,71 – 85.]
- [24] Sun A S, Zeng C K. Cytological studies on *Porphyra*—an observation on nuclear division during the conchocelis phase [J]. Chinese Science Bulletin, 1987, 32(9):707 – 710. [孙爱淑,曾呈奎.紫菜属的细胞学研究——丝状体阶段的核分裂.科学通报,1987,32(9):707 – 710.]

Cytological studies on *Pyropia chauhanii* from Indian

SONG Jieting^{1,2}, YAN Xinghong^{1,2*}

(1. College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

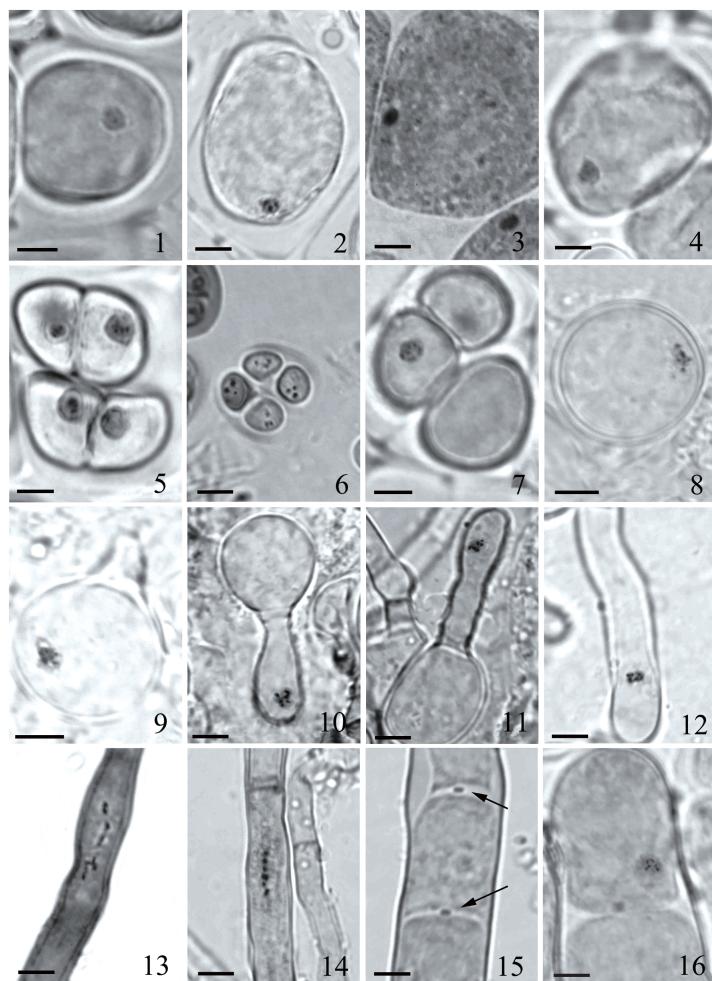
2. Key Laboratory of Exploration and Utilization of Aquatic Genetic Resources, Shanghai

Ocean University, Ministry of Education, Shanghai 201306, China)

Abstract: In this paper, a chromosomal observation on different growth phases of *Pyropia chauhanii* from India was conducted. The living materials of different life phases in *P. chauhanii* were fixed in Carnoy's fixative fluid, and stored at the light conditions to leach phycobilin pigments. The samples were then stained with Wittmann's aceto – iron haematoxylin chloral hydrate and examined under a photomicroscope. Chromosome counts indicated that vegetative cells of gametophytic blade, spermatia and carpogonium are haploid ($n = 3$) ; whereas carpospores, vegetative and conchosporangial cells of conchocelis are diploid ($2n = 6$). The meiosis happened during the first division of the germinating conchospores, and after that, the chromosome changed from diploid to haploid. The spontaneous chromosome doubling occurred in the carpospore – like cells during the parthenogenesis of the gametophytic blades, and chromosome counts indicated that the germinating carpospore – like cells, their germ – tube cells, the vegetative cells and conchosporangial branch cells of parthenogenetic conchocelis are diploid ($2n = 6$). Monospores and the cells of their germlings are haploid ($n = 3$). The above results showed that the haploid and diploid phases of *P. chauhanii* have 3 and 6 chromosomes, respectively.

Key words: *Pyropia chauhanii*; chromosome; gametophytic blade; conchocelis

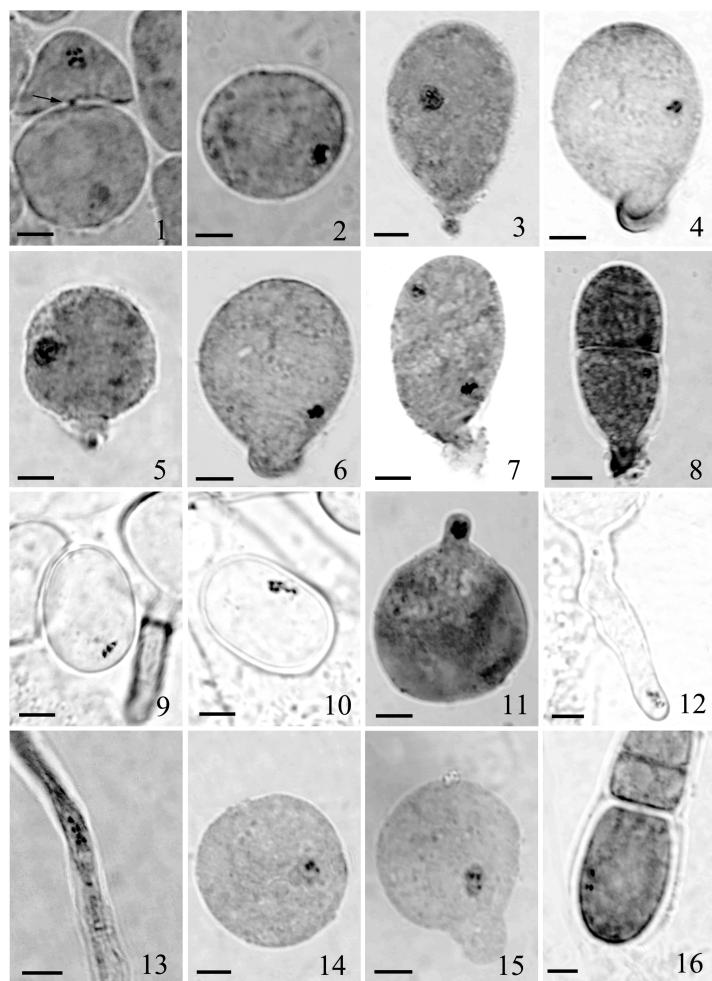
Corresponding author: YAN Xinghong. E-mail:xhyan@shou.edu.cn

图版 I *P. chauhanii* 的染色体显微照片

1. 出现 1 个细胞核的叶状体营养细胞;2. 叶状体营养细胞分裂中期;3. 果胞分裂间期;4. 果胞分裂中期;5. 精子囊母细胞分裂中期;6. 成熟的精子囊分裂中期;7. 果孢子囊显示 3 对同源染色体;8. 果孢子分裂中期;9. 萌发后果孢子显示 6 条染色体;10~11. 染色体一组移入萌发管;12. 萌发管继续发育成丝状体, 染色体为 6 条;13. 处于分裂前期的丝状体细胞;14. 丝状体细胞分裂中期;15. 孢子囊枝细胞间纹孔连丝(箭头所指);16. 初期孢子囊枝细胞分裂中期。比例尺均为 5 μm

Plate I Microscope observation on chromosomes of *P. chauhanii*

1. vegetative cell from the gametophytic blades, showing a resting nucleus. 2. the metaphase stage of the vegetative cells. 3. carpogonium showing a resting nucleus. 4. carpogonium showing an enlarged resting nucleus. 5. premature spermatia cell showing 3 metaphase chromosomes. 6. the spermatia cells in metaphase stage, with the haploid chromosomes ($n = 3$). 7. mature carposporangium at prophase stage. 8. carpospore cell in metaphase stage, with the diploid chromosomes ($2n = 6$). 9. carpospore sprouting. 10~11. migrating one set of diploid chromosomes into germinating tube cell. 12. germinating tube cell developing into conchocelis. 13. prophase showing chromatin threads. 14. earlier metaphase, showing the diploid chromosomes ($2n = 6$). 15. pit – connection of conchosporangial branch cells. 16. metaphase of nuclear division of early conchosporangial branch cells. Scale bar: 5 μm

图版 II *P. chauhanii* 的染色体显微照片

1. 后期孢子囊枝细胞分裂中期, 6条染色体排列在赤道板面上; 2. 壳孢子细线期; 3. 壳孢子分裂偶线期; 4. 壳孢子分裂双线期, 染色体明显粗大; 5. 壳孢子分裂终变期显示3对交叉的同源染色体; 6. 分壳孢子分裂中期显示3对同源染色体, 分离向两端移动; 7. 到达壳孢子细胞两极的染色体; 8. 壳孢子细胞一分为二, 2个细胞均显示3条染色体; 9. 类果孢子前期; 10. 类果孢子分裂中期; 11~12. 染色体移入萌发管中的类果孢子; 13. 类果孢子发育而成的丝状体; 14~15. 单孢子显示3条染色体; 16. 由单孢子发育而来的叶状体。比例标尺均为5 μm

Plate II Microscope observation on chromosomes of *P. chauhanii*

1. metaphase of nuclear division of later conchosporangial branch cells period. 2. leptotene stage, showing chromatic threads. 3. zygotene stage. 4. diplotene stage, only 3 chromosomes could be seen. 5. diakinesis stage. 6. anaphase I two sets of chromosomes moving to opposite poles. 7. late anaphase. 8. conchospore germling at two - celled stage, showing 3 chromosomes. 9. late prophase of carpospore - like cell. 10. the metaphase of carpospore - like cell. 11~12. the germling of carpospore - like cell. 13. the conchocelis developed from carpospore - like germinating tube cell. 14~15. the metaphase of monosporangium showed 3 chromosomes. 16. vegetative cell of the gametophytic blades which developing from monosporangium. Scale bar: 5 μm

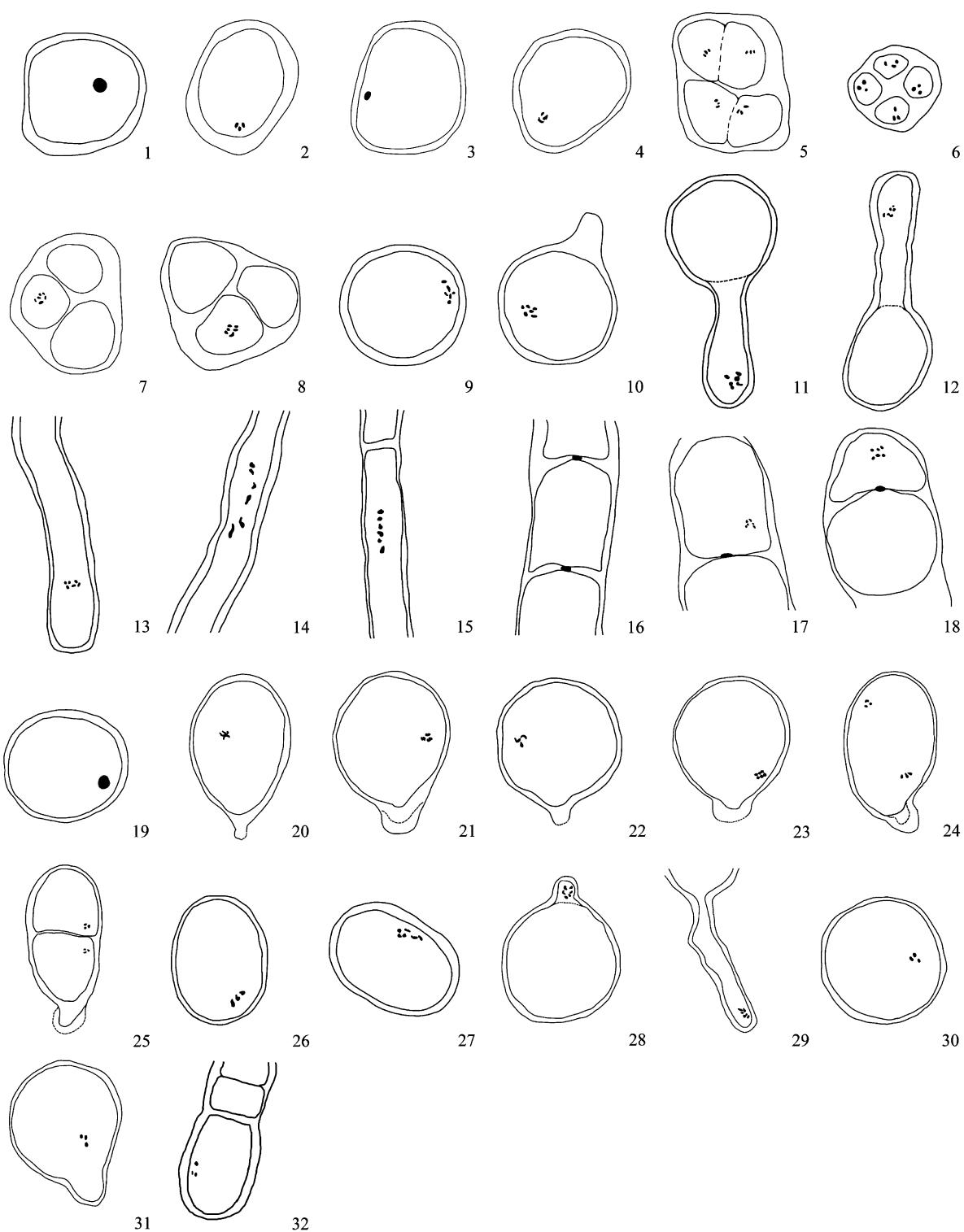


图1 图版I和图版II的解释示意图
Fig. 1 Illustrated diagrams for interpretation of Plate I and Plate II