

紫菜的减数分裂

Meiosis of *Porphyra*

徐姗楠, 马家海, 何培民

(上海水产大学 生命科学与技术学院, 上海 200090)

中图分类号: S969.4; Q343

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2007)07-0076-05

紫菜在分类上属红藻门(Rhodophyta)、红藻纲(Phodophyceae)、红毛菜亚纲(Bangiophycidae)、红毛菜目(Bangiales)、红毛菜科(Bangiaceae)、紫菜属(*Porphyra*), 全世界约有134种, 广泛生长在全球海岸的潮间带, 其栽培生产国主要分布在东南亚地区。中国北起辽宁省, 南至海南省都有紫菜的分布, 共记载过22个物种或变种, 其中主要栽培品种有2个, 北方的条斑紫菜(*Porphyra yezoensis* Ueda)和南方的坛紫菜(*P. haitanensis* Chang et Zheng)。条斑紫菜为北太平洋西部特有种类, 产于浙江舟山北部的东海北部、黄海和渤海沿岸。坛紫菜是中国特有的暖温带种类, 产于福建和浙江沿海, 盛产于福建。

紫菜属的生活史中一般都存在有性生殖, 由于这一循环中受精过程和减数分裂的存在, 表现为配子体世代的叶状体和孢子体世代的丝状体之间的交替。叶状体是由1~2层细胞组成的膜状体, 即日常所食用的紫菜, 绝大多数种类的叶状体是由丝状体放散出来的壳孢子萌发形成。丝状体是丝状藻丝, 呈树枝状, 由叶状体放散出来的果孢子萌发形成, 因其多数生长在贝壳中, 亦称壳斑藻。丝状体无根、茎、叶之分, 但在一定的生长发育时期有不同的形态特征。除了有性生活史外, 紫菜属还存在以各种孢子进行繁殖的无性繁殖方式^[1]及营养繁殖方式。每种紫菜有1种或几种繁殖方式, 不同繁殖方式在种内和种间的差别造成了紫菜在种内和种间都存在生活史多样性^[2-7]。

紫菜有性生殖的研究一直都很引人关注^[8-11]: Berthold首次发现*P. leucosticta*发生有性生殖, 描述果胞具有细长的两极突起, 而Rosenvinge也观察到果胞具有原始受精丝(prototrichogynes); Joffé观察到1个细胞内有2个核; Magne在联系精子囊和果胞的

受精孔内见到1个处于分裂前期的核, 并首次报道了二倍体的果孢子。之后报道的较多种类中, 染色体在营养细胞和精子囊内是单倍的, 在果孢子和丝状体细胞内是二倍的, 而且通过光学和电子显微镜观察到*P. gardneri*精子囊内容物通过受精丝进入果胞^[11], 为紫菜生活史中有性生殖过程的发生提供了有力证据。

既然受精过程已经被证实, 则生活史循环中必然要发生减数分裂。关于紫菜属减数分裂的发生与否、发生的部位与时期, 一直是藻类学工作者研究的重点, 也是持续80多年来藻类学上的争论焦点。作者对已报道的紫菜属减数分裂问题的研究结果加以分析总结, 以加深对紫菜属有性生殖过程的认识, 并推动其生活史多样性的形成机制研究及在育种中的应用。

1 紫菜属的核相与减数分裂

关于紫菜核相与减数分裂的讨论曾经历了不同阶段, 到目前为止总结为以下6种代表性观点:

(1) Ishikawa^[12]、Dangeard^[13]及Tseng等^[14]提出减数分裂发生在果胞内, 果胞受精后接着进行减

收稿日期: 2006-04-30; 修回日期: 2006-08-16

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30371101); 国家教育部博士学科点基金资助项目(20050264003); 上海市浦江人才计划资助项目(05PJ14086); 上海市教委优势(重点)学科资助项目(Y1101)

作者简介: 徐姗楠(1979-), 女, 浙江杭州人, 博士研究生, 从事海藻生物技术和生态修复研究, E-mail: creacy_2000@yahoo.com.cn; 何培民, 通讯作者, 教授, 博士生导师, 电话: 021-65710023, E-mail: pmhe@shfu.edu.cn

数分裂(图 1a),因而导致果孢子及其萌发产生的丝状体都是单倍体的结论。

(2) Magne^[15]、藤山^[16]、Yabu 等^[17]认为果孢的核分裂不是减数分裂,果孢子为双相,减数分裂究竟在哪里进行并不清楚(图 1b)。

(3) Krishnamurthy^[18]研究 *P. umbilicalis* var. *laciniata*, Conway 等^[19]研究 *P. umbilicalis* 认为紫菜的整个生活史都处于单倍体阶段,没有受精和有性生殖(图 1c)。

(4) Giraud 等^[20]观察了 *P. umbilicalis* var. *laciniata* 的丝状体阶段,提出了与以前研究者不同的见解。他们在壳孢子囊产生壳孢子的分裂中,观察到减数分裂特征的双线期、终变期等,在壳孢子囊的顶端或中间细胞发生减数分裂,因此,丝状体阶段仍是双倍体。Migita^[21]对 *P. yezoensis*, Kito^[22, 23]对 *P. tenera* 和 *P. yezoensis* 生活周期各个阶段进行了比较详细的细胞学观察,确认其叶状体细胞是单倍体,丝状体阶段都是双倍体。进而观察了壳孢子囊和壳孢子萌发体的细胞分裂,认为减数分裂发生在丝状体上孢子囊枝产生壳孢子时期,同时指出单孢子的萌发体是单倍体(图 1d)。他们把膨大细胞分为未成熟的和成熟的,认为前者的分裂是有丝分裂,后者的分裂是减数分裂,即在膨大细胞发生的所有分裂中,只有最后产生壳孢子时的分裂是减数分裂。但并未指出什么稳定的形态学特征能用于确定哪些细胞是即将进行减数分裂的。Migita 以降温处理作为两种分裂的分界,即降温后的分裂是减数分裂。曾呈奎等^[24]对 7 种紫菜的细胞分裂和核相进行研究,认为叶状体营养细胞分裂、产生不动精子和产生果孢子的分裂、以及果孢子萌发时的分裂都是有丝分裂。该 7 种紫菜的叶状体营养细胞和不动精子分裂中期的染色体数目为 3 或 5,而果孢子和其萌发体(丝状体)分裂中期的染色体数目为 6 或 10。因此,虽然尚未直接观察到减数分裂,但根据以上染色体数目双相与单相变化的事实,可以认为在丝状体产生壳孢子时发生减数分裂。

(5) 日本学者右田^[25]曾推测紫菜壳孢子囊细胞不经分裂放出,这些细胞未经减数分裂,因而不能否认在萌发时,染色体数目会发生变化。他将 *P. yezoensis* 的壳孢子囊细胞、壳孢子萌发体以及单孢子萌发体的核分裂结果加以比较,暗示 *P. yezoensis* 减数分裂可能发生在壳孢子的萌发时。Burzycki^[26]推测,在 *P. torta* 的生活史中,壳孢子萌发是最可能的

减数分裂位置(图 1e)。马家海等^[27]在 *P. yezoensis* 游离丝状体释放的壳孢子萌发时观察到减数分裂的特征,并从细胞学角度对 *P. yezoensis* 壳孢子的萌发过程进行了研究,观察到了染色体数目,大小及各个时期的变化,证实了减数分裂发生在壳孢子萌发之时。马家海等^[27]观察到的 *P. yezoensis* 的壳孢子囊细胞和壳孢子的核、染色体的形态、数目都与 Migita^[21], Kito^[23]报道的相同,即壳孢子囊细胞内具一核,有 6 条染色体,从丝状体放出的壳孢子 99.9% 为单核,壳孢子的细胞核可观察到染色体颗粒的聚集^[28]。放散出的壳孢子附着后,很快萌发并形成细胞壁,成为单一细胞体。其间,染色颗粒并没有显著变化。分裂前期,染色颗粒大多呈聚集状态。壳孢子放出约 1 d 后,核内的染色颗粒逐渐增大,不久形成盘绕的染色丝。分裂前期似乎较难清楚地区分细线期、偶线期、粗线期,尤其是细线期的染色丝很细,色彩很淡。不久染色丝逐渐变粗,形成染色体,分裂前的染色体显示同源配对,染色体较粗,且轮廓不光滑。这时 3 对双线期的染色体已显而易见。进而,染色体进一步聚缩,染色体之间的距离稍作拉大,在核区内较为分散,染色体表面显得光滑。由于同源染色体间的互相交叉而形成各种形状,显示出 V 型或 X 型的终变期。随后染色体进入第一分裂期中期,进一步缩短,呈现出 3 条环状的大小不太均一(直径约为 0.5~1.5 μm)的染色体图像。分裂中后期,染色体整齐地排列在细胞赤道面上。6 条染色体各自对等分离,此时染色体群间纺锤丝清晰可见,在染色体逐渐移向两极的过程中,纺锤丝总是联系着,这种联系在相当时间内一直保持着,直至可以看到 3 条粗环状染色体群移至两极的分裂后期,这时联系才消失。最后细胞一分为二,2 细胞期的萌发体可见 1 个间期核,两核之间产生横隔壁,将萌发的壳孢子横隔成 1 个顶端细胞和 1 个假根细胞。此时,开始进入减数分裂 II 期。减数分裂 II 是一次正常的有丝分裂。

之后,孙爱淑等^[29]对 *P. tenera* 和 *P. yezoensis* 的膨大细胞、游离生长的和壳生的丝状体释放的壳孢子,以及 *P. yezoensis* 幼年叶状体所释放的单孢子萌发的细胞分裂过程进行了观察。结果表明膨大细胞和单孢子萌发进行有丝分裂,壳孢子释放时细胞核处于分裂间期。他们在降温后的材料中,仍然观察到有丝分裂相,而只在壳孢子萌发时的第一次分裂中,才看到减数分裂的粗线期、双线期和终变期。他们在上述

两种紫菜壳生的和游离的丝状体释放的壳孢子萌发时都观察到相同的减数分裂相。

Kito^[23]观察到成熟的壳孢子囊里一个细胞分裂成 1~5 个的情况。右田等^[30]也曾观察到有多于 4 个孢子的孢子囊。右田还看到膨大细胞不分裂而完整释放的。孙爱淑等^[29]也观察到有的孢子囊里有 2~5 个孢子。由于减数分裂一般形成 4 个细胞,那么,上述这些现象也可能说明壳孢子不是减数分裂的产物。

(6) 王娟等^[31]认为减数分裂 I 的前期开始于孢子囊枝形成时期,中期 I、后期 I 和末期 I 发生在孢子囊枝成熟时期,双孢子形成进入减数分裂的间期。从孢子囊枝释放出来的壳孢子处于减数分裂的间期,壳孢子萌发分裂进入减数分裂 II (图 1f)。

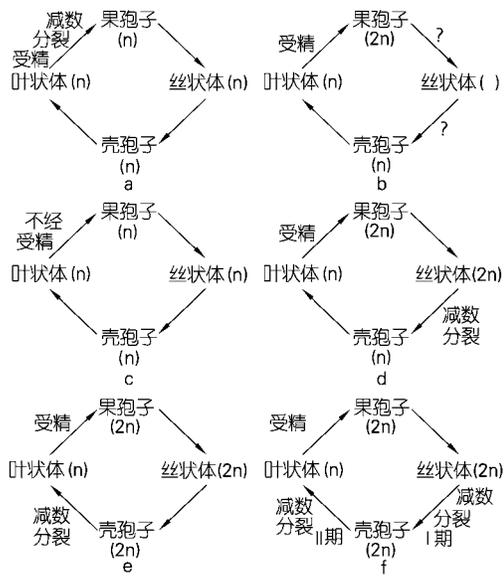


图 1 紫菜核相与减数分裂的 6 种观点

2 紫菜属减数分裂的实验依据

目前,绝大多数学者对于紫菜属减数分裂发生在壳孢子萌发时期这一论断,已经形成广泛共识,除了染色体的观察之外,还提出其他实验证据加以证实。

2.1 四分子分析

Ohme 等^[32]在紫菜有色突变体的杂交实验中,得到不同颜色嵌合体的紫菜植株,这可能是壳孢子萌发时进行减数分裂的最好佐证。Ohme 等^[33]以 *P.*

yezoensis 突变色素作为标记,观察研究了杂交后代叶状体的发生过程。不同类型的色素突变体杂交产生的丝状体,它们放散的壳孢子绝大多数萌发长成色素嵌合的叶状体。追踪观察这些嵌合体的发生过程,发现嵌合块起源于壳孢子减数分裂的 4 个细胞。每一嵌合块仅与 4 个细胞中的一个相对应。这 4 个细胞是壳孢子萌发时,减数分裂的两次细胞分裂产物形成的线性四分子嵌合体。紫菜壳孢子萌发分裂呈现的顺序四分子结构,直观地表现了减数分裂过程和等位基因的分离状态,因此可以进行四分子分析。表明由壳孢子萌发生成的叶状体,是由减数分裂产物共同发育建成,属遗传学上的嵌合体,这对认识紫菜生物的遗传规律十分重要,可用于条纹紫菜色彩突变的遗传作图。

2.2 种间杂交

早在 1963 年 Suto 进行了紫菜种间杂交,在壳孢子萌发后大多数发生畸形或死亡,只报道了实验的结果,而没有进行正确的推论。三浦昭雄等^[34]、马家海等^[28]用色素突变体进行了 *P. yezoensis* 和 *P. tenera* 的杂交试验。种间杂交的结果表明, F1 丝状体放出的壳孢子萌发长成的 F1 叶状体,分裂到 4 细胞时大多趋于停止,色素体崩解且死亡。由于 *P. yezoensis* 和 *P. tenera* 都已证实减数分裂发生于壳孢子萌发阶段,因而推测这两种紫菜杂交的 F1 代壳孢子苗在 4 细胞期的大量死亡,可能与种间杂交时减数分裂产生的某种异常原因有关。存活的少数 F1 叶状体可继续生长发育成熟,这些个体被认为是幸存者,这种现象的出现对紫菜遗传育种的研究具有意义。实验同时也证实种内各品系、各色素突变体的杂交均属正常。以上实验都说明紫菜叶状体是一个具有不同遗传细胞的嵌合体,也是壳孢子萌发时进行减数分裂的重要佐证。

2.3 紫菜性决定和性分化机制

Mitman 等^[35]从细胞学研究中证实, *P. purpurea* 的减数分裂发生在壳孢子初始萌发分裂时期,性决定机制是对其性别发生最合理的解释。对于那些雌雄异株的种类,只要减数分裂不是发生在壳孢子形成之时或之前,它们的性别发生及其决定机制只能在同一藻体上。Notoya^[4]分析了各类型发生减数分裂的时期,指出:雌雄同体且混合分布的种类及雌雄同体各占一半的种类,减数分裂发生在壳孢子萌发的过程中。对于雌雄异体的种类,提出假设:减数分裂发生在壳孢子形成的时期,即壳孢子是单倍体。

紫菜减数分裂发生在壳孢子萌发之时只在有限

的种类中得到了证实,如: *P. tenera*, *P. torta*, *P. yezeensis*, *P. purpurea* 等。严兴洪等^[36]从不同的角度对 *P. haitanensis* 的减数分裂进行了研究,认为 *P. haitanensis* 的减数分裂也发生在壳孢子萌发的四细胞期。其普遍性有待于进一步的深入研究。

3 结语

近几十年来的研究已经基本揭示了紫菜属减数分裂的过程与规律,这对认识紫菜复杂的生活史与遗传规律具有重要意义。在紫菜的细胞遗传学研究中,由于紫菜的染色体很小,仅用光学显微镜来观察其染色体行为的细微变化尚存在困难,如能应用现代生物学技术和多学科综合研究,这些问题最终是能够解决的。如用细胞光度计或流式细胞仪测定紫菜生活史中各阶段的 DNA 含量,就可以确定究竟是单性生殖还是有性生殖。用酶分离方法获得单细胞,进行再生叶状体的 DNA 结构分析,确定是否存在遗传分离,以及应用电子显微镜技术研究紫菜染色体的超微结构,观察联会复合体出现的时期,就可以证实此阶段处于减数分裂前期,由此就可以确定减数分裂发生的时期。运用分子标记技术可以追踪杂合丝状体同源位点在子代叶状体中的分布,从而间接确定壳孢子减数分裂发生时期。利用微卫星共显性的特点,可以确定叶状体是纯合体还是嵌合体,从而证明减数分裂是否与壳孢子的萌发有关。相信随着这些新技术和新方法的应用,关于紫菜的核相和减数分裂问题将得到不断的完善和深化,紫菜的细胞遗传学研究和育种进程必将向更深层次发展。

参考文献:

- [1] 梅俊学, 费修缙, 段德麟. 紫菜叶状体无性繁殖的多样性 [J]. 海洋科学, 2003, 27(12): 26-30.
- [2] Notoya M, Kikuchi N, Matsuo M, et al. Culture studies of four species of *Porphyra* (Rhodophyta) from Japan [J]. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1993, 59: 431-436.
- [3] Kornmann P. Life histories of monostromatic *Porphyra* species as a basis for taxonomy and classification [J]. *European Journal of Phycology*, 1994, 29: 69-71.
- [4] Notoya M. Diversity of life history in the genus *Porphyra* [J]. *Natural History Research*, 1997, 3: 47-56.
- [5] Edwards P. Field and cultural studies on the seasonal periodicity of growth and reproduction of selected Texas benthic marine algae [J]. *Contributions in Marine Science*, 1969, 14: 59-114.
- [6] Yan Z M. A study on the cultivation of the isolated reproductive cell of *Porphyra katadai* Miura var. *hemiphylla* Tseng et T. J. Chang [J]. *Collected Oceanic Works*, 1987, 10: 135-138.
- [7] 汤晓荣, 费修缙. 半叶紫菜华北变种的丝状体成苗研究 [J]. 海洋与湖沼, 1999, 3(2): 180-185.
- [8] Drew K M. Conchocelis-phase in the life-history of *Porphyra umbilicalis* (L.) Kütz [J]. *Nature*, 1949, 164: 748-749.
- [9] Kurogi M. Study of the life-history of *Porphyra* I. The germination and development of carpospores [J]. *Bulletin of Tohoku Regional Fisheries Research Laboratory*, 1953, 2: 67-103.
- [10] Tseng C K, Chang T J. Studies on *Porphyra* I. Life history of *Porphyra tenera* Kjellm [J]. *Acta Bot Sin*, 1954, 3(3): 287-302.
- [11] Hawkes M W. Sexual reproduction in *Porphyra gardneri* (Smith et Hollenberg) Hawkes (Bangiales, Rhodophyta) [J]. *Phycologia*, 1978, 17(3): 329-353.
- [12] Ishikawa M. Cytological studies on *Porphyra tenera* Kjellm I [J]. *Bot Mag Tokyo*, 1921, 35: 206-218.
- [13] Dangeard P. Recherches sur les *Bangia* et les *Porphyra* [J]. *Botaniste*, 1927, 18: 144-183.
- [14] Tseng C K, Chang T J. Studies of *Porphyra* III. Sexual reproduction [J]. *Acta Bot Sin*, 1955, 4: 153-166.
- [15] Magne F. La structure du noyau et le cycle nucléaire chez le *Porphyra linearis* Greville [J]. *Compte Rendu Hebdomadaire des Séances de l'Académie des Sciences*, 1952, 234: 986-988.
- [16] 藤山虎也. ノリの癌腫病 [J]. 水产増殖, 1957, 4(4): 69-73.
- [17] Yabu H, Tokida J. Mitosis in *Porphyra* [J]. *Bull Fac Fish Hokkaido Univ*, 1963, 14(3): 131-136.
- [18] Krishnamurthy V. The conchocelis phase of three species of *Porphyra* in culture [J]. *J Phycol*, 1969, 5: 42-47.
- [19] Conway E, Cole K. Observations on an unusual form of reproduction in *Porphyra* (Rhodophyceae, Bangiales) [J]. *Phycologia*, 1973, 12: 213-225.
- [20] Giraud A, Magne F M. La place de la méiose dans le cycle de développement de *Porphyra umbilicalis* [J]. *C R Acad Sci*

- (Paris) Ser D, 1968, 267: 586-588.
- [21] Migita S. Cytological studies on *Porphyra yezoensis* Ueda [J]. **Bull Fac Fish Nagasaki Univ Japan**, 1967, 24: 55-64.
- [22] Kito H. Cytological observations on the conchocelis-phase in three species of *Porphyra* [J]. **Bull Tohoku Reg Fish Res Lab**, 1974, 33: 101-117.
- [23] Kito H. Cytological studies on genus *Porphyra* [J]. **Bull Tohoku Reg Fish Res Lab**, 1978, 39: 29-34.
- [24] 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阶段染色体数目的研究 [J]. **科学通报**, 1986, 31(1): 67-70.
- [25] 右田清治. ノリ壳孢子と单孢子的着生[R]. 长崎: 长崎大学水产学部研究报告, 1972, 33: 39-48.
- [26] Burzycki G M. New evidence regarding meiosis in the red alga *Porphyra* [J]. **J Phycol**, 1984, 20 (suppl.): 4.
- [27] Ma J H, Miura A. Observations of the nuclear division in the conchospores and their germlings in *Porphyra yezoensis* Ueda [J]. **Jap J Phycol**. 1984, 32: 373-378.
- [28] 张学成, 秦松, 马家海, 等. 海藻遗传学 [M]. 北京: 中国农业出版社, 2005. 202-203.
- [29] 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 [J]. **海洋与湖沼**, 1987, 18(4): 328-332.
- [30] 右田清治. アオワカメとワカメの雑種について [R]. 长崎: 长崎大学水产学部研究报告, 1967. 24: 9-20.
- [31] Wang J, Dai J X, Zhang Y T. Nuclear division of the vegetative cells, conchosporangial cells and conchospores of *Porphyra yezoensis* (Bangiales, Rhodophyta) [J]. **Phycological Research**, 2006, 54(3): 201-207.
- [32] Ohme M, Kunifuji Y, Miura A. Cross experiments of the color mutants in *Porphyra yezoensis* Ueda [J]. **Jap J Phycol**, 1986, 34: 101-106.
- [33] Ohme M, Miura A. Tetrad analysis in conchospore germlings of *Porphyra yezoensis* (Rhodophyta, Bangiales) [J]. **Plant Sci**, 1988, 57: 135-140.
- [34] 三浦昭雄, 符鹏飞, 申宗岩. 红藻スサビノリとアサ. クサノリの色素変異体による種間雑交実験 [J]. **J Tokyo Univ of Fish**, 1992, 79(1): 103-129.
- [35] Mitman G G, van der Meer J P. Meiosis, blade development, and sex determination in *Porphyra purpurea* (Rhodophyta) [J]. **J Phycol**, 1994, 30: 147-159.
- [36] 严兴洪, 李琳, 有贺祐胜. 坛紫菜减数分裂位置的杂交试验分析 [J]. **水产学报**, 2006, 30(1): 1-8.