

北方劳德藻配子和复大孢子的产生*

林均民 翁师德

(厦门大学生物学系, 厦门 361005)

提要 于1986年10月在厦门近岸采集北方劳德藻, 从培养中观察其有性生殖和光对生殖的影响。结果表明, 该藻只有宽度为26—40 μm 的细胞能形成配子和复大孢子; 在光照条件下每昼夜只发生1次性化; 雌雄配子以不同发育方式形成, 配子发生呈现一定的时间程序; 强光照和16h光周期最适于性化。由此得知, 引起性化既依赖适当的细胞大小, 又依赖光诱导的外部因素; 产生两种精子数目是与精原孢囊的体积大小紧密相关; 性化与光强度之间的关系呈正相关; 长的或连续的光照性化反应受抑制, 而光强度和光周期对性化反应呈互补作用。

关键词 北方劳德藻 有性生殖 配子 复大孢子 光周期 光强度

有性周期是硅藻生活史中的一个重要阶段。在中心硅藻生殖中, 雌雄配子、复大孢子和原初细胞的形态发生有各种各样, 且生殖的生理生态条件也互不相同(林均民等, 1987; 林均民等, 1991, 1992; Drebers; 1966, 1972, 1974, 1977; French et al., 1985; Furnas, 1985; Heath et al., 1972; Manton et al., 1966; Schultz et al., 1968; Stosch, 1950)。因此, 很有必要广泛地开展各个属类生殖的研究。Drebers (1974) 曾简述北方劳德藻生殖中产生精原细胞的数量, 但该藻有性生殖的形态和生理生态研究的详细资料至今尚未见到。本文报道在培养条件下该藻有性生殖的形态发生, 和光对生殖的影响, 以期对硅藻生殖生物学的研究提供新资料。

1 材料与方法

北方劳德藻 *Lauderia borealis* Gran (86100 1LB) 由林均民于1986年10月从厦门近岸采集并分离获得。培养液采用 f/2 Guillard (1968) 配方, 盐度为26—30。培养温度为24 $^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, 光源用白色日光灯。

各种光照实验均在恒温培养室里进行, 光照强度用 JD-1A 照度计测定。各次实验前材料先经24h黑暗预处理, 再按预定的光照强度和光照时间培养1d适应, 第二天重复光照结束后固定、镜检和计数。生殖过程采用倒置显微镜观察。

2 实验观察结果

2.1 配子形成和受精 北方劳德藻有性生殖时, 雌雄配子由不同的小型细胞以不同的发育方式形成。雄配子的发育, 先由营养细胞性分化形成精原孢囊。孢囊形态与营养细胞十分相似, 待其内形成精原细胞时方可相互区别。在孢囊的硅质壳里, 行数次胞内有丝

* 国家自然科学基金资助, 3880038号。福建省自然科学基金资助, C90013号。曾在中国藻类学会学术年会交流。

收稿日期: 1991年9月23日, 接受日期: 1994年1月9日。

分裂,产生逐级缩小的圆球形裸露的精原细胞(图版 I:1—2)。长的孢囊产生 16 个精原细胞,短的产生 8 个(见图版 I:2 上下两个相邻孢囊)。精母细胞进行减数分裂(图版 I:3):第一次减数核分裂,每个精母细胞产生 2 个能运动的双鞭毛体;第二次分裂,双鞭毛体的两条同向鞭毛渐渐朝着相反方向位移,头部慢慢拉长,中部缢缩成细丝,断开后形成 2 个单鞭毛精子(图版 I:5,6)。每个精原孢囊产生 32 或 64 个精子。精子头部直径 4.5 μm 左右。双鞭毛体或精子均从发生弯曲的孢囊裂口释放出来(图版 I:4)。

雌配子的发育,是由营养细胞分化形成卵囊。卵囊的外观也与营养细胞相似,但细胞通常较长,胞内颜色较深,呈褐黄色。卵囊不发生胞内有丝分裂,而是直接进行减数分裂,在核分裂之后没有伴随发生胞质分裂,胞内仅存有一个大的功能核,其它小的萎缩核慢慢消失,故在卵囊里只产生 1 个具有大核的卵(图版 I:7)。卵囊壳发生弯曲和出现囊口时,即标志卵已成熟(图版 I:8)。

精子释放后在介质中游动,当游至卵囊口时运动十分活跃,不久,精子的头部紧贴在裸露的卵膜上,运动渐渐减缓直至静止(图版 I:8)。这时,囊口周围的色素体散开和露出亮区。稍后精子的鞭毛脱落,头部穿入卵内。霎时间卵核区微亮,周围的质体不断地旋转。十数分钟后,质体运动减缓,核再次显现,受精过程即告结束。

北方劳德藻营养期最大细胞的直径可达 73 μm ,当缩至 40—26 μm 时是该藻进入有性

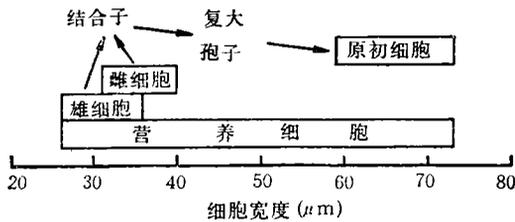


图 1 北方劳德藻各种细胞宽度的比较
Fig. 1 Comparison of widths of various cells in *L. borealis*

期的细胞大小范围(图 1)。但生殖往往先从小型细胞发生,尔后再诱发其它较大型细胞陆续分化。生殖中精原孢囊的直径普遍小于卵囊(图 1),而每次性化率却是前者大大超过后者。从最大型细胞开始的实验室继代培养,在正常条件下大约 1 周年发生 1 次生殖,每次可持续约 2 个月。

2.2 配子形成的节律 在光诱导

下,北方劳德藻培养种群每天仅发生 1 次有性生殖,配子按一定的时间程序发育。如图 2

所示,在 12h:12h 光暗周期中,该藻每天只发生 1 次从营养细胞分化成雄性细胞,每次持续 3.5h,即光照后 4—7.30h 这段时间可观察到具有 2 个精原细胞的精原孢囊,在培养种群中陆续出现,超过这段时间至整个黑夜里没有新的孢囊形成。在同一培养种群中,没有产生性化的小型细胞将在日后陆续性分化。有丝分裂期,约每隔 2.25h 分裂 1 次。减数分裂期,精母细胞第 1 次减数核分裂的时间通常是其它分裂周期的 1 倍。精子在午夜后生成和释放。卵囊的形成与精母细胞减数分裂同步发生,雌雄配子同时进入成熟期。两

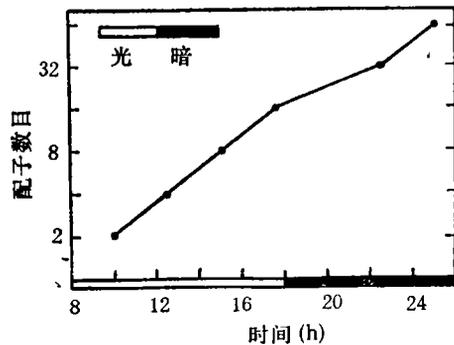


图 2 北方劳德藻雄配子形成的时间程序
Fig. 2 Temporal pattern of male gamete formation in *L. borealis*

性结合多在午夜之后至次日凌晨进行。

2.3 复大孢子和原初细胞形成 受精后, 结合子立即萌发, 表现在原生质体积不断扩大, 并将两个硅质壳推开(图版 I:9)。与此同时, 上壳里, 质体与壳体分离, 质体继续扩大成为大的球体, 形成居间型的复大孢子(图版 I:9—11)。接着, 复大孢子里的原生质发生收缩并逐渐形成平面, 且细胞核也移居于平面的内方。经慢慢分泌硅质, 该平面即成为原初细胞的初生壳(图版 I:12)。随后, 结合子下壳方向也发生质体与壳体分离, 形成圆球形, 复大孢子里的原生质与上述相似收缩成平面, 分泌硅质形成次生壳(图版 I:13)。至此, 在复大孢子膜里完全重建 1 个大型的原初细胞。

该藻在培养中产生的原初细胞其直径在 59—73 μm 范围, 比母壳直径增大 1 倍, 而体积则增大 4 倍。从结合子发育至原初细胞形成, 经历时间超过 24h。

2.4 光与性化作用 从实验获得, 在 800lx 和每天 10h 光照条件下, 北方劳德藻的小型细胞开始发生性化反应; 反之, 在更低光量下, 细胞仅呈缓慢生长, 没有性细胞形成。如果将培养的光强度增至 3 500 lx 时, 诱导性化反应发生的每天光照时间只需 8h, 比上述的光照时间缩短 2h(图 3b)。

如图 3a 所示, 在每天的光暗周期的比例为 12h:12h 条件下, 北方劳德藻培养种群的性化反应(以雄性细胞形成表示, 以下类同), 则随着光强度的增强而增强, 性化强度与光强度之间的关系呈明显的正相关。如果在 3 500lx 条件下培养, 该藻的性化反应强度则随光照时间的增加而迅速递增。最适的性化反应出现在每天有 16h 的光照时间, 超过了这个光照时间性化率骤然下降, 在 18—24h 连续光照条件下性化反应完全受抑制, 细胞仅呈生长状态(图 3b)。

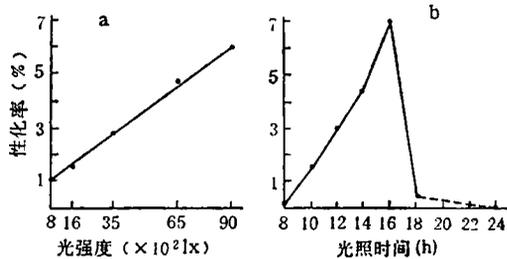


图 3 各种光强度(a)和光周期(b)对北方劳德藻雄性形成的影响

Fig. 3 Effect of various light intensities(a) and photoperiods (b) on male formation of *L. borealis*

3 讨论与结语

3.1 生殖与细胞大小的关系 硅藻细胞随其多次分裂而逐渐缩小, 最大细胞的重建又依赖于有性生殖来实现, 这些在硅藻生活史中是十分普遍的现象。北方劳德藻也不例外, 当它的细胞宽度缩小一半以上时发生有性生殖, 而且生殖往往率先从最小型细胞开始, 并通过生殖产生复大孢子和最终获得细胞的复原(图 1)。这表明, 该藻有性生殖的发生与其分裂而缩小之后的细胞大小密切相关。据所知, 各种硅藻最大型细胞与发生生殖的细胞两者的细胞宽度并不存在限定的比例关系, 缩小的倍数互不相似(林均民等, 1987; 林均民等, 1991, 1992; Drebers, 1974; 1977)。虽然已有报道关于硅藻大小两类细胞的生化成分定量分析的资料, 或对细胞缩小产生生殖的可能原因作出种种推测(Drebers, 1977), 但是尚不能充分解释生殖机理的问题, 而细胞大小仍然是研讨硅藻生殖发生的重要参数。

3.2 雄配子形成中的核质关系 一些硅藻在同一种内同时产生两种精子数目(林均民

等,1991,1992),这现象在北方劳德藻中也存在(图 1:1—3)。从形态发生来看,精原细胞通过较简单的有丝分裂产生,每次分裂前胞质无复制,细胞体积没有扩大(如色素体数目没有倍增现象),故每经分裂则体积减半,但大孢囊或小孢囊产生的精子其大小却大致相似(直径约 $4.5\mu\text{m}$)。那么,体积大的孢囊在精原细胞期里比起小孢囊却多发生 1 次分裂,导致最终产生的精子数目高出 1 倍。这种情况表明,大型孢囊存在细胞质制约细胞核再次分裂的现象,这为核质关系提供新的例证。

3.3 光与性化节律 已知几乎所有中心类硅藻的性化发生,都需要光的诱导(林均民等,1987; Furnas, 1985; Manton et al., 1966; Manton et al., 1970)。北方劳德藻也在光诱导下每昼夜发生 1 次性的性化。但光照后该藻首批精原细胞形成的时间(图 2)却比中华盒形藻 (*Biddulphia sinensis*) 和波形石鼓藻 (*Lithodesmium undulatum*) 推迟近 3h; 精原孢囊里的每次分裂周期,北方劳德藻却比后两种略长(林均民等, 1987; Drebers, 1977)。北方劳德藻与波形石鼓藻如以同样产生 64 个精子的情况相比较,从 2 个精原细胞出现至精子形成,前 1 种需要经历 14.30h, 后 1 种只需 11.30h (Manton et al., 1966; Manton et al. 1970)。似此,各个种类雄配子发育的时间程序也有差别。北方劳德藻的性化反应既不在黑暗中又不在 24h 连续光照下发生(图 3b),表明该藻有性生殖中出现的节律性是由于长期昼夜交替影响的结果,构成一定的时间程序是由内源性生物钟所支配。

3.4 光条件与性化的关系 上面已讨论光诱导性细胞分化进程,而图 3a, b 的结果则显示,作为外部因素的光条件的变化还影响北方劳德藻性化反应的强度。实验获知,该藻性化对光的需要有个最低量值(800 lx, 10h 光照)。表明该藻需要感受足够的光照射才能达到性化发生的生理状态;反之,没有足够的光照不能诱导性化反应。这个反应的最低光量值几乎接近或超过浮动弯角藻 (*Eucampia zoodiacus*) 和银币直链藻 (*Melosira nummuloides*) 最适性化的光条件(林均民等,1991; Drebers, 1977)。实验证明,北方劳德藻性化反应与光强度之间呈明显的正相关,强光对该藻生殖有更强的诱导力(图 3a)。浮动弯角藻恰恰相反,最适性化反应出现在较弱的光照下(林均民等, 1991),表明种间存在生理差别。然而,诱导性化的光强度在 3 500lx 以上且性化反应仍然呈上升趋势的情况至今还是罕见的。

北方劳德藻的性化反应也随光照时间的增加而增强(图 3b)。这反映光与性化关系上光周期长短与光强度强弱呈现的光量效应是相一致的。因而,在有效诱导范围内,光强度与光周期对性化反应可呈互补作用。但是,16h 光照对该藻性反应表现为最适时间,超过了这个光照时间反而对性化起着明显的抑制作用。从图 3b 发展的趋势来看,该藻性化的临界日长在 18h 附近时间,亦即,在 24h 中最少需要将近 6h 的暗周期对于该藻生殖发生是十分必要的,连续光照性化反而完全受抑制。硅藻性化中表现的这种光周期现象与高等植物成花生理的某些方面(曹宗巽等,1980)颇为相似。可以认为,这些现象的存在是硅藻在光暗周期交替中长期适应的缘故。

参 考 文 献

林均民等,1987,中华盒形藻有性生殖的研究,厦门大学学报,26: 117—122。

- 林均民等, 1991, 浮动弯角藻有性生殖和生殖生态, 厦门大学学报, **30**: 301—305.
- 林均民等, 1992, 两种根管藻的有性生殖, 台湾海峡, **11**(2): 49—53.
- 曹宗巽等, 1980, 植物生理学, 人民教育出版社, (上海), 376—400.
- Drebers, G., 1966, On the life history of the marine plankton diatom *Stephanopyxis palmeriana* (Grev.) Grunow, *Helgolander wiss. Meeresunters*, **13**: 101—114.
- Drebers, G., 1972, The life history of the centric diatom *Bacteriasstrum hyalinum* Lauder, *Beih. Nova Hedwigia*, **39**: 95—110.
- Drebers, G., 1974, Marine Phytoplankton, Thieme (Stuttgart), pp. 26—27.
- Drebers, G., 1977, Sexuality, The Biology of Diatoms, ed. by Werner, Blackwell (Oxford, London), pp. 250—283.
- French, F.W. et al., 1985, Spore formation in the life cycle of the diatoms *Chaetoceros diadema* and *Leptocylindrus danicus*, *J. Phycol.*, **21**: 447—483.
- Furnas, M.J., 1985, Diel synchronization of sperm formation in the diatom *Chaetoceros curvisetum* Cleve, *J. Phycol.*, **21**: 667—671.
- Heath, I.B. et al., 1972, Observation on the ultra-structure of the male gametes of *Biddulphia levis* Ehr., *J. Phycol.*, **8**: 51—59.
- Manton, I. et al., 1966, Observation on the fine structure of the marine centric diatom *Lithodesmium undulatum*, *J. Roy. Microsc. Soc.*, **85**: 119—134.
- Manton, I. et al., 1970, Observation on the fine structure and development of the spindle at mitosis and meiosis in a marine centric diatom (*Lithodesmium undulatum*) IV. The second meiotic division and conclusion, *J. Cell Sci.*, **7**: 407—443.
- Schultz, M.E. et al., 1968, Production of male gametes and auxospores in the centric diatoms *Cyclotella meneghiniana* and *C. cryptica*, *J. Phycol.*, **4**: 85—88.
- Stosch, v H.A., 1950, Oogamy in a centric diatom, *Nature*, **165**: 531—532.

PRODUCTION OF GAMETES AND AUXOSPORES IN THE CENTRIC DIATOM *LAUDERIA BOREALIS* GRAN

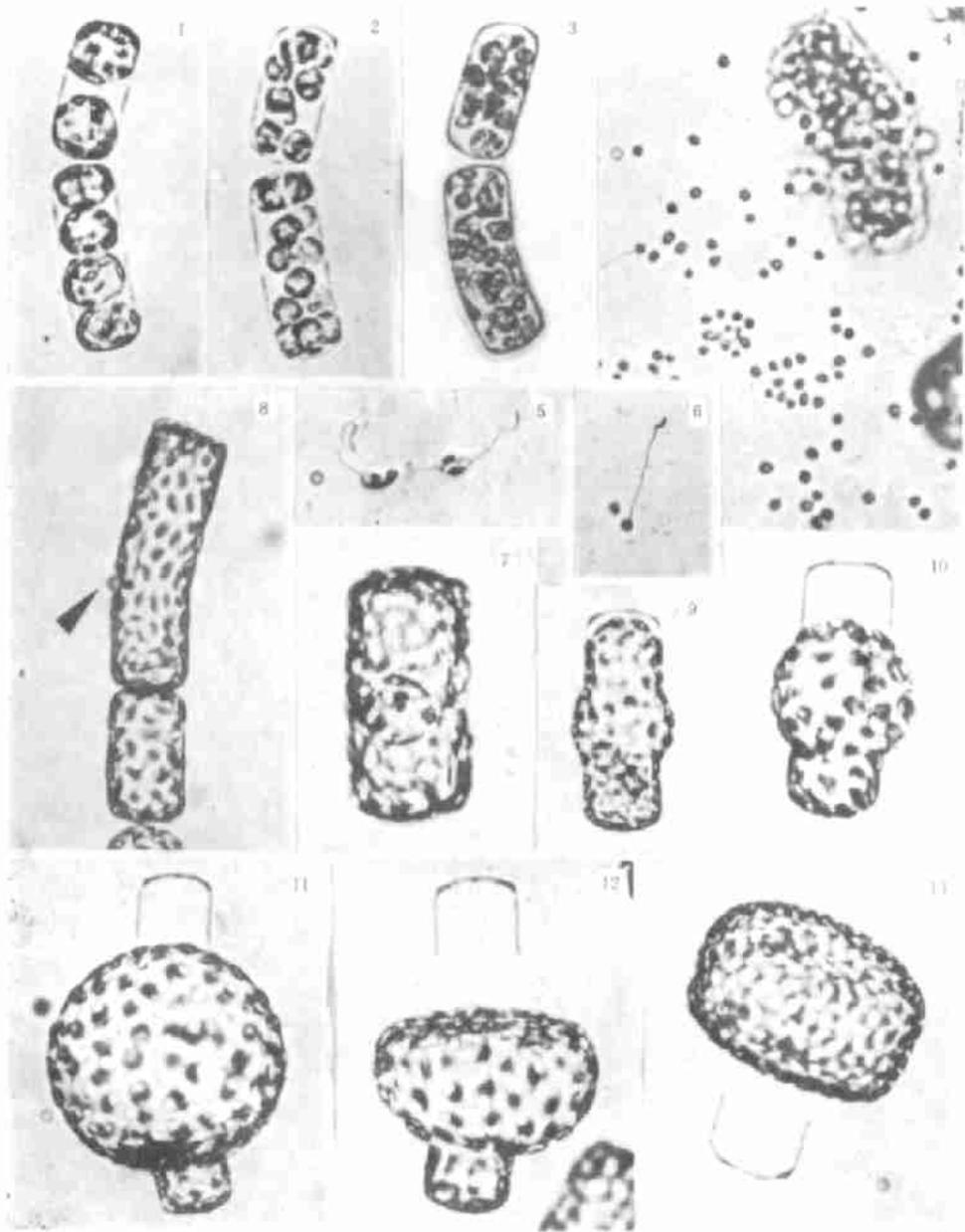
Lin Junmin, Weng Shide

(Department of Biology, Xiamen University, Xiamen 361005)

ABSTRACT

Lauderia borealis was collected from the Xiamen coast in October in 1986. Observation of the sexual process of this diatom and the effect of light on its reproduction showed that only the 24—40 μ m wide cells can form gametes and auxospores. The sexualization may occur only once a day under proper light condition. Male and female gametes are formed in different development ways and the gametogeny exhibits a certain temporal pattern. High light intensity and 16h were found to be optimal for sexualization. Thus, the induction of sexualization in this diatom depends not only on a suitable cell size but also on light as an external factor. The 32 or 64 sperms produced are related closely to the spermatogonangium volume. The sexualization has positive correlation with light intensity, and the sexual reaction is inhibited by long or continuous illumination. Light intensity and photoperiod play apparently complementary roles in sexual reaction.

Key words *Lauderia borealis* Sexual reproduction Gametes Auxospores Photoperiod Light intensity



图版 I 北方劳德藻的有性生殖 (×500)

Plate I Sexual reproduction of *Lauderia borealis* Gran (×500)

1,2. 精原细胞期; 3. 精母细胞减数分裂; 4. 精子释放; 5. 正在分裂的双鞭毛体; 6. 精子; 7. 卵囊和卵(内有大核); 8. 受精(箭头示精子); 9-11. 复大孢子形成期; 12,13. 原初细胞形成期。