

半叶紫菜华北变种的丝状体成苗研究*

汤晓荣 费修纛

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

提要 于1996年6月—1997年5月,采用半叶紫菜华北变种的丝状体(A)(本所提供)和野生半叶紫菜华北变种的叶状体果孢子(B)(1995年3月采于青岛湛山海区),分别接种贝壳丝状体,采用室内培养方法,对壳孢子成熟、放散条件、大小及幼苗的生长发育进行研究。结果表明,A的壳孢子较小,成熟难,放散温度为10℃;幼苗的长度在10—22℃的范围内随温度的升高而增加,幼苗的形态与温度无关,在15—20℃放散单孢子。B的壳孢子较大,成熟较容易,放散温度为14℃;壳孢子苗的形态与温度没有明显的相关性,而且始终未放散单孢子。两种来源的壳孢子苗的形态建成也有明显差别。

关键词 半叶紫菜华北变种 丝状体 壳孢子 壳孢子苗

学科分类号 S968.43

半叶紫菜华北变种主要分布在山东青岛至辽宁大连的黄海西部海区,其叶状体多为雌雄同体,精子囊和果孢子囊被一条分界线从基部到端部分成两个不等部分(Tseng, 1983),这种独特的性别镶嵌形式对研究紫菜的发育和进化具有特殊意义。迄今为止,对半叶紫菜华北变种叶状体的原生质体发育有所研究(阎祚美, 1987),但其丝状体成苗的研究尚无报道。本文报告对两种来源的半叶紫菜华北变种丝状体成苗研究的结果,以期对紫菜的发育和进化研究提供资料。

1 材料和方法

1.1 材料

半叶紫菜华北变种(*Porphyra katadai* var. *hemiphylla*)丝状体(A)于1996年6月取自中国科学院实验海洋生物学开放研究实验室种质种苗组;果孢子(B)取自1995年3月采自青岛湛山海区的成熟半叶紫菜华北变种叶状体,冷冻15个月,解冻后采果孢子,用于接种贝壳。

1.2 方法

实验于1996年6月—1997年5月进行。贝壳丝状体在室温下培养,采用逐级升温的方法促熟;壳孢子放散时采用逐级降温的方法。壳孢子放散后,在显微镜下测量壳孢子的直径,每种样品测量60个孢子。接种时,用磁力搅拌器搅拌,同时用移液管向每个培养皿接种16ml孢子悬浮液。每个培养皿内放有半片缠有维尼纶丝的载玻片和筛绢作为附着基

* 国家攀登计划B资助项目,PD B-6-4号。汤晓荣,女,出生于1967年12月,博士,讲师,现在青岛海洋大学海洋生命学院,266003, Fax: 0086-0532-2879091

收稿日期: 1998-03-26, 收修改稿日期: 1998-08-18

质。接种的孢子密度控制在 $5-8 \text{ ind/mm}^2$ 。接种后,在不同的条件下培养。培养温度分别为 10°C 、 14°C 、 18°C 、 22°C 和 26°C ,光强为 $45 \mu\text{mol}/(\text{m}^2 \cdot \text{s})$,光暗周期比为 12h:12h。培养条件用培养箱控制,海水经煮沸冷却后使用。定期检查壳孢子苗的生长发育情况,用德国产 OPTON 万能显微镜照相。幼苗的长度和宽度在显微镜下用目微尺测量,二者的比值即为长宽比。

2 结果

2.1 贝壳丝状体的成熟和壳孢子放散条件

采用逐级升温的方法对两种贝壳丝状体进行促熟处理。A 的贝壳丝状体,当温度升至 $30-31^\circ\text{C}$ 时,孢子囊枝细胞才大量形成;接着进行降温处理,从 20°C 开始降温,至 14°C 时尚无壳孢子放散,直到温度降至 10°C 才有壳孢子放散,可持续一段时间,但放散量一直不高。经测量,壳孢子平均直径为 $(11.3 \pm 1.3) \mu\text{m}$ 。B 的贝壳丝状体,在温度为 $26-28^\circ\text{C}$ 时,孢子囊枝细胞即大量形成;降温处理至 14°C 时,壳孢子开始放散,且很快达到较高的放散量。经测量,壳孢子平均直径为 $(13.1 \pm 1.3) \mu\text{m}$ 。

2.2 壳孢子苗的生长发育

2.2.1 A 的壳孢子苗

2.2.1.1 幼苗的形态建成 壳孢子最初形成的 10 个以内,幼苗细胞一般呈直线排列。最初的壳孢子分裂成两个细胞(图 1:1),两个细胞再继续分裂,端部的分裂速度往往稍快,形成多细胞单列的幼苗(图 1:2)。以后,幼苗的某些细胞开始 2 个并列排列,往往只见于中部或端部,基部较少(图 1:3)。

2.2.1.2 壳孢子苗的生长 培养至第 6 天和第 10 天时,幼苗长度和形态的变化见表 1。由表 1 可知,幼苗的形态受温度的影响不明显,当温度范围在 $10-22^\circ\text{C}$ 时,幼苗的生长速度随着温度的升高而加快;当温度升至 26°C 时,幼苗不能存活。幼苗细胞最早纵裂的温度范围是 $14-18^\circ\text{C}$,此温度范围较适宜幼苗生长。在实验温度范围内,幼苗的生长都较缓慢,随着培养时间的延长,较高温度培养下的幼苗首先出现死亡现象,随后较低温度培养下的幼苗也依次死亡。

表1 培养时间为6d和10d时,不同温度下A幼苗的长度(μm)和长宽比

Tab.1 Length (μm) and length-to-width ratio of conchosporelings A at different temperatures (6 days and 10 days)

温度($^\circ\text{C}$)	10	14	18	22	26
长度(6d)	33.8 ± 0.9	35.6 ± 1.2	36.9 ± 1.0	43.8 ± 1.2	无
(10d)	38.8 ± 1.0	43.1 ± 1.3	43.8 ± 1.9	54.4 ± 1.7	无
长宽比(6d)	2.7 ± 0.7	2.3 ± 0.5	2.8 ± 0.5	2.7 ± 0.7	无
(10d)	2.5 ± 0.6	2.5 ± 0.3	2.9 ± 0.5	2.8 ± 0.5	无

注: $n=20(6\text{d})$, $n=15(10\text{d})$

2.2.1.3 单孢子的形成与放散 壳孢子苗在培养至第 22 天,温度范围为 $14-18^\circ\text{C}$ 时放散单孢子,在 18°C 时单孢子放散量较高,放散的株数和每株的放散量也较多。

2.2.2 B 的壳孢子苗

2.2.2.1 幼苗的形态建成 壳孢子萌发后,形成 2 个细胞,沿萌发方向呈直线排列。然后按两种方式分裂:(1)2 个细胞继续分裂,产生的细胞呈直线排列,至一定大小(多于 4 细

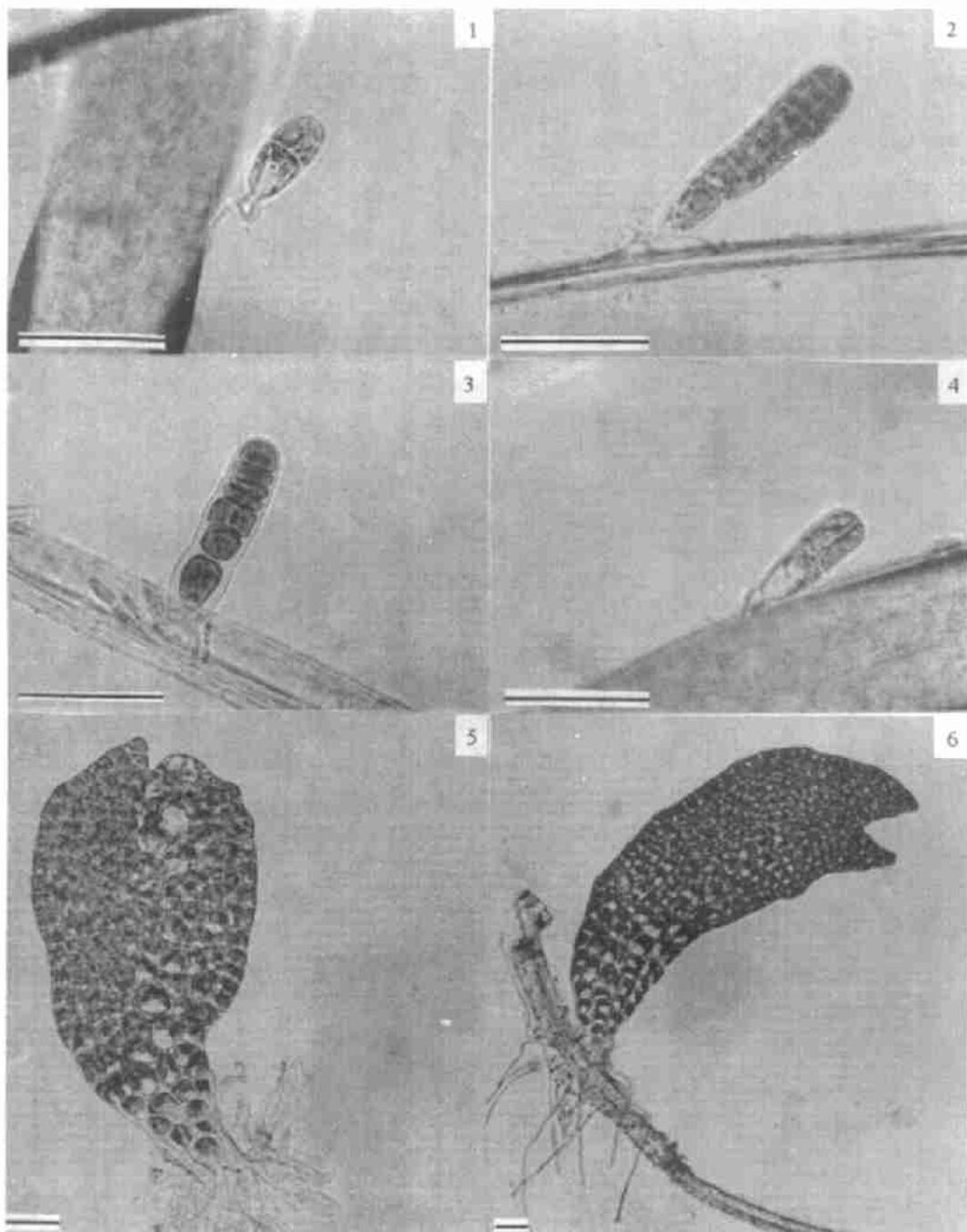


图1 半叶紫菜华北变种的壳孢子苗

Fig.1 Conchosporelings of *Porphyra katadai* var. *hemiphylla*

1. 2细胞幼苗; 2. 9细胞幼苗, 细胞沿萌发方向排成直线; 3. 壳孢子苗的中部细胞纵向分裂; 4. 3细胞苗, 端部细胞纵向分裂; 5. 壳孢子苗, 两部分的细胞大小不同; 6. 壳孢子苗, 有两个尖端
比例尺=40 μ m

胞)时开始纵裂;其形态建成与 A 的壳孢子苗相似。(2)两细胞的幼苗靠近基部的细胞不再分裂,上部细胞纵向分裂,形成两个细胞(图 1:4)。由大量的观察结果可知,基部细胞几乎都不分裂。由 3 细胞开始分裂时,端部两个细胞的分裂速度基本相等,所以,幼苗细胞数多为 5 或 9,但少量不均等分裂形成的幼苗,藻体两边的细胞数目及排列方式不同。3 细胞时细胞呈直线排列的幼苗比例较高(约为 50%),但以后单列细胞的幼苗比例却很低,推断应是 3 细胞的幼苗很快纵裂,以后的发育与 3 细胞纵裂的幼苗相同。

2.2.2.2 生长 培养至第 10 天时,幼苗长度和形态的变化见表 2。由表 2 可知,壳孢子刚萌发时,幼苗在 18—22℃ 时生长最快。至 26℃ 时幼苗不能正常生长。随着培养时间的延长,幼苗的生长适温降低。由表可以看出,由低温向高温,幼苗长度递减,10℃ 是幼苗生长最快的温度。培养至第 45 天时,只有 10℃ 组的幼苗尚能正常生长,而 14—18℃ 组的幼苗均出现畸形,22—26℃ 组的幼苗则全部死亡。

表2 不同温度下B幼苗的长度(μm)和长宽比(培养时间为10d)

Tab.2 Length (μm) and length-to-width ratio of conchosporelings B at different temperatures (10 days)

温度(℃)	10	14	18	22	26
长度	41.9±1.6	22.5±0.7	18.1±0.8	18.1±0.5	12.5±0.0*
长宽比	1.7±0.3	2.2±0.5	2.2±0.3	1.8±0.5	1.8±0.2*

注: n=20, * n=2

2.2.2.3 幼苗的发育 幼苗长到数百个细胞时,端部为圆形或分叉,无单孢子放散。随着幼苗的逐渐生长,其中的一半细胞体积变大,可能是性分化的开始(图 1:5)。幼苗长到一定时期,端部形成分叉(图 1:6),这是幼苗的两半边各自独立生长发育的结果。

3 讨论与结语

3.1 半叶紫菜华北变种生长发育特征与条斑紫菜的差别(表 3)

由表 3 可知,半叶紫菜华北变种两种丝状体之间的特性有许多差别,二者的原藻产地都是青岛湛山海区,目前尚不能充分解释存在差别的原因,但本实验结果至少表明半叶紫菜华北变种存在着不同品系。半叶紫菜华北变种作为分类上的一个种,除了个体形态方面与其它种相同以外,其丝状体的发育条件、幼苗的形态建成等方面都具有不同于其它种的特征;本文所用的半叶紫菜华北变种两种来源的丝状体都具有很多区别于其它种类的

表3 两种来源的半叶紫菜华北变种(A和B)与条斑紫菜之间的丝状体及壳孢子苗的差别

Tab.3 Differences of conchocelis and its conchosporelings from two sources of *P. katadai* var. *hemiphylla* A and B and *P. yezoensis*

丝状体来源	A	B	条斑紫菜
丝状体成熟温度(℃)	30—31	26—28	20—25
壳孢子放散温度(℃)	10	14	22.5
壳孢子放散难易程度	难	易	易
壳孢子直径(μm)(n=60)	11.3±1.3	13.1±1.3	
壳孢子苗生长适温(℃)	15—20	10	18—20
壳孢子苗放散单孢子情况	15—20℃ 放散	未放散	10—20℃ 放散

注:条斑紫菜资料参考中国科学院海洋研究所藻类实验生态组、藻类分类形态组(1978);壳孢子放散温度取开始放散的温度上限;单孢子放散温度范围为作者最近尚未发表的实验结果

共同点,如壳孢子在低于 15℃ 的温度下才能放散,壳孢子苗非常不耐干。在青岛地区,半叶紫菜华北变种在 1—2 月份即能在海边的水坑中采到(此时的水温为 2—3℃),这说明壳孢子放散时的水温低,并且幼苗在退潮时也不会干出,与本实验结果相符。它们与条斑紫菜也有相同点,如 A 的壳孢子的形态建成和放散单孢子的特点与条斑紫菜很相似。

3.2 不同来源的丝状体差别的可能遗传基础

Bird 等(1972)最早提出紫菜品系的观点,认为品系之间放散壳孢子的能力有差别。本文所用两个来源的丝状体同属于半叶紫菜华北变种,但它们在壳孢子的成熟、放散,以及壳孢子苗的生长发育方面都有差别,证明它们属于不同的品系。不同的来源导致了生物学特性的差别,品系 A 是在室内条件下 [19—20℃, 约 20 μ mol/(m²·s), 12h:12h] 组织培养而成,在室内保存期超过 2 年;而野生的果孢子 B 来源于冷冻的紫菜叶状体,二者接种贝壳后在同样的条件下培养,促熟时条件才有差别。生长发育的差别应来源于遗传上的差别,阎祚美(1987)由雌性原生质体得到了丝状体;作者曾对半叶紫菜华北变种的雌雄营养组织分别进行培养,发现每种组织都能在无异性组织存在的情况下形成丝状体,且两种丝状体有差别。今后应对不同丝状体品系进行遗传研究,找出产生差别的原因。

参 考 文 献

- 中国科学院海洋研究所藻类实验生态组、藻类分类形态组, 1978. 条斑紫菜的人工养殖. 北京: 科学出版社, 31—44
- 阎祚美, 1987. A study on the cultivation of the isolated reproductive cell of *Porphyra katadai* Miura var. *hemiphylla* Tseng et T. J. Chang. Collect Ocean Works, 10:135—138
- Bird C J, Chen L C-M, McLachlan J, 1972. The culture of *Porphyra linearis* (Bangiales, Rhodophyceae). Can J Bot, 50:1 859—1 863
- Tseng C K, 1983. Common Seaweeds of China. Beijing: Science Press, 25

ARTIFICIAL CULTURE FROM CONCHOCELIS TO CONCHOSPORELINGS OF *PORPHYRA KATADAI* VAR. *HEMIPHYLLO*

TANG Xiao-rong, FEI Xiu-geng

(Institute of Oceanology, The Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071)

Abstract Conchocelis of *Porphyra katadai* var. *hemiphylla* from indoor culture and wild carpospores from leafy thalli collected on the Zhanshan region, Qingdao seashore in March 1995 and kept on -20℃ for about fifteen months, were used and their conchospore maturing and releasing conditions, size, growth and development of conchosporelings were studied in order to identify the life history of *P. katadai* var. *hemiphylla*. The results show that conchocelis from indoor culture was more difficult to form and release conchospores than that from wild carpospores. Sporangial branchlets were formed in large quantity at 30—31℃, releasing conchospores at 10℃. Average

diameter of conchospores was $(11.3 \pm 1.3)\mu\text{m}$. The lengths of conchosporelings increased with temperature at 10—22°C. A temperature of 15—22°C were optimal for sporeling normal growth. The shapes of sporelings were not related to the temperature. Conchosporelings shed monospores at 15—20°C. Conchocelis from wild carpospores formed sporangial branchlets in large quantity at 26—28°C and released conchospores at 14°C. Average diameter of conchospores was $(13.1 \pm 1.3)\mu\text{m}$. Conchosporelings grew quickly at 10°C and their shapes were not related to the temperature significantly. Conchosporelings from two sources grew normally at lower temperature and no monospore was shed. For the morphogenesis of conchosporelings, conchospores from indoor culture germinated into sporelings with no more than 10 cells being lined along the germination direction. Certain cells on the position of apex or middle were divided longitudinally to form two lines. Conchospores from wild carpospores germinated into two cells in the direction of germination. Afterwards, there were two modes for the sequential cell division. One is the apical cell which was divided longitudinally to form two new cells, which occupied about 50% of the total division modes. The two newly produced cells were further divided to form the two halves of an adult thallus. The other mode was that after the first division, the division direction did not change until a certain cell divided longitudinally to form a multi-lined thallus when the cell number of a conchosporeling was about 10. In conclusion, there exist strains in *Porphyra katadai* var. *hemiphylla*, *Porphyra katadai* var. *hemiphylla* has the ability to produce monospores in certain conditions.

Key words *Porphyra katadai* var. *hemiphylla* Conchocelis Conchospore Conchosporelings

Subject classification number S968.43