

黄海绿潮浒苔 (*Enteromorpha prolifera*) 生活史的初步研究

叶乃好, 张晓雯, 毛玉泽, 庄志猛, 王清印

(中国水产科学院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 实验室条件下对 2008 年 6 月黄海中海域暴发的绿潮浒苔 (*Enteromorpha prolifera*) 样品进行培养, 观察记录绿潮浒苔生活史不同世代的生长发育情况。结果显示, 成熟藻体释放出的雌、雄配子结合后固着, 随后发育形成新个体; 刚释放出的孢子具有聚集生长的趋势, 随后发育形成具有假根和叶状体分化的新个体; 在生长衰败期, 部分藻体体细胞发生明显变化, 细胞膨胀后发生分裂, 发育形成新个体并能在死去的藻体上附着生长; 培养的叶状体片段两端迅速愈合, 并显示生长极性, 两端分别形成叶状体和假根。后两种单性生殖方式目前未见公开报道。[中国水产科学, 2008, 15(5): 853-859]

关键词: 浒苔; 生活史; 配子; 孢子; 体细胞; 叶状体片段

中图分类号: S917.3

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2008)05-0853-07

浒苔是浒苔属 (*Enteromorpha*) 绿藻的统称, 广泛分布于世界各地中、低潮区的砂砾、岩石、滩涂和石沼海岸中^[1]。浒苔不仅具有食用^[2]和药用^[3]价值, 还被广泛用于化工、饲料、纺织和国防工业^[4]。浒苔是形成绿潮 (Green tide) 的主要藻类之一。绿潮的暴发会导致一系列的环境问题与经济损失^[5]。2008 年 6 月在中国的黄海中海域暴发的绿潮浒苔 (*Enteromorpha prolifera* (Müller) J. Ag.) 是绿藻门 (Chlorophyta)、石莼科 (Ulvaceae)、浒苔属中的一种^[6]。浒苔藻体由单层细胞组成, 呈管状中空或扁平, 藻体长度可以达到 1 m 以上^[7]。

目前国内对浒苔属的研究多见于营养价值和生态习性等方面, 对其生活史研究开展的不多^[8]。林阿朋等^[9]的研究指出, 浒苔藻体片段可以经过多种途径再生发育成植株; 王建伟等^[4]通过实验确定了浒苔生长以及孢子释放的最佳盐度、温度、光照强度和酸碱度等生态因子; 王晓坤等^[8]对浒苔的研究证实, 浒苔配子可以进行单性生殖发育成新个体。

本研究以 2008 年夏季中国黄海中海域暴发的绿潮浒苔为研究对象, 在实验室条件下对浒苔的配子体、孢子体、体细胞以及叶状体片段的生长和发育状况进行了详细的观察和分析, 以期对浒苔人工育苗、栽培以及浒苔绿潮暴发的防控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料来源与处理

浒苔样品采自青岛栈桥潮间带。取回的浒苔用足量灭菌海水冲洗后放入高压灭菌的天然海水中暂养, 培养温度为 25 °C, 光照度 60 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$, 光照时间为 14 h/d。

1.2 样品培养

挑选藻体完整、健康、洁净的浒苔新鲜个体, 解剖镜下除去表面杂藻, 用无菌海水冲洗后再以 0.3% 的高锰酸钾 (以无菌海水为溶剂) 浸泡 2 min 以杀死表面原生动物。用无菌海水冲洗 6 次后置于含有培养液的培养皿中培养。培养液为含有 0.1 mol/L NaCO_3 和 0.1 mol/L NaH_2PO_4 的高压灭菌海水。培养条件与暂养条件相同, 每天上午 9:00 更换培养液。另外, 使用高压灭菌的手术刀将洁净的浒苔叶状体切成边长 2~3 cm 的片段培养观察, 培养条件和方法同上。

1.3 显微观察

用 Nikon 80i 正置显微镜或 Nikon Ti-U 倒置显微镜每天观察并记录浒苔孢子、配子、叶状体片段以及体细胞的生长发育情况, 使用 Nikon DXM1200F 显微镜数码成像系统进行成像。

收稿日期: 2008-08-18; **修订日期:** 2008-08-20.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (40706050, 40706048); 国家科技支撑计划项目 (2006BAD01A13); 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 项目 (2006AA10Z414).

作者简介: 叶乃好 (1976-), 男, 副研究员. 主要从事藻类生物学研究. Tel: 0532-85822957; E-mail: yenh@ysfri.ac.cn

通讯作者: 王清印. E-mail: qywang@public.qd.sd.cn

1.4 扫描电镜样品制作与成像

吸管收集刚刚放散的浒苔配子于 1.5 mL 离心管中,用预冷的 2.5% 戊二醛固定,4 ℃ 冰箱中保存 12 h。用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液漂洗 3 次,每次 15 min,然后用 1% 锇酸固定液室温下固定 1 h 左右。利用质量分数分别为 50%、70%、80%、90%、95% 的乙醇梯度脱水各 15 min,然后用叔丁醇脱水 15 min。采用零界点干燥法干燥样品,利用真空喷镀仪对样品观察表面进行镀膜。使用 KYKY-2800B 型扫描电子显微镜观察、拍照。

2 结果

2.1 配子的形态与发育

样品培养 1 周左右,藻体顶端部分细胞开始胞质分裂,形成配子囊,囊内有多数堆积在一起的细小的配子。配子囊成熟后,配子开始活跃,于配子囊中作不规则运动,并持续不断地从配子囊中放散出去。显微镜观察显示配子呈长梨形,但扫描电镜照片显示浒苔的雌雄配子近圆球形,具有两根鞭毛(图版 I 1~3)。雌配子球体部分较大,直径为 4~6 μm ,鞭毛长 4~8 μm (图版 I 1~2);雄配子球体部分较小,直径为 3~5 μm ,鞭毛长 4~8 μm (图版 I 3)。游动的雌配子和雄配子接触后融合形成合子,固着并开始发育(图版 I 4)。

2.2 孢子的发育

孢子囊与配子囊的外形区别不大。成熟的孢子囊在孢子囊内不断地作旋转运动,并陆续从圆形的散孔中放散出去。孢子具有 4 根鞭毛,个体较大,近球形,球体部分直径为 6~10 μm ,放散出的孢子有附着聚集的趋势(图版 II 1)。单个孢子可以萌发形成新的个体,但更多的是大量孢子聚集并分裂形成细胞团(图版 II 2)。孢子附着 4 d 左右后,部分细胞团中央开始形成叶状体(图版 II 3)。随着叶状体的发育,个体的基部逐渐形成假根(图版 II 4),从而发育形成完整的个体。

2.3 体细胞的发育

室内条件下培养 3 周左右,浒苔藻体开始出现衰败现象,部分藻体细胞色素变淡,细胞发生质壁分离,藻体逐渐白化。藻体衰败期间,有些体细胞发育形成配子囊或者孢子囊(图版 III 1),部分细胞开始膨胀,色素体充满整个细胞(图版 III 2)。在膨胀发育过程中,一些细胞死亡并脱落,一些继续留在母体上(图版 III 3)。留在母体上的细胞

可以发生分裂并逐渐发育形成新的个体(图版 III 4)。体细胞的发育是从单个细胞的膨胀开始(图版 III 5),先发生延伸(图版 III 6),逐渐分裂形成具有 2 个细胞的个体(图版 III 7),继续分裂后形成具有 4 个细胞的个体(图版 III 8)。随着培养时间的延长,部分个体继续向两端分化(图版 III 9),部分个体发育形成分枝(图版 III 10),从而发育形成新的个体。

2.4 叶状体片段的再生

浒苔叶状体片段培养过程中,部分片段逐渐白化后死亡,部分发育形成带有新假根和叶状体的新植株。单条藻段内往往有部分细胞死亡的现象,其中存活的部分可突破死亡藻体的束缚,分别在两端形成假根和叶状体(图版 IV 1)。藻段的再生具有生长的极性,即靠近原藻体假根的一段总是形成假根,而靠近叶状体的一段总是形成叶状体(图版 IV 3)。靠近假根的一段愈合后形成类愈伤组织(图版 IV 1、IV 3),然后逐渐发育形成具有固着作用的假根(图版 IV 2、IV 4)。

3 讨论

海洋藻类,如紫菜(*Porphyra*)^[10]、羽藻(*Bryopsis*)^[11]等,往往具有复杂的生活史,这是低等生物适应自然条件的表现之一,它们依靠多变的繁殖方式和大量的后代来延续自己的生命。本研究发现,浒苔不仅可以通过释放配子和孢子的方式进行繁殖,而且可以通过叶状体片段以及体细胞营养生殖方式进行再生。Ye 等^[12-13]发现,单细胞大型海洋绿藻蕨羽藻(*Bryopsis hypnoides*)不仅可以通过叶状体片段再生,而且巨大细胞内部的原生质也可以团聚萌发形成新的个体。浒苔是形成大规模绿潮的主要藻类之一^[14],其发育后期放散的孢子和配子为来年浒苔的大规模暴发奠定了最基本的物质基础;在适宜的条件下,配子和孢子一旦萌发,其迅速生长的藻体以及长期进化形成的有性、无性以及营养等多途径的繁殖方式是形成巨大生物量的一个重要因素。

浒苔假根的形成是具有极性的^[15]。切断培养时,藻体靠近基部的那一端先发育形成类愈伤组织,然后发育形成具有固定作用的细长假根(图版 IV)。从实验结果来看,浒苔孢子体和配子体发育形成的个体附着能力相对较强,而藻段再生个体只有在接触到基质的条件下才能发育形成假根,而且

假根的附着能力很弱。由于管腔中空, 浒苔藻体的浮力很大, 绝大部分断裂的浒苔分枝仅仅是愈合后产生类愈伤组织, 在没有接触基质情况下不能继续发育形成假根。在漂浮状态下, 大规模爆发的浒苔即使断裂再生, 在浮力和水流的作用下, 也极少有附着产生假根的可能, 这是大规模漂浮浒苔基部没有假根的主要原因。

浒苔属藻类的生活史非常相似, 丁怀宇等^[17]研究发现缘管浒苔 (*E. linza*) 的配子体具有单性生殖的能力, 放散后可以固定发育形成新的个体, 也可以不经放散直接在藻体上发育形成新个体。本研究没有观察到浒苔的配子体具有单性生殖的现象。

参考文献

- [1] 曾呈奎, 张德瑞, 张俊甫. 中国经济海藻志 [M]. 北京: 科学出版社, 1962.
- [2] 徐大伦, 黄晓春, 杨文鸽, 等. 浒苔营养成分分析 [J]. 浙江海洋学院学报: 自然科学版, 2003, 22(4): 318-320.
- [3] Hiqashi-Okaj K, Otani S, Okai Y. Potent suppressive effect of a Japanese edible seaweed, *Enteromorpha prolifera* (Sujiaonori) on initiation and promotion phases of chemically induced mouse skin tumorigenesis [J]. Cancer Lett, 1999, 140: 21-25.
- [4] 王建伟, 阎斌伦, 林阿朋, 等. 浒苔 (*Enteromorpha prolifera*) 生长及孢子释放的生态因子研究 [J]. 海洋通报, 2007, 26(2): 60-65.
- [5] Hiraoka M, Ohno M, Kawaguchi S, et al. Crossing test among floating *Ulva* thalli forming 'green tide' in Japan [J]. Hydrobiologia, 2004, 512: 239-245.
- [6] 张晓雯, 毛玉泽, 庄志猛, 等. 黄海浒苔绿潮的形态学观察及分子鉴定 [J]. 中国水产科学, 2008, 15(5): 822-829.
- [7] Tseng C K. Common Seaweeds of China [M]. 北京: 科学出版社, 1983.
- [8] 王晓坤, 马家海, 叶道才, 等. 浒苔 (*Enteromorpha prolifera*) 生活史的初步研究 [J]. 海洋通报, 2007, 26(5): 112-116.
- [9] 林阿朋, 王建伟, 阎斌伦, 等. 浒苔 *Enteromorpha prolifera* 组织培养初步研究 [J]. 生态科学, 2006, 25(4): 320-324.
- [10] Kornmann P. Life histories of monostromatic *Porphyra* species as a basis for taxonomy and classification [J]. Eur J Phycol, 1994, 29: 69-71.
- [11] Morabito M, De Masi F, Gargiulo G. Life history of two species of *Bryopsis* from the Straits of Messina (Italy) [J]. Boccone, 2003, 16: 1 059-1 066.
- [12] Ye N, rhizoids developed from the thallus segments of *Bryopsis hypnoides* Lamouroux [J]. J Integrat Plant Biol, 2006, 48: 686-691.
- [13] Ye N, Wang G, Wang F, et al. Formation and growth of *Bryopsis hypnoides* Lamouroux regenerated from its protoplasts [J]. J Integrat Plant Biol, 2005, 47: 856-862.
- [14] Callow M E, Callow J A, Pickett-Heaps J D, et al. Primary adhesion of *Enteromorpha* (Chlorophyta, Ulvales) propagules: quantitative settlement studies and video microscopy [J]. J Phycol, 1997, 33: 938-947.
- [15] Lersten N R, Voth P D. Experimental control of zoid discharge and rhizoid formation in the green alga *Enteromorpha* [J]. Bor Gaz, 1960, 122: 33-45.
- [16] Bonneau E R. Polymorphic behavior of *Ulva lactuca* (Chlorophyta) in axenic culture. I. Occurrence of *Enteromorpha*-like plants in haploid clones [J]. J Phycol, 1977, 13: 133-140.
- [17] 丁怀宇, 马家海, 王晓坤, 等. 缘管浒苔的单性生殖 [J]. 上海水产大学学报, 2006, 15(4): 493-496.

Life history of *Enteromorpha prolifera* under laboratory conditions

YE Nai-hao, ZHANG Xiao-wen, MAO Yu-ze, ZHUANG Zhi-meng, Wang Qingyin

(Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract: Green tide is one of the major environmental problems over the world. *Ulva* and *Enteromorpha* are two of the best known marine green alga genera which responsible for widespread green tides. They widely distribute in marine, freshwater and brackish environments throughout the world. Approximately 80 species are now included in *Enteromorpha* genera, of which only 11 species are currently recognized in China. A large-scale *Enteromorpha prolifera*-forming green tide broke out in the middle and south area of Yellow Sea in May, 2008. Since the present understandings of life history of *Enteromorpha prolifera* are insufficient, it is essential to investigate the reproductive strategies contributing to its successful flourish. Samples of *Enteromorpha prolifera* were collected from the middle and south area of Yellow Sea in June 2008, which formed green tide at the exact time. The samples were cultivated in lab and the observation was conducted through microscopy (Nikon 80i) and scanning electronic microscopy (KYKY-2800B). The results show that male and female gametes releasing from gametangia fused into zygotes and settled, then developed into new individuals. The released spores tended to aggregate and formed cell masses before developing into new plants that bear rhizoids and thalli. During the senile period, some of the somatic cells swelled and divided into two cells, and the newly-formed individuals could grow on the dead matrix. The chopped segment of the thalli healed rapidly after the cut and showed apical-basal polarity during their development: one side grew into rhizoids and another side into thalli. The two latter asexual reproduction modes have not been reported up to now. [Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15 (5): 853–859]

Key words: *Enteromorpha prolifera*; life history, gametes; spores; somatic cells; segments of thallus

Corresponding author: WANG Qing-yin. E-mail: qywang@public.qd.sd.cn

图版说明

图版 I 浒苔配子和合子的扫描电镜照片

1、2. 带有两根鞭毛的雌配子; 3. 带有两根鞭毛的雄配子; 4. 附着的合子. 比例尺 = 4 μm .

图版 II 浒苔孢子体的发育

1. 刚刚放散聚集在一起的孢子; 2. 孢子分裂形成细胞团; 3. 萌发形成叶状体的细胞团; 4. 孢子发育形成的新个体. 比例尺 = 20 μm .
Rd- 假根; Ts 叶状体.

图版 III 浒苔体细胞的发育

1. 体细胞发育形成孢子囊; 2. 衰败期膨胀的体细胞; 3. 附着在死亡藻体上的体细胞; 4. 死亡藻体上萌发形成的新个体; 5. 正在分裂的体细胞; 6. 分裂末期的体细胞; 7. 分裂形成 2 个细胞的个体; 8. 4 个细胞的个体; 9. 向两端延伸的多细胞个体; 10. 形成分枝的个体. 比例尺 = 60 μm .

图版 IV 浒苔叶状体片段的再生

1. 发育形成新个体的浒苔叶状体片段; 2. 类愈伤组织发育形成假根; 3. 极性生长的藻体片段, 一端发育形成叶状体, 一端发育成假根; 4. 类愈伤组织发育形成多条具有固着作用的假根. 比例尺 = 100 μm .
DM 死亡基体; Rd- 假根; Ts 叶状体.

Plate I SEM microphotographes of gametes and zygote from *Enteromorpha prolifera*

1, 2: female gamete with two flagella; 3. a male gamete with two flagella; 4. a settled zygote. Bar= 4 μm .

Plate II Developmental process of sporophyte from *Enteromorpha prolifera*

1. Initially released spores; 2. spores developed into cell mass; 3. cell mass with a newly-developed thallus; 4. a new individual thallus developed from spores. Bar= 20 μm .

Rd-rhizoid; Ts-thallus.

Plate III Development process of somatic cells of *Enteromorpha prolifera*

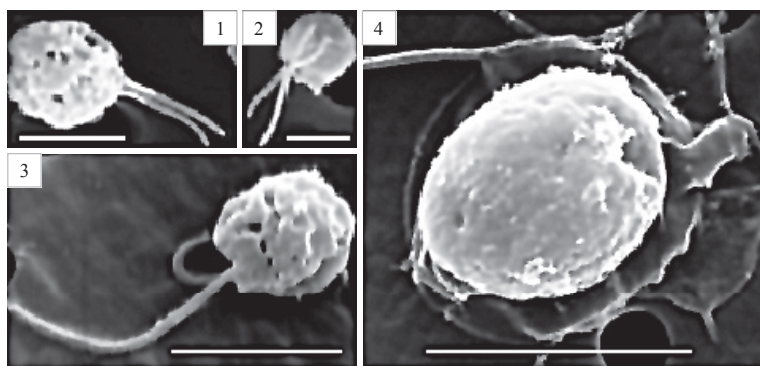
1. Sporangia developed from the somatic cells; 2. swelled somatic cells; 3. somatic cells attaching on the dead matrix; 4. newly-formed individuals that are attaching on the dead matrix; 5. a somatic cell starting to prolongate; 6. a fissional somatic cell; 7. a two-cell individual; 8. a four-cell individual; 9. a individual prolongating with both ends; 10. branched multicellular individuals. Bar= 60 μm .

Plate IV Regeneration process of segments from *Enteromorpha prolifera*

1. a newly-formed individual from a segment; 2. a rhizoid developed from the callus-like tissue; 3. segments bearing apical-basal polarity in the development, with one side developing into thalli and another into rhizoid; 4. fixation-functional rhizoids developed from the callus-like tissue. Bar=100 μm .

DM-dead matrix; Rd-rhizoid; Ts-thallus.

叶乃好等: 黄海绿潮浒苔 (*Enteromorpha prolifera*) 生活史的初步研究
 YE Nai-hao et al: Life history of *Enteromorpha prolifera* under laboratory conditions



图版 I 浒苔配子和合子的扫描电镜照片

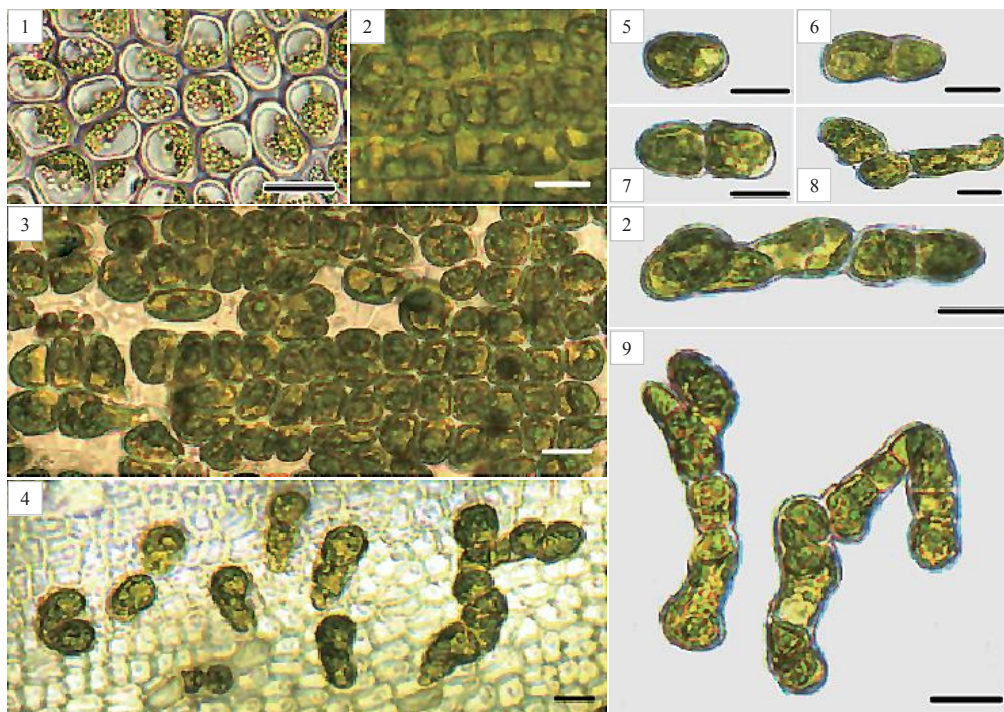
Plate I SEM microphotographs of gamete and zygote from *Enteromorpha prolifera*



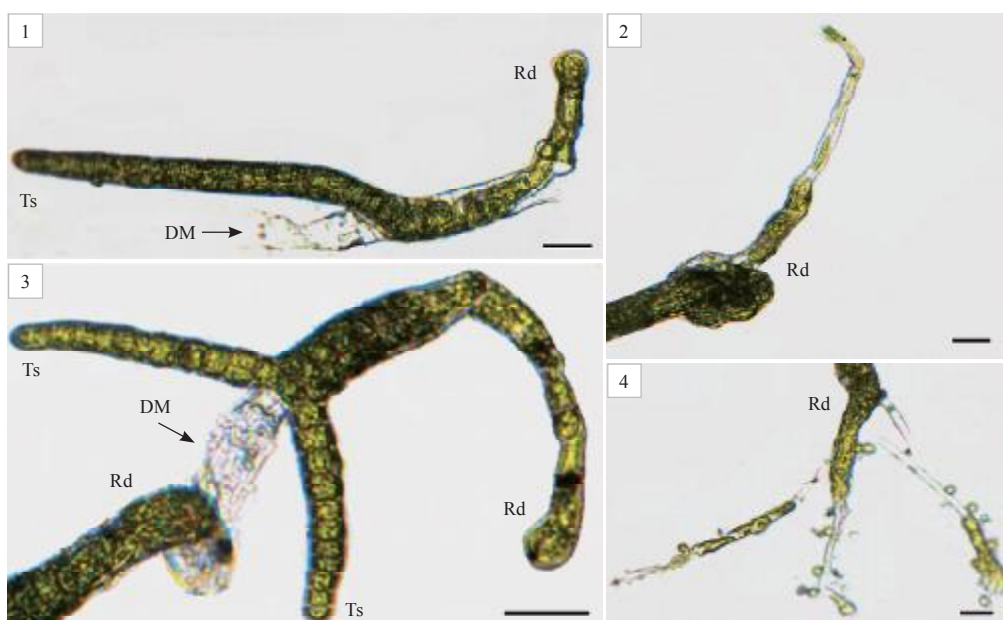
图版 II 浒苔孢子体的发育

Plate II Developmental process of sporophyte from *Enteromorpha prolifera*

叶乃好等: 黄海绿潮浒苔 (*Enteromorpha prolifera*) 生活史的初步研究
 YE Nai-hao et al: Life history of *Enteromorpha prolifera* under laboratory conditions



图版 III 浒苔体细胞的发育
 Plate III Development process of somatic cells of *Enteromorpha prolifera*



图版 IV 浒苔叶状体片段的再生
 Plate IV Regeneration process of segments from *Enteromorpha prolifera*