

A1 浓度对枝管藻中性游孢子附着及生长发育的影响

朱 清 华

(德州学院 生物系 山东 德州 253023)

摘 要: 研究了 A1 浓度对枝管藻中性游孢子附着以及生长发育的影响。孢子附着量用盘状体的数目表示, 盘状体生长速度、生长状况及直立藻丝出现与否用以衡量盘状体的生长发育状况。结果表明: 在不同 A1 浓度 0、0.5、1、2、4 mg/L 中, 最适宜孢子附着及生长发育的浓度为 0.5 mg/L, 其次为 0、1、2 mg/L; 在 5 mg/L 条件下, 孢子附着量少, 盘状体发育不正常, 附着不牢固, 不能发育为直立藻丝; 高于 4 mg/L, 无孢子附着。另外, 在低 A1 浓度条件下 0、0.5、1、2 mg/L, 中性游孢子可最终发育成直立藻丝。

关键词: 冈村枝管藻; A1; 盘状体; 中性游孢子; 孢子体
中图分类号: Q 178.53 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001—0009(2009)08—0123—03

冈村枝管藻 (*Cladosiphon okamuranus*) 原产于日本的冲绳和汤加等地, 属褐藻纲 (Phaeophyceae)、索藻目 (Chordariales)、索藻科 (Chordariaceae)。藻体有大量分枝, 呈柔软的丝状, 褐色或深褐色, 有藻腥味。从该藻中提

取的多糖具有抗凝血、抗肿瘤、抗病毒等生物活性^[1-2], 在日本是最畅销的保健食品之一。

自 20 世纪以来, 国内外学者就冈村枝管藻的形态^[3]和生态^[4-5]方面进行了研究。近几年来, 国内外学者对于该藻的研究主要集中在营养价值和药用价值上^[1-2]。特殊条件下该藻的生长发育状态至今未见报道。有关 A1 对植物的毒害作用的研究已有较多报道^[6-9], 但对枝管藻的作用未见报道。该试验研究了实验室条件下 A1 浓度对枝管藻中性游孢子附着及生长发育的影响, 以期对枝管藻的栽培及引种提供理论依据。

作者简介: 朱清华(1978-), 女, 山东泰安人, 博士, 讲师, 现从事藻类研究工作。
基金项目: 农业部引进国际先进农业科学技术计划 (948 计划) 资助项目 (2003-Z104); 德州学院人才引进资助项目 (06rc011)。
收稿日期: 2009—03—25

因此, 在野生苦菜的组织培养中, 细胞分裂素用量需要特别注意, 尽可能控制在 3 mg/L 或以下。而在生根壮苗培养基中, 添加 5% 马铃薯附加物, 未出现玻璃化现象, 这可能是培养基中的各种营养成分均衡, 对减少玻璃化的发生、促进培养物的生长和发育有积极的作用。

参考文献

[1] 卢寅熏. 败酱草的本草考证[J]. 时珍国药研究, 1996, 7(3): 129-130.

[2] 陈炳华. 白花败酱食疗价值高[J]. 植物杂志, 2002(6): 15.
[3] 赵喜元 田珍. 败酱草的紫外光谱鉴定[J]. 中国中药杂志 1992, 17(7): 394-396.
[4] 张东方. 植物组织培养技术[M]. 哈尔滨: 东北林业大学出版社, 2005.
[5] 许继宏 马玉芳, 陈锐平, 等. 药用植物组织培养技术[J]. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004.

Tissue Culture and Rapid Propagation of *Patrinia villasa* Juss

YU Wei-hua ZHANG Xiang-jun, MENG Ping, JIANG Hui-ping, CHEN Shao-zhen
(Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning, Guangxi 530007, China)

Abstract: Took the shoot tips of well-grown, virus-free wild *Patrinia villasa* Juss as explants, the micropropagation system of *Patrinia villasa* Juss was established. The research showed that, the preferable sterilized protocol was to take 15 min of shoot length as explants, and surface sterilized with 0.1% HgCl₂ solution for 10 min. The most effective induction and subculture media were MS basal medium supplemented with 3.0 mg/L BA and 0.1 mg/L NAA which got 100% induction frequency, with 2.0 mg/L BA and 0.2 mg/L NAA which got 7.8 times of proliferation separately. The better rooting medium was MS basal medium supplemented with 1.0 mg/L NAA and 5% (w/v) mashed potato.

Key words: *Patrinia villasa* Juss ; Stem tip and shoot; Induction; Rooting

1 材料与方法

1.1 材料

冈村枝管藻纯种来自中国海洋大学藻种室。具体分离纯化步骤参见文献^[4]。

1.2 方法

Al 母液的配制: 称取 44 g $\text{KAl}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ 溶于 100 mL 的蒸馏水中, 灭菌备用, 即得到浓度为 25 g/L 的 Al 母液。

冈村枝管藻所用培养基为 Provasoli^[10]。在 200 mL 培养基中分别加入 Al 母液 0、4、8、16、32 μL 就得到了 Al 浓度的 5 个水平: 0、0.5、1、2、4 mg/L。每水平 5 个重复。

从保存的盘状体中选取大小一致的吸出, 分别置于灭菌的培养皿。24 h 后, 吸出盘状体并更换培养基, 继续培养, 而后每 3 d 换 1 次培养基。

2 d 后, 利用倒置显微镜下统计每个培养皿中盘状体的数量, 相同 Al 浓度的 5 个培养皿中盘状体数量的平均值就是该条件下孢子附着数量; 3 d 后, 每个水平选定 10 个大小一致的盘状体, 每隔 24 h, 记录盘状体的直径和状态, 10 个盘状体直径的平均值即为该条件下在这个时刻的盘状体直径。

2 结果与分析

如图 1 所示, 不同 Al 浓度条件下, 盘状体的数量差

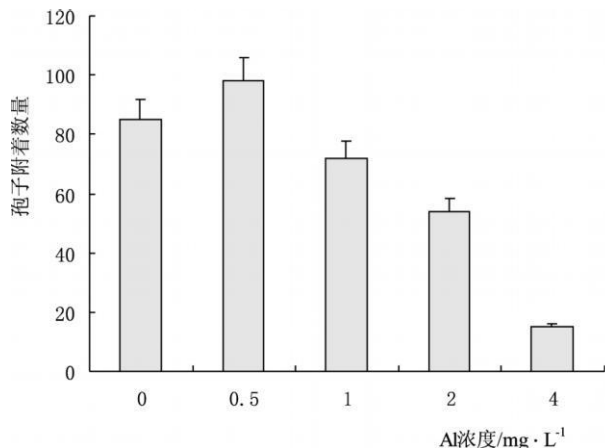


图 1 Al 对枝管藻中性孢子附着的影响

距很大, 在各种 Al 浓度条件下, 以 Al 浓度为 0.5 mg/L 时孢子附着数量最多(平均每个培养皿中有 98 个), 分别是 Al 浓度 0、1、2、4 mg/L 条件下附着量的 1.2 倍(82 个)、1.4 倍(70 个)、1.8 倍(54 个)、6.5 倍(15 个)。

另外, Al 浓度 (0~4 mg/L) 对枝管藻盘状体生长速度也有影响。如图 2 显示: 在 Al 浓度 0.5 mg/L 条件下盘状体生长速度最快, 其次为 0、1、2 mg/L 条件下盘状体的生长速度最慢, 但是在各种 Al 浓度条件下, 盘状体的生长速度差异不明显。

跟踪观察盘状体的生长发育动态发现, 在 Al 浓度为 0、0.5、1、2 mg/L 条件下盘状体生长发育正常, 大量同化丝和纤毛从盘状体中间产生(图 3); 靠近盘状体的同化丝细胞呈方形, 约为 5 μm , 而远离盘状体的细胞呈球或近球形; 纤毛细胞内含物少, 仅在细胞周围有少量的叶绿体(图 4)。大约 35 d 后均有直立藻丝形成(图 5)。中性游孢子(2n)生长发育模式与文献^[4,5]所述一致。

在 Al 浓度 4 mg/L 条件下盘状体(图 6)形状不规则, 最大直径约为 300 μm , 着生在盘状体上的同化丝数目少、短, 呈鸡爪状, 而后停止生长和发育, 最终没有形成直立藻丝; 有些盘状体附着不牢固, 漂浮在培养基中, 细胞结构松散, 部分细胞中空(图 7)。

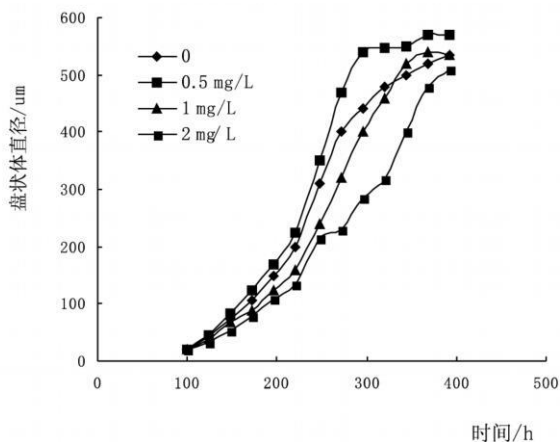


图 2 Al 对枝管藻盘状体生长速度的影响

3 讨论

试验结果表明, Al 浓度不仅影响到枝管藻中性孢子的附着, 而且还影响盘状体的生长速度。在 4 个低 Al 浓度 0、0.5、1、2 mg/L 中, Al 浓度为 0.5 mg/L 条件下中性孢子附着数量最多, 盘状体的增长速度最快, 其次为 0.1 mg/L, 最后为 2 mg/L。

显然, 当浓度高于 0.5 mg/L 时, Al 对枝管藻的生长发育有一定的负面效应。关于 Al 毒害的作用机理方面在低等的水生植物中研究得少, 大多集中在高等的陆

生植物中。研究结果表明, Al 不仅会影响到叶绿素的合成并使类囊体降解, 抑制光反应^[11], 而且影响生物体对其他离子(如 K^+)的吸收^[12,13]。另外 Al 导致植物体内保护酶活性受到抑制, 膜系统受到伤害。研究表明, 离体培养的烟草悬浮细胞用 Al 处理后, 细胞膜透性值亦上升, 且高浓度 Al 影响膜透性极大^[14]。该试验也发现在 Al 浓度 4 mg/L 条件下, 枝管藻同化丝和盘状体细胞均表现为松散、不健康、细胞边缘不明显, 极有可能是膜结构损伤所致。

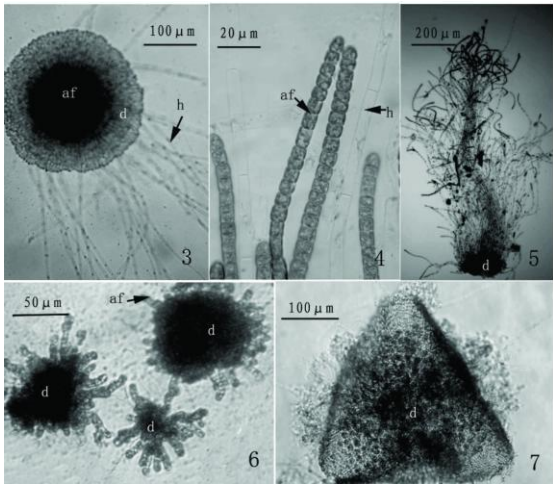


图 3 发育正常的盘状体 图 4 发育正常的同化丝和纤毛
图 5 直立藻丝 图 6 发育不正常的盘状体
图 7 附着不牢固的盘状体

注: 图 3~5 中 Al 浓度为 0、0.5、1、2 mg/L; 图 6~7 中 Al 浓度为 4 mg/L。af: 同化丝; d: 盘状体; h: 纤毛

另外, 该试验还发现, 对于中性孢子的附着和盘状体的生长发育, Al 有一个相对促进的浓度 0.5 mg/L。这与田茂洁的试验结果一致^[15]。田茂洁研究 Al 对玉米根芽生长的影响, 发现在酸性条件下, Al 对玉米芽的生长有明显的抑制作用, 而且随着浓度增大, 抑制作用显著加强, 但低浓度 Al 对玉米根的生长却有促进的作用。至于低浓度 Al 对生物体有促进作用的机理有待于进一步的研究。

参考文献

[1] Shibata H, Limuro M, Uchiya N, et al. Preventive effects of Cladosiphon fucoidan against helicobacter pylori infection in mongolian gerbils[J].

Helicobacter, 2003, 8(1): 59-65.
[2] Tako M, Yoza E, Tohma S. Chemical characterization of acetyl fucoidan and alginate from commercially cultured Cladosiphon okamuranus[J]. Bot Mar (suppl), 2000, 43: 393-398.
[3] 朱清华, 张学成, 时艳侠, 等. 冈村枝管藻孢子体的形态和超微结构[J]. 武汉大学学报(理学版), 2007, 53(6): 731-736.
[4] 朱清华, 张学成, 王连胜, 等. 温度、盐度和 pH 对冈村枝管藻中性孢子附着及生长发育的影响[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2007, 37(4): 615-620.
[5] Zhu Q H, Zhang X C, Xu D, et al. Plurispore development of Cladosiphon okamuranus Tokida (Chordariaceae, Phaeophyta)[J]. Bangladesh J Bot, 2007, 36(2): 157-162.
[6] 陈荣府, 沈仁芳. 水稻铝毒害与耐性机制及铝毒害的缓解作用[J]. 土壤, 2004, 36(5): 481-491.
[7] 何龙飞, 刘友良, 沈振国, 等. 胁迫对小麦根呼吸作用和一些线粒体结合酶活性影响[J]. 作物学报, 2001, 27(6): 857-861.
[8] 黄邦全, 白景华, 薛小桥. 植物铝毒害及遗传育种研究进展[J]. 植物学通报, 2001, 18(4): 385-395.
[9] 沈宏, 严小龙. 铝对植物的毒害和植物抗铝毒机理及其影响因素[J]. 土壤学报, 2001, 32(6): 281-285.
[10] Provasoli L, Pintner I J. Bacteria induced polymorphism in an axenic laboratory strain of Ulva lactuca (Chlorophyceae)[J]. J Phycol 1980 16 (2): 196-201.
[11] 刘东华, 蒋梧生. 铝对植物的毒害[J]. 植物学通报, 1995 12(1): 24-32.
[12] 杨庆, 金华斌. 铝胁迫对花生吸收氮、磷、钙的影响[J]. 中国油料作物学报, 2000, 22(2): 68-73.
[13] Liu K, Luan S. Internal aluminum block of plant inward K⁺ channels[J]. Plant Cell, 2001, 13(6): 1453-1466.
[14] Sivaguru M, Yamamoto Y, Rengel Z et al. Early events responsible for aluminum toxicity symptoms in suspension-cultured tobacco cells[J]. New Phytol, 2005, 65(1): 99-109.
[15] 田茂洁, 杨艳, 周平. Al³⁺ 对玉米根芽生长影响的研[J]. 绵阳师范学院学报, 2005, 24(2): 63-65.

Effects of Aluminum on the Attachment and Development of Plurispore of *Cladosiphon Okamuranus*

ZHU Qing-hua

(Biology Department, Dezhou University, Dezhou, Shandong 253023, China)

Abstract: *Cladosiphon okamuranus* (Chordariaceae, Phaeophyta) is an important marine medicinal plant in Japan. The effects of aluminum on attachment and development of plurispore from sporophyte of *Cladosiphon okamuranus* were studied. The average number of discoids, which were developed from plurisporangia, in each slide under same aluminum concentration, was measured. At the same time, 15 discoids with equal initial diameter were randomly sampled from each treatment and traced to record the diameters and development states. The results were as follows: The optimum Al concentration for plurispore to attach and develop was 0.5 mg/L, followed by 0, 1 and 2 mg/L. Under the concentration of 4 mg/L, few plurisporangia attached, discoid developed abnormal and no erect germlings were seen. Above 4 mg/L, no plurispore attached. Erect germling of sporophytes occurred at the concentration of 0, 0.5, 1, 2 mg/L.

Key words: *Cladosiphon okamuranus*; Aluminum; Discoid; Plurispore; Sporophyte