

文章编号: 1004 - 7271(2005)02 - 0116 - 06

宽礁膜生活史各阶段细胞的超微结构

孙 彬¹, 谢恩义¹, 马家海¹, 叶道才², 陈孝德²

(1. 上海水产大学生命科学与技术学院, 上海 200090;

2. 浙江省玉环县东升海珍品养殖开发公司, 浙江 玉环 317604)

摘 要:大型海藻细胞超微结构的研究,对于海藻的基础理论及应用研究具有十分重要的作用,本文比较系统地宽礁膜游孢子、配子体、配子、合子和游孢子囊进行了电镜观察。研究表明,淀粉粒在各阶段细胞中的数量变化、初期合子外的胶质膜对合子的固着作用、游孢子囊的厚壁与其对不良环境的抵抗能力等都表明各阶段形体的超微结构与其生理功能是一致的。蛋白核的超微结构特征可作为礁膜属种类的一个分类依据,它是对以形态、生活史等为主要分类依据的有力补充。宽礁膜各阶段细胞内均具 1 个较大的蛋白核,有 2 条(游孢子囊时有时为 3 条)类囊体片层穿过蛋白核髓部,外有 3~4 枚或更多的淀粉鞘包被,籍此可将宽礁膜与其它礁膜属种类相区别。

关键词:宽礁膜;超微结构;生活史;淀粉粒;蛋白核

中图分类号:S 917 文献标识码:A

Ultrastructure of cells in the whole life-history of *Monostroma latissimum*

SUN Bin¹, XIE En-yi¹, MA Jia-hai¹, YE Dao-cai², CHEN Xiao-de²

(1. College of Aqua-life Science of Technology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China;

2. Dongsheng Seafood Development Co. Ltd., Yuhuan 317604, China)

Abstract: Study on the ultrastructure of macro-algae is very important part in the basic and application study of algae. The ultrastructure of the zoospore, gamete, zygocyte, zoosporangia of *M. latissimum* was studied in this paper. The ultrastructure of *Monostroma*'s cells closely correlated with their physiology function in the life-history. For example, the number of starch grains was changing in different life-history stage, the adherent function of mucilage occurred in early stage of zygote, the thick wall of sporangium was useful to resist bad environment. In the classification of the *Monostroma* complex, the ultrastructure and number of pyrenoids in the chloroplast were also taken as one of the taxonomic characteristics which are important supplement to conventional life-history and other morphology distinguishing characteristics. In every stage of life-history of *M. latissimum* there was one pyrenoid in each cell, the pyrenoid matrix was traversed by 2 or rarely 3 curved bounds of thylakoids. There were 3 - 4 or more pieces of starch plates covered the surface of the pyrenoid matrix. According to this pyrenoid ultrastructural characteristics, *M. latissimum* could be distinguished from other species of *Monostroma*.

收稿日期: 2004-08-04

基金项目: 浙江省科学技术厅科技兴海专项基金(项目编号: 2002C23014)

作者简介: 孙 彬(1980-), 男, 青海西宁人, 硕士研究生, 专业方向为海洋植物种苗工程及增殖。

通讯作者: 马家海(1940-), 男, 教授, 博士生导师, 主要从事水产植物增殖及其生物技术学研究, E-mail: mjh25@sh163.net

Key words: *Monostroma latissimum*; ultrastructure; life-history; starch grain; pyrenoid

目前我国已进入产业化栽培的海藻只有2个门共计8个种类,即褐藻类的海带、裙带菜、羊栖菜,红藻类的紫菜、江蓠、麒麟菜、红毛菜、石花菜等,这与我国丰富的海藻自然资源相比实在太少,国外许多有经济价值的栽培绿藻类,如礁膜、蕨藻、浒苔等,在我国尚无栽培,主要是野生采集供市场所需,其自然资源由于过度的采集,正面临资源枯竭和难以修复的危险。因而,开发礁膜等具有栽培价值的经济海藻是当务之急。

超微结构研究的目的是从细胞学上认识宽礁膜生活史各阶段细胞的基本形态结构,从而认识其生活史特点,了解生活史中表现的各种生命现象或生理功能。据查,Hori^[1]对宽礁膜配子体的蛋白核超微结构进行过报道,本文则系统地对宽礁膜游孢子、配子体、配子、合子和游孢子囊等生活史各阶段细胞进行了电镜观察,不仅完善和拓宽了我国经济海藻超微结构研究的内容,更为宽礁膜人工育苗栽培技术积累了新的基础生物学资料。

1 材料和方法

1.1 材料

宽礁膜未成熟配子体于12月采自浙江沿海。成熟配子体于4月采自同一海区,藻体边缘或大部分变成黄褐或黄绿色,清洗干净后,阴干至藻体含水量约70%~75%,放入过滤消毒海水中,经适当刺激,即有大量的配子放散。雌、雄配子接合生成合子,在光周期12L:12D、光强75~20 $\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$ 、温度18~28℃下培养至6月,合子转变成游孢子囊。9月上旬游孢子囊成熟,放散游孢子。

1.2 方法

将未成熟配子体采用切取法取样,游孢子囊,放散的配子、配子接合的合子和游孢子^[2,3]采用离心的方法收集。材料经2.5%戊二醛缓冲液固定,离心后,用磷酸缓冲液(pH 7.4)除去戊二醛固定液,再离心除去磷酸缓冲液,加入1%锇酸固定液进行再固定,吸出锇酸固定液后用磷酸缓冲液漂洗。除未成熟配子体以外,其他材料用2%的琼脂凝聚,然后逐步酒精脱水,直至无水酒精后,再置入环氧丙烷中脱水两次,分别用“812”、“600”2种包埋介质浸透。在包埋介质中按比例加入适量2,3,6-三(二甲基氨基甲基)苯酚,搅匀后吸入包埋管,将材料投入包埋介质中置于烘箱内烘干。材料经修块后作超薄切片,用醋酸铀及柠檬酸铅染色,然后电镜观察、摄影。

2 结果

2.1 宽礁膜游孢子的超微结构

游孢子呈梨形或椭圆形,较配子稍大,顶生4根鞭毛,放散初期,只有质膜而无壁,可变形。刚固着时呈圆形或椭圆形,直径约5.3~7.7 μm 。游孢子内的主要细胞器有叶绿体、蛋白核、细胞核、线粒体、高尔基体,在细胞质中另有淀粉粒、囊泡、液泡、脂质体等细胞器。

叶绿体(chloroplast) 游孢子的光合作用器官,块状,占据游孢子细胞内的大部分空间。叶绿体外被双层被膜(chloroplast envelope),借此与基质分开。膜内类囊体(thylakoids)片层结构排列成带状,互相有序地连成一个整体。叶绿体的中央有一个较大的蛋白核(pyrenoid),其髓部外被3~5枚淀粉鞘,内有2条类囊体片层从淀粉鞘接口处穿过,没有任何膜状结构使蛋白核髓部与淀粉鞘分开。蛋白核髓部呈卵圆形,大小约1.0 μm × 1.3 μm (图版-1,2)。

细胞核(nucleus) 切面观为椭圆形,大小约1.7 μm × 2.1 μm ,靠近鞭毛基部前端中央处,核膜双层,核孔清晰可见,核质中有许多染色深的聚集状异染色质(图版-1)。

线粒体(mitochondria) 为双层膜包被的椭圆形结构,细胞内线粒体的数目不等,大小不一,一般长

轴直径约为 $1.6\ \mu\text{m}$, 短轴直径约为 $0.7\ \mu\text{m}$ 。线粒体内膜弯曲不平, 可观察到嵴(cristae), 线粒体一般位于游孢子的周边(图版-1)。

高尔基体(golgi body) 在游孢子质膜内紧贴细胞核的一侧, 可见由滑面膜围成的扁囊和末端膨大的泡状囊, 即高尔基体, 它主要与分泌功能以及游孢子固着后细胞壁的形成有关(图版-1)。

淀粉粒(starch grain) 游孢子光合作用的产物, 为孢子的生理活动提供能量, 其数目会随着发育阶段的不同和生理状态的差异而变化。淀粉粒位于叶绿体上, 卵圆形或长椭圆形, 长径 $0.5\sim 1.5\ \mu\text{m}$, 短径 $0.3\sim 0.5\ \mu\text{m}$ (图版-2)。

液泡(vacuole) 圆形或椭圆形, 外被一层单位膜。大小与数量不一, 体积较大的直径 $1.2\sim 2.4\ \mu\text{m}$, 小的直径约 $0.5\ \mu\text{m}$ 。小的液泡可聚集融合为大的液泡, 从而把叶绿体挤向游孢子细胞一侧。液泡起到调节渗透压和储存营养物质的作用。质膜内侧尚可见许多有膜的圆形或椭圆形囊泡, 内含颗粒状或纤维状物质(图版-1)。

质体小球(plastoglobulus) 为电子密度较高的小球体, 游离于叶绿体中, 多分布于叶绿体类囊体上, 分布不均匀(图版-1)。

2.2 宽礁膜配子体的超微结构

未成熟配子体藻体细胞的细胞壁厚约 $0.7\sim 1.0\ \mu\text{m}$, 细胞壁内层近原生质体处, 为1层染色淡的纤维状物质, 向外为一薄层电子稠密的纤维状物质, 由原生质处向细胞壁外侧共有3层同心圆状排列的结构(图版-3,4)。藻体横断面的细胞四周都充满胶状物质, 特别是细胞表面两侧由厚约 $0.5\ \mu\text{m}$ 的胶状物质所包被(图版-3)。叶绿体占据细胞的大部分体积, 通常位于细胞的一侧或一端, 叶绿体膜内有許多类囊体, 多由2条类囊体片层组成1条带。叶绿体内有少量质体小球和一些淀粉粒(图版-4)。在叶绿体上有1个较大的蛋白核, 其周围由至少4枚电子较稠密的淀粉鞘所包被, 蛋白核呈长椭圆形, 大小约 $2.6\ \mu\text{m}\times 3.2\ \mu\text{m}$, 有2条类囊体从一端的淀粉鞘接口处穿过蛋白核髓部向另一端的淀粉鞘接口处穿出(图版-2,3), 这与孔石莼、管浒苔和肠浒苔等不同。在细胞的一端, 有1个圆形或椭圆形的细胞核, 核径约 $1.3\sim 2.0\ \mu\text{m}$, 另外, 在未成熟配子体细胞内还可见线粒体、脂质体等结构(图版-4)。

光镜下观察, 即将变成配子囊的配子体细胞内淀粉颗粒数目增多, 互相堆集在一起。细胞壁稍增厚, 叶绿体在细胞边缘浓缩成颗粒状, 数目为 $4\sim 8$ 个, 蛋白核也分裂为2或4个。

2.3 宽礁膜配子的超微结构

配子细胞两鞭毛的基体轴约成直角相交(图版-6), 质膜内有一大的叶绿体。叶绿体的类囊体致密且量多, 占据细胞内的大部分体积, 类囊体上可见少量质体小球(图版-5)。叶绿体内含1个蛋白核, 椭圆形, 长轴约 $1\ \mu\text{m}$, 与配子体的蛋白核构造相似, 也有2条类囊体从蛋白核髓部穿过, 蛋白核髓部的周围具4枚以上电子较稠密的淀粉鞘(图版-6)。细胞核被叶绿体挤向质膜一侧, 圆形或椭圆形, 大小 $1.5\sim 2.1\ \mu\text{m}$, 核内有许多染色较深的凝聚状异染色质, 核膜双层, 核孔清晰可见(图版-5,6)。配子细胞内还可见大小不一的液泡, 直径约 $0.2\sim 1.2\ \mu\text{m}$, 液泡具界膜, 与周围的胞质分开, 液泡内含颗粒状、纤维状物质, 或空泡(图版-6)。质膜内侧尚可见许多具膜的圆形或椭圆形囊泡, 也含颗粒状或纤维状物质(图版-5)。

2.4 宽礁膜合子的超微结构

合子质膜外有一薄层胶状物质, 初始在其一侧尚可见未融合的2个细胞核, 其前端可见收缩的鞭毛基体, 含多个线粒体, 叶绿体占据其大部分体积, 叶绿体内类囊体呈带状, 较密, 并具有大的液泡, 直径大小约为 $1.5\ \mu\text{m}$ (图版-7)。配子接合成合子固着后, 形成细胞壁, 细胞壁外层为胶质层, 厚约 $0.2\ \mu\text{m}$, 内层为较为致密的同心圆排列的纤维层(图版-10)。两配子的核融合后, 合子核径为 $1.1\sim 2.0\ \mu\text{m}$, 合子叶绿体内还可见许多染色较深的质体小球(图版-10)。图版-9可见合子叶绿体上有1个蛋白核, 椭圆形, 大小约 $0.8\ \mu\text{m}\times 1.3\ \mu\text{m}$, 外被 $3\sim 4$ 枚淀粉鞘, 2条类囊体从淀粉鞘接合处穿过蛋白核髓部。图版-8可见鞭毛基部的叶绿体内有1个大的眼点, 眼点的感光物质位于叶绿体前端的外膜上, 其后有1个电子稠密的

球状晶体,直径大小 $1.1\sim 1.2\ \mu\text{m}$;在合子的边缘处有较大的囊泡,囊泡外具明显的双层被膜,内有纤维状或颗粒状储存物质,直径约 $1.1\ \mu\text{m}$ 。

2.5 宽礁膜游孢子囊的超微结构

合子固着后,即呈亚圆形,并形成细胞壁,培养至6月,形成游孢子囊,直径大小约超过 $20\ \mu\text{m}$ 。游孢子囊细胞壁的外层为胶质层,厚约 $0.8\sim 1.1\ \mu\text{m}$,其作用是使游孢子囊牢固地固着在基质上。游孢子囊细胞壁的内层又分为2层,紧贴质膜外有一圈同心圆排列的染色较浅的纤维层,厚约 $1.2\sim 2.5\ \mu\text{m}$,其外有一层染色较深的纤维层,厚约 $0.8\ \mu\text{m}$ (图版-11)。

未成熟游孢子囊内有一块状的叶绿体,因切片关系,有的叶绿体被切成许多独立的实体,叶绿体内类囊体较致密,类囊体片层呈带状有序排列,占据游孢子囊细胞的大部分体积(图版-12)。游孢子囊内可见许多大小不一的光合作用产物淀粉颗粒和液泡(图版-13),另有许多质体小球,为染色深的小球形物质(图版-12,13)。图版-11显示在叶绿体上可见1个大的蛋白核,外包4枚以上淀粉鞘,有2条(少数为3条)类囊体片层从类囊体接口处穿过蛋白核髓部,淀粉鞘与蛋白核髓部没有膜分开。

3 讨论

3.1 蛋白核

光镜下观察到的叶绿体内蛋白核的有无、数目及结构是礁膜属分类的一个重要分类特征^[4,5]。随着对礁膜属藻类细胞超微结构研究的逐步深入,蛋白核的结构和分布特征越来越成为礁膜属种类分类的重要依据,它是对以形态、生活史^[6,7]等进行分类的一个有力补充。宽礁膜生活史各阶段细胞,即游孢子、配子体、配子、合子和游孢子囊的叶绿体上都有1个较大的蛋白核,2条(游孢子囊有时为3条)类囊体片层穿过蛋白核髓部,外有3~4枚或以上淀粉鞘包被,这与礁膜配子体阶段的蛋白核结构相同而与袋礁膜配子体和孢子体的蛋白核结构^[1]不同,且与孔石莼、管浒苔蛋白核外仅有2枚淀粉鞘以及只有1条类囊体片层穿过蛋白核髓部有所不同^[2],也与礁膜单细胞的孢子体阶段有多条类囊体片层穿过蛋白核髓部且把蛋白核髓部分为6~12块不同^[1],据此可把形态上较难区分的礁膜、袋礁膜和宽礁膜加以鉴别。关于蛋白核的功能,有人认为蛋白核是淀粉合成酶的作用点,即是淀粉形成的位点^[8];有人认为蛋白核使光合作用早期产物的暂时贮藏区^[9];有人认为蛋白核是光合作用 CO_2 的固定位点^[10],蛋白核结构的变化反映了不同藻类的光合生理的变化,这方面的研究有待进一步深入。当细胞分裂时,蛋白核也分裂,因此,子细胞中也含有新分裂的蛋白核,这点与王素娟等^[2]有关绿藻超微结构观察的结果相似。

3.2 淀粉颗粒的数量变化

研究表明,配子囊和游孢子囊内都储存有较多的淀粉颗粒,而游孢子和配子的淀粉颗粒较少。淀粉是能够提供能量的光合作用产物,有的学者指出,具有淀粉的绿藻,移入黑暗处,淀粉因呼吸作用逐渐消耗而消失,淀粉核也变小^[11],同样,当宽礁膜的配子和游孢子放散后,因剧烈的运动和固着过程中需要消耗能量,含多糖类的淀粉颗粒,无疑是提供能量的源泉,这也许是导致配子和游孢子淀粉颗粒减少的原因之一。

3.3 超微结构与其功能的一致性

生物的形态结构与其生理功能是一致的。游孢子、配子以及配子接合后的合子内均有大小不一的液泡,起调节渗透压和储存营养物质的作用。游孢子细胞核一侧可见高尔基体,与游孢子固着后细胞壁的形成有关。刚固着的合子和游孢子外有一层胶质膜,是伴随细胞壁的形成过程中出现的,胶质膜与合子或游孢子能牢固固着在附着基质上有关。宽礁膜生活史各阶段中,合子或游孢子囊的细胞壁最厚,这与合子或游孢子囊对夏季高温、干出等不良环境有较强的适应能力有关。

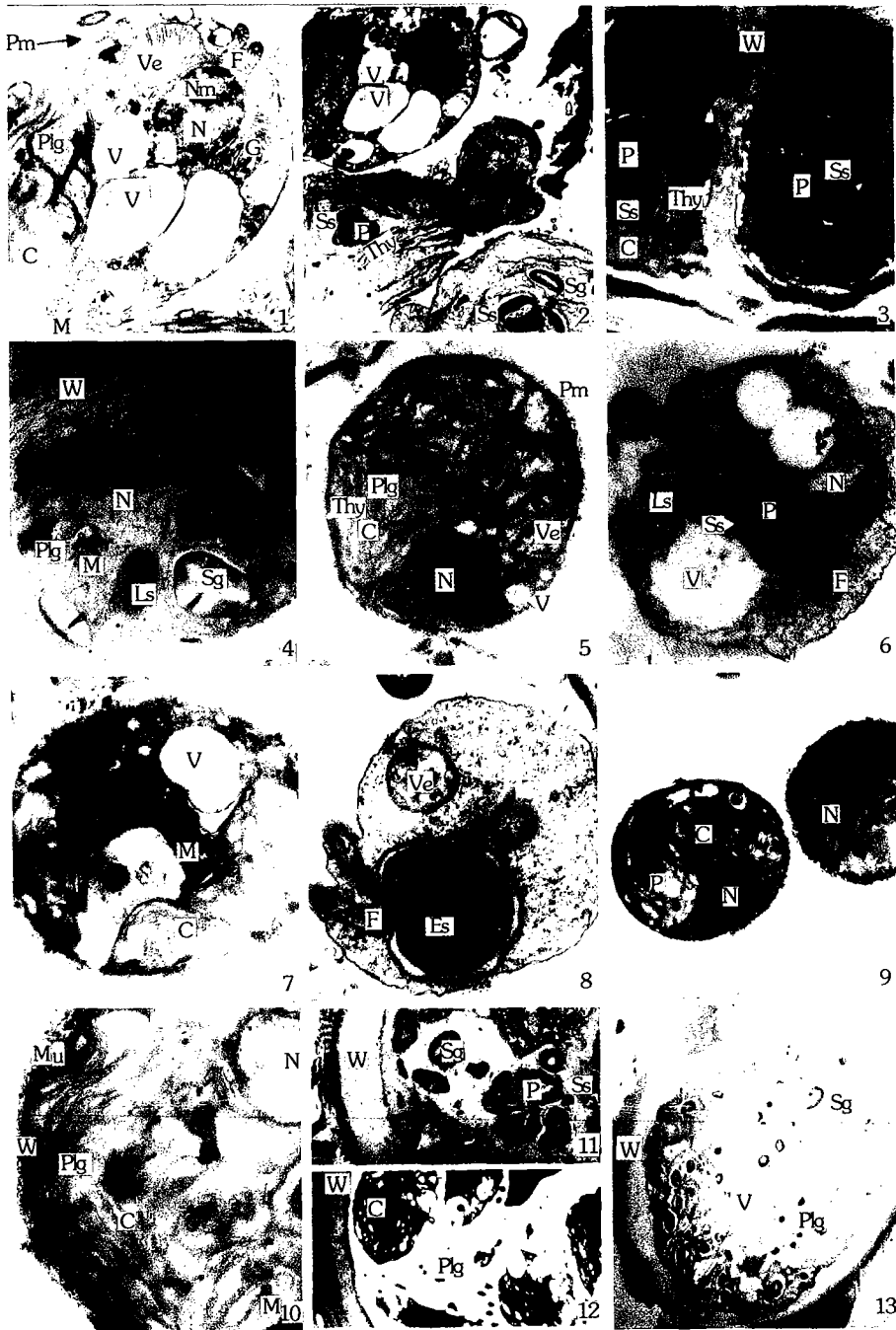
参考文献:

- [1] Hori T. Comparative studies of pyrenoid ultrastructure in algae of the *Monostroma* complex [J]. *J Phycol*, 1973, 9: 190 - 199.
- [2] 王素娟, 徐志东, 刘凤贤, 等. 中国经济海藻超微结构研究[M]. 杭州: 浙江科学技术出版社, 1991. 121 - 125, 219 - 233.
- [3] 朱家彦, 马家海, 蒋虎祥. 坛紫菜壳孢子超微结构的研究[J]. *水产学报*, 1980, 4 (2): 135 - 139.
- [4] Bliding C. A critical survey of *European taxa* in Ulvales. I. *Capsosiphon*, *Percursaria*, *Bliding*, *Enteromorpha* [J]. *Opera Bot*, 1963, 8: 1 - 160.
- [5] Bliding C. A critical survey of *European taxa* in Ulvales. II. *Ulva*, *Ulvaria*, *Monostroma*, *Kommannia* [J]. *Bot Notiser*, 1968, 121: 535 - 629.
- [6] Hua W H, Xie N Y, Ma J H. Life history of *Monostroma latissimum* [J]. *Acta Botanica Sinica*, 2004, 46 (4) : 457 - 462.
- [7] Maurice A D. On the life history of *Monostroma fuscum* Wittrock [J]. *J Phycol*, 1967, 3: 64 - 73.
- [8] Bold H C, Wynne M J. Introduction to the algae [M]. Prentice-Hall Inc, Englewood Cliffs, New Jersey, 1978, 63 - 8, 244 - 6.
- [9] Griffiths D W. The pyrenoid [J]. *Bot Res*, 1970, 36: 29 - 58.
- [10] Ramazanov Z, Henk C, Mason C, *et al*. The induction of the CO₂ concentrating mechanism is correlated with the formation of the starch sheath around the pyrenoid of *Chlamydomonas reinhardtii* [J]. *Planta*, 1994, 195: 210 - 216.
- [11] 李伟新, 朱仲嘉, 刘凤贤. 海藻学概论[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 1982. 174 - 175.

图版说明

1 - 2. 游孢子的超微结构: 1. 示质膜、鞭毛、核、高尔基体、液泡、质体小球、囊泡, × 100 000; 2. 示蛋白核、淀粉鞘、淀粉粒、类囊体等, × 60 000。3 - 4. 配子体的超微结构: 3. 示细胞壁、蛋白核、淀粉鞘和叶绿体等, × 80 000; 4. 示核、细胞壁、质体小球、淀粉粒、线粒体和脂质体, × 120 000。5 - 6. 配子的超微结构: 5. 示叶绿体、质膜、核、液泡、质体小球、囊泡, × 14 100; 6. 示鞭毛、脂质体、蛋白核、核、淀粉鞘、液泡, × 20 100。7 - 10. 合子的超微结构: 7. 示鞭毛、核、线粒体、液泡和叶绿体, × 10 100; 8. 示鞭毛、眼点和囊泡, × 20 100; 9. 示核、蛋白核和叶绿体, × 7210; 10. 示核、胶质、细胞壁、线粒体、叶绿体和质体小球, × 20 160。11 - 13. 游孢子囊的超微结构: 12. 示叶绿体、质体小球和细胞壁, × 60 000; 11, 13. 示细胞壁、蛋白核、淀粉鞘、质体小球、淀粉粒和液泡, × 40 000。

Thy - 类囊体; P - 蛋白核; Ss - 淀粉鞘; N - 细胞核; Nm - 核膜; Np - 核孔; F - 鞭毛; M - 线粒体; G - 高尔基体; Sg - 淀粉粒; V - 液泡; Plg - 质体小球; W - 细胞壁; C - 叶绿体; Ls - 脂质体; Pm - 质膜; Ve - 囊泡; Es - 眼点; Mu - 胶质。



图版 宽礁膜游孢子、配子体、配子、合子和游孢子囊的超微结构

Plate Ultrastructure of zoospore, gametophyte, gamete, zygocyte, zoosporeangia of *M. latissimum*.