

条斑紫菜壳孢子超微结构研究

周文君, 李 赟, 戴继勋

(中国海洋大学 海水养殖教育部重点实验室, 山东 青岛 266003)

摘要: 应用戊二醛、锇酸固定, 环氧树脂包埋, 醋酸双氧钨-柠檬酸铅制作切片, 以透射电镜观察条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*) 壳孢子的超微结构, 结果表明: 壳孢子外包被一层薄的细胞壁, 中央为一个由同心片层结构的类囊体膜构成的轴生星状色素体, 色素体中有一个无淀粉鞘包被的蛋白核, 类囊体膜上附有嗜锇性的质体小球。壳孢子细胞核位于色素体的一侧, 呈不规则的长圆形, 核仁偏于核的一侧。在胞质中分布有线粒体、红藻淀粉、液泡等细胞器。与放散前的成熟壳孢子囊枝细胞超微结构比较, 成熟壳孢子超微结构的变化主要有细胞壁变薄, 色素体结构松散甚至退化, 蛋白核分裂, 液泡数量增多而红藻淀粉数量减少等, 这些变化反映了成熟壳孢子基本细胞特征, 同时反映了在壳孢子生长发育过程中温度下降、光照时间缩短和光照强度减弱等环境因素的变化。

关键词: 条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*); 壳孢子; 超微结构

中图分类号: Q248 文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2007)02-0001-04

条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*) 属红藻门(Rhodophyta) 红毛藻科(Bangiaceae) 紫菜属(*Porphyra*), 是一种味道鲜美, 营养丰富的食用海藻, 在我国北方沿海地区大量养殖。条斑紫菜生活史包括叶状体和丝状体两个阶段, 壳孢子由丝状体发育后期的成熟壳孢子囊枝细胞在适宜温度下放散, 而后附着到附着基上开始分裂生长成新的叶状体, 因此, 壳孢子是条斑紫菜叶状体和丝状体两个生长阶段之间联系的重要环节。王素娟等^[1]对条斑紫菜的营养细胞, 酶解叶状体得到的原生质体和单孢子母细胞的超微结构进行了观察, 沈颂东等^[2]对条斑紫菜自由丝状体的超微结构进行了描述, 而至今对于条斑紫菜壳孢子超微结构的研究尚未见报道。作者在对条斑紫菜壳孢子超微结构观察的基础上, 对比分析放散前成熟壳孢子囊枝细胞的结构, 研究成熟壳孢子的细胞特征, 为遗传育种等生产提供理论依据, 也为藻类细胞学研究积累基础资料。

收集丝状体在 25 ℃, 光照强度为 850 lx, 光照周期 L: D 为 14: 10 的培养箱中培养。80 d 后, 丝状体开始膨大, 调整在光周期为 L: D 为 10: 14 的短日照下继续培养, 丝状体各营养藻丝顶端膨大, 呈圆形, 逐渐形成串珠状成熟壳孢子囊枝。将培养箱温度调至 20 ℃, 保持光强和光周期不变, 同时进行充气培养。以上方法参照任国忠等^[3]和郑宝福等^[4]进行修改。

在流水和降温刺激下壳孢子囊枝开始放散壳孢子, 放散一段时间后用 300 目的筛绢过滤, 1 000 r/min 下离心 5 min, 收集红褐色的壳孢子细胞团。

1.2 实验方法

4% 戊二醛固定离心收集的壳孢子细胞团, 离心去除戊二醛后用 2% 锇酸固定。梯度乙醇脱水, 环氧

1 材料和方法

1.1 实验材料

条斑紫菜成熟叶状体采自青岛红岛, 清洗干净后于 15 ℃ 下放散果孢子, 20 d 培养后, 可见红色丝状体。

收稿日期: 2005-06-28; 修回日期: 2005-11-10

基金项目: 国家“863”计划资助项目(2002AA603023)

作者简介: 周文君(1979), 女, 山西阳泉人, 硕士, 研究方向为藻类生物学, E-mail: zhouwenjun1999@yahoo.com.cn; 李赟, 通讯作者, 教授, 硕士生导师, E-mail: sx_sdlwl@ouc.

edu. cn

树脂 Epon812 包埋,制成包埋块。Ultracut E 型超薄切片机切片,醋酸双氧铀-柠檬酸铅双染色, JEM-1200EX 透射电镜观察,拍照。

2 结果

电镜下可见壳孢子外具一层薄的电子密度较高染色较深的细胞壁(m),中央有一个轴生星状色素体,不同切面色素体的位置、大小、形状不同。色素体由同心片层结构的类囊体膜(Th)构成,膜上可见附有电子密度高、嗜钨性的质体小球(L)(图 1-1, 1-2, 1-4)。类囊体膜近似平行排列,部分色素体的类囊体膜发生分离,弯曲交织呈稀疏网状结构(图 1-1),在一些切面图中网状结构的空隙延伸成细长的条状,有些条状空隙进一步延伸成为较大的空泡(图 1-4)。

色素体中央有一个无淀粉鞘包被的蛋白核(P),可见其有完整的结构,有的壳孢子中蛋白核中间出现指状空隙,(图 1-3, 1-4)。部分壳孢子细胞内的一些色素体发育退化,类囊体膜整齐排列结构消失开始出现空泡状而成棉絮状分布在胞质中,有些退化的色素体外仍可见有残余的界膜包被与细胞基质分开,质体小球仍可观察到零星的分布,其嗜钨性减弱染色变浅(图 1-3, 1-4)。细胞核(N)位于色素体的一侧,呈不规则的长圆形,核仁(n)结构致密染色深,偏在细胞核的一侧(图 1-2)。胞质中交织分布着线粒体(mi)、红藻淀粉(Fs)、液泡(v)等细胞器。线粒体呈球形,大小不一,较大的线粒体内膜嵴清晰可见。红藻淀粉呈棒状或椭圆形(图 1-1, 1-4)。本研究观察到的壳孢子中红藻淀粉的数量少,零星分布在大小液泡之间,这同朱家彦^[9]的观察结果相近,与沈颂东等^[2]在丝状体电镜图片中描述的红藻淀粉大量分布于胞质中相比减少很多。红藻淀粉是光合作用产生的多糖类储藏物,丰富的红藻淀粉为壳孢子的萌发、放散进而发育成叶状体提供了充分的能量供应,因此红藻淀粉数量在壳孢子时减少。

液泡呈近球形或椭圆形,在不同的切面大小不一,有的小液泡融合成较大的液泡占据壳孢子很大空间(图 1-1)。

3 讨论

沈颂东等^[2]曾观察到丝状体后期成熟壳孢子囊

枝细胞外被厚的细胞壁,作者对放散壳孢子的观察却发现壳孢子外层包被的是相当薄的一层结构。朱家彦^[9]等对坛紫菜(*Porphyra haitanensis*)壳孢子超微结构的研究,曾认为坛紫菜外被无细胞壁而仅为薄的质膜,质膜一般厚度在 7.5~10 nm 之间,而在所拍的电镜照片中测量的外层结构的厚度一般要大于 15 nm,因此本研究认为壳孢子这层薄的外被结构仍应是细胞壁,只是其厚度与壳孢子囊细胞壁相比已显著变薄。对于细胞壁的作用,Leonard 和 James^[5]在研究甘紫菜(*Porphyra tenera*)叶状体细胞和果孢子细胞壁的结构和化学成分时认为,果孢子细胞壁区别于叶状体细胞细胞壁的变化主要是为果孢子将要钻入贝壳进行生长而形成的。庄惠如等^[6]对雨生红球藻(*Haematococcus pluvialis*)的厚壁孢子的研究认为其厚壁是为了渡过不良环境。结合本实验中的观察,作者认为条斑紫菜壳孢子这种由厚壁转化为薄壁的变化同样是与其放散后要运动附着的生理需求相适应的。

色素体是光合作用的主要场所,有关壳孢子色素体超微结构特征还未见类似报道。本研究发现壳孢子色素体类囊体膜呈错网状排列,类囊体膜之间空隙大、排列疏松,有的空隙延伸成长的月牙状,而有些色素体发生退化只看到一些棉絮状物质分布在胞质中。目前仅有的资料是关于紫菜丝状体色素体超微结构的研究结果,如 Sheath 等^[7]对弱光和黑暗条件下 *Porphyra leucosticta* 丝状体超微结构的变化进行比较,结果认为光照强度直接决定着色素体的形状和结构。沈颂东^[2]曾报道丝状体阶段存在类囊体膜多层平行紧密排列发生变化的现象,认为这种变化直接与生长温度下降、光照时间缩短、光照强度减弱有关。而关于蛋白核的分裂,何培民^[8]对藻类蛋白核进行研究时认为蛋白核的功能主要有两方面,一是储藏蛋白的作用,二是有光合功能。这说明本研究发现的蛋白核开裂现象可能是由于壳孢子分解蛋白核以为壳孢子提供能量的结果。

壳孢子是直接产生养殖紫菜叶状体的功能细胞,壳孢子放散数量以及孢子发育质量是紫菜的发育成长的关键。本研究将为紫菜遗传育种及生产提供理论依据,并为藻类细胞学研究积累基础资料。

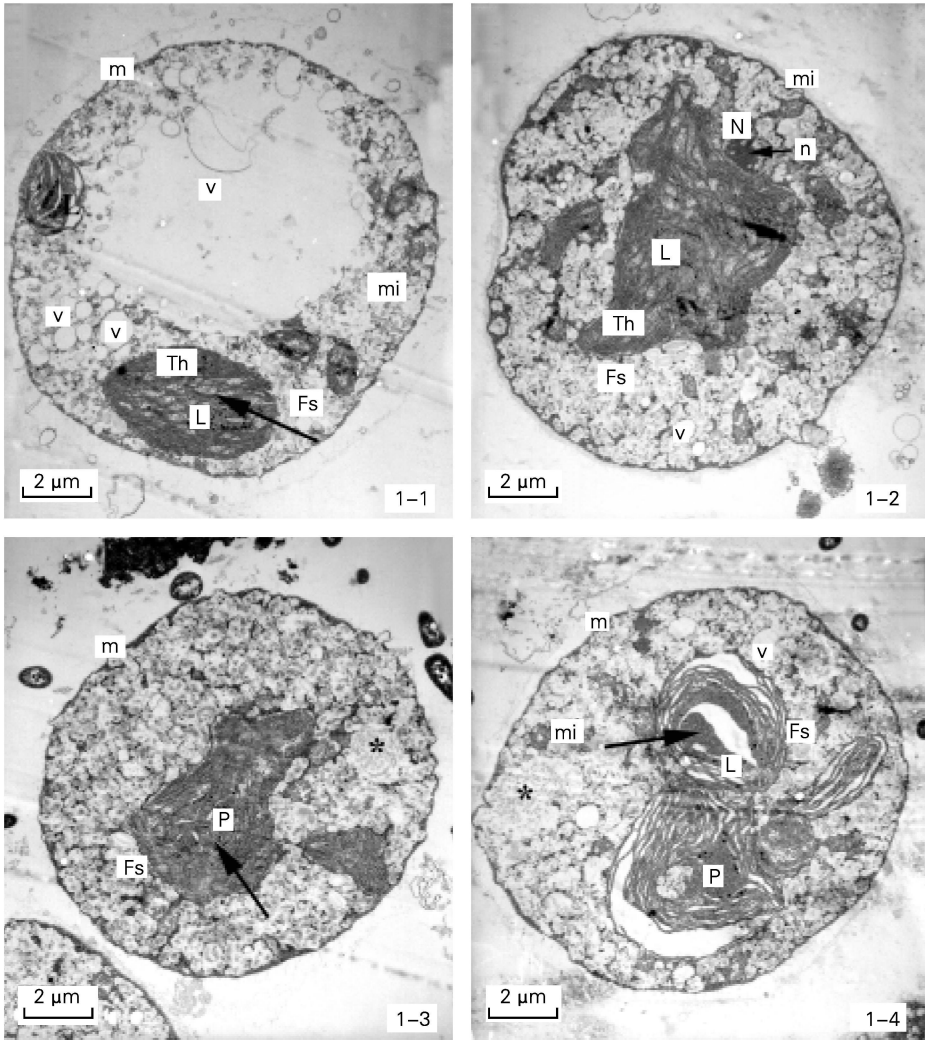


图1 壳孢子不同切面超微结构

Fig. 1 Ultrastructural images of conchospore of *Porphyra yezoensis*

1-1. 壳孢子的大小液泡(↑示色素体网状结构); 1-2. 壳孢子的色素体, 红藻淀粉, 细胞核(↑示核仁); 1-3. 壳孢子的色素体, 蛋白核(↑示蛋白核的裂隙 * 示退化的色素体); 1-4. 壳孢子的色素体, 蛋白核(↑示蛋白核的裂隙, * 示退化的色素体)

N: 细胞核; P: 蛋白核; V: 液泡; Th: 类囊体膜; L: 质体小球; Fs: 红藻淀粉; mi: 线粒体; n: 核仁

1-1. Different sized vacuoles in conchospore (↑ showing chromatophore reticulation structure); 1-2. Thylakoid and nucleus in conchospore (↑ showing nucleolus); 1-3. Chromatophore and Pyrenoid in conchospore (↑ showing lacune in Pyrenoid, * showing degenerative chromatophore); 1-4. Chromatophore and Pyrenoid in conchospore (↑ showing lacune in Pyrenoid, * showing degenerative chromatophore)

N: Nucleus; P: Pyrenoid; V: Vacuole; Th: Thylakoid membrane; L: Lipid body; Fs: Floridean starch; mi: mitochondria; n: nucleolus

参考文献:

- [1] 王素娟, 裴鲁青, 段德麟. 中国常见红藻超微结构 [M]. 宁波: 宁波出版社, 2003. 6-22.
- [2] 沈颂东, 戴继勋, 周立冉. 条斑紫菜 (*Porphyra yezoensis*) 丝状体的超微结构观察 [J]. 海洋通报, 2000, 19 (3): 38-43.
- [3] 任国忠, 崔广法, 费修缙. 温度对条斑紫菜丝状体生长发育的影响 [J]. 海洋与湖沼, 1979, 10 (1): 28-38.
- [4] 郑宝福, 陈美琴, 费修缙. 培养光照对条斑紫菜丝状体生长发育的影响 [J]. 海洋与湖沼, 1980, 11 (4): 363-369.
- [5] Leonard S M, James S C, Robert G B. Chemical composition and structure of the cell walls of the conchocelis and thallus phases of *Porphyra tenera* (Rhodophyceae) [J]. *Phycologia*, 1981, 17: 192-198.
- [6] 庄惠如, 陈文列, 卢海生, 等. 雨生红球藻不同形态细胞的超微结构研究 [J]. 应用与环境生物学报, 2001, 7 (5): 428-433.
- [7] Sheath R G, Hellebust J A, Sawa T. Changes in plastid structure, pigmentation and photosynthesis of the conchocelis stage of *Porphyra leucosticta* (Rhodophyceae, Bangiophyceae) in response to low light and darkness [J]. *Phycologia*, 1977, 16 (3): 265-276.
- [8] 何培民, 吴维宁, 赵建华, 等. 几种藻类蛋白核的超微结构研究 [J]. 水生生物学报, 2002, 26 (4): 327-334.
- [9] 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): 135-140.

Study on ultrastructure of conchospore of *Porphyra yezoensis*

ZHOU Weirjun, LI Yun, DAI Jixun

(Key Laboratory of Mariculture, Education Ministry of China, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Received: Jun. , 28, 2005

Key words: *Porphyra yezoensis*; conchospore; ultrastructure

Abstract: With observation of transmission electron microscope, ultrastructure of conchospore of *Porphyra yezoensis* was studied, it was shown that thin cell wall appeared outside of conchospore, while in the center of it, a star shaped chromatophore thylakoid existed. There is no starch sheath pyrenoid embedded in chromatophore. Lipid bodies stained with osmium could be observed on the membrane of thylakoid. A round like nucleus located in the chromatophore with deeper darkness. There are other cellular organs observed such as floridean starch, mitochondria, vacuole and so on. Besides, this study indicated that mature conchosporangial cell phase was important for conchospore release and influenced by environmental factors like temperature, length and intensity of sunlight.

(本文编辑: 张培新)