

鞘藻属和毛鞘藻属营养细胞分裂方式的比较研究*

罗玮¹ 刘国祥 胡征宇¹⁾

(中国科学院水生生物研究所 武汉 430072; 中国科学院研究生院 北京 100039)
(中国科学院水生生物研究所 武汉 430072)

提要 于1999年7月在湖北省仙桃市湿润土壤中采得一种鞘藻,经培养和电镜观察,发现该株鞘藻营养生长主要依赖于丝状体最上面的细胞分裂,分生出的子细胞在该细胞亚顶端的胞壁破裂点掀开一个帽子,此帽子便附着于细胞侧壁上,这在鞘藻属中为首次报道,与2000年12月在武汉纸坊青龙山水库采得的一种毛鞘藻的基细胞也附着相同的帽子结构。观察结果表明,该属基细胞亦具有明显的居间分裂能力。在观察这两属营养细胞居间分裂的同时,详细报道了这一种特殊的细胞分裂——顶端分裂,详细比较了这两属的营养细胞分裂方式,并对其分裂方式的机制进行探讨。结果表明,这两属细胞在细胞分裂方式上有极为亲密的亲缘关系,但毛鞘藻属更复杂、独特的营养细胞分裂显示它的进化地位比鞘藻属高。

关键词 鞘藻属,毛鞘藻属,居间分裂,顶端分裂,冠状环纹结构,帽子结构
中图分类号 Q949

鞘藻目(Oedogoniales)的细胞分裂方式是区别于其他绿藻的独一无二的特征。鞘藻属和毛鞘藻属的营养细胞分裂方式有两种:居间分裂和顶端分裂。

在鞘藻属植物体营养细胞及毛鞘藻属植物体基细胞的亚顶端,常有一至数次分裂留下的冠状环纹,这是鞘藻目独有的构造,是由其特异的分裂方式形成的(Hill *et al.*, 1968)。鞘藻属典型的营养细胞分裂是从细胞亚顶端胞壁破裂点(wall rupture at the weakened site)发生环;环由小泡聚合扩大而成。随后在细胞壁和原生质之间环生长形成上部子细胞新的细胞壁。和环相接的母细胞壁被撕裂,位于子细胞顶端的母细胞壁即为冠。母细胞壁剩余部分,变成下面子细胞的侧壁,命名为“鞘”(饶钦止, 1979; Pickett-Heaps, 1972)。在环伸展的过程中,一横向纤维素横壁形成,并以平板的形式最终移向环起始发生的位置。营养分裂起始于细胞顶部末端的侧壁内层半液体状纤维素的沉积。这种分裂方式可在一个细胞相同的位置连续发生多次,因此常可以看到在营养细胞的顶端残留一至数层冠状环纹。环纹数量的多少表明了细胞经历的分裂次数。这就是此目藻类发生典型居间分裂

* 中国科学院青年科学家小组创新项目,1999051号;青藏高原及其邻近地区植物区系及分布格局研究项目, KSCX2-1-06B号;中国科学院水生生物研究所创新领域前沿项目资助,220104号。罗玮,女,出生于1979年9月,博士研究生, E-mail: luowlw@21cn.com

1) 通讯作者,胡征宇,男,出生于1957年10月,博士,研究员, E-mail: huzy@ihb.ac.cn

收稿日期:2001-10-12,收修改稿日期:2002-04-06

的主要特征。

丝状体最上面的细胞发生分裂,在细胞亚顶端的胞壁破裂点发生环,分生出子细胞。该子细胞继续生长,随后在胞壁破裂点掀开一个表面皿样的帽子附着于细胞侧壁上,这种产生附着帽子的细胞分裂为顶端分裂。鞘藻属和毛鞘藻属植物体都有两种典型特征的分裂方式,只是毛鞘藻属营养分裂发生的位置和方式更为特化。我国关于藻类的形态分类及生物学特征的研究已有许多,特别是有关海洋有害藻类的报道(黄长江等, 2000a, b; 2001),而淡水绿藻的生物学特征近年来未见较新的发现。本文详细观察了室内培养中两属植物体居间分裂的冠状环纹、顶端分裂产生的帽子结构,进一步确证两属的亲缘关系,报道毛鞘藻属更复杂的分裂机制,以期研究鞘藻目系统演化提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

波形鞘藻(*Oedogonium undulatum* A. Br.)于2000年12月采自湖北省麻城市浮桥的小水沟中,附着于水草上;陆生巴基斯坦鞘藻毕氏变种(*Oedogonium pakistanense* var. *bii*, 将另文发表)采自湖北省仙桃市,生长于沙质土壤表面。实验室条件下进行单种培养。首先在解剖镜下挑取同种单个丝状体,洗净,然后用平板分离法培养,多次转接,直至无其他杂种;获得纯单种鞘藻。培养采用光暗周期为12h:12h,光照强度为 $30\mu\text{E}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,培养温度为 $20-25^\circ\text{C}$ 。

环带毛鞘藻(*Bulbochaete cingulata* Jao)于2000年12月采自武汉纸坊青龙山丘岭间稻田中,附生于丽藻上,置于室内30W日光灯下培养。取自然生长状态下的材料进行光镜观察。

1.2 实验方法

平板分离所用培养基为Bold's Basal培养基(华汝成, 1980)。扫描电镜制样时用2.5%戊二醛固定的培养物以2000r/min离心1min,磷酸缓冲液洗去固定液,再悬浮沉淀物,在覆有琼胶的盖玻片上挑取1个样品,待藻体细胞附着玻片后,在上升系列酒精中脱水,二氧化碳临界点干燥仪干燥。用玻璃刀将玻片切成小块,粘贴在载物台上,在HUS-5GB高真空镀膜仪中以 30° 角样品喷镀铂钨合金,在AMRAY扫描电镜下观察拍照。

光镜下观察细胞分裂环纹结构。取样,加盖玻片,静置0.5-1.0h后,随着水分不断蒸发,藻体细胞基本固定不动,置于OLYMPUS万能研究显微镜下观察和照相。

2 结果

在此两属中,由于进化的差异,营养细胞分裂方式各有特点,但营养细胞行顶端分裂和居间分裂过程非常相似。居间分裂在细胞的亚顶端,胞壁薄弱点发生环,环拉长的过程中,发生核质分裂,并在新分生出的子细胞上留下一道冠状环纹;而顶端分裂则是由丝状体顶端的细胞发生分裂,掀开部分母细胞壁,形成一个帽子附着于该细胞一侧。

2.1 鞘藻属营养细胞分裂与个体发育

随着细胞核的分裂,在细胞亚顶端的胞壁内侧周生的破裂位点发生环绕整个细胞的环状体,环开始向四周纵向扩展成一新的子细胞。新分生的子细胞上有由母细胞壁撕裂后残留下的冠状物(饶钦止, 1979; 胡鸿钧等, 1980)。鞘藻属(*Oedogonium*)营养繁殖通常以这种典型的分裂方式行居间生长。鞘藻属植物体为不分枝丝状体。动孢子萌发

(图 1d), 先长成单细胞幼体, 随即在细胞壁亚顶端形成环, 发生第一次细胞分裂。此分裂后的下一细胞为植物体的基细胞, 通常不再进行分裂; 上一细胞即为具有分裂能力的营养细胞, 它和由它分生出来的细胞都有继续分裂的能力, 虽然这些细胞的分裂能力往往存在较为明显的差别, 从冠细胞的层数可以较为清晰的看出细胞分裂的次数; 丝状体的生长方式是以这种典型的居间生长为主。

但顶端生长有时亦可见。在巴基斯坦鞘藻毕氏变种中, 细胞分裂以顶端分裂为主, 以居间分裂为辅, 电镜观察到该种丝状体上有一系列帽子附着于细胞侧壁上(图 1e, f)。说明该鞘藻细胞具有明显的顶端分生能力, 这种顶端细胞的分裂方式在鞘藻属中为首次报道。

鞘藻属营养细胞行典型的居间分裂, 首先在有分生能力细胞的亚顶端周生胞壁破裂点发生环。随着环的伸长, 核的分裂及分裂横壁的产生而分生出新的子细胞。具活跃分生能力的营养细胞经数次分裂后, 形成的多层冠状环纹清晰可见(图 1a-c)。而附着于细胞壁一侧的帽子结构, 也证明此属植物体有典型的顶端分裂。只是在不同的种间或不同的营养条件下, 这两种分裂方式能以不同的机率在不同个体和不同的位置发生。

2.2 毛鞘藻属营养细胞分裂

毛鞘藻属为单侧分枝, 主要由基细胞和分枝的母细胞分生出新的子细胞(Cook, 1962)。毛鞘藻属在动孢子萌发为单细胞幼体后(图 2g), 第一次分裂与鞘藻属不同, 它发生典型的顶端分裂, 在幼体顶端形成分裂隔壁的部分, 发生环状裂缝, 使此幼体细胞顶端细胞壁断裂为表面皿样的圆片; 随着环的发育, 分生出新的子细胞, 把它断裂下来的表面皿样的圆片推向母细胞顶端一侧(饶钦止, 1979), 下面的母细胞, 即为具有连续分生能力的基细胞, 不断进行居间分裂(图 2f), 每次分生出来的细胞均为主轴细胞。环带毛鞘藻(*B. cingulata*)植物体分枝较多, 由基细胞分生出来的细胞, 一般都不能继续分生主轴细胞, 而只能作为可以分生出侧枝的分枝细胞。毛鞘藻属植物体的发育主要是集中于基部的生长, 第一次发生典型的顶端分裂形成刺毛, 推开上部分的母细胞壁形成一个帽子, 有的一直附着于母体上(图 2b), 而有的则很容易在环境中丢失(Pickett-Heaps, 1973), 之后丝状体的基细胞行多次的居间分裂。

毛鞘藻属具另一种特化的顶端分裂方式, 即分裂生成一基部半球形、细长、无色透明的刺毛, 这些无色刺毛有时也成对发生在主轴或侧枝的末端, 或在丝状体的潜在分枝处(图 2a)。丝状体上成对的刺毛, 并不是同时发生的, 往往有一个不定的先后次序。具有这种特化顶端分裂能力的营养细胞, 在其一侧亚顶端有一个胞壁破裂点。当营养细胞成熟时, 它可能在顶部末端生成一个单侧突起(图 2c)。核移往突起的内表面, 透明的内含物质开始聚集于此。此时有丝分裂发生, 有丝分裂后期, 纺锤体的一极朝向细胞壁的突起; 分裂末期, 子细胞核及其细胞质与母细胞核及细胞质被形成的藻质体(phycoplast)隔开。这种不对称的有丝分裂和细胞壁破裂点为分裂产生刺毛提供可能。此无色透明细胞继续发育, 通过母细胞壁的裂口处伸长(图 2d, e)。拥有这种特征的细胞分裂是不产生环或帽子结构的特殊顶端分裂。刺毛形成过程中, 细胞质始终集中于顶端。

丝状体潜在分枝处的营养细胞分裂形成刺毛后, 该母细胞可以沿刺毛发生的方向进行一至数次居间分裂, 分生出子细胞使侧枝伸长。刺毛决定着分裂环的定位和侧枝的发

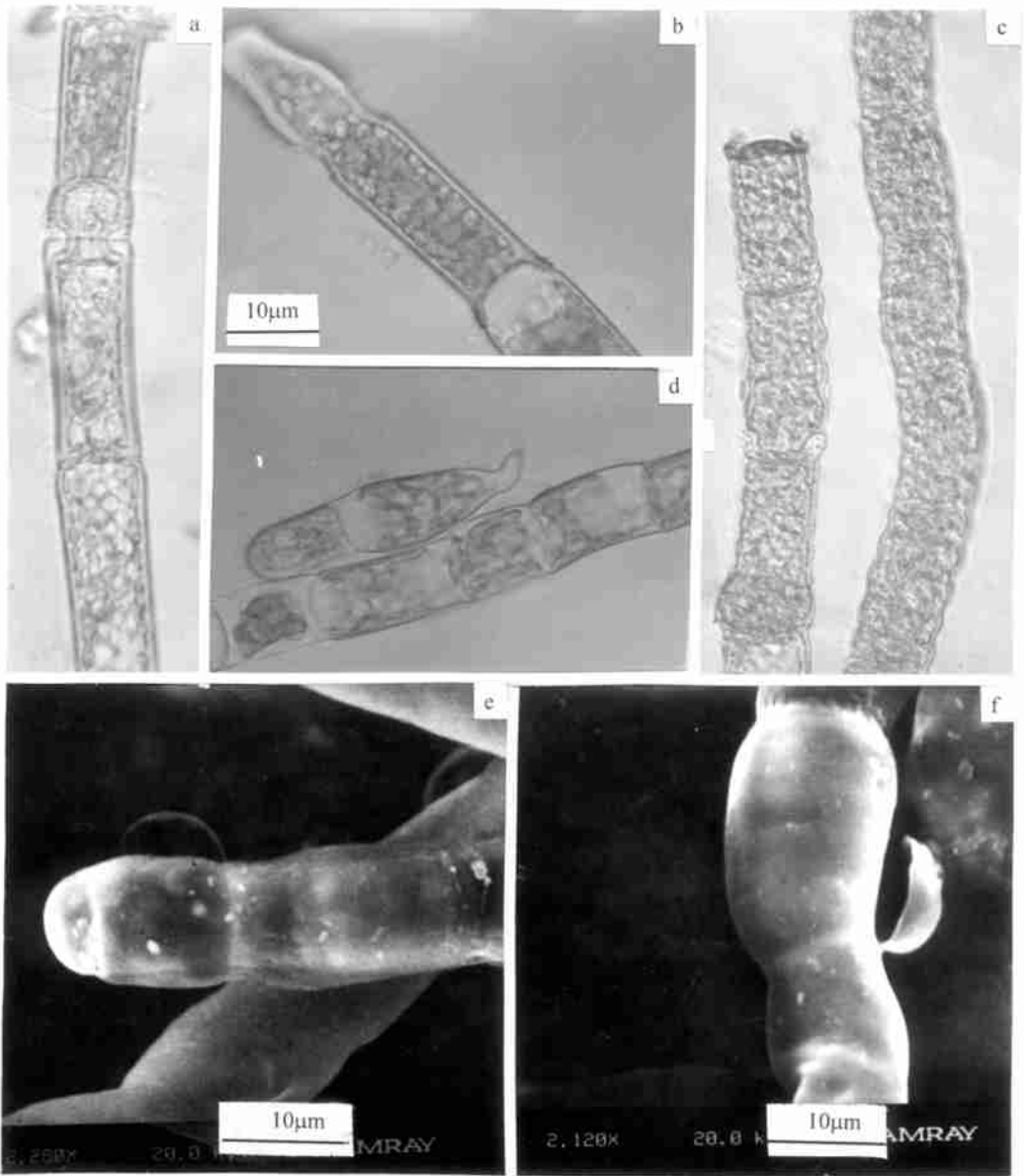


图 1 鞘藻属植物体营养细胞分裂特征的光学显微镜和扫描电镜照片

Fig.1 Light microscope and scanning electronic microscope pictures of vegetative cell division of the genus *Oedogonium*
 a. 多次分裂的冠状环纹结构, 又一次居间分裂已开始, 分裂细胞的环状体已形成。b. 在丝状体顶部具有的多层冠状环纹结构。c. 培养中的波形鞘藻开始形成的环状体。d. 动孢子的萌发。e-f. 陆生巴基斯坦鞘藻(*Oedogonium pakistanense* var. *bi*) 明显的顶端分裂: e. 丝状体顶端的细胞顶端分裂产生的帽子结构; f. 具较强顶端分裂的营养细胞产生的帽子结构。比例尺: a—d 为 10 μm

生方向; 分枝基细胞首先行一次特化的顶端分裂形成刺毛, 而后再行居间分裂形成次级侧枝。

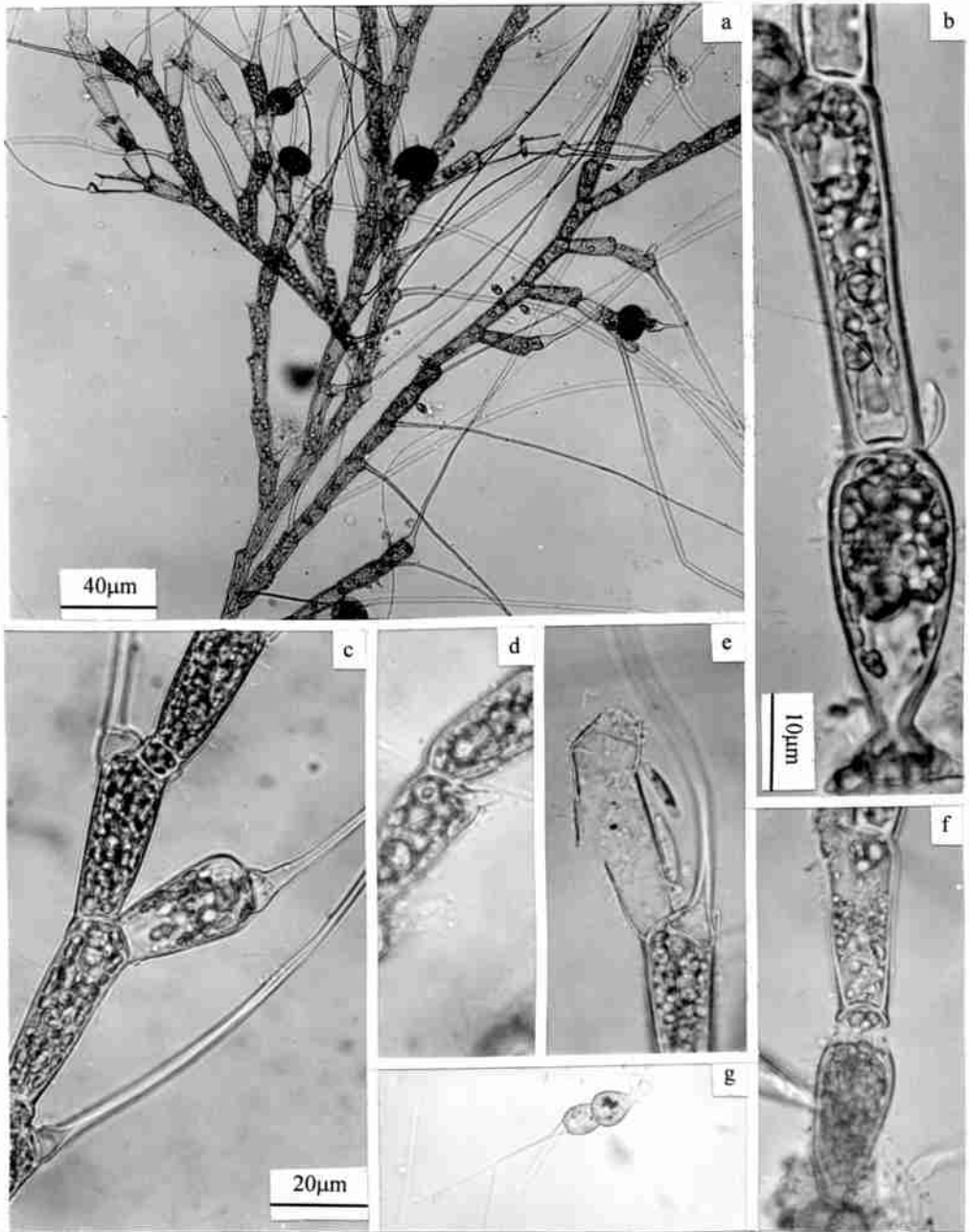


图2 毛鞘藻属植物体营养细胞分裂特征的光学显微照片

Fig. 2 Light microscope pictures of the vegetative cell division of the genus of the *Bulbochaete*

a. 整个植株。b. 毛鞘藻属植物体基细胞顶端分裂产生的帽子结构。c—e. 毛鞘藻属植物体另一种特殊分裂方式——产生刺毛: c. 营养细胞在顶部末端形成单侧突起; d. 刺毛细胞开始发育; e. 刺毛细胞通过母细胞壁破裂点伸长。f. 毛鞘藻属植物体居间分裂, 示多层冠状环纹结构。g. 毛鞘藻属动孢子的萌发。比例尺: a, g 为 $40\mu\text{m}$; c—f 为 $20\mu\text{m}$; b 为 $10\mu\text{m}$

3 分析与讨论

绿藻中卵配生殖的鞘藻能独立成鞘藻目,源于其与众不同、独有的特征,如营养细胞独有分裂方式,孢子和精子囊的结构,有性生殖的复杂性。鞘藻目大多具分裂能力的细胞有一个很重要的细胞壁薄弱区域或结构上胞壁不连续位点(Pickett-Heaps, 1970a, b),此区域精确标明了有丝分裂后细胞膨大出现胞壁破裂点和产生分裂环位置。

Pickett-Heaps(1975)在他的专著中提出细胞分裂和游动孢子囊是了解此目藻类进化的关键所在,并发现细胞分裂期,鞘藻目各属细胞壁由极度不对称,不相重叠的“H”形片段组成,这种“H”形片段就是鞘藻细胞壁不连续的形态最初描述。后来通过详细的电镜的观察证明了细胞壁内侧具有周生的细胞壁破裂点,这能很好的帮助解释鞘藻目独一无二的细胞分裂方式和个体发育机制。

3.1 两属营养细胞分裂相似处

许多的证据表明毛鞘藻属基细胞和鞘藻属营养细胞分裂方式非常相似,位于丝状体最上面的细胞有顶端分裂能力,环带毛鞘藻基细胞上的帽子与巴基斯坦鞘藻毕氏变种上一系列帽子结构都源于这种特殊的顶端分裂。环带毛鞘藻的基细胞与其他一些在培养的鞘藻营养细胞都有活跃的居间分裂能力,留下一至多层冠状环纹。毛鞘藻属的营养细胞分生能力虽与鞘藻属不同,但在形态、构造上是一致的。顶端分裂环的发生及伸长与居间分裂环的发育过程基本相同。分裂环由小泡合并而成,刚开始形成时,在外形上毫无规律。这些小泡可能是高尔基体所分泌的(Pickett-Heaps, 1975)。

其次,若毛鞘藻不再行生成刺毛的顶端分裂,有些具分裂能力的细胞分裂就沿着与主轴或侧枝生长的轴平行的方向发生,正常分生出的新细胞居间分布于丝状体的主轴或侧枝,这便是与鞘藻属相同的典型居间生长。毛鞘藻属某些具明显主轴的种,有较发达的居间生长;在具分生能力的营养细胞亚顶端发生一次或多次分裂,留下清晰可见的冠状环纹(饶钦止, 1979),表明这些细胞都有与基细胞同样的居间分生能力。

3.2 毛鞘藻属更独特的营养细胞分裂

毛鞘藻属植物体的基细胞第一次进行顶端分裂,所分生出的子细胞通常发育为顶端逐渐伸长的刺毛(饶钦止, 1979)。而Cook(1962)在对*Bulbochaete hiloensis*的生活史的观察中,发现基细胞第一次分裂,既可分生刺毛细胞,也能象鞘藻属植物细胞一样分生出营养细胞。毛鞘藻属植物体基细胞可明显发生连续的多次居间分裂,而不象鞘藻属植物体基细胞只有1或2次分裂,即毛鞘藻的基细胞有极为活跃的分生能力,与鞘藻属分裂环上相比,毛鞘藻属的环状结构保留明显的不均一性(Pickett-Heaps, 1973)。

刺毛本身的形成是另一种特殊形式的顶端分裂,包含极性和极度不对称性。刺毛有时在鞘藻属的某些种中存在,但丰富度却不能和毛鞘藻属相提并论。从Pickett-Heaps(1975)以*Bulbochaete hiloensis*为材料的电镜照片,可以清晰地观察到刺毛的形成过程。随着细胞向顶端一侧不断突起,由初生细胞壁增厚形成了次生细胞壁,该次生细胞壁分泌出一薄层,这层薄分泌物与次生细胞壁分离,在细胞壁侧边形成一个对称的不连续点;而不是象该目藻类那些能够进行正常居间分裂的细胞一样有周生的细胞壁破裂点,这一个细胞壁内侧破裂点成为细胞顶端分裂刺毛发生和侧枝形成的定向突破点。形成的藻质体隔层移向细胞的突起,与这层薄的分泌物一同发育成完全的刺毛细胞壁。这一对称的不连续

点,能充分解释一旦刺毛细胞形成,位于刺毛下面的母细胞有丝分裂不沿着与丝状体原始主轴平行的方向伸展,而是沿着刺毛伸长的方向行居间分裂,分生新的子细胞,形成次级分枝;刺毛本身不具继续分裂的能力。

毛鞘藻属某些具椭圆形卵囊的种有居间生长,但以往的藻类学家把毛鞘藻属植物细胞分裂总结为典型的基部生长(饶钦止,1979)。如果丝状体主轴大多数细胞发生侧枝,次级主轴细胞的生长则主要集中在分枝基部细胞,这种分枝基细胞第一次分裂不形成环状体,行特化顶端分裂,产生第一个细胞为刺毛;之后分枝的基细胞转为居间分裂,使侧枝伸长。少数种类具更为显著的居间生长能力,具有和鞘藻属植物体细胞分裂后相似的特征,如一层或多层冠状环纹的存在,即如果植物体其中大多数细胞在其胞壁破裂点可能发生分裂环,主轴细胞居间生长的数量便会随之上升。

从营养细胞分裂方式的比较来看,毛鞘藻比鞘藻分裂机制更为复杂、独特。而在培养过程中毛鞘藻属内一些种类的个体发育往往与培养条件等紧密相连,这些过程的完善将进一步帮助我们了解该属内一些特殊的性状演化过程。曾有人认为毛鞘藻属卵囊细胞受精孔的发生与其营养细胞分裂时刺毛发生有同样的细胞分裂机制(Pickett+Heaps,1975),这有助于进一步研究受精孔在卵囊的发生方式,以解释毛鞘藻属在系统进化上的特殊性,从而找到鞘藻目各属之间系统演化更详尽的证据。关于鞘藻属和毛鞘藻属有性生殖细胞的分裂机制的比较,有待进一步深入研究。

致谢 在研究过程中,波兰鞘藻学专家 Mrozinska 教授和湖北大学生命科学学院毕列爵教授提出了许多宝贵意见,给予许多支持,谨致谢忱。

参 考 文 献

- 华汝成,1980.单细胞藻类的培养和利用.北京:农业出版社,272—347
- 胡鸿钧,李尧英,魏印心等,1980.中国淡水藻类.上海:上海科学技术出版社,373—383
- 饶钦止,1979.中国鞘藻目志.北京:科学出版社,1—26
- 黄长江,董巧香,2000a.1998年春季珠江口海域大规模赤潮原因生物的形态分类和生物学特征I.海洋与湖沼,31(2):197—204
- 黄长江,董巧香,2000b.1998年春季珠江口海域大规模赤潮原因生物的形态分类和生物学特征II.海洋与湖沼,31(3):233—238
- 黄长江,董巧香,2001.1998年春季珠江口海域大规模赤潮原因生物的形态分类和生物学特征III.海洋与湖沼,32(1):1—6
- Hill G J C, Machlis L, 1968. An ultrastructural study of vegetative cell division in *Oedogonium borisianum*. J Phycol, 4: 261—271
- Cook P P, 1962. Growth and reproduction of *Bulbochaete hiloensis* in unialgal culture. Trans Am Microscop Soc, 81: 384—395
- Pickett+Heaps J D, 1970a. Cell Division in *Oedogonium* II. Nuclear division in *O. cardiacum*. Aust J Biol Sci, 23: 71—92
- Pickett+Heaps J D, 1970b. Cell Division in *Oedogonium* III. Golgi bodies, Wall structure and formation in *O. cardiacum*. Aust J Biol Sci, 23: 93—113
- Pickett+Heaps J D, 1972. Reproduction by zoospores in *Oedogonium* IV. Cell division in gemling and evidence concerning the possible evolution of the wall rings. Protoplasma, 74: 195—212
- Pickett+Heaps J D, 1973. Cell Division in *Bulbochaete* I. Divisions utilizing the wall ring. J Phycol, 9: 408—420
- Pickett+Heaps J D, 1975. Green Algae: Structure, Reproduction and Evolution in Selected Genera. Sinauer Associates, Inc., 219—295

A PRELIMINARY INVESTIGATION OF *OEDOGONIUM* AND *BULBOCHAETE* BASED ON COMPARATIVE STUDIES OF VEGETATIVE CELL DIVISION

LUO Wei, LIU Guo-Xiang, HU Zheng-Yu

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan, 430072;

Graduate School, The Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100039)

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan, 430072)

Abstract Cell division in the Oedogoniales is unusual and a characteristic of the order. Along with the nucleolus division, the formation of a ring adjacent to the inner wall in the upper portion of the cell is initiated. The ring gradually becomes incrassation following the development. A direct consequence of this rupture wall and ring expansion, the typical feature of mediacy division, is the formation of the caps so characteristic of this group of algae. However, some cells at the top of the filaments have the capability of another remarkable cell division which is known as the apical division resulting in one cover-like cap being pulled to one side of the filament along with the development of the division.

We collected the samples of *Oedogonium* from Xiantao City, Hubei Province in Dec., 2000. During the unialgal culture, we observed the special apical cell division in the species through the microscope and scanning electronic microscope. It is the first report about the special apical cell division in the genus of *Oedogonium*. This report presents the resemble faces and differences on both the mediacy division and the apical division in the two genera. *Oedogonium* is an unbranched filamentous alga, which always exhibits such typical division and principal features. We also collected the samples of *Bulbochaete* in one rice paddy from Qinglongshan Reservoir, Zhifang Area, Wuhan City, Hubei Province. Cell division in the genus *Bulbochaete* closely resembles that of *Oedogonium*, particularly in the involvement of a ring in cell elongation and the method of cross wall formation, which indicates intimate phylogenetic relationship in the two genera. But there are subtle differences in the morphology of their cell wall. The basal cell of *Bulbochaete* is apparently capable of many successive mediacy division after an apical division which produces the special cap sticking to the cell wall. Another characteristic of the *Bulbochaete* is the numerous, colorless hairs; these single cells are either terminally situated (sometimes in pairs) on the main axis or branches or else at potential branch points at the apical end and to one side of vegetative cells. And some species of the *Bulbochaete* which the main axis is very conspicuous and branches are not obvious chiefly depend on the mediacy growth. The more complex vegetative morphology of *Bulbochaete* compared with *Oedogonium* is fairly easily explicable. Consequently, such the features as the differentiation of hair cell and the subsequently creation of branches show that the genus of *Bulbochaete* is a more advanced group than the *Oedogonium* in the evolution.

Key words *Oedogonium*, *Bulbochaete*, Mediacy division, Apical division, The ring structure, The cap structure