

# 西沙群岛原绿藻的超微构造研究\*

孙爱淑 曾呈奎

(中国科学院海洋研究所 青岛 266071)

**提要** 于1981年3月在西沙群岛永兴岛采集原绿藻标本。用光镜和电镜对所采原绿藻进行研究。结果表明,原绿藻为简单的原核、单细胞藻类,在同一生境的相同宿主体表有4种不同的细胞构造类型:第1种类型,中央大“液泡”,类囊体单条、平行分散于周围区的细胞质中;第2种类型,中央是大“液泡”,周围区内类囊体多,并形成垛叠;第3种类型,许多小泡充满细胞的大部分,类囊体穿插于小泡之间;第4种类型,有中央大“液泡”,还有许多小泡分散在细胞周围区。上述分类以类囊体和“液泡”的结构和分布为主要分类依据,反映出不同结构的进化意义。表明中国西沙群岛有丰富的原绿藻资源。

**关键词** 西沙群岛 原绿藻 超微结构 原核藻类

**学科分类号** Q179

原绿藻(*Prochloron*)是一种原核藻类,含有叶绿素 $a$ 和 $b$ ,没有藻色素,光合作用放出氧气。由于它兼有蓝藻和绿藻二者的特征,对于研究从原核生物到真核生物的进化是一有重要意义的材料,因而受到研究者的普遍重视。已报告在东、西太平洋的许多热带地方发现了原绿藻(曾呈奎等,1981;Lewin *et al.*,1989)。不同发现中的原绿藻在构造上有许多差别(Cox,1986;Swift *et al.*,1989)。对原绿藻的超微构造研究表明,它的类囊体结构同绿色真核植物的叶绿体相似(Giddings *et al.*,1980;Cox *et al.*,1981),也分为垛叠区和非垛叠区;其核质分布也与绿色植物的叶绿体相似(Coleman *et al.*,1983;Swift *et al.*,1989)。这说明原绿藻的超微构造具有重要研究价值。曾呈奎等曾在西沙群岛采集一种单细胞绿藻标本,经电镜观察和色素的光谱分析,初步鉴定为原绿藻(曾呈奎等,1981),但是,未对这些标本进行更加深入的研究。本文是对上述标本的超微构造进一步详细研究的结果,以期为世界范围对原绿藻的研究提供更多的科学资料。

## 1 材料与方 法

于1981年3月在西沙群岛永兴岛礁平台的浅海沟中采集藻类标本。现场立即用光镜观察,确定其为原绿藻(*Prochloron* sp.)后,把宿主苔藓虫从死珊瑚上取下放入海水中,藻细胞便落入海水中。离心收集并立即放入2.5%海水戊二醛中固定2h;用消毒海水冲洗三次,每次20min,再以1%四氧化钨后固定1h,用蒸馏水冲洗三次后,包在琼脂中,经乙醇梯度脱水至70%乙醇带回实验室。继续脱水、渗透,包埋在Epon812中。用LKB-IV型切片

\*国家自然科学基金资助项目,85062号。孙爱淑,女,出生于1939年10月,副研究员,Fax:0086-0532-2870882

收稿日期:1996-07-03,收修改稿日期:1997-12-18

机切片,经醋酸铀和柠檬酸铅双染后,用日立-500透射电镜观察。

用于扫描电镜观察的材料是连同宿主一起固定在2.5%海水戊二醛中,海水冲洗后经脱水至70%酒精带回实验室,按扫描电镜观察材料常规制备方法制备,以日立-500扫描电镜观察。

## 2 观察结果

### 2.1 细胞构造

肉眼观察,所采原绿藻共生的宿主苔藓虫(曾呈奎等,1981),呈透明的胶质薄片状,形状不规则。宿主表面有许多绿色的小斑点,用手触之,绿色即染于手指。光镜下观察为翠绿色单细胞,圆球形,内外两区明显,中央是透明的大空泡,周围是细胞质(图1a)。扫描电镜观察表明,藻细胞附着于宿主体表,无覆盖物(图1b)。透射电镜观察发现,在所收集的细胞中,有4种构造各异的细胞(图1c—f)。其中第1,2种类型细胞(图1c,d)的基本构造是由被多层薄细胞壁包围的两区组成;细胞质、类囊体和其他颗粒分布在周围区,中央区是电子透明的大“液泡”。图1e是第3种类型细胞,该细胞两区的分化不像前两种类型的细胞那样明显,细胞内没有中央大“液泡”,而是充满许多小泡;小泡的形状不规则、大小不均匀,有些还靠近细胞质膜;类囊体和细胞质穿插于小泡之间。第4种类型细胞(图1f)里,既有中央大“液泡”,也有小泡分散在细胞质里;类囊体分布在周围区,多条形成垛叠;有一些类囊体空泡化,在周围区里形成许多小泡。

除第3种类型的细胞外,其余三类细胞的中央区和周围区都有很大区别;周围区有结构而中央区是电子透明的。但是,在所观察的切片中,也有一些细胞的中央区,有一些电子不透明的小颗粒(图1g),与高等植物液泡中的颗粒很相似。

细胞里没有细胞核,它们的核质分布在周缘区类囊体之间的细胞质里(图1c箭头)。

### 2.2 细胞壁

4种类型细胞的壁构造相同,都是与蓝藻相同的多层构造(图版1j箭头)。自外向内可分为 $L_1, L_2, L_3, L_4$ 四层。 $L_1$ 和 $L_3$ 层,电子密度较高; $L_3$ 层电子密度最高,但较薄,最外层( $L_1$ )电子密度略低于 $L_3$ 层,但比较厚;壁的外表面比较光滑。 $L_2$ 和 $L_4$ 层电子密度较低; $L_4$ 层较厚,靠近细胞质膜。细胞分裂时,新壁由母细胞壁的赤道部分向心生长产生(图1h,i)。

### 2.3 细胞质

4种类型的细胞都在外部靠近质膜处有一薄层细胞质,其中无类囊体分布。类囊体只分布在薄层以内的细胞质里,未见到类囊体直接与质膜相连的情况。类囊体之间的细胞质里,还散布着一些电子密度高、无限制膜的多面体。此外,未见到细胞核、线粒体等有膜包围的细胞器。

### 2.4 类囊体

4种结构的细胞里,光合片层的分布情况有很大差别。第1种类型细胞,光合片层比较少,多数呈单条类囊体分布在周围区的细胞质里(图版1c),类囊体以大致和细胞壁平行的方向分布,很少见到类囊体垛叠的情况。第2种类型细胞(图1d),类囊体呈波折状平行于细胞壁分布,常常都是多个类囊体挤压在一起形成垛叠;类囊体很多,以致细胞质被隔裂成少数几条带(图1b)。第3种类型细胞(图1e),类囊体中除有平行于细胞壁周缘分布

的外,还有的穿插于细胞质和小泡之间,有多条类囊体垛叠的情况;但总体上看,细胞内小泡占优势,类囊体相对较少。第4种类型细胞(图1f),类囊体分布与第1,2种类型相同,但类囊体空泡化明显,在周围区形成许多小泡。

4种类型细胞的类囊体表面都是光滑的,没有与蓝藻的藻胆体类似的构造。这一观察与对它的色素吸收光谱分析结果是一致的(曾呈奎等,1981)。它们的类囊体都有膨胀形成空泡的现象,在第1,2种类型细胞中空泡较小,在第3,4种类型细胞里,这种现象更加明显(图1e, f)。

## 2.5 细胞分裂

细胞分裂时,细胞赤道部分向心缢缩进行二分裂。图1h和图1i是处于不同分裂阶段的细胞,从中可以看到,分裂时,细胞略拉长成椭圆形,赤道部分内陷,这里的质膜和细胞壁向心生长,将所遇到的类囊体和细胞质切断,同时,细胞质也向内陷,逐渐将中央区分隔为两部分,细胞即被隔裂为两个子细胞。

## 3 讨论与结语

通过光镜和电镜观察表明,西沙群岛原绿藻为球形单细胞绿藻,细胞构造分为较明显的内外两区;没有有形的细胞核和细胞器;分裂方式是细胞赤道面内陷方式,细胞壁也是4层结构,这些特征都与蓝藻相同,是典型的原核藻类。但是,它的类囊体表面光滑,没有藻胆体,这又与蓝藻不同。上述第1种类型的细胞中,类囊体单条不垛叠,这是与蓝藻相同的特征;其他3种类型的细胞中,类囊体多条垛叠成基粒状,没有细胞核,核质分布在光合膜之间,又是与绿藻叶绿体相同的特征。由此可见,西沙群岛原绿藻在形态构造上,兼有蓝藻和绿藻二者的特征。

在以往对原绿藻的报告中,Thorne等(1977)和Cox(1986)都曾报告有单条非挤压类囊体的细胞类型。但在多数报告中(Newcob *et al*, 1975; Pugh, 1976<sup>1)</sup>; Schultze-Baldes *et al*, 1976; Thinh, 1978; Thorne *et al*, 1977; Whatley, 1977; Withers *et al*, 1978),类囊体都是2到多条垛叠在一起。本研究表明,西沙群岛一地的原绿藻,其类囊体就有从一条到多条垛叠的情况。在藻类植物各门中,有从蓝藻和红藻的单个非挤压类囊体到隐藻的两个类囊体并列、褐藻的三个类囊体并列,再到绿藻垛叠或基粒的类囊体,表现出明显的进化趋势。这些特征已作为藻类分门的重要特征。所以,原绿藻不同细胞类型中出现的类囊体分布上的差别,可能有进化意义,也是在原绿藻分类中值得考虑的特征。因而在本分类中,把类囊体的分布和垛叠的多少,作为一个重要的分类依据。和以往的许多研究一样,本研究的原绿藻细胞构造也有许多差别。Cox(1986)将所研究的约30种海鞘上生长的原绿藻进行了分类,以宿主种类,共生方式,“液泡”大小和位置、类囊体的排列和分布等许多特征作为分类依据,将它们分为三个类型,类型I与本文的第3种类型构造相同;类型II与本文的第2种类型相同,所不同的是泄殖腔共生,而西沙群岛的却是外表共生;Cox分类的第III种类型的构造很特殊,在本文的研究中尚未发现。但是,Cox的分类中没有本文分类的第1种类型,即没有类囊体单条不垛叠的类型。

1) Pugh D T, 1976. Studies in plant cell biology I. ultrastructure of algal and other prokaryotic associates of *Didemnid* ascidians, Ph D Thesis, Univ of Wisconsin-Medison

在 Cox (1986) 的分类依据中,液泡的大小和多少是一个重要特征。但在本研究的第 4 种类型的细胞里,既有中央大“液泡”,又有许多小泡(图 1f)。图 1e 中有许多小泡填满细胞中央,显然与 Cox (1986) 分类的类型 I 细胞相同。但是,由于本研究未作连续切片观察,这些切片可能是细胞的弦切面也未可知。因为在图 1e 中央,已可看到两个稍大些的空泡,似乎是中央大液泡的弦切面。从图 1i 看,这种有许多小泡的细胞中央,仍是有大“液泡”的,在 Cheng 等 (1984) 观察的原绿藻中,也存在这种情况。所以,在原绿藻分类中,目前应谨慎使用“液泡”这个特征。

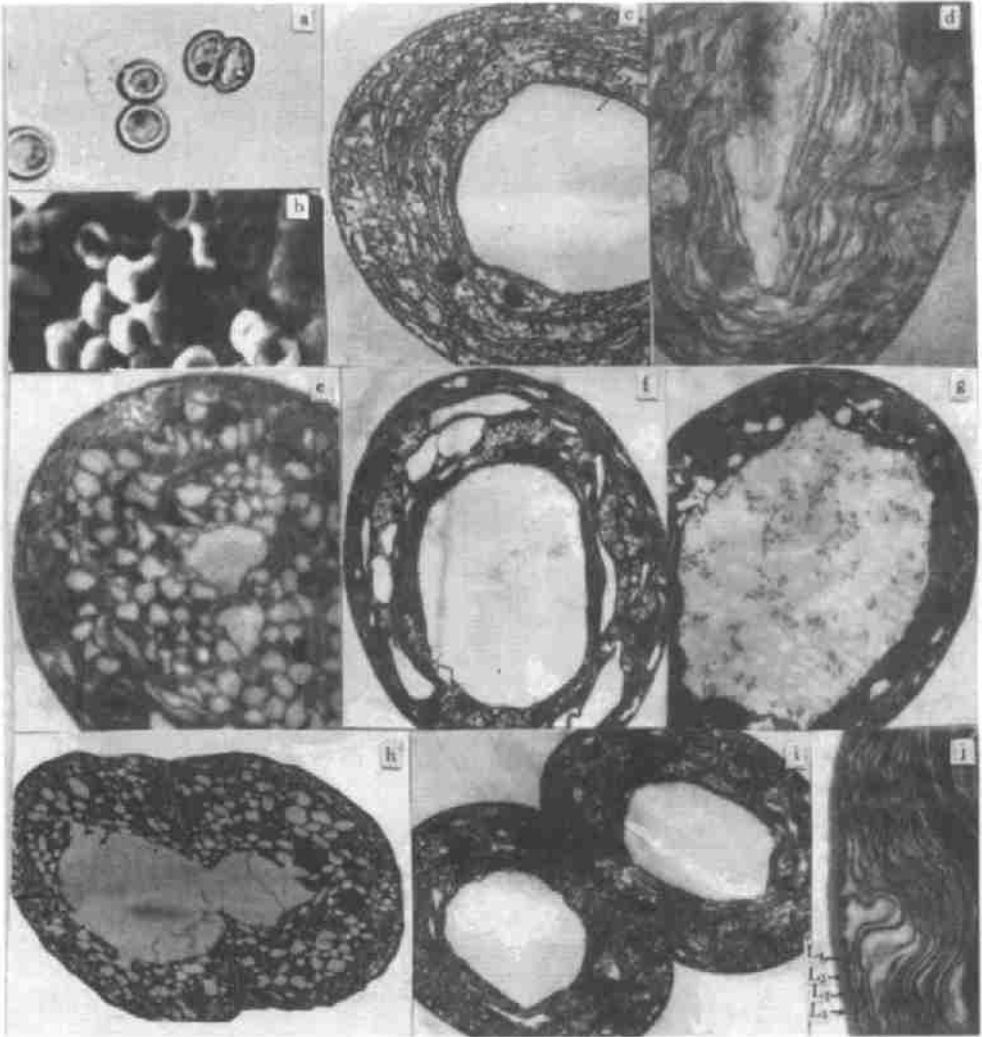


图 1 西沙群岛原绿藻超微构造研究

Fig. 1 Ultrastructural studies of *Prochloron* sp. from the Xisha Islands

a. 光学显微镜下的原绿藻,  $\times 400$ ; b. 原绿藻共生在宿主表面的扫描电镜照片,  $\times 600$ ; c—j 透射电镜观察的原绿藻; c. 第 1 种类型细胞,  $\times 9\ 000$ ; d. 第 2 种类型细胞,  $\times 9\ 000$ ; e. 第 3 种类型细胞,  $\times 1\ 000$ ; f. 第 4 种类型细胞,  $\times 7\ 000$ ; g. 中央大“液泡”中有颗粒状结构的原绿藻,  $\times 7\ 000$ ; h. 分裂中的原绿藻细胞,  $\times 6\ 000$ ; i. 完成分裂过程的原绿藻,  $\times 6\ 000$ ; j. 第 2 种类型细胞的局部放大, 示堆叠的类囊体和多层构造的细胞壁,  $\times 30\ 000$

到目前为止, 由于单细胞的原绿藻仍不能成功的人工培养, 无法对它进行详细研究。但是, 图 1h 像是正在分裂的第 3 种类型细胞, 图 1i 像是刚完成细胞分裂的第 4 种类型的细胞。从本研究处于分裂状态的细胞中可以看出, 在细胞周期的不同阶段, 细胞构造是相当稳定的, 并不随细胞所处的生理年龄而改变。至少在上述第 3、第 4 种类型的细胞中是如此。

Cox (1986), Thorne 等 (1977) 认为, 他们所看到的原绿藻构造上的差别, 是同生活环境的影响直接有关的, 其中包括宿主种类、共生方式等等。但是, 本文观察到的 4 种不同构造的细胞类型, 都是共生在同一环境中的相同宿主上, 它们之间的差别, 可能在分类上有一定价值。

尽管 Stam 等 (1985)、Holton 等 (1990) 通过分子生物学研究后认为, 他们所研究的原绿藻都属于同一种, 但是, 形态学研究都发现不同宿主间或相同宿主间的原绿藻, 其细胞构造上确有明显差异。这些差别可能与生境有一定关系。由于宿主的不同、共生方式和环境的差别, 在长期进化过程中, 会使原绿藻发生许多变异。所以, 对原绿藻的分类和进化地位的研究, 还需要更多的结构、生态、生化和分子生物学方面的资料。

**致谢** 谢嘉琳、季祥荣、尹学明等同志在切片和观察中给予热情帮助, 谨志谢忱。

### 参 考 文 献

- 曾呈奎 周百成 孙爱淑, 1981. 西沙群岛原绿藻. 科学通报, 23: 1 452—1 454
- Cheng L, Lewin R A, 1984. *Prochloron* on *Synaptula*. Bull Mar Sci, 35: 95—98
- Coleman A, Lewin R A, 1983. The disposition of DNA in *Prochloron*. Phycologia, 22: 209—212
- Cox G C, 1986. Comparison of *Prochloron* from different hosts I. Structural and ultrastructural characteristics. New Phytol, 104: 429—445
- Cox G C, Dwart D M, 1981. Freeze-etch ultrastructure of a *Prochloron* species—the symbiont of *Didemnum molle*. New Phytol, 88: 427—438
- Giddings T H, Withers N W, Stachelin L A, 1980. Supramolecular structure of stacked and unstacked regions of the photosynthetic membranes of *Prochloron* sp., a prokaryote. Proc Nat Acad Sci USA, 77: 352—356
- Holton R W, Stam W T, Boele-Bos S A, 1990. DNA-DNA reassociation studies with DNA from *Prochloron* samples of Indo-west Pacific origin. J Phycol, 26: 358—361
- Lewin R A, Cheng L, 1989. *Prochloron*, A Microbial Enigma, Routledge. New York: Chapman & Hall. 129
- Newcob E H, Pugh T D, 1975. Blue-green algae associated with ascidians of the Great Barrier Reef. Nature (L), 253: 533—534
- Schultze-Baldes M, Lewin R A, 1976. Fine structure of *Synechocystis didemni*, Phycologia, 15: 1—6
- Stam W T, Boele-Bos S A, Stulp B K, 1985. Genotypic relationships between *Prochloron* samples from different localities and hosts as determined by DNA-DNA reassociations. Arch Microbio, 142: 340—341
- Swift H, Leser G P, 1989. Cytochemical studies on *Prochlorophytes* localization of DNA and ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase-oxygenase. J Phycol, 25: 751—761
- Thin L-V, 1978. Photosynthetic lamellae of *Prochloron* associated with the ascidian *Diplosoma virens* (Nartmeyer) in the vicinity of Townsville. Aust J Bot, 26: 617—620
- Thorne SW, Newcorrb E H, Osmond C B, 1977. Identification of chlorophyll *b* in extracts of prokaryotic algae by fluorescence spectroscopy. Proc Nat Acad Sci USA, 74: 575—578
- Whatley J M, 1977. The fine structure of *Prochloron*. New Phytol, 79: 309—313

Withers N W, Vidaver W, Lewin R A, 1978. Pigment composition, photosynthesis and fine structure of a non-blue-green prokaryotic algal symbiont in a *Didemnid ascidians* from Hawaiian waters. *Phycologia*, 17:167—171

## STUDIES ON THE ULTRASTRUCTURE OF *PROCHLORON* SP. FROM THE XISHA ISLANDS

SUN Ai-shu, ZENG Cheng-kui (C. K. Tseng)

(*Institute of Oceanology, The Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071*)

**Abstract** Samples of *Prochloron* sp. were collected from the Yongxing Island of the Xisha Archipelago in 1981. The material was fixed for 2h in 2.5% seawater glutaraldehyde in the field and washed three times in boiled seawater for at least 20 min each time, then postfixed in 1% Osmium tetroxide for 1h, dehydrated in an ethanol series. The material was transported to the laboratory in 70% ethenol and further dehydrated, permeated and embedded in Epon 812. Sections were stained with lead citrate and uranyl acetate and observed with H-500 TEM and SEM. A monograph was published in 1981 by C. K. Tseng et al, but no details of the ultrastructure has been reported. This report provides some detailed studies on the ultrastructure and taxonomy of *Prochloron* sp. from the Xisha region. The results show that 4 types of different structure could be distinguished. Type 1 is characterised by a large "vacuole" fills the central region of the cell and some parallel thylakoids, single and forming no stack, were arranged around the large central "vacuole" (Fig. 1c). For Type 2, a large "vacuole" fills the central region of the cell and many parallel thylakoids forming stack were arrange around the large central "vacuole" (Fig. 1d). Type 3 has many small "vacuoles" which fill the greater part of the cell and the thylakoids run through among these small "vacuoles" (Fig. 1e). For Type 4, a central large "vacuole" and many smaller "vacuoles" disperse in the peripheral region of the cell (Fig. 1f).

Status of the thylakoid stack of these cells in the present study varies, ranging from single and no stack to more and forming stack; possibly it has certain evolutionary significance, but the characteristic of "vacuole" must be used with care. The present work shows that the ultrastructure of the algae combines some characteristics of both blue and green algae. These cells of different structures in the present study live in the same location and host; the cellular structure of the different types is stable in the cell cycle. These differences in the cellular sturcture may have some taxonomic value.

**Key words** Xisha Islands *Prochloron* sp. Ultrastructure Prokaryotic algae.

**Subject classification number** Q179