

坛紫菜壳孢子超微结构的研究*

朱家彦 马家海 蒋虎祥
(上海水产学院) (南京大学)

提 要

本文介绍了用电子显微镜观察坛紫菜壳孢子结构的结果。在电镜观察中,可见壳孢子外围具有一层很薄的质膜。细胞质内有一个轴生星状色素体,色素体中央有一个不被界膜的造粉核。细胞质内有少量脂质体。质体内布有许多质体小球。色素体的质体基质是单独的,彼此被居间层分开,色素体界膜和质体基质之间可见有相连接之处。类囊体表面布有藻胆体颗粒。细胞质内还可以见到线粒体、液泡、游离的红藻淀粉颗粒及核糖核蛋白体。细胞核有双层核膜,核膜外围也附有核糖核蛋白体,核膜上能见到核孔。细胞内的核仁,是一个致密而又结实的球体,细胞核与核仁之间无界膜分隔。

前 言

了解紫菜细胞的结构,是认识紫菜生命现象的一个基础。过去,我们在开展研究紫菜细胞结构的过程中感到,用普通光学显微镜观察紫菜细胞结构,受着放大倍数及分辨率的限制,对细胞内微小的细胞器分辨不清,有些细胞器则视而不见。对于紫菜细胞的超微结构(即用电镜所能观察到的细胞结构),基本上处于无知状态。

随着现代化电镜的问世,揭开了细胞基本结构的新面貌,这使生物、医学及其它科学都获得了飞跃的发展。在我国电镜发展的基础上,我们用电镜对福建省主要紫菜养殖品种坛紫菜壳孢子的基本结构,进行了观察研究。在观察中发现,除了过去用普通光学显微镜能见到的壳孢子内含有一个星状色素体和色素体中央具有一个造粉核以及要用染色技术才能显示的细胞核、核仁及染色体之外,我们又进一步观察到了色素体界膜内的片层结构,即类囊体系统。在类囊体的表面,布有藻胆体颗粒。在细胞质内还见有线粒体、液泡、脂质体、红藻淀粉、质体小球以及核糖核蛋白体。在原生质内可见到围着细胞核的双层核膜,在核膜上还见有核孔。这些观察所得,进一步开阔了眼界,丰富了我们的知识。

我国藻类工作者,为解决紫菜养殖生产的关键,曾对紫菜丝状体的生态,壳孢子的放散、附着等方面,进行了一系列的研究工作,解决了许多生产上存在的问题。我们研究紫

* 此项工作得到中国科学院细胞生物研究所、浙江人民医院、复旦大学等电镜室协助。细胞生物研究所张哲夫同志帮助拍摄照片,东海水产研究所孙宝璐等同志帮助放大洗印。在成文过程中,承曾呈奎、郑柏林、华汝成教授提出意见,谨此一并志谢。

菜壳孢子的基本结构,目的是想从细胞学最基础的方面着手,观察在正常情况下的形态结构,与自然环境或人为环境因子影响下所发生的演变,作为对照的一种理论根据,进而为生产服务。

用电镜观察紫菜细胞结构,由普通光学显微镜的水平进入了电子显微观察的水平,使得原来看不清、见不到的细胞内部基本结构,能够在电镜下清楚地显示出来。本文是紫菜电镜观察的初次材料,不到之处,请专家们指正。

材 料 与 方 法

我们采用了福建地区主要紫菜养殖品种坛紫菜的壳孢子作为研究材料。首先收集大量壳孢子,用海水与5%戊二醛缓冲液相混,配成2.5%浓度进行固定。固定后进行离心,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%钨酸固定液进行固定。吸出固定液后用磷酸缓冲液漂洗,并用2%的琼脂凝聚。然后逐步进行酒精脱水,上行至无水酒精后进入环氧丙烷两次脱水,分别用“812”、“600”两种包埋介质浸透。在“812”、“600”两种包埋介质中按比例加入适量DMP-30⁽¹⁾,搅匀后吸入包埋管,再把材料投入包埋介质中置于烘箱内烘干。此材料经修块后作超薄切片,再用醋酸铀及柠檬酸铅染色,染色后进行电镜观察摄影。

观 察 结 果

1. 质膜(Plasma-membrine)

在紫菜壳孢子原生质的外面有一层很薄的膜,借此把壳孢子的原生质和外界分隔开来。这层由原生质分泌而形成的薄膜,有原生质膜或细胞膜之称。过去,用普通光学显微镜观察从紫菜丝状体中放散出来的壳孢子,在它还没有附着于基质之前,能不停地作变形虫式的运动。这种运动,可能是由于壳孢子有好光性或是因找寻附着基质的生理需要而促使它作出的一种运动。在壳孢子内部的原生质溶胶,能随孢子膜突出的方向而流动,这种运动,是与壳孢子具有一层很薄而富于弹性的由碳水化合物所组成的一种凝胶状的质膜分不开的。但过去对壳孢子从丝状体中放散出来到附着以及在细胞分裂之前,究竟其外膜是细胞壁还是细胞膜,从结构上观察是分不清楚的。在我们的研究材料中,放散出来的壳孢子在没有细胞分裂之前用电镜显示,孢子外围不是壁而是一层很薄的质膜。(图版 I, 1)。

2. 质体(Plastid)

质体是植物细胞所特有的一种细胞器,其中研究得最广泛的是叶绿体。在藻类植物中,由于各种藻类除含有共同的叶绿素外,还含有本种所特有的色素,故在藻类中称为色素

(1) 2,4,6-三(二甲氨基甲基)苯酚。

体。红藻类的色素体中所含的色素是叶绿素甲、丁,叶黄素,胡萝卜素以及特有的辅助色素红藻红素和红藻蓝素。红藻类色素体的形状,依种类而不同。在原红藻纲(*Protofloridae*)内的藻类细胞中,均含有一个星状色素体。

紫菜壳孢子从普通光学显微镜下显示,在它的细胞质内,仅能见到一个轴生星状色素体。色素体中央含有一个造粉核。色素体的体积庞大,占了壳孢子的很大部分。电镜显示,坛紫菜壳孢子细胞质内的星状色素体,它是被界膜包围,膜内有复杂的片层结构,即类囊体(Thylakoids)系统。它的分布方向,与星状色素体的形状有关。色素体的类囊体是单独的彼此被基质的居间层所分开。红藻类植物并不产生与高等植物叶绿体基粒隔膜相当的东西,它们的类囊体与质体基质象似完全相接触。有时可见类囊体质一端与色素体界膜相连接(图版 I, 2)。从类囊体的结构来看,接触基质的面,电子密度较为致密,中间为电子密度较低的浅色区域。整个类囊体的表面,即与基质相接触的面,有规则地排列着含有藻胆素成份的一种颗粒状物质,这类物质称藻胆体(Phycobilisomes)。红藻类有它特有的光合色素——藻胆素。这种色素与大分子量大颗粒的蛋白质紧密结合在一起,组成了藻胆体。用冰冻蚀刻和负染技术表明,这类藻胆体是蛋白质和色素的复合体。我们把经处理的色素体延伸部分断面放大成较高的倍数,可以清楚地显示出藻胆体在类囊体上分布的情景(图版 II, A, 3)。

3. 线粒体 (Mitochondria)

一般植物的线粒体都呈指状,内膜之间的空隙中见有内膜向中间伸出的嵴。而紫菜壳孢子的线粒体在电镜下显示,其特征似长囊体,上面突起不平。(图版 I, 4) 由于切面的方向不同,出现的形状也有所不一。在断面中有似球囊形的也能见到内膜之间的指突或嵴状物(图版 II, B, 4)。有些大的线粒体长可达2微米左右,宽为0.75微米左右。现已证明,线粒体不仅是细胞的能量代谢中心,而且也参与了细胞内蛋白质的合成。有人还证明,藻类的线粒体内含有能自我复制的遗传信息。

4. 液泡 (Vacuole)

液泡是植物细胞中所特有的结构,它是一种调节细胞的渗透压和贮存养分的一种细胞器。放散的紫菜壳孢子经过制片处理后,在电镜下显示,见细胞质内有许多大小不一致的小液泡,约在1500—7000埃之间,具液泡膜,有时也能融合起来成较大的液泡(图版 I, 5)。

Hawkes 把观察到 *Porphyra gardneri* 精子囊母细胞中含有的许多小液泡称为小纤维泡(Small fibrous vesicle)。把融合起来的大液泡称大纤维泡(Large fibrous vesicle)^[11]。这与我们所见的液泡是同一物类。

5. 造粉核 (Pyrenoid)

造粉核位于色素体的中央部分,用普通光学显微镜观察,能见到一个折光性较强的圆形球体。电镜显示,造粉核是位于色素体基质中的电子致密体,大小约3微米左右(图版 II, B, D, 6)。主要部分是细颗粒物质的均质沉积物,虽没有界膜分隔,但造粉核仍能保持它

结构的完整性。类囊体系统的延伸物,有时能穿过造粉核与造粉核混杂一起(图版 II, B, 6)。

6. 脂质体 (Lipid body)

脂质体是分布于细胞质内的漂浮性油脂类物质。在我们所做的切片标本中,除少数壳孢子能见到外,大多数壳孢子都没有观察到。由于标本中的数量不多,还有待于今后进一步研究。电镜显示,它是一种电子密度极为致密的脂质类。图象中显示为浓黑色(图版 II, D, 7)。

7. 红藻淀粉 (Floridean starch)

红藻淀粉是红藻类光合作用的产物,它是一种多醣类,是红藻类特有的贮藏物。通常呈小长粒状游离在细胞质中。电镜显示,壳孢子内似乎只见少量存在,它也是裸露的,大小长约 2700—3400 埃,宽为 900—1800 埃(图版 II, B, C, 8)。

8. 质体小球 (Plastoglobuli)

质体小球是质体中出现的一种物质,在壳孢子的质体基质中,见有电子密度高、无界膜的微形小球体,它的分布,仅限于质体基质之中,大小约 800—2000 埃之间(图版 I, 9; 图版 II, D, E, 9)。

9. 细胞核、核仁 (Nucleus, Nucleoli)

藻类之中,除蓝藻以外均为真核细胞。在紫菜壳孢子的原生质中,具有一个较大的细胞核。用普通光学显微镜观察并不易见到。因为在紫菜细胞中具有一个庞大的星形色素体掩盖着细胞核,观察时需经染色后方能显示。电镜观察壳孢子的细胞核断面,大部分均为卵形或椭圆形。长约 3.3—3.5 微米,宽为 2—2.2 微米。围绕核的表面,是一双层单位膜所包被,内、外层之间有一间隙,即核膜间区,宽约 220 埃左右(图版 II, E, F, 13)。外膜在靠近细胞质的周围,布有核糖核蛋白体微粒(图版 II, E, F, 15)。它在细胞质内也有分布。核膜上还见有核孔(图版 II, F, 12)。细胞核内具有明显的核仁(图版 I, 14),在细胞间期时,核仁是一个圆球形致密而又结实的物质,没有界膜包被,核仁径约 1 微米。整个核的结构,可见图版 I, 10, 11, 14; 图版 II, F, 10, 12 和 E, 13, 所示。

讨 论

1970 年, Lee 和 Fultz 曾发表 *Porphyra leucosticta* 丝状体 (Conchocelis) 超微结构的研究论文^[6]。据他们的观察,“丝状体细胞内色素体界膜和类囊体之间没有见到连接”。“在类囊体上也未发现藻胆体的分布”。“所观察到的细胞核形状很不规则”。此外“发现类囊体之间以及类囊体和造粉核之间布有脂质小滴”。

从我们进行坛紫菜壳孢子基本结构研究所得的结果中发现:

(1) 在色素体界膜和类囊体之间有连接。

(2) 在类囊体上布有许多显而易见的藻胆体颗粒。以上两点,在(图版I,2,图版II,A,3)图象中显示得非常清楚。

(3) 壳孢子的细胞核基本上都呈卵形。核仁是一个坚实的球体。

(4) 脂质体与质体小球,Dodge在藻类细胞的结构^[6]一书中曾提到,“质体小球是在质体中发现的小滴,它们位于基质中,无界膜,并不象细胞质中常见自由漂浮的小脂滴或圆球体。它们的区别,不仅在于质体小球仅限于质体基质之中,而且在化学组成上也有所不同。在组织固定期间,它们吸收相当多的铽,因而电子密度是致密的……,”故有“嗜铽小球”之称。在 Hawkes 研究 *Porphyra gardneri* 的有性生殖论文中^[11] 记有许多质体小球分布在色素体内,并有图象显示。这与 Dodge 的描述是相一致的。我们在壳孢子质体内所观察到小球状的电子致密体,与 Dodge 的描述及 Hawkes 电镜显示的图象也相类似。这种嗜铽性的电子致密体,其分布仅限于质体基质之中。但我们在造粉核与类囊体之间也同样见到这些小球颗粒,这又与 Lee 和 Fultz 所叙述的脂质小滴的部位相一致。我们见到 Lee 和 Fultz 论文^[9] 图 5 的丝状体横切面图象中,在类囊体之间,有和 Dodge 描述的与 Hawkes 电镜显示的图象部位一致的小球颗粒,但名称则截然不同。综上所述,我们参考了 Dodge 和 Hawkes 的文献,根据它们分布的部位、形状大小、嗜铽性及电子密度等几个方面来判断,把仅限于质体基质中的小球体肯定其为质体小球。

(5) 红藻淀粉的数量问题。我们用电镜观察坛紫菜丝状体的材料中发现,在将要成熟的丝状体中,红藻淀粉贮存的数量较多,有些个体也大,而在壳孢子从丝状体放散出来约数小时以后的标本中,红藻淀粉数量则减少很多。红藻淀粉是紫菜光合作用的产物,它是一种多糖类贮藏物质,是提供能源的一个方面。丝状体将成熟阶段需要积累大量有机物,这显然是红藻淀粉数量较多的原因。而当壳孢子放出后,在未附着时作变形运动过程中需要消耗能量;附着后在两极分化中也需要消耗一定的能量,对于多糖类的红藻淀粉来说,无疑是提供能量的源泉。这也许是导致壳孢子红藻淀粉数量减少的原因之一。

参 考 文 献

- [1] 曾呈奎、张德瑞,1955. 紫菜的研究 II,甘紫菜的丝状体阶段及其壳孢子。植物学报,4(1):27—46。
- [2] 张德瑞、郑宝福,1960. 福建紫菜一新种坛紫菜。植物学报 9(1):32—36,图版 I—V。
- [3] 郑柏林、王筱庆,1962. 海藻学,农业出版社。
- [4] 中国科学院动物研究所细胞研究室,1978. 细胞。科学出版社。
- [5] Firlitsch, F. E., 1945. The structure and reproduction of the algae. II. Combridge Univ.
- [6] Lee and Fultz, 1970. Ultrastructure of the conchocelis stage of the marine red alga *Porphyra leucosticta*. *J. Phycol.* 6: 22—28.
- [7] Kazama, F., and M. S. Fuller, 1970. Ultrastructure of *Porphyra* infected with *Pythium marinum*, a marine fungus. *Can. J. Bot.* 48: 2103—2107.
- [8] Ambrose, E. J., and Easty, D. E., 1970. Cell biology. Thomas Nelson and son Ltd.
- [9] Dodge, J. D., 1973. The fine structure of algae cell. London. Academic Press.
- [10] Gunning and Steer, 1975. Ultrastructure and the biology of plant cells. Edward Arnold.
- [11] Hawkes, M. W., 1978. Sexual reproduction in *Porphyra gardneri* (Smith et Hollenberg) *Phycologia*. 17(3): 329—353.

A STUDY ON ULTRASTRUCTURE IN CONCHOSPORES OF *PORPHYRA HAITANENSIS*

Zhu Jiayan and Ma Jiahai

(Shanghai Fisheries College)

Jiang Huxiang

(Nanjing University)

Abstract

The Ultrastructure in conchospores of *Porphyra haitanensis* has been observed under electronic microscope. Each conchospore is bounded by a thin layer of protoplasmic membrane.

Within the cytoplasm there is a single stellate chloroplast. There are fusions between the chloroplast envelope and plastid stroma. Thylakoids are separated from one another by intervening layers of stroma. Granules of protein-pigment complexes (phycobilisomes) are orderly arranged on the surface of the thylakoids.

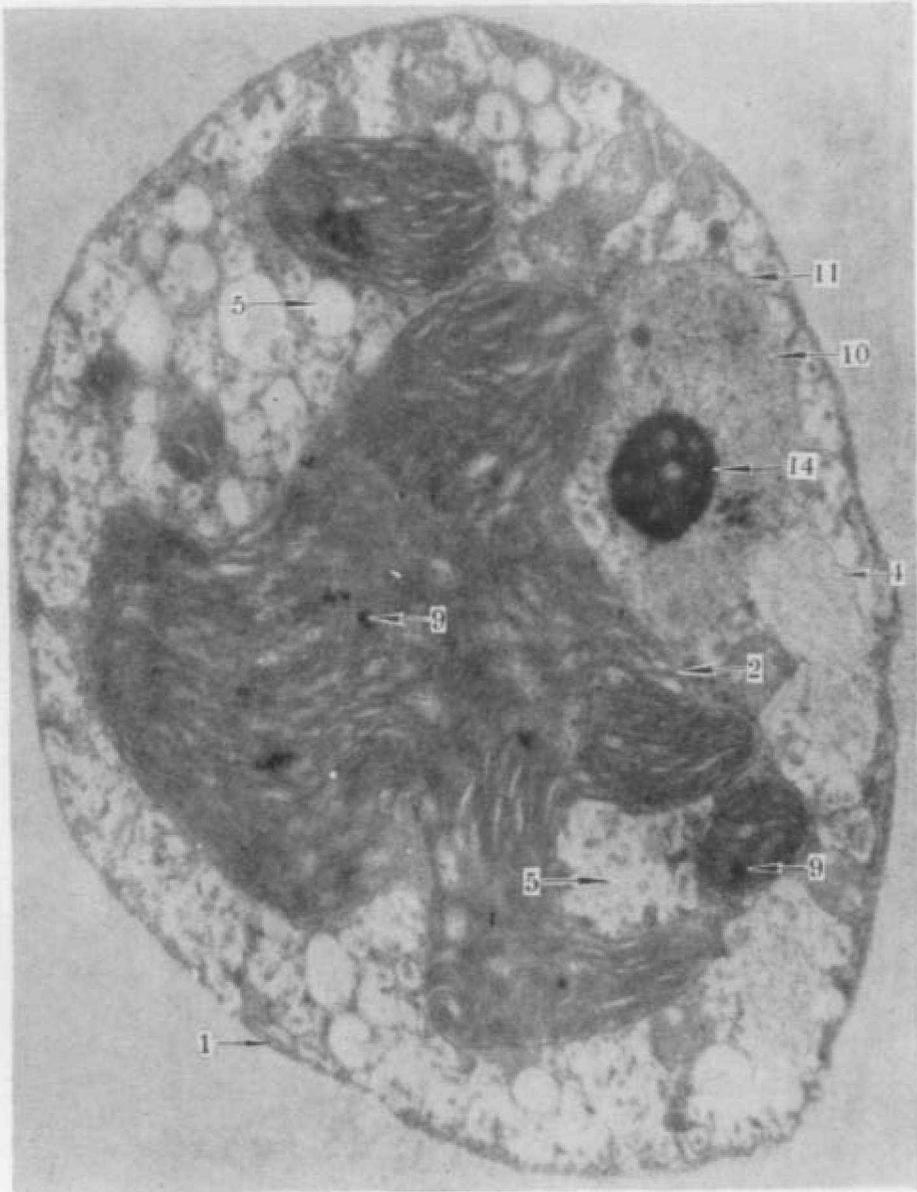
Pyrenoid is an electron dense body in the chloroplast stroma, sometimes, but not always, it is traversed by derivatives of the thylakoid system.

Grains of polysaccharide reserved material,——floridean starch, scatter freely in the cytoplasm.

Plastoglobuli can only be found in the stroma of plastids.

Only a few lipid bodies are present in the cytoplasm.

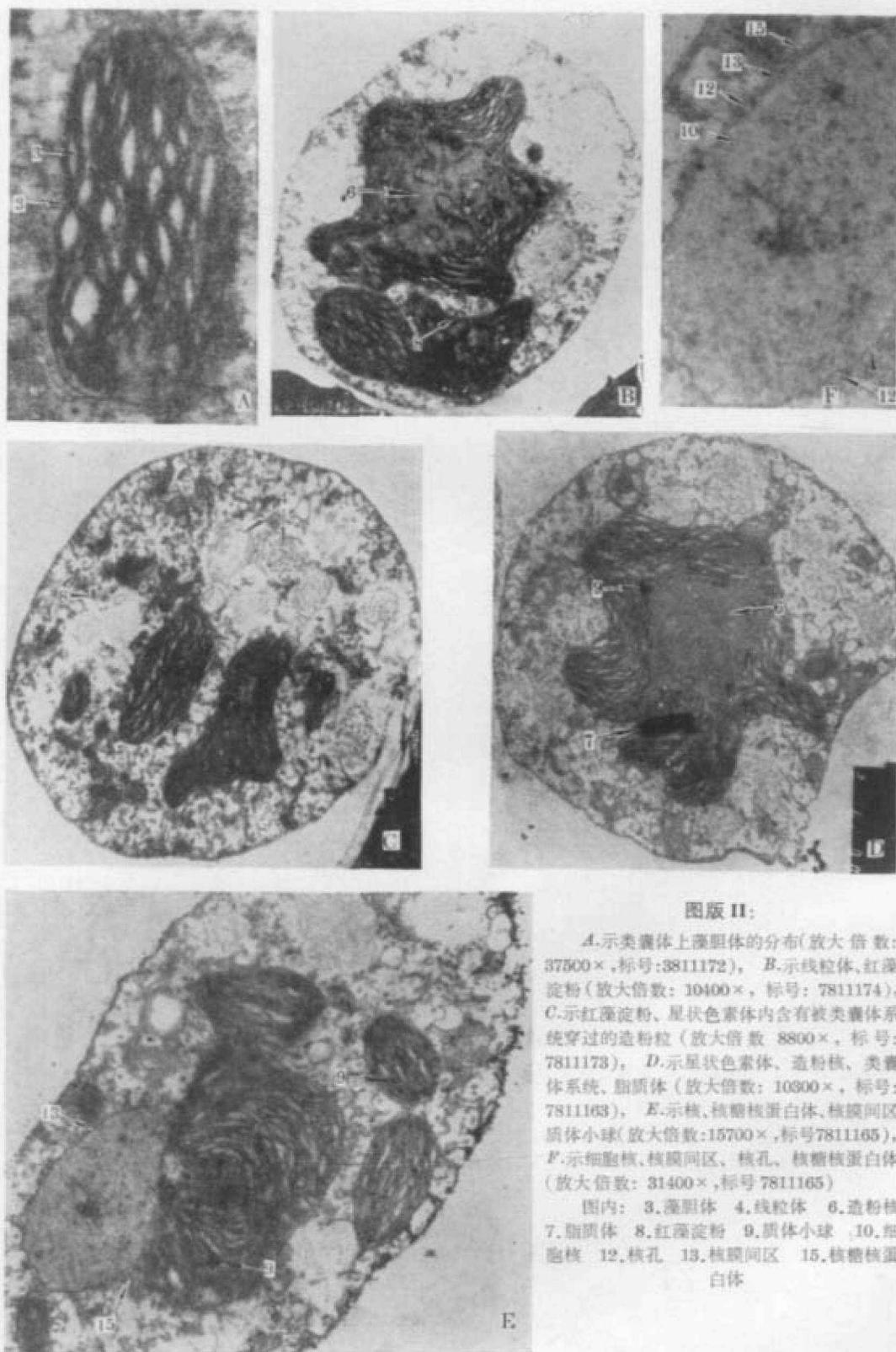
The nucleus is egg-shaped and contains a single spherical nucleolus. There are nuclear pores distributed on the nuclear membrane. Other materials, such as vacuoles, ribosomes and mitochondria are also observed in the cytoplasm.



图版 I 坛紫菜壳孢子的超薄切片(放大倍数: 19700 \times , 标号: 7811166)

图版 I、II 注:

1. 质膜 2. 质体基质与色素体界膜连接处 3. 深明体 4. 线粒体 5. 液泡 6. 造粒核 7. 胆质体 8. 红藻淀粉 9. 质体小球 10. 细胞核 11. 核膜 12. 核孔 13. 核膜间区 14. 核仁



图版 II:

A. 示类囊体上藻胆体的分布(放大倍数: 37500×, 标号: 3811172), B. 示线粒体、红藻淀粉(放大倍数: 10400×, 标号: 7811174), C. 示红藻淀粉、星状色素体内含有被类囊体系统穿过的淀粉粒(放大倍数: 8800×, 标号: 7811173), D. 示星状色素体、淀粉核、类囊体系统、脂滴体(放大倍数: 10900×, 标号: 7811163), E. 示核、核糖核蛋白体、核膜间区质体小球(放大倍数: 15700×, 标号: 7811165), F. 示细胞核、核膜间区、核孔、核糖核蛋白体(放大倍数: 31400×, 标号: 7811165)

图内: 3. 藻胆体 4. 线粒体 6. 淀粉核 7. 脂滴体 8. 红藻淀粉 9. 质体小球 10. 细胞核 12. 核孔 13. 核膜间区 15. 核糖核蛋白体