

坛紫菜自由丝状体细胞 超微结构的初步研究

朱家彦 马家海*

(上海水产学院)

蒋虎祥

(南京大学)

提 要

本文介绍了用扫描电镜和透射电镜对坛紫菜自由丝状体细胞观察的结果。发现在坛紫菜自由丝状体的膨大藻丝细胞外壁上具有脊突；在丝状藻丝及膨大藻丝细胞的间壁上，存在着孔状联系。在坛紫菜自由丝状体的细胞质中，清晰地观察到内质网结构；这些内质网多分布于细胞核的周围，有些地方并与核膜连接，在细胞膜的附近也能观察到内质网的存在。在细胞核中可以看到双层核膜，在双层核膜之间是一核膜间区，核膜上具有核孔，此外还可见到核仁和浓聚深色的染色质。

对紫菜丝状体研究已有三十多年历史，1949年英国藻类学家德鲁(Drew)首先发现，穿孔钻入贝壳的一种“藻类”，正是紫菜果孢子萌发的丝状体，接着他从形态上阐明了紫菜的生活史。继德鲁的初步研究之后，有许多藻类学家对各种紫菜的贝壳丝状体作了进一步研究与描述，例如Kurogi(1953)、曾呈奎等(1955)、Graves(1955)、Hollenberg(1958)、Iwasaki(1961)、Kornmann(1961)、Miura(1961)、Fukuhara(1968)、Chen L. C等(1970)、Bird等(1972)，他们的研究还涉及到分类、生理及生态条件等各个方面。曾呈奎等(1955)，曾在甘紫菜成熟的膨大细胞分枝的细胞间壁上发现孔状联系^[1]。Lee和Fultz(1970)，用透射电镜对灰白紫菜(*Porphyra leucosticta*)的丝状体作了超微结构的研究，对孔状联系进行了测量与描述^[16]。Cole(1972)用电镜观察了北美西部沿海三种紫菜丝状体，并记述了营养细胞和膨大藻丝细胞壁的结构，描述了造粉核和“栓子”状的孔状联系等特征^[17]。Cole(1975)、Conway等(1977)，用透射电镜和扫描电镜对紫菜丝状体结构及生殖方面进行研究时^[18,20]，提到了在紫菜壳孢子囊分枝细胞的外壁具有较厚的脊突。

关于藻类内质网的研究已有一些报道，Bold和Wynne(1978)^[22]，将*Chlamydomonas eugametos*的单细胞体的电镜观察结果，综合绘制成线条图，提到了内质网的存在。他们还提到了褐藻的色素体内质网(CER)。并根据Gibbs(1962)、Boucek(1965)和Dodge(1973)的资料，用线条图表示色素体内质网结构。他们认为这种结构如果出现，可向核膜外延伸，甚至围绕色素体及造粉核^[22]。但是在紫菜细胞方面，在我们收集到的资料中，尚未见到有关内质网的报道。我们在研究紫菜壳孢子的过程中，也未观察到内质网结构。

* 马家海同志参加了细胞壁扫描及部分孔状联系的研究工作。

我们自一九七八年以来,对坛紫菜丝状体进行了超微结构的研究。发现在坛紫菜自由丝状体膨大藻丝的细胞壁上具有脊突,在藻丝细胞之间的间壁上存在着一种细胞壁的特化物结构——孔状联系。在坛紫菜自由丝状体膨大细胞中,还观察到存在着内质网。这种内质网,在膨大藻丝分枝细胞的纵向和横向切片中都能清晰见到。此外,我们还对坛紫菜自由丝状体核间期的形态进行了观察,可以看到双层核膜及它们之间的核膜间区、核孔,以及核仁等。

材料与方 法

观察的材料是室内培养的坛紫菜的自由丝状体。其标本的制备方法如下:

1. 扫描电镜观察的标本制备方法:

(1) 苧烯法 标本经 3.8%戊二醛中固定后,用 0.1M、pH 为 7.2—7.4 的磷酸缓冲液和蒸馏水冲洗,超声波处理 10 分钟,用丙酮逐级脱水,然后在苯内 10 分钟及苯加环氧丙烷加苧烯过渡。最后在苧烯中浸 20 分钟。标本取出后置于 24—48 °C 的低真空中干燥。然后将标本贴于涂有银导电胶的铜支持板上,待其干燥后再放在真空喷涂仪中喷涂。喷涂层厚度为 200 埃左右。

(2) 空气干燥法 材料经常规的刷洗、固定、脱水,然后喷镀金属。

2. 透射电镜观察的标本制备方法:

用海水与 0.1 M 的磷酸盐缓冲液配制成 20%的多聚甲醛和 2.5%戊二醛混合固定液(pH 7.4)固定标本。用 0.1M 的磷酸缓冲液(pH 7.4)进行漂洗。用 1%锇酸进行第二次固定,再用磷酸缓冲液漂洗。然后进行酒精上行脱水,再进入环氧丙烷脱水,分别用“Epon812”、“600”两种环氧树脂包埋介质浸透。两种包埋介质中加入适量 2.4.6 三(二甲氨基甲基)苯酚,搅匀后吸入胶囊内,再把材料投入胶囊中置于烘箱内烘干。超薄切片后先用醋酸铀染色 30 分钟,再用柠檬酸铅染色 30 分钟。染色后用透射电镜观察并摄影。

观 察 结 果

1. 坛紫菜自由丝状体的细胞壁:

(1) 外壁的脊突 用苧烯干燥法和空气干燥法处理所得到的扫描电镜摄影图像,其结果是相似的。在坛紫菜自由丝状体膨大藻丝细胞的外壁上可以清晰地看到脊突的存在。随着膨大藻丝的日益成熟,其外壁脊突的数量明显增加,从图 1 的 A、B、C 图像中可以清楚地观察到脊突的特征,特别在 C 图中膨大藻丝顶端细胞有密集而起伏不平的脊突。膨大藻丝的纵切面,在透射电镜下观察,则脊突呈现为许多凹凸不平的现象,其凸出部分,即为脊突。从图 1 的 D 图中,可见有坛紫菜自由丝状体膨大藻丝细胞凹凸不平的外壁。

(2) 细胞间壁的孔状联系 在透射电镜下,可以清晰地观察到,在坛紫菜丝状藻丝或

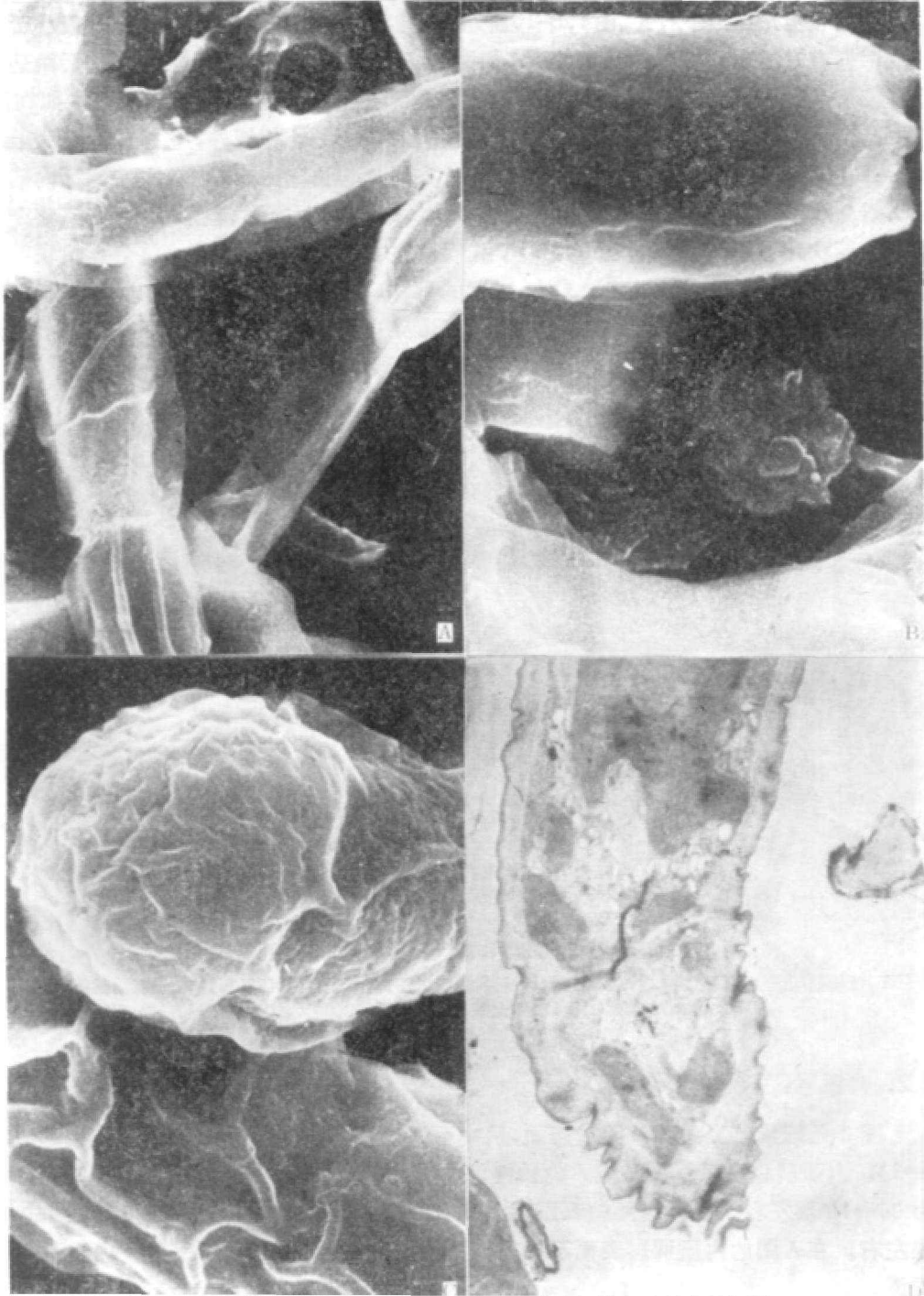


图1 坛紫菜自由丝状体膨大藻丝的扫描和透射电镜照片

A, B, C: 用扫描电镜观察到的细胞外壁, 示脊突的存在; D: 透射电镜观察的坛紫菜自由丝状体的纵切面, 细胞壁周围凹凸不平处为脊突切面。

膨大藻丝中,细胞与细胞之间存在着孔状联系,其形状是多种多样的,但基本上呈一个两端内陷的长方形(如图2,A、图4,B-15所示)。孔状联系沿藻丝的纵向长度一般小于横向长度,但有时纵向和横向的长度接近(如图2,B所示),它左右两面内陷,前后两边比较平直或呈半圆形,但是整个孔状联系在保持基本形态的情况下,似有许多变化,如在图2,C中孔状联系近似方形,除左右两边的内陷与图2的A、B相似外,它的前后稍为鼓出成盾形;在图2,D中,孔状联系近似狭窄的长方形,其长宽比近4:1,左右两面内陷的情况与图2的A、B、C中相似;在图3,A中,孔状联系基本呈方形,但形状很特殊,整个孔状联系的形状几乎呈“X”形;在图3,B中,孔状联左右两边内陷成尖角,整个孔状联系近似卵圆形。孔状联系的位置,正如 Cole 描述的那样,好象镶嵌在丝状体细胞与细胞之间的间壁中央的一个“栓子”。我们观察与测量坛紫菜自由丝状体孔状联系的左右长度,最小为0.4微米(图2,A、C),最大为1.1微米(图3,B图)。



图2 坛紫菜丝状藻丝和膨大藻丝细胞间壁的孔状联系

A. 丝状藻丝纵切面[12000×,80420(1)];B. 丝状藻丝纵切面[6250×,80422(1)];C. 丝状藻丝的纵切面[5000×,80422(2)];D. 膨大藻丝的纵切面[13000×,80420(12)]。

2. 内质网:

图4是坛紫菜膨大藻丝的横切面,从中可观察到细胞核周围具有明显的内质网(图4A-1)。内质网膜由双层膜组成。内质网的内膜(图4,A-2)与外膜(图4,A-3)厚度相似,为60—70埃左右。在内质网的双层膜之间有一间区(图4,A-4)。其宽度约在150—220埃左右。在A图的内质网膜表面不附有核糖核蛋白体颗粒,它属于平滑型内质网(SER)类型。

图4,B是坛紫菜膨大藻丝分枝细胞的纵切面,可观察到内质网除分布于核外围(图4,B-1)外,还可见分布于细胞周围的胞质中,靠近细胞的质膜(图4,B-2)。在内质网的双层膜与细胞核的双层膜之间连接(图4,B-3)。在内质网的类型方面,除了可见有平滑



图3 坛紫菜自由丝状体膨大藻丝细胞间壁的孔状联系

A. 膨大藻丝的纵切面[18500 \times ,78111(14)];

B. 膨大藻丝的纵切面[20000 \times ,78111(12)]。

型内质网(SER)外,尚可见有少量的附有核糖核蛋白体颗粒的粗糙型内质网(RER),见图4,B-4)。

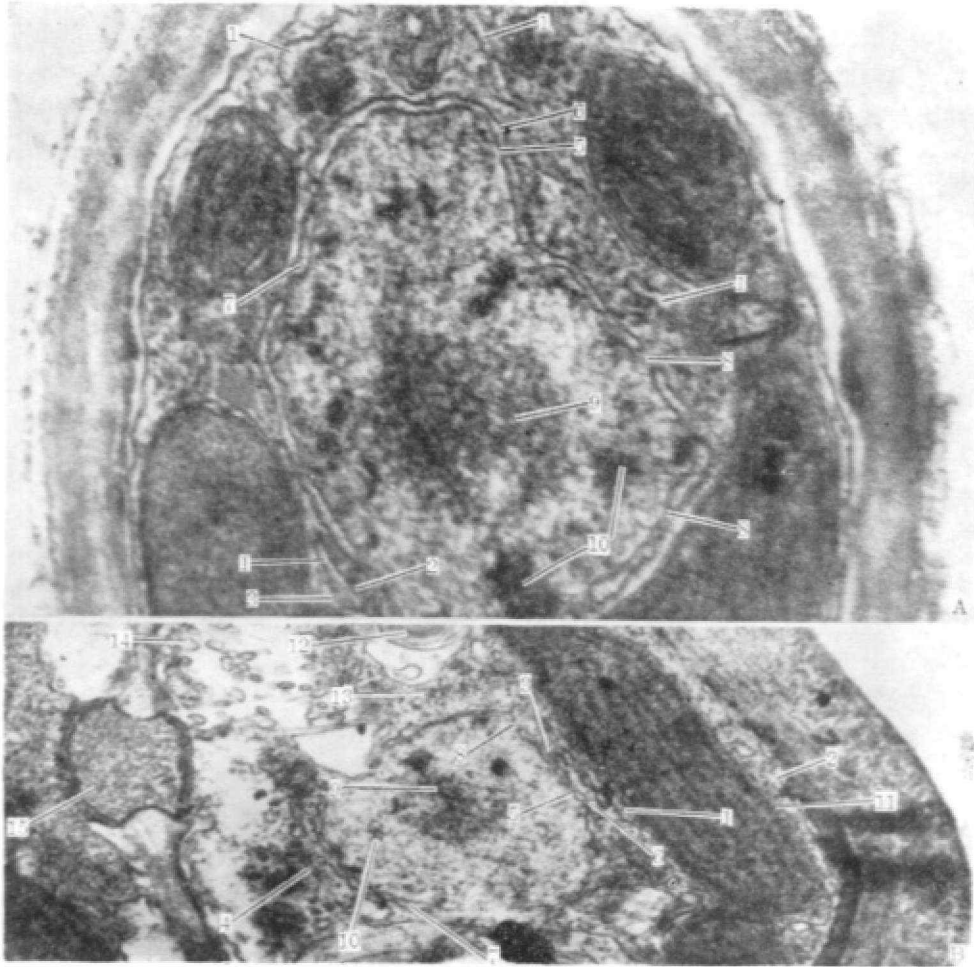


图4 坛紫菜自由丝状体膨大细胞切片的电镜照片

A. 横切面[67500×,80422(1)]; B. 纵切面[22500×;80498(1)]

图内:1.内质网;2.内质网内膜;3.内质网外膜;4.内质网间区;5.核内膜;6.核外膜;7.核膜间区;8.核孔;
9.核仁;10.染色质;11.藻胆体;12.劳马体;13.核糖核蛋白体;14.红藻淀粉;15.孔状联系。

3. 细胞核:

在细胞核方面,从以上纵切和横切两个切片的图像中,都可见到细胞核具有内、外双层核膜(图4,A-5,6;B,5-6)。在双层核膜之间有一核膜间区(图4,A-7;B-7)。在核膜上还具有核孔(图4,A-8;B-8)。在细胞核中有一核仁(图4,A-9;B-9)。在核内尚可见有浓聚深色的染色质(图4,A-10、B-10)。

另外,在整个细胞的图像中还显示出其它结构如:色素体,在色素体的类囊体表面还附有藻胆体(图4,B-11)。劳马体(图4,B-12)。核糖核蛋白体(图4,B-13)。红藻淀粉(图4,B-14)等。

讨 论

1. 用扫描电镜和透射电镜对坛紫菜自由丝状体膨大藻丝细胞外壁进行观察,都可见到在有些丝状体中存在着明显的脊突。扫描电镜具有焦深大、视野广易于显示立体结构等优点,但因受标本制作技术的限制,我们还未对各种标本制作方法尤其还未应用临界点干燥法进行深入细致的研究,这有待于今后继续进行。

2. 孔状联系是细胞壁的特化物。在藻类分类学上它是区别红毛菜纲 *Bangiophyceae* 与红藻纲 *Florideophyceae* 之间一个很重要的特征。红毛菜纲藻类细胞之间并无孔状联系,而在红藻纲藻类的细胞之间明显地存在着孔状联系,这是以往多年来确认的。曾呈奎等(1955)曾经报道了甘紫菜成熟的膨大细胞分枝具有显著的孔状联系。Leo和Fultz(1970)曾在灰白紫菜 *Porphyra leucosticta* 丝状体超微结构的研究一文中也描述过并测量了细胞间的孔状联系,其宽度大小约在0.5—1.0微米之间^[46]。以其宽度两面含有缺刻作为特色。Cole(1972)对北美西部沿海的紫菜研究中也描述过似“栓子”状的孔状联系。我们在坛紫菜自由丝状体细胞中观察到,孔状联系左右的长度在0.4—1.1微米之间,较Lee和Fultz的测量结果略大。孔状联系是在细胞分裂过程中,母细胞的细胞壁内缢而形成的间壁上的一种特化物。这一特征,是代表着比较高级进化的藻类所特有的,在紫菜科这种较原始的藻类生活史中的某一阶段中出现,这意味着紫菜丝状体比其叶状体具有更加高级进化的一面。

3. 我们用坛紫菜膨大藻丝阶段的材料,通过制作包埋、超薄切片、染色以及透射电镜观察摄影等手段,发现在其细胞内存在着内质网这个重要细胞器。内质网分布在细胞的内质,即细胞核的周围;也分布在细胞的外质,靠近细胞的质膜。内质网膜与细胞核膜连接。内质网的类型有平滑型内质网和粗糙型内质网两种。处在分裂间期的坛紫菜丝状体细胞核的形状,不象壳孢子细胞核那样呈椭圆形^[4],其形状不甚规则。双层核膜、核膜间区、核孔、核仁及核液内的染色质均能见到。

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。
- [3] 郑柏林、王筱庆,1962。海藻学,农业出版社。
- [4] 中国科学院北京植物研究所五室细胞组编译,1977。植物细胞。科学出版社。
- [5] 中国科学院动物研究所细胞研究室,1978。细胞。科学出版社。
- [6] 高天祥等,1979。苡烯干燥法、扫描电子显微镜医学生物学样品制备技术。中华物理医学杂志,1:24—25。
- [7] 哈尔滨医科大学,1978。生物学。人民卫生出版社。
- [8] 朱家彦、马家海、蒋虎祥,1980。坛紫菜壳孢子超微结构的研究。水产学报4(2):135—140。
- [9] Graves, J. M., 1955. Life-Cycle of *porphyra capensis* Kütz. *Nature, Lond.*, 175. 393—395.
- [10] Hollenberg, G. J., 1958. Culture studies of marine algae, III *Porphyra Perfurata*, *Am. J. Bot* 45: 653—656.
- [11] Iwasaki, H., 1961. Life Cycle of *porphyra tenera* in Vitro. *Biol. Bull. Mar. Biol. Lab* 121. 173—187. Woods Hole.
- [12] Kornmann, p., 1961. Zurkenntnis der *Porphyra* artenvon Helgoland. *Helgo. Wissenschaft meeresunter*, 8: 176—192.

- [13] Miura, A., 1961. A new Species of *porphyra* (*P. tenuipedalis* nov. sp.) and its Conchocelis Phase in nature. *J. Tokyo Univ. Fish.*, 47: 305—311.
- [14] Fukuhara, E., 1968. studies on the taxonomy and ecology of *Porphyra* of Hokkaido and its adjacent waters. *Bull. Hokkaido Fish Res. Lab.*, 34: 40—99.
- [15] Chen, L. C-M., Edelstein, T., Ogata, E. & McLachlan, J., 1970. Life-history of *porphyra minima*. *Can. J. Bot.*, 48: 385—389.
- [16] Lee and Fultz, 1970. Ultrastructure of the conchocelis stage of the marine red alga *porphyra leu costicta*. *J. phycol.*, 6: 22—28.
- [17] Cole, K., 1972. Some electron microscopic observations on the conchocelis phase of *porphyra* spp. In: *Contributions to the Systematics of Benthic Marinealgae of the North Pacific* (Ed. by Abbott, I. A. & M. Kurogi), *Jap. soc. phycol.* 157—166.
- [18] Bird, C. J., Chen, L. C-M. & McLachlan, J., 1972. The culture of *porphyra linearis* (Bangiales, Rhodophyceae). *Can. J. Bot.*, 50: 1859—1863.
- [19] Cole, K. & Conway, E., 1975. Phenetic implications of structural features of the perennating phase in the life-history of *porphyra* and *Bangia* (Bangiophyceae, Rhodophyta). *Phycologia*, 14: 239—245.
- [20] Conway, E. and Cole, K., 1977. Studies in the Bangiceae: Structure and reproduction of the Conchocelis of *Porphyra* and *Bangia* in Culture (Bangiales, Rhodophyceae). *Phycologia*, 16(2): 205—216.
- [21] Ambrose, E. J., and Easty, D. E., 1970. Cell biology. Thomas Nelson and Son Ltd.
- [22] Bold, H. C. and M. J. Wynne, 1978. Introduction to the algae. Prentice-Hall, Inc, Englewood cliffs. New Jersey 07632. Printed in the United States of America.

OBSERVATION ON THE ULTRASTRUCTURE OF FREE-LIVING FILAMENT CELLS OF *PORPHYRA HAITANENSIS*

Zhu Jiayan and Ma Jiahai

(Shanghai Fisheries College)

Jiang Huxiang

(Nanjing University)

Abstract

This paper presents the ultrastructure of free-living filament cells of *Porphyra haitanensis* which were observed by scanning and perspective electronic microscope. There were clearly a number of ridges on the outside walls of free-living filament cells and a pit-connection in the inner wall between two neighbouring cells. In the cytoplasm, there are two types of endoplasmic reticulations: the rough endoplasmic reticulation (RER) and the smooth endoplasmic reticulation (SER). They are distributed around the nucleus and near the cytoplasm membrane. It can be seen obviously that connected endoplasmic reticulations with the nuclear membrane. The nucleus is not always elliptical in intermittent fission stage but irregular. There are some pores on the nuclear membrane. The thylakoids, phycobilisomes, rimosomes, floridean starch and ribosome were also observed.