

条斑紫菜自由丝状体的形态结构观察

周文君, 李 赞, 戴继勋

(中国海洋大学, 教育部海水养殖重点实验室, 山东 青岛 266003)

摘要:以光镜和电镜观察条斑紫菜(*Porphyra yezoensis*)自由丝状体生长过程中,从营养藻丝、壳孢子囊枝到成熟的壳孢子囊枝细胞形态结构的变化,结果表明,光镜下自由丝状体在生长过程中细胞外部形态、色素体位置和颜色均发生变化;电镜观察显示了3个不同时期细胞的超微结构,主要包括细胞壁、细胞核、色素体、类囊体、内质网、蛋白核、线粒体、液泡、红藻淀粉和质体小球等。在自由丝状体的生长过程中细胞超微结构的主要变化为细胞壁增厚并产生脊突;色素体数量减少、分布位置从连续排列在细胞两侧到分散排列在细胞边缘,并且在类囊体膜之间出现空隙;红藻淀粉量增多并充满细胞间质。对这些变化与自由丝状体生长环境温度、光照强度和光照时间发生变化之间的关系进行探讨,综合分析认为,条斑紫菜自由丝状体在生长过程中,生长环境经由夏季高温、光照时间长、光照强度高到秋季温度下降、光照时间短、光照强度下降的变化,丝状体细胞发生细胞壁增厚、疏松,色素体数量减少,内质网面积增加,液泡、线粒体数量增多,红藻淀粉量大大增加等结构的变化。[中国水产科学, 2006, 13(2): 217-223]

关键词:条斑紫菜;自由丝状体;超微结构

中图分类号:S917.3 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-8737-(2006)02-0217-07

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,在中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,叶状体主要在冬春季,而丝状体则要经历从春末夏初叶状体放散果孢子,果孢子钻入贝壳萌发成丝状体以度过整个夏天,在丝状体发育阶段按形态可分为营养藻丝、壳孢子囊枝和成熟的壳孢子囊枝3个阶段。到秋末海水温度达到一定时放散壳孢子,继而长成新的叶状体。有关紫菜丝状体超微结构的研究, Püschel 和 Cole^[1]对紫菜 *Porphyra variegata* 果孢子的萌发直至形成丝状体进行了比较系统的研究。Conway 和 Cole^[2]对紫菜 *Porphyra* 和红毛藻 *Bangia* 丝状体的形成至发育成壳孢子这一过程进行了光镜和扫描电镜的观察。Hawkes^[8]对紫菜 *Porphyra gardneri* 的有性生殖进行了电镜观察。朱家彦等^[3-4]分别对坛紫菜(*Porphyra haitanensis*)壳孢子和自由丝状体的超微结构进行了观察。Sheath 等^[5]对紫菜 *Porphyra leucosticta* 的丝状体在弱光和黑暗条件下超微结构

变化作了研究。对于条斑紫菜自由丝状体的超微结构,沈颂东等^[6]仅对孔状连接、色素体和液泡等的变化作了初步的描述。目前关于紫菜超微结构的研究还只是观察内部细胞器以及细胞结构,尚未使用陆生植物^[9-11]采用的 Ca^{2+} 水平细胞化学和透射电镜结合的方法来观察研究超微结构变化的具体位置,若将这些方法运用于紫菜方面的研究,必将会积累更多丝状体细胞超微结构的资料。

丝状体是紫菜生活史中的重要阶段,开展对丝状体细胞学观察,了解丝状体发育过程中的细胞学变化,比较不同发育阶段丝状体的光镜形态和超微结构特征,对于条斑紫菜苗种培育以及条斑紫菜遗传改良具有重要意义。本研究借助光镜和电镜技术对条斑紫菜自由丝状体生长过程中的细胞壁、红藻淀粉、线粒体和内质网的结构变化以及与环境变化和生长发育阶段变化的关系进行探讨。

1 材料与方法

1.1 材料

条斑紫菜成熟叶状体采自青岛红岛,清洗干净

收稿日期:2005-06-11; 修订日期:2005-08-29.

基金项目:国家“863”计划资助项目(2002AA603023).

作者简介:周文君(1979-),女,硕士研究生,主要研究方向为藻类生物学. E-mail:zhouwenjun1999@yahoo.com.cn

通讯作者:李 赞. E-mail:szsdlw@ouc.edu.cn

后在15℃温度下放散果孢子,经20 d培养即成为肉眼可见的红色丝状体。丝状体培养于25℃恒温培养箱中,光强 $15\mu\text{mol}/(\text{m}^2\cdot\text{s})$,光周期14 L:10 D。培养初期,每10天取出一部分自由丝状体用光镜观察生长情况。培养80 d看到丝状体开始膨大后,继续培养于25℃下,光强不变,光周期改为10 L:14 D。在短日照下,丝状体各营养藻丝顶端膨大,呈圆形,以后便形成串珠状壳孢子囊枝。

1.2 方法

1.2.1 电镜观察 取光镜观察到营养藻丝、壳孢子囊枝和成熟的壳孢子囊枝阶段的自由丝状体用4%戊二醛固定,离心去除戊二醛后以2%锇酸再固定。经梯度乙醇脱水,环氧树脂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。

1.2.2 光镜观察 从丝状体培养生长开始,每10天取新鲜丝状体进行常规压片制片,用OlympusBH-2型显微镜进行活体观察并拍照记录,观察到壳孢子囊枝和成熟的壳孢子囊枝的同时取样固定以备进行电镜观察。

2 结果

2.1 营养藻丝的超微结构

在电镜下,营养藻丝细胞的横切面(图版I-1)和纵切面(图版I-2)均显示细胞壁致密的双层结构,外层是果胶层,内层是纤维层。在横切面上,色素体形似马蹄状,类囊体膜形成一个至多个靶环状结构。纵切面上细胞膜与细胞壁相连,紧靠细胞膜沿纵轴方向连续排列多个色素体,色素体内部结构相同,均由多层类囊体膜平行垛叠而成。在类囊体中央有一个无淀粉鞘的蛋白核,被类囊体从中间穿过,在类囊体膜上附有质体小球。细胞核被挤至营养藻丝中央,细胞核周围有内质网等结构。

2.2 壳孢子囊枝的超微结构

如图版I-3所示,壳孢子囊枝细胞的细胞壁增厚,细胞长度缩短开始膨大呈长方形。液泡数量增多,占据空间增大,将色素体挤至细胞的一端,但仍然紧靠细胞膜连续排列在细胞两侧,色素体随细胞长度的缩短所占面积减少。内质网面积增大。

2.3 成熟的壳孢子囊枝的超微结构

成熟的壳孢子囊枝细胞呈圆形,细胞壁与壳孢子囊枝时相比增厚,致密的双层结构变得疏松,并且

细胞壁的外侧形成凹凸不平的脊突。色素体数量减少,类囊体膜的面积减小,被大量出现的红藻淀粉分割开而失去连续排列的结构,分散在细胞边缘和细胞内。线粒体、内质网的数量增多(图版I-4,5)。细胞的液泡增大明显占据细胞中间的大部分空间,有分散分布的类囊体膜的同心片层结构较前阶段疏散,片层间发生分裂可见到空隙(图版I-6)。本研究重点观察自由丝状体细胞生长过程中不同时期各细胞器形态的变化,因此未选用有孔状联系(Pit connection)的电镜图片进行说明。

2.4 光镜下的形态结构变化

营养藻丝细胞细长、均匀,星状色素体位于藻体中央,色素体呈红色(图版II-1,2)。在壳孢子囊枝阶段细胞长度发生变化,长度缩短,细胞呈矩形,色素体位置不变,颜色加深成为褐色(图版II-3)。到了成熟的壳孢子囊枝阶段,细胞呈念珠状排列,明显可见细胞中液泡占有大部分空间,色素体被挤分散排列到细胞的边缘,颜色加深(图版II-4)。

3 讨论

3.1 自由丝状体外部形态变化

丝状体是紫菜生活史中的重要阶段,开展对丝状体细胞学观察,了解丝状体发育过程中的细胞学变化,比较不同发育阶段丝状体的光镜形态和超微结构特征,这对于条斑紫菜苗种培育以及条斑紫菜遗传改良具有重要意义。本研究借助光镜和电镜技术对条斑紫菜自由丝状体生长过程中细胞壁、红藻淀粉、线粒体和内质网的结构变化以及与环境变化、生长发育阶段的变化关系进行探讨。同时结合光镜和电镜技术对各个发育阶段自由丝状体的观察,结果表明,条斑紫菜自由丝状体的外部形态随着生长发育的进行,其细胞形态由均匀、细长逐渐缩短膨大为圆形,细胞色素体的颜色由红色逐渐变为褐色。在电镜下,各阶段细胞的细胞壁、色素体、内质网、线粒体、红藻淀粉等均发生一系列的变化。

3.2 自由丝状体细胞壁结构特征性变化

自由丝状体各个发育阶段细胞壁结构存在着明显的特征性变化。本研究观察发现,随着自由丝状体的生长,细胞壁逐渐增厚,细胞壁特有的双层结构由致密变得疏松,并且在成熟的壳孢子囊枝阶段细胞外壁出现脊突而凹凸不平。这与朱家彦等^[4]和沈颂东等^[6]的观察结果相同。细胞壁是细胞外层具有保护功能的结构,在丝状体生长的光照时间长、

光照强度高的夏季,细胞的色素体数量多、类囊体面积大,有利于光合作用的进行,将碳水化合物转化为多糖的有机物,可能合成纤维素等物质使得细胞壁增厚,以防止高温季节外界物质和生物的人侵,为细胞内含物合成提供稳定的内部环境,同时可控制内含物的丢失。庄惠如等^[7]对雨生红球藻不动孢子厚壁研究认为,这种特化结构是为了抵抗不良的环境。本研究与其有相似之处,条斑紫菜自由丝状体细胞壁的增厚可能与紫菜夏季生长时的高温环境有关,需要耐高温的外壁结构;而到了后期成熟的壳孢子囊枝细胞,细胞壁失去原有的致密结构变得疏松,细胞壁的这种变化可能与双层结构中各层成分的比例发生变化有关。壳孢子囊枝细胞在秋季光照时间缩短、光照强度下降而色素体减少类囊体面积减小,从而光合作用下降,合成的有机物少从而使支持细胞形状的纤维素比例减少,转化为具有不定型的果胶质的比例增大,这样有利于细胞因内含物增多而膨大,细胞壁的这种疏松的变化很可能为成熟壳孢子囊枝细胞即将突破细胞壁的束缚放散壳孢子做准备。

3.3 自由丝状体色素体及红藻淀粉的变化

自由丝状体生长过程中色素体的数量、排列以及红藻淀粉的数量都发生明显的变化。在营养藻丝阶段的色素体紧贴细胞膜沿纵轴呈连续排列,类囊体面积大,而到了成熟的壳孢子囊枝阶段色素体则呈块状不连续分布于细胞边缘,其间充满了大量的红藻淀粉,类囊体膜面积减少,在有些成熟的壳孢子囊枝细胞中类囊体膜之间发生分裂可见到空隙,并且在色素体减少、红藻淀粉增多的同时,内质网面积增大、线粒体数量增加、液泡数量增多体积增大。在夏季生长阶段光照时间长、光照强度高,营养藻丝阶段内大面积类囊体膜有利增大光合作用,将碳水化合物转化为多糖,成为红藻淀粉。红藻淀粉是光合作用产生的多糖类物质,是红藻类特有的储藏物,由此为自由丝状体的生长发育积累充足的能量和有机物。而条斑紫菜自由丝状体生长后期到了秋季,光照时间缩短、光照强度下降,成熟的壳孢子囊枝细胞的色素体数量减少及类囊体的面积减小,说明此阶段光合作用合成、有机物储存能量的功能减弱。陈由强^[9-10]、谢潮添^[11]等研究低温条件下类囊体膜疏松排列不规则,王冬梅^[12]研究表明高温条件下叶绿体膨大变形,类囊体片层松散、排列紊乱,从而证明叶绿体及类囊体的形态

结构与温度有密切关系。线粒体是呼吸代谢的主要场所,内质网是细胞内重要的运输和储藏系统,液泡执行着细胞与环境间气体和养分交换的重要生理职能。这些功能结构数量的增多,证明在成熟的壳孢子囊阶段细胞的代谢耗能增加。这种由于环境温度下降、光照时间缩短、光照强度减弱的变化使细胞功能结构发生数量的变化,因此从以光合作用储能为主要的过程转化为以呼吸代谢耗能为主要的过程,是在为壳孢子的放散做准备。

综合分析认为,条斑紫菜自由丝状体在生长过程中生长环境由夏季温度高、光照时间长、光照强度高到秋季温度下降、光照时间缩短、光照强度下降的变化致使丝状体细胞发生细胞壁增厚、疏松,色素体数量减少,内质网面积增加,液泡、线粒体数量增多,红藻淀粉量大大增加等结构的变化。

致谢:本实验的电镜观察得到青岛大学医学院电镜室谭金山、侯颖一老师的指导和帮助,在此表示衷心感谢。

参考文献:

- [1] Pauschel C M, Cole K. Ultrastructure of germinating carpospores of *Porphyra variagata* Hus (*Bangiales rhodophyta*) [J]. *Phycologia*, 1985, 21: 146-154.
- [2] Conway E, Cole K. Studies in the Bangiaceae: structure and reproduction of the conchocelis of *Porphyra* and *Bangia* in culture (*Bangiales rhodophyceae*) [J]. *Phycologia*, 1977, 16(2): 205-216.
- [3] 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.
- [4] 朱家彦,马家海,蒋虎祥. 坛紫菜自由丝状体细胞超微结构的研究[J]. 水产学报, 1984, 8(3): 235-242.
- [5] Sheath R G, Halleboest J A, Sowa T. Changes in plastid structure, pigmentation and photosynthesis of the conchocelis stage of *Porphyra leuconicta* (*Rhodophyta*, *Bangiphyceae*) in response to low light and darkness [J]. *Phycologia*, 1977, 16, (3): 265-276.
- [6] 沈顺东,戴增助,周立冉. 条斑紫菜(*Porphyra yunnanensis*)丝状体的超微结构观察[J]. 海洋通报, 2000, 19(3): 38-43.
- [7] 庄惠如,陈文利,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.
- [8] Hawkes M W. Sexual reproduction in *Porphyra goderii* (Smith et Hollenberg) Hawkes (*Bangiales*, *Rhodophyta*) [J]. *Phycologia*, 1978, 17(3): 329-353.
- [9] 陈由强,叶冰莹,王丽雅,等. 低温胁迫下龙胆(*Dioscorea longana* Lour.) 结叶细胞内 Ca^{2+} 水平及细胞超微结构[J]. 植物资源与环境学报, 2000, 9(1): 12-15.

- [10] 陈由强,叶冰莹,高一平,等.低温胁迫条件下枇杷幼叶细胞内 Ca^{2+} 水平及细胞超微结构变化的研究[J].武汉植物学研究,2000,18(2):138-142.
- [11] 谢潮添,杨盛昌,丁印龙,等.低温胁迫下重农(*Garyota urens* L.)幼苗叶内细胞内 Ca^{2+} 水平及细胞超微结构的变化[J].植物学通报,200320(2):212-217.
- [12] 王冬梅,许向阳,李景富,等.热胁迫对番茄叶肉细胞叶绿体超微结构的影响[J].园艺学报,2004,31(6):820-821.

图版 I 条斑紫菜自由丝状体各阶段电镜观察图

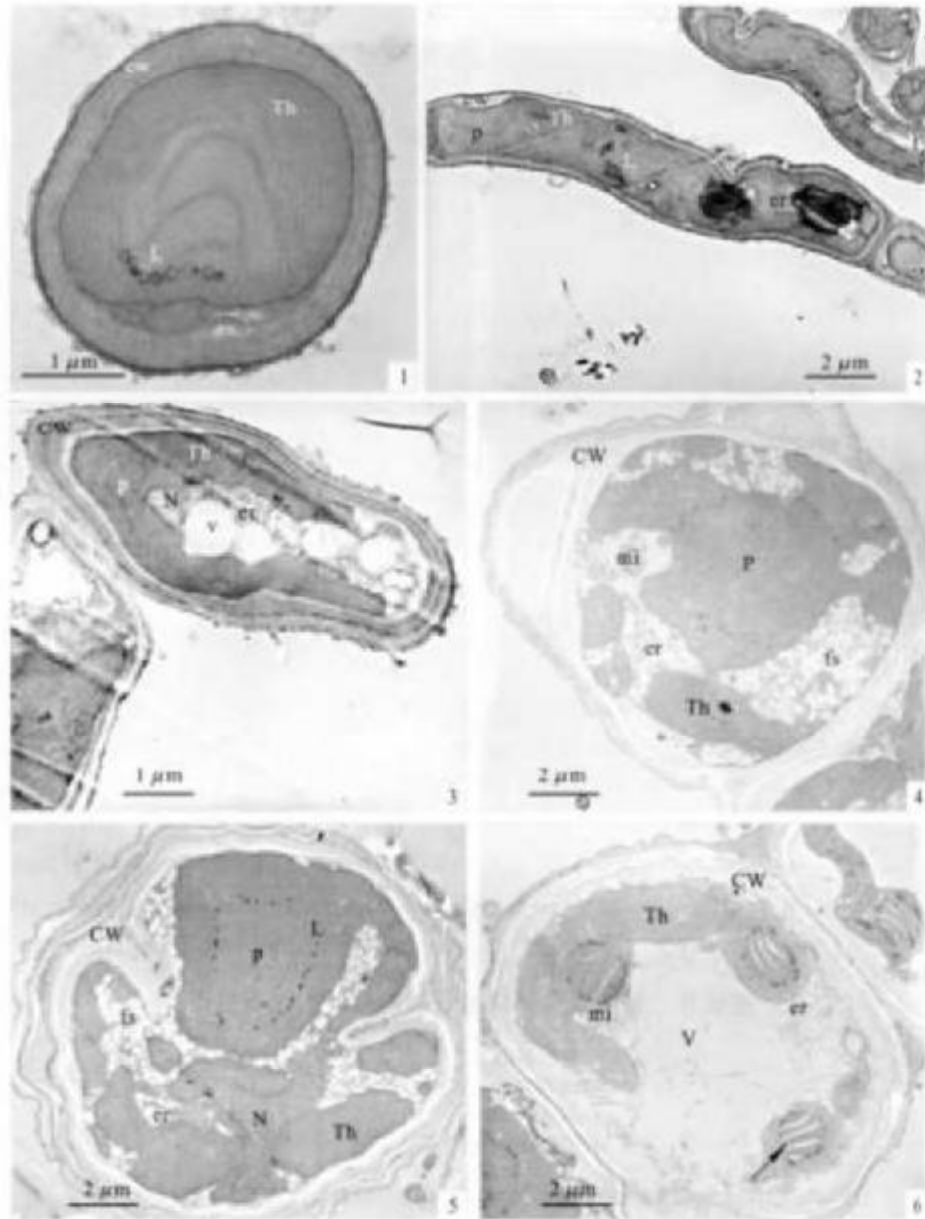
- 1: 营养藻丝细胞横切面;
 - 2: 营养藻丝细胞纵切面;
 - 3: 壳孢子囊枝细胞,示细胞壁、液泡、内质网;
 - 4: 成熟的壳孢子囊细胞纵切面,示内质网、线粒体和红藻淀粉;
 - 5: 成熟的壳孢子囊细胞横切面,示细胞壁的脊突、红藻淀粉、色素体;
 - 6: 成熟的壳孢子囊细胞纵切面,示大液泡、线粒体、内质网,"/"示类囊体膜出现的空隙。
- er: 内质网; fs: 红藻淀粉; L: 质体小球; mi: 线粒体; N: 细胞核; P: 蛋白核; Th: 类囊体; V: 液泡

Plate I Transmission electron microscope images of different stages of free-living conchocelis in *Porphyra yezoensis*

- 1: Transverse section of conchocelis filament.
 - 2: Vertical section of conchocelis filament.
 - 3: Conchosporangial branch cell showing cell wall, vacuoles, endoplasmic reticulation.
 - 4: Vertical section of mature Conchosporangial cell showing endoplasmic reticulation, mitochondria, floridean starch.
 - 5: Transverse section of mature Conchosporangial cell showing accidental cell wall, floridean starch, chloroplast.
 - 6: Vertical section of mature Conchosporangial cell showing big vacuole, lacunas between the thylakoids "/" showing the lacunas.
- er- endoplasmic reticulation; fs - floridean starch; L - lipid body; mi - mitochondria; N - nucleus; P - pyrenoid; Th - thylakoid; V - vacuole

周文君等:条斑紫菜自由丝状体的形态结构观察

ZHOU Wen-jun et al: Observation on free-living conchocelis of *Porphyra yezoensis*



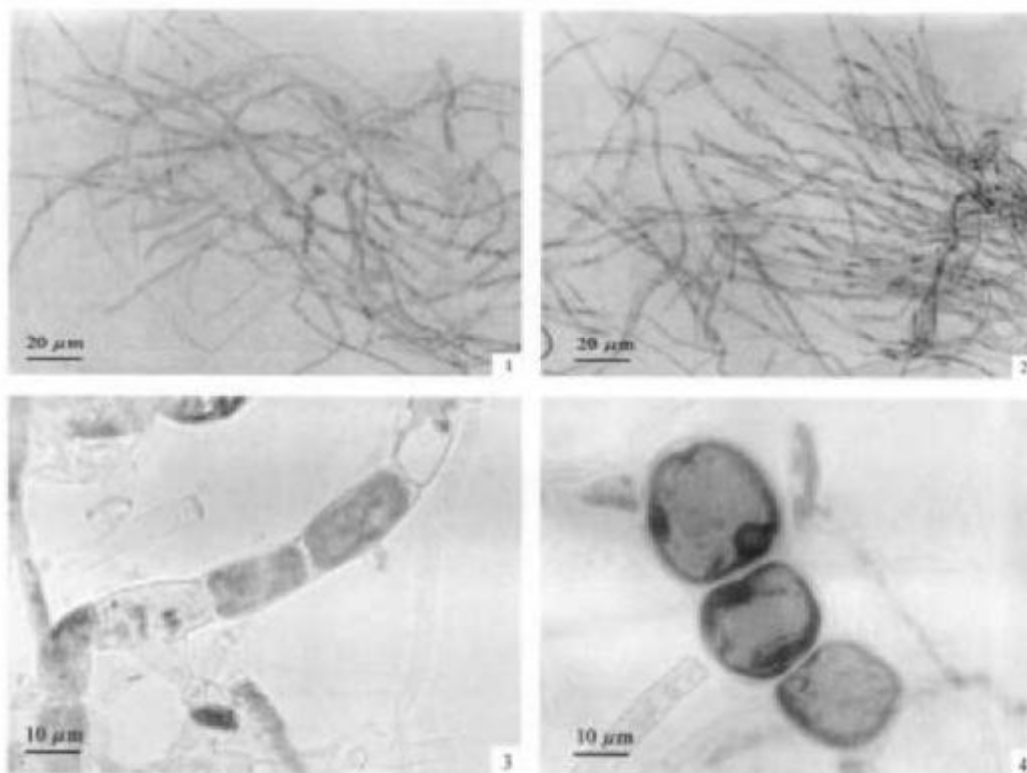
图版 I 条斑紫菜自由丝状体各阶段电镜观察图

Plate I Transmission electron microscope images of different stages of free-living conchocelis in *Porphyra yezoensis*

(图版 I 说明见第 220 页 Explanation of Plate I at page 220)

周文君等:条斑紫菜自由丝状体的形态结构观察

ZHOU Wen-jun et al: Observation on free-living conchocelis of *Porphyra yezoensis*



图版 II 条斑紫菜自由丝状体各阶段光镜观察图

- 1: 营养藻丝;
- 2: 营养藻丝;
- 3: 壳孢子囊枝;
- 4: 成熟的壳孢子囊枝细胞。

Plate II Light microscope images of different stages of free-living conchocelis in *Porphyra yezoensis*

- 1: Conchocelis filament.
- 2: Conchocelis filament.
- 3: Conchosporangial branch.
- 4: Mature conchosporangial cell.

Observation on free-living conchocelis of *Porphyra yezoensis*

ZHOU Wen-jun, LI Yun, DAI Ji-xun

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

Abstract: The changes among three different stages of conchocelis in *Porphyra yezoensis* (conchocelis filament, conchosporangial branch and mature conchosporangial cell) were observed with light microscope and transmission electron microscope. The results showed that under light microscope cell shape, chloroplasts' position and colour changed during the growth of free-living conchocelis and at the same time under transmission electron microscope the ultrastructure of free-living conchocelis were observed. The results showed that the main structures of free-living conchocelis included cell wall, nucleus, chloroplasts, thylakoids, endoplasmic reticulum, pyrenoid, mitochondria, vacuoles, floridean starch and lipid body. With the development of free-living conchocelis of *Porphyra yezoensis*, the changes of cells mainly showed cell wall's thickness increased and external wall became irregular; the number of chloroplasts decreased, besides, their positions became discontinuous at the brim of cells in stead of successive arrayment along the vertical sides of cells in former stage and in some mature conchosporangial cells lacunas appeared between thylakoids. The amount of floridean starch increased greatly. All these phenomena may have relationship with the changes of water temperature, light intensity and persistence of sunlight which have been discussed in this paper. In conclusion, the above comprehensive analysis showed the changes, which happened during the development of free-living conchocelis from high temperature, long day time and intensive sunlight in summer to low temperature, short day time and less intensive sunlight in fall, caused free-living conchocelis cell to have serial of transformations, for example, cell wall thickening and loosening, chloroplast becoming smaller, area of endoplasmic reticulum expanding, the amount of vacuole, mitochondria and floridean starch increasing greatly. [Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13(2): 217-223]

Key words: *Porphyra yezoensis*; free-living conchocelis; ultrastructure

Corresponding author: LI Yun. E-mail: ssxdlwl@ouc.edu.cn