

浮丝藻生活史及其 亚显微结构特征的研究*

龚小敏 胡鸿钧 李夜光 刘惠荣

(中国科学院武汉植物研究所 武汉 430074)

提 要 通过观察浮丝藻(*Planktonema*)的生活史、显微和亚显微结构、细胞分裂方式,系统地研究了其藻丝体的生物学特性。浮丝藻为单列细胞不分枝的丝状体,细胞圆柱形或椭圆形,细胞之间主要靠筒状的纤维素细胞壁相互连接。藻细胞中含叶绿素a、b和 β -胡萝卜素。电镜下,细胞壁明显分层,绝大多数是2~3层;色素体片状、周生,通常2至多条类囊体重叠;1~2个蛋白核在色素体上,蛋白核外常有淀粉鞘,有时1至多条类囊体重叠;1~2个蛋白核在色素体上,蛋白核外常有淀粉鞘,有时1至多条类囊体侵入蛋白核内;1~2个线粒体位于色素体旁,嵴不分枝;高尔基复合体靠近细胞周边,分泌许多液泡;细胞核1个,球形或不规则方形,常靠近细胞的一端;光镜下细胞两端的折光亮点在电镜下是1至多个泡囊,泡囊内通常含些被染色很深的物质。浮丝藻的形态学、细胞分裂和生活史观察结果都证明,浮丝藻的细胞在整个生活史中没有营养分裂,细胞分裂时母细胞产生两个有独立、完整细胞壁的似亲孢子,一系列似亲孢子通过存留的、不连续的筒状或杯状母细胞壁连接成形状上象丝状体的结构。因此,藻丝体形成和成长的过程是一个无性繁殖过程,这样的藻丝体本质上是一种假丝体。

关键词 浮丝藻, 似亲孢子, 母细胞壁

丝藻目(Ulotrichales)属绿藻门一大类群,其基本分类依据之一是,营养细胞沿一个分裂面进行连续的营养分裂(desmochisis 或 vegetative division)形成丝状体^[1]。浮丝藻(*Planktonema*)传统分类作为一个属放在此目丝藻科(Ulotrichaceae)之中。此藻1903年在北欧首次被发现并定名^[2]。1937年Skuja研究我国云南洱海藻类时发表了一新属——*Psephonema aenigmaticum* Skuja(单种属)^[3]。我们在云南程海湖再次发现了这种藻类,经研究*Psephonema* 实际上就是浮丝藻(详见另文)。此藻发现近百年来,未见其藻丝体生物学特性研究的报道。本文通过从程海湖采集、分离该藻,并对它进行单种培养,观察其生活史、显微和亚显微结构、细胞分裂方式,以研究其藻丝体的形成和发育,较深入地研究了这

收稿日:1995-05-02,修回日:1995-12-14。第一作者:女,29岁,助理研究员。

* 国家自然科学基金资助项目(编号:39270062)。

种藻的生物学特征,为此藻的分类学位置、系统学研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 藻种

材料采自我国云南程海湖,浮丝藻在湖水中四季都能被发现,4~9月数量较多,但无论什么季节都不形成水华,四季中藻丝体形态几乎无变化。藻体在水中漂浮,与其它藻类如水绵(*Spiragya*)、刚毛藻(*Cladophora*)等混生。用毛细管法分离后进行单种培养,人工培养基中的藻丝形态与在自然环境中生长的基本一致。

1.2 培养

程海湖是重碳酸钠及重碳酸钠镁型、中营养型的高原碱水湖(pH8.6~9.3)(表1)¹⁾。根据程海湖水的水质,配制出系列培养基(表2)。浮丝藻在恒温摇床(25±2℃)、冷白荧光灯连续光照(2

500±200 lx)的摇床上培养。用分光光度计(721型)在620 nm波长处进行浊度比色,测定其生长速率。

表1 程海湖水的水化学特征

Table 1 The water chemical characteristics of Lake Chenhai

pH	HCO ₃ ⁻ (mg/L)	CO ₃ ²⁻ (mg/L)	Ca ²⁺ (mg/L)	Mg ²⁺ (mg/L)
8.6~9.3	752.55	171.84	7.79~9.86	68.7~83.52

表2 多种培养基的配方

Table 2 The formulae of several media

培养基 Media	组成成分 Composition						溶剂 Solvent	pH
	NaNO ₃ (g/L)	K ₂ HPO ₄ (g/L)	CaCl ₂ ·2H ₂ O (g/L)	MgSO ₄ ·7H ₂ O (g/L)	NaHCO ₃ (g/L)	A ₅ (mL/L)		
No. 1	1.5	0.04	0.04	0.08	0.02	1	蒸馏水(1 000 mL)	9.0
No. 2	1.5	0.04	0	0.08	0.02	1	程海湖水(1 000 mL)	9.0
No. 3	1.5	0.04	0	0.08	0.02	1	程海湖水(500 mL) 蒸馏水(500 mL)	9.0
No. 4	1.5	0.04	0.04	0.16	0.50	1	蒸馏水(1 000 mL)	9.0

1.3 光学显微镜下的细胞化学

用氯化铁羟胺反应检测藻丝体外有无果胶胶鞘;用氯碘化锌反应和高碘酸-希夫反应检测细胞是否是纤维素细胞壁^[1]。在Olympus BH-2型显微镜下观察。

1.4 色素分析

藻细胞经离心收集、洗净,用丙酮在暗中提取色素,用日立557紫外分光光度计进行吸收光谱测定。

1.5 电镜观察

藻细胞离心洗净后,用4%的戊二醛和4%的多聚甲醛混合固定液在室温下固定5 h,用2%的锇酸室温下固定3 h。用0.1 mol/L、pH7.4的磷酸缓冲液配制所有的固定液和洗涤藻体。固定后的藻体经酒精梯度(50%、70%、80%、95%、100%)的丙酮各脱水15 min

1) 永胜县农业区划办公室,永胜县水电局,永胜县渔业资源调查和渔业区划。1985(内部资料)。

后,用丙酮:环氧树脂 618(1:1)浸透 2 h,再用纯包埋剂浸透 2 h,60℃下聚合。在 LKB-V 型超薄切片机上切片,经醋酸铀枸橼酸钠双染色后在 H-600 型电镜下观察。

2 结果

2.1 培养

不同的培养基中藻的生长情况不同(图 1)。No. 1 培养基中藻生长缓慢, No. 2 和 No. 4 培养基中藻的生长比 No. 1 和 No. 3 中藻的生长好, 并且 No. 2 和 No. 4 中藻的生长情况相似。No. 2 培养基的特点是程海湖水配制, 由于湖水中富含 Ca^{2+} 、 Mg^{2+} 和 HCO_3^- (表 1), 配方中采用低浓度 Mg^{2+} 、 HCO_3^- , 不添加任何 Ca^{2+} ; No. 4 培养基蒸馏水配制, 根据程海湖水的水化学特征, 在 No. 1 培养基基础上加大 Mg^{2+} 、 HCO_3^-

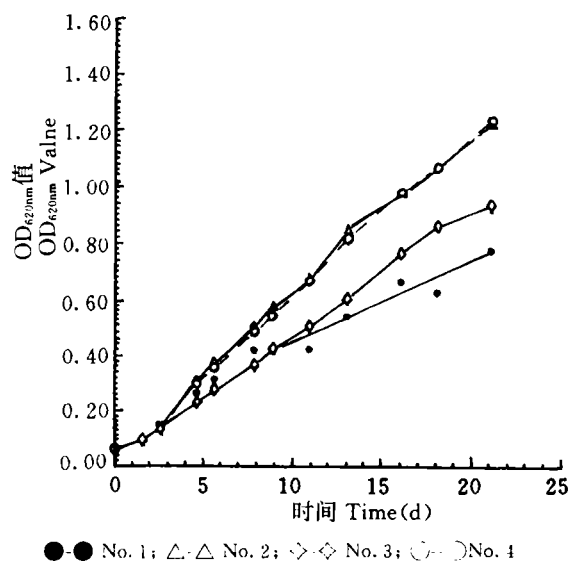


图 1 不同的培养基中浮丝藻的生长曲线

Fig. 1 The growth curves of *Planktonema* in different media

的浓度;结果证明较高浓度的 M^{2+} 和 HCO_3^- 比较适合浮丝藻的生长。本实验所有材料用 No. 4 培养基培养获得, 并作保存藻种之用。

2.2 光学显微镜下藻丝体的形态学特征

浮丝藻在光学显微镜下为单列细胞不分枝的丝状体(图版 I:1)。用氯化铁羟胺反应检测, 结果呈阴性, 证明无果胶胶鞘。用氯碘化锌染色, 细胞壁染成蓝色; 用高碘酸-希夫反应进一步检验, 细胞壁染成紫红色, 结果表明浮丝藻细胞壁的主要成分为纤维素。细胞长 $8\sim 12.5\ \mu\text{m}$, 宽 $5\sim 7\ \mu\text{m}$, 培养的实验材料比野生的略宽。细胞圆柱形或椭圆形, 两端钝圆; 具片状周生的色素体, 占周壁的大部分, 蛋白核明显, $1\sim 2$ 个。细胞两端具折光的亮点。细胞之间主要靠筒状细胞壁相互连接成丝状体。有的藻丝体常见空的细胞壁。色素提取后的吸收光谱表明, 藻细胞中含叶绿素 a、b 和 β -胡萝卜素。

2.3 电镜下藻丝体的亚显微结构特征

(1) 细胞壁 电镜下细胞壁明显分层, 绝大多数是 2~3 层, 偶有 4~5 层(图版 I:1~6; 图版 II:7,8)。通过细胞分裂, 母细胞产生两个子细胞(似亲孢子), 在母细胞壁内每个子细胞都形成自己完整的、独立的细胞壁(图版 I:3,4,6; 图版 II:7); 母细胞壁和子细胞壁之间由一些胶质(化学性质不明)相连, 紧靠子细胞壁内(子细胞壁与细胞膜之间)有许多球形或不规则形的分泌物小体可能参与胶质形成(图版 I:3,5; 图版 II:8)。细胞分裂后, 母细胞壁仍然保留在子细胞外, 随着子细胞的长大, 母细胞壁破裂。母细胞壁断裂的方式有以下几种情况:①母细胞壁的两个横壁都断裂, 存留的母细胞壁形成筒状的细胞壁, 两个筒状的母细胞壁在连接处大多重叠。这种母细胞壁的断裂方式最为常见, 藻丝体形成主要通过这种方式, 尤其是生长较长的藻丝体(有时甚至由 10~20 个细胞所组成), 就是

靠这种断裂方式形成的筒状母细胞壁将子细胞(似亲孢子)连成丝状体(图版 I :6)。②母细胞壁仅一端横壁断裂,形成一个杯状的细胞壁。一些没有长大的子细胞和某些藻丝体的顶端细胞常有这种杯状的母细胞壁(图版 I :3,5;图版 II :7,8)。但随着子细胞和顶端细胞的长大,另一端横壁也可能会断裂。如果整个过程中另一横壁不断裂,并且发生在藻丝体中间的细胞中,便会出现光镜下也能看得清楚的空细胞壁骨架(图版 I :1)。这种仅一端横壁断裂的杯状母细胞壁通常只能连成较短的丝状体(常4个细胞以下)(图版 I :1),这种藻丝体不太常见,只占培养物的很少部分。③母细胞壁的横壁都不断裂,而两个纵壁在同一位置断裂,形成两个杯状的细胞壁(图版 I :4)。这种断裂方式也不常见,偶有发生。

(2) 细胞器 片状的色素体位于细胞的周边,占周边的大部分(图版 II :7),通常2至多条类囊体重叠(图版 II :10);1~2个蛋白核在色素体上,蛋白核外常有淀粉鞘(图版 II :7),有时1至多条类囊体侵入蛋白核内(图版 II :10)。1~2个线粒体位于色素体旁,嵴不分枝(图版 I :3;图版 II :11)。高尔基复合体靠近细胞周边,分泌许多潴泡(图版 II :9)。1个细胞核,球形或不规则方形,常靠近细胞的一端(图版 I :5)。光镜下细胞两端的折光亮点实际上是1至多个泡囊,泡囊内通常含些被染色很深的物质(图版 I :4;图版 II :8)。

2.4 生活史

大量的显微、亚显微结构观察(图版 I :3,4;图版 II :7)表明,浮丝藻藻丝体的细胞分裂时,在母细胞壁内产生两个有自己完整、独立细胞壁的子细胞。这些子细胞本质上是似亲孢子,这一分裂过程实际上是无性繁殖。长期的野外观察和室内培养实验证明,浮丝藻的细胞没有营养分裂,细胞产生子细胞的过程是以似亲孢子进行无性繁殖的过程。因此,浮丝藻在整个生活史中,营养繁殖仅靠藻丝体的断裂作用,无性繁殖通过产生似亲孢子完成,不产生动孢子,也未观察到有性生殖(图2)。

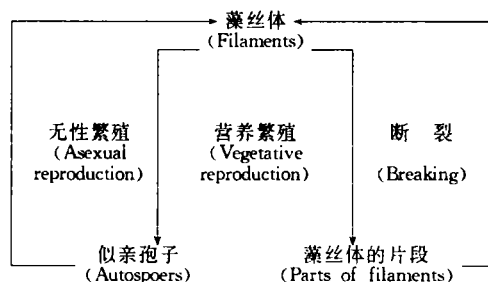


图2 浮丝藻的生活史

Fig. 2 The life cycle of *Planktonema*

2.5 藻丝体的形成

浮丝藻的细胞没有营养分裂,而进行无性繁殖,即母细胞分裂时形成两个似亲孢子,每个似亲孢子都有自己的细胞壁(图版 I :3,4;图版 II :7)。随着子细胞长大,母细胞壁断裂,但仍存留在子细胞壁外,并将子细胞连接成丝状体。由于母细胞壁断裂的方式不同,形成的细胞壁有筒状和杯状的(图版 I :1~6;图版 II :7,8)。绝大多数藻丝体由筒状细胞壁连成,特别是较长的藻丝体(图版 I :1,6);少量的、较短的藻丝体由筒状和杯状的细胞壁混合连成(图版 I :1;图版 II :7),这种藻丝体形成的方式比较简单,一目了然。通过筒状细胞壁形成较长藻丝体的方式如图3所示:母细胞分裂时在母细胞壁内形成2个有独立细胞壁的子细胞(似亲孢子)(图3:a,b),随着子细胞的长大,母细胞壁的两个横壁断裂形成筒状的细胞壁,并保留在子细胞外(图3:c),这些存留的母细胞壁不连续,大多在两个筒状细胞壁连接处重叠、分层(图3:e,d)。由于两个筒状细胞壁仅由胶质相连,连接处很脆弱,当细胞分裂进行到第3次时,子细胞长大成母细胞时,很容易将两个筒状母细胞壁在

连接处挤开(图 3:f),接着进一步分裂(图 3:g)。依此类推,便形成了藻丝体。细胞分裂到第 3 次,细胞分裂时将两个筒状细胞壁挤开后再分裂,这一过程对藻丝体形成十分关键。通过这个过程,母细胞壁能以一种有规律的、简单的方式形成藻丝体,并且细胞壁分为 2~3 层,这一推断结果正好与观察到的显微、亚显微结构相一致(图版 1:1,6)。

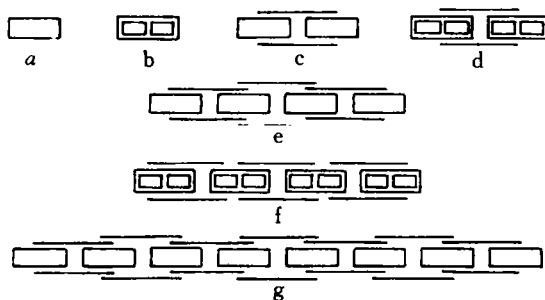


图 3 通过筒状母细胞壁形成藻丝体的图解

Fig. 3 The diagram of the filament formation by the cylindric mothercell walls

3 讨论

丝藻目藻丝体的细胞是营养细胞,营养分裂时只形成新的横壁将细胞一分为二。细胞沿着同一分裂面连续地进行营养分裂便形成了藻丝体,藻丝体形成和发育的过程是细胞营养分裂的过程,这种方式形成的藻丝体是藻类学界所公认的真丝体。浮丝藻生活史中没有营养分裂,藻丝体的细胞长大成孢子母细胞,细胞分裂时产生两个有独立完整细胞壁的似亲孢子。母细胞壁在细胞分裂后没有脱落,而是通过少量的胶质保留在似亲孢子细胞壁外,将一系列似亲孢子连接成呈不分枝的丝状体,这样形成的藻丝体和由于营养细胞的营养分裂形成的真丝体有本质的区别,前者实质上只是一种假丝体。因此,传统的分类系统将浮丝藻放在丝藻目是不合理的,关于浮丝藻在系统分类中的位置问题将另文讨论。

参 考 文 献

- 1 Bold H C, Wynne M J. Introduction to the algae. Englewood Cliffs, N. J.: Prentice-Hall, Inc, 1985. 70~273
- 2 Starmach K. Flora Slodkowodna Polski Tom 10: Zielenice nitkowate. Krako'w; Warszawa, 1972. 117~119
- 3 Skuja H. Algae. In: H. Handel-Mazzetti ed. Symbolae sinicae 1. Wien: verlag Von Julius Springer, 1937. 70~71
- 4 简令成. 细胞化学方法. 见: 孙敬三, 钱迎倩主编. 植物细胞学研究方法. 北京: 科学出版社, 1987. 133~139

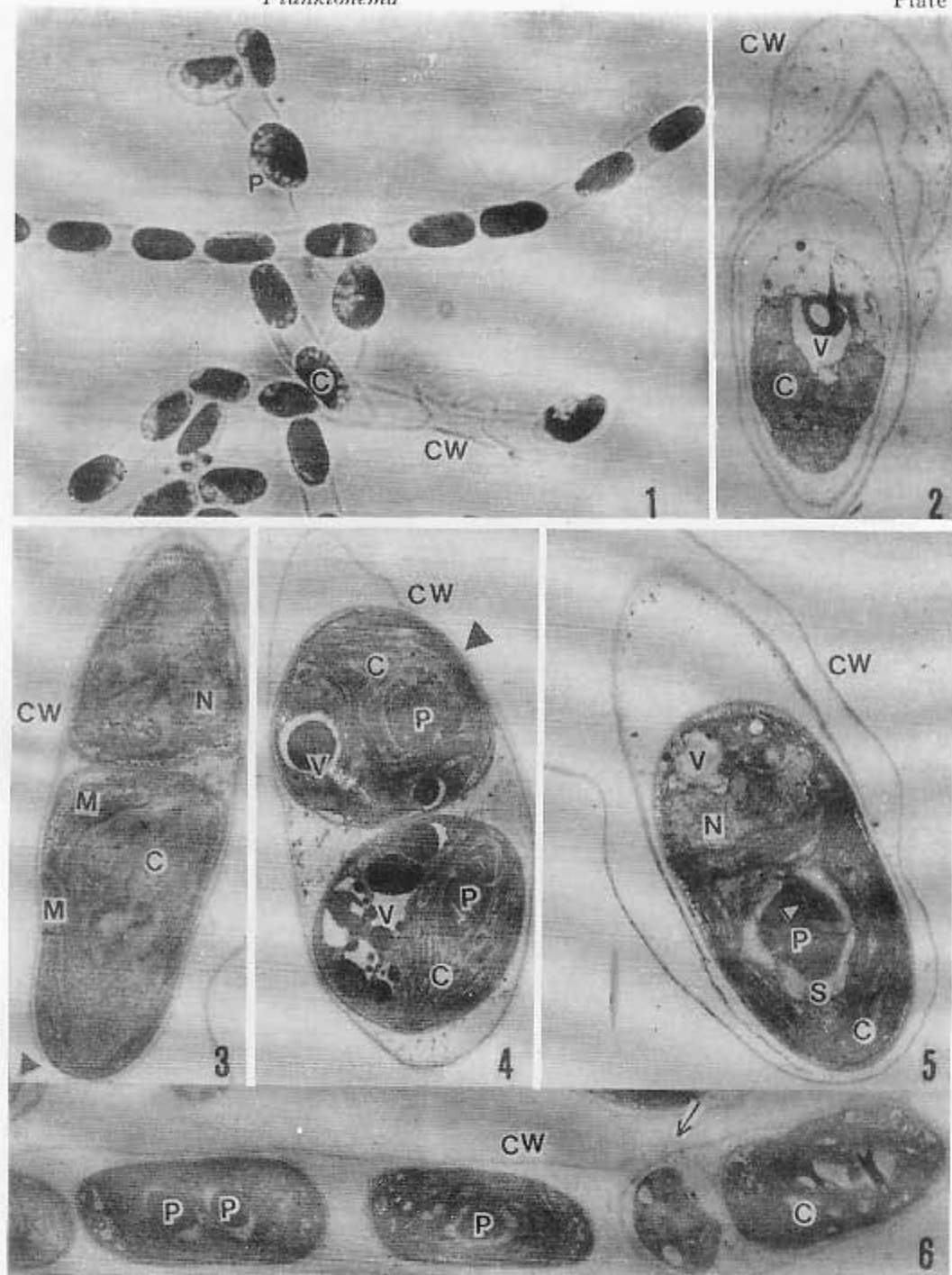
STUDIES ON THE LIFE CYCLE AND ULTRASTRUCTURE CHARACTERISTICS OF *PLANKTONEMA*

Gong Xiaomin Hu Hongjun Li Yeguang Liu Huirong

(Wuhan Institute of Botany, The Chinese Academy of Sciences Wuhan 430074)

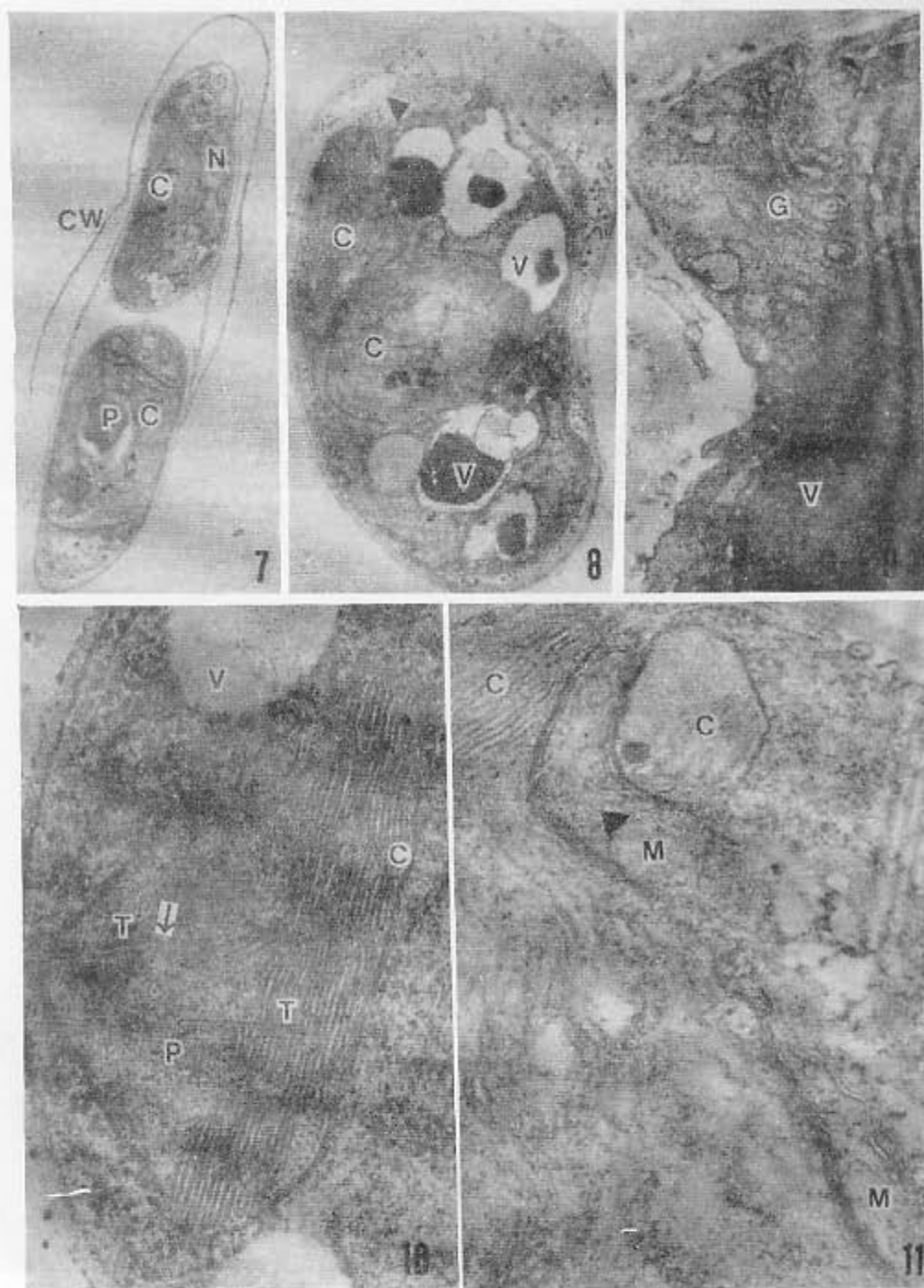
Abstract Biological characteristics of *Planktonema* were systematically studied by observing its life cycle, microstructure, ultrastructure and cell division. *Planktonema* is unbranched filament in a row of cell. The cells are cylindric or elliposoid, mainly joined by cylindric cellulose cell walls and the cells contain chlorophyll a, b and β -carotene. Under transmission electron microscope, the cell walls clearly stratify and mostly have 2~3 layers. The chloroplast is lamellar, parietal and usually two or several thylakoids overlap; there are 1~2 pyrenoids in chloroplast and the pyrenoids have envelopes of starch grains, sometimes one or several thylakoids penetrating the pyrenoid. 1~2 mitochondrions stand by the chloroplast, and the ridges do not branch. Golgi complex sits near the cell circumference and excretes many vesicles. One nucleus is irregular square or globular, close to one pole of the cell. One or several vacuoles, which present bright spots at both poles of the cell under light microscope, usually contain some material dyed deeply. The studies on the morphology, the cell division and the life cycle demonstrate the cells have not desmochisis and by the cell division the mother cell produces two autospores with their own complete cell walls. A series of autospores are linked to become the filamentous forms by the remaining, discontinuous cylinder-shaped or cup-shaped mother cell wall, and the formation and development of the filaments is fulfilled by asexual reproduction, therefore, this kind of filaments naturally are the pseudo-filaments.

Key words *Planktonema*, Autospore, The mother cell wall



1. 光镜下浮丝藻的藻丝体，片状色素体，1~2个蛋白核($\times 480$)；2. 偶有5层细胞壁的细胞($\times 8133$)；3, 4. 母细胞分裂产生两个似亲孢子，箭头示母细胞壁断裂($3. \times 11550$, $4. \times 8000$)；5. 杯状母细胞壁，细胞核近细胞的一端，箭头表示蛋白核上有类囊体穿过的通道($\times 12000$)；6. 由筒状母细胞壁连成的藻丝体，细胞壁多为2~3层，箭头表示母细胞分裂时将两个筒状母细胞壁挤开($\times 6125$)

1. The filaments of *Planktonema* with lamellar, parietal chloroplasts and 1 of 2 pyrenoids ($\times 480$); 2. Occasionally having the cell with 5 layered cell walls ($\times 8133$); 3, 4. Producing autospores by the mother cell division. The arrows indicate the mother cell wall rupture ($3. \times 11550$, $4. \times 8000$); 5. The cup-shaped mother cell wall and the nucleus close to one pole of the cell. The arrow shows the passways by which the thylakoids penetrate pyrenoid ($\times 12000$); 6. The filament linked by cylindrical mother cell wall. The arrow indicates the mother cell separates two cylindrical mother cell walls at their joint ($\times 6125$).



7. 由杯状和筒状混合型母细胞壁连成的藻丝体($\times 6\ 667$); 8. 细胞在膜与壁之间分泌许多球形或不规则形的小体(箭头). 近细胞两端有些易染色的泡囊($\times 12\ 870$); 9. 高尔基复合体($\times 72\ 730$); 10. 类囊体 2 至多条重叠, 箭头表示有些类囊体穿过蛋白核($\times 65\ 460$); 11. 线粒体, 嵴不分枝(箭头)($\times 55\ 000$)

7. The filament linked by cup-shaped and cylindric cell walls($\times 6\ 667$); 8. The cell excretes many globular or irregular bodies between cell wall and cell membrane(the arrow)and there are some vacuoles dyed deeply($\times 12\ 870$); 9. Golgi complex($\times 72\ 730$); 10. Two or several thylakoids overlap and the arrow shows some thylakoids penetrate the pyrenoid($\times 65\ 460$); 11. The mitochondrion in which the ridges do not branch(the arrow)($\times 55\ 000$)