

细小微胞藻的超微结构研究

殷明焱, 夏 娃, 胡晓燕

(中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 通过电子显微镜对分离自青岛海域的一株细小微胞藻(*Micromonas pusilla* (Butcher) Manton et Parke)进行了形态和超微结构研究。该藻细胞微小, 具有特征性的一根侧生的鞭毛, 鞭毛上具一根细长的顶毛。该藻细胞膜外无细胞壁和鳞片。细胞内部结构相当简单, 仅具一个中央包含着蛋白核的叶绿体, 一个细胞核, 一个线粒体及一组高尔基复合体。该藻是我国黄海广泛分布的一个种。

关键词: 细小微胞藻(*Micromonas pusilla* (Butcher) Manton et Parke); 超微结构; 黄海

中图分类号: Q179.1

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2010)11-0051-03

海洋鞭毛藻类是海洋浮游植物重要组成部分, 由于其生长周期短, 生长速度快, 在海洋初级生产力以及生态系统中占有重要的地位。但是另一方面, 由于其个体小, 细胞脆弱, 难以用常规方法采集和固定保存, 且分类研究往往需要依靠纯培养样品的电镜观察, 研究难度较大。我国在此方面的研究的相当薄弱, 已报道的种类很少^[1,2]。

作者自山东青岛海域分离出一株鞭毛藻, 经超微结构观察发现其为细小微胞藻(*Micromonas pusilla* (Butcher) Manton et Parke), 报道如下。

1 材料和方法

1.1 藻种的获得和培养

实验藻种采集于2002年10月15日青岛沿岸的水样中, 经毛细管挑取法分离纯化至单藻。用 PES 培养基, 在 15 °C, 50 μmol/(m²·s), 12 h:12 h 的光暗循环条件下培养。

1.2 正染样品制备和观察

细胞滴在铜网上, 1% 锇酸固定后干燥, 用蒸馏水洗去盐结晶, 然后用醋酸双氧铀染色 15 min, 干燥后用蒸馏水冲洗, 再干燥后在 JEM-1200EX 透射电镜下观察。

1.3 超薄切片样品制备和观察

细胞用 2.5% 戊二醛前固定 4 h, 离心后 0.2 mol/L 磷酸缓冲液(pH7.2)冲洗, 用 1% 锇酸后固定, 再次用 0.2 mol/L 磷酸缓冲液(pH7.2)冲洗, 然后按常规方法采用系列浓度丙酮脱水, Epon-812 树脂包埋, 聚合后切片, 醋酸铀和柠檬酸铅双染后, 在 JEM-

1200EX 透射电镜下观察。

2 结果

细小微胞藻的整体外形见图 1a 和图 1b 的正染图片。细胞略不对称, 呈梨形, 长约 1~1.6 μm, 宽约 0.6~1 μm。鞭毛结构较特殊, 由两部分组成。靠近细胞的一端较粗短, 直径约为 0.16~0.18 μm, 长度约 0.6~0.8 μm。远离细胞一端则很细, 长度可达 3~4 μm。从超薄切片可以看出, 基部较粗部分具典型的真核生物鞭毛结构, 内部为 9+2 微管, 外面包围一层膜(图 1c)。而远端只是由基部的中央微管向外延伸, 包裹一层膜形成, 因此并不是完整的鞭毛结构(图 1d)。Manton^[3]称其为顶毛(hair-point), 并基于其简单的结构, 推测其主要依靠基部鞭毛做被动运动。

从图 1c~图 1f 的超薄切片可以看出, 细小微胞藻的细胞结构相当简单。其细胞仅外被一层细胞膜, 无细胞壁和鳞片等其他构造。细胞内部只具一个叶绿体, 一个细胞核, 一个线粒体及一组高尔基体, 而且这些细胞器占据了细胞内部的绝大多数空间, 细胞质含量相对较少。

叶绿体为细小微胞藻细胞内最大的细胞器, 体积可占到细胞的一半以上, 可见于细胞的各个切面。叶绿体位于与鞭毛相对的一侧, 纵切面略呈三角形(图 1d), 横切面为圆形(图 1c)。其外膜由两层膜组成。膜的内部为多层类囊体组成的环状片层。中间为一

收稿日期: 2010-01-11; 修回日期: 2010-03-25

基金项目: 中国科学院知识创新工程项目(KSCX2-3-04-09)

作者简介: 殷明焱(1973-), 男, 山东威海人, 博士, 助理研究员, 主要从事微型鞭毛藻分类研究, E-mail: yinmy@yahoo.com.cn; 胡晓燕, 通信作者, 电话: 0532-82898856, E-mail: xyhu@ms.qdio.ac.cn

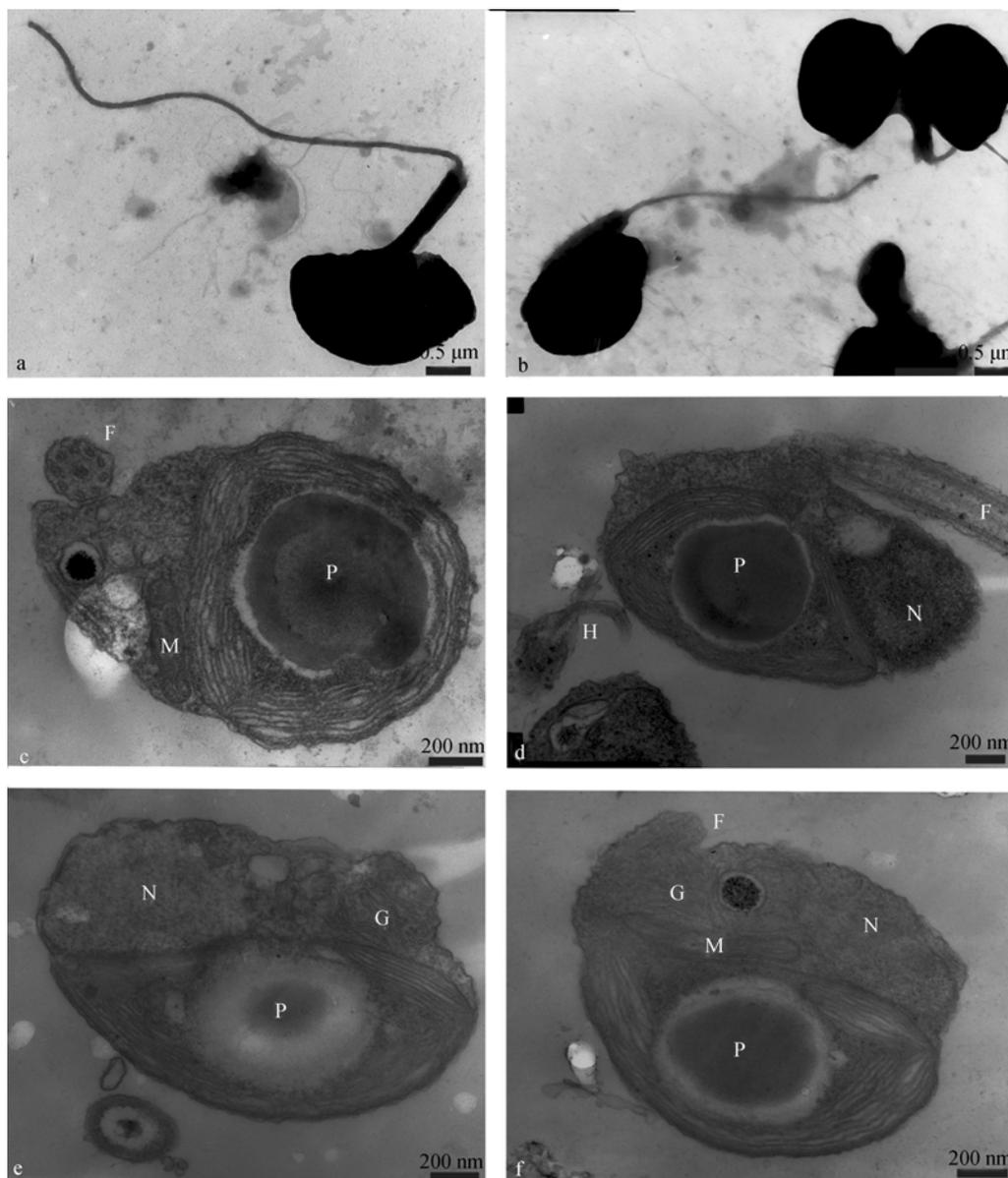


图 1 细小微胞藻的电镜照片

Fig. 1 Electron micrographs of *Micromonas pusilla*

a, b. 细胞的正染图; c-f. 细胞的超薄切片

C. 色素体; M. 线粒体; P. 蛋白核; N. 细胞核; F. 鞭毛; H. 顶毛; G. 高尔基体

a, b. Cells with positive staining; c-f. Thin sections of cells

C. chloroplast; M. mitochondrion; P. pyrenoid; N. nuclear; F. flagellum; H. hair point; G. Golgi complex

个大而明显的圆形蛋白核，直径约 0.6 μm。从图 1c 可以看出，蛋白核由两层组成，内层为致密的核心，而外层由多层染色较深的物质组成。在类囊体片层和蛋白核之间充满着许多染色较深的颗粒。

细小微胞藻的细胞核位于细胞的一侧，绝大部分被细胞膜和叶绿体包围着，大小约为叶绿体的一

半(图 1d, 图 1e)，没有观察到核仁的存在。该藻仅具有一个线粒体，位于细胞核和鞭毛之间的区域，一侧紧靠着叶绿体。线粒体呈扁平囊状，外膜由双层膜组成，内部分布着一些扁平的嵴，为典型绿藻线粒体结构(图 1c, 图 1f)。在线粒体和鞭毛之间的区域，分布着由 4~5 个扁平囊泡组成高尔基体。此外，在鞭毛

基部的下方有些切面还可见到染色较深的颗粒。

3 讨论

细小微胞藻最初在英国海域发现,由 Butcher^[4]所报道。由于该藻细胞在培养时略呈褐色,同时基于光镜下的一些特征,该藻被归在金藻类的单鞭金藻目中,命名为细小单鞭金藻(*Chromulina pusilla* Butcher)。Manton^[3]详细研究了该藻的超微结构及色素特征,指出其应归属于绿藻纲。基于上述结果,Manton等^[5]将该藻与另一种微小鞭毛藻(*Micromonas squamata* Manton et Park)一起建立了微胞藻属(*Micromonas* Manton et Parke)。而后者随后被移到 *Mantoniella* Desikachra 属中^[6]。目前,微胞藻属只有模式种细小微胞藻一个种,隶属于绿藻门(Chlorophyta),真绿藻纲(Prasinophyceae),Mamiellales 目,Mamiellaceae 科。

作者观察到的细小微胞藻在藻体外形上与 Manton^[3]的观察结果基本一致,但是在细胞内部的超微结构上则存在有一些差异。作者观察的细小微胞藻的细胞核较大,而其周边被 Manton^[3]称为的核周空间的区域则较少。另外,线粒体更为侧扁一些。但是,这些差异很有可能是由于在对电镜样品进行处理时造成的假象,并不能作为形态分类的依据。例如,Manton^[3]观察到的细胞核较小,可能是由于在固定或脱水等制片过程中导致细胞核收缩引起的,而这也是形成许多核周围空间的原因。

与其他单细胞鞭毛藻相比,细小微胞藻具有特征明显的鞭毛形态。但是由于其个体小(细小微胞藻是真核藻类个体最小的种类之一),细胞结构简单,种内可供比较的形态学特征较少。目前世界各地发现的该类微藻,均依据其外部形态鉴定为细小微胞藻^[7]。但这并不意味着该类物种多样性的降低。Šlapeta等^[8]对分离自世界各地的17株细小微胞藻进行了系统发育分析,结果显示存在着多个不同的类群。深入地理解形态种和分子种的概念及其差别也是目前分类学上需要解决的一个问题。

细小微胞藻是一种分布广泛的种类,在世界许多水域均有发现,分布于从赤道到北极的广大区域^[8]。而且在许多水域的特定时期,该种可成为浮游植物的优势类群^[9]。例如,近些年来,对北极水域的调查显示,该藻同其他超微型真绿藻纲种类一起构成了该地区周年初级生产力的主要类群^[10]。在我国,只有高玉^[2]在胶州湾水域观察到了该藻的存在,

且只有投影照片,并无内部的超微构造观察。2001~2006年期间,作者在对宁波、威海、青岛的水样进行鞭毛藻分离培养过程中均观察到了该藻的存在。其中,2006年10月在青岛沿岸水域观察到其密度达到了10万个/L。因此,该藻应为我国黄海海域广泛分布的一个种。

参考文献:

- [1] 胡鸿钧,吕颂辉,刘惠荣.等鞭金藻属(等鞭金藻目)1新种—湛江等鞭金藻(*Isochrysis zhanjiangensis* sp.nov)及其超微结构的观察[J].海洋学报,2007,29:111-119.
- [2] 高玉,曾呈奎,郭玉杰.微型浮游生物[A].刘瑞玉.胶州湾生态学和生物资源[C].北京:科学出版社,1992.203-219.
- [3] Manton I. Electron microscopical observations on a very small flagellate: the problem of *Chromulina pusilla* Butcher [J]. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, 1959, 38: 319-333.
- [4] Butcher R W. Contributions to our knowledge of the smaller marine algae [J]. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, 1952, 31: 175-191.
- [5] Manton I, Parke M. Further observations on small green flagellates with special reference to possible relatives of *Chromulina pusilla* Butcher [J]. **Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom**, 1960, 39: 275-298.
- [6] Desikachray T V. Notes on volvocales-I [J]. **Current Science**, 1972, 41: 445-447.
- [7] Bergesch M, Odebrecht C, Moestrup Ø. Nanoflagellates from coastal waters of southern Brazil (32 degrees S) [J]. **Botanica Marina**, 2008, 51: 35-50.
- [8] Šlapeta J, López-García P, Moreira D. Global dispersal and ancient cryptic species in the smallest marine eukaryotes[J]. **Molecular Biology and Evolution**, 2006, 23: 23-29.
- [9] Not F, Latasa M, Marie D, et al. A single species, *Micromonas pusilla* (Prasinophyceae), dominates the eukaryotic picoplankton in the western English channel [J]. **Applied and Environmental Microbiology**, 2004, 70: 4064-4072.
- [10] Li W K W, McLaughlin F A, Lovejoy C, et al. Smallest algae thrive as the Arctic Ocean freshens [J]. **Science**, 2009, 326: 539.

(下转第 58 页)