

三种海螺消化酶分解海藻胞壁的比较研究

朱 仁 华

(山东海洋学院生物系)

海藻*的胞壁由二至数层组成,内层为纤维素类,外层为果胶类。有的藻果胶层又分成外层水溶性的,内层水不溶性的。有些藻最外面还有角质层几丁质层或粘质层等。有的海藻胞壁含有硫酸酯、藻蛋白酸等。有的胞壁上沉积有碳酸钙、镁等^[1]。海藻的胞间层较厚,大多为果胶质。总之,海藻的胞壁是一种极其复杂的复合多糖类物质,因种类不同,差异很大。

开展植物细胞学的研究,需从植物细胞提取某些亚细胞成分(如线粒体等),进行植物细胞融合,培养新的杂交植株,都需要首先分解掉胞壁。国内某些单位^[2,3,4]曾制备了一些酶,作为解壁工具,但未见应用于海藻上的报道。曾用上海植生所提供的纤维素酶试验,对海藻效果甚差。

鉴于海藻胞壁成分极其复杂,需另选酶作工具。我们观察到潮间带某些食植性和兼食性的海螺,具有消化海藻的能力。从三种海螺的消化道和内脏,提取粗酶液,对三种多细胞片状海藻进行解壁比较试验。

一、材料和方法

海螺 青岛近海的团岛潮间带采得三种海螺:朝鲜花冠小月螺 [*Lunella cornata coreensis* (Récluz)]、单齿螺 [*Monodonta labio* (Linné)] 和疣荔枝螺 [*Purpura clavigera* Küster]。采回后用海水清洗二次,饥饿二天,放入 -20℃ 备用。

海藻 三种海藻采自青岛近海的栈桥潮间带,其中绿藻为袋礁膜 (*Monostroma angicava* Kjellm)、红藻为条斑紫菜 (*Porphyra yezoensis* Ueda)、褐藻为裙带菜 [*Undaria pinnatifida*

(Harv.) Suringar]。临用前采集,经海水漂洗后,在藻体的营养细胞部位,用锋利刀片切下一大块 (4—6 cm²),再将大块切成小块 (~2 mm²),浸于海水待用。

消化酶液制备 参考 Fogel 等^[5,3]的方法。将冰冻海螺在室温下慢融,敲碎外壳,取出螺体,去头、足等,保留消化道和内脏组织。组织经快冻 (-20℃) 和慢融(室温)数次,以利细胞破碎。加入四倍于组织的冷蒸水,在 12,000 转/分高速捣碎机中捣碎成乳糜状。再经冰融后,于 4,000 转/分离心二次,每次 10—15 分钟。去残渣、留清液(粗酶液)。清液再在 0—4℃ 下,以 10,000 转/分再离心 30 分钟,清液经冷冻干燥制成干酶粉,可保存较长时间。

分解胞壁 取制备的粗酶液 2 ml 和磷酸盐-柠檬酸缓冲液 2 ml,放入胚胎培养皿中,于 37℃ 保温 10 分钟。取切好的小块藻体十余片,放入酶-缓冲液中与酶作用,隔一定时间,取出 1—2 片藻体在显微镜下观察。以煮沸 15 分钟的粗酶液为对照。

二、结 果

三种海螺的粗酶液分别对三种海藻作用,藻体放入酶液后,于 5, 7, 10, 15, 20, 30, 50, 90, 120, 180 分钟时,分别取出藻块,在显微镜下观察胞壁分解情况,以分离出单个细胞为作用起点,藻块大体分离为作用终点,记下时间,比较三种海螺酶的溶壁作用,见表 1。

海螺消化酶分解胞壁,分离出单个细胞情况,见图 1—6。

* 文中均指底栖定生藻。

表 1 三种海螺酶对三种海藻的解壁作用

海藻 \ 作用时间 (分)	海螺酶	朝鲜花冠 小月螺 (<i>L. Cornata coreensis</i>)	单齿螺 (<i>M. labio</i>)	疣荔枝螺 (<i>P. clav- igeva</i>)
袋 礁 膜 (<i>M. angicava</i>)		7—20	7—30	<50—120
条 斑 紫 菜 (<i>P. yezoensis</i>)		20—180	90—>180	>180
裙 带 菜 (<i>U. pinnatifida</i>)		10—30	15—50	50—180

朝鲜花冠小月螺酶和疣荔枝螺酶分解袋礁膜胞壁,分离出单细胞的情景,见图 1 和 2。单齿螺酶分解袋礁膜胞壁的情况,与图 1 相似,唯作用时间略长。图 2 下方未分离部分,可代表对照组细胞排列情况,正常袋礁膜细胞为不规则长多边形。胞壁开始分解,并逐步分离出单个细胞并留下的胞壁残骸。见图 1 右下角和图 3 上方。图 1 和 2 中,浅黑色的点,线和形状不规则的条纹,都是尚未分解完的胞壁残余。释放

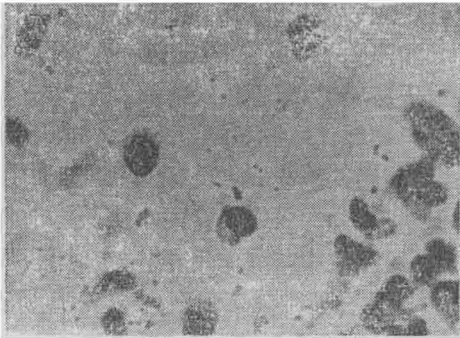


图 1 朝鲜花冠小月螺消化酶对袋礁膜的解壁作用 (7 分钟×132)

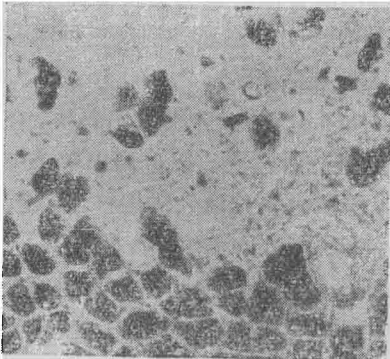


图 2 疣荔枝螺酶对袋礁膜的解壁作用 (50 分钟, ×132)



图 3 朝鲜花冠小月螺酶对条斑紫菜的解壁作用 (20 分钟, ×132)

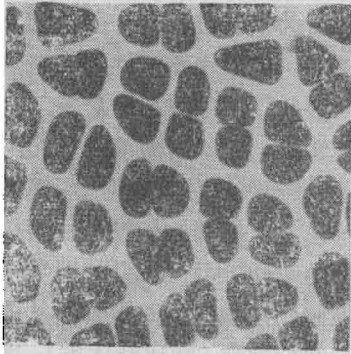


图 4 条斑紫菜对照 (×132)

出来的单个细胞,由原来不规则的长多边形,逐渐变成近似长椭圆形和球形。随作用时间延长,质膜溶解,使细胞瓦解(图 2 中深色的小黑块)。

朝鲜花冠小月螺酶分解条斑紫菜胞壁的情景,见图 3,图 4 为对照。图 3 右侧为刚分解的情况,有的细胞形状和对照相近,唯胞间距离变大,残余的胞壁较多较大;左侧为分解早而放出的单细胞,最左侧的呈圆球形(是原生质体)。另二种海螺酶分解条斑紫菜胞壁的情况相似,唯作用时间更长。

朝鲜花冠小月螺酶和疣荔枝螺酶分解裙带菜胞壁,分别表示在图 5 和 6。图 6 右侧中部

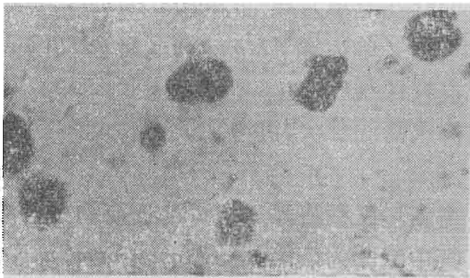


图 5 朝鲜花冠小月螺酶分解裙带菜胞壁所得的单个细胞 (10 分钟, ×264)

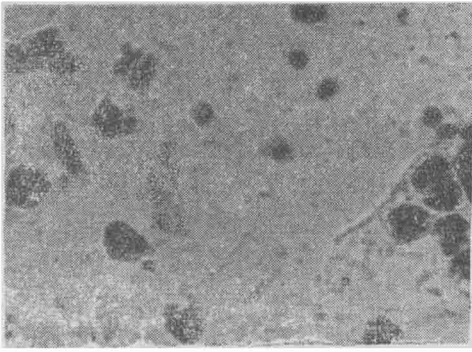


图 6 疣荔枝螺酶对裙带菜的解壁作用
(50 分, $\times 132$)

的一块细胞群,是尚未分离的藻体部分,基本可代表对照组的细胞形状。由于裙带菜为多层细胞的片状藻,细胞本身大小不匀,因而释放的单细胞亦不匀。单齿螺酶分解裙带菜胞壁的情况相似。

三、讨 论

实验结果表明,三种海螺酶中,以朝鲜花冠小月螺酶解壁的时间最短,分离出单个细胞的效果好;单齿螺酶次之,疣荔枝螺酶最差。其原因与海螺的食性有关系。朝鲜花冠小月螺多数栖居于多海藻、多腐植质的低凹水沟中,螺壳外附着一些绿色小藻,估计这种螺摄食海藻或腐植质较多,因而消化藻壁的酶活力强,解壁效果也好;而疣荔枝螺大多分布在长满牡蛎的岩石区及其附近的岩缝中。据报道,三角荔枝螺 [*Thais trigona* (Reeve)] 在南海大量摄食牡蛎,是牡蛎养殖业的敌害^[6]。估计疣荔枝螺亦会有此食性,因而消化藻壁的能力差;单齿螺以岩石缝隙中为多,可能是兼食性动物,因而它的酶解壁能力介于二者之间。

三种海藻中,以袋藻膜的解壁效果最佳,分离得到的单细胞较完整。这是由于该藻结构简单,为单细胞层片状藻,酶和胞壁的作用面大。裙带菜次之,条斑紫菜的作用时间最长。裙带菜为多层细胞的片状藻,从我们试验的部位看(藻体中部),至少有三层细胞;而条斑紫菜只有二层细胞,所以单用藻体细胞层的多少,解释解壁快慢,就有矛盾了。可是,从分离出的单细胞完整程度,与藻体结构繁简有关,藻体结构简单的,分离的好,即条斑紫菜分离出的单细胞比裙带菜的完整。

若用 0.1 M 巯基乙醇和 0.04 M EDTA (1:1),预先处理藻体 15 分钟,再与酶液作用,可加速藻壁分解。经预处理后,疣荔枝螺酶解壁的能力可达到单齿螺酶的水平。

酶液用量和解壁效果有关。我们曾用 0.5 ml 和 1.0 ml 酶液试验,解壁效果较差,用 2 ml 的效果好。2 ml 粗酶液的干重:朝鲜花冠小月螺酶为 42.8 mg,单齿螺酶为 34.8 mg,疣荔枝螺酶为 36.6 mg。缓冲液的 pH 在 5.8—7.4、温度在 30—37℃ 都有理想的解壁效果。

参 考 文 献

- [1] B. Fott.:《藻类学》中译本,上海科技版,1980 年,第 136,175,第 206 页。
- [2] 上海植物生理研究所细胞生理室:《生物化学与生物物理学报》,1976 年,第 8 期,第 341 页。
- [3] 中国科学院生物物理研究所三室:《生物化学与生物物理进展》,1978 年,第 6 期。
- [4] 陈驊等:《海洋与湖沼》,1979 年,第 10 期,第 329 页。
- [5] Fogel, S. et al.: *Genetics*, 48,321, 1963。
- [6] 张玺等:《贝类学纲要》,1961 年,第 144 页,科学版。

[本文于 1981 年 4 月 23 日收到]

更 正

本刊 1981 年第 6 期《苦味物的结构规律与诱导适应的受体模型》一文中:

页 数

14 页图 1 中

16 页表 1, 3 中

18 页表 4

