# HÌNH THÁI TẾ BÀO VÀ MỘT VÀI HÌNH THỨC SINH SẢN Ở *MELOSIRA MONILIFORMIS* (MÜLL.) AGARDH

VÕ THỊ NGỌC THÀNH<sup>\*</sup>, LÊ THỊ TRUNG<sup>\*\*</sup>

#### TÓM TẮT

Melosira moniliformis là loài tảo ven bờ rộng nhiệt, phân bố trên khắp các vùng biển trên thế giới. Chúng có vai trò như nguồn dinh dưỡng cho hàu và trai. Qua các quan sát dưới kính hiển vi quang học và kính hiển vi điện tử quét (SEM – Scanning Electron Microscopy), hình thái tế bào, cấu trúc mảnh vỏ và các hình thức sinh sản của loài này được mô tả rõ. Bề mặt tế bào đặc trưng bởi nhiều họa tiết và các lỗ nhỏ. Mảnh vỏ (thành tế bào Silic) gồm nhiều ngăn giả hình thành. Ở điều kiện bình thường, tế bào sinh sản bằng hình thức phân bào. Sau nhiều lần phân bào, kích thước tế bào giảm dần, tế bào khôi phục kích thước cũ bằng cách hình thành bào tử khôi phục cỡ lớn và bào tử nghỉ.

*Từ khóa:* tảo Silic, *Melosira*, hình thái tế bào, cấu trúc thành tế bào Silic, phân đôi, bào tử khôi phục cỡ lớn, bào tử nghỉ.

#### ABSTRACT

# The cellular form and some reproduction methods of Melosira moniliformis (Müll.) Agardh

Melosira moniliformis distribute throughout the seas of the world. They serve as nutrient source for oysters and mussels. Observation under optical microscope and scanning electron microscope (SEM), cell morphology, cell wall structure of Silica and other forms of reproduction of this species are described. The surface cell is characterized by many motifs and rimoportulae. Valve mantle (Silica cell walls) comprises of a series of closed polygonal pseudoloculi. In normal conditions, cells divide principally asexually, through mitosis. The neosynthesis of one valve is always the smaller one which results in one of the two daughter cell s decreasing in size. Once a critical size is reached, cell restore the maximal cell size by auxospores and resting spores.

*Keywords:* diatoms, *Melosira*, cell morphology, cell wall structure, cell division, auxospores, resting spores.

#### 1. Mở đầu

*Melosira moniliformis* thuộc chi *Melosira* được Agardh xác lập vào năm 1824 [1]. Theo Hua (2007) [5], chi này là nguồn thức ăn và ảnh hưởng đến kích thước hồng ngọc của loài trai *Potamilus alatus*. Ở Việt Nam, chi *Melosira* được sử dụng chủ yếu trong việc nuôi trồng hàu. [2]

Loài tảo Melosira moniliformis mang tính ven bờ rộng nhiệt, phân bố từ vùng

<sup>&</sup>lt;sup>\*</sup> ThS, Trường Đại học Sư phạm TPHCM

<sup>\*\*</sup> TS, Trường Đại học Sư phạm TPHCM

nhiệt đới đến hàn đới. Ở Thái Bình Dương, Đại Tây Dương, các vùng biển Nhật Bản, Phúc Kiến, Quảng Đông Trung Quốc. Ở các vùng ven biển Việt Nam đều thấy loài tảo này [1].

#### 2. Vật liệu và phương pháp

Vi tảo *Melosira moniliformis* thu tại vùng biển ven bờ thôn Đông Hòa, xã Long Hòa, huyện Cần Giờ, TP Hồ Chí Minh, nằm trong vùng tọa độ 10,4° vĩ bắc và 106,9° kinh đông. Mẫu được phân lập và lưu giữ tại phòng thí nghiệm Sinh lí Thực vật Trường Đại học Sư phạm TP Hồ Chí Minh.

Mẫu vi tảo được quan sát dưới kính hiển vi quang học (Zeiss) ở các độ bội giác x10 và x40.

Để quan sát dưới kính hiển vi điện tử quét (SEM – Scanning Electron Microscopy), *Melosira moniliformis* được xử lí kết hợp với HCl 10% ở nhiệt độ 80 – 90°C trong khoảng từ 1 đến 3 giờ và  $H_2O_2$  30%, nhiệt độ 80 – 90°C trong 1 giờ [6]. Mẫu được chụp tại Viện Công nghệ Hóa học, số 1, Mạc Đĩnh Chi, Quận 1, TP Hồ Chí Minh.

#### 3. Kết quả

# 3.1. Hình thái tế bào

#### 3.1.1. Dưới kính hiển vi quang học

Tế bào nhỏ, có dạng từ hình cầu đến gần hình trụ; thể sắc tố màu xanh olive, nhỏ, nhiều và thường phân bố khắp thể tích tế bào (ảnh 1.A, B). Các tế bào nối với nhau bằng mặt vỏ thành chuỗi dài như chuỗi hạt, số lượng tế bào trong một chuỗi có thể dao động từ vài, vài chục đến khoảng vài trăm tế bào (<500) tùy điều kiện môi trường và thời gian tăng trưởng từng chuỗi (ảnh 1.A).





**Ånh 1.** Hình thái Melosira moniliformis dưới kính hiển vi quang học (A) Ảnh chụp ở bội giác x10. (B) Ảnh chụp ở bội giác x40

# 3.1.2. Dưới kính hiển vi điện tử quét

Tế bào tảo Silic có cấu tạo gồm hai mảnh vỏ, một mảnh lớn (ep – epivalve, mảnh lớn, mảnh trên) úp lên trên một mảnh nhỏ (hyp – hypovalve, mảnh nhỏ, mảnh dưới) (ảnh 2.A).

Mỗi loài tảo Silic có các họa tiết đặc trưng trên mảnh vỏ. Khi xử lí mẫu tảo với HCl trong 1 giờ và  $H_2O_2$  trong 1 giờ, các họa tiết trên toàn bộ bề mặt mảnh vỏ *Melosira moniliformis* được thể hiện rõ (ảnh 2.A). Ở gờ của viền mảnh vỏ có nhiều hoa văn ngôi sao dầy (ảnh 2.B), khi đi về phía mặt mảnh vỏ, hoa văn này dần nhọn hơn (ảnh 2.C), đến gờ của phần mặt thì hình thành dãy gai với hình dạng khá đồng đều (ảnh 2.D).

Bề mặt mảnh vỏ có nhiều lỗ nhỏ đi từ ngoại vi đến trung tâm (R – rimoportulae, là vết tích của các ống bẹt hay các khe dài được bao quanh bởi hai lồi hình môi xuyên qua thành mảnh vỏ) (ảnh 2.D). Các lỗ nhỏ này cũng phân bố trên phần thân vỏ nhưng chủ yếu là ở gờ thân (ảnh 2.B, C).



Ánh 2. Hình thái Melosira moniliformis dưới SEM

(A) Tế bào tảo đơn. (B) Cấu trúc gờ phần thân. (C) Đoạn nối giữa phần thân và phần mặt mảnh vỏ. (D) Phần mặt mảnh vỏ. ep - epivalve, mảnh lớn, mảnh trên; hyp – hypovalve, mảnh nhỏ, mảnh dưới; R - lỗ nhỏ; tam giác – họa tiết trên bề mặt tế bào.

Khi tăng thời gian xử lí HCl lên 3 giờ, cấu trúc bên trong của mảnh vỏ (hay thành tế bào Silic) cũng được lộ rõ. Mảnh vỏ của mẫu vi tảo gồm nhiều ngăn giả (pseudoloculi) (ảnh 3.A, B). Bên dưới ngăn giả là các lỗ nan (được thấy rõ khi quan sát từ mặt trong mảnh vỏ) (ảnh 3.C).



Ånh 3. Cấu trúc mảnh vỏ (thành tế bào Silic)

(A) Cấu trúc thành tế bào Silic. (B) Cấu trúc thành tế bào với các ngăn giả và lỗ nan phía dưới. (C) Mặt trong thành tế bào với các lỗ nan. A-C: ảnh chụp SEM. Mũi tên: ngăn giả

#### 3.2. Hình thức sinh sản

#### 3.2.1. Sinh sản sinh dưỡng

Ở điều kiện môi trường thuận lợi, các tế bào sinh sản bằng cách phân đôi. Từ một tế bào ban đầu sẽ tăng trưởng chiều rộng cùng với gia tăng số lượng thể sắc tố, màng plasma dần thắt lại ở giữa, mảnh vỏ mới được hình thành theo hướng từ trung tâm ra ngoại vi và kết quả là tạo thành hai tế bào con (ảnh 4.A).

Song song với sự gia tăng kích thước, số lượng đai nối của tế bào vi tảo cũng nhanh chóng gia tăng. Các đai nối mới (3-5) được hình thành ở giữa các đai nối cũ của hai mảnh vỏ (1, 2 và 1', 2') (ảnh 4.B-D). Dãy đai nối đặc trưng bởi các lỗ xếp thẳng hàng và song song với trục rộng (trục nối liền hai cực của hai mảnh vỏ), các lỗ trên hai dãy phía ngoài (dãy 1, 2 và 1', 2') có kích thước nhỏ hơn các lỗ ở những dãy bên trong (dãy 3-5) (ảnh 4.D).

Đến khi hai tế bào con phân tách hoàn toàn, dãy đai nối (girdle-band) này vẫn nối liền hai mảnh vỏ cũ có cùng nguồn gốc từ một tế bào mẹ. Dãy đai nối này cũng chính là lớp màng bao bọc quanh các nhóm nhỏ khoảng từ hai đến ba tế bào được quan sát thấy dưới kính hiển vi quang học (ảnh 4.A.5).



Ånh 4. Sinh sån sinh duõng ở Melosira moniliformis

(A) Chuỗi gồm các tế bào đang sinh sản sinh dưỡng: 1-4. tế bào đang phân đôi, màng tế bào thắt eo dần, 5. hai tế bào con sau khi hoàn tất phân bào. (B, C) Sự gia tăng số lượng các đai nối. (D) Cấu trúc đai nối. A: Ảnh chụp dưới kính hiển vi quang học, bội giác x40. B-D: Ảnh chụp SEM; 1,2 và 1',2': các đai nối của hai mảnh vỏ tế bào mẹ, 3-5: các đai nối mới hình thành.

#### 3.2.2. Bào tử khôi phục cỡ lớn

Trong môi trường nuôi, tế bào vi tảo có nhiều kích thước khác nhau. Các tế bào có kích thước lớn (trục cao khoảng 20-40 $\mu$ m, trục dài khoảng 25 $\mu$ m) thường sinh sản sinh dưỡng bằng cách phân bào (mục 3.2.1).Với những tế bào nhỏ (trục cao khoảng 20  $\mu$ m, trục dài khoảng 15  $\mu$ m) lại có xu hướng hình thành bào tử khôi phục cỡ lớn. Đầu tiên, hai mảnh vỏ của tế bào mẹ ban đầu tách dần về hai phía, bào tử ở bên trong, có dạng hình cầu và tăng dần kích thước (ảnh 5.A). Khi đạt đến kích thước nhất định (thường là kích thước tối đa tùy theo từng loài), thành bào tử tách ra, giải phóng tế bào mới có kích thước lớn hơn hẳn so với tế bào mẹ (ảnh 5.B).

Bào tử khôi phục cỡ lớn thường nằm ở đầu chuỗi và tế bào con sau khi hình thành tiếp tục phân đôi trên chính chuỗi tế bào cũ. Do đó, trong môi trường, đôi khi có những chuỗi tế bào chứa cả tế bào kích thước nhỏ (đã phân đôi nhiều lần) và tế bào kích thước lớn (mới hình thành thông qua bảo tử khôi phục cỡ lớn) (ảnh 5.C).

Mẫu chụp dưới SEM cho thấy: bào tử khôi phục cỡ lớn có vỏ dầy, các gai và hoa văn hình sao dầy ít hơn so với tế bào sinh dưỡng (ảnh 5.D). Trên hai cực của bào tử còn dính với hai mảnh vỏ của tế bào mẹ (ảnh 5.E).



**Ånh 5.** Bào tử khôi phục cỡ lớn của Melosira moniliformis

(A) Sự hình thành bào tử khôi phục cỡ lớn. (B) Bào tử giải phóng tế bào ra bên ngoài. (C) Chuỗi tế bào với các tế bào đã khôi phục kích thước và các tế bào cũ. (D) Bào tử khôi phục cỡ lớn nhìn từ mặt bên. (E) Bào tử khôi phục cỡ lớn nhìn từ mặt vỏ.
A-C: ảnh chụp kính hiển vi quang học, bội giác x40. D, E: ảnh chụp SEM.

#### 3.2.3. Bào tử nghỉ

Ngoài việc hình thành bào tử khôi phục cỡ lớn, các tế bào có kích thước nhỏ còn hình thành bào tử nghỉ. Với dạng bào tử này, quan sát dưới kính hiển vi quang học cho thấy nguyên sinh chất co lại và giảm thể tích so với tế bào sinh dưỡng, một mảnh vỏ mỏng – tương tự như ở tế bào sinh dưỡng và một mảnh vỏ dầy (ảnh 6.A).

Khi xử lí với HCl và  $H_2O_2$ , quan sát dưới SEM, phần mảnh vỏ dầy có cấu trúc bên ngoài giống mảnh vỏ của tế bào sinh dưỡng. Phần mảnh vỏ mỏng chỉ được thấm nhiều Silic, khiến vách của các ngăn giả dầy hơn so với vách ngăn ở mảnh vỏ tế bào sinh dưỡng (ảnh 6.B).



Ånh 6. Bào tử nghỉ ở Melosira moniliformis

(A) Bào tử nghỉ bán nội sinh. Mũi tên – mảnh vỏ mỏng – vỏ bào tử nghỉ thứ cấp. Ảnh chụp dưới kính hiển vi quang học. (B) Cấu trúc thành tế bào của bào tử nghỉ bán nội sinh. Mũi tên – mảnh vỏ mỏng với các vách ngăn giả được thấm Silic. A: ảnh chụp dưới kính hiển vi quang học, bội giác x40. B: ảnh chụp SEM.

# 4. Thảo luận

Các ảnh chụp tế bào sinh dưỡng và các giai đoạn sinh sản sinh dưỡng, dưới kính hiển vi quang học và SEM, phù hợp với những mô tả của Crawford (1977) (dựa trên tiêu bản của Agardh năm 1824) [4] và Trương Ngọc An(1993) [1].

Ngoài ra, các hình ảnh này còn cho thấy rõ hơn cấu trúc mảnh vỏ (ảnh 3) và các giai đoạn phân bào (ảnh 4.A). Ở *Melosira moniliformis*, màng plasma thất eo theo hướng hướng tâm – một đặc trưng của hình thức phân chia tế bào chất ở tế bào thực vật. Theo Bowler (2010) [3], giai đoạn phân chia tế bào chất ở tảo Silic mang cả hai đặc trưng của tế bào động vật và thực vật. Đó là màng plasma thắt eo theo hướng hướng tâm và mảnh vỏ mới (thành tế bào silic ở tảo Silic – tương ứng với thành tế bào ở tế bào thực vật) hình thành theo hướng li tâm [3].

Trong quá trình sinh sản sinh dưỡng theo lối phân bào, mảnh vỏ mới hình thành sẽ úp vào trong mảnh vỏ cũ của tế bào mẹ. Do vậy, sau mỗi lần phân bào, kích thước tế bào sẽ giảm dần [3]. Điều này giúp giải thích việc trong môi trường có nhiều kích cỡ tế bào khác nhau.

Khi đạt đến kích thước tối thiểu... vi tảo khôi phục lại kích thước ban đầu bằng cách hình thành bào tử khôi phục cỡ lớn (auxospore) và bào tử nghỉ (resting spore) [7, 8].

So sánh ảnh 5 và ảnh 6 với mô tả và hình minh họa về các hình thức sinh sản theo Lee (2008) [7], *Melosira moniliformis* hình thành bào tử khôi phục cỡ lớn theo kiểu isodiametric và hình thành bào tử nghỉ theo kiểu bán nội sinh (semiendogenous resting spore).

Bào tử nghỉ được hình thành sau hai lần phân bào. Lần thứ nhất hình thành vỏ

bào tử nghỉ thứ cấp lồng vào trong mảnh vỏ cũ của tế bào mẹ. Lần thứ hai hình thành vỏ bào tử nghỉ sơ cấp lồng vào vỏ bào tử nghỉ thứ cấp ban đầu, đồng thời hình thành thêm mảnh vỏ đệm – nằm giữa vỏ bào tử nghỉ sơ cấp và mảnh vỏ có nguồn gốc từ tế bào mẹ (hình 1) [8]. Do vậy, khi quan sát dưới kính hiển vi quang học, cho thấy hai phần mảnh vỏ khác nhau: mảnh vỏ mỏng – tương ứng với vỏ thứ cấp của tế bào nghỉ và mảnh vỏ dầy – tương ứng với ba cấu trúc: mảnh vỏ của tế bào mẹ, mảnh vỏ đệm và vỏ sơ cấp của tế bào nghỉ (ảnh 6.A).



Hình 1. Sự hình thành (A) và cấu trúc của bào tử nghỉ bán nội sinh (B)[8]

Ngoài việc được hình thành khi tế bào giảm dần kích thước, Tomas (1996) [8] và Lee (2008) [7] còn cho rằng bào tử khôi phục cỡ lớn và bào tử nghỉ thường xuất hiện khi môi trường sống không thuận lợi (nguồn thức ăn, ánh sáng... không đủ). Qua các khảo sát thực nghiệm, chúng tôi cũng nhận thấy hai dạng bào tử này thường gặp ở cuối pha tăng trưởng nhanh hoặc ở các điều kiện nuôi có cường độ ánh sáng, hàm lượng sắt (Fe<sup>3+</sup>) và bicarbonate (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>) thấp. Vì vậy, bào tử khôi phục cỡ lớn có vỏ dầy (ảnh 5.D), bào tử nghỉ có mảnh vỏ mỏng (vỏ thứ cấp) tăng thấm silic và mảnh vỏ dầy gồm ba lớp cấu trúc khác nhau (ảnh 6) để chống chịu trước những hạn chế của môi trường cũng như tạo điều kiện để chuẩn bị khôi phục kích thước.

#### 5. Kết luận

Có thể mô tả tổng quát về *Melosira moniliformis* (Müll.) Agardh "tế bào có dạng từ hình cầu đến gần hình trụ, thể sắc tố màu xanh olive, dạng hạt, nhỏ và nhiều. Bề mặt tế bào đặc trưng bởi nhiều họa tiết khác nhau từ phần thân đến phần mặt mảnh vỏ. Các lỗ nhỏ phân bố khắp tế bào nhưng chủ yếu là ở gờ thân và mặt vỏ. Mảnh vỏ (thành tế bào) gồm nhiều ngăn giả hình thành. Các đai nối đặc trưng với các hàng lỗ xếp song song với nhau. Ở điều kiện bình thường, tế bào sinh sản bằng hình thức phân bào. Sau nhiều lần phân bào, kích thước tế bào giảm dần, tế bào khôi phục kích thước cũ bằng cách hình thành bào tử khôi phục cỡ lớn theo kiểu isodiametric và bào tử nghỉ theo kiểu bán nội sinh."

# TÀI LIỆU THAM KHẢO

- 1. Trương Ngọc An (1993), *Phân loại tảo Silic phù du biển Việt Nam*, Nxb Khoa học và kĩ thuật Hà Nội, tr.1-10.
- 2. Đặng Đình Kim, Đặng Hoàng Phước Hiền (1999), *Công nghệ sinh học vi tảo*, Nxb Nông nghiệp Hà Nội, tr.5-125.
- 3. Bowler C., Martino A.D., Falciatore A. (2010), "Diatom cell division in an environmental context", *Current Opinion in Plant Biology 2010*, Vol. 13, pp.623-630.
- Crawford R. M. (1977), "The taxonomy and classification of the diatom genus Melosira C. Ag. II. M.moniliformis (Müll.) C. Ag.", Phycologia, Vol. 16(3), pp.277-285.
- 5. Hua D., Neves R. J. (2007), "Captive survival and pearl culture potential of the pink heelsplitter *Potamilus alatus*", *North American Journal of Aquaculture*, Vol. 69, pp.147-158.
- 6. Karthick B., Taylor J.C., Mahesh M.K., Ramachandra I.V. (2010), "Protocols for collection, preservation and enumeration of diatoms from aquatic habiatats for water quality monitoring in India". *The Icfai University Journal of Soil and Water Sciences*, Vol. III(1), pp.35-40.
- 7. Lee R. E. (2008), *Phycology* (Fourth edition), Cambridge University Press, pp.369-404.
- 8. Tomas C. R., Hasle G. R., Syvertsen E. E., Steidinger K. A., Tangen K. (1996), *Identifying marine diatoms and dinoflagellates*, Elsevier Inc, pp.7-17.

(Ngày Tòa soạn nhận được bài: 28-11-2013; ngày phản biện đánh giá: 13-12-2013; ngày chấp nhận đăng: 16-5-2014)