

中国科学技术大学  
硕士学位论文



埃迪卡拉纪瓮安生物群红藻化石  
——来自显微结构学与显微谱学的证据

作者姓名： 吴若琳

学科专业： 古生物学与地层学

导师姓名： 赵方臣 研究员

殷宗军 研究员

完成时间： 二〇二〇年五月二十日

# 中国科学技术大学

# 硕士学位论文



## 埃迪卡拉纪瓮安生物群红藻化石 ——来自显微结构学与显微谱学的证据

作者姓名： 吴若琳

学科专业： 古生物学与地层学

导师姓名： 赵方臣 研究员 殷宗军 研究员

完成时间： 二〇二〇年五月二十日

University of Science and Technology of China  
A dissertation for master's degree



# **Fossil Rhodophytes in the Ediacaran Weng'an Biota**

—Evidence from microscopic and spectroscopic analysis

Author: Wu Ruolin

Speciality: Paleontology and Stratigraphy

Supervisors: Prof. Zhao Fangchen, Prof. Yin Zongjun

Finished time: 20<sup>th</sup> May, 2020

## 中国科学技术大学学位论文原创性声明

本人声明所呈交的学位论文,是本人在导师指导下进行研究工作所取得的成果。除已特别加以标注和致谢的地方外,论文中不包含任何他人已经发表或撰写过的研究成果。与我一同工作的同志对本研究所做的贡献均已论文中作了明确的说明。

作者签名: 吴若琳

签字日期: 2020.5.20

## 中国科学技术大学学位论文授权使用声明

作为申请学位的条件之一,学位论文著作权拥有者授权中国科学技术大学拥有学位论文的部分使用权,即:学校有权按有关规定向国家有关部门或机构送交论文的复印件和电子版,允许论文被查阅和借阅,可以将学位论文编入《中国学位论文全文数据库》等有关数据库进行检索,可以采用影印、缩印或扫描等复制手段保存、汇编学位论文。本人提交的电子文档的内容和纸质论文的内容相一致。

保密的学位论文在解密后也遵守此规定。

公开 保密(\_\_\_\_年)

作者签名: 吴若琳

导师签名: 赵磊、郎宗海

签字日期: 2020.5.20

签字日期: 2020.5.20

## 摘要

多细胞红藻的起源与早期演化是一直困扰学术界的重要科学问题。目前关于光合质体起源的认识主要来自于内共生理论，而红藻的多细胞化则被认为是独立起源的结果。这些理论或假说都需要被深时记录的化石证据检验。但长久以来，早期多细胞红藻化石稀缺，保存质量普遍较低，借助分子钟计算和生物标志物的检测又存在较大的不确定性，为重建多细胞红藻的起源和早期演化历程带来了困境。因此，具有高保真度和大量产出多细胞藻类化石的前寒武纪时期瓮安生物群在研究多细胞红藻的早期演化和生态功能方面具有重大意义。

本文选取瓮安生物群中报道的多细胞红藻作为研究对象，以岩石切片中的化石材料为主，酸洗挑选的三维立体化石材料为辅，二者结合，通过显微结构成像和显微谱学分析等多技术跨平台联用，在多维度（从点-线-面到三维立体空间）和多尺度（从毫米到亚微米）上对化石进行高分辨率研究，旨在一站式获取化石的结构和原位矿物组成等成分信息。本文针对同一批标本，综合运用扫描电子显微成像、数字玻片扫描成像、激光共聚焦显微成像、同步辐射 X 射线三维无损成像、激光共聚焦显微拉曼光谱分析等技术，整理出各技术的原理、对于检测磷酸盐化微体化石的优势、实验流程及注意事项、实验结果等，开发出一套针对磷酸盐化微体化石的综合性检测方案和流程，达到从显微学到显微谱学上的对微体化石结构和成分信息的充分挖掘。

基于以上技术，笔者观察大量新材料发现切片中观察到的所谓四分和八分“孢子”结构并非红藻孢子体世代产生的孢子，而与被人解释为果孢子体世代的果孢子囊——细胞岛结构有关，认为前者是后者的早期发育阶段，并据此提出细胞岛结构的生长模式，认为该结构与现代红藻果孢子囊释放孢子进行生殖的机制不同，它们可能通过整体释放而行使繁殖功能。

本研究首次发现瓮安生物群中呈三维立体保存的多细胞冠群红藻完整个体标本。同步辐射 X 射线三维无损成像研究发现该红藻化石呈短棒状，发育盘状固着器，藻植体具有典型的细胞分化和细胞程序性凋亡的特征，产生了不同功能的组织，并在标本顶部的外皮层发现了大量四分孢子，表明其可能为底栖固着的孢子体世代个体，通过释放四分孢子体进行生殖。

**关键词：**瓮安生物群 埃迪卡拉纪 陡山沱组 多细胞红藻

## ABSTRACT

The origin and early evolution of eukaryotic multicellular red algae (Rhodophytes) are amongst the most profound and mysterious questions in paleobiology and evolutionary biology. Currently, the widely accepted theory on the origin of the photosynthetic plastids of eukaryotic algae is endosymbiotic hypothesis, and it is also believed that the multicellularity of red algae arose independently in the Earth's history. All these proposed hypotheses need to be tested rigorously by geological record. However, for a long time, the early fossil records of eukaryotic multicellular algae are scarce. Moreover, the preservation quality of these early fossil algae is generally low. Molecular clock estimates and biomarker evidence for origin and early evolution of multicellular red algae remain big uncertainty, leading a dilemma of theoretical testing. In this context, as a pre-Cambrian exceptional window with high fidelity, the Weng'an biota from South China plays a crucial role in reconstructing the early evolutionary process of red algae since so abundant materials interpreted as total group Rhodophyta have been reported previously.

This study focuses on the multicellular red algae from the Weng'an biota, mainly investigating on the materials from thin sections of black facies and also some three-dimensionally preserved specimens from grey facies as complementary. An array of techniques including scanning electron microscopy (SEM), thin section digital scanning microscopy (tsDSM), confocal laser scanning microscopy (CLSM), synchrotron X-ray tomographic microscopy (sXRTM), confocal laser Raman microspectroscopy (CLRMS), have been used to characterize the morphological structures and in-situ mineral components of multicellular red algal fossils from different dimensions and scales (from two dimension to three dimension and from millimeter to submicron). We sort out the operating and working principles as well as the advantages of each technology in analysing phosphatized microfossils, and then developed a comprehensive experimental protocol based on the data we obtained.

With the help of these techniques and based on the new observation of abundant materials, we found that the tetrads and octads observed in multicellular thalli are unlikely tetraspores or octospores produced by a inferred free-living tetrasporophyte phase of early stem group of corallinales, but are more likely to be precursors of berry-like "cell island" structures, which has been widely interpreted as carposporangia.

We herein interpreted the tetrads and octads as the early developmental stages of “cell islands” and reconstructed the growth process of the "cell island" structures that they start by cell division from monad to dyad, tetrad and then octad cell packets, then gradually growing bigger by increasing the number of cells but not the volume of each cell. The large number of individually preserved cell islands discovered indicates that these structures may be released into environments as a whole for thalli reproduction, rather than producing carpospores. We also found for the first time a submillimeter scale but complete multicellular thallum with a rod-like shape and a disc-like holdfast. In the light of three-dimensional reconstruction aided by sXRTM, we have observed three cell layers with obvious cell differentiation as well as possible programmed cell death process known as apoptosis, and more importantly, tetraspores embedded within the cortex layer near the surface. All the evidence combined as a suite suggests that this algal individual might be of sporophyte phase of a benthic rhodophyte.

**Key Words:** Weng'an Biota, Ediacaran, Doushantuo Formation, multicellular Rhodophytes (red algae)

## 目 录

引 言.....	1
第 1 章 瓮安真核多细胞红藻的研究背景及存在问题 .....	5
1.1 瓮安生物群多细胞红藻的研究现状.....	5
1.1.1 瓮安生物群研究简史.....	5
1.1.2 瓮安生物群真核多细胞藻类的研究简史.....	5
1.1.3 藻类化石识别依据.....	7
1.1.4 不同维度的结构对比.....	8
1.2 瓮安多细胞红藻研究存在的关键问题.....	8
1.2.1 多技术手段联用对比切片与立体标本.....	8
1.2.2 瓮安生物群多细胞红藻化石证据.....	8
1.2.3 瓮安生物群红藻丰度和多样性.....	9
1.2.4 瓮安红藻化石的演化生物学意义.....	9
第 2 章 地质背景和材料来源 .....	10
2.1 地质背景 .....	10
2.2 材料来源 .....	12
第 3 章 研究方法 .....	16
3.1 针对岩石薄片的透射光学显微成像和全自动数字玻片扫描技术 .....	17
3.2 酸处理、化石挑样和扫描电镜观察 .....	22
3.3 同步辐射成像 .....	22
3.3.1 同步辐射装置简介.....	25
3.3.2 相位衬度成像及同步辐射装置构架.....	27

3.3.3 成像实例.....	29
3.4 激光共聚焦显微成像.....	30
3.4.1 激光共聚焦显微成像技术的基本原理及功能.....	31
3.4.2 样品制备.....	33
3.4.3 成像实例.....	34
3.5 显微拉曼光谱分析.....	40
<b>第4章 化石生物学.....</b>	<b>44</b>
4.1 前寒武纪多细胞红藻化石综述.....	44
4.2 多细胞藻类化石识别标准及瓮安生物群中已报导类群再讨论.....	46
4.2.1 红藻生物学判断依据.....	46
4.2.2 瓮安生物群中已报导的多细胞藻类化石.....	49
4.3 瓮安生物群岩石薄片前人报导的冠群红藻化石再研究.....	51
4.3.1 化石描述.....	51
4.3.2 讨论.....	57
4.4 瓮安生物群中新发现的三维立体红藻化石.....	64
4.4.1 化石描述.....	64
4.4.2 讨论.....	74
<b>第5章 结论与展望.....</b>	<b>78</b>
<b>参考文献.....</b>	<b>80</b>
<b>致 谢.....</b>	<b>85</b>
<b>在读期间发表的学术论文与取得的其他研究成果.....</b>	<b>86</b>

## 引言

藻类是海洋和内陆水体中最主要的初级生产力，藻类的光合作用不仅提供全球水体食物网系统初级营养和能量来源，而且参与维护了地球生态系统的稳定<sup>[1, 2]</sup>。而众多藻类中，真核多细胞的类群仅在红藻、绿藻、褐藻中发现<sup>[3]</sup>，比起其它单细胞类群，它们具有更复杂的形态结构和生理功能。

红藻是现生海洋藻类中种类最多的类群，也是进化历史中最古老的类群之一，其早期起源与演化过程多很多问题悬而未决。

对于红藻的早期起源与演化研究，有两个演化创新生物学节点，即红藻的起源和红藻的多细胞化。内共生理论认为包括红藻在内的真核藻类是由原生生物吞噬能光合自养的蓝细菌并形成共生关系共同存活形成的<sup>[2, 4]</sup>，这一理论假说是目前较具有说服力的模型；而多细胞化在地质历史中曾有多次起源，其中红藻和绿藻较为相近的共同的多细胞化起源祖先，褐藻的多细胞化则较远于二者<sup>[5, 6]</sup>。

在研究生物起源与演化时，分子钟、生物标记物检测、化石三者往往相辅相成、相得益彰。分子钟可以卡定物种起源的最早时间，计算出各类分歧发生的节点相对位置；生物标志物通过生物化学物质的检测，判断产生这类物质的生物出现的时间和数量等信息；化石是最直接的证据，若某地层中出现了某种生物的化石，则代表该类生物在地质历史时期中出现的时间最晚不晚于该地层所代表的地质年代。在研究真核多细胞藻类的过程中，学者也在这三大方面中分别获得重要发现。根据分子钟推测，真核藻类在19亿年前出现<sup>[7]</sup>；生物标志物方面，根据真核生物类固醇的研究发现约6.59-6.45亿年前真核原始色素体藻类（包括红藻和绿藻）便已在海洋中繁盛<sup>[8]</sup>。化石方面，印度地区也发现了距今约16亿年的三维立体保存的可能为红藻冠群的化石，并发现同一层位保存了可能同为藻类的多细胞结构<sup>[9]</sup>；在我国华北高于庄组发现可能为最早的距今15.6亿年前的宏体碳质压模红藻化石，并在同一层位发现了保存精美的多细胞结构<sup>[10]</sup>；在挪威斯匹兹卑尔根岛距今约8亿年的地层中发现了多细胞碎片被解释为多细胞绿藻化石<sup>[11]</sup>；我国蓝田生物群和庙河生物群中发现被认为是藻类的宏体碳质压模化石<sup>[12, 13]</sup>。发现具有比较明显显微结构的可与现生对比的藻类化石是加拿大北部约10亿年前<sup>[14]</sup>硅化碳酸盐岩中保存的红藻化石*Bangiomorpha*，其形态学特征可与现生红毛菜类（*Bangiophyte*）进行对比<sup>[15, 16]</sup>，以及我国辽宁南芬组的10亿年的多细胞绿藻化石<sup>[17]</sup>，其形态学特征可与现生管枝藻目（*Siphonocladales*）的刚毛藻属（*Cladophora*）和根植藻属（*Rhizoclonium*）进行对比。除此之外，早期发现的藻类化石记录零星，化石保存状态不佳，难以观察到细胞及亚细胞结构，其生物学属性大多有待

商榷。

由于分子钟与生物标志物二者所限定的起源与分化时间，相差有十余亿年之久，且分子钟时间时常出现上亿年的不确定性，生物标志物在极其容易遭到污染的同时对对应生物的分类的划分也缺乏精度，更确凿的化石证据亟需被发现来限定藻类早期起源与演化的各个阶段。而瓮安生物群恰好是一个独特的埋藏窗口，磷酸盐化保存的化石能展现精美的细胞及亚细胞结构，可供我们探索真核藻类早期的演化过程。

埃迪卡拉纪瓮安生物群是发现于距今约 6.09 亿年前<sup>[18]</sup>的磷酸盐化特异埋藏生物群，其中保存着大量精美、种类丰富的微体化石，包括动物成体<sup>[19,20]</sup>、多种卵裂方式和不同发育阶段的动物胚胎<sup>[21-26]</sup>、藻类<sup>[21,27-30]</sup>、疑源类<sup>[27,29,31,32]</sup>、地衣<sup>[33]</sup>及其它分类位置不明的化石类型如管状<sup>[34]</sup>、瓶状化石<sup>[35]</sup>等，在过去三十年间吸引了世界各地学者的关注。

瓮安生物群的研究早期最先被发现和描述的多数为藻类化石，因此甚至被认为是由多细胞藻类、胶鞘丝状体、球状体和疑源类组成的藻类化石群<sup>[36]</sup>，随着研究的不断深入，后期学者们逐渐把关注的焦点转移到可能的动物胚胎和动物成体化石的寻找与发现中，而藻类化石的研究逐渐减少。

然而，瓮安生物群所在层位的磷块岩切片中广泛存在各种保存精美的真核藻类化石的复杂结构，对这些标本详细研究，将对早期的藻类起源与演化具有极其重要的意义，如被报导的红藻的生殖结构囊果、果孢子囊、精子囊、四分孢子等，都是在观察藻类切片的基础上发现的一些特殊的生殖相关结构，展现了红藻的配子体、果孢子体、四分孢子体三相世代<sup>[27,30,36,37]</sup>。

除了红藻的证据外，瓮安生物群中是否还有较为确凿的同属于真核多细胞藻类的绿藻、褐藻的细胞及亚细胞结构证据？要如何对它们进行识别？瓮安生物群中真核多细胞藻类的丰度和分异度究竟如何？已报导类群中是否有值得重新厘定的地方？这些藻类在演化生物学上占据何种地位？对当时的海洋和大气生态环境及别的生物类群又会产生何种影响？这些都是学者们希望寻找到答案的问题。除此之外，由于早期从切片材料提取立体信息的技术不是很成熟，加之切片包含的信息内容多样复杂，展示的结构之间的关系在单一平面上很难确定，前人虽然报道过不少多细胞真核藻类化石，但它们的生物学属性多数尚未得到很好的解决，甚至有些类型仅仅是通过排除了动物属性而归置入藻类。随着技术手段的不断精进，多技术的交叉连用模式日益成熟，这些化石可能会有不一样的解释，为瓮安生物群的研究带来新的视角。

本研究选择岩石切片作为主要的研究材料。因为藻类化石数量多，同时岩石切片中藻类化石保存精美，能保存有极其精细生物结构，而经酸处理的立体标本，

在酸洗的过程可能损坏样品的一些结构特征，切片则没有这个潜在的破坏过程。一些关注动物胚胎化石的学者也曾另辟蹊径地将研究材料着重放在切片标本上，取得不错的研究效果，观察到了动物胚胎的细胞分化和程序性死亡现象<sup>[38]</sup>。切片作为研究对象，由于切片具有一定的厚度，若所研究的样品具有三维立体形态，应用三维立体成像技术多手段观察，将促进对藻类化石形态特征的发掘和重新认识。

与此同时，在化石藻类的研究中，我们希望看见更多细胞、亚细胞级别的独属于藻类甚至某一类群的藻类的关键证据，富存瓮安生物群化石的岩石切片将能为我们提供这样一个绝佳的视角。因此本研究同时结合找到的立体化石进行对比，厘清其生物学属性，在部分类型中建立一套较为可靠的对比系统以对比立体化石和二维切片，避免因同一结构在二维三维中无法对应、信息不对等造成的判断偏差。综上，本研究在二维三维二者结合的模式和多技术手段的联用的思路下，对上述基本科学问题进行初步探索，以期为早期藻类起源演化的命题提供新认识。

本文研究目标有以下三点：

1. 初步建立一套针对微体化石的、涉及显微学及显微谱学、从形态观察到成分探测的多技术联用方案。主要依托中国科学院南京地质古生物研究所公共技术服务平台完成。厘清以磷酸盐化微体化石为例的各类仪器工作原理、操作流程、优势对比及结果展示。以期为未来微体化石检测提供完整的操作规程。

2. 针对前人发表的红藻特殊生殖结构和新发现的化石中的相关结果进行对比分析，判断红藻生殖结构多样性的真实性，初步探讨生长生殖的模式。

3. 通过大量扫描可能的三维立体藻类化石，寻找证据确凿的冠群红藻三维立体化石，结合三维重建数据分析其生长生殖特点及埋藏表现反映的生物学特征，并探讨二维、三维化石某单一结构因保存维度不同产生的多解性。

本文框架及各章节主要内容如下：

引言部分简要介绍论文选题的研究背景、研究目标、各章主要内容框架。

第一章第一部分主要介绍了瓮安生物群研究现状，包括简要介绍了瓮安生物群研究历史，目前已发表的主要文献内容简介，包括化石识别的依据和难点及切片与立体化石之间维度不同可能造成的多解性。第二部分主要阐述了目前瓮安生物群研究的关键和难点，包括多技术手段综合联用的必然性和必要性，以及探索更为确凿的真核多细胞红藻化石证据、红藻化石的真实丰度和分异度的重要性，和研究红藻化石对早期生命起源的意义。本文的研究中也将尝试解答一部分以上关键问题。

第二章分别介绍了瓮安生物群的地质背景和本次研究使用的材料来源。

第三章介绍了微体化石检测多技术手段联用平台的引入,详细说明各项技术的理论背景、操作方法、优劣对比和研究实例,为展示以微体化石为研究材料的显微学与显微谱学解读提供思路,为微体化石检测流程提供初步的系统依据。

第四章第一部分综述各类已报导的前寒武和瓮安生物群中的真核多细胞藻类化石,总结生物学判断依据。第二部分以切片为例,讨论细胞岛结构的生殖生长模式。第三部分报道新的首次发现的三维立体红藻化石。

第五章总结多技术手段联用平台的搭建和二维、三维两类化石新材料发现的结论,并分析接下来工作中还需要补充的方向。

## 第1章 瓮安真核多细胞红藻的研究背景及存在问题

### 1.1 瓮安生物群多细胞红藻的研究现状

瓮安生物群是位于我国贵州省黔南布依族苗族自治州瓮安县新元古代埃迪卡拉纪陡山沱组上部的一个磷酸盐化特异埋藏化石库，距今约  $6.09 \pm 5\text{Ma}$  年<sup>[18]</sup>。该化石库以三维立体的形式保存了大量精美的、含细胞及亚细胞结构的化石，包括多细胞藻类、后生动物成体及胚胎、疑源类化石等，呈现了极高的丰度和分异度<sup>[39]</sup>，近几十年来获得了科学界的极大关注。因此，瓮安生物群作为研究早期生命起源与演化的绝佳窗口，具有重要的科学价值。

#### 1.1.1 瓮安生物群研究简史

瓮安地区的研究最早开始于对磷矿的研究，后来在此基础上才陆续报道化石的发现。1984年，朱士兴和王砚耕报导了黔中包括瓮安在内的多个地区磷矿的含磷地层含有微生物及藻类化石，其中包括可能的含有细胞定向排列的红藻化石未定种<sup>[40]</sup>。1986年，陈孟莪和刘魁梧首次报导了“大型藻球类和红藻化石”，包括可能的红藻化石和后来被称为大型带刺疑源类的化石<sup>[29]</sup>。1993年，位于瓮安地区的这一类陡山沱期磷酸盐化微体化石被正式命名为“瓮安生物群”<sup>[36]</sup>。1998年2月，*Nature* 和 *Science* 杂志上分别报导了瓮安生物群的两篇论文，介绍了有关藻类及后生动物胚胎化石的研究<sup>[21]</sup>和海绵动物的发现<sup>[41]</sup>。

迄今为止，瓮安生物群中发现的化石主要有：细菌和蓝绿藻、地衣<sup>[33]</sup>、后生动物成体<sup>[19, 20]</sup>和多种卵裂方式和不同发育阶段的胚胎化石<sup>[21-26]</sup>、多细胞藻类<sup>[21, 27-30]</sup>、大型带刺疑源类<sup>[27, 29, 31, 32]</sup>及分类位置不明的管状化石<sup>[34]</sup>、瓶状化石<sup>[35]</sup>等，极大丰富了早期生命研究的内容。

藻类化石的研究是瓮安生物群中最早开始的，但由于动物成体及胚胎化石在近年成为瓮安生物群研究的重心，与之相比藻类的相关研究并不多。对于瓮安生物群中真核多细胞藻类化石研究，目前最核心的讨论焦点在于更为确凿的识别和分类藻类的依据，瓮安生物群中究竟保存了多少类多细胞藻类，以及对认识多细胞藻类早期演化的意义。

#### 1.1.2 瓮安生物群真核多细胞藻类的研究简史

瓮安生物群中最早报导的是藻类化石。1984年，朱士兴和王砚耕首次报导了黔中多地含磷地层中的微生物及藻类化石<sup>[40]</sup>，共计 14 属 12 种 4 未定种，包括

了可能的轮藻、红藻和褐藻化石,填补了贵州省陡山沱期地层古生物报导的空白。该研究中虽然大部分化石自然归类并未解决,且因年代久远成像技术有所限制,但图版中首次出现类似多细胞藻类的定向排列“喷泉结构”。

1986年,陈孟莪和刘魁梧报导了瓮安地区的红藻未定种,化石具有网状细胞或放射状定向排列的多排细胞,并与管孔藻科的化石进行对比<sup>[29]</sup>。报道中的红藻化石似有细胞分区现象(该文图版 I-6)。

1995年,薛耀松等人从瓮安陡山沱组上磷矿段白云质磷块岩和磷质白云岩中获得大量球状微体化石,共7属13种,与绿藻门团藻进行对比后认为是真核球形绿藻。

1998年,肖书海团队及李家维团队分别在 Nature 和 Science 上报导了瓮安地区发现的三维立体保存藻类、动物细胞<sup>[21]</sup>及海绵幼虫及胚胎<sup>[41]</sup>。其中,肖书海等人将被报道的三维立体藻类中具有细胞组合结构(cell packets)的与现代绿藻作对比,将十字结构的在切片中观察到的多细胞结构与红藻中的紫菜相对比。此外,还报导了可能的薄壁组织和拟薄壁组织的三维及切片图,切片中展现细胞定向成束状平行排列的喷泉结构;报导了具有生殖结构的化石,并与红藻的果孢进行对比。随后同年,张昀等人针对李家维等人在 Science 上发文报导的瓮安生物群中可能的海绵化石发表评论,认为该类海绵幼虫及胚胎化石实则为大型带刺疑源类及藻植体化石<sup>[27]</sup>。张昀等人还系统总结及修订了前人全部已发表的多细胞藻类属种<sup>[42]</sup>。

2004年,肖书海等较为系统地总结了瓮安生物群中发现的红藻化石的发现,并总结其早期演化<sup>[28]</sup>。

2016年,Cunningham 等发表了包含可能的生殖或寄生结构的细胞团(cell cluster)的三维保存的立体化石,且认为不排除藻类的可能性<sup>[43]</sup>。

目前,关于瓮安生物群中存在真核多细胞藻类的存在已基本无争议,无论是前人发表的化石证据还是分子钟推断都认为此时应该已经存在真核多细胞藻类化石证据。较为确凿的是红藻化石的存在,而多细胞绿藻化石除了早前报导的三维球状细胞组合(cell packets)的类型的仍被认为是可能的绿藻之外,就是较有争议的一些球状化石。这些球状化石经过相关学者发文进行“动植物之争”后,目前更多的属于动物胚胎的证据发现而基本确定了其动物性,排除了藻类的可能。褐藻化石的证据则长期缺失,有待进一步的研究。但早期的报道大部分基于化石切片,图版成像效果受年代和技术条件限制;仅有少数的是采用扫描电子显微镜拍摄的三维立体化石,只能观察到表面结构或部分破碎面内含有的少量结构,对研究化石整体内部形态带来一定困难。

## 1.1.3 藻类化石识别依据

藻类的分类依赖于它们的形态、超微结构和分子特征，如含有的色素、食物储存方式、叶绿体特征、细胞壁、鞭毛等的不同<sup>[44]</sup>，现代生物学中也采用基因测序对比的方式判断物种间亲缘关系的远近，为分类提供参考。然而，在研究早期生命起源与演化的过程中，所依据的化石往往年代久远，保存的生化信息、结构等，均会受到很大程度的破坏，而想要精确获得诸如色素、合成的有机物、遗传物质等更是几乎不可能。这些都对化石的属种精确定位产生了极大影响。且因为化石的保存和发掘本身就极具偶然性，想要在地层中获得保存精美、揭示具体生物特征的化石证据的可能性也十分微小。以上因素，都为研究和识别早期藻类化石设置了重重障碍。

然而，藻类的识别还可以依据一些特殊的细胞结构，例如藻类的生殖细胞。藻类的生殖模式分为有性生殖，无性生殖或孢子繁殖，以及营养繁殖三大类。每种繁殖方式都会产生不一样的生殖结构。在特殊条件下，藻类的生存策略也会使得细胞形态产生相应的变化，对化石藻类的区分也具有很高的参考价值。例如，在极端环境下生物体会将产生的孢子的壁加厚，用以抵御恶劣的环境，在这种情况下的孢子可以在相对长的一段时间内对水分的需求量降至最低，并进入休眠状态。待到一定时间后环境恢复，孢子会重新回复活力。红绿褐藻的主要生殖模式及策略如下表 1-1-1 所示。对这些标志性生殖结构的特征加以识别区分，有助于化石藻类的分类。

表 1-1-1 三大藻类的生殖模式及特征结构\*

Different reproductive patterns and their characteristic structures of algae

类别	生殖模式及策略		
	有性生殖	孢子繁殖	营养繁殖
红藻	卵配	果孢子/单孢子/二分孢子/四分孢子/多分孢子	断裂繁殖/繁殖体/细胞分裂
绿藻	同配、异配、卵配	游动孢子（丝藻属，绿球藻属等）/似亲孢子（团藻属等）/厚壁孢子（丝藻属，刚毛藻属，黑孢藻属等）/不动孢子（共球藻属等）/单孢子（石莼属等）	断裂生殖（胶网藻属和一些丝状体绿藻等）/细胞分裂（球藻属及带藻等）/出芽生殖（原管藻等）
褐藻	同配、异配、卵配	四分孢子（网地藻目等）/游动孢子（水云目等）/不动孢子（网地藻目等）/单孢子（线翼藻目）	断裂生殖（黑顶藻、巨藻等）

(\*据 South and Whittick, 2009; 李, 2012; Sahoo et al., 2015)

### 1.1.4 不同维度的结构对比

不同维度的观察有时候也会造成化石的多解。以切片为例，瓮安生物群中化石因磷酸盐的作用，可以将原生物体的细胞和亚细胞结构保存得十分精美，这是碳质压模、黄铁矿化等成因的化石难以做到的，这也为化石的生物学解释提供了很好的保存条件。然而，在切片中我们只能看见原生物体的某一截面信息，无法将其很好地对应在实际原生物体上，这为解释这些结构带来了新的困境。且目前发现的三维立体保存的多细胞藻类化石有限，如若要进行对比，也缺乏更多的资料。因此，需要在发现新材料的同时，使用多技术手段联用的方式对材料的信息及材料之间的关系进行充分挖掘。

## 1.2 瓮安多细胞红藻研究存在的关键问题

瓮安生物群中关于真核多细胞藻类的研究报导近年来较为稀少，但还存在着许多非常重要的科学问题值得探讨。本文将围绕其中四个重要的问题进行初步探索。

### 1.2.1 多技术手段联用对比切片与立体标本

在过往研究中，学者们对瓮安生物群中切片的研究主要是光学显微镜的透射成像，其余的技术手段较少，仅有的几例是 2006 年迟慧梅等首次使用了激光共聚焦显微成像系统报道了切片中多细胞藻类化石图像<sup>[45]</sup>，2008 年又在此基础上通过荧光性进行了部分埋藏学探讨<sup>[46]</sup>。对三维立体化石主要采用扫描电镜，近十年来随着 CT 技术在古生物学领域的应用，也有了使用同步辐射技术及显微断层成像技术的实例<sup>[47, 48]</sup>。

本文的第三章将详细介绍多技术手段对微体化石研究的联用，以瓮安生物群中化石为研究载体，提出从毫米到微米级别、从结构到组成成分的系列综合探测手段。

### 1.2.2 瓮安生物群多细胞红藻化石证据

前人报导的真核多细胞红藻化石证据主要基于以下几点。第一，发现了多细胞结构内含有一些特殊细胞聚集形成的与其余细胞有较明显形态差异和分隔的细胞团，被解释为可能的生殖结构。目前报导的生殖结构包括有性繁殖的配子体世代的雌性生殖结构果孢，内含可能的果孢子，以及雄性生殖结构精子囊，内含

精子；可能的四分孢子。第二，发现可能的薄壁组织和拟薄壁组织，即细胞定向排列的“喷泉结构”，以及细胞大小不同的皮层-髓部分化。

瓮安生物群中对于红藻的生殖结构的解释是否合理？论文第四章第二节将探讨多细胞藻类的细胞岛（cell island）结构，探寻其与细胞生殖、生长发育的关系。

### 1.2.3 瓮安生物群红藻丰度和多样性

关于瓮安生物群中多细胞化石含量的丰度的探讨结论随着研究的发展不断变化。在研究初期，普遍认为瓮安生物群中藻类化石含量占优势<sup>[36]</sup>，因此。殷宗军等于 2008 年通过对灰色埋藏相岩石酸泡挑样定量统计，发现瓮安生物群中多细胞藻类占全部化石含量少于 10%<sup>[39]</sup>。

通过本文报导的综合系统的多技术手段联用研究方法和新发现的化石证据，厘清一部分可能的生殖结构，未来可能对识别瓮安生物群藻类红藻的同一类群不同阶段提供参考，进而减少对丰度和分异度的误判。

### 1.2.4 瓮安红藻化石的演化生物学意义

红藻是最古老的真核藻类类群之一，分子钟显示，大约在 14 亿年前红藻就与其它真核生物分离<sup>[49]</sup>。红藻在地球分布广泛，类群繁多，其演化发育研究对早期生命起源和演化具有重要意义。一些特殊结构的发现可以证明某些特殊与生殖生长相关的基因至少在化石发现层位所代表的地质年代已经得到表达。

通过本文新发现的化石证据，从切片和立体化石的角度介绍了红藻的新发现结构，并解释这些结构所代表的基因表达，揭示该类证据指向红藻在 6 亿年前的生殖和生长策略，为重建冠群红藻特有衍征的系统发生过程和早期演化历史提供实证。

## 第2章 地质背景和材料来源

### 2.1 地质背景

瓮安磷矿地处贵州省黔南布依族苗族自治州瓮安县，位于贵州省省会贵阳市北东约 110km，矿区北起瓮安白岩，南至福泉高坪，南北长约 20km（图 2-1-1），是瓮安生物群的主要产地<sup>[50]</sup>。从构造上看，该矿区位于呈近南北向展布的白岩-高坪背斜上，由于小坝断裂带的错切，白岩-高坪背斜被切为南北两段（图 2-1-2-B）。区域内出露的最老地层是分布于北段白岩背斜和南段高坪背斜核部出露区域内的新元古界下江群清水江组，自核部向两侧依次出露埃迪卡拉系、寒武系、二叠系及下三叠统地层，第四系零星分布，区域内缺失奥陶系、志留系、泥盆系和石炭系地层。



图 2-1-1 瓮安地理区位图及板块古地理关系图

（古地理关系图改自 Chen, 2004）

#### Geological setting of Weng'an area and paleogeographic relationship of ancient plates

(Paleogeographic relationship of ancient plates modified according to Chen, 2004)

TB: 塔里木板块, YB: 扬子板块, NCB: 华北板块。

TB: Tarim Block, YB: Yangtze Block, NCB: North China Block.

瓮安地区埃迪卡拉系陡山沱组上覆于成冰系南沱组的冰碛岩或下江群清水江组，厚度约为 45m，下伏于灯影组白云岩，代表典型的埃迪卡拉系扬子地块西南缘浅水相序列，该区域内陡山沱组按岩性可划分为五段，自下而上分别为：下

白云岩段、下磷矿段、中白云岩段、上磷矿段、条带状磷质白云岩段（图 2-1-2-A） [20, 51, 52]。

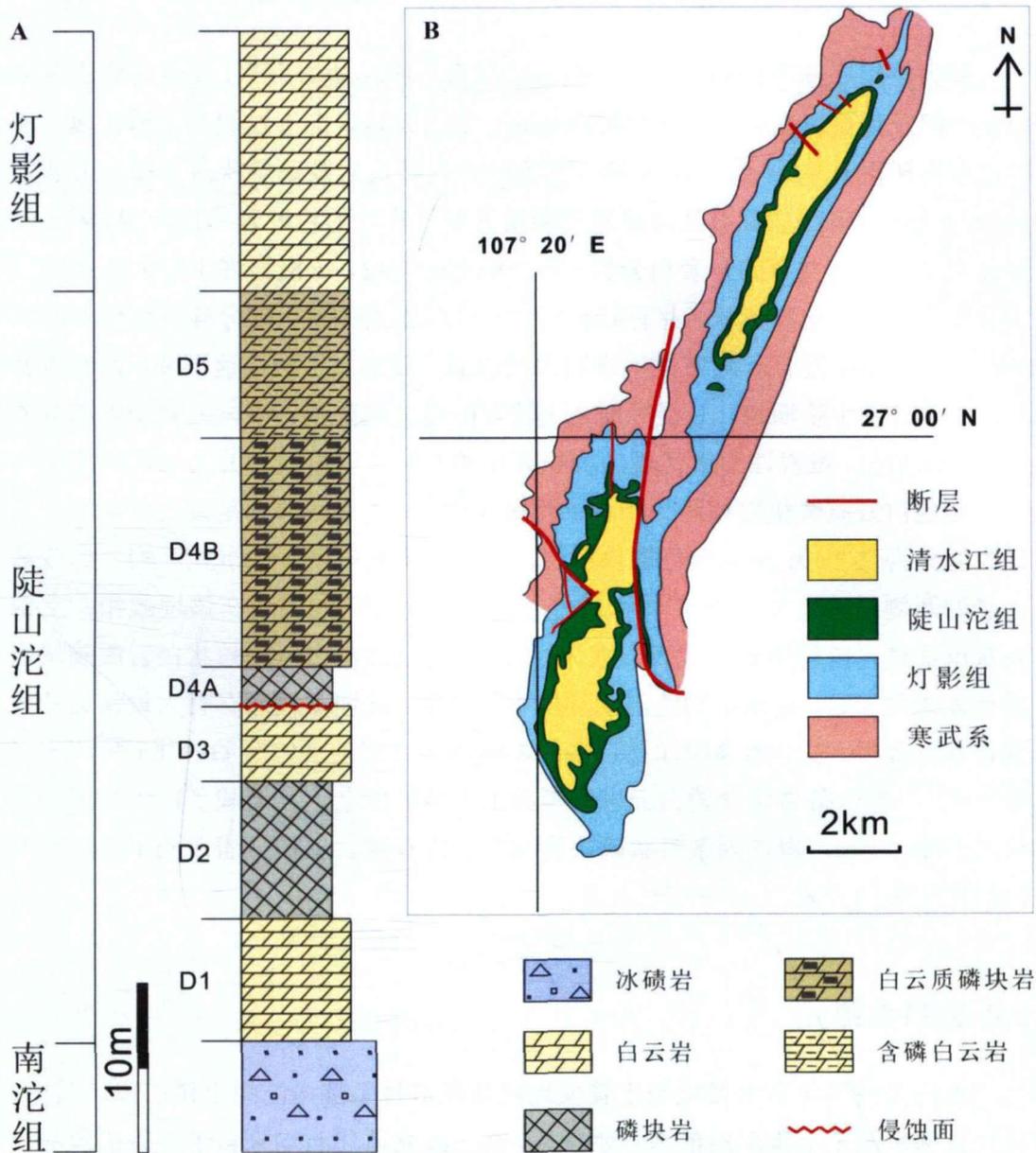


图 2-1-2 瓮安地区陡山沱地层剖面柱状图及区域地质背景简图  
(改自 Yin et al., 2015 及 Zhou et al., 2017)

**Stratigraphic column of Doushantuo formation at Weng'an area and brief map of geological setting of the Weng'an area**

(cited from Yin et al., 2015 and Zhou et al., 2017, with slight modification)

A. 陡山沱组地层剖面柱状图，其中 D1 代表陡山沱组第一段下白云岩段，D2 代表第二段下磷矿段，D3 代表第三段中白云岩段，D4A 代表第四段上磷矿段黑色磷块岩相，D4B 代表第四段上磷矿段灰白色白云质磷块岩相，D5 代表第五段条带状磷质白云岩段。B. 瓮安地区区域地质背景图，显示大致经纬方向，主要断层位置及各地层分布情况。

A. Stratigraphic column of Doushantuo formation at Weng'an area. D1 is the Lower Dolomite Unit,

D2 is the Lower Phosphorite Unit, D3 is the Middle Dolomite Unit, D4A is the black phosphorite facies of Upper Phosphorite Unit, D4B is the grey phosphorous dolomite facies of Upper Phosphorite Unit, D5 is the Upper Phosphorite Unit. B. A brief map of geological setting of the Weng'an area shows latitude and longitude, main faults and stratigraphic distribution.

陡山沱组底部白云岩段的岩性以厚层含镁碳酸盐岩沉积,代表温热浅海环境,中部发育页岩夹层,整段厚度约 20m。白云岩段向上过渡到下磷矿段,该段厚度在矿区从 12m 到 15m 不等,其底部为泥质页岩及薄层状白云岩,上部为具鲕粒结构和磷酸盐砾石及内碎屑的磷块岩夹薄片状的粉砂岩和白云岩。第三段为陡山沱组中部发育的一套白云岩,称为中白云岩段,该段岩性主要为厚层白云岩,其中穿插多处石英脉,并有硅质结核及硅质不规则体,部分硅质结核外圈具有黄铁矿,顶面发育一区域性不规则的侵蚀面,显示海平面快速下降,白云岩暴露,经淋滤发生喀斯特化。侵蚀面之上覆盖的是上磷矿段,该段是瓮安生物群的主要产出层位,按岩性和所代表的沉积环境的不同可以将其划分为黑色磷块岩相和灰白色白云质磷块岩相两个不同的埋藏相<sup>[53-55]</sup>。位于底部的是黑色含磷埋藏相,代表岩性为 2-2.5m 厚的黑色磷块岩层,是滞留缺氧环境下的沉积产物,迄今最古老的两侧对称动物小春虫<sup>[19]</sup>和最古老的地衣化石<sup>[33]</sup>均发现在该埋藏相;上部为灰色富氧含磷埋藏相,代表岩性为厚 13m 左右的灰白色球粒状白云质磷块岩层和含磷白云岩,是高能动荡沉积环境下的产物。该埋藏相保存有大量精美的大型带刺疑源类、多细胞藻类和显示多种不同卵裂方式的动物胚胎等化石<sup>[20, 21, 23-25, 29, 34, 37, 41, 56-60]</sup>。条带状含磷白云岩段覆盖于上磷矿段之上,组成了陡山沱组的顶部,厚度约 4m,岩性为条带状磷块岩与白云岩互层。上白云岩段向上过渡到灯影组厚层状白云岩。

## 2.2 材料来源

本论文所用化石主要来源于瓮安地区埃迪卡拉系陡山沱组上磷矿段。其中,切片全部来源于上磷矿段的黑色磷块岩,而三维立体化石均来自于上磷矿段灰白色白云质磷块岩。所有化石均保存于中国科学院南京地质古生物研究所。

图 2-2-1 是瓮安地区陡山沱组上磷矿段即化石产出来源的岩石手标本。A1, B1 和 C1 分别是上磷矿段黑色磷块岩、上磷矿段灰白色磷质白云岩和含黑色磷质条带的灰白色磷质白云岩手标本,而 A2, B2, C2 则是对应的局部放大图片。黑色含磷埋藏相(A)为切片的主要材料来源。灰白色白云质磷块岩(B和C)而在放大图中我们可以清晰看见圆形的磷质小颗粒,显示动荡高能环境下磷质基底被打碎成为碎屑,反复震荡后二次沉积。如图片 C2,可见红色圆圈内显示的

为正在卵裂的动物胚胎，其大小为在野外使用普通放大镜或直接肉眼即可见。酸洗及挑样后，可以获得三维立体化石。图 3-2-2 是显微镜下一张岩石薄片的图，黑色磷块岩相中的化石一般则采用岩石切片镜下观察的方式进行化石挑选和研究。

在地层年龄方面，根据对宜昌地区樟村坪陡山沱组最新的锆石 U-Pb 定年，并与瓮安地区的瓮安生物群所在层位进行岩石学、生物学、地球化学对比，得出瓮安生物群年龄应为距今  $6.09 \pm 5\text{Ma}^{[18]}$ 。

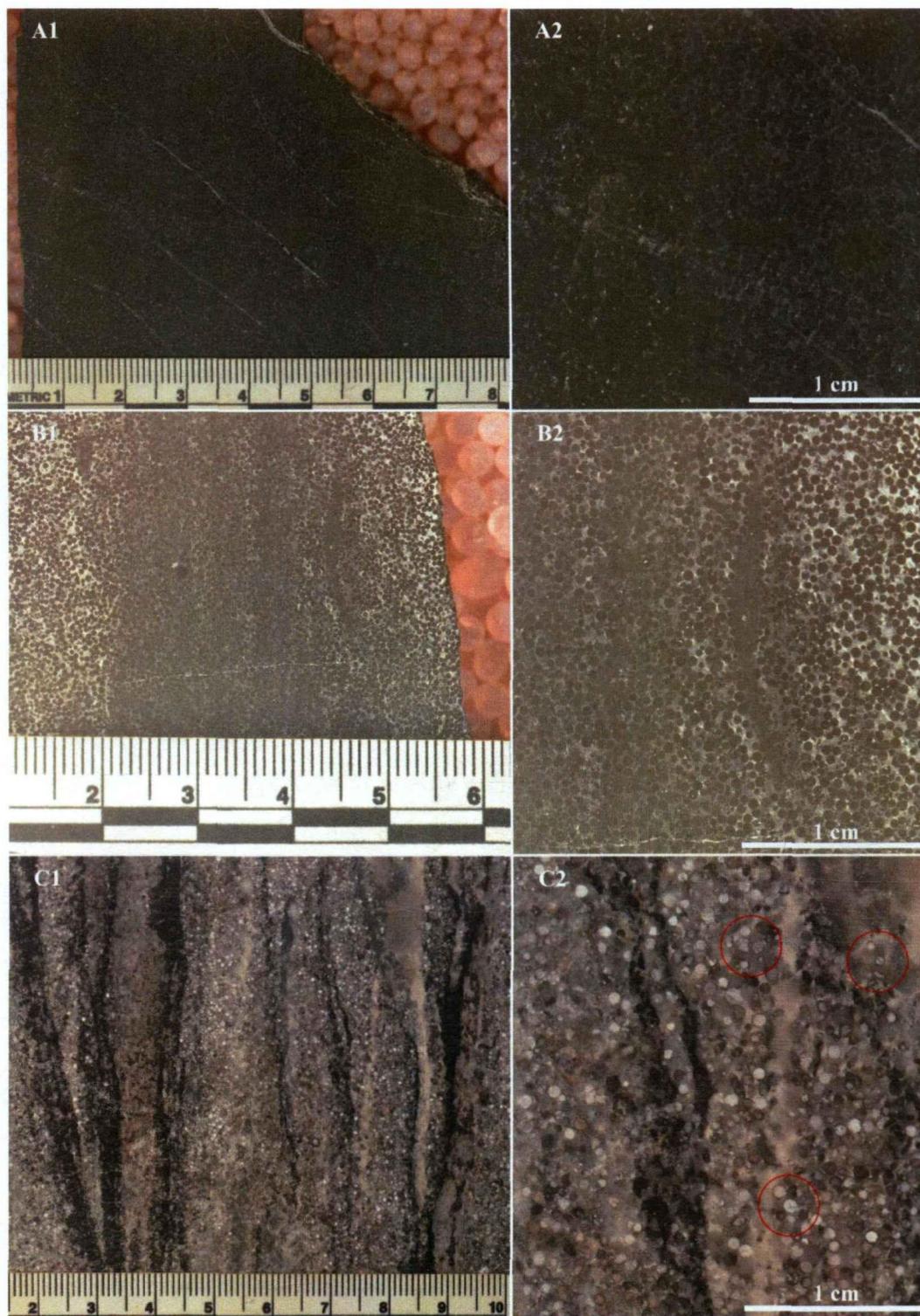


图 2-2-1 瓮安地区陡山沱组上磷矿段黑色磷块岩和灰白色磷质白云岩抛光面  
**Polished rocks of black phosphorite and grey phosphorous dolomite of Upper Phosphorite  
Member from Weng'an Doushantuo Formation**

A1. 瓮安地区陡山沱组上磷矿段黑色磷块岩; A2. 为同一块抛光面局部放大。B1. 瓮安地区陡山沱组上磷矿段灰白色磷质白云岩; B2. 为同一块抛光面局部放大。C1. 瓮安地区陡山沱组上磷矿段含黑色磷质条带的灰白色磷质白云岩; C2. 为同一块抛光面局部放大。

A1. Polished rock of black phosphorite of Upper Phosphorite Member from Weng'an Doushantuo Formation, A2. A close-up view of A1; B1. Polished rock of grey phosphorous dolomite of Upper Phosphorite Member from Weng'an Doushantuo Formation, B2. A close-up view of B1; C1. Polished rock of grey zebra phosphorous dolomite of Upper Phosphorite Member from Weng'an Doushantuo Formation, C2. A close-up view of C1.

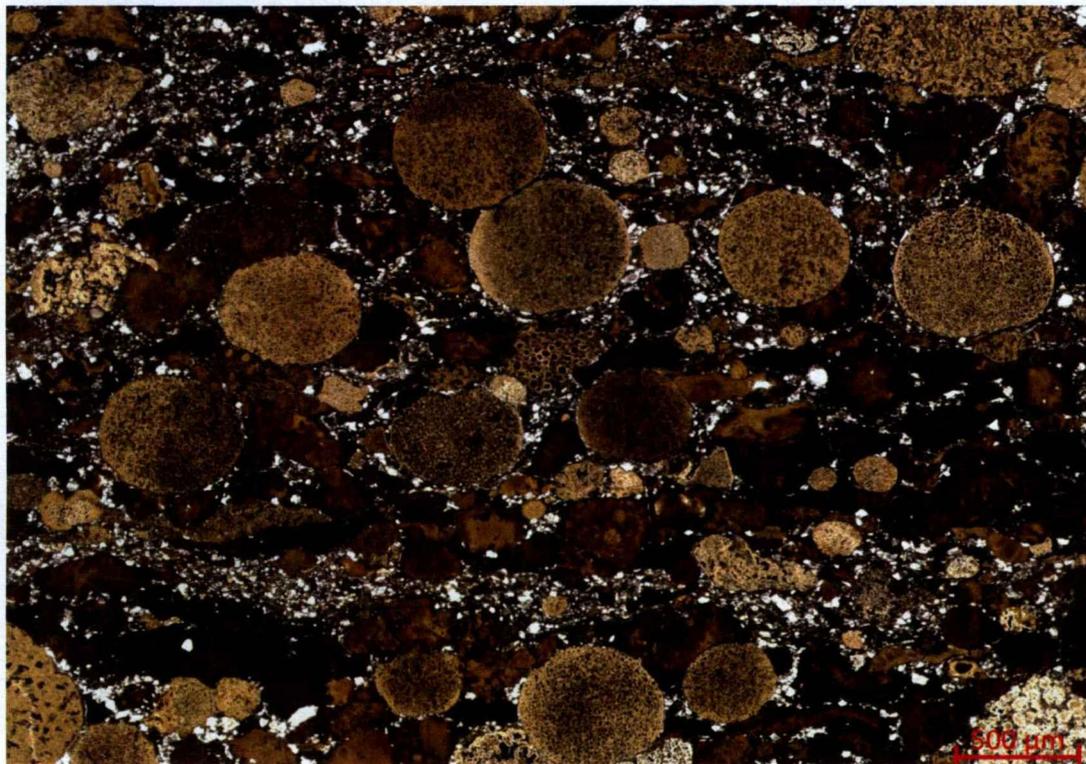


图 2-2-2 黑色磷块岩相岩石薄片透射光学成像图

(使用 Zeiss Axio Scan Z1 进行拍摄拼接)

**Transmission optical imaging of thin section of black phosphorite facies**

(Use Zeiss Axio Scan Z1 for photo splicing)

如图所示的一张大的黑色磷块岩相岩石薄片透射光学成像图拼接自多张矩形的小图像，视野范围内可见许多细胞结构的化石分布，可以为研究人员提供比单一视野下更全面广阔的成像区域。

## 第3章 研究方法

早期研究中将三维立体化石和切片内化石分开研究,或者只注重形态学的描述对比,容易造成在不同维度下生物学特征的误判和多解。随着科技水平的不断发展和对研究的不断深入,不少学者们开始尝试将不同的技术联用以获得更好的研究效果。

本研究采用多技术手段联用的技术路线,综合三维立体化石和岩石薄片中的化石,从表面形态到内部结构的观察再到化学组分分析,旨在提升显微观察的精确度的同时,在多尺度范围全方位获取化石结构和化学成分的信息。主要技术路线如图 3-1 所示。



图 3-1 显微化石检测的显微结构学与显微谱学多技术联用实验流程图

### Experimental workflow of multi-techniques of microstructure and spectroscopic analysis for microfossils

实验流程分为两条主线,分别针对三维立体化石和岩石薄片。显微结构学方面,三维立体化石的研究手段包括前期的酸洗挑样、扫描电子显微镜下分析、基于同步辐射光源或三维 X 射线的显微断层成像;岩石薄片的显微结构学研究手段包括前期制作岩石薄片、数字薄片扫描系统拍摄和激光共聚焦显微系统拍摄。显微谱学方面,二者均可使用共聚焦激光拉曼显微光谱仪进行谱学分析。

The experimental flow is divided into two main lines, one for three-dimensional fossils and the other for thin sections of rocks. In terms of microstructures, the research methods of three-dimensional fossils including sampling pickling, Scanning Electron Microscope analysis, and microscopic tomography based on synchrotron X-ray tomographic microscopy. The methods of microstructural study of thin sections including pre-fabrication (cutting slices), thin section digital scanning microscopy and confocal laser scanning microscopy. In terms of micro-spectroscopy, both of them can be analyzed by confocal laser Raman micro-spectrometer.

三维立体化石的研究方面,磷块岩经过酸洗、挑样后的化石使用扫描电镜可观察其表面结构,进行初步遴选;显微CT能基于密度差异揭示化石内部三维信息。黑色磷块岩的岩石切片可以综合普通光学显微镜和激光共聚焦显微镜进行对比观察。成分研究方面,可以用扫描电镜-能谱或共聚焦激光拉曼光谱仪进行测试,了解具体的化学成分及含量,进一步探究化石中可能的生物学结构组成。

本文涉及的多技术连用平台的所有设备及相关技术,除同步辐射光源,均基于中国科学院南京地质古生物研究所公共技术服务中心相关设施搭建。

### 3.1 针对岩石薄片的透射光学显微成像和全自动数字玻片扫描技术

瓮安地区上磷矿段黑色磷块岩因富含磷质和硅质成分,醋酸溶液处理效果不佳;但因为保存了丰富的化石生物学信息,故而更多采用制作化石薄片的方法进行研究<sup>[61]</sup>。

光学切片制作,首先将岩石切割至制片所需大小,再经过再金刚石磨盘上数次打磨抛光制成岩石光面。切块过程中有流动水源进行冷却;打磨过程应从目数小的至目数大的磨片上打磨,过程中适当加水清洗,防止因加入的金刚砂等抛光剂与碎石粉末使得石块整体黏附在磨盘上而脱手。切磨好的岩石小块,用配比好的环氧树脂粘在合适的玻片上,放入烘干机烘干固化。等其固化后,将粘在玻片上的岩块多次打磨直至合适厚薄。用于化石观察的岩石切片一般厚度为50微米左右,可以根据需要调整,目的是使得镜下观察时薄片不会太厚、透光性良好但也不会太薄而损失大量景深维度上的生物学信息。

普通基于切片的透射光学显微成像,即是制作好的含有化石层位的岩石制备成厚度适合的光学薄片,在透射光学显微镜下对视野内寻找到的化石标本在调整到合适的景深时,进行不同位置、不同放大倍数的拍摄,以达到对化石的形态观察需要。由于拍摄时可视区域大小有限,如若需要拼接全视野图片进行诸如精确统计、不同标本的分别计数和分布情况概览、支持教研工作等情况时,或者需要观察的岩石切片数量极大时,则需要耗费大量的时间经历进行相关工作的处理。

随着科学方法和仪器的进步,研究速度不断提高,能满足大量样品拍摄的、更自动化的以及能保存为数字切片的薄片透射成像技术应运而生。全自动数字玻片扫描技术正是适应该类需求的技术,它使用全自动显微镜扫描系统及虚拟切片拼接技术,在一定范围内找到最适焦平面,进行连续拍摄和成像无缝拼接,使得大视野面积观察、统计和高质量数字切片信息有效保存成为了可能。

以本文中使用的Zeiss Axio Scan Z1为例,一次可以进样标准玻片100张或大玻片50张。操作时,先使用配备的装片器将玻片平整置入玻片夹,再依次放

入样品仓中（见图 3-1-1）。关闭样品仓，仪器进入自检，完成后待机。下一步需要手动调整适宜参数，如存储路径、命名规则、拍摄放大倍数、使用光源（支持透射光、反射光、荧光成像，荧光成像支持配备多种波长激光器。本文因未涉及荧光拍摄，故不展开阐述）、拍摄区域大小、白平衡、曝光时长、粗调焦、细调焦、找焦模式等，荧光条件下还可以因为不同景深条件下能激发一定厚度的样品的不同焦平面上的样品荧光，故而还可以设置景深方向上的堆叠拍摄，即 z-stack 模式，获得连续景深的切片。完成上述操作后，可以保存该设置为特定模板（profile），再使用该模板即可对同一批样品的全部切片某一模式下的自动拍摄和连续拼接成像。所成图像在软件 Zen 2.3 Slidescan 中可以编辑，界面如图 3-1-2 所示。可以加入比例尺、编号、标注等，生成本系统的 CZI 文件及支持导出 TIFF、JPEG、PNG 等格式的图像。



图 3-1-1 全自动数字玻片扫描仪及标准玻片样品夹  
Automatic digital slide scanning system and slide holder

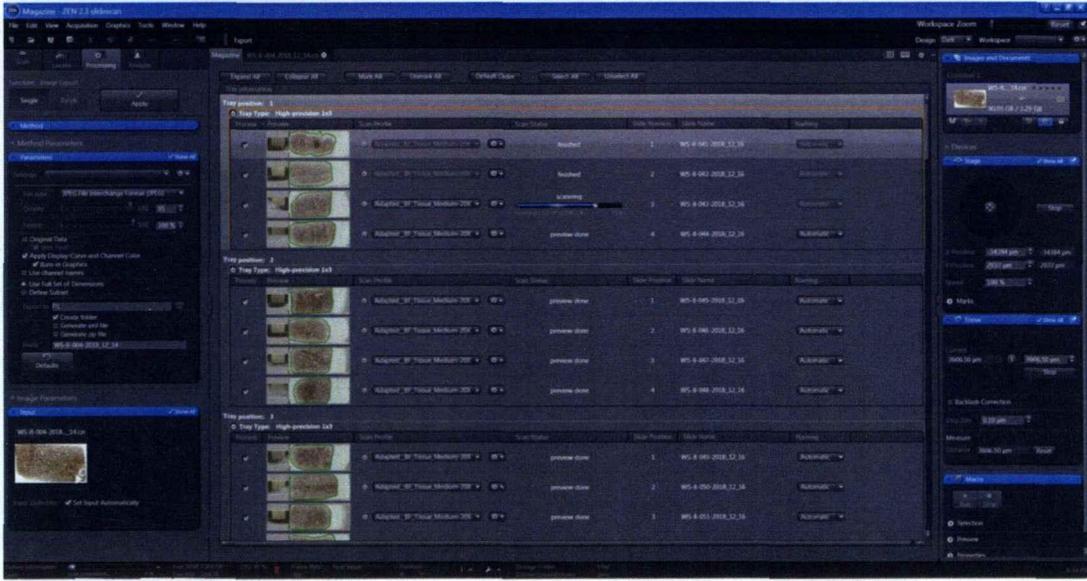


图 3-1-2 Zen 2.3 Slidescan 操作软件界面截图

Picture of Zen 2.3 Slidescan software

图 3-1-3 与 3-1-4 为在数字薄片显微扫描仪 Zeiss Axio Scan Z1 下拍摄的其中两张切片的成像。图 3-1-3 为黑色磷块岩所切而成，红色方框内标注的是筛选出的化石标本所在位置。图 3-1-4 则为灰白色磷质白云质磷块岩所切而成的切片，内部化石极为稀少，且有化石的，其保存状况总体也不及黑色磷块岩之中的化石保存得好。故而多选用黑色磷块岩段的岩石制作岩石薄片。

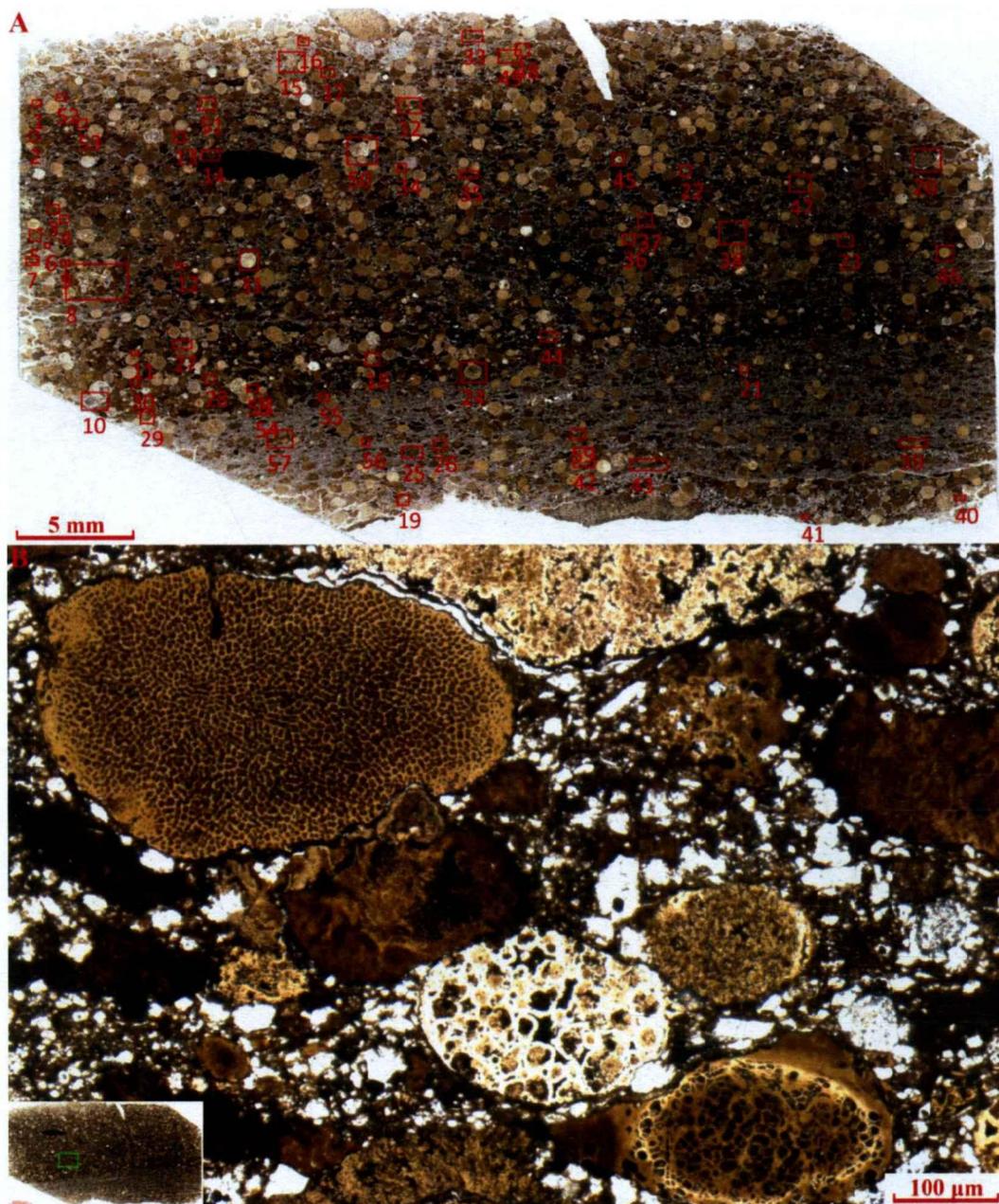
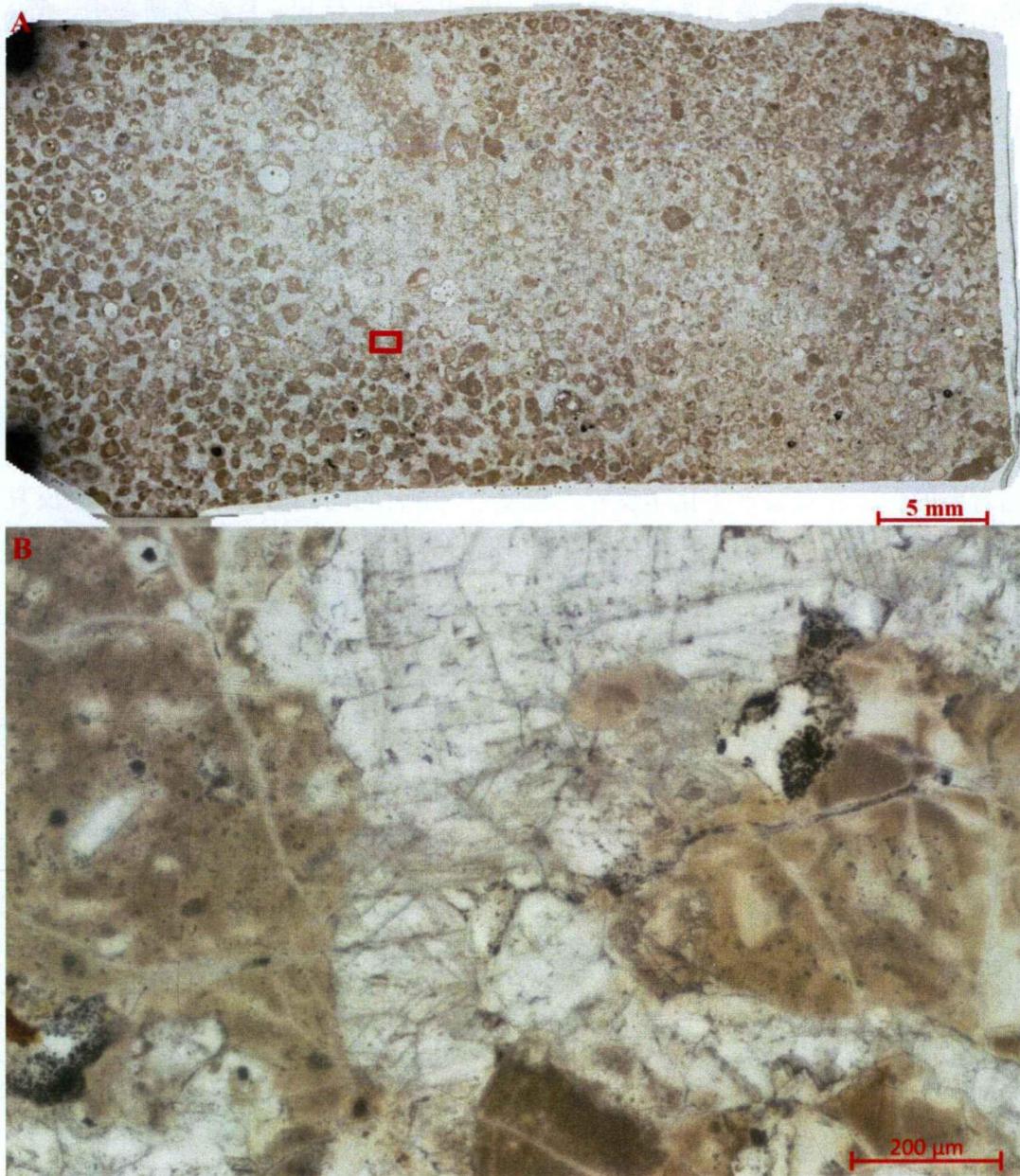


图 3-1-3 瓮安地区陡山沱组上磷矿段黑色磷块岩薄片全视野拼接图

**Full field mosaic of thin section from black phosphorite of Upper Phosphorite Member from Weng'an Doushantuo Formation**

A. 图中红色方框内框起的为有研究潜力的化石，使用红色方框标注并依次编号。B. 局部放大，显示其中的一些化石。放大区域如左下角绿色方框所示。

Potential fossils are noted in red squares and numbered successively. B. Magnification of the green area showing some potential fossils.



**图 3-1-4 瓮安地区陡山沱组上磷矿段灰白色磷质白云岩薄片全视野拼接图**  
**Full field mosaic of thin section from grey phosphorous dolomite of Upper Phosphorite**  
**Member from Weng'an Doushantuo Formation**

A. 全视野拼接图。B. A 中红色方框内局部放大。

A. whole view of the thin section. B. Magnification of the red square in A.

综上,全自动数字玻片扫描技术应用在微体化石切片观察中的主要优势包括操作简单、可 24 小时自动连续运行,提高寻找化石效率;可以生成全玻片图像拼接,对于后期寻找具体化石的位置、统计分析、教学展示等有帮助;支持整体图像的编辑,例如如若后期有切片丢失或损毁,可以直接对拼接图节选出所需区

域, 或者随时根据需要节选区域和自动添加相应的比例尺、标注方便使用, 等。

### 3.2 酸处理、化石挑样和扫描电镜观察

灰白色白云质磷块岩是以白云质胶结的内碎屑磷块岩, 其中的化石能被醋酸溶液侵蚀白云质围岩后以三维立体的保存形式得到<sup>[50]</sup>。三维立体化石的研究可以帮助我们认识到生物体立体保存的状态, 填补在切片中看见的二维信息造成的偏差, 对理解生物本身有重要的意义。

酸处理时, 先将采集得到的岩石破碎成 5 立方厘米左右大小的块状, 置于塑料桶中。配置浓度为 5%-10% 的醋酸溶液对岩石碎块进行浸泡处理。根据醋酸与围岩中的白云质成分产生化学反应的程度, 一定时间间隔后进行换酸处理, 反复多次直到岩块基质被溶解, 依次用 1200 目, 600 目和 300 目滤网分理出不溶于酸的砂样, 即为可能含有化石的磷酸盐颗粒或硅质碎屑。除岩块的大小和多少、与酸反应程度外, 换酸的间隔还与实验室内温度有关, 当室温较低时, 反应速度较慢, 换酸的时间延长。一般每 1-2 日进行一次换酸。

换酸分离出的砂样用清水冲洗后平铺自然晾干。再根据原岩块的标号进行分装, 记录编号保存。挑样时, 将样品袋中的砂样倒入玻璃皿或类似容器中, 使用体式镜和细毛笔蘸水(或真空吸笔), 将有研究价值的化石挑选出来。

挑样过程中挑选出要进行扫描电镜观察拍摄的化石, 将其用细毛笔或真空吸笔按顺序粘在涂有导电胶的铜座上。将铜座编号, 放在盒子中密封保存。实验前, 化石根据需要喷金处理。实验过程中, 先对每一个铜座上的全部化石进行一个整体拍摄, 为每一个化石编号, 然后再单独观察某一个化石。

### 3.3 同步辐射成像

在化石研究过程中, 为了更好的获得其生物学信息, 不仅要详细研究化石的外部形态特征, 其内部的三维形态同样需要详细记录与研究。传统化石成像方法主要分为包括反射光和透射光的常规光学数码成像、扫描电子显微成像和透射电子显微成像, 但这些都主要是应用于观察化石外表面或因破碎而得以暴露在外的内部结构。对于保存完整的化石, 其内部结构无法通过观察表面得知。

为了得知化石整体的内外部信息, 传统对化石标本进行三维结构重构的方式是对其进行连续切片, 然后对每一个截面进行数码光学拍摄, 最后用计算机对景深方向进行图像连续拼接重构。但这种方法具有明显的局限性, 例如在重构精度方面, 由于切磨的过程中存在损耗, 最终得到的拍摄拼接而成的三维结构是非

连续、有大量信息缺失的；另一方面，随着研究进展和手段更新，后续想要使用同一化石再次研究时，标本已经被破坏，无法再进行研究。化石三维无损成像技术能帮助科研人员对化石标本内部信息进行有效的解读，在获取这些信息的同时不破坏化石本身，可以继续后续的研究。且因为无损成像技术是使用 X 射线的强穿透性对化石进行旋转的多方向拍摄，并根据密度信息得到的多方向二维投影像，最后用相关软件进行三维结构的重塑。这不仅能揭示不暴露在表面的信息，还可以对一些普通照射光源下无法用肉眼识别的化石形态和结构进行成像。

根据成像模式的不同，化石成像可以进行不同的分类，如表 3-3-1 所示。下文将简要介绍基于同步辐射光源的相位衬度显微断层成像技术（phase contrast-based synchrotron X-ray micro-tomography）

表 3-3-1 化石成像技术分类  
Classification of fossil imaging techniques

成像功能	侵入式/有损成像*			无损成像	
	可见光	(可见光)荧光	电子	X 射线	中子
成像介质	宏观尺度	数码 (单反) 相机照相	—	高功率工业断层成像	—
	微米尺度	反射光学显微成像	反射光学显微成像	常规工业显微断层成像	中子断层成像
		透射光学显微成像	透射光学显微成像	同步辐射显微断层成像	
成像尺度	—	激光共聚焦显微成像	激光共聚焦显微成像	三维 X 射线显微术	—
		—	—	同步辐射纳米断层成像	
		—	—	三维 X 射线纳米显微术	

注：\*侵入式成像或有损成像技术本身在成像过程中并不会对标本造成物理性的破坏，这里说的“有损”是指采用这类技术观察化石标本的内部结构时需要对本进行侵入式地前处理，比如透射光学成像和激光共聚焦成像在古生物学领域只能观察 20-30 微米厚的化石薄片，透射电子显微镜则只能观察厚度在 100 纳米以下的超薄切片，故成像之前需要将化石标本切磨至厚度合适的薄片；反射光学显微成像和扫描电子显微成像若要观察标本的内部结构，也需要对本进行侵入式处理，比如切开标本暴露标本内部结构。

(引自吴素萍等, 2018)

### 3.3.1 同步辐射装置简介

同步辐射 (synchrotron radiation) 是一种电磁辐射, 指的是速度接近于光速的运动电子或正电子在磁场中转弯时放出的光, 因为人首次观察到这种辐射是在一台同步加速器中而得名。该现象最早在 1945 年被间接观察并于次年发表<sup>[62]</sup>, 从此开启了人们对此研究的进程及后期利用。

同步辐射光源 (Synchrotron radiation facility), 即产生同步辐射的物理装置, 是一个可以通过加速存储环中电子运动并在切线方向产生平行电磁辐射的装置。高能带电粒子在装置的电磁场中以接近光速的速度偏转时, 沿其运动的切线方向可以发射出电磁辐射, 囊括的波段从远红外到硬 X 射线。

同步辐射因其具有高辐射功率 (高强度)、高度准直性 (方向性)、广阔连续的光谱、良好的天然偏振性、脉冲时间结构、高亮度、洁净性、高稳定性和可计算性等特征, 得到不同学科的研究者的青睐, 在不同的领域发挥重要作用<sup>[63]</sup>。而对于古生物学领域, 主要是使用特殊光路将同步辐射光中的硬 X 射线提取出来, 进行三维无损成像, 即同步辐射 X 射线相衬显微断层成像技术 (Propagation phase contrast-based synchrotron radiation X-ray micro-tomography, PPC-SX- $\mu$ CT)。这也是目前公认的用于化石无损三维成像的最佳方法。使用同步辐射进行三维成像, 空间分辨率可以达到亚微米级。

自上世纪六十年代第一代同步辐射光源开发使用以来, 同步辐射装置经过不断的优化改良, 目前已经发展到第四代。但代际之间并非取代替换的关系, 而是各有特色, 互相补充<sup>[63]</sup>。四代同步辐射装置的主要性能差别如表 3-3-2 所示。以我国为例, 大陆地区有第一代兼容环的北京同步辐射光源 (Beijing Synchrotron Radiation Facility, BSRF), 第二代专用环的位于合肥的国家同步辐射光源实验室 (National Synchrotron Radiation Laboratory, NSRL), 第三代的上海同步辐射装置 (Shanghai Synchrotron Radiation Facility, SSRF), 而正在建设中、预计于 2025 年验收投入运行的高能同步辐射光源 (High Energy Photon Source, HEPS) 将会成为我国第一台第四代同步辐射光源; 台湾地区有位于新竹的国家同步辐射研究中心 (National Synchrotron Radiation Research Center, NSRRC) 的台湾光源 (Taiwan Light Source, TLS) 和台湾光子源 (Taiwan Photon Source, TPS) 两台第三代同步辐射装置。

表 3-3-2 四代同步辐射光源主要性能指标

Comparison of main properties of the four generation synchrotron radiation sources

代数	电子储存环工作模式	电子能量 /GeV	电子束发散度 /nm-rad	亮度 /Ph·S <sup>-1</sup> ·m rad·mm <sup>-2</sup> ·(0.1BW) <sup>-1</sup>	发光元件	光的干涉性	时间
第一代	兼用	1-30	< 1,000	10 <sup>13</sup> -10 <sup>14</sup>	二级弯曲磁铁	无	1965-1975
第二代	专用	约为 1 产生真空紫外和软 x 射线	40-150	10 <sup>15</sup> -10 <sup>16</sup>	二级弯曲磁铁为主,有少量插入件 (扭摆器和波荡器)	少数	1975-1990
第三代	专用	低能约为 1 中能 1-3.5 高能 6-8	5-20	10 <sup>17</sup> -10 <sup>20</sup>	大量插入件 (波荡器为主)	部分空间相干	1994-
第四代 (以 HEPS 为例)	专用	- (运行能量 6GeV)	可小于 1 (≤ 0.06nm·rad)	可达 10 <sup>22</sup> (> 1·10 <sup>22</sup> )	大量波荡器、扭摆器 多弯消色差透镜	-	21 世纪

(据 Winick, 1998; 杨传铮等, 2008; 程国峰, 2008; 刘祖平, 2009; 洗鼎昌, 2016; 高能同步辐射光源官方网站资料; Crease, 2019; 有修改)

注: 1.在第一代之前的称为第零代光源 (zereth generation), 时间为上世纪 50-70 年代。这一类同步辐射光源均为高能物理实验建设使用的。

2.如若新的光源能在亮度、相干性、脉冲持续时间等重要参数上比现有光源优越一个数量级或更多, 便可以称之为新一代光源。

3.插入件 (insertion device): 同步辐射光源内电子加速器的附加插入装置。包括扭摆器 (又称扭摆磁铁, Wiggler)、波荡器 (又称波荡磁铁, Undulator) 和自由电子激光 (Free Electron Laser, FEL) 装置。其中, 扭摆器是磁场最强、总辐射功率最高的插入原件, 可以成倍加大振幅; 波荡器可以使辐射功率向频率集中; 自由电子激光可以统一相位。以上插入件的置入都可以使得同步辐射光源更为优化和性能灵活, 但其存在不是必备的。

4 除中国外, 目前已开始使用和部分在建的第四代同步辐射光源有 MAX-IV (瑞典)、Sirius (巴西)、ESRF-II (法国)、格勒诺布尔)、APS-U (美国)、阿尔贡)、SPring8-II (日本, 兵库) 等。

5.高能同步辐射光源官方网站: <http://www.ihep.cas.cn/dkxzz/HEPS/xmgk/>

Project and facility: opinion review: China's next big thing: a new fourth-generation synchrotron facility in Beijing. 15 Aug. 2019 by Robert P Crease: <https://physicsworld.com/a/chinas-next-big-thing-a-new-fourth-generation-synchrotron-facility-in-beijing/>

### 3.3.2 相位衬度成像及同步辐射装置构架

相位衬度成像 (phase-contrast imaging) 是 20 世纪 90 年代以来发展起来的一种新的成像方式。当 X 射线通过某一样品时, X 射线的振幅会因为被样品吸收而减弱, 因此, 样品的不同部位产生的相速差异会进一步使得相位发生偏移。将这种相位的偏移变化记录下来, 可以反应样品内部的电子密度分布情况, 从而获得样品内部不同结构的形态分布信息。

图 3-3-1 显示了一台第三代同步辐射装置的基本构架信息。第三代同步辐射装置主要由直线加速器、增强器、储存环和实验线站等几部分组成。其中, 直线加速器内的电子枪产生加速用的电子束, 在加速波导作用下加速, 最后经过聚焦和检测后输出到电子同步加速器中; 电子同步加速器在真空条件下通过各种磁铁把电子束继续加速, 直到到达最终所需能量, 同时让束流强度、品质进一步改善; 最后, 电子束被输入到电子储存环中, 在环内积累, 并通过各种插入件获得更短的波长和更高的通量, 达到适当的条件后沿着特定区域引出光束。

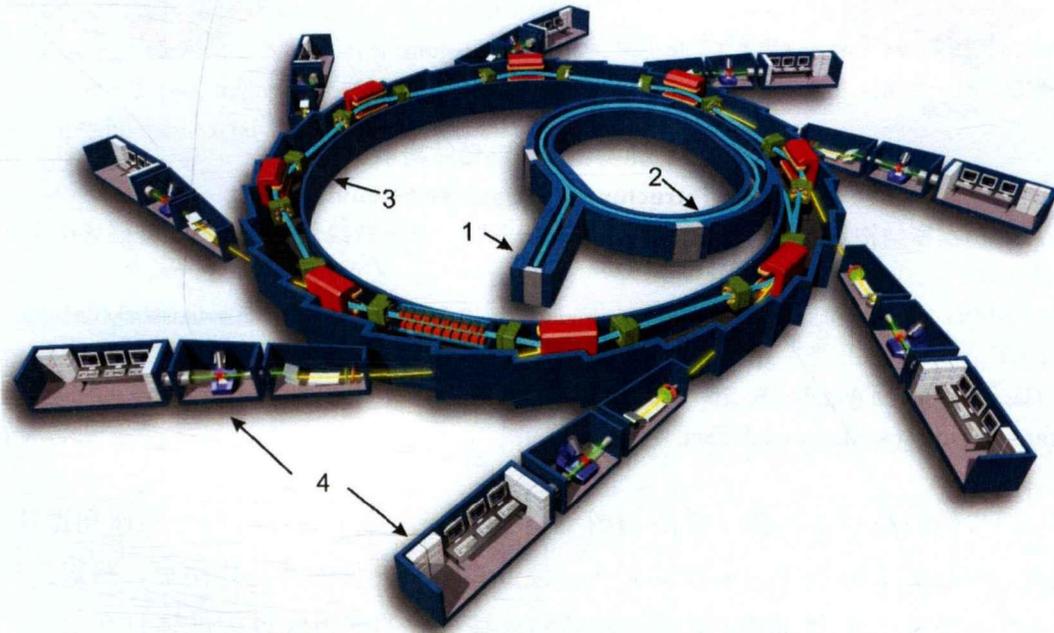


图 3-3-1 第三代同步辐射装置结构示意图

#### Diagram of the third-generation synchrotron facility

1 所示为直线加速器; 2 所示圆环为电子同步加速器 (又称增强器); 3 所示大圆环为储存环; 4 所示为实验站。浅蓝色线条代表电子束; 储存环内, 绿色方块代表加速器, 相邻加速器间的电子束作直线加速运动, 而红色方块代表磁铁, 可以使经过的电子束发生偏转; 沿电子束运动切线方向的黄色线条代表发射出的同步辐射光, 通往各实验站。

(素材来源: [https://simple.wikipedia.org/wiki/Synchrotron#/media/File:Sch%C3%A9ma\\_de\\_principe\\_du\\_synchrotron.jpg](https://simple.wikipedia.org/wiki/Synchrotron#/media/File:Sch%C3%A9ma_de_principe_du_synchrotron.jpg), 稍加修改。)

1. Linac; 2. Booster; 3. Storage ring; 4. Experimental stations. The wathet blue line represents the

electron beam; in the storage ring, the green squares represent the particle accelerator and the electrons are accelerated by electric fields in the straight sections between green squares. The red rectangles are bending magnets that bend the beam. The yellow lines represent the synchrotron radiation emitted by the electrons which towards to the experimental stations.

图 3-3-2 显示了插入件扭摆器 (Wiggler) 与波荡器 (Undulator) 的示意图。插入件的作用是在电子束能量和束流强度一定的情况下, 通过磁场作用调节波长和通量。扭摆器作用下, 电子在其间会产生扭曲运动, 但出了扭摆器后不改变原运行轨道。波荡器则是通过磁场交替使得电子束在其间以正弦曲线的轨迹前进。二者的区别是, 扭摆器的磁场强度大、磁场周期大、磁极的周期数小, 而波荡器则一一相反<sup>[64]</sup>。

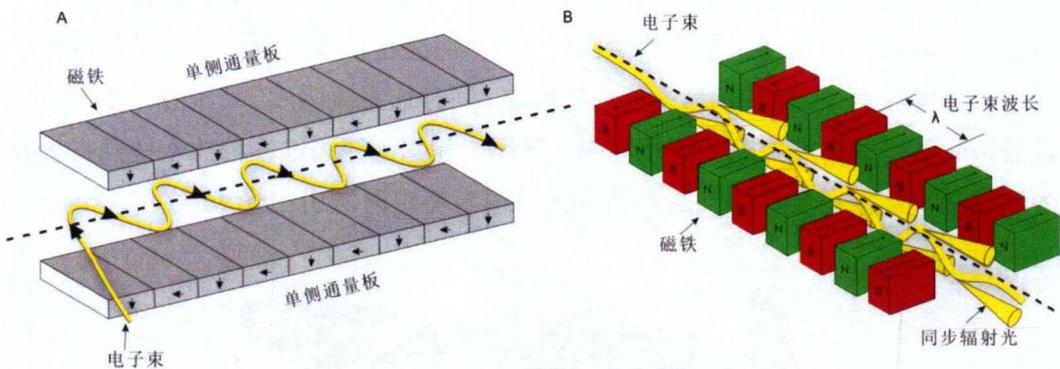


图 3-3-2 扭摆器与波荡器结构示意图

#### General structure of Wiggler and Undulator

图 A 为扭摆器结构示意图。图 B 波荡器结构示意图。黄色曲线代表电子束, 在磁场中发生震荡偏转。

(A 参考网址: [https://en.wikipedia.org/wiki/Wiggler\\_\(synchrotron\)](https://en.wikipedia.org/wiki/Wiggler_(synchrotron)), B 参考网址: <https://en.wikipedia.org/wiki/Undulator>, 均有修改。)

A. The structure of Wiggler. B. The structure of Undulator. The yellow curves represent the electron beams and they oscillate and deflect.

同步辐射检测的光路示意图如图 3-3-3 所示。电子束在磁极中加速和振荡、波动, 沿切线方向放射出同步辐射光, 经过多层单色仪的滤光作用后, 照射到位于旋转台上的目标样品上。穿透样品的未被吸收的光再经过闪烁体打在反光镜上, 通过透镜最后达到图像传感器上, 由摄像头获取图像。

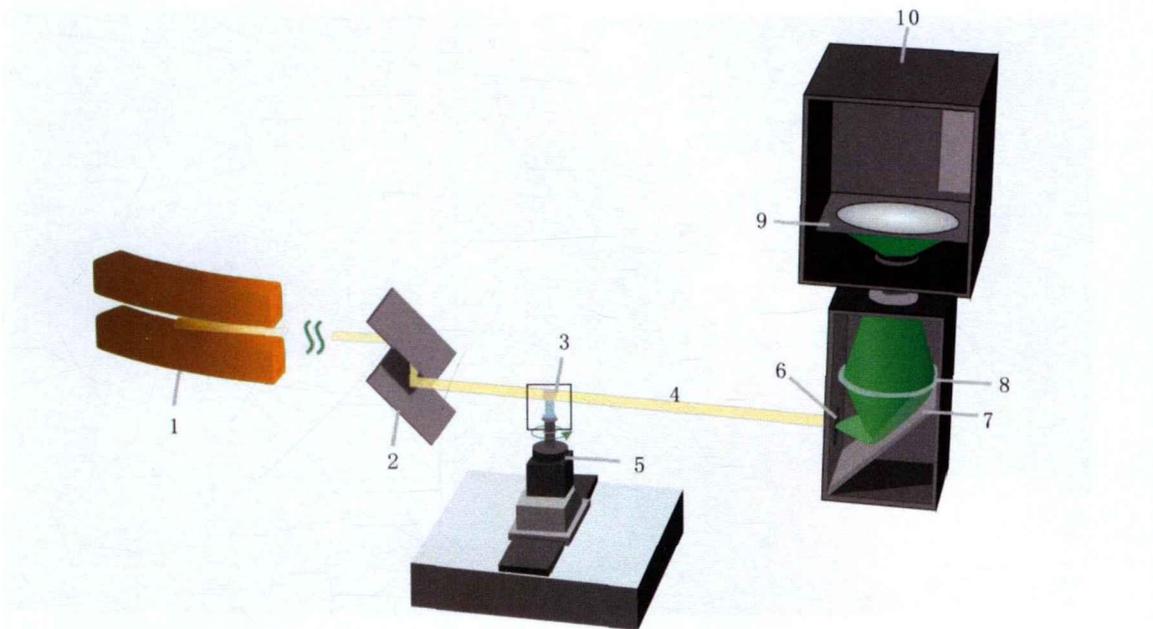


图 3-3-3 同步辐射检测光路示意图

## Schematic diagram of synchrotron radiation detection optical path

1. 偏转磁极；2. 多层单色仪；3. 样品；4. 同步辐射光；5. 旋转样品台；6. 闪烁体；7. 反光镜；8. 透镜；9. 图像传感器；10. CMOS（互补金属氧化物半导体）摄像头。

1. Bending magnets; 2. Multi-layer monochromator; 3. Sample; 4. Synchrotron radiation beam; 5. Rotation sample stage; 6. Scintillator; 7. Mirror; 8. Lens; 9. Image sensor; 10. CMOS (Complementary Metal-Oxide-Semiconductor) camera.

## 3.3.3 成像实例

以下将展示一枚使用同步辐射 X 射线断层成像技术三维重建形貌的三维立体藻类化石，数据于欧洲同步辐射光源（European Synchrotron Radiation Facility, ESRF）形貌学与显微断层成像线站（ID19）完成，设置参数如下：X 射线能量为 17.6keV，样品转角 0—180°，单张投影的曝光时间分别为 0.2s，投影 1800 张，扫描时长为 8min，标本和探测器之间的距离为 12mm，探测器的空间分辨率（单个立体像素大小）为  $(0.7\mu\text{m})^3$ 。

CT 数据后期三维可视化处理，包括图像分割、定向数字虚拟切面、三维渲染等，使用软件 VG studio Max2.1 完成。

由图可见，该化石由三个圆球状细胞团块组合而成，内部有明显细胞学结构，呈现疏松网状，中间部分保存较外围部分更好，细胞无明显分化现象。使用同步辐射技术进行三维无损成像获得图像的效果良好，可以为后续研究提供内部无损成像截面，了解化石内部信息。

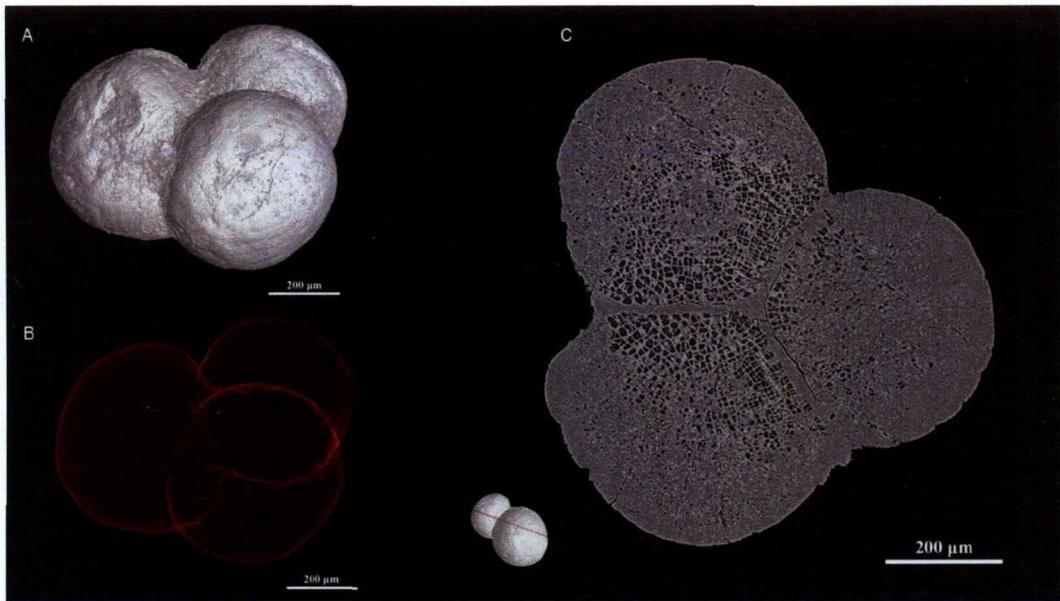


图 3-3-4 瓮安生物群藻类化石同步辐射显微断层成像

**Synchrotron radiation X-ray micro-tomography of phosphatized fossil alga in Weng'an biota**

A 为标本三维表面渲染视图。B 为标本的透明渲染效果，可以显示化石空间结构组成。C 为该藻类化石的其中一个虚拟切片截面。可以清晰看见内部的细胞学结构。

A. Three-dimensional surface rendering view of the specimen. B. Transparency view of the alga fossil for showing the spatial compartment. C one of the virtual slices of the specimen, showing the internal cellular structure of the alga fossil.

### 3.4 激光共聚焦显微成像

激光共聚焦显微技术(Confocal Laser Scanning Microscopy, CLSM)是一种以激光作为激发光源，通过特殊装置“针孔”来过滤离焦光线以提高光学分辨率和对比度的光学成像技术。由于大部分化石不能自发荧光，该技术在古生物学领域尚未实现大范围的应用。但若存在某些标本，其围岩因能自发荧光而与化石之间具有一定衬度，或化石本身因含特殊成分，能在特定波段激光照射下自发荧光而产生结构衬度，则可以使用激光共聚焦显微成像技术获得在普通光学显微镜及荧光显微镜下难以清晰观察到的结构信息。

激光共聚焦显微镜作为一种采集自发荧光进行成像的工具，在现代生物学、植物学、医学、材料科学及能源等各个领域的应用已十分普遍<sup>[65-67]</sup>，但在古生物学领域目前尚未得到大范围推广，主要原因是由于古生物学研究对象——化石，存在特殊性。化石不具有生命，无法像现代生物学领域利用活性荧光蛋白标记特定的结构。激光照射下可以自发荧光的物质一般分为有机质的和无机矿物。有机质会产生荧光效应的原理是在地质历史尺度下经过不同的成岩温度和压力等

条件作用,物质中各种化学键发生的不同程度断裂。因此有机质的化学成分及成熟度均会影响其荧光性质<sup>[68-70]</sup>。成熟度较低的有机质如琥珀等,可以在激光激发下产生自发荧光<sup>[71]</sup>,而如干酪根(kerogen)这类成熟度较高的有机质,在激光照射下并不发荧光。目前已知部分矿物在激光照射下可以产生较强的荧光。利用矿物的自发荧光特性,相关学者在研究富含方解石、磷灰石、黏土矿物的物质中都获得了较好的荧光成像效果<sup>[72-75]</sup>。因而将该技术应用于化石研究时,一般观察到的情况有三种:(1)化石整体因含有能自发荧光的矿物或成熟度很低的有机质,能在激光光源的激发下自发荧光;(2)化石所在附近的围岩因含有特定的组分能在激光的激发下自发荧光,从而产生成像衬度;(3)化石本身不同结构之间的化学组成不同,并且部分结构所含的成分能自发荧光,从而显示出不同结构之间的衬度。

目前关于瓮安生物群的研究主要集中在三维立体保存的化石上,但来自黑色磷块岩的岩石薄片同样包含了海量的生物学信息,而且黑色磷块岩中的化石因成分含硅质,其结构保存的精细程度比起灰白色白云质磷块岩中化石的结构更胜一筹。因此使用激光共聚焦显微成像的方式来观察黑色磷块岩薄片中的化石便是一个可能带来更丰富生物学信息的新研究思路。

激光共聚焦显微成像作为众多成像技术手段之一,旨在提升显微观察的精确度。虽然该方法具有一定的特色和优势,但只是作为成像过程的一个可选择方案,而非必须。每一种技术的应用范围均有明显的局限性,激光共聚焦技术也不例外,但它的应用毫无疑问是对传统光学成像的有益补充。

### 3.4.1 激光共聚焦显微成像技术的基本原理及功能

激光共聚焦显微镜(Confocal Laser Scanning Microscope, CLSM)主要由荧光显微镜、扫描检测单元、光源、光电倍增管、图像处理工作站等部分组成,通常配备三种光源:卤素灯透射光光源、金属卤化物灯荧光光源和激光光源。不同光源在成像观察中功用不同。初步观察时,实验人员可以在透射光光源下快速浏览样品,待找到标本的感兴趣区后,可以关闭透射光光源,打开金属卤化物荧光灯照射标本,尝试激发标本感兴趣区,通过荧光显微镜的目镜观察是否有自发荧光产生的结构衬度,若有,则可对该区域进行照相,此时关闭荧光光源并打开激光光源,照射该区域,结构受激光激发产生的荧光信号通过物镜传入扫描检测单元完成收集、过滤离焦光、信号放大等流程后,传入图像处理工作站,由使用者进行相关的图像处理。

激光共聚焦系统中荧光显微镜选用的金属卤化物灯是在汞蒸气放电时加入某些金属卤化物,与传统的荧光显微镜使用的高压汞灯相比,它具有更好的显色

性、更高的发光效率和更长的使用寿命<sup>[76]</sup>。由于化石自发荧光往往较弱,很多情况下常规的高压汞灯很难激发化石产生荧光,而金属卤化物灯因其更高的亮度和显色性,大大增强了化石自发荧光的强度,使得许多由弱荧光物质组成的化石在高压汞灯下无法观察到的结构可以清晰地观察到。

为了获得最佳成像效果,与肉眼通过目镜实时观察化石结构时采用的光源不同,对样品感兴趣区域照相时需要使用激光光源。激光具有相干性、单色性和准直性等特征,用于激发化石产生荧光时能有效避免被照射物体受不同波长光激发出不同波长的荧光产生的视觉干扰,而且效率更高。更为重要的是,激光的亮度极高,相较于高压汞灯和金属卤化物灯,可以激发出更强的荧光,使得一些本身自发荧光较弱的物质得以被更清晰地观察到,大大提高了成像信噪比。根据工作介质的不同,激光光源可分为固体激光器、气体激光器、液体激光器、半导体激光器和自由电子激光器等<sup>[77]</sup>。现今已研发出的激光器达上千种,可提供各种波长,其中在激光共聚焦系统中常用的波长有 405 nm (半导体激光器)、457 nm、477 nm、488 nm、514 nm (氩离子激光器)、543 nm、561 nm、633 nm (氦氖激光器)等,可根据实际需要配置。

在检测荧光信号时,系统内形成独特的光路(图 3-4-1-B)。激光从激光器中导出,照射在观测者研究的感兴趣区域内,激发出样品的自发荧光。自发荧光的光信号通过物镜传导到扫描检测单元中,再进行一系列处理。其中最重要的一步是过滤离焦光线:所有接收到的由样本发出的光信号需要经过一个特制的可调节大小的“针孔”,使只有恰好在焦平面的光线才能通过该小孔,其余光线(即成像平面高于或低于焦平面的光线)则不能通过(图 3-4-1-A)。这种只在焦平面上成像的方法称之为“光学切片(optical sectioning)”。经过针孔这一特殊光学构造的过滤之后,剩下的光线均来自焦平面。由于没有离焦光的干扰,光学切片成像更加清晰,图像分辨率和信噪比均超越了透射光学显微镜和常规荧光显微镜。

目前新型的激光共聚焦显微镜配备了光电倍增管,这一电子器件在系统接收荧光信号时能将微弱的光信号有效转变为电信号,通过加速电子冲击电极刺激次级电子大量释放,并多次重复以放大信号强度,使得成像信噪比大大提升,以便于后期信号观测与处理。

综上所述,激光共聚焦显微技术是使用激光光源及基于针孔和光电倍增管的高分辨荧光成像,与其它光学成像技术不同,它利用高流明的单色激光避免多色光的干扰并激发更强荧光,针孔装置则可过滤离焦光线,实现清晰的焦平面成像,光电倍增管负责将收集到的光信号有效放大,弥补化石样品因自发荧光微弱导致成像信噪比低的缺陷。

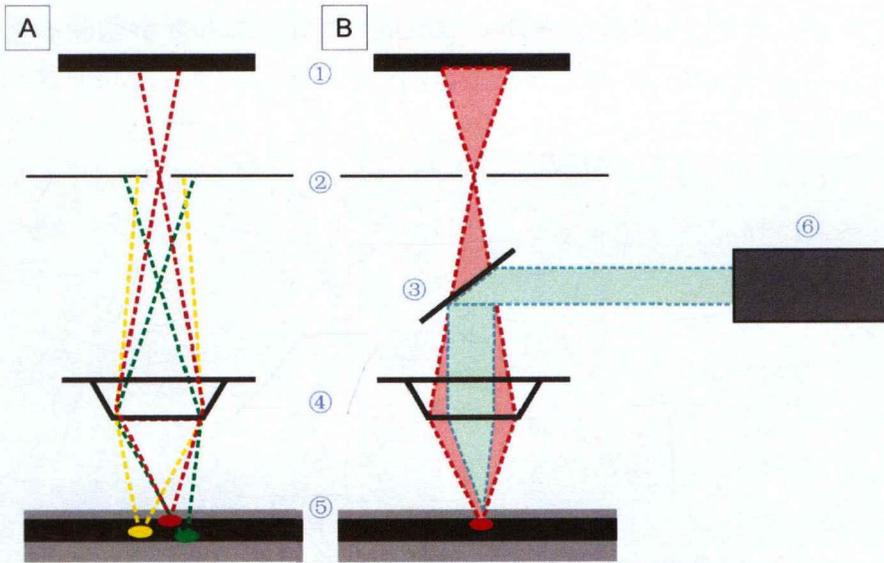


图 3-4-1 激光共聚焦显微成像系统光路示意图

#### Diagram of the light path of confocal laser scanning microscopy system

A. 为激光共聚焦显微系统通过针孔过滤离焦光线的示意图，切片上红色点代表焦平面，红色虚线代表其被激发的自发荧光，黄色和绿色点代表焦平面附近，对应颜色虚线代表离焦的干扰光。B. 代表激光共聚焦显微系统工作时形成的光路，激光器发出指定波长激光光源（绿色光柱），激发物体的自发荧光（红色光柱）被检测器接收成像。① 检测器；② 针孔；③ 分光镜；④ 物镜；⑤ 切片；⑥ 激光器。

A. Only fluorescent photos (red) from focal plane are received by the detector, any photos above or below (yellow and green) the focal plane are largely blocked out by pinhole. B. Laser beam (green) scans across the slices and emits fluorescent light (red) from focal plane, which can go through the pinhole and finally reach the detector. ① Detector; ② Pinhole; ③ Spectroscope; ④ Objective lens; ⑤ Slices; ⑥ Laser.

### 3.4.2 样品制备

激光共聚焦显微成像技术在诸多研究领域中的应用广泛，根据所观察的样品不同，样品制备方法也不同。在古生物学领域，使用该方法观察的样品多为化石薄片，少量为三维立体的实体化石。对于化石薄片而言，为更好地观察到目标化石的三维结构，在制作薄片的过程中应该保证合适的厚度，根据笔者的实验经验和前人文献，以 30-50  $\mu\text{m}$  为佳<sup>[45]</sup>。该厚度比用于普通岩石学研究的薄片厚，有利于提高化石结构在透射光下成像的衬度并观察到一定的三维立体结构信息。但若岩石薄片透光性较差，激光则难以穿透表层到达需观察层位，或所观察层位被激发出的荧光难以穿透表层而不能被观察和接收，所以制作岩石薄片过程中需要考虑标本的透光性，不能为了保留更多结构而一味增厚。因此，薄片最终厚度需要根据所观察标本的透光性等实际情况决定。若为经过碎样、酸洗等前处理获得的微体化石，如孢粉、硅藻等，也可采用先挑选后固定的方法，制作成薄片，以供

观察。若为体积相对较大的实体标本，如琥珀、小壳化石和牙形刺等，可以选择适当的待观察面先简单固定或放置在干净清洁的平面上，方便观察时移动。为了更好地观察实体化石的细节，也可以对化石进行染色或表面镀层，获得更好的成像衬度。如在观察化石表面形态和高程起伏时，过往研究中有在化石表面使用少量氯化铵喷洒以增强成像效果的例子<sup>[72]</sup>。虽然对化石标本镀层和染色均不是激光共聚焦成像的必要条件，但这些前处理能为优化成像效果提供一些参考。

### 3.4.3 成像实例

所有实例中激光共聚焦显微成像的图片均使用 Zeiss CLSM 710 拍摄，激发光源波长为 488 nm。用于对比研究的明场光学显微照片使用 Nikon H550L 拍摄。其中，荧光光路激发光源为高压汞灯，提供全光谱的光，但在显微镜的光路中设置有三个荧光滤光块，通过过滤特定范围的波段分别使得蓝色、绿色、红色的光通过照射在样品上。

#### 3.4.3.1 化石轮廓形态成像

当化石的磷酸盐化程度较弱，而围岩的主要成分为磷酸盐岩（即胶磷矿）时，有利于对化石整体轮廓形态进行高分辨成像。胶磷矿主要由纳米尺度的磷灰石晶体构成，在明场或偏光显微镜下均无法观察到晶体结构（前人认为是隐晶质或非晶质）。幸运的是，磷灰石会在适宜波段激光（比如 488 nm）激发下产生强烈的荧光，使得视野内围岩部分十分明亮。相较之下，化石主要被硅化或者碳酸盐化，磷酸盐含量较低，在相应的激光激发下不发荧光或荧光十分微弱，因而视野内化石部分较暗。此时，在化石与围岩之间有非常清晰的结构衬度，即两者的边界锐利可见。如图 3-4-2 所示，A 图展示的是普通光学显微镜（A1）和激光共聚焦显微镜（A2）对同一个标本进行成像的差异：A2 中，化石与围岩的边界锐利，且内部多道波浪状内衬结构（lining）清晰可见；A1 中的化石与围岩的边界不如图 A2 清晰，内部的波浪状内衬分辨不清，但有一亮色的环带，在激光共聚焦显微镜下只发微弱的荧光。所以使用不同的成像技术所得的两张图片可以互相结合以补充观察细节。图 3-4-2-B 展示的是一枚疑源类化石，与图 3-4-2-A 中的标本类似，因为化石与围岩所含成分差异，不仅可以清晰观察到围岩与化石之间的边界，而且可以观察到化石内部腐烂后被磷酸盐填充的中空部位（图 3-4-2-B1 中方框标记的较亮区域）。该疑源类标本表面凸起的刺状结构磷酸盐化程度十分微弱，几乎不发荧光，在较强荧光的围岩对比下可以清晰地分辨出其形态和密度。标本刺状结构附着的囊包本身未被磷酸盐化，故在激光共聚焦显微镜下为一圈细窄的

黑色不发光环带（图 3-4-2-B2），之下则为一圈较宽的亮色环带，推测应为次生的磷灰石内衬结构。

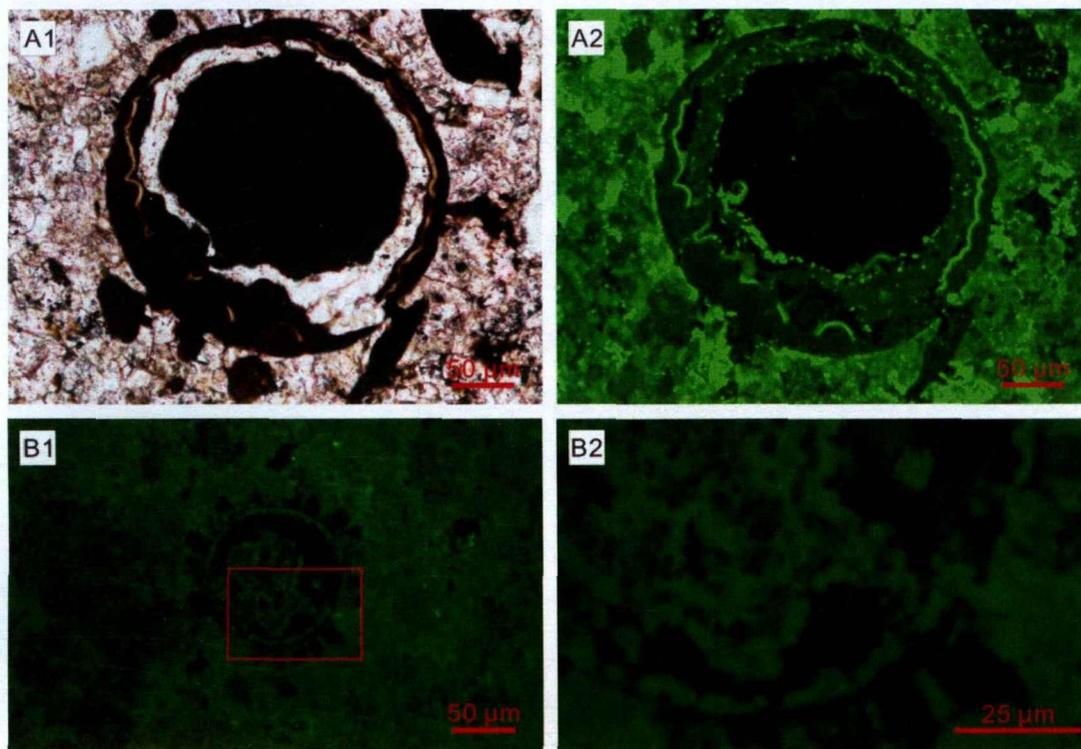


图 3-4-2 瓮安生物群不明属性的微体化石和大型带刺疑源类

An unknown microfossil from the Weng'an biota and a large acanthomorphic acritarch from the Weng'an biota.

A. 瓮安生物群中不明属性的微体化石，A1. 为普通光学显微镜透射光下成像；A2. 为同一枚化石在激光共聚焦显微镜下成像。B. 大型带刺疑源类在激光共聚焦显微镜下不同放大倍率的成像，B1. 为该化石全貌；B2. 为 B1 所示红框中的局部放大。

A. An unknown microfossil from the Weng'an biota, A1. Imaged by transmitted light under ordinary optical microscope; A2. The same fossil imaged by confocal laser scanning microscope. B. A large acanthomorphic acritarch imaged by confocal laser scanning microscope at different magnifications, B1. the entire appearance; B2. A close-up view of the framed area in B1.

#### 3.4.3.2 化石内部结构成像

当化石整体磷酸盐化程度较高时，在激光激发下自发荧光较强，内部结构清晰可见。若此时的围岩主要由碳酸盐岩组成，在激光下几乎不发荧光，使得视野内的背景黑暗，则可形成良好衬度，有助于对化石内部结构进行成像。

如图 3-4-3-A 为一组具网状多细胞结构的藻类标本的两种显微成像的对比，其中图 A1 为普通光学显微镜下拍摄的图像，图 A2 为激光共聚焦显微镜下拍摄的图像，两者对比不难发现该网状藻类的细胞结构在图 A2 中更为清晰，细胞之

间的空间关系更为明确。图 3-4-3B 则展示了另一组多细胞藻类（可能的四分孢子球藻）的镜下成像，其中图 B1 为普通明场光学显微镜下图像，图 B2 为同一个标本在激光共聚焦显微镜下拍摄的图像，图 B3, B4, B5 分别是在传统荧光显微镜下蓝色、绿色和红色光的成像效果。不难发现，对比图中箭头所指三个区域，普通明场显微镜成像（图 3-4-3-B1）及汞灯成像（图 3-4-3-B3, B4, B5）细胞结构模糊不清。而使用激光共聚焦显微系统成像的图片（图 3-4-3-B2），其四分孢子状细胞结构整体清晰，边界明确，可观察到的结构细节更多，由此可见该情况下激光共聚焦显微成像比普通光学显微镜更具优势，而传统的荧光显微镜则不能满足成像需求。

若化石部分结构磷酸盐化，部分为有机质或碳酸盐化保存的情况，则会出现化石内磷酸盐化的部分区域明亮、不含磷酸盐的部分黑暗的现象，有利于呈现化石结构中细胞分化、定向等信息。如图 3-4-4-A 中展示的多细胞组织中每个细胞的细胞壁部分磷酸盐化程度高，荧光信号强，呈现清晰的多细胞网状结构，但不同区域的细胞形态、尺寸和空间排列方式有明显差异：左侧区域细胞呈多角状平铺，无明显定向；中部细胞拉长，呈菱角状，弧形定向排列；右侧细胞尺寸较其它区域明显增大。这些特征表明该个体已经发生细胞分化。图 3-4-4-B 为八细胞期动物胚胎化石切面，其中细胞质部分磷酸盐含量低，荧光信号十分微弱，整体呈暗色，但细胞边界部分磷酸盐化程度较高，荧光信号较强，使得细胞整体轮廓分明。

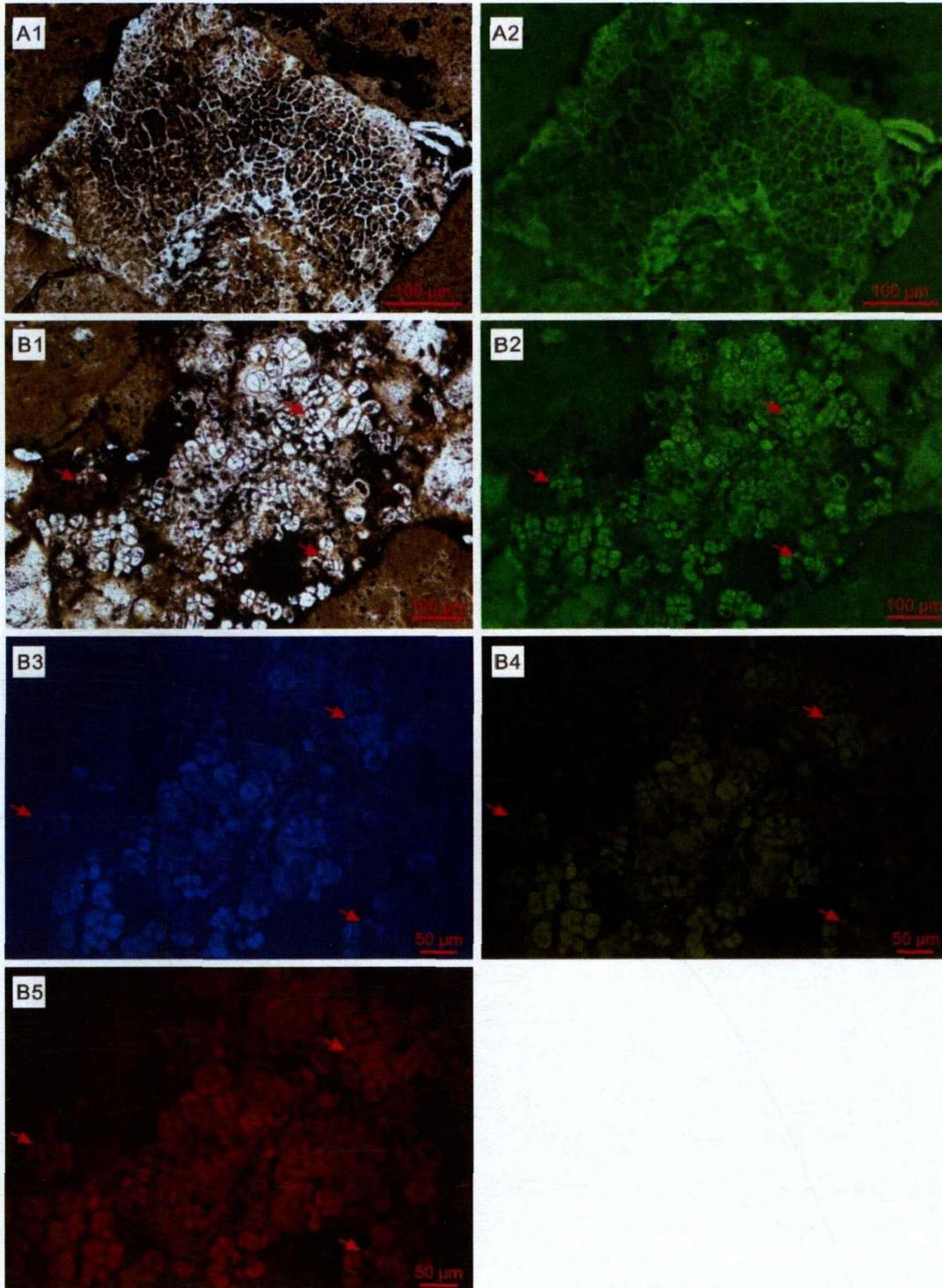


图 3-4-3 三种成像技术（传统光学显微成像、传统荧光显微镜成像和激光共聚焦成像）对瓮安多细胞藻类化石成像效果对比

The comparisons of imaging qualities of conventional microscopy, epifluorescence microscopy and CLSM

A. 为一多细胞藻类的网状结构局部，A1. 为普通光学显微镜成像；A2. 为激光共聚焦显微镜成像。B. 为可能的四分孢子球藻化石，B1. 为普通光学显微镜成像；B2. 为激光共聚焦显微镜成像；B3-B5 为同一标本分别使用传统荧光显微镜蓝色、绿色、红色光照射下的成像（化

石模糊), 箭头处指示不同光源下的几处成像差异对比。

A. a multicellular algae with network multicellular structure, A1. imaged by ordinary optical microscopy; A2. imaged by confocal laser scanning microscopy. B. a possible *Paratetraphycus*, B1. imaged by ordinary optical microscope; B2. imaged by confocal laser scanning microscope. B3-5 are images captured by epifluorescence microscope. The blue, green and red light omitted by fluorescent mercury-vapour lamp, respectively. Red arrows indicate the contrasts among pictures.

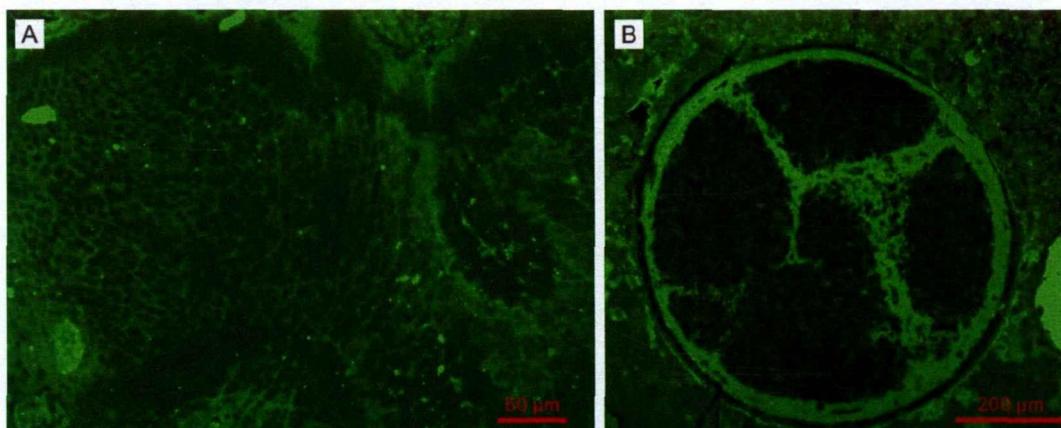


图 3-4-4 具有细胞分化的多细胞藻类网状结构及八细胞期动物胚胎的激光共聚焦成像  
CLSM image of Multicellular algae with cell differentiation and network structure and 8-cell stage animal embryo.

A. 为多细胞藻类网状结构, 具明显的大小分化和形态差异, 且部分有明显定向性。B. 为八细胞期动物分裂胚胎, 细胞间隙明亮, 内部可见颗粒状结构。

A. a multicellular algae with obvious cell differentiation. B. an eight-cell stage animal embryo with bright intercellular space and dark granules inside.

### 3.4.3.3 化石三维结构重建

利用激光共聚焦显微技术中基于分层激发荧光扫描的三维立体重建功能, 可观察黑色磷块岩切片中个体微小但具有一定厚度 (30-50  $\mu\text{m}$ ) 的微体化石的三维结构。三维立体重建功能通过设定合适的步径 (通常为微米), 变换焦平面连续拍摄多张图像, 并通过专业软件将来自不同焦平面的多图组合叠加成具有一定厚度的三维立体图像 (体数据), 能够揭示一定厚度内的细微变化。多图叠加是对多个层面的结构信息综合, 保存了不同焦平面上清晰的化石信息的同时, 不丢失焦平面的深度信息, 这种称作“光学切片”叠加的功能在单一体数据中实现了化石立体结构信息的三维可视化, 与常规明场光学显微镜的 Z 轴叠加功能具有本质区别。后者是将不同焦平面上的所有结构信息叠加到单张二维图像上, 实际上将标本 Z 轴的信息丢失了, 造成化石结构的严重变形, 比如一个球形化石通过 Z 轴叠加拍摄的图像则为一个平面的圆, 而非一个球。

下图为多细胞藻类网状结构在不同焦平面上的连续成像(图 3-4-5-A—H)及其叠加(图 3-4-5-I)。连续成像的 8 张图片可见结构上细微的差别,体现了不同焦平面上化石结构的变化。叠加后网状结构不同位置的疏密程度差异清晰。三维立体重建功能还可以制作不同动画特效,如不同方向旋转、切割等,对展示其三维结构、增强对化石各个角度的认知有所帮助。

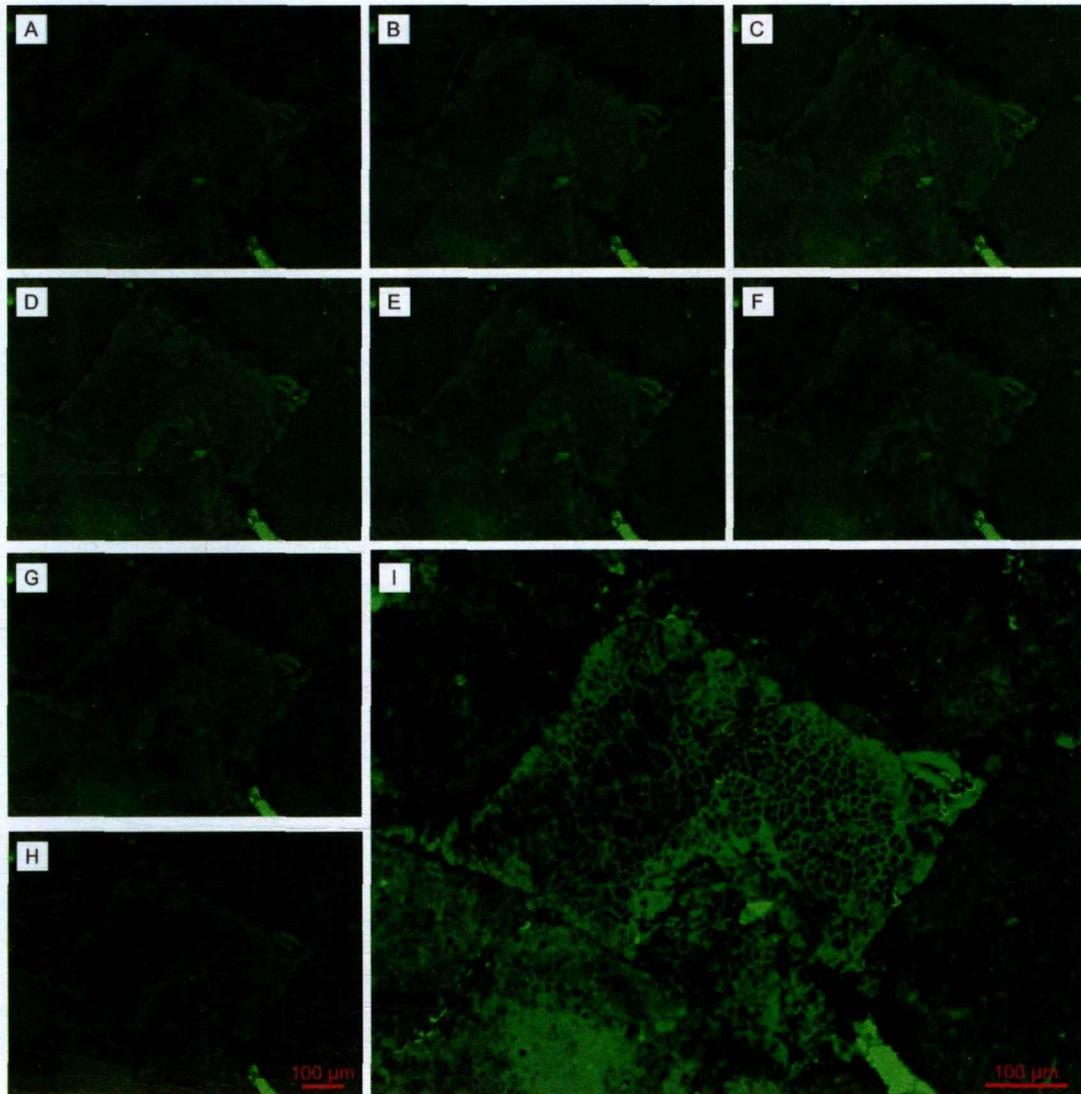


图 3-4-5 多细胞藻类网状结构的激光共聚焦成像

**CLSM images of multicellular algae with network-like cellular structure.**

A-H. 为同一多细胞藻类网状结构在不同焦平面上的连续成像,可见结构上细微的差别,其中明暗差异代表接收到的该化石在不同焦平面上自发荧光的强弱程度不一样。I. 为多张不同焦平面上连续成像的叠加。

A-H. continuous images of the same multicellular algae in different focal planes and the subtle differences of its structure can be observed. The differences of the brightness in different images indicate the intensity of fluorescence at different focal planes. I. three-dimensional reconstruction of the specimen based on the successive images of multiple focal planes.

### 3.5 显微拉曼光谱分析

拉曼散射 (Raman scattering) 是指光照射到分子并和分子中的电子及分子键产生作用时, 产生的光的波长变化的现象。假定一个分子原先处在基态, 受到入射光照射时, 光与该分子产生作用, 并引起电子跃迁。如若分子从基态跃迁至电子激发态再回到基态之后, 光的频率不发生改变, 则称此种散射为瑞利散射 (Rayleigh scattering) 或弹性散射 (elastic scattering); 如果发生了频率改变, 称之为拉曼散射或非弹性散射 (inelastic scattering), 其中, 出射光频率小于入射光频率的现象称为斯托克斯散射 (Stokes scattering), 其谱线称为斯托克斯线, 而频率大于入射光频率的现象称为反斯托克斯散射 (Anti-Stokes scattering), 谱线称为反斯托克斯线。除此之外, 常见的拉曼光谱图还涉及到物质的荧光效应 (图 3-5-1)。通过研究这些波长变化关系, 可以反演得到分子结构的信息, 因此利用拉曼效应可以探测物质的成分。

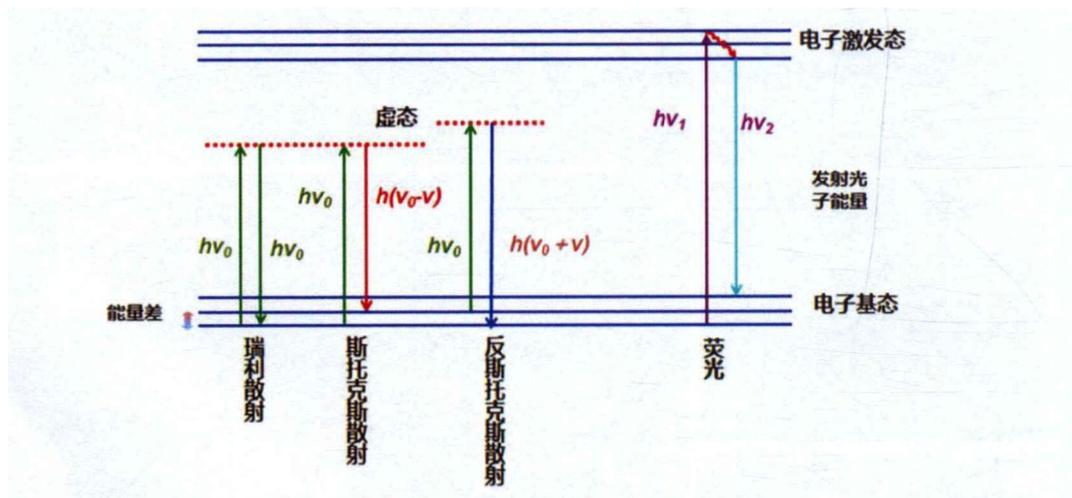


图 3-5-1 瑞利散射、斯托克斯及反斯托克斯散射、荧光现象电子能级示意图  
Diagram of electron level of Rayleigh scattering, Stokes and Anti- Stokes scattering, fluorescent

拉曼光谱探测是一种无损、非破坏的可在常温常压下进行的检测技术, 适用于固、液、气体的宏观、微观检测。在实际检测过程中, 得到成分信息的主要要素为拉曼光谱的峰位、谱峰位移情况、半高宽和谱峰强度等。具体分别对应信息如表 3-5-1。

在使用拉曼光谱仪进行检测的过程中, 需要对待测试样品有初步了解: 首先, 需要明白测试目标为得到何种信息; 其次, 待测样品是否具有荧光, 如果不确定的话, 需要进行全光谱的测试, 目的是在后续检测过程中避开可能的荧光干扰,

以及选择最适合的激发光源波长；最后，因为固、液、气三相的性质差异，处理的方式也不尽相同（图 3-5-2）。对样品的充分了解可以帮助我们更好地获得检测信息。

表 3-5-1 拉曼光谱成像信息  
Raman spectral imaging information

谱图要素	揭示信息	
峰位	化学组成、结构、构象、形态	成分分布
谱峰位移情况	应力、温度	属性分布
半高宽	结晶度	
谱峰强度	浓度或物质的量	强度分布

在对样品有一定了解之后，需要制定合适的测试条件，如设置光谱分辨率、激发波长、激发功率、采样的方法、光谱采集范围与积分时间等。以上参数均需要根据样品特性多次尝试调节，以获得最佳效果，不同的样品之间并无定数。

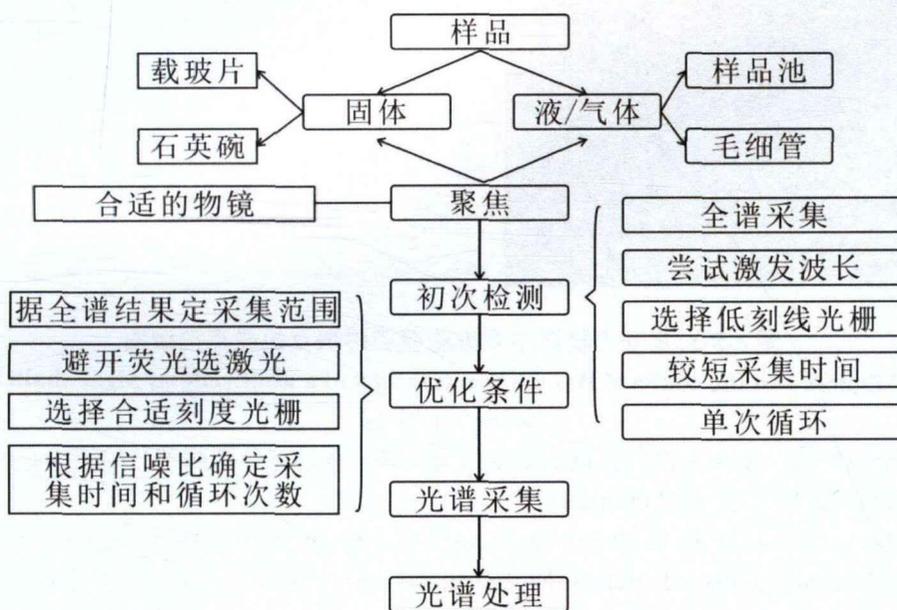


图 3-5-2 拉曼测试流程  
Raman spectrum test procedure

获得的谱峰数据经过一定的优化处理（如扣除荧光背底、标峰等）后，可以

经过查阅前人文献或查阅部分矿物的开源拉曼特征峰的数据库（如 RRUFF，网址为 <https://rruff.info/fluorapatite/display=default>），得到获得的特征谱线代表的具体矿物。

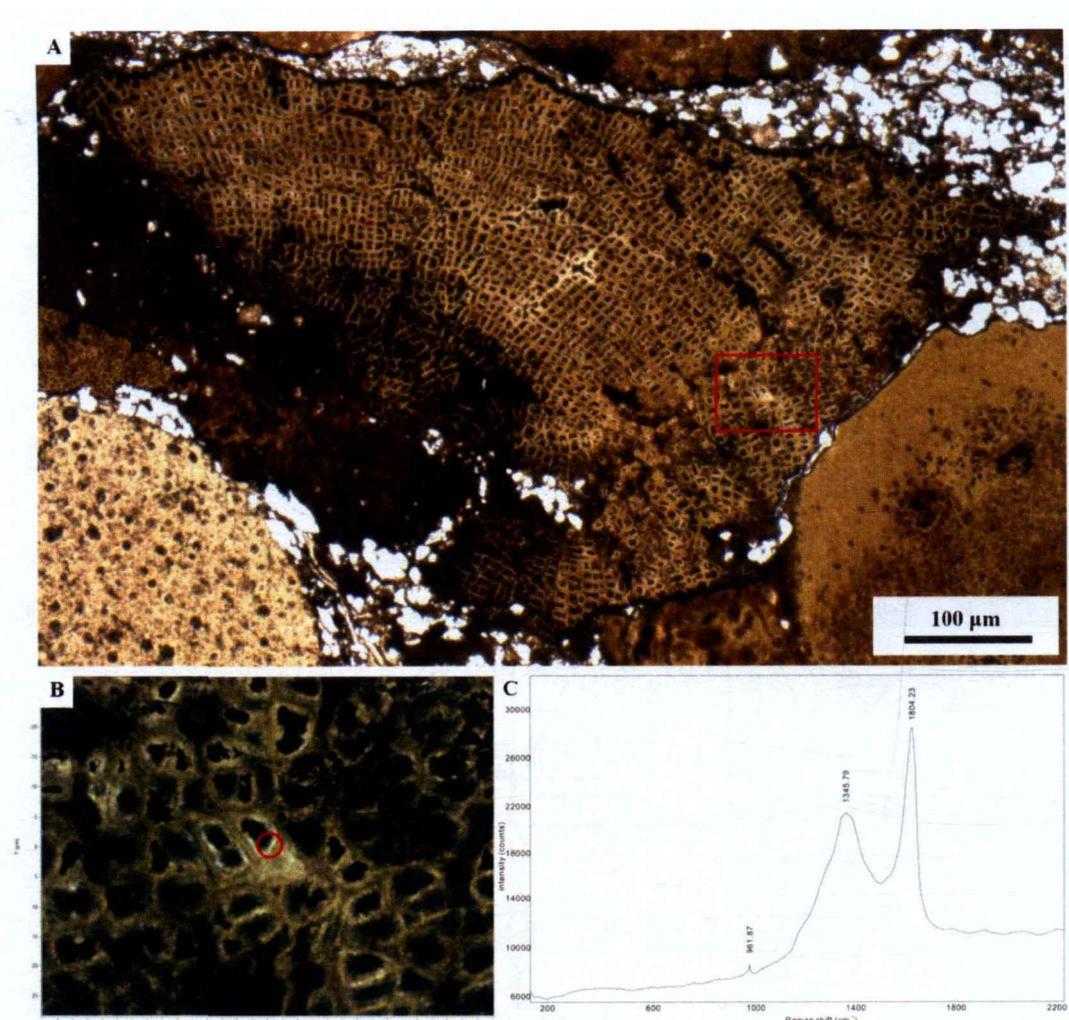


图 3-5-3 瓮安生物群中多细胞藻类碎块及拉曼点扫谱图

**Fossil figures and the confocal Raman spectroscopy of a multicellular algae thalli from Weng'an Biota**

A. 藻体全视野图。B. A 中红色方框的局部放大。其中标注红色圆圈部分的正中心区域为拉曼点扫测试区域。C. 拉曼点扫谱峰图。

A. The whole view of the multicellular algae fossil. B. magnification of the red square area in figure A. The center of the red circle is the Raman test area. C. confocal Raman spectroscopy.

以磷酸盐化特异埋藏化石库瓮安生物群为例，由前人文献可知，样品中富含磷灰石  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{F}$ <sup>[78]</sup>，化石中可能富含有机质，呈现暗色并不能激发荧光<sup>[79]</sup>。基于对样品的初步了解后，选定待测化石样品，使用不同波段的激光对其从低功率到高功率逐步测试。如图 3-5-3 所示，选定了一块瓮安生物群中的多细胞藻体碎

片，在低倍目镜下观察后转至高倍目镜，最终选定 B 中一点进行测试分析。使用 50 倍目镜，532nm 激光，10%功率 (10mW)，积分时长 10s，积分次数 2 次，共焦孔直径 100 $\mu\text{m}$ ，获得 C 中图像。图中显示了 961.87 $\text{cm}^{-1}$  的磷灰石特征峰，以及 1345.79  $\text{cm}^{-1}$  和 1604.23  $\text{cm}^{-1}$  的碳特征峰（其中 1345.79  $\text{cm}^{-1}$  为 D 峰，代表碳无序结构，由 C-H 键变形振动产生；1604.23  $\text{cm}^{-1}$  为 G 峰，代表石墨的有序结构，由 C=C 键伸缩振动产生）。

## 第4章 化石生物学

在上一章节,我们探讨了一套系统的显微检测技术,可供磷酸盐化特异埋藏微体化石进行从显微结构学到显微谱学的无损检测。采用以上提及的各项技术,不仅可以大大加快化石检测效率,还可以为后续研究提供精美确凿的结构和谱学证据。在本章节中将介绍化石藻类可能的识别方法,并逐一梳理与探讨前人已报导文献内全部埃迪卡拉系陡山沱组地层的瓮安生物群中红藻化石记录。

### 4.1 前寒武纪多细胞红藻化石综述

冠群红藻出现的时间一直有争议。关于藻类早期起源与演化问题,由于进行光合作用是藻类的一大特性,因此首先要讨论光合质体是如何及何时出现的。目前普遍被接受的是内共生起源,认为光合质体起源于多次内共生事件,第一次是由于原核自养的蓝细菌被一类异养原生生物吞噬,二者成为了一个共生体,于是该类生物具备了自养的能力,并发展成原始色素体植物(包括灰胞藻、红藻、绿藻和陆生植物)的光合质体;之后,这样的共生体又被二次吞噬、共生,形成了后期更先进的藻类的多膜光合质体<sup>[80]</sup>。2017年,Sánchez-Baracaldo等人对49类蓝藻基因中编辑出的135个高度保守蛋白质及119个包括蓝藻和光合真核生物的26个基因进行分析,认为光合质体的与蓝细菌的关系可以追溯到21亿年前,包括红藻的原始色素体植物共同祖先在19亿年前就已出现,而冠群红藻的出现则追溯到10-16亿年前<sup>[7]</sup>。

分子钟的推演是基于现代生物基因证据、分子系统学理论框架,加上地质历史时期可靠的化石证据校准年限的。但是,在上述方案中,虽然能够推断出某一类生物在地质历史时期关键的演化发育生物学节点,可由于目前关于藻类的分析系统学框架仍存在较大不确定性,不同学者提出的分类方案差别较大,甚至是从亚门一级开始就有差异(如李,2012及Yoon et al.,2006等分类方案),因此对于分子钟结果具有较大影响。其次,在校正过程中,化石的选取也对最后的分子钟推定结果产生巨大影响。在Sánchez-Baracaldo et al.,2017中,关于红藻化石年代校正点的选取是Butterfield et al.,1990中于加拿大约10亿年地层<sup>[14]</sup>发现的与现今红毛菜(Bangiophyte)可以对比的化石<sup>[16]</sup>,以及距今约6亿年的瓮安生物群中发现的被认为是确凿冠群红藻化石证据的化石(如Xiao et al.,2004<sup>[28]</sup>)。因此,如若化石的属性存在争议,则受到校正点影响的分子钟结果也需要重新审度。关于瓮安生物群中已报导的多细胞藻类化石的可靠性分析,我们将在下一章节中详细讨论。

生物标志物方面,相关学者也对藻类的早期起源演化做出推断。如2017年Brocks等人根据真核生物类固醇的分子化石记录,发现在7.2-6.35亿年前海洋中的初级生产力仍为细菌主导,但在约6.59-6.45亿年前,甾类物质的多样性和丰富性迅速增加的事件证明真核原始色素体藻类(包括红藻和绿藻)在此时期的海洋中发展繁盛<sup>[8]</sup>。这也说明冠群红藻在至少6.59-6.45亿年前就已经出现。

生物标志物作为分子化石证据,采集和分辨都存在难度,且包括分子化石在内的化石证据往往都是最为可靠的地质历史实证,因此该发现对认识藻类早期起源与演化关键阶段及记录特定时代地层对应的藻类情况有重要意义。然而,生物标志物无法反映化石所代表的原藻类的生物体结构特征及生殖生长等相关的问题,意味着无法准确识别其属种。

综上,要研究清楚红藻的早期起源与演化问题,必须也是最根本的是要把目光重新放在实体化石记录上。回顾前寒武纪的宏体红藻化石记录方面,目前已报导的有我国华北高于庄组发现可能为最早的距今15.6亿年前的宏体碳质压模红藻化石,并在同一层位发现了保存精美的多细胞结构<sup>[10]</sup>,这一时期地层中发现该类证据非常罕见,确实能很大程度上反应早期藻类的演化阶段,但首先碳质压模化石的藻体缺乏细胞学结构而只能通过外观识别观察,其次多细胞结构并非保存在藻体上,且该结构缺乏关于属种确定的分化证据;我国距今分别大约6亿年及5.5亿年前的蓝田生物群和庙河生物群中也报道了大量宏体藻类化石,但仍然是以碳质压模保存的<sup>[13,81]</sup>,虽然保存了较好的整体形态,也被分类为许多不同的形态属种,但是依旧存在碳质压模化石中细胞、组织等结构难以保存的特点。值得一提的是,与蓝田生物群、庙河生物群时代相仿的瓮安生物群则是一个磷酸盐化特异埋藏窗口,可以保存精美的细胞-亚细胞结构,如保存的大量具有可能的生殖结构和细胞分化的红藻化石(详细见下文章节内表格)。除此之外,早期发现的宏体藻类化石记录零星,化石保存状态不佳,其生物学属性大多有待商榷。

对于以上已发表的宏体藻类化石记录而言,高于庄组、蓝田生物群和庙河生物群中的藻类化石均为宏体碳质压模,保存的是原生物体外观而无法看见具体的细胞生物学结构,对判断其生物学属性而言是具有困难的。而早期红藻类化石记录中能看见细胞学结构的证据仅有距今10亿年<sup>[14]</sup>的硅化碳酸盐岩中保存的*Bangiomorpha*<sup>[15,16]</sup>和约16亿年前的印度地区红藻化石<sup>[9]</sup>。*Bangiomorpha*的形态结构较为简单,认为是红藻的证据来自与现生红毛菜的高度相似的对比,但是该化石仅有切片形式保存,缺乏三维立体证据,因此其真实结构与红毛菜的对比还未知,仅能就看见的目前的单一截面而言,其与红毛菜确实具有较高相似性,因此更多证据仍需要进一步发掘;而最早的印度地区距今约16亿年的被认为是红藻的化石,包括三维保存的*Rafatazmia chitrakootensis*和切片中观察到的多细

胞结构 *Ramathallus lobatus*。在细胞单列排列的化石 *Rafatazmia chitrakootensis* 中发现了中央悬浮的明显菱形碟状结构, 该结构被解释为蛋白核; 细胞之间的间隔有稳定的凸起结构, 可能代表红藻中的纹孔连结; 在 *Ramathallus lobatus* 中发现了和瓮安生物群中报导的细胞“喷泉结构”定向排列、四分体细胞, 这些结构被认为分别与拟薄壁组织和四分孢子有关, 因此 *Rafatazmia chitrakootensis* 和 *Ramathallus lobatus* 被认为是可能的最早的冠群红藻 (crown-group rhodophytes (red algae))。但是在印度地区发现的化石相关报道目前仅有 Bengtson et al., 2017 一篇文章, 其中丝状体的 *Rafatazmia chitrakootensis* 也是形态简单的细胞单列排列生长模式, 没有更多的细胞分化现象证据; 而 *Ramathallus lobatus* 中的四分体结构保存状态一般, 结构的数量也十分有限, 但该类包括喷泉结构和四分体结构的标本在瓮安生物群中却被大量报道, 还有相似但更丰富的结构, 如细胞分化的各种被认为与生殖有关的结构 (后续章节中详细说明)。

综上所述, 无论从年代上还是从埋藏方式所致的保存精细精美程度上, 以及从已发现的结构丰富程度上, 瓮安生物群因其磷酸盐化的埋藏属性而得以保存的大量埋藏质量好的化石, 和根据已有发现证明的极高化石多样性, 成为目前为止讨论红藻起源和早期演化的最早且最佳的化石埋藏窗口, 对探讨冠群红藻的出现具有重要意义。

## 4.2 多细胞藻类化石识别标准及瓮安生物群中已报导类群再讨论

### 4.2.1 红藻生物学判断依据

要对藻类化石进行识别, 首先要了解现代生物学分类体系下如何识别藻类, 在此基础上, 再对比这些标志性的生物学结构和物质在化石埋藏中是否能保存和识别, 最终得到某一类生物在化石中可能的保存识别特征。本节将依次介绍现代生物学分类体系下识别藻类的特征和化石中可以观察到的相关结构, 并结合在瓮安生物群中已发表的藻类化石, 厘定其证据的可靠性。

#### 4.2.1.1 现代藻类分类体系

藻类指一类自养的, 以叶绿素 a 作为主要光合色素的生物体, 它们缺乏真正的根、茎和叶分化, 大部分为在水中生活, 少数为陆生, 从单细胞到多细胞体均存在, 在大多数情况下为初级生产者, 为食物链提供食物来源, 且为地球生产氧气<sup>[2, 44, 82]</sup>。“藻类”的定义宽泛, 该类下生物是多源的 (polyphyletic), 目前并无非常严格普世的定义。

不同学者将藻类分为不同数量的门类,以李(2012)为例,真核藻类主要包括红藻门(Rhodophyta)、绿藻门(Chlorophyta)、裸藻门(Euglenophyta)、甲藻门(Dinophyta)、顶复门(Apicomplexa)、隐藻门(Cryptophyta)、异鞭藻门(Heterokontophyta)和普林藻门(Prymnesiophyta)等<sup>[2]</sup>。其中存在多细胞结构的藻类包括红藻、绿藻、褐藻三大类<sup>[3]</sup>。

现代生物学对于藻类门类属种的划分主要依据主要色素、食物储存方式、叶绿体特征、细胞壁、鞭毛等的不同<sup>[44]</sup>。据 South 和 Whittick (2009)、李(2012)和 Sahoo 等(2015)的专著,含有真核多细胞结构的三大类别一般具有以下特征:

(1) 红藻: 主要色素是叶绿素 a, 叶绿素 d, 藻红素, 藻蓝素, 别藻青素,  $\alpha$  和  $\beta$  胡萝卜素; 储存物质为红藻淀粉、甘油半乳糖苷、甘露甘油酸酯; 叶绿体含双层叶绿体被膜; 细胞壁主要是纤维素、果胶、多硫酸酯; 无鞭毛细胞。

(2) 绿藻: 主要色素是叶绿素 a, 叶绿素 b,  $\alpha$ 、 $\beta$  和  $\gamma$  胡萝卜素, 叶黄素, 管藻黄素和管藻素; 储存物质为淀粉; 叶绿体含双层叶绿体被膜; 细胞壁主要是纤维素, 但纤维素也可能被木聚糖和甘露聚糖取代。

(3) 褐藻: 主要色素是叶绿素 a, 叶绿素 c1、c2,  $\beta$ -胡萝卜素, 岩藻黄素; 储存物质为海带多糖(Laminarin)和甘醇露(Mannitol); 叶绿体含有双层叶绿体内质网膜, 其内质网膜的内膜环绕着叶绿体的被膜, 外膜则与核膜的外膜连接且表面有核糖体; 细胞壁是双层凝胶质的, 含少量纤维素和大量阴离子多糖(藻胶、岩藻多糖、鹿角藻素等); 前端具有流苏状鞭毛、后端为尾鞭状鞭毛。

了解了各大门类藻类现生的评价标准后,以本文关注的红藻为例,总结出出现代生物学中识别红藻的主要依据如下:

(1) 辅助色素: 红藻特有的藻红素、藻蓝素。

(2) 储能物质: 红藻淀粉。

(3) 细胞学特征: 皮层和髓部分化; 部分红藻具有钙化作用(如珊瑚藻); 纹孔连结; 叶绿体含双层叶绿体被膜(无内质网膜)等。

(4) 生殖特征: 细胞无鞭毛; 多相世代(配子体世代: 果胞/精子囊; 孢子体世代: 中性孢子、单孢子/四分孢子, 等)。

对于以上特征的了解,可能可以对在化石中识别藻类起到一定作用。更多的,现代生物学中还会采用基因测序和对比的手段对藻类的属种进行厘定。对于瓮安生物群中的藻类而言,由于化石形成年代久远,原生的生物化学信息被降解而无法保存,因而靠某一化石中检测到对应的属种所含有的生物化学信息(包括合成的有机物、含有的色素、遗传物质等)来识别该化石的可能性几乎不存在,因而主要只能靠形态学的信息对其进行一定程度上的区分。

## 4.2.1.2 早期化石红藻判别依据

化石藻类，尤其是早期化石藻类的研究往往较为特殊。生物体转变为化石的过程需要经过极长时间的地质作用，这为进行诸如现代生物学中的基因测序、色素鉴定等造成了极大困境。因此瓮安生物群中基于切片观察到的红藻化石的判断依据主要是根据特殊的形态结构。目前，前人已发表的关于瓮安生物群藻类化石的文献中，对藻类属种判定的依据主要有：

(1) 具有特殊的生殖结构或生殖模式。如发现可能的红藻雌性生殖结构果孢子囊、雄性精子囊生殖结构、四分孢子体结构、细胞岛 (cell island, 也曾被称作 cell clump, cell group), 或被认为是四分孢子的十字形细胞结构。红藻的显著特征之一是具有多相世代 (图 4-2-1), 这些特征均可以辅助我们进行识别。

(2) 特殊细胞分化: 薄壁、拟薄壁组织, 皮层-髓部分化。如具有定向、平行排列的细胞“喷泉”结构, 该结构被认为是拟薄壁组织; 而细胞外缘有一圈与内部细胞形态结构不一致的 (通常较小) 细胞, 被认为是藻类皮层-髓部分化。

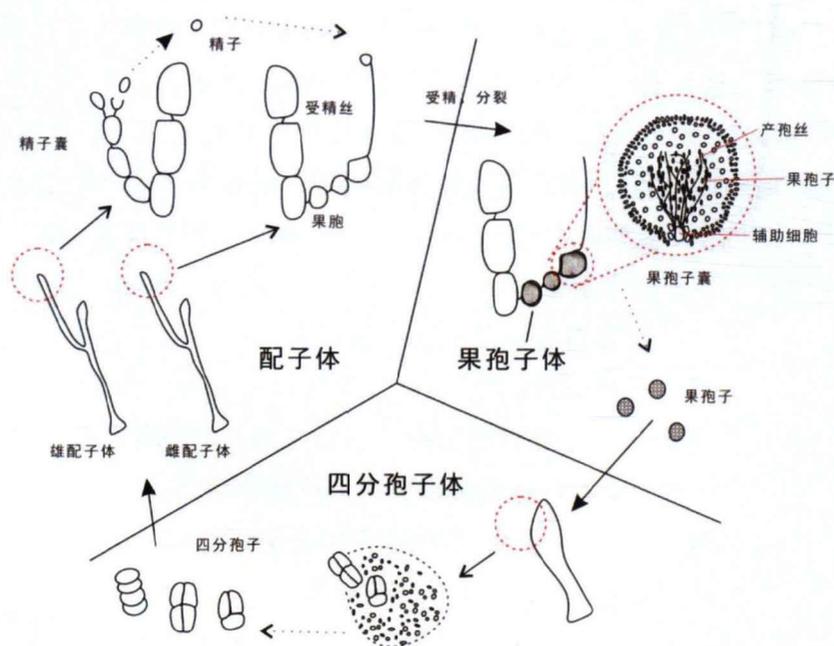


图 4-2-1 红藻三相世代简要示意图

(改自李, 2012)

**Brief diagram of three phase generation of Rhodophytes (red algae)**

(modified from 李, 2012)

红藻三相世代一般可以分为遗传物质为  $N$  的配子体世代, 寄生在雌配子体上的果孢子体世代 (遗传物质为  $2N$  的合子生长发育而来), 以及果孢子发育而来的四分孢子体世代 (四分孢子体释放出的四分孢子, 每个是遗传物质为  $N$  的单倍体)。具体不同的红藻类群生长发育模式略有不同。

Generally the three-phase generation of Rhodophytes can be divided into three components: the gametophytic generation, which contains 2N genetic material; the parasitic carposporophyte generation, which live on female gametophyte with also 2N genetic material, developing from the zygote; and the tetrasporophyte growing from carposporophyte which can release haploid tetraspores. The growth and development patterns of specific red algae groups could be slightly different.

#### 4.2.2 瓮安生物群中已报导的多细胞藻类化石

目前, 瓮安生物群中已报导的可能的红藻及绿藻共计 7 属 11 种, 褐藻暂时无相关报导。

已报道的红藻包括五属: *Wengania*、*Gremiphyca*、*Thallophycoides*、*Thallophyca*、*Paramecia*。其中, *Wengania* 又下分两种, 分别为 *Wengania globosa* 和 *Wengania exquisita*。*Gremiphyca* 下只有一种 *Gremiphyca corymbiata*。*Thallophycoides* 下也只有一种 *Thallophycoides phloeatus*。*Thallophyca* 下有两种, 为 *Thallophyca ramosa* 和 *Thallophyca corrugata*。*Paramecia* 下有一种 *Paramecia incognata*。

已报道的绿藻包括: *Paratetranychus* 属的 *Paratetranychus gigantseus* 和 *Sarcinophycus* 属的 *Sarcinophycus radiatus* 及 *Sarcinophycus papilloformis*。

以上所有报道化石的主要生物学鉴别特征、属种间比较关系及可能的亲缘分类、发表论文出处等详见表 4-2。

而在接下来的第 3 节和第 4 节中, 将基于化石形态学的生殖及分化特征, 分别介绍本研究基于瓮安生物群中切片和三维立体保存化石中保存的红藻化石证据。

表 4-2 已发表主要真核多细胞藻类  
List of published eukaryotic multicellular algae

门	属	种	生物学特征				亲缘关系		首次发表			
			组织	皮层-髓部	生殖结构	外形	细胞	对比		分类		
红 藻	<i>Wengania</i>	<i>W. globosa</i>				圆形	d=70-750µm	3-12µm	<i>G. corymbiata</i>	真红藻纲干群 (florideophytes)	Zhang, 1989 <sup>[37]</sup>	
		<i>W. exquisita</i>						2-4µm	<i>T. phloeatus</i>		Zhang et al., 1998 <sup>[42]</sup>	
		<i>W. minuta</i> *						3-8 µm			Xiao, 2004 <sup>[83]</sup>	
	<i>Gremiphyca</i>	<i>G. corymbiata</i>	拟薄壁组织 顶端生长	无	无	叶状 lobed, 偏球形 spheroidal 而非叶形 phyllod	(3-12µm)				Zhang et al., 1998 <sup>[42]</sup>	
	<i>Thallophycoideles</i>	<i>T. phloeatus</i>				球状或块状, spheroidal or lumpy	(2-4µm)				Zhang & Yuan, 1992 <sup>[56]</sup>	
	<i>Thallophyca</i>	<i>T. ramosa</i> <i>T. corrugata</i>	有	有	有	外形有内陷	皮髓细胞定向不同 皮细胞小于髓细胞				Zhang, 1989 <sup>[37]</sup> Zhang & Yuan, 1992 <sup>[56]</sup>	
	<i>Paramecia</i>	<i>P. incognata</i>				外形无内陷	细胞团内: 5-10µm 比体细胞略大				Zhang & Yuan, 1992 <sup>[56]</sup>	
? 绿 藻	<i>Paracetrachyca</i>	<i>P. giganteus</i>	球形集合体	十字形四分体; 也有单、二分体	八分体	缺乏分化	比 <i>P. giganteus</i> 细胞组织化程度高	红藻紫菜属 (但被认为是果孢子囊的结构缺乏果孢子壁; 缺乏细胞分化, 不太可能有固着器)	对比	关系	认为 <i>P.g.</i> 是 <i>S.s.</i> 早期发育阶段	Zhang et al., 1985 <sup>[84]</sup>
	<i>Sarcinophycus</i>	<i>S. papilloformis</i> *										Xiao, 2004 <sup>[83]</sup>

注: 标红的为三维立体化石, 标绿的为三维和切片均有描述相关类型, 其余为切片中的化石; 标\*的是在扬子地台的陡山沱组中燧石结合内发现, 而非瓮安地区; 数值加“( )”表示由与其它类型对比粗略得出, 而非实际本类型的描述中出现。分类评述除参考首次发表文献外, 还参考综述文章 Zhang et al., 1998<sup>[42]</sup>和 Xiao et al., 2004<sup>[28]</sup>及专著袁训来等, 2002<sup>[86]</sup>。本表格未统计一些被认为是一些可能的多细胞生物体, 如 Cunningham et al., 2016, 不排除藻类可能性<sup>[83]</sup>。

### 4.3 瓮安生物群岩石薄片中前人报导的冠群红藻化石再研究

#### 4.3.1 化石描述

部分藻类在生活史中会采取多相世代交替的现象。在不同的世代，藻体会采取不同的生殖模式，该行为可以帮助生物体更好地生存繁衍。例如，红藻具有多相世代，在配子体世代时进行有性繁殖，雄性配子体的生殖器官为精子囊，负责产生精子，雌性配子体的生殖器官为果胞，果胞在受精后形成果孢子体，其果孢子囊内含有果孢子。果孢子为二倍体，随着生长发育会长成独立个体，被称为四分孢子体，而该长成的四分孢子体的繁殖模式为产生单倍体四分孢子，这一过程被称为红藻的孢子体世代。四分孢子继续生长成配子体，又开始新一轮的配子体世代（红藻常见的多相世代简图详见前文的图 4-2-1）。

瓮安生物群中前人报道的化石中曾发现含有细胞聚集成团、团内细胞较大，细胞团四周围绕一圈定向排列的较小的细胞的现象。这些结构被称为细胞岛结构，与现生藻类的雌性配子体中的生殖窠或果胞对比，认为是生殖结构证据<sup>[21, 27, 37, 56]</sup>。在切片化石中还曾观察到四个、八个细胞集合体的现象，曾被解释为孢子，是认为的藻类的孢子体世代证据。包括细胞岛、“二分孢子”、“四分孢子”、“多分孢子”等的，这些均被认为是真核多细胞藻类的不同世代证据。

由于切片观察可能存在截面单一、无法避免三维结构误判的现象，本研究借助全自动数字玻片扫描技术对瓮安生物群中的黑色磷块岩切片进行数千片的扫描，以期通过增大扫描切片数量观察到未曾观察到的新结构。并且，为了更全面地观察化石，我们把目光放在尺寸较大的藻植体截面上，希望能看见同一藻体内保存的更多的结构学信息。这些大片的藻植体都有明显与动物细胞不一样的特征，如大片未分化网状结构和细胞的定向排列成束状的“喷泉”结构（cell fountain，图 4-3-5）。通过对这些藻植体观察，最终，我们发现了一系列未曾报导的细胞集合体聚集现象。

如图 4-3-1 所示，图中为一块长约 1400 $\mu\text{m}$ （1.4mm）的破碎的藻体碎片，因此原藻体的尺寸应不小于该尺寸，达到肉眼可见大小。在该藻体碎块中，同时保存有细胞岛结构及大量二分、四分、多分的细胞组合。B 为图中红色方框内的局部放大，展示了一个细胞岛及其周围的支持细胞。细胞岛内细胞大小较其余未分化细胞的尺寸大，周围支持细胞呈环绕细胞岛排列，有明显定向性，形态与其余未分化细胞略有不同，呈拉长状。C-E 展示了在同一藻体碎块不同区域的不同多分细胞集合体结构。C 中红色箭头指示多处细胞四个为一个紧密排列组合，组合

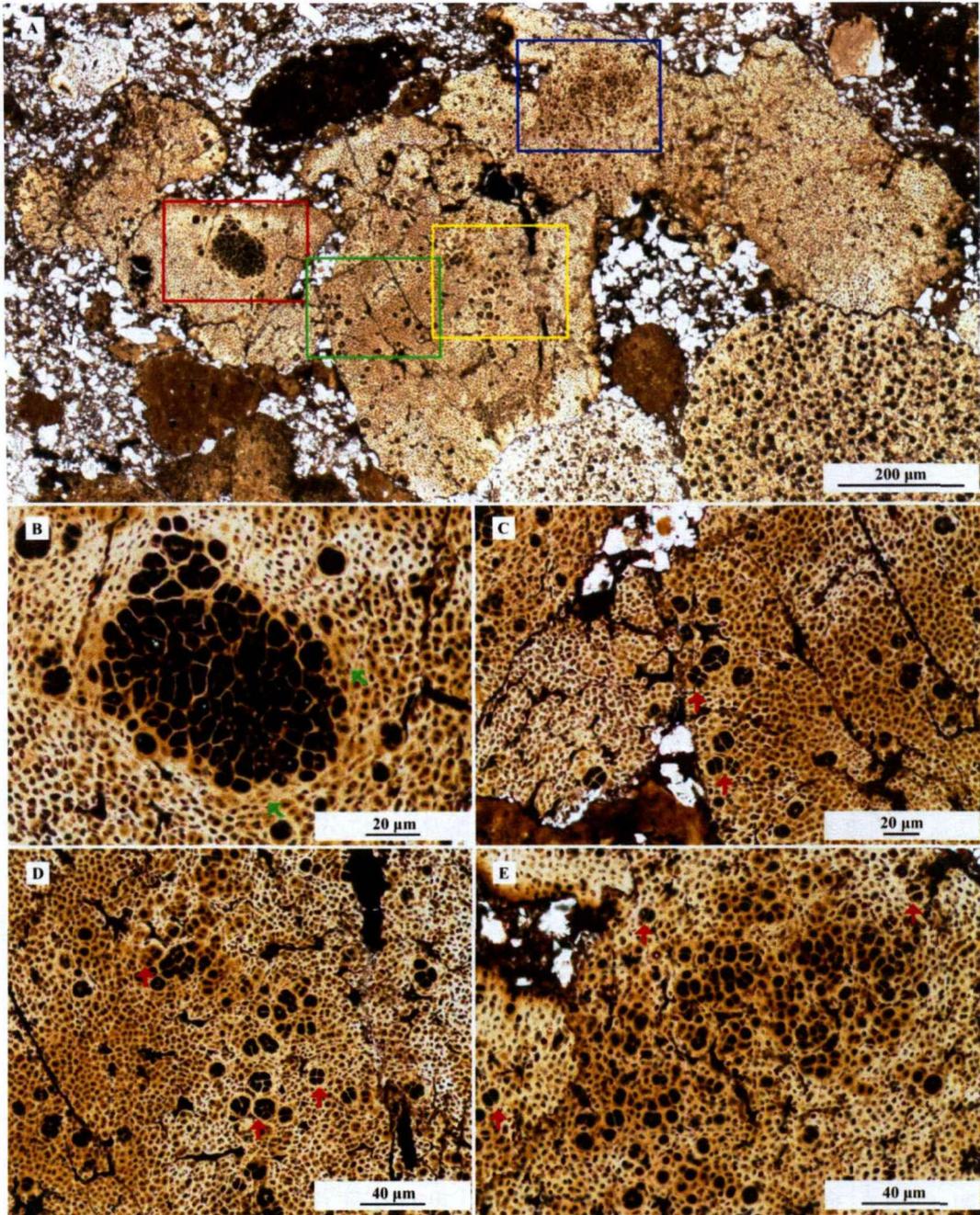


图 4-3-1 含有细胞集合体结构的分化多细胞藻类化石

**Fossil of a differentiated multicellular algae containing cellular aggregate structures**

A. 一大片藻体碎块。B. 一个细胞岛结构。A 中红色框部分放大。绿色箭头指示周围一圈拉长变形较小的环绕细胞。C. A 中绿色框部分放大。D. A 中黄色框部分放大。E. A 中蓝色框部分放大。红色箭头指示二分至多分细胞集合体结构。标本号 WS17-15-006-27。

A. A large fragment of alga thalli. B. A "cell island" structure. An enlarged view of the red square in Fig. A. The green arrows indicate a circle of elongated, deformed, smaller surrounding cells. C. An enlarged view of the green square in Fig. A. D. A magnification view of the yellow square in Fig. A. E. An enlarged view of the blue square in Fig. A. The red arrows in figure C-E indicate the structures from bicellular to poly cellular. Specimen number WS17-15-006-27.

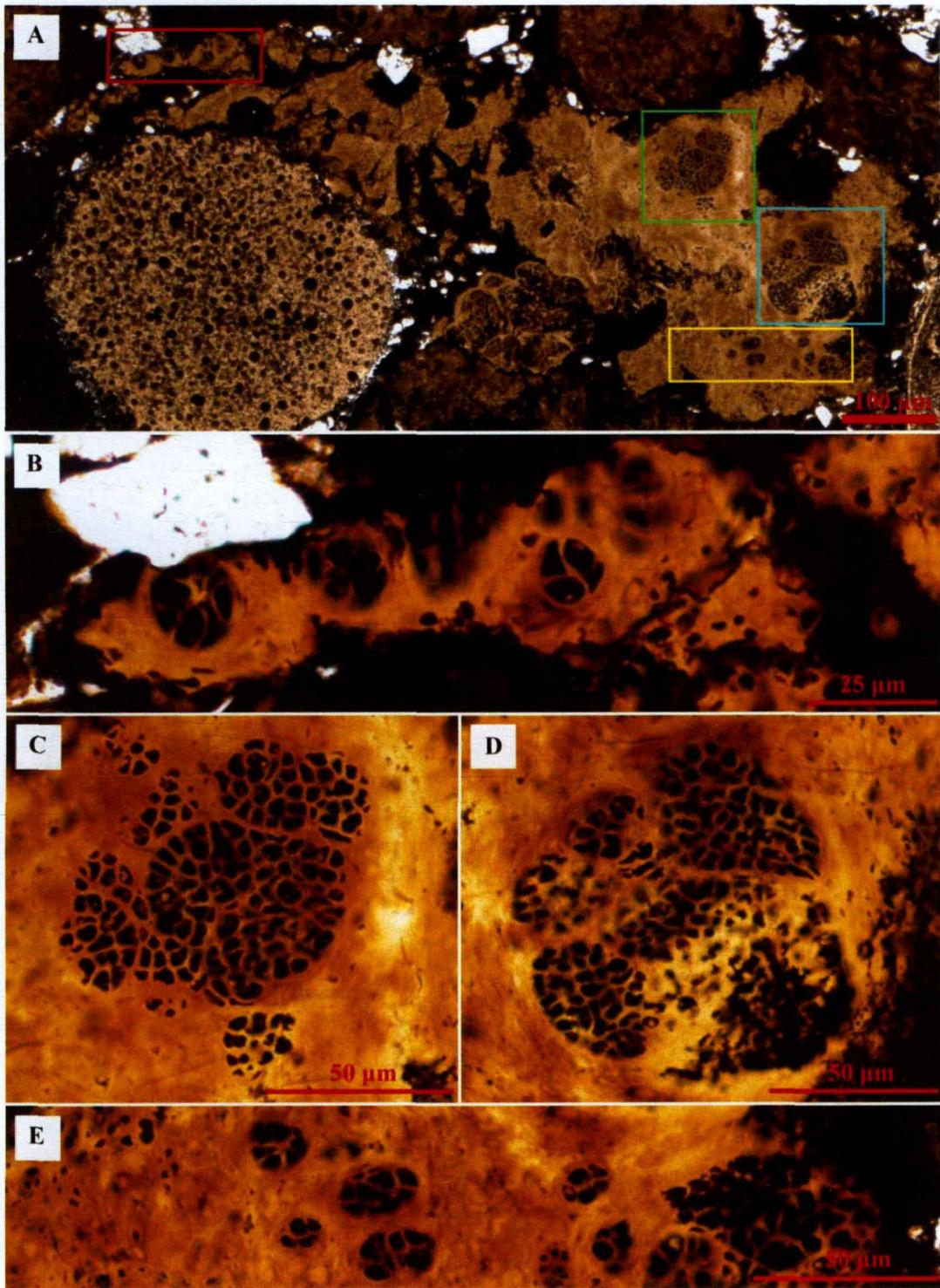


图 4-3-2 同一化石中细胞岛结构的不同生长阶段

**Different developmental stages of "cell islands" structure in one alga thalli**

A. 一大片藻体碎块。B 与 E. A 图红、黄色方框局部放大，四分或多分的细胞集合体。C-D. A 图绿色和蓝色方框局部放大，细胞岛结构。标本号 WS17-15-013-16。  
A. A large fragment of alga thalli. B and E. Magnification of the red and yellow squares in figure A showing the tetrad or poly cellular structure. C-D. cell island structures, showing the magnifying green and blue square in A. Specimen number WS17-15-013-16.

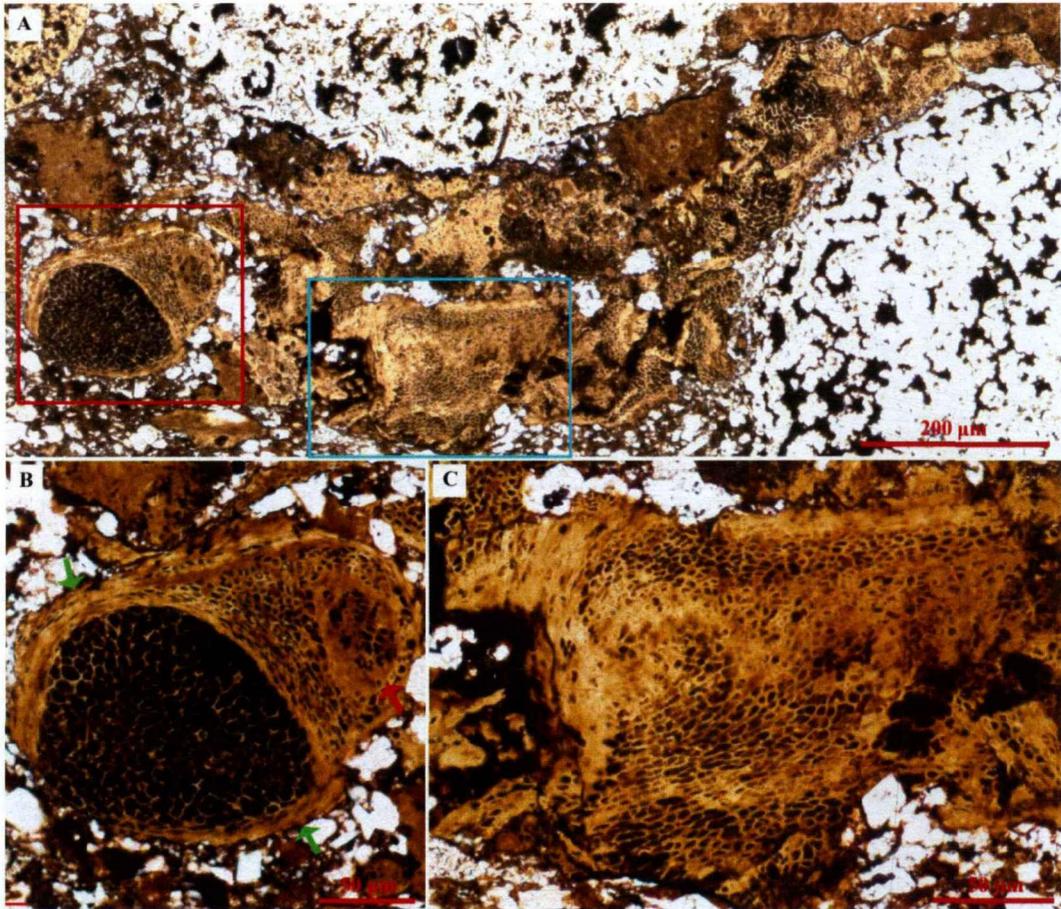


图 4-3-3 同一化石中细胞岛结构的不同生长阶段

**Different developmental stages of “cell islands” structure in one alga thalli**

A. 藻体化石碎片。B. A 中红色方框局部放大，碎片包含两个细胞岛，一个较大一个较小，绿色箭头指示大细胞岛和周围环绕的支持细胞，红色箭头指示较小的细胞岛。C. A 中蓝色方框局部放大，显示藻体碎片局部细胞的定向分布。标本号 WS17-15-012-10。

A. Fragment of alga thalli. B. An enlarged view of the red square in Fig. A. The green arrows note the big cell island and its surrounded elongated supportive cells and the red arrow shows the smaller cell island. C. The directional arrangement of cells from magnifying the blue square in Fig. A. Specimen number WS17-15-012-10.

中间呈十字结构。D 和 E 中存在同样保存为中间是十字结构状态的四个细胞的细胞组合，且 E 中还可见两个细胞组合的结构，D 中还保存多个细胞紧密排列的细胞集合体。

从大小上看，B 中细胞岛大小约为  $100\mu\text{m}$ ，截面近似椭圆；C-E 中细胞的多分集合体大小也随着所组成的细胞数量多少变化。且无论是多分细胞体还是细胞岛结构，组成这类结构的细胞大小相近，并同其余细胞对比明显更大一些。除此之外，可以看见 E 图中大量多分细胞体堆积，相较 C 与 D 中这类结构的分布更密集拥挤。值得一提的是，C-E 图中这类细胞多分体结构部分区域也能观察到类似在外圈有更小的细胞包绕的情况，尤其是 D 中下方的两个红色箭头所指的位置处的

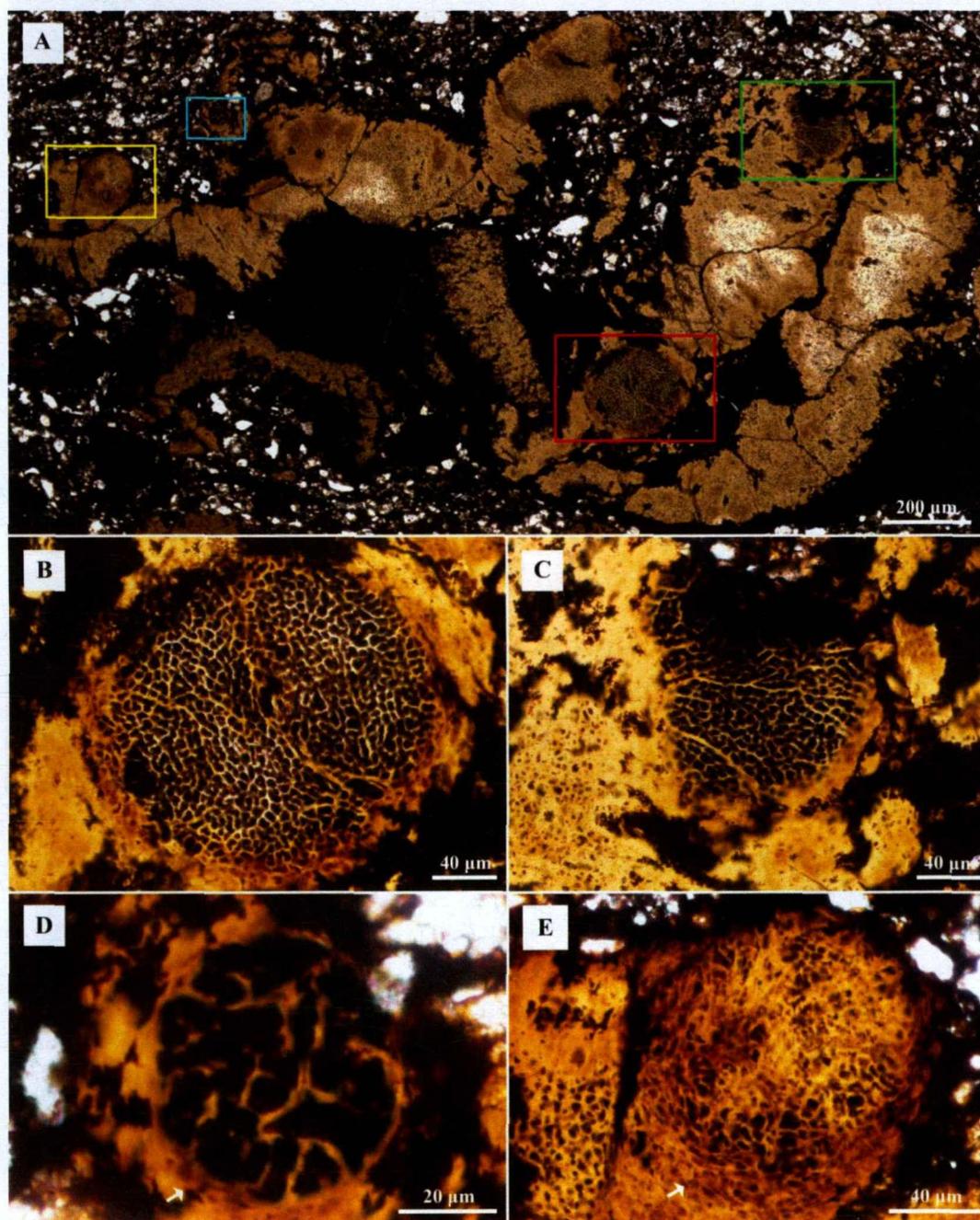


图 4-3-4 细胞岛的不同生长阶段化石

#### Fossils of different developmental stages of "cell islands" structure

A. 一大片藻体碎块。B-E. 同一藻体碎片内不同生长阶段的细胞岛结构。依次分别为 A 中红色、绿色、蓝色、黄色框部分局部放大。图 D-E 中白色箭头指示周围一圈拉长变形的较小的环绕细胞。标本号 WS17-15-006-35。

A. A large fragment of alga thalli. B-E. Different developmental stages of "cell islands" structure in a same fossil thalli. Enlarged views of the red, green, blue and yellow squares in Fig. A, respectively. White arrows in Fig. D-E indicate the elongated cells around the cell islands which are smaller than cells inside the islands. Specimen number WS17-15-006-35.

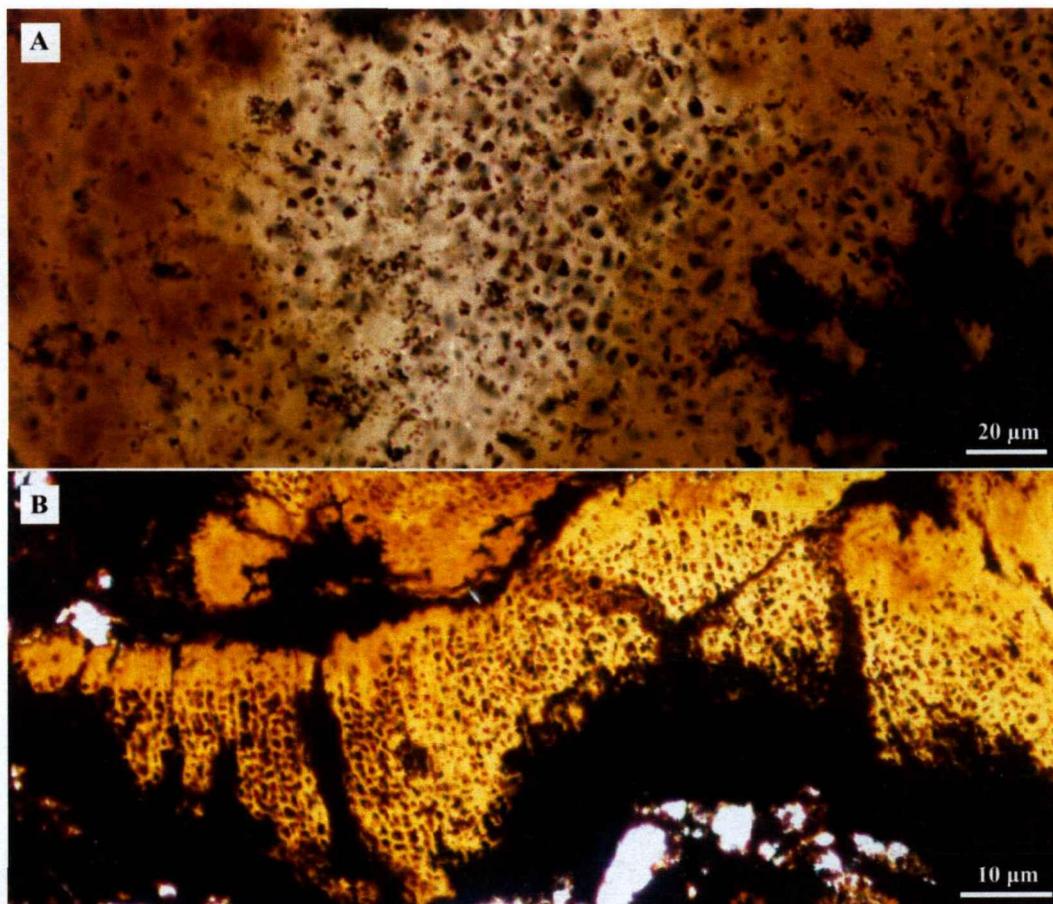


图 4-3-5 未分化细胞及“喷泉”结构

**Undifferentiated cells and "cell fountain" structure**

同一化石的不同区域展现了分化和未分化的特点。A. 未分化细胞，大小较为均一，无明显定向性。B. 细胞分化定向排列，呈“喷泉”结构（cell fountain）。为化石 WS17-15-006-35（图 4-2-2-A）的局部放大。

Different regions of the same fossil that exhibit both differentiated and undifferentiated features. A. undifferentiated cells with uniform size and no obvious orientation. B. Cell differentiation is arranged in a directional manner, presenting a "fountain" structure. Both two pictures are from the local amplification of fossil WS17-15-006-35 (Fig. 4-3-2-A).

多分体结构外围。

类似这样的多分细胞集合体与细胞岛结构同时出现的情况并非只在这一大的藻植体截面中出现。如图 4-3-2-A，也是一块较大的完整藻体。B-E 分别是图 A 中红色、绿色、蓝色、黄色的方框内的局部放大。其中 C、D 是两个细胞团，外围有一圈较小的细胞定向包绕，亦即同样和前一图版 4-3-1 中 B 的一样为前人描述的细胞岛结构。4-3-2-B 中可见一处中心为近似十字形的四个细胞组成的细胞集合体，除此之外，在 B 与 E 中还可见许多细胞组成个数介于四个至细胞岛中细胞个数数量之间的细胞团。它们周围均有隐约可见的细胞定向排列包绕现象。

除了新发现的细胞岛结构和细胞多分集合体共存现象外，我们还注意观察细

胞岛结构之间的关系。在图 4-3-3 和 4-3-4 中, 我们发现在同一藻植体碎片内不同大小的细胞岛结构。如 4-3-3-B 中, 同一个藻体碎片中含有大小不同的细胞岛两个, 但周围都稳定围绕一圈较小的细胞, 其余部位有较岛内细胞小一些的未分化的普通细胞。4-3-4 的 B-E 展示了同处在 A 这一大片藻植体中的四个大小不一样、呈现几乎圆形的细胞岛。除去岛大小不一之外, 其余结构都类似, 有稳定的较小的外圈细胞包绕、岛内细胞比其余未分化的细胞略大一些。

### 4.3.2 讨论

此前, 细胞岛结构在 Zhang, 1989 中被认为具有营养和繁殖功能, 后来又在 Zhang & Yuan, 1996、Xiao et al., 1998, Zhang et al., 1998, 袁训来等, 2002 及 Xiao et al., 2004 中进一步解释为可能的果孢子囊。而关于细胞多分集合体的现象, 在袁训来等, 2002 中被认为是四分、八分孢子, 与藻类的生殖有关。Xiao et al., 2004 中认为, 这些细胞有可能是蓝细菌, 因为外围存在疑似“胶壳”, 也可能是在藻植体中共生的藻体, 最后会逐渐长大, 还提出了可能存在这种多分体逐渐长成细胞岛的可能性, 并且文中还指出四分体、八分体如若解释为四八分孢子并共生在一起理论上并非红藻的显著标志, 是非常罕见的。

因此, 前人研究中关于瓮安生物群中存在红藻化石的证据主要来自于被认为的典型繁殖结构, 主要包括被解释为雌性配子体(或某些情况下, 果孢子体上的, 相关说明见前文的三相世代简介)繁殖结构果胞和被解释为孢子体的四分孢子(或特殊情况下, 别的数量的多分孢子)。但是, 考虑到三相世代中, 除了雌配子体和果孢子体世代可能同一藻体内, 其余的组合并不发生在同一藻体, 我们对新发现的现象进行如下解释:

首先, 在本研究中, 我们首次发现以上被前人认为可能分别是配子体和孢子体的证据出现在同一藻体内, 因此我们认为前人所认为的果胞、孢子并不是代表红藻不同世代的生殖证据。果胞是雌配子体受精发育而来, 在部分类群中, 果胞生长在果孢子体上, 可能出现果孢子体寄生在雌配子体上。但是, 果孢子体和四分孢子体或者雌配子体和四分孢子体是不同世代的, 并不出现在同一生物体上。如果按照前人所认为的这类四分、八分体属于孢子体世代, 则违背了不在同一生物体上出现的原则。因此这里我们认为, 这些四分、八分、多分体, 不属于孢子体世代的孢子, 细胞岛结构也不是果胞。

那么, 这些四八分体和细胞岛二者之间又是什么关系呢? 细胞岛又是如何形成的? 细胞岛是一类由很多细胞组成的紧密团块, 独立于其余细胞存在, 外围有一圈明显的拉长变形的细胞定向环绕, 与其余细胞有空间和形态上的差异。它们的细胞大小一般比其它非岛内细胞大。但过往报导中仅呈现了细胞岛的一个存在

状态,该细胞团块是如何从无到有的过程则没有相关呈现。该问题解决的核心在于需要在同一块藻体碎片化石中找到含有不同阶段的细胞岛,才可以建立不同细胞岛之间的生长发育序列。如若是仅仅在不同藻体化石中找到大小形态不一的细胞岛结构,并不能充分说明是一个连续的发育序列,因为该现象也有可能是不同类型的细胞集合体被认为归类为一类细胞集合体的不同生长发育序列。

过往报导中,细胞岛内细胞往往比其余细胞大,但新发现的化石中也存在大小较为接近的情况,如图 4-3-2-E 中细胞岛与周围细胞的对比及 4-3-3 中 B 与 C 大小的对比。说明细胞岛结构的特征是每个细胞被周围支持细胞环绕的一个独立于藻植体其余部分的细胞结构,但整个细胞岛总体的大小并无定则,也可能随着生长过程发生一定程度的变化。细胞岛内细胞的大小大约在 5-10 $\mu\text{m}$  之间,在 4-3-1 到 4-3-4 中,不同生长阶段的细胞岛内单个细胞大小均在这一区间内浮动,说明生长过程中虽然细胞发生分裂,但大小几乎不发生变化,只是通过数量增加的方式让整个细胞岛结构逐渐变大。

最终结合材料情况,我们保留 Xiao 等人于 2004 年提出的,可能细胞多分体结构会长成细胞岛的结论,认为二分、四分、八分体等会随着生长逐渐形成细胞岛。比如在图 4-3-2、4-3-3、4-3-4 分别显示了在一块藻体碎片化石中存在的不同生长阶段的细胞岛结构。一些具有二、四或八个细胞组成的细胞团,亦即此前被认为的可能的“孢子”结构,在此我们称之为“细胞岛前体”(precursors of cell island)。这些细胞岛前体由形似孢子状,逐渐分裂,并挤占藻植体中原本属于无分化细胞的空间,扩大自己的体积。我们在图中可以看见,部分地方有很多这样的细胞岛前体,如果每一个前体最终都长成一个独立完整的细胞岛,显然在空间上是不允许的,彼此之间肯定没有那么多空隙。因此,关于生长模式,我们认为第一种可能是在这过程中原有的未分化细胞可能会采取程序性死亡等行为为其腾出生长空间(关于程序性死亡在瓮安生物群所在时期已有表达的论述详见第三节瓮安生物群中三维立体红藻化石的相关内容)。并且在认为,这些细胞岛前体都是由最初无分化细胞中的某些在分化相关的基因表达后开始分裂,并成为二分、四分、多分的细胞集合体,最终逐渐长大,形成外围一圈较小细胞的包绕,最后长成细胞岛。第二种可能是,无分化细胞中产生了部分细胞开始分裂,形成很多细胞岛前体,但在生长过程中部分细胞岛前体在还没长成细胞岛的过程中就开始发生程序性凋亡,最后只剩下一部分细胞岛前体长成完整的岛。无论是二者哪一种,这个过程都伴随着程序性死亡基因的表达。

最后,关于这些多分细胞集合体、细胞岛前体和细胞岛结构的作用,虽然新发现的化石表明我们在化石中见到的细胞岛及“孢子”结构,并非是不同的世代代表的不同类型的生殖细胞或生殖结构,但是我们认为应该保留其与生殖相关的作

用这一解释。我们认为，虽然这些多分体细胞通过分裂，形成一个细胞团，最终会通过整体释放的方式进行无性繁殖，并非是有性繁殖中受精发育成果孢子的模式。

这一假说的原因之一是在 Cunningham et al., 2016 中，曾报道过一例三维立体化石，内部含有许多球状的细胞团(图 4-3-6)，且还有一个细胞团在边缘凸出，球体的一大部分已经暴露出来，同样显示了清晰的外围一圈较小细胞包绕的情况(图 4-3-7)，该类团块被解释为可能的寄生或与生殖相关的结构<sup>[43]</sup>。

那么这些结构在现生中有可以类似做对比的吗？答案是有的，这一假说的原因之二是在现生的藻类中曾有报导过类似的单独释放的细胞团作为生殖的结构。如 Sherwood et al., 2000 中就介绍过 *Hildenbrandia angolensis* 的无性生殖<sup>[87]</sup>。如图 4-3-8，为该类红藻的无性繁殖结构的扫描电镜观察图片(图中 1)，释放出来单独保存的繁殖细胞团(图中 2)和重新开始生长的细胞团(图中 3)。这类结构在藻体上表面形成，最后整体脱离出去成为个体(图中 4-10)。

但这个对比也有与我们化石不一样的地方，最主要的是这个繁殖体没有周围包绕的一圈较小的细胞。其次，我们在化石切片中也暂时并未发现任何细胞岛长成独立个体的现象(但大量发现单独保存的细胞岛结构，见下文)，比如例如 4-3-8 中图 3 所示的生长出来的结构。但对于这一点，同样也有可能认为是保存时较难保存下这类纤细的丝状结构。

我们认为在这个对比中，并不存在细胞岛化石类群与红藻现生类群 *Hildenbrandia angolensis* 的直接对等，但其繁殖体的繁殖方式可以与细胞岛结构对比。因此我们认为，这类存在二分/四分/八分及多分细胞集合体、细胞岛前体以及细胞岛的藻类，没有红藻所典型的多相世代证据证明是属于冠群红藻，而将其位置放在某种多细胞藻类的干群之中。它不与现生任何多细胞藻类(红藻、绿藻、褐藻)有完全相似处，但它的细胞组成情况可以归入多细胞藻类，且由于其生殖方式可以与现生藻类无性生殖部分对比，我们认为这个是一种进行无性生殖的已灭绝的多细胞藻类。

最后，如果细胞岛作为生殖结构最终会整体释放，那么我们认为的细胞岛结构的特征应该在切片中能找到独立于藻体保存的证据。而事实上也确实找到了。这一假说的原因之三就是我们在切片中还大量发现了单独保存的细胞岛结构(图 4-3-9)。

但是，袁训来等人在 2002 年著作中认为单独保存的这类属于单独的藻体，如皱纹原叶藻 *Thallophyca corrugata*。但是基于发现的稳定保存包绕中间细胞的一圈较小细胞，我们更认为这类不是不同的藻类，而是细胞岛结构在藻植体外的释放。且从大小上看，成熟的细胞岛和单独保存的该类结构二者尺寸也可以对

比，并无很大的差距。

综上，对于这类同时含有细胞岛结构和二分、四分、八分细胞集合体结构的，曾被认为是冠群红藻的多细胞藻类，我们认为其属于某种多细胞藻类的干群，无充分证据证明可以放在现生分类体系下红、绿、褐藻的任何一类。细胞岛发育过程通过细胞增多而单个细胞体积不变的方式增长。细胞岛从小到大通过细胞分裂增长体积，但由于化石中该结构周围紧密包围细胞细胞，并没有更多的空间富于供其后续生长，我们推断，在增长过程中，细胞岛结构的细胞会侵占原有的无分化细胞所在的空间，因此可能存在无分化细胞的程序性死亡现象。这代表可能控制细胞程序性死亡的基因在此时，也即埃迪卡拉纪瓮安生物群所在年限、距今约6.09亿年前，就已经出现和表达。同时，我们不排除它可能是红藻、绿藻或褐藻已灭绝的多细胞类群，或者在极端条件下（比如各种特征性结构均因地质作用不被保存）是冠群红藻的可能性，但是考虑到褐藻起源较晚、这类组合特征又与现生绿藻差距较大，我们更倾向于认为是某种已灭绝的多细胞原始色素体藻类。未来更多的化石还有待发现和进一步研究。

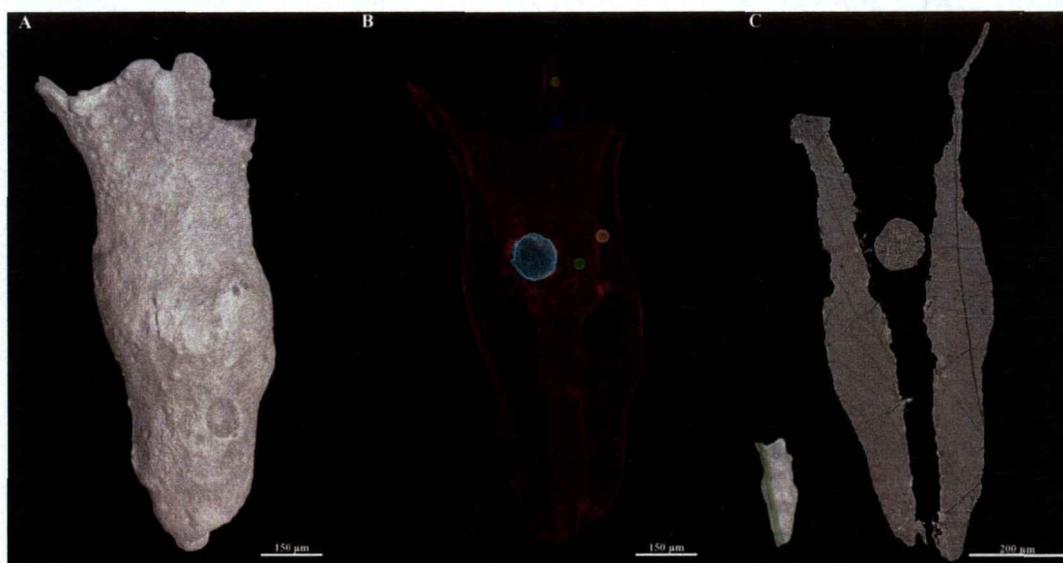


图 4-3-6 瓮安生物群中报导的化石  
Reported fossil from Weng'an biota

(化石来自 Cunningham et al., 2016 的标本 X5331, 本文重新对扫描数据进行三维渲染分割处理)

(Fossil cited from Cunningham et al., 2016, X5331. In this thesis the data have been re-processed)

A. X5331 化石整体外观。B. 透明渲染，图中彩色小球指示其中单独分割出来的部分细胞团。C. 化石截面，可以看见中间一个细胞团（对应 B 图中蓝色的细胞团）。

A. Overall appearance of Fossil X5331. B. Transparent rendering view. The colored balls in the figure indicate the separately segmented parts of cell groups. C. virtual slice of the fossil. A cell group can be seen in the middle (corresponding to the blue cell group in Figure B).

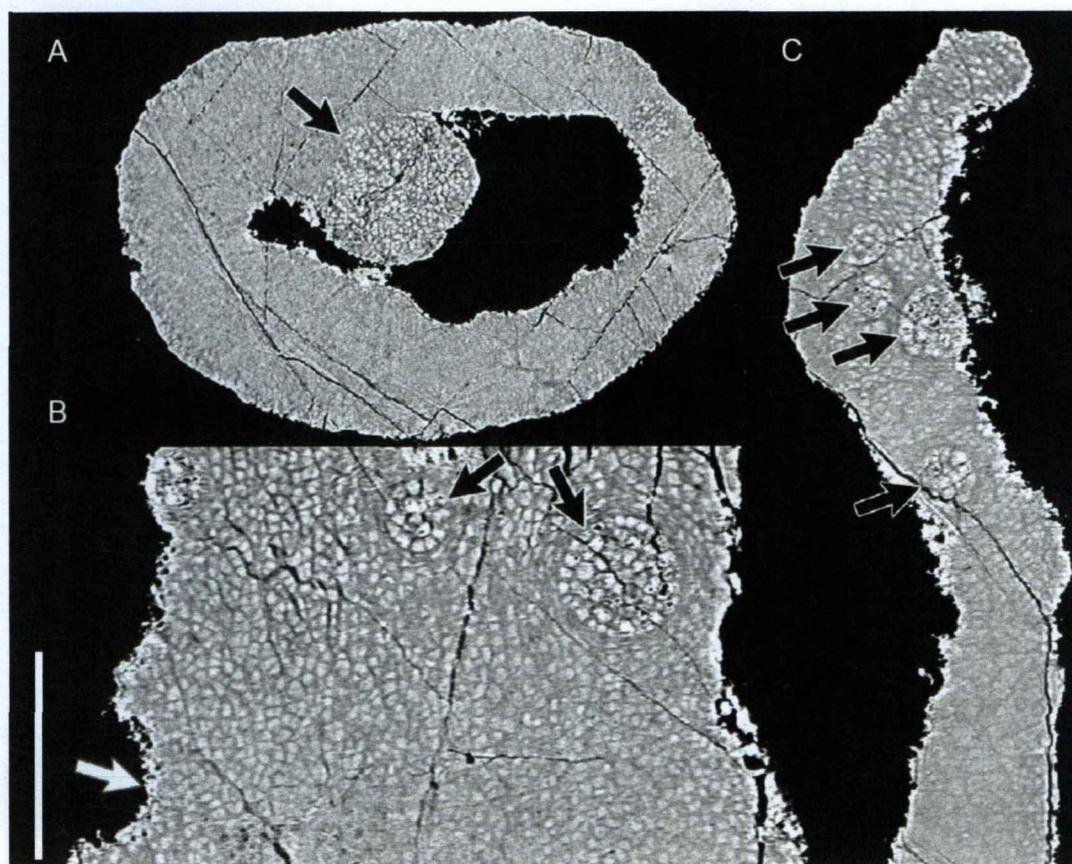


图 4-3-7 标本 X5331 细胞团局部放大

(引自 Cunningham et al., 2016)

Magnification of the cell groups in Fossil

(Cited from Cunningham et al., 2016)

图中箭头指示处显示细胞团结构，且周围基本都存在一圈定向排列包绕的细胞。比例尺：

(A) 110 $\mu$ m (B) 35 $\mu$ m (C) 75 $\mu$ m。

The arrows in the figure show the cell group structures in the fossil, and there are basically a circle of cells arranged around the group. Scale bar: (A) 110  $\mu$ m, (B) 35  $\mu$ m, (C) 75  $\mu$ m.

图 4-3-8 现生 *Hildenbrandia angolensis* 无性繁殖

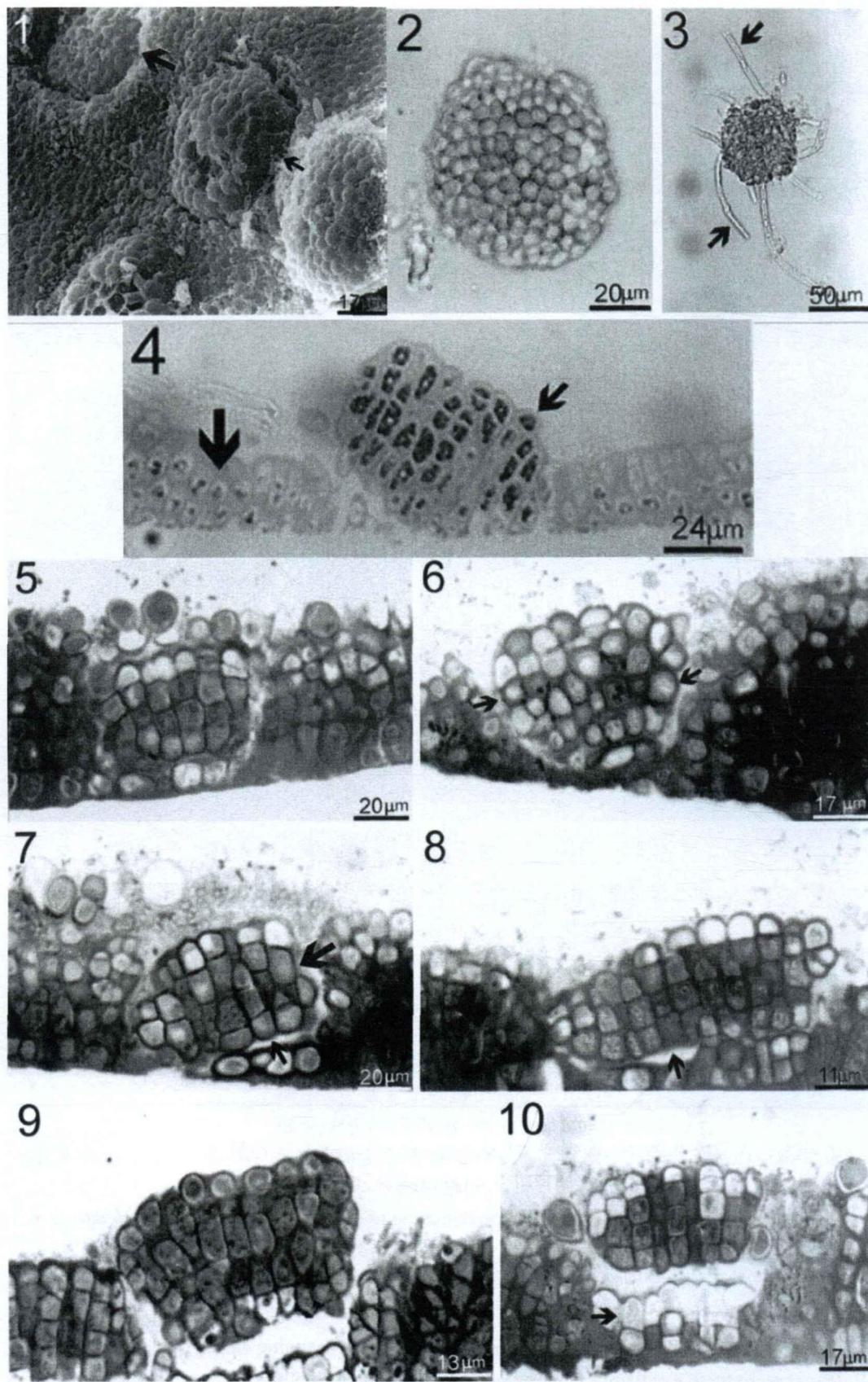
(图片引自 Sherwood et al., 2000)

Figure 4-3-8 Asexual reproductive structure of living *Hildenbrandia angolensis*

(Figures cited from Sherwood et al., 2000)

1. 扫描电镜下看无性繁殖结构。2. 被释放出的繁殖细胞团。3. 被释放的繁殖细胞团开始生长。4-10. 繁殖细胞团释放过程

1. The structure of asexual reproduction was observed under scanning electron microscope. 2. Released reproductive cell group. 3. The released reproductive cell group began to grow. 4-10. Release process of the asexual reproductive cell group.



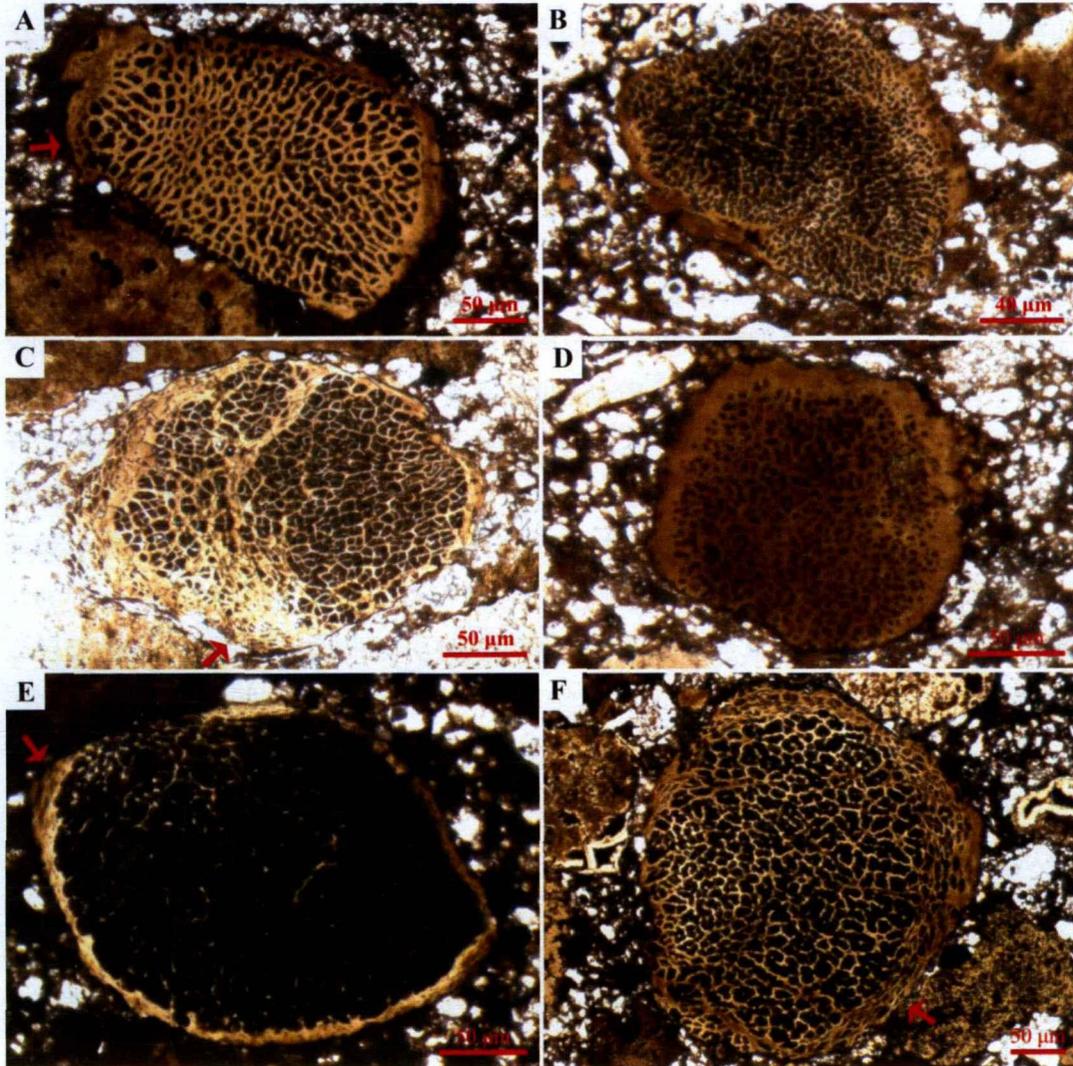


图 4-3-9 可能的单独保存的细胞岛结构

Possible isolated cell islands

图中红色箭头部分指示外沿一圈拉长变形的定向排列的支持细胞。标本号从 A-F 依次是 WS17-15-048-12, WS17-15-046-29, WS17-15-044-20, WS17-15-014-17, WS17-15-007-38, WS17-15-007-15。

The red arrows in the figures indicate a circle of elongated, oriented supportive cells. Specimen numbers from A-F respectively are WS17-15-048-12, WS17-15-046-29, WS17-15-044-20, WS17-15-014-17, WS17-15-007-38, WS17-15-007-15.

埋藏学方面, 细胞岛结构的区域保存得往往比其余未分化的细胞区域更好。如图 4-3-5-A 所示, 该图为 4-3-4-A 中的未分化细胞部分区域放大, 与细胞岛处保存的细胞状态比较, 此处腐烂程度更为严重, 细胞形态和结构更不清晰。又如 4-3-9 中的 B 与 D, 同样的, 尽管这些疑似细胞岛结构的岛内细胞保存精美, 但周围的支持细胞则显得形态结构不明显。这与前人发现的化石标本中总结出的规

律一致<sup>[85]</sup>。尽管其中的埋藏学解释目前仍未有明确的定论,但该现象是目前化石研究中较为普遍存在的,因此,可能与原生物体的属性有关。该现象可以为区分可能的皮质-髓质分化或生殖细胞-未分化细胞提供一些思考。

#### 4.4 瓮安生物群中新发现的三维立体红藻化石

具有显微、亚显微结构的特异埋藏三维立体多细胞藻类化石在前寒武纪极为罕见。从一个合适的早期特异埋藏化石库中寻得该类化石标本成为探索早期真核多细胞藻类起源的学者们的一个热切期盼。

作为一个理想的研究窗口,学者们在过往几十年间也未曾停下在瓮安生物群中寻找三维立体多细胞红藻化石的探索。然而,在过往研究当中,曾报道过的被认为是真核多细胞红藻的化石几乎全部来自于切片<sup>[30, 36, 37, 56, 61]</sup>,仅有极少量的三维立体形式保存的红藻化石<sup>[43]</sup>。切片中虽然保存了精美的结构信息,但因为几乎是二维信息,难以恢复成三维立体的原型,对于化石代表的原生物本身的样貌及三维结构难以推测;另一方面,虽然也有部分立体化石借助CT技术做过断层扫描及三维重构,与在切片中发现的结构进行对比,但因立体标本极少、切片所见信息单一,终究很难揭示所有细胞学证据。因而,更多的三维立体化石亟需被发现,使得研究人员可以综合理解切片中的化石和三维化石的关系。

在前文中,我们已经探讨过关于瓮安生物群中一类具有细胞分化的细胞岛结构及“四分/八分孢子”结构的藻植体并非是来自冠群红藻多相世代化石证据而是某种多细胞藻类的干群的问题。因此,瓮安生物群中前人基于细胞分化推断的冠群红藻证据就成为了存疑的证据。从分子钟及生物标志物(类固醇, Brocks et al., 2017)、化石证据(Butterfield et al., 1990, 2000 及 Bengtson et al., 2017)中我们推测,瓮安生物群中理论上应该存在更为确凿的红藻化石证据。因此,除了需要结合更多的技术,后续研究中继续海量观察来自切片的化石之外,我们仍需要结合三维立体化石证据

##### 4.4.1 化石描述

本研究采用酸处理对瓮安地区采集的岩块进行浸泡溶解、分选、挑样等步骤,在体式镜下挑选外观完整的标本,并对标本进行了扫描电镜初步筛选,最后将目标标本在高分辨率同步辐射三维无损成像技术的扫描与三维重建,获得了一颗完整的棒形化石。其扫描电镜下观察如图4-4-1所示。

扫描电镜下,化石整体呈棒状,具有一个较膨大的端口和一个较细收束且末端呈碟状的端口。化石整体表面有粗糙的凹坑和凸起,显示了可能存在的生物学结构。

因为化石外观保存完整,我们无法观察到内部是否具有结构,于是我们将标本进一步使用同步辐射三维无损成像技术进行三维重建。图4-4-2为同步辐射三维无损重建图。由图发现该化石一端为一个膨大区域,占整体长度约二分之一,最宽处宽度整体约为 $320\mu\text{m}$ ;中段从一端到另一端略微变细,但幅度不明显;较细的一侧最细处约 $160\mu\text{m}$ ,末端为一个碟状端。化石表面有坑洼,但这些凹坑和凸起并没有明显的特殊分布,而是在整个表面上均有存在。

由同步辐射成像数据中我们发现化石内部存在不同类型的细胞结构分区,于是我们对同步辐射三维无损数据进行分割处理,发现化石内部存在三种不同的结构类型。根据分层重构及后期渲染,可以获得图4-4-3-A中的三个细胞层:外层细胞层(紫色区域)、中间细胞层(蓝色区域)、内层中柱层(绿色区域)。

其中,外层细胞层以相对均匀的厚度覆盖整个棒状多细胞藻类的外层,沿着顶部向底部有渐变变薄的趋势,厚度从顶部膨大区的最厚处约 $100\mu\text{m}$ 至接近固着器的上方处变为不到 $10\mu\text{m}$ 。中间层细胞为套筒状,上方在膨大区域的中部逐渐过渡式尖灭,没有明显边界,下部延伸至固着器(图4-4-3-J)。内层中柱层为普遍缺乏细胞结构的磷酸盐化填充区域,仅在膨大区开始部位向上至逐渐尖灭段存在少量细胞结构,少量分布在中柱的最外圈;中柱整体从底部固着器向上延展至膨大区域中上部,逐渐过渡式尖灭,同样没有明显边界。图B和C显示了沿中轴对化石的两个互相垂直一百八十度的切面显示的图像,可见剖面方向上明显的三层细胞分层,与A图可一一对应。

各层细胞层显微结构之间具有明显差异。外层细胞层细胞为近圆形的细胞颗粒,但细胞外形并不那么圆润,而是带有稍微的圆棱角。细胞大小相对均匀,含有大量的四个细胞集合体紧密结合形成的细胞团,该类细胞团与其余细胞团或细胞之间有明显的分隔,独立存在。图D、E、I为外层细胞层的局部放大,其中在图D、E中可以看见该类由四个细胞组成的细胞团,其形态结构稳定,在三维重建数据中可以看见并非单一截面上造成的成像,而是真实的四个细胞组成的集合体,且数量极多,分布在外层细胞层的外表面。

中间细胞层细胞呈网状,沿着立体化石的长轴方向形成束状,平行排列。图F则显示了中间细胞层的局部放大图像,可以看见这类细胞的纵向平行分布,其排列定向性明显。

内层中柱层总体上并无明显细胞结构,为较为均一的磷酸盐化填充区域。但总体形态稳定为柱状,且在接近膨大端的位置及以上有部分细胞结构的残余(图

4-4-3-G, 附件图 2)。残余的细胞为近椭圆、近圆形, 与相邻的中间细胞层的细胞形态有明显差异。图 G、H 分别为中柱层上部细胞残余区域及下部完全充填区域的局部放大。

图 4-4-4 同 4-4-3 中 D 与 E 相似, 展示了更多的细胞四分集合体结构。它们稳定分布在化石最外层的细胞层中, 且数量众多。4-4-5 则同 4-4-3 中 G 一样, 展示了中间细胞层上部保存了残余的细胞结构。而 4-4-6 则与 4-4-3 中 F 与 H 一样, 分别展示了放大的细胞的喷泉状结构及中轴的中下部分完全被充填的边界清晰规则的结构。

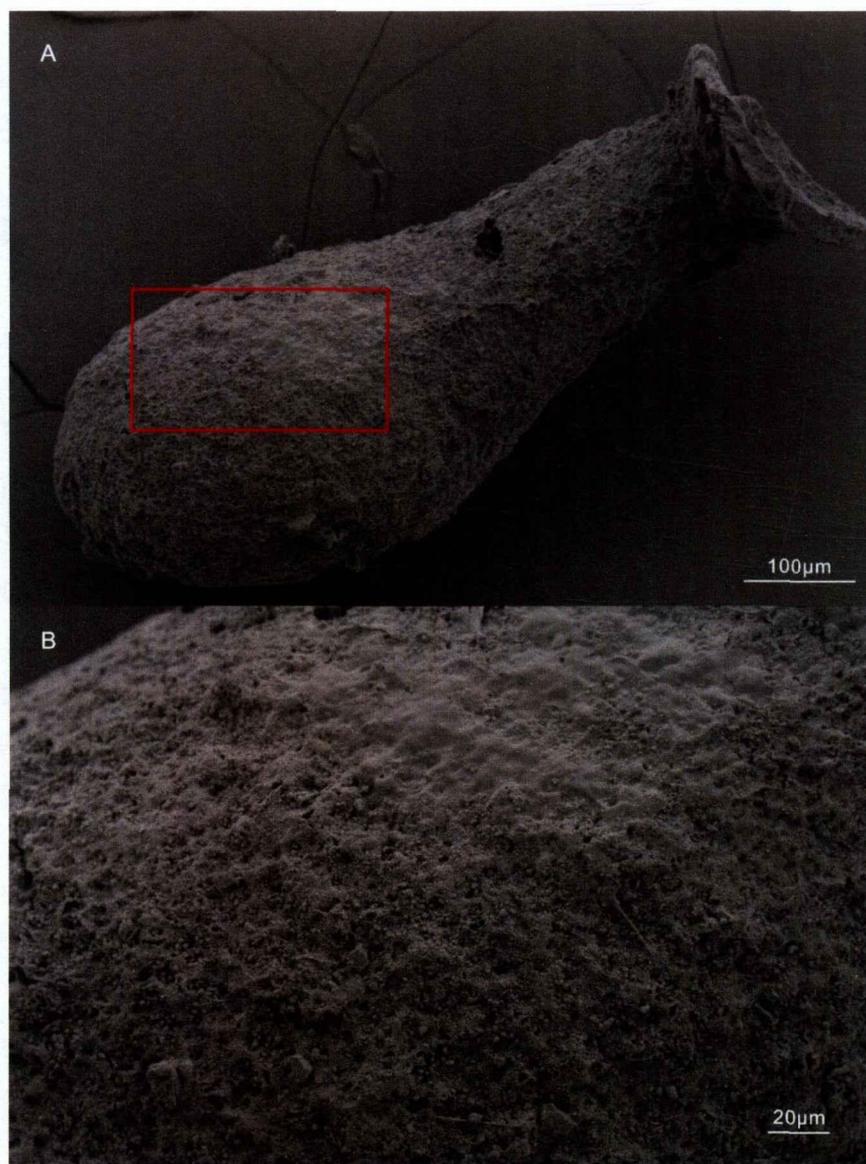


图 4-4-1 三维立体棒状红藻化石扫描电镜图

Scanning electron microscopy (SEM) figure of three-dimensional rod-like red algae fossil

A. 扫描电镜下三维立体棒状红藻化石图像。可见其具有一个膨大端，且另一端存在碟形固着器结构。B. A 图内红色方框部位的局部放大，可见化石表面上凹凸不平，有许多凹坑和凸起的小颗粒。

A. SEM figure of three-dimensional rod-like red algae fossil with an inflated end and a disc-like holdfast structure. B. A local magnification of the red square, showing the pits and dots on the rough fossil surface.

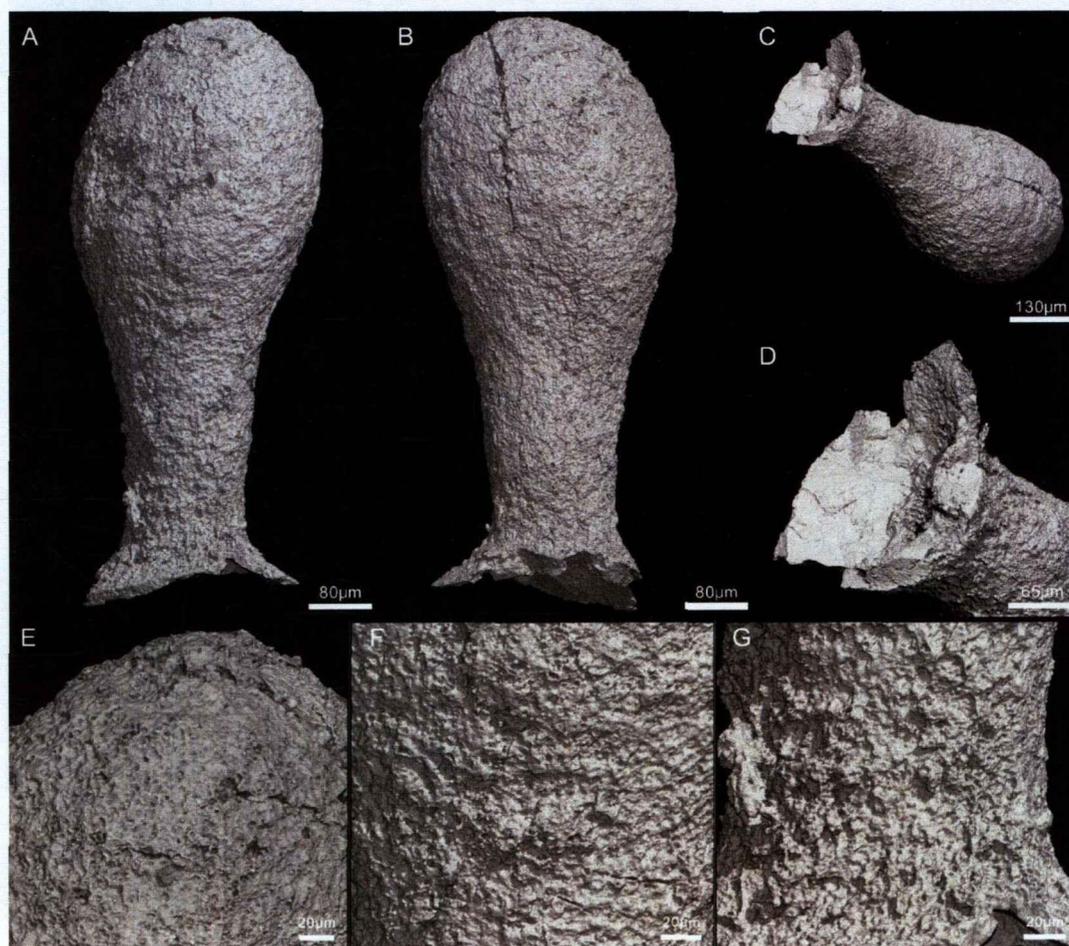


图 4-4-2 三维立体棒状红藻化石同步辐射三维重建图

**Three-dimensional reconstruction of rod-like red algae fossils by phase contrast-based synchrotron X-ray micro-tomography**

A-B. 不同方向（翻转一百八十度）化石图像。化石整体呈棒状，上有一膨大端，中段自上而下略有变细，尾端具有固着器结构。C-D. 尾端固着器及固着器特写图。E. 化石膨大端表面。F. 化石中段部分表面。G. 化石尾端表面。由图 E-G 可见化石整体表面均有坑洼，有明显的凹陷和凸起分布。

A-B. Different directions of the fossil ( $180^\circ$  rotation). C-D. The holdfast on the bottom side and the close-up of it. E. The surface on the inflated top side. F. The surface of the middle area of the fossil. G. The surface on the bottom of the fossil. Figure E-G show that the cratered surface of the fossil is full of pits and dots.

在瓮安生物群的过往报导中，不乏有多细胞结构出现细胞分化的例子的。往往因为无法直接恢复三维形态，人们很难得知原生物体究竟是由多少种细胞的分化组成、互相之间是何种形态分布，也无法得知这样的分化实际上出现在瓮安生物群的多少类群之中。本次发现的三维立体红藻，在进行三维重建后可以虚拟切片，恰好可以为化石中特定结构的二维三维对比进行辅证。



图 4-4-3 三维立体棒状红藻化石内部结构同步辐射虚拟切片

#### Virtual slices of the internal structure of the rod-like red algae fossil

A. 数据分割后的三个细胞层分布透视图。B-C. 两个互相垂直一百八十度的切面。D. 图 C 所示红色方框位置放大，显示外层细胞层表面的四分孢子体结构。E. 外层细胞层表面四分孢子体结构（所取自得虚拟切面在附录图 1-A 中显示，附录图 1-B 为附录图 1-A 的放大及本图片中的 4-4-3-E）。F. 中间细胞层，显示细胞的定向排列。G. 图 C 所示黄色方框位置放大，显示中轴顶端处细胞分布。中轴顶部为圆锥状，保留了部分尚未凋亡的细胞，向外逐渐过渡到外一层的中间细胞层，没有明显隔离界限。H. 图 C 所示蓝色方框位置放大，显示中轴下部完全被次生充填，没有保留任何细胞结构。I. 膨大端最外层细胞截面。J. 底部固着器附近切面。可见外层细胞层在底部无分布，但中间细胞层的细胞仍贯穿到底部固着器处。

A. Perspective of the distribution of three cell layers after data segmentation. B-C. Two sections that are 180 degrees perpendicular to each other. D. The red square shown in figure C is enlarged to show the structure of the tetra-spores on the surface of the outer cell layer. E. The structure of the tetra-spores on the surface of the outer cell layer (the obtained virtual section is shown in Appendix figure 1-A, Appendix figure 1-B is figure 4-4-3-E and is a magnification of Appendix figure 1-A). F. The middle cell layer, showing the parallel arranged cells. G. The yellow square shown in figure C is enlarged to show the cell distribution at the top of the central axis. The top of the central axis is

conical, and some non-apoptotic cells are retained, which gradually transition outward to the intermediate cell layer of the outer layer, without obvious isolation boundaries. H. Magnification of the blue square shown in figure C shows that the lower part of the central axis is completely secondary filled without retaining any cellular structure. I. Expansion of the outermost cell section. J. Section near the bottom holdfast. The outer cell layer is not distributed at the bottom, but the cells in the intermediate cell layer still run through the bottom holdfast.

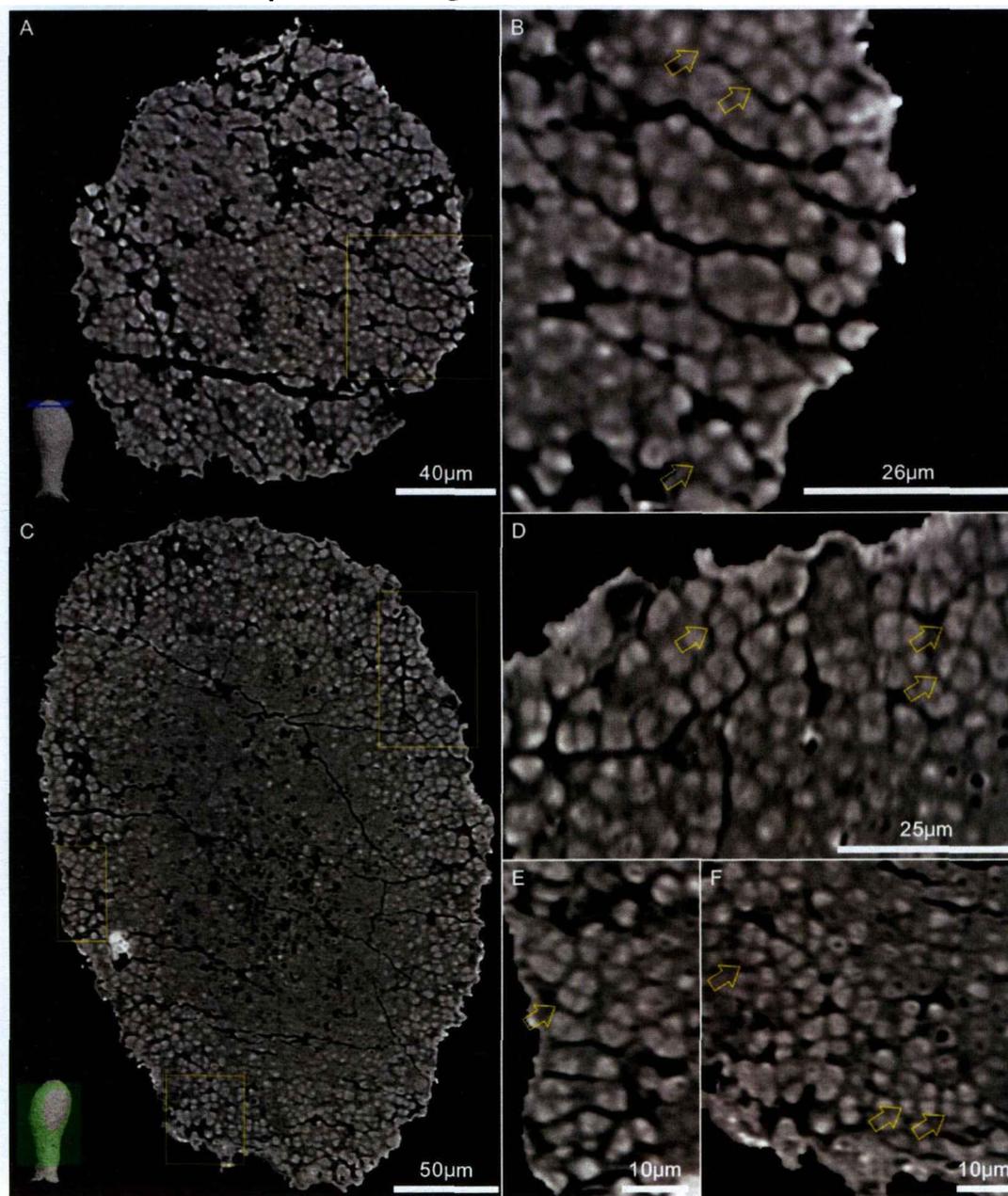


图 4-4-4 立体红藻化石表面的四分孢子体

**Tetra-spores on the surface of the red algae fossil**

图 B 为图 A 黄色方框内局部放大, 图 D-F 为图 C 对应黄色方框内局部放大。黄色箭头为部分四分孢子结构。该结构为四个细胞紧密形成细胞团, 中间仅有非常微小的间隙, 而整个细胞团与周围别的细胞之间间隙明显更大, 四个细胞组成为独立的一个细胞团体。整个四分孢子体的大小在宽度上大约为 5-8 $\mu\text{m}$ , 其中每个细胞直径约为 2-3 $\mu\text{m}$ 。

Figure B shows the partial magnification of the yellow square in the figure A, and figure D-f show the partial magnification of the yellow square in the figure C. The yellow arrows note the tetra-spores on the surface of the rod-like red algae fossil. The tetra-spore structure consists of four cells closely forming a cell group with only a very narrow gap among them, while the distance between the whole cell group and other surrounding cells is significantly larger than the gap inside group. The four-cell group form independently. The size of the entire tetra-spore is approximately 5-8  $\mu\text{m}$  in width, with each cell approximately 2-3  $\mu\text{m}$  in diameter.

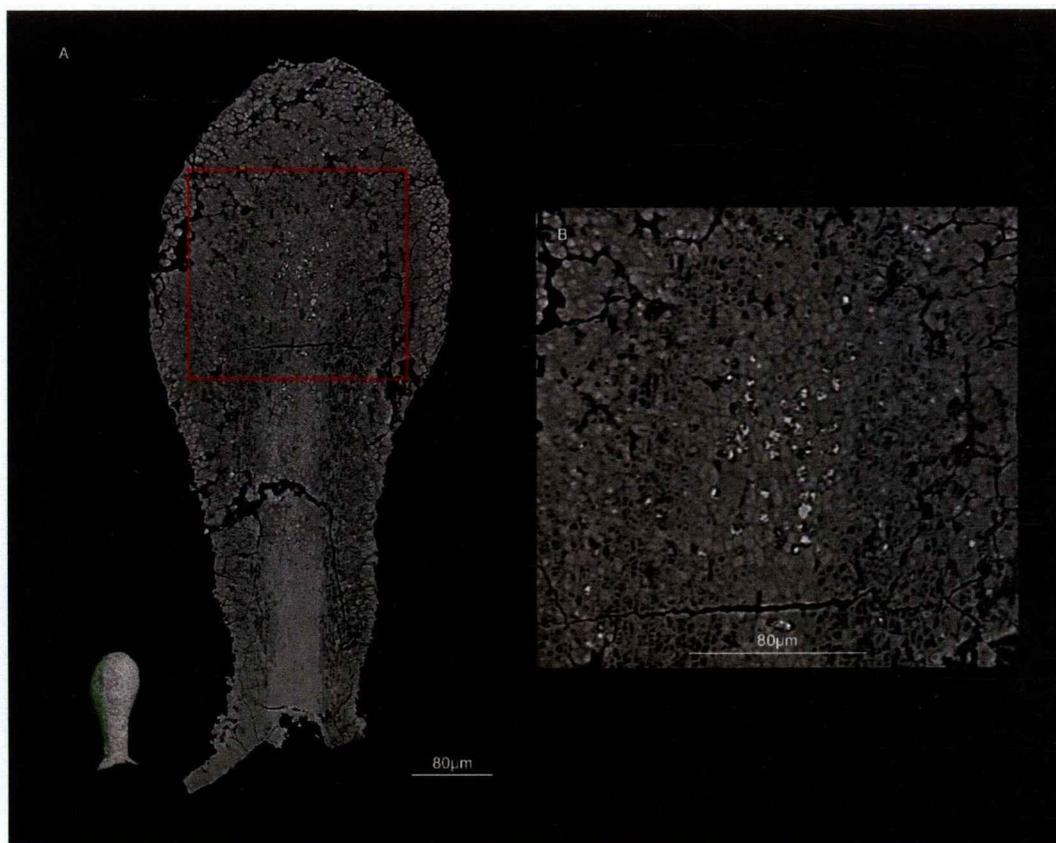


图 4-4-5 三维立体棒状红藻化石纵切面及其中轴顶端的同步辐射虚拟切片

**Longitudinal section and partial magnification of the top of the central axis in the rod-like red algae fossil**

红色方框内显示中轴层在膨大区域内的细胞残余。中轴层整体缺乏细胞，下部几乎完全没有细胞结构保存，但在进入膨大区域附近及膨大区域内部的则含有部分残余的细胞结构。

The red square shows the remains of cells of the axial in the expanded region. As a whole, the axial is devoid of cells, and there is almost no obvious cellular structure in the lower part of it, but there is some residual cellular structure near and inside the expanded area of the rod-like fossil.

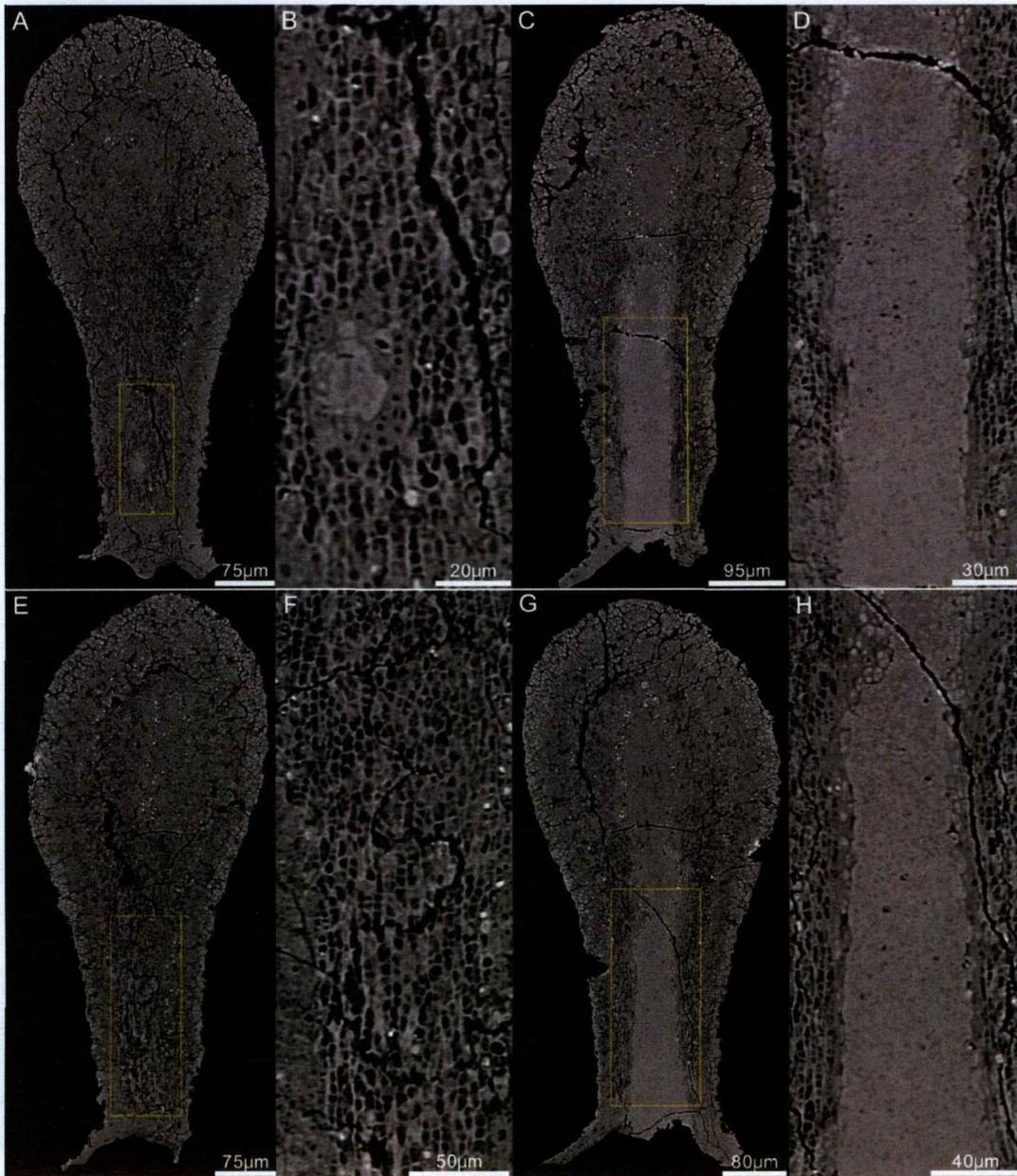


图 4-4-6 立体红藻化石细胞中间层定向排列和被充填的中柱部分

**The parallel arranged cells in the intermediate layer of the fossil and the phosphatized filled middle column**

图 A-B 和图 E-F 分别显示了该棒状三维立体红藻化石的中间层定向排列特征及其对应局部放大。图 C-D 和图 G-H 则分别显示了被磷酸盐均匀充填、仅残余少量细胞的中柱层部分的特征及其局部放大。

Figure A-B and E-F show separately the features and their partial magnification of the parallel arranged middle cell layer in this rod-like red algae fossil. Figure C-D and G-H show separately the features and their partial magnification of the phosphatized filled axis and remains of the cells.

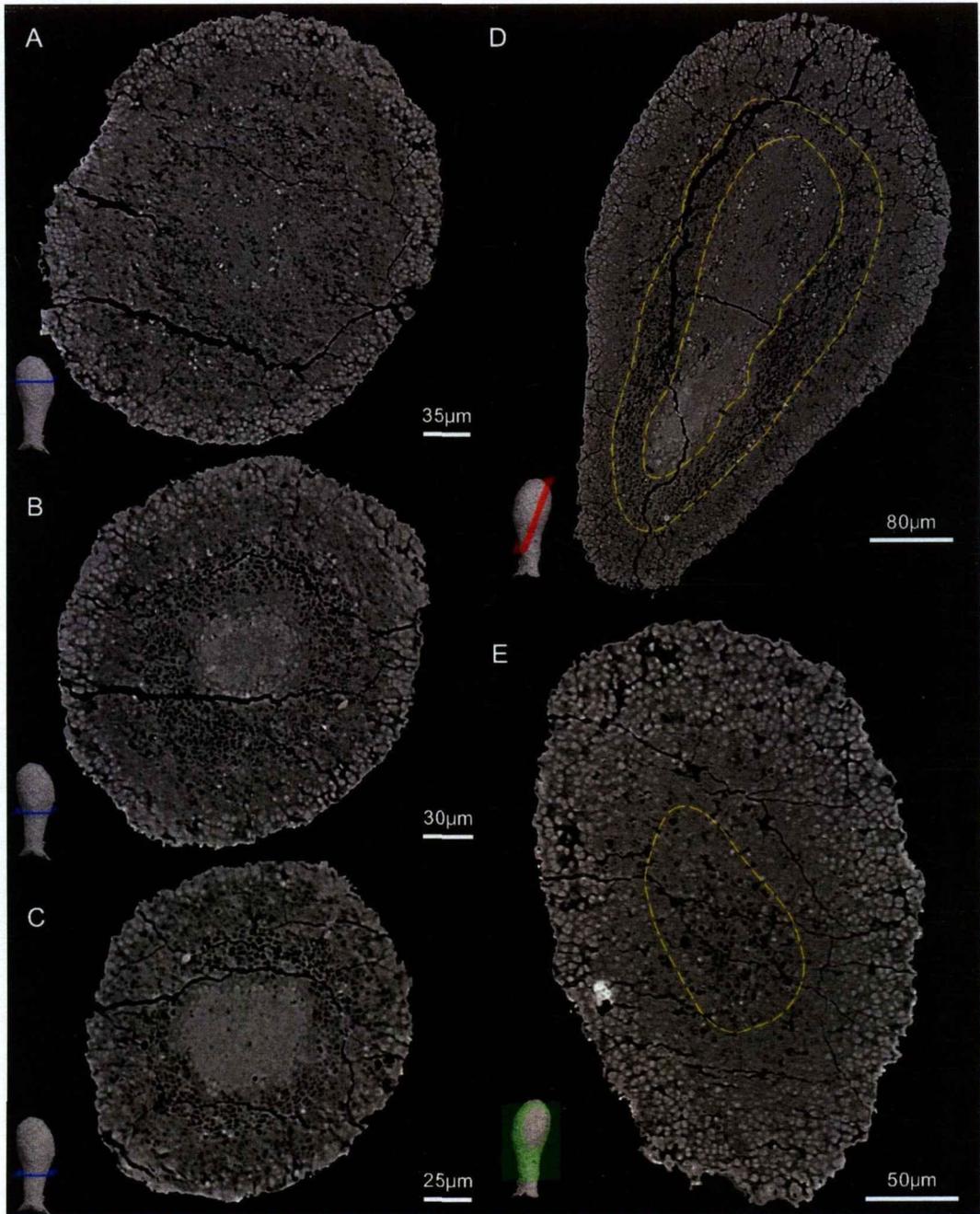


图 4-4-7 三维立体棒状红藻化石不同切面的同步辐射虚拟切片

**Virtual slices of the different directions of the rod-like red algae fossil**

在不同的角度和位置上进行虚拟切割，可以使得得到的截面分别展现存在仅有一种、两种或三种细胞都存在。A-C. 同一水平面在不同纵深上的截面，具体位置如对应左下角示意图中蓝色截板所在位置。其中 A 仍未截到中柱部分，可见单一细胞形态类型；B 和 C 截面可见明显的三层细胞层，且凋亡的中轴在下方截面的截面积比上方的越粗。D. 随机斜切面，三种细胞环绕分布。E. 纵切面，只展示了两细胞分布。

Virtual cutting at different angles and positions allows the resulting cross section to show the existence of only one, two or three types of cells, respectively. A-C. Cross sections of the same horizontal plane at different depth. The cutting depths correspond to the position of the blue panel

in the schematic diagram of the left corner. In figure A, the fossil has not been cut to the middle column, showing the cross section a single cell type; figure B and C shows three distinct layers of cells and the central column of the fossil in which apoptosis occurs is bigger in the end side (figure C) than the upper side (figure B). D. A random oblique section, with three kinds of cells distributed around. E. A vertical section, only two cell distributions are shown.



图 4-4-8 立体化石沿长轴平行方向连续切面

**The successive virtual sections of the rod-like fossil in the direction parallel to the long axis**  
虚拟切片分别切到三种 (A)、两种 (B) 和只有一种细胞 (C) 的截面。虽然为一个有多种细胞分化的整体, 但如果以岩石切片的形式保存并发现, 则该化石可能出现仅呈现部分细胞类型的特征, 为判断其原生物体的形态结构及细胞组成等造成了解读的误差。

The virtual sections above contain three kinds (A), two kinds (B) and single kind (C) of different cells. Although it is a whole fossil with a variety of cell differentiation, if it is preserved and found in the form of rock sections, the fossil may only show the characteristics of some cell types, which leads to mis-interpretation in understanding the morphological structures and cell composition of the original organism.

如图 4-4-7 所示, 为该化石的虚拟切片。图中 A、B、C 分别为化石从膨大端依次向下进行垂直方向的虚拟切片得到的图像, 由 A 图可以看见在膨大端靠近顶部位置, 化石仍是只有两种细胞结构的分层。B 图切至化石中部, 可以清晰看见从中心处向外依次规则展布的三层形态结构不一样的分层, 最中间缺乏细胞结构, 向外过渡到一层呈网状结构的疏松细胞层, 最外则是圆形或近圆形的细胞排

布。C图又在B所处中部的位再向下，能看见稳定的三层分区现象依然存在，但每一层的厚度都发生了一些相应变化，显示了各层结构厚度在不同区域的差异性。且在D中显示的斜向切片和E中显示的纵向切片中，也能看见细胞分层现象（如图中黄色虚线标注所示）。

4-4-8展示了立体化石沿着长轴方向的平行连续切面。可以看见在不同切面处显露出不同层的细胞保存情况，与4-4-7可以结合观察。

#### 4.4.2 讨论

在瓮安生物群化石中观察到的四个细胞的集合体现象并非首次。袁训来等人在2002年专著中在化石切片中曾报道过可能有二分、四分、八分体结构，并详细讨论了这类结构。在专著中，认为只有产生在红藻原植体中丝状体末端的四分体或由柄细胞支撑的四分体才是红藻孢子的证据。但是这一情况全部的材料皆基于切片，存在部分结构无法观察到的现象，例如丝状体、柄细胞等。

在报导中，发现了可能的被解释为四分孢子体。但是我们前文报道的在同一块藻植体内观察到的四分、八分直到更大的细胞岛结构，与孢子体、果孢子体不能在同一藻体内的生物学特点相违背，所以曾经发现的“孢子”的大部分很有可能并非是真的孢子。但在三维立体化石中发现四分体结构还属首次。且因为切片保存的各种困境，因此在三维立体化石中发现的、各个角度和截面中都有稳定四分体结构、分布在藻体上表面的结构可以与四分孢子作比较，是更为确凿的证据。

四分孢子体结构是藻类中一种生殖结构，在红藻和褐藻中有发现，但在红藻中最为常见。由于藻的叶绿体类型为双层内质网膜双层被膜类型，在演化生物学上起源的位置较晚，且分子钟时间认为褐藻起源于1.5亿年<sup>[88]</sup>至2亿年前<sup>[89]</sup>，相比红藻和绿藻的分子钟时间晚了许多<sup>[7]</sup>，结合瓮安生物群的测年时间，我们认为此处发现的四分孢子体结构属于原生物体是可能的红藻冠群的证据。

除此之外，中间层细胞的有序排列可以与前人报道的可能的红藻化石中出现的喷泉结构（“cell fountain”）<sup>[9]</sup>作对比，也被解释为拟薄壁组织（Pseudoparenchyma）。该类细胞成束平行的排列，可能在原生物体中作为支持结构存在，在袁训来等（2002）中，也被认为与营养组织有关。无论是支撑或是营养，这些解释与这类组织在该棒状藻体中间层位稳定分布的位置相洽。

对于内部中柱层大部分区域普遍缺乏细胞结构保存、仅在上部有部分细胞残余的现象，可能的情况有两种：第一，为埋藏导致的保存差异。由于生物体在被磷酸盐化前中柱层的下部细胞就已完全腐烂，只剩余上部部分细胞没来得及腐烂而保存下来。第二，为生物体在生长过程中具有细胞程序性死亡（programmed cell

death, apoptosis) 现象。

细胞程序性死亡是一种常见的生存策略。由于基因控制,生物体会在生长发育的特定时期部分细胞自动死亡,为了更好地支持生物体的生存生长需要。这是一种生物体积极的自我调节行为,与细胞不健康不正常的凋亡及受到外界影响的破碎等均不一样。在这里,我们倾向于将中柱层中没有保存细胞结构的现象解释为原生物体发生过细胞程序性死亡,导致形成了一个细胞随着生长过程由下至上逐渐变空的中柱结构,所以下部缺乏细胞而上部仍有部分细胞残余。倾向于该解释的理由主要有以下几点:首先,由化石中保存的中柱结构可以发现,其形态十分规则,呈柱状,整体尤其下部边界清晰,仅上部有边界不太清晰地方,但与细胞残余的情况吻合,更像是生物体有规律的细胞程序性死亡,而非因为生物体病变导致的不受基因调控的细胞意外死亡现象。其次,生物体随着生长,体积会越来越变大,而体积与表面积之比也会越来越大。光合生物主要靠表面光合作用,如果体表面积比过大,能量则无法供给满足。此时可以通过细胞的程序性死亡让部分不影响生物体生存且消耗能量的细胞死亡,可以节省下能量供给生物体生长需要。因此,我们倾向于认为中柱层缺乏细胞结构的保存是细胞程序性死亡的结果,而非因为埋藏原因导致。

原生物体形态可以根据三维立体棒状红藻化石进行推断复原,如图 4-4-9 所示。该化石具有规则的外形,其具有一个膨大端和一个碟状固着器,内部显微结构具有明显三层分层和定向性,综合以上特征可以推断该藻类适应于使用碟状的固着器在高能动荡的水体中底栖直立固着;在表面上可以散发出孢子进行生殖活动;膨大端可以为其光合作用增加更多的表面积。

该发现为瓮安生物群中首次发现具有完整的显微结构的、有明显生殖细胞和多种细胞分化、具有固着器的红藻化石。结合其特征及与现生红藻的相似性,我们倾向于将其归入红藻的冠群中。同时,这也是在立体红藻中首次发现细胞程序性死亡的证据,表明这一形状表达所对应的基因,即会产生细胞程序性死亡的基因在最晚 6.09 亿年前就已出现。



图 4-4-9 三维立体棒状红藻复原图

#### Three-dimensional reconstruction of the rod-like red algae fossil

原藻体属于棒状的孢子体世代个体，通过碟状固着器底栖固着在温暖的浅海，繁殖时期表面释放四分孢子进行繁殖。

The fossil alga is a rod-like sporophytic generation individual, which is anchored in the warm shallow sea by the disclike holdfast, and release tetraspores on the surface for reproduction during the breeding period.

该发现除了找到确凿的瓮安生物群中冠群红藻证据之外，还对瓮安生物群中此前基于切片中大量发现的多细胞藻类化石而定的不同属种的多样性的真实性提供一些辩证的思考。由前文可知，本次发现的化石有三种细胞分化，分别成层，但在图 4-4-7 和 4-4-8 中的切片中可以根据虚拟切片所切位置切得分别只有一种、两种及三种细胞类型皆有的截面。与此同时，在每个截面均有稳定外边缘的基础上，根据所切位置、切向不同，还可以形成外形为圆形、椭圆、拍子状等各类边界稳定、形态各异的多细胞结构。且如果同一类化石的保存并非如此完好，很可能因为不同程度的破碎而造成更多变的切片特征。如果没有三维立体形态的与之对应种类的化石的发现，以上很可能会因为形态各异而被定为多种不同的化石，造成多解性。因此此前报导的各类属种不同的化石中，是否有部分为同一藻植物的不同部分的截面仍旧存在争议，这也可能导致在基于切片观察的研究中很可能得出比实际种类更多的分类的情况。在后续的研究中，我们应当注意这一情况，

谨慎对待在切片中标定属种，更多的将目光放在在切片中寻找特殊标志结构中，并且需要加大切片观察数量和三维立体化石的挑选，将二者更好地结合理解。

## 第5章 结论与展望

瓮安生物群作为一个磷酸盐化特异埋藏化石库，能够保存精美的细胞-亚细胞结构，是目前为止研究早期藻类起源与演化的一个绝佳窗口。本文第一部分是通过对瓮安生物群中藻类化石为材料，初步探讨了针对磷酸盐化微体化石的多技术手段联用平台的搭建组成、各部分技术原理以及展示相关实例，为微体化石的检测提供一套系统的思路。

多技术手段联用是今后化石检测的必然趋势，单一技术手段挖掘的信息有限，因此在后续研究中，我们需要有机综合更多的设备技术，并且研究出针对不同化石类型的特殊经验，打通更全面的探测维度和尺度。本文由于种种限制，尚未进行更多针对结构的埋藏学相关的研究，关于这部分内容可以引入更多的拉曼测试数据，或者后续引入其它手段（如超薄切片等，对部分结构进行精度更高的研究）进行分析。

本文第二部分主要针对可能的红藻化石进行探讨。对于切片中保存的真核多细胞结构，通过观察发现细胞岛结构及原先报道的“孢子”结构并非不同藻类世代的不同生殖结构，而是同一世代的生殖结构的不同生长阶段，最早期的时候是二分或四分体，随后逐渐长成多分体，最后长成更多细胞集合体的岛状结构。而其内部细胞大小可以比未分化的细胞大，也可以差不多大。通过观察发现，细胞岛发育过程通过细胞增多而单个细胞体积不变的方式增长，推测增长过程中会侵占原有的无分化细胞所在的空间，因此可能存在无分化细胞的程序性死亡现象。对在切片化石中找到的大量可能的单独保存的细胞岛结构则认为该类结构可能可以通过释放的方式进行生殖。发现的细胞岛结构，均存在岛内细胞比其余细胞保存成更好的现象。

关于细胞岛结构的后续研究，我们需要找到更多的证据区分细胞岛和单独保存的皮层髓部分化标本，以及厘清细胞岛是否可以以一个细胞团块脱离本体的方式繁殖。

第二部分还针对首次发现的三维立体保存的红藻化石进行报道。该化石具有明显的细胞分化现象，不同类型的细胞在立体结构中保存为三层，最外层有四分孢子结构，推测为孢子体世代，以释放四分孢子的方式进行繁殖；中间层为定向排列的具有喷泉结构的细胞，推测为假薄壁组织，为藻体提供营养和支撑作用；中轴部分上方保存细胞，而其余部分无细胞结构保存，推测藻体为了减少不可光合作用的体积而发生了中轴部分的细胞程序性死亡。化石还具有一个碟状固着器，推测该藻体是底栖固着生存的。

关于三维立体红藻化石的后续研究，第一，需要找到更多的立体标本，将二维三维结构更好对应，识别切片中看见的结构究竟在生物体中属于哪一部分，可能发挥何种作用。第二，更多三维立体类型的发现才能更有力证明藻类化石真实的分异度，仅凭切片中的差异可能较难做到认为分异度很大，而很可能将同一生物体不同保存部分错误解读为不同的生物体，造成种类划分中的误判。

## 参考文献

- [1] Knoll, A.H. (2017). Food for early animal evolution[J]. *Nature* 548, 528-530.
- [2] 李, R.E. (2012). 藻类学 (原书第四版) [M], (北京: 科学出版社).
- [3] Cock, J.M., Sterck, L., Rouzé, P., *et al.* (2010). The Ectocarpus genome and the independent evolution of multicellularity in brown algae[J]. *Nature* 465, 617-621.
- [4] Gentil, J., Hempel, F., Moog, D., *et al.* (2017). Review: origin of complex algae by secondary endosymbiosis: a journey through time[J]. *Protoplasma* 254, 1835-1843.
- [5] Knoll, A.H. (2011). The Multiple Origins of Complex Multicellularity[J]. *Annual Review of Earth and Planetary Sciences* 39, 217-239.
- [6] Parfrey, L.W., and Lahr, D.J.G. (2013). Multicellularity arose several times in the evolution of eukaryotes[J]. *BioEssays* 35, 339-347.
- [7] Sanchez-Baracaldo, P., Raven, J.A., Pisani, D., *et al.* (2017). Early photosynthetic eukaryotes inhabited low-salinity habitats[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* 114, E7737-E7745.
- [8] Brocks, J.J., Jarrett, A.J.M., Sirantoine, E., *et al.* (2017). The rise of algae in Cryogenian oceans and the emergence of animals[J]. *Nature* 548, 578-581.
- [9] Bengtson, S., Sallstedt, T., Belivanova, V., *et al.* (2017). Three-dimensional preservation of cellular and subcellular structures suggests 1.6 billion-year-old crown-group red algae[J]. *PLoS Biol* 15, e2000735.
- [10] Zhu, S.X., Zhu, M.Y., Knoll, A.H., *et al.* (2016). Decimetre-scale multicellular eukaryotes from the 1.56-billion-year-old Gaoyuzhuang Formation in North China[J]. *Nat Commun* 7, 11500.
- [11] Butterfield, N.J., Knoll, A.H., and Swett, K. (1994). Paleobiology of the Neoproterozoic Svanbergfjellet Formation, Spitsbergen[J]. *Lethaia* 27, 76-76.
- [12] Xiao, S.H., Yuan, X.L., Steiner, M., *et al.* (2002). Macroscopic carbonaceous compressions in a terminal Proterozoic shale: A systematic reassessment of the Miaohu biota, south China[J]. *Journal of Paleontology* 76, 347-376.
- [13] 袁训来, 万斌, 关成国, *et al.* (2016). 蓝田生物群[M], (上海: 上海科学技术出版社).
- [14] Gibson, T.M., Shih, P.M., Cumming, V.M., *et al.* (2017). Precise age of Bangiomorpha pubescens dates the origin of eukaryotic photosynthesis[J]. *Geology* 46, 135-138.
- [15] Butterfield, N.J. (2000). Bangiomorpha pubescens n. gen., n. sp.: implications for the evolution of sex, multicellularity, and the Mesoproterozoic/Neoproterozoic radiation of eukaryotes[J]. *Paleobiology* 26, 386-404.
- [16] Butterfield, N., Knoll, A., and Swett, K. (1990). A bangiophyte red alga from the Proterozoic of arctic Canada[J]. *Science* 250, 104-107.
- [17] Tang, Q., Pang, K., Yuan, X.L., *et al.* (2020). A one-billion-year-old multicellular chlorophyte[J]. *Nature Ecology & Evolution*.
- [18] Zhou, C.M., Li, X.H., Xiao, S.H., *et al.* (2017). A new SIMS zircon U-Pb date from the Ediacaran Doushantuo Formation: age constraint on the Weng'an biota[J]. *Geol Mag* 154, 1193-1201.
- [19] Chen, J.Y., Bottjer, D.J., Oliveri, P., *et al.* (2004). Small bilaterian fossils from 40 to 55 million years before the cambrian[J]. *Science* 305, 218-222.
- [20] Yin, Z.J., Zhu, M.Y., Davidson, E.H., *et al.* (2015). Sponge grade body fossil with cellular

- resolution dating 60 Myr before the Cambrian[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* *112*, E1453-1460.
- [21] Xiao, S.H., Zhang, Y., and Knoll, A.H. (1998). Three-dimensional preservation of algae and animal embryos in a Neoproterozoic phosphorite[J]. *Nature* *391*, 553-558.
- [22] Chen, J.Y., Bottjer, D.J., Davidson, E.H., *et al.* (2006). Phosphatized polar lobe-forming embryos from the Precambrian of southwest China[J]. *Science* *312*, 1644-1646.
- [23] Chen, J.Y., Bottjer, D.J., Li, G., *et al.* (2009). Complex embryos displaying bilaterian characters from Precambrian Doushantuo phosphate deposits, Weng'an, Guizhou, China[J]. *P Natl Acad Sci USA* *106*, 19056-19060.
- [24] Yin, Z.J., Zhu, M.Y., Tafforeau, P., *et al.* (2013). Early embryogenesis of potential bilaterian animals with polar lobe formation from the Ediacaran Weng'an Biota, South China[J]. *Precambrian Research* *225*, 44-57.
- [25] Yin, Z.J., Zhu, M.Y., Bottjer, D.J., *et al.* (2016). Meroblastic cleavage identifies some Ediacaran Doushantuo (China) embryo-like fossils as metazoans[J]. *Geology* *44*, 735-738.
- [26] 尹崇玉, 岳昭, and 高林志 (2001). 磷酸盐化原肠胚化石在瓮安陡山沱组磷块岩中的发现[J].
- [27] Zhang, Y., Yuan, X.L., and Yin, L.M. (1998). Interpreting Late Precambrian Microfossils[J]. *Science* *282*, 1783a-1783.
- [28] Xiao, S.H., Knoll, A.H., Yuan, X.L., *et al.* (2004). Phosphatized multicellular algae in the Neoproterozoic Doushantuo Formation, China, and the early evolution of florideophyte red algae[J]. *American Journal of Botany* *91*, 214-227.
- [29] 陈孟莪, and 刘魁梧 (1986). 晚震旦世陡山沱期磷块岩中微体化石的发现及其地质意义[J]. *地质科学*, 46-53.
- [30] 张昀, and 袁训来 (1995). 元古宙末多细胞红藻有性生殖结构的发现[J]. *中国科学 (B 辑)* *25*.
- [31] Xiao, S.H., Muscente, A.D., Chen, L., *et al.* (2014). The Weng'an biota and the Ediacaran radiation of multicellular eukaryotes[J]. *Natl Sci Rev* *1*, 498-520.
- [32] 尹崇玉, 高林志, and 邢裕盛 (2001). 疑源类 Tianzhusania 在贵州瓮安震旦纪 陡山沱组磷块岩中的发现[J]. *古生物学报* *40*, 497-504.
- [33] Yuan, X.L., Xiao, S.H., and Taylor, T.N. (2005). Lichen-like symbiosis 600 million years ago[J]. *Science* *308*, 1017-1020.
- [34] Liu, P.J., Xiao, S.H., Yin, C.Y., *et al.* (2008). Systematic Description and Phylogenetic Affinity of Tubular Microfossils from the Ediacaran Doushantuo Formation at Weng'an, South China[J]. *Palaeontology* *51*, 339-366.
- [35] Li, Y., Guo, J.F., Zhang, X.L., *et al.* (2008). Vase-shaped microfossils from the Ediacaran Weng'an biota, Guizhou, South China[J]. *Gondwana Research* *14*, 263-268.
- [36] 袁训来, 王启飞, and 张昀 (1993). 贵州瓮安磷矿晚前寒武纪陡山沱期的藻类化石群[J]. *微体古生物学报* *10*.
- [37] Zhang, Y. (1989). Multicellular thallophytes with differentiated tissues from Late Proterozoic phosphate rocks of South China[J]. *Lethaia* *22*, 113-132.
- [38] Chen, L., Xiao, S.H., Pang, K., *et al.* (2014). Cell differentiation and germ-soma separation in Ediacaran animal embryo-like fossils[J]. *Nature* *516*, 238-241.
- [39] 殷宗军, and 朱茂炎 (2008). 贵州埃迪卡拉纪瓮安生物群化石含量的统计分析[J]. *古生物学报* *47*, 477-487.
- [40] 朱世兴, and 王砚耕 (1984). 黔中陡山沱时期的磷质叠层石及其中的微生物化石. In 贵州上

- 前寒武系及震旦系-寒武系界线. (贵阳: 贵州人民出版社), pp. 93-106.
- [41] Li, C.W., Chen, J.Y., and Hua, T.E. (1998). Precambrian sponges with cellular structures[J]. *Science* 279, 879-882.
- [42] Zhang, Y., Yin, L.M., Xiao, S.H., *et al.* (1998). Permineralized Fossils from the Terminal Proterozoic Doushantuo Formation, South China[J]. *Journal of Paleontology* 72, 1-52.
- [43] Cunningham, J.A., Vargas, K., Marone, F., *et al.* (2016). A multicellular organism with embedded cell clusters from the Ediacaran Weng'an biota (Doushantuo Formation, South China)[J]. *Evolution & Development* 18, 308-316.
- [44] South, G.R., and Whittick, A. (2009). *An Introduction to Phycology*[M], (Oxford and Boston (Massachusetts): Blackwell Scientific Publications).
- [45] Chi, H.M., Xiao, Z.D., Fu, D.G., *et al.* (2006). Analysis of fluorescence from algae fossils of the Neoproterozoic Doushantuo formation of China by confocal laser scanning microscope[J]. *Microsc Res Tech* 69, 253-259.
- [46] Chi, H.M., Feng, M., Xiao, Z.D., *et al.* (2008). Preservation and fluorescence of the microfossils from Neoproterozoic Doushantuo formation[J]. *Microsc Res Tech* 71, 260-266.
- [47] 殷宗军, 朱茂炎, and 肖体乔 (2009). 同步辐射 X 射线相衬显微 CT 在古生物学中的应用[J]. *物理* 38, 504-510.
- [48] 吴素萍, 殷宗军, 孙玮辰, *et al.* (2018). 三维 X 射线显微技术与小型-微体化石高分辨率无损成像[J]. *古生物学报* 57, 157-167.
- [49] Yoon, H.S., Hackett, J.D., Ciniglia, C., *et al.* (2004). A molecular timeline for the origin of photosynthetic eukaryotes[J]. *Mol Biol Evol* 21, 809-818.
- [50] 陈均远 (2004). *动物世界的黎明*[M], (江苏科学技术出版社).
- [51] Zhu, M.Y., Zhang, J.M., Guo, Q.J., *et al.* (2005). Doushantuo Formation and the Weng'an Biota (Ediacaran), Weng'an County, Guizhou Province, China[J].
- [52] Zhu, M.Y., Zhang, J.M., and Yang, A.H. (2007). Integrated Ediacaran (Sinian) chronostratigraphy of South China[J]. *Palaeogeogr Palaeoclimatol* 254, 7-61.
- [53] Chen, J.Y., and Chi, H.M. (2005). Precambrian phosphatized embryos and larvae from the Doushantuo Formation and their affinities, Guizhou (SW China)[J]. *Chinese Science Bulletin* 50.
- [54] Dornbos, S.Q., Bottjer, D.J., Chen, J.Y., *et al.* (2006). Environmental Controls on the Taphonomy of Phosphatized Animals and Animal Embryos from the Neoproterozoic Doushantuo Formation, Southwest China[J]. *Palaios* 21, 3-14.
- [55] Dornbos, S.Q., David, B., Chen, J.Y., *et al.* (2005). Precambrian animal life: Taphonomy of phosphatized metazoan embryos from southwest China[J]. *Lethaia* 38, 101-109.
- [56] Zhang, Y., and Yuan, X.L. (1992). New Data on Multicellular Thallophytes and Fragments of Cellular Tissues from Late Proterozoic Phosphate Rocks, South China[J]. *Lethaia* 25, 1-18.
- [57] Hagadorn, J.W., Xiao, S., Donoghue, P.C., *et al.* (2006). Cellular and subcellular structure of neoproterozoic animal embryos[J]. *Science* 314, 291-294.
- [58] Liu, P.J., Yin, C.Y., and Tang, F. (2006). Discovery of the budding phosphatized globular fossils from the Neoproterozoic Doushantuo Formation at Weng'an, Guizhou Province, China[J]. *Prog Nat Sci* 16, 1079-1083.
- [59] Yin, Z.J., Cunningham, J.A., Vargas, K., *et al.* (2017). Nuclei and nucleoli in embryo-like fossils from the Ediacaran Weng'an Biota[J]. *Precambrian Research* 301, 145-151.
- [60] Yin, Z.J., Vargas, K., Cunningham, J., *et al.* (2019). The Early Ediacaran Caveasphaera

- Foreshadows the Evolutionary Origin of Animal-like Embryology[J]. *Curr Biol* 29, 4307-4314 e4302.
- [61] 袁训来, 肖书海, 尹磊明, *et al.* (2002). 陡山沱期生物群-早期动物辐射前夕的生命[M], (合肥: 中国科学技术大学出版社).
- [62] Blewett, J.P. (1946). Radiation Losses in the Induction Electron Accelerator[J]. *Physical Review* 69, 87-95.
- [63] 刘祖平 (2009). 同步辐射光源物理引论[M], (合肥: 中国科学技术大学出版社).
- [64] 程国峰 (2009). 同步辐射 X 射线应用技术基础[M], (上海: 上海科学技术出版社).
- [65] Leszczuk, A., and Szczuka, E. (2018). Arabinogalactan proteins: Immunolocalization in the developing ovary of a facultative apomict *Fragaria x ananassa* (Duch.)[J]. *Plant Physiol Biochem* 123, 24-33.
- [66] Dobretsov, M., Hayar, A., Kockara, N.T., *et al.* (2019). A Transgenic Mouse Model to Selectively Identify alpha3 Na,K-ATPase Expressing Cells in the Nervous System[J]. *Neuroscience* 398, 274-294.
- [67] García-Plazaola, J.I., Fernández-Marin, B., Duke, S.O., *et al.* (2015). Autofluorescence: Biological functions and technical applications[J]. *Plant Sci* 236, 136-145.
- [68] Lin, R., and Davis, A. (1988). A fluorogeochemical model for coal macerals[J]. *Organic Geochemistry* 12, 363-374.
- [69] Pradier, B., Bertrand, P., Martinez, L., *et al.* (1991). Fluorescence of organic matter and thermal maturity assessment[J]. *Organic Geochemistry* 17, 511-524.
- [70] 陈尚斌, 秦勇, 王阳, *et al.* (2015). 中上扬子区海相页岩气储层孔隙结构非均质性特征[J]. *天然气地球科学* 26, 1455-1463.
- [71] Huang, D.Y., Bechly, G., Nel, P., *et al.* (2016). New fossil insect order Permopsocida elucidates major radiation and evolution of suction feeding in hemimetabolous insects (Hexapoda: Acercaria)[J]. *Sci Rep* 6, 23004.
- [72] Birkmann, H., and Lundin, R.F. (1996). Confocal microscopy: Potential applications in micropaleontology[J]. *Journal of Paleontology* 70, 1084-1087.
- [73] Chen, J.Y., Schopf, J.W., Bottjer, D.J., *et al.* (2007). Raman spectra of a Lower Cambrian ctenophore embryo from southwestern Shaanxi, China[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104, 6289-6292.
- [74] Jackson, F.D., Horner, J.R., and Varricchio, D.J. (2010). A study of a Troodon egg containing embryonic remains using epifluorescence microscopy and other techniques[J]. *Cretaceous Research* 31, 255-262.
- [75] Schopf, J.W., Sergeev, V.N., and Kudryavtsev, A.B. (2015). A new approach to ancient microorganisms: taxonomy, paleoecology, and biostratigraphy of the Lower Cambrian Berkuta and Chulaktau microbiotas of South Kazakhstan[J]. *Journal of Paleontology*, 695-729.
- [76] 陈育明, and 刘洋 (2011). 金属卤化物灯的现状与研究进展[J]. *中国照明电器*, 4-8.
- [77] 安毓英 (2002). 第二章: 常用激光器[J]. *激光与红外* 32, 5.
- [78] Chi, H.M., Feng, M., Chen, Y.C., *et al.* (2009). The Apatite Crystal in Fossil Cells with Fluorescence[J]. *Crystal Growth & Design* 9, 676-681.
- [79] 吴若琳, 吴素萍, and 殷宗军 (2019). 激光共聚焦显微技术在瓮安生物群中的应用[J]. *Acta Palaeontol. Sin.* 58, 130-140.
- [80] Archibald, J.M. (2015). Endosymbiosis and Eukaryotic Cell Evolution[J]. *Curr Biol* 25, R911-921.

- [81] 周传明, 袁训来, 肖书海, *et al.* (2019). 中国埃迪卡拉纪综合地层和时间框架[J]. 中国科学: 地球科学 *49*, 7-25.
- [82] Sahoo, D., Baweja, P., Zutshi, S., *et al.* (2015). The algae world[M], (Springer Netherlands).
- [83] Xiao, S.H. (2004). New multicellular algal fossils and acritarchs in Doushantuo chert nodules (Neoproterozoic, Yangtze Gorges, South China)[J]. *Journal of Paleontology* *78*, 393-401.
- [84] Zhang, Z.Y. (1985). Coccoid microfossils from the Doushantuo Formation (late Sinian) of South China[J]. *Precambrian Research* *28*, 163-173.
- [85] Xiao, S.H., and Knoll, A.H. (1999). Fossil preservation in the Neoproterozoic Doushantuo phosphorite Lagerstatte, South China[J]. *Lethaia* *32*, 219-240.
- [86] 袁训来, 肖书海, 尹磊明, *et al.* (2002). 陡山沱期生物群——早期动物辐射前夕的生命[M], (合肥: 中国科学技术大学出版社).
- [87] Sherwood, A.R., and Sheath, R.G. (2000). Microscopic analysis and seasonality of gemma production in the freshwater red alga *Hildenbrandia angolensis* (Hildenbrandiales, Rhodophyta)[J]. *Phycological Research* *48*, 241-249.
- [88] Medlin, L.K., Kooistra, W.H.C.F., Potter, D., *et al.* (1997). Phylogenetic relationships of the 'golden algae' (haptophytes, heterokont chromophytes) and their plastids[J]. *Pl. Syst. Evol. Suppl.*, 187-219.
- [89] Lim, B.L., Kawai, H., Hori, H., *et al.* (1986). Molecular evolution of 5S ribosomal RNA from red and brown algae[J]. *The Japanese journal of genetics* *61*, 169-176.

## 致谢

有幸进入古生物所学习，在这样一个环境优美、氛围和谐的研究所得知识的熏陶。

感谢朱茂炎老师、赵方臣老师、殷宗军老师的悉心栽培指导，让我学业和生活都受益匪浅。感谢课题组全体成员的支持和帮助，他们是李国祥老师，实验员吴素萍、吴秀华、吴兆年、孙常俊，师姐苗兰云、孙海静、孙晓娟、纪秋梅，师兄曾晗、潘兵、胡春林，同学赵多多、孙玮辰，师妹苗雨霏，师弟孙智兴等。希望课题组的大家都能开心快乐，在未来的日子里得偿所愿。

感谢在读期间所内全体教职及同伴们的关心和帮助。

感谢我的亲人们的关心、支持和理解，感谢我的狗的陪伴。多年在外求学，很遗憾没能常在身边，但我会努力做你们的骄傲。

特别感谢我的舍友：李婷、许媛媛、潘浩晨、万珊、马嘉欣，给我一段温暖有爱的时光，和你们在一起的每一天都很满足。

感谢为我焦虑的研究生生活带来快乐的所有课余活动，它们让我劳逸结合，开拓更丰富的人生。

2020年的开头并不顺利。感谢在抗击新冠疫情一线的工作者、所有相关的各界人士、每一位提供过善意的陌生人，感谢所领导隔离期间对我们的关心。诚挚感谢苗兰云师姐及我的舍友们在我被隔离期间提供的各种生活和学术上的帮助。

最后，北京东路真的挺漂亮的，这是我来南京到的第一个地方。但愿人生纵有高低起伏、蜿蜒曲折，可依旧视程程皆美景；永是少年，永不负心中热爱。

## 在读期间发表的学术论文与取得的其他研究成果

### 一、学术论文

1. 吴若琳, 吴素萍, 殷宗军. 2019. 激光共聚焦显微技术在瓮安生物群中的应用[J]. 古生物学报, 58(1):130-140.
2. 吴素萍, 殷宗军, 孙玮辰, 赵多多, 吴若琳. 2018. 三维 X 射线显微技术与小型-微体化石高分辨率无损成像[J]. 古生物学报, 57(2):157-167.

### 二、会议摘要

1. Imaging phosphatized microfossils from the Ediacaran Weng'an biota using confocal laser scanning microscopy. 2017 年古无脊椎动物学年会, 南京, 中国江苏.
2. A three-dimensionally phosphatized red algal fossil with cell differentiation and a holdfast from the Ediacaran Weng'an biota. 中国古生物学会第十二次全国会员代表大会暨第 29 届学术年会, 郑州, 中国河南.
3. Application of Laser Scanning Confocal Microscope in Observing Microfossils from the Ediacaran Weng'an Biota. 第二届中德古生物学国际会议, 宜昌, 中国湖北.
4. High-resolution synchrotron tomographic reconstruction of a complex benthic algal thallus from the Ediacaran Weng'an biota. 埃迪卡拉纪与寒武纪国际学术会议, 西安, 中国陕西.