

蓝裸甲藻细胞核与核状物质的观察*

施之新 魏印心 胡鸿钧

(中国科学院水生生物研究所)

蓝裸甲藻 *Gymnodinium eucyaneum* Hu¹⁾ 分布在我国长江中下游地区,其细胞外部形态十分相似但核状物质(李靖炎等人称为小核)的有无和多少有很大变化。据李靖炎等²⁾报道,无锡的标本具一个大的间核及一个小核。上海的标本具一个间核及多个小核³⁾。我们在武汉及无锡地区采到的蓝裸甲藻均存在三种不同类型的个体:(1)细胞内仅具一个恒定地位于上锥部的间核;(2)细胞内具一个间核及一个核状物质;(3)细胞内具一个间核及多个核状物质。为阐明不同地区蓝裸甲藻核状物质数目差异在分类学上的意义,我们对采自无锡和武汉的蓝裸甲藻的胞质、间核和核状物质的分裂及昼夜变化进行了观察,对核状物质的性质、来源和变化规律进行了探讨。

材料和方 法

蓝裸甲藻的标本于1979年10月和1980年10月采自武汉中国科学院水生生物研究所14号鱼池,1980年6月及10月采自无锡水产研究所附近鱼池³⁾。1980年6月在无锡采获的鲜标本以昼夜24小时每隔2小时分别用10%福尔马林、升汞-冰醋酸及2%戊二醛磷酸缓冲液等三种固定剂固定。其他标本均用10%福尔马林固定。以上标本分别用孚尔根(Feulgen)染色法、海氏铁明矾苏木精染色法(Heidenhain's Iron-alum Hematoxylin)及三氯醋酸-偶氮洋红G(Trichloroacetic acid-Azocarmin G)进行染色。在光学显微镜下观察、测量并进行统计分析。对1980年10月采自武汉的标本用0.1%吖啶橙(acridine orange)荧光染色剂水溶液作了活体染色,在荧光显微镜下观察。

结 果

1. 胞质、间核、核状物质的分裂

在细胞分裂间期,大的间核位于细胞上锥部中央,正面观常为椭圆形,少数圆形,极少数不规则形。椭圆形大小为 $4.5-6 \times 5-7.5$ 微米;圆形直径为5-7微米。分散在核质中的杆状染色体明显可见。在细胞分裂时,间核逐渐向两侧增宽,中间呈纵向缢入,核内的杆状染色体在间核分裂的后、末期略呈横向平行排列(图版 I: 7-23)。

* 本工作得到促达书教授、黎尚豪教授的热情指导,郭华根同志协助墨绘工作,在此一并致谢。本文在一九八一年九月召开的中国藻类学会第二届学术讨论会上宣读过。

本刊编辑部收到稿件日期:1981年11月26日。

1) 此种原拉丁文 *Gymnodinium cyaneum* Hu 现改此名(胡鸿钧:文稿在排印中)。

2) 据李靖炎1981年在原生动植物学会上的论文报告。

3) 在无锡水产研究所附近鱼池采集蓝裸甲藻过程中,得到了严雪芬同志的支持和帮助,在此表示感谢。

当间核中间呈纵向缢入时,胞质也同时开始分裂,从细胞上端到末端中间均逐渐缢入,呈现一条纵向分裂沟,随后细胞两端或下锥部末端中间逐渐裂开。当间核继续横向拉开时,胞质的纵向分裂沟逐渐加深,细胞上下两端继续纵分,到大核分裂末期,胞质分裂接近完成,两子细胞的纵沟完全形成,最后细胞纵向分裂成两个子细胞。子细胞等大或有时略不等大。胞质分裂和间核分裂大体上同时发生(图版 I: 10—17)。

在胞质和间核分裂的同时,没有见到核状物质的分裂。在刚形成的两个子细胞中,其核状物质的有无和多寡常无一定规律,可以观察到四种现象: 两个子细胞均无核状物质(图版 I: 13); 一个子细胞具一至两个核状物质而另一个子细胞则无(图版 I: 11,12,14); 一个子细胞具一个核状物质而另一个子细胞具两个(图版 I: 15); 两个子细胞均具一个或两个核状物质(图版 I: 16—17)。由此可见核状物质在两个子细胞中的有无和多少是随机的。

核状物质多为球形,有时呈卵形、椭圆形或不规则形。当细胞内只有 1 个核状物质时,它较恒定地位于细胞下锥部的中央,直径为 3—4 微米;当细胞内有两个核状物质时,它们多数位于下锥部中间,少数无恒定位置,等大或不等大,直径为 1.5—3 微米;当细胞内有 3 个以上核状物质时,它们排列无规则,多数位于细胞下锥部,极少数位于细胞的中部或上锥部,一般不等大、偏小,直径为 0.5—2.5 微米。核状物质在分裂间期无可见的染色体,分裂时也没有任何结构变化,染色质也不浓集,为简单的无丝分裂,以中间凹入形成简单的分裂沟,等分或不等分(图版 I: 18—19)。

2. 细胞内核状物质的大小、数目及其变化

蓝裸甲藻细胞内核状物质的大小是不恒定的,大小范围在 0.5—4 微米间。细胞内核状物质的大小与数目呈现出核状物质数目越多,其直径越小的现象。用球体积公式($\frac{4}{3} \cdot \pi \cdot r^3$) 计算细胞内具单个核状物质体积的幅度范围与具两个或多个核状物质总体积的幅度范围大致相近,可以认为不管细胞内核状物质的数目如何变化,但其总体积大致相近(表 1)。

根据蓝裸甲藻所具的核状物质数目不同,可将它们归纳为三种不同的类型: 第一种

表 1 细胞内核状物质的体积范围

Table 1 The total volume range of the nuclear substances in the cell

细胞内核状物质数 number of the nuclear substance	核状物直径(微米) diameter (μm)	总体积(微米 ³) total volume (μm^3)
1	3—4	14.2—33.5
2	1.5—3	16—24.0
3	1.5—2.5	9.2—13.0
4	1—2	13.4—17.0
5	1—2	11.6—17.6
6	1—2	14.0—17.0
12	0.5—1.5	13.4
18	1.3	21.1

类型的细胞内仅具一个恒定地位于上锥部的典型甲藻的间核型细胞核，未见有核状物质（以下简称为 I 型细胞，见图版 I：8）；第二种类型的细胞内具一个间核和一个较恒定地位于下锥部中央的核状物质（以下简称为 II 型细胞，见图版 I：7）；第三种类型的细胞具一个间核及多个位置不定的核状物质（以下简称为 III 型细胞，见图版 I：9）。

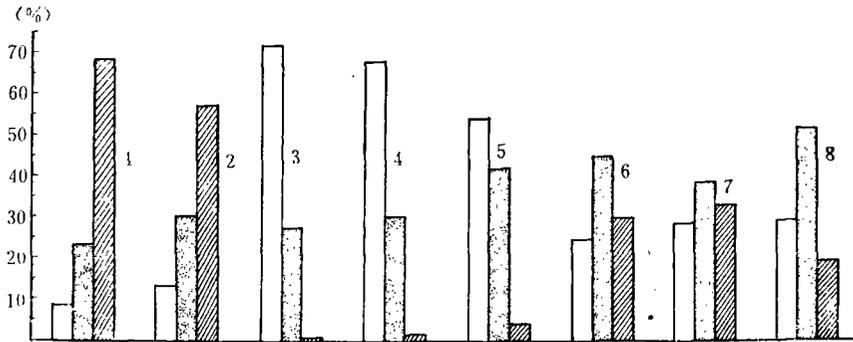


图 1 三种不同类型细胞的百分数(详细数据见表 2)

Fig. 1 The percentage of different types of cell

空白表示具一个间核而未见核状物质的 I 型细胞 (The empties show the I-type cell)
 黑点表示具一个间核及一个核状物质的 II 型细胞 (The black points show the II-type cell)
 斜线表示具一个间核及多个核状物质的 III 型细胞 (The oblique lines show the III-type cell)

表 2 三种不同类型细胞的百分数

(500 个细胞统计数)

Table 2 The percentage of different types of cell

百分数 percentage		细胞类型 type	I 型细胞 type I cell	II 型细胞 type II cell	III 型细胞 type III cell
无锡地区 Wuxi region	一九八〇年六月十九日八时半固定 fixed at 8:30 on June 19, 1980.		8.3%	23.2%	68.4%
	一九八〇年六月二十八日八时固定 fixed at 8:00 on June 28, 1980.		13.0%	30.0%	57.0%
	一九八〇年十月四日八时固定 fixed at 8:00 on Oct. 4, 1980.		25.9%	44.4%	29.7%
	一九八〇年十月五日八时固定 fixed at 8:00 on Oct. 5, 1980.		28.4%	38.6%	33.0%
	一九八〇年十月十日八时固定 fixed at 8:00 on Oct. 10, 1980.		71.5%	27.5%	1.0%
	一九八〇年十月十二日八时固定 fixed at 8:00 on Oct. 12, 1980.		68.3%	30.2%	1.5%
武汉地区 Wuhan region	一九七九年十月二十日八时固定 fixed at 8:00 on Oct. 20, 1979.		54.3%	42.0%	4.0%
	一九八〇年十月二十日八时固定 fixed at 8:00 on Oct. 20, 1980.		29.2%	51.8%	19.0%

在武汉及无锡两地,不同的年份、季节与日期所采的蓝裸甲藻的标本中(用 Feulgen 反应染色,并进行统计),三种不同类型的细胞占细胞总数的百分比有着明显的差异,因此出现三种情况:(1)在无锡夏季所采的标本中,以 III 型细胞为主,其次为 II 型细胞, I 型细胞极少(见表 2,图 1:1—2)。在此种情况下,核状物质数目的变化幅度较大,从零到二十多个;不同核状物质数目的细胞出现的频率分布幅度较宽(见表 3,图 2:1—2)。(2)在无锡和武汉秋季所采的标本中,以 I 型细胞为主,其次为 II 型细胞,III 型的细胞极少(见表 2,图 1:3—5)。在这种情况下,核状物质数目的变化幅度较小,从零到四个;不同核状物质数目的细胞出现的频率分布幅度也较小(见表 3,图 2:3—5)。(3)无锡和武汉秋季所采的标本,还出现以 II 型细胞为主,其次是 I 型细胞或 III 型细胞(见表 2,图 1:6—8)。在这种情况下,核状物质数目的变化幅度介于上述两种现象之间,从零到七个。具

表 3 具不同核状物质数的细胞出现的频率分布表

(500 个细胞统计数)

Table 3 Frequency of the cells with different nuclear substance

频率数 Frequency 细胞内 核状物 质数 number of the nuclear substance	标本 specimen	无 锡 地 区 Wuxi region						武 汉 地 区 Wuhan region	
		一九八〇 年六月十 九日八时 半固定 fixed at 8:30 on June 19, 1980.	一九八〇 年六月二 十八日八 时固定 fixed at 8:00 on June 28, 1980.	一九八〇 年十月四 日八时 固定 fixed at 8:00 on Oct. 4, 1980.	一九八〇 年十月五 日八时 固定 fixed at 8:00 on Oct. 5, 1980.	一九八〇 年十月十 日八时 固定 fixed at 8:00 on Oct. 10, 1980.	一九八〇 年十月十 二日八时 固定 fixed at 8:00 on Oct. 12, 1980.	一九七九 年十月二 十日八时 固定 fixed at 8:00 on Oct. 20, 1979.	一九八〇 年十月二 十日八时 固定 fixed at 8:00 on Oct. 20, 1980.
0		0.083	0.130	0.259	0.284	0.715	0.683	0.543	0.292
1		0.232	0.300	0.444	0.386	0.275	0.302	0.417	0.518
2		0.156	0.200	0.160	0.182	0.008	0.010	0.030	0.148
3		0.069	0.130	0.075	0.088	0.002	0.005	0.003	0.034
4		0.063	0.100	0.04	0.038			0.007	0.006
5		0.045	0.070	0.012	0.010				0.002
6		0.022	0.040	0.008	0.006				
7		0.029	0.016	0.003	0.004				
8		0.046	0.007						
9		0.032	0.007						
10		0.030	0.002						
11		0.054							
12		0.019							
13		0.024							
14		0.039							
15		0.019							
16		0.009							
17		0.009							
18		0.006							
19		0.004							
20		0.007							

不同核状物质的细胞出现的频率分布幅度也介于上述两种现象之间(见表 3, 图 2: 6—8)

1980 年 6 月 19 日及 28 日两次从无锡采集的标本, 在室内进行昼夜观察, 发现细胞内核状物质数目及三种不同类型细胞的百分数在一昼夜内虽略有变化, 但基本趋于一致, 可以用 8:00 固定的标本表示(图 2: 1—2)。

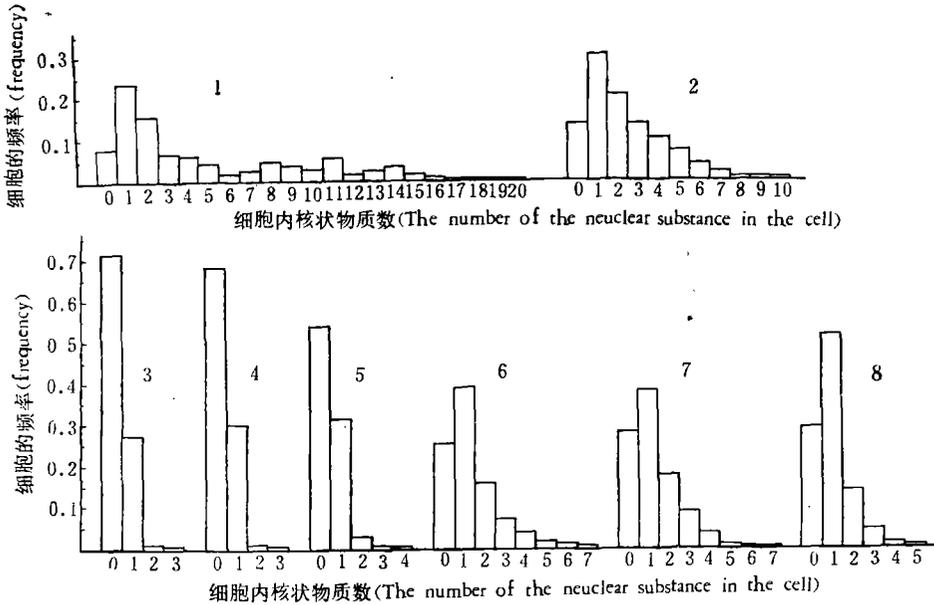


图 2 具不同核状物质数的细胞出现的频率图(详细数据见表 3)

Fig. 2 Frequency of cells with different nuclear substance

1. 无锡标本, 1980 年 6 月 19 日 8:30 固定 (The specimen is fixed at 8:30 on June 19, 1980 from Wuxi)
2. 无锡标本, 1980 年 6 月 28 日 8:00 固定 (The specimen is fixed at 8:00 on June 28, 1980 from Wuxi)
3. 无锡标本, 1980 年 10 月 10 日 8:00 固定 (The specimen is fixed at 8:00 on Oct. 10, 1980 from Wuxi)
4. 无锡标本, 1980 年 10 月 12 日 8:00 固定 (The specimen is fixed at 8:00 on Oct. 12, 1980 from Wuxi)
5. 武汉标本, 1979 年 10 月 20 日 8:00 固定 (The specimen is fixed at 8:00 on Oct. 20, 1979 from Wuhan)
6. 无锡标本, 1980 年 10 月 4 日 8:00 固定 (The specimen is fixed at 8:00 on Oct. 4, 1980 from Wuxi)
7. 无锡标本, 1980 年 10 月 5 日 8:00 固定 (The specimen is fixed at 8:00 on Oct. 5, 1980 from Wuxi)
8. 武汉标本, 1980 年 10 月 20 日 8:00 固定 (The specimen is fixed at 8:00 on Oct. 20, 1980 from Wuhan)

讨 论

1. 蓝裸甲藻种的问题

武汉和无锡两地所采的蓝裸甲藻, 虽然外形变化都较大, 但细胞的大小与形态却十分相似(图版 I: 1—4); 均以细胞纵分裂来繁殖(图版 I: 10—17), 能产生休眠孢子(图版 I: 5—6); 按照核状物质的数目、大小、位置以及存在与否的不同, 细胞都可以分成三种不同

的类型,同时核状物质的变化(尤其是两地秋季所采的标本)基本一致。因此,可以认为两地的蓝裸甲藻属于同一种。此种在细胞形态上与尖尾裸甲藻(*Gymnodinium acidotum* Nygaard)近似,但尖尾裸甲藻细胞的上锥部和下锥部约等大,间核位于细胞的中部,不具核状物质,这些特征与蓝裸甲藻(*G. eucyaneum*)不同,因此建立一新种比作为尖尾裸甲藻的一新变种更合理。

2. 蓝裸甲藻核状物质的性质、来源及数目变化原因

蓝裸甲藻的核状物质用孚尔根染色法在光学显微镜下以及用荧光染色剂作活体染色在荧光显微镜下观察,均呈现出明显的DNA反应;用显示碱性蛋白专一性很强的三氯醋酸-偶氮洋红G染色法证实具有碱性蛋白^[1]。但其分裂时不象典型的真核那样形成纺锤体和染色体,仅是一种无丝分裂。根据李靖炎报道,在电镜下观察到小核的染色质不象真核生物中典型的真核那样均匀分布,而是聚集成结节。这些都说明它又有别于典型的真核。

在甲藻门中,Dodge^[5]于1971年首先发现叶状薄甲藻(*Glenodinium foliaceum* Stein)具双核,并认为其中一个大的是间核型的细胞核,另一个小核为真核型的细胞核。其后,Tomas^[10,11]等在1973年又发现了波罗的海多甲藻(*Peridinium balticum* (Lev.) Lemm.)也具双核。它们的小核在细胞内的数目和大小比较恒定。Tippit^[8]等发现波罗的海多甲藻的小核在分裂时不形成纺锤体,染色质也不浓集,是一种简单的无丝分裂。因此他认为小核不是典型的真核,并提出在对这个小核的功能没有充分了解之前,建议用多余的细胞核(supernumerary nucleus)这一名称来表示。

虽然蓝裸甲藻的核状物质也具与叶状薄甲藻和波罗的海多甲藻的小核相类似的特征。但是蓝裸甲藻的核状物质在细胞内的数目多少、大小、位置以及存在与否都是可变的,分裂也不象波罗的海多甲藻的小核那样与胞质同时分裂,在子细胞中它的有无和多少也是不一定的。这表明蓝裸甲藻的核状物质与叶状薄甲藻和波罗的海多甲藻的小核有所不同。因此,在其性质没有完全确定前称之为核状物质比称小核更恰当些。

蓝裸甲藻核状物质的来源是一个值得深入探讨的问题。已报道的两种双核甲藻——叶状薄甲藻及波罗的海多甲藻的超微结构表明,小核和叶绿体等细胞器有一层膜(membrane)与甲藻的间核、胞质等其余部分分开。因此Tomas^[9,10]等人认为小核是由共生在甲藻细胞内的金藻门起源的光合生物演化来的。Jeffrey^[7]等人的色素分析进一步支持Tomas的观点。蓝裸甲藻中的核状物质是否也是由于内共生起源的,尚需进一步深入的研究。

在不同的年份、季节和日期所采的蓝裸甲藻,三种不同类型细胞的百分比明显地出现三种不同现象,其中两种现象均见于两地秋季标本中,可见两地的蓝裸甲藻在核状物质变化方面存在着一致性。可是在无锡夏季所采的标本,三种不同类型细胞的百分比明显地不同于秋季,就是秋季的标本,也有两种不同的情况。尽管三种不同类型的细胞百分比有变化,但是II型细胞的百分比似乎维持在一一定的幅度范围(23%—52%,见表2)。而I型细胞与III型细胞之间,似乎存在着反向现象,即当I型细胞多时,III型细胞就少;反之亦然。引起这种现象的原因可能是季节、温度或水质等外界条件的变化,也可能是内在的因素。

虽然蓝裸甲藻核状物质的数目与大小的变化幅度较大,但单个核状物质的体积幅度与两个或多个核状物质总体积变幅大致相近,这表明不管它们的数目和大小如何,其所含核状物质的总量基本保持在一个相近的变化幅度范围内。

总之,根据观察蓝裸甲藻的核状物质的有无、多寡对其自身的生命活动似乎没有什么影响。所以,它们实际上很可能只是一种多余的核状物质,而不是一种细胞器。不过究其来源,以及为何时有、时无、时多、时少等问题,尚待进一步研究探讨。

参 考 文 献

- [1] 李靖炎等, 1979. 关于一种双核涡鞭毛虫。科学通报 **24**: 461—462.
- [2] 胡鸿钧等, 1980. 蓝裸甲藻(新种) (*Gymnodinium cyaneum* Hu, sp. nov.) 藻胆素 (Phycobilin) 的发现及其意义。科学通报 **25**: 651—653.
- [3] Cachon, J. & M. Cachon, 1977. Observations on the Mitosis and on the chromosome evolution during the life-cycle of *Oodinium*, a parasitic Dinoflagellate. *Chromosome* **60**: 237—251.
- [4] Cachon, J., M. Cachon & P. Salvano. 1979. The Nuclear Division of *Oxyrrhis marina*: an Example of the Role Played by the Nuclear Envelope in Chromosome Segregation. *Arch. Protistenk* **122**: 43—54.
- [5] Dodge, J. D., 1971. A Dinoflagellate with Both a Mesocaryotic and a Eucaryotic Nucleus I. Fine Structure of the Nuclei. *Protoplasma* **73**: 145—157.
- [6] Hall, R. P., 1925. Binary fission in *Oxyrrhis marina* Dujardin. *Univ. Calif. Publ. Zool.* **26**: 281—324.
- [7] Jeffrey, S. W. & V. Maret. 1976. Further evidence for a membrane-bound endosymbiont within the dinoflagellate *Peridinium foliaceum*. *J. Phycol.* **12**: 450—455.
- [8] Tippet, D. H. & J. D. Picket-Heaps, 1976. Apparent amitosis in the binucleate dinoflagellate *Peridinium balticum*. *J. Cell Sci.* **21**: 273—289.
- [9] Tomas, R. N. & E. R. Cox, 1973. Observations on the symbiosis of *Peridinium balticum* and its intracellular algae. I. Ultrastructure. *J. Phycol.* **9**: 304—322.
- [10] Tomas, R. N., E. R. Cox, & K. A. Steidinger, 1973. *Peridinium balticum* (Levander) Lemmermann, a unusual dinoflagellate with a mesocaryotic and a eucaryotic nucleus. *J. Phycol.* **9**: 91—98.

AN OBSERVATION ON THE NUCLEUS AND NUCLEAR SUBSTANCE OF *GYMNODINIUM EUCYANEUM* HU

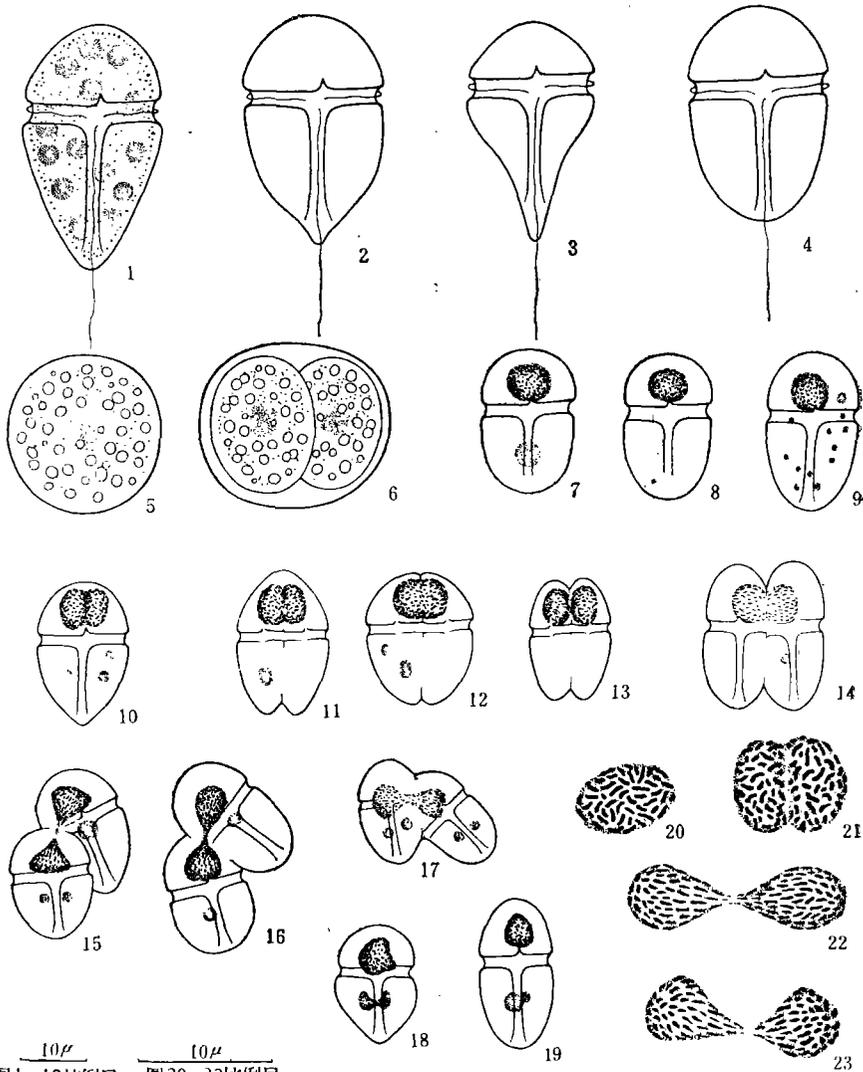
Shi Zhixin Wei Yinxin and Hu Hongjun
(*Institute of Hydrobiology, Academia Sinica*)

ABSTRACT

The morphology and cytology of *Gymnodinium eucyaneum* Hu from Wuhan, Hubei Province and Wuxi, Jiangsu Province were investigated. The cells of *G. eucyaneum* are of 3 types, i. e., cells containing only a typical dinoflagellate nucleus termed the mesocaryotic nucleus in the epicone of the cell (type I cell); cells containing a mesocaryotic nucleus and a nuclear substance in the centre of hypocone of the cell (type II cell); cells containing a mesocaryotic nucleus and a number of nuclear substance either in hypocone or in epicone (type III cell). The percentage of the types of the cells in different collections varies in different collecting dates. There are three states: 1. the majority of cells is type I; 2. the majority of cells is type II; 3. the majority of them is type III.

The division of the mesocaryotic nucleus takes place nearly simultaneously with the cytokinesis. The nuclear substance divides by simple cleavage not at the same time with the mesocaryotic nucleus and cytokinesis, and shows no evidence of chromosomal characteristics during division. It can be stained distinctly by Feulgen and Trichloroacetic acid-Azocarmin G which is a very sensitive to show basic protein. These explain that the nuclear substance has some nuclear properties. But It is always changing in number, size, location and even absent in certain cells. The variability of its existence demonstrates that it isn't an important regular organelle in the living cell. It is therefore more appropriate to call it the nuclear substance rather than the true micronucleus.

By comparing these specimens collected from Wuhan, Wuxi, the question whether they belong to the same species, the nature, origin and number of the nuclear substance are also discussed.



1—4. 营养细胞的各种形态 (Variant shapes of the vegetative cell);
 5—6. 休眠孢子 (cysts);
 7—9. 细胞分裂间期, 其中7为II型细胞, 8为I型细胞, 9为III型细胞 (The interphase of the cells, 7 show II-typical cell, 8 show I-typical cell, 9 show III-typical cell);
 10—17. 细胞纵分裂过程 (The process of longitudinal division of the cell);
 18—19. 细胞内核状物质的分裂 (The division of the nuclear substance);
 20—23. 细胞内间核分裂过程 (The division of the mesocaryotic nucleus)
 (7—23 均为 Feulgen 染色。Stained by Feulgen.)