

绿草履虫-小球藻共生系统中共生藻对宿主细胞超微结构的影响^{*}

何远 张莹 倪兵 顾福康^{**}

(华东师范大学生命科学学院 上海 200062)

摘要:应用透射电镜术显示了含小球藻绿草履虫和人工诱导获得的无小球藻绿草履虫细胞的超微结构特征。无小球藻绿草履虫细胞内有大量处于不同消化阶段的食物泡及膜性小泡,在细胞质内常见有线粒体聚集分布以及内质网分布其中,细胞大核内核仁数目增多,并聚集成多个核仁区。含小球藻绿草履虫中细胞膜性结构较少见,细胞大核中核仁数目较少。结果表明,小球藻共生体可能影响了宿主草履虫细胞中所述细胞器的功能、数量和分布,并影响了核仁的功能、数量和分布。

关键词:绿草履虫;小球藻;超微结构

中图分类号:Q954 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3263(2002)06-02-04

The Ultrastructural Effect of Symbiotic *Chlorella* on its Host in *Paramecium bursaria*-*Chlorella* System

HE Yuan ZHANG Ying NI Bing GU Fu-Kang

(Department of Biology, East China Normal University Shanghai 200062, China)

Abstract: The fine structure of *Chlorella*-bearing *Paramecium bursaria* and *Chlorella*-free *Paramecium bursaria* were studied with transmission electron microscopy. In *Chlorella*-free *P. bursaria*, a large amount of food vacuoles and membrane vacuoles in different digestive process were observed. Compared with *Chlorella*-bearing *P. bursaria*, *Chlorella*-free *P. bursaria* had a greater quantity of cytoplasmic mitochondria and endoplasmic reticulum, most of which was accumulated in certain regions. In the macronucleus of *Chlorella*-free *P. bursaria* there were many round nucleoli while few nucleoli could be observed in the macronucleus of *Chlorella*-bearing *P. bursaria*. This suggests that the existence of the *Chlorella* symbiont in *P. bursaria* may affect the function, quantity, and location of the previously mentioned organelles in host cells, as well as the nucleoli.

Key words: *Paramecium bursaria*; *Chlorella*; Ultrastructure

细胞内共生作用的研究是探索细胞间相互关系、细胞质遗传和细胞器的起源、进化等细胞生命活动规律的重要内容。纤毛类原生动物中,目前所观察到的细胞内共生体主要是细菌和藻类,其中对纤毛虫-细菌共生作用的研究已深入到分子水平^[1],对纤毛虫-藻类共生系统的研究主要以自然界常见的绿草履虫(*Parameci-*

um bursaria)-小球藻(*Chlorella*)共生系统为材

^{*} 国家自然科学基金(No. 39970088),高等学校博士学科点专项基金资助项目;

^{**} 通讯联系人;

第一作者介绍 何远,男,25岁,硕士;研究方向:原生动物细胞学;现在工作单位:上海计划生育研究所,200032。

收稿日期:2001-12-28,修回日期:2002-06-10

料,在小球藻共生体的进入方式、围藻泡的结构以及共生系统的一些生理特性等方面^[2~6]做了较多的工作,所在实验室并对小球藻共生体对宿主草履虫基因组 DNA 的影响进行了初步探索^[7],而对于宿主细胞与共生体在形成共生作用过程中宿主细胞超微结构上的相应变化尚未见报道。本文用透射电镜术比较了含小球藻绿草履虫和无小球藻绿草履虫的超微结构,以为进一步研究绿草履虫-小球藻共生系统中宿主与共生体之间的相互作用提供资料。

1 材料与方法

绿草履虫采自上海动物园小湖内,经纯系培养而得。将绿草履虫用稻草浸出液培养于恒温光照培养箱中,温度控制在 $(23 \pm 1)^\circ\text{C}$,每天用光照强度约为 1 000 lx 的日光灯提供 12 h 的光照,7 d 后,草履虫开始进入对数生长期,即可用于实验。无小球藻绿草履虫由以下方法获得:将含有共生藻的绿草履虫置于同样温度条件下持续无光照的恒温培养箱中培养,提供足够的食物(细菌),经过 6 周以上的持续培养,经观察,此时草履虫细胞质中无共生小球藻。

将含小球藻绿草履虫和无小球藻绿草履虫用 1% 钨酸(0.2 mol/L pH 7.4 二钾磷酸钠缓冲液配制)固定,乙醇梯度脱水和纯丙酮转换,环氧树脂 618 渗透并包埋,LKB 型超薄切片机切片,醋酸铀及柠檬酸铅双重染色,JEM100CX 透射电镜观察并照相。

2 结果与分析

2.1 含小球藻绿草履虫细胞 在草履虫外周细胞质散布有大量的小球藻(图版 I:1),此外在细胞核内靠近大核的区域也有几个至多个小球藻分布(图版 I:2)。每个小球藻呈椭圆形或豆形,各处于一个围藻泡中(图版 I:3)。围藻泡膜与小球藻细胞壁之间形成间隙,间隙内充满低电子密度物质,小球藻细胞内有一个大的杯状叶绿体和一个淀粉核(图版 I:4)。临近大核位置的小球藻其围藻泡膜有时与核膜十分接近(图版 I:4)。

绿草履虫的细胞质由一些无结构的颗粒或纤维状物质组成,致密均匀,电子密度高。常见的胞质细胞器是线粒体,切面形状为球形、卵形,在细胞核、围藻泡和皮层毛基体附近分布较多。线粒体是由两层单位膜套叠而成的封闭囊泡,外膜与内膜之间封闭的腔隙是膜间腔,其中充满无定形物质。内膜向线粒体内部连续凹入,形成管状的突起即线粒体嵴,它们之间的腔即嵴间腔,其中充满低电子密度的线粒体基质(图版 I:5)。有时见到细胞质中还有一些含有呈卷曲状的残留藻类细胞壁的食物泡,但其它类型的食物泡较少见(图版 I:3)。

细胞大核位于细胞中部,其前端靠近口器区域,具有致密状核特征,核内由大量的染色质和少量的核液。核内染色质浓缩成粒状或棒状,均匀分布在核内,其中有些染色质附着核膜。核内还可见一些外缘电子密度高、内部较透明的环状体即核仁,核仁在核内呈不规则分布(图版 I:6)。

2.2 无小球藻绿草履虫细胞 细胞变小,细胞内原有的小球藻共生体退化消失。细胞质呈低电子密度状态,内有大量处于不同消化阶段的食物泡,其中一些呈高电子密度的嗜钨性液泡,相当于共生体退化过程中形成的结构(图版 I:7)。线粒体形态正常,主要分布在表膜下区域以及附近食物泡周围,特别是靠近口皮层区表膜附近分布有大量的线粒体(图版 I:7,8)。在一些线粒体密集区域分布的管状结构,可能是内质网(图版 I:8)。

细胞大核内染色质呈细颗粒状,均匀分布在核内,染色质不与核膜接触;核内出现大量环状核仁,多个核仁聚集在一起形成核仁区域;细胞核内不规则地分布着多个核仁区域(图版 I:9)。

3 讨论

经过连续暗培养后,失去共生小球藻的草履虫细胞超微结构发生明显变化,其中细胞内膜性结构非常丰富,处于不同消化程度的消化泡以及小液泡增多,而且在一些区域聚集分布

着大量的线粒体,线粒体附近还有许多内质网分布。相比之下,在共生条件下,含小球藻绿草履虫的电镜切片上很少见到内质网,并且线粒体数目也比无小球藻绿草履虫细胞所见的少得多。由于线粒体是与细胞代谢活动有关的重要细胞器,能进行氧化磷酸化作用,进行能量转换,提供细胞进行各种生命活动所需的能量。线粒体在细胞内的数量和分布,与细胞的生理功能和生理状况相联系;内质网是细胞内蛋白质和脂类的合成及加工场所,几乎全部的脂类和许多重要的蛋白质都是在内质网上合成的^[8]。据此作者认为,上述细胞超微结构的变化,可能是共生条件下,绿草履虫与小球藻形成相互受益的共生关系所致。对草履虫-藻类共生系统的研究证明,共生藻与宿主已形成明显的专一性关系,例如,小球藻参与宿主代谢过程,将细胞光合作用产生的氧及麦芽糖产物向宿主输送,而宿主草履虫则向共生藻提供 CO₂ 和氮,结果,由于共生藻对宿主细胞在营养供应上的作用^[9],使宿主草履虫的一些细胞器如线粒体和内质网的活动减弱,细胞内这些结构数量减少,最终草履虫本身的代谢活动被削弱;暗培养条件下,小球藻共生体的光合作用受阻,胞器的功能活动及其与宿主细胞的物质交换便不能正常进行,最终对藻类共生体产生致命性影响。失去共生小球藻后草履虫必需依靠自身获取营养,此时细胞必然经历吞噬和消化作用,线粒体和内质网的大量出现,可能与吞噬和消化作用提供能量有关,显示出细胞旺盛的代谢活动特征。这表明草履虫与小球藻形成共生关系后,一方面共生藻提供营养给宿主细胞,对宿主有益,但另一方面共生藻又抑制或削弱了宿主本身的代谢活动,影响了与宿主生命活动相关的胞器的功能,在超微结构上表现为宿主细胞中与代谢活动有关的细胞器结构的减少。

草履虫细胞内有两种类型的核即大核和小核。大核在细胞营养生长时期行使功能,表现出旺盛的新陈代谢活动细胞核的全部特征,在细胞无性生殖期间行使全部的遗传活动^[10]。在共生和非共生的条件下,草履虫细胞小核的

超微结构形态没有出现明显的变化,而大核的超微结构形态发生了很大的改变,其中,共生条件下,含小球藻绿草履虫大核内核仁数目减少,且分散分布在核内;非共生条件下,无小球藻绿草履虫大核内核仁数目多,并聚集成多个核仁区域。由于核仁是核糖体基因转录的产物,是细胞中 rRNA 合成、加工的场所和核糖体生物合成的中心^[11],核仁的大小、形状和数目的变化与细胞代谢状态相关^[8],核仁在非共生条件下的无小球藻绿草履虫细胞大核中大量出现,说明细胞内有大量的核糖体发生,蛋白质合成旺盛;共生条件下含小球藻的草履虫细胞大核内核仁数目少,这也可能与共生体的存在影响了宿主草履虫细胞大核内核仁的功能、数量和分布有关。

参 考 文 献

- [1] 顾福康,孙军,何远等. 纤毛类原生动物中宿主-共生体系统的研究. 生物多样性, 2001, 9: 38 ~ 43.
- [2] Reisser W, Rodunz A, Wiessner W. The participation of algal surface structures in the cell recognition process during infection of aposymbiotic *Paramecium bursaria* with symbiotic *Chlorella*. *Cytobiosis*, 1982, 33: 39 ~ 50.
- [3] Meier R, Lefort-Tran M, Pouphe M *et al.* Comparative freeze-fracture study of perialgal and digestive vacuoles in *Paramecium bursaria*. *J Cell Sci*, 1984, 73: 121 ~ 140.
- [4] Miva I, Izumo T, Sonoda T. Cytoplasm rescues an arrhythmic mutant on the circadian rhythm of mating reactivity in *Paramecium bursaria*. *J Eukaryot Microbiol*, 1996, 43: 231 ~ 236.
- [5] Takeda H, Sekiguchi T, Nunokawa S *et al.* Species-specificity of *Chlorella* for establishment of symbiotic association with *Paramecium bursaria*—does infectivity depend on sugar components of the cell wall. *Europ J Protistol*, 1998, 34: 133 ~ 137.
- [6] Tanaka M, Miva I. Significance of photosynthetic products of symbiotic *Chlorella* to establish the endosymbiosis and to express the mating reactivity rhythm in *Paramecium bursaria*. *Zool Sci*, 1996, 13: 685 ~ 692.
- [7] 孙军,顾福康. 含小球藻和无小球藻草履虫的基因组 DNA 多态性的研究. 动物学研究, 2000, 21: 257 ~ 261.
- [8] 翟中和. 细胞生物学. 北京: 高等教育出版社, 1996. 173 ~ 212.
- [9] Anderson O R. Comparative protozoology: ecology, physiology, life history. Berlin, Heidelberg, New York, London, Par-

is, Tokyo: Springer-verlag New York Inc, 1988. 333 ~ 336.

- [10] 顾福康. 原生动物学概论. 北京: 高等教育出版社, 1991. 41 ~ 52, 308 ~ 321.

- [11] Raikov I R. The protozoan nucleus: morphology and evolution. Wien New York: Springer-verlag, 1982. 1 ~ 174.

图 版 说 明

1. 含小球藻绿草履虫细胞前端纵切, 示共生小球藻(CHL) $\times 1\ 200$; 2. 在大核(MA)附近的小球藻共生体(CHL)及线粒体(M) $\times 5\ 000$; 3. 包裹藻类细胞壁的食物泡(FV)(TI: 刺丝泡) $\times 10\ 000$; 4. 临近大核(MA)的小球藻(CHL)及其围藻泡(PM: 围藻泡; CW: 小球藻细胞壁; S: 淀粉鞘; MA: 大核) $\times 27\ 000$; 5. 线粒体(M)及核膜(NM) $\times 34\ 000$; 6. 含小球藻绿草履虫细胞大核内染色质和核仁(NU)分布 $\times 6\ 000$; 7. 无小球藻绿草履虫胞质内结构(M: 线粒体; OV: 食物泡中的嗜饿小体) $\times 9\ 000$; 8. 线粒体(M)聚集区和内质网(ER)(VL: 表膜泡) $\times 5\ 000$; 9. 无小球藻绿草履虫细胞大核, 示核仁(NU)聚集成多个核仁区域 $\times 4\ 000$

