

拟翁口虫形态学及形态发生学现象的初步研究

俞丽丽 运迷霞 翟楠 陈季武 顾福康*

华东师范大学生命科学学院 上海 200062

摘要: 应用荧光紫杉醇直接荧光标记方法显示了一种腹毛类纤毛虫拟翁口虫 (*Onychodromopsis* sp.) 腹皮层纤毛器微管胞器及形态发生, 根据该纤毛虫的皮层纤毛模式和纤毛器基部微管的形态, 将其归为侧毛虫科 (Pleurotrichidae) 拟翁口虫属 (*Onychodromopsis*); 并据后仔虫口原基的发生、左右缘棘毛原基的发生, 不同于已报道的柔软拟翁口虫 (*O. flexilis*) 的情况, 认为该纤毛虫可能为另一种拟翁口虫。

关键词: 拟翁口虫; 皮层纤毛器; 微管胞器; 形态发生; 荧光标记

中图分类号: Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2011) 04-59-07

Morphology and Morphogenesis of *Onychodromopsis* sp. (Ciliophora, Hypotrichida)

YU Li-Li YUN Mi-Xia ZHAI Nan CHEN Ji-Wu GU Fu-Kang*

School of Life Sciences, East China Normal University, Shanghai 200062, China

Abstract: The morphology and morphogenesis of ciliature microtubular organelles in the ventral cortex of *Onychodromopsis* sp. were visualized using FLUTAX direct fluorescent labeling. Based on the features of its ciliature and base-associated microtubules, this species was classified to be the genus *Onychodromopsis*. However, the morphogenetic study showed that the originating position of oral primordium of the opisthe and differentiation of the marginal rows were different from other related species *O. flexilis*. Therefore, this species is probably another species in the genus *Onychodromopsis*.

Key words: *Onychodromopsis* sp.; Cortex; Ciliature microtubular organelle; Morphogenesis; Fluorescent labeling

多年来,对腹毛类侧毛虫科纤毛虫以及相近属的属间划分及系统学尚存在不同的认识。起初,该类纤毛虫及其相近属分别隶属棘尾亚科和尖毛亚科^[1];此后有学者将侧毛虫科作为一个独立的类群,包括拟翁口虫属 (*Onychodromopsis*)、侧毛虫属 (*Pleurotricha*)、锥口虫属 (*Coniculostomum*) 3 属^[2];并且,在此基础上又有研究者在该科中增加了海尾柱虫属 (*Ponturostyla*)、异毛虫属 (*Allotricha*)、拟片尾虫属 (*Parurosoma*) 3 属^[3]。近 10 多年来,国内外学者对所述纤毛虫中的柔软拟翁口虫 (*O. flexilis*)^[4]、海尾柱虫 (*Ponturostyla enigmatica*)^[5]、凯氏侧毛虫 (*Pleurotricha*

curdsi)^[6]和凯氏异毛虫 (*A. curdsi*)^[7]等进行了形态及形态发生的研究,积累了一定的资料。作者于 2009 年采集到一种拟翁口虫 (*Onychodromopsis* sp.), 采用荧光紫杉醇 (FLUTAX) 直接荧光标记显示了其皮层纤毛模式、皮层纤毛器基部微管及其形态发生,以期为例毛虫科纤毛虫的形态学及其分类提供进一步

基金项目 国家自然科学基金项目 (No. 30770238, 31071875);

* 通讯作者, E-mail: fkgu@bio.ecnu.edu.cn;

第一作者介绍 俞丽丽,女,硕士研究生;研究方向:动物细胞与分子生物学;E-mail: yuliliwangxin@163.com。

收稿日期:2010-11-29,修回日期:2011-03-01

的资料。

1 材料与方法

1.1 材料 所用材料于 2009 年 9 月采自浙江天童山国家森林公园冷泉 (29°48' N, 121°48' E), 分离后, 应用麦粒液发酵获得的细菌作为饵料, 建立纯系培养。将纤毛虫培养至较高密度后, 取生长状态良好的细胞作为实验材料。

光镜下观察细胞长 85 ~ 140 μm , 宽 30 ~ 35 μm 。细胞呈卵圆形, 前端略尖, 后端钝圆。背腹扁平, 背面中部略隆起, 体柔软可弯曲。

1.2 方法 参照本实验室改进的荧光紫杉醇直接荧光标记方法^[8], 并稍作调整, 主要步骤为: (1) 吸取高浓度的细胞, 滴入 1.0% 的皂苷中渗透 5 s, 用 PHEM 清洗一次; (2) 4% 的多聚甲醛固定 5 s, 用 PHEM 清洗一次; (3) 1 $\mu\text{mol/L}$ FLUTAX-2 染色 8 min, 0.01 mol/L 的 PBS 漂洗 3 次, 封片。标本应用 Olympus BX 荧光显微镜观察, Cool SNAP-Pro 数码相机照相。

2 结果

2.1 皮层纤毛器及基部附属微管

口围带、波动膜: 口围带含 30 ~ 35 片小膜, 其基部起始于细胞长轴的 1/3 处, 向左前侧弯曲伸展, 终止于细胞右前端; 波动膜包括口内膜和口侧膜各一片, 位于口围带右侧 (图版 I: 1)。

口围带领部相邻小膜间向皮层深部发出短微管束, 相邻微管束交叉形成倒“V”, 翻颌部骨架为横向平行排列的梯状小膜托架, 托架向皮层内部发出肋壁微管。波动膜骨架为 2 片横向平行的托架, 自基部向前逐渐变窄, 呈三角形 (图版 I: 2, 3)。

额腹横棘毛: 额腹横棘毛为典型的 8-5-5 模式: 前 3 根额棘毛较粗壮, 位于细胞前端, 一根口棘毛紧邻口内膜; 前 3 根腹棘毛位于口围带基部下, 呈“之”字形排列, 后 2 根腹棘毛紧邻横棘毛前方; 横棘毛呈“V”状 (图版 I: 1)。

额、腹棘毛基部的前纵微管束与后纵微管束均较发达, 但未见横微管束; 横棘毛前纵微管束发达, 后纵微管束与横微管束均不发达, 前 4

根横棘毛基部前纵微管束向前伸展并汇聚成一个三角结构, 后一根横棘毛单独向其前方发出前纵微管束 (图版 I: 3, 4)。

左右缘棘毛: 左缘棘毛 2 列, 右缘棘毛 3 列, 两者最外侧一列缘棘毛在细胞末端汇合, 其中两边缘棘毛由外侧向内侧长度皆递减, 最内右侧缘棘毛终止于最后一根腹棘毛的前方 (图版 I: 1)。

缘棘毛基部附属微管由前纵管束、后纵微管束和横微管束构成, 其中前纵微管束向左前方伸展, 后纵微管束向右后方伸展, 横微管束向左后方伸展; 右缘棘毛基部附属微管整体较左缘棘毛发达, 右缘棘毛具粗壮的前纵微管束, 前后相连形成一纵贯前后的微管束, 横微管束细长, 且最内侧一列右缘棘毛具有粗短的后纵微管束, 而外侧两列右缘棘毛的后纵微管束不发达; 左缘棘毛具前纵和后纵微管束, 横微管束极不发达 (图版 I: 2)。

背触毛及尾棘毛: 细胞背面含 6 列背触毛, 其中左起第 1、2、3 列自细胞前端向左后侧弯曲, 贯穿细胞全长, 第 4 列自细胞后端发出, 向右弯曲, 前端极度弯曲, 终止于背面中部, 第 5、6 列位于细胞右前端。3 根尾棘毛较细弱, 分别位于前 3 列全长背触毛末端 (图版 I: 5, 6)。

2.2 纤毛器微管胞器的形态发生

口围带、波动膜: 形态发生的最早迹象是在老口围带后方和横棘毛前方之间出现细线状结构, 形成后口仔虫口围带原基区, 口原基逐渐加宽变长, 按照自前向后、自右至左的顺序组装成规则排列的小膜, 随后口围带原基成熟和弯曲, 形成后仔虫口围带 (图版 I: 7, 8; 图版 II: 9 ~ 13)。在口原基前部组装小膜的同时, 其右侧形成后仔虫波动膜原基, 随后逐渐发育成熟, 并在其前端分化出一根额棘毛, 即第一额棘毛 (图版 II: 11, 12)。

后仔虫口围带原基小膜组装近完成时, 老口围带翻颌部和老波动膜开始瓦解, 并在瓦解处发生新的原基, 发育分化成前仔虫口围带和波动膜 (图版 II: 11)。

额腹横棘毛: 在口围带原基发展成长带状

时,虫体腹面的第6~8根额棘毛和第1~3根腹棘毛开始瓦解,最初在后仔虫新口原基右前侧形成许多毛基体,随后组排成5列纵向的条索样的棘毛原基,此后原基断裂为3、3、3、4、4段,再经历迁移、长纤毛过程后发育为7根额棘毛、5根腹棘毛、5根横棘毛(图版II:9~11)。在后仔虫额腹横棘毛原基分段后,前仔虫老口围带右侧部分额棘毛继续开始瓦解,产生5条前仔虫额腹横棘毛原基,此后以与后仔虫相同的方式形成前仔虫额、腹、横棘毛。老额腹横棘毛是在新棘毛形成过程中逐渐瓦解被吸收的,至前后仔虫分离后,仍见残留的部分老额、腹棘毛和全部的横棘毛(图版II:14)。

左、右缘棘毛:前仔虫额腹横原基完成分段后,外侧右缘棘毛的前部和后部棘毛首先开始瓦解,于瓦解位置形成前、后右缘棘毛原基(图版II:12)。至前仔虫额腹横原基开始迁移时,所有左、右缘棘毛的前后部位置均发生瓦解,同时在瓦解位置产生原基,并伴随着老缘棘毛被吸收而向前后延伸,形成新的缘棘毛(图版II:13)。

3 讨 论

3.1 形态学及其科、属水平分类的分析 本文的纤毛虫其皮层纤毛模式和纤毛器基部微管的形态目前未见报道。新近的发生学资料表明,在发生过程中,是否具有多列缘棘毛是权值很高的性状之一,其代表了散毛亚目内一个独立类群所共享的特征^[3]。侧毛虫科与尖毛虫科的区别在于具有多列的缘棘毛,因此本纤毛虫明显属于侧毛虫科。

与之前报道过的纤毛虫相比,本文的纤毛虫棘毛基部附属微管存在一些不同特征,例如:贻贝棘尾虫(*Stylonychia mytilus*)^[9]的左缘棘毛的横微管束向右侧皮层伸展,凯氏异毛虫^[7]左缘棘毛横微管束向左侧皮层伸展,而本文的纤毛虫左缘棘毛横微管束极不发达。另外,该纤毛虫横棘毛基部前纵微管束向前方皮层伸展后并非汇聚至一点,与贻贝棘尾虫全部横棘毛基部前纵微管束汇聚至一点不同,而与凯氏异毛

虫^[7]相同。

同时,与应用蛋白银染色方法所显示的侧毛虫科纤毛虫柔软拟翁口虫^[4]的皮层纤毛模式相比,除本虫左缘棘毛恒为2列,右缘棘毛恒为3列外,口围带、波动膜、额腹横棘毛、左右缘棘毛、尾棘毛及背触毛的纤毛模式二者均一致,因此将本文的纤毛虫归为侧毛虫科拟翁口虫属。

3.2 纤毛器微管胞器的形态发生特征与其他纤毛虫的比较 本文的纤毛虫其口围带、波动膜及额腹横棘毛原基的发生模式与柔软拟翁口虫相同,为5原基发生式,分段为3、3、3、4、4,亦为典型的尖毛虫发生模式,但值得注意的是该种后仔虫口原基的发生起始于口围带基部后方与最后两根腹棘毛之间,与膜状急纤虫(*Tachysoma pellionella*)^[10]的口原基发生位置相同,而与柔软拟翁口虫^[4]发生于最后一根横棘毛左前侧的情况不同。

“多列缘棘毛”这一现象具有2种不同的起源方式和发生学含义,即多列缘棘毛来自多列缘棘毛原基,或是多列缘棘毛中仅有一列来自新的原基,其余来自未被“吸收”的老结构。其中,后一种起源方式属于较高等的衍化方式,在系统演化意义上更接近散毛亚目内的尖毛虫类,例如侧毛虫科中的锥口虫属的缘棘毛发生模式属于后者,即在发生过程中仅有一列缘棘毛原基出现,其余来源于老结构的残留^[3];但侧毛虫科中除锥口虫属外,其余5个属纤毛虫的缘棘毛皆为前一种起源方式,即多列缘棘毛来自多列缘棘毛原基,例如海尾柱虫^[5]、凯氏异毛虫^[11],棘毛原基发生于最外侧右缘棘毛的右侧和最内侧左缘棘毛的右侧,而老缘棘毛暂不瓦解,且前者的新缘基列数目与老缘棘数目无直接联系;凯氏侧毛虫^[6]、柔软拟翁口虫^[4]中最外侧缘棘毛的前、后部缘棘毛瓦解,于棘毛瓦解位置产生原基,随后一系列原基分成为两列原基。而本文的纤毛虫缘棘毛的发生方式亦与前者相同,即起始于最外侧右缘棘毛,且每列老缘棘毛的前、后部棘毛都瓦解,并在相应位置产生的新棘毛不断延伸代替老棘毛。

根据上述的形态及形态发生特征,将本文的纤毛虫归入侧毛虫科拟翁口虫属。但该纤毛虫的形态发生模式与柔软拟翁口虫又存在着不同的特点,因此推测本文涉及的纤毛虫与柔软拟翁口虫可能为拟翁口虫属的不同种。在侧毛虫科中,侧毛虫属以及相近属,其属间划分及系统学关系迄今没有得到详细的清理。主要原因是对这些形态相近的类群之个体形态发生过程仍不十分清楚^[3]。本文的结果可为侧毛虫科纤毛虫的形态发生及其属间划分提供进一步的资料。

参 考 文 献

- [1] Berger H. Monograph of the Oxytrichidae (Ciliophora, Hypotrichida). London: Kluwer Academic Publishers, 1999: 102–766.
- [2] 施心路. 下毛目纤毛虫的系统修订Ⅲ. 散毛亚目: 游仆亚目(纤毛动物门). 动物分类学报, 2000, 25: 9–25.
- [3] 王梅, 朱明壮, 宋微波, 等. 侧毛虫科系统关系的讨论与属级定义的重厘订(纤毛门, 腹毛目). 青岛海洋大学学报, 2002, 32(3): 375–379.
- [4] Petz W, Foissner W. Morphology and morphogenesis of *Lamostyla edaphoni* Berger and Foissner and *Onychodromopsis flexilis* Stokes, two hypotrichs (Protozoa: Ciliophora) from Antarctic soils. Acta Protozool, 1996, 35(4): 257–280.
- [5] Song W. Morphology and morphogenesis of the marine ciliate *Ponturostyla enigmatica* (Dragesco & Dragesco-Kernéis, 1986) Jankowski, 1989 (Ciliophora, Hypotrichida, Oxytrichidae). Eur J Protistol, 2001, 37: 181–197.
- [6] Gupta R, Arora S, Sapra G R, et al. *Pleurotricha curdsi* (Shi, Warren and Song 2002) nov. comb. (Ciliophora: Hypotrichida): morphology and ontogenesis of an Indian population; redefinition of the genus. Eur J Protistol, 2003, 39: 275–285.
- [7] 高巍, 史磊, 顾福康. 异毛虫 (*Allotricha curdsi*) 皮层纤毛器基部微管的荧光标记. 复旦学报: 自然科学版, 2007, 46(6): 976–980.
- [8] 何兰, 曾红, 沈洁, 等. FLUTAX 法显示纤毛虫微管胞器的改良. 动物学杂志, 2006, 41(3): 59–61.
- [9] 曾红, 倪兵, 顾福康. 原生动物贻贝棘尾虫微管胞器的荧光标记与显示. 动物学杂志, 2006, 41(4): 71–76.
- [10] 张作人, 庞延宾, 顾福康. 急纤虫 (*Tachysoma pellationella*) 无性生殖周中核器和纤毛器的演化. 动物学研究, 1984, 5(2): 189–200.
- [11] 鲍小娟, 倪兵, 顾福康, 等. 异毛虫 (*Allotricha curdsi*) 的形态及形态发生的扫描电镜观察. 复旦学报: 自然科学版, 2007, 46(6): 981–991.

图版 I 说明

1. 拟翁口虫腹面微管胞: AZM-C. 口围带领部; AZM-L. 口围带翻领部; UM. 波动膜; FC. 额棘毛; VC. 腹棘毛; TC. 横棘毛; LMC. 左缘棘毛; RMC. 右缘棘毛。2. 腹皮层基部微管: LMBM. 左缘棘毛基部微管; RMBM. 右缘棘毛基部微管; TBM. 横棘毛基部微管; a. 缘棘毛前纵微管束; b. 缘棘毛后纵微管束; c. 缘棘毛横微管束。3. 口纤毛器和额棘毛基部微管: a. 口围带小膜托架; b. 口皮层肋壁微管; PLM. 额棘毛基部后纵微管束; UBM. 波动膜基部微管。4. 横棘毛基部前纵微管束(箭头所示)。5. 尾棘毛(箭头所示)。6. 背面背触毛, 其中左侧3列贯穿细胞全长(箭头所示)。7. 早期后仔虫口围带原基(箭头所示)。8. 后仔虫口原基开始组装小膜(箭头所示)。标尺=10 μm。

Explanation of Plate I

1. Microtubular organelles of ventral cortex of *Onychodromopsis* sp.: AZM-C. Collar region of adoral zone of membranelles, AZM-L. Lapel region of adoral zone of membranelles, UM. Undulating membranes, FC. Frontal cirri, VC. Ventral cirri, TC. Transverse cirri, LMC. Left marginal cirri, RMC. Right marginal cirri. 2. Based-associated microtubules of ventral cortex: LMBM. LMC base microtubules, RMBM. RMC base microtubules, TBM. TC base microtubules, a. MC anterior longitudinal microtubules (ALM), b. MC posterior longitudinal microtubules (PLM), c. MC transverse microtubules (TM). 3. Oral ciliature base microtubules and FC base microtubules: a. membranelle brackets in AZM-L, b. oral rib-wall microtubules, PLM. FC base posterior longitudinal microtubules, UBM. UM base microtubules. 4. ALM. TC base anterior longitudinal microtubules (arrow). 5. Caudal cirri (arrow). 6. Dorsal Kinety (DK), the 3 ante-DK almost as long as body (arrow). 7. Early stage of AZM primordium (AZMP) of opisthe (arrow). 8. AZMP of opisthe beginning to assemble

membranelles. Bar = 10 μm .

图版 II 说明

9. 部分额棘毛和腹棘毛瓦解,形成后仔虫额腹横棘毛原基(箭头所示)。10. 5 列额腹横棘毛原基(箭头所示)。11. a. 前仔虫波动膜原基瓦解; b. 前仔虫口围带瓦解,组装成新的小膜;大箭头示后仔虫额腹横棘毛原基断裂为 3、3、3、4、4 段。12. 小箭头示外侧右缘棘毛的前部和中后部棘毛开始瓦解,并于瓦解处形成前、后右缘棘毛原基;大箭头显示波动膜原基前端分化出一根额棘毛。13. 左、右缘棘毛的前后部位置均发生瓦解,同时在瓦解位置产生原基(箭头所示)。14. a. 前仔虫中残留的老额棘毛; b. 后仔虫中残留的老横棘毛。标尺 = 10 μm 。

Explanation of Plate II

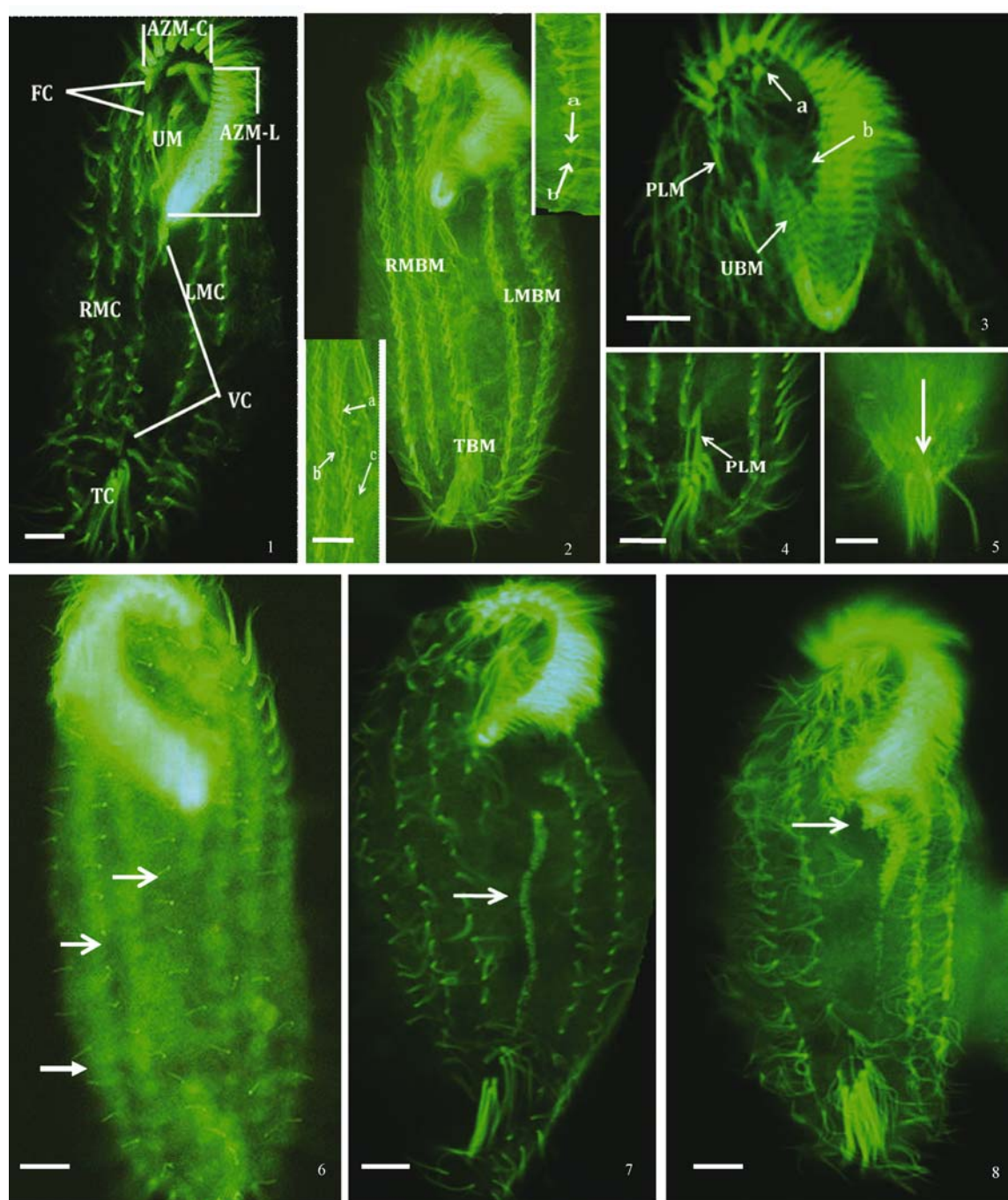
9. Partially LMC & RMC disaggregates, forming opisthe's LMC & RMC Primordia (LMCP & RMCP). 10. 5 FVTC Primordia of opisthe (arrow). 11. a. UM of proter disaggregate, b. AZM of proter disaggregate, forming new membranelles renew, FVT primordial (FVTP) of opisthe break into small fragment with patterns of 3,3,3,4,4 (big arrow). 12. Outer RMC disaggregate, forming RMC Primordial (small arrow), Differentiation of UM primordial, forming 1 FC (big arrow). 13. The old MC of the proter and opisthe disaggregate, forming LMC & RMC primordial (RMCP & LMCP), and further expanded RMCP & LMCP (arrow). 14. a. The conserved old FC of proter, b. The conserved old TC of opisthe. Bar = 10 μm .

俞丽丽等：拟翁口虫形态学及形态发生学现象的初步研究

图版 I

YU Li-Li *et al.* : Study on the Morphology and Morphogenesis of *Onychodromopsis* sp.
(Ciliophora, Hypotrichida)

Plate I



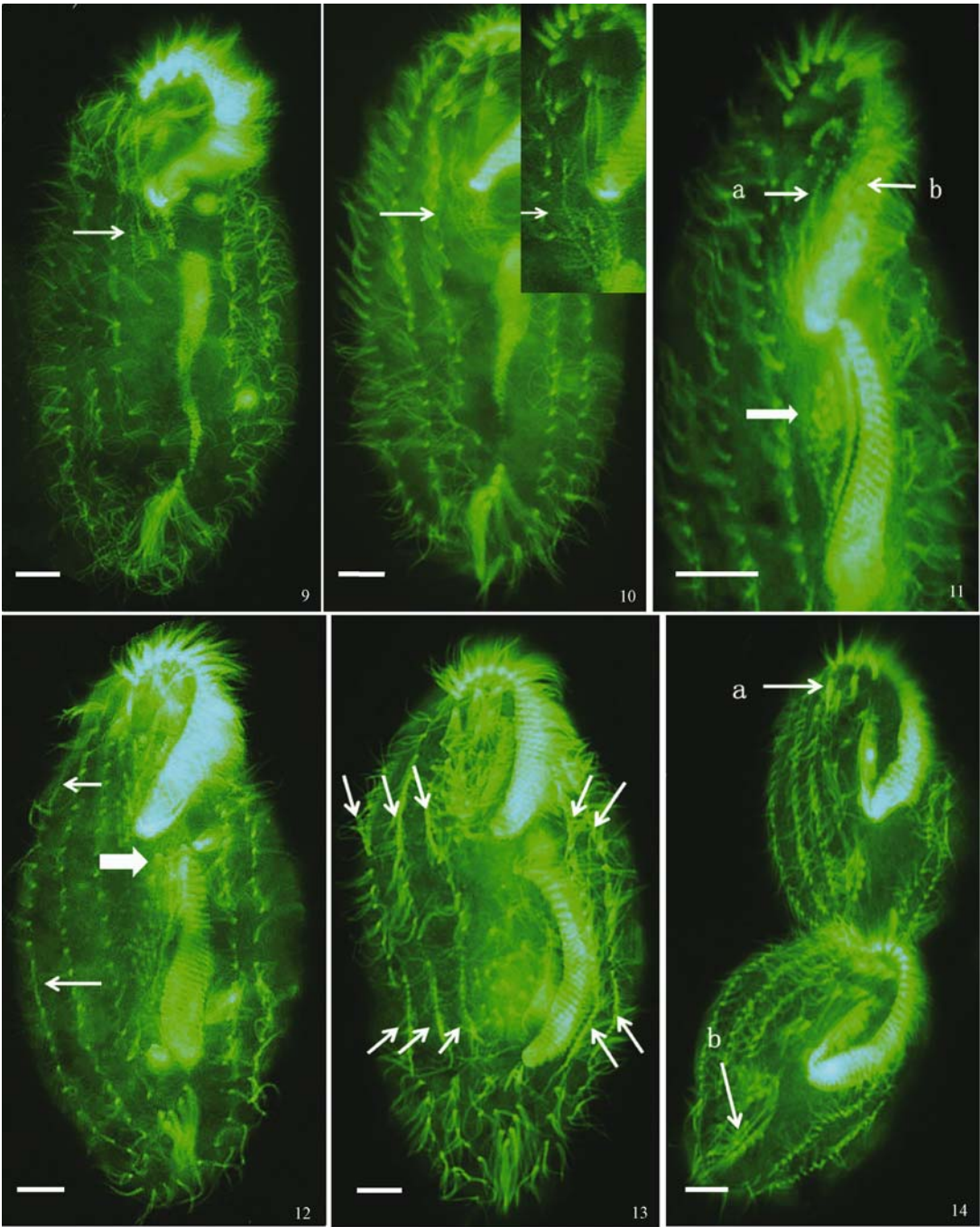
图版说明见文后

俞丽丽等:拟翁口虫形态学及形态发生学现象的初步研究

图版 II

YU Li-Li *et al.* : Study on the Morphology and Morphogenesis of *Onychodromopsis* sp.
(Ciliophora, Hypotrichida)

Plate II



图版说明见文后