

沼泽瘦尾虫皮层纤毛器及其附属微管的观察

张萌 林钦 余齐耀 顾福康*

华东师范大学生命科学学院 上海 200062

摘要:应用扫描电镜技术、荧光紫杉醇直接荧光标记显示了腹毛目纤毛虫沼泽瘦尾虫(*Uroleptus limnetis*)的细胞形态和皮层纤毛器的组成模式,以及皮层口围带、额腹横棘毛、左右缘棘毛等纤毛器微管和纤毛器附属微管的建构特征,可为进一步阐明瘦尾虫类纤毛虫的形态学及其系统发育研究提供基础资料。

关键词:腹毛目纤毛虫;沼泽瘦尾虫;皮层纤毛器;纤毛器附属微管

中图分类号:Q952 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3263(2012)02-67-06

Observations on the Cortical Ciliature and Ciliature Base-associated Microtubules of *Uroleptus limnetis*

ZHANG Meng LIN Qin YU Qi-Yao GU Fu-Kang*

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

Abstract: The morphology of the hypotrichous ciliate *Uroleptus limnetis* and the organization pattern of its cortical ciliature were revealed by using scanning electron microscopy and direct fluorescent labelling of FLUTAX. The ventral cortical ciliature was composed of adoral zone of membranelles (AZM), undulating membranes (UM), frontal-ventral-transverse cirri (FVTC), left and right marginal cirri (LMC, RMC), and the base-associated microtubules were visualized. The results useful for further clarifying the morphology of *Uroleptus* and the research of phylogenetics.

Key words: Hypotrichous ciliate; *Uroleptus limnetis*; Cortical ciliature; Base-associated microtubules

腹毛目纤毛虫瘦尾虫(*Uroleptus*)细胞呈长梭形,前端略宽,后端较尖。腹部扁平,背部隆起明显,具有细长的尾部。因其细胞细长而柔软,在显示细胞结构的过程中易发生断裂、变形的情况,很难得到结构完整的标本。因其结构较难显示及分类地位复杂,对其系统发生地位也存在着很大争议。自1831年Ehrenberg建立这个属以来,Borror于1972年将其归属于尾柱亚目全列虫科^[1],Borror等将瘦尾虫属分属于尾柱虫科全列虫亚科^[2],Corliss 1979年也将其置于全列虫科^[3],其中很多分类阶元的相对位置又较Borror的有很大区别和变化。此后Chen等^[4]、Foissner等^[5]应用SSU rRNA技术分别显示,瘦尾虫与尾柱虫类的代表种又有许多不同。本文应用荧光紫杉醇直接标记法和扫

描电镜技术显示了沼泽瘦尾虫(*U. limnetis*)的皮层纤毛器和纤毛器基部附属微管的形态特征,所得结果不仅对进一步说明瘦尾虫类纤毛虫的形态学提供了资料,并对该类纤毛虫的系统发育研究也是有意义的。

1 材料与方法

1.1 材料 沼泽瘦尾虫于2010年5月采自上海市松江区佘山,分离后,应用麦粒发酵液培养

基金项目 国家自然科学基金项目(No. 31172042);

* 通讯作者, E-mail: fkgu@bio.ecnu.edu.cn;

第一作者介绍 张萌,男,硕士研究生;研究方向:原生动植物细胞与分子生物学; E-mail: jiatangbiao1987@163.com。

收稿日期:2011-10-27,修回日期:2012-01-04

的细菌为饵料,建立纯系培养。待纤毛虫生长到较高密度时,采用非分裂期细胞作为实验材料。

1.2 方法

1.2.1 荧光紫杉醇(FLUTAX)直接荧光标记

采用本实验室改进的 FLUTAX 法^[6],主要步骤为:①将材料放入 0.5% 的皂苷中渗透 1 min,用 PHEM 清洗一次;②将渗透后的细胞放入 4% 的多聚甲醛中固定 30 s,PHEM 清洗一次并将细胞转移至涂有多聚赖氨酸的载玻片上;③ 0.1% 的 Triton X-100 处理 30 s,PHEM 清洗一次;④ 1 $\mu\text{mol/L}$ FLUTAX-2 染色 10 min,0.01 mol/L 的 PBS 漂洗,盖片。Olympus BX 荧光显微镜观察,Cool SNAP-Pro 数码相机照相。

1.2.2 扫描电镜样品制备与观察

扫描电镜样品制备按顾福康等的方法^[7]作少许修改,收集生长状态较好的虫体,用过滤水清洗后固定,固定液为 1% 的锇酸与升汞溶液按 1:6 混合而成,固定时间为 3 ~ 5 min;0.1 mol/L 的 PBS 缓冲液清洗 3 次,每次 5 min;梯度乙醇脱水后,转入醋酸异戊酯;经临界点干燥,装台喷金制得样品,在 JXA-840 扫描电子显微镜下观察、拍照。

2 结果

2.1 细胞形态和皮层纤毛器

沼泽瘦尾虫活体长 160 ~ 180 μm ,宽约为长的 1/6。细胞后部形成细长的尾部,其显著偏向胞体右后方伸展,约占体长的 1/4。腹面中部内凹,背部有明显的隆起(图版 I:1,2)。背面皮层纤毛器中,背触毛多列,其中可见 3 列纵贯体全长的尾棘毛 3 根,但不易辨别(图版 I:2)。

腹面皮层纤毛器(图版 I:1)中,口围带呈问号形,位于细胞前端,起始于细胞长轴的二分之一处,向左前侧弯曲伸展,终止于虫体的右前部,由 45 ~ 48 片小膜组成,每片小膜均由 2 ~ 4 片呈线状排列在一起的纤毛组成,其前部和后部小膜较窄,中部小膜较宽;位于口围带右侧的波动膜包括口内膜和口侧膜各一片,两片膜呈平行排列,这与很多纤毛虫中所见的波动膜交叉排列不一样(图版 I:3)。额棘毛 3 根,斜线

状排列在额区前端,其中左侧的 2 根额棘毛较靠近,两者与右侧的 1 根额棘毛形成“2 + 1”的排列模式(图版 I:4);中腹棘毛 2 列,由约 23 对棘毛组成,棘毛间呈典型的“zigzag”拉链形,从皮层中部前端延续到体后部(图版 I:5);横棘毛有 4 根,其前部 1 根,和后部斜向排列的 3 根呈对号形的“1 + 3”排列(图版 I:6)。左、右缘棘毛各 1 列,分别含约 26 ~ 29 和 28 ~ 31 根棘毛,两列棘毛在尾端汇合到一起(图版 I:1)。

2.2 纤毛器基部附属微管

2.2.1 口围带与波动膜

口围带领部和翻颌部小膜基部含小膜托架,在每个小膜托架内侧向皮层深部发出两束微管,形成倒“V”字形结构(图版 II:1)。各个小膜发出的倒“V”形微管束相互联系及交叉,形成口皮层肋壁微管网(图版 II:2)。

2.2.2 额腹横棘毛基部附属微管

额腹横棘毛基部向皮层内不同方向发出的微管束,分别向左前方皮层、右后方皮层及皮层内横向伸展,形成前纵微管束、后纵微管束、横微管束。其中,额棘毛前纵微管束发达,其与横微管束、后纵微管束一起在皮层深部连接成一个交错的网状结构;中腹棘毛列前纵微管束不发达,后纵微管束较粗大,横微管束较细长(图版 II:3);横棘毛前纵微管束于棘毛基部前端相交于一点并成三角形结构,后纵微管束不发达。

2.2.3 左、右缘棘毛

左缘棘毛前纵微管束较粗壮,后纵微管束短而细,横微管束较为细长(图版 II:4);右缘棘毛前纵微管束发达,后纵微管束较短,横微管束较左缘棘毛同种微管束粗大(图版 II:5,6)。

3 讨论

3.1 瘦尾虫种的说明

在瘦尾虫的分类中,虫体的形态与大小、口围带的构形及其小膜数、额腹横棘毛的数目及排列方式、缘棘毛和背触毛的列数,以及伸缩泡的位置和大核的形态等各项特征,都可以作为种类鉴定的表征^[8-10]。联系相关形态学特征的观察,本文所涉的纤毛虫身体呈流线形,尾部细长,额棘毛 3 根,呈“2 +

1”排列,中腹棘毛两列,呈 zigzag 拉链形排列,横棘毛 4 根,呈“1+3”排列,左、右缘棘毛各一列,这与沼泽瘦尾虫^[11]的基本特征非常吻合,故定为本种。

3.2 瘦尾虫的皮层纤毛器及其基部微管的结构特征 由于瘦尾虫属中腹棘毛列棘毛也具有典型的 zigzag 排列方式,一直被认为是尾柱虫类纤毛虫^[12-14]。尽管瘦尾虫与大尾柱虫(*Urostyla grandis*)^[15]具有一些相似的地方,如两者的中腹棘毛基部附属微管中,都是前纵微管束发达,横微管束相对短小,中腹棘毛列都是 zigzag 模式排列等。值得注意的是,与大尾柱虫相比,瘦尾虫棘毛基部附属微管也有一些明显不同的特征,例如,大尾柱虫全部的额棘毛基部附属微管呈倒置的“琵琶弦”结构,十分发达,而瘦尾虫的额棘毛数目只有 3 根,且附属微管不发达;大尾柱虫左、右缘棘毛基部附属微管的定向与其中腹棘毛基部微管相一致,因此彼此很难区分,而瘦尾虫左、右缘棘毛基部附属微管定向明显不同,且左缘棘毛横微管束明显不如右缘棘毛横微管束发达;同大尾柱虫相比,瘦尾虫的额棘毛的数目和左、右缘棘毛的列数更少。与尖毛虫科纤毛虫如贻贝棘尾虫(*Stylonychia mytilus*)^[16]相比,瘦尾虫口围带占细胞比例较小,皮层棘毛基部附属微管没有发生结构的进一步简化和聚合,由此可见,瘦尾虫在系统发育上很可能不属于尾柱类,但是否与尖毛虫类更接近还有待进一步的比较研究。

由于瘦尾虫体细长,尤其是尾部在处理时极易变形和断开,很难显示其整体结构及尾部局部结构,本文所得结果可为进一步阐明瘦尾虫类纤毛虫的形态及其系统发育研究提供基础资料。

参 考 文 献

- [1] Borror A C. Revision of the order Hypotrichida (Ciliophora, Protozoa). *J Protozool*, 1972, 19(1): 1-23.
- [2] Borror A C, Wicklow B J. The suborder Urostylina Jankowski (Ciliophora, Hypotrichida): morphology, systematics and identification of species. *Acta Protozool*, 1983, 22: 97-126.
- [3] Lynn D H. *The Ciliated Protozoa: Characterization, Classification, and Guide to the Literature*. Oxford, New York, Toronto, Sydney, Paris, Frankfurt: Pergamon Press, 1979.
- [4] Chen Z G, Song W B. Phylogenetic positions of *Uronychia transfuga* and *Diophrys appendiculata* (Euplotida, Hypotrichia, Ciliophora) within hypotrichous ciliates inferred from the small subunit ribosomal RNA genes sequences. *European Journal of Protistology*, 2001, 37(3): 291-301.
- [5] Foissner W, Moon-van der Staay S Y, van der Staay G W M, et al. Reconciling classical and molecular phylogenies in the stichotrichines (Ciliophora, Spirotrichea), including new sequences from some rare species. *Europ J Protistol*, 2004, 40(4): 265-281.
- [6] 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): 56-61.
- [7] 顾福康, 倪兵. 原生动物扫描电镜样品制备方法的探讨. *电子显微学报*, 1993, (6): 525-529.
- [8] Martin J, Fedriani C, Nieto J. étude comparée des processus morphogénétiques d' *Uroleptus* sp. (Kahl, 1932) et de *Holosticha* (*Paruroleptus*) *musculus* (Kahl, 1932) (Ciliés, hypotriches). *Protistologica*, 1981, 17: 215-224.
- [9] Olmo J L. Morphology and morphogenesis of *Uroleptus lepisma* (Wenzel, 1953) Foissner, 1998 (Ciliophora, Hypotrichida). *Europ J Protistol*, 2000, 36(4): 379-386.
- [10] Eigner P. Divisional morphogenesis in *Uroleptus caudatus* (Stokes, 1886), and the relationship between the Urostylidae and the Parakahliliellidae, Oxytrichidae, and Orthoamphisiellidae on the basis of morphogenetic processes (Ciliophora, Hypotrichida). *J Euk Microbiol*, 2001, 48(1): 70-79.
- [11] Brian M B. Four New Species of Fresh-Water Ciliates from New Zealand. *Zoology Publications from Victoria University of Wellington*, 2002: 62-67.
- [12] Jankowski A W. Revision of the order Hypotrichida Stein, 1859. *Generic catalogue, phylogeny, taxonomy*. *Trudy Zool Inst, Leningr*, 1979, 86: 48-85.
- [13] Patrick R. A study of the numbers and kinds of species found in rivers in eastern United States. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia*, 1961, 113: 43-48.
- [14] Lynn D H. *The Ciliated Protozoa: Characterization, Classification, and Guide to the Literature*. Heidelberg: Springer, 2008: 66-70.
- [15] 刘兰侠, 余齐耀, 俞丽丽, 等. 腹毛目纤毛虫大尾柱虫腹皮层纤毛器基部微管的荧光标记. *四川动物*, 2010, 29(4): 576-579.
- [16] 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.

图版 I 说明

沼泽瘦尾虫扫描电镜照片

1. 细胞腹面整体观,由前至后箭头分别为额棘毛(FC)、口围带(AZM)、中腹棘毛(FVTC)、左右缘棘毛(LMC和RMC)、横棘毛(TC)等皮层纤毛器;2. 背面整体观,箭头为背触毛(DK)结构;3. 口器局部,箭头为小膜;4. 箭头示额棘毛;5. 中腹棘毛列局部,箭头为中腹棘毛;6. 细长尾部局部放大,箭头示横棘毛。

Explanation of Plate I

Photographs of *Uroleptus limnetis* taken by using Scanning Electron Microscopy

1. Microtubular organelles in the ventral cortex of *U. limnetis*. The arrows separately show adoral zone of membranelles (AZM), undulating membranes (UM), frontal-ventral-transverse cirri (FVTC), left and right marginal cirri (LMC, RMC); 2. Dorsal cortex of *U. limnetis*. The arrow shows dorsal kineties; 3. Oral ciliature base-associated microtubules. The arrow shows membranelle-base associated microtubules of AZM; 4. The arrow shows frontal cirri (FC); 5. The arrow shows ventral cirri; 6. The arrow shows transverse cirri.

图版 II 说明

沼泽瘦尾虫经 FLUTAX 直接荧光后的显微照片

1. 腹面纤毛器基部附属微管; 2. 口围带基部附属微管(箭头所指为口围带基部小膜托架和倒V形微管束); 3. 中腹棘毛列基部附属微管; 4. 左缘棘毛基部附属微管; 5. 右缘棘毛前纵微管束、后纵微管束和横微管束; 6. 右缘棘毛基部附属微管。图1标尺为20 μm; 图2、3、4、6标尺为5 μm; 图5标尺为10 μm。ALM:前纵微管束; PLM:后纵微管束; TM:横微管束

Explanation of Plate II

Photographs of *U. limnetis* taken by using direct fluorescent labelling of FLUTAX

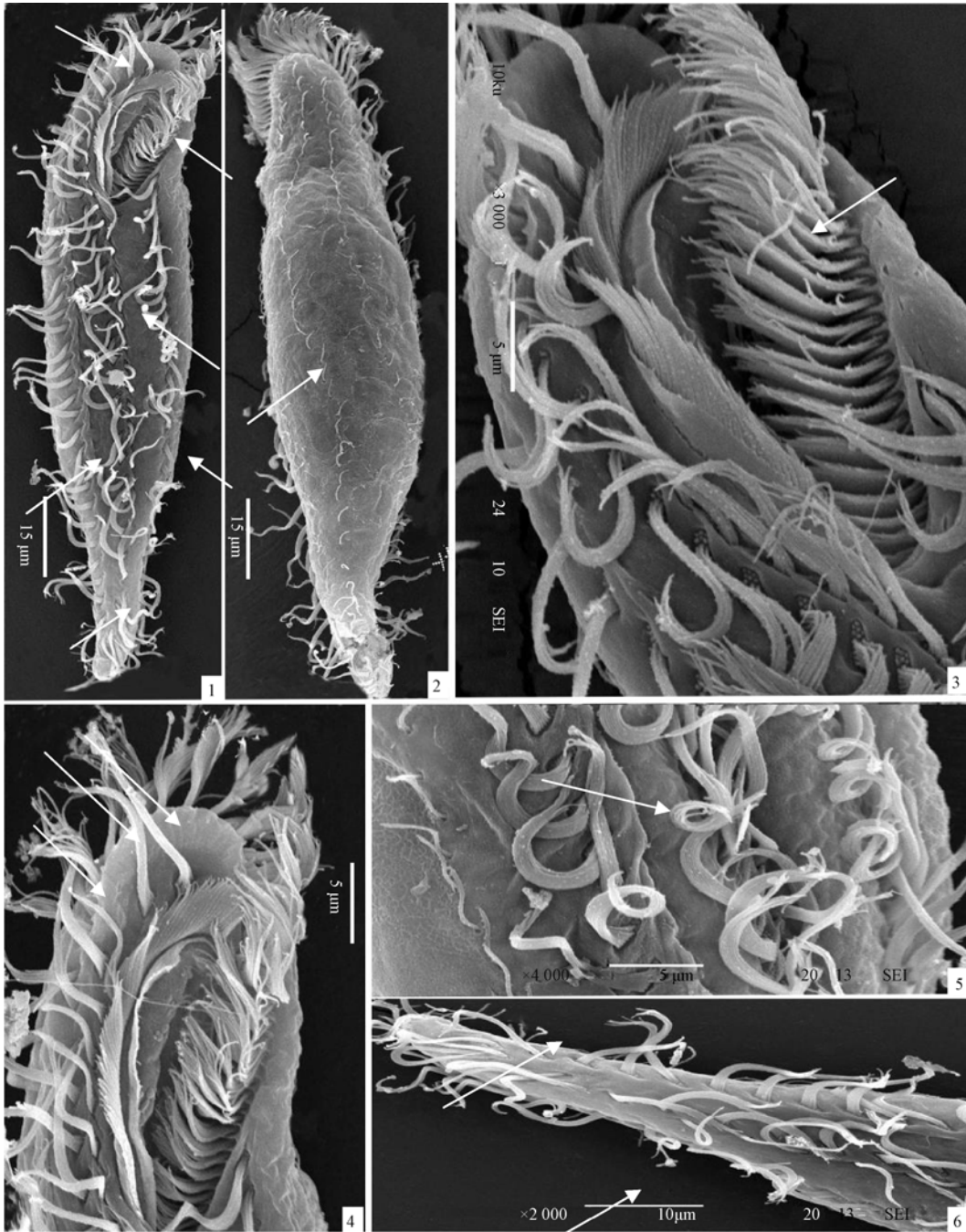
1. Base-associated microtubules in the ventral cortex of *U. limnetis*. 2. Base-associated microtubules in adoral zone of membranelles (AZM). The arrows show membranelle of AZM and V-shape microtubules. 3. Base-associated microtubules in ventral cirri. 4. Base-associated microtubules in left marginal cirri. 5. The anterior longitudinal microtubules (ALM), posterior longitudinal microtubules (PLM) and transverse microtubules (TM) in right marginal cirri. 6. Base-associated microtubules in right marginal cirri. Bars: 20 μm (Fig. 1), 5 μm (Fig. 2, 3, 4 and 6), and 10 μm (Fig. 5).

张 萌等:沼泽瘦尾虫皮层纤毛器及其附属微管的观察

图版 I

ZHANG Meng *et al.*: Observations on the Cortical Ciliature and Ciliature Base-associated Microtubules of *Uroleptus limnetis*

Plate I



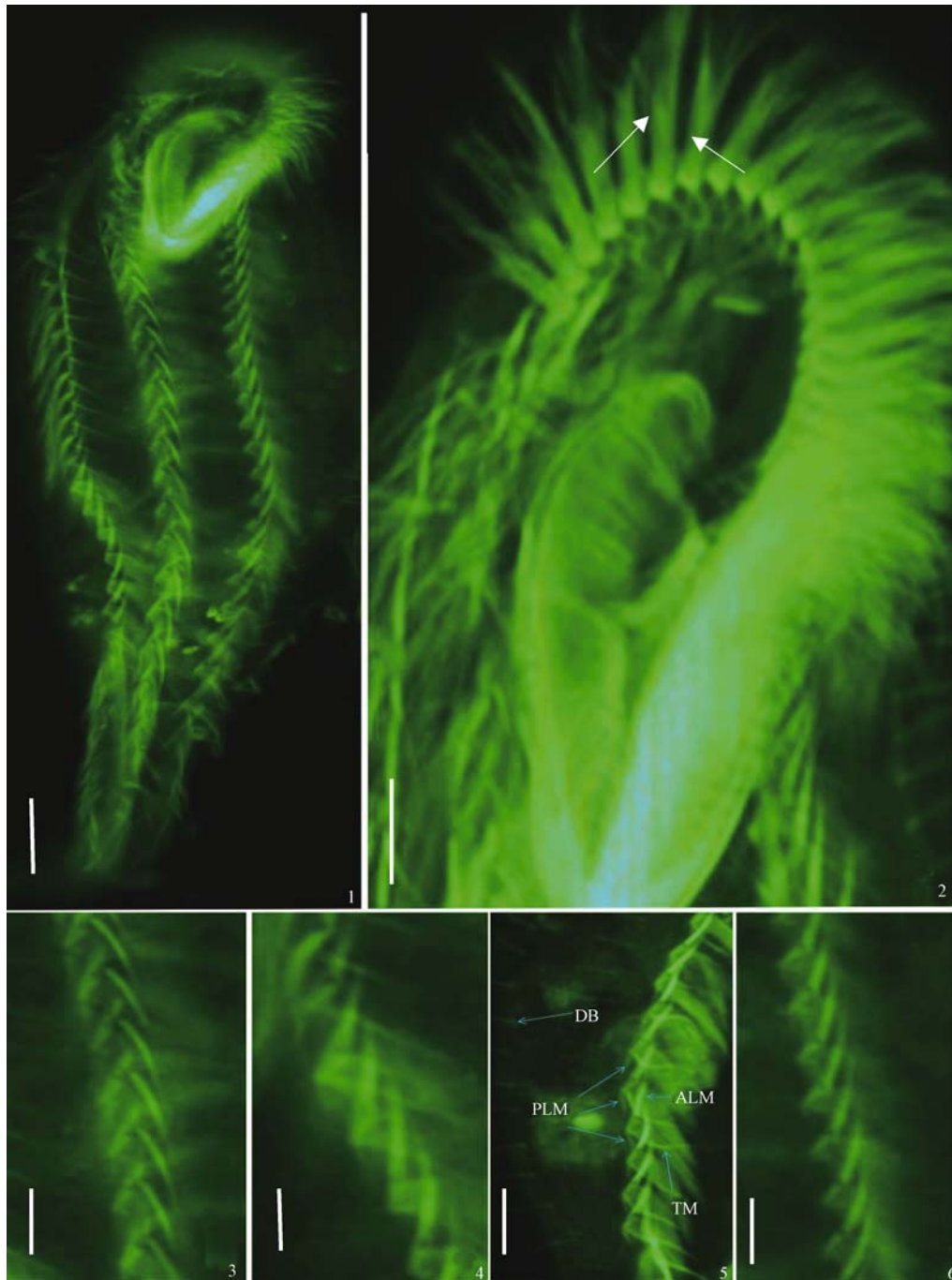
图版说明见文后

张 萌等:沼泽瘦尾虫皮层纤毛器及其附属微管的观察

图版 II

ZHANG Meng *et al.*: Observations on the Cortical Ciliature and Ciliature Base-associated
Microtubules of *Uroleptus limnetis*

Plate II



图版说明见文后