

探索·发现

纤毛虫念珠异列虫射出胞器的超微结构观察

张小翠 翟羽佳 倪兵* 顾福康

(华东师范大学生命科学学院, 上海 200062)

摘要 应用扫描电镜术和透射电镜术显示, 纤毛虫念珠异列虫(*Anteholosticha monilata*)的射出胞器早期发生在细胞质深处, 附近有不同类型的囊泡结构。成熟后射出胞器向表膜迁移, 结构由不同电子密度片层的体部、结晶状的中心轴杆部和多层膜的帽部组成。受外界刺激时胞器冲破皮层射出, 形态呈“蘑菇”状。据上述观察结果推测: 该射出胞器具有防御作用, 它可能起源于高尔基体活动产生的小泡; 在亲缘关系较近的纤毛虫中, 其射出胞器可能具有相似的分化特征。

关键词 纤毛虫; 念珠异列虫; 射出胞器; 扫描电镜术; 透射电镜术

原生动物有一类与细胞防御、捕食和攻击等相联系的特殊细胞器, 即射出胞器(extrusome)。深入观察阐明这类胞器的结构、起源与发生, 对进一步认识原生动细胞结构的分化及其细胞生命活动中结构与功能的关系等问题具有重要意义。目前, 对较低等膜口类纤毛虫的射出胞器如草履虫(*Paramecium*)的刺丝泡和四膜虫(*Tetrahymena*)的粘液泡等^[1-2]研究较为深入, 但对细胞结构高度分化的腹毛类纤毛虫射出胞器的研究仅限于少数种类^[6-9]。本文在腹毛类纤毛虫念珠异列虫中也观察到了射出胞器, 并对该胞器的分布、结构、发生及射出过程进行了探索。

1 材料与方 法

1.1 材料

所用材料(念珠异列虫)于2010年3月采自浙江省杭州市西湖内, 经分离后以麦粒液发酵获得的细菌为食料进行纯系培养。

1.2 方法

按顾福康等^[3]报道的方法制备扫描电镜样本。1%锇酸和饱和升汞溶液按1: 6的比例固定样本, 梯度酒精脱水之后, 进行临界点干燥、离子溅射仪喷金, JSM-5610LV扫描电镜下观察并照相。

透射电镜标本制备按顾福康等^[4]的方法并稍作修改。用2.5%戊二醛和2%锇酸先混合固定5 min, 再用1%锇酸固定60 min, 经常规脱水包埋、超薄切

片、电子染色后, JEM-2100透射电镜下观察并照相。

2 结果

2.1 扫描电镜观察

念珠异列虫背腹扁平, 长100~120 μm , 宽25~35 μm 。在细胞腹面, 口区的口围带由35~40片小膜组成, 波动膜含口内膜和口侧膜各1片。此外, 在波动膜右侧有1根口棘毛和2根迁移棘毛。额-腹-横棘毛中, 额棘毛约20根, 前3根单列存在较为粗壮, 其后端与平行排列成“zig-zag”形的中腹棘毛相接续; 横棘毛中1根棘毛和另外6根棘毛呈“ \checkmark ”方式排布; 缘棘毛中, 左、右缘棘毛各1列(图1A)。在细胞背面, 4或5列背触毛纵贯胞体全长(图1B)。

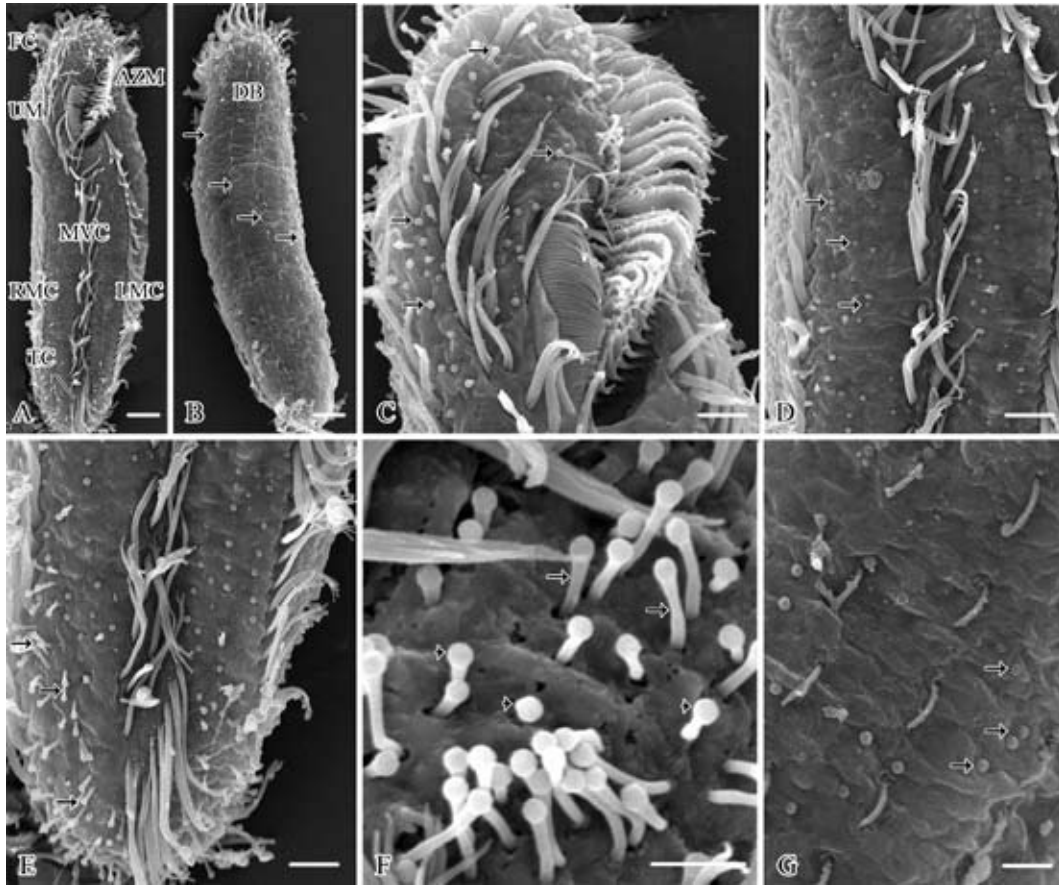
在念珠异列虫的背、腹皮层表面含有以不同密度分布的颗粒, 即射出胞器的射出结构。其中, 在细胞腹面前、后端, 尤其在口围带、额棘毛和横棘毛附近, 胞器射出结构较为集中(图1C和图1E); 在中腹棘毛列两侧与左、右缘棘毛之间, 该胞器的射出结构各成3~4列排布, 但在中腹棘毛列之间未观察到同种结构(图1D); 在背面, 胞器射出结构在背触毛附近松散分布(图1G)。进一步放大显示, 胞器射出结构呈“蘑菇”状, 由一个长度不同的杆部和一个球形头部组成, 这可能与它们处于不同的射出状态有关(图1F)。

收稿日期: 2011-10-23

接受日期: 2011-11-16

国家自然科学基金(No.31172042)资助项目

*通讯作者。Tel: 021-62233385, E-mail: bni@bio.ecnu.edu.cn



A: 纤毛虫腹面观(AZM: 口围带; UM: 波动膜; FC: 额棘毛; MVC: 中腹棘毛; TC: 横棘毛; LMC: 左缘棘毛; RMC: 右缘棘毛); B: 纤毛虫背面观(DB: 背触毛; 箭头示背触毛); C: 胞器射出结构在细胞前端呈不规则分布(箭头示); D: 胞器射出结构在中腹棘毛与缘棘毛之间纵向分布(箭头示); E: 胞器射出结构在细胞后端集中分布(箭头示); F: “蘑菇”样射出结构(短箭头示球形头部, 长箭头示杆状结构); G: 胞器射出结构在背面松散分布(箭头示)。A, B: 标尺=10 μm ; C~G: 标尺=2 μm 。

A: ventral view (AZM: adoral zone of membranelles; UM: undulating membranes; FC: frontal cirri; MVC: middle ventral cirri; TC: transverse cirri; LMC: left marginal cirri; RMC: right marginal cirri); B: dorsal view (DB: dorsum bristle; arrows); C: the extruded structures distributed randomly in the front (arrows); D: the extruded structures distributed in cortical region between MVC and MC (arrows); E: the extruded structures concentrated in the back (arrows); F: mushroom-shaped extruded structures, they consisted of a spheroid apical part (arrowheads) and a rod-like stem (arrows); G: dorsal side showing the extruded structures distributed randomly (arrows). A, B: bar=10 μm ; C~G: bar=2 μm .

图1 念珠异列虫的扫描电镜观察

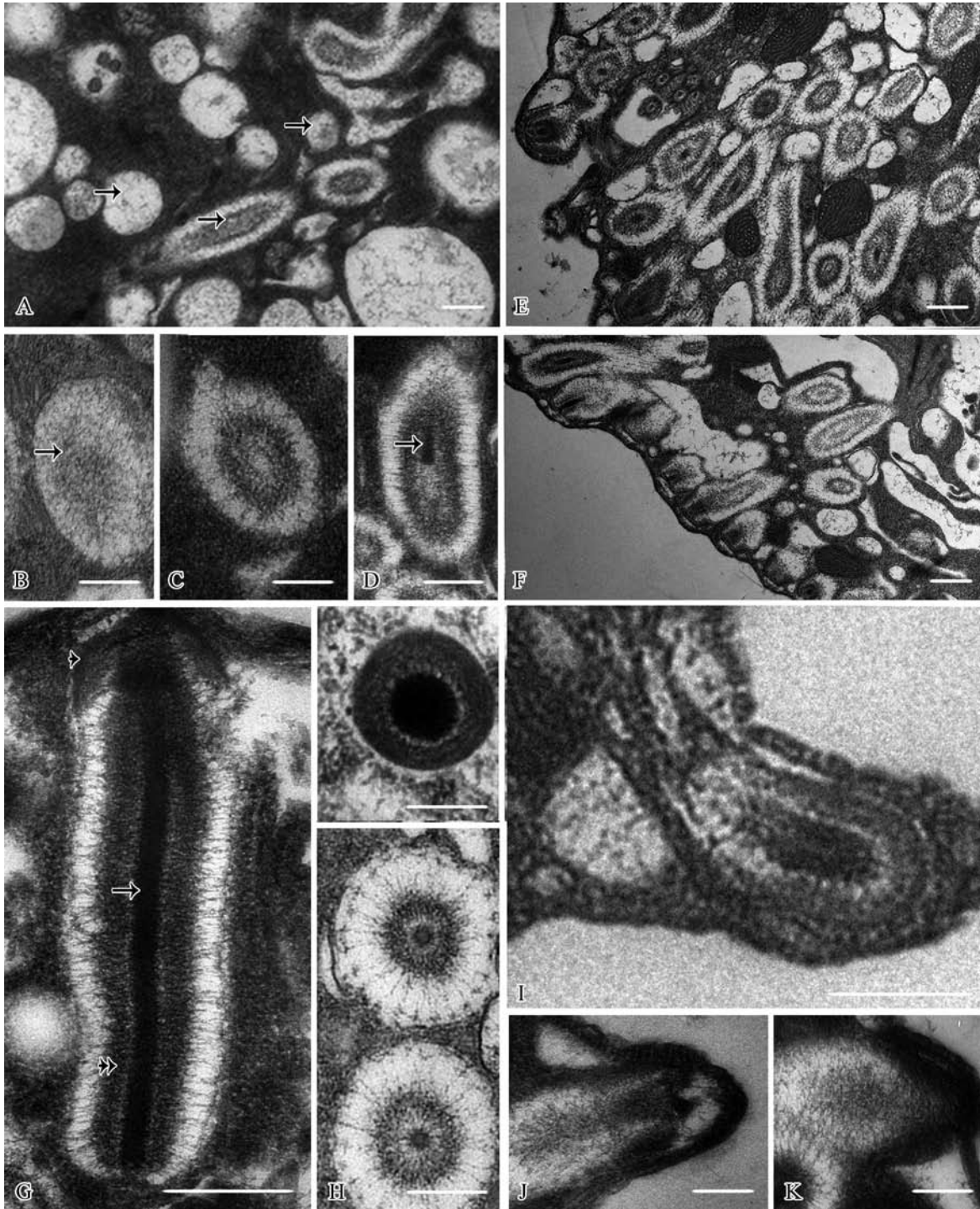
Fig.1 SEM observations of *A. monilata*

2.2 透射电镜观察

念珠异列虫细胞内, 细胞核、线粒体及不同大小的胞质小体附近, 含有丰富的不同电子密度物质的泡状体, 即射出胞器。其中, 在胞质深部存在三种类型的囊泡(图2A): (1)近圆形囊泡, 泡内包裹了低电子密度的纤维物质(图2B); (2)椭圆形囊泡, 泡内含电子密度不同的内、外两层(图2C); (3)“胶囊”形囊泡, 在电子密度层中央形成高密度的杆状体(图2D)。这些囊泡很可能是射出胞器在成熟过程中不同发生阶段的结构。胞器成熟过程中在其前端形成帽部, 向

表膜迁移并排列在表膜下(图2E和图2F)。

成熟射出胞器长约3 μm , 由前端的帽部、中心的轴杆部和包围轴杆的体部组成。体部含低电子密度的内、外两层, 且内片层比外片层电子密度高; 中心轴杆部电子密度最高, 呈结晶状; 帽部由几层膜性物质组成, 包围着体前部低电子密度的片层(图2G)。胞器横切面呈“花环型”, 前端包括帽部、低电子密度片层和中心轴杆, 帽部后含几层低电子密度片层和轴杆(图2H)。胞器射出前贴近表膜, 与表膜融合, 呈现即将射出时的不同形态(图2I~图2K)。



A: 细胞质深处各种类型的小泡(箭头示小泡); B: 近圆形囊泡(箭头示纤维物质); C: 椭圆形囊泡; D: 胶囊形囊泡(箭头示高电子密度的杆状体); E: 射出胞器向表膜运动; F: 射出胞器排列在表膜下; G: 成熟射出胞器纵切面(短箭头示帽部, 长箭头示轴杆部, 双箭头示体部); H: 成熟射出胞器横切面; I-K: 胞器即将射出时的不同形态。标尺=0.5 μm 。

A: different types of vesicles in the deep part of the cytoplasm (arrows); B: nearly round vesicle with fibrous substances (see the arrow); C: oval vesicle with strateform structures of uneven electron density; D: elongated vesicle with an electron-dense structure (see the arrow); E: mature extrusomes moved towards the pellicle; F: extrusomes located beneath pellicle; G: longitudinal thin sections of mature extrusomes. Note that the extrusomes consisted of three parts: cap (arrowhead), shaft (arrow) and body (double arrows); H: transverse thin sections of mature extrusomes; I-K: different forms before extruding extrusomes. Bar=0.5 μm .

图2 念珠异列虫射出胞器的透射电镜观察

Fig.2 TEM observations of *A. monilata*

3 讨论

关于原生动物射出胞器的研究主要来自于较低等的纤毛虫类群, 如裸口类、吸管类和膜口类等纤毛虫^[5]。近年来, 对高度进化的腹毛类纤毛虫射出胞器的研究也仅限于少数种类。本文观察到, 念珠异列虫射出胞器早期发生在细胞质深部, 附近有不同类型的囊泡, 胞器成熟时形成帽部、体部和轴杆部结构并向表膜迁移, 胞器射出结构在细胞背腹皮层表面呈“蘑菇”状等, 这些形态特点及其内部结构与冠突伪尾柱虫(*Pseudourostyla cristata*)、新伪尾柱虫(*Pseudourostyla nova*)的同类胞器有相似之处^[6-7], 但不同于大尾柱虫(*Urostyla grandis*)和伪红色双轴虫(*Diaxonella pseudorubra*)的粘液泡^[8-9]。由于分类学中也把射出胞器作为分类指标之一, 且本文的纤毛虫和冠突伪尾柱虫、新伪尾柱虫的分类地位较近, 所得结果表明, 在亲缘关系较近的纤毛虫中, 其射出胞器可能具有相似的分化特征。

目前普遍认为, 射出胞器是由内质网或高尔基体的囊泡发育而来的。尽管原生动物含有内质网和高尔基体结构, 但纤毛虫中这些细胞器仅在少数种类中可以观察到, 大多数纤毛虫仅在其生命周期的某一阶段才发生^[10]。念珠异列虫的射出胞器由产生到发射的全过程中, 由最初单层膜包裹的小囊泡结构, 经过一系列的分化与特化, 最终形成成熟的射出胞器。并且, 胞器结构发育中伴随着大量的泡状结构, 泡内包裹物质不断聚集, 形成纤维状物质, 类似射出胞器的低密度区。因此, 推测该纤毛虫的射出胞器是由高尔基体活动产生的小泡发育而来的。

一般认为射出胞器具有应激性, 在防御和捕食过程中发挥作用^[11]。本文中的纤毛虫所制备的扫描

电镜标本, 均不可避免地出现了胞器的射出结构, 说明这种纤毛虫对刺激反应敏感。并且胞器的射出结构在背腹面分布并不均匀, 尤其在细胞前、后端分布较多, 表明胞体各部分对刺激的敏感程度不同, 也说明射出胞器具有一定的防御作用。在口纤毛器及其邻近位置未见胞器射出结构, 由此推断射出胞器在细胞捕食过程中可能未发挥作用。

参考文献 (References)

- 1 Bannister LH. The structure of trichocysts in *Paramecium caudatum*. *Cell Sci* 1972; 11(3): 899-29.
- 2 Frankel J. *Cell biology of Tetrahymena thermophila*. London: Academic, 1999, 27-108.
- 3 顾福康, 倪兵. 原生动物扫描电镜样品制备方法探讨. *电子显微学报* 1993; 12(6): 525-9.
- 4 顾福康, 季玲妹. 包囊游仆虫皮层和营养核的超微结构研究. *动物学研究* 1996; 17(1): 16-22.
- 5 顾福康. 原生动物学概论. 北京: 高等教育出版社, 1991, 65-9.
- 6 Zhang J, Sheng C, Tang L, Ni B, Gu F. The ultrastructure of the extrusomes in *Pseudourostyla cristata*, a hypotrichous ciliated protozoan. *Protoplasma* 2011; 248(3): 475-81.
- 7 Zhou Y, Wang ZJ, Zhang J. Ultrastructure of extrusome in hypotrichous ciliate *Pseudourostyla nova*. *Oceanol Limnol* 2011; 29(1): 103-8.
- 8 章骏, 倪兵, 盛春, 顾福康. 大尾柱虫粘液泡的超微结构观察. *复旦学报* 2007; 46(6): 972-5.
- 9 柳伟君, 栾菊敏, 俞丽丽, 余齐耀, 顾福康. 伪红色双轴虫皮层色素颗粒和粘液泡的显微、亚显微结构观察. *复旦学报* 2009; 48(3): 381-5.
- 10 Rosati G, Modeo L. Extrusomes in ciliates: Diversification, distribution and phylogenetic implications. *Eukaryot Microbiol* 2003; 50: 383-402.
- 11 Janusz, Gabrielle K. Ultrastructural events in the predator-induced defense response of *Colpidium kleini* (Ciliophora: Hy-menostomata). *Acta Protozool* 2006; 45: 461-4.

Observations on the Ultrastructure of Extrusomes in *Anteholosticha monilata* (Ciliophora: Hypotrichida)

Zhang Xiaocui, Zhai Yujia, Ni Bing*, Gu Fukang

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

Abstract By using scanning and transmission electron microscopy, the present study demonstrates a great number of extrusomes distributed in the cortical cytoplasm of a hypotrichous ciliate *Anteholosticha monilata*. The extrusive organelles in early phase were seen to be located in the deep part of the cytoplasm. There were three kinds of vesicles with different structural characteristics. The mature extrusomes moved towards the pellicle, which consisted three parts: a body consisting of strafeform structures of uneven electron density, an elongated shaft located at the centre of the body and a cap including multilayer membrane-structure. The organelles broke through the pellicle and discharged part of their internal structural substances when suffered from the external stimulus, and the extruded structures were mushroom-shaped. The results indicated that the extrusomes play a protective/defensive role when the outer environment changes. Extrusomes may be originated from the vesicles of Golgi apparatus. In the close relationship of ciliates, their extrusomes may have similar characteristics in structure.

Key words Hypotrichous Ciliate; *Anteholosticha monilata*; extrusomes; scanning electron microscopy; transmission electron microscopy

Received: October 23, 2011 Accepted: November 16, 2011

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.31172042)

*Corresponding author. Tel: 86-21-62233385, E-mail: bni@bio.ecnu.edu.cn