

研究简报

异毛虫形成包囊过程中细胞皮层及纤毛结构分化的扫描电镜观察

李其利 范鑫鹏 倪兵 顾福康*

(华东师范大学生命科学学院, 上海 200062)

关键词 腹毛类纤毛虫; 凯氏异毛虫; 包囊形成; 皮层纤毛器; 分化

在纤毛虫无性生殖中, 生命活动受阻时经常会发生形成包囊的现象。研究纤毛虫的包囊现象, 已成为揭示真核细胞的结构与功能、细胞模式形成与控制机理的一个重要方面^[1]。目前, 对腹毛目纤毛虫中游仆虫类包囊的形态及其生理生化特征已进行了较系统的研究, 积累了较多的资料^[2-11], 但对其他类纤毛虫的包囊, 例如尾柱虫类和尖毛虫类包囊的研究所见报道不多。本文以尖毛虫类纤毛虫凯氏异毛虫(*Allotricha curdsi*)为材料, 应用扫描电子显微镜技术显示了纤毛虫形成包囊过程中细胞形态和皮层表面纤毛结构的变化, 取得了较为详细的结果。

1 材料与方 法

1.1 材料及培养方法

实验材料异毛虫采自上海市东华大学松江校区小河南, 经分离和建立纯系培养后, 将纤毛虫接种在凹面皿内, 以麦粒发酵孵化的细菌培养鞭毛虫, 以鞭毛虫为饵料喂食纤毛虫, 进行扩大培养。选择正常生长状态的纤毛虫, 用于实验。

1.2 诱导纤毛虫形成包囊的方法

在培养液中纤毛虫达到较高密度时, 不再更换培养液, 并中断食物, 造成培养液“老化”及纤毛虫“饥饿”的条件, 二天内纤毛虫开始形成包囊。

1.3 扫描电子显微镜样品制备和观察

分别取营养期纤毛虫细胞和开始形成包囊至形成包囊后的纤毛虫材料, 按顾福康等^[12]报道的方法制备扫描电子显微镜样品, 即: 用固定液(1%锇酸和饱和升汞溶液按1: 6的比例)固定10 min, 0.1 mol/L PBS缓冲液清洗3次, 每次10 min; 梯度乙醇脱水; 醋

酸异戊酯置换乙醇; CO₂临界点干燥; 离子溅射仪镀膜。此后, 将样品置于JSM-5610LV扫描电镜观察并照相。

2 结果

2.1 营养细胞期纤毛虫的形态

凯氏异毛虫营养细胞呈长椭圆形, 背腹扁平且背部微隆, 尾部削尖并向左上方微翘, 体长120~150 μm, 体宽60~80 μm, 长宽比约2:1。皮层纤毛器发达, 其中, 口围带由50片小膜组成, 波动膜包括紧邻口围带的口内膜和位于口内膜右侧的口侧膜; 额腹横棘毛区含额棘毛9根(其中, 3根位于细胞前端, 1根紧邻口内膜), 腹棘毛6根, 横棘毛5根(呈“3+2”方式排布), 左缘棘毛1列, 右缘棘毛3列(图1A); 背皮层纤毛器中, 背触毛6列(“4+2”方式排布)(图1B), 每个背触毛单元由着纤毛的毛基体和不着纤毛的裸毛基体组成(图1C); 尾棘毛3根, 分别位于第1、2、4列背触毛末端。

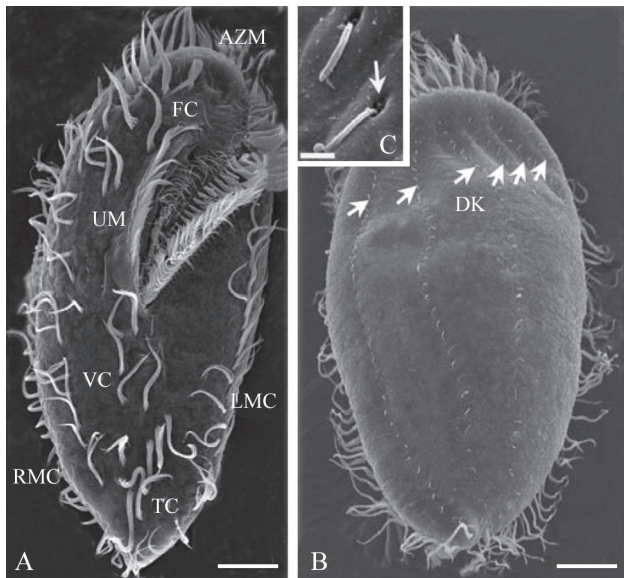
2.2 包囊形成过程中细胞的形态及皮层纤毛器的去分化

凯氏异毛虫形成包囊早期, 前部向左上方逐渐翘起, 尾部则向背部扭转, 整个细胞呈弯曲状态(图2A)。伴随着, 腹面右缘棘毛区皮层向外隆起, 所在位置的右缘棘毛呈螺旋排列; 相对腹面凹陷部分的背皮层向外隆起成为一半球体。腹皮层口围带小膜侧向纤毛开始瓦解; 口围带领部和翻领部小膜的膜

收稿日期: 2011-12-14 接受日期: 2012-01-18

国家自然科学基金(No.31172042)资助项目

*通讯作者。Tel: 021-62233748, E-mail: fkgu@bio.ecnu.edu.cn

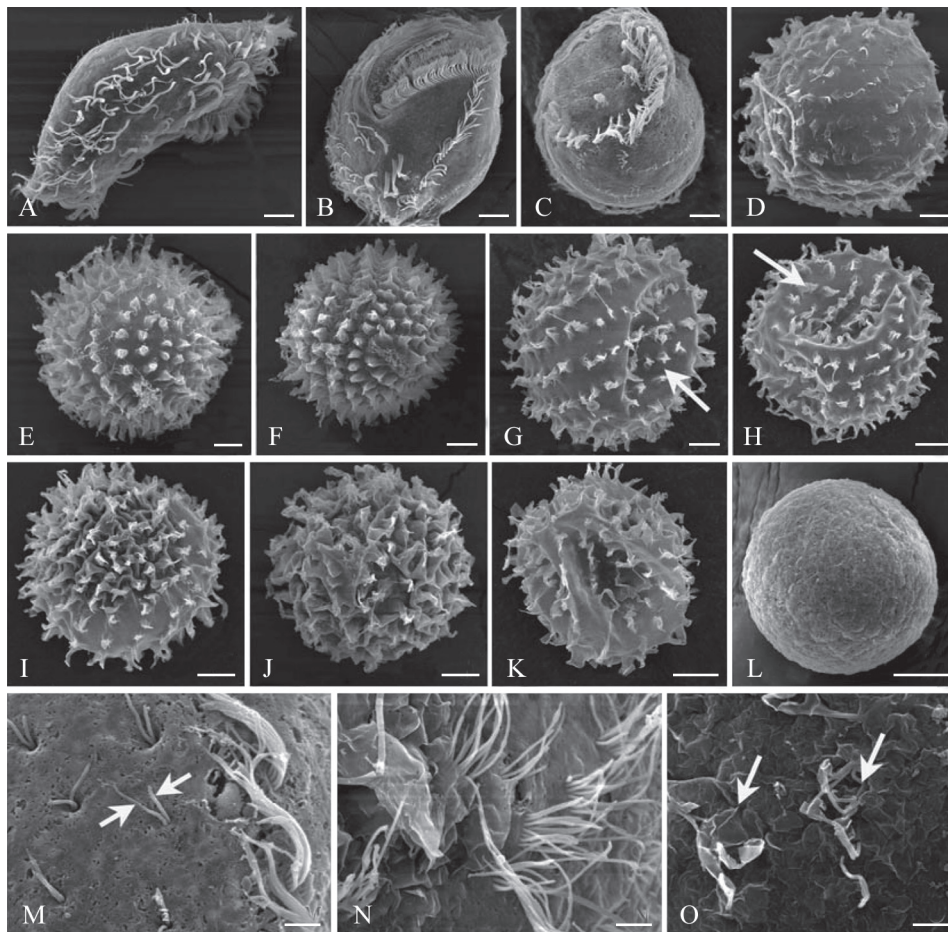


A: 异毛虫腹面(AZM: 口围带; UM: 波动膜; FC: 额棘毛; VC: 腹棘毛; TC: 横棘毛; RMC: 右缘棘毛; LMC: 左缘棘毛); B: 异毛虫背面, 箭头示背触毛列(DK: 背触毛); C: 背触毛单元, 箭头示裸毛基体(A、B标尺=10 μm ; C标尺=1 μm)。

A: ventral view (AZM: adoral zone of membranelles; UM: undulating membranes; FC: frontal cirri; VC: ventral cirri; TC: transverse cirri; LMC: left marginal cirri; RMC: right marginal cirri); B: dorsal view (DK: dorsal kineties) (arrows); C: dorsum bristle consists of one ciliated kinetosome and another barren kinetosome (arrow) (A, B bar=10 μm , C bar=1 μm).

图1 凯氏异毛虫营养期细胞的形态

Fig.1 The morphology of the hypotrichous ciliate *Allotricha curdsi*



A: 形成包囊早期; B, C: 形成包囊期间细胞形态和皮层纤毛器的变化; D: 形成包囊后早期包囊壁表面; E: 仙人掌形包囊; F: 松球形休眠包囊; G, H: 包囊侧面(箭头示包囊壁凹陷); I~L: 包囊瓦解; M: 具2根纤毛的背触毛单元和纤毛簇; N: 纤毛分散; O: 部分未消失的纤毛杆及包囊表面突起早期(箭头示纤毛杆和突起)(A~L标尺=10 μm ; M~O标尺=2 μm)。

A: the early phase of encystment; B, C: the change of the morphology and cortex during the encystment; D: the surface of early cyst wall; E: cactus-like cyst; F: spiral-like resting cyst; G, H: lateral view, the surface of cyst wall had one indentation (arrow); I~L: the cyst disintegration; M: dorsum bristle consists of two ciliated kinetosomes (arrows); N: cilia scattered; O: some cilia stems (arrow) and protrusions (arrow) (A~L bar=10 μm , M~O bar=2 μm).

图2 包囊形成过程中皮层及纤毛的分化(A~H)和包囊瓦解(I~L)

Fig.2 The differentiation of cortex and cilia during the encystment and the cyst disintegration

片彼此松散(图2B)。随着尾部上翻,长椭圆形细胞团缩为橄榄球形后,原口区的波动膜已消失,退化中的口围带、左右缘棘毛、额腹横棘毛等变为形态相似且分散的棘毛簇,而在背皮层纤毛区其背触毛单元中的裸毛基体则长出纤毛,组成具有2根纤毛的背触毛单元(图2M),与腹面纤毛一起螺旋排列于细胞表面(图2C)。

细胞进一步收缩变圆,其表面的棘毛簇分散瓦解,细胞皮层与退化中的纤毛器被陷埋在细胞分泌物形成的早期包囊壁内,此时包囊壁表面正开始形成按一定间隔成规则排布的突起,但仍可见部分未消失的纤毛结构(图2D,图2N,图2O);球形包囊进一步团缩时,包囊壁表面的突起继续伸长为刺状,形成仙人球形包囊(图2E);休眠包囊形成时,其表面刺状突起彼此间的间隔缩小,突起由尖变钝,呈扁平菱形,规则分布于包囊表面,包囊似松球形,直径约60 μm ,其中,在松球形包囊的一侧包囊壁形成的凹面相当于原细胞的腹面(图2F~图2H)。

2.3 不良环境条件下休眠包囊的命运

异毛虫休眠包囊在老化培养液中一定时间内呈现相对稳定的形态,如果不改善培养条件,例如持续不更新培养液及提供食物,10多天后其包囊则发生明显的变化,经历退化和瓦解的过程,其中在包囊表面的突起分解为碎片,在包囊腹面凹陷处的突起也逐渐解体,至包囊表面的全部突起完全消失时整个包囊成为一个椭球体,包囊瓦解时自身释放的及外界的异物在其表面不规则排布,伴随异物进一步增多球体逐渐变为不规则,最终球体瓦解(图2I~图2L)。

3 讨论

3.1 异毛虫形成包囊过程中皮层结构的变化特征

所在实验室在对异毛虫细胞形态发生的研究中,也提供了该纤毛虫休眠包囊外部形态的照片,但尚未描述细胞形成包囊的形态学过程^[13]。本文观察到,异毛虫包囊形成过程中细胞从长椭圆形变为橄榄球形,皮层纤毛器发生去分化;细胞进一步收缩变圆时其外围的包囊壁开始形成,并伴随着在球形包囊壁表面形成按规则排布的突起,经历从仙人球形包囊至松球形休眠包囊的变化过程。目前,对于腹毛类纤毛虫包囊形成过程中细胞皮层纤毛器的分化问题已积累了较多的资料^[2-11,14-18],但对于细胞表面结构的分化及包囊壁形成时相伴随的变化则未见报

道,因此,所得结果为深入了解特殊生理条件下纤毛虫细胞结构的分化及其细胞质衍生物的形成特征提供了较详细的资料。

包囊壁是由细胞内产生的输送到细胞外形成的一种细胞质衍生物^[19],一个既定类群纤毛虫其形成的包囊壁形态与其他类群是不一样的,所以本文报告的异毛虫包囊壁的形态也具有特异性和细胞分类学研究意义。

3.2 异毛虫形成包囊过程中纤毛结构的分化及休眠包囊的命运

贻贝棘尾虫(*Stylonychia mytilus*)^[17]和伪毛虫(*Oxytricha fallax*)^[18]等尖毛虫科的包囊细胞内纤毛和表膜下微管全部被吸收形成毛基体吸收型包囊;盾形双睫虫(*Diophrys scutum*)^[21]和粘游仆虫(*Euplotes muscicola*)^[22]等游仆虫科包囊细胞内保留了纤毛基体和大部分微管形成毛基体非吸收型包囊;冠突尾柱虫(*Pseudourostyla cristata*)^[25]和魏氏尾柱虫(*Paraurostyla weissei*)^[26]等尾柱虫科包囊细胞内皮层纤毛器中纤毛杆被吸收、部分基体保留下来,表膜下仅剩少数微管结构形成尾柱虫类包囊。尽管腹毛类纤毛虫主要形成毛基体吸收型包囊、毛基体非吸收型包囊和尾柱虫类包囊三类包囊,但无论如何,全部这些纤毛虫在形成包囊过程中细胞皮层纤毛结构都经历了去分化,即纤毛结构全部瓦解^[17-18,20]或者部分瓦解^[21-26]的过程。本文观察到,凯氏异毛虫包囊形成过程中于腹皮层纤毛结构发生去分化的同时,背皮层中背触毛单元则发生再分化,其裸毛基体长出新纤毛,形成特殊的背触毛单元,这一现象未见报道。为何细胞在去分化状态下其部分结构会再分化?其意义何在?这是值得探索的。

纤毛虫休眠包囊是细胞在特殊生理条件下形成的生命体,一旦环境适宜,包囊内的纤毛虫则会经历一系列变化后脱囊而出,恢复正常的活动,例如包囊游仆虫(*Euplotes encysticus*)^[4]、贻贝棘尾虫(*Stylonychia mytilus*)^[27]和伪尖毛虫(*Oxytricha fallax*)^[18]。作者对形成包囊的异毛虫在不改善环境条件下其休眠包囊最终瓦解的命运及其形态变化进行了观察,所得结果对进一步说明环境条件的变化与纤毛虫生理条件的转变及其生命活动的关系也是有意义的。

参考文献 (References)

- 1 顾福康,张作人. 纤毛虫形成包囊和脱包囊的研究及其意义.

- 动物学杂志 1992; 27(5): 48-53.
- 2 顾福康, 张作人. 包囊游仆虫包囊形成和解脱过程中纤毛器的分化. 动物学报 1991; 37(3): 287-92.
- 3 顾福康, 倪兵. 包囊游仆虫休眠包囊的超微结构研究. 实验生物学报 1995; 28(2): 163-71.
- 4 田沁, 张莉, 隋淑光, 倪兵, 顾福康. 休眠期和营养期包裹游仆虫的纤毛器骨架及其微管蛋白. 动物学研究 2002; 23(5): 405-8.
- 5 倪兵, 隋淑光, 顾福康. 包囊游仆虫营养细胞和休眠细胞的胞器酶细胞化学. 华东师范大学(自然科学版) 2004; 4: 97-102.
- 6 陈季武, 倪兵, 顾福康. 两种纤毛虫营养细胞和休眠细胞蛋白组成的比较分析. 动物学杂志 2005; 40(5): 72-6.
- 7 倪兵, 隋淑光, 顾福康. 包囊游仆虫细胞的类中间纤维细胞骨架体系. 华东师范大学(自然科学版) 2006; 4: 97-102.
- 8 牛延宁, 吴月华, 倪兵, 顾福康. 包囊游仆虫纤毛器微管在不同生理状态下的分化. 华东师范大学(自然科学版) 2007; 6: 106-11.
- 9 Gu F, Xu J. A TEM study on pre-excystment cellular structures of *Euplotes encysticus*. Cell Res 1995; 5(2): 125-33.
- 10 Foissner W, Helga M, Thomas W. The unusual, lepidosome-coated resting cyst of *Meseres corlissi* (Ciliophora: Oligotrichea): Light and scanning electron microscopy, cytochemistry. Acta Protozool 2005; 44: 201-15.
- 11 Müller H, Achilles-Day UE, Day JG. Tolerance of the resting cysts of *Colpoda inflata* (Ciliophora, Colpodea) and *Meseres corlissi* (Ciliophora, Spirotrichea) to desiccation and freezing. Eur J Protistol 2010; 46(2): 133-42.
- 12 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.
- 13 鲍小娟, 冯玲玲, 倪兵, 顾福康. 异毛虫 *Allotricha curdsi* 的形态及形态发生的扫描电镜观察. 复旦学报 2007; 6(46): 981-91.
- 14 顾福康, 季玲妹, 倪兵, 李恭楚. 阔口尖毛虫形成包囊期间细胞超微结构的观察. 动物学报 1997; 43(3): 227-31.
- 15 Gutierrez JC, Torres A, Perea Silva J. Structure of cyst wall precursors and kinetics of their appearance during the encystment of *Laurentiella acuminata* (Hypotrichida: Oxytrichidae). Protozoologica 1983; 30(2): 226-33.
- 16 Verni F, Rosati G. Resting cysts: A survival strategy in Protozoa Ciliophora. Ital J Zool 2011; 78(2): 134-45.
- 17 Walker GK, Maugel TK, Goode D. Some ultrastructural observations on encystment in *Stylonychia mytilus* (Ciliophora: Hypotrichida). Trans Am Microsc Soc 1975; 94: 147-54.
- 18 Grimes GW. Differentiation during encystment and excystment in *Oxytricha fallax*. Protozoologica 1973; 20(1): 92-104.
- 19 顾福康. 原生动物学概论. 北京: 高等教育出版社, 1990, 39-41.
- 20 Matsusake T, Nakamura T, Nagata K. Ultrastructure, disintegration and formation of a cirrus in the vegetative, encysting and excysting ciliate, *Histiculus muscorum*. Electron Microsc 1984; 33: 217-29.
- 21 Walker GK, Mangel TK. Encystment and excystment in hypotrich ciliate. II. *Diophrys scutum* remarks on comparative features. Protistologica 1980; 16: 526-31.
- 22 Bussers JC, Hoesdorff M, Bolome M, Greco N, Goffinet G. L'encystement du cilie hypotriche *Euplotes muscicola*. Protistologica 1986; 22: 457-60.
- 23 Foissner I, Foissner W. The fine structure of the resting cysts of *Kahliella simplex* (Ciliata: Hypotrichida). Zool Anz 1987; 218: 65-74.
- 24 Rios RM, Calvo P, Fedriani C. The cyst of *Urostyla grandis* (Hypotrichida: Urostylidae): Ultrastructure and evolutionary implications. Protistologica 1985; 21: 481-5.
- 25 顾福康, 倪兵, 杨振云, 杜宝剑. 冠突伪尾柱虫营养期和形成包囊期间细胞的超微结构. 动物学报 2002; 48(2): 251-7.
- 26 顾福康, 倪兵, 季玲妹, 隋淑光. 魏氏拟尾柱虫休眠包囊及其胞器超微结构的观察. 动物学研究 1999; 20(6): 406-10.
- 27 张作人, 庞延斌, 顾福康. 棘尾虫 *Stylonychia mytilus* 包囊形成和解脱过程的研究. 华东师范大学学报(自然科学版) 1981; 2: 113-9.

Scanning Electron Microscopic Observations on the Differentiation of Cortex and Cilia during the Encystment of *Allotricha curdsi* (Ciliophora: Hypotrichida)

Li Qili, Fan Xinpeng, Ni Bing, Gu Fukang*

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

Abstract The details of the differentiation of cortex and cilia during the encystment of the hypotrichous ciliate *Allotricha curdsi* were observed with scanning electron microscopy. The results showed that, during the cells transforming from the long oval shape into soccer form, the dedifferentiation of microtubular organelles on ventral side happened, meanwhile, the unit of dorsal bristle started to redifferentiation with a new cilia growing from the previously barren kinetosome. As cells contracted further, the cyst wall began to emerge and the protrusions arranged regularly on the cyst surface simultaneously. After the cyst changing from cactus-like shape to spiral-like shape, the resting cyst formed. Without improving the culturing environment, the resting cysts finally disintegrated and disappeared. The results presented in this paper provided new information for better understanding the differentiation of the cilia structure and the formation of the cytoplasm derivatives in special physiological conditions.

Key words Hypotrichida; *Allotricha curdsi*; encystment; ciliature microtubular organelles; differentiation

Received: December 14, 2011 Accepted: January 18, 2012

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

*Corresponding author. Tel: 86-21-62233748, E-mail: fkgu@bio.ecnu.edu.cn