

# 新伪尾柱虫腹皮层纤毛器微管胞器的形态和形态发生

周 瑶 余齐耀 俞丽丽 顾福康<sup>\*</sup>  
(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法显示, 腹毛目纤毛虫新伪尾柱虫(*Pseudourostyla nova*) 腹皮层纤毛器微管胞器由口围带、波动膜、额腹横棘毛和左右缘棘毛等纤毛器微管及纤毛器基部附属微管组成。口围带基部含小膜托架及与托架相联系的肋壁微管, 其中领部小膜托架间由“^”形微管相联接; 额腹横棘毛基部含前纵微管束、后纵微管束、横微管束和周围微管束, 其微管在不同棘毛基部的发达程度不一; 缘棘毛基部含前纵微管束、后纵微管束。同时, 对新伪尾柱虫纤毛器微管胞器的形态发生和生理改组过程进行了详细的追踪研究, 并对细胞皮层的额腹棘毛定位及组成特征进行了补充报道。此外, 发现形态发生末期新纤毛器微管形成时, 残存部分老额棘毛、横棘毛和缘棘毛, 此后老结构逐渐被吸收。结果表明, 新伪尾柱虫的纤毛器基部微管具有其种的特异性, 新纤毛器微管分化过程中老结构可能具有定位和物质贡献作用。

**关键词:** 新伪尾柱虫; 皮层纤毛器; 微管胞器; 形态发生

**中图分类号:** Q952 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250 3263(2009)06-74-07

## Morphology and Morphogenesis of the Ciliature Microtubular Organelle in the Ventral Cortex of *Pseudourostyla nova*

ZHOU Yao YU Qi Yao YU Li Li GU Fu-Kang<sup>\*</sup>  
(School of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

**Abstract:** The ciliature microtubular organelles in the ventral cortex of *Pseudourostyla nova* were visualized using direct FLUTAX. The organelle consists of adoral zone of membranelles (AZM), undulating membranes (UM), frontal/midventral transverse cirri (FVTC), left and right marginal cirri (L and RMC) and the base associated microtubules, etc. In the basal part of the AZM, there are membranelle brackets and associated oral rib wall microtubules. The membranelle brackets located in the collar portion are connected with “^” shaped microtubules. There are four types of microtubules at the base of FVTC: anterior longitudinal (ALM), posterior longitudinal (PLM), transverse (TM) and radiate microtubules (RM). These different types of microtubules differ from each other in developmental degree. The base associated microtubules of L and RMC contain ALM and PLM. The old cirri (e.g. frontal, transverse and marginal cirri) can persist and remain unchanged for a long time and they may disappear when they lose function. The base associated microtubules in the ventral cortex of *P. nova* possess some species independent structural characters. During the process of morphogenesis of the ciliatures, the old cirri play a

基金项目 国家自然科学基金项目(No. 30770238);

<sup>\*</sup> 通讯作者, E-mail: fkgu@bio.ecnu.edu.cn;

第一作者介绍 周瑶, 女, 博士研究生; 研究方向: 动物细胞与分子生物学; E-mail: zhouyao\_00@163.com.

收稿日期: 2009-05-07, 修回日期: 2009-09-01

role in positioning and material contribution.

**Key words:** *Pseudourostyla nova*; Cortical ciliature; Microtubular organelle; Morphogenesis

腹毛目纤毛虫具有复杂的皮层纤毛模式,研究其与皮层纤毛结构相联系的细胞骨架的分化,对于揭示真核细胞的模式形成及其细胞调控具有特殊意义。其中隶属于尾柱亚目尾柱虫科的新伪尾柱虫(*Pseudourostyla nova*)是一个较为少见的种类,Wiackowski曾对其细胞的形态和形态发生进行过描述<sup>[1]</sup>,但没有确定细胞皮层的额腹棘毛定位及组成特征。本文应用荧光紫杉醇直接荧光标记法,显示了新伪尾柱虫细胞皮层纤毛器及纤毛器附属微管的结构,据不同部位纤毛器基部附属微管所具有的特征,将形态相似及位置相近的棘毛区分开来。同时,观察了其纤毛器微管胞器在细胞形态发生过程中的分化,以期为进一步揭示腹毛目纤毛虫细胞皮层微管类骨架的组成及其结构分化的多样性特征提供基础资料。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 新伪尾柱虫于2008年9月采自山东济南趵突泉。分离后,应用麦粒液发酵富集的细菌作为饵料,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。

**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<sup>[2]</sup>,并调整为:①将高浓度的细胞滴入浓度为0.5%的皂苷中渗透10 s,用PHEM清洗1次;②4%多聚甲醛中固定5 min, PHEM清洗1次;③1  $\mu\text{mol/L}$  FLUTAX-2(Sigma)染色5 min, 0.01 mol/L的PBS漂洗3次,封片。Olympus BX 荧光显微镜观察, Cool SNAP-Pro 数码相机照相。

## 2 结果

**2.1 细胞及皮层纤毛器** 细胞呈长椭圆形,长230~250  $\mu\text{m}$ ,宽60~75  $\mu\text{m}$ 。背腹扁平,左右两缘近乎平行,前后两端钝圆,体柔软易弯曲。

口围带由40~55片小膜构成,沿细胞前段

边缘延伸;波动膜包括口侧膜和口内膜,位于口围带右侧;额棘毛约10根,呈弧形排成1列,1根口棘毛,位于波动膜右侧;中腹棘毛2列,平行排列成“zig-zag”形;横棘毛呈钩状,位于中腹棘毛末端;迁移棘毛2根,位于内侧右缘棘毛和口围带前端交汇处;左右缘棘毛各2列,内侧右缘棘毛列起始于迁移棘毛处,外侧右缘棘毛列起始于内侧右缘棘毛列后方,内侧左缘棘毛列起始于口围带翻领部左侧,外侧左缘棘毛列起始于内侧左缘棘毛列前方,4列缘棘毛均终止于细胞后端(图版I:1)。

### 2.2 皮层纤毛器基部附属微管

**2.2.1 口围带和波动膜** 口围带小膜间有连接微管,由小膜基部向深部发出微管束。领部相邻的小膜间有向内发出的三角形小膜托架,在托架上又发出向深部延伸的微管束,并相互交叉成“ $\wedge$ ”形结构。口侧膜基部发出较粗大的微管束,口内膜向内发出较细小的微管束,口内膜和口侧膜所发出的微管束向口围带领部伸展,并聚集在皮层深部(图版I:2,3)。

**2.2.2 额腹横棘毛** 额棘毛基部附属微管包括前纵微管束、后纵微管束和周围微管束:前纵微管束由棘毛基部向左前方皮层伸展,后纵微管束由棘毛基部向右后方皮层伸展,周围微管束由棘毛基部向四周发出。其中第1、2根额棘毛基部前纵微管束不发达,各种微管束相互交联,并与口围带领部发出的微管束一起形成口皮层微管网(图版I:2,3)。

中腹棘毛基部附属微管束由前纵微管束、后纵微管束、横微管束和周围微管束构成,其中前纵微管束由棘毛基部向左前方发出,后纵微管束由棘毛基部向右后方发出,左列中腹棘毛基部横微管束由棘毛基部向左后方发出,右列中腹棘毛基部横微管束由棘毛基部向右前方发出,周围微管束由棘毛基部向四周发出(图版I:4)。

横棘毛基部附属微管由前纵微管束、后纵

微管束构成,前纵微管束由棘毛基部向左前方发出,并聚集在一起形成三角形结构,后纵微管束不发达(图版 I: 2)。

**2.2.3 缘棘毛** 缘棘毛基部附属微管由前纵微管束和后纵微管束构成,未见横微管束。前纵微管束由棘毛基部向左前方伸展,后纵微管束由棘毛基部向右后方伸展(图版 I: 5)。

## 2.3 纤毛器微管胞器的形态发生

**2.3.1 口围带、波动膜** 细胞分裂初期,细胞中部的几根左列中腹棘毛由棘毛基部开始瓦解,形成 7~8 簇口原基(图版 I: 6)。随中腹棘毛的瓦解,这些成簇的原基连接在一起形成后仔虫口围带原基(图版 I: 7)。口原基逐渐加宽变长,从前至后组装成口围带小膜,随后形成后仔虫口围带,并在其右侧分化出后仔虫的波动膜原基(图版 I: 8)。在后仔虫口围带原基形成时,老口围带翻领部小膜瓦解并更新,其重新组装成的新小膜与领部保留的小膜共同形成前仔虫口围带。波动膜及口棘毛瓦解为一条长和窄的基体群,平行于口围带,形成波动膜原基。前后仔虫的波动膜原基发育几乎保持同步,其前端各分化出 1 根棘毛,向前移动至各仔虫额区左侧,形成额棘毛,随后波动膜原基逐渐发育成熟,组装成口内膜和口侧膜(图版 I: 9)。

**2.3.2 额腹横棘毛** 后仔虫中腹棘毛的瓦解参与了额腹横棘毛原基的形成,其平行于口围带原基和波动膜原基,在前仔虫的波动膜原基右侧也同时出现了此原基。随后,两仔虫的额腹横棘毛原基逐渐排列成斜向的条带状结构。前后仔虫的额腹横棘毛原基分段、逐渐分开后,其前部原基分化成额棘毛,中部至后端原基分化成 2 列中腹棘毛,后端原基的右部分化成横棘毛(图版 I: 6~9)。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棘毛和横棘毛(图版 II 10~12)。

在前、后仔虫分离之前,邻近额端中腹棘毛列的“zig zag”模式消失,右侧棘毛向后移动与左侧成对对应。起源于额腹横棘毛原基后端的两根棘毛向口围区迁移,行至口围带小膜与右

侧内缘棘毛交汇处,形成额前棘毛,即迁移棘毛(图版 II 10~12)。

**2.3.3 缘棘毛** 左、右缘棘毛列其右侧 1 列中在前后仔虫相应位置的缘棘毛首先开始瓦解,产生缘棘毛原基(图版 I: 9)。随后原基区基体增殖,分化为 2 列缘棘毛。左、右缘棘毛列中其左侧 1 列缘棘毛逐渐瓦解,被新的缘棘毛取代(图版 II 12)。

## 2.4 纤毛器微管胞器的生理改组

**2.4.1 口围带、波动膜** 口围带翻领部小膜和中腹棘毛瓦解,逐渐形成分散的基体群。随后翻领部的基体群重组形成新的小膜,并向前延伸取代老的口围带,形成新的口围带。此过程中未见口围带领部更新现象。与此同时,口围带右侧波动膜瓦解,产生平行于口围带的波动膜原基。原基进一步形成长条形基体群(图版 II 13)。波动膜原基前端分化出 1 根口棘毛,向前移动至额区左侧,形成额棘毛,并逐渐发育成两片波动膜(图版 II 14, 15)。

**2.4.2 额腹横棘毛** 在口围带、波动膜瓦解的同时,部分中腹棘毛开始瓦解。产生平行于口围带的额腹横棘毛原基。最初为分化不明显的基体群,逐渐形成斜向的条带结构,最终分化形成一套新的额腹横棘毛。在生理改组过程中,老额腹横棘毛完全被新额腹横棘毛所取代(图版 II 13~15)。

在生理改组的最后阶段,仍可见迁移棘毛的产生,即额腹横棘毛原基后端形成的 2 根棘毛,棘毛由后端向前迁移至口围带与右侧缘棘毛交汇处(图版 II 14, 15)。

**2.4.3 缘棘毛** 在口围带、波动膜和额腹横棘毛原基形成初期,左、右缘棘毛列其右侧 1 列在各仔虫相应赤道位的缘棘毛瓦解,形成缘棘毛原基。原基进一步发育成 2 列新的缘棘毛。左、右缘棘毛列中其左侧 1 列缘棘毛逐渐消失(图版 II 15)。

## 3 讨论

**3.1 皮层纤毛器及其附属微管的组成** Wiackowski 对新伪尾柱虫的腹皮层纤毛器进行

了详细的观察,但由于方法等方面的局限性,尚未将部分形态相似及位置相近的额棘毛和中腹棘毛准确地区分开来,以至也未能准确地描述其皮层纤毛模式<sup>[1]</sup>。本文应用荧光紫杉醇直接荧光标记方法显示了新伪尾柱虫腹皮层纤毛器附属微管,据纤毛器附属微管的不同特征,将形态相似及位置相近的部分额棘毛和中腹棘毛区分开来。结果显示,新伪尾柱虫腹皮层口围带含小膜托架,小膜间有连接微管;额棘毛基部含前纵微管束、后纵微管束和横微管束,中腹棘毛基部含前纵微管束、后纵微管束,横微管束和周围微管束,横棘毛基部含前纵微管束和后纵微管束,缘棘毛基部含前纵微管束和后纵微管束。通过新伪尾柱虫额棘毛、中腹棘毛基部附属微管结构显示额棘毛和中腹棘毛的基部附属微管存在区别,其中,额棘毛前纵微管束最长,由额棘毛基部向左前方皮层伸展,后纵微管束比前纵微管束稍短,由额棘毛基部向右后方皮层伸展,未见横微管束;中腹棘毛的前纵微管束、后纵微管束明显短小,在前纵微管束、后纵微管束间存在横微管束。与华美游仆虫<sup>[2]</sup>、贻贝棘尾虫(*Stylonychia mytilus*)<sup>[3]</sup>、异毛虫(*Allotricha curdsi*)<sup>[4]</sup>、魏氏拟尾柱虫(*Paraurostyla weissei*)<sup>[5]</sup>和草丛土毛虫(*Territricha stramenticola*)<sup>[6]</sup>等其他类群的腹毛目纤毛虫纤毛器微管胞器比较,尽管新伪尾柱虫细胞皮层纤毛器含有相似的基部微管成分,但其各种纤毛器基部微管的分化及定位特征不一样。即使与同属的冠突伪尾柱虫(*Pseudourostyla cristata*)<sup>[7]</sup>相比较,新伪尾柱虫额棘毛为1列,其棘毛基部附属微管的前纵微管束相对于后纵微管束发达;冠突伪尾柱虫含2列额棘毛,其棘毛基部后纵微管束相对于前纵微管束发达。据此认为,新伪尾柱虫的纤毛器基部微管具有其种的特异性,所得结果对深入揭示腹毛目纤毛虫皮层微管建构特征的多样性提供了基础性资料。此外,不同种纤毛器基部附属微管建构特征的差异对形态相似及位置相近的纤毛器的区分等也具有分类价值。

### 3.2 皮层纤毛器微管的形态发生特征

纤毛虫形态发生过程中纤毛器瓦解和重新装配是以

毛基体为基本结构单元进行的<sup>[8]</sup>,不同纤毛模式的纤毛虫在形态发生过程中微管结构均发生解聚和重组过程。纤毛虫老结构瓦解,毛基体发生规律性的装配和定位,基体微管的装配和调控在一定程度上受皮层先存结构的影响<sup>[9]</sup>。同时,在纤毛虫形态发生和生理改组<sup>[10,11]</sup>过程中,细胞整体水平上的调控起到不可忽视的作用。在新伪尾柱虫腹皮层纤毛器的形态发生过程中,纤毛器微管的分化和定位有一定的时序性:首先,右侧一列中腹棘毛瓦解,启动后仔虫口围带原基的发生及前仔虫口围带的更新;随后波动膜和中腹棘毛瓦解,分别启动波动膜和额腹横棘毛的发生;左、右缘棘毛中其右侧1列缘棘毛前部和中部瓦解,启动前、后仔虫缘棘毛的发生。无论是细胞的无性生殖或是生理改组的过程,其两者纤毛器微管的发生有相似之处。比较 Wiackowski 应用蛋白银染色方法显示的结果,该纤毛虫形态发生过程中老口围带小膜完全更新形成前仔虫口围带<sup>[1]</sup>,但我们观察到其前仔虫口围带来自翻领部重新组装成的新小膜与领部保留的小膜,与冠突伪尾柱虫<sup>[7]</sup>中所报道的一致;并且其他各类棘毛原基产生过程中,原基区老结构瓦解,产生部分分散的毛基体参与了原基的组成,非原基区的老结构并没有瓦解,而是在新棘毛形成过程中逐渐退化瓦解,被新细胞吸收为胞质成分。对新伪尾柱虫的研究结果也表明,在新纤毛器微管的分化过程中,老纤毛器起到了定位和物质贡献作用。

## 参 考 文 献

- [1] Wiackowski K. Morphology and morphogenesis of a new species in the genus *Pseudourostyla* (Hypotrichida, Ciliophora). *Journal of Natural History*, 1988, 22(4): 1 085 ~ 1 094.
- [2] 赵柳,运迷露,顾福康等.华美游仆虫细胞微管胞器的直接荧光和免疫荧光标记. *动物学杂志*, 2008, 43(2): 1~ 6.
- [3] 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.
- [4] 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.

- [ 5 ] 姜慧玲, 高巍, 顾福康等. 魏氏拟尾柱虫腹皮层纤毛器微管胞器的形态及形态发生. 动物学报, 2007, 53(4): 742~ 749.
- [ 6 ] 史磊, 运迷霞, 顾福康. 草丛土毛虫皮层纤毛器的微管胞器研究. 分子细胞生物学报, 2009, 42(2): 135~ 141.
- [ 7 ] 周素娟, 尹飞, 顾福康等. 冠突伪尾柱虫的腹皮层纤毛器微管胞器及其形态发生. 动物学报, 2008, 54(2): 299~ 308.
- [ 8 ] 顾福康. 原生动物学概论. 北京: 高等教育出版社, 1991, 191~ 201.
- [ 9 ] Jerka Dziadosz M, Golinska K. Regulation of ciliary pattern in ciliates. *Acta Protozoology*, 1977, 24(1): 19~ 26.
- [ 10 ] 金立培, 顾福康. 冠突伪尾柱虫生理改组中口器发生及口围带调节重建的研究. 动物学报, 1997, 43(4): 420~ 425.
- [ 11 ] 庞延斌, 顾福康, 张作人. 红色角毛虫生理改组过程的研究. 动物学研究, 1986, 7(3): 263~ 271.

## 图版 I 说明

1. 新伪尾柱虫腹面微管胞器: AZM-C. 口围带领部; AZM-L. 口围带翻领部; LMC. 左缘棘毛; RMC. 右缘棘毛; TC. 横棘毛; UM. 波动膜; VC. 中腹棘毛; FT. 迁移棘毛; BC. 口棘毛; 2. 腹皮层微管系统: FBM. 额棘毛基部微管; 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; VBM. 中腹棘毛基部微管; 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; ALM. 额棘毛基部前纵微管束; PLM. 额棘毛基部后纵微管束; RM. 额棘毛基部周围微管束; UBM. 波动膜基部微管; 4. 中腹棘毛基部微管: a. 前纵微管束; b. 后纵微管束; c. 横微管束; 5. 缘棘毛基部微管: ALM. 前纵微管束; PLM. 后纵微管束; 6. 中腹棘毛瓦解, 形成 7~ 8 簇口原基; 7. 早期后仔虫口围带原基(箭头所示); 8. 小箭头示前、后仔虫的波动膜原基; 大箭头示前、后仔虫的额腹横棘毛原基; 9. 波动膜原基前端分化出 1 根额棘毛(箭头所示); MC. 左、右缘棘毛列中其右侧一列前后仔虫相应赤道位的缘棘毛首先开始瓦解, 产生缘棘毛原基. 标尺= 10  $\mu\text{m}$ .

## Explanation of Plate I

1. Microtubular organelles of ventral cortex of *Pseudourostyla nova*: AZM-C. Collar region of adoral zone of membranelles; AZM-L. Lapel region of adoral zone of membranelles; LMC. Left marginal cirri; RMC. Right marginal cirri; TC. Transverse cirri; UM. Undulating membranes; VC. Ventral cirri; FC. Frontal cirri; FT. frontoterminal cirri; BC. Buccal cirris. 2. Microtubular system of ventral cortex: FBM. FC base microtubules; LMBM. LMC base microtubules; RMBM. RMC base microtubules; TBM. TC base microtubules; VBM. VC base microtubules. 3. Oral ciliature base microtubules and FC base microtubules: a. membranelle brackets in AZM-L; b. oral rib-wall microtubules; ALM. FC base anterior longitudinal microtubules; PLM. FC base posterior longitudinal microtubules; RM. FC base radiate microtubules; UBM. UM base microtubules. 4. Ventral cirri (VC) and transverse cirri (TC) base microtubules: a. anterior longitudinal microtubules (ALM); b. posterior longitudinal microtubules (PLM); c. transverse microtubules (TM). 5. Marginal cirri (MC) base microtubules: ALM. Anterior longitudinal microtubules; PLM. Posterior longitudinal microtubules. 6. The VC disaggregate and form 7~ 8 AZM primordium (AZMP). 7. Early stage of AZM primordium (AZMP) of opisthe (arrow). 8. M primordia (UMP) of proter and opisthe (small arrow); FVT primordia (FVTP) of proter and opisthe (big arrow). 9. Differentiation of UM primordia, forming 1 FC (arrow). MC. Early stage of the formation of MC primordia. Bar= 10  $\mu\text{m}$ .

## 图版 II 说明

10. 额腹横棘毛原基后端的两根棘毛即将分离出来, 形成迁移棘毛(箭头所示); 11. 迁移棘毛向口围区迁移过程中(小箭头所示)。第一列额腹横棘毛条带左侧贡献的口棘毛(大箭头所示); 12. 迁移棘毛行至口围带小膜与右侧内缘棘毛交汇处(小箭头所示)。前仔虫前端及后仔虫末端仍存在残留的老棘毛(大箭头所示); 13. a. 生理改组初期额腹横棘毛和波动膜瓦解, 形成额腹横棘毛原基和波动膜原基; b. 生理改组初期口围带翻领部瓦解, 形成口围带原基; 14. a. 额腹横棘毛原基形成梯形的条带结构; b. 口围带组装, 形成新的小膜; c. 左、右缘棘毛列中其右侧一列缘棘毛前后仔虫各自的中段开始瓦解; 15. a. 生理改组后期仍有老棘毛残存; b. 生理改组后期仍有老的横棘毛残存; c. 生理改组后期仍有老的缘棘毛残存。标尺= 10  $\mu\text{m}$ .

## Explanation of Plate II

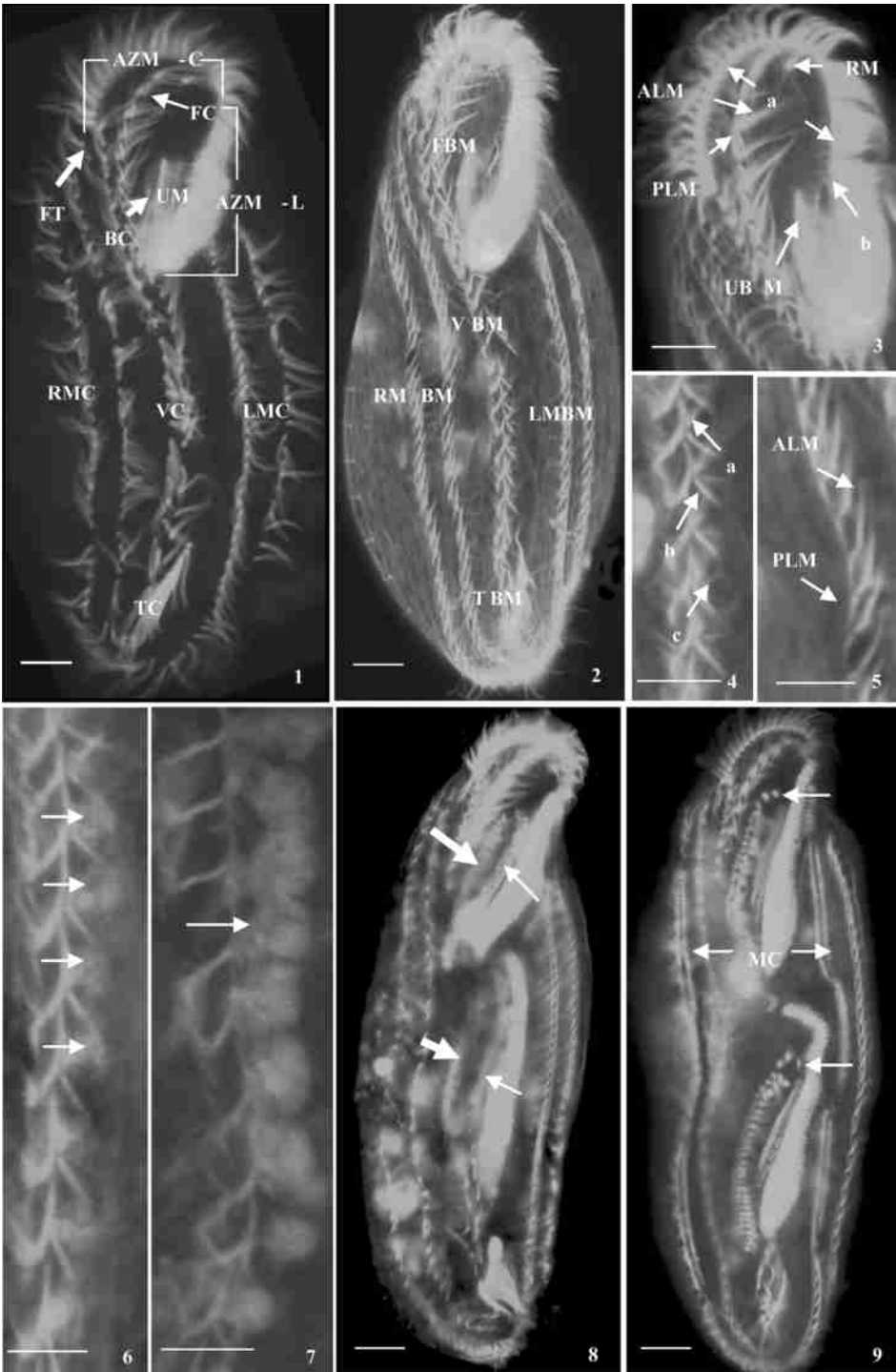
10. Two cirri coming from the posterior FVT primordia form FT; 11. The formation of FT (small arrow). BC come from the first strike of FVT primordia (big arrow); 12. FT move to the final location (small arrow). The conserved old cirri in proter and opisthe (big arrow); 13. a. Early stage of physiological reorganization: FVT and UM disaggregate and form FVT and UM primordia; b. AZM-L disaggregate and form AZM primordia; 14. a. Enlarged ladder-like FVTP of opisthe; b. AZM disaggregate and new membranelles renew; c. Showing further expanded LMC & RMC primordia (RMCP & LMCP); 15. a. The old FC after physiological reorganization; b. The old TC after physiological reorganization; c. The old MC after physiological reorganization. Bar= 10  $\mu\text{m}$ .

周 瑶等: 新伪尾柱虫腹皮层纤毛器微管胞器的形态和形态发生

图版 I

ZHOU Yao *et al.*: Morphology and Morphogenesis of the Ciliature Microtubular Organelle  
in the Ventral Cortex of *Pseudourostyla nova*

Plate I



图版说明见文后

周 瑶等: 新伪尾柱虫腹皮层纤毛器微管胞器的形态和形态发生

图版 II

ZHOU Yao *et al.*: Morphology and Morphogenesis of the Ciliature Microtubular Organelle  
in the Ventral Cortex of *Pseudourostyla nova*

Plate II



图版说明见文后