

# 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

刘兰侠, 余齐耀, 俞丽丽, 栾菊敏, 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, 显示腹毛目纤毛虫大尾柱虫 *Urostyla grandis* 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、纤毛器基部附属微管等组成。其中, 口围带小膜托架及其相联系的肋壁微管和波动膜基体托架, 额棘毛基部前纵微管束、后纵微管束及横棘毛基部前纵微管束, 中腹棘毛及左、右缘棘毛基部前纵微管束、后纵微管束和横微管束, 是该纤毛虫皮层纤毛器基部的主要附属微管。据结果推测, 尽管腹毛目纤毛虫的纤毛器基部微管具有相同的结构成分, 但其结构的组成、分化特征、定位和定向、发达程度等均有差异。所得结果为进一步说明纤毛虫细胞皮层纤毛器的形态及其微管建构的多样性提供了新的证据资料。

**关键词:** 腹毛目纤毛虫; 大尾柱虫; 纤毛器基部微管; 荧光标记

**中图分类号:** Q959.117; Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-7083(2010)04-0576-03

## Ciliature Base-Associated Microtubules in the Ventral Cortex of *Urostyla grandis* (Ciliophora, Hypotrichida) Revealed by Fluorescent Labeling

LIU Lan-xia, YU Qi-yao, YU Li-li, LUAN Ju-min, GU Fu-kang\*

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

**Abstract:** The ciliature microtubular organelles in the ventral cortex of *Urostyla grandis* were visualized by direct fluorescent labeling of FLUTAX. The organelles consist of the 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. These base-associated microtubules are comprised of membranelle brackets of AZM, its associated oral rib-wall microtubules, base body brackets of UM, anterior longitudinal microtubules (ALM) and posterior longitudinal microtubules (PLM) of frontal cirri (FC), ALM of TC, ALM, PLM and transverse microtubules (TM) of midventral cirri (VC) and L-and RMC. According to the results, despite the fact that ciliature base-associated microtubules of hypotrichous ciliates have a basic structural component, the composition, differentiation characteristics, location and orientation, and level of development are different. Therefore, the results provide new evidence for the morphology of cortex ciliated cells and diversity of microtubules construction.

**Key words:** hypotrichous ciliate; *Urostyla grandis*; ciliature base-associated microtubules; fluorescent labeling

大尾柱虫 *Urostyla grandis* 隶属于腹毛目尾柱科, 是一种常见的纤毛原生动物。对于该纤毛虫, 自从 Jerka-Dziadosz (1972) 首先应用蛋白银方法显示了其皮层纤毛模式以后, Borrer (1979)、Borrer 和 Wicklow (1983)、Song 和 Wilbert (1989)、Ganner (1991)、Bergert (2006) 等又从细胞形态和分类、种的特征及与其他种类的比较, 以及皮层纤毛器的形态和形态发生等方面进行了系统和深入的研究, 目前已经成为所在领域熟知的纤毛虫。作者以该纤毛虫的微管类细胞骨架为对象, 应用荧光紫杉醇直接荧光标记方法显示了皮层纤毛器及纤毛器基部微管的分化特征, 为进一步揭示纤毛虫细胞结构的复杂性及多样性提供

了新的资料。现报告如下。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

所用材料大尾柱虫于 2008 年 11 月采自江苏省苏州市金鸡湖旁边的一个小池塘, 分离后应用麦粒发酵产生的细菌为饵料, 进行纯系培养后获得。

### 1.2 方法

采用荧光紫杉醇直接荧光标记方法 (Arregui *et al.*, 2003; 何兰等, 2006), 并稍加调整为: (1) 在解剖镜下, 收集、浓缩大尾柱虫于凹玻片中; (2) 在固定缸加入 200  $\mu$ l 浓度为 0.5% 的皂苷, 将细胞滴入皂

收稿日期: 2009-09-21 接受日期: 2009-10-29 基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (30770238)

作者简介: 刘兰侠 (1980 ~), 硕士研究生, 主要从事原生动物细胞与分子生物学方面的研究, E-mail: liulanxia0624@sina.com

\* 通讯作者 Corresponding author, 教授, 博士生导师, 主要从事原生动物学研究, E-mail: fkgu@bio.ecnu.edu.cn

昔中渗透;(3)细胞转移到另一个加有 200  $\mu\text{l}$  浓度为 4% 多聚甲醛中固定 10 min, PHEM 清洗 1 次;(4) 0.1% Triton X-100 处理 10 min, PHEM 清洗 1 次;(5) 1  $\mu\text{mol}$  的 FLUTAX-2 (invitrogen), 孵育 10 min;(6) 0.01 mol/L 的 PBS 漂洗 1 次, 封片;(7) Olympus BX 荧光显微镜观察, Cool SNAP-Pro 数码相机照相。

## 2 结果

### 2.1 非分裂期细胞腹皮层微管胞器

**2.1.1 纤毛器微管** 大尾柱虫腹皮层纤毛器由口围带、波动膜、额腹横棘毛和左右缘棘毛组成,加之在波动膜右侧分化的 1 列口棘毛,其纤毛模式不同于其他纤毛虫。由荧光紫杉醇直接荧光标记显示的该纤毛虫皮层纤毛器微管中,口围带呈钩形,由领部和翻领部两部分小膜微管组成;波动膜含 1 片口侧膜和 1 片口内膜微管;额棘毛中其前部分棘毛形成双棘毛弓,后部分棘毛成松散分布,此外在额棘毛左侧,也即口侧膜右侧位置有 1 列计 8~12 根棘毛组成的口棘毛;中腹棘毛 2 列,其棘毛由额棘毛右后侧延伸至横棘毛前,常见中腹棘毛列在中部不连续,形成两部分锯齿形排列的棘毛;横棘毛 8~11 根,于中腹棘毛的后端倾斜排成 1 列;左缘棘毛和右缘棘毛各 4~5 列,且两部分棘毛中各有 1~2 列比较短,左、右棘毛在细胞尾部向体中轴线方向弯曲后相接(封 2 图版,1)。

#### 2.1.2 纤毛器附属微管

**(1) 口围带和波动膜基部附属微管** 口围带小膜基部含小膜托架,各个小膜托架与其上方的小膜大小一致,其中领部小膜托架紧排在一起呈弧形,翻领部小膜托架紧排在一起呈宽带状。领部各个小膜托架内侧向皮层发出粗短的微管条索,翻领部各个小膜托架内侧向皮层发出细长的微管束,于口围带内侧形成平行排列的肋壁微管网。此外,在翻领部小膜托架外侧也观察到由一根粗大的微管束将各个小膜托架连接起来(封 2 图版,2、3、6、7)。

波动膜的口内膜和口侧膜在其基体列托架位置分别形成较粗大的微管束,在该两根微管束间由微管骨架网连接(封 2 图版,6)。

**(2) 额棘毛基部附属微管** 额棘毛基部含前纵微管束和后纵微管束,后纵微管束较前纵微管束发达。其中前纵微管束于棘毛基部向前方皮层伸展,后纵微管束由棘毛基部向后方皮层伸展,两者几乎在同一水平上形成一条直线。并且前、后额棘毛基

部其前一额棘毛的后纵微管束与后一额棘毛的前纵微管束也几乎成一条直线相接续,结果在后端的额棘毛基部后纵微管束于口围带基部右侧终止、聚焦在一点,使全部额棘毛的基部附属微管整体看起来像倒置的“琵琶弦”(封 2 图版,3、7)。

全部口棘毛的纤毛杆微管部分其大小与额棘毛相近,但其基部附属微管不明显(封 2 图版,2)。

**(3) 中腹棘毛基部附属微管** 中腹棘毛基部附属微管束由前纵微管束、后纵微管束和横微管束构成。前纵微管束由棘毛基部向皮层左前方伸展,后纵微管束由棘毛基部向皮层右后方伸展。其中前纵微管束比后纵微管束长,但两者均比额棘毛基部前纵微管束和后纵微管束短小。横微管束位于前、后纵微管束之间,由棘毛基部向皮层左后方发出,十分短小(封 2 图版,2、4)。

**(4) 横棘毛基部附属微管** 横棘毛基部前纵微管束十分发达,其分别由各个棘毛基部向左前方皮层发出并聚集在一起形成三角形片层后又伸展较长距离集成线条状。未见后纵微管束和横微管束的分化,但在横棘毛基部后常见明显的云雾状区(封 2 图版,2、5)。

**(5) 左、右缘棘毛基部附属微管** 左、右缘棘毛基部含前纵微管束、后纵微管束和横微管束。其三种微管束的定向和排列与中腹棘毛的基部微管相一致,因此除位于口围带胞器后部的左缘棘毛微管胞器能较容易区分外,很难区分中腹棘毛及与之邻近的右缘棘毛胞器(封 2 图版,2、4)。

## 3 讨论

### 3.1 大尾柱虫腹皮层纤毛器附属微管的建构特征

本文报告的大尾柱虫腹皮层纤毛模式与 Song 和 Wilbert (1989)、Foissner (1991)、Ganner (1991) 报告的一致。由荧光紫杉醇直接荧光标记显示,大尾柱虫纤毛器基部微管中,口围带基部含小膜托架及与托架相联系的肋壁微管,在翻领部小膜托架外侧由一根粗大的微管束将各个小膜托架连接起来;波动膜的口内膜和口侧膜在其基体列托架位置分别形成较粗大的微管束,在该两根微管束间由微管骨架网连接;额棘毛基部含前纵微管束和后纵微管束,后纵微管束较前纵微管束发达,全部额棘毛的基部附属微管形成倒置的“琵琶弦”;中腹棘毛基部含前纵微管束、后纵微管束和横微管束,其前纵微管束比后纵微管束长,横微管束十分短小;横棘毛基部含前纵

微管束,未见棘毛基部其他微管的分化,但在棘毛基部后常见明显的云雾状区;左、右缘棘毛基部含前纵微管束、后纵微管束和横微管束,其三种微管束的定向和排列与中腹棘毛的基部微管相一致,因此除位于口围带胞器后部的左缘棘毛微管胞器能较容易区分外,很难区分中腹棘毛及与之邻近的右缘棘毛胞器。对大尾柱虫皮层纤毛器附属结构的建构特征尚未见报道,结果表明,大尾柱虫腹皮层纤毛器基部微管中,口围带小膜托架及其相联系的肋壁微管和波动膜基体托架,额棘毛基部前纵微管束、后纵微管束及横棘毛基部前纵微管束,中腹棘毛及左、右缘棘毛基部前纵微管束、后纵微管束和横微管束是该纤毛虫皮层纤毛器基部的主要附属微管。

### 3.2 大尾柱虫腹皮层纤毛器附属微管与其他纤毛虫的比较

在活体状态下,很难将同为尾柱虫科的大尾柱虫与冠突伪尾柱虫 *Pseudourostyla cristata* 区分开来,但据皮层纤毛模式及所在实验室和本文的结果则能很容易地将两者分开,例如前者口围带倒钩形,细胞额区除额棘毛外尚有 1 列口棘毛,腹面含两部分不连续排列的锯齿形中腹棘毛等;后者口围带倒 U 形,额棘毛形成并行的弧形列,腹面含连续排列的锯齿形中腹棘毛等(周素娟等,2008)。在纤毛器基部微管水平,两者显示出一些相似的特征,例如口纤毛器基部微管相似,左右缘棘毛基部微管中都含前纵微管束、后纵微管束和横微管束,并呈现相似的定位、定向,且横微管束不发达等;又显示出一些不同的特征,例如额腹横棘毛基部微管中前者含前纵微管束、后纵微管束,横微管分化不明显或者不发达等,后者含前纵微管束、后纵微管束、横微管束及放射微管,其横微管分化明显,且中腹棘毛基部微管组合成绳索结构等。自从 Arregui 等(2002)提出荧光紫衫醇方法成功地显示纤毛虫的微管胞器后,所在实验室以腹毛目纤毛虫为材料,应用改进的方法已经显示了多种纤毛虫的纤毛器基部微管(曾红等,2006;娄慧玲等,2007;周素娟等,2008;高巍等,2008;史磊等

2009),联系不同类群及亲缘关系相近的纤毛虫所得的结果,尽管腹毛目纤毛虫的纤毛器基部微管具有基本的结构成分,但其结构的组成、分化特征、定位和定向、发达程度等均有差异,因此作者的结果也为进一步说明纤毛虫细胞皮层纤毛器的形态及其微管建构的多样性提供了新的证据资料。

## 4 参考文献

- 高巍,史磊,顾福康. 2007. 异毛虫 *Allotricha curdsi* 皮层纤毛器基部微管的荧光标记[J]. 复旦学报(自然科学版), 46(6): 976 ~ 980.
- 何兰,曾红,沈洁,等. 2006. FLUTAX 法显示纤毛虫微管胞器的改良[J]. 动物学杂志, 41(3): 56 ~ 61.
- 娄慧玲,高巍,倪兵,等. 2007. 魏氏拟尾柱虫腹皮层纤毛器微管胞器的形态及形态发生[J]. 动物学报, 53(4): 742 ~ 747.
- 史磊,运迷霞,顾福康. 2009. 草丛土毛虫皮层纤毛器的微管胞器研究[J]. 分子细胞生物学报, 42(2): 106 ~ 117.
- 曾红,倪兵,顾福康. 2006. 原生动物贻贝棘尾虫微管胞器的荧光标记与显示[J]. 动物学杂志, 41(4): 71 ~ 76.
- 周素娟,尹飞,生欣,等. 2008. 冠突伪尾柱虫腹皮层纤毛器微管胞器的形态及其形态发生[J]. 动物学报, 54(2): 299 ~ 308.
- Arregui L, Muñoz-Fontela C, Guinea A, et al. 2003. FLUTAX facilitates visualization of the ciliature of oxytrichid hypotrichs[J]. Europ J Protistol, 39: 169 ~ 172.
- Berger H. 2006. Monograph of the Urostyleloidea (Ciliophora, Hypotricha) [M]. The Netherlands; Springer: 1045 ~ 1096.
- Borror AC. 1979. Redefinition of the Urostyleloidea (Ciliophora, Hypotrichida) on the basis of morphogenetic characters[J]. Protozool, 26: 544 ~ 550.
- Borror AC, Wicklow BJ. 1983. The suborder Urostyleloidea (Ciliophora, Hypotrichida): morphology systematics and identification of species[J]. Acta Protozool, 22: 97 ~ 126.
- Ganner B. 1991. Zur Taxonomie einiger Ciliaten (Protozoa) aus Fliessgewässern [D]. Salzburg: Dissertation Universität Salzburg: 159.
- Jerka-Dziadosz M. 1972. Cortical development in Urostylela. I. Comparative study on morphogenesis in *U. cristata* and *U. grandis* [J]. Acta Protozool, 10: 73 ~ 100.
- Song W, Wilbert N. 1989. Taxonomische Untersuchungen an Aufwuchsciliaten (Protozoa, Ciliophora) im Poppelsdorfer Weiher [J]. Lauterbornia, 3: 2 ~ 221.

