

金龟累枝虫游泳体形成初期细胞体和表膜下纤维系的形态学研究

齐桂兰¹, 吴永胜¹, 施心路² (1. 成都市农林科学院畜牧研究所, 四川成都 611130; 2. 杭州师范大学生命科学学院, 浙江杭州 310036)

摘要 [目的] 为防治金龟累枝虫对水环境和养殖业的危害提供理论依据。[方法] 利用蛋白银染色技术对金龟累枝虫游泳体形成初期细胞形态、细胞核、口纤毛器及肌纤维系统的形态学进行了研究。[结果] 虫体呈盘状; 反口纤毛环处缢缩, 反口纤毛环明显变粗, 宽度可达 5.5~6.0 μm, 长出纤毛; 纵长纤维起始端为不连续的粗壮爪状分支, 在反口纤毛环处发生断裂; 第二咽膜起始端最外侧一列毛基索有 7 列毛基粒小片段。[结论] 研究金龟累枝虫反口纤毛环处纤毛形成的抑制措施可以有效遏制该类群对养殖业带来的危害。

关键词 金龟累枝虫; 游泳体; 反口纤毛环

中图分类号 S917 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)18-160-02

Morphological Study on the Cell Body and Infraciliature of *Epistylis chrysemydis* in Early Forming Stage of Swimmer

QI Gui-lan¹, WU Yong-sheng¹, SHI Xin-lu² (1. Chengdu Academy of Agriculture and Forestry Sciences, Chengdu, Sichuan 611130; 2. School of Life Sciences, Hangzhou Normal University, Hangzhou, Zhejiang 310036)

Abstract [Objective] The research aimed to provide theoretical basis for controlling the damages of *Epistylis chrysemydis* to water environment and aquaculture. [Method] The morphology of cell, nucleolus, mouth ciliatures and muscle fiber system of *E. chrysemydis* in early forming stage of swimmer were studied by using protargol staining technology. [Result] The zooids were disk-shaped. The aboral ciliary ring was constricted and became thicker and its breadth was 5.5-6.0 μm, and cilia grew up. The initiating terminal of the longitudinal fibers was discontinuous and thick claw-formed branches and the aboral ciliary ring was ruptured. There were 7 rows of kineties fragments in the outer kineties at the initiating terminal of P2. [Conclusion] To study the measures of inhibiting the formation of cilia at aboral ciliary ring of *E. chrysemydis* could effectively control the damages of this group to the aquaculture.

Key words *Epistylis chrysemydis*; Swimmer; Aboral ciliary ring

金龟累枝虫喜附着于中污性水域中的枯叶、水生植物的茎枝及沙砾草丛中, 是淡水环境中的常见重要指示生物之一^[1]。因为它个体明显较一般的累枝虫大, 取材方便, 是揭示动物细胞细微结构的良好材料。目前, 关于累枝虫正常个员及形成游泳体之后的形态学和表膜下纤维系的研究取得了一定的进展^[2-5], 但迄今为止关于缘毛类纤毛虫游泳体形成过程中细胞形态、细胞器结构及表膜下纤维系变化过程的研究仍属空白。缘毛类固着亚目的游泳体出现在该类群生物无性生活周期的特定时期, 是应对不良环境条件和扩大生存领域的重要方式之一。笔者对游泳体形成过程中细胞形态、细胞器和表膜下纤维系进行研究, 可填补纤毛虫无性生活中游泳体形成机制和形成过程研究领域的空白, 并为防治该类群对水环境和养殖业的危害提供一定的理论依据。

1 材料与方法

金龟累枝虫于 2014 年 12 月至 2015 年 2 月采自四川省成都市崇州某小型池塘。样本采回后在实体解剖镜下将虫体分离, 然后放入过滤后的原环境水中加麦粒进行培养, 倒置显微镜下进行活体观察, 将有游泳体形成的群体与固着基质分离后进行蛋白银制片, 具体方法参考施心路等^[6]。种类鉴别和制片后的显微观察在明视场、暗视场和微干涉差显微镜下完成。蛋白银制片法采用 Shi 等^[7]的方法。文中术语参照施心路^[6]和 Corliss^[8]。

2 结果与分析

2.1 游泳体形成初期细胞形态和细胞核的变化 金龟累枝

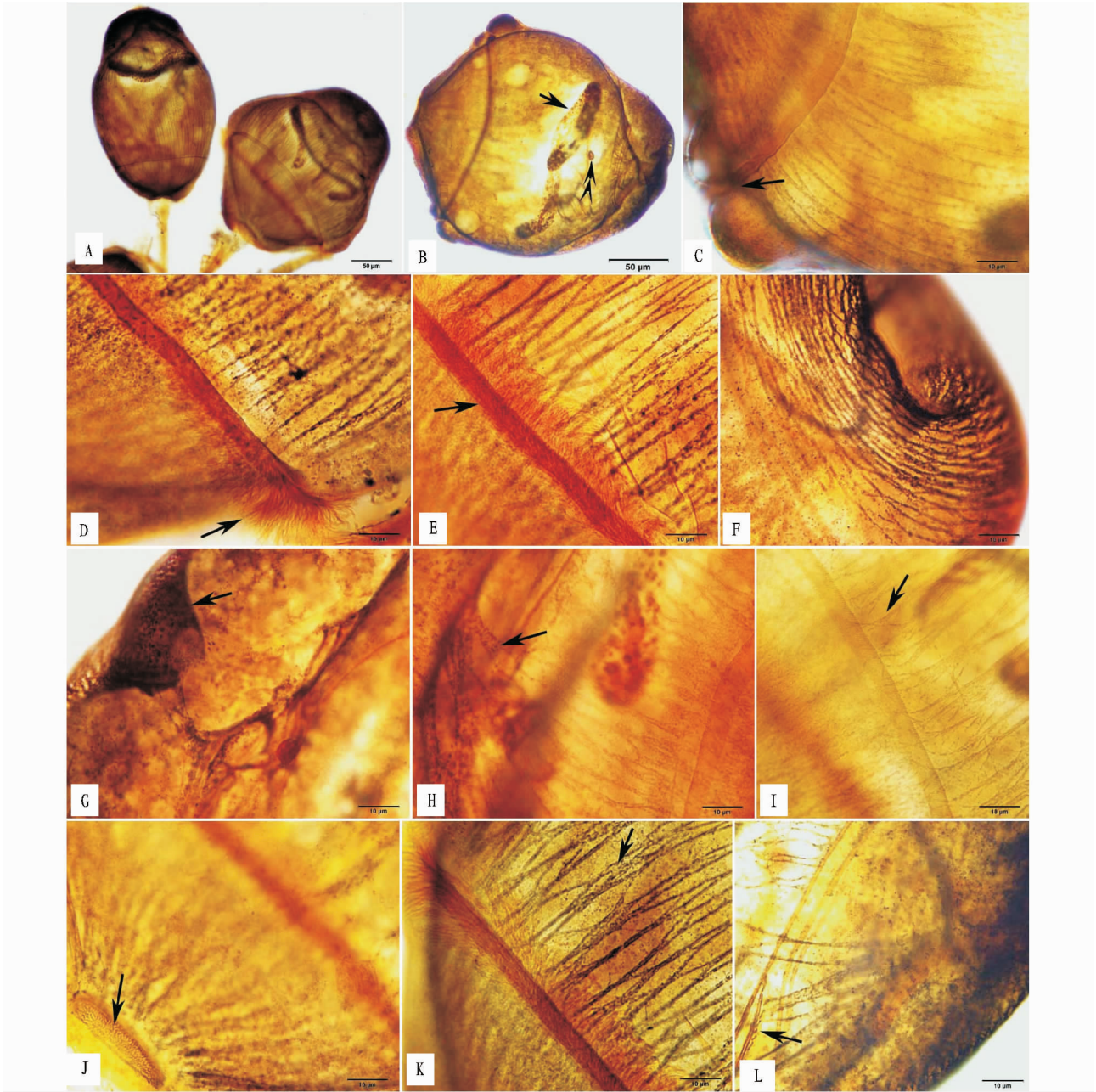
基金项目 国家自然科学基金项目(31272262, 41176107); 浙江省自然科学基金项目(Y3100128); 杭州市重点实验室基金(2010033T05)。

作者简介 齐桂兰(1980-), 女, 山东菏泽人, 助理研究员, 硕士, 从事动物细胞学与生态学方面的研究。

收稿日期 2015-04-24

虫形成游泳体时细胞体收缩呈盘状(图 1A~B), 细胞在后端 1/3, 反口纤毛环处缢缩, 细胞质在反口纤毛环处有明显的缢痕(图 1B)。在缢痕形成的胞质突起区域并无纵长纤维存在(图 1C)。然后, 细胞进一步收缩变圆、变短, 长/宽为 0.8~1.2; 蛋白银染色后反口纤毛环位于虫体后部 1/4 处; 反口纤毛环明显变粗(图 1E), 宽度可达 5.5~6.0 μm, 变为正常个员的 15~20 倍, 并在该处长出纤毛(图 1D), 纤毛长度可达 6~7 μm, 该处蛋白银染色后颜色发红, 在游泳体形成过程中大核呈横向的“J”字形(图 1A~B), 位于细胞上部 1/3 处, 小核 1 个, 呈椭圆形(图 1B), 长径 6~8 μm, 较大核染色浅, 位于虫体上部 1/3 近中央处, 单毛基索和复毛基索的下方。

2.2 游泳体形成初期细胞核与表膜下纤维系的变化 游泳体形成过程中, 环状纤维位于细胞上部 1/3 处, 在细胞的顶部内凹形成相互套叠的内外 2 层。外层的环状纤维, 上端较下端致密, 各环状纤维之间有连接纤维相连, 整体呈现网状(图 1F)。内层的环状纤维呈致密网状(图 1G)。纵长纤维起始于复毛基索的下方, 终止于帚胚。起始端为不连续的粗壮爪状分支, 在前庭入口处有明显的间断(图 1H)。在虫体中部纤细而致密, 各纵长纤维之间有连接纤维相连, 呈网状均匀分布于细胞表膜下(图 1K)。反口纤毛环生成纤毛处的纵长纤维有断裂(图 1I、K), 反口纤毛环之后汇聚趋势明显, 呈粗网状, 在靠近帚胚处进一步汇聚, 最终汇合成 16~20 条, 终止于帚胚处(图 1J)。单毛基索(HK)与复毛基索(PK)旋转两圈半后进入前庭, 第二咽膜(P2)起始端最外侧一列毛基索有 7 列呈分散状向外排列的毛基粒小片段组成(图 1L), 长度 1.2~2.8 μm, 第二咽膜起始端只有最内侧一列毛基索与之相连, 在胞口处第二咽膜的 3 列毛基索最内侧一列毛基索最先终止, 靠近第三咽膜(P3)一侧的一列最后终止, 第二咽膜终止后, 第一咽膜(P1)和第三咽膜合并后向胞



注:A. 正常个员和正在形成游泳体个员形态;B. 大核(箭头)和小核(双箭头);C. 缢痕处的胞质突起;D. 反口纤毛环处的纤毛;E. 反口纤毛环(箭头);F. 外层的环状纤维(箭头);G. 内层的环状纤维(箭头);H. 纵长纤维的起点(箭头);I. 反口纤毛环处的纵长纤维(箭头);J. 帚胚(箭头);K. 细胞中部的纵长纤维(箭头);L. 第二咽膜的起点(箭头)。图 A ~ B 中标尺为 50 μm;图 C ~ L 中标尺为 10 μm。

图 1 金龟累枝虫游泳体形成初期细胞形态和表膜下纤维系

口一侧弯曲。

3 讨论

目前,关于缘毛类固着亚目纤毛虫游泳体的研究尚处于初步阶段,关于游泳体蛋白银染色后形态学和表膜下纤维系的研究仅有钟形钟虫和金龟累枝虫 2 种^[4-5]。然而,2 种累枝虫的游泳体和正常个员在表膜下肌纤维、口纤毛器和反口纤毛环均有较显著差异。固着生活的个员在特定条件下变为能自由生活的游泳体,对于原生动动物逃避不良刺激、扩大生活领域和保持种的延续有着重要的意义,揭示寄生生活的原生动动物正常个员与自由生活的游泳体之间的转变机制对于有效控制该类群对养殖业的危害有着重要的价值,但目前

该领域的研究仍属空白。缘毛类纤毛虫的游泳体常见的有圆筒形和盘状,多数累枝虫的游泳体为盘状,在水中旋转前进^[2],金龟累枝虫的游泳体是盘状之中典型的代表,对于其转变机制的研究对于探索累枝虫的游泳体的形成机制具有重要的意义。金龟累枝虫游泳体和钟形钟虫游泳体的运动方式、形态学和表膜下纤维系有着显著差异,其游泳体无反口纤毛环存在,在虫体的底部无表膜下肌纤维系的存在。该研究结果表明金龟累枝虫在游泳体形成初期,其环状纤维和反口纤毛环以上的纵长纤维和正常个员相似,而与其游泳体存在显著差异。其最显著的变化出现在反口纤毛环,宽度可(下转第 179 页)

味芳香。人们对平时使用的各类生活类产品趋向于纯天然化,且艾叶本身对皮肤的刺激性较小、服用后几乎没有毒副作用等特点,可开发各种产品。

参考文献

[1] 周英栋,费新应. 艾叶的药理作用研究[J]. 湖北中医杂志,2010,32(11): 75-76.

[2] 刘巍,刘萍,刘薇芝,等. 蕲艾的研究概况[J]. 中国药师,2011,14(11): 1531-1533.

[3] 赵宁,辛毅,张翠丽,等. 艾叶提取物对细菌性皮肤致病菌的抑制作用[J]. 中药材,2008,31(1):107-109.

[4] 李慧. 艾叶的研究进展及其开发应用[J]. 基层中药杂志,2002,16(3): 51-52.

[5] 刘巍,刘萍,袁铭. 艾叶水提液的体外抑菌试验[J]. 中国药师,2009,12(8):1159-1160.

[6] 刘萍,刘巍,袁铭. 艾叶与复方艾叶水提液体外抗菌作用比较[J]. 医药导报, 2007,26(5):484-485.

[7] 尹美珍,阮启刚,肖安菊,等. 艾叶水提物的分离提取及其抗肝癌活性研究[J]. 时珍国医国药,2011,22(11):2898-2899.

[8] 宋建勇,林辉,刘鹏林. 艾叶复方消毒剂杀菌效果的实验观察[J]. 第三军医大学学报,1998(10):460-461.

[9] 吴小虎,艾启俊,肖毅. 天然中草药果疏防腐保鲜剂的应用和研究[J]. 保鲜与加工,2006,6(2):4-5.

[10] 李建民,辛莉. 艾叶提取液对黄瓜的保险作用研究[J]. 河南农业科学,2011,40(6):125-127.

[11] 李朝晖. 艾叶提取液对真丝的直接染色[J]. 印染,2012(4):20-23.

[12] 李婷,韩丽君,袁毅. 不同有机溶剂对雨生红球藻中虾青素提取成分的影响[J]. 海洋科学,2012,36(7):34-37.

[13] 姚德恩. 乙醇萃取苋菜红色素[J]. 天然气化工,1990(1):65-66.

[14] 杨兰花,钱俊青. 乙醇萃取菜籽油卵磷脂的工艺研究[J]. 中国粮油学报,2007,22(4):75-79.

[15] 朱媛,张雪松. 乙醇溶剂提取姜辣素的实验研究[J]. 中国调味品,2008(4):83-85.

[16] 曹洪玉. 乙醇萃取菌丝体中阿维菌素的工艺研究[J]. 赤峰学院学报,2014,30(1):6-9.

(上接第 161 页)

达变为正常个员的 15~20 倍,并在该处长出长纤毛,细胞在该处出现明显的缢缩,表膜下的纵长纤维也出现较明显的断裂,继而细胞在该处逐渐出现断裂带,纵向纤维也从该处分割为两个部分。由此可见,在金龟累枝虫游泳体从正常个员分离的过程中除了反口纤毛环所形成纤毛的作用外,肌纤维系也起着很重要的协同作用。但是,金龟累枝虫游泳体汇聚后的纵长纤维只有 20 条左右,而游泳体形成初期,到达反口纤毛环处的纵长纤维多达 40 余条。金龟累枝虫游泳体环状纤维,围绕较发达的支撑纤维平行排列,而在形成初期的环装纤维较发达,由相互套叠相连续的 2 层组成,没有发现支撑纤维的存在。据此推断,在从群体上分离后金龟累枝虫游泳体表膜下纤维系还要发生较为深刻的变化,其快速旋转的运动方式和其细胞结构深刻变化的联系还需要进一步研究。金龟累枝虫游泳体的口纤毛器和细胞核与正常个员相似。另外,笔者还发现游泳体形成初期在 P2 起始端最外侧一列毛基素有 7 列长度不等、呈分散状向外排列的毛基粒小片段出现,可能与适应金龟累枝虫游泳体快速旋转运动过程中的

[17] 郑志,姜绍通,潘丽军. 乙醇萃取分离大蒜素的工艺研究[J]. 合肥工业大学学报,2003,26(4):542-545.

[18] 刘航,国旭丹,马雨洁,等. 超声波辅助提取苦荞麦多糖工艺优化及其体外抗氧化研究[J]. 食品科学, 2013,34(14):45-46.

[19] 高峰,于亚莉,刘静波,等. 超声波提取北冬虫夏草的工艺[J]. 食品研究与开发, 2010,31(6):107-108.

[20] 陈晓明,李开锦,台建祥,等. 超声波辅助提取木薯皮活性物质工艺[J]. 农业工程学报,2011,27(1):389-395.

[21] 盛桂华,周泉城. 超声波辅助提取山豆根氧化苦参碱研究[J]. 农业工程学报,2008,24(3):291-294.

[22] 李敏晶,韩艳玲,刘远,等. 超声波提取法对海燕皂苷提取工艺的研究[J]. 广东化工,2010,37(8):69-70.

[23] 孟凡丽,苏晓田,矫天育. 超声波提取法在越橘果实花色苷提取方面的研究[J]. 辽宁农业职业技术学院学报,2009,11(1):21-22.

[24] 高亚妮,田呈瑞,高宇新,等. 超声波提取花椒皮总黄酮工艺及抗氧化性研究[J]. 食品科学,2012,33(18):77-82.

[25] 王贤萍,段泽敏,孟晶岩,等. 超声波提取苹果多酚类物质的优化研究[J]. 山西农业科学,2007,35(5):34-38.

[26] 刘新,韩琴,徐洁. 荔枝壳中原花青素提取工艺研究[J]. 安徽农业科学,2011,39(6):3282-3285.

[27] 韩艳丽,凡军民,李静,等. 茶树花多糖微波提取提工艺[J]. 江苏农业科学,2015,43(2):273-275.

[28] 饶龙春,张玉祥,刘立平,等. 超声波辅助提取橙皮色素优化[J]. 广州化工,2015,43(4):124-125.

[29] 郭婕,刘中华,袁淑培,等. 黑豆中大豆异黄酮微波提取工艺的优化[J]. 食品工业科技,2015,36(5):255-257.

[30] 冯银霞. 微波萃取菠萝皮中果胶工艺的研究[J]. 农业工程技术:农产品加工业, 2015(1):30-34.

[31] 李昌文,纵伟,赵光远,等. 微波辅助提取芹菜渣水溶性膳食纤维工艺条件研究[J]. 食品工业,2015,36(30):49-51.

[32] 姜国芳,占俊峰,谢宗波,等. 微波辅助水酶法提取樟树籽油的工艺研究[J]. 食品科技, 2015,40(3):255-258.

[33] 刘晓强. 宠物源大肠杆菌对氟喹诺酮类药物的多药耐药机制研究[D]. 杨凌:西北农林科技大学,2012:1-2.

摄食有关。金龟累枝虫与其游泳体之间依靠反口纤毛环和表膜下纤维系的协同作用来完成固着群体生活的个体和快速自由运动的游泳体之间的转变,研究其反口纤毛环处纤毛形成的抑制措施可以有效遏制该类群对养殖业造成的危害。

参考文献

[1] 沈蕴芳,章宗涉,龚循矩,等. 微生物检测新技术[M]. 北京:中国建筑工业出版社,1990:155-160

[2] FOISSNER W, BERGER H, KOHMANN F. Taxonomische undÖkologischeRevision der Ciliaten des Saprobiensystems. Band II: Peritrichia, Heterotrichida Odontostomatida [M]. München; Informationsberichte BayerLandesamt für Wasserwirtschaft,1992:198-202.

[3] QI G L,SHI X L,LIU G J,et al. A new freshwater peritrichous ciliate from Harbin, China, *Epistylis lalinensis* n. sp. (Sessilida: Epistylididae) [J]. Zootaxa 2009, 1980: 53-60.

[4] 齐桂兰,施心路,刘桂杰. 钟形钟虫游泳体的形态学和表膜下纤维系的研究[J]. 安徽农业科学,2008,36(21):9081-9082.

[5] 齐桂兰,张丽,施心路. 金龟累枝虫游泳体表膜下纤维系的研究[J]. 安徽农业科学,2012,40(2):832-833,835.

[6] 施心路,余育和,沈熹芬. 钟形钟虫形态学及表膜下纤维系统的研究[J]. 水生生物学报,2003,47(1):64-68.

[7] SHI X, FRANKEL J. Morphology and development of mirror-image doublets of *Stylonychia mytilus* [J]. Protozool,1990, 37:1-13.

[8] CORLISS J O. The ciliated protozoa:Charterization,classification, and guide to the litetature [M]. New York:Pergamon Press,1979.