

一种淡水缘毛类纤毛虫——沟钟虫的形态学研究

施心路^{1,2} 王文敬^{2,3} 刘桂杰¹ 彭晓辉¹

(1. 杭州师范大学, 杭州市动物科学与技术重点实验室, 杭州 310036; 2. 哈尔滨师范大学生命与环境学院, 哈尔滨 150080;
3. 南方医科大学生物技术学院, 广州 510515)

摘要:利用活体观察及蛋白银染色技术对一淡水缘毛目纤毛虫——沟钟虫(*Vorticella convallaria*)的形态学和表膜下纤维系进行了研究。结果表明:沟钟虫的活体个体自然伸展时外形较稳定,并呈明显的倒置钟状,长宽约为50—85μm×40—75μm;口围缘完全外展时为虫体最宽处;伸缩泡一个,较大,位于口围唇下方及口前庭的左侧。胞质均匀而透明,无脂肪滴存在,游泳体呈圆柱形。细胞表面横纹从口围唇到反口纤毛环为74—78条,自反口纤毛环到帚胚为18—24条。大核呈大幅度盘绕的长肠状,两端高度弯曲,纵贯于细胞内。蛋白银制片后表膜下纤维系特征为:虫体纵向纤维稀疏而粗壮,37—42条,似灯笼状;口围盘纤维呈典型的倾斜态分布,并呈放射状排列。第三咽膜(P3)在近口末端处呈明显的分离态,可视为该物种重要的分类学依据。

关键词: 缘毛目;纤毛虫;沟钟虫;形态学;表膜下纤维系

中图分类号: Q959.117 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2007)04-0540-06

钟形虫属(*Vorticella*)纤毛虫在缘毛目众多种类中是研究最早的类群之一^[1],但因该属中所涉及的种类繁多,因此,也是描述或记载相对混乱的种类之一^[2-4]。沟钟虫(*Vorticella convallaria*)是Linnaeus(1758)依据光镜下活体观察结果建立的种,因其分布广泛,是研究较为详细的几种缘毛类之一。多年来很多人对该种进行过形态学和分类学的研究^[1-7],但大多数结论仍旧停留在重复描述活体观察的水平上^[1-4,6,7]。Foissner等在其缘毛类的著作中总结了以前的工作,并根据蛋白银制片标本对沟钟虫的纤维系统及核器、口纤毛器等进行了较为详细的描述^[8],但因制片方法的不同,一些特征性的结构仍无法显示清楚,对于沟钟虫的某些关键性的细微结构,特别是所涉及到的种类鉴定的关键结构——口器和有关纤维的结构触及不深,无法满足正确甄别沟钟虫的要求。作者等于2001—2002年在黑龙江省的不同地点分别采到一种淡水生缘毛目纤毛虫,经活体观察和制片后确定为沟钟虫。本文旨在对沟钟虫的特征性结构和分类学特点进行补充性研究,以期为鉴定该种纤毛虫提供更为充实的科学依据。

1 材料与方法

沟钟虫(*Vorticella convallaria*)于2001年9—10月和2002年5—9月间分别采自黑龙江省五常县拉林镇的一处季节性水域(N 45°05.509', E 127°03.703')和哈尔滨市松花江以北小王家屯的一处季节性洼地水域中。培养方法参见施心路^[9,10]、宋微波等^[11]。活体观察分别在明视场、暗视场和微分干涉差显微镜下进行。蛋白银制片时,先将生长在基质(水生植物的茎、叶及其他物体)上的虫体取下,然后进行后续工作。蛋白银染色方法参见Shi & Frankel^[12]。本文所用模式图均参照活体观察及蛋白银制片结果绘制,形态学术语参见Corliss, Shi et al 及Song等^[9-11,14,15]。

2 结果

2.1 活体形态描述(图版 ;)

虫体伸展时呈较典型的倒置圆钟形,个体较同属中的相近种略为粗壮(图版 :1; 图版 :6)。充分伸展时虫体长宽一般为(50—85)μm×(40—75)μm,长宽比约为(1—1.25) 1,大小在钟形虫的众多种类中属中

收稿日期:2004-11-16; 修订日期:2006-09-18

基金项目:国家自然科学基金(No. 30670222, 30710108); 浙江省自然科学基金(Y304410); 淡水生态与生物技术国家开放实验室基金(2002FB09); 浙江省动物学重点学科基金资助

通讯作者:施心路(1955—),男,教授,博士;主要从事原生动物细胞学及细胞发生学方面的研究。E-mail: Shix156@163.com

等。口围缘外展时相对显著,为虫体的最宽部位(图版 :1;图版 :6)。生活时,虫体的口围盘向外呈微倾斜性隆起。伸缩泡一个,较大,位于口围唇的下方,口前庭的左侧。胞质均匀而透明,未见有脂肪滴的存在。游泳体呈圆柱形,约 $82\mu\text{m} \times 31\mu\text{m}$,行进时呈逆时针运动。

大核呈长肠状,大幅度弯曲并盘绕于整个虫体细胞质内。大核的近口端始于口围唇的近中部,沿口围唇下方弯曲旋转大部,然后紧贴虫体内缘下行至近反口纤毛环处,其后段再向上弯曲终止于反口纤毛环的上方(图版 :1)。小核两枚,椭球形,分别位于大核两端(图版 :1)。有性生殖期时,大个员的大核裂解成众多的大核碎块(图版 :13)。

活体个员的柄较为光滑,其长度约为虫体自身长度的 6—7 倍。当受到刺激时,整个柄呈螺旋式收缩(图版 :15)。

2.2 表膜下纤维系

虫体的纤维系统在蛋白银染色后呈典型的灯笼状(图版 :4;图版 :7,8)。沟钟虫的纤维系统较为简单,通常只包括纵向延伸和环状围绕两种纤维。纵向纤维相对单一,排列稀疏而粗壮,37—42 条。一些纵长纤维在向两端延伸的过程中逐渐发出细微的分支,其分支可在继续延伸的过程中彼此相接,形成一个栅栏状的网状纤维系统。纵长纤维在过反口纤毛环后略为变粗,并在近帚胚处彼此两两相汇合,行至近终端时则合成约为 20 条更为粗壮的纵向纤维,最后终止于帚胚处。(图版 :4;图版 :7,8,10)。

环状纤维包括围口纤维、支撑纤维和口围盘纤维。围口纤维位于虫体顶端,当虫体收缩时,形成一个闭合的粗环,其外缘可见 3 圈明显的环状纤维(图版 :4;图版 :16—18)。支撑纤维呈逆时针方向与单动基列(HK)和多动基列(PK)并行,在细胞内缘盘绕口围盘约 1 又 $3/4$ 圈后,同 HK 和 PK 一道斜向进入口腔。口围盘纤维呈斜向放射状排列,形似辐轮状,这与已知钟形虫属中的其他常见种类的网状或花盘状口围盘纤维明显不同。口围盘纤维主要由 13—16 根末端分叉的短纤维组成(图版 :5;图版 :7,14,18)。

反口纤毛环(ACW)由紧密排列的几列毛基粒构成,制片后约 $1.3\mu\text{m}$ 宽(图版 :15)。

虫体表膜遍布均匀而细密的横纹,制片后仍清晰可见。横纹的数目从口围唇到反口纤毛环(ACW)之间为 74—78 条,而从 ACW 到帚胚处则有 18—24

条。横纹间距约为 $0.6\mu\text{m}$ 左右。

2.3 口纤毛器

沟钟虫口器的基本结构由单动基列(HK)、多动基列(PK)、三条咽膜(P1、P2、P3)和生发动基列(GK)组成。PK 始发于细胞口围唇内侧,绕口围盘逆时针旋转约 1 又 $3/4$ 圈后,继续逆时针沿前庭壁向细胞内旋转至口漏斗底部,进入口漏斗的部分即为第一咽膜(P1)。每条咽膜均由三列动基列组成。P1 的长度最大,它的口器外端一侧实际上与 PK 相连,内侧一直延续到口漏斗底部与第三咽膜(P3)的外侧两列动基列相并合,形成由五列动基列组成的小膜(图版 :3;图版 :12)。第二咽膜(P2)的长度相对比 P1 短,其胞口的外侧一端起始于 P1 的起始处,但明显不与 P1 相连(图版 :2),另一端则终止于 P1 与 P3 的相汇处(图版 :2,3;图版 :12),汇合处明显可见 P2 的三列动基列为两长一短(近 P1 处的一列动基列最短)。P3 的长度相对最短,仅在近胞口处延伸一小段距离后终止(图版 :2,3;图版 :12)。组成 P3 的三列毛基列中,靠近 P2 的一列动基列的长度只有另外两列长度的一半。P3 中的另两条动基列则在与 P1 相汇时随咽膜向胞口底端下延时常扭转并交叠在一起,故在咽膜的最末端通常仅可见到 4 列动基列(实际上仍为 5 列),而且从 P3 开始由外向内每列动基列的长度依次渐短。P3 的最外侧一列动基列明显与另两列呈相对的分离态(图版 :2,3;图版 :9,12)。

HK 与 PK 在进入口前庭之前相伴而行,但在进入口前庭后则沿口前庭的内壁逆向排布。在 HK 位于细胞内部一段有一长带状结构“S-band”(或称微丝网结构 FR)与它并行,一般认为它具有支持口纤毛器的作用。本种的生发动基列(GK)始于口前庭的近开口处,与 HK 并行,它发自于 HK 向细胞内旋之前,行至与 FR 汇合处即终止(图版 :11)。HK、PK、GK 三者向细胞内开始下旋处的部位有一小段口内膜(EM)(图版 :2;图版 :11),其功能尚不清楚。

3 讨 论

在对沟钟虫及相近种类的研究中发现,沟钟虫的第三咽膜(P3)存在着明显的种间差异,其结构性特征可以作为该种的分类依据。Foissner 等在对缘毛目纤毛虫研究时认为,沟钟虫的口器与钟形虫属的大多数种类相同^[8],但作者等在对该物种的蛋白银染色标本进行观察时发现,沟钟虫的 P3 与本属其他种类存在着差异,具有明显的种类个体的特征。

在大多数描述钟形虫属口纤毛器结构的报道中,第一咽膜(P1)和第三咽膜(P3)外侧两列动基列彼此相汇合后组成了由五列动基列构成的小膜(在一般情况下,因旋转角度的不同,很难在油镜下同时看到五列动基列组成的小膜,通常仅能看到其中的四列),而涉及其他相近种类的报道中谈到的P1和P3结构均为紧密排列。但组成沟钟虫口器中的P3结构内侧的一列动基列与另外两列动基列却明显分离,而其他种类的三列动基列则是等间距并行,这种动基列之间明显分离的现象表现出显著的种间差异性。通常,组成口器基部的小膜在结构上都具有相对的稳定性,同一物种在口器的结构上应具同一性,所以外部形态相似的两个种群,在P3结构明显不同时,可能就是分类地位彼此独立的两个不同种。作者认为,缘毛目纤毛虫各相似种之间在外部形态结构近似时,物种的鉴定应将P3的结构性特征作为区分不同种类之间的一个主要的依据。

作者等^[14]在研究伞形聚钟虫(*Campanella umbellaria*)的纤维系统时曾发现一种与多动基列(PK)和单动基列(HK)一同并行的纤维结构,并起名为支撑纤维(Support fiber,SF)。支撑纤维与多动基列和单动基列三者共同构成一个复合性的纤维结构来共同完成整个细胞的部分功能。作者在对沟钟虫(*Vorticella convallaria*)的纤维结构研究时也见到了同样存在的支撑纤维(SF)。我们认为,此结构的存在对细胞协调完成自身的伸缩作用和行使正常的生理机能具有重要的生物学意义。支撑纤维(SF)是否也同样存在于其他缘毛类纤毛虫的纤维系统中,这一结构是否在其他相似物种中也能起到相同的作用,尚待进一步的工作证实。

口围盘的结构性特征在种类鉴定时具有很重要的意义,可作为物种分类的主要依据之一^[5,15-18]。作者等在研究沟钟虫的口围盘时发现,该物种的口围盘纤维呈明显的斜向辐轮状排布。在高倍镜下观察,可清晰地看到组成沟钟虫口围盘的纤维呈明显的倾斜态,这与钟形钟虫(*Vorticella campanula*)呈对称性放射状的口围盘,螅状独缩虫(*Carchesium polypinum*)呈规则网花状的口围盘及伞形聚钟虫(*Campanella umbellaria*)呈点纹状的口围盘形成了较为鲜明的对比^[9,10,14],这些种类之间均在各自的进化过程中形成了自己独特性的口围盘特征。作者认为,制片后口围盘的形态学特征具有相对的稳定性,根据不同的口围盘特征,可以将那些外部形态相似的种类加以区分,所以口围盘的特点也可作为物种鉴

定的重要参考依据之一。

值得注意的是,在表膜下纤维系的表面特征上,沟钟虫(*Vorticella convallaria*)与钟形虫属的某些种类相似。例如:小球藻绿钟虫(*Vorticella chlorellata*)^[15]与沟钟虫的表膜下纤维系就较为近似,但根据细胞质内是否存在共生绿藻就足以将两者区分。在某些条件下,沟钟虫的伸展状态可能与*V. gracilisde*的外形也较为近似,且两者都有一个位于口前庭腹侧的伸缩泡,但前者口围唇外展时比后者明显外张。此外,最重要的区别性特征是沟钟虫的大核呈高度盘绕的长肠状,而非*V. gracilisde*所具有的典型的“J”字型。故作者认为,在纤毛虫的分类及种类鉴定时,应综合活体观察和制片后的表膜下纤维系的特征作为甄别物种的共同依据,同时考虑本文提出的更具种间差异性的咽膜P3和口围盘的结构性特征,使纤毛虫的分类和鉴定更加客观和准确。

参考文献:

- [1] Kahl A. Infusoria or Ciliata 4. Peritrichia and Chonotrichia [J]. *German Animal World*, 1935, **30**:651—886 (In German)
- [2] Warren A. A revision of the genus *Vorticella* (Ciliophora:Peritrichida) [J]. *Bull. Br. Mus. nat. Hist. (Zool.)*, 1986, **50**:1—57
- [3] Warren A. A revision of *Haplocaulus* Precht, 1935 (Ciliophora:Peritrichida) and its morphological relatives [J]. *Bull Br. Mus. nat. Hist. (Zool.)*, 1988, **54**(3):127—152
- [4] Warren A. A revision of the genus *Pseudovorticella* Foissner & Schiffman, 1974 (Ciliophora:Peritrichida) [J]. *Bulletin Br. Mus. nat. Hist. (Zool.)*, 1989, **52**(1):1—12
- [5] Fernandez-Leborans G, Moro P, Zaldumbide M C. Morphology of a ciliate protozoan of the *Vorticella* genus: some taxonomic and structural aspects of the peritrich ciliates [J]. *Microbios*, 1989, **58**:189—208
- [6] Patterson D J. Habituation in a protozoan *Vorticella convallaria* [J]. *Behaviour*, 1973, **45**(3):304—311
- [7] Shen Y F, Zhang Z S, Gong X J, et al. Modern biomonitoring techniques using freshwater microbiota [M]. China Architecture & Building Press. 1990 [沈韫芬, 章宗涉, 龚循矩, 等. 微型生物监测新技术. 中国建筑工业出版社. 1990]
- [8] Foissner W, Berger H, Kohmann F. Taxonomical and ecological revision of ciliates in saprobienstystem Volume 2: Peritrichia, Heterotrichida, Odontostomatida [M]. Munich: Bayer State Bureau of Water Administration. 1992, **59**—132 (In German)
- [9] Shi X L, Yu Y H, Shen Y F. Infraciliature and morphogenesis of *Carchesium polypinum* [J]. *Acta Zoologica Sinica*, 2001, **47** (1): 13—18 [施心路, 余育和, 沈韫芬. 蝙状独缩虫表膜下纤毛系及形态发生的研究. 动物学报, 2001, **47**(1):13—18]
- [10] Shi X L, Yu Y H, Shen Y F. Studies on the morphology and infraciliature of *Vorticella campanula* (Protozoa, Ciliophora, Peritrichida) [J]. *Acta Hydrobiol. Sinica*, 2003, **27**(1):64—67 [施心路, 余育和, 沈韫芬. 钟形钟虫形态学及表膜下纤维系统的研究. 水生生物

- 学报,2003,27(1):64—67]
- [11] Song W. A new genus and two new species of marine peritrichous ciliates (Protozoa, Ciliophora, Peritrichida) from Qingdao, China [J]. *Ophelia*, 1997, 47:203—214
- [12] Shi X B ,Frankel J .Morphology and development of mirror-image doubles of *Stylonychia mytilus* [J]. *J. Protozool.* ,1990,37:1—13
- [13] Corliss J O. The Ciliated Protozoa:Characterization,Classification, and Guide to the Literature [M]. New York, Toronto, Sydney, Paris, Frankfurt :Pergamon Press. 1979 ,273
- [14] Shi X L ,Warren A ,Yu Y H ,Shen Y F. Infraciliature and myoneme system of *Campanella umbellaria* (Protozoa,Ciliophora,Peritrichida) [J]. *Journal of Morphology* ,2004,261:43—51
- [15] Wang W ,Shi X L ,Hu X. Morphological Redescription of a Peritrichous Ciliate, *Vorticella chlorellata* (Stiller, 1940) (Protozoa:Ciliophora:Peritrichida) from Harbin, China [J]. *Acta Zoologica Sinica* ,2004,50:871—822
- [16] Norland L E ,Finley H E. Studies on the taxonomy of the genus *Vorticella* [J]. *Trans. Am. Microsc. Soc.* ,1931,50:81—123
- [17] Shiono H ,Naitoh Y. Cellular contraction precedes membrane depolarization in *Vorticella convallaria* [J]. *J Exp Biol.* ,1997,200(Pt 16):2249—2261
- [18] Wibel R ,Vacchiano E J ,Buhse H E. Ultrastructural study of the cortex and membrane skeleton of *Vorticella convallaria* (Ciliophora:Peithicha) [J]. *Trans. Am. Microsc. Soc.* ,1993,112(2):107—120

MORPHOLOGY OF A FRESHWATER PERITRICHIOUS CILIATE, VORTICELLA CONVALLARIA (PROTOZOA, CILIOPHORA, PERITRICHIDA)

SHI Xin-Lu^{1,2}, WANG Wen-Jing^{2,3}, LIU Gui-Jie¹ and PENG Xiao-Hui¹

(1. Hangzhou Key Laboratory for Animal Science and Technology, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310036; 2. Life and Environment College, Harbin Normal University, Harbin 150080; 3. Department of Biology, Nan Fang Medical University, Guangzhou 510515)

Abstract : The morphology and infraciliature of *Vorticella convallaria*, collected from both the freshwater ponds near Harbin and Lalin town in China, was described by living and protargol-impregnated specimens. Freshwater *Vorticella*, zooid *in vivo* 50—85 × 40—75 μm, stout in shape with a wide highly everted peristomial lip. One contractile vacuole ventrally located at the left of vestibulum and under peristomial lip; one macronucleus is intestine-like, but rather curved in both end. Its adoral end is transversely oriented and its aboral end extends longitudinally to a recurved extremity, nucleus the “S” shape seen in many species of *Vorticella*; and two micronuclei located at both end of macronucleus respectively. The number of transverse striations from the peristomial area to aboral ciliary wreath (ACW) was about 74—78, from ACW to scopula, 18—24. With 37—42 longitudinal fibers, cell protargol-impregnated is like a lantern. Adstomal end of P3 is rather dispersed than other *Vorticella* ciliates'. Peristomial disc fibers (PDF) are oblique radiate assignment, with dichotomous end in each fiber, differing conspicuously from the flower or net-like arrays seen in other species of *Vorticella*. In conclusion, we consider both of the P3 and PDF as the important taxonomic characters in *Vorticella convallaria*.

Key words : Peritrichida; Ciliate; *Vorticella convallaria*; Morphology; Infraciliature



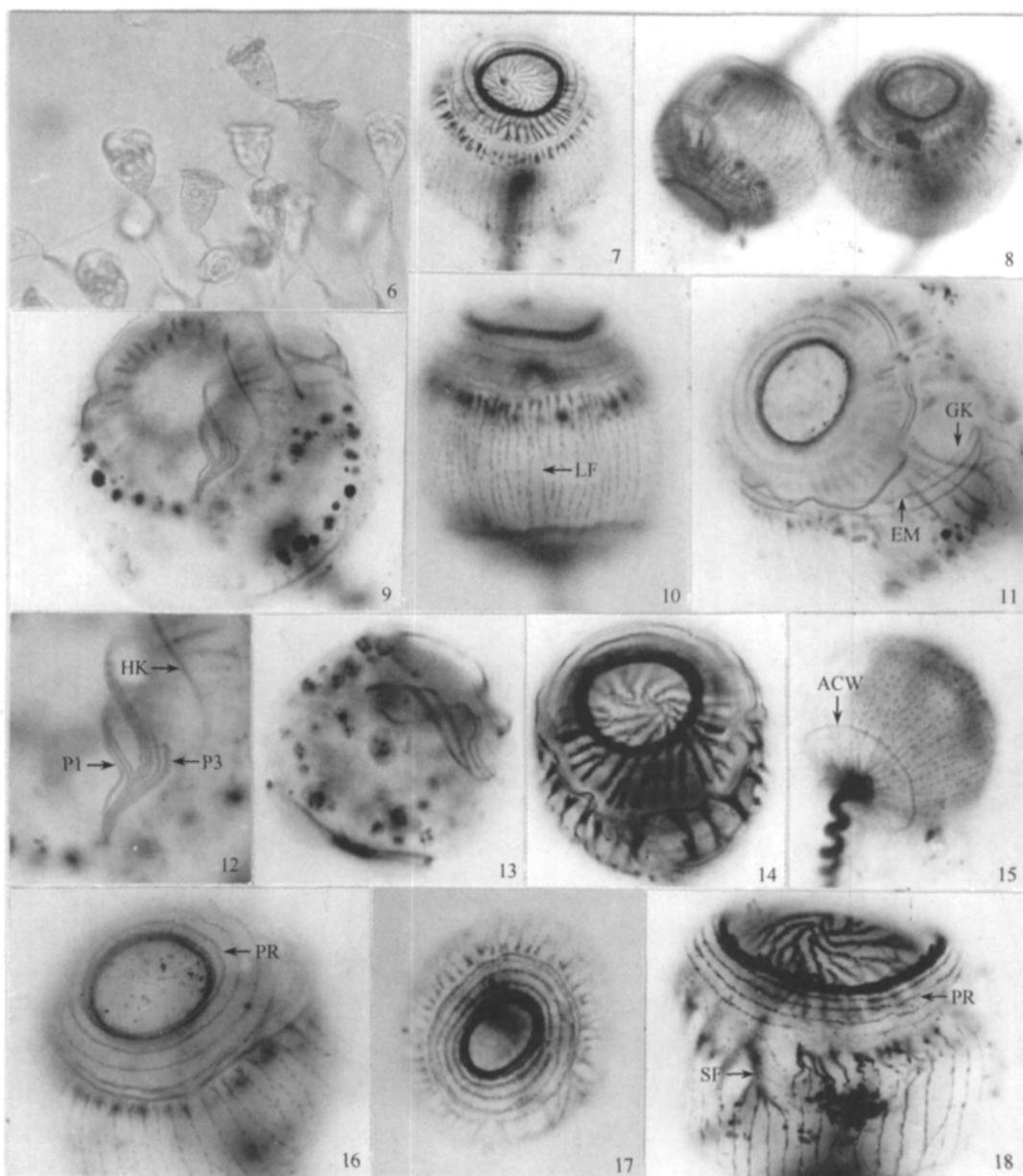
图版 沟钟虫的形态及表膜下纤维系(手绘:1. 活体, 2—5. 蛋白银染色标本)

Plate. Morphology and infraciliature of *Vorticella convallaria* (1. from life and 2—5. after protargol impregnation)

1. 沟钟虫活体模式图;2. 口器结构;3. 部分口纤毛器, 示离散状的 P3;4. 整体个员纤维系统;5. 口围盘的纤维模式

1. Morphology of *V. convallaria* from life; 2. Oral infraciliature; 3. The parts of oral infraciliature, showing the dispersed rows in P3; 4. Showing the myonemal system of the zooid; 5. The pattern of the PDF

Ma: 大核 (Macronucleus); Mi: 小核 (Micronucleus); CV: 伸缩泡 (Contractile vacuoles); HK: 单动基列 (Haplokinety); PK: 多动基列 (Polykinety); EM: 口内膜 (Epistomial membrane); FR: 微丝网结构 (Filamentous reticulum); P1—3: 第 1, 2, 3 咽膜 (Peniculus 1—3); GK: 生发动基列 (Germinative kinety); LF: 纵长纤维 (Longitudinal fiber); PR: 环状纤维 (Peristomial rings); SF: 支撑纤维 (Support fiber); ACW: 反口纤毛环 (Aboral ciliary wreath); PDF: 口围盘纤维 (Peristomial disc fibers)



图版 沟钟虫的形态及表膜下纤维系(照片:6.活体,7—18.蛋白银染色标本)

Plate. Photomicrographs of morphology and infraciliature in *Vorticella convallaria* (6. zoid in vivo life and 7—18. after protargol impregnation)

6. 沟钟虫典型的生活个员;7.8. 染色后典型虫体外型和口围盘;9. 示高度弯绕的长肠状大核及典型的口器结构;10. 整体结构,箭头示纵长纤维(LF);11. 下箭头示口内膜(EM),上箭头示发动基列(GK);12. 口器结构,示HK,P1和P3;13. 示有性生殖时细胞内大核的状态;14. 示斜向放射状的口围盘;15. 虫体收缩时柄的螺旋状态,箭头示反口纤毛环(ACW);16. 箭头示PR;17. 个员顶面观;18. 示PR和SF
6. Typical zooids *in vivo*;7.8. Typical cell shape and the PDF;9. Showing Ma and oral infraciliature;10. Showing LF (arrow);11. Showing EM (down arrow) and GK (upper arrow);12. Showing HK,P1 and P3;13. Macronucleus in sexual reproductive phase;14. Showing the fiber pattern of PDF;15. Showing the contracted stick and ACW (arrow);16. Showing the peristomial rings and longitudinal fibers (PR,arrow);17. The zoid view from upside;18. Showing PR and SF