

伪尾柱虫有性周期中纤毛器 原基的发生与决定

金立培 张志宇

(中山大学生物学系, 广州 510275)

摘 要 应用扫描电镜和蛋白银染色对冠突伪尾柱虫有性周期中第一和第二次皮膜改组时新纤毛器原基的发生、定向和定位进行了观察, 并对其发生机制作了初步探讨。

关键词 冠突伪尾柱虫, 接合生殖, 形态发生, 原基决定

分类号 Q 954. 4

冠突伪尾柱虫 (*Pseudourostyla cristata*) 在接合生殖过程中进行 4 次皮膜结构改组^[1]。第一、三、四次改组都是在原有皮膜结构 (包括各种纤毛器和毛基粒) 完整或基本完整存在的情况下发生的, 故各种新出现的纤毛器原基的定向、定位易于辨识。然而, 第二次改组却是在原有皮膜结构完全或部分解体之后发生的, 且拟包囊已经丧失了原来虫体特有的背腹、左右、前后等空间构型, 各种纤毛器原基出现的位置和方向难于识别。为此, 作者应用扫描电镜并辅以蛋白银制片技术对某些形态发生细节作了进一步的观察。

1 材料和方法

1.1 细胞培养和交配

本研究所用的冠突伪尾柱虫 (*P. cristata*) 为 28、46 号, 分属两个不同交配组合的克隆后代, 是两个不同的交配型, 其交配后代成活率为 95% 以上。细胞培养、诱导交配及蛋白银染色等方法与以前的报道相同^[1]。

1.2 扫描电镜材料制备

收集接合生殖有关时期的细胞并用新鲜培养液彻底清洗 5~6 次, 用饱和升汞水溶液加 2% 钨酸水溶液 (7:3) 固定 10 min, 蒸馏水漂洗 5~6 次, 系列乙醇脱水, 然后以醋酸戊酯替换乙醇, 临界点干燥, 将细胞用双面胶粘于铜台上, 真空镀金, 镜检。

2 结 果

2.1 第一次改组的几个细节

在第一次形态发生过程中, 当口围带原基 (AZMP) 各毛基粒小区由前而后逐步增殖合

并时(图 1: 1), 其前段分化较快, 毛基粒已长出较长的纤毛(黑箭符); 而中段次之, 其纤毛较短; 后段分化最慢, 其毛基粒所长的纤毛尚不明显(白箭符)。这表明整个 AZMP 的发育是不平衡的, 其进度自前逐步向后扩展。同时还可以看出, AZMP 虽然起源于左腹棘毛列的左侧, 但这些老的左列腹棘毛仍然完整存在, 并未解聚成为 AZMP 的一部分。在额腹横棘毛列原基(FVTP)发生时(图 1: 1, 白箭头), 以及缘刺毛列原基(MCP)发生时(图 1: 2, 黑箭头), 各原基出现的时序和位置与光镜观察一致^[1], 但最早显现的是分散于老棘毛之间的毛基粒, 其上已长出或长或短的纤毛, 说明这些原基在老棘毛解聚之前就出现了。

2.2 拟包囊与第二次皮膜改组

接合后体自由泳动约 24 h 后, 细胞逐渐缩短并失去部分或全部纤毛器, 最终转变成卵圆形或圆球形拟包囊(图 1: 3)。从上面遗留的一个个排列有序的毛基窝仍可分辨出额腹横棘毛列(箭头)和左缘棘毛列(三角符)的痕迹。而从毛基窝内留下的较粗的残余物来看, 各种纤毛器的消失很可能是在毛基处断裂后脱落的。那么, 在进一步的发育过程中皮下的毛基粒是否亦随之消失呢? 扫描电镜观察对此显然是无能为力的。为此, 作者对拟包囊进行了蛋白银制片检查。结果表明, 在染色较好的 56 个拟包囊中有 20 个未发现任何毛基粒(板)残存, 其余则残留着 1 至多个数量不等的额腹横棘毛、缘棘毛或背触毛的毛基板(粒), 但未发现 AZM 小膜残存的现象。由此看来, 大约 1/3 的拟包囊完全丧失了它们的各种纤毛器及其皮下的毛基粒结构。

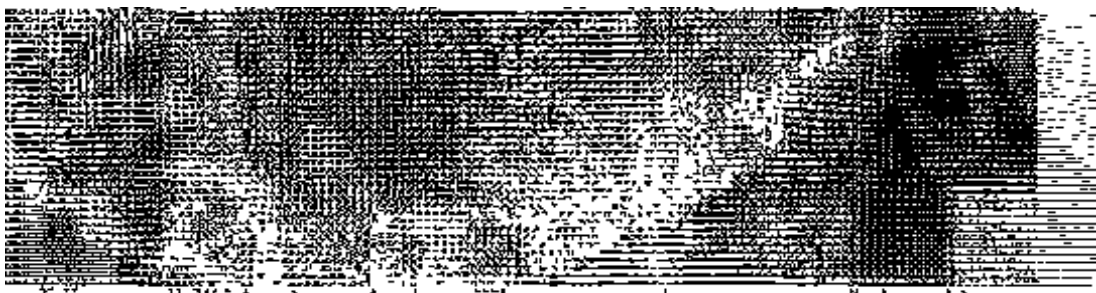


图 1 伪尾柱虫有性周期中纤毛器原基的发生与决定

Fig. 1 Cortical development and pattern determination during sexual reproduction in *P. cristata*

1~ 4 和 7 为 SEM 照相, 5 和 6 为蛋白银染色照相

1 第一次改组, 示 AZMP 和 FVTP 2 第一次改组, 示 RMCP 3 拟包囊, 示毛基窝 4 第二次改组, 示腹面各种纤毛器原基及某些残留的老棘毛 5 第二次改组, 无老的毛基体残存 6 第二次改组, 示某些残留的毛基体 7 第三次改组, 示一背触毛原基分化为两列

当圆球形或卵圆形的拟包囊形成后, 原来接合后体的前后、左右和背腹等特有的空间构型已不复存在。那么第二次形态发生时, 各纤毛器原基出现的位置和取向在拟包囊皮层上是随机发生的呢? 还是有某种机制对它们的定向、定位予以严格的限定和控制? 很显然, 完全失去各种原有纤毛器和毛基粒的拟包囊的形态发生(图 1: 5)是难以回答上述问题的, 因为其皮膜上已没有任何可见的用于分辨和判断的参考标记。然而, 一些残留着某些棘毛或触毛及其毛基粒(板)的拟包囊的形态发生(图 1: 4, 6)对于上述问题解答则有着独特的作用,

因为这些纤毛器残迹在皮膜上的地形分布成了明显的标志,可以作为识别新纤毛器原基产生的位置和取向的依据.实际上,在第二次皮膜改组早期,卵圆形或圆球形拟包囊的空间构型逐步发生变化(图 1: 4),其前端尖突且左侧内凹,而后端圆钝;残留的左缘棘毛列(L₂, L₃, L₄)内缩,显出沟纹;腹部扁平而背部隆起.从腹面观, AZMP(白箭符)、FVTP(黑箭头)和左右 MCP(白箭头)等原基发生处均有较深的内陷.从原基出现的位置和方向来看, LMCP的后端尚残存两根缘棘毛的毛基板(图 1: 6,小箭符),位于老左缘棘毛列最右一排上.而 RMCP的右上侧可见数根残存的背触毛,其左侧残留着数根棘毛(图 1: 4,三角符),较细的是老缘棘毛,较粗的两根为额腹棘毛.由此判断, RMCP发生于老右缘棘毛列的最右一排的位置上. AZMP和 FVTP位居腹面中央,其前残留一根额棘毛而中右侧可见一根腹棘毛(图 1: 4),其后则残存一较粗的腹棘毛毛基板(图 1: 6),所发生的部位正处于老的额腹横棘毛列及其附近.同样,背触毛列原基(DBP)亦发生于残存的背触毛列的中段.上述观察结果表明,各种纤毛器原基发生的方向和位置并未因老纤毛器的部分或完全丧失以及细胞空间构型的改变而变化,仍与有性过程中的其它形态发生以及无性二分裂和生理改组时的情况相同^[1,2].

2.3 背触毛列数的调节

在第一和第二次皮膜改组之后,细胞的背触毛为 6~8 列,经过第三次改组细胞的背触毛才恢复到 8~9 列的正常水平^[1].观察结果表明,DBP只能在老的背触毛列上产生,但可通过某些原基分出部分毛基粒构成另一列背触毛(图 1: 7,箭头),并以此方式增添其列数.

3 讨 论

在冠突伪尾柱虫接合生殖过程中,应用扫描电镜对第一次形态发生的观察揭示了光学显微镜未能发现的某些细节^[1],如 AZMP前中后段纤毛的长度呈现明显的差异,显示前段发育最快,中段次之,后段最慢,整个 AZMP的分化程度是不平衡的.又如 FVTP和 MCP发生早期,在相应的老棘毛尚未解聚之前已有新毛基粒和短纤毛的生长,在演变的时序上与以前的报道即老棘毛先行解聚而后新毛基粒增殖不同.如果以原先存在的各种纤毛器为参考标识,新发生的各种纤毛器原基的位置和方向是严格固定的,如 AZMP形成于左腹棘毛列的左侧, MCP产生于左右缘棘毛列的最右一排上, FVTP出现于腹棘毛列上, DBP发生于背触毛列之中.这种发生模式同样出现于第三和第四次改组^[1],也见之于无性二分裂的后仔虫以及生理改组体中^[2].看来,同一发育编程在有性和无性过程中共用的现象^[2],这里又提供了新的例证. Sonneborn曾将新的细胞结构的组建、定向和定位受到以前存在的细胞结构的影响称之为胞质趋序(Cytotaxis)^[3,4].上述各原基出现的特定部位和方向总是与原先存在的特定纤毛器相联系,从形态发生上看,原来存在的纤毛器对于新原基的定向定位似乎也发挥着某种胞质趋序作用.

第二次皮膜形态发生于圆球形或卵圆形的拟包囊上进行,鉴于完全或部分丧失老纤毛器的拟包囊均能顺利通过这次改组,看来原先存在的皮层纤毛结构对于新原基的构建、定向和定位并非绝对必要,正如伪尖毛虫(*Oxytricha*)失去所有皮层纤毛结构后的休眠包囊能够发动新一轮形态改组一样^[5].为了解释休眠包囊的形态发生, Grimes认为,纤毛虫的形态发生机制除胞质趋序之外,必然还存在一种独立于可见结构之外的综合模式发生机制^[6].这一机制对一整套纤毛器原基发生的极性和不对称性以及潜在的起始位置提供信息,它不依

赖于以前存在的可见结构,但有赖于超微结构尚不能鉴别的细胞分子排列,与皮膜上高度有序分子格构有关。这一假设同样适用于解释冠突伪尾柱虫的第二次形态发生,因为某些拟包囊的形态改组并不需要也不存在以前的皮层纤毛器等可见结构的帮助而照常进行。虽然原先存在的可见结构对于这次改组并不重要,但某些拟包囊上残留的部分老纤毛器却是识别新原基定向定位的天然标志。事实表明,各种纤毛器原基发生的部位和取向是严格固定的。在第二次皮膜形态发生时,由于球形拟包囊的形状发生变化并严格回复了原先的空间架构,看来拟包囊形成时其前后、左右和背腹的极性与不对称性的丧失只是一种表象,皮下必然还隐藏着某些目前尚无法鉴别的分子格构与局部排布,由它们规范细胞的空间构型,亦为新纤毛器原基起始的位置和方向提供指令信息。

参 考 文 献

- 1 金立培. 冠突伪尾柱虫有性周期中的四次皮膜改组. 中山大学学报(自然科学版), 1995, 34(2): 68 ~ 78
- 2 金立培. 冠突伪尾柱虫前仔虫口围带小膜数的调节. 中山大学学报(自然科学版), 1996, 35(4): 86 ~ 89
- 3 Sonneborn T M. Does preformed cell structure play an essential role in cell heredity? In Allen J M ed. The Nature of Biological Diversity. New York McGraw-Hill, 1963. 165~ 221
- 4 Sonneborn T M. The differentiation of cells. Proc Nat Acad Sci U S A. 1964, 51: 915~ 929
- 5 Grimes G W. Morphological discontinuity of kinetosomes during the life cycle of *Oxytricha fallax*. J Cell Biol. 1973, 57: 229~ 232
- 6 Grimes G W. Pattern determination in hypotrich ciliates. Amer Zool, 1982, 22: 35~ 46

Cortical Development and Pattern Determination during Sexual Reproduction in *Pseudourostyla cristata*

Jin Lipai* Zhang Zhiyu

Abstract During sexual reproduction in *Pseudourostyla cristata*, the formation of ciliature primordia is observed by SEM and protargol technique. The result suggests that the preexisting cortical structures may play important role in organizing and arranging of the new ciliature pattern in the 1st, 3rd and 4th rounds of morphogenesis. However, the 2nd reorganization begins de novo at the situation both of about 30% of paracysts which have lost all ciliatures with their basal bodies and about 70% of ones which still remain more or less old cirri and/or dorsal bristles, which shows that the preexisting visible ciliatures are not indispensable to the 2nd morphogenesis.

Keywords *Pseudourostyla cristata*, conjugation, morphogenesis, pattern determination

* Department of Biology, Zhongshan University, Guangzhou 510275