

doi: 10.7541/2019.072

## 松花江四种纤毛虫的形态学研究

姚顺利<sup>1,2</sup> 陈 瑛<sup>1</sup> 范鑫鹏<sup>2</sup> 母伟杰<sup>1</sup> 王 丽<sup>1</sup> 蔡兴隆<sup>1</sup> 潘旭明<sup>1</sup>

(1. 哈尔滨师范大学生命科学与技术学院原生动动物实验室, 哈尔滨 155630; 2. 华东师范大学生命科学学院, 上海 200062)

**摘要:** 利用活体观察, 氨银染色和蛋白银染色的方法, 对采自松花江的4种广布种纤毛虫: 贻贝棘尾虫 *Stylonychia mytilus* (Müller, 1773) Ehrenberg, 1830、鬃异源棘尾虫 *Tetmemena pustulata* (Müller, 1786) Eigner, 1999、尾草履虫 *Paramecium caudatum* (Ehret, 1963) 和刚毛榴弹虫 *Coleps hirtus* 的形态学进行研究。依据新采集种群, 对4个种活体形态和纤毛图式特征, 以及鬃异源棘尾虫的发生学特征进行补充性描述。研究对贻贝棘尾虫做了重要重描述, 可清晰观察到该种蛋白银染后6列背触毛的排列特征、左右缘棘毛数的具体统计, 结果发现, 贻贝棘尾虫哈尔滨种群与前人报道的种群相比, 形态特征基本吻合, 区别在于前者小膜数目多于后者。鬃异源棘尾虫哈尔滨种群与漠河种群相比, 形态和纤毛图式方面十分相似, 发生模式基本一致, 细微区别在于前者左右缘棘毛数目普遍多于后者, 前者虫体大小波动范围较小, 小核数目多于后者。尾草履虫哈尔滨种群与其青岛种群相比, 二者显著差异在于收集管数目前者比后者少。本文榴弹虫与前人报道的刚毛榴弹虫种群相比, 盖板带的数目、排列方式、窗口类型等形态学基本一致, 细微区别在于本文报道种群体型普遍较前人报道种群略大。

**关键词:** 形态学; 贻贝棘尾虫; 鬃异源棘尾虫; 尾草履虫; 刚毛榴弹虫

**中图分类号:** Q959      **文献标识码:** A      **文章编号:** 1000-3207(2019)03-0595-11

纤毛虫作为地球上最古老的真核生物的一支, 无论是在其形态结构、行为方式还是在对环境的适应等方面, 均表现出其极大地多样性且与人类的生活环境息息相关<sup>[1]</sup>。纤毛虫在海水、淡水、土壤等微食物网中占有重要的生态地位, 可维持生态系统中有有机物质的循环与能量流动, 在水质检测净化方面发挥着越来越重要的作用<sup>[2-6]</sup>。松花江水系为东北最大的淡水水系, 是大量鱼类、两栖动物、水生植物、无脊椎动物和微生物的栖息地。然而, 随着沿岸工农业生产发展、人口增加等原因, 沿江排放的各种污水导致河中各种有机污染物日益增多, 致使松花江水环境遭到严重污染, 河流中水生生物包括纤毛虫的种类日益减少, 然而目前松花江水域的纤毛虫区系尚不清楚。因此对松花江流域纤毛虫原生动动物多样性的调查研究势在必行<sup>[7, 8]</sup>。

棘尾虫属 (*Stylonychia*) 隶属于纤毛门、多膜纲 (Class Polyphymenophorea)、腹毛目 (Hypotrichida)、

尖毛虫科 (Oxytrichidae), 该类纤毛虫高度特化, 体型偏大, 背腹扁平, 腹面具有棘毛, 该类群显著的特征是具有发达的口围带和波动膜。目前在本属下国际上已报道15种棘尾虫<sup>[9-12]</sup>。国内目前发现并报道两种: 贻贝棘尾虫 (*Stylonychia mytilus*) 和浮萍棘尾虫 (*Stylonychia lemnae*), 二者在体形、纤毛图式、皮层结构等形态方面极其相似<sup>[13]</sup>。贻贝棘尾虫作为棘尾虫属下的模式种, 食物通常为小型的原生动动物, 常栖息于水质底部、运动、捕食<sup>[6]</sup>。鬃异源棘尾虫 (*Tetmemena pustulata*) 隶属于异源棘尾虫属 (*Tetmemena*), 该属由Eigner根据细胞发生学和分子系统学信息特征所建立, 鬃异源棘尾虫在形态学和细胞发生学方面均被报道过<sup>[14, 15]</sup>。草履虫属 (*Paramecium*) 隶属于寡膜纲 (Oligohymenophorea)、膜口目 (Hymenostmatida)、草履虫纲 (Parameciidae), 以藻类、小型纤毛虫、细菌等为食的一类分布广泛的纤毛虫, 生活在海水、半咸水、淡水等生活环

收稿日期: 2018-05-28; 修订日期: 2018-11-16

基金项目: 国家自然科学基金(31501844); 黑龙江省自然科学基金(QC2017017)资助 [Supported by the National Nature Science Foundation of China (31501844); Heilongjiang Province Natural Science Foundation for Youths (QC2017017)]

作者简介: 姚顺利(1993—), 男, 黑龙江哈尔滨人; 学士学位; 研究方向为原生动动物形态学。E-mail: yaoshunlihaerbin@126.com

通信作者: 潘旭明, 副教授; E-mail: pppppp206@126.com

境中<sup>[15-19]</sup>。个体较大,通常为长椭圆形、草履形等,背腹扁平,体纤毛紧密排列,遍布全身,大核椭圆形或肾形,其繁殖能力较强<sup>[20]</sup>。榴弹虫属(*Coleps*)隶属于动基片纲(Kinetofragminophora)、前口目(Prostomatida),该类纤毛虫通常体形呈椭球形、棒状或短棒状,胞口恒位于体前端,大核一枚,体纤毛遍体分布,其口纤毛器特化程度低,胞口周围存在较多的辅助其进食的结构,如胞口可发射的有毒丝泡。榴弹虫最明显的形态学鉴别特征为体表具有盔板带,其盔板带的数目、盔板内窗口的类型等特征是这类群区分于其他类群的主要特征。

本工作对采自松花江中的4种淡水纤毛虫广布种——贻贝棘尾虫、鬃异源棘尾虫、尾草履虫(*Paramecium caudatum*)和刚毛榴弹虫(*Coleps hirtus*)的活体和纤毛图式进行了细致的形态学描述和报道,其中贻贝棘尾虫为基于现代分类手段的重要重描述种,而鬃异源棘尾虫为我国东北地区新记录种。研究结果为揭示东北松花江流域纤毛虫多样性区系提供了重要的数据支持。

## 1 材料与方法

虫体培养:贻贝棘尾虫、鬃异源棘尾虫、尾草履虫、刚毛榴弹虫均分离自哈尔滨市呼兰区的呼

兰河(松花江支流)岸边的一农田池塘(45°93'87"N; 126°61'15"E),采样日期为2016年9月19日,样品采集地水温14℃。适当搅混取样处水体后,将底质沉积物搅动起来形成悬浊液,并采取少量腐败枝叶于采样瓶中带回实验室;分别取采样地原位水于玻璃培养皿中(做好标记),再分别加入3—4粒经沸水短时间高温煮过的米粒或麦粒,加入虫体,将培养皿至于室温下培养定期更换食物,清理废物。

活体观察:具体活体形态观察方法详见文献[21]。

氨银染色法、Wilbert之蛋白银法<sup>[22,23]</sup>:刚毛榴弹虫、尾草履虫采用氨银法染色,贻贝棘尾虫、鬃异源棘尾虫采用Wilbert之蛋白银染色法,用以显示虫体的皮层及内部结构,如纤毛下器、毛基体、核器及各种表膜下纤维系统等。文中名词术语参照文献[24]。

分类依据:Corliss J. O. 1979<sup>[25]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 贻贝棘尾虫的形态学描述(表1;图版 I,图版 II)

虫体的活体大小为(150—300) μm×(60—110) μm,蛋白银染后大小为(260—350) μm×(110—250) μm,长宽比约为2:1,呈长椭圆形(图版 I-1—6)。

表1 贻贝棘尾虫、鬃异源棘尾虫形态特征统计

Tab. 1 Morphometric characteristics of *Stylonychia mytilus* (first line) and *Tetmemena pustulata* (second line) specimens

特征Character	最大值Max	最小值Min	平均值Mean	标准差SD	变异系数CV(%)	样本数n
体长	296	154	185	41.3	22.3	14
Body length (μm)	118	94	104.1	8.6	8.3	14
体宽	109	76	91.7	11.2	12.2	14
Body width (μm)	61	44	53.6	6.5	12.1	14
口区长	140	68	87.5	22.4	25.6	14
Buccal area length (μm)	58	40	48	4.7	9.8	14
口围带小膜数目	79	54	68	7.6	11.2	14
No. of adoral membranelle	43	29	34	4.0	11.8	14
额棘毛数目	8	8	8	0	0	14
No. of frontal cirri	8	8	8	0	0	14
腹棘毛数目	5	5	5	0	0	14
No. of ventral cirri	5	5	5	0	0	14
横棘毛数目	5	5	5	0	0	14
No. of transverse cirri	5	5	5	0	0	14
左缘棘毛数目	43	28	33	4.1	12.4	14
No. of left marginal row	20	15	18	2.8	15.6	14
右缘棘毛数目	51	38	44	3.9	8.9	14
No. of right marginal row	35	23	28	3.6	12.9	14
大核数目	2	2	2	0	0	14
No. of Macronuclear	2	2	2	0	0	14

在活体观察时可见: 虫体通常在底部自由运动, 游动速度较快, 虫体有明显的背腹之分, 腹面较平滑, 背面较凸起, 呈灰色(图版 I-1、2)。虫体内含有大量的透明颗粒以及灰色的不明颗粒物质, 通常情况下伸缩泡一枚, 呈圆形, 位于虫体腹面中部靠近右缘棘毛处, 直径大小为15—20  $\mu\text{m}$ , 排空间歇为10—12s(图版 I-6、15、16)。在虫体前端长有三根较粗、长的棘毛, 长30—50  $\mu\text{m}$ , 辅助虫体捕食及运动; 在虫体背侧长有较粗的背触毛, 尾端长有三根较长的尾棘毛(长50—70  $\mu\text{m}$ )(图版 I-3、4、7、8、11、12)。虫体左右两侧各长有一列缘棘毛, 且右缘棘毛列比左缘棘毛列长, 左缘棘毛列由30—40根棘毛组成, 右缘棘毛列由40—50根棘毛组成, 长20—50  $\mu\text{m}$ 。贻贝棘尾虫的腹面和两侧的纤毛均特化成棘毛, 有助于虫体爬行、游泳、捕食等(图版 I-9、10; 图版 II-13、15)。活体观察时可看见虫体透明的, 椭圆形的大核, 小核难以观察(图版 I-5)。经蛋白银染色后, 可清晰看见大核分为上下两核节, 分布于虫体上部的核节, 被口围带形成的半环所包围, 分布于虫体的下半部的核节, 呈椭圆形, 长约60  $\mu\text{m}$ 、宽约35  $\mu\text{m}$ , 小核紧挨大核, 约3—5枚(图版 II-1、9、10)。

贻贝棘尾虫口区约占虫体的1/2, 口围带发达, 呈问号状(图版 II-3—5)。它是由口区小膜按照一定的顺序有规律的排列而成, 通常是从虫体的前部背侧弯曲后延伸至虫体的腹侧, 然后小膜宽度逐渐变窄, 直至收敛至胞口, 口围带通常由60—80片小膜组成(图版 II-7、8)。额棘毛8枚, 呈椭圆形排列位于虫体前1/3处; 腹棘毛5枚, 呈3+2排列, 位于虫体中下部; 横棘毛5枚, 分布在尾部; 尾端为三枚尾棘毛(图版 II-2、11、12)。共6列背触毛, 1—4列背触棘毛列弯曲幅度较大, 5—6列弯曲幅度较小, 其中背触棘毛列1、2、4列延伸至体末端(图版 II-6、14)。口围带内侧具两条平行排列的波动膜, 分别是由横向排列的多个纤毛组成的膜状物, 可辅助虫体摄取食物(图版 II-8)。

## 2.2 鬃异源棘尾虫的形态学描述(表1、图版 III、图版 IV)

虫体的活体大小为(90—120)  $\mu\text{m}$ ×(45—60)  $\mu\text{m}$ , 长宽比约为2:1。体形为长椭圆形、背腹扁平, 虫体呈浅灰色, 靠近虫体尾端部分含灰黑色颗粒, 直径大小2  $\mu\text{m}$ (图版 III-1、2)。活体观察时可见细胞内质中含有大量球形颗粒, 其直径大小为1.0—4.5  $\mu\text{m}$ , 且具一明显的伸缩泡, 位于虫体腹部中部, 直径大小为8—10  $\mu\text{m}$ , 排空间歇不定(图版 III-3、4)。虫体近尾端背部长有5根特化棘毛, 长度为

15—26  $\mu\text{m}$ (图版 III-5、7)。

纤毛图式如图版 IV 所示, 具发达的口围带和波动膜, 前者起始于虫体前端并后行绕至腹面, 约占虫体长1/2, 每个虫体口围带由约36片小膜组成, 每片小膜长4—8  $\mu\text{m}$ , 波动膜长约60  $\mu\text{m}$ (图版 III-5、6; 图版 IV-9、12)。大核2枚, 分别位于体前端1/3和体后端1/3处, 呈椭圆形, 大小约为40  $\mu\text{m}$ ×15  $\mu\text{m}$ ; 小核两至多枚, 圆形, 直径约为6  $\mu\text{m}$ (图版 IV-2、9—11)。左缘棘毛列含约28—43根棘毛, 右缘棘毛列含约38—51根棘毛, 右缘棘毛列明显长于左缘棘毛列(图版 IV-3、13)。额棘毛8根, 腹棘毛5根(3+2), 分布于虫体中下部; 横棘毛5根, 分布于虫体近尾端(图版 IV-1、2、10)。如图版 IV-4—8, 为鬃异源棘尾虫几个代表性发生时期, 在发生早期, 前仔虫中的口棘毛、额腹棘毛发生解聚, 且额腹棘毛解聚并发育成为前仔虫的原基 I 和原基 II, 形成5列棘毛原基(图版 IV-4、5)。老的波动膜前1/3在发生早期会发生解聚, 后2/3保持不变, 当原位重建后其新形成的部分和未发生变化的部分重新拼接成前仔虫的波动膜(图版 IV-5、8)。后仔虫的口区小膜从早期就开始出现演化, 在口后腹棘毛左侧出现毛基社群, 随着发生阶段的进行, 口原基由上至下, 小膜由右至左依次组装, 合成后仔虫新的口区(图版 IV-5、6)。当发生从中期进入末期时, 大核经过融合, 已经再次分裂, 原始各棘毛原基也分化成前、后仔虫新的结构(图版 IV-7、8)。

## 2.3 尾草履虫的形态学描述(表2、图版 V)

虫体的活体大小约(150—250)  $\mu\text{m}$ ×(60—100)  $\mu\text{m}$ , 长宽比约为2:1(图版 V-1—5)。活体观察时可见: 虫体呈卵圆形或草鞋底形, 其横截面为椭圆形, 虫体前端稍尖, 后端较钝圆, 形状较稳定, 虫体浅灰色(图版 V-1、2)。在水中常常以身体纵轴为轴旋转向前运动, 有时自由运动, 速度较快, 虫体纤毛长6—8  $\mu\text{m}$ , 其皮层下射出体较发达, 均匀有规律排布于皮膜下方, 射出体呈短棒状, 长为7—8  $\mu\text{m}$ (图版 V-3、7)。大核一枚, 呈长椭圆形, 位于虫体的1/2—2/3处, 长约为60  $\mu\text{m}$ , 宽约为40  $\mu\text{m}$ (图版 V-4、11、17)。虫体内含有大量的内含物、食物泡、晶体、不明食物颗粒, 其位置不固定, 可自由移动(图版 V-5)。伸缩泡2枚, 分别位于腹面体前端1/3和体后端1/3处, 直径约为10  $\mu\text{m}$ , 2个伸缩泡交替伸缩, 排空间歇不固定, 6—10次/min, 收集管相对较发达, 每枚伸缩泡连接7—8条收集管(图版 V-1、6、8、9)。口区位于体中部, 向内凹陷, 直至胞口处, 其口区含有三片咽膜, 每片咽膜由4列毛基粒组成, 其口前缝合线和口后缝合线明显(图版 V-

7、13—15)。体纤毛排列紧密,体动基列95—135列(图版 V-12、16、18)。

#### 2.4 刚毛榴弹虫形态学描述(表 2、图版 VI)

虫体活体大小为(40—75)  $\mu\text{m}$  × (23—50)  $\mu\text{m}$ , 长宽比约为3:2, 虫体体形通常相对稳定, 在不同个体间稍有差别, 呈现为长椭圆形, 长卵圆形或圆柱状, 无明显的背腹之分, 虫体呈深灰色(图版 VI-1—7)。细胞质含大量食物泡及色素颗粒(图版 VI-4、5、7、9)。虫体运动时多数以虫体的纵轴为轴旋转向前游动, 或是呈S形向前运动, 速度较快, 通常在相对污浊的水环境中数量较多。虫体口区恒位于虫体的最前端, 呈圆形, 其口直径约为10  $\mu\text{m}$  (图版 VI-15)。伸缩泡单一, 通常位于虫体亚尾端; 大核一枚, 近圆形, 其直径7—10  $\mu\text{m}$ , 通常位于虫体中部, 小核紧邻大核(图版 VI-1、7、12、13、14)。

盔板带共有6圈, 分别为围口盔板带、顶端盔板带、前主盔板带、后主盔板带、亚尾端盔板带、尾端盔板带, 每圈约有14块无色长方形盔板组成(图版 VI-8、9)。刚毛榴弹虫盔板为双孔形盔板, 肾形。活体观察中虫体前端具有明显的平截区, 在尾端盔板带上长有两根较粗的棘刺, 长2—3  $\mu\text{m}$  (图版 VI-1、9、11、13)。围口盔板带顶端逐渐变尖, 尾端盔板带末端逐渐变尖, 呈刺状, 其窗口数目较为恒定(图版 VI-8、9)。顶端盔板带有一逐渐变尖的末端, 使虫体顶端平截, 呈皇冠状, 个别盔板上着生有明显的顶刺。前主盔板带、后主盔板带, 亚尾端盔板带均具有四行窗口(图版 VI-7—9)。在每

两个主盔板带结合的地方, 虫体宽度稍稍变窄, 每列盔板中脊较发达, 每一肾形窗口右侧具脊, 左侧边缘较平滑(图版 VI-10)。

口区开口于顶端。围绕口的动基列环是由多对成对的毛基体所组成, 三个斜向口器靠近围口纤毛环。口器 I 有三对毛基粒组成, 口器 II III 由四对毛基粒组成, 通常活体下难于观察, 口围篮由内口围篮与外口围篮组成。体纤毛均匀排布, 长6—7  $\mu\text{m}$  (图版 VI-3、7)。体动基列通常约为14列, 比较稳定(图版 VI-12、13)。繁殖方式为典型的二分裂(图版 VI-14)。

### 3 讨论

本工作报道的贻贝棘尾虫哈尔滨种群和Ehrenberg<sup>[37]</sup>报道的原始种群及史新柏<sup>[16]</sup>所报道的种群相比, 形态特征基本吻合: 虫体大小均约为200  $\mu\text{m}$  × 100  $\mu\text{m}$ , 均具有发达的口区小膜, 6列背触毛的排列方式相同。细微区别在于哈尔滨种群口围带平均由70片小膜组成, 而原始种群约60片小膜; 前者小核数目3—5枚, 后者1—7枚; 此外, 本工作对哈尔滨贻贝棘尾虫的左右缘棘毛组成数目进行了补足性描述。

国内对鬃异源棘尾虫该种报道过4次, 哈尔滨种群、武汉东湖种群、珠江种群和漠河种群, 其中漠河种群在形态及其发生方面描述较详细, 且采样地点与本文报道种群相近, 在此对2个种群进行比较如下<sup>[26—28]</sup>。本文报道的鬃异源棘尾虫哈尔滨种

表 2 尾草履虫、刚毛榴弹虫形态特征统计

Tab. 2 Morphometric characteristics of *Paramecium caudatum* (first line) and *Coleps hirtus* (second line) specimens

特征Character	最大值Max	最小值Min	平均值Mean	标准差SD	变异系数CV(%)	样本数n
体长	249	144	185.7	32.9	17.7	14
Body length ( $\mu\text{m}$ )	75	44	57.8	9.8	17.0	14
体宽	100	46	81	18.8	23.2	14
Body width ( $\mu\text{m}$ )	50	20	32.4	9.8	30.2	14
大核数目	1	1	1	0	0	14
No. of Macronuclear	1	1	1	0	0	14
大核长	74	48	61.2	7.7	12.6	14
Macronuclear length ( $\mu\text{m}$ )	10	7	8.2	1.2	14.6	14
大核宽	35	22	29.6	4.4	14.9	14
Marconuclear width ( $\mu\text{m}$ )	10	7	8.2	1.2	14.6	14
体动基列数目	135	95	114	12.2	10.7	14
No. of somatic kineties	16	14	14.8	0.9	6.1	14
口区小膜数目	3	3	3	0	0	14
No. of membranelle	0		0	0	0	14
口侧膜原基数目	0	0	0	0	0	14
No. of Adoral organelle	3	3	3	0	0	14

群与Luo等<sup>[29]</sup>报道的鬃异源棘尾虫漠河种群相比,二者在运动、体形、棘毛排列方式及数目上完全一致;构成口围带的小膜数目、口区长度均为50 μm左右;伸缩泡位置、大小、内质颗粒大小相近;二者之间区别在于哈尔滨鬃异源棘尾虫的左右缘棘毛数目普遍多于漠河鬃异源棘尾虫的数目,前者左/右缘棘毛数约为18/28,后者左/右缘棘毛数约为17/24;前者小核数目两至多枚,后者小核数目普遍为两枚;前者成虫虫体大小较稳定,(95—118) μm×(45—61) μm,后者(45—125) μm×(25—85) μm,波动范围较大;在发生模式上,哈尔滨鬃异源棘尾虫与漠河种群遵循同一种发生模式。哈尔滨鬃异源棘尾虫作为异源棘尾虫属的模式种与棘尾虫属的模式种贻贝棘尾虫相比,前者在体形上前后端均钝圆,后者前端明显宽于尾端;前者横棘毛呈J形,后者横棘毛则分为两组。

尾草履虫为纤毛虫一著名常见类群,但基于现代分类学染色技术的尾草履虫的形态学的详细报道较少,提供完备分类学信息仅见于潘旭明<sup>[30]</sup>描述的青岛种群(发现于青岛崂山淡水湖),本文报道的哈尔滨尾草履虫种群与其相比,共同点为二者2枚伸缩泡均分布于虫体的两端,虫体体形、大小相近,体动基列数均约为100;皮层下射出体排列密集,均呈短棒状。不同点在于,本文报道的尾草履虫每枚伸缩泡连接7—8条收集管,后者收集管数为10条;初步预测因两种尾草履虫生活环境、地理位置等条件不同,从而导致尾草履虫两种群特征的细微差别,但具体原因有待于下一步的深入研究。将同属的绿草履虫与其相比,尾草履虫体型略大[活体(150—250) μm×(60—100) μm vs. (70—110) μm×(40—55) μm],体动基列较多(95—135 vs. 70—85),且活体观察时绿草履虫可见虫体内部含有大量绿色颗粒物,故种间差异较显著<sup>[30]</sup>。

本文榴弹虫与前人报道的刚毛榴弹虫相比,均具6圈盔板带,且前主盔板带、后主盔板带均为4行,每行盔板数14—16;顶端盔板带和亚尾端盔板带均为2行,以细菌、微小原生动物、藻类等为食;体动基列数目相近,约14列,具有棘状突起,其盔板窗口均是双窗口型盔板,因此将本文榴弹虫定为刚毛榴弹虫<sup>[31—33]</sup>。且与Smith等<sup>[34]</sup>报道的美国种群、Bahatia<sup>[35]</sup>的印度种群及Perty等<sup>[36]</sup>的瑞士种群报道的刚毛榴弹虫相比,后者无棘状突起。

### 参考文献:

- [1] Song W B, Ma H G. Research progress of marine ciliate protozoa in China [J]. *Bulletin of Biology*, 2000, **35**(5): 10—11 [宋微波, 马洪钢. 我国海洋纤毛虫原生动物的研究进展. *生物学通报*, 2000, **35**(5): 10—11]
- [2] Fenchel T. The ecology of marine microbenthos. IV. Structure and function of the benthic ecosystem, its chemical and physical factors and the microfauna communities with special reference to the ciliated protozoa [J]. *Ophelia*, 1969, **6**: 1—182
- [3] Carey P G. Marine Interstitial Ciliates. An Allustrated Key [M]. Chapman. 1992
- [4] Foissner W. Soil protozoa: fundamental problems, ecological significance, adaptations in ciliates and testaceans, bioindicator and guide to the literature [J]. *Progress in Protistology*, 1987, **2**: 69—212
- [5] Griffiths B S. Soil Nutrient Flow [M]. In: Darbyshire J F (Eds.), *Soil protozoa*, CAB, Oxford. 1994, 65—91
- [6] Sun Y G, Zhan L. Experimental ecological studies of different glucose concentration on the growth of *Stylonychia mytilus* [J]. *Journal of Heilongjiang August First Land Reclamation University*, 2006, **18**(6): 64—66 [孙玉刚, 战玲. 葡萄糖对贻贝棘尾虫个体生长的影响. *黑龙江八一农垦大学学报*, 2006, **18**(6): 64—66]
- [7] Lu Y S, Li Z P, Yun B C, et al. Preliminary study on aquatic organisms in the Songhua River Basin [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1988, **12**(1): 82—84 [卢晏生, 李再培, 云宝琛, 等. 松花江水系水生生物的初步研究. *水生生物学报*, 1988, **12**(1): 82—84]
- [8] Xu L J, Chu J Y, Zhou Z H, et al. Analysis of water environmental quality features in Songhua River Basin [J]. *Water Resources Protection*, 2012, **28**(6): 55—58 [许琳娟, 褚俊英, 周祖昊, 等. 松花江水系水环境质量特征分析. *水资源保护*, 2012, **28**(6): 55—58]
- [9] Berger H. Monograph of the Oxytrichidae (Ciliophora, Hypotrichia) [J]. *Monographiae Biologicae*, 1999, **78**: 1—1080
- [10] Foissner W. Terrestrial and semiterrestrial ciliates (Protozoa, Ciliophora) from Venezuela and Galápagos [J]. *Denisia*, 2016, **35**: 1—914
- [11] Gupta R, Kamra K, Arora S, et al. *Stylonychia ammermanni* sp. n., a new oxytrichid (Ciliophora: Hypotrichida) ciliate from the river Yamuna, Delhi, India [J]. *Acta Protozoologica*, 2001, **2**: 81—85
- [12] Shi X B, Ammermann D. *Stylonychia haerbinensis* sp. n., a new oxytrichid ciliate (Ciliophora, Hypotrichia) from the Heilongjiang Province, China [J]. *Protistology*, 2004, **3**: 219—222
- [13] Pan X, Zhu M, Ma H, et al. Morphology and small-subunit rRNA gene sequences of two new marine ciliates, *Metanophrys orientalis* spec. nov. and *Uronemella sinensis* spec. nov. (Protista, Ciliophora, Scuticociliatia), with an improved diagnosis of the genus *Uronemella* [J]. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 2013a, **63**: 3513—3523
- [14] Eigner P. Evolution of morphogenetic processes in the

- Orthoamphisiellidae n. fam., Oxytrichidae, and Parakahlie-  
llidae n. fam., and their depiction using a computer meth-  
od (Ciliophora, Hypotrichida) [J]. *Journal of Eukaryotic  
Microbiology*, 1997, **44**: 553—573
- [15] Eigner P. Comparison of divisional morphogenesis in  
four morphologically different clones of the genus *Gono-  
stomum* and update of the natural hypotrich system (Cilio-  
phora, Hypotrichida) [J]. *European Journal of Protisto-  
logy*, 1999, **35**: 34—48
- [16] Shi X B. *Stylonychia* [J]. *Bulletin of Biology*, 2001, **36**(2):  
1—3 [史新柏. 棘尾虫. 生物学通报, 2001, **36**(2): 1—3]
- [17] Fan X, Chen X, Song W, *et al.* Two novel marine *Fronto-  
nia* species, *Frontonia mengi* spec. nov. and *Frontonia  
magna* spec. nov. (Protozoa; Ciliophora), with notes on  
their phylogeny based on small-subunit rRNA gene se-  
quence data [J]. *International Journal of Systematic and  
Evolutionary Microbiology*, 2011b, **61**: 1476—1486
- [18] Pan X, Gao F, Liu W, *et al.* Morphology and SSU rRNA  
gene sequences of three *Frontonia* species, including a  
description of *F. subtropica* spec. nov. (Ciliophora,  
Peniculida) [J]. *European Journal of Protistology*, 2013b,  
**49**: 67—77
- [19] Pan X, Liu W, Yi Z, *et al.* Studies on three diverse  
*Frontonia* species (Ciliophora, Peniculida), with brief  
notes on 14 marine or brackish congeners [J]. *Acta Proto-  
zoologica*, 2013c, **52**: 35—49
- [20] Shi X B. *Paramecium* [J]. *Bulletin of Biology*, 1982, **4**:  
14—17 [史新柏. 草履虫. 生物学通报, 1982, **4**: 14—17]
- [21] Song W B, Xu K D. Common methods for morphologi-  
cal studies of ciliated protozoa [J]. *Marine Sciences*,  
1994, (6): 6—9 [宋微波, 徐奎栋. 纤毛虫原生动物形态  
学研究的常用方法. 海洋科学, 1994, (6): 6—9]
- [22] Song W B. New improvement of ammonia silver method -  
a new method for permanent production of marine cilia-  
tes [J]. *Marine Sciences*, 1992, (5): 4—5 [宋微波. 氨银法  
的新改良——一种应用于海洋纤毛虫永久制片的新方  
法. 海洋科学, 1992, (5): 4—5]
- [23] Wilbert N. Eine Verbesserte technik der protargolimpr  
agnation für ciliaten [J]. *Mikrokosmos*, 1975, **64**:  
171—179
- [24] Warren A, Song W B, Hu X Z, *et al.* Free-living ciliates  
in the Bohai and Yellow Seas, China [M]. Beijing: Sci-  
ence Press. 2009, 475—488 [沃伦, 宋微波, 胡晓钟, 等.  
中国黄渤海区的自由生纤毛虫. 北京: 科学出版社. 2009,  
475—488]
- [25] Corliss J. O. The Ciliated Protozoa. Characterization,  
Classification and Guide to the Literature [M]. Second  
edition. Pergamon Press, Oxford. 1979
- [26] Shi X L, Song W B, Shi X B. Morphogenetics Modes of  
Hypotrichous Ciliates [M]. In: Song W B, Xu K D, Shi X  
L, *et al.* (Eds.), *Progress in Protozoology*. Qingdao: Qing-  
dao Ocean University Press. 1999, 189—210 [施心路, 宋  
微波, 史新柏. 腹毛目纤毛虫无性分裂期间的形态发生  
模式. 宋微波, 徐奎栋, 施心路, 等. 原生动物学专论. 青  
岛: 青岛海洋大学出版社. 1999, 189—210]
- [27] Zhu F Y, Yu Y H, Shen Y F. Molecular phylogenetic ana-  
lysis of order Hypotrichida with redescription of the  
*Stylonychia pustulata* (Ciliophora: Hypotrichida: Oxy-  
trichidae) [J]. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 2002, **27**(1):  
24—32 [朱飞云, 余育和, 沈韞芬. 下毛目分子系统进化  
研究和棘尾虫再描述 (纤毛动物门: 下毛目: 尖毛虫  
科). 动物分类学报, 2002, **27**(1): 24—32]
- [28] Shao C, Pan X M, Jiang J M, *et al.* A redescription of the  
oxytrichid *Tetmemena pustulata* (Müller, 1786) Eigner,  
1999 and notes on morphogenesis in the marine urotylid  
*Metaurostylopsis salina* Lei *et al.*, 2005 (Ciliophora, Hy-  
potrichida) [J]. *European Journal of Protistology*, 2013,  
**49**: 272—282
- [29] Luo X T, Li L Q, Ma H G, *et al.* Morphology and Onto-  
geny of *Tetmemena pustulata* (Müller, 1786) Egner, 1999  
from Mohe, China [J]. *Journal of Ocean University of  
China*, 2016, **46**(11): 82—90 [罗晓甜, 李俐琼, 马洪钢,  
等. 鬃异源棘尾虫的形态学及细胞发生学研究. 中国海  
洋大学学报, 2016, **46**(11): 82—90]
- [30] Pan X M. Biodiversity and phylogeny of important  
groups in subclass scuticociliatia and peniculida [D].  
Ocean University of China. 2014, 124—128 [潘旭明. 盾  
纤亚纲与咽膜亚纲 (原生动物, 纤毛门) 中重要类群  
的多样性与系统学研究. 中国海洋大学. 2014, 124—  
128]
- [31] Lemloh M, Hoos S, Görtz H, *et al.* Isolation of alveolar  
plates from *Coleps hirtus* [J]. *European Journal of Pro-  
tistology*, 2012, **49**: 62—66
- [32] Lemloh M, Marin F, Herbst F, *et al.* Genesis of amor-  
phous calcium carbonate containing alveolar plates in the  
ciliate *Coleps hirtus* (Ciliophora, Prostomatea) [J]. *Jour-  
nal of Structural Biology*, 2013, **181**: 155—161
- [33] Foissner W, Berger H, Schaumburg J. Identification and  
Ecology of Limnetic Plankton Ciliates [M]. 1999
- [34] Smith J C. Notes on some new, or presumably new, infu-  
soria. *Am. Mon. Microsc* [J]. 1897, **28**: 141—148
- [35] Bahatia, B. L. Protozoa: Ciliophora [M]. In: Sewell R B S  
(Eds.), *The Fauna of British India, including Ceylon and  
Burma* [A]. London: Taylor and Francis. 1936, 1—493
- [36] Perty M. Zur Kenntniss kleinster Lebensformen nach  
Bau, Funktionen, Systematik, mit Specialverzeichniss der  
in der Schweiz beobachteten [M]. Jent & Reinert, Bern.  
1852
- [37] Ehrenberg C G. Beiträge zur Kenntniß der Organisation  
der Infusorien und ihrer geographischen Verbreitung, be-  
sonders in Sibirien [M]. *Abh. preuss. Akad. Wiss., Phys.  
math. Kl.* 1830, 1—88

## MORPHOLOGY OF FOUR FRESHWATER CILIATES FROM SONGHUA RIVER

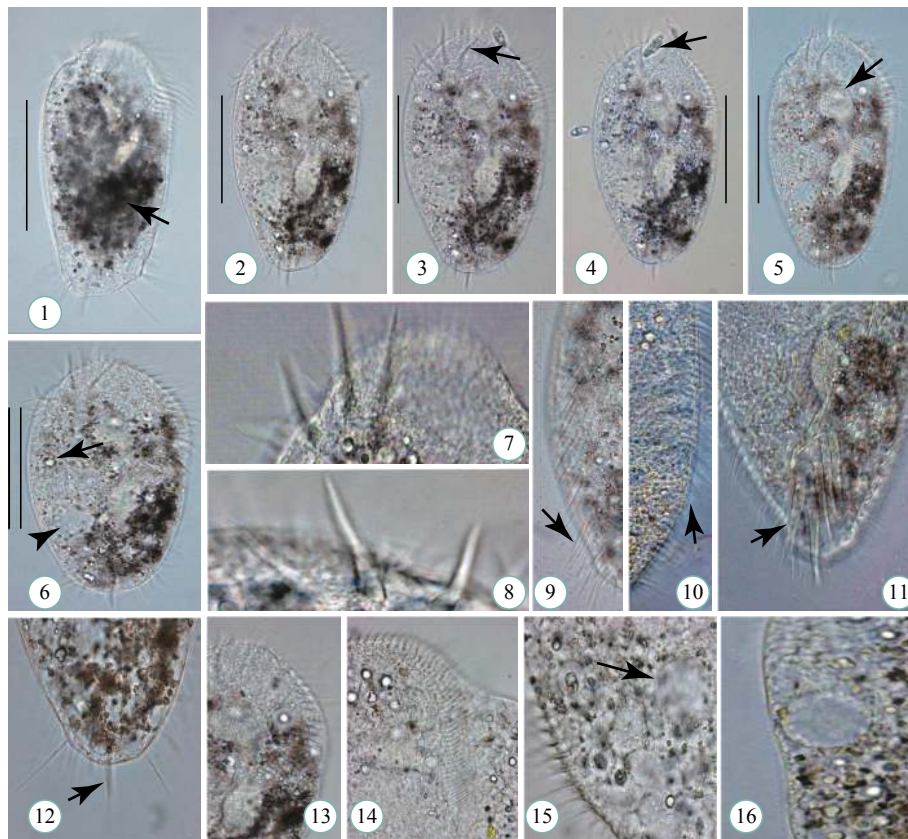
YAO Shun-Li<sup>1,2</sup>, CHEN Ying<sup>1</sup>, FAN Xin-Peng<sup>2</sup>, MU Wei-Jie<sup>1</sup>, WANG Li<sup>1</sup>, CAI Xing-Long<sup>1</sup> and PAN Xu-Ming<sup>1</sup>

(1. Harbin Normal University, School of Life Science and Technology, Protozoan Laboratory, Harbin 155630, China;

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

**Abstract:** The morphology of four widely distributed ciliates (*Stylonychia mytilus*, *Tetmemena pustulata*, *Paramecium caudatum*, *Coleps hirtus*) from Songhua River were studied using living observation and silver staining methods to complementally describe the living and ciliary pattern characters of Harbin populations of these four species including the arrangement of six rows of dorsal kineties after protargol impregnation and the specific statistics of the numbers of left and right marginal rows of *S. mytilus*. The results showed that the morphological features of Harbin population *S. mytilus* were basically consistent with previous reports, except that small membranes of Harbin population were more than previous populations. Compared with the Mohe population, the Harbin population *T. pustulata* were similar in morphology, infraciliature and the occurrence pattern, and had slightly higher in the number of left and right marginal and more micronucleus. Compared with the Qingdao populations of *P. caudatum*, Harbin population had significantly less collecting canals. Compared with previous populations, Harbin population of *C. hirtus* had slightly larger body size.

**Key words:** Morphology; *Stylonychia mytilus*; *Tetmemena pustulata*; *Paramecium caudatum*; *Coleps hirtus*

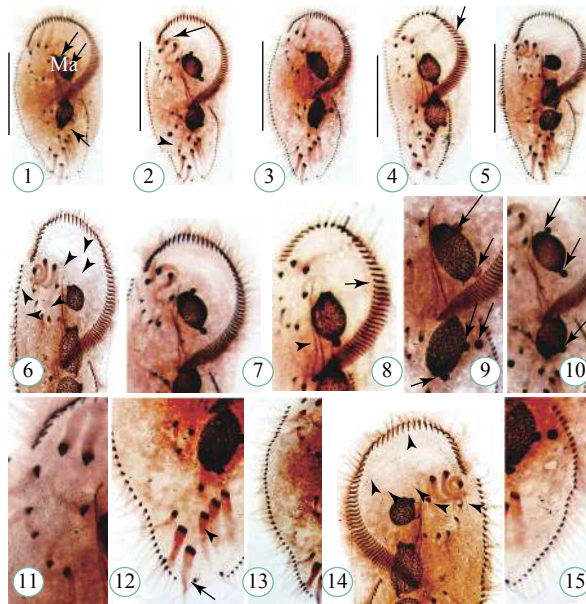


图版 I 贻贝棘尾虫活体照片

Plate I Morphology of *Stylonychia mytilus*

1. 典型个体背面观, 示背侧灰色颗粒(箭头); 2—6. 背面观, 示不同个体体形; 3. 背面观, 示额棘毛(箭头); 4. 唇滴虫(箭头); 5. 背面观, 示大核(箭头); 6. 背面观, 示透明颗粒物(箭头), 伸缩泡(无尾箭头); 7, 8. 额棘毛; 9. 左缘棘毛(箭头); 10. 右缘棘毛(箭头); 11. 横棘毛(箭头); 12. 尾棘毛(箭头); 13, 14. 口围带; 15, 16. 伸缩泡(15中箭头所示); 比例尺=90 μm

1. Dorsal view of typical individual with gray granules (arrow); 2—6. Dorsal views with different individuals shape; 3. Dorsal view with frontal cirri (arrow); 4. *Chilomonas* sp. (arrow); 5. Dorsal view with macronucleus (arrow); 6. Dorsal view with transparent particles (arrow) and contractile vacuole (arrowhead); 7, 8. Frontal cirri; 9. Left marginal row (arrow); 10. Right marginal row (arrow); 11. Transverse cirri (arrow); 12. Caudal cirri (arrow); 13, 14. Adoral zone of membranelles; 15—16. Contractile vacuole (O: arrow). Scale bars=90 μm

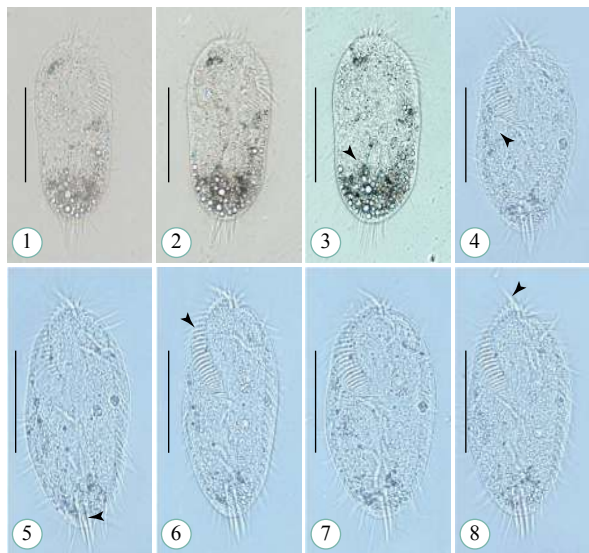


图版 II 贻贝棘尾虫蛋白银染色照片(腹面观), 示纤毛图式

Plate II Morphology of *Styloynchia mytilus* after protargol impregnation (ventral views)

1. 腹面观, 示大核, 小核(箭头); 2. 腹面观, 示额棘毛(箭头), 腹棘毛(无尾箭头); 3—5. 腹面观, 示口围带(箭头); 6. 腹面观, 示背触毛列(无尾箭头); 7. 口围带; 8. 小膜(箭头), 波动膜(无尾箭头); 9. 小核(箭头); 10. 细胞核; 11. 额棘毛; 12. 横棘毛(无尾箭头), 尾棘毛(箭头); 13. 右缘棘毛列; 14. 背面观, 示背触毛列(无尾箭头); 15. 左缘棘毛列; Ma=大核; 比例尺=90 μm

1. Ventral view with macronucleus and Micronucleus (arrow). 2. Ventral view with frontal cirri (arrow) and ventral cirri (arrowhead); 3—5. Ventral views with adoral zone of membranelles (arrow); 6. Ventral view with dorsal kineties (arrowheads); 7. Adoral zone of membranelles; 8. Adoral zone of membranelles (arrow) and undulating membranes (arrowhead); 9. Micronucleus (arrow); 10. Macronucleus; 11. Frontal cirri; 12. Ventral cirri (arrowhead), caudal cirri (arrow); 13. Right marginal row; 14. Dorsal view with dorsal kineties (arrowheads); 15. Left marginal row. Ma= macronucleus. Scale bars=90 μm



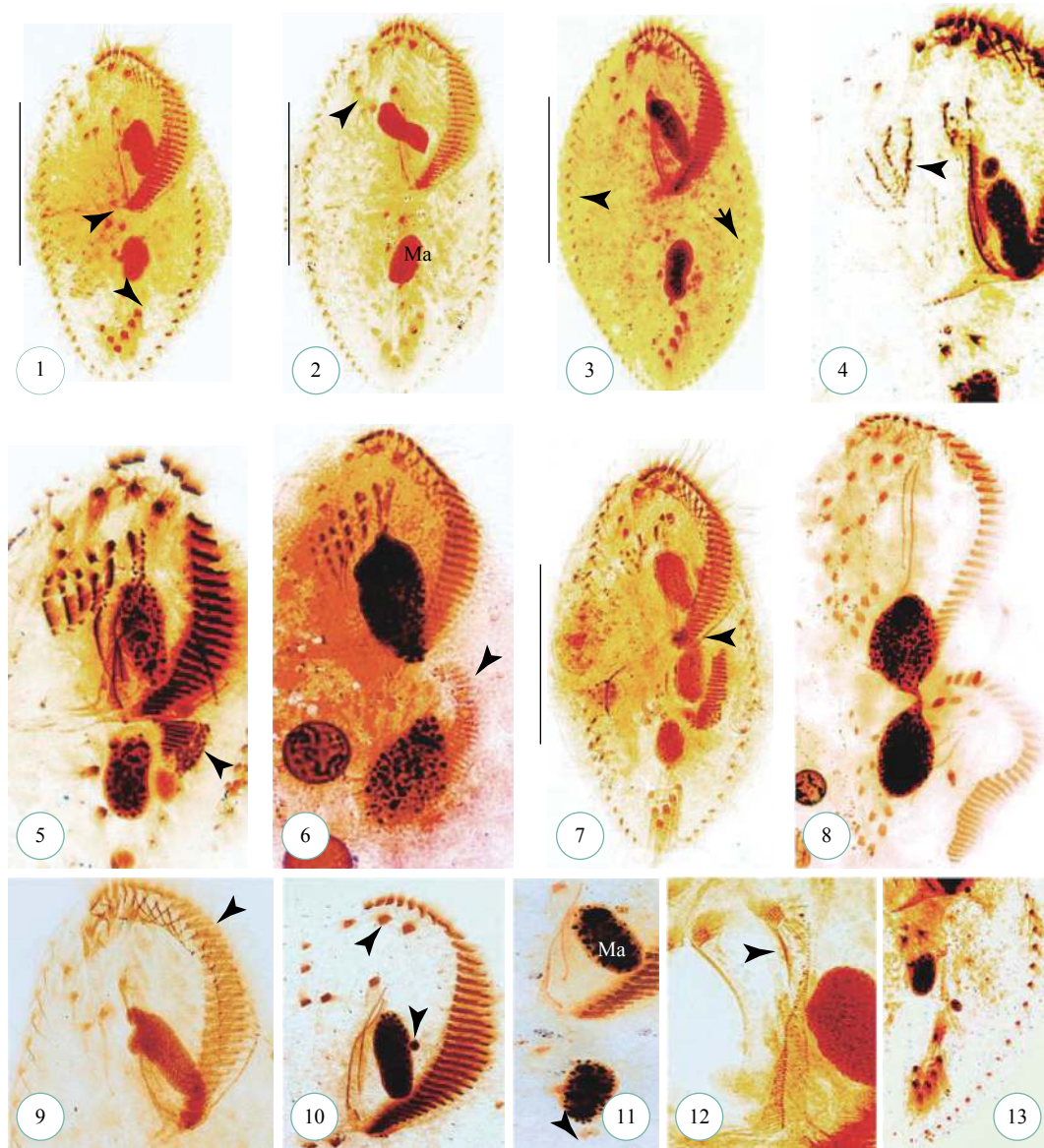
图版 III 鬃异源棘尾虫活体照片

Plate III Morphology of *Tetmemena pustulata*

1. 典型个体腹面观; 2, 3. 腹面观, 示食物颗粒(无尾箭头); 4. 背面观, 伸缩泡(无尾箭头); 5. 背面观, 示背触棘毛(无尾箭头); 6. 背面观, 示口围带(无尾箭头); 7. 背面观; 8. 背面观, 示额棘毛(无尾箭头); 比例尺=55 μm

1. Ventral view of typical individual; 2, 3. Ventral views with food vacuoles (arrowhead); 4. Dorsal view with contractile vacuole (arrowhead); 5. Dorsal view with dorsal cirri (arrowhead); 6. Dorsal view with adoral zone of membranelles (arrowhead); 7. Dorsal view; 8. Dorsal view with frontal cirri (arrowhead). Scale bars=55 μm



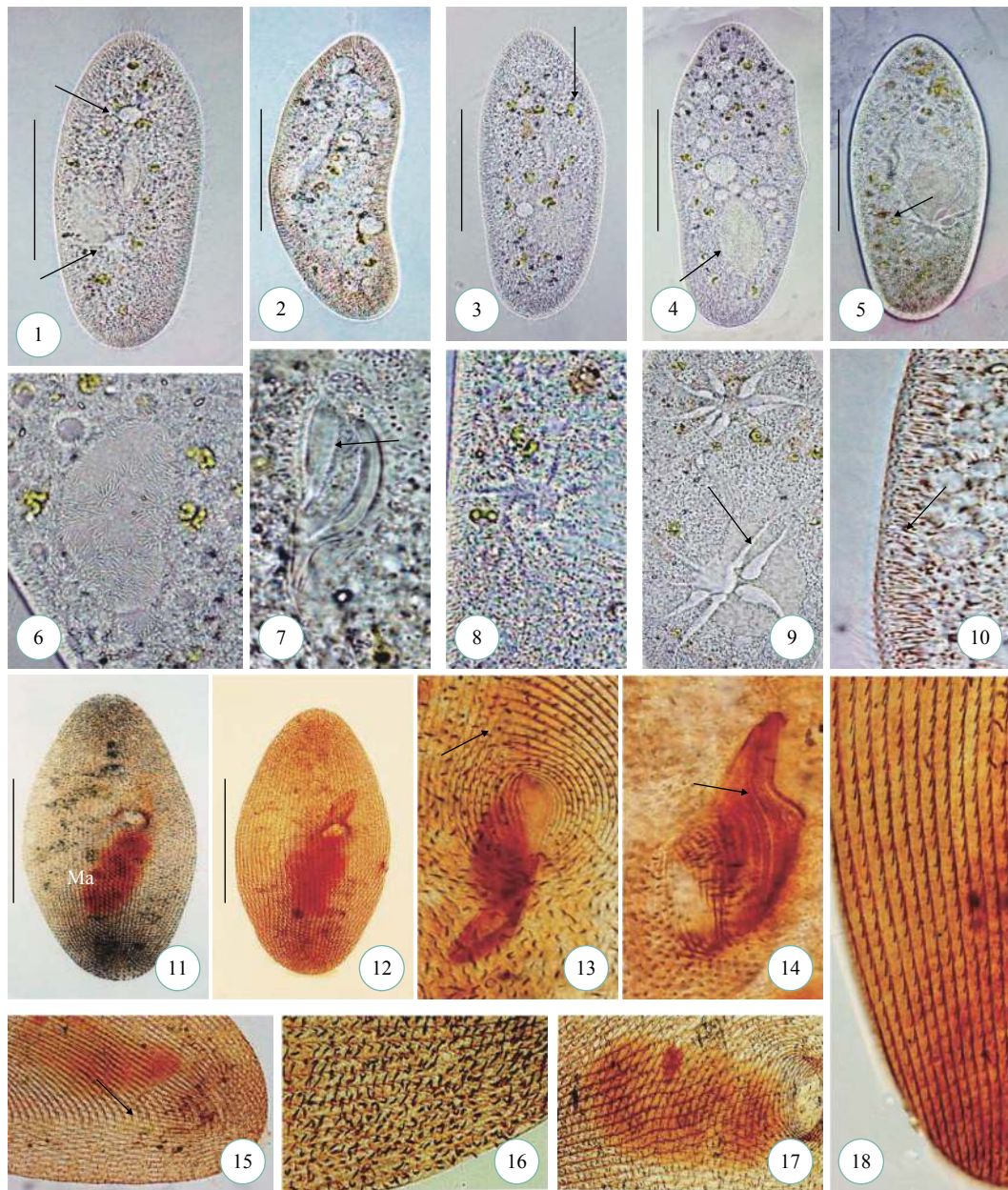


图版 IV 鬃异源棘尾虫的蛋白银染色照片

Plate IV Morphology of *Tetmemena pustulata* after protargol staining

1. 腹面观, 示腹棘毛(无尾箭头), 横棘毛(箭头); 2. 腹面观, 示额棘毛(无尾箭头), 大核; 3. 腹面观, 示左缘棘毛列(箭头), 右缘棘毛列(无尾箭头); 4—8. 发生的部分阶段, 4. 前仔虫腹面观, 无尾箭头示正解聚中的棘毛, 5—6. 中期新棘毛分化、迁移, 老波动膜解聚(箭头), 后仔虫新口围带(无尾箭头)形成, 7. 示分裂期的大核(无尾箭头), 8. 前仔虫波动膜(无尾箭头), 后仔虫波动膜(箭头); 9. 口围带(无尾箭头); 10. 额棘毛(无尾箭头), 小核(箭头); 11. 示大核(箭头), 小核; 12. 波动膜(无尾箭头); 13. 左缘棘毛列; Ma=大核; 比例尺=55  $\mu\text{m}$

1. Ventral view with ventral cirri (arrowhead) and transverse cirri (arrow); 2. Ventral view with frontal cirri (arrowhead) and macronucleus; 3. Ventral view with left marginal row (arrow) and right marginal row (arrowhead); 4—8. Several cell division stages. 4. Ventral view with the cirri in the depolymerization; 5—6. Medium-term cirri migration with undulating membranes depolymerization (arrow) and the new adoral zone of membranelles of opisthe (arrowhead); 7. Division period of macronucleus (arrowhead); 8. Proter undulate membranes (arrowhead) and opisthe undulate membranes (arrow); 9. Adoral zone of membranelles (arrowhead); 10. Frontal cirri (arrowhead) and micronucleus (arrow); 11. Macronucleus (arrow) and micronucleus; 12. Undulate membranes (arrowhead); 13. Left marginal row. Ma=macronucleus. Scale bars=55  $\mu\text{m}$

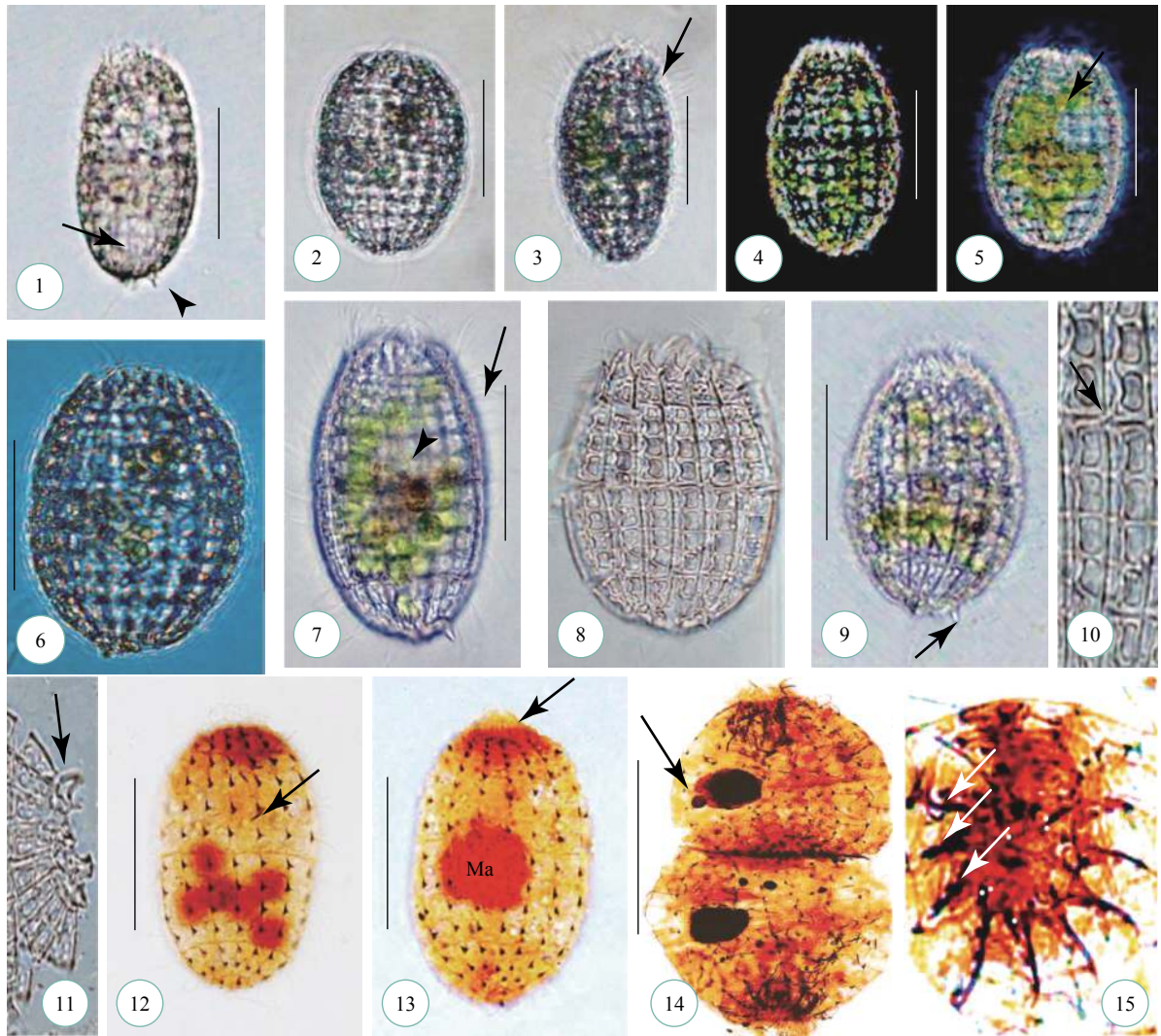


图版 V 尾草履虫活体(1—10)和氨银法染色所得的纤毛图式照片(11—18)

Plate V *Paramecium caudatum* (1—10) and silver carbonate staining (11—18)

1—5. 腹面观, 示不同个体体形; 1. 伸缩泡(箭头); 3. 射出体(箭头); 4. 大核(箭头); 5. 内含物(箭头); 6. 伸缩泡; 7. 口(箭头); 8, 9. 伸缩泡, 收集管(箭头); 10. 射出体(箭头); 11, 12. 腹面观, 染色后虫体纤毛图式; 13. 口前缝合线(箭头); 14. 咽膜(箭头); 15. 口后缝合线(箭头); 16, 18. 体动基列; 17. 大核; Ma=大核; 比例尺=90  $\mu\text{m}$

1—5. Ventral views with different individuals shape; 1. Contractile vacuole (arrow); 3. Extrusome (arrow); 4. Macronucleus (arrow); 5. Inclusions (arrow); 6. Contractile vacuole; 7. Buccal apparatus (arrow); 8, 9. Contractile vacuole and collecting canals (arrow); 10. Extrusome (arrow); 11, 12. Ventral view of Infraciliature; 13. Buccal apparatus with preoral suture line (arrow); 14. Peniculus (arrow); 15. Postoral suture line (arrow); 16, 18. Somatic kineties; 17. Macronucleus. Ma=macronucleus. Scale bars=90  $\mu\text{m}$



图版 VI 刚毛榴弹虫活体(1—11)和氨银法染色所得照片(12—15)

Plate VI *Coleps hirtus* (1—11) and silver carbonate staining (12—15)

1. 典型个体, 示虫体尾端棘刺(无尾箭头), 伸缩泡(箭头); 2—7. 示不同个体体形; 3. 示体纤毛(箭头); 5. 示色素颗粒(箭头); 7. 示内含物(无尾箭头), 体纤毛(箭头); 8. 虫体盔板; 9. 虫体盔板, 棘刺(箭头); 10. 局部盔板, 脊(箭头); 11. 棘刺(箭头); 12. 体动基列(箭头); 13. 大核, 口区(箭头); 14. 二分裂, 示小核(箭头); 15. 围口纤毛列(箭头); Ma=大核, 比例尺=30  $\mu\text{m}$

1. The end of the body cirri (arrowhead) and contractile vacuule (arrow); 2—7. Different individuals shape; 3. Somatic cilia (arrow); 5. Pigment particles (arrow); 7. Contents (arrowhead) and somatic cilia (arrow); 8. Armour plate; 9. Armour plates and spines (arrow); 11. Spines (arrow); 12. Somatic kineties (arrow); 13. Macronucleus with buccal field (arrow); 14. Division period with micronucleus (arrow); 15. Perioral ciliary (arrows). Ma =macronucleus. Scale bars=30  $\mu\text{m}$