

## УЛЬТРАТОНКОЕ СТРОЕНИЕ БЕСЦВЕТНОГО ЖГУТИКОНОСЦА *THAUMATOMONAS SERAVINI*

С. А. Карпов

Биологический научно-исследовательский институт, С.-Петербургский университет

Исследовано ультратонкое строение бесцветного жгутиконосца *Thaumatomonas seravini* Mylnikov et Karпов, 1993 (отряд *Thaumatomonadida*) на амебожгутиковой стадии жизненного цикла. Наиболее детально изучен жгутиковый аппарат. Показано, что он сходен со жгутиковым аппаратом другого вида этого рода — *Th. lauterborni*. В переходной зоне каждого жгутика расположен цилиндр, плотно прилегающий к периферическим дублетам аксонемы; три микротрубочковых корешка направлены от кинетосом вдоль стенок жгутикового кармана, причем дорсальный корешок инициирует вторичные микротрубочки, укрепляющие устье кармана, а два вентральных переходят в ленты микротрубочек, выстилающие края вентральной бороздки. Митохондрии с пузырьковидными кристами служат матрицей для формирования соматических чешуек. Кинетоцисты имеют типичное для рода *Thaumatomonas* строение. Отличия *Th. seravini* от *Th. lauterborni* на ультраструктурном уровне заключаются в том, что у первого вида в каналах эндоплазматического ретикулама найдены симбиотические бактерии, а соматические чешуйки имеют иную форму.

Бесцветный гетероконтный жгутиконосец *Thaumatomonas seravini* Mylnikov et Karпов, 1993 отличается от *Th. lauterborni*, который был ранее единственным известным представителем рода *Thaumatomonas*, размерами, формой тела и строением соматических чешуек (Мыльников, Карпов, 1993). В жизненном цикле *Th. seravini* имеются те же стадии, какие описаны у *Th. lauterborni*: амебожгутиковая, плазмодиальная и стадия цисты.

Ультраструктура *Th. lauterborni* была исследована ранее (Карпов, 1987; Карпов, Жуков, 1987; Vickerman, 1988; Карпов, Макаренкова, 1989; Vickerman et al., 1991). В настоящей статье описывается строение *Th. seravini* с целью обнаружить различия двух видов *Thaumatomonas* на ультраструктурном уровне и дополнить наши знания о тауматомонадах в целом. Основное внимание в настоящей работе уделено строению жгутикового аппарата на амебожгутиковой стадии жизненного цикла простейшего.

### Материал и методика

Исследован *Th. seravini* из клональной культуры (клон Т-2), поддерживаемой в коллекции культур простейших лаборатории зоологии беспозвоночных нашего института. Культура ведется на среде Прагга, в качестве пищи жгутиконосцев используется коровье молоко или мясной бульон.

Для ультраструктурных исследований простейших центрифугировали и осажденные клетки фиксировали сначала в 0.07%-ном растворе  $O_3O_4$  в течение 10 мин, затем в 2 %-ном растворе глутаральдегида в течение 40 мин. После этого клетки заключали в агар и фиксировали в 1%-ном растворе  $O_3O_4$  в течение 1 ч на холоде. Все фиксирующие смеси готовили на 0.1 М фосфатном буфере, рН 7.1—7.3. После обезвоживания в спиртах возрастающей концентрации клетки заключали в смесь Эпона с Аралдитом. Срезы, полученные на ультрамикротоме LKB-ноva, контрастировали уранил-ацетатом и цитратом свинца по стандартной методике, а затем просматривали в электронном микроскопе Н-600 (Япония). Реконструкцию трехмерного изображения проводили на основании анализа серий срезов. Три из этих серий представлены на рис. 5, 6, 8—11, 12—14.

## Результаты

На амебозгугтиковой стадии *Th. seravini* является гетероконтным жгугтиконосцем, который передвигается, скользя вентральной стороной по субстрату. Тело клетки сплющено в дорсовентральном направлении, метаболия и псевдоподиальная активность отсутствуют. Передвигается жгугтиконосец при помощи двух жгугтиков. Короткий, или двигательный, жгугтик направлен вперед. При движении он наиболее активен, тогда как задний, или рекуррентный, жгугтик, проходя под вентральной поверхностью клетки, выполняет, скорее всего, рулевую функцию. Оба жгугтика выходят из жгугтикового кармана на переднем конце клетки, переходящего снизу в неглубокую вентральную бороздку.

Время от времени жгугтиконосец останавливается и быстро выпускает из вентральной бороздки многочисленные филоподии, служащие для захвата пищи. Их тонкие выросты могут ветвиться, охватывая при этом значительную площадь субстрата. По окончании процесса питания особь втягивает филоподии, направляет передний жгугтик и переходит к движению.

В культуре *Th. seravini* одиночные особи могут сливаться друг с другом, сблизаясь предварительно в группы из нескольких клеток. В результате формируются небольшие плазмодии с несколькими жгугтиками. По мере роста плазмодиев жгугтики исчезают, а количество ядер увеличивается до нескольких десятков. Крупные плазмодии могут в дальнейшем фрагментироваться на более мелкие, а те в свою очередь дают одноядерные клетки.

При неблагоприятных условиях, которые обычно наступают в старой культуре, клетки теряют жгугтики, округляются и превращаются в цисты с довольно толстой оболочкой. Содержимое цист рассмотреть не удается.

Изучение ультратонких срезов *Th. seravini* показывает, что взаимное расположение органелл в клетке типично для тауматомонад (рис. 1; см. вкл. III). Ядро пузырьковидного типа смещено в переднюю часть особи, имеет немного вытянутый передний конец, к которому прилегают кинетосомы жгугтиков. Со стороны кинетосом на поверхности ядра проходит неглубокая бороздка (рис. 2). Она располагается перпендикулярно плоскости, в которой лежат кинетосомы. По обе стороны от ядра находятся две диктиосомы, а к жгугтиковому карману примыкают две сократительные вакуоли (рис. 1).

Снаружи клетка покрыта плазмалеммой с прилегающими к ней однотипными микроскопическими чешуйками (рис. 2). Они покрывают клетку в один слой почти полностью, за исключением жгугтикового кармана, вентральной бороздки и жгугтиков. Чешуйки формируются на поверхности митохондрий (рис. 3, 4; см. вкл. III). Их сборка происходит внутри пузырька, плотно прилегающего к наружной мембране митохондрии. В этом месте обе мембраны инвагинируют довольно глубоко (рис. 3), а пространство между наружной и внутренней мембранами митохондрии заметно увеличивается. Происхождение пузырька, возможно, связано с диктиосомой. По мере созревания чешуйки пузырек приобретает ее форму, а в нем можно заметить некоторые изменения. Сначала он «пустой» (рис. 3), а позднее в нем появляются контуры будущей чешуйки (рис. 4). После созревания чешуйки пузырек отделяется от митохондрии и выносит свое содержимое наружу. Размеры чешуек не превышают 0.7 мкм.

Под плазмалеммой клетки находятся экструзивные органеллы — кинетоцисты, сосредоточенные преимущественно на дорсальной и передней сторонах клетки (рис. 7, 8; см. вкл. IV). Их оболочка образована унитарной мембраной, под которой просматривается рыхлый матрикс из тонкофибриллярного материала. Тело кинетоцисты занимает центральную часть и состоит из муфточки и центрального стержня (рис. 7, 8). Выстрелившие кинетоцисты не были обнаружены.

Митохондрии *Th. seravini* с пузырьковидными кристами (рис. 2—4, 14; см. вкл. IV) распределены в цитоплазме неравномерно. Чаще всего они встречаются

в передней части клетки и в дорсальной области, значительно реже — в зоне вентральной бороздки и совсем отсутствуют в филоподиальных выростах.

В каналах эндоплазматического ретикулума обнаружены симбиотические бактерии (рис. 2, 8). Судя по строению оболочки, их можно отнести к грамотрицательным бактериям.

Наибольшее внимание было уделено строению жгутикового аппарата клетки. Аксонема жгутиков имеет обычный набор микротрубочек  $9+2$  (рис. 5, 6). Переходная зона обоих жгутиков также устроена одинаково (рис. 12, 13). Поперечная пластинка (септа) расположена выше уровня поверхности клетки. В центре септы находится хорошо выраженная аксосома, от которой берут начало две центральные микротрубочки аксонемы. Сверху и снизу поперечной пластинки заметны две тонкие линии, прилегающие изнутри к периферическим дублетам (рис. 12, 13). Они представляют собой стенки цилиндра, отмечавшегося ранее в переходной зоне жгутиков *Th. lauterborni* (Карпов, 1987).

Строение корешковой системы *Th. seravini* исследовано на сериях срезов, которые выборочно представлены на рис. 5, 6, 8—15. Двигательный жгутик при этом находится с дорсальной стороны.

Дорсальный корешок начинается от кинетосомы двигательного жгутика (рис. 8—11). Он проходит по левой стороне жгутикового кармана (рис. 5, 6) и состоит обычно из 3—5 микротрубочек. В дистальной части он оканчивается электронно-плотным аморфным материалом, от которого расходятся вторичные микротрубочки, укрепляющие устье жгутикового кармана (рис. 5, 6, 12, 13). С вентральной стороны жгутиковый карман выстлан двумя микротрубочковыми корешками (рис. 5, 6). В дистальной части этих корешков количество микротрубочек достигает 5—6, хотя от кинетосом в каждом корешке отходят по 2—3 микротрубочки (рис. 9—11). Один из вентральных корешков ассоциирован с фибриллярной неисчерченной пластинкой, сопровождающей его в проксимальной части, когда корешок проходит вдоль поверхности ядра (рис. 9, 12, 13).

Вентральные корешки проходят под плазмалеммой жгутикового кармана и, достигнув его устья, поворачивают назад уже в качестве лент микротрубочек, укрепляющих края вентральной бороздки (рис. 15). В основании всех трех корешков можно заметить отходящие от них короткие вторичные микротрубочки. Часть из них направляется к ядру, другие оканчиваются в цитоплазме (рис. 8). Обе кинетосомы связаны с поверхностью ядра тонкими нитями фибриллярного материала, не организованного в пучки (рис. 8—11).

## Обсуждение

Ультратонкое строение *Th. seravini* на амебожгутиковой стадии в целом почти такое же, как у *Th. lauterborni*, и характеризуется теми же особенностями: весьма своеобразным расположением органелл (ядра, кинетосом, диктиосом и сократительных вакуолей, связанных со жгутиковым карманом) в передней части клетки, образующих единый комплекс; экструсомами типа кинетоцист; одним слоем покрывающих клетку соматических чешуек, происхождение которых связано с митохондриями, имеющими пузырьковидные кресты; грушевидным ядром пузырьковидного типа, имеющим небольшое углубление со стороны кинетосом в виде бороздки. В переходной зоне жгутиков найден цилиндр, а строение и функции корешков у *Th. seravini* такие же, как у *Th. lauterborni*. Различия обоих видов на светооптическом уровне касаются формы и размера клетки (Мыльников, Карпов, 1993). На ультраструктурном уровне найдены два важных различия — разная форма соматических чешуек и присутствие симбиотических бактерий у *Th. seravini*.

В этой связи следует особо остановиться на форме соматических чешуек. Она видоспецифична у протистов. Особи клона *Th. lauterborni*, который иссле-

довали Викерман и соавторы (Vickerman, 1988; Vickerman et al., 1991), отличаются от особой наших клонов *Th. lauterborni* и *Th. seravini* формой соматических чешуек (Vickerman, личное сообщение). По-видимому, этот клон является новым видом. Вместе с тем из приведенных в работе Викермана с соавторами (Vickerman et al., 1991) электронограмм следует, что в клетках этого клона нет симбиотических бактерий и также не обнаруживается других отличий жгутиконосцев от исследованных в настоящей статье и ранее (Карпов, 1987; Карпов, Жуков, 1987). Конечно, этих данных еще недостаточно, чтобы делать вывод о том, что клетки обоих клонов *Th. lauterborni* идентичны на ультраструктурном уровне (за исключением, конечно, формы чешуек). В этом направлении требуются дополнительные исследования.

В целом поиски межвидовых различий у протистов на ультраструктурном уровне нам кажутся весьма перспективными. Это направление исследований приведет к более глубокому пониманию морфофункциональной организации клетки протистов.

### Список литературы

- Карпов С. А. Строение жгутикового аппарата у бесцветного жгутиконосца *Thaumatomonas lauterborni* и оценка концепции эволюционного консерватизма клеточных структур // Цитология. 1987. Т. 29, № 12. С. 1349—1354.
- Карпов С. А., Жуков Б. Ф. Цитологические особенности бесцветного жгутиконосца *Thaumatomonas lauterborni* // Цитология. 1987. Т. 29, № 10. С. 1168—1171.
- Карпов С. А., Макаренкова Е. П. Фагоцитоз и эндоцитоз у бесцветного жгутиконосца *Thaumatomonas lauterborni* // Цитология. 1989. Т. 31, № 3. С. 347—349.
- Мыльников А. П., Карпов С. А. Новый представитель отряда *Thaumatomonadida* — *Thaumatomonas seravini* // Зоол. журн. 1993. Т. 72, № 3. С. 5—10.
- Vickerman K. *Thaumatomonas lauterborni*: a scale-secreting amoeboflagellate with a plasmodial phase in its life cycle // Abstr. 41st Ann. Meet. Soc. Protozool. Bristol, England, 1988. P. 32.
- Vickerman K., Brugerolle G., Mignot J.-P. *Mastigophora* // Microscopic anatomy of invertebrates. Vol. 1. Protozoa. New York etc.: Wiley—Liss, 1991. P. 13—159.

Поступила 30 III 1993

### THE ULTRATHIN STRUCTURE OF THE COLOURLESS FLAGELLATE *THAUMATOMONAS SERAVINI* MYLNIKOV ET KARPOV, 1993 (THAUMATOMONADIDA)

S. A. Karpov

Biological Research Institute, St. Petersburg University

The ultrathin structure of an amoeboflagellate stage of *Thaumatomonas seravini* has been studied, with special attention being paid to the flagellar apparatus. This appeared to have similar structure as the flagellar apparatus of *Th. lauterborni*. The transition cylinder is closely connected with peripheral microtubules of axoneme, three microtubular rootlets originate from kinetosomes and underline the flagellar pocket membrane. The dorsal rootlet initiates secondary microtubules supporting a distal part of the flagellar pocket. Two ventral rootlets go along the flagellar pocket surface, turn to the ventral side of the cell and become bands of microtubules supporting edges of the ventral groove. Mitochondria with vesicular cristae serve as a matrix for the body scales formation. The structure of kinetocysts is typical of the genus *Thaumatomonas*. There are two ultrastructural differences between *Th. seravini* and *Th. lauterborni*: the former has symbiotic bacteria in the endoplasmic reticulum, and displays different shape of body scales.

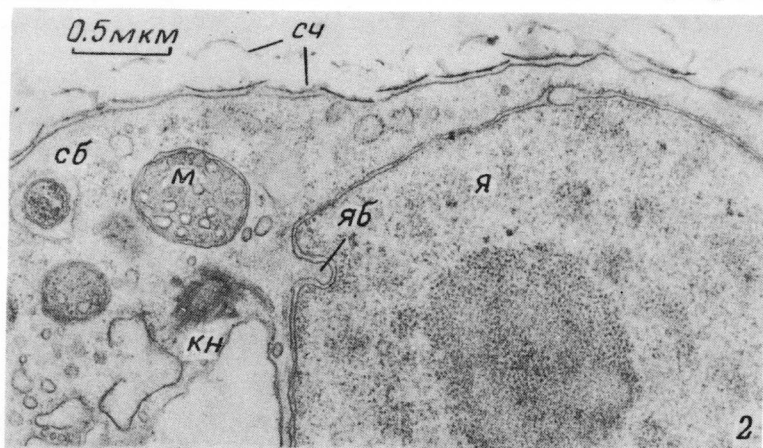
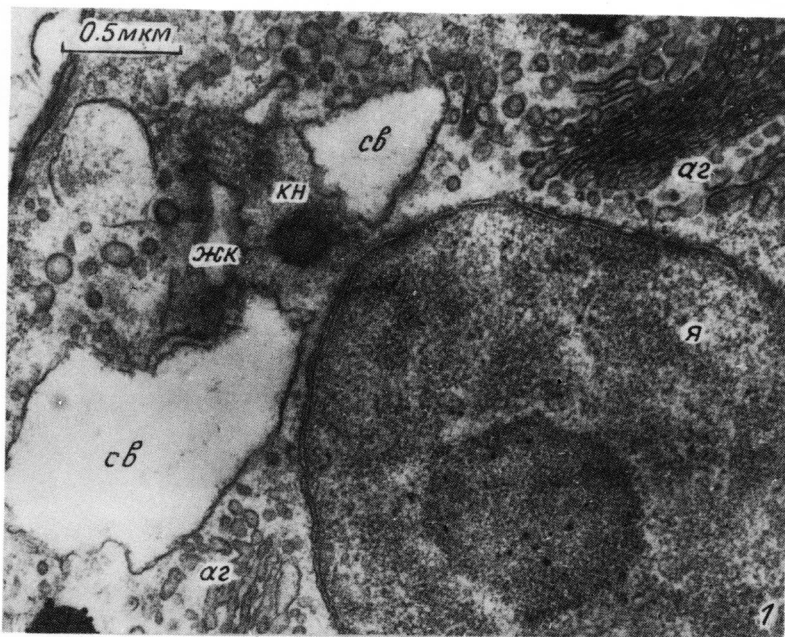


Рис. 1, 2. Особенности ультраструктуры *Thaumatomonas seravini*.

1 — взаимное расположение оргanelл в клетке; 2 — дорсовентральный срез клетки вдоль ее продольной оси. аг — аппарат Гольджи, жк — жгутиковый карман, кн — кинетосома, м — митохондрия, сб — симбиотическая бактерия, св — сократительная вакуоль, сч — соматическая чешуйка, я — ядро, яб — ядерная бороздка.

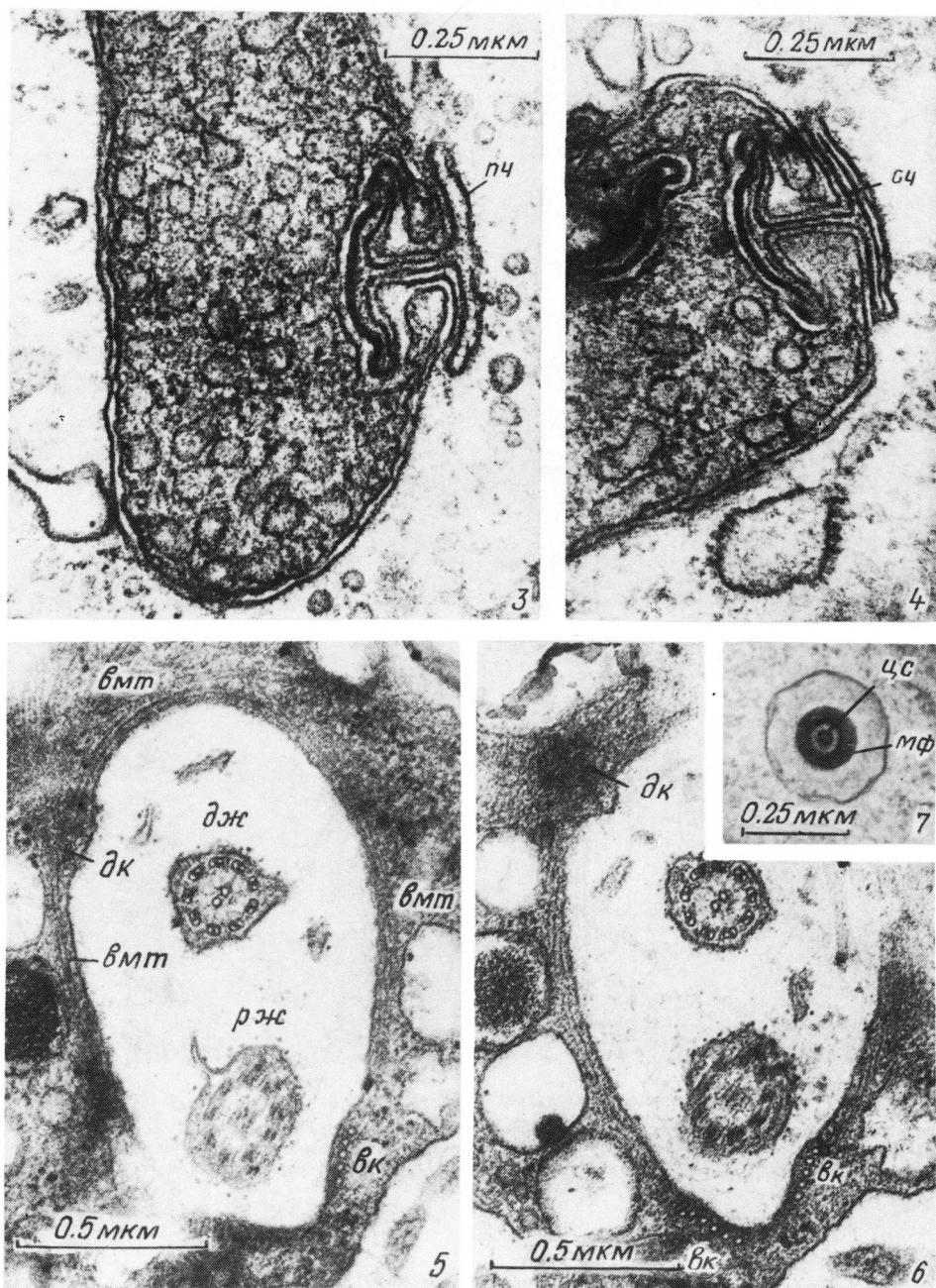


Рис. 3—7. Особенности ультраструктуры *Thaumatomonas seravini*.

3 — несущий чешуйку пузырьки на поверхности митохондрии без оформленного внутреннего содержимого; 4 — появление внутри пузырька оформленных структур чешуйки; 5, 6 — последовательные срезы жгутикового кармана в его дистальной части (рисунки ориентированы таким образом, что взгляд читателя направлен из клетки наружу); 7 — поперечный срез кинетоцисты; вк — вентральный корешок; влт — вторичные микротрубочки; дж — двигательный жгутик; дк — дорсальный корешок; мф — муфточка кинетоцисты; пч — пузырьки, в котором формируется чешуйка; рж — рекуррентный жгутик; цс — центральный стержень кинетоцисты; остальные обозначения те же, что и на рис. 1, 2.

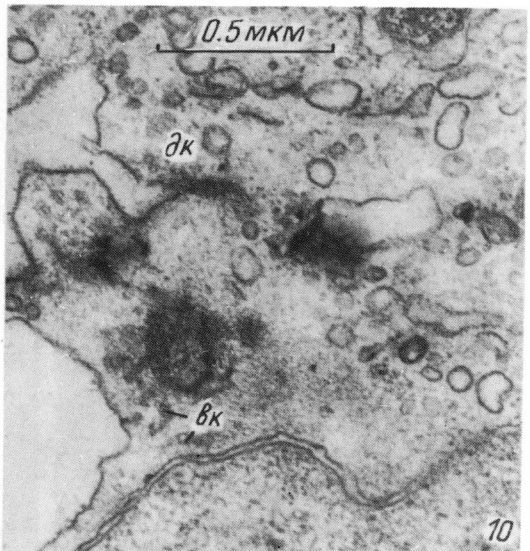
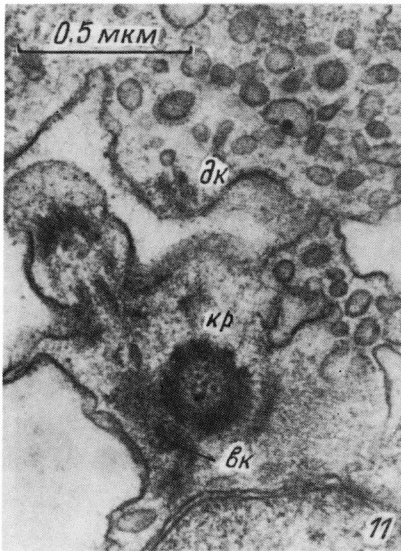
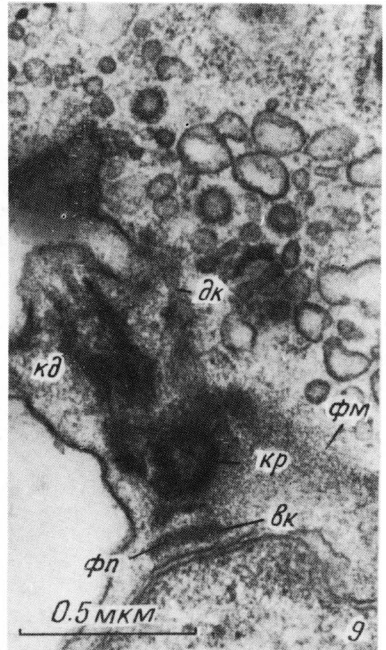
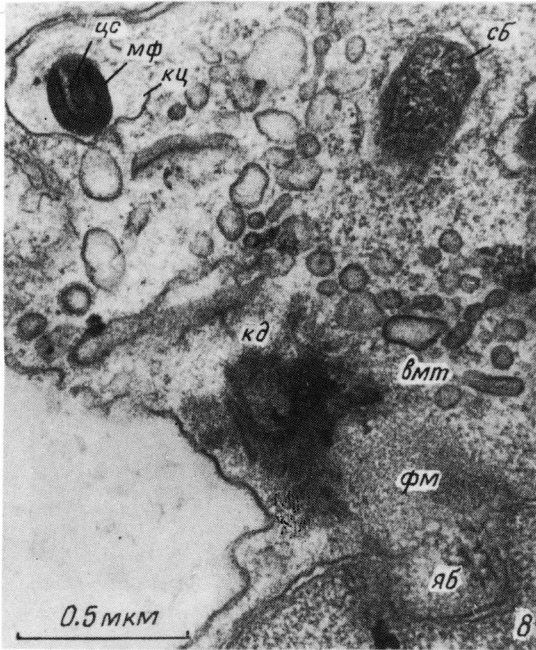


Рис. 8—11. Серия последовательных срезов жгутикового аппарата *Thaumatomonas seravini*.

кд — кинетосома двигательного жгутика, кр — кинетосома рекуррентного жгутика, кц — кинетоциста, фм — фибриллярный материал, фп — фибриллярная пластинка; остальные обозначения те же, что и на рис. 1—7.

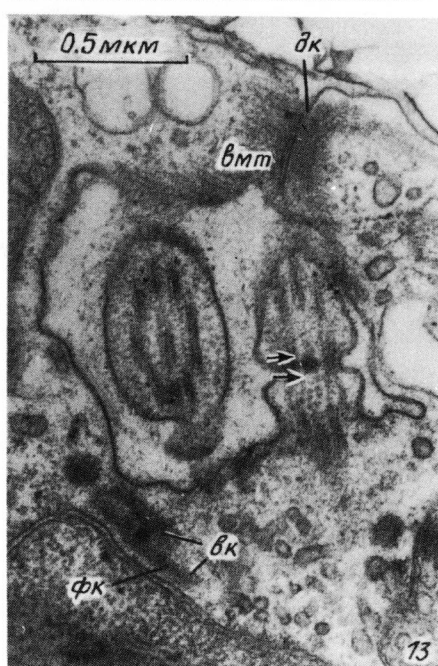
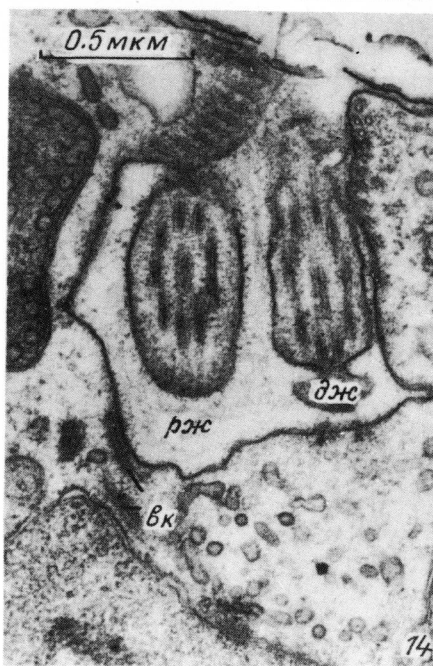
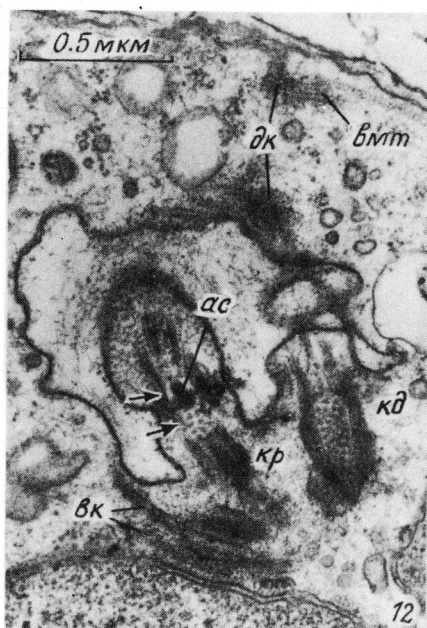
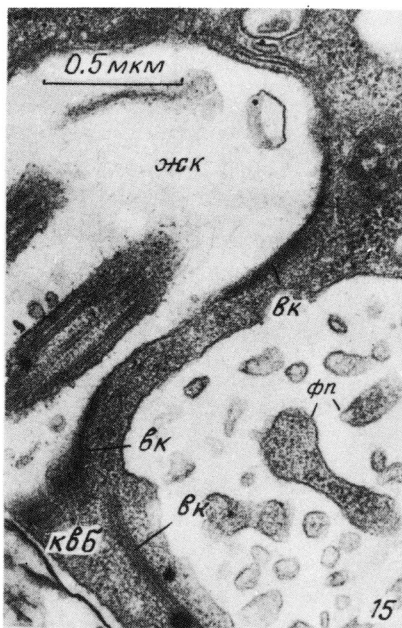


Рис. 12—15. Особенности строения жгутикового аппарата *Thaumatomonas seravini*.

12—14 — серия последовательных срезов жгутикового аппарата; 15 — продольный срез жгутикового кармана в месте его перехода в вентральную бороздку. ас — аксосома, кбб — край вентральной бороздки, фл — филоподии; стрелками обозначен переходный цилиндр; остальные обозначения те же, что и на рис. 1—11.