

УДК 593.16

МОРФОЛОГИЯ ХИЩНОГО АЛЬВЕОЛЯТНОГО ЖГУТИКОНОСЦА *COLPODELLA UNGUIS* (COLPODELLIDA, PROTISTA)

А. П. Мыльников, А. А. Мыльников

Институт биологии внутренних вод РАН,
Борок, Ярославская обл., 152742 Россия
E-mail: mylnikov@ibiw.yaroslavl.ru

Принято 15 февраля 2008

Морфология хищного альвеолятного жгутиконосца *Colpodella unguis* (Colpodellida, Protista). Мыльников А. П., Мыльников А. А. — Рассмотрены морфология и жизненный цикл морского хищного жгутиконосца *Colpodella unguis* Patterson et Simpson, 1996, нападающего на бодонид и других флагеллят. Клетка имеет бобовидную форму и два гетеродинамичных жгутика, отходящих из двух бороздок. Передний жгутик покрыт простыми мастигонемами. Жгутиконосцы питаются мелкими бодонидами и бесцветными хризомонадами, высасывая содержимое их клеток. Цист размножения, как у других колподелл, не обнаружено. Размножение клеток происходит посредством деления надвое. В старых культурах обнаружены цисты покоя. Экспериментально установлена гибель клеток данного вида при солености меньше 2–3‰. Приведен дифференциальный диагноз данного вида.

Ключевые слова: морфология, хищники, колподеллиды, *Colpodella unguis*.

The Morphology of Carnivorous Alveolate Flagellate *Colpodella unguis* (Colpodellida, Protista). Mylnikov A. P., Mylnikov A. A. — The morphology and life cycle of marine carnivorous flagellate *Colpodella unguis* Patterson et Simpson, 1996, which attacks bodonids and other flagellates are considered. The cell has a bean-like shape and two heterodynamic flagella, which arise from two grooves. The anterior flagellum is covered by the simple mastigonemes. These flagellates feed on the small bodonids and colourless chrysomonads sucking their cell contents. The multiplication cysts as in other colpodells have not been found. The cell reproduction occurs by means of division into two ones. The resting cysts have been found in old cultures. The loss of the cells of given species at salinity below 2–3‰ has been established in the experiments. The similarity and difference of this predator and other colpodells are shown.

Key words: morphology, predators, colpodellids, *Colpodella unguis*.

Введение

Хищные жгутиконосцы, несмотря на их широкое распространение, пока изучены недостаточно. Данных по морфологии таких протистов мало и их идентификация затруднена (Мыльников, 1991, 2000). Среди хищных видов следует выделить формы, которые относятся к большой группе протистов — альвеоляты (Cavalier-Smith, Chao, 2004) и во время питания высасывают содержимое клеток жертв (Brugerolle, Mignot, 1979; Foissner, Foissner, 1984). К последним относятся представители отряда колподеллид (Colpodellida Cavalier-Smith, 1993; syn. Spiromonadida Krylov et Mylnikov, 1986), которые широко распространены в пресных и морских водоемах, а также в почве (Жуков, 1993; Simpson, Patterson, 1996). Колподеллиды, являясь активными хищниками, играют определенную роль как консументы мелких протистов (Arndt et al., 2000).

Недавно Т. Кавалье-Смитом и И. И. Чао (Cavalier-Smith, Chao, 2004) предложена новая система колподеллид на основании данных по РНК малой субъединицы рибосом без учета данных по ультраструктуре клеток известных видов. Однако эта система пока не подтверждена морфологическими данными и другими авторами не применяется (Lee et al., 2005). Мы будем придерживаться общепризнанной системы А. Г. Б. Симпсона и Д. Ж. Паттерсона. (Simpson, Patterson, 1996). В отряд колподеллид в настоящее время входят представители одного рода колподелла (*Colpodella* Cienkowski 1865). К этому роду Л. Ценковский (Cienkowski, 1865) отнес мелких

пресноводных двухжгутиковых жгутиконосцев, высасывающих свою жертву через передний конец тела клетки. В настоящее время род насчитывает 10 валидных видов: *C. angusta* Simpson et Patterson, 1996; *C. edax* Simpson et Patterson, 1996; *C. gonderi* Simpson et Patterson, 1996; *C. perforans* Patterson et Zoffel, 1991; *C. pontica* Mylnikov, 2000; *C. pugnax* Cienkowski, 1865; *C. tetrahymenae* Cavalier-Smith et Chao, 2004; *C. turpis* Simpson et Patterson, 1996; *C. unguis* Patterson et Simpson, 1996; *C. vorax* Simpson et Patterson, 1996.

Из прибрежных проб Белого моря нами выделен в чистую культуру хищный жгутиконосец, который отнесен к виду *C. unguis*, недавно описанному из морских проб Австралии (Patterson, Simpson, 1996). Этот вид исследован с целью выяснения ранее неизвестных деталей морфологии и жизненного цикла.

Материал и методы

Чистая культура хищного жгутиконосца *Colpodella unguis* выделена из морских проб, отобранных в сентябре 2002 г. в прибрежье Белого моря вблизи пос. Картеш Лоухского р-на (Карелия, Россия). Соленость проб воды 10–12‰. В качестве пищевого объекта использовали культуру бактериотрофных морских жгутиконосцев *Proccryptobia sorokini* Frolov, Karpov et Mylnikov, 2001 (клон В–65). Культивирование хищников проводили в среде Шмальца-Пратта соленостью 20‰ при 20–22°C в темноте. Исследовали клон Amph, полученный 29.09.02 путем прямого отсаживания одной клетки из пробы. Данный клон хранится в коллекции живых культур протистов группы протозоологии Института биологии внутренних вод РАН.

Для прижизненных наблюдений использовали микроскопы БИОЛАМ–И (Россия) с фазово-контрастной установкой КФ–5 в проходящем свете и объективами водяной иммерсии, Reichert (Австрия) с интерференционно-контрастной насадкой.

Для тотальных препаратов суспензию жгутиконосцев в виде капель наносили на поверхность медных сеточек, покрытых пленкой формвара. Сеточки помещали в чашки Петри, где фиксировали парами водного раствора тетраоксида осмия. Затем излишки воды с сеточек удаляли фильтровальной бумагой. Препараты высушивали на воздухе при комнатной температуре. Сухие сеточки помещали в вакуумную установку и напыляли оксидом вольфрама (нить толщиной 0,3 мм) под углом 30–45°, что соответствует методике К. Меструпа и Х. А. Томсена (Moestrup, Thomsen, 1980). Сеточки исследовали с помощью просвечивающего (трансмиссионного) микроскопа (ТЭМ) JEM–100С (Япония).

Для работы со сканирующим электронным микроскопом (СЭМ) суспензию клеток осаждали на покрывное стекло, которое погружали в воду, содержащую 2% тетраоксида осмия. Стекла обезвоживали в 96%-ном спирте и ацетоне и высушивали на воздухе, а затем напыляли палладием-золотом и просматривали в микроскопе JSM–25 (фирма JEOL, Япония). После высушивания препаратов наблюдали артефакты в виде сокращения размеров и округления клеток, прилипания жгутиков к поверхности клетки, учитываемые при интерпретации электроннограмм.

Опыты по адаптации жгутиконосцев к пресной воде проводили в чашках Петри при распреснении от 20‰ до 1‰ со скоростью понижения солености на 1‰ в сутки.

Результаты

Форма тела плавающей вегетативной (неделящейся) клетки *C. unguis* бобовидная. Клетка сжата с боков и несет два гетеродинамичных жгутика (рис. 1, 1–3; 2, 1, 2). Передний конец клетки образует клювовидный рострум (рис. 1, 1; 2, 1). Короткий жгутик (3–7 мкм) выходит из поперечной бороздки и направлен латерально (рис. 1, 1; 2, 1–6). Он совершает гребные или вибрирующие движения. Ниже этой бороздки начинается короткая продольная бороздка, в верхней части которой отходит длинный задний жгутик (15–18 мкм) (рис. 1, 1, 2; 2, 1). Таким образом, жгутики отходят из отдельных жгутиковых карманов. Длина клетки составляет 8–11 мкм, ширина – 5–7 мкм, толщина 2–5 мкм. Ядро располагается около или ниже поперечной бороздки (рис. 1, 2; 2, 1). Одна пищеварительная вакуоль лежит около заднего конца клетки в виде темного тельца (рис. 1, 1, 3, 4). Сократительная вакуоль не обнаружена. Сферическая циста покоя диаметром 5 мкм покрыта тонкой гладкой оболочкой (рис. 1, 6; 2, 7).

На электронных фотографиях тотальных препаратов заметно, что после фиксации клетка немного сжимается. Передний короткий жгутик несет тонкие простые жгутиковые волоски – мастигонемы (рис. 1, 7). Зауженная концевая часть жгутиков – акронема, не отмечена (рис. 2, 8). Делящиеся клетки имеют двойной набор жгутиков (рис. 1, 9; 2, 5, 6). Некоторые клетки окружены выстреленными стрекательными органеллами – экструсомами (рис. 1, 10). Последние

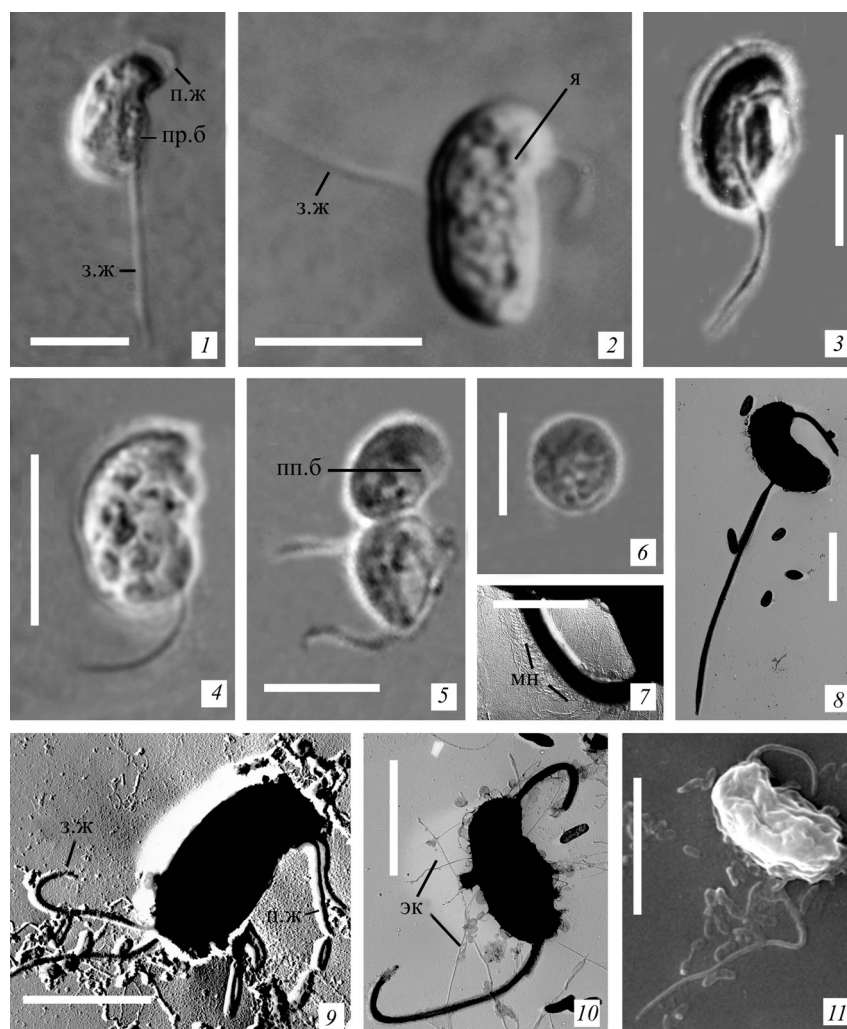


Рис. 1. Строение клеток *Colpodella unguis*: 1–3 – плавающие вегетативные клетки; 4 – начало деления клетки; 5 – две соединенные дочерние клетки; 6 – циста; 7 – передний жгутик с мастигонемами; 8 – высушенная клетка; 9 – делящаяся клетка; 10 – клетка, окруженная выстреленными экструсомами; 11 – высушенная клетка (1–6 – световой микроскоп, 8–10 – ТЭМ, 11 – СЭМ). Масштабные линейки: 1–6, 8–11 – 5 мкм, 7 – 1 мкм.

Условные обозначения: з. ж – задний жгутик; мн – мастигонемы; п.ж – передний жгутик; пп. б – поперечная бороздка; пр.б – продольная бороздка; эк – экструсомы; я – ядро.

Fig. 1. The cell structure of *Colpodella unguis*: 1–3 – swimming vegetative cells; 4 – the beginning of cell division; 5 – two joint daughter cells; 6 – cyst; 7 – the anterior flagellum with mastigonemes; 8 – the dried cell; 9 – dividing cell; 10 – a cell surrounded by discharged extrusomes; 11 – the dried cell (1–6 – light microscope, 8–10 – TEM, 11 – SEM). Scale bar: 1–6, 8–11 – 5 μm , 7 – 1 μm .

з.ж – posterior flagellum; мн – mastigonemes; п.ж – anterior flagellum; пп.б – transverse groove; пр.б – longitudinal groove; эк – extrusomes; я – nucleus.

представляют собой тонкие ригидные нити длиной до 15 мкм. На тотальных высушенных препаратах в сканирующем микроскопе заметны два гетеродинамичных жгутика (рис. 1, 11).

В чашке Петри клетки *C. unguis* быстро плавают по зигзагообразной или прямолинейной траектории. Поведение клеток меняется в зависимости от количества клеток жертвы. В пробах хищники концентрируются на поверхности дна чашки Петри и поедают мелких бодонид и хризомонад, высасывая содержимое их клеток. Скорость питания такова, что обычно за 2–3-и сут хищники

выедают все клетки жертвы. В этом случае особи *C. unguis* начинают плавать в толще воды. Некоторые клетки временно останавливаются и оседают на дно чашки Петри. После направления на них яркого света от осветителя микроскопа они начинают плавать. При соприкосновении с клеткой жертвы хищник прекращает плавание. Затем между рострумом хищника и клеткой жертвы образовывается цитоплазматический мостик. Через него содержимое жертвы в течение 3—5 мин переходит в заднюю часть тела хищника, где образуется пищеварительная вакуоль (рис. 2, 2). Нападение хищников друг на друга не отмечено. После окончания питания клетка жертвы разрушается. Поедая несколько клеток жертвы, сытая особь *C. unguis* оседает на дно и замедляет движение жгутиков (рис. 1, 4; 2, 4). Затем клетка хищника становится более широкой и начинает образовывать новые жгутики (рис. 1, 4, 2, 5). В результате деления особи образуется две дочерние клетки, некоторое время соединенных друг с другом и плавающих по прямой директории (рис. 1, 5, 2, 6). Причем передний конец одной особи упирается в задний конец другой особи, как обычно бывает при поперечном делении клетки. Далее эти клетки обособляются и приступают к нападению на клетки жертвы. Интистирование происходит по мере старения культуры. После добавления свежей минеральной среды из цисты выходит одна клетка. В отсутствие клеток жертвы исследованный хищник не размножается. Питание бактериями не отмечено.

Проведенные опыты по адаптации *C. unguis* к пониженной солености показали, что при постепенном распреснении особи гибнут (обездвиживаются и разрушаются) при солености меньше 2—3‰. Такая соленость среды является критической для данного вида жгутиконосцев.

Обсуждение

Вид *C. unguis* описан из гипергаллиных морских проб в районе субтропиков Австралии (Patterson, Simpson, 1996; Al-Qassab et al., 2002). Известен он также и из проб нормальной морской солености в осадках вблизи Кореи (Lee, 2002). Нами этот организм обнаружен в пробах Белого моря с пониженной соленостью. Установленная нами гибель клеток этого вида в пресной воде показывает, что этот организм относится к типичным представителям морской протистофауны. У *C. unguis* и других морских коллоделл отсутствует сократительная вакуоль в отличие от пресноводных видов рода (рис. 2, 14).

Жизненный цикл и питание этого протиста ранее не были изучены. В целом описание клона Amph соответствует диагнозу и описаниям этого вида в других работах (Patterson, Simpson, 1996; Al-Qassab et al., 2002; Lee, 2002) (рис. 2, 8, 9). Это относится к бобовидной форме клетки, уплощению клетки, отхождению двух гетеродинамичных жгутиков из двух отдельных карманов (бороздок), плаванию особей вблизи субстрата. У данного протиста отсутствует скачкообразное или скользящее передвижение, как у бодонид и церкомонад (Patterson, Simpson, 1996). Недавно сделано предположение, что данный вид является облигатным хищником, так как у него обнаружены крупные пищеварительные вакуоли (Al-Qassab et al., 2002). Наши данные подтверждают это и существенно дополняют диагноз *C. unguis*. Впервые доказано, что этот жгутиконосец активно нападает на других бесцветных флагеллят и высасывает содержимое их клеток, являясь облигатным хищником и не питаясь бактериями. Пищеварительная вакуоль у данного вида, как и остальных коллоделл, локализуется в заднем конце тела (рис. 2, 10). Обнаружено, что в жизненном цикле этого вида присутствует циста покоя, содержащая одну особь в отличие от всех известных коллоделл, которые образуют цисты размножения с четырьмя дочерними особями (Мыльников, 2000; Brugerolle, 2002) (рис. 2, 12). Единственный вид коллоделлы, имеющий цисты покоя, *C. pontica* проходит размножение в цисте. *C. unguis* размножается делением надвое, напоминающим деление клеток некоторых динофлагеллят (Pfiester, Anderson, 1987), что совершенно необычно для коллоделлид.

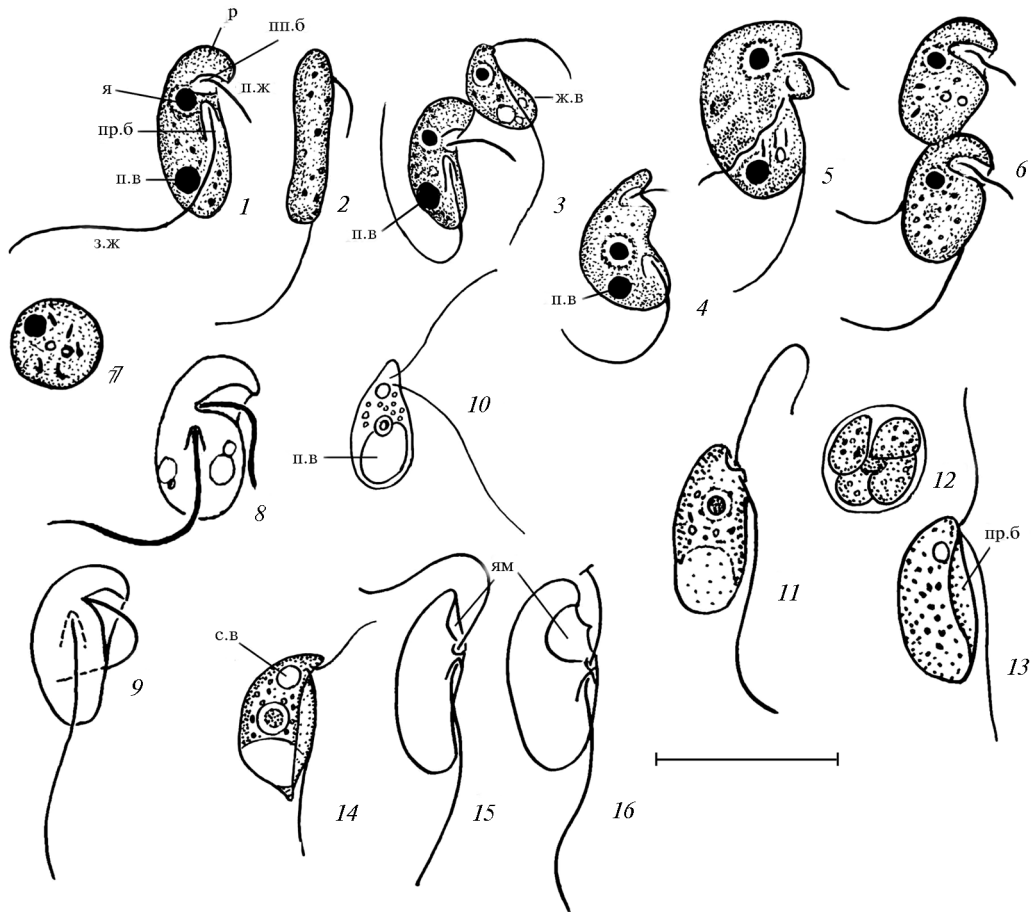


Рис. 2. Морфология колподелл: *Colpodella unguis* (1–9): 1 – зрелая особь; 2 – вид клетки сбоку; 3 – питание; 4–6 – стадии деления клетки; 7 – циста; 8 – *C. unguis* (по: Al-Qassab et al.; 2002); 9 – *C. unguis* (по: Patterson, Simpson, 1996); 10 – *Colpodella angusta* (по: Alexeieff, 1924); 11, 12 – *Colpodella pontica* (по: Мильников, 2000); 13, 14 – *Colpodella edax* (13 – по: Klebs, 1892; 14 – по: Мильников, 1988); 15 – *Colpodella pugnax* (по: Simpson, Patterson, 1996); 16 – *Colpodella turpis* (по: Simpson, Patterson, 1996). Масштабная линейка 10 мкм.

Условные обозначения: жв – жертва (бодонида *Procryptobia sorokini*); п.в – пищеварительная вакуоль; п.ж – передний жгутик; з.ж – задний жгутик; п.в – пищеварительная вакуоль; пп.б – поперечная бороздка; р – рострум; с.в – сократительная вакуоль; я – ядро; ям – ямка.

Fig. 2. The morphology of colpodells: *Colpodella unguis* (1–9): 1 – mature specimen; 2 – side-view of cell; 3 – feeding; 4–6 – the stages of cell division; 7 – cyst; 8 – *C. unguis* (after Al-Qassab et al., 2002); 9 – *C. unguis* (after Patterson, Simpson, 1996); 10 – *Colpodella angusta* (after Alexeieff, 1924); 11, 12 – *Colpodella pontica* (after Mylnikov, 2000); 13, 14 – *Colpodella edax* (13 – after Klebs, 1892; 14 – after Mylnikov, 1988); 15 – *Colpodella pugnax* (after Simpson, Patterson, 1996); 16 – *Colpodella turpis* (after Simpson, Patterson, 1996). Scale bar 10 μ m.

жв – a prey (bodonid *Procryptobia sorokini*); п.в – food vacuole; п.ж – anterior flagellum; з.ж – posterior flagellum; п.в – food vacuole; пп.б – transverse groove; р – rostrum; с.в – contractile vacuole; я – nucleus; ям – a pit.

Наше исследование показало, что у клеток *C. unguis* нет складок, как у *C. edax*, (Klebs, 1892; Мильников, 1988), краевых выростов тела, как у *C. turpis* (Simpson, Patterson, 1996) или передней ямки клетки, как у *C. pugnax* (Simpson, Patterson, 1996) (рис. 2, 13–16). Кроме того, клетка рассматриваемого вида уплощена в отличие от *C. pontica* и рострум не вытянут, как у *C. angusta* (Alexeieff, 1924, Мильников, 1991, 2000) (рис. 1, 10, 11).

Мастигонемы на переднем жгутике известны у некоторых колподелл (Мильников, 1991; Мильников и др., 1998.). Стрекательные органеллы (трихо-

цисты), сходные с таковыми у *C. unguis*, обнаружены у *C. edax*, *C. perforans* *C. pontica* (Brugerolle, Mignot, 1979; Мыльников и др., 1998). Вероятно, они участвуют в иммобилизации клеток жертвы. Только у *C. unguis* передний жгутиковый карман преобразован в поперечную бороздку, напоминающую таковую у динофлагеллят.

Жгутиконосец *C. unguis* отличается от трех пресноводных видов *C. perforans*, *C. gonderi* и *C. tetrahymenae* по спектру питания, так как первый является эктопаразитом криптомонады *Chilomonas paramecium*, а остальные – инфузорий из родов *Colpoda* и *Tetrahymena* (Brugerolle, Mignot, 1979; Foissner, Foissner, 1984; Cavalier-Smith, Chao, 2004) и не нападают на бодонид. У перечисленных видов отсутствуют бороздки, известные у других видов, включая *C. unguis*.

Как видно, по большинству признаков *C. unguis* сходен с другими представителями рода *Colpodella*. В то же время наличие поперечной и продольной бороздок, а также уплощенная форма клетки позволяют уверенно отличать *C. unguis* от остальных коллоделл. Кроме того, у данного организма обнаружен необычный для коллоделл способ размножения – деление надвое с образованием пары соединенных дочерних клеток.

Автор благодарит В. В. Алешина, старшего научного сотрудника МГУ, НИИ ФХБ им. А. Н. Белозерского (Москва) за помощь при отборе морских проб из Белого моря. Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 05–04–48180 и 06–04–49288.

- Жуков Б. Ф. Атлас пресноводных гетеротрофных жгутиконосцев (биология, экология и систематика). – Рыбинск : Рыбинский Дом Печати, 1993. – 160 с.
- Мыльников А. П. Биология хищного жгутиконосца *Bodo edax* Klebs // Биология внутренних вод : Информ. бюл. – 1988. – № 77. – С. 28–31.
- Мыльников А. П. Ультраструктура и биология некоторых представителей отряда Spiromonadida (Protozoa) // Зоол. журн. – 1991. – 70, вып. 7. – С. 5–15.
- Мыльников А. П., Мыльникова З. М., Цветков А. И. Тонкое строение хищного жгутиконосца *Colpodella edax* // Биол. внутр. вод. – 1998. – № 3. – С. 3–11.
- Мыльников А. П. Новый хищный морской жгутиконосец *Colpodella pontica* // Зоол. журн. – 2000. – 79, № 3. – С. 261–266.
- Alexieff A. Notes sur quelques protistes coprocoles // Arch. Protistenkd. – 1924. – 50. – S. 27–49.
- Ardt H., Dietrich D., Auer B. et al. Functional diversity of heterotrophic flagellates in aquatic ecosystems // The Flagellates / Eds B. Leadbeater, J. Green – London : Taylor & Francis, 2000. – P. 240–268.
- Al-Qassab S., Lee W. J., Murray S. et al. Flagellates from stromatolites and surrounding sediments in Shark Bay, Western Australia // Acta Protozool. – 2002. – 41. – P. 91–144.
- Brugerolle G. *Colpodella vorax*: ultrastructure, predation, life-cycle, mitosis, and phylogenetic relationships // Europ. J. Protistol. – 2002. – 38. – P. 113–125.
- Brugerolle G., Mignot J. P. Observations sur le cycle l'ultrastructure et la position systematique de *Spiromonas perforans* (*Bodo perforans* Hollande 1938), flagelle parasite de *Chilomonas paramecium*: ses relations avec les dinoflagelles et sporozoaires // Protistologica. – 1979. – 15. – P. 183–196.
- Cavalier-Smith T., Chao E. E. Protalveolate phylogeny and systematics and the origins of Sporozoa and dinoflagellates (phylum Myxozoa nom. nov.) // Europ. J. Protistol. – 2004. – 40. – P. 185–212.
- Cienkowski L. Beiträge zur Kenntnis der Monaden // Arch. mikr. Anat. – 1865. – 1. – P. 203–232.
- Foissner W., Foissner I. First record of an ectoparasitic flagellate on ciliates: an ultrastructural investigation of the morphology and the mode of attachment of *Spiromonas gonderi* nov. spec. (Zoomastigophora, Spiromonadidae) invading the pellicle of ciliates of the genus *Colpoda* (Ciliophora, Colpodidae) // Protistologica. – 1984. – 20. – P. 635–648.
- Klebs G. Flagellatenstudien // Zeitschrift für wissenschaftliche zoologie. – 1892. – 55. – S. 265–445.
- Lee W. J. Some free-living heterotrophic flagellates from marine sediments of Inchon and Ganghwa Island, Korea // Korean J. Biol. Sci. – 2002. – 6. – P. 125–143.
- Lee W. J., Simpson A. G. B., Patterson D. J. Free-living heterotrophic flagellates from freshwater sites in Tasmania (Australia), a field survey // Acta Protozoologica. – 2005. – 44. – P. 321–350.
- Moestrup Ø., Thomsen H. A. Preparations of shadow cast whole mounts // Handbook of Phycological Methods / E. Gantt. – Cambridge : Cambridge Univ. Press, 1980. – P. 385–390.
- Patterson D. J., Simpson A. G. B. Heterotrophic flagellates from coastal marine and hypersaline sediments in Western Australia // Europ. J. Protistol. – 1996. – 32. – P. 423–448.
- Pfister L. A., Anderson D. M. Dinoflagellate reproduction // The Biology of Dinoflagellates / F. J. R. Taylor. – Oxford et al. : Blackwell Scientific Publications, 1987. – P. 611–648.
- Simpson A. G. B., Patterson D. J. Ultrastructure and identification of the predatory flagellate *Colpodella pugna* Cienkowski (Apicomplexa) with a description of *Colpodella turpis* n. sp. and a review of the genus // Systematic Parasitology. – 1996. – 33. – P. 187–198.