

可口革囊星虫肾管纤毛的分布及结构特征

龙玲利 卢明明 竺俊全*

教育部应用海洋生物技术重点实验室 宁波大学海洋学院 宁波 315211

摘要: 为了解可口革囊星虫 (*Phascolosoma esculenta*) 肾管纤毛的结构特点及其功能, 采用显微及亚显微技术观察研究了可口革囊星虫肾管纤毛的分布位置及形态结构特征。结果表明, 肾管外膜多纤毛细胞表面簇生纤毛、内部柱状上皮细胞与立方上皮细胞游离面着生分散的纤毛, 肾口内面也着生纤毛。纤毛结构由纤毛干、过渡区、基体及其纤毛小根组成; 纤毛干由“9+2”结构的轴丝外被纤毛膜构成; 纤毛干与基体之间为过渡区, 中央微管终止于此, 外周双联微管通过过渡区和基体的外周轴丝相连; 基体呈圆筒状, 为“9+0”结构; 纤毛小根分长根和短根, 均为基体发出的由微细原纤维组成的圆锥形结构, 具间隔 70 nm 的明显横纹。肾管纤毛可能在促进体腔液流动、提高肾管对体腔液的过滤作用以及引导成熟精卵进入肾管等方面发挥作用。

关键词: 可口革囊星虫; 肾管; 纤毛; 结构特征; 功能

中图分类号: Q952 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2014)02-253-08

Distribution and Structural Features of Nephridial Cilia in the Sipunculan *Phascolosoma esculenta*

LONG Ling-Li LU Ming-Ming ZHU Jun-Quan*

Key Laboratory of Applied Marine Biotechnology by the Ministry of Education, School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211, China

Abstract: To understand the structural characteristics and functions of cilia in the nephridium of *Phascolosoma esculenta*, the distribution and morphological structure of cilia were investigated by light and electron microscopy. Cilia are widely present in the nephridium, including the inner face of the nephrostome. Furthermore, the surface of multiciliary cells on the adventitia bears tufts of cilia while the free surface of columnar and cuboidal epithelial cells is sparsely ciliated. Structurally, a cilium can be divided into a ciliary shaft, transitional zone, basal body and ciliary rootlets. Ciliary shaft is composed of a canonical “9+2” microtubule structure and the coated membrane. The peripheral doublet microtubules are continuous with the axoneme of basal body by transitional zone. The area between ciliary shaft and basal body is the transitional zone, where the central microtubules terminate. The cilia are anchored by the ciliary rootlets projecting from the cylindrical basal body, which shows a “9+0” arrangement of microtubules. Cross striations within the conical rootlets have a 70 nm periodicity. Rootlets, made up of microfibrils, contain a long rootlet and two short rootlets. It can be probably concluded that cilia in the nephridium are mainly responsible for promoting the flow of the coelomic fluid, improving the function of filtration and directing mature spermatozoa and eggs into the

基金项目 浙江省重大科技专项重点农业项目(No. 2011C12013);

* 通讯作者, E-mail: zhujunquan@nbu.edu.cn;

第一作者介绍 龙玲利, 女, 硕士研究生; 研究方向: 海洋生物技术; E-mail: LinLi.313@163.com。

收稿日期: 2013-06-08, **修回日期:** 2013-11-10

nephridium.

Key words: *Phascolosoma esculenta*; Nephridium; Cilia; Structural feature; Function

肾管是星虫及环节动物的排泄器官 (Bartolomaeus et al. 2005), 除行使排泄及身体体积调节功能外, 还兼生殖管的作用 (Adrianov et al. 2002, 李诺 2002)。有关肾管结构的研究已见在黑色缨心星虫 (*Thysanocardia nigra*) (Adrianov et al. 2002)、利氏才女虫 (*Polydora ligni*) (Rice et al. 1980)、生殖浮蚕 (*Tomopteris helgolandica*) (Bartolomaeus 1997) 及毛轮沙蚕 (*Ophryotrocha puerilis*) (Pfannenstiel et al. 1982) 等种类中报道。肾管一般由肾口、肾孔、排泄囊及排泄管组成, 肾口和肾孔分别与体腔及外界相通。星虫及环节动物的肾管中普遍存在纤毛, 据分布位置的不同行使不同的生理功能 (Rice et al. 1980, 李永材 1992)。

可口革囊星虫 (*Phascolosoma esculenta*) 是星虫门主要经济种类之一, 主要分布于浙江及以南沿海潮间带, 营穴居生活。可口革囊星虫食用经济价值较高, 养殖开发及基础生物学研究备受重视, 已见养殖技术 (黄福勇等 2004)、精卵发生与受精 (竺俊全等 2007, 2008, 顾晓英等 2009, 竺俊全等 2012)、胚胎与幼体发育 (金春华等 2011)、消化系统组织学 (应雪萍等 2005)、生化与分子生物学 (Su et al. 2010, Wang et al. 2010) 等方面的研究报道。目前, 可口革囊星虫肾管纤毛结构尚未见文献资料。本文采用显微及亚显微技术, 观察研究了可口革囊星虫肾管纤毛的分布位置及结构特征, 探讨了其功能, 为该物种肾管结构及机能的深入了解奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 实验材料 于 2011 年 4 月 19 日从浙江温岭养殖池塘中采得可口革囊星虫 200 余条, 体质量 1.5 ~ 3.0 g/条, 活体带回实验室暂养于水槽中 (海水, 水温 15 ~ 16℃、盐度 23), 24 h 后挑选活力好的个体 20 余条供解剖。

1.2 实验方法 ① 活体解剖可口革囊星虫,

观察肾管的形态。② 取肾管用 Bouin 液固定 24 h, 乙醇梯度浓度脱水, 石蜡包埋, 切片, H. E 染色后于 Olympus BX51 显微镜下观察并拍照。③ 取肾管用 2.5% 戊二醛 (4℃) 固定过夜, 然后用 1% 锇酸于 4℃ 下后固定 2 h, 乙醇梯度浓度脱水后, 一部分样品用 Epon 812 环氧树脂渗透并包埋, LKB-III 型超薄切片机切片, 醋酸铀及柠檬酸铅双重染色, 日立 H-7650 透射电镜观察与摄影; 另一部分样品经真空冷冻干燥、喷金后于日立 S-3400N 型扫描电镜下观察与拍照。

2 结 果

可口革囊星虫有一对肾管, 位于体前端腹神经索两侧, 呈长囊状悬挂于体腔中, 每个肾管有两个开口, 一个是通体外的肾孔, 另一个是通体腔的肾口, 肾口是一喇叭形开口, 其内表面着生纤毛 (图 1)。

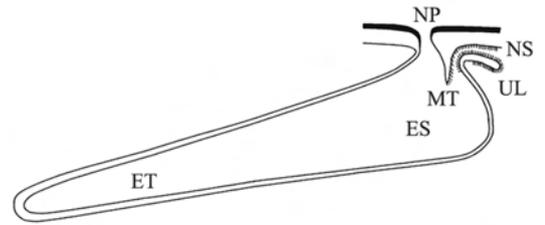


图 1 可口革囊星虫肾管的形态

Fig. 1 Nephridial morphology of *Phascolosoma esculenta*

ES. 排泄囊; ET. 排泄管; MT. 舌头; NP. 肾孔;
NS. 肾口; UL. 上叶。

ES. Excretory sac; ET. Excretory tube; MT. "Tongue";
NP. Nephridiopore; NS. Nephrostome; UL. Upper lobe.

肾管的表面有瓶形突起 (图版 I : 1)。肾管内部结构由上皮层、肌层、细胞外基质层及外膜组成。上皮层包括柱状上皮及立方上皮, 柱状上皮是在肾管腔面由单层柱状上皮细胞成束排列而成, 相邻柱状细胞束之间留有一腔隙, 与瓶形突起内腔连通成为瓶形突起通道; 立方

上皮是在瓶形突起腔面由单层立方上皮细胞排列而成(图版 I: 1~3)。肌层由纵肌及环肌组成(图版 I: 2)。细胞外基质由粗细较均匀的胶原原纤维组成(图版 I: 4)。外膜由多纤毛细胞及足突细胞组成,多纤毛细胞位于瓶形突起外表面(图版 I: 5)。

2.1 肾管纤毛的分布 肾管外膜多纤毛细胞表面簇生纤毛(图版 I: 6),每簇纤毛数量 30~40 根不等,长约 20 μm ,纤毛的周围着生很多微绒毛(图版 I: 7)。多纤毛细胞扁平形、多突起,中央核所在部分较厚,边缘部分较薄(图版 II: 1)。

肾管内部柱状上皮细胞及立方上皮细胞的游离面着生分散的纤毛,纤毛的周围密生微绒毛,在柱状上皮细胞之间的间隙及柱状细胞束之间的通道中明显可见纤毛及许多微绒毛(图版 II: 2~3)。瓶形突起内部立方上皮细胞表面有纤毛及微绒毛伸入内腔中,立方上皮细胞的细胞质中可见电子致密小颗粒及电子致密大颗粒(图版 II: 4)。

2.2 肾管纤毛的结构 肾管的纤毛由纤毛干(shaft)、过渡区(transition zone)、基体(basal body)及其纤毛小根(rootlet)组成,其结构组成模式见图 2。

2.2.1 纤毛干 直径约 0.25 μm ,外周由纤毛膜包被,纤毛膜与胞质膜连续;纤毛干的内部是细胞质及轴丝。横切面观显示,轴丝为“9+2”微管结构,外周 9 组双联微管环绕中央微管排列(图 2,图版 II: 5)。

2.2.2 过渡区 外周双联微管通过过渡区和基体的外周轴丝相连,中央微管在过渡区终止。过渡区电子密度较高,是纤毛膜与质膜连接的部位(图 2,图版 II: 7~8)。

2.2.3 基体 呈圆筒状,埋入细胞质中;外周由 9 组三联体微管组成,内部电子密度低、无中央微管,呈“9+0”结构;基体长轴与细胞游离面基本垂直(图 2,图版 II: 6~8)。

2.2.4 纤毛小根 是由基体发出的由微细原纤维组成的圆锥形结构,具间隔 70 nm 的明显横纹。纤毛小根周围有较多线粒体分布。纤毛

小根分长根和短根,长根一般只有一个,从基体前端伸出,长约 3 μm ,与基体纵轴约成 120°角;短根一个或两个,从基体侧面伸出,长约 0.5 μm ,与基体纵轴几乎垂直(图 2;图版 II: 7~9)。

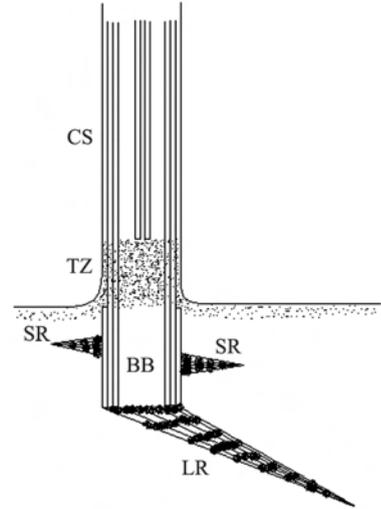


图 2 可口革囊星虫肾管纤毛结构模式图

Fig. 2 Structure pattern of nephridial cilia of *Phascolosoma esculenta*

BB. 基体; CS. 纤毛干; LR. 长根;

SR. 短根; TZ. 过渡区。

BB. Basal body; CS. Ciliary shaft; LR. Long rootlet;

SR. Short rootlet; TZ. Transition zone.

3 讨论

3.1 肾管纤毛的分布及结构特点 可口革囊星虫肾管纤毛为“9+2”型运动纤毛,主要分布在肾管表面多纤毛细胞、肾口内侧及上皮细胞的游离面。黑色纓心星虫肾管排泄囊表面有多纤毛细胞,肾口内面及上皮细胞游离面也着生纤毛,且纤毛在结构上与可口革囊星虫的相同(Adrianov et al. 2002)。环节动物肾管纤毛也属运动纤毛,在毛轮沙蚕(Pfannenstiel et al. 1982)和利氏才女虫(Rice 1980)的肾管内侧均含成簇的纤毛及微绒毛;多毛纲金扇虫属(*Chrysopetalum*)动物肾管的漏斗形肾口内密生纤毛,肾管排泄管表面也着生纤毛,但其末端分布较少(Tzetlin et al. 2002)。

黑色纓心星虫肾管纤毛有两个小根从基体发出,一个为长根,另一个为短根,长根与短根约成 115° 角 (Adrianov et al. 2002); 可口革囊星虫肾管纤毛也有一长根,但短根为一根或两根,和生殖浮蚕肾管纤毛的小根相同 (Bartolomaeus 1997)。多毛类笔帽虫科 (Pectinariidae) 动物 *Pectinaria koreni* 和多毛类纓鳃虫科 (Sabellidae) 动物 *Fabrica sabella* 肾口纤毛也有两个小根,且小根之间有中间丝 (intermediate filament) 连接,在繁殖期中间丝密度明显上升 (Bartolomaeus et al. 2005)。

3.2 肾管纤毛的功能 纤毛的生理功能有赖于相邻纤毛的协同摆动,并受到多种因素的影响,胞内 Ca^{2+} 浓度、pH 以及某些轴丝蛋白的磷酸化等对纤毛的运动起重要调控作用 (矫健等 2009)。Marshall 等 (2008) 认为纤毛的摆动方向由基体决定,并依靠纤毛小根发挥固定纤毛的作用,从而实现纤毛的自由摆动。可口革囊星虫肾管纤毛的运动机制可能与一般的运动纤毛相似,同时小根周围还含有较多线粒体及小颗粒物质 (可能是糖原颗粒),可能与纤毛摆动的能量代谢相关。

可口革囊星虫肾管外表面多纤毛细胞的纤毛增加了肾管的表面积及浮力,有利于肾管在体腔液中自然伸展。可口革囊星虫及黑色纓心星虫体腔液中均含红细胞、粒细胞、生殖细胞等 (Maiorova et al. 2003, Ying et al. 2010), 肾管表面纤毛的摆动能促进体腔液 (包括体腔液中的细胞) 的流动,有利于细胞与体腔液进行物质交换及正常代谢 (Pilger 1982)。Adrianov 等 (2002) 认为,黑色纓心星虫肾管瓶形突起内腔中纤毛的同步拍打提供了肾管的过滤压梯度,微绒毛通道中纤毛的摆动有引流作用。毛轮沙蚕肾管内面含丰富的纤毛,纤毛的摆动能促进肾管腔内液体的流动 (Pfannenstiel et al. 1982)。同样,可口革囊星虫肾管上皮细胞游离面纤毛的摆动可促进液体的流动,产生滤过压,提高肾管对体腔液的过滤作用。

利氏才女虫肾口纤毛可作为一种机械分选装置,分离成熟与未成熟的精子,并引导成熟

精子进入肾管形成精荚 (spermatophore) (Rice et al. 1980)。Adrianov 等 (2002) 认为黑色纓心星虫肾管肾口肌纤维的同步收缩使肾口打开,同时纤毛摆动引导配子进入肾管。本研究的可口革囊星虫肾管的肾口只在繁殖季节收集与储存成熟精、卵时开放 (顾晓英等 2009), 肾口肌肉的收缩控制“舌头”的运动及开闭肾口,肾口纤毛可能具有感知成熟精卵的功能,纤毛的摆动能引导成熟精、卵进入肾管。

参 考 文 献

- Adrianov A V, Maiorova A S, Malakhov V V. 2002. Microscopic anatomy and ultrastructure of nephridium in the sipunculan *Thysanocardia nigra* Ikeda, 1904 from the Sea of Japan. Russian Journal of Marine Biology, 28(1): 19–29.
- Bartolomaeus T. 1997. Structure and development of the nephridia of *Tomopteris helgolandica* (Annelida). Zoomorphology, 117(1): 1–11.
- Bartolomaeus T, Quast B. 2005. Structure and development of nephridia in Annelida and related taxa. Hydrobiologia, 535–536(1): 139–165.
- Maiorova A S, Adrianov A V. 2003. Free-swimming cellular complexes in the coelom of the sipunculid *Thysanocardia nigra* Ikeda, 1904 (Sipuncula). Russian Journal of Marine Biology, 29(3): 180–184.
- Marshall W F, Kintner C. 2008. Cilia orientation and the fluid mechanics of development. Current Opinion in Cell Biology, 20(1): 48–52.
- Pfannenstiel H D, Grünig C. 1982. Structure of the nephridium in *Ophryotrocha puerilis* (Polychaeta, Dorvilleidae). Zoomorphology, 101(3): 187–195.
- Pilger J F. 1982. Ultrastructure of the tentacles of *Themiste lageniformis* (Sipuncula). Zoomorphology, 100(2): 143–156.
- Rice S A. 1980. Ultrastructure of the male nephridium and its role in spermatophore formation in spionid polychaetes (Annelida). Zoomorphologie, 95(3): 181–194.
- Su X R, Du L L, Li Y Y, et al. 2010. Cloning and expression of HSP70 gene of sipuncula *Phascolosoma esculenta*. Fish & Shellfish Immunology, 28(3): 461–466.
- Tzetlin A B, Dahlgren T, Purschke G. 2002. Ultrastructure of the body wall, body cavity, nephridia and spermatozoa in four species of the Chrysopetalidae (Annelida, “Polychaeta”). Zoologischer Anzeiger, 241(1): 37–55.
- Wang M Q, Su X R, Li Y Y, et al. 2010. Cloning and expression of

- the Mn-SOD gene from *Phascolosoma esculenta*. *Fish & Shellfish Immunology*, 29(5): 759-764.
- Ying X P, Sun X, Wu H X, et al. 2010. The fine structure of coelomocytes in the sipunculid *Phascolosoma esculenta*. *Micron*, 41(1): 71-78.
- 顾晓英, 竺俊全, 许式见, 等. 2009. 可口革囊星虫 (*Phascolosoma esculenta*) 卵子发生的组织学研究. *海洋与湖沼*, 40(3): 283-288.
- 黄福勇, 丁理法, 竺俊全. 2004. 可口革囊星虫的生物学特性与养殖技术. *齐鲁渔业*, 21(7): 11-12.
- 矫健, 张罗. 2009. 纤毛研究进展. *首都医科大学学报*, 30(1): 70-71.
- 金春华, 竺俊全, 许式见, 等. 2011. 可口革囊星虫 (*Phascolosoma esculenta*) 胚胎及幼虫发育研究. *海洋与湖沼*, 42(1): 94-100.
- 李诺. 2002. 无脊椎动物的排泄器官. *生物学通报*, 37(5): 26-28.
- 李永材. 1992. 动物的排泄系统及其在渗透压调节中的作用. *生物学通报*, (1): 17-20.
- 应雪萍, 童莉里, 黄晓雷. 2005. 可口革囊星虫消化道的形态及组织学结构. *动物学杂志*, 40(5): 14-20.
- 竺俊全, 王武, 许式见, 等. 2007. 可口革囊星虫的精子发生及精子结构. *动物学报*, 53(4): 733-741.
- 竺俊全, 王武, 应雪萍, 等. 2008. 可口革囊星虫受精过程及早期卵裂的细胞学变化. *动物学报*, 54(2): 290-298.
- 竺俊全, 王伟, 丁理法. 2012. 可口革囊星虫 (*Phascolosoma esculenta*) 卵黄合成熟期卵母细胞发育及卵黄发生与卵膜形成的超微结构. *海洋与湖沼*, 43(4): 870-876.

图版 I 说明

可口革囊星虫肾管的组织学、透射电镜及扫描电镜观察

1. 肾管排泄管区横切面, 示柱状上皮、肌层及瓶形突起; 2~3. 图 1 局部放大, 示柱状上皮、立方上皮、肌层、瓶形突起、瓶形突起内腔及通道; 4. 细胞外基质切面, 示胶原原纤维; 5. 肾管排泄管区切面, 示多纤毛细胞、足细胞及细胞外基质; 6. 肾管排泄管区表面, 示瓶形突起及纤毛; 7. 图 6 局部放大, 示纤毛及微绒毛。

Explanation of Plate I

Histological, transmission electron microscopic and scanning electron microscopic observation of nephridium in *Phascolosoma esculenta*

1. Transverse section of the nephridium in the excretory sac area, showing columnar epithelium, muscle layer and flask-shaped infoldings; 2-3. Magnification of local figure 1, showing columnar epithelium, cuboidal epithelium, muscle layer, flask-shaped infoldings, lumen of flask-shaped infoldings and canal of flask-shaped infoldings; 4. Section of extracellular matrix, showing fibrils; 5. Surface of the nephridium in the excretory sac area, showing multiciliary cell, podocyte and extracellular matrix; 6. Surface of the nephridium in the excretory sac area, showing flask-shaped infoldings and cilia; 7. Magnification of local figure 6, showing cilia and microvilli.

图版 II 说明

可口革囊星虫肾管的透射电镜观察

1. 瓶形突起区域切面, 示细胞外基质及多纤毛细胞; 2. 两相邻柱状上皮细胞切面, 示纤毛及微绒毛; 3. 柱状细胞束之间的瓶形突起管道切面, 示纤毛及微绒毛; 4. 瓶形突起区域切面, 示立方上皮细胞内的细胞核、颗粒及线粒体、瓶形突起内腔中的纤毛及微绒毛; 5. 纤毛横切面, 示“9+2”微管结构; 6. 基体横切面, 示“9+0”微管结构; 7. 柱状上皮细胞的纤毛纵切面, 示纤毛从基体发出; 8. 多纤毛细胞的纤毛纵切面, 示过渡区、基体及纤毛小根; 9. 纤毛小根纵切面, 示长根及基体。

Explanation of Plate II

Transmission electron microscopic observation of nephridium in *Phascolosoma esculenta*

1. Section of the flask-shaped infoldings area, showing extracellular matrix and multiciliary cells; 2. Section of two adjacent columnar epithelial cells, showing cilia and microvilli; 3. Section of canal of flask-shaped infoldings between columnar cellular bundles, showing cilia and microvilli; 4. Section of the flask-shaped infoldings area, showing nucleus, granules and mitochondria in the cuboidal epithelial cells and cilia and microvilli in the lumen of flask-shaped infoldings; 5. Cross section of cilia, showing “9+2” microtubule structure; 6. Cross section of basal body, showing “9+0” microtubule structure; 7. Longitudinal section of cilia on the surface of columnar epithelial cells, showing cilia how to arise from basal body; 8. Longitudinal section of cilia on the surface of multiciliary cells, showing transition zone, basal body and ciliary rootlets; 9. Longitudinal section of rootlets, showing long rootlet and basal body.

BB. 基体; CA. 瓶形突起通道; CEM. 柱状上皮; CI. 纤毛; CM. 环行肌; CUE. 立方上皮; EM. 细胞外基质; FI. 瓶形突起; LF. 瓶形突起内腔; LG. 大颗粒; LM. 纵行肌; LR. 长根; M. 线粒体; MC. 多纤毛细胞; ML. 肌层; MV. 微绒毛; N. 细胞核; PC. 足突细胞; SR. 短根; TZ. 过渡区。

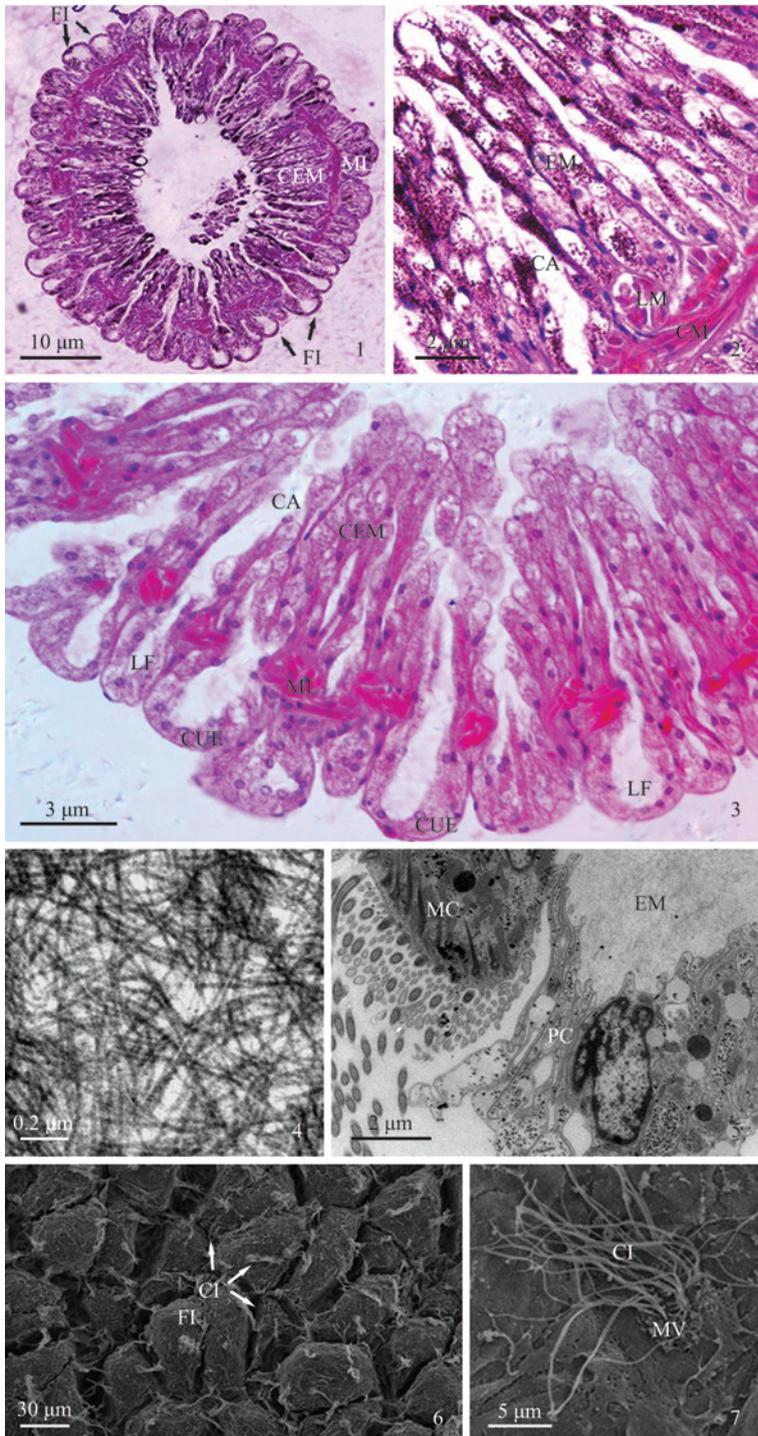
BB. Basal body; CA. Canal of flask-shaped infoldings; CEM. Columnar epithelium; CI. Cilia; CM. Circular muscles; CUE. Cuboidal epithelium; EM. Extracellular matrix; FI. Flask-shaped infoldings; LF. Lumen of flask-shaped infoldings; LG. Large granules; LM. Longitudinal muscles; LR. Long rootlet; M. Mitochondria; MC. Multiciliary cells; ML. Muscular layer; MV. Microvilli; N. Nucleus; PC. Podocytes; SR. Short rootlet; TZ. Transition zone.

龙玲利等:可口革囊星虫肾管纤毛的分布及结构特征

图版 I

LONG Ling-Li *et al.*: Distribution and Structural Features of Nephridial Cilia of the Sipunculan *Phascolosoma esculenta*

Plate I



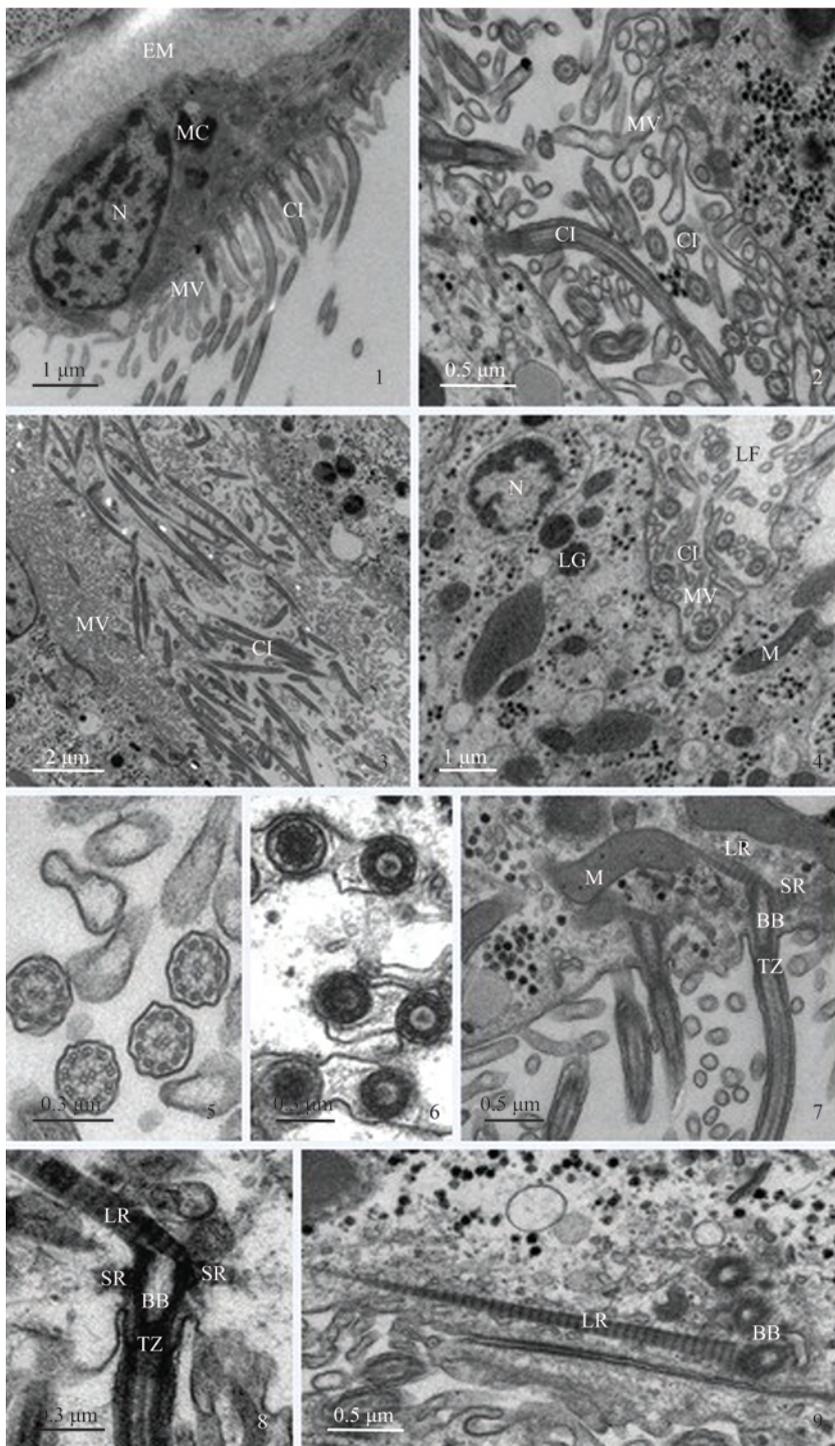
图版说明见文后

龙玲利等:可口革囊星虫肾管纤毛的分布及结构特征

图版 II

LONG Ling-Li *et al.*: Distribution and Structural Features of Nephridial Cilia of the Sipunculan *Phascolosoma esculenta*

Plate II



图版说明见文后