合浦珠母贝鳃的显微与超微结构

陈飞飞^{①2} 黄桂菊^{①#} 油九菊^{①2} 郝博飞^{①2} 吴开畅^① 李有宁^① 陈明强^① 范嗣刚^① 喻达辉^{①*} ① 农业部南海渔业资源开发利用重点实验室 中国水产科学院南海水产研究所 广州 510300; ②上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306

摘要:合浦珠母贝(Pinctada fucata)是典型的滤食性瓣鳃类动物,也是我国重要的海水珍珠养殖贝类。 本研究用光学显微镜、扫描电镜和透射电镜观察了合浦珠母贝鳃的显微和超微结构。结果表明,合浦珠 母贝鳃结构属于异丝鳃型,左右两侧各2个鳃瓣,每个鳃瓣由内鳃瓣和外鳃瓣组成。鳃瓣由主鳃丝和普 通鳃丝构成,主鳃丝在鳃瓣中主要起支架作用,每2根主鳃丝之间的9~12根普通鳃丝由"簇内连接" (intrabunchial junction)相连成簇。普通鳃丝之间通过"丝间连接"(interfilament junction)相连,丝间连接 的上皮细胞与普通鳃丝的扁平细胞结构一样,为鳃的呼吸上皮。丝间连接的存在扩大了鳃的表面积,这 种结构有助于进行气体交换。主鳃丝和普通鳃丝表面有前纤毛和侧纤毛,与食物运送和气体交换有关。 普通鳃丝表面的纤毛为典型的"9+2"型微管结构。

关键词:合浦珠母贝;鳃;组织学;电子显微镜

中图分类号:Q954 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2012)06-78-07

Microstructure of the Gill in the Pearl Oyster Pinctada fucata

CHEN Fei-Fei^{©2} HUANG Gui-Ju^{©#} YOU Jiu-Ju^{©2} HAO Bo-Fei^{©2} WU Kai-Chang[®] LI You-Ning[®] CHEN Ming-Qiang[®] FAN Si-Gang[®] YU Da-Hui^{®*}

① Key Laboratory of Research & Utilization of South China Sea Fisheries Resources, Ministry of Agriculture

South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300;
 College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: The pearl oyster *Pinctada fucata* is a typical filter feeder, and is also an important marine pearlproducing oyster. In this study, the histological structure of the gill tissue in *P. fucata* was studied using light microscopy and electronic microscopy for the first time. The gill belongs to heterorhabdic gill type which is composed of two pieces of gill lamellas on each side of the shell cavity, i. e. inner and outer gill lamellas. The gill lamella consisted of two kinds of gill filaments-principal and normal gill filaments. The principal filaments play a supporting role in the demibranch. Nine to twelve normal gill filaments are grouped into a cluster by intrabunchial junctions between every two principal gill filaments. The normal gill filaments are linked by interfilament junctions. The epithelial cells of the interfilament junctions are a kind of flat respiratory epithelial cell, the same as that of the normal gill filaments. The existence of the interfilament junctions expands the

基金项目 现代农业产业技术体系建设专项项目(No. CARS-48),农业公益性行业科研专项项目(No. 200903028),广东省海洋渔 业科技推广专项项目(No. A200901A10, A201101A03)和中央级公益性科研院所基本科研业务费专项项目(No. 2011TS04);

* 通讯作者, E-mail:pearlydh@163.com;

第一作者介绍 陈飞飞,女,硕士研究生;研究方向:海水珍珠贝遗传育种;E-mail:chenlifeishanghai@163.com。

#同等贡献第一作者介绍 黄桂菊,女,硕士;研究方向:水产生物技术;E-mail:xaxhgj@126.com。

收稿日期:2012-05-22,修回日期:2012-07-13

surface area of the gill, which is helpful for exchanging air. The frontal cilia and lateral cilia on the surface of the gill filaments are responsible for carrying food particles and exchanging air. The surface cilia of normal gill filaments is a typical "9 + 2" microtubules structure. The results provided a background for further research on the relationship between the structure and function of gill in the pearl oyster *P*. *fucata*.

Key words: Pinctada fucata; Gill; Histology; Electronic microscope

合浦珠母贝(Pinctada fucata),又称马氏珠 母贝,属软体动物门双壳纲珍珠贝目珍珠贝科, 广泛分布于太平洋及印度洋的热带、亚热带沿 岸水域。合浦珠母贝是典型的滤食性瓣鳃类动 物,也是我国重要的海水珍珠养殖贝类。滤食 性贝类鳃的作用非常重要,具有呼吸和摄食的 双重作用,海水流经鳃,鳃丝纤毛一方面过滤食 物,通过纤毛的运动将食物运至口处,另一方面 进行气体交换。因此研究贝类鳃的形态结构对 揭示它们的摄食习性具有重要意义^[1-3]。本研 究借助光学显微镜、扫描电镜及透射电镜技术 较为详细地观察了合浦珠母贝鳃的显微和超微 结构,以期了解合浦珠母贝鳃的形态结构与生 理功能的相互关系。

1 材料与方法

1.1 样品采集 2010年11月于海南陵水(东 经108.98~110.78°,北纬17.78~18.98°)采 集8月龄合浦珠母贝健康个体5个用于实验观 察,体重29.5~34.5g,贝体壳长3.5~4.0 cm, 壳高3.6~4.2 cm,壳宽1.9~2.4 cm。

1.2 组织切片制作 活体取鳃,迅速剪取鳃样品,生理盐水漂洗后,用 Bouin 液固定 24 h, 70%乙醇冲洗,经70%乙醇脱水 4 h,80%乙醇 脱水 2 次,每次 2 h,95%乙醇脱水 2 次,每次 45 min,100%乙醇脱水 2 次,每次 45 min,然后 二甲苯透明,石蜡包埋,切片包括横切(与鳃丝 垂直)和纵切(与鳃丝平行),切片厚度 5 μm, 经苏木精-伊红染色,中性树胶封藏,光学显微 镜观察并拍照。

1.3 扫描电镜样品制备 活体取鳃,生理盐水 漂洗后,立即用 2.5% 戊二醛固定,在4℃冰箱 保存 12 h,然后用 0.1 mol/L 磷酸缓冲液(pH = 7.4)冲洗 3 次,每次 15 min,之后用 1% 锇酸固 定,4℃冰箱保存2h,再用0.1 mol/L 磷酸缓冲 液冲洗3次,每次15 min。后经50%乙醇脱水 2次,每次10 min,70%乙醇浸泡过夜,第2天 用90%乙醇脱水15 min,100%乙醇脱水3次, 每次15 min,最后醋酸异戊酯置换,常规临界干燥,真空离子镀膜,在S520型扫描电镜下观察、 拍照。

1.4 透射电镜样品的制备 活体取鳃,生理盐 水漂洗后,2.5% 戊二醛固定,0.1 mol/L磷酸缓 冲液(pH = 7.4)冲洗,1% 锇酸后固定,再用 0.1 mol/L磷酸缓冲液(pH = 7.4)冲洗,后经 50%、70%、80%、90%乙醇逐级脱水各 10 min, 100%乙醇脱水2次,每次15 min,最后包埋、定 位、超薄切片,置 Tecnai12 透射电镜下观 察、拍照。

2 结 果

2.1 鳃的基本结构 合浦珠母贝的鳃属于异 丝鳃型,左右两侧各2个鳃瓣,每个鳃瓣由内鳃 瓣和外鳃瓣组成。每一鳃瓣均由一排排上行鳃 小瓣和下行鳃小瓣构成,两鳃小瓣靠瓣间连接 相连在一起。上、下行鳃小瓣背缘愈合形成鳃 内腔,两鳃小瓣腹缘的交界处凹陷形成食物运 送沟。每一鳃小瓣均由密集成簇、与身体纵轴 相垂直的许多鳃丝组成。

2.2 光镜观察 合浦珠母贝各鳃小瓣的组织 学结构均一致,鳃小瓣由成簇排列的鳃丝组成, 每簇约含9~12 根普通鳃丝(图版 I:1)。鳃瓣 有主鳃丝和普通鳃丝之分,主鳃丝位于两簇鳃 丝之间的凹陷处,其中央有两条粗大的淡粉色 的几丁质支架,主鳃丝横切面形状呈锥形凸起 或U型凹陷(图版 I:2)。普通鳃丝由具有纤毛 的单层上皮细胞及其围绕的血腔组成,鳃丝内 无几丁质支架(图版 I:3)。普通鳃丝靠近鳃内 腔的区域有扁平细胞,而主鳃丝的上皮仅由单 层柱状细胞组成。普通鳃丝的单层柱状上皮细 胞可分为位于鳃丝前端的前纤毛柱状细胞和位 于鳃丝侧面的侧纤毛柱状细胞,两种细胞都呈 高柱状,细胞质嗜酸性,染色呈红色,核椭圆形 嗜碱性,染色呈蓝色;鳃丝内侧单层扁平细胞与 血腔之间的薄层结缔组织为基膜,基膜是连接 单层扁平细胞与内部血腔的通道,此区与呼吸 有关;鳃丝横切面显示前纤毛柱状细胞之间还 有少量黏液细胞(图版 [:4)。

相邻普通鳃丝之间由丝间连接相连(图版 I:5),丝间连接位于鳃丝内侧面的单层扁平细 胞区,其上皮细胞为单层扁平细胞,内含血腔, 因此相邻鳃丝之间的血腔通过丝间连接而彼此 相通。瓣间连接(图版 I:1)由两排单层扁平细 胞及其腔隙构成,内为含血腔的结缔组织,瓣间 连接在上、下行鳃小瓣之间,其腔隙将主鳃丝下 行鳃小瓣的血腔与其上行鳃小瓣的血腔相连 通。合浦珠母贝的第3个连接结构为簇内连接 (图版 I:1),由结缔组织纤维束组成,簇内连接 在同一鳃小瓣内将相邻的两个主鳃丝之间的 9~12根普通鳃丝连接成波纹状褶皱。因此,通 过瓣间连接、丝间连接和簇内连接所有鳃丝的 血腔彼此相通。

2.3 扫描电镜观察 鳃小瓣表面可清楚地看 到鳃丝平行排列呈波浪状,每簇鳃丝仅能见到 5~6 根普通鳃丝(图版 I:6)。普通鳃丝与主 鳃丝的柱状上皮区的表面结构均一致,普通鳃 丝的前纤毛和侧纤毛清晰可见,前纤毛细且排 列杂乱,长9.1~13.4 μm,表面有颗粒性物质 (图版 I:7),在前纤毛区侧缘未见前侧纤毛。 普通鳃丝侧面可见侧纤毛较前纤毛粗且排列整 齐,长11.2~15.3 μm(图版 I:8),普通鳃丝扁 平上皮区和丝间连接的表面无纤毛且起伏不 平,其表面有大量黏液细胞开口(图版 II:1)。

 2.4 透射电镜观察 透射电镜下前纤毛柱状 细胞区、侧纤毛柱状细胞区和扁平细胞区除细 胞的高低及纤毛的长短和疏密有差异外,这
 3 种细胞的超微结构基本相同。

前纤毛柱状细胞区的细胞可分为具纤毛的

柱状细胞、间质细胞和黏液细胞(图版II:2),柱 状细胞呈长圆柱形,细胞核呈长卵圆形,细胞游 离面都有纤毛或微绒毛结构,纤毛中有纵行的微 管和基体;柱状细胞胞质内分布有大量密集的线 粒体、溶酶体及少量高尔基体等结构,线粒体为 双层单位膜构成的卵圆形小体,外膜平滑,内膜 向内折叠成许多嵴,溶酶体为一层单位膜包围形 成的圆形小体。间质细胞胞体卵圆形,胞核居细 胞基底部且被挤压变形,其内异染色质明显,胞 质内含有溶酶体等细胞器(图版II:2)。

侧纤毛柱状细胞区的细胞顶端布满密集的 微绒毛和纤毛(图版 II:3),细胞呈长圆柱形,胞 体长 7.4~15.6 μm,细胞核呈圆形或椭圆形, 位于细胞底部,长 2.5~6.2 μm,细胞与细胞之 间连接紧密,线粒体分布在细胞内近微绒毛处, 除线粒体外,内质网、高尔基体和一些小囊泡在 细胞内也有分布。柱状细胞之间,含有黏液细 胞,一种黏液细胞胞质内含有呈絮状的物质 (图版 II:3),另一种黏液细胞胞质内有密集的 近似圆形的致密颗粒(图版 II:3)。

扁平细胞区的细胞呈扁平或立方形,胞体 长7.0~9.1 μm,细胞核圆形或卵圆形,长2.4 ~4.1 μm,细胞游离面有短微绒毛分布,胞质 内除有大量密集的线粒体,还见有少量高尔基 体和透明小泡(图版 II:4,5),除此以外其他细 胞器则很少见到。

此外,超微结构显示,纤毛由轴丝和包围轴 丝呈波浪状褶皱的质膜组成,纤毛纵切面呈长 柱形,横切面为圆形,直径约0.2 nm,为典型的 "9+2"型微管结构(图版 II:6),它是由远端中 心粒末端发出的位于中央的两条纤维状轴丝及 其周围的9条纤维构成。

3 讨 论

鳃不仅是双壳贝类重要的呼吸器官,还是 最重要的滤食器官^[4]。本研究表明合浦珠母 贝的鳃属于异丝鳃型(heterohabdic gill),鳃瓣 由普通鳃丝和主鳃丝组成,两者除纤毛的摆动 不同外^[5],其形态结构也有很大差异。普通鳃 丝较细,无几丁质支架,其上皮细胞表面可明显 地观察到前纤毛和侧纤毛柱状细胞。扫描电镜 下观察到鳃丝表面前纤毛排列密集,表面有众 多颗粒状物质,表明前纤毛的摆动与进入外套 腔的食物颗粒的运送有关,除此之外,分布在前 纤毛柱状细胞之间的黏液细胞通过分泌黏液, 可以粘合进入外套腔的食物颗粒,并可起保护 作用^[6];侧纤毛粗且排列整齐,当水流由鳃瓣 外通过鳃水孔进入鳃内腔的过程中^[7],侧纤毛 的运动也具有过滤食物和气体交换的作用。透 射电镜观察也显示,鳃丝前纤毛柱状细胞和侧 纤毛柱状细胞胞体内含有大量线粒体,显然其 作用与提供前纤毛、侧纤毛激烈摆动所需要的 能量有关。

合浦珠母贝普通鳃丝的扁平细胞区的表面 和内部结构特征与大连湾牡蛎(Ostrea talienwhanensis)^[3]和紫贻贝(Mytilus edulis)^[8] 鳃丝的呼吸上皮区一样,同为贝类呼吸上皮 区^[9-10],是鳃丝与外界进行气体交换的部位, 此区域体现了与其执行气体交换功能的适应关 系。扫描电镜下合浦珠母贝普通鳃丝扁平细胞 区表面凹凸不平,而且上皮细胞游离面密布微 绒毛,使呼吸表面积极为扩大,有效地扩大了气 体交换面积;此外,透射电镜观察扁平细胞区的 细胞内含有大量线粒体,且细胞下仅有基膜与 鳃丝中央血腔相隔,使气体扩散距离缩短^[7], 因而此区域还可以提供足够的能量,利于气体 交换的完成,因此合浦珠母贝扁平细胞区的结 构有利于气体交换。

各种双壳类动物依其生活习性的不同,鳃 的类型和形态结构有较大的差异。紫贻贝^[8] 及中国蛤蜊(*Mactra chinensis*)^[11]的鳃所有鳃丝 的组织结构都一致,合浦珠母贝与大连湾牡 蛎^[3]、栉孔扇贝(*Chlamys farreri*)^[9]及缢蛏 (*Sinonovaculina constricta*)^[12]相似,它们的鳃属 异丝鳃型,鳃瓣有主鳃丝和普通鳃丝之分。合 浦珠母贝丝间连接与缢蛏^[12]及大连湾牡蛎^[3] 相似,在鳃丝间形成众多的实质组织,替代了鳃 丝型的动物如紫贻贝^[8]和栉孔扇贝^[9]鳃中的 纤毛盘的连系。合浦珠母贝瓣间连接与大连湾 牡蛎^[3]、栉孔扇贝^[9]及缢蛏^[12]类似,均为位于 两个鳃小瓣的一对主鳃丝内侧相互相连的结构,但合浦珠母贝和缢蛏^[12]的每一对主鳃丝都 形成瓣间连接,所以使得两个鳃小瓣联系得更 为牢固,而大连湾牡蛎^[3]和栉孔扇贝^[9]的鳃多 相隔1~3对主鳃丝才形成一个瓣间连接。簇 内连接为仅见于合浦珠母贝、大连湾牡蛎^[3]及 缢蛏^[12]鳃的特殊结构,它将普通鳃丝连接成褶 皱状的鳃丝簇,鳃瓣不会因鳃丝平展而超出贝 壳的容纳长度。所以,在保证鳃总面积的前提 下,簇内连接可能具有将鳃丝相连成与鳃轴垂 直的鳃丝簇的作用,从而充分利用外套腔 的空间。

合浦珠母贝普通鳃丝上纤毛的超微结构观 察显示,纤毛呈"9+2"型微管结构,与许多软 体动物精子尾部结构相似。许多软体动物精子 尾部呈细长鞭状,为典型的"9+2"型结构,外 包质膜形成鞭毛状尾部[13]。太平洋牡蛎 (Crassostrea gigas)、栉孔扇贝、翡翠贻贝(Perna viridis)等精子鞭毛都为典型的"9+2"型结构。 软体动物精子的细微结构和尾鞭运动的变化程 度是检测海洋环境污染的指标之一[13-14]。正 常情况下精子尾部质膜内只有1条轴丝,但在 翡翠贻贝^[15]、牡蛎^[16]精子尾部发现精子尾部 有2根轴丝位于同一质膜的结构现象;在栉孔 扇贝中甚至有3、4条轴丝共质膜的现象[17].这 与海洋环境污染有关。因而,通过检测贝类鳃 丝纤毛结构异常,是否也可以反映海洋环境的 污染状况,从而成为有效的指示标记,尚需进一 步研究。

参考文献

- Frenkiel L, Mouëza M. Gill ultrastructure and symbiotic bacteria in *Codakia orbicularis* (Bivalvia, Lucinidae).
 Zoomorphology, 1995, 115(1): 51-61.
- Silverma H, Lynn J W, Dietz T H. Particle capture by the gills of *Dreissena polymorpha*: structure and function of latero-frontal cirri. Biological Bulletin, 1996, 191(1): 42 54.
- [3] 崔龙波,刘传琳,陆瑶华,等.大连湾牡蛎鳃的光镜和 扫描电镜研究.水产学报,1998,22(增刊):1-6.
- [4] 王芳,董双林,范瑞青,等.四种滤食性贝类滤食器官 鳃的扫描电镜观察.青岛海洋大学学报:自然科学版,

1998, 28(2): 240 - 244.

- [5] Dales R P. Practical Invertebrate Zoology. Oxford: Blackwell Scientific Publications, 1981: 187 - 200.
- [6] Gajaraville M P, Marigomez J A, Angulo E. Light and electron microscopic study of the gill epithelium of *Littorina littorea* (Gastropoda, Prosobranch). Biological Structures Morphogenesis, 1990/1991, 3(1): 1 - 12.
- Jørgensen C B. Fluid mechanical aspects of suspension feeding. Marine Ecology Progress Series, 1983, 11(1): 89 - 103.
- [8] 崔龙波,刘传琳,陆瑶华,等.紫贻贝(Mytilus edulis L.)鳃的研究.齐鲁渔业,1996,13(5):11-14.
- [9] 崔龙波,陆瑶华,刘传琳,等.栉孔扇贝(Chlamys farreri Jones et Preston)鳃的形态学研究.烟台大学学 报:自然科学与工程版,1998,11(4):279-284.
- [10] 崔龙波,周雪莹,陆瑶华. 皱纹盘鲍鳃的光镜和电镜 研究. 海洋学报, 2004, 26(1): 82-87.
- [11] 崔龙波,孔俊,周雪莹.中国蛤蜊鳃的光镜与扫描电

图版 Ⅰ 说明

镜观察.海洋水产研究,2005,26(4):60-63.

- [12] 崔龙波,侯竹美,周雪莹. 缢蛏鳃的光镜与扫描电镜
 研究.水产科学,2006,25(3):129-132.
- [13] Daniels E W, Longwell A C, McNiff J M, et al. Ultrastructure of spermatozoa from the American oyster *Crassostrea virginica*. Transactions of the American Microscopical Society, 1971, 90(3): 275 - 282.
- [14] 潘英,李琪,于瑞海,等.虾夷扇贝人工诱导雌核发育 精子遗传失活及紫外线照射对精子形态结构影响的研 究.中国海洋大学学报:自然科学版,2004,34(6): 949-954.
- [15] 柯佳颖, 饶小珍, 陈寅山. 翡翠贻贝精子的超微结构. 动物学杂志, 2005, 40(2): 66-70.
- [16] 袁秀堂,周一兵,杨大佐.墨西哥湾扇贝精子的超微 结构.动物学杂志,2003,38(4):16-19.
- [17] 任素莲,王如才,王德秀.栉孔扇贝精子超微结构的研究.青岛海洋大学学报:自然科学版,1998,28
 (3):387-392.

1. 鳃瓣横切面(×40); 2. 两个鳃丝簇(×100); 3. 普通鳃丝纵切(×400); 4. 鳃丝侧面黏液细胞(×400); 5. 丝间连接水平切面(×1000); 6. 鳃瓣外表面(×500); 7. 鳃丝表面前纤毛(×5000); 8. 鳃丝侧面侧纤毛(×5000)。

Explanation of Plate I

1. Horizontal section of a demibranch ($\times 40$); 2. Horizontal section of two filaments cluster ($\times 100$); 3. Horizontal section of normal gill filaments ($\times 400$); 4. Mucous cells of lateral gill filaments ($\times 400$); 5. Horizontal section of interfilament junction ($\times 1000$); 6. Outside surface of the gill lamellas ($\times 500$); 7. Frontal cilia of the surface gill filaments ($\times 5000$); 8. Lateral cilia of lateral gill filaments ($\times 5000$).

BJ. 簇内连接; Bm. 基膜; BS. 血腔; Ce. 柱状上皮细胞; ch. 几丁质; Fc. 前纤毛; Fj. 丝间连接; L. 侧纤毛; LJ. 瓣间连接; M. 主 鰓丝; Mc. 黏液细胞; O. 普通鰓丝; P. 食物颗粒。

BJ. Intrabunchial junction; Bm. Basal membrane; BS. Blood space; Ce. Cylindrical epithelium cell; ch. Chitin; Fc. Frontal cilia; Fj. Interfilament junction; L. Lateral cilia; LJ. Interlamella junction; M. Principal gill filaments; Mc. Mucous cell; O. Normal gill filaments; P. Particles.

图版Ⅱ说明

1. 呼吸上皮区黏液细胞(×5 000); 2. 前纤毛柱状细胞区; 3. 侧纤毛柱状细胞区; 4. 扁平细胞区; 5. 扁平细胞区; 6. 纤毛超微结构。

Explanation of Plate II

1. Mucous cells of respiratory epithelial area (× 5 000); 2. Cylindrical cells of the frontal cilia area; 3. Cylindrical cells of the lateral cilia area; 4. Flat cells area; 5. Flat cells area; 6. Ultramicro-structure of the cilia.

A. 轴丝; Bm. 基膜; Ce. 柱状上皮细胞; ch. 几丁质; Ci. 纤毛; Fc. 前纤毛; g. 高尔基体; IC. 间质细胞; Ly. 溶酶体; LJ. 瓣间连接; Mc. 黏液细胞; Mcl. 黏液细胞(含有絮状物质); Mc2. 黏液细胞(含有近似圆形的致密颗粒); mt. 线粒体; mv. 微绒毛; N. 细胞核; PM. 质膜。

A. Axoneme; Bm. Basal membrane; Ce. Cylindrical epithelium cell; ch. Chitin; Ci. Cilia; g. Golgi apparatus; Fc. Frontal cilia; IC. Intermediary cell; Ly. Lysosome; LJ. Interlamella junction; Mc. Mucous cell; Mc1. Mucous cell 1; Mc2. Mucous cell 2; mt. Mitochondria; mv. Microvilli; N. Cell nucleus; PM. Plasma membrane.

• 83 •





200 nm

图版说明见文后