

© 1994

## ЭЛЕКТРОННО-МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СТРОЕНИЯ ЖГУТИКОВОГО АППАРАТА ХОАНОЦИТА ГУБКИ *ERHYDATIA FLUVIATILIS*

С. А. Карпов, С. М. Ефремова

*Биологический научно-исследовательский институт, С.-Петербургский университет*

Методом реконструкции по серийным ультратонким срезам изучено строение жгутикового аппарата у хоаноцита губки *Erydatia fluviatilis*. Переходная зона жгутика короткая, поперечная пластинка слабо выражена и расположена на уровне поверхности клетки, над поперечной пластинкой располагаются 2–2.5 витка переходной спирали, плотно прилегающей к периферическим дублетам микротрубочек. Перпендикулярно жгутиковой кинетосоме располагается дополнительная, или безжгутиковая, кинетосома меньшей длины. Вокруг проксимальной части жгутиковой кинетосомы имеется пояс из электронно-плотных глобул, сателлитов, от которых отходят микротрубочки, представляющие собой корешки. Микротрубочки расходятся от кинетосомы довольно беспорядочно, но в целом направлены латерально, укрепляя апикальную часть клетки. Строение жгутикового аппарата хоаноцита сравнивается с таковым воротничковых жгутиконосцев, инфузорий и зооспор хитридиевых грибов.

Исследование ультраструктуры клеток морских и пресноводных губок начато довольно давно и успешно продолжается в настоящее время (Langenbuch, Jones, 1990). При этом авторов, как правило, интересуют архитектура различных типов клеток, их взаимопревращение и онтогенез (Simpson, 1984). Изучение ультраструктуры хоаноцитов как в просвечивающем, так и в сканирующем электронных микроскопах ограничивается обычно общей характеристикой расположения органелл в клетке и взаимодействием их с другими клетками (Vacelet et al., 1989). Такие детали строения жгутикового аппарата, как переходная зона и корешковая система, не рассматривались. Часто это объясняется помимо других причин недостаточно хорошей фиксацией хоаноцитов, что не позволяет сравнивать эти их признаки с таковыми, например, воротничковых жгутиконосцев, которых все чаще связывают с губками таксономически и филогенетически (Taylor, 1978; Corliss, 1984; Серавин, 1986). Между тем особенности строения жгутикового аппарата считаются весьма важными при характеристике крупных таксонов протистов (Карпов, 1990) и некоторых низших многоклеточных животных (Rieger et al., 1991).

В настоящей работе предпринята попытка реконструировать на основе анализа серийных ультратонких срезов строение жгутикового аппарата у хоаноцита пресноводной губки *Erydatia fluviatilis* и сравнить его со жгутиковым аппаратом изученных ранее воротничковых жгутиконосцев и некоторых других протистов.

### Материалы и методика

Пресноводные губки *E. fluviatilis* были собраны осенью 1992 г. в Английском ручье в окрестностях г. Петродворца. Небольшие организмы фиксировали непосредственно в момент сбора. Фиксацию проводили двумя методами. При первом использовали смесь глутаральдегида и OsO<sub>4</sub>

на фосфатном буфере с конечными концентрациями в растворе соответственно 0.5 и 0.5% и 0.05—0.07 М в течение 0.5 ч в темноте и на холоде, затем в 1%-м растворе OsO<sub>4</sub> в течение 1 ч на холоде. При втором методе использовали предварительную фиксацию губок в 0.5%-м растворе OsO<sub>4</sub> в течение 10 мин, затем 1 ч в 1%-м растворе глутаральдегида и 1 ч в 1%-м растворе OsO<sub>4</sub>. Оба способа фиксации дали хорошие результаты. Объекты обезживали обычным способом, предварительно выдержав их в слабом растворе плавиковой кислоты для удаления кремниевых спикул. Затем губки заливали в смесь Эпона с Арадитом. Срезы получали на ультрамикротоме Ultra-cut, окрашивали по традиционной методике и просматривали в просвечивающем электронном микроскопе Н-600. Трехмерные изображения реконструировали на основе анализа серийных срезов.

## Результаты

Форма хоаноцитов *E. fluviatilis* в значительной степени варьирует на срезах от прямоугольного профиля до вытянуто-овального. Вследствие этого сужение на переднем конце клетки, обычно называемое шейкой хоаноцита, присутствует не всегда. Единственный жгутик выходит из середины апикальной поверхности клетки. По периферии шейки хоаноцита его окружают тентакулы воротничка. Поверхность хоаноцита между жгутиком и тентакулами воротничка покрыта довольно толстым слоем гликокаликса (рис. 1; см. вкл. I).

Взаимное расположение органелл в клетке хоаноцитов *E. fluviatilis* характеризуется базальным расположением ядра (рис. 1). В редких случаях ядро встречается в передней части, что связано, по-видимому, с переходом клетки к делению.

Цитоплазма клетки содержит митохондрии с пластинчатыми кристами, довольно равномерно распределенные по всему ее объему (рис. 1). Диктиосома аппарата Гольджи обычно одна и находится в передней части клетки. В цитоплазме встречаются мелкие пузырьки и более крупные вакуоли, содержащие, по-видимому, остатки непереваренной пищи (рис. 1).

Строение свободной части жгутика не отличается своеобразием: аксонема с обычным набором микротрубочек (9 + 2) окружена тонким слоем цитоплазмы без каких-либо дополнительных включений. Большого внимания заслуживает, на наш взгляд, строение переходной зоны жгутика (рис. 2—4). На продольных срезах видно, что центральные микротрубочки аксонемы начинаются чуть выше слабо выраженной поперечной пластинки, располагающейся на уровне поверхности клетки (рис. 2, 6, 7; см. вкл. I). Над поперечной пластинкой вдоль периферических дублетов микротрубочек можно обнаружить по 2—3 электронно-плотные точки с каждой стороны (рис. 2). Поперечные срезы в этой области жгутика показывают, что эти точки представляют собой профили 2—2.5 витков спирали, которая связана с А-трубочками аксонемы (рис. 3, 4, 10). Снаружи дублеты микротрубочек связаны с плазмалеммой жгутика при помощи хорошо развитых переходных фибрилл (рис. 2—4). Переходные фибриллы начинаются от дистальной части кинетосомы (рис. 11) и продолжают на довольно большое расстояние в переходную зону жгутика (рис. 2—4).

На сериях продольных (рис. 5—9) и поперечных (рис. 10—15; см. вкл. II) срезов показано строение кинетосомальной части и корешков жгутика. Безжгутиковая, или дополнительная, кинетосома располагается обычно под прямым углом к жгутиковой, но не под ней, а чуть в стороне (рис. 7, 9). Корешки отходят от жгутиковой кинетосомы и представлены микротрубочками, которые расходятся довольно беспорядочно, не образуя отдельных лент или пучков. Центрами их организации являются небольшие электронно-плотные образования, или сателлиты, окружающие кольцом среднюю и проксимальную части кинетосомы (рис. 5, 6, 13, 14). Микротрубочки отходят от сателлитов по несколько штук или по одной в разных направлениях, но преимущественно латерально, поэтому создается общее впечатление о радиальном расположении

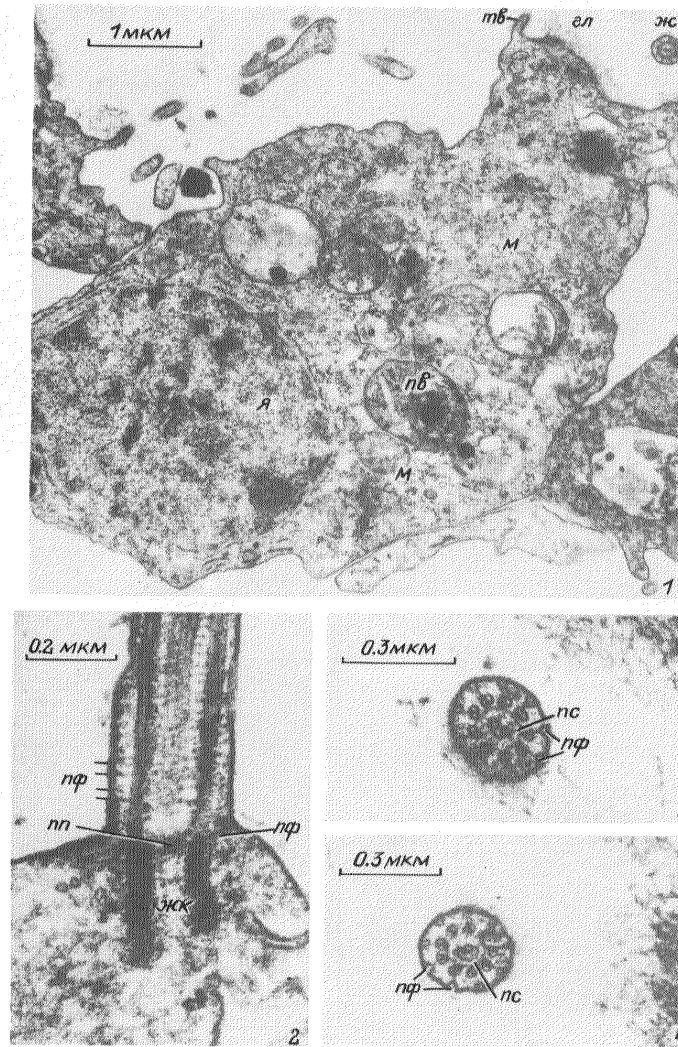
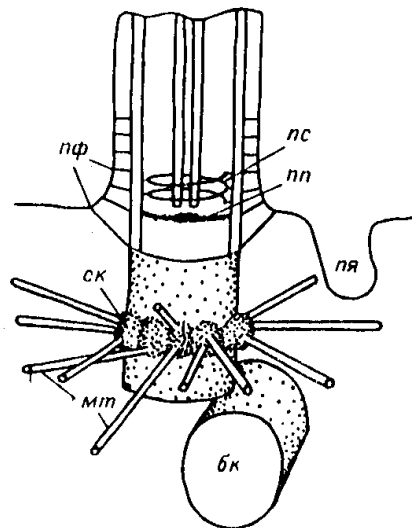


Рис. 1—4. Особенности структуры хоанцита губки *Ephydatia fluviatilis*.

1 — продольный срез хоанцита; 2 — продольный срез кинетосомы и переходной зоны жгутика; 3, 4 — поперечные срезы переходной зоны жгутика на уровне спирали двух разных клеток. гл — гликокаликс, жс — жгутик, жк — жгутиковая кинетосома, м — митохондрии, пв — пищеварительная вакуоль, лп — поперечная пластинка, пс — переходная спираль, пф — переходные фибриллы, тв — тентакулы (микровилли) воротничка, я — ядро.

Рис. 16. Схема строения жгутикового аппарата хоаноцита губки *Eryudata fluviatilis*.

бк — безжгутиковая кинетосома, мт — микротрубочковые корешки, пл — поперечная пластинка, пс — переходная спираль, пф — переходные фибриллы, лп — парасомальная ямка, ск — сателлиты кинетосомы.



микротрубочковых корешков (рис. 12—14). Отдельные микротрубочки могут направляться и в глубь клетки. Некоторые сателлиты кинетосомы (обычно два) инициируют образование значительно большего числа микротрубочек, чем другие. Они обычно располагаются на противоположных ее сторонах (рис. 6, 12, 13). Нам не удалось обнаружить их четкой ориентации или приуроченности к определенным триплетам кинетосомы. У основания жгутика обычно встречается небольшая парасомальная ямка. Она хорошо видна как на продольных срезах (рис. 5—7), так и на поперечных (рис. 11, 12).

Таким образом, жгутиковый аппарат хоаноцитов *E. fluviatilis* характеризуется короткой переходной зоной с 2—2.5 витками одинарной спирали, которая связана с А-трубочками дублетов, и хорошо развитыми переходными фибриллами (рис. 16). Корешковая система представлена плохо организованными, радиально расходящимися от жгутиковой кинетосомы одиночными микротрубочками, которые укрепляют апикальную часть хоаноцита. Безжгутиковая, или дополнительная, кинетосома обычно присутствует и располагается перпендикулярно жгутиковой кинетосоме. В основании жгутика находится небольшая парасомальная ямка.

#### Обсуждение

Для хоаноцитов губок характерно базальное расположение ядра, однако в литературе иногда описывается смещение ядра к апикальному концу клетки (Bougu-Esnault et al., 1984). В этом случае авторы отмечают наличие тонких фибрилл, связывающих жгутиковую кинетосому с ядром, передний конец которого приобретает конусовидную форму. Такие же картины мы наблюдали на срезах *E. fluviatilis*, связывая это с начальной стадией деления хоаноцита, так как они встречаются очень редко.

Анализ литературы по ультратонкому строению жгутиков у хоаноцитов губок показывает, что сравнимые с нашими результаты почти отсутствуют. Хорошая фиксация хоаноцитов *E. fluviatilis* достигнута в работе Бриля (Brill, 1973). Однако автор не приводит электронограмм поперечных срезов жгутиков, а демонстрирует только электронограммы продольных срезов, поэтому трудно установить, имеются ли переходная спираль и сателлиты. Он показал, правда, наличие микротрубочек, беспорядочно отходящих от жгутиковой кинетосомы. Такие же радиально расходящиеся микротрубочковые корешки отчетливо видны на срезах хоаноцитов *E. mulleri* (Carrone et al., 1980), *Corticium candelabrum* (Bougu-Esnault et al., 1984) и *Baikalospongia bacillifera* (Ефремова и др., 1988). Строение переходной зоны жгутиков у хоаноцитов губок ранее не изучалось.

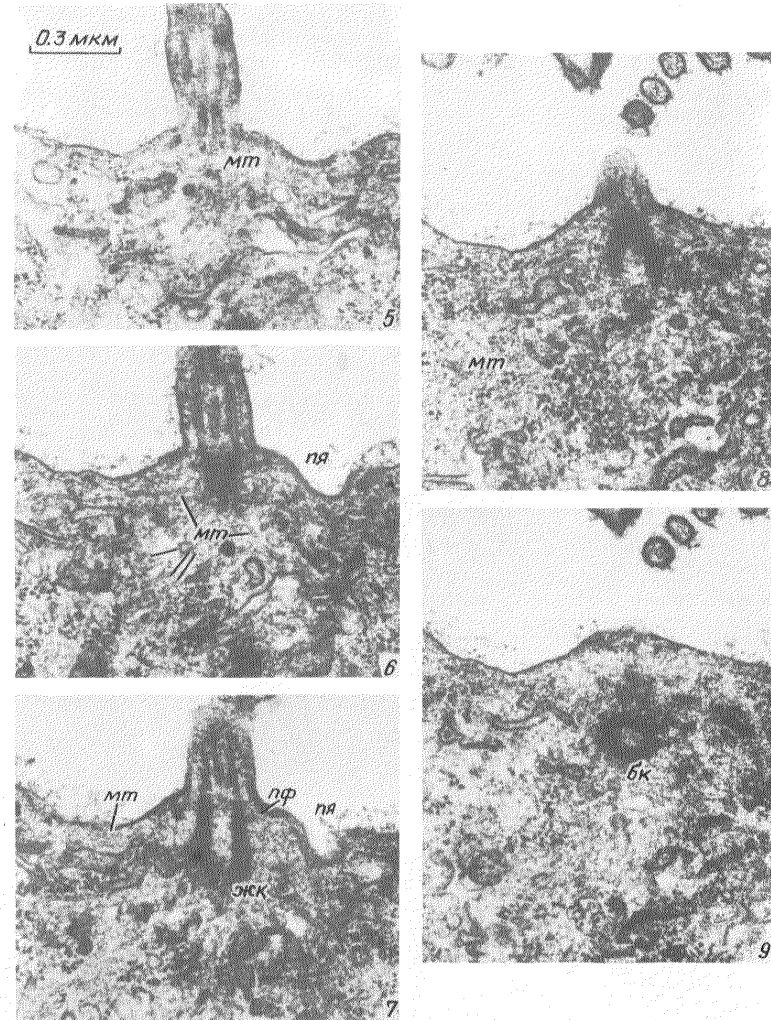


Рис. 5—9. Серия продольных срезов жгутикового аппарата одного хоаноцита *Ephydatia fluviatilis*.

бк — безжгутиковая кинетосома, мт — микротрубочковые корешки, пф — парасомальная ямка; остальные обозначения те же, что и на рис. 1—4. Увеличение на рис. 6—9 то же, что и на рис. 5.

Поэтому мы не можем утверждать, что наличие переходной спирали характеризует и другие виды губок. Во всяком случае у весьма своеобразных стеклянных губок переходная зона жгутика воротничковых тел (у них нет настоящих хоаноцитов) устроена иначе, чем у хоаноцитов. Так, у *Rhabdocalyptus dawsoni* в переходной зоне жгутика обнаружены две поперечные пластинки, одна из которых значительно выше поверхности клетки, а другая находится на уровне поверхности клетки (Mackie, Singla, 1983). Более тонких структур на электронограммах, приведенных этими авторами, нам обнаружить не удалось. Очевидно, что необходимо расширение подобных исследований, особенно в отношении морских видов.

Предварительное сравнение морфологии хоаноцита и особенностей жгутикового аппарата *E. fluviatilis* с этими структурами у воротничковых жгутиконосцев будет весьма полезно. Ранее уже было указано на большое сходство этих типов клеток (James-Clark, 1868; Saedcleer, 1929; Kent, 1980—1982; Жуков, Карпов, 1985, и др.). Действительно, общее расположение органелл у воротничковых жгутиконосцев лишь немного отличается от такового у хоаноцитов: ядро у них лежит обычно в центре клетки, а не базально. Другие особенности те же: на апикальном конце клетки находятся тентакулы (микровилли) воротничка, окружающие единственный жгутик; базальный аппарат жгутика имеет диплосомное строение (безжгутиковая кинетосома есть и лежит перпендикулярно жгутиковой); под кинетосомами находится диктиосома; митохондрии с пластинчатыми кристами распределяются по всему объему клетки (Жуков, Карпов, 1985; Leadbeater, 1985; Карпов, 1990). В строснии жгутикового аппарата обнаруживаются значительные различия. Безжгутиковая кинетосома у *E. fluviatilis* лежит не под жгутиковой, как у воротничковых жгутиконосцев, а рядом с ней (рис. 16); переходная зона у последних не короткая, как у хоаноцитов, а длинная, т. е. поперечная пластинка располагается выше поверхности клетки; центральные микротрубочки аксонемы у воротничковых жгутиконосцев соединяются с поперечной пластинкой при помощи центрального филамента; у хоаноцитов же центрального филамента нет, но присутствует переходная спираль. Корешковая система воротничковых жгутиконосцев тоже представлена радиально расходящимися от жгутиковой кинетосомы микротрубочками, однако они всегда строго упорядочены и организованы в виде лент из 2—7 трубочек. Парасомальной ямки у воротничковых также не обнаружено (Карпов, 1990). Следовательно, строение жгутиков и хоаноцитов *E. fluviatilis* существенно отличается от такового воротничковых жгутиконосцев.

Среди протистов есть жгутиковые клетки, сходные с хоаноцитами губок в гораздо большей степени, чем воротничковые жгутиконосцы. Таковы в первую очередь зооспоры хитридиевых грибов. Последние не так однородны по строению жгутикового аппарата, как воротничковые жгутиконосцы, но среди них есть несколько видов, зооспоры которых близки по этим признакам к хоаноцитам. Их жгутиковый аппарат был изучен весьма детально (Bagt, Hadland-Hartmann, 1978). В короткой переходной зоне имеется спираль, насчитывающая у разных видов разное количество витков, но все они связаны с А-трубочками аксонемы. Поперечная пластинка присутствует не всегда. От кинетосомы жгутика отходят латеральные микротрубочки, которые обычно направлены в одну сторону, а не расходятся радиально, как у хоаноцитов. Безжгутиковая кинетосома короткая, находится рядом со жгутиковой и ориентирована почти перпендикулярно к ней. Кроме того, у зооспор хитридиомицетов имеются хорошо развитые переходные фибриллы.

Наличие парасомальной ямки, или мешка, — характерная черта инфузорий (Lynn, 1981). В переходной зоне ресничек у них часто отмечаются кольца, связанные с А-трубочками аксонемы (Andersen et al., 1991). По нашему мнению, эти кольца являются витками спирали, как это имеет место у зооспор

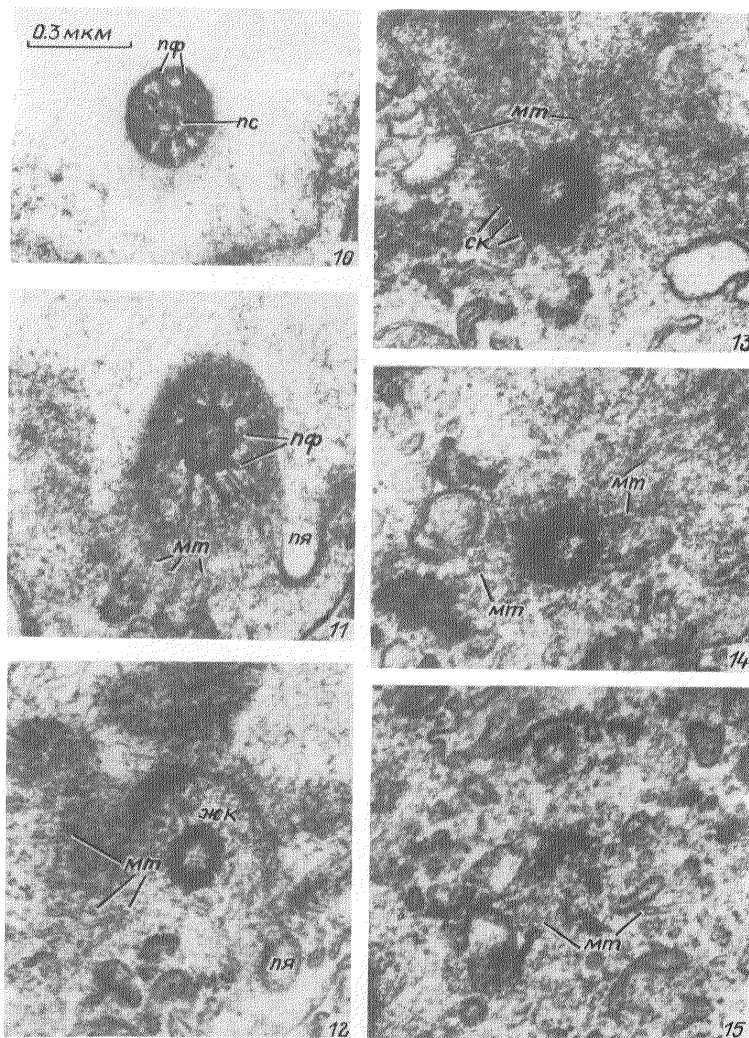


Рис. 10—15. Серия поперечных срезов жгутикового аппарата одного хоаноцита *Ephydatia fluviatilis*. ск — сателлиты кинетосомы; остальные обозначения те же, что и на рис. 1—9. Увеличение на рис. 11—15 то же, что и на рис. 10.

хитридиевых грибов. По другим особенностям строения ресничного аппарата инфузории существенно отличаются от хоаноцитов.

Сравнение жгутикового аппарата хоаноцита губки *E. fluviatilis* со жгутиковым аппаратом протистов позволяет заключить, что по его особенностям хоаноциты губок гораздо ближе к зооспорам хитридиевых и инфузориям, чем к воротничковым жгутиконосцам.

#### Список литературы

- Ефремова С. М., Суходольская А. Н., Алексеева Н. П.* Дуализм строения корешковой системы кинетосом жгутиковых клеток личинок и хоаноцитов у губок // Губки и кишечнополостные. Современное состояние и перспективы исследований. Л.: Зоол. ин-т АН СССР, 1988. С. 22—23.
- Жуков Б. Ф., Карнов С. А.* Пресноводные воротничковые жгутиконосцы. Л.: Наука, 1985. 120 с.
- Карнов С. А.* Система протистов. Омск, 1990. 195 с.
- Серавин Л. Н.* Природа и происхождение губок // Систематика простейших и их филогенетические связи с низшими эукариотами. Л.: Наука, 1986. С. 94—112.
- Andersen R. A., Barr D. J. S., Lynn D. N., Melkonian M., Moestrup O., Sleigh M. A.* Terminology and nomenclature of the cytoskeletal elements associated with the flagellar / ciliary apparatus in protists // *Protoplasma*. 1991. Vol. 164. P. 1—8.
- Barr D. J. S., Hadland-Hartmann V. E.* The flagellar apparatus of the Chytridiales // *Can. J. Bot.* 1978. Vol. 56. P. 887—900.
- Boury-Esnault N., De Vos L., Donadey C., Vacelet J.* Comparative study of the choanosome of Porifera: the Homoskleromorpha // *J. Morphol.* 1984. Vol. 180. P. 3—17.
- Brill B.* Untersuchungen zur Ultrastruktur der Choanocyte von *Ephydatia fluviatilis* L. // *Z. Zellforsch.* 1973. Bd 144. S. 231—245.
- Carrone R., Lethias C., Escald J.* Freeze-fracture study of sponge cell membranes and extracellular matrix. Preliminary results // *Biol. Cell.* 1980. Vol. 38. P. 71—74.
- Corliss J. O.* The kingdom Protista and its 45 phyla // *BioSystems*. 1984. Vol. 17. P. 87—126.
- James-Clark H.* On the spongia ciliata as Infusoria flagellata // *Ann. Mag. Nat. Hist.* 1868. Vol. 1. Ser. 4. P. 133—142, 188—215, 250—264.
- Kent W. S.* A manual of the Infusoria. London, 1880—1882. Vol. 1—3. 913 p.
- Langenburch P.-F., Jones W. C.* Body structures of marine sponges. VI. Choanocyte chamber structure in the Haplosclerida (Porifera, Demospongiae) and its relevance to the phylogenesis of the group // *J. Morphol.* 1990. Vol. 204. P. 1—8.
- Leadbeater B. S. C.* Order 1. Choanoflagellida Kent, 1880 // An illustrated guide to the Protozoa. Lawrence: Soc. Protozool. USA, 1985. P. 106—116.
- Lynn D. H.* The organization and evolution of microtubular organelles in ciliated protozoa // *Biol. Rev.* 1981. Vol. 56. P. 243—292.
- Mackie G. O., Singla C. L.* Studies of hexactinellid sponges. I. Histology of *Rhabdocalyptus dawsoni* (Lambe, 1873) // *Phil. Trans. Roy. Soc. Lond.* 1983. Ser. B. Vol. 301. P. 365—400.
- Rieger R. M., Tyler S., Smith J. P., Rieger G.* Turbellaria // *Microscopic anatomy of Invertebrates*. New York: Wiley Liss, 1991. Vol. 3. P. 7—140.
- Saedeleer H. de.* Recherches sur les choanocytes origine des Spongiaires // *Ann. Soc. Roy. Zool. Belgique*. 1929. Vol. 60. P. 16—21.
- Simpson T. L.* The cell biology of sponges. Berlin etc.: Springer, 1984. 661 p.
- Taylor F. J. R.* Problems in the development of an explicit hypothetical phylogeny of the lower eukaryotes // *BioSystems*. 1978. Vol. 10. P. 67—89.
- Vacelet J., Boury-Esnault N., De Vos L., Donadey C.* Comparative study of the choanosome of Porifera: the keratose sponges // *J. Morphol.* 1989. Vol. 201. P. 119—129.

Поступила 8 XII 1993