

文章编号: 1674 - 5566(2010)06 - 0751 - 05

鲇皮肤和鳃粘液细胞的分类、 分布和分泌研究

李学军¹, 彭新亮², 乔志刚¹

(1. 河南师范大学生命科学学院, 河南 新乡 453007;

2. 信阳农业高等专科学校水产科学系, 河南 信阳 464000)

摘要: 利用阿利新蓝(AB, pH=2.6) - 过碘酸雪夫氏试剂(PAS)染色, 对鲇(*Silurus asotus*)皮肤和鳃部粘液细胞进行了分类、分布和分泌研究。结果显示: 结合染色结果、细胞形态和粘液细胞分布特点, 鲇皮肤和鳃部粘液细胞可分为I型、II型、III型、IV型和V型5种类型; 皮肤中有I型和IV型2种粘液细胞分布, 鳃部有I型、II型、III型和V型4种粘液细胞分布; 腹部皮肤粘液细胞密度最大, 平均密度为每平方米1 083个, 其次为颌部皮肤, 平均密度为每平方米802个, 鳃丝部位密度最小, 平均密度为每平方米208个; 粘液细胞分泌方式有4种, I型为全浆分泌, II型为局部分泌, III型为巨浆分泌, IV型为顶浆分泌。

关键词: 鲇; 粘液细胞; 皮肤; 鳃

中图分类号: S 917 文献标识码: A

Studies on the types, distribution and secretion of mucous cells in the skin and gill of *Silurus asotus*

LI Xue-jun¹, PENG Xin-liang², QIAO Zhi-gang¹

(1. College of Life Sciences, Henan Normal University, Xinxiang 453007, China;

2. Department of Fishery Sciences, Xinyang Agricultural College, Xinyang 464000, China)

Abstract: The types, distribution and secretion of mucous cells stained with AB - PAS (pH AB = 2.6) in the skin and gill of *Silurus asotus* (body length 35 ± 10 cm, body weight 650 ± 150 g) were studied. The results showed that the mucous cells in the skin and gill of *Silurus asotus* could be classified into five types according to colorization with AB - PAS, the shape of the cells and distribution position, i. e. Type I, Type II, Type III, Type IV and Type V mucous cells; In the skin, there were types I and III mucous cells, and in the gill, there were types I, II, III and V mucous cells; The density of mucous cells was the highest in the ventral skin, and the mean density was about 1 083 cells/mm². Next is in the sbmaxillary skin, and the mean density was about 802 cells/mm². The density of mucous cells was the lowest in the gill filament, and the mean density was about 208 cells/mm²; The mucous cells had 4 kinds of secretion, the type I mucous cells had holocrine secretion, the type II mucous cells had partial secretion, the type III mucous had macroapocrine secretion, the type IV mucous cells had apocrine secretion.

Key words: *Silurus asotus*; mucous cell; skin; gill

收稿日期: 2010-01-04

资助项目: 河南省重点科技攻关项目(82102130022)

作者简介: 李学军(1967-), 男, 教授, 博士, 主要从事水产动物种质资源与遗传育种方面的研究。E-mail: xjli67@126.com

通讯作者: 乔志刚, E-mail: hnsddsyy@sohu.com

鱼类粘液细胞是普遍存在于鱼类上皮中的一种腺体细胞,主要分布在皮肤、鳃及消化道等部位,能分泌大量粘液^[1]。粘液中含有粘多糖、糖蛋白、免疫球蛋白及各种水解性酶类等多种活性物质,在鱼类的生命活动中发挥着重要作用。在鱼类分泌性免疫系统中,其皮肤、鳃和肠道的粘液细胞行使着很重要的免疫功能,尤其对于无鳞鱼类,粘液细胞的生理作用更大,更应值得关注和研究^[2]。对鱼类粘液细胞的研究,国外开展较早^[3-4],国内自 20 世纪 90 年代以来,也进行了这方面的研究,并取得了一定成果^[2,5-8]。

鲇(*Silurus asotus*)属于经济价值较高的无鳞鱼类,其粘液细胞的研究仅见乔志刚^[8]对其肠道粘液细胞做了相关报道。本文采用组化染色技术,结合显微观察,对鲇皮肤和鳃粘液细胞的分类、分布和分泌方式进行了研究,旨在确定鲇皮肤和鳃粘液细胞的类型和生理特点,为其生理功能的进一步研究提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

鲇采自河南师范大学水产养殖基地,体格健壮,无病无伤,雌雄不限,体长(35±10) cm,体重(650±150) g,属 2~3 龄鱼,共计 20 尾。

1.2 方 法

1.2.1 材 料 制 备

取鲇背部、头部、腹部和颌部皮肤及鳃部鳃弓和鳃丝组织, Bouin's 液固定,常规石蜡切片,厚度为 6 μm,阿利新蓝(AB, pH=2.6)-过碘酸雪夫氏(PAS)试剂染色。

1.2.2 粘 液 细 胞 的 计 数 与 分 类、分 泌 观 察

用 Olympus CX41-32C02 显微镜在 10×40 视野下观察切片,对不同部位随机选择 30 个视野统计计数,用目测微尺算出每个视野面积下的平均粘液细胞个数,然后换算成每平方毫米面积下的粘液细胞数。粘液细胞分类,是将染色结果、细胞形态和分布特点相结合,参考袁金铎^[5]和尹苗^[6]等的分类方法。分泌方式观察,参考石安静^[9]、王宜燕等^[10]。观察中用显微镜自带照相系统进行拍照。

2 结 果

2.1 鲇皮肤和鳃粘液细胞的类型

根据 AB-PAS 染色结果,结合细胞形态和粘液细胞分布特点,鲇皮肤和鳃中的粘液细胞可分为 5 种类型: I 型, AB-PAS 染色呈红色,杯状,体积和核较大,细胞外围常有一个更大的空腔(图版-1),分布于皮肤和鳃部; II 型, AB-PAS 染色也呈红色,与 I 型的区别为着色较深,体积较小,为球状而不是杯状(图版-2),仅分布于鳃部; III 型, AB-PAS 染色呈蓝色,球状(图版-3),分布于鳃部; IV 型, AB-PAS 染色呈紫红色,多球状,也有梨状和棒状(图版-4),分布于皮肤; V 型, AB-PAS 染色呈蓝紫色,多球状、棒状及不规则状(图版-5),分布于鳃丝软骨。

2.2 粘 液 细 胞 在 鲇 皮 肤 和 鳃 中 的 分 布

2.2.1 皮 肤 中 粘 液 细 胞 的 分 布

在鲇的头部、背部、腹部和颌部皮肤中,均有少量的 I 型和大量的 IV 型粘液细胞分布。靠近皮肤基层分布的粘液细胞,体积较小,颜色较浅(图版-6),随着向皮肤表层推移,粘液细胞体积增大,内容物着色加深,接近皮肤表皮分布的粘液细胞,体积最大,着色最深,部分成重叠排列(图版-7)。

2.2.2 鳃 中 粘 液 细 胞 的 分 布

鲇鳃部的粘液细胞在鳃弓、鳃丝和鳃丝软骨中分布各有特点。在鳃弓中,粘液细胞类型分布最多,有 I 型、II 型和 III 型 3 种,其中 I 型和 III 型有大量分布,II 型只有少量分布。I 型和 II 型粘液细胞多分布于鳃弓内侧的上皮中, I 型分布靠近软骨层, II 型有少量分布于其中,较多的 III 型则分布于鳃弓上皮的表层(图版-8)。在鳃丝中,有较多的 II 型和 III 型粘液细胞分布。II 型粘液细胞多分布于鳃丝出鳃动脉端上皮中(图版-9),而 III 型则主要分布于鳃丝入鳃动脉端的上皮中(图版-10)。在鳃丝软骨中仅有大量的 V 型粘液细胞分布,但在梭型的鳃丝软骨内部(图版-11),不同部位的粘液细胞在细胞形态、密度和着色深浅上都有差异:中间的粘液细胞体积和密度都较大,着色较深,细胞多为不规则状;靠近入

鳃动脉端粘液细胞的体积和密度都较小,着色较淡,细胞多为棒状;而靠近出鳃动脉端粘液细胞的体积和密度都较大,着色最深(图版-12),细胞多为球状和不规则状。

2.3 鲇皮肤和鳃各部位粘液细胞的分布密度

鲇的不同部位粘液细胞密度分布差别很大。如图1,鲇腹部皮肤粘液细胞密度最大,平均密度为每平方毫米1083个,其次为颌部皮肤,平均密度为每平方毫米802个,密度最小的为鳃丝部位,平均密度为每平方毫米208个;背部皮肤、头部皮肤、鳃弓和鳃丝软骨4部位,粘液细胞密度差别不大。

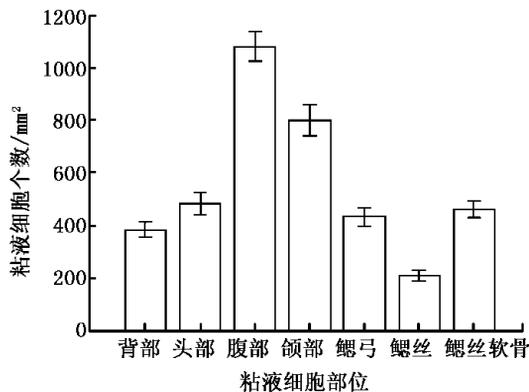


图1 鲇皮肤和鳃不同部位粘液细胞分布密度
Fig.1 The distribution density of the mucous cell in various parts in the skin and the gill of *Silurus asotus*

2.4 鲇皮肤和鳃粘液细胞的分泌方式

鲇皮肤和鳃粘液细胞的类型不同分泌方式也不同,共发现4种分泌方式:全浆分泌、局部分泌、巨浆分泌和顶浆分泌。I型粘液细胞的分泌方式为全浆分泌,当分泌时,外围空腔打开,内部的整个细胞内容物从空腔中分泌出去(图版-13),在表皮上留下凹陷空隙。II型粘液细胞分泌方式为局部分泌,当其发育成熟靠近鳃丝上皮边缘时,突出上皮部分形成分泌小泡,然后逐步脱离胞体形成圆形或团状块分泌物,在胞体的后部留下凹陷的空隙(图版-14)。III型粘液细胞的分泌方式为巨浆分泌,当其发育成熟时,已处在鳃丝上皮边缘,分泌时细胞前部破裂,大量的粘液以巨浆分泌方式分泌出来(图版-15)。IV型粘液细胞为顶浆分泌方式,在其发育过程中,粘液细胞逐渐向表皮迁移,细胞体积不断增大,

细胞内的颗粒物质逐渐增大增多,着色越来越深,当到达皮肤表皮时,细胞内的粘液颗粒积累到最多,部分粘液颗粒冲破细胞膜的顶端分泌到表皮外(图版-16)。V型粘液细胞的分泌方式目前还不清楚。

3 讨论

3.1 鱼类粘液细胞的分类

在进行鱼类粘液细胞分类研究中,有多种分类方法,如Sonja^[3]根据过碘酸雪夫氏试剂(PAS)染色深浅来分类,但标准不易把握。Sibbing & Uribe^[4]根据细胞形态将鲤鱼(*Cyprinus carpio*)咽部粘液细胞分为梨状、囊状和杯状3种类型,但仅凭细胞形态,忽略内部生化成分的分类也不妥。袁金铎等^[5]则是将形态学和组织化学方法相结合对鱼类粘液细胞进行分类,二者都把细胞形态作为分类的第一要素,细胞形态不同不可分为一类细胞,然后才考虑组化显色。尹苗等^[6]认为应按鱼类粘液细胞分泌物的化学性质进行分类,把分泌物的化学性质作为唯一要素,不考虑细胞形态,通过AB-PAS染色,按粘液细胞显色把鲤鱼粘液细胞分为红色、蓝色、紫红色和蓝紫色4种类型。到目前为止,关于鱼类粘液细胞的分类,还没有统一的标准。

本实验把组织化学、细胞形态学和分布特点三者结合起来对鲇粘液细胞进行分类,其中分泌物的化学性质作为首要因素,同时考虑细胞形态和分布特点,通过AB-PAS染色,把鲇皮肤和鳃粘液细胞分为5种类型。它们的分类依据为:III型为蓝色,分布于鳃部,形态为球状;IV型为紫红色,分布于皮肤,形态有球状、梨状和棒状3种,虽有3种形态,只是在细胞发育过程中的不同表现,最终都发育为球状,且颜色保持一致,说明分泌物化学性质相同,因此3种形态的细胞均为IV型粘液细胞;V型为蓝紫色,仅分布于鳃丝软骨中,形态多球状、棒状及不规则状,它们虽形态多样,但颜色相同,说明分泌物化学性质一样,且集中分布于同一地方,表明具有相同的生理功能,所以仍为一类粘液细胞;I型和II型均为红色,其中I型红色较浅,II型红色较深,说明二者分泌物化学性质有异同。I型为杯状,体积和核较大,细胞外围常有一个更大的空腔包围,而II型为球状,体积较小,表明二者在细胞形态结构上

也有差异。但仅凭细胞颜色的深浅和形态来进行粘液细胞分类,证据还不够充分,因为在粘液细胞发生和发育过程中常有颜色深浅和形态的变化,此时考虑粘液细胞的分布特点就显得很有必要,I型在皮肤和鳃部都有分布,而II型仅在鳃部有分布,分布位置的明显差异显示二者具有不同的生理功能。因此,对于I型和II型两种粘液细胞的分类,在分泌物和细胞形态都不易区分的情况下,结合其分布特点,把二者划分为两类粘液细胞。

综上所述,对鱼类粘液细胞分类,需要考虑多方面的因素,其中分泌物化学性质是一个关键的因素,分泌物化学性质一样,说明生理功能相同,即使粘液细胞形态表现不一致,仍可以归为一类。同时,细胞的形态学特征和分布特点也是不可忽略的因素,特别是在分泌物化学性质相似时,仅凭着色的深浅判断证据不够充分,此时粘液细胞的形态学特征和分布特点就显得尤为重要,其形态结构和分布上的本质差异,会成为分类的重要因素。所以,在鱼类粘液细胞分类上,采用粘液细胞组织化学、形态学和分布特点相结合对其进行分类是比较合理的。

3.2 鲇皮肤和鳃粘液细胞分布规律

鲇皮肤中粘液细胞有I型和IV型两种,分布规律都为I型较少,IV型有大量分布。但在不同分布部位又有差异,其中头部和背部分布密度较小,腹部和颌部分布密度较大,这与鲇为底栖性鱼类的生活习性是相适应的,防止鲇接触水底质时对腹部和颌部的伤害。与鲤鱼皮肤中粘液细胞相比较^[6],鲇皮肤中粘液细胞类型较鲤鱼少,但粘液细胞的密度较鲤鱼大得多,这是鲇作为无鳞鱼的一个特点。但与南方鲇(*Silurus meridionalis*)等同样的底栖性无鳞鱼相比较^[7],鲇与它们在一些皮肤粘液细胞中的分布规律则相反,它们都是在头部粘液细胞分布最多,腹部最少。造成这些差异的原因推测与鱼类的种类有关,具体原因还有待进一步研究。

鲇鳃部粘液细胞分泌的粘液除具有与皮肤相同的保护功能外,还能够帮助鱼类摄食、促进水的微循环、利于气体交换等其它作用^[11],因此,鳃部粘液细胞不论是类型还是分布都比皮肤复杂。粘液细胞共有I型、II型、III型和V型4种类型,其分布规律各有特点。鳃弓上分布有I

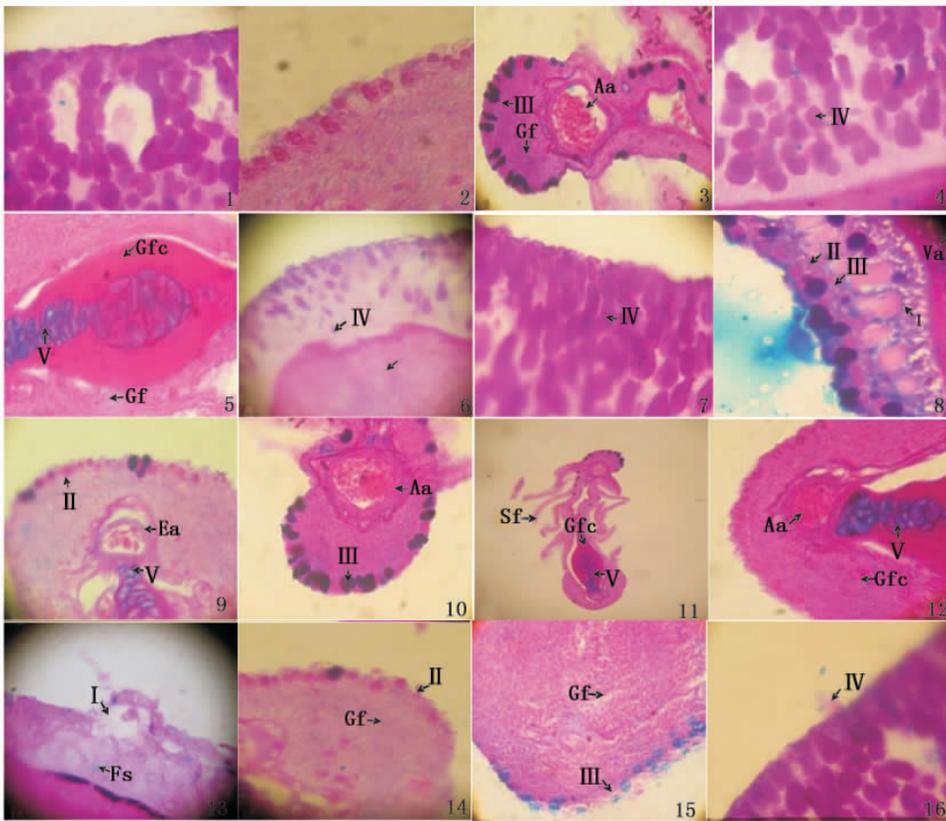
型、II型和III型3种粘液细胞,III型分布于鳃弓上皮的表层,I型和II型多分布于鳃弓内侧的上皮中,鳃弓内侧长有鳃耙,上有较多味蕾,推测其分泌的粘液有保护味蕾和辅助鱼类摄食的功能。鳃丝上有II型和III型两种粘液细胞,III型主要分布在鳃丝入鳃动脉端的上皮中,而II型则多分布在出鳃动脉端上皮中,鳃丝上粘液细胞的这种选择性生长,对鲇在气体交换中所起的具体作用,还有待进一步研究。鳃丝是鲇皮肤和鳃粘液细胞密度最小的部位,仅为最高密度腹部的五分之一,这与Handy & Eddy^[12-13]认为鳃丝上的粘液细胞较少的观点是一致的。鳃丝软骨中仅有V型粘液细胞分布,在梭型的鳃丝软骨内部,V型粘液细胞在中间和出鳃动脉端分布密度较大,而在入鳃动脉端密度则较小,分析原因为出鳃动脉是鱼类刚进行气体交换后首先流经的血管,含氧量丰富,动脉附近的粘液细胞新陈代谢旺盛,生长发育较快,分泌粘液较多,密度也较高,而入鳃动脉则相反。

3.3 鲇皮肤和鳃粘液细胞分泌方式探讨

鲇皮肤和鳃不同类型粘液细胞的分泌方式与其结构或分布部位有关。I型粘液细胞的全浆分泌是和其特殊结构相一致的,由于其细胞外围有一空腔包围,在分泌时,外围空腔打开,内部的整个细胞内容物从空腔中分泌出去。位于鳃部上皮中的II型和III型粘液细胞分泌方式分别为局部分泌和巨浆分泌。因鳃部担负气体交换功能,上皮组织很薄,与水接触的相对表面积较大,受水中病原菌等有害生物感染的机会多,II型和III型粘液细胞分别采用对上皮细胞损伤小的局部分泌和分泌量大的巨浆分泌,对鳃具有重要的自我保护作用。位于皮肤中的IV型粘液细胞为顶浆分泌方式,在其发育成熟到达皮肤表皮时,细胞内的粘液颗粒积累到最多,部分粘液颗粒冲破细胞膜的顶端分泌到表皮外。这与鲇肠道粘液细胞的分泌方式一样^[8],对于二者的内在联系,尚不清楚。推测在IV型粘液细胞紧密排列的皮肤中,采用对上皮细胞损伤小的顶浆分泌方式,不仅可降低对粘液细胞在皮肤中的第一屏障作用的破坏,也有利于分泌物黏附于皮肤表面。但对于具体调控粘液细胞分泌的机制还有待进一步研究。

参考文献:

- [1] 杨桂文,安利国. 鱼类粘液细胞研究进展[J]. 水产学报, 1999,23(4): 403-408.
- [2] 安利国,孟广勋,杨桂文,等. 鲤稚幼鱼早期发育过程中粘液细胞的发生和变化[J]. 水生生物学报, 2001,25(2): 191-194.
- [3] Sonja M K, Phillip R S. A light and electron microscope study of the structure of *Protopterus annectens* epidermis I Mucous protection [J]. J Zoo, 1968,46: 764-733.
- [4] Sibbing F A, Uribe R. Regional specializations in the oropharyngeal wall and food processing in carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. Netherlands J Zoo, 1985,35(3): 377-422.
- [5] 袁金铎,张明,王钦东. 淡水白鲢粘液细胞类型和分别的研究[J]. 细胞生物学杂志, 1997,19(增刊): 70-72.
- [6] 尹苗,安利国,杨桂文,等. 鲤鱼粘液细胞类型的研究[J]. 动物学杂志, 2000,35(1): 8-10.
- [7] 刘怀如,张耀光. 南方鲇消化道杯状细胞分布及类型探讨[J]. 四川动物, 2002,21(1): 6-7.
- [8] 乔志刚,陈生智,程鸿轩,等. 鲇肠道粘液细胞的类型、分布、发育及分泌方式研究[J]. 分子细胞生物学报, 2007,40(1): 24-27.
- [9] 石安静,陈维,文秀英. 淡水育珠蚌外套膜表皮细胞分泌方式的研究[J]. 水生生物学报, 1994,18(4): 369-374.
- [10] 王宜艳,孙虎山,王娥叶,等. 栉孔扇贝外套膜表皮细胞的分泌方式[J]. 烟台师范学院学报: 自然科学版, 2003,19(3): 207-210.
- [11] Cipriano R. Immunization of brook trout, *Salvelinus fontinalis* against *Aeromonas salmonicida*: immunogenicity of virulent isolates and protective of different antigen [J]. Can J Fish Aquat Sci, 1982,39: 218-221.
- [12] Handy R D, Eddy F B. Surface absorption of aluminium by gill tissue and body mucus of rainbow trout, *Salmo gairdner*, at the onset of episodic exposure [J]. J Fish Bio, 1989,34: 865-874.
- [13] Handy R D, Eddy F B, Romain G. In vitro evidence for the ionoregulatory role of rainbow trout mucus in acid, acid/aluminium and zinc toxicity [J]. J Fish Bio, 1989,35: 737-747.



图版 鲇粘液细胞形态、染色和分泌

Plate The morphology, colorization, secretion of mucous cells of *silurus asotus*

I. I型粘液细胞; II. II型粘液细胞; III. III型粘液细胞; IV. IV型粘液细胞; V. V型粘液细胞。Gf. 鳃丝; Gfc. 鳃丝软骨; Va. 鳃弓; Sf. 鳃小片; Fs. 皮肤基层; Aa. 入鳃丝动脉; Ea. 出鳃丝动脉。1. I型粘液细胞 AB-PAS(×400); 2. II型粘液细胞 AB-PAS(×400); 3. III型粘液细胞 AB-PAS(×400); 4. IV型粘液细胞 AB-PAS(×400); 5. V型粘液细胞 AB-PAS(×400); 6. 靠近基底的IV型粘液细胞 AB-PAS(×400); 7. 重叠排列的IV型粘液细胞 AB-PAS(×400); 8. 鳃弓中的粘液细胞 AB-PAS(×400); 9. 鳃丝中的粘液细胞 AB-PAS(×400); 10. 鳃丝中的粘液细胞 AB-PAS(×400); 11. 鳃丝横切 AB-PAS(×100); 12. 鳃丝软骨中粘液细胞 AB-PAS(×400); 13. 分泌中的I型粘液细胞 AB-PAS(×400); 14. 分泌中的II型粘液细胞 AB-PAS(×400); 15. 分泌中的III型粘液细胞 AB-PAS(×400); 16. 分泌中的IV型粘液细胞 AB-PAS(×400)。