

驼背鲈鳃丝的光镜、扫描和透射电镜观察

何永亮^{1,2}, 区又君¹, 蔡文超¹, 李加儿¹, 谢菁^{1,2}

(1 中国水产科学研究院南海水产研究所, 广东 广州 510300; 2 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要:应用光学显微镜、扫描电镜和透射电镜对驼背鲈 *Cromileptes altivelis* 鳃丝的组织结构、表面形态特征及鳃小片超微结构进行了观察。结果表明驼背鲈鳃丝和鳃小片的表面结构和超微结构与其他硬骨鱼类的基本相似, 鳃丝表面分布有众多规则或不规则的环形微嵴、沟、坑、孔等结构。鳃丝排列紧密, 末端膨大; 鳃丝呼吸上皮细胞薄, 其下具有丰富的毛细血管, 胞间具分泌细胞开口。鳃小片表面呈褶皱状、凹凸不平, 排列在鳃丝两侧。鳃小片是由上下2层单层呼吸上皮细胞以及把它们撑开的支持细胞所构成, 泌氯细胞大量分布在鳃丝、鳃小片上, 并有开口通往外界。讨论了驼背鲈鳃结构与功能的密切关系。

关键词:驼背鲈; 鳃丝; 光镜; 电镜; 超微结构

中图分类号: S917.4; Q246

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X(2009)02-0086-04

Light, Scanning and Transmission Electron Microscopical Observation of Gill Filaments of *Cromileptes altivelis*

HE Yong-liang^{1,2}, OU You-jun¹, CAI Wen-chao¹, LI Jia-er¹, XIE Jing^{1,2}

(1 South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510300, China;

2 College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The histological, surface and internal fine structures of gill filaments of *Cromileptes altivelis* were investigated using light, scanning and transmission electron microscopy. The results showed that the surface structure and ultrastructure of gill filaments and secondary gill lamellae of *C. altivelis* were similar to those of other teleosts. Various features such as regular or irregular circular microridges, indentations, micropits and crevices were present. The arrangement of gills were tight, the terminal of gill filament expanded. The respiratory surface of gill filament was rough and highly full of capillary vessels; there were many holes among the respiratory surface of gill filament. Many secondary gill lamellae showed folds and were not smooth, they were arranged on two sides of each filament. The basic structure of the secondary lamellae consisted of two outer epithelial layers, the pillar cells that distract epithelial layers. The chloride secretory cells were frequently found in gill filaments, secondary gill lamellae, they often seemed to be open at the surface between adjacent epithelial cells. The close relationships between the structure of fish gill and its function were discussed.

Key words: *Cromileptes altivelis*; gill filaments; light microscope; electron microscope; ultrastructure

驼背鲈 *Cromileptes altivelis* 隶属鲈形目 Perciformes 鲈科 Serranidae 石斑鱼亚科 Epinephelina 驼背鲈属 *Cromileptes*^[1], 俗名老鼠斑, 肉质鲜美, 价格昂贵, 为高级的经济海产鱼类, 也是世界上最名贵的海水鱼之一。目前国际上已知的驼背鲈仅1种, 分布于

印度洋、太平洋的热带海区, 西至非洲, 东至菲律宾, 北至日本, 南至澳大利亚海域, 我国见于南海。其文献资料较少, 国内区又君等^[1-3]对驼背鲈的形态和生物学形状、年龄与生长特性、染色体核型等方面进行了报道, 国外 Asda Laining^[4]和 Rossita Shapawi^[5]分

收稿日期: 2008-10-13

作者简介: 何永亮(1982—), 男, 硕士研究生; 通讯作者: 区又君(1964—), 女, 研究员, E-mail: ouyoujun@126.com

基金项目: 国家863计划项目(2006AA10A414); 广东省科技计划项目(C20817); 广东省重大科技兴海项目(A200501A04)

别对驼背鲈表观消化率和饲料中用家禽副产品蛋白源代替鱼粉蛋白源进行了研究。

鳃是鱼类的主要呼吸器官,主要承担气体交换任务。此外,鳃还具有排泄氮代谢废物和参与渗透压调节的重要功能。不少学者对虹鳟 *Salmo irideus*、鲤 *Cyprinus carpio*、草鱼 *Ctenopharyngodon idellus*、剑尾鱼 *Xiphophorus helleri*、红笛鲷 *Lutjanus erythropterus* 和卵形鲳鲹 *Trachinotus ovatus* 等^[6-10]的鳃进行了组织学观察。本文采用光镜、扫描电镜、透射电镜技术,观察驼背鲈鳃丝的显微与超微结构,以了解鳃丝的结构与功能的关系,为其呼吸生理研究及组织、细胞病理诊断提供有益的资料。

1 材料与方法

1.1 试验鱼

5尾健康的驼背鲈成鱼,于2007年9月购于广州市黄沙水产市场,平均体质量425 g。

1.2 鳃组织切片的制作

活体取鳃小块,Bouin氏液固定24 h,用体积分数为70%乙醇冲洗,各级乙醇脱水,石蜡包埋,切片厚度5 μm ,经苏木精-伊红染色,中性树胶封藏,置于光学显微镜下观察并拍照。

1.3 扫描电镜样品的制备

从试验活体取下部分鳃丝,经生理盐水漂洗后,放入体积分数为2.5%戊二醛固定,在4℃冰箱固定12 h,然后用0.1 mol/L磷酸缓冲液(pH7.4)冲洗3次,每次15 min,体积分数为1%锇酸固定后,4℃冰箱保存2 h,再用0.1 mol/L磷酸缓冲液冲洗3次,每次15 min。体积分数50%~100%乙醇逐级脱水,醋酸异戊酯置换,常规临界干燥,真空离子镀膜,在Philips EM400型扫描电镜下观察、拍照。

1.4 透射电镜样品的制备

取小段鳃丝经体积分数为2.5%戊二醛固定,0.1 mol/L磷酸缓冲液(pH=7.4)冲洗,置体积分数为1%锇酸后固定,再用0.1 mol/L磷酸缓冲液(pH=7.4)冲洗,然后用各级乙醇逐级脱水,包埋、定位、超薄切片、染色,置Philips CM10透射电镜下观察和拍照。

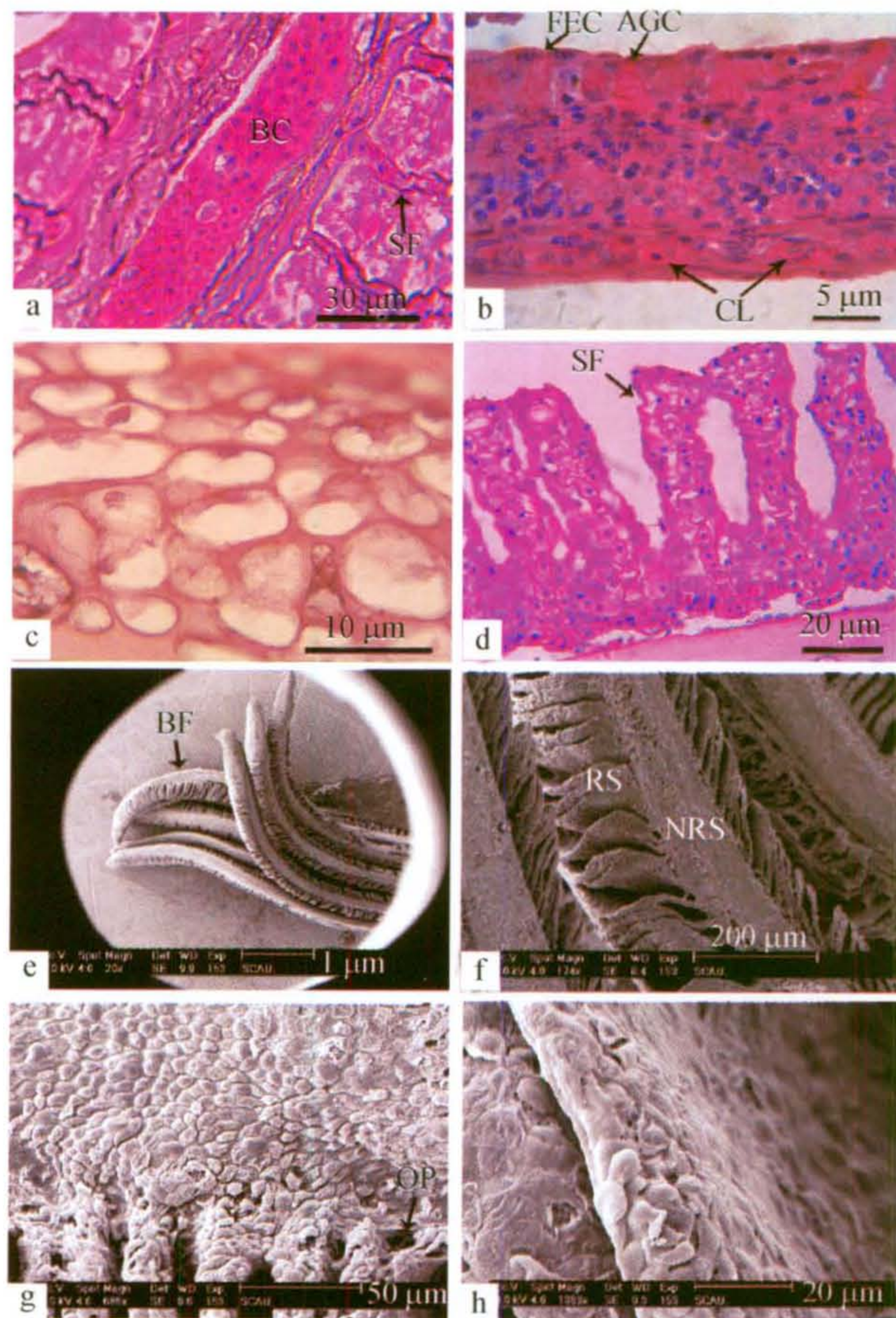
2 结果

2.1 鳃丝组织的光镜观察

2.1.1 鳃丝 通过光镜观察,2列鳃小片排列在鳃丝之上(图1-a),鳃丝表面由单层扁平上皮细胞覆盖,扁平上皮细胞的细胞核拉得很长,在扁平上皮细胞层下分布有粘液细胞、蛋白腺细胞、泌氯细胞等腺细胞,在鳃小片基部分布有通往鳃小片的毛细血管(图1-b)。每根鳃丝由一根鳃丝软骨支持,鳃丝软

骨呈圆形、椭圆形等,外包有结缔组织(图1-c)。

2.1.2 鳃小片 鳃小片垂直排列于鳃丝两侧,末端膨大,由上下2层单层呼吸上皮以及起支持作用的柱细胞组成(图版1-d)。相邻鳃丝的鳃小片紧密排列,每100 μm 鳃丝大约有4~6个鳃小片。呼吸上皮呈扁平状。细胞核也成扁平状,柱细胞核位于中央,且大而圆。鳃小片基部为复层上皮,其基膜与鳃丝基膜相连。



AGC: 蛋白腺细胞; BF: 鳃丝; CL: 毛细血管腔; NRS: 非呼吸面; OP: 空洞; FEC: 扁平上皮细胞; BC: 血细胞; RS: 呼吸面; SF: 鳃小片
a: 鳃丝的组织切片光镜图; b: 鳃丝横切面组织切片光镜图; c: 鳃丝软骨组织切片光镜图; d: 鳃小片组织切片光镜图; e: 鳃丝总体形态扫描电镜观察; f: 鳃丝呼吸区和非呼吸区电镜观察; g: 鳃丝表面扫描电镜观察; h: 鳃小片基部扫描电镜观察

图1 驼背鲈鳃丝结构光镜和扫描电镜观察

Fig. 1 Light, scanning electron microscopical observation of gill filaments of *Cromileptes altivelis*

2.2 鳃丝表面结构的扫描电镜观察

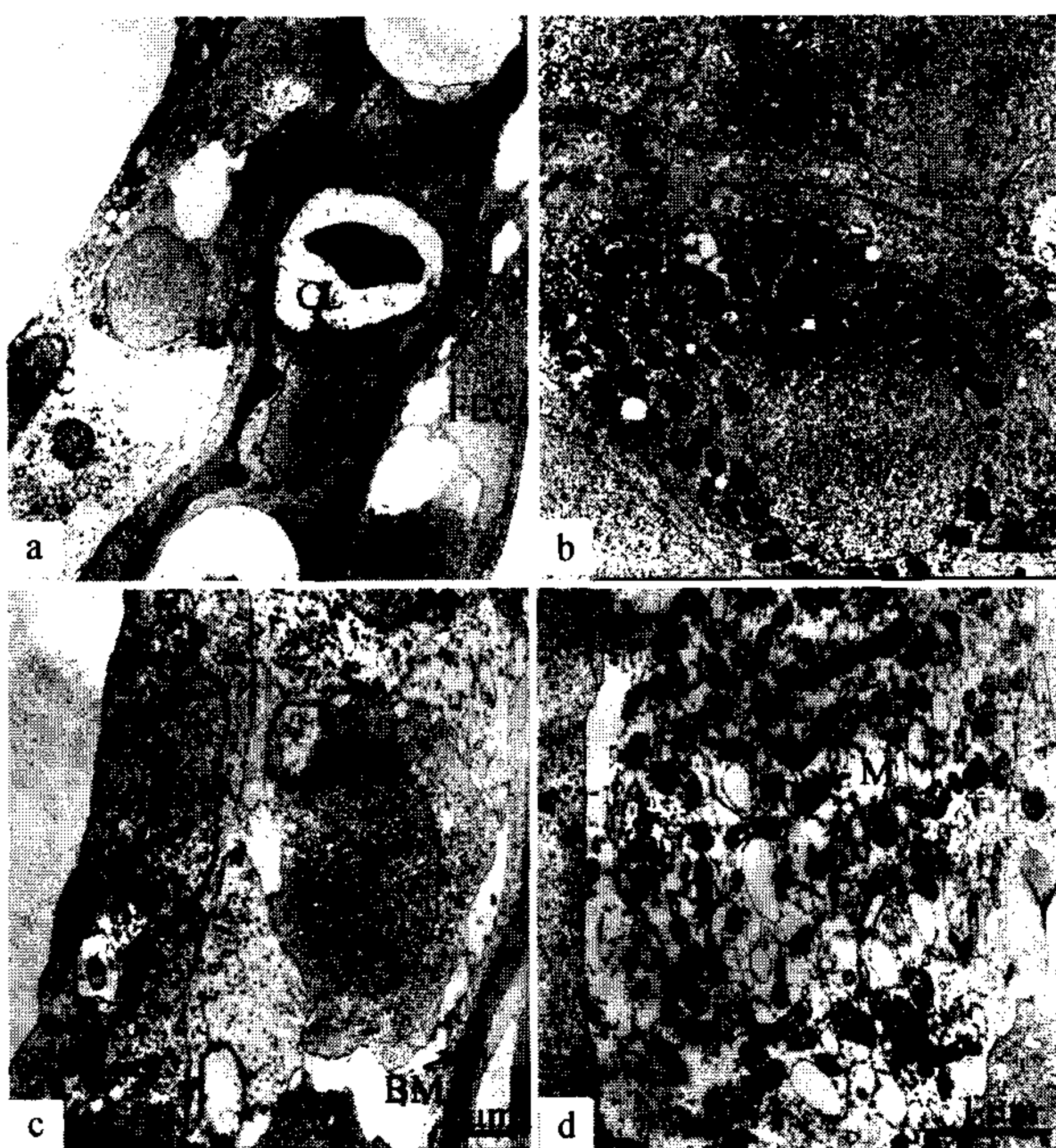
驼背鲈鳃丝呈长条状,末端膨大,经观察统计,鳃丝直径305~375 μm 。鳃丝间距200~210 μm ,1 mm鳃丝有50~60片鳃小片(图1-e),鳃小片排列紧密,鳃小片高172~215 μm ,宽17~25 μm ,厚约为10 μm ,鳃小片间距10~20 μm 。鳃丝表面可分为呼吸区和非呼吸区(图1-f),其表皮细胞以扁平上皮细胞为主。呼吸区上皮细胞薄,表皮下分布有大量

的毛细血管而形成呼吸面隆起一微嵴。非呼吸区细胞起伏不大,轮廓鲜明。

鳃丝表面上皮细胞排列紧密,界限明显,且呈凹凸不平,具隆起结构,组成规则或不规则的多边形的图案,鳃丝凹面分布一些孔洞,是一些腺细胞的开口(图1-g)。从鳃小片的侧面观,其表面凹凸不平(图1-h)。

2.3 鳃小片的透射电镜观察

驼背鲈鳃小片由单层的呼吸上皮及其间的柱细胞和毛细血管网所构成(图2-a),观察显示,鳃小片具有单层的扁平上皮细胞,其表面具有众多的微嵴,在透射电镜下,腺细胞胞质内分布有大量线粒体和分泌颗粒(图2-b)。呼吸上皮与柱细胞及其毛细血管之间有较厚的基膜(图2-a,c),构成特殊的水/血屏障的双层结构(图2-a)。



BM:基膜; CSC:泌氯细胞; CL:毛细血管腔; EV:排泄小泡; M:线粒体; N:细胞核; PC:柱细胞; FEC:扁平上皮细胞; BC:血细胞; SG:分泌颗粒

a,c: 鳃小片内部结构; b: 胞内线粒体、分泌颗粒; d: 泌氯细胞的超微结构

图2 驼背鲈鳃小片透射电镜观察

Fig. 2 Transmission electron microscopical observation of the secondary gill lamellae of *Cromileptes altivelis*

由入鳃丝动脉分来的血管在鳃小片内构成了毛细血管网,毛细血管的血管壁与呼吸上皮共用一层基膜,且管腔内含有许多的血细胞(图2-a)。柱细胞具有支持呼吸上皮的作用,且对鳃小片的结构具有一定的保护作用,柱细胞核大,几乎占整个胞体,是参与构成毛细血管网重要的组成部分。鳃小片基部的上皮细胞之间附着粘液细胞和泌氯细胞,泌氯细胞一般位于上皮细胞的下部,泌氯细胞的主要特征是含有众多的线粒体和排泄小泡(Excretory ves-

cle)(图2-d),线粒体呈圆形、棒形等形状,嗜酸性,排泄小泡呈大小不等的圆形和椭圆形。

3 讨论

驼背鲈具有4对全鳃,每片鳃由鳃弓、鳃耙及鳃丝组成。驼背鲈鳃丝末端膨大,鳃小片排列紧密,形成两端封闭的梳状结构,此结构有利于增大水的流量,延长水流留滞时间,使得鳃丝能够更充分的气体交换。鳃丝表面具有规则或不规则分布的环形微嵴、沟、坑、孔等结构,表面凹凸不平,增大鳃丝表面的阻力,延缓水流经鳃丝表面的时间,造成涡流^[8,11],从而有利于水分子和其他离子的吸附,形成极大的适于气体交换的表面积,这种最大化的表面积有利于 O_2 和 CO_2 的交换,驼背鲈鳃丝的这种结构与红笛鲷、鲑点石斑鱼等海水鱼类相似^[10,12]。鳃小片是气体交换的场所,驼背鲈鳃小片上布满了各种复杂的管道、沟、坑等结构,这种结构有利于吸附水分子,增大呼吸面积,提高离子交换率。

驼背鲈属于珊瑚礁鱼类,成鱼常在深水水域活动,性凶猛。有研究表明,鳃小片的高度、厚度、片间距及鳃小片总量是一个种的特征,这种特征与生活模式有密切关系^[13]。鳃小片高度越高,厚度越小,鳃呼吸面积就越大,呼吸摄氧的效率就越高。本试验结果表明,驼背鲈鳃小片的高度、厚度都比较大,鳃小片高度要比红笛鲷、鲑点石斑鱼要大很多^[10,12],说明驼背鲈鳃小片主要通过高度方向来扩展鱼体所需要的呼吸面积,与前人提出的底栖鱼类要比表层鱼类的呼吸面积大的结果相一致^[14-15]。同种鱼个体大小不同其鳃丝数量、长度及单位长度鳃丝上的鳃小片的数目也不一样,使得呼吸面积也有所不同,一般呼吸总面积随体质量的增加而增大,但相对面积随体质量的增加而减小^[14-15]。

根据方展强等^[9]将鳃小片分为呼吸区和非呼吸区的划分,通过扫描和透射电镜观察,驼背鲈鳃小片呼吸区主要由表面上皮细胞和柱状细胞构成,形成较厚的水/血屏障并分布有许多泌氯细胞和粘液细胞,这种水/血液屏障的双层结构使得血细胞仅通过上皮细胞就可以与外界环境接触,鳃小片更加容易进行气体交换。观察到泌氯细胞通常沉积在扁平上皮细胞的下面,在扁平细胞之间产生开孔,与Laurent^[17]及Hossler^[18]等所观察结果相一致。泌氯细胞游离端存在着排泄小泡,分泌氯化物,用来维持体内渗透压平衡,泌氯细胞被证明在海水硬骨鱼类中起到调节渗透压和离子平衡的作用。驼背鲈的鳃丝和鳃小片分布有大量的泌氯细胞,此结构适应于高盐度的海水环境。

参考文献:

- [1] 区又君,李加儿,陈福华. 驼背鲈的形态和生物学性状[J]. 中国水产科学, 1999, 6(1): 24-26.
- [2] 区又君,廖锐,李加儿. 驼背鲈的年龄与生长特征[J]. 水产学报, 2007, 31(5): 623-632.
- [3] 区又君,谢菁. 驼背鲈的染色体核型分析[J]. 南方水产, 2007, 3(5): 49-53.
- [4] LAINING A, RACHMANSYAH, AHMAD T, et al. Apparent digestibility of selected feed ingredients for humpback grouper, *Cromileptes altivelis* [J]. Aquaculture, 2003, 218: 529-538.
- [5] SHAPAWI R, NG W, MUSTAFA S. Replacement of fish meal with poultry by-product meal in diets formulated for the humpback grouper, *Cromileptes altivelis* [J]. Aquaculture, 2007, 273: 118-126.
- [6] HUGHES G M. Scanning electron microscopy of the respiratory surfaces of trout gills [J]. J Zool, 1979, 187: 443-453.
- [7] 郭淑华,王良臣. 鲤鳃表面结构扫描电镜研究[J]. 水生生物学报, 1988, 12(1): 54-58.
- [8] 韩桢锸,宋学君,岳丙宜. 草鱼鳃扫描电镜研究[J]. 南开大学学报: 自然科学版, 1992, 15(2): 12-17.
- [9] 方展强,邱玫,王春风. 剑尾鱼鳃结构的光镜、扫描和透射电镜观察[J]. 电子显微学报, 2004, 23(5): 553-559.
- [10] 李加儿,区又君,刘匆. 红笛鲷和卵形鲳鲹的扫描电镜观察与功能探讨[J]. 海洋水产研究, 2007, 28(6): 45-50.
- [11] LEWIS S V, PORTER I C. A scanning electron microscopic study of the gills of lamprey, *Lampetra fluniatilis* (L.) [J]. Micron, 1976, 7: 205-211.
- [12] 黄建华,李加儿,刘匆,等. 鲢点石斑鱼和大眼鳊的扫描电镜观察[J]. 动物学研究, 2005, 26(1): 82-88.
- [13] 但学明,张耀光,谢小军. 南方鲇鳃的光镜和扫描电镜观察[J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 1999, 24(6): 665-673.
- [14] 董双林,李群,王莉,等. 几种鲤科鱼类鳃的研究: I 呼吸面积的研究[J]. 大连水产学院学报, 1989, 4(3/4): 41-46.
- [15] 李加儿,许晓娟,区又君,等. 浅色黄姑鱼鳃结构及其呼吸面积的研究[J]. 南方水产, 2008, 4(1): 22-27.
- [16] 王志余,董双林. 鲢鳃丝扫描电镜观察[J]. 大连水产学院学报, 1990, 5(2): 69-86.
- [17] LAURENT P. Gill internal morphology [M]//HOAR W S, RANDALL D J. Fish Physiology: Vol. 10A: Gills. New York: Academic Press, 1984: 148-151.
- [18] HOSSLER F E, RUBY J R, MELLWAIN T D. The gill arch of the mullet, *Mugil cephalus*: II. Modification in surface ultrastructure and Na/K-ATPase content during adaptation to various salinities [J]. J Exp Zool, 1979, 208: 399-405.

【责任编辑 柴 焰】

(上接第85页)

参考文献:

- [1] OKAMURA H, TSUTSI H, KOMATSU T, et al. Cloning of a new cytokine that induces IFN- γ production by T cells [J]. Nature, 1995, 378(2): 88-91.
- [2] USHIO S, NAMBA M, OKURA T, et al. Cloning of the cDNA for human IFN- γ -inducing factor, expression in *Escherichia coli*, and studies on the biologic activities of the protein [J]. Immunol, 1996, 156(11): 4274-4279.
- [3] SCHNEIDER K, PUEHLER F, BAEUBRLE D, et al. cDNA cloning of biologically active chicken interleukin-18 [J]. Interferon Cytokine Res, 2000(20): 879-883.
- [4] BILLAUT-MULOT O, IDZIOREK T, LOYENS M, et al. Modulation of cellular and humoral immune responses to a multiepitopic HIV DNA vaccine by interleukin-18 DNA immunization/viral protein boost [J]. Vaccine, 2001, 19(20): 2803-2811.
- [5] 陈建忠,朱海红,刘克洲,等. IL-18 重组体联合 HBVS 基因核酸疫苗免疫小鼠的实验[J]. 中华传染病杂志, 2000, 20(3): 156-159.
- [6] WINFRIED G D, HANNEKE V Z, NICOLETTE C S, et al. Potentiation of humoral immune responses to vaccine antigen by recombinant chicken IL-18 (rChIL-18) [J]. Vaccine, 2005, (23): 4212-4218.
- [7] 温纳相,黄青云,陈金顶. 鸡 IL-18 基因克隆与序列测定[J]. 动物医学进展, 2003, 24(2): 64-66.
- [8] 温纳相,黄青云,束长娥. 鸡 IL-18 基因重组真核表达载体的构建及其表达产物的生物学活性[J]. 中国兽医科技, 2005, 35(7): 547-550.
- [9] 曹素芳,黄青云,韩先干,等. 禽巴氏杆菌 C₄₈₋₁ 外膜蛋白 H 基因与鸡 IL-18 基因真核共表达载体的构建及表达[J]. 中国兽医学报, 2006, 26(4): 382-384.
- [10] 高彦生,王冲,胡媛. 2006 年 11 月国际动物疫情[J]. 中国动物检疫, 2007, 34(1): 163-166.
- [11] 王兴龙. 新城疫病毒分子生物学[J]. 动物科学与动物医学, 2001, 18(3): 28-30.
- [12] 程相朝,吴庭才,张春杰,等. NDV 基因 DNA 疫苗对新城疫病毒灭活油乳苗的免疫协同作用[J]. 中国免疫学杂志, 2006, 22(10): 901-905.
- [13] 姜永厚,刘忠贵,陈奖励,等. 鸡 IL-2 在新城疫病毒基因疫苗免疫中的作用[J]. 中国兽医学报, 2002, 22(1): 22-24.
- [14] 萨姆布鲁克 J, 费里奇 E F, 曼尼阿蒂斯 T. 分子克隆实验指南[M]. 金冬雁,黎孟枫,译. 北京:科学出版社, 1998: 59-55.
- [15] DAVIS H L, MICHEL M L, WHALEN R G. DNA-based immunization for hepatitis B induces continuous secretion of antigen and high levels of circulating antibody[J]. Human Molecular Genetics, 1993, (13): 420-424.

【责任编辑 柴 焰】