

淡水育珠蚌外套膜表皮细胞分泌方式的研究

石安静 陈维群* 文秀英*

(四川大学生物系, 成都 610064)

提 要

用光学显微镜、相差显微镜、透射电镜、扫描电镜对3种淡水育珠蚌外套膜表皮细胞的分泌方式进行了观察研究。几种显微镜观察对比研究的结果表明, 外套膜细胞的分泌方式主要有小泡式的局部分泌; 液流式、缺口式的顶浆分泌和巨浆分泌; 分泌物排出时连同整个细胞一起排出和形成复层表皮后外层脱落的全浆分泌。内表皮细胞以小泡式和缺口式分泌为主; 外表皮细胞多为液流式分泌和全浆分泌。内表皮分泌活动表现为持续性和连续性的特点, 观察相邻细胞同时可见到各种不同的分泌时相; 外表皮分泌活动呈节律性和区段性的特点, 分泌活动旺盛的细胞区段和无分泌活动的区段相间出现。以上结果表明内、外表皮细胞在分泌方式及分泌物性质上均有显著差异, 这种差异反映了内、外表皮功能上的不同。

关键词 淡水育珠蚌类, 外套膜, 表皮细胞, 分泌方式

育珠蚌的外套膜能形成珍珠, 外套膜细胞的结构、功能与珍珠的质量有密切关系, 所以一直是研究者十分重视的研究对象。近年来国内、外进行了外套膜的组织培养、亚显微结构、珍珠囊形成的研究及贝壳钙化^[1-9]等研究, 但对外套膜细胞的分泌活动, 尤其是分泌方式等与珍珠质量有着密切关系及其珍珠形成机理有重要意义的问题, 则少见报道, 因此本文作者对外套膜细胞和组织培养的外套膜细胞的分泌方式, 通过几种显微镜进行了观察和比较研究, 希望为阐明珍珠形成机理提供有用的资料。

1 材料和方法

实验蚌是采用的我国可用来人工育珠的3种河蚌。三角帆蚌[*Hyriopsis cumingii* Lea]为南京浦口珍珠养殖场赠送; 褶纹冠蚌[*Cristaria plicata* Leach]是从湖南引种, 成都金堂自繁; 椭圆背角无齿蚌[*Anodonta woodiana elliptica* Heude]采自成都郊区龙泉驿池塘。分别取上述3种蚌的外套膜边缘膜和中央膜, 经固定包埋后制成石蜡切片和超薄切片, 通过光学显微镜和透射电镜进行观察。分别取外套膜内、外表皮进行组织培养, 用

本文是《珍珠形成机理》研究课题的一部分, 国家自然科学基金委员会资助。(39070668)

* 本校分析测试中心。

1991年8月20日收到。

倒置相差显微镜观察组织培养的活细胞；扫描电镜观察是将组织培养的细胞从培养瓶中摇下来（细胞贴壁不太紧），将培养液倒入离心管，以 1000r/min 的速度离心 5—6min，去掉培养基，用磷酸缓冲液（pH7.2）冲洗 3 次，让细胞滴在铺有 Froma 膜的小载片上，自然沉降 10min，用滤纸吸去多余的液体，再用戊二醛和锇酸固定，作临界点干燥及喷镀碳金后，进行扫描电镜观察。

2 结果

2.1 光学显微镜观察

在 4—5 月固定有旺盛分泌活动的外套膜边缘膜，H·E 染色后，内、外表皮着色性有显著不同。内表皮细胞间夹有许多粘液细胞，其胞质被苏木精染成深蓝色，着色程度比细胞核更深，表明粘液为酸性。外表皮中粘液细胞的胞质对苏木精和伊红均不着色，呈空虚状，表明粘液为中性，切片时切面未通过细胞核时呈杯状的空泡，切面通过细胞核时，可以观察到核位于细胞中部和基部。外套膜表皮细胞的分泌方式观察到有①小泡式的局部分泌；②液流式和开口式的顶浆分泌与巨浆分泌；③分泌物排出时连同整个细胞一起排出和形成复层表皮后排出外层表皮细胞的全浆分泌。同时内、外表皮的分泌方式有显著不同，内表皮以小泡式和缺口式分泌为主，外表皮以液流式和全浆分泌为主。

2.1.1 局部分泌 内表皮细胞的游离端往往突出一排排分泌小泡（图版 I:1），小泡有明显的细颈，胞内有颗粒和丝状物。小泡脱离胞体后成为圆形或团块状分泌物。

2.1.2 顶浆分泌和巨浆分泌 细胞分泌时顶端的部分细胞质和细胞器随分泌物一起排出，胞质排出不多的称顶浆分泌，胞质排出多的称巨浆分泌。内表皮的粘液细胞和大颗粒细胞以及粘液大颗粒混合细胞，主要以缺口式进行顶浆分泌。分泌开始时细胞顶端染色深的细胞质先脱离细胞，在顶端打开一个缺口，随后分泌物排出。粘液细胞分泌时往往由积聚在顶端的分泌物浓缩成一个被苏木精染色很深的盖（图版 I:2），盖打开后染色较浅的分泌物随后排出（图版 I:3）。大颗粒细胞分泌时也先形成缺口，然后分泌颗粒逐渐排出，有些细胞可观察到分泌物排出的路线（图版 I:4）。外表皮一般细胞以液流式进行顶浆分泌，外表皮细胞的游离端都不同程度地聚积着分泌颗粒，分泌颗粒不被苏木精和伊红染色而显棕色，表明具中性性质，分泌时分泌颗粒和部分胞质如液流样排出细胞。由于分泌活动是一区段的细胞同步进行，所以在胞外形成细或粗线状（图版 I:5）分泌物。外套膜的内、外褶表皮细胞多为顶浆分泌，以分泌物的多少形成不同粗细的线状分泌物。中褶外沟的表皮细胞几乎全为巨浆分泌，分泌物为块状，其基质被伊红染成粉红色，表明是中性或弱碱性，其中分布着棕色颗粒（图版 I:6）。

2.1.3 全浆分泌 外表皮细胞为低柱状，未分泌的区段细胞排列整齐，细胞核位于基部。在这些区段中常见到个别细胞的全浆分泌（图版 I:7），细胞分泌出表皮后，此处的细胞显得较疏松（图版 I:8）。分泌出表皮的细胞首先是胞质模糊不清，细胞核染色深，其后细胞核也变浅而成为均质的分泌团块。外表皮细胞在一些区段还形成复层表皮进行分泌，先是细胞核分裂，细胞拉长，逐渐形成二层或多层的复层表皮，外层的细胞由清晰变成模糊，最后脱离表皮成为团块状分泌物（图版 I:9，图版 II:10）。

2.2 相差显微镜观察

相差显微镜最适合观察活细胞,因此作者用来观察组织培养的活细胞的分泌活动。组织培养1—2d时,有许多表皮细胞从组织块上游离下来,开始细胞呈圆形、表皮光滑无颗粒。培养3—4d以后,无论是贴壁生长的多角形细胞还是继续在培养液中游动的圆形细胞,约有60—70%的均有许多分泌颗粒集中在细胞的一端,游离的正在进行液流式分泌的细胞,可观察到连在表面及较远处的许多分泌颗粒,以小泡式分泌的细胞,外形呈葫芦状(图版I:11)。

2.3 透射电镜观察

在透射电镜下也观察到表皮细胞有小泡式的局部分泌,缺口式的和液流式的顶浆分泌方式。

2.3.1 液流式 外套膜内、外表皮细胞均有这种分泌方式。分泌前细胞顶端形成许多电子密度大而体积较小的分泌小泡,分泌开始时先是细胞游离端的微绒毛脱落,然后较大面积的质膜溃散,分泌小泡和部分细胞质排出细胞时,形成液流状的分泌物流,细胞顶部有部分细胞质及细胞器如线粒体、内质网、核体等也随分泌物一起排出(图版II:12)。

2.3.2 缺口式 主要出现于内表皮的粘液细胞、大颗粒细胞和粘液大颗粒混合细胞的分泌活动。这类细胞中形成成群占体积很大的分泌小泡,分泌开始时游离端的微绒毛及质膜下电子密度高的分泌物先排出细胞外,在细胞游离端形成一个缺口(图版II:13,14),分泌物陆续从缺口排出,排完后细胞内电子密度极低,细胞呈空泡状,然后质膜逐渐封口,细胞恢复原状。在分泌物外排的质膜区,可观察到有集中的微丝分布,表明完成分泌物的排出和细胞恢复原状时,在质膜的溃散和修复中,微丝都起着重要作用。

2.3.3 小泡式 在细胞游离端含有待分泌物的部分,先形成指状的突起(图版II:15),然后突起伸长,基部变成细颈,最后脱离细胞成为分泌小泡,小泡中的分泌物形状和电子密度大小不同,分泌物脱离细胞后呈近圆形的团块。

2.4 扫描电镜观察

作者曾用扫描电镜在低倍镜下观察了外套膜的内、外表皮组织的表面,观察到有许多直径约为1μm的分泌小泡和无定形的分泌物。其分泌泡系内表皮多于外表皮^[4]。但是用扫描电镜观察外套膜组织块,则不易观察到个别细胞的分泌方式,因此作者将组织培养细胞取出,滴于盖玻片上,经固定、临界点干燥后,通过扫描电镜,可观察到外套膜表皮细胞的小泡式、液流式、缺口式的分泌方式。

组织培养的内表皮细胞,多以小泡式和缺口式进行分泌。分泌时在细胞一端突出形成球状小泡,小泡与胞体间有明显的细颈,细颈伸长,小泡脱离细胞成为小分泌泡。缺口式分泌是在细胞分泌端出现一个缺口,分泌物从缺口排出,从正面观察已结束分泌的细胞,可见到分泌物排出的孔隙及边缘残留下的少许分泌颗粒(图版II:16)。组织培养的外表皮细胞,多以液流式进行分泌;从正面观察正在分泌的细胞,在细胞分泌端附着有许多小颗粒、细丝及无定形分泌物(图版II:17)。细胞分泌时需要一定压力将分泌物压出,因此可观察到细胞中部压出分泌物时形成的凹陷。

2.5 三种蚌分泌方式的比较

实验用的3种淡水育珠蚌,外套膜细胞的分泌方式,通过四种显微镜比较研究的结

果,分泌方式基本上是相同的,即都有小泡式的局部分泌;液流式、缺口式的顶浆分泌和巨浆分泌;单个细胞和形成复层表皮的全浆分泌。内表皮以小泡式和缺口式分泌为主,外表皮以液流式和全浆式分泌为主。内表皮中大颗粒细胞和粘液细胞很多,光学显微镜下一个视野可以观察到多种细胞进行分泌及分泌的不同时相,表明内表皮细胞的分泌活动有连续性和持续性。外表皮常表现为分泌的区段和未分泌的区段相间出现,说明外表皮的分泌活动有节律性和区段性。3种蚌在分泌活动旺盛的程度上,有个体差异,但没出现有规律的种间差异。三角帆蚌外套膜内表皮中,大颗粒分泌细胞数量很多,而褶纹冠蚌、椭圆背角无齿蚌的内表皮中大颗粒分泌细胞极少。

3 讨论

3.1 几种显微镜观察的分泌方式的一致性

从透射电镜观察表皮细胞分泌方式的超微结构,扫描电镜观察细胞分泌方式的表面形态,都看到外套膜表皮细胞的分泌方式,有小泡式、缺口式、液流式分泌。倒置相差显微镜观察组织培养的活细胞,由于放大倍数低,分辨率不及电镜高,所以只观察到液流式、小泡式分泌。光学显微镜由于观察视野广泛,便于摄影比较,除了观察到液流式、小泡式、缺口式分泌外,还观察到全浆分泌和形成复层表皮后,外面1至几层细胞脱落分泌的方式。通过上述几种显微镜,从细胞的不同层次进行观察研究,互相印证,所得结果基本上是一致的,表明淡水育珠贝的确存在小泡式的局部分泌、缺口式和液流式的顶浆分泌与巨浆分泌,以及单细胞或多细胞的全浆分泌。

3.2 3种淡水育珠蚌表皮细胞分泌方式有同一性,分泌细胞类型有差异。

实验用的3种人工育珠河蚌,外套膜表皮细胞的分泌方式基本相同,但随着季节的不同、水温的变化、水质状况、个体差异等因素,分泌活动的旺盛程度却有一定的差异。特别值得提及的是大颗粒分泌细胞,只在三角帆蚌的内表皮细胞中数量很多,而褶纹冠蚌和椭圆背角无齿蚌的表皮细胞中极为少见。表明3种蚌分泌细胞类型有一定差异。3种蚌中三角帆蚌是最优良的育珠蚌,所产的珍珠,珠质细腻,光泽好。在结晶学上珍珠(贝壳最内层)和棱柱层(贝壳中间层)主要由碳酸钙形成。珍珠层是有光泽的霰石形结晶,棱柱层是无光泽的方解石结晶。3种蚌外套膜分泌细胞的类型差异,可能与珍珠质量有一定关系,这是值得进一步深入研究的问题。

3.3 内、外表皮分泌特点和分泌物性质与功能相适应。

内、外表皮细胞的分泌特点有显著不同,内表皮的分泌物为酸性,分泌活动有连续性和持续性;外表皮细胞的分泌物为中性或微碱性,分泌活动有节律性和区段性。这与其功能有一定关系。内表皮的全部细胞都直接与水体相接触,水中有许多对蚌有害的生物,内表皮的重要功能是分泌粘液起到保护作用,所以分泌的粘液具有较强的酸性,这对附着、接触内表皮表面的有害生物有抑制、杀害的作用,这种防御的功能对一直生活在水中的蚌来说,需要具有持续性。

内表皮细胞中分泌细胞数量多,且分泌物不断产生,使内表皮的分泌活动具有连续性,外表皮细胞贴着贝壳一面,由于外套膜边缘有角质膜与贝壳相连,使外表皮几乎与外

界隔离。外表皮的主要功能是分泌贝壳物质,随着贝的生长、发育,贝壳逐渐增大和增厚。贝的生长,即使在最旺盛的季节,也有其间断性和节律性。自然界的昼夜节律、潮汐节律、月运节律等对生物的生长都有一定的影响,因此伴随贝生长的贝壳成长也必然具有间断性。外表皮的分泌活动具有节律性和区段性显然是与其功能相适应的。

参 考 文 献

- [1] 石安静。我国淡水育珠蚌外套膜的组织学研究。淡水渔业,1981,(2):2。
- [2] 石安静、张兵。三角帆蚌外套膜的亚显微结构。水生生物学报,1987,11(3):236。
- [3] 石安静。河蚌外套膜的组织培养。水产学报,1983,7(2):153。
- [4] 石安静等。河蚌外套膜的扫描电镜观察。水产学报,1991,15(1):68。
- [5] 石安静等。三角帆蚌珍珠囊形成的研究。水产学报,1985,9(3):247。
- [6] 俞豪祥,三角帆蚌外套膜及珍珠囊的组织学初步观察。动物学杂志,1985,(1):1。
- [7] 町井昭,贝の組織培養。蛋白质 核酸酶素,1989,34(3):193。
- [8] 町井昭,真珍袋形成に関する組織学的研究。国立真珠研究所報告13,1968,1489—1539。
- [9] 和田浩爾,二枚貝貝殻石灰化における CaCO_3 結晶の成長。日本結晶成長学会誌,1985,12(1):57。

A STUDY ON THE MODES OF SECRETION BY THE PALLIAL EPIDERMIC CELLS IN THREE SPECIES OF FRESHWATER PEARLY MUSSELS

Shi Anjing, Chen Weiqiong and Wen Xiuying

(Biology Department, Sichuan University, Chengdu 610064)

Abstract

The mode of secretion by the pallial epidermic cells were studied in three species of pearly freshwater mussels, by using light microscope, phase contrast microscope, and transmission and scanning electron microscopes. The modes of secretion include: partial secretion of vesicle-type and long-foot type; apocrine and macroapocrine secretion of split-type and fluid-type; and holocrine secretion in which the secretory substances are exuded with the whole cell, or the exocuticle is detached from the formed stratified epithelium. The major secretion modes are vesicle-type and split-type for the endocuticle, and fluid-type and holocrine secretion for the exocuticle. The secretion by the endocuticle is sustained and continuous, and the neighboring cells may show different phases of secretion at the same time. In the exocuticle, the secretion appears to be rhythmic and regional; there may be strong secretion activities in one cell region but no secretion activities in another region. The apparent differences in the mode of secretion and property of secreted substances between endocuticle and exocuticle cells may reflect their differences in functions.

Key words Pearly freshwater mussels, Mantle, Epidermic cells, Mode of secretion

* * * * *

图版说明

图版 I

1. 褶纹冠蚌内表皮示小泡式分泌, $\times 3500$, N: 细胞核; H: 结缔组织; X: 粘液细胞; Y: 一般表皮细胞; ↑: 分泌小泡; 2. 三角帆蚌内表皮示粘液细胞浓缩的染色深的盖, $\times 3000$, X: 粘液细胞; E: 一般表皮细胞; F: 结缔组织; ↑: 染色深的盖; 3. 椭圆背角无齿蚌内表皮示正在进行缺口式分泌的粘液细胞, $\times 2500$, ↑: 已分泌的染色深的盖; ↓: 已分泌出泡外的粘液; 4. 三角帆蚌内表皮示正在分泌的大颗粒细胞, $\times 2000$, E: 内表皮细胞; Y: 大颗粒细胞; G: 结缔组织; ↑: 已分泌出细胞的大颗粒分泌物; 5. 椭圆背角无齿蚌外表皮示液流式分泌形成的分泌物线, $\times 2500$, F: 正在进行液流式顶浆分泌的细胞; ↑: 分泌物线; 6. 褶纹冠蚌外沟表皮细胞示片状分泌物中的棕黄色颗粒, $\times 2000$, E: 片状分泌物; ↑: 棕色分泌颗粒; 7. 褶纹冠蚌外表皮示全浆分泌, $\times 2000$, ^: 全浆分泌后表皮细胞中留下的空隙; ↑: 全浆分泌的细胞; 8. 三角帆蚌外表皮示全浆分泌及顶浆分泌, $\times 2000$, E: 顶浆分泌物; ↑: 全浆分泌后变得模糊不清的细胞核; @: 全浆分泌后留下的空隙; 9. 褶纹冠蚌外表皮示形成复层表皮细胞的全浆分泌, $\times 2000$, F: 复层表皮细胞; E: 已脱离表皮的全浆分泌的细胞; D: 细胞核已消失的全浆分泌物。

1. The paraffin section of endocuticle cell of *C. plicata*, showing vesicle-like secretion. $\times 3500$, N: nucleus; H: connective tissue; X: mucous cell; Y: general cuticle cells; ↑: secretory vesicle; 2. The paraffin section of endocuticle cell of *H. cumingii*, showing the deepcoloured cover of concentrated mucous cells. $\times 3000$, X: mucous cells; E: general cuticle cells; F: connective tissue; ↑: the deep-coloured cover; 3. The paraffin section of endocuticle cell of *A. woodiana elliptica*, showing mucous cells under split-type secretion. $\times 2500$. F: endocuticle cell; ↑: the secreted deep-coloured cover; ↑: the secreted mucous; 4. The paraffin section of endocuticle cell of *H. cumingii*, showing large granular cells under secretion. $\times 2000$, E: endocuticle cell; Y: large granular cell; G: connective tissue; ↑: the large granular substances secreted out of the cells; 5. The paraffin section of exocuticle cell of *A. woodiana elliptica*, showing lines formed by secretory substances in fluid-type secretion. $\times 2500$, F: the cell under fluid-type apocrine; ↑: line of secreted substances; 6. The paraffin section of cuticle between outer fold and middle fold of *C. plicata*, showing brownyellowish granule in flake-like secretory substances, $\times 2000$, E: flake-like secreted substances; ↑: brown-yellowish secreted granule; 7. The paraffin section of *C. plicata*, showing holocrine secretion of exocuticle cells. $\times 2000$. ^: the gap remaining in cuticle cell after holocrine secretion; ↑: holocrine secretory cell; 8. The paraffin section of *H. cumingii*, showing holocrine and apocrine secretion of exocuticle cells. $\times 2000$, E: apocrine secretory substances ↑: blurred nucleus after holocrine secretion; @: the gap remaining in cuticle after holocrine secretion; 9. The paraffin section of exocuticle cells of *C. plicata*, showing holocrine secretion forming stratified epithelium cells. $\times 2000$, F: stratified exocuticle cell; E: holocrine secretory cell separating from cuticle; D: holocrine secretory substances with nucleus disappeared.