

鲤稚幼体早期发育过程中粘液细胞的发生和变化

安利国¹ 孟广勋¹ 杨桂文¹ 尹 苗¹ 王钦东²

(1. 山东师范大学生物系, 济南 250014; 2. 山东省淡水水产研究所, 济南 250117)

摘要: 利用酸性条件下的阿新蓝染色和过碘酸-雪夫氏试剂反应相接合的方法(AB-PAS染色), 对鲤早期发育过程中粘液细胞的变化作了初步研究。结果表明, 鲤的粘液细胞在受精卵孵化前一天出现, 密度随个体的发育而增大, 成分随发育过程的进行而趋于复杂, 鲤的粘液细胞可分为四种类型, I型和II型含单一成分, 为幼稚型, III型和IV型含复合成分, 为成熟型, 鲤粘液细胞在不同组织器官中的分布是不均匀的, 其主要分布区是皮肤、口腔、鳃、消化道等部位。

关键词: 鲤; 发育; 粘液细胞

中图分类号: S965.116 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-3207(2001)02-0191-04

鱼类属于较低等的脊椎动物, 以血清免疫球蛋白为中心的特异性免疫机制刚刚出现, 还很不健全, 其粘液细胞行使着比较重要的免疫功能。这些粘液细胞广泛分布于鱼类体表、口腔、鳃和消化道等部位, 分泌的粘液能起到防止机械损伤、保持湿润、维持渗透压、抑菌和杀菌作用, 并能抵抗病原微生物的入侵, 在鱼类的防病抗病中发挥着重要作用。

20世纪60年代, 国外就开始了对鱼类粘液细胞的形态学、组织化学及生理作用诸方面的探索, 但在粘液细胞的发育和分化方面所作的工作不多, 也很不系统^[1-5], 国内在这方面的研究刚刚起步^[6-9]。本实验以AB-PAS染色方法对鲤早期发育过程中粘液细胞的变化作了较为系统的观察, 可望能为深入研究鱼类粘液细胞的发育和分化提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料 鲤(*Cyprinus carpio*. L)受精卵200粒, 正常, 无损伤, 取自山东省淡水水产研究所良种基地。

1.2 方法 材料培养于水族箱中, 通气, 定期换水。隔一定时间取材, 以Bouin's液固定, 常规石蜡包埋, 连续切片, AB-PAS染色^[17]。对不同发育阶段、不同部位的各种粘液细胞进行观察和统计分析。根据AB-PAS染色结果, 将粘液细胞分为四种类型: I型(红色); II型(蓝色); III型(紫红色); IV型(蓝紫色)。

收稿日期: 1999-09-27; 修订日期: 2000-03-12

基金项目: 山东省自然科学基金(项目编号: Q94D0222)

作者简介: 安利国(1958—), 男, 山东省利津县人; 教授, 博士; 主要从事鱼类免疫学研究

2 结果与讨论

2.1 鲤粘液细胞的分型

粘液细胞经 AB-PAS 染色后可呈现四类不同的颜色:红色、蓝色、紫红色和蓝紫色。可将鲤的粘液细胞分为四型:Ⅰ型,AB-PAS 染色呈红色,含有 PAS 阳性的中性粘多糖;Ⅱ型,AB-PAS 染色呈蓝色,含有 AB 阳性的酸性粘多糖;Ⅲ型,AB-PAS 染色呈紫红色,主要含有 PAS 阳性的中性粘多糖,同时含有少量 AB 阳性的酸性粘多糖;Ⅳ型,AB-PAS 染色呈蓝紫色,主要含有 AB 阳性的酸性粘多糖,同时含有少量 PAS 阳性的中性粘多糖。

Kitzan 和 Sweeny 最早对鱼类粘液细胞进行研究,根据 PAS 反应颜色的深浅不同将非洲肺鱼上皮组织中的粘液细胞分为三型,Ⅰ型为亮红色,Ⅱ型为淡红色,Ⅲ型为深红色^[1]。这种分类方法仅根据 PAS 反应颜色的深浅不同来划分类型,标准很难掌握,也不能准确地反映粘液细胞中的复杂成分。Sibbing 和 Uribe 根据粘液细胞的形态将鲤咽部的粘液细胞分为梨形、囊状和杯状三种类型^[4]。这种分类方法缺陷很大:第一,仅凭细胞形态分类,不能反映粘液细胞中的成分,而粘液细胞的功能与细胞内的粘多糖的成分是密切相关的,与细胞形态则关系不大;第二,粘液细胞由于分布位置不同可以有多种形态,因而仅凭细胞形态很难将全身各处的粘液细胞统一为一个标准;第三,由于粘液细胞是立体的,因而在切片平面上出现的形态不一定能代表细胞的整体形态,具有很大的片面性。在多年反复试验的基础上,对多种染色方法进行比较,作者认为根据 AB-PAS 反应的颜色将鱼类的粘液细胞分为四型是比较科学和实用的。pH2.6 时,AB 主要对酸性粘多糖着色,PAS 反应主要显示中性粘多糖,将 AB 和 PAS 相结合便能根据所显颜色不同比较好地反映粘液细胞中酸性粘多糖和中性粘多糖的含量变化,区别不同类型的粘液细胞。粘液细胞中粘多糖性质的不同直接反映了粘液细胞功能的差异,它比依细胞形态划分类型更有意义。

2.2 鲤早期发育过程中粘液细胞的发生与变化

鲤卵受精后卵壳表层出现大量含酸性粘多糖的 AB 阳性物质,受精后第 2d 在胚盘上表层出现 PAS 阳性物质,至受精后第 5d,在即将形成孵化腺的部位出现大量Ⅰ型粘液细胞。受精后第 6d 开始孵化,孵化后,构成孵化腺的Ⅰ型粘液细胞变为Ⅲ型。孵化腺是粘液细胞出现最早的部位,但是寿命很短,孵化后第 2d 便开始退化。刚孵化的幼鱼的粘液细胞主要集中在孵化腺部位和头部外侧皮肤,12h 后发现口腔、咽部和鳃上有了密度较大的粘液细胞。

不同部位的粘液细胞的形态和类型的分布差异较大,孵化后一个月以内,口腔上皮粘液细胞多数为Ⅳ型,呈单层分布;孵化一个月以后,此类粘液细胞变为以Ⅰ型和Ⅲ型为主。鳃上最早出现大量粘液细胞的部位为鳃弓,然后才在其他部位出现。咽部和消化道内的粘液细胞分化最为复杂,咽部粘液细胞呈多层分布,各型细胞都有,细胞形态多样,既有球形又有杯形和不规则形。孵化 22d 后,咽部两侧出现大量Ⅰ型粘液细胞。消化道中粘液细胞由咽、食道逐渐向后发展,孵化后第 8d,中肠处出现大量 AB 阳性物质覆盖于粘膜表面,其后,形成大量Ⅱ型粘液细胞。前肠和后肠主要为Ⅰ型和Ⅲ型粘液细胞。在孵化一个月后,接近肛门的后肠内出现大量的含有酸性粘多糖的Ⅳ型粘液细胞。

Sibbing 和 Uribe 等人曾提出鱼类粘液细胞中的成分反映了不同发育阶段的变化。作者认为,以中性粘多糖为主的Ⅰ型粘液细胞和以酸性粘多糖为主的Ⅱ型粘液细胞为幼稚型,同时含有中性和酸性粘多糖的Ⅲ型和Ⅳ型粘液细胞为成熟型。在鲤早期发育中,粘液细胞的类型变化与发育过程相一致。最早出现于孵化腺处的粘液细胞为Ⅰ型,随着孵化腺的成熟逐渐发展为Ⅳ型。孵化后第 2d 的后肠内首先出现的是Ⅰ型粘液细胞,随着发育,Ⅲ型粘液细胞逐渐增多,成鱼的后肠内主要是Ⅲ型粘液细胞。幼鱼皮肤的粘液细胞主要为Ⅱ型。而成鱼皮肤粘液细胞主要为Ⅳ型。

2.3 鲤早期发育过程中粘液细胞密度的变化

最早出现于孵化腺的粘液细胞密度很大,达 200 个/mm²,但第 2d 就开始退化。其后,在口腔、咽、鳃、皮肤、消化道等部位相继出现各种类型的粘液细胞,粘液细胞在孵化后的 5d 之内密度稍有增大,但变化并不明显。惟躯体皮肤粘液细胞密度急剧减小,孵化后第 5d,由孵化时的 260 个/mm² 降低到 20 个/mm²,孵化后第 9d,鱼体其他部位的粘液细胞密度多数都有所下降,分析其原因,可能是由于该时期鱼的生长速度较快,造成粘液细胞密度的相对减少。躯体的生长速度高于其他部位,从而使躯体皮肤粘液细胞的密度骤降。到孵化后第 13d 粘液细胞密度开始回升,除腹部的密度仍远低于孵化早期外,其余各部位基本与孵化早期相当。从孵化后 13d 到 26d,各组织器官的粘液细胞密度仍逐渐增大,到孵化后第 30d 时,各部位粘液细胞密度都已达到较高水平,但与成鱼相比,粘液细胞密度仍然较低(表 1)。

表 1 鲤早期发育过程中不同组织器官内粘液细胞的密度变化(单位:个/mm²)

Tab.1 The density of mucous cells in different tissues and organs in the early developmental stage of carp

孵化后 天数	口 腔		皮 肤		鳃弓	咽	消化道		
	顶部	底部	头部	腹部			前肠	中肠	后肠
1	175	191	11	260	246	297	215	169	157
2	167	147	17	110	172	263	203	178	112
3	192	189	27	25	237	292	253	201	163
5	202	173	26	20	248	237	226	194	175
9	168	157	14	11	169	259	209	148	176
13	189	190	47	20	208	373	227	178	136
17	194	159	46	17	158	273	264	227	146
22	166	163	70	20	190	253	236	266	162
26	216	179	133	21	200	273	245	295	230
30	366	340	162	30	322	281	221	322	250
成鱼	441	441	167	50	760	316	308	297	402

参考文献:

[1] Kitzan S M, Sweeny P R. A light and electron microscope study of the structure of *Protopterus annectens* epidermis. I. Mucus production [J]. *Can. J. Zool.*, 1968, 46:767—772

[2] Shan K K, Agarwal S K. Histochemistry of adhesive disc epidermis of a hill stream fish, *Garra gotyla* [J]. *J.*

- Anim. Morphol.*, 1991, **38**(1,2):9—12
- [3] Singh S K, Mittal A K. A comparative study of the epidermis of the common carp and the three Indian major carp [J]. *J. Fish. Biol.*, 1990, **36**:9—19
- [4] Sibbing F A, Uribe R. Regional specializations in the oro-pharyngeal wall and food processing in the carp (*Cyprinus carpio* L.) [J]. *Netherlands J. Zool.*, 1985, **35**(3):377—422
- [5] Uehara K. Function of the cytoskeleton in cells with microridges from the oral epithelium of the carp *Cyprinus carpio* [J]. *Cell Tissue Res.*, 1994, **276**:45—50
- [6] Meng G X, An L G, et al. Ontogeny of Immune Related Organs during Early Development of Carp (*Cyprinus Carpio* L.) [J]. *Devel and Reproductive Biology*, 1999, **8**(2):33—41
- [7] 杨桂文、安利国等. 鱼类粘液细胞研究进展[J]. 水产学报, 1999, **23**(4):403—408
- [8] 尹 苗、安利国等. 鲤鱼粘液细胞类型的研究[J]. 动物学杂志, 2000, **35**(1):8—9
- [9] 安利国、尹 苗, 等. 鲤幼鱼粘液细胞对不同 PHA 刺激方式的反应[J]. 齐鲁渔业, 2000, **17**(1):27—29

MUCOUS CELLS IN THE EARLY DEVELOPMENTAL STAGE OF CARP

AN Li-guo¹, MENG Guang-xun¹, YANG Gui-wen¹, YIN Miao¹
and WANG Qin-dong²

(1. Department of Biology, Shandong Normal University, Jinan 250014;

2. Fresh Water Fisheries Research Institute of Shandong Province, Jinan 250117)

Abstract: In this paper, changes of mucous cells in the early developmental stage of carp, *Cyprinus carpio*, were studied by the method of histochemical techniques—a combination of Alcine Blue staining under acid conditions and PAS reaction. The mucous cells were first observed in hatching glands at the 1st day before hatching. They appeared immediately in the mouth cavity, pharynx, gills and gut after hatching. With the development of the carp, the density, type and content of mucous cells increased and became complicated. Type I and Type IV of mucous cells containing unitary mucoitin are in immature stage and appeared earlier than Type II and Type III which are in mature stage and contain multiple mucoitins. The mucous cells mainly distributed in mucousal epidermis of such organs as skin, mouth, gill and intestine.

Key words: Carp (*Cyprinus carpio* L.); Development; Mucous cell