

幼龄皱纹盘鲍唾液腺和消化腺的超微结构与组织化学*

卞建春^{①②} 崔龙波^{②③} 周雪莹^③ 陆瑶华^③

(^①扬州大学畜牧兽医学院 扬州 225009; ^②东北农业大学生命科学学院 哈尔滨 150030;

^③烟台大学生物化学系 烟台 264005)

摘要:以透射电镜观察和组织化学方法研究了45日龄皱纹盘鲍的唾液腺和消化腺。唾液腺由粘液细胞和纤毛细胞组成,粘液细胞含发达的粗面内质网和大量的粘原颗粒,分泌中性和酸性混合粘多糖。消化腺由消化细胞和嗜碱性细胞组成,消化细胞呈现活跃的内吞和细胞内消化,并具蛋白酶和非特异性酯酶活性。嗜碱性细胞含发达的粗面内质网和大量含铁的折光小体,折光小体的电子密度较低。

关键词:皱纹盘鲍;幼鲍;唾液腺;消化腺;超微结构;组织化学

中图分类号:Q954 **文献标识码:**A **文章编号:**0250-3263(2002)05-10-04

Ultrastructure and Histochemistry of the Salivary and Digestive Glands of the Juvenile Abalone *Haliotis discus hannai*

BIAN Jian-Chun^{①②} CUI Long-Bo^{②③} ZHOU Xue-Ying^③ LU Yao-Hua^③

(^① Veterinary College, Yangzhou University Yangzhou 225009;

^② College of Life Science, Northeast Agricultural University Harbin 150030;

^③ Department of Biochemistry, Yantai University Yantai 264005, China)

Abstract:The salivary and digestive glands of 45 day-old abalone *Haliotis discus hannai* Ino were examined with a transmission electron microscopic and histochemical techniques. The salivary gland consisted of mucous cells and ciliated cells. The mucous cells contained well-developed rough endoplasmic reticulum and a number of mucous pro-granules, and secreted neutral and acid mucopolysaccharide. The digestive gland consisted of digestive cells and basophilic cells. The digestive cells showed active endocytosis and intracellular digestion, and also proteinase and non-specific esterase activity. There were well-developed rough endoplasmic reticula and many refractile spherules containing iron in the basophilic cells. The spherules had low electron density.

Key words: *Haliotis discus hannai*; Juvenile abalone; Salivary gland; Digestive gland; Ultrastructure; Histochemistry

皱纹盘鲍(*Haliotis discus hannai*)隶属腹足纲、前鳃亚纲、原始腹足目、鲍科,是鲍类个体中较大者,肉味鲜美,为海产中的珍品,现已在我国北方沿海大量人工养殖。幼鲍以单细胞藻类为食,成鲍则食以褐藻、红藻等大型藻类。唾液

腺和消化腺是腹足类与消化有关的两个腺体,

* 国家自然科学基金资助项目(No.39470351);

第一作者介绍 卞建春,36岁,男,博士研究生,讲师;主要从事动物营养代谢、疾病防治方面的研究。

收稿日期:2001-08-02,修回日期:2002-03-10

崔龙波等对成年皱纹盘鲍的唾液腺和消化腺进行了光镜与电镜研究^[1,2],周雪莹等研究了45日龄皱纹盘鲍唾液腺和消化腺的组织学结构^[3]。在人工育苗过程中,当生长至45 d左右时,由于幼鲍最初附着的藻板上的藻类将要被其吃光,需要把幼鲍从藻板上剥离,改投干的藻类饵料饲喂。这是皱纹盘鲍人工育苗、养殖过程中最重要的一次生活环境和食性的改变。此时幼鲍的唾液腺和消化腺是否发育完善,是否具有与成鲍一样的结构和功能,从而适应环境的变化?作者通过透射电镜观察和组织化学方法以期解决上述问题,为皱纹盘鲍的人工育苗与养殖提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料 45日龄的皱纹盘鲍于从藻板上剥离前取自烟台隆海珍品养殖场,鲍壳长2.30~2.40 mm,壳宽1.80~2.10 mm。去壳后,解剖取出头端(包含唾液腺)和内脏团(包含消化腺),进行以下研究。

1.2 方法

1.2.1 超微结构研究 组织块用2.5%戊二醛液和1%锇酸液双固定,梯度丙酮脱水,Epon 812环氧树脂包埋,切片厚50~70 nm,醋酸铀和柠檬酸铅双重染色。JEM-1200EX型透射电镜观察。

1.2.2 组织化学研究 组织块分别置于10%中性福尔马林液、Bouin氏液或Carnoy氏液固定,石蜡包埋,切片厚5~8 μm ,进行以下染色: PAS反应显示多糖,唾液消化后PAS反应显示糖原,Alcian蓝-PAS反应区分中性与酸性粘多糖,汞溴酚蓝法显示蛋白质,甲基绿派洛宁法显示DNA和RNA,以及Turnbull氏蓝法显示铁。

另取新鲜组织块直接于恒冷冰冻切片机上切片,切片厚6~10 μm ,切片分别进行以下染色:Cuningham氏明胶薄膜法显示蛋白酶,Gomori氏吐温(40和80)法显示脂酶,酸性乙酸- α -萘酚-六偶氮对品红法显示非特异性酯酶,Gomori氏硝酸铅法显示酸性磷酸酶,Gomori氏钙钴法显示碱性磷酸酶,以及苏丹黑B法显示脂类。

以上组织化学方法见文献[4]。

2 结果

2.1 超微结构研究 45日龄皱纹盘鲍唾液腺由大量的粘液细胞和少量的纤毛细胞组成^[3]。粘液细胞含发达的粗面内质网,内质网呈扁囊状或小管状;高尔基体位于细胞中部,线粒体散布于细胞内;细胞内充满大量的粘原颗粒(图版I:1)。当粘原颗粒数量增加时,粗面内质网等细胞器被挤压于细胞基部。纤毛细胞游离缘有稀疏的纤毛及长约1.5 μm 的微绒毛,纤毛基体及纤毛小根清晰可见,纤毛小根之间含许多线粒体(图版I:2)。

幼鲍消化腺由消化细胞和嗜碱性细胞组成^[3]。消化腺细胞游离端有短的微绒毛,游离端质膜内陷,包含腺管腔内容物,质膜下见内吞泡(图版I:3)。细胞内散布许多线粒体(图版I:4)。消化细胞内含有大量膜包绕的囊泡,囊泡平均直径2.5 μm ,大的囊泡直径可达5.0 μm ,囊泡一般呈圆形或不整圆形,其内容物无定形结构,电子密度较低(图版I:4);但至细胞基部,囊泡形状变得不规整,内容物聚缩,电子密度增加,内容物与膜之间有透明的晕环(图版I:5)。在细胞中部囊泡的周围,可见直径约0.3 μm 、呈中等电子密度的初级溶酶体(图版I:6)。消化细胞中、基部还含有许多脂滴,细胞核位于基部。嗜碱性细胞含发达的粗面内质网,内质网呈小管状或扁囊状(图版I:7),较多的线粒体散布于细胞内,高尔基体及少量的分泌颗粒位于细胞中部。细胞顶端存在大量的折光小体,折光小体平均直径1.8 μm ,呈球形,外由膜包绕,膜与内容物之间有较宽的晕环,内容物电子密度较低;少数小体的内容物有一电子致密的核心,多数小体的内容物呈环层状结构(图版I:7)。

2.2 组织化学研究

2.2.1 PAS反应 唾液腺粘液细胞细胞质及消化腺消化细胞的囊泡呈紫红色,表明含多糖。

2.2.2 唾液消化后PAS反应 唾液腺和消化腺均呈阴性,表明不含糖原。

2.2.3 Alcian 蓝-PAS 反应 唾液腺粘液细胞细胞质呈紫红色或蓝色,表明分泌中性和酸性粘多糖(图版 I:8)。消化腺消化细胞的囊泡亦呈紫红色或蓝色。

2.2.4 汞溴酚蓝法 消化腺消化细胞的囊泡呈淡蓝色,嗜碱性细胞细胞质呈深蓝色,表明含蛋白质。

2.2.5 甲基绿派洛宁法 唾液腺粘液细胞细胞质及消化腺嗜碱性细胞细胞质和核仁呈红紫色,表明含丰富的 RNA。

2.2.6 Turnbull 氏蓝法 消化腺嗜碱性细胞的折光小体呈蓝色,表明含铁。

2.2.7 Cunnigham 氏明胶薄膜法 消化腺消化细胞和嗜碱性细胞及腺管腔呈透明,表明具蛋白酶活性(图版 I:9)。

2.2.8 Gomori 氏吐温法 唾液腺和消化腺均呈阴性,表明不具脂酶活性。

2.2.9 酸性乙酸- α -萘酯-六偶氮对品红法 消化腺消化细胞细胞质及嗜碱性细胞顶端细胞质呈棕红色,表明具非特异性酯酶活性(图版 I:10)。

2.2.10 Gomori 氏硝酸铅法 消化腺消化细胞中部有黑色颗粒,表明具酸性磷酸酶活性。

2.2.11 Gomori 氏钙钴法 消化腺消化细胞基底端质膜呈黑色,表明具碱性磷酸酶活性(图版 I:11)。

2.2.12 苏丹黑 B 法 消化腺消化细胞及嗜碱性细胞内有黑色颗粒,表明含脂类。

3 讨论

成年皱纹盘鲍的唾液腺由 3 种细胞组成: I 型粘液细胞、II 型粘液细胞和纤毛细胞^[1]。而 45 日龄幼鲍的唾液腺仅由一种粘液细胞和纤毛细胞组成^[3]。本研究表明幼鲍唾液腺粘液细胞含大量的粘原颗粒,分泌中性和酸性混合粘多糖,类似于成鲍唾液腺的 II 型粘液细胞。幼鲍唾液腺腺管短^[3],缺乏 I 型粘液细胞,表明幼鲍唾液腺尚未发育成熟。但同成鲍一样,幼鲍的唾液腺仅分泌粘液物质,无酶的活性。唾液腺的纤毛细胞可以通过纤毛的摆动排出唾

液。

幼鲍消化腺消化细胞游离端质膜内陷,内吞外源性食物,细胞内含大量的囊泡,囊泡的周围有初级溶酶体,细胞内具酸性磷酸酶活性,这些结果表明消化细胞呈现活跃的内吞和细胞内消化作用^[2,5,6]。在细胞基部,内容物较致密的囊泡为未消化或消化不了的残余小体^[5]。细胞内含许多脂类,基底端质膜呈碱性磷酸酶活性,而碱性磷酸酶与物质的跨膜运输有关^[7],表明经消化细胞消化所获取的营养物质或转变为脂类贮存起来或通过基底端质膜转运至胸腔。此外,消化细胞还呈现蛋白酶和非特异性酯酶活性。本研究表明,45 日龄幼鲍消化腺消化细胞的结构与功能已同成鲍完全一致,这对于作为皱纹盘鲍最发达、最主要的消化吸收器官的消化腺来讲是非常重要的。幼鲍消化腺嗜碱性细胞的超微结构和组化性质与成鲍的基本一致,即有发达的粗面内质网和大量含铁的折光小体,具蛋白酶和非特异性酯酶活性^[2]。但成鲍嗜碱性细胞折光小体的内容物电子致密,而幼鲍的电子密度较低或仅其中央有一电子致密的核心,表明幼鲍的折光小体尚处于未成熟阶段。折光小体可能与解毒作用有关^[8]。

参 考 文 献

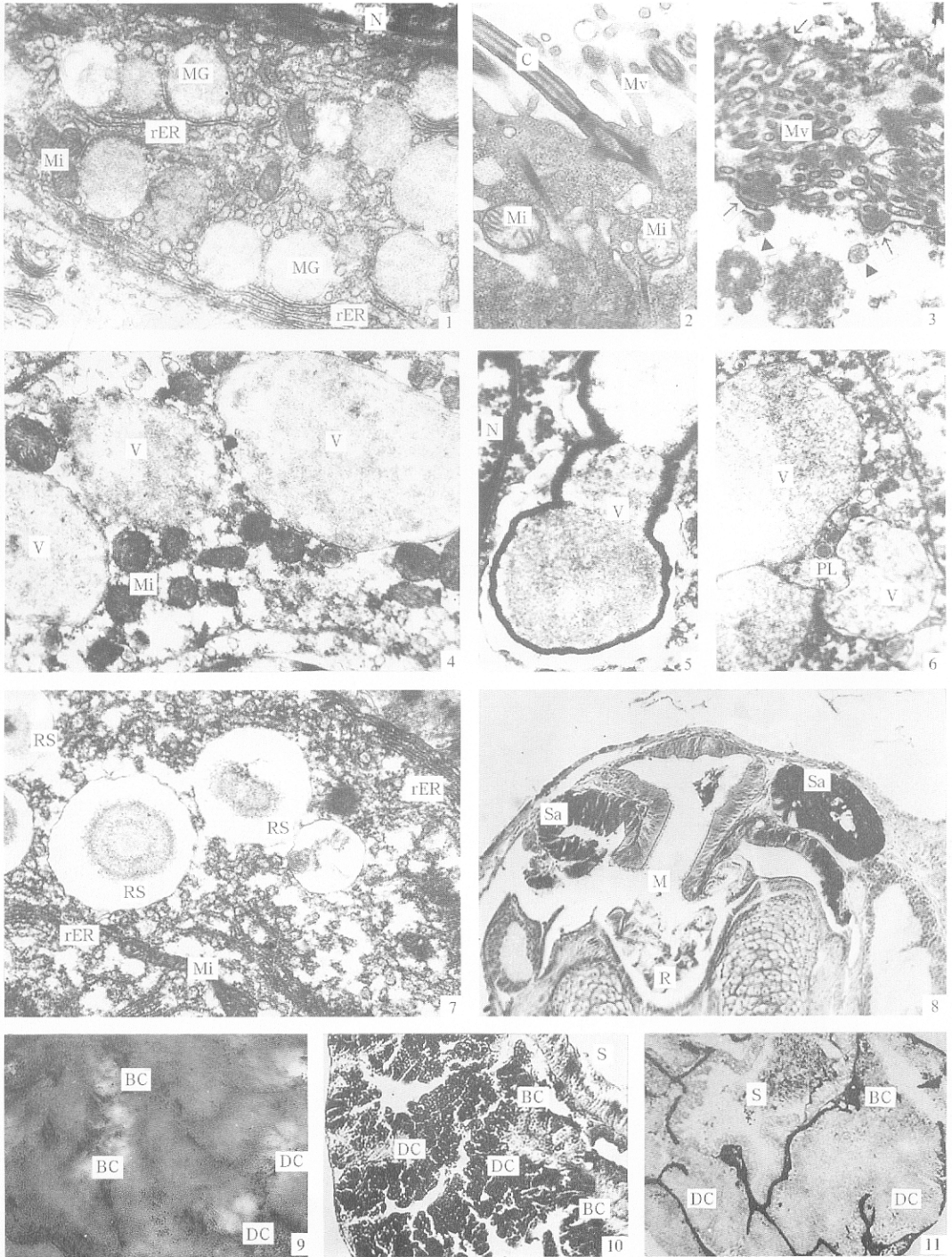
- [1] 崔龙波,陆瑶华,刘晨临等.皱纹盘鲍唾液腺的电镜与光谱研究.海洋学报,2000,21(1):141~144.
- [2] 崔龙波,刘传琳,刘迅等.皱纹盘鲍消化腺细胞类型和分泌产物.动物学报,2001,47(1):32~37.
- [3] 周雪莹,崔龙波,陆瑶华.幼龄皱纹盘鲍消化系统的组织学研究.烟台大学学报,2001,14(2):125~130.
- [4] Pearse A G E. Histochemistry, Theoretical and Applied. London: Churchill Livingstone, 1983.
- [5] Owen G. Lysosomes, peroxisome and bivalves. *Sci Prog Oxf*, 1972, 60:299~318.
- [6] Wigham G D. Feeding and digestion in the marine prosobranch *Rissoa parva* (Da Costa). *J Moll Stud*, 1976, 42:74~94.
- [7] Franchchini A, Ottaviani E. Intestine cell types in the freshwater snail *Planorbis corneus*: histochemical, immunocytochemical and ultrastructural observation. *Tissue Cell*, 1992, 24:387~396.
- [8] Mason A Z, Simkiss K, Ryan K P. The ultrastructural localization of metals in specimens of *Littorina littorea* collected from

clean and polluted sites. *J Mar Biol Ass UK*, 1984, **64**: 699 ~ 720.

图 版 说 明

1. 唾液腺粘液细胞 $\times 10\ 000$; 2. 唾液腺纤毛细胞 $\times 12\ 000$; 3. 消化腺消化细胞游离端, 示质膜内陷(\uparrow)和内吞泡(\blacktriangle) $\times 12\ 000$; 4. 消化腺消化细胞中部 $\times 12\ 000$; 5. 消化腺消化细胞基部 $\times 10\ 000$; 6. 消化腺消化细胞中部 $\times 8\ 000$; 7. 消化腺嗜碱性细胞 $\times 10\ 000$; 8. 口与唾液腺横切面 $\times 100$; 9. 消化腺 $\times 50$; 10. 内脏团横切面 $\times 100$; 11. 内脏团横切面 $\times 50$

BC: 嗜碱性细胞; C: 纤毛; DC: 消化细胞; M: 口; MG: 粘原颗粒; Mi: 线粒体; Mv: 微绒毛; N: 细胞核; PL: 初级溶酶体; R: 齿舌; rER: 粗面内质网; RS: 折光小体; S: 胃; Sa: 唾液腺; V: 囊泡



图版说明见文后