

四指马鲛稚鱼、幼鱼和成鱼消化道 黏液细胞组织化学研究

谢木娇^{1,2} 区又君¹ 李加儿^{1*} 温久福¹ 王鹏飞¹ 王 雯^{1,2} 陈世喜^{1,2}

(¹中国水产科学研究院南海水产研究所, 农业部南海渔业资源开发利用重点实验室, 广州 510300;

²上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要 采用常规石蜡组织切片及阿利新兰-高碘酸雪夫-试剂(AB-PAS, AB, pH2.5)染色方法对四指马鲛(*Eleutheronema tetradactylum*)稚鱼、幼鱼和成鱼消化道中黏液细胞的组织化学特征进行观察。35日龄稚鱼消化道黏液细胞数量少, 种类单一, 食道含数量较多的II型黏液细胞, 偶见I型黏液细胞; 幽门盲囊未检测出黏液细胞的分布; 前肠以I型黏液细胞为主, 有少量III型黏液细胞, 中肠和后肠均只有II型黏液细胞。65日龄幼鱼消化道各段黏液细胞数量明显增多, 种类丰富, 食道、前肠和中肠均含I、II、III、IV型4种类型的黏液细胞, 其余均含至少两种类型的黏液细胞, 食道黏液细胞密度最大, 其次是后肠。成鱼食道、幽门盲囊均含II型和IV型黏液细胞, 但后者两型黏液细胞数量都比较少; 胃部含有大量I型黏液细胞, 胃腺区域则以IV型黏液细胞为主; 肠道只含III、IV型黏液细胞, 黏液细胞密度从前到后呈递增规律。稚鱼、幼鱼、成鱼消化道黏液细胞的分布特点体现消化道结构功能逐渐发育完善的规律。

关键词 四指马鲛; 消化道; 组织化学; 黏液细胞

A Comparative Histochemical Study on Mucous Cells in Digestive Tract of *Eleutheronema tetradactylum* with Juvenile, Young and Adult Fish

Xie Mujiao^{1,2}, Ou Youjun¹, Li Jiaer^{1*}, Wen Jiufu¹, Wang Pengfei¹, Wang Wen^{1,2}, Chen Shixi^{1,2}

(¹Key Laboratory of South China Sea Fishery Resources Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture,

South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences,

Guangzhou 510300, China; ²College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract Histochemical properties of mucous cells in digestive tract of *Eleutheronema tetradactylum* juvenile, young and adult fish were studied. The technology of AB-PAS (Alician blue and periodic acid Schiff reagent, Alician blue at pH2.5) staining was used in this paper. It displayed few type I mucous cells while many type II mucous cells in the esophagus of 35-day-old juvenile; Type I and type III mucous cells could be detected in foregut, the former seemed to be much in number than the latter. There were only type II mucous cells detected in midgut and hindgut, while no mucous cell was figured out in pyloric caeca. It could be described as a mounts of mucous cells exposing in the digestive tract of 65-day-old young fish. There were four types of mucous cells (I, II, III, IV)

收稿日期: 2015-05-11 接受日期: 2015-08-10

广东省省级科技计划项目(批准号: 2014A020217010)、广东省海洋渔业科技推广专项科技攻关与研发项目(批准号: A201401A05)和中央级公益性科研院所(中国水产科学研究院南海水产研究所)基本科研业务费专项资金项目(批准号: 2014YD04)资助的课题

*通讯作者。Tel: 020-34063235, E-mail: lje001@126.com

Received: May 11, 2015 Accepted: August 10, 2015

This work was supported by the Provincial Scientific and Technology Planning Project of Guangdong Province (Grant No.2014A020217010), the Special Item about Science and Technology Research and Development in the Scientific and Technical Extension Project in Ocean and Fisheries of Guangdong Province (Grant No.A201401A05), the Funds for Basic Expenses on Scientific Researching of South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou (Grant No.2014YD04)

*Corresponding author. Tel: +86-20-34063235, E-mail: lje001@126.com

网络出版时间: 2015-09-16 17:27:35

URL: <http://www.cnki.net/kcms/detail/31.2035.Q.20150916.1727.012.html>

in esophagus and foregut. Density of mucous cells in esophagus had the highest value followed by hindgut, while mucous cells in other sections characterize had at least two types and rich in number. Though types of mucous cells are not rich as those in 65-day-old young fish, but the number of mucous cells was increasing extremely in adult fish. It showed mounts of type II and type IV mucous cells in esophagus, while mucous cells of pyloric caece were characterized as with the same types as esophagus, but not rich in number. Mounts of type I mucous cells exposed in mucosal epithelium of stomach and quite a lot of type IV mucous cells were tested in gastric gland of stomach. Type III and type IV mucous cells in intestine could be distinguished as numerous, various in shape and big in size, and the density of mucous cells in foregut, midgut, and hindgut showed an increasing regularity. The result indicated that mucous cells development in *E. tetradactylum* of different development stages was improving from immature style to mature style.

Keywords *Eleutheronema tetradactylum*; digestive tract; histochemicalogy; mucous cells

鱼类机体和器官表面或腔面衬贴着大面积的黏膜上皮组织, 具有保护、吸收、分泌等功能^[1], 其中如皮肤、鳃、消化道等黏膜上皮组织分布着大量的能分泌黏液的细胞, 而所分泌的黏液中含有黏多糖、糖蛋白、免疫球蛋白及各种水解性酶类等多种活性物质^[2], 具有辅助食物消化吸收^[3]、调节渗透压、构成非特异性黏膜免疫^[4-7]等方面的功能。研究黏液细胞有助于分析鱼类生长发育、消化吸收以及适应环境等方面的机制。

四指马鲛(*Eleutheronema tetradactylum*), 隶属辐鳍鱼纲(Actinopterygii)鲈形目(Perciformes)鲈亚目(Percoidei)马鲛科(Polynemidae)四指马鲛属^[8], 具有分布广、生长迅速的特点^[9-13], 是我国重要的经济鱼类之一。近年来, 海南、广东、浙江等地已推广养殖, 但国内外关于四指马鲛的研究较少, 增强对四指马鲛在繁殖生物学、消化生理方面的研究力度, 将有利于提高人工繁殖及苗种培育技术, 促进该鱼养殖业的发展。本文采用常规石蜡组织切片及阿利新兰-高碘酸雪夫试剂(Alician blue and periodic acid Schiff reagent, Alician blue at pH2.5, AB-PAS)的染色方法对四指马鲛稚鱼、幼鱼和成鱼消化道中黏液细胞的类型及分布特征进行观察研究, 比较不同发育阶段其消化道黏液细胞发育的差异, 分析各发育阶段鱼体的消化生理及其免疫屏障形成的机制, 以期为该鱼人工育苗及幼鱼期免疫预防等方面提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试鱼

四指马鲛为本项目组在广东茂名繁育所得并饲养。35日龄(35 days after hatching, 35DAH)稚鱼

平均体质量为 0.02 ± 0.01 g, 65日龄幼鱼(65DAH)平均体质量为 1.84 ± 0.75 g, 养殖的成鱼平均体质量为 300.00 ± 0.50 g (5尾), 均于2014年8~11月期间取样。稚鱼现场采集后立即放入10%中性福尔马林中进行固定, 幼鱼、成鱼活体迅速解剖取出消化道并按食道、贲门部、幽门部、幽门盲囊、胃体部、盲囊部、前肠、中肠和后肠分段并用Bouins固定。

1.2 切片制备和染色方法

1.1中的实验材料固定24 h后, 流水冲洗24 h后用70%~100%梯度酒精脱水、二甲苯透明、60 °C熔点石蜡包埋, 5 μ m超薄切片, 采用AB-PAS试剂盒进行染色(AB-PAS试剂盒由南京森贝伽生物科技有限公司提供, 操作步骤参照试剂盒说明书), 使用德国Axio Scope.A1型光学显微镜对染色结果进行观察并拍照。

1.3 数据测量和统计

参照区又君等^[14]对AB-PAS染色结果的分类方式, 将四指马鲛稚鱼、幼鱼和成鱼消化道中的黏液细胞分成I型、II型、III型和IV型, AB-PAS染色分别呈红色(含有PAS阳性的中性黏多糖)、蓝色(含有AB阳性的酸性黏多糖)、紫红色(主要含有PAS阳性的中性黏多糖, 同时含有少量AB阳性的酸性黏多糖)、蓝紫色(主要含有AB阳性的酸性黏多糖, 同时含有少量PAS阳性的中性黏多糖)。参照王永波等^[15]的方法, 统计消化道各段各类型黏液细胞的密度、细胞长短径以及消化道各段的分泌能力(单位面积黏液细胞密度与细胞表面积($\pi \times \text{长径} \times \text{短径} / 4$)之积)。黏液细胞密度指标统计样本设计如下: 消化道各段取5张相邻切片, 随机选10个视野, 分别测量每一视野中单位面积(1 mm^2)范围内各类型黏液细胞的总数并测量黏液细胞($n=20$)的长径和短径。数据

用平均值±标准差(mean±S.D.)表示, 采用SPSS 17.0 软件在 $\alpha=0.05$ 水平下进行单因素方差分析(One-Way ANOVA)和Duncan's多重比较。 $P<0.05$ 表示组间差异具有显著性。

2 结果

2.1 食道黏液细胞的分布

各阶段食道黏液细胞分布特征及差异比较详见表1。

35DAH稚鱼食道中部黏膜上皮分布少量的I型和II型黏液细胞, 以II型黏液细胞为主, 此两种类型黏液细胞主要分布在黏膜皱褶上且均为远离上皮基底呈囊状和圆形的细胞。I型黏液细胞个体较小,

数量极少, 偶见于低矮的黏膜皱褶上。II型黏液细胞个体较大, 部分细胞内含很多蓝染深浅不一的颗粒物, 有些细胞内含颗粒物比较少, 整个细胞边缘蓝染很浅, 中部呈空泡状(图1A)。

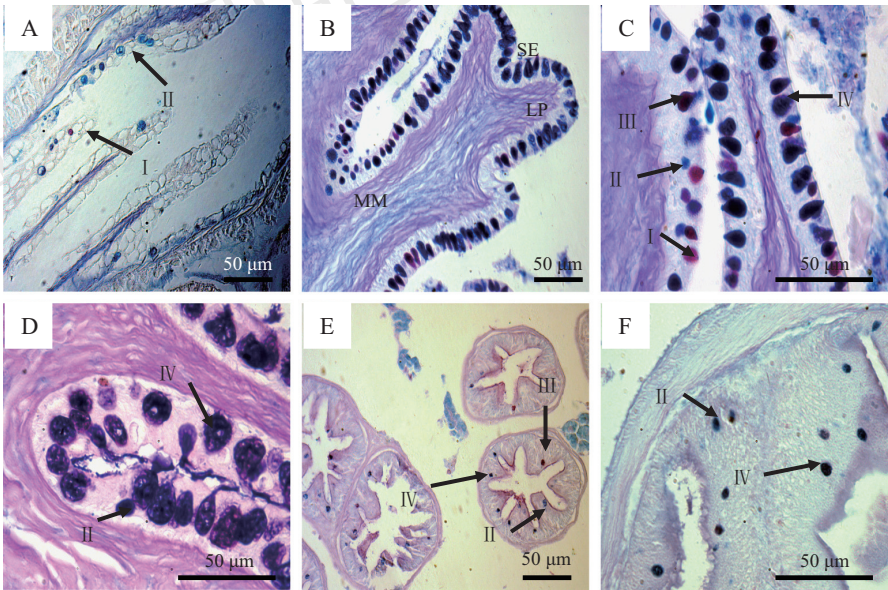
65DAH幼鱼食道黏膜上皮黏液细胞数量为稚鱼的3.27倍且种类分型完善, 含I型、II型、III型和IV型黏液细胞, 四类细胞在多处黏膜皱褶上皮相间排列, 黏液细胞密度IV型>II型>III型>I型。IV型黏液细胞多数呈梨形和杯形, 可清晰见其开口于食管腔内, 也有数量不少呈圆形的IV型黏液细胞, 其形状更为膨大, 有些深蓝色的细胞表面光滑平整, 有些深蓝色细胞同时可见胞内含有许多粗细不一的颗粒, 其表面结构则比较粗糙。III型黏液细胞主要分布在

表1 不同发育阶段的四指马鲛食道黏液细胞密度比较(个/mm²)

Table 1 Distribution features of mucous cells in esophagus of *E. tetradactylum* compared with different development stages (cells/mm²)

发育阶段	I型	II型	III型	IV型	总数
Development stages	Type I	Type II	Type III	Type IV	Total
35DAH	10.72±1.21 ^a	248.45±4.89 ^a	—	—	259.17±5.85 ^a
65DAH	77.44±7.34 ^b	257.25±1.35 ^b	192.04±5.90 ^a	319.54±7.89 ^a	846.27±2.13 ^b
Adult fish	—	449.41±2.96 ^c	—	720.48±11.89 ^b	1 169.89±12.32 ^c

同一列中标有相同字母的数据表示组间差异不显著($P>0.05$), 不同字母表示组间差异显著($P<0.05$)。—: 未检测出。下同。
Data with same letters indicated no significant difference between groups ($P>0.05$), and data with different letters indicated significant difference between groups ($P<0.05$). —: no specific mucous cell was detected. The same as follows.



A: 35DAH稚鱼食道; B: 65DAH幼鱼食道整体横切; C: 65DAH幼鱼食道黏膜; D: 成鱼食道黏膜横切; E: 65DAH幼鱼幽门盲囊整体横切; F: 成鱼幽门盲囊。LP: 固有膜; MM: 黏膜肌; SE: 复层上皮; I: I型黏液细胞; II: II型黏液细胞; III: III型黏液细胞; IV: IV型黏液细胞。
A: esophagus in 35DAH; B: transverse section of esophagus in 65DAH; C: mucosal of esophagus in 65DAH; D: transverse section of mucosal in esophagus of adult fish; E: transverse section of pyloric caeca in 65DAH; F: pyloric caeca in adult fish. LP: lamina propria; MM: muscularis mucosa; SE: stratified epithelium; I: type I mucous cells; II: type II mucous cells; III: type III mucous cells; IV: type IV mucous cells.

图1 不同发育阶段的四指马鲛食道黏液细胞分布特征(AB-PAS染色)

Fig.1 Distribution features of the mucous cells in esophagus of *E. tetradactylum* compared with different development stages (AB-PAS staining)

黏膜近基底层, 主要呈梨形、圆形、椭圆形和不规则的形状。I型、II型黏液细胞个体较小, 主要为圆形, 多集中在黏膜基底层(图1B和图1C)。

成鱼食道黏膜上分布两类黏液细胞, 数量是幼鱼的1.38倍, 一类是II型黏液细胞, 只占少数, 分圆形和梨形两种, 稀疏分布于上皮中间层。另一类是IV型黏液细胞, 分布密集呈堆积状, 多数集中在上皮表层, 排列整齐, 开口及其分泌的黏液线清晰可见, 细胞形状巨大呈圆形、椭圆形、梭形和梨形, 胞内均可见蓝色核紫色的分泌颗粒, 其中蓝色分泌颗粒主要在细胞中部, 而红色颗粒分布在胞质边缘(图1D)。

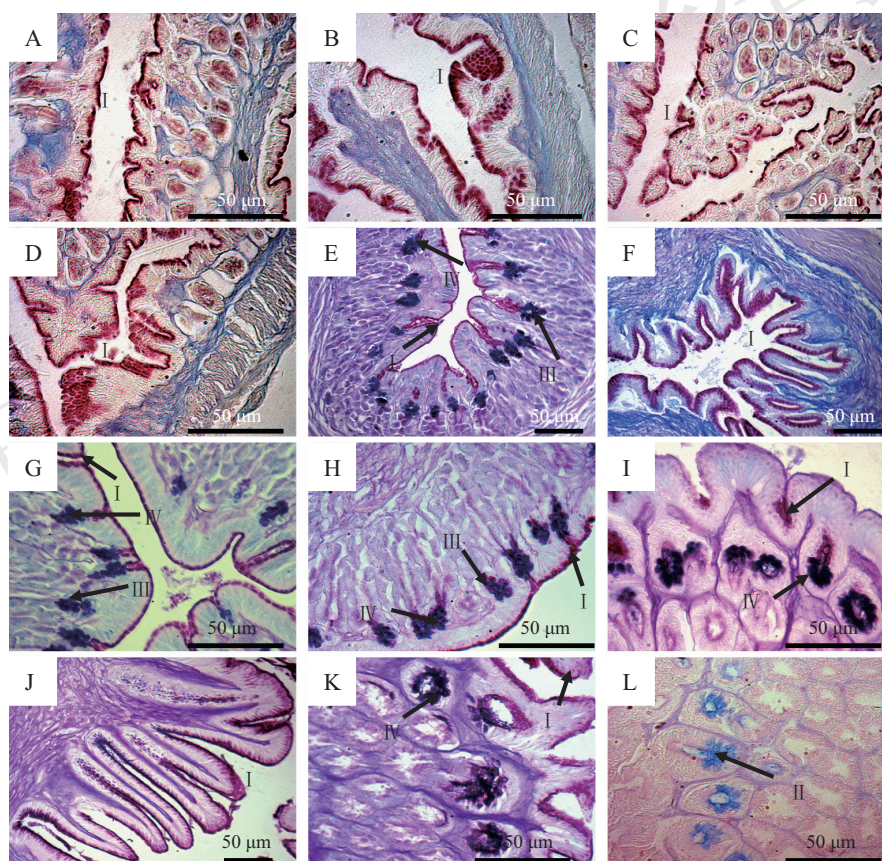
2.2 胃部黏液细胞的分布

35DAH稚鱼整个胃部只检测出I型黏液细胞, 并且均集中在黏膜上皮表层, 为表面黏液细胞, 细胞呈柱状; 贲门部、胃体部和盲囊部的个别胃腺含有I

型黏液细胞, 尤以胃小凹上皮I型黏液细胞分布更为明显(图2A~图2D)。65DAH幼鱼贲门部、胃体部和盲囊部均含有I型、III型和IV型黏液细胞, 前者位于黏膜上皮表层呈细胞线, III型黏液细胞主要分布在胃腺颈部, IV型黏液细胞分布于胃腺底部, 幽门部只含I型黏液细胞, 并且分布在黏膜上皮表层成红色的线状(图2E~图2H)。成鱼贲门部和胃体部黏膜上皮以及胃小凹上皮均只含I型黏液细胞, 胃腺腺腔上皮均只含IV型黏液细胞, 且多为圆形; 幽门部只含I型黏液细胞, 分布于黏膜上皮表层; 盲囊部胃腺区域只含II型黏液细胞(图2I~图2L)。

2.3 幽门盲囊黏液细胞的分布

35DAH稚鱼幽门盲囊未检测到黏液细胞。65DAH幼鱼的幽门盲囊含II型、III型和IV型黏液细胞, III型细胞只在分布在极少数的管腔黏膜皱褶内,



A: 35DAH稚鱼贲门部; B: 35DAH稚鱼幽门部; C: 35DAH稚鱼胃体部; D: 35DAH稚鱼盲囊部; E: 65DAH幼鱼贲门部; F: 65DAH幼鱼幽门部; G: 65DAH幼鱼胃体部; H: 65DAH幼鱼盲囊部; I: 成鱼贲门部; J: 成鱼幽门部; K: 成鱼胃体部; L: 成鱼盲囊部。I: I型黏液细胞; II: II型黏液细胞; III: III型黏液细胞; IV: IV型黏液细胞。

A: cardiac stomach in 35DAH; B: pyloric stomach in 35DAH; C: fundic stomach in 35DAH; D: gastric caeca in 35DAH; E: cardiac stomach in 65DAH; F: pyloric stomach in 65DAH; G: fundic stomach in 65DAH; H: gastric caeca in 65DAH; I: cardiac stomach in adult fish; J: pyloric stomach in adult fish; K: fundic stomach in adult fish; L: gastric caeca in adult fish. I: type I mucous cells; II: type II mucous cells; III: type III mucous cells; IV: type IV mucous cells.

图2 不同发育阶段的四指马鲛胃部黏液细胞分布特征(AB-PAS染色)

Fig.2 Distribution features of mucous cells in stomach of *E. tetradactylum* in different development stages (AB-PAS staining)

细胞个体较小; 其余多数管腔内的黏膜上有II型、IV型黏液细胞, 分布在黏膜皱褶的顶部、中部和底部, 尤以底部黏液细胞最为丰富。IV型细胞个体较大, 内含密集的颗粒物质。II型黏液细胞呈浅蓝色, 内含颗粒物质比较稀疏(图1F)。成鱼幽门盲囊黏液细胞只含II型、IV型两类, 多分布在黏膜皱褶的底部(图1G)。

2.4 肠道黏液细胞的分布

各阶段肠道黏液细胞分布特征及差异比较详

见表2。

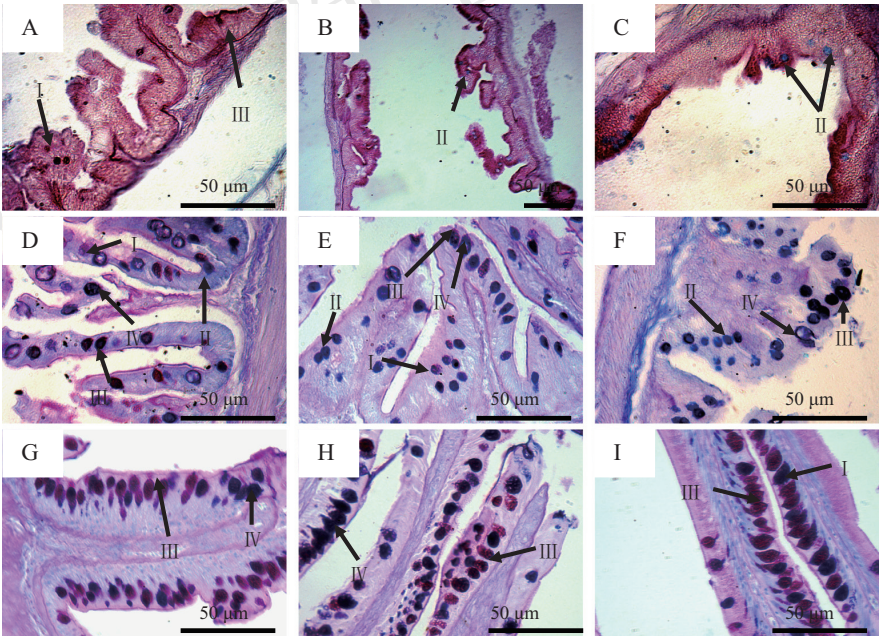
35DAH稚鱼肠道黏液细胞数量依次是后肠>前肠>中肠。前肠含I型和III型黏液细胞, 主要为圆形(图3A), 与幽门部交界处黏液细胞数量较多, 其中I型黏液细胞个体较大。中肠只含II型黏液细胞, 分布在部分较为狭长的绒毛黏膜上皮中, 细胞细小呈圆形(图3B)。后肠也只含圆形的II型黏液细胞(图3C)。

65DAH幼鱼肠道黏液细胞种类丰富, 数量为稚鱼的5.08倍, 以后肠密度最大。前肠含四种型黏液

表2 不同发育阶段的四指马鲛肠道黏液细胞密度比较(个/mm²)

Table 2 Density of mucous cells in intestine of *E. tetradactylum* compared in development stages (cells/mm²)

发育阶段 Development stages	部位 Section	黏液细胞 Mucous cells				
		Type I	Type II	Type III	Type IV	Total
35DAH	Foregut	168.91±1.90 ^b	—	64.35±3.45 ^a	—	233.26±0.79 ^b
	Midgut	180.99±2.09 ^c	—	—	—	180.99±2.09 ^a
	Hindgut	299.97±2.57 ^e	—	—	—	299.97±2.57 ^c
65DAH	Foregut	216.32±8.34 ^d	107.16±4.78 ^a	475.25±6.78 ^d	323.33±6.79 ^a	1 122.06±14.75 ^e
	Midgut	98.32±3.89 ^a	187.55±5.93 ^b	264.47±1.46 ^c	469.34±9.05 ^c	1 019.67±7.57 ^d
	Hindgut	—	369.88±8.94 ^c	80.42±9.02 ^b	1 038.17±3.78 ^e	1 488.48±2.58 ^f
Adult fish	Foregut	—	—	1 490.90±7.93 ^f	463.68±11.23 ^b	1 954.57±26.49 ^g
	Midgut	—	—	848.88±6.89 ^e	1 726.30±6.73 ^f	2 575.19±18.94 ^h
	Hindgut	—	—	1 847.57±2.34 ^g	1 012.95±9.03 ^d	2 860.53±26.49 ⁱ



A: 35DAH稚鱼前肠; B: 35DAH稚鱼中肠; C: 35DAH稚鱼后肠; D: 65DAH幼鱼前肠; E: 65DAH幼鱼中肠; F: 65DAH稚鱼后肠; G: 成鱼前肠整体横切; H: 成鱼中肠整体横切; I: 成鱼后肠黏膜。I: I型黏液细胞; II: II型黏液细胞; III: III型黏液细胞; IV: IV型黏液细胞。
A: foregut in 35DAH juvenile; B: midgut in 35DAH juvenile; C: hindgut in 35DAH juvenile; D: foregut in 65DAH juvenile; E: midgut in 65DAH juvenile; F: hindgut in 65DAH juvenile; G: transverse section of foregut in adult fish; H: transverse section of midgut in adult fish; I: mucosal in hindgut of adult fish. I: type I mucous cells; II: type II mucous cells; III: type III mucous cells; IV: type IV mucous cells.

图3 不同发育阶段的四指马鲛肠道黏液细胞分布特征(AB-PAS染色)
Fig.3 Distribution features of the mucous cells in intestine of *E. tetradactylum* compared in development stages (AB-PAS staining)

表3 不同发育阶段的四指马鲛消化道不同部位黏液细胞的大小

Table 3 The size of mucous cells in different part of digestive of <i>E. tetradactylum</i> in different development stages					
发育阶段 Development stages	细胞大小(mm) Mucous cells size (mm)	部位 Section			
		食道 Esophagus	前肠 Foregut	中肠 Midgut	后肠 Hindgut
35DAH	Long diameter	0.006±0.002 ^a	0.005±0.001 ^b	0.004±0.001 ^a	0.003±0.001 ^a
	Short diameter	0.006±0.001 ^a	0.004±0.001 ^a	0.004±0.001 ^a	0.003±0.001 ^a
65DAH	Long diameter	0.013±0.003 ^d	0.008±0.001 ^d	0.008±0.002 ^d	0.008±0.001 ^c
	Short diameter	0.008±0.002 ^b	0.007±0.001 ^c	0.006±0.001 ^b	0.006±0.001 ^b
Adult fish	Long diameter	0.018±0.002 ^c	0.010±0.001 ^c	0.013±0.003 ^c	0.014±0.002 ^d
	Short diameter	0.011±0.001 ^c	0.007±0.001 ^c	0.007±0.001 ^c	0.008±0.001 ^c

表4 不同发育阶段的四指马鲛消化道各段分泌能力大小的比较

Table 4 Secretion ability of mucous cells in different parts of the digestive tract of <i>E. tetradactylum</i> in different development stages				
发育阶段 Development stages	食道 Esophagus	前肠 Foregut	中肠 Midgut	后肠 Hindgut
35DAH	0.026±0.001 ^a	0.014±0.002 ^a	0.007±0.001 ^a	0.018±0.003 ^a
65DAH	0.063±0.005 ^b	0.048±0.001 ^b	0.038±0.005 ^b	0.054±0.003 ^b
Adult fish	0.234±0.008 ^c	0.108±0.003 ^c	0.162±0.004 ^c	0.209±0.004 ^c

细胞, 密度III型>IV型>I型>II型。I型黏液细胞较细小、呈圆形, 主要分布在绒毛底部; II型黏液细胞主要分布于绒毛底端和中部。III型黏液细胞主要分布于绒毛中部和前端, 细胞个体膨大呈梨形, 染色较深, 内含细小颗粒物质。IV型黏液细胞则在绒毛各段均有分布, 尤以前端最为密集, 细胞更为膨大、呈梨形, 内含许多颗粒物质, 也有为数不少的细胞呈杯形(图3D)。中肠亦分布I、II、III、IV型黏液细胞, IV型黏液细胞多分布在绒毛上皮中间层以及绒毛底端宽大的区域, 细胞排列较为整齐, 形状膨大呈椭圆形、梨形和杯形; III型黏液细胞多为椭圆形, 主要分布在绒毛顶端; I、II型黏液细胞稀疏分布与绒毛底端、中部和顶端, 个体比较小, 多为圆形(图3E)。后肠含II、III、IV型黏液细胞, IV型黏液细胞密度最大, 其次是II型黏液细胞(图3F)。

成鱼肠道只含III型和IV型两类黏液细胞, 数量为幼鱼的2.04倍, 密度按前、中、后肠规律性递增。前肠III型黏液细胞极多, 分布于绒毛各段, 主要呈圆形、杯形和梨形, 梨形黏液细胞个体较大, 在绒毛前端最为密集, 染色较深, 内含的紫红色颗粒物质清晰可见; IV型黏液细胞较少, 主要有圆形和杯形, 细胞均比较细小, 分布于绒毛最前端的梭形细胞个体较大(图3G)。中肠以IV型黏液细胞为主且细胞多为圆

形, 个体较为细小; III型黏液细胞数量相对较少, 细胞膨大, 个体之间大小比较均匀(图3H)。后肠两类黏液细胞极多, 尤其是III型, 其个体膨大呈梨形分布于绒毛底端和中部且多为圆形; 有些较为宽大的绒毛中部和前端则分布数量较多主要呈圆形、个体较小的IV型黏液细胞(图3I)。

2.5 不同发育阶段四指马鲛消化道各段黏液细胞个体大小及分泌能力

消化道不同部位黏液细胞的大小见表3。各部位黏液细胞随着日龄增长, 其长短径呈递增趋势, 食道黏液细胞长短径增长尤为明显。消化道各段黏液的分泌能力反映黏液细胞相对总面积的大小, 由表4可以看出, 食道和后肠在各个发育阶段均表现为黏液细胞数量较多, 因而其相对分泌能力较高。稚鱼、幼鱼、成鱼之间消化道各段的分泌能力均呈递增规律。

3 讨论

3.1 四指马鲛消化道黏液细胞的类型及分布差异

鱼类黏液细胞在消化道各部位的量化和理化性质存在种属间的差异。四指马鲛稚鱼消化道除了幽门盲囊未检测出黏液细胞, 其余各段均有不同类型的黏液细胞分布, 后肠只含II型黏液细胞但其分

布最为密集, 其次是食道, 含I型、II型两类黏液细胞; 幼鱼整个消化道黏液细胞数量显著增多, 种类丰富, 其中食道、前肠、中肠均有I型、II型、III型、IV型黏液细胞, 其余各段含两种或三种类型的黏液细胞, 尤以食道黏液细胞密度最大, 其次是后肠; 成鱼消化道黏液细胞种类较幼鱼而不丰富, 食道和幽门盲囊均含II型和IV型, 胃部以I型和IV型为主, 肠道以III型、IV型为主, 但数量上要比幼鱼多1~2倍, 以后肠黏液细胞密度为最大。与其他肉食性鱼类如波纹唇鱼(*Cheilinus undulatus*)^[15]相比较, 肠道也表现为黏液细胞类型较其他部位丰富, 含I型、II型、III型、IV型黏液细胞, 食道黏液细胞数量最多, 含II型、III型、IV型黏液细胞; 褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)^[16]食道和中后肠以III型和IV型细胞为主, 肠道黏液细胞数量呈递增规律; 花鲈(*Lateolabrax japonicus*)^[17]食道和肠道检测出I型、II型、III型、IV型黏液细胞的存在, 以后肠黏液细胞密度为最大。食道和肠道黏液细胞数量较多与肉食性鱼类肠道短、胃部发达的特性有关, 另外, 胃部含大量I型黏液细胞是褐牙鲈^[16]和花鲈^[17]的共性, 与本研究四指马鲛胃部黏液细胞分布特征有所差异。黏液细胞在消化道的分布还受外界环境的变化、摄食水平等多方面因素的影响。据李凤杰等^[3]的研究报道, 南方鲇(*Silurus meridionalis*)幼鱼在正常摄食节律下摄食后与摄食前相比, 其肠道各部位黏液细胞总数均有一定程度减少, 并发现在短时间饥饿胁迫恢复摄食条件下, I型和III型黏液细胞对其反应较敏感, 而长时间饥饿胁迫恢复摄食条件下, II型和IV型对其反应较为敏感。黄智慧等^[5]认为, 温度升高加速了大菱鲈(*Scophthalmus maximus*)体表皮皮肤II型和IV型黏液细胞的发育过程, 是其应对环境变化的一种策略。亦有研究报道认为稀土元素如镧(La^{3+}), 作为一种饲料添加剂, 可明显诱导鲤(*Cyprinus carpio*)肠道黏液细胞的增殖^[18]。

3.2 四指马鲛消化道各段分泌能力差异及消化生理

鱼类消化道各段黏液细胞的分泌能力存在种属间和部位的差异并与其结构功能相联系。四指马鲛稚鱼、幼鱼、成鱼三者之间消化道各段的分泌能力除幽门盲囊外, 均呈递增规律, 为食道最高, 其次是后肠。幼鱼和成鱼食道以II型和IV型黏液细胞为主, 即以分泌酸性黏液物质为主, 食道连接口咽腔, 直接接收食物并往胃部输送, 富含酸性的黏液物质有润滑食物减少对食道的机械损伤^[19], 幼鱼食道还

分布一定数量的I型和III型黏液细胞, 而中性和偏中性黏液细胞在食物消化吸收方面有重要作用^[3], 表明四指马鲛稚鱼、幼鱼和成鱼食道均已具备初级消化的功能, 与黄斑篮子鱼(*Siganus oramin*)^[20]食道特征相似。四指马鲛食道黏液细胞具有极高的分泌能力表明其功能的重要性, 一方面润滑食物, 确保有效吸收并进行一定程度的机械消化, 同时保护上皮免受随食物而进入机体的病原微生物的侵害^[21]。胃部是消化道最为膨大的部分, 主要功能是消化食物中的蛋白质^[22]。不少种属的鱼类胃部被检测出分布大量I型黏液细胞, 如欧洲鳗鲡(*Anguilla anguilla*)^[19]、黄鳍鲷(*Sparus latus*)^[21]、平鲷(*Rhabdosargus sarba*)^[22]等。I型黏液细胞能分泌中性黏液一方面满足胃上皮柱状细胞的嗜酸性以中和胃酸, 以免上皮受损^[23], 同时, 中性黏液细胞常与碱性磷酸酶共存^[24], 因而具有消化食物的功能。本研究中, 四指马鲛幼鱼贲门部、胃体部和盲囊部除了I型黏液细胞外还含有III型和IV型黏液细胞, 成鱼胃贲门和胃体胃腺区域存在IV型黏液细胞, I型、III型黏液细胞的存在, 分泌大量中性和偏中性的黏液物质以保证胃部发挥对食物的消化吸收作用, 同时酸性黏液还有稳定消化酶、调节蛋白质及其残基转运、润滑食物和形成免疫屏障等作用^[15,25], 因此认为, 四指马鲛胃部黏液细胞的分布特征与其结构及在消化吸收方面执行的功能密切联系。肠道是食物消化吸收的主要场所, 肠道除具有发达的绒毛和纹缘状结构, 黏膜上皮还具备密集的黏液细胞, 鱼类肠道黏液细胞的分布特征体现与种属及食性的相关性。肉食性鱼类如卵形鲳鲹(*Trachinotus ovatus*)^[14]前肠、中肠均以III型偏中性黏液细胞为主, 后肠以II型黏液细胞为主且密度为最大; 驼背鲈(*Cromileptes altivelis*)^[26]肠道含大量II型黏液细胞, 前、中、后段黏液细胞密度呈递增规律; 而鲇(*Silurus asotus*)肠道以酸性和偏酸性黏液细胞为主, 呈不规则分布, 以中肠最高, 其次是后肠, 前肠则最低^[27]; 哲罗鱼(*Hucho taimen pallas*)肠道中的黏液细胞从前向后呈递增趋势^[23]。鱼类后肠与肛门相连, 其功能除了参与食物消化吸收外还负责排出食物残渣并抵御外界病原微生物入侵, 黏膜上分布较多的黏液细胞有利于其功能的实现, 褐牙鲈^[16]、花鲈^[17]、卵形鲳鲹^[14]、驼背鲈^[26]和哲罗鱼^[23]后肠黏液细胞密度具有最大值就充分证实了这一观点; 而酸性黏液在润滑和软化食物、保护消化道黏膜层、促

进食物残渣排出这些方面提供功能性协助, 卵形鲳鲹后肠含大量的II型黏液细胞, 与其功能负荷相协调, 与匀斑裸胸鲷(*Gymnothorax reevesii*)^[28]相似。鱼类对食物的消化主要发生在胃、幽门盲囊和肠的前部^[29], 如淀粉和脂肪的消化主要发生在幽门盲囊和前肠^[30]。有些杂食性鱼类如重口裂腹鱼(*Schizothorax davidi*)^[25], 其前肠均以I型黏液细胞为主, 即分泌与二糖和短链脂肪酸的吸收有关的中性黏液物质, 因此推断前肠具有强大的吸收脂肪的功能。本研究中四指马鲛稚鱼、幼鱼和成鱼肠道黏液细胞均以后肠密度最大, 符合肉食性鱼类后肠结构功能特征; 另外, 与花鲈^[17]和匀斑裸胸鲷^[28]相似的是, 三者前肠均以分泌偏中性黏液物质的III型黏液细胞为主, 推测四指马鲛前肠具有较为强大的吸收脂肪的功能。

3.3 四指马鲛消化道黏液细胞发育差异

鱼类消化道随着机体的生长发育表现逐渐完善的规律, 黏液细胞作为消化道的功能组分, 细胞内黏蛋白成分在细胞发育分化的不同阶段存在差异性而具有AB-PAS染色过程中着色深浅程度不一的性质^[31-32], 因此, 根据黏液细胞所含成分差异可以反映鱼体不同的发育阶段^[33]。如泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)^[34]和点带石斑鱼(*Epinephelus malabaricus*)^[35]仔稚鱼消化道黏液细胞发育呈以I型和II型黏液细胞为主的幼稚型向以III型和IV型黏液细胞为主的成熟型发展的规律, 且黏液细胞数量逐渐增多。本研究中, 四指马鲛稚鱼消化道以I型黏液细胞为主, 在食道和肠道偶见II型黏液细胞, 显示这阶段稚鱼消化道黏液细胞发育还处于幼稚型, II型黏液细胞的出现可分泌酸性黏液使食道和肠道具备一定的防御随食物而带入的有害微生物的能力。幼鱼和成鱼黏液细胞数量明显增多, 黏液细胞成分变复杂, 与黄姑鱼(*Nibea albiflora*)^[33]与哲罗鱼^[36]和研究结果相似, 体现四指马鲛黏液细胞在稚鱼、幼鱼和成鱼之间呈幼稚型向成熟型发展的趋势。幼鱼食道、前肠、中肠均含四种类型黏液细胞, 其余各段含两种或三种类型的黏液细胞, 其中, III型和IV型黏液细胞数量显著增多, 成鱼消化道幼稚型黏液细胞数量明显减少, 成熟型黏液细胞数量明显增多。幼鱼消化道结构分化发育和成鱼基本一致, 但处于快速生长发育的阶段, 摄食能力加强, 相应的消化吸收能力也加强, 其消化道分化出种类丰富的黏液细胞以协助食物的消化吸收以及形成更为牢固的防御屏障; 而成鱼消化

道结构功能处于完备和稳定的状态, 消化道维持足够数量成熟型的黏液细胞, 有利于机体营养物质同化-异化作用的协调和平衡以维持机体稳定生长。

参考文献 (References)

- 1 李霞. 水产动物组织胚胎学. 北京: 中国农业出版社(Li Xia. Aquatic animal tissue embryology. Beijing: China Agriculture Press) 2006, 9-25.
- 2 李学军, 彭新亮, 乔志刚. 鲈皮肤和鳃粘液细胞的分类、分布和分泌研究. 上海海洋大学学报(Li Xuejun, Peng Xinliang, Qiao Zhigang. Studies on the types, distribution and secretion of mucous cells in the skin and gill of *Silurus asotus*. Journal of Shanghai Ocean University) 2010; 19(6): 751-5.
- 3 李凤杰, 曾令清, 葛胜东, 李秀明, 黄小铭, 张耀光. 不同摄食状态下南方鲈幼鱼肠道黏液细胞的量化分析. 中国水产科学(Li Fengjie, Zeng Lingqing, Ge Shengdong, Li Xiuming, Huang Xiaoming, Zhang Yaoguang. Changes in the number of intestinal mucous cells of juvenile southern catfish *Silurus meridionalis* following feeding, starvation, and refeeding. Journal of Fishery Sciences of China) 2013; 20(1): 75-81.
- 4 巩华, 吴淑勤, 潘厚军. 硬骨鱼类黏膜免疫机理研究概况. 动物医学进展(Gong Hua, Wu Shuqin, Pan Houjun. Summary on mucosal immunity system and mechanism in teleost. Progress in Veterinary Medicine) 2006; 27(6): 24-8.
- 5 黄智慧, 马爱军. 大菱鲆体表粘液细胞组化研究及高温胁迫对其类型和分布的影响. 水产学报(Huang Zhihui, Ma Aijun. Effects of high temperature on the type and distribution of turbot (*Scophthalmus maximus*) skin mucous cells. Journal of Fisheries of China) 2010; 34(5): 719-25.
- 6 Bosi G, Sayyaf Dezfuli B. Responses of *Squalius cephalus* intestinal mucous cells to *Pomphorhynchus laevis*. Parasitol Int 2015; 64(2): 167-72.
- 7 韩雯, 王秀华, 王玉娟, 王锐, 李晨, 黄捷. 皂角苷对大菱鲆非特异免疫的增强作用. 水产学报(Han Wen, Wang Xiuhua, Wang Yujuan, Wang Rui, Li Chen, Huang Jie. Effect of saponin on non-specific immunity of turbot (*Scophthalmus maximus*). Journal of Fisheries of China) 2014; 38(7): 999-1008.
- 8 孙典荣, 陈铮. 南海鱼类检索. 北京: 海洋出版社(Sun Dianrong, Chen Zheng. The South China Sea Fish Retrieval. Beijing: Ocean Press) 2013, 380-2.
- 9 Ballagh AC, Welch DJ, Newman SJ, Allsop Q, Stapley JM. Stock structure of the blue threadfin (*Eleutheronema tetradactylum*) across northern Australia derived from life-history characteristics. Fis Res 2012; 121-122: 63-72.
- 10 Moore BR, Stapley J, Allsop Q, Newman SJ, Ballagh A, Welch DJ, et al. Stock structure of blue threadfin *Eleutheronema tetradactylum* across northern Australia, as indicated by parasites. J Fish Biol 2011; 78(3): 923-36.
- 11 Newman SJ, Pember MB, Rome BM, Mitsopoulos GEA, Skepper CL, Allsop Q, et al. Stock structure of blue threadfin *Eleutheronema tetradactylum* across northern Australia as inferred from stable isotopes in sagittal otolith carbonate. Fisheries Manag Ecol 2011; 18(3): 246-57.
- 12 Wang J, Sun P, Yin F. Low mtDNA Cytb diversity and shallow population structure of *Eleutheronema tetradactylum* in the East China Sea and the South China Sea. Biochem Syst Ecol 2014; 55: 268-74.

- 13 Zischke MT, Cribb TH, Welch DJ, Sawynok W, Lester RJG. Stock structure of blue threadfin *Eleutheronema tetradactylum* on the Queensland east coast, as determined by parasites and conventional tagging. *J Fish Biol* 2009; 75(1): 156-71.
- 14 区又君, 李加儿, 勾效伟. 卵形鲳鲹消化道的形态学、组织学和组织化学. 大连海洋大学学报(Ou Youjun, Li Jiaer, Gou Xiaowei. Morphological, histological, and histochemical observation of digestive tract in ovate pompano *Trachinotus ovatus*. *Journal of Dalian Ocean University*) 2012; 27(1): 38-43.
- 15 王永波, 陈国华, 王 珺, 骆 剑, 黄宗文, 尹绍武. 波纹唇鱼消化道黏液细胞的类型与分布. 渔业科学进展(Wang Yongbo, Chen Guohua, Yin Shaowu. Types and distribution of mucous cells in the digestive tracts of *Cheilinus undulatus*. *Progress in Fishery Sciences*) 2010; 31(5): 22-8.
- 16 张伟妮, 林 旋, 林树根, 王赛群. 褐牙鲆消化道粘液细胞的类型及分布. 福建农林大学学报(自然科学版)(Zhang Weini, Lin Xun, Lin Shugen, Wang Saiqun. Types and distribution of mucous cells in the digestive tract of *Paralichthys olivaceus*. *Journal of Fujian Agricultural and Forestry University, Natural Science Edition*) 2009; 38(3): 280-4.
- 17 谢湘筠, 林淑慧, 林树根. 花鲈消化道黏液细胞的类型及分布. 福建农业学报(Xie Xiangyun, Lin Shuhui, Lin Shugen. Types and distribution of mucous cells in the digestive tracts of *Lateolabrax japonicus*. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*) 2007; 22(3): 271-5.
- 18 张贵生. 稀土元素对鲤鱼黏液细胞作用的时效关系研究. 生物技术(Zhang Guisheng. Time-effect relationship research on the effect of mucous cells by rare-earth elements in *Cyprinus carpio* Linnaeus (*C. carpio*). *Biotechnology*) 2008; 18(4): 34-6.
- 19 林 旋, 张伟妮, 林树根, 蒋丹萍, 王寿昆. 欧洲鳗鲡皮肤、鳃及消化道粘液细胞的分布与类型. 福建农业学报(Lin Xun, Zhang Weini, Lin Shugen, Jiang Danping, Wang Shoukun. Type and distribution of mucous cells in skin, gill and digestive tracts of *Anguilla anguilla*. *Fujian Journal of Agricultural Sciences*) 2008; 23(10): 39-43.
- 20 区又君, 李加儿, 勾效伟, 马之明, 陈怡飏. 黄斑篮子鱼消化道组织学和组织化学研究. 南方水产科学(Ou Youjun, Li Jiaer, Gou Xiaowei, Ma Zhiming, Chen Yibiao. Histological and histochemical study of digestive tract of *Siganus oramin*. *South China Fisheries Science*) 2013; 9(5): 51-7.
- 21 王永翠, 李加儿, 区又君, 苏 慧. 野生与养殖黄鳍鲷消化道中粘液细胞的类型及分布. 南方水产科学(Wang Yongcui, Li Jiaer, Ou Youjun, Su Hui. Types and distribution of mucous cells in digestive tracts of wild and cultivated yellowfin black porgy (*Sparus latus*). *South China Fisheries Science*) 2012; 8(5): 46-51.
- 22 勾效伟, 区又君, 廖 锐. 平鲷消化系统形态学、组织学和组织化学研究. 南方水产(Gou Xiaowei, Ou Youjun, Liao Rui. Histological and histochemical study of digestive system of *Rhabdosargus sarba*. *South China Fisheries Science*) 2008; 4(5): 28-36.
- 23 关海红, 尹家胜, 徐 伟, 张 超. 哲罗鱼的消化道黏液细胞形态及分布. 水产学杂志(Guan Haihong, Yin Jiasheng, Xu Wei, Zhang Chao. Morphology and distribution of the alimentary canal mucous cells in *Hucho taimen*. *Chinese Journal Fisheries*) 2010; 23(2): 42-5.
- 24 Zeng LQ, Li FJ, Li XM, Cao ZD, Fu SJ, Zhang YG. The effects of starvation on digestive tract function and structure in juvenile southern catfish (*Silurus meridionalis* Chen). *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2012; 162(3): 200-11.
- 25 何 敏, 张 宇, 方 静. 重口裂腹鱼消化道黏液细胞类型及分布研究. 淡水渔业(He Min, Zhang Yu, Fang Jing. The study of the mucous cells in the digestive of *Schizothorax davidi*. *Freshwater Fisheries*) 2007; 37(2): 24-6, 33.
- 26 区又君, 勾效伟, 李加儿. 驼背鲈消化系统组织学与组织化学研究. 海洋渔业(Ou Youjun, Gou Xiaowei, Li Jiaer. Histological and histochemical studies on digestive system of *Cromileptes altivelis*. *Marine Fisheries*) 2011; 33(3): 289-96.
- 27 乔志刚, 陈生智, 程鸿轩, 王 武. 鲇肠道黏液细胞的类型、分布、发育及分泌方式研究. 分子细胞生物学报(Qiao Zhigang, Chen Shengzhi, Cheng Hongxuan, Wang Wu. Study on the type, distribution, development and secreting activity of mucous cells in the intestine tract of catfish (*Silurus asotus*). *Journal of Molecular Cell Biology*) 2007; 40(1): 24-30.
- 28 王 吉, 骆 剑, 张 本. 匀斑裸胸鲷消化道粘液细胞的类型与分布. 现代渔业信息(Wang Ji, Luo Jian, Zhang Ben. Type and distribution of mucous cells in digestive tract of *Gymnothorax reevesii*. *Modern Fisheries Information*) 2010; 25(5): 14-7.
- 29 崔龙波, 迟 爽, 李新华, 韩 涛, 李 倩, 赵振军, 等. 大黄鱼消化系统的组织学和组织化学研究. 烟台大学学报(自然科学与工程版)(Cui Longbo, Chi Shuang, Li Xinhua, Han Tao, Li Qian, Zhao Zhenjun, et al. Histological and histochemical study on digestive system of *pseudosciaena crocea* Richardson. *Journal of Yantai University, Natural Science and Engineering Edition*) 2014; 27(4): 266-70.
- 30 余德光, 关胜军, 谢 骏, 王广军. 海水养殖鱼类消化酶研究进展. 水产科技(Yu Deguang, Guan Shengjun, Xie Jun, Wang Guangjun. Advance in the digestive enzyme of marine fish. *Fisheries Science & Technology*) 2009; 2: 1-5.
- 31 Leknes IL. Histochemical studies on mucin-rich cells in the digestive tract of a teleost, the Buenos Aires tetra (*Hyphessobrycon anisitsi*). *Acta Histochem* 2011; 113(3): 353-7.
- 32 Leknes IL. Histochemical study on the intestine goblet cells in cichlid and poeciliid species (Teleostei). *Tissue Cell* 2010; 42(1): 61-4.
- 33 辛 俭, 薛宝贵, 楼 宝, 史会来, 徐冬冬, 詹 炜. 黄姑鱼消化道粘液细胞的类型和分布. 浙江海洋学院学报(自然科学版)(Xin Jian, Xue Baogui, Lou Bao, Shi Huilai, Xu Dongdong, Zhan Hui. The type and distribution of mucous cells in the digestive tract of *Nibea albiflora*. *Journal of Zhejiang Ocean University, Natural Science*) 2013; 32(1): 10-4.
- 34 张建业, 杨瑞斌, 杨学芬, 王卫民, 魏开建, 樊启学. 泥鳅仔稚鱼消化道黏液细胞的发育. 华中农业大学学报(Zhang Jianye, Yang Ruibin, Yang Xuefen, Wang Weimin, Wei Kaijian, Fan Qixue. Development of mucous cells in digestive tract of larvae and juvenile of mud loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. *Journal of Huazhong Agricultural University*) 2014; 33(4): 93-8.
- 35 李鑫伟, 骆 剑, 李伟萍, 陈国华. 点带石斑鱼仔稚鱼消化系统黏液细胞的类型与分布. 渔业科学进展(Li Xinwei, Luo Jian, Li Weiping, Chen Guohua. Types and distribution of mucous cells in larval and juvenile digestive tract of *Epinephelus malabaricus* (Bloch & Schneider). *Progress in Fishery Sciences*) 2012; 33(5): 15-23.
- 36 关海红, 尹家胜. 哲罗鱼消化道中黏液细胞的发生和分布. 水产学杂志(Guan Haihong, Yin Jiasheng. Ontogenesis and profile of mucilage cells in alimentary canal of Taimen *Hucho taimen*. *Chinese Journal of Fisheries*) 2013; 26(5): 21-5.