

驼背鲈肾脏显微和超微结构观察

蔡文超, 区又君

(中国水产科学研究院南海水产研究所, 广东广州 510300)

摘要: 利用石蜡切片技术和透射电镜技术对驼背鲈 (*Cromileptes altivelis* Valenciennes) 肾脏进行显微和超微结构观察。结果显示, 驼背鲈肾小体主要分布于肾脏组织背侧肾细胞集中的区域, 肾脏组织腹侧主要分布有肾小管, 这种分布区域性较强, 提示驼背鲈的进化地位较为高等。根据驼背鲈肾小管上皮细胞的结构特点, 将其划分为颈段、第一近曲小管、第二近曲小管、远曲小管和集合管 5 个部分。驼背鲈肾小体长径平均 55.0 μm , 短径平均 45.8 μm 。肾小囊中分布有较多的足细胞, 足突发达, 对于原尿的形成起重要作用。由肾小管超微结构显示, 第二近曲小管重吸收作用最强。驼背鲈肾脏的组织学研究结果为开展其泌尿功能及渗透调节机制研究提供了基础资料。[中国水产科学, 2008, 15(5): 773-778]

关键词: 驼背鲈; 肾脏; 显微结构; 超微结构

中图分类号: S971; Q959.483

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2008)05-0773-06

驼背鲈 (*Cromileptes altivelis* Valenciennes), 俗称老鼠斑, 隶属鲷科 (Serranidae)、石斑鱼亚科 (Epinephelinae)、驼背鲈属 (*Cromileptes* Swainson)^[1], 是一种高级海产经济食用鱼类, 市场价格较高。目前国际上已知的驼背鲈仅 1 种, 广布于印度太平洋的炎热地区, 西至非洲, 东至菲律宾, 北至日本, 南至澳大利亚海域, 中国见于南海。目前, 国内外关于驼背鲈的研究并不多见, 主要由区又君等做了形态和生物学性状^[2]、引种驯养及人工诱导性腺发育和繁殖^[3]、年龄和生长特征^[4]、胚胎发育^[5]以及染色体核型分析^[6]等方面研究, 陈福华等^[7]做了驼背鲈病害等研究。另外, Tang 等^[8]报道了驼背鲈的人工繁殖, 但对于肾脏组织学方面的研究未见报道。

肾脏是鱼类排泄的重要器官, 它既能将鱼体新陈代谢产生的排泄物排出体外, 也能维持体液离子平衡, 调节渗透压。因此, 研究鱼类肾脏的结构不仅可以丰富鱼类形态学的内容, 对阐明鱼类排泄及渗透压调节机制也有重要意义。本研究通过对驼背鲈肾脏组织结构进行观察研究, 为评价驼背鲈养殖水质、研究其泌尿功能及渗透压调节机制提供组织学基础资料, 以促进驼背鲈的推广养殖。

1 材料与方 法

1.1 材 料

实验用 3 尾驼背鲈全部购自水产市场, 鱼体健康, 体色正常, 游动活泼。体长 20~24 cm, 体质量 235~415 g。鱼运回实验室后驯养 2 d, 水体盐度 33。

1.2 方 法

1.2.1 石蜡切片的制作和观察 测量生物学数据后全部解剖, 取肾脏中后部 1/3 处, 用 Bouin's 固定液固定 24 h, 之后转至 70% 酒精中固定保存。Leica 系列组织切片机进行脱水、包埋、5~6 μm 切片, 展片, HE 染色, 封片。Leica DM LB2 型显微镜观察, 数码相机拍照。

1.2.2 透射电镜样品的制作和观察 取相近位置的组织以冷 2.5% 戊二醛固定液 (pH 7.4, 0.2 mol/L 磷酸缓冲液配制) 充分固定, 经磷酸缓冲液充分清洗, 于 1% 锇酸固定液 (pH 7.2, 0.1 mol/L 磷酸缓冲液配制) 中 4 $^{\circ}\text{C}$ 固定 1 h, 冲洗后, 丙酮系列脱水, Epon 812 树脂包埋剂渗透包埋。包埋块用 AO 超薄切片机切出 50 nm 左右的切片, 用醋酸铀和柠檬酸铅双重染色法染色。在 Philips CM10 透射电子显微镜下进行观察拍照。

收稿日期: 2007 12 12; 修订日期: 2008 02 26.

基金项目: 国家高技术研究发展计划 (863 计划) 项目 (2006AA10A414).

作者简介: 蔡文超 (1983-), 男, 硕士, 研究实习员, 从事鱼类繁殖与发育生物学研究. E-mail: hopenwenchao@126.com

通讯作者: 区又君, 研究员. E-mail: ouyoujun@126.com

2 结果与分析

2.1 驼背鲈肾小体和肾小管的分布

从驼背鲈肾脏的石蜡切片来看(图版 I-1),肾脏的背侧主要分布有肾细胞,总体呈蓝紫色,肾细胞个体较小,细胞核占的比例较大,且 HE 染色的核呈蓝紫色,未观察到核仁。由此可见,驼背鲈肾小体主要分布在肾细胞集中的背侧。虽然少数肾小体也夹杂分布于肾脏腹侧的肾小管之间,但多数相对集中分布于背侧,有 2~5 个肾小体聚集的现象(图版 I-2)。腹侧主要为肾小管(包括近曲小管、远曲小管和集合管),其上皮细胞的细胞质呈浅红色,核着色较肾细胞核浅,1 个核仁位于细胞核中央附近(图版 I-3、4;图版 II-8)。肾脏组织中分布有大量的血管。

2.2 驼背鲈肾脏的显微和超微结构

2.2.1 肾小体 肾小体由肾小球和肾小囊构成(图版 I 2)。驼背鲈肾小体的长径平均 $55.0\ \mu\text{m}$ ($38.8\sim 81.9\ \mu\text{m}$, $n=16$),短径平均 $45.8\ \mu\text{m}$ ($34.5\sim 73.3\ \mu\text{m}$, $n=16$)。肾小球是一个血管球,呈圆形、椭圆形、梨形。血管球被肾小囊包被,囊壁内层与肾小球的毛细血管紧密贴附(图版 I-2;图版 II-1、2)。肾小囊内外两层均与基膜紧密结合,从肾小球显微结构来看,肾小囊腔较为狭小;从肾小囊超微结构来看,内外层基膜之间宽 $5\sim 10\ \mu\text{m}$ (图版 II-1),外层扁平上皮细胞和内壁上的足细胞之间形成囊腔(图版 I 3),宽 $1\sim 3\ \mu\text{m}$ 。肾小囊内层分布有足细胞,足细胞向肾小囊内壁伸出数个足突,和内壁相连。足细胞核大,电子密度较深,细胞器少,足突丝状或块状,长 $0.4\sim 1\ \mu\text{m}$,足突间距为 $15\sim 100\ \text{nm}$ (图版 II 2)。肾小球毛细血管中的水分、无机盐以及原尿等通过肾小囊内壁足突间隙渗透进入囊腔,流入肾小管。

2.2.2 颈段 肾小管最初的 1 段为颈段,前面衔接肾小囊,后面为近曲小管。颈段较短,也较细,直径为 $18\sim 25\ \mu\text{m}$,管腔径为 $3\sim 6\ \mu\text{m}$,由单层立方上皮细胞构成(图版 I 3),细胞核体积相对较大,核直径约为细胞高度的 $2/3\sim 4/5$,中位。其管腔直径为 $3\sim 5\ \mu\text{m}$,未见刷状缘。

2.2.3 近曲小管 近曲小管直径为 $30\sim 45\ \mu\text{m}$,管腔直径为 $8\sim 20\ \mu\text{m}$ 。近曲小管根据上皮细胞的结构可大致分为第一近曲小管和第二近曲小管(图版 I 3;图版 II 3~7)。

第一近曲小管上皮细胞游离端具刷状缘,微绒毛发达,成束且排列紧密,长 $3\sim 5\ \mu\text{m}$ 。游离端细胞间连接紧密,有连接复合体(图版 II-4)。微绒毛基部细胞膜下方有较发达的微丝。少数线粒体呈棒状或长椭圆形,长 $1\sim 1.5\ \mu\text{m}$,宽 $0.2\sim 0.5\ \mu\text{m}$,均匀分布在细胞核周围。细胞呈柱状,细胞核中位或基位,细胞游离端附近有少量空泡,直径较大,为 $0.5\sim 1\ \mu\text{m}$,细胞内部有若干溶酶体(图版 II-4)。

第二近曲小管上皮细胞游离端微绒毛较为稀疏,微绒毛长 $1\sim 2\ \mu\text{m}$ 。线粒体数量增多,且多呈圆形或椭圆形,长 $1\sim 2\ \mu\text{m}$,宽 $0.7\sim 1.2\ \mu\text{m}$,均匀分布在细胞核周围,嵴发达,棒状(图版 II 5~7)。细胞核中位,游离端细胞膜下方空泡增多,直径变小,为 $0.1\sim 0.2\ \mu\text{m}$ 。非游离端质膜内褶发达,细胞之间界线不清晰,只能通过胞质电子密度的差别来区分。

2.2.4 远曲小管 远曲小管相对于近曲小管直径略小,直径为 $20\sim 40\ \mu\text{m}$,管腔直径为 $5\sim 11\ \mu\text{m}$,胞体柱状或锥柱状,游离端没有或极少分布有微绒毛(图版 I-3;图版 II-8、9)。细胞核近基位。线粒体圆形或椭圆形,大小与第二近曲小管相似,分布在细胞核周围,嵴发达,但分布在细胞核与游离端之间的线粒体数量较近曲小管减少(图版 II 8)。细胞游离端附近有大量的小空泡,与第二近曲小管相似;细胞非游离端界线清晰(图版 II-9)。

2.2.5 集合管 数条远曲小管汇集为集合管。集合管直径一般大于 $50\ \mu\text{m}$,管腔径大于 $30\ \mu\text{m}$ 。细胞立方、矮柱状,细胞核中位或基位(图版 I 4)。

3 讨论

3.1 驼背鲈肾小体

不同生境、不同种类鱼的肾小球或者肾小体的大小存在差异。食蚊鱼(*Gambusia affinis*)肾小体的平均直径为 $82.16\ \mu\text{m}$ ($74.1\sim 107.9\ \mu\text{m}$)^[9];南方鲇(*Silurus meridionalis*)肾小体平均直径为 $66.5\ \mu\text{m}$ ^[10];长吻鮠(*Leiocassis longirostris*)肾小球的平均直径为 $60\sim 78\ \mu\text{m}$ ^[11];淡水梭鱼(*Liza haematocheila*)肾小球直径约为 $50\sim 58\ \mu\text{m}$ ^[12];淡水鲈(*Lateolabrax japonicus*)的肾小球直径最大为 $47\sim 58\ \mu\text{m}$,海水鲈肾小球直径最大为 $50\sim 60\ \mu\text{m}$ ^[13]。驼背鲈是 1 种海水鱼,肾小体长径平均 $55.0\ \mu\text{m}$,短径平均 $45.8\ \mu\text{m}$,明显比淡水鱼的食蚊鱼、长吻鮠和南方鲇的肾小体直径小,比淡水梭鱼的也稍小,但与白甲鱼(*Varicorhinus sinus*)^[14]的肾小体大小相

似。同为海水鱼,驼背鲈肾小体直径也与海水鲈存在一定差异,这种差异与种类有关。可能由于生存环境不同,使得各种鱼类代谢和渗透压调节存在一定差别,从而导致肾小体组织结构各异。

驼背鲈肾小体主要分布在肾脏的背侧。多数分布相对比较集中,有2~5个聚集的现象,这与食蚊鱼^[9]、斑鳅(*Siniperca scherzeri*)^[14]的肾小体出现多个聚集的现象相似。同时驼背鲈肾小管大都分布于肾脏腹侧。这种肾小体和肾小管分布相对集中的趋势预示其进化地位较为高等。

目前国内有关鱼类足细胞的深入研究不多见。驼背鲈肾小囊中分布有较多的足细胞,其足突十分发达,呈指状或块状。而有些鱼类如鲟^[15]虽然肾结构中有足细胞,但其足突不发达。足细胞的分布位置和其形态结构对于原尿的形成等具有重要意义,对于其作用机理和特点也需要进一步研究。

3.2 驼背鲈肾小管的划分

鱼类肾小管的划分随种类的不同而存在不同,但大致分为颈段小管、近曲小管、远曲小管和集合管,有些种类有部分消失或增加的情况。如红鲫(*Carassius auratus red variety*),其肾单位甚至没有肾小球^[16],也因此没有颈段的划分;淡水梭鱼^[12]和鲈^[13]的肾小管分类均为颈段、第一近曲小管、第二近曲小管、集合管4部分,远曲小管付缺;车静等^[9]将食蚊鱼肾小管划分为颈段、第一近曲小管、第二近曲小管、间段、远曲小管及搜集管6部分。本研究中,驼背鲈第一近曲小管和第二近曲小管上皮细胞从形态学方面均具有较为发达的微绒毛,细胞形状相似,但二者微绒毛的疏密程度不同,线粒体的发达程度不同。远曲小管上皮细胞基本无微绒毛,线粒体较整齐地分布于细胞核周围,与第二近曲小管不同,空泡的数量和大小也不相同。综上所述,笔者将肾小管划分为颈段、第一近曲小管、第二近曲小管、远曲小管和集合管5个部分,与南方鲈^[10]和大鳍鲮(*Mystus macropterus*)^[14]肾小管的划分相似。

3.3 驼背鲈肾小管的重吸收部位

鱼类肾小管的重吸收作用一般发生在线粒体和微绒毛较发达的近曲小管。线粒体为重吸收作用提供能量,而微绒毛则加大了上皮细胞游离端的表面积,有利于重吸收作用。如鲈肾小管重吸收的主要部位是近曲小管(包括第一近曲小管和第二近曲小管)^[13];淡水梭鱼肾脏重吸收作用主要发生在第一近曲小管^[12];成体弓鳍鱼(*Amia calva*)第

一近曲小管主要吸收蛋白质等,第二近曲小管则主要运输和重吸收管内的溶解物^[17]。本研究中驼背鲈第二近曲小管和远曲小管上皮细胞中含有大量线粒体,且均为圆形或椭圆形,内嵴发达。第一近曲小管上皮细胞微绒毛最发达,线粒体不发达,数量少且呈长棒状,且细胞游离端空泡数量少。通过上述3段肾小管细胞的结构来看,笔者认为驼背鲈肾小管重吸收作用最强的部位应为第二近曲小管,其次为远曲小管和第一近曲小管。

参考文献:

- [1] 成庆泰,杨文华. 中国鲷科鱼类地理分布的初步研究[M]// 鱼类学论文集(第一辑). 北京: 科学出版社,1981: 1-9.
- [2] 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.
- [3] 区又君,李加儿,陈福华. 驼背鲈引种驯养及人工诱导性腺发育和繁殖[J]. 湛江海洋大学学报,1999,19(3): 20-23.
- [4] 区又君,廖锐,李加儿,等. 驼背鲈的年龄与生长特征[J]. 水产学报,2007,31(5): 624-631.
- [5] 区又君. 驼背鲈的胚胎发育[J]. 海洋科学,2006,30(8): 17-19.
- [6] 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.
- [7] 陈福华,区又君,李加儿. 驼背鲈寄生线虫的研究[J]. 鱼类病害研究,1995,17(3-4): 63.
- [8] Tang H C, Twu J Y, Su W C. Experiment on artificial propagation of the high-finned grouper, *Cromileptes altivelis*[J]. China Fish, 1979, 324: 25-31.
- [9] 车静,张耀光,岳兴建,等. 食蚊鱼泌尿系统结构[J]. 西南农业大学学报,2002,24(1): 50-53.
- [10] 岳兴建,张耀光,敖磊,等. 南方鲈泌尿系统的结构[J]. 西南农业大学学报,2007,29(4): 137-143.
- [11] 金丽,赵海鹏,张耀光. 长吻鲈肾和膀胱的组织结构[J]. 西南师范大学学报,2005,30(1): 131-135.
- [12] 刘修业,崔同昌,王祖昌. 淡水梭鱼(*Liza haematocheila*)肾脏的组织学与亚微结构的观察[J]. 南开大学学报,1989,3: 102-107.
- [13] 林华英,姜明. 不同生境中鲈鱼肾脏显微和亚微结构变化的初步研究[J]. 山东海洋学院学报,1985,15(4): 64-70.
- [14] 钟明超. 白甲鱼、大鳍鲮和斑鳅肾的比较组织学研究[J]. 水产学报,1996,20(1): 76-80.
- [15] Ojeda J L, Icardo J M, Domezain A. Renal corpuscle of the

- sturgeon kidney: An ultrastructural, chemical dissection, and lectin-binding study [J]. *Anatom Record*, 2003, 272(2) A: 563-573.
- [16] 王宗保, 吴端生, 宋颖, 等. 红鲷主要器官组织的显微和超微结构研究 [J]. *中国实验动物学杂志*, 2002, 12(2): 82-86.
- [17] Youson J H, Butler D G. Morphology of the kidney of adult bowfin, *Amia calva*, with emphasis on "renal chloride cells" in the tubule [J]. *J Morphol*, 2005, 196(2): 137-156.

Structural observation on kidney of high finned grouper, *Cromileptes altivelis* Valenciennes

CAI Wen-chao, OU You-jun

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

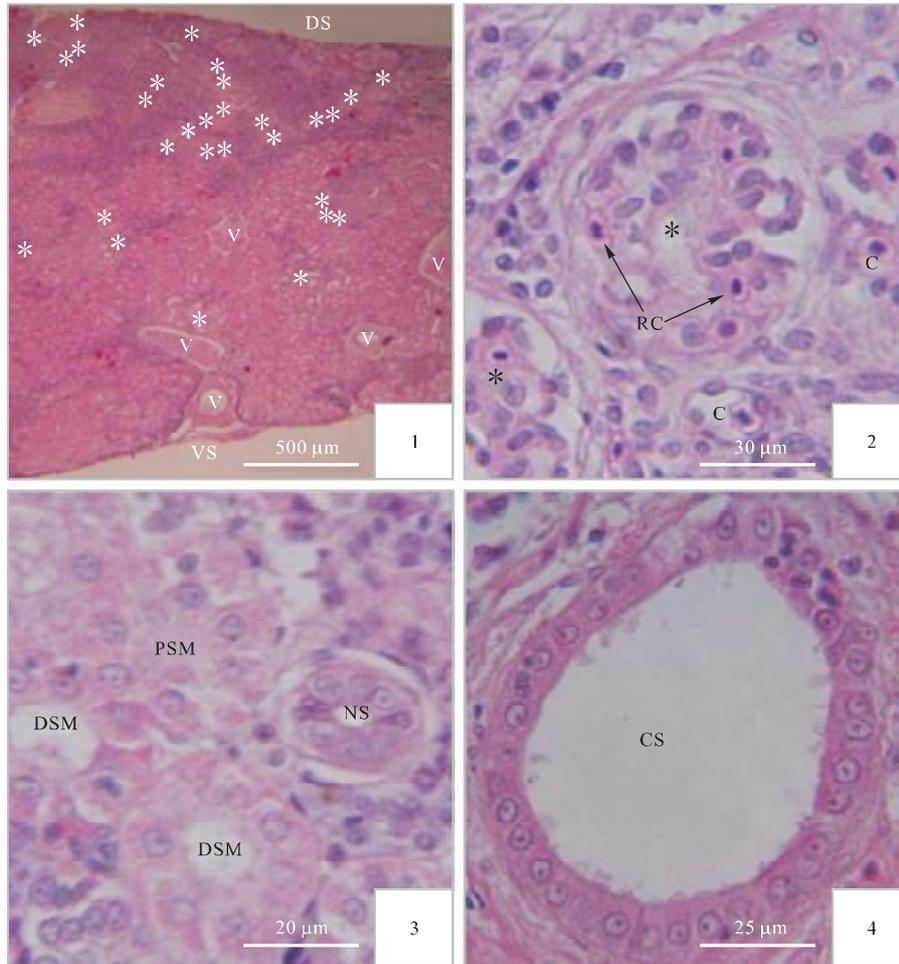
Abstract: Kidney, which regulates ion balance between body and water, is one of the most important organs for fish to excrete. It is necessary to investigate structure of fish kidney in order to find the mechanism of excretion and osmoregulation. This study reports the kidney histological structure of a famous marine fish, high finned grouper, *Cromileptes altivelis* Valenciennes. The kidney structure of high finned grouper was observed via paraffin section technique and transmission electron microscopy (TEM) technique. Fishes were collected from fish market and acclimated in the laboratory for 2 days. Posterior half of kidney was sampled and fixed in Bouin's fixation liquid and 2.5% glutaraldehyde solution (4 °C) immediately after the fish were killed. Cross sectional slides were made with paraffin section technique. The distribution and ultrastructure of renal corpuscle and tubule were observed. Results show that glomeruli mainly distribute at the dorsal side of kidney and renal tubules are at the ventral side. Assembly of 2-5 glomeruli were found, which indicates high evolutionary position of high finned grouper. Mean macroaxis diameter and brachyaxis diameter of renal corpuscle are 55.0 μm and 45.8 μm, respectively ($n=16$), which are different from various species. There are many podocytes in renal capsule which have many foot processes sticking to the inner base membrane. They are quite near capillaries and this indicates that podocyte might play an important role in crude urine producing. Morphology of epidermic cells in renal tubules shows significant differences in different sections. Based on the morphology and structure of epidermic cells, renal tubules are divided into 5 parts which are neck segment, the first proximal segment, the second proximal segment, distal segment and collecting segment. Epidermic cells in the first proximal segment have developed microvilli and microfilament. Microvilli can bring crude urine the power of flow. Many round and elliptical mitochondria were found in epidermic cells of the second proximal segment. The ultrastructure illuminates that it is the most significant part to reabsorb crude urine. Epidermic cells in distal segment have many mitochondria around nucleolus and small vacuoles in free-end. However, they have less microvilli. Collecting segment is the thickest part of renal tubules and can collect and transport urine. This study offers scientific foundation for further research on urinary system and osmoregulation of high finned grouper. [Journal of Fishery Sciences of China, 2008, 15(5): 773-778]

Key words: *Cromileptes altivelis* Valenciennes; kidney; structure; ultrastructure

Corresponding author: OU You-jun. E-mail: ouyoujun@126.com

蔡文超等：驼背鲈肾脏显微和超微结构观察

CAI Wen-chao et al: Structural observation on kidney of high finned grouper *Cromileptes altivelis* Valenciennes



图版 I

1. 驼背鲈肾脏显微结构，示肾小球和肾小管的分布；2. 肾小球显微结构，箭头为血管球中的红细胞；3. 肾小管显微结构，示颈段、近曲小管和远曲小管；4. 集合管显微结构。

* 肾小球；C 毛细血管；CS 集合管；DS 背侧；DSM 远曲小管；NS 颈段；PSM 近曲小管；RC 红细胞；V 血管；VS 腹侧。

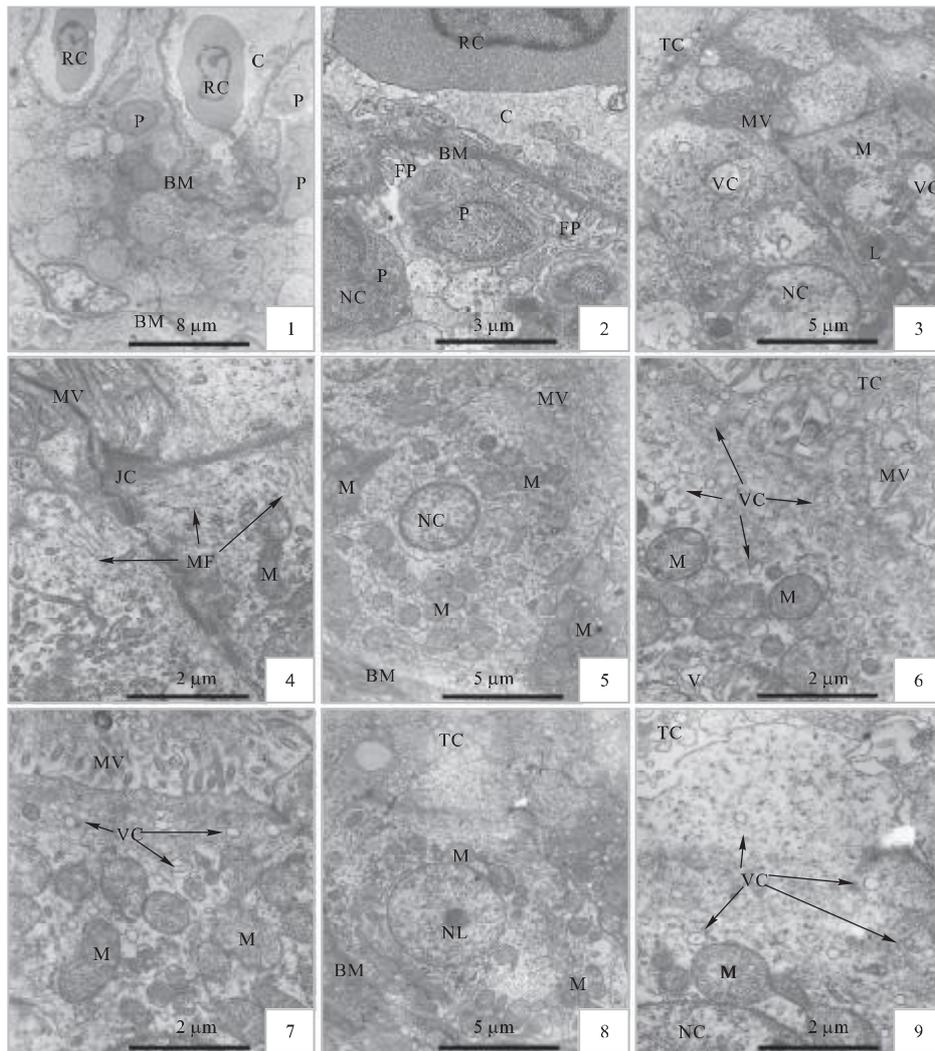
Plate I

1. Microstructure of kidney in *Cromileptes altivelis* Valenciennes, showing the distribution of glomerulus and renal tubules; 2. microstructure of glomerulus, showing red cells (arrow); 3. microstructure of renal tubules, showing neck segment, proximal segment and distal segment; 4. microstructure of collecting tubule.

* glomerulus; C capillary; CS collecting segment; DS dorsal side; DSM distal segment; NS neck segment; PSM proximal segment; RC-red cell; V-vessel; VS-ventral side.

蔡文超等：驼背鲈肾脏显微和超微结构观察

CAI Wen-chao et al: Structural observation on kidney of high finned grouper *Cromileptes altivelis* Valenciennes



图版 II

1: 驼背鲈肾小囊腔超微结构; 2: 肾小囊脏层结构, 示足细胞和足突; 3: 第一近曲小管上皮细胞超微结构; 4: 第一近曲小管上皮细胞游离端超微结构, 示微丝和连接复合体; 5: 第二近曲小管上皮细胞超微结构; 6: 第二近曲小管上皮细胞游离端超微结构, 示空泡和线粒体; 7: 第二近曲小管上皮细胞游离端超微结构, 示空泡和线粒体; 8: 远曲小管上皮细胞超微结构; 9: 远曲小管上皮细胞游离端超微结构, 示空泡。

BM 基膜; C 毛细血管; FP 足突; JC 连接复合体; L 溶酶体; M 线粒体; MF 微丝; MV 微绒毛; NC 细胞核; NL 核仁; P 足细胞; RC- 红细胞; TC- 管腔; VC- 空泡。

Plate II

1. The ultrastructure of renal capsule in *Cromileptes altivelis*; 2. visceral ultrastructure of renal capsule, showing podocytes and foot processes; 3. ultrastructure of epithelial cells in the first proximal segment; 4. free-end ultrastructure of epithelial cells in 1st proximal segment, showing microfilament and junction complex; 5. ultrastructure of epithelial cells in the 2nd proximal segment; 6. free-end ultrastructure of epithelial cells in 2nd proximal segment, showing vacuole and mitochondrion; 7. free-end ultrastructure of epithelial cells in 2nd proximal segment, showing vacuole and mitochondrion; 8. ultrastructure of epithelial cells in distal segment; 9. free-end ultrastructure of epithelial cells in distal segment, showing vacuole.

BM-basement membrane; C-capillary; FP-foot process; JC-junction complex; L-lysosome; M-mitochondrion; MF-microfilament; MV microvilli; NC nucleus; NL nucleolus; P podocyte; RC red cell; TC tube cavity; VC vacuole.