

文章编号:1005-8737(2000)03-0011-05

中国对虾幼体中肠腺的结构和细胞化学研究

张志峰¹, 廖承义¹, 姜明², 刘晓云², 徐怀恕¹

(1. 青岛海洋大学 海洋生命学院, 山东 青岛 266003;

2. 青岛海洋大学测试中心, 山东 青岛 266003)

摘要:用组织学、细胞学以及细胞化学等手段对中国对虾中肠腺的结构发生和功能进行研究。结果表明,中肠腺始于 N_{4-5} 期,为中肠前端先后向两侧突出的2对盲囊,第1对中肠腺盲囊至 M_3 期退化消失,成体中肠腺由第2对中肠腺盲囊发育而成。中肠腺小管上皮在 Z_2 期细胞已有了分化,由4类细胞组成,即胚细胞(E细胞)、纤维细胞(F细胞)、泡状细胞(B细胞)和吸收细胞(R细胞)。电镜下,腺上皮细胞在发育的各个时期基本一致;E细胞的核质比大,具有很强的分裂能力;F细胞含丰富的粗面内质网及酶原颗粒,该细胞在微绒毛处可见ACP活性,主要进行细胞外消化;B细胞有明显地微胞饮现象,该细胞内可见明显的ACP阳性反应物质,表现出旺盛的细胞内消化活动;R细胞线粒体和滑面内质网丰富,其内贮存有脂肪颗粒和糖原。

关键词:中国对虾;幼体;中肠腺;细胞学;细胞化学

中图分类号:Q959.223.63

文献标识码:A

中肠腺是甲壳动物中最重要的消化器官,是消化食物、吸收营养的主要功能场所,由此备受国内外学者的重视。从细胞的起源、分化、细胞类型到细胞结构和功能均有涉及,但这其中研究较多和较详细的要属成体,对幼体中肠腺的发生和功能研究进行的较少。本文以中国对虾(*Penaeus chinensis*)为材料,通过对其中肠腺的发生、细胞学和细胞化学研究,探讨不同发育阶段幼体自身的消化吸收功能,为今后对虾消化生理研究积累资料,也可望为对虾人工育苗中饲料的合理配比提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

中国对虾各期幼体采自山东省日照市对虾育苗场和青岛崂山对虾育苗场。采集了从无节幼体期

(N_{1-6})、蚤状幼体期(Z_{1-3})、糠虾幼体期(M_{1-3})和仔虾期(P)共13个时期的样品。

1.2 组织学切片

上述各期幼体用Bouin's液固定。其中 $N \sim Z$ 期幼体用琼脂-石蜡双重包埋; $M \sim P$ 期幼体用石蜡包埋。常规石蜡连续切片,厚度为 $7 \mu\text{m}$ 。H、E染色。OLYMPUS显微镜下观察、照相。

1.3 电镜切片

另取 $N_3 \sim P$ 各期幼体(其中 $Z_1 \sim P$ 除去头胸甲),经戊二醛、锇酸双重固定,EPON812环氧树脂包埋,LKB-Nova超薄切片机切片,醋酸铀、柠檬酸铅双重染色,H-7000型透射电镜下观察、拍照。

1.4 细胞化学

样品(Z去除头胸甲; $M \sim P$ 在解剖镜下取出中肠腺)经初步固定,以金属盐法^[1]配制酸性磷酸酶(ACP)孵育液。 37°C 孵育1 h。 0.1 mol/L 二甲酸钠缓冲液冲洗。脱水、包埋、制作超薄切片、观察等同电镜切片。

收稿日期:1999-08-20

基金项目:联合国教科文组织资助项目(UNESCO 861.359.8);国家攀登计划B资助项目(PDB6-2-2)

作者简介:张志峰(1964-),女,山东青岛人,青岛海洋大学副教授,博士,从事海洋生物学研究。

2 结果

光镜下可见中国对虾中肠腺始于 $N_{4.5}$ (图版I-1),它是中肠前端膨大部向两侧先后突出的2对囊状结构,分别由称为第1对和第2对中肠腺盲囊发育而来(图版I-2),N期产生的中肠腺盲囊尚不明显,至 Z_1 期,2对中肠腺盲囊明显,此时,中肠腺盲囊基本上是由1种细胞组成。至 $Z_{2,3}$,第1对中肠腺盲囊在突出处呈深度缢缩,且囊壁细胞亦有了明显分化(图版I-3);第2对中肠腺盲囊沿体长轴向后延伸,其管壁结构与第1对中肠腺盲囊基本一致,说明此阶段2对中肠腺盲囊都执行消化吸收功能。至M期,第2对中肠腺盲囊分枝增多(图版I-4),将来一部分向前延伸覆盖在幽门胃上,另一部分沿中肠向后延伸,并不断分枝,同时,内壁出现许多皱褶,构成成体的中肠腺。第1对中肠腺盲囊则于 M_3 期退化、消失。

电镜下,中肠腺小管管壁包括4部分,即上皮、基膜、肌肉层和结缔组织层,但与中肠相比^[2],其肌肉层和结缔组织层都远不如中肠壁发达。从不同时期的中肠腺来看,构成其管壁的细胞未见有明显的变化。观察显示,腺上皮包括4种基本细胞:

胚细胞(Embryonic cell, E细胞) 分布在中肠腺小管的盲端,是未分化的原始小细胞,切片中经常可见正在分裂的细胞。该细胞核质比大,胞核内常染色质较多,胞质内含丰富的游离核糖体,但其它细胞器,如粗面内质网和线粒体较少(图版I-5)。

纤维细胞(Fibrillar cell, F细胞) 分布在中肠腺小管的中段,多分布于泡状细胞和吸收细胞之间。此细胞游离端有排列整齐的微绒毛,但未发现有胞饮现象。在细胞的顶部含大量线粒体,其内嵴长而多,基质丰富(图版I-6)。细胞质内含丰富的粗面内质网和游离核糖体及许多酶原颗粒,另还分布有高尔基复合体。细胞内各种细胞器和内含物的数量往往随不同的纤维细胞而异。在酶原颗粒合成的初期,细胞内线粒体特别丰富,主要集中在细胞的顶端和基部,线粒体的形状多样,其内基质含量少,电子密度低,其丰富的游离核糖体遍布细胞质中,但内质网和高尔基体则主要分布在细胞的下半部和核的周围。随着细胞内酶原颗粒逐渐增多,分布也由开始的某一点扩散到整个胞质并最终向细胞游离端集中,胞质内线粒体基质电子密度增加。该细胞只在微绒毛处显示出ACP活性,在细胞内除极少量的溶

酶体外,均无酶活性(图版I-7,8)。

泡状细胞(Blister cell, B细胞) 是腺小管上皮内胞体最大的细胞,往往以大的消化泡而与其它细胞区别开来。电镜下,泡状细胞游离端微绒毛较短,细胞顶端可见大量微胞饮小沟(图版I-9)及胞饮小泡,小泡不断愈合,构成了大小不一的胞饮泡的集合,并最终汇集成大的消化泡。在消化泡周围的胞质中,分散有大量的游离核糖体、粗面内质网、高尔基复合体和线粒体(图版I-10)。ACP活性在泡状细胞中特别明显,在同一个个体的不同细胞中,依次可见微绒毛,初级、次级溶酶体,大、小消化泡,线粒体和细胞核上均有分布(图版I-11,12,13)。由此显示出细胞正处于不同的生理状态。

吸收细胞(Resorptive cell, R细胞) 由于其胞质中含有1个大的或多个小的脂肪滴而极易辨认。电镜下,在吸收细胞的早期,细胞质内内质网发达,游离核糖体充满细胞质中(图版I-14),有时可见其滑面内质网呈片层状排列(图版I-15)。随着吸收细胞的成熟,可见细胞顶端和基部分布有大量线粒体,脂肪颗粒在刚开始时较小而少,以后渐多,最终汇集成1个大的脂肪颗粒,细胞核也因此被挤到了细胞的一侧。另外,细胞内还含有一些溶酶体和糖原颗粒。随着细胞的逐渐衰退,吸收细胞最终质膜破裂、瓦解而排入到管腔内(图版I-16)。

3 讨论

高洁等^[3]认为中国对虾中肠腺始于晚期无节幼体。据本实验观察,早在 N_3 期时,中肠刚刚形成后,其前段即向前缢生出1对囊状突起,即为第1对中肠腺盲囊,至 N_4 ,又侧生出第2对中肠腺盲囊,第1对中肠腺盲囊在 M_3 期退化消失。因此,中国对虾成体的中肠腺是由幼体时期的第2对中肠腺盲囊发育而来的。

关于中肠腺细胞的结构、种类、功能一直是研究的热点,倍受关注。Al-Mohanna等认为短沟对虾中肠腺管壁上皮由5种细胞组成,即E细胞、F细胞、B细胞、R细胞和M细胞(Midget cell, 侏儒细胞)^[4-9];刘晓云等^[10]也在中国对虾成体中发现了这5种细胞。大部分学者认为在甲壳类动物的中肠腺中只有4种细胞^[11-13]。本实验未观察到M细胞,分析原因可能有2个:①中国对虾幼体时期无此细胞;②对虾幼体时期生长快、蜕皮间期短,取材时可能恰好处于蜕皮前、后期,故未发现M细胞(Al-

Mohanna^[5]报道 M 细胞仅发生在蜕皮间期,而在蜕皮前、后期及蜕皮期此细胞消失)。但本实验发现在腺上皮 B 细胞之下有一无游离面的小细胞,此细胞从位置上与 Al-Mohanna^[5]所提的 M 细胞相同,但结构与 M 细胞相差甚远,与 E 细胞的结构相似(胞器较少,游离核糖体充满细胞质中),作者认为可能是 Bell^[14]所提的基细胞(图版 I-15),可能与补充解体的中肠腺细胞有关。

中肠腺上皮细胞具有不同的功能:

(1)E 细胞是目前大家公认的具有很强分化潜力的细胞,这从其较大的核质比和呈现一定分裂状态反映出来。

(2)F 细胞由于其胞质中存在大量酶原颗粒,说明其与消化有关。Al-Mohanna^[4]提出 F 细胞酶原颗粒以胞吐的方式排入到管腔中,进行细胞外消化。本实验未发现胞吐现象,但在细胞微绒毛处,可见 ACP 阳性反应物质,说明在此有消化过程,而细胞内的酶原颗粒并未显示酶活性,由此可证明, F 细胞无细胞内消化过程。

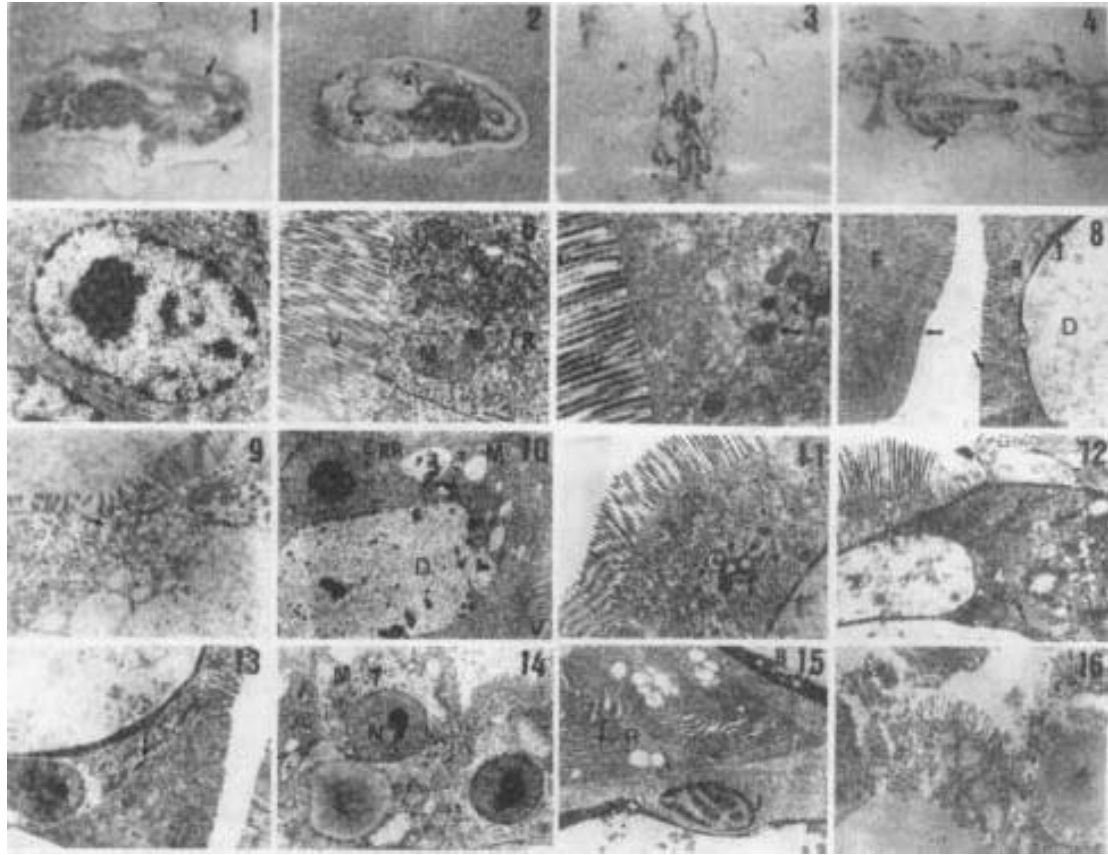
(3)对于 B 细胞的功能目前看法不一。Al-Mohanna 等^[6]观察到,使用不同的饵料,短沟对虾的 B 细胞内大消化泡内含物不同,并认为 B 细胞的大泡内未消化的食物残渣的多少可以反应对饵料的利用程度。且在研究短沟对虾的消化周期时,还提出 B 细胞的主要作用是吸收营养物质和排泄。而从本实验结果看, B 细胞的游离面有大量胞饮小泡,胞饮现象明显,说明它具有强的吸收功能,结合 ACP 反应结果,我们推测 B 细胞的生理代谢过程应该是: B 细胞通过胞饮作用吸收腔内的物质,所形成的胞饮小泡可能在互相愈合的过程中,与来自周围高尔基小泡内的水解酶结合,最终形成大的食物泡,进行细胞内消化,随着消化作用的进行,细胞逐渐衰老,细胞内的胞器相继水解,最终未消化的 B 细胞残体排入腺腔,并随粪便排出。由此认为, B 细胞具有吸收来自腺腔的营养物质并进行细胞内消化的功能,这与 Al-Mohanna 等^[6,9]的观点是一致的。

(4)有关 R 细胞的功能, Vogt^[15]在对斑节对虾的研究发现, R 细胞对不同的饵料很敏感,由此提出,中肠腺中 R 细胞的超微结构变化可以反映食物营养价值的高低。Al-Mohanna^[8]提出, R 细胞有吸收营养物质并以糖原和脂滴的形式贮存的功能。从本实验结果看,在 R 细胞游离面并未见到胞饮现

象,但在此处分布有大量线粒体和电子致密颗粒(糖原)。由此推测, R 细胞可从管腔中以分子扩散和主动吸收的方式吸收营养物质,并将吸收来的营养物质通过其发达的内质网系统合成转化为脂肪颗粒和糖原颗粒,贮存在细胞内。正像我们在结果中提出的, R 细胞最终退化、解体,也排入到管腔并随粪便排出体外。

参考文献:

- [1] 抗振铤, 蔡文琴. 电子显微镜技术在临床医学的应用[M]. 重庆: 重庆出版社, 1988. 6.
- [2] 张志峰, 马英杰, 廖承义, 等. 中国对虾幼体中肠的超微结构研究[J]. 海洋与湖沼, 1999, 30(2): 145-149.
- [3] 高洁. 中国对虾消化系统发生的初步研究[J]. 山东海洋学院学报, 1986, 16(4): 18-23.
- [4] Al-Mohanna S Y, Nott J A, Lane D J W. Mitotic E-cell and secretory F-cells in the hepatopancreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda)[J]. J Mar Biol Ass U K, 1985a, 65: 901-910.
- [5] Al-Mohanna S Y, Nott J A, Lane D J W. M- "midget" cells in the hepatopancreas of the shrimp *Penaeus semisulcatus* 1844 (Decapoda, Natantia)[J]. Crustaceana, 1985b, 48: 260-268.
- [6] Al-Mohanna S Y, Nott J A. B-cells and digestion in the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda, Natantia)[J]. J Mar Biol Ass U K, 1986, 66: 403-414.
- [7] Al-Mohanna S Y, Nott J A. M- "Midget" cells and moult cycle in *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda)[J]. J Mar Biol Ass U K, 1987a, 67: 803-813.
- [8] Al-Mohanna S Y, Nott J A. R-cells and the digestive cycle in *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda)[J]. Mar Biol, 1987b, 95: 129-137.
- [9] Al-Mohanna S Y, Nott J A. Functional cytology of the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda) during the moult cycle[J]. Mar Biol, 1989, 101: 535-544.
- [10] 刘晓云, 姜明. 中国对虾肝小管管壁细胞结构的研究[J]. 青岛海洋大学学报, 1997, 27(4): 515-520.
- [11] 陈宽智. 东方对虾消化系统解剖和组织学的研究[J]. 山东海洋学院学报, 1988, 18(1): 43-53.
- [12] Caccci T. Ultrastructure of the hepatopancreas of the pacific white shrimp *Penaeus vannamei* (Crustacea: Decapoda)[J]. J Mar Biol U K, 1988, 68: 323-327.
- [13] Rigdon R H, Mensik D J. Gastrointestinal tract of *Penaeus aztecus* Ives, 1891 (Decapoda, Natantia). A Histologic Study[J]. Crustaceana, 1976, 30(2): 164-168.
- [14] Bell. Handbook of normal penaeid shrimp histology[M]. World Aquaculture Society, 1988.
- [15] Vogt G. Midgut gland as monitor organ for the nutritional value of diets in *Penaeus monodon* [J]. Aquaculture, 1985, 48: 1-12.



图版 I Plate I

1. N_4 期纵切面, 箭头示第 1 对中肠腺盲囊, $\times 90$ 。Longitudinal section at N_4 , arrow showing first pair of midgut gland.
2. N_5 平切面, Δ 示第 1 对中肠腺盲囊; $\blacktriangle$ 示第 2 对中肠腺盲囊, $\times 90$ 。Frontal section at N_5 , Δ showing first pair of midgut gland, $\blacktriangle$ showing second pair of midgut gland.
3. Z_2 平切面, Δ 示第 1 对中肠腺盲囊; $\blacktriangle$ 示第 2 对中肠腺盲囊, $\times 90$ 。Frontal section at Z_2 , Δ showing the first pair of midgut gland, $\blacktriangle$ showing the second pair of midgut gland.
4. M 纵切面, 箭头示分枝的中肠腺, $\times 90$ 。Longitudinal section at M , arrow showing branching midgut gland.
5. 胚细胞, $\times 2\ 640$ 。E-cell.
6. 纤维细胞顶部, 箭头示粗面内质网, $\times 5\ 940$ 。Top part of F-cell, arrow showing rough endoplasmic reticulum.
7. 纤维细胞, 示 ACP 阳性反应, 箭头示溶酶体, $\times 7\ 920$ 。F-cell, showing ACP positive reaction, arrow showing lysosome.
8. 中肠腺上皮细胞, 箭头示 ACP 阳性反应, $\times 1\ 320$ 。E-cell of midgut gland, arrow showing ACP positive reaction.
9. 泡状细胞顶部, 箭头示胞饮小管, $\times 1\ 980$ 。Top part of B-cell, arrow showing pinocytosis channel.
10. 泡状细胞, $\blacktriangledown$ 示高尔基复合体, $\times 1\ 980$ 。B-cell, $\blacktriangledown$ showing Golgi complex body.
11. 泡状细胞内次级溶酶体上的 ACP 阳性反应($\rightarrow$), $\times 3\ 300$ 。ACP positive reaction ($\rightarrow$) of secondary lysosome in B-cell.
12. 泡状细胞正在消化的消化泡, 箭头示 ACP 阳性物质, $\times 3\ 960$ 。Digestive vacuole in digesting B-cell, arrow showing ACP positive reaction.
13. 泡状细胞内的 ACP 阳性反应, 箭头示线粒体, $\times 1\ 650$ 。ACP positive reaction in B-cell, arrow showing mitochondria.
14. 吸收细胞, 箭头示滑面内质网, $\times 1\ 320$ 。R-cell, arrow showing smooth endoplasmic reticulum.
15. 中肠腺细胞, 箭头示滑面内质网, $\times 2\ 640$ 。The cells of midgut gland, arrow showing smooth endoplasmic reticulum.
16. 吸收细胞的解体, $\times 1\ 320$ 。Disintegration of R-cells.

N -细胞核 Nucleus; RER-粗面内质网 Rough endoplasmic reticulum; V -微绒毛 Microvilli; M -线粒体 Mitochondria; Fr -游离核糖体 Free ribosome; F -纤维细胞 Fibroblast cell; B -泡状细胞 Blaster cell; D -消化泡 Digestive vacuole; A -早期吸收细胞 Early R-cell; T -糖原颗粒 Glycogen granules; L -脂肪颗粒 Fatty granules; R -吸收细胞 Resorptive cell; J -基细胞 Basal cell.

Study on structure and cytochemistry of midgut gland in larval *Penaeus chinensis*

ZHANG Zhi-feng¹, LIAO Cheng-yi¹, JIANG Ming², LIU Xiao-yun², XU Huai-shu¹

(1. College of Marine Life Sciences, Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003, China;

2. Test Centre of Ocean University of Qingdao, Qingdao 266003, China)

Abstract: Genesis and function through histo and cytology and cyto-chemistry are researched in midgut gland of *Penaeus chinensis* at larval stage. The results show that 2 pairs of midgut gland diverticula protrude from the midgut at N₄₋₅, of which the first one degenerates gradually and disappears at M₃, while the second one would develop into the midgut gland in adult.

The midgut gland cell differentiation occurs at Z₂. There are 4 types of cells, i.e., embryonic cell (E-cell), fibrillar cell (F-cell), blister cell (B-cell) and resorptive cell (R-cell). The epithelial cells of gland show no difference during larval development. The proportion of nucleus and cytoplasm in E-cell is high, but organelles are not rich. E-cell has obvious ability of division. In F-cells plenty of rough endoplasmic reticulum and zymogen can be observed. And in F-cell there is ACP activity at microvilli obviously. On the top of B-cell, pinocytotic phenomenon can be observed distinctly, and there exist some small vesicles and large digestive ones. Because of different physiological states in the cells, ACP activities occur at different sites obviously. The early R-cells are very rich in mitochondria and smooth endoplasmic reticulum with plenty of fatty granular and glycogen.

Key words: *Penaeus chinensis*; larva; midgut gland; cytology; cytochemistry

2001 年度《中国水产文摘》征订启事

《中国水产文摘》系我国水产系统唯一的全面报道国内水产科技文献的综合性检索期刊,由中国水产科学研究院渔业综合信息研究中心主办。其宗旨是全面、及时地报道全国各地公开发行的水产科技文献,为读者快速、方便地检索国内水产科技文献服务。本刊为全国优秀水产刊物,并 1 次获全国科技文献检索期刊二等奖,3 次获全国科技文献检索期刊三等奖,2 次获全国水产优秀期刊一等奖。现已被“万方数据”(ChinaInfo)系统科技期刊群(《电子期刊》)全文收录,本刊的《中国水产文献数据库》也已加入 ChinaInfo 网。

本刊所收录的文献类型有期刊、专著、汇编、会议录、科技报告、技术标准等。按以下主要类目编排:(1)水产总论;(2)水产基础科学;(3)水产资源和环境保护;(4)水产捕捞;(5)海水养殖;(6)淡水养殖;(7)水产生物病害及防治;(8)饲料和肥料;(9)水产品保鲜及加工;(10)渔业机械仪器和渔船;(11)渔业经济。年报道量 3000 条以上。每年第 1 期刊登本刊引用主要期刊一览表。年终编辑出版本年度主题索引、著者索引。本刊还有自 1985 年创刊以来的数据和各年及 1999 年的最新数据《中国水产文献数据库》光盘和软盘,有意者来函联系。

本刊为双月刊,逢双月底出版,国内外公开发行。国际标准刊号:ISSN 1002-1612,国内统刊号:CN11-3035/S。每期定价 12.00 元,全年 6 期共 72.00 元。邮发代号 18-126,国外代号:BM4104,请广大新、老订户和读者及时到当地邮局办理订阅手续。也可直接向本刊编辑部办理邮购。

编辑部地址:北京市永定路南青塔村 150 号 邮政编码:100039 联系电话:(010)68673921