

遮目鱼幼鱼鳃线粒体丰富细胞的形态结构及其在不同盐度下的变化

区又君^{1*} 林先智^{1,2} 李加儿¹ 温久福¹

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 该实验通过普通光学显微镜、透射电子显微镜和扫描电子显微镜的方法, 研究不同盐度条件下(盐度0、10、20、27、35)广盐性海水鱼类遮目鱼(*Chanos chanos*)幼鱼鳃器官结构和鳃上线粒体丰富细胞分布及结构的变化。鳃线粒体丰富细胞呈椭圆形或卵圆形, 内含有大量线粒体, 细胞核较大。在不同盐度条件下, 遮目鱼幼鱼出现两种鳃线粒体丰富细胞: 一种是具有顶端小窝、线粒体体积较大的A型线粒体丰富细胞; 另一种是单独存在、线粒体体积较小的B型线粒体丰富细胞。随着盐度降低, A型线粒体丰富细胞及其线粒体数量减少、体积减小, 电子密度降低, 顶端开口变小甚至关闭。盐度降至淡水条件下, 鳃小片肿胀、脱落, 鳃小片上增生出具有大面积平滑或波状的顶端开口的B型线粒体丰富细胞。结果表明, 在高渗环境下, A型线粒体丰富细胞较为丰富和发达, 其结构特征适应了离子分泌的功能, 为海水型线粒体丰富细胞; 在低渗环境下, B型线粒体丰富细胞较为丰富, 其结构特征适应了离子吸收的功能, 为淡水型线粒体丰富细胞。不同结构类型鳃线粒体丰富细胞的存在使得广盐性海水鱼类可以适应较广的盐度范围变化。

关键词 遮目鱼; 鳃; 线粒体丰富细胞; 盐度

The Morphological Structure of Mitochondrion-rich Cells in the Gills of Juveniles of the Milkfish (*Chanos chanos*) and Its Changes in Various Salinities

Ou Youjun^{1*}, Lin Xianzhi^{1,2}, Li Jiaer¹, Wen Jiufu¹

¹Key Lab. 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 Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract The distribution and changes of the mitochondrion-rich cells in gills and changes in gills of juveniles of seawater-acclimated milkfish *Chanos chanos* under different salinities (0, 10, 20, 27, 35 g/L) were studied by light micrograph, transmission electron micrograph and scanning electron micrograph. Mitochondrion-rich cells with large number of mitochondria and large nucleus were oval or ovoid in gills. Two types of mitochondrion-rich cells in gills of juveniles of milkfish were observed when acclimated to various salinities: type A mitochondrion-rich cells with apical crypts and larger mitochondria; type B mitochondrion-rich cell which was a single cell with smaller mitochondria. With the reduction of salinity, the number and size of mitochondrion-

收稿日期: 2014-08-01 接受日期: 2014-10-09

广东省海洋渔业科技推广专项项目(批准号: A201200E02)资助的课题

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

Received: August 1, 2014 Accepted: October 9, 2014

This work was supported by the Scientific and Technical Extension Project in Ocean and Fisheries of Guangdong Province (Grant No.A201200E02)

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

网络出版时间: 2014-12-01 11:04

URL: <http://www.cnki.net/kcms/doi/10.11844/cjcb.2014.12.0255.html>

rich cells and mitochondria were reduced, electron density was decreased and the apical opening of mitochondria was narrower or closed. When milkfishes were transferred to fresh water, hypertrophy was observed on branchial lamellae, and type B mitochondrion-rich cells with large area apical membrane appeared as a flat or wavy disk with a mesh-like structure on its surface were observed on branchial lamellae. The results indicated that type A mitochondrion-rich cells would be rich and well developmented in hypertonic environment. Type B mitochondrion-rich cells would be rich in hypotonic environment. So, type A and type B mitochondrion-rich cells were considered to be seawater-acclimation type and freshwater-acclimation type respectively, for their structural characteristics adapted in ion intake and secretion functions. Meanwhile, the existing of different types of mitochondrion-rich cells in gills can make euryhaline marine teleost adapt to a wider range changes of salinities.

Key words *Chanos chanos*; gill; mitochondrion-rich cell; salinity

鳃作为鱼类重要的呼吸器官,同时还具备有排泄和渗透压调节的功能,鳃与肾脏、皮肤等器官一起完成鱼类对渗透压的调节。鳃之所以能完成对渗透压的调节,与其特化的上皮结构是分不开的。具有渗透压调节功能的鳃丝上皮结构中主要有五种细胞类型:扁平上皮细胞、神经上皮细胞、黏液细胞、未分化细胞以及泌氯细胞。泌氯细胞的最初发现是由于其能分泌 Cl^- 而得名,但近期的研究发现泌氯细胞内含有大量线粒体和发达的微细小管,细胞内部大量分布有像 Na^+/K^+ -ATP酶(Na^+/K^+ -ATPase, NKA)、 Na^+/H^+ 转换转运蛋白3(Na^+/H^+ exchanger 3, NHE3)、 Na^+/Cl^- 协同转运蛋白(Na^+/Cl^- cotransporter, NCC)、 $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ 协同转运蛋白($\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ cotransporter, NKCC)等与离子运输相关的蛋白^[1-2],具有分泌和吸收 Na^+ 、 K^+ 、 Cl^- 等离子子的功能^[3],故称为线粒体丰富细胞(mitochondria-rich cells, MRC)更为合适^[4],鳃的渗透压调节功能主要由该类细胞完成。通过免疫学、组织学、分子生物学等多种手段发现,广盐性的海水鱼类在不同的盐度条件下,鳃上会出现不同类型的线粒体丰富细胞^[5-6],而同种类型的线粒体丰富细胞其结构及离子运输机制在不同盐度条件下也会发生相应的变化^[2],这种变化使得其能在较广的盐度条件下生存,是区别于狭盐性鱼类的重要特征之一^[7]。目前对鱼类鳃线粒体丰富细胞的研究较少,在国内仍处于起步阶段,仅有区又君等^[4]研究了不同盐度对人工选育卵形鲳鲆(*Trachinotus ovatus*)子代鳃线粒体丰富细胞结构变化的影响。

遮目鱼(*Chanos chanos*)隶属于鲱形目(Clupeiformes)、遮目鱼亚目(Chanoidei)、遮目鱼科(Chanidae)、遮目鱼属(*Chanos*)^[8],又称虱目鱼、国姓鱼。广泛分布于包括我国南海和台湾海域在内的

印度洋至太平洋的热带亚热带地区,属热带、亚热带暖水性结群鱼类,生长迅速,病害较少;适盐范围广,能生活于淡水中;为草食性鱼类,饲料来源广;既适宜池塘、网箱单养,又适宜池塘与虾混养。遮目鱼池塘养殖在菲律宾、印尼和台湾省是重要的养殖业,是台湾最有代表性的食用鱼类,有“台湾第一鱼”之称,适合在我国南部沿海地区推广养殖,是咸淡水养殖中很有发展前途的名贵鱼类,也是发展鱼类生态养殖的理想种类。国内对其研究较少,已有报道包括生物学^[9]、人工繁育及养殖技术^[10-12]等方面,笔者于2012年与茂名金阳热带海珍养殖有限公司在茂名电白繁育鱼苗2 200万尾,取得国内首次遮目鱼规模化人工繁育技术研究成功。本文以该批鱼苗为研究材料,研究其不同盐度条件下鳃线粒体丰富细胞的超微结构变化,为推广、开发遮目鱼养殖提供理论指导。

1 材料与方法

1.1 试验材料

笔者2012年在茂名电白进行遮目鱼规模化人工繁育技术研究,培育苗种2 200万尾,实验开始前从中选取全长(2.850 ± 0.356) cm、体重(0.215 ± 0.083) g的健康幼鱼于室内水箱($44\text{ cm}\times 31.5\text{ cm}\times 25.5\text{ cm}$)中暂养一段时间后开始盐度梯度实验。

实验用水由经过砂滤沉淀的自然海水、曝气后的自来水和海盐按比例配制而成,每日换水一次,换水量为2/3。

1.2 实验设计

设0、10、20、27(对照组,自然海水)、35共5个盐度实验组,每个实验组3个平行组,每个平行组直接放入20尾自然海水暂养的幼鱼。实验从

2013年8月开始至9月结束,共30 d,连续充气,水温25.8~29.8 °C, pH7.8~8.2,光照200~1 200 lx。实验结束后,每个平行组随机各取3尾幼鱼,迅速取出幼鱼右侧第二鳃弓。每个实验组共取9尾幼鱼的鳃弓并分别用于光学显微镜、透射电子显微镜和扫描电子显微镜的观察。

1.3 光学显微镜观察

将鳃弓置于10%中性福尔马林溶液中固定24 h,自来水冲洗24 h,70%、80%、95%、100%各级乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,5 μm切片,经苏木素-伊红染色,中性树胶封片,自然风干后在德国Carl Zeiss公司Axio Scope.A1型光学显微镜下观察拍照。

1.4 透射电子显微镜观察

将鳃弓经0.1 mol/L预冷的磷酸缓冲液(pH7.4)冲洗后,立即用2.5%戊二醛固定24 h后(pH7.4, 4 °C),磷酸缓冲液冲洗3次,每次15 min,1%锇酸4 °C下固定1 h,再用磷酸缓冲液冲洗3次,每次15 min,30%、50%、70%、80%、95%各级乙醇脱水,丙酮冲洗3次,每次10 min,Epon812树脂包埋、定位,奥地利Leica公司UCT超薄切片机制片,经醋酸铀及柠檬酸铅双重染色后,用美国FEI公司JEM-100CXII分析型透射电子显微镜观察并拍照。

1.5 扫描电子显微镜观察

鳃弓经0.1 mol/L预冷的磷酸缓冲液(pH7.4)冲洗后,立即用2.5%戊二醛固定24 h(pH7.4, 4 °C),磷酸缓冲液冲洗3次,每次15 min,1%锇酸4 °C下固定2 h,再用磷酸缓冲液冲洗3次,每次15 min。30%、50%、70%、90%、100%乙醇逐级脱水,叔丁醇置换,德国Martin Christ公司ALPHA 1-4 LSC型冷冻干燥机冷冻干燥,真空离子镀膜,日本日立公司HITACHI S-3000N型扫描电子显微镜下观察、拍照。

1.6 数据测量

拍照所获得的照片在软件Imagerproplus 6.0下经校准后随机测量鳃丝、鳃小片、线粒体丰富细胞和线粒体的直径,取平均值。

2 结果

2.1 不同盐度下鳃线粒体丰富细胞的显微结构

如图1所示,鳃小片及鳃丝上可观察到扁平上皮细胞、血细胞和线粒体丰富细胞。每种细胞的细胞核均被苏木素染成蓝色。扁平上皮细胞的细胞质被伊红染成浅红色,细胞呈扁平状,覆盖于鳃丝和鳃

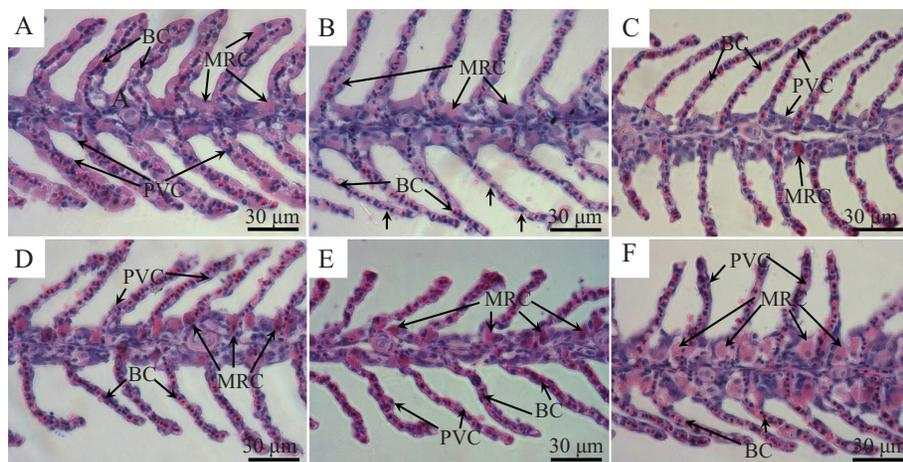
小片上皮组织外缘。血细胞位于鳃小片及鳃丝内部,细胞体积小,呈圆形或椭圆形,细胞质被伊红染为深红色。线粒体丰富细胞体积大,细胞呈卵圆形或椭圆形,核较大,细胞质在不同盐度条件下其染成红色的深浅不同。线粒体丰富细胞常位于鳃丝及鳃小片基部,但在淡水组幼鱼的鳃小片上可观察到鳃线粒体丰富细胞。

淡水组幼鱼的鳃小片直径为 $(12.531 \pm 1.067) \mu\text{m}$ (图1A),对照组(盐度27)则为 $(5.928 \pm 1.120) \mu\text{m}$ (图1E),淡水组鳃小片明显增厚,增生现象明显,且部分鳃小片出现细胞脱落的现象(图1B)。相对于对照组,淡水组的鳃小片上增生出线粒体丰富细胞,呈椭圆形,数量较多(每根鳃小片上具有4~6个),核较大、圆形、中位或偏中位,细胞长径 $(13.370 \pm 3.250) \mu\text{m}$,短径 $(5.344 \pm 0.676) \mu\text{m}$ 。位于鳃丝和鳃小片基部的线粒体丰富细胞数量相对较少(每5根同侧相邻的鳃小片之间具有2~4个),细胞呈卵圆形,核较小、基位,细胞长径 $(12.477 \pm 2.069) \mu\text{m}$,短径 $(8.882 \pm 1.011) \mu\text{m}$ 。位于鳃小片上及鳃丝基部的线粒体丰富细胞均被伊红染成较浅的红色。

除淡水组外,其他各盐度条件下鳃小片厚度正常,无增生和细胞脱落的现象,均未在鳃小片上发现线粒体丰富细胞(图1C、图1D、图1E和图1F)。盐度10条件下位于鳃丝和鳃小片基部线粒体丰富细胞数量与淡水组相比减少(每5根同侧相邻的鳃小片之间具有0~2个),细胞长径为 $(8.944 \pm 1.176) \mu\text{m}$,短径为 $(6.674 \pm 0.531) \mu\text{m}$,细胞质被伊红染成深红色(图1C)。随着盐度增加,盐度20和对照组鳃丝和鳃小片基部的线粒体丰富细胞数量增加(每5根同侧相邻的鳃小片之间具有2~4个),单个细胞体积未明显增大,盐度20的条件下,细胞长径为 $(10.464 \pm 0.783) \mu\text{m}$,短径为 $(6.880 \pm 1.031) \mu\text{m}$,对照组细胞长径为 $(9.986 \pm 0.766) \mu\text{m}$,短径为 $(6.709 \pm 1.000) \mu\text{m}$,细胞质被伊红染成深红色(图1D和图1E)。盐度35条件下鳃丝直径为 $(30.281 \pm 3.787) \mu\text{m}$,对照组则为 $(15.652 \pm 4.116) \mu\text{m}$,鳃丝增粗、增生明显,鳃丝和鳃小片基部的线粒体丰富细胞数量增加(每5根同侧相邻的鳃小片之间具有5~7个),体积增大,细胞长径 $(15.426 \pm 1.870) \mu\text{m}$,短径 $(9.837 \pm 1.436) \mu\text{m}$,核较大、基位,细胞质染成浅红色(图1F)。

2.2 不同盐度下鳃线粒体丰富细胞的超微结构

鳃线粒体丰富细胞为椭圆或卵圆形,具有大量



A: 淡水组; B: 淡水组, “↑”示上皮细胞脱落; C: 盐度10; D: 盐度20; E: 盐度27(对照组); F: 盐度35。BC: 血细胞; MRC: 线粒体丰富细胞; PVC: 扁平上皮细胞。

A: fresh water; B: fresh water, “↑” showing epithelial cell defluviium; C: salinity 10; D: salinity 20; E: salinity 27 (control group); F: salinity 35. BC: blood cell; MRC: mitochondrion-rich cell; PVC: pavement cell.

图1 盐度对遮目鱼幼鱼鳃的影响

Fig.1 The effect of salinity on the gills of juveniles of *C. chanos*

的线粒体和发达的囊管系统, 胞质内的微细小管系统往往形成珠泡状结构并彼此交错, 线粒体呈圆形、椭圆形或棒状(图2A、图2D和图2G)。线粒体丰富细胞被扁平上皮细胞覆盖, 与周围的扁平上皮细胞形成紧密连接, 细胞顶端在扁平上皮细胞之间形成顶端开口与外界接触。在不同盐度条件下, 线粒体丰富细胞内部结构及顶端开口有明显不同(图2B、图2C、图2E、图2F、图2H和图2I)。

2.2.1 淡水组 仅在淡水条件下, 鳃线粒体丰富细胞有两种细胞形态, 分别为A型和B型线粒体丰富细胞。在透射电镜下, B型线粒体丰富细胞在鳃小片两侧增生, 数量较多, 核中位或偏中位, 细胞基质的电子密度低, 网管不发达, 线粒体数量多但体积小, 线粒体直径为 $(0.447\pm 0.110) \mu\text{m}$ (图2A)。

在同一个B型线粒体丰富细胞中有两个与外界环境接触的顶端开口, 顶端开口与周围扁平上皮细胞形成紧密连接。两个顶端开口形态结构不同: (1)为平的或稍凸起的大面积网状结构, 在扫描电镜下观察到开口表面具有大量向外伸出的微绒毛, 在透射电镜下为波状结构(图2B); (2)为窄小的开口, 顶膜下具有大量的珠泡状结构(图2A)。

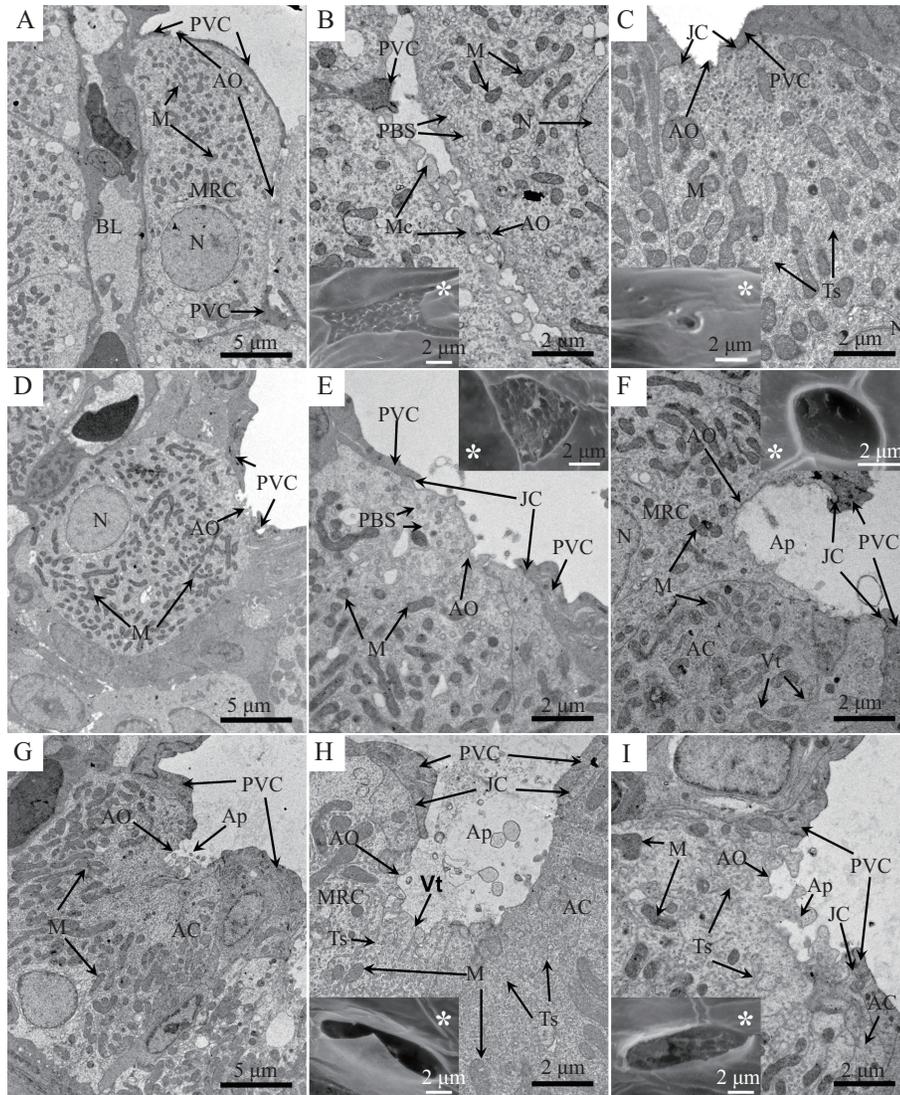
位于鳃丝和鳃小片基部的线粒体丰富细胞为A型线粒体丰富细胞, 核基位、线粒体体积较大、内脊发达, 线粒体直径为 $(0.673\pm 0.150) \mu\text{m}$ 。与B型细胞相比, A型线粒体丰富细胞数量相对较少; 只具有一个顶端开口, 有的顶端开口处于关闭状态; 顶膜抬

升, 凹陷较浅, 与周围的扁平上皮细胞连接紧密; 顶膜下具有细小颗粒状物质; 微细小管分布不均匀(图2C)。

2.2.2 盐度10和20 仅在鳃丝和鳃小片基部观察到鳃线粒体丰富细胞, 与淡水组的A型线粒体丰富细胞为同一类型。线粒体丰富细胞的细胞核基位, 细胞内囊管系统和微细小管系统不发达, 线粒体数量多、体积小(图2D), 盐度10和20条件下的线粒体直径分别为 $(0.469\pm 0.144) \mu\text{m}$ 、 $(0.528\pm 0.118) \mu\text{m}$ 。

线粒体丰富细胞只有一个顶端开口, 但有2种类型: (1)顶膜抬高, 开口较浅, 在扫描电镜下, 顶膜呈网状结构, 面积较大, 有向外的凸起; 在透射电镜下, 顶膜下具有珠泡状结构, 顶端开口多由单个细胞形成, 也有与附细胞共同组成, 但附细胞不发达, 体积小(图2E)。(2)顶膜凹陷较深, 开口较大, 在扫描电镜下呈孔洞状结构; 透射电镜下, 顶膜下珠泡状结构少, 微细小管交错密集, 与呈扁三角状的附细胞形成顶端小窝结构, 附细胞电子密度高、微细小管发达但分布不均匀(图2F)。

2.2.3 盐度27和35 该盐度范围为海水鱼类自然生活的高渗环境。仅在鳃丝和鳃小片基部观察到鳃线粒体丰富细胞, 细胞核基位, 与淡水组的A型线粒体丰富细胞为同一类型, 但与淡水条件下相比, 细胞数量较多、体积大, 囊管和微细小管系统发达(图2G)。细胞内线粒体数量与低盐度条件下相比没有明显增加, 但线粒体体积大, 盐度27和35条件下细胞的线粒



A: 淡水组, 示B型线粒体丰富细胞; B: 淡水组, 示B型线粒体丰富细胞顶端开口; C: 淡水组, 示A型线粒体丰富细胞及顶端开口; D: 盐度10、20, 示线粒体丰富细胞; E: 盐度10、20, 示线粒体丰富细胞顶端开口; F: 盐度10、20, 示线粒体丰富细胞顶端开口; G: 盐度27(对照组)和盐度35, 示线粒体丰富细胞; H: 盐度27(对照组)和盐度35, 示线粒体丰富细胞顶端开口; I: 盐度27(对照组)和盐度35, 示线粒体丰富细胞顶端开口。“*”标记小图示该类型顶端开口扫描电子显微镜结果。AC: 附细胞; AO: 顶端开口; Ap: 顶端小窝; BL: 鳃小片; JC: 紧密连接; M: 线粒体; Mc: 微绒毛; MRC: 线粒体丰富细胞; N: 细胞核; PVC: 扁平上皮细胞; PBS: 珠泡结构; Ts: 微细小管系统; Vt: 囊管。

A: fresh water, showing type B mitochondrion-rich cells; B: fresh water, showing the apical openings of type B mitochondrion-rich cells; C: fresh water, showing type A mitochondrion-rich cells and the apical openings of type A mitochondrion-rich cells; D: salinity 10 and 20, showing mitochondrion-rich cells; E: salinity 10 and 20, showing the apical openings of mitochondrion-rich cells; F: salinity 10 and 20, showing the apical openings of mitochondrion-rich cells; G: salinity 27 (control group) and salinity 35, showing mitochondrion-rich cells; H: salinity 27 (control group) and salinity 35, showing the apical openings of mitochondrion-rich cells; I: salinity 27 (control group) and salinity 35, showing the apical openings of mitochondrion-rich cells. “*” showing the results of scanning electron micrograph of apical openings. AC: accessory cells; AO: apical opening; Ap: apical crypt; BL: branchial lamellae; JC: junctional complex; M: mitochondrion; Mc: microvilli; MRC: mitochondrion-rich cells; N: nucleus; PVC: pavement cells; PBS: pearl bubble structure; TS: tubulovesicular system; Vt: vesicle-tubular.

图2 盐度对遮目鱼幼鱼鳃线粒体丰富细胞结构变化的影响

Fig.2 The effect of salinity on the structure changes of mitochondrion-rich cells in gills of juveniles of *C. chanos*

体直径分别为 $(0.618 \pm 0.152) \mu\text{m}$ 、 $(0.696 \pm 0.201) \mu\text{m}$ 。

线粒体丰富细胞常与附细胞、扁平上皮细胞组成多细胞复合体, 共同形成顶端小窝。顶端小窝凹陷深, 常见细胞向外分泌形成的泡状结构, 顶膜下的微细小管系统极为发达和密集, 小管和液泡相互掺

杂, 并与外界直接相连。附细胞发达, 细胞内部线粒体数量多、体积大, 微细小管系统发达、分布密集, 个别附细胞体积与主细胞大小相近, 电子密度高。主细胞与附细胞之间的连接疏松(图2G、图2H和图2I)。

线粒体丰富细胞只有一个顶端开口, 但具有两种顶端小窝形态: (1)开口大, 凹陷深, 在扫描电镜下呈通道状的结构(图2H); (2)开口相对稍小, 凹陷也相对较浅, 在扫描电镜下可见线粒体丰富细胞与外界接触的网状结构顶膜(图2I)。

3 讨论

当外界环境的渗透压发生改变时, 鱼类应对渗透压变化的生理生化策略也会发生相应的改变, 以维持内环境稳定。但急剧的渗透压变化使得部分种类的鱼类无法在短时间内完成对渗透压的调节, 造成其内环境稳态的失衡, 最终导致组织器官的损坏与功能的丧失, 影响其存活和生长^[13-15]。适应淡水生活的咸海卡拉白鱼(*Chalcalburnus chalcoides aralensis*)^[16]和大鳞鲃(*Barbus capito*)^[17]转入到高渗环境中时, 鳃小片上细胞出现增厚、膨胀甚至是脱落的现象。本实验中, 将适应海水生活的遮目鱼幼鱼不经驯化直接投入不同盐度的水体中, 在淡水条件下鳃小片出现膨胀、增生、部分细胞脱落的现象, 在透射电镜下观察到鳃小片上增生的大部分细胞内含大量线粒体, 为B型线粒体丰富细胞, 细胞体积较小; 位于鳃丝和鳃小片基部有数量较少的A型线粒体丰富细胞, 细胞体积相对较大。大鳞鲃在高渗环境中鳃小片上同样增生出线粒体丰富细胞^[17]。除淡水组外, 其他盐度条件下鳃小片正常, 未出现增生现象, 没有发现B型线粒体丰富细胞。位于鳃丝和鳃小片基部的A型线粒体丰富细胞随着盐度的升高, 数量增多、体积增大, 与卵形鲳鲹(*Trachinotus ovatus*)的研究结果相同^[4]。

通过透射电镜观察, 在盐度27(对照组)和35这样的高渗环境下, 鳃丝和鳃小片基部的鳃线粒体丰富细胞体积大, 核基位, 发达的微细小管系统致密地分布在胞质内, 可以保证其具有较高的 Na^+/K^+ -ATP酶(Na^+/K^+ -ATPase, NKA)^[18]、 $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ 协同转运蛋白($\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ cotransporter, NKCC)活性^[2,19-20], 与附细胞之间形成顶端小窝和细胞旁道结构, 顶端小窝的大面积顶膜构造可以保证其具有较大的水体交换面积, 而 Na^+ 、 Cl^- 等离子可以通过疏松的细胞旁道结构排除体外^[3], 该类型细胞为典型的A型线粒体丰富细胞, 其结构特征适应了离子分泌的功能。随着盐度的降低, 环境渗透压与体内渗透压相接近, 鱼类只需要花费较少的能量用于维持体内渗透压的稳定^[21]。

线粒体丰富细胞中 Na^+/H^+ 转换转运蛋白3、 Na^+/Cl^- 协同转运蛋白和 $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2Cl}^-$ 协同转运蛋白的mRNA表达量减少^[2,19-20], NKA的活性减弱^[18,22]。本实验中线粒体丰富细胞的线粒体随着盐度降低体积减小, 发达的微细小管系统变得松散、分布不均匀, 细胞旁道结构消失, 与尼罗罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)、许氏平鲈(*Sebastes schlegeli*)、卵形鲳鲹和南非鲷(*Oreochromis aureus*)研究结果相同^[4-5,23-24]。

当外界为低渗环境时, 如淡水条件下, 体内渗透压低于外界渗透压, 鱼类体内离子开始流失, 需要从外界吸收离子, 稳定渗透压平衡。NKA在等渗点时活性最弱, 在等渗点之后的高渗环境中活性开始增强, 活性强度呈现一种U型的变化^[25-26], NKA从水体中吸收 Na^+ 、 K^+ 等离子, 以维持体内的离子平衡。免疫印迹实验表明, 在咸淡水和海水条件下, 遮目鱼鳃上具有NKA活性的线粒体丰富细胞多集中在鳃丝和鳃小片基部, 鳃小片上分布少; 而在淡水条件下, 鳃小片上具有NKA活性的细胞数量显著增加^[27], 但位于鳃小片上的线粒体丰富细胞其NKA活性要低于位于鳃丝和鳃小片基部的细胞^[28]。本实验中, 仅在淡水条件下, 鳃小片上发现含有大量线粒体的细胞, 为B型线粒体丰富细胞。不同于分布在鳃丝和鳃小片基部的A型线粒体丰富细胞, 鳃小片上大量分布的B型细胞体积较小, 电子密度低, 单独存在, 核中位, 线粒体数量多、体积小, 具有较大面积平滑或波状的顶膜结构和窄小的顶端开口, 且有研究显示该类型细胞具有吸收离子的功能^[7,29]。

鳃线粒体丰富细胞与外界接触的顶端开口是区别A型细胞和B型细胞的重要特征之一。本实验发现, 在不同盐度条件下线粒体丰富细胞顶端开口随盐度变化发生适应性改变。淡水条件下, 同一个B型线粒体丰富细胞具有两个顶端开口, 其中一个为较大面积平滑或波状顶膜, 表面具有较多的微绒毛, 在扫描电镜下为大面积的网状结构, 与水体的接触面积大, 能更好的从外界吸收离子, 适应了其离子吸收的功能, 在顶膜下发现大量的珠泡状结构(图2B), 可能与离子的吸收有关。与本实验结果相类似, 莫桑比克罗非鱼(*Oreochromis mossambicus*)和日本鳗鲡(*Anguilla japonica*)在淡水条件下鳃线粒体丰富细胞的顶端开口也具有稍平或微凸起的网状结构, 而在海水和低盐度的水体中相似类型的顶端开口数量稀少, 通过免疫学方法发现该类型顶端

开口的表面顶膜具有NHE3和NCC活性^[2,19-20],因而具有该类型顶端开口的B型线粒体丰富细胞可能具有吸收Na⁺、Cl⁻等离子功能。淡水条件下,A型线粒体丰富细胞的顶端开口窄小,顶膜抬升,顶膜下具有较多的未知颗粒状物质,可能是不活动状态的分泌泡,也有可能是胞饮泡,顶膜与扁平上皮细胞形成致密的紧密连接以防止离子渗漏^[29]。在盐度10和20这样的低盐度条件下,线粒体丰富细胞的顶端开口兼具有淡水条件和高盐度条件下的结构特征,发现有两种类型的顶端开口结构:一种顶膜抬升,凹陷较浅,有向外的凸起,还未形成顶端小窝,这样的结构决定了其分泌和吸收离子的能力较弱,处于中间过渡阶段;另一种顶端开口凹陷较深,开口较大,与附细胞等形成顶端小窝结构。盐度27和35条件下,顶端小窝凹陷深、数量多^[20],且具有两种形态:一种顶端小窝较浅,顶膜内外常见即将要分泌和已经分泌出的泡状结构,扫描电镜下顶膜呈复杂的网状结构;另外一种顶膜凹陷较深,顶端小窝较大,扫描电镜下为一种类似通道的结构。在高渗条件下,日本鳗鲡和莫桑比克罗非鱼鳃上也具有类似的顶端小窝结构,且通过免疫印迹的实验方法发现顶端小窝开口处的NHE3和NCC的mRNA表达量与低盐度条件下相比较^[2,19-20],因而具有顶端小窝结构的线粒体丰富细胞具有向外分泌Na⁺、Cl⁻等离子功能。研究发现,随着盐度的升高,广盐性淡水鱼类鳃表面具有大面积波状或平滑网状结构的线粒体丰富细胞数量减少,具有大而深孔洞结构的线粒体丰富细胞数量增加,至海水这样的高渗环境下被后者最终取代^[2,19-20],与本实验研究结果相同。

附细胞常见于适应高渗环境生活鱼类的鳃线粒体丰富细胞附近,与A型线粒体丰富细胞、扁平上皮细胞等组成多细胞复合体,B型线粒体丰富细胞附近则未有附细胞发现^[6],部分附细胞个体与主细胞大小相当,胞质电子密度高,内部线粒体数量多、体积大。而在低盐度条件下,附细胞则个体较小,线粒体数量少、体积小。因而附细胞可能为尚未成熟的A型线粒体丰富细胞,是更新A型线粒体丰富细胞的过渡阶段^[4]。

综上所述,不同盐度条件下,遮目鱼幼鱼鳃器官出现A型和B型两种类型线粒体丰富细胞。A型细胞和B型细胞的主要区别特征如下:(1)A型细胞多分布于鳃丝和鳃小片基部,B型细胞多分布于鳃小片

上;(2)A型细胞体积较大,核基位,B型细胞体积相对较小,核中位或偏中位;(3)A型细胞的线粒体体积大,B型细胞的线粒体体积小;(4)A型细胞常和附近的附细胞、扁平上皮细胞共同组成多细胞复合体,B型细胞往往单独存在;(5)A型细胞的顶端开口具有类似于通道的顶端小窝结构,B型细胞具有大面积平滑或波状的顶膜结构,以上两种结构都使A型细胞和B型细胞具有较大的水体交换面积,分别适应了两者离子分泌和吸收的功能。有研究认为,广盐性鱼类的线粒体丰富细胞存在两种亚型:适应低渗环境的淡水型线粒体丰富细胞和适应高渗环境的海水型线粒体丰富细胞^[30]。本实验中,在适应海水生活的遮目鱼幼鱼鳃上发现的A型线粒体丰富细胞为海水型线粒体丰富细胞,B型细胞为淡水型线粒体丰富细胞,两者的分布及结构的不同使遮目鱼能够适应较广的渗透压范围变化。

参考文献 (References)

- 1 Kang CK, Yang WK, Lin ST, Liu CC, Lin HM, Chen HH, *et al.* The acute and regulatory phases of time-course changes in gill mitochondrion-rich cells of seawater-acclimated medaka (*Oryzias latipes*) when exposed to hypoosmotic environments. *Comp Biochem Phys A Mol Integr Physiol* 2013; 164(1): 181-91.
- 2 Choi JH, Lee KM, Inokuchi M, Kaneko T. Morphofunctional modifications in gill mitochondria-rich cells of Mozambique tilapia transferred from freshwater to 70% seawater, detected by dual observations of whole-mount immunocytochemistry and scanning electron microscopy. *Comp Biochem and Phys A Mol Integr Physiol* 2011; 158(1): 132-42.
- 3 林浩然. 鱼类生理学. 广州: 中山大学出版社(Lin Haoran. *Fish physiology*. Guangzhou: Sun Yet-Sen University Press) 2011: 205-31.
- 4 区又君, 刘汝建, 李加儿, 曹守花. 不同盐度下人工选育卵形鲳鲹(*Trachinotus ovatus*)子代鳃线粒体丰富细胞结构变化. 动物学研究(Ou Youjun, Liu Rujian, Li Jiaer, Cao Shouhua. *Structural changes in mitochondrion-rich cells in the gills of artificial selected *Trachinotus ovatus* offspring under different salinities*. *Zoological Research*) 2013; 34(4): 411-16.
- 5 庄青青, 赵金良, 赵丽慧. 盐度胁迫对尼罗罗非鱼鳃氯细胞调节变化的影响. 生态学杂志(Zhuang Qingqing, Zhao Jinliang, Zhao Lihui. *Effects of salinity stress on the adjustment of branchial chloride cells in *Oreochromis niloticus**. *Chinese Journal of Ecology*) 2012; 31(10): 2619-24.
- 6 Inokuchi M, Kaneko T. Recruitment and degeneration of mitochondrion-rich cells in the gills of mozambique tilapia *Oreochromis mossambicus* during adaptation to a hyperosmotic environment. *Comp Biochem Phys A Mol Integr Physiol* 2012; 162(3): 245-51.
- 7 魏宣辉, 汝少国, 徐路, Isoda H. 海水和淡水适应过程中广盐性鱼类鳃氯细胞的形态与功能变化及其激素调节. 海洋科学(Wei Xuanhui, Ru Shaoguo, Xu Lu, Isoda H. *Structural and*

- functional changes of euryhaline fish branchial chloride cell and hormonal regulation during seawater and freshwater adaptation. *Marine Sciences* 2001; 25(4): 16-20.
- 8 中国科学院动物研究所, 中国科学院海洋研究所, 上海水产学院. 南海鱼类志. 北京: 科学出版社(Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Institute of Oceanology, Chinese academy of Sciences, College of Shanghai Fisheries. *Fishes of the South China Sea*. Beijing: Science Press) 1962; 139-41.
- 9 邬国民. 遮目鱼的生物学特性. 北京水产(Wu Guoming. *The biological characteristics of milkfish*. Beijing Aquaculture) 2001; (2): 31.
- 10 区又君. 遮目鱼养殖. 简明中国水产养殖百科全书. 北京: 中国农业出版社(Ou Youjun. *The Cultivation of Milkfish*. Concise Aquaculture Encyclopaedia in China. Beijing: China Agriculture Press) 2001: 677-85.
- 11 李加儿, 张丹. 遮目鱼养殖. 海水增养殖技术问答. 北京: 中国农业出版社(Li Jiaer, Zhang Dan. *The Cultivation of milkfish*. *Mariculture Q&A*. Beijing: China Agriculture Press) 1995; (5): 26-33.
- 12 李加儿, 李正森, Banno JE. 遮目鱼受精卵和早期仔鱼对盐度的耐受性. 南海水产研究(Li Jiaer, Li Zhengsen, Banno JE. *The tolerance of fertilization eggs and early stage of larval of milkfish to salinities*. *South China Sea Research*) 1992; (5): 26-33.
- 13 强俊, 王辉, 李瑞伟, 彭俊. 盐度对奥尼罗非鱼仔、稚鱼生长、存活及其消化酶活力的影响. 南方水产(Qiang Jun, Wang Hui, Li Ruiwei, Peng Jun. *Effects of salinities on growth, survival and digestive enzymes activity of larval hybrid tilapia (*Oreochromis niloticus* × *O. aureus*)*. *South China Fisheries Science*) 2009; 5(5): 8-14.
- 14 于娜, 李加儿, 区又君, 王永翠, 苏慧. 不同盐度下鲮鱼幼鱼鳃和肾组织结构变化. 生态科学(Yu Na, Li Jiaer, Ou Youjun, Wang Yongcui, Su Hui. *Structural changes in gill and kidney of juvenile grey mullet under different salinity*. *Ecological Science*) 2012; 31(4): 424-8.
- 15 王刚, 李加儿, 区又君, 王静香. 温度、盐度、pH对卵形鲳鲹幼鱼离体鳃组织耗氧量的影响. 南方水产科学(Wang Gang, Li Jiaer, Ou Youjun, Wang Jingxiang. *Effects of temperature, salinity and pH on oxygen consumption of gill tissue in vitro of juvenile *Trachinotus ovatus**. *South China Fisheries Science*) 2011; 7(5): 37-42.
- 16 王信海, 蔺玉华, 姜秋俚, 姜爱兰, 周伯文. 盐度对威海卡拉白鱼生长及组织学特征的影响. 中国水产科学(Wang Xinhai, Lin Yuhua, Jiang Qiuli, Jiang Ailan, Zhou Bowen. *Effects of salinity on growth and histological characteristics of *Chalcalburnus chalcoides* aralensis*. *Journal of Fishery Sciences of China*) 2008; 15(5): 808-15.
- 17 党云飞, 徐伟, 耿龙武, 柏盈盈. NaCl盐度和NaHCO₃碱度对大鳞鲮幼鱼生长及鳃组织特征的影响. 中国水产科学(Dang Yunfei, Xu Wei, Geng Longwu, Bai Yingying. *Effects of NaCl and NaHCO₃ on growth and gill microstructure in juvenile *Barbus capito**. *Journal of Fishery Sciences of China*) 2013; 20(3): 577-84.
- 18 Yang WK, Hseu JR, Tang CH, Chung MJ, Wu SM, Lee TH. Na⁺/K⁺-ATPase expression in gills of the euryhaline sailfin molly, *Poecilia latipinna*, is altered in response to salinity challenge. *J Exp Mar Biol Ecol* 2009; 375(1/2): 41-50.
- 19 Seo MY, Mekuchi M, Teranishi K, Kaneko T. Expression of ion transporters in gill mitochondrion-rich cells in Japanese eel acclimated to a wide range of environmental salinity. *Comp Biochem Phys A Mol Integr Physiol* 2013; 166(2): 323-32.
- 20 Inokuchi M, Hiroi J, Watanabe S, Lee, Kyung M, Kaneko T. Gene expression and morphological localization of NHE3, NCC and NKCC1a in branchial mitochondria-rich cells of Mozambique tilapia (*Oreochromis mossambicus*) acclimated to a wide range of salinities. *Comp Biochem Phys A Mol Integr Physiol* 2008; 151(2): 151-8.
- 21 Boeuf G, Payan P. How should salinity influence fish growth? *Comp Biochem Phys C Toxicol Pharmacol* 2001; 130(4): 411-23.
- 22 Imsland AK, Gunnarsson S, Foss A, Stefansson SO. Gill Na⁺, K⁺-ATPase activity, plasma chloride and osmolality in juvenile turbot (*Scophthalmus maximus*) reared at different temperatures and salinities. *Aquaculture* 2003; 218(1/2/3/4): 671-83.
- 23 王晓杰, 张秀梅, 姜明. 盐度胁迫对许氏平鲷鳃、头肾、脾脏超微结构的影响. 中国海洋大学学报(自然科学版)(Wang Xiaojie, Zhang Xiumei, Jiang Ming. *Salinity stress on the ultrastructure of gill, head kidney and spleen of rockfish (*Sebastes schlegelii*)*. *Periodical of Ocean University of China*) 2006; 36(S1): 85-90.
- 24 姜明, 汝少国, 刘晓云, 范瑞青. 不同盐度下蓝非鲫鳃泌氯细胞的结构变化. 青岛海洋大学学报(自然科学版)(Jiang Ming, Ru Shaoguo, Liu Xiaoyun, Fan Ruiqing. *Preliminary study on the change of structure of chloride cell of gill of oreochromis aureus (*Steindachner*) under different salinities*. *Journal of Ocean University of Qingdao*) 1998; 4(4): 92-7.
- 25 Saoud IP, Kreydiyyeh S, Chalfoun A, Fakih M. Influence of salinity on survival, growth, plasma osmolality and gill Na⁺-K⁺-ATPase activity in the rabbitfish *Siganus rivulatus*. *J Exp Mar Biol Ecol* 2007; 348(1/2): 183-90.
- 26 范春燕, 区又君, 李加儿, 于娜, 苏慧, 王刚. 急性盐度胁迫对卵形鲳鲹幼鱼Na⁺-K⁺-ATP酶活性和渗透压的影响. 台湾海峡(Fan Chunyan, Ou Youjun, Li Jiaer, Yu Na, Su Hui, Wang Gang. *Effects of acute salinity stress on Na⁺-K⁺-ATP and osmotic pressure of juvenile *Trachinotus ovatus**. *Journal of Oceanography In Taiwan Strait*) 2012; 31(2): 218-24.
- 27 Lin YM, Chen CN, Lee TH. The expression of gill Na, K-ATPase in milkfish, *Chanos chanos*, acclimated to seawater, brackish water and fresh water. *Comp Biochem Phys A Mol Integr Physiol* 2003; 135(3): 489-97.
- 28 Lee TH, Feng SH, Lin YH, Hwang YH, Tseng CW, Hwang PP. Ambient salinity modulates the expression of sodium pumps in epithelial mitochondria-rich cells of fish gills. *Comp Biochem Phys A Mol Integr Physiol* 2000; 126(Suppl 1): 147.
- 29 侯俊利, 陈立桥, 庄平, 章龙珍, 田宏杰, 王伟, 等. 不同盐度驯化下施氏鲟幼鱼鳃泌氯细胞结构的变化. 水产学报(Hou Junli, Chen Liqiao, Zhuang Ping, Zhang Longzhen, Tian Hongjie, Wang Wei, et al. *Structural changes of chloride cells in gills epithelia of juvenile *Acipenser schrenckii* acclimated to various salinities*. *Journal of Fisheries of China*) 2006; 30(3): 316-22.
- 30 Hwang PP, Lee TH. New insights into fish ion regulation and mitochondrion-rich cells. *Comp Biochem Phys A Mol Integr Physiol* 2007; 148(3): 479-97.