

褶纹冠蚌珍珠囊发育的超微结构观察*

杜晓东 许国领

(湛江水产学院珍珠研究室)

提 要 本文报道了用透射电子显微镜对不同发育阶段褶纹冠蚌 (*Cristaria plicata* Leach) 珍珠囊的超微结构进行观察的结果。观察表明, 珍珠囊上皮细胞在发育的各阶段都具有发达的微绒毛、基底迷路结构和胞间空间; 线粒体、核糖核蛋白体十分丰富, 高尔基体非常活跃。在发育的早期, 上皮细胞及核都呈柱状, 常见细胞器的自溶现象以及板层小体的形成; 核糖核蛋白体大多呈游离解聚状态。在发育的晚期, 上皮细胞呈立方形或扁平状, 核的形状不规则; 大量的、梅花状的多聚核糖核蛋白体形成。珍珠囊附近的结缔组织主要由成纤维细胞、类结缔组织钙细胞、肌纤维、胞间微纤维、无核细胞样结构和细胞碎片组成。

关键词 珍珠囊, 发育, 上皮细胞, 超微结构

关于珍珠囊细胞的形态以及珍珠形成机制方面的研究, 国内外学者已作过不少工作 [1-8], [14, 19], 然而到目前为止, 从发育生物学这个动态的角度来观察珍珠囊的超微结构的报道还十分少见。为此, 作者以褶纹冠蚌为材料, 对不同发育阶段的珍珠囊进行了超微结构的比较观察, 希望能为探讨珍珠形成的机制提供参考资料, 为培育优质珍珠提供理论依据。

材 料 和 方 法

选取 2~3 龄健壮的褶纹冠蚌实施育珠手术。用直径 2~3 毫米的蜡核作珠核。育珠蚌在实验室养殖池内用复合饲料喂养。实验工作于 1987 年 5 月—11 月在武汉大学生物系开展, 水温保持在 20~25°C 左右。发育 6 个月以上的珍珠囊取自武汉市双江实业公司南湖养殖场。分别在育珠手术后的第 10 天至 18 个月的不同阶段取出珍珠囊, 用 2.5% 戊二醛二甲胍酸固定液于 4°C 下固定二小时 [9-11], 缓冲液洗, 再用 2% 的锇酸固定一小时, 丙酮逐级浓度脱水, 环氧树脂 812 浸透包埋。LKB-V 型超薄切片机切片, 醋酸铀—柠檬酸铅双染, HMFACH-H-3000 型电子显微镜观察及摄影, 加速电压 75kV。

观 察 结 果

(一) 珍珠囊上皮细胞的超微结构

1. 发育 10—30 天的珍珠囊上皮细胞 这是珍珠囊的早期发育阶段。可以看到由于细胞增殖和迁移所形成的珍珠囊复层上皮逐渐过度到单层, 细胞大多呈柱状, 游离面密生

* 本项实验曾得到武汉大学生物系吴熙毅和何海平教授的指导, 同时也得到了他们实验室的大力支持; 切片和电镜观察在湛江医学院电镜室完成。在此作者表示衷心的感谢。

收稿年月: 1989 年 7 月; 1990 年 3 月修改。

微绒毛。细胞核有许多凹凸,呈柱状,也有形状不规则的(图版—1~5)。大量的圆形或椭圆形线粒体遍布胞体各处,在一些区域是成群地聚积在一起(图版—1,5)。高尔基体的活动十分活跃,在其成熟面的分泌小泡不断地融合成较大的分泌泡,它们有的形成板层小体,有的直接运动到细胞表面释放内含物。在这一阶段,线粒体等细胞器的自溶现象比较常见,最后都形成板层小体。上皮细胞的基底部质膜向内反折,构成了“迷路”,还可见到这些迷路结构中的胞饮和吞噬泡(图版—4)。在这一时期,核糖核蛋白体大多呈游离解聚状态,散布于胞质各处,在第30天的切片上,已可见到细胞的基底部有一些多聚核糖体的形成(图版—5)。相邻上皮细胞仅在游离端的小段区域形成中间连接和隔壁连接^[19](图版—3);大面积的细胞侧壁不形成连接,而是相互分离,构成越来越明显的胞间空间(Intercellular space)并可见伸向空间的胞质突起(图版—5)。

2. 发育2—6个月的珍珠囊上皮细胞 这是发育的中期阶段,细胞逐渐向立方形或扁平状过度;核呈不规则的扁平状,位于细胞中部偏下的位置。这时期逐渐形成大量的、游离的多聚核糖核蛋白体,状如梅花,集中分布在细胞的基底部和核旁区域;附着到内质网上的核糖体也逐渐增多(图版—6)。这时期线粒体大部分分布在游离端;高尔基体更加活跃,分泌泡的电子密度比早期的高,仍可见到板层小体的形成;胞器的自溶现象较少见。

3. 发育6个月以上的珍珠囊上皮细胞 这阶段属发育的晚期。细胞呈较稳定的立方形或扁平状;细胞核仍有较多凹凸,位于基部,核仁十分明显。迷路结构不如早期发达,其间大多为多聚核糖体或线粒体占据(图版—8)。这时期的胞间空间结构十分显著,高尔基体较多;游离多聚核糖体比早、中期更丰富,其分布区域几乎遍及整个胞体(图版—7,8)。

(二) 珍珠囊附近的结缔组织的超微结构

1. 成纤维细胞(图版—10,11) 该类细胞形状变化较大,有的呈细长梭形,有的呈星形或锥形;它们都有一个较大的细胞核,其形状随细胞体的变化而变化,核仁明显。线粒体较发达,一般为卵圆形;内质网稀少,梅花状的多聚核糖体也呈区域化分布;高尔基体活跃,其分泌泡常融合成较大的泡,这些泡也可由滑面内质网形成,它们逐渐在胞内积累起来(图版—10)。

2. 类结缔组织钙细胞 这类细胞除了一个明显的位于细胞边缘的核和少量胞质外,胞内的其它部分全由不均匀的低电子密度泡所占据;在有些细胞还可见到高尔基体,另一些细胞呈分支状(图版—14,15)。

3. 肌纤维 整个外形呈带状。无论横切或纵切,都未见到细胞核,肌原纤维的结构和排列完全不同于其它高等动物(图版—12,13)。

4. 胞间微纤维及其它 结缔组织细胞间质的主体是纵横交错的微纤维。另外,在结缔组织中还有许多无核的细胞样结构和细胞碎片,前者具有线粒体、高尔基体和多聚核糖体等细胞器;后者往往只有少量核糖体,并且形状和大小变化很大(图版—6,11)。越到发育的晚期,细胞样结构和细胞碎片越多。

讨 论

(一) 珍珠囊上皮细胞

关于珍珠囊的发育,杜晓东等^[1]。曾于1987年应用组织学、组织化学和扫描电镜进行过初步研究,根据细胞的形态和功能的变化,把褶纹冠蚌珍珠囊的发育划分为早、中、晚三个时期。早期主要是珍珠囊成形期,有较大规模的细胞分裂和迁移运动。这时期形成的珍珠质为茶褐色的无定形钙质。中期不够稳定,为过度阶段,细胞形态兼有早、晚期的特征,既可形成碳酸钙的方解石结晶(棱柱层),也可形成霏石结晶(珍珠层)^[1]。在晚期,细胞的形态和功能都比较稳定,大量形成碳酸钙的霏石结晶。从本实验的结果来看,这三个时期的变化在超微结构上也是十分明显的。在发育的早期,细胞主要进行分裂和迁移活动,蛋白质合成能力较低,表现为大量的核糖体呈游离解聚状态。这时期的线粒体分泌泡中,低电子密度泡占了较大比例(图版—1),这说明分泌物的有机质含量较低,也说明了早期分泌物不同于晚期这一事实。这一阶段溶酶体的活动十分活跃,时常可见线粒体等细胞器的溶解,最后形成板层小体。作者认为在细胞的形态和功能进行较大转变的情况下,自溶现象的频繁出现是很自然的,是一种自我更新的方式。一部分板层小体也可由高尔基分泌小泡融合形成,这种现象在发育的各阶段都存在,是糖、脂和蛋白质等大分子物质的一种转运方式,犹如哺乳动物的肺泡表皮细胞以板层小体分泌表面活性物质^[9-12,18]。从本实验发现细胞的核分裂这一事实来看,无丝分裂是珍珠囊上皮细胞增殖的方式之一。

实验结果表明,相邻上皮细胞仅在游离端的小段区域形成中间连接和隔壁连接,这样的连接在发育的各时期都可见到,具有普遍性,这与另一些报告类似^[10]。细胞侧面的其余大部分区域无任何连接结构,相互分离,形成了发达的胞间空间,同时细胞质向空间伸出一些突起。类似的结构在哺乳动物的肠上皮中也能见到^[10-12,18],它极大地扩展了物质交换的表面积,有效地缩短了胞内运输路径,十分有利于钙等物质的大量转运,事实上,在胞质突起中可见到许多吞噬泡和胞饮泡。基底迷路结构也有利于扩增物质交换的表面积,这在哺乳动物的肾脏的近端小管和远端小管的上皮细胞中是常见的。可以认为,珍珠囊上皮细胞的胞间空间对珍珠的形成起着十分重要的作用,因越到发育晚期,这种结构越发达,而这一时期正是珍珠形成的有效阶段。在光镜下所见到的上皮细胞间的松散联系,其实就是电镜下的胞间空间。在发育晚期,基底迷路结构几乎都充满了游离多聚核糖体,成为合成蛋白质的场所。

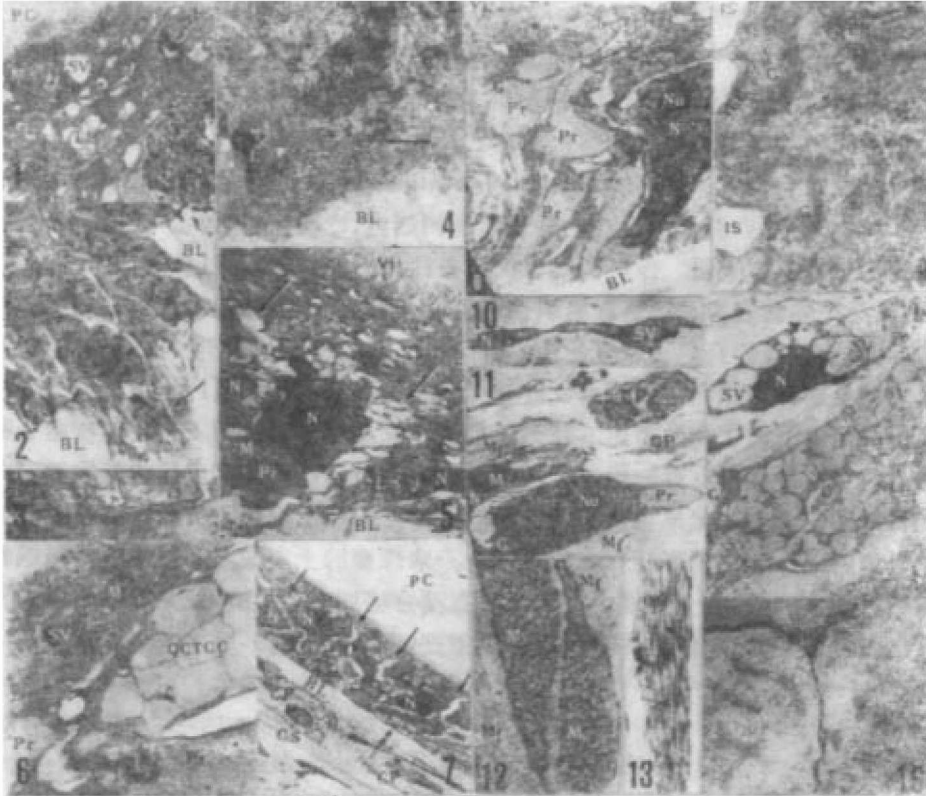
国外许多学者^[15-17,21]的工作表明,构成方解石和霏石结晶的蛋白质组分不同,也就是说不同结晶的形成与蛋白质分子的差异有关。从本实验的结果来看,在发育早期核糖体呈游离解聚状态,蛋白质的合成主要由少量的粗面内质网上的核糖体完成;而在晚期,随着遍布胞质各处的游离多聚核糖体的大量形成,大规模蛋白质的合成是显而易见的,很可能这些蛋白质与碳酸钙的霏石结晶的形成有直接关系。至于细胞形态呈现出立方状或扁平状,作者认为这种结构有效地缩短了细胞内外的物质转运路径,从而把能量的消耗降

(1)杜晓东等, 褶纹冠蚌珍珠囊发育的研究(待发表)。

到最低限度。

高尔基体在胞内的分布位置也十分引人注目，它们大多数都位于紧邻胞间空间的区域，其长轴平行于细胞侧壁，并且总是形成面朝向胞间空间，成熟面朝向胞内（图版一—9）；在这些区域往往有粗面内质网，这说明高尔基体分泌泡的物质一部分来源于粗面内质网，另一部分来源于胞间空间；作者认为这可能是钙的一种转运方式，当然这需进一步的实验来证实这些分泌泡含钙。

本实验还发现在各发育时期的珍珠囊上皮层中，都出现有充满了低电子密度小泡的



图版 Plate

① 10天的珍珠囊上皮细胞。示大量的线粒体(M)、分泌泡(SV)和板层小体(LB)。N,核;PC,珍珠囊腔;×7,000。②15天的珍珠囊复层柱状上皮。可见细胞的核分裂(箭头)。BL,基膜;N,核;×5,000。③示珍珠囊上皮细胞的连接复合体。IJ,中间连接;SJ,隔壁连接;×30,000。④25天的珍珠囊上皮细胞,示基底迷路结构,其中可见胞饮泡和吞噬泡。BL,基膜;箭头示板层小体(LB)。L,溶酶体;N,核;×15,000。⑤30天的珍珠囊上皮。示胞间空间(箭头);BL,基膜;L,溶酶体;M,线粒体;N,核;Pr,多聚核糖体;V1,微绒毛;×7,100。⑥4个月的珍珠囊上皮。示大量的游离多聚核糖体(Pr),一个类结缔组织钙细胞(QCTCC)正在越过上层。L,溶酶体;M,线粒体;SV,分泌泡;V1,微绒毛;×10,000。⑦6个月的珍珠囊切片。示上皮细胞及胞间空间(单箭头);双箭头所指为穿越上皮的类结缔组织钙细胞。结缔组织中有许多细胞碎片(CP)和细胞样结构(CS);BL,基膜;N,核;×2,000。⑧18个月的珍珠囊上皮细胞。示大量的游离多聚核糖体(Pr)和线粒体(M)。G,高尔基体;BL,基膜;LB,板层小体;N,核;Nu,核仁;V1,微绒毛;×10,000。⑨12个月的珍珠囊上皮细胞。示高尔基体(G)、粗面内质网(rER)和胞间空间(IS)。L,溶酶体;M,线粒体;Pr,多聚核糖体;×31,400。⑩珍珠囊结缔组织的成纤维细胞。示胞质中积累的低电子密度小泡(SV)以及细胞的脱核现象。N,核;×3,000。⑪示成纤维细胞、细胞碎片(CP)和胞间微纤维(Mf)。G,高尔基体;M,线粒体;N,核;Nu,核仁;Pr,多聚核糖体;×5,000。⑫肌纤维横切。可见较粗的肌原纤维(My)。Mf,胞间微纤维;×15,000。⑬肌纤维纵切。My,肌原纤维;×12,000。⑭示类结缔组织钙细胞。N,核;SV,分泌泡;×5,000。⑮示分支的类结缔组织钙细胞。G,高尔基体;SV,分泌泡;×4,000。⑯类结缔组织钙细胞分泌泡的高倍放大。示高电子密度小体及低电子密度的颗粒状内含物。×51,400。

胞体,但未见细胞核(图版—6,7)。这可能是类结缔组织钙细胞穿越珍珠囊释放内含物,此现象在褶纹冠蚌外套膜边缘的外表皮中是常见的,作者曾十分清楚地观察并拍摄了这种穿越的过程。

(二) 结缔组织

珍珠囊附近的结缔组织实际上是指进行育珠手术时细胞小片(mantle piece)所带入的那一部分结缔组织,它们的细胞也经过增殖迁移,最后环绕珍珠囊上皮^[2]。本实验结果表明,成纤维细胞有逐渐减少的趋势,随着发育的进展,它们合成了大量的胞间微纤维,同时它们也不断地分解产生细胞碎片,也可能脱核而形成细胞样结构,其过程类似于哺乳动物的成红细胞的脱核^[12]。肌纤维自始至终保持着较多的数量,但并不成束排列,其超微结构显然不同于哺乳动物的肌纤维。

本文所说的类结缔组织钙细胞(quasi-connective-tissue-calcium cell),其形态类似于 Simkiss 等^[20]在腹足类发现的结缔组织钙细胞,这些细胞的低电子密度泡内的化学组成为碳酸钙或碳酸镁。作者因限于设备条件,目前尚无法测定细胞内含物的化学组成,故把这类细胞暂名为“类结缔组织钙细胞”。实际上这类细胞所含小泡的电子密度并不均匀,其中有一些较高电子密度的小体,其余部分似乎呈现颗粒状(图版—16)。本实验结果还表明类结缔组织钙细胞可由成纤维细胞转化而来,一些成纤维细胞失去合成微纤维的能力,由内质网或高尔基体不断形成小泡,这些小泡再融合成较大的低电子密度泡(图版—10,11),最后所有细胞器消失,核或脱去或保留,这样就完成了成纤维细胞向类结缔组织钙细胞的转化。如果这些细胞的低电子密度泡和上皮细胞的高尔基体分泌泡都被证实主要含钙的话,我们不妨作出如下结论:珍珠囊的上皮细胞和某些结缔组织细胞都有转运钙的能力,区别在于前者由高尔基体直接分泌到细胞表面,而后者却是以小泡的形式积累在细胞质中,在一定条件下细胞穿越上皮层进行分泌。

参 考 文 献

- [1] 小林新二郎,渡部哲光(熊大仁译),1986。珍珠的研究,189—204。农业出版社(京)。
- [2] 石安静,张兵,1987。三角帆蚌外套膜细胞的超微结构。水生生物学报,11(8):236—240。
- [3] 石安静等,1985。三角帆蚌珍珠囊形成的研究。水产学报,9(8):247—253。
- [4] 张玺,张福绥,1962。珠母贝及珍珠的形成。生物学通报,(1):1—4。
- [5] 张元培,1981。淡水珍珠养殖技术,49—54。湖南科学技术出版社(长沙)。
- [6] 俞豪祥,1985。三角帆蚌外套膜及珍珠囊的组织学初步观察。动物学杂志,(1):1—3。
- [7] 熊大仁等,1980。河蚌无核珍珠形成的初步研究。湛江水产学院学报,(2):1—7。
- [8] 蒙钊美,黎学章,1983。大珠母贝外套膜细胞小片的移植和珍珠囊形成的研究。贝类学论文集(第一辑),97—101。科学出版社(京)。
- [9] 洪涛,1984。生物医学超微结构与电子显微镜技术,科学出版社(京)。
- [10] 杭振镛,蔡文琴,1982。电子显微镜技术在临床医学的应用,116,138,171。重庆出版社。
- [11] 钟苍声,1984。细胞和组织的超微结构。人民卫生出版社(京)。
- [12] 克尔斯蒂茨, R. V. (侯家骥等译),1986。哺乳类细胞的超微结构图谱。科学出版社(京)。
- [13] Beedham, G. E., 1965. Observation on the mantle of the Lamellibranchia. *Proc. Zool. Soc. Lond.* 145:

- 181-197.
- [14] Crenshaw, M. A., 1980. Mechanisms of shell formation and dissolution. In "Skeletal growth of aquatic organisms" (Rhoads, D. C., et al.), 115-132. Plenum Press, New York.
- [15] Hall, P. E., 1968. Amino acids in the proteins from aragonite and calcite in the shells of *Mytilus californianus*. *Science*, **139**: 216-217.
- [16] Hiroshi Nakahara, et al., 1982. Electron microscopic and amino acid studies on the outer and inner shell layers of *Haliotis rufescens*. *Jap. Jour. Malac.*, **41**(1): 33-46.
- [17] Hiroshi Nakahara et al., 1980. Fine structure and amino acid composition of the organic "Envelope" in the prismatic layer of some bivalve shells. *Jap. Jour. Malac.*, **39**(3): 167-177
- [18] Junqueira, I. C. et al., 1977. Basic histology, 244-252, 296-309, 337-343. Lange Medical Publications, Los Altos, California.
- [19] Li Zhenchang et al., 1983. SEM and TEM observation on pearl sac cells of *Pinctada fucata* (Gould). In "Proceedings on marine biology of the South China Sea" Xu Gongzhao, Brian Morton (Eds.), 83-86. China Ocean Press, Beijing China.
- [20] Simkiss, K.; A. Z. Mason, 1983. Metal ions: Metabolic and toxic effects. In "The Mollusca, Vol. 2" (Wilbur, K. M.) 101-164. Academic Press, New York London.
- [21] Wilbur, K. M., 1964. Shell formation and regeneration. In "Physiology of Mollusca" (Wilbur, K. M. and Yonge C. M.) 243-282. Academic Press, New York.

OBSERVATIONS ON THE ULTRASTRUCTURE OF DEVELOPING PEARL SACS OF *CRISTARIA Plicata* LEACH

Du Xiaodong and Xu Guoling

(Laboratory for Pearl Studies, Zhunjiang Fisheries College)

ABSTRACT The ultrastructure of pearl sacs of *Cristaria plicata* Leach in different developmental stages were observed under electronic microscope. The epithelial cells of pearl sac have abundant microvilli in their apical surfaces, well-developed basal membrane-invaginated system and intercellular spaces (lateral); and there are a lot of mitochondria, ribosomes and Golgi bodies in the cytoplasm. During the early development, the epithelial cells and their nuclei are columnar, some nucleus division can be seen; lysosomes are strongly active, lysis of cellular organelles occur usually, and many lamellar bodies form; most of the ribosomes are isolated granules scattered in the cytoplasm. During the latter development, however, the epithelial cells become cuboid or squamous, the form of the nuclei are irregular; lysosomes and the basal membrane-invaginated system are less than those in the early period, but the intercellular spaces become extremely noticeable. Rough endoplasmic reticulum increases in number and almost all of the ribosomes accumulate as rosette configurations called polysomes. The connective tissue adjacent to the epithelium consists of cells, including fibroblasts and quasi-connective-tissue-calcium (QCTC) cells and myocytes, inter-cellular microfilaments, cell-like structures and cell pieces. There are more fibroblasts in the early period, more

intercellular microfilaments and cell pieces and cell-like structures occur in the latter period.

KEYWORDS pearl sac, development, epithelial cell, ultrastructure

欢迎订阅1991年度《水产科技情报》

《水产科技情报》是向国内外公开发行的技术类水产科技刊物，由上海市水产学会、上海市水产研究所主办。内容着重报道国内外最新科技成果、生产经验、科技发展动态。主要栏目有：海洋渔业、水产养殖、水产品加工、渔业环境保护、渔业机械仪器及渔业经济等。读者对象为水产行业的广大干部、科研人员、水产院校师生、渔工、渔民等。

本刊为双月刊，逢双月底出版，彩色封面、16开32页，每册定价0.70元，全年4.20元。邮局已开始办理下半年度报刊收订，国内读者请到各地邮局订阅。代号4—204（亦可直接汇款至编辑部订购，每册加收邮局附加费0.10元）。

凡需补订1989年度杂志的读者，请直接汇款至编辑部（全年共4.80元）。

《水产科技情报》（1988~1989年）精装合订本将于六月份发行，单价11.00元（包括邮资）。欲购者请汇款至编辑部并注明购合订本。

本刊承接广告业务，收费合理、设计讲究。

编辑部地址：上海市佳木斯路265号；

邮政编码：200433

《水产科技情报》编辑部