

镉对中华绒螯蟹鳃组织及其亚显微结构的影响

卢敬让

赖伟

(青岛海洋大学, 266003) (华东师范大学, 上海, 200062)

摘要 于1986年10月—1987年5月以不同浓度的镉(6.25, 12.5和25.0mg/L), 对采自长江口的中华绒螯蟹进行了急性毒性试验, 以光镜和电镜观察。结果表明, 受镉作用后, 整个鳃叶增厚, 血管增大; 血细胞增多, 上皮层破坏直至解体; 鳃上皮细胞的亚显微结构因镉的作用顶膜微绒毛和底膜内折消失, 线粒体膨胀直至解体。以统计分析检验了对照组和不同镉浓度组处理的蟹鳃之间的形态指标的差异, 并分析了这些形态指标的变化同镉浓度的相关性。通过对鳃上皮细胞与鳃生理功能关系的分析, 认为镉对鳃组织及细胞结构的损害影响了鳃组织的能量代谢、离子主动转运机制及渗透压调节能力。

中华绒螯蟹 *Eriocheir sinensis* 是一种重要的经济十足类甲壳动物。长江口是其主要繁殖场。本文报告了在急性中毒条件下, 镉对中华绒螯蟹鳃组织及亚显微结构的影响。

一、材料和方法

中华绒螯蟹, 于1986年10—11月得自上海崇明岛渔民处。暂养、分组试验、观察和测算分析方法, 详见文献[1], [2]。

二、结果

1. 镉对鳃影响的光镜观察

观察结果表明(图版 I:1), 中华绒螯蟹的鳃同其它甲壳动物的一样, 是由外形规则的鳃叶(L)和起支持与输导作用的鳃轴(S)构成的。鳃叶平均厚为 $16.6 \pm 1.6 \mu\text{m}$, 由上皮层(Ep)和血管(H)组成。上皮层由紧密覆盖外表的角质膜、相互连接紧密的扁平上皮细胞层及基膜组成, 鳃叶血管平均径宽 $10.2 \pm 1.5 \mu\text{m}$ 。血细胞(hc)圆形, 较少出现。

试验结果表明, 在6.25mg/L镉浓度条件下(图版 I:2), 鳃叶不规则增厚, 为对照组的1.84倍; 上皮层相对变薄, 血管增大, 鳃轴血管中的血细胞增多。在12.5mg/L镉浓度条件下(图版 I:3—4), 鳃叶增厚为对照组的2.45倍; 上皮层破坏: 角质膜(cu)呈波状拱起, 甚至断裂, 部分角质膜与上皮细胞层分离形成大的空泡(Va); 上皮细胞排列不规则, 并与数目众多的血细胞充挤于血管。在25.0mg/L镉浓度条件下(图版 I:5), 鳃叶厚度为对照

* 本文为上海市攻关项目的部分成果, 该项目获1989年度上海市科学技术进步奖二等奖。
收稿日期: 1989年10月16日。

组的 4.80 倍; 上皮层破坏程度加大以至解体, 上皮细胞层解体, 多数上皮细胞分解为结合于拱起的角质膜和进入血腔的基膜上的两部分。

将对照组和镉试验组的鳃叶厚度的测算结果经 t -检验, 从 P_1 值看差异十分显著(表 1); 经相关性分析, 镉浓度与鳃叶厚度、血腔径宽呈紧密的正相关, 相关系数分别为 0.992 和 0.995。

表 1 受镉影响的鳃形态指标的差异

Tab. 1 Differences of morphometrical indicators of *Eriocheir sinensis* gills affected by cadmium

| 镉浓度 (mg/L) | n_1 | 鳃叶平均 厚度 (μm) | P_1 | t -检验 结 果 | n_2 | 线粒体脊表 面积与体积 之比 | P_2 | t -检验 结 果 |
|---------------|-------|---------------------------------|--------|----------------|-------|----------------------|--------|----------------|
| 对照 | 19 | 16.6 | <0.001 | 差异极 显 著 | 10 | 5.94 | <0.001 | 差异极 显 著 |
| 25.0 | 14 | 79.1 | | | 17 | 0.94 | | |
| 对照 | 19 | 16.6 | <0.001 | 差异极 显 著 | 10 | 5.94 | <0.001 | 差异极 显 著 |
| 12.5 | 21 | 40.7 | | | 12 | 1.59 | | |
| 对照 | 19 | 16.6 | <0.001 | 差异极 显 著 | 10 | 5.94 | <0.05 | 差异极 显 著 |
| 6.25 | 23 | 30.6 | | | 19 | 3.79 | | |
| 25.0 | 14 | 79.1 | <0.001 | 差异极 显 著 | 17 | 0.94 | <0.005 | 差异极 显 著 |
| 12.5 | 21 | 40.7 | | | 12 | 1.59 | | |
| 25.0 | 14 | 79.1 | <0.001 | 差异极 显 著 | 17 | 0.94 | <0.001 | 差异极 显 著 |
| 6.25 | 23 | 30.6 | | | 19 | 3.79 | | |
| 12.5 | 21 | 40.7 | <0.001 | 差异极 显 著 | 12 | 1.59 | <0.005 | 差异极 显 著 |
| 6.25 | 23 | 30.6 | | | 19 | 3.79 | | |

2. 镉对鳃影响的电镜观察

观察表明(图版 II:1—3), 对照组蟹, 其鳃叶的角质膜是由电子密度致密的外层和分成三个带的内层构成, 内外层由电子光带隔开。上皮细胞顶膜形成微绒毛缘(MV), 微绒毛排列紧密, 其顶尖与角质膜内层的底缘相接触, 微绒毛基部为较规则的角质膜下空腔(SC)。上皮细胞底膜向内形成排列整齐的折叠, 即内折(if)。上皮细胞内充满腊肠形线粒体(M), 线粒体基质浓厚, 脊排列紧密, 表面积与体积之比为 5.94; 一部分线粒体与底膜内折结合, 一部分线粒体与微绒毛结合, 其余线粒体沿与底膜内折线粒体垂直的方向排列于胞体中间(M—M)。每一细胞都有一扁长形细胞核(N), 染色质分散于四周。上皮细胞下面是一层基膜(b), 其下是血腔。

试验表明, 在 6.25mg/L 镉浓度条件下(图版 II:4 和图版 III:1), 上皮细胞顶膜微绒毛排列疏松, 不规则; 角质膜下空腔变大; 有些线粒体部分脊已消失, 基质稀薄, 还有些线粒体部分或全部变空, 线粒体脊表面积与体积之比值为对照组的 64%; 底膜内折显著减少, 微泡(ve)增多。

在 12.5mg/L 镉浓度条件下(图版 III:2—3), 上皮细胞胞器减少, 胞质稀薄; 顶膜微绒

毛和底膜内折几乎消失;角质膜下空腔增多加大,细胞内微泡增多;线粒体数目减少,体积变圆增大,脊显著减少,线粒体脊表面积与体积之比为对照组的 26%;血管增大,其中有大变形血细胞。

在 25.0mg/L 镉浓度条件下(图版 III:4),上皮细胞胞体不完整,顶膜(am)同角质膜结合并与胞体分离,中间留有一大空泡(Va);胞质与胞器极少,大部分线粒体也仅剩残膜或微泡(ve),线粒体脊表面积与体积之比为对照组的 16%;胞核变圆,染色质稀薄地分散于四周;底膜(bm)内折完全消失。

将对照组和镉试验组的鳃上皮细胞线粒体脊表面积与体积之比经 t -检验,从 P_2 值(表 1)看,无论是在对照组与试验组间还是在试验组之间都有显著性差异;经相关性分析,其比值与镉浓度成负相关关系,相关系数为 -0.921 。

三、讨 论

1. 镉对鳃组织和细胞结构的影响

(1) 结构特征 中华绒螯蟹鳃的组织及细胞结构同已研究过的其它甲壳动物^[2,4,6]的基本一致,即与鳃的离子转运机能的高度统一。因此,其共同特征是:通过扁平的上皮细胞形成的顶膜微绒毛缘和底膜内折,充分扩大吸收和转运面积;通过大量的含有浓密基质和脊排列紧密的线粒体提供充分的能量基础,并且线粒体与质膜结合形成的微绒毛-线粒体及内折-线粒体结构被认为在离子转运过程中具有“能泵”的作用^[7];通过紧密连接的上皮细胞层和致密的角质膜结合起来构成物质物理通透的屏障,并且在鳃叶中围成的有规则的血腔以有效地执行物质的运输任务。

(2) 镉引起的结构变化 试验结果表明,镉导致鳃组织和细胞结构发生了十分显著的变化,并且这种变化随镉浓度的升高而加剧。镉对鳃功能结构的作用主要表现在:细胞吸收和转运结构破坏,如顶膜微绒毛和底膜内折减少以至消失,而角质膜下空腔则变大增多;能量代谢基础破坏,如线粒体数目减少,脊减少,基质稀薄,体积增大以至仅剩空泡或残膜;屏障和运输结构变化,如角质膜与上皮细胞层分离,拱起并断裂,上皮细胞层排列紊乱直至解体,血腔不规则增大。

2. 鳃组织和细胞结构的变化对鳃生理功能的影响

(1) 影响鳃组织能量代谢 Thurberg 等在对两种河口蟹的试验中已发现,镉引起鳃组织耗氧量降低^[12]。从本试验的结果中发现,镉对鳃组织上皮细胞的作用引起变化最大的细胞器是线粒体,即上述的能量代谢基础受到破坏。同样的结果在该蟹肝 R-细胞的试验^[1]及 Babel 的试验^[3]中也观察到。后者提出,线粒体膜的破坏降低了线粒体合成 ATP 的能力。因此,细胞内所需要的能量代谢减弱,导致了鳃呼吸力以及与能量代谢有关的其它生理活动减弱。这也解释了试验过程中,在 12.5mg/L 和 25.0mg/L 镉浓度组中一定时间后的蟹,活动力减弱并且极力露出水面呼吸的现象。

(2) 影响鳃上皮细胞的主动转运机制和渗透压调节能力 试验已证实中华绒螯蟹^[8]和其它河口甲壳动物^[7]一样,能够通过鳃对环境离子的主动吸收来保持其体液在低盐浓度中的低渗能力。离子的主动转运是由鳃上层至血腔,这已在对其它甲壳动物的许多研究中^[4-6,10]得到证明。盐离子以物理过程穿过角质膜外层^[9],结合于内层上^[4],通过顶膜微

绒毛的胞饮作用主动摄取这些结合离子,并释放于线粒体周围的胞质中(Fisher认为这里已建立起渗透压梯度^[6]),再依靠底膜内折一线粒体“能泵”体系转运至血液^[7]。在本试验中,镉引起的鳃上皮层的上述变化表明,由角质膜、顶膜微绒毛-线粒体结构和底膜内折-线粒体结构等构成的细胞主动转运体系损伤以至解体,使得物质主动转运机制和渗透压调节能力削弱以至消失,从而导致原生质膜机械通透性增加,这样,胞内物质外流,而胞外的小分子物质却大量进入胞内。因此,线粒体基质、细胞核染色质和胞质等变稀薄,同时,这些胞器体积增大,形状变圆,失去了正常的生理功能;鳃叶的膨胀也应同上皮细胞渗透压失调引起血液渗透压降低相联系的。

最后,关于甲壳动物的血细胞,Rabin认为其具有吞噬、凝固和合成糖原的作用^[11]。蟹鳃血腔中的血细胞随镉浓度升高而增多可能也如Bubel所认为的,血细胞通过对重金属的吞噬作用或者释放糖供鳃细胞利用因而起到保护作用^[3]。

参 考 文 献

- [1] 卢敬让、赖 伟、堵南山,1989. 镉对中华绒螯蟹肝R-细胞亚显微结构及血清谷丙转氨酶(SGPT)活力的影响. 青岛海洋大学学报 19(2): 61—68.
- [2] Bubel, A. and W. B. Jones, 1974. Fine structure of the gills of *Jaera nordmanni* (Rathke) (Crustacea, Isopoda). *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 54: 737—743.
- [3] Bubel, A., 1976. Histological and electron microscopical observations on the effects of different salinities and heavy metal ions on the gills of *Jeera nordmanni* (Rathke) (Crustacea, Isopoda). *Cell and Tissue Res.* 167: 65—95.
- [4] Copeland, D. E., 1968. Fine structure of salt and water uptake in the land-crab, *Gecarcinus lateralis*. *Amer. Zool.* 8: 417—432.
- [5] Copeland, D. E. and A. T. Fitzjarrell, 1968. The salt absorbing cells in the gill of the blue crab (*Callinectes sapidus*) with note on modified mitochondria. *Zeitschr. Zellforsch.* 92: 1—22.
- [6] Fisher, J. M., 1972. Fine-structural observations on the gill filaments of the fresh water crayfish, *Astacus pallipes* Lereboullet. *Tissue and Cell* 4(2): 287—299.
- [7] Green, J., 1968. *The Biology of Estuarine Animals*. London: Sidgwick and Jackson, pp. 401.
- [8] Koch, H. J., 1954. Cholinesterase and active transport of sodium chloride through isolated gills of the crab *Eriocheir sinensis* (M. Edw.). In *Recent Developments in Cell Physiology*. Academic Press, London-New York, pp. 15.
- [9] McLusky, D. S., 1968. Aspects of osmotic and ionic regulation in *Corophium voluactor* (Pallas). *J. Mar. Biol. Ass. U. K.* 48: 769—781.
- [10] Quinn, D. J. and C. E. Lane, 1966. Ionic regulation and Na⁺-K⁺ stimulated ATPase activity in the land crab, *Cardisoma guanhumi*. *Comp. Biochem. Physiol.* 19: 533—543.
- [11] Rabin, H., 1970. Hemocytes, hemolymph, and defense-reactions in crustaceans. *Res. J. Reticuloendothel. Soc.* 7: 195—207.
- [12] Thurberg, F. P., M. A. Dawson and R. S. Collier, 1973. Effects of copper and cadmium on osmoregulation and oxygen consumption in two species of estuarine crabs. *Mar. Biol.* 23: 171—175.

EFFECTS OF CADMIUM ON TISSUE AND ULTRASTRUCTURE OF GILL OF *ERIOCHEIR SINENSIS* (M. EDW.)

Lu Jingrang

(Ocean University of Qingdao, 266003)

Lai Wei

(East China Normal University, Shanghai, 200062)

ABSTRACT

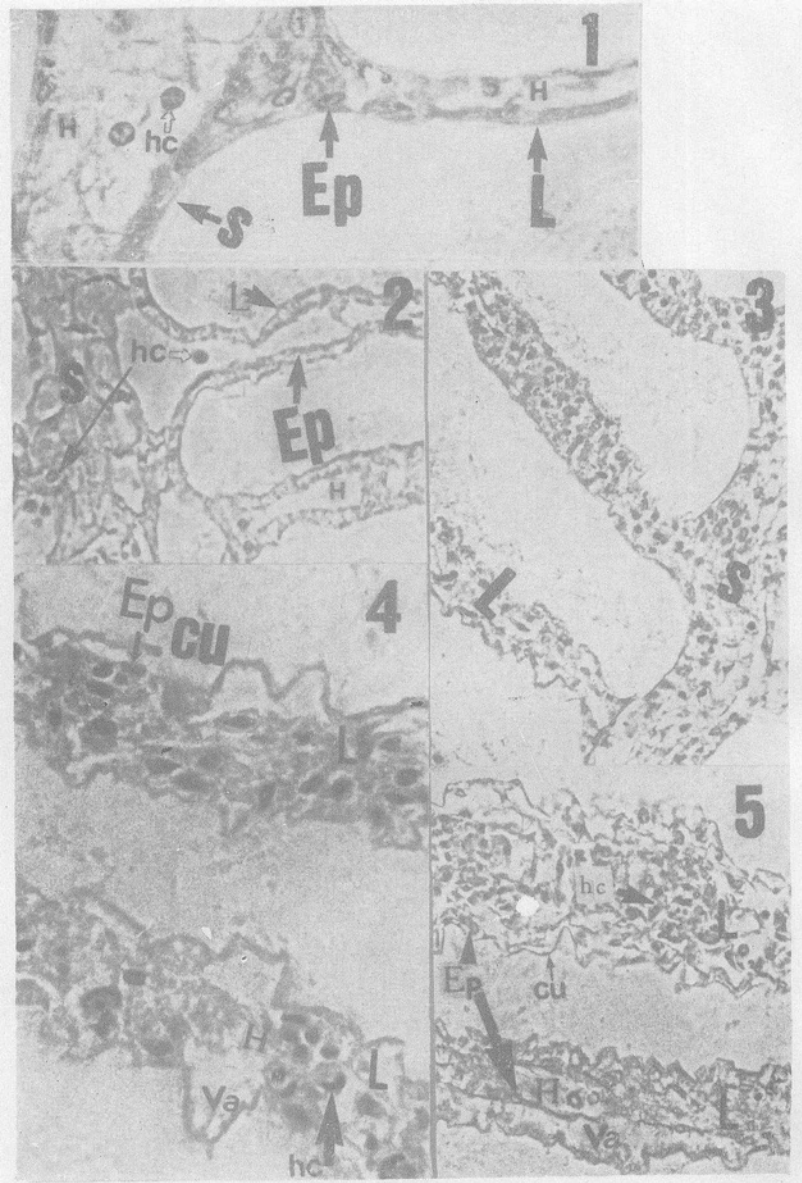
Acute poisoning experiments on *Eriocheir sinensis* (M. Edw.) from the estuary of the Changjiang River were made at varying concentrations of cadmium (6.25, 12.5 and 25.0 mg/L) by means of light and electron microscope from October, 1986 to May, 1987.

The results showed that entire gill lamella was irregularly thickened, and haemolymph spaces in which there were increased haemocytes were enlarged as a result of effects of lower concentrations of cadmium on the gill. With exposure to higher concentrations of cadmium the integrality of the gill epithelial layers and the gill epithelial cells were damaged, culminating in their breakdown.

The ultrastructural changes of cadmium effects on the gill epithelial cells include enlarged sub-cuticular spaces and intracellular vacuoles, disappearance of apical microvilli and basal infoldings, decrease of numbers of cell organelle such as mitochondrion, swollen and disintegrated mitochondria and diffusion of cytoplasm and chromatin. The gill epithelial cells were disintegrated with exposure to the highest concentration of cadmium.

Differences of morphometric indicators between untreated and treated specimens with the concentrations of cadmium were tested, and correlativity of the change of the morphometric indicators with the concentrations of cadmium was also calculated by using of statistical analysis.

It is assumed that the damage of the integrality of the gill epithelial layers, the structure of apical microvilli-mitochondrion and basal infolding-mitochondrion of epithelial cell and abundant mitochondria induced by cadmium affects energy metabolism of the gill tissue and mechanism of active ion transport and function of osmoregulation after analysis of relationship between the gill epithelial cells and physiological function of the gill.

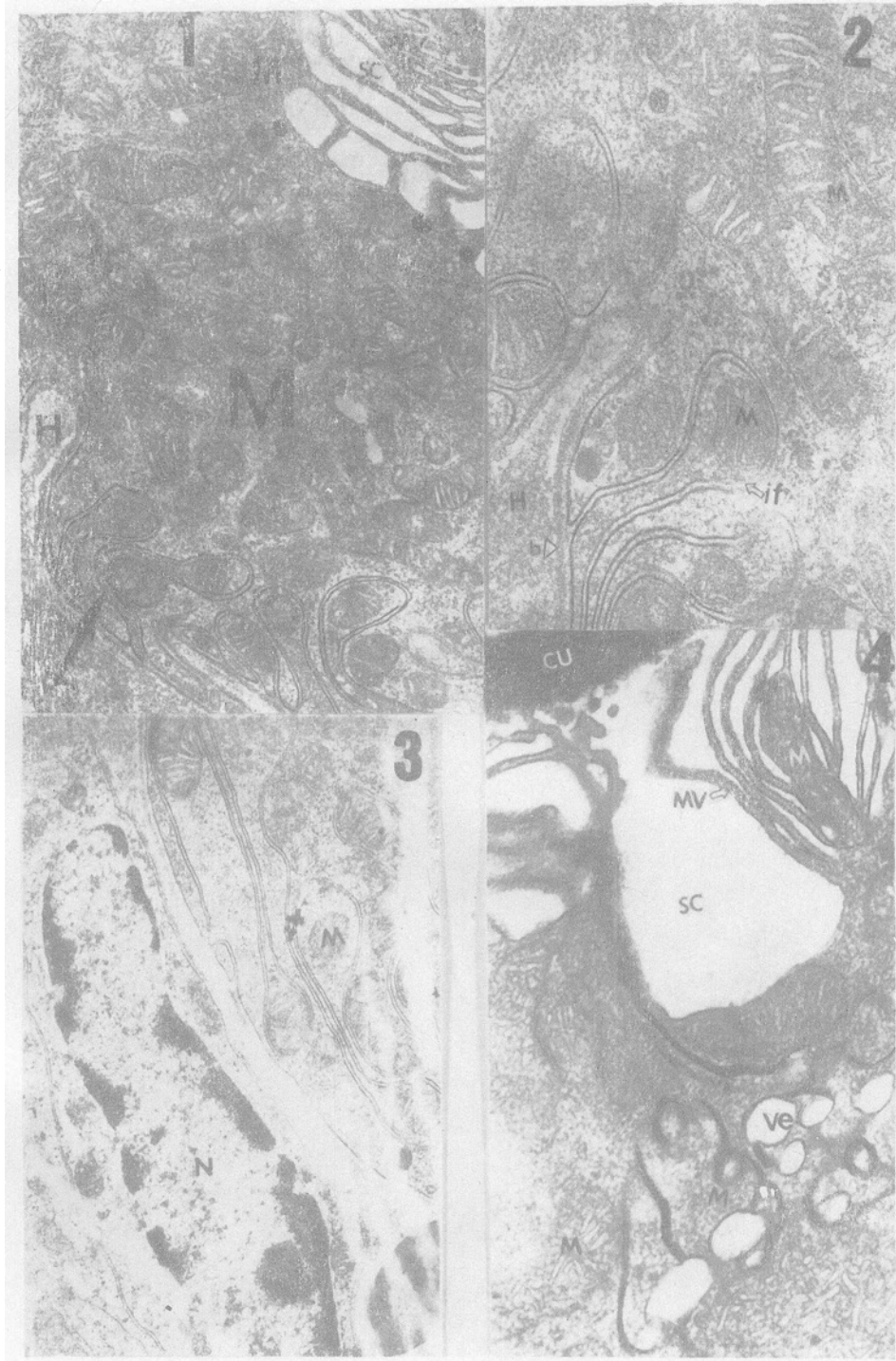


对照和镉处理鳃叶横切面的光镜照片

Photomicrograph of cross-sectioned gill lamella untreated and treated with cadmium

1. 对照组, $\times 390$; 2. 镉浓度为 6.25mg/L , $\times 290$; 3. 镉浓度为 12.5mg/L , $\times 220$; 4. 镉浓度为 12.5mg/L , $\times 440$; 5. 镉浓度为 25.0mg/L , $\times 220$ 。

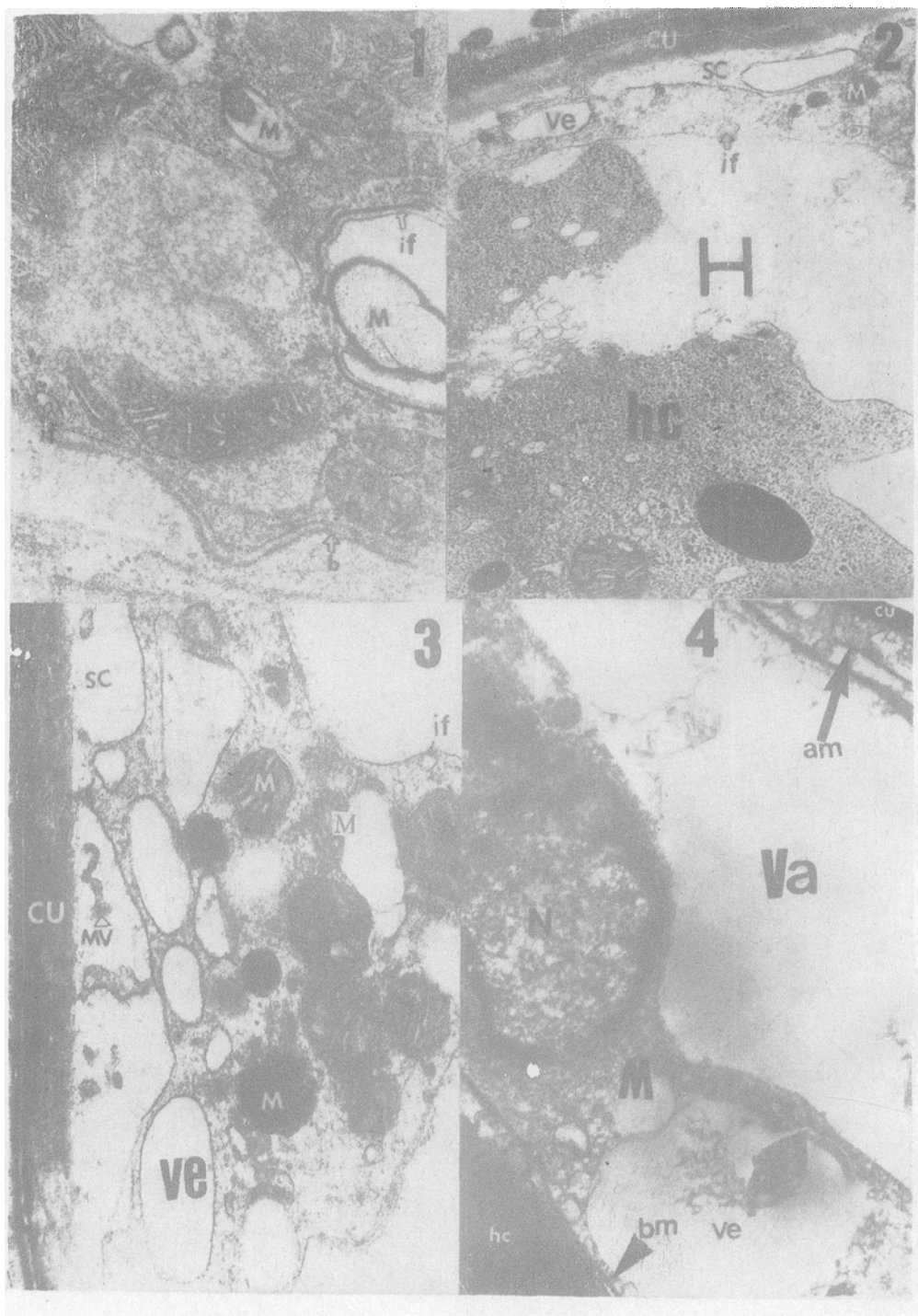
图版 I—III 缩写字母说明: am. 上皮细胞顶膜; b. 基膜; bm. 上皮细胞底膜; cu. 角质膜; Ep. 上皮层; H. 血腔; hc. 血细胞; if. 底膜内折; L. 鳃叶; M. 线粒体; MV. 微绒毛; N. 细胞核; S. 鳃轴; SC. 角质膜下空腔; Va. 空泡; ve. 微泡。



对照和镉处理的鳃上皮细胞电镜照片

Electron micrograph of gill epithelial cell untreated and treated with cadmium

1. 对照组, $\times 13\,000$; 2. 对照组, $\times 35\,100$; 3. 对照组, $\times 13\,000$; 4. 镉浓度为 6.25mg/L , $\times 26,000$ 。



镉处理的鳃上皮细胞电镜照片

Electron micrograph of gill epithelial cell treated with cadmium

1. 镉浓度为 6.25mg/L, $\times 26\ 000$; 2. 镉浓度为 12.5mg/L, $\times 21\ 000$; 3. 镉浓度为 12.5mg/L, $\times 26\ 000$; 4. 镉浓度为 25.0mg/L, $\times 10\ 400$ 。