

赤点石斑鱼脑垂体超微结构的初步研究*

舒 琥^{1,2}, 刘晓春¹, 张 勇¹, 袁桃安², 林浩然¹

(1. 中山大学水生经济动物研究所暨广东省水生经济动物良种繁育重点实验室, 广东 广州 510275;
2. 广州大学生命科学学院, 广东 广州 510006)

摘 要: 应用透射电镜技术观察不同时期的性成熟赤点石斑鱼 (*Epinephelus akaara*) 脑垂体的超微结构。结果表明, 性成熟赤点石斑鱼脑垂体近椭圆形, 由神经垂体和腺垂体两部分组成。神经垂体主要由神经纤维、脑垂体细胞和微血管组成。其中神经分泌纤维存在 A (A1、A2) 和 B 型神经分泌纤维。腺垂体中外侧部 (PPD) 腺细胞由嗜酸性的 GH 细胞和嗜碱性的 TSH 细胞及 GTH 细胞 3 类细胞构成。在不同的时期, GTH 细胞内的分泌颗粒明显不同。

关键词: 赤点石斑鱼; 脑垂体; 超微结构

中图分类号: Q954.52 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-6579 (2008) 04-0068-04

对硬骨鱼类脑垂体超微结构的研究已有数十年的历史, 对欧洲鳗 (*Anguilla anguilla*)^[1]、尼罗罗非鱼 (*Oreochromis nilotica*)^[2]、三角鲂 (*Megalobrama terminalis*)^[3]、草鱼 (*Ctenopharyngodon idellus*)^[4]、南方鲇 (*Silurus meridionalis*)^[5] 等鱼类的脑垂体超微结构与生理功能已有较细致和系统的研究。赤点石斑鱼 (*Epinephelus akaara*) 作为一种名贵海水经济鱼类, 肉质鲜美, 深受各地消费者的喜爱。目前, 该鱼养殖的鱼种主要依靠天然苗和进口, 使养殖业发展受到阻碍。国内外不少学者都在致力于石斑鱼的人工繁殖, 方永强等^[6]对赤点石斑鱼脑垂体组织生理学作过研究, 但有关赤点石斑鱼脑垂体超微结构及超微结构的季节变化与性腺发育的关系在国内外尚未见报道。因此我们对赤点石斑鱼脑垂体超微结构及超微结构的季节变化与性腺发育的关系进行了研究, 为丰富赤点石斑鱼繁殖生物学资料以及人工繁殖提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 样品采集

实验于 2004 年 3 月至 2005 年 10 月期间进行, 实验用鱼取自于广东省大亚湾水产试验中心附近海域人工养殖的网箱中, 海水盐度 32~33, 水温 20~30℃, 自然光照。分别在发育期 (3~4 月份)、成熟期 (5~6 月份)、退化期 (9 月份) 和越冬期

(11~12 月份), 采集 3 龄的赤点石斑鱼雌鱼, 平均体质量 480.6 g (328~654 g), 平均体长 26.5 cm (25.5~32.5 cm)。

1.2 电镜样品制备

鱼经麻醉后测量称量, 快速解剖取出脑垂体, 用海水鱼生理盐水洗净, 将脑垂体置于 $\varphi = 4\%$ 戊二醛中低温 (4℃) 固定 24 h 后, $w = 1\%$ 锇酸 (4℃) 固定 3 h, 梯度乙醇脱水, 环氧丙烷透明, Epon812 树脂包埋, Lkb 超薄切片机制备 1 μm 厚切片。 $w = 1\%$ 的甲苯胺蓝染色, 显微镜下观察定位, 再切成 40~60 nm 超薄切片, 醋酸铀和柠檬酸铅染色, 置日立 H-600 型透射电镜观察及拍照。

2 结 果

2.1 脑垂体的一般形态结构

性成熟的赤点石斑鱼脑垂体近椭圆形, 位于间脑腹面, 并与下丘脑灰白结节相连形成垂体柄。

2.2 脑垂体的超微结构

脑垂体由神经垂体和腺垂体两部分构成。电镜下观察到神经垂体有丰富的神经分泌纤维及散布于它们之间的一些脑垂体细胞; 腺垂体中观察到各种类型的激素分泌细胞和非分泌细胞类型。

2.2.1 神经垂体 神经垂体主要由发自下丘脑神经元轴突构成的神经纤维束、脑垂体细胞和微血管组成。

* 收稿日期: 2007-11-07

基金项目: 国家海洋 863 资助项目 (2006AA10A414); 广东省重大科技兴海资助项目 (A200500A01); 广东省科技计划资助项目 (2005B20301027, 2003C20308, 2006B20201062); 广州大学产学研基金资助项目

作者简介: 舒琥 (1965 年生), 男, 教授, 博士; 通讯联系人: 林浩然; E-mail: lsslhr@mail.sysu.edu.cn

神经分泌纤维: 神经垂体组织中观察到两类无髓鞘神经分泌纤维, 按其轴突终端内所含的神经分泌颗粒的结构和直径的大小不同, 可以区分为两个主要类型, 即 A 型和 B 型 (图 1: 1, 2)。A 型还可分为 A1、A2 两种类型。A1 型纤维含有的分泌颗粒

直径在 150 ~ 220 nm 之间, 电子密度高, 为“基本分泌颗粒”; A2 型纤维含有的分泌颗粒直径在 100 ~ 180 nm 之间, 除含有许多基本分泌颗粒外, 另有一种呈晕圈状的分泌颗粒, 其分泌颗粒的分布不及 A1 型致密, 突触型小泡和线粒体比 A1 型纤维

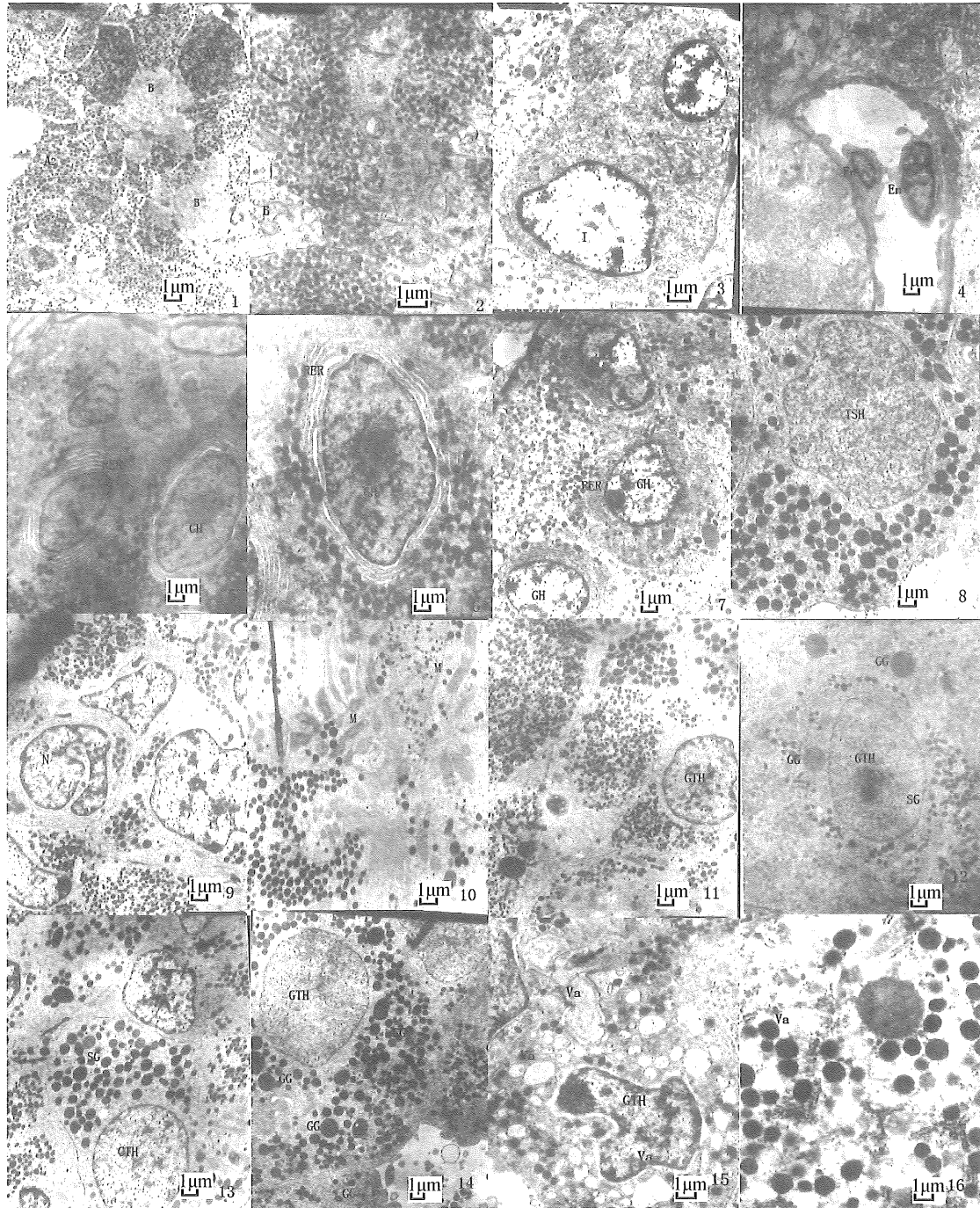


图 1 赤点石斑鱼脑垂体超微结构

Fig. 1 Ultrastructure of the pituitary of *Epinephelus akaara*

(标尺代表长度 1 μm)

1, 2: 赤点石斑鱼神经垂体部, 示 A1、A2 和 B 型神经分泌纤维; 3: 示脑垂体细胞 (I); 4: 示内皮细胞 (En)、血管腔; 5, 6: 繁殖期间的 GH 细胞, 示粗面内质网 (RER); 7: 退化期的 GH 细胞, 示空泡 (Va); 8: 繁殖期间的 TSH 细胞; 9: 越冬期 (退化期) 的不规则核; 10: 越冬期 (退化期) 的线粒体拉长, 呈不规则状; 11, 13: 越冬期 GTH 细胞; 12: 发育期 GTH 细胞; 14: 成熟期 GTH 细胞, 示分泌球 (GG) 和分泌颗粒 (SG); 15, 16: 排卵后退化期 GTH 细胞, 示空泡 (Va)。

更常见(图1:2)。B型纤维轴突终端直径一般比A型纤维小,所含的分泌颗粒直径在60~120 nm之间,为电子密度小的呈晕圈状的分泌颗粒和许多无颗粒透明状的小囊泡,突触型小泡在B型纤维的终端普遍存在。

脑垂体细胞:是一类不含内分泌颗粒的细胞,起源于神经垂体,主要分布在神经分泌纤维之间,也见于腺细胞群之间。胞体近椭圆形,胞质电子密度大,胞质包围和支持不同类型的神经分泌纤维,并与神经分泌纤维的轴突终端有直接的联系(图1:3)。

血管网:脑垂体血管分布致密,进入神经垂体和腺垂体后构成许多毛细血管,分布在神经分泌纤维的轴突终端、脑垂体细胞及腺细胞群之间,形成血窦。毛细血管由内皮细胞形成,其核扁平,胞质少并围成形状不规则的毛细血管腔(图1:4)。

2.2.2 腺垂体中外侧部的超微结构 腺垂体中外侧部(PPD)腺细胞由嗜酸性的GH细胞和嗜碱性的TSH细胞及GTH细胞3类细胞构成。

GH细胞:人工养殖的赤点石斑鱼在繁殖期(4~6月份),GH细胞胞体呈立方或圆形,具圆形或椭圆形核,核径为4~6 μm ,粗面内质网围绕在核的周围作同心圆分层有规律地排列,胞质内密集充满分泌颗粒,直径为300~525 nm,电子密度大,颗粒大小较一致,显示细胞进入活跃状态(图1:5,6)。到了退化期(9~10月份),GH细胞分泌颗粒减少,空泡增多,细胞核变形,核仁明显,偏向核的一侧(图1:7)。

TSH细胞:TSH细胞呈卵圆形和多角形,胞质中分泌颗粒较多,大小无明显差别,粗面内质网呈片状或泡状分散在细胞质中(图1:8)。

GTH细胞:GTH细胞形状不规则,核球状,核径6~8 μm ,胞质内具有明显大小不同的两种分泌颗粒,大型颗粒直径为1200~2000 nm,小型颗粒直径为350~800 nm(图1:11,12);胞质内粗面内质网不形成板层状,通常扩张成为大小不一的内质网小池,分散分布,线粒体数量多。越冬期(11~1月份)赤点石斑鱼GTH细胞密集的是小分泌颗粒(图1:11),进入初春发育期(3月份),胞质内除密集的小分泌颗粒外,开始出现大型的球状颗粒(图1:12),到了繁殖期(5~6月份)赤点石斑鱼正处于卵母细胞最后成熟阶段,GTH细胞出现活跃的激素释放活动,除密集的小分泌颗粒外,大型的球状颗粒迅速增加,胞质内大量的分泌颗粒排空,排卵后,胞质内出现大量小空泡,并逐渐互相串通形成大空泡,细胞核凹陷变形(图1:

14~16)。

3 讨论

对赤点石斑鱼脑垂体电镜的初步观察,表明其超微结构与其它硬骨鱼类基本相似^[7]。一般认为硬骨鱼类神经垂体中存在A型和B型两种神经分泌纤维。一些学者又将A型纤维进一步区分为A1型和A2型,如对野生鲤^[8]、金鱼^[9]和尼罗罗非鱼^[10]的研究有过报道。我们在赤点石斑鱼的神经垂体中,观察到A型和B型两种神经分泌纤维,根据A型分泌颗粒的特征、大小和电子密度可以区分为A₁、A₂两种类型。

已经证明硬骨鱼类腺垂体分泌2种促性腺激素(GTH),GTH-I和GTH-II,GTH-I相当促卵泡素FSH,GTH-II相当促黄体素LH,并且发现GTH-I和GTH-II分别由不同的GTH细胞分泌产生,即GTH-I分泌细胞和GTH-II分泌细胞,分布在腺垂体中外侧部的不同位置^[11-12],在性腺成熟期腺垂体虽然同时存在GTH-I和GTH-II的生成细胞,但主要是GTH-II细胞^[12]。赤点石斑鱼仅观察到1种GTH类型,在胞质内含有大小两种分泌颗粒,还有一种典型的大型球状体。吴嘉敏等^[13]对长吻鲢GTH细胞的超微结构观察发现,GTH细胞中球状体的释放与卵母细胞发育成熟有关,可能代表FSH;小分泌颗粒的释放则与排卵有关,可能代表LH。对赤点石斑鱼的观察结果赞同以上观点。

参考文献:

- [1] OLIVEREAU M, BALL J N. Pituitary influences on osmoregulation in Teleosts[J]. Mem Soc Endocr, 1970, 18:57-85.
- [2] 方展强,何艾文. 尼罗非鲫腺垂体中外侧部的超微结构[J]. 中国水产科学,2002,9(3): 207-210.
FANG Zhanqiang, HE Aiwen. Ultrastructure of proximal pars distalis of adenohypophysis in *Oreochromis nilotica* [J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2002,9(3): 207-210.
- [3] 林国辉,方展强,林爱薇. 三角鲂脑垂体的超微结构[J]. 华南师范大学学报:自然科学版,2003,4: 94-99.
LIN Guohui, FANG Zhanqiang, LIN Aiwei. Ultrastructure of the pituitary in *Megalobrama teminalis* [J]. Journal of South China Normal University: Natural Science, 2003,4: 94-99.
- [4] 鲁双庆,刘筠,陈淑群,等. 草鱼垂体STH细胞组织化学和超微结构研究[J]. 动物学研究,1997,17(1): 75-78.

- LU Shuangqing, LIU Yun, CHENG Shuqun, et al. Studies on the histochemistry and the ultrastructure of STH cells of adenohypophysis in *Ctenopharyngodon idellus* [J]. Zoological Research, 1997, 17(1): 75-78.
- [5] 谢碧文, 岳兴建, 张耀光, 等. 南方鲇脑垂体发育的研究[J]. 水生生物学报, 2004, 28(6): 599-606.
- XIE Biwen, YUE Xingjian, ZHANG Yaoguang, et al. Studies on the development of the pituitary in *Silurus meridionalis* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2004, 28(6): 599-606.
- [6] 方永强. 赤点石斑鱼脑垂体组织生理学的研究[J]. 台湾海峡, 1990, 1: 69-72.
- FANG Yongqiang. Histophysiological study of pituitary gland in *Epinephelus akaara* [J]. Journal of Oceanography in Taiwan Strait, 1990, 1: 69-72.
- [7] 方展强, 何艾文, 林国辉. 尼罗罗非鱼腺垂体的显微和超微结构研究[J]. 华南师范大学学报: 自然科学版, 1990(2): 113-117.
- FANG Zhanqiang, HE Aiwen, LIN Guohui. Studies on the structure and ultrastructure of the adenohypophysis in *Tilapia nilotica* [J]. Journal of South China Normal University: Natural Science, 1990(2): 113-117.
- [8] LEATHERL J F. Histophysiology and innervation of the pituitary gland of goldfish (*Carassius auratus* L.) A light and electron microscope investigation [J]. Can J Zool, 1972, 50: 835-844.
- [9] POLENOV A L, BELENKY M A, KORNEIENKO G G, et al. The hypothalamo-hypophysial system of the wild carp, *Cyprinus carpio* L. I. Structure and ultrastructure of the posterior neurohypophysis [J]. Cell Tissue Res, 1984, 237: 139-147.
- [10] 方展强, 何艾文. 尼罗罗非鱼神经垂体的超微结构研究[J]. 动物学报, 1990, 36(4): 52-359.
- FANG Zhanqiang, HE Aiwen. Ultrastructure of the neurohypophysis of *Tilapia nilotica* [J]. Acta Zoologica Sinica, 1990, 36(4): 52-359.
- [11] JACKSON K A, GOLDBERG D, OFIR M, et al. Cloning, sequencing of GTH-I β , GTH-II β and GH cDNAs of the blue gourami and their expression during the different stage of oogenesis [C] // Proceedings of the 6th international symposium on the reproductive physiology of fish. Norway: Bergen, 1999: 489.
- [12] SCHULZ R W, BOGERD J, BOSMA P T, et al. Physiological, morphological and molecular aspects of gonadotropins in fish with special reference to the African Catfish, *Clarias gariepinus* [C] // Proceedings of the 5th international symposium on the reproductive physiology of fish. Texas: Austin, 1995: 2-6.
- [13] 吴嘉敏, 姜仁良, 张继平. 长吻鲢人工催产及脑垂体促性腺激素细胞超微结构的变化[J]. 水产学报, 1999, 23(3): 248-253.
- WU Jiamin, JIANG Renliang, ZHANG Jiping. Artificial induced spawning of *Leiostichus longirostris* and change of ultrastructure of hypophysis GTH cell [J]. Journal of Fisheries of China, 1999, 23(3): 248-253.

The Preliminary Study on the Ultrastructure of Pituitary of *Epinephelus akaara*

SHU Hu^{1,2}, LIU Xiao-chun¹, ZHANG Yong¹, YUAN Tao-an², LIN Hao-ran¹

(1. Institute of Aquatic Economic Animal and Key Lab of Guangdong for Improved Variety Reproduction of Aquatic Economic Animals, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China;

2. School of Life Sciences, Guangzhou University Guangzhou 510006, China)

Abstract: The ultrastructure of pituitary of *Epinephelus akaara* of sexual maturity at different periods was observed by TEM. The results indicate that pituitary are consist of neurohypophysis and adenohypophysis. There are neurosecretory fibres, neurosecretory pituicyte and micro blood vessel in neurohypophysis, three types of neurosecretory fibres (A1, A2 and B) and their terminals cells have been recognized in neurohypophysis. The proximal parts distalis (PPD) is mainly composed of acidophilic GH cell, alkaliphilic TSH cell and GTH cell. And there are different types granules in GTH cell in different periods.

Key words: *Epinephelus akaara*; pituitary; ultrastructure