

# 硝酸铈对鲤鱼鳃及消化道黏液细胞的影响

张贵生, 吴红松, 楚德昌 (菏泽学院生命科学系, 山东菏泽 274015)

**摘要** [目的]为稀土元素在渔业养殖上的科学应用提供科学依据。[方法]在饲料中添加 20、42、65 mg/kg 的硝酸铈饲喂鲤鱼 30 d, 利用 AB-PAS 染色方法研究铈对鲤鱼鳃及消化道各部位黏液细胞的影响。[结果]与对照组相比, 各试验组鲤鱼鳃及口腔顶壁、前肠、中肠、后肠黏液细胞的密度提高。与对照组相比, 各试验组鲤鱼鳃及消化道各部位 II 型黏液细胞密度增加, IV 型黏液细胞密度降低。此外, 铈也能增加鳃丝、中肠 III 型黏液细胞密度, 降低鳃、前肠、中肠 I 型黏液细胞密度。[结论]饲料中添加一定剂量的硝酸铈能显著增加鲤鱼鳃及消化道不同部位黏液细胞的密度。

**关键词** 硝酸铈; 鲤鱼; 鳃; 消化道; 黏液细胞

中图分类号 S965.116 文献标识码 A 文章编号 0517-6611(2015)34-217-02

## Effect of Cerium Nitrate on Mucous Cells of Gills and Digestive Tract in *Cyprinus carpio* Linnaeus

ZHANG Gui-sheng, WU Hong-song, CHU De-chang (Department of Life Sciences, Heze University, Heze, Shandong 274015)

**Abstract** [Objective] The research aimed to provide basic basis for the scientific application of rare earth elements in the fishery farming. [Method] 20, 42 and 65 mg/kg cerium nitrate was added in the feed to feed *Cyprinus carpio* Linnaeus for 30 d. The effects of cerium nitrate on mucous cells of gills and digestive tract were studied by method of AB-PAS staining. [Result] Combined with control group, the densities of mucous cells in gill, top wall of oral cavity, foregut, midgut and hindgut of *C. carpio* in test groups were enhanced. Combined with control group, the densities of type II mucous cells in the gill and foregut of *C. carpio* in test groups were increased, and the densities of type IV mucous cells were decreased. In addition, the densities of type III mucous cell in the gill and midgut of *C. carpio* in test groups were enhanced, and the densities of type I mucous cell in the gill, foregut and midgut were decreased. [Conclusion] Adding some doses of cerium nitrate in the feed could significantly increase the densities of digestive tract of *C. carpio*.

**Key words** Cerium nitrate; *Cyprinus carpio* Linnaeus; Gill; Digestive tract; Mucous cells

鱼类黏液细胞是普遍存在于鱼类的皮肤、鳃、口腔、肠等不同组织器官上皮中的一种腺体细胞。研究表明, 其分泌的黏液中含有 Ig、补体、凝集素、溶菌酶、抗病毒蛋白、肽类等, 具有非特异性和特异性免疫功能<sup>[1]</sup>。有学者提出, 鱼类黏液是独立于鱼类血液免疫系统之外的另一类免疫系统<sup>[2-3]</sup>。因此, 黏液性免疫在抵御病原体侵入和保护自身方面起着非常重要的作用。

稀土元素(Rare earth)由镧系元素和钪(Sc)、钇(Y)等 17 种元素组成, 由于其具有特殊的理化特性, 在冶金、化工、电子等领域被广泛应用。大量研究表明, 稀土元素具有生理活性<sup>[4]</sup>, 能促进植物幼苗生长<sup>[5]</sup>, 提高草莓产量和质量<sup>[6]</sup>。此外, 稀土元素也能促进鱼类生长<sup>[7]</sup>和提高抗病力<sup>[8]</sup>。但是, 关于稀土元素对鲤鱼黏液细胞的影响研究尚少见报道。笔者以鲤鱼为受试动物, 采用阿利新蓝-过碘酸雪夫氏(AB-PAS)染色方法研究长期饲喂铈对鲤鱼鳃及消化道黏液细胞种类和密度的影响, 以期稀土元素在渔业养殖上的科学应用以及探索稀土元素对鱼类免疫作用的机理提供科学依据, 也为稀土元素的安全应用提供参考。

## 1 材料与与方法

**1.1 试验动物** 鲤鱼苗购自菏泽市牡丹区种鱼养殖场, 体重(68.4±4.6)g, 试验前在室内用已曝气 2 d 的自来水驯养 10 d。

## 1.2 仪器与试剂

**1.2.1 仪器。**电热恒温箱、冷冻台、生物组织智能染色机、

生物组织自动包埋机(湖北康泰医疗设备有限公司)、塑料箱(75 cm×55 cm×45 cm)。

**1.2.2 试剂。**硝酸铈(Ce(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 由 Johnson Matiney 公司提供, 纯度 99.9%; 苦味酸, 购自天津科密欧化学试剂有限公司, 纯度 99.8%; 希夫试剂, 由南京建成生物工程研究所提供; 阿利新蓝、无水乙醇、二甲苯、冰醋酸等均为国产分析纯等。

## 1.3 试验方法

**1.3.1 试验动物的处理。**试验共设置 4 个处理组, 对照组(CK 组)以及试验 I、II、III 组, 每组设 3 个平行。其中, CK 组饲喂基础饲料, 试验 I、II、III 组分别饲喂含 20、42、65 mg/kg 的 Ce(NO<sub>3</sub>)<sub>3</sub> 饲料, 每天 8:00 和 16:00 各饲喂鲤鱼 1 次, 饲喂量为投喂半小时稍有剩余为标准。每组鲤鱼 30 尾, 水为曝气 2 d 的自来水, 每天换水 1/3, 并将多余的饵料及代谢物用小型水泵清除。水质符合中国渔业水质标准(GB11607-89), 每天 24 h 充氧机充氧, 溶氧量含量不低于 6 mg/L, 水温 18~23℃, 饲喂 30 d。

**1.3.2 组织切片的制作及观察。**饲喂 30 d, 每组取鲤鱼 6 尾进行解剖, 分别取口腔上皮、鳃、前肠、中肠和后肠, 并用 0.65% 的生理盐水冲洗掉表面血渍及肠内容物, 用 Bouins 液固定 24 h, 按照常规方法包埋、切片、并采用阿利新蓝-过碘酸雪夫氏(AB-PAS)染色方法进行染色。使用显微镜在 Motic Digital Microscop 系统下观察切片, 分别记录每组每条鲤鱼相应部位观察到的面积、各类型黏液细胞的个数及总的黏液细胞个数。

**1.3.3 数据统计与分析。**使用 SPSS 统计软件对试验数据进行统计与分析。计算各部位各类型黏液细胞及总的黏液细胞密度, 计算出平均值和标准差。各剂量组与对照组相应

**基金项目** 山东省教育厅科研发展计划项目(J08LF54); 山东省生理生化与应用重点实验室项目。

**作者简介** 张贵生(1972-), 男, 山东定陶人, 副教授, 硕士, 从事鱼类营养与生态毒理研究。

**收稿日期** 2015-11-11

各部位总的黏液细胞密度之间进行单因素方差分析(ANOVA),两两比较采用最小显著差数法(LSD), $P < 0.05$ 表示差异显著, $P < 0.01$ 表示差异极显著。

## 2 结果与分析

**2.1 硝酸钾对鲤鱼黏液细胞密度的影响** 从表1可以看出,鳃、口腔顶壁、前肠和后肠黏液细胞密度均随着硝酸钾添加剂量的增多呈先升高后降低的变化趋势,但均高于对照组。试验I组鳃、前肠黏液细胞密度与对照组无显著差异,但口腔顶壁黏液细胞密度显著高于对照( $P < 0.05$ ),后肠黏液细胞密度极显著高于对照( $P < 0.01$ )。试验II组鳃、口腔顶

壁、前肠和后肠黏液细胞密度均极显著高于对照组( $P < 0.01$ )。试验III组鳃、前肠黏液细胞密度均显著高于对照组( $P < 0.05$ ),口腔顶壁、后肠黏液细胞密度极显著高于相应对照组( $P < 0.01$ )。从表1还可以看出,中肠黏液细胞密度随着硝酸钾添加剂量的增多而降低,但各处理组也均显著高于对照组,且试验I、II组极显著高于对照组( $P < 0.01$ )。这说明饲料中添加一定剂量的硝酸钾能显著诱导鳃及消化道黏液细胞的增多,但因为硝酸钾添加剂量不同、组织不同,诱导效应也不完全相同。其中,中肠和后肠对硝酸钾最为敏感。

表1 硝酸钾对鲤鱼黏液细胞密度的影响

组别	细胞密度//个/mm <sup>2</sup>				
	鳃	口腔顶壁	前肠	中肠	后肠
对照组	195.67 ± 14.26	309.83 ± 18.23	159.50 ± 12.10	200.33 ± 14.17	267.17 ± 12.89
试验I组	212.50 ± 23.39	344.50 ± 21.75*	173.50 ± 13.43	251.50 ± 13.05**	309.67 ± 16.28**
试验II组	228.83 ± 16.50**	389.17 ± 25.81**	182.17 ± 18.19**	240.33 ± 23.22**	335.51 ± 13.41**
试验III组	223.00 ± 16.80*	376.83 ± 19.27**	177.33 ± 12.14*	227.50 ± 19.48*	312.17 ± 19.17**

注:\*表示与对照组差异显著( $P < 0.05$ );\*\*表示与对照组差异极显著( $P < 0.01$ )。

**2.2 硝酸钾对鲤鱼鳃及消化道各类型黏液细胞密度的影响** 鲤鱼黏液细胞经AB-PAS染色,呈现4种不同的颜色,据此可将鲤鱼黏液细胞分为4种类型<sup>[9]</sup>:①I型,呈红色,含PAS阳性的中性黏多糖;②II型,呈蓝色,含有AB阳性的酸性黏多糖;③III型,紫红色,主要含有PAS阳性的中性黏多糖,同时含有少量AB阳性的酸性黏多糖;④IV型,蓝紫色,主要含有AB阳性的酸性黏多糖,同时含有少量PAS阳性的中性黏多糖。

由表2可知,硝酸钾各剂量组鳃及消化道各部位II型黏液细胞密度均明显高于对照组,鳃、口腔顶壁II型黏液细胞密度以试验II组最高,分别比对照组高265.06%和263.99%,而前肠、后肠在试验III组II型黏液细胞密度最高,分别比对照组高233.45%和243.92%;中肠在试验I组II型粘液细胞密度最

高,比对照组高125.63%。各剂量硝酸钾组鳃及消化道各部位IV型黏液细胞密度较对照组均有不同程度降低,试验II组鳃黏液细胞密度降低最多,比对照组降低了48.45%,而口腔顶壁、前肠、中肠、后肠试验III组降低最多,比对照组分别降低了27.70%、50.96%、27.58%和39.98%。各剂量组硝酸钾组鳃、前肠、中肠I型黏液细胞密度较对照组降低,而且试验II、III组较试验I组降低程度更大。各剂量组口腔顶壁、后肠I型黏液细胞密度较对照组变化不明显。由表2可知,在试验剂量范围内鳃、中肠III型黏液细胞密度较对照组有明显增多,而口腔顶壁、前肠、后肠则变化不明显。这说明饲料中添加一定剂量的硝酸钾主要能增加II型黏液细胞密度,降低IV型黏液细胞密度,对I型、III型黏液细胞则因硝酸钾剂量不同、部位不同而异。

表2 硝酸钾对鲤鱼鳃及消化道各类型黏液细胞密度的影响

组别	鳃				口腔顶壁				前肠				中肠				后肠			
	I型	II型	III型	IV型	I型	II型	III型	IV型	I型	II型	III型	IV型	I型	II型	III型	IV型	I型	II型	III型	IV型
对照组	100.19	29.34	37.79	28.34	98.92	29.91	116.35	64.65	39.71	28.22	21.99	69.58	38.37	45.71	33.86	82.39	21.71	41.01	87.45	117.00
试验I组	69.59	74.56	49.71	18.64	92.50	76.88	117.03	58.08	37.32	43.39	24.22	68.57	37.44	103.14	50.87	60.05	20.76	130.56	84.71	73.64
试验II组	53.56	107.11	53.56	14.61	104.81	108.87	120.50	54.98	25.10	76.84	28.59	51.97	29.80	93.22	53.27	64.05	30.30	136.45	93.00	75.74
试验III组	55.50	101.74	47.26	18.50	102.23	100.87	126.98	46.74	19.87	94.10	29.24	34.12	29.84	95.72	42.27	59.67	21.31	141.04	79.60	70.22

## 3 讨论

在鱼类的消化系统中,不同部位黏液细胞的种类和密度都有较大差异。一般认为,黏液细胞分泌的黏液具有免疫、润滑食物、抗菌、缓冲食物对黏膜的损伤等作用<sup>[10]</sup>。研究表明,不同种类的黏液细胞分泌黏液的主要作用并不完全相同,I型、III型黏液细胞的分泌物主要含中性黏多糖,具有免疫、保护消化道黏膜以及促进二糖和短链脂肪酸的吸收等功能<sup>[11]</sup>。II型、IV型黏液细胞的分泌物主要含有酸性黏多糖,具有润滑食物、免疫防护及消化食物等的作用<sup>[12]</sup>。鳃是鱼类重要的呼吸器官,黏液细胞分泌的黏液对鳃具有保护、抵抗病菌侵入及解毒等功能<sup>[13]</sup>。

目前,在鱼类养殖中寻找哪种物质能促进鱼类黏液细胞的增殖,增加其数量和密度,提高鱼类的免疫力,将是一个非常有价值的研究领域。据报道,免疫原性物质伴刀豆球蛋白A(ConA)和植物血凝素(PHA)均能诱发鱼类黏液细胞密度的增大<sup>[14]</sup>。该试验结果表明,饲料中添加一定剂量的硝酸钾能显著增加鲤鱼鳃及消化道不同部位黏液细胞的密度,这可能也是稀土元素能促进鱼类对饲料的消化吸收、促进生长、增强免疫力<sup>[15]</sup>的主要原因之一。

该试验结果还表明饲料中添加一定剂量的硝酸钾还能明显改变鲤鱼不同类型黏液细胞的密度。在试验剂量范围(下转第243页)

在大多数国家中都代表着哀悼,应避免在餐桌中使用,但是德国人和荷兰人却偏爱;在中国传统文化中,梅花是幸福、长寿、快乐的象征,梅花的玉洁冰清受到很多人的喜爱,但在以招待港澳及广东的宾客为主的宴席中,最好避免使用,因为他们认为“梅”与“霉”谐音,是一种不祥的征兆。花材自身的性质和语言代表着不同的含义,所以应根据宴会的目的和性质来选择,尽量避免使用宾客忌讳的花材。

**3.2.2 注重季节性。**各种花卉开花时节是季节变化的重要标志,插花时可选用明显表现季节性的花材,给宾客一种与大自然特别亲切和共命运的感觉。春季可选用迎春花、银芽柳、牡丹等;夏季可选用睡莲、荷花以及菖蒲等;秋季可选用秋叶、红果、海棠花、菊花等;冬季则可选用梅枝、残荷等。目前,随着温室养花的盛行,很多花卉可以全年生产,比如康乃馨、月季、菊花、玫瑰、菖蒲以及满天星等,一年四季均可选用。

**3.2.3 注意色彩搭配。**色彩搭配的和谐与否是插花作品成败的关键。在餐台插花时要注意色彩不宜过杂,除了绿色的配叶和衬草外,花材颜色的选择宜控制在三色以内,以给宾客带来高雅的感觉。

**3.2.4 注意花材质量。**选择花材时,在考虑客人的喜好和色彩配置的前提下,花材的质量也是不容忽视的因素之一。另外,还应尽量避免选用香味过浓的、带刺的、花粉易落的以及过分华丽和僵硬的枝条。

**3.3 兼顾实际,搭配花器** 花器是插花的主要依托和装饰,其选择在花艺的设计中是很重要的,关乎到宴会的整体气

氛。插花花器的功能体现在两个方面,一是实用,即用于盛放鲜切花和水,以保养、支撑、承托和塑造花型。二是艺术,通过与花材、花型完美组合,共同塑造艺术形象。传统的花器一般为壶、瓶、盆、碗、篮、鼎等,材质上基本是陶瓷、竹木、土石为主。新时代背景下,新材料层出不穷,塑料、尼龙、腈纶等石化类容器,不锈钢、铝、钛等冶金类容器和玻璃、玻纤、混凝土等建材类容器都被广泛使用。在主题宴会设计中,传统的中式宴席以陶瓷、竹木为主;西式宴会中,则以钢铁、铝合金等现代工业材料为主。

#### 4 结语

插花设计是一项审美艺术,将传统插花设计运用到主题宴会设计中更是一项特别具有挑战性的工作,不仅需要宴会设计人员有深厚的餐饮知识,更需要具有综合的审美观、开拓性的创新思维和设计能力,这样才能将插花与主题宴会完美融合,设计出有思想、有意境、有吸引力、有文化品位的宴会作品,同时也会使宴会设计者的综合知识、审美品位以及能力素质等方面得到有效提升。

#### 参考文献

- [1] 李靖. 插花艺术浅谈[J]. 现代园艺, 2007(5): 35-37.
- [2] 刘澜江. 我国主题宴会设计现状与创新研究[J]. 价值工程, 2012(8): 69-71.
- [3] 杨静. 中餐主题宴会设计的实例分析[J]. 旅游纵览(行业版), 2015(3): 87-88.
- [4] 吴秋华. 插花入门[M]. 长沙: 湖南美术出版社, 2010.
- [5] C<sub>6</sub>H 活性的影响[J]. 林业科学, 2014, 50(8): 168-173.
- [6] 贾佳, 李建波. 稀土肥料对草莓生长及产量品质的影响研究[J]. 河南农业, 2011(10): 52-53.
- [7] 江振莹. 稀土元素对鲤鱼生产性能和体内代谢的影响[J]. 水利渔业, 2006(3): 77-79.
- [8] 鲍宏云, 许甲平, 邓志刚, 等. 稀土元素氨基酸螯合物对虹鳟鱼生长性能的影响[J]. 饲料工业, 2012, 33(4): 61-63.
- [9] 张贵生. 邻苯二甲酸二乙基己酯长期暴露对鲤鱼黏液细胞的影响[J]. 四川动物, 2014, 33(1): 127-131.
- [10] 杨桂文, 安利国. 鱼类黏液细胞研究进展[J]. 水产科学, 1999, 23(4): 403-408.
- [11] 王永翠, 李加儿, 区又君, 等. 野生鱼养殖黄鳍鲷消化道中黏液细胞的类型及分布[J]. 南方水产科学, 2012, 8(5): 46-51.
- [12] 李凤杰, 曾令清, 葛胜东, 等. 不同摄食状态下南方鲇幼鱼肠道黏液细胞的量化分析[J]. 中国水产科学, 2013, 20(1): 75-81.
- [13] 林旋, 张伟妮, 林树根, 等. 欧洲鳗鲡皮肤、鳃及消化道黏液细胞的分布与类型[J]. 福建农业学报, 2008, 23(1): 39-43.
- [14] 李学军, 彭新亮, 乔志刚. ConA 或 PHA 对鲇(*Silurus asotus*) 皮肤和鳃黏液细胞密度的影响[J]. 河南师范大学学报(自然科学版), 2009, 37(6): 108-111.
- [15] 江振莹, 贾志海, 郭锁锁. 稀土元素对鲤鱼肠道发育及消化酶活性的影响[J]. 动物营养学报, 2007, 19(1): 86-90.
- [16] 孙虎山, 王宜艳, 李光友, 等. 栉孔扇贝外套膜和鳃黏液细胞的类型与分布[J]. 中国水产科学, 2002, 9(4): 315-317.
- [17] 杨宁, 任素莲, 宋微波. 文蛤消化道黏液细胞研究[J]. 水产学报, 2005, 29(4): 461-466.
- [18] 王宜艳, 孙虎山, 孙修勤, 等. 海湾扇贝消化系统黏液细胞的类型与分布[J]. 中国水产科学, 2003, 10(3): 254-257.
- [19] FIERTAK A, KILARSKI W M. Glycoconjugates of the intestinal goblet cells of four cyprinids[J]. Cell Mol Life Sci, 2002, 59(10): 1724-1733.
- [20] KOMIYA T, TANIGAWA Y, HIROHASHI S. Cloning of the gene gob-4, Which is expressed in intestinal goblet cell in mice[J]. Biochem biophys acta cene struct expression, 1999, 1444(3): 434-438.

(上接第 218 页)

内,硝酸铈能明显提高鳃及消化道各部位Ⅱ型黏液细胞的密度,降低Ⅳ型黏液细胞的密度,而鳃、前肠、中肠Ⅰ型黏液细胞密度有所降低,Ⅲ型黏液细胞密度有所升高。铈对口腔顶壁、后肠Ⅰ、Ⅲ型黏液细胞密度的影响不明显。这说明硝酸铈引起的鳃及各部位黏液细胞密度的增加主要是由于Ⅱ型黏液细胞的增多所致。Ⅱ型黏液细胞的增多,会分泌更多的酸性黏多糖,酸性黏液物质能使鳃表面形成保护性屏障,有利于抵抗病菌的侵入<sup>[16]</sup>,Ⅱ型黏液细胞的增多,还有利于鱼类摄取食物,有利于吞咽,也有利于后肠粪便的形成和排出<sup>[17]</sup>。此外,鱼类前肠、中肠内食物的消化、吸收需要酸性环境,Ⅱ型黏液细胞的增多能使肠道内保持稳定的酸性环境,有利于消化酶发挥作用<sup>[18]</sup>。硝酸铈能影响鳃及消化道各部位 4 种类型黏液细胞的密度变化,其原因尚不清楚,一方面可能与肠道内的菌群有关<sup>[19]</sup>,另一方面也可能与基因的表达有关<sup>[20]</sup>,具体机制有待进一步研究。

#### 参考文献

- [1] 张婷, 史晋绒, 宋柯, 等. 鱼类体表黏液分泌机制·组分与功能研究进展[J]. 安徽农业科学, 2014, 42(22): 7445-7448, 7458.
- [2] ROMBOUT J H W M. The gut-associated lymphoid tissue (GALT) of carp (*Cyprinus carpio* L.): An immunocytochemical analysis [J]. Dev Comp Immunol, 1993, 17: 56-66.
- [3] SMITH V J, FERNANDES J M O, JONES S J, et al. Antibacterial proteins in rainbow trout [J]. Fish shellfish immunol, 2000, 10(3): 243-260.
- [4] 王晓玲. 稀土微肥在农业应用上的研究[J]. 新农村, 2013(16): 53.
- [5] 刘冉, 王振宇, 黄雨洋, 等. 稀土元素对红松幼苗松多酚含量及 PAL,