

金鱼两个品种皇冠珍珠和兰寿鳞片 组织学比较

谢松^① 陈桂芹^② 黄汉策^② 汪玮^② 陈健荣^①
赵伟华^② 高建忠^① 陈再忠^{①*}

① 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306; ② 上海浦东观赏鱼中心 上海 201202

摘要: 珍珠鳞金鱼 (*Carassius auratus*) 是一种名贵的金鱼品种。为了解该品种金鱼的鳞片变异机制, 本文采用 H.E 染色以及硝酸银法和 Mallory 三色法特殊染色对皇冠珍珠与兰寿金鱼鳞片的组织学特点进行研究。结果表明: ① 皇冠珍珠比兰寿鳞片中央部分明显增厚; ② 皇冠珍珠鳞片纤维层中胶原纤维排列比兰寿鳞片疏松且无规则; ③ 皇冠珍珠鳞片纤维层中充满了疏松结缔组织基质和细胞。珍珠鳞金鱼的变异为其鳞片下层纤维层的改变。

关键词: 金鱼; 鳞片; H.E染色; 特殊染色法; 组织学比较

中图分类号: Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2015) 01-88-05

Histological Comparison of the Scales between Two Varieties of Goldfish: Crown Pearl-scale Goldfish and Ranchu Goldfish

XIE Song^① CHEN Gui-Qin^② HUANG Han-Ce^② WANG Wei^② CHEN Jian-Rong^①
ZHAO Wei-Hua^② GAO Jian-Zhong^① CHEN Zai-Zhong^{①*}

① *College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306;*

② *Shanghai Pudong Ornamental Fish Center, Shanghai 201202, China*

Abstract: Pearl-scale goldfish (*Carassius auratus*) is a rare goldfish variety. To demonstrate the mechanism of its mutation, the microstructures of the scale of Crown Pearl-scale goldfish and Ranchu goldfish were studied by H.E and special staining methods. The results showed that: a) the middle of Crown Pearl-scale goldfish scale was more thickened than that of Ranchu Goldfish; b) the collagenous fibers in the scales of Crown Pearl-scale Goldfish were looser and more disorganized than in Ranchu Goldfish; c) the fiber layer of Crown Pearl-scale goldfish scale was full of loose connective tissue matrix and cells, which was a first discovery in scales of the Osteichthyes. The mutation of Pearl-scale goldfish scale is mostly due to the change of fiber layer in the scale.

基金项目 沪农科种字(2012)第9号项目, 上海高校知识服务平台上海海洋大学水产动物遗传育种中心(No. ZF1206);

*通讯作者, E-mail: chenzz@shou.edu.cn;

第一作者介绍 谢松, 男, 硕士研究生; 研究方向: 观赏鱼养殖; E-mail: xiesong2008@yeah.net.

收稿日期: 2014-03-26, 修回日期: 2014-09-19 DOI: 10.13859/j.cjz.201501011

Key words: Goldfish; Scale; H.E staining method; Special staining method; Histological differences

金鱼 (*Carassius auratus*) 是我国劳动人民对野生鲫鱼的突变个体经过长时间的人工选育形成的一类观赏鱼。在分类学上属于鲤形目 (Cypriniformes) 鲤科 (Cyprinidae) 鲫属。金鱼经过长期的演变, 形态和野生鲫鱼有很大的不同 (王春元 2007)。

鳞片形状 (朱杰等 2004) 及数目 (王春元 2007) 的变化在鱼类中是存在的, 但鳞片的类型 (盾鳞、硬鳞、骨鳞) 不会发生变化。金鱼鳞片的变异是其重要的优选特征之一。珍珠鳞 (pearl-scale) 是金鱼鳞片的一个特殊变异, 其特征为鳞片向外凸起, 似粒粒珍珠镶在鳞片上 (王春元 2007)。我国最早关于珍珠鳞的记载见于陈桢1925年所发表文章。中国金鱼比赛评判标准中要求, 珍珠鳞粗大, 凸起, 自背脊至腹部及尾柄鳞整齐 (王鸿媛 2000)。珍珠鳞这一性状经过长时间的选育, 形成了两个系列, 皮球珍珠系列和皇冠珍珠系列 (张正农 2008)。

目前对于珍珠鳞金鱼的报道仅限于鉴赏 (张正农等 2010)、养殖 (吴昊 2007) 和遗传学 (李璞 1959) 方面。对其鳞片变异的机制, 如组织学等基础研究较少。为了补充珍珠鳞金鱼这一方面的理论数据, 本文以皇冠珍珠 (Crown Pearl-scale Goldfish) 和兰寿 (Ranchu Goldfish) 两个金鱼品种为研究对象, 以具有正常鳞片的兰寿金鱼作为对照, 对其鳞片进行组织学比较研究, 为珍珠鳞金鱼种质标准和金鱼系统演化提供组织学依据。

1 材料与方 法

1.1 材 料

实验用鱼2013年7月25日取自上海浦东观赏鱼中心, 2龄兰寿、皇冠珍珠金鱼成鱼各3尾。兰寿体长为 (12.11 ± 1.05) cm, 体重为 (69.37 ± 4.73) g。皇冠珍珠体长为 (11.52 ± 0.51) cm, 体重为 (63.30 ± 4.45) g。充气暂养于上海海洋大学观赏水族养殖实验室, 24 h后取材固定,

每条鱼取10片鳞片, 6条鱼共取60片鳞片。

1.2 方 法

对活体实验鱼用尼康数码相机拍照后立即解剖。兰寿和皇冠珍珠鳞片各20片用Bouin's液固定, 用于H.E染色及Mallory三色法染色, 兰寿和皇冠珍珠鳞片各10片于10%福尔马林液固定, 用于硝酸银法染色。参照席越 (2009) 的方法将固定后的鳞片经叔丁醇脱水、石蜡横向包埋, 切片厚度为5 μ m, 对鳞片进行H.E染色的同时, 采用硝酸银法 (梁英杰等 2011) 和Mallory三色法 (王晓东等 2007) 分别对鳞片中的钙盐 (羟基磷灰石) 和胶原纤维进行特殊染色, 中性树胶封片, 用Olympus IX71生物显微镜镜检, 并采用Olympus DP2-BSW图片采集系统进行显微拍照。

2 结 果

三种染色方法分别观察30片组织切片, 对比观察。

2.1 鳞片的外部形态

兰寿金鱼鳞片表面平整, 鳞片之间排列紧密 (图版 I: 1)。珍珠鳞金鱼每个鳞片明显向外凸起, 鳞片相互之间排列较兰寿鳞片稀疏 (图版 I: 2)。

2.2 鳞片的分布及其结构

兰寿金鱼鳞片相互部分覆盖, 前后呈覆瓦状排列, 鳞片顶区露出体外, 鳞片由鳞囊包围, 外面包被一层表皮。鳞片下方可见疏松结缔组织和致密结缔组织 (图版 I: 3)。鳞片表面有隆起的鳞嵴, 上层为骨质层, 下层纤维层为粉红色 (H.E染色) (图版 I: 4)。

兰寿鳞片与皇冠珍珠鳞片组织结构对比 (图版 I: 5, 6)。皇冠珍珠与兰寿相比, 相邻两个鳞片之间只重叠很少一部分。皇冠珍珠鳞片中央部分比兰寿鳞片明显增厚, 其边缘到中央的厚度逐渐增加 (图版 I: 6)。鳞片由鳞囊包裹后包被一层表皮, 大部分露出在体外, 鳞

片下疏松结缔组织与兰寿相比增厚（图版 I: 7）。鳞片表面有隆起的鳞嵴（图版 I: 8）。

2.3 鳞片的组成

兰寿鳞片，上层骨质层为钙盐，硝酸银染色呈现黑色，Mallory三色法呈现蓝色（图版 I: 5, 9）。下层纤维层主要成分为胶原纤维，Mallory三色法呈现黄色，呈分层排列，平行且紧密（图版 I: 9）。鳞片底部可见骨针细胞，核呈细长型（图版 I: 5）。

皇冠珍珠鳞片，上层骨质层亦为钙盐，硝酸银染色呈现黑色。下层胶原纤维排列疏松无规则，胶原纤维束中间有大量成纤维细胞存在（图版 I: 10）。其中可见少量巨噬细胞（图版 I: 11）。下层胶原纤维（Mallory三色法，黄色）排列疏松无规则，中间填充有大量结缔组织基质（蓝色）和成纤维细胞（红色）（图版 I: 12）。鳞片底部为一层骨针细胞，核呈细长形（图版 I: 8）。

3 讨论

大多数鱼类皮肤中均有钙质组成的外骨骼，即鳞片或其衍生物。现生真骨鱼类鳞片是由真皮形成的骨鳞。骨鳞上层为骨质层，下层为纤维层。骨鳞的生长方式为，在鳞片上层的两侧乳头细胞分泌骨质使鳞片上层不断向边缘延伸，成圈增大（孟庆闻 1987）。鳞片下层是一个个环纹从中心向边缘生长，新的一环总是铺在原有一片下面，并且比原有的一片略大。

兰寿金鱼鳞片的组织结构为典型的骨鳞结构，上层为骨质层，下层为纤维层，且排列紧密（秉志 1983，孟庆闻 1987）。

皇冠珍珠鳞片上层骨质层厚度与兰寿鳞片无明显差异。在皇冠珍珠鳞片中没有看到大量钙盐沉积。这与传统所认为的珍珠鳞片含有较多石灰质（张正农 2008）是截然相反的。皇冠珍珠鳞片下层纤维层中的胶原纤维排列比兰寿鳞片疏松且无规则，胶原纤维之间有大量成纤维细胞、少量巨噬细胞和疏松结缔组织基质，这在硬骨鱼类鳞片研究中未见有报道。成纤维细胞和巨噬细胞属于疏松结缔组织细胞，成纤

维细胞能够合成基质和纤维，巨噬细胞是由血液中的单核细胞能够出血管进入疏松结缔组织形成的，参与炎症反应（楼允东 2009）。鳞片纤维层中出现结缔组织基质和细胞可能是由于其胶原纤维排列疏松无规则，由真皮疏松层的结缔组织生长进入鳞片纤维层后的结果。对于出现此结构的原因有待于进一步研究。在透射电镜下骨鳞下层的胶原纤维排列紧密且相互之间呈90°夹角，如条纹鲈（*Morone saxatilis*）（Zhu et al. 2011）。皇冠珍珠鳞片中胶原纤维的超微结构排列与正常骨鳞是否一致有待进一步研究。

骨鳞底部的骨针细胞能够合成胶原纤维（Onozato et al. 1979, Zylberberg et al. 1992）。在齐口裂腹鱼（*Schizothorax prenanti*）（严大明等 2014）鳞片发育早期，成纤维细胞形成鳞片基质层及鳞囊。皇冠珍珠鳞片底部存在骨针细胞，纤维层中存在成纤维细胞，二者均具有合成胶原纤维的能力。对于皇冠珍珠鳞片纤维层的具体生长方式，还有待进一步研究。

皇冠珍珠与兰寿鳞片相比：（1）皇冠珍珠比兰寿鳞片中央部分明显增厚；（2）皇冠珍珠鳞片纤维层中胶原纤维排列比兰寿鳞片疏松且无规则，皇冠珍珠鳞片纤维层中充满了疏松结缔组织基质和细胞；（3）皇冠珍珠鳞片的变异不是鳞片中钙盐的沉积，而是纤维层中胶原纤维排列疏松无规则，中间充满了疏松结缔组织基质和细胞。

大多数鱼类披有鳞片，少数鱼类如鲇（*Silurus asotus*）、日本单鳍电鳐（*Narke japonica*）没有鳞片。但这些鱼类的黏液腺比有鳞鱼类发达很多，鱼类鳞片的披覆程度与黏液腺的多寡恰成反比（楼允东 2009）。珍珠鳞变异之后，鳞片变得凸起且易掉，稍有摩擦或碰撞即可引起鳞片脱落（郭利雅 2008）。珍珠鳞金鱼变异之后鳞片本身的其他结构或皮肤其他部位是否发生改变还有待于进一步研究。

参考文献

- Onozato H, Watabe N. 1979. Studies on fish scale formation and resorption. III. Fine structure and calcification of the fibrillary

- plates of the scales in *Carassius auratus* (Cypriniformes: Cyprinidae). *Cell and Tissue Research*, 201(3): 409–422.
- Zhu D J, Vernery F, Barthelat F. 2011. The mechanical performance of teleost fish scales. *Mechanics of Biological Systems and Materials*, 2: 117–123.
- Zylberberg D L, Nicolas G. 1982. Ultrastructure of scales in a teleost (*Carassius auratus* L.) after use of rapid freeze-fixation and freeze-substitution. *Cell and Tissue Research*, 223(2): 349–367.
- 秉志. 1983. 鲤鱼组织. 北京: 科学出版社, 14.
- 陈桢. 1925. 金鱼的变异与天演. *科学*, (3): 304–330.
- 郭利雅. 2008. 中国金鱼的名贵品种——皇冠珍珠. *环球宠物科技*, (1): 120–122.
- 梁英杰, 凌启波, 张威. 2011. 临床病理学技术. 北京: 人民卫生出版社, 156.
- 李璞. 1959. 我国金鱼的品种及其在系统发生上的关系. *动物学杂志*, 3(6): 248–251.
- 楼允东. 2009. 组织胚胎学. 北京: 中国农业出版社, 27–34, 175.
- 孟庆闻. 1987. 鱼类比较解剖. 北京: 科学出版社, 42–43.
- 王春元. 2007. 金鱼的变异与遗传. 北京: 中国农业出版社, 1–10.
- 王鸿媛. 2000. 中国金鱼图鉴. 北京: 文化艺术出版社, 254.
- 王晓冬, 汤乐民. 2007. 生物光学标本技术. 北京: 科学出版社, 56–57.
- 吴昊. 2007. 皇冠珍珠亲鱼饲养管理技术. *科学养鱼*, (11): 41–43.
- 席越. 2009. 骨组织病理解剖学技术. 北京: 人民卫生出版社, 37–40.
- 严太明, 唐仁军, 刘小帅, 等. 2014. 齐口裂腹鱼鳞片发生及覆盖过程研究. *水生生物学报*, 38(2): 298–303.
- 张正农, 大苏打. 2010. 皇冠珍珠的饲养与鉴赏. *水族世界*, (3): 78–81.
- 张正农. 2008. 中国珍稀金鱼图典. 上海: 上海文化出版社, 59–64.
- 朱杰, 张秀梅, 高天翔. 2004. 体色异常褐牙鲢皮肤色素及鳞片发育的形态学研究. *水生生物学报*, 28(6): 653–658.

图 版 说 明

兰寿、皇冠珍珠鳞片外观及显微对比

1. 兰寿金鱼外观, 方框示取鳞片部位; 2. 皇冠珍珠金鱼外观, 方框示取鳞片部位; 3. 兰寿鳞片, 包括皮肤、肌肉 ($\times 40$ H.E); 4. 兰寿鳞片 ($\times 40$ H.E); 5. 兰寿鳞片 ($\times 400$ 硝酸银法); 6. 皇冠珍珠鳞片 ($\times 40$ H.E); 7. 皇冠珍珠, 包括皮肤、肌肉 ($\times 40$ H.E); 8. 皇冠珍珠鳞片 ($\times 400$ 硝酸银法); 9. 兰寿鳞片 ($\times 400$ Mallory); 10. 皇冠珍珠鳞片 ($\times 400$ 硝酸银法); 11. 皇冠珍珠鳞片 ($\times 1\ 000$ H.E); 12. 皇冠珍珠鳞片 ($\times 400$ Mallory)。

Explanation of Plate

Appearance and microstructure comparison of the scales between Ranchu Goldfish and Crown Pearl-scale Goldfish

1. Appearance of Ranchu Goldfish (the frame show place of choose scale); 2. Appearance of Crown Pearl-scale Goldfish (the frame show place of choose scale); 3. Scale of Ranchu Goldfish (including skin and muscle) ($\times 40$ H.E); 4. Scale of Ranchu Goldfish ($\times 40$ H.E); 5. Scale of Ranchu Goldfish ($\times 400$ Silver nitrate method); 6. Scale of Crown Pearl-scale Goldfish ($\times 40$ H.E); 7. Scale of Crown Pearl-scale Goldfish (including skin and muscle) ($\times 40$ H.E); 8. Scale of Crown Pearl-scale Goldfish ($\times 400$ Silver nitrate method); 9. Scale of Ranchu Goldfish ($\times 400$ Mallory); 10. Scale of Crown Pearl-scale Goldfish ($\times 400$ Silver nitrate method); 11. Scale of Crown Pearl-scale Goldfish ($\times 1\ 000$ H.E); 12. Scale of Crown Pearl-scale Goldfish ($\times 400$ Mallory).

AA. 顶区; BA. 基区; BL. 骨质层; CF. 胶原纤维; DCT. 疏松结缔组织; E. 表皮; F. 成纤维细胞; FL. 纤维层; LCT. 疏松结缔组织; Mac. 巨噬细胞; Mat. 基质; R. 鳞嵴; S. 鳞片; SL. 骨针细胞; SS. 鳞囊。

AA. Apical area; BA. Basal area; BL. Bone layer; CF. Collagenous fiber; DCT. Dense connective tissue; E. Epidermis; F. Fibroblast; FL. Fibrillary layer; LCT. Loose connective tissue; Mac. Macrophage; Mat. Matrix; R. Ridge; S. Scale; SL. Scleroblast; SS. Scale sac.

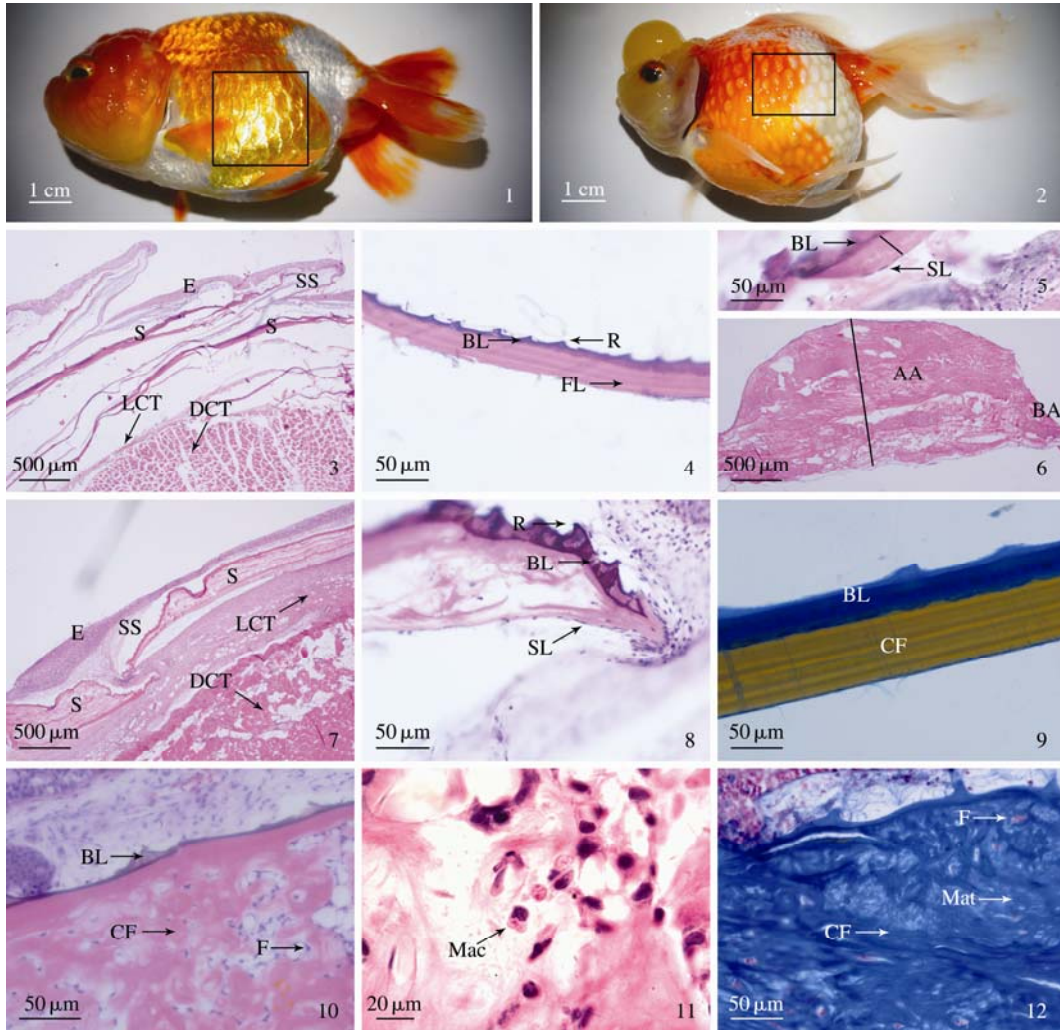
谢 松等：金鱼两个品种皇冠珍珠和兰寿鳞片组织学比较

图版 I

XIE Song *et al.*: Histological Comparison of the Scale between Two Varieties of Goldfish:

Crown Pearl-scale Goldfish and Ranchu Goldfish

Plate I



图版说明见文后