条斑星鲽消化系统个体发生的组织学观察

肖志忠[1],于道德[1,2],辛 梅[3],徐世宏[1],马道远[1],李 军[1]

(1. 中国科学院 海洋研究所,山东 青岛 266071;2. 中国科学院 研究生院,北京 100039;3. 青岛市渔业技术推广站,山东 青岛 266000)

摘要:应用石蜡切片技术和显微测量法,对从孵化后到变态完成(55～60 d, day post hatching, dph)的条斑星鲽(*Verasper moseri* Jordan et Gilbert)仔稚幼鱼早期发育中消化道的结构变化进行了观察,描述了个体发育过程中的组织学结构特征。结果表明,在 13～15 ℃,7dph 的仔鱼开口时,消化道已经分化为口咽腔、食道、肠和直肠,消化器官肝脏和胰腺出现。从 7 dph 到 14～17 dph(卵黄囊消失)为混合营养期,形态上肠道进一步弯曲、盘旋;功能上中肠空泡样结构和后肠嗜伊红颗粒的出现,预示着肠上皮细胞在胃功能成熟前有吸收蛋白的作用。形态学上胃以及幽门盲囊的分化出现在 26～29 dph,与稚鱼刚开始附底的时期相吻合。而功能性胃的分化则出现在 35 dph 左右,与稚鱼变态期相一致。条斑星鲽作为中国新近养殖品种,关于其早期发育的报道还是空白,作者对其消化系统进行系统的研究,旨在为该鱼种的商业化养殖提供相关的科学数据,同时也为海水鱼类早期营养和发育生物学的深入研究提供理论依据。

关键词:条斑星鲽(*Verasper moseri*);消化道;幽门盲囊
中图分类号:Q48 **文献标识码**:A **文章编号**:1000-3096(2008)06-0013-04

硬骨鱼类消化系统的个体发生是鱼类早期生活史较为重要的部分,虽然开口期仔鱼的消化道已初具功能性,但和成鱼相比其功能还不完善。对鱼类消化系统的发生过程及其功能性获得的深入研究对于成功地进行苗种养殖具有重要的指导意义。

关于硬骨鱼类消化系统早期发育的组织学观察已有大量的报道。仅鲆鲽类中完成的研究工作就包括:大西洋牙鲆[1](*Paralichthys dentatus*),大菱鲆[2](*Scophthalmus maximus*),圆斑星鲽[3](*Verasper variegatus*),美洲黄盖鲽[4](*Pleuronectes ferruginea*),美洲牙鲆[5](*Paralichthys californicus*)等。条斑星鲽(*Verasper moseri*)是极具有商业价值的鲽形目(Pleuronectiformes)种类之一,关于其消化系统的发生国内外至今未见报道。

作者对条斑星鲽消化道的个体发育进行了研究,希望能对其消化系统的早期发生的结构变化和功能完善有更好的了解,同时为以后条斑星鲽仔稚鱼的营养研究提供一些相关的组织基础资料。

1 材料与方法

条斑星鲽仔稚幼鱼于 2007 年 3～6 月取自薛家岛育苗场,条斑星鲽受精卵在 8～10 ℃、盐度 33 左右、充气的条件下,经过 8～9 d 孵化出膜。孵出后的仔稚鱼培育水温为 14～15 ℃,幼鱼培育水温为 16～17 ℃。前期仔鱼投喂轮虫,同时加入小球藻净化水质,后期仔鱼和稚鱼添加卤虫无节幼体,幼鱼给予鱼糜及配合饲料。轮虫和卤虫无节幼体分别进行营养强化(康克 A,青岛森淼公司)12 h 后进行投喂。

育苗孵化后,前 10 dph 每天取样 1 次,11～30 dph 每 2 d 或 3 d 取样 1 次,31 dph 到实验结束,每 5 d 取样 1 次,取样样本数为 60 尾。MS-222 麻醉,30 尾用于测量生长;另 30 尾样品用 Bouin 氏液室温固定 24 h,50 %乙醇洗脱,70 %乙醇保存备用。常规梯度乙醇脱水,二甲苯透明,石蜡包埋,分别进行横、纵和水平三个方向的连续切片,切片厚度 3～10 μm,H. E. 染色,中性树胶封片,Nikon 显微镜观察和照相。

2 结果

2.1 口咽腔

7 dph 仔鱼消化道与外界完全接通,开始摄食,Meckel's 软骨出现,口器形成。在肠道中可观察到单胞藻和轮虫。口咽腔由单层扁平上皮覆盖,后部可见初始鳃弓;咽腔零星分布黏液细胞。随着仔鱼的进一步发育,12 dph,口咽腔扁平上皮增加为复层

收稿日期:2007-11-05;修回日期:2008-04-07
基金项目:国家 863 计划项目(2006AA10404);青岛市科技计划项目(06-2-3-18-hy)
作者简介:肖志忠(1968-),男,山东青岛人,研究方向:海洋生物学,电话:0532-82898729,E-mail:xzz68@qingdaonews.com;李军,通讯作者,研究员,理学博士,E-mail:junli@ms.qdio.ac.cn

上皮,初始鳃弓上开始分化出鳃耙,咽腔后部散布的味蕾出现(图 1-1)。14～17 dph,上下颌齿从口器中凸显出来,同时咽腔分布的黏液细胞和味蕾进一步增多。29 dph,甲状腺滤泡的上皮细胞进一步增生、变高;同时在甲状腺滤泡的胶体周围出现大量的空泡样空间,预示甲状腺的成熟(图 1-2)。

2.2 食道

仔鱼开口时(8～9 dph),食道前段已有黏膜层、黏膜下层、环肌层及浆膜层的分化,其中黏膜层形成 5～7 个低褶,在复层立方上皮中间排列少量杯状细胞,黏膜下层与浆膜层不发达,环形肌肉层厚约 5 μm,在接近食道后段逐渐变薄并消失。14～17 dph 后期仔鱼食道前段黏液细胞变大、增多,平均达 48 个/ mm^2 (图 1-3)。食道环形肌肉层显著增厚,浆膜层较开口期发达。食道前段具有 7 个纵行皱褶,随纵行皱褶向食道后段延伸,其黏液细胞迅速减少而肌肉层逐渐增厚。其中食道的复层扁平上皮在接近胃前体处逐渐转变为单层立方上皮,并且其肌肉层变薄,同时横纹肌转化为平滑肌,黏液细胞消失(图 1-4)。此后,随着仔鱼的发育,食道的组织变化不大,仅仅是黏液细胞数量增多以及形态的变化、皱褶的加深及肌肉层的增厚(图 1-5)。

2.3 胃

无论从形态上还是功能上来看,胃都是整个消化道最后分化的部分。8 dph 仔鱼食道后段膨大部分(胃的原基)排列着单层矮柱状细胞,厚 13～26 μm,缺乏纹状缘和杯状细胞。14～17 dph 胃原基开始膨大,拉长,单层矮柱状细胞转化为高柱状上皮。浆膜层增厚,出现很薄的肌肉层。其中食道的复层扁平上皮在接近胃体处逐渐转变为单层立方上皮,并且其肌肉层变薄,同时横纹肌转化为平滑肌(图 1-4)。29 dph 胃在形态上从消化道中分化出来,胃的两端出现紧缢,使胃与食道及肠分界明显,此时在胃底部出现胃腺的原基(图 1-6)。在胃肠连接的紧缢附近出现分化中幽门盲囊,其壁上分布有少量的杯状细胞(图 1-7)。

35 dph,胃底部大量出现胃腺原基,大部分胃腺的原基仍然为实心的细胞团,少量原基开始形成中空的管腔。胃体肌肉层较薄。45～50 dph,胃体形成大量的胃腺,除少量分布在贲门胃部分外,大部分集中于胃底部,幽门胃缺乏胃腺。胃体肌肉层开始增厚,尤其是幽门胃腺消失处的肌肉层十分发达,胃体结构已经接近成体。

2.4 肠

初孵仔鱼肠道十分简单,尚未分化,为直管状。8～9 dph 仔鱼的小肠壁由单层柱状细胞组成,上皮细胞高 11～13 μm,顶端形成很薄的纹状缘。此时,直肠已经从肠道中分化出来,靠近肠道和直肠的肠管部分已经开始形成皱褶。小肠黏膜外仅由单层扁平细胞的浆膜层覆盖而无肌肉层的发生。直肠黏膜上皮细胞柱状,排列紧密,接近肛门处的浆膜逐渐增厚,上皮细胞逐渐变矮最终变为复层扁平上皮。此时小肠和直肠皆无杯状细胞发生。

12～17 dph,胃肠的交接处形成微小紧缢,肠道分化前肠和中肠,形成第一个弯曲。前肠具 6～8 个褶,细胞顶端平钝,开始形成纹状缘,可见上皮细胞间少量杯状细胞的零星分布。中肠杯状细胞相对前肠要密集,直肠上皮细胞胞质内出现少量弱嗜伊红颗粒。部分仔鱼卵黄囊仍然存在。29 dph,前肠 10～12个钝褶,细胞顶端稍平整,中肠具 7～9 个低褶,更钝。直肠的柱状上皮细胞胞质内出现大量强嗜伊红颗粒(图 1-8),前肠仍少见杯状细胞的存在,小肠后段和直肠内的杯状细胞开始增多。

34～36 dph,稚鱼肠道进一步分化,增生。前肠皱褶相对增多、变高,纹状缘排列整齐,但杯状细胞仍然很少。中肠至后肠肠壁逐渐变薄、皱褶减少且纹状缘排列混杂。直肠上皮胞质内的嗜伊红颗粒更加明显。55～60 dph,幼鱼的小肠结构与成体类似,前肠皱褶更加密集,整齐地排列,形成小肠所独有的特殊的形态结构。前中肠杯状细胞较稚鱼期增多。直肠上皮内嗜伊红颗粒消失。

3 讨论

尽管鱼类的消化道在形态和功能上的差异很大,但是其基本的组织学结构却有较大的相似程度。与其他硬骨鱼类相似,条斑星鲽初孵仔鱼的消化道也处于未分化状态,口与肛门尚未与外界连通,仔鱼完全依靠卵黄囊的营养供给。7 dph 仔鱼开口摄食时,消化道明显分为 4 个部分:口咽腔、食道、肠和直肠,消化器官肝脏和胰腺出现。

条斑星鲽杯状细胞首先出现在咽腔后部和食道前段(8～9 dph),细胞形状比较单一,以囊状为主。此时正是仔鱼开口期,咽腔后部和食道的杯状细胞的大量发生主要便于润滑食物以便吞咽。随着肠道上皮细胞的分化,在 12～17 dph,小肠后段和直肠内的杯状细胞也有零星分布。至 29 dph,条斑星鲽仔鱼进入变态期,肠道分化基本结束,前肠的杯状细胞开始明显丰富,同时其杯状细胞分布开始初具成鱼的特点:以咽腔后部和食道前段最为丰富,同时杯状细胞形态也具有典型的杯状、囊状和梨形三种类型[6]。在肠道中遵循从前肠到后肠及直肠细胞数量

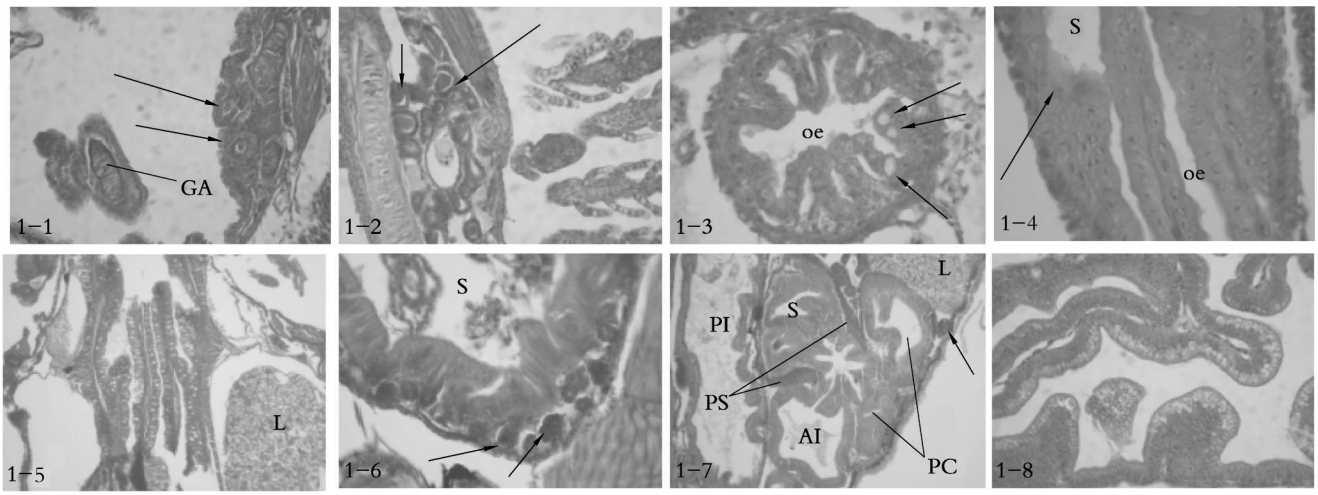

图 1 条斑星鲽消化系统发育图

Fig. 1 The ontogeny of the digestive system in barfin flounder

1-1. 12dph 仔鱼,纵切。示咽腔后部鳃弓的分化及味蕾的分布(箭头),×400;1-2. 29dph 稚鱼,纵切。示咽腔甲状腺滤泡的发育成熟(箭头),×400;1-3. 17dph 仔鱼,横切。示食道杯状细胞(箭头)、环形肌肉层及褶皱,×400;1-4. 35dph 稚鱼,纵切。示食道大量杯状细胞,×100;1-5:17dph 仔鱼,纵切。示食道与胃前体间上皮细胞及肌肉层的变化(箭头),×400;1-6:29dph,稚鱼,纵切。示胃底部胃腺原基的形成(箭头),×400;1-7:35dph 幼鱼,纵切。示分化中幽门盲囊及肠胃位置关系,箭头示弥散的胰脏,×100;1-8:29dph,稚鱼,纵切。示直肠上皮杯状细胞典型嗜伊红颗粒分布,×100;AI:肠道前部;GA:鳃弓;L:肝脏;oe:食道;PC:幽门盲囊;PI:肠道后部;PS:幽门括约肌;S:胃

1-1. 12 dph larva, longitudinal section. Show the differentiation of gill arch on the posterior pharynx cavity and the distribution of taste buds (arrow), ×400;1-2. 29 dph larva, longitudinal section. Show the maturation of thyroid follicle on the pharynx cavity (arrow), 400;1-3. 17 dph larva, cross section. Show the goblet cells of esophagus (arrow), circular muscularity and mucosal folds, ×400;1-4. 35 dph larva, longitudinal section. Show abundant goblet cells of esophagus ×100;1-5. 17 dph larva, longitudinal section. Show the change of epithelial cells and tunica muscularity between esophagus and stomach anlage (arrow), ×400;1-6. 29 dph larva, longitudinal section. Show the formation of gastric glands on the fundic stomach(arrow), ×400;1-7. 35 dph larva, longitudinal section. Show the pyloric caecae in differentiation and the relationship with the stomach and intestine, the arrow represent the diffuse pancreas, ×400;1-8. 29 dph larva, longitudinal section. Show the distribution of goblet cells and the acidophilic granules on the rectal epithelium, ×100;AI:anterior intestine; GA:(gill arch);L:Liver;oe:Oesophagus; PC:pyloric caeca;PI:posterior intestine;PS:pyloric sphincter;S:stomach

呈现递增趋势。在条斑星鲽胃发生过程中,未在黏膜层观察到杯状细胞的出现,与大西洋牙鲆[1]类似。但 Gisbert[5]报道:在美洲牙鲆胃体发生过程中,在胃基部观察到杯状细胞。

在鱼类的早期发育过程中,仔稚鱼和幼鱼消化道最主要的差异就是功能性胃的缺乏和幽门盲囊的发生[7]。而一般鲆鲽类的胃和幽门盲囊都发生较晚,出现在变态期前后。如美洲黄盖鲽[4]、大西洋牙鲆[1]和大菱鲆[8]等。而本试验观察到条斑星鲽胃腺的发生在 29 dph(变态前期),胃腺的出现将整个胃体分为三部分:胃腺主要发生的胃基部,及无胃腺发生的贲门部和幽门部。此结果与大西洋牙鲆[1]和大菱鲆[8]类似。与此相反,大西洋庸鲽(*Hippoglossus hippoglossus*)[9]成鱼的整个胃体布满了胃腺,可能与其摄食习性相关,需要分泌大量的消化液。

在条斑星鲽早期发育过程中,观察到其直肠黏膜层细胞质出现大量嗜伊红颗粒(12～45 dph)。此现象广泛地存在于无胃鱼类的成鱼中,如草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)[10]。对于有胃鱼类,嗜伊红颗粒只存在于胃体功能不完善的仔稚幼鱼阶段,如美洲黄盖鲽[6]、半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*)[11]等。Watanabe[12]认为这与仔鱼的蛋白消化相关。在无胃鱼类中,由于胰腺酶不能完全消化蛋白[13],需要肠道上皮细胞对蛋白进行胞饮作用及细胞内消化。而硬骨鱼类仔鱼期胃功能不完善,消化酶系统发育不完全,类似于无胃鱼类。嗜伊红颗粒即为肠道上皮细胞进行胞饮作用而吸收的蛋白质。当仔鱼完成变态进入幼鱼阶段后,随着胃体功能的完善,直肠胞质的嗜伊红性质消失,蛋白的消化完全由胃体来完成。

参考文献:

[1] Bisbal G A, Bengtson D A. Development of the digestive tract in larval summer flounder [J]. **J Fish Biol**, 1995, 47: 277-291.

[2] 陈慕雁,张秀梅. 大菱鲆仔稚幼鱼消化系统发育的组织学研究 [J]. 水生生物学报, 2006, **30**(2): 236-240.

[3] 王思锋,张志峰,张全启,等. 圆斑星鲽仔鱼变态前消化系统发生的形态学和组织学观察 [J]. 中国水产科学,

2006 ,**13**(1) :1-7.

[4] Baglole C J , Murray H M , Goff G P , *et al*. Ontogeny of the digestive tract during larval development of yellowtail flounder: light microscopic and mucous histochemical study [J]. **J Fish Biol ,** 1997 , **51**(1) : 120-134.

[5] Gisbert E , Piedrahita R H , Conklin D E. Ontogenetic development of the digestive system in California halibut (*Paralichthys californicus*) with notes on feeding practices [J]. **Aquaculture** , 2004 , 232 : 455-470.

[6] Sibbing F A , Uribe R. Regional specializations in the esopharynegeal wall and food processing in the carp [J]. **Nwtherland J Zool ,** 1985 , **35**(3) : 377-422.

[7] Kato K, Ishimaru K, Sawada Y, *et al*. Ontogeny of digestive and immune system organs of larval and juvenile kelp grouper *Epinephelus bruneus* reared in the laboratory [J]. **Fisheries Science ,** 2004 , 70 :1 061-1 069.

[8] Cousin J C B , Baudin-Laurencin F. Morphogenese de l'appareil digestif et de la vessie gazeuse du turbot , *Scophthalmus maximus* L [J]. **Aquaculture ,** 1985 , 47 : 305-319.

[9] Murray H M , Wright G M , Goff G P A. Comparative histological and histochemical study of the stomach from three species of Pleuronectid , the Atlantic halibut , *Hippoglossus hippoglossus* , the yellowtail flounder , *Pleuronectes ferruginea* , and the winter flounder , *Pleuronectes americanus* [J]. **Can J Zool ,** 1994 , 72 : 1 199-1 210.

[10] Stroband H W J , Debts F M H. The ultrastructure and renewal of the intestinal epithelium of the juvenile grasscarp , *Ctenopharyngodon idella* (Val.) [J]. **Cell Tissue Res ,**1978 ,**187**(2) :181-200.

[11] **常青 ,陈四清 ,张秀梅 ,等. 半滑舌鳎消化系统器官发生的组织学研究** [J]. **水产学报** , 2005 , **29**(4) : 447-453.

[12] Watanabe Y. Morphological and functional changes in rectal epithelium cells of pond smelt during postembryonic development [J]. **Bull Jap Soc Sci Fish ,** 1984 , 50 : 805-814.

[13] Jany K. Studies on the digestive enzymes of the stomachless bonefish *Carassius auratus* gibelo (Bloch) [J]. **Endopeptidases Comp Biochem Physiol ,** 1976 , 53B : 31-38.

Ontogeny of digestive system during early development stage of barfin flounder

XIAO Zhi-zhong[1] , YU Dao-de[1,2] , XIN Mei[3] , XU Shi-hong[1] ,MA Dao-yuan[1] , LI Jun[1]

(1. Institute of Oceanology , the Chinese Academy of Sciences , Qingdao 266071 ,China ; 2. Graduate University of Chinese Academy of Sciences , Beijing 100049 , China ; 3. Qingdao Fishery Technology Spread Station , Qingdao 266000 , China)

Received : Nov. ,5 ,2007

Key words :barfin flounder(*Verasper moseri*) ; digestive tract ; pyloric caeca

Abstract :A histological examination was made on the ontogenetic development of digestive tract from hatching to day 60 in barfin flounder. After hatching , the digestive tract is a simple undifferentiated tube , closed in mouth and anus. On the day 7 , the digestive tract differentiated into four parts : buccopharyngeal cavity , oesophagus , intestine and rectum. The liver and pancreas also became apparent at this age. Between day 7 and day 14 or 17 , according to the mixing nutrition period , the vacuoles in the midgut and eosinophilic granules in the hindgut indicated the larval intestinal absorption of protein before the formation of a functional stomach. The stomach and pyloric caeca morphologically differentiated at 26 dph to 29 dph and functionally at 35 dph circa. As a new species for aquaculture , however , no studies on its early development have been carried out. Therefore , in order to enhance the larval rearing success of barfin flounder in culture , there is a need to describe and understand the ontogeny of its digestive system. The data acquired also provide a theoretical basis of the further research on the marine fish larval development biology and nutrition.

(本文编辑 :刘珊珊)