

# 黑鲷消化系统的胚后发育研究\*

马爱军 马英杰<sup>†</sup> 姚善诚<sup>†</sup>

(中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071)

<sup>†</sup>(青岛海洋大学 青岛 266003)

**提要** 于1995年3—6月,在中国科学院海洋研究所养殖池采集养殖黑鲷的各期仔鱼、稚鱼和幼鱼样品,利用组织切片技术,综合外观特征,在显微和电镜水平对其消化系统的发育特点和细胞结构等作了系统观察研究。结果表明,黑鲷仔、稚、幼鱼消化系统的发育有明显的阶段性,胃、肠、肝、胰和幽门盲囊在仔鱼期开始发育,后逐渐成熟。仔鱼在饵料转换期内的死亡率较高,主要原因是其消化系统的结构和功能尚不完善。饵料的种类和适口性亦可直接影响仔鱼消化系统的细胞内膜系统的发育,进而降低细胞新陈代谢的水平,导致仔鱼的死亡。所观察的后期仔鱼消化系统细胞的内质网发育未达到预期水平,这与该时期处于饵料转换期有关。

**关键词** 黑鲷 消化系统 胚后发育 细胞 内膜系统

**学科分类号** Q954.48

黑鲷属鲷科鱼类,是近年来发展起来的养殖鱼种之一(张孝威等,1980)。有关黑鲷的研究报道以日本最多(Kawai *et al.* 1973),近年来中国开展了大规模黑鲷卵孵化与苗种培育工作,但关于黑鲷消化系统发育的组织学和细胞学研究方面,国内尚未见详细报道(单保党等,1995)。黑鲷苗种的培育过程包括孵化、开口和饵料转换,饵料转换期是鱼类养殖的第一个死亡高峰期。本文报告黑鲷消化系统胚后发育的组织学和细胞学研究结果,以为黑鲷的形态学、营养学和鱼病学的进一步研究提供基础资料,并为制定鱼类养殖的技术措施、提高成活率与生长率提供帮助。

## 1 材料与方法

实验用黑鲷(*Sparus macrocephalus*)仔鱼、稚鱼和幼鱼,于1995年3月—6月分批取自中国科学院海洋研究所养殖池。鱼苗孵化出膜后7d以内每天取样1次,7d以后每隔2—3d采样1次。解剖用样品以10%甲醛固定后,保存在5%的甲醛溶液中;显微切片用样品以Bouin's液固定后,保存在70%乙醇中;电镜切片用样品以预冷磷酸缓冲液配成的2.5%戊二醛溶液固定后,放入冰箱中于4℃保存。

各期鱼样品均在解剖镜下进行解剖,用描绘器绘图,作消化系统的解剖观察。光学显微镜观察的样品经石蜡包埋、横向和纵向连续切片、H.E染色、中性树胶封片等工序制片,作消化系统各器官的显微观察并摄像。电镜观察的样品用锇酸再固定,梯度(30%—

\* 国家攀登计划B资助项目,PD B-6-1-2号。马爱军,女,出生于1971年4月,博士生,Fax:0086-0532-5811514

收稿日期:1998-09-23,收修改稿日期:1999-04-03

100%)酒精脱水,618型环氧树脂浸透包埋。用Nova型超薄切片机(瑞典LKB公司)作超薄切片,醋酸双氧色铀-柠檬酸铅双重染色,用H-700型透射电子显微镜(日本日立公司)作各期鱼肠道细胞的电镜观察并摄像。

## 2 结果与讨论

### 2.1 各期鱼消化系统的解剖观察

**2.1.1 前期仔鱼(孵化后1—3d)** 第1天仔鱼全长为1.82mm,卵黄囊呈椭圆形,约占身体的一半;第2天仔鱼全长为2.69mm,卵黄囊吸收变小,消化道向前后各自发展,口部形成,肠管变粗,出现肝脏雏形;第3天仔鱼全长为3.6mm,卵黄囊进一步缩小,消化道变粗,弯曲度增大,已开口,肛门和外界相通,消化管分为口咽腔、食道、中肠和直肠,此时肝脏、胆和胰脏都已形成。

**2.1.2 后期仔鱼(孵化后4—15d)** 全长为3.79—9.00mm,卵黄全部消失,消化道粗壮,充满整个腹腔。肝脏和胰脏及胃肠进一步发育,组成各个器官的细胞数量增多,细胞体积增大。

**2.1.3 稚鱼(孵化后16—30d)** 全长10.00—20.00mm,胃、肠和幽门盲囊等基本表现出其成体的形状,胃的后部形成盲囊。胃可分为贲门部、盲囊部和幽门部三个区,储存能力增大。

**2.1.4 幼鱼(孵化后30d以上)** 胃呈Y型,幽门盲囊4个,单叶肝脏。

### 2.2 消化系统各器官的显微观察(图1)

**2.2.1 胃** 出膜后第3天的仔鱼,胃比食道略膨大,壁薄,细胞由前向后渐高,上皮由缺乏纹状缘的单层矮柱状细胞组成,细胞高10—12 $\mu\text{m}$ ,胃肠交界处粘膜突起较高。出膜后10d的后期仔鱼,胃外被肌层,胃肠交界处出现括约肌,在胃后部的高柱状细胞间夹杂有低柱状细胞,整个上皮层凹凸不平,粘膜层与粘膜下层不发达(图1a)。出膜后20d的稚鱼,胃纵褶高50 $\mu\text{m}$ ,粘膜层与粘膜下层较厚(图1b),幽门括约肌厚20 $\mu\text{m}$ ,胃中后部粘膜上皮深部出现十余个实心扁球状的深色细胞团(即胃腺原肌),每个细胞团由数个细胞组成,细胞团无导管与胃腔相通,胃盲囊出现。幼鱼期的幽门括约肌厚100 $\mu\text{m}$ ,肌层发达,胃体部、胃盲囊和胃腺均发达;幽门部纵褶粗大,粘膜下层疏松,无胃腺,外具发达的环层肌。

**2.2.2 肠** 出膜后第1天的仔鱼具有原始的消化管,位于脊索和卵黄囊之间,呈直管状,前端伸抵耳囊后方,后端沿卵黄囊后缘下弯,形成肛突,消化管由单层未分化的细胞组成,外被薄膜,细胞高20 $\mu\text{m}$ ,具单一的圆形核,核仁位于细胞中央。出膜后3d的仔鱼,肠腔迅速膨大,腔最大高度可达100 $\mu\text{m}$ ,肠前部向腹面略弯。出膜后4d的仔鱼,上皮纹状缘明显,厚度可达3—5 $\mu\text{m}$ ,上皮细胞高30—50 $\mu\text{m}$ ,肠具雏形肠褶,前端出现食糜,环形粘膜突起,括约肌出现,可以明显区分肠和直肠。出膜后10d的仔鱼,前端肠褶高80 $\mu\text{m}$ ,后端肠褶高度降低,环完整。出膜后20d的稚鱼,肠前端明显比后端粗,肠上皮层出现数个杯状细胞,随着体长的增加,粘膜与粘膜下层肌层均发达。幼鱼期,肠后端出现大量杯状细胞,前端较少,瓣不明显,粘膜发达,与成体类似。

**2.2.3 幽门盲囊** 出膜后第5天的仔鱼,与胃机能分化的同时,肠的最前部由于肠壁膨大开始分化为幽门盲囊。由分化过程可知幽门盲囊的构造与肠完全相同,其上皮的形态特征表明幽门盲囊是作为吸收器官而存在的(图1b)。肠前端胆胰管开口处的肠壁外凸而

形成第一个幽门盲囊,幽门盲囊内壁平滑,由粘膜上皮细胞组成,细胞高度 $2\mu\text{m}$ ,纹状缘较发达,高 $2\mu\text{m}$ ,上皮深部结缔组织与肌层很薄,外被浆膜,至仔鱼全长达 $5\text{mm}$ 时,4个幽门盲囊全部出现,呈花瓣状排列。到稚鱼期,幽门盲囊具较高的弯曲纵褶,杯状细胞较少。幼鱼期,幽门盲囊延长,褶密而高,皱褶呈“Z”形,其间偶有分枝相连,杯状细胞较少,但分布均匀。

**2.2.4 肝脏** 出膜后第2天的仔鱼,肠前端外围间充质细胞分化形成肝脏实心细胞团,以后细胞团出现许多大的不规则腔隙,产生肝细胞索和导管,肝细胞不规则,细胞核较大,圆形,核仁清晰。出膜后3d,肝组织几乎占满腹腔前部,卵黄吸收产生的空间大部分被肝细胞占据,残存的卵黄几乎被肝细胞完全包围,肝脏通过胆管与肠前端左侧相连,胆囊位于肝脏下方,靠近胰脏处为较大的薄壁球囊。胆管内壁出现纵褶,肝索间窦状隙较大,胆管上皮具粘液细胞,肝实质致密,血管系统发达。至幼鱼期,胰组织沿肝门静脉入肝。

**2.2.5 胰脏** 出膜后第2天的仔鱼,在消化道的背面出现胰脏,胰细胞呈长形,细胞核近似球形。出膜后第3天,胰细胞中有染成红色的酶原颗粒。出膜后第4天,肝胰交界处出现大型胰岛团。后期仔鱼,胰岛由单层立方上皮逐渐变成矮柱状细胞。稚鱼期,肠后部的胰组织内出现大泡,以后肝脏和胰脏形成基本的成体构造(图1c)。

### 2.3 各期鱼肠道细胞的电镜观察(图2)

**2.3.1 前期仔鱼(图2a—b)** 细胞单一,为柱状上皮细胞,排列成规则的一排。细胞核几乎在同一水平面,位于细胞的中央,细胞核形状各异,呈三角形或椭圆形。由图2可见,部分细胞核质比例失调,有的细胞具有两个细长的小核,有的细胞核很大,说明这些细胞正在分裂,这与其所处的时期有关,可以推断此时期即前期仔鱼。细胞数目明显增加,内质网均匀分布于整个细胞中,多为粗面型内质网,线粒体较大,呈椭圆形,嵴的数目相对较

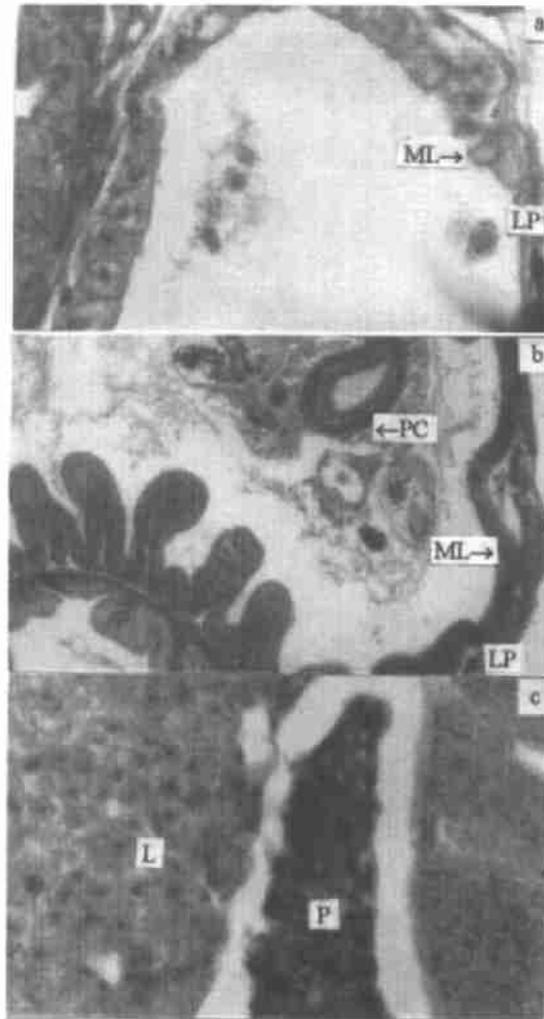


图1 黑鲷仔稚鱼消化系统各器官光学显微结构图  
Fig.1 The light micrograph of organs of digestive system of larval *Sparus macrocephalus*

a. 孵化后10d的后期仔鱼,  $\times 40$ ; b. 孵化后20d的稚鱼,  $\times 40$ ;  
c. 孵化后30d的幼鱼,  $\times 40$ .

ML: 胃粘膜层; LP: 胃粘膜下层; PC: 幽门盲囊; L: 肝脏; P: 胰脏



图2 黑鲷各期鱼肠道细胞的电子显微结构图

Fig.2 The electron micrograph of the intestine cells of larval *Sparus macrocephalus*

a—b. 孵化后 2d: a.  $\times 8\ 000$ ; b.  $\times 2\ 500$ . c—d. 孵化后 10d: c.  $\times 2\ 500$ ; d.  $\times 5\ 000$ . e—f. 孵化后 20d: e.  $\times 9\ 000$ ; f.  $\times 3\ 000$ . g—h. 孵化后 35d: g.  $\times 3\ 000$ ; h.  $\times 2\ 500$

ERS: 内膜系统; GC: 腺细胞; M: 线粒体; N: 细胞核; PC: 潘氏细胞; V: 空泡

少,有空泡出现,空泡数量少。

**2.3.2 后期仔鱼(图 2c—d)** 由三种细胞相间组成,除柱状上皮细胞外,还有潘氏细胞和腺细胞,而且细胞体积有所增大。潘氏细胞位于肠腺基底,呈锥体形,一般以细胞团形式存在,胞质顶端含有粗大的嗜酸性颗粒,内有锌、肽酶和溶菌酶等。腺细胞为杯状细胞,靠肠的内腔一侧的细胞膜溶解,向肠腔分泌物质。此期间细胞核大小和形状各异,细胞的数目也发生很大变化,线粒体的数目增加,但体积减小,并且开始在肠细胞的两端集中分布,细胞内还有高电子密度的大颗粒,大小与线粒体近似,推测可能为溶酶体颗粒。细胞内有空泡出现,出现光面型内质网,总的内质网数目少于前期仔鱼。

**2.3.3 稚鱼(图 2e—f)** 细胞体积略有增大,细胞核的形状固定,呈圆形,位于细胞中央,核仁特别清晰。可推断这时期各细胞已呈定态,细胞内分布大量线粒体、内质网和高尔基体。最为明显的是内质网明显增多,呈大量分布;线粒体数量较多,呈长形和圆形,分布于细胞的两端,有大的空泡出现,空泡内有高电子密度的颗粒。

**2.3.4 幼鱼(图 2g—h)** 细胞核呈圆形或椭圆形,线粒体已分布于细胞两端,数目增多,体积变小,嵴的数目增多;内质网依然很多,遍布于整个细胞内,表明代谢功能很强。有很多极密的小肠绒毛,增加了吸收面积。一般每个细胞内仅有一个细胞核,在细胞基部出现多个中等大小的空泡,还分化出一种带有一根长鞭毛的特殊细胞,未见到细胞核,细胞内有一个空泡,周围充满细胞质。

### 3 讨论与结语

**3.1 黑鲟在由前期仔鱼向后期仔鱼以及稚鱼期,幼鱼期的发育过程中,其消化系统从结构和功能上也得到逐步的完善。在前期仔鱼向后期仔鱼转变时,消化系统已确立了基本构造。此时期黑鲟已开口,肛门和外界相通,消化管分为口咽腔、食道、长、直肠,同时形成肝脏、胆囊、胰脏。到后期仔鱼胃扩张,肌肉层肥厚。肠壁的膨大,开始分化为幽门盲囊。在向稚鱼演变的同时,消化系统在质的方面向成鱼的基本型发育(日本水产学会,1975)。各主要器官有了显著的充实,胃、肠、幽门盲囊等表现出固有的类型和数量。在幼鱼期,消化系统虽然没有较大的变化,但各个器官逐渐成长,完成了消化系统的基本分化。**

**3.2 在前期仔鱼向后期仔鱼的发育过程中,特别是在 3—10d 左右,会有大量的死亡发生,这已经成为海产鱼类苗种生产中的一道难关。本文研究认为,这一时期为饵料转换期,孵化后第 3 天的仔鱼开口摄食轮虫,至第 10 天即开始投喂卤虫、配合饲料等。这期间仔鱼的消化系统未发育完全,胃的粘膜层和粘膜下层不发达,作为吸收器官的幽门盲囊刚开始分化,肠管细而且肠褶少,肝脏刚刚形成,结构与功能都不完全,易导致仔鱼的死亡。**

**3.3 鱼类肠粘膜没有真正的绒毛,只是表面多皱褶,从而扩大表面积。鱼类肠粘膜一般都是覆盖一层简单的柱状上皮,没有多细胞的腺体,在肠粘膜上皮间嵌有杯状细胞,内含分泌物,细胞破碎后即呈小颗粒流入肠腔(图 2e),这是一种消化液的分泌方式。**

肠上皮细胞中的内质网,其总量以及粗面内质网(RER)与光面内质网(SER)数量的比例,都随着细胞类型、发育时期和代谢水平而各异。例如,在早期快速分化的细胞中,RER的形成先于SER;遗传、营养和其它环境因素都会影响RER和SER数量的改变(Eseasor *et al*, 1981;王韞明等,1989)。

肠柱状细胞上皮细胞,其细胞核的数目、形状和大小与发育时期有关,核质之间有一

定比值,如果核增大,而细胞质不增加,比值变大,就会促使细胞处于分裂分化状态,这种情况在前期仔鱼尤为明显。

内膜系统是合成蛋白质、酶、脂类和糖类的场所,同时也具有包装和运输合成物与分泌物的功能。分泌细胞和胰脏的腺泡细胞,需要分解一些水解酶以帮助小肠内食物的消化,因此,它们的内膜就特别丰富;相反,未成熟的原红细胞,其代谢水平较低,几乎没有内膜(潘黔生等,1989)。内膜系统的丰富程度与细胞的代谢水平有直接关系,从电镜切片的观察结果可以得出,前期仔鱼、稚鱼和幼鱼的内膜系统都很丰富,且呈渐增的态势,而后期仔鱼的内膜网数量并未达到预期水平。仔稚鱼对食物的选择性因鱼种和发育阶段而异(孙光,1992),联系到养殖实践中,黑鲷后期仔鱼期正是其饵料的一个转换期,也是黑鲷的第一个死亡高峰,所以饵料的选择对其代谢水平有较大影响。对饵料的不适性使仔鱼的新陈代谢水平也有所下降,并导致其死亡率的增加。在养殖过程中,此阶段尤为重要,应尽量满足仔鱼对摄食的要求。

由实验结果可知,前期仔鱼消化系统发育处于雏形阶段,多为柱状上皮细胞,此时的能量还有一部分靠卵黄供给,能量代谢水平还比较低。后期仔鱼的消化功能已较为成熟,并出现了杯状分泌细胞,且具有吸收功能的单层柱状细胞数目增多,膜褶也增多,但肠细胞内膜系统发育仍然不全。直到幼鱼期,基本结构功能渐趋完善。

### 参 考 文 献

- 王 韞明,王 文,1989. 几种淡水鱼的胃腺细胞显微与超微结构的研究. 水生生物学报,13(4):334—339
- 孙 光,1992. 真鲷仔鱼、稚鱼对饵料生物的选择性. 水产学报,16(1):69—70
- 张孝威,何桂芬,沙学绅,1980. 黑鲷卵子及仔、稚、幼鱼的形态观察. 动物学报,26(4):331—336
- 单保党,何大仁,1995. 黑鲷视觉发育与摄食的关系. 台湾海峡,14(2):169—174
- 潘黔生,方之平,1989. 三种鲷科鱼类肠道内分泌细胞的初探. 水生生物学报,13(4):348—353
- 日本水产学会编,1975. 蔡完其,李思发译,1979. 稚鱼的摄饵和发育. 上海:上海科技出版社,120
- Eseasor D N, Stokoe W M, 1981. Light and electron microscopic stuides on the absorptive cells of the intestine, caeca and rectum of the adult rainbow trout, *Salmo gairdneri*. R J Fish Biol, 18, 527—544
- Kawai S, Ikeda S, 1973. Studies on digestive enzymes of fishes IV. development of the digestive enzymes of carp and black sea bream after hatching. Bull Jap Soc Sci Fish, 39:877—881

## STUDIES ON POST-EMBRYO DEVELOPMENT OF THE DIGESTIVE SYSTEM OF *SPARUS MACROCEPHALUS*

MA Ai-jun, MA Ying-jie<sup>†</sup>, YAO Shan-cheng<sup>†</sup>

(Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao, 266071)

<sup>†</sup>(Ocean University of Qingdao, Qingdao, 266003)

**Abstract** Samples of *Sparus macrocephalus*, including larvae, post larvae, juvenile fish and fry, were collected from the culture pool of the Institute of Oceanology, the Chinese Academy of Sciences, from March to June, 1995. With slice technology and light and H-700 transmission electronic microscope, the post-embryo development characteristics and cells structure of the digestive system of *Sparus macrocephalus* were observed. This paper is aimed to provide the basic data for the deep research of morphology, nutrition and diseases of *Sparus macrocephalus*, and the formation of the technical measures guiding culture. The result shows that the digestive system development of *Sparus macrocephalus* includes several obvious stages. The stomach, intestine, liver, pancreatic and pyloric caeca begin to develop during the larva stage, then become mature gradually. The 3-day-old *Sparus macrocephalus* larvae are fed with rotifer as the first diet. The 10-day-old *Sparus macrocephalus* juvenile are fed with rotifer then.

The larvae's death rate increased greatly when the diet changed from rotifer to artemia because of the undeveloped digestive system. In addition, the diet of *Sparus macrocephalus* can affect the development of endoplasmic reticulum system of digestive system cells and cellular metabolism level, even lead to high death rate of *Sparus macrocephalus*. The development of endoplasmic reticulum system of *Sparus macrocephalus* post larvae in this experiment did not yield desired results, maybe because it is at a diet adjusted stage.

**Key words** *Sparus macrocephalus* Digestive system Post-embryo development Cells Endoplasmic reticulum system

**Subject classification number** Q954.48