

文章编号: 1000-0615(2005)04-0447-07

半滑舌鲷消化系统器官发生的组织学

常青^{1,2}, 陈四清², 张秀梅¹, 梁萌青², 刘龙常³

(1. 中国海洋大学水产学院, 山东 青岛 266003; 2. 中国水产科学研究院黄海水产研究所, 山东 青岛 266071;
3. 黄海水产股份有限公司, 山东 海阳 265100)

摘要: 利用形态学和连续组织切片技术, 对出膜后 1~30 d 的半滑舌鲷消化系统胚胎发育的组织形态学进行了系统观察和研究。研究表明, 试验水温为 20.0~22.0℃时, 孵化后第 3 天, 仔鱼开口摄食, 消化道上皮细胞出现分化, 肝脏和胰脏开始出现, 鱼体开始由内源性营养转向外源性营养。孵化后第 5 天, 卵黄囊完全被吸收, 消化道明显分化成口咽腔、食道、胃、前肠和后肠, 仔鱼消化系统具备了摄食和消化外源性食物的能力。此后随着鱼体的生长, 粘膜层的褶皱增加, 消化道上皮细胞进一步分化, 肠道分段、盘旋, 消化系统从功能和结构上逐步地完善成熟。开口摄食之后, 先后发现在后肠出现嗜曙红颗粒, 在前肠出现空泡, 表明肠上皮细胞吸收了蛋白质和脂肪。继而糖元在肝脏中不断地储存。在出膜后第 23 天, 出现胃腺, 标志着稚鱼期的开始。

关键词: 半滑舌鲷; 组织学; 消化系统; 器官发生

中图分类号: S917 文献标识码: A

Histological study of the organogenesis of the digestive system of the tonguefish, *Cynoglossus semilaevis*

CHANG Qing^{1,2}, CHEN Si-qing², ZHANG Xiu-mei¹, LIANG Meng-qing², LIU Long-chang³

(1. Fisheries College, China Ocean University, Qingdao 266003, China;

2. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

3. Huanghai Fisheries Ltd., Haiyang 265100, China)

Abstract: Histological changes of the digestive system and its associated glands were studied in tonguefish *Cynoglossus semilaevis* from the first day (first day post-hatch dph) until 30 dph. Specimens for this study were hatched from artificially spawned broodstock and maintained in the indoor cement tanks (20.0–22.0℃). At mouth opening (3 dph), lengthening of the digestive tract, mucosae differentiation and pancreas and liver appearance were the most apparent elements. The yolk was gradually resorbed and disappeared on 5 dph., while the digestive tract was differentiated into five portions: buccal-pharyngeal cavity, esophagus, stomach, anterior and posterior intestine. The larval digestive system was morphologically ready to process external food at this time. During the following period of independent life the most noticeable events occurring were an increase in mucosal folding, cellular differentiation in the luminal epithelia, gut segmentation and looping. Thus, these digestive tract and associated glands became mature gradually and completed the morphological digestive features characteristic with increasing age and feeding activity. Glycogen was then progressively stored in the liver. Gastric glands were observed around 23d ph, which indicates the passage through the juvenile period.

Key words: *Cynoglossus semilaevis*; histology; digestive system; organogenesis

收稿日期: 2004-06-17

资助项目: 国家海洋 863 项目(2004AA603320, 2004AA603610)

作者简介: 常青(1971-), 女, 湖南长沙人, 副研究员, 博士研究生, 主要从事水生动物营养生理的研究。Tel: 0532-5822914, E-mail: changqing@ysfri.ac.cn

半滑舌鳎 (*Cynoglossus semilaevis*) 属鲽形目 (Pleuronectiformes)、舌鳎科 (Cynoglossidae)、舌鳎属 (*Cynoglossus* Buchanan Hamilton), 为我国近海底层的大型名贵经济鱼类^[1]。生长速度快, 肉味鲜美, 深受广大消费者的喜爱。目前半滑舌鳎的苗种生产技术取得了一定的突破, 但是在仔鱼开口期和变态期间仍出现大量的死亡。对于半滑舌鳎早期形态特征有过报道^[2, 3], 但是对于其仔稚鱼消化系统发育的特点尚未见报道。本文研究了半滑舌鳎仔稚鱼消化系统的发育过程和组织学结构特征, 以期更好地了解半滑舌鳎仔稚鱼的消化生理, 为寻找适合的饵料、提高苗种成活率提供理论依据。

1 材料与方法

试验用鱼于 2003 年 9–12 月取自山东海阳市黄海水产股份有限公司。鱼苗孵化出膜后 5 d 以内每天取样 1 次, 5 d 以后每 2 d 取样 1 次, 连续取样 1 个月。样品用 Bouin 氏液固定, 石蜡包埋, Leica RM 2135 型切片机连续切片, 分别进行纵、横方向连续切片, 切片厚度为 5 μm , H. E 染色, 中性树胶封片, Nikon 显微镜下观察, 照像。

2 结果

2.1 仔鱼消化系统的形态学特征

第 1 天刚出膜的仔鱼平均全长为 2.45 mm, 卵黄囊呈椭圆形, 约占身体的一半, 数十个油球聚集在卵黄囊的后半部, 消化器官尚处于未分化状态。第 2 天仔鱼平均全长为 5.03 mm, 卵黄囊吸收变小, 口部形成, 肛孔裂开。第 3 天仔鱼平均全长 5.35 mm, 卵黄囊进一步缩小, 口已初开, 肠末端肛孔与外界相通, 形成肛门, 消化道相通, 但是各部分的区分不甚明显。此时肝脏、胆和胰脏都已形成。少数仔鱼开口摄食。出膜第 5 天卵黄囊被完全吸收, 仔鱼平均全长为 5.75 mm, 口完全裂开, 上下颌及鳃盖形成, 肠道弯曲, 形成肠圈(图版 I - 1)。此时消化道明显分为 5 个部分: 口咽腔、食道、胃、前肠和后肠。上皮细胞也出现明显分化。开始完全进行外源性摄食。

2.2 消化器官胚后发育的组织学结构

口咽腔 刚孵化出的仔鱼, 口咽腔还未打开, 前半部分消化管的上皮是由一些不规则的立方上皮细胞组成, 后半部分还未分化。孵化后第 3 天,

口腔腹部和背部的连接组织外突形成两个上皮褶皱, 形成口瓣, 仔鱼开口。口腔表面为 2~3 层扁平上皮细胞, 厚 2~4 μm , 固有膜薄, 粘膜下层不发达。口腔底部的上皮细胞不断增厚, 形成舌。出膜后第 5 天, 粘膜层转变为单层扁平上皮, 厚 1.6~3.2 μm , 杯状细胞与味蕾开始出现并增多, 由内向外分别为很薄的固有膜、肌层和浆膜。肌层发生较迟, 大约在第 11 天, 可见横纹肌出现, 下颌的肌层比上颌的发达。到第 19 天, 粘膜上皮的复层结构逐渐明显, 尤其口腔后部明显增厚, 厚度为 4~12 μm 。出膜后第 7 天开始出现颌齿, 但被包埋在组织中, 未露出, 以后从组织中冒出, 数量也随之增加(图版 I - 2)。

鱼类的口及咽分化不明显, 统称为口咽腔。咽前部的结构与口类似, 为紧密排列的 2~3 层扁平上皮细胞。咽部的肌层发生在第 11 天, 为环肌, 咽部背壁的环肌外包被着一层浆膜。纵形肌发生较迟, 大约在第 19 天, 纵肌也不发达。在第 19 天, 粘膜层明显增加, 咽的后端明显比前端厚, 而且多褶皱(图版 I - 3)。味蕾和杯状细胞约在第 5 天出现, 随着仔鱼发育不断增多。咽齿大约在第 11 天相继露出(图版 I - 4)。

食道 出膜 3 天的仔鱼具有平滑的食道, 食道短而狭小, 其表面为 34 层复层上皮细胞, 细胞形状不规则, 细胞核圆形, 未见杯状细胞和纵褶出现, 肌层不发达。出膜第 5 天的仔鱼, 食道出现纵褶, 粘膜上皮主要由复层扁平上皮细胞构成, 其间分布有杯状细胞。杯状细胞的数量不断增加, 其数量和分布密度在食道的前部大于后部。食道的褶皱不断增加(图版 I - 5)。食道的管壁由一层环形的横纹肌和很薄的浆膜组成。在第 11 天食道的纵肌出现。

胃 孵化后第 3 天的仔鱼胃与其他部分如食道、肠的差别不明显。出膜后第 5 天仔鱼的胃为囊状, 后端与前肠连接处管腔狭小。胃上皮为单层矮柱状上皮细胞, 高 4.3~7.2 μm , 细胞核位于中部或基部, 缺乏杯状细胞和纹状缘。胃壁有内向外依次由粘膜层、粘膜下层、环状肌层和浆膜组成。从第 5 天开始粘膜层出现纵向褶皱。第 7 天胃腔拉长, 后部弯曲。第 11 天, 可以将胃分成 3 个部分: 贲门部、胃体及幽门部。在贲门部可以明显看到食道和胃上皮细胞的过渡(图版 I - 6), 食道的复层扁平上皮消失, 转为缺乏杯状细胞和纹

状缘的胃的单层立方上皮,可以看到一些上皮褶皱,出现纵肌。胃体是胃的体积最大的部分,胃壁的肌层明显。胃的后端为幽门部,这部分相对较短,连接层和肌层丰富,与前肠交界处形成幽门扩约肌。第23天在粘膜层下面出现简单的腺泡型胃腺,由单层立方上皮组成(图版I-7)。

肠 刚出膜仔鱼具原始消化管,位于脊索与卵黄囊间成直管状,后端具腔,前端伸抵耳囊后方,后端沿卵黄囊后缘下弯形成肛突,消化道由单层未分化细胞组成。肠是消化道中最长的部分。在出膜后第3天,肠腔未见明显的褶皱,肠腔的上皮细胞由单层柱状细胞(高11.2~17.8 μm)组成,细胞伸向肠腔的顶端具有0.6~0.9 μm 的微绒毛,核为椭圆形,位于上皮细胞基部。肠壁由粘膜层、薄的粘膜下层和浆膜组成。肌层出现较晚,环肌出现在第5天,纵肌出现在第11天。第5天,粘膜层出现褶皱。随着仔鱼发育,褶皱越发丰富。在肠道的后1/3处,形成肠瓣,将肠道分成前肠和后肠(图版I-8)。后肠与前中肠最显著的差别在于最早出现吸收的消化产物,即核上内容物,到第9天,后肠柱状上皮细胞的细胞顶部出现大量球形的嗜曙红颗粒(图版II-1),这个明显的特征一直持续到第25天。而在前中肠出现细胞内容物(核下空泡)的时间大约在第11天,且不明显,到第27天,空泡明显增多(图版II-2)。随着仔鱼开始摄食,肠柱状上皮明显增高。第4天肠开始盘曲,形成肠圈(图版I-1)。仔鱼不断生长,肠道的长度也不断增加,受腹部有限空间所至,肠道弯曲复杂。

孵化后第3天,肠末端肛孔与外界相通,形成肛门(图版I-1)。此处粘膜层褶皱增加,为复层上皮,缺乏杯状细胞,肌层较厚,为横纹肌。肛门也由粘膜层、粘膜下层和肌层组成,固有膜不明显(图版II-3)。

肝脏及胰脏 刚孵化出来的仔鱼肝脏位于卵黄囊与正在发育的消化道之间。肝脏开始未分叶,肝细胞为多角形,细胞质染色较浅,核大而居中,核仁清晰。出膜后第4天,卵黄因吸收产生的空间大部分被肝细胞填充。胆囊位于肝脏的下方,胆管开口于前肠,是由一层立方上皮组成(图版II-4)。在肝脏发育的初期,肝细胞为均匀的胞质,随着储存营养物质的增加,肝细胞的空泡增加,将肝细胞的细胞质和细胞核挤到了细胞的周

围,靠近细胞壁(图版II-5)。到第13天,肝脏变成两叶。

半滑舌鲷的仔鱼在出膜后第3天,在肝脏的下方出现嗜碱性的胰腺细胞团(图版II-6),在第4天,胰腺细胞聚集形成腺泡,在腺泡中间出现明显的嗜酸性酶原颗粒(图版II-7)。仔鱼的胰腺开始多处分布,向胃、小肠的背面和腹面延伸。在消化道弯曲回转之后,胰腺主要位于肠圈内。胰脏细胞长形或不规则形,细胞核圆形,核膜和细胞界限明显。出膜7d以后,随着仔鱼的生长,胰脏不断增大,可以看见散布在外分泌部中的胰岛,还有胰管,胰管开口于前肠的腹部,同胆管一样由立方上皮组成。

3 讨论

刚孵化出的仔鱼,消化道还没有形成,通常需要经历一段时间的发育变化,才能具备类似成鱼的消化系统。消化系统的发育可以分为以下3个阶段:卵黄阶段、后卵黄阶段(混合营养阶段)和外源性营养阶段^[4]。半滑舌鲷的仔鱼在孵化后3~5d,完成了消化系统形态上的分化,其消化道逐步分化为5个部分:口咽腔、食道、胃、前肠和后肠,具备了完全独立进行外源性摄食的能力。半滑舌鲷在水温20~22℃,出膜第3天开口摄食轮虫。由此可见,仔鱼开口摄食与其消化器官的发育之间在时间上存在较为明显的同步性。

从消化道上皮细胞结构的不同分化,可以预见它们相应的功能。从半滑舌鲷仔鱼发育初期开始,肠道的粘膜层即为单层柱状上皮,细胞顶端具有明显的纹状缘,细胞内具有一些内容物,其数量随着生长和摄食活动而增加,这些特征表明在上皮细胞内发生了积极的转运活动。肠道粘膜层细胞质中出现一些内容物(后肠的嗜曙红颗粒)和空泡,说明肠道上皮细胞可以进行胞饮和细胞内消化。这也是一些硬骨鱼类仔鱼消化的机制^[5-7]。Iwai^[8]认为前中肠的空泡为吸收的脂肪滴,而在后肠的内容物是通过胞饮吸收的蛋白质。在硬骨鱼类的仔鱼期,其消化酶系统发育不完全,胞饮吸收可能成为消化蛋白质的一条替代途径。仔鱼开口以后,肝脏细胞中的空泡也不断增加,这也表明从食物中吸收的营养物质在肝脏中进行储藏。根据Boulhic等^[9]利用PAS染色得到的结果,这些肝脏中的空泡为储存的糖元。到本实验结束为

止, 消化道褶皱的增加主要发生在胃和前肠, 同时肠道纹状缘厚度增加, 这表明用于消化和吸收的面积增加。

半滑舌鲷食道的杯状细胞出现在出膜后的第5天, 这与其在塞内加尔鲷^[10]和欧鲷^[9]中出现的时间相接近, 伴随着外源性营养的开始, 食道的肌层增厚。半滑舌鲷的杯状细胞随着仔鱼的发育, 数量不断增多, 同时食道上皮复层结构增加, 这些都与食道粘膜层的功能相适应。Murray等^[11]认为食道杯状粘液细胞除了润滑的作用以外, 可能还具有胃前消化的功能。半滑舌鲷仔鱼的胃的粘膜层未出现杯状细胞, 上皮细胞也不具有微绒毛, 这与夏季鲆^[12]、欧鲷^[9]和塞内加尔鲷^[10]的发育情况相一致。

尽管在出膜后第3天就出现胃的雏形, 但是到第23天才观察到胃腺, 胃腺的出现标志着稚鱼阶段的开始^[5]。众所周知, 仔鱼不具备功能型的胃, 它的消化机制就不健全, 特别是对蛋白质的消化, 这就成为发展仔鱼配合饲料的一个问题。在缺乏功能性胃的时期, 仔鱼通过保持肠道pH为碱性和类胰蛋白酶的活性, 来进行食物的消化^[13]。在出膜后第4天, 在半滑舌鲷的胰脏出现酶原颗粒, 这可能是一些消化酶的前体在胰脏中的积累^[14]。Grau等^[15]指出酪氨酸、赖氨酸和精氨酸在胰脏外分泌部出现的密度, 与胰蛋白酶原相关。

半滑舌鲷的仔鱼出膜后第3天到第5天, 为混合营养阶段。仔鱼由内源性营养逐渐向外源性营养过渡, 其个体发育在形态学、生态学和生理机能上都发生了重大的转变, 在仔鱼培育过程中, 这是个关键时期, 若没有及时供给适口饵料, 将会影响仔鱼的生长和成活率^[16]。在半滑舌鲷仔鱼培育过程中, 这也是仔鱼的死亡高峰期。因此在仔鱼开口, 卵黄和油球耗尽前要及时补充适宜、容易摄食的饵料, 以便仔鱼顺利建立起外源性摄食关系, 渡过鱼类早期发育阶段从内源性营养向外源性营养转换这一关键的临界期, 这也是育苗过程中提高苗种成活率的重要环节。

参考文献:

- [1] 李思忠, 王惠民. 中国动物志 硬骨鱼纲 鲷形目 [M]. 北京: 科学出版社, 1995.
- [2] 姜言伟, 万瑞景. 渤海半滑舌鲷早期形态及发育特征的研究 [J]. 海洋水产研究, 1988, 9: 193- 201.
- [3] 万瑞景, 姜言伟, 庄志猛. 半滑舌鲷早期形态及发育特征 [J]. 动物学报, 2004, 50(1): 91- 102.
- [4] Balon E K. Terminology of intervals in fish development [J]. J Fish Res Board Can, 1975, 32: 1663- 1670.
- [5] Tanaka M. Studies on the structure and function of the digestive system of teleost larvae [D]. PhD Thesis, Department of Fisheries, Faculty of Agriculture, Kyoto University, 1973, 136.
- [6] Watanabe Y. Ingestion of horseradish peroxidase by intestinal cells in larvae or juveniles of some teleosts [J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1981, 47: 1299- 1307.
- [7] 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.
- [8] Iwai T. The comparative study of the digestive tract of teleost larvae- V. Fat absorption in the gut epithelium of goldfish larvae [J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1968, 34: 973- 978.
- [9] Boulhic M, Gabaudan J. Histology study of the organogenesis of the digestive system and swim bladder of the Dover sole, *Solea solea* (Linnaeus 1758) [J]. Aquac, 1992, 102: 373- 396.
- [10] Ribeiro L, Sarasquete C, Dimis M T. Histological and histochemical development of the digestive system of *Solea senegalensis* (Kaup, 1858) larvae [J]. Aquac, 1999, 171: 293- 308.
- [11] Murray H M, Wright G M, Goff G P. A study of the posterior esophagus in the winter flounder, *Pleuronectes americanus*, and the yellowtail flounder, *Pleuronectes ferrugineus*: a morphological evidence of pregastric digestion? [J]. Can J Zool, 1994, 72: 1191- 1198.
- [12] Bisbal G A, Bengtson D A. Development of the digestive tract in larval summer flounder [J]. J Fish Biol, 1995, 47: 277- 291.
- [13] Walford J, Lam T J. Development of digestive tract proteolytic enzyme activity in seabass (*Lates calcarifer*) larvae and juveniles [J]. Aquac, 1993, 109: 187- 205.
- [14] Burkitt H G, Young B, Heath J W. Weather's functional histology (3rd ed) [M]. Churchill Livingstone, Edinburgh, 1993.
- [15] Grau A, Crespo S, Sarasquete M C, et al. The digestive tract of the amberjack, *Seriola lalandi* Risso: a light and scanning microscope study [J]. Mar Biol, 1992, 41: 287- 303.
- [16] Sarasquete M C, Polo A, Yufera M. Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream *Sparus aurata* L. [J]. Aquac, 1995, 130: 79- 92.

图版说明

Explanation of Plate

图版 I

1. 孵化后 5 d 的仔鱼活体(标尺为 100 μm); 2. 孵化后 25 d 仔鱼口腔纵切(标尺为 50 μm); 3. 孵化后 25 d 稚鱼口咽腔横切(标尺为 60 μm), 箭头所示为粘膜层褶皱; 4. 孵化后 23 d 稚鱼咽腔纵切(标尺为 50 μm); 5. 孵化后 19 d 仔鱼食道纵切(标尺为 50 μm); 6. 孵化后 11 d 仔鱼食道、胃纵切(标尺为 50 μm); 7. 孵化后 23 d 稚鱼胃横切(标尺为 70 μm); 8. 孵化后 11 d 仔鱼肠道纵切(标尺为 50 μm)

Plate I

1. The larvae of 5 days after hatching(bar= 100 μm); 2. longitudinal section of the buccal cavity of juvenile of 25 days after hatching(bar= 50 μm); 3. Cross section of the buccopharyngeal cavity of juvenile of 25 days after hatching(bar= 60 μm), arrow indicates the folds of the mucosae; 4. Sagittal section of the pharyngeal cavity of juvenile of 23 days after hatching(bar= 50 μm); 5. Sagittal section of the esophagus of larvae of 19 days after hatching(bar= 50 μm); 6. Sagittal section of the esophagus and stomach of larvae of 11 days after hatching(bar= 50 μm); 7. Cross section of the stomach of juvenile of 23 days after hatching(bar= 70 μm); 8. Sagittal section of the intestine of larvae of 11 days after hatching(bar= 50 μm)

OG: 油球(oil globules); A: 肛门(anus); AI: 前肠(arterial intestine); BE: 口腔上皮(buccal epithelium); BP: 口咽腔(buccopharyngeal cavity); EN: 肠上皮细胞(enterocytes); GC: 杯状细胞(goblet cell); GE: 胃上皮(gastric epithelium); GG: 胃腺(gastric glands); IL: 肠圈(intestinal loop); IV: 肠瓣(intestine valve); L: 肝脏(liver); M: 口(mouth); O: 食道(oesophagus); PI: 后肠(posterior intestine); PE: 咽腔上皮(pharyngeal epithelium); S: 胃(stomach); SC: 真皮下连结层(subepithelial connective layer); T: 牙齿(tooth); TB: 味蕾(taste buds)

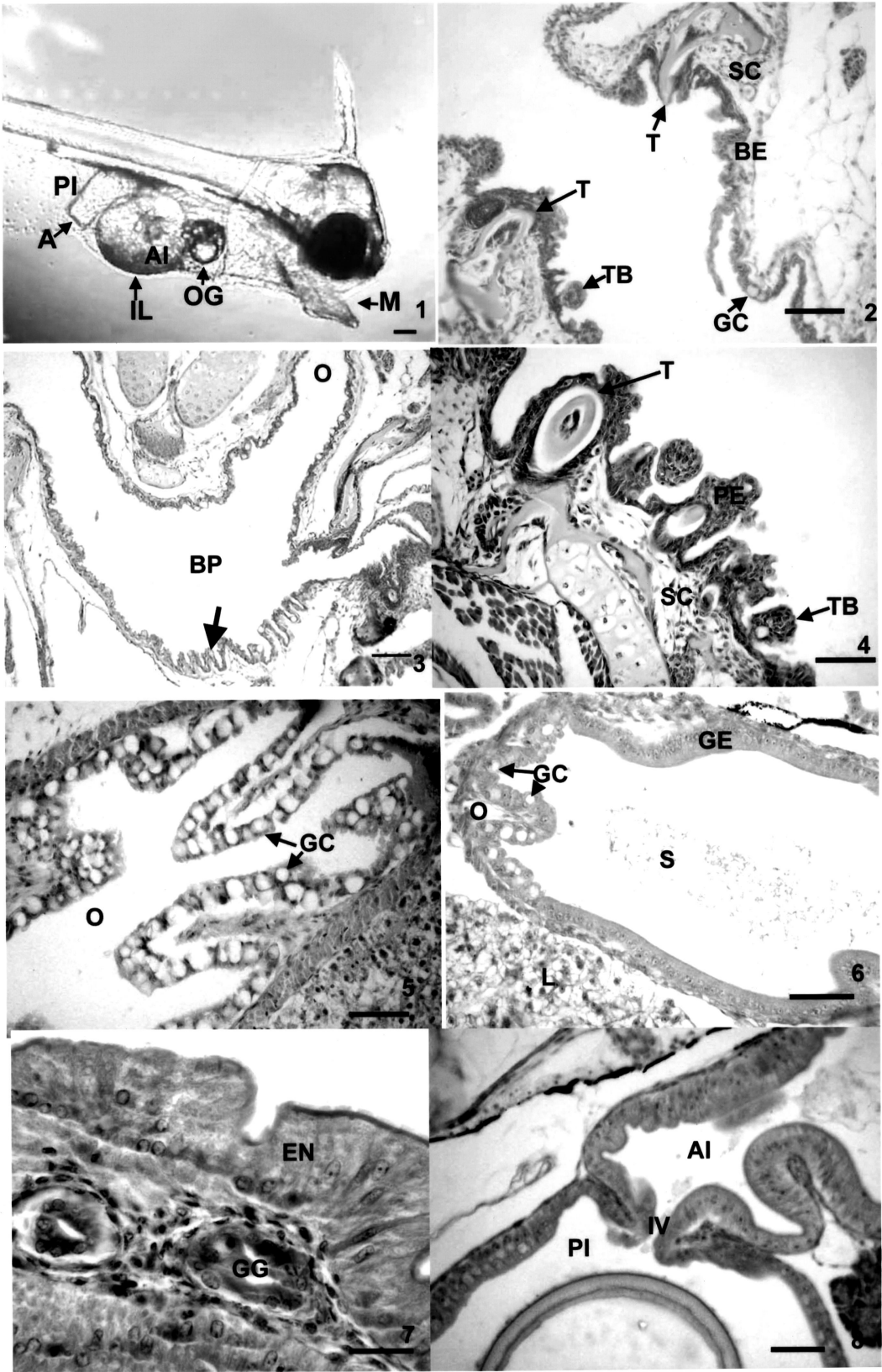
图版 II

1. 孵化后 9 d 仔鱼后肠纵切(标尺为 70 μm); 2. 孵化后 27 d 稚鱼前中肠纵切(标尺为 30 μm); 3. 孵化后 17 d 仔鱼肛门纵切(标尺为 50 μm); 4. 孵化后 25 d 稚鱼胰脏、胆囊和胆管横切(标尺为 50 μm); 5. 孵化后 25 d 稚鱼肝脏纵切(标尺为 20 μm); 6. 孵化后 3 d 仔鱼消化道及消化腺纵切(标尺为 70 μm); 7. 孵化后 17 d 仔鱼胰腺泡纵切(标尺为 20 μm)

Plate II

1. longitudinal Sagittal section of the posterior intestine of larvae of 9 days after hatching(bar= 70 μm); 2. Sagittal section of the antero-medial intestine of juvenile of 27 days after hatching(bar= 30 μm); 3. Sagittal section of the anus of larvae of 17 days after hatching(bar= 50 μm); 4. Cross section of the pancreas, gall bladder and bile duct of juvenile of 25 days after hatching(bar= 50 μm); 5. Sagittal section of the liver of juvenile of 25 days after hatching(bar= 20 μm); 6. Sagittal section of the digestive duct and associated glands of larvae of 3 days after hatching(bar= 70 μm); 7. Sagittal section of the pancreas of larvae of 17 days after hatching(bar= 20 μm)

AI: 前肠(arterial intestine); EG: 嗜嗜红颗粒(eosinophilic granular); SV: 核下空泡(infranuclear vacuoles); SB: 纹状缘(striated border); EN: 肠上皮细胞(enterocytes); SM: 纵环行肌层(longitudinal and circular smooth muscle layers); AN: 肛门(anus); ME: 复层上皮(stratified epithelium); PA: 胰脏(pancreas); GB: 胆囊(gall bladder); BD: 胆管(bile duct); VH: 肝脏空泡(vacuoles of hepatocytes); H: 肝细胞(hepatocytes); N: 脊索(notochord); Y: 卵黄(yolk); I: 肠(intestine); L: 肝脏(liver); Z: 酶原颗粒(zymogen granule)



图版I Plate I

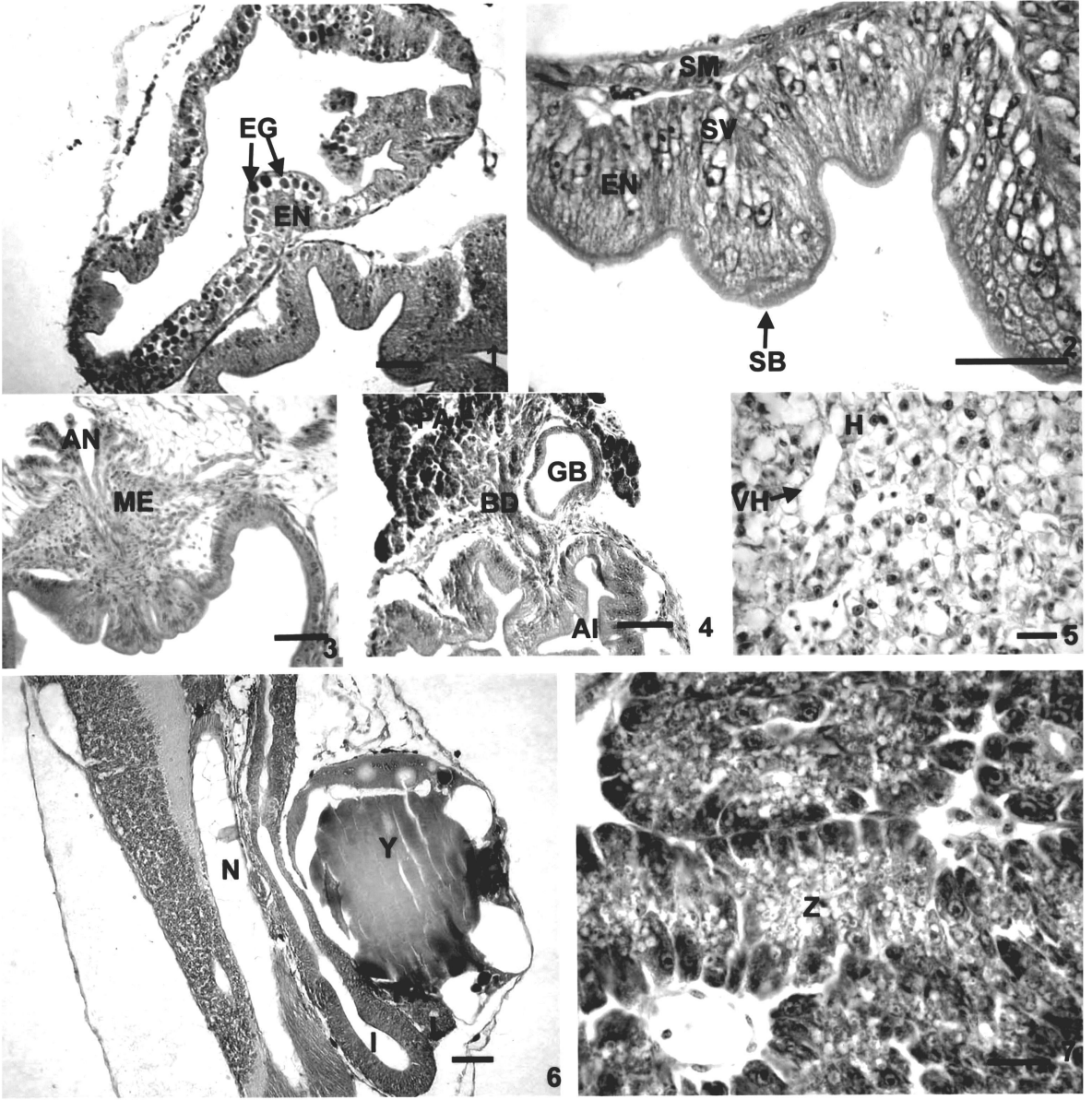


图 版 II

Plate II