

文章编号: 1000-0615(2003)01-0007-06

# 斜带石斑鱼消化系统胚后发育的组织学研究

吴金英, 林浩然

(中山大学水生经济动物研究所暨广东省水生经济动物良种繁育重点实验室, 广东 广州 510275)

**摘要:** 利用形态学和连续组织切片技术, 对出膜后 1~60d 的斜带石斑鱼各期仔鱼、稚鱼和幼鱼的消化系统进行了光镜观察, 描述了其消化器官发育过程和组织学结构特征。研究表明, 实验水温为 22.0~27.8℃时, 孵化后第 4 天, 上下颌形成, 卵黄囊被吸收, 消化系统明显分化成食道、胃、肠、直肠以及肝脏、胆囊和胰脏等, 鱼体由内源性营养转向外源性摄食营养, 表明其消化系统的形态变化与食性的变化相适应。此后随着鱼体的生长, 其消化系统从功能和结构上逐步完善成熟。胰脏在出膜后第 4 天出现, 是和肝脏相互分开的一个独立的器官, 但是发育到第 35~60 天, 位于肠道后部的胰脏组织内出现许多大空泡。

**关键词:** 组织学; 消化系统; 胚后发育; 斜带石斑鱼

中图分类号: S917 文献标识码: A

## Histological studies on post-embryonic development of the digestive system of *Epinephelus coioides*

WU Jin-ying, LIN Hao-ran

(Institute of Aquatic Economic Animal and Key Lab of GD for Improved Variety Reproduction of Aquatic Economic Animals, Zhongshan University, Guangzhou 510275, China)

**Abstract** The development of the digestive system and its associated glands was examined histologically in *Epinephelus coioides* from the first day (first day post-hatch) until 60th day after hatching. Specimens for this study were hatched from naturally spawned into artificially broodstock and maintained indoor cement tanks (22.0–27.8℃). During the first 4 days after hatching, the formation of the oral jaw apparatus, lengthening of the digestive tube, the resorption of yolk sac, the digestive glands (liver, gall-bladder and pancreas) appearance, and mucosae differentiation are the most conspicuous elements of development. The larval digestive system is morphologically ready to process external food at the time of mouth opening (4 days after hatching). The most noticeable events occurring during the following period of independent life are an increase in mucosal folding, cellular differentiation in the luminal epithelia, gut segmentation, liver growth and pancreas development. The digestive tract consists of clearly distinguishable oesophagus, stomach, intestine and rectum. The major digestive glands include liver, gall-bladder and pancreas. Then, these digestive tract and digestive glands become mature gradually, and complete the morphological digestive features characteristic of the juvenile stage with increasing age and feeding activity. The pancreas is composed of small independent masses in 4 days in larvae, and spread

收稿日期: 2002-03-20

资助项目: 国家海洋 863 项目(2001AA621010) 和国家自然科学基金项目(39970586) 资助

作者简介: 吴金英(1963-), 女, 广东湛江人, 副研究员, 博士研究生, 主要从事鱼类生理学和免疫学的研究。Tel: 020-84110188, E-mail: jinyingwus@163.com

along the upper intestine with the larvae growth, but in the adult, it is difficult to discern. Although the entire larval period, from hatching to metamorphosis (from larvae and juvenile stage to fry), was under consideration, the observations were concentrated on the most dynamic early stages of development occurring after hatching. It is expected that this information will improve our understanding of larval or juvenile digestion physiology and will be useful in design of optimal rearing techniques and in the development of artificial food for the larvae.

**Key words:** histology; digestive system; post-embryonic development; *Epinephelus coioides*

斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)是我国南方沿海的特有种类,为名贵的经济养殖鱼种之一。在大规模斜带石斑鱼人工培育苗种的工作中,饵料转换期和变态初期是其养殖的第一个死亡高峰期,第二个死亡高峰期是在变态完毕前后。众所周知,消化系统的形成、发育和不断完善是鱼体向外界摄取营养和生长的基础,目前,对多种鱼类消化道的组织学研究颇多<sup>[1-6]</sup>,但是有关硬骨鱼类的消化系统早期个体发育阶段的观察和形态学的变化报道则很少。本文研究了斜带石斑鱼消化系统胚后发育过程和组织学结构特征,以期更好地了解斜带石斑鱼仔幼鱼的消化生理,以期为早期鱼苗生长寻找最适合饵料,提高其成活率提供理论依据。

## 1 材料与方法

实验用鱼于2001年4-6月取自广东惠阳市澳头镇广东省大亚湾水产种苗培育试验中心人工培育的鱼苗。鱼苗孵化出膜后15d以内每天取样1次,15d以后每隔2~3d取样1次,30d以后每隔5d取样1次,每次定时取样15~20尾,直到60d鱼苗完全变态为止。鱼苗用Bouin氏液固定,按常规石蜡包埋,Leica RM 2135型切片机连续切片,H-E染色,中性树胶封片,Olympus BX-40型生物显微镜观察,Olympus PM-20自动显微镜拍照系统摄影。绘图是在显微拍照的基础上,参考照片描绘而成。

实验参照文献[1]的方法,将15d的鱼苗归为仔鱼,16~44d的为稚鱼,45d以上的为幼鱼。当背、腹鳍棘生长时,为变态前期;当背鳍棘开始缩短时,为变态后期。实验水温为22.0~27.8℃。

## 2 结果

### 2.1 仔鱼消化系统的形态学特征

第1天刚出膜的仔鱼消化器官尚处于未分化状态,消化管为一简单的直形盲管,管腔狭窄,口和肛门尚未与外界接通;鱼体平均全长1.88mm,鱼体腹面为1个椭圆形大卵黄囊,约占身体的一半。

第2天仔鱼消化道在外形上与第1天无太大差别,整个消化道只有1个弯曲,肠管稍变粗,鱼体平均全长2.38mm,卵黄囊吸收变小,由椭圆形伸长为长瓜形,口凹开始形成,肛孔裂开(图版I-1)。

第3天仔鱼眼点黑色素出现,消化系统进入初期快速发育分化阶段,口部形成,颌扩张,鱼体平均全长2.30mm,卵黄囊因卵黄大部分被吸收而进一步缩小,靠近卵黄囊部位出现肝脏雏形,下颌缓慢活动,由于上下颌不能很好地配合活动而不能摄食。此时的肠管变粗,但是食道、胃、肠的区分不甚明显。

第4天为仔鱼开口期,眼点黑色素加深,口裂形成,颌开始启动,鳃盖形成,鱼体平均全长2.35mm,体中部有黑色素斑块出现,卵黄完全吸收,口咽腔形成,消化道弯曲度增大,肝形成,胰脏在肠弯曲处出现,肠管末端肛孔与外界相通,形成肛门,部分仔鱼胃、肠出现黄色和褐色物质,胃、肠开始蠕动,肠中代谢产物排出体外(图版I-2)。此时消化系统各器官初步形成,向开始摄食过渡,但基本还不能主动摄食天然饵料,仅是随机摄食S-S轮虫(super-small rotifers)。

### 2.2 消化器官胚后发育的组织学结构

食道:仔鱼期的食道光滑,单层细胞的粘膜上皮,核圆形位于中央,细胞游离面无纹状缘,未见纵褶出现,肌层不发达。13d的仔鱼,食道出现纵褶,粘膜上皮主要由1~2层立方状上皮细胞构成,其间夹

有粘液分泌细胞。25d 的稚鱼,纵褶更丰富(图版 I - 3)。55~ 60d 的幼鱼已完全变态,食道组织结构与成鱼相似。食道组织可分为 3 层:粘膜层、肌层和浆膜层。粘膜层向食道腔突起,形成许多纵行褶皱,其上有许多食道绒毛,上皮由复层上皮构成,表层为 1 层扁平细胞,其下为 1 层大而高的杯状细胞和其它粘液分泌细胞,肌肉层发达(图版 I - 4)。

胃:出膜后第 1~ 3 天的仔鱼,胃与其它部分如小肠、直肠的差别不明显。胃上皮由单层立方上皮细胞组成,细胞核位于中位或基部(图版 I - 5)。出膜后第 4 天,胃部外形特征始见雏形,与小肠和食道的分界十分明显(图版 I - 2),上皮由缺乏纹状缘的单层矮柱状细胞组成,缺少粘液细胞,胃肠交界处粘膜突起较高。出膜后 13d 的仔鱼,胃外被肌层,食道与胃、胃与肠交界处出现括约肌,形成贲门区、胃基部、幽门区三个部分,胃开始有褶皱,胃前部可见有杯状细胞,胃后部的高柱状细胞间夹杂有矮柱状细胞,但纹状缘不明显,粘膜层和粘膜下层不发达。25d 的稚鱼,胃壁增厚,胃纵褶较高,粘膜层、粘膜下层和幽门括约肌较厚,胃上皮由立方上皮细胞组成,细胞核位于中位,胃前部上皮细胞有杯状细胞出现(图版 I - 3)。50~ 60d 的幼鱼,具有发达的胃,胃后部形成盲囊,胃组织由粘膜层、粘膜下层、肌层和浆膜层构成,形成初级、次级粘膜褶,但是比食道的平缓,胃粘膜层上皮与食道的也不同,为典型的单层柱状上皮,核位于细胞基部,除了胃贲门部有少量杯状细胞外,没有食道中常见的杯状细胞;胃肌层发达,幽门环肌明显加厚,具有一厚层的胃腺组织,由实心扁球状的细胞团组成,细胞团没有导管和胃相通;胃腺组织在出膜后 50d 出现(图版 I - 5,图版 II - 1)。

小肠:出膜后第 1~ 2 天的仔鱼具有原始、简单的消化管,呈直管状,肠腔狭窄,末端形成肛突,消化管由单层未分化的细胞组成(图 1)。第 3 天的仔鱼,肠腔膨大(图版 II - 2);第 4 天的仔鱼,胃,肠和直肠区分明显,小肠内腔平滑,没有褶皱。第 11 天的仔鱼,褶皱形成,肠粘膜上皮由单层柱状细胞构成,核圆形位于细胞基底部,肠纹状缘明显。出膜后 25d 的稚鱼,肠壁分层明显,褶皱发达,肠上皮层出现有杯状细胞,粘膜上皮游离面纹状缘发达。50~ 60d 的幼鱼,肠组织结构似成鱼,粘膜层形成非常丰富的褶皱,单层柱状上皮细胞排列紧密,其间散布有丰富的杯状细胞(图版 II - 3),尤其是肠后端有大量的杯状细胞。

直肠:出膜后第 4 天的仔鱼已有直肠形成,由单层柱状细胞组成,核圆形,位于基底部,其细胞要比小肠的细胞小且颜色稍浅。直肠内腔没有褶皱,比较平缓,直到 11d,直肠粘膜形成少量的皱壁,粘膜上皮仍为单层柱状细胞,有杯状粘液细胞分布其间,出膜后 25d 的稚鱼直肠杯状细胞丰富,紧密分布,充塞整个直肠壁,与位于基底部的矮柱状细胞构成复层排列(图版 II - 4),粘膜上皮游离面纹状缘明显。粘膜层有少量的结缔组织纤维,粘膜下层厚,肌层不明显,外膜为单层扁平细胞及少量结缔组织构成浆膜。

肛门:仔鱼期的直肠末端形成的肛门较简单。孵化后第 4 天,直肠末端肛孔与外界相通,形成肛门。稚鱼和幼鱼直肠末端与肛门相接的部位粘膜突起较高,但没有形成褶皱,也由粘膜层、粘膜下层和肌层组成,有丰富的复层细胞,肌层较厚,固有膜不明显,粘膜层的细胞也是由柱状细胞和杯状细胞组成(图版 II - 5)。

胰脏:出膜后第 3 天的仔鱼,在肝脏下方出现 H-E 染色呈蓝色的胰腺细胞团。胰腺细胞在出膜后第 4 天积聚形成胰脏,此后胰腺由集中变为多分布,向胃、小肠的背面和腹面延伸。胰腺是和肝脏相互分开的一个独立的消化腺,胰细胞圆形或长形或不规则形,细胞核圆形,核膜和细胞界线明显,胰脏内无结缔组织(图版 II - 6),不分叶,30d 的稚鱼,胰脏静脉血管明显,并通向胰脏外部,45d 的稚鱼胰脏内胰岛明显,圆形细胞实体,胰岛细胞小于外分泌部细胞,细胞圆形,核圆形,位于中央,细胞界线不明显。35~ 60d 以后的稚鱼和幼鱼,肠后部的胰组织内出现许多大空泡,以后胰脏形成成鱼的基本构造。

肝脏:出膜后第 3 天的仔鱼,卵黄开始吸收时出现肝脏雏形,在卵黄囊的周围,肠前端外周间充质细胞分化形成肝细胞团,细胞核和细胞界线较明显,出膜后第 4 天,卵黄吸收产生的空间大部分被肝细胞



图 1 斜带石斑鱼出膜后第 2 天消化道结构

Fig. 1 Model structure of digestive tract in

*E. coioides* of 2nd days after hatching

ad: 近肛孔的消化道后段; cc: 柱状细胞或立方状细胞;

ed: 近食道的消化道前段; sce: 单层柱状上皮

ad: digestive tract posterior to anus; cc: columnar cell;

ed: digestive tract anterior to esophagus; sce: single columnar epithelium

填充,残余的卵黄被肝细胞包围,胆囊位于肝脏下方,为较大的薄壁球囊(图版 I-2,图版 II-6)。肝脏开始是不分叶的;肝细胞不规则,细胞核大,圆形,核仁清晰(图版 II-6);出膜后第 30d,肝实质较密,血管系统发达,肝组织结构似成鱼。

### 3 讨论

斜带石斑鱼仔鱼消化道的组织结构为上皮完整,由单层柱状细胞组成,缺乏固有膜和粘膜下层,肌层也不明显,只是完成了消化系统的基本构造,消化器官并未发生质的变化,表明其消化道的形态变化与食性的变化是相适应的,以后随着仔鱼的生长,各主要器官构造在质的方面具有成鱼的基本型,其消化系统从结构上、功能上也得到逐步完善。例如从出膜后第 13 天的仔鱼开始,胃有少量褶皱,食道与胃以及胃与肠交接处有括约肌出现,该结构的功能可防止食物倒流或防止进入大肠内的食物残渣回流<sup>[2]</sup>。30d 后消化道的组织结构已较复杂,各主要器官表现出固有的类型。第 45-60 天(50d 变态完成)的幼鱼背鳍和腹鳍变态完毕,身体出现间断的深色横纹,具有发达的胃,胃腺众多,和其他鱼类一样,是由一种柱状腺细胞组成,胃腺分泌提供基础的细胞外蛋白质的吸收,从而代替了细胞内消化和胞饮作用<sup>[3]</sup>。胃的主要功能是消化食物中的蛋白质,发达的胃及其胃腺和幽门括约肌使幼鱼能适当容纳食物并延长停留时间,充分地消化肉食性食物<sup>[4]</sup>。建议此时完全可以使用廉价的肉糜以及配合饵料来代替活饵料。与其他肉食性海水鱼类相似,斜带石斑鱼的整个肠道盘曲很少,可能与其食性有关。成鱼以小杂鱼和虾类等为主要食物。一般认为肉食性鱼类消化道短,草食性鱼类消化道长,但是不同的个体发育阶段,还有季节的变化也会引起食性变化,食性与物种的系统发育是否有关,鱼类消化道结构与食性的相关性如何,有待于研究。

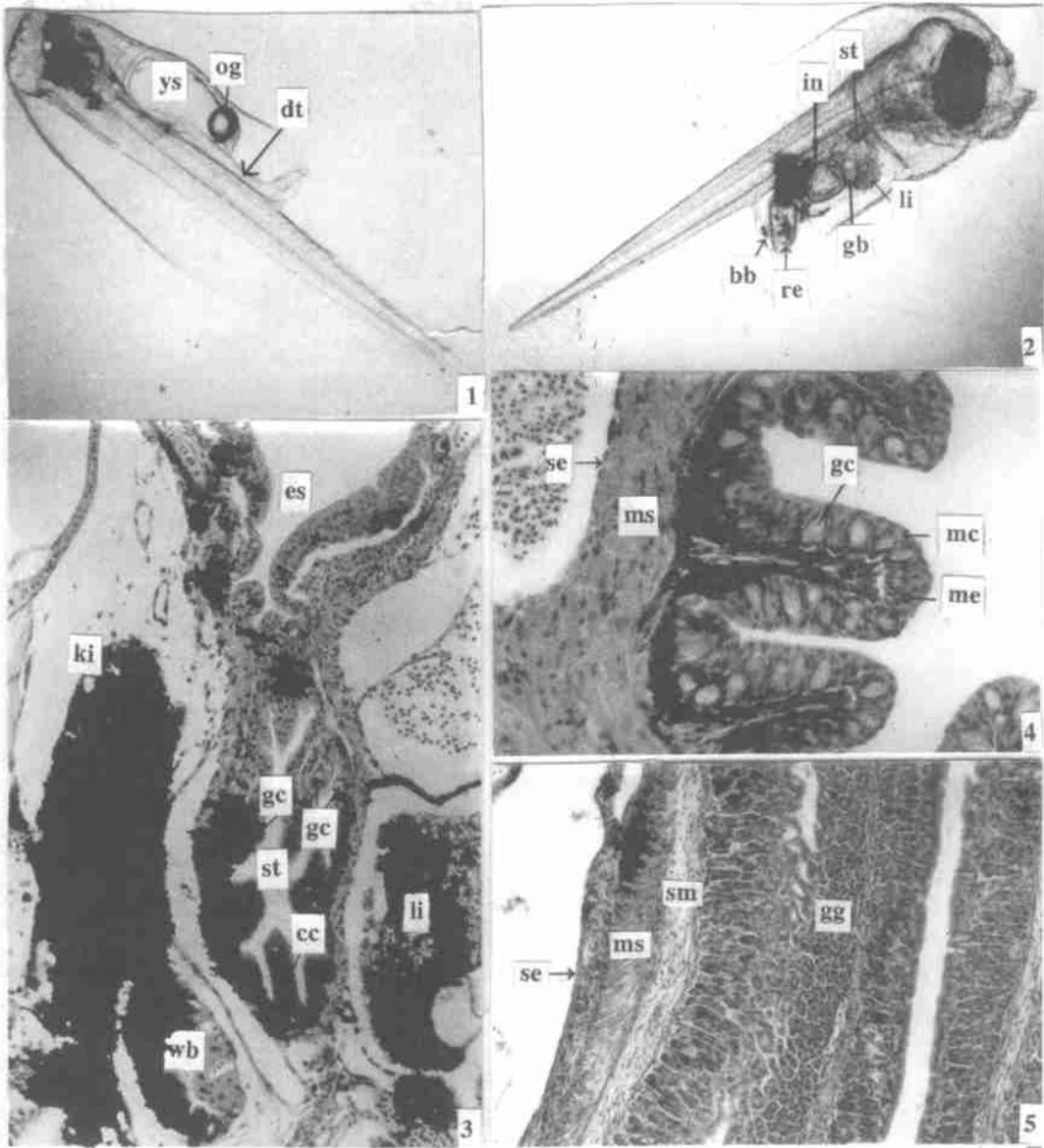
斜带石斑鱼在水温 22.0~27.8℃,出膜后第 4 天开口,摄食 S-S 轮虫,然后摄食大型轮虫,至第 10 天即开始投喂卤虫和配合饵料等,这是一个饵料转换期,同时也是变态初期,造成了大量的仔鱼死亡。在变态完成前后(出膜后第 45-50 天),也有大量的幼鱼死亡发生,这是它的第二个死亡高峰期,作者认为造成死亡的原因一方面是仔鱼的消化系统未发育完全,其结构和功能尚不完善以及适口的饵料不充足而造成;而幼鱼的消化系统发育较完善,基本与成鱼相似,死亡的原因可能是饵料跟不上;另一方面可能是因为变态期的形态和生理都发生急剧的变化,鱼体的生理需要得不到满足而造成。另外,在苗种培育生产过程中,这两个时期对斜带石斑鱼尤其重要,要特别注意保证有充足适口的饵料和加强管理,使鱼苗安全度过“危险期”,提高其成活率。

出膜后第 4 天的仔鱼具备完整的消化腺,胰脏刚开始时集中分布在肝、胃之间,为一完整独立的器官,随着仔鱼的生长发育,从肝脏下方到小肠直肠之间多处分布,几乎充塞于整个消化道的空隙。但是发育到第 35 天,在肠道周围的胰组织内开始出现空泡化,直到进入幼鱼期(60d)胰脏还有许多空泡,只在肝脏附近留下很少的胰组织,此时肝脏和胰脏仍为两个相互独立的实体器官,而不是弥散地分布在肝脏内形成肝胰脏,这一点与大多数真骨鱼成鱼不同,真骨鱼类的胰脏多难以辨认,目前,知道只有少数鱼类,如狗鱼、鳗和鲑等的胰脏可辨<sup>[5]</sup>,可是在斜带石斑鱼成鱼,胰脏同样存在难以辨认的情况。

广东省大亚湾水产种苗培育试验中心主任王云新,副主任刘付永忠以及王国光,林鑫,张海发,张玉清和职工们对本研究给予大力支持,特此致谢。

#### 参考文献:

- [1] Ma A J, Ma Y J, Yao S C. Studies on post embryo development of the digestive system of *Sparus macrocephalus* [J]. Oceanol et Limnol Sin, 2000, 31(3):281-287. [马爱军,马英杰,姚善诚.真鲷消化系统的胚后发育研究[J].海洋与湖沼,2000,31(3):281-287.]
- [2] Meng Q W, Su J X, Li W D. Comparative anatomy of fishes [M]. Beijing: Science Press, 1987. 152-192. [孟庆闻,苏锦祥,李婉端.鱼类比较解剖[M].北京:科学出版社,1987.152-192.]
- [3] Bisbal G A, Bengtson D A. Development of the digestive tract in larval summer flounder [J]. J Fish Biol, 1995, 47: 277-291.
- [4] Yu Z N, Kong X Y, Sun S C. A study of the histology and morphology of the digestive tract of the *Chrysophrys major* [J]. J Fish China, 1997, 21(2): 113-119. [喻子牛,孔晓瑜,孙世春.真鲷消化道的组织学和形态学研究[J].水产学报,1997,21(2):113-119.]
- [5] Otake T, Hirokawa J, Fujimoto H, et al. Fine structure and function of the gut epithelium of pike eel larvae [J]. J Fish Biol, 1995, 47: 126-142.
- [6] Luan Y W. A preliminary study on digestive system of loach (*Misgurnus mizolepis* G nther) [J]. J Fish China, 1988, 12(3): 277-282. [栾雅文.细鳞泥鳅消化系统组织学的初步观察[J].水产学报,1988,12(3):277-282.]



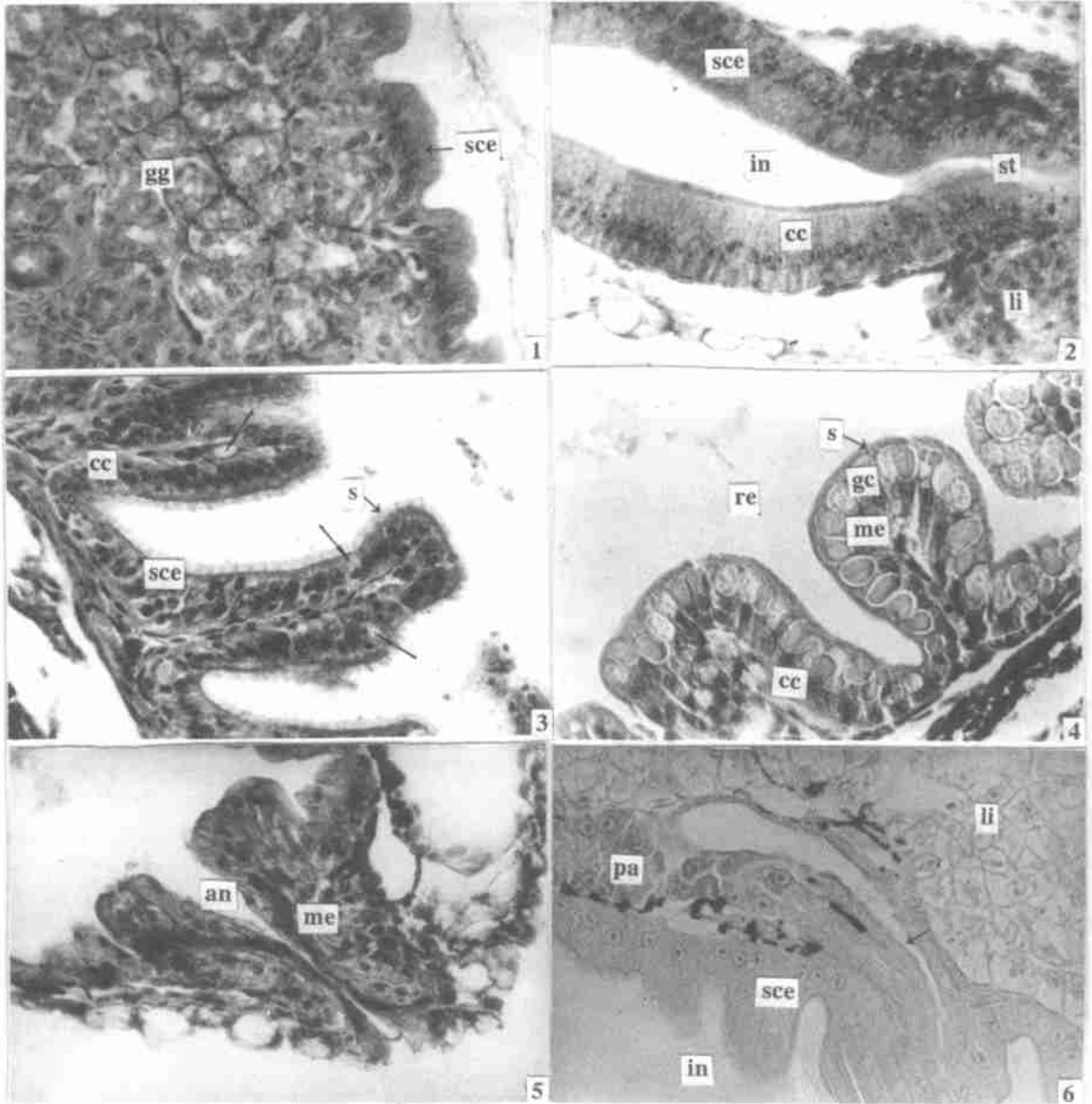
图版 I

1. 孵化后 2d 的仔鱼活体: 示消化道外形结构, × 70; 2 孵化后 4d 的仔鱼活体: 示消化道分段及消化腺形成, 口和肛门与外界相通, × 70;  
 3. 孵化后 25d 的稚鱼纵切: 示食道纵褶、胃、肝结构, × 350; 4. 孵化后 55d 的幼鱼纵切: 示食道纵褶和杯状细胞及柱状细胞构成的复层结构, × 400; 5. 孵化后 60d 的幼鱼纵切: 示胃组织结构, × 200

Plate I

1. The larvae of *E. coioides* 2 days post-hatch, showing outsurface morphology of digestive tract; 2 The larvae of *E. coioides* 4 days post-hatch, showing gut segmentation, formation of the digestive glands, the mouth and anus opening; 3. Longitudinal section of the juvenile of *E. coioides* 25 days post-hatch, showing the structure of the mucosal folds in the esophagus, stomach and liver; 4. Longitudinal section of the juvenile of *E. coioides* 55 days post-hatch, showing the mucosal folds of the esophagus, the stratified epithelial which columnar cells intercalated with goblet cells; 5. Longitudinal section of the juvenile of *E. coioides* 60 days post-hatch, showing the structure of stomach

bb: 膀胱 (hall bladder), cc: 柱状细胞或立方状细胞 (columnar cell), dt: 消化道 (digestive tract), es: 食道 (esophagus), gb: 胆囊 (gall bladder), gc: 杯状细胞 (goblet cell), gg: 胃腺 (gastric glands), in: 肠道 (intestine), ki: 肾脏 (kidney), li: 肝脏 (liver), mc: 粘膜层 (mucosa), me: 复层上皮 (stratified epithelium), ms: 肌肉层 (muscularis), og: 油球 (oil globule), pa: 胰脏 (pancreas), re: 直肠 (rectum), se: 单层柱状上皮 (single columnar epithelium), se: 浆膜层 (serosa), sm: 粘膜下层 (submucosa), st: 胃 (stomach), ys: 卵黄囊 (yolk sac), wb: 鳔 (swim bladder)



图版 II

1. 孵化后 60d 的幼鱼纵切: 示胃腺,  $\times 800$ ; 2. 孵化后 3d 的仔鱼消化道纵切: 示胃和肠的组织结构,  $\times 800$ ; 3. 孵化后 60d 的幼鱼纵切: 示肠粘膜上皮的杯状细胞、柱状细胞和纹状缘, 箭头示杯状细胞,  $\times 800$ ; 4. 孵化后 25d 的稚鱼纵切: 示后肠的杯状细胞及柱状细胞构成的复层结构,  $\times 800$ ; 5. 孵化后 14d 的仔鱼纵切: 示肛门的组织结构,  $\times 800$ ; 6. 孵化后 14d 的仔鱼纵切: 示肝、胰、胆囊管通肠道, 箭头示胆囊管,  $\times 400$

## Plate II

1. Longitudinal section of the fry of *E. coioides* 60 days post-hatch, showing gastric glands; 2. Longitudinal section of the larvae in *E. coioides* 3 days post-hatch, showing the structure of stomach and intestine; 3. Longitudinal section of the fry of *E. coioides* 60 days post-hatch, showing goblet cells, columnar cells and brush border in the mucosal epithelium of intestine, arrow indicating goblet cell; 4. Longitudinal section of the juvenile of *E. coioides* 25 days post-hatch, showing stratified epithelium, arrow indicating goblet cell; 5. Longitudinal section of the larvae of *E. coioides* 14 days post-hatch, showing the structure of anus; 6. Longitudinal section of the larvae of *E. coioides* 14 days post-hatch, showing the liver, pancreas and ductus felleus to intestine, arrow indicating the ductus felleus

an: 肛门(anus), cc: 柱状细胞或立方状细胞(columnar cell), es: 食道(esophagus), gc: 杯状细胞(goblet cell), gg: 胃腺(gastric glands), in: 肠道(intestine), li: 肝脏(liver), me: 复层上皮(stratified epithelium), re: 直肠(rectum), s: 纹状缘(brush border), sce: 单层柱状上皮(single columnar epithelium)