

条石鲷鳃的组织发育及 鳃上钠钾三磷酸腺苷酶活性的早期变化

何 滔¹, 肖志忠², 刘清华², 李 军^{2*}

(1. 西南大学动物科技学院, 重庆 400715;

2. 中国科学院海洋研究所, 山东 青岛 266071)

摘要: 为完善条石鲷的早期组织发育过程, 探索条石鲷仔鱼早期高死亡率的内在发育机制, 实验对鳃器官的早期发育进行观察, 结果显示: 条石鲷仔鱼在 1 日龄时出现鳃原基; 2 日龄, 原始鳃弓形成; 3 日龄, 鳃丝原基出现; 6 日龄, 鳃丝两侧的扁平细胞向外突出而形成原始的鳃小叶, 假鳃出现; 7 日龄, 鳃小叶基部出现泌氯细胞; 8 日龄, 泌氯细胞开始分泌蛋白样物质; 14 日龄, 鳃的结构分化发育完善。钠钾三磷酸腺苷酶(Na^+, K^+ -ATPase)的相对活性从胚胎分裂期不断增加, 直至器官分化期。此后活性逐渐降低, 并保持在一个较低的水平, 直至 9 日龄活性才开始上升。而 12 日龄之后又不断下降, 到 14 日龄降至最低值(0.246 ± 0.126) U/g。此后急剧上升, 到 18 日龄升至最高值(4.731 ± 0.309) U/g。从 20 日龄起, Na^+, K^+ -ATPase 的相对活性保持稳定上升, 直至本次实验结束。结果表明, Na^+, K^+ -ATPase 活性的变化与鳃组织, 尤其是与泌氯细胞的发育密切相关, 而且在其活性较低的阶段, 条石鲷仔鱼的死亡率较高。

关键词: 条石鲷; 鳃; 发育; 钠钾三磷酸腺苷酶

中图分类号: Q 175; S 917.4

文献标志码: A

鱼类通过离子交换(Na^+, K^+)来维持体内的血液渗透压和离子浓度, 并保持其与外部介质的差异, 这一过程需要多种酶类的参与^[1]。其中钠钾三磷酸腺苷酶(Na^+, K^+ -ATPase)是最重要的离子转运酶之一, 其位于特定细胞的基底膜两侧, 这类特定细胞被称为 Na^+, K^+ -ATPase 富含细胞, 比如泌氯细胞、线粒体富含细胞、离子细胞和离子转运细胞等^[2]。在绝大多数鱼类中, 鳃是渗透调节的主要场所, 其离子交换的主要位点就是 Na^+, K^+ -ATPase 富含细胞^[3]。鳃丝和鳃小叶上的 Na^+, K^+ -ATPase 富含细胞, 即泌氯细胞, 在多种硬骨鱼类中已有所报道^[4-7], 这些细胞在海水鱼类中排出离子, 在淡水鱼类中则吸收离子, 用以维持酸碱的平衡^[8]。

迄今, 关于条石鲷营养需求^[9-11]和疾病防

治^[12-14]已进行了一些研究; 国内也报道了一些条石鲷形态学方面的早期发育过程^[15-16]。在组织学方面, 王建鑫等^[17]对条石鲷成体消化道进行了组织学观察; 张凤萍等^[18]对条石鲷的卵巢发育周期和卵巢发育中各个时期卵母细胞的形态特征以及产卵类型等进行了组织学研究; 胡玲玲等^[19]则对条石鲷成体的头肾和脾脏进行了显微观察。然而, 对条石鲷整个早期发育阶段各主要器官的组织发生发育过程及相关酶活性的研究还未见报道。本实验通过组织学技术对条石鲷稚幼鱼鳃器官的早期发生发育过程进行了观察, 并结合鳃中钠钾三磷酸腺苷酶活性的变化过程详细阐述了条石鲷鳃的组织发生、分化和完善的过程, 为条石鲷的早期发育提供了基础生物学资料。

收稿日期: 2012-10-24 修回日期: 2013-01-07

资助项目: “十二五”国家科技支撑计划(2012AA10A413-1); 中国科学院创新性前沿项目(KSCX2-YW-N-47-08); 国家农业科技成果转化资金项目(05EFN2166000453); 西南大学博士基金项目(SWU111049)

通信作者: 李 军, E-mail: junli@qdio.ac.cn

<http://www.sexuebao.cn>

1 材料与方法

1.1 条石鲷的人工繁育

水温较低时,在自然光照条件下培育条石鲷亲鱼(5龄),不间断充气。当水温升至 23℃时,调节光周期为 15L:9D 以诱导亲鱼性腺成熟,并自然产卵。受精卵的培育条件为水温(23.5 ± 0.5)℃,盐度 32 ± 0.5,微充气。

1.2 组织学观察

仔鱼孵出后每天连续取样至 50 日龄,取样本数为 60 尾,MS-222 麻醉。取 30 尾样品用 Bouin 氏液室温固定 24 h,70% 乙醇保存,用于 H.E 染色。另 30 尾样品用 10% 甲醛固定,用于进行汞-溴酚蓝染色。Nikon (YS100) 显微镜观察和照相,用 Photoshop 软件进行图像的优化处理,并以台微尺和目微尺校准图像。

1.3 钠钾三磷酸腺苷酶(Na⁺,K⁺-ATPase)活性的测定

胚胎期各个时期(分裂期、囊胚期、原肠期、器官分化期、孵化期)各取样 2 mL(大约 2 000 粒卵);胚胎孵化后,每天投饵前取样 50~500 尾。样品先用蒸馏水洗净,之后投入液氮中保存备用。20 日龄之前的样品采用整体匀浆的方法;20 日龄后的样品,在冰上解剖,并取出仔鱼的鳃组织。匀浆后取上清液备用。采用南京建成生物工程公司生产的试剂盒测定 ATP 酶的活性。总蛋白含量依据 Bradford (1976)的方法测定,用以计算 ATP 酶的相对活性。每组实验都设三个平行样,所得数据均表示为平均值 ± 标准差。

2 结果

2.1 鳃的组织发育

1 日龄仔鱼 全长(3.413 ± 0.084) mm, 消化管最前端出现空腔(口咽腔原基),腔内可见鳃原基(图版-1)。

2 日龄仔鱼 全长(3.530 ± 0.079) mm, 原始的鳃弓出现,由一些未分化的上皮细胞包围成软骨细胞中心而构成,共 4 对(图版-2)。鳃弓上可见少量的肌纤维。

3 日龄仔鱼 全长(3.500 ± 0.144) mm, 第二、第三对鳃弓的上皮细胞向着咽腔内生长而形成鳃丝原基。鳃弓内出现原始的血管系统,可

见零星的血细胞(图版-3)。

4 日龄仔鱼 全长(3.563 ± 0.066) mm, 鳃弓继续发育,第一、第四对鳃弓上形成原始的鳃丝。

6 日龄仔鱼 全长(3.840 ± 0.133) mm, 鳃丝不断生长,其两侧的扁平细胞向外突出而形成原始的鳃小叶(图版-4)。鳃腔前端的细胞向咽腔内生长而形成一对鳃丝样结构,称之为假鳃。

7 日龄仔鱼 全长(3.965 ± 0.140) mm, 假鳃上可见鳃小叶。鳃小叶基部出现泌氯细胞,其细胞形状不规则,细胞质呈红色,着色较深(图版-4,5),但此时还未见蛋白分泌物(图版-6)。血管系统继续发育,血细胞增多。

8 日龄仔鱼 全长(4.188 ± 0.159) mm, 鳃小叶表面可见扁平细胞,其内部出现的柱细胞将鳃小叶内各血管结构分隔开来(图版-5)。假鳃内亦可见扁平细胞和柱细胞。泌氯细胞开始分泌蛋白样物质,鳃与假鳃上均可见(图版-7)。

9 日龄仔鱼 全长(4.518 ± 0.107) mm, 泌氯细胞大量增多,鳃丝上亦可见。假鳃上出现粘液细胞(图版-8)。

14 日龄仔鱼 全长(6.175 ± 0.479) mm, 鳃弓显著增长,鳃丝和鳃小叶大量增多(图版-9)。鳃内血管系统发育完善,可见大量血细胞。此时,鳃的结构分化发育完善。

2.2 钠钾三磷酸腺苷酶相对活性的变化

从胚胎分裂期(0.712 ± 0.400) U/g 至原肠期(1.300 ± 0.360) U/g,Na⁺,K⁺-ATP 酶的相对活性稍微有所增加,但变化幅度不大。在进入器官分化期之后,其酶的相对活性急剧增加,达到(2.315 ± 0.515) U/g。此后在孵化期,Na⁺,K⁺-ATP 酶的活性又开始逐渐降低,在孵化出膜之前为(0.859 ± 0.488) U/g。

在条石鲷仔鱼孵化出膜后,其 Na⁺,K⁺-ATP 酶的相对活性仍然较低。低水平的 Na⁺,K⁺-ATP 酶活性一直持续到 6 日龄(0.904 ± 0.000) U/g。从 9 日龄开始,Na⁺,K⁺-ATP 酶的相对活性显著上升,增加至(1.389 ± 0.734) U/g。而在 12 日龄(1.357 ± 0.217) U/g 之后,其相对活性又不断下降,到 14 日龄降至最低值(0.246 ± 0.126) U/g。此后 Na⁺,K⁺-ATP 酶的相对活性开始急剧上升,到 18 日龄升至最高值(4.731 ± 0.309) U/g,但随之又下降至(1.233 ± 0.181)

U/g(20 日龄)。从 20 日龄起, Na^+ , K^+ -ATP 酶的相对活性开始逐步稳定地增加,直至本次实验结束

(3.667 ± 0.633) U/g(图 1)。

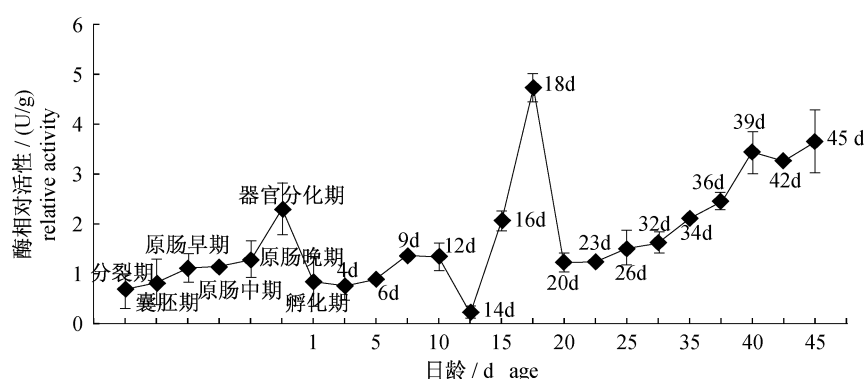


图 1 钠钾三磷酸腺苷酶相对活性在条石鲷早期阶段的变化曲线

Fig. 1 The relative activity of Na^+ , K^+ -ATPase of rock bream larvae

3 讨论

3.1 鳃的组织发育

鳃小叶的形成标志着鳃开始实施其呼吸功能。条石鲷的鳃小叶在 6 日龄从鳃丝上分化形成,大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 仔鱼在 10 日龄形成鳃小叶,而细点牙鲷 (*Dentex dentex*) 的鳃小叶则在 15 日龄出现。Falk-Petersen^[20] 认为在鳃小叶形成之前,仔鱼的表皮可进行气体的交换。Santamaría 等^[21] 在细点牙鲷中的研究表明,仔鱼的表皮在变厚之前,可用以进行呼吸作用。故在 6 日龄之前,条石鲷仔鱼所需的氧气极有可能也是通过其表皮的气体交换来获得的。

Rombough 等^[22-23] 认为鳃在鱼体内除了呼吸作用之外,还起着更重要的渗透调节作用,而泌氯细胞则是主要的渗透调节因子。泌氯细胞在 9 日龄出现在大菱鲆仔鱼鳃丝的基部,细点牙鲷在 22 日龄左右可在其鳃内观察到泌氯细胞。条石鲷仔鱼鳃上的泌氯细胞在 7 日龄时首次出现于鳃小叶的基部,9 日龄以后其数量急剧增多。

3.2 Na^+ , K^+ -ATPase 相对活性的变化

鱼类用于渗透调节的主要组织器官为皮肤、消化管、鳃和泌尿器官,其中皮肤和鳃是离子交换的主要场所,有大量的 Na^+ , K^+ -ATPase 富含细胞(泌氯细胞)分布。条石鲷胚胎期的渗透调节主要是依靠卵膜来完成,此时 Na^+ , K^+ -ATPase 的活性较低。孵化出膜后,在 6 日龄之前,条石鲷仔鱼 Na^+ , K^+ -ATPase 的活性虽不断上升,但一直处于一个较低的水平,这是因为此时仔鱼鳃的

结构发育还未完善,皮肤是主要的渗透调节位点。随着泌氯细胞在鳃中的分化形成(7 日龄),并大量增多(9 日龄),条石鲷仔鱼 Na^+ , K^+ -ATPase 的活性也自 9 日龄起显著增加。随着鳃的不断发育完善,仔鱼的主要渗透调节位点也由皮肤转移到了鳃腔^[24]。

14 日龄之后,随着仔鱼血液量增长速度的减慢,条石鲷 Na^+ , K^+ -ATPase 的相对活性又开始逐步上升,直至 18 日龄,在此之后 Na^+ , K^+ -ATPase 的相对活性又显著地下降。这可能与本实验样品的处理方法有关,由于 20 日龄之前的样品较小,故采用整体匀浆的方法,这时 Na^+ , K^+ -ATPase 的相对活性包含了皮肤与鳃两者的活性,而 20 日龄后的样品是直接取出仔鱼的鳃组织进行匀浆,所以 Na^+ , K^+ -ATPase 的相对活性会有所下降。20 日龄之后的 Na^+ , K^+ -ATPase 相对活性实质上是鳃内 Na^+ , K^+ -ATPase 的相对活性,故随着鳃的生长,其活性也逐步稳定地上升。

3.3 鳃的发育与条石鲷仔鱼死亡率的关系

在条石鲷的人工繁育过程中,实验发现在 12~16 日龄这段时间,尤其是在 14 日龄左右,条石鲷的仔鱼往往大量死亡,死亡率最高可达 30%~40%。然而,对于这一时期的死亡机制并未完全弄清,故暂时仍无法采取快捷有效地措施来进行控制,给人工的生产育苗造成了巨大的损失。

在本实验中,组织学的观察显示,12~14 日龄,条石鲷仔鱼的鳃弓显著增长,鳃丝、鳃小叶以及泌氯细胞大量增多,然而这一时期 Na^+ , K^+ -

ATPase 的相对活性却反而急剧地下降,到 14 日龄降至最低值。这可能与此时仔鱼体内的血液流量急剧增加相关,因为与机体血液量的增多相比,泌氯细胞(Na^+ , K^+ -ATPase)数量的增加相对则较慢,故导致了 Na^+ , K^+ -ATPase 的相对活性出现下降的情况,然而 Na^+ , K^+ -ATPase 相对活性的急剧下降也直接影响了仔鱼的渗透调节能力。因此,这段时间条石鲷仔鱼的高死亡率与鳃的发育及相关 Na^+ , K^+ -ATPase 活性的急剧变化相关。

参考文献:

- [1] McCormick S D. Hormonal control of gill Na^+ , K^+ -ATPase and chloride cell function [J]. Fish Physiology, 1995, 14: 285 – 307.
- [2] Hirose S, Kaneko T, Natio N, *et al.* Molecular biology of major components of chloride cells [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry & Molecular Biology, 2003, 136: 593 – 620.
- [3] Khodabandeh S, Khoshnood Z, Mosafer S, *et al.* Immunolocalization of Na^+ , K^+ -ATPase-rich cells in the gill and urinary system of Persian sturgeon, *Acipenser persicus*, fry [J]. Aquaculture Research, 2009, 40(3): 329 – 336.
- [4] Avella M, Berhaut J, Bornancin M, *et al.* Salinity tolerance of two tropical fishes, *Oreochromis aureus* and *O. niloticus*. I. Biochemical and morphological changes in the gill epithelium [J]. Journal of Fish Biology, 1993, 42(2): 243 – 254.
- [5] Uchida K, Kaneko T, Yamauchi K, *et al.* Morphometrical analysis of chloride cell activity in the gill filaments and lamellae and changes in Na^+ , K^+ -ATPase activity during seawater adaptation in chum salmon fry [J]. Journal of Experimental Zoology, 1996, 276(3): 193 – 200.
- [6] Shikano T, Fujio Y. Relationships of salinity tolerance to immunolocalization of Na^+ , K^+ -ATPase in the gill epithelium during seawater and freshwater adaptation of the guppy, *Poecilia reticulata* [J]. Zoological Science, 1998, 15(1): 35 – 41.
- [7] Lin H C, Sung W T. The distribution of mitochondria-rich cells in the gills of air-breathing fishes [J]. Physiological and Biochemical Zoology, 2003, 76(2): 215 – 228.
- [8] Wood C M, Marshall W S. Ion balance, acid-base regulation, and chloride cell function in the common killifish *Fundulus heterochlitus*: a euryhaline estuarine teleost [J]. Estuaries, 1994, 17 (1): 34 – 52.
- [9] Nam Y K, Cho Y S, Choi B N, *et al.* Alteration of antioxidant enzymes at the mRNA level during short-term starvation of rock bream *Oplegnathus fasciatus* [J]. Fisheries Science, 2005, 71(6): 1385 – 1387.
- [10] Shan X J, Quan H F, Dou S Z. Effects of delayed first feeding on growth and survival of rock bream *Oplegnathus fasciatus* larvae [J]. Aquaculture, 2008, 277(1): 14 – 23.
- [11] Lim S J, Lee K J. Partial replacement of fish meal by cottonseed meal and soybean meal with iron and phytase supplementation for parrot fish *Oplegnathus fasciatus* [J]. Aquaculture, 2009, 290 (3 – 4): 283 – 289.
- [12] Lee S J, Kim S M, Kim S K, *et al.* Modulation of zymosan-and phorbol ester-stimulated respiratory burst of rock bream (*Oplegnathus fasciatus*) phagocytes by staurosporine, genistein and sodium orthovanadate [J]. Aquaculture, 2004, 237(1): 1 – 7.
- [13] Cho Y S, Choi B N, Kim K H, *et al.* Differential expression of Cu Zn superoxide dismutase mRNA during exposures to heavy metals in rock bream *Oplegnathus fasciatus* [J]. Aquaculture, 2006, 253 (1 – 4): 667 – 679.
- [14] Kim Y I, Ha Y M, Ahn S J, *et al.* Production and characterization of polyclonal antibody against recombinant ORF 049L of rock bream (*Oplegnathus fasciatus*) iridovirus [J]. Process Biochemistry, 2007 42(2), 134 – 140.
- [15] 柳学周,徐永江,王妍妍,等. 条石鲷的早期生长发育特征 [J]. 动物学报, 2008, 54(2): 332 – 341.
- [16] 肖志忠,郑炯,于道德,等. 条石鲷早期发育的形态特征 [J]. 海洋科学, 2008, 32(3): 25 – 30.
- [17] 王建鑫,石戈,李鹏,等. 条石鲷消化道的形态学和组织学 [J]. 水产学报, 2006, 30(5): 618 – 626.
- [18] 张凤萍,柳敏海,彭志兰,等. 条石鲷卵巢发育的组织学研究 [J]. 大连水产学院学报, 2010, 25 (2): 102 – 106.
- [19] 胡玲玲,李加儿,区又君,等. 条石鲷头肾和脾脏的显微结构观察 [J]. 南方水产, 2010, 6(3): 41 – 45.
- [20] Falk-Petersen I B. Comparative organ differentiation during early life stages of marine fish [J]. Fish Shellfish Immunol, 2005, 19(5): 397 – 412.
- [21] Santamaría C A, Marín de Mateo M, Traveset R, *et al.* Larval organogenesis in common dentex, *Dentex dentex* L. (Sparidae): histological and

- histochemical aspects [J]. Aquaculture, 2004, 237 (1-4): 207-228.
- [22] Rombough P J. Gas exchange, ionoregulation, and the functional development of the teleost gill [J]. American Fisheries Society Symposium, 2004, 40 (1): 47-83.
- [23] Rombough P J. The functional ontogeny of the teleost gill; which comes first, gas or ion exchange [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2007, 148 (4): 732-742.
- [24] Varsamos S, Nebel C, Charmantier G, *et al.* Ontogeny of osmoregulation in postembryonic fish; a review [J]. Comparative Biochemistry and Physiology-Part A: Molecular & Integrative Physiology, 2005, 141 (3): 401-429.

Ontogeny of the gill and Na^+ , K^+ -ATPase activity of rock bream (*Oplegnathus fasciatus*)

HE Tao¹, XIAO Zhizhong², LIU Qinghua², LI Jun^{2*}

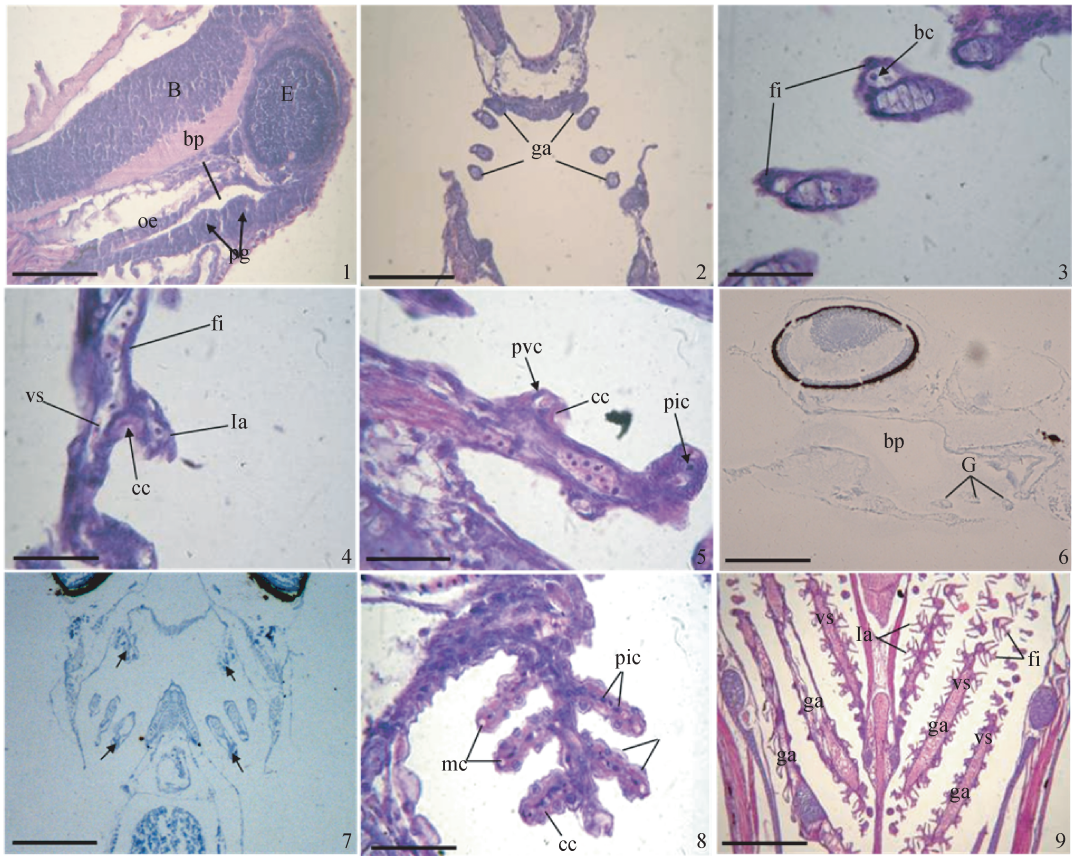
(1. College of Animal Science and Technology, Southwest University, Chongqing 400715, China;

2. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China)

Abstract: Based on the histological observations under optical microscope, we studied the ontogeny of the gill of rock bream *Oplegnathus fasciatus* at $(24 \pm 1.0)^\circ\text{C}$. At hatching, gill anlage was visible in the pharyngeal region. On 2 DAH (Day After Hatching), as the branchial cavity was formed, four pairs of gill arches were evident and some muscular fibres were observed in gill arches. The blood cells were visible in the vascular structures of gills on 3 DAH, and the primordial filaments first appeared in the second and third arches, then in the first and fourth arches on 4 DAH. The primordial lamellae were first formed in the filaments of the second and third gill arches on 6 DAH, then in the first and fourth arches on 7 DAH. On 6 DAH, the pseudobranch anlage was observed as a paired structure lied by the anterior branchial cavity and the lamellae in the pseudobranch were visible on 7 DAH. The chloride cells were first arranged in the base of the lamellae on 7 DAH, then also in the base of filaments on 8 DAH. The pavement cells were visible in the branchial epithelium on 8 DAH and the pillar cells were developed to delimit the vascular structures of lamellae on 9 DAH. On 10 DAH, the mucous cells were seen in the lamellae of pseudobranch. From 14 DAH forward, the filaments and lamellae of gills increased in number and length prominently and the gill of larvae was similar to that of juvenile fish. The specific activity of Na^+ , K^+ -ATPase increased from cleavage period $(0.712 \pm 0.400) \text{ U/g}$ to segmentation period $(2.315 \pm 0.515) \text{ U/g}$, and then decreased progressively to a low level until 9 DAH $(1.389 \pm 0.734) \text{ U/g}$. Subsequently, the activity increased. After 12 DAH, it decreased to the minimum at $(0.246 \pm 0.126) \text{ U/g}$ on 14 DAH. Then the activity increased rapidly and reached the maximum at $(4.731 \pm 0.309) \text{ U/g}$ on 18 DAH. From 20 DAH, the specific activity of Na^+ , K^+ -ATPase reached a relatively stable level until 50 DAH $(3.667 \pm 0.633) \text{ U/g}$. The change of Na^+ , K^+ -ATPase activity is closely related with the development of gill, especially the chloride cells. The mortality of rock bream larvae was very high in the period when the specific activity of Na^+ , K^+ -ATPase reached the minimum from 12 to 16 DAH.

Key words: *Oplegnathus fasciatus*; gill; histology; Na^+ , K^+ -ATPase

Corresponding author: LI Jun. E-mail: junli@qdio.ac.cn



图版 条石鲷鳃的组织发育

1. 1 日龄,鳃原基出现,H. E,标尺 = 20 μm ; 2. 2 日龄,鳃弓出现,H. E,标尺 = 20 μm ; 3. 3 日龄,鳃丝原基形成,H. E,标尺 = 80 μm ; 4. 鳃小叶和假鳃在 6 日龄出现,H. E,标尺 = 80 μm ; 5. 泌氯细胞、扁平细胞和柱细胞,H. E,标尺 = 80 μm ; 6. 7 日龄,泌氯细胞还未有蛋白分泌物,溴酚蓝染色,标尺 = 20 μm ; 7. 8 日龄的鳃与假鳃,箭头所示为蛋白分泌物,溴酚蓝染色,标尺 = 20 μm ; 8. 9 日龄,假鳃上出现粘液细胞,H. E,标尺 = 80 μm ; 9. 14 日龄,鳃的结构分化完全,H. E,标尺 = 20 μm ; B. 脑; bc. 血细胞; bp. 口咽腔; cc. 泌氯细胞; E. 眼; fi. 鳃丝; G. 鳃; ga. 鳃弓; la. 鳃小叶; mc. 粘液细胞; oe. 食道; pg. 鳃原基; pic. 柱细胞; pvc. 扁平细胞; vs. 血管系统。

Plate Histogenesis of gill in rock bream

1. The primordial gill was formed on 1 DAH, H. E, Bar = 20 μm ; 2. Gill arches appeared on 2 DAH, H. E, Bar = 20 μm ; 3. Filament anlage was formed on 3 DAH, H. E, Bar = 80 μm ; 4. Lamellae and pseudobranch were developed on 6 DAH, H. E, Bar = 80 μm ; 5. Chloride cells, pavement cells and pillar cells were visible, H. E, Bar = 80 μm ; 6. The chloride cells on 7 DAH, Bromophenol blue, Bar = 20 μm ; 7. The chloride cells on 8 DAH, Bromophenol blue, Bar = 20 μm ; 8. Mucous cells in the pseudobranch appeared on 9 DAH, H. E, Bar = 80 μm ; 9. Gill was well developed on 14 DAH, H. E, Bar = 20 μm ; B. brain; bc. blood cells; bp. buccopharynx; cc. chloride cells; E. eyes; fi. filament; G. gill; ga. gill arches; la. lamellae; mc. mucous cells; oe. oesophagus; pg. primordial gill; pic. pillar cells; pvc. pavement cells; vs. vascular system.