

南方大口鲶消化管胚后发育组织学研究*

刘建虎 叶元土 王学文 罗祖征

(西南农业大学水产系,重庆 400716)

摘要 南方大口鲶在水温(15.5±0.5)℃条件下孵化后7~10日龄为混合营养期;3~6日龄,肠上皮细胞分化为吸收细胞、吸收分泌细胞及分泌细胞3种类型。消化管发育初期参与卵黄吸收。前期仔鱼及仔鱼阶段消化管壁结构不完善,机械消化能力弱。

关键词 南方大口鲶,消化管,胚后发育,组织学

南方大口鲶(*Silurus soldatovi meridionalis* Chen)属鲶形目、鲶科,主要分布于长江中上游水系,是一种大型底栖凶猛性鱼类。

有关硬骨鱼类消化系统组织学已有很多报道^[1~10]。对鱼类消化系统的形态发生及发育也有较多的研究结果^[11~18]。鲶形目鱼类中,潘炯华等对胡子鲶及鲢鲶消化管发育进行过报道^[19,20],张耀光等对长吻鮠消化管发生进行过观察^[21],龙祥平等对南方大口鲶齿及鳔的发育作过组织学观察^[2,3]。但有关南方大口鲶胚后消化管发育过程中细微结构变化仍未见报道。本文对南方大口鲶鱼苗及仔鱼消化管进行组织学及电镜观察,旨在了解消化管发育过程中细微结构及其变化,为鱼类学、鱼类发育生物学及制定苗种培育生物技术措施提供基础资料。

1 材料和方法

1.1 材料

实验鱼系人工繁殖鱼苗,养于本系实验鱼池,孵出后24 h起每天定时随机取样20尾,连续取样12 d。

1.2 实验方法

部分鱼苗用10%中性甲醛固定,在Olympus连续变倍双筒解剖镜下观察并解剖。以测微尺测其平均体长(以下称体长),并观察消化道外部形态。用

于组织切片的鱼苗以Bouin's液整体固定,石蜡包埋,进行横向及纵向连续切片,其厚度6 μm,Hisri's苏木精-伊红染色。另以部分发育同期鱼苗固定于4℃丙酮液,48℃石蜡包埋,连续切片, Gomori's原法^[22]测定消化管内碱性磷酸酶(ALP)的分布及反应强度,并作对照观察。用于超薄切片的鱼苗在解剖镜下解剖并分离出消化管各段,以1 mm×1 mm×1 mm组织块固定于2.5%戊二醛溶液中,丙酮脱水,环氧树脂包埋,超薄切片,醋酸铀及柠檬酸铅染色。SCX-II型透射电子显微镜下观察并照相。

胚后发育阶段划分标准参见文献^[19,20,23],以刚孵出至卵黄消失为仔鱼前期,对外摄食至鳍条开始分化为仔鱼期,以鳍条出现至分化完成为稚鱼期。以孵出至对外摄食阶段为内源营养期,以开始摄食至卵黄完全消失为混合营养期。

2 结果

2.1 消化管外部形态发育

南方大口鲶前期仔鱼在水温(15.5±0.5)℃条件下,发育至3日龄消化管开口与外界贯通,但在7日龄时才观察到鳔充气并具摄食行为,10日龄仔鱼卵黄完全消失。混合营养期为4 d,在仔鱼前期及仔鱼阶段,消化管外部形态变化明显。

2.1.1 仔鱼前期

1日龄:体长5.5 mm,肠管已产生分化,前中肠

收稿日期:1997-11-19

* 本文系四川省应用基础研究基金资助项目。

位于卵黄囊上方, 并已与口相通, 后肠实心, 后端形成肛凹; 口部具口膜。

2 日龄: 体长 6.2 mm, 食管狭小, 后肠出现肠腔。

3 日龄: 体长 7.3 mm, 口膜消失, 肝、胰原基出现, 后肠与肛门相通, 消化管贯通。

4 日龄: 体长 7.9 mm, 下颌张开, 卵黄囊上部及前部局部产生空腔。

5 日龄: 体长 9.0 mm, 鳔及鳔管形成, 但未充气, 卵黄吸收 1/3, 其后部胃锥形出现, 产生弯曲, 后肠也产生弯曲。

6 日龄: 体长 9.6 mm, 肝、胰形成, 下颌能张合, 胃部进一步弯曲和膨大, 后肠盘曲。

2.1.2 仔鱼期

7 日龄: 体长 10.4 mm, 开口摄食, 鳔充气, 前肠中部产生弯曲, 胃及后肠进一步弯曲。

8 日龄: 体长 11.1 mm, 肝脏出现分叶, 胃分为胃体、幽门及贲门 3 部分。卵黄消失 2/3。

9 日龄: 体长 11.6 mm, 鳔进一步充气膨胀, 颌齿出现, 中后肠进一步盘曲, 卵黄消失 4/5。

10 日龄: 体长 12.5 mm, 肠进一步弯曲, 形成回肠, 卵黄消失, 卵黄囊萎缩, 胃后部与中肠之间产生瓣状结构。

11 日龄: 体长 12.9 mm, 颌齿增高, 数量增加, 胃部膨大, 充塞投喂的水蚯蚓残段(肠管中后部也可见到), 肠管长度增加。

12 日龄: 体长 13.4 mm, 胃后部幽门盲囊形成 2~3 个次级突起, 后肠膨大。

2.1.3 稚鱼期

13 日龄: 体长 15.1 mm, 口腔颌齿密集, 胃壁变厚, 富有弹性。

14~17 日龄: 体长 15.9~21.7 mm, 胃、肠食物充盈度增加, 胃粘膜皱襞增大, 胃壁变厚, 胃肠的外部形态变化逐渐完成。

2.2 消化管发育过程中组织学变化

消化管壁结构变化以粘膜上皮及肌肉层最为明显, 上皮细胞形态变化主要发生于 6 日龄之前, 肌肉层的发生则始于 4 日龄且持续到 14 日龄。

消化管以口腔及肛门上皮细胞最先出现形态差异, 2 日龄前期仔鱼口腔及肛门上皮出现两层结构, 表层细胞扁平, 具一个椭圆形核; 基层细胞体积较大, 呈立方或卵圆状, 其核较大, 呈圆球状(图版 I-1)。3 日龄时, 食管粘膜上皮也发生同样变化。肠

上皮分化首先在前肠部位, 细胞变为柱状并产生纹状缘; 随着肠管发育, 中后肠部位上皮也出现柱状细胞。5 日龄后, 随着胃的发生, 胃粘膜及其上皮也开始发生形态变化, 粘膜向胃腔内突起形成皱襞(图版 I-2, 3), 其大部上皮细胞变为柱状, 胃粘膜上皮形态变化可一直持续到幽门盲囊的发育完成。

消化管壁肌肉组织的发生稍迟, 4 日龄上下颌基部及肛门部出现横纹肌, 稍后在食管壁中也产生横纹肌, 肠管在 5~6 日龄出现环形平滑肌层, 未见纵行肌(图版 I-4)。8 日龄后, 随着肠管粘膜皱襞增高, 粘膜下层逐渐发育完善, 粘膜肌纤维形成。此时, 胃锥形显现, 肌层中纵行肌开始发生, 纵行肌纤维首先出现在胃前部肌层中, 较薄, 在幽门盲囊形成后逐渐扩展到胃后部幽门盲囊壁肌层及肠管肌层中。并随消化管发育逐渐增厚。

卵黄囊组织结构在混合营养期变化最明显, 1 日龄鱼苗卵黄囊仅由 1 层卵圆形细胞包围卵黄; 3 日龄后, 随着居维氏管的发生, 大量血管分布于卵黄囊表面, 这些毛细血管在囊壁外表形成密集状网络, 此时囊壁细胞仍为圆形或立方状, 细胞间排列疏松; 6 日龄时囊壁与中肠相接处出现粘膜突起, 细胞变为柱状并产生纹状缘, 而其它部位细胞仍维持原状, 在这些细胞内可见到大量吸收小泡, 卵黄颗粒首先被分解成油状物在中肠及卵黄囊中部被吸收, 而在混合营养阶段后期, 这些物质则主要集中于中肠后部及后肠内(图版 I-5~7); 8 日龄时, 卵黄囊外缘毛细血管迅速减少并退化, 细胞之间排列紧密, 囊腔也进一步缩小(图版 I-8); 10 日龄时, 卵黄消失, 卵黄囊残体萎缩直至消失。

杯状细胞首先出现在口腔及食管上皮中, 之后, 随着肠上皮细胞分化, 杯状细胞在肠粘膜上也有分布(图版 I-7), 后肠则形成空泡结构。在混合营养期这种结构较多, 尤其在经饥饿处理的仔鱼后肠, 这种结构呈明显增多趋势。12 日龄以后, 后肠的空泡状结构逐渐消失而代之以杯状细胞的分布。

2.3 肠上皮超微结构变化

2.3.1 肠管 在早期肠管发生过程中, 上皮细胞处于活跃的分裂状态, 3 日龄以前的肠管上皮细胞结构及形态更接近于原始干细胞, 细胞立方状或卵圆形, 分化差异不明显, 细胞排列疏松, 细胞内有丰富的内质网、线粒体及高尔基体, 大多细胞具明显的分裂特征。3 日龄后, 位于卵黄囊上方的肠上皮细胞首先发生分化, 形成高柱状并有微绒毛形成, 细胞核

位于细胞基部,细胞间排列疏松。5日龄后,细胞间连接变得紧密,出现了紧密连结、中间连结等结构(图版I-10)。中肠上皮细胞主要分化为3种类型:

A 吸收细胞 呈高柱状,顶部有微绒毛突起,核位于细胞基部,线粒体和内质网主要集中于核附近,微绒毛细长,微绒毛及细胞边缘染色较深,有大量的电子密度染色颗粒;细胞顶部及微绒毛内有直径20 nm的念珠状吸收小泡,一直延伸到细胞中部(图版I-10,11)。

B 碱性磷酸酶元颗粒分泌细胞 呈柱状,具微绒毛,在光学显微镜下其结构及形态与吸收细胞相似,难以分辨,但ALP染色着色强,电镜下观察,大量的内质网及核糖体集中于核附近(图版I-13),其线粒体分布靠近细胞边缘,高尔基体分布以细胞顶缘及中部为主,在微绒毛外缘还有1层更细小的绒毛絮被结构,由直径50 nm的小管及小泡交错构成(图版I-12),絮被内有大量直径10~20 nm的低电子密度染色小泡以及直径小于10 nm的细微电子密度染色颗粒。此外,在胞质内靠近细胞顶缘的微绒毛突起内还有另一种直径30 nm的粗大高密度电子染色颗粒。

C 分泌细胞 呈柱状,具微绒毛,细胞顶部具大量的线粒体及高尔基体,且含有大量直径15 nm电子密度染色较低的微泡及微管(图版I-15,16)。与B细胞所不同的是无粗大酶元染色颗粒,也无绒毛絮被,但其微泡及微管更为密集并可观察其分泌过程(图版I-14)。

2.3.2 后肠 后肠中的空泡结构具明显的双层膜包围,其核极小,直径仅约0.1 μm,并被挤压到细胞边缘,胞质内无明显细胞器构造,而是充填大量网状结构及不规则的粗大染色颗粒(图版I-17),未见这种细胞的过渡形式。

2.4 消化管发育过程中碱性磷酸酶的变化

刚孵出的前期仔鱼消化管粘膜上皮中除卵黄囊呈ALP反应阳性外,其余均呈阴性反应,3日龄前期仔鱼消化管上皮开始呈ALP阳性反应,2~6日龄鱼阳性反应以胃部最强,中后肠均呈弱阳性,7日龄以后则以中肠ALP阳性反应最强,胃部阳性反应强度逐渐减弱,后肠及食管在此期间则呈较为稳定的阳性反应。

3 讨论

3.1 关于鱼类卵黄囊与消化系统的关系未见详细报道,翟宝香等^[4]未提及鲢消化道在整个发育过程中与卵黄吸收关系,赵宝生^[5]报道尼罗罗非鲫前期仔鱼肠道参加了卵黄吸收过程。笔者在光学显微镜下观察到南方大口鲈仔鱼食管及中肠与卵黄囊相通,并且消化管上皮细胞在3日龄时已发生形态变化,加之在肠腔内充填大量的卵黄颗粒及分解的油球,说明早期消化管已参与卵黄的吸收作用。黄德祥等^[7]在达氏鲟消化系统发生观察中也注意到这一现象。吸收机制尚不明确。

3.2 体长9.6 mm(6日龄)前期仔鱼消化管上皮细胞均显示ALP活性,ALP属磷酸单酯酶类,可水解多种有机磷酸酯。可见,南方大口鲈仔鱼肠管有消化及吸收双重作用。这与房慧玲^[17]对尼罗罗非鱼成鱼肠道研究结果一致。有报道认为肠管柱状细胞纹状缘具消化与吸收双重作用^[9],我们发现,并非所有柱状上皮细胞都同时具备这两种功能,其中A型细胞具有吸收细胞的典型结构,但在其微绒毛(纹状缘)上未见到分泌小泡或酶元颗粒,推测其仅与吸收有关;B型细胞则显示了其吸收小泡及微绒毛内的粗大电子染色分泌颗粒;C型细胞呈明显的分泌状态,其微绒毛内未见到吸收小泡。Trevor A A在三尖鲈(*Girella tricuspidata*)肠管粘膜上比较了这3种细胞,并对其功能进行了分析^[24]。

3.3 南方大口鲈仔鱼后肠粘膜上皮所见空泡结构在其它鱼类也有报道^[1,13,16]。倪书达等^[8]认为,草鱼消化管粘膜中的这种空泡结构为另一种类型的粘液液分泌细胞,且在成体中同时存在。方静等^[1]在鲤鱼消化道中观察到这种结构,并注意到其粘液物质与杯状细胞的差异;我们认为这种结构与杯状细胞完全不同,而呈典型的全浆分泌特征。由于其仅存在于消化道发育早期且与进食呈正相关,推测这种结构的的存在有助于食物及卵黄消化及残留物排放,且与消化道建立早期中后肠结构与功能的不完善有关,其发生及消失机制仍待进一步研究。

3.4 消化管壁肌肉层的厚度决定食糜的机械消化效率^[24]。在混合营养及外源营养初期,南方大口鲈前期仔鱼及仔鱼食管至后肠都观察到较完整的水蚯蚓断面(图版I-9),未完全消化的原因主要与消化管壁肌肉层(尤其是纵行肌)结构发育尚不完善有关。故在南方大口鲈苗种培育中应注意投喂充分

碎的饵料。

参 考 文 献

- 1 方静,等.鲤鱼消化道粘液物质及碱性磷酸酶的组织化学研究.四川农业大学学报,1994,12(2):304-309
- 2 龙祥平.南方大口鲈仔稚鱼齿发育的组织学和组织化学.西南师范大学学报(自然科学版),1993,18(3):346-349
- 3 龙祥平.南方大口鲈,大鳍鱮发育的组织学研究.水产学报,1993,17(4):340-344
- 4 翟宝香,刘焕亮,等.鲢消化系统胚后发育的组织学研究.大连水产学院学报,1992,7(2/3):19-30
- 5 赵宝生,陈建富,等.尼罗罗非鲫(*Tilapia nilotica*)仔鱼前期器官发育与分化的组织学观察.大连水产学院学报,1989,4(2):21-26
- 6 房慧玲.尼罗罗非鱼肠道细微结构及组织学研究.广西农业大学学报,1992,11(3):121-126
- 7 黄德祥.达氏鲂仔鱼消化系统发育及摄食初期食性初步研究.水产学报,1988,12(3):285-292
- 8 倪书达,洪雪峰.草鱼消化道组织学研究.水生生物学集刊,1963,3:1-25
- 9 Saoussqute MC. Histology and histochemistry of the development of the digestive system of larval gilthead seabream, *Sparus aurata* L. *Aquac*, 1995, 130(1):79-92
- 10 Tadahide kurokawa. Development of digestive organs and feeding ability in larvae of Japanese eel (*Anguilla japonica*). *Can J Fish Aquat Sci*, 1995, 52(5):9-18
- 11 王瑞霞.青鱼原始器官原基形成和消化系统呼吸系统的发育.水产学报,1982,6(1):77-82
- 12 王敏,等.草鱼仔稚鱼消化器官与味蕾发育.华中农业大学学报,1993,12(1):68
- 13 林浩然.白鲢消化器官的发育生长.中山大学学报(自然科学版),1964(1):60-68
- 14 孙晓明.鲢鳙滤食及消化器官的发育、构造与食性的相互关系.水产学报,1992,16(3):202-212
- 15 胡玫,张中英.尼罗罗非鱼仔、稚鱼和幼鱼消化系统的发育及其食性勘察.水产学报,1983,7(3):207-218
- 16 唐宇平.鳊鱼消化器官的发育和食性研究.水生生物学报,1990,17(4):329-336
- 17 谢刚,等.露斯塔野鲮当年消化系统的发育和食性观察.水产学报,1989,13(2):164-169
- 18 龚启祥,等.草鱼消化道发育的组织学观察.浙江水产学院学报,1990,9(2):85-89
- 19 潘炯华,郑文彪.胡子鲇胚胎和幼鱼发育的研究.水生生物学集刊,1982,7(4):437-444
- 20 潘炯华,郑文彪.苏氏腹鱼芒鲇的胚胎和幼鱼发育的研究.鱼类学论文集,1983(3):1-20
- 21 张耀光,何学福.长吻鲈幼鱼发育的研究.水生生物学报,1991,15(2):153-160
- 22 汪德耀.细胞生物学实验指导.北京:高等教育出版社,1981.117-118
- 23 谢小军.南方大口鲈幼鱼发育研究.水生生物学报,1989,13(2):124-133
- 24 Trevor A A. Histological and cytological structure of the gastrointestinal tract of the luderick, *Girella tricuspidata*, in relation to diet. *J Morphol*, 1986, 190:109-119

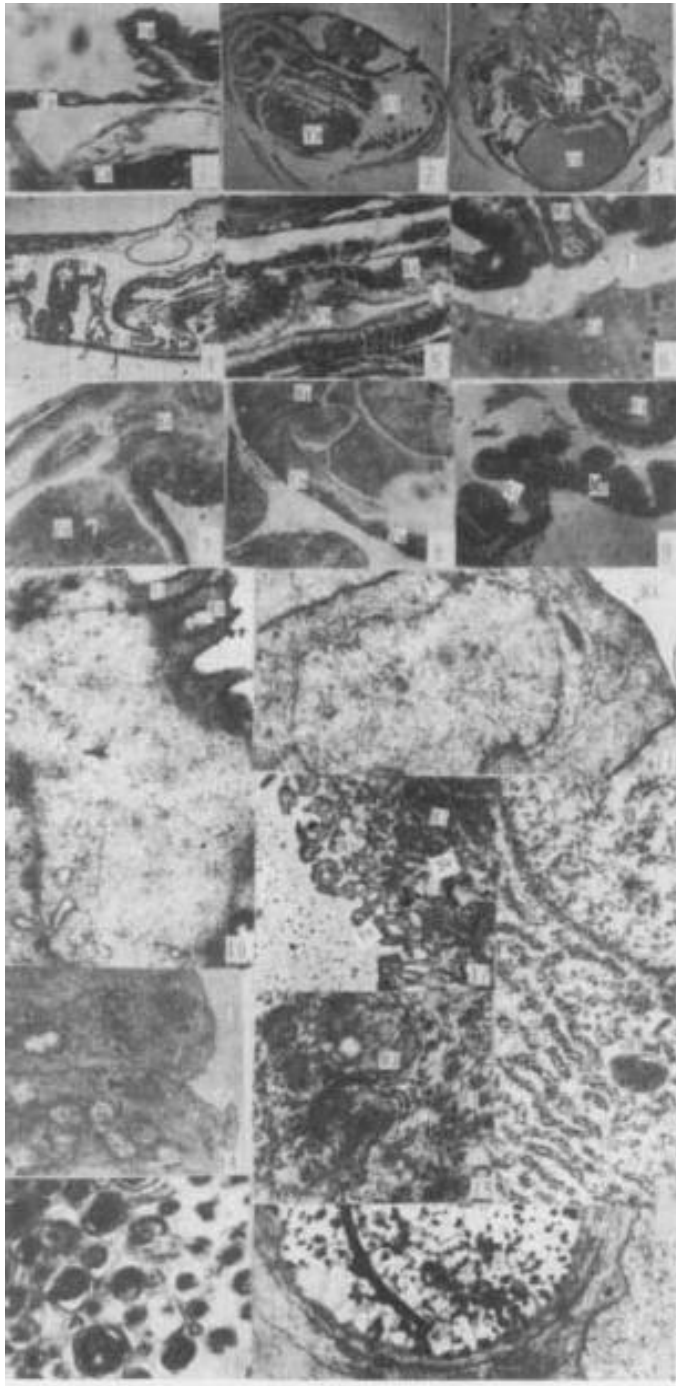
Post - embryogenic developmental histology of digestive tract of *Silurus soldatovi meridionils* Chen

Liu Jianhu Ye Yuantu Wang Xuwen Luo Zuzheng

(Department of Fisheries, Southwest Agricultural University, Chongqing 400716)

Abstract The nutrition - mixed period of larval *Silurus soldatovi meridionils* Chen is from day 7~10 after the larvae are hatched when the water temperature is $(15.5 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$. From 3rd day on, the epithelial cells of intestine begin to differentiate into 3 types of cells till day 6, which are absorbing cells, absorbing - secreting cells and exocrine cells. The digestive tract participates in the absorption of yolk at its early developmental stage. The structure of the tract wall develops incompletely at prelarval and larval stages when its ability is poor in mechanical digestion.

Key words *Silurus soldatovi meridionils*, digestive tract, post - embryogenic development, histology



图版 Plate

1. 2日龄前期仔鱼口前端纵切, $\times 300$ 。
Longitudinal section through the anterior part of the yolk - sac larva.
2. 5日龄前期仔鱼咽部横切, $\times 30$ 。
Transverse section through pharynx - gill leumen.
3. 5日龄前期仔鱼食管部横切, $\times 30$ 。
Transverse section of oesophagus.
4. 6日龄仔鱼胃及肠管纵切, $\times 60$ 。
Longitudinal section of gastrointestinal tract.
5. 6日龄前期仔鱼食管后部, $\times 600$ 。
Section through posterior part of esophagus.
6. 6日龄前期仔鱼卵黄囊上部, $\times 300$ 。
Section of upper half of yolk - bladder.
7. 6日龄前期仔鱼中肠, $\times 300$ 。Section of middle intestine of 6 - d - old yolk - sac larva.
8. 6日龄前期仔鱼卵黄囊底部, $\times 300$ 。
Lower half portion of 6 - d - old yolk - sac larva.
9. 8日龄前期仔鱼后肠, $\times 150$ 。Rectum of 8 - d - old larva.
10. 柱状吸收上皮细胞(A型细胞)上半部, 微绒毛(Mv)细胞连结结构(Tj, Gj, De)及吸收小泡(Av)出现, $\times 10\ 000$ 。
Electron micrograph showing supranuclear portions of absorptive cell (type A) and absorptive vesicle (Ve). Many Microvilli (Mv) presenting at the apico - lateral interfaces and junction including tight junction (Tj), gapjunction (Gj) and desmosomes (De).
11. 柱状吸收上皮细胞下半部, 示核(Nu)、内质网(Er)、线粒体(Mi), $\times 10\ 000$ 。Undernuclear portions of type A cell, endoplasmic reticulum (Er) and Mitochondria (Mi) close by the nuclear (Nu) showing no basement membrane.
12. B型分泌细胞上半部, 示绒毛絮被(Fc)及酶元颗粒(G), $\times 8\ 000$ 。Supranuclear region of exocrine epithelial cell (type B) showing fussycoat (Fc) and granules (G).
13. B型分泌细胞中部, 线粒体(Mi)、内质网(Er)分布于核(Nu)附近, $\times 16\ 000$ 。Middle part of exocrine cell (type B). Endoplasmic reticulum(Er) and mitochondris (Mi) near the nuclear (Nu).

14. C型分泌细胞上半部,线粒体(Mi)、高尔基体(Go)分布于细胞边缘,细胞表层有大量分泌小泡(Sv), $\times 6\ 000$ 。Supranuclear portion of exocrine cell (type c), mitochondria (Mi) and golgi complex (Go) distributing near the surface of the cell membrane (Cm) covered by lot of secretory vesicle (Sv).

15. 上图局部,线粒体(M)及微管(Mt)周围有大量颗粒。 $\times 16\ 000$ 。Part of Fig14 showing a lot of densely staining granules (G) between mitochondria (Mi) and microtubule (Mt).

16. 微管放大,示原丝结构, $\times 72\ 000$ 。Enlarged part of Fig. 14 showing protofilaments of microtubule.

17. 分布于后肠粘膜上的空泡结构,其具有极小的核(Nu)及粗大染色颗粒(G), $\times 10\ 000$ 。Micrograph of ucinous cell with tiny nuclear (Nu) and large electron-dense granules(G).

Ai. 前肠 Anterior intestine; Ac. 吸收上皮 Absorptive cell; Ca. 下颌软骨 Cartilage of dentary; Ep. 口腔上皮 Epithelium; Gl. 鳃室 Gill leumen; Il. 中肠肠腔 Intestinal lumen; Mi. 中肠 Middle intestine; Mp. 绒毛突起 Mucosa processes; Ol. 食管 Oesophagus leumen; Om. 口膜 Oral membrane; Re. 后肠 Rectum; Sb. 鳔 Swim bladder; We. 水蚯蚓 Water earthworm; Yo. 卵黄 Yolk; Yw. 卵黄囊壁 Yolk-bladder wall.

第十届基因、基因族、同工酶国际研讨会

“第十届基因、基因族、同工酶国际研讨会”将于1999年10月5日~10日在北京召开。

十届大会的主题是:“基因组研究进展及其对世纪生物学的意义”

讨论专题:

- | | |
|------------------|------------------|
| 1. 基因组和生物信息学 | 8. 信号传导,途径、级联和整合 |
| 2. 基因功能性片段剖析的新方法 | 9. 基因和疾病 |
| 3. 染色体:结构与功能 | 10. 转基因学 |
| 4. 基因组研究的实践和理论意义 | 11. 同工酶的机能和进化 |
| 5. 进化图形和模式 | 12. 生物技术 |
| 6. 发育的后生学论 | 13. 环境生物学 |
| 7. 细胞程序凋亡 | 14. 种质和生物多样性 |

(讨论专题将根据报名者报告内容适当压缩)

十届大会是由中科院发育所、水科院长江水产研究所和国际生物科学联合会中国全国委员会联合主办的国际性、系列性专业会议。大会名誉主席为美国著名分子生物学家、发育生物学家、同工酶的命名者 C. L. Markert。大会主席为中科院副院长许智宏教授。国内外各有 20 余名院士、专家为大会顾问。

目前已有 160 余名国外科学家表示参加,初选的报告者已有 70 余名。我们欢迎我国科学家踊跃参加大会,进行交流。有意参加者请尽快和大会组委会联系,索取有关资料。

十届会议组委会执行主席:薛国雄 大会秘书:王宁

地址:北京中关村中科院发育所 邮编:100080

电话:62551158 传真:62551951

E-mail: xuegx@public.east.cn.net

网址: <http://www.cicgst.org.cn/ICGGFI>

第十届大会组委会

1999.4