

圆斑星鲽仔鱼变态前消化系统发生的形态学和组织学研究

王思锋, 张志峰, 张全启, 王开顺

(中国海洋大学 海洋生命学院, 山东 青岛 266003)

摘要:对初始孵化到孵化后26 d(变态前)的圆斑星鲽(*Verasper variegatus* Temminck et Schlegel)仔鱼的消化系统发生进行形态学和组织学研究。研究表明,在水温为12.5~15.5℃时,初始孵化仔鱼消化道细而直,两端封闭,位于卵黄囊背方。随着仔鱼发育,消化道延长,肝胰脏出现。孵化后6 d,仔鱼开口,消化道贯通,开始摄食。孵化后10 d,消化道明显分为口腔、食道、胃、小肠、直肠,黏膜上皮褶皱增多。孵化后14 d,卵黄囊消失,仔鱼完全依靠外源性营养。孵化后26 d,胃壁较厚处出现胃腺,但不发达,幽门盲囊尚未出现。由结果可见,孵化后6 d仔鱼开口,可开始投喂轮虫;孵化后26 d,消化系统的结构和功能逐渐完善,消化吸收能力增强,但由于胃的结构和功能尚不完善,此阶段还应以活体饵料为主,一方面可逐渐加大轮虫的投喂量,另一方面可适当投喂较大的肉虫无节幼体等。本研究旨在为圆斑星鲽人工育苗中饵料种类及投喂时间的选择提供理论依据。[中国水产科学,2006,13(1):1-7]

关键词:圆斑星鲽;仔鱼;消化系统;形态学;组织学

中图分类号:Q954.61 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-8737-(2006)01-0001-07

圆斑星鲽(*Verasper variegatus* Temminck et Schlegel)属鲽形目(Pleuronectiformes),鲽科(Pleuronectidae),是大型鲽类,主要分布于中国的黄海、渤海、东海,日本中部以南和韩国西南部的沿海海域,具有很高的经济价值与养殖价值,是一个值得推广的优良品种^[1]。目前国内已有学者着手其养殖技术和育苗的研究,并取得了一定的进展^[2]。

在育苗和养殖过程中,鱼类对食物的消化与吸收是其生长发育的基础,也是其消化系统的主要功能。关于鱼类消化系统的研究,中国学者已做过许多工作^[3-9]。但对圆斑星鲽消化系统的研究尚未见报道。本研究对圆斑星鲽仔鱼变态前消化系统发生的形态学和组织学进行观察与分析,以期对圆斑星鲽人工育苗中饵料种类及投喂时间的选择提供理论参考,并为其营养学及消化生理等方面的深入研究提供基础资料。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用圆斑星鲽仔鱼取自山东省华新海大海洋生物股份有限公司。初始孵化仔鱼(刚孵化仔鱼)的

培育水温为 $(13 \pm 0.5)^\circ\text{C}$,以后随着仔鱼的发育,逐日升高水温 0.5°C ,并维持在 $(15 \pm 0.5)^\circ\text{C}$,停止升温。培育期间不间断充气,海水盐度29~30,pH 8.2左右。初始孵化至孵化后6天,每天取样1次,孵化后6天到孵化后26天(仔鱼变态前),每4~5天取样1次,每次均取35尾。

1.2 方法

于解剖镜下观察各期仔鱼的形态特征并拍照;于显微镜下测定各期仔鱼总长(TL),计算方差。

部分仔鱼整体于Bouin's液中固定24 h,石蜡包埋,Reichert切片机上横、纵、平向连续切片(厚6~7 μm),HE染色。Olympus BH-2型显微镜下观察并拍照。

2 结果

2.1 圆斑星鲽仔鱼消化系统发生的形态学特征

初始孵化仔鱼,全长(TL)为 (4.17 ± 0.11) mm,消化道仅是位于脊索和卵黄囊之间的一条细长管道,紧贴卵黄囊(图版I-1)。消化道平直,仅后端稍弯曲(图版I-1a)。卵黄囊较大,扁圆形,占体长1/2左右。孵化后1天的仔鱼,TL为 $(4.66 \pm$

收稿日期:2005-04-27;修订日期:2005-07-11。

基金项目:国家“863”高新技术研究与发展项目(2003AA603130)。

作者简介:王思锋(1981-),男,硕士研究生,主要从事海洋动物生物学研究。E-mail:pskswang10@hotmail.com

通讯作者:张志峰。Tel:0532-82031647。E-mail:zfp107@ouc.edu.cn

0.08) mm, 消化道加粗, 后端向腹侧体表弯曲明显, 末端已较靠近体表, 但尚未与外界相通。卵黄囊变小, 只有体长的 $1/3$ 左右。孵化后 3 天的仔鱼, TL 为 (5.23 ± 0.19) mm, 消化道进一步延长、变粗。前端达耳囊处, 后端接近体表, 此处可见外胚层内陷而成的肛凹, 但仍未打通, 卵黄囊进一步变小(图版 I-2)。孵化后 5 天的仔鱼, TL 为 (5.74 ± 0.21) mm, 消化道后端打通, 前端口凹已形成, 口咽腔已较大, 但尚未与外界相通。中前肠管道下方肝胰脏已较明显。孵化后 6 天的仔鱼, TL 为 (6.20 ± 0.23) mm, 消化道前端打通, 仔鱼开口, 口咽腔扩大, 但食道、胃、小肠分界尚不明显, 中肠依然较直, 后肠区膨大(图版 I-3)。孵化后 10 天的仔鱼, TL 为 (6.34 ± 0.27) mm, 消化道弯曲盘绕, 已分化出口咽腔、食道、胃、小肠、直肠等(图版 I-4)。孵化后 14 天的仔鱼, TL 为 (6.56 ± 0.25) mm, 胃肠区管道几乎占据整个腹腔, 卵黄囊完全消失(图版 I-5)。孵化后 19 天至孵化后 26 天, 仔鱼 TL 由 (6.96 ± 0.31) mm 增长至 (9.19 ± 0.23) mm。此阶段, 消化道在体内进一步盘绕, 紧缩; 尾鳍开始形成, 身体向扁平发展, 仔鱼将进入变态期。

2.2 圆斑星鲷仔鱼消化系统发生的组织学特征

2.2.1 口咽腔 初始孵化仔鱼, 口咽腔为消化道前端一很小的圆腔, 腔壁平滑, 与后端肠道尚未贯通(图版 I-1b)。孵化后 3 天, 口咽腔扩大, 变扁平, 腔壁增厚, 由多层鳞片状细胞围成(图版 I-2b)。孵化后 6 天, 口与外界相通, 口咽腔黏膜上皮为一薄层黏液细胞。孵化后 10 天, 口咽腔内黏液细胞增多, 特别是与食道交界的后咽区, 黏液细胞变大, 增多(图版 I-6, 6a)。孵化后 26 天, 口咽腔黏膜上皮增厚, 为 2~3 层黏液细胞。味蕾增多, 几乎每个鳃弓上都有一个味蕾(图版 I-7, 7a)。

2.2.2 食道 初始孵化仔鱼, 消化道仅是由单层立方细胞围成的狭窄管腔, 食道、胃等尚未形成, 分界不明显。孵化后 6 天, 食道腔已较大, 食道壁较厚, 黏膜上皮为单层立方上皮, 向内腔轻微凸起, 尚未形成明显褶皱, 肌层较薄, 为 1~2 层环肌, 浆膜较厚(图版 I-3a)。孵化后 10 天, 食道壁黏膜上皮纵向凸起形成 7~9 个褶皱, 黏膜上皮细胞中夹杂有少量杯状细胞(图版 I-4a)。孵化后 19 天, 咽后食道前段黏膜上皮中杯状细胞较丰富, 而食道后段缺乏杯状细胞(图版 I-8, 8a)。孵化后 26 天, 食道前段黏膜褶皱更明显, 黏膜下层发达, 肌层和浆膜层增厚

(图版 II-1)。食道后段上皮为假复层扁平上皮(图版 II-2)。

2.2.3 胃 胃的分化较晚。孵化后 6 天, 胃区稍膨大, 但并未形成球状腔, 与其他部分如食道、小肠的差别不明显。孵化后 10 天, 胃腔已较明显, 为球状腔(图版 II-3)。胃壁出现低的褶皱, 黏膜上皮由缺乏纹状缘的单层柱状细胞组成, 缺少杯状细胞。胃壁只可见到黏膜层和浆膜, 黏膜下层和肌层不明显。孵化后 14 天, 胃腔拉长, 胃壁仍较薄(图版 II-4)。黏膜上皮由单层矮柱状细胞组成, 细胞核位于基部或中部, 染色较深。孵化后 19 天, 胃壁明显增厚, 食道与胃、胃与小肠交界处黏膜突起较高。孵化后 26 天, 胃壁出现胃小凹, 胃壁较厚处有不发达的胃腺, 由实心扁球状的细胞团组成(图版 II-5)。黏膜上皮为单层高柱状上皮, 黏膜下层和肌层不发达。

2.2.4 小肠 孵化后 6 天, 小肠管道平滑, 尚无褶皱出现, 管道上皮为单层立方上皮(图版 II-6)。孵化后 10 天, 小肠管道内壁出现较低的褶皱, 黏膜上皮中尚无杯状细胞。孵化后 14 天, 小肠管道黏膜上皮中出现少量杯状细胞, 游离面出现纹状缘(图版 I-5a)。孵化后 26 天, 小肠黏膜上皮由单层高柱状细胞构成, 纵行褶皱增多增高, 出现次级黏膜褶(图版 II-7)。黏膜上皮中杯状细胞增多, 尤其是小肠后段, 杯状细胞更丰富。黏膜下层发达, 肌层和浆膜已较厚。

2.2.5 直肠 孵化后 3 天, 肠道后端膨大, 并弯向体表, 形成直肠雏形, 内腔没有褶皱, 比较平缓(图版 I-2a)。孵化后 5 天, 仔鱼肛门打通, 直肠区管道较宽, 到肛门处逐渐变窄, 成一狭窄通道。孵化后 10 天, 直肠内壁出现低矮褶皱, 黏膜上皮细胞间夹杂有杯状细胞, 黏膜下层和肌层不发达。孵化后 19 天, 直肠黏膜上皮杯状细胞增多, 内有正在消化的食物, 黏膜下层和肌层增厚(图版 II-8)。孵化后 26 天, 直肠形似一较短的圆筒, 内腔很大(图版 II-9)。直肠壁黏膜上皮中杯状细胞与其基底部的矮柱状细胞构成复层排列, 接近肛门处杯状细胞较少。

2.2.6 肝胰脏 孵化后 3 天, 中前肠腹面出现染色较淡的肝细胞团, 背面出现染色较深的胰细胞团(图版 II-10)。肝细胞不规则, 细胞核较大。胰细胞扁圆形, 核大而圆, 染色较深。孵化后 6 天, 肝胰脏细胞迅速分裂, 数量增加, 细胞团体积增大。肝细胞占据了卵黄吸收产生的空间, 胰腺细胞也向周围扩展

分布(图版I-3b)。孵化后26天,肝细胞排列紧密细小,核仁清晰,肝实质致密,肝血窦更多,更明显(图版II-12)。胰脏体积增大,胰腺细胞分布尚不广泛,仅存在于胃和食道交界处的周围区域(图版II-11)。

3 讨论

从初始孵化到孵化后6天之前,仔鱼消化道尚未与外界完全相通,不能开口取食,完全靠吸收卵黄囊获取营养。卵黄囊由于被吸收而逐渐缩小,仔鱼处在内源性营养阶段。孵化后6天,仔鱼开口,但消化道各段分界不明显。孵化后10天,仔鱼消化道明显分为口腔、食道、胃、小肠、直肠等,各部分具有初步的结构和一定的消化、吸收能力。但卵黄囊依然存在,仔鱼尚未完全进入外源性营养阶段。孵化后14天,消化道各部分的消化、吸收能力增强,这时卵黄囊消失,仔鱼完全进入外源性营养阶段。

孵化后19天,圆斑星鲷仔鱼食道中黏膜上皮褶皱和杯状细胞的分布,在食道前段和后段出现了明显差异。食道前段黏膜上皮中杯状细胞较丰富,成层排列,而食道后段黏膜上皮褶皱更突出,但其上几乎没有杯状细胞分布。杯状细胞能分泌黏液,而褶皱能增大食道壁与食物的接触面积。因此食道前段能对食物起润滑作用,而食道后段能容纳一定量已被润滑的食物,作为食物进入胃前的缓冲。这与刘云等^[8]对牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)消化道形态学及组织学研究所得结果基本一致,而与Baglolle等^[10]对大西洋鲷(*Pleuronectes ferruginea*)消化道发生的组织学研究所得结果有明显不同,后者为孵化后29天,食道也明显分为前后两段,但后段杯状细胞更丰富。

孵化后26天,胃在结构和功能上尚不完善。胃壁较薄,肌层尚不发达,胃与小肠交界处尚无幽门盲囊形成,胃壁上胃腺处于初始发育状态。幽门盲囊为胃与小肠连接处由于腔壁褶起而形成的囊,能适当储存食物,并在小肠前对食物进行进一步消化;胃腺的形成将使胃的结构和功能趋于完善。业已报道,幽门盲囊和胃腺的形成时间,在不同鱼类和不同生长条件下有所不同。Baglolle等^[10]对大西洋鲷消化道发生的组织学研究结果显示,孵化后29~36天,胃腺和幽门盲囊发育形成。Gisbert等^[11]对北美牙鲆(*Paralichthys californicus*)的研究结果为孵化后27~30天,胃基底部胃腺分化形成。而Cousin

和Laurencin等^[12]对大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)的研究结果为孵化后10天,胃腺和幽门盲囊已发育形成。本实验中圆斑星鲷孵化后26天,在胃壁较厚处已出现胃腺细胞,但胃腺尚处于初始发育状态,且幽门盲囊尚未形成。说明圆斑星鲷发育至变态时,其胃壁的结构和功能尚处于初级阶段,变态后胃壁将进一步发育,其功能也有待进一步完善。

本研究结果表明,圆斑星鲷在水温12.5~15.5℃下,孵化后6天,仔鱼开口,此时可开始投喂轮虫。到孵化后14天前,可适当增加轮虫的投喂量,但由于此阶段为仔鱼由内源性营养向外源性营养过渡阶段,还可靠吸收卵黄囊获取部分营养,因此饵料投喂量不必太多。孵化后14~26天,仔鱼消化道大部分结构逐渐形成,消化道内腔扩大,内壁增厚,内壁上黏膜褶皱出现,黏膜上皮中黏液细胞和杯状细胞等增多,消化道的消化吸收能力增强,但胃的结构和功能尚不完善。因此,此阶段还应以活体饵料为主,一方面可逐渐加大轮虫的投喂量,另一方面可适当投喂较大的卤虫无节幼体等。

参考文献:

- [1] 于大国. 新品种推荐—星鲷的养殖[J]. 中国水产, 2001(10): 60-62.
- [2] 郑惠东. 圆斑星鲷的人工繁殖及育苗技术[J]. 福建水产, 2003(3): 15-17.
- [3] 马爱军, 马英杰, 姚善诚. 黑鲷消化系统的胚后发育研究[J]. 海洋与湖泊, 2000, 31(3): 281-287.
- [4] 霍宝香, 张秀梅, 张靖. 白鲟消化系统的胚后发育的组织学研究[J]. 中国水产科学, 1997, 4(3): 23-29.
- [5] 关金贵, 林浩然. 斜带石斑鱼消化系统的胚后发育的组织学研究[J]. 水产学报, 2003, 27(3): 7-10.
- [6] 喻子牛, 孔晓瑜, 孙世春. 真鲷消化道组织学研究[J]. 水产学报, 1997, 21(2): 113-119.
- [7] 郭恩楠, 王鑫, 周培勇. 短盖巨脂鲤消化系统胚后发育学的研究[J]. 莱阳农学院学报, 2002, 19(3): 161-167.
- [8] 刘云, 姜国良, 郑家声. 牙鲆消化道形态学及组织学研究[J]. 青岛海洋大学学报, 2001, 31(4): 548-554.
- [9] 苗红宇, 霍宝香, 刘焕亮. 鲆、鲆、稚鱼消化系统胚后发育的组织学观察研究[J]. 中国水产科学, 2004, 11(1): 1-8.
- [10] Baglolle C., Murrey J., Goff G.P., et al. Ontogeny of the digestive tract during larval development of yellowtail flounder: a light microscopic and mucous histochemical study [J]. J Fish Biol, 1997, 51: 120-134.
- [11] Gisbert E., Piedrahita R.H., Cooklin D.E. Ontogenetic development of the digestive system in California halibut (*Paralichthys californicus*) with notes on feeding practices [J]. Aquaculture, 1997, 151: 120-134.

2004, 232: 455-470.

[12] Cousin J C B, Budin-Laurencin F. Morphogenèse de l'appareil

digestif et de la vessie gaseuse du turbot, *Scophthalmus maximus* L.]. *Aquaculture*, 1985, 47: 305-319.

Morphological and histological studies on development of digestive system in *Verasper variegatus* Temminck et Schlegel larvae prior to metamorphism

WANG Si-feng, ZHANG Zhi-feng, ZHANG Quan-qi, WANG Kai-shun

(College of Life Sciences, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

Abstract: *Verasper variegatus* Temminck et Schlegel is a species of marine flounder commonly named spotted halibut and inhabits sandy and muddy bottoms in coastal areas of the east of China, the central of Japan and the southwest of Korea. As a valuable commercial species, *Verasper variegatus* is a promising candidate for marine aquaculture. A few studies have been conducted on the digestive system of a number of flatfish species such as *Paralichthys olivaceus* and *Scophthalmus maximus*. But the knowledge of the development of the digestive system in *Verasper variegatus* is not available. In this paper the development of the digestive system was studied morphologically and histologically in larval *Verasper variegatus* from hatching to the 26th day after hatching (DAH). The aim of this study was to achieve a better understanding of their organization and functionality which may help synchronize the stage of development with the rearing technology and feeding practices, and to provide a basis for future nutritional and physiological studies during larval rearing. Specimens for this study were maintained at 12.5-15.5 °C. The digestive duct was a straight tube lying dorsal to the yolk sac at the newly hatched larvae (0 DAH), while the mouth and anus were not opened. With the development of the larvae, the digestive tube lengthened and accessory glands (liver and pancreas) appeared. Mouth was open on the 6th DAH. With mucosal fold increasing, the digestive tract was obviously segmented into buccopharynx, oesophagus, stomach, intestine and rectum on the 10th DAH. The yolk sac disappeared and the larvae depended on exogenous feeding completely on the 14th DAH. On the 26th DAH gastric glands in the gastric wall appeared but were underdeveloped and the pyloric caeca were not found. The above results indicated that the larvae may intake food at the time of mouth opening and on the 26th DAH the stomach was not completely functional although the digestion function of the digestive system was gradually strengthened during larvae development. So it was suggested that the larvae could be weaned to rotifer on the 6th DAH and it was suitable to feed larvae prior to metamorphism on live food including Rotifer and *Artemia nauplii* rather than artificial diets. [Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13(1):1-7]

Key words: *Verasper variegatus*; larvae; digestive system; morphology; histology

Corresponding author: ZHANG Zhi-feng. E-mail: zdfp107@ouc.edu.cn

图版 I 说明

1: 初始孵化仔鱼; a. 后肠区纵切; b. 前肠区纵切。2: 孵化后 3 天仔鱼; a. 直肠区纵切; b. 口咽区横切。3: 孵化后 6 天仔鱼; a. 食道横切; b. 前肠区纵切。4: 孵化后 10 天仔鱼; a. 食道横切。5: 孵化后 14 天仔鱼; a. 小肠区横切。6: 孵化后 10 天仔鱼平切; a 示后咽区。7: 孵化后 26 天仔鱼口咽腔横切; a. 示鳃弓上味蕾。8: 孵化后 19 天仔鱼纵切; a. 示食道前段杯状细胞。

ae—食道前段; bpc—口咽腔; dt—消化道; es—食道; ga—鳃弓; gc—杯状细胞; in—小肠; mc—黏液细胞; mf—黏膜褶皱; mo—口; n—脊索; pe—食道后段; pi—后肠; pp—后咽区; r—直肠; st—胃; tb—味蕾; ys—卵黄囊。

图版 II 说明

1: 孵化后 26 天仔鱼横切。2: 孵化后 26 天仔鱼横切。3: 孵化后 10 天仔鱼纵切。4: 孵化后 14 天仔鱼纵切。5: 孵化后 26 天仔鱼纵切。6: 孵化后 6 天仔鱼纵切。7: 孵化后 26 天仔鱼横切。8: 孵化后 19 天仔鱼纵切。9: 孵化后 26 天仔鱼纵切。10: 孵化后 3 天仔鱼纵切。11: 孵化后 26 天仔鱼纵切。12: 孵化后 26 天仔鱼纵切。

bpc—口咽腔; bb—纹状缘; dt—消化道; es—食道; ep—上皮层; gc—杯状细胞; gg—胃腺; gp—胃小凹; in—小肠; hc—肝细胞; hs—肝血窦; li—肝脏; m—肌肉层; mf—黏膜褶皱; pa—胰腺; r—直肠; sm—黏膜下层; smm—次级黏膜褶; so—体节; st—胃; ys—卵黄囊。

Explanation of Plate I

1: Newly hatched larvae; a. Longitudinal section of hindgut; b. Longitudinal section of foregut. 2: The 3rd DAH larvae; a. Longitudinal section of rectum; b. Cross section of buccalpharynx cavity. 3: The 6th DAH larvae; a. Cross section of esophagus; b. Longitudinal section of foregut. 4: The 10th DAH larvae; a. Cross section of esophagus. 5: The 14th DAH larvae; a. Cross section of intestine. 6: Horizontal section of the 10th DAH larvae; a. Showing posterior pharynx. 7: Cross section of buccalpharynx cavity in the 26th DAH larvae; a. Showing taste bud in gill arrow. 8: Longitudinal section of the 19th DAH larvae; a. Showing goblet cell in anterior pharynx.

ae—anterior esophagus; bpc—buccalpharynx cavity; dt—digestive tract; es—esophagus; ga—gill arrow; gc—goblet cell; in—intestine; mc—mucous cell; mf—mucous fold; mo—mouth; n—notochord; pe—posterior esophagus; pi—posterior intestine; pp—posterior pharynx; r—rectum; st—stomach; tb—taste bud; ys—yolk sac.

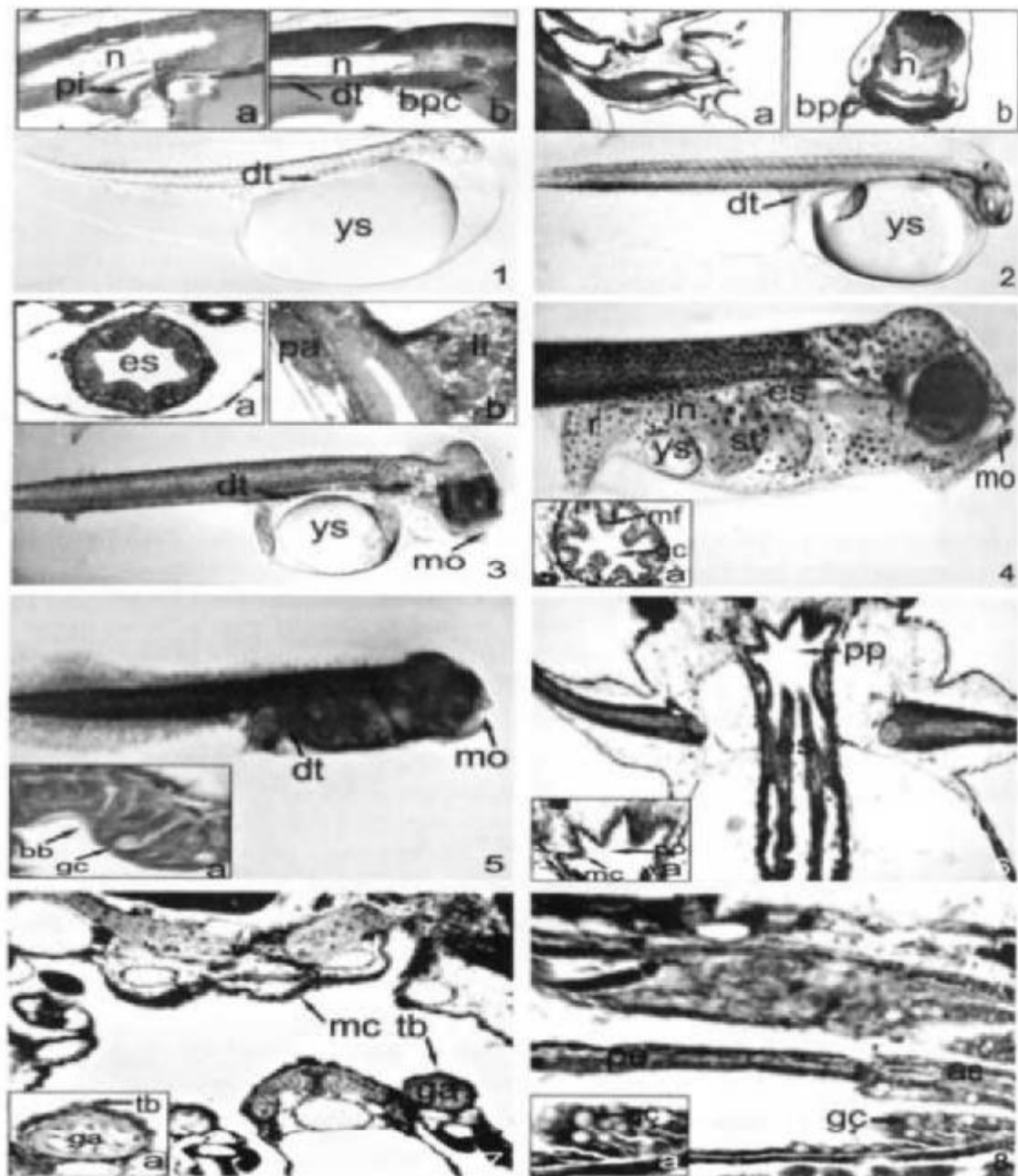
Explanation of Plate II

1: Cross section of the 26th DAH larvae. 2: Cross section of the 26th DAH larvae. 3: Longitudinal section of the 10th DAH larvae. 4: Longitudinal section of the 14th DAH larvae. 5: Longitudinal section of the 26th DAH larvae. 6: Longitudinal section of the 6th DAH larvae. 7: Cross section of the 26th DAH larvae. 8: Longitudinal section of the 19th DAH larvae. 9: Longitudinal section of the 26th DAH larvae. 10: Longitudinal section of the 3th DAH larvae. 11: Longitudinal section of the 26th DAH larvae. 12: Longitudinal section of the 26th DAH larvae.

bpc—buccalpharynx cavity; bb—brush border; dt—digestive tract; es—esophagus; ep—epithelium; gc—goblet cell; gg—gastric gland; gp—gastric pits; in—intestine; hc—hepatic cell; hs—hepatic sinus; li—liver; m—muscularis; mf—mucous fold; pa—pancreas; r—rectum; sm—submucosa; smm—sub mucous membrane; so—somite; st—stomach; ys—yolk sac.

王思锋等:圆斑星螺仔鱼变态前消化系统发生的形态学和组织学研究

WANG Si-feng et al: Morphological and histological studies on development of digestive system in *Verasper variegatus* Temminck et Schlegel larvae prior to metamorphism

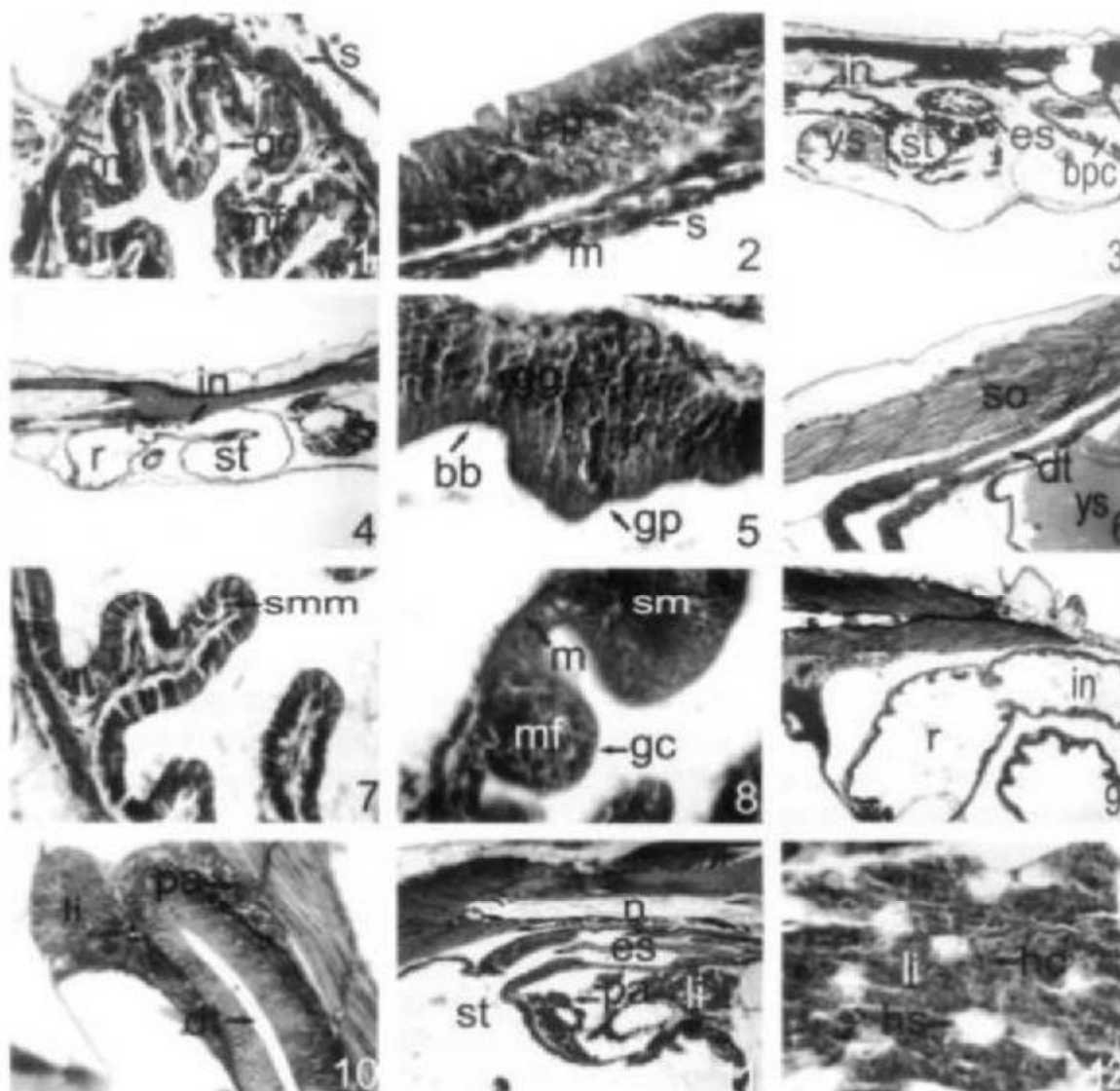


图版 I Plate I

(图版 I 说明见第 5 页 Explanation of Plate I at page 5)

王思锋等:圆斑星螺仔鱼变态前消化系统发生的形态学和组织学研究

WANG Si-feng et al: Morphological and histological studies on development of digestive system in *Verasper variegatus* Temminck et Schlegel larvae prior to metamorphism



图版 II Plate II

(图版 II 说明见第 5 页 Explanation of Plate II at page 5)