

文章编号:1004-7271(2003)04-0348-05

·综述·

牙鲆早期阶段的变态发育及其机制

Metamorphosis and mechanism during early development of Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*

张俊玲, 施志仪

(上海水产大学生物技术研究中心, 上海 200090)

ZHANG Jun-ling, SHI Zhi-yi

(Research center of Biotechnology, Shanghai Fisheries University, Shanghai 200090, China)

关键词: 牙鲆; 变态; 机制

Key words: *Paralichthys olivaceus*; metamorphosis; mechanism

中图分类号: S917 文献标识码: A

鱼类仔鱼在形态和生理上通常明显不同于其稚鱼或成鱼, 仔鱼向稚鱼的转变过程往往是剧烈的, 这种转变称之为变态^[1]。硬骨鱼类中最为典型的变态是鲽形目鱼类, 而牙鲆(*Paralichthys olivaceus* T. & S.) 作为鲽形目鱼类中一种重要的经济鱼类, 已逐渐成为研究鱼类变态的极好的模式生物^[2]。对于牙鲆变态的研究, 国外有较多的报道, 已经确认甲状腺激素在牙鲆变态中起重要作用^[3]。目前国内对牙鲆变态的研究仅停留在形态描述^[4]、激素处理^[5]、生态调控^[6]上, 而有关变态机制方面的报道则较少。因此, 本文仅就牙鲆早期阶段的变态发育及其变态机制作一简单综述, 为今后鲽形目鱼类变态机理的进一步研究提供理论基础。

1 变态期的划分

关于牙鲆早期阶段的划分, 主要以形态特征的发育为依据^[4], 而对其变态期亦主要以标识变态特征的右眼移动和冠状幼鳍的消失过程为划分标准^[7-9]。最近, 我国刘立明^[10]在秉承这一划分标准的基础上, 结合牙鲆变态过程中的生态习性和摄食变化规律, 将变态期划分为 3 个亚期 5 个阶段。本文仍采用 Miwa 等^[9]的划分方法, 即变态前(Premetamorphosis): 指眼睛移动之前的阶段。仔鱼在外形上完全对称。变态前期(Prometamorphosis): 从眼睛开始移动到冠状幼鳍开始缩短。在此阶段, 冠状幼鳍继续延长。变态高峰期(Climax): 从冠状幼鳍开始缩短到完全消失和眼睛移动结束。变态后期(Postclimax): 从冠状幼鳍完全消失和眼睛移动结束到背鳍边缘前部上的黑色素颗粒消失和侧线形成。之后进入稚鱼期。

收稿日期: 2003-03-13

基金项目: 国家自然科学基金项目(30271017)

作者简介: 张俊玲(1975-), 女, 河北保定人, 上海水产大学 2001 级硕士研究生, 专业方向为水产动物种质资源及遗传育种。

通讯作者: 施志仪(1954-), 男, 上海人, 博士, 教授, 从事水产动物生物技术和海洋药物研究。E-mail: zyshi@shfu.edu.cn

2 牙鲆变态期间的形态学变化

2.1 外部形态的变化

2.1.1 右眼的移位

右眼开始移动标志着不对称发育的开始^[11]。变态前,两只眼睛分别位于身体的左右两侧。变态后,右眼移位到身体左侧,位于原来左眼的上方。两只眼睛位于身体的同侧,是牙鲆变态发育中最明显的左右不对称发育现象。

2.1.2 冠状幼鳍的消长

冠状幼鳍位于背鳍前端,变态前有 5 根延长的鳍条。变态之初,分化为 6 根,且开始伸长,最大时几乎等于头高^[4]。变态高峰期,开始缩短,至变态后期,冠状幼鳍完全消失。冠状幼鳍这一延长-缩短-完全消失的现象,很可能与蝌蚪的尾巴退化有着相似的变化机理^[12,13]。

2.1.3 体色的左右不对称

变态前,牙鲆仔鱼身体透明,体表色素稀疏。变态期间,其体表色素增多,腹部肌肉增厚,身体变成不透明。变态后,有眼侧体表上已被褐色、黑色素细胞布满,呈深褐色,而无眼侧黑色素细胞分布稀疏,身体左右两侧体色明显不对称^[4]。

2.2 内部组织结构的变化

2.2.1 脑颅的扭转

牙鲆仔鱼右眼移位过程中,头骨脑颅各骨变化较大,多数表现不对称。为了阐明右眼移位和脑颅不对称发育的机制,早期学者应用整体标本染色技术^[14],观察了牙鲆变态期间脑颅骨的发育,众说纷纭^[8,15-25]。Brewster^[26]将其汇总为五种假设:①脑颅前后的反向扭转;②部分脑颅消融,形成右眼移位的通道;③移动的眼睛强力穿过头部;④韧带推动右眼移到身体左侧;⑤眼睛在脑颅和背鳍之间移动。他又在实验的基础上提出自己的见解,认为鲽形目不对称的脑颅主要是由额骨前面部分的重新定位以及无眼侧的侧筛骨的延长所造成的。

Okada 等^[11]在整体标本染色的基础上,又进行了组织切片显微观察,结果与 Brewster^[26]基本一致,但不认同 Brewster 关于侧筛骨的说法,认为采用 Traquair^[15],Kyle^[27],Matsubara^[28]和 Amaoka^[29]曾使用过的“伪头中骨”一词更为合适。“伪头中骨”是一仅见于鲽形目鱼类仔稚鱼的特殊骨块,在成体中消失(鳊属除外,终生具有^[30])。它仅在无眼侧出现,由眼睛下方增厚的皮肤钙化形成,当右眼移动时,急剧向背侧延长。它的出现似乎是推动右眼直接向背侧移动,或至少是防止右眼反方向移动。Okada 等^[11]首次报道了眶后囊(retroorbital vesicles),它很可能是 Brewster^[26]提到的囊状结构“眼心(ocular heart)”。与有眼侧相比,无眼侧的眶后囊生长得快而大,表明它很可能推动眼睛移向身体左侧,也有可能无眼侧眶后囊的膨大是右眼移位的结果,这一点仍需超微结构观察,才能作定论。此外,横纹软骨、副蝶骨、眶上骨与其他硬骨鱼类一样,也向有眼侧发生扭转,但由于它们与两眼间的距离较大,因此认为它们在眼睛移动过程中并未发挥关键作用。因此,伪头中骨的不对称出现及生长以及无眼侧眶后囊的膨大可能是牙鲆变态过程中右眼移动的原因。从分子水平上讲,它是由一系列受特异性调控表达的基因控制的,通过分子生物学的手段有望能在变态机理研究上取得突破。

2.2.2 血红细胞的变化

变态前,仔鱼型血红细胞大而圆,具有圆形的固缩核。变态高峰期,未成熟的成体型血红细胞出现,细胞小,圆形或略呈椭圆形,且核大。变态完成后,这些细胞转变为成熟的成体型血红细胞,椭圆形^[31]。

2.2.3 骨骼肌的变化

变态前,牙鲆骨骼肌由薄层肌纤维组成,肌原纤维含量少。变态高峰期,肌纤维变厚,肌原纤维含量丰富。聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)和 Western 印迹表明,在变态高峰期肌钙蛋白-T(TNT)和肌球蛋白轻链的异构形式分别发生改变^[32,33]。变态前,TNT 的异构形式为 41.5kDa 和 34.0kDa,且前者为主;

变态高峰期, TNT 的异构体为 33.5kDa 和 34.0kDa, 且以 33.5kDa 为主。肌球蛋白分子由两条重链, 两条碱基轻链(LC1 和 LC3)和两条 DNTB 轻链组成。变态期间, 成体型 DNTB 轻链(LC2)出现, 逐步代替幼体型轻链(LC2*), 而两条重链和碱基轻链在变态期间稳定不变。

2.2.4 胃的变化

变态前, 牙鲈的胃由一薄的平滑肌层, 薄的结缔组织层和单一的柱状上皮组成, 无腺体结构。变态期间, 柱状上皮形成复杂的折叠和小囊, 且出现腺泡结构, 胃腺形成, 且开始分泌胃蛋白酶原。而且, 变态前胃壁对胃蛋白酶原无免疫抗性, 变态后则具有强的抗性^[13]。

2.3 生态习性的变化

随着牙鲈变态期各阶段的组织器官分化与生理功能的改变, 其生态习性也发生急剧的变更。变态前, 鱼体侧卧, 营浮游性的生活方式。变态前期, 胃肠功能逐步完善, 其背、臀、尾鳍等主要运动器官开始发生并逐步分化, 仔鱼于水体上层保持水平游动, 集群的仔鱼降至水体中层摄食, 并有夜间沉底、白天上浮的习性^[10]。此时摄食丰富, 为进一步变态的深化提供了能量保证。进入变态高峰期, 仔鱼从水域中下层生活完全转归底栖生活, 静卧池底, 极少活动, 多数鱼苗此时基本停止摄食。变态完成后, 鱼体平卧, 营底栖性的生活方式, 对饵料生物的摄食量增大, 其摄食行为、生活方式已基本与成鱼相似。

3 变态机制

3.1 甲状腺激素在牙鲈变态中的作用

一些研究者证实甲状腺激素在鱼类代谢活动、生殖、胚胎发育、仔鱼生长、变态及其存活等方面起着非常重要的作用^[6]。自从 1985 年日本学者 Inui 等^[34]发现牙鲈变态过程中甲状腺素(T_4)水平急剧升高以来, 国内外众多学者围绕牙鲈变态期间甲状腺激素的作用展开了许多研究, 相继报道了在牙鲈发育变态过程中甲状腺激素对其形态结构和生化成分的变化影响。如国内鲍宝龙等^[5]报道, 用外源性 T_4 处理能促进后期仔鱼提前变态并提高变态成活率。Yamano 等^[32, 33]研究表明, 施用外源性 T_4 能诱导仔鱼骨骼肌细胞形态发生改变, 使肌钙蛋白和肌球蛋白轻链提早转变为成体型, 以适应仔鱼从浮游性生活向底栖性生活转变。Miwa 等^[31]研究发现, 在仔鱼变态过程中, T_4 能使体内血红细胞从幼体型转变为成体型。Miwa 等^[35]还发现, 甲状腺激素能促进胃上皮细胞的增殖和分化, 进而提前分泌胃蛋白酶原。De Jesus 等^[36-37]报道, 甲状腺激素诱使变态过程中仔鱼冠状幼鳍缩短, 而且 T_3 较之 T_4 具有更强的生物活性^[38]。Okada 等^[11]认为甲状腺激素在牙鲈右眼移位中也起着重要的作用。

3.2 甲状腺激素作用机制

人们认为在牙鲈变态过程中, 仔鱼的各个器官的普遍发育或重新定位, 包括组织特异性蛋白表达的改变或起始, 这一过程直接或间接地为甲状腺激素所控制^[4], 而甲状腺激素是通过结合它的核受体(TRs)起作用的^[13]。TRs 属于核类配体激活的转录调节因子超家族^[39], 其 N 末端有 DNA 结合区, C 末端是配体-甲状腺激素结合区。甲状腺激素进入细胞核后与其受体结合, 激活受体, 并使之结合于基因的一段特定的 DNA 序列, 即甲状腺应答因子(responsive element), 从而正向或反向调节特定基因的转录和表达^[40, 41]。但是, 关于甲状腺激素通过其核受体调控牙鲈变态的具体运行机制, 目前仍不十分清楚。

3.3 其它激素对牙鲈变态的影响

De Jesus 等^[36]报道, 牙鲈仔鱼发育至变态高峰期时, 肾上腺皮质激素含量骤增, 随后下降至基础水平。De Jesus 等^[42]又通过体外培养鳍条实验, 发现促乳素抑制鳍条消失, 生长激素作用不明显, 而雌二醇和睾酮在整个变态期间均保持很低水平(1ng/g 以下)^[37], 并且认为甲状腺激素 T_4 、 T_3 直接刺激鳍条变短, 其它激素如促乳素、肾上腺皮质激素和类固醇激素等并不直接影响这一消融过程, 而是通过影响甲状腺激素间接起作用。因而, 我们认为这些激素很可能通过影响甲状腺激素的水平而影响牙鲈变态。

3.4 外源因子对牙鲆变态的影响

研究发现,适宜的高温可以促进牙鲆仔鱼生长并缩短变态时间^[10],可能较高水温可诱导甲状腺激素的较早分泌与积累,并促进其生物活性,从而提高生物体对激素的敏感性^[43]。其它环境因子如 pH、盐度以及营养条件等均在一定程度上影响甲状腺激素的作用^[6],很可能对牙鲆变态有一定的影响。

4 展望

近年来,人们把研究的重点越来越多地放到了牙鲆变态的内在分子机制上。Yamano 等^[44,45]克隆了牙鲆甲状腺激素受体 (TR α 和 TR β) 基因,并研究表明该基因序列与哺乳类和两栖类动物的甲状腺激素受体基因具有高度同源性。Yamano 等^[2]又通过 RT-PCR 和原位杂交实验,发现 TR 亚型在牙鲆变态期间 (TR α A、TR α B 和 TR β 1、TR β 2) 基因表达具有组织特异性和时间特异性。甲状腺激素调控基因表达不仅有时空特异性,而且其调控的许多基因有量的依赖性。由于甲状腺激素调控的复杂性,至今不能揭示牙鲆变态的分子机制。

Hashimoto 等^[46]发现 *rev* 座位的逆转导致牙鲆眼睛移动方向的紊乱和 *pitx2* 基因的异位表达。*Pitx2* 被认为是脊椎动物中调节内脏器官左右不对称的中心效应子^[47]。他的结果表明 *rev* 座位对牙鲆胚胎阶段内脏器官的左右不对称和变态时期的左右不对称有重要作用,但是,关于 *rev* 座位的位置和特征以及牙鲆变态期间的左右不对称是否与胚胎阶段内脏器官的左右不对称拥有相同的分子机制,还有待于进一步探讨。

参考文献：

- [1] Blaxter J H S. Pattern and variety in development [A]. Fish physiology. The physiology of development fish, XI Part A [M]. San Diego :Academic Press, 1988 :1 - 58.
- [2] Yamano K, Miwa S. Differential gene expression of thyroid hormone receptor α and β in fish development [J]. Gen Comp Endocrinol, 1998, 109 :75 - 85.
- [3] Inui Y, Miwa S, Yamano T. Hormonal control of flounder metamorphosis [A]. Perspectives in comparative endocrinology [M]. Ottawa :National Research Council, 1994 :408 - 411.
- [4] 张孝威,何桂芬,沙学坤. 牙鲆和条鳎卵子和仔稚鱼的形态观察 [J]. 海洋与湖沼, 1965, 7(2) :158 - 174.
- [5] 鲍宝龙,张臻宇,龚小玲,等. 外源甲状腺激素及可的松对牙鲆早期发育阶段生长、发育和变态的影响 [J]. 上海水产大学学报, 1999, 8(3) :242 - 245.
- [6] 张臻宇,鲍宝龙. 鱼类早期发育阶段甲状腺激素的作用 [J]. 上海水产大学学报, 1999, 8(1) :68 - 75.
- [7] Okiyama M. Study on the early life history of a flounder, *Paralichthys Olivaceus* (Temminck et Schlegel) in Japanese [J]. Bull Jpn Sea Reg Fish Res Lab, 1967, 17 :1 - 12.
- [8] Amaoka K. Studies on the larve and juveniles of the siinistral flounders I. *Taeniopsetta cellata* (Gunther) [J]. Jpn J Ichthyol, 1970, 17 :95 - 104.
- [9] Miwa S, Inui Y. Hiatological changes in the pituitary-thyroid axis during spontaneous and artificially-induced metamorphosis of larve of the flounder, *Paralichthys Olivaceus* [J]. Cell Tissue Res, 1987a, 249 :117 - 123.
- [10] 刘立明. 不同温度条件下牙鲆变态期生长发育变化的研究 [J]. 海洋科学, 1996, 4 :58 - 63.
- [11] Okada N, Takagi Y, Seikai T, et al. Asymmetrical development of bones and soft tissues during eye migration of metamorphosing Japanese flounder, *Paralichthys Olivaceus* [J]. Cell Tissue Res, 2001, 304 :59 - 66.
- [12] Rosenkilde P. The role of hormones in the regulation of amphibian metamorphosis [A]. Metamorphosis [M]. Oxford :Clarendon Press, 1985 :221 - 259.
- [13] Inui Y, Yamano K, Miwa S. The role of thyroid hoemone in tissue development in metamorphosing flounder [J]. Aquaculture, 1995, 135 :87 - 98.
- [14] Dingerkus G, Uhler L D. Enzyme clearing of Alcian blue stained whole small vertebrates for demonstration of cartilage [J]. Stain Technol, 1977, 52 :229 - 332.
- [15] Traquair R H. On the asymmetry of the Pleuronectidae as elucidated by an examination of the skeleton in the turbot, halibut, and plaic [J]. Trans Linn Soc (Lond), 1865, 25 :263 - 296.
- [16] Agassiz A. On the young stages of bony fishes [J]. Proc Am Acad Arts Sci, 1879, 14 :1 - 25.
- [17] Williams S R. The changes in the facial cartilaginous skeleton of the flatfishes, *Pseudopleuronectes americanus* (a dextral fish) and *Bothus maculatus* (sinistral) [J]. Science New Ser, 1901, 13 :378 - 379.

- [18] Amaoka K. Studies on the larve and juveniles of the siinistral flounders ,II. *Chascanopsetta lugubris*[J]. Jpn J Ichthyol ,1971 , 18 :25 – 32.
- [19] Amaoka K. Studies on the larve and juveniles of the siinistral flounders ,III. *Laecops kitahara*[J]. Jpn J Ichthyol ,1972 ,19 :154 – 165.
- [20] Amaoka K. Studies on the larve and juveniles of the siinistral flounders ,IV. *Arnoglossus japonicus*[J]. Jpn J Ichthyol ,1973 ,20 :145 – 156.
- [21] Futch C R. Larvae of *Trichopsetta ventralis* (Pisces , Bothidae) ,with comments on intergeneric relationships within the Bothid-a[J]. Bull Mar Sci , 1977 ,27 :740 – 757.
- [22] Evseenko S A. Some data on metamorphosis of larvae of the genus *Bothus*(Pisces , Bothidae)from the Caribbean sea[J]. Zool Zh ,1978 ,57 :1040 – 1047.
- [23] Minami T. The early life history of a flounder *Paralichthys Olivaceus* (in Japanese) [J]. Bull Jpn Soc Sci Fish ,1982 ,48 :1581 – 1588.
- [24] Policansky D. The asymmetry of flounders[J]. Science ,1982 ,246 :96 – 102.
- [25] Wagemans F , Focant B , Vandewalle P. Early development of the cephalic skeleton in the turbo[J]. J Fish Biol ,1998 ,52 :166 – 204.
- [26] Brewster B. Eye migration and cranial development during flatfish metamorphosis : a reappraisal (Teleostei :Pleuronectiformes) [J]. J Fish Biol , 1987 ,31 :805 – 833.
- [27] Kyle H M. The asymmetry , metamorphosis and origin of flat-fishes[J]. Philos Trans R Soc Lond Biol ,1921 ,2 – 11 :75 – 129.
- [28] Matsubara K. Pleuronectidae (in Japanese) [A]. Fish morphology and hierarchy , part I[M]. Tokyo :Ishizaki-shoten ,1964 :1217 – 1291.
- [29] Amaoka K. Studies on the siinistral flounders found in the waters around Japan-taxonomy ,anatomy and phylogeny[J]. J Shimonoseki Univ Fish , 1969 ,18 :225 – 249.
- [30] 李思忠 王惠民. 中国动物志 [M]. 北京 :科学出版社 , 1995. 14.
- [31] Miwa S , Inui Y. Thyroid hormones stimulates the shift of erythrocyte populations during metamorphosis of the flounder[J]. J Exp Zool ,1991 ,259 : 222 – 228.
- [32] Yamano k , Miwa S , Obinata T , et al. Thyroid hormone regulates developmental changes in muscle during flounder metamorphosis[J]. Gen Comp Endocrinol ,1991a ,81 :464 – 472.
- [33] Yamano k , Takano-Ohmuro H , Obinata T , et al. Effect of thyroid hormone on developmental transition of muosin light chains during flounder metamorphosis[J]. Gen Comp Endocrinol ,1994b ,93 :321 – 326.
- [34] Inui Y , Miwa S. Thyroid hormone induces metamorphodid of flounder larva[J]. Gen Comp Endocrinol ,1985 ,60 :450 – 454.
- [35] Miwa S , Yamano K , Inui Y. Thyroid hormone stimulates gastric development in flounder larvae during metamorphosis[J]. J Exp Zool ,1992 ,261 : 424 – 430.
- [36] De Jesus E G , Inui Y , Hirano T. Cortisol enhances the stimulating action if thyroid hormones on dorsal fin-ray resorption of flounder larvae in vitro [J]. Gen Comp Endocrinol ,1990 ,79 :167 – 173.
- [37] De Jesus E G , Inui Y , Hirano T. Conadal steroids delay spontaneous flounder metamorphosis and inhibit Tsul(3)-induced fin ray shortening in vitro[J]. Zool Sci ,1992 ,9(3) :633 – 638.
- [38] Miwa S , Inui Y. Effects of various doses of thyroxine and triiodothyronine on the metamorphosis of the flounder(*Paralichthys Olivaceus*) [J]. Gen Comp Endocrinol ,1987b ,67 :356 – 363.
- [39] Mangelsdorf D J , Thummel C , Beato M , et al. The nuclear receptor superfamily : the second decade[J]. Cell ,1995 ,83 :835 – 839.
- [40] Glass C K , Franco R , Weinberger C , et al. A c-erb-A binding site in rat growth hormone gene mediates trans-activation by thyroid hormone[J]. Nature ,1987 ,329 :738 – 741.
- [41] Chatterjee V K K , Lee J K , Rentoumis A , et al. Negative regulation of the thyroid-stimulating hormone α gene by thyroid hormone : receptor interaction adjacent to the TAT box[J]. Natl Acad Sci USA ,1989 ,86 :9114 – 9118.
- [42] De Jesus E G , Hirano T , Inui Y. Changes in cortisol and thyroid hormone concentrations during early development and metam-orphosis in Japanese flounder[J]. Gen Comp Endocrinol ,1991 ,82 :369 – 376.
- [43] Tanangonan J B , Tagawa M , Tanaka M , et al. Changes in tissue thyroxine level of metamorphosing Japanese flounder *Paralichthys Olivaceus* reared at different temperatur[J]. Nippon Suisan Gakkaishi ,1989 ,55 :485 – 490.
- [44] Yamano k , Araki K , Seikawa K , et al. Cloning of thyroid hormone receptor genes expressed in metamorphosing flounder[J]. Dev Genet ,1994a , 15 :378 – 382.
- [45] Yamano K , Inui Y. cDNA cloning of thyroid hoemone receptor β for the Japanese flounder[J]. Develop Gen ,1995 ,99 :197 – 203.
- [46] Hashimoto H , Mizuta A , Okada N , et al. Isolation and characterization of a Japanese flounder clonal line , reversed , which exhibits reversal of metamorphic left-right asymmetry[J]. Mechanisma of Development ,2002 ,111 :17 – 24.
- [47] 刘冀珑 谭 燕. 左右不对称信号分子 pitx[J]. 生物化学与生物物理进展 ,1999 ,26(1) :3 – 5.