

文章编号 : 1004 - 7271(2006) 04 - 0442 - 06

饥饿对杂交鲟消化系统发育的影响

高露姣^{1,2}, 陈立侨², 宋 兵², 赵晓勤², 陈亚瞿¹

(1. 中国水产科学研究院东海水产研究所农业部海洋与河口渔业重点开放实验室, 上海 200090 ;

2. 华东师范大学生命科学学院, 上海 200062)

摘 要 : 杂交鲟 (*Huso huso* ♀ × *Acipenser baeri* ♂) 仔鱼消化道发育表现从远端逐渐到近端的发育过程 , 而且在其内源性营养阶段变化更剧烈。初孵仔鱼消化系统处于原始分化状态 , 整个消化道只有内胚层细胞及内部的卵黄颗粒和部分分化的后肠 , 口与肛门均未与外界相通 , 随着卵黄囊的吸收 , 仔鱼分别于孵化后第 3 天分化出胃和十二指肠 ; 第 8 ~ 9 天才出现具有胃腺的贲门胃 , 十二指肠和肝脏发生较明显的分化 , 显示功能性消化系统的形成。仔鱼遭受长期饥饿后 (即 12 d 后投喂) , 消化道几乎停止发育 , 24 ~ 25 d 后则明显退化 , 表现为长度缩短 , 管径变小 , 组织学显示 : 胃腺细胞萎缩和数量减少 , 胃肌纤维排列疏松 , 肠微绒毛断裂 , 上皮细胞高度下降 , 细胞内的空泡减少 , 肝组织逐步呈溃散状态 , 肝细胞索破坏 , 细胞界限模糊 , 核仁呈现萎缩或解体。

关键词 : 饥饿 ; 杂交鲟 (欧洲鳇 ♀ × 西伯利亚鲟 ♂) ; 仔鱼 ; 消化系统 ; 发育

中图分类号 S 917 文献标识码 : A

Effect of starvation on digestive system development of hybrid sturgeon (*Huso huso* ♀ × *Acipenser baeri* ♂) larvae

GAO Lu-jiao^{1,2}, CHEN Li-qiao², SONG Bing², ZHAO Xiao-qin², CHEN Ya-qu¹

(1. Key and Open Laboratory of Marine and Estuary Fisheries, Ministry of Agriculture of China, East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China ;

2. College of Life Sciences, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

Abstract : During endogenous feeding phase , differentiation of the digestive tract was an asynchronous and very intense phenomenon , proceeding from the distal to the proximal part . At hatching , the digestive tract was represented by a gastric cavity filled with yolk and partially differentiated hindgut , and did not communicate with the exterior as the mouth and anus were not yet opened . Along with the yolk sac absorption , stomach and duodenum , were differentiated 3 days post hatch , respectively . By 8 - 9 days post hatch , the glandular stomach (cardiac region) was developed , meanwhile there was marked differentiation in duodenum and liver . It suggested a functional alimentary canal was developed . But if the initial feeding time was 12 days post hatch , digestive tract developed hardly . If starved to 24 - 25 d , digestive system of trial fish was retrograded . The alimentary canal seemed shorter and thinner ; Cells of gastric gland decreased and became shrunken ; Muscle fiber of stomach turned to loosened , under light microscope . Furthermore , intestine columnar epithelium became lowered and microvilli ruptured histologically . The structure of liver was broken , such as ligature of hepatic cells became ruptured , nucleolus of

收稿日期 2005-10-18

基金项目 教育部“跨世纪优秀人才培养计划”基金和长江口航道建设有限公司 - 长江口深水航道治理工程生态修复项目

作者简介 高露姣 (1971 -) , 女 , 浙江桐庐人 , 博士 , 副研究员 , 主要从事水生动物营养生理学研究。Tel : 021 - 65684655 , E-mail : lj_

gao490@sohu.com

hepatic cells destroyed, and there were no bounds among hepatic cells.

Key words starvation; *Huso huso* ♀ × *Acipenser baeri* ♂ larvae; digestive system; development

饥饿是影响鱼类生长、发育和生存的重要因素之一。食物不足或缺乏时, 消化系统先受到影响, 仔、稚鱼期是鱼类一生中最脆弱、最关键的阶段, 对饥饿尤为敏感, 故众多学者很注重研究早期生活史阶段饥饿对消化系统的影响^[1-2]。杂交鲟(欧洲鳇♀ × 西伯利亚鲟♂, *Huso huso* ♀ × *Acipenser baeri* ♂)具生长快、抗病能力强等特点, 是我国养殖数量较多的鲟鱼品种。然而在鲟鱼育苗生产尤其是开口阶段, 往往出现仔鱼大量死亡情况^[3-4]。仔鱼的摄食、消化和生长与消化系统的结构密切相关, 本文研究了杂交鲟仔鱼的消化系统发育及饥饿对消化系统的影响, 从消化系统结构上明确杂交鲟仔鱼的适宜投饵时间, 为鲟类人工育苗提供理论基础和指导。

1 材料与方法

1.1 材料

实验用杂交鲟(*Huso huso* ♀ × *Acipenser baeri* ♂)仔鱼(F₁代)取自上海市北部水产养殖中心鲟鱼育苗基地, 选用同批次孵出的健康仔鱼进行实验。

1.2 方法

实验分设饥饿组和投喂组, 投喂组鱼苗于第6天(仔鱼上下颌能动, 肛门打通)开始投饵, 饥饿组一直不投喂。投喂组和饥饿组, 鱼苗均为200尾, 分2个平行。试验时间延续至饥饿组仔鱼全部死亡为止。水族箱规格为150 cm × 100 cm × 80 cm, 流水养殖, 水流速度为5~8 L/h, 水温20~24 °C, pH 7.0~8.0, 溶氧保持在6 mg/L以上。饵料为丰年虫和切碎的新鲜水蚯蚓。

仔鱼出膜24 h后开始采样, 隔天1次从饥饿组和摄食组取样, 每次5尾。Olympus实体解剖镜(带目测微尺)解剖仔鱼, 测量消化道各段长度(胃与十二指肠、十二指肠与瓣肠及瓣肠与直肠间的交界处都有凹陷, 以凹陷为各自分界点)。Bouin氏液固定消化器官, 24 h后用70%酒精冲洗并保存, 常规方法脱水, 石蜡包埋, 连续切片, 厚度5~6 μm, H.E染色, Olympus显微镜下观察并摄影, 目镜测微尺测量。

2 结果

2.1 消化系统外部形态变化

2.1.1 正常仔鱼的消化系统形态变化

仔鱼的消化系统发育中, 肠的分化较早, 刚出膜1 d的仔鱼即可见其后腹内的螺旋状瓣状的肠管, 短而狭小, 仅有2~3个螺旋状的凹陷。出膜后2~3 d的仔鱼食道短而狭小, 尚未形成明显皱褶。3 d时, 在仔鱼卵黄囊背部后端出现一斜向前方的凹陷, 将卵黄囊分成前后两部分, 前一部分就是将来发育成胃的部分, 后一部分将发育成十二指肠。随着卵黄分解与吸收, 在仔鱼5 d时, 可见卵黄囊后部胃的雏型显现。仔鱼出膜后36 h左右即可在心脏后方, 卵黄囊的腹面观察分化出的肝细胞团。随着摄食和生长, 仔鱼消化系统发育很快, 肝脏变大, 胃容积增加, 胃壁加厚, 肠管变长、变粗。

2.1.2 饥饿对仔鱼消化系统形态的影响

从9 d开始, 饥饿组仔鱼消化系统的发育缓慢, 几乎停止发育, 到饥饿后期甚至退化, 主要表现为: 肝脏收缩, 胃容积减小, 肠缩短、变细, 与正常摄食组仔鱼的差异越来越大, 如27 d时, 饥饿组仔鱼的十二指肠、瓣肠和直肠分别为2.063 mm、2.215 mm和1.895 mm, 而摄食组仔鱼的十二指肠、瓣肠和直肠分别长达10.042 mm、7.263 mm和3.747 mm, 分别为饥饿组的4.87倍、3.28倍和1.98倍(图1, 图版-1 2)。

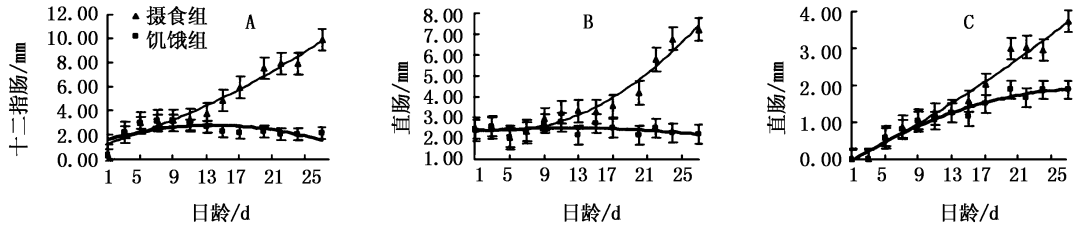


图1 饥饿仔鱼与摄食仔鱼的消化道长度变化

Fig.1 Length change of digestive tract of larvae during starvation, compared with fed larvae of hybrid sturgeon

A. 十二指肠; B. 胰腺; C. 直肠

2.2 消化系统组织学变化

2.2.1 正常仔鱼消化系统组织学变化

食道 1 d仔鱼,食道未分化,也未打通(图版-3),3 d仔鱼的食道由单层柱状上皮组成,并且管腔短而窄,6 d仔鱼的食道上皮发生分化,出现分泌细胞,随着后行,细胞层数逐渐减少,细胞也逐渐变高,到食道后部,变成单层柱状上皮,上皮主要由两种细胞构成,一种为纤毛柱状细胞,核位于基部,纤毛发达,因粘液作用,呈火焰状(图版-4);另一种为一般柱状细胞,较粗,核位于基底,胞质空泡状(图版-5)。7~8 d的仔鱼食道粘膜下层稍增厚,具5~6条纵褶,上皮细胞为柱状紧密排列,表面纹状缘明显。至11 d时,细胞空泡完全消失,粘液细胞增多,粘膜下层增厚,肌层也稍增厚。13 d时,纵褶为8~9个,食道宽度增加明显。17 d的仔鱼食道分化明显,由内而依次为粘膜上皮,固有膜,粘膜下层,肌层及浆膜。以后除纵行肌(不发达)的发生外,食管的变化不明显。

胃 相对于消化道的其它部位,胃的分化较晚。观察出膜7 d的胃壁切片,其构成为内表面的粘膜上皮及固有膜、粘膜下层、肌层以及外层的浆膜。由于卵黄物质的不断吸收,至8~9 d时,摄食仔鱼的贲门胃开始与食道分离出来,位于粘膜层及粘膜下层的胃腺为泡状腺,由立方状的腺细胞构成,其H.E着色为深蓝色,并有细小导管与胃腔相通。胃腺下方是环行平滑肌和浆膜层。在9 d仔鱼的胃腔中还可以看到残留的卵黄颗粒以及黑色素,在空泡状的消化细胞的顶端也吸附有卵黄颗粒(图版-6)。12~13 d以后,除了消化腺部位卵黄颗粒减少以外,胃部没有发生明显的变化。

肠 初孵仔鱼只有原始的瓣肠,肠管细短,肠内仅含黑色素。肠的分化与卵黄的分解与吸收同步进行,2~3 d后,瓣肠开始分化,管壁由单层纤毛柱状上皮细胞组成,没有空泡,其细胞核在细胞的基部,胚胎色素在瓣肠中累积,形成色素栓(图版-9)。9日龄仔鱼,瓣肠的粘膜突起较高,形成螺旋瓣,上皮细胞中出现很多杯状细胞(图版-10)。由卵黄囊凹陷形成的十二指肠,经发育这时也出现大量上皮皱褶,粘膜上皮细胞柱状,细胞排列紧密,细胞界限不明显,有一般柱状细胞、纤毛柱状细胞和杯状细胞。杯状细胞数量相对较少,顶部呈空泡状,核位于基底,核上胞质嗜酸性。肠腔内有剩余的卵黄颗粒(图版-11)。

肝脏 肝突在2 d仔鱼消化道腹部出现,仅为一团松散的卵圆形细胞,4 d仔鱼肝脏分为左右两叶,肝突内出现毛细血管。6 d时,随着肝细胞快速增生,呈现多角形状,其核较大。9 d肝脏出现静脉窦和中央静脉,由双层细胞构成的肝板以中央静脉为中心,向四周分布。肝实质细胞呈多边形,细胞间排列紧密,细胞核大而明显,胞质中有许多H.E染色嗜碱性颗粒(图版-13)。随着仔鱼的发育,其肝细胞排列更为紧密,肝板结构更明显(图版-14)。

2.2.2 饥饿对仔鱼消化系统组织学的影响

胃 饥饿8 d后,粘膜上皮细胞层和粘膜下层变薄,粘膜上皮细胞的高度下降,胃腺萎缩。饥饿12 d后,粘膜上皮细胞层进一步变薄,胃腺萎缩,相互间或外面的结缔组织膜间间隙增大,使该层疏松,酶原颗粒大大减少。饥饿18~19 d(即孵化后24~25 d)以后,胃腺结构严重破坏,表现为腺细胞萎缩,

胃腺数量减少,并且排列杂乱,胃肌纤维疏松呈网状(图版-7、8)。

肠 饥饿期间,肠的结构破坏程度相对最低,各层结构基本完整,但饥饿 21 d 后,十二指肠的微绒毛有断裂,上皮细胞的高度下降,胞质中嗜酸性颗粒减少,肌肉层变薄,且疏松。瓣肠的上皮细胞高度也下降,并且上皮细胞的空泡减少(图版-12)。

肝脏 饥饿 3 d 后,肝脏细胞质中 H.E 染色嗜碱性颗粒减少。饥饿 6 d 后,仔鱼的肝细胞缩小,两两排列成索状,索间有明显的窦状隙,胞质嗜碱性降低。饥饿 12 d 后,肝组织较为疏松,细胞索被破坏,断裂为一些短段。饥饿 21 d 时,肝细胞间的分界模糊,核仁萎缩或解体,偏向或附着在核膜上,导致部分核膜增厚,并使之空泡化(图版-15)。

3 讨论

3.1 正常杂交鲟仔鱼的消化系统发育

与大多数鱼类一样,刚孵化鲟仔鱼的摄食和消化功能没有发育完善,需经过胚后的进一步发育。杂交鲟仔鱼的消化系统的发育不同步,最早发生分化的是瓣肠,最后是贲门胃,这与 Buddington^[5]和 Gisbert 等^[6]对西伯利亚鲟的研究结果相同,为典型的鲟科鱼类消化器官发育^[7]。

从杂交鲟仔鱼消化系统的发育过程可以看出,在卵黄囊期,仔鱼依靠卵黄的分解,从中吸收和利用内源性营养,表现为消化道蛋白质含量的减少以及卵黄分解产生的脂肪在肠和肝脏的纤毛上皮细胞的顶端空泡中的积累。大量脂滴在肠细胞胞质中的积累,被认为是暂时性的储存^[8、9],很可能是由于此时仔鱼脂肪利用率低^[6],刘建虎等^[10]推测这种结构的存在有助于食物和卵黄的消化及其残留物排放,是消化道发育尚不完善而产生的一种对营养物质分解和吸收的机制。仔鱼孵出后 6 d 开始摄食,仔鱼由内源性营养转向外源性营养,仔鱼消化系统的组织结构发生明显分化,但此时消化系统发育仍不完善,过早投喂的食物,堵塞在胃中长达数日而无法消化、吸收,从而造成投喂组仔鱼的大量死亡。仔鱼的干重也呈负增长,说明此时仔鱼尚不能有效利用外源营养物质^[11]。Gisbert 等^[6]的研究结果也表明鲟类仔鱼的消化道发育要慢于其他受精卵较小的鱼类。从解剖学来看,8~9 d 仔鱼的消化道结构已接近于稚鱼和成鱼,但在其胃腔、前肠和中肠的上皮细胞中均尚有卵黄颗粒和顶端空泡存在,说明这一阶段仍为混合性营养阶段。10 d 左右,随着各部位的特化,功能性的消化道已经形成。10 d 投喂仔鱼的生长速度快以及成活率高就是很好的佐证^[12]。所以认为杂交鲟仔鱼的适宜开口投喂时间应为孵化后 10 d 左右,并且应注意在投喂早期严格控制投饵量。

3.2 饥饿对杂交鲟仔鱼消化系统发育的影响

仔稚鱼期是鱼类生活史过程中最不能忍受饥饿的阶段,但不同的鱼类耐饥饿能力不同。Lasker 等^[13]报道延期 1、2 或 3 d 投饵对北鳊鱼(*Saedinops caerulea* Girard)仔鱼的生长和存活即会发生严重影响。本实验结果,如果第 13 天以后仍不投喂,消化道的发育就越来越受饥饿的影响,至后期(第 24~25 天),消化道和附属腺体出现退化性改变。不仅消化道的长度和管径严重缩小,而且胃腺细胞缩小,数量减少,排列杂乱,肝细胞界限模糊,核仁萎缩或溶解。即使这时提供充足的食物,仔鱼的消化系统结构也不能恢复正常,这与饥饿仔鱼初次摄食率和存活率研究所得的 PNR 点的时间相吻合^[11]。另一方面研究结果也说明杂交鲟仔鱼具有耐受长期饥饿的能力,这与其较大的初孵仔鱼体型和卵黄囊体积有关^[11]。杂交鲟仔鱼在饥饿后期出现肠上皮细胞高度下降,是因为肠上皮细胞中的内含物逐渐减少有关,这南方鲇(*Silurus meridionalis* Chen)^[1]、金头鳊(*Sparus aurata* L.)^[14]等研究结果相似,杂交鲟仔鱼饥饿后期出现核仁解体现象,仅见南方鲇仔鱼有报道^[1]。

衷心感谢上海市北部水产养殖中心的总经理徐彦明先生为本实验的实施提供各种方便。

参考文献:

- [1] 宋昭彬,何学富. 饥饿对南方鲇仔稚鱼消化系统的形态和组织学影响[J]. 水生生物学报, 2000, 24(2):155-159.
- [2] Bisbal G A, Bengtson D A. Description of the starving condition in summer flounder, *Paralichthys dentatus*, early life history stages[J]. Fish Bull, 1995, 93:217-230.
- [3] 庄平,章龙珍,张涛等. 史氏鲟南移驯养及生物学的研究(I) [J]. 淡水渔业, 1998, 28(4):8-11.
- [4] 陈声栋,郭宇龙,胡斌等. 施氏鲟人工配合饲料试验总结报告[J]. 黑龙江水产, 1996(3):23-27.
- [5] Buddington R K. Digestive secretions of lake sturgeon, *Acipenser fulvescens*, during early development[J]. J Fish Biol, 1985, 26:715-723.
- [6] Gisbert E, Rodriguez A, Castell-Orvay F, et al. A histological study of the development of the digestive tract of Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*) during early ontogeny[J]. Aquaculture, 1998, 167:195-209.
- [7] 四川省长江水产资源调查组. 长江鲟鱼类生物学及人工繁殖研究[M]. 成都:四川科学技术出版社, 1988.
- [8] Heming T A. Effects of temperature on utilization of yolk by chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) eggs and alevins[J]. Can J Fish Aquac Sci, 1982, 39:184-190.
- [9] Watanabe Y, Sawada N. Larval development of digestive organs and intestinal absorptive functions in the freshwater goby, *Chaenogobius annularis* [J]. Bull Jap Soc Sci Fish, 1985, 50:805-814.
- [10] 刘建虎,叶元土,王学文等. 南方大口鲇消化管胚后发育组织学研究[J]. 中国水产科学, 1999, 16(1):18-23.
- [11] 宋兵,陈立侨,高露姣等. 饥饿对杂交鲟仔鱼摄食、生长和体成分的影响[J]. 水生生物学报, 2004, 28(3):334-336.
- [12] 宋兵,陈立侨,高露姣等. 延迟投饵对杂交鲟仔鱼生长、存活和体成分的影响[J]. 中国水产科学, 2003, 10(3):222-226.
- [13] Lasker R. Efficiency and rate of yolk utilization by developing embryos and larvae of the pacific sardine *Sardinops caerulea* (Girard) [J]. J Fish Res Bd Can, 1962, 19:867-875.
- [14] Yufera M, Pascual E, Polo A, et al. Effect of starvation on the feeding ability of gilthead seabream (*Sparus aurata* L.) larvae at first feeding[J]. J Exp Mar Biol Ecol, 1993, 169:259-272.

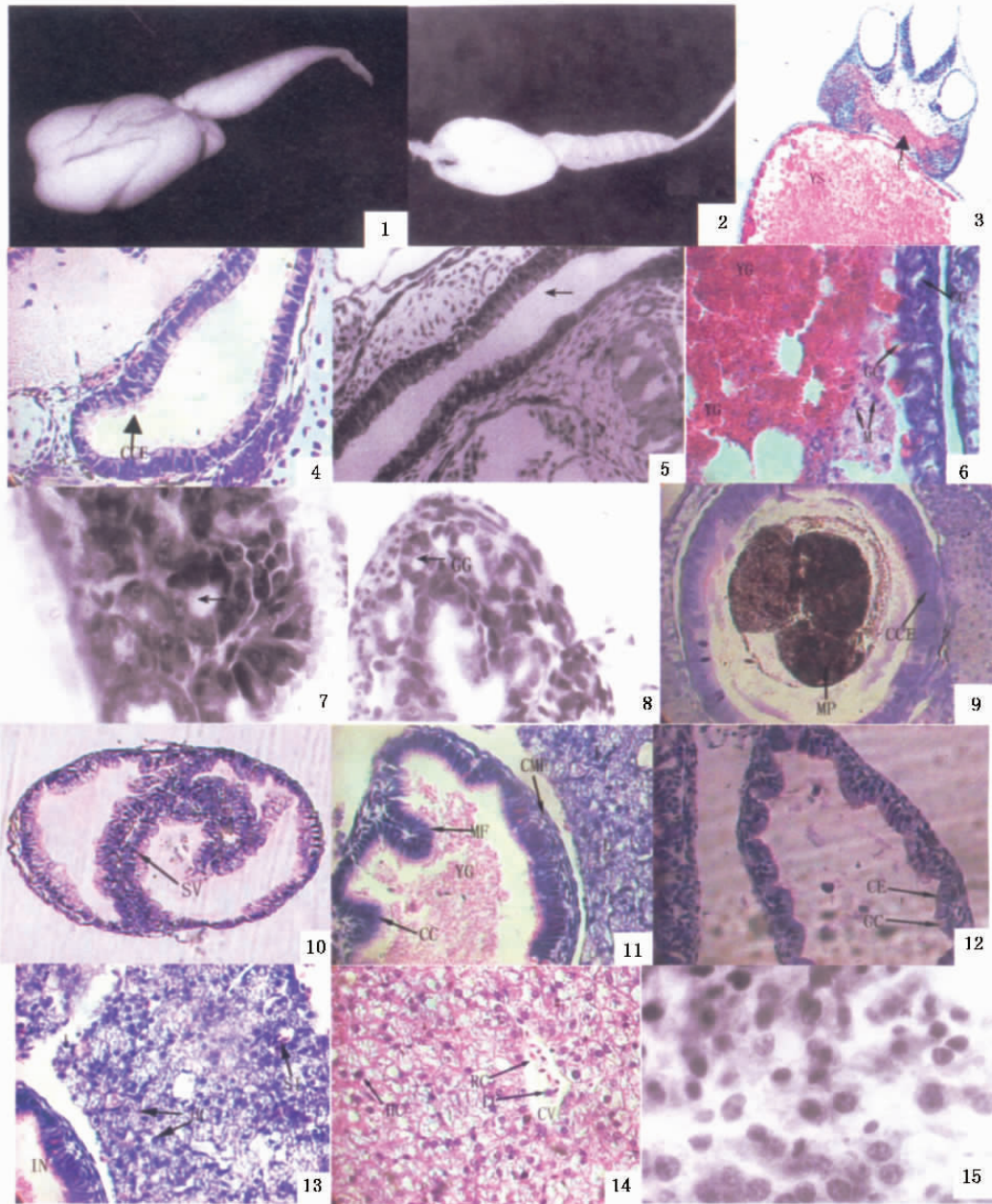
欢迎订阅 2007 年《海洋渔业》

《海洋渔业》创刊于 1979 年,是中国科学技术协会主管、中国水产学会和中国水产科学研究院东海水产研究所主办的学术期刊。《海洋渔业》主要刊载海洋水产资源与捕捞、海水增养殖、渔业水域生态环境保护、水产品保鲜与综合利用、水产生物技术、渔业机械与仪器等方面的水产基础理论研究和水产应用基础研究的论文、综述和简报,读者对象主要为海洋水产科技工作者、水产院校师生和渔业行政管理人员等。

《海洋渔业》于 2006 年被“中国科技论文统计源期刊”(中国科技核心期刊)收录,还先后被《中国期刊全文数据库》(CJFD)、《万方数据—数字化期刊群》、《中文科技期刊数据库》、联合国《水科学和渔业文摘》(ASFA)等期刊数据库收录。

《海洋渔业》为国内外公开发行人,国内统一刊号:CN31-1341/S,国际标准刊号:ISSN 1004-2490,邮发代号:4-630。季刊,大 16 开,88 页,逢季中月 25 日出版。定价:14 元/册。读者可在当地邮局订阅,也可直接汇款至编辑部订阅。

编辑部地址:上海市军工路 300 号,邮编:200090,电话:021-65680116,021-65684690 × 8048,传真:021-65683926, E-mail: haiyangyue@tom.com, haiyangyue@126.com, 网址: www.eastfishery.ac.cn



图版 Plate

1. 27 d摄食稚鱼消化道背面观, $\times 3.5$; 2. 22 d饥饿稚鱼消化道背面观, $\times 12$; 3. 初孵仔鱼纵切, 示食道(esophagus, E)上皮细胞未分化, 食道被卵黄填充, $\times 14$; 4. 6 d仔鱼食道后部横切, 示食道上皮为单层柱状上皮, 而且多为纤毛柱状上皮细胞(ciliated columnar epitheliums, CCE), 呈火焰状, $\times 42$; 5. 6 d仔鱼食道横切, 示柱状细胞(箭头所指)胞质空泡状, $\times 46$; 6. 9 d仔鱼贛门胃横切, 固有膜内有管状胃腺(gastric glands, GG), 腔内有卵黄颗粒(YG)和黑色素(melanin, M), 吸附有卵黄颗粒的消化细胞(gastric cell, GC), $\times 60$; 7. 25 d摄食仔鱼的胃壁横切, \uparrow 示由立方形腺细胞组成的胃腺, $\times 82$; 8. 25 d饥饿仔鱼的胃壁横切, 示饥饿后胃腺(GG)细胞缩小, 排列杂乱, $\times 175$; 9. 2 d仔鱼的瓣肠横切, 被有单层纤毛柱状上皮细胞(ciliated columnar epithelium, CCE), 肠腔内有色素栓(melanin plug, MP), $\times 35$; 10. 9 d摄食仔鱼瓣肠横切, 箭头示螺旋瓣(spiral valve, SV), $\times 17.5$; 11. 9 d摄食仔鱼的十二指肠横切, 示肠的粘膜皱襞(mucosal fold, MF), 粘膜上皮为柱状细胞(columnar cell, CC), 排列紧密, 十二指肠无肠腺, 无粘膜下层, 环肌纤维(circular muscle fibers, CMF)组成的环肌层较薄, 肠腔内有卵黄颗粒(YG); 肝脏(liver, L), $\times 17.5$; 12. 27 d饥饿仔鱼的瓣肠横切, 示柱状上皮细胞(columnar epithelium, CE)高度下降, 杯状细胞(goblet cell, GC)减少, $\times 68$; 13. 9 d摄食仔鱼的肝脏, 示肝细胞(hepatic cell, HC)多边形, 核大, 肝细胞间的窦状隙(sinusoids, SI)明显, 其内可见淋巴细胞和红细胞, $\times 18$; 14. 24 d摄食仔鱼的肝脏, 由双层肝细胞组成的肝板更明显, 以中央静脉(central vein, CV)为中心, 向四周分布, 中央静脉内可见红细胞(red cell, RC)和淋巴细胞(lymphocyte, LC), $\times 35$; 15. 27 d饥饿仔鱼的肝脏, 示肝组织呈溃散状态, 细胞索被破坏, 细胞分界模糊, $\times 76$