

点带石斑鱼仔稚鱼消化系统黏液细胞的类型与分布

李鑫炜 骆 剑 李伟萍 陈国华*

(海南大学海洋学院 热带生物资源教育部重点实验室,海口 570228)

摘 要 利用组织学切片及 AB-PAS 组化染色技术对点带石斑鱼 0~28 日龄仔稚鱼消化道(口咽腔、食道、胃、肠)不同类型黏液细胞的发生与发育进行了系统的研究。点带石斑鱼黏液细胞分成 I~IV 共 4 种着色类型和囊状、梨状、杯状 3 种形态类型。结果表明,点带石斑鱼黏液细胞最早出现在 3 日龄仔鱼的口咽腔部位。12 日龄之前的黏液细胞数量较少,且主要以 II 型为主,形态上主要为囊状细胞。12~15 日龄黏液细胞的数量出现急剧增长,其空间分布模式也随之基本形成。之后日龄的样本中,黏液细胞以 III、IV 型为主,而 I、II 型黏液细胞所占比例较低。口咽腔、食道的黏液细胞以囊状、梨状为主,胃、肠黏液细胞早期为囊状,随后梨状细胞逐渐增多,最终以杯状细胞为主。食道前段、肠前段的黏液细胞存在显著的差异,但此两段均为黏液细胞的主要分布场所。

关键词 点带石斑鱼 仔稚鱼 消化道 黏液细胞

中图分类号 S917.4 文献标识码 A 文章编号 1000-7075(2012)05-0015-09

Types and distribution of mucous cells in larval and juvenile digestive tract of *Epinephelus malabaricus* (Bloch & Schneider)

LI Xin-wei LUO Jian LI Wei-ping CHEN Guo-hua*

(Key Laboratory of Tropical Biological Resources, Ministry of Education,
Ocean College, Hainan University, Haikou 570228)

ABSTRACT Development and distribution of mucous cells in the digestive tracts (oropharyngeal cavity, esophagus, stomach, and intestine) of larval and juvenile (0~28 dph) *Epinephelus malabaricus* (Bloch & Schneider) were observed and analyzed by the method of histological sections and AB-PAS histochemical staining techniques. Mucous cells of *E. malabaricus* were classified into I~IV types based on different staining and three morphological shapes (cystic, pear-shaped and cup-shaped). The result showed that mucous cells first appeared in the oropharyngeal cavity in 3 dph larvae of *E. malabaricus*. The number of mucous cells before 12dph were few and mainly type II and cystic. The number of mucous cells increased rapidly since 12~15 dph, and the spatial distribution patterns of mucous cells in larval digestive tract were basically formed. There were more type III and type IV mucous cells than type I and type II after this period. In the oropharyngeal cavity and esophagus, mucous cells were mainly cystic and pear-shaped in the early samples. The mucous cells in stomach and intestine were cystic

国家 863 项目(SS2012AA100814)、海南大学青年基金和海南大学“211 工程”创新人才计划项目共同资助

* 通讯作者。E-mail: chguh3240@yahoo.com.cn, Tel: (0898)66279183

收稿日期: 2012-01-06; 接受日期: 2012-02-16

作者简介: 李鑫炜(1986-), 男, 硕士研究生, 主要从事鱼类繁殖及苗种繁育研究。E-mail: lixinwei0501@163.com

cells, then, pear-shaped cells gradually increased, ultimately, goblet cells were the majority. There are significant morphological differences between anterior esophagus and anterior intestinal, and they are both the main distribution locations of mucous cells.

KEY WORDS *Epinephelus malabaricus* (Bloch & Schneider) Larval and juvenile
Digestive tract Mucous cell

点带石斑鱼 *Epinephelus malabaricus* (Bloch & Schneider) 隶属硬骨鱼纲 Osteichthyes, 鲈形目 Perciformes, 鲈科 Serranidae, 石斑鱼属 *Epinephelus* (尹绍武等 2007), 为肉食性珊瑚礁鱼类, 广布于热带和亚热带海域, 该鱼营养丰富, 为名贵鱼类。目前, 石斑鱼养殖是水产养殖中最有活力的产业之一, 这得益于全人工育苗技术的突破。长期以来, 很多海水鱼类在仔稚鱼培育阶段成活率低的这一大难题没有得到完全的解决 (Tang *et al.* 2007), 对于石斑鱼类也是如此。总体而言石斑鱼 30 日龄前仔稚鱼的成活率还是比较低的, 目前主要养殖品种——点带石斑鱼, 其孵化后 30 日龄仔稚鱼的存活率仅为 5%~10%, 甚至更低, 重要原因之一就是对其消化能力的发生和发育缺乏了解。仔稚鱼处于快速发育阶段, 其消化能力经历了从无到有、从弱到强、从简单到复杂的过程, 掌握消化系统的发育规律能够揭示仔稚鱼的营养需求与变化, 从而为育苗技术提供指导。鱼类的消化道分布着大量的黏液细胞 (杨桂文等 1999), 黏液细胞能分泌大量黏液, 含有各种水解酶、糖蛋白、黏多糖及免疫球蛋白等 (Harris *et al.* 1973; Shan *et al.* 1991), 对鱼类的消化生理功能有着重要的影响。黏液细胞在发育过程中不仅形态、类型不同, 且密度及所处的位置也是变化的。因此, 对点带石斑鱼仔稚鱼消化道黏液细胞发生和发育的深入研究对揭示其消化能力发育规律, 特别是营养转化时期的判断具有重要的指示意义, 为仔稚鱼阶段饵料配方的研究指明了方向。

目前, 国外曾有人对非洲肺鱼、鱒鱼、河鲈等鱼的消化道黏液细胞的形态和成分进行研究 (Kitzan *et al.* 1968), 国内对波纹唇鱼 (王永波等 2010)、匀斑裸胸鱧 (王吉等 2010)、胡子鲶 (尹苗等 2001)、鲤鱼 (尹苗等 2000)、南方鲇 (刘怀如等 2002)、欧洲鳗鲡 (林旋等 2008)、花鲈 (谢湘筠等 2007)、重口裂腹鱼 (何敏等 2007)、鲈鱼 (乔志刚等 2007) 等的消化道黏液细胞的类型也进行了研究, 但是有关点带石斑鱼消化系统黏液细胞的发生和发育的研究尚未见报道。本研究采用组织学的方法对不同日龄点带石斑鱼仔稚鱼进行了切片及组化染色观察, 统计分析了不同日龄及不同消化道部位 (如口咽腔、食道、胃及肠) 点带石斑鱼黏液细胞的类型与数量发育规律, 期望揭示其仔稚鱼营养转换规律, 从而为育苗技术的提高提供指导。

1 材料与方 法

1.1 育苗方法及实验取材

2011 年 5 月, 在海南大学教学实验基地万宁业兴海水养殖合作社进行育苗。水温控制在 24~28℃, 采用小球藻、金藻、海洋酵母等培育育苗水体, 投入初孵仔稚鱼 3~5 万尾/m³; 3~6 日龄投喂贝卵, 7~14 日龄投喂轮虫, 15~34 日龄投喂桡足类和枝角类, 35~42 日龄投喂卤虫和虾类无节幼体。将刚出膜的仔稚鱼定义为 0 日龄, 出膜 24 h 后为 1 日龄。按照 1、2、3、4、5、7、9、12、15、18、23、28 日龄对所培育的健康仔稚鱼取材, 每组日龄取 6 个样品, 共取得 6×12=72 份样品。从育苗池取出的样品直接或解剖后使用 Bouin 氏液、福尔马林固定液固定。

1.2 实验方法与数据处理

本研究参照陈国华等 (2001a) 的点带石斑鱼仔稚鱼划分方法, 把 20 日龄以内的鱼苗归为仔鱼, 21~37 日龄以内的鱼苗为稚鱼。当背、腹鳍棘生长时, 为变态前期; 当背鳍棘开始缩短时, 为变态后期。将实验样品按照常规石蜡包埋, 进行横向的连续切片。按日龄由小到大逐日切取, 切片厚度 6~8 μm, 切片采用 AB-PAS 染色, 中性树胶封片, OLYMPUS 显微镜观察并拍照。

不同日龄的点带石斑鱼根据消化道部位 (口咽腔、食道、胃、肠) 的区分, 分别观察统计黏液细胞的类型、数

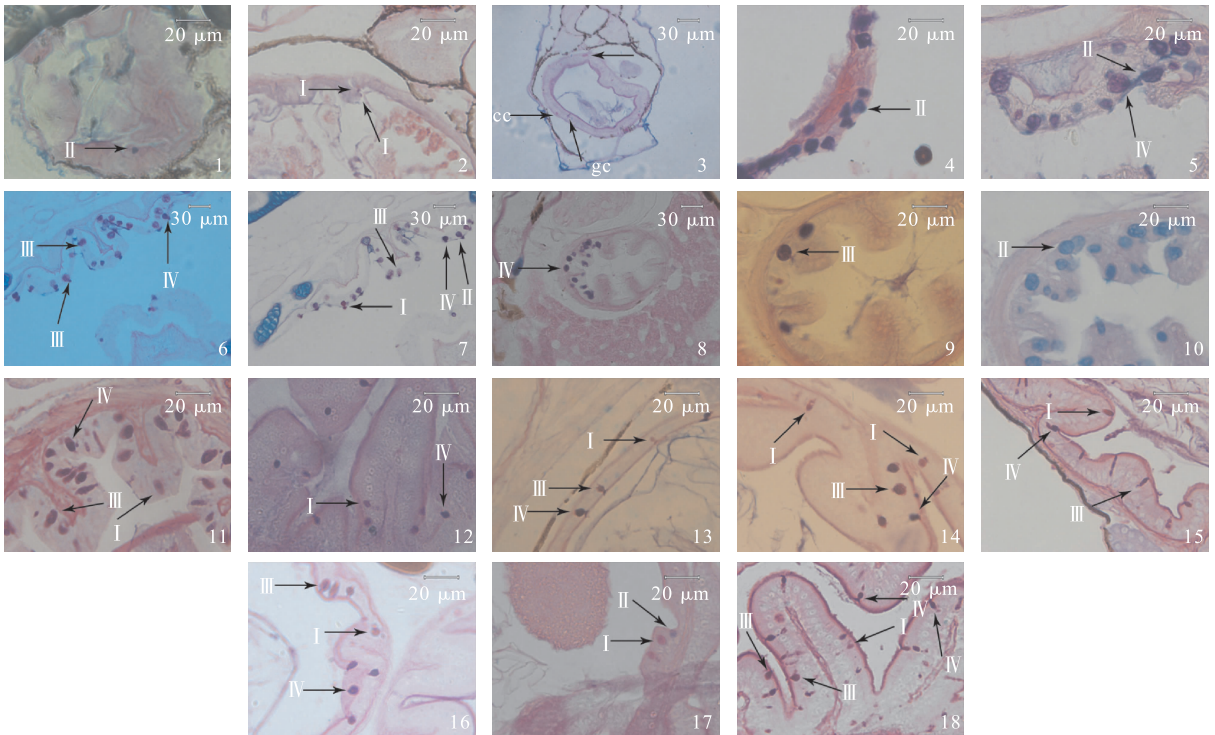
量及大小,并计算黏液细胞的分布密度等。每日龄仔稚鱼消化道各段任意取3张切片随机选10个视野,分别测量每一视野中 $100\ \mu\text{m}\times 100\ \mu\text{m}$ 范围内各类型黏液细胞的总数,作为该种黏液细胞的密度;并测量细胞的长径和短径来表示其大小。黏液细胞的相对分泌能力用黏液细胞相对总体积(用单位面积的细胞密度与细胞体积之积)表示。所有数据均采用Excel和SPSS 17.0软件进行分析。

2 实验结果

2.1 点带石斑鱼仔稚鱼黏液细胞的发生

根据AB-PAS染色结果将点带石斑鱼黏液细胞分成I~IV共4种类型:I型为红色,AB阴性,PAS阳性,含中性黏多糖;II型为蓝色,AB阳性,PAS阴性,含酸性黏多糖;III型为紫红色,AB与PAS均为阳性,主要含有PAS阳性的中性黏多糖,同时含有少量AB阳性的酸性黏多糖;IV型为蓝紫色,AB与PAS同样均为阳性,但主要含有AB阳性的酸性黏多糖,同时含有少量PAS阳性的中性黏多糖。

刚出膜的仔鱼,还未开口,消化管尚未分化,为一单层柱状细胞构成的柱形盲管;到出膜后第3天,口已开,消化道可以分为口咽腔、食道、胃和肠。根据AB-PAS染色结果,从刚出膜到2日龄的仔鱼,在消化道中未发现有黏液细胞。点带石斑鱼仔鱼3日龄,在发育的矮柱状颌须上有II型黏液细胞;4日龄,肠上皮间开始有黏液细胞出现,染色后呈蓝色为II型黏液细胞(图版I-1);5日龄,食道前端也有II型黏液细胞出现,胃的上皮层出现了染色呈红色的I型黏液细胞(图版I-2)。7日龄,在消化道的各段(口咽腔、食道、胃、肠)均能明显观察到数量极少的黏液细胞,数量变化并不显著,其形态出现多样化,有囊状、梨状和杯状等(图版I-3)。



1. 4日龄肠; 2. 5日龄胃; 3. 7日龄肠; 4. 9日龄口咽腔; 5. 15日龄口咽腔; 6. 18日龄口咽腔; 7. 18日龄口咽腔; 8. 15日龄食道; 9. 15日龄食道; 10. 15日龄食道; 11. 23日龄食道; 12. 15日龄胃; 13. 18日龄胃; 14. 18日龄胃; 15. 23日龄胃; 16. 15日龄肠道; 17. 15日龄肠道; 18. 23日龄肠道

1. Cross section of intestine, 4dph; 2. Cross section of stomach, 5dph; 3. Cross section of intestine, 7dph; 4. Cross section of oropharyngeal cavity, 9dph; 5. Cross section of oropharyngeal cavity, 15dph; 6. Cross section of oropharyngeal cavity, 18dph; 7. Cross section of oropharyngeal cavity, 18dph; 8. Cross section of esophagus, 15dph; 9. Cross section of esophagus, 15dph; 10. Cross section

of esophagus, 15dph;11. Cross section of esophagus, 23dph;12. Cross section of stomach, 15dph;13. Cross section of stomach, 18dph;14. Cross section of stomach, 18dph;15. Cross section of stomach, 23dph;16. Cross section of intestine, 15dph;17. Cross section of intestine, 15dph; 18 Cross section of intestine, 23dph

I :in pure red color, only PAS positive, containing neutral mucoitin;

II :only AB positive, AB-PAS that represent pure blue color, containing acid mucoitin;

III :in purplish blue color, both AB and PAS positive, containing mainly acid mucoitin and slightly neutral mucoitin;

IV :like type III :AB and PAS are all positive, but which containing mainly neutral mucoitin and slightly acid mucoitin, and represent bluish purple color.

CC:Cystic Cell 囊状细胞;RC:Rodlet Cell 梨状细胞;GC:Goblet Cell 杯状细胞

图版 I 点带石斑鱼仔稚鱼消化道黏液细胞类型与分布

Plate I Types and distribution of mucous cells in larval and juvenile digestive tract of *E. malabaricus*

2.2 点带石斑鱼仔稚鱼消化道各段黏液细胞的分布

随着消化道各段黏液细胞的增多,发现它们的主要分布区域具有一致性。口咽腔的黏液细胞主要分布在口腔顶壁,并且集中在顶壁中间,侧壁的黏液细胞极少,口咽腔前部的黏液细胞很少,后部逐渐增多(图版 I -4~图版 I -7)。食道的黏液细胞全部集中在食道的前半段,食道后半段几乎没有黏液细胞出现(图版 I -8~图版 I -11)。胃前部几乎观察不到黏液细胞,中部膨大处开始出现黏液细胞至胃后部,黏液细胞的密度与前肠处相似(图版 I -12~图版 I -15)。肠的黏液细胞后段多于前段,肠最末端的黏液细胞较稀少(图版 I -16~图版 I -18)。

2.3 点带石斑鱼仔稚鱼消化道黏液细胞类型及密度变化

点带石斑鱼仔稚鱼消化道各段黏液细胞类型随着日龄(1~28日龄)的增长,从单一型(I型、II型)向混合型(III型、IV型)逐渐变化,各类型的黏液细胞数量增长的快慢差异明显,混合型的黏液细胞增长速度大于单一型(表1~表7)。口咽腔7日龄和9日龄只有II型、IV型,12日龄出现III型,18日龄后4种类型全部出现;不同日龄,II型和IV型总数明显大于I型和III型总数(图1)。食道7日龄、9日龄有I型、II型和IV型,其中II型占大多数,12日龄出现了III型(图2)。胃7日龄缺少III型,12日龄以后IV型数量增多较快(图3)。肠7日龄只有I型和II型,9日龄后4种类型都存在(图4)。

点带石斑鱼仔稚鱼消化道黏液细胞的密度随日龄增加而增大,从7日龄的1.125个/0.01 mm²到28日龄的10.2个/0.01 mm²(图5)。口咽腔、食道、胃、肠等各部位的黏液细胞密度有逐渐增大的趋势。12~15日龄黏液细胞的密度变化较显著。15日龄以后,口咽腔和胃的黏液细胞密度增加量减少,而食道和肠的黏液细胞密度增加较大。相同的日龄,食道的黏液细胞密度最大;在12日龄之前的同一日龄,肠的黏液细胞密度较其他部位(除12日龄的口咽腔)较低,其后肠的黏液细胞密度增加极为迅速,密度渐渐超过口咽腔和胃,逐渐接近食道,到28日龄食道的密度为13.7个/0.01 mm²,肠的密度为12.8个/0.01 mm²。

表1 7日龄点带石斑鱼不同部位黏液细胞的主要类型与分布密度(单位:个/0.01 mm²)

Table 1 The density of mucous cells in different organs in the 7dph *E. malabaricus* (unit:cell/0.01mm²)

器官 Organ	I型 Type I	II型 Type II	III型 Type III	IV型 Type IV	总数 Total
口咽腔 Oropharyngeal cavity	0	0.70±0.48	0	0.40±0.52	1.10±0.57
食道 Esophagus	0.30±0.48	0.80±1.03	0	0.40±0.52	1.50±0.85
胃 Stomach	0.40±0.70	0.50±0.71	0	0.20±0.42	1.10±0.99
肠 Intestine	0.50±0.71	0.30±0.48	0	0	0.80±0.79

注:表中数据均为平均值±标准差下表同

Note: Value in the table are represented as Mean±SD. Same in the following tables

表 2 9 日龄点带石斑鱼不同部位黏液细胞的主要类型与分布密度(单位:个/0.01mm²)

Table 2 The density of mucous cells in different organs in the 9dph *E. malabaricus* (unit:cell/0.01mm²)

器官 Organ	I 型 Type I	II 型 Type II	III 型 Type III	IV 型 Type IV	总数 Total
口咽腔 Oropharyngeal cavity	0	1.80±2.53	0	0.30±0.48	2.10±2.85
食道 Esophagus	0.40±0.843	1.50±1.72	0	0.50±1.58	2.40±3.10
胃 Stomach	0.60±0.84	0.50±0.71	0.10±0.32	0.30±0.67	1.50±1.35
肠 Intestine	0.50±1.27	0.40±0.70	0.20±0.42	0.40±0.70	1.40±1.26

表 3 12 日龄点带石斑鱼不同部位黏液细胞的主要类型与分布密度(单位:个/0.01 mm²)

Table 3 The density of mucous cells in different organs in the 12dph *E. malabaricus* (unit:cell/0.01mm²)

器官 Organ	I 型 Type I	II 型 Type II	III 型 Type III	IV 型 Type IV	总数 Total
口咽腔 Oropharyngeal cavity	0	0.70±0.95	0.40±0.52	0.60±0.52	1.70±1.25
食道 Esophagus	0.20±0.42	0.90±1.10	1.50±2.17	1.50±1.80	4.10±3.38
胃 Stomach	0.80±0.63	0.50±0.53	0.50±1.08	0.60±1.07	2.40±2.22
肠 Intestine	0.20±0.42	0.20±0.42	0.40±0.70	1.00±1.05	1.80±1.14

表 4 15 日龄点带石斑鱼不同部位黏液细胞的主要类型与分布密度(单位:个/0.01 mm²)

Table 4 The density of mucous cells in different organs in the 15dph *E. malabaricus* (unit:cell/0.01 mm²)

器官 Organ	I 型 Type I	II 型 Type II	III 型 Type III	IV 型 Type IV	总数 Total
口咽腔 Oropharyngeal cavity	0	1.40±1.26	0.70±0.95	2.20±1.40	4.30±3.34
食道 Esophagus	0	6.60±9.86	0.20±0.63	1.80±3.82	8.60±10.82
胃 Stomach	0.80±0.92	0.60±0.52	1.30±1.83	2.10±1.52	4.80±2.94
肠 Intestine	0.70±0.95	1.20±1.14	0.70±0.95	2.40±1.71	5.00±3.09

表 5 18 日龄点带石斑鱼不同部位黏液细胞的主要类型与分布密度(单位:个/0.01 mm²)

Table 5 The density of mucous cells in different organs in the 18dph *E. malabaricus* (unit:cell/0.01 mm²)

器官 Organ	I 型 Type I	II 型 Type II	III 型 Type III	IV 型 Type IV	总数 Total
口咽腔 Oropharyngeal cavity	0.70±1.06	0.80±1.62	2.60±3.44	0.90±1.29	5.00±4.64
食道 Esophagus	0.80±1.32	3.40±4.09	0.80±1.14	4.80±4.73	9.80±10.57
胃 Stomach	0.90±0.74	0.40±0.70	2.10±1.37	2.00±1.89	5.40±3.50
肠 Intestine	0.40±0.70	1.40±1.71	1.40±1.43	1.50±1.65	4.70±1.34

表 6 23 日龄点带石斑鱼不同部位黏液细胞的主要类型与分布密度(单位:个/0.01 mm²)

Table 6 The density of mucous cells in different organs in the 23dph *E. malabaricus* (unit:cell/0.01 mm²)

器官 Organ	I 型 Type I	II 型 Type II	III 型 Type III	IV 型 Type IV	总数 Total
口咽腔 Oropharyngeal cavity	0.50±0.71	1.40±1.43	1.40±1.07	2.10±1.29	5.40±2.95
食道 Esophagus	2.10±1.73	1.60±2.07	3.60±4.06	4.20±4.47	11.40±11.91
胃 Stomach	1.10±0.86	0.40±0.52	2.00±0.82	3.40±1.43	6.90±1.73
肠 Intestine	2.00±1.94	0.70±1.34	2.60±2.12	4.70±2.31	10.00±7.16

表7 28日龄点带石斑鱼不同部位黏液细胞的主要类型与分布密度(单位:个/0.01 mm²)Table 7 The density of mucous cells in different organs in the 28dph *E. malabaricus* (unit:cell/0.01 mm²)

器官 Organ	I型 Type I	II型 Type II	III型 Type III	IV型 Type IV	总数 Total
口咽腔 Oropharyngeal cavity	0.80±0.92	1.30±1.16	1.90±2.23	2.30±2.16	6.30±3.53
食道 Esophagus	1.70±2.06	3.30±3.37	3.50±4.38	5.20±4.64	13.70±12.44
胃 Stomach	1.10±1.20	0.60±1.07	2.40±2.01	3.90±2.42	8.00±3.30
肠 Intestine	1.70±1.95	2.30±3.16	3.60±2.07	5.20±4.42	12.80±7.74

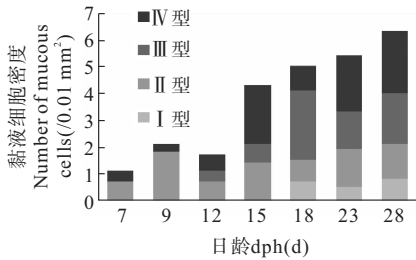


图1 不同日龄点带石斑鱼口咽腔黏液细胞的密度变化
Fig. 1 Mucous cells density changes with days in the oropharyngeal cavity of *E. malabaricus*

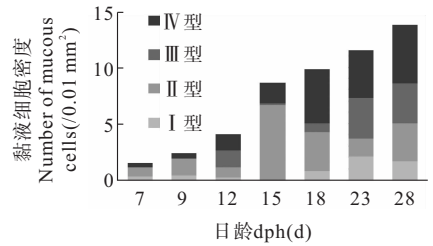


图2 不同日龄点带石斑鱼食道黏液细胞的密度变化
Fig. 2 Mucous cells density changes with days in the esophagus of *E. malabaricus*

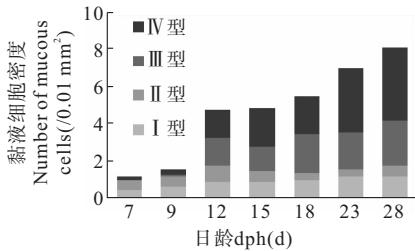


图3 不同日龄点带石斑鱼胃黏液细胞的密度变化
Fig. 3 Mucous cells density changes with days in the stomach of *E. malabaricus*

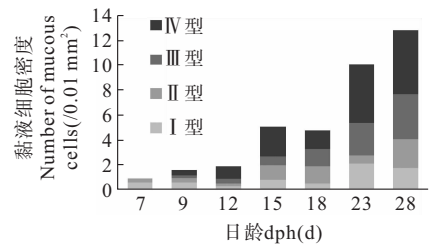


图4 不同日龄点带石斑鱼肠黏液细胞的密度变化
Fig. 4 Mucous cells density changes with days in the intestine of *E. malabaricus*

2.4 点带石斑鱼仔稚鱼消化道黏液细胞的大小及形态

不同日龄点带石斑鱼仔稚鱼消化道各段黏液细胞大小见表8,相同日龄(1~28日龄)的点带石斑鱼仔稚鱼,口咽腔与食道的黏液细胞大小较接近,胃与肠道的黏液细胞大小相似,口咽腔、食道的黏液细胞较胃、肠的黏液细胞大。随着日龄的增长,胃、肠的黏液细胞长径增长明显,短径增加缓慢。口咽腔、食道的长、短径增长较一致。所有日龄在的黏液细胞形态,只表现为囊状、梨状和杯状3种类型。黏液细胞刚出现时呈囊状,随着日龄的增长,逐渐出现梨状,接着出现杯状。口咽腔和食道的黏液细胞形态上变化较小,至28日龄时,杯状细胞极少,多数是囊状,少数梨状。胃和肠的黏液细胞形态变化显著,15日龄时,已出现大量杯状细胞,至28日龄,囊状细胞只占少数,梨状细胞较少,多数呈杯状。

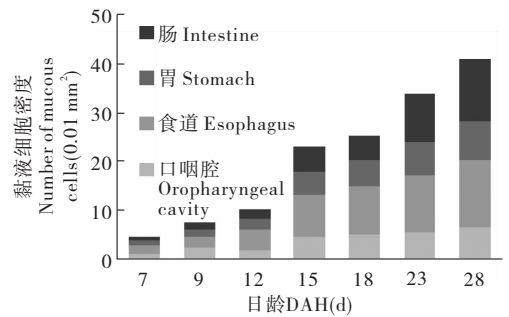


图5 点带石斑鱼不同部位黏液细胞密度随日龄的变化
Fig. 5 Mucous cells density changes with days in different organs of *E. malabaricus*

2.5 不同日龄仔稚鱼消化道各部分的分泌能力

不同日龄点带石斑鱼仔稚鱼消化道各部分的黏液细胞的数量、体积都有差异,以消化道各部分的黏液细胞相对总体积(单位面积的细胞密度与细胞体积之积)表示黏液分泌能力,对消化道各部的分泌能力进行比较,结果见表 9。

表 8 消化道不同部位黏液细胞的大小

Table 8 The size of mucous cells in different part of digestive tract of *E. malabaricus*

日龄 dph(d)		黏液细胞大小 Mucus cell size(μm) (Mean \pm SD)			
		口咽腔 Oropharyngeal cavity	食道 Esophagus	胃 Stomach	肠 Intestine
7	长径 Long diameter	7.05 \pm 1.32	5.70 \pm 0.90	3.48 \pm 0.81	3.30 \pm 0.79
	短径 Short diameter	5.13 \pm 0.59	4.11 \pm 0.60	3.00 \pm 0.63	3.00 \pm 0.57
9	长径 Long diameter	6.69 \pm 1.20	5.79 \pm 1.53	3.93 \pm 1.05	3.60 \pm 0.92
	短径 Short diameter	4.77 \pm 0.70	3.17 \pm 0.54	2.97 \pm 0.67	2.91 \pm 0.60
12	长径 Long diameter	8.52 \pm 1.37	8.88 \pm 1.09	4.62 \pm 1.01	4.59 \pm 1.08
	短径 Short diameter	6.03 \pm 0.98	5.58 \pm 1.32	3.15 \pm 0.99	3.57 \pm 0.56
15	长径 Long diameter	9.54 \pm 1.78	8.91 \pm 2.34	5.34 \pm 0.98	5.46 \pm 1.33
	短径 Short diameter	7.35 \pm 1.57	7.17 \pm 1.86	4.11 \pm 0.92	4.14 \pm 1.08
18	长径 Long diameter	10.92 \pm 1.73	8.97 \pm 2.05	6.12 \pm 0.97	7.86 \pm 2.34
	短径 Short diameter	8.64 \pm 0.99	7.53 \pm 1.95	4.23 \pm 1.06	5.16 \pm 0.97
23	长径 Long diameter	12.18 \pm 2.10	10.14 \pm 1.93	7.05 \pm 1.78	8.49 \pm 2.45
	短径 Short diameter	9.18 \pm 1.39	7.95 \pm 1.90	4.23 \pm 0.90	4.50 \pm 1.08
28	长径 Long diameter	14.13 \pm 3.03	13.03 \pm 3.20	9.66 \pm 1.14	11.45 \pm 1.87
	短径 Short diameter	10.98 \pm 2.16	11.40 \pm 2.57	5.28 \pm 0.97	5.61 \pm 0.79

表 9 不同日龄点带石斑鱼仔稚鱼消化道各部分黏液物质的含量比较

Table 9 The mucilage content in different part of digestive tract of *E. malabaricus*

日龄 dph(d)	黏液物质含量 Mucilage content($10^{-9} \text{ mm}^3/\text{mm}^2$) (Mean \pm SD)			
	口咽腔 Oropharyngeal cavity	食道 Esophagus	胃 Stomach	肠 Intestine
7	106.89 \pm 55.39	75.65 \pm 42.87	18.04 \pm 16.24	12.45 \pm 12.29
9	167.41 \pm 227.20	73.13 \pm 94.46	27.24 \pm 24.52	22.36 \pm 20.12
12	275.84 \pm 202.83	593.72 \pm 489.46	57.62 \pm 53.30	55.15 \pm 34.93
15	1 160.70 \pm 901.57	2 063.23 \pm 2 595.83	226.75 \pm 138.89	245.05 \pm 151.44
18	2 134.75 \pm 1 981.05	2 610.52 \pm 2 815.64	309.69 \pm 200.73	515.17 \pm 146.88
23	3 541.91 \pm 1 934.93	3 464.23 \pm 3 619.21	455.88 \pm 114.30	900.40 \pm 644.69
28	5 620.99 \pm 3 149.54	12 150.67 \pm 1 1033.16	1 128.40 \pm 465.47	2 415.87 \pm 1 460.85

随着日龄的增长,消化道各部位的黏液分泌能力逐渐增大(除 7 日龄、9 日龄食道)。7 日龄、9 日龄口咽腔的黏液分泌能力最大,12 日龄以后食道的黏液分泌能力逐渐超过口咽腔。12 日龄以前,肠的黏液分泌能力较同日龄其他部位低;15 日龄以后,肠的黏液分泌能力超过胃,胃成为分泌能力最差的部位。所有日龄,口咽腔、食道的黏液分泌能力明显强于胃、肠。

3 讨论

3.1 点带石斑鱼仔稚鱼黏液细胞发育类型与密度的特征

鱼类黏液细胞中的成分反应了不同发育阶段的组织学特征(Sibbing *et al.* 1985)。安利国等(2001)认

为,以中性黏多糖为主的Ⅰ型黏液细胞和以酸性黏多糖为主的Ⅱ型黏液细胞为幼稚型,同时含有中性和酸性黏多糖的Ⅲ型和Ⅳ型黏液细胞为成熟型;并且发现在鲤早期发育中,黏液细胞的类型变化与发育过程相一致,逐渐从幼稚型向成熟型发展。本研究结果表明,点带石斑鱼仔稚鱼发育过程中先出现单一型黏液细胞即Ⅰ型和Ⅱ型黏液细胞,然后出现混合型即Ⅲ型和Ⅳ型黏液细胞,混合型黏液细胞所占比例逐渐增大。大西洋比目鱼在发育成熟过程中黏液细胞的数量和成分都在发生变化,黏液细胞的数量随着鱼的发育成熟而不断增加,黏液细胞成分由早期的中性黏液性物质占主导地位向成熟期的中性和酸性混合黏液性物质为主过渡(Ottesen *et al.* 1997)。鲆鱼发育过程中黏液细胞也是由单一型逐渐向混合型发展,形态上由囊状逐渐向梨状、杯状过渡(陈生智 2007)。这些研究与本研究的结果相符,点带石斑鱼仔稚鱼发育过程中,12日龄前后“成熟型”黏液细胞开始代替“幼稚型”占主导地位,表明其消化能力更加稳定和成熟。

Sinha(1977)在研究野鲮属 *Labeo* 鱼的鱼苗、幼鱼和成鱼食管前、中、后部黏液细胞的分布情况时发现,鱼苗黏液细胞的数量最少,幼鱼居中,成鱼最多。即随着鱼的发育成熟黏液细胞的数量是逐渐增长的。有关组织形态学资料显示,在鱼的口咽、鳃弓和鳃丝中,随着鱼的发育成熟,黏液细胞的数量是不断增长的(Zaccone *et al.* 1973)。点带石斑鱼仔稚鱼消化道黏液细胞数量变化与上述结果相似,进一步证实黏液细胞数量随鱼体生长不断增加的特点,在鱼类中可能是普遍存在的。点带石斑鱼消化道各段的黏液细胞数量与密度在12~15日龄增加最为明显,在“幼稚型”向“成熟型”过渡后,黏液细胞数量的急剧增加,进一步增强了消化系统的稳定性、成熟性。

3.2 早期发育中黏液细胞的功能探讨

在鱼类非特异性免疫过程中,黏液细胞分泌免疫球蛋白、溶解酵素和凝集素等,具有抑菌和杀菌的作用(安利国等 2001),在鱼类防病和抗病中发挥着重要作用。刚孵化出的仔稚鱼需要几周时间,其特异免疫系统才发育完善(Ellis *et al.* 1988;Chookhin *et al.* 1991),因此在淋巴系统出现和免疫球蛋白产生之前,仔稚鱼主要依靠非特异性免疫防御不良侵袭(Bly *et al.* 1986;Kanlis *et al.* 1995)。

仔鱼开口之后,口咽腔与外界水环境直接接触,大量病原微生物很容易通过口咽腔进入鱼体,使仔鱼感染疾病。本研究观察,点带石斑鱼仔鱼开口之时(3日龄),口咽腔黏液细胞也随之出现,而口咽腔黏液细胞此时可以分泌酸性黏多糖,起到抑菌和杀菌作用。因此在仔鱼发育初期,口咽腔黏液细胞的较早出现,对于免疫系统发育不完善的仔鱼,免遭病原体的侵害具有重要意义。

另外稚鱼消化道中,由于消化管腔狭小组织稚嫩,仔鱼吃食后很容易造成其机械损伤,而黏液细胞分泌的黏液具有保持消化管的湿润、防止机械损伤的作用;并且黏液中含有各种消化酶类,对营养物质的消化具有积极作用。

3.3 石斑鱼仔稚鱼危险期的原因探讨

石斑鱼的育苗过程中有几个死亡率很高的阶段,并称作危险期。降低危险期的死亡率是提高育苗成活率的关键。陈国华等(2001b)研究表明,人工育苗存在3个危险期,其中仔稚鱼阶段存在两个危险期。第1个危险期发生在4~10日龄,认为原因包括卵质不良,先天性畸形不能开口摄食等,饵料中缺乏必需的生物生理活性物质,仔稚鱼很难完成内源性营养到外源性营养的过渡,也是仔稚鱼成活率不高的重要原因;陈生智(2007)对鲆鱼的消化道黏液细胞的研究显示,仔稚鱼消化道黏液细胞的出现日龄与开口摄食日龄相同;本研究点带石斑鱼仔稚鱼消化道黏液细胞出现日龄与开口摄食日龄也一致,由此推测消化道黏液细胞的出现日龄可能与仔稚鱼开口时间具有一致性,或者黏液细胞的存在是仔稚鱼开口摄食的前提。第2危险期是在后期仔稚鱼阶段,这时鱼已经长出长的背棘和腹棘,内部器官进一步发育,外部形态也发生很大的变化,观察到这个阶段的仔稚鱼全身产生黏液,由于趋光性彼此集群在一起,过度密集,窒息致死。吴金英等(2004)研究斜带石斑鱼仔稚鱼消化酶活性后认为,消化酶活性的变化可以作为育苗过程中体现死亡率高低的指标之一。也有研究认为甲状腺的发育影响仔稚鱼变态期的成活率(Tang *et al.* 2006),甲状腺激素能加速仔稚鱼的变态过程和提高仔稚鱼存活率。邹记兴等(2003)认为变态期的营养供应不足是点带石斑鱼仔稚鱼死亡的主要原因。

作者认为从黏液细胞的角度,一方面是仔稚鱼的消化系统刚开始发育,此时食物的消化可能主要依靠黏液细胞,而另一方面黏液细胞刚开始发育,其数量较少和类型单一,导致对某些食物消化的局限性。紧接着这一危险期后,是仔稚鱼变态危险期,此时,随着黏液细胞功能更加成熟,数量大幅增加,仔稚鱼的消化生理发生大幅的转变,此时如不能满足其营养需求则出现大量死亡。基于本研究的结果,点带石斑鱼孵化后12~15日龄及23~28日龄是比较重要的营养转换节点,建议加强这两个时期仔稚鱼饵料的供给,期望能改善其营养状况,提高人工育苗成活率。

参 考 文 献

- 王永波,陈国华,王 珺,骆 剑,黄宗文,尹绍武. 2010. 波纹唇鱼消化道黏液细胞的类型与分布. 渔业科学进展, 31(5): 22~28
- 王 吉,骆 剑,张 本. 2010. 匀斑裸胸鲷消化道黏液细胞的类型与分布. 现代渔业信息, 25(5): 14~17
- 王思锋,张志锋,张全启,王开顺. 2006. 圆斑星鲷仔鱼变态前消化系统发生的形态学和组织学研究. 中国水产科学, 13(1): 1~6
- 尹 苗,杨桂文,安利国. 2001. 胡子鲶黏液细胞类型及其在消化道中的分布. 动物学报, 47(专刊): 116~119
- 尹 苗,安利国,杨桂文,孟广勋,冯程强. 2000. 鲤鱼黏液细胞类型的研究. 动物学杂志, 35(1): 8~9
- 尹绍武,陈国华,张 本. 2007. 点带石斑鱼生态学研究及养殖. 北京: 中国科学技术出版社, 13
- 刘怀如,张耀光. 2002. 南方鲂消化道杯状细胞分布与类型探讨. 四川动物, 21(1): 6~8
- 安利国,孟广勋,杨桂文,尹 苗,王钦东. 2001. 鲤稚幼体早期发育过程中黏液细胞的发生和变化. 水生生物学报, 25(2): 191~194
- 乔志刚,陈生智,程鸿轩,王 武. 2007. 鲑肠道黏液细胞的类型、分布、发育及分泌方式研究. 分子细胞生物学报, 40(1): 24~30
- 邹纪兴,向文洲,胡超群,林坚士,章之蓉. 2003. 点带石斑鱼仔、稚、幼鱼的生长与发育. 高技术通讯, (4): 77~84
- 陈国华,张 本. 2001a. 点带石斑鱼仔、稚、幼鱼的形态观察. 海南大学学报, 19(2): 151
- 陈国华,张 本. 2001b. 点带石斑鱼人工育苗技术. 海洋科学, 25(1): 1~4
- 吴金英. 2004. 斜带石斑鱼胚后消化系统和淋巴器官生长发育的研究. 见: 中山大学博士研究生学位论文
- 杨桂文,安利国. 1999. 鱼类黏液细胞研究进展. 水产学报, 23(4): 403~408
- 何 敏,张 宇,方 静. 2007. 重口裂腹鱼消化道黏液细胞类型及分布研究. 淡水渔业, 37(2): 24~33
- 林 旋,张伟妮,林树根,蒋丹萍,王寿昆. 2008. 欧洲鳗鲡皮肤、鳃及消化道黏液细胞的分布与类型. 福建农业学报, 23(1): 39~43
- 谢湘筠,林淑慧,林树根. 2007. 花鲈消化道黏液细胞的类型及分布. 福建农业学报, 22(3): 271~275
- Bly, J. E., Grimm, A. S., and Morris, L. G. 1986. Transfer of passive immunity from mother to young in a teleost fish; haemagglutinating activity in the serum and eggs of plaice, *Pleuronectes platessa* L. Comp. Biochem. Physiol. 84(2): 309~313
- Chookhin, C. C., Seikai, T., and Tanaka, M. 1991. Comparative study of the ontogeny of the lymphoid organs in three species of marine fish. Aquaculture, 99(1-2): 143~155
- Ellis, A. E. 1988. Ontogeny of the immune system in teleost fish. In: Ellis, A. E. (Ed), Fish Vaccination. Academic Press, London, 20~31
- Harris, J. E., Watson, A., and Hunt, S. 1973. Histochemical analysis of mucous cells in the epidermis of brown trout, *Salmo trutta*. J. Fish Biol. 5(3): 345~351
- Kanlis, G., Suzuki, Y., Tauchi, M. et al. 1995. Immunoglobulin in oocytes fertilized eggs and yolk-sac larvae of red sea bream. Fish. Sci. 61: 787~790
- Kitzan, S. M., and Sweeny, P. R. 1968. A light and electron microscope study of the structure of Protoperus *Annectense* epidermis. I. Mucus Production. Can. J. Zool. 46: 767~772
- Ottesen, O. H., and Olafsen, J. A. 1997. Ontogenetic development and composition of the mucous cells and the occurrence of sacular cells in the epidermis of Atlantic halibut. J. Fish Biol. 50: 620~633
- Shan, K. K., and Agabwal, S. K. 1991. Histochemistry of adhesive disc epidermis of a hill stream fish, *Garra gotyla*. J. Animal Morphol. 38(12): 9~12
- Sibbing, F. A., and Uribe, R. 1985. Regional specializations in the epidermis of the common carp (*Cyprinus carpio* L.). Netherlands Journal of Zoology, 35(3): 377~422
- Sinha, G. M. 1977. Functional histology of the different regions of the esophagus of a freshwater major carp *Labeo calbasu* (Hamilton) during the different life history stages. Zoologische Beiträge, 23(3): 353~360
- Tang, B. G., Chen, G., Zhang, J. D. et al. 2007. Effect of diet series on growth, activity of digestive enzymes and body composition of larval cobia, *Rachycentron canadum*. Acta Hydrobiologica Sinica, 31(4): 479~483
- Tang, X. C., Liu, X. C., Lin, H. R. et al. 2006. Effects of thyroxine on metamorphosis of orange-spotted grouper (*Epinephelus coioides*) larvae. Journal of Tropical Oceanography, 25(1): 33~37
- Zaccone, G. 1973. Morphochemical analysis of the mucous cells during the development of the respiratory tract in *Mollionisia sphenops* (Teleostei Poecilidae). Acta Histochem, 47(2): 233~243