

大鳞副泥鳅仔稚鱼消化道黏液细胞分布及发育

刘亚秋 李 芳 赵健蓉 詹素平 王志坚*

西南大学生命科学学院, 淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室, 水产科学重庆市市级重点实验室 重庆 400715

摘要: 利用组织学切片及阿利新蓝-过碘酸雪夫 (AB-PAS) 组化染色技术对 0 ~ 50 日龄大鳞副泥鳅 (*Paramisgurnus dabryanus*) 消化道各段黏液细胞的发育与分布进行显微观察和研究。大鳞副泥鳅黏液细胞分为 I、II、III 和 IV 4 种类型。消化道黏液细胞最早出现在 4 日龄仔鱼的口咽腔和食道。10 ~ 15 日龄口咽腔和食道黏液细胞数量快速增长, 15 ~ 20 日龄肠道各型黏液细胞数量显著增长, 20 日龄后消化道黏液细胞分布广泛。随着仔稚鱼发育, 消化道各部黏液细胞主要以 III 和 IV 型细胞为主。根据大鳞副泥鳅仔稚鱼消化道黏液细胞的发育特点, 5 ~ 10 日龄和 15 ~ 20 日龄为其消化道功能发育的两个敏感时期, 20 日龄后消化道功能逐渐发育完善。建议加强对 5 ~ 20 日龄仔稚鱼的日常饲养管理以提高苗种成活率。

关键词: 大鳞副泥鳅; 仔稚鱼; 消化道; 黏液细胞; 发育; 分布

中图分类号: Q954 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263 (2016) 04-623-10

Distribution and Development of Mucous Cells in Digestive Tract of Larvae and Juvenile in Loach (*Paramisgurnus dabryanus*)

LIU Ya-Qiu LI Fang ZHAO Jian-Rong ZHAN Su-Ping WANG Zhi-Jian*

Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development, Ministry of Education, The Key Laboratory of Aquatic Science of Chongqing, School of Life Science, Southwest University, Chongqing 400715, China

Abstract: Development and distribution of mucous cells in digestive tract of larval and juvenile (0 - 50 day-old) *Paramisgurnus dabryanus* were observed and analyzed by histological sectioning and AB-PAS histochemical staining. Three sections of digestive tract from larvae and juveniles were chosen. Ten visions were randomly selected for measuring the number and size of mucous cells with Image-Pro Plus. All the measured data were compared with one-way ANOVA using spss 19.0. The level of significant difference was set at $P < 0.05$. The results indicated that there were four types of mucous cells (I, II, III, IV) in digestive tract of *P. dabryanus* (Fig. 1). Mucous cells initially appeared in buccopharyngeal cavity and esophagus at 4 day-old. At 5 day-old, mucous cells in buccopharyngeal cavity and esophagus were mainly II type, and their shape was globular or capsular (Fig. 1a, b). At 8 day-old, mucous cells initially appeared in anterior and

基金项目 公益性行业 (农业) 科研专项 (No. 201203086), 重庆市科委重点实验室专项经费;

* 通讯作者, E-mail: wangzj1969@126.com;

第一作者介绍 刘亚秋, 男, 硕士研究生; 研究方向: 水生生物学; E-mail: 393386160@qq.com.

收稿日期: 2015-09-28, 修回日期: 2015-12-13 DOI: 10.13859/j.cjz.201604014

middle intestine, mainly in I and III types (Fig. 1c, d). The mucous cells in posterior intestine were mainly II type, and their shape was globular (Fig. 1e). There was a rapid increase in the number of mucous cells in buccopharyngeal cavity and esophagus between 10 and 15 day-old (Table 1). At 15 day-old, mucous cells were widespread in buccopharyngeal cavity and esophagus, and their shape was mainly rod or globular (Fig. 1f, g). The number of all types of mucous cells in intestine increased significantly between 15 and 20 day-old (Table 1). Mucous cells were widespread in digestive tract after 20 day-old. The shape of most mucous cells in anterior and middle intestine was rod-like or capsular, while that of mucous cells in posterior intestine was globular or capsular at 20 day-old (Fig. 1h - j). With the growth of larvae, mucous cells in digestive tract were mainly III and IV types. With larval and juvenile development, intestinal epithelial mucin PAS and AB (pH 2.5 and 1.0) reactions were gradually increased, indicating the increase of acidic and neutral mucilage of digestive tract secretion. The AB (pH 2.5 and 1.0) reaction strength of anterior intestine and posterior intestine was higher than that of middle intestine (Table 2). Size of mucus cells in digestive tract was gradually increased. Larvae mucus cells in esophagus were the largest in the same day-old, followed by those in Buccopharyngeal cavity, and they were larger than mucous cells in the each part of intestine (Table 3). At 5 - 15 day-old, secretion capability of mucus cells in esophagus was stronger than those in the other parts of digestive tract ($P < 0.05$) (Fig. 2). Secretion capability of mucus cells in anterior intestine increased significantly during 10 - 15 day-old ($P < 0.05$) (Fig. 2). After 15 day-old, secretion capability of mucus cells in posterior intestine increased significantly. In 20 day-old, secretion capability of mucus cells in middle intestine was weaker than in anterior and posterior intestine ($P < 0.05$) (Fig. 2). According to our results, the sensitive periods of the development of larval and juvenile *P. dabryanus* were 5 - 10 day-old and 15 - 20 day-old, respectively. Digestive function gradually developed after 20 day-old. In order to improve survival rate, it is necessary to strengthen larvae and juveniles daily feeding and management from 5 to 20 day-old.

Key words: *Paramisgurnus dabryanus*; Larvae and Juvenile; Digestive tract; Mucous cells; Development; Distribution

大鳞副泥鳅 (*Paramisgurnus dabryanus*) 属鲤形目 (Cypriniformes) 鳅科 (Cobitidae) 副泥鳅属, 是一种营底栖生活的小型经济鱼类 (丁瑞华 1994)。其肉质鲜美, 市场需求量大, 近年来大鳞副泥鳅的人工养殖规模不断扩大。然而大鳞副泥鳅在苗种阶段的死亡率很高, 严重制约了其规模化生产。仔稚鱼阶段是鱼类发育的重要时期, 消化系统功能的发育直接影响其对营养物质的吸收利用。鱼类黏液细胞 (mucous cells) 是一种能够分泌大量黏液的腺体细胞, 普遍存在于鱼类皮肤、鳃以及消化道的上皮中 (杨桂文等 1999)。鱼类消化道上皮分布的大量黏液细胞能够分泌大量黏液, 含有各种水解酶、糖蛋白、黏多糖及免疫球蛋白等

(Harris et al. 1973), 对鱼类免疫、营养物质的消化吸收等方面有着重要的影响。目前对于鲇 (*Silurus asotus*) (乔志刚等 2007)、点带石斑鱼 (*Epinephelus malabaricus*) (李鑫炜等 2012)、褐牙鲈 (*Paralichthys olivaceus*) (张伟妮等 2009)、花鲈 (*Lateolabrax japonicus*) (谢湘筠等 2007)、剑尾鱼 (*Xiphophorus maculatus*) (Leknes 2011)、西伯利亚鲟 (*Acipenser baeri*) (Gisbert 1999) 等鱼类黏液细胞相关的研究已有报道。本研究采用组织化学技术, 统计和分析了不同日龄大鳞副泥鳅消化道不同部位各型黏液细胞的数量与发育规律, 阐明其仔稚鱼消化道功能发育与完善过程, 从而为规模化苗种培育提供基础资料。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

2014 年 4 月 20 日重庆市垫江水产站提供大鳞副泥鳅受精卵, 在实验室进行孵化, 水温变化范围 (21.5 ± 1.5) °C, 水质参数, 溶氧为 (7.21 ± 0.63) mg/L, 氨氮小于 0.02 mg/L, pH 7.5 ~ 8.2。

1.2 实验方法

实验期间, 初孵仔鱼分别饲养于 3 个容积为 100 L 的循环水族缸内 50 d, 缸内置小型鹅卵石, 微流水饲养, 光照周期 14L:10D, 即 14 h 光照 10 h 黑暗。4 日龄仔鱼以丰年虫 (*Artemia naupii*) 为开口饵料, 10 日龄开始投喂丰年虫和微颗粒 S1 号饲料 (粒径 150 ~ 250 μm) 混合饵料, 20 日龄开始完全投喂微颗粒 S3 号饲料 (粒径 480 ~ 750 μm)。投喂之前清除粪便, 投喂之后及时吸出食物残渣。丰年虫购自天津市丹阳水产科技有限公司; 各型饲料均购自山东升索渔业饲料研究中心。仔鱼出膜后 24 h 作为 1 日龄仔鱼。从初孵仔鱼 (仔鱼刚出膜) 开始取材, 10 日龄前 (含 10 日龄) 每天在投喂之前取材 1 次, 10 日龄后每 2 ~ 5 d 取材 1 次, 取材截止于仔鱼出膜 50 d。每次取 10 ~ 12 个组织样品以卡诺氏液固定。材料均以石蜡包埋, 切片厚度 5 ~ 7 μm , 分别以横向和纵向两种方式进行切片, 之后采用阿利新蓝 (Alcian blue, AB)、过碘酸-雪夫 (periodic acid-Schiff, PAS) 以及阿利新蓝-过碘酸雪夫 (AB-PAS) 方法染色, 中性树胶封片。

阿利新蓝-过碘酸雪夫 (AB-PAS) 染色, 将大鳞副泥鳅黏液细胞分为 4 种类型: I 型为红色, 阿利新蓝 (AB) 反应阴性, 过碘酸-雪夫 (PAS) 反应阳性, 含有中性黏多糖; II 型为蓝色, 阿利新蓝 (AB) 反应阳性, 过碘酸-雪夫 (PAS) 反应阴性, 含有酸性黏多糖; III 型为紫红色, 阿利新蓝 (AB) 与过碘酸-雪夫 (PAS) 反应均为阳性, 主要含有过碘酸-雪夫 (PAS) 反应阳性的中性黏多糖; IV 型为蓝紫

色, 阿利新蓝 (AB) 与过碘酸-雪夫 (PAS) 反应均为阳性, 主要含有阿利新蓝 (AB) 反应阳性的酸性黏多糖 (安利国等 2001)。根据阿利新蓝 (AB) (pH 2.5 和 1.0)、过碘酸-雪夫 (PAS) 染色的深浅表示其黏蛋白组织化学反应的强弱 (Park et al. 2001)。黏液细胞的分泌能力以消化道黏液物质含量, 即消化道各部的黏液细胞相对总体积表示, 即单位面积黏液细胞密度与单个黏液细胞体积之积 (李鑫炜等 2012)。

制片后采用 NIKON ECLIPSE 80i 显微摄像系统观察、照相。不同日龄仔稚鱼消化道各段取 3 张切片进行指标测量, 每张切片随机选 10 个视野, 分别计数每一视野中 100 μm × 100 μm 范围内各类型黏液细胞的总数, 作为该类型黏液细胞的密度; 并测量细胞的长径和短径来表示其大小, 黏液细胞体积 (V, mm^3) 根据公式计算, $V = (4/3) \pi \cdot R/[2 \cdot (r/2)^2]$, 式中, R 为黏液细胞长径 (mm), r 为黏液细胞短径 (mm)。每项指标采用 Image-Pro Plus (IPP) 图像分析软件进行测量。

1.3 数据分析

利用单因素方差分析法 (ANOVA) 对不同发育时期、消化道不同部位的黏液细胞数量分布进行差异显著性分析, 以最小显著差异法 (least-significant difference, LSD) 进行多重比较。所有统计值均用平均值 \pm 标准差 (Mean \pm SD) 表示, 显著性水平为 0.05。

2 结果

2.1 大鳞副泥鳅仔稚鱼消化道黏液细胞的发生

刚出膜的仔鱼消化道呈柱形直管状。4 日龄仔鱼开口, 消化道分化为口咽腔、食道和肠道, 口咽腔和食道出现 II 型黏液细胞。5 日龄时, 口咽腔顶部黏液细胞主要为 II 型, 较小且呈球形 (图 1a), 食道黏液细胞类型主要为 II 型, 呈球状和囊状 (图 1b)。8 日龄时, 前中肠开始出现 I 和 III 型黏液细胞, 多为棒状 (图 1c, d)。后肠肠壁薄, 黏液细胞主要为 II 型, 呈球

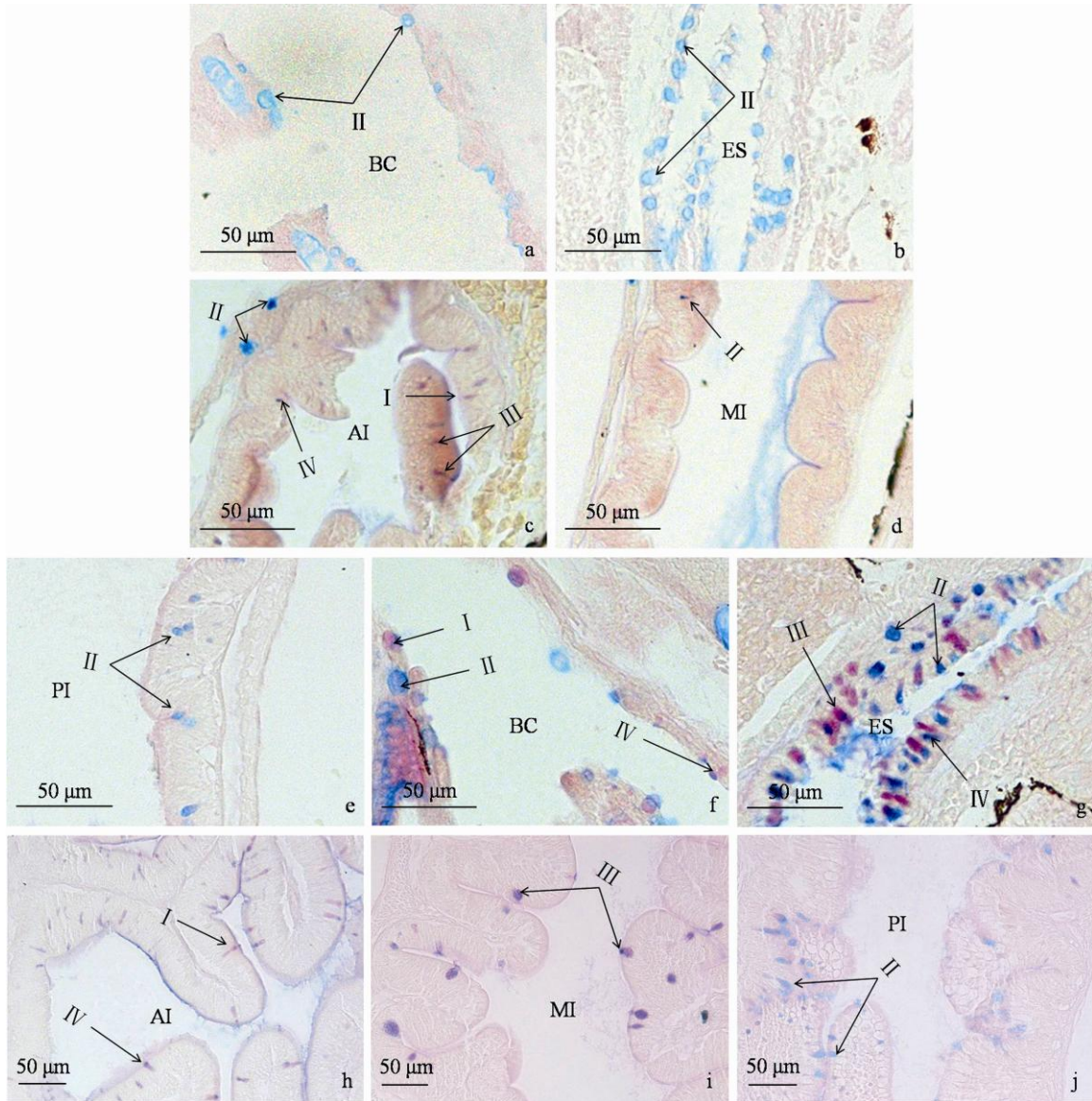


图 1 大鳞副泥鳅仔稚鱼黏液细胞的发生

Fig. 1 Occurrence of mucous cells in digestive tract of Loach larvae and juveniles

a. 5 日龄口咽腔; b. 5 日龄食道; c. 8 日龄前肠; d. 8 日龄中肠; e. 8 日龄后肠; f. 15 日龄口咽腔; g. 15 日龄食道; h. 20 日龄前肠; i. 20 日龄中肠; j. 20 日龄后肠。

a. 5 day-old buccopharyngeal cavity; b. 5 day-old esophagus; c. 8 day-old anterior intestine; d. 8 day-old middle intestine; e. 8 day-old posterior intestine; f. 15 day-old buccopharyngeal cavity; g. 15 day-old esophagus; h. 20 day-old anterior intestine; i. 20 day-old middle intestine; j. 20 day-old posterior intestine.

AI. 前肠; BC. 口咽腔; ES. 食道; MI. 中肠; PI. 后肠; I. I 型黏液细胞; II. II 型黏液细胞; III. III 型黏液细胞; IV. IV 型黏液细胞。
AI. Anterior intestine; BC. Buccopharyngeal cavity; ES. Esophagus; MI. Middle intestine; PI. Posterior intestine; I. Type I mucous cell; II. Type II mucous cell; III. Type III mucous cell; IV. Type IV mucous cell.

形(图 1e)。随着大鳞副泥鳅仔稚鱼生长发育, 肠道黏液细胞的数量也不断增加。15 日龄, 口腔黏液细胞丰富, 且顶部黏液细胞分布数量多于底部, 后部分布数量要多于前部(图 1f), 食道中的黏液细胞大多呈棒状和球状, 少量为囊状, 且分布密度较大, 食道后部黏液细胞密度要远大于前部(图 1g)。20 日龄时, 前肠和后肠黏液细胞数量较中肠多, 前肠黏液细胞丰富, 多为棒状和囊状, 后肠肠壁薄, 黏液细胞

多为球状和囊状(图 1h~j)。

2.2 大鳞副泥鳅仔稚鱼消化道黏液细胞的分布与密度变化

随着大鳞副泥鳅仔稚鱼的生长发育, 消化道黏液细胞密度不断增大, 黏液细胞类型也从单一型向混合型变化。不同类型黏液细胞密度差异显著, III和IV型黏液细胞的生长速度大于 I 和 II 型黏液细胞(表 1)。5 日龄时, 口腔只有少量 II 型黏液细胞; 10 日龄时, III和IV型

表 1 大鳞副泥鳅仔稚鱼消化道各部黏液细胞分布密度

Table 1 The density of mucous cells in different parts of digestive tract of Loach

消化道部位 Digestive tract parts	日龄 Day-old	I 型 Type I	II 型 Type II	III 型 Type III	IV 型 Type IV	总数 Total
口腔 Buccopharyngeal cavity	5	-	1.73 ± 0.34 ^a	-	-	1.73 ± 0.34
	10	-	1.12 ± 0.21 ^b	0.30 ± 0.04 ^a	0.82 ± 0.12 ^c	2.24 ± 0.12
	15	0.34 ± 0.06 ^a	1.35 ± 0.19 ^c	1.21 ± 0.25 ^b	1.51 ± 0.31 ^c	4.41 ± 0.29
	20	0.75 ± 0.23 ^a	1.37 ± 0.15 ^b	1.43 ± 0.32 ^b	1.32 ± 0.11 ^b	4.87 ± 0.45
	30	0.95 ± 0.22 ^a	1.09 ± 0.09 ^b	1.11 ± 0.23 ^b	1.97 ± 0.28 ^c	5.12 ± 0.50
	50	1.04 ± 0.26 ^a	1.25 ± 0.21 ^a	1.61 ± 0.22 ^b	2.45 ± 0.31 ^c	6.35 ± 0.73
食道 Esophagus	5	-	2.57 ± 0.23 ^a	-	-	2.57 ± 0.23
	10	0.33 ± 0.05 ^a	2.42 ± 0.51 ^c	0.7 ± 0.12 ^b	1.92 ± 0.24 ^c	5.37 ± 0.89
	15	2.17 ± 0.21 ^a	2.58 ± 0.41 ^a	3.13 ± 0.21 ^b	3.87 ± 0.32 ^b	11.75 ± 1.36
	20	2.57 ± 0.28 ^a	2.72 ± 0.29 ^a	3.54 ± 0.42 ^b	3.72 ± 0.31 ^b	12.55 ± 1.61
	30	2.59 ± 0.29 ^a	2.64 ± 0.21 ^a	3.57 ± 0.51 ^b	3.89 ± 0.43 ^b	12.69 ± 2.36
	50	2.69 ± 0.31 ^a	2.93 ± 0.35 ^b	3.83 ± 0.32 ^c	4.01 ± 0.54 ^c	13.64 ± 1.79
前肠 Anterior intestine	5	-	-	-	-	-
	10	0.42 ± 0.12 ^b	0.66 ± 0.10 ^c	0.12 ± 0.03 ^a	0.62 ± 0.13 ^c	1.78 ± 0.36
	15	0.12 ± 0.05 ^a	0.85 ± 0.14 ^b	0.23 ± 0.02 ^a	0.94 ± 0.21 ^b	2.24 ± 0.54
	20	0.54 ± 0.15 ^a	0.52 ± 0.12 ^a	1.83 ± 0.29 ^b	1.76 ± 0.34 ^b	4.65 ± 0.81
	30	0.66 ± 0.20 ^b	0.41 ± 0.13 ^a	2.12 ± 0.21 ^c	2.08 ± 0.26 ^c	5.27 ± 0.52
	50	0.75 ± 0.16 ^a	0.95 ± 0.23 ^a	3.19 ± 0.59 ^b	2.42 ± 0.48 ^b	7.31 ± 1.06
中肠 Middle intestine	5	-	-	-	-	-
	10	0.17 ± 0.04 ^a	0.34 ± 0.11 ^b	0.14 ± 0.02 ^a	0.27 ± 0.12 ^b	0.92 ± 0.17
	15	0.25 ± 0.09 ^a	0.31 ± 0.08 ^a	0.32 ± 0.21 ^a	0.51 ± 0.11 ^b	1.39 ± 0.31
	20	0.57 ± 0.17 ^a	0.61 ± 0.21 ^a	0.85 ± 0.28 ^b	1.09 ± 0.21 ^b	3.12 ± 0.43
	30	0.41 ± 0.18 ^a	0.75 ± 0.22 ^b	0.87 ± 0.16 ^b	1.20 ± 0.24 ^c	3.23 ± 0.85
	50	0.54 ± 0.21 ^a	0.93 ± 0.19 ^b	1.02 ± 0.24 ^b	1.43 ± 0.32 ^c	3.92 ± 0.62
后肠 Posterior intestine	5	-	1.22 ± 0.21 ^a	-	-	1.22 ± 0.21
	10	-	0.97 ± 0.22 ^a	-	0.96 ± 0.27 ^a	1.93 ± 0.23
	15	0.22 ± 0.10 ^a	1.25 ± 0.25 ^b	0.20 ± 0.10 ^a	1.19 ± 0.34 ^b	2.86 ± 0.36
	20	0.31 ± 0.12 ^a	1.52 ± 0.31 ^b	0.46 ± 0.14 ^a	2.35 ± 0.51 ^c	4.64 ± 0.71
	30	0.25 ± 0.09 ^a	1.24 ± 0.28 ^b	0.39 ± 0.13 ^a	2.89 ± 0.42 ^c	4.77 ± 0.68
	50	0.27 ± 0.11 ^a	1.73 ± 0.35 ^b	0.31 ± 0.11 ^a	3.52 ± 0.60 ^c	5.82 ± 0.65

表中数据为 100 μm × 100 μm 视野内计数到的黏液细胞数量的平均值 ± 标准差; 同一行中不同字母上标表示数据间差异显著 ($P < 0.05$); 表中“-”表示未发现黏液细胞。

Values in the table are represented as Mean ± SD of mucous cell number in 100 μm × 100 μm; The data with different superscripts in the same row are significantly different ($P < 0.05$); “-” notes mucous cell are not found.

黏液细胞密度增大；15 日龄口咽腔 II 和 IV 型黏液细胞显著多于 I 和 III 型 ($P < 0.05$)，此时 I 型黏液细胞相对较少；20 日龄各型黏液细胞密度均增大；30 日龄口咽腔 IV 型黏液细胞密度显著高于其他各型黏液细胞 ($P < 0.05$)。5 日龄食道只有少量 II 型黏液细胞；10 日龄时，食道黏液细胞 II 和 IV 型分布密度显著高于 I 和 III 型 ($P < 0.05$)；10~15 日龄食道黏液细胞密度快速增加；20 日龄后，食道中 III 和 IV 型黏液细胞密度显著高于 I 和 II 型 ($P < 0.05$)。

大鳞副泥鳅肠道黏液细胞密度随着仔稚鱼的生长发育变化明显。5 日龄时，前肠和中肠并未发现黏液细胞，后肠分布有少量 II 型黏液细胞。10 日龄肠道各部，II 和 IV 型黏液细胞与 I 和 III 型黏液细胞分布密度存在显著性差异 ($P < 0.05$)，且后肠缺乏 I 和 III 型黏液细胞。

15 日龄时，前肠 IV 型黏液细胞分布密度显著高于其他各型黏液细胞 ($P < 0.05$)，随着仔稚鱼发育，III 型黏液细胞显著增多。30 日龄后，前肠 III 和 IV 型黏液细胞分布密度显著高于 I 和 II 型黏液细胞 ($P < 0.05$)。15 日龄时，中肠主要为 II 和 IV 型黏液细胞，分布密度显著高于 I 和 III 型黏液细胞 ($P < 0.05$)。20 日龄后，中肠黏液细胞类型逐渐转为以 III 和 IV 型为主，分布密度显著高于 I 和 II 型黏液细胞 ($P < 0.05$)。15 日龄时，后肠 I 和 III 型黏液细胞分布密度显著低于 II 和 IV 型黏液细胞 ($P < 0.05$)，20 日龄后，IV 型黏液细胞的分布密度显著高于其他各型黏液细胞 ($P < 0.05$)。

2.3 消化道黏蛋白的分布特点

大鳞副泥鳅仔稚鱼消化道黏蛋白分布特点见表 2。4 日龄仔稚鱼在口咽腔和食道过碘酸-

表 2 大鳞副泥鳅仔稚鱼消化道黏蛋白组织化学反应情况

Table 2 Mucin histochemistry reaction of digestive tract of Loach larvae and juveniles

方法 Method	日龄 Day-old	口咽腔 Buccopharyngeal cavity	食道 Esophagus	前肠 Anterior intestine	中肠 Middle intestine	后肠 Posterior intestine
过碘酸-雪夫 Periodic acid-Schiff, PAS	1	-	-	-	-	-
	4	±	±	-	-	-
	7	+	+	-	-	-
	12	+	++	+	±	±
	15	++	++	++	+	+
	20	++	++	++	+	+
	30	++	+++	++	++	++
阿利新蓝 Alcian blue, AB (pH 2.5)	1	-	-	-	-	-
	4	+	+	-	-	-
	7	+	+	±	-	-
	12	+	++	+	±	+
	15	++	++	+	+	+
	20	++	++	+	+	++
	30	++	+++	++	+	++
阿利新蓝 Alcian blue, AB (pH 1.0)	1	-	-	-	-	-
	4	+	+	-	-	-
	7	+	+	±	-	+
	12	+	++	+	+	+
	15	++	++	+	+	++
	20	++	++	+	+	++
	30	++	+++	++	+	++
50	++	+++	++	+	++	

反应强度级别：- . 阴性；± 弱；+ . 中等；++ . 强；+++ . 强烈。

The intensity of the reaction is expressed in grades: - . Negative; ± Weak; + . Moderate; ++ . Intense; +++ . Very intense.

雪夫 (PAS) 以及阿利新蓝 (AB) (pH 2.5 和 1.0) 初次反应显阳性。在仔稚鱼发育的过程中, 消化道各部反应强度均逐渐增高。12 日龄时, 肠道初次过碘酸-雪夫 (PAS) 以及阿利新蓝 (AB) (pH 2.5 和 1.0) 反应显阳性。仔稚鱼在 12~20 日龄期间, 后肠的阿利新蓝 (AB) (pH 2.5 和 1.0) 反应强度高于前肠和中肠, 表明该部位含有丰富硫酸基 (-SO₃H) 和羧基 (-COOH) 的酸性黏液物质。随着仔稚鱼生长, 消化道上皮黏蛋白过碘酸-雪夫 (PAS) 以及阿利新蓝 (AB) (pH 2.5 和 1.0) 反应均逐渐增强, 表明消化道内酸性和中性黏液物质分泌不断增加。且前肠和后肠阿利新蓝 (AB) (pH 2.5 和 1.0) 反应强度高于中肠。

2.4 大鳞副泥鳅仔稚鱼消化道黏液细胞大小及分泌能力

大鳞副泥鳅仔稚鱼消化道黏液细胞大小见表 3。随着大鳞副泥鳅仔稚鱼生长发育, 消化道黏液细胞体积逐渐变大。相同日龄仔稚鱼食道的黏液细胞最大, 口咽腔次之, 且均大于肠

道各段黏液细胞。不同日龄大鳞副泥鳅消化道各部的分泌能力不同, 消化道各段黏液细胞的分泌能力比较见图 2。随着日龄增长, 消化道各部黏液细胞分泌能力逐渐增加。5~15 日龄期间, 同一日龄食道黏液细胞分泌能力强于消化道其他各部 ($P < 0.05$), 口咽腔次之。10 日龄时, 前肠与后肠黏液细胞的分泌能力强于中肠, 15 日龄后前肠黏液细胞分泌能力较 10 日龄开始显著增强 ($P < 0.05$), 20 日龄时, 后肠黏液细胞分泌能力较 15 日龄有显著升高 ($P < 0.05$)。前肠与后肠黏液细胞分泌能力均显著高于中肠 ($P < 0.05$)。

3 讨论

3.1 大鳞副泥鳅仔稚鱼消化道黏液细胞的分布与密度特点

大鳞副泥鳅消化道黏液细胞的分布密度随着仔稚鱼的发育逐渐增大, 且消化道不同部位密度各不相同。这与点带石斑鱼黏液细胞的发育类似 (李鑫炜等 2012)。在仔稚鱼发育初期,

表 3 大鳞副泥鳅仔稚鱼消化道不同部位黏液细胞大小 (μm)

Table 3 The sizes of mucous cells in different parts of digestive tract of Loach

日龄 Day-old		黏液细胞 Mucous cells				
		口咽腔 Buccopharyngeal cavity	食道 Esophagus	前肠 Anterior intestine	中肠 Middle intestine	后肠 Posterior intestine
5	长径 Long diameter	6.13 ± 1.36	6.97 ± 1.60	-	-	2.99 ± 0.28
	短径 Short diameter	3.89 ± 1.32	4.53 ± 0.45	-	-	1.61 ± 0.36
10	长径 Long diameter	8.57 ± 1.89	11.61 ± 2.93	5.18 ± 1.20	3.17 ± 1.21	4.09 ± 1.60
	短径 Short diameter	5.62 ± 1.62	5.47 ± 1.57	3.14 ± 0.21	1.84 ± 0.53	2.34 ± 0.20
15	长径 Long diameter	7.88 ± 1.32	11.83 ± 3.02	9.12 ± 2.34	5.15 ± 1.19	5.53 ± 1.75
	短径 Short diameter	4.96 ± 1.31	5.54 ± 1.45	5.86 ± 1.33	3.91 ± 0.24	3.60 ± 2.38
20	长径 Long diameter	8.72 ± 2.31	9.77 ± 2.54	10.15 ± 1.54	5.68 ± 1.58	7.86 ± 2.34
	短径 Short diameter	5.22 ± 1.32	5.91 ± 1.48	5.19 ± 1.89	4.05 ± 1.56	5.75 ± 1.52
30	长径 Long diameter	9.06 ± 1.43	9.28 ± 2.44	9.18 ± 2.80	5.75 ± 2.54	8.07 ± 2.15
	短径 Short diameter	5.19 ± 1.41	6.07 ± 1.29	4.79 ± 1.80	3.81 ± 0.53	5.48 ± 1.72
50	长径 Long diameter	11.83 ± 2.52	11.57 ± 1.17	12.32 ± 3.42	10.08 ± 2.75	9.38 ± 2.54
	短径 Short diameter	6.69 ± 1.45	6.64 ± 1.43	6.76 ± 1.40	5.60 ± 1.36	4.46 ± 1.27

表中“-”表示未发现黏液细胞。“-” notes mucous cell are not found.

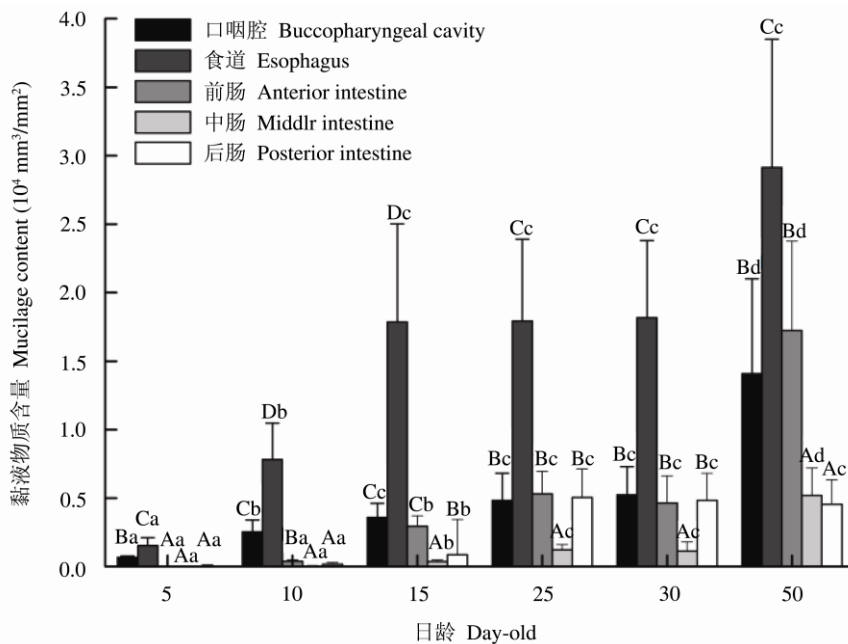


图 2 大鳞副泥鳅消化道各部黏液细胞的黏液物质含量 (平均值 ± 标准差)

Fig. 2 Mucilage content in different parts of digestive tract of Loach (Mean ± SD)

相同日龄消化道不同部位标注大写字母, 表示其间黏液物质含量差异显著 ($P < 0.05$), 不同日龄消化道相同部位标注不同小写字母, 表示其间黏液物质含量差异显著 ($P < 0.05$)。

Different superscripts (lower-case letters) indicate significant differences in mucilage content of the same part of digestive tract at different ages; different superscripts (capital letters) indicate significant differences in mucilage content in different parts of digestive tract at the same age, $P < 0.05$.

消化道有较丰富的 II 型黏液细胞, 这与鲤 (*Cyprinus carpio*) 消化道黏液细胞分布特点类似 (Sibbing et al. 1984)。这可能是由于无胃鱼类, 肠道是其消化的主要场所, 大量酸性黏液物质易与蛋白酶结合, 促进消化 (曹振杰等 1999)。随着仔稚鱼的发育, 黏液细胞逐渐由单一型向混合型转变, 这与多数鱼类的黏液细胞发育类似 (Sibbing et al. 1984, 安国利等 2001, 乔志刚等 2007)。

3.2 大鳞副泥鳅仔稚鱼消化道黏液细胞发育

大鳞副泥鳅类似于大多数鱼类, 开口后消化道最先出现黏液细胞部位为口咽腔 (安利国等 2001, 李鑫炜等 2012, 关海红等 2013, 张建业等 2014)。4 日龄仔鱼口咽腔开始出现 II 型黏液细胞, 与仔鱼开口摄食进入外源营养阶段一致。曹振杰等 (1999) 对草鱼

(*Ctenopharyngodon idellus*) 研究表明, 口腔丰富的酸性黏液物质不但能对食物起到润滑作用, 而且可以通过黏液物质中具有抗菌和溶菌作用的水解酶防治病原微生物的入侵。15 日龄口腔中性黏液物质分泌显著增多, 表明仔鱼对食物的摄取能力增加 (Murray et al. 1994)。食道在仔鱼开口期出现 II 型酸性黏液细胞, 刘怀如等 (2002) 认为此时食道分泌酸性黏液主要起着对食物润滑以及抗菌的作用。10 日龄食道中各类型黏液细胞开始显著增长, 15 日龄后食道中各类型黏液细胞分布密度均匀, 食道分泌大量中性和酸性黏液的现象类似于多种有胃鱼类, 表明食道具备对食物进行预消化的能力 (Grau et al. 1992, Murray et al. 1994, 谢湘筠等 2007, 张伟妮等 2009, 张建业等 2014)。

5 日龄内源向外源营养转变关键点, 肠道

前中段没有明显的黏液细胞, 后肠有少量的 II 型黏液细胞, 此时肠道消化功能较弱。随着仔稚鱼完全进入外源性营养阶段, 肠道黏液细胞数量逐渐增多。10 日龄时, 肠道各型黏液细胞均已出现, 但密度较小, 这与此阶段仔稚鱼肠道的消化功能还并不完善是符合的。15~20 日龄, 肠道黏液物质含量显著增加, 肠道消化功能逐渐增强。随着仔稚鱼发育, 前肠中性 I 和 III 型黏液细胞显著增多, 且分泌的大量中性黏液物质可以和碱性磷酸酶共存, 具有消化功能 (Reifel et al. 1979)。中性黏液物质与短链脂肪酸吸收相关 (Murray et al. 1996)。随着中性黏液物质的增加表明肠道对脂肪的消化吸收能力逐渐增强。20 日龄后各型黏液细胞密度以及黏液物质含量均趋于稳定, 从黏液细胞的角度来看, 大鳞副泥鳅仔稚鱼消化吸收功能趋于完善。

与泥鳅 (McMahon et al. 1987) 生存环境类似, 大鳞副泥鳅也是一种在低氧下具备肠道辅助呼吸能力的鱼类, 刘文生等 (2004) 研究表明, 泥鳅后肠为其进行气呼吸的主要场所。研究发现, 大鳞副泥鳅仔稚鱼在发育过程中, 后肠主要为 II 和 IV 型黏液细胞, 酸性黏液物质显著多于中性黏液物质。这与张建业等 (2014) 对泥鳅黏液细胞研究结果类似。对刚特似鳞头鳅 (*Lepidocephalichthys guntea*) (Moitra et al. 1989) 和大鳞泥鳅 (*Misgurnus mizolepis*) (Park et al. 2001) 的研究发现, 其肠道后分泌大量酸性黏液物质的特点与其肠道辅助呼吸相关。在 10~20 日龄期间, II 和 IV 型黏液细胞显著增加, 表明该期间可能是其后肠形成气呼吸功能的时段。泥鳅黏液细胞的发育也有类似特点 (张建业等 2014)。与肠道具辅助呼吸功能的鱼类类似 (Moitra et al. 1989, Park et al. 2001, 2003), 大鳞副泥鳅后肠分泌的酸性黏液物质使得粪便以及未消化的食物能够快速排出体外, 保持上皮区域的洁净。同时也为气呼吸上皮进行气体交换提供了稳定的酸性环境, 这也是大多数具有辅助呼吸功能的鱼类呼吸器官的共有特征 (Moitra et al. 1989, Park et al. 2001, Podkowa

et al. 2002)。

3.3 大鳞副泥鳅仔稚鱼危险期的原因探讨

大鳞副泥鳅在仔稚鱼时期会长出外鳃, 随着发育会明显发生形态变化即外鳃退化消失。有学者根据鱼类早期发育中形态的显著变化, 提出鱼类在发育过程中存在变形期, 此期间仔稚鱼内部器官功能出现和完善不容忽视, 为仔稚鱼的敏感期之一 (杨瑞斌等 2008)。大鳞副泥鳅苗种培育阶段, 变态期为仔稚鱼死亡的高峰阶段, 而此危险阶段处于大鳞副泥鳅仔稚鱼消化道发育初期。从黏液细胞的角度, 一方面, 5~10 日龄期间, 大鳞副泥鳅仔稚鱼黏液细胞刚开始发育, 其黏液细胞数量较少、类型单一且分泌能力弱, 并未对外源性营养物质消化吸收到明显辅助作用, 这可能是大鳞副泥鳅仔稚鱼高死亡率的原因之一。另一方面, 15~20 日龄期间, 大鳞副泥鳅仔稚鱼肠呼吸功能并未发育完善, 后肠酸性黏液物质分泌相对较少, 可能导致气泡易滞留于消化道无法正常排出, 导致鱼体失去平衡, 无法进食而死亡。在生产过程中需提供易消化吸收的适口活饵料以利生长, 同时在发育敏感期加强仔稚鱼日常饲养管理以利于提高苗种成活率。

参 考 文 献

- Gisbert E. 1999. Early development and allometric growth patterns in Siberian sturgeon and their ecological significance. *Journal of Fish Biology*, 54(4): 852-862.
- Grau A, Crespo S, Sarasquete M C, et al. 1992. The digestive tract of the amberjack *Seriola dumerili*, Risso: a light and scanning electron microscope study. *Journal of Fish Biology*, 41(2): 287-303.
- Harris J E, Watson A, Hunt S. 1973. Histochemical analysis of mucous cells in the epidermis of brown trout *Salmo trutta*. *Journal of Fish Biology*, 5(3): 345-351.
- Leknes I L. 2011. Mucus cells in the digestive tract in prenatal platyfish larvae (Poeciliidae, Teleostei). *Anatomia Histologia Embryologia*, 40(5): 375-378.
- McMahon B R, Burggren W W. 1987. Respiratory physiology of

- intestinal air breathing in the teleost fish *Misgurnus anguillicaudatus*. *Journal of Experiment Biology*, 133(1): 371–393.
- Moitra A, Singh O N, Munshi J. S. 1989. Microanatomy and cytochemistry of the gastro-respiratory tract of an air-breathing cobitidid fish, *leptocephalichthys guntea*. *Japanese Journal of Ichthyology*, 36(2): 227–231.
- Murray H M, Wright G M, Goff G P. 1994. A study of the posterior esophagus in the Winter flounder, *Pleuronectes-americanus*, and the yellowtail flounder, *Pleuronectes ferruginea*: morphological evidence for pregastric digestion. *Canadian Journal of Zoology*, 72(7): 1191–1198.
- Park J Y, Kim I S. 2001. Histology and mucinhistochemistry of the gastrointestinal tract of the mud loach, in relation to respiration. *Journal of Fish Biology*, 58(3): 861–872.
- Park J Y, Kim I S, Kim S Y. 2003. Structure and mucous histochemistry of the intestinal respiratory tract of the mud loach, *Misgurnus anguillicaudatus* (Cantor). *Journal of Applied Ichthyology*, 19(4): 215–219.
- Podkowa D, Goniakowska L. 2002. Adaptations to the air breathing in the posterior intestine of the catfish (*Corydoras aeneus*, Callichthyidae). A histological and ultrastructural study. *Folia Biologica*, 50(1/2): 69–82.
- Reifel C W, Travill A A. 1979. Structure and carbohydrate histochemistry of the intestine in ten teleostean species. *Journal of Morphology*, 162(3): 343–359.
- Sibbing F A, Uribe R. 1984. Regional Specializations in the Oro-Pharyngeal Wall and Food Processing in the Carp (*Cyprinus Carpio* L.). *Netherlands Journal of Zoology*, 35(3): 377–422.
- 安利国, 孟广勋, 杨桂文, 等. 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.
- 曹振杰, 曲世科, 丛日祥, 等. 1999. 免疫多糖对草鱼免疫功能的影响. *齐鲁渔业*, 16(3): 43–44.
- 丁瑞华. 1994. 四川鱼类志. 成都: 四川科学技术出版社, 120–122.
- 关海红, 尹家胜. 2013. 哲罗鱼消化道中黏液细胞的发生和分布. *水产学杂志*, 26(5): 21–26.
- 李鑫炜, 骆剑, 李伟萍, 等. 2012. 点带石斑鱼仔稚鱼消化系统黏液细胞的类型与分布. *渔业科学进展*, 33(5): 15–24.
- 刘怀如, 张耀光. 2002. 南方鲇消化道杯状细胞分布及类型探讨. *四川动物*, 21(1): 6–9.
- 刘文生, 王凤麟. 2004. 胡子鲇、月鳢、泥鳅具气呼吸作用器官呼吸上皮的电镜观察. *水生生物学报*, 28(5): 519–525.
- 乔志刚, 陈生智, 程鸿轩, 等. 2007. 鲇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): 24–31.
- 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.
- 杨桂文, 安利国. 1999. 鱼类黏液细胞研究进展. *水产学报*, 23(4): 403–409.
- 杨瑞斌, 谢从新, 樊启学. 2008. 仔稚鱼发育敏感期研究进展. *华中农业大学学报*, 27(1): 161–165.
- 张建业, 杨瑞斌, 杨学芬, 等. 2014. 泥鳅仔稚鱼消化道黏液细胞的发育. *华中农业大学学报*, 33(4): 93–98.
- 张伟妮, 林旋, 林树根, 等. 2009. 褐牙鲂消化道黏液细胞的类型及分布. *福建农林大学学报*, 38(3): 280–284.