

棘颊雀鲷的胚胎发育形态学研究

王珊珊¹, 罗海忠^{2*}, 李伟业² (1. 浙江海洋学院水产学院, 浙江舟山 316022; 2. 舟山市水产研究所, 浙江舟山 316003)

摘要 [目的] 了解棘颊雀鲷的发育特点和生理生态条件。[方法] 在水温(26±1)℃、盐度(25±1)的实验室条件下对棘颊雀鲷受精卵的发育过程进行研究。[结果] 棘颊雀鲷受精卵呈椭圆形, 根据其胚胎发育过程的形态特征分为10个阶段: 卵裂前期、卵裂期、囊胚期、原肠期、神经胚期、体节期、翻转期、血管形成期、器官形成期、孵化期; 受精卵长径1.99 mm, 发育过程中受精卵的颜色逐渐加深, 孵化期以后颜色变浅至透明; 在水温26℃条件下受精卵历时154 h 孵出, 初孵仔鱼全长(3.6±0.1) mm。[结论] 该研究可为棘颊雀鲷人工育苗生产提供理论依据。

关键词 棘颊雀鲷; 胚胎发育; 形态学特征

中图分类号 S965.82 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2015)08-102-04

Study on the Morphological Characteristics of Embryonic Development of *Premnas biaculeatus*

WANG Shan-shan¹, LUO Hai-zhong^{2*}, LI Wei-ye² (1. Fishery School of Zhejiang Ocean University, Zhoushan, Zhejiang 316022; 2. Zhoushan Fisheries Research Institute, Zhoushan, Zhejiang 316000)

Abstract [Objective] The research aimed to understand the development characteristics and physiological and ecological conditions of *Premnas biaculeatus*. [Method] The development process of *P. biaculeatus* oosperm under the laboratory conditions of (26 + 1) °C, salinity of (25 + 1) was studied. [Result] The oosperm of *P. biaculeatus* was oval. According to the morphological characteristics, the embryonic development process was divided into 10 stages: per-cleavage stage, cleavage stage, blastula stage, gastrul stage, neurula stage, somite stage, turnover stage, angiogenesis stage, organ formation stage and hatching stage. The long diameter of oosperm was 1.99 mm, the color of oosperm in the development process was gradually deepened. The oosperm of *P. biaculeatus* took about 154 h to complete the whole incubation period at water temperature of 26 °C. The whole length of newly-hatched larvae was (3.6 ± 0.1) mm. [Conclusion] The research could provide theoretical basis for the artificial production of *P. biaculeatus*.

Key words *Premnas biaculeatus*; Embryonic development; Morphological characteristics

棘颊雀鲷 (*Premnas biaculeatus*), 隶属鲈形目 (Perciformes)、雀鲷科 (Pomacentridae)、棘颊雀鲷属 (*Premna*), 俗名透红小丑, 体长10~15 cm, 全身紫褐色, 与海葵共生。此类鱼身上有1条或2条白色条纹, 好似京剧中的丑角, 所以俗称“小丑鱼”, 大多生活在印度洋和太平洋较温暖的水域, 因其美丽的外观而被人们列为观赏鱼类。

目前已知小丑鱼有28种, 1种来自棘颊雀鲷属 (*Premnas*), 其余来自双锯鱼属 (*Amphiprion*), 棘颊雀鲷为棘颊雀鲷属中唯一的一个种^[1]。目前, 国内外学者主要对二线小丑^[2]、红小丑^[3]、眼斑双锯鱼^[4]、克氏双锯鱼^[5-6]等的生理生态、人工繁育及卵径与季节变化之间的关系、幼鱼人工养殖中饲料投喂^[7]及规模化繁育^[8]等进行研究。国内对棘颊雀鲷的研究报道并不多, 鲍鹰等^[1]研究光照、温度和饵料等对棘颊雀鲷的人工繁育的影响, 但关于棘颊雀鲷胚胎发育的形态学观察迄今尚未见报道。笔者研究了棘颊雀鲷的胚胎发育过程, 以期掌握其发育特点和生理生态条件, 为棘颊雀鲷人工育苗生产提供理论依据。

1 材料与方 法

1.1 亲鱼的饲养管理 试验在舟山市水产研究所进行, 试验所用亲鱼从印尼引进并配对成功, 亲鱼在循环水过滤系统鱼缸中饲养, 盐度为20‰~25‰, 每天换水20%, 缸中放有瓦罐供亲鱼的受精卵附着, 亲鱼养殖水温为(26±1)℃, 水温通

过循环系统中的加热棒控制。每天光照14 h, 黑暗10 h, 每天8:00、10:00、14:00、16:00投喂鲜蛭肉糜4次。

1.2 胚胎发育观察 亲鱼通常于上午9:00~11:00产卵, 约15~21 d产卵1次, 亲鱼出现产卵行为时, 进行不间断观察, 待亲鱼产卵结束后立即将附有受精卵的瓦罐拿出放在另一个循环水系统中放入气石, 模拟亲鱼孵化环境, 水质水温条件与亲鱼孵化环境一致。产卵当天每0.5 h取样1次, 每次随机取样10粒, 其发育期以超50%胚胎达到该发育时期的时间为准。囊胚期前每隔20 min取样1次, 囊胚期以后每2 h观察1次, 原肠期以后每隔5 h观察1次。测量胚胎发育各阶段的卵径, 记录胚胎发育各阶段的时间和主要特征。

2 结果与分析

棘颊雀鲷胚胎发育在水温26℃, 盐度20‰条件下历时154 h, 初孵仔鱼全长(3.66±0.11) mm。据其胚胎发育过程的形态特征可分为10个阶段: 卵裂前期、卵裂期、囊胚期、原肠期、神经胚期、体节期、翻转期、血管形成期、器官形成期、孵化期(表1)。

2.1 卵裂前期 棘颊雀鲷受精卵呈椭圆形, 受精卵内有一个大小油球不均匀分布。棘颊雀鲷受精卵呈椭圆形, 属于黏性卵, 呈橙红色, 卵径1.99 mm, 卵膜有弹性, 显微镜下可见受精卵动物极一端有纤维状附着丝, 附着在瓦罐上。卵内无数个油球, 大小油球呈不规则分布, 油球接近于植物极一端。受精1 h后胚盘形成于动物极, 可见靠近动物极的细小油球向植物极移动, 显微镜下可见胚盘如帽状(图1a)。

2.2 卵裂期 受精后2 h开始进入细胞分裂期, 细胞分裂于动物极, 胚盘顶部中央产生裂痕, 裂痕逐渐加深成为一道裂沟, 并能见到细胞分裂为二, 此时为2细胞期(图1b)。受精

基金项目 舟山市科技计划项目(2013C111010)。

作者简介 王珊珊(1988-), 女, 黑龙江木兰人, 硕士研究生, 研究方向: 现代渔业工程。*通讯作者, 教授级高工, 硕士生导师, 从事海水生物增殖研究。

收稿日期 2015-01-26

2 h 后胚盘又一道裂沟出现,并与第一道裂沟垂直,胚盘被分成 4 份,形成 4 个大小相似的细胞,此时为 4 细胞期(图 1c)。2.5 h 后胚盘处出现与第 1 次分裂沟平行的又一分裂沟,胚盘分裂成为 8 个细胞,此时进入 8 细胞期(图 1d)。3 h 后进行第 4 次卵裂,分裂沟与第 2 次分裂沟平行形成,将胚盘分

成 16 个细胞,为 16 细胞期,此时各细胞大小一致(图 1e)。进入 32 细胞期后各细胞随着分裂的增多而逐渐变小并不规则排列,逐渐分辨不清细胞个数。达到 64 细胞期后细胞多至重叠,排列为 2 层。此时卵裂期结束,即将进入囊胚期(图 1f)。

表 1 棘颊雀鲷胚胎发育的各时期特征

胚胎发育时期	受精卵颜色	受精后时间/h	主要特征
卵裂前期	橙红色	1	卵内大小油球呈不规则分布,胚盘如帽状(图 1a)
卵裂期	橙红色	4	胚盘中部产生裂痕,细胞一分为二,二细胞期(图 1b)第二道裂痕与第一道裂痕垂直,四细胞期(图 1c),依次分裂(图 d~f)
囊胚期	橙红色	5	细胞分裂至无法计数呈帽状堆积在胚盘上,形成囊胚腔(图 1g~h)
原肠期	橙黄色	12	胚盘部分逐渐向卵黄下部包裹,胚层继续下包并内卷(图 i~k)
神经胚期	红棕色	20	可见 1 条脊索在中央紧贴于卵黄上(图 1l~n)
体节期	深红棕色	22	体节出现,胚体外膜出现少量黑色素细胞(图 1o~p)
翻转期	棕色,有黑色素	28	胚体头部由动物极向植物极翻转,视杯形成,眼囊可见,胚体在卵膜内不断抽动(图 q~s)
血管形成期	深棕色	49	眼囊中出现黑色晶体,胚体黑色素明显增多(图 1t)
器官形成期	棕黄色	72	胚体在卵内扭动次数频繁,胸鳍、臀鳍、尾鳍、背鳍都已发育完全(图 1u)
孵化期	变透明	154	眼镜发亮(图 1v),仔鱼破膜孵出(图 1w~x)

2.3 囊胚期 受精卵受精 4 h 后,细胞分裂至无法计数呈帽状堆积在胚盘上,逐渐与卵黄顶部形成腔,为囊胚腔。囊胚腔的高度约为卵黄的 1/4,各细胞间隙还可分辨出。此时为囊胚早期(图 1g)。随着细胞的继续分裂,囊胚高度降低。囊胚腔逐渐向卵黄部分降低,至囊胚腔内见无数小细胞的界限无法分清,当受精卵发育至 5.5 h 时囊胚腔向卵黄部分降低的囊胚开始下包(图 1h),囊胚期结束。

2.4 原肠期 受精后 12 h 胚盘部分逐渐向卵黄下部包裹,当下包至卵黄 1/4 位置时可见胚环,此时已达到原肠早期(图 1i)。此时胚层继续下包并内卷,当下包达至卵径的 1/3 时可见胚环,胚环的一侧出现胚盾,显微镜下从侧面观看犹如胶囊般,油球数量也明显减少(图 1j),胚体外观由橙红色变为橙黄色,为原肠中期。当胚层下包至 3/5 或 3/4 时,植物极卵黄被包围,形成外胚膜,进入原肠晚期(图 1k)。

2.5 神经胚期 受精 20 h 后,胚层下包至卵黄 4/5 胚体背面神经板形成,可见一条脊索在中央紧贴于卵黄上(图 1l),胚盘逐渐下包收缩形成胚孔,随后胚层继续下包,当植物极大部分被包裹,仅末端一小部分露在外面,卵黄上部形成脑泡(图 1m),胚体头部出现在动物极。当卵黄全部被包围,胚孔闭合,胚体在卵黄上清晰可见,头部出现雏形,,但未育体节出现(图 1n),此时受精卵外观呈红棕色。

2.6 体节期 受精后 22 h,视泡出现,体节出现,体节最先出现在胚体中部(图 1o),随后慢慢增多,同时也在渐渐清晰,观测较为容易(图 1p),当体节达到 25 对时胚体外膜出现少量黑色素细胞,素点较小,因此受精卵外观开始变成深红棕色,同时卵黄开始变小,油球数量继续变小。

2.7 翻转期 受精后 28 h 胚体尾部清晰可见,胚体变长,有尾鳍形成,尾部渐渐离开卵黄,尾后端偶尔出现微肌肌肉收缩,胚体头部开始由动物极向植物极翻转趋势,视杯形成,眼囊可见,眼珠形成但不透明。受精后 42 h 出现心跳,心跳频

率为 80 次/min,胚体头部翻转至卵黄 1/3 处(图 1q),黑色素增多、变大,此时受精卵外观呈棕色,外观上可见黑色素。受精后 45 h,胚体头部翻转至卵黄 3/5 处,尾部与卵黄游离,游离部分达胚体的 1/4,胚体在卵膜内不断抽动,卵黄变小,卵黄油球数量继续变少,剩下部分较大油球(图 1r)。受精后 48 h 胚体头部转向植物极,标志着翻转期结束(图 1s)。

2.8 血管形成期 此时心跳达到 150 次/min 左右,视泡变大,眼囊中出现黑色晶体,胚体黑色素明显增多,受精卵外观呈深棕色,此时在显微镜下可见到血液循环,卵黄外血管较粗,胚内血管较细。血液由心脏流出经脑部至尾基,再由尾基反流回胚体,由于胚体与卵黄连接,因此血液流经卵黄囊表面的血管,然后到卵黄囊表面半周,最后再流回心脏(图 1t)。

2.9 器官形成期 受精后 72 h,眼镜、肌节、耳石、脑泡和心脏等器官已见雏形,眼睛发亮,心跳加快,卵黄迅速变小,胚体在卵内扭动次数频繁,黑色素细胞在逐渐消失(图 1u),因此受精卵外观颜色逐渐变浅,由深棕色变为棕黄色,个别卵粒有破膜现象,破膜多半是通过尾部挣脱卵膜而出,破膜后 12 h 内死亡。通过对破膜卵粒的观察所见胸鳍、臀鳍、尾鳍和背鳍都已发育完全。

2.10 孵化期 孵化前 1 d,黑色素细胞已消失剩下很小的色素点,因此受精卵外观由之前的棕黄色变为透明,发亮的眼睛在受精卵外观可明显看出,胚体在卵内占据大部分空间(图 1v),心跳达到 180 次/min。孵化一般在天黑后进行,胚胎分泌孵化酶将卵膜溶解,胚体破膜而出。仔鱼全长 3.60 ~ 3.80 mm,身体透明(图 1w~x)。

3 讨论

3.1 受精卵的胚胎发育特征 棘颊雀鲷受精卵属端黄卵盘状分裂,同大多数真骨鱼类类似^[9]。受精卵属黏性卵,较光滑呈椭圆形,具有油球,油球大小不一,不均匀分布在受精



注:a.卵裂前期;b-f.卵裂期;g-h.囊胚期;i-k.原肠期;l-n.神经胚期;o-p.体节期;q-s.翻转期;t.血管形成期;u.器官形成期;v-x.孵化期。

图1 棘颊雀鲷胚胎发育的各时期特征

卵内,有附着丝,附着于产卵基上,其特征同慈鲷科盘丽^[10]、七彩神仙鱼^[11]的受精卵比较相似。棘颊雀鲷受精卵卵径1.99 mm,比棘鲷科黑棘鲷^[9](0.84~0.98 mm)和鲷科金头鲷^[12](0.82~0.92 mm)卵径长,比丽鱼科的尼罗罗非鱼^[13]受精卵卵径(2.06~2.40 mm)短,较慈鲷科盘丽^[10](1.02~1.14 mm)和七彩神仙鱼^[11](1.51±0.3 mm)相似,导致棘颊雀鲷

受精卵与慈鲷科鱼类相似的原因有待研究。

3.2 受精卵的颜色变化 受精卵外观颜色在体节期、器官形成期和孵化期的变化较为明显,因为胚体在发育至体节期时胚体黑色素细胞不断沉积^[14],导致受精卵外观颜色加深,变为红棕色。胚体在翻转的同时眼的黑色素也在增多,因此受精卵在血管形成期胚体已完全翻转至植物极,眼的黑色素

已形成,此时受精卵外观变至深棕色。当器官发育完全后,胚体中的黑色素逐渐消失,受精卵内卵黄在减小,此时其颜色又逐渐转变成棕黄色。在孵化期,一方面卵黄大部分被吸收并急剧减小,受精卵内被膨大的胚体充盈,另一方面胚体眼部发育成熟,晶体出现,在此情况下受精卵的外观呈透明色,见受精卵内部闪闪发亮时,既是孵化期的即将结束。通过对受精卵颜色变化的观察可作为判断为判断孵化时间的标志,为此可为人工育苗生产中判断胚胎发育的时期作为参照。

3.3 受精卵的胚胎发育时间 不同鱼类受精卵的胚胎发育时间不同,棘颊雀鲷受精卵发育时间较大多数海水鱼类长,如斑鲃^[15]胚胎发育时长为 28~29 h、双棘黄姑鱼^[16]胚胎发育时长为 19.2 h。该试验在水温(26±1)℃下在历时 154 h 完成整个胚胎发育过程。其他双锯鱼属于小丑鱼,海葵双锯鱼^[17]发育时间为 151~152 h。红小丑^[3]发育时间为 216~240 h。眼斑双锯鱼^[4]发育时间为 180~200 h;二线小丑鱼^[2]胚胎发育时间为 176 h。5 种小丑鱼中,棘颊雀鲷受精卵和发育时间与二线小丑鱼相近。

该试验过程中棘颊雀鲷受精卵在水温(26±1)℃下历时 154 h 完成整个胚胎发育过程,水温 25℃下胚胎发育历时 178 h,可见在一定温度范围内温度越高,胚胎发育时间越短,这也验证了大部分鱼类胚胎发育时间大多与水温有关^[14]。

参考文献

[1] 鲍鹰,张鹏,祝承勇,等.棘颊雀鲷人工繁殖与育苗的初步研究[J].海洋科学,2011,35(3):61-71.

- [2] 滕力平,杨旦光,李晓光,等.二线小丑鱼的人工繁殖[J].水产科学,2005,24(2):26-27.
- [3] 鲍鹰,张鹏,祝承勇,等.红小丑人工繁殖和育苗的初步研究[J].海洋科学,2009,33(2):5-9.
- [4] 王斌,王士莉,杨爱国,等.眼斑双锯鱼的人工繁育技术研究[J].渔业科学进展,2010,31(5):41-46.
- [5] ARATAKE H, NAKAZONO A. Relationship between egg size and its energy content in anemonefish, *Amphiprion clarkii* [J]. Sci Bull Fac Agric Kyushu Univ, 2005, 60(2): 203-206.
- [6] ARATAKE H, NAKAZONO A. Seasonal change of egg size and number in the anemonefish *Amphiprion clarkii* at two different localities in the temperate Kyushu, Japan [J]. Sci Bull Fac Agric Kyushu Univ, 2006, 61(1): 83-91.
- [7] 叶乐,杨其彬,吴开畅.小丑鱼幼鱼人工配合饲料初步研究[J].安徽农业科学,2009,37(8):3555-3559.
- [8] 叶乐,王雨,杨其彬,等.小丑鱼规模化繁育技术研究[J].健康养殖—海水篇,2008(12):58-60.
- [9] 官曙光,刘洪军,李祥东,等.黑棘鲷胚胎发育过程及特殊观察[J].海洋科学,2011,35(9):68-72.
- [10] 童永,沈建忠.盘丽鱼胚胎发育的研究[J].安徽农业科学,2008,369(7):2633-2635.
- [11] 徐玲玲,邵零相,谢伟,等.七彩神仙鱼胚胎及仔鱼发育研究[J].河南师范大学学报:自然科学版,2012,40(1):125-129.
- [12] 王彦怀,陶秉春,梁伟光,等.金头鲷胚胎发育的初步观察[J].海洋水产研究,2006,27(6):15-18.
- [13] 王令玲,仇潜如.尼罗罗非鱼胚胎及胚后发育的观察[J].动物学报,1981,27(4):327-336.
- [14] 鞠晨曦,李云,刘红,等.眼斑双锯鱼胚胎发育的形态学观察[J].海洋渔业,2014,36(1):8-15.
- [15] 王兴春.斑鲃胚胎发育初步观察[J].海洋渔业,2014,36(1):1-6.
- [16] 张雅芝,胡石柳,徐沈,等.双棘黄姑鱼的早期发育研究[J].集美大学学报:自然科学版,2006,11(11):13-17.
- [17] DHANEESH K V, AJITH KUMAR T T, SHNUMUGARAJ T. Embryonic development of percula clown fish, *Amphiprion percula* (Lacepede, 1802) [J]. Middle-East Journal of Scientific Research, 2009, 4(2): 84-89.

(上接第 36 页)

插水稻的小苗、宽行、浅栽等基本特点和里下河生态区的土壤、生态条件和栽培水平,更有利于通过群体起点的优化,建立符合水稻高产优质高效栽培要求的群体质量调控体系和技术体系。

表 3 不同处理的叶面积与干物重

处理	叶面积指数		干物质积累		抽穗至成熟干物质生产量 kg/hm ²
	抽穗期	成熟期	抽穗期	成熟期	
A ₁	5.48	1.83	10 041	16 934	6 893
A ₂	6.04	2.66	12 736	20 773	8 037
A ₃	6.12	2.85	12 407	21 595	9 188
B ₁	5.88	2.28	10 902	18 830	7 928
B ₂	5.94	2.39	12 185	20 334	8 149
B ₃	5.84	2.60	12 104	20 138	8 034

在里下河生态区,机插密度是调控机插水稻群体的首选因子。采用行距 30 cm 的插秧机,适宜株距以 10~13 cm 为

宜,该试验和大面积机插水稻的高产攻关试验显示,采用上述密度,均有可能获得水稻高产,生产上可根据品种、播栽期适当调整,即早播早栽密度水平低一点、迟播迟栽密度适当提高,更利于高产。

关于单穴苗即取样量的问题。在大面积生产实践中,不少农户偏重于多苗大棵,担心苗数不足,往往忽视机插小苗分蘖节位多、有效分蘖期长的现实,容易造成中期群体过大,导致成穗率下降,产量不高。该试验结果表明,在该生态区正常的机插季节栽插,单穴苗 4 苗即可,如确因播栽期太迟,可适当增加单穴本数,但不易超过 5 苗。取样量的大小主要视秧苗均匀度、素质和栽培水平而定。

参考文献

- [1] 樊宝贵,周有炎,龚金龙,等.机插武运梗 24 高产形成规律与栽培技术研究[J].北方水稻,2011,41(6):26-29,33.
- [2] 张洪程,李杰,戴其根,等.机插稻“标秧、精插、稳发、早搁、优中、强后”高产栽培精确定量关键技术[J].中国稻米,2010,16(5):1-6.
- [3] 孙敬东,袁志章,黄秀芳,等.武运梗 24 号 700 kg/hm² 机插高产配套栽培技术[J].北方水稻,2012,42(4):55-57.