

条斑星鲷早期发育生物学研究 ——受精卵的形态、生态和卵胚发育特征

肖志忠¹, 于道德^{1,2}, 张修峰³, 徐世宏¹, 马道远¹, 李 军¹

(1. 中国科学院 海洋研究所, 山东 青岛 266071; 2. 中国科学院 研究生院, 北京 100039; 3. 青岛市渔业技术推广站, 山东 青岛 266000)

摘要:条斑星鲷(*Verasper moseri*)的受精卵为圆球形、分离透明、无油球的悬浮卵。卵膜具粗波纹状的纹络。卵黄均匀, 浅黄色或米黄色。卵径平均为 1.70 mm \pm 0.02 mm。卵黄囊径 1.57 mm \pm 0.025 mm。卵黄间隙狭窄, 约为 0.11 mm。受精卵的可孵化水温为 6.0 ~ 11.0, 最适孵化水温 8.0 ~ 10.0。可孵化盐度为 27.00 ~ 36.00, 最适孵化盐度为 33.00 ~ 35.00。受精卵在不同盐度的海水中, 呈现不同的生态分布特征。在水温 8.0 ~ 10.0, 盐度 33.00, 光照 500 ~ 6 000 lx, pH 值 7.5 ~ 8.4 的孵化条件下, 受精卵约历时 216 h 孵化出膜, 出膜方式以头部首先破膜为主。优质卵的孵化率可达 90% 以上。在条斑星鲷胚胎发育过程中, 原肠期及原肠期以前的时期对温度的敏感性明显强于原口关闭后各个发育时期。卵胚卵裂期的不同步分裂现象要比其他硬骨鱼类提前, 出现在第三次卵裂时期。多细胞期的裂球均一程度较低。在孵化育苗生产中, 出现大量带有“空泡”的不正常的卵胚和前期仔鱼。该研究结果为比较鲆鲷鱼类早期发育过程提供了基础参考资料, 同时揭示作为冷温性鱼类条斑星鲷受精卵发育过程中出现的特殊规律, 从而为该鱼种进一步大规模苗种生产提供了理论依据。

关键词:条斑星鲷(*Verasper moseri*); 悬浮卵; 胚胎发育

中图分类号: Q132.3

文献标识码: A

文章编号: 1000-3096(2008)02-0017-05

早在 1965 年, 中国著名鱼类学专家张孝威就对牙鲆和条鲷的胚胎发育过程进行了详细的描述^[1]。近年来, 随着海水经济鱼类的大规模人工养殖, 有关大菱鲆、圆斑星鲷、半滑舌鲷等的胚胎发育研究也相继报道^[2~4]。

条斑星鲷(*Verasper moseri*), 隶属鲷形目(Pleuronectiformes), 鲷科(Pleuronectidae), 星鲷属(*Verasper*)^[5]。主要分布在鄂霍次克海、日本西北海域、朝鲜半岛以东和西南海区及中国的黄渤海区。由于目前条斑星鲷自然资源量极小, 天然苗种尤为匮乏, 严重制约了该鱼种增殖业的发展。自 2004 年 11 月, 由日本引进条斑星鲷人工种苗以来, 工厂化的驯化、中培、养成以及人工种鱼促熟等各项研究均取得了明显的科研成果。尤其是 2007 年 6 月, 中国条斑星鲷种苗产业化的繁育生产, 突破了百万尾大关, 取得了飞跃的发展。然而在条斑星鲷育苗过程中, 早期发育阶段(尤其是在胚胎发育过程中)存在较高的死亡率, 所以作者通过对条斑星鲷受精卵的形态特征、生态特征和胚胎发育特征进行观察和研究, 揭示其受精卵的形态学和生态学上的特性, 胚胎发育的规律和关键时期, 从而在生产上针对性地进行相关环境因子的调整, 为进一步大规模地开展条斑星鲷的人工育苗提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 亲鱼来源

2004 年 11 月, 由日本引进条斑星鲷人工种苗 2 000 尾, 经 2004 年 11 月 ~ 2007 年 3 月的工厂化养成达到性成熟(3 龄)。初届性成熟的条斑星鲷雄鱼, 生物学全长平均为 44.85 cm \pm 0.25 cm, 体长为 36.20 cm \pm 0.22 cm, 体质量平均为 1.35 kg \pm 0.15 kg。初届性成熟的条斑星鲷雌鱼, 生物学全长平均为 51.85 cm \pm 0.25 cm, 体长为 42.25 cm \pm 0.20 cm, 体质量平均为 3.05 kg \pm 0.45 kg。

1.2 受精卵的获得及孵育

亲鱼池内自然生殖产卵和受精卵的采集。人工授精成熟亲鱼。对获得的条斑星鲷上浮的受精卵, 经消毒, 冲洗后分别在 0.3 m³ 的孵化桶中进行高密度孵化, 孵化密度为 1 200 ~ 1 500 mL/m³ (180 ~ 200 个/mL), 并在仔鱼孵出后实施分级培育。

收稿日期: 2007-09-13; 修回日期: 2007-12-01

基金项目: 青岛市科技计划项目(02-1-KCHHH-39, 03-2-HH-4, 06-2-3-18-hy)

作者简介: 肖志忠(1968-), 男, 山东青岛人。研究方向: 海洋生物学, 电话: 0532-82898729, E-mail: xzz68@qingdaonews.com; 李军, 通讯作者, 研究员, 博士, E-mail: junli@ms.qdio.ac.cn

1.3 观测记录

在实验室内,对孵化中的活体材料,定期取样,利用 Nikon 显微数码摄像系统和电子目镜对受精卵和卵胚发育的各时期,进行连续观测和拍摄记录,分析和总结各发育时期的形态变化。

2 结果

2.1 条斑星鲈受精卵形态特征

条斑星鲈受精卵为无油球的悬浮卵,呈圆球形、分离透明。卵膜具粗波纹状的纹络。卵黄均匀,浅黄色或米黄色。卵径平均为 $1.70 \text{ mm} \pm 0.02 \text{ mm}$ 。卵黄囊径 $1.57 \text{ mm} \pm 0.025 \text{ mm}$ 。卵黄间隙狭窄,约为 0.11 mm 。

2.2 条斑星鲈受精卵生态特征

条斑星鲈受精卵可孵化水温为 $6.0 \sim 11.0$,最适孵化水温为 $8.0 \sim 10.0$,在可孵化水温范围内,卵胚的发育速度随水温的升高而加快,孵化时间也相对缩短。可孵化盐度为 $27.00 \sim 36.00$,最适孵化盐度为 $33.00 \sim 35.00$ 。受精卵在不同盐度海水中的生态分布特征:在 33.00 以上的高盐海水中呈浮性,多分布在水域的表层和近表层;在 $30.00 \sim 32.00$ 的海水中,悬浮在水域的中层;而在 $27.00 \sim 29.00$ 的海水中,则多沉降在水域的中下层或底层;在 26.00 以下的海水中,则 100% 沉于水底。

2.3 条斑星鲈胚胎发育特征

条斑星鲈受精卵属端黄卵,行盘状卵裂。在水温 8 ± 0.3 ,盐度 33 的条件下,受精后 2.5 h 形成胚盘,受精后 4 h 开始第一次卵裂,卵裂期共历时 10 h ,卵裂期的鲜明特点是卵裂不同步现象提前。受精后 14 h 进入囊胚期,囊胚期共历时 30 h ,囊胚期的裂球变小,均匀。受精后 44 h 胚盘细胞开始下包并内卷,胚胎发育进入原肠胚阶段,此阶段是胚体发育中变化最剧烈的时期,在出现胚体雏形的同时形成神经板,细胞的迁移方式也增为内移,细胞分化为三胚层,此时体节为 $2 \sim 3$ 对。原口关闭前,形成体节 6 对。原口关闭后,胚胎进入器官形成期,视囊、嗅囊、晶体依次形成。受精 140 h 后,胚体尾芽形成并开始脱离卵黄囊,受精后 164 h 胚胎心跳开始,但很微弱,且心率慢;随着胚体进一步发育,心跳加快,并伴随着肌体的间歇颤动。在受精后 216 h ,心率达到 60 次/min 左右,胚体发育进入到最后的孵化时期,仔鱼主要以头部首先破膜的方式孵化。其具体的发育时序及发育特征见表 1。

3 结论

条斑星鲈属于冷温性的经济鲈类,这与其他冷

温性鱼类,如星斑川鲈 (*Platichthys stellatus*),欧川鲈 (*Platichthys flesus*) 以及太平洋鲱 (*Clupea pallasii*) 相似,均具有性腺发育和生殖产卵在低水温环境下进行,且受精卵的孵化期相对较长、仔鱼开口期较晚的冷温性鱼类所共有的特性。

条斑星鲈的卵为圆球形的悬浮卵,无油球。这与圆斑星鲈^[2]、石鲈、星斑川鲈的卵子的形态特征相似。而国内养殖及引进的鲈科种类大都为带有一个油球的浮性卵,如牙鲈^[3]、大菱鲈^[4]、大西洋牙鲈^[5]、南方鲈等^[6]。条斑星鲈的卵径平均为 $1.70 \text{ mm} \pm 0.02 \text{ mm}$,与圆斑星鲈类似^[2],而远远大于其他鲈科种类^[3-5]。

条斑星鲈胚胎发育遵循着硬骨鱼类胚胎发育的一般规律,卵子属端黄卵,行盘状卵裂。其胚胎发育过程也主要分为 5 个主要时期:卵裂期、囊胚期、原肠期、神经胚期和器官形成期^[7]。但是也具有自身的特点。首先,条斑星鲈为冷温性鱼类,其胚胎发育过程比较缓慢,且不同发育时期对环境温度的敏感性差异显著。在条斑星鲈受精卵的孵化水温超过 12 的情况下,大部分胚胎发育至原肠期死亡,平均死亡率高达 85% 以上。而在原口闭合后,即进入神经胚期后,大部分的胚胎能在 15 的情况下继续发育,少部分胚胎甚至能耐受 17 的高温。这说明条斑星鲈胚胎发育过程中,卵裂期、囊胚期和原肠期为温度敏感期,这与唐国盘^[8]对中华鲟耗氧率的研究结果类似:中华鲟的胚胎耗氧量随着水温的升高而升高,且原肠期和出膜前期为胚胎新陈代谢最旺盛的时期,此两时期的耗氧量增加倍数最高。分析上述实验中观察到的条斑星鲈胚胎死亡的现象,应是随着孵化水温的升高,海水中的溶解氧减少,同时胚胎的耗氧量增加共同作用的结果。所以在实际生产上要严格控制这段时期的水温,并同时加大充气量,保证充足的氧气供给。其次,条斑星鲈的卵裂期也具有鲜明的特点,第一、不同步卵裂现象起始的时期在第三次分裂(即 4 细胞 8 细胞),实验中作者观察到大量的非正常数目裂球的胚盘,如 6 细胞、7 细胞、12 细胞和 24 细胞等。而 Shardo^[7]在对美洲西鲱的胚胎发育研究中观察到了 18 细胞和 28 细胞胚盘,故将第五次分裂定义不同步卵裂现象的起始;本实验室观察的牙鲈和真鲷胚胎发育中的不同步卵裂现象出现晚,皆出现在第六次卵裂(32 细胞 64 细胞)。这种不同步卵裂提前的现象很可能具有种属特异性。第二、在条斑星鲈胚胎发育至多细胞期,胚盘所有的裂球大小均一程度较低,出现个别较大的裂球,直径为一般裂球的 $2 \sim 3$ 倍,且一般较大的裂球分布在胚盘的周围。而其他鲈类的卵胚却少有此现象。

表 1 条斑星鲈的发育时序及发育特征

Tab. 1 Developmental duration and characteristics of *Verasper moseri* embryo

发育时期	发育时间 (h)	胚胎主要发育特征
受精卵	0	卵径 1.70 mm \pm 0.02 mm, 卵黄囊径 1.57 mm \pm 0.025 mm, 卵黄间隙狭窄 0.11 mm
胚盘形成期	2.5	受精卵内的原生质开始向动物性极流动集中。原生质的流动集中停止, 在动物性极隆起形成帽状胚盘
2 细胞期	4.0	受精卵第 1 次经裂。在胚盘顶部的中央出现纵行的分裂沟, 将胚盘分割成 2 个等大的分裂球(图 1-1)
4 细胞期	6.0	受精卵第 2 次经裂。分裂沟与第一次经裂沟相互垂直, 胚盘被分割成 4 个相等的分裂球(图 1-2)
8 细胞期	7.0	第 3 次经裂, 分裂沟位于第一次经裂沟的两侧并与第二次经裂沟垂直, 胚盘形成 8 个大小相似的细胞球, 部分卵胚开始出现不同步卵裂(图 1-3)
16 细胞期	9.0	第 4 次经裂, 将胚盘分割成 16 个细胞球(图 1-4)
32 细胞期	10.0	第 5 次卵裂, 为纬裂。最终形成 32 个分裂球
64 细胞期	11.0	第 6 次卵裂, 亦是第一次纬裂, 使细胞形成双层, 裂球大小差异明显, 排列不规则
桑椹期	14.0	胚盘多次经裂和纬裂的交叉进行, 变成多层细胞球的堆积于动物极, 恰似“桑椹”(图 1-5)
高囊胚期	22	裂球又经过几次交叉分裂, 细胞团在胚盘中央隆起并达到最高点, 同时贴近卵黄的中央处出现囊胚腔(图 1-6)
低囊胚期	32	囊胚的高度逐步降低, 细胞层相对变薄, 渐渐沿卵黄囊向扁平发展, 为胚盘的下包做准备(图 1-7)
原肠早期	44	下包 0 ~ 25 %。低囊胚时的周边细胞不断分裂并沿卵黄囊下包, 同时内卷, 下包约 20 %, 可见胚环的出现(图 1-8)
原肠中期	68.0	下包 25 % ~ 50 %。胚盘继续向植物极运动, 下包约 40 % 时, 预定的胚体原基处细胞开始加厚, 在胚环清晰的基础上, 胚盾出现
原肠晚期	78.0	下包 50 % ~ 85 %。下包约 50 %, 胚体雏形出现, 下包约 2/3 时, 神经板形成, 同时头部神经板下陷形成神经褶(图 1-9)
原口关闭期	84	下包 85 % 到胚孔关闭。卵黄栓形成, 克氏囊出现, 胚体此时已绕卵黄囊近 1/2, 胚体中部形成神经管; 随着胚体的下包直到胚孔的关闭, 神经管逐步向头部和尾部两个方向愈合, 同时在先愈的神经管处形成肌节, 胚孔关闭前出现 6 ~ 8 对肌节
视囊期	93.0	头部逐渐开始分化, 形成视囊, 克氏囊清晰可见, 肌节 8 ~ 12 对(图 1-10)
嗅囊期	117	胚体头部嗅囊显现。视囊内陷形成视杯, 心脏原基出现, 呈实心细胞团状(图 1-11)
晶体出现期	132	在视杯的中央, 晶体出现, 无色素分布。卵膜上有零星点状黑色素(图 1-12)
尾芽期	140	胚体尾部腹面的克氏囊消失, 尾芽开始游离。颅顶后端的听囊以及囊内的耳石原基清晰可见。胚体开始聚集大量色素细胞(图 1-13)
心脏跳动期	164	胚体心脏开始微弱和缓慢地搏动, 心率为 8 ~ 12 次/ min, 卵胚发育步入孵化前期
肌肉效应期	173	心跳加快, 心率为 50 ~ 56 次/ min 胚体开始间歇地进行扭动和颤动。体节 32 ~ 36 对(图 1-14)
孵化期	216	胚体运动加剧, 心脏搏动也随之加速, 仔鱼开始破膜孵出。以头部首先孵化出膜。孵化周期约为 12 h(图 1-15)

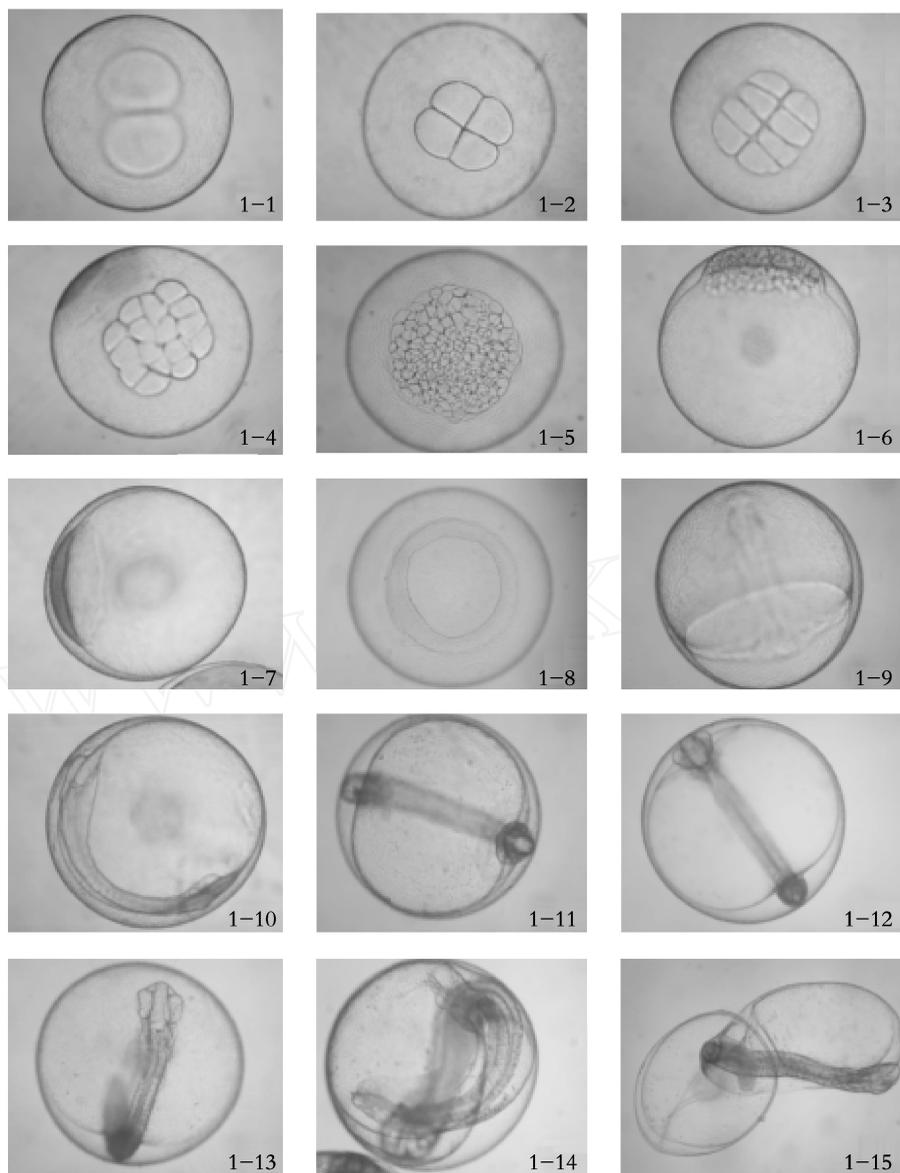


图1 条斑星鲈的胚胎发育

Fig. 1 The embryonic development of *Verasper moseri*

1-1. 2细胞期;1-2. 4细胞期;1-3. 8细胞期;1-4. 16细胞期;1-5. 桑椹期;1-6. 高囊胚期;1-7. 低囊胚期;1-8. 原肠早期;1-9. 原肠末期;1-10. 视囊期;1-11. 嗅囊期;1-12. 晶体出现;1-13. 尾芽期;1-14. 肌肉效应期;1-15. 仔鱼孵化

1-1. 2-cell stage;1-2. 4-cell stage;1-3. 8-cell stage;1-4. 16-cell stage;1-5. 32-cell stage;1-6. high blastula stage;1-7. low blastula stage;1-8. early gastrula stage;1-9. late gastrula stage;1-10. optic vesicle stage;1-11. otic vesicle stage;1-12. lens appearance;1-13. tail-bud stage;1-14. embryo movement stage;1-15. hatching of barfin flounder

在条斑星鲈胚胎发育至胚体形成的过程中,观察到一些胚胎内带有“空泡”,“空泡”出现的位置主要在胚体心脏原基处和尾部两个地方。而这些“空泡”伴随着胚体孵化出膜,出膜后“空泡”主要在仔鱼卵黄囊的后部,类似于其他硬骨鱼类后置油球所在的位置。带有“空泡”的仔鱼在开口前(孵化后9天)大部分死亡,其余部分则不能正常摄食,漂浮在水面上,相继死亡。在整个产卵期的前期和末期此现象

更为突出,这可能与卵质关系甚大。究其“空泡”产生的机理及其解决办法仍需深入研讨。

参考文献:

- [1] 李思忠,王惠民. 中国动物志(硬骨鱼纲-鲈形目)[M]. 北京:科学出版社,1995. 223-227.
- [2] 王开顺,张志峰,康庆浩,等. 圆斑星鲈胚胎及仔鱼发育的观察[J]. 中国水产科学,2003,10(6):451-456.

- [3] 张孝威, 何桂芬, 沙学绅. 牙鲆和条鲷卵子及仔、稚鱼的形态观察[J]. 海洋与湖沼, 1965, 7(2):158-174.
- [4] 雷霖霖, 马爱军, 刘新富, 等. 大菱鲆 (*Scophthalmus maximus* L.) 胚胎及仔稚幼鱼的发育研究[J]. 海洋与湖沼, 2003, 34(1):9-18.
- [5] Smigielski A S. Hormone-induced spawnings of the summer flounder and rearing of the larvae in the laboratory[J]. *The Progressive Fish Culturist*, 1975, 37(1):3-8.
- [6] Powell A B, Henley T. Egg and larval development of laboratory-reared gulf flounder, *paralichthys albigutta*, and southern flounder, *Paralichthys lethostigma* [J]. *Fish Bull US*, 1993, 93:504-515.
- [7] Shardo J D. Comparative embryology of teleostean fishes I. Development and staging of the American shad, *Alosa sapidissima* (Wilson, 1811). *J Morphol*, 1995, 225:125-167.
- [8] 唐国盘, 刘鉴毅, 危起伟, 等. 中华鲟胚胎的耗氧率[J]. 动物学杂志, 2004, 39(5):30-34.

Biological study on the early life history of barfin flound(*Verasper moseri*)

—Morphological & ecological characteristics of fertilized ova and the embryonic development of barfin flounder

XIAO Zhi-zhong¹, YU Dao-de^{1,2}, ZHANG Xiu-feng³, XU Shi-hong¹, MA dao-yuan¹, LI Jun¹

(1. Institute of Oceanology, the Chinese Academy of Sciences, Qingdao 266071, China; 2. Graduate School, the Chinese Academy of Sciences, Beijing 100039, China; 3. Qingdao Fishery Technology Spread Station, Qingdao 266000, China)

Received: Sep. 13, 2007

Key words: barfin flounder (*Verasper moseri*); semi-buoyant egg; embryonic development

Abstract: The fertilized eggs of barfin flounder were spherical, transparent, semi-buoyant, nonadhesive, no oil globule and appeared grey yellow. They had an average diameter of 1.70 mm. The eggs were able to hatch normally under the water temperatures between 6.0 and 11.0, and the most suitable hatching temperature was from 8.0 to 10.0. The eggs appeared different buoyancies under different salinities. The hatchery period is about 216 hours at 8.0. The major feature of the embryonic development of barfin flounder included: (1) The stage of gastrulation is more sensitive to the water temperature; (2) The phenomenon of asynchronous cleavage occurred earlier than other teleosts; (3) In morula stage: cells of blast-disc were less homogeneous; (4) Lots of abnormal eggs and larvae with one or two "vacuoles" occurred in the body. Our study can afford a basic knowledge on the comparative study of the early development on marine flatfish, and indicate the special rule of the ontogeny development of barfin flounder as a cold fish species, therefore, supply a theoretical guide for the further intensive culture of this species.

(本文编辑:刘珊珊)