# 大菱鲆(Scophthalmus maximus)胚胎发育的 形态学和组织学研究<sup>\*</sup>

佟雪红<sup>1,2,3</sup> 马道远<sup>1</sup> 徐世宏<sup>1</sup> 刘清华<sup>1</sup> 赵春彦<sup>1,3</sup> 肖志忠<sup>1</sup> 肖永双<sup>1</sup> 李 军<sup>1</sup>

(1. 中国科学院海洋研究所 青岛 266071; 2. 盐城师范学院生命科学与技术学院 盐城 224002;3. 中国科学院研究生院 北京 100049)

提要 采用显微镜和连续切片技术,观察了大菱鲆胚胎发育阶段的形态学和组织学特征。结果表 明,大菱鲆胚胎发育主要经历 6 个时期;在 14℃,胚体经 108h 即可孵化出膜。胚胎在 64 细胞期出 现纬裂,分裂球分化为外层的包被层和内部的深层细胞;多细胞期形成卵黄合胞体层;低囊胚期形 成囊胚腔。受精后 26h 30min 胚盾出现。胚盘下包 65%时,头突出现;下包 90%时,神经索和体节形 成;下包完全时,脊索原基形成。受精后 59h 35min,克氏囊出现;72h 消化管出现;74h 前肾小管形成; 82h 脊索部分细胞发生"真空化";89h 克氏囊退化消失,胚胎消化管的后端出现纤毛;94h 胚体的心 跳开始。初孵仔鱼鳍褶上形成特有的色素丛。 关键词 大菱鲆,胚胎,发育,形态学,组织学

中图分类号 S917

大 菱 鲆 (Scophthalmus maximus) 属 鲆 科 (Bothidae)、菱鲆属(Scophthalmus),自然分布于东北 大西洋沿岸。我国自 1992 年引入大菱鲆以来,经过 十几年的发展,大菱鲆的工厂化养殖已成为我国一 项新兴产业,推动了我国海水养殖第四次浪潮的形 成和发展(马爱军等,2009;雷霁霖等,2003)。

关于大菱鲆早期阶段的发育特征,国内外已有 一些报道。雷霁霖等(1995,1998,2003)对大菱鲆胚胎 和仔、稚鱼发育以及大菱鲆的健康养殖进行过详细研 究,马爱军等(2001,2002)对大菱鲆产卵特性及饵料 对大菱鲆幼鱼生长的影响进行了探讨,Padrós 等 (1996)分析了大菱鲆早期发育阶段淋巴器官的发生, Anderson 等(1993)研究了饵料成分对大菱鲆生长和 生化指标的影响,Al-Maghazachi等(1984)通过形态学 和头骨发育,对大菱鲆仔、稚鱼的发育进行了分期, 并详细描述了各期的发育特征等。上述研究主要侧重 于大菱鲆早期阶段的生物学和形态学特征,而其胚 胎发育阶段的组织学研究报道较少。本文在形态学的 基础上,从组织学角度系统地探讨了大菱鲆胚胎发 育过程的器官形成,为探明大菱鲆早期发生、发育规 律提供理论参考。

### 1 材料与方法

实验中所用大菱鲆(Scophthalmus maximus)胚胎 取自山东烟台东方海洋科技股份有限公司。采用腹部 挤压法获得若干亲鱼成熟的卵子和精液,通过人工 受精获得受精卵。将质量较好的浮性卵移入孵化网箱 中进行孵化。孵化时水温为 14℃,盐度 30—32,pH 7.7—8.0。用显微镜进行连续观察,拍摄胚胎发育的 照片,记录胚胎发育的时间。同时在每个发育时期分 别取一定量的胚胎样品,Bouin's 液固定,石蜡包埋; 用 KD 1508A 轮转式切片机(浙江金华仪器有限公司

<sup>\*</sup> 现代农业产业技术体系建设专项资金资助项目, nycytx-50 号; 国家高技术研究发展计划(863)项目, 2006AA10A404 号。 修 雪红, 博士, E-mail: txh113005@163.com

通讯作者: 李 军, 研究员, 博导, E-mail: junli@ms.qdio.ac.cn 收稿日期: 2010-04-29, 收修改稿日期: 2010-06-27

d

m

生产)进行连续切片, 切片厚度为 4µm, H.E 染色, 中 性树胶封片, NIKON SMZ-800 显微镜下观察, 照像。

#### 2 结果

#### 2.1 受精卵

大菱鲆卵无色透明, 含有一个油球, 平均卵径为 0.97mm。大菱鲆卵与精子结合后,出现受精膜,约经 2h 原生质开始向动物极集中形成盘状的胚盘,此时 动物极向下, 植物极朝上。质量较好的受精卵漂浮在 海水表面, 而未成熟、未受精的卵或坏卵呈乳白色。 2.2 卵裂期

2h 30min 胚盘细胞质发生首次经裂,产生2个等 大的分裂球(图 1a)。在显微镜下,中心粒和纺锤丝清 晰可见。2h 55min 第 2 次分裂沟与第 1 次垂直经裂成 大小相等的 4 个分裂球(图 1b)。3h 35min 第三次分裂 产生垂直于第二次分裂沟的两个分裂面, 位于第一 次纵裂沟左右两侧,分成大小不等的 8 个细胞(图 1c)。4h 5min 第四次分裂也产生两个分裂面, 位于第 二次分裂面的两侧,并与第一次和第三次分裂面相 垂直, 分裂成 16 个分裂球, 包括 4 个中央细胞和 12 个边缘细胞(图 1d)。4h 55min 第五次卵裂出现四个分 裂面, 与第一、第三分裂面平行, 而与第二、第四分 裂面垂直,产生 32 个分裂球,形状和大小变得不规 则(图 1e)。6h 20min 水平分裂和垂直分裂同时进行, 产生 64 个细胞, 细胞体积较小, 边界清晰(图 1f)。

此时分裂球分为两部分, 胚盘最外层的单层细 胞层称为包被层(EVL),该层将形成表皮,为一种胚 外保护层,随着胚胎的后期发育,该层将被抛弃;胚 盘内部的多层细胞成为深层细胞或包埋细胞,将来 会发育成为胚胎的主体(图 2a)。7h 分裂为 128 细胞, 分裂球的体积更小,细胞界限变得模糊(图 1g)。10h 10min 进入多细胞期, 分裂球变得越来越小, 细胞间 的界限已经分辨不清(图 1h)。该时期位于植物极边缘 的胚层细胞与其下层的卵黄细胞融合, 融合后的胚 层细胞核在卵黄细胞质中形成核环,并进一步形成 卵黄合胞体层(YSL)(图 2b)。卵黄合胞体是硬骨鱼类 胚胎的特殊构造、有帮助胚体吸收卵黄的作用。

#### 2.3 囊胚期

11h 10min 进入高囊胚期, 胚盘高矗于动物极(图 1i)。此时, 卵黄合胞体层在胚盘下迁移形成内卵黄合 胞体层(I-YSL),内卵黄合胞体层存在于整个胚胎发 育时期,帮助胚体吸收营养。随着生长发育,包被层 f. 64 细胞期; g. 128 细胞期; h. 多细胞期; i. 高囊胚期; j. 低囊 胚期; k. 胚盾形成; l. 胚盘下包 75%; m. 胚盘下包 90%; n. 神

经索形成; o. 视囊原基形成; p. 克氏囊出现; q. 胚胎体节增多; r. 胚体色素增多; s. 胚体扭动; t. 胚体孵出, 鳍褶上出现特有 色素丛。ES, 胚盾; KV: 克氏囊; NR, 神经索; OP, 眼囊; SO, 体节; YP, 卵黄栓; Pi, 色素; PC, 色素丛





图 2 大菱鲆胚胎发育的组织学观察() Fig.2 The histological observations of embryonic development in turbot ()

a. 64 细胞期时胚盘最外围的包被层细胞及内部的深层细胞; b. 多细胞期的卵黄合胞体层; c. 高囊胚期的外卵黄合胞体层 和内卵黄合胞体层; d. 低囊胚期的囊胚腔; e. 原肠早期的上 胚层和下胚层; f. 正在形成的内胚层; g. 神经索出现; h. 体节 形成; i. 眼囊形成; j. 克氏囊形成; k. 脊索出现; l. 体节数量 增加; m. 神经基板和脊索; n. 神经管形成; o. 消化管形成。 EVL, 包被层; DC, 深层细胞; Y, 卵黄; YSL, 卵黄合胞体层; E-YSL, 外卵黄合胞体层; I-YSL, 内卵黄合胞体层; B1, 囊胚 腔; Ep, 上胚层; Hy, 下胚层; En, 内胚层; NR, 神经索; So, 体 节; Sof, 体节沟; OP, 眼囊; KV, 克氏囊; No, 脊索; FP, 神经 基板; NT, 神经管; DT, 消化管。图中比例尺均为 30µm

细胞逐渐扁平化,部分卵黄合胞体层向植物极迁移, 沿着卵黄边缘延伸,称为外卵黄合胞体层(E-YSL)(图 2c)。

12h 40min 随着胚胎的进一步发育, 隆起的高囊

胚层细胞沿卵黄囊表面向四周扩展,分裂球的高度 逐渐降低变为低囊胚(图 1j)。囊胚腔逐渐形成,其顶 壁由数层细胞构成,而底面则是内卵黄合胞体层(图 2d)。

#### 2.4 原肠期

18h 10min 分裂细胞向胚盘边沿流动,囊胚层变 薄,其下包受到卵黄的阻碍后,边缘细胞移动缓慢, 向内卷而上升,进一步在囊胚层外周边缘形成胚环。 此时,胚环可分化为上胚层和下胚层(图 2e)。26h 30min 分裂细胞不仅向胚盘边沿内卷,而且流向胚环 的某部,形成加厚部分,称为胚盾(图 1k)。胚盾的顶 部将发育成胚体的背部,而底部则形成胚体的腹部。 随着胚胎发育的进行,胚盾由胚环加厚处明显突出, 形成胚体的原基。31h 胚盘下包 20%,胚体出现。随 着生长发育的进行,胚盾不断伸长,胚体的形态也逐 渐显露,胚盾的长轴将发育成未来胚胎的主轴。36h 5min 胚盘下包 50%,胚体逐渐延伸。随着细胞下包的 进行,外围的包被层细胞进一步扁平化。同时,部分 囊胚层细胞不断卷入,形成内胚层(图 2f)。

胚盘继续下包,44h 胚盘下包 65%,头突出现。 53h 胚盘下包 75%(图 11)。此时,外围的包被层细胞 继续扁平化而形成单细胞层的表皮。同时,神经褶形 成。随着细胞向下移动, 胚环的直径越来越小, 最后 形成一圆形的孔,称为胚孔。大约 58h 30min,胚盘下 包 90%, 通过胚孔可以看见植物极未被完全包被的 卵黄,称之为卵黄栓或原口(图 1m)。构成神经褶的细 胞逐渐下沉,最终形成一条平行于胚胎前后轴的神 经索(图 1n; 图 2g)。在胚胎前中部, 第一对体节形成 (图 2h)。随着胚胎的进一步发育,视囊原基形成(图 10; 图 2i)。59h 35min 克氏囊出现, 其上壁为一层立 方形的内胚层细胞,囊的底壁由内卵黄合胞体层构 成(图 1p; 图 2j)。64h 45min 胚盘下包完全, 原口封闭, 原肠运动结束。脊索原基形成,由两层细胞构成(图 2k), 其中背部的细胞逐渐扁平化形成神经基板原基。 在视囊的后部, 听板出现。此时, 胚胎尾部延伸, 尾 芽形成。体节数量增加(图 21)。脑在形态上分成前脑、 中脑和后脑。

#### 2.5 器官形成期

69h 体背部出现浅棕色素, 视囊增大, 体节进一 步增多(图 1q)。随着胚胎发育, 脊索细胞拉长变大, 而神经基板细胞继续扁平化而成扁平细胞(图 2m); 在视囊的后部, 听囊形成。72h 胚体色素进一步增多 (图 1r); 在中脑腹部, 心脏原基出现; 同时, 下脊索 形成,位于脊索的腹部,与神经基板相似,由单层扁 平细胞组成;在胚体腹面,神经管形成(图 2n),消化 道及消化管出现(图 2o),晶体原基出现(图 3a)。74h 体节细胞拉长形成肌纤维细胞,随着肌纤维细胞的



图 3 大菱鲆胚胎发育的组织学观察()

Fig.3 The histological observations of embryonic development in turbot ( )

a. 晶体原基出现; b. 听囊中空化; c. 前肾小管形成; d. 肌节 呈"V"形排列; e. 胚体鳍褶形成; f. 克氏囊逐步退化; g. 脊索 开始"真空化"; h. 心脏分化成静脉窦、心房、心室和动脉球;
i. 脉络膜裂形成; j. 脊索"真空化"显著; k. 消化管的后端出 现纤毛; l. 角膜形成。Y, 卵黄; KV, 克氏囊; No, 脊索; NT, 神 经管; DT, 消化管; L, 晶体基板; OV, 听囊; PT, 前肾小管; My, 肌节; FF, 鳍褶; Atp, 心房原基; Bap, 动脉球原基; Svp, 静脉 窦原基; Vep, 心室原基; CF, 脉络膜裂; Ci, 纤毛; Co, 角膜。 图中比例尺均为 30μm 拉伸,体节发育成肌节;中空化的听囊内含柱状细胞 (图 3b)。消化管腔进一步扩大。在脊索的下方,前肾 小管出现(图 3c)。

78h 晶体增大, 细胞分层明显。肌节呈 V 字型排 列, 尖端指向胚体的头部(图 3d)。同时, 在胚体的尾 芽处, 胚体鳍褶生成(图 3e)。此时, 克氏囊逐步退化 (图 3f)。82h 脊索部分细胞发生"真空化"(图 3g), 肌 节纤维开始出现条纹状。晶体结构进一步清晰。心脏 分化成静脉窦、心房、心室和动脉球四个部分(图 3h)。 随着生长发育的进行, 胚体鳍褶沿着胚体躯干延伸。 89h 克氏囊退化消失。脉络膜裂在眼的腹面形成(图 3i)。脊索"真空化"显著(图 3j)。消化管的后端出现 纤毛(图 3k)。94h 眼杯的角膜形成(图 3l)。胚体的心 跳开始, 心脏开始搏动, 色素增多, 出现间歇性扭动 (图 1s), 即将进入孵化期。

#### 2.6 孵化期

108h 发育中的胚体搐动频率与幅度不断加大, 头部和尾部活动剧烈。尾部不断摆动,头部首先破膜 而出。胚胎孵化出来的是带卵黄囊的仔鱼,仔鱼体色 透明,背、臀鳍褶上的特有色素丛明显(图 1t)。

#### 3 讨论

卵裂的方式由卵子的结构决定, 大多数硬骨鱼 类的卵子属于端黄卵,营盘状卵裂。在连续卵裂过程 中, 分裂球的体积会变得越来越小, 分裂球的形态可 作为评价卵质量的指标(Shields et al, 1997)。对多数 鱼类来讲,受精后前几次卵裂的形态变化大致是相 似的, 全为经裂。鱼的种类不同, 出现纬裂的时期也 不同。本实验中,大菱鲆卵为浮性卵,前5次卵裂均 为经裂,从第六次卵裂开始出现纬裂,这与斑马鱼、 鲤鱼 Anabarilius grahami、大西洋鳕 Gadus morhua 和罗非鱼 Oreochromis niloticus 类似(Hall et al, 2004; Kimmel et al, 1995; Ma et al, 2008; Morrison et al, 2001)。而在夏鲆 Paralichthys dentatus 中, 第一次纬 裂出现在第七次卵裂时(Martinez et al, 2003)。大菱鲆 胚胎在 16 细胞阶段, 细胞的排列方式产生了差异, 这与罗非鱼 Oreochromis niloticus 胚胎发育的结果相 似(Morrison et al, 2001)。

在胚胎发育过程中,脊索是胚体的主要支撑结构。脊索的发育与胚胎神经系统的分化、胚体体轴的形成及体节细胞的分布密切相关(Currie *et al*, 1996; Odenthal *et al*, 1996)。本实验中,胚盘下包完全时,脊 索原基形成。在受精后 82h,脊索部分细胞发生"真 大多数硬骨鱼类在胚胎发育过程中先形成体节, 再产生眼囊(刘筠, 1993),大菱鲆胚胎期的器官发生 次序与此相同。体节发生是胚胎发育过程中的重要事 件,也是划分胚体器官分化期的重要标志(Hall *et al*, 2004)。本文中,大菱鲆胚胎在胚盘下包 90%时形成第 一对体节。在其它鱼类中,大西洋鳕在胚盘下包 45%、夏鲆在胚盘下包 75%—95%时分别出现第一对 体节(Hall *et al*, 2004; Martinez *et al*, 2003),而青鳉 *Oryzias latipes* 和斑马鱼都是在胚盘完全下包时形成 体节(Iwamatsu, 1994; Kimmel *et al*, 1995)。胚胎期体 节的发生对仔稚鱼阶段骨骼和肌肉的形成以及皮肤 的产生有重要的影响。斑马鱼中体节细胞的形成还有 助于血管的发育(Morin-Kensicki *et al*, 1997)。

克氏囊是硬骨鱼类胚胎特有的结构,一般位于 胚体后端腹面,尾芽附近,会随着尾芽的伸展而向后 迁移。克氏囊出现的迟早因种类而异。大菱鲆胚胎发 育阶段,克氏囊在原肠末期形成,在受精后 89h 退化 消失。目前尚不清楚克氏囊的功能,Brummett 等(1978) 曾报道,克氏囊可以促进胚体对卵黄的吸收。另有研 究表明,克氏囊还可以通过调节囊内液体的流动,促 进胚体左右对称轴的发育(Kreiling *et al*, 2007)。

与其它硬骨鱼类一样,大菱鲆在胚胎发育阶段 形成了前肾小管。肾小管起源于中胚层(Serluca et al, 2001), 有调节体液流动平衡和运输代谢废物的作用 (Hall et al, 2004)。大菱鲆胚胎在发育后期, 消化管的 后端出现纤毛, 这与 Oreochromis macrocephalus 胚胎 发育类似(Shaw et al, 1954), 纤毛的出现提高了胚体 对营养物质的吸收效率。受精后 94h, 大菱鲆胚胎的 心跳开始,心脏开始搏动。由于胚胎阶段尚未形成红 细胞,所以,此时体液的循环主要是促进卵黄营养物 质的吸收,而不是气体交换。另外,温度是影响胚胎 发育速度的重要因素, 在适温范围内, 温度高则孵化 时间短(Arezo et al, 2005)。本文中, 孵化水温为 14, 胚胎经历大约108h,即可孵化出膜,略短于雷霁霖等 (2003)的试验结果。大菱鲆初孵仔鱼背、臀鳍膜上均 出现一扇形色素丛, 圆斑星鲽初孵仔鱼也具有类似 的特征(王开顺等, 2003)。

#### 参考文献

马爱军, 王新安, 雷霁霖, 2009. 大菱鲆(Scophthalmus maxi-

*mus*)不同生长阶段体重的遗传参数和育种值估计.海洋与湖沼,40(2):187—194

- 马爱军, 陈四清, 雷霁霖等, 2001. 饲料中主要能量物质对大 菱鲆幼鱼生长的影响. 海洋与湖沼, 32(5): 527—533
- 马爱军,陈四清,雷霁霖等,2002.大菱鲆产卵季节对卵子的 生物学及生化特征的影响.海洋与湖沼,33(1):75—82
- 王开顺,张志峰,康庆浩等,2003. 圆斑星鲽胚胎及仔鱼发育 的观察. 中国水产科学,10(6):451—457
- 刘 筠, 1993. 中国养殖鱼类繁殖生物学. 北京:农业出版社, 81-89
- 雷霁霖,马爱军,刘新富等,2003.大菱鲆(Scophthalmus maximus L.)胚胎及仔稚幼鱼发育研究.海洋与湖沼,34(1): 9—19
- 雷霁霖, 刘新富, 1995. 大菱鲆引进养殖的初步研究. 现代渔 业信息, 10(11): 1—3
- 雷霁霖,刘新富,马爱军,1998.大菱鲆的引进与驯养实验. 见:中国动物学会编.中国动物科学研究.北京:中国林 业出版社,408—413
- Al-Maghazachi S J, Gibson R, 1984. The developmental stages of larval turbot, *Scophthalmus maximus* (L.). J Exp Mar Biol Ecol, 82: 35—51
- Anderson N G, Alsted N S, 1993. Growth and body composition of turbot (*Scophthalmus maximus* L.) in relation to different lipid/protein ratios in the diet. In: Kaushik S J, Luduet P ed. Fish Nutrition in Practice. Paris: INRA Editions, 479—491
- Arezo M J, Pereiro L, Berois N, 2005. Early development in the annual fish *Cynolebias viarius*. J Fish Biol, 66: 1357–1370
- Brummett A R, Dumont J N, 1978. Kupffer's vesicle in *Fundulus heteroclitus*: a scanning and transmission electron microscope study. Tissue Cell, 10: 11–22
- Currie P D, Ingham P W, 1996. Induction of a specific muscle cell type by a hedgehog-like protein in zebrafish. Nature, 382: 452-455
- Hall T E, Smith P, Johnston I A, 2004. Stages of embryonic development in the Atlantic cod *Gadus morhua*. J Morphol, 259: 255–270
- Iwamatsu T, 1994. Stages of normal development in the medaka Oryzias latipes. Zool Sci, 11: 825–839
- Kimmel C B, Ballard W W, Kimmel S R et al, 1995. Stages of embryonic development of the zebrafish. Dev Dynam, 203: 253—310
- Kreiling J A, Williams G, Creton R, 2007. Analysis of Kupffer's vesicle in zebrafish embryos using a cave automated virtual environment. Dev Dynam, 236: 1963—1969
- Ma L, Pan X F, Wei Y H *et al*, 2008. Embryonic stages and eye-specific gene expression of the local cyprinoid fish *Anabarilius grahami* in Fuxian Lake, China. J Fish Biol, 73: 1946—1959
- Martinez G M, Bolker J A, 2003. Embryonic and larval staging of summer flounder (*Paralichthys dentatus*). J Morphol, 255: 162—176

- Morin-Kensicki E M, Eisen J S, 1997. Sclerotome development and peripheral nervous system segmentation in embryonic zebrafish. Development, 124: 159–167
- Morrison C M, Miyake T, Wright J R, 2001. Histological study of the development of the embryo and early larva of *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae). J Morphol, 247: 172— 195
- Odenthal J, Haffter P, Vogelsang E *et al*, 1996. Mutations affecting the formation of the notochord in the zebrafish *Danio rerio*. Development, 123: 103—115
- Padrós F, Crespo S, 1996. Ontogeny of the lymphoid organs in the turbot *Scophthalmus maximus*: a light and electron microscope study. Aquaculture, 144: 1–16
- Serluca F C, Fishman M C, 2001. Pre-pattern in the pronephric kidney field of zebrafish. Development, 128: 2233-2241
- Shaw E S, Aronson L R, 1954. Oral incubation in *Tilapia macrocephala*. Bull Am Museum Nat Hist, 103: 375–416
- Shields R J, Brown N P, Bromage N R, 1997. Blastomere morphology as a predictive measure of fish egg viability. Aquaculture, 155: 1—12

## MORPHOLOGICAL AND HISTOLOGICAL DEVELOPMENT OF THE EMBRYO OF TURBOT SCOPHTHALMUS MAXIMUS

TONG Xue-Hong<sup>1, 2, 3</sup>, MA Dao-Yuan<sup>1</sup>, XU Shi-Hong<sup>1</sup>, LIU Qing-Hua<sup>1</sup>,

ZHAO Chun-Yan<sup>1, 3</sup>, XIAO Zhi-Zhong<sup>1</sup>, XIAO Yong-Shuang<sup>1</sup>, LI Jun<sup>1</sup>

(1. Institute of Oceanology, Chinese Academy of Sciences, Qingdao, 266071; 2. College of Life Science and Technology, Yancheng Teachers University, Yancheng, 224002; 3. Graduate School, Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100049)

**Abstract** Morphological and histological characteristics of embryonic development of turbot were studied. Embryonic development of turbot was divided into six main stages. Hatching occurred 108 hours post-fertilization (hpf) at 14°C. The horizontal cleavage firstly appeared at 64-cell stage, when blastomere differentiated into the enveloping layer on the periphery and the deep cells in the center. Yolk syncytial layer and blastocoel were formed at multiple-cell stage and low stage, respectively. At 26.5hpf, embryonic shield occurred. Head anlage appeared at 65%-epiboly stage, neural rod and somite formed at 90%-epiboly stage, and notochord primordium formed at complete epiboly stage. Kupffer's vesicle occurred at 59h 35min hpf, digestive tube occurred at 72 hpf, pronephric tubule occurred at 74 hpf, and the vacuolization of notochord occurred at 82 hpf. Kupffer's vesicle degenerated at 89 hpf, and the posterior digestive tract of embryo was ciliated. At 94 hpf, the heart began to beat. The specific pigment cluster appeared in the fin fold of the newly hatched larva. **Key words** *Scophthalmus maximus*, Embryo, Development, Morphology, Histology