

汉江地区翘嘴鲌胚胎及仔鱼发育观察

邵建春¹ 刘春雷² 秦芳² 秦长江² 顾泽茂¹

1. 华中农业大学水产学院, 武汉 430070; 2. 湖北鱼禾园生态农业开发有限公司, 荆州 434020

摘要 经人工催产、人工授精获得汉江地区庙湖翘嘴鲌受精卵, 对其胚胎和仔鱼发育的各个时期进行连续观察, 并详细记录各个发育阶段的形态特征。结果表明, 受精卵为圆球形、青灰色、微粘性、漂浮性卵, 卵径为 (1.17 ± 0.15) mm, 吸水膨胀后卵径达 (3.26 ± 0.37) mm; 胚胎发育可分为 21 个时期, 水温在 $23 \sim 25$ °C 范围内, 受精 40 min 后开始第 1 次卵裂, 受精后 9 h 45 min 后器官开始形成, 受精后 20 h 15 min 仔鱼开始出膜, 发育总积温为 483.4 °C · h; 初孵仔鱼全长为 (3.39 ± 0.37) mm, 卵黄囊呈梨形, 平均体积为 0.134 mm³, 4 日龄仔鱼卵黄囊几乎完全消失, 开始出现摄食行为, 全长达到 (4.85 ± 0.31) mm, 仔鱼发育过程中卵黄囊长径(L)在 1 日龄期间发生增长, 而后逐步减小, 卵黄囊短径(D)一直随时间递减, 卵黄囊体积(V)随时间(T)的变化方程为 $V = 10^{-5} T^2 - 0.0027 T + 0.1342 (R^2 = 0.9667)$ 。

关键词 翘嘴鲌; 庙湖; 胚胎发育; 仔鱼发育

中图分类号 Q 959.46⁺8 **文献标识码** A **文章编号** 1000-2421(2016)06-0111-06

翘嘴鲌(*Culter alburnus* Basilewsky)隶属于鲤形目(Cypriniformes)、鲤科(Cyprinidae)、鲌亚科(Cultrinae)、鲌属(*Culter*), 广泛分布于中国各大水系^[1]。该鱼个体大, 肉质鲜嫩, 经济价值高, 是淡水主要野生经济鱼类之一^[2]。翘嘴鲌除了具有很高的经济价值外, 还是水域生态系统中的顶级摄食者, 在控制水体中的中小型鱼类、保证水域生态系统的效益和稳定性方面也有重要意义^[3]。随着野生翘嘴鲌资源量的衰退, 养殖翘嘴鲌逐渐推广, 特别是对翘嘴鲌遗传和基因水平的研究为其人工繁殖的发展提供了基础^[4]。

Basilewsky 早在 1855 年对我国北方地区的鲌类进行了记载并建立了鲌属(*Culter*), 后经 Berg、易伯鲁、陈宜瑜等国内外学者进行了补充描述和定种命名, 这些早期研究主要集中在形态和分类学上^[5]。近年来, 国内学者对于北方水系兴凯湖翘嘴鲌的生物学特性^[6-9]、养殖模式^[10]、人工繁殖及胚胎发育观察^[11-12]进行了详实的报道, 顾志敏等^[13-14]对太湖地区翘嘴鲌的人工繁殖、胚胎发育及胚后发育进行了描述, 程鹏等^[15]对汉江地区赤东湖翘嘴鲌的人工繁殖和苗种培育技术进行了研究。然而, 至今国内缺

少汉江地区翘嘴鲌胚胎及仔鱼发育观察的详实报道。为此, 笔者以汉江地区庙湖翘嘴鲌为研究对象, 对其胚胎和仔鱼发育全过程进行系统观察, 旨在为汉江地区优质翘嘴鲌苗种的繁育提供必要的基础数据。

1 材料与方法

1.1 受精卵

亲鱼为湖北鱼禾园生态农业开发有限公司培育的 3 龄亲本, 通过人工注射催产药催产后, 湿法授精。收集受精卵放入水深 1 m、直径 4 m 的圆形孵化环道, 环道底部不间断进水, 水温维持在 $23 \sim 25$ °C, 溶解氧保持在 5 mg/L 以上。

1.2 胚胎发育观察

在受精后 0~2 h, 每 5 min 取样 1 次, 以中性福尔马林固定; 受精后 2~6 h, 每 15 min 取样 1 次, 以中性福尔马林固定; 受精 6 h 后, 每 30 min 取样 1 次, 样品不固定, 直接活体观察。每次取样不少于 30 粒受精卵, 将各个时期的样品于 Nikon 显微镜下观察、测量卵径、拍照; 以超过 50% 的个体发育至某一阶段时视作该发育阶段的起始时间, 记录各个发

收稿日期: 2016-03-31

基金项目: 湖北省重大科技创新计划项目(2013ABA009)

邵建春, 硕士研究生, 研究方向: 水产动物医学. E-mail: jc_shao@webmail.hzau.edu.cn

通信作者: 顾泽茂, 博士, 教授, 研究方向: 水产动物医学. E-mail: guzema@mail.hzau.edu.cn

育阶段的水温、时间和形态特征,计算整个发育过程的有效积温,计算公式为:某发育阶段的有效积温=某发育阶段的平均水温×某发育阶段历时^[16-17]。

1.3 仔鱼发育观察

从仔鱼出膜后开始取样观察,每 4 h 取样 1 次,每次取样 30 尾,记录其体长、体色等发育特征,测量其卵黄囊长径(L)和短径(D),并计算卵黄囊体积(V), $V=4/3\pi \cdot L/2 \cdot (D/2)^2$;以日龄为取样间隔,

每次取样 30 尾,记录各个日龄仔鱼的形态特征、器官发育情况,测量其全长,并拍照。

2 结果与分析

2.1 胚胎发育

在 23~25 °C 水温下,受精 40 min 后开始第 1 次卵裂,受精后 9 h 45 min 器官开始形成,眼基原出现,受精后 20 h 15 min 孵化出膜,发育总积温为 483.4 °C·h,胚胎发育可分为 21 个时期(表 1)。

表 1 翘嘴鲌胚胎发育时序

Table 1 Time table of *Culter alburnus* embryonic development

发育时期 Stage	发育时间/(h:min) Developing time	水温/°C Water temperature	积温/(°C·h) Sum of temperature	图号 Figure list
受精卵 Fertilized egg	0:00	23	0	1-A
胚盘隆起 One cell stage	0:30	23	11.5	1-B
2 细胞期 2-cell stage	0:40	23	15.3	1-C
4 细胞期 4-cell stage	0:50	23	19.2	1-D
8 细胞期 8-cell stage	1:05	23	24.9	1-E
16 细胞期 16-cell stage	1:20	23	30.7	1-F
32 细胞期 32-cell stage	1:35	23	36.4	1-G
64 细胞期 64-cell stage	1:50	24	42.4	1-H
囊胚期 Blastula stage	2:35	24	60.4	1-I
原肠胚期 Gastrula stage	5:20	25	129.2	1-J
神经胚期 Neurula stage	7:35	25	185.4	1-K
肌节出现期 Myotome formation stage	8:05	25	197.9	1-L
眼基出现期 Optic rudiment stage	9:45	25	239.6	1-M
眼囊期 Optic vesicle stage	10:35	24	259.6	1-N
尾芽期 Tail bud stage	11:10	24	273.6	1-O
尾鳍出现期 Caudal fin formation stage	12:05	24	295.6	1-P
肌肉效应期 Muscular contraction stage	14:15	23	345.4	1-Q
心脏出现期 Heart rudiment stage	15:55	23	383.7	1-R
心跳期 Heart pulsation stage	17:05	23	410.5	1-S
出膜前期 Pre-hatching stage	19:25	23	464.2	1-T
出膜期 Hatching-out stage	20:15	23	483.4	1-U

1) 受精卵。翘嘴鲌受精卵呈圆球形、青灰色、微粘性、漂浮性卵,卵径为(1.17±0.15) mm,吸水膨胀后卵径达(3.26±0.37) mm(图 1A)。

2) 胚盘隆起。受精后约 30 min,卵黄偏向植物极,卵质向动物极集中,形成高高隆起的胚盘(图 1B)。

3) 卵裂期。受精后 40 min,发生第 1 次卵裂,胚盘顶部产生 1 条裂痕并加深形成分裂沟,继而形成 2 个基本相等的分裂球,为 2 细胞期(图 1C)。受精后 50 min,发生第 2 次卵裂,原来 2 个细胞对称分裂成大小相等的 4 个细胞,为 4 细胞期(图 1D)。第 3 次卵裂发生在受精后 1 h 5 min,分裂方向与第 1 次卵裂平行,原来 4 个细胞对称分裂为 8 个细胞,为 8 细胞期(图 1E)。受精后 1 h 20 min,形成 16 细胞,

分 4 行 4 列,为 16 细胞期(图 1F)。第 5 次卵裂发生在受精后 1 h 35 min,分裂球继续分裂,形成 32 个细胞,为 32 细胞期(图 1G)。受精后 1 h 50 min,细胞分裂加快,分裂球越来越多,细胞越来越小,为多细胞期(图 1H)。整个卵裂过程仅发生在胚盘部分,植物极卵黄不发生分裂,为典型盘状卵裂。

4) 囊胚期。受精后 2 h 35 min,胚盘高高隆起,表面粗糙,之后胚盘逐渐下包,将部分卵黄包围起来,此为囊胚期(图 1I)。

5) 原肠胚期。受精后 5 h 20 min,胚环出现,呈新月状,胚层逐渐下包,直至于下包至整个卵黄的 2/3,此为原肠胚期(图 1J)。

6) 神经胚期。受精后 7 h 35 min,胚层下包至整个卵黄的 4/5,留有很小的卵黄栓,出现神经板的雏

形,此为神经胚期(图1K)。

7)肌节出现期。受精后8 h 5 min,胚体中部出现模糊的3~4对肌节,此为肌节出现期(图1L)。

8)眼基出现期。受精后9 h 45 min,胚体头部略抬起,出现眼基原,肌节5~6对,此为眼基出现期(图1M)。

9)眼囊期。受精后10 h 35 min,胚体前端头部出现椭圆形的眼囊,肌节8~9对,此为眼囊期(图1N)。

10)尾芽期。受精后11 h 10 min,胚体尾部开始游离卵黄囊,形成圆锥状的尾芽,卵黄囊出现极小的凹陷,肌节13~14对,此为尾芽期(图1O)。

11)尾鳍出现期。受精后12 h 5 min,胚体尾部离开卵黄囊,出现尾鳍,卵黄囊凹陷加深,肌节18~20对,此为尾鳍出现期(图1P)。

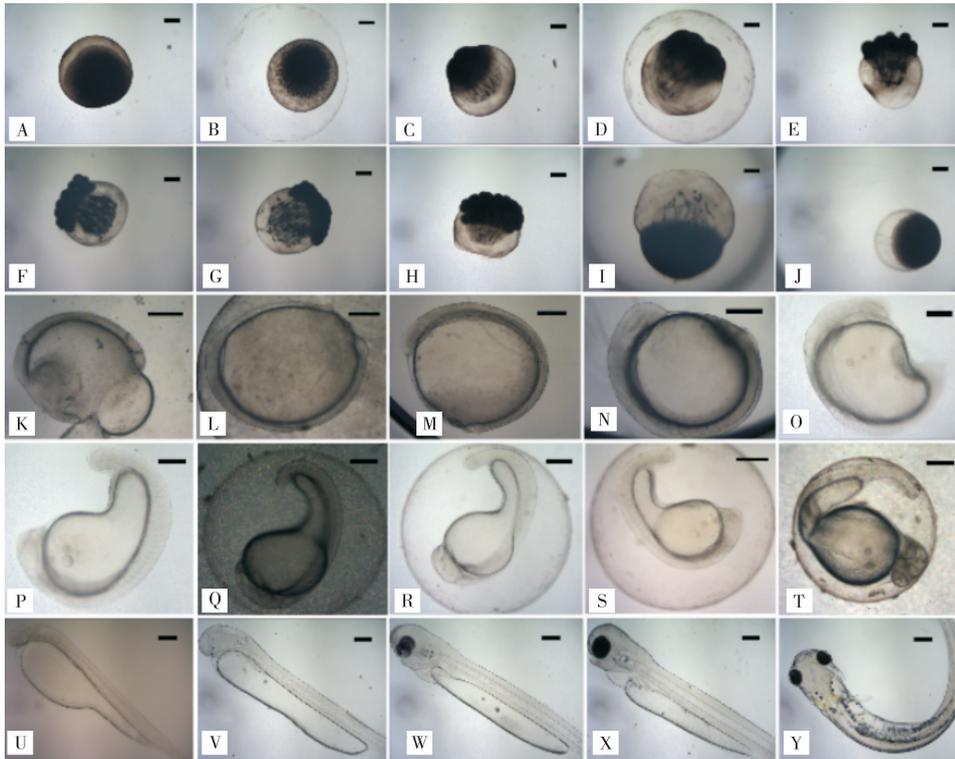
12)肌肉效应期。受精后14 h 15 min,胚体出现微弱的肌肉收缩,肌节24~26对,此为肌肉效应期(图1Q)。

13)心脏出现期。受精后15 h 55 min,眼下后方腹面出现心脏原基,肌节29~30对,此为心脏出现期(图1R)。

14)心跳期。受精后17 h 5 min,心脏开始搏动,且搏动随时间逐渐加强,肌节31~33对,此为心跳期(图1S)。

15)出膜前期。受精后19 h 25 min,卵黄囊前端为圆球形,后端为棒状,胚胎在卵膜内做旋转运动,头部和尾部不断碰撞卵膜,此为出膜前期(图1T)。

16)出膜期。受精后20 h 15 min,开始出膜,刚出膜的仔鱼呈透明无色,全长为 (3.39 ± 0.37) mm,卵黄囊呈梨形,平均体积为 0.134 mm^3 (图1U)。



A: 受精卵; B: 胚盘隆起; C: 2 细胞期; D: 4 细胞期; E: 8 细胞期; F: 16 细胞期; G: 32 细胞期; H: 64 细胞期; I: 囊胚期; J: 原肠胚期; K: 神经胚期; L: 肌节出现期; M: 眼基出现期; N: 眼囊期; O: 尾芽期; P: 尾鳍出现期; Q: 肌肉效应期; R: 心脏出现期; S: 心跳期; T: 出膜前期; U: 出膜期; V: 1 日龄仔鱼; W: 2 日龄仔鱼; X: 3 日龄仔鱼; Y: 4 日龄仔鱼。比例尺: $200 \mu\text{m}$ 。 A: Fertilized egg; B: Blastoderm formation stage; C: 2-cell stage; D: 4-cell stage; E: 8-cell stage; F: 16-cell stage; G: 32-cell stage; H: 64-cell stage; I: Blastula stage; J: Gastrula stage; K: Neural stage; L: Myotome formation stage; M: Optic rudiment stage; N: Optic vesicle stage; O: Tail bud stage; P: Appearance of caudal fin stage; Q: Muscular contraction stage; R: Appearance of heart stage; S: Heart-beating stage; T: Pre-hatching stage; U: Hatching-out stage; V: 1-day old larva after hatching; W: 2-day old larva after hatching; X: 3-day old larva after hatching; Y: 4-day old larva after hatching. Scale bar: $200 \mu\text{m}$.

图1 翘嘴鲌胚胎及仔鱼发育

Fig.1 Embryonic and larval development of *Culter alburnus*

2.2 仔鱼发育

1) 1日龄仔鱼。出膜后 12 h, 仔鱼全长(3.63 ± 0.39) mm, 头部与卵黄囊分离, 卵黄囊呈前宽后窄的棒状, 眼眶下侧出现 1 对黑色的眼点, 体表其他部位为无色透明, 背鳍出现(图 1V)。

2) 2日龄仔鱼。出膜后 40 h, 仔鱼全长(3.87 ± 0.35) mm, 卵黄囊体积减小, 呈前后两端窄、中间部位宽的棒状, 眼球黑色素增多, 体表无色透明, 口裂出现, 仔鱼在水中上下垂直窜动(图 1W)。

3) 3日龄仔鱼。出膜后 56 h, 仔鱼全长(4.17 ± 0.35) mm, 卵黄囊体积继续减小, 呈前宽后窄的棒状, 眼球完全变黑, 体表出现少量黑色素, 口裂清晰

明显, 鳔开始出现(图 1X)。

4) 4日龄仔鱼。出膜后 88 h, 仔鱼全长(4.85 ± 0.31) mm, 卵黄囊几乎耗尽, 胸鳍如扇状, 鳔开始充气膨大, 可以在水中自由游动, 消化道发育完整, 出现摄食行为(图 1Y)。

5) 卵黄囊体积变化。翘嘴鲌卵黄囊长径(L)在 1 日龄期间发生增长, 而后逐步减小, 卵黄囊短径(D)一直随时间递减(图 2); 卵黄囊体积(V)随时间(T)的变化方程为 $V = 10^{-5} T^2 - 0.0027 T + 0.1342$ ($R^2 = 0.9667$)(图 3), 卵黄囊在 1 d 内吸收速率最快, 在 1 d 末期卵黄囊已经吸收过半, 在 3 d 后吸收速率趋于平缓, 并逐渐吸收殆尽。

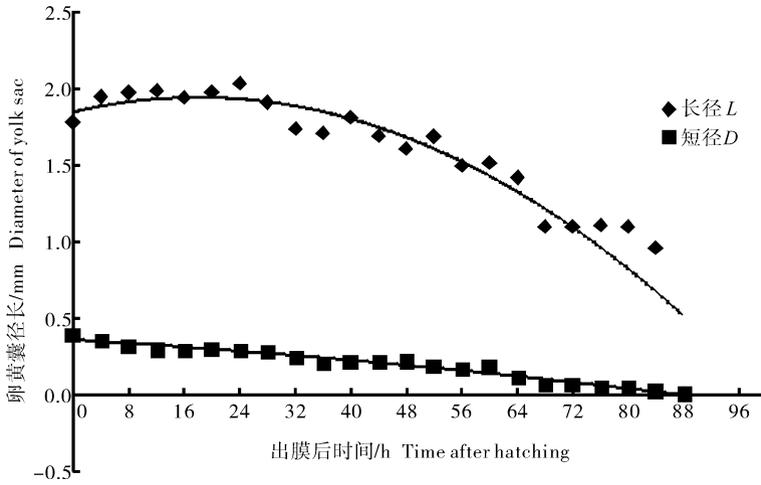


图 2 翘嘴鲌仔鱼卵黄囊直径变化

Fig.2 Diametric changes of yolk sac in *Culter alburnus* larvae

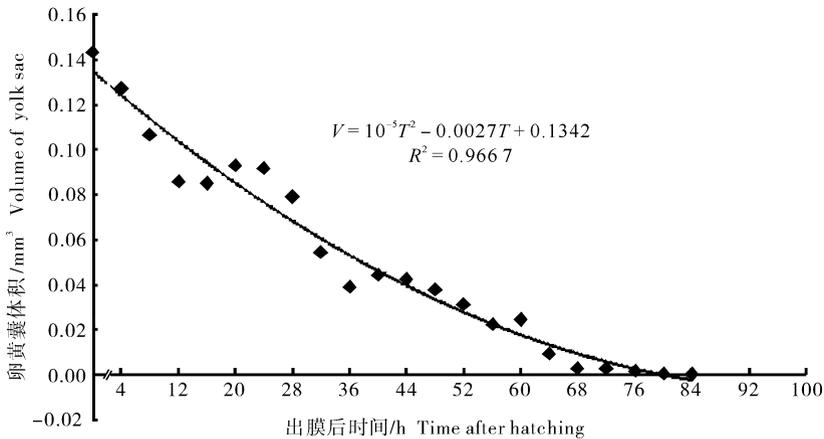


图 3 翘嘴鲌仔鱼卵黄囊体积变化

Fig.3 Volumetric changes of yolk sac in *Culter alburnus* larvae

3 讨 论

3.1 庙湖翘嘴鲌与其他地区翘嘴鲌胚胎发育的差异

汉江地区庙湖翘嘴鲌受精卵为微粘性、漂浮性卵,与巢湖翘嘴鲌受精卵相同,与兴凯湖翘嘴鲌非粘性、半浮性卵相似,而与太湖和海南地区翘嘴鲌沉粘性卵相差较大,主要原因是庙湖与汉江直接连通,庙湖中的翘嘴鲌多来自汉江河流,河流来源受精卵多为微粘性、漂浮性,以适应河流水体的流动,而湖泊来源的受精卵长期处于相对静水的环境中,多为沉粘性卵;受精卵吸水膨胀后卵径为 2.89~3.63 mm,较巢湖、兴凯湖浮性卵小,而较太湖和海南地区沉粘

性卵大;自肌节出现到心脏出现的肌节数为 3~30,与太湖翘嘴鲌相似,较兴凯湖翘嘴鲌存在较大差异;在受精后 20 h 15 min 开始出膜,有效积温为 483.4 °C·h,较其他地区翘嘴鲌出膜时间短、有效积温小;初孵仔鱼全长为 3.02~3.76 mm,较其他地区翘嘴鲌全长小(表 2)。以上结果显示,庙湖翘嘴鲌与其他地区翘嘴鲌在胚胎发育过程存在较大差异,推测原因主要是庙湖翘嘴鲌与其他地区翘嘴鲌长期处于不同生长环境导致遗传特性的差异;而另一方面,庙湖翘嘴鲌与同属于长江水系的巢湖和太湖翘嘴鲌在胚胎发育的某些方面又存在相似性,这又与同一水系中种群扩散、基因交流以及生境的相对相似有关。

表 2 庙湖翘嘴鲌与其他地区翘嘴鲌胚胎发育对比

Table 2 Embryonic development comparison between *Culter alburnus* from Miaohu Lake and other areas

种类 Type	吸水后卵径/mm Egg diameter after hydration	受精卵类型 Fertilized egg type	肌节数 Number of sarcomere	积温/(°C·h) Sum of temperature	初孵仔鱼全长/mm Larvae length
庙湖 Miaohu Lake	2.89~3.63	微粘性、漂浮性 Slightly viscous and floating	3~30	483.4	3.02~3.76
太湖 Taihu Lake ^[13]	1.2	沉粘性 Viscous and sinking	2~32	619.8	4.10~4.67
巢湖 Chaohu Lake ^[18]	4~4.5	微粘性、漂浮性 Slightly viscous and floating	—	594.0	—
兴凯湖 Xingkaihu Lake ^[11]	4.43~5.07	非粘性、半浮性 Nonviscous and slightly floating	2~22	603.0	3.61~4.35
海南地区 Hainan area ^[19]	1.0	沉粘性 Viscous and sinking	—	720.0	4.4

3.2 庙湖翘嘴鲌与其他地区翘嘴鲌仔鱼发育的差异

汉江地区庙湖翘嘴鲌仔鱼发育过程中,各时期全长较太湖、兴凯湖和海南地区翘嘴鲌仔鱼小;眼球色素变化与太湖、兴凯湖翘嘴鲌仔鱼相似;鳔形成期与太湖翘嘴鲌仔鱼形成时期相同,较兴凯湖翘嘴鲌仔鱼晚;卵黄囊吸收过程中形状变化与太湖翘嘴鲌仔鱼相似^[11,13]。卵黄囊在 1 d 内吸收最快,在 1 d 末期吸收过半,主要是由于 1 d 内卵黄囊营养用于鱼体的迅速生长和旺盛的新陈代谢,后期卵黄囊吸收较慢的原因是卵黄囊营养主要用于器官分化和运动^[20]。本研究首次记录了翘嘴鲌仔鱼卵黄囊吸收过程的变化情况,为翘嘴鲌仔鱼发育研究和优质翘嘴鲌苗种的繁育提供了必要的基础数据。

[2] 伍献文.中国鲤科鱼类志:上卷 [M].上海:上海科学技术出版社,1964:98-99.

[3] 刘恩生,吴林坤,曹萍,等.太湖鲌鱼数量变化规律及生态效应分析[J].水利渔业,2007,27(3):70-73.

[4] LIU S L, GU Z M, JIA Y Y, et al. Isolation and characterization of 32 microsatellite loci for topmouth culter (*Culter alburnus* Basilewsky) [J]. Genetics and molecular research, 2014, 13: 7480-7483.

[5] 伊西庆.中国东部 6 个大型湖泊翘嘴鲌遗传多样性的线粒体 DN2 基因序列分析[D].广州:暨南大学,2009.

[6] 杨虹.兴凯湖翘嘴鲌生物学特性及人工繁殖研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2009.

[7] 尹家胜,夏重志,徐伟,等.兴凯湖翘嘴鲌种群结构的变化[J].水生生物学报,2004,28(5):490-495.

[8] 战培荣,赵吉伟,董崇智,等.兴凯湖翘嘴鲌的生长特性[J].海洋与湖沼,2005,36(2):146-151.

[9] 韩英,王昕阳,尹海富.兴凯湖翘嘴红鲌生长式型的研究[J].大连水产学院学报,2005,20(3):218-221.

[10] 李琳琳.兴凯湖翘嘴鲌养殖模式与急性毒性试验的研究[D].哈尔滨:东北农业大学,2014.

[11] 刘丹阳,司力娜,张晓光,等.兴凯湖翘嘴鲌胚胎和仔鱼发育的

参 考 文 献

[1] 谢从新.鱼类学[M].武汉:中国农业出版社,2010:213-221.

- 研究[J].东北农业大学学报,2012,43(3):110-116.
- [12] 李池陶,徐伟,王进,等.池塘养殖兴凯湖翘嘴鲌的人工繁殖和胚胎发育观察[J].大连水产学院学报,2008,23(2):87-91.
- [13] 顾志敏,朱俊杰,贾永义,等.太湖翘嘴红鲌胚胎发育及胚后发育观察[J].中国水产科学,2008,15(2):204-214.
- [14] 宓国强,顾志敏,黄鲜明,等.翘嘴红鲌人工繁殖技术研究[J].浙江海洋学院学报,2004,23(1):64-67.
- [15] 程鹏,樊启学,陈年林,等.赤东湖翘嘴鲌人工繁殖和苗种培育技术研究[J].水利渔业,2007,27(1):22-23.
- [16] 胡文彪,李清,杨瑞斌,等.翘嘴鲌(♀)和黑尾近红鲌(♂)杂交F1的胚胎发育和胚后发育观察[J].华中农业大学学报,2013,32(1):103-109.
- [17] LIN Q, LU J Y, GAO Y L, et al. The effect of temperature on gonad, embryonic development and survival rate of juvenile seahorses, *Hippocampus kuda* Bleeker[J]. Aquaculture, 2006, 254:701-713.
- [18] 姚闻卿,胡菊英,吴先成.巢湖翘嘴红鲌的繁殖[J].水产学报,1987,11(2):101-109.
- [19] 谢刚,庞世勋,徐淑英,等.池养海南红鲌人工繁殖和胚胎发育[J].水利渔业,1998(6):22-23.
- [20] 谢菁,区又君,李加儿,等.七带石斑鱼胚体和卵黄囊期仔鱼的发育[J].海洋通报,2009,28(2):41-49.

Observation on embryonic and larval development of *Culter alburnus* of Hanjiang River

SHAO Jianchun¹ LIU Chunlei² QIN Fang² QIN Changjiang² GU Zemao¹

1. College of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

2. Hubei Yuheyuan Ecological Agriculture Development Limited Company, Jingzhou 434020, China

Abstract Fertilized eggs of *Culter alburnus* were obtained by induced spawning and artificial fertilization. The observation and characterization of embryonic and larval development processes were systematically carried out in May 2014 in Miaohu Lake. The results showed that the fertilized eggs were spherical, cinerous, slightly sticky, pelagic, (1.17 ± 0.15) mm in diameter and (3.26 ± 0.37) mm after hydration. At water temperature of 23-25 °C, the process of embryonic development could be divided into 21 stages. First cleavage stage, organofaction stage and hatching-out stage happened at 40 min, 9 h and 45 min and 20 h and 15 min post fertilization, respectively. The accumulative temperature were 483.4 °C · h. The newly hatched larvae had the total body length of (3.39 ± 0.37) mm and the yolk sac volume of 0.134 mm³. The yolk sac of the 4-d-old larva disappeared and the total body length of them was (4.85 ± 0.31) mm. The long diameter increased at the first day and reduced later, while the short diameter reduced invariably. The correlate equation between the yolk sac volume (V) and the hour after hatching (h) was $V = 10^{-5} T^2 - 0.0027T + 0.1342$ ($R^2 = 0.9667$).

Keywords *Culter alburnus*; Miaohu Lake; embryonic development; larvae development

(责任编辑:边书京)