

鲈鲤胚胎发育特征观察

赖见生¹, 杜 军¹, 何兴恒², 赵 刚¹, 邓晓川¹, 李 华¹

(1.四川省农业科学院水产研究所,四川省生物资源保护与可持续利用实验室,四川 成都 611731;

2.国电大渡河流域珍稀鱼类保护研究中心,四川 甘洛 616856)

【摘要】观察了水温(18±0.5)℃条件下,鲈鲤[*Percocypris pingi pingi*(Tchang)]的胚胎发育特征。结果显示:成熟鲈鲤卵呈球形、桔黄色,为粘性卵,卵径2.2mm,卵膜遇水膨胀后,最大外膜径达3.2~3.8mm。受精卵在水温(18±0.5)℃条件下,受精2h28min后开始第1次卵裂,受精后45h23min开始形成器官,受精后126h28min孵出仔鱼。初孵仔鱼全长为10.4mm,卵黄囊大而侧扁。根据胚胎发育过程的形态特征,可将鲈鲤胚胎发育过程分为受精卵、卵裂、囊胚、原肠胚、神经胚、器官发生和出膜7个连续阶段,32个时期。

【关键词】鲈鲤[*Percocypris pingi pingi*(Tchang)];受精卵;胚胎发育;孵化

【中图分类号】S965.116 **【文献标识码】**A **【文章编号】**1673-1891(2013)04-0009-03

鲈鲤[*Percocypris pingi pingi*(Tchang)]属鲤形目(Cypriniformes)鲤科(Cyprinidae)鲃亚科(Barbinae),俗称江鲤、江鳊、花鲤,主要分布于长江上游干支流中,是长江上游的特有鱼类,也是四川省、重庆市的重点保护动物^[1]。由于生态环境日益恶化,产区的种群数量逐年下降。目前,关于鲈鲤的研究相对较少,仅有形态、分类、分布、养殖技术、营养与消化、鱼病防治等方面的少量报道^[2-7],对其早期生长与发育方面尚无相关报道。本研究通过人工繁殖获得鲈鲤的受精卵,并对其胚胎发育特性进行连续观察,为其选种、繁育、养殖以及相关科学研究提供基础资料。

1 材料与方 法

1.1 试验材料

2013年4月从国电大渡河流域珍稀鱼类保护研究中心挑选人工饲养的性成熟鲈鲤雄性和雌性亲本各1尾,经人工催产,干法授精,所获受精卵用于胚胎发育观察。人工催产后将受精卵取出,置于孵化盘内孵化,室内用空调控温,将孵化水温控制在18℃±0.5℃范围内。

1.2 试验方法

全部发育过程均用Leica EZ4D数码体视显微镜观察、测量记录、照相,第1天每隔30min对受精卵取样观察,第2天以后每隔1h取样观察。在显微镜下对受精卵胚胎发育进行观察,记录发育过程中的具体形态变化,并且选取发育良好的胚胎拍照,直至完成整个孵化阶段。此外,对孵化后1d内的仔鱼也进行了观察。记录时间以所观察样本中有50%表现出相应发育期特征为准,胚胎发育观察的样本数为50~100。

2 观察结果

2.1 鲈鲤胚胎发育时序

在(18±0.5)℃温度条件下,鲈鲤胚胎发育从受精卵开始至胚胎孵化出膜历时126h,经过受精卵、卵裂、囊胚、原肠胚、神经胚、器官发生和出膜7个连续阶段。根据发育顺序及形态特征变化,将7个阶段划分为32个时期(表1)。

2.2 鲈鲤胚胎发育分期及特征

2.2.1 受精卵

成熟的鲈鲤卵外观呈圆球形,桔黄色,卵黄丰富,具黏性,为沉性卵,平均卵径2.2mm^[5]。卵受精后,卵膜吸水膨胀,卵径约3.2~3.8mm;动物极向上,植物极向下,细胞质从植物极向动物极流动,使得动物极出现一个暗斑。

2.2.2 卵裂期

受精后2h28min,受精卵第1次经裂。在动物极出现一条分裂沟,分裂沟与胚盘垂直,将动物极分裂成两个大小基本相等的细胞,此时为二细胞期(图版3)。受精后3h15min,开始第2次分裂,为经裂;分裂沟与第一条垂直,并逐渐加深,将动物极分为4个大小基本相等的细胞(图版4)。受精后3h57min,开始第3次分裂,仍为经裂;两个分裂沟与第2次分裂沟垂直,将动物极分为8个分裂球(图版5)。受精后4h23min,开始第4次分裂,仍是经裂;两分裂沟位于第2次分裂沟的两侧,即与第1次和第3次分裂面相垂直,动物极分裂成十六个分裂球(图版6)。受精后4h45min,开始第5次分裂,胚胎被分为大小相近的32个分裂球(图版7)。此后,每隔30min左右出现一次分裂,经历64细胞期和128细胞期(图版8~9)。受精11h后,经过连续分裂,分裂

收稿日期:2013-07-01

作者简介:赖见生(1981-),男,助理研究员,研究方向:鱼类繁殖与养殖技术方面的研究。

球的数量增多,大小不一,多层叠加排列于卵黄上方,此时进入多细胞期(图版10)。

2.2.3 囊胚期

受精11h43min,胚胎进入囊胚早期。随着卵裂不断的进行,细胞数目不断增加,胚层高度隆起,分裂球清晰可见,细胞间有明显的界限(图版11)。受

精14h31min,胚胎进入囊胚中期。胚层变薄并下降,胚层高度下降到卵径的1/3,细胞间有间隙(图版12)。受精17h33min,胚胎进入囊胚晚期。胚层明显变低,其高度约占受精卵半径的1/6。从胚层顶面观察,胚胎直径约为整个受精卵的2/3。动物极的分裂球彼此紧密靠近,界限不清(图版13)。

表1 鲈鲤胚胎发育过程

序号	发育时期	主要特征	受精后时间(h min)	图序
1	受精卵	卵膜开始吸水膨胀	0 h00min	1
2	胚盘期	胚盘隆起,色素累积	1 h58min	2
3	2细胞期	经裂,动物极分为2个大小相等的裂球	2h28min	3
4	4细胞期	经裂,动物极分为4个大小相等的裂球	3h15min	4
5	8细胞期	经裂,动物极分为8个裂球	3h57min	5
6	16细胞期	动物极分为16个裂球	4h23min	6
7	32细胞期	动物极分为32个裂球	4h45min	7
8	64细胞期	动物极分为64个裂球	5h23min	8
9	128细胞期	动物极分为128个裂球	5h57min	9
10	多细胞期	细胞变多、变小,形成多细胞胚体	11h03min	10
11	囊胚早期	胚层隆起较高,分裂球清晰可见,细胞间有明显的界限	11h43min	11
12	囊胚中期	胚层变薄并下降,细胞间有间隙	14h31min	12
13	囊胚晚期	胚层进一步下降,动物极的分裂球彼此紧密靠近,界限不清	17h33min	13
14	原肠早期	胚层细胞下包、内卷,形成胚环	26h23min	14
15	原肠中期	胚层下包2/3	29h03min	15
16	原肠晚期	胚层下包4/5	32h43min	16
17	小卵黄栓期	小卵黄栓形成	38h01min	17
18	神经胚期	卵黄栓外露,神经板雏形出现	38h50min	18
19	胚孔封闭期	胚层下包结束,胚孔封闭	40h30min	19
20	肌节出现期	肌节出现	45h23min	20
21	眼囊形成期	眼基中央凹陷,逐渐扩大为腔体	48h16min	21
22	耳囊出现期	听板变为耳囊	54h08min	22
23	尾芽形成期	胚体后端逐渐隆起为尾芽	59h42min	23
24	肌肉效应期	肌节32~34对,胚体中部带动尾部向一侧摆动	60h12min	24
25	耳石出现期	耳囊内出现两颗透亮的小耳石	62h58min	25
26	心搏期	心脏位于卵黄囊头部背索前下方,尾部继续延长	67h26min	26
27	胸鳍原基期	耳囊前靠近卵黄囊处两侧细胞聚集,突出于体表,形成胸鳍原基	74h12min	27
28	血液循环期	向头部供血,血液呈红色,头眼膨大,鳃原基出现	89h28min	28
29	出膜前期	胚体在膜内转动,以头部撞击卵膜	109h58min	29
30	孵出期	仔鱼侧卧水底,全长10.4mm,心率60次/分,摆动4次/min	126h28min	30
31	胸鳍上翘期	侧卧水底,偶尔串游,胸鳍开始上翘	143h36min	31
32	口凹形成期	可见鳃弓3对,鳃循环明显,下颌原基出现,口凹逐渐形成	145h18min	32

2.2.4 原肠胚期

受精26h23min,胚胎进入原肠早期。此时胚层细胞向植物极发生下包,约下包1/3,下包过程中伴随着胚层细胞的内卷,四周边缘增厚,形成胚环(图版14)。受精29h03min,胚层覆盖胚胎表面的2/3,进入原肠中期,胚盾逐渐加厚并向动物极延伸(图版15)。受精后32h43min,胚层下包约4/5,胚盾进一步伸长并加厚,植物极外露一大的卵黄栓(图版

16)。受精38h01min,胚胎进入小卵黄栓期,此时胚胎表面除在植物极有一个卵黄栓外,其余部分都被动物极细胞覆盖(图版17)。

2.2.5 神经胚期

受精后38h50min,胚体轮廓显现,胚盾前端出现神经板,继续下包过程中,神经板发生凹陷,并向后伸展为神经沟,沟的两侧隆起为神经褶(图版18)。受精后40h30min,胚层下包结束,胚孔逐渐缩

小变得模糊,胚层合拢,胚孔封闭。胚体匍匐在卵黄上,围绕卵黄约1/2(图版19)。

2.2.6 器官分化期

受精后45h23min,肌节9~11对,眼基出现(图版20)。受精后48h16min,眼基中央出现凹陷,并逐渐扩大为腔,眼囊形成。此时,胚体大为伸展,包绕卵黄囊4/5,肌节15~17对(图版21)。受精后54h08min,眼囊呈长椭圆形,在眼的后方和脊索前端上方出现耳囊(图版22)。受精后59h42min,胚体后端逐渐隆起为尾芽,体节20~24对,胚体头尾端靠近,尾芽开始游离(图版23)。受精后60h12min,肌节32~34对,胚体中部带动尾部向一侧摆动,进入肌肉效应期,肌肉收缩频率约7次/min,尾芽逐渐伸长(图版24)。受精后62h58min,耳囊内出现两颗透亮的小耳石(图版25)。受精后67h26min,心脏位于卵黄囊头部背索前下方,发生轻微搏动,心率31次/min,胚体扭动55次/min(图版26)。受精后74h12min,耳囊前靠近卵黄囊处两侧细胞聚集,突出于体表,形成胸鳍原基,卵黄囊向体两侧突出,尾末端达头部,尾部摆动24次/min(图版27)。受精后89h28min,心脏位置前移,开始向头部供血,血液呈红色,头眼膨大,鳃原基出现,尾部摆动25次/min(图版28)。受精后109h58min,心脏移至头下方,血液循环明显。血液由心脏出发,经主动脉流向全身,再由后主静脉、尾静脉、主静脉、卵黄静脉,经卵黄囊上的古维尔氏管流入心脏。尾端超过头部,胚体在膜内转动(14圈/min),以头部撞击卵膜(图版29)。

2.2.7 出膜

受精后126h28min,出膜率达50%,出膜仔鱼全长10.4mm,体长10.0mm,肛前长7.6mm,心率95次/min;仔鱼侧卧水底,偶尔向一侧弯曲身体作抬头运动(图版30)。受精后143h36min,可见鳃弓3对,鳃循环明显,仔鱼侧卧水底,偶尔串游,胸鳍开始上翘(图版31)。受精后145h18min,下颌原基出现,口凹逐渐形成,偶尔腹部贴底,心率130次/min,全长11.0mm,体长10.5mm,肛前长7.9mm(图版32)。

3 讨论

本研究显示在水温(18±0.5)℃的条件下,鲈鲤受精卵历时126h28min孵出仔鱼。根据胚胎发育

过程的形态特征结合已有的分期标准,鲈鲤胚胎发育过程可分为7个发育阶段32个时期,各发育阶段特征和所经历时间如表1,可知其中器官发生阶段历时最长。与韦先超等^[5]等研究比较发现,在本实验中鲈鲤胚胎发育的时间延长了46h28min。鲈鲤孵化期与大多数鲤科鱼类相比耗时较长。

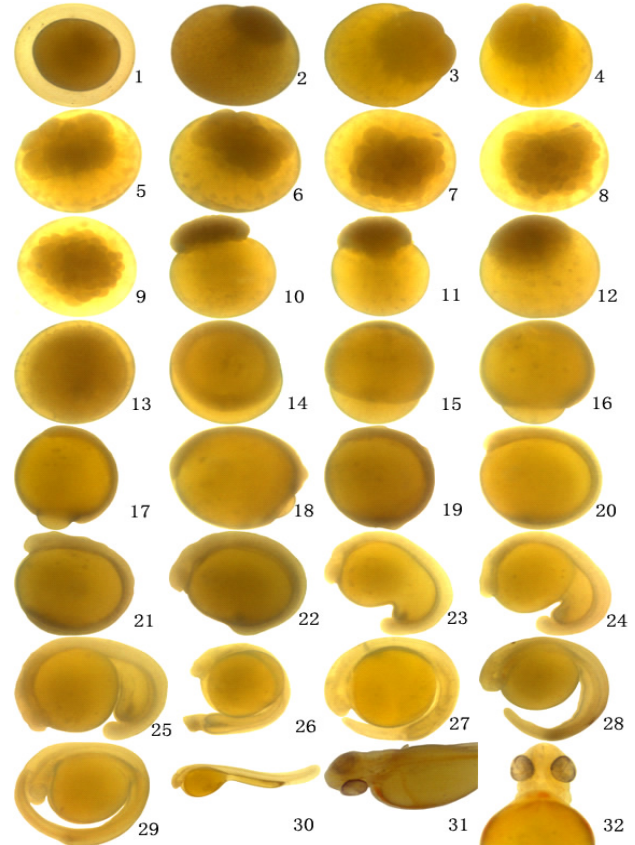


图1 鲈鲤胚胎发育

图版说明(图1):

1. 受精卵;2. 胚盘期;3. 2细胞期;4. 4细胞期;5. 8细胞期;6. 16细胞期;7. 32细胞期;8. 64细胞期;9. 128细胞期;10. 多细胞期;11. 囊胚早期;12. 囊胚中期;13. 囊胚晚期;14. 原肠早期;15. 原肠中期;16. 原肠晚期;17. 小卵黄栓期;18. 神经胚期;19. 胚孔封闭期;20. 肌节出现期;21. 眼囊形成期;22. 耳囊出现期;23. 尾芽形成期;24. 肌肉效应期;25. 耳石出现期;26. 心搏期;27. 胸鳍原基期;28. 血液循环期;29. 出膜前期;30. 孵出期;31. 胸鳍上翘期;32. 口凹形成期。

注释及参考文献:

- [1] 丁瑞华. 四川鱼类志[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1994, 275-277.
- [2] 耿毅, 陈德芳, 彭成卓. 鲈鲤鳃霉病与车轮虫混合感染的诊治[J]. 科学养鱼, 2006, (3): 58.
- [3] 刘必生, 李建光, 李正友, 等. 鲈鲤含肉率及肌肉营养成分的测定与品质评价[J]. 贵州农业科学, 2011, 39(11): 166-170.
- [4] 马秀慧, 任爽, 王志坚. 2011. 鲈鲤幼鱼消化系统的组织学研究[J]. 贵州农业科学, 39(3): 172-175.

(下转25页)

较大,加上近年来旅游业的蓬勃发展,沿湖周边宾馆楼台和旅游设施建设较多,随着邛海旅游的发展,旅游人数的增多,邛海流域生态负荷越来越重,对湿地生态环境的保护压力越来越大。

注释及参考文献:

- [1]马克平,钱迎倩.生物多样性保护机制研究进展[J].应用于环境生物学报,1998,4(1):95-99.
- [2]张峥.湿地生物多样性评价研究[J].中国生态农业学报,2002(10):278-280.
- [3]王戈戎,杜凤国.松花江三湖湿地生物多样性评价[J].北华大学学报,2006(6):278-280.
- [4]王雪湘,陈秀梅.唐山市采煤塌陷区湿地生物多样性调查及评价研究[J].园林科技,2010(2):41-43.
- [5]鞠美婷,王艳霞,孟伟庆,等.湿地生态系统的保护与评估[M].北京:化学工业出版社,2009.
- [6]彭徐.四川邛海国家级风景名胜生物多样性概况及特点[J].四川动物,2006(4):778-781.
- [7]杨红,郑璐,马金华.四川邛海湖湿地水生维管植物的现状调查[J].基因组学与应用生物学,2009(5):946-950.

Evaluation of Qionghai-wetland's Biological Diversity

WANG Tang-yao, JING Zhi-ming

(Xichang College, Xichang, Sichuan 615013)

Abstract: Using the biodiversity theory, this paper evaluated the biodiversity of Qionghai-wetland watershed through evaluation index system and value-determined standard. Results indicated that the biodiversity of Qionghai-wetland is preferable, species in the area is rich, endemic genus is superior, ecological structure is complex and many types of habitat. In addition, "habitat development strength" index score is relatively low, suggests that intrusion from human activities of Qionghai-wetland is serious, especially damage and intrusion from agricultural activities and tourist activities of Qionghai-wetland are bigger.

Key words: Qionghai-wetland; Biological diversity; Evaluation

(上接11页)

- [5]韦先超,金灿彪,邓思红.鲟鲤养殖技术的初步研究[C].2006年中国科协年会农业分会场论文专集,2006,146-148.
- [6]崔桂华,褚新洛.鲤科鱼类鲟鲤的亚种分化和分布[J].动物分类学报,1990,15(1):118-123.
- [7]詹会祥,周礼敬,朱永久,等.野生鲟鲤驯化养殖试验[J].河北渔业,2012,(12):22-24.

Observation on the Embryonic Development of Percocypris pingi pingi (Tchang)

LAI Jian-sheng¹, DU Jun¹, HE Xing-heng², ZHAO Gang¹, DENG Xiao-chuan¹, Li Hua¹

(1. Fisheries Research Institute of Agricultural Science Institute of Sichuan Province, Chengdu, Sichuan 611731;

2. Dadu River Rare Fish Protection Research Center of China Guodian Corporation, Chengdu, Sichuan 616856)

Abstract: The embryonic development characteristics of *Percocypris pingi pingi* (Tchang) were studied, under the water temperature $18 \pm 0.5^\circ\text{C}$. The results showed that the fully mature eggs were spherical, aurantium, sticky, 2.2 mm in diameter, and 3.2-3.8 mm after absorbing water. When water temperature was $18 \pm 0.5^\circ\text{C}$, 126 hours and 28 minutes was needed to hatch the embryos, which were described as follows: fertilized egg at 0 minute, 2-cell stage at 2 hours and 28 minutes after fertilization, after fertilization 45 hours and 23 minutes organs begin to form, and larvae at 126 hours and 28 minutes after fertilization. Newly hatched larvae have a total length of 10.4 mm, yolk sac was big and compressed. The embryonic development process could be divided into 7 stages, including fertilized egg stage, cell division stage, blastula stage, gastrula stage, neurula stage, organ formation stage and hatching stage. They contained thirty-two developing phases, whose characteristics were described in detail.

Key words: *Percocypris pingi pingi* (Tchang); Oosperm; Embryonic development; Hatching