

大泷六线鱼胚胎发育及其与水温的关系

胡发文 潘 雷 高凤祥 菅玉霞 张少春 王 雪 郭 文*

(山东省海水养殖研究所, 青岛 266002)

摘 要 对大泷六线鱼胚胎发育过程中各期特征及发育时间进行了详细的观察记录, 并进行显微拍照。大泷六线鱼卵为球形沉性卵, 端黄卵, 卵径 1.62~2.32 mm, 油球小而多且较分散, 卵膜较厚, 透明度差。温度实验结果显示, 孵化水温对胚胎孵化有显著影响, 适温范围内孵化时间随水温的升高逐渐缩短, 孵化率随水温的升高呈先升高后降低的趋势, 在 16℃ 时达到最大值 79%; 畸形率随水温的升高呈先降低后升高的趋势, 在 16℃ 时达到最小值 6%; 在水温 16℃、盐度为 31、pH=8.0 的自然海水中, 光照条件 600~1 000 lx, 大泷六线鱼胚胎发育历时 20d, 仔鱼破膜而出。

关键词 大泷六线鱼 胚胎发育 水温 孵化率

中图分类号 S917.4 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2012)01-0028-06

Embryonic development of *Hexagrammos otakii* and its relationship with incubation temperature

HU Fa-wen PAN Lei GAO Feng-xiang JIAN Yu-xia
ZHANG Shao-chun WANG Xue GUO Wen*

(Mariculture Institute of Shandong Province, Qingdao 266002)

ABSTRACT The embryo development duration and characteristics of *Hexagrammos otakii* were studied, with each development stage being taken microphotography. The egg of *H. otakii* was demersal, telolecithal, spherical with diameter of 1.62~2.32 mm. Incubation temperature had a significant effect on embryonic development of *H. otakii*. With the increasing incubation temperature in an appropriate range, the incubation duration reduced; The incubation rate increased to the maximum of 79% at 16℃, and then decreased. The deformity rate decreased to the minimum of 6% at 16℃ and then increased. Fertilized eggs hatch in about 20d under the conditions of 16℃, 31 salinity, pH=8.0 and 600~1 000 lx light intensity.

KEY WORDS *Hexagrammos otakii* Embryonic development Temperature
Incubation rate

大泷六线鱼 *Hexagrammos otakii* Jordan et Starks 又名欧氏六线鱼、六线鱼, 俗称黄鱼, 隶属鲷形目 Scorpaeniformes、六线鱼科 Hexagrammidate、六线鱼属 *Hexagrammos*, 为冷温性近海底层岩礁鱼类。主要分布于

山东省渔业资源修复行动计划项目“六线鱼苗种大规模人工繁育技术”和山东省科技发展计划项目(2011GHY11502)共同资助

* 通讯作者。E-mail: yzszsjd@126.com

收稿日期: 2011-03-25; 接受日期: 2011-05-09

作者简介: 胡发文(1982-), 男, 硕士, 助理研究员, 主要从事海水鱼类繁育与养成研究。E-mail: fwhuqd@126.com, Tel: (0532)86513001

黄海和渤海沿岸,也见于朝鲜、日本和俄罗斯远东诸海,此鱼耐低温,生存温度 $2\sim 26^{\circ}\text{C}$,在我国主要产自山东和辽宁等地的近海多岩礁海区(成庆泰 1962)。其肉质细嫩、味道鲜美,素有“北方石斑”之称,深受广大消费者喜爱,经济价值较高。大泷六线鱼是我国北方网箱养殖的理想种类,也是开拓礁湾增殖和发展游钓业的理想品种,作为北方特有的名贵海水鱼类具有广阔的推广前景。

目前关于大泷六线鱼的研究主要集中在其基础生物学方面(Masahiro *et al.* 2006;Chen 2009;温海深等 2007;喻子牛等 1992;庄虔增等 1998、1999;叶青 1993;冯昭信等 1998;康斌等 1999),全人工育苗仍处于试验阶段,尚未取得大规模苗种繁育的成功,针对早期胚胎发育的研究亦少有报道。本研究对大泷六线鱼胚胎发育过程中发育时间及各期特征进行了详细的记录观察和显微拍照,并研究了水温对大泷六线鱼胚胎孵化的影响,以期丰富大泷六线鱼早期发育阶段的生物学基础数据和资料,为大泷六线鱼大规模苗种繁育提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

于2010年10月在山东省海水养殖研究所鳌山卫中试基地进行了大泷六线鱼的人工繁殖和苗种培育工作。选择性腺发育良好的亲鱼直接进行人工授精,授精完成后立即将受精卵转移到孵化池中孵化,采用恒温连续充气的孵化方式,孵化用水为经沉淀、砂滤的自然海水,水温 $16\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 、盐度为31、 $\text{pH}=8.0$,日换水两次,每次换水量为 $1/3\sim 1/2$ 。

1.2 实验方法

1.2.1 胚胎发育观察

胚胎发育初期,每 $20\sim 60\text{ min}$ 取样1次,后期逐渐延长到 $4\sim 12\text{ h}$ 取样1次,取样后直接在Olympus显微镜、解剖镜下观察胚胎各时期的形态特征,用OPTEC显微摄像系统拍照,并描述记录胚胎发育的时序和特征。

1.2.2 水温对大泷六线鱼受精卵孵化的影响

实验共设置6个温度梯度: $4、8、12、16、20、24^{\circ}\text{C}$,每个梯度均设3个平行。实验在圆形玻璃钢水槽内进行,每个水槽注入海水10 L。各水槽水温均通过控温仪(WEIPRO MX300 IC)来调控,实验期间温度波动 $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ 。实验用水为经过沉淀、砂滤的自然海水,盐度为31, $\text{pH}=8.0$,采用恒温连续充气的孵化方式,日换水两次,每次换水量为 $1/3\sim 1/2$ 。实验开始时,以 $0.5^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 的速度升、降温度到设计温度,每个水槽放入受精卵1 000粒,孵化期间定期观察,实验结束时统计孵化时间、孵化率和畸形率等。

2 实验结果

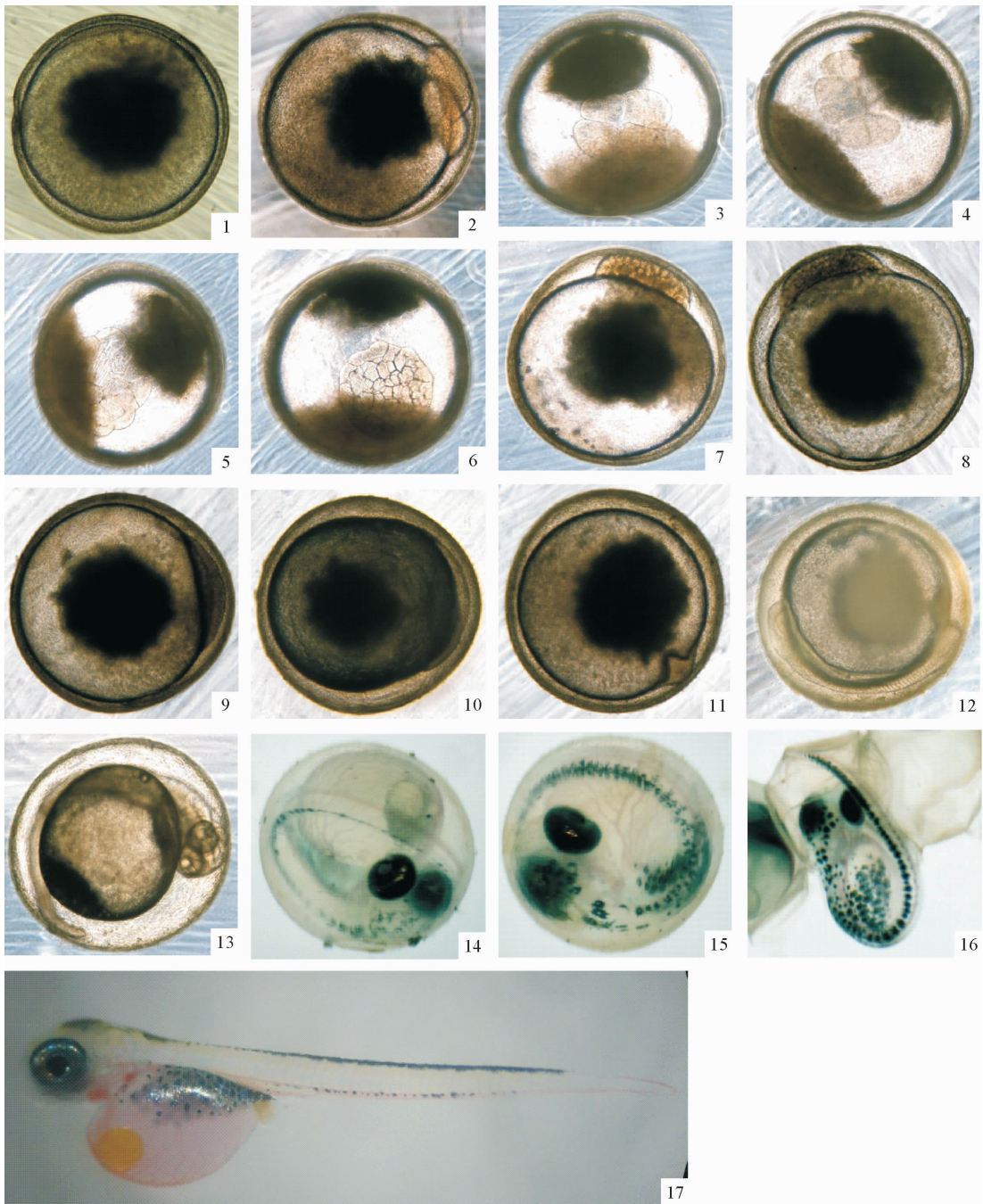
2.1 胚胎发育

大泷六线鱼受精卵为球形沉性卵,端黄卵,卵膜较厚,油球小而多且较分散,透明度差,卵径 $1.62\sim 2.32\text{ mm}$ 。

在水温 16°C 、盐度31和 $\text{pH}=8.0$ 条件下,大泷六线鱼受精卵的发育全程需要20d。大泷六线鱼的胚胎发育时间序列见表1,胚胎发育特征见图版I。

卵裂期 卵裂方式为盘状卵裂。受精后4 h形成胚盘。5 h首次分裂成两个等大的分裂球即2细胞期;7 h 30 min发生第2次分裂到4细胞期,第2次分裂与第1次分裂垂直交叉;8 h 30 min第3次分裂到8细胞期,分裂沟与第1次分裂平行;9 h 30 min第4次分裂到16细胞期,分裂沟与第2次分裂平行;12 h发生第5次分裂到32细胞期;14 h发生第1次横裂,形成排列不均的两层细胞;以后逐渐分裂,在动物极处形成多层表面粗糙的细胞群,进入桑葚期(图版 I-1~7)。

囊胚期 受精后1d4h,细胞持续分裂堆积呈半球形,突出于卵黄上,高度约为卵黄径的 $1/5$,形成高囊胚;



1. 胚盘形成; 2. 2细胞期侧面观; 3. 4细胞期正面观; 4. 8细胞期正面观; 5. 16细胞期正面观; 6. 32细胞期正面观; 7. 64细胞期侧面观; 8. 高囊胚; 9. 低囊胚; 10. 原肠期; 11. 神经胚期; 12. 尾芽期; 13. 肌肉效应期; 14. 孵出前期(绕卵1周); 15. 孵出前期(绕卵1周半); 16. 孵化期; 17. 初孵仔鱼

1. Blastodisc forming ; 2. 2-cell stage; 3. 4-cell stage; 4. 8-cell stage; 5. 16-cell stage; 6. 32-cell stage; 7. 64-cell stage; 8. High blastula stage; 9. Low blastula stage; 10. Gastrula stage; 11. Neural stage; 12. Tail-bud stage; 13. Embryo movement stage; 14. Pre-hatching stage(embryo circled 1); 15. Pre-hatching stage(embryo circled 1.5); 16. Hatching stage; 17. Newly hatched larva

图版 I 大泷六线鱼胚胎发育

Plate I Embryonic development of *Hexagrammos otakii*

1d 11h,细胞继续不断分裂,囊胚层边缘逐渐变薄,高度逐渐降低,进入低囊胚期,为原肠下包做好准备,并开始形成原肠腔(图版 I-8~9)。

原肠期 受精后 2d 2h,原肠腔形成,原肠胚边缘下包,进入原肠早期;胚盘继续下包,胚盾渐明显;随后原肠腔壁加厚,胚胎进入原肠晚期(图版 I-10)。

神经胚期 受精后 3d,胚盾中间加厚,形成胚体雏形。胚环向下伸展形成原口(图版 I-11)。

器官发生期 受精 5d后,胚体首尾分明,胚体前端膨大形成头部,尾部膨大成圆形,胚体体节清晰可见。随后胚体头部出现眼泡,头部下方出现心脏原基,胚体绕卵 1/2。胚体开始出现黑色素沉淀(图版 I-12)。

肌肉效应期 受精 8d后,胚体绕卵 3/5。色素点进一步增多。晶体形成,听囊明显。肠道形成,肛门清晰可见。心脏搏动有力,48~56次/min,血液无色。胚体尾部离开卵黄,胚体出现间断性收缩(肌肉效应),肌肉扭动频率 8~15次/min(图版 I-13)。

孵出前期 18d后,胚体盘曲绕卵 1周半,不时扭动,已发育成仔鱼雏形,胚体浅绿色。血管清晰,血液开始出现红色,血流速度快。由于胚体的压力,卵黄进一步缩小为椭圆形,油球融合为 1~5个。胚体全身分布黑色素细胞,并具有扩散能力,呈现星芒状,颜色较深(图版 I-14~15)。

孵出期 20d,胚体抖动幅度和频率进一步加大,卵黄囊进一步缩小,随着胚体的扭动,胚体按照先尾部后头部的顺序破膜而出(图版 I-16)。初孵仔鱼全长平均 0.62 cm(图版 I-17)。

表 1 大泷六线鱼胚胎发育时序(水温 $16 \pm 0.5^\circ\text{C}$)

Table 1 Embryonic development of *H. otakii*(Temperature $16 \pm 0.5^\circ\text{C}$)

发育持续时间 Developmental time	发育阶段 Developmental stages	主要特征 Main characteristics
0h 00min	受精卵 Fertilized egg	球形沉性卵,端黄卵,透明度差,卵径 1.62~2.32 mm
4h 00min	胚盘期 Blastoderm	形成胚盘,油球轻
5h 00min	2细胞期 2-cell	第1次分裂,2细胞
7h 30min	4细胞期 4-cell	第2次分裂,4细胞,第2次分裂与第1次分裂垂直发生
8h 30min	8细胞期 8-cell	第3次分裂,8细胞,第3次分裂与第1次分裂平行发生
9h 30min	16细胞期 16-cell	第4次分裂,16细胞,第4次分裂与第1次分裂垂直发生
12h 00min	32细胞期 32-cell	第5次分裂,32细胞
14h 00min	64细胞期 64-cell	第6次分裂,64细胞,横裂,形成排列不均的两层细胞
1d 4h	高囊胚期 High blastula	细胞堆积呈半球形,突出于卵黄上,高度约为卵黄径的 1/5
1d 11h	低囊胚期 Low blastula	囊胚层边缘逐渐变薄,高度逐渐降低
2d 2h	原肠期 Gastrula stage	原肠腔形成,胚盾明显
3d	神经胚期 Neural stage	胚盾中间加厚,形成胚体雏形
5d	器官发生期 Organogenesis stage	胚体首尾分明,体节清晰可见,出现眼泡、心脏原基,体表出现色素沉淀
8d	肌肉效应期 Embryo movement stage	胚体绕卵 3/5,晶体形成,听囊明显。肠道形成,肛门清晰可见。心脏搏动有力,48~56次/min,血液无色,胚体出现间断性收缩,色素点进一步增多,颜色变深
18d	孵出前期 Pre-hatching stage	胚体绕卵 1周半,发育成仔鱼雏形,血管清晰,血液浅红色,卵黄囊进一步缩小为椭圆形,油球 1~5个,胚体浅绿色,胚体全身分布星芒状色素细胞,颜色较深
20d	孵出期 Hatching stage	胚体抖动幅度和频率进一步加大,卵黄囊继续缩小,随着胚体的扭动,胚体按照先尾部后头部的顺序破膜而出

2.2 水温对大泷六线鱼受精卵孵化的影响

由表2可见,水温对大泷六线鱼受精卵孵化影响明显,孵化时间随水温的升高逐渐缩短;孵化率随水温的升高呈先升高后降低的趋势,在16℃时达到最大值79%;畸形率随水温的升高呈先降低后升高的趋势,在16℃时达到最小值6%;水温24℃,胚胎发育至5d后停止发育并逐渐坏死。

表2 不同水温下大泷六线鱼受精卵孵化情况

Table 2 Embryonic development of fertilized eggs of *H. otakii* at different temperature

孵化水温 Incubation water temperature(℃)	孵化时间 Incubation time(d)	孵化率 Hatching rate(%)	畸形率 Deformity rate(%)
4	31	38	43
8	26	41	28
12	24	59	11
16	20	79	6
20	18	42	23
24	未孵出 No hatching	未孵出 No hatching	未孵出 No hatching

3 讨论

大泷六线鱼为一次性、秋冬季产卵型鱼类,自然繁殖季节为10月中下旬~11月下旬,多产卵于近岸1~2m水深岩礁区的扁江篱、松藻上,少数产于礁石上,产卵量随年龄的增加而增加,一般在0.5~1.5万粒左右。鱼卵为高黏性卵,遇海水即相互黏附呈不规则块状或空心球形,受精率和孵化率极低,同时也给胚胎发育观察带来相当的难度。本实验为了便于胚胎发育观察,同时提高苗种繁育时的受精率和孵化率,在授精之前,采用人工方式将鱼卵分离成单粒状态,再行授精,结果证明,此种方法可明显提高受精率和孵化率。

受精卵卵膜较厚,透明度极差,油球小而多且较分散,油球较轻,覆盖在受精卵的上表层,翻转受精卵油球会随卵转动并迅速重新覆盖到卵的上表层,给胚胎观察造成极大的困难。胚胎发育后期受精卵的透明度明显增加,一方面大多数鱼类的胚胎具有起源于外胚层的单细胞孵化腺所分泌的孵化酶,孵化酶可以使卵膜变薄(楼允东 1965),这同时也有利于仔鱼的顺利孵出。另一方面胚胎发育后期油球逐渐融合为1~5个,作者认为这也是受精卵透明度逐渐增加的原因之一。在胚胎发育后期,胚胎眼球即有黑色素出现,眼球颜色逐渐加深,这与多数海水硬骨鱼类不同,而较接近于卵胎生鱼类如许氏平鲈 *Sebastes fuscescens* 等,其具体原因还需深入研究。

大泷六线鱼鱼卵颜色有较大差异,主要有棕色、灰白、黄橙、灰绿、浅蓝等颜色,且随着雌鱼年龄的增大鱼卵颜色逐渐变浅。大泷六线鱼是目前我国海水养殖鱼类中卵径较大的鱼种,卵径1.62~2.32 mm,明显大于一般海水硬骨鱼类鱼卵卵径(陈四清等 2009;柳学周等 2005;赵 优等 2008);另一方面受精卵在水温16℃情况下需经20d才能孵出仔鱼,远长于牙鲆 *Paralichthys olivaceus*、真鲷 *Pagrus major* 等北方主要海水经济鱼类的孵化时间(3d),作者认为较大的卵径和较长的孵化时间可能是由大泷六线鱼繁殖季节决定的,是生物对自然界的自身适应,秋冬季节水温明显下降,海水中可供初孵仔鱼利用的微生物、藻类等比较匮乏,较大的鱼卵能储备更多的营养物质,较长的孵化时间能使组织、器官发育更加完善,从而使仔鱼孵出后具有更强的抵抗力。

温度是影响鱼类生存、生长的重要环境因子,也是鱼类苗种培育所需的关键因子。据楼允东(1965)报道,鱼类胚胎孵化主要受胚体的运动和孵化酶的作用两方面影响。Luczynski(1984)研究表明,适当提高孵化过程中的温度,有利于缩短孵化期。樊廷俊等(2002)研究认为,孵化酶的分泌和作用受温度的影响较明显,在孵化酶分泌过程中温度的下降,不仅能显著延迟孵化,而且胚胎的存活率也降低。本研究结果显示,除水温24℃实验组未能孵出仔鱼外,其余各组大泷六线鱼胚胎孵化时间与孵化水温呈负相关,孵化率随孵化水温的升高呈

现先升高后降低的趋势,在 16°C 时达到最大值 79% ,这也明显高于自然海区采集卵块的孵化率 56% (庄虔增等 1999),而畸形率随孵化水温的升高呈现先降低后升高的趋势。低水温组初孵仔鱼卵黄囊体积比高水温组小,可见胚胎孵化时间越长,卵黄的消耗越多,初孵仔鱼卵黄囊体积越小,因此在适宜的范围内,调高孵化水温有利于胚胎的孵化和初孵仔鱼的存活生长,大泷六线鱼受精卵的最适孵化水温为 16°C ;同期大泷六线鱼自然孵化水温为 $6\sim 12^{\circ}\text{C}$,明显低于最适孵化水温,但是胚胎发育除了与培养水温关系密切外,其他环境条件如盐度、pH值、水质状况等生态因子也具有一定的影响作用(杜伟等 2004;徐永江等 2009)。水温 24°C 实验组胚胎发育至5d,即停止发育,并逐渐坏死,这可能与大泷六线鱼属冷温性鱼类有关,另一方面胚胎在 24°C 水温下经5d顺利发育到器官发生期,而后才停止发育并逐渐坏死,可见胚胎发育各时期的适宜水温可能存在差异,不同发育期对水温的具体要求不尽相同,还有待于进一步研究。

参 考 文 献

- 叶青. 1993. 青岛近海欧氏六线鱼 *Hexagrammos otakii* Jordan et Starks 年龄和生长的研究. 青岛海洋大学学报, 23(2):59 ~ 68
- 冯昭信, 韩华. 1998. 大泷六线鱼资源合理利用研究. 大连水产学院学报, 13(2):24 ~ 28
- 庄虔增, 于鸿仙, 徐春华, 于平, 肖炼. 1998. 山东沿岸六线鱼早期发育的研究. 海洋学报, 20(6):139 ~ 144
- 庄虔增, 于鸿仙, 刘岗, 徐春华, 于平, 肖炼. 1999. 六线鱼苗种生产技术的研究. 中国水产, 6(1):103 ~ 106
- 成庆泰. 1962. 中国经济动物志(海产鱼类). 北京:科学出版社, 135 ~ 137
- 杜伟, 蒙子宁, 薛志勇, 姜言伟, 庄志猛, 万瑞景. 2004. 半滑舌鲷胚胎发育及其与水温的关系. 中国水产科学, 11(1):48 ~ 53
- 陈四清, 刘长琳, 庄志猛, 邹健, 李学文, 李迪, 齐国山. 2009. 星突江鲷胚胎发育的研究. 渔业科学进展, 30(1):1 ~ 7
- 赵优, 庄平, 章龙珍, 冯广朋, 刘鉴毅, 陈丽慧. 2008. 纹缟虾虎鱼胚胎与早期仔鱼的发育特征. 中国水产科学, 15(4):533 ~ 539
- 柳学周, 庄志猛, 马爱军, 陈四清, 孙中之, 梁友, 徐永江. 2005. 半滑舌鲷繁殖生物学及繁育技术研究. 海洋水产研究, 26(5):7 ~ 14
- 徐永江, 柳学周, 王妍妍, 曲建忠. 2009. 温度、盐度对条石鲷胚胎发育影响及初孵仔鱼饥饿耐受力. 渔业科学进展, 30(3):25 ~ 31
- 楼允东. 1965. 鱼类的孵化酶. 动物学杂志, 7:97 ~ 107
- 康斌, 武云飞. 1999. 大泷六线鱼的营养成分分析. 海洋科学, 68(6):23 ~ 25
- 喻子牛, 孔晓瑜, 冯东岳, 谢宗塘. 1992. 许氏平鲷 *Sebastes schlegeli* (Hilgendorf) 及欧氏六线鱼 *Hexagrammos otakii* Jordan et Starks 核型研究. 青岛海洋大学学报, 22(2):118 ~ 124
- 温海深, 王连顺, 牟幸江, 陈彩芳, 姚珺, 陈松林. 2007. 大泷六线鱼精巢发育的周年变化研究. 中国海洋大学学报, 37(4):581 ~ 585
- 樊廷俊, 史振平. 2002. 鱼类孵化酶的研究进展及其应用前景. 海洋与湖沼通报, 1:48 ~ 56
- Masahiro, M., Yasuyuki, A., Atsunobu, H., Subaratnam, M., and Karl, J. 2006. Substrate specificity of chitinases from two species of fish, greenling, *Hexagrammos otakii*, and common mackerel, *Scomber japonicus*, and the insect, tobacco hornworm, *Manduca sexta*. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 70(4):971 ~ 979
- Chen, S. L., Miao, G. D., Shao, C. W., Tian, Y. S., and Liao, X. L. 2009. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite loci from fat greenling (*Hexagrammos otakii*). Conservation Genetics, 10(5):1429 ~ 1431
- Luczynski, M. 1984. A technique for delaying embryogenesis of vendace (*Coregonus albula* L.) eggs in order to synchronize mass hatching with optimal conditions for lake stocking. Aquaculture, 41(2):113 ~ 117