

# 多棘海盘车胚胎和早期幼虫发育

杜美荣 张继红 毛玉泽 蒋增杰 高亚平 方建光\*

(农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 山东省渔业资源与生态环境重点实验室  
中国水产科学研究院黄海水产研究所, 青岛 266071)

**摘要** 对室内培育的多棘海盘车 *Asterias amurensis* 胚胎和幼虫的发育以及外部形态进行了显微观察。多棘海盘车为雌雄异体, 体外受精, 成熟卵卵径为(130~150) $\mu\text{m}$ , 卵裂属完全均等型。水温为(10.5~11.5) $^{\circ}\text{C}$ 时, 受精卵经 20 min 左右释放第 1 极体, 约 50 min 进行第 1 次卵裂, 约 7 h 时进入桑葚期, 19 h 40 min 发育成为膜内旋转囊胚, 23 h 40 min 发育成为脱膜旋转囊胚, 26 h 30 min 发育成为早期原肠胚, 纤毛幼虫(初孵幼虫)出现在 46 h, 从受精到短腕幼虫历时 25 d。由纤毛幼虫到短腕幼虫的过程中幼虫体长经历了先增大后减小的过程。进一步发现, 投喂混合饵料(小新月菱形藻 *Nitzschia closterium* f. minutissima 和海洋红酵母 *Rhodomonas* sp. 1:1)的幼虫发育速度比单独投喂小新月菱形藻的快, 但差异不显著( $P > 0.05$ )。

**关键词** 多棘海盘车; 胚胎发育; 幼虫发育

**中图分类号** S917.4 **文献标志码** A **文章编号** 1000-7075(2014)01-0133-06

## Development of embryo and early stage larvae of *Asterias amurensis*

DU Mei-rong ZHANG Ji-hong MAO Yu-ze JIANG Zeng-jie  
GAO Ya-ping FANG Jian-guang\*

(Shandong Provincial Key Laboratory of Fishery Resources and Eco-environment, Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071)

**ABSTRACT** The morphology of embryo and early stage larvae of *Asterias amurensis* was continuously observed under microscope in this study. *A. amurensis* is dioecism, and the fertilization happened after the sperm and eggs were released into the seawater. The diameter of the ovum is about (130-150) $\mu\text{m}$  and the fertilized eggs cleaved with complete equal cleavage. The first polar body extruded at about 20min at temperatures of (10.5-11.5) $^{\circ}\text{C}$  and then the first cleavage happened at 50min. Till 7h, the fertilized egg developed into morula stage and later into the stage of ciliated blastula rotating in the ovum membrane (19h 40min), swimming blastula out of the ovum membrane (23h 40min), early gastrula (26h 30min) and dipleurula (46h). The whole development process from fertilized egg to brachiolaria took about 25 days, and the body length of the larvae experienced an increase-decrease process. Futhermore, the group fed with

中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金(20603022011003)和国家“863”计划项目(2012AA10A405-2)共同资助

\* 通讯作者。E-mail:fangjg@ysfri.ac.cn

收稿日期:2013-01-04;接受日期:2013-05-02

作者简介:杜美荣(1982-),女,硕士,助理研究员,主要从事海水生物繁育与养殖生态容纳量研究。E-mail:dumeirong622@163.com

the microalgal mixture (*N. closterium* f. *minutissima* and marine yeast *Rhodomonas* sp, 1 : 1) grew more rapidly than the group fed with only *N. closterium* f. *minutissima*, but the difference was not significant ( $P > 0.05$ ).

**KEY WORDS** *Asterias amurensis*; Embryo development; Larvae development

多棘海盘车 *Asterias amurensis* 是我国黄海沿岸一种极为普遍的海星,属于无脊椎动物、棘皮动物门 Echinodermata、海星纲 Asteroidea 的海盘车科,为后口动物,是无脊椎动物中的最高类群,世界范围内自然分布于中国、韩国、日本及俄罗斯东部沿岸、美国、加拿大附近海域。在山东近海主要分布于烟威海域近岸水域、渤海中部以及长山岛附近海域,石岛渔场及青岛周边海域也有分布(周学家等 1996)。多棘海盘车主要以软体动物、棘皮动物和蠕虫为食,对贝类增殖危害较大。在底栖生态系统中,多棘海盘车不仅摄食底栖生物,而且与部分底栖生物(Dautov 2006)处于同一生态位,形成食物竞争关系(Davenport *et al.* 1993; Hatanaka *et al.* 1958)。在贝类底播区,强大的嗅觉可以使多棘海盘车找到潜埋于底质中的贝类并掘土摄食(Hawkes *et al.* 2005)。在贝类增殖放流常常由于此类生物的危害而归于失败(孙光 1983)。多棘海盘车的大规模发生引起的经济损失巨大,在东京湾,每年由其引起的养殖贝类的直接损失就高达 4 亿日元,这其中还不包括对稚贝和幼贝的摄食引起的间接损失(Kim 1968)。2006 年以来,青岛近岸暴发多棘海盘车,贝类养殖损失惨重。仅 2006 年山东省胶南地区因多棘海盘车灾害导致鲍鱼养殖损失达 4 000 余万元;2007 年仅青岛海风水产养殖公司的菲律宾蛤仔养殖因多棘海盘车吞食造成的损失高达 3 000 余万元(李明春 2007);同年,青岛流清河海域扇贝养殖区的大部分筏式养殖的栉孔扇贝 *Chlamys farreri* 笼内发现有多棘海盘车存在,笼内扇贝的死亡率均在 80%以上(作者未发表数据)。

对于多棘海盘车的研究,目前主要集中在分类(周学家等 1996)、营养成分(郝林华等 1998)、摄食生态(杜美荣等 2012)及药用价值(汪行舟等 2008)等方面,对胚胎和幼虫发育的研究较少。对同属的福氏海盘车 *Asterias forbesi* 的研究表明,其神经的抽提物能够诱导配子的释放(Chaet *et al.* 1959)。Kim(1968)和 Byrne 等(1997)对多棘海盘车性腺发育进行了组织学观察。多棘海盘车在我国北方的繁殖时间是 6 月(孙光 1983),在东京湾是 7 月上旬(Dautov 2006),在澳大利亚产卵开始水温为 10~11℃,时间从 7 月初一直持续到 10 月(Byrne *et al.* 1997)。本研究在显微镜下观察了多棘海盘车的早期胚胎和幼虫发育过程,旨在完善多棘海盘车发育生物学的基础资料,为多棘海盘车暴发的防治和治理提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 多棘海盘车暂养和幼体培育条件

本研究于 2008 年 4 月 27 日~5 月 23 日期间在山东荣成寻山渔业集团公司进行。实验用多棘海盘车由潜水员采自荣成桑沟湾海区,采用经砂滤的自然海水暂养于室内水槽。胚胎孵化和幼体培育均于 1.5 m<sup>3</sup> 的水泥池中,采用砂滤海水培养室内培养,产卵和胚胎孵化水温为(10.5~11.5)℃,幼虫培育水温变化为(11.5~15)℃,盐度为 30.27,pH 为 8.1。暂养 7d 后,将数只性腺发育成熟的多棘海盘车阴干 1 h 后放入经砂滤的自然海水的 1.5 m<sup>3</sup> 的水泥池中,雌雄亲体产卵、排精后被检出,精卵在水中受精。孵化期间不换水,幼虫孵出后,采用浓缩法将表层幼虫选出,幼体每天早晚换水各 1 次,每次换 1/3,幼虫培育历时 25d。

### 1.2 样品采集和观察方法

孵化期间,每隔 30min 取样观察一次,每次取样时,使用 300 目筛绢网浓缩胚胎,使用昆虫培养皿于显微镜下观察,每次观察的样本数量须多于 100 个,以 80%以上的个体进入某一阶段作为该阶段的时间起点。

### 1.3 不同饵料组合对多棘海盘车幼虫生长的影响

初孵后的幼虫采用两种投喂方式,分别为单独投喂小新月菱形藻 *Nitzschia closterium* f. *minutissima*,其

次,采用小新月菱形藻与鲜活海洋红酵母 *Rhodomonas* sp. (大连蛟龙水产饵料开发中心,  $1.2 \times 10^{10}$  cell/ml) 混合投喂(1:1)的方式,分别在两个  $1.5 \text{ m}^3$  的水泥池中进行。采用血球计数板在显微镜下计数饵料的浓度。饵料的日投喂量为纤毛幼虫  $(2.5 \sim 3.0) \times 10^4$  cell/ml,羽腕幼虫  $3.5 \times 10^4$  cell/ml,短腕幼虫  $(4.0 \sim 4.5) \times 10^4$  cell/ml,每天分 4 次投喂,分别为换水后投饵 1 次,两次换水间加投 1 次。培育期间,每天在固定的时间使用 300 目筛绢网浓缩幼虫,每次至少取 30 个幼虫,使用昆虫培养皿于显微镜下测定体长并记录水温。该部分实验自幼虫选优后开始,直到短腕幼虫时期结束。

## 1.4 数据统计与分析

利用统计分析软件 SPSS 17.0 对数据进行方差分析,差异显著性水平为  $P < 0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 产卵

多棘海盘车雌雄异体,外观无法区分雌雄,解剖后,雌性卵巢浅黄色,肉眼可见卵粒;雄性精巢白色,生殖腺 5 对呈葡萄串状,附着于各腕基部两侧,近腕间隔处,繁殖季节生殖腺充满腕部。生殖孔 5 对,极小,位于反口面近腕间隔处。实验中,水温为  $11.5^\circ\text{C}$ ,多棘海盘车经阴干刺激 1 h 后,开始产卵、排精。排放精卵时,多棘海盘车 5 个腕端部着地,身体弓起,精和卵从反口面腕部顶端的生殖孔徐徐排出(图 1-1),卵子近似球形,乳白色(图 1-2),直径为  $(130 \sim 150) \mu\text{m}$ ,在水中受精,受精后受精膜举起。20 min 之后出现第 1 极体(表 1),30 min 之后出现第 2 极体。

### 2.2 胚胎发育

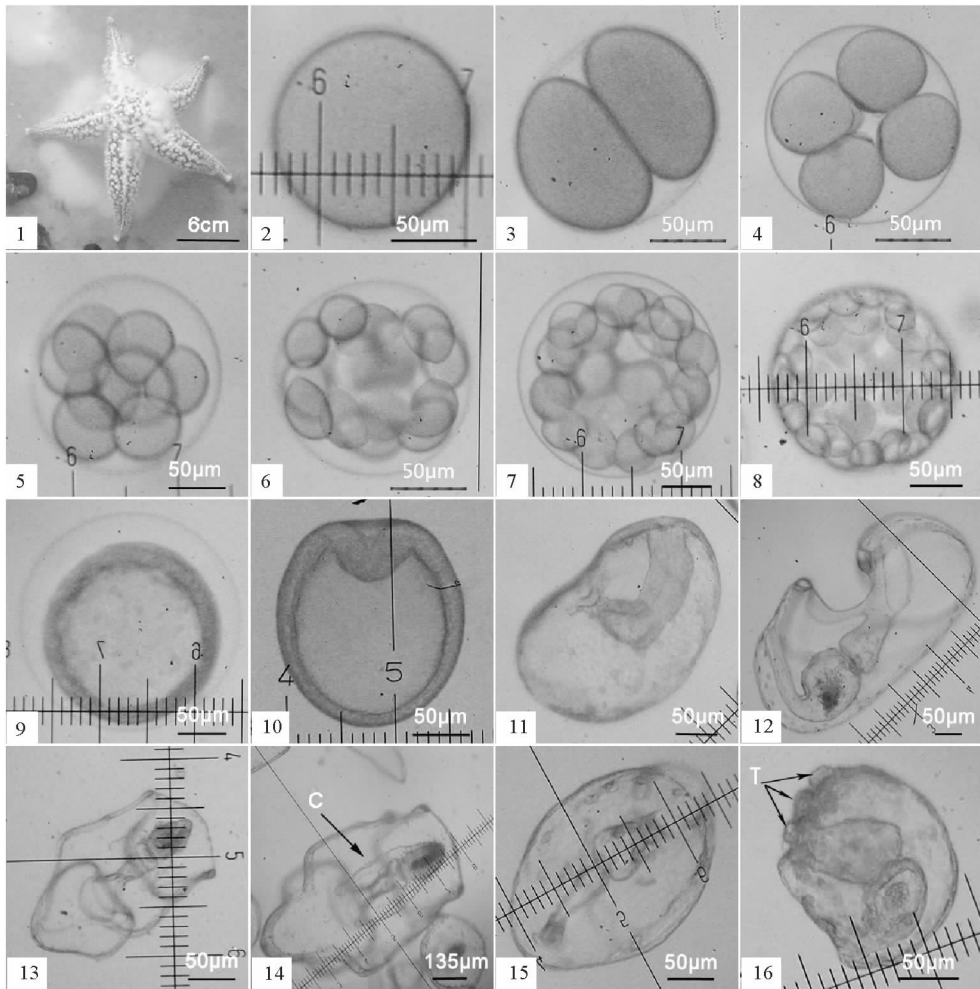
#### 2.2.1 卵裂

多棘海盘车的卵子属均黄卵,卵黄含量少,受精卵卵裂属于完全均等型(图 1-8)。各期胚胎的大小基本一致(表 1);受精卵发育同步性较好。第 1、2 次卵裂分别发生在受精后 50 min 内和 1h 10min(表 1),第 1 次分裂为纵裂,分裂面通过动植物极,分裂成两个大小相等的分裂球(图 1-3),第 2 次分裂也属于纵裂,分裂面垂直于先前的分裂面,2 细胞分裂成大小相等的 4 个细胞(图 1-4)。卵裂的结果,使得细胞的数目越来越多,而单个细胞的体积越来越小(图 1-8),整个分裂球稍有变大。

表 1 多棘海盘车胚胎及幼虫的生长和发育(孵化水温  $10.5 \sim 11.5^\circ\text{C}$ )

Table 1 Growth and development of embryo and larvae of *A. amurensis* (Incubation temperature  $10.5 \sim 11.5^\circ\text{C}$ )

发育阶段 Development stage		距离受精时间 Time after fertilization	个体平均大小 Mean body length ( $\mu\text{m}$ )
卵	Ovum		130-150
释放第 1 极体极体	Releasing the first polar body	20 min	150-170
2-细胞	2-cell	50 min	180-190
4-细胞	4-cell	1h 10min	190-200
8-细胞	8-cell	1h 40min	190-200
16-细胞	16-cell	2h 33min	190-200
桑葚期	Morula	7 h	190-200
膜内旋转囊胚	Blastula rotating in the ovum membrane	19h 40min	200-260
脱膜旋转囊胚期	Blastula rotating out of the ovum membrane	23h 40min	170-180
早期原肠胚	Early gastrula	26h 30min	$190 \pm 10$
原肠胚	Gastrula	30 h	$250 \pm 9$
早期羽腕幼虫	Dipleurula	46 h	$380 \pm 21$
羽腕幼虫	Bipinnaria	8 d	$803 \pm 15$
短腕幼虫	Brachiolaria	25 d	$230 \pm 10$



1: 多棘海盘车产卵; 2: 未受精卵或者受精卵; 3: 2-细胞; 4: 4-细胞; 5: 8-细胞; 6: 16-细胞; 7: 32-细胞; 8: 多细胞期; 9: 膜内旋转囊胚; 10: 早期原肠胚; 11: 中期原肠胚; 12: 纤毛幼虫(侧面); 13: 纤毛幼虫(腹面); 14: 羽腕幼虫; 15: 短腕幼虫; 16: 后期短腕幼虫;

C: 体腔囊; T: 触手

1: Female releases eggs; 2: Unfertilized egg or fertilized egg; 3: 2-cell; 4: 4-cell; 5: 8-cell; 6: 16-cell; 7: 32-cell; 8: Multi-cell; 9: Blastula rotating in the ovum membrane (late); 10: Early gastrula; 11: Medium gastrula; 12: Dipleurula (lateral view); 13: Dipleurula (ventral view); 14: Bipinnaria; 15: Brachiolaria; 16: Late brachiolaria.

C: coelomicsac; T: Tentacle

图1 多棘海盘车的产卵以及各发育阶段胚胎和幼虫的形态

Fig. 1 Spawning and morphology of embryo and larvae of *A. amurensis* at different stage

### 2.2.2 囊胚

受精后约 23 h 40 min 大部分囊胚孵出(表 1),多棘海盘车的囊胚属于有腔囊胚(图 1-8、1-9、1-10),囊胚通过旋转运动而悬浮于水中,此时囊胚外形上仍接近于球形。

### 2.2.3 原肠胚

受精后约 26h 30min,80%以上的胚胎进入原肠胚(表 1)。多棘海盘车以内陷法形成原肠胚(图 1-10、1-11),以体腔囊法形成中胚层和体腔(图 1-14)。在脱膜旋转囊胚期的后期,胚胎稍微拉长,在植物极的一端首先变扁平(图 1-10),细胞厚度稍微大于动物极,然后逐渐内陷,由浅到深,开始的时候原肠腔部分呈现圆柱状,当内陷的部分深及囊胚腔的 2/3 时,原肠腔的顶端逐渐呈现圆球形,壁变薄,原肠腔逐渐向胚体的一侧倾斜,在胚体相对应的位置出现凹陷,原肠腔的顶端与胚体凹陷接近(图 1-11),至纤毛幼虫时打通(图 1-12),发育成幼虫的口。原来的原肠腔与胚体外相通的孔将来发育成幼虫的肛门。

## 2.3 幼虫发育

在幼虫发育过程中,多棘海盘车的幼虫体长经历了先逐渐增大再逐渐缩小的变化(图2)。

### 2.3.1 纤毛幼虫

原肠胚进一步发育成为纤毛幼虫(图1-12)。此时原肠腔的顶端与胚体外凹陷接触的一段打通,开口处形成口;原肠腔的顶端分化成胃,底端分化成直肠;口和胃之间的管道分化成食道,原口发育成肛门(图1-12)。纤毛幼虫由于消化道已打通而具备了摄食的能力,口周围布满纤毛,通过口纤毛带的摆动,将食物旋入口内。

### 2.3.2 羽腕幼虫和短腕幼虫

随着发育的不断进行,食道与胃之间的消化道背侧壁向体腔内部伸出囊状构造,称为体腔囊(图1-14),此时的幼虫发育至羽腕幼虫。幼虫的发育越来越不同步,且体长相差较大,多数羽腕幼虫的体长在(380~803) $\mu\text{m}$ 的范围内(表1),但个别个体达1000 $\mu\text{m}$ ,当体长减小至400 $\mu\text{m}$ 左右时,幼虫臂消失,整个幼虫呈圆筒状,萎缩后幼虫的最小个体体长仅150 $\mu\text{m}$ (图1-15),身体近似圆球形,可见有一个吸盘以及短小的触手(图1-16),此时进入短腕幼虫期(图1-16)。

## 2.4 不同饵料组合对多棘海盘车幼体生长的影响

采用海洋红酵母与小新月菱形藻混合投喂(1:1),取得了良好的效果;通过对幼虫形态观察,该投喂组幼虫胃壁薄,胃体大并呈倒梨形。单纯投喂小新月菱形藻幼虫的消化欠佳,有时可见有整个的未被消化的细胞从肛门排出体外,而且胃壁增厚,胃体缩小。幼虫生长结果表明,虽然两组饵料投喂的多棘海盘车幼虫体长无显著差异( $P>0.05$ ),但是投喂混合饵料组的幼虫发育比单独投喂小新月菱形藻的快,较早达到体长最大值和最小值(图2)。

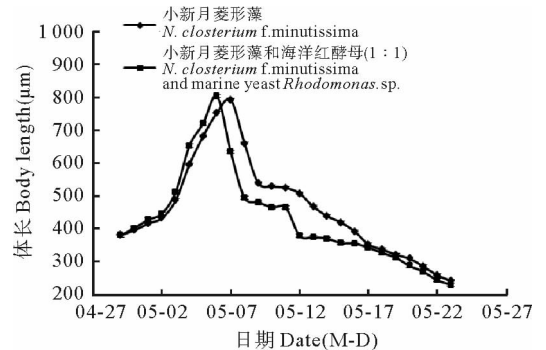


图2 不同的饵料组合下多棘海盘车幼虫的生长

Fig.2 Growth of larval *A. amurensis* fed with different food

## 3 讨论

### 3.1 多棘海盘车发育的特点

多棘海盘车与刺参 *Stichopus japonicus* 同属棘皮动物门,胚胎发育的结果不难发现二者的相似性,其发生过程完整演绎了黑克尔生物重演律,即个体发生是其系统发生简单而迅速的重演。对刺参的研究表明,在水温为(20~21) $^{\circ}\text{C}$ ,刺参经过(15~20)min出现极体,1h左右完成第1次分裂,(2~3)h到达8细胞期(朱峰2009),胚胎发育时间、发育时序及其各个阶段的外形,多棘海盘车都与刺参具有很大的相似性,与朱峰(2009)研究结果对比发现,多棘海盘车16细胞期之前的分裂要快于刺参,但囊胚期之后,刺参的发育要快于多棘海盘车,这可能与实验的温度以及种类有关系。刺参幼虫发育过程也是体长先增大再逐渐减小(朱峰2009),这与本研究的结果类似,多棘海盘车的羽腕幼虫最大个体达到1000 $\mu\text{m}$ ,之后逐渐萎缩,最小个体仅为150 $\mu\text{m}$ 。

观察发现,多棘海盘车口的形成方式与刺参相似,均为在原肠胚期,其原口(胚孔)发育成幼虫的肛门,而在与原口相对应的一段另形成一新口称为后口。以这种方式形成后口的动物统称为后口动物,在动物界的棘皮动物门,形成了这种与分类地位上位于它之前的大多数无脊椎动物不同的发育方式,棘皮动物是无脊椎动物中最高等的类群(刘凌云等1997)。

### 3.2 多棘海盘车幼虫阶段的饵料

研究表明,多棘海盘车的早期幼虫为浮游生活,植食性,海洋红酵母和小新月菱形藻混合投喂达到了良好

的效果。牟氏角毛藻、盐藻和小新月菱形藻的组合是刺参的最优饵料组合(李成林等 2009; 张利民 2009), 张利民(2009)认为, 海洋红酵母作为刺参幼虫的饵料, 效果较好, 本研究得出, 新月菱形藻和海洋红酵母都可以作为多棘海盘车幼体阶段的饵料, 与以上观点有相似之处, 究其原因, 一是小新月菱形藻属硅藻, 细胞壁为硅质, 较薄, 容易被幼虫吸收, 其次酵母能弥补常规饵料中的氨基酸、消化酶和生长激素等营养缺陷, 至于其他饵料种类是否适合多棘海盘车幼虫, 有待于进一步的实验研究来佐证。

### 3.3 多棘海盘车大规模暴发原因的探讨

近年来, 海星暴发事件频发, 就青岛地区多棘海盘车的暴发而言, 并不是每年都暴发, 2006、2007年暴发多棘海盘车, 之后的2008年至今, 多棘海盘车并没有大规模暴发。本研究结果表明, 多棘海盘车浮游幼虫阶段, 主要摄食单细胞藻类, 首先多棘海盘车的暴发与否与海域现存开口饵料的数量关系密切。对1984~2008年青岛胶州湾海域的调查中, 2005年胶州湾叶绿素a含量要高于1999~2004年以及之后的2006年和2007年(孙晓霞等 2011), 水体中丰富的浮游植物为多棘海盘车浮游幼体提供了饵料, 多棘海盘车幼虫得以存活并且附着变态, 而其他年份, 开口饵料的数量欠佳, 幼虫在浮游阶段的存活率就很低, 导致没能暴发。由此可见, 控制海区富营养化的程度, 减少水域中藻华的发生, 能有效控制多棘海盘车的数量。其次, 多棘海盘车的数量还与捕食者数量的多少等有关(Reichelt *et al.* 1990)。多棘海盘车幼体和成体阶段的天敌主要为一些凶猛的肉食性鱼类, 包括鲈、黑鲷、小黄鱼等, 随着近海鱼类捕捞量的不断增加和海洋牧场的破坏, 近年来, 这些鱼类捕捞数量的下降表示这些鱼类的数量正在逐步减少, 天敌的减少更助长了多棘海盘车的大量繁殖(周书衍等 2008)。由此可见, 加强对海域环境的保护, 控制富营养化水平, 进行长期的渔业资源修复和海洋牧场的建设对于控制多棘海盘车的数量意义重大。

### 参 考 文 献

- 孙 光. 1983. 海星类的生态及其在贝类增殖中的危害和防除方法的研究. 国外水产, (4): 64-66
- 孙晓霞, 孙 松, 张永山, 张 芳. 2011. 胶州湾叶绿素a及初期生产力的长期变化. 海洋与湖泊, 42(5): 654-661
- 朱 峰. 2009. 仿刺参 *Apostichopus japonicus* 胚胎发育和主要系统的组织学研究. 见: 中国海洋大学硕士研究生学位论文
- 李成林, 胡 炜, 赵 斌, 等. 2009. 从产量到质量——海水养殖业发展的必然趋势. 北京: 海洋出版社, 463-467
- 李明春. 2007. 海星之患. 海洋世界, 5: 30-34
- 刘凌云, 郑光美. 1997. 普通动物学. 北京: 高等教育出版社, 309-322
- 杜美荣, 方建光, 张继红, 毛玉泽, 葛长宇, 高亚平, 刘顶海. 2012. 多棘海盘车对四种贝类摄食率和选择性的初步研究. 渔业现代化, 39(2): 25-29
- 汪行舟, 安立龙. 2008. 海星资源的开发现状及发展动态. 饲料研究, (3): 64-66
- 张利民. 2009. 海水养殖营养需求与配合饲料. 济南: 山东科学技术出版社, 101-105
- 周学家, 刘信艺, 王世信, 贺景秀. 1996. 山东近海海星种类及分布. 齐鲁渔业, 13(1): 41-43
- 周书衍, 王印庚. 2008. 近海水域海星泛滥引起的反思. 水产科学, 27(10): 555-556
- 郝林华, 李八方. 1998. 多棘海盘车营养成分的研究. 水产学报, 22(4): 385-388
- Byrne M, Morrice MG, Wolf B. 1997. Introduction of the northern Pacific asteroid *Asterias amurensis* to Tasmania: reproduction and current distribution. Mar Biol 127(4): 673-685
- Chaet A, McConnaughy R. 1959. Physiologic activity of nerve extracts. Biol Bull 117: 407-408
- Dautov SS. 2006. Distribution of Echinoderms and their larvae in the Southwestern Peter the Great Bay, Sea of Japan. Ecol 4(32): 259-264
- Davenport S, McLoughlin R. 1993. Preliminary assessment of the distribution and potential impact of the introduced starfish *Asterias amurensis* in Tasmanian waters. Status Report to Fisheries Research and development Corporation. Hobart, Tasmania: CSIRO Division of Fisheries, 37
- Hatanaka M, Kosaka M. 1958. Biological studies on the population of the starfish, *Asterias amurensis*, in Sendai Bay. Tohoku J Agric Res 9(3): 159-177
- Hawkes G, Day R. 1993. Review of the biology and ecology of *Asterias amurensis*. Status Report to Fisheries Research and Development Corporation. Hobart, Tasmania: CSIRO Division of Fisheries, 38
- Kim YS. 1968. Histological observations of the annual change in the gonad of the starfish, *Asterias amurensis* Luken. Bulletin of the Faculty of Fisheries Hokkaido University 19(2): 97-108
- Reichelt RE, Bradbury RH, Moran PJ. 1990. The crown-of-thorns starfish, *Acanthaster planci*, on the great barrier reef. Math Comp Model 13(6): 45-60
- Thompson M, Drolet D, Himmelman JH. 2005. Localization of infaunal prey by the sea star *Leptasterias polaris*. Mar Biol 146(5): 887-894