

太平洋鳕(*Gadus macrocephalus*)亲鱼驯化 培育与早期发育特征*

徐永江^{1,2} 柳学周^{1,2①} 史宝^{1,2} 王滨^{1,2}

(1. 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室 青岛市海水鱼类种子工程与生物技术重点实验室
中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071; 2. 青岛海洋科学与技术国家实验室
海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室 青岛 266071)

摘要 采捕山东威海外海黄海海域的太平洋鳕(*Gadus macrocephalus*)亲鱼进行驯化和培育,在人工条件下成功驯化存活野生亲鱼 49 尾,经短期促熟培育后,通过人工授精方式获得了多批次受精卵。对胚胎和早期仔鱼发育过程进行了观察,详细描述了从受精卵到早期仔鱼各发育时期的形态特征。结果显示,太平洋鳕成熟卵子为沉性卵,圆球形,卵径为 0.9–1.1 mm,无油球。胚胎发育分为 5 个时期,分别为卵裂期、囊胚期、原肠胚期、神经胚期和器官形成期。在水温为 9–10℃、盐度为 27–29 的海水中孵化,受精卵历时 312 h 30 min 孵化出膜。初孵仔鱼全长为(3.85±0.12) mm,6 日龄仔鱼开口,肛门与外界相通,进入混合营养期。8 日龄仔鱼卵黄囊消耗殆尽,开始进入外源性营养阶段。仔鱼开口饵料为轮虫(*Rotifer*),12 日龄开始摄食卤虫(*Artemia salina*)无节幼体。6 日龄仔鱼鳃原基形成,16 日龄鳃充气成为亮泡状。12 日龄仔鱼形成肠道第 1 个生理弯曲,22 日龄仔鱼第 2 个肠道生理弯曲形成。研究结果可为太平洋鳕亲鱼驯化培育和苗种培育提供基础资料。

关键词 太平洋鳕;亲鱼驯化;胚胎发育;早期发育

中图分类号 S962 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2017)01-0159-09

太平洋鳕(*Gadus macrocephalus*)又称大头鳕,属鳕形目(Gadiformes)、鳕科(Gadidae)、鳕属(*Gadus*),属冷水性底层鱼类,其肉质白细鲜嫩,营养丰富,深受人们的喜爱。鳕鱼肝脏体积较大,且富含维生素 A 和维生素 D,是提取鱼肝油的上好原料。太平洋鳕广泛分布于太平洋北部沿岸海域,是我国北方乃至世界的重要海洋经济鱼类之一(孟庆闻等,1995)。我国太平洋鳕主要产于黄海,最高年产量曾达 2.6 万 t(唐启升等,1990),近年来,产量逐渐降低,基本形成不了捕捞产量,但市场消费需求较为旺盛,开展人工繁育和增

殖放流是养护其自然资源的主要途径。

开展早期发育特征研究是成功进行鱼类人工繁育的重要前提,可为促进养殖业发展、资源养护、环境保护等研究提供宝贵的基础资料(刘筠,1993)。国内学者对太平洋鳕人工繁育技术的研究已开展了 10 余年,但尚未突破亲鱼全人工培育和种苗大规模培育技术,主要原因在于对亲鱼驯化培育、胚胎和早期发育阶段的形态特征及其生理生态特性认识不足。目前,国内外对太平洋鳕早期发育特征的研究已取得了一些进展,如仔稚幼鱼发育形态(李艳秋,2013)¹⁾、仔

* 国家鲆鳎类产业技术体系项目(CARS-50)和国家 863 计划项目(2012AA10A413)共同资助 [This work was supported by China Agriculture Research System (CARS-50), and National High Technology Research and Development Program of China (2012AA10A413)]. 徐永江, E-mail: xuyj@ysfri.ac.cn

① 通讯作者: 柳学周, 研究员, E-mail: liuxz@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2015-12-14, 收修改稿日期: 2015-12-30

1) Li YQ. Study on biology of *Gadus macrocephalus* Tilesius during early developmental stage. Master's Thesis of Dalian Ocean University [李艳秋. 太平洋鳕(*Gadus macrocephalus* Tilesius)早期发育阶段的生物学研究. 大连海洋大学硕士研究生学位论文, 2013]

鱼饥饿不可逆点(李艳秋等, 2014)、环境适应(李艳秋等, 2013; Bian *et al*, 2015; Alderdice *et al*, 1971; Forrester *et al*, 1966)、早期消化系统发育(胡盼等, 2015)等, 但尚未见有关亲鱼培育、胚胎发育形态特征的详尽报道。作者于2012–2013年开展了太平洋鲑人工繁育技术研究, 采捕了野生亲鱼进行人工培育, 亲鱼发育成熟后, 经人工授精获得了批量优质受精卵, 仔细观察和描述了其胚胎发育和早期仔鱼的形态特征, 并对其仔鱼的卵黄营养利用进行了分析, 以期为开展该鱼的人工繁殖和育苗提供有价值的参考资料。

1 材料与方法

1.1 亲鱼来源

2012年12月–2013年3月, 在山东青岛海阔水产养殖有限公司开展了太平洋鲑亲鱼驯化培育和苗种培育实验。太平洋鲑亲鱼捕自山东威海外海海域的野生群体, 选择体色鲜亮、体表无伤、腹部膨胀的个体作为亲鱼进行培育, 以水车运回公司养殖车间暂养。

1.2 亲鱼驯化与培育

野生亲鱼放入养殖车间培育池内进行培育。培育池底面积为25 m²的方形抹角水泥池, 池深1.2 m, 池底部向中央倾斜5°, 排水口设置于池底部中央。流水充气培育, 日换水率为400%。利用玉筋鱼(*Ammodytes personatus*)进行摄食驯化。亲鱼利用耳石鉴定年龄, 并对性成熟亲鱼的精巢和卵巢形态特征进行了观察。

1.3 受精卵来源

挑选性腺成熟、活力好的亲鱼采集精子和卵子, 进行人工干法授精, 获得受精卵。受精卵清洗后, 置于2000 ml量筒内, 利用盐度分离法取上浮卵在锥形网中孵化。受精卵孵化条件: 温度为9–10℃, 盐度为27–29, 连续充气, 流水孵化。统计不同批次的受精率和孵化率, 挑选受精率高的批次受精卵用于胚胎观察。

1.4 胚胎发育特征观察

受精卵孵化早期每30–60 min取样1次, 孵化后期每2–3 h取样1次。利用NIKON(MSZ800)解剖镜观察胚胎各时期形态特征, 用NIKON coolpix 4500数码相机进行显微拍照, 描述、记录胚胎发育时序和各发育时相的特征。

1.5 仔鱼发育特征观察

仔鱼孵出后, 在室内容积为25 m³的方形抹角水泥池中进行培育。培育水温为11–13℃, 盐度为

27–29, DO≥6 mg/L, pH为7.8–8.2, NH₄⁺-N≤0.1 mg/L。仔鱼入培育池后, 先静水充气培育, 待10 d后开始流水培育, 换水率逐渐由20%增加到100%。仔鱼开口饵料为轮虫(*Rotifer*)。

自仔鱼布池开始, 每天从培育池中随机取样30–40尾, 在NIKON(MSZ800)解剖镜下观察仔鱼不同发育时期的形态特征及器官发育情况, 测量全长、卵黄囊长短径等。用NIKON coolpix 4500相机拍照, 以波恩氏固定液固定各日龄标本20–30尾, 以备实验室补充观察用。

生物学测量均采用活体测量, 用麻醉剂(FA100, 日本, 1/5000剂量)将鱼苗麻醉后, 在解剖镜下观察, 利用目微尺测量30–40尾, 数据以平均值±标准差(Mean±SD)表示。

仔鱼卵黄囊体积计算参照Alderdice等(1979)的方法:

$$V = \frac{4}{3} \pi \left(\frac{r}{2} \right)^2 R$$

式中, r 为短径, R 为长径。

2 结果与分析

2.1 亲鱼驯化培育

2013年, 利用围网在黄海海域采捕太平洋鲑野生亲鱼112尾, 运回车间后置于2个培育池内培育。由于在采捕和运输过程中受伤较为严重, 亲鱼入池后在暂养驯化期间死亡率较高。人工成功驯化和培育太平洋鲑野生亲鱼49尾, 亲鱼培育成活率仅为43.7%。通过人工填喂、引导摄食等方法, 成功驯化的野生亲鱼在7–9 d后开始摄食玉筋鱼。亲鱼在培育池内游动积极, 活力较好。

对死亡野生亲鱼的耳石进行观察, 以确定亲鱼年龄。太平洋鲑耳石为卵圆形, 具有1个白色的中心核, 核外周是暗黑的夏轮带圈, 夏轮带圈之外又被1个白色轮带圈包围, 为第1冬轮带圈(年轮的标志)。其外又循环往复地每年均由夏轮带圈和冬轮带圈构成了各年的年轮。年龄为3龄的太平洋鲑耳石构造的特点是第1冬轮带圈明显较宽, 第2冬轮带圈亦稍宽, 第3冬轮带圈相对稍窄(图1)。本研究所用的亲鱼年龄都已达3龄以上。

性成熟的亲鱼性腺位于肾脏的下面, 1对, 呈左右对称分布; 雌性成鱼卵巢呈袋状, 外面包被黑色的膜, 2个卵巢后部连结在一起, 通过排卵口与外界相连, 卵巢上有2–3条粗大的血管, 经卵巢后部汇合于肾脏(图2)。雄性成鱼发育后, 精巢充满体腔, 呈脑状

结构,其上布满沟回结构,乳白色。心脏位于口咽腔下方的围心室里。通过计算得知,本研究所用野生亲鱼性成熟卵巢的绝对怀卵量为 120–150 万粒。

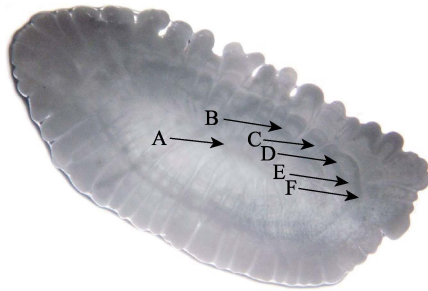


图 1 太平洋鳕耳石形态(3 龄)
Fig.1 The morphology of otolith of *G. macrocephalus*(3-year)

A: 中心核; B: 第 1 夏轮带圈; C: 第 1 冬轮带圈;
D: 第 2 夏轮带圈; E: 第 2 冬轮带圈; F: 第 3 夏轮带圈
A: Central core; B: First summer ring; C: First winter ring;
D: Second summer ring; E: Second winter ring;
F: Third summer ring



图 2 太平洋鳕的卵巢(左)和精巢(右)
Fig.2 The ovary (left) and testis (right) of *G. macrocephalus*

2.2 精卵获取

在暂养驯化期间,野生亲鱼发育正常,腹部隆起更为明显,通过挤压腹部观察生殖孔的方法,确定存活的 49 尾亲鱼中雌性个体有 27 尾,雄性个体有 22 尾。在驯化培育 35 d 后,开始人工采集配子进行人工授精。雌鱼中有 21 尾可采集到卵子,雄鱼全部可采集到精液。利用 21 尾雌鱼共采集卵子 20 批次,人工授精获得受精卵 15 批次,各批次受精率在 75%–95%之间,孵化率为 10%–35%。

2.3 胚胎发育特征

太平洋鳕成熟卵子为圆球形,沉性,具轻度黏性。卵膜透明光滑,卵黄均匀,无油球,卵直径为 0.9–1.1 mm。在水温为 9–10℃、盐度为 27–29 的海水中,受精卵历时 312 h 30 min(50%以上仔鱼孵出)完成整个胚胎发育过程。胚胎发育特征见表 1。

2.3.1 卵裂前期 卵子受精后 1 h,受精膜举起,原生质在动物极汇集,形成一个圆盘状隆起,胚盘形成,卵周隙扩大(图 3-1)。

2.3.2 卵裂期(盘状卵裂) 受精后 5 h 20 min,胚盘进行首次水平分裂,卵裂方式为径裂,将胚盘分成大小相等的 2 个卵裂球,即 2 细胞期(图 3-2);受精后 7 h 20 min,胚盘进行第 2 次分裂,此次分裂与第 1 次卵裂在同一水平面内,方向与第 1 次分裂相垂直,胚盘被分成 4 个等大的细胞,进入 4 细胞期(图 3-3);受精后 9 h 20 min,进行第 3 次卵裂,与第 1 次卵裂面平行,胚盘被分成近似相等的 8 个细胞,呈 2 排排列,进入 8 细胞期(图 3-4);受精后 11 h 20 min,进行第 4 次卵裂,在与第 2 次分裂面平行的平面上形成分裂面,形成近乎等大的 16 细胞(图 3-5);第 5 次卵裂发生在受精后 14 h,分裂后细胞排列不规则,发育进行到 32 细胞期(图 3-6);受精后 17 h 20 min,胚盘进行第 6 次卵裂,进入 64 细胞期,此时细胞呈多层不规则排列,细胞大小和形状也不同(图 3-7);受精后 20 h 30 min,经多次分裂,细胞明显变小,层次逐渐增多,在卵黄上方形成桑椹状,即桑椹胚期(图 3-8)。

2.3.3 囊胚期 受精后 21 h 30 min,细胞继续分裂,细胞体积越来越小,数量增多,在卵黄上方形成空腔的高帽状隆起,为高囊胚期(图 3-9);此后,囊胚细胞继续不断分裂,囊胚边缘细胞不断增多并开始下包,受精后 44 h 30 min,高囊胚高度下降且边缘变薄,进入低囊胚期(图 3-10)。

2.3.4 原肠期 受精后 59 h 30 min,囊胚高度继续下包卵黄至 1/3 处,腔体扩大,囊胚边缘开始内卷形成一圈环状隆起即胚环(图 3-12),进入原肠早期,增厚的胚盾形成(图 3-11);受精后 74 h 30 min,原肠胚下包卵黄囊至 1/2 处,胚体雏形形成,进入原肠中期(图 3-13);受精后 83 h 30 min,原肠胚下包至卵黄 2/3 处,胚体前端出现略膨大的脑泡,头部和尾部分化明显,进入原肠晚期(图 3-14)。

2.3.5 神经胚期 受精后 99 h 30 min,原肠胚下包卵黄囊 4/5,原口即将关闭。胚盾背部中线明显加厚,形成神经板,神经板两侧向中部折叠,形成神经褶,神经褶前部膨大形成脑原基,之后,神经褶从神经沟中部愈合并逐渐向两端愈合,形成神经管,眼泡形成,早期视囊原基出现(图 3-15)。

2.3.6 胚体发育期 受精后 108 h 30 min,原口完全关闭,胚体包卵黄囊 1/2。随着头部器官的不断分化,出现 3 个初级脑室(端脑、中脑、后脑),眼囊出现在脑泡两侧,呈长椭圆形;胚体后部肌节分化,可见 4–6 对肌节对称分布于胚体两侧,克氏泡出现(图 3-16);

表1 太平洋鳕胚胎发育特征
Tab.1 Embryonic development characteristics of *G. macrocephalus*

受精后时间 Duration post fertilization	胚胎发育时期 Embryonic development stage	主要发育特征 Developmental characteristics	备注 Remarks
0	受精卵 Fertilized egg		
1 h	胚盘形成 Blastodisc formation	原生质在动物极集聚, 形成一个圆盘状隆起, 即胚盘	图 3-1
5 h 20 min	2 细胞期 2-cell stage	第 1 次卵裂, 形成 2 个等大细胞	图 3-2
7 h 20 min	4 细胞期 4-cell stage	第 2 次卵裂, 形成 4 个等大细胞	图 3-3
9 h 20 min	8 细胞期 8-cell stage	第 3 次卵裂, 形成 8 个等大细胞	图 3-4
11 h 20 min	16 细胞期 16-cell stage	第 4 次卵裂, 形成 16 个等大细胞	图 3-5
14 h	32 细胞期 32-cell stage	第 5 次卵裂, 形成不规则的 32 个细胞	图 3-6
17 h 20 min	64 细胞期 64-cell stage	第 6 次分裂, 形成大小不等的 64 个细胞	图 3-7
20 h 30 min	桑椹胚期 Morula stage	多次分裂后多层细胞堆积在卵黄上方, 形似桑椹	图 3-8
5 h 35 min	高囊胚期 High blastula stage	细胞在卵黄上方呈半圆形隆起, 囊胚呈高帽状	图 3-9
44 h 30 min	低囊胚期 Low blastula stage	胚盘开始下包, 囊胚高度下降变为扁平, 紧贴于卵黄囊上	图 3-10
59 h 30 min	原肠早期 Early gastrula stage	出现胚环和胚盾, 原肠胚下包卵黄 1/3	图 3-11, 图 3-12
74 h 30 min	原肠中期 Middle gastrula stage	原肠胚下包卵黄 1/2	图 3-13
83 h 30 min	原肠晚期 Late gastrula stage	原肠胚下包卵黄 3/4, 胚盾变细长	图 3-14
99 h 3 0min	神经胚期 Neural stage	原口即将关闭, 神经胚初步形成	图 3-15
108 h 30 min	胚体下包 1/2 Embryo encircle 1/2 of yolk sac	原口关闭, 胚体下包卵黄 1/2, 隐约可见 4-6 对肌节对称分布	图 3-16
112 h 3 0min	胚体下包 2/3 Embryo encircle 2/3 of yolk sac	眼囊出现在脑泡两侧, 呈长椭圆形, 肌节 7-9 对	图 3-17
117 h 30 min	胚体下包 3/4 Embryo encircle 3/4 of yolk sac	眼囊逐渐变圆, 胚体开始出现色素	图 3-18
153 h 30 min	晶体出现期 Crystalline lens stage	眼囊变圆, 晶体出现, 胚体上体节和色素细胞数量增多	图 3-19
195 h 30 min	尾芽期 Tail-bud stage	胚体末端外向一侧, 形成尾芽, 胚体包卵黄一周	图 3-20
225 h 30 min	肌肉效应期 Muscular contraction stage	胚体开始出现间断性微弱的肌肉收缩	图 3-21
250 h 30 min	心跳期 Heartbeat stage	心脏开始出现轻微搏动	图 3-22
306 h 30 min	出膜期 Membrane rupture stage	胚体在卵膜内不停转动, 肌肉抽动更加频繁有力, 开始破膜	图 3-23
312 h 30 min	初孵仔鱼 Newly-hatched larvae		图 3-24

受精后 112 h 30 min, 视囊轮廓清晰, 肌节数量为 7-8 对, 胚体包卵黄囊至 2/3 处(图 3-17); 受精后 117 h 30 min, 一对听囊出现在视囊后方, 体节数增至 12-16 对, 背部枝状色素细胞增多, 胚体包卵黄囊至 3/4 处(图 3-18); 受精后 153 h 30 min, 眼囊变为圆形, 晶体出现, 体节数为 30-35 对, 胚体遍布点状黑色素细胞, 心脏原基明显, 克氏泡消失(图 3-19); 受精后 195 h 30 min, 胚体末端出现锥状尾芽, 尾芽与卵黄囊分离, 胚体增厚, 胸鳍原基出现, 色素细胞呈星状, 主要分布于中脑至尾部, 卵黄周隙增大, 胚体包卵黄囊一周(图 3-20)。

2.3.7 肌肉效应期 受精后 225 h 30 min, 胚体绕卵黄囊 7 d 多, 尾部扭转明显, 卵黄囊体积缩小和胚体头部间出现空隙, 头部出现很多浅黑色的点状色素, 胚体均匀分布点状黑色素。胚体出现间断性微弱的肌肉收缩(肌肉效应), 收缩时从背部肌节开始向尾部传递, 继而尾

部开始摆动, 约 2 min 出现 1 次肌肉效应(图 3-21)。

2.3.8 心跳期 受精 250 h 30 min 后, 头部眼囊下方出现近圆形的的心脏, 开始出现轻微搏动, 随着胚胎发育时间的延长, 搏动频率加快, 跳动有力, 心跳次数由开始的 24 次/min 增加到 67 次/min。胚体头部及背部的点状色素增多, 原星状黑色素收缩成少数几个较大、颜色较深的点状黑色素(图 3-22)。

2.3.9 出膜期 随着胚胎发育的进行, 胚体抖动幅度和频率加大, 胚体在卵膜内不停地转动, 卵黄囊进一步缩小, 晶体变黑, 头部点状色素消失, 整个胚体点状色素集中在背部躯干和近尾部 2 个区域, 背部近头部及腹部有零星色素点(图 3-23)。受精后 312 h 30 min, 胚体破膜而出, 孵出时大多数胚体头部首先破膜, 之后尾部用力摆动脱去卵膜, 少数个体尾部率先破膜; 刚孵出仔鱼悬浮在水中, 游泳能力较弱(图 3-24)。

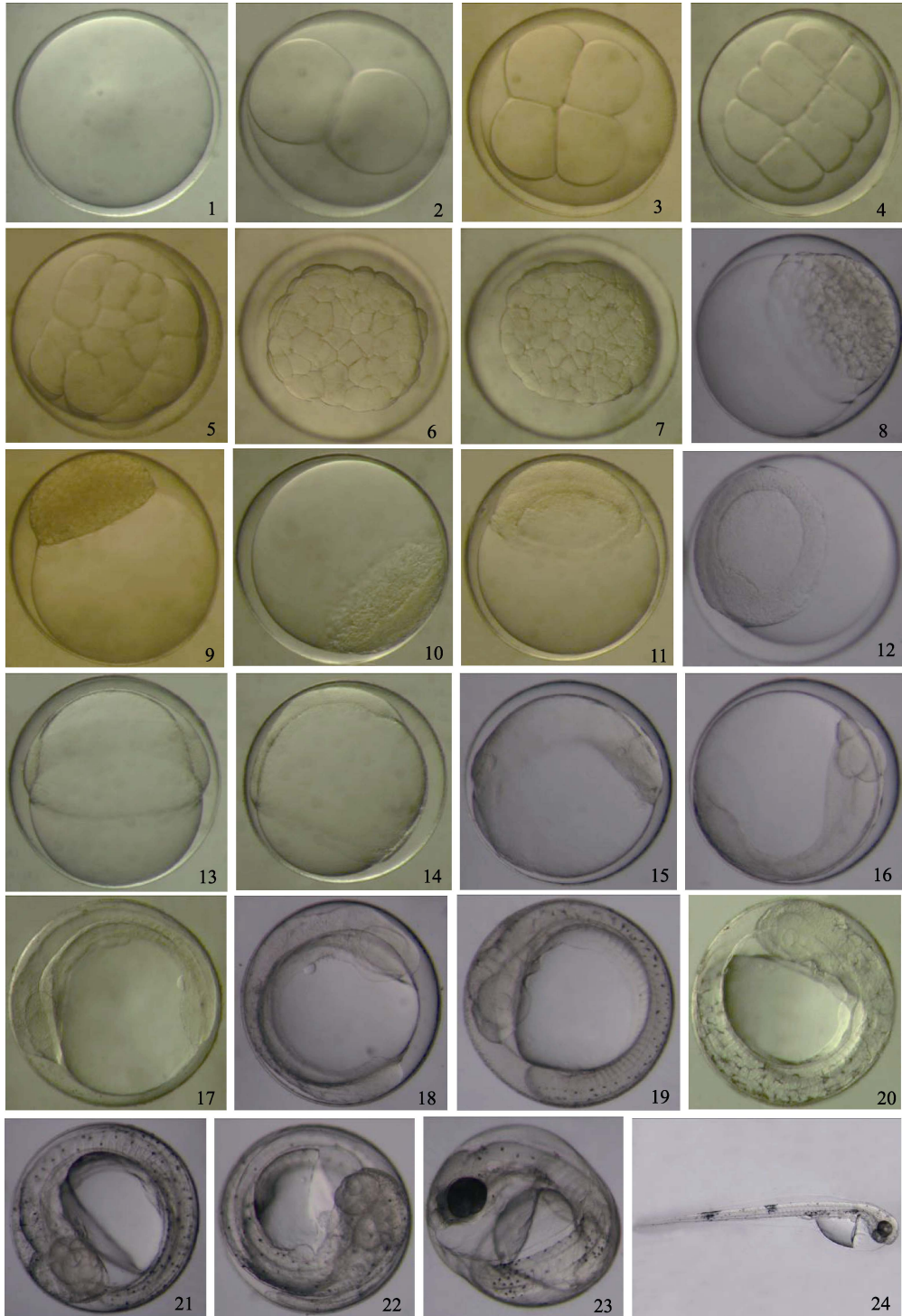


图 3 太平洋鳕胚胎的发育形态

Fig.3 Developmental morphology of *G. macrocephalus* embryos

- 1: 受精卵; 2: 2 细胞期; 3: 4 细胞期; 4: 8 细胞期; 5: 16 细胞期; 6: 32 细胞期; 7: 64 细胞期; 8: 桑椹期; 9: 高囊胚; 10: 低囊胚; 11: 原肠早期; 12: 胚盾期; 13: 原肠中期; 14: 原肠晚期; 15: 神经胚; 16: 胚体包 1/2; 17: 胚体包 2/3; 18: 胚体包 3/4; 19: 晶体期; 20: 尾芽期; 21: 肌肉效应期; 22: 心跳期; 23: 出膜期; 24: 初孵仔鱼
- 1: Fertilized egg; 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: Morula stage; 9: High blastula stage; 10: Low blastula stage; 11: Early gastrula stage; 12: Embryonic shield stage; 13: Mid-gastrula stage; 14: Late gastrula stage; 15: Neural stage; 16: Embryo encircle 1/2 of yolk sac; 17: Embryo encircle 2/3 of yolk sac; 18: Embryo encircle 3/4 of yolk sac; 19: Crystalline lens stage; 20: Tail-bud stage; 21: Muscular contraction stage; 22: Heart beat stage; 23: Membrane rupture stage; 24: Newly-hatched larva

2.4 早期仔鱼发育特征

2.4.1 数量形态特征 初孵仔鱼(图 4-1),全长为(3.85±0.12) mm($n=30$),卵黄囊为半透明、半椭圆形,部分仔鱼卵囊前部与头之间有一个明显的空腔。眼径为(0.20~0.25) mm,肛前距为(1.41±0.02) mm($n=30$)。头部向下紧贴在卵黄囊上,分化为5部分,分布少量黑色素,

耳石清晰。消化管平直,紧贴卵黄囊背部边缘分布。仔鱼脊索位于体上侧,略弯曲细长。背鳍膜、腹鳍膜和尾鳍膜连成一体,背鳍膜始于脑后,腹鳍膜始于卵黄囊末端,鳍膜透明。躯干部分布鸟粪状黑色素,间杂零星分布点状黑色素。肛门未与外界联通。初孵仔鱼头向下均匀倒悬分布在水体中,各水层都有分布,

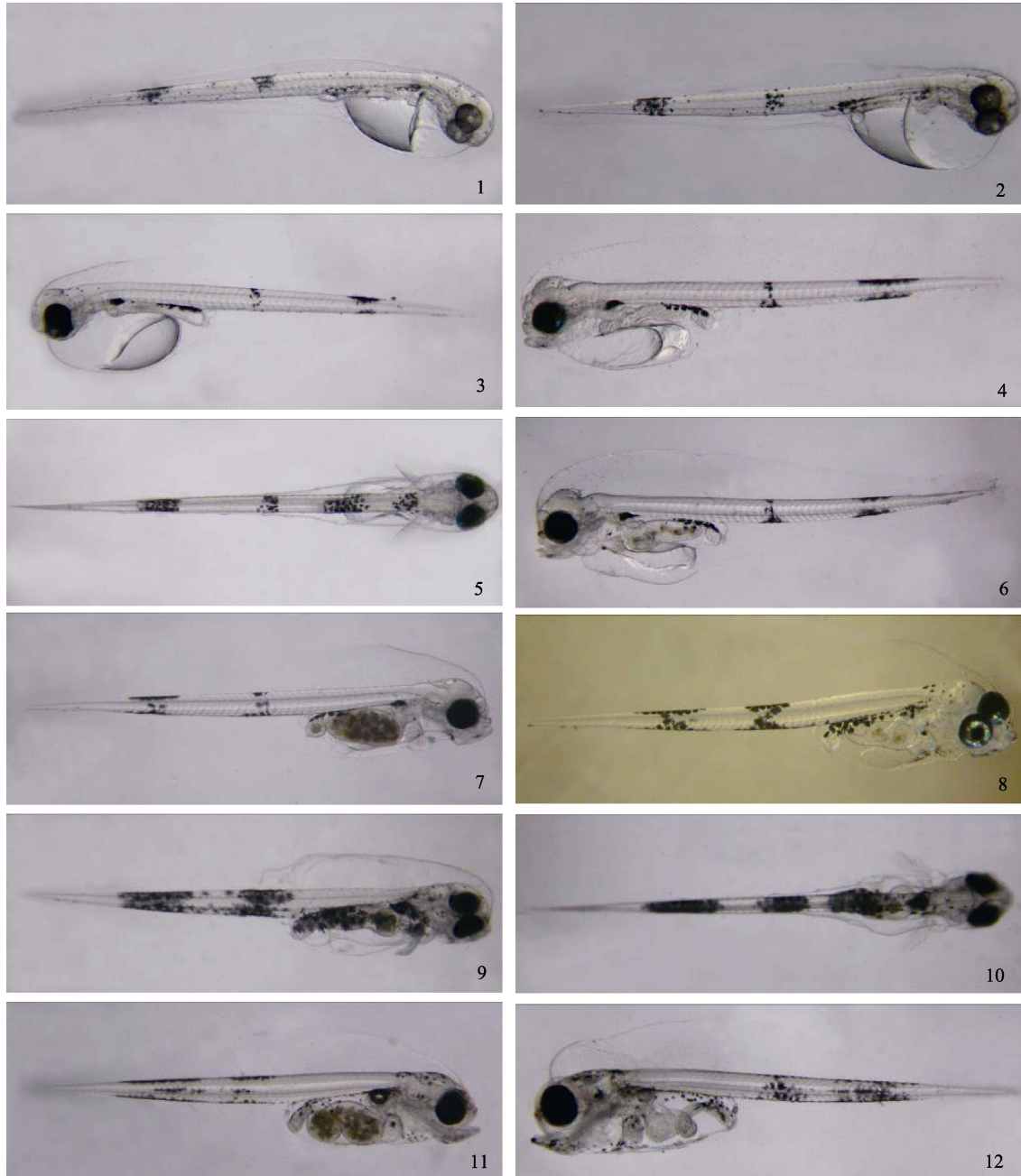


图4 太平洋鲑前期仔鱼发育形态

Fig.4 Developmental morphology of early larva of *G. macrocephalus*

- 1: 初孵仔鱼; 2: 1 d 仔鱼; 3: 3 d 仔鱼; 4: 4 d 仔鱼; 5: 4 d 仔鱼背部观; 6: 6 d 仔鱼; 7: 8 d 仔鱼;
8: 12 d 仔鱼; 9: 16 d 仔鱼; 10: 16 d 仔鱼背面观; 11: 22 d 仔鱼; 12: 27 d 仔鱼
1: Newly-hatched larva; 2: 1 d larva; 3: 3 d larva; 4: 4 d larva; 5: 4 d larva (back side view); 6: 6 d larva;
7: 8 d larva; 8: 12 d larva; 9: 16 d larva; 10: 16 d larva (back side view); 11: 22 d larva; 12: 27 d larva

无集群现象, 活动能力较弱。

1 d 仔鱼(图 4-2), 全长为(4.15±0.12) mm, 眼径为(0.20–0.25) mm, 肛前距为(1.41±0.02) mm($n=30$)。卵黄囊缩小, 体积消耗约 20%。头部未完全脱离卵黄囊, 眼囊颜色加深, 膀胱可见亮泡状原基。躯干中部和近尾端的色素密度增加。仔鱼主要分布于水体中上层, 活动力略有增强。

3 d 仔鱼(图 4-3), 全长为(4.55±0.18) mm, 眼径为(0.25–0.30) mm, 肛前距为(1.52±0.03) mm($n=30$)。卵黄囊持续吸收, 体积消耗约 45%。仔鱼头部仍未完全抬起, 眼囊颜色为淡绿色, 晶体变黑, 体色透明。消化管直而细长, 肠道开始膨大变粗, 肠道后端与膀胱连接处出现缢痕。肛门未开通。胸鳍原基形成, 呈叶状, 可以扇动, 肠道与躯干连接部出现黑色素细胞并不断增多。仔鱼游泳能力增强, 多分布在水体中上层, 靠身体摆动游动。仔鱼营养完全依靠内源性营养。

4 d 仔鱼(图 4-4, 图 4-5), 全长为(4.62±0.08) mm, 眼径为(0.25–0.30) mm, 肛前距为(1.58±0.09) mm($n=30$)。卵黄囊消耗约 60%。头脱离卵黄囊完全抬起。眼睛完全变黑色, 带淡绿色。口部形成, 口端突出, 未开口。肠道开始充气, 可见膨胀, 其上黑色素分布密度增大。肛门未与外界相通(图 4-5)。头顶分布 2–3 个点状黑色素。近尾端黑色素带延长, 密度增加。

6 d 仔鱼(图 4-6), 全长为(4.71±0.02) mm, 眼径为 0.30 mm, 肛前距为(1.62±0.04) mm($n=30$)。卵黄囊仅有少量残余。口裂长约 0.25 mm。仔鱼开口, 肛门与外界联通。鳔原基形成。消化管加粗、变短, 内可见吞入的藻类残渣。仔鱼平游, 游泳能力增强。背部俯视可见 4 条明显的色素带, 分别位于头部脑后方、消化道上方躯干部、肛门上方躯干部和近尾端躯干部。

8 d 仔鱼(图 4-7), 全长为(4.94±0.13) mm。眼径为 0.30 mm, 肛前距为(1.82±0.09) mm($n=30$)。卵黄完全消耗殆尽。口裂长约 0.25 mm, 鳔未充气。肠道内可见轮虫等食物。背鳍膜高度增加, 仔鱼在水中平游, 一般靠尾部的摆动而蹿动, 多数时间静止。

12 d 仔鱼(图 4-8), 全长为(5.14±0.15) mm。眼径为(0.30–0.35) mm, 肛前距为(2.08±0.12) mm($n=30$)。鱼体透明, 眼囊亮绿色。鳔充气。肠道形成第 1 个生理弯曲, 开始摄食卤虫(*Artemia salina*)无节幼体。躯干上 4 个色素带色素增多, 鳔原基与肛门处的 2 个色素带逐渐连接成长的色素带, 其中, 枝状色素体积大且数量多。仔鱼巡游模式建立, 多在水体上层游动, 仔鱼摄食率达 90%以上。

16 d 仔鱼(图 4-9, 图 4-10), 全长为(5.47±0.13) mm, 肛前距为(2.24±0.07) mm($n=30$)。躯干部 2 个色素带连通, 消化道上方的黑色素继续增多。胸鳍发达, 鳍条形成。鳔充气, 体积增大。仔鱼活力强, 游动速度加快。

22 d 仔鱼(图 4-11), 全长为(5.69±0.09) mm, 肛前距为(2.33±0.07) mm($n=30$)。鳔充气成为亮泡状, 肠道第 2 个生理弯曲形成, 肠道内食物较多。背鳍膜前端与后端出现分隔。

27 d 仔鱼(图 4-12), 全长为(6.08±0.13) mm, 肛前距为(2.49±0.04) mm($n=30$)。

2.4.2 卵黄的吸收过程 太平洋鳕初孵仔鱼口裂未开, 无摄食能力, 仅依靠卵黄囊内源性营养进行生长代谢。初孵仔鱼全长为(3.85±0.12) mm, 卵黄囊体积为 $146.12 \times 10^{-3} \text{ mm}^3$; 随着仔鱼生长发育, 卵黄囊迅速被吸收, 1 d 仔鱼的卵黄囊消耗约 54%, 2 d 仔鱼卵黄囊消耗 73.1%, 至孵化后第 4 天, 约 97%的卵黄被吸收利用, 至孵化后第 6 天, 卵黄基本消耗殆尽, 仅有少量残余, 至第 8 天卵黄完全吸收完毕(表 2)。6 d 仔鱼开口, 进入摄食期, 仔鱼开始摄食轮虫, 进入外源性营养阶段, 仔鱼摄食和游泳能力增强。

3 讨论

本研究所用亲鱼为每年 12 月–翌年 2 月期间采捕于山东威海外海海域的野生亲鱼, 挑选性腺发育成熟且腹部隆起明显的个体作为繁殖用亲鱼, 运回培育车间进行短期培育, 通过人工授精方式获得受精卵。

表 2 太平洋鳕仔鱼卵黄的吸收进程

Tab.2 The process of yolk absorption of *G.macrocephalus* larvae

孵出后时间 Days after hatching (d)	全长 Total length (mm)	卵黄囊长径 Long diameter of yolk sac (mm)	卵黄囊短径 Short diameter of yolk sac (mm)	卵黄囊体积 Yolk sac volume (10^{-3} mm^3)
0	3.85±0.12	0.83±0.09	0.58±0.07	146.12
1	4.15±0.12	0.56±0.04	0.48±0.06	67.52
2	4.37±0.18	0.52±0.04	0.38±0.03	39.29
3	4.55±0.18	0.51±0.06	0.34±0.05	30.85
4	4.62±0.08	0.15±0.02	0.20±0.01	3.14
6	4.71±0.02	0.05±0.01	0.11±0.01	0.32
8	4.94±0.13	0	0	0

2012–2013 年,研究了太平洋鳕野生亲体的驯化和培育关键技术,人工条件下成功培育存活野生亲鱼 49 尾,获得了受精卵 15 批次。但是,获得的各批次受精卵质量参差不齐,受精率和孵化率差异较大,其主要原因可能在于所用亲鱼均为野生亲鱼,短暂培育后用于繁殖,无法像半滑舌鳎(*Cynoglossus semilaevis*) (柳学周等, 2006)、大菱鲂(*Scophthalmus maximus*) (雷霖, 2003)等鱼类一样可以人工培育亲鱼,且可精准控制亲鱼的营养状况、性腺发育进程等条件,因此,获得的受精卵质量批次间差异较大。今后,应深入开展太平洋鳕野生亲鱼的驯化、培育工作,如确立适宜的采捕季节、采捕方式、运输方式、培育条件等,提高野生亲鱼培育的成活率。同时,应开展全人工亲鱼培育研究,获得高质量的人工亲鱼用于苗种繁育生产。

鱼类胚胎及胚后发育的形态特征是繁育生物学的重要研究内容,对于育苗生产中准确把握受精卵孵化及鱼苗培育的关键技术环节、提高孵化率与育苗成活率意义重大。太平洋鳕受精卵为圆球形,卵裂方式为典型的端黄卵的盘状卵裂,以下包的形式形成原肠胚,胚胎发育的各个发育时期的形态特征和发育时间与已报道的海水鱼类基本一致(柳学周等, 2008、2009)。Hall 等(2004)对大西洋鳕鱼(*Gadus morhua*)胚胎发育的研究表明,其器官分化发生在原肠包卵 1/3 时,体节分化则发生在原肠包卵黄囊 1/2 时,太平洋鳕的器官分化时间晚于大西洋鳕鱼,这可能是由于种的差异引起的。

太平洋鳕卵子具有黏性,孵化过程中受精卵容易下沉到孵化容器底部黏连成块状,造成受精卵缺氧而异常死亡。另外,太平洋鳕属低温种类,其受精卵孵化水温较多数海水鱼类低,与鲽形目的条斑星鲽(*Verasper moseri*)类似,但是,受精卵孵化时间较条斑星鲽长(柳学周等, 2009; 万瑞景等, 2004; 马学坤等, 2008; 宁鑫等, 2011),且其从胚盘形成到细胞分裂期时间较长(约 4.5 h),因此,需要在受精卵孵化过程中加强孵化操作管理,尽量保持孵化水温恒定和充气均匀,同时应及时清除死亡受精卵,保障孵化水质优良。本研究使用了底部锥形的孵化网,采用底部向上充气的方式,尽量使受精卵均匀分散在水体中,取得了相对较好的孵化效果。研究过程中还发现,不同批次间的卵子,即使初始受精率较高,但孵化过程中胚胎死亡率也高,最终孵化率差异较大。因此,受精卵孵化过程中除应加强孵化条件优化和管理外,还应对其胚胎发育的生理生化特性及其对环境的适应机制进行深入研究,以期建立成熟的长周期黏性卵孵化

技术提供支撑。

温度对早期仔鱼的发育影响明显,李艳秋(2013)¹⁾发现,在水温为 7.8–10℃条件下,太平洋鳕在 8 日龄开口摄食。本研究表明,在水温为 11–13℃条件下,仔鱼 6 日龄开口,卵黄基本消耗完毕,由内源性营养期进入混合营养期。混合营养期的长短对苗种的营养转换和苗种培育成活具有重要意义,因此,在苗种早期培育过程中应保持适宜的温度,使得卵黄的吸收速度与仔鱼向外源性营养速度相适应,以提高鱼苗成活率。本研究发现,太平洋鳕前期仔鱼生长缓慢,且在轮虫向肉虫无节幼体的饵料转换不畅,造成此时期仔鱼的大量死亡,因此,今后应加强仔鱼消化生理及其调控机制的研究,为建立高效的饵料转换调控技术提供依据。另外,在人工繁育过程中发现,部分批次的受精卵孵化出的初孵仔鱼卵黄囊与头部之间有较大空隙存在,进一步观察发现,这可能是一种发育异常现象,与空隙较小或没有空隙的个体相比,头部有较大空隙仔鱼死亡率较高,这种头部与卵黄囊间的空隙现象可能与亲鱼的营养状态和受精卵质量有关,具体的原因和机制有待于进一步研究。

参 考 文 献

- Alderdice DF, Forrester CR. Effects of salinity, temperature, and dissolved oxygen on early development of the Pacific cod (*Gadus macrocephalus*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 1971, 28(6): 883–902
- Bian XD, Zhang XM, Yasunari S, *et al.* Interactive effects of incubation temperature and salinity on the early life stages of pacific cod *Gadus macrocephalus*. *Deep-Sea Research. II: Topical Studies in Oceanography*, 2015, 124: 117–128
- Forrester CR, Alderdice DF. Effects of salinity and temperature on embryonic development of the Pacific cod (*Gadus macrocephalus*). *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 1966, 23(3): 319–341
- Hall EH, Smith P, Johnston IA. Stages of embryonic development in the Atlantic cod *Gadus morhua*. *Journal of Morphology*, 2004, 259(3): 255–270
- Hu P, Gong X, Han YZ, *et al.* Ontogenetic morphological and histological development of digestive system in larval Pacific cod *Gadus microcephalus*. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2015, 30(3): 243–247 [胡盼, 宫雪, 韩雨哲, 等. 太平洋鳕仔鱼消化系统发育形态学和组织学观察. *大连海洋大学学报*, 2015, 30(3): 243–247]
- Lei JL, Ma AJ, Liu XF, *et al.* Study on the development of embryo, larval and juvenile of turbot *Scophthalmus maximus* L. *Oceanologia Et Limnologia Sinica*, 2003, 34(1): 9–18 [雷霖, 马爱军, 刘新富, 等. 大菱鲂(*Scophthalmus maximus* L.) 胚胎及仔稚幼鱼发育研究. *海洋与湖沼*, 2003, 34(1): 9–18]
- Li YQ, Jiang ZQ, Sun Y, *et al.* Experimental starvation on

1) Li YQ. Study on biology of *Gadus macrocephalus* Tilesius during early developmental stage. Master's Thesis of Dalian Ocean University [李艳秋. 太平洋鳕(*Gadus macrocephalus* Tilesius)早期发育阶段的生物学研究. 大连海洋大学硕士研究生学位论文, 2013]

- Gadus macrocephalus* and definition of the point of no return. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(14): 3873–3878 [李艳秋, 姜志强, 孙阳, 等. 太平洋鲑仔鱼饥饿实验及不可逆生长点的确定. *生态学报*, 2014, 34(14): 3873–3878]
- Li YQ, Wu H, Sun Y, *et al.* The influences of light intensity on feeding of *Gadus macrocephalus* larvae. *XianDai NongYe KeJi*, 2013, 4: 273–276 [李艳秋, 吴洪, 孙阳, 等. 不同光照强度对太平洋鲑仔鱼摄食的影响. *现代农业科技*, 2013(4): 273–276]
- Liu XZ, Xu YJ, Liu XF, *et al.* Embryonic and post-embryonic development of barfin flounder *Verasper moseri*. *Oceanologia Et Limnologia Sinica*, 2009, 40(6): 699–706 [柳学周, 徐永江, 刘新富, 等. 条斑星鲽(*Verasper moseri*)的早期生长发育特征. *海洋与湖沼*, 2009, 40(6): 699–706]
- Liu XZ, Xu YJ, Wang YY, *et al.* Characters of development and growth of early life stages of the rock bream *Oplegnathus fasciatus*. *Acta Zoologica Sinica*, 2008, 54(2): 332–341 [柳学周, 徐永江, 王妍妍, 等. 条石鲷的早期生长发育特征. *动物学报*, 2008, 54(2): 332–341]
- Liu Y. Reproductive biology of farmed fishes in China. Beijing: China Agriculture Press, 1993, 81–89 [刘筠. 中国养殖鱼类繁殖生物学. 北京: 中国农业出版社, 1993: 81–89]
- Ma XK, Liu XZ, Wen HS, *et al.* Embryonic and larval development in southern flounder *Paralichthys lethostigma*. *South China Fisheries Science*, 2008, 4(1): 41–47 [马学坤, 柳学周, 温海深, 等. 漠斑牙鲆胚胎及仔稚鱼发育的形态学观察. *南方水产*, 2008, 4(1): 41–47]
- Meng QW, Su JX, Miu XZ. *Fish Taxonomy*. Beijing: China Agriculture Press, 1995 [孟庆闻, 苏锦祥, 缪学祖. 鱼类分类学. 北京: 中国农业出版社, 1995]
- Ning X, Liu XZ, Sun ZZ, *et al.* Morphological development and growth pattern of *Verasper variegatus*, Temminck et Schlegel in early life stages. *Progress in Fishery Sciences*, 2011, 32(2): 7–15 [宁鑫, 柳学周, 孙中之, 等. 圆斑星鲽的早期生长发育特征. *渔业科学进展*, 2011, 32(2): 7–15]
- Tang QS, Ye MZ. Exploitation and conservation of offshore fishery resources in Shandong Province. Beijing: China Agriculture Press, 1990, 43–211 [唐启升, 叶懋中. 山东近海渔业资源开发与保护. 北京: 中国农业出版社, 1990, 43–211]
- Wan RJ, Jiang YW, Zhuang ZM. Morphological and developmental characters at the early stages of the tonguefish *Cynoglossus semilaevis*. *Acta Zoologica Sinica*, 2004, 50(1): 193–201 [万瑞景, 姜言伟, 庄志猛. 半滑舌鲷早期形态及发育特征. *动物学报*, 2004, 50(1): 193–201]
- Wang W, Jiang ZQ, Meng FP, *et al.* The effects of sharply changes in temperature on survival and indices of physiology and biochemistry in Pacific cod *Gadus microcephalus*. *Fisheries Science*, 2012, 31(8): 463–466 [王伟, 姜志强, 孟凡平, 等. 急性温度胁迫对太平洋鲑仔稚鱼成活率、生理生化指标的影响. *水产科学*, 2012, 31(8): 463–466]

(编辑 陈严)

Domestication of Wild Broodstock and Early Development of Pacific Cod (*Gadus macrocephalus*)

XU Yongjiang^{1,2}, LIU Xuezhou^{1,2}①, SHI Bao^{1,2}, WANG Bin^{1,2}

(1. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Qingdao Key Laboratory for Marine Fish Breeding and Biotechnology, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071; 2. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes, Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266071)

Abstract Pacific cod (*Gadus macrocephalus*) is a commercial potential species for marine fish aquaculture. The present study used a wild population of *Gadus macrocephalus* that was captured from the open sea of Weihai (Yellow Sea region). Under captivity, 49 wild individuals survived and acclimated to broodstock rearing conditions. Shortly, 15 batches of fertilized eggs were collected. Embryogenesis and early larval development of *G. macrocephalus*, including morphological features and development time, were described. *G. macrocephalus* spawned demersal and slightly adhesive eggs. Eggs were almost spherical and had no oil globules with diameter about 0.9–1.1 mm. The embryonic development of *G. macrocephalus* was divided into five stages, namely cleavage stage, blastula stage, gastrula stage, neurula stage as well as organogenesis stage. Embryos hatched out after 312 h 30 min in the sea water when the temperature was 9–10°C. The total length of newly hatched larva was (3.85±0.12) mm. Larva opened mouth at 6 days post hatching (dph) and started exogenous nutrition (first-feeding) stage. The yolk was completely absorbed at 8 dph. Primordial swimming bladder appeared at 6 dph and was filled with air at 16 dph. The first and second intestine physiological curvature formed at 12 dph and at 22 dph, respectively. This study provides the important baseline reference for broodstock management and larviculture of *G. macrocephalus*.

Key words *Gadus macrocephalus*; Broodstock domestication; Embryogenesis; Larval development

① Corresponding author: LIU Xuezhou, E-mail: liuxz@ysfri.ac.cn