

半滑舌鲷胚胎发育及其与水温的关系

杜伟^{1,2}, 蒙子宁^{1,3}, 薛志勇⁴, 姜言伟¹, 庄志猛¹, 万瑞景¹

(1. 农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室, 黄海水产研究所, 山东青岛, 266071; 2. 中国海洋大学 生命学院, 山东青岛, 266003; 3. 厦门大学 海洋系, 福建 厦门, 361005; 4. 海阳海珍品养殖场, 山东 海阳, 265122)

摘要:2002年8~9月在山东莱州明波水产公司养鱼场, 半滑舌鲷(*Cynoglossus semilaevis* Günther, 1873)亲鱼经人工诱导催熟, 在亲鱼培养池中雌、雄个体同时排卵、排精并完成了自然授精。卵子受精后, 对受精卵进行连续的取样, 在 Nikon SMZ-10 双筒解剖镜下观察胚胎发育的全过程。培养水温 20.5~21.6℃, 盐度 33.50, pH 7.8~8.6, 受精卵 1 h 30 min 细胞开始分裂, 4 h 5 min 为多细胞期, 5 h 0 min 为囊胚期, 22 h 20 min 胚孔关闭, 40 h 20 min 仔鱼开始孵出。根据本次实验以及 1982 年、1987 年、1989 年和 2002 年 8 月进行的半滑舌鲷人工孵化实验结果, 应用 3 种数学统计方法, 从理论上对半滑舌鲷胚胎发育的阈温度和有效积温值进行计算, 结果表明, 半滑舌鲷胚胎发育的阈温度和有效积温分别为 13.2℃ 和 347.0℃·h。

关键词:半滑舌鲷; 胚胎发育; 发育阈温度; 有效积温

中图分类号:S959.486 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-8737-(2004)01-0048-06

半滑舌鲷(*Cynoglossus semilaevis* Günther, 1873)在我国沿海均有分布, 为暖温性大型底层鱼类, 属鳎形目(Pleuronectiformes)、舌鲷科(Cynoglossidae)、舌鲷属(*Cynoglossus* Buchanan-Hamilton, 1822), 有牛舌头、鳎目、鳎米等俗称^[1]。分布于渤海的半滑舌鲷终年不出渤海, 具有活动范围小、营养等级低、食性温和、个体大、生长快和市场价值高等优良性状, 是一种理想的增殖对象^[2]。

在半滑舌鲷早期形态和发育特征方面, 杨东莱等^[3]通过对渤海湾自然海区卵子和仔稚鱼样品的观察, 描述了半滑舌鲷卵子和仔稚鱼的形态; 1982年9月姜言伟等^[4]通过人工授精、孵化和培养, 对半滑舌鲷的早期形态和发育特征进行了观察和描述; 1987~1989年9月姜言伟等^[5]对渤海半滑舌鲷的人工育苗工艺技术也进行过初步的研究。这些研究为认识半滑舌鲷的早期形态及其发育特征奠定了基础。

本研究跟踪观察和描述半滑舌鲷胚胎发育的过程, 结合 1982 年^[4]、1987 年^[5]、1989 年^[5]和 2002 年 8 月进行的人工孵化实验结果, 应用 3 种数学统计方法, 从理论上对半滑舌鲷胚胎发育的阈温度和有效积温值进行计算并对胚胎发育与培养水温之间的关

系进行讨论, 以期丰富对半滑舌鲷早期个体发育的认识, 为半滑舌鲷种苗的大规模培育提供必要的生物学资料。

1 材料与方法

1.1 材料

2002年8~9月在山东莱州明波水产有限公司养鱼场, 半滑舌鲷亲鱼经暂养驯化、人工诱导性腺成熟, 9月30日21h40min, 雌、雄亲鱼同时排卵、排精并完成了自然受精的过程。

1.2 胚胎发育观察

对受精卵进行连续取样, 在 Nikon SMZ-10 双筒解剖镜下, 采用载玻片直接观察法^[6]观察其胚胎的发育过程, 记录受精卵所处的发育阶段和培养水温, 并选取发育良好的受精卵和仔鱼样品进行显微拍照, 直至仔鱼孵出后第3天。

1.3 有效积温的计算

任何生物包括外温动物(ectotherm)如鱼类等, 在发育过程中不仅需要一定的温度, 而且还需要同温度与时间的结合, 即需要一定的总热量, 才能完成某一阶段的发育, 这就是有效积温(sum of effective

收稿日期:2003-06-19; 修订日期:2003-10-28.

基金项目:国家自然科学基金项目(30271027); 国家“863”高技术研究发展计划项目(2002AA603011).

作者简介:杜伟(1977-), 男, 硕士研究生, 主要从事发育生物学研究. E-mail: duwei1013@sina.com

通讯作者:万瑞景. E-mail: wanrj@ysfri.ac.cn

temperature)法则^[7-8]。但是任何一种生物的发育是在一定的温度范围上才开始,低于这个温度,生物不发育,这个温度称为发育阈温度(developmental threshold temperature),或称为生物学零度(biological zero)^[8]。因此,生物发育的有效积温可表示为:

$$K = N \cdot (T - C)^{[7-8]} \quad (1)$$

式中: N 为完成某阶段的发育所需要的时间(h); T 为发育期间的平均水温(°C); C 为该生物的发育阈温度(°C); K 为生物完成某阶段的发育所需要的有效积温(时度,°C·h)。

将方程式(1)改写成:

$$T = K/N + C \quad (2)$$

$$T = KV + C \quad (3)$$

式中: V 为发育所需要时间的倒数($1/N$),即发育速率。

C 值和 K 值求算的简便方法是在 n 种试验温度(T_1, T_2, \dots, T_n)下,分别观察和记录相应的发育时间 N_1, N_2, \dots, N_n ,将 N_1, N_2, \dots, N_n 换算成 V_1, V_2, \dots, V_n ,应用方程式^[7]

$$C = \frac{\sum V^2 \cdot \sum T - \sum V \cdot \sum VT}{n \cdot \sum V^2 - (\sum V)^2} \quad (4)$$

$$K = \frac{n \cdot \sum VT - \sum V \cdot \sum T}{n \cdot \sum V^2 - (\sum V)^2} \quad (5)$$

将 T_1, T_2, \dots, T_n 和 V_1, V_2, \dots, V_n 代入方程式

(4)和(5)就可分别求出 C 值和 K 值。

按照方程式(2),将半滑舌鲷胚胎发育所需的时间与培养温度应用 SYSTAT 10.2 统计软件进行统计分析以及方程式(3)将半滑舌鲷胚胎发育速率与培养温度进行回归分析,得到胚胎发育所需时间以及胚胎发育速率与培养温度之间的回归方程式,从回归方程式中也可以得到 C 值和 K 值。

本文所用数据除了本次实验和2002年8月的3次实验结果外,还引用了1982年9月^[4]、1987年9月^[5]和1989年9月^[5]4次的实验结果。

本次实验和2002年8月的3次人工孵化实验是在山东莱州明波水产有限公司的大规模半滑舌鲷种苗培育期间进行,每次人工孵化的受精卵数量为10~20万粒。

2 结果

2.1 胚胎发育

研究结果表明,在培养水温20.5~21.6°C(平均20.9°C)、盐度33.50和pH7.8~8.6条件下,半滑舌鲷受精卵的发育全程大约需要40h。半滑舌鲷的胚胎发育时间序列见表1和半滑舌鲷的胚胎发育特征见图版I。

表1 半滑舌鲷胚胎发育
Table 1 Embryonic development of *Cynoglossus semilaevis*

授精后时间 Time after insemination	发育阶段 Developmental stages	培养水温/°C Water temperature	图版 Plate
00h00min	受精卵 Fertilized egg	20.9	1
01h30min	二细胞期 2-cell stage	20.8	2
02h10min	四细胞期 4-cell stage	20.8	3
02h20min	八细胞期 8-cell stage	20.6	4
02h37min	十六细胞期 16-cell stage	20.6	5
03h12min	三十二细胞期 32-cell stage	20.5	6
04h05min	多细胞期 Multi-cell stage	20.6	7
05h00min	高囊胚期 Early blastula stage	20.6	8
06h50min	低囊胚期 Late blastula stage	20.5	9
11h45min	开始下包 Early gastrula stage	21.0	10
15h55min	下包 1/2 Middle gastrula stage	21.6	11
22h20min	胚孔关闭 Closure of blastopore	21.3	12
24h30min	尾芽形成 Formation of the tail-bud	21.0	13
27h20min	胚体绕卵黄囊 3/4 Embryo encircling 3/4 of the yolk-sac	20.5	14
38h40min	胚体绕卵黄囊近一周 Embryo almost encircling the yolk-sac	21.6	15
40h20min	初孵仔鱼 Newly hatched larva	21.6	16
24h10min*	第2天仔鱼 Second day larva	20.9	17
48h20min*	第3天仔鱼 Third day larva	20.6	18

* 孵化后时间

* Time after hatching

2.2 胚胎发育的阈温度和有效积温

从 1.3 中方程式(2)和(3)可以看出:半滑舌鳎胚胎发育所需的时间随温度增高呈双曲线减少,而发育速率随温度增高呈线性加快^[8]。利用本研究

和 1982 年^[4]、1987 年^[5]、1989 年 9 月^[5]和 2002 年 8 月进行的 8 次人工孵化试验结果(表 2),应用 1.3 中方程式(4)和(5)计算得到半滑舌鳎胚胎发育的阈温度和有效积温分别为 13.2 °C 和 347.0 °C · h。

表 2 半滑舌鳎胚胎发育时间与培养水温的关系及胚胎发育有效积温值

Table 2 Relationship between developmental time and water temperature together with sum of effective temperature in the embryonic development of *Cynoglossus semilaevis*

组别 No.	试验时间 Date of test	培养水温/°C Water temperature			发育时间/h Incubation duration	发育速率 Rate of Embryonic development	有效积温值 Sum of effective temperature	资料来源 References
		水温范围 Range	平均水温 Average	温差 Difference				
1	Sept. 1982	20.5 - 22.8	22.0	2.3	37.50	0.026667	330.0	[4]
2	Sept. 1987	21.2 - 24.0	23.1	2.8	34.00	0.029412	336.6	[5]
3	Sept. 1987	22.4 - 24.0	23.6	1.6	32.00	0.031250	332.8	[5]
4	Sept. 1989	21.5 - 22.6	21.9	1.1	41.00	0.024390	356.7	[5]
5	Aug. 2002	23.0 - 24.0	23.5	1.0	35.00	0.028571	360.5	本次实验 Present test
6	Aug. 2002	23.0 - 24.0	23.5	1.0	36.00	0.027778	370.8	本次实验 Present test
7	Aug. 2002	23.0 - 24.0	23.5	1.0	37.00	0.027027	381.1	本次实验 Present test
8	Sept. 2002	20.5 - 21.6	20.9	1.1	40.33	0.024795	310.5	本次实验 Present test

根据 1.3 中方程式(2)和(3),将半滑舌鳎胚胎发育所需的时间与培养温度应用 SYSTAT 10.2 统计软件进行统计分析以及半滑舌鳎胚胎发育速率与培养温度进行回归分析,得到胚胎发育所需时间以及胚胎发育速率与培养温度之间的回归方程式 $T = 347.01/N + 13.212$ ($R^2 = 0.6128$) 和 $T = 347.01V + 13.212$ ($R^2 = 0.6128$) (图 1 和图 2),两种数学统计方法得到的半滑舌鳎胚胎发育的阈温度和有效积温值均为 13.2 °C 和 347.0 °C · h,与应用方程式(4)和(5)计算得到结果完全一致。

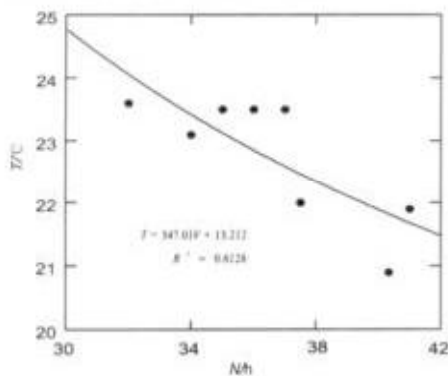


图 1 半滑舌鳎胚胎发育时间(N)与培养水温(T)的关系
Fig.1 Relationship between time (N) and water temperature (T) for embryonic development of *Cynoglossus semilaevis*

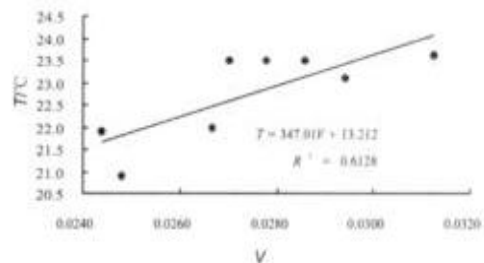


图 2 半滑舌鳎胚胎发育速率(V)与培养水温(T)的关系
Fig.2 Relationship between rate (V) and water temperature (T) for embryonic development of *Cynoglossus semilaevis*

3 讨论

3.1 半滑舌鳎受精卵的发育时间与培养水温的关系

表 2 中列示了 1982 ~ 2002 年期间进行的 8 次半滑舌鳎受精卵人工孵化的实验,结果表明,8 次试验主要在 1982 ~ 1989 年和 2002 年完成。虽然表 2 中所列示的实验结果仅仅体现了发育时间和发育速率与培养水温之间的关系,但是由于试验的年份不同,每次实验都存在着实验用水的水质状况的不同,如水体中微量元素和有机物含量等,实验所用亲鱼

个体的大小不同,获得受精卵的途径以及培养条件如换水过程的机械刺激、光照强度等等一些往往不易引起注意的差异,因此,8次实验之间存在着客观的差异,从而使实验结果存在误差。比如1982年和1989年的2次实验,受精卵都是通过采捕渤海莱州湾性成熟的雌、雄个体,采用人工授精方式获得,培养平均水温基本一样,仅是2次实验的水温波动范围有所差异,受精卵的发育时间却出现了3.5 h的差异;2002年8月的3次实验的受精卵都是亲鱼在培养池中自然产卵、受精获得,培养水温基本一样,3次的发育时间出现了相差1 h的差异;1987年9月的实验与2002年8月的3次实验中,1987年9月的培养平均水温仅比2002年8月高0.1℃,但是受精卵的获得途径不同,实验时间又间隔了15年,受精卵的发育时间出现了3.0~5.0 h的差异。

尽管8次人工孵化实验过程之间存在着种种的实验误差,研究结果仍然充分说明,在适温条件下,半滑舌鳎受精卵的发育时间随水温的升高而缩短,而发育速率随温度增高呈线性加快^[8],符合1.3中方程式(2)和方程式(3)所描述的规律(图1、2)。

3.2 半滑舌鳎胚胎发育的阈温度和有效积温

在自然海区中,一定范围的水温分布是鱼类产卵和胚胎发育必须具备的主要生态条件之一。1982年4月~1983年4月渤海渔业资源增殖基础调查资料表明:10月上旬半滑舌鳎进入产卵末期时,渤海的表层和底层水温分别为18.0~22.0℃和17.5~21.5℃^[10],3种计算方法得到的半滑舌鳎胚胎发育的阈温度值低于海区的自然水温,符合发育生物学的规律,与自然海区的实际状况也基本相吻合。因此,半滑舌鳎胚胎发育的阈温度值在进行相关的产卵场生态调查过程中,可作为制定调查方案的理论参考依据之一;在半滑舌鳎规模化苗种培育期间,对人工调控条件下确定合理的培养温度、节省培养水预热的能源消耗和人力投入也具有一定的指导意义。

虽然理论计算得到的半滑舌鳎胚胎发育的阈温度与自然海区的实际状况基本吻合,但是半滑舌鳎的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对半滑舌鳎的胚胎发育也具有一定的影响作用,而有效积温法则仅考虑到温度这一单项的主要影响因子,忽略

了其他生态因子的共同作用,这就是有效积温法则的局限性^[7]。因此,不能将半滑舌鳎胚胎发育的阈温度当成绝对的唯一指标,但在半滑舌鳎苗种培育期间,受精卵的孵化水温就不能低于14℃,否则将影响其胚胎的正常发育,甚至造成死亡。

从理论上,半滑舌鳎胚胎发育的有效积温值应该是相等或相近,然而8次实验的计算值各有差异(表2),最低值(2002年9月)与最高值(2002年8月的第3次实验)之间相差70.6之多,2002年8月的3次实验之间差异较小(10.3~20.6),而1982~1987年的3次实验之间、1989年与2002年第1次实验之间就非常接近(相差2.8~6.6),8次实验的计算值与理论计算值相差9.7~36.5,与理论计算值差异最大也是出现最低值的2002年9月实验和出现最高值的2002年8月的第3次实验。由于8次实验所用的亲鱼都是采捕于渤海莱州湾,其胚胎发育有效积温值的差异完全可以排除亲体来源于不同地理种群的影响,以上所述的8次实验之间存在的实验误差以及有效积温法则的局限性是8次实验之间有效积温值出现差异的原因。

致谢:山东莱州明波水产有限公司为本研究提供了实验材料和实验条件,特此鸣谢!

参考文献:

- [1] 郑葆珊. 黄渤海鱼类调查报告[M]. 北京: 科学出版社, 1955. 298-300.
- [2] 邓景耀, 孟田湘, 任胜民, 等. 渤海鱼类种类组成及数量分布[J]. 海洋水产研究, 1988, (9): 10-98.
- [3] 杨东莱, 吴光宗, 鹿鸿艳. 渤海半滑舌鳎及鳊氏舌鳎的鱼卵和仔稚鱼的形态[J]. 海洋科学, 1983, (2): 29-32.
- [4] 姜言伟, 万瑞景. 渤海半滑舌鳎早期形态及发育特征的研究[J]. 海洋水产研究, 1988, (9): 193-201.
- [5] 姜言伟, 万瑞景, 陈瑞盛, 等. 渤海半滑舌鳎人工育苗工艺技术的研究[J]. 海洋水产研究, 1993, (14): 25-33.
- [6] 王 勇, 徐永立, 张培军. 牙鲆鱼胚胎和仔鱼显微摄影方法[J]. 海洋科学, 2001, 25(10): 15-16.
- [7] 尚玉昌. 普通生态学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1993. 36-37.
- [8] 李庆芬. 基础生态学[M]. 北京: 高等教育出版社, 2002. 25.
- [9] 姜言伟, 万瑞景. 渤海半滑舌鳎的生殖习性及其产卵生态的研究[J]. 海洋水产研究, 1988, (9): 185-192.
- [10] 姜言伟, 万瑞景, 陈瑞盛. 渤海硬骨鱼类鱼卵、仔稚鱼调查研究[J]. 海洋水产研究, 1988, (9): 121-149.

Embryonic development of *Cynoglossus semilaevis* and its relationship with incubation temperature

DU Wei^{1,2}, MENG Zi-ning^{1,3}, XUE Zhi-yong⁴, JIANG Yan-wei¹, ZHUANG Zhi-meng¹, WAN Rui-jing¹

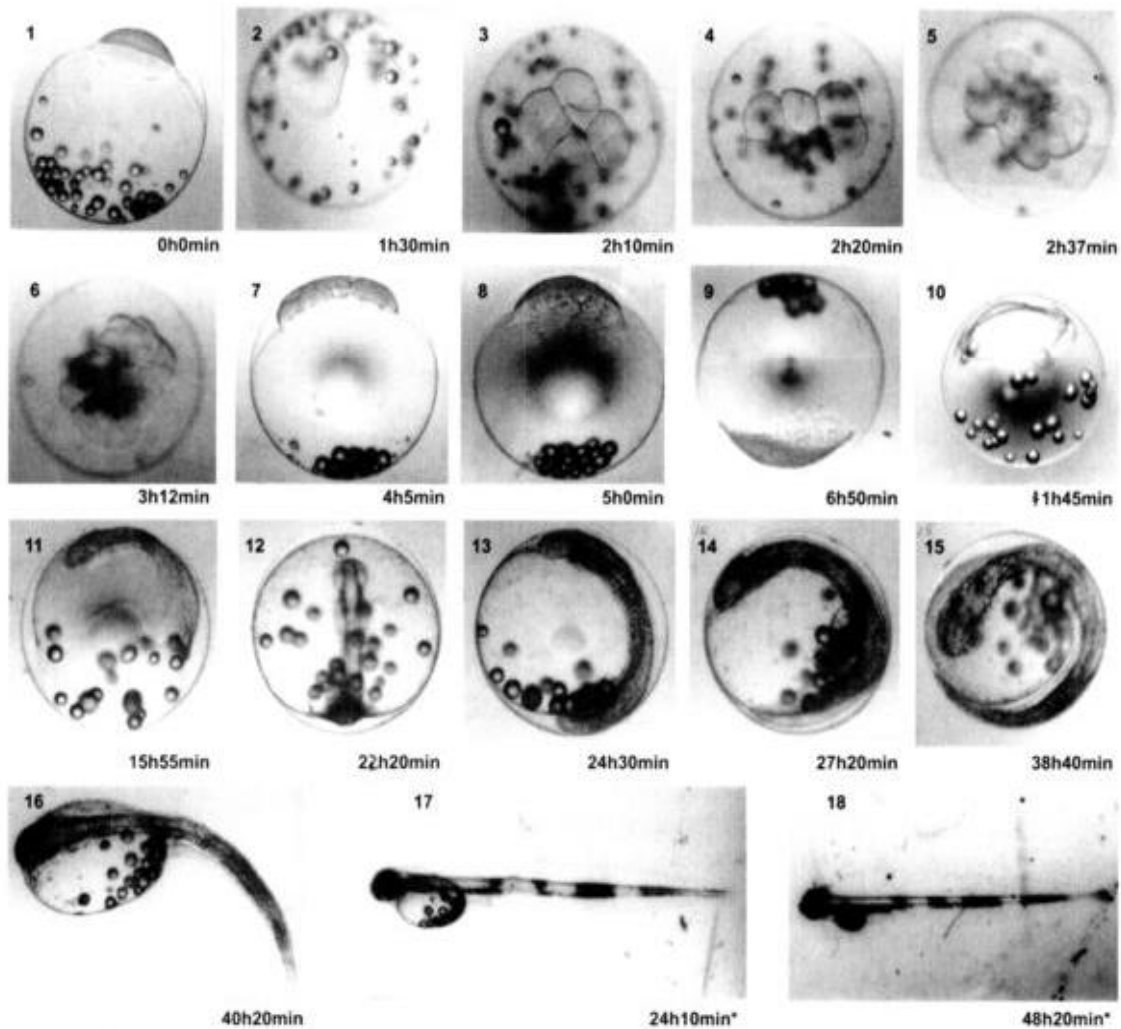
(1. Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fishery Resources, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Qingdao 266071, China; 2. College of Marine Life Science, Ocean University of China, Qingdao 26603, China; 3. Department of Oceanography, Xiamen University, Xiamen 361005, China; 4. The Haiyang Fishfarm for Marine Rarities, Haiyang 265122, China)

Abstract: *Cynoglossus semilaevis* Gunther is distributed along the coast line of China. This species grows fast and has high market value. Furthermore, for those living in Bohai Sea, this area is their only habitat that they will not go out of this sea area all their life, which implies that this species is an ideal object for enhancement. Some basic studies on the early morphology and development of this species have been done since 1982. This study was conducted in August and September 2002. The mature parent fish *C. semilaevis* were collected from the culture farm in Shandong and were artificially induced to spawn and ejaculate simultaneously. The eggs were fertilized in the spawning tank and the fertilized eggs were collected and observed under the anatomical microscope (Nikon SMZ - 10) along with the embryonic development. Under the incubation conditions, where the water temperature ranged from 20.5 °C to 21.6 °C, the salinity 33.5 and pH 7.8 - 8.6, the fertilized eggs, as observed, began to cleave in 1 h 30 min and developed into multi-cell and blastula stages in 4 h 5 min and in 5 h 0 min, respectively. Closure of blastopore took place in 22 h 20 min and hatched out in 40 h 20 min. Based on the experimental data together with those obtained in the experiments performed in Septembers of 1982, 1987, 1989 and August of 2002, both the threshold temperature and the sum of effective temperature for the embryonic development of *C. semilaevis* were estimated, which are 13.2°C and 347.0 hour-degree, respectively.

Key words: *Cynoglossus semilaevis*; embryonic development; developmental threshold temperature; sum of effective temperature

Corresponding author: WAN Rui-jing. E-mail: wanrj@ysfri.ac.cn

杜 伟等:半滑舌鲷胚胎发育及其与水温的关系
 DU Wei et al: Embryonic development of *Cynoglossus semilaevis* and
 its relationship with incubation temperature



图版 I 半滑舌鲷胚胎发育

1. 受精卵; 2. 二细胞期; 3. 四细胞期; 4. 八细胞期; 5. 十六细胞期; 6. 三十二细胞期; 7. 多细胞期; 8. 高囊胚期; 9. 低囊胚期; 10. 开始下包; 11. 下包 1/2; 12. 胚孔关闭; 13. 尾芽形成; 14. 胚体绕卵黄囊 3/4; 15. 胚体绕卵黄囊近一周; 16. 初孵仔鱼; 17. 第二天仔鱼; 18. 第三天仔鱼

Plate I Embryonic development of *Cynoglossus semilaevis*

1. Fertilized egg; 2. 2-cell stage; 3. 4-cell stage; 4. 8-cell stage; 5. 16-cell stage; 6. 32-cell stage; 7. Multi-cell stage; 8. Early blastula stage; 9. Late blastula stage; 10. Early gastrula stage; 11. Middle gastrula stage; 12. Closure of blastopore; 13. Formation of the tail-bud; 14. Embryo encircling 3/4 of the yolk-sac; 15. Embryo almost encircling the yolk-sac; 16. Newly hatched larva; 17. Second-day larva; 18. Third-day larva.