

斜带石斑鱼胚胎及仔稚幼鱼形态发育

张海发^{1,2}, 刘晓春¹, 刘付永忠^{1,2}, 王云新², 林 鑫², 黄国光², 舒 琥¹, 罗国武², 林浩然¹

(1. 中山大学 生命科学学院, 水生经济动物研究所暨广东省水生经济动物良种繁育重点实验室, 广东 广州 510275; 2. 广东省大亚湾水产试验中心, 广东 惠州 516081)

摘要:对斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)的胚胎及仔稚幼鱼形态发育进行了观察与研究, 详细描述从受精卵到初孵仔鱼的28个具体发育时期的形态特征和发育时间。根据研究观察结果, 将斜带石斑鱼胚胎发育划分为卵裂期、囊胚期、原肠胚期、神经胚期和器官形成期。在水温(25 ± 0.5)℃、盐度31.0、pH 7.8的海水中, 斜带石斑鱼胚胎历时28 h 30 min完成整个胚胎发育孵化出膜。胚后发育主要根据卵黄囊、腹鳍棘及第二背鳍棘、鳞片、体色的变化分为仔鱼期、稚鱼期、幼鱼期。仔鱼期根据卵黄囊的有无又分为早期仔鱼和晚期仔鱼。在水温24.5~29.2℃, 盐度28.8~33.5, pH 7.5~8.5的海水中, 培育至36 d, 发育最快的斜带石斑鱼结束仔鱼期进入稚鱼期; 培育至42 d, 发育最快的稚鱼完成变态, 成为幼鱼。斜带石斑鱼胚后发育过程中最明显的变化是腹鳍棘与第二背鳍棘以及鳍棘上小刺的长出与收回。[中国水产科学, 2006, 13(5): 689~699]

关键词:斜带石斑鱼; 胚胎发育; 仔鱼; 稚鱼; 幼鱼; 形态发育

中图分类号: Q959.483 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8737-(2006)05-0689-11

国内外有关斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)的研究有不少报道, 如仔鱼的骨骼发育变化^[1]、消化系统胚后发育的组织学研究^[2]、甲状腺激素及生长激素对仔鱼早期变态的影响^[3-4]、外源激素对性转变的影响^[5]、自然产卵研究^[6]、精子超微结构及精子活力的研究^[7]、仔鱼的摄食研究^[8]、人工育苗试验^[9-10]等。但对斜带石斑鱼胚胎发育及仔稚鱼生长发育的研究未见系统报道。

近年来, 斜带石斑鱼的养殖业有较大的发展, 特别在菲律宾以及中国的台湾和香港等地产量不断增加, 在台湾, 斜带石斑鱼的养殖比较广泛, 并已基本克服种苗生产难关; 在中国内地, 人工育成的雌、雄鱼已能够在养殖池中自然交配产卵, 可以获得相当数量的商品规格鱼苗, 但仍难以满足养殖生产的需求^[6,8-10]。本实验对斜带石斑鱼胚胎发育、仔稚幼鱼形态发育和生长进行了较详细的研究, 以期为该鱼的苗种培育提供技术依据。

1 材料与方法

1.1 受精卵的获取及孵化

实验用斜带石斑鱼受精卵由广东省大亚湾水产试验中心提供。受精卵为室内自然产卵方式获得。

收集用作胚胎发育观察的受精卵时, 提前静候在亲鱼产卵池边, 观察到有亲鱼发情产卵后, 及时用筛网捞取适量受精卵, 倒入事先准备好的30 L FRP水槽内, 置于实验室内恒温(25 ± 0.5)℃、微充气、静水孵化。

苗种培育用受精卵通过溢水法收集获得。受精卵收集后, 洗净, 用分离法除去下沉卵, 取上浮卵置于网箱中充气、流水孵化, 仔鱼孵出后将死卵吸去, 然后再转移到育苗池中进行培育。

1.2 仔、稚、幼鱼的培育

斜带石斑鱼仔、稚、幼鱼的培育在广东省大亚湾水产试验中心进行, 仔鱼放养密度为 3×10^4 尾/ m^3 , 水温24.5~29.2℃, 海水盐度28.8~33.5, pH 7.5

收稿日期: 2005-08-15; 修订日期: 2005-12-26.

基金项目: 国家海洋“863”项目(2003AA603011); 国家“十五”科技攻关计划项目(2004BA526B0118); 广东省重大科技兴海项目(A2000A02); 教育部重点科学技术项目(02156); 广东省科技计划项目(2001A3050201).

作者简介: 张海发(1973-), 男, 高级工程师, 博士, 主要从事海水鱼类繁殖生理生态研究. Tel: 0752-5577234, E-mail: zhaihaifa812@hotmail.com

通讯作者: 林浩然. E-mail: ls32@msu.edu.cn

~8.5。放苗时育苗池中水位只需达到1/2即可,同时加入 50×10^4 /mL的小球藻液。育苗的前10天基本不换水,每天只需适量补充小球藻和添加少量新鲜海水。10 d之后开始换水,最初日换水量为10%,以后逐渐加大,至仔鱼培育后期日换水量要达到80%~100%。10 d之后视池底干净程度及时吸污。

仔鱼的开口饵料为S-S轮虫,随着仔稚鱼的生长,以后逐渐投喂L-S轮虫、桡足类和枝角类、卤虫幼体、蒙古裸腹溞、鱼糜及配合饲料等。

1.3 标本的取样和观察

胚胎发育观察在Olympus生物显微镜下进行,详细记录时间及各个发育时期的主要形态特征,同时进行显微摄影。鉴于斜带石斑鱼在仔稚鱼培育阶段个体生长发育差异太大,此次实验用作仔稚鱼形态观察和生长测定的样品每天在同一育苗池中取发

育最快的个体,用8%~10%的福尔马林固定。幼鱼阶段则每隔10~15天取样观察。1~5 d的仔鱼在生物显微镜下观察和拍摄;6~20 d的仔稚鱼在解剖镜下观察和拍摄;20 d以后的鱼直接用数码相机近距离拍摄。生长测定在万能投影仪(profile projector)下进行,每次测量20尾,所测指标包括全长、体高、第二背鳍棘长、腹鳍棘长,详细记录腹鳍棘和第二背鳍棘上的小刺数。

2 结果

2.1 胚胎发育

斜带石斑鱼受精卵(图版I-1)在 $(25 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 、盐度31.0的海水中培育,历时28 h 30 min(已有50%的仔鱼孵出)完成整个胚胎发育过程,进入胚后发育阶段(表1)。

表1 斜带石斑鱼胚胎发育过程

Tab.1 Embryonic development schedule of *Epinephelus coioides*

受精后时间 Time after fertilization	胚胎发育时期 Stage of embryonic development	主要发育特征 Developmental character	图版 Plate
0	受精卵 Fertilized egg		I-1
26 min	胚盘隆起 Blastodisc formation	胚盘形成	I-2
43 min	2细胞期 2-cell stage	第1次分裂	I-3
56 min	4细胞期 4-cell stage	第2次分裂,分裂面与第1次垂直	I-4
1 h 10 min	8细胞期 8-cell stage	第3次分裂,分裂面与第1次平行	I-5
1 h 27 min	16细胞期 16-cell stage	第4次分裂,分裂面与第1次垂直	I-6
1 h 47 min	32细胞期 32-cell stage	完成第5次分裂,形成32细胞	I-7
2 h 18 min	64细胞期 64-cell stage	分裂面开始紊乱	I-8
2 h 40 min	多细胞期 Multi-cell stage	细胞变小并开始重叠	I-9
3 h 11 min	桑葚期 Morula	细胞变得更小,细胞团与桑葚球非常相似	I-10
3 h 32 min	高囊胚 High blastula	囊胚高而集中,呈高帽状	I-11
5 h 42 min	低囊胚 Low blastula	囊胚变低	I-12
6 h 54 min	原肠早期 Early gastrula	背面观可见胚环,侧面可见胚盾已形成	I-13, I-14
9 h 44 min	原肠中期 Middle gastrula	胚层下包卵黄1/2	I-15
10 h 45 min	原肠末期 Late gastrula	胚层下包卵黄3/4,胚盾变得细长	II-1
11 h 52 min	胚体形成期 Embryo body stage	胚体已轮廓清晰	II-2
13 h 15 min	胚孔封闭期 Closure of blastopore	胚层下包,胚孔将封闭	II-3, II-4
14 h 15 min	视囊形成期 Optic capsule stage	胚体头部出现1对视囊	II-5
14 h 40 min	肌节出现期 Muscle burl stage	胚体中部出现3对肌节	II-6
16 h 20 min	听囊形成期 Otocyst stage	视囊靠后位置出现1对听囊	II-7
17 h 30 min	脑泡形成期 Brain vesicle stage	两视囊中间位置出现板状脑泡,尚未分室	II-8
18 h 40 min	心脏形成期 Heart stage	心脏、脊索轮廓清晰	II-9
22 h 20 min	尾芽期 Tail-bud stage	尾芽开始与卵黄囊分离	II-10
23 h 30 min	晶体形成期 Crystal stage	晶体轮廓清晰,胚体开始无规则颤动	II-11
24 h 25 min	心脏跳动期 Heart-beating stage	心脏开始跳动	II-12
27 h 40 min	将孵期 Pre-hatching stage	胚体的抽动更频繁、有力	II-13
28 h 20 min	孵化期 Hatching stage		II-14
28 h 30 min	初孵仔鱼 Newly hatched larvae		II-15

2.1.1 卵裂期 与其他海水鱼类一样,斜带石斑鱼的卵裂方式属于盘状卵裂。受精后 26 min,在卵子的动物极开始出现胚盘隆起(图版 I-2);受精后 43 min 开始第 1 次卵裂,分裂面与胚盘底面垂直,形成大小相等的 2 个椭圆形细胞(图版 I-3);受精后 56 min,在与第 1 次卵裂面的垂直线上出现纵沟,使每个卵裂球均等地一分为二,完成第 2 次卵裂,进入 4 细胞期(图版 I-4);受精后 1 h 10 min 开始第 3 次卵裂,卵裂时出现 2 个分裂面,且都与第 1 次分裂面平行,形成两排排列的 8 个细胞,靠内排列的 4 个细胞由于受到挤压而个体变小(图版 I-5);受精后 1 h 27 min,发生第 4 次卵裂,卵裂时还是出现 2 个分裂面,且都与第 2 次分裂面平行,形成均匀排列的 4 排共 16 个细胞(图版 I-6);受精后 1 h 47 min,发生第 5 次卵裂,从这次卵裂起,分裂面开始失去规则,感观上很难分辨细胞是垂直分裂还是平行分裂。分裂完成后,细胞排列不甚规则;另外从这次卵裂起,细胞分裂开始变得不同步,靠外缘的细胞先分裂,靠内缘的细胞后分裂。此次分裂完成后,显微镜下 32 个细胞可数,但细胞之间的界限即分裂痕开始变得有些模糊(图版 I-7);受精后 2 h 18 min,发生第 6 次卵裂,共产生 64 个细胞,细胞排列不规则,且大小不均等,细胞形状也不尽相同,细胞在胚盘层面开始出现重叠现象(图版 I-8);在受精后 2 h 40 min,细胞明显变小,整个细胞团仍呈方形轮廓,进入多细胞期(图版 I-9);在受精后 3 h 11 min,细胞变得更小,细胞界限更加难以分辨,细胞呈球状,细胞团轮廓已渐趋圆形,与桑葚球形状非常相似,此时已进入桑葚期胚胎(图版 I-10)。

2.1.2 囊胚期 受精后 3 h 32 min,随着卵裂继续进行,细胞数目及细胞层次不断增加,胚盘与卵黄之间形成囊胚腔,囊胚中部明显地向上隆起,呈高帽状,此时进入高囊胚期(图版 I-11);此后,囊胚隆起部分逐渐变低,受精后 5 h 42 min,囊胚隆起变得最低,胚盘已逐渐向扁平方向发展,细胞也进一步变小变多,此时为低囊胚期(图版 I-12)。

2.1.3 原肠胚期 在囊胚期之后,胚胎的发育进入原肠胚期。在囊胚阶段后期,囊胚边缘的细胞增多,这些胚层细胞逐渐向植物极方向迁移、延伸和下巴,在此过程中,边缘部的细胞运动缓慢并向内卷,受精后 6 h 54 min,卵黄被胚层下巴了 1/4,此时背面观可见边缘细胞内卷而形成明显的环状胚环(图版 I-13)、侧面观可见胚层顶端已形成一个新月形的

胚盾(图版 I-14),进入原肠早期;受精后 9 h 44 min,胚层下巴卵黄 1/2,进入原肠中期(图版 I-15);受精后 10 h 45 min,胚层下巴卵黄 3/4,胚盾逐渐延伸,变得细长,前端稍大,发育至原肠晚期(图版 II-1)。

2.1.4 神经胚期 受精后 11 h 52 min 胚体背面增厚,形成神经板,在显微镜下,神经板折光性较强,中央线内有 1 条圆柱状脊索,胚体雏形已现,进入胚体形成期(图版 II-2);受精后 13 h 15 min,胚环逐渐下巴收缩成小圆孔即胚孔,稍后即封闭,进入胚孔封闭期(图版 II-3,4)。

2.1.5 器官形成期 受精后 14 h 15 min,在胚体前端两侧出现 1 对视囊(图版 II-5);受精后 14 h 40 min,胚体中部出现 3 对肌节,视囊轮廓变得更加清晰(图版 II-6);受精后 16 h 20 min,胚体头部在视囊靠后位置出现 1 对比视囊稍小的听囊,肌节已增加到 6~8 对(图版 II-7);受精后 17 h 30 min,胚体头部背面 2 个视囊中间出现椭圆形板状脑泡,脑泡还未分室,肌节增加到 10 对(图版 II-8);受精后 18 h 40 min,心脏已形成,脊索内神经管清晰可见,肌节 12 对(图版 II-9);受精后 22 h 20 min,胚体背腹两处逐渐形成鳍褶,胚体尾部少部分与卵黄囊分离,这时尾鳍褶可见(图版 II-10);受精后 23 h 30 min,视囊内可见折光性强的晶体,胚体开始间歇抽动,同时,听囊内已形成折光性强的透明状晶体耳石(图版 II-11);受精后 24 h 25 min,心脏开始跳动,搏动频率约 60 次/min,此时晶体、耳石、脊索内神经管已变得更加清晰(图版 II-12);受精后 27 h 40 min,胚体的抽动更频繁、有力,有时出现剧烈的连续抽动(图版 II-13);受精后 28 h 20 min,部分仔鱼开始孵出,孵化时,胚体头部先破膜伸出,然后尾部不断摆动,脱去卵膜(图版 II-14);受精后 28 h 30 min,已有超过半数的仔鱼孵出,初孵仔鱼全长 (1.78 ± 0.07) mm,腹部带有 1 个大的椭圆形卵黄囊[长径 (0.96 ± 0.09) mm、短径 (0.83 ± 0.10) mm],卵黄囊后端有 1 个直径 (0.20 ± 0.01) mm 的油球,此时仔鱼腹部朝上,悬浮于水面,无游泳能力(图版 II-15)。

2.2 仔稚幼鱼形态发育

2.2.1 卵黄囊期或早期仔鱼 从初孵到卵黄囊消失。

刚孵化的仔鱼:悬浮于水体表层,仅尾部有颤动,无游泳能力,全身透明,没有色素细胞。靠身体

前部有1个大的椭圆形卵黄囊。油球位于卵黄囊的后端,圆形。消化道为直管形状,末端呈90°弯曲,尚未与外相通。脊索稍弯曲。背、腹及尾部有较窄的鳍褶,无色透明(图版Ⅱ-15)。

1 d 仔鱼:身体变得细长,头部增大,背部稍隆起,脊索伸直,身体仍透明。卵黄囊已显著缩小,油球变化较小,仍位于卵黄囊的后端。紧贴消化道末端可见一椭圆形的膀胱。尾鳍、背鳍、腹鳍褶增高,尾鳍褶出现一些放射状小丝。此时仔鱼在培育池表层均匀分布,置于烧杯中观察,仔鱼浮于水上层,大部分个体平卧水面,腹部朝上,少量个体头部斜上(图版Ⅲ-1)。

2 d 仔鱼:卵黄囊和油球持续显著缩小。身体仍透明。眼球开始有少量黑色素沉积。胸鳍芽基出现,背面观呈“耳”状。此时的仔鱼多数是倒立状态悬浮于水中、上层,偶尔作间歇运动(图版Ⅲ-2)。

3 d 仔鱼:身体仍透明,生长缓慢,全长出现负增长现象。卵黄囊和油球已消耗大部分。口裂已形成,上下颌偶做张合运动。胃肠道明显膨胀,呈葫芦形,肛门已开口于体外。在消化道中央上方位置出现分枝状黑色素沉积,肉眼观察可见一黑点。眼部黑色素增加,视觉形成。胸鳍进一步发育,呈叶状。此时大部分仔鱼能平游,倒立悬浮现象已很少。仔鱼已开口摄食,但主动摄食能力差(图版Ⅲ-3)。

2.2.2 晚期仔鱼 从卵黄囊消失到各鳍基本形成、腹鳍和第二背鳍绝对长度长到仔稚鱼阶段最大值、鳞片出现和体色开始形成之前。

4 d 仔鱼:有2/3仔鱼的卵黄囊和1/3仔鱼的油球已消失。体透明,眼球乌黑。消化道中央上方位置分枝状黑色素颜色加深,背部脊索上方出现淡黄色斑痕,尾部脊索下方出现3至4条放射状黑色素。此时仔鱼对S-S型轮虫的摄食发生率大约为50%(图版Ⅲ-4)。至第5天,所有仔鱼的卵黄囊和油球均已完全消失。胸鳍条出现。仔鱼开始集群活动,逐渐向池角、池边集群。

6 d 仔鱼:尾柄稍靠前位置出现分枝状黑色素(图版Ⅲ-5)。

9 d 仔鱼:腹、背鳍棘原基开始形成,背鳍棘原基发育较慢,尾鳍鳍条出现。胸鳍和尾鳍进一步发育,呈扇形。仔鱼在育苗池中成群活动,喜聚集于池角和池边沿(图版Ⅲ-6)。至第10天,腹鳍棘和第二背鳍棘已经长出。

13 d 仔鱼:1对腹鳍棘和第二背鳍棘显著增长

成为3根长棘,长棘末端开始出现黑色素。第一背鳍棘原基出现(图版Ⅲ-7)。至第14天,第一背鳍棘长出,但很短,与第二背鳍棘长度相差悬殊。眼眶上缘出现1枚小棘。至第15天,第三背鳍棘原基出现(图版Ⅲ-8)。

18 d 仔鱼:第三及第四背鳍棘已经长出,其他背鳍棘原基已出现。臀鳍鳍条出现。尾鳍进一步发育,尾椎开始向上弯曲。腹鳍棘和第二背鳍棘与全长的相对长度达到仔稚鱼阶段的最大值(图1),分别为48.72%和45.05%。第二背鳍棘的增长速度加快,长度已经超过腹鳍棘。前侧盖骨后缘有2枚小棘,主侧盖骨后缘有一长棘(图版Ⅲ-9)。

20 d 仔鱼:背鳍已长出4~6条棘,臀鳍开始长出第一根棘,胸鳍与尾鳍也进一步发育,鳍条已清晰可见。尾椎向上弯曲很明显。至第22天,背鳍已长出8~10条棘,后面长出的棘还很短,与前面的棘长度相差甚远;臀鳍开始长出第二根棘。前侧盖骨后缘长出5枚小棘,主侧盖骨后缘长出2枚小棘,其中1枚很长。在身体的头部眼后缘、尾柄处开始出现色斑(图版Ⅲ-10)。

25 d 仔鱼:背鳍已能观察到9~10根棘,后面长出的棘长度仍很短;臀鳍还只能观察到2根棘。背鳍基部两侧均匀分布着星状黑色素斑。尾椎向上弯曲仍很明显(图版Ⅲ-11)。

30 d 仔鱼:背鳍已能观察到10~11根棘,后面长出的棘长度仍较短;臀鳍已能观察到3根棘。背鳍基部黑色素斑逐渐向鱼体两侧延伸。尾椎向上弯曲现象开始变得不那么明显。至此,仔鱼各鳍已基本形成,背鳍Ⅹ~Ⅺ,14~16;腹鳍Ⅰ,5;臀鳍Ⅲ,8;胸鳍18~19;尾鳍16~17(图版Ⅲ-12)。

35 d 仔鱼:腹鳍棘和第二背鳍棘绝对长度达到仔稚鱼阶段的最大值(图2)。鱼体头侧部、背鳍基部、尾柄部色斑增多并逐渐集中,在头部眼后缘形成2条射线状斑纹,背鳍基部形成4段斑纹,并由背鳍基部开始逐渐向身体两侧延伸(图版Ⅲ-13)。

2.2.3 稚鱼 从腹鳍棘和第二背鳍棘开始与其他鳍棘、鳍条相对长度变小、棘上的小刺数目急剧减少至完全消失、鳞片出现到全身披鳞。

36~41 d 稚鱼:从第36天开始,腹鳍棘和第二背鳍棘绝对长度变小(图2),开始缩小生长的进程,同时这3根棘上的小刺也逐渐收回,小刺数量急剧变少(图3)。在身体两侧体表开始长出鳞片(显微镜下可见到体表散布一些折光性很强的点状突

起),此后逐渐扩展至鱼体全身披鳞。背鳍基部斑纹继续向身体两侧延伸,颜色逐渐加深形成斑带。此时期的稚鱼开始栖息于池底,寻找遮蔽物,已具备与幼鱼相似的特征(图版Ⅲ-14)。

2.2.4 幼鱼 从腹鳍棘和第二背鳍棘绝对长度收缩到稚幼鱼阶段的最小值、以及这3根鳍棘上的小刺已消失、鳞片长齐即开始进入幼鱼阶段。

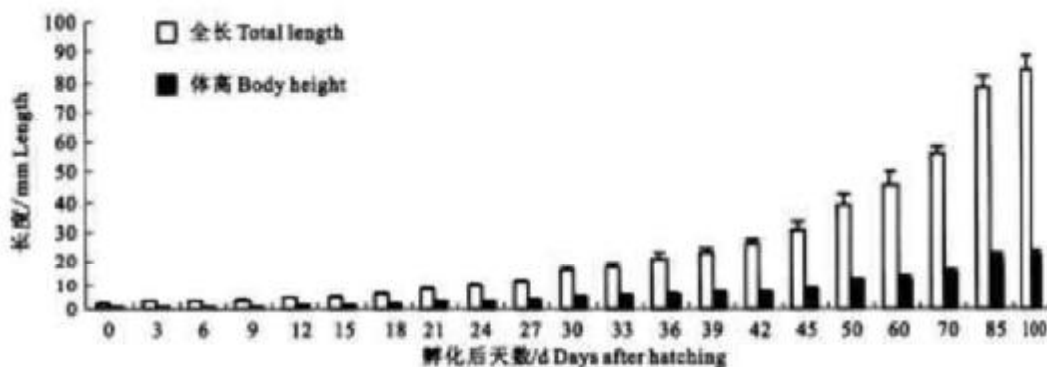


图1 斜带石斑鱼仔稚幼鱼的生长

Fig.1 Growth of larvae, juveniles, young fish of *Epinephelus coioides*

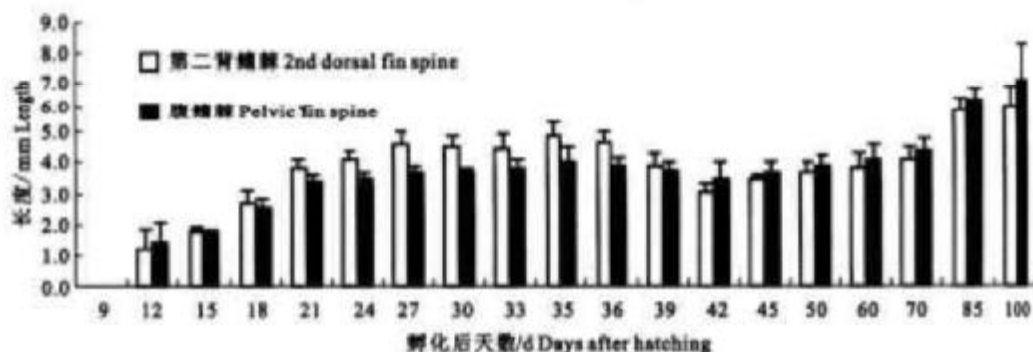


图2 腹鳍棘和第二背鳍棘长度的变化

Fig.2 Changes of the length of pelvic fin spine and 2nd dorsal fin spine

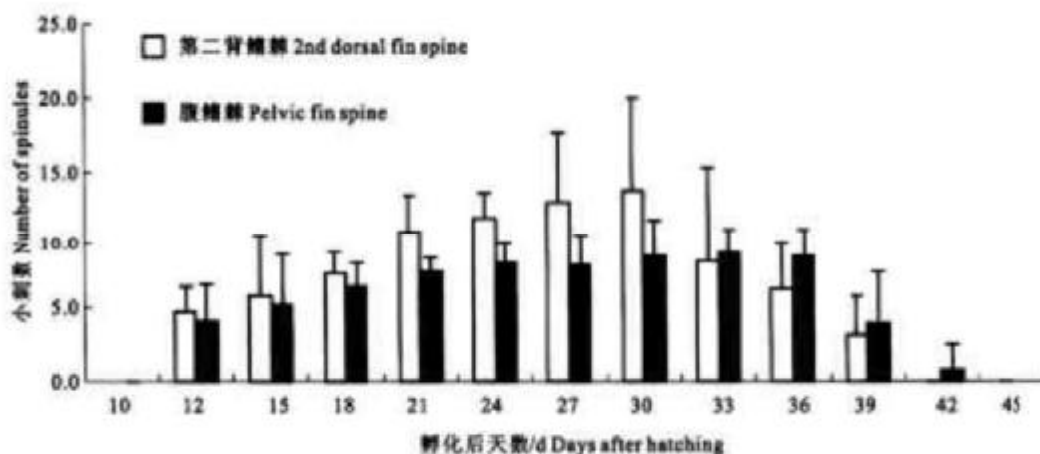


图3 腹鳍棘和第二背鳍棘长小刺数目的变化

Fig.3 Changes of the spinule number of pelvic fin spine and 2nd dorsal fin spine

42 d 幼鱼:腹鳍和第二背鳍长度已收缩到稚幼鱼阶段的最小值,分别为 (3.07 ± 0.27) mm 和 (3.47 ± 0.55) mm,这 3 根鳍上的小刺也消失从而变得光滑。鳞片已完全长齐,侧线明显,身体两侧可见 5 条不规则的由棕黑色斑块组成的斜带。体色及形态特征与成鱼相似(图版 III-15)。腹鳍和第二背鳍收缩完成并开始恢复正常生长。进入幼鱼阶段,腹鳍的长度又重新超过第二背鳍。

2.3 仔稚幼鱼腹鳍和第二背鳍的生长变化

斜带石斑鱼仔稚幼鱼发育过程中最明显的变化是腹鳍(1对)和第二背鳍(1条)的长出与收回,这一动态过程的详细资料见图 2、3、4。腹鳍和第二背鳍原基在孵化后 9~10 天出现,在孵化后 10~11 天长出鳍棘。鳍棘发育早期腹鳍发育较快,但第二背鳍长出后生长速度超过腹鳍,至第 18 天,长度超过腹鳍。此后在仔稚鱼完成变态前,第二背鳍长度一直超过腹鳍。在稚鱼完成变态

时,第二背鳍收缩幅度大于腹鳍,导致进入幼鱼阶段后,腹鳍长度又重新并保持一直超过第二背鳍。腹鳍和第二背鳍长度在孵化后 10~27 天增长快速,28~35 天增长平缓,中间略有起伏,36~41 天处于收缩状态,42~100 天又重新增长;仔稚鱼腹鳍和第二背鳍绝对长度在孵化后 35 天达到仔稚鱼阶段的最高值,分别为 (4.89 ± 0.47) mm、 (4.03 ± 0.49) mm,在孵化后 42 天收缩到稚幼鱼阶段的最低值,分别为 (3.07 ± 0.27) mm 和 (3.47 ± 0.55) mm;而相对长度(与全长相比)在孵化后 18 天达到仔稚鱼阶段的最高值,分别为 48.72% 和 45.05%,之后的仔稚鱼直至 70 天之前的幼鱼,腹鳍和第二背鳍与全长的相对长度一直呈下降趋势,70 d 之后的幼鱼,腹鳍和第二背鳍与全长的相对长度基本维持在较恒定的范围,分别为 8%~9% 和 7%~8% (图 4)。

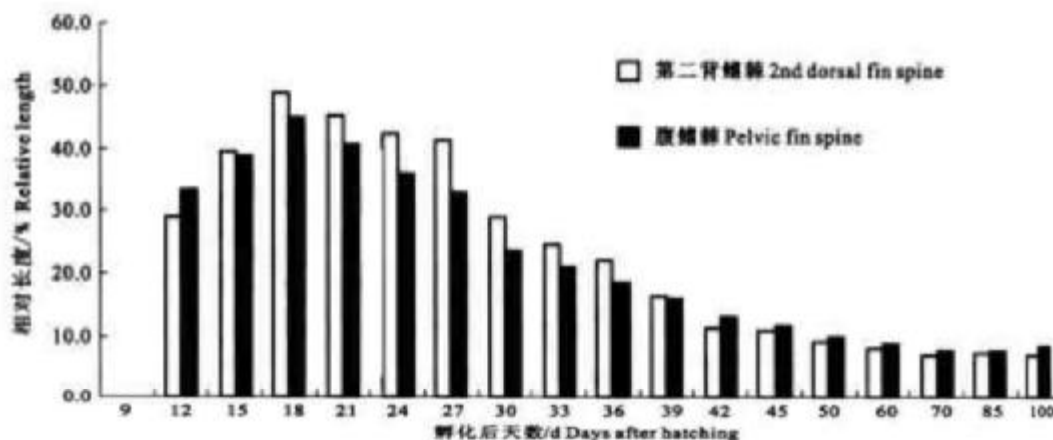


图 4 腹鳍和第二背鳍相对长度的变化

Fig. 4 Changes of relative length of pelvic fin spine and 2nd dorsal fin spine

3 讨论

3.1 斜带石斑鱼的胚胎发育

根据实验观察的结果,可以将斜带石斑鱼的胚胎发育划分为卵裂期、囊胚期、原肠胚期、神经胚期和器官形成期。本次实验观察共描述了斜带石斑鱼胚胎发育全过程的 28 个具体发育时期的形态特征和发育时间。实验中从卵裂期到神经胚阶段的观察结果与其他石斑鱼类^[11-13]所报道的结果基本一致,但在器官形成阶段的观察结果则与其他文献所报道的结果有较大出入,主要区别在于所描述的内

容及某些器官发育的先后顺序。如陈国华^[11]对点带石斑鱼器官形成阶段的描述是:眼泡形成期→视杯期→听囊形成期→尾芽出现期→晶体形成期→嗅囊形成期→肌肉效应期→心跳期;同样是点带石斑鱼,邹记兴^[12]对器官形成阶段的不同描述是:神经胚期→脑泡形成期→视囊形成期→嗅板形成期→尾芽期→听囊形成期→心肝形成期→鳍褶形成期→肌肉效应期。刘付永忠^[13]对赤点石斑鱼器官形成阶段描述如下:肌节与视泡出现→晶体形成→心脏分化→尾部与卵黄囊分离。本次实验对斜带石斑鱼器官形成阶段的观察结果是:视囊形成期→肌节出现

期→听囊形成期→脑泡形成期→心脏形成期→尾芽期→晶体形成期→心脏跳动期→将孵期。与以上文献报道的结果相比,斜带石斑鱼脑泡及尾芽发育的时间有所滞后;另外,斜带石斑鱼肌肉开始颤动的时间与晶体形成的时间重叠,所以文中没有再对肌肉效应期作专门描述。对石斑鱼胚胎发育中器官形成阶段的描述上的差异,作者认为有2个原因,(1)不同鱼类胚胎发育特征不同;(2)还存在着不同学者观察侧重点及主观判断不一致的因素。

3.2 斜带石斑鱼早期形态发育与阶段划分

参照国内外石斑鱼生长发育分期的划分方法^[14-16],结合本研究的形态观察及各项生长指标统计分析结果,将斜带石斑鱼的早期生活史分为胚胎发育和胚后发育。与其他海水硬骨鱼类相同,斜带石斑鱼的胚胎发育按发育顺序可以分为卵裂期、囊胚期、原肠胚期、神经胚期和器官形成期。胚后发育主要根据卵黄囊、腹鳍棘和第二背鳍棘、鳞片、体色的变化分为仔鱼期、稚鱼期、幼鱼期。

(1)仔鱼期分为前期仔鱼(卵黄囊期仔鱼)和后期仔鱼。从仔鱼出膜后至卵黄囊消失前为前期仔鱼,持续的时间很短,一般只有3~4 d,这一时期的识别标志是卵黄囊的存在。后期仔鱼则经历了一段较漫长的发育过程。从仔鱼开口摄食,经历了腹鳍棘和第二背鳍棘的长出及伸长,尾椎向上弯曲,各鳍的发育,至各鳍基本形成、腹鳍棘和第二背鳍棘绝对长度达到早期发育阶段最大值、鳞片长出、体色及斑纹形成之前为后期仔鱼。这一时期的识别标志是卵黄囊已消失、身体透明、腹鳍棘和第二背鳍棘的长出及伸长。后期仔鱼结束的标志国内外学者有不同的观点:陈国华^[14]认为鳍基本形成为后期仔鱼结束的标志;王涵生^[15]把发育到第17天(背鳍棘与全长之比例接近50%,为发育期最高值)的赤点石斑鱼开始纳入稚鱼的范畴;邹记兴^[16]认为点带石斑鱼仔鱼的腹、背鳍棘开始收缩,鳞片长出前为后期仔鱼结束的标志。通过观察和数据统计分析发现,斜带石斑鱼各鳍基本形成(各鳍鳍棘和鳍条数目与成鱼相同)的时间是第30天,但此时各鳍发育仍不完善,如背鳍第7~11根鳍棘长度还很短,也就是说此时各鳍仍处于生长发育状态,至第36天,除3根长棘外,各鳍形状已与幼鱼基本相同;鳞片开始长出的时间为第36天;腹鳍棘和第二背鳍棘相对长度在孵化后18 d达到发育期最大值,而绝对长度在35 d达到早期发育阶段最大值;35 d后腹鳍棘和第二背鳍棘上

的小刺数目急剧减少。由此作者认为将各鳍基本形成、腹鳍棘和第二背鳍棘开始收缩以及鳍棘上小刺数目急剧减少、鳞片开始长出作为结束仔鱼期进入稚鱼期的标志,这与邹记兴^[16]对点带石斑鱼仔鱼的划分方法较一致。

(2)稚鱼期:是由仔鱼到幼鱼的发育过渡时期,主要完成仔鱼到幼鱼的变态过程。稚鱼期实质上就是生产实践中通称的变态期。这期间腹鳍棘和第二背鳍棘开始收缩以及鳍棘上小刺数目急剧减少、鳞片长出、体色及斑纹出现开始,至腹鳍棘和第二背鳍棘绝对长度收缩到早期发育阶段最低值以及鳍棘上的小刺完全消失、鳞片长齐、体色及斑纹形成结束。其形态识别标志为腹鳍棘和第二背鳍棘收缩以及鳍棘上小刺数目急剧减少、鳞片生长、体色及斑纹形成。

(3)幼鱼期,该期鱼苗全身覆盖鳞片、腹鳍棘长度重新超过第二背鳍棘、鳍棘光滑无刺,除生殖腺尚未发育成熟外,其形态、体色及身体斑纹等方面都类似于成鱼,所以这一时期的识别标志为鳞片长齐、腹鳍棘长度大于第二背鳍棘、鳍棘光滑无刺、性腺尚未成熟的鱼。

在动物的生长发育过程中经常观察到一些器官的出现然后消失的过程,比如蝌蚪尾巴的缩短消失,目前普遍认为这是一种细胞凋亡现象。有趣的是,斜带石斑鱼早期发育中,腹鳍棘和第二背鳍棘也经历了出现、伸长,然后吸收缩短的动态过程。关于这一过程的细胞凋亡机制,有待进一步研究。

参考文献:

- [1] Kohno H. Why is grouper larval rearing difficult? An approach from the development of the feeding apparatus in early stage larvae of the grouper, *E. coioides* [J]. *Ichthyological Research*, 1997, 44(3): 267-274.
- [2] 吴金英, 林浩然. 斜带石斑鱼消化系统胚胎发育的组织学研究[J]. *水产学报*, 2003, 27(1): 7-12.
- [3] De Jesus E G T, Toledo J D, Simpas M S. Thyroid hormones promote early metamorphosis in grouper (*Epinephelus coioides*) larvae [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 1998, 112: 10-16.
- [4] 肖雪琴, 李文笙, 林浩然. 甲状腺素和生长激素与斜带石斑鱼早期个体发育的关系[J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2003, 42(4): 74-78.
- [5] Lee S T L, Kame D E, Lam T J, et al. Synthesis of 17,20 α / β -dihydroxy-4-pregnen-3-one and 5 β -pregnenes in spermatocytes of primary and 17 α -methyltestosterone-induced secondary male grouper, *E. coioides* [J]. *Gen Comp Endocrinol*, 1998, 112(1): 1-9.
- [6] 刘付永忠, 王云新, 黄国光. 斜带石斑鱼亲鱼强化培育及自然产

- 卵研究[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2000, 39(6): 81-85.
- [7] 赵会宏, 刘晓春, 林浩然. 斜带石斑鱼精子超微结构及盐度、温度、pH对精子活力及寿命的影响[J]. 中国水产科学, 2003, 10(4): 286-292.
- [8] 张海发, 刘晓春, 林浩然. 斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)仔鱼摄食节律及日摄食量的研究[J]. 水产学报, 2004, 28(6): 669-674.
- [9] 周仁杰, 林 博. 斜带石斑鱼人工育苗技术试验[J]. 台湾海峡, 2002, 21(1): 57-62.
- [10] 王云新, 黄国光, 刘付永忠. 斜带石斑鱼人工育苗试验[J]. 渔业现代化, 2003, 6: 14-15.
- [11] 陈国华, 张 本. 点带石斑鱼亲鱼培育、产卵和孵化的试验研究[J]. 海洋与湖沼, 2001, 32(4): 428-435.
- [12] 邹记兴, 曹 林, 向文洲. 点带石斑鱼的亲鱼培育、产卵受精和胚胎发育[J]. 水生生物学报, 2003, 27(4): 378-384.
- [13] 刘付永忠, 王云新, 黄国光. 自然产卵的赤点石斑鱼胚胎及仔鱼形态发育研究[J]. 中山大学学报(自然科学版), 2001, 40(1): 81-84.
- [14] 陈国华, 张 本. 点带石斑鱼仔、稚、幼鱼的形态观察[J]. 海南大学学报(自然科学版), 2001, 19(22): 151-156.
- [15] 王毓生, 方敬曜, 郑乐云. 赤点石斑鱼仔稚幼鱼的形态发育和生长[J]. 上海水产大学学报, 2001, 10(4): 307-312.
- [16] 邹记兴, 向文洲, 胡超群. 点带石斑鱼仔、稚、幼鱼的生长与发育[J]. 高技术通讯, 2003, 13(4): 77-84.

Embryonic development, morphological development of larva, juvenile and young fish of *Epinephelus coioides*

ZHANG Hai-fa^{1,2}, LIU Xiao-chun¹, LIUFU Yong-zhong^{1,2}, WANG Yun-xing², LIN Li², HUANG Guo-guang², SHU Hu¹, LOU Guo-wu², LIN Hao-ran¹

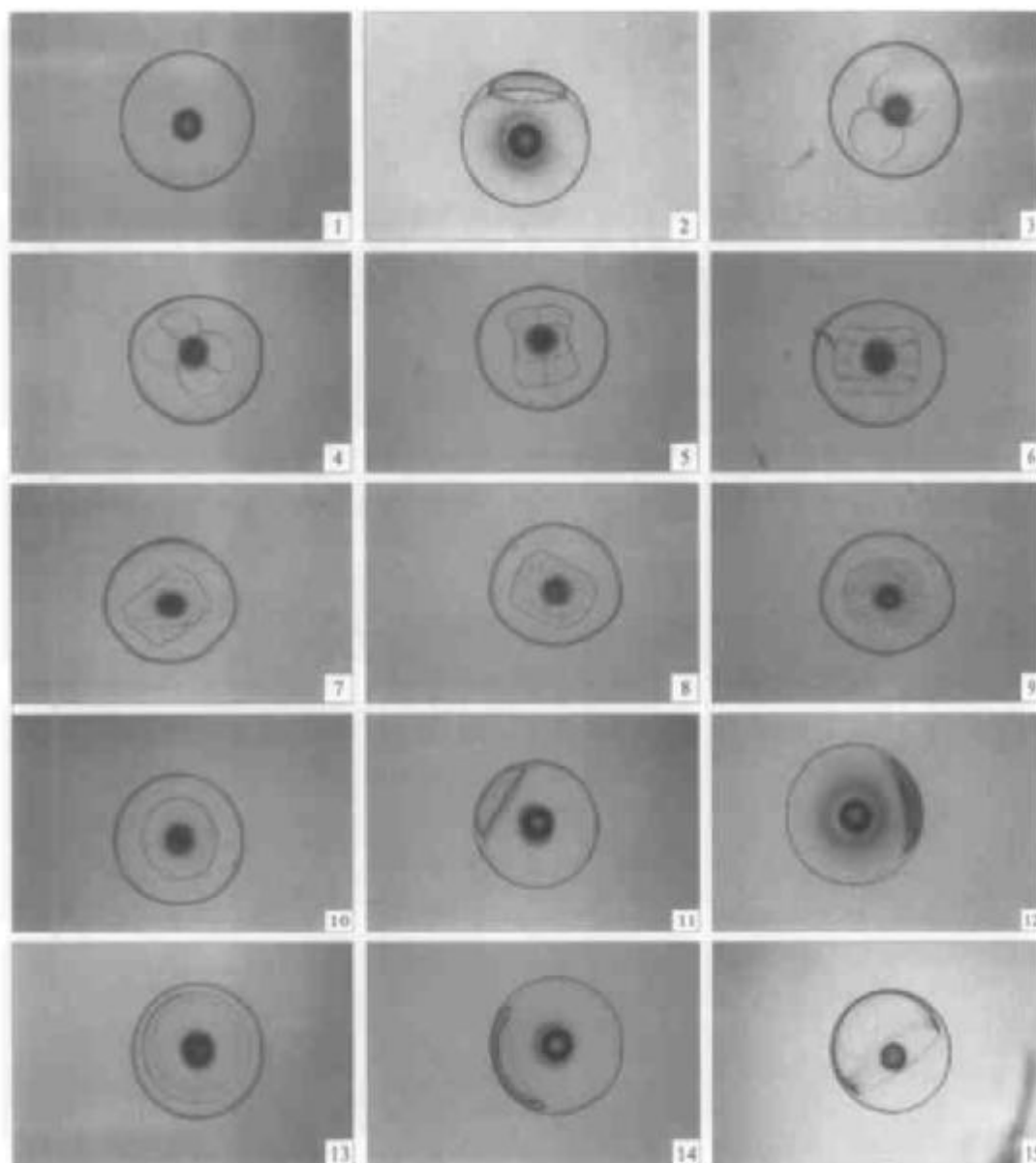
(1. Institute of Aquatic Economic Animals and Key Laboratory of Guangdong province For Aquatic Economic Animals, SUN YAT-SEN University, Guangzhou, 510275; 2. Guangdong Daya Bay Fisheries Development Center, Huizhou, 516081)

Abstract: The culture of grouper is a lucrative enterprise in southern China because of the growing demand for it in the local and international markets. *Epinephelus coioides*, is a common and commercially important serranid fish and spawns readily in captivity. However, larval survival rate at the completion of metamorphosis is low. In order to improve larval survival rate, more detailed information on early larval development is needed to improve rearing techniques. The development of the technique should be based on the intensive biological research on the larval stage, and controlling their early life history with more intense care. The embryonic development, morphological development of larva, juvenile and young fish of orange-spotted grouper *Epinephelus coioides* are dealt with in this paper. The morphological features and the developmental time of 28 embryonic developmental stages were described in great detail from fertilization to hatching. Based on the data obtained, the embryonic development of orange-spotted grouper was divided into five stages, named cleavage stage, blastula stage, gastrula stage, neurula stage as well as organogenesis stage. Under the sea water of temperature (25 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$, salinity 31.0, pH 7.8, it required 28 h 30 min for the orange-spotted grouper embryonic development. The post embryonic development of orange-spotted grouper was divided into larval stage, juvenile stage as well as young fish stage, based on the features of the yolk-sac, pelvic fin spine, second dorsal fin spine, scale and body color. Accordingly, the larval stage was further classified into early larva and late larva, with or without yolk-sac, respectively. After 36 days rearing in the sea water of temperature 24.5-29.2 $^{\circ}\text{C}$, salinity 28.8-33.5, pH 7.5-8.5, the fast growing larvae among the others developed into juveniles; after 42 days, the fast growing juveniles among the others completed metamorphosis and changed into young fish. The extension and shrinkage of the pelvic spine and the second dorsal spine as well as the spinules on aforementioned spines represented the most apparently changes during the post embryonic development of orange-spotted grouper. The larvae behave differently after each of such changes, therefore, the care of the larvae should fit to these differences. [Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13(5): 689-699]

Key words: *Epinephelus coioides*; embryonic development; larva; juvenile; young fish; morphological development

张海发等:斜带石斑鱼胚胎及仔稚幼鱼形态发育

ZHANG Hai-fa et al: Embryonic development, morphological development of larva, juvenile and young fish of *Epinephelus coioides*



图版 I

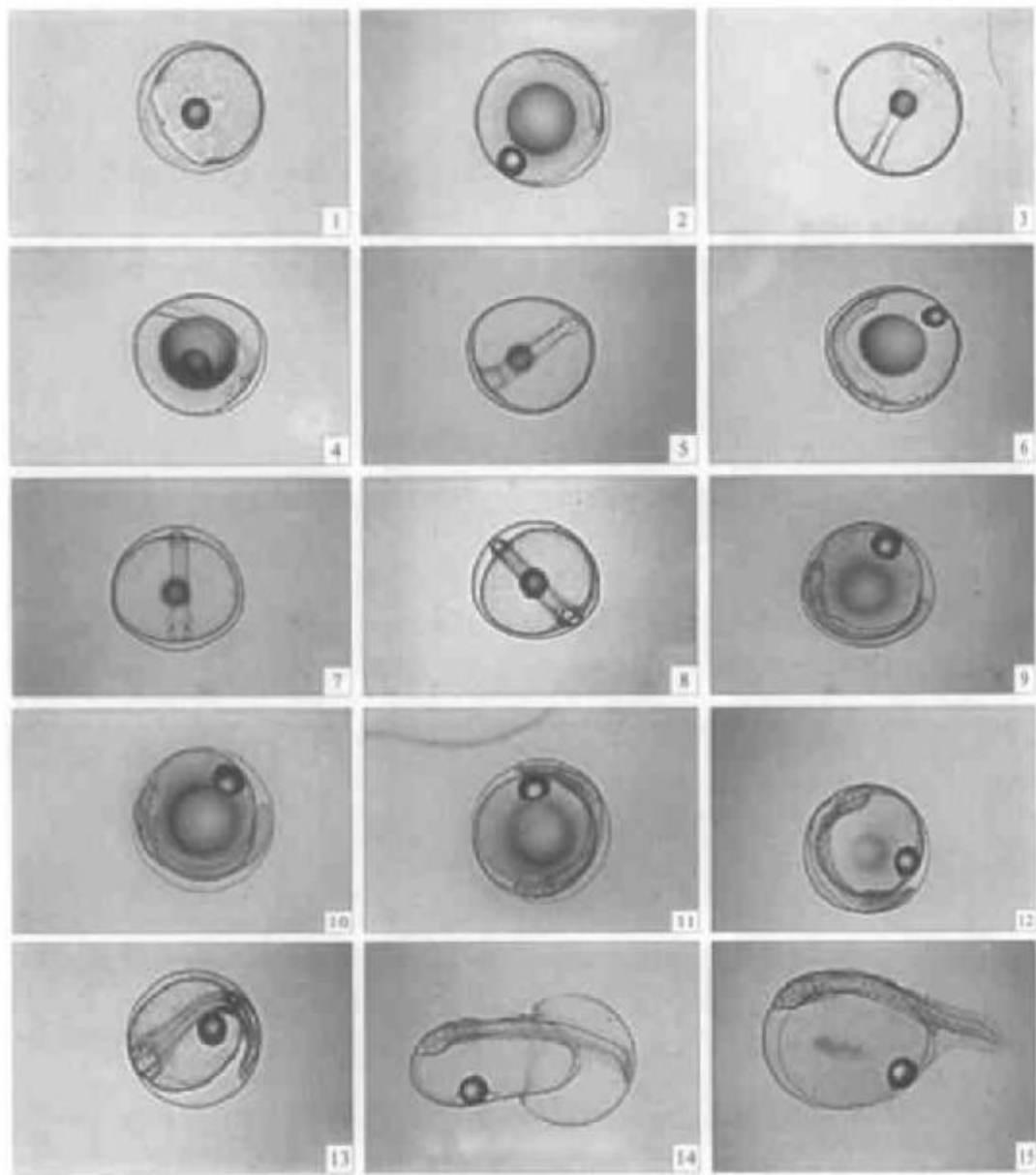
1:受精卵, ×60; 2:胚盘隆起, ×60; 3:2细胞期, ×60; 4:4细胞期, ×60; 5:8细胞期, ×60; 6:16细胞期, ×60; 7:32细胞期, ×60; 8:64细胞期, ×60; 9:多细胞期, ×60; 10:桑葚期, ×60; 11:高囊胚, ×60; 12:低囊胚, ×60; 13:原肠早期(背面), ×60; 14:原肠早期(侧面), ×60; 15:原肠中期, ×60.

Plate I

1: Fertilized egg, ×60; 2: Blastodisc formation, ×60; 3: 2-cell stage, ×60; 4: 4-cell stage, ×60; 5: 8-cell stage, ×60; 6: 16-cell stage, ×60; 7: 32-cell stage, ×60; 8: 64-cell stage, ×60; 9: Multi-cell stage, ×60; 10: Morula, ×60; 11: High blastula, ×60; 12: Low blastula, ×60; 13: Early gastrula (rear), ×60; 14: Early gastrula (profile), ×60; 15: Middle gastrula, ×60.

张海发等:斜带石斑鱼胚胎及仔稚幼鱼形态发育

ZHANG Hai-fa et al: Embryonic development, morphological development of larva, juvenile and young fish of *Epinephelus coioides*



图版 I

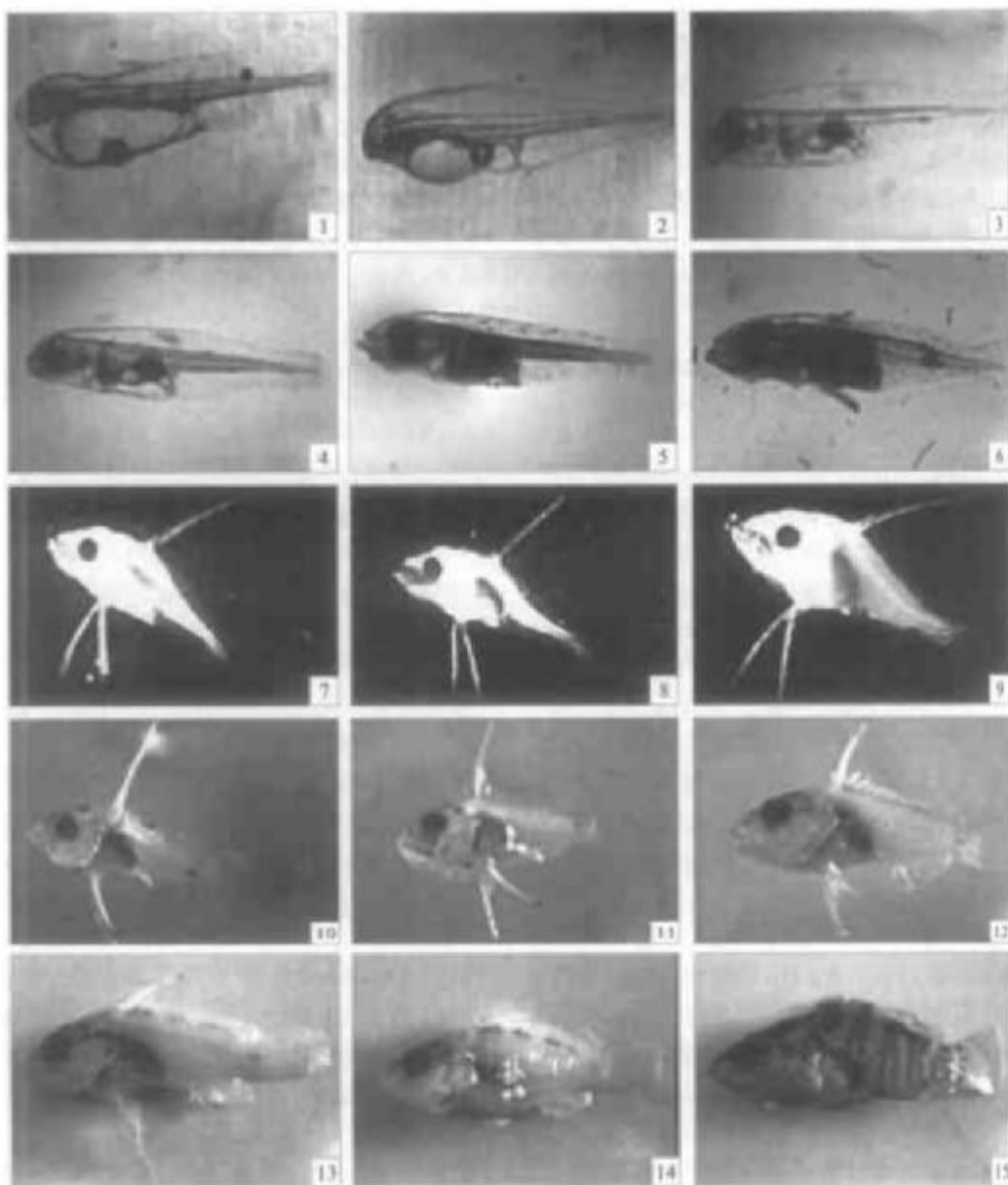
1:原肠末期,×60;2:胚体形成期,×60;3:胚孔将封闭,×60;4:胚孔封闭期,×60;5:视囊形成期,×60;6:肌节出现期,×60;7:听囊形成期,×60;8:脑泡形成期,×60;9:心脏形成期,×60;10:尾芽期,×60;11:晶体形成期,×60;12:心脏跳动期,×60;13:将孵期,×60;14:孵化期,×60;15:初孵仔鱼,×60.

Plate I

1:Late gastrula,×60;2:Embryo body stage,×60;3:Pre-closure of blastopore,×60;4:Closure of blastopore,×60;5:Optic capsule stage,×60;6:Muscle ball stage,×60;7:Otic stage,×60;8:Brain vesicle stage,×60;9:Heart stage,×60;10:Tail-bud stage,×60;11:Crystal stage,×60;12:Heart-beating stage,×60;13:Pre-hatching stage,×60;14:Hatching stage,×60;15:Newly hatched larvae,×60.

张海发等:斜带石斑鱼胚胎及仔稚幼鱼形态发育

ZHANG Hai-fa et al: Embryonic development, morphological development of larva, juvenile and young fish of *Epinephelus coioides*



图版 III

1:1 d 仔鱼, $\times 60$; 2:2 d 仔鱼, $\times 60$; 3:3 d 仔鱼, $\times 60$; 4:4 d 仔鱼, $\times 60$; 5:6 d 仔鱼, $\times 40$; 6:9 d 仔鱼, $\times 20$;
7:13 d 仔鱼, $\times 15$; 8:15 d 仔鱼, $\times 15$; 9:18 d 仔鱼, $\times 10$; 10:22 d 仔鱼, $\times 1$; 11:25 d 仔鱼, $\times 1$; 12:30 d 仔鱼,
 $\times 1$; 13:35 d 仔鱼, $\times 1$; 14:37 d 稚鱼, $\times 1$; 15:42 d 幼鱼, $\times 1$.

Plate III

1:1 d Larva after hatching(DAH), $\times 60$; 2:2 DAH, $\times 60$; 3:3 DAH, $\times 60$; 4:4 DAH, $\times 60$; 5:6 DAH, $\times 40$;
6:9 DAH, $\times 20$; 7:13 DAH, $\times 15$; 8:15 DAH, $\times 15$; 9:18 DAH, $\times 10$; 10:22 DAH, $\times 1$; 11:25 DAH, $\times 1$; 12:30
DAH, $\times 1$; 13:35 DAH, $\times 1$; 14:37 d Juvenile, $\times 1$; 15:42 d Young fish, $\times 1$.