胡子鲇胚胎发育的观察

刘文牛,李勇,肖建光

(华南农业大学 动物科学学院, 广东 广州510642)

摘要: 利用性成熟的胡子鲇通过人工授精方法获得受精卵, 采用光学显微镜观察受精卵胚胎发育的整个过程. 其 发育过程分为: 受精卵、卵裂期、囊胚期、原肠期、神经胚期、尾芽期和孵化期. 整个过程在水温 27.6~30.5 ℃条件 下, 持续 23 h 12 min. 未受精的卵吸水膨胀不明显, 并不产生"附着盘". 卵黄运动在卵裂期过程中逐渐加强. 出膜 过程的启动与头尾的摆动作用无关.

关键词: 胡子鲇; 胚胎发育; 出膜

中图分类号. S917

文献标识码: A

文章编号: 1001-411X (2004) 04-0089-04

Observation on the embryonic development of *Clarias fuscus*

LIU Wen-sheng, LI Yong, XIAO Jian-guang (College of Animal Science, South China Agric, Univ., Guangzhou 510642, China)

Abstract: Fertilized eggs of Clarias fuscus were obtained by induced sprawning. The development of the eggs were observed and studied under the light microscope. The fertilized eggs of Clarias fuscus were transparent and adhesive, orange or green in color, and spheroid in shape. The average diameter of the eggs was 1.8 mm, containing a large quantity of volk. At the water temperature of 27, 6-30.5 °C, the fertilized eggs hatched out after 23 h and 12 min. Yolk movement is important to the embryonic development. The initiation of hatching was found to be not a physical but a bio-chemical effect.

Key words: Clarias fuscus; embryonic development; hatching

胡子鲇 Clarias fuscus 分类学上属鲇形目,胡子鲇 科 Clariidae,胡子鲇属,俗称塘角鱼,塘虱,涂虱[』. 广泛分布干我国长江以南各水体, 其肉质鲜美, 经济 价值及养殖效益较高. 潘炯华[2] 最早对胡子鲇的胚 胎发育和幼鱼的发育各阶段进行划分,对其形态进 行了详细的描述并与蟾胡子鲇 C. barrachus 作了比 较. 朱作言 3] 也较为详细地观察了胡子鲇胚胎发育 过程,提出了卵裂、细胞分化、器官分化3个主要胚 胎发育阶段,并分析了胚胎发育与环境条件的适应 性. 另外,关于脊椎动物胚胎发育的研究有过许多报 道 4.5. 本文进一步详述了胡子鲇胚胎发育阶段的 特征,并利用显微镜拍摄到较为清晰的真实照片进 行报道,为开展胡子鲇的发育生态及人工育种研究 提供准确的生物学资料.

材料与方法 1

胡子鲇 6~8 月份从广州五山市场购买,亲鱼体 质量 150~250 g, 暂养于实验室鱼缸内. 选择性成熟 特征明显的亲鱼,以水浮莲根须为鱼巢,先后进行3 批次人工催产并经人工授精获得受精卵,置于盛有 经过曝气的自来水的塑料盆中充气增氧孵化,每天 更换同温度新水,及时剔除死卵,保持孵化水质清 新. 在 $27.6 \sim 30.5$ [©]条件下, 随机取出受精卵置于 Motic 双目生物显微镜下观察, 利用 Motic Images Advanced 3.0 软件操作系统对胚胎发育过程及其形态 特征进行显微摄影记录.

结果

胡子鲇胚胎发育过程划分为受精卵、卵裂期、囊

胚期、原肠期、神经胚期、尾芽期和孵化期 7 个阶段,在每个阶段中再以不同时间的胚胎主要特征划分若干时期.

2.1 受精、胚盘形成阶段

未受精的成熟卵富有卵黄, 橙黄色或黄绿色. 卵径平均为 1.8 mm, 比水质量大, 沉性, 不能吸水膨胀, 并且不形成稠状"附着盘"结构. 受精后卵膜吸水, 卵周隙稍有扩大. 卵内放射状的原生质丝很明显. 在动物极一侧形成特殊的"附着盘", 使受精卵粘附在鱼巢上(图 1—1). 48 min 后, 原生质越来越稠密, 集中于卵黄表面, 隆起形成半透明的胚盘. 胚盘较大, 约占整个卵径的 1/2(图 1—2). 此时, 微弱的卵黄运动出现.

2.2 卵裂阶段

胡子鲇卵裂为盘状卵裂,与一般硬骨鱼类卵裂 方式相似, 受精后 60 min, 胚盘中央隐约出现一条横 贯胚盘的分裂沟,此时为胚盘的第1次分裂,为经裂 (图 1-3). 分裂沟与胚盘相垂直,形成 2 个大小、形 状相当的卵裂球, 随着分裂沟的逐渐加深, 2 个卵裂 球也慢慢丰满, 颜色变深, 变成 2 个近似馒头形状的 细胞. 第2次分裂也为经裂,分裂沟与第1次分裂沟 垂直,分裂沟逐渐加深,形成4个靠得很近但相对独 立形似面包的分裂球(图 1-4). 第 3 次卵裂, 出现 2 条新的分裂沟与第1次分裂沟平行,与第2次分裂 沟垂直, 形成每行 4 个, 两行共 8 个分裂球 (图 1-5), 此次分裂也为经裂. 分裂球下方有一层颜色较浅 的"细胞桥"相连接(图1-6). 第 4 次卵裂, 也出现 2 条分裂沟,在第2次分裂沟两侧与之平行,形成16个 分裂球(图 1-7),第 5 次卵裂,形成 8 行排列共 32 个分裂球,细胞均为单层(图 1-8). 随着分裂,细胞 越来越小,进入多细胞期,或称桑椹胚期(图1-9,1 -10), 此时卵黄以"植物极-动物极"为轴, 作逆时 针运动,运动十分明显,产生卵黄波纹.

2.3 囊胚形成阶段

受精后 2 h 47 min,细胞在原胚盘处形成高举的囊胚,高度约为卵径的 1/3(图 1-11),为高囊胚期. 1 h 13 min 后,细胞继续分裂,胚层高度开始下降,高度为卵径的 1/4 时(图 1-12,1-13),为低囊胚期.此时卵黄运动更为剧烈,有明显的波纹出现(图 1-12).随着细胞的分裂,囊胚向卵黄下包,囊胚期结束.

2.4 原肠胚形成阶段

胚层下包速度明显加快, 胚层下包前缘细胞略 突起, 形成一圈明显的环状细胞, 称之为"胚环"(图 1 一14). 原肠初期在受精后 4 h 20 min 出现. 随着进一步原肠作用,原囊胚完全消失,细胞层下包卵黄 1/2,胚层一侧逐渐增厚,形成"胚盾"(图 1—15),此时为原肠中期. 胚盘下包卵径的 4/5,胚盾伸过动物极,胚盾前端膨大,形成脑泡原基,此时为原肠晚期(图 1—16).

2.5 神经胚形成阶段

胚盾中线内陷,隐约形成一条与"胚环"垂直的神经沟(图 1-17),胚层下包达卵黄的 5/6,胚环明显缩小,形成卵黄栓(图 1-18),随后在胚体中部,肌节开始形成. 肌节增至 $6\sim12$ 节. 卵黄栓此时逐渐模糊,胚孔最终封闭(图 1-19). 此时的肌节排列整齐清晰可见(图 1-20). 受精后 17 h 29 min,头部两侧椭圆形眼泡出现(图 1-21).

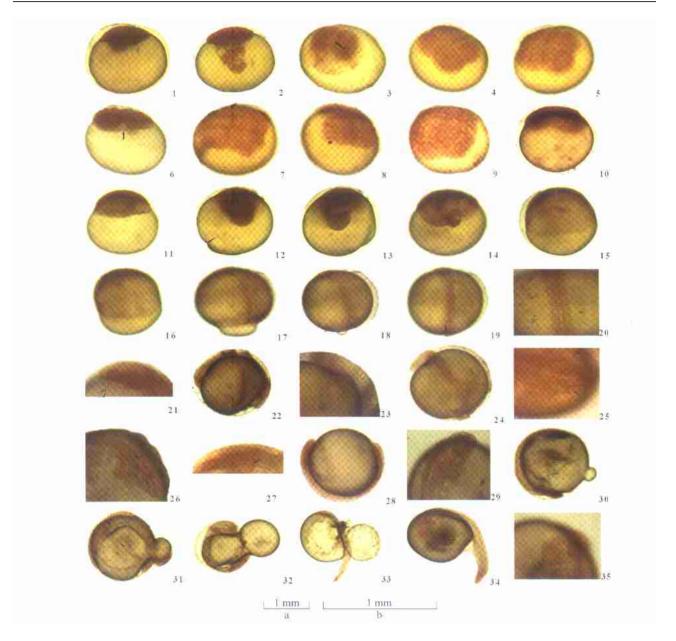
2.6 尾芽期

眼泡逐渐形成,尾芽开始游离出卵黄囊,尾芽部有一层膜状结构把胚体与卵黄囊隔开(图 1-22,1-23),此时胚体出现微弱的扭动,每60 s 平均 3 次(图 1-24). 胚体前端,眼的腹下方形成不明显的嗅板(图 1-25). 脑已经明显分化成前、中、后3个部分.在第3部分即后脑两侧出现一对椭圆形听泡(图 1-26). 听泡下方有一小管状结构为心脏原基. 受精后21 h 3 min,耳石出现(图 1-27),此时胚体环绕卵黄囊3/4(图 1-28)为耳石出现期. 胚体肌节增至30节,胚体出现间歇性的扭动加快,每60 s 6 次. 随着胚体扭动频率加快,在胚体头部和卵黄膜之间形成一层透明的膜,透过膜可以观察到心脏(图 1-29)开始搏动,频率为每60 s 72 次.

2.7 出膜阶段

胚体绕卵黄囊一周,扭动比较强烈,此时头部与尾部均游离出卵黄囊,整个胚胎可以在容器底部间歇性地颤动并且旋转.在头部与尾部之间有一片开阔的卵黄囊区域.在此片区域上首先卵膜出现一个均匀的小孔(图 1—30),此时距离受精有 22 h 2 min.由于卵内外的压力差,使卵黄部分被挤出卵膜(图 1—31),形成膜内膜外两个相连的球状团.此时头部和尾部均在膜内(图 1—32).随着胚体的扭动剧烈,卵膜的孔越来越大,头部和尾均有机会先出膜.卵膜破裂之后,整个胚胎出膜完成(图 1—33).

距受精 23 h 12 min 后,仔鱼出膜完成. 仔鱼头部和躯干部均紧贴着卵黄,尾部游离于卵黄外,不停地摆动(图 1-34). 此时,仔鱼头部呈三角形,眼部发达(图 1-35).



1: 受精卵; 2: 胚盘形成期; 3: 2 细胞期; 4: 4 细胞期; 5: 8 细胞期; 6: 细胞桥; 7: 16 细胞期; 8: 32 细胞期; 9: 多细胞期(正面观); 10: 多细胞期(侧面观); 11: 高囊胚期; 12: 卵黄运动; 13: 低囊胚期; 14. 原肠初期 15: 原肠中期; 16: 原肠晚期; 17: 神经沟出现期; 18: 卵黄栓出现期; 19: 胚孔封闭期; 20: 肌节; 21: 眼泡期; 22: 尾芽期; 23: 尾芽外展; 24. 肌肉效应期; 25: 嗅板分化期; 26: 听泡出现期; 27—28: 耳石出现期; 29: 心脏搏动期; 30~33: 出膜期; 34. 仔鱼; 35: 仔鱼头部(图 20 21, 23, 25, 26, 27, 29, 35 按比例尺 b 外, 其他按比例尺 a)

1: fertilized egg; 2: embryonic disc stage; 3: 2-cell stage; 4: 4-cell stage; 5: 8-cell stage; 6: cell bridge; 7: 16-cell stage; 8: 32-cell stage; 9—10. multi-cell stage; 11: early blastula stage; 12: yolk movement; 13: late blastula stage; 14: early gastrula stage; 15: mid gastrula stage; 16: late gastrula stage; 17: neurocoele stage; 18: yolk bolt stage; 19: closure of blastopore stage; 20: mosites; 21: optic rudiment stage; 22: tail-bud stage; 23: tail bud extended; 24: muscular contraction stage; 25: appearance of olfactory placode stage; 26: auditory vesicle stage; 27—28: appearance of otoliths stage; 29: heart; 30—33: hatching stage; 34: newly hatching larva; 35: head of newly hatching larva (Fig. 20, 21, 23, 25, 26, 27, 29, 35 on the scale b; the others on the scale a.)

图 1 胡子鲇的胚胎发育

Fig. 1 The embryonic development of Clarias fuscus

3 讨论

胡子鲇成熟卵呈橙黄色或黄绿色, 近圆形, 卵径

1.8 mm,受精卵吸水膨大,卵周隙为 $0.1 \sim 0.2 \text{ mm}$. 其卵的大小在鲇形目中属中等大小. 瓦氏黄颡鱼 *Pseudobagrus uachelli* 卵径 $1.67 \text{ mm}^{1.6}$,苏氏驪鲇 *Pan*-

受精卵分裂属于盘状卵裂.水温在 27.6~30.5 °C时受精卵至胚胎发育出膜需要 23 h 12 min.在 32 细胞期以前,细胞为单层结构,平铺于卵黄囊上.卵黄运动开始出现,运动强度微弱,借助显微镜连续拍照可以观察到.较之朱作言^[3]观察到的胡子鲇出现卵黄运动的时间(64 细胞期)要早.严太明^[9]等观察宽口光唇鱼胚胎出现卵黄运动是在囊胚期,比胡子鲇要晚.瓦氏黄颡鱼卵黄运动出现在 32 细胞期^[6].鲂卵黄运动出现在囊胚期^[10].64 细胞期之后,细胞具有多层结构,进入卵裂时,卵黄运动明显加强,有助于分裂球的分离和调整.进入多细胞期,卵黄运动更加剧烈,有助于细胞在卵黄囊上排列以及对以后细胞分化的调整.此时细胞分化具有一定的方向性^[3].

胡子鲇从尾芽至出膜期发育阶段,肌肉效应期出现得最早,紧跟着是嗅板和听泡的出现. 瓦氏黄颡鱼最先出现的是嗅板,然后是听泡,最后是肌肉效应期的出现⁶. 鱼类胚胎发育阶段顺序大体相同,只在一些细微的发育阶段有差异. 肌肉效应期、嗅板出现、听泡出现互相之间间隔比较微小. 在个体生长发育过程中生物遗传信息的表达按一定的时序发生变化(时序调节),并随着内外环境的变化而不断加以修正(环境调节)^[11]. 由此可认为肌肉效应期、嗅板出现期、听泡出现期均处在同一个分化阶段,有可能是受同一因素启动此 3 个阶段分化的过程.

胡子鲇出膜方式不是以胚体扭动时卵膜破裂而孵出,朱作言[3]认为是由胚胎发育至尾芽期开始向

外界分泌粘液物质,其中可能含有为准备出膜用的溶解卵膜的酶,而不是以往认为卵膜的破口由仔鱼腹部顶破.作者观察到在胚体没有扭动的间歇.头尾之间的卵膜出现一个均匀的小孔,由于膜内外压力差的作用,将大部分的卵黄压出膜外,随后再加上胚体扭动,胚胎才完全出膜.胡子鲇卵膜可能受孵化酶分解出现一个均匀而非破裂状的小孔,启动了整个出膜过程.

参考文献:

- [1] 伍献文,杨干荣,乐佩琦,等.中国经济动物志:淡水鱼 类[M].第2版.北京:科学出版社,1979.119-120.
- [2] 潘炯华, 郑文彪. 胡子鲶的胚胎和幼鱼发育的研究[J]. 水生生物学集刊, 1982, 7(4): 437—444.
- [3] 朱作言. 胡子鲶的胚胎发育[J]. 水生生物学集刊, 1982, 7(4): 445—454.
- [4] NELSON O E. McGRAW— HILL. Comparative embryology of vertebrates [M]. New York: The Blaskiston Co. 1953. 144— 157.
- [5] CHATTOPADHYAY N.R. MAZUMDER B. Induced spawning of *Pangasius sutchi* with pituitary extract[J]. Aquaculture Asia. 2002, 7(1): 43—44.
- [6] 陈 永,魏 刚. 瓦氏黄颡鱼胚胎发育的研究 J. 西南农业大学学报, 1995, 17(5): 414-418.
- [7] 谢小军. 南方大口鲶的胚胎发育[J]. 西南师范大学学报(自然科学版), 1989, 14(3), 72-78.
- [8] 苏良栋,何学福,张耀光,等. 长吻**《**胚胎发育的初步观察[]]. 淡水渔业, 1985, (4); 2—4.
- [9] 严太明,何学福,贺吉胜.宽口光唇鱼胚胎发育的研究 [J]. 水生生物学报,1999,23(6):636—640.
- [10] 万成炎, 林永泰, 黄道明. 鲂胚胎的发育[J]. 湖泊科学, 1999, 11(1): 72-76.
- [11] 朱玉贤,李 毅. 现代分子生物学[M]. 北京:高等教育出版社,2002.13.

【责任编辑 柴 焰】