

文章编号: 1674-5566(2015)01-0036-08

## 刀鲚的全人工繁殖及胚胎发育

施永海, 张根玉, 张海明, 刘永士, 严银龙, 陆根海, 刘建忠, 谢永德, 徐嘉波

(上海市水产研究所 上海市水产技术推广站, 上海 200433)

**摘要:**通过对刀鲚 (*Coilia nasus*) 全人工繁殖试验和胚胎发育观察, 研究了刀鲚全人工繁殖的特性和其胚胎发育的时序和特点。结果显示, 对人工繁养的  $F_1$  刀鲚亲鱼 (2 龄) 进行模拟自然洄游的培育, 采用注射促黄体素释放激素 A2 (LHRH-A2) 对性腺发育良好的亲本进行催产, 剂量为: 雌鱼 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 雄鱼减半; 在 22 ~ 24  $^{\circ}\text{C}$  条件下, 经过 18 ~ 33.5 h 的效应时间, 亲本自然交配产卵, 催产率为 91.7%; 获得受精卵 25.8 万粒, 受精率为 80.6%, 获得 22.3 万尾的初孵仔鱼, 孵化率为 86.4%; 受精卵透明、浮性、无粘性、球形, 卵径为  $(909.86 \pm 24.02) \mu\text{m}$ , 油球大且单个; 胚胎发育分为胚盘形成阶段、卵裂阶段、囊胚阶段、原肠期阶段、神经胚阶段、器官形成阶段和出膜阶段 7 个阶段及 30 个发育时期, 在  $(23.64 \pm 0.36) ^{\circ}\text{C}$  条件下, 历时 28 h 仔鱼出膜; 初孵仔鱼全身透明, 靠油球浮于水面, 全长  $(2056.37 \sim 2074.74) \mu\text{m}$ , 卵黄囊大且近椭圆形, 油球呈球形, 心跳 90 ~ 110 次/分, 肌节 48 ~ 50 对; 研究结果对刀鲚资源的保护和规模化全人工繁殖工艺流程的建立具有重要的意义。

**研究亮点:**有关刀鲚的繁殖技术研究还处于初级阶段, 本文首次报道和总结了以室内集约化人工繁育的、经过 2 年仿洄游生态培育的  $F_1$  刀鲚为亲本而进行的全人工繁殖试验, 并对其胚胎发育时序和特点进行了系统观察, 以期对刀鲚全人工繁养生提供科学依据。

**关键词:** 刀鲚 (*Coilia nasus*); 全人工繁殖; 胚胎发育; 受精卵  
**中图分类号:** S 961.2  
**文献标志码:** A

刀鲚 (*Coilia nasus*), 又名长颌鲚, 俗称刀鱼、毛刀鱼, 属于鲱形目 (Clupeiformes), 鲹科 (Engraulidae), 鲚属 (*Coilia*), 为江海洄游性鱼类, 主要分布于我国黄渤海和东海一带, 凡通海的江河均有分布, 以长江下游产量最高。长江刀鲚以肉质细嫩、鲜肥、时令性强而著称, 并与长江鲥鱼、河豚并称“长江三鲜”<sup>[1-2]</sup>。近几年来, 由于过度捕捞及生态环境恶化等诸多因素的影响, 长江刀鲚资源急剧衰退, 产量呈逐年下降趋势, 且个体小型化严重, 刀鲚在长江中已不能形成优势种群<sup>[1]</sup>。因此, 刀鲚人工全繁殖技术的突破, 实现苗种规模化生产, 进而推进该鱼的产业化养殖生产, 可以促进渔业产业结构的调整<sup>[1]</sup>; 同时通过增殖放流, 可以保护其渔业资源。

目前, 有关刀鲚的繁养技术研究还处于初级阶段<sup>[3-7]</sup>, 近几年, 国内许多科研院所纷纷立项开展该相关技术的研究, 主要集中于诸如灌江纳苗、长江沿岸拉网捕苗进行养殖试验等, 偶有刀鲚池塘繁殖成功的个别报道<sup>[1]</sup>, 但未见刀鲚全人工繁殖试验报道; 同时有关刀鲚胚胎发育的研究报道仅见朱栋良<sup>[3]</sup>和 XU 等<sup>[7]</sup>分别对天然繁殖和人工繁殖所得的受精卵作过简要观察, 但全人工繁殖所得的刀鲚受精卵也有一定特殊性。上海市水产研究所奉贤基地采用 2011 年室内集约化人工繁育、经过 2 年仿生态养殖的子一代刀鲚作为亲本, 于 2013 年 5-6 月进行挑选和催产, 获得该鱼全人工繁育成功。本文就刀鲚的全人工繁殖试验进行总结, 并选择其中一批优质受精卵进

收稿日期: 2014-03-19 修回日期: 2014-09-19

基金项目: 上海市科技兴农种业项目[沪农科种字(2014)第4号]; 上海市科学技术委员会重点科技攻关项目(11391901300); 科技部与上海市共同推进重大任务科研专项(12DZ1909302); 上海长江口主要经济水生动物人工繁育工程技术研究中心(13DZ2251800)

作者简介: 施永海(1975—), 男, 高级工程师, 研究方向为水产养殖、水环境监测及繁殖生物学。E-mail: yonghais@163.com

行对胚胎发育时序和特点的系统观察研究,以期对刀鲚全人工繁育和养殖生产以及发育进化研究提供科学依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 亲鱼培育

采用上海市水产研究所奉贤基地于 2011 年用人工养成的刀鲚亲本经过室内集约化人工繁育获得且经过生态养成的 2 龄子一代刀鲚成鱼作为人工繁殖的后备亲本,亲本采用模拟自然生态洄游培育模式:在 5-12 月进行外塘养殖,放养密度为 200 尾/667 m<sup>2</sup>,每 667 m<sup>2</sup> 投放 3 kg 小规格脊尾白虾,接种糠虾;每日投饵 1 次,饵料为虾用颗粒饲料,主要投喂给脊尾白虾摄食,每月换水一次,采用当地河口半咸水(盐度 5~8);到 11-12 月进行拉网移池,及时清除野杂鱼和敌害生物,此时池塘用水盐度提高到 10~15,池塘内小规格脊尾白虾投放量提高到每 667 m<sup>2</sup> 投放 6 kg,其他管理措施同前;到次年 2-3 月,池塘内水逐渐换成淡水;到 3-5 月,定期进行拉网锻炼,一般要锻炼 2~3 次。

### 1.2 亲鱼挑选、催产、产卵及孵化

5 月中上旬,水温 20~25 ℃ 时,亲本雌鱼腹部陆续膨大,此时即可挑选催产用亲本,挑选亲本标准:雌鱼后腹部膨大且柔软,泄殖孔微红;雄鱼,轻压泄殖孔有少量精液流出,且遇水不散;挑选好的亲本采用圆桶运输放入催产池;整个挑选和运输过程中操作要轻柔不离水;催产池采用 10~20 m<sup>2</sup> 的圆型或者方型池子,催产亲本放养密度为 1~2 尾/m<sup>2</sup>,遮光调控,连续微充气,一般催产亲鱼雌雄比为 2/3~3/4,催产水温为 22~24 ℃;采用胸鳍基部注射法注射激素,催产激素为促黄体素释放激素 A<sub>2</sub>(LHRH-A<sub>2</sub>),将激素溶于 0.9% 的生理盐水,现配现用;催产剂量:雌鱼

30 μg/kg,雄鱼减半;采用自然受精方式,效应时间为 18~33.5 h,派专人观察亲本交配以确定产卵时间,交配时,雄鱼追逐雌鱼,部分鱼会从水面掠过,此后能发现水池中有卵;采用静水充气孵化,水温为 23~24 ℃。

### 1.3 胚胎发育观察

取 5 月 27 日催产、5 月 28 日产卵受精所得优质的受精卵作为胚胎发育观察的材料,受精后 15 min 取部分受精卵(约 1 000 粒)移至实验室圆形孵化桶内(10 L)单独孵化,密度为 100 粒/L,孵化桶置于带自动温控的水浴容器,温度控制为 23~24 ℃,孵化桶内放置 1 个气石,并连续微充气;每次随机取样 30 粒,取样间隔时间分别为:受精后 0~2 h 内间隔 15 min,3~7 h 以后间隔 30 min,7 h 以后间隔 1 h;采用 Olympus BX-53 型号的双目显微镜,Olympus DP26 摄影模块 CCD 以及 CellSens Standard 图像处理软件对受精卵进行观察、测量及摄影,同时记录胚胎发育的各期典型特征,以 50% 个体出现新特征作为各发育时期的时序。刀鲚胚胎发育阶段和时期的划分参考文献[8-9]的方法,并按照刀鲚的特点略作修改。所有数据经 SPSS 17.0 软件处理,用 Mean ± SD 表示。

## 2 结果

### 2.1 催产和孵化

2013 年分 4 批催产子一代 2 龄雌鱼亲本 60 尾,在 22.4~23.8 ℃ 条件下,经过 18~33.5 h 的催产效应时间,55 尾雌鱼亲本自然交配产卵,催产率为 80.0%~95.8%,平均催产率为 91.7%,共计产卵 32 万粒;获得受精卵 25.8 万粒,受精率为 40.0%~85.5%,平均受精率为 80.6%;孵化获得 22.3 万尾的初孵仔鱼,孵化率为 65.0%~90.4%,平均孵化率为 86.4%(表 1);平均每尾雌鱼产卵 5 818 粒。

表 1 刀鲚全人工繁殖情况表

Tab. 1 Data of artificial propagation of *Coilia nasus*

催产日期 ovulation date	水温/℃ water temperature	亲鱼/尾 broodstock		效应 时间/h ovulation time	产卵鱼 /尾 spawning fish	产卵量 /万粒 egg	受精卵 /万粒 fertilized egg	初孵仔鱼 /万尾 yolk-sac larvae	催产率 /% induced rate	受精率 /% fertilization rate	孵化率 /% hatch rate
		雌 female	雄 male								
5 月 16 日	22.4	10	15	21~33	8	3	2.5	2	80.0	83.3	80.0
5 月 21 日	23.0	15	20	19~33.5	14	5	2.0	1.3	93.3	40.0	65.0
5 月 27 日	23.6	11	16	21~32.8	10	5	2.5	2	90.9	50.0	80.0
6 月 5 日	23.8	24	25	18~27	23	22	18.8	17	95.8	85.5	90.4
总计 total		60	76		55	32	25.8	22.3			
平均 average									91.7	80.6	86.4

## 2.2 成熟卵和受精卵

成熟卵子浮于水面,卵径为 $(779.61 \pm 33.49) \mu\text{m}$  ( $n=10$ )。卵遇水受精后,卵膜吸水膨胀,受精卵弹性增强,呈球形,卵径为 $(909.86 \pm 24.02) \mu\text{m}$  ( $n=20$ ),卵周隙较大且均匀 $(208.00 \pm 58.21) \mu\text{m}$  ( $n=10$ ),油球大且单个,直径为 $(498.27 \pm 15.07) \mu\text{m}$  ( $n=20$ )。受精卵均质浮性、无粘性,卵膜薄且透明(图版-1)。

## 2.3 胚胎发育

刀鲚受精卵在温度为 $(23.64 \pm 0.36) ^\circ\text{C}$  ( $n=30$ )条件下,历时28 h、经历7个阶段30个时期仔鱼孵化出膜(表2)。

### 2.3.1 胚盘形成阶段

受精卵受精后,原生质开始向卵球一极集中,原生质不断集中最终形成高凸透明的胚盘(高度约为卵黄的1/3),此极即为胚胎的动物极,另一极为植物极(图版-2~3)。

### 2.3.2 卵裂阶段

受精1 h后,隆起的胚盘顶部中央出现分裂沟,分裂沟逐渐向下延伸,最后完成第1次经裂;第2次经裂,分裂沟与第1次垂直;第3次经裂,2条分裂沟平行分裂;到第5次分裂后,分裂球排列开始不整齐,大小出现差异;第6次分裂包括经裂和纬裂,分裂球分层;随着分裂球体积越来越小、数量越来越多,但界面清晰可见,进入多细胞期(图版-4~10)。

### 2.3.3 囊胚阶段

受精3 h 40 min后,随着分裂球继续分裂,分裂球体积变小、数量增加、界面变模糊,原来胚盘高高隆起,形成帽状囊胚;随后囊胚层外沿细胞开始向外扩展,胚层逐渐趋向扁平,胚层高度不断降低,最终形成新月形囊胚,约占整个胚胎的1/3(图版-11~13)。

### 2.3.4 原肠期阶段

受精6 h 55 min后,囊胚边缘细胞开始向植物极移动,胚盘下包,形成裙边,裙边内卷,内外胚层分化,胚环、胚盾相继出现,随着胚盾不断伸展,胚体雏形形成,卵黄呈梨形(图版-14~16)。

### 2.3.5 神经胚阶段

受精11 h后,囊胚层细胞下包至卵黄底部,植物极部分卵黄囊露出胚环外,形成卵黄栓,胚

盾背中线纵向凹陷形成神经沟;随着卵黄外露部分不断减少,在卵黄栓末端形成圆形的胚孔,胚孔越来越小,卵黄被全部包起,但胚孔位置仍留有凹陷,直至封闭,胚体匍伏在卵黄上(图版-17,18)。

### 2.3.6 器官形成阶段

受精13 h 45 min后,进入器官形成期,首先胚体前段膨大、隆起,然后胚体头部出现1对蚕豆形眼原基;然后出现4~6对明显的肌节;随着眼基膨大,椭圆形眼囊形成,脑开始分化,肌节增加;受精17 h后,胚体后端腹面形成圆锥状尾芽,脑泡形成,胚体下包4/5,肌节增加到20对;随着尾芽伸长,在尾的边缘,表皮外突成皮褶的鳍,形成尾鳍;然后在后脑两侧出现小泡状耳囊;继而受精21 h 35 min后,胚体背部肌肉出现微弱间隙性抽动,肌节继续增加到50对;眼囊逐渐变圆形,视杯扩大,视杯口出现圆形晶体;受精23 h 5 min后,在脑下方的咽部出现围心腔和心脏,心脏开始有规律的搏动,然后在耳囊内出现两颗微小而发亮的耳石,心跳60~85次/分,胚体肌肉抽动幅度增大;受精25 h后,尾末端出现1~2次/分的颤动(图版-19~29)。

### 2.3.7 出膜阶段

受精26 h后,耳石和鳍膜更清晰可见,尾部甩动强烈;受精28 h后,随着胚体扭动频率增加,卵膜在靠近胚体头部处逐渐隆起,最后卵膜溶解破裂,胚体头部先行出膜,随着尾部剧烈摆动,仔鱼摆脱卵膜(图版-30)。

## 2.4 初孵仔鱼

刚孵出的仔鱼,整个身体弯曲,像个“逗号”,尾部微微颤动;数分钟后,身体后半段伸直,但背部略弯,身体前段弯曲匍匐于卵黄囊上,全长 $2\,056.37 \sim 2\,074.74 \mu\text{m}$ ,体长 $2\,021.13 \sim 2\,016.43 \mu\text{m}$ ,体高 $684.51 \sim 742.36 \mu\text{m}$ ;卵黄囊大且近椭圆形,靠油球浮于水面,油球呈球形,油球长径 $487.36 \sim 543.49 \mu\text{m}$ ,短径 $466.28 \sim 476.19 \mu\text{m}$ ;脑缺刻明显,眼晶体无色素,两个耳囊内各有两个大小相似、晶莹明亮的耳石,有肛凹锥形,鳍膜明显,由背部延伸至尾部,心跳90~110次/分,肌节48~50对。初孵仔鱼全身透明,体圆而粗短(图版-31)。

表 2 刀鲚胚胎发育过程  
Tab. 2 The embryonic development of *Coilia nasus*

序号 No.	发育时期 development stage	受精后时间 time after fertilization	温度/°C temperature	主要特征 brief characteristics	图版 plate
1	胚盘原基期 Blastodisc rudiment		23.6	透明胚盘原基	2
2	胚盘期 Blastodisc formation		23.6	高凸透明的胚盘	3
3	2 细胞期 2-cell	1 h	23.6	第 1 次经裂, 2 个大小相似的分裂球	4
4	4 细胞期 4-cell	1 h 10 min	23.6	第 2 次经裂, 4 个大小相似、前后排列的分裂球	5
5	8 细胞期 8-cell	1 h 18 min	23.6	第 3 次经裂, 分裂球 2 列, 每列 4 个, 大小相似	6
6	16 细胞期 16-cell	1 h 28 min	23.8	第 4 次经裂, 16 个相似的分裂球	7
7	32 细胞期 32-cell	1 h 45 min	23.8	第 5 次经裂, 分裂球排列开始不整齐, 大小差异出现	8
8	64 细胞期 64-cell	2 h 5 min	23.8	第 6 次分裂, 包括经裂和纬裂, 分裂球分层	9
9	多细胞期 multicellular	3 h	23.4	细胞数量增多、体积变小, 但界面清晰可见	10
10	囊胚早期 early blastula	3 h 40 min	24.0	高帽状囊胚	11
11	囊胚中期 mid blastula	4 h 35 min	24.0	囊胚层外沿细胞向外扩展, 囊胚趋于扁平	12
12	囊胚晚期 late blastula	5 h 35 min	23.9	囊胚呈新月形	13
13	原肠早期 early gastrula	6 h 55 min	23.7	囊胚下包 2/5, 形成裙边, 胚环隐约可见	14
14	原肠中期 mid gastrula	7 h 30 min	23.7	囊胚下包 1/2, 胚环明显, 胚盾出现	15
15	原肠晚期 late gastrula	9 h	24.5	囊胚下包 2/3 ~ 4/5, 胚盾延伸, 胚体雏形出现	16
16	神经胚期 neurula	11 h	24.6	胚盾中线纵向凹陷形成神经沟	17
17	胚孔封闭期 closure of blastopore	12 h 30 min	23.8	在卵黄栓末端形成圆形的胚孔, 胚孔越来越小, 直至封闭 18	18
18	眼基出现期 appearance of optic rudiment	13 h 45 min	23.8	胚体头部出现一对蚕豆形眼基, 胚体包围卵黄 1/2 周	19
19	肌节出现期 appearance of myomere	13 h 55 min	23.8	出现 4 ~ 6 对明显的肌节, 胚体包围卵黄 2/3 周	20
20	眼囊出现期 appearance of optic vesicle	15 h 30 min	23.6	椭圆形眼囊形成, 脑开始分化, 肌节增加	21
21	尾芽出现期 appearance of tail bud	17 h	23.1	出现圆锥状尾芽, 脑泡形成, 胚体下包 4/5, 肌节增加到 20 对	22
22	尾鳍出现期 appearance of tail fin	18 h	23.5	尾芽伸长, 在尾的边缘, 表皮外突成皮褶的鳍	23
23	耳囊出现期 appearance of otocyst	19 h 40 min	23.5	耳囊出现, 肌节增到 38 对	24
24	肌肉效应期 muscular contraction	21 h 35 min	23.3	胚体抽动, 背部肌肉出现微弱间隙性颤动	25
25	晶体出现期 appearance of lens	22 h 30 min	23.2	圆形眼晶体形成	26
26	心跳期 heart pulsation	23 h 5 min	23.2	在脑下方的咽部出现围心腔和心脏, 心脏有规律的搏动	27
27	耳石出现期 appearance of otoliths	24 h	23.2	耳囊内出现两颗微小而发亮的耳石, 心跳 60-85 次/分, 胚体肌肉抽动幅度增大	28
28	尾颤期 tail fibrillation	25 h	23.2	尾末端出现 1-2 次/分的颤动	29
29	出膜前期 pre-hatching stage	26 h	23.1	卵膜变薄, 尾部甩动强烈, 耳石和鳍膜更加清晰可见	30
30	出膜期 hatching stage	28 h	23.7	胚体头部先出, 靠尾部的强烈甩动把卵膜甩出	

### 3 讨论

#### 3.1 刀鲚全人工繁育特点

于 2007 年采捕野生的刀鲚苗种, 经过 4 年的

室内水泥池养殖, 于 2011 年进行室内集约化人工繁育, 获得成功, 然后将所得的子一代经过 2 年仿洄游的生态养殖, 培育至 2013 年 4-5 月性成熟, 并于 2013 年 5-6 月对子一代亲本进行挑选、

催产和人工繁育;在世界范围内首次实现刀鲚全人工繁殖。另外,刀鲚应激反应强烈,有“离水即死”的说法<sup>[1]</sup>,人工催产和授精操作非常困难,如在检查催产后的雌鱼是否产卵时很容易引起死亡,往往亲本还没到催产的效应时间,因人为操作而出现大量死亡,使得人工繁殖期间亲本的成活率很低,即使有些亲本能存活到人工产卵和授精,所产的卵质量也较低,进而导致受精率和孵化率下降,同时也会影响孵化的鱼苗质量,给苗种培育带来很大的困难。本研究采用定期拉网锻炼降低亲本对人为操作带来的应激,同时采用注射 30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  剂量的 LHRH-A2 激素催产并对水温、光照等生态环境因子进行控制,实现亲鱼在室内水泥池中自行交配产卵受精,降低了亲本死亡率,同时也提高了受精卵的质量(受精率为 80.6%),获得了大批量的受精卵,取得良好的效果。这种在人工控制环境下的室内水泥池内亲本能自行交配产卵受精的现象在其他一些鱼类中也有发现过,如美洲鲈 (*Alosa sapidissima*)<sup>[10-11]</sup> 和松江鲈鱼 (*Trachidermus fasciatus*)<sup>[12]</sup>。

野生刀鲚初次性成熟年龄为 2 龄<sup>[1]</sup>,人工繁殖的刀鲚也能在 2 龄时性成熟,本研究用亲本采用仿生态洄游培育模式:秋季逐步提高培育用水的盐度,冬季采用当地河口半咸水(盐度为 10 ~ 15),春季逐步降盐,夏季在淡水养殖,此亲本培育模式获得了较好的效果:初次性成熟的亲本比率非常高。另外,由于子一代刀鲚初次性成熟,亲本个体相对较小,体重在 15 ~ 25 g 范围内,体长在 15 ~ 25 cm 范围内,这也导致了雌鱼个体产卵绝对数量较少,平均每尾产卵 5 818 粒,相对于自然条件下 2 ~ 4 龄亲本 2 ~ 7 万粒的怀卵量<sup>[3]</sup>要低得多。

### 3.2 刀鲚胚胎发育特点

相对于与其他一些洄游性鱼类,如美洲鲈<sup>[10-11]</sup>、松江鲈鱼<sup>[12]</sup>、暗纹东方鲀 (*Fugu obscurus*)<sup>[13]</sup> 和日本鳗鲡 (*Anguilla japonica*)<sup>[14-15]</sup>,刀鲚胚胎发育虽然有着相似的特性:胚胎发育属于典型的硬骨鱼类的端黄卵盘状卵裂<sup>[16]</sup>,发育进程按其主要形态特征发生顺序分为 7 个阶段 30 个时期;但刀鲚胚胎亦有其自身的特点:(1)刀鲚卵为浮性无粘性,在其他溯河繁殖洄游鱼类中与鲥鱼 (*Macrura reevesii*) 相一致(卵

浮性无粘性)<sup>[17-18]</sup>,但美洲鲈卵沉性无粘性<sup>[10-11]</sup>,暗纹东方鲀卵沉性微粘性<sup>[13]</sup>;(2)其受精卵属于偏小型卵,其卵径为  $(909.86 \pm 24.02) \mu\text{m}$ ,略小于日本鳗鲡  $[1.0 \sim 1.2 \text{ mm}]^{[14]}$  和  $(0.94 \pm 0.15) \text{ mm}^{[15]}$  和暗纹东方鲀  $(1.118 \sim 1.274 \text{ mm})^{[13]}$ ,明显小于鲥鱼  $(1.37 \sim 2.20 \text{ mm})^{[17-18]}$ 、美洲鲈  $[2.85 \sim 3.28 \text{ mm}]^{[10]}$  和  $(4.03 \pm 0.25) \text{ mm}^{[11]}$  和松江鲈鱼  $(1.50 \sim 1.78 \text{ mm})^{[12]}$ ;(3)刀鲚初孵仔鱼个体较小,其全长为  $2\,056.37 \sim 2\,074.74 \mu\text{m}$ ,明显小于日本鳗鲡  $[3.1 \sim 3.7 \text{ mm}]^{[14]}$  和  $(3.32 \pm 0.02) \text{ mm}^{[15]}$ 、暗纹东方鲀  $(2.47 \sim 2.86 \text{ mm})^{[13]}$ 、鲥鱼  $(2.75 \text{ mm})^{[17-18]}$  和美洲鲈  $(8.16 \sim 9.06 \text{ mm})^{[10]}$  和  $6.75 \text{ mm}^{[11]}$ ,另外刀鲚初孵仔鱼发育不完全,眼晶体色素没有形成,内脏很多器官还没有形成,所以仔鱼需要较长时间的进一步发育才能开口摄食、消化吸收、建立自主巡游的模式,这种现象与日本鳗鲡<sup>[15]</sup>类似。

### 3.3 全人工繁殖的刀鲚胚胎发育特点对鱼类胚胎心跳和肌肉效应进程顺序的影响

全人工繁殖的刀鲚胚胎虽然有野生刀鲚胚胎发育的特性,但亦有一些区别:(1)其发育进程中肌肉效应期出现心跳之前,与 XU 等<sup>[8]</sup>的刀鲚胚胎肌肉效应期出现心跳之后的研究结果不同,这种研究结果出现前后不一样的现象在其他洄游性鱼类也有发现,如有些研究人员观察到美洲鲈<sup>[10]</sup>和日本鳗鲡<sup>[14]</sup>的胚胎发育进程中肌肉效应期出现在心跳之前,而另外一些研究人员观察到美洲鲈<sup>[11]</sup>和日本鳗鲡<sup>[15]</sup>的肌肉效应期出现在心跳之后,具体原因还需要进一步研究;(2)全人工繁殖的刀鲚受精卵卵径为  $(909.86 \pm 24.02) \mu\text{m}$  及初孵仔鱼全长为  $2\,056.37 \sim 2\,074.74 \mu\text{m}$ ,明显小于朱栋良<sup>[3]</sup>对长江刀鲚自然繁殖所得受精卵的卵径 1.1 ~ 1.2 mm、初孵仔鱼全长 2.5 mm 的研究结果以及 XU 等<sup>[8]</sup>人工繁殖刀鲚的卵径  $(1.15 \pm 0.15) \text{ mm}$ 、初孵仔鱼全长  $(2.85 \pm 0.20) \text{ mm}$  的研究结果,原因可能是本研究所用的亲本是初次性成熟且个体较小;(3)胚胎孵化时长虽然与孵化时水温密切相关,但还与其他很多环境条件有关<sup>[9,19-20]</sup>,如光照强度、光照周期、溶解氧等,刀鲚胚胎发育也出现了这样的现象,本研究在 23.64  $^{\circ}\text{C}$  条件下刀鲚胚胎需 28 h 孵化出膜,而自然繁殖的受精卵孵化需要 32 h (25 ~ 27

℃)<sup>[3]</sup>,人工繁殖的受精卵孵化需要 42.0 ~ 45.8 h(22 ℃)<sup>[8]</sup>。

### 参考文献:

- [1] 魏广莲,徐钢春,顾若波,等. 刀鲚的生物学及人工养殖研究进展[J]. 长江大学学报:自然科学版, 2012,7(9): 31-35,41.  
WEI G L, XU G C, GU R B. Research progress of biology and artificial culture of *Coilia nasus*[J]. Journal of Yangtze University: Natural Science, 2012,7(9): 31-35,41.
- [2] 唐雪,徐钢春,徐跑,等. 野生与养殖刀鲚肌肉营养成分的比较分析[J]. 动物营养学报,2011,23(3):514-520.  
TANG X, XU G C, XU P, et al. A comparison of muscle nutrient composition between wild and cultured *Coilia nasus*[J]. Chinese Journal of Animal Nutrition,2011,23(3):514-520.
- [3] 朱栋良. 长江刀鱼的天然繁殖与胚胎发育观察[J]. 水产科技情报,1992,19(2):49-51.  
ZHU D L. Natural Propagation and embryonic development of *Coilia nasus* (Engraulidae) in Yangtze River[J]. Fisheries Science and Technology Information,1992,19(2):49-51.
- [4] LI Y, XIE S, LI Z, et al. Gonad development of anadromous fish *Coilia nasus* (Engraulidae) in lower reach of Yangtze River China[J]. Fisheries Science, 2007, 73(6): 1224-1230.
- [5] 闻海波,张呈祥,徐钢春,等. 长江刀鲚与池塘人工养殖刀鲚性腺发育的初步观察[J]. 动物学杂志,2009,44(4): 111-117.  
WEN H B, ZHANG C X, XU G C, et al. Development of gonads in *Coilia nasus* from the Yangtze River and artificial pond[J]. Chinese Journal of Zoology, 2009,44(4): 111-117.
- [6] 徐钢春,徐跑,顾若波,等. 池养刀鲚(*Coilia nasus*) 鱼种的摄食与生长[J]. 生态学杂志,2011,30(9):2014-2018.  
XU G C, XU P, GU R B, et al. Feeding habits and growth characteristics of pond-cultured *Coilia nasus* fingerlings[J]. Chinese Journal of Ecology, 2011,30(9):2014-2018.
- [7] XU G, TANG X, ZHANG C, et al. First studies of embryonic and larval development of *Coilia nasus* (Engraulidae) under controlled conditions[J]. Aquaculture Research, 2011, 42(4):593-601.
- [8] 顾若波,徐钢春,闻海波,等. 似刺鲃的胚胎及胚后发育[J]. 中国水产科学,2008,15(3):414-424.  
GU R B, XU G C, WEN H B, et al. Embryonic and post-embryonic development of *Paracanthobrama guichenoti*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2008,15(3):414-424.
- [9] 施永海,张根玉,朱雅珠,等. 河口区养殖菊黄东方鲀的胚胎发育[J]. 大连海洋大学学报,2010,25(3):238-242.  
SHI Y H, ZHANG G Y, ZHU Y Z, et al. Embryonic development in cultured tawny puffer *Takifugu flavidus* in an estuary[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2010, 25(3): 238-242.
- [10] 洪孝友,朱新平,陈昆慈,等. 美洲鲈胚胎及仔稚鱼的发育[J]. 水生生物学报,2011,35(1):153-162.  
HONG X Y, ZHU X P, CHEN K C, et al. Study on the development of the embryo and larva of American Shad, *Alosa sapidissima*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica,2011,35(1): 153-162.
- [11] 徐钢春,张呈祥,郑金良,等. 美洲鲈的人工繁殖及胚胎发育的研究[J]. 海洋科学, 2012, 36(7): 89-96.  
XU G C, ZHANG C X, ZHENG J L, et al. Artificial propagation and embryonic development of American Shad, *Alosa sapidissima*[J]. Marine Sciences, 2012, 36(7): 89-96.
- [12] 王金秋,潘连德,梁天红,等. 松江鲈鱼(*Trachidermus fasciatus*)胚胎发育的初步观察[J]. 复旦学报:自然科学版, 2004, 43(2): 250-254.  
WANG J Q, PAN L D, LIANG T H, et al. Preliminary study on embryonic development of the roughskin sculpin, *Trachidermus fasciatus* (Scorpaeniformes; Cottidae) [J]. Journal of Fudan University: Natural Science, 2004, 43(2): 250-254.
- [13] 胡亚丽,华元渝. 暗纹东方鲀胚胎发育的观察[J]. 南京师大学报:自然科学版,1996,18(4):139-144.  
HU Y L, HUA Y Y. Observation on the embryonic development of *fugu obscurus*[J]. Journal of Nanjing Normal University: Natural Science,1996,18(4):139-144.
- [14] 谢骏,余德光,王广军,等. 人工诱导池塘养殖鳊成熟产卵以及胚胎和仔鱼发育[J]. 水产学报,2005, 29(5):688-694.  
XIE J, YU D G, WANG G J, et al. Spawning and development of embryo and larva in cultivated *Anguilla japonica* by artificial induction[J]. Journal of Fisheries of China, 2005,29(5):688-694.
- [15] 柳凌,张洁明,郭峰,等. 人工条件下日本鳊胚胎及早期仔鱼发育的生物学特征[J]. 水产学报,2010,34(12): 1800-1811.  
LIU L, ZHANG J M, GUO F, et al. Biological characteristics of embryo and larval development in Japanese Eel under artificial incubation[J]. Journal of Fisheries of China, 2010, 34(12): 1800-1811.
- [16] 楼允东. 组织胚胎学[M]. 北京:中国农业出版社,1980: 303-343.  
LOU Y D. Histology and embryology [M]. Beijing: China Agricultural Press,1980:303-343.
- [17] 邱顺林,刘琳,王鸿泰. 鲈鱼的早期发育[J]. 水产学报, 1987, 11(1): 45-52.  
QIU S L, LIU L, WANG H T. Early development of *Tenualosa reevesii*[J]. Journal of Fisheries of China, 1987, 11(1): 45-52.

- [18] 陆桂, 钟展烈, 赵长春, 等. 钱塘江鲟鱼的自然繁殖及人工繁殖[C]. 上海水产学院论文, 1964(1): 1-28.  
LU G, ZHONG Z L, ZHAO C C, et al. Natural propagation and artificial propagation of *Tenualosa reevesii* in the Qiantang River[C]. Proceedings of Shanghai Fisheries University, 1964(1): 1-28.
- [19] KAMLER E. Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective [J]. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 2002, 12: 79-103.
- [20] SHI Y H, ZHANG C Y, LIU J Z, et al. Effects of photoperiod on embryos and larvae of tawny puffer, *Takifugu flavidus* [J]. Journal of the World Aquaculture Society, 2012, 43(2): 278-285.

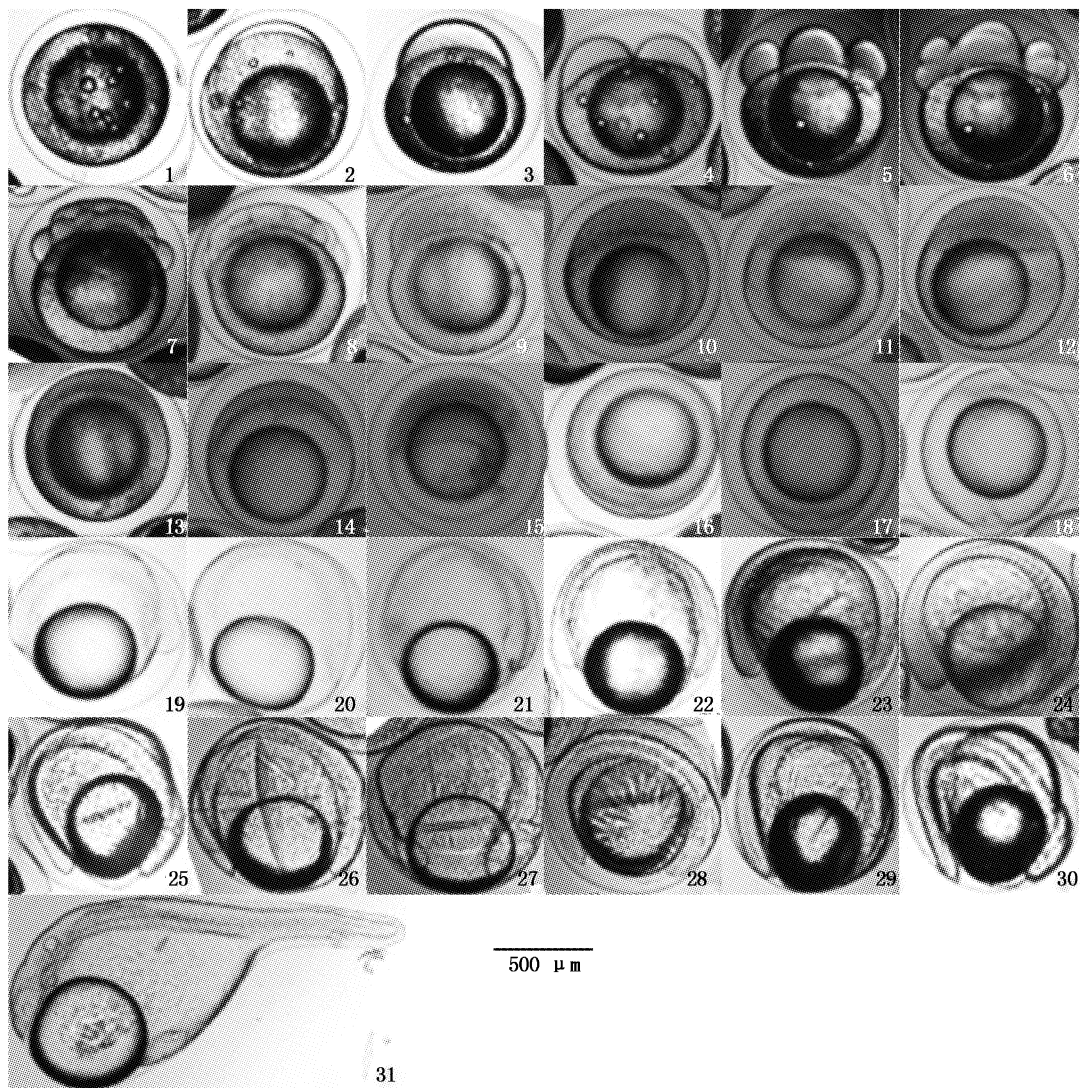
## Complete artificial propagation and embryonic development of *Coilia nasus*

SHI Yonghai, ZHANG Genyu, ZHANG Haiming, LIU Yongshi, YAN Yinlong, LU Genhai, LIU Jianzhong, XIE Yongde, XU Jiabo

(Shanghai Fisheries Research Institute, Shanghai Fisheries Technical Extension Station, Shanghai 200433, China)

**Abstract:** Through complete artificial propagation test and embryonic development observation of *Coilia nasus*, the characteristics of complete artificial propagation, and the morphological and ecological traits at each stage of embryonic development of *Coilia nasus* were studied. The results show that artificial breeding F<sub>1</sub> *Coilia nasus* broodstock (two-year-old) was cultured by the simulated natural migration method; Excellent individuals were selected from the sexually mature broodstocks as parent fishes and induced by injected [D-Ala<sup>6</sup>-Pro<sup>9</sup>-Net] - LHRH - a, and the treatment dosages are: 30 μg per Kg for females and half of doses for males; at 22 - 24 °C, the broodstock naturally copulated and spawned after 18 - 33.5 h following the hormonal treatment, the inducing rate was 91.7%; 2.58 × 10<sup>5</sup> fertilized eggs were obtained, and the fertilization rate was 80.6%; 2.23 × 10<sup>5</sup> yolk-sac larvae were hatched, and the hatching rate was 86.4%. The fertilized eggs were transparent, buoyancy, cohesionless, and spherical in shape with a diameter of (909.86 ± 24.02) μm. The egg had one big oil-ball. According to morphological characteristics, the process of embryo development could be categorized into 7 physiological stages with 30 periods: the blastoderm form stage, the cleavage stage, the blastula stage, the gastrula stage, the neural stage, the organogenesis stage, and the hatching stage. The embryo development lasted for 28 h at the water temperature (23.64 ± 0.36) °C. The newly hatched larvae were transparent and floated on the surface of the water by the oil ball, and the total length was 2 056.37 - 2 074.74 μm. The yolk sac was nearly elliptic, and the oil ball was spherical. The heart rate was 90 - 110 per minute, and the muscle section was 48 - 50 pairs. This study is important in the protection of resources and artificial breeding of *Coilia nasus*.

**Key words:** *Coilia nasus*; complete artificial propagation; embryonic development; fertilized egg



图版 刀鲚的胚胎发育

Plate Embryonic development of *Coilia nasus*

1. 受精卵; 2. 胚盘原基期; 3. 胚盘期; 4. 2 细胞期; 5. 4 细胞期; 6. 8 细胞期; 7. 16 细胞期; 8. 32 细胞期; 9. 64 细胞期; 10. 多细胞期; 11. 囊胚早期; 12. 囊胚中期; 13. 囊胚晚期; 14. 原肠早期; 15. 原肠中期; 16. 原肠晚期; 17. 神经胚期; 18. 胚孔封闭期; 19. 眼基出现期; 20. 肌节出现期; 21. 眼囊出现期; 22. 尾芽出现期; 23. 尾鳍出现期; 24. 耳囊出现期; 25. 肌肉效应期; 26. 晶体出现期; 27. 心跳期; 28. 耳石出现期; 29. 尾颤期; 30. 出膜前期; 31. 初孵仔鱼。

1. Fertilized egg; 2. Blastodisc rudiment; 3. Blastodisc formation; 4. 2-cell; 5. 4-cell; 6. 8-cell; 7. 16-cell; 8. 32-cell; 9. 64-cell; 10. Multicellular; 11. Early blastula; 12. Mid blastula; 13. Late blastula; 14. Early gastrula; 15. Mid gastrula; 16. Late gastrula; 17. Neurula; 18. Closure of blastopore; 19. Appearance of optic rudiment; 20. Appearance of myomere; 21. Appearance of optic vesicle; 22. Appearance of tail bud; 23. Appearance of tail fin; 24. Appearance of otocyst; 25. Muscular contraction; 26. Appearance of lens; 27. Heart pulsation; 28. Appearance of otoliths; 29. Tail fibrillation; 30. Pre-hatching stage; 31. Newly hatched larva.