



军曹鱼的胚胎发育及仔稚鱼形态观察

邝杰华¹, 陈刚^{1,2*}, 马骞^{1,2*}, 黄建盛^{1,2}, 张健东^{1,2},
施钢¹, 王忠良^{1,2}, 汤保贵^{1,2}

(1. 广东海洋大学水产学院, 广东 湛江 524025;

2. 南方海洋科学与工程广东省实验室(湛江), 广东 湛江 524025)

摘要: 为了探明军曹鱼早期发育阶段的特征和规律, 本实验通过连续显微观察, 记录分析其胚胎及仔稚鱼发育各时期的形态特征和发育特点。结果显示, 军曹鱼受精卵呈圆球形, 为浮性卵, 卵径 (1.245 ± 0.065) mm, 油球 1 个, 油球直径 (0.325 ± 0.027) mm。在水温 $(27.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 、盐度 29、pH 值 8.3 的条件下, 军曹鱼卵从受精至孵化出膜约需 26 h 30 min, 经历合子、卵裂、囊胚、原肠胚、神经胚、器官形成和孵化出膜 7 个阶段, 共 24 个时期。初孵仔鱼平均全长 (3.254 ± 0.096) mm, 仔鱼在孵化后第 3 天开口摄食, 眼囊变黑, 卵黄囊被消耗约 80%, 第 5 天卵黄囊消失, 第 7 天油球耗尽, 转化为外源性营养。孵化后第 14 天全长 (19.933 ± 1.118) mm, 各鳍鳍条形成, 进入稚鱼期; 22 日龄稚鱼全长 (41.140 ± 3.779) mm, 尾柄部开始出现鳞片, 46 日龄的后期稚鱼全长达 (116.667 ± 5.916) mm, 体表完全覆盖鳞片, 除尾鳍形状外, 体形与成鱼相似。

关键词: 军曹鱼; 胚胎发育; 仔鱼; 稚鱼; 形态特征

中图分类号: S 965.3

文献标志码: A

军曹鱼 (*Rachycentron canadum*) 隶属于鲈形目 (Perciformes) 鲈亚目 (Percoidei) 军曹鱼科 (Rachycentridae) 军曹鱼属 (*Rachycentron*), 别名海鲷、海龙, 为外海暖水性经济鱼类, 主要分布于东太平洋以外的热带和亚热带海域, 在中国南海部分海域亦有少量分布^[1-2]。据报道, 军曹鱼人工繁育的研究始于 20 世纪 70 年代, Hassler 等^[3]通过采集野生军曹鱼受精卵, 首次实现其人工孵化并培育至稚鱼阶段; Franks 等^[4]采用注射人绒毛膜促性腺激素 (HCG) 的方法, 成功对野捕军曹鱼进行人工催产; 直至 20 世纪 90 年代初, 美国和我国台湾地区先后实现了军曹鱼的人工育苗^[5-6]; 20 世纪 90 年代中期, 广东和海南逐渐

开展军曹鱼的人工养殖, 随后, 叶富良^[7]也成功突破了军曹鱼的人工繁育技术。由于军曹鱼生长速率快、环境适应能力强、养殖周期短、经济价值高, 近年来, 其人工养殖在南方沿海地区蓬勃发展, 随着人工繁殖和规模化育苗技术的突破以及养殖技术的进步, 军曹鱼已成为我国海水网箱养殖中最具前景的经济鱼类之一。

鱼类早期发育阶段的研究主要包括胚胎发育及孵化、仔稚鱼形态特性及生理生态习性, 可为鱼类自然资源增殖及人工繁育苗种提供理论指导^[8]。前期, 本课题组已进行了军曹鱼的人工繁殖和规模化育苗技术研究, 并成功实现其规模化人工繁育^[9-10]。本研究对人工育苗条件下

收稿日期: 2020-08-31 修回日期: 2021-01-08

资助项目: 现代农业产业技术体系专项 (CARS-47); 广东海洋大学科研启动经费专项 (R19022); 南方海洋科学与工程广东省实验室(湛江)(ZJW-2019-06)

第一作者: 邝杰华(照片), 从事鱼类种子工程与健康养殖研究, E-mail: 3242864479@qq.com

通信作者: 陈刚, E-mail: cheng@gdou.edu.cn; 马骞, E-mail: maq@gdou.edu.cn



的军曹鱼胚胎及仔稚鱼形态发育开展系统观察, 详细描述了各胚胎发育期及不同日龄仔稚鱼的形态特征, 旨在为军曹鱼的人工繁殖和苗种培育提供必要的参考资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

2018年至2020年6月, 在广东省湛江市东海岛养殖科技园进行了多批军曹鱼人工繁育试验。从海上网箱中挑选自养的3龄以上成鱼作为亲鱼, 在室外水泥池(100 m³)中强化培育。通过注射LRH-A₃和HCG催产, 雌鱼注射剂量为LRH-A₃(8 μg/kg)+HCG(1200 IU/kg), 雄鱼的注射量为雌鱼的1/2, 效应时间为10~12 h, 或选择生殖周期内的亲鱼, 采用光照、流水等生态刺激的方法诱导自然产卵。受精卵收集筛选后置于500 L圆形孵化桶中充气孵化。仔鱼孵出后, 将其从孵化桶转移至室内水泥池(5 m×3.5 m×1.5 m)进行培育, 饵料系列为经营养强化的褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*)、卤虫(*Artemia salina*)无节幼体、桡足类、卤虫成体及微囊颗粒饲料等。

1.2 实验方法

胚胎发育观察 准确掌握亲鱼发情产卵时间, 在产卵受精后开始取样, 将胚胎置于培养皿内, 在Leica DM500显微镜下进行连续观察, 每次观察取样胚胎30粒以上, 现场记录各胚胎发育期的形态特征及时序, 并进行显微拍摄。胚胎发育的时序划分以50%以上个体发育至各期的时间为标准。

胚后发育观察 从初孵仔鱼开始定期跟踪取样, 每次取约20尾鱼, 经40 mg/L丁香酚麻醉后, 用4%多聚甲醛固定保存, 在Leica TL5000体视显微镜下对不同日龄仔稚鱼的形态特征和器官发育情况进行观察和拍照记录, 并对其全长、卵黄囊长径、油球直径和眼球长径进行测量, 测量精确度为0.002 mm。

1.3 数据与图像处理

使用Excel 2016软件对各项形态学指标数据进行运算分析, 所得数据以平均值±标准差(mean±SD)表示, 并运用线性回归分析的方法推算出军曹鱼早期发育阶段(0~50日龄)生长特性

的回归方程; 用Photoshop 2020软件对拍摄的照片进行裁剪、拼接和编排。

2 结果

2.1 胚胎发育

军曹鱼受精卵在水温(27.0±0.5)°C、盐度29、pH值8.3的条件下历时26 h 30 min至孵化出膜, 根据其胚胎发育特征, 可将整个发育过程划分为合子、卵裂、囊胚、原肠胚、神经胚、器官形成及孵化出膜7个阶段共24个时期(表1)。

合子阶段 受精卵为圆球形, 无色透明, 油球1个, 卵周隙较小(图版I-1), 卵径(1.245±0.065) mm, 油球直径(0.325±0.027) mm。受精卵在海水比重为1.019以上时浮于水面, 由于植物极有一大油球, 呈现动物极朝下, 植物极朝上的状态, 而未受精卵呈混浊状并沉底。

卵裂阶段 受精卵的分裂方式属盘状卵裂。受精后10~15 min, 在动物极可观察到一扁平的胚盘结构, 原生质向动物极集中, 胚盘隆起逐渐扩大, 受精后约38 min达到最大高度(图版I-2)。随后胚盘顶部中央产生一分裂沟, 并向两侧伸展, 12 min后, 胚盘分裂为2个对等的细胞(图版I-3)。受精后1 h进行第2次卵裂, 在两细胞顶部中央出现与第1次分裂面垂直相交的分裂沟, 形成4个大小相似的细胞(图版I-4)。受精后1 h 18 min进行第3次分裂, 在第1次分裂面两侧各出现一条与之平行的分裂沟, 形成8个形状、大小略有差异的细胞(图版I-5)。受精后1 h 45 min进行第4次分裂, 两分裂沟与第2次分裂面平行, 形成16个形态各异的细胞(图版I-6)。从16细胞期以后, 细胞分裂不规则, 也不完全同步, 随着细胞不断分裂, 数目增多体积减小, 由于经裂和纬裂同时进行, 细胞多层排列, 进入多细胞期(图版I-7)。

囊胚阶段 细胞继续分裂至更细密, 细胞界限模糊不清, 受精后3 h 15 min, 在原胚盘处堆积成帽状的囊胚, 进入高囊胚期(图版I-8)。随着细胞的持续分裂, 隆起的细胞团向扁平发展, 囊胚层高度逐渐降低, 边缘的细胞开始向植物极下包, 在受精后4 h 35 min进入低囊胚期(图版I-9)。

原肠胚阶段 胚盘边缘细胞继续向植物极方向延伸、下包, 在受精后5 h 55 min, 部分细胞在下包的同时内卷形成胚环的雏形, 胚胎

表 1 军曹鱼胚胎发育过程

Tab. 1 Embryonic development of *R. canadum*

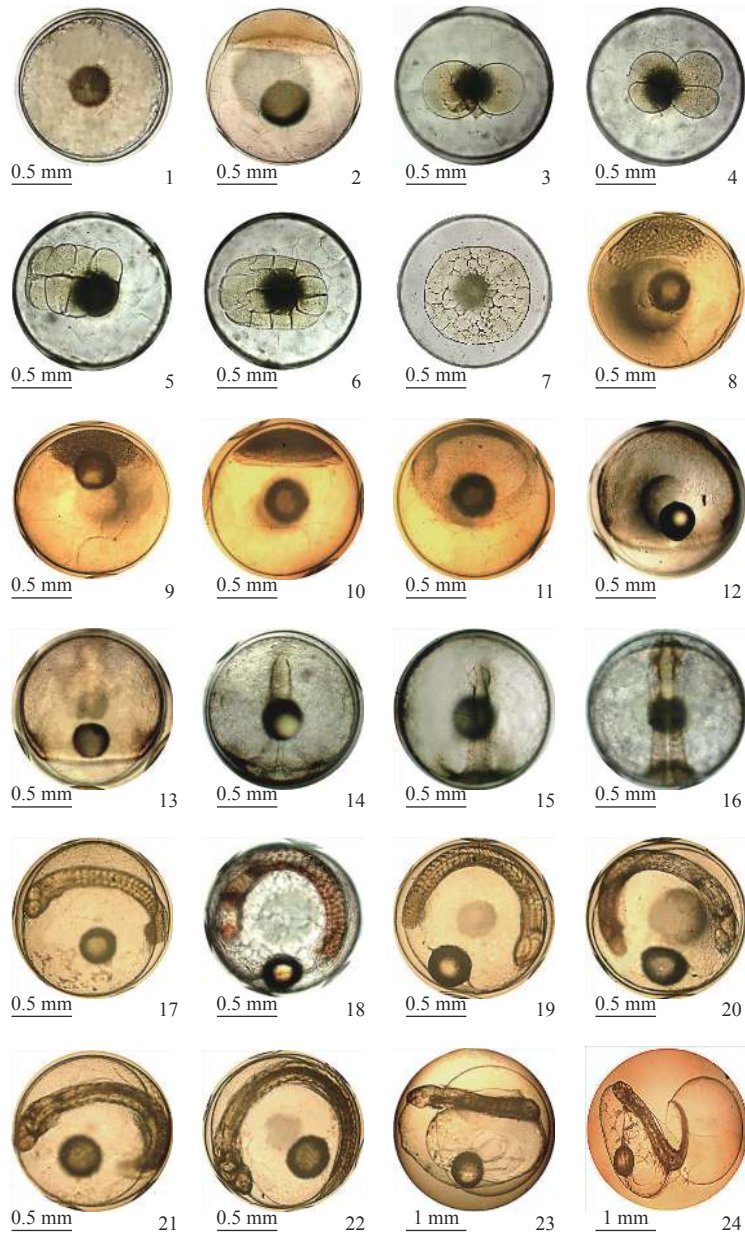
胚胎发育时期 stage of embryonic development	受精后时间 time after fertilization	主要特征 developmental characteristics
受精卵 fertilized egg	0	圆球形, 具有一个油球(图版 I -1)
胚盘形成 blastodisc formation	0 h 38 min	胚盘扩大隆起达到最大高度, 侧面观呈帽状(图版 I -2)
2 细胞期 2-cell stage	0 h 50 min	第1次分裂, 胚盘形成2个对等细胞(图版 I -3)
4 细胞期 4-cell stage	1 h 0 min	第2次分裂, 胚盘形成4个对等细胞(图版 I -4)
8 细胞期 8-cell stage	1 h 18 min	第3次分裂, 形成8个形态大小略有差异的细胞(图版 I -5)
16 细胞期 16-cell stage	1 h 40 min	第4次分裂, 形成16个形态不规则的细胞(图版 I -6)
多细胞期 multi-cell stage	2 h 25 min	细胞持续分裂, 体积变小, 数量增多, 呈多细胞胚体(图版 I -7)
高囊胚期 high blastula stage	3 h 15 min	细胞细小集中且界限不明显, 胚盘隆起, 侧面观呈高帽状(图版 I -8)
低囊胚期 low blastula stage	4 h 35 min	胚盘逐渐降低, 胚盘边缘细胞向植物极下包(图版 I -9)
原肠早期 early gastrula stage	5 h 55 min	胚盘边缘细胞增多下包, 内卷形成胚环(图版 I -10)
原肠中期 middle gastrula stage	7 h 10 min	胚层细胞下包达卵黄1/3, 胚环更明显, 形成胚盾雏形(图版 I -11)
原肠晚期 late gastrula stage	9 h 5 min	胚层细胞下包达卵黄1/2~2/3, 胚盾明显延长(图版 I -12)
卵黄栓形成期 yolk plug formation	9 h 30 min	胚层细胞下包达卵黄5/6, 胚环明显缩小, 植物极卵黄大部分被包围, 末端外露形成卵黄栓(图版 I -13)
胚体形成期 embryo body stage	10 h 30 min	神经沟两侧向背部隆起, 胚体轮廓清晰(图版 I -14)
胚孔封闭期 closure of blastopore	11 h 25 min	胚层下包完全, 胚孔封闭(图版 I -15)
肌节出现期 muscle burl stage	13 h 10 min	胚体中部出现肌节, 脑已分化为前、中、后脑3部分(图版 I -16)
视囊形成期 optic vesicle stage	15 h 25 min	眼囊中央出现一凹陷, 视杯逐渐形成, 肌节15~18对(图版 I -17)
尾芽期 tail-bud stage	16 h 35 min	胚体后端突出形成尾芽并与卵黄囊分离, 肌节20对(图版 I -18)
晶体形成期 eye lens formation	17 h 5 min	视杯出现晶状体, 中脑分化为左右两半球, 肌节23~25对(图版 I -19)
肌肉效应期 muscular effect stage	19 h 0 min	胚体肌肉间歇出现颤动式收缩, 管状心脏出现(图版 I -20)
心脏跳动期 heart beating stage	21 h 15 min	心脏明显分为心室和心耳, 呈微弱的、有规律的搏动(图版 I -21)
将孵期 pre-hatching stage	24 h 10 min	胚体尾部扭动, 使胚体在卵膜内频繁转动(图版 I -22)
孵化期 hatching stage	25 h 40 min	胚体尾部剧烈摆动, 胚体头部先行出膜(图版 I -23)
初孵仔鱼 newly-hatched larvae	26 h 30 min	整个胚体脱离卵膜(图版 I -24)

进入原肠早期(图版 I -10)。胚层细胞继续下包和内卷, 在受精后 7 h 10 min 下包达卵黄 1/3, 胚环更明显, 并进一步内卷为胚盾, 进入原肠中期(图版 I -11)。受精后约 9 h 5 min, 胚层细胞下包至卵黄的 1/2~2/3, 胚盾明显延长, 出现胚体雏形, 进入原肠晚期(图版 I -12)。

神经胚阶段 受精后 9 h 30 min, 植物极的卵黄大部分被胚层细胞包围, 胚环缩小, 末端外露形成卵黄栓(图版 I -13)。受精后 10 h 30 min, 胚盾中央出现一增厚的外胚层细胞索, 从基部向前延伸, 神经沟两侧向背部隆起形成神经脊,

胚体轮廓清晰(图版 I -14)。受精后 11 h 25 min, 胚体头部两侧出现一对肾形突起, 即眼原基, 胚层下包完全, 胚孔封闭(图版 I -15)。

器官形成阶段 受精后 13 h 10 min, 胚体中部出现肌节 4~5 对, 脑已开始分化出前、中、后脑 3 部分(图版 I -16)。受精后 15 h 25 min, 眼囊中央出现一凹陷, 并逐渐形成视杯; 脑进一步分化, 中脑背面隆起, 脑后出现一对耳囊, 肌节 15~18 对(图版 I -17)。受精后 16 h 35 min, 胚体后端突出形成尾芽并与卵黄囊分离, 尾部出现皮膜状鳍褶, 脊索明显, 胚体上开始出现



图版 I 军曹鱼的胚胎发育

1. 受精卵, 2. 胚盘隆起, 3. 2细胞期, 4. 4细胞期, 5. 8细胞期, 6. 16细胞期, 7. 多细胞期, 8. 高囊胚期, 9. 低囊胚期, 10. 原肠早期, 11. 原肠中期, 12. 原肠晚期, 13. 卵黄栓形成期, 14. 胚体形成期, 15. 胚孔封闭期, 16. 肌节出现期, 17. 视囊形成期, 18. 尾芽期, 19. 晶体形成期, 20. 肌肉效应期, 21. 心脏跳动期, 22. 将孵期, 23. 孵化期, 24. 初孵仔鱼

Plate I Embryonic development of *R. canadum*

1. fertilized egg, 2. blastodisc formation, 3. 2-cell stage, 4. 4-cell stage, 5. 8-cell stage, 6. 16-cell stage, 7. multi-cell stage, 8. high blastula stage, 9. low blastula stage, 10. early gastrula stage, 11. middle gastrula stage, 12. late gastrula stage, 13. yolk plug formation, 14. embryo body stage, 15. closure of blastopore, 16. muscle burl stage, 17. optic vesicle stage, 18. tail-bud stage, 19. eye lens formation, 20. muscular effect stage, 21. heart-beating stage, 22. pre-hatching stage, 23. hatching stage, 24. newly hatched larvae

黑色素, 肌节 20 对 (图版 I -18)。30 min 后, 视杯中出现圆形晶体, 中脑分化为左右两半球, 背部膜状鳍褶延伸至头后, 心脏原基出现, 肌节 23~25 对 (图版 I -19)。受精后约 19 h, 胚体肌肉发生间歇的颤动式收缩, 进入肌肉效应期, 形

成一个管状心脏 (图版 I -20)。受精后 21 h 10 min, 心脏明显分为心室和心耳, 呈微弱的、有节律的搏动, 并逐渐加强; 尾部与卵黄明显脱离, 肌肉收缩逐渐频繁, 尾部扭曲 (图版 I -21)。

孵化出膜阶段 受精后 24 h 10 min, 胚体

盘曲于卵膜内并围绕卵黄近1圈,尾鳍分化明显(图版 I -22)。心脏持续跳动,频率约185次/min,血液循环清晰可见,胸鳍原基出现;尾部剧烈扭动,使胚体在卵膜内频繁转动。受精后25 h 30 min,卵膜变薄变软,胚体尾部剧烈摆动,使靠近头部的卵膜逐渐隆起,最终破裂,胚体头部先行出膜(图版 I -23)。受精后约26 h,随着尾部摆动加强,仔鱼整体脱离卵膜(图版 I -24),该出膜过程持续约30 min。

2.2 早期生长发育特征

各日龄军曹鱼仔稚鱼全长变化曲线的回归分析结果显示,军曹鱼早期发育阶段(0~50日龄)的生长特性符合公式: $TL=-0.0023D^3+0.1766D^2-0.8044D+3.2537(R^2=0.9962)$,其中 TL 为全长(mm), D 为孵化日龄(dph)。仔鱼早期发育阶段(0~10日龄)生长缓慢,11~40日龄仔稚鱼生长速率明显加快(图1)。

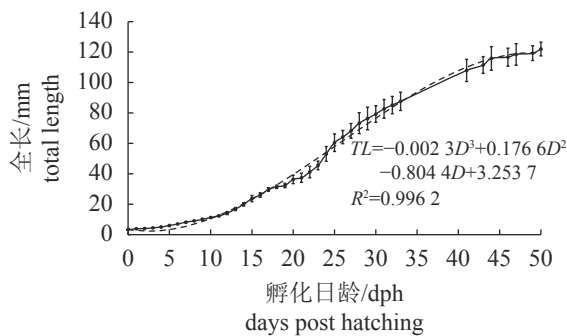
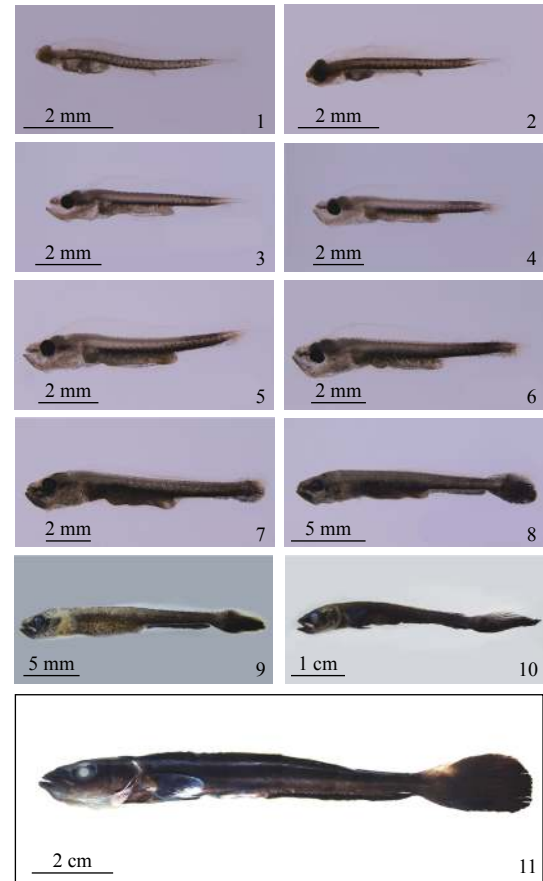


图1 0~50日龄军曹鱼全长生长曲线($n=15$)

Fig. 1 Total length of *R. canadum* from 0 to 50 dph

前期仔鱼 1日龄(图版 II -1),全长 (3.867 ± 0.163) mm,卵黄囊开始缩小,其长径为 (0.892 ± 0.068) mm,油球直径 (0.235 ± 0.025) mm。肠细直,肛门封闭,围心腔增大;耳囊内半规管明显,眼囊突出于头部两侧,色素积聚较少,呈浅褐色,晶状体为浅灰色圆球状(图版 III -1);卵黄囊上出现色素,背鳍膜较高且后部出现黄色素,尾部呈圆锥状,被鳍膜完全包围(图版 III -7)。在静水情况下仔鱼仍浮于水面。

2日龄(图版 II -2),全长 (4.033 ± 0.150) mm,卵黄囊长径 (0.503 ± 0.086) mm,油球直径 (0.196 ± 0.054) mm。孵出后34~36 h肛门和口先后外开,肠管开始蠕动;眼囊颜色加深,黑色素从晶状体周缘向外沉积(图版 III -2);随着卵黄物质被消耗,卵黄囊收缩,体侧分布的点状或星芒状褐



图版 II 军曹鱼仔稚鱼形态发育

1. 1日龄仔鱼, 2. 2日龄仔鱼, 3. 3日龄仔鱼, 4. 4日龄仔鱼, 5. 5日龄仔鱼, 6. 7日龄仔鱼, 7. 9日龄仔鱼, 8. 12日龄仔鱼, 9. 14日龄稚鱼, 10. 22日龄稚鱼, 11. 46日龄稚鱼

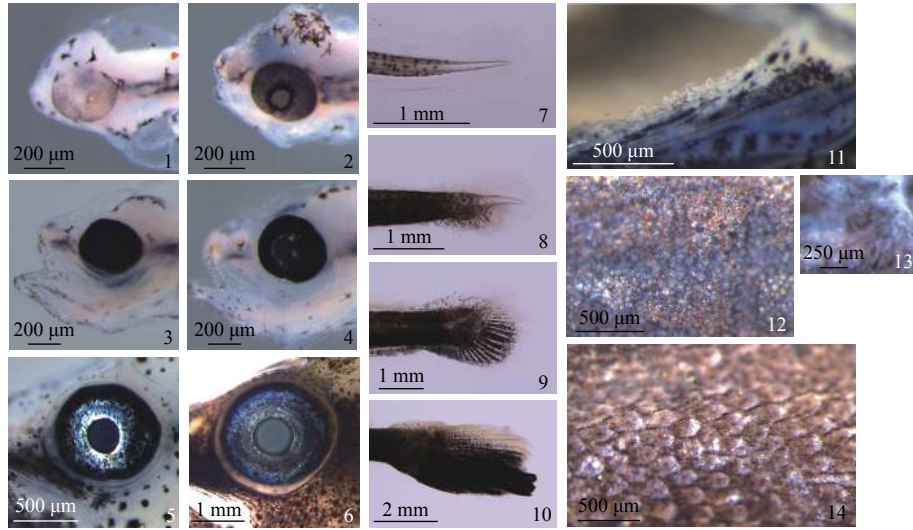
Plate II Morphological development of larvae and juvenile of *R. canadum*

1. 1 dph larvae, 2. 2 dph larvae, 3. 3 dph larvae, 4. 4 dph larvae, 5. 5 dph larvae, 6. 7 dph larvae, 7. 9 dph larvae, 8. 12 dph larvae, 9. 14 dph juvenile, 10. 22 dph juvenile, 11. 46 dph juvenile

色素变得更加密集。此时,仔鱼可进行短距离平游。

3日龄(图版 II -3),全长 (4.453 ± 0.267) mm,卵黄囊被消耗约80%,其长径为 (0.327 ± 0.092) mm,油球直径 (0.158 ± 0.042) mm。肠蠕动明显,口裂张合频繁,已开始捕食轮虫;眼囊整体呈黑色,无法清晰地看出晶状体(图版 III -3);胸鳍增大,可向外垂直张开,臀鳍膜的后部出现褐色的色素丛。

4日龄(图版 II -4),全长 (5.027 ± 0.281) mm,卵黄囊仅残存少量,油球直径 (0.106 ± 0.038) mm。口裂加深扩大,肠道中段膨大;眼囊开始出现虹膜环,呈放射状,环绕于晶状体周缘(图版 III -4);鳃盖出现,鳃盖棘5个,鱼体肌节腹面褐色素增



图版 III 军曹鱼各部位发育形态特征

1-6. 眼睛发育, 7-10. 尾鳍发育, 11. 颌齿, 12-13. 初步形成的鳞片, 14. 发育完全的鳞片

Plate III Morphological characteristics of various parts development of *R. canadum*

1-6. eye development, 7-10. caudal fin development, 11. jaw teeth, 12-13. primary scales, 14. mature scales

加, 尾鳍出现放射丝。仔鱼游动能力增强, 对光照变化逐渐敏感。

5 日龄 (图版 II -5), 全长 (6.007±0.171) mm, 卵黄囊完全消失, 油球直径 (0.092±0.028) mm。脊索开始分节, 尾鳍放射丝更明显, 鳃丝呈锯齿状, 未出现鳃耙, 肝脏在腹腔前端形成。仔鱼对光反应敏感, 出现趋光集群现象。

后期仔鱼 7 日龄 (图版 II -6), 全长 (8.173±0.317) mm, 油球完全消失, 鳃盖棘 6 个, 鳃丝较长, 齿状鳃耙 8 个, 尾椎骨上翘, 尾鳍下部已开始出现鳍条 (图版 III -8)。

9 日龄 (图版 II -7), 全长 (10.053±0.594) mm, 肠道中间位置出现一道弯曲; 背鳍与尾鳍、臀鳍与尾鳍之间出现明显的凹陷, 胸鳍、臀鳍开始出现鳍条, 尾鳍鳍条数增加, 尾鳍上缘呈淡黄色 (图版 III -9); 眼球长径 (0.652±0.042) mm, 虹膜环明显变宽, 内缘呈亮白色, 外缘呈亮蓝色 (图版 III -5); 上颌齿出现, 体色变黑。

12 日龄 (图版 II -8), 全长 (14.167±1.002) mm, 生长发育差异明显, 体型较大的仔鱼背鳍、尾鳍、臀鳍分离, 腹鳍分化, 背鳍鳍条开始出现, 较小的仔鱼背鳍鳍条尚未形成。

稚鱼期 14 日龄 (图版 II -9), 全长 (19.933±1.118) mm, 体呈黑色, 各鳍鳍条形成, 背鳍边缘、尾鳍上下缘呈淡黄色, 尾鳍呈扇形 (图版 III -10), 臀鳍较长, 但背鳍鳍棘尚未分化; 上下颌长出

小型颌齿 (图版 III -11)。

22 日龄 (图版 II -10), 全长 (41.140±3.779) mm, 眼球长径 (2.084±0.173) mm, 晶状体呈灰白色, 虹膜环占眼球面积的 2/3, 均匀分布大量的颗粒状色素 (图版 III -6); 尾柄位置出现细小的鳞片, 显微观察为圆鳞 (图版 III -12、13); 第一背鳍具有 8~10 个游离棘, 背鳍、臀鳍与尾鳍末端明显延长。

46 日龄 (图版 II -11), 全长 (116.667±5.916) mm, 体背侧出现一条黑色纵带, 从头部眼上方一直延伸至尾鳍, 而腹侧出现一条浅黄色或灰白色纵带, 从口下方延伸至尾鳍; 背鳍、臀鳍和尾鳍呈黑色, 边缘为浅黄色; 体表均覆盖圆鳞, 且鳞片发育完全 (图版 III -14)。形态与成鱼相似, 但尾鳍尚为圆形, 与成鱼的叉形不同。

3 讨论

3.1 胚胎发育特征分析

本研究在人工繁育条件下观察并记录了军曹鱼胚胎发育的 24 个时期的形态特征变化。军曹鱼与大多数硬骨鱼类的卵裂方式相同, 均属盘状分裂^[8, 11], 但由于物种特异性, 军曹鱼胚胎发育具有自身的特点: 从卵裂期进入囊胚期后, 分裂球隆起不明显, 在囊胚期中, 卵裂的同时, 部分胚盘边缘细胞已向下延伸。眼原基在胚孔

封闭前已形成, 从原肠后期发育至胚孔封闭期, 既包含了细胞分化, 又包含了器官分化。

相关研究表明, 鱼卵的直径对其发育速率有显著的影响, 一般卵径越大, 发育速率越慢^[12-13], 对比了军曹鱼与 8 种鲈亚目暖水性海水鱼类的胚胎发育特征, 包括斜带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*)^[14-15]、棕点石斑鱼 (*E. fuscoguttatus*)^[16-17]、鞍带石斑鱼 (*E. lanceolatus*)^[18]、赤点石斑鱼 (*E. akaara*)^[19]、驼背鲈 (*Chromileptes altivelis*)^[20]、条石鲷 (*Oplegnathus fasciatus*)^[21]、眼斑拟石首鱼 (*Sciaenops ocellatus*)^[22] 和棘头梅童鱼 (*Collichthys lucidus*)^[23] 的受精卵直径、油球直径、孵化水温及胚胎发育时间 (表 2)。军曹鱼的卵径大于以上 8 种鱼类, 但在相近水温下其胚胎发育速率无明显减慢, 造成这一现象的原因可能与盐度以及军曹鱼自身的遗传特性相关。盐度对鱼类受精卵的孵化周期具有一定影响^[24-25], 以上几种鱼类分布于不同海域, 胚胎孵化时的海水盐度差异较大; 军曹鱼作为鲈亚目中“单科单属单种”的鱼类, 在繁殖生物学及遗传学特性上存在明显的物种特异性^[26]。鱼类的胚胎发育与孵化水温密切相关, 在适温范围内, 水温越高, 胚胎发育速率越快^[27-28], 参照不同批次军曹鱼人工繁育的观察结果发现, 孵化水温为 24~26 °C 时, 胚胎发育时间约需 29 h; 水温为 26~28 °C 时, 胚胎发育时间需 26~27 h; 而水温为 28~29 °C 时, 胚胎发育时间只需 22~24 h; 但水温升高至 30 °C 以上时, 死卵数量及初孵仔鱼的死亡率与畸形率均明显升高。

3.2 仔稚鱼发育特征分析

目前关于鱼类早期生长发育阶段的划分方式尚未统一, 通常以卵黄囊的消失、营养方式的转变、鳍条的形成、鳞片的覆盖程度等为划分依据^[8]。本研究依据军曹鱼各鳍鳍条形成与否划分仔鱼和稚鱼阶段, 即在各鳍尚未完全出现鳍条前为仔鱼阶段, 再以卵黄囊是否耗尽将其进一步划分为前期仔鱼 (0~5 日龄) 和后期仔鱼 (6~13 日龄); 各鳍齐备且鳍条形成后进入稚鱼期阶段, 约为 14 日龄, 全长 (19.933±1.118) mm, 此阶段各鳍及鳍棘逐渐分化, 尾柄及腹部处先后出现鳞片; 约 46 日龄, 全长 (116.667±5.916) mm, 鱼体表鳞片发育完善, 体侧形成黑色和灰白色纵带, 除尾鳍形状外, 形态与成鱼相似, 此发育阶段亦可称为前期幼鱼。

比较了军曹鱼与上述 8 种鲈亚目暖水性海水鱼类的早期发育特征, 发现军曹鱼初孵仔鱼的体型明显更大, 且鳍条发育完善的速率也更快 (表 3)。据报道, 初孵仔鱼的体型越大, 其口裂也越大, 更有利于获取开口饵料^[29], 因此军曹鱼仔鱼在开口摄食阶段可获得相对更多的养分, 促进鱼体各部位的分化发育。军曹鱼仔鱼的卵黄囊在孵出后第 5 天消失, 而油球则在第 7 天才完全耗尽; 在育苗过程中发现, 当条件不适时, 没有开口摄食的仔鱼仍可存活至第 7 天, 说明由内源性营养过渡至外源性营养的过程中, 油球仍可为鱼体提供养分, 而 5 日龄已开口摄食饵料的仔鱼虽然卵黄囊已耗尽, 但其内源性营养仍

表 2 9 种鲈亚目暖水性海水鱼类胚胎发育特征的比较分析

Tab. 2 Comparison of embryonic development characteristics among nine Percoid fishes

种名 specific name	受精卵直径/mm diameter of fertilized egg	油球直径/mm diameter of oil-ball	孵化水温/°C brooding temperature	胚胎发育时间 time for embryonic development
军曹鱼 <i>R. canadum</i>	1.245±0.065	0.325±0.027	27.0±0.5	26 h 30 min
斜带石斑鱼 <i>E. coioides</i>	0.780±0.160	0.170±0.040	26.5±1.5	25 h 40 min
褐点石斑鱼 <i>E. fuscoguttatus</i>	0.820±0.015	0.235±0.010	27.5±0.5	21 h 16 min
鞍带石斑鱼 <i>E. lanceolatus</i>	0.790~0.850	0.200~0.260	27.5±0.5	25 h 30 min
赤点石斑鱼 <i>E. akaara</i>	0.740±0.013	0.150±0.010	26.0±1.0	23 h 30 min
驼背鲈 <i>C. altivelis</i>	0.914±0.019	0.201±0.012	25.5±0.5	27 h 25 min
条石鲷 <i>O. fasciatus</i>	0.860±0.012	0.200±0.020	23.5±0.5	27 h 30 min
眼斑拟石首鱼 <i>S. ocellatus</i>	0.890~0.980	0.260~0.310	24.0±0.5	26 h 0 min
棘头梅童鱼 <i>C. lucidus</i>	1.182±0.041	0.458±0.015	24.7±0.3	21 h 58 min

表 3 9 种鲈亚目暖水性海水鱼类仔鱼阶段发育特征的比较分析

Tab. 3 Comparison of main characteristics among nine Percoidei fishes at larvae stage

种名 specific name	初孵仔鱼全长/mm newly hatched larvae length	卵黄囊消失/d yolk-sac depletion	油球耗尽/d oil-ball depletion	鳍条完善/d fin ray completion
军曹鱼 <i>R. canadum</i>	3.253±0.096	5	7	14
斜带石斑鱼 <i>E. coioides</i>	1.780±0.070	4	5	30
棕点石斑鱼 <i>E. fuscoguttatus</i>	1.810±0.120	4	5	25
鞍带石斑鱼 <i>E. lanceolatus</i>	1.800~1.930	3	4	20
赤点石斑鱼 <i>E. akaara</i>	1.750±0.050	4	4	30
驼背鲈 <i>C. altivelis</i>	1.345±0.105	3	4	31
条石鲷 <i>O. fasciatus</i>	1.950±0.043	3	6	30
眼斑拟石首鱼 <i>S. ocellatus</i>	1.700~1.790	3	3	20
棘头梅童鱼 <i>C. lucidus</i>	2.536±0.059	5	8	25

未消耗完全, 处于内源与外源兼备的混合型营养阶段^[30]。孵化后前 8 天, 仔鱼发育差异并不明显, 而 8 日龄后个体发育的差异明显增大, 孵化后第 8~14 天, 肠道出现弯曲、各鳍分化、鳍条形成、体色变黑。由于卵质以及转为外源性营养后摄食状况的差异, 导致仔鱼的生长速率不一, 对各器官的形成及发育程度造成影响^[13], 此阶段影响仔鱼器官发育速率的主导因素是鱼体的规格, 一般生长速率快、体型较大的个体, 器官发育早, 反之则慢。本研究发现, 军曹鱼早期生长发育前期(1~10 日龄)的生长速率较慢, 而后期(11~40 日龄)的生长速率明显加快, 呈现典型的异速生长模式^[31], 在其他硬骨鱼类的早期发育阶段也发现类似的现象^[21, 29, 32], 由于前期所需养分由卵黄囊、油球以及摄食的轮虫和桡足类提供, 而后期主要通过摄食成体卤虫以及微囊颗粒饲料来补充养分, 摄入的营养物质含量明显提高, 生长速率也明显加快。推测这种早期阶段的异速生长特性是与鱼类的生态习性相适应的, 也是一种适应生长环境变化和提高仔稚鱼存活率的生存模式^[33-34]。

参考文献 (References):

- [1] Castellanos-Galindo G A, Baos R, Zapata L A. Mariculture-induced introduction of cobia *Rachycentron canadum* (Linnaeus, 1766), a large predatory fish, in the Tropical Eastern Pacific[J]. *BioInvasions Records*, 2016, 5(1): 55-58.
- [2] 陈浩如, 孙丽华, 胡建兴, 等. 军曹鱼生物学特性及苗种规模化繁育技术[J]. *海洋科学*, 2006, 30(2): 5-9, 90.
- [3] Chen H R, Sun L H, Hu J X, et al. Biological characteristics and artificial breeding technique in a large scale of cobia, *Rachycentron canadum*[J]. *Marine Sciences*, 2006, 30(2): 5-9, 90 (in Chinese).
- [4] Hassler W W, Rainville R P. Techniques for hatching and rearing cobia, *Rachycentron canadum*, through larval and juvenile stages[M]. University of North Carolina. Sea grant program, 1235 Burlington Laboratories, UNC-SG-75-30, Raleigh, North Carolina USA, 1975, 26p.
- [5] Franks J S, Ogle J T, Lotz J M, et al. Spontaneous spawning of cobia, *Rachycentron canadum*, induced by human chorionic gonadotropin (HCG), with comments on fertilization, hatching and larval development[J]. *Proceedings of the Gulf and Caribbean Fisheries Institute*, 2001, 52: 598-609.
- [6] Biesiot P M, Caylor R E, Franks J S. Biochemical and histological changes during ovarian development of cobia, *Rachycentron canadum*, from the northern Gulf of Mexico[J]. *Fishery Bulletin*, 1994, 92(4): 686-696.
- [7] Liao I C, Huang T S, Tsai W S, et al. Cobia culture in Taiwan: Current status and problems[J]. *Aquaculture*, 2004, 237(1-4): 155-165.
- [8] 叶富良. 军曹鱼人工繁殖技术[J]. *科学养鱼*, 2002(12): 12-13.
- [9] Ye F L. Artificial reproduction technology of cobia, *Rachycentron canadum*[J]. *Scientific Fish Farming*, 2002(12): 12-13 (in Chinese).
- [10] 殷名称. 鱼类早期生活史研究与其进展[J]. *水产学报*,

- 1991, 15(4): 348-358.
- Yin M C. Advances and studies on early life history of fish[J]. Journal of Fisheries of China, 1991, 15(4): 348-358 (in Chinese).
- [9] 陈刚, 张健东, 叶宁, 等. 军曹鱼的养殖技术介绍(上)[J]. 科学养鱼, 2004(1): 10-11.
- Chen G, Zhang J D, Ye N, *et al.* Introduction of culture technology of cobia, *Rachycentron canadum*(I) [J]. Scientific Fish Farming, 2004(1): 10-11 (in Chinese).
- [10] 陈刚, 张健东, 施钢, 等. 军曹鱼的养殖技术介绍(中)[J]. 科学养鱼, 2004(2): 10-11.
- Chen G, Zhang J D, Shi G, *et al.* Introduction of culture technology of cobia, *Rachycentron canadum*(II)[J]. Scientific Fish Farming, 2004(2): 10-11 (in Chinese).
- [11] 麦贤杰, 黄伟健, 叶富良, 等. 海水鱼类繁殖生物学和人工繁育 [M]. 北京: 海洋出版社, 2005: 49-52.
- Mai X J, Huang W J, Ye F L, *et al.* Reproductive biology and artificial breeding of marine fish[M]. Beijing: China Ocean Press, 2005, 49-52 (in Chinese).
- [12] Ware D M. Relation between egg size, growth, and natural mortality of larval fish[J]. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada*, 1975, 32(12): 2503-2512.
- [13] Bonislawski M, Formicki K, Winnicki A. Size of eggs and duration of embryogenesis in fishes[J]. *Acta Ichthyologica Et Piscatoria*, 2000, 30(1): 61-71.
- [14] 张海发, 刘晓春, 刘付永忠, 等. 斜带石斑鱼胚胎及仔稚幼鱼形态发育[J]. 中国水产科学, 2006, 13(5): 689-699.
- Zhang H F, Liu X C, Liufu Y Z, *et al.* Embryonic development, morphological development of larva, juvenile and young fish of *Epinephelus coioides*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2006, 13(5): 689-699 (in Chinese).
- [15] 谢仰杰, 翁朝红, 苏永全, 等. 斜带石斑鱼仔稚鱼生长和摄食的研究[J]. 厦门大学学报(自然科学版), 2007, 46(1): 123-130.
- Xie Y J, Weng Z H, Su Y Q, *et al.* Studies on growth and feeding of larva and juvenile of *Epinephelus coioides*[J]. Journal of Xiamen University (Natural Science), 2007, 46(1): 123-130 (in Chinese).
- [16] 林彬, 黄宗文, 骆剑, 等. 棕点石斑鱼胚胎发育的观察[J]. 海南师范大学学报(自然科学版), 2010, 23(1): 87-92.
- Lin B, Huang Z W, Luo J, *et al.* Embryonic development observation of *Epinephelus fuscoguttatus*[J]. Journal of Hainan Normal University (Natural Science), 2010, 23(1): 87-92 (in Chinese).
- [17] Bai L R, Zhao Z Y. Study on embryonic development, larva, juvenile and young fish of *Epinephelus fuscoguttatus*[J]. Agricultural Science & Technology, 2016, 17(6): 1305-1314, 1354.
- [18] 周玲, 翁文明, 李金亮, 等. 鞍带石斑鱼胚胎发育及仔鱼形态发育、饵料转变的观察研究[J]. 中国农学通报, 2010, 26(1): 293-302.
- Zhou L, Weng W M, Li J L, *et al.* Studies on embryonic development, morphological development and feed changeover of *Epinephelus lanceolatus* larva[J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2010, 26(1): 293-302 (in Chinese).
- [19] 许波涛, 李加儿, 周宏团. 赤点石斑鱼的胚胎和仔鱼形态发育[J]. 水产学报, 1985, 9(4): 369-374.
- Xu B T, Li J E, Zhou H T. Observation on the development of egg and larvae of red spotted grouper[J]. Journal of Fisheries of China, 1985, 9(4): 369-374 (in Chinese).
- [20] 张梦淇, 陈超, 李炎璐, 等. 驼背鲈 (*Chromileptes altivelis*) 的胚胎发育及仔、稚、幼鱼形态观察[J]. 渔业科学进展, 2014, 35(5): 145-153.
- Zhang M Q, Chen C, Li Y L, *et al.* Developmental and morphological characteristics of embryo, larval, juvenile, and young fish, *Chromileptes altivelis*[J]. Progress in Fishery Sciences, 2014, 35(5): 145-153 (in Chinese).
- [21] 柳学周, 徐永江, 王妍妍, 等. 条石鲷的早期生长发育特征[J]. 动物学报, 2008, 54(2): 332-341.
- Liu X Z, Xu Y J, Wang Y Y, *et al.* Characters of development and growth of early life stages of the rock bream *Oplegnathus fasciatus*[J]. Acta Zoologica Sinica, 2008, 54(2): 332-341 (in Chinese).
- [22] 王波, 房慧, 张榭令, 等. 眼斑拟石首鱼胚胎及仔鱼、稚鱼发育的初步观察[J]. 黄渤海海洋, 1999, 17(1): 51-56.
- Wang B, Fang H, Zhang X L, *et al.* A preliminary observation on the development of embryonic, larval and juvenile red drum (*Sciaenops ocellatus*)[J]. Journal of Oceanography of Huanghai & Bohai Seas, 1999, 17(1): 51-56 (in Chinese).
- [23] 刘俊果, 宋炜, 蒋科技, 等. 棘头梅童鱼胚胎发育和仔

- 鱼形态观察[J]. 海洋渔业, 2018, 40(6): 691-702.
- Liu J G, Song W, Jiang K J, *et al.* Observation of embryonic development and larval morphology of *Collichthys lucidus*[J]. Marine Fisheries, 2018, 40(6): 691-702 (in Chinese).
- [24] Reinoso S, Mora - Pinargote J, Bohórquez-Cruz M, *et al.* Effect of water salinity on embryonic development of longfin yellowtail *Seriola rivoliana* larvae[J]. *Aquaculture Research*, 2020, 51(3): 1317-1321.
- [25] 黄贤克, 单乐州, 闫茂仓, 等. 黄姑鱼胚胎发育及其与温度和盐度的关系[J]. 海洋科学, 2017, 41(7): 44-50.
- Huang X K, Shan L Z, Yan M C, *et al.* Embryonic development of *Nibea albiflora* and the effects of temperature and salinity on embryogenesis[J]. Marine Sciences, 2017, 41(7): 44-50 (in Chinese).
- [26] Brown-Peterson N J, Overstreet R M, Lotz J M, *et al.* Reproductive biology of cobia, *Rachycentron canadum*, from coastal waters of the southern United States[J]. Fishery Bulletin, 2001, 99: 15-28.
- [27] Kupren K, Mamcarz A, Kucharczyk D, *et al.* Influence of water temperature on eggs incubation time and embryonic development of fish from genus *Leuciscus*[J]. *Polish Journal of Natural Science*, 2008, 23(2): 461-481.
- [28] Martell D J, Kieffer J D, Trippel E A. Effects of temperature during early life history on embryonic and larval development and growth in haddock[J]. *Journal of Fish Biology*, 2005, 66(6): 1558-1575.
- [29] Yang S G, Hur S W, Ji S C, *et al.* Morphological development of embryo, larvae and juvenile in yellowtail kingfish, *Seriola lalandi*[J]. Development & Reproduction, 2016, 20(2): 131-140.
- [30] 郑怀平. 鱼类早期生活史的营养与摄食[J]. 盐城工学院学报, 1999, 12(3): 63-66.
- Zheng H P. Nutrition and feeding of early life history of fishes[J]. Journal of Yancheng Institute of Technology, 1999, 12(3): 63-66 (in Chinese).
- [31] 张云龙, 张海龙, 王凌宇, 等. 鱼类早期发育阶段异速生长及核酸、消化酶变化的研究进展[J]. 中国水产科学, 2017, 24(3): 648-656.
- Zhang Y L, Zhang H L, Wang L Y, *et al.* Allometric growth and ontogenetic changes in nucleic acids and digestive enzymes during the early life stage in fish species: a review[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2017, 24(3): 648-656 (in Chinese).
- [32] 徐永江, 张正荣, 柳学周, 等. 黄条鲷早期生长发育特征[J]. 中国水产科学, 2019, 26(1): 172-182.
- Xu Y J, Zhang Z Y, Liu X Z, *et al.* Morphometric characteristics of the embryonic and postembryonic development of yellowtail kingfish, *Seriola aureovittata*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2019, 26(1): 172-182 (in Chinese).
- [33] Khemis I B, Gisbert E, Alcaraz C, *et al.* Allometric growth patterns and development in larvae and juveniles of thick - lipped grey mullet *Chelon labrosus* reared in mesocosm conditions[J]. *Aquaculture Research*, 2013, 44(12): 1872-1888.
- [34] Bignami S, Sponaugle S, Cowen R K. Response to ocean acidification in larvae of a large tropical marine fish, *Rachycentron canadum*[J]. *Global Change Biology*, 2013, 19(4): 996-1006.

Embryonic development and morphological characteristics of larvae and juveniles of cobia (*Rachycentron canadum*)

KUANG Jiehua¹, CHEN Gang^{1,2*}, MA Qian^{1,2*}, HUANG Jiansheng^{1,2}, ZHANG Jiandong^{1,2},
SHI Gang¹, WANG Zhongliang^{1,2}, TANG Baogui^{1,2}

(1. College of Fisheries, Guangdong Ocean University, Zhanjiang 524025, China;

2. Southern Marine Science and Engineering Guangdong Laboratory, Zhanjiang 524025, China)

Abstract: Cobia (*Rachycentron canadum*) is a highly prized recreational species worldwide as well as a promising candidate for aquaculture because of its rapid growth rate, strong disease resistance and high quality flesh. Studying the morphometrics and physiology of embryos, larvae and juveniles to obtain information about their early life history is the first step and key to the successful aquaculture of a fish species. In order to find out the characteristics and rules of the early development stages of cobia, the morphological characteristics and developmental characteristics of embryo, larvae and juvenile were studied by microscopic observation. The fertilized eggs obtained by artificial spawning were spherically shaped and buoyant, there was an oil globule in the centre, with an egg diameter of (1.245 ± 0.065) mm and an oil globule diameter of (0.325 ± 0.027) mm. The fertilized eggs hatched 26 h 30 min after fertilization in the sea water at $(27.0 \pm 0.5)^\circ\text{C}$, salinity of 29 and pH of 8.3. The embryonic development process was divided into 7 stages, including fertilized egg stage, the cleavage stage, the blastocyst stage, the gastrula stage, the neurula stage, the organogenesis stage and the hatching stage (totally 24 developing periods). The total length (TL) of newly hatched larvae was (3.254 ± 0.096) mm. The larvae opened their mouths and exhibited blackened eyes at 3 days post hatching (dph) with a TL of (4.453 ± 0.267) mm, meanwhile, the yolk-sac decreased in volume by approximately 80%. The yolk-sac and oil globule were completely depleted at 5 dph (TL of $6.007 \text{ mm} \pm 0.171 \text{ mm}$) and 7 dph (TL of $8.173 \text{ mm} \pm 0.317 \text{ mm}$) respectively, and the larvae completely entered the exogenous nutritional stage. The intestine of the newly hatched larvae was thin, short, and straight, and the intestinal physiological curve formed at 9 dph when the larvae were (10.053 ± 0.594) mm in TL. The larvae started to develop into juveniles at 14 dph (TL of $19.933 \text{ mm} \pm 1.118 \text{ mm}$) when the development of the dorsal fin, pectoral fin, anal fin and caudal fin was completed. At 22 dph, the juvenile had a TL of (41.140 ± 3.779) mm, some scales on the caudal peduncle formed. The 46 dph juvenile reached (116.667 ± 5.916) mm in TL, the whole body surface was covered with cycloid scales and their general appearance was similar to that of the adults, except for the shape of caudal fin. These results indicated that the fertilized egg diameter and newly hatched larvae size of cobia were both larger, and its early developmental characteristics had certain adaptability to the ecological behaviors. The present study could provide basic knowledge for investigating biology and artificial propagation of cobia.

Key words: *Rachycentron canadum*; embryonic development; larvae; juvenile; morphological characteristics

Corresponding authors: CHEN Gang. E-mail: cheng@gdou.edu.cn;

MA Qian. E-mail: maq@gdou.edu.cn

Funding projects: Special Funding for Modern Agricultural Industrial Technology System (CARS-47); Program for Scientific Research Start-up Funds of Guangdong Ocean University (R19022); Fund of Southern Marine Science and Engineering Guangdong Laboratory (Zhanjiang) (ZJW-2019-06)