

唐鱼胚胎发育观察

陈国柱, 方展强, 马广智

(华南师范大学 生命科学学院, 广东 广州 510631)

摘要:唐鱼(*Tanichthys albonubes*)是一种小型鲤科鱼类,是华南地区的特有种。本研究报道对唐鱼胚胎发育过程的观察结果。唐鱼的受精卵近卵圆形,其卵径为 (1.017 ± 0.001) mm。根据其胚胎发育过程的形态特征,胚胎发育全程可划分为 7 个阶段:受精卵胚盘形成阶段、卵裂阶段、囊胚阶段、原肠胚阶段、神经胚形成阶段、器官形成阶段和孵化出膜阶段。观察结果表明,在不同的水温条件下发育历程不同:当水温分别在 14.0~16.8 °C、22.5~25.0 °C 和 28~30 °C 条件下,受精卵分别经过 147 h、50 h 和 28 h 发育而孵出。文中讨论了唐鱼胚胎形态及胚细胞的分化特点,以及水温对胚胎发育的影响。

关键词:唐鱼;胚胎发育;水温

中图分类号:Q959.468 **文献标识码:**A **文章编号:**1005-8737-(2004)06-0489-08

唐鱼(*Tanichthys albonubes*)属鲤科(Cyprinidae)、鲴亚科(Danioninae)、唐鱼属(*Tanichthys* Lin),是一种小型鱼类,成熟个体体长约为 4 cm。文献记载仅分布于广州白云山和东、北江小溪流^[1]。为单型属,特有种,分布狭窄。由于人类活动的影响,20 世纪 80 年代已初步确定在原产地灭绝^[2]。唐鱼具有一定的观赏价值,因被作为观赏鱼饲养而使之在国外得以保存,英文名为 white cloud mountain minnow。我国在 1988 年颁布的“野生动物保护法”中将唐鱼等 12 种鱼类列为国家二级保护动物。1998 年则标明唐鱼的濒危等级为绝迹,受法律保护。近年的人工保护工作取得较大进展,已在其原产地进行了人工放流试验。

唐鱼为低等的鲤科鱼类,RAPD 分析认为^[3-4],唐鱼与同亚科的稀有鮡鲫(*Gobicypris rarus*)、中华细鲫(*Aphyocypris chinensis*)有较近的亲缘关系;不同基因的研究表明,唐鱼与丁鲷(*Tinca tinca*)有很近的亲缘关系。近年国内已有学者对其繁殖饲养的观察作过报道^[5]。国外一些研究人员曾对唐鱼的核型做过研究^[6],染色体 $2n = 50$;也报道了唐鱼集群行为对躲避捕食者以及获取食物相互关系的影响^[7]。唐鱼由于具有体形小、容易饲养、性成熟时间早、一年能繁殖多代等一系列的优良特点,因而极为

适合培养成为我国新一代的鱼类实验动物。本研究对其繁殖习性及其胚胎发育过程进行详细的观察,目的在于积累唐鱼的生物学基础资料,为唐鱼作为水生生态毒理学实验动物的可行性研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验鱼

亲鱼鱼种于 2003 年 5 月 7 日取自广州市野生动物救护中心,将其置于室内水族缸培养至性成熟。自 7 月至 12 月进行了 4 个阶段的繁殖及胚胎发育观察。

1.2 方法

1.2.1 胚胎发育 以雌雄比例 1:1 置于玻璃缸(18 cm × 30 cm × 20 cm)配对繁殖,注水深度约 15 cm,水中放置水葫芦等水生植物,在根系下方放置一培养皿用于收集卵粒,期间不充气,不投喂。密切观察繁殖缸中亲鱼的活动情况,见其交尾产卵则立即将受精卵取出,置于培养皿中培养,并在体视显微镜下作胚胎发育的连续观察(放大 50 倍)。观察过程中多次换水,以减少微尘杂质对卵膜的黏附。利用数码相机记录重要发育时期特征。选取 4 个差异明显的自然水温梯度作水温对唐鱼发育影响的初步研究,在观察胚胎发育的同时,记录并统计不同水温条件下整个胚胎发育所需的时间。

收稿日期:2004-03-01; 修订日期:2004-05-12.

基金项目:广东省科委科技攻关项目资助(2KB0542N).

作者简介:陈国柱(1979-),男,硕士研究生,从事鱼类繁殖生物学研究.

通讯作者:方展强. Tel:020-85211602. E-mail:fangzqh@scnu.edu.cn

1.2.2 繁殖习性 对5对亲鱼作产卵频次的观察,其繁殖条件如前述。每日投喂剑水蚤(*Cyclops vicinus*),观察记录繁殖行为特点,统计每批次的产卵量,并记录相应的水温条件。

2 结果

2.1 胚胎发育过程

唐鱼胚胎发育(从受精到出膜)划分为7个阶段:受精卵胚盘形成阶段,卵裂阶段,囊胚阶段,原肠胚形成阶段,神经胚形成阶段,器官形成阶段,孵化出膜阶段等。整个发育过程可以划分为28个时期(表1)。取水温变化范围22.5~25.0℃,平均水温24.5℃条件下的胚胎发育观察过程作描述,各时期叙述以距受精后累计时间为主。

2.1.1 受精卵胚盘形成阶段 不同年龄段亲鱼所产的卵大小略有不同,8月龄亲鱼所产卵卵径为(1.017±0.001)mm。唐鱼受精卵略带黏性,在卵膜吸水膨胀完成后,外观无色透明、饱满而有光泽,外型无极性接近正圆型。随胚体的发育增大,后期观察需剥除卵膜才能继续进行。受精数分钟后,卵子原生质向动物极汇聚,在动物极开始形成胚盘,胚盘随卵膜的膨胀逐步隆起(图版I-1)。

2.1.2 卵裂阶段 受精后50min,卵裂开始发生(图版I-2~8),卵裂仅局限于动物极所在半球。第1次卵裂为经裂,将胚盘分成2个大小相等的卵裂球。接着发生的第2~5次卵裂亦均为经裂,并且每次卵裂沟均与上一次卵裂沟垂直,何时发生纬裂肉眼难以观察。随着卵裂的进行,卵裂球渐小逐渐不可数,胚盘逐渐增高隆起成团,状如桑椹,进入多细胞期(图版I-9),此时距受精时间为2h57min。

2.1.3 囊胚阶段 3h36min左右,卵裂球越分越细,界限难辨,胚盘明显隆高,形成高囊胚,进入囊胚初期(图版I-10);其后48min进入囊胚中期(图版I-11),细胞更为细密,胚盘开始下降。4h50min,胚盘逐渐下降,整个胚胎呈正圆型,进入囊胚晚期(图版I-12),胚盘约占全卵的1/3。

2.1.4 原肠胚阶段 囊胚层细胞下包形成原肠胚,胚孔出现。6h14min囊胚层细胞下包抵达植物极卵黄的1/2,标志着原肠作用的开始,进入原肠早期(图版I-13),此时测定的胚体直径为(0.828±0.002)mm。囊胚层继续下包,胚环、胚盾相继出现。7h18min,当囊胚层下包卵黄达2/3时,进入原肠中期(图版I-14)。囊胚层继续下包达4/5

时,进入原肠晚期(图版I-15),此时距受精时间为8h11min。

2.1.5 神经胚形成阶段 发育至8h46min,囊胚层细胞下包至卵黄囊的底部,约占胚体的8/9,植物极部分卵黄囊露出胚环以外,形成卵黄栓,到达神经胚期(图版I-16)。胚孔继续收缩,逐渐合拢,9h56min闭合,进入胚孔闭合期(图版I-17)。此后3h4min,出现4对肌节(图版I-18),胚胎的头和尾部已经可以初步分辨,头部侧面观呈长蚕豆状,顶面观可见中央凹陷。尾部则增厚。

2.1.6 器官形成阶段 距受精14h20min进入眼囊期(图版I-19),眼囊如蚕豆状隆起于头部前侧,肌节6~7对。16h26min进入尾芽期,尾部逐渐与卵黄囊分离。尾部伸出过程中从卵黄囊中拉出一油滴状的空泡状结构,此为尾泡,18h20min进入尾泡期(图版I-20),肌节13对,头部充分隆起,可明显分辨出前中后脑3部分,与此同时耳囊原基出现。19h46min在尾泡趋于消失的时候眼晶体出现(图版I-21),肌节22~23对。几乎同时耳囊也出现,故耳囊期不另外标出。继而在22h53min进入肌肉效应期(图版I-22),最先出现蠕动的地方是接近头部的3对肌节,尔后随尾部的伸长和肌节的增加,蠕动点逐渐往后推移。22h49min耳石出现,胚体的蠕动点在卵黄被拉长起点处的肌节上。耳石大部分为一侧具耳囊2个,但也有观察到3个或无的情况,可能与变异有关。距受精25h28min心脏开始微弱的搏动,心率为27.9次/min,此时心脏位于眼囊之后耳囊之前的卵黄囊前上部(图版I-23);其后的4h22min观察到血液循环的出现,刚开始时只能见到零星的1~2个血细胞沿一定的路线缓缓移动,此时的心率为53.8次/min。

2.1.7 孵化出膜阶段 器官形成阶段的后期出现血液循环,血管管道逐渐发展,血细胞逐渐增多,血液渐渐显现极淡黄色,可见到一定的循环路线。出膜前卵黄囊前部两侧形成粗大的居维氏管,心脏移入围心腔,血液渐出现淡粉红色,血细胞如尖谷状,躯体血液循环路线清晰,出膜前心跳为149.7次/min;出膜前卵膜开始软化,如果此时用吸管吸取卵粒则很容易撬破卵膜,造成提前出膜,出膜前胚体在卵膜内不断激烈挣扎,尾部首先刺破卵膜,先于头部伸出。尾部出膜后,仔鱼通过猛然抖动摆脱卵膜。刚出膜仔鱼尾部弯曲,只能在水底作旋动,偶尔冲游;身体仅有少量淡灰色色素斑,眼亦为灰色,色

素以咽喉所在位置附近最多;头部弯曲紧贴围心腔,围心腔透明,位于卵黄囊前下部;卵黄囊前部长椭圆到椭圆近球形,往后部渐细成棒状,整体呈梨状。此阶段未出现胸鳍原基,绕躯干以及尾部为一连贯的

透明鳍膜;消化系统尚未发育;心脏搏动有力,血液淡红色(图版 I - 24)。

从受精到出膜的整个胚胎发育过程历时大约 50 h(22.5 ~ 25.0 °C)。

表 1 唐鱼胚胎各期发育特征(22.5 ~ 25.0 °C)
Table 1 Embryonic development of *Tanichthys albonubes* (22.5 - 23.5 °C)

序号 No.	发育期 Embryonic develop- ment stage	各发育期主要特征 Brief characteristics	阶段时间 Stage time	累积时间 Accumulation time	图序 Plate
1	受精卵 One-cell	卵质分布均匀,极性不明显。			
2	卵裂前期 One-cell	原生质集中于卵子的动物极而形成隆起的胚盘。			I - 1
3	2 细胞 2-cell	胚盘经裂为 2 个大小相等的分裂球,	50 min	50 min	I - 2
4	4 细胞 4-cell	经过 4 次的经裂,分裂出 32	10 min	1 h 00 min	I - 3
5	8 细胞 8-cell	个分裂球,每一次的分裂沟与	19 min	1 h 19 min	I - 4
6	16 细胞 16-cell	前一次的分裂沟垂直,分裂球	12 min	1 h 31 min	I - 5
7	32 细胞 32-cell	渐小。	16 min	1 h 47 min	I - 6
8	64 细胞 64-cell	细胞大小不均,形成隆起的细胞层,之后继续分裂。	16 min	2 h 3 min	I - 7
9	128 细胞 128-cell		2 min 30 s	2 h 25 min 30 s	I - 8
10	多细胞期 Multicellular	分裂球越分越小,形成多细胞的胚体,细胞界限仍然可辨。	32 min	2 h 57 min 30 s	I - 9
11	囊胚早期 Blastula	分裂球很小,难以辨认,胚层隆起于卵黄囊上	39 min	3 h 36 min 30 s	I - 10
12	囊胚中期 Mid blastula	胚层比早期为低,变薄下降,已经看不清细胞界线。	48 min	4 h 24 min 30 s	I - 11
13	囊胚晚期 Late blastula	胚层进一步下降,表面细胞向卵黄部分下包,约占整个胚胎的 1/3,整个胚胎呈正圆球型。	25 min 30 s	4 h 50 min	I - 12
14	原肠早期 Early gastrula	胚层下包 1/2,胚环出现。	1 h 24 min 30 s	6 h 14 min 30 s	I - 13
15	原肠中期 Mid gastrula	胚层下包 2/3—3/4,胚盾出现。	1 h 3 min 30 s	7 h 18 min	I - 14
16	原肠晚期 Late gastrula	胚层下包 4/5。	53 min 30 s	8 h 11 min 30 s	I - 15
17	神经胚 Neurula	胚层下包 4/5—8/9,神经板形成,胚基形成。	4 min 30 s	8 h 46 min	I - 16
18	胚孔封闭 Closure of blastopore	胚孔封闭斜顶面观,可见如火山口状。	1 h 10 min	9 h 56 min	I - 17
19	肌节出现 Appearance of myomere	胚体中部开始出现体节(4 肌节),神经板头端隆起。	3 h 04 min	13 h 00 min	I - 18
20	眼囊期 Optic vesicle	眼囊呈蚕豆形,肌节 6~7 对。	1 h 20 min	14 h 20 min	I - 19
21	尾芽 Tail bud	尾部开始与卵黄囊分离。	2 h 06 min	16 h 26 min	—
22	尾泡 Tail vesicle	尾部从尾基逐步发育,靠卵黄囊处可见一椭圆形油滴状囊泡结构,肌节 13 对。	4 h 00 min	18 h 20 min	I - 20
23	眼晶体形成 Formation of eye lens	尾泡消失,眼晶体清晰可见,头部隆起显著,肌节 22~23 对。	1 h 26 min 30 s	19 h 46 min 30 s	I - 21
24	肌肉效应期 Muscular contraction	胚体开始出现微弱的肌肉收缩,后段尾部进一步伸长。	3 h 06 min 30 s	22 h 53 min	I - 22
25	耳石 Appearance of otoliths	一侧耳囊大多数具 2 个耳石。	56 min	23 h 48 min	—
26	心脏搏动 Heart pulsation	心脏位于卵黄囊头端脊索前下方,管条状,开始作微弱的搏动。	1 h 40 min	25 h 28 min	I - 23
27	血液循环 Blood circulation	可见零星的血细胞沿一定的路线缓缓移动。	4 h 22 min	29 h 50 min	—
28	出膜 Hatching	尾部先出,能旋动。眼稍黑,躯体黑色素少,颜色淡。未见口裂。	20 h 48 min	50 h 38 min	I - 24

2.2 水温对胚胎发育的影响

利用差异明显的4个自然的水温梯度,初步研究了水温对其发育的影响,4个阶段的统计结果如表2所示。14.0~16.8℃时发育约需要147h;22.5~25.0℃需50h;28~30℃时大约28h。7月和10月的水温比较稳定,11月中下旬水温发生了明显的变化。11月9~15日繁殖期间,水温由20.3℃骤然下降至

17℃,后缓慢回升到20.2℃,实验中发现2种不同现象:产卵发生在水温20.3℃,在19.1℃出膜组,发育历时约需122h;水温由17.0℃缓慢回升到21.0℃,产卵发生在17.0℃,在水温回升到21.0℃时出膜组,发育历时约89h;两者相差约为33h。水温在14~30℃时,升高水温能缩短唐鱼胚胎发育时间,降低水温则对发育起到相应的延迟作用。

表2 不同水温对唐鱼胚胎发育的影响

Table 2 Lasting time of embryonic development of *Tanichthys albonubes* at different water temperature

项目 Item	研究日期 Study date				
	7.20-7.21	10.21-23	11.9-11.14	11.12-11.15	12.14-12.21
水温/℃ Water temperature	28-30	22.5-25.0	20.3-17.0	17.0-21.0	14.0-16.8
平均水温/℃ Average temperature	—	24.25	17.78	19.28	15.25
历时/h Lasting time	28	50	122	89	147

2.3 繁殖习性观察

一些小型的鲤科鱼类具有连续产卵的生殖策略,如斑马鱼,稀有鮡鲫^[8]等。观察发现,唐鱼在水温为17.0~25.6℃时能连续产卵,产卵频次如表3

所示。实验期间,唐鱼平均间隔1.35d便可产出一批卵,平均产卵量为141枚,变化范围在6~555枚。然而每批次的产卵量随着实验的进行而渐次下降,可能与营养补充不足有关。

表3 唐鱼繁殖频次记录

Table 3 Spawnings by five pairs of *Tanichthys albonubes*

编组号 Group No.	水温记录/℃ Water temperature	首末产卵 相隔天数/d Interval of 1st and last spawning	产卵批次 Spawning times	批产卵量 Number of eggs	平均批产卵量 Mean	总产卵量 Total egg production	平均产卵间隔/d Spawning interval
A	19.8-25.6	7	5	21-357	114	570	1.25
B	21.0-25.6	5	5	19-555	228	912	1.33
C	17.0-25.6	10	8	32-464	128	1022	1.14
D	19.8-25.6	8	5	6-492	132	660	1.25
E	17.0-25.6	8	5	13-549	158	792	1.75
合计 Total	—	38	28	6-555	141	3965	1.35

注:观察日期为2003年11月13~24日。

Note: The observing date was 13-24 November, 2003.

3 讨论

3.1 胚胎发育过程

唐鱼的胚胎发育过程具有以下特点:①与眼囊出现的同时,可观察到克氏囊(Kupffer's vesicle)的出现,此时的卵黄囊近乎通透,可透过它观察到肌节的腹面。②尾泡出现的同时可观察到耳囊原基的出现,但尾泡期先于听囊期出现,这一点与四大家鱼相反,与银色颌须鮡(*Gnathopogon argentatus*)^[9]以及稀有鮡鲫^[10]同。尾泡消失的同时进入肌肉效应初期,与稀有鮡鲫有所不同。稀有鮡鲫尾泡停留时间

较长,肌肉效应期仍清晰可见,而银色颌须鮡尾泡停留的时间也较短。③孵出前的器官分化程度低,消化系统尚未发育,还没形成胸鳍原基,与银色颌须鮡近似,与稀有鮡鲫则差异较大。孵出时身体仅有少量色素花,且头脑部居多,颜色浅灰较淡。

3.2 温度对胚胎发育的影响

在水温14.0~30.0℃,温度的升高能加速唐鱼胚胎的发育,温度的降低则延缓了它的发育,如2.2中的研究结果所示。在11月进行的实验发现,胚胎早期遇到水温下降,即使后来温度回升,发育历程仍然大为延长,其结果可以用有效积温(sum of effec-

tive temperature)理论作解释。温度与生物发育的关系比较集中地反映在温度对植物和变温动物发育的速率的影响上,植物和变温动物在生长发育过程必须从环境中摄取一定的热量才能完成某一阶段的发育,而且各个发育阶段所需要的总热量是一个常数,为了完成某一发育阶段所需的一定的总热量就叫做有效积温,依据 $K = N(T - C)$ 公式计算。 K 为总积温(为一常数), N 为生长发育所需时间, T 为发育期间的平均温度, C 为发育起点温度^[11],只有在发育起点温度以上的温度对发育才是有效的。初步估算唐鱼发育的理论起点温度为 13.73 °C,发育所需的理论有效积温为 494 °C·h,计算方法参见参考文献[11]。在平均水温 15.25 °C,胚胎发育积温为 223.44 °C·h,明显低于理论值,这可能反映出此温度已超出唐鱼最适孵化水温。在适宜温度范围内有效积温应较为一致,而超出此适宜范围,在低温区,实际发育时间常低于预测值,对适温范围较宽的鱼类来说,胚胎发育的积温在接近下限时会有较大的变化^[12]。因此可以解释 11 月进行实验发现的在始末温度极为接近的情况下,为什么发育历时相差 33 h 的现象,其主要原因在于两者的平均水温不同。11 月 9~14 日平均水温为 17.78 °C,比 11 月 12~15 日平均 19.28 °C 低 1.5 °C,完成某一发育阶段所需发育总积温是相同的,故平均水温较低条件下完成胚胎发育时间相应延长。至于温度刺激是否对不同发育时期产生不同的影响,有待进一步的研究。

3.3 似膜结构

在形态分类上,分类地位与唐鱼最为接近的为近年我国自行培育的实验鱼类稀有鮡鲫^[10],两者的检索划分仅在于侧线以及前后鼻孔有无鼻瓣膜相分隔上^[13]。把唐鱼胚胎发育过程与稀有鮡鲫的胚胎发育过程比较分析发现,两者之间有着一定的相似性。形态分类以及 RAPD 分析所得出的结论均证实了唐鱼与稀有鮡鲫的亲缘关系,根据贝尔定律以及生物重演律^[14],亲缘越近的物种相似的地方越多,按上述结论,可以在胚胎发育过程中找出两者共同之处。本研究对在稀有鮡鲫胚胎发育中观察到的似膜结构(Membrane-like-structure)深感兴趣,但迄今为止,尚未在唐鱼胚胎发育中观察到此独特的结构。

唐鱼虽然与稀有鮡鲫的亲缘关系极为相近,但生物在进化过程中会形成自身所特有的结构。常剑波等^[10]认为的,似膜结构的产生除了该种遗传上的原因外,还有环境和生态上的影响,即使是稀有鮡鲫

本身也并非所有的胚胎均具有似膜结构,在同一亲本的一批后代中是以全有或全无的情况出现。至今,还没有在其他鱼类的胚胎发育中发现此结构。有趣的是,有些鱼类胚胎发育是在双卵膜的情况下进行的,如银色颌须鮡^[9]。还有部分鱼类进行卵胎生,胚胎发育已不再需要卵膜的保护,如鲭形目的一些鱼类。由此可见,卵膜在鱼类胚胎发育的主要角色是起保护作用,是进化过程中各种鱼类与环境相互作用的条件下产生的。因此,稀有鮡鲫胚胎发育中观察到的似膜结构在唐鱼未发现是不奇怪的。

3.4 繁殖特性

唐鱼亲鱼在大群体饲养并且缺乏水草的条件下,极少发现有繁殖行为,即雌雄间的配对追逐交尾现象。而将雌雄亲鱼以配对形式,每对置于繁殖缸中经过数小时至 5 昼夜不等时间的静养,即可出现追逐行为,紧接其后便可产卵。多批次,不同的配对亲鱼繁殖观察统计发现,唐鱼每交尾一次产卵 5~12 枚,间隔 3~8 min 交尾 1 次。繁殖一次产卵的时间可以持续 2~3 h,每对产卵多可达 600 枚左右。有文献^[5]记载,唐鱼喜欢在日光照射的条件下产卵。本实验曾对光照对唐鱼产卵行为的影响做过初步的研究,发现经过人工的光照调控,唐鱼能在黑暗的条件下产出大量的卵。究竟它的生殖调控机制是如何的,则有待进一步研究。在对其所作的繁殖频次初步研究中发现,唐鱼具有连续产卵的能力。实验室水温下降到 14 °C 以下时,大部分亲鱼不再能自然产卵,即使产卵数目也很少,且绝大多数卵不能发育。可能 14 °C 为唐鱼在野外条件下繁殖的温度阈。在实验室条件下,人工调高水体温度后则可实现正常产卵。

3.5 对唐鱼实验动物化的展望

我国近年来已经进行了剑尾鱼、稀有鮡鲫、金鲫(*Carassius auratus red variety*)等的鱼类实验动物化研究,并取得进展^[15]。

唐鱼是我国南方鱼类的特有种,经初步研究发现具有如下特点:①饲养条件要求低。唐鱼作为观赏鱼类饲养的历史已有数十年,其食性杂,对饵料要求不高,一般的观赏鱼饲料或养殖鱼类的饲料饲养即可生长良好。②繁殖周期短。进入稚鱼初期便可观察到成形卵粒,7 月期间将出膜的幼鱼饲养 102 d 左右即可产卵繁殖,夏秋期间 4 月龄前后进入盛产期。虽然生长水温不同对进入繁殖期的早晚有影响,在 12 月气温降低至 14 °C 以下时,大部亲鱼分停止自然产卵,而在人工加温条件可实现正常产卵,故

可在人工控制的条件下周年繁殖,一年可以繁殖多代。③产卵量大。一般6月龄可产350枚左右,10月龄则可达到近600枚。且具有能连续产卵特性,短期内可获得同一亲本的大量后代。④卵膜通透,易于观察胚胎发育过程。⑤病害少,管理条件简单。上述特点符合鱼类实验动物标准的一般要求,可作为我国继剑尾鱼、稀有鮡鲫、金鲫等鱼类新一代的实验鱼类培养,后续研究将作进一步报道。

参考文献:

- [1] 中国水产科学研究院珠江水产研究所. 广东淡水鱼类志[M]. 广州:广东科技出版社,1991.77-78.
- [2] 李红敬. 华南淡水鱼类保护对策研究[J]. 信阳师范学院学报(自然科学版),2002,15(4):420-423.
- [3] 陈湘舜,乐佩琦,林人端. 鲤科的科下类群及其宗系发生关系[J]. 动物分类学报,1984,9(4):424-440.
- [4] 何瞬平,汪亚平,陈宜瑜. 五种鲤科鱼类的RAPD分析兼论稀有鮡鲫的系统位置[J]. 水生生物学报,1997,21(3):261-267.
- [5] 梁建宏,连常平,刘汉生. 唐鱼全人工繁育试验[J]. 水利渔业,2003,23(6):30-31.
- [6] Howell W, Black D. Controlled silver-staining of nucleolus organizer regions with protective colloidal developer: 1-step method [J]. *Experientia*, 1980, 36: 1 014 - 1 015.
- [7] Richardson Jean M L. Shoaling in white cloud mountain minnows, *Tanichthys albonubes*: Effects of predation risk and prey hunger [J]. *Animal Behaviour*, 1994, 48(3): 727.
- [8] 王剑伟. 稀有鮡鲫产卵频次和卵子发育的研究[J]. 水生生物学报, 1999, 23(2): 161 - 166.
- [9] 梁秩焱, 常剑波, 陈 华. 珠江颜色颌须鮡的产卵习性及胚胎发育[A]. 鱼类学论文集(第五编)[C]. 北京: 科学出版社, 1986. 35 - 45.
- [10] 常剑波, 王剑伟, 曹文宣. 稀有鮡鲫胚胎发育研究[J]. 水生生物学报, 1995, 19(2): 97 - 103.
- [11] 孙儒泳, 李 博, 诸葛阳, 等. 普通生态学[M]. 北京: 高等教育出版社, 1993. 36 - 39.
- [12] 张春光, 赵亚辉. 胭脂鱼的早期发育[J]. 动物学报, 2000, 46(4): 438 - 447.
- [13] 陈宜瑜. 中国动物志硬骨鱼类鲤形目(中卷)[M]. 北京: 科学出版社, 1998. 1 - 9.
- [14] 张天荫. 动物胚胎学[M]. 济南: 山东科学技术出版社, 1996. 2 - 5.
- [15] 吴端生, 王宗宝. 鱼类实验动物开发与应用研究的现状及展望[J]. 中国实验动物学杂志, 2000, 10(2): 103 - 109.

Embryonic development of *Tanichthys albonubes*

CHEN Guo-zhu, FANG Zhan-qiang, MA Guang-zhi

(College of Life Science, South China Normal University, Guangzhou 510631, China)

Abstract: *Tanichthys albonubes* is a small cyprinid fish which was found in Guangzhou of China in 1932 and named white cloud mountain minnow. *T. albonubes* was brought to the west countries as an aquarium fishes after it was found, which makes it escape from dying out. It has been protected by law since 1988 in China.

The samples of *T. albonubes* were taken from the center protection station of field animal of Guangzhou in May 2003. The fertilized eggs were kept in the glass culture utensil during the observation. The results indicated that the fertilized eggs of *T. albonubes* are nearly spherical in shape, and the diameter is (1.017 ± 0.001) mm. According to the morphological characteristics, the embryonic development of *T. albonubes* may be divided into 7 stages. (1) The fertilized egg and the blastoderm form stage: the surface of the eggs is sticky and adhere to the vessel as well as other material; the outer membrane of the eggs is soft and very extensible. Several minutes after fertilization, the protoplasm inflows into the animal pole and forms the blastodisc step by step. (2) The cleavage stage: 50 min after fertilization, it undergoes the first division. The blastodisc is cut into two equal blastomeres. 2 h 25 min 30 s after fertilization, it undergoes other six times of division and reaches 128-cell stage. 2 h 57 min 30 s after fertilization, a mound of the cells is built up at the animal pole and the morula is formed. (3) The blastula stage: 3 h 36 min 30 s after fertilized with successive cleavages there is a progressive increase in the number of cells with a reduction in sizes; the blastodisc reaches the early blastula stage; the mound of the cells is high above the animal pole. After that 48 min, the cells have more little size and the mound of the cells is shorter than the early blastula; the blastodisc reaches

the middle blastula. 4 h 50 min after fertilization, the blastodisc is fluttering out over the yolk; the shape of the blastodisc and the yolk are like circularity. The blastodisc reaches late blastula, and then the blastoderm begins to cover the yolk. (4) The gastrula stage: 6 h 14 min after fertilization, due to the epiboly and the involution of the blastoderm, the germ ring is complete, around the margin of the blastoderm. The blastoderm expands to cover one half of the yolk, which indicates the early stage of the gastrula. 7 h 18 min after fertilization, when the blastoderm expands to cover 2/3 of the yolk, the involution causes the margin of the germ ring to thicken, forms the embryonic shield which is slightly wider than the rest of the germ ring. This marks the middle stage of the gastrula. 8 h 11 min after fertilization, when the blastoderm covers 4/5 of the surface of the yolk, the embryonic shield extends in length and the embryonic axis can be discerned. This is the late stage of the gastrula. (5) The neural stage: 8 h 46 min after fertilization, the blastoderm covers 8/9 of the surface of the yolk, a small blastopore or a yolk plug appears. It reaches Neurula stage. 9 h 56 min after fertilization, the blastopore is closed. (6) The organogenesis stage: 14 h 20 min after fertilization, the optic vesicles appear. The embryo has increased in size and six or seven pairs of somites can be seen. The tail bud begins to form in the caudal end of the embryo but not free of the yolk sac. 16 h 26 min after fertilization, the tail bud increases in length and is free of the yolk sac. 18 h 20 min after fertilization, the tail vesicles appear, and there are 13 pairs of somites. The divisions of brain are more quickly differentiated. 19 h 46 min 30 s after fertilization, the eyes lens appears with 22 or 23 pairs of somites. The first contractions of somitic muscle can be seen at 22 h 53 min after fertilization. 23 h 48 min after fertilization, the paired otoliths are observed. 25 h 28 min after fertilization, the heart beating can be observed. The rhythm of the heart is about 27.9 beats per minute. 4 h 22 min later, the somitic movements are more frequent; the tip of the tail arrive at the tip of the brain; the circulation is observed. At the beginning of the circulation, there are only one or two blood cells can be seen in the blood vessel, the rhythm of the heart is about 53.8 beats per minute. (7) Hatching stage: About 50 h after fertilization, most larva hatch out by making use of the tails to break the membrane; the rhythm of the heart is about 149.7 beats per minute. The embryonic development is prolonged largely by low temperature and accelerated by high temperature. The duration lasts 28 h, 50 h and 147 h at water temperature of 28 – 30 °C, 22.5 – 25.0 °C and 14.0 – 16.8 °C, respectively. The embryonic anatomy and the embryonic cell differentiation, and the relation between water temperature and embryonic development, were also investigated and discussed in this paper.

Key words: *Tanichthys albonubes*; embryonic development; water temperature

图版 I 说明

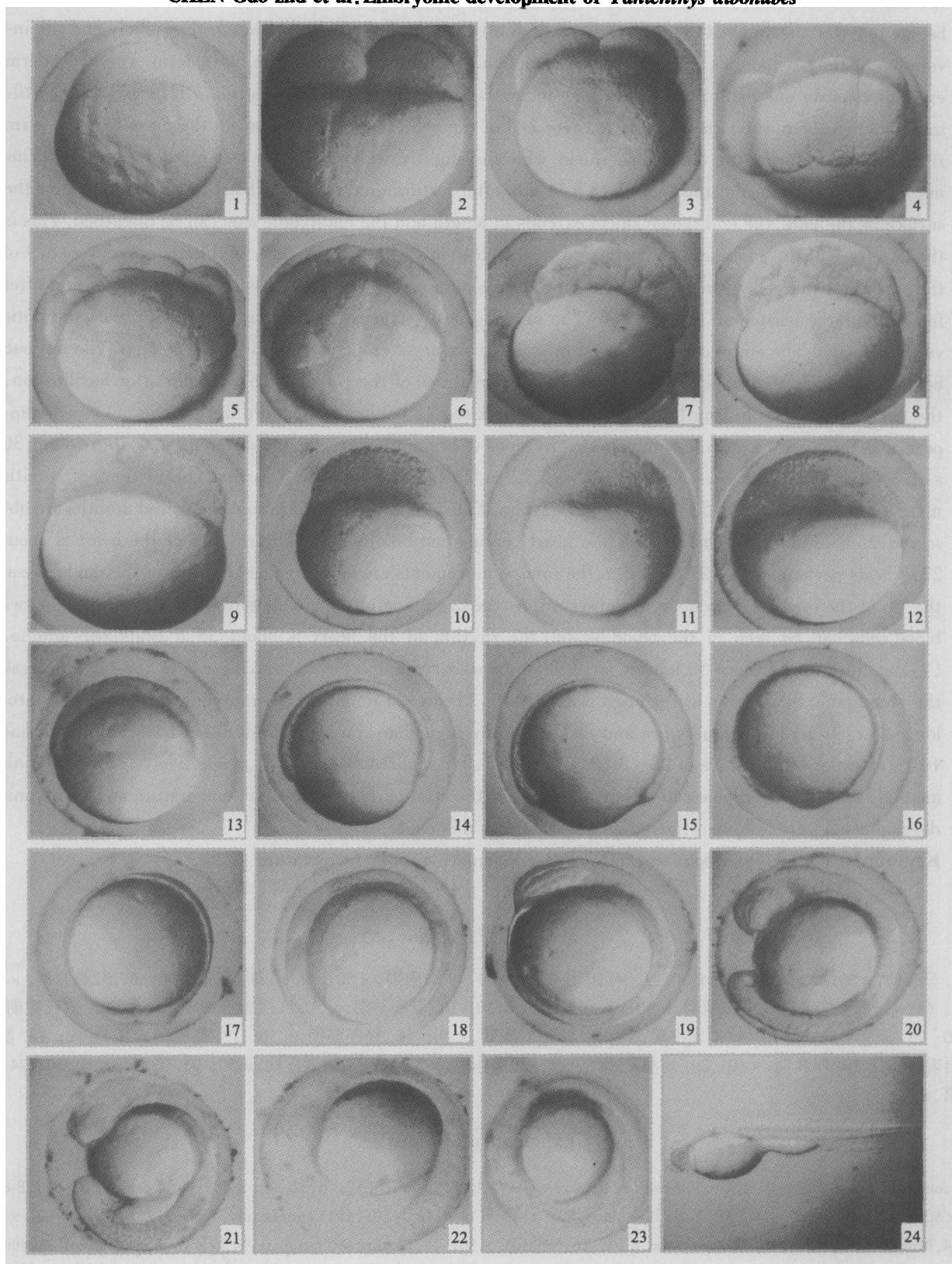
1. 分裂前, × 50; 2. 2 细胞期, × 50; 3. 4 细胞期, × 50; 4. 8 细胞期, × 50; 5. 16 细胞期, × 50; 6. 32 细胞期, × 50; 7. 64 细胞期, × 50; 8. 128 细胞期, × 50; 9. 多细胞期, × 50; 10. 囊胚早期, × 50; 11. 囊胚中期, × 50; 12. 囊胚晚期, × 50; 13. 原肠早期, × 50; 14. 原肠中期, × 50; 15. 原肠晚期, × 50; 16. 神经胚期, × 50; 17. 胚孔闭合期, × 50; 18. 肌节出现, × 50; 19. 眼囊期, × 50; 20. 尾泡期, × 50; 21. 眼晶体期, × 50; 22. 肌肉效应期, × 50; 23. 心脏跳动, × 50; 24. 出膜, × 25.

Explanation of Plate I

1, one-cell, × 50; 2, 2-cell, × 50; 3, 4-cell, × 50; 4, 8-cell, × 50; 5, 16-cell, × 50; 6, 32-cell, × 50; 7, 64-cell, × 50; 8, 128-cell, × 50; 9, Multicellular, × 50; 10, Early blastula, × 50; 11, Mid blastula, × 50; 12, Late blastula, × 50; 13, Early gastrula, × 50; 14, Mid gastrula, × 50; 15, Late gastrula, × 50; 16, Neurula, × 50; 17, Closure of blastopore, × 50; 18, Appearance of myomere, × 50; 19, Optic vesicle, × 50; 20, Tail vesicle, × 50; 21, Formation of eye lens, × 50; 22, Muscular contraction, × 50; 23, Heart pulsation, × 50; 24, Hatching, × 25.

陈国柱等:唐鱼胚胎发育观察

CHEN Guo-zhu et al: Embryonic development of *Tanichthys albonubes*



图版 I Plate I

(图版 I 说明在文末 Explanation of Plate I at the end of the text)