

# The Observation of Embryo Development Morphology of *Diodon holocanthus*

Yanfeng Yue\*, Shiming Peng, Wenhong Fang, Lianjun Xia, Quanxin Gao, Xiong Zou, Xiaoshan Wang

East China Sea Fisheries Research Institute, China Academy of Fishery Sciences, Shanghai  
Email: \*492431429@qq.com

Received: Sep. 30<sup>th</sup>, 2018; accepted: Oct. 15<sup>th</sup>, 2018; published: Oct. 22<sup>nd</sup>, 2018

---

## Abstract

Porcupine puffer (*Diodon holocanthus*) was regarded as a significant commercial fish species with a high economic potential. Meat of them was delicious, and skin was rich in collagen protein. Here, we explored the embryonic development of the fertilized eggs of *D. holocanthus*. The fertilized eggs were slightly sticky and floating egg that came together on the surface of the water. After fertilization, the protoplasm was concentrated towards the animal pole and gradually rised, and the blastoderm forms, which started after the first division in about 20 min, and then divided again about every 20 min. After fertilization, it was a multicellular stage after 2 h. After 13 h of fertilization, it entered the gastral stage, grew to the neuronal embryo stage after 21 h, then entered the tail bud stage after 27 h. Under the condition of this experiment, salinity 28 - 32, temperature 28°C - 29°C, pH 7.2 - 8.5, the fertilized egg could be out of the membrane after about 80 hours. This was the first report on the changes of embryonic morphological structure of *D. holocanthus*.

## Keywords

*Diodon holocanthus*, Fertilized Eggs, Embryonic Development

---

# 六斑刺鲀胚胎发育形态观察

岳彦峰\*, 彭士明, 房文红, 夏连军, 高权新, 邹雄, 王孝杉

中国水产科学研究院, 东海水产研究所, 上海  
Email: \*492431429@qq.com

收稿日期: 2018年9月30日; 录用日期: 2018年10月15日; 发布日期: 2018年10月22日

---

\*通讯作者。

文章引用: 岳彦峰, 彭士明, 房文红, 夏连军, 高权新, 邹雄, 王孝杉. 六斑刺鲀胚胎发育形态观察[J]. 水产研究, 2018, 5(4): 161-166. DOI: 10.12677/ojfr.2018.54019

## 摘要

六斑刺鲀是一种极具养殖开发潜力的经济鱼类,广泛分布于我国东南沿海,肉质鲜美,鱼皮富含丰富的胶原蛋白。本文研究了六斑刺鲀受精卵的胚胎发育过程。刺鲀卵为浮性卵,浮在水面后聚成一片,略有粘性。卵子受精后原生质向动物极集中并逐渐隆起,胚盘形成,约经过20 min第一次分裂开始,以后约每20 min再分裂一次,受精2 h后为多细胞期。受精13 h后进入原肠期,21 h后发育至神经胚期,27 h后进入尾芽期。在盐度28~32,温度28℃~29℃,pH 7.2~8.5实验条件下,六斑刺鲀受精卵经过约83小时便可出膜。这是国内针对六斑刺鲀胚胎发育形态结构变化的首次报道。

## 关键词

六斑刺鲀, 受精卵, 胚胎发育

Copyright © 2018 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

六斑刺鲀(*Diodon holocanthus*)隶属于鲀形目,二齿鲀科,刺鲀属(*Diodon*),俗名气瓜仔、刺规等,为热带海洋性底层鱼类,仔、稚鱼时期随着大洋漂游生活,成鱼后则栖息于岩礁区之浅水域,不善游泳,行动缓慢。六斑刺鲀为肉食性,坚硬的颌齿可咬碎贝类、棘皮动物及螃蟹等无脊椎动物为食,其肉质鲜美,鱼皮富含丰富的胶原蛋白,深受市场欢迎。目前六斑刺鲀来源全部为海上捕捞,资源量也随着渔民过度捕捞成锐减趋势。

近年来,由于刺鲀具有食用、药用及观赏价值,其开发利用越来越受到关注。萧哲发现六斑刺鲀全身含河鲀毒素均低于7鼠当量/g,可视为无毒[1]。日本学者对安地列斯短刺鲀(*Chilomycterus antillarum*)和许氏短刺鲀(*Chilomycterus schoepfii*)进行了杂交(Hiroyuki, D. *et al.*, 2015)以分析 AFLP 和 mtDNA 的片段在繁殖中的变化差异[2]。中科院水生所对六斑刺鲀基因组序列进行了研究,获得了776 kb非冗余基因[3]。有报道六斑刺鲀在游泳中的能量控制机制,测量了其向前及向后游泳中鱼鳍的动能、力学、协同方式以及游泳的姿态和泳速变化[4]。日本学者研究发现,5月份以后,水温在23℃以上,便可观察到性成熟的六斑刺鲀有互相追尾和产卵的行为[5]。然而,截至目前,该科鱼类人工繁殖方面的研究较少,这也在一定程度上制约了对刺鲀开发利用的进程。

六斑刺鲀资源群体数量不稳定,具有明显的季节性捕获量,所以总的渔获产量不高,市场也就供不应求。本研究通过在海南收集野生的亲本,通过人工驯化并通过一系列方法促进其性腺发育,成功获得受精卵,选择其中一批优质受精卵,观察并记录其胚胎发育的特征,以期为这一新兴养殖品种的繁养技术提供参考。

## 2. 材料与方法

### 2.1. 亲本与孵化条件

经过前期六斑刺鲀野生亲鱼的市场调查和研究得出,挑选体质量在600 g以上,体长20 cm以上,

体表无伤, 健康活力好的野生六斑刺鲃为本研究所选亲鱼, 在人工驯养及繁育阶段可得到较好的效果, 繁殖前水质要求为盐度 28~32, 温度 28℃~30℃, pH 7.2~8.5, 溶氧保持 > 5 mg/L, 流水饲养, 流速 50~80 L/min; 养殖池直径 4~5 m, 水深 1~1.5 m, 放养密度为 1~2 尾/m<sup>3</sup>, 每日饱食投喂活虾。在人工驯养条件下达到性成熟, 接近产卵期, 产卵前有 3~4 为雄鱼追逐一尾雌鱼的现象, 雌鱼腹部膨大, 生殖孔扩张呈粉红色, 下午 18 点以后停止流水, 当亲鱼自然产卵于亲鱼池中后, 用抄网即时捞出浮在水面上的受精卵。六斑刺鲃性腺指数(生殖腺重量/体重 × 10<sup>2</sup>)为 19.4, 雌鱼体重为 540 g, 体长 21.6 cm, 产卵约 4.33 万粒。

## 2.2. 观察记录

孵化期间以不同时间间隔多次取样, 孵化时间 3~4 天。每次随机抽取 15 粒受精卵进行观察。以所观察样本中有 50% 表现出相应发育期特征为标准记录时间。胚胎在 Olympus 体视显微镜下观察各时期的形态特征, 描述、记录胚胎发育时序和特征。用 Olympus DP71 显微数码相机或 Canon 50D 数码相机进行显微摄影。

## 3. 结果与分析

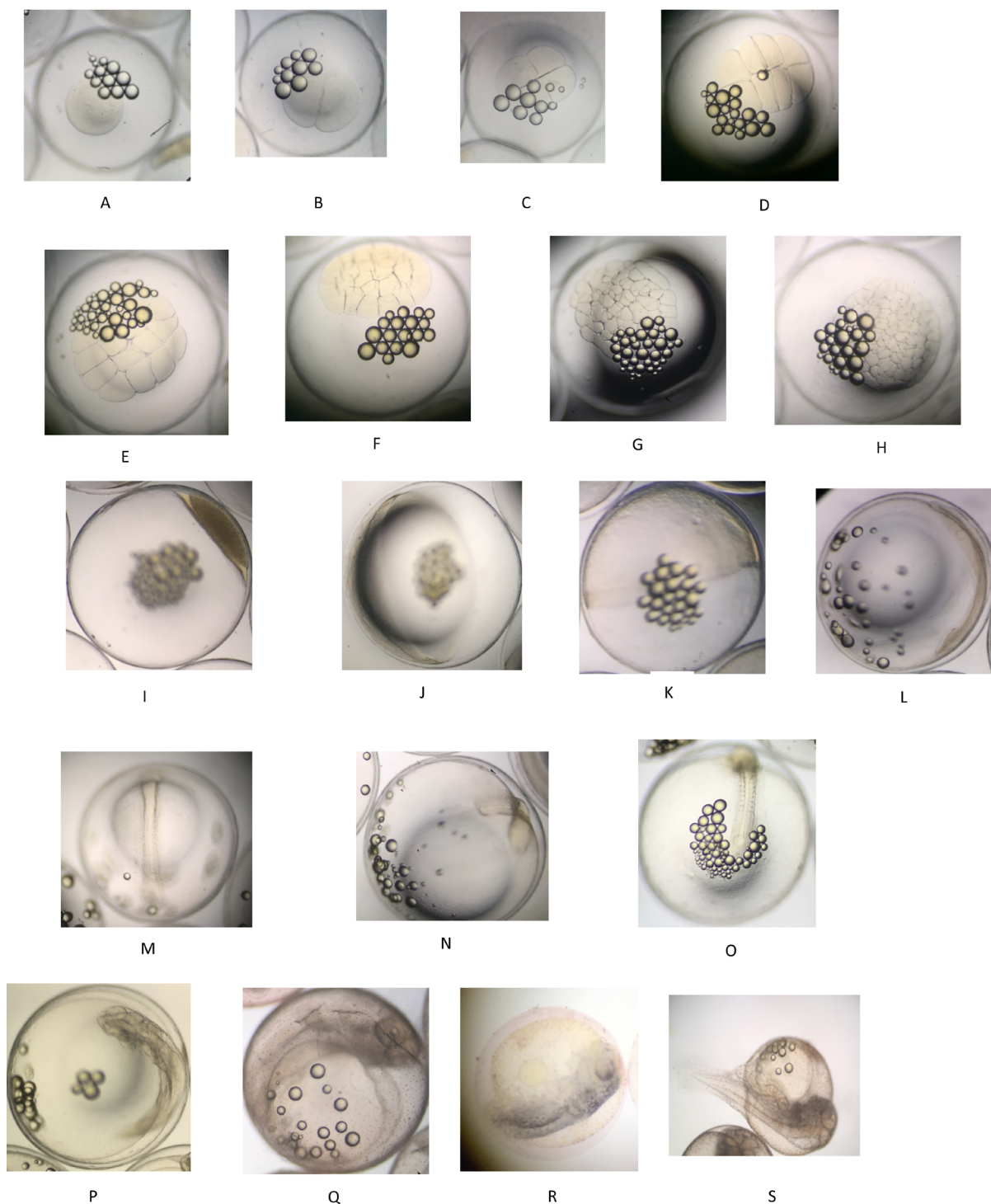
### 胚胎发育

刺鲃受精卵为圆球形, 端黄卵, 无色透明, 聚集状油球 20~30 个, 卵径 1.697 ± 0.376 mm, 胚胎发育过程见表 1 与图 1 (图 1 放大倍数为 100 倍)。

Table 1. Embryonic development of *Diodon holocanthus*

表 1. 刺鲃的胚胎发育

发育期 development stage	发育时间 development time	发育特征 developmental features	图版 plate
胚盘期	0 min	胚盘拱起	A
2 细胞期	15 min	胚盘第一次分裂	B
4 细胞期	35 min	胚盘第二次分裂	C
8 细胞期	55 min	胚盘第三次分裂, 形成 8 个大小不等的细胞	D
16 细胞期	1 h 10 min	胚盘第四次分裂, 形成 16 个细胞	E
32 细胞期	1 h 35 min	胚盘第五次分裂, 形成 32 个细胞	F
64 细胞期	2 h 05 min	胚盘第六次分裂, 形成 64 个细胞	G
桑椹期	2 h 50 min	继续分裂, 细胞团与桑椹球很相似, 细胞界面不易分清	H
高囊胚期	10 h 20 min	胚胎分裂成高帽状, 分裂细胞较大	I
原肠早期	13 h 10 min	囊胚层边缘增厚, 下包卵黄约 1/3	J
原肠中期	14 h 20 min	囊胚下包卵黄约 1/2, 出现胚盾	K
原肠末期	18 h 15 min	囊胚下包卵黄约 2/3, 出现胚胎雏形	L
神经胚期	21 h 10 min	胚体水平方向拉长呈长圆形, 神经板雏形初现	M
胚孔封闭期	24 h 25 min	胚孔封闭, 克氏泡出现	N
尾芽期	27 h 30 min	尾芽形成并开始与卵黄分离	O
心跳期	35 h 20 min	心脏跳动	P
肌肉效应期	40 h 35 min	胚体间歇性抽动, 肌节开始变窄	Q
孵化期	74 h 10 min	胚体扭动有力, 能带动整个受精卵连续转动	R
脱膜孵出	83 h 10 min	尾部先出膜, 依靠尾部强有力的颤动胚体整体离开卵膜	S



**Figure 1.** Embryonic development of *Diodon holocanthus*  
**图 1.** 刺鲀的胚胎发育

在水温为 28℃~29℃条件下，从受精卵到孵化出膜约共 83 h，卵子受精后原生质向动物极集中并逐渐隆起，胚盘形成，约经过 20 min 第一次分裂开始，以后约每 20 min 分裂再一次，受精后 2 h 后为多细胞期，而后受精卵的动物极形成多层细胞发育成为桑椹胚。

桑椹胚期以后,随着细胞分裂的持续,数目继续增加,胚胎发育至囊胚期。囊胚期之初,胚体呈现为帽状结构,即高囊胚,之后细胞体积不断变小,胚体继续向植物极延伸,逐渐进入低囊胚期。

受精 13 h 后,细胞开始向植物极下包,逐渐包围卵黄囊;在胚盘边缘加厚形成胚环,进入原肠早期。胚体下包 1/2 卵黄时,在一侧形成胚盾,胚胎进入原肠中期,之后胚体伸长。在原肠末期,胚体的最下方形成胚孔,并形成胚胎雏形。

受精 21 h 后,胚体的中央部分开始加厚,形成神经板,随后逐渐形成神经褶和神经管,胚体头部两侧向外隆起,在头部两侧形成眼泡,随后在胚体的腹面形成克氏泡,不久后胚孔封闭。

受精 27 h 后,尾芽与卵黄分离,胚体开始出现肌肉效应,胚体间断性收缩,不久后,胚体出现有节律的心跳,尾部出现颤动。黑色素细胞在躯干部排列,并逐渐变浓,胚体肌肉收缩力度加强,频率加快。74 h 后,配体开始转动,以尾部率先挣破卵膜孵出。

## 4. 讨论

### 4.1. 六斑刺鲀人工繁殖

人工育苗技术一般包括野生原种的驯化,亲鱼培育疾病防治,营养添加促生长促性腺发育,产卵孵化,鱼苗培育以及生物饵料培养等一些过程,为了提供足够的优质苗种,培养亲鱼产生优质的卵子显得尤为重要。亲鱼的来源有两种途径:一是海捕,二是保种留种或者引种,本研究采用的是海捕野生亲本。本实验在水温 28℃~30℃进行,在产卵前 1~2 天可以观察到六斑刺鲀有 3~5 尾雄鱼追 1 尾雌鱼的行为,而后在晚上会有产卵现象。日本学者研究发现,5 月份以后,水温在 23℃以上,便可观察到性成熟的六斑刺鲀有互相追尾和产卵的行为[5]。六斑刺鲀初孵仔鱼全长 2.84 mm 左右,个体在鲀科鱼类中尚属较小[6],因此其育苗要较其它鲀科鱼类复杂,暗纹东方鲀育苗技术现已比较成熟,初孵仔鱼开口培育阶段中投喂初孵丰年虫便可获得较大的成活率[7][8][9],六斑刺鲀鱼开口时口裂(1.1~1.3 mm)相对一般海水鱼类略大,卤虫幼体(0.4~0.6 mm)或者规格较小(0.5~0.7 mm)的桡足类完全能被吞咽但即使稚鱼可以摄食卤虫幼体,但仔鱼阶段的培育死亡率仍比较高,说明从内源性营养到外源性开口饵料转化没有成功,致死原因不排除外界环境条件和初孵仔鱼本身的质量问题。相比于东方鲀,六斑刺鲀人工繁育技术与其人工繁育技术还是存在一定的不同之处,具体机制还需后期进行深入研究。

### 4.2. 六斑刺鲀胚胎发育

孵化率受水温及盐度等外界环境影响比较大,而内在因素如精卵成熟度及受精率也是关键影响因子[10][11][12]。在本实验盐度 28~32,温度 28℃~29℃,pH 7.2~8.5 条件下,受精卵经过约 80 小时便可出膜。其他鲀类受精卵研究人员也进行过相关研究,比如在水温 18.6℃~21.5℃条件下,暗纹东方鲀约 139 h[13],而弓斑东方鲀约为 169 h[14],与本研究中的六斑刺鲀孵化时间有很大差异,原因可能是鱼种类不同或者受不同孵化温度的影响,在适宜孵化温度条件下,温度越低孵化时间越长,低于某临界值时受精卵停止发育,而温度过高也会导致受精卵发育终止。此次试验受精卵全部为亲鱼在人工驯养环境下自然产卵,刺鲀卵为浮性卵,浮在水面后聚成一片,略有粘性,孵化时可采用充气增加水流,以避免粘连和堆叠造成卵霉,影响孵化率。

## 基金项目

中央级公益性科研院所基本科研业务费(2189-2018)。

## 参考文献

- [1] 萧哲,杨嘉辉,罗淇,等.珠海河鲀的毒性研究[J].中国农学通报,2012,28(23):104-107.

- [2] Hiroyuki, D., Yutaro, Z., Hiroshi, T., *et al.* (2015) Hybridization of Burrfish between *Chilomycterus antillarum* and *Chilomycterus schoepfii* in Captivity Revealed by AFLP and mtDNA Sequence Analyses. *Ichthyological Research*, **62**, 516-518. <https://doi.org/10.1007/s10228-015-0460-0>
- [3] Guo, B., Zou, M., Gan, X., *et al.* (2010) Genome Size Evolution in Pufferfish: An Insight from BAC Clone-Based *Diodon holocanthus* Genome Sequencing. *BMC Genomics*, **11**, 396. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-11-396>
- [4] Wiktorowicz, A.M., Lauritzen, D.V. and Gordon, M.S. (2007) Powered Control Mechanisms Contributing to Dynamically Stable Swimming in Porcupine Puffers (Teleostei: *Diodon holocanthus*). *Experiments in Fluids*, **43**, 725-735. <https://doi.org/10.1007/s00348-007-0354-7>
- [5] Sakamoto, T. and Suzuki, K. (1978) Spawning Behavior and Early Life History of the Porcupine Puffer, *Diodon holocanthus*, in Aquaria. *Japanese Journal of Ichthyology*, **24**, 261-270.
- [6] 韦众. 河鲀鱼的生物学特性及其养殖[J]. 安徽农业大学学报, 1999, 26(4): 436-439.
- [7] 施永海, 张根玉, 朱亚珠, 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.
- [8] 雷霖霖, 姜文礼, 柳学周, 等. 假睛东方鲀工厂化育苗研究[J]. 现代渔业信息, 1992, 7(12): 12-17.
- [9] 关键, 陈志信, 张家男, 等. 人工培育条件下绿鳍马面鲀胚胎发育的研究[J]. 海洋科学进展, 2011, 29(4): 498-505.
- [10] 雷霖霖, 樊宁臣, 郑澄伟. 黄姑鱼胚胎发育及仔稚鱼形态特征的初步研究[J]. 海洋水产研究, 1981, 4(2): 77-84.
- [11] 张鑫磊, 陈四清, 刘寿堂, 等. 温度、盐度对半滑舌鳎胚胎发育的影响[J]. 海洋科学进展, 2006, 24(3): 342-348.
- [12] Huang, Y., Hu, S., Zhou, Z., *et al.* (2006) Study on the Early Development and Adaptability to Temperature and Salinity of *Nibeamiichthioides*. *Periodical of Ocean University of China*, **36**, 101-106.
- [13] 胡亚丽, 华元渝. 暗纹东方鲀的胚胎发育的观察[J]. 南京师大学报(自然科学版), 1995, 18(4): 139-144.
- [14] 胡亚丽, 华元渝, 赵强, 等. 弓斑东方鲀的胚胎发育南京师大学报(自然科学版), 1995, 18(增刊): 61-66.

知网检索的两种方式:

1. 打开知网页面 <http://kns.cnki.net/kns/brief/result.aspx?dbPrefix=WWJD>  
下拉列表框选择: [ISSN], 输入期刊 ISSN: 2373-1443, 即可查询
2. 打开知网首页 <http://cnki.net/>  
左侧“国际文献总库”进入, 输入文章标题, 即可查询

投稿请点击: <http://www.hanspub.org/Submission.aspx>  
期刊邮箱: [oifr@hanspub.org](mailto:oifr@hanspub.org)