

## 喷点雪印小丑鱼的胚胎及仔、稚、幼鱼形态发育观察

谭泽宇<sup>1,2</sup>, 李涛<sup>1</sup>, 姜敬哲<sup>3</sup>, 黄小林<sup>1</sup>, 杨育凯<sup>1</sup>

1. 中国水产科学研究院南海水产研究所深圳试验基地, 广东深圳 518121

2. 大连海洋大学水产与生命学院, 辽宁大连 116023

3. 中国水产科学研究院南海水产研究所/农业农村部南海渔业资源开发利用重点实验室/广东省渔业生态环境重点实验室, 广东广州 510300

**摘要:** 为建立喷点雪印小丑鱼 (*Amphiprion* sp.) 人工繁育技术, 在人工模拟自然条件下对其繁殖习性、胚胎发育及胚后发育进行观察。结果表明: 喷点雪印小丑鱼受精卵长径为 1.9~2.1 mm, 短径为 0.93~0.95 mm; 胚胎发育主要经历受精卵期→胚盘期→卵裂期→囊胚期→原肠胚期→神经胚期→器官形成期→孵化期等; 在水温为 (27±0.5) °C 时, 受精卵约需 197 h 孵化出膜。初孵仔鱼全长 (4.415±0.412) mm, 身体透明, 鳍膜明显, 卵黄囊仅剩小部分残留, 并已开口摄食。9 日龄全长 (6.813±0.835) mm, 鳍膜消失, 各鳍基本形成, 头部开始出现纹带, 进入稚鱼期。21 日龄全长 (10.581±2.659) mm, 身体被鳞, 体色、纹路开始分化。35 日龄全长 (15.512±4.927) mm, 形成 4 种不同体色、纹路的幼鱼。作为人工选育的品系, 喷点雪印小丑鱼胚后发育过程中最为明显的变化是幼鱼期体色、纹路等形态特征的形成与分化。

**关键词:** 喷点雪印小丑鱼; 胚胎发育; 胚后发育; 仔、稚鱼; 纹带

中图分类号: S 917.4

文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



## Observation of embryo and morphological development of larval, juvenile and young speckled snowmark clownfish (*Amphiprion* sp.)

TAN Zeyu<sup>1,2</sup>, LI Tao<sup>1</sup>, JIANG Jingzhe<sup>3</sup>, HUANG Xiaolin<sup>1</sup>, YANG Yukai<sup>1</sup>

1. Shenzhen Base of South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shenzhen 518121, China

2. College of Aquatic and Life Sciences, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China

3. South China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences/Key Laboratory of South China Sea Fishery Research Exploitation & Utilization, Ministry of Agriculture and Rural Affairs/Guangdong Provincial Key Laboratory of Fishery Ecology and Environment, Guangzhou 510300, China

**Abstract:** In order to improve the artificial breeding technology of the speckled snowmark clownfish (*Amphiprion* sp.), we observed the breeding habits, embryonic development and post-embryonic development under artificial simulated natural conditions. The results show that the fertilized eggs were 1.9–2.1 mm in long diameter and 0.93–0.95 mm in short diameter. The embryonic development mainly went through sperm-egg stage, embryonic disc stage, oogenesis stage, blastocyst stage, protointestinal stage, neuroembryonic stage, organ formation stage and hatching stage. At the water temperature of (27±0.5) °C, it took approximately 197 h for the fertilized egg to hatch out of the membrane. The newly hatched larvae had a total length of

收稿日期: 2023-06-21; 修回日期: 2023-09-20

基金项目: 深圳市规划与自然资源局农业专项发展专项资金农业高新技术项目(渔业类, 2021-928, 2023-222); 海南省自然科学基金项目(320QN360, 321QN0942); 海南省科技专项资助(ZDYF2022XDNY349); 中国水产科学研究院中央级公益性科研院所基本科研业务费专项资金资助(2021SD09, 2023TD21, 2020TD55); 广东省现代农业产业技术体系创新团队建设专项资金(2023KJ143)

作者简介: 谭泽宇(1996—), 男, 硕士研究生, 研究方向为渔业发展。E-mail: 437646423@qq.com

通信作者: 李涛(1985—), 男, 助理研究员, 硕士, 研究方向为海水鱼类繁殖与育种。E-mail: 350073518@qq.com

(4.415±0.412) mm, a transparent body, obvious fin membranes, and only a small portion of the yolk sac remained, which had been opened for feeding. Larval stage: At 9 days after hatching [DAH, body length of (6.813±0.835) mm], the fin membrane disappeared and the fins formed, and the banding on the head appeared. Juvenile stage: at 21 DAH [Body length of (10.581±2.659) mm], accompanied by scale formation on the body, the differentiation of body colour and stripe banding started to appear. Young stage: 35 DAH [Body length of (15.512±4.927) mm], four different strains with different body colour patterns were easily identified. In brief, as an artificially selected new variety, the most obvious feature during the post-embryonic development of speckled snowmark clownfish is formation and differentiation of body colour patterns such as stripe banding during juvenile stage.

**Keywords:** Speckled snowmark clownfish; Embryonic development; Post-embryonic development; Young and juvenile fish; Stripe banding

小丑鱼在热带海水观赏鱼中占有重要地位, 全世界范围内已知的有 30 种<sup>[1]</sup>。隶属于硬骨鱼纲、鲈形目、雀鲷科、海葵鱼亚科, 除了透红小丑鱼 (*Premnas biaculeatus*) 属于棘颊雀鲷属外, 其余 29 种均属于双锯鱼属 (*Amphiprion*)。

近年来, 随着休闲渔业的发展, 小丑鱼的人工繁育技术逐渐受到重视, 国内外学者已开展了多种小丑鱼的繁育养殖技术研究<sup>[2-12]</sup>, 并在人工杂交选育方面不断尝试。Balamurugan 等<sup>[13]</sup>开展了黑边公子小丑鱼 (*A. percula*, ♀) 和公子小丑鱼 (*A. ocellaris*, ♂) 的杂交, 成功获得了颜色更为艳丽的杂交后代, 但杂交的受精率和孵化率均较低, 杂交 F<sub>1</sub> 代的成活率与其他小丑鱼相似。何丽斌等<sup>[14-15]</sup>对人工选育的毕加索小丑鱼进行了一系列研究; 2016 年对其进行人工繁育技术研究并获得突破; 2017 年研究了毕加索小丑鱼的胚胎发育形态学, 得到其在胚胎发育期的特征; 2022 年研究了毕加索小丑鱼的关键基因, 为今后人为干扰基因表达从而调控小丑鱼体色提供了理论依据。李飞等<sup>[16]</sup>研究了温度、盐度条件对毕加索小丑鱼发育和变态的影响, 发现在水温 25~30 °C、盐度 30‰ 的条件下, 仔鱼培育效果最为理想。

1999 年, 在英国热带海水中心首次获得人工选育的公子小丑鱼——雪印小丑鱼, 其身体上具有规则不一的白色纹路, 深受人们喜爱<sup>[17]</sup>。以雪印小丑鱼作为亲本, 通过多代选育, 获得了另一种人工选育的小丑鱼——喷点雪印小丑鱼 (*Amphiprion* sp.), 其身体纹路消失, 体白色, 且白色身体上散布不规则黑色斑点, 相较于雪印小丑鱼, 其体色形态更为靓丽, 商业价值更高, 在水族市场有少量出售。目前有关喷点雪印小丑鱼早期发育的相关研究在国内外均未见报道。本研究通过在人工饲养条件

下开展喷点雪印小丑鱼的繁殖和苗种培育, 研究其繁育特性, 并连续观察其胚胎发育与胚后发育各阶段的主要形态特征, 旨在为喷点雪印小丑鱼早期发育研究提供生物学基础资料, 为其人工繁育提供相关理论依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 亲鱼培育

2021 年 3 月从深圳南山水族市场购入 8 尾喷点雪印小丑鱼亲鱼, 体长 45~63 mm, 一大一小进行配对, 共成功配对 3 对, 配对的亲鱼饲养于中国水产科学研究院南海水产研究所深圳试验基地室内循环水养殖系统的玻璃缸 (长 40 cm×宽 30 cm×高 45 cm) 内。玻璃缸内放置一个陶瓷罐或一个陶瓷板, 供亲鱼栖息和产卵, 每个玻璃缸上方放置一个 20 W 的日光灯 (图 1)。饲养期间维持水温 (27±0.5) °C, 盐度 (28±1) ‰, pH 8.1~8.3, 光暗比 12L:12D。早中晚投喂 3 次商品亲鱼饲料, 每天吸底换水一次, 将残余饲料及粪便吸出, 换水量 10%~20%。经 1 年培育, 其中两对亲鱼开始产卵。

### 1.2 胚胎发育

在产卵结束后及时对活体胚胎取样, 定时取样直至仔鱼孵出。利用生物显微镜观察喷点雪印小丑鱼的胚胎发育过程, 记录受精卵所处的发育阶段, 进行连续观察和拍照记录, 分析和总结各发育时期的形态变化。

### 1.3 孵化、仔稚鱼培育

在水温 (27±0.5) °C 条件下喷点雪印小丑鱼受精卵孵化约 197 h, 受精卵孵化前由亲鱼看护, 仔鱼孵化当天傍晚将受精卵从亲鱼缸转移至苗种培育缸 (60 cm×30 cm×30 cm), 缸内水温、盐度和 pH 与亲鱼缸一致。苗种培育缸内放置一个气石微



图1 喷点雪印小丑鱼亲鱼培育系统

Fig. 1 Breeding system of speckled snowmark clownfish

充气,并通过气石或小水泵吹动鱼卵进行孵化,防止受精卵缺氧死亡。孵化需在暗环境下进行,孵化时关闭所有灯光。孵化完成后及时移走陶瓷罐、小水泵等设备,将死鱼苗吸出,并在苗种培育缸上方配置一个10 W的日光灯,每天光照时间约12 h。刚孵化的仔鱼已经开口,投喂经小球藻(*Chlorella vulgaris*)强化的轮虫,轮虫密度为 $5\sim 10$ 个 $\cdot\text{mL}^{-1}$ ,并加入适量的小球藻液补充营养。7 d后适当投喂经小球藻强化的丰年虾幼虫。10 d后停止投喂轮虫,改投喂经小球藻强化过的丰年虾幼虫。每天吸底换水20%~50%,保证水质干净。

#### 1.4 仔稚鱼发育观察

前10 d每天取样一次,第11—第20天隔1~2 d取样一次,第20天之后鱼苗发育特征有明显变化时再进行取样,每次从同一批鱼苗中随机取样10~15尾。用奥林巴斯生物显微镜(OLYMPUS-CX41)进行活体观察和拍照,用校准后的目微尺测量各项生物学数据。8日龄后鱼体明显超出生物显微镜观察视野,样本改用奥林巴斯体视显微镜(OLYMPUS-SZ61)进行观察,用台微尺测定全长。根据体色变化、鳞片 and 鳍的发育情况以及鳍膜来划分喷点雪印小丑鱼仔、稚、幼鱼的发育阶段。采用Excel 2003软件进行数据统计。

## 2 结果

### 2.1 繁殖习性

喷点雪印小丑鱼每月产卵2~3次,产卵间隔9~13 d,如培养条件适宜,可全年持续产卵。产卵当天雌鱼输卵管明显伸出,此时亲鱼会用嘴清理产卵床上的污物。产卵时间通常在15:00—17:00。产卵时雌鱼腹部在陶瓷板上不断摩擦,将卵一粒粒产

下,鱼卵通过附着丝附着在陶瓷板上,雄鱼也像雌鱼一样,在卵上摩擦排精,雌、雄交替产卵、排精,持续约1 h。每尾喷点雪印小丑鱼每次产卵量约为900粒,受精卵继续留在原缸中培育。亲鱼有护卵习性,会用口和胸鳍去除卵上的杂质,扇动水流,一般来说雄鱼会比雌鱼更加积极主动,离孵化时间越近雄鱼扇动鳍的频率越高,在水温( $27\pm 0.5$ ) $^{\circ}\text{C}$ 的条件下,受精卵经约197 h孵化,孵化前1~3 d鱼卵呈现银色。小丑鱼卵孵化过程应保持无光环境,在日落并关灯后2 h左右孵化。

### 2.2 胚胎发育

喷点雪印小丑鱼的胚胎发育主要经历受精卵期、胚盘期、卵裂期、囊胚期、原肠胚期、神经胚期、器官形成期和孵化期8个时期。胚胎发育过程及特征见表1。

#### 2.2.1 受精卵期

喷点雪印小丑鱼的受精卵为黏性卵,卵裂方式为盘状卵裂,成熟的受精卵呈长椭圆形,淡黄色,卵质透明,动物极顶端有纤维附着丝,可使卵附着在卵床上。

#### 2.2.2 胚盘期

受精后0.5 h,受精卵卵黄上方隆起一个帽状胚盘(一个大细胞),且受精卵中的原生质开始向动物极集中,进入胚盘期(图2-b)。

#### 2.2.3 卵裂期

受精后1 h,进入2细胞期(图2-c);受精后2 h,进入4细胞期(图2-d);受精后2.5 h,进入8细胞期(图2-e);受精后3 h,进入16细胞期(图2-f);受精后3.5 h,进入32细胞期(图2-g)。此后,细胞还会继续分裂,形成越来越多的分裂球,细胞间的间隙也会越来越不清晰。

表1 喷点雪印小丑鱼胚胎发育过程  
Table 1 Embryo development of speckled snowmark clownfish

胚胎发育时期 Embryonic development period	受精后时间 Time after fertilization	发育特征 Developmental characteristics
受精卵期 Fertilized egg stage	0 h	卵质透明, 动物极顶端有纤维附着丝, 植物极一端有两个大油球和多个油球
胚盘期 Blastoderm stage	0.5 h	受精卵卵黄上方隆起一个帽状胚盘
2 细胞期 2-cell phase	1 h	第 1 次分裂, 形成 2 个细胞
4 细胞期 4-cell phase	2 h	第 2 次分裂, 形成 4 个细胞
8 细胞期 8-cell phase	2.5 h	第 3 次分裂, 形成 8 个细胞
16 细胞期 16-cell phase	3 h	第 4 次分裂, 形成 16 个细胞
32 细胞期 32-cell phase	3.5 h	第 5 次分裂, 形成 32 个细胞
囊胚早期 Early blastocyst	6 h	分裂球变得更小, 细胞界限不清晰, 在原胚盘处形成相似的隆起的囊胚
囊胚中期 Middle blastocyst	7 h	隆起的囊胚略微扁平
囊胚晚期 Late stage of blastocyst	8 h	细胞继续分裂, 开始向卵黄下包
原肠早期 Early proctology	15 h 50 min	胚盘向植物极下包并内卷达卵径的 1/4~1/3
原肠中期 Middle proctology	17 h 30 min	囊胚层下包达 1/2 左右
原肠晚期 Late stage of proctology	18 h 35 min	细胞继续下包达卵黄的 3/4 左右
神经胚期 Neurula stage	22 h 50 min	仅植物极一端有小部分卵黄囊外露
器官形成期 Organogenesis stage	39 h 42 min	尾巴轮廓已较为明显并离开卵黄
器官形成期 Organogenesis stage	53 h 42 min	出现无色透明的眼泡晶体, 小泡状的耳囊
器官形成期 Organogenesis stage	72 h	头部左下方出现心脏, 耳囊中出现耳石
器官形成期 Organogenesis stage	97 h 55 min	形成胸鳍雏形
器官形成期 Organogenesis stage	126 h 42 min	黑色素几乎布满整个眼睛
器官形成期 Organogenesis stage	164 h	胚体和卵黄囊均有血液流动
孵化期 Incubator	186 h	卵黄大部分被吸收, 胚体的感觉器官相继形成
初孵仔鱼 Larval stage	197 h	卵膜开始软化变薄, 完成孵化

#### 2.2.4 囊胚期

受精后 6 h, 进入囊胚早期 (图 2-h)。受精后 7 h, 细胞继续分裂, 胚层向卵黄囊方向扩展, 隆起的囊胚略微扁平, 进入囊胚中期 (图 2-i)。受精后 8 h, 进入囊胚晚期 (图 2-j)。

#### 2.2.5 原肠胚期

受精后 15 h 50 min, 胚盘向植物极下包并内卷达卵径的 1/4~1/3 时, 细胞向胚盘边缘流动、外包并向内卷形成胚环, 进入原肠早期 (图 2-k)。受精后 17 h 30 min, 为原肠中期 (图版 1-1)。受精后 18 h 35 min, 形成胚体雏形, 卵黄中油球数量明显减少, 此为原肠晚期 (图 2-m)。

#### 2.2.6 神经胚期

受精后 22 h 50 min, 细胞下包超过卵黄囊的 5/6, 此时进入神经胚期 (图 2-n)。受精后 29 h 42 min, 胚体和外膜出现许多黑色素, 卵黄囊被完

全包裹 (图 2-o)。

#### 2.2.7 器官形成期

受精后 39 h 42 min, 黑色素点增多, 胚体头部出现两个微微凸起的视囊, 胚体的头部和尾部已可分辨, 尾巴轮廓已较为明显并离开卵黄 (图 2-p)。受精后 53 h 42 min, 出现无色透明的眼泡晶体, 小泡状的耳囊, 吻端的嗅觉已现雏形, 尾巴开始有规律摆动, 胚体的色素明显增多, 使得整个卵看起来颜色加深 (图 2-q)。受精后 72 h, 胚体的头部移动到卵黄的前端, 头部左下方出现心脏微弱地跳动, 耳囊中出现耳石, 眼中出现淡淡的黑色素 (图 2-r)。受精后 97 h 55 min, 胚体的心脏增大, 跳动明显加快, 有血液流动, 形成胸鳍雏形 (图 2-s)。受精后 126 h 42 min, 眼睛中黑色素几乎布满整个眼睛 (图 2-t)。受精后 164 h, 黑色素布满眼睛, 胚体和卵黄囊均有血液流动, 卵黄囊上的黑色素开始减少

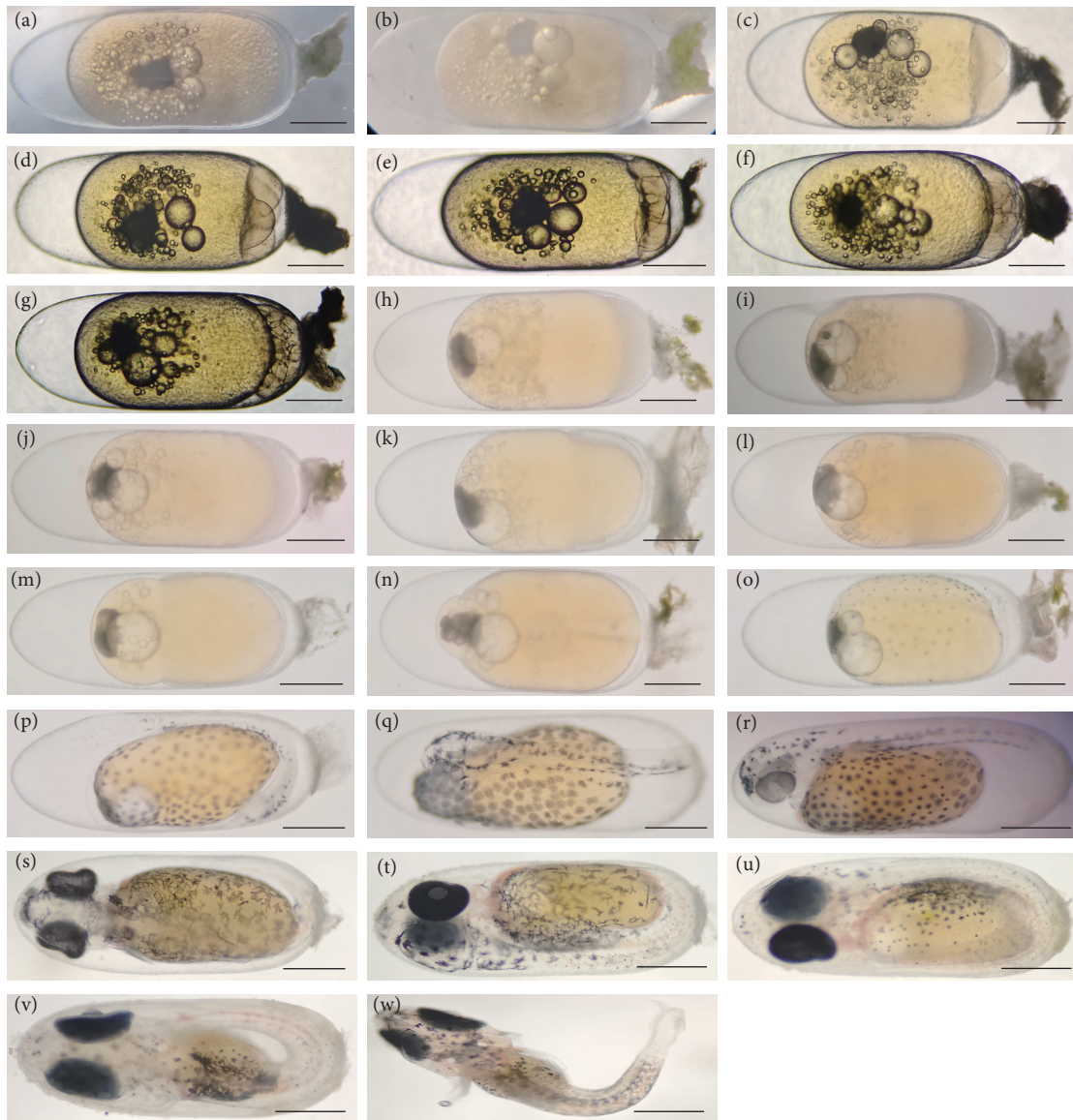


图2 喷点雪印小丑鱼胚胎发育示意图

注: a. 受精卵期; b. 胚盘期; c—g. 卵裂期; h—j. 囊胚期; k—m. 原肠胚期; n—o. 神经胚期; p—u. 器官形成期; v. 孵化期; w. 仔鱼期; 标尺为 1 mm。

Fig. 2 Schematic diagram of embryonic development of speckled snowmark clownfish

Note: a. Fertilized egg stage; b. Blastoderm stage; c—g. Cleavage stage; h—j. Blastocyst stage; k—m. Gastrula stage; n—o. Neurula stage; p—u. Organogenesis stage; v. Incubator; w. Larval stage; Scale bar is 1 mm.

(图 2-u)。

### 2.2.8 孵化期

受精后 186 h, 卵黄大部分被吸收, 胚体的感觉器官相继形成, 尾部进一步伸长, 胚体不断摆动, 胸鳍偶尔摆动, 进入孵化前期 (图 2-v)。受精后 197 h, 卵膜开始软化变薄, 出膜前尾部在卵膜内剧烈摆动, 尾部首先破膜而出, 鱼体透明, 完成孵化进入仔鱼期 (图 2-w)。

## 2.3 喷点雪印小丑鱼仔、稚、幼鱼的形态发育特征

### 2.3.1 仔鱼期

初孵仔鱼 (0 日龄) 全长  $(4.113 \pm 0.327)$  mm, 体

高  $(0.957 \pm 0.065)$  mm, 眼径  $(0.397 \pm 0.039)$  mm, 身体透明, 脑腔内可见脑组织, 眼球积聚黑色素; 卵黄囊仅剩少部分残留, 无油球。心脏位于头部下方, 隐约可见红色血液。肠道紧贴腹部, 肛门未与外界贯通。背鳍膜从背部隆起并延伸至尾鳍膜, 鱼体各处均有色素斑点。仔鱼口裂形成, 已开口摄食, 上下颌不断颤动。活力较弱的初孵仔鱼沉在缸底, 第二天死亡。状态好、活力强的仔鱼在破膜孵化之后便游向中上层, 趋光性强, 游动迅速 (图 3-a)。

1 日龄仔鱼全长  $(4.415 \pm 0.412)$  mm, 头部微隆起, 肛门与外界贯通, 卵黄囊消耗完毕, 摄食能力

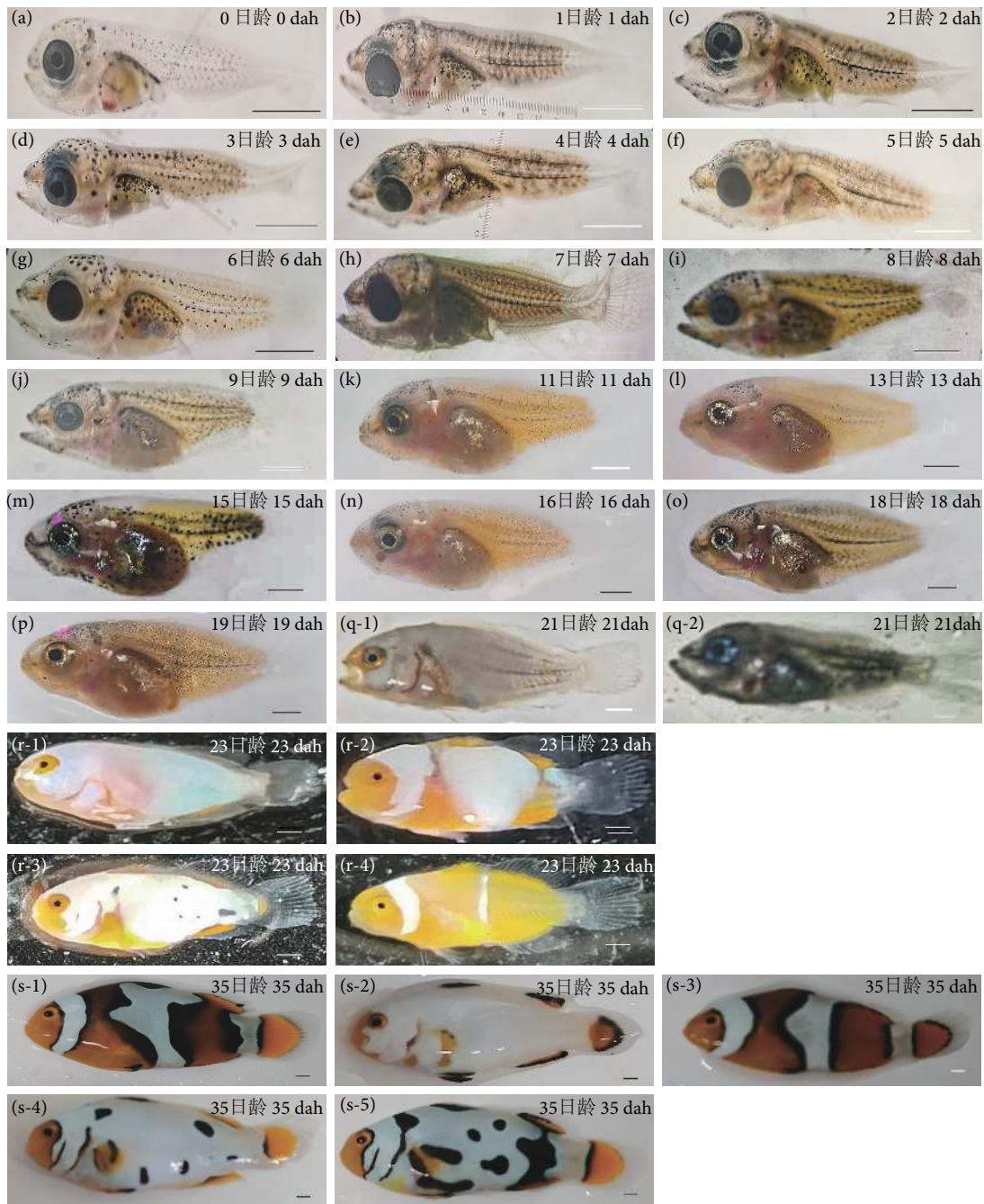


图3 喷点雪印小丑鱼胚后发育

注: a—i. 仔鱼期; j—p. 稚鱼期; q—s. 幼鱼期; 图 s-4、s-5 为同一形态; 标尺为 1 mm。

Fig. 3 Post embryonic development of speckled snowmark clownfish

Note: a—i. Larval stage; j—p. Juvenile stage; q—s. Young fish stage; s-4 and s-5 are of the same form; Scale bar is 1 mm.

强,腹部充满食物,肠道隆起。肌节和眼球上分别有大量黑色素出现(图3-b)。

2日龄仔鱼全长( $4.517 \pm 0.378$ ) mm,体色变深,心脏处可见红色血液,头部、吻部、脊索、肠道处有黑色素,背部、腹部鳍膜明显,肠道弯曲隆起,尾部仍透明,尾鳍开始发育,鳍条7~9条(图3-c)。

3日龄仔鱼全长( $4.625 \pm 0.435$ ) mm,头部与躯

干出现大量点状色素,腹部器官开始形成,消化系统完善,头部隆起,脑腔增大,脑内器官开始形成。脊索直线型,脊索尾部向上弯曲(图3-d)。

4日龄仔鱼全长( $4.835 \pm 0.489$ ) mm,脑部器官基本形成,背鳍、尾鳍、腹鳍等有鳍膜连接,背部肌节清晰。尾鳍呈扇形,可观察到鳍条(图3-e)。

5日龄仔鱼全长( $5.030 \pm 0.587$ ) mm,各鳍条发育速度加快,背部、头部、腹部黑色素增多,但下

表2 仔、稚、幼鱼发育过程及特征  
Table 2 Development process and characteristics of larvae, juveniles and young fish

孵化后日龄 Day after hatching	发育时期 Developmental period	发育特征 Developmental characteristics
0	仔鱼期 Larva	仔鱼口裂形成, 已开口摄食
1	仔鱼期 Larva	肛门与外界贯通, 卵黄囊消耗完毕
2	仔鱼期 Larva	尾鳍开始发育, 鳍条 7~9 条
4	仔鱼期 Larva	脑部器官基本形成
5	仔鱼期 Larva	鳍条发育速度加快
6	仔鱼期 Larva	鳍膜开始逐渐消退
7	仔鱼期 Larva	口裂扩大, 身体色素加深
9	稚鱼期 Juvenile	鳍膜完全消失, 第一条纹带开始在头部形成
15	稚鱼期 Juvenile	体表开始长出鳞片, 各鳍发育基本完成
16	稚鱼期 Juvenile	部分稚鱼出现第二条纹带
21	幼鱼期 Young fish	身体大部分被鳞, 开始出现体色和纹带不同的幼鱼
23	幼鱼期 Young fish	身体完全被鳞, 从外表可大致分为 4 种形态
35	幼鱼期 Young fish	体色、纹路分化完成, 体表特征与成鱼基本一致

颌透明, 可见心脏跳动 (图 3-f)。

6 日龄仔鱼全长 ( $5.330 \pm 0.587$ ) mm, 鳍膜开始逐渐消退 (图 3-g)。

7 日龄仔鱼全长 ( $5.753 \pm 0.621$ ) mm, 口裂扩大, 身体色素加深, 背鳍、尾鳍展开, 摄食和逃避敌害能力加强, 可投喂丰年虾幼虫 (图 3-h)。

8 日龄仔鱼全长 ( $6.303 \pm 0.635$ ) mm, 鳍膜放射状缩小, 各鳍条发育基本完成 (图 3-i)。

### 2.3.2 稚鱼期

9 日龄稚鱼全长 ( $6.813 \pm 0.835$ ) mm, 鳍膜完全消失, 进入稚鱼期。主要器官均已形成, 第一条纹带开始在头部形成 (图 3-j)。

11 日龄稚鱼全长 ( $7.113 \pm 0.935$ ) mm, 腹鳍、背鳍进一步发育, 背部颜色加深, 脊索处有点状黑色素 (图 3-k)。

13 日龄稚鱼全长 ( $7.526 \pm 1.423$ ) mm, 身体和头部颜色加深 (图 3-l)。

15 日龄稚鱼全长 ( $8.275 \pm 1.865$ ) mm, 体表开始长出鳞片, 各鳍发育基本完成 (图 3-m)。

16 日龄稚鱼全长 ( $8.672 \pm 1.793$ ) mm, 部分稚鱼出现第二条纹带。通过对 5 批次繁殖的个体进行统计: 47.3%~53.1% 的稚鱼开始形成第二条纹带 (图 3-n)。

### 2.3.3 幼鱼期

21 日龄幼鱼全长 ( $10.581 \pm 2.659$ ) mm, 身体大部分被鳞, 进入幼鱼期。开始出现体色和纹带不同

的幼鱼, 一种基本白化完成, 体表几乎为白色, 各鳍条发育完善 (图 3-q-1)。另一种体表大部分为黑色, 纹带清晰 (图 3-q-2)。有 51.8%~56.3% 的幼鱼头部条带消失。

23 日龄幼鱼全长 ( $11.517 \pm 2.587$ ) mm, 身体完全被鳞, 21—23 日龄两天时间变化迅速, 体色纹路等急速变化, 各鳍条完全形成, 形态体色近似成鱼, 从外表可大致分为 4 种。第一种 (占比 9.4%~14.7%) 除内脏处隐约可见红色外, 全身白化 (图 3-r-1); 第二种 (24.5%~29.7%) 底色为橘红色, 头部、背部、尾部有白色区域, 隐约可见黑色 (图 3-r-2); 第三种 (37.1%~42.7%) 身体几乎全为白色, 只有心脏区域处有部分黄色, 背部有几颗黑色斑点 (图 3-r-3); 第四种 (27.3%~32.1%) 全身橘黄, 头部、背部各有一条白色纹带 (图 3-r-4)。

35 日龄幼鱼全长 ( $15.512 \pm 4.927$ ) mm, 体色、纹路分化完成, 体表特征与成鱼基本一致。通过对 5 批次繁殖的个体进行统计: 24.5%~29.7% 的幼鱼体色橘红, 具有 3 条纹带, 分别位于头部、背部和尾部, 背部、尾部条带纹路奇特, 形状不规则 (图 3-s-1)。9.4%~14.7% 的幼鱼纹路消失, 通体白色, 各鳍边缘处为黑色 (图 3-s-2)。27.3%~32.1% 的幼鱼体色橘红, 有 3 条纹带, 分别位于头部、背部和尾部, 条带黑白相间、形状规则, 与公子小丑鱼类似 (图 3-s-3)。37.1%~42.7% 的幼鱼身上纹路消失, 体白色, 背部分布着不规则的黑色斑点

(图3-s-4、3-s-5)。仔、稚、幼鱼发育过程及特征见表2,其全长与生长发育时间的关系见图4。

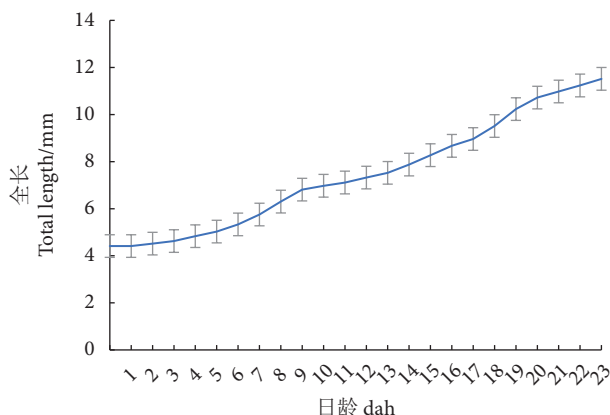


图4 喷点雪印小丑鱼生长曲线

Fig. 4 Growth curve of speckled snowmark clownfish

### 3 讨论

#### 3.1 喷点雪印小丑鱼胚胎发育的特点

喷点雪印小丑鱼的胚胎发育主要经历胚盘期→卵裂期→囊胚期→原肠胚期→神经胚期→器官形成期→孵化期等。喷点雪印小丑鱼受精卵呈长椭圆形,在植物极一端有大量油球,为黏性卵,与多纹钱鲷鱼(*Selenotoca multifasciata*)不同<sup>[18]</sup>,笔者认为鱼类受精卵的沉浮性可能与物种的繁殖行为有关。

与其他经济鱼类动辄产卵几十万粒<sup>[19-22]</sup>不同,喷点雪印小丑鱼一次产卵仅约900粒,较少的数量使得亲鱼能照顾到每个受精卵。喷点雪印小丑鱼在胚胎发育过程中,卵裂方式为盘状卵裂,与其他小丑鱼相同<sup>[5,12,14]</sup>,不同的是,卵黄囊色素斑点出现时间要早于其他小丑鱼。

在孵化温度基本相同条件下,比较几种双锯鱼属的受精卵发育时间;公子小丑鱼受精卵长径约1.9~2.1 mm,发育时间为180~200 h<sup>[12]</sup>;毕加索小丑鱼受精卵长径约2.1~2.3 mm,发育时间为217 h<sup>[14]</sup>;番茄小丑鱼受精卵长径约2.4~2.8 mm,发育时间为216~240 h<sup>[3]</sup>。本研究中喷点雪印小丑鱼受精卵长径约1.9~2.1 mm,发育时间为197 h。通过对比发现小丑鱼受精卵的孵化符合海水鱼类的一般规律,即海水鱼类受精卵的孵化速度和受精卵大小成正相关,受精卵越大,孵化时间越长,且初孵仔鱼越大<sup>[23]</sup>。

喷点雪印小丑鱼与其他海水鱼类的胚胎发育时

间差异很大,在水温相近的条件下,多纹钱鲷鱼的胚胎发育时间为18 h 20 min<sup>[18]</sup>,尖翅燕鱼(*Platax teira*)的胚胎发育时间为27 h 45 min<sup>[22]</sup>,黄斑篮子鱼(*Siganus oramin*)的胚胎发育时间为42 h 10 min<sup>[24]</sup>,喷点雪印小丑鱼的胚胎发育时间要远长于上述鱼类。尖翅燕鱼、多纹钱鲷鱼、黄斑篮子鱼等鱼类孵化后,卵黄囊并未消失,能够维持仔鱼的生长发育,口裂未形成,直到孵化后第3天才开口,游泳能力差,无摄食能力。而喷点雪印小丑鱼初孵化时就具备游泳能力,可摄食轮虫。黄斑篮子鱼等仔鱼在最初几天器官的发育情况与喷点雪印小丑鱼胚胎发育最后几天相似,这也是其胚胎发育时间长的原因。喷点雪印小丑鱼在孵化时,各器官功能要更加完善,所以鱼苗的成活率高于黄斑篮子鱼等。

#### 3.2 喷点雪印小丑鱼仔、稚、幼鱼发育特点

喷点雪印小丑鱼初孵仔鱼(0日龄)已开口摄食,不经历内源性营养直接进入混合性营养,1日龄仔鱼卵黄囊消耗完毕,转为外源性营养,卵黄囊消耗速度快于二线小丑鱼<sup>[2]</sup>。在水温基本一致的情况下,喷点雪印小丑鱼9日龄进入稚鱼期,晚于公子小丑鱼<sup>[9]</sup>、番茄小丑鱼<sup>[25]</sup>等小丑鱼;但喷点雪印小丑鱼21日龄便进入幼鱼期,早于透红小丑鱼<sup>[5]</sup>、番茄小丑鱼等小丑鱼。喷点雪印小丑鱼进入幼鱼期后,最具特色的体色、纹路分化开始出现。23日龄体表纹路进一步分化,出现不同体色、纹路的幼鱼。35日龄体色、纹路形态分化完成,身体外部特征与成鱼基本一致。

喷点雪印小丑鱼仔、稚、幼鱼发育符合硬骨鱼类早期发育的一般规律<sup>[26]</sup>,但亦有其自身特点。本研究中,喷点雪印小丑鱼初孵仔鱼全长(4.113±0.327) mm,大于黄斑篮子鱼<sup>[19]</sup>、石斑鱼<sup>[27-29]</sup>等食用经济鱼类,活力强,已开口摄食,初孵时器官功能更加完善,且具备游泳能力。与黄斑篮子鱼<sup>[24]</sup>、多纹钱鲷鱼<sup>[18]</sup>、尖翅燕鱼<sup>[22]</sup>等相比,喷点雪印小丑鱼发育快速,稚鱼期至幼鱼期仅需21 d。进入幼鱼期后,生长速度明显下降,进入缓慢生长期,但各器官发育完善,游泳能力和灵活性提升,且身体被鳞,抗病能力增强,成活率提高。在胚后发育的过程中,内源性营养单一、器官发育不完善,是制约仔鱼生长的根本因素<sup>[30]</sup>。此外,在内源性营养向外源性营养转变的时期死亡率较高,而喷点雪印小丑鱼初孵仔鱼已开口摄食,器官功能相

对完善, 且不需要经历内源性营养向外源性营养转变期, 这些发育特征使喷点雪印小丑鱼能快速度过早期阶段的危险期, 提高存活机会来繁衍生息。

### 3.3 喷点雪印小丑鱼纹带发育及其生物学意义

刚孵出的喷点雪印小丑鱼无纹带, 随着发育的进行, 9日龄进入稚鱼期在头部形成一条纹带, 16日龄部分稚鱼在身体中部开始形成第二条纹带。35日龄喷点雪印小丑鱼纹带有两种变化, 其中一种纹带消失, 另一种在尾部形成第三条纹带。具有纹带的部分喷点雪印小丑鱼与番茄小丑鱼等<sup>[26,31]</sup>相似, 随着发育的进行从前往后逐步形成纹带, 即头部先形成纹带, 随后身体中部、尾部形成纹带。其他小丑鱼中, 番茄小丑鱼、红苹果小丑鱼等仅在头部和身体中部形成纹带, 公子小丑鱼、黑边公子小丑鱼等在尾部继续形成第三条纹带。喷点雪印小丑鱼具有纹带的部分个体与公子小丑鱼极为相似, 纹带发育规律也相同。

形态特征分析是鉴别鱼类亲缘关系的有效途径, 其受到遗传因子和环境因子的共同影响<sup>[32]</sup>。本实验是在严格相同的繁殖、孵化、培育条件下进行的, 发现喷点雪印小丑鱼每个孵化批次中均有与公子小丑鱼相似的子代。由此判断, 喷点雪印小丑鱼子代的条纹分化主要是由亲本遗传因素决定的, 环境因子的影响相对较小, 同时说明喷点雪印小丑鱼与公子小丑鱼的亲缘关系较近。

海水观赏鱼的外观在很大程度上决定了其观赏价值和市场价格, 改善外观是观赏鱼养殖中的一项主要任务<sup>[32]</sup>。4种性状中, 与亲本相似的部分占比最高(37.1%~42.7%), 环境因子影响较小的前提下, 说明喷点雪印小丑鱼的纹路体色可遗传, 并明显优于其他性状。通过多次实验发现, 每批子代均具有这4种形态体色, 且进入成体后形态特征趋于稳定, 几乎不再变化。通过公子小丑鱼人工选育得到雪印小丑鱼, 再以雪印小丑鱼作为亲本多代选育而出的喷点雪印小丑鱼, 作为人工选育而来的品系, 能够遗传的纹路体色可作为进一步人工选育的基础资料。选育出新的能够遗传的纹路体色, 将为观赏鱼体色研究提供理论参考。

#### 参考文献:

- [1] 叶乐, 胡静, 王雨, 等. 光周期和光照强度对克氏双锯鱼仔鱼存活、生长和发育的影响[J]. 琼州学院学报, 2014, 21(5): 78-86.
- [2] 滕力平, 杨担光, 李晓光, 等. 二线小丑鱼的人工繁殖[J]. 水产科学, 2005(2): 26-28.
- [3] 鲍鹰, 张鹏, 祝承勇, 等. 红小丑人工繁殖和育苗的初步研究[J]. 海洋科学, 2009, 33(2): 5-10.
- [4] 鲍鹰, 张鹏, 祝承勇, 等. 棘颊雀鲷人工繁殖与育苗的初步研究[J]. 海洋科学, 2011, 35(3): 67-71.
- [5] 单乐州, 邵鑫斌, 闫茂仓, 等. 透红小丑鱼的繁殖习性、胚胎发育和胚后发育[J]. 水产科技情报, 2015, 42(1): 25-29, 35.
- [6] KUMAR T T A, GOPI M, DHANEESH K V, et al. Hatchery production of the clownfish *Amphiprion nigripes* at Agatti Island, Lakshadweep, India[J]. J Environ Biol, 2012, 33(3): 623-628.
- [7] DHANEESH K V, DEVI K N, KUMAR T T A, et al. Breeding, embryonic development and salinity tolerance of Skunk clownfish *Amphiprion akallopisos*[J]. J King Saud Univ Sci, 2012, 24(3): 201-209.
- [8] 윤영석, 노섬, 최영웅, et al. Saddleback clownfish, *Amphiprion polymnus* 의 종묘생산에 관한 연구 1) 산란과 난 발생 및 자치어 사육[J]. 한국양식학회지, 2005, 18(2): 107-114.
- [9] 王斌, 王士莉, 杨爱国, 等. 眼斑双锯鱼的人工繁育技术研究[J]. 渔业科学进展, 2010, 31(5): 41-46.
- [10] MADHU K, MADHU R. Successful breeding of common clownfish *Amphiprion percula* under captive conditions in Andaman and Nicobar Island[J]. Fish Chim, 2002, 22(9): 16-17.
- [11] DHANEESH K V, KUMAR T T A, SHUNMUGARAGJ T. Embryonic development of percula clown fish, *Amphiprion percula* (Lacepede, 1802)[J]. Middle East J Sci Res, 2009, 4(2): 84-89.
- [12] 鞠晨曦, 李云, 刘红, 等. 眼斑双锯鱼胚胎发育的形态学观察[J]. 海洋渔业, 2014, 36(1): 8-15.
- [13] BALAMURUGAN J, KATHIRESAN K, MEENAKUMARI B. Interspecific hybridization and reproductive biology of marine clownfishes, the orange clownfish *Amphiprion percula* and clown anemonefish *A. ocellaris*[J]. N Am J Aquac, 2018, 80(3): 301-309.
- [14] 何丽斌, 朱志煌, 马敏宁, 等. 毕加索小丑鱼胚胎发育的形态学观察[J]. 应用海洋学学报, 2017, 36(4): 545-549.
- [15] 何丽斌, 黄镇, 吴水清, 等. 基于转录组测序技术对调控毕加索小丑鱼(Picasso clownfish)白化体征关键基因的研究[J]. 海洋学报, 2022, 44(2): 67-76.
- [16] 李飞, 高欣东, 刘洋, 等. 不同温度、盐度条件对三种小丑鱼仔鱼发育和变态的影响[J]. 河北渔业, 2022(6): 9-14, 34.
- [17] 张薇, 孙志宾, 马爱军, 等. 双锯鱼属(*Amphiprion*)四种鱼种比较胚胎学研究和进化探讨[J]. 海洋与湖泊, 2018, 49(3): 671-681.
- [18] 刘鉴毅, 李琪, 孙艳秋, 等. 多纹钱蝶鱼胚胎发育及胚后发育观察[J]. 中国水产科学, 2021, 28(8): 978-987.
- [19] 黄小林, 杨育凯, 李涛, 等. 黄斑篮子鱼仔、稚、幼鱼形态观察与生长研究[J]. 南方水产科学, 2018, 14(5): 88-94.
- [20] LI J, HAN Y L, MA Q H, et al. Early development of lamprey *Lamprologus japonica* (Martens, 1868)[J]. Aquac Res, 2019, 50(5): 1501-1514.
- [21] BOHÓRQUEZ-CRUZ M, RODRÍGUEZ S, SONNENHOLZNER S, et al. Early development and juvenile culture technique of speckled flounder, *Paralichthys woolmani* (Jordan & Williams,

- 1897) under ambient seawater[J]. J Appl Ichthyol, 2018, 34(3): 610-616.
- [22] 刘明鉴, 郭华阳, 高杰, 等. 尖翅燕鱼早期胚胎发育及仔稚鱼形态观察[J]. 南方水产科学, 2022, 18(4): 103-111.
- [23] dos SANTOS J A, SOARES C M, BIALETZKI A. Early ontogeny of yellowtail tetra fish *Astyanax lacustris* (Characiformes: Characidae)[J]. Aquac Res, 2020, 51(10): 4030-4042.
- [24] 黄小林, 李涛, 林黑着, 等. 网箱养殖黄斑篮子鱼胚胎发育观察[J]. 南方水产科学, 2018, 14(2): 96-101.
- [25] 吕爽, 夏苏东, 高燕, 等. 白条双锯鱼胚胎及仔稚鱼发育形态学观察[J]. 南方农业学报, 2021, 52(12): 3303-3310.
- [26] 张呈祥, 徐钢春, 徐跑, 等. 美洲鲟仔、稚、幼鱼的形态发育与生长特征[J]. 中国水产科学, 2010, 17(6): 1227-1235.
- [27] 吕雪娇, 王雨浓, 刘清华, 等. 鞍带石斑鱼仔稚幼鱼骨骼发育与生长特性研究[J]. 海洋科学, 2018, 42(5): 116-121.
- [28] 刘银华, 张雅芝, 钟幼平, 等. 云纹石斑鱼仔、稚、幼鱼的形态观察[J]. 应用海洋学学报, 2016, 35(4): 514-521.
- [29] 吴水清, 郑乐云, 黄种持, 等. 云纹石斑鱼(♀)×鞍带石斑鱼(♂)杂交子代胚胎发育及仔稚幼鱼形态观察[J]. 渔业研究, 2016, 38(1): 27-35.
- [30] PEPE-VICTORIANO R, MIRANDA L, ORTEGA A, et al. Descriptive morphology and allometric growth of the larval development of *Sarda chiliensis chiliensis* (Cuvier, 1832) in a hatchery in northern Chile[J]. Aquac Rep, 2021, 19: 100576.
- [31] PAULINE S, NATACHA R, DELAI H, et al. Thyroid hormones regulate the formation and environmental plasticity of white bars in clownfishes[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2021, 118(23): e2101634118.
- [32] 李小慧, 汪学杰, 牟希东, 等. 观赏鱼着色研究进展[J]. 河北渔业, 2008(12): 6-7, 14.