

文章编号: 1000-5641(2010)02-0067-10

# 隆线蚤孤雌卵胚胎发育的形态学研究

秦芬, 李强, 徐晓倩, 曾错, 赵云龙

(华东师范大学 生命科学学院, 上海 200062)

**摘要:** 采用组织学方法较为系统地研究了隆线蚤(*Daphnia carinata*)孤雌卵(夏卵)胚胎发育的全过程。隆线蚤夏卵为中黄卵, 室温 24 °C 下, 整个胚胎发育过程需 45 h 左右。根据隆线蚤胚胎内部结构特征及外部形态学变化, 将其胚胎发育分为卵裂期、囊胚期、原肠期、前无节幼体期、后无节幼体期、复眼色素期和准备孵化期 7 个时期。卵排至孵育囊约 40 min 后开始表面卵裂。卵裂至 256 细胞时, 胚胎发育进入囊胚阶段, 在卵表形成一薄层细胞层, 囊胚腔则全被卵黄颗粒所充塞。囊胚后期, 囊胚层细胞分裂加快, 相互挤压向囊胚腔中移入形成原肠胚。随后, 胚胎外部形态开始出现变化。首先在胚胎前端出现头部的三对附肢原基(两对触角原基及一对大颚原基), 胚胎发育进入前无节幼体期; 随后胸节分化, 胚胎发育进入后无节幼体期, 并形成胸肢、壳瓣和肠道等结构。复眼在复眼色素期的基础上, 逐渐发育形成完整的复眼结构, 同时其他各组织器官也不断发育完善。至准备孵化期的胚胎结构与幼体已基本相同。以上研究结果可为深入研究枝角类胚胎发育的机理积累基础生物学资料。

**关键词:** 隆线蚤; 胚胎发育; 形态学

**中图分类号:** Q954 **文献标识码:** A

## Morphological study on embryonic development of the parthenogenetic egg in *Daphnia carinata*

QIN Fen, LI Qiang, XU Xiao-qian, ZENG Cuo, ZHAO Yun-long

(School of Life Science, East China Normal University, Shanghai 200062, China)

**Abstract:** The parthenogenetic egg (PE) is centrolecithal and its embryogenesis lasts about 45 hours at 24 °C. According to the morphological and histological changes, the embryonic development of *D. carinata* could be divided into seven major stages, i. e. the cleavage stage, blastula stage, gastrula stage, egg-nauplius stage, egg-metanauplius stage, embryo with eye pigments, and prepare-hatchling stage. The superficial cleavage of PE did not happen until approximately 40 minutes after egg laying. At the end of cleavage, the embryo consisted of 256 cells and reached the blastula stage at which a large part of the blastocoele was filled with yolk granules, accompanying by the formation of a thin sheet of divided cells. The cell division rate was accelerated and gastrulation took place by means of immigration of blastodermal cells at the end of this stage. Afterwards, the morphological changes in embryo development became remarkable. The

收稿日期: 2008-12

第一作者: 秦芬, 女, 硕士研究生.

通讯作者: 赵云龙, 男, 教授, 研究方向为水生动物发育生物学. E-mail: ylzhaol@bio.ecnu.edu.cn.

egg-nauplius stage was characterized by the appearance of the rudiments of two antennae and a mandible in the head region of the embryo, while the egg-metanauplius stage characterized by the formation of the thoracic segments, thoracic limbs, carpace, and guts. At the eye pigments stage, the embryo was found presenting the eye pigmentation in the well-developed compound eyes. Simultaneously, other physiologically important tissues and organs started to develop. During the last prepare-hatching stage, the organelle structure in the embryo could be quite similar to that in the larval. The results could accumulate basic biological information for further research on embryonic development of Cladocera.

**Key words:** *Daphnia carinata*; embryonic development; morphology

## 0 引 言

枝角类是一类小型浮游甲壳动物,为鱼类的优质天然饵料.由于其生殖方式较为独特(孤雌生殖和两性生殖交替进行),引起国内外学者的关注<sup>[1-4]</sup>.针对其胚胎发育研究大多集中于胚胎外部形态描述,而胚胎组织器官形成的特点和规律的描述较少<sup>[5-17]</sup>,主要原因是卵小,发育快,不易观察,以及制作研究用切片困难等.隆线蚤(*Daphnia carinata*)为一种常见淡水枝角类,由于以上原因,对其孤雌卵(夏卵)的胚胎发育,国内外仅有粗浅的外部形态描述<sup>[5,6]</sup>,胚胎发育早期卵裂、囊胚及原肠的发育方式,胚胎各器官的发生及形成尚不明确.因此,本文在前人研究的基础上,采用组织学技术,较为详细地研究了隆线蚤胚胎发育的过程,以为深入研究枝角类胚胎发育的机理积累基础生物学资料,同时为水产养殖业规模化培养枝角类提供基本生物学知识.

## 1 材料与方 法

隆线蚤种购于上海市大渡河路花鸟市场,经种类鉴定后室温培养.加入枝角类培养液(兔子粪 1.5 g,青菜 2.0 g,土 20 g 和水 1 L 混合煮沸冷却后过滤)<sup>[18]</sup>,使其大量繁殖.选取活泼健康的雌性幼蚤放入盛有 20 mL 培养液的玻璃小杯中单独培养,温度保持在 24 ℃ 左右.

待雌蚤生殖腺膨大后,在解剖镜下每隔 15 min 观察一次,待蚤卵全部排入孵育囊作为胚胎发育的起始点.刚排出的夏卵进行母体孵育,需观察时再自母体孵育囊内取出.排卵约 1 h 后的胚胎进行体外孵化,自母体孵育囊中取出后,放在盛有蒸馏水的培养皿中进行孵化.早期胚胎每 15 min 观察一次.前无节幼体期后,每 0.5~1 h 观察一次,至幼蚤发育成熟,壳刺伸直为止. Olympus BH-2 显微镜下测量胚胎长度,记录每一发育时期的时间及外部形态变化特征,并绘图.同时另取不同发育时期的胚胎进行连续组织学切片,各期所取样品用 Bouin's 液固定,24 h 后系列酒精脱水,水杨酸甲酯与二甲苯透明,常规石蜡包埋,用 AO-B20 切片机切成 6 μm 的连续切片,伊红-Ehrlich's 苏木精染色, Olympus BH-2 显微镜下观察并绘图.

## 2 结 果

卵巢膨大的孤雌蚤排卵前要先蜕壳,蜕壳后约 10 min,卵巢开始连续排卵.卵经卵巢后端的雌性生殖孔挤压为长条状排入其背部的孵育囊内.卵为孤雌卵,也称夏卵,不需受精就

能发育,因此又称非需精卵。

刚排入孵育囊的夏卵(胚胎)呈长条状,随即收缩为椭圆形,少数为圆形,卵径( $0.275 \pm 0.012$ ) mm  $\times$  ( $0.243 \pm 0.010$ ) mm。卵表光滑,外包一层卵膜,由卵细胞质特化而来,初时柔软易破,约 30 min 后逐渐变得结实而有弹性。光镜下卵内区域较暗,呈墨绿色,不透明,近中央处有 1 个大的黄色脂肪球,少数有 2 个或数个(见图 2-1)。切片显示卵内除少量的脂肪球,几乎全为卵黄颗粒所充满,系中黄卵。卵核圆形,居于近中央处。在其周围有一小部分原生质,与卵黄融合在一起,呈变形虫状。卵内大部分细胞质紧贴于卵膜下,形成一薄层状(见图 1-1)。

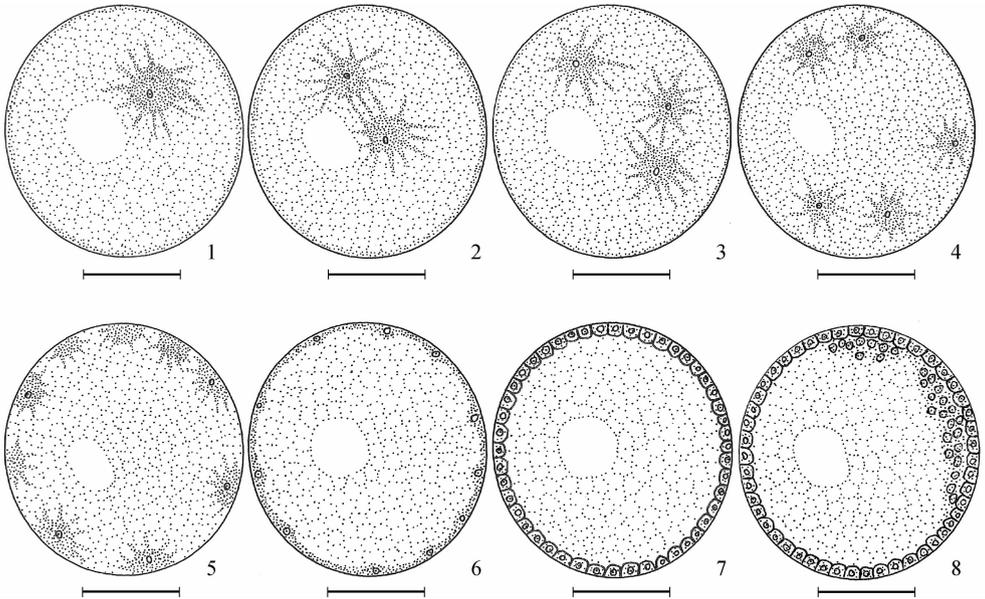


图 1 隆线蚤夏卵早期胚胎发育切片(图中标尺均为 0.1 mm)

Fig. 1 Histology characters of early embryogenesis in *Daphnia carinata* (scale bar denotes 0.1 mm)

注:1 未分裂夏卵(纵切面); 2 2 细胞(纵切面); 3 4 细胞(纵切面); 4 8 细胞(纵切面);

5 16 细胞(纵切面); 6 囊胚早期(纵切面); 7 囊胚晚期(纵切面); 8 原肠(纵切面)

在室温 24 °C 下,隆线蚤胚胎的平均发育时间约为 45 h。根据甲壳动物胚胎发育的分期方法,结合隆线蚤胚胎外部形态学特征变化及内部组织器官的发育特点,可将隆线蚤的胚胎发育分为卵裂期、囊胚期、原肠期、前无节幼体期、后无节幼体期、复眼色素期和准备孵化期 7 个时期。其中,复眼色素期又可分为复眼色素形成初期和复眼色素形成后期。

### 2.1 卵裂期 (cleavage stage)

排卵后约 40 min 开始卵裂。卵裂方式为表面卵裂。光镜下胚胎外部无明显变化,仅随时间的推移,胚胎颜色逐渐变淡。切片显示卵裂仅是位于卵中央的核进行分裂,细胞不分裂。卵核依次分裂形成 2, 4, 8, 16 个子核,每个子核周围被变形虫状的细胞质所包裹,细胞质与卵黄融合在一起,无完整的细胞构造,不能称之为分裂球,整个卵子是一个多核体。核在分裂的同时与其周围的细胞质不断向卵子表面移动。分裂 5 次形成 32 个子核时,这些子核移至卵子表面的细胞质层中,继续分裂,共同形成一类细胞层,称为囊胚。卵内的卵黄颗粒未分裂,均匀分布(见图 1 中 2-5)。

### 2.2 囊胚期 (blastula stage)

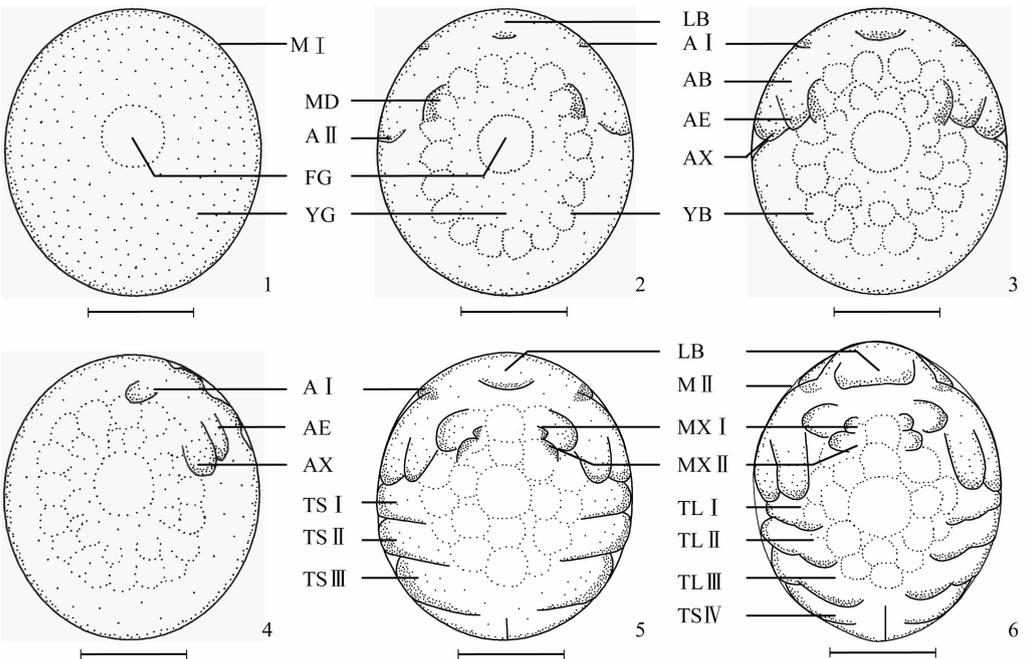
排卵后约 4 h, 胚胎经 8 次卵裂进入囊胚阶段. 随着胚胎发育, 其颜色逐渐变淡, 同时在核及其周围的细胞质开始形成细胞膜, 形成结构完整的囊胚层细胞. 此期细胞分裂加快, 细胞数目增加很多, 细胞越来越小, 这些细胞都呈圆形或椭圆形, 形成明显的一薄层囊胚层细胞, 分布于胚胎表面. 囊胚层下的囊胚腔全被卵黄颗粒所充塞, 故也称卵黄囊. 卵黄颗粒均匀分布(见图 1 中 6 和 7).

### 2.3 原肠期 (gastrula stage)

排卵后约 6 h, 以移入法形成原肠胚. 光镜下胚胎呈黄色, 卵表透明区域增厚, 这标志胚胎开始进入原肠期. 切片显示囊胚层细胞分裂加快, 相互挤压向囊胚腔中移入, 形成不规则的细胞团, 为中内胚层细胞团. 留在胚胎表面的细胞则成为外胚层细胞. 内移的大多细胞穿过卵黄, 逐渐分布在外胚层细胞内, 并包围卵黄, 将发育成消化系统等. 内移的少量细胞留在卵黄内, 可能为中胚层细胞(见图 1-8). 原肠胚末期, 近胚胎表面的卵黄颗粒开始融合为卵黄块.

### 2.4 前无节幼体期 (egg-nauplius stage)

排卵后约 12 h, 胚胎外部形态开始出现变化, 其前端相继形成头部的三对附肢原基: 两对触角原基和一对大颚原基. 三对附肢原基的出现, 标志着胚胎进入卵内前无节幼体期. 两对触角原基形成不久, 在第一触角原基的内侧中央处, 细胞向内凹陷形成一横沟, 将来发育为口道或食道. 口前缘细胞分裂快, 突起形成上唇原基. 同时, 第二触角原基上方的内侧出现一对左右对称的细胞群突起, 为大颚原基(见图 2-2). 此后, 第一触角原基末端增粗, 第二触角原基扩大增厚, 由两侧转向腹侧, 末端分叉形成内肢外肢. 大颚原基也持续增厚突出(见图 2 中 3 和 4). 此期胚胎大小无明显变化, 近胚胎表面的卵黄颗粒已经融合为大的卵黄块, 内部卵黄颗粒也开始融合.



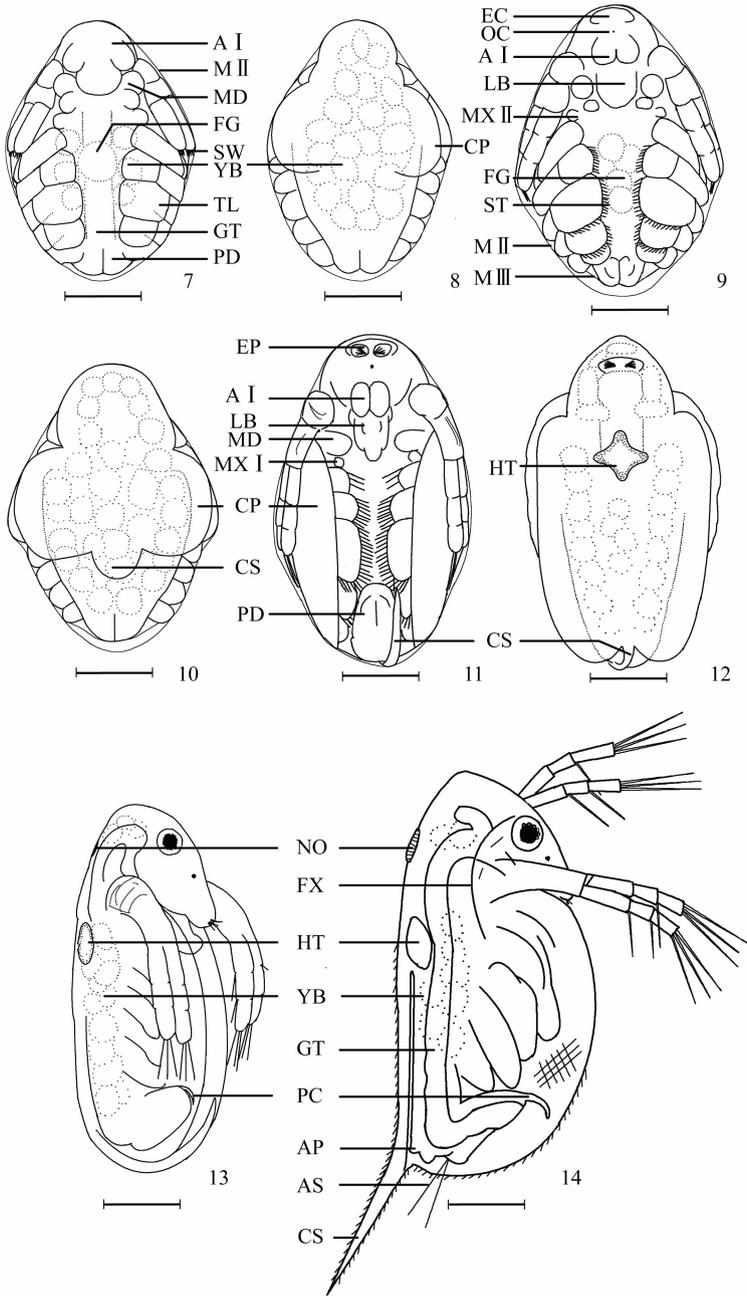


图 2 隆线蚤夏卵胚胎发育外部形态学(图中标尺均为 0.1 mm)

Fig. 2 External morphological characters of embryogenesis in *Daphnia carinata* (scale bar denotes 0.1 mm)

注: 1 未分裂夏卵; 2-4 前无节幼体期(腹面, 腹面, 侧面); 5-10 后无节幼体期(腹面, 腹面, 腹面, 背面, 腹面, 背面); 11-12 复眼色素形成初期(腹面, 背面); 13 复眼色素形成后期(侧面); 14 准备孵化期(侧面) A I 第一触角, A II 第二触角, AB 第二触角基节, AE 第二触角内肢, AP 腹突, AR 触角原基, AS 尾刚毛, AX 第二触角外肢, BP 孵育囊, CP 壳瓣, CS 壳刺, EC 眼囊, EN 胸肢内肢, EX 胸肢外肢, EP 眼色素, FG 脂肪球, GT 肠, HT 心脏, LB 上唇, M I 第一层膜(卵膜), M II 第二层膜, M III 第三层膜, MX I 第一小颚, MX II 第二小颚, MD 大颚, NO 颈呼吸器, OC 单眼, PC 尾爪, PD 后腹部, ST 胸肢刚毛, SW 第二触角游泳刚毛, TS 胸节, TS I 第一胸节, TS II 第二胸节, TS III 第三胸节, TS IV 第四胸节, TL 胸肢, TL I 第一胸肢, TL II 第二胸肢, TL III 第三胸肢, YB 卵黄块, YG 卵黄颗粒

## 2.5 后无节幼体期 (egg-metanauplius stage)

排卵后约 15 h, 胚胎后端两侧的壁细胞横向缢缩, 相继形成第一、二、三胸节, 期间大颚内侧细胞群突起, 并逐渐分化形成两对小颚原基. 胚胎末端出现一个背腹侧均可见的沟, 将来发育为肛门. 第一触角末端增粗, 第二触角加长, 上唇愈发明显, 大颚显著增大, 并向内缢缩. 胚胎内卵黄颗粒基本都融合为大的卵黄块(见图 2-5).

排卵后约 19 h, 卵膜蜕去, 露出原来紧贴于其下的幼体膜, 膜薄, 与胚胎不紧密贴合. 没有卵膜的束缚, 胚胎开始纵向伸长, 形态也发生很大变化. 胸节上出现胸肢原基, 第四、五胸节及其胸肢原基也相继出现. 胸肢原基发育很快, 呈扁平状并出现分节现象. 胸肢发育期间, 胸节逐渐不明显, 并最终愈合消失, 后腹部逐渐分化明显. 胸腹部发育的同时, 胚胎头部逐渐变长, 形态结构随之变化. 第一触角在增大的同时由两侧向腹侧中央移动, 不断靠近. 上唇增大拉长, 并不断下移至第一触角下方, 大颚之间. 原先位于大颚内侧的两对小颚也相应下移至大颚下方. 第二触角原肢分成两节, 内外肢末端可见细微的游泳刚毛. 头部附肢的这些变化, 使得头部逐渐分化明显. 此外, 胚胎背部细胞增殖, 发生皱褶, 逐渐发育成壳瓣原基, 并不断沿背部表面向后部及两侧伸展. 腹部内管状的后肠结构隐约可见, 消化道原基开始成形(见图 2 中 6-8).

排卵后约 26 h, 胚胎后部可见第三层膜, 亦为幼体膜. 胚胎后腹部开始加长并向腹侧弯曲. 第一触角靠拢在一起. 第二触角显著增长, 内外肢分节明显. 上唇拉长至第一小颚之间, 第二小颚偏向两侧. 胸肢上出现羽状刚毛. 第一触角基部上方出现单眼色素, 初为红褐色, 后颜色逐渐加深成为单眼. 胚胎头部出现眼囊, 复眼随后在其内发生. 背部的壳瓣上逐渐分化出壳刺原基, 并不断伸长变细. 脂肪球开始发生变化, 消散分成几个小的脂肪球, 大小与卵黄块一般. 胚胎体长增至  $(0.390 \pm 0.020)$  mm(见图 2 中 9 和 10).

## 2.6 复眼色素期 (embryo with eye pigments)

### 2.6.1 复眼色素形成初期 (embryo with eye pigments forming stage)

排卵后约 29 h, 胚胎头部眼囊里出现一对红褐色颗粒状物, 是复眼色素期开始的标志. 后红褐色颗粒增多, 逐渐连成细线, 呈放射状分布, 同时颜色逐渐变深, 并不断靠近.

胚胎头部复眼下开始变尖突起, 第一触角位于尖端, 覆盖住部分上唇, 上唇亦变尖. 第二触角内外肢变细, 伸长至第三胸节处, 末端的游泳刚毛也显著增长. 第二小颚有退化趋势. 胸肢结构进一步发育, 相应部位形成内肢外肢及片状内外叶. 后腹部生长较快, 向腹侧弯曲伸长. 壳瓣向后延伸已覆盖整个背部, 两侧伸展为向腹部包拢. 壳刺细长, 弯曲在腹侧后腹部旁. 胚胎身体逐渐开始侧扁. 此期胚胎开始活动, 首先是胸部左右两侧开始无节律地上下交替抽动, 一段时间后可见心脏在背部轻微博动, 第二触角上下抽动, 上唇亦有活动. 胚胎体长增加很快, 增至  $(0.455 \pm 0.032)$  mm(见图 2 中 11 和 12).

### 2.6.2 复眼色素形成后期 (embryo with well formed eye pigments stage)

排卵后约 35 h, 第二触角冲破幼体膜, 其它部位的幼体膜随后亦脱落. 此期一对复眼逐渐融合, 并不断愈合最终成为一个大而黑的复眼. 第二小颚退化, 不明显. 第一触角末端可见嗅毛. 第二触角已发育完整. 头部背侧一团细胞形成颈呼吸器. 中肠发育完善. 后腹部末端可见一对尾爪. 胚胎身体成为侧扁. 胚胎有节律的活动更为剧烈, 心脏搏动加快, 离体胚胎在水中已能够快速游动. 胚胎内卵黄块逐渐变少, 体长亦增加很多, 增至  $(0.507 \pm 0.040)$  mm(见图 2-13).

## 2.7 准备孵化期 (prepare-hatchling stage)

排卵后约 40 h,复眼、上唇、大颚、胸肢和壳瓣等结构已发育完整。壳瓣包被躯干部,表面可见网状花纹及小刺。头部突起呈鸟喙状形成吻,第一触角呈棒状位于吻下部。头部两侧头甲增厚各形成一条隆线,伸展在第二触角基部,为壳弧。腹部背侧形成突起为腹突,后腹部出现一对尾刚毛并不断变长。胚胎身体透明,外部形态特征与幼体基本相同。内部的肠道、生殖腺等组织已形成。脂肪球已全部消失,但胚体消化道四周仍有少量卵黄块。胚胎在孵育囊内有节律的转动。排卵后约 45 h,胚胎从孵育囊排出,壳刺伸直,长约 $(0.546 \pm 0.043)$  mm,宽约 $(0.307 \pm 0.020)$  mm(见图 2-14)。至此,隆线蚤夏卵的整个胚胎发育随之结束。胚胎再经过一次蜕皮就成为一龄幼体。

## 3 讨 论

### 3.1 胚胎发育分期

枝角类不同种类的胚胎发育类型基本相似,但不同的研究者根据胚胎外部形态特征变化分为不同的时期<sup>[5-15]</sup>;也有根据胚胎发育中膜的脱落对胚胎发育进行分期<sup>[16,17]</sup>等。Murugan 及张明凤在研究隆线蚤胚胎发育时,即采用依据胚胎外部形态特征变化进行分期<sup>[5,6]</sup>。但隆线蚤胚胎不透明,发育早期外部形态无特征性变化,Murugan 及张明凤仅从外部形态观察,未能观察到隆线蚤卵裂、囊胚及原肠发育方式,故其关于胚胎发育早期的研究并不全面,分期也并不是很科学。此外,他们对胚胎发育晚期各组织器官的形成及变化描述也很粗略,缺乏系统及全面性。

本文利用组织切片技术,研究了胚胎发育早期卵裂、囊胚及原肠形成方式,并对发育晚期组织器官的形成及变化进行了详细的观察及描述,将隆线蚤胚胎发育分为 7 个时期。其中早期分为卵裂期、囊胚期和原肠期,发育晚期则以显著的外部特征形态变化:头部附肢的出现、胸节胸肢的分化、复眼的发生及形成为依据,分为前无节幼体期、后无节幼体期、复眼色素期和准备孵化期。这种分期方法依据了发育生物学中的相关定义以及隆线蚤本身的发育特点,较为科学和全面。

### 3.2 卵裂、囊胚及原肠发育方式

枝角类卵黄的分布方式及卵黄量的多寡,对卵裂类型起着决定性作用。枝角类的卵裂方式不外乎两种类型:一为完全均等卵裂,二为不全表面卵裂<sup>[19]</sup>。含卵黄较少的夏卵如发头裸腹蚤(*Moina irrasa*)、多刺裸腹蚤(*Moina macrocopa*)等均为完全卵裂,且有螺旋型分布特点,在显微镜下可明显看到卵子外部的分裂沟和分裂球<sup>[7,8]</sup>。隆线蚤属含卵黄较多的类型,卵内几乎被卵黄颗粒所充满,为不全表面卵裂。由于卵子不透明,不作切片很难观察到卵裂、囊胚及原肠的发育方式等。

隆线蚤夏卵的表面卵裂仅限于细胞核的分裂,核在分裂的同时,连同其周围的细胞质向卵子表面移动,经 5 次分裂到达卵表,继续分裂。这与高等甲壳动物红螯螯虾(*Cherax quadricarinatus*)的表面卵裂十分相似<sup>[20]</sup>,但与罗氏沼虾(*Macrobrachium rosenbergii*)、中华绒螯蟹(*Eriocheir sinensis*)的表面卵裂却有不同<sup>[21,22]</sup>,无明显的分裂沟出现。卵裂以囊胚的形成而告终。囊胚层分布于胚胎表面,囊胚腔几乎全被卵黄充塞,卵黄颗粒均匀分布,而在罗氏沼虾及中华绒螯蟹囊胚腔中卵黄颗粒呈放射状分布,形成卵黄锥体<sup>[21,22]</sup>。

一般均等卵裂的夏卵以内褶的方式形成原肠胚,表面卵裂的夏卵以多级移入的方式形

成原肠胚<sup>[19]</sup>. 隆线蚤以多级移入的方式形成原肠胚. 移入法形成的原肠胚, 最初是没有原口和外界相通, 到以后才会出现<sup>[23]</sup>. 枝角类发育过程中中胚层究竟怎样出现, 至今还未研究清楚. 一部分研究者认为是由端细胞发育而来, 但仍有不少人抱怀疑态度<sup>[23]</sup>. 罗氏沼虾及中华绒螯蟹原肠期内移的细胞, 一部分形成内胚层细胞, 另一部分则发育成中胚层细胞<sup>[21, 22]</sup>. 本实验中, 观察到隆线蚤原肠期内移的细胞部分形成内胚层, 并有少量的内移细胞留在卵黄内, 但是否形成中胚层细胞, 未能辨出, 尚有待进一步的研究.

### 3.3 胚胎发育中有关组织器官的发育

原肠期后, 隆线蚤胚胎各组织器官开始分化, 逐渐形成一个完整的幼体. Murugan 及张明凤简单报道过隆线蚤有关组织器官的特点, 如第二触角、胸肢、壳瓣壳刺、复眼等的发育, 但未清楚描述上述各组织器官的详细形态结构及发育的区域特点<sup>[5, 6]</sup>, 对其他重要器官如第一触角、上唇、一对大颚、两对小颚等也未进行描述. 本文对隆线蚤主要组织器官的发育过程进行了较为详细地描述.

隆线蚤附肢的发生具有顺序性, 先有头部附肢, 再有胸部附肢. 这与其它枝角类<sup>[8, 15-17]</sup>及高等甲壳动物罗氏沼虾、红螯螯虾、中华绒螯蟹研究的结果相似<sup>[20-22]</sup>. 隆线蚤的胸节出现于后无节幼体期, 胚胎后端两侧开始出现横向缢缩, 即为分节的预兆, 但随着胚胎的不断发育, 胸节逐渐愈合, 形成头与躯干两部分, 这与高等甲壳动物胸腹部的发育分节不同<sup>[20-22]</sup>.

关于甲壳动物第二小颚的发育尚有争议, 在枝角类中有的种类其完全消失, 有的种类则退化成具有刚毛的微小节突<sup>[19]</sup>或出现二肢状的结构<sup>[24]</sup>. 隆线蚤胚胎发育至后无节幼体期出现第二小颚, 但随着发育的持续, 此结构也会逐渐退化. 退化与否可能同第二小颚在其成体中发挥的功能有关, 在高等甲壳动物中第二小颚拨动水流可使鳃室内外水不断交换完成呼吸作用, 而枝角类中除薄皮蚤科(Leptodoridae)和大眼蚤科(Polyphemidae)以外的种类, 其胸肢内腔与体腔相通, 无需第二小颚即可直接进行气体交换<sup>[19]</sup>, 故第二小颚在发育过程中退化.

### 3.4 胚胎发育中膜的形成

隆线蚤胚胎发育过程中共形成 3 层膜, 第一层膜为卵膜, 来源于母体, 约在排卵后 19 h 蜕去. 第二、三层膜为幼体膜, 胚胎发育过程中形成, 约在 34 h 一起蜕去.

枝角类卵膜由卵细胞质特化而成, 在夏卵排出输卵管时形成<sup>[16, 19]</sup>. 刚排出输卵管的隆线蚤夏卵卵膜柔软易破, 后逐渐变得结实而有弹性. 高等甲壳动物罗氏沼虾、中华绒螯蟹等在胚胎发育中一般出现两层卵膜: 初级卵膜和次级卵膜<sup>[21, 22]</sup>, 而隆线蚤夏卵外只包被一层卵膜, 即初级卵膜. 这可能与隆线蚤的孵育囊有一定关系, 孵育囊犹如哺乳动物的子宫, 对胚胎起到很好的保护作用, 无需次级卵膜再加以保护.

卵膜的存在, 束缚了胚胎的生长. 在第四胸节出现时(排卵后约 19 h), 卵膜蜕去, 可见胚胎外包一层很薄的幼体膜, 与 Murugan 报道的无节膜相一致<sup>[5]</sup>; Kotov 在研究盍形蚤(*Daphnia galeata*)时认为卵膜形成后, 其下有一层脆弱的卵质膜, 稍后会形成第二层膜, 至大颚原基出现时, 第二层膜完全形成<sup>[17]</sup>.

Murugan 及张明凤在观察隆线蚤胚胎发育时仅发现两层膜<sup>[5, 6]</sup>, 未曾观察到第三层膜. 事实上在隆线蚤排卵后约 26 h 就可发现第三层膜: 此时第二层膜在胚胎后部与胚胎严重分离, 而第三层膜仍覆盖在胚胎后部, 与胚胎后部有细微分离, 需要仔细观察方能发现. Kotov 在研究盍形蚤时, 证实了第三层膜的存在<sup>[17]</sup>; Kotov 还报道了大型蚤(*Daphnia pulex*)、老年低额蚤(*Simoccephalus vetulus*)、薄片宽尾蚤(*Eurycercus lamellatus*)在相似的发育阶段

具有第三层膜,至于第三层膜何时开始形成,则不明确<sup>[17]</sup>。

### 3.5 胚胎发育中脂肪球的变化

自隆线蚤夏卵排入孵育囊,卵中央就有一大的脂肪球。胚胎发育早期脂肪球变化不大,直到发育至后无节幼体期,脂肪球才开始消散分成几个小的脂肪球,经过复眼色素形成期,到准备孵化期时才完全消失。脂肪球在胚胎复眼形成时被逐渐消耗吸收。这与脂类主要用于合成复眼色素以及构建组织器官有关<sup>[25,26]</sup>。

## [参 考 文 献]

- [1] BERARD J J. Ultrastructural study of spermiogenesis and spermatozoon in *Daphnia magna* Straus (Entomostraca, Branchiopoda, Cladocera) [J]. Bulletin de la Societe Zoologique de France-Evolution et Zoologie, 1974, 99 (4): 723-730.
- [2] 张明凤, 赵云龙, 杨志彪, 等. 隆线蚤孤雌生殖系统的组织学[J]. 动物学杂志, 2004, 39(4): 68-72.  
ZHANG M F, ZHAO Y L, YANG Z B, et al. Histology of the female reproductive system in parthenogene of *Daphnia* (*Ctenodaphnia*) *carinata* [J]. Chinese Journal of Zoology, 2004, 39(4): 68-72.
- [3] 张明凤, 赵云龙, 曾错, 等. 隆线蚤雄性生殖系统的组织学研究[J]. 华东师范大学学报(自然科学版), 2004(4): 111-116.  
ZHANG M F, ZHAO Y L, ZENG C, et al. Histology of the male reproductive system in *Daphnia* (*Ctenodaphnia*) *carinata* [J]. Journal of East China Normal University (Natural Science), 2004(4): 111-116.
- [4] 张明凤, 赵云龙, 王群, 等. 隆线蚤精子发生及成熟精子的超微结构[J]. 动物学报, 2005, 51(4): 710-717.  
ZHANG M F, ZHAO Y L, WANG Q, et al. Ultrastructure of spermatogenesis and spermatozoon in *Daphnia* (*Ctenodaphnia*) *carinata* (Crustacea; Diplostraca) [J]. Acta Zoologica Sinica, 2005, 51(4): 710-717.
- [5] MURUGAN N, VENKATARAMAN K. Study of the in vitro development of the parthenogenetic egg of *Daphnia carinata* King (Cladocera: Daphnidae) [J]. Hydrobiologia, 1977, 52(2-3): 129-134.
- [6] 张明凤, 赵云龙, 赵艳民, 等. 隆线蚤夏卵胚胎发育过程中形态及蛋白质、氨基酸组成和含量的变化[J]. 水产学报, 2005, 29(6): 783-790.  
ZHANG M F, ZHAO Y L, ZHAO Y M, et al. Morphology and composition and content of proteins and amino acids of the parthenogenetic egg of *Daphnia* (*Ctenodaphnia*) *carinata* during the embryonic development [J]. Journal of Fisheries of China, 2005, 29(6): 783-790.
- [7] 郑又雄. 发头裸腹蚤卵和胚胎发育形态研究[J]. 动物学杂志, 1993, 28(6): 5-8.  
ZHENG Y X. A research on the embryonic development shape of *Moina icrasa* [J]. Chinese Journal of Zoology, 1993, 28(6): 5-8.
- [8] 曾错. 多刺裸腹蚤 (*Moina macrocopa*) 生殖腺发育和胚胎发育的形态学研究[D]. 上海: 华东师范大学, 2006: 34-52.  
ZENG C. Morphologic studies on the development of reproductive systems and embryogenesis in *Moina macrocopa* [D]. Shanghai: East China Normal University, 2006: 34-52.
- [9] GULBRANDSEN J, JOHNSON G H. Temperature-dependent development of parthenogenetic embryos in *Daphnia pulex* de Geer [J]. J Plankton Res, 1990, 12(3): 443-453.
- [10] 黄祥飞. 温度对近亲裸腹蚤发育、生长和卵的生产量的影响[J]. 水生生物学集刊, 1983, 8(1): 105-112.  
HUANG X F. Effect of temperature on the development, growth and egg production in *Moina affinis* (Cladocera, Moinidae) [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1983, 8(1): 105-112.
- [11] GREEN J. Growth, size and reproduction in *Daphnia* (Crustacea; Cladocera) [J]. Proc Zool Soc Lond, 1956, 126: 173-204.
- [12] MURUGAN N, SIVARAMAKRISHNAN K G. The biology of *Simocephalus acutirostratus* King (Cladocera, Daphnidae)-Laboratory studies of life span, instar duration, egg production, growth and stages in embryonic development [J]. Freshwater Biology, 1973, 3(1): 77-83.
- [13] MURUGAN N, SIVARAMAKRISHNAN K G. Laboratory studies on the longevity, instar duration, growth,

- reproduction and embryonic development in *Scapholeberis kingi* Sars(1903) (Cladocera; Daphnidae)[J]. *Hydrobiologia*, 1976, 50(1): 75-80.
- [14] 郑重, 曹文清. 海洋枝角类生物学[M]. 福建厦门: 厦门大学出版社, 1987: 74-77.  
ZHENG Z, CAO W Q. The Biology of Marine Cladocera[M]. Xiamen Fujian: Xiamen University Press, 1987: 74-77.
- [15] 赵文, 张焕, 徐宪仲, 等. 蒙古裸腹溞胚胎发育及两种裸腹溞滋养盘的形态观察[J]. 大连水产学院学报, 2006, 21(3): 196-202.  
ZHAO W, ZHANG H, XU X Z, et al. The embryonic development of parthenogenetic *Moina mongolica* Daday and morphology of the nutritive organs in two species *Moina*[J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2006, 21(3): 196-202.
- [16] KOTOV A A, BOIKOVA O S. Comparative analysis of the late embryogenesis of *Sida crystallina* (O. F. Müller, 1776) and *Diaphanosoma brachyurum* (Lievin, 1848) (Crustacea; Branchiopoda; Ctenopoda)[J]. *Hydrobiologia*, 1998, 380: 103-125.
- [17] KOTOV A A, BOIKOVA O S. Study of the late embryogenesis of *Daphnia* (Anomopoda, 'Cladocera', Branchiopoda) and a comparison of development in Anomopoda and Ctenopoda[J]. *Hydrobiologia*, 2001, 442: 127-143.
- [18] 堵南山, 赖伟, 邓雪怀, 等. 隆线溞(*Daphnia carinata* King)生长与生殖力[J]. 华东师范大学学报(自然科学版), 1983(1): 85-91.  
DU N S, LAI W, DENG X H, et al. The growth and reproduction of *Daphnia carinata* King[J]. *Journal of East China Normal University(Natural Science)*, 1983(1): 85-91.
- [19] 蒋燮治, 堵南山. 中国动物志: 节肢动物门, 甲壳纲, 淡水枝角类[M]. 北京: 科学出版社, 1979: 35-40.  
JIANG X Z, DU N S. *Fauna Sinica: Arthropoda, Freshwater Crustacea*[M]. Beijing: Science Press, 1979: 35-40.
- [20] 孟凡丽, 赵云龙, 陈立侨, 等. 红螯螯虾胚胎发育的研究 II: 消化系统的发生[J]. 动物学研究, 2001, 22(5): 383-387.  
MENG F L, ZHAO Y L, CHEN L Q, et al. Embryonic development of redclaw crayfish *Cherax quadricarinatus* II: Development of digestive system[J]. *Zoological Research*, 2001, 22(5): 383-387.
- [21] 赵云龙, 王群, 堵南山, 等. 罗氏沼虾胚胎发育的研究 I: 胚胎外部结构形态发生[J]. 动物学报, 1998, 44(3): 249-256.  
ZHAO Y L, WANG Q, DU N S, et al. Embryonic development of the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii* (Crustacea: Decapoda) I: Morphogenesis of external structures of embryo[J]. *Acta Zoologica Sinica*, 1998, 44(3): 249-256.
- [22] 堵南山, 赵云龙, 赖伟. 中华绒螯蟹胚胎发育的研究[G]//甲壳动物学会主编. 甲壳动物学论文集(第三辑). 山东青岛: 青岛海洋大学出版社, 1992: 128-135.  
DU N S, ZHAO Y L, LAI W. A study on the embryonic development of the Chinese Mitten-Handed Crab, *Eriocheir sinensis* (Crustacea: Decapoda) [G]//The Chinese Crustacean Society. *Transactions of the Chinese Crustacean Society*(No. 3). Qingdao Shandong: Qingdao Ocean University Press, 1992: 128-135.
- [23] 山东海洋学院, 上海水产学院. 水产动物胚胎学[M]. 北京: 农业出版社, 1961: 61-67.  
Ocean University of Qingdao, Shanghai Ocean University. *The Embryology of Fishery Animals*[M]. Beijing: Agricultural Press, 1961: 61-67.
- [24] KOTOV A A. Fate of the second maxilla during embryogenesis in some Anomopoda Crustacea (Branchiopoda) [J]. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 1996, 116: 393-405.
- [25] 李红, 赵云龙, 王群, 等. 日本沼虾胚胎发育不同阶段主要生化成分的变化[J]. 水产学报, 2003, 27(6): 545-549.  
LI H, ZHAO Y L, WANG Q, et al. Variations in biochemical composition during embryonic development of *Macrobrachium nipponense*[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2003, 27(6): 545-549.
- [26] 王桂忠, 汤鸿, 李少青, 等. 锯缘青蟹胚胎发育过程主要生化组成[J]. 台湾海峡, 1995, 14(3): 280-283.  
WANG G Z, TANG H, LI S Q, et al. Biochemical composition for mud crab *Scylla serrata* during embryonic development[J]. *Journal of Oceanography in Taiwan Strait*, 1995, 14(3): 280-283.