

# 膨腹海马的胚胎发育特征

姜达<sup>①②</sup> 刘长琳<sup>②\*</sup> 肖文杰<sup>②</sup> 于浩<sup>②</sup> 耿甄<sup>②</sup> 赵超<sup>③</sup> 谭杰<sup>②</sup>

① 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306; ② 海水养殖生物育种与可持续产出全国重点实验室, 中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071; ③ 青岛清源海洋生物科技有限公司 青岛 266000

**摘要:** 本研究旨在探明膨腹海马 (*Hippocampus abdominalis*) 胚胎早期发育特征, 为其人工养殖及繁育提供生物学基础。选用完成交配的雄性亲体, 从其育儿袋中获取胚胎或幼体进行观察。结果显示, 膨腹海马的交配时间主要集中在 11:00 ~ 13:00 时, 其他时间较少或没有; 卵呈长椭圆形, 长轴 2.63 ~ 3.37 mm, 短轴 1.28 ~ 1.75 mm, 在受精后卵黄收缩成球形出现卵周隙, 卵黄直径变为长轴的 1/2, 受精卵整体大小不变。根据胚胎和仔鱼外部形态特征将发育过程划分为卵裂期、囊胚期、原肠期、神经胚期、眼泡肌节形成期、尾芽形成期、心形成期、脑形成期、眼黑色素出现期、背鳍胸鳍形成期、心室心房形成期、卵黄囊血液循环期、出膜期、仔鱼前期和仔鱼期共 15 个典型时期。在 18 ~ 19 °C 的水温条件下, 受精卵在育儿袋中经过 16.5 d 发育陆续孵出, 再经历约 4 d 时间, 卵黄囊吸收殆尽时被排出体外进入仔鱼期, 初产仔鱼全长 10.58 ~ 13.02 mm。

**关键词:** 膨腹海马; 受精卵; 细胞观察; 胚胎发育

中图分类号: Q951 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263 (2025) 06-839-09

## Embryonic Development of the Big-Belly Seahorse *Hippocampus abdominalis*

JIANG Da<sup>①②</sup> LIU Chang-Lin<sup>②\*</sup> XIAO Wen-Jie<sup>②</sup> YU Hao<sup>②</sup> GENG Zhen<sup>②</sup>  
ZHAO Chao<sup>③</sup> TAN Jie<sup>②</sup>

① College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306; ② State Key Laboratory of Mariculture Biobreeding and Sustainable Goods, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071; ③ Qingdao Qingyuan Marine Biotechnology Co., LTD., Qingdao 266000, China

**Abstract:** [Objectives] *Hippocampus abdominalis* is the largest of all known seahorses. To characterize the early embryonic development of *H. abdominalis* and provide a biological basis for captive breeding and rearing, we observed the embryonic development of this species. [Methods] We selected males with mating intervals within 0.5 h and conducted the experiment at the water temperature of  $18.5 \pm 0.5$  °C. Morphological observation was carried out on fertilized eggs and litters collected in the brood pouch every 30 min after the

**基金项目** 国家现代农业产业技术体系项目 (No. CARS-47), 中国水产科学研究院基本科研业务费 (No. 2023TD30);

\* 通讯作者, E-mail: liuchl@ysfri.ac.cn;

**第一作者介绍** 姜达, 男, 硕士研究生; 研究方向: 海洋生物学; E-mail: kdajiang@163.com。

收稿日期: 2024-12-18, 修回日期: 2025-04-29 DOI: 10.13859/j.cjz.202524286 CSTR: 32109.14.cjz.24286

start of the experiment. The embryonic developmental status at each stage was recorded. **[Results]** The findings revealed that the peak mating period of *H. abdominalis* primarily occurred between 11:00 and 13:00, with significantly fewer or no mating behaviors observed at other time points. The eggs are oblong, measuring 2.63 to 3.37 mm in length and 1.28 to 1.75 mm in width. Upon fertilization, the yolk contracts into a spherical shape, creating a perivitelline space, with the yolk diameter shrinking to half of the egg's long axis, while the overall size of the fertilized egg remains unchanged. The development process was categorized based on the external morphology and characteristic features of the embryos into fifteen distinct stages: cleavage stage, blastula stage, gastrula stage, neurula stage, optic vesicle and muscle ganglion formation stage, tail bud formation stage, heart formation stage, brain formation stage, ocular melanin appearance stage, dorsal fin and pectoral fin formation stage, ventricle and atrium formation stage, yolk sac circulation stage, hatching stage, pre-larval stage, and larval stage (Figs. 1, 2). Calculations indicate that after approximately 16 d and 12 h in the brood pouch, the embryos sequentially emerge. They then undergo approximately 4 days of further development within the pouch before being expelled when the yolk sac is nearly depleted, transitioning into the larval stage. The initial larvae measure between 10.58 and 13.02 mm in total length upon expulsion (Table 1). **[Conclusion]** This detailed developmental timeline of *H. abdominalis* offers valuable insights into the unique reproductive strategies and early life stages of this species, providing a foundational reference for further studies on seahorse biology, reproductive ecology, and conservation efforts. The comprehensive characterization of the development from fertilization to the larval stage underscores the complexity and specificity of embryonic development of seahorses.

**Key words:** *Hippocampus abdominalis*; Fertilized egg; Cell observation; Embryonic development

膨腹海马 (*Hippocampus abdominalis*), 又称大腹海马, 隶属硬骨鱼纲 (Osteichthyes) 辐鳍鱼亚纲 (Class Actinopterygii) 棘背鱼目 (Gasterosteoidae) 海龙科 (Syngnathidae) 海马属, 体长可达 35 cm, 是已知海马中最大的一种, 分布于西南太平洋区的澳洲及新西兰海域, 属肉食性, 以小型甲壳类为食, 卵胎生。

海马的生殖方式非常特别, 雌性亲体将卵产入雄性亲体的育儿袋中进行受精和发育, 由雄性孵化。目前对海马的研究多集中在育儿袋的结构、功能 (Linton et al. 1964, 张峰 1997, Dudley et al. 2021)、形态 (Dudley et al. 2022) 和发育 (Liu et al. 2024) 等方面。对于育儿袋内受精卵发育特征的研究相对较少, 仅见对三斑海马 (*H. trimaculatus*) 的早期发育研究 (蔡难儿等 1984, 周胜杰等 2021)。本研究观察记录了膨腹海马交配和胚胎发育过程, 为其繁育及养殖提供相应的理论知识。

## 1 材料与方法

实验在青岛清源生物科技有限公司进行, 实验用膨腹海马为该公司自繁子一代成熟亲体, 10 月龄, 体重 3.58 ~ 5.26 g, 体长 11.5 ~ 12.8 cm。

### 1.1 亲体培育

亲体的培育池为圆形水泥池, 直径 4 ~ 5 m, 水深 50 ~ 60 cm, 水温为 (18.5 ± 0.5) °C, 培育密度 80 ~ 100 尾/m<sup>2</sup>, 雌雄比例为 1 : 2, 光照强度 800 ~ 1 000 lx, 光照时间 7:00 ~ 19:00 时, 饵料以冷冻糠虾为主, 每日分别在 7:30 时和 13:00 时两次投喂, 海水 pH 为 7.8 ~ 8.2, 盐度为 27‰ ~ 29‰, 水交换量为 300% ~ 400%。

### 1.2 受精卵和幼体的获得

观察海马的交配行为, 在交配完成后, 采集交配时间差在 0.5 h 内的雄性个体 ( $n = 45$ )。将采集的亲体转移到直径 2 ~ 3 m、水深

50 ~ 60 cm 的圆形聚丙烯养殖池中暂养。根据实验需要, 定期从雄性海马育儿袋的末端向袋口挤压轻推获得受精卵、胚胎或幼体。

### 1.3 研究方法

定期从暂养池中随机选取 3 尾雄性亲体通过挤压育儿袋的方式获得受精卵, 每尾取 10 ~ 20 个受精卵放于 B204LED 耐可视光学显微镜 (宁波永新光学股份有限公司) 和体视镜 (SZ0850T, 深圳市奥斯微光学仪器有限公司) 下观察胚胎发育各期的形态特征, 测量卵径并拍照记录。每一时期的发育时长, 以 60% 的受精卵处在这一时期为准。观测完的受精卵或幼体置于养殖海水中, 并记录观察。

## 2 结果

### 2.1 交配行为

膨腹海马的交配行为是一个独特且复杂的过程, 雄性亲体通过抖动身体、靠近等动作吸引雌性的注意, 找到配偶后并列向水面游动, 在水体上层发生交配行为, 交配时雌性海马生殖口对准雄性海马育儿袋口, 躯干整体呈现心形, 尾向后挺直, 交配后雄性海马迅速下潜, 游动至附着基后用尾缠附栖息。观察发现, 海马的交配时间集中在 11:00 ~ 13:00 时, 其他时间段仅见个别海马有交配现象。

### 2.2 卵

膨腹海马卵呈长椭圆形, 浅黄色, 卵内有油球分布, 呈半透明, 卵松软, 卵液呈油状, 卵由黏液相互粘连成串, 细胞质具有一定的流动性, 挤在一起时呈不规则五边形或六边形, 长轴 2.63 ~ 3.37 mm, 短轴 1.28 ~ 1.75 mm (图 1a)。

卵受精 30 min 后, 卵膜与卵黄开始分离, 随着受精卵发育卵周隙变大, 卵膜薄且光滑、无色透明, 卵黄向动物极移动集中, 卵黄由长椭圆形发育成梨形 (图 1b, 表 1); 历经 1 h 50 min 后成为圆球状 (图 1c-1), 直径为 1.15 ~ 1.58 mm, 卵黄聚缩时可以看到动物极附近有明显的细胞质流 (图 1c-2, 3)。卵膜变化不明显, 动物极

一端卵膜成球状, 植物极一端卵膜无明显变化, 直到出膜期大小形状保持不变。经统计育儿袋中受精卵数量为 116 ~ 158 个 ( $n = 15$ )。

### 2.3 胚胎发育

**2.3.1 卵裂期** 受精卵属于端黄卵, 为盘状卵裂, 卵裂发生在动物极的胚盘上。油球向动物极集中呈现橘黄色, 其他部位油球分布较少, 呈半透明浅黄色。受精后 3 h 20 min 受精卵的原生质向动物极集中形成胚盘 (图 1d), 原生质与卵黄界限明显。6 h 55 min 细胞开始分裂, 形成 2 细胞 (图 1e); 8 h 30 min 分裂为 4 细胞 (图 1f-1, 2, 3); 11 h 5 min 发育到 8 细胞期, 卵裂沟与第一次分裂平行, 形成 2 排 4 个大小一致的细胞, 排列整齐, 近似长方形 (图 1g-1, 2, 3)。12 h 35 min 分裂为 16 细胞, 为  $4 \times 4$  的正方形 (图 1h-1, 2)。14 h 15 min 分裂为 32 细胞, 具有圆弧形, 细胞不在同一平面排列, 呈现上下分层 (图 1i-1, 2)。16 h 5 min 分裂为 64 细胞, 细胞分为 2 层, 细胞排列不规则 (图 1j)。18 h 35 min 分裂为多细胞, 细胞数量增多, 体积变小, 细胞间的界限模糊, 胚盘呈球状 (图 2a)。

**2.3.2 囊胚期** 受精后 22 h 35 min, 细胞数量快速增加, 细胞排列的层数显著增加, 隆起形成高囊胚, 同时细胞的体积相应减小以至于细胞界限不明显, 囊胚整体呈半球状 (图 2b-1, 2)。31 h 高囊胚逐渐转变为低囊胚, 囊胚层开始变薄, 并向着更为扁平的方向发展, 且囊胚腔不明显 (图 2c)。

**2.3.3 原肠期** 58 h 20 min 胚盘向下内包约 1/4, 同时在外包的前缘区域油球与卵质界限明显。78 h 20 min, 胚盘向下内包约 1/2, 标志着进入原肠期的早期阶段, 在这个阶段, 外包前沿区有一个显著隆起的环带, 称为胚环, 而在胚盘的中心位置, 则形成了一个圆形且半透明状的隆起区域, 这是胚盾的雏形, 也是胚体的起始点 (图 2d-1, 2)。至 82 h, 胚盘已向下内包 2/3, 进入了原肠中期, 在这个阶段, 胚盾的形态从圆形逐渐转变为长椭圆形, 其一端固定

在胚体的中心位置, 另一端则向胚盘下包的前沿延伸(图 2e-1, 2)。90 h 时, 胚盘下包至 3/4 的区域, 为原肠晚期, 这一时期是胚层分化的关键阶段, 各种细胞和组织开始分化并形成特定的结构(图 2f)。

**2.3.4 神经胚期** 98 h 30 min, 随着胚盘下包 4/5 区域后, 胚盾不仅在长度上延伸, 还在厚度上增加, 形成了一个明显的隆起, 隆起的区域开始分化形成神经板, 随后形成一个中空的管道结构即神经管(图 2g)。

**2.3.5 眼泡形成期** 99 h 下包结束前, 胚体的头部前段出现一对凸起的椭圆形组织, 在显微镜下可以明显看到眼泡与胚体间的界限, 呈现同心圆的形状(图 2h)。

**2.3.6 肌节形成期** 102 h 25 min 胚体的中部出现弧状肌节, 此时胚体下包基本结束(图 2i)。

**2.3.7 尾芽形成期** 115 h 胚体包裹着半个卵黄囊区域, 其后部则向后方延伸, 逐渐与卵黄囊分离, 形成尾部区域称为尾芽, 且尾部上下两侧具有长条形的凹陷区域(图 2j)。

**2.3.8 心形成期** 146 h 30 min 在头部下方, 紧邻卵黄囊的位置, 逐渐形成一个明显的空腔, 在空腔内部有管状的细胞团最终会发育成心。此时胚体尾部伸长、下垂、向内卷曲, 同时尾端逐渐变窄(图 2k)。

**2.3.9 脑形成期** 231 h 脑逐渐形成。脑的发育是一个逐步细化的过程, 端脑、中脑和延脑三个部分的顶部覆盖着一层薄而透明的组织, 中脑的脑腔空间相对较大, 而延脑的脑腔则稍小一些, 呈现出菱形的轮廓(图 2l-1, 2)。

**2.3.10 眼黑色素出现期** 256 h 眼球发育变化明显, 其体积逐渐增大并向外突出, 原本无色的眼泡区域开始出现了色素细胞, 随着色素细胞数量的增多, 眼球的整体颜色也逐渐变为灰黑色(图 2m)。

**2.3.11 背鳍、胸鳍形成期** 277 h 30 min 在胚体的躯干后端与尾部前端之间的背部区域出现了一个三角形的鳍褶, 将发育并分化成背鳍,

且在头部的两侧耳囊的下方出现了一对外突的半圆形结构, 随着时间的推移, 将逐渐发育并分化为胸鳍(图 2n)。

**2.3.12 心室、心房形成期** 290 h 心部位的细胞团中间部分出现了缢缩, 进而形成了两个明显膨大的球形结构, 前者演化为心室, 负责将血液泵送至全身, 后者则成为心房(图 2o)。

**2.3.13 血液循环形成期** 316 h 卵黄与配体的对侧出现一条连接心和尾部的血管, 标志着卵黄囊血液循环期的开始。血管将心泵出的血液输送到胚体的各个部位, 一部分输入头部, 另一部分输入躯干, 经背主动脉进入尾动脉, 然后流回尾静脉, 再经过卵黄囊腹面一条卵黄囊静脉回到心(图 2p)。

**2.3.14 出膜期** 352 h 出膜前, 胚体在卵膜内摆动, 尾部末端向头顶延伸。破膜时, 仔鱼头部卵膜开裂, 头先伸出, 依靠尾部与躯干摆动直至完全脱膜。

## 2.4 仔鱼发育

**2.4.1 仔鱼前期** 出膜期到仔鱼期之间, 胚体仍在海马育儿袋中发育, 称为仔鱼前期, 此过程的突出表现为卵黄囊的逐渐消失、吻部的伸长及内脏器官发育完全的过程。

396 h 仔鱼孵出(即孵化后第 1 天), 呈半透明, 吻部较短, 颌部略向上翘起, 下颌突出, 鱼体从头部到尾部布满点状色素, 色素斑直径约为 0.25 mm。初孵仔鱼全长 6.53~7.42 mm, 躯干长 3.18~3.55 mm, 尾长 3.05~3.26 mm, 头长 1.36~1.48 mm, 吻长 0.55~0.83 mm, 卵黄囊长径 1.07~1.25 mm、短径 0.58~0.65 mm。躯干部有 12 或 13 个体节, 背鳍增大, 基部短, 末端宽, 呈现扇形; 胸鳍呈半圆形, 与胚体垂直(图 2q)。

孵化后第 2 天(整体发育 424 h), 头部与躯体形成 120°角, 吻部增长, 颌部进一步翘起, 口开启, 但不能闭合, 与食道相通。肠道已形成, 末端通至肛门, 且与体外相通。卵黄囊整体向前缩小, 前部呈三角形, 后部呈囊状。

孵化后第 4 天 (整体发育 472 h), 吻管继续伸长, 口不时地开启闭合; 卵黄囊近乎消失; 头部与躯干形成 145°角, 头部下方附近有一个绿色胆囊明显可见, 在胆囊上方出现一个透亮的小囊, 将来形成鳔 (图 2r)。

**2.4.2 仔鱼期** 发育到 496 h, 仔海马从育儿袋排出, 此时卵黄囊已完全消失, 仔海马全长 10.58 ~ 13.02 mm, 躯干长 3.87 ~ 4.74 mm。仔海马头部较长, 与躯干相近, 头部前额有一肉

质刺状突起; 眼球较大、圆形, 眼眶突出, 眼眶上方有一个骨质棘, 眼球表面灰黑色, 能灵活转动; 躯干具有 13 个体环节, 尾部长, 有许多骨环节, 呈四棱形状 (图 2s)。

刚产出的仔海马在水体中上层, 具有游泳能力, 但游动能力较弱, 多表现为随水流飘动, 游泳姿势为头朝上略向前倾, 尾朝下, 凭借背鳍从前端的鳍褶向后端作波浪式的摆动或摆动尾部辅助游动。

表 1 膨腹海马早期发育进程

Table 1 Early developmental processes of *Hippocampus abdominalis*

发育时间 Incubation duration	发育时期 Development stage	图 Fig.
30 min	受精卵 Fertilized egg	1b
1 h 50 min	卵呈圆球状 Orbicular egg	1c-1, 2, 3
3 h 20 min	胚盘高举 Uplifted embryonic discs	1d
6 h 55 min	2 细胞期 2-Cell stage	1e
8 h 30 min	4 细胞期 4-Cell stage	1f-1, 2, 3
11 h 5 min	8 细胞期 8-Cell stage	1g-1, 2, 3
12 h 35 min	16 细胞期 16-Cell stage	1h-1, 2
14 h 15 min	32 细胞期 32-Cell stage	1i-1, 2
16 h 5 min	64 细胞期 64-Cell stage	1j
18 h 35 min	多细胞期 Multi-Cell stage	2a
22 h 35 min	高囊胚期 High blastocyst stage	2b-1, 2
31 h	低囊胚期 Low blastocyst stage	2c
78 h 20 min	原肠早期 Early gastrula stage	2d-1, 2
82 h	原肠中期 Mid gastrula stage	2e-1, 2
90 h	原肠晚期 Late gastrula stage	2f
98 h 30 min	神经胚期 Neurula stage	2g
99 h	眼泡形成期 Eye follicle formation stage	2h
102 h 25 min	肌节形成期 Muscle ganglion formation stage	2i
115 h	尾芽形成期 Tail-bud formation stage	2j
146 h 30 min	心形成期 Heart formation stage	2k
231 h	脑形成期 Brain formation stage	2l-1, 2
256 h	眼黑色素形成期 Ocular melanin formation stage	2m
277 h 30 min	背鳍胸鳍原基形成期 Dorsal and pectoral fin formation stage	2n
290 h	心室心房形成期 Ventricle and atrium formation stage	2o
316 h	卵黄囊血液循环期 Yolk sac blood circulation stage	2p
396 h	仔鱼前期 (始) Pre-larval stage (beginning)	2q
472 h	仔鱼前期 (末) Pre-larval stage (end)	2r
496 h	1 日龄仔鱼期 1-Day-old larva	2s

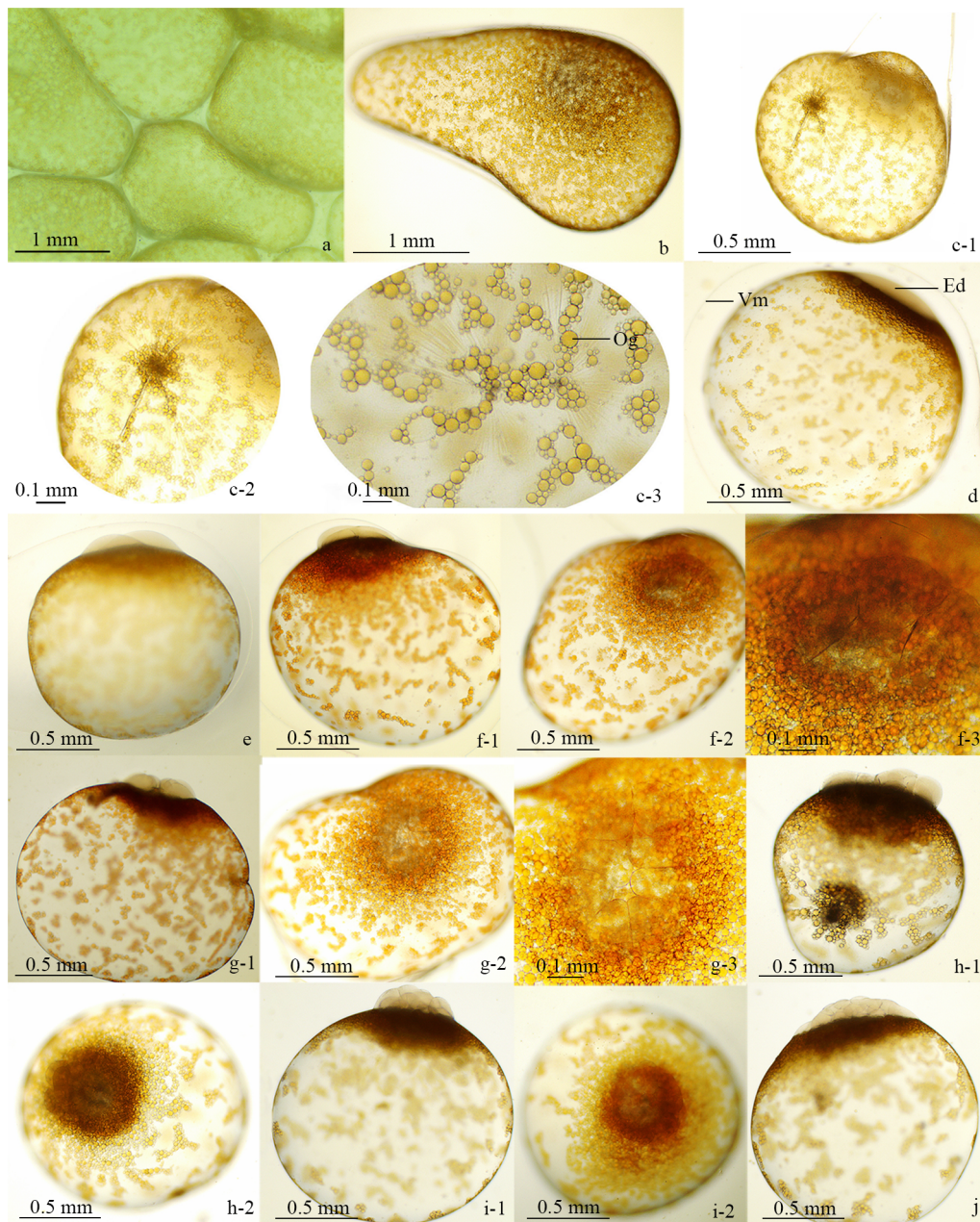


图 1 膨腹海马卵裂期胚胎

Fig. 1 Embryonic development of *Hippocampus abdominalis*

a. 未受精的卵; b. 梨形受精卵; c-1. 圆球形受精卵; c-2. 细胞质流; c-3. 细胞质流 (局部放大); d. 胚盘形成; e. 2 细胞; f-1. 4 细胞 (侧面观); f-2. 4 细胞 (正面观); f-3. 4 细胞 (局部放大); g-1. 8 细胞 (侧面观); g-2. 8 细胞 (正面观); g-3. 8 细胞 (局部放大); h-1. 16 细胞 (侧面观); h-2. 16 细胞 (正面观); i-1. 32 细胞 (侧面观); i-2. 32 细胞 (正面观); j. 64 细胞 (侧面观)。Ed. 胚盘; Og. 油球; Vm. 卵膜

a. Unfertilized egg; b. Pyriform fertilized egg; c-1. Spherical fertilized egg; c-2. Cytoplasmic fluid; c-3. Cytoplasmic fluid (zoom in partially); d. Embryonic disk formation; e. 2-Cell; f-1. 4-Cell (lateral view); f-2. 4-Cell (front view); f-3. 4-Cell (zoom in partially); g-1. 8-Cell (lateral view); g-2. 8-Cell (front view); g-3. 8-Cell (zoom in partially); h-1. 16-Cell (lateral view); h-2. 16-Cell (front view); i-1. 32-Cell (lateral view); i-2. 32-Cell (front view); j. 64-Cell (lateral view). Ed. Embryonic disk; Og. Oil globule; Vm. Vitelline membrane

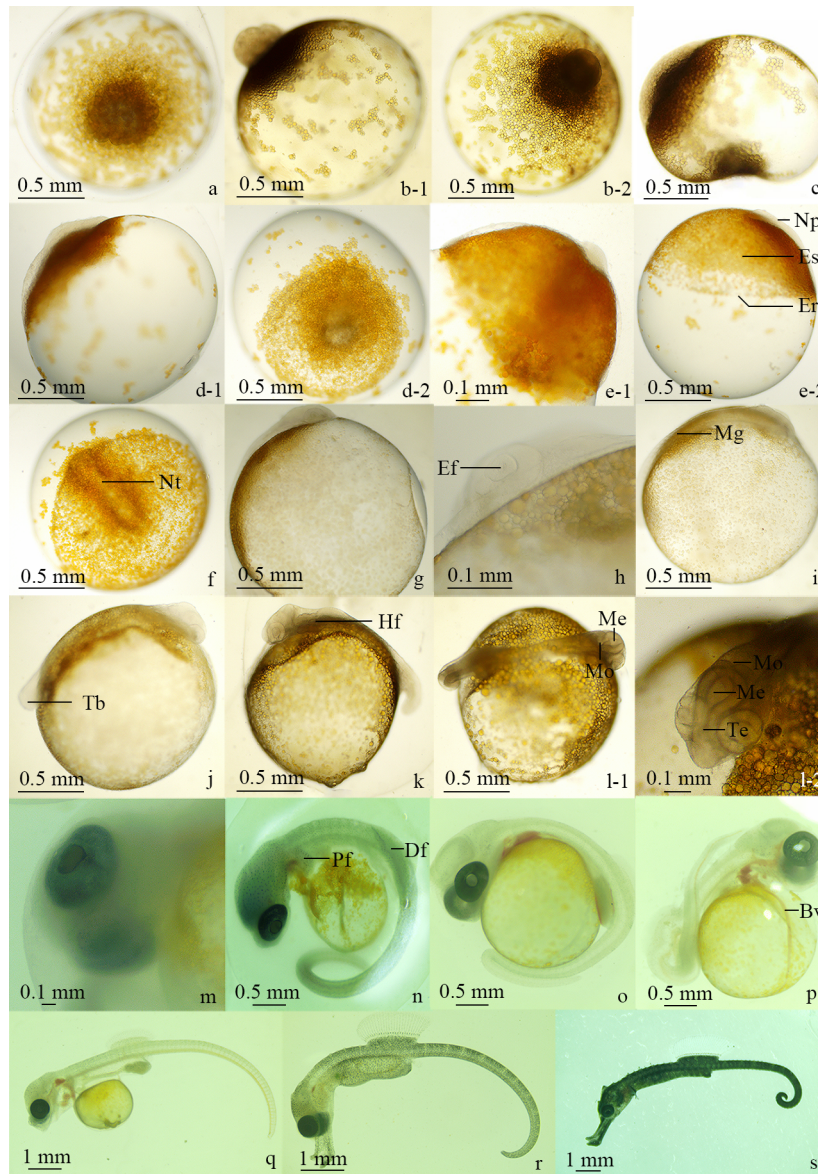


图2 膨腹海马胚胎及胚后发育

Fig. 2 Embryonic and postembryonic development of *Hippocampus abdominalis*

a. 多细胞; b-1. 高囊胚 (侧面观); b-2. 高囊胚 (正面观); c. 低囊胚 (侧面观); d-1. 原肠早期 (侧面观); d-2. 原肠早期 (正面观); e-1. 原肠中期 (正面观); e-2. 原肠中期 (侧面观); f. 原肠晚期; g. 神经胚期; h. 眼泡形成期; i. 肌节形成期; j. 尾芽形成; k. 心形成期; l-1. 脑形成期; l-2. 脑形成期 (头部); m. 眼黑色素形成期; n. 背鳍胸鳍原基形成期; o. 心室心房形成期; p. 卵黄囊血液循环期; q. 仔鱼前期 (始); r. 仔鱼前期 (末); s. 1日龄仔鱼。Bv. 血管 (血液循环); Df. 背鳍; Ef. 眼泡; Er. 胚环; Es. 胚盾; Hf. 心形成; Me. 中脑; Mg. 肌节; Mo. 延脑; Np. 神经板; Nt. 神经管; Pf. 胸鳍; Tb. 尾芽; Te. 端脑

a. Multi-cell stage; b-1. High blastula (lateral view); b-2. High blastula (front view); c. Low blastula (lateral view); d-1. Early gastrula (lateral view); d-2. Early gastrula (front view); e-1. Mid gastrula (front view); e-2. Mid gastrula (lateral view); f. Late gastrula; g. Neurula; h. Eye follicle formation; i. Muscle ganglion formation; j. Tail-bud forming; k. Heart formation; l-1. Brain formation; l-2. Brain formation (head); m. Ocular melanin formation; n. Dorsal and pectoral fin formation; o. Ventricle and atrium formation; p. Yolk sac blood circulation; q. Pre-larval stage (beginning); r. Pre-larval stage (end); s. 1-day-old larva. Bv. Blood vessel (Blood circulation); Df. Dorsal fin; Ef. Eye follicle; Er. Embryonic ring; Es. Embryonic shield; Hf. Heart formation; Me. Mesencephalon; Mg. Muscle ganglion; Mo. Medulla oblongata; Np. Neural plate; Nt. Neural tube; Pf. Pectoral fin; Tb. Tail-bud; Te. Telencephalon

## 2.5 受精卵离体情况

初步实验结果显示, 将不同发育时期的受精卵置于养殖海水中, 卵黄囊血液循环期之前的受精卵在海水中仅保持原形态 2~6 h, 然后陆续吸水膨胀破裂, 卵黄物质流出, 受精卵死亡, 仅有少量受精卵可以发育至下一时期, 处于卵黄囊血液循环期的受精卵置于养殖海水中, 可以存活 2 d, 且少部分可正常孵化出膜, 但出膜后幼体体质较弱。

## 3 讨论

### 3.1 膨腹海马卵特征

膨腹海马成熟的卵呈长椭圆形, 长轴为 2.63~3.37 mm, 短轴为 1.28~1.75 mm, 呈浅黄色的半透明状, 受精后卵黄变为圆球状, 卵黄直径为 1.15~1.58 mm; 而三斑海马的未受精卵长轴为 1.8 mm, 短轴为 0.8 mm, 且呈现为暗灰色透明状, 受精后卵黄变为直径 0.93 mm 圆球状 (蔡健儿等 1984), 膨腹海马受精前后的卵均明显大于三斑海马, 因此可以作为两者的区分依据, 但卵径大小能否用于海马属的物种鉴定有待进行进一步研究。

膨腹海马卵受精后, 受精卵整体大小不变, 卵膜与卵黄开始分离, 出现卵周隙, 卵黄收缩明显, 由长椭圆形变为圆形, 直径为长轴的 1/2。而一般鱼类卵在受精后都有吸水膨胀现象, 如没有卵周隙的星突江鲮 (*Platichthys stellatus*), 受精卵吸水前后整体膨胀约为 2.3 倍 (陈四清等 2009); 有卵周隙的丁鲷 (*Tinca tinca*) (海萨等 2004)、大口胭脂鱼 (*Ictiobus cyprinellus*) (王佳喜等 2004)、乌原鲤 (*Procypris mera*) (韩耀全等 2018) 和桂华鲮 (*Sinilabeo decorus decorus*) (蓝昭军等 2022) 的受精卵吸水前后整体膨胀分别约为 2 倍、1.4 倍、1.3 倍和 1.3 倍, 且卵周隙的扩大是因为吸水后卵膜膨胀导致。而膨腹海马卵受精后整体大小基本不变, 其卵周隙的扩大主要原因应是卵黄收缩变小所致, 其他物种未见类似现象, 体现了海马物种的特异性。

### 3.2 膨腹海马早期发育特征

从受精卵到仔海马排出体外的时间, 三斑海马在水温 28~29 °C 时为 264 h (蔡健儿等 1984), 而库达海马 (*H. kuda*) 在 27~28 °C 时为 240~264 h (张东等 2020), 本实验膨腹海马在 18~19 °C 时约为 373 h。研究表明, 温度能够显著影响海马卵孵化时间, 温度越高孵化时间越短, 如三斑海马在 22.5 °C 时孵化时间约 19 d, 在 24 °C 约为 16 d, 在 28.5 °C 时约为 11 d (蔡健儿等 1984)。温度对膨腹海马早期发育时间的影响有待进一步研究。

海马与其他鱼类不同, 幼体和成体没有尾鳍且存在腹鳍缺失的现象, 但研究表明, 三斑海马在胚胎发育期是具有尾鳍的, 在卵黄囊血液循环期后出现, 在排出体外后退化消失 (蔡健儿等 1984), 但在本实验中并未观察到膨腹海马尾鳍的出现。鱼类的腹鳍与四足动物的后肢同源, 在运动过程中起到调整身体平衡的作用 (Yamanoue et al. 2010), 而海马是唯一直立游泳的鱼类, 尾鳍和腹鳍的作用都与海马用尾缠绕附着的习性及其头部向上、身体前倾的游动方式存在冲突, 因此逐渐退化消失。此外, 研究表明, 海马腹鳍消失的根本原因是转录因子 *tbx4* 基因在海马基因组中缺失所致 (Lin et al. 2016)。

### 3.3 膨腹海马受精卵离体孵化的可行性

卵胎生鱼类的主要特征是受精卵在体内 (主要在卵巢) 发育 (温海深等 2020), 而海马的生殖方式与卵巢受孕相似, 雌性海马将卵产于雄性海马的育儿袋中, 在育儿袋中受精和发育, 幼体从育儿袋产出后, 亲体再重新进行交配, 使得亲体两次繁殖间隔时间较长, 且育儿袋中受精卵或幼体的数量有限, 这种繁殖策略在一定程度上限制了海马的繁育规模。

体外全胚胎培养技术 (whole embryo culture, WEC) 是一种将动物胚胎移植到体外进行培养的实验技术, 主要用于研究早期器官的生长发育等 (韩佳寅等 2010), 在实际生产上可以提高孵化效果及出苗同步性, 进而节省

人力和物力(程顺等 2023)。赵吉等(2016)用 5 种培养液对许氏平鲷(*Sebastes schlegelii*)受精卵进行了离体培养实验,结果表明,受精卵和胚胎在适宜的培养液中可以存活并且缩短了发育时间。因此,建立海马胚胎离体孵化技术是提高其繁育规模的一条重要途径,解析海马育儿袋以及育儿袋内液体成分,找到类似的体外培养液是其中的关键。在本实验中,将受精卵放入养殖海水中孵化,受精卵可以存活一定时间,但最终胚胎吸水涨破死亡,但胚体发育到一定阶段后可正常孵化出幼体,表明膨腹海马受精卵离体孵化具有一定的可行性。

## 参 考 文 献

- Dudley J S, Hannaford P, Dowland S N, et al. 2021. Structural changes to the brood pouch of male pregnant seahorses (*Hippocampus abdominalis*) facilitate exchange between father and embryos. *Placenta*, 114: 115–123.
- Dudley J S, Paul J W, Teh V, et al. 2022. Seahorse brood pouch morphology and control of male parturition in *Hippocampus abdominalis*. *Placenta*, 127: 88–94.
- Lin Q, Fan S H, Zhang Y H, et al. 2016. The seahorse genome and the evolution of its specialized morphology. *Nature*, 540(7633): 395–399.
- Linton J R Soloff B L. 1964. The physiology of the brood pouch of the male sea horse *Hippocampus erectus*. *Bulletin of Marine Science*, 14(1): 45–61.
- Liu X G, Wang G P, Chen J H, et al. 2024. Effect of human chorionic gonadotrophin (HCG) and luteinizing hormone releasing hormone A3 (LHRH-A3) on reproduction and development of brood pouch in *Hippocampus erectus*. *Aquaculture*, 578: 740108.
- Yamanoue Y, Setiamarga D H E, Matsuura K. 2010. Pelvic fins in teleosts: structure, function and evolution. *Journal of Fish Biology*, 77(6): 1173–1208.
- 蔡难儿, 徐权汉, 于富才, 等. 1984. 三斑海马的胚胎发育. *海洋科学集刊*, (2): 95–104.
- 陈四清, 刘长琳, 庄志猛, 等. 2009. 星突江鲈胚胎发育的研究. *渔业科学进展*, 30(1): 1–7.
- 程顺, 韦永春, 蒋文枰, 等. 2023. 淡水螯虾类胚胎离体孵化技术研究进展. *广东海洋大学学报*, 43(3): 133–142.
- 海萨, 苏德学, 杜劲松, 等. 2004. 丁鲷的胚胎发育. *水生态学杂志*, 24(2): 4–6.
- 韩佳寅, 梁爱华. 2010. 全胚胎培养技术及其应用研究进展. *中国中药杂志*, 35(5): 549–553.
- 韩耀全, 何安尤, 蓝家湖, 等. 2018. 乌原鲤的胚胎发育特征. *水产科学*, 37(3): 368–373.
- 蓝昭军, 钟良明, 谷平华, 等. 2022. 桂华鲮胚胎发育特征观察研究. *海洋与渔业*, (6): 90–92.
- 王佳喜, 胡少华, 管敏, 等. 2004. 美国大口胭脂鱼胚胎发育研究. *江西农业大学学报: 自然科学*, 26(2): 298–303.
- 温海深. 2020. 卵胎生硬骨鱼类进化机制及繁殖生理特征研究. *大连海洋大学学报*, 35(4): 469–480.
- 张东, 柯才焕, 孙慧玲. 2020. 海珍品绿色养殖新技术: 海马 鲍 海参. 北京: 中国农业出版社, 24–26.
- 张峰. 1997. 日本海马生殖期育儿囊组织结构变化和卵胎生特点的组织学观察. *大连水产学院学报*, 12(4): 63–67.
- 赵吉, 冯启超, 温海深. 2016. 卵胎生许氏平鲷胚胎离体培养及发育形态学. *水产学报*, 40(8): 1195–1202.
- 周胜杰, 胡静, 杨蕊, 等. 2021. 三斑海马早期发育观察. *南方农业学报*, 52(8): 2302–2310.