

中华鲟胚胎的耗氧率*

唐国盘^① 刘鉴毅^{②③} 危起伟^{②③**} 陈细华^{②③} 杨德国^{②③} 朱永久^② 杜浩^①

(^①华中农业大学水产学院 武汉 430070;

^②中国水产科学研究院长江水产研究所 农业部淡水鱼类种质资源与生物技术重点开放实验室 荆州 434000;

^③中国水产科学研究院淡水渔业研究中心 无锡 214081)

摘要:应用密闭定容装置,对中华鲟胚胎耗氧率进行了研究。结果对尾部接近心脏时期胚胎,在不同水温条件下耗氧率测定表明,随水温的升高胚胎耗氧率有上升的趋势。在14℃时,耗氧率为0.69 mg/100 eggs·min;而26℃时,耗氧率为1.63 mg/100 eggs·min。中华鲟胚胎耗氧率随发育的进程而增大,在水源pH为6.4、水温为19℃条件下,受精卵的耗氧率为0.28 mg/100 eggs·min,而到胚胎心脏形成、搏动期开始耗氧率显著升高,为0.87 mg/100 eggs·min,到胚体滚动、出膜期时又是一个高峰期,为1.54 mg/100 eggs·min。

关键词:中华鲟;胚胎;耗氧率;水温

中图分类号:Q955 文献标识码:A 文章编号:0250-3263(2004)05-30-05

Oxygen Consumption of Chinese Sturgeon (*Acipenser sinensis*) Embryos

TANG Guo-Pan^① LIU Jian-Yi^{②③} WEI Qi-Wei^{②③} CHEN Xi-Hua^{②③}

YANG De-Guo^{②③} ZHU Yong-Jiu^② DU Hao^①

(^① Fishery College, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070;

^② Key Lab of Freshwater Fish Germplasm Resources and Biotechnology, Ministry of Agriculture;

Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Jingzhou 434000;

^③ Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Wuxi 214081, China)

Abstract: The oxygen consumption rate of embryos in *Acipenser sinensis* was measured in closed volumetric flasks under different conditions (50 eggs/285 ml). The results showed that the oxygen consumption rate ascended with increasing water temperature. At 14℃, the oxygen consumption rate was 0.69 mg/100 eggs·min, while at 26℃, the average rate was 1.63 mg/100 eggs·min. The oxygen consumption of embryos increased with advancing development. Under a condition of pH 6.4 and water temperature 19℃, the oxygen consumption rate of fertilized eggs was 0.28 mg/100 eggs·min. The oxygen consumption rates were 0.87 mg/100 eggs·min and 1.54 mg/100 eggs·min at the heart formation and beating stage and the embryonic movement and hatching stage, respectively.

Key words: *Acipenser sinensis*; Embryo; Oxygen consumption rate; Water temperature

* 科技部社会公益研究专项基金(No. 2000DIB50177), 国家基础工作重点专项基金(2002-2003)资助;

** 通讯作者, E-mail: weiqw@yfi.ac.cn;

第一作者介绍 唐国盘,男,25岁,硕士研究生;研究方向:渔业资源;E-mail: candytgp@126.com.

收稿日期:2004-04-20, 修回日期:2004-07-25

中华鲟 (*Acipenser sinensis*) 为大型溯河洄游性鱼类, 主要分布在我国东、黄海, 在长江产卵繁殖, 是目前地球上最古老和最原始的辐鳍鱼类之一, 素有“活化石”之称。近 20 年来, 因环境污染和长江葛洲坝水利工程的修建阻断了其生殖洄游通道等原因, 致使中华鲟种群已达濒危状态^[1]。为挽救这一濒危物种, 早在 20 世纪 80 年代初期就开始了人工繁殖并进行大规模人工放流, 但从 1999 年和 2002 年长江河口地区的误捕中华鲟苗中人工放流苗的比例不到 3% 的情况看来, 虽然人工放流对中华鲟资源起到一定的补偿作用, 但自然繁殖仍然对中华鲟的资源补充起主导作用^[2]。就鱼类而言, 受精卵在不同的发育时期对溶氧有不同的要求, 因此水体中的溶氧对中华鲟受精卵能否正常发育和成功孵化至关重要。研究中华鲟胚胎耗氧率, 不仅具有一定的理论意义, 而且在胚胎孵育上也有很大的实用价值, 为确定各阶段的耗氧率, 找到胚胎的最适发育的溶氧水平提供科学依据。

有关鱼类胚胎耗氧率的研究, 国内外学者已经做过很多工作^[3-9], 对中华鲟胚胎发育的研究也有不少学者进行过研究^{*[10,11]}, 但对中华鲟胚胎耗氧率的研究还未见有报道。本实验初步研究了不同水温对中华鲟胚胎(尾部接近心脏时期)耗氧率的影响及中华鲟胚胎不同发育阶段耗氧率的变化。胚胎的耗氧率是胚胎发育与外界环境关系的一种反映, 其耗氧率水平受到多方面因素的影响。对同一种鱼的胚胎来讲, 影响耗氧率的因素很多, 一是不同发育阶段耗氧率不同; 二是卵的质量不同耗氧率也有不同^[12]; 三是各种环境因素对耗氧率的影响。此外, 还可能存在一些其它的因素影响胚胎的耗氧率, 比如光照等。本实验中中华鲟胚胎发育期参考四川省长江资源调查组和鲁大椿等对中华鲟胚胎发育过程的研究进行划分, 并观察了中华鲟胚胎发育的形态学过程和发育时序。

1 材料与方 法

1.1 材料 所用胚胎 2003 年 10 月取自长江水产研究所在湖北荆州市沙市凤凰山中华鲟增殖放流试验基地人工繁殖的受精卵, 受精率在 89% ~ 95% 之间, 而试验水样取自该基地的孵化池, 水质状况参照文献^[13]。

1.2 方法 测定方法仿刘鉴毅等^[14]测定大鲵胚胎耗氧率的装置, 水样溶氧量的测定采用微量碘量法^[15]。呼吸室为容积 285 ml 的磨口三角锥形瓶, 可密闭。每组实验设两个呼吸室, 其中一个为空白对照瓶。实验时均从同一孵化池取水样, 然后取 50 粒卵迅速放入其中一个三角锥形瓶中, 密闭, 记录时间、水温, 同时记下孵化箱号, 以免下次取样重复。同组实验呼吸室均置于一个恒温水体中, 以维持相同水温。在进行不同温度的实验时, 将卵在各组水温下平衡之后, 再装入呼吸室。实验期间每 10 ~ 15 min 将呼吸室颠倒混和数次, 以保持呼吸室水体溶氧均匀。实验时呼吸室置于暗处, 避免光线直射, 待胚胎在瓶中呼吸 1.5 h 后, 再通过虹吸法取水样。每组实验进行二次, 结果取平均值。并以下式计算胚胎的耗氧率:

$$R = (C_0 - C) \cdot K / N \cdot T$$

式中: R 为耗氧率 ($\text{mg}/100 \text{ eggs} \cdot \text{min}$); C_0 为空白对照瓶中溶解氧, 也即孵化池中溶解氧 (ml); C 为装有胚胎的瓶中的溶解氧 (ml); K 为系数 3.26; N 为胚胎的个数; T 为密封时间, 即胚胎呼吸时间 (min)。

用 7 组胚胎测定不同水温条件下 (14、16、18、20、22、24、26℃) 的耗氧率。本次实验取的是同一批次、尾部接近心脏时期发育正常的胚胎 (这些胚胎在水温 16.5 ~ 18℃ 条件下, 受精后 83 ~ 96 h, 胚胎头部已能动, 尾部末端扁平。皮肤褶从背部到尾部, 尾向腹面弯曲, 并可做大幅度左右摆动, 尾的末端接近或达到心脏, 此时若将胚胎从膜内释放出来, 胚胎可作钟摆式原位扭动。尾部接近心脏时期耗氧率比此阶段前的

* 陈细华. 中华鲟胚胎发育和性腺早期发育的研究. 中山大学博士学位论文. 2004

各个阶段耗氧率都高的多,测得的结果变化相对比较明显,因此采用此期进行实验,每组 50 粒卵。待所取的卵和三角锥瓶中的水温与该温度下达到平衡时再进行装瓶、密闭、计时,每个盆中放一支校正过的水银温度计,以方便观察水温的变化。各组实验水温均采用另外调好水温缓慢加入而保持,最终各组水温控制在 $\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ 以内变化。

2003 年 10 月 22 ~ 27 日进行中华鲟胚胎不同发育阶段耗氧率的变化测定。操作步骤同上,每组每次重复做 2 个水样,取平均值。水温控制在 $(19.0 \pm 0.2)^{\circ}\text{C}$ 。另取同批受精卵于培养皿中流水孵化(水温相同),作为鉴别发育期的依据。本实验从中华鲟受精卵受精到孵出为止,分 25 个测点 17 个主要发育时期进行测定。

2 结果与讨论

2.1 不同温度对中华鲟胚胎耗氧率的影响

不同水温状况下的中华鲟胚胎耗氧率测定结果如表 1。

表 1 中华鲟胚胎耗氧率与水温的关系 ($n = 50$)

水温($^{\circ}\text{C}$)	14	16	18	20	22	24	26
耗氧率($\text{mg}/100 \text{ eggs} \cdot \text{min}$)	0.69	0.74	0.83	0.89	1.00	2.44	1.63

由表 1 可以看出,水温对中华鲟胚胎(尾部接近心脏时期)的耗氧率有较大的影响,表现出随着水温的升高,胚胎耗氧率有逐渐升高的趋势。在 $14 \sim 22^{\circ}\text{C}$ 范围内,胚胎耗氧率的变化幅度比较小,而在 $22 \sim 26^{\circ}\text{C}$ 范围内,胚胎耗氧率变化幅度较大,其中 26°C 比 24°C 条件下的耗氧率有所降低。这是因为温度作为控制因子,对生物生长、发育以及代谢强度都有较大的影响。水温与耗氧率之间的密切关系早已为许多学者证实(殷名称,1995),一般认为,在一定范围内,水温高低和耗氧率多少呈正比。温度变化的影响对胚胎最后的孵出表现的尤为明显,仔胚的孵出一方面依靠胚体表皮孵化腺分泌孵化酶使卵膜软化,另一方面依靠自身活动性的加强。温度因子通过影响仔胚孵化酶的分泌及其活性而控制仔胚的孵出。而孵化酶的分泌和自身活

动性的加强,都表明胚胎发育阶段的耗氧率会达到一个高峰。

本实验表明,中华鲟胚胎耗氧率随环境温度升高而呈现逐渐上升的总体趋势,反应了变温动物代谢强度随环境温度变化而改变的基本特征。当水温升高时,胚胎内新陈代谢作用增强,各种生理、生化反应加快,对氧的需求量增大,耗氧率便呈增加趋势。但当水温超过 24°C 后,其耗氧率又出现下降的现象,表明中华鲟胚胎发育有一个适宜的温度范围,超过这个适宜温度范围,酶活力反而下降,导致新陈代谢变慢,引起耗氧率下降,在实际生产中的表现便是胚胎畸形率和死亡率的升高,因此在中华鲟胚胎孵化时适宜水温应调节在 $18 \sim 22^{\circ}\text{C}$ 内变化,从而进一步提高孵化率。

2.2 不同发育阶段中华鲟胚胎耗氧率的变化

中华鲟胚胎在不同发育阶段的耗氧率变化测定结果见表 2,图 1。

表 2 不同发育阶段中华鲟胚胎耗氧率(2003.10)

发育时期	取样时间	耗氧率 $\text{mg}/100 \text{ eggs} \cdot \text{min}$
受精卵	22:11:47	0.28
十六细胞期	23:04:00	0.29
囊胚晚期	13:00	0.30
原肠胚期	24:01:00	0.49
大卵黄栓期	05:00	0.46
小卵黄栓期	09:00	0.44
隙状胚孔期	12:00	0.58
神经沟早期	16:00	0.48
神经褶靠近期	24:00	0.58
闭合神经管期	25:06:00	0.52
排泄系统原基加厚期	09:00	0.69
侧板联合、尾芽分离期	11:30	0.62
心脏形成、搏动期	18:00	0.87
尾部接近心脏期	26:11:00	1.16
胚体滚动期	27:01:00	1.38
出膜期	03:00	1.54
幼苗期	05:00	3.22

从表 2 中可以看出,中华鲟胚胎耗氧率随发育阶段的发展而逐渐增加,因实验中的水温较稳定(各发育期温度控制在 0.2°C 左右变化),故认为各发育期耗氧率的变化主要不是由于水温引起,而是与胚胎所处的外围环境和自

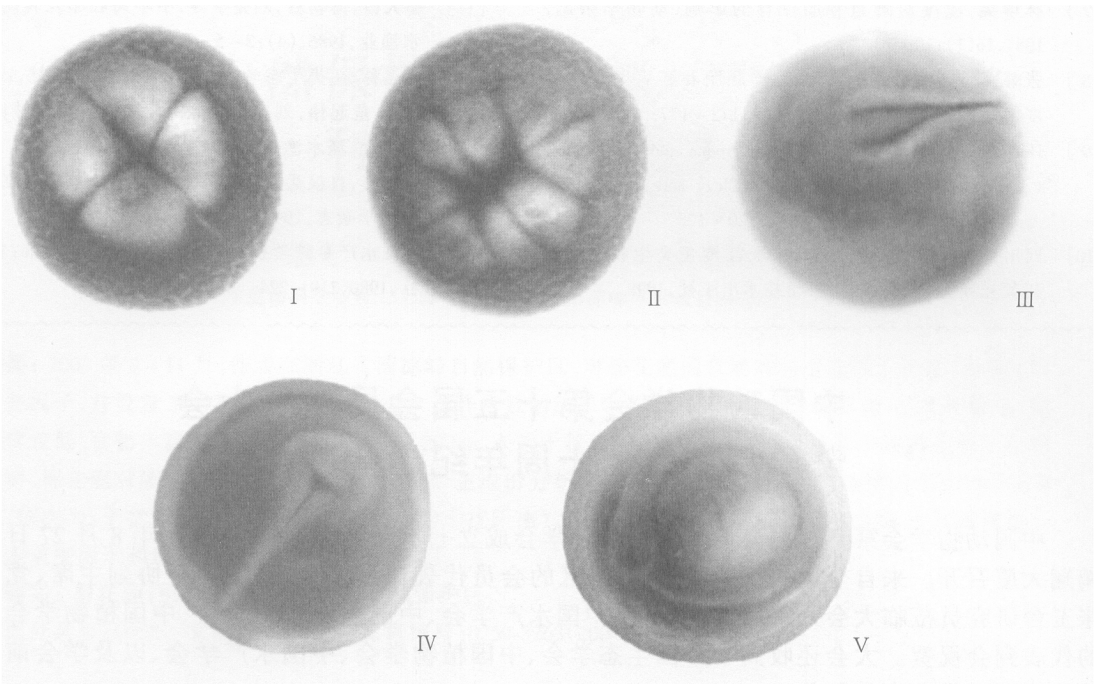


图1 中华鲟胚胎几个发育阶段($\times 10$)

I. 四细胞期; II. 八细胞期; III. 神经胚期; IV. 尾部接近心脏时期; V. 出膜前期(胚体滚动期)

身代谢情况有关。随着细胞的分裂、增生和组织器官的逐渐形成,中华鲟胚胎的新陈代谢必将逐渐加强,因此胚胎耗氧率也逐渐升高。但这种上升并非与时间呈线性关系,其中还含有一些交替升降的过程。因实验的水温较稳定(各发育期温度控制在 $\pm 0.2^{\circ}\text{C}$ 内变化),故此认为实验中各发育期耗氧率的变化主要不是由水温变化引起的,而是与胚胎所处的外围环境和胚胎自身代谢情况有关。中华鲟胚胎发育过程中其耗氧率上升比较明显的共有7个阶段,即原肠胚期、隙状胚孔期、心脏形成搏动期、尾部接近心脏期、胚体滚动期、出膜期和幼苗期,分别与发育阶段中的前一发育时期相比较,其耗氧率的增加倍数分别为1.63、1.32、1.39、1.33、1.19、1.11和2.09倍,以原肠期和出膜期增加倍数最高。表明在这两个发育阶段中华鲟胚胎的新陈代谢最旺盛,其胚胎发育过程中上述两个发育期最易受水体溶氧变化的影响,当水体溶氧偏低时,将出现胚胎发育迟缓、代谢紊乱、仔鱼提前脱膜等现象,最终将导致较高的苗种畸形率或死亡率。因此,适宜的水体溶氧水平

是保证中华鲟胚胎正常发育和孵出的基本条件之一。

致谢 长江水产研究所副研究员柳凌协助图片处理,在此表示感谢。

参 考 文 献

- [1] 危起伟,杨德国,柯福恩.长江鲟鱼类的保护对策.见:黄真理等主编.21世纪长江大型水利工程建设中的生态与环境保护——中国科协第十九次“青年科学家论坛”论文集.北京:中国环境科学出版社,1998,208~216.
- [2] 杨德国,危起伟,王凯等.中华鲟幼鲟的人工放流及其洄游和分布特点,水生生物学报,2004,待刊.
- [3] 方耀林,余来宁.团头鲂及其胚胎耗氧率的研究.淡水渔业,1991(3):21~23.
- [4] 黄玉瑶主编.动物生态及分类区系专业学术论文汇编.北京:科学出版社,1962,136~138.
- [5] 库兹涅佐娃 H.H(张允西译).鳊鱼、野鲤和梭鲈早期发育阶段的气体代谢基础.北京:科学出版社,1965,273~278.
- [6] 曹杰超,刘卫,张伟衡等.泥鳅和白鲢胚胎不同发育时期耗氧率的研究.水生生物学报,1986,10(2):162~169.

- [7] 林华英. 温度对鲤鱼胚胎发育的影响. 动物学杂志, 1981, 16(1): 10 ~ 13.
- [8] 张耀光, 何学福, 蒲德永. 长吻鲩胚胎和胚后发育与温度德关系. 水产学报, 1991, 15(2): 172 ~ 177.
- [9] Hochlritner M, Gesser J. The Sturgeons and Paddlefishes (*Acipenseriformes*) of the World: Biology and Aquaculture, Aqua. Tech. Publications, 1999, 120 ~ 126.
- [10] 四川省长江水产资源调查组. 长江鲟鱼类生物学及人工繁殖研究. 成都: 四川科学技术出版社, 1998.
- [11] 鲁大椿, 傅朝君, 刘宪亭等. 中华鲟胚胎发育的研究. 淡水渔业, 1986, (4): 2 ~ 5.
- [12] 殷名称. 鱼类生态学. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [13] 杜浩, 危起伟, 刘鉴毅等. 中华鲟敏感期苗种培育的水质状况. 淡水渔业, 2004, 34(5): 出版中.
- [14] 刘鉴毅, 肖汉兵, 杨焱清. 大鲵胚胎耗氧率的初步研究. 动物学杂志, 1995, 30(1): 18 ~ 21.
- [15] 湛江水产专科学校. 淡水养殖水化学. 北京: 农业出版社, 1980, 219 ~ 224.