

低温环境下施氏鲟的人工繁殖研究

尹家胜, 潘为志, 孙大江

(中国水产科学研究院黑龙江水产研究所, 哈尔滨 150070)

摘要: 施氏鲟天然繁殖水温为 16~19℃, 在 8~14℃ 水温中进行人工繁殖, 获得成功, 催产率 85%。在低温环境(8~14℃) 中催产, 效应时间内水温基本稳定或升高是催产成功的关键, 而温度高低与催产成功率没有明显关系。在低温环境中, 催产的效应时间大幅度延长; 卵母细胞游离速度十分缓慢, 应多次少量注射激素, 催产才能完全成功; 催产激素剂量以怀卵量计算效果较佳; 孵化积温非常数。神经胚期胚胎在水温低于 11℃ 时畸形死亡, 孵出期胚胎在水温达 13℃ 才能正常破膜, 其它时期胚胎在 8.5℃ 水温中能正常发育。

关键词: 施氏鲟; 低温环境; 人工繁殖

Research on artificial reproduction of *Acipenser schrencki* in lower temperature environment

YIN Jia-Sheng, PAN Wei-Zhi, SUN Da-Jiang (Heilongjiang Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Harbin 150070, China), *Acta Ecologica Sinica*, 2001, 21(10): 1741~1744.

Abstract: The natural reproduction water temperature of *Acipenser schrencki* is 16~19℃. We have successfully in the sturgeons made artificial reproduction of *Acipenser schrencki* in water temperature of 8~14℃ with induced ovulation rate of 85%. Under environment of lower temperature (8~14℃), the key factors for successfully induced ovulation were either to keep constant water temperature to increase water temperature during the effect time of induced ovulation. The success of induced ovulation had no evident relation ship with value of lower water temperature. Meanwhile, the effect time of induced ovulation was extended greatly and the hormone should be injected to the sturgeons a number of times, because oocyte ovulation was very slow in lower temperature. The dosage of hormone could be determined by the amount of fish eggs. The accumulated hatching temperature was not constant and the relation of embryo growth time and water temperature was not linear. The neural plate embryo could become malformation or death if water temperature was below 11℃. The water temperature of embryo breaking shell should be above 13℃. In other develop stages, the embryo can grow normally in water temperature of 8.5℃.

Key words: *Acipenser schrencki*; lower temperature environment; atificial reproduction

文章编号: 1000-0933(2001)10-1741-04 中图分类号: Q178.1 文献标识码: A

施氏鲟(*Acipenser schrencki* Brandt)是黑龙江流域特产的名贵鱼类, 具有极高的经济价值, 它的鱼籽有“黑色黄金”之美誉。由于该鱼天然资源日趋枯竭, 经科研工作者多年的努力, 目前人工养殖已取得较大进展^[1]。施氏鲟天然产卵水温为 16~19℃^[1,2], 由于此温度下亲鱼活动剧烈, 捕捞的亲鱼受伤严重, 死亡率超过 90%, 限制了苗种的规模生产。试验在低温环境(8~14℃)中捕捞亲鱼进行人工繁殖, 取得较好效果。这一问题的深入研究, 对于提高北方寒冷地区土著鱼类的人工繁殖效率, 具有重要意义。

1 材料与方法

1.1 人工催产

基金项目: 国家重点科技攻关项目(96-008-01-01-06)和农业部北方生物工程育种开放实验室基金项目。

收稿日期: 1999-12-06; 修订日期: 2000-07-10

作者简介: 尹家胜(1960~), 男, 云南腾冲人, 副研究员, 主要从事鱼类生态研究。

试验亲鱼于 1998、1999 年的 5~6 月用流刺网和滚钩从黑龙江抚远江段捕捞,选择未受伤或伤较轻的亲鱼运到抚远县特种鱼类繁育场和鲑鱼繁殖放流站的产卵池蓄养、催产。催产药物为 LHRH-A(宁波激素厂)。试验中记录鱼体重、催产剂剂量、注射次数、效应时间(从第一次注射到开始流卵的时间)、卵母细胞游离时间(从开始流卵到全部排空或剖腹取卵的时间)和游离卵比例(脱离滤泡膜卵数/总怀卵数),同时,每 4h 测量一次水温、溶解氧等。

1.2 受精、孵化

人工受精采用半干法。受精卵用滑石粉脱粘后放入拨动式孵化器流水孵化。试验中记录受精率、孵化率、畸形率,计算水温与孵化时间的关系。

1.3 不同温度下各发育期胚胎发育时间和成活率的测定

在孵化中发现施氏鲟不同发育期胚胎对低温的耐受能力差异较大。为精确了解不同发育期胚胎在低温下的发育时间和成活率,将胚胎发育划分为 a 卵裂期、b 囊胚原肠期、c 神经胚期、d 器官分化期、e 孵出期^[3] 5 个时期进行观察。在 8~15℃ 水温范围内,以 1℃ 为梯度,测定不同发育期胚胎在各个温度梯度下的发育时间和成活率。方法是逐一将 17~19℃ 水温中发育正常的各时期胚胎的孵化水温逐渐下降至试验设计温度下进行孵化试验,试验样本为 1000 粒/组。每一温度梯度至少重复一次,数据取平均值。在 Olympus 体视镜下观察胚胎发育。为保证各个发育期测定数据的准确性,使用过的样本材料不再用于其它发育期的测定。各个时期胚胎发育时间的计算,以样本中 30% 的胚胎发育超过该时期为标准。若某一温度梯度下试验样本胚胎发育时间超过在 17~19℃ 时发育的 5 倍,则记录为 ∞,表示发育时间为无限期。试验样本中 30% 的胚胎发育超过这一时期或发育时间达到 ∞ 的标准,立即将试验样本的孵化水温恢复到 17~19℃,统计胚胎的死亡数,胚胎发育的死亡标准是胚体尾芽或卵黄变浊(不透明)。同时记录胚胎发育畸形数。各个发育期胚胎成活率 = (样本总数 - 死亡胚胎数 - 畸形胚胎数) / 样本总数。

2 结果

2.1 低温环境下的人工催产

2.1.1 催产成功率 在 8~14℃ 的水温环境中共进行了 28 尾亲鱼的人工催产试验,催产成功率约为 85%。在此温度范围内,催产是否成功,与水温高低并无显著关系。影响催产成功率的主要环境因素是效应时间内水温的变化。如在 8℃ 水温时注射催产药物,效应时间内水温升到 10℃,催产成功。但 14℃ 水温时注射催产药物,效应时间内水温降到 10℃,催产失败。从试验结果分析,在 8~14℃ 水温中,注射催产药物后,效应时间内水温上升或保持基本稳定,催产均能成功(表 1)。试验中发现,若注射催产剂后水温下降超过 3℃,持续时间达 8h 以上,催产失败。即使是正在流卵(排卵)的亲鱼,水温突然下降,排卵行为也会停止。

表 1 低温下施氏鲟的人工催产

Table 1 Induced ovulation of *Acipenser schrencki* in lower water temperature

组别 No.	样本数 Sample	温度变化与试验时间 Temperature change(°C), test time (h)	效应时间(h) Efficient time	游离时间(h) Ovulation time	游离比例(%) Ovulation ratio
1*	2	14℃, 12h → 12℃, 8h → 10℃, 40h	∞	—	0
2*	1	16℃, 8h → 12℃, 60h	∞	—	0
3*	7	8℃, 12h → 10℃, 48h	46~48	10~14	80
4*	6	10℃, 8h → 11℃, 36h → 10℃, 20h	42~43	8~20	35
5*	4	11℃, 16h → 13℃, 36h	38~39	10~11	70
6**	3	11℃, 8h → 14℃, 4h → 16℃, 20h	22~28	2~3	90
7*	5	13℃, 12h → 14℃, 36h	36~38	8~9	65
8**	4	17℃, 12h → 19℃, 4h	12~14	1~2	100

* LHRH-A 剂量为 70~80μg/万粒 The dosage of LHRH-A was 70~80μg/10000egg, ** LHRH-A 剂量为 40~50μg/万粒 The dosage of LHRH-A was 40~50μg/10000egg

2.1.2 低温对催产效应时间、卵母细胞游离时间的影响 在 17~19℃ 水温环境中利用 LHRH-A 对施氏

鲟进行人工催产,从注射催产药物到开始流卵的效应时间为12~14h。而在8~14℃水温中进行催产,效应时间延长到36~48h(表1)。施氏鲟产卵属于一次性排空型,在17~19℃水温中,卵母细胞全部游离(排卵)的时间为1~2h。而在8~14℃水温中卵母细胞游离速度十分缓慢,全部游离需8~20h(表1),而且经常会部分游离后就不再游离。

2.1.3 催产药物注射量与体重、怀卵量及水温的关系 施氏鲟是隔年或多年产卵鱼类,产卵亲鱼的成熟系数差异大,高的可达39%,低的仅12%^[2]。催产药物剂量控制是施氏鲟催产成功与否以及受精率高低的关键,剂量大,卵子过热,受精率低;而剂量过小,大部份卵母细胞未脱离滤泡膜,无受精能力,一旦剖腹取卵,只有少量卵能受精。为消除成熟系数差异大的影响,以怀卵量计算LHRH-A催产剂量,用量精确,催产效果较好。在17~19℃水温中对施氏鲟催产,催产药物LHRH-A剂量为40~50μg/万粒,通常在清晨(4:00左右,太阳已出)注射第1针,剂量为20%,8h后再注射剩余的80%,傍晚即可产卵。在8~14℃水温中对施氏鲟催产,催产药物LHRH-A剂量为70~80μg/万粒,注射次数应增加到4~5次,才能使全部卵母细胞游离。第1针注射时间是晚上(22:00左右),剂量10%。次日晚注射第2针,剂量10%。间隔8h后注射第3针,剂量50%。当亲鱼出现发情特征,活动强烈时(时间差异较大,多数在注射第3针后3~5h,有时可达13~14h),注射第4针,剂量20%,通常注射后1~3h开始排卵。若注射第4针后6~8h排卵比例不到1/3,应注射第5针,剂量10%,通常2~3h后卵排空。若第5次注射后8h左右,仍不能大量排卵,则可判断催产失败,应立即剖腹取卵,加工成鱼籽酱。若时间过长,则卵粒液化,失去商品价值,经济损失较大。

2.2 孵化和胚胎发育

2.2.1 受精率和孵化率 在低温环境下进行施氏鲟人工繁殖,受精率高低主要受卵母细胞是否完全游离影响,未游离的卵母细胞不能受精,发育良好的游离卵子均能受精。在8~14℃水温中,施氏鲟人工受精率约为90%,与17~19℃水温中无明显差异。获得受精卵约300万粒。在低温环境中施氏鲟能顺利产卵和受精,但孵化却明显受到影响,胚胎畸形、死亡率较高。28尾(组)试验鱼的受精卵在人工孵化中的平均孵化率约为78%,孵出施氏鲟鱼苗235万尾。

2.2.2 低温对各时期胚胎的发育时间和成活率的影响 低温环境下施氏鲟胚胎发育的一个显著特征是不同时期胚胎随着水温的降低,发育时间延长的幅度差异较大。卵裂期和器官分化期胚胎在8~9℃水温中的发育时间和14℃水温时仅差异1/4。而囊胚原肠期和孵出期胚胎在10℃以下水温中胚胎发育几乎停滞。孵出期的仔鱼破膜,水温必需超过13℃才能完成(表2)。在12℃以下水温中,发育到孵出期的胚胎尽管发育良好,但发育时间超过一个星期也仅是零星的胚胎破膜出苗(1%~2%),而在13℃以上水温中,95%~98%的胚胎在一天内都能破膜出苗。在低温环境中,施氏鲟各时期胚胎发育时间变化较大,发育积温不是常数,水温与发育时间的关系是非线性的曲线方程。

施氏鲟神经胚期胚胎对低温比较敏感,在11℃水温时畸形率、死亡率超过50%。而其它时期胚胎则在9℃水温时无明显死亡(表2)。另外,刚破膜的仔鱼,突然降温也会大批量死亡。

3 讨论

研究结果表明,施氏鲟进行人工催产时,在低温时注射催产药物,效应时间内水温上升,催产成功。而较高水温时注射催产药物,效应时间内水温下降,催产失败。这可能与施氏鲟在自然环境中的繁殖习性有关。研究发现施氏鲟在自然环境中的排卵行为常常发生在水温突然上升的1~2d内。水温无论是从12℃上升到16℃,还是从16℃升到19℃,均能使繁殖群体迅速产卵。水温突然上升刺激鱼类排卵的现象,在黑龙江水域许多春天产卵的土著鱼类中十分明显,如滩头雅罗鱼^[3]、黑龙江野鲤^[4]等均有这种繁殖习性。这些鱼类产卵的时间为5月底6月初,这时期黑龙江流域在西伯利亚寒流和太平洋暖流的相互作用下,水温变化频繁,每次高温期持续约一个星期左右,接下来是3~4d的低温期。只有到6月中旬,水温才能稳定在20℃以上。在这样水温环境条件下,像施氏鲟等这时期产卵的鱼类,只有在升温初期迅速产卵,才能在降温时受精卵孵出并发育到能够耐低温的稚鱼,使后代保存下来。另外,黑龙江水域每年适宜这些鱼类生长的时间(水温15℃以上)仅3~4个月,升温迅速产卵也使幼鱼获得相对长的生长周期,这是鱼类对黑龙江流域水温环境变化剧烈的进化适应。掌握了这些鱼类的繁殖习性,就可以在保持水温稳定或微升的条件下,

进行低温催产,延长幼鱼的生长期。

表 2 施氏鲟不同时期胚胎在低温下的发育时间和成活率

Table 2 Development time and survive ratio of *Acipenser schrencki* embryos in lower temperature

温度 Water temperature (°C)		8~9	10	11	12	13	13~15	17~19
样本数(组)Number of group		4	2	2	2	4	4	8
卵裂期	a	12	12	11	10	9	9	9~8
Cleavage stage	b	100	100	100	100	100	100	100
囊胚原肠期	a	∞	∞	63	51	46	36~33	25~24
Blastula-Gastrula stage	b	86	92	90	88	94	91	93
神经胚期	a	—	—	18	17	15	13~12	12
Neural plate stage	b	0	0	47	84	96	98	98
器官分化期	a	62	58	56	53	51	50~48	48~47
Organogenesis stage	b	90	96	98	96	98	94	98
孵出期	a	∞	∞	∞	∞	18	16~12	10~9
Hatching stage	b	88	86	82	86	98	98	100

a 胚胎发育时间 Embryos development time (h.), b 胚胎成活率(%) Embryos survive ratio

鱼类在繁殖期,性腺成熟的雌鱼体内的 GtH(促性腺激素)含量较高,但抑制 GtH 分泌的 GRIF(促性腺激素释放抑制素)的分泌也是持续不断^[5]。在低温环境中进行施氏鲟的人工催产,可能由于低温的环境信息持续地传递到雌鱼的大脑,使得 GRIF 的分泌不断增强,迫使产排卵行为中断(卵巢前部的卵母细胞脱离滤泡膜游离出来后,后部的卵母细胞不再游离)。所以,必需少量多次注射催产药物,持续的抑制 GRIF 的分泌,才能使产卵行为持续完成。有关这方面的生理机制需要进一步研究。

在较低温度下,施氏鲟囊胚原肠期和孵出期胚胎发育几乎停止,而在这两个时期后面的发育期是对低温比较敏感的神胚期和刚孵出的仔鱼,这是施氏鲟在多变水文环境的胁迫下,通过生存选择形成的进化适应。囊胚原肠期和孵出期在低温中胚胎发育停滞,可以避免胚胎发育进入到容易受低温侵害的神胚期和前期仔鱼,使得繁殖群体有了更多的生存机会。类似情况在滩头雅罗鱼也曾观察到^[3]。掌握了这些鱼类的胚胎发育特性,就可以在水温多变的环境中,合理选择人工催产时间,使得对低温敏感的胚胎发育时期在孵化中避开低温,提高孵化效率。

参考文献

- [1] 孙大江,曲秋芝,马国军,等. 史氏鲟人工养殖研究现状与展望. 中国水产科学,1998,5(3):108~111.
- [2] 张觉民,董崇智. 黑龙江鲟科鱼类资源生物学基础状况的初步调查. 见:张觉民主编,黑龙江省渔业资源. 哈尔滨:黑龙江朝鲜民族出版社,1985.352~389.
- [3] 尹家胜,沈俊宝,栾晓红. 温度对绥芬河滩头雅罗鱼胚胎发育的影响. 生态学报,1992,12(3):232~238.
- [4] 徐伟,白庆利,吴学工. 高寒地区提高鲤鱼人工催产效果的初步探讨. 水产学杂志,1995,8(1):36~39.
- [5] Peter R E. The brain and neurohormones in teleost reproduction. *Fish Physiology*, Vol. IXA, W. S. Hoar and D. J. Randall eds. Academic Press, 1983, 97~135.