

家化暗纹东方鲀全人工繁殖*

吴剑峰^{①②} 华元渝^② 邹宏海^②

(^①江苏省南通师范学校 南通 226006; ^②南京师范大学生命科学学院 南京 210097)

摘要: 在家化环境下对暗纹东方鲀进行全人工繁殖。运用人工调控环境因子和使用适宜的促熟与催产的方法,能诱导雌雄亲鱼性腺发育同步,平均受精率为 80.9%,平均孵化率为 76.3%。在不同温度下胚胎发育速度有明显区别。本研究技术可为全面开展暗纹东方鲀人工繁殖和育苗提供必要的参考。

关键词: 暗纹东方鲀;家化;人工繁殖;胚胎发育

中图分类号: Q958 **文献标识码:** A **文章编号:** 0250-3263(2003)01-59-04

Artificial Breeding Techniques for Captive *Takifugu obscurus*

WU Jian-Feng^{①②} HUA Yuan-Yu^② Zou Hong-Hai^②

(^① Jiangsu Province Nantong Normal School, Nantong 226006;

^② College of Biological Science, Nanjing Normal University, Nanjing 210097, China)

Abstract: *Takifugu obscurus* can be artificially bred under captive conditions. With the control of ecological factors, fish can be induced to spawn synchronously with average rates of fertilization and incubation reaching 80.9% and 76.3% respectively. The rate of embryo development appears to vary under different temperatures. Useful data for developing artificial breeding of *Takifugu obscurus* are presented in this paper.

Key words: *Takifugu obscurus*; Artificial breeding; Embryo development

暗纹东方鲀(*Takifugu obscurus*),隶属于硬骨鱼纲、鲀形目、鲀科、东方鲀属,俗称河豚或河鲀。在我国主要分布于渤海、东海、黄海及通海的江河中下游,为近海与河川底栖鱼类,具生殖洄游习性。暗纹东方鲀是一种经济价值较高的名贵水产品,其肉质细嫩洁白,味道腴美,营养丰富,所含剧毒的河鲀毒素(TTX)具有极高的医疗价值。随着人们对暗纹东方鲀的逐步认识和利用,其身价正日益剧增。由于受到环境恶化和滥渔酷捕等诸多因素的影响,暗纹东方鲀资源急剧下降,尤其在主产地长江中下游一带,野生资源几乎枯竭,天然捕捞量已明显不能满足日益扩大的市场需求,其市场价值也正以惊人的速度在攀升,因此通过人工养殖来缓解市

场供需之间的矛盾,是一条切实可行、势在必行的途径,对保护野生资源和开展高效创汇渔业有着重要的现实意义,也必将给国家、给社会带来巨大的经济效益、社会效益和生态效益。

随着近 10 年来对暗纹东方鲀繁养技术研究不断深入,野生暗纹东方鲀的人工繁殖技术已日趋成熟,并取得令人可喜的成果^[1,2,4,6-8]。而家化暗纹东方鲀是人工驯化养殖的产物,它是指野生暗纹东方鲀繁育的 F₁ 代

* 江苏省科技厅基金资助项目(BE 2001381);

第一作者简介 吴剑峰,男,40岁,高级讲师;研究方向:动物生态和渔业生态;E-mail: jsntwjf@sina.com。

收稿日期:2002-06-02,修回日期:2002-11-18

在人工养殖条件下获得的 F_2 代及其子代,其全人工繁殖技术虽有了一定的进展,但整个过程还处于摸索探讨之中。

全人工繁殖,是指用于人工繁殖的亲鱼,其一生的发育过程包括受精卵、胚胎、仔鱼、稚鱼、幼鱼、成鱼等全部是在人工淡水养殖条件下培育而成的,且仔鱼的开口饵料轮虫也是在人工淡水环境中培养起来的。而半人工繁殖,其用于人工繁殖的亲鱼,是从野生水环境中获得的成熟个体,或是家化的亲鱼在培育期间放入海水环境中进行盐度调控,或模拟野生自然生态环境,采用流水刺激、盐度调节、活饵投喂等生态调控手段来促使其性腺发育,而且是以海水轮虫作为仔鱼的开口饵料^[1-3,7]。因此,家化暗纹东方鲀的全人工繁殖比半人工繁殖难度更大,技术更复杂。

近两年来,“家化暗纹东方鲀全人工繁殖及苗种培育”课题的研究已获成功。现将有关技术总结如下。

1 材料与方 法

1.1 亲鱼的选择

1.1.1 亲鱼来源 本研究用亲鱼来自江苏省南通龙洋水产有限公司,其中雌鱼 3⁺ 龄以上 83 尾,体重为 800~1400 g,雄鱼 2⁺ 龄以上 148 尾,体重为 750~1250 g。亲鱼全部在深井水工厂化养殖条件下培育而成。

1.1.2 选择标准 雌雄鱼体质健壮,体表光滑无伤痕,鳍条完整、无霉烂,游姿正常且对外界刺激反应灵敏。一般发育良好的雌鱼腹部膨大,卵巢轮廓明显,腹部前后均匀一致,泄殖孔

松弛而红润,背部及腹部小刺突出。发育良好的雄鱼轻压腹部有少量精液流出。应剔去腹部过于松弛、泄殖孔很大的雄鱼。雌雄亲鱼的性别判定参照综合指标判别法^[5]。

1.2 亲鱼的促熟与催产

1.2.1 亲鱼的促熟

促熟的方法:按亲鱼性腺发育情况确定促熟时间,促熟时在雌雄亲鱼左胸鳍鳍窝处腹腔注射或埋植鱼用促黄体释放激素类似物(LHRH-A)0.3~0.6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ 。

促熟注射液配制:取所需剂量 LHRH-A 溶于 0.7% 生理盐水中即成,现配现用。每尾鱼注射量为 0.5 ml。

1.2.2 亲鱼的催产

催产亲鱼的选择:雌亲鱼应腹部性腺轮廓明显,较柔软,泄殖孔略扩大,生殖突微红。雄亲鱼应体质健壮,腹部有性腺轮廓,轻轻挤压下腹部,有精液溢出,遇水不散。

催产剂的种类和配制:a. 鲤鱼脑垂体(PG):取所需剂量的 PG 置于干燥的研钵中研成粉末,然后加入 0.7% 的生理盐水,研磨成悬浊液即成,现配现用;b. 鱼用绒毛膜促性腺激素(HCG):取所需剂量的 HCG 溶于 0.7% 的生理盐水即成,现配现用;c. 鱼用促黄体素释放激素类似物(LHRH-A):取所需剂量的鱼用促黄体释放激素类似物溶于 0.7% 的生理盐水即成,现配现用。

催产的方法:左胸鳍鳍窝处腹腔注射催产剂。每尾鱼注射液量为 0.5 ml。催产剂注射方法有两针注射法和三针注射法两种,具体注射方法和剂量见表 1,2。

表 1 两针注射法及剂量

针次	催产激素	剂 量	间隔时间
1	PG + LHRH-A	雌:(1~2.5) mg/kg + (5~10) $\mu\text{g}/\text{kg}$ 雄:减半	
2	PG + LHRH-A + HCG	雌:(1~2.5) mg/kg + (10~20) $\mu\text{g}/\text{kg}$ + (200~300) IU/kg 雄:减半	12~24 h

表 2 三针注射法及剂量

针次	催产激素	剂量	间隔时间
1	PG + LHRH-A	雌: (0.5 ~ 1.5) mg/kg + (2 ~ 3) μ g/kg 雄: 减半	
2	PG + LHRH-A	雌: (1 ~ 2) mg/kg + (3 ~ 5) μ g/kg 雄: 减半	12 h 左右
3	PG + LHRH-A + HCG	雌: (1 ~ 2.5) mg/kg + (10 ~ 15) μ g/kg + (100 ~ 200) IU/kg 雄: 减半	24 h 左右

1.3 人工授精

1.3.1 操作程序 采用半干法授精。捞取待产亲鱼,用一手指堵住泄殖孔,再用干毛巾吸干鱼体表水分。保持鱼头微上斜,泄殖孔朝下,从前向后缓缓推挤腹部,将精、卵挤入已消毒、干燥、洁净、光滑的同一容器内,并用消毒、柔软的羽毛轻匀搅拌 1 ~ 2 min,使精、卵充分混合。然后徐徐加入 0.7% 的生理盐水,直至淹没,同时继续搅拌 1 ~ 2 min。倒去上层浑浊水,换上清水。如此重复用清水洗卵两次到三次,至水清为止,即可移入孵化器中孵化。

1.3.2 操作要求 操作一般需三人密切配合进行,采精、采卵、搅拌,动作应轻柔、同步。用于授精的雌雄比例为 (2 ~ 3):(3 ~ 4) 为宜。人工授精时应避免阳光直射。精、卵混合前,不能与水接触。特别强调的一点是,采卵、采精动作幅度不要太大,以免挤伤肝脏引起内出血,造成亲鱼死亡,这在实际生产中,往往是造成产后亲鱼死亡的重要原因。

1.4 受精卵的人工孵化

1.4.1 孵化条件 使用网箱和孵化桶或孵化缸进行封闭式循环微流水孵化。初次用水应经沉淀、曝气、过滤处理。水中不允许存在枝角类、桡足类浮游动物。孵化适宜水温 19 ~ 24℃,最适水温 21 ~ 23℃。孵化用水封闭循环使用,循环过程中应经消毒、过滤、增氧处理。

1.4.2 孵化要求 家化暗纹东方鲀受精卵的孵化期较长,孵化受多种环境因素的影响,主要包括水温、溶氧、水质、光照、敌害生物等,它们都会影响到孵化率的高低。

将鱼卵缓慢均匀散布于网箱中孵化,网箱水体微流水,溶氧量大于 7 mg/L,待鱼卵粘性消失后,将发育正常的受精卵转移到孵化桶或孵

化缸中,水流大小以卵粒恰能被冲起并均匀分布为宜。密度为每立方米水体放卵 $1.0 \times 10^5 \sim 1.2 \times 10^5$ 粒。孵化过程中禁止阳光直射。如出现霉卵,应水洗淘出霉卵。当孵化水温升至 24 ~ 25℃ 时,可预防霉卵的发生。这里不提倡用孔雀石绿、二氧化氯、青霉素等消毒杀菌,以确保产品的无公害性。孵化过程中应密切注意观察胚胎发育情况,一般每 2 h 镜检观察一次。

2 结果与讨论

2.1 亲鱼的雌雄判定 由于家化暗纹东方鲀是在深井水工厂化人工养殖条件下培育而成的,因此其体纹和体态指标与野生种类有显著差异,完全采用综合指标判别法^[5]不能快速准确地进行性别判定。作者经过多次反复的试验,认为从亲鱼的外观和游泳行为两方面就可以进行雌雄判别(表 3),准确率可达 96% 以上。

表 3 家化暗纹东方鲀雌雄性别判定

鉴别特征	雌性	雄性
外观	背鳍基部平滑,黑斑宽短。背鳍前方横纹间距略相等。腹部两侧膨大。体侧轮廓略呈“S”形,触摸腹部可明显感到柔软的卵巢,且有左大右小的感觉。	背鳍基部略下凹,基部黑斑窄长。背鳍前方横纹间距不等。体形自然狭直,触摸腹部明显感到有发硬的精巢,无不对称感觉。
游泳行为	游动速度较慢,比较安静。游动时,胸鳍张开与体轴形成的角度小,且摆动轻柔平缓。	游动速度较快,稍显活泼。游动时,胸鳍张开与体轴形成的角度大,几乎垂直,除水平摆动外,还伴有上下抖动,似涡轮状。

2.2 催产亲鱼成熟度鉴别 催产剂剂量的选择直接影响人工繁殖的结果。剂量掌握不好,无法达到满意的催产效果,过大,会导致精、卵

过熟甚至亲鱼死亡;过小,难以实现亲鱼精、卵细胞由Ⅳ期末向Ⅴ期迅速转化。因此,注射最后一针催产剂后,应注意观察亲鱼行为,如出现长时间伏于池底,或游动迟缓,反应迟钝,则开始检查亲鱼成熟度。

临产雄亲鱼,轻轻挤压腹部精巢部位,泄殖孔有乳白色精液溢出,精液遇水即散。

临产雌亲鱼,腹部柔软,泄殖孔松开、生殖突红肿,用手挤压腹部,卵粒游离外胀至泄殖孔。取卵粒放入卵球透明液(透明液配制:无水乙醇 85%、福尔马林 10%、冰乙酸 5%) 2~3 min 后逆光肉眼观察卵的形态,卵粒应晶莹透亮,外形正规,大小均匀,80%~90%卵核偏位。

2.3 亲鱼的产后护理 产后亲鱼因消耗能量较多,受人为的机械刺激和损伤较大,体质虚弱,所以应加强产后的护理。应及时注射消炎针,青霉素注射剂量为 5~15 万 U/kg。产后亲鱼应分池养殖,培育池应弱光,水深 1.5 m,微

流水,溶氧量大于 8 mg/L,并保持环境安静。护理期间,应增投鲜活饵料,及时补充营养,促使产后亲鱼尽快恢复。

2.4 人工授精与人工孵化的结果 经促熟最后用于催产的亲鱼共有 57 组,按性腺发育程度的不同分 4 批次进行,共获卵 680 万粒,其中受精卵 550 万粒,出苗 420 万。平均受精率为 80.9%,平均孵化率为 76.3%。

2.5 胚胎发育 家化暗纹东方鲀的卵为弱粘性卵,遇水后 5~10 min 产生粘性,50 h 左右粘性消失。成熟卵的卵径 1.118~1.274 mm,圆球形,卵黄均匀,呈淡柠檬黄色,具油球 280~390 个,球径 0.026~0.078 mm。卵受精后 10~20 min 出现 0.026~0.052 mm 的卵周隙。在孵化水温 18~20℃ 条件下,孵化时间为 6~8 d。通过对 4 批次胚胎发育的观察,发现不同水温下家化暗纹东方鲀胚胎发育的速度是不同的(表 4)。初孵仔鱼到卵黄囊全部吸收约 6 d。

表 4 不同温度下家化暗纹东方鲀胚胎发育速度比较

发育阶段	时 间(h)				
	16℃	18℃	20℃	22℃	24℃
胚盘期	2.25 ± 0.04	2.00 ± 0.03	1.92 ± 0.03	1.67 ± 0.01	1.50 ± 0.03
囊胚早期	19.17 ± 0.35	18.00 ± 0.30	16.17 ± 0.31	15.83 ± 0.30	15.33 ± 0.35
原肠早期	28.83 ± 0.47	27.50 ± 0.42	25.17 ± 0.39	23.50 ± 0.39	22.17 ± 0.41
神经胚期	38.17 ± 0.58	36.83 ± 0.57	34.67 ± 0.51	30.17 ± 0.47	27.83 ± 0.46
肌肉效应期	85.17 ± 4.78	78.33 ± 4.37	73.67 ± 3.61	67.50 ± 3.76	62.67 ± 4.02
心脏搏动期	163.33 ± 15.62	112.67 ± 17.14	93.17 ± 16.98	78.67 ± 17.02	70.50 ± 16.39
出膜期	239.17 ± 24.13	193.50 ± 22.75	154.33 ± 21.21	120.83 ± 23.16	96.67 ± 20.14

2.6 胚后管理 鱼苗脱膜 24 h 后,将先期孵出的鱼苗分离至另一孵化桶,孵化桶保持微流水,微充气 5~10 min,并开始饲喂轮虫或鸡蛋黄,轮虫、蛋黄都要用 200 目筛绢过滤方可使用。

整个胚后发育阶段,应保持生态条件稳定,溶氧量保持在 8~9 mg/L,水温 20~24℃,弱光照(500~1 000 lx),待鱼苗卵黄囊基本消失,鱼鳔显现,具巡游能力,即可进入鱼苗培育阶段。

参 考 文 献

[1] 孙灵毅.红鳍东方鲀的人工繁殖和生长环境的试验.齐鲁渔业,1992(1):34~35.

[2] 曲维功,王兴智,孙灵毅.红鳍东方鲀人工育苗试验.水产科学,1993,12(6):8~11.

[3] 刘筠.中国养殖鱼类繁殖生理学.北京:农业出版社,1993.

[4] 胡亚丽,华元渝.暗纹东方鲀胚胎发育的观察.南京师大学报(自然科学版),1995,18(4):139~144.

[5] 华元渝,扬州.暗纹东方鲀生殖期两性判别的研究.水产学报,1996,20(3):209~215.

[6] 鲍传和,韦众,彭镇华.暗纹东方鲀人工催产研究.安徽农业科学,1998,26(1):82~83.

[7] 华元渝,扬州,陈亚芬等.暗纹东方鲀生殖洄游期性腺发育特点及人工繁殖的研究.淡水渔业,1999,29(4):3~7.

[8] 胡亚丽.暗纹东方鲀的人工养殖技术.中国水产,2000(6):34~37.