

六斑刺鲀受精卵的孵化技术

岳彦峰*, 苏志星, 彭士明, 王孝杉, 吕小康

中国水产科学研究院东海水产研究所, 上海

收稿日期: 2021年12月23日; 录用日期: 2022年2月22日; 发布日期: 2022年3月1日

摘要

六斑刺鲀作为一种具有重要开发潜力的品种, 受精卵的孵化是影响其人工繁殖成败的关键因素之一, 孵化率的高低直接影响着后期苗种的培育及扩繁。本研究针对这一技术问题, 经过反复摸索研究, 设计适宜的孵化设施及孵化方法, 大大提高了六斑刺鲀受精卵的孵化率, 为今后工厂化养殖提供一定的技术支持。

关键词

六斑刺鲀, 受精卵, 孵化技术

The Incubation Technology of Fertilized Eggs of *Diodon holocanthus*

Yanfeng Yue*, Zhixing Su, Shiming Peng, Xiaoshan Wang, Xiaokang Lv

East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai

Received: Dec. 23rd, 2021; accepted: Feb. 22nd, 2022; published: Mar. 1st, 2022

Abstract

As a kind of *Diodon holocanthus* with important development potential, the hatching of fertilized eggs is one of the key factors affecting the success or failure of artificial reproduction, and the hatching rate directly affects the cultivation and propagation of later seedlings. This study aimed at this technical problem, through repeated exploration and research, designed suitable incubation facilities and incubation methods, greatly improved the hatching rate of fertilized eggs of

*第一作者。

Diodon holocanthus, and provided certain technical support for the future factory breeding.

Keywords

Diodon holocanthus, Fertilized Egg, Incubation Technique

Copyright © 2022 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

六斑刺鲀(*Diodon holocanthus*)为硬骨鱼纲(Osteichthyes), 辐鳍鱼亚纲(Actinopterygii), 鲀形目(Tetraodontiformes), 二齿鲀科(Diodontidae)中的一种鱼类, 俗名气瓜仔、刺规等[1] [2]。其分布广泛, 亚热带至热带海域均有分布。喜独居生活, 幼鱼则行漂游性生活。主要栖息于浅海礁石区、软质底海域或开放性水域, 属海洋性底层鱼类。同时, 六斑刺鲀由于形态呆萌, 性情温和, 游速缓慢, 人工繁育的六斑刺鲀更易亲近人类, 在观赏鱼市场中也具有较高的关注度[3] [4]。

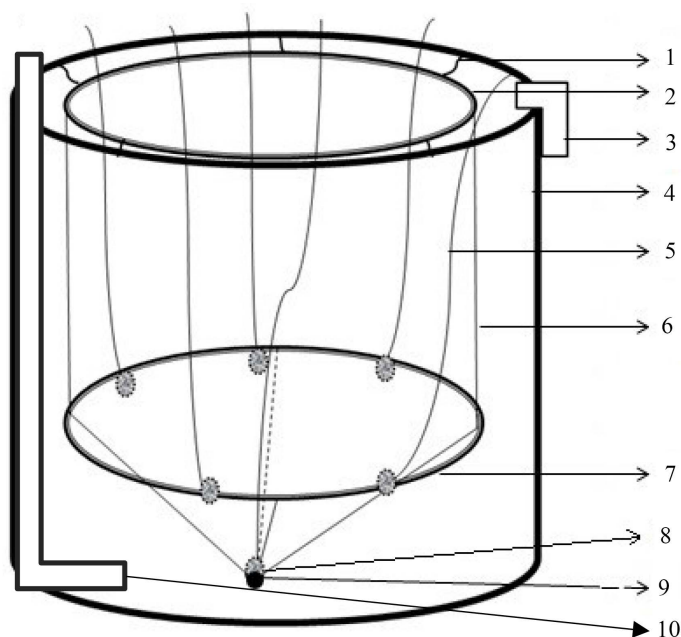
六斑刺鲀作为一种具有重要开发潜力的品种, 目前其来源基本仍是海上捕捞, 由于六斑刺鲀具有明显的季节性独居生态特性, 导致其渔获量不高, 加之过度捕捞致使六斑刺鲀野生资源受到破坏[5] [6], 自然资源量也随着过度捕捞呈锐减趋势, 导致食用市场和观赏鱼市场都供不应求。目前六斑刺鲀人工繁育技术虽已被突破[7], 但受精卵的孵化条件和孵化管理存在缺陷, 最终导致受精卵的孵化率偏低, 严重影响苗种培育的最终产量。为找出适宜的孵化方法, 本研究针对六斑刺鲀受精卵的特性, 设计不同与常规鱼类受精卵的孵化设备, 并改进孵化方法, 最终得出能有效提高六斑刺鲀受精卵孵化率的孵化方式, 完善苗种培育流程, 为后期工厂化育苗提供参考资料。

2. 材料与方法

六斑刺鲀来自海南省潭门港, 捕自南海东沙群岛海域。收购时挑选体表无伤、鳍条完整, 应激状态下能迅速潜逃、举刺或鼓气的个体, 平均体长 23.3 ± 1.0 cm、平均体重 858.0 ± 98.1 g。运回实验基地后先用 2 ppm 甲醛的淡水浸泡 10 min, 再放入 2 口 32 m^3 水体的水泥池中进行 5 d 的适应性暂养[8]。暂养水温 $28^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$, 盐度 33.0 ± 0.5 , pH 8.2~8.3, 24 h 不间断充气, 采用黑暗沉淀加沙滤的同温同盐洁净海水, 每天更换 400% 洁净海水的方式保持水质稳定[9] [10]。

(一) 孵化设施设计

实验分为 A 组和 B 组。A 组的孵化设施由直径 2.5 m、深 1.5 m 的圆形水泥池和直径 2 m、高度 1.2 m 的 40 目筛绢网做成的孵化网箱组成, 孵化网箱放置于圆形水泥池的中间。孵化网箱上半部为直径 2 m, 高度 1 m 的圆柱形, 下半部为直径 2 m, 高 0.2 m 的圆锥形, 圆锥形底部设有铅坠。孵化设备结构图见图 1。上、下均用 2 mm 不锈钢丝围绕成直径为 2 m 的园环, 与四周与孵化网箱绑在一起, 支撑整个孵化网箱, 上不锈钢园环再用绳索固定于孵化水泥池边缘。在孵化网箱内布置 6 个充气的气石, 其中 5 个沿下不锈钢园环均匀分布, 另 1 个气石布于孵化网箱中央最底部。孵化网箱最底部距离圆形水泥池底部约 10 cm。采用底部进水, 上层溢水的方式保持水的流动。B 组的孵化桶采用传统的上口直径 0.8 m、高度 0.6 m 的锥形孵化桶, 内壁颜色为黑色, 充气头置于桶底部。采用上层中央进水、桶四周溢水的方式保持水的流动。



注: 1. 绳索连接件, 2. 上圆环, 3. 排水口, 4. 孵化池, 5. 充气管, 6. 孵化网箱, 7. 下圆环, 8. 充气石, 9. 坠物, 10. 进水口
 Note: 1. Rope fitting; 2. Top Circle; 3. Drain; 4. Hatchery; 5. Inflator Tube; 6. Hatchling cage; 7. Lower Circle; 8. Inflatable Rock; 9. The pendant; 10. Water Inlet

Figure 1. Schematic diagram of an improved incubation facility

图 1. 改进的孵化设施示意图

(二) 孵化方法

将 A 组和 B 组的孵化设备均用 10 ppm 的次氯酸钠消毒, 再用同等量的硫代硫酸钠中和, 曝气 24 h 后, 加 0.5 ppm 的 EDTA, 持续充气 12 h 后备用。经驯养强化培育后即对六斑刺鲃进行催产, 采用绒毛膜促性腺激素(HCG) + 促黄体素释放激素类似物-A2 (LRH-A2), 每公斤鱼的催产剂量为: 600 国际单位的 HCG + 10 μg 的 LRH-A2, 催产时效 40 h [11] [12] [13], 之后六斑刺鲃会在晚上自然产卵, 次日凌晨用 40 目的筛绢抄网收集浮在水面上的受精卵。将收集到的受精卵用干净海水反复漂洗去除杂质以及沈底的死卵, 将洗净的受精卵放置在海海水桶中, 加 1 ppm 的甲醛杀菌消毒 10 min, 杀菌期间保持连续充气。随后用 40 目的抄网捞捞出, 再用干净海水冲洗 1、2 次, 放入已准备好的孵化设施内 A 组和 B 组孵化设备中, 二组的受精卵密度均为 8000~10,000 粒/m³, 孵化期间持续充气, 微流水, 使每 d 换水量达到 200%~300%。孵化盐度 30~32, 温度 28.5℃~29.5℃, pH 8.0~8.3, 溶氧保持在>6 mg/L, 每天观察胚胎发育情况和孵化出膜后初孵仔鱼形态特征并做记录, 观察孵化率、初孵仔鱼全长、畸形率、卵黄囊容积和油球个数。

3. 数据处理

所得数据用 SPSS13 软件处理。对不同实验方法取得的结果进行单因素方差分析。当显著差异($p < 0.05$)时采用 Duncan 多重比较; 用 t 检测检验二种孵化设备的孵化结果; 用 Excel 进行图形处理。

4. 结果

两种孵化条件下六斑刺鲃胚胎的孵化结果见表 1。实验组 A 和对照组 B 的孵化时间在相同水温等环

境条件下, 首尾初孵仔鱼所需的孵化时间分别为 172 h 和 173 h。50% 胚胎孵出所需的时间都是 180 h。2 组的初孵仔鱼全长、卵黄囊容积(包括油球容积)均无显著性差异($p > 0.05$)。而孵化率及初孵仔鱼的油球数和孵出后的畸形率在 2 种孵化条件下差异显著($p < 0.05$)。

Table 1. Hatching rate, malformation rate and morphological characteristics of newly hatched larvae under different hatching methods

表 1. 不同孵化方法条件下孵化率、畸形率和初孵仔鱼的形态特征

实验组别 Experimental Group	孵化率 Hatching rate/%	畸形率 deformity rate/%	初孵仔鱼全长 hatchling length /cm	卵黄囊容积 yolk sac volume /mm ³	油球数 number of oil balls/one
A	65.4 ± 11.2	10.0 ± 6.7*	2.3 ± 0.2	221.7 ± 14.5	9.5 ± 2.6
B	53.1 ± 10.8*	16.7 ± 3.4	2.2 ± 0.2	211.4 ± 16.3	3.4 ± 1.3*

注: 数据上标*表示同列数据差异显著($p < 0.05$)。

5. 小结

海水鱼类受精卵的孵化技术是影响其人工繁殖成败的关键因素之一, 孵化率的高低直接影响着后期苗种的培育[14]。鲉形目中多部分种类的受精卵多为粘性卵, 如, 东方鲀属中的菊黄东方鲀(*Fugu flavidus*)、星点东方鲀(*Takifugu niphobles*), 马面鲀属中的绿鳍马面鲀(*Thamnaconus septentrionalis*) 等[15] [16] [17] [18], 而刺鲀属中的六斑刺鲀受精卵则为浮性卵, 受精卵径也较鲉形目中其他种类要大[19], 平均达到 1.8 mm。若在孵化过程中未能使胚胎分离导致重叠, 就很容易使堆积在一起的胚胎造成缺氧而致死, 导致孵化率降低。从本实验的 2 种孵化设施看, 在相同水温、相同密度等环境条件下, 首尾初孵仔鱼所需的孵化时间和 50% 胚胎孵出所需的时间均差异不显著, 初孵仔鱼全长和卵黄囊容积也无显著性差异($p > 0.05$), 可以说明在此孵化环境条件下对孵化时间无显著影响, 孵化过程中胚胎的耗能也差异不显著。鉴于实验组和对照组的胚胎取自同一批次的受精卵, 但实验组初孵仔鱼的畸形率显著低于对照组, 初孵仔鱼的油球数也明显少于对照组。分析导致差异显著的原因可能是, 实验组底部 6 个充气头能保证水的流动更加充分, 确保了孵化网箱中无死角, 胚胎不被重叠堆积。对照组虽然也采用了底部进水上口溢水的流水方式, 并在桶底部置有 1 个充气头, 但不能保证孵化的所有时间段内胚胎不重叠。推测重叠的胚胎可能导致局部缺氧使发育滞缓, 最终影响到孵化容器内的胚胎孵化率。

基金项目

中央级公益性科研院所基本科研业务费(2189-2018)。

参考文献

- [1] 陈国宝, 李永振, 陈新军. 南海主要珊瑚礁水域的鱼类物种多样性研究[J]. 生物多样性, 2007, 15(4): 373-381.
- [2] Douglas, R., et al. (2008) The Role of Phospholipids in Nutrition and Metabolism of Teleost Fish. *Aquaculture*, **280**, 21-34. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2008.04.034>
- [3] Folleesa, M.C., Mulas, A., Porcu, C., et al. (2009) First Record of *Chilomycterus reticulatus* (Osteichthyes: Diodontidae) in the Mediterranean Sea. *Journal of Fish Biology*, **74**, 1677-1681. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2009.02229.x>
- [4] Fores, R., Iglesias, J., Olmedol, M. and Sanchez, F.J. (1990) Induction of Spawning in Turbot (*Scophthalmus maximus* L.) by a Sudden Change in the Photoperiod. *Aquacultural Engineering*, **9**, 357-366. [https://doi.org/10.1016/0144-8609\(90\)90026-V](https://doi.org/10.1016/0144-8609(90)90026-V)
- [5] Hiroyuki, D., Yutaro, Z., Hiroshi, T., et al. (2015) Hybridization of Burrfish between *Chilomycterus antillarum* and *Chilomycterus schoepfii* in Captivity Revealed by AFLP and mtDNA Sequence Analyses. *Ichthyological Research*, **62**,

- 516-518. <https://doi.org/10.1007/s10228-015-0460-0>
- [6] Izquierdoo, M.S., Fernandez Palacios, H. and Tacon, A.G.J. (2001) Effect of Broodstock Nutrition on Reproductive Performance of Fish. *Aquaculture*, **197**, 25-42. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00581-6](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00581-6)
- [7] 岳彦峰, 彭士明, 张晨捷, 等. 六斑刺鲃人工育苗技术研究[J]. 渔业信息与战略, 2017, 32(4): 290-294.
- [8] 刘悦, 木云雷, 王鉴, 等. 野生牙鲆亲鱼摄食驯化技术[J]. 水产科学, 1999, 18(3): 30-32.
- [9] 柳学周, 孙中之, 马爱军, 等. 半滑舌鳎亲鱼培育及采卵技术研究[J]. 海洋水产研究, 2006, 27(2): 25-32.
- [10] 孟振, 刘新富, 雷霖霖. 略论我国海水鱼类苗种繁育和种质改良的研究[J]. 渔业信息与战略, 2012, 27(3): 224-231.
- [11] 邵彦翔, 陈超, 李炎璐, 等. 温度调控及不同营养强化剂对云纹石斑鱼亲鱼血清性激素水平的影响[J]. 水产养殖, 2018, 39(4): 26-30.
- [12] Rainuzzo, J., Reitan, K. and Braun, A. (1997) The Significance of Lipids at Early Stages of Marine Fish: A Review. *Aquaculture*, **155**, 103-115. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00121-X](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00121-X)
- [13] 孙朝微, 姜秀凤, 张红涛, 等. 星点东方鲀胚胎发育的观察[J]. 海洋渔业, 2019, 41(1): 65-72.
- [14] 王波, 王宗兴, 范士亮, 等. 绿鳍马面纯胚胎和仔鱼早期发育的初步观测[J]. 水产科技情报, 2011, 38(1): 10-13.
- [15] 杨程, 岳彦峰, 彭士明, 等. 温度和盐度对六斑刺鲃受精卵孵化的影响[J]. 水产研究, 2019, 6(3): 103-109.
- [16] Kanazwa, A. (1997) Effects of Docosahexaenoic Acid and Phospholipids on Stress Tolerance of Fish. *Aquaculture*, **155**, 129-134. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(97\)00123-3](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(97)00123-3)
- [17] 郑惠东, 钟建兴, 蔡良侯, 等. 菊黄东方纯胚胎及仔稚幼鱼的发育[J]. 台湾海峡, 2007, 26(1): 108-114.
- [18] Zhang, Y., Doroshov, S. and Famula, T. (2011) Egg Quality and Plasma Testosterone (T) and Estradiol-17 β (E2) in White Sturgeon *Acipenser transmontanus* Farmed for Caviar. *Journal of Applied Ichthyology*, **27**, 558-564. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2011.01694.x>
- [19] 岳彦峰, 苏志星, 彭士明, 等. 野生六斑刺鲃的人工驯养技术[J]. 中国水产, 2021(3): 80-81.