

超声波对鱼卵孵化影响的研究*

谢瑞生 章之蓉

(中国科学院南海海洋所, 广州 510301)

张德俊 程建政 夏献华

(中国科学院武汉物理所, 武汉 430071)

1991年5月11日收到

摘要 研究了一定频率与强度的超声波对金鱼 (*Carassius auratus*) 和大鳞副泥鳅 (*Paramisgurnus dabryanus* (Sauvage)) 受精卵孵化的刺激作用, 结果表明超声可以促进受精卵的发育, 使胚体提前出膜, 时间集中, 并且仔鱼初期饲养成活率高。可以提高较低水温下的大鳞副泥鳅受精卵的孵化率, 达 50%。

Influences of ultrasound on the hatching of the fish eggs

XIE Ruisheng and ZHANG Zhirong

(South China Institute of Oceanology, Academia Sinica)

ZHANG Dejun, CHENG Jianzheng and XIAXianhua

(Wuhan Institute of Physics, Academia Sinica)

Received May 11, 1991

Abstract We investigated the stimulation effects of ultrasonic waves on the hatching of *Carassius auratus* and *Paramisgurnus dabryanus* (Sauvage) zygotes. The results showed that the ultrasound with certain frequencies and intensities can promote the development of zygotes, induce the embryos to break membrane earlier with a definite period, and increase the survival rate of larvae. And it can increase 50% hatching rate of *Paramisgurnus dabryanus* (sauvage) zygotes in lower temperature.

一、引 言

超声波对生物体活组织具有相当的穿透力, 生物活组织能够吸收透入到它内部的超声波的高频机械振动能量而产生各种效应。我们研究了在超声波刺激下金鱼 (*Carassius auratus*) 和大鳞副泥鳅 (*Paramisgurnus dabryanus* (Sauvage)) 受精卵胚胎的发育。超声波对生物体的作用在陆生植物和陆生动物中研究得较多, 对水生生物特别是对鱼类的受精卵的影响研究

* 国家自然科学基金资助项目。

较少. 我们的实验表明, 在同样的孵化条件下, 适宜的超声波是可能对鱼类的受精卵产生积极的影响: 缩短孵化时间, 提高孵化率和仔鱼成活率, 并具有一定的抗低温能力.

二、实验方法

1. 金鱼

将受精卵随机分为五组, 其一为对照组 (1[#]), 各组的投卵量均为 300 枚, (去除未受精的死卵). 超声波的频率为 1 MHz, 换能器的电压值为 30 V, 实验组超声波处理时间分别为 1 min (2[#]), 3 min (3[#]), 8 min (4[#]), 35 min (5[#]). 在整个孵化期水温随室温而变化, 前五天水温较低, 16.5—17.5℃, 第六天下午为 20℃. 首次处理时间距产卵时间约 2 小时, 显微镜观察受精卵的发育期约为 2—4 细胞期. 每天 9:00, 15:00, 21:00 各处理一次.

2. 大鳞副泥鳅

将受精卵随机分为 10 组, 二组为对照组, 四组为 2 MHz, 四组为 1 MHz. 处理时间与编号序列与金鱼相同. 孵化期水温为 21.5—17℃. 采取人工授精, 受精后半小时即进行超声波处理. 显微镜观察受精卵开始卵裂进入 2 细胞期.

3. 低温孵化大鳞副泥鳅

超声波为 2 MHz, 换能器的电压值分为二档、I: 50 V、II: 150 V. 为便于掌握受精卵的发育时期采用人工授精. 每天处理三次 (同上), 每次 20 分钟. 为保持整个孵化期的温度稳定, 所有样品均放入到生化培养箱内, 控制水温为 13.5℃ (正常孵化温度为 20—28℃). 为减少实验偏差, 每个实验组包括对照组均平行设三个样品. 每个样品均投卵 300 枚 (剔除死卵). 为避免在超声处理时样品盒外的水体温度对盒内水体温度的影响, 实验是在大水槽中进行的. 样品盒中的水体每天换一次, 以保证水质的清新.

4. 仔鱼成活率

对孵化后的金鱼仔鱼 1[#], 4[#] 和 5[#] 各取健康活泼的仔鱼进行单独饲养, 以观察其成活率.

三、结 果

1. 金鱼·见表 1. 5[#] 始出膜时间要比对照组 1[#] 提前 23 小时, 几乎整整一天. 其他组至少也要提前 7 个小时. 整个孵出时间大大缩短且集中, 如 5[#] 仅需 23 小时就全部出膜, 对照组则历时 48 小时后仍有 54 枚未孵化, 占总投卵数的 18%.

2. 大鳞副泥鳅·见表 2、3. 超声波的频率分别为 1 MHz 和 2 MHz, 1 MHz 实验组 5[#] 的始出膜时间约比对照组提前 9.5 小时; 2 MHz 实验组 5[#] 的始出膜时间比对照组提前 2 小时. 其总孵化率 2 MHz 组要比 1 MHz 略好.

由上述实验可以看到不同的鱼种由于生活习性不同, 对超声波的敏感性要有所不同, 似乎金鱼卵的敏感性要高于大鳞副泥鳅. 总体效果基本相似, 实验组均比对照组为好, 长时间处理比短时间处理组好.

3. 低温孵化大鳞副泥鳅·见表 4. 所列数值为三个平行样品的平均值. 可以看到超声波处理的受精卵孵化率要比对照组增加约 50%. 孵化的高峰时间约要比对照组提前 12 小时.

表 1 超声波对金鱼受精卵孵化的影响

 $f:1\text{MHz}$ $t:16.5-20^{\circ}\text{C}$

序 号	处理时间 (分钟)	始出膜 时间 (小时)	比对照组 提前 (小时)	高峰出膜 时间 (小时)	全部出膜 时间 (小时)	历时 (小时)	比对照组 缩短 (小时)	高峰出膜 孵化率 (%)	未孵化率 (%)
1	0	103		121	超过 151	>48		38	18
2	1	94	9	103	132	38	>10	45	0
3	3	96	7	109	135	39	>9	37	0
4	8	94	9	103	132	38	>10	43	0
5	35	80	23	98	103	23	>25	59	0

表 2 超声波对大鳞副泥鳅受精卵孵化的影响

 $f:1\text{MHz}$ $t:21.5-17^{\circ}\text{C}$

序 号	处理时间 (分钟)	始出膜时间 (小时)	52 小时孵化率 (%)	52 小时未孵化率 (%)	比对照组提前 (小时)
1	0	44	82.4	17.6	
2	1		82.5	17.5	
3	3		96.1	3.9	
4	8		89.8	10.2	
5	35	34.5	96.6	3.4	9.5

表 3 超声波对大鳞副泥鳅受精卵孵化的影响

 $f:2\text{MHz}$ $t:21.5-17^{\circ}\text{C}$

序 号	处理时间 (分钟)	始出膜时间 (小时)	52 小时孵化率 (%)	52 小时未孵化率 (%)	比对照组提前 (小时)
1	0	44	84.4	15.6	
2	1		91.9	8.1	
3	3		97.0	3.0	
4	8		100	0	
5	35	41.5	100	0	2.5

表 4 在较低温时超声波对大鳞副泥鳅受精卵孵化的影响

 $f:2\text{MHz}$ $t:13.5^{\circ}\text{C}$

实 验 组	投卵量 (枚)	孵化率 (%)	死亡率 (%)	各处理时间之孵化率(%)					
				71 小时	85 小时	95 小时	107 小时	119 小时	124 小时
功率 I	300	75	25	7	12	22	22	12	—
功率 II	300	77	23	7	9	18.5	29.5	12	—
对照组	300	52	48	0.5	3	6	13.5	13.5	15.5

处理的始出膜时间为 59 小时,对照组为 72 小时,两者相差 13 小时。

4. 仔鱼的成活率。经 15 天培育期的观察,累计 1[#](对照组)死亡 13 尾,占 26%; 4[#]死亡 4 尾,占 8%; 5[#]死亡 1 尾,占 2%。

四、讨 论

1. 我们的实验研究表明一定频率一定强度的超声波处理可以促进鱼受精卵胚胎的发育,它与频率,处理时间、功率强度有很大的关系。各实验的 5[#] 处理时间均为 35 min,显然要比其他组(2[#]、3[#]、4[#])孵化所需的时间短,而且集中。这些变化说明受精卵能够吸收超声波的高频振动能量,将其转化的胚胎发育的能量。胚胎卵裂速度固然是首先受到受精卵本身因素所制约,而外界环境的影响也是相当巨大的。环境条件的稍许变化就能影响胚胎的发育,实验证明只要环境的变化是在适宜的范围内,这种影响可以是积极的,当环境的变化超出了这个范围,卵裂就会受到扰乱,甚至完全停止乃至死亡。在实验中曾看到一旦在处理的区域内有空化,那么该次处理结束后,镜检即会看到受精卵原先清晰的胚体消失了,卵膜内呈现为一团絮状物,受精卵死亡了(见图 1)。

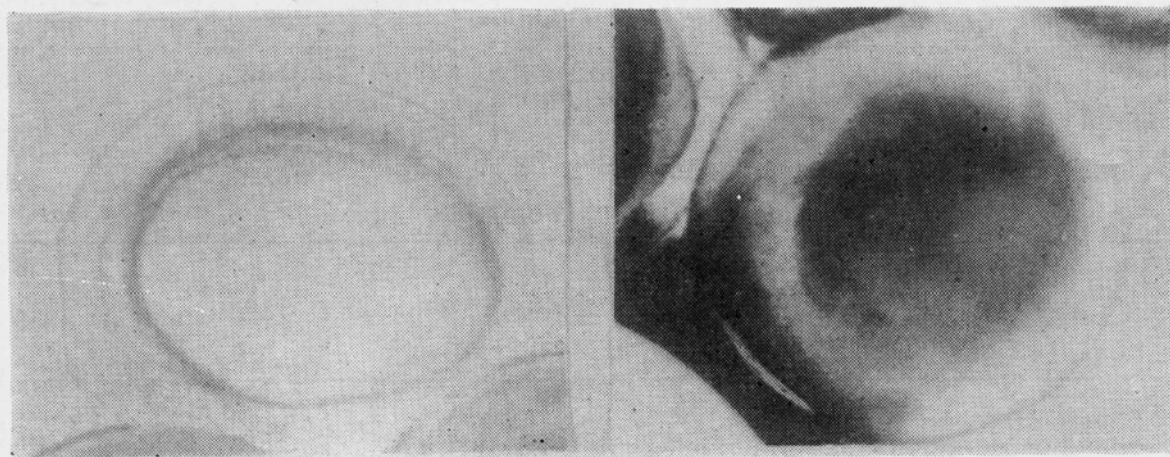


图 1 不同功率超声对大鳞副泥鳅受精卵的作用
(a) 正常发育的受精卵 (b) 处于有空化区域的受精卵、原表的清晰胚体变成了一团絮状物、受精卵死了。

2. 在实验中我们看到,在受精卵发育的后期从嗅窝期开始胚体在膜内搏动并不断的增强超声波的刺激使这种搏动加强得很快。由表 1 可见,金鱼仔鱼在高峰出膜时间(统计时间为第 98 小时)其总出膜率占 59%。其过程大致是:在第 96 小时开始进行超声处理,胚体转动加速,大约在 10 min 时仔鱼开始大量出膜,出膜后即游离超声处理区吸附在小盒周边。在处理结束时(35 min)共计有 118 尾仔鱼出膜,至第 98 小时再有 52 尾仔鱼出膜。图 2 是正在处理时金鱼仔鱼出膜时的情况,在超声波的刺激下,有相当数量成熟的但未能出膜的胚体在卵膜内强烈的搏动、旋转,瞬间出膜。鱼类受精卵发育的晚期胚胎经常在卵膜内翻转,有利于卵黄周围液体的流动,各种物质的扩散,从而改善各种交换条件,加速卵膜的新陈代谢。胚体在卵膜内的运动又促进了已变弱了的卵膜破裂,使孵化加快¹⁾。卵膜变弱是孵化酶作用的结果。孵化酶是由孵化腺产生的,它位于内胚层或外胚层的单细胞表皮腺,呈圆形或椭圆形。细胞内含有一个核和许多分泌颗粒,它的分泌和活动受到外界因素很大的影响。在即将孵化的胚胎中,孵化腺的发育至最高度,例如金鱼的胚胎在即将孵化时的孵化腺数目可达到 700—800 个,它分布在头部前下方、躯干两侧以及卵黄囊上。文献[2]在谈到流水与静水对孵化中华鲟的影响

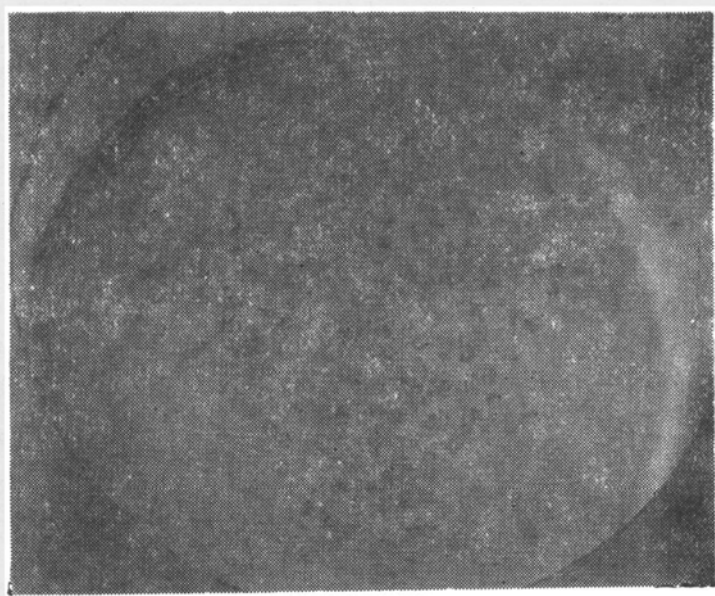


图2 受到超声波的刺激,仔鱼脱膜之情景

时,强调流水能促进鲟鱼胚胎分泌孵化酶因而有助于仔鱼的出膜。在我们的实验中已经看到超声波的刺激确实使得胚体在卵膜翻转的频率上和强度上都增加了,特别是在胚胎发育的末期,这种刺激很快的促使卵膜完全崩溃,仔鱼就破膜而出了。

3. 在正常的情况下,鱼类受精卵孵化除受内在质量制约外,环境因素中最重要的就是水温。金鱼受精卵孵化期平均水温³⁾在 20℃时为 4—5 天,在 20—25℃时为 3 天,15—20℃时为 5—7 天。大鳞副泥鳅受精卵孵化期在 18℃时为 70 小时,20—21℃时为 50 小时,24—25℃时为 30—35℃小时,27—28℃时为 25—30 小时。孵化在 18—31℃都可能,适宜水温为 20—28℃。最适宜水温为 25℃^[4,5]。在适宜的水温下管理得好,孵化率可达 70%。我们的实验是在 13.5℃的水温下进行的,结果表明在这个温度下的孵化率是大大降低,但超声处理组的孵化率仍可维持在 70%以上,不仅前期的孵化率要比对照组高,且孵化高峰时的孵化率也要高得多。



图3 大鳞副泥鳅之受精卵因抵御不住低温的侵袭,胚体内的流质溢出卵膜,胚胎死亡了。

图 3 是在低温时因抵挡不住寒冷的侵袭,胚胎内的流质溢出卵膜外,受精卵死亡了。图 4 和 5. 是大鳞副泥鳅受精卵在不同的时间超声波处理组与对照组因超声波的刺激而呈现出发育上的差异,显然实验组要比对照组发育得快。

4. 在 15 天饲养金鱼仔鱼的过程中,并未发现两者形态有大的差异,仅仅实验组摄食要旺盛些,这可能是与胚胎期超声的作用下胚胎发育得较好之故,成活率高也许与此有关。

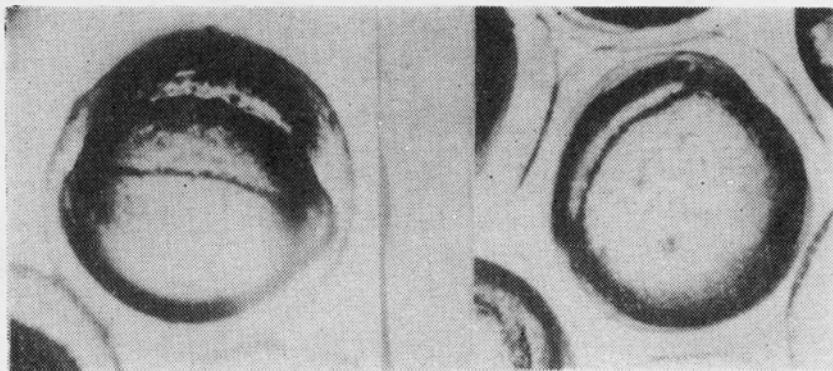


图 4 大鳞副泥鳅受精卵发育之比较

(a) 超声波处理: 眼基出现期. (b) 对照组: 体节出现期.

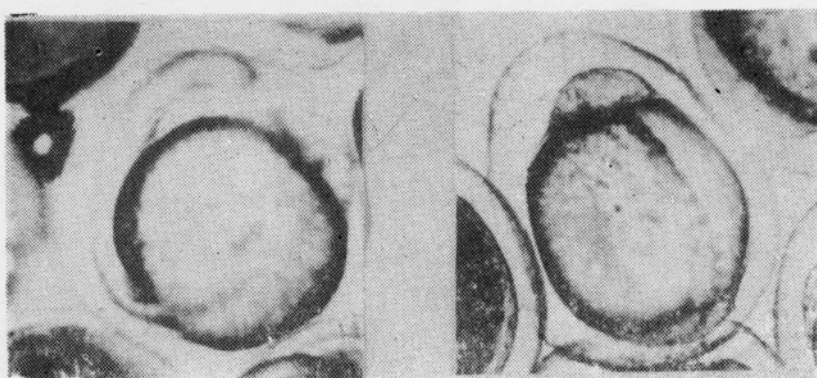


图 5 大鳞副泥鳅受精卵发育之比较

(a) 超声波处理: 出膜前期. (b) 对照组: 耳石期.

参 考 文 献

- [1] 上海水产学院,“组织胚胎学”,农业出版社,1985,323.
- [2] 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”,四川科学技术出版社,1988,140.
- [3] 王占海、史平伟,“金鱼及热带鱼的饲养”,上海科学技术出版社,1985,90.
- [4] 浙江省水产局科技处,“名特水产养殖技术”,43,浙江科学技术出版社,1990.
- [5] 胡保同、周汉书,“淡水珍品养殖技术”,科学普及出版社,1990,126.