

海水中 Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ 含量对黑鲷胚胎及早期仔鱼发育的影响

施兆鸿¹ 黄旭雄² 姜存年³

(¹ 中国水产科学研究院 东海水产研究所 上海 200090)

(² 上海水产大学 200090)

(³ 广东省江门市水产局 529233)

提要 1992~1993年,用不同 Ca^{2+} , Mg^{2+} 和 K^+ 含量的人工配制海水,孵化黑鲷 (*Sparus macrocephalus* Basilewsky) 受精卵,培育前期仔鱼。实验揭示了:在没有 Ca^{2+} 的海水中不能孵出仔鱼,在没有 Mg^{2+} 的海水中能孵出少量畸形仔鱼;低 K^+ 对黑鲷受精卵孵化无明显影响,但对早期仔鱼的影响明显。针对咸淡水域海水鱼类育苗的特点,提出了调配海水中适宜的 $\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$ 为 2.90~3.30 和 Ca^{2+} , Mg^{2+} 绝对量分别为 290~330mg/L 和 870~1 000mg/L。其结果在 1992 年和 1993 年的生产性育苗中得到验证。

关键词 黑鲷, 胚胎, 早期仔鱼, Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+

黑鲷 (*Sparus macrocephalus* Basilewsky), 作为经济海产鱼类,其人工繁殖及生产性育苗早在 60 年代起国内外就作了大量的工作^[1~3,8,9]。环境因子对黑鲷胚胎发育及仔幼鱼生长发育的影响等内容,国内外也已有不少报道^[4,6,9,10]。但咸淡水域地区由于受河流淡水的影响,不仅盐度低,而且水域中一些主要离子含量在不同季节和地区也很不恒定,进行育苗均需配制海水。本试验目的就是观察研究黑鲷在不同 Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ 浓度的配制海水中胚胎发育、仔鱼孵化生长等方面的情况,为在咸淡水域中进行海水鱼类育苗、人工调配海水找出一个适宜的 $\text{Mg}^{2+}/\text{Ca}^{2+}$ 及 Ca^{2+} , Mg^{2+} 绝对量范围。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

实验用的黑鲷受精卵取自中国水产科学研究院东海水产研究所试验场的室内亲鱼池。亲鱼于 4 月 8 日开始产卵,本试验用卵取自 4 月 18 日以后。

1.2 实验条件

盐度 26.0,水浴温控 20℃,pH=7.8~8.4。实验容器为 400ml 烧杯,每杯放约 200 粒受精卵静水孵化。实验平行两组,用 OPTON 解剖镜观察胚胎发育,孵化 48h 后统计孵化、死亡情况。

1.3 Ca^{2+} , Mg^{2+} 对黑鲷胚胎发育的影响

实验用海水参照朱树屏 B 海水配方制成盐度为 26.0 左右的全人工海水。在此基础上调整

收稿日期:1994 年 9 月 19 日

Ca²⁺, Mg²⁺含量, 实验分三部分做, 第一部分保持 Mg²⁺ (Ca²⁺含量正常的前提下, 调整 Ca²⁺ (Mg²⁺)含量使其分别为正常值的 0, 1/2, 3/4, 7/8, 10/8, 观察胚胎发育和孵化情况; 第二部分在第一部分预实验的基础上做 Mg²⁺/Ca²⁺对胚胎发育的影响, Mg²⁺/Ca²⁺范围为 2.6~3.5, 间距 0.1; 第三部分做 Ca²⁺, Mg²⁺绝对量对胚胎发育的影响。三部分实验均平行两组, 并做差异显著性检验。Mg²⁺, Ca²⁺含量用 EDTA 络合法测量。

1.4 K⁺对胚胎和早期仔鱼发育的影响

海水配制方法同上, K⁺含量分别为正常值的 0, 1/4, 1/2, 3/4。实验平行两组。每杯放受精卵约 100 粒。观察孵化及初孵仔鱼生长情况。

2 结果分析

2.1 Ca²⁺, Mg²⁺对黑鲷胚胎发育的影响

2.1.1 Ca²⁺, Mg²⁺含量对黑鲷胚胎发育的影响 结果见表 1, 2。

表 1 Ca²⁺对黑鲷胚胎发育影响的实验

Tab. 1 The effect of Ca²⁺ on the development of embryo *S. macrocephalus*

水体类型	0 Ca ²⁺	1/2 Ca ²⁺	3/4 Ca ²⁺	7/8 Ca ²⁺	10/8 Ca ²⁺	对照
Mg ²⁺ (mg/L)	960	960	960	960	960	960
Ca ²⁺ (mg/L)	0	150.2	225.3	262.9	375.5	300.4
Mg ²⁺ /Ca ²⁺	∞	6.39	4.26	3.65	2.56	3.20
孵化率 组一	0	92	93.2	97.0	94.6	97.0
(%) 组二	0	88.5	92.8	95.2	92.4	98.5
畸形率 组一	/	83.7	69.6	9.1	12.3	2.6
(%) 组二	/	89.1	67.8	10.1	13.4	2.5

表 2 Mg²⁺对黑鲷胚胎发育影响的实验

Tab. 2 The effect of Mg²⁺ on the development of embryo *S. macrocephalus*

水体类型	0 Mg ²⁺	1/2 Mg ²⁺	3/4 Mg ²⁺	7/8 Mg ²⁺	10/8 Ca ²⁺	对照
Mg ²⁺ (mg/L)	300.4	300.4	300.4	300.4	300.4	300.4
Ca ²⁺ (mg/L)	0	480	720	840	1200	960
Mg ²⁺ /Ca ²⁺	0	1.60	2.40	2.80	4.00	3.20
孵化率 组一	29.7	86.0	94.5	97.0	95.8	97.0
(%) 组二	31.4	85.9	92.0	97.3	93.5	98.5
畸形率 组一	100	42.7	17.1	9.7	22.5	2.6
(%) 组二	100	38.2	19.0	10.3	20.7	2.5

在 0 Ca²⁺海水中, 当胚胎由多细胞期向囊胚期发育时(约受精后 4.5~5.5h), 绝大多数受精卵下沉到底, 只有少数受精卵仍悬浮在水中。取下沉的受精卵镜检可见, 胚盘收缩堆积成团, 细胞大小不一, 排列不规则, 个别细胞下垂, 脱离胚盘。在 20℃水温下经 48h 孵化后取悬浮的胚胎镜检, 发现胚体发育停滞在尾芽出现期和胚体抱卵黄 3/5 期, 胚体扭曲畸形, 卵黄收缩, 卵周隙扩大, 胚体心脏已停止跳动。在 1/2Ca²⁺海水中孵化出膜的苗大部分畸形, 尾部折向仔鱼背部, 心脏跳动缓慢。从表 1 可知, 随 Ca²⁺含量逐渐接近对照组, 孵化率逐渐上升, 畸形率逐渐下降。

表 2 表明, Mg²⁺在低于对照组的各组中, 孵化率随 Mg²⁺含量升高而提高, 呈正比; 畸形率随 Mg²⁺含量升高而降低, 呈反比。相反在高于对照组的情况下, 孵化率与 Mg²⁺含量呈反比, 畸形率与 Mg²⁺含量呈正比。镜检 0 Mg²⁺水体中孵出的畸形苗, 仔鱼尾部都较正常苗短, 且弯曲打折, 尾部鳍膜不平整。

2.1.2 Mg^{2+}/Ca^{2+} 对黑鲟胚胎发育的影响 结果见表3,4。

表3 Mg^{2+}/Ca^{2+} 随 Mg^{2+} 含量变动对黑鲟胚胎发育的影响

Tab. 3 The effect of Mg^{2+}/Ca^{2+} with different concentrations of Mg^{2+} on the development of embryo of *S. macrocephalus*

Mg^{2+}/Ca^{2+}	Mg^{2+} (mg/L)	Ca^{2+} (mg/L)	孵化率(%)			畸形率(%)		
			组一	组二	平均	组一	组二	平均
2.6	780	300	82.4	83.3	82.8	26.3	22.5	24.4
2.7	810	300	84.5	87.6	85.9	24.0	21.0	22.5
2.8	840	300	90.1	86.7	88.3	21.1	22.2	21.7
2.9	870	300	90.6	91.3	90.9	10.2	11.2	10.7
3.0	900	300	91.5	92.4	91.9	6.6	5.6	6.1
3.1	930	300	94.6	92.4	93.6	7.7	7.6	7.7
3.2	960	300	95.1	95.1	95.1	8.2	8.3	8.3
3.3	990	300	93.9	93.3	93.6	11.1	11.8	11.4
3.4	1 020	300	92.6	94.1	93.2	20.3	19.1	19.8
3.5	1 050	300	91.6	91.7	91.7	20.8	22.9	21.8

表4 Mg^{2+}/Ca^{2+} 随 Mg^{2+} 含量变动对黑鲟胚胎发育的影响

Tab. 4 The effect of Mg^{2+}/Ca^{2+} with different concentrations of Mg^{2+} on the development of embryo of *S. macrocephalus*

Mg^{2+}/Ca^{2+}	Mg^{2+} (mg/L)	Ca^{2+} (mg/L)	孵化率(%)			畸形率(%)		
			组一	组二	平均	组一	组二	平均
2.6	960	369	97.1	94.7	95.8	20.7	15.9	18.1
2.7	960	356	97.7	98.0	97.8	24.8	13.2	19.8
2.8	960	343	89.8	96.2	92.6	13.8	14.6	14.2
2.9	960	331	98.8	93.6	96.3	4.9	5.2	5.0
3.0	960	320	97.2	98.9	98.0	10.4	2.8	6.8
3.1	960	310	96.3	95.4	95.9	10.9	5.8	8.6
3.2	960	300	98.3	100.0	99.2	7.8	3.1	5.2
3.3	960	291	97.4	98.5	98.0	7.7	8.1	7.9
3.4	960	282	97.1	95.9	96.5	10.3	11.6	11.0
3.5	960	274	97.8	81.8	90.4	14.5	34.2	21.9

综合表3,4可知,当 Mg^{2+}/Ca^{2+} 在2.9~3.3之间变动时,孵化率无显著差异,但畸形率则当 Mg^{2+}/Ca^{2+} 低于2.9或高于3.3时差异显著。

表3中孵化率均偏低是因在计数卵粒时延误所致。

2.1.3 Mg^{2+}, Ca^{2+} 绝对量对黑鲟胚胎发育的影响 保持水体中 Mg^{2+}/Ca^{2+} 为3.19,调整 Ca^{2+}, Mg^{2+} 的绝对量,实验结果见表5。

表5 $Mg^{2+}/Ca^{2+}=3.19, Mg^{2+}, Ca^{2+}$ 绝对量对黑鲟胚胎发育的影响

Tab. 5 The effects of the absolute concentrations of Ca^{2+} and Mg^{2+} on the development of embryo of *S. macrocephalus* while the ratio of Mg^{2+}/Ca^{2+} is 3.19

组号	I	II	III	IV	V	VI	VII
Ca^{2+} 含量(mg/L)	400	350	320	300	280	250	200
Mg^{2+} 含量(mg/L)	1 276	1 116	1 020	957	893	798	638
平均孵化率(%)	98.3	98.3	91.1	98.2	97.2	93.9	96.7
平均畸形率(%)	65.5	65.0	58.9	40.2	68.3	87.0	92.3

当保持 Mg^{2+}/Ca^{2+} 正常时,绝对量对孵化基本无显著影响,但对畸形率影响显著。这组试验畸形率普遍偏高是由于亲鱼产卵接近后期,受精卵质量较前几组差的缘故,但仍能看出 $Mg^{2+}/Ca^{2+}=957/300$ 时畸形率最低,畸形率随绝对量的升高和降低呈抛物线状,且绝对量低对畸形的影响较绝对量高时要大。

2.2 K^+ 对黑鲟胚胎和早期仔鱼发育的影响

表 6 显示了黑鲷受精卵在不同 K^+ 含量的水体中的孵化情况,用方差检验,低 K^+ 对孵化率和畸形率均无显著差异。

表 6 黑鲷受精卵在不同 K^+ 含量水体中孵化情况

Tab. 6 The hatching of fertilized eggs of *S. macrocephalus* in seawater with different concentrations of K^+

水体类型	0 K^+	1/4 K^+	1/2 K^+	3/4 K^+	对照
孵化率 (%)	组一 97.2	98.0	96.2	96.6	97.7
	组二 96.7	97.2	95.5	96.5	97.8
畸形率 (%)	组一 4.7	5.0	4.0	2.6	4.6
	组二 6.0	3.8	1.9	3.6	3.7

继续培育观察不同 K^+ 浓度下初孵仔鱼,仔鱼出膜后 12h, 0 K^+ 水体中的仔鱼游动能力下降,部分仔鱼沉底,镜检可见初孵仔鱼心跳仅 70~80 次/min,明显低于对照组仔鱼的心跳 150~160 次/min。并且心跳呈不规则的间歇运动,在连续搏动数次后会出现一个静止期。

孵化后 24h,对照组仔鱼正常,有明显的趋光性; 0 K^+ 水体中仔鱼已全部沉底死亡; 1/4 K^+ 水体中仔鱼近半数沉底。

孵化后 36h,对照组仔鱼正常; 1/4 K^+ 水体中仔鱼全部沉底,镜检部分仔鱼心跳已停止,少数仍有缓慢心跳,频率 50~70 次/min。

孵化后 48h, 1/4 K^+ 水体中仔鱼全部沉底死亡; 1/2 K^+ 和 3/4 K^+ 水体中仔鱼表现正常。

孵化后 60h,对照组、1/2 K^+ 和 3/4 K^+ 水体中仔鱼均正常。

3 讨论

上海地区育苗所需的海水,一般都是由当地咸淡水(比重 <1.010)加盐场的浓缩海水(比重 $\approx 1.070\sim 1.080$)配制而成,为使配制海水达到最低成本,根据黑鲷产卵、孵化的最适盐度 24~31(比重 $=1.018\sim 1.024$)^[1,2,4],笔者认为把盐度调配到 26(比重 $=1.020$)是咸淡水域进行黑鲷育苗的最适盐度。

在没有 Ca^{2+} 的海水中,当胚胎由多细胞向囊胚期发育时,因缺 Ca^{2+} 引起的负作用已经表现出来:胚盘细胞收缩,细胞排列无规则,这与 Ca^{2+} 在动物体中所起的作用有密切关系, Ca^{2+} 是控制细胞膜对其他离子和水渗透的一个重要离子,同时对细胞之间连接的完整性负有责任。用缺 Ca^{2+} 的生理盐水和正常的生理盐水对照做灌注实验,可知 Ca^{2+} 是心肌收缩所必需的。同时分布在血浆中的 Ca^{2+} (血钙)对成骨作用极为重要。而 Mg 被认为是新陈代谢过程中许多生化反应的辅酶。在细胞膜物质运输过程中具有重要意义的主动运输的载体——Na 泵在缺 Mg 时,便不具有活性^[7]。C-S, LEE 和 F. Hu (1983) 认为鲮鱼 (*Mugil cephalus* L.) 的受精卵在没有 Ca 的人工海水中不能孵化;而在没有 Mg 的人工海水中能够发育到孵化阶段,但不能孵出仔鱼或孵出的仔鱼会立即死亡^[11]。从本试验可以看出, Ca^{2+} , Mg^{2+} 对黑鲷胚胎发育的影响和 C-S. LEE (1983) 用鲮鱼所做的实验结果是相同的。

Ca^{2+} , Mg^{2+} 绝对量过高,可能会破坏 Ca^{2+} , Mg^{2+} 和海水中其他离子之间的平衡。因此,在河口地区进行黑鲷育苗不但要调节孵化用水的盐度、pH 等,而且还应注意水体中 Ca^{2+} , Mg^{2+} 的含量和比值,综合本试验结果: Mg^{2+}/Ca^{2+} 在 2.9~3.3,同时 Mg^{2+} , Ca^{2+} 绝对量又分别在 870~1 000mg/L 和 280~330mg/L 时,是黑鲷胚胎发育的适宜范围。

笔者在 1992, 1993 年的生产性育苗中,曾配制过不同 Mg^{2+}/Ca^{2+} 的海水,其测试结果和孵化育苗情况见表 7。

表 7 1992,1993 年育苗情况及 Mg^{2+}/Ca^{2+} , Mg^{2+} , Ca^{2+} 测试情况

Tab. 7 The nursing of *S. macrocephalus* and the ratio of Mg^{2+}/Ca^{2+} , the concentrations of Ca^{2+} and Mg^{2+} of the seawater used in 1992 and 1993

年份(年)	池号	Mg^{2+}/Ca^{2+}	Mg^{2+} (mg/L)	Ca^{2+} (mg/L)	孵化率(%)	畸形率(%)	成活率(%)
1992	4	2.72	1 163	428	77	30	1.2
	5	3.22	1 757	546	70	54	0.1
1993	4	3.75	1 141	304	85	31	0.8
	6	3.22	970	301	86	8	16.8
	7	2.96	1 010	347	86	10	4.3

表 7 中成活率是指达到体长 2cm 时幼鱼的总成活率。从表 7 中可看出:在试验所指出的适宜范围内,孵化率都较高,且畸形率也较低,并能育出幼鱼。尽管生产性育苗的孵化率较实验的孵化率低,畸形率也较实验的要高,但都符合实验结果。

正常海水中离子之间(如 Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Cl^- , SO_4^{2-} , HCO_3^- , CO_3^{2-} 等)不仅存在着相互平衡与拮抗,而且离子对生物体的作用也有着相互影响的问题。所以有关调配海水对黑鲷胚胎发育和仔、稚、幼鱼培育的影响有待今后进一步深入研究。

参考文献

- [1] 蔡兴邦,1983. 江苏海洋水产 5:63~71.
- [2] 郑镇安,1983. 福建水产 3:3~16.
- [3] 李加儿,1990. 南海水产研究 2:36~44.
- [4] 雷霖霖,1986. 海洋水产研究 7:143~147.
- [5] 孙 耀,1988. 海洋科学 3:54~57.
- [6] 王小奉,1991. 福建水产 3:30~31.
- [7] 王义强,1989. 鱼类生理学. 上海科学技术出版社,93,141,160.
- [8] 伏见彻,1979. 养殖 1:81~84.
- [9] 平野礼次郎等,1969. 日本水产学会志 35(6):12~14.
- [10] Freddi, A., Berg, L., Bilio, M., 1981. *J. World Maricult. Soc.* 12(2): 130-136.
- [11] C-S. LEE and F. Hu, 1983. *J. Fish. Biol.* 22(1): 13-20.

THE EFFECTS OF Ca, Mg AND K IONS ON THE DEVELOPMENT OF EMBRYO AND YOLK SCA FRY OF *Sparus macrocephalus* Basilewsky

Shi Zhaohong¹, Huang Xuxiong² and Jiang Cunnian³

(¹East China Sea Fisheries Research Institute Shanghai 200090)

(²Department of Aquaculture, Shanghai Fisheries University 200090)

(³Jiangmen Fisheries Bureau, Guangdong Province 529233)

Received: Sep. 19, 1994

Key Words: *Sparus macrocephalus*, Embryo, Yolk sca fry, Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+

Abstract

In 1992 and 1993, artificial sea water with different concentrations of Calcium, Magnesium and

Potassium were prepared for the hatching of the fertilized eggs and the incubation of yolk sac fry of *Sparus macrocephalus*. The results of experiment were as follows; none of yolk sac fry was hatched in the calcium-free sea water and a small amount of abnormal yolk sac fry were hatched in magnesium-free sea water, and there was no significant effect of low potassium on the hatching of the fertilized eggs but quite significant on the survival of yolk sac fry. In view of nursing of seawater fish in brackish water, we suggested that the amount of Ca^{2+} and Mg^{2+} should be controlled in the range of 290-330 mg/L and 870-1 000mg/L, respectively, and the ratio value of Mg; Ca should be controlled between 2.90-3.30. The results had been qualified in the productive nursing in 1992 and 1993.