

非洲鲫鱼人工繁殖试验*

徐权汉 于富才 蔡难儿

(中国科学院海洋研究所)

非洲鲫鱼 (*Tilapia mossambica*) 是广盐性鱼类, 不仅可在淡水养殖, 而且在盐碱地区的水池或海水中都能进行养殖。其自然繁殖习性已有不少报道, 但有关其人工繁殖的研究工作仅见 Show^[6], Valenti^[7], 金德沂^[2]等有过报道。

1975年, 我们进行非洲鲫鱼的人工授精及口腔外孵化的试验, 初步获得成功, 1976和1977两年间又进行了多次重复, 方法上进一步完善。

一、材料与方 法

供作试验用的非洲鲫鱼, 选择鱼体健康、生殖孔比较明显而突出的个体作为亲鱼, 这样的鱼接近性成熟, 或已达到性成熟。以一定的雌雄比例 (♀3:♂1) 放入产卵的水泥池中。供产卵的水泥池一般是20米²左右方形或长方形的水池, 放入亲鱼100尾至150尾。

水泥池应预先刷洗干净, 四周不应有藻类附着, 以便于观察和捕捉, 池底不加泥沙, 以免在捕捉亲鱼时, 泥沙泛起, 难以捉到发情的亲鱼。

水深需20厘米左右, 如用自来水, 应曝晒一、二天之后再用。如用河水或池塘水, 预先要澄清, 太混浊时可加明矾沉淀后再灌入水池。务必使水透明清晰, 以便观察亲鱼发情的情况。每天上、下午各投饵一次, 隔天换水, 平时常注入少量流动的清水, 以增加水中含氧量, 因为池水浅, 水量也小, 昼夜水温变化较大, 特别是太阳猛烈曝晒时, 水温增加很快, 如果水温超过35℃时, 需考虑遮阴。一般温度控制在22—30℃之间。

二、观 察

1. 发情与产卵

刚放入水泥池的亲鱼饲养三、四天后即可逐渐适应环境, 开始发情追逐, 一个星期后即可达到产卵高潮。

性成熟的雄鱼, 发情时体色变化明显, 除头腹面为淡黄色外, 全身都呈黑色, 在胸鳍、背鳍及尾鳍的边缘都镶有鲜红色。发情的雌鱼变化不明显, 只是在背部二侧的色斑稍有加深, 同时可看到生殖孔变圆而突出, 略有充血。

刚开始发情的雄鱼虽然体色已变黑, 但仍是集群的。随着时间的推进, 发情愈烈, 雄鱼开始离群, 在水泥池边缘各占一方, 开始筑巢, 在正常的情况下, 先是雄鱼用强有力的颚啃池底的泥土, 然后吐到四周, 形成一个锅底形的鱼巢。在水泥池中虽然没有放泥沙供筑

* 试验承广东珠江水产研究所、浙江淡水研究所大力协助, 积极提供了试验材料和工作场地等, 浙江吴兴县鱼种场、山东临沂水产研究所也多次提供材料, 保证了实验顺利进行, 特此致谢。

中国科学院海洋研究所调查研究报告第647号。

本刊编辑部收到稿件日期: 1978年12月18日。

巢用,同样可以看到发情的雄鱼作啃泥筑巢的动作,对侵入鱼巢范围的其他鱼进行驱逐。因此,霸占鱼巢和啃泥的动作是另一个发情的标志,雄鱼经常游出鱼巢,引诱性成熟的雌鱼,即将产卵的雌鱼则随之进入鱼巢。

雌雄鱼配对之后,在鱼巢中盘旋追逐,雄鱼常用尾部用力的拂扫雌鱼,或以半卧的姿态轻轻抖动身躯,此时,雌鱼也常有啃泥的动作。一旦发情的雌雄两鱼配对之后,这对鱼有一定的专一性,如果将其驱散,不久,这对鱼仍可回到原来的鱼巢,直到产卵。

产卵时,首先是雌鱼激烈地抖动身躯,排出一些卵子,紧接着雄鱼腹部紧贴着卵子,也激烈的抖动身躯,排出精液。此时,雌鱼转过头来,把卵子及精液一并吸入口腔,这过程仅几秒钟即完成,过一些时间再产第二批,产卵是分多次产完。产后,雌雄两鱼仍然要在鱼巢内待一段时间,然后分散。

产卵时间大都是下午 1 时至 4 时之间,但个别也有在 11 时左右产卵的,所以非洲鲫鱼产卵是在中午前后,这和鲤科鱼类是十分不同的。

2. 人工授精

雌雄鱼发情配对之后,不要立刻起捕,而要让其在鱼巢中追逐一段时间,起捕时首先要捕捉发情的雌鱼,然后再捕捉雄鱼,起捕时一定要认准发情配对的亲鱼,不要错捕。如果已经和其他鱼混在一起不能分辨,可稍等一会,这对发情的鱼仍可回到原处,然后再捕。

人工授精时,首先挤出雄鱼精液,用右手捉住鱼体,左手轻轻挤压鱼腹部,最初挤出的是尿液,后可看到乳白色的精液。然后捉住雌鱼挤出卵子,方法和挤精液一样,因为非洲鲫鱼卵子大而娇嫩,易被挤破,所以注意不要用力过度。进行人工授精时,把精液和卵子挤入容积较小的胚胎皿中,然后用吸管轻轻冲动卵子,使卵子充分搅动。总之,精子的浓度要高一些,卵子适当的集中,授精率可大大提高。

非洲鲫鱼的卵子是椭圆形的端黄卵,长约 2.2—2.7 毫米,宽为 1.6—2 毫米,钝端为植物极,尖端为动物极,卵外有两层卵膜,内层卵膜,薄而透明,不易观察,外层卵膜,厚而明显。动物极略带粘性,其顶端有明显的凹形受精孔,受精后,卵子激动,受精膜举起,但卵黄间隙很小,受精 20 分钟左右(水温 28℃—30℃)放出极体,原生质向动物极缓慢地流动集中,形成胚盘。

对非洲鲫鱼的精子形态尚未进行观察,在显微镜下,可看到:在淡水中的精子排出体外五分钟之后仍然能向前运动,七、八分钟后只能在原地摆动,十分钟之后即开始死亡,但在 10‰ 的盐水中,精子寿命可大大延长,30 分钟后仍可看到活跃的精子,并且具有一定的受精能力。

我们分别用淡水及不同浓度的海水进行人工授精试验,淡水和海水都经煮沸消毒,将海水稀释成 33‰, 16.5‰, 8.25‰, 三种不同浓度,在不同浓度的海水及淡水中进行人工

表 1 不同浓度海水中进行人工授精的受精率

海水盐度	授精卵总数	受精卵数	未受精卵数	受精率%
33‰	40	32	8	80%
16.5‰	40	37	3	92%
8.25‰	40	40	0	100%
淡水	40	23	17	57.5%

授精,然后任取四十颗检查受精情况,结果见表 1。

从表 1 中可看出 16.5‰, 8.25‰ 海水中受精效果较好,淡水中受精效果较差。

3. 受精与卵子的成熟度

我们进行人工授精所用的卵子,是在其自然产卵时取得的,用同样的方法进行人工授精,往往得到不同的效果,检查其原因,主要是卵子本身的生理状态不同所致。一种情况是:人工授精之后,卵膜皱瘪,迟迟不能吸水膨胀,原生质流动不明显,胚盘不能形成,受精膜不能举起,也就是说这种卵子不能受精分裂,这是因为雌鱼和雄鱼虽然发情配对,但追逐时间还不够,即匆匆捕起,卵子还没有适度成熟,致使人工授精失败。有时还可看到“假发情”,即雌鱼卵子根本没有成熟,也能在鱼巢中配对追逐,捉起后检查卵子时还可看到卵膜上仍有许多微小的血管,呈放射形向四周分布。另一种情况是:有些雌鱼没有及时产卵而延缓产卵,这样的卵子已过度成熟,同样不能受精,即使少数能分裂,也不能进一步发育、孵化,有时可看到腐败的卵子,这种卵子卵色灰白,卵黄分布不完整,原生质分布混乱。最好的卵子是适度成熟的卵子,当轻挤雌鱼腹部时,卵子即成串流出,卵色鲜黄明亮,卵膜遇水后很快即膨胀饱满,原生质流向动物极形成胚盘,这种卵子受精率是比较高的,所以起捕亲鱼最好是即将产卵时,或产了第一批卵子之后,但不易掌握。

为了测定卵子成熟度和受精率之间的关系,我们用同一对亲鱼不同的时间进行授精,其受精率测定见表 2。

表 2 不够成熟卵子不同时间的受精率

次序	授精时间	授精总卵数	受精卵数	未受精卵数	受精率%
1	2:50	64	43	21	67.2%
2	3:15	45	33	12	73.3%
3	4:05	81	63	18	77.7%
4	4:50	70	62	8	88.6%
5	5:50	84	80	4	95.2%
6	7:20	77	74	3	95.0%

从表 2 可以看到下午 2 时 50 分开始授精,由于卵子尚未适度成熟,故受精率较低,随着时间的推进,卵子即使没有异性的刺激也能渐渐进入适度成熟阶段,因此,受精率也随之增高。

表 3 从适度成熟到轻度过分成熟卵子受精率

次序	授精时间	授精总卵数	受精卵数	未受精卵数	受精率%
1	2:50	234	222	11	96 %
2	4:14	83	80	3	96.4%
3	5:25	48	31	7	82 %
4	6:30	38	25	13	66 %

表 3 是第 2 天的另一对亲鱼,挤卵人工授精的时间与前一天的亲鱼一样,但此时受精率高达 96%,说明此时的卵子正处于适度成熟的阶段。随着时间的推进,卵子由适度成熟慢慢进入了过分成熟的阶段,受精率也随之逐渐降低。

4. 口腔外孵化试验

非洲鲫鱼的卵子是在雌鱼口腔中孵化出苗的,在口腔外卵子能否继续出苗、孵化? 我们进行了下列试验。

(1) 流水孵化试验: 用 1000 毫升的分液漏斗作孵化瓶,在漏斗下部玻璃管上连结橡皮管,注入池塘水,用活塞调节水量,卵子取自非洲鲫鱼口腔中发育为 2 细胞的卵子,孵化 20 小时左右,卵子全部死亡。

(2) 盐水和海水的孵化试验: 盐水的配制是取自海盐粗制品,配成母液,沉淀去杂质,过滤,然后用蒸馏水稀释成 10‰, 20‰, 30‰, 40‰ 四种浓度。天然海水取自广东深圳,浓度为 33‰,分别配制成 33‰, 16.5‰, 8.25‰ 三种浓度。配制的所有培养液均煮沸消毒,用自来水和池塘水煮沸消毒作对照,一律静水培养,卵子是人工受精并已分裂的。试验情况表如下:

表 4 不同盐度海水中鱼卵的孵化率

海水盐度	成胚胎率	出膜化苗率
8.25‰	100%	100%
16.5‰	100%	100%
33 ‰	100%	95%
淡水对照	72%	0

表 5 不同浓度盐水中鱼卵的孵化率

盐水浓度	成胚胎率	出膜孵化率
10‰	83%	75%
20‰	85%	55%
30‰	70%	40%
40‰	15%	10%

由上面二表中可以看出,从受精后到原肠阶段,卵子对盐度变化的适应幅度较大,从淡水到 33‰ 的海水都有较多的卵子进行原肠作用,形成胚盾,但在进一步发育时,淡水效果就很差,单纯的盐水次之,海水效果较好。但后来我们用二倍的 Holtfleter 氏生理盐水进行孵化效果也很好,所以单纯盐水孵化效果较差的原因可能和 pH 有关。

在口腔外孵化成败的另一个重要原因是细菌感染,消毒稍不注意,往往可以全部死亡,因此,在培养液中加入适量的抗菌素,效果十分明显,但用量必须适当,超过 200 单位/毫升剂量的链霉素可能抑制卵子的分裂或者胚盘细胞全部脱落,我们用 50—100 单位/毫升的链霉素,或 50 单位/毫升链霉素和 50 单位/毫升青霉素混合使用效果较好,至于用什么抗菌素最好,剂量要多大,还需作进一步的探讨。

三、讨 论

Tilapia 属的鱼类很多是口腔含卵孵化的,为什么在口腔中卵子发育正常,而在口腔外孵化时,卵子变得十分“娇气”?

Shaw 和 Aronson (1954) 发现 *Tilapia* 属鱼类的口腔中有一种口腔腺,他们认为卵

子所以能在口腔中发育,是因为口腔腺能分泌抗菌的粘液,防止卵子在孵化时感染,以及卵子随着母鱼呼吸在口腔中不断滚动,满足了对氧气的需要。

Valenti (1975) 用 *T. aurea* 进行人工授精时发现,成熟的卵子置于 pH7.6—7.8 的精子悬液中不能受精,但在 pH 6.5 的精子悬液中即能受精,并进一步观察到精子在 pH 7.5—7.8 的悬液中只能活动 5 分钟,而在 pH 6.5 的悬液中却能保持 15 分钟以上。他认为 *T. aurea* 的口腔中也存在着 Shaw 所描述的腺体,这种腺体能调节雄鱼口腔中的 pH 保持在 6.5。(这种鱼卵子是在雄鱼的口腔中孵化的)

金德沂,王鸿汰(1977)用 *T. Mossambica* 卵子在口腔外孵化时,用 5—15‰ 的海盐溶液培养效果最好。

我们的实验证明:适量的盐度不仅对受精卵的孵化是很重要的,而且也是人工受精的重要因素,我们在实验中观察到,在一般的淡水中精子活动能力只能维持 5 分钟左右,但在盐水中,精子的活动能力能延长到 30 分钟左右,而且仍有受精能力,而海水比盐水效果还要好一些,这一点不同于 Valenti 的试验。因为海水是弱碱性的,而 Valenti 的试验认为在中性和弱碱性的环境中不能受精,只有在弱酸性 (pH 6.5) 的环境中才能受精,而精子寿命也可延长,这个矛盾只能用不同种间的差异来解释,相同点是受精孵化的成功,采用了抗菌素抑制细菌的繁殖这一因素。所以我们认为 *T. Mossambica* 的口腔腺可能同样能分泌出具有一定盐度和抗菌能力的物质。

非洲鲫鱼在适宜温度下终年产卵,因此个体间繁殖周期不一,要选择性成熟的雌鱼进行人工催青是困难的。金德沂等试用挖卵取样来测定卵巢的发育情况,然后催青,手续繁琐,效果也不显著。我们也曾用人工催青方法,也没有得到好的效果,后来用自然成熟产卵,再进行人工授精,方法简单易行,而且几乎每天可得到一定数量的成熟卵子,卵子的质量也较好,这将给非洲鲫鱼进行远缘杂交,多倍体诱导,激素诱导单性发育及细胞核移植等工作的开展带来许多方便。

对于非洲鲫鱼的自然繁殖习性的研究,我们的观察与 J. E. Bardach 等报道的有一些不一致,他们认为雌鱼先将卵子产在鱼巢中并将其含入口腔,然后雄鱼将精液排到鱼巢,雌鱼又吸入口腔中,在口腔中受精,而我们的观察是雌鱼先产出卵子,然后雄鱼排出精液,雌鱼同时将精卵吸入口腔,如果在雌鱼把卵子吸入口腔前,取回卵子观察也可看到一部分卵子已经受精,但受精率较低,雌鱼把卵、精同时吸入口腔,使得卵子和精子有一个更合适的受精环境,母鱼口腔的运动使得精卵不断搅拌,增加了受精的机会。

参 考 文 献

- [1] 朱洗、王函兰, 1960. 金鱼、鲤、鳊的不同成熟度卵球的受精和胚胎发育的关系, 实验生物学报 7(1—2): 47—54。
- [2] 金德沂、王鸿汰, 1977. 非洲鲫鱼人工繁殖的初步摸索. 淡水渔业 72(总期): 13—14。
- [3] 湖北省水生生物研究所等, 1975. 几种淡水鱼养殖新对象. 农业出版社, 15—30 页。
- [4] Bardach, J. E., J. H. Ryther and W. O. McLarney, 1972. Aquaculture——The Farming and Husbandry of Freshwater and Marine Organisms Wiley-Interscience pp. 350—383.
- [5] Leibman, E., 1933. Some observation on the breeding habit of *Palestine cichlidae*. Proc. Zool. Soc. Lond., part 3—4, pp. 885—888.
- [6] Shaw, E. S. and L. R. Aronson, 1954. Oral incubation in *Tilapia macro*. Bull. Am. Mus. Nat. Hist. 103(5): 379—415.

- [7] Valenti, R. T., 1975. Induced polyploidy in *Tilapia aurea* by means of temperature shock treatment. *J. Fish. Biol.* 7: 519—528.

A STUDY OF ARTIFICIAL BREEDING IN *TILAPIA* *MOSSAMBICA**

Xu Quanhan Yu Fucui and Cai Naner

(Institute of Oceanology, Academia Sinica)

Abstract

Tilapia mossambica belongs to the mouth hatching fishes, which makes it rather difficult to observe its embryonic development and cell division. Therefore, we have to carry on artificial fertilization and the out-of-mouth hatching experiment for this kind of fish.

1. The experiments were made on individuals of both sexes of *Tilapia mossambica* reared in a cement tank. They were caught when they were strongly displaying sex behavior and their eggs or sperm were lightly squeezed out by pressing their abdomens with a thumb and a forefinger. It should be pointed out that sperm should be squeezed out first and then eggs. Artificial fertilization were carried out in sea water with different salinities. The eggs and sperm showed higher fertilization rates over a salinity range of 8.25 to 33‰ sea water, the highest in 8.25‰ sea water. We have found that fertilization rates are closely related to the state of maturation of the eggs. Mature eggs can be kept for six hours at 30°C without deleterious effect.

2. The out-of-mouth hatching experiments were made in sea water with different salinities. The fertilized eggs were hatched in 8.25 to 33‰ sea water. Better results were found in 10 to 20‰ sea water, the worst in fresh water. When a proper quantity of antibiotic was added to the culture medium, the results of experiments were much improved.

3. In fresh water sperms remained viable for no more than five minutes. In 10‰ sea water their fertility was much greater and they showed fertilizing potency even after thirty minutes.

* Contribution No. 647 from the Institute of Oceanology, Academia Sinica.