

• 研究简报 •

温度、盐度和 pH 对多纹钱蝶鱼胚胎发育的影响

孙艳秋^{1,2}, 刘鉴毅^{1,2,3,4}, 庄 平^{1,2,3,4}, 李 琪^{1,2}, 邹 雄², 冯广朋^{1,2,3,4},
赵 峰^{1,2,3,4}, 余焱方^{1,2}, 孙雪娜^{1,2}, 杨 俊^{1,2}, 王 好^{2,3,4}, 黄晓荣^{1,2,3,4}

(1. 上海海洋大学/水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306; 2. 中国水产科学研究院东海水产研究所;
3. 农业农村部东海与长江口渔业资源环境科学观测实验站, 上海 200090; 4. 上海长江口渔业资源
增殖和生态修复工程技术研究中心, 上海 200090)

摘要: 文章首次探究了在不同温度、盐度和 pH 条件下多纹钱蝶鱼 (*Selenotoca multifasciata*) 胚胎发育的特点, 可为该鱼苗种培育适宜条件的选择和调控提供参考。实验将多纹钱蝶鱼受精卵分别置于不同温度 (16、20、24、26、28、30、32、34、36 ℃)、盐度 (淡水、5、10、15、20、25、30、35) 和 pH (5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10.0) 下孵化。结果显示, 在盐度 32 下, 孵化温度介于 24~36 ℃, 随着温度的升高, 出膜时间缩短, 孵化率呈先升后降的趋势, 畸形率相反, 26~28 ℃ 为最适孵化温度。pH 5.5~8.5 仔鱼均能出膜, 随着 pH 的升高, 出膜时间缩短, 孵化率先升后降, 畸形率相反, 7.0~8.2 为最适孵化 pH。该鱼具有广盐性, 盐度 5~35 均可孵化, 淡水中孵化率为 0, 孵化率随盐度的升高呈先升后降的趋势, 畸形率相反, 最适孵化盐度为 25~32。

关键词: 多纹钱蝶鱼; 胚胎发育; 温度; 盐度; pH

中图分类号: S 962

文献标志码: A

开放科学 (资源服务) 标识码 (OSID):



Effects of water temperature, salinity and pH on embryonic development of *Selenotoca multifasciata*

SUN Yanqiu^{1,2}, LIU Jianyi^{1,2,3,4}, ZHUANG Ping^{1,2,3,4}, LI Qi^{1,2}, ZOU Xiong², FENG Guangpeng^{1,2,3,4},
ZHAO Feng^{1,2,3,4}, YU Yanfang^{1,2}, SUN Xuena^{1,2}, YANG Jun^{1,2}, WANG Yu^{2,3,4}, HUANG Xiaorong^{1,2,3,4}

(1. Shanghai Ocean University/National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai 201306, China; 2. East China Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences; 3. Key Scientific Observing and Experimental Station of Fisheries Resource and Environment in the Yangtze Estuary and East China Sea, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Shanghai 200090, China; 4. Engineering Research Center of Fisheries Stock Enhancement and Habitat Restoration of the Yangtze Estuary, Shanghai 200090, China)

Abstract: The characteristics of embryonic development of *Selenotoca multifasciata* under different temperature, salinity and pH were studied for the first time, to provide a reference for the selection and regulation of suitable conditions for seedling cultivation of *S. multifasciata*. The embryos of *S. multifasciata* were incubated at different temperatures (16, 20, 24, 26, 28, 30, 32, 34, 36 ℃), salinities (fresh water, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50) and pH (5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.0, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5, 10.0). The results indi-

收稿日期: 2021-04-07; 修回日期: 2021-05-24

资助项目: 国家重点研发计划项目 (2019YFD0900405); 中国水产科学研究院东海水产研究所中央级科研院所基本科研业务费重点项目 (2019Z01); 国家科技基础条件平台项目

作者简介: 孙艳秋 (1996—), 女, 硕士研究生, 研究方向为鱼类生理生态学。E-mail: yolandasyq@163.com

通信作者: 刘鉴毅 (1965—), 男, 研究员, 从事珍稀水生动物繁育保护及水产生态养殖技术研究。E-mail: liujy@ecsf.ac.cn

cate that the hatching temperature of *S. multifasciata* was 24–36 °C at salinity of 32. With the increase of temperature, the hatching time decreased, and the hatching rate first increased and then decreased, while the deformity rate was on the contrary. The optimal hatching temperature was 26–28 °C. At pH of 5.5–8.5, the hatching time decreased with the increase of pH. The hatching rate first increased and then decreased, while the deformity rate was on the contrary. The optimal hatching pH was 7.5–8.2. The larvae hatched out at salinity of 5–50. The hatching rate first increased and then decreased with the increase of salinity, while the deformity rate was on the contrary. The optimal hatching salinity was 25–29.

Key words: *Selenotoca multifasciata*; Embryonic development; Temperature; Salinity; pH

多纹钱蝶鱼 (*Selenotoca multifasciata*) 属于鲈形目、鲈亚目、金钱鱼科, 俗称银鼓鱼, 与金钱鱼 (*Scatophagus argus*) 属于同科不同种, 主要分布于中国东海南部、南海以及印度尼西亚、菲律宾、泰国等部分区域。其成鱼体长 20~40 cm, 扁圆形, 体表呈银白色, 背部两侧有数条黑色横带, 腹部分布黑色圆斑, 因在灯光下反射出银白色光芒而得名。多纹钱蝶鱼是偏植食性的海水杂食性鱼类, 具有广温、广盐性, 肉质细嫩鲜美, 深受消费者喜爱, 是一种兼具观赏和食用价值的重要经济鱼类, 能带来巨大的经济效益、社会效益和生态效益。

目前, 国内外对多纹钱蝶鱼的研究资料较少, 仅对其胚胎发育^[1]、线粒体基因组^[2-3]及致病菌^[4]等有少量研究, 而对该鱼胚胎发育的适宜温度、盐度、pH 条件尚未见报道。研究表明, 鱼类胚胎的孵化出膜主要靠胚体运动和出膜过程中相关酶的作用, 环境因子对酶活力的影响显著, 是决定水产动物育苗成败的关键因子^[5-7]。其中温度、盐度、pH 三大因素可以直接影响鱼类的胚胎发育、生长和繁殖, 在鱼类生长的每个阶段均发挥着至关重要的作用^[8-10]。因此, 在人工繁育过程中研究温度、盐度和 pH 对胚胎发育的影响有助于早期苗种培育适宜条件的选择和调控, 能够提高育苗成活率。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验在中国水产科学研究院东海水产研究所海南琼海研究中心进行。多纹钱蝶鱼亲鱼性腺发育成熟后经人工繁育获得受精卵。在显微镜下观察受精状况, 选取上层好卵率达 80 % 的受精卵进行实验。

1.2 实验设计

1.2.1 温度 设置 9 个温度梯度组 (16、20、24、26、28、30、32、34、36 °C), 每个梯度设置 3 个平行。低温组设置冰水浴控温, 高温组设置热水浴控温, 实验开始前使水温维持在相应水平, 并进行恒温孵化, 温控范围 ± 0.5 °C, 每半小时用温度计测定并校准实验水温。实验盐度为 32, pH 8.2。

1.2.2 盐度 设置 8 个盐度实验组 (淡水、5、10、15、20、

25、30、35), 以自然海水盐度 32 为对照, 每个盐度设置 3 个平行。使用海水晶和淡水调配盐度, 每半小时用盐度计测定并校准实验盐度。实验水温为 26~27 °C, pH 8.2。

1.2.3 pH 设置 11 个实验组 (5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10.0), 以自然海水 pH 8.2 为对照, 每个梯度设置 3 个平行。用磷酸盐缓冲液调配实验组 pH, 每半小时用雷磁 PH B-4 型便携式 pH 计测定并校准实验组 pH。实验水温为 26~27 °C, 盐度 32。

1.3 实验方法

实验容器为 500 mL 的烧杯, 多纹钱蝶鱼卵受精后, 立即将其移至实验容器中, 每个容器放受精卵 50 粒, 微充气静水培养。实验开始后在显微镜下观察并记录胚胎发育特点, 当视野中半数胚胎发生形态变化时判定进入下一发育时期。在仔鱼半数破膜时计算出膜时间, 仔鱼全部出膜后计算孵化率, 实验过程中观察胚胎及初孵仔鱼的畸形状况, 并拍照记录其形态。

1.4 数据处理

实验数据以“平均值 $\pm$ 标准差 ($\bar{X} \pm SD$)”表示, 采用 IBM SPSS Statistics 19.0 软件对实验数据进行单因素方差分析 (One-way ANOVA), 组间差异用 Duncan's 多重比较, $P < 0.05$ 表示有显著差异。使用 Excel 2010 软件制作图表并对变化趋势作相应回归分析。

2 结果

2.1 温度影响结果

多纹钱蝶鱼的受精卵呈圆球形、澄清透明, 卵中央有一个较大的同心油球。温度对多纹钱蝶鱼胚胎发育的影响结果见表 1。除 16、20 °C 外, 其他组胚胎均可完成发育历程并顺利孵出仔鱼。

2.1.1 温度对孵化率和畸形率的影响 研究结果显示, 28 °C 组多纹钱蝶鱼的孵化率最高 [(81.55 $\pm$ 0.84)%], 显著高于其他组 ($P < 0.05$); 26 °C 组畸形率最低 [(1.46 $\pm$ 1.36)%], 显著低于其他组 ($P < 0.05$)。32、34 和 36 °C 组的孵化率均显著低于其他组 ($P < 0.05$), 畸形率均显著高于其他组 ($P < 0.05$)。

对水温、孵化率、畸形率进行曲线拟合和回归性分

表1 温度对多纹钱蝶鱼胚胎发育的影响
Table 1 Effect of temperature on hatchability and deformity rate of *S. multifasciata*

温度 Temperature/℃	胚胎发育停止时期 Embryonic development stop period	胚胎发育停止时间 Embryonic development stop time/h	孵化率 Hatchability/%	畸形率 Deformity rate/%	出膜时间 Incubation time/h	活力 Vitality
16	多细胞期	5.05±0.50	0.00±0.00	—	—	—
20	桑椹胚期	6.00±0.45	0.00±0.00	—	—	—
24	—	—	47.82±5.64 ^c	28.41±2.62 ^c	23.07±0.08 ^a	+
26	—	—	65.68±2.07 ^e	1.46±1.36 ^a	19.41±0.10 ^b	+++
28	—	—	81.55±0.84 ^f	14.73±5.94 ^b	18.59±0.16 ^c	+++
30	—	—	58.10±4.42 ^d	30.83±3.01 ^c	15.84±0.46 ^d	+
32	—	—	23.53±2.50 ^b	42.47±4.11 ^d	13.12±0.13 ^e	+
34	—	—	18.48±0.98 ^{ab}	50.31±0.97 ^e	11.72±0.19 ^f	+
36	—	—	14.19±4.32 ^a	95.76±5.79 ^f	9.66±0.16 ^g	+

注：—，不成活；+，游动能力弱；+++，游动能力强；同一行不同上标字母表示孵化温度间存在显著差异 ($P<0.05$)，相同字母表示无显著性差异 ($P>0.05$)；下同。

Note: —, No survival; +, Weak swimming ability; +++, Strong swimming ability. Different superscript letters within the same line indicate significant difference in the temperature ($P<0.05$), while the same letters indicate no significant difference ($P>0.05$). The same below.

析，结果见图 1。孵化率和畸形率与水温具有显著相关性，随水温的升高，孵化率 (y_a , %) 呈先升高后降低的趋势，畸形率 (y_b , %) 则相反。两者的回归方程分别为： $y_a = -0.66x^2 + 35.23x - 410.62$ ($R^2=0.707$, $P<0.05$)， $y_b = 0.97x^2 - 52.35x + 719.76$ ($R^2=0.910$, $P<0.05$)。由方程计算可得 26.7 °C 时孵化率最高，27.0 °C 时畸形率最低。

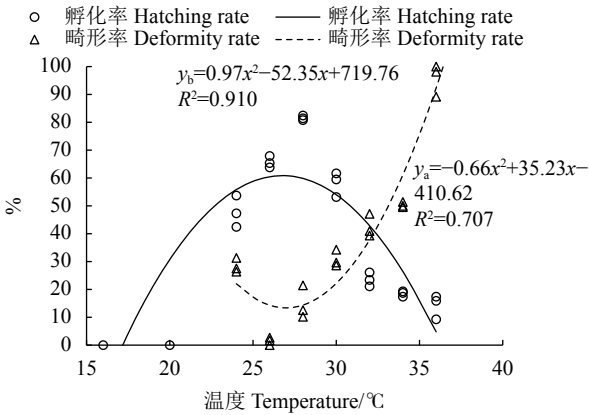


图1 多纹钱蝶鱼孵化率、畸形率与温度的关系
Figure 1 Relationship among hatchling rate, deformity rate and hatching temperature of *S. multifasciata*

2.1.2 温度对出膜时间的影响 温度对多纹钱蝶鱼的出膜时间有显著影响，随着水温的升高，出膜时间逐渐缩短 (表 1)。36 °C 组的出膜时间最短 [9.66 ± 0.16 h]，显著低于其他组 ($P<0.05$)，24 °C 组出膜时间最长 [23.07 ± 0.08 h]，显著高于其他组 ($P<0.05$)。水温低于 20 °C 时，胚胎发育中途停止，无法破膜。16 °C 时，胚胎经过 (5.05 ± 0.50) h 至多

细胞期发育停止；20 °C 时，胚胎经过 (6.00 ± 0.45) h 至桑椹胚期发育停止；24 °C 时，有半数胚胎经过 8 h 至原肠中期发育停止，最后夭亡。

2.1.3 温度对胚胎形态的影响 图 2-a 为正常胚胎多细胞期，细胞明显分层，开始重叠。16 °C 组胚胎 (图 2-e) 与之相比分裂团皱褶夭亡并逐渐变得混浊；图 2-b 为正常胚胎桑椹胚期，胚胎分裂界限逐渐不清晰，20 °C 组胚胎与正常胚胎桑椹胚期相比分裂团皱褶 (图 2-g) 并逐渐变混浊，最终夭亡。一般多纹钱蝶鱼的胚胎在显微镜下呈圆球形，澄清透明，可清晰看到胚胎形态变化，但 30~36 °C 组胚胎表面容易黏附脏污 (图 2-f)，影响观察。正常初孵仔鱼见图 2-c，30~36 °C 组初孵仔鱼畸形率较高，畸形个体见图 2-g、2-h，脊柱呈“之”字形弯曲、尾鳍弯折，较正常仔鱼心跳速度快，存活时间短，活力弱。

2.2 盐度影响结果

2.2.1 盐度对受精卵状态的影响 不同盐度下多纹钱蝶鱼受精卵的状态不同。盐度 0~20 组，发育早期受精卵表现为完全沉性；盐度 25 组为悬浮状态，随着时间延长，受精卵均逐渐上浮，最终漂浮于水面；盐度 30~35 组受精卵始终漂浮在水面上。

2.2.2 盐度对孵化率和畸形率的影响 不同盐度下多纹钱蝶鱼的孵化率和畸形率见表 2。除淡水组外，其他组均能孵出仔鱼。盐度 5 仔鱼畸形率最高 [100.00 ± 0.00 %]，显著高于其他组 ($P<0.05$)。盐度 25 时孵化率最高 [84.92 ± 5.88 %]，显著高于对照组和其他组 ($P<0.05$)，畸形率最低

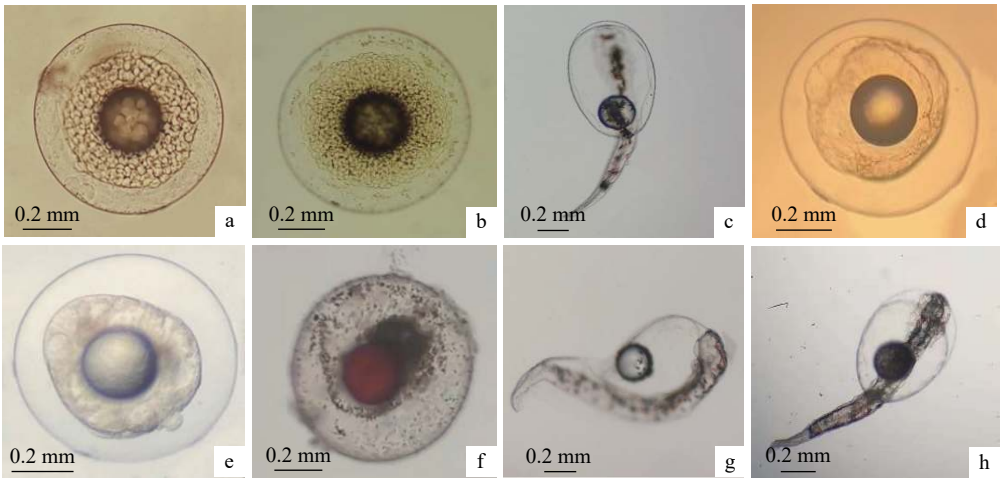


图2 不同温度下多纹钱蝶鱼胚胎发育观察
a. 正常胚胎多细胞期; b. 正常胚胎桑椹胚期; c. 正常初孵仔鱼; d. 16 °C 组多细胞期; e. 20 °C 组桑椹胚期;
f. 30~36 °C 组胚胎表面黏附脏污; g、h. 30~36 °C 组初孵仔鱼畸形。

Figure 2 Observation of embryo development of *S. multifasciata* under different temperature conditions
a. Multicellular stage of normal embryo; b. Morula of normal embryo; c. Normal newly hatched larvae; d. Multicellular stage of 16 °C;
e. Eorula of 20 °C; f. Surface of embryo was dirty at 30–36 °C; g, h. Malformation of newly hatched larvae at 30–36 °C.

表2 盐度对多纹钱蝶鱼胚胎发育的影响
Table 2 Effect of salinity on embryonic development of *S. multifasciata*

盐度 Salinity	胚胎发育停止时期 Embryonic development stop period	胚胎发育停止时间 Embryonic development stop time/h	孵化率 Hatchability/%	畸形率 Deformity rate/%	出膜时间 Incubation time/h	活力 Vitality
淡水 Freshwater	原肠后期 Late-gastrula period	8.03±0.57	0.00±0.00	—	—	—
5	—	—	15.37±5.29 ^{abcd}	100.00±0.00 ^f	18.80±0.51 ^{bc}	+
10	—	—	24.88±3.07 ^{cd}	76.03±3.91 ^e	19.02±0.30 ^c	+
15	—	—	41.34±0.04 ^{ef}	47.33±17.30 ^d	17.94±0.28 ^a	+
20	—	—	52.83±21.80 ^f	3.67±0.81 ^b	17.87±0.40 ^a	+++
25	—	—	84.92±5.88 ^h	0.00±0.00 ^a	18.72±0.15 ^{bc}	+++
30	—	—	81.23±6.17 ^g	6.00±2.67 ^b	18.52±0.10 ^{bc}	+++
对照 Control	—	—	80.41±13.55 ^g	7.33±2.52 ^c	18.49±0.27 ^{bc}	+++
35	—	—	31.00±9.10 ^{dc}	40.43±10.83 ^d	18.37±0.19 ^b	+++

(0)。盐度 30 组孵化率与对照组之间无显著差异 ($P>0.05$), 其他组与对照组之间均有显著差异 ($P<0.05$)。

对盐度、孵化率、畸形率进行拟合的关系曲线见图 3。孵化率和畸形率与盐度具有显著相关性, 随着盐度的升高, 孵化率先升高后降低的趋势, 畸形率则相反。两者的回归方程分别为: $y_a=-0.12x^2+6.20x-11.09$ ($R^2=0.730$, $P<0.05$), $y_b=0.25x^2-12.83x+168.62$ ($R^2=0.892$, $P<0.05$)。由方程计算可得盐度 25.8 时孵化率最高, 25.7 时畸形率最低。

2.2.3 盐度对出膜时间的影响 淡水组胚胎无法破膜, 经过 8 h 发育至原肠后期即夭亡(表 2)。盐度 15 和 20 组的出膜时间最短, 分别为 (17.94±0.28) 和 (17.87±0.40) h, 显著

低于其他盐度组 ($P<0.05$)。盐度 25~35 组出膜时间逐渐缩短, 但差异均不显著 ($P>0.05$)。

2.2.4 盐度对胚胎发育形态的影响 正常胚胎原肠末期(图 4-a)囊胚层下包卵黄至 3/4 处, 并逐渐向下包裹; 随后胚孔闭合, 胚体出现, 进入胚体形成期(图 4-b)。与正常原肠期胚胎相比, 淡水组胚胎原肠期卵黄囊萎缩(图 4-c), 颜色逐渐混浊, 最终夭亡。盐度 5~15 组部分胚胎原肠末期还未结束就进入胚体形成期, 2 个时期共存, 并继续向后发育(图 4-d)。

2.3 pH 影响结果

2.3.1 pH 对孵化率和畸形率的影响 由表 3 可见, pH

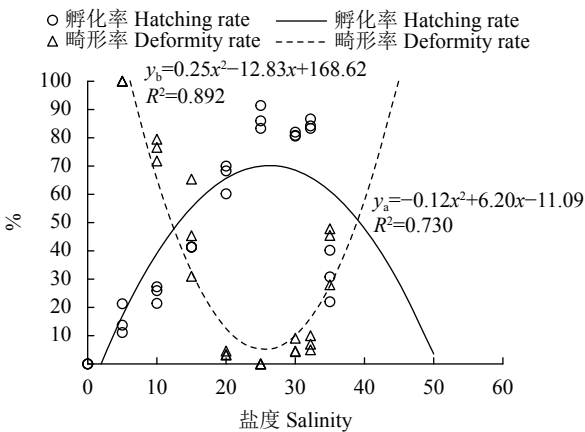


图3 多纹钱蝶鱼孵化率、畸形率与盐度的关系
Figure 3 Relationship among salinity, hatching rate and deformity rate of *S. multifasciata*

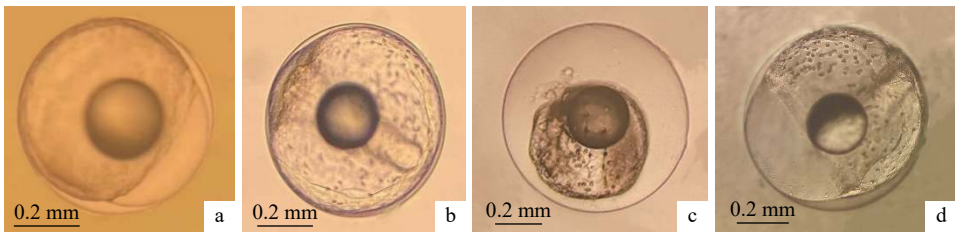


图4 不同盐度下多纹钱蝶鱼胚胎发育观察
a. 正常胚胎原肠后期; b. 正常胚体形成期; c. 淡水组胚胎原肠后期; d. 盐度 5~15 组部分胚胎胚体形成期。
Figure 4 Observation of embryonic development of *S. multifasciata* at different salinities
a. Late-gastrula period of normal embryo; b. Normal embryogenesis period; c. Late-gastrula period of fresh water; d. Embryogenesis of partial embryos at salinity 5–15.

表3 pH对多纹钱蝶鱼胚胎发育的影响
Table 3 Effects of pH on embryonic development and newly hatched larvae of *S. multifasciata*

pH	孵化率 Hatchability/ %	畸形率 Deformity rate/ %	出膜时间 Incubation time/h	活力 Vitality
5.0	0	—	—	—
5.5	12.41±4.67 ^a	97.67±2.52 ^d	26.51±0.09 ^e	+
6.0	86.89±2.42 ^c	23.41±5.04 ^c	23.41±0.10 ^f	+
6.5	90.44±2.27 ^c	14.60±0.56 ^b	22.06±0.10 ^e	+
7.0	93.02±2.89 ^c	2.42±0.26 ^a	19.82±0.21 ^d	+++
7.5	91.45±2.03 ^c	1.56±1.41 ^a	18.88±0.16 ^c	+++
8.0	90.83±2.56 ^c	5.53±0.28 ^a	18.69±0.18 ^c	+++
对照 Control	89.89±3.08 ^c	3.31±1.80 ^a	18.33±0.17 ^b	+++
8.5	69.32±5.70 ^b	3.60±2.56 ^a	17.93±0.16 ^a	+
9.0	0	—	—	—
9.5	0	—	—	—
10.0	0	—	—	—

5.5~8.5 均能孵出仔鱼, 其他 4 组孵化率为 0。pH 5.5 时, 孵化率较低, 仅为 (12.41±4.67)%, 畸形率高达 (97.67±2.52)%, 与其他各组差异显著 ($P<0.05$)。pH 6.0~8.0 组与对照组孵化率均较高, 高于 60%, 各组间无显著性差异, 但 pH 6.0、6.5 组畸形率较高, 分别为 (23.41±5.04)%、(14.60±0.56)%, 显著高于其他 3 组 ($P<0.05$)。

对 pH、孵化率、畸形率进行拟合的关系曲线见图 5。随着 pH 的升高, 胚胎孵化率呈先升高后降低的趋势, 畸形率相反。两者的回归方程分别为: $y_a = -16.91x^2 + 247.45x - 812.98$ ($R^2 = 0.794$, $P < 0.05$), $y_b = 21.47x^2 - 324.05x + 1216.3$ ($R^2 = 0.879$, $P < 0.05$)。由方程计算可得 pH 7.3 时孵化率最高, pH 7.0~8.0 时畸形率均为 0。

2.3.2 pH 对出膜时间的影响 pH 对多纹钱蝶鱼的出膜时间具有显著影响, 随着 pH 的升高, 出膜时间逐渐缩短 (表 3)。pH 8.5 组出膜时间最短 [(17.93±0.16) h], 显著低于其他组 ($P < 0.05$); pH 5.5 组出膜时间最长 [(26.51±0.09) h], 显著高于其他组 ($P < 0.05$); pH 7.5、8.0 组的出膜时间差异不显著 ($P > 0.05$)。

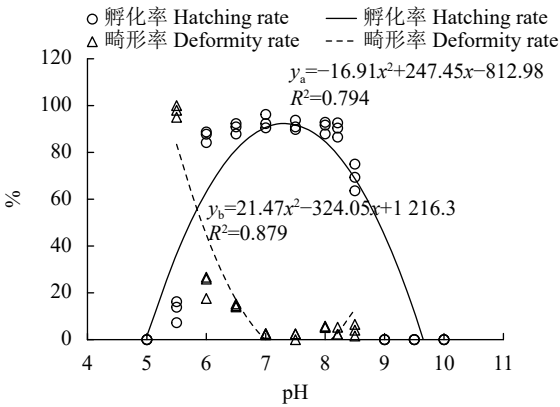


图5 多纹钱蝶鱼孵化率、畸形率与pH的关系
Figure 5 Relationship among pH, hatching rate and deformity rate of *S. multifasciata*

2.3.3 pH 对胚胎发育形态的影响 pH 5.0、5.5 组, 胚胎进入水体 10 min 后即由澄清透明变混浊, 胚胎仍然继续向后发育, 但色素逐渐堆积。pH 5.0 组无法破膜。正常胚胎耳石形成期耳囊轮廓明显, 耳囊内可见耳石, 初孵仔鱼形态

清晰, 活力强 (图 6-a); pH 5.5 组耳石形成期颜色暗沉, 且脊椎呈螺旋状扭曲 (图 6-c), 破膜前几乎无法观察到心跳, 初孵仔鱼均为畸形, 且无游动能力 (图 6-d)。

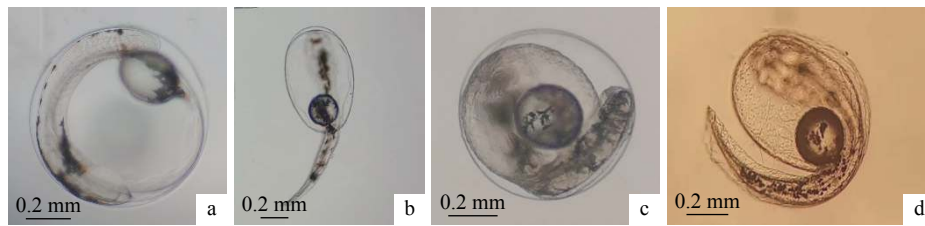


图6 不同pH下胚胎多纹钱蝶鱼发育观察

a. 正常胚胎耳石形成期; b. 正常初孵仔鱼; c. pH 5.5 组胚胎耳石形成期; d. pH 5.5 组初孵仔鱼。

Figure 6 Observation of embryo development of *S. multifasciata* at different pH

a. Appearance of statolith of normal embryo; b. Normal newly hatched larvae; c. Appearance of statolith of embryo in pH 5.5 group; d. Malformation of newly hatched larvae in pH 5.5 group.

3 讨论

3.1 温度对胚胎发育的影响

本研究显示 24~36 °C 下多纹钱蝶鱼可以孵化出膜, 其胚胎孵化率和畸形率与水温显著相关, 变化趋势与斑马鱼 (*Brachydanio rerio* var)^[11]、日本黄姑鱼 (*Nibea japonica*)^[8] 等海水鱼类的研究结果一致。从孵化率、畸形率和初孵仔鱼的游动活力 3 方面综合分析, 多纹钱蝶鱼的最适孵化水温为 26~28 °C, 与同科金钱鱼的最适孵化水温 28~30 °C^[12] 相近。

温度会影响鱼类胚胎的发育时数, 温度过低则代谢活动降低, 能量积累慢, 从而抑制胚胎发育进程^[13]。本研究中, 温度降低, 出膜时间延长, 低于 20 °C 时胚胎畸形, 甚至过早夭亡; 随着温度的升高, 胚胎出膜时间持续缩短。这与半滑舌鲷 (*Cynoglossus semilaevis*)^[5]、鲩状黄姑鱼 (*N. miichthioides*)^[14]、真鲷 (*Pagrus major*)^[15]、军曹鱼 (*Rachycentron canadum*)^[16] 等多数暖水性海洋鱼类相同。水温升高虽然可以缩短多纹钱蝶鱼的出膜时间, 促进胚胎发育, 但对其生长发育并非绝对有利。本研究中 34、36 °C 组畸形率较高, 且初孵仔鱼活力低。Kamler^[13] 的研究表明, 当温度过高, 超过鱼类的自身调节范围时, 鱼的代谢强度增大, 能量消耗大于能量积累, 从而影响仔鱼的出膜, 导致畸形。对军曹鱼^[17]、真鲷^[15]、青鳉 (*Oryzias latipes*)^[18] 等研究表明, 亲鱼性腺发育所处的温度条件会影响鱼类胚胎发育的温度。本研究中, 温度降低至 20 °C 时胚胎孵化率为 0, 明显低于 30 °C 时的孵化率, 这是因为多纹钱蝶鱼成鱼主要生活于印度-西太平洋海域, 属于暖水性海洋鱼类, 因此其胚胎对高温的耐受性强于低温, 不适宜在北方低温环境中培育。

3.2 盐度对胚胎发育的影响

多纹钱蝶鱼受精卵中央的大油球能使受精卵漂浮于水中, 具有典型硬骨鱼类浮性卵的特性, 其受精卵在不同盐度水体中的沉浮状态与日本黄姑鱼^[8]、军曹鱼^[17] 的受精卵稍有不同。低盐度使受精卵发育早期沉底, 胚胎难以得到足够的氧气, 同时还会受死亡胚胎影响, 导致孵化率降低, 畸形率升高, 对生产不利。盐度 25 时多纹钱蝶鱼孵化率高达 (84.92±5.88)%, 畸形率为 0, 因此在多纹钱蝶鱼苗种培育时, 若海水盐度低于 25, 可适当调高孵化用水盐度, 并保持连续充气, 使受精卵处于悬浮状态。

盐度显著影响多纹钱蝶鱼的孵化率和畸形率, 这与大黄鱼 (*Larimichthys crocea*)^[19]、杂交石斑鱼^[20]、日本黄姑鱼^[8] 等大多数鱼类一样, 随着盐度的升高, 孵化率呈先升高后降低的趋势, 而畸形率则相反。低盐条件下海水鱼胚胎细胞骨架解体, 无法顺利孵化, 淡水条件下多纹钱蝶鱼胚胎仅能发育至原肠期, 最终全部夭亡; 青岛文昌鱼 (*Branchiostoma tsingdauertse*)^[21] 胚胎仅能发育至 4 或 8 细胞期, 盐度为 4 时全部夭亡; 条斑星鲷 (*Verasper moseri*)^[22]、日本黄姑鱼^[8] 胚胎则在盐度 10 时全部夭亡。因此判断海水鱼类胚胎的孵化也需要一定的盐度, Ciapa 和 Philippe^[23] 的研究证实了这一发现: 当胚胎孵化环境中缺少钠离子 (Na⁺) 时, 有丝分裂促进因子激活量减少, 代谢成本增加, 酶活性减弱, 从而导致生物发育停滞。盐度介于 25~32 时受精卵一直保持着较高孵化率 (高于 60%), 而畸形率低于 10%, 表明多纹钱蝶鱼胚胎孵化最适盐度范围较广, 与其广盐性的特点相吻合。然而, 当盐度低于 25 或高于 32 时, 孵化率急剧降低, 畸形率急剧升高。从孵化率、畸形率及初孵仔鱼活力综合分析, 认为盐度 25~32 是多纹钱蝶鱼胚

胎发育的最适盐度范围。

3.3 pH 对胚胎发育的影响

pH 对多纹钱蝶鱼胚胎的孵化率、畸形率及出膜时间的影响结果与叶尔羌高原鳅 (*Triplophysa yarkandensis*)^[24]、斑马鱼^[11]、斜带石斑鱼 (*Epinephelus coioides*)^[25]、黄鳍东方鲀 (*Takifugu xanthopterus*)^[26] 等研究一致。这种影响机制可以从两方面分析: 1) 胚胎发育阶段的酸碱调节机制尚未发育完全, 遭到了极端 pH 环境的破坏^[27]; 2) pH 通过改变胚胎孵化过程中酶与底物的结合或改变酶的构象^[28-30] 2 种途径来影响酶活力大小, pH 过高或过低, 均会引起酶活力下降, 从而降低孵化率。综合分析 pH 对多纹钱蝶鱼孵化率、畸形率的影响, pH 7.0~8.2 时, 多纹钱蝶鱼胚胎孵化率较高, 畸形率较低, 游动活力较强, 为其胚胎发育的最适 pH 范围。多数海水鱼类适应于中性或偏弱碱性的水环境, 本研究结果显示多纹钱蝶鱼与大多数海水鱼类的适宜 pH 条件一致。

极端的 pH 会显著影响胚胎形态。研究表明, 低 pH 可致鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix*)^[31] 胚胎畸形, 绝大多数畸形个体为背腹方向的弯体, 腹部呈膨大状, 少数畸形胚出现小头, 这与本研究 pH 5.5 组表现相似。pH 5.0 组多纹钱蝶鱼受精卵的卵黄囊皱缩; pH 9.0~10.0, 胚胎夭亡, 无法出膜。这是因为鱼类早期生命阶段酸碱调节机制还未发育完全^[28,30-33], 极端的 pH 引起胚胎卵膜软化, 卵球塌陷失去弹性, 并且卵膜极易提前破裂, 仔鱼无法正常孵出, 或出膜后即大批量死亡。还有研究表明, pH 不仅对鱼类早期生命阶段产生影响, 还会干扰鱼类的性别决定过程, 引起海水鱼类种群的性别失调, 进而对鱼类的繁育也造成一定影响^[34]。

3.4 温度、盐度、pH 影响对比

温度、pH 均显著影响多纹钱蝶鱼的出膜时间, 但盐度对出膜时间的影响不显著 ($P>0.05$), 各盐度组多纹钱蝶鱼的孵化出膜时间大致相同。对比发现, 盐度对多纹钱蝶鱼胚胎发育的影响不及温度和 pH 显著, 这与黄姑鱼 (*N. albiflora*)^[35]、棘颊雀鲷 (*Premnas biaculeatus*)^[36] 等海水鱼和尖鳍鲤 (*Cyprinus carpio*)^[37]、倒刺鲃 (*Spinibarbus denticulatus*)^[38]、似刺鲃 (*Paracanthobrama guichenoti* Bleeker)^[39] 等淡水鱼类胚胎发育的研究结果一致。

多纹钱蝶鱼胚胎发育过程中, 原肠期到胚体形成期对环境温度、盐度条件较为敏感。温度影响实验中, 24 ℃ 半数胚胎发育至原肠中期便夭亡; 盐度影响实验中, 淡水条件下胚胎发育至原肠期便夭亡, 盐度 5~15 部分胚胎原肠末期还未结束便进入胚体形成期, 2 个时期共存; 而能顺利渡过原肠期进入胚体形成期的胚胎一般可以完成胚胎发育

并出膜。邵鑫斌等^[40] 研究发现, 绿鳍马面鲀 (*Thamnaco-nus septentrionalis*) 在胚胎发育到胚体形成期时对温度条件更为敏感, 胚胎畸形率升高。陈漪等^[41] 对比海水和淡水青鳉的胚胎发育发现, 淡水青鳉原肠期至胚体形成期的发育时序与本研究的多纹钱蝶鱼相同, 原肠末期与胚体形成期共存。

4 结论

本文通过研究多纹钱蝶鱼胚胎发育的适宜条件发现多纹钱蝶鱼的胚胎发育容易受外界环境的影响, 其最适孵化温度为 26~28 ℃, 盐度为 25~32, pH 为 7.0~8.2, 此研究结果可为多纹钱蝶鱼苗种培育及生产提供科学依据。

参考文献:

- [1] 刘鉴毅, 李琪, 孙艳秋, 等. 多纹钱蝶鱼胚胎发育及胚后发育观察 [J/OL]. 中国水产科学: 1-11 [2021-04-23]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/11.3446.S.20210226.1818.002.html>.
- [2] SUZUKI A, TAKEDA M, TANAKA H, et al. Chromosomes of *Scatophagus argus* and *Selenotoca multifasciata* (Scatophagidae)[J]. Jpn J Ichthyol, 1988, 35(1): 102-104.
- [3] LIU Z H, MU X J, GUI L, et al. Complete mitochondrial genome of the striped scat *Selenotoca multifasciata* (Perciformes: Scatophagidae)[J]. Mitochondr DNA A, 2016, 27(4): 2691-2692.
- [4] 罗璋, 许杰, 韩进刚, 等. 多纹钱蝶鱼病原菌 (海豚链球菌) 的分离与鉴定 [J]. 华中农业大学学报, 2012, 31, 11(1): 95-99.
- [5] 杜伟, 蒙子宁, 薛志勇, 等. 半滑舌鳎胚胎发育及其与水温的关系 [J]. 中国水产科学, 2004(1): 48-53.
- [6] 樊廷俊, 史振平. 鱼类孵化酶的研究进展及其应用前景 [J]. 海洋湖沼通报, 2002(1): 48-56.
- [7] FAN T J. Mechanism of two hatching enzyme molecules on vitelline envelope during the hatching process of *Xenopus laevis*[J]. Acta Zoologica Sinica, 2000, 46(3): 308-313.
- [8] 柴学军, 孙敏, 许源剑. 温度和盐度对日本黄姑鱼胚胎发育的影响 [J]. 南方水产科学, 2011, 7(5): 43-49.
- [9] 肖枫, 康怀彬. 环境胁迫对水产动物胚胎及幼苗发育影响的研究概况 [J]. 生物学通报, 2007(2): 15-16.
- [10] 田相利, 王国栋, 董双林, 等. 不同盐度驯化方式对小鲟 (*Huso huso*)(♀)×(♂) (*Acipenser ruthenus*)(♂) 生长及渗透生理的影响 [J]. 中国海洋大学学报 (自然科学版), 2010, 40(7): 29-35.
- [11] 陈楠, 高雯, 张磊, 等. 水温、pH 值和光照对斑马鱼受精卵孵化率的影响 [J]. 水产养殖, 2016, 37(7): 27-31.
- [12] 张璋, 金钱鱼全人工繁育技术的研究 [D]. 广州: 华南师范大学, 2012: 3-5.
- [13] KAMLER E. Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective[J]. Rev Fish Biol Fish, 2002, 12(1): 79-103.
- [14] 黄永春, 胡石柳, 周泽斌, 等. 鲢状黄姑鱼早期发育特征及对温盐度的适应性 [J]. 中国海洋大学学报 (自然科学版), 2006,

- 36(1): 101-106.
- [15] 陈政强, 林锦宗, 张雅芝, 等. 温度对秋冬季生殖真鲷胚胎发育及仔、稚鱼存活的影响 [J]. 厦门水产学院学报, 1996(1): 63-70.
- [16] 邝杰华, 陈刚, 马骞, 等. 军曹鱼的胚胎发育及仔稚鱼形态观察 [J/OL]. 水产学报: 1-12 [2021-04-23]. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/31.1283.S.20210329.1522.006.html>.
- [17] 孙丽华, 陈浩如, 王肇鼎. 盐度对军曹鱼胚胎和仔鱼发育的影响 [J]. 生态科学, 2006, 25(1): 48-51.
- [18] 刘凯凯, 袁廷柱, 唐君玮, 等. 温度对海水青鲮胚胎发育的影响 [J]. 四川动物, 2020, 39(6): 658-663.
- [19] 黄伟卿, 林培华, 张艺, 等. 大黄鱼胚胎发育受盐度的影响及早期苗种耐低盐研究 [J]. 广州大学学报 (自然科学版), 2018, 17(5): 35-39.
- [20] 黄建盛, 陈刚, 张健东, 等. 盐度对杂交石斑鱼受精卵孵化和卵黄囊仔鱼形态及活力的影响 [J]. 中国水产科学, 2017, 24(3): 507-515.
- [21] 吴贤汉, 张宝禄, 曲艳梅. 温度和盐度对青岛文昌鱼胚胎发育的影响 [J]. 海洋科学, 1998(4): 66-68.
- [22] 王妍妍, 柳学周, 刘新富, 等. 温度、盐度对条斑星鲷胚胎发育的影响 [J]. 海洋水产研究, 2008, 29(6): 27-32.
- [23] CIAPA B, PHILIPPE L. Intracellular and extracellular pH and Ca are bound to control mitosis in the early sea urchin embryo via ERK and MPF activities[J]. PLoS One, 2013, 8(6): 66-113.
- [24] 陈生熬. 叶尔羌高原鳅早期发育及盐碱适应生理机制 [D]. 武汉: 华中农业大学, 2019: 61-76.
- [25] 张海发, 刘晓春, 王云新, 等. 温度、盐度及 pH 对斜带石斑鱼受精卵孵化和仔鱼活力的影响 [J]. 热带海洋学报, 2006(2): 31-36.
- [26] 张海发, 舒琥, 王云新, 等. 盐度及 pH 对黄鳍东方鲀受精卵孵化和仔鱼活力的影响 [J]. 广东海洋大学学报, 2007(3): 28-32.
- [27] GALLOWAY J N, NORTON S A, CHURCH M R. Freshwater acidification from atmospheric deposition of sulfuric acid: a conceptual model[J]. Environ Sci Technol Lett, 1983, 17(11): 541A.
- [28] 许友卿, 张仁珍, 丁兆坤. pH 对鱼类繁育及生长发育的影响 [J]. 水产科学, 2014, 33(2): 133-136.
- [29] RUSSELL B D, HARLEY C D G, WERNBERG T, et al. Predicting ecosystem shifts requires new approaches that integrate the effects of climate change across entire systems[J]. Biol Lett, 2012, 8(2): 164.
- [30] 郭永军, 陈成勋, 李占军, 等. 水温和盐度对鲤鱼 (*Cyprinus carpio* L.) 胚胎和前期仔鱼发育的影响 [J]. 天津农学院学报, 2004(3): 5-9.
- [31] 张甫英, 李辛夫. 酸性水对几种主要淡水鱼类的影响 [J]. 水生生物学报, 1997, 21(1): 40-48.
- [32] FROMMEL A Y, STIEBENS V, CLEMMESSEN C, et al. Effect of ocean acidification on marine fish sperm (Baltic cod: *Gadus morhua*) [J]. Biogeosciences, 2010, 7(4): 3915-3919.
- [33] 宋振鑫, 陈超, 吴雷明, 等. 盐度与 pH 对云纹石斑鱼胚胎发育和仔鱼活力的影响 [J]. 渔业科学进展, 2013, 34(6): 52-58.
- [34] BAROILLER J F, D'COTTA H, SAILLANT E. Environmental effects on fish sex determination and differentiation[J]. Sex Dev, 2009, 3(2/3): 118-135.
- [35] 黄贤克, 单乐州, 闫茂仓, 等. 黄姑鱼胚胎发育及其与温度和盐度的关系 [J]. 海洋科学, 2017, 41(7): 44-50.
- [36] 王珊珊. 环境因子对棘颊雀鲷的产卵及胚胎发育的影响 [D]. 舟山: 浙江海洋学院, 2015: 36-38.
- [37] 赵俊, 易祖盛, 陈湘舜, 等. 水温和盐度对尖鳍鲤胚胎发育的影响 [J]. 淡水渔业, 1995(5): 10-12.
- [38] 谢刚, 陈焜慈, 胡隐昌, 等. 倒刺鲃胚胎发育与水温和盐度的关系 [J]. 大连水产学院学报, 2003(2): 95-98.
- [39] 徐钢春, 张守领, 顾若波. 盐度对似刺鲃胚胎发育过程的影响 [J]. 淡水渔业, 2012, 42(1): 72-75.
- [40] 邵鑫斌, 张立宁, 马建忠, 等. 温度对绿鳍马面鲀胚胎发育和孵化率的影响 [J]. 浙江农业科学, 2021, 62(4): 790-791.
- [41] 陈漪, 王晓杰, 冉皓宇, 等. 海水模式种青鳉鱼 (*Oryzias melastigma*) 的胚胎发育观察 [J]. 海洋与湖沼, 2016, 47 (1): 71-82.