

研究简报

奥利亚罗非鱼生殖期若干生理生化指标的测定

张峰 祝国芹 桂远明 王国恩
(养殖系)

The Determination of Several Physiobiochemical Indexes in Reproductive Period of *Tilapia aurea*

Zhang Feng Zhu guoqin Gui Yuanming Wang Guoen
(Dept. of Aquaculture, Dalian Fisheries College)

关键词 生理生化指标; 生殖期; 奥利亚罗非鱼

王祖熊等(1964)研究了池养白鲢生殖周期中卵巢的生化组成变化; 孙建贻(1985)研究了鲢鱼生殖洄游期间肌肉含脂量和含水量的变化; 王祖熊(1965)研究了草鱼性腺发育过程中血液指标的变化; 赵明蓟(1979)研究了池养鲤和草鱼的血液学指标。Milroy (1908)研究了鲢鱼在生殖周期中的化学组成变化; Greene (1921)研究了王鲑鱼(King Salmon)产卵洄游过程中卵巢发育的化学变化。罗非鱼是很有价值的养殖鱼类, 但上述方面的研究尚未见报道。为了给罗非鱼类繁殖提供科学依据, 本文拟测定奥利亚罗非鱼(*Tilapia aurea*)生殖期的生理生化指标, 并将对这些指标与卵巢发育的关系作一初步探讨。

1 材料和方法

实验用鱼取自大连发电厂鱼种场3、4号亲鱼池。1986年4月21日取第一批, 1986年5月13日取第二批, 均系2龄鱼种, 共计34尾, 平均每尾体重58.76克。全部鱼饲养于流水水族箱内, 日投饵量为体重的10%, 水温24~29℃, 溶氧昼夜变化极限值为0.80~7.60mg/L, pH值为6.4~6.7。水质情况见表1和表2。

表1 水中氮、磷、铁含量的测定结果 (mg/L)

日期	种类	NH ₃ -N	NO ₂ -N	NO ₃ -N	总磷	总铁
5月10日		0.540	2.310	0.505	0.340	0.520
5月24日		0.325	0.505	0.0558	0.513	0.360

本文于1988年8月29日收到。

表 2 水中藻类种类及其生物量

日期	种类 生物量	小环藻	小球藻	衣藻	栅藻	舟形藻	铁杆藻	菱形藻	桥穹藻	茧形藻	合计
		个/升 毫克/升	个/升 毫克/升	个/升 毫克/升	个/升 毫克/升	个/升 毫克/升	个/升 毫克/升	个/升 毫克/升	个/升 毫克/升	个/升 毫克/升	
5月10日	个/升	250	3607	47.6	40.8	43.52	2.72	17.68	8.16	10.88	70.88
	毫克/升	$\times 10^6$ 28.75	$\times 10^5$ 18.05	$\times 10^5$ 9.52	$\times 10^5$ 0.82	$\times 10^5$ 6.53	$\times 10^5$ 1.63	$\times 10^5$ 1.77	$\times 10^5$ 1.63	$\times 10^5$ 2.18	
5月24日	个/升	247.5	3732	19.04	78.88	25.84	4.08	9.52	14.96	2.72	67.97
	毫克/升	$\times 10^5$ 33.77	$\times 10^5$ 18.66	$\times 10^5$ 3.81	$\times 10^5$ 1.58	$\times 10^5$ 3.88	$\times 10^5$ 2.45	$\times 10^5$ 0.29	$\times 10^5$ 2.99	$\times 10^5$ 0.54	

1.1 耗氧率的测定

采用流水式密封装置。4~5天为一个测定周期，每次取3尾鱼分别放入10升呼吸瓶，同时设空白瓶作为对照。适应2小时后每隔2小时测定水中溶氧。流量为3.6升/小时或5.4升/小时。最后计算24小时内平均每小时的耗氧率。计算公式为：

$$\text{耗氧率}(\text{mg}/\text{kg}\cdot\text{hr}) = \Sigma (\text{空白瓶DO} - \text{盛鱼瓶DO}) \times \text{流量} / (\text{体重} \times 12)$$

1.2 生理生化指标的测定

1.2.1 红细胞计数

10%草酸钾做抗凝剂，从腹主动脉或心脏取血，用改良Neubauer代计数框计数。

1.2.2 血红蛋白测定

用Shali氏血红蛋白计测定。

1.2.3 水分及含脂量测定

取一侧肌肉去鳞去骨后称湿重，肝脏和卵巢（只用一侧卵巢，另一侧做切片用）直接称重。然后在105℃下烘干，称重并求含水量，用索氏法测定含脂量。

1.3 卵巢发育情况检查

石蜡切片，发育分期按梅因氏分期法划分。

2 结 果

2.1 卵巢发育过程中耗氧率的变化

奥利亚罗非鱼的耗氧率在卵巢发育过程中的变化如表3和图1所示。I期时为93.28mg/kg·hr，II早期最高，为175.83mg/kg·hr，而进入IV期时耗氧率下降，IV末期最低，达到67.52mg/kg·hr。

表 3 奥利亚罗非鱼24小时平均耗氧率(mg/kg·hr)

编 号	1	2	3	4	5	6
体重(g)	53.7	50.95	58.70	55.26	58.93	58.12
性成熟期	II	III早	III末	IV早	IV中	IV末
耗氧率	93.28	175.83	165.42	156.27	90.87	67.52

2.2 卵巢发育过程中肌肉、肝脏和卵巢含水量

水量的变化

肌肉和肝脏含水量的变化较稳定(表 4)。而卵巢含水量变化比较明显,即: I 期为 78.90%, IV 末期下降为 59.3% (表 4)。

2.3 卵巢发育过程中肌肉、肝脏和卵巢含脂量

脂量的变化

肌肉含脂量在卵巢发育过程中出现下降的趋势(表 4)。肝脏的含脂量则有一定的波动, I 期为 5.9%, 进入 IV 早期上升到 7.27%, 到 IV 中期时下降为 3.81% (表 4)。而卵巢的含脂量在这期间出现了明显上升趋势, I 期为 7.86%, 到 IV 末期达到 11.55% (表 4)。

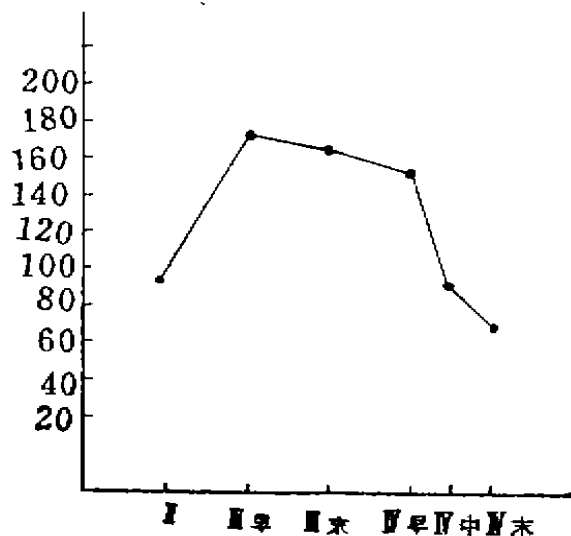


图 1 奥利亚罗非鱼卵巢发育过程中耗氧率的变化

表 4 肌肉、肝脏及卵巢的含水量和含脂量

编 号	性成熟期	肌 肉		肝 脏		卵 巢	
		水分 (%)	脂质 (%)	水分 (%)	脂质 (%)	水分 (%)	脂质 (%)
1	I	75.7	4.71	74.3	6.90	78.9	7.86
2	IV 早	74.8	4.19	72.5	5.88	79.1	7.91
3	IV 末	75.5	3.31	72.3	6.56	77.6	7.99
4	IV 早	75.1	3.89	74.8	7.27	65.1	9.51
5	IV 早	75.6	3.64	74.3	6.81	67.2	11.09
6	IV 中	75.8	2.84	73.3	5.24	62.7	11.19
7	IV 中	77.4	2.60	73.9	4.85	62.4	11.27
8	IV 末	77.5	2.44	74.2	3.87	61.1	11.35
9	IV 末	77.7	2.10	74.9	3.81	59.3	11.55

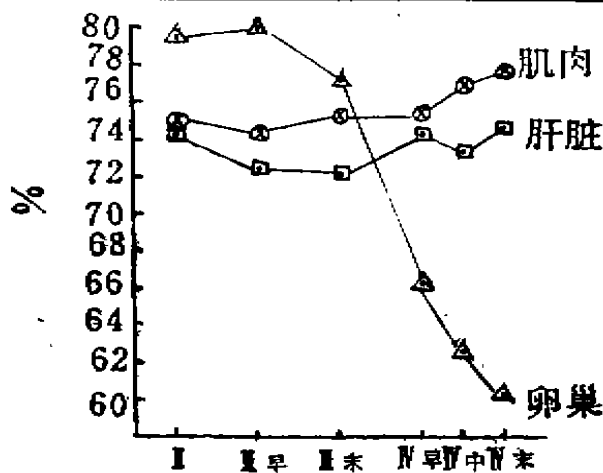


图 2 肌肉、肝脏和卵巢含水量的变化

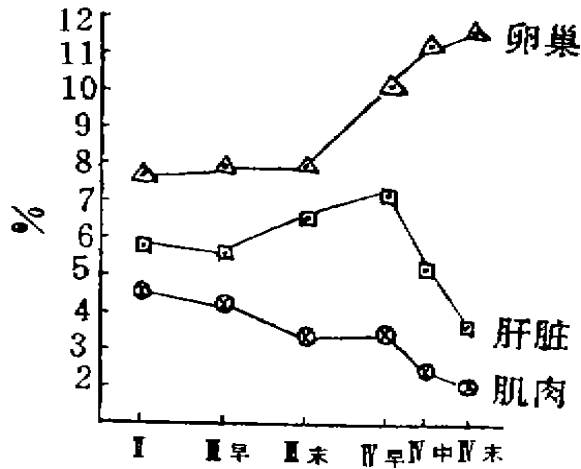


图3 肌肉、肝脏和卵巢含能量的变化

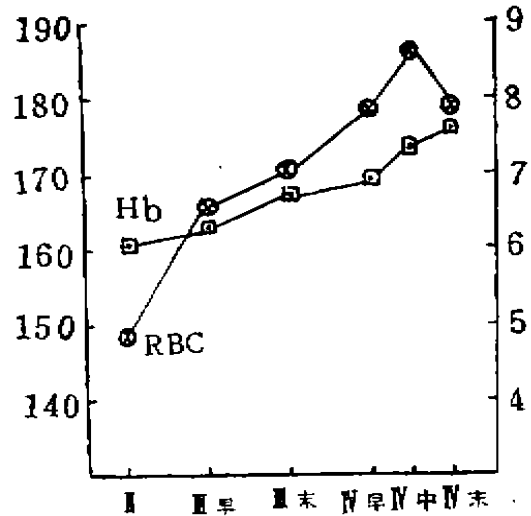


图4 RBC和Hb的变化

2.4 卵巢发育过程中红血球数量和血红蛋白含量的变化

在卵巢发育成熟过程中, 奥利亚罗非鱼的红血球(RBC)数量呈明显上升的趋势(表5)。即从Ⅱ期的148.77万/毫米³上升到Ⅳ中期的186.86万/毫米³, Ⅳ末期又下降。

血红蛋白(Hb)含量的变化自Ⅱ期至Ⅳ期之间也呈现上升趋势, 即Ⅱ期为6.1克/100毫升, Ⅳ期为7.62克/100毫升。

表5 红血球数量和血红蛋白含量的变化

编 号	1	2	3	4	5	6
鱼 数	3	5	4	6	4	4
性成熟期	Ⅱ	Ⅲ早	Ⅲ末	Ⅳ早	Ⅳ中	Ⅳ末
RBC (万/毫米 ³)	148.77	165.22	170.22	179.49	186.86	178.59
Hb (克/100毫升)	6.1	6.4	6.7	6.9	7.4	7.62

3 讨 论

3.1 关于耗氧率变化的问题

从图1可以看出, 奥利亚罗非鱼的耗氧率从卵巢Ⅰ期到Ⅲ早期明显上升。Ⅰ期到Ⅲ早期正是原生质积累的时期, 需要从食物中补充大量的蛋白质, 蛋白质的消化吸收和积累导致了机体的代谢强度的提高, 这是此期耗氧率上升的主要原因。当卵巢进入Ⅲ期以后, 奥利亚罗非鱼的耗氧率逐渐下降。卵母细胞发育进入Ⅲ期以后正是卵黄开始积累的时期, 此期以增加脂质为主。卵黄的脂质来源于机体内部转化(图3)和食物供给, 而后者是脂质的主要来源。这是进入Ⅲ期以后耗氧率下降的主要原因。从上述分析可以看出外源性食物供给在Ⅰ期到Ⅲ期之间是一个关键时期, 在奥利亚罗非鱼人工繁殖时应予以注意。

3.2 关于含水量和含脂量变化的问题

从图 2 图 3 和表 4 可以看出肌肉、肝脏及卵巢含水量和含脂量的变化。

奥利亚罗非鱼生殖周期中, 肌肉和肝脏的含水量基本保持平稳。但卵巢的含水量却出现了明显下降的趋势, 特别是从 III 末期到 IV 末期。此期正是卵巢发育过程中卵母细胞积累脂质的大生长期。同时发现, 从 III 末期到 IV 末期是卵巢含脂量明显上升阶段。因此, 可以认为卵巢含水量的下降与含脂量的上升有关。王祖熊、王精豹(1964)在研究白鲢性腺及肝脏中脂肪含量与性质时指出, “卵巢的含水量是随卵巢的发育而减少的, 即将成熟排卵的卵巢比早期的要少约 20%。”王祖熊等(1964)在研究池养白鲢生殖周期中卵巢生化组成的变化时还表明, “卵巢的含水量百分比随发育成长而降低, 在 IV 末期达到最低 (61.0%)。”本文所得到的结果与王祖熊的结果相同。

奥利亚罗非鱼卵巢含脂量 (图 3) 自 I 期到 III 期略有上升; 此时的肝脏含脂量也有所上升, 而肌肉的含脂量却出现下降趋势。此阶段卵巢所需要的脂肪主要由食物供给。从 IV 早期开始到 IV 末期, 卵巢含脂量出现明显上升 (增加 1.84 克)。与此相反, 肌肉和肝脏的含脂量却都相应地直线下降 (减少 4.85 克)。当卵巢含脂量达到最高点时, 肌肉和肝脏的含脂量也降到最低点。由此可见, 在奥利亚罗非鱼卵巢发育的后期所需要的脂肪完全可以由机体内部自行调剂。这一点同王祖熊和王精豹(1964)研究白鲢性腺及肝脏中脂肪含量与性质中所得的结论一致, 即卵巢发育过程中所需的脂肪在后期可由肝脏等组织供给。但是否此期卵巢发育就可以不必利用外界食物中的脂肪呢? 这个问题有待于进一步研究。我们认为, 奥利亚罗非鱼卵巢发育到 IV 早期至 IV 末期, 摄食低脂食物一般不会影响卵巢的发育。

3.3 关于红血球数量和血红蛋白含量的变化

从图 4 可以看出, 奥利亚罗非鱼在生殖周期中, RBC 数量随卵巢发育而增加, Hb 也同样呈现上升。我们认为此期 RBC 的数量和 Hb 含量的增加是机体代谢活动增强而引起的。I 期至 III 期之间由于蛋白质的消化吸收和积累导致了此阶段的耗氧率的升高进而引起 RBC 和 Hb 的增加。这也是此期鱼体的一种生理补偿反应。进入 III 期以后, 耗氧率有所下降, 但 RBC 和 Hb 依然持续上升, 与林光华(1979)的结论相同。我们认为这是由于此期正值卵母细胞内卵黄合成积累, 物质转运过程仍在持续增强的缘故。

参 考 文 献

- (1) 王祖熊, 孙美娟, 高汉蛟, 朱蓝菲和赵明莉, 池养白鲢生殖周期中卵巢生化组成变化的研究, 水生生物学集刊, 1964, 5(1): 103~113
- (2) 王祖熊, 草鱼性腺发育过程中血液指标的变化, 中国水产学会学术年会论文摘要, 1965
- (3) 赵明莉等, 池养鳊和草鱼血液学指标的研究, 水生生物学集刊, 1979; 6(4): 453~464
- (4) 林光华, 鲫鱼血液的研究, 动物学报, 1979; 25(3): 210~218
- (5) 孙建胎等, 鲢鱼生殖周期期间肌肉含脂量和含水量的变化, 鱼类学论文集, 1985; 第四辑: 141
- (6) Millroy T H. Changes in the chemical composition of the herring during the reproductive period. *Biochem. J.*, 1906; 3: 366~370
- (7) Greene C W. Chemical development of the Ovaries of kin; *Salmon. J. Biol. Chem.*, 1921; 48(1): 59~72

研究简报

紫外线对海带雌配子体诱变效应的研究

伊玉华 王仁波
(养殖系)STUDY ON THE MUTAGENIC EFFECT OF ULTRA
VIOLET RADIATION TO LAMINARIA
FEMALE GAMETOPHYTEYi Yuhua Wang Renbo
(Dalian Fisheries College)**关键词:** 紫外线、雌配子体、诱变。

为了促进海带生产的发展和为海带育种工作提供理论依据, 我们于1985年3月开展了紫外线对海带雌配子体诱变效应的研究。

1 材料和方法

1.1 试验材料

取大连黑石礁筏式养殖海带(*Laminaria japonica*)夏苗, 切割海带中带部进行人工促熟*。然后在实验室内将海带表面附着生物洗净, 并在室温下阴干4~8小时, 再于盛有1000毫升消毒海水的玻璃烧杯中采孢子, 将孢子附着在25×29mm玻片上。培养8天后, 玻片上的孢子发育成配子体, 经检查, 选出分布均匀、发育一致和健康的配子体作为试验材料。

1.2 试验方法

培养液是用消毒海水加 NaNO_3 4PPM和 K_2HPO_4 0.4PPM配制而成。用直径7.5cm的培养皿盛18毫升培养液培养配子体。每周换一次水。用30W日光灯进行光照, 光强约1500米烛。为确保每天有10小时光照, 白天用黑纸遮盖培养皿, 晚上打开接受光照。在实验室通常条件下培养, 温度为13~20℃。

紫外线照射分为0秒(对照)、5秒、10秒、20秒、40秒、1分、2分、2.5分、3分、3.5分、4分、4.5分、5分、5.5分、6分、6.5分和7分, 共17个时间剂量级。

照射处理是在安有20W紫外灯的无菌操作箱中进行的。照射距离为30厘米。照射时, 将附着海带配子体的玻片放入盛有8毫升培养液的培养皿内, 玻片上的液层厚约1毫米, 照射完毕再往皿内加入10毫升培养液, 盖上盖并用黑纸包好, 36小时后去掉黑纸转入实验室培养。

本文于1988年2月2日收到

* 促熟的海带材料承郭宜领教授提供。

三次重复，检查时随机取样，每次重复观察五个视野。

2 结 果

2.1 刺激效应

低剂量紫外线有促进海带雌配子体发育和孢子体生长的作用。促进配子体发育的指标是以玻片上形成孢子体百分率估算的（表1）；促进孢子体生长的指标是以孢子体叶面积估算的（表2）。

由表1、表2看出，5~60秒范围内低剂量处理出现孢子体百分率较高，并随照射剂量提高而增加。孢子体生长速度也随剂量提高而加快。

表1 紫外线对海带雌配子体发育影响（照射后培养18天）

照射时间 (秒)	发育指标		
	观察配子体数	观察孢子体数	孢子体百分率(%)
5	178	44	19.8
10	152	45	22.8
20	146	60	29.1
40	138	67	32.7
60	149	75	33.5
120	151	2	15.2
180	167	0	0
0	194	4	18.5

表2 紫外线对海带孢子体生长影响（照射后培养28天孢子体生长速度 μm^2 ）

照射时间 (秒)	平均长 (μm)	平均宽 (μm)	平均面积和标准差 (μm^2)
5	154.7	101.2	1320.9 \pm 19.4
10	216.8	126.1	2307.4 \pm 384.9
20	213.0	117.8	2111.0 \pm 248.0
40	254.8	122.5	2620.3 \pm 208.0
60	239.1	132.0	2657.2 \pm 207.5
120	147.5	102.3	1275.8 \pm 202.4
0	153.5	96.3	1248.3 \pm 216.1

2.2 抑制和致死效应

紫外线对海带雌配子体的有害作用随照射剂量提高而加剧。具体情况：一是抑制海带雌配子体生长发育，表现成熟晚、排卵少，形成孢子体少；二是产生畸形的配子体和幼孢子体（表3），三是造成配子体死亡（表4）。

海带配子体受害后有个死亡过程。正常的配子体细胞色素体呈颗粒状，棕褐色，较均匀的分布在细胞表面。受到高剂量紫外线照射后，细胞色素体颗粒由四周向细胞中央集聚成块

表3 紫外线对海带孢子体畸形影响（处理后培养23天）

照射时间 (秒)	总 数	畸形孢子体数	畸形率(%)
5	74	9	12.2
10	96	21	21.9
20	101	25	24.8
40	112	51	45.5
60	69	48	69.6
120	82	75	91.5
0	105	5	4.7

表4 紫外线对海带雌配子体死亡影响*（处理后培养1周）

照射时间 (分)	观察配子体数	配子体死亡数	配子体死亡率
2	154	2	1.3
2.5	147	14	9.5
3	155	33	21.3
3.5	150	57	38.0
4	146	33	56.8
4.5	163	108	66.3
5	139	106	76.3
5.5	140	118	82.9
6	123	111	90.2
7	142	142	100

* 对照组无死亡

状,颜色也由棕褐变绿,细胞内出现透明区,至此细胞即死亡。死亡后的细胞逐渐失去绿色而变白。

就海带雌配子体死亡速度而言,照射剂量越高,死亡越快。如处理3分钟和4分钟的海带雌配子体第4天出现死亡,处理5分钟和6分钟的第3天出现死亡,而处理7分钟的第2天即出现死亡(表5)。

表5 紫外线对海带雌配子体死亡速度影响*

照射时间(分)	照射后天数	2	3	4
3		正 常	正 常	少部分变绿
4		正 常	正 常	部分变绿
5		正 常	部分变绿	部分变白
6		正 常	部分变绿	部分变白
7		部分变绿	大部分变白	大部分死亡
对 照		正 常	正 常	正 常

* 部分—40~60%;大部分—70~90%;少部分—10~30%

3 讨 论

(1) 本试验5秒到60秒钟低剂量紫外线照射能促进海带雌配子体发育和幼孢子体生长。据苏联许多试验证明,微量射线照射对植物生长发育有刺激作用。这种作用能提高植物生理机能活力,充分利用已有的营养条件,促进植物生长发育。所以,我们认为本试验的低剂量紫外线刺激作用属于生理效应。

(2) 5秒到60秒低剂量紫外线照射对海带雌配子体既产生有益的生理效应,也产生一定的有害作用。例如照射60秒钟产生的孢子体百分率最高(表1),孢子体叶面积也最大(表2),但此剂量产生的孢子体畸形率也最高(表3)。为什么低剂量紫外线照射会同时产生有益和有害作用呢?我们认为主要原因是海带的自然种群是杂种,具有遗传型不同的配子,这些不同类型的配子具有不同的生理状态,故在同一条件下有不同的反应。

较高剂量紫外线则可能引起细胞物质变化,同时也可能引起某些有害诱发突变。这些细胞物质变化和突变在单倍体雌配子体关键时期,可能容易引起有害效应,导致自身死亡。

(3) 未经紫外线照射的对照组(表3),为什么会出 4.7%畸形的孢子体?这有两种可能:一可能是因环境因素作用引起表型改变。二可能是各种因素的综合作用所引起的自发突变,不过这种可能性是极小的。

4 结 论

(1) 60秒钟紫外线照射是促进海带雌配子体发育和幼孢子体生长的最佳剂量,照射后出现孢子体百分率最高,为33.5%,孢子体叶面积最大,高达 $2657.7 \pm 207.5 \mu\text{m}^2$ 。

(2) 紫外线照射海带配子体培养一周观察表明,半致死剂量是照射4分钟,致死剂量是照射7分钟。

(3) 紫外线照射海带配子体,出现孢子体畸形百分率随照射剂量提高而增加。如照射5秒钟孢子体畸形率为12.2%,照射60秒钟为69.6%,照射120秒钟为91.5%。

本文承蒙刘焕亮教授审阅,在此谨表谢意。