

## 不同浓度的氯化钠溶液对白鲢胚胎 及仔鱼发育的影响\*

中国科学院实验生物研究所

高振义

### 前 言

水生动物的胚胎发育，需要一定的环境盐度。Олифан (1941, 1945) 指出，鲤鱼 (*Cyprinus carpio* L.)、拟鲤 (*Basilichthys rutilus Caspius Jak*)、鲌鱼 (*Abramis brama* L.) 等鲤科鱼类的卵，正常发育的最高盐度界限为8~10%。伊东雄雄 (1953) 发现，香鱼 (*Plecoglossus altivelis Temminck et Schlegel*) 卵球在 1/4~1/7M 的任氏液中，卵割受阻；少数勉强开始分裂者，不久也趋死亡。为了解白鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix* Cuvier Valenciennes) 胚胎和仔鱼的耐盐度，我们进行了此项研究。

### 材 料 和 方 法

实验以低囊胚期与肌肉效应期的胚胎和孵化后24小时与48小时的仔鱼(戴荣禧, 未发表记录)作为材料。卵子都是亲鱼接受催情剂注射后12小时左右产出的。实验组的培养液 (1/5, 1/7, 1/10, 1/15, 1/20, 1/25 及 1/35M) 采用1M氯化钠溶液, 按不同比例加入淀浦河水\*\*配制而成; 所以除含有较多的氯化钠外, 也含有一般淡水所溶解的其他盐类。对照组的培养液, 即淀浦河水, 所有培养液的pH值接近6.7。

在直径12厘米的培养器中, 分别放入上述液体100毫升与50个胚胎; 各种浓度, 同时各做两组。实验过程中, 每隔6~8小时, 以相同浓度的培养液掉换一次, 每次置换量为25毫升; 24小时后, 培养液基本上更新一番。进行实验时的温度在20~24℃之间。

### 实验经过和结果

我们前后曾在青浦做过三次实验, 结果相当一致, 现将三次平均结果分别陈述如下:

#### 一、不同浓度的氯化钠溶液对低囊胚期胚胎发育的影响

在20~24℃的温度下, 受精卵经5小时左右, 即发育至低囊胚期; 看不清细胞界限, 囊胚层下压, 其表面细胞开始向卵黄部分下包。我们用这样的胚胎进行第一组试验, 三次平均结果如表1。

在含有1/5M氯化钠的培养液中, 卵球放入3~5小时, 肉眼之下, 就可以看到卵黄囊大多变白; 倘若在解剖镜下仔细观察, 则知道这些卵球的卵黄囊多不透明, 且凝集成块。这样的胚胎发育已经停滞, 很快便死亡和分解。其中少数虽能勉强向前发育, 但陆续出现各种畸形: i) 大部下包动作完全丧失, 囊胚层向上发展, 且又从其中心生出一个类似胚体的部分 (图1)。ii) 有的下包动作虽能勉强进行, 但包到一半左右, 便停滞不前, 其顶部的囊胚层也向上方伸展 (图2)。iii) 有些下包动作虽能较好进行, 但其胚孔永不能封闭 (图3)。iv) 有的胚孔能够封闭, 神经沟也能形成, 但永无形成神经管的希望。v) 有些个体, 在肌肉

\* 本实验是在朱选教授、王幽兰副教授指导下进行的, 实验材料由青浦淡水养殖试验场供给, 照片是你国江同志拍的, 在此一并表示深切的感谢。

\*\* 淀浦河水的本身含盐量在0.001~0.0024%之间, 由于含量很低, 不致影响实验结果, 所以未计算在内。

表 1 不同氯化钠浓度对低囊胚期胚胎发育的影响

氯化钠浓度 (M)	胚胎发育的存活率 (%)				孵化72小时所存 正常仔鱼与畸形仔鱼之比例
	孵 化 时	孵化后24小时	孵化后48小时	孵化后72小时	
1/5	0	0	0	0	—
1/7	62	36	10	0	—
1/10	81	75	42	11	0:11
1/15	88	83	81	77	75:2
1/20	91	87	87	87	86:1
1/25	96	93	93	92	92:0
1/35	96	94	94	93	93:0
对 照	95	95	95	95	94:1

效应期以前似属正常；但是，嗣后胚体永不能伸直（图4）。vi）极个别的尚能发育到心脏搏动期，但跳动极慢（50次/分左右），尚不及正常胚胎心跳次数（120次/分左右）的一半。所有上面的怪胎，皆在未出膜之前死亡。

在1/7M氯化钠浓度的培养液中，虽然也见到上述六种不正常的现象，但仍有一半以上（62%）的胚胎可以出膜。不过，出膜的仔鱼，都很不安静，一直在急速地运动着；其中许多个体，由于身体的前后剧烈摆动，卵黄囊被挤破（图5），造成卵黄外流（图6），形成没有卵黄囊的“线形”胚胎（图7）；有些因肌肉收缩，形成背向弯曲的怪胎；也有些卵黄囊外突，围心腔扩大（图8）。到孵化72小时，这些仔鱼全数陆续死亡，无一倖免。倘若在刚出膜时，将其中的正常个体立即移入淡水养育，他们不但全能生存，而且几乎全部正常。

在1/10M氯化钠溶液中，孵化率升高，初孵出的鱼苗正常，续后的发育仍多不良，胚胎不断死亡。迄孵化后72小时，虽尚有少数（11%）未死，但皆属畸形，病态已很严重（围心腔外突，卵黄囊肿大，鳃未充气，不会游泳，全身呈乳白色等等），即使再移入淡水培养，也不能挽回其厄运。

在1/15M以下的各种浓度的培养液中，胚胎孵化率及仔鱼存活率大大提高；培养在1/25M下的鱼苗情况，与对照组相似，孵化72小时，存活率高达92%。

## 二、不同浓度的氯化钠溶液对肌肉效应期胚胎发育的影响

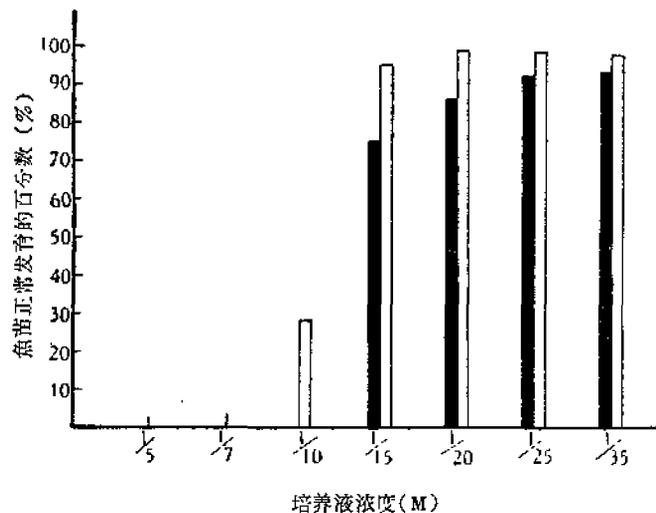
低囊胚期的胚胎，在温度为20~24℃下面，经2小时左右，即发育到肌肉效应期；肌肉开始有抽搐状收缩，肌节31到33对，第四脑室出现，晶体也非常清楚。在正常情况（对照组）下，约经10小时，胚胎就陆续出膜，15小时仔鱼全部孵出。这时候，在含氯化钠为1/35M的一组里，仔鱼也已全部出膜；1/20M组内，92%出膜；1/10M组内，52%出膜；1/5M组内，几乎全部（96%）未出膜。胚胎孵化的时间，显然随着培养液盐分的增加而延缓。

胚胎发育的情况（表2），可以归纳为下列四点：i）含盐分最高的一组（1/5M），处理20小时左右，胚胎尾部向上弯曲，活动性减弱；30小时，仅心脏尚在微微搏动；出膜（由于卵膜腐败，换溶液时摇动而脱出）后一天，差不多全数死去。ii）在1/7M氯化钠溶液中，孵化率很高（99%），续后的死亡仍旧十分严重；迄72小时，只残存极少数畸形的小鱼（2%）。iii）1/10M氯化钠组内的存活率显著提高，孵化三天后还有一半以上的个体活着（62%），但其中多半发育不正常。iv）含盐量低于1/15M的各组，存活率已与对照组相近似。

从表1和表2可以看出：1）随着介质盐度的增加，低囊胚期和肌肉效应期的胚胎孵化率和仔鱼存活率都逐渐减低。2）培养在同一浓度溶液中，肌肉效应期胚胎的孵化率与仔鱼存活率和低囊胚期胚胎的孵化率与仔鱼存活率也不相同。为明了起见，现以实验结束时所存正常仔鱼的百分数画一柱形图（图解1），以作比较。

表 2 不同氯化钠浓度对肌肉效应期胚胎发育的影响

氯化钠浓度 (M)	胚胎发育的存活率(%)				孵化72小时所存 正常仔鱼与畸形仔鱼之比例
	孵 化 时	孵化后24小时	孵化后48小时	孵化后72小时	
1/5	25	1	0	0	—
1/7	99	49	37	2	0:2
1/10	98	98	91	62	28:34
1/15	99	99	97	97	95:2
1/20	100	100	100	100	99:1
1/25	100	100	99	99	99:0
1/35	100	100	100	98	98:0
对 照	100	99	99	99	99:0



图解 1 不同盐度溶液培养下，低囊胚期和肌肉效应期胚胎的正常发育情况

■ 低囊期胚胎      □ 肌肉效应期胚胎

图解 1 显示，低囊胚期和肌肉效应期的胚胎，培养在 1/5 M 和 1/7 M 浓度的氯化钠溶液中，到孵化 72 小时，绝大多数死亡，残留的少数，亦属畸形个体；在 1/10 M 的溶液中，由肌肉效应期开始进行实验处理的胚胎，尚有 28% 的正常仔鱼，低囊胚期胚胎则无一存留；在其他各种浓度中，这两组的存活率也有差异。从表面上看起来，似乎肌肉效应期的胚胎对盐度的忍耐力比低囊胚期的胚胎强一些；但在我们的实验里，两组处理的总时数不同（肌肉效应期胚胎比低囊胚期胚胎少处理 12 小时左右），很难予以肯定。

三、不同浓度的氯化钠溶液对孵化后 24 小时仔鱼发育的影响

孵化 24 小时的仔鱼，体节为 41 到 43 对，胸鳍略向两侧隆起，血球刚有血红蛋白，眼睛也开始变黑。这样的仔鱼，已能作短时间的抛物线式的上升运动。不同盐度对他们的影响见表 3。

仔鱼放入培养液以后，由于不适应高盐度生活，在盐度高于 1/15 M 以上各组，便不停地扭动；盐度越高，扭动越剧烈。培养 20 小时左右，1/5 M 中的仔鱼，全部背向弯曲，第二天就全部死亡。当时 1/7 M 中的仔鱼，虽仍大部正常，但弯曲者也时见增加，三天以内也大部死去（65%）；少数未死者，也全属畸形。1/10 M 氯化钠溶液里的仔鱼，虽然存活率很高（100%），但尚有 1/10 左右的畸形怪胎。1/15 M 及其以下各种浓度的培养液，对出膜第一天的仔鱼发育，似乎影响不大。

表3 不同氯化钠浓度对孵化后24小时仔鱼发育的影响

氯化钠浓度 (M)	胚胎发育的存活率(%)			实验进行72小时所存 正常仔鱼与畸形仔鱼之比例
	实验进行24小时	实验进行48小时	实验进行72小时	
1/5	9	0	0	—
1/7	100	92	35	0:35
1/10	100	100	100	91:9
1/15	100	100	100	100:0
1/20	100	100	100	100:0
1/25	100	100	100	100:0
1/35	100	100	100	100:0
对 照	100	100	100	100:0

表4 不同氯化钠浓度对孵化后48小时仔鱼发育的影响

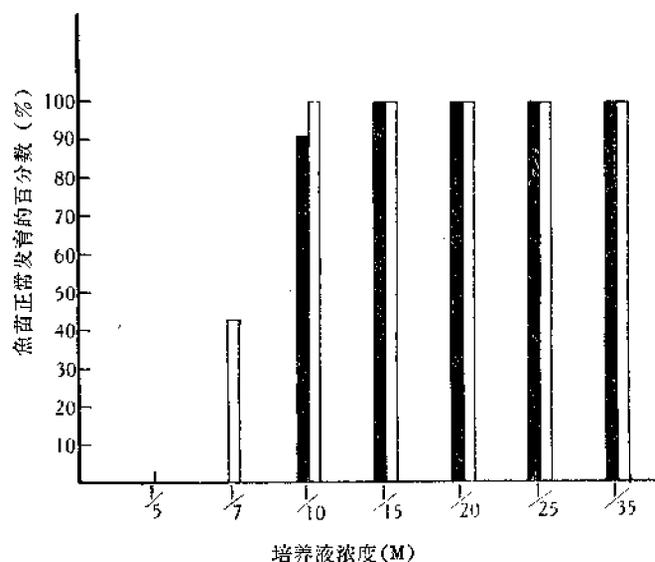
氯化钠浓度 (M)	胚胎发育的存活率(%)			实验进行72小时所存 正常仔鱼与畸形仔鱼之比例
	实验进行24小时	实验进行48小时	实验进行72小时	
1/5	40	0	0	—
1/7	100	100	94	43:51
1/10	100	100	100	100:0
1/15	100	100	100	100:0
1/20	100	100	100	100:0
1/25	100	100	100	100:0
1/35	100	100	100	100:0
对 照	100	100	100	100:0

#### 四、不同浓度的氯化钠溶液对孵化48小时仔鱼发育的影响

出膜两天的仔鱼，胸鳍展向两侧，体节44到46对，在体节下方可以见到消化道，色素遍及全身，鳃盖可见，眼球变黑。此时的仔鱼以腹部贴于皿底，不再侧卧，游泳能力显著增强。实验结果见表4。

1/5M浓度溶液中的仔鱼，两天以内，全部死去。1/7M浓度溶液中的鱼苗，在实验进行到第二天，有1/10左右呈现病态；侧游，轻度的弯曲等；到第三天，虽然不见侧游和弯曲现象，但在解剖镜下仔细观察，就会见到许多围心腔比较突出的个体，在94尾存活的仔鱼中，只有43尾发育正常。1/10M及其以下各种浓度的培养液中的仔鱼，未见明显的影响。

从表3和表4可以看出，虽然两组都在不同浓度的氯化钠溶液里处理72小时，但



图解2 不同盐度溶液培养下，孵化后24与48小时仔鱼的正常发育情况  
 ■ 孵化后24小时仔鱼    □ 孵化后48小时仔鱼

是发育结果却很不相同;发育阶段越向前推进,仔鱼对周围环境中盐度的忍受力越是增强、如以实验进行72小时所存正常仔鱼数目,画成柱形图(图解2),则更是一目了然。

在1/5M的氯化钠浓度下,孵化后24小时和48小时进行实验的仔鱼,均未见正常个体。在1/7M浓度中,虽然孵化后24小时的仔鱼,不是发育畸形,就是中途死亡;但是孵化后48小时的仔鱼,却有43%发育正常。同样,在1/10M的浓度下,前者尚有1/10左右的畸形个体;后者则全能正常发育。

## 讨 论

Олифан(1941, 1945)曾在鲤、拟鲤、鳊等鲤科鱼类上做过实验,他证明上述三种鱼类卵球正常发育的最高盐度在8~10%之间。伊东镇雄(1953)报道过香鱼卵在1/4到1/7M的任氏液中,卵割受阻;即使有少数分裂者,也大部停止在囊胚期。我们的研究指出:低囊胚期胚胎培养在1/7M(8.35%)氯化钠溶液中,仍大部可以孵化出膜;而在1/5M(11.69%)氯化钠溶液中,则完全死于孵化之前。肌肉效应期的胚胎在1/7M氯化钠溶液下,出膜率高达99%;而在1/5M浓度下,只有当卵膜腐敗,才有少数(25%)勉强可以脱膜。且脱膜后就很快死亡。至于仔鱼,据Олифан在三种鲤科鱼类上的测定,最高忍受力在含盐量7.5%以下,我们的实验同样证实,1/7M浓度的氯化钠溶液,对孵化后48小时的仔鱼发育也很不利;在1/10M(5.85%)浓度下,才能正常发育。可见白鲢胚胎及仔鱼对介质盐度的忍受力和其他几种鲤科鱼类很相似。

在自然情况下,白鲢多在长江、西江等河流中产卵、孵化生长和发育。钱塘江等流程较短的河流里,虽然生长着许多性腺成熟的亲鱼,也发现有产卵场地,但是却很少捞到鱼苗,这些鱼苗都到什么地方去了呢?我们知道:在下游入海的江河河口,由于海洋潮汐的影响,水的含盐量将大大增加。钱塘江全长仅四百多公里,亲鱼多半在其中下游一百多公里处活动(王应天,未发表记录)。白鲢产卵时间(5、6月),正值春汛季节,水流很快,一般在1.5米/秒左右。在富阳等地区产下的卵球,顺水而下,一天以后,就经杭州湾流入东海。不言而喻,这些早期胚胎必然为高盐度的海水所杀,不能倖免。在顺水下流过程中,有一部分鱼卵,可能流入水流较缓的河湾及河滩中,在那里发育化苗,但这毕竟是少数。因此在钱塘江中,未能捞到大量鱼苗,应该是完全可以理解的。其他相类似的江河的情况,可能也是一样。

## 结 语

1. 低囊胚期的白鲢胚胎,培养在1/7M氯化钠溶液中,有62%的胚胎可以出膜;肌肉效应期的胚胎,有99%可以孵化。出膜后24小时的仔鱼,培养在1/10M氯化钠溶液下,经过三天的处理,有91%的仔鱼仍正常发育;孵化后48小时的仔鱼,则100%正常发育。可见白鲢胚胎和仔鱼对盐度的忍受力和其他几种鲤科鱼类相似(Олифан 1941, 1945)。

2. 同一发育阶段的胚胎孵化率和仔鱼存活率都与介质的盐度高低成反的相关;盐度越高,孵化率和存活率越低;相反,盐度越低,孵化率和存活率则越高。

3. 同一发育阶段胚胎的孵化过程也与介质盐度的高低成反的相关;盐度越高,胚胎孵化的速度越缓慢。

4. 白鲢仔鱼对介质盐度的忍受力,随着发育阶段的推进,逐渐增强;孵化后24小时的仔鱼,培养在1/15M盐度下,其发育情况和对照组相一致;而孵化后48小时的仔鱼,培养在1/10M的盐度下,正常发育的百分数已和对照组相一致。

## 参 考 文 献

- [1] Ito, Shizuo(伊东镇雄), 1953. アニ卵の受精及び発生に対する盐浓度の影響。动物学杂志, 62, 323—326.
- [2] Олифан, В. И., 1941. Влияние солености на икру и личинок Каспийского сазана (*Cyprinus carpio* L.), Вобля (*Rutilus rutilus* Caspian Jak) и Леща (*Abugetus brama* L.). Труды воев. наугноисследоват. ин-та морск. рыбы хоз. и океанографии, Т. 16, Пущепроиздат, 1943.
- [3] Олифан, В. И., Влияние солености на икру байкальского Омуля (*Coregonus nedyntsevius georgii*), доклады академии наук СССР новая серия Т. 48, Вып. 1, 61—64.

THE EFFECT OF SALINITY ON EMBRYONIC DEVELOPMENT  
OF *HYPOPHthalmichthys molitrix* CUV. & VAL.

*Institute of Experimental Biology, Academia Sinica, Shanghai*

Gao Zhen-yi

ABSTRACT

The present work was undertaken to know the range of tolerable salinity of embryos and fries of *Hypophthalmichthys molitrix*. Embryos and fries were raised in solution of different degrees of salinity (1/5, 1/7, 1/10, 1/15, 1/20, 1/25, 1/35. M NaCl in ordinary fresh water with negligible salt content).

The PH value of the culture medium was found to be about 6.7 and the water temperature was maintained at about 20–24° C. The results of the experiments are the following:

1. The percentage of hatched embryos as well as that of survived fries, was found inversely proportional to the salt concentration of the culture medium; the higher the salinity, the less the percentage of hatched embryos and of survived fries, and vice versa.

2. The rate of hatching was also found varied inversely with the salt concentration of the culture medium; the higher the salinity, the longer the time for hatching, and vice versa.

3. The highest percentage of hatching (96%) of the expanding blastula was found in a medium containing 1/25M sodium chloride, but the embryo of muscular response stage was found reaching the same high level of hatchability (99%) in a medium containing 1/7M NaCl. Similarly, while fries of 24 hours after hatching were found developed normally (100%) for 72 hours in a medium of 1/15M NaCl, fries of 48 hours after hatching were found adapted well to a higher degree of salt concentration (1/10 M) for the same interval. The results mentioned above coincide with what Олифан has found in other species of Cyprinidae (1941, 1945).

4. Fries of *Hypophthalmichthys molitrix* are found in large quantities in Yang Tze Kiang and Si Kiang in China during the natural breeding season, but in Tsien Tang Kiang and other shorter rivers there are always few fries to be discovered. It has long been an unsettled problem as to where the fries of those rivers have gone and it seems clear now that most of the embryos and fries may have been carried into the sea where they are killed by the higher salinity of the water before they can swim at will.

## 图 版 說 明

下列照相全取自固定材料，并已剝除受精膜。图 1—4 系培养在 1/5M 氯化鈉溶液中的低囊胚期胚胎所形成的怪胎(×16)。图 5—8 系培养在 1/7M 氯化鈉溶液中的低囊胚期胚胎所形成的怪胎(×16)。

图 1. 囊胚层未见下包，反而向上发展，形成类似顶端胚体的结构。

图 2. 原腸下包到1/2处，頂部囊胚层向上突起。

图 3. 胚孔未封閉。

图 4. 胚体不能伸直。

图 5. 卵黄囊已經挤破。

图 6. 卵黄外流。

图 7. 卵黄流失的“线形”胚胎。

图 8. 卵黄囊外突，围心腔扩大。

## EXPLANATION OF FIGURES

The following pictures were taken from fixed specimens whose fertilization membranes have been removed (×16). They were obtained from expanding blastulae cultured in 1/5M NaCl solution (Figs. 1-4) and in 1/7M NaCl solution (Figs. 5-8) respectively.

Fig. 1 The epiboly of blastoderm is arrested and an abnormal embryo is formed at the top of yolk sac.

Fig. 2 The epiboly of blastoderm is arrested at about one-half over the surface of yolk and an abnormal embryo is formed.

Fig. 3 An abnormal embryo with persistent yolk plug.

Fig. 4 An abnormal curved embryo.

Fig. 5 An abnormal embryo with broken yolk sac.

Fig. 6 Yolk is flowing out of yolk sac of an abnormal embryo.

Fig. 7 An abnormal "lineal embryo" is formed after the flowing out of yolk.

Fig. 8 An abnormal embryo with protruded yolk sac and extended pericardial sac.

