

泥鳅和白鲢胚胎不同发育时期耗氧量的研究

曹杰超 刘 卫 张伟衡 胡 安 陈松华 程秋应*

(武汉大学生物系)

提 要

泥鳅和白鲢胚胎发育时的耗氧量是随着发育进程而以指数函数方式在增长, 其耗氧曲线显示出卵裂期、原肠期、神经胚期、肌肉效应期以及出膜期是5个呼吸代谢水平较高的时期, 其中又以原肠期与出膜期对孵化环境溶氧的需求尤为突出。

胚胎在发育过程中纳入氧的快慢与强弱, 都直接或间接地反映出新陈代谢的速度以及营养物质不断地被氧化、消耗和能量传递的状况。因此, 鱼类胚胎发育时耗氧的高低, 无疑是其胚胎发育状况的一种生理指标。

自从 1908 年 Warburg 首创用瓦勃氏呼吸器测定过海胆受精卵的耗氧量以来^[2], 国外许多学者对鱼类胚胎耗氧量做过不少的研究^[5-9]。从他们的工作来看, 由于各学者所用的实验材料与方法的不同, 得到的结果不一致, 提出的理论也有一些差异^[3]。在我国, 研究鱼类胚胎耗氧量方面的资料很少^[4]。

泥鳅在我国分布很广。繁殖期长。产粘性卵。能在低氧环境中生存。是一种以肠为辅助呼吸器官的中小型鱼类。白鲢是在流水的环境中产半浮性卵。其经济价值很高。是我国主要的养殖鱼类之一。本工作是想通过对这两种不同类型经济鱼类胚胎耗氧量的研究, 进行比较, 以丰富我国硬骨鱼类胚胎呼吸生理方面的基础资料, 并进一步讨论与此有关的一些问题。

材 料 与 方 法

实验是 1982 年和 1983 年 4—6 月间进行的。

胚胎材料有 3 种:

- 1) 大鱗副泥鰌 (*Paramisgurnus dabryanus sauvage*) $2n = 48$, 胚胎。
- 2) 大鱗副泥鰌雌体与鳗尾細鱗泥鰌 (*Misgurnus anguillicaudatus* 雄体, $2n = 100$) 杂交胚胎。
- 3) 白鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix*) 胚胎, 取自武昌南湖养殖场。卵受精后立刻送回实验室, 进行恒温孵化。

在解剖镜下, 取受精正常、大小一致、发育整齐的胚胎。每次以不同的发育时期, 按期定时上样, 进行测定。

* 后 4 位作者现已分配到其他单位工作。

1985 年 3 月 18 日收到。

胚胎呼吸时的耗氧量是用国产 J-IS 型瓦勃氏呼吸器测定的。泥鳅胚胎每次取样 200 个。白鲢胚胎每次取样 50 个。连水一起装进具有刻度的量筒中(盛泥鳅胚胎的器具均需用泥鳅体液进行防粘处理),总体积为 2 毫升;白鲢胚胎则为 5 毫升。然后移入呼吸瓶里。呼吸瓶中央小室装入 0.15 毫升(白鲢胚胎实验为 0.2 毫升)的 20% 浓度 KOH 溶液。小室内还放置一体积相等的小滤纸条,然后将呼吸瓶小心地与测压计连接好,共置于恒温水浴槽里,使仪器每分钟摆动 160—180 次,震幅 2 厘米。根据实验设计要求,在 20 分钟、30 分钟、40 分钟或一小时内测定胚胎的耗氧数值。每次测毕,进行换水,并置解剖镜下检查在测定过程中有无胚胎早期的死亡现象,以保证测定数值的准确及水质的清新。

实验设有温压计对照组,其孵化率要求 100%。实验组内无死亡、无发酵、中央小室无进水等干扰因素存在时,其数据才作为准确的实验结果,进行统计处理。

实验结果

1) 1982 年 5 月和 1983 年 5 月的实验结果是在同一水温条件下、而不同年份测得的

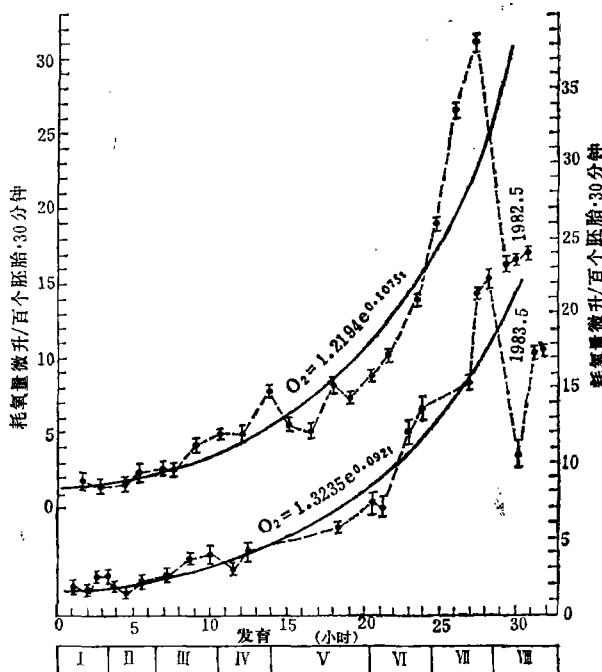


图 1 大鳞副泥鳅胚胎 $25 \pm 1^\circ\text{C}$ 不同发育时期耗氧量的变化

图注: I 卵裂期; II 囊胚期; III 原肠期; IV 神经胚期; V 肌肉效应期; VI 孵化前期; VII 出膜期; VIII 幼苗期。

Fig. 1 Curve of oxygen consumption in different embryonic stages of *Paramisgurnus dabryanus sauvage* at $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

Explanation: I, Cell cleavage; II, blastula; III, gastrula; IV, neurula; V, muscular contraction; VI, before hatching; VII, hatching; VIII, alevin.

(图 1)。从这两组绘制的统计数据可以看出: 泥鳅胚胎发育时的耗氧量, 就总的变化趋势来说, 是随着发育时间的增加而逐步增加。然而, 仔细研究这些结果, 其耗氧量的增加与发育时间之间并不是一种直线的上升关系, 而是随着发育时期的不同, 其耗氧量有着高数值与低数值交替上升的趋势。明显地表现出上升、平缓与下降的特征, 显示出其阶段性。然而, 这种阶段性又与泥鳅胚胎发育时的生理特性相吻合。例如: 受精卵进行卵裂时, 耗氧量是一段小的上升趋势; 发育至囊胚期, 耗氧量却稍有减少, 这是一段较平缓的耗氧曲线。胚胎继续发育, 当进入原肠胚时期, 耗氧量表现为一较大的上升趋势, 直至神经胚发育完成, 这种上升的趋势才有所减弱。当胚胎继续发育至肌肉效应期时, 耗氧量又有少量的增加。从孵化前期直至出膜期, 耗氧量却显示出急剧地上升, 形成该耗氧曲线的最高峰值。然而, 当孵化着的胚胎, 一旦破膜而孵出成为仔鱼时, 其耗氧量则又表现出急剧地下降。经过一短暂的时间以后, 仔鱼才逐步地开始增强呼吸, 使胚胎进入了胚后发育的阶段, 从而形成一条胚后发育耗氧的新曲线。

由上述泥鳅胚胎耗氧曲线呈阶段性上升与下降的实验结果表明, 泥鳅胚胎发育的过程可以概括为 5 个耗氧高峰阶段: 即卵裂期、原肠期、神经胚期、肌肉效应期及出膜期。它们代表着泥鳅胚胎在发育的过程中对氧的需求是呈阶梯式的一个高峰接一个高峰。各发育时期对氧的需求量是各不相同的。这一结果与 1935 年 Трифонова 测定鲈鱼胚胎最大氧气消耗量是在分裂的开始和分化时期, 其耗氧曲线呈阶段性的上下波动、出现提高周期与下降周期相互更替的实验结果有相似之处^[9]。但泥鳅胚胎发育时的耗氧量, 随着发育时间的推移, 是以指数函数的曲线形式在增加(图 1)。计算 1982 年的实验结果, 其指数函数方程式为:

$$O_2 = 1.2194e^{0.1075t}$$

其相关系数

$$R = 0.9733$$

计算 1983 年的实验结果, 其指数函数方程式为:

$$O_2 = 1.3235e^{0.092t}$$

其相关系数

$$R = 0.9705$$

通过对上述两方程式的回归系数 b_1 与 b_2 间差异显著性测验

求得

$$t_d = 0.055$$

查 t 值表: 当自由度 $n = 36$

$$t_{0.1} = 1.68 - 1.69$$

∴

$$t_d \ll t_{0.1}$$

∴

$$p \gg 0.1$$

∴ b_1 与 b_2 间无差异。

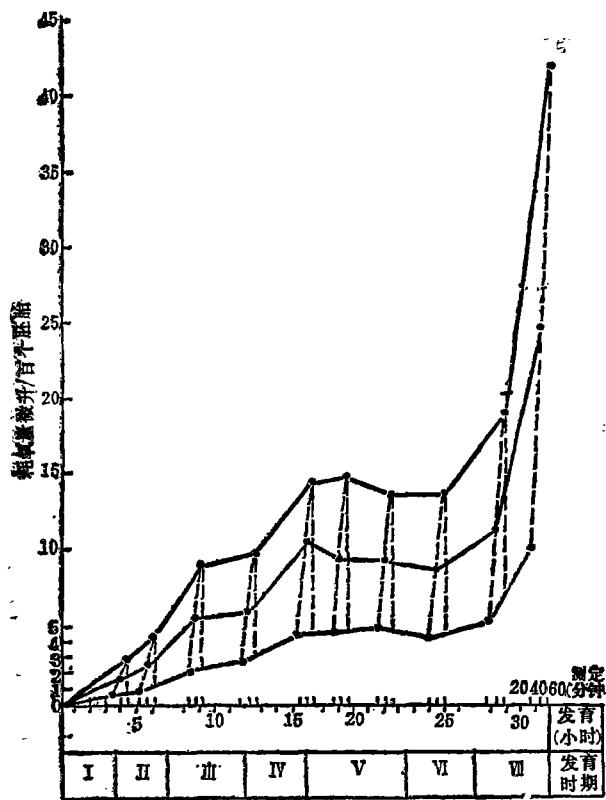
说明以上两种指数回归方程式十分接近, 线性关系也十分相似, 故 1982 年的实验结果与 1983 年的实验结果, 两者没有明显的差别。

为了进一步比较泥鳅胚胎各发育时期间的耗氧关系, 特将单位时间内各发育时期耗

表 1 大鳞副泥鳅胚胎 $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 不同发育时期的耗氧比速tab. 1 Oxygen consumption rate in different embryonic stages of *Paramisgurnus dabryanus sauvage* at $25\pm1^{\circ}\text{C}$.

发育时期 ¹⁾	时期内的发育时间 ²⁾ (小时)	1982.5.			1983.5.		
		耗氧量 ³⁾ (微升/百个胚,半小时)	为前一发育时期耗氧 ⁴⁾ (倍数)	每小时为前一发育时期耗氧 ⁵⁾ (增长倍数)	耗氧量 ³⁾ (微升/百个胚,半小时)	为前一发育时期耗氧 ⁴⁾ (倍数)	每小时为前一发育时期耗氧 ⁵⁾ (增长倍数)
囊胚期 ⁶⁾	3	2.1±0.2			2.1±0.1		
原肠期 ⁷⁾	4	5.0±0.2	2.38	0.60	4.0±0.6	1.90	0.48
神经胚期 ⁸⁾	3.5	7.8±0.4	1.56	0.45	4.1±0.6	1.03	0.29
肌肉效应期 ⁹⁾	6.5	8.9±0.4	1.14	0.18	7.4±0.9	1.80	0.28
孵化前期 ¹⁰⁾	4	13.9±0.3	1.56	0.39	12.0±1	1.62	0.41
出膜期 ¹¹⁾	4	31.1±0.3	2.24	0.56	22.2±0.7	1.85	0.46

Legends: 1) embryonic stages; 2) development time within stage (hr.); 3) O_2 consumption ($\mu\text{l}/100$ embryos/0.5 hr.); 4) O_2 consumption as compared with previous stage (multiples.); 5) O_2 consumption per hour as compared with previous stage (multiplications.); 6) blastula; 7) gastrula; 8) neurula; 9) muscular contraction; 10) before hatching; 11) hatching

图 2 鳗尾细鳞泥鳅与大鳞副泥鳅杂交胚胎 $24\pm1^{\circ}\text{C}$ 不同发育时期耗氧量的变化
(注: I—VII 同图 1)Fig. 2 Curve of oxygen consumption in different embryonic stages of hybrid of *Paramisgurnus dabryanus sauvage* and *Wisgurnus anguillicudatus* at $24\pm1^{\circ}\text{C}$.

(Legends: I—VII Same as in fig. 1)

氧的增长速度,进行了比较(表 1)。

从表 1 中可以看出: 后一发育时期的耗氧量为前一发育时期耗氧量最大倍数的时期是在原肠期和出膜期。如果将各发育时期单位时间内的耗氧增长倍数互作比较, 则发现单位时间内耗氧增长速度最快的时期是在原肠期, 其次是出膜期。这充分说明泥鳅胚胎发育在原肠期和出膜期是两个新陈代谢极旺盛的时期。可以从理论上这样推断: 原肠期和出膜期是胚胎发育过程中对水中溶氧缺乏的两个敏感时期; 此时, 如果水质变坏, 溶氧不足, 则有可能引起胚胎大量死亡, 其原因就是由于胚胎发育时这一呼吸生理特点决定的。以上实验所揭示出的这些现象, 就是泥鳅胚胎从卵裂发育至出膜时在耗氧代谢方面的一种生理性反映。

2. 1982 年 5 月, 作者曾用杂交泥鳅的胚胎(其染色体数 $2n = 74$), 对每百个胚胎在一小时内的 20 分钟、40 分钟和 60 分钟的耗氧量进行过测定(图 2)。

从图 2 可以看出: 杂交胚胎发育至原肠期、神经胚期、肌肉效应期和出膜期也都是胚胎发育耗氧的高峰时期。这一结果与大鱗副泥鳅的实验结果基本是一致的。只不过其曲

表 2 鳗尾细鳞泥鳅与大鱗副泥鳅杂交胚胎 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 不同发育时期的耗氧比速

tab. 2 Oxygen consumption rate in different embryonic stages of hybrid of *Paramisgurnus dabryanus sauvage* and *Misgurnus anguillicaudatus* at $24 \pm 1^\circ\text{C}$.

实 验 日 期 ¹⁾		1982 年 5 月 17 日					
发 育 时 期 ²⁾	囊胚期 ³⁾	原 肠 期 ⁴⁾	肌 肉 效 应 期 ⁵⁾		出 膜 期 ⁶⁾		
	各 期 内 发 育 的 时 间 (小时) ⁷⁾						
	3.5	5		6.5		5	
测 定 ⁸⁾		每 百 个 胚 胎 平 均 耗 氧 量 (微升) ⁸⁾					
		耗 氧 量 ¹⁰⁾ $\bar{x} \pm SD$	耗 氧 量 ¹⁰⁾ $\bar{x} \pm SD$	为 前 一 发 育 时 期 耗 氧 ¹¹⁾ (倍 数) $\bar{x} \pm SD$	耗 氧 量 ¹⁰⁾ $\bar{x} \pm SD$	为 前 一 发 育 时 期 耗 氧 ¹¹⁾ (倍 数) $\bar{x} \pm SD$	耗 氧 量 ¹⁰⁾ $\bar{x} \pm SD$
20 分 钟 ¹²⁾		0.68 \pm 0.08	2.44 \pm 0.20	3.59	4.41 \pm 0.48	1.81	7.53 \pm 2.40
40 分 钟 ¹³⁾		2.11 \pm 0.37	5.73 \pm 0.10	2.72	9.95 \pm 0.62	1.74	18.24 \pm 6.30
60 分 钟 ¹⁴⁾		3.52 \pm 0.71	9.38 \pm 0.37	2.66	14.53 \pm 0.20	1.55	30.12 \pm 11.36
为 前 一 发 育 时 期 耗 氧 的 平 均 倍 数 ¹⁵⁾				2.99		1.70	
每 小 时 为 前 一 发 育 时 期 耗 氧 的 增 长 倍 数 ¹⁶⁾				0.60		0.26	
原 肠 期 的 耗 氧 速 度 为 其 它 期 的 倍 数 ¹⁷⁾						2.30	

Legends: 1) date; 2) embryonic stages; 3) blastula; 4) gastrula; 5) muscular contraction; 6) hatching; 7) development time within stage (hr.); 8) average O_2 consumption; in per 100 embryos (μl); 9) measurements; 10) O_2 consumption; 11) O_2 consumption as compared with previous stage (multiples.); 12) 20 minutes; 13) 40 minutes; 14) 60 minutes; 15) multiples in average O_2 consumption for previous stage; 16) multiplications in per hour O_2 consumption for previous stage; 17) multiples in gasteral rate of O_2 consumption for other stages.

线呈阶段性上升的特征更加明显。我们将囊胚期、原肠期、肌肉效应期和出膜期的耗氧量作进一步的分析(表 2)。

从表 2 可以看出: 在 20、40 和 60 分钟的测定时间里, 原肠期的耗氧量可分为囊胚期耗氧的 3.59 倍、2.72 倍和 2.66 倍, 平均为 2.99 倍。而肌肉效应期的耗氧量平均则只为原肠期耗氧量的 1.70 倍; 出膜期的耗氧量平均也只为肌肉效应期耗氧量的 1.87 倍。这一实验结果与大鱗副泥鳅的几乎完全相同。我们再从它们各期单位时间内耗氧增长的速度看, 原肠期的耗氧量在前一发育时期的基础上, 每小时以 0.60 倍的速度在增长。而肌肉效应期每小时则以 0.26 倍的速度在增长。出膜期每小时则以 0.37 倍的速度在增长。由这些数据的比较可以看出: 原肠期耗氧增长速度是最快的(它的耗氧速度为肌肉效应期的 2.3 倍; 为出膜期的 1.62 倍)。其次, 才是出膜期。然而, 当从胚胎呼吸时耗氧的最高数值来看, 出膜期却是耗氧量最高的时期。它的相对耗氧量约为原肠期的 4 倍以上(图 2)。因此, 可以得出这样的结论: 在泥鳅胚胎发育过程中, 原肠期是胚胎呼吸速度、耗氧增长最快的时期; 而出膜期除了呼吸速度也较快之外, 在耗氧相对量上则是最高的时期。这些情况正是说明了原肠期与出膜期胚胎对缺氧的敏感各自具有一种不同的生理特性。

3. 1982 年 5 月, 对白鲢胚胎的耗氧量进行了测定(图 3)。

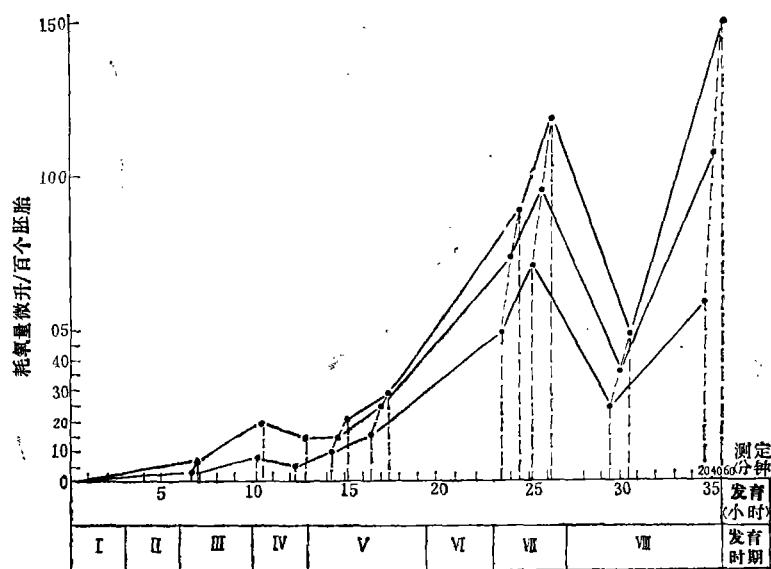


图 3 白鲢胚胎 $25\pm1^{\circ}\text{C}$ 不同发育时期耗氧量的变化
[注: I—VIII 同图 1; 测定(分钟): 右边虚线应对准 60。]

Fig. 3 Curve of oxygen consumption in different embryonic stages of *Hypophthalmichthys molitrix* at $25\pm1^{\circ}\text{C}$.
(Legends: I—VIII Same as in fig. 1)

白鲢胚胎不同发育时期的耗氧量也是呈现出阶段性上升, 其耗氧曲线也是在原肠期与出膜期出现高峰数值, 特别在出膜期, 其呼吸耗氧达到最高点。当胚胎一旦脱膜而出, 耗氧量立即大幅度下降, 然后又上升。这些呼吸耗氧现象与泥鳅胚胎耗氧曲线中所显示出的一些基本规律是一致的。不过白鲢胚胎呼吸时的相对耗氧量比泥鳅的要大得多(约

大二倍以上),这是由于两种胚胎个体大小的不同以及胚胎的异质性所造成的。此外,白鲢胚胎一般是在溶氧较高的流水环境呈半飘浮状态中发育;而泥鳅胚胎则密集地粘附于供氧不足的静止物体上发育。由此可见,不同鱼类胚胎的相对耗氧量的高低是由胚胎的大小、孵化环境的好坏以及物种的遗传特性等因素决定的。本文所分析的差异则是物种在耗氧代谢水平上所表现出的差异。总之,我们研究的这两种鱼胚胎发育时的耗氧现象有其共同规律性。如:它们的耗氧曲线都是波浪式的上升曲线;耗氧量是随着胚胎的发育而逐步地增加;在原肠期和出膜期耗氧量就显出激增;胚胎刚一孵化,耗氧量就骤然地下降;也都是在幼苗期耗氧量又迅速地回升。这是两种鱼胚胎在呼吸耗氧方面所表现出的共同规律,反映出两种胚胎发育的耗氧代谢机理是相同的,而看不出有种的特异性。

讨 论

泥鳅胚胎的发育,由实验所得出的 5 个耗氧高峰,追究其发育的生理意义,我们认为:受精卵内的各种物质,在发育过程中必须进行大改组,这必然要反映在物质的加速分解、转化和能量不断的供应等方面。因此,卵裂期开始,耗氧量便有较大的提高。当胚胎继续发育,进入细胞形态与机能分化占主导地位的各个时期,特别是原肠及神经形成,肌肉效应及各器官原基形成等阶段,胚胎内卵黄与营养物质的降解与合成要求愈来愈多,代谢强度便出现新的高峰。也正如有的作者指出的那样:利用贮藏在卵内的原料合成更多的胚胎物质,结果自然就会增高耗氧量^[1,2]。当胚胎发育至出膜期时,各器官的代谢活动都明显地加强,故应是胚体新陈代谢特大提高的阶段。这时卵膜也逐渐变薄,胚体继续伸长,尾部强有力地连续扭动,最后,胚胎挣扎破膜而出,使得耗氧量达到了最高的数值。这说明出膜是胚胎发育的一个特殊的生理过程。综上所述,泥鳅胚胎发育各时期所显示出耗氧量的高低,代表了胚胎发育时内部的生理、生化变化速度的状况,是与发育时的生理特征相吻合的;也是与发育时的生态表现一致的。

小 结

1. 泥鳅和白鲢胚胎发育过程中呼吸时的耗氧量,就总的变化趋势来讲:是随着胚胎发育的进程而逐步地增加。但在这个总增加的过程中,又出现 5 个具有不同速度变化的小过程。它们与胚胎发育的时间不是一种简单的直线上升关系,而是一条具有其阶段特性并按指数增长规律的上升曲线。

2. 泥鳅和白鲢胚胎的耗氧量与胚胎的发育时期有着密切的联系。如泥鳅胚胎耗氧曲线中得出的 5 个耗氧高峰正与胚胎发育的卵裂期,原肠期,神经胚期,肌肉效应期和出膜期等 5 个生理、生态变化剧烈的时期相吻合。这种结果决不是偶然的,而是直接地反映出胚胎发育至该时期的耗氧代谢水平。因此,这 5 个时期也可说就是胚胎对环境溶氧缺乏的 5 个敏感时期。而其中又以原肠期与出膜期对溶氧的需求尤为突出。因原肠期是胚胎呼吸速度增长最快的时期;出膜是胚胎耗氧最高的时期。胚胎发育在这二个时期内,如果水中缺氧,则极易引起发育的停滞、异常、畸形或死亡。然而,胚胎一旦孵出,耗氧会立

即减少。这种呼吸规律性的突然变化,反映了胚胎出膜这种更替时期的生理状况。过了这个时期以后,孵出的仔鱼才开始逐步增强呼吸,将成为胚后发育耗氧的新起点。

3. 我们把白鲢和泥鳅胚胎耗氧量的结果进行比较后得出:它们两者胚胎耗氧变化的总趋势基本是一致的。白鲢胚胎发育对氧缺乏的敏感也是在原肠期和出膜期。所以,泥鳅胚胎发育时对氧需求所显示的一些基本规律,同样适合于白鲢胚胎发育的各个时期,所不同的是白鲢胚胎发育耗氧的相对量比泥鳅胚胎大得多。这是因两者胚胎有不同的大小及不同的遗传特性决定的。但它们二者胚胎发育时的生理变化状况却是相同的。因此,本研究所取得的结果可直接为我国的养殖鱼类人工孵化的理论及生产实际提供一些参考资料。

参 考 文 献

- [1] 庄孝德等译 (B. H. 威利尔, P. A. 魏斯, V. 汉堡格主编), 1964。发育分析。728页。科学出版社。
- [2] 严绍颐、陆德裕译 (J. 布拉舍著), 1964。发育的生物化学。193页。科学出版社。
- [3] 张贵寅、赵尔宓译 (T. A. 杰特拉弗, A. C. 金兹堡著), 1958。鲟鱼类的胚胎发育与其养殖问题。209页。科学出版社。
- [4] 黄玉瑶, 1962。广东团鲤胚胎及鱼苗发育的耗氧率。动物生态及分类区系专业学术论文汇编。136页。科学出版社。
- [5] Hayes, F. R., Wilmot, I. R. and D. A. Livingstone, 1951. The oxygen consumption of the salmon egg in relation to development and activity. *J. Exptl. Zool.*, **116**(3): 377—395.
- [6] Shampardina, I. P., 1954. Changes in the respiratory rate of fishes in the course of their development. *Compt. Rend. Acad. Sci., URSS* **98**: 68—692.
- [7] Коржуев, П. А., 1941Б. Потребление кислорода икрой и мальками осетра (*Acipenser gueldenstaedti*) и севрюги (*Acipenser stellatus*). ИЗВ. АН СССР, СЕР. БИОЛ., (2): 291—302.
- [8] Пунков, Н. В., 1954. Физиология рыб. Пищепромиздат. стр. 249.
- [9] Черфае, Б. И., 1956. Рыбоводство в естественных водоемах. Пищепромиздат.

STUDY ON THE OXYGEN CONSUMPTION IN DIFFERENT STAGES DURING EMBRYONIC DEVELOPMENT OF LOACH AND SILVER CARP

Cao Jiechac Liu Wei Zhang Weiheng
Hu An Chen Songhua and Chen Qinying
(*Department of Biology, Wuhan University*)

Abstract

This study was carried out in Wuhan University from April to June in 1982 and 1983. The oxygen consumption during embryonic development of Loach (*Paramisgurnus dabryanus sauvage* and hybrid of *P. dabryanus sauvage* and *Misgurnus anguillicaudatus*) and Silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) was measured with Warburg's microrespirometer. The results are summarized as follows.

1. The quantities of oxygen consumption in different embryonic stages of loach and silver carp increase gradually as the development proceeds. The increasing rate of oxygen consumption in relation to the developmental time is exponential.
2. The oxygen consumption curve shows five peaks which correspond to five embryonic stages: cell cleavage, gastrula neurula, muscular contraction and hatching. Among these stages, the embryos of gastrula stage and hatching stage are particularly sensitive to oxygen content of water. If the oxygen content decreases at these two stages, the embryos will gradually die. Hence, gastrula and hatching are two critical periods to oxygen content in water.
3. The tendency of oxygen consumption curve in different embryonic stages of silver carp is nearly the same as that of *Misgnrnus anguillicaudatus*, but the amount of oxygen consumption of the silver carp is about twice as that of the loach. This difference may be due to the different embryonic size and genetic characteristics of the fishes.

Key words Oxygen Consumption, Fish Embryo