

DOI: 10.19663/j.issn2095-9869.20220324001

http://www.yykxjz.cn/

徐永江, 崔爱君, 姜燕, 王滨, 周鹤庭, 柳学周, 刘新富. 黄条鲷胚胎发育和早期仔鱼生长的温盐适应特性. 渔业科学进展, 2023, 44(4): 45-54
XU Y J, CUI A J, JIANG Y, WANG B, ZHOU H T, LIU X Z, LIU X F. The ecological and physiological responses of embryonic development and early larval growth of *Seriola aureovittata* to temperature and salinity. Progress in Fishery Sciences, 2023, 44(4): 45-54

黄条鲷胚胎发育和早期仔鱼生长的温盐适应特性*

徐永江^① 崔爱君 姜燕 王滨 周鹤庭 柳学周 刘新富

(中国水产科学研究院黄海水产研究所 农业农村部海洋渔业可持续发展重点实验室
青岛海洋科学与技术试点国家实验室深蓝渔业工程联合实验室 山东 青岛 266071)

摘要 采用实验生态学、形态测度和分子生物学的方法,研究了温度、盐度对大洋性经济鱼类黄条鲷(*Seriola aureovittata*)胚胎孵化率、初孵仔鱼畸形率、内源性营养吸收利用、生长基因表达、存活指数(SAI)和饥饿不可逆点(PNR)的影响,并对早期仔鱼活力进行了评价。结果显示,在最适水温20~22℃条件下,胚胎孵化率最高,达75%~81%,且初孵仔鱼畸形率低于6.7%,胚胎发育的温度系数 Q_{10} 值最接近2,且初孵仔鱼全长和卵黄囊体积最大。受精卵在盐度>30时漂浮在水面,而在盐度为20~25时悬浮在水中,在盐度为10~15时下沉于水底部。受精卵胚胎发育的最适盐度范围为30~35,胚胎孵化率达79%~80%,初孵仔鱼畸形率低于6.0%。在4个不同温度条件下(18、20、22、24℃)初孵仔鱼卵黄囊吸收利用速率随着温度的升高而加快。不同盐度条件下,初孵仔鱼的SAI值表明,盐度为30~35时,仔鱼的SAI值较高且峰值出现在盐度为30组,而盐度为10组仔鱼SAI值最低。在水温为20~22℃时,6d仔鱼的初次摄食率最高(78%),PNR出现在7~8d。初孵仔鱼在水温为20~24℃、盐度为30~35条件下,IGF-1 mRNA表达水平显著高于其他实验组。饥饿条件下,IGF-1 mRNA在饥饿后第2天显著升高,其后在第3~4天显著下降,但仍保持较高表达水平,随着饥饿的进行继续下降至显著低于开口期表达水平。本研究明确了黄条鲷受精卵孵化的最适温度为20~22℃、最适盐度为30~35,并建立了初孵仔鱼活力评价的指标,研究结果可为建立规范化的黄条鲷胚胎孵化和苗种培育技术提供依据。

关键词 黄条鲷; 胚胎发育; 仔鱼生长; 水温; 盐度

中图分类号 S966 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2023)04-0045-10

我国是世界上最早开展鱼类养殖的国家之一,在春秋时代就有范蠡《养鱼经》的记载,其后我国开发天然水域的鱼类资源用于人工养殖的历史不断丰富。进入21世纪以来,随着全球人口数量的爆发式增长,人类对于海洋优质蛋白的需求不断增加,而自然资源

却不断下降,因此,人类开发海水鱼类等海洋生物资源的强度不断加大。开展海水鱼类人工养殖的关键是认识其生活史特征,特别是早期生活史阶段(主要是脆弱的胚胎、仔鱼、稚鱼和幼鱼期),这一时期鱼类个体发育形态特征、生态和生理变化相当剧烈,对环

* 国家重点研发计划项目(2022YFD2401102; 2019YFD0900901)、青岛海洋科学与技术试点国家实验室“十四五”重大项目(2022QNLM30001-1)、中国水产科学研究院基本科研业务费(2020TD47)、农业农村部财政专项-海洋渔业生物资源收集与保藏项目、财政部和农业农村部:国家现代农业产业技术体系(CARS-47)共同资助。

^① 通信作者: 徐永江, 研究员, E-mail: xuyj@ysfri.ac.cn

收稿日期: 2022-03-24, 收修改稿日期: 2022-05-09

境因子变化的感知最为敏感(殷名称, 1991)。温度、盐度、饥饿等是影响海水鱼类早期生长发育的重要环境因素, 在胚胎孵化和器官发育、仔鱼生长发育及代谢调控中起着关键的生理作用, 也是影响胚胎和仔鱼成活的决定性因素(徐永江等, 2005; 黄贤克等, 2017; 方璐等, 2021)。因此, 认识海水鱼类早期生活史阶段对环境因子的适应特性, 提高胚胎孵化效率和仔稚幼鱼的成活率是成功进行苗种人工培育的关键, 对于阐明鱼类自然资源的补充、数量动态特征和可持续利用机制也具有重要的现实意义(陈大刚, 1991)。

黄条鲷(*Seriola aureovittata*)是一种全球海洋广泛分布的具有长距离洄游特性的大洋性经济鱼类, 在我国沿海均有分布(张春霖, 1955), 具有体型大、生长快、营养丰富和经济价值高等特点, 深受国际消费市场青睐。养殖实践表明, 黄条鲷非常适宜于深水抗风浪网箱养殖生产方式, 是开发前景广阔的一种深远海养殖优良鱼种。目前, 国际上 10 余个国家已开展了黄条鲷人工养殖技术研发, 特别是中国、日本、澳大利亚、新西兰、智利等国家开展了黄条鲷的人工繁殖技术研究(Sang *et al.*, 2016; Stuart *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2016)。2017 年以来, 中国水产科学研究院黄海水产研究所突破了黄条鲷的人工繁育技术, 获得了亲鱼自然产卵, 建立了苗种“工程化池塘+工厂化循环水车间”接力规模化培育技术。然而, 苗种培育技术研发过程中时常会出现受精卵孵化不稳定、早期苗种大量减耗、畸形率高等问题(Leyton *et al.*, 2017; 徐永江等, 2019), 成为制约苗种规模化培育的瓶颈, 主要原因在于对黄条鲷早期生活史的生长发育规律及其环境适应机制的认识不足。针对于此, 本团队开展了温度、盐度对黄条鲷胚胎和早期仔鱼生长发育的影响研究, 揭示了温度、盐度对胚胎孵化、初孵仔鱼营养吸收、饥饿耐受力、生存指数(survival index, SAI)以及生长相关基因表达的影响, 明确了黄条鲷胚胎发育和早期仔鱼生长的适宜温度和盐度以及活力评价方法, 以期丰富黄条鲷的早期发育生物学内容, 为建立稳定的黄条鲷胚胎孵化和苗种规模化繁育技术提供基础生物学资料。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验于 2019—2021 年分别于辽宁大连富谷食品有限公司和山东青岛贝宝海洋科技有限公司开展。使用的受精卵来自于 2 个公司培育的黄条鲷亲鱼自然产卵(20~22 °C)获得。2019—2021 年, 在大连富谷食

品有限公司开展了胚胎发育的环境因子适应实验。2020—2021 年, 在青岛贝宝海洋科技有限公司同时进行了胚胎发育和早期仔鱼生长的环境因子适应实验。

胚胎发育的环境适应实验优选细胞分裂相正常的多细胞期受精卵, 仔鱼生长的环境适应及活力评价实验选择体态正常的初孵仔鱼。

1.2 温度对胚胎孵化的影响

在盐度为 32 条件下, 设置 14、16、18、20、22、24、26 和 28 °C 共 8 个温度实验组, 每组设置 2 个平行。以 2 000 mL 玻璃烧杯为实验容器, 置于容积为 200 L 的不同白色塑料桶水浴系统中, 以加热器和控温仪(精确度 ± 0.5 °C)控制水浴内水温并设定的温度。每个烧杯内加入发育至多细胞期的受精卵 100 粒。孵化过程中微充气, 及时使用吸管移除烧杯内死亡的沉卵。受精卵死亡的依据是沉入水底且发白。

统计不同温度条件下受精卵的孵化时间, 计算受精卵孵化的温度系数 Q_{10} 值(代表温度升高 10 °C 时胚胎发育速度加快的倍数), 定量表示某一范围内温度变化对鱼类胚胎发育时间的影响。计算公式如下:

$$Q_{10} = (t_0/t_a)^{10/(T_a - T_0)}$$

式中, T_0 为胚胎发育的起始温度, t_0 表示 T_0 温度条件下的孵化时间; t_a 表示 T_a 温度下的孵化时间。一般认为, 当 Q_{10} 值为 2 时, 胚胎发育的温度范围最为适宜。

比较了 6 个不同温度条件下(18、20、22、24、26 和 28 °C)的初孵仔鱼规格, 测量了全长、卵黄囊长径、短径和油球径等指标。

1.3 盐度对胚胎孵化的影响

设置 10、15、20、25、30、35 和 40 共 7 个盐度实验组, 每个实验组设置 2 个平行。高盐度海水以砂滤海水添加人工海水素配制而成; 低盐度海水以砂滤海水加淡水(充分曝气除 Cl_2)配制。以海水比重计(精确度 $\pm 1\%$)标定盐度值(徐永江等, 2005)。

以 2 000 mL 烧杯为容器, 置于容积为 200 L 的白色塑料桶水浴系统中, 以加热器和控温仪(精确度 ± 0.5 °C)控制水浴内水温在 20~21 °C。每个烧杯内加入发育至多细胞期的受精卵 100 粒。孵化过程中微充气, 实验过程中, 及时使用吸管移出沉卵。统计不同盐度组受精卵的孵化时间, 观察受精卵和初孵仔鱼在不同盐度水体中的分布情况, 并记录和描述。

1.4 温度对初孵仔鱼卵黄囊营养利用的影响

选取 4 个不同温度(18、20、22 和 24 °C)条件下的正常初孵仔鱼, 继续以原温度静水不投饵培育。每天取样 20~30 尾测量仔鱼卵黄囊长径、短径。仔鱼卵

黄囊体积计算公式:

$$V(\text{mm}^3)=4/3\pi\times R/2\times(r/2)^2 \quad (1)$$

式中, R 为卵黄囊长径(mm), r 为卵黄囊短径(mm)。比较不同温度条件下, 初孵仔鱼卵黄囊的吸收利用速率。实验持续7 d至所有实验组仔鱼的卵黄囊吸收完毕。

1.5 盐度对初孵仔鱼 SAI 值的影响

在温度为 20~21 °C 条件下, 使用 2 000 mL 烧杯设置 10、15、20、25、30、35 和 40 共 7 个盐度实验组, 各放入体态正常、活力较好的初孵仔鱼 100 尾, 在无投饵、静水和无充气条件下进行培育。每天上午、下午统计死亡仔鱼数并及时清除。计算仔鱼生存指数(SAI), 用于评价不同盐度下仔鱼的活力(陈昌生等, 1997), 公式如下:

$$\text{SAI}=\sum_{i=1}^k(N-h_i)\times\frac{i}{N} \quad (2)$$

式中, N 为实验仔鱼数, h_i 为第 i 天的仔鱼死亡累计数, K 为生存尾数为 0 时的天数。实验持续时间为 7 d。

1.6 初孵仔鱼饥饿不可逆点的确定

饥饿不可逆点(point of no return, PNR)的确定参照万瑞景等(2004)的方法。仔鱼孵化出膜后, 置入容积为 10 L 的白色圆形塑料桶内培育, 温度为 20~21 °C、盐度为 35 条件下, 持续饥饿。从第 3 天开始, 每天选择 100 尾仔鱼, 放入 2 000 mL 的烧杯内, 投喂褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*)(10 个/mL), 同时, 添加海水小球藻(*Chlorella* sp.), 观察统计饥饿仔鱼的初次摄食率, 当所测定的初次摄食率下降至最高初次摄食率的 1/2 时, 即为 PNR 时间, 以孵化后日龄(d)表示。

1.7 温度、盐度和饥饿对初孵仔鱼 IGF-1 基因表达的影响

收集不同温度(20、22、24 和 26 °C)和盐度(20、25、30 和 35)组孵化的健康初孵仔鱼各 20 尾。饥饿组的设置: 在温度为 20~21 °C、盐度为 32 条件下, 在容积为 10 L 的白色圆形塑料桶内培育初孵仔鱼, 持续饥饿, 自开口(孵化后 3 d)开始, 每天取样 20 尾, 一直取样至仔鱼全部饥饿死亡。所有样品快速冷冻于液氮中, 带回实验室后保存于-80 °C 保存备用。

总 RNA、cDNA 反转录、引物序列、定量扩增和结果计算等参考 Wang 等(2019)的方法, 以黄条鲫 18S rRNA 为内参基因(表 1)。PCR 体系为 20 μL: 10 μL 的 2×SYBR® Premix Ex Taq II; 10 μmol/L 的上、下游引物各为 0.8 μL; 2 μL 的 cDNA 模版; 7.2 μL 的

ddH₂O。PCR 扩增条件: 95 °C 预变性 30 s, 95 °C 5 s, 58 °C 30 s, 72 °C 20 s, 共 40 个循环。目的基因表达量采用 2^{-ΔΔCt} 法计算。

表 1 黄条鲫 IGF-1 定量扩增引物序列
(引自 Wang et al, 2019)

Tab.1 The primer sequences used for quantitative amplification of IGF-1 gene of *S. aureovittata* (from Wang et al, 2019)

引物名称 Primer name	引物序列 Primer sequence
igf1 F	TTGTGTGTGGAGAGAGAGGCTTT
igf1 R	GAAGCAGCATTTCGTCAACAATG
18S F	TACCACATCCAAAGAAGGCA
18S R	TCGATCCCGAGATCCAACATA

1.8 数据统计分析

受精卵孵化率、仔鱼畸形率、SAI 值、基因表达等数据采用平均值±标准差(Mean±SD)表示, 使用 SPSS 24.0 软件进行单因素方差(one-way ANOVA)分析, 设定差异显著性水平 $P=0.05$, $P<0.05$ 为差异显著。

2 结果

2.1 温度对黄条鲫胚胎孵化的影响

本研究显示, 在温度为 14~16 °C 时, 黄条鲫胚胎发育停滞在原肠中期和胚体形成初期, 均无法孵化出膜。在温度为 18~28 °C 条件下, 胚胎均可孵化出膜。其中, 18 °C 时胚胎孵化率仅为(55.72±3.02)%, 初孵仔鱼畸形率达(19.67±4.51)%。在温度为 20~26 °C 条件下, 孵化率均达 60.00%~81.00%, 其中, 在温度为 20~22 °C 条件下, 孵化率高达 75.00%~81.00%, 畸形率低于 6.70%; 在温度为 24~26 °C 条件下, 初孵仔鱼畸形率达 17.67%~27.33%。在温度为 28 °C 时, 孵化率下降至(49.09±4.64)%, 且初孵仔鱼畸形率高达(67.67±7.63)%。

本研究发现, 温度为 18 °C 时, 黄条鲫胚胎孵化出膜时间明显延长, 达 98.5 h; 在温度为 20~28 °C 条件下, 胚胎孵化时间分别为 84.6、73.6、58.2、48.5 和 41.5 h。同时, 不同温度下胚胎发育的温度系数 Q_{10} 不同, 其中, 温度为 20~22 °C 时, Q_{10} 为 2.007 (表 2), 表明 20~22 °C 为黄条鲫胚胎孵化的最适温度范围。

测量了 6 个不同温度条件下(18、20、22、24、26 和 28 °C)的初孵仔鱼规格(表 3)。在温度为 18 °C 时, 初孵仔鱼全长最小, 而温度为 22 °C 时, 初孵仔鱼全长最

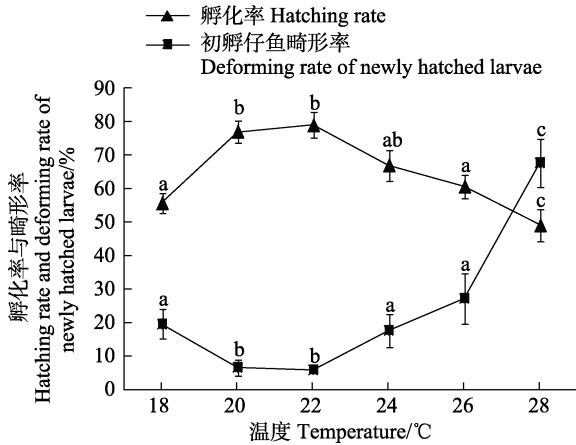


图1 温度对黄条鲮胚胎孵化和初孵仔鱼畸形率的影响

Fig.1 Effects of temperature on embryonic hatching and deforming rate of newly hatched larvae of *S. aureovittata*

不同字母表示组间具有显著性差异，下同。

Different letters indicate significant differences among groups, the same as below.

表2 黄条鲮胚胎发育各温度带的 Q₁₀

Tab.2 Values of Q₁₀ at different temperature bands for embryonic development of *S. aureovittata*

T _a /°C	T ₀ /°C	t _a /h	t ₀ /h	T _a -T ₀ /°C	Q ₁₀
28	26	41.5	48.5	2	2.380
	24	41.5	58.2	4	2.329
	22	41.5	73.6	6	2.598
	20	41.5	84.6	8	2.436
	18	41.5	98.5	10	2.373
26	24	48.5	58.2	2	2.488
	22	48.5	73.6	4	2.837
	20	48.5	84.6	6	2.528
24	18	48.5	98.5	8	2.424
	22	58.2	73.6	2	3.234
	20	58.2	84.6	4	2.548
22	18	58.2	96.5	6	2.323
	20	73.6	84.6	2	2.007
	18	73.6	98.5	4	2.072
20	18	84.6	98.5	2	2.139

表3 不同温度下孵化的初孵仔鱼的全长、卵黄囊与油球规格

Tab.3 The size of total length, yolk-sac and oil globe of *S. aureovittata*

温度 Temperature/°C	全长 Total length/mm	卵黄囊长径 Horizontal diameter of yolk sac/mm	卵黄囊短径 Vertical diameter of yolk sac/mm	油球直径 Diameter of oil globe/mm
18	4.36±0.22	0.82±0.11	0.33±0.02	0.32±0.03
20	4.45±0.32	0.83±0.10	0.33±0.01	0.31±0.01
22	4.48±0.28	0.79±0.07	0.32±0.05	0.31±0.01
24	4.43±0.14	0.72±0.05	0.30±0.02	0.29±0.02
26	4.41±0.12	0.64±0.03	0.27±0.02	0.24±0.02
28	4.39±0.11	0.58±0.01	0.25±0.03	0.22±0.01

大，而温度为 20 °C 时，孵化的仔鱼卵黄囊长径和短径最大。不同温度条件下，孵化的初孵仔鱼全长、卵黄囊长短径以及油球直径相比无显著差异(P>0.05)。

2.2 盐度对胚胎孵化的影响

受精卵在盐度 > 30 时漂浮在水面，而在盐度为 25 时悬浮在水体中部，盐度为 10~20 时沉于容器底部。所有盐度条件下胚胎均可孵化出膜。其中，盐度为 10 和 15 时，胚胎孵化率低于 26.0%，初孵仔鱼畸形率高达 57.0%~94.2%。盐度为 20、25 时，孵化率升高至 51.0%~66.0%，且初孵仔鱼畸形率下降至 10.0%~25.0%。盐度为 30 和 35 时，胚胎孵化率最高达 79.0%~80.0%，且初孵仔鱼畸形率低于 6.0%。当盐度为 40 时，虽然，胚胎孵化率达 69.0%，但初孵仔鱼畸形率上升至(14.0±3.1)%。

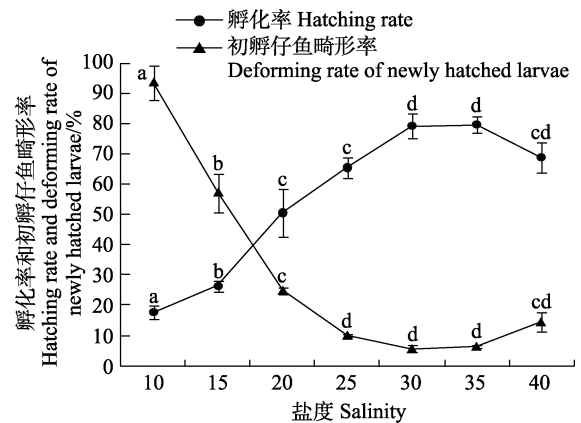


图2 盐度对黄条鲮胚胎孵化和初孵仔鱼畸形率的影响

Fig.2 The effects of salinity on embryonic hatching and deforming rate of newly hatched larvae of *S. aureovittata*

仔鱼孵化出膜后, 盐度为 35 组, 90%以上仔鱼分布在水体上层和表层, 10%分布在水体中部和底部。盐度为 25 和 30 组, 仔鱼 80%分布在水体上层和表层, 20%分布在水体中部和底部。而在盐度为 15~20 组, 60%~70%的仔鱼分布在水体上层和表层, 40%~30%仔鱼分布在水体中部和底部。而盐度为 10 实验组, 仅有约 10%在水体上层和表层分布, 约 90%分布在水体中部和底部(图 2)。

盐度为 25~40 时, 胚胎孵化时间为 73.4~75.5 h, 无明显差异; 盐度为 20 时, 胚胎孵化时间为 78.5 h; 而盐度为 10~15 时, 胚胎孵化时间延长至 82~84 h。综合孵化率、初孵仔鱼畸形率、仔鱼分布和孵化时间等结果, 黄条鲮胚胎适宜的孵化盐度范围为 30~35。

2.3 初孵仔鱼活力评价

2.3.1 温度对初孵仔鱼内源性营养利用的影响

比较了 4 个不同温度条件下(18、20、22 和 24 °C), 初孵仔鱼卵黄囊的消耗速度, 发现随着温度的升高, 卵黄消耗速度加快, 在温度为 18 °C 条件下, 孵化后 168 h 才完全消耗完毕; 在温度为 20 和 22 °C 条件下, 分别在孵化后 144、120 h 消耗完毕; 而 24 °C 条件下, 在孵化后 96 h 即完全消耗完毕(图 3)。

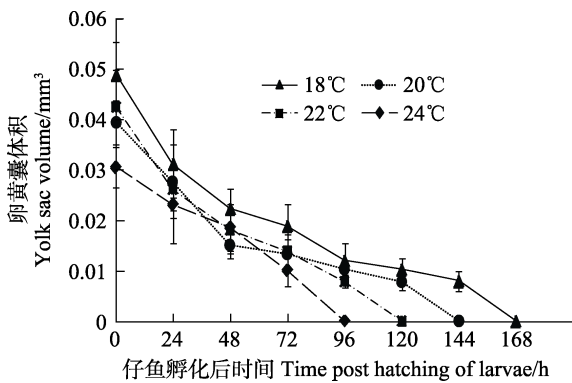


图 3 不同温度下孵化的初孵仔鱼卵黄囊吸收利用速度

Fig.3 The effects of temperature on absorption of yolk sac of *S.aureovittata* larvae

2.3.2 不同盐度条件下初孵仔鱼的 SAI 值 在不同盐度条件下, 静水无投饵培育对仔鱼的生长和存活影响较大(图 4)。SAI 值最高点(10.20)出现在盐度为 30 组, 仔鱼存活时间最长达 8 d; 而最低 SAI 值(2.99)出现在盐度为 10 组, 仔鱼孵化后 4 d 全部死亡, 而盐度为 15、20 和 40 组仔鱼的 SAI 值均较低, 表明过高或高低盐度都会对仔鱼的活力产生不利的影响。

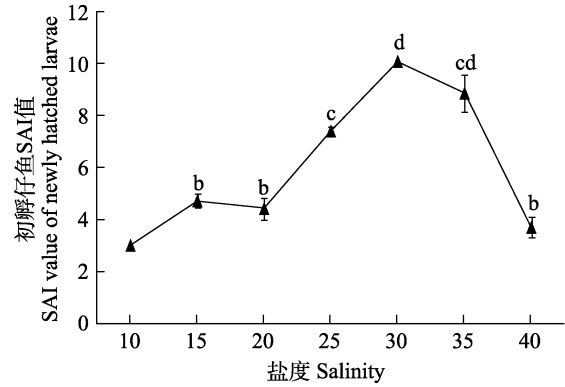


图 4 不同盐度下黄条鲮初孵仔鱼的 SAI 值
Fig.4 The SAI value of newly hatched larvae of *S. aureovittata*

2.3.3 初孵仔鱼饥饿不可逆点(PNR) 在水温为 20~22 °C 条件下, 初孵仔鱼开口后第 3 天(6 d 仔鱼)的初次摄食率最高(78%), 其后初次摄食率下降, PNR 出现在 7~8 d 之间, 仔鱼开始进入饥饿不可逆转期(图 5)。

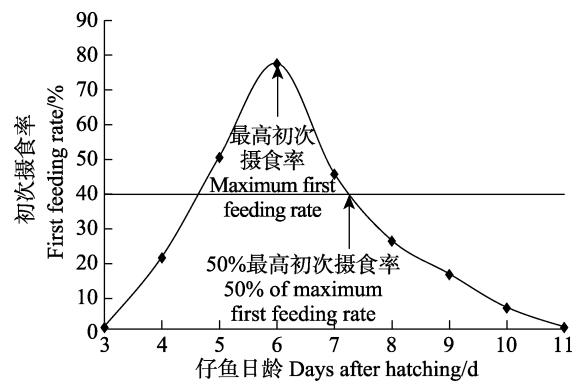


图 5 黄条鲮初孵仔鱼的饥饿不可逆点
Fig.5 The point of no return of newly hatched larvae of *S. aureovittata*

2.4 温度、盐度与饥饿对初孵仔鱼 IGF-1 基因表达的影响

不同温度条件下, 孵化的仔鱼中 *IGF-1* mRNA 表达水平有显著差异。在温度为 20~24 °C 条件下, 初孵仔鱼 *IGF-1* mRNA 表达水平显著高于其他温度组, 以温度为 24 °C 组为最高。同时, 盐度为 25~35 条件下, 初孵仔鱼 *IGF-1* mRNA 表达水平显著高于其他盐度组。在饥饿条件下, *IGF-1* mRNA 在饥饿后第 2 天显著升高, 其后在饥饿第 3~4 天显著下降, 但仍保持高表达水平, 随着饥饿的进行继续下降至显著低于开口期表达水平($P < 0.05$)(图 6~图 8)。

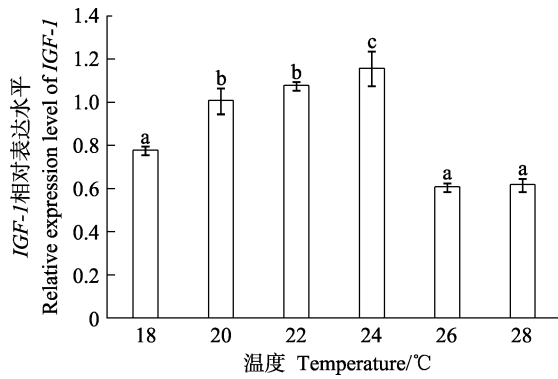


图6 不同温度下初孵仔鱼 *IGF-1* mRNA 的表达水平
Fig.6 The effect of temperature on *IGF-1* mRNA level in newly hatched larvae of *S. aureovittata*

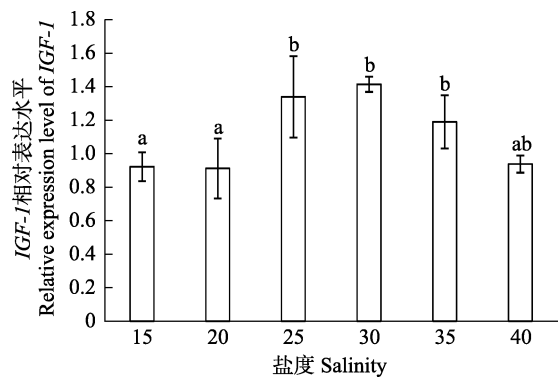


图7 不同盐度下初孵仔鱼 *IGF-1* mRNA 的表达
Fig.7 The effect of salinity on *IGF-1* mRNA level in newly hatched larvae of *S. aureovittata*

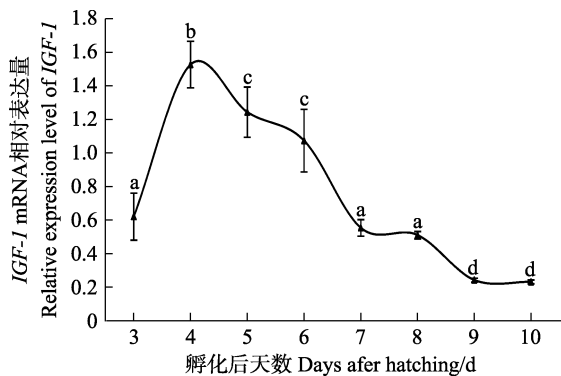


图8 饥饿对早期仔鱼 *IGF-1* mRNA 表达的影响
Fig.8 The effects of starvation on *IGF-1* mRNA level in early larvae of *S. aureovittata*

3 讨论

本研究确立了大洋性经济鱼类黄条鲷胚胎孵化的适宜温度和盐度, 查明了不同温度和盐度条件下, 初孵仔鱼规格、卵黄囊吸收利用、SAI 值、PNR 值和 *IGF-1* 基因表达等特性, 为建立规范化的受精卵孵化和苗种培育技术提供了早期发育生物学与生态学资料。

温度和盐度是影响鱼类在水域中分布和生长繁衍的关键因子, 在胚胎发育和仔鱼生长过程中, 细胞分化和器官发生等关键生理过程起关键调控作用(陈昌生等, 1997; 黄贤克等, 2017; 张廷廷等, 2016)。对五条鲷(*Seriola quinqueradiata*)的研究表明, 胚胎孵化的适宜温度为 22~24 °C, 低温条件下胚胎发育迟滞, 而高温条件下孵化时间较短但仔鱼畸形率高(方璐等, 2021)。本研究也发现, 14 和 16 °C 温度条件下, 黄条鲷胚胎发育停滞死亡, 表明 16 °C 为胚胎发育的下限。本研究还发现, 黄条鲷胚胎发育与温度呈负相关关系, 胚胎在 20~22 °C 孵化率最高, 初孵仔鱼的畸形率最低, 且温度系数 Q_{10} 最接近 2。研究表明, 温度可通过调控孵化酶的作用影响鱼类胚胎孵化, 只有在适宜的温度范围内孵化酶才拥有最大活性(樊廷俊等, 2002; 楼允东, 1965), 过高的温度会抑制孵化酶活性或使得卵裂及器官分化过程出现紊乱(王宏田等, 1998), 从而导致胚胎孵化率下降和畸形率升高, 因此, 鱼类胚胎发育的启动和正常过程需要在生物学 0 °C 以上的适宜温度带内, 与本研究结果相一致。Moran 等(2007)研究了澳大利亚海域黄条鲷胚胎发育过程中的能量代谢特性, 发现胚胎发育所需的耗氧量与温度呈负相关关系, 同时, 高温下孵化的仔鱼全长相对较小, 认为是由氨基酸等代谢产物的过快利用和消耗引起的。本研究发现, 高温条件下(24~28 °C)黄条鲷胚胎孵化时间短, 而初孵仔鱼的全长和卵黄囊相对小, 可能也是由于温度对胚胎和仔鱼生长发育能量分配机制的改变引起的。因此, 也提示在黄条鲷胚胎孵化和早期仔鱼培育过程中, 应保持适宜的孵化和培育温度, 以获得较高的孵化率和高质量的初孵仔鱼。

作为一种具有长距离洄游的大洋性经济鱼类, 黄条鲷对高盐度有较高的适应能力。本研究发现, 在盐度为 30~35 条件下, 胚胎孵化率最高, 盐度 < 30 和 > 35 时, 孵化率降低且初孵仔鱼畸形率升高, 这与同属鲷科(Carangidae)的高体鲷(*Seriola dumerili*)类似, 较半滑舌鲷(*Cynoglossus semilaevis*)(柳学周等, 2004)、条石鲷(*Oplegnathus fasciatus*)(徐永江等, 2009)等海水鱼类的最适孵化盐度要高。高体鲷受精卵在盐度 < 30 时呈沉性, 而在盐度 > 32 的海水中漂浮(陈昌生等, 1997)。本研究也发现, 黄条鲷受精卵在盐度 > 30 时漂浮, 而在盐度为 25 时悬浮, 盐度 < 20 时沉于烧杯底部, 表明低盐度条件对于维持受精卵正常的漂浮态是不利的。

在海水鱼类苗种培育过程中, 日本等国家多采用 SAI 来评价仔鱼活力, 进而决定仔鱼是否可以用于苗

种培育(陈昌生等, 1997)。SAI代表仔鱼在无投饵、饥饿、无换水和无充气条件下的存活能力, 其值越高, 仔鱼的活力就越好, 用于苗种培育时成活率比较高。对高体鲷的研究表明, 盐度为 32~35 条件下的仔鱼 SAI 值最高(18.3~18.8), 卵形鲳鲹、石斑鱼[云纹石斑鱼(*Epinephelus moara*) (♀)×七带石斑鱼(*Epinephelus septemfasciatus*) (♂)]等鱼类也是在适宜孵化的盐度下获得的仔鱼 SAI 值最高(许晓娟等, 2009; 李炎璐等, 2013), 表明胚胎孵化期间的盐度条件决定了仔鱼的质量。本研究中, 黄条鲷仔鱼在盐度为 30~35 时 SAI 值最高, 表明这一盐度范围内孵化的仔鱼用于苗种培育可提高成功率, 为建立胚胎孵化和早期苗种培育技术规范提供了条件选择依据。

殷名称(1991)研究认为, 鱼类早期生活史阶段的初次摄食期是一个可能引起大量死亡的危险阶段, 而饥饿是被认为引发初次摄食期死亡的主要原因之一。Blaxter 等(1963)提出了初次摄食期仔鱼 PNR 的概念, 从生态学角度研究初次摄食期仔鱼对饥饿的耐受能力和饥饿致死临界点。其后, 这一概念被引入到鱼类的人工繁殖过程中, 以 PNR 来评价初孵仔鱼的活力以及确定最佳的初次饵料投喂时间(陈昌生等, 1997; 李艳秋等, 2014)。李艳秋等(2014)研究表明, 太平洋鲷(*Gadous macrocephalus*)仔鱼初次摄食率为 30%, PNR 出现在 9 d, 最佳投喂时间为 5~7 d; 而鳀鱼(*Engraulis japonicus*)的 PNR 发生在 6 d(万瑞景等, 2004)。本研究中, 黄条鲷仔鱼的 PNR 出现在孵化后 7~8 d, 从最高初次摄食率到进入不可逆转期的时间较达到最高初次摄食率的时间短了 2 d, 表明黄条鲷仔鱼耐饥饿能力相对较弱, 另外, 其卵黄囊和油球等内源性营养物质吸收殆尽的时间为 4~5 d(徐永江等, 2019), 因此, 建议早期苗种培育的适宜初次投喂时间为 4 d, 同时, 保证饵料的充足供应, 以便于仔鱼在混合营养期内建立外源性摄食关系, 使得初孵仔鱼免受进展性饥饿, 提高早期苗种培育成活率。

鱼类的生长是一个由内在生理遗传与外界环境共同互作调控的过程, 其中, GH-IGF-1 轴起关键调控作用, 大量研究表明, IGF-1 是鱼类生长发育的一个关键生长功能因子(张雅星等, 2019; Triantaphyllopoulos *et al.*, 2019)。对半滑舌鳎的研究表明, IGF-1 具有母源遗传的特性, 在胚胎即将孵化期表达水平最高(张雅星等, 2019)。Wang 等(2019)的研究表明, 黄条鲷 IGF-1 也具有亲本遗传的特性, 且在胚胎发育早期具有较高表达水平, 因此, 胚胎发育期间的环境因子对其发生和表达具有重要的影响。本研究表明, 不同温度下孵化

出的黄条鲷仔鱼 IGF-1 mRNA 表达水平差异较大, 温度为 20~24 °C 组仔鱼中, IGF-1 mRNA 表达水平显著高于其他温度组, 与胚胎孵化的适宜温度范围相一致, 说明在适宜温度条件下, 孵化出的仔鱼具有较高的生长潜力。同样, 在盐度为 25~35 条件下, 孵化的仔鱼中 IGF-1 mRNA 表达水平显著高于其他温度组, 表明在胚胎孵化期适宜的盐度对于亲本 IGF-1 积累和传递具有较大的影响。在仔鱼饥饿过程中, IGF-1 mRNA 表达水平呈先显著上调再显著下调的趋势, 这与其他鱼类中的表达模式一致(Triantaphyllopoulos *et al.*, 2019), 饥饿初期的 IGF-1 mRNA 表达水平上升, 可能是内在生理补偿代谢机制启动的结果, 随后内源性营养和能量的消耗殆尽而外源性营养未及时补充, 导致生长轴生理调控功能失衡, 因此, IGF-1 mRNA 表达水平在 7~8 d 显著下调, 从分子层面验证了饥饿不可逆点的可靠性, 为早期仔鱼培育提供了内在生理指示指标。

4 小结

本研究针对大洋性经济鱼类黄条鲷苗种繁育的技术需求, 查明了受精卵孵化的最适温度为 20~22 °C、最适盐度为 30~35, 并通过 SAI、PNR、内源性营养吸收利用、初孵仔鱼 IGF-1 等验证了最适温盐范围和评价了初孵仔鱼活力, 确立了适宜的评价参数, 可为建立规范化的黄条鲷胚胎孵化和苗种培育技术提供依据。

参 考 文 献

- BLAXTER J H S, HEMPLE G. The influence of egg size on herring larvae (*Clupea harengus* L.). ICES Journal of Marine Science, 1963, 28(2): 211-240
- CHEN C S, JI R X, HUANG J M, *et al.* The relationship between the salinity and the embryonic, early larval development in *Seriola dumerili*. Journal Shanghai Ocean University, 1997, 6(1): 5-10 [陈昌生, 纪荣兴, 黄佳鸣, 等. 高体鲷胚胎、早期仔鱼发育与盐度的关系. 上海海洋大学学报, 1997, 6(1): 5-10]
- CHEN D G. Fishery ecology in Yellow Sea and Bohai Sea. Beijing: China Ocean Press, 1991, 138-139 [陈大刚. 黄渤海渔业生态学. 北京: 海洋出版社, 1991, 138-139]
- FAN T J, SHI Z P. Research progress and application prospects of fish hatching enzymes. Marine Limnology Bulletin, 2002(1): 48-56 [樊廷俊, 史振平. 鱼类孵化酶的研究进展及其应用前景. 海洋湖沼通报, 2002(1): 48-56]
- FANG L, XU Y J, LIU X Z, *et al.* The early growth and development characteristics of *Seriola quinqueradiata* and

- the temperature adaptation of embryonic development. *Progress in Fishery Sciences*, 2021, 42(6): 194–204 [方璐, 徐永江, 柳学周, 等. 五条鲷早期生长发育特征及胚胎发育的温度适应特性. *渔业科学进展*, 2021, 42(6): 194–204]
- HUANG X K, SHAN L Z, YAN M C, *et al.* Embryonic development of yellow aquarium and its relationship with temperature and salinity. *Marine Science*, 2017, 41(7): 44–50 [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. *海洋科学*, 2017, 41(7): 44–50]
- LEYTON Y, SAYES C, MEJIAS C, *et al.* Increased larval survival of *Seriola* captive spawning and larval rearing of California yellowtail (*Seriola lalandi*). using *Pseudoalteromonas* sp. as probiotics. *Revista de Biología Marinay Oceanografía*, 2017, 52(1): 95–101
- LI Y L, WANG Q Y, CHEN C, *et al.* Effect of salinity on embryonic development and larval activity of *F₁ Epinephelus moara* (♀) × *E. Septemfasciatus* (♂). *Progress in Fishery Sciences*, 2013, 34(5): 17–22 [李炎璐, 王清印, 陈超, 等. 盐度对云纹石斑鱼(♀)×七带石斑鱼(♂)杂交子一代胚胎发育和仔鱼活力的影响. *渔业科学进展*, 2013, 34(5): 17–22]
- LI Y Q, JIANG Z Q, SUN Y, *et al.* Experimental starvation on *Gadous macrocephalus* and definition of the point of no return. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, 34(14): 3873–3878 [李艳秋, 姜志强, 孙阳, 等. 太平洋鳕仔鱼饥饿实验及不可逆生长点的确定. *生态学报*, 2014, 34(14): 3873–3878]
- LIU X Z, XU Y J, MA A J, *et al.* Effects of salinity, temperature, light rhythm and light intensity on embryonic development of *Cynoglossus semilaevis* Günther and its hatching technology optimization. *Marine Fisheries Research*, 2004, 25(6): 1–6 [柳学周, 徐永江, 马爱军, 等. 温度、盐度、光照对半滑舌鲷胚胎发育的影响及孵化条件调控技术研究. *海洋水产研究*, 2004, 25(6): 1–6]
- LOU Y D. Hatching enzymes of fish. *Zoological Journal*, 1965(3): 97–101, 123 [楼允东. 鱼类的孵化酶. *动物学杂志*, 1965(3): 97–101, 123]
- MORAN D, GARA B, WELLS R M G. Energetics and metabolism of yellowtail kingfish (*Seriola lalandi* Valenciennes 1833) during embryogenesis. *Aquaculture*, 2007, 265: 359–369
- SANG G Y, SANG W H, JI S C, *et al.* Morphological development of embryo, larvae and juvenile in yellowtail kingfish, *Seriola lalandi*. *Development and Reproduction*, 2016, 20(2): 131–140
- SHI Z H, XIA L J, WANG J G, *et al.* Effect of salinity on embryonic development and larval growth of *Dentex tumifrons* Temminck et Schlegel. *Journal of Fisheries of China*, 2004, 28(5): 599–603 [施兆鸿, 夏连军, 王建钢, 等. 盐度对黄颡鱼胚胎发育及早期仔鱼生长的影响. *水产学报*, 2004, 28(5): 599–603]
- STUART K R, DRAWBRIDGE M A. Captive spawning and larval rearing of California yellowtail (*Seriola lalandi*). *Aquaculture Research*, 2013, 44(5): 728–737
- TRIAN TAPHYLLOPOULOS K A, CARTAS D, MOLIOU H, *et al.* Factors influencing GH and IGF-I gene expression on growth in teleost fish: How can aquaculture industry benefit? *Reviews in Aquaculture*, 2019, 1–26
- WANG B, XU Y J, LIU X Z, *et al.* Molecular characterization and expression profiles of insulin-like growth factors in yellowtail kingfish (*Seriola lalandi*) during embryonic development. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2019, 45: 375–390
- WANG H T, ZHANG P J. Effects of environmental factors on the development of marine fish fertilized eggs and early larvae. *Marine Science*, 1998, 22(4): 50–52 [王宏田, 张培军. 环境因子对海产鱼类受精卵及早期仔鱼发育的影响. *海洋科学*, 1998, 22(4): 50–52]
- WAN R J, LI X S, ZHUANG Z M, *et al.* Experimental starvation on *Engraulis japonicus* larvae and definition of the point of no return. *Journal of Fisheries of China*, 2004, 28(1): 79–83 [万瑞景, 李显森, 庄志猛, 等. 鳀鱼仔鱼饥饿试验及不可逆点的确定. *水产学报*, 2004, 28(1): 79–83]
- XU X J, LI J E, OU Y J. Effects of salinity on embryonic development and early larvae in ovate pompano *Trachinotus ovatus*. *South China Fisheries Science*, 2009, 5(6): 31–35 [许晓娟, 李加儿, 区又君. 盐度对卵形鲳鲹胚胎发育和早期仔鱼的影响. *南方水产*, 2009, 5(6): 31–35]
- XU Y J, LIU X Z, MA A J, *et al.* Effects of salinity on embryonic development and growth of early life stages of *Cynoglossus semilaevis* Günther. *Marine Sciences*, 2005, 29(11): 39–43 [徐永江, 柳学周, 马爱军, 等. 半滑舌鲷胚胎发育及仔鱼生长与盐度的关系. *海洋科学*, 2005, 29(11): 39–43]
- XU Y J, LIU X Z, WANG Y Y, *et al.* Effects of temperature and salinity on embryonic development and starving tolerance of newly hatched larvae of rock bream *Oplegnathus fasciatus*. *Progress in Fishery Sciences*, 2009, 30(3): 25–32 [徐永江, 柳学周, 王妍妍, 等. 温度、盐度对条石鲷胚胎发育影响及初孵仔鱼饥饿耐受性. *渔业科学进展*, 2009, 30(3): 25–32]
- XU Y J, ZHANG Z R, LIU X Z, *et al.* Early growth and development characteristics of yellowtail. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2019, 26(1): 172–182 [徐永江, 张正荣, 柳学周, 等. 黄条鲷早期生长发育特征. *中国水产科学*, 2019, 26(1): 172–182]
- YANG S G, JI S C, GU L S, *et al.* Management of sexual maturation and natural spawning of captive-reared yellowtail kingfish, *Seriola lalandi*, in an indoor rearing tank. *Development and Reproduction*, 2016, 20(2): 141–147
- YIN M C. The research on early life stage of fish and its progresses. *Journal of Fisheries of China*, 1991, 15(6): 348–358 [殷名称. 鱼类早期生活史研究与其进展. *水产学报*, 1991, 15(6): 348–358]

- ZHANG C L. Survey report on fishes of the Bohai Sea and Yellow Sea. Beijing: Science Press, 1955, 116–119 [张春霖. 黄渤海鱼类调查报告. 北京: 科学出版社, 1955, 116–119]
- ZHANG T T, CHEN C, SHI Z H, *et al.* Effects of temperature on embryonic development and larval vigor of Moray grouper (*Epinephelus moara*). Progress in Fishery Sciences, 2016, 37(3): 28–33 [张廷廷, 陈超, 施兆鸿, 等. 温度对云纹石斑鱼(*Epinephelus moara*)胚胎发育和仔鱼活力的影响. 渔业科学进展, 2016, 37(3): 28–33]
- ZHANG Y X, WANG B, LIU X Z, *et al.* Physiological role of the growth axis in embryonic development and early growth of *Cynoglossus semilaevis*. Journal of Fishery Sciences of China, 2019, 26(2): 287–295 [张雅星, 王滨, 柳学周, 等. 生长轴对半滑舌鳎早期生长发育的调控作用. 中国水产科学, 2019, 26(2): 287–295]

(编辑 陈 严)

The Ecological and Physiological Responses of Embryonic Development and Early Larval Growth of *Seriola aureovittata* to Temperature and Salinity

XU Yongjiang^①, CUI Aijun, JIANG Yan, WANG Bin, ZHOU Heting, LIU Xuezhou, LIU Xinfu

(Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Joint Laboratory for Deep Blue Fishery Engineering of Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266071, China)

Abstract Yellowtail kingfish, *Seriola aureovittata*, is a long-distance migratory oceanic species belonging to the Carangidae family of Perciformes, which has a global distribution and inhabits temperate and subtropical marine waters. *S. aureovittata* is large in size, has a fast growth rate, and is highly favored by international consumers owing to its excellent flesh taste, nutritional quality, and economic value. Furthermore, it is a promising candidate for the global farming industry and is particularly suitable for rapidly developed open ocean aquaculture in China.

Currently, yellowtail kingfish aquaculture occurs in over 10 countries including Japan, Australia, New Zealand, South Africa, Chile, Greece, Holland, USA, Mexico, and China. In 2017, a great breakthrough in seedling production of *S. aureovittata* was achieved, and currently juveniles are mass-produced in China by combining the “engineering pond” and “land based indoor tanks” modes, which led to the rapid development of the *Seriola* fish farming industry in China. Nowadays, *Seriola* species are farmed in Liaoning Province, Fujian Province, and Shandong Province of China, and the combined annual farming yield is approximately 500 tons. However, we found that during seedling production of *S. aureovittata*, especially at the early larval growth stage, the hatching rate of eggs was variable among different spawning batches, and the survival of early larvae was low especially when the larvae reached 8~10 d post hatching. Occasionally, the high total death rate was attributed to the sudden “sinking death” of larvae, which may have been caused by stress as a result of changes in environmental factors. Therefore, it is necessary to determine the ecological and physiological effects of environmental factors, especially temperature and salinity fluctuations, on the early life stages of *S. aureovittata* under artificial breeding conditions.

In the present study, the effects of two key environmental factors, temperature and salinity, on embryonic development and early larval growth of *S. aureovittata* were investigated using experimental ecology, morphological measurements, and molecular methods under laboratory conditions. The indexes including hatching rate of eggs, deformation rate of newly hatched larvae, absorption of yolk sac, *IGF-1*

① Corresponding author: XU Yongjiang, E-mail: xuyj@ysfri.ac.cn

gene expression, survival index (SAI), and point of no return (PNR) were determined. Moreover, the vitality of newly hatched larvae was tested and evaluated. The results showed that the highest hatching rates of 75%~81% were obtained under temperatures of 20~22 °C, and the deformation rates of newly hatched larvae were lower than 6.7%. In addition, according to the Q_{10} calculation, the most appropriate water temperature range for embryonic development of *S. aureovittata* was confirmed to be 20~22 °C. Meanwhile, the total length and yolk sac volume of newly hatched larvae of yellowtail kingfish hatched from the 20°C and 22 °C groups were larger than those in the other temperature groups. Regarding salinity, the fertilized eggs floated on the water surface when salinity was over 30 ‰, were suspended in the water when salinity was between 20~25, and sank to the bottom of the container when salinity was lower than 15. The optimum salinity range for embryonic development of *S. aureovittata* was therefore determined to be 30~35, when hatching rates were between 79%~80%, and the deformation rate of newly hatched larvae was 6%. The yolk sac absorption by newly hatched larvae was measured under four temperatures (18 °C, 20 °C, 22 °C, and 24 °C). It was found that the absorption and exhaustion speed of the yolk sac increased with temperature, and the yolk sac was exhausted at 7 d post hatching at 18 °C, whereas the time decreased to 6 d, 5 d, and 4 d at 20 °C, 22 °C, and 24 °C, respectively. The highest SAI value for newly hatched larvae was observed at a salinity of 30, whereas the lowest was observed at a salinity of 10, which was consistent with the hatching results of embryos under different salinities. The highest first feeding rate of newly hatched larvae was observed at 6 d post hatching, and the PNR appeared between 7 d and 8 d post hatching at culture temperatures ranging from 20~22 °C. *IGF-1* mRNA levels in newly hatched larvae from different temperatures and salinities were detected, and significantly higher expression levels were found at temperatures of 20~24 °C and salinities of 30~35. Under continuous starvation conditions, the *IGF-1* mRNA in larvae significantly increased at 2 d post mouth open and decreased at 3 d and 4 d, although expression levels remained relatively high, and then continually decreased to a significantly lower level as starvation continued. Results from the present study provide basic knowledge and useful tools for the construction of standardized technological methods for optimal embryonic hatching and seedling production of *S. aureovittata*.

Key words *Seriola aureovittata*; Embryonic development; Larval growth; Temperature; Salinity