

温度对泥鳅胚胎卵裂间隔时间影响研究

刘自然¹, 潘淦^{1,2}

(1.华南师范大学 生命科学学院, 广州 510631; 2.广州市金洋水产养殖有限公司, 广州 511447)

摘要:泥鳅是重要经济养殖鱼类,但是关于温度对泥鳅的受精卵卵裂研究还没有详细报道.本研究通过观察泥鳅的胚胎发育在不同水温(17 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 、(20 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 、(23 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 、(26 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 、(29 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 、(32 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 对卵裂间隔时间(T_0)的影响.结果表明:泥鳅胚胎发育可划分受精卵、卵裂期、原肠胚期、神经胚形成期、器官形成期、出膜期6个阶段.在一定水温范围内,第一次卵裂时间随水温升高而缩短,每升高 1°C ,约提前3.5 min.通过回归分析第一次卵裂时间(y)和水温(x)的关系可以归纳为: $y/\text{min} = -78.5\ln(x/^{\circ}\text{C}) + 298.96$ ($R^2 = 0.99$).水温越高,卵裂间隔时间也越短,间隔时间与温度的回归方程为: $y/\text{min} = 44.188 - 0.002x/^{\circ}\text{C}^3 + 0.1428x/^{\circ}\text{C}^2 - 3.5536x/^{\circ}\text{C}$ ($R^2 = 0.9871$).

关键词:泥鳅;胚胎发育;水温;卵裂间隔时间

中图分类号:S962

文献标志码:A

鱼类早期胚胎发育关系着苗种培育能否顺利进行,是鱼类整个生活史重要的环节之一^[1].鱼类的正常胚胎发育主要受温度、pH、盐度、氧气等环境因子的影响^[2-3].其中,温度对胚胎发育影响显著^[4].通过对胚胎发育的观察,相关研究者能够了解到鱼类胚胎发育的差异^[5-8],同时也了解到温度与鱼类胚胎发育历时的关系,还可以找到水温与胚胎发育卵裂间隔时间(T_0)^[9]的关系.卵裂间隔时间是指早期同步卵裂中两次相邻细胞分裂的时间间隔,与卵裂时间相比,通过 T_0 这个时间单位对染色体组操作起始时间和作用持续时间的分析,能够更为方便比较不同研究结果.通过对温度与卵裂间隔时间关系分析,可以比较不同物种受精卵发育速度,以及同一物种受精卵发育速度随温度变化规律,为染色体组操作的进一步优化奠定理论基础^[10].目前, T_0 在多种鱼类染色体组操作技术中得到广泛应用,如:匙吻鲟(*Polyodon spathula*)^[11]、密西西比铲鲟(*Scaphirhynchus platyrhynchus*)^[12]、鲤(*Cyprinus carpio*)^[13]、鲇(*Silurus asotus*)^[14]等.

泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*),俗称“鳅鱼”,隶属鲤形目(Cypriniformes)、鳅科(Cobitidae)、花鳅亚科(Cobitinae)、泥鳅属(*Misgurnuscaopepede*)^[15],广泛分布于亚洲沿岸的中国、日本、朝鲜、俄罗斯及印度等地,在中国分布各地,南方分布较多,北方不常见,泥鳅味道鲜美,肉质细嫩,营养丰富,深受广大消费者欢迎的一种小型经济淡水鱼类.泥鳅在药理学上具有很高的医药价值,其主要功效为溢阴壮阳、祛湿邪、保肝护肝等功能,被称为“水中人参”^[16].目前,对于台湾泥鳅胚胎发育图片资料早期相关报道局限于手绘^[17-18].张玉明^[19]以及邱楚雯等^[20]对台湾泥鳅胚胎发育做了进一步研究,通过显微镜观察并收集了胚胎发育图片,由于胚胎发育分期与早期报道略有差异,使得全面完整的图片资料有待进一步完成.我国学者在泥鳅染色体组操作领域奋斗多年,先后对雌核生殖和多倍体诱导技术进行研究^[21-23].但是,关于泥鳅染色体组操作技术的研究通常是在单一温度下进行的.由于不同温度对鱼类胚胎发育影响不一样,因此,单一温度优化诱导情况下

收稿日期:2018-03-12; **修回日期:**2018-04-20.

基金项目:广东省教育部产学研结合项目(2011B090500009);华南师范大学金洋水产种苗产学研结合示范(2011B090500009);国家海洋经济创新发展区域示范专项项目(GD2012-A02-017);河鲢工业化循环水养殖示范(GD2012-A02-017);海洋渔业科技推广专项科技攻关与研发项目(A201201E05);广东省海洋科技发展专项(A201501B06).

作者简介:刘自然(1991-),男,山西大同人,华南师范大学在读硕士研究生,研究方向为水产动物种质资源与遗传育种, E-mail:gbvung@163.com.

通信作者:潘淦(1966-),男,广东湛江人,华南师范大学副教授,研究方向为水产动物种质资源与遗传育种, E-mail:pg2829@sina.com.

的研究结果存在较大局限性,可信度受到一定程度上的质疑.该研究旨在探究泥鳅胚胎发育第一次卵裂时间和卵裂间隔时间与温度的关系,从而为优化泥鳅染色体组操作技术,为提高在不同环境温度操作的成功率提供基础数据.

同时,在一定温度条件下,详细的观察泥鳅胚胎发育各个时期的形态变化,提供从受精卵至出膜前期完整的图片资料,以期能更生动了解泥鳅早期胚胎发育的每个阶段的特点.

1 材料与方法

1.1 实验材料

试验于华南师范大学产学研基地广州市金洋水产养殖有限公司孵化车间完成,采用广州市金洋水产养殖有限公司自行经过人工催产繁殖的台湾泥鳅受精卵,亲鱼为广州市金洋水产养殖有限公司提供的2~3龄性腺发育成熟,体格健壮的亲本,规格为雌鱼平均体质量为 (80 ± 5) g,雄鱼平均体质量为 (66 ± 3) g.

实验药品:绒毛膜促性腺激素(Human Chorionic Gonadotropin, HCG)、促黄体素释放激素类似物(Luteinizing Hormone-releasing Hormone-A2, LHRH-A2)、马来酸地欧酮(Domeperidone, DOM),均由宁波三生药业有限公司提供.

器材与设备:体积2.5 mL一次性使用无菌注射器,四号针头,手套,深圳市爱科学教育科技有限公司:SS3 No.S16042803多功能数码液晶显微镜,氧气泵,加热棒,体积200 L白桶,温度计.

实验用水:孵化用水为池塘养殖用水,经过0.05 mm筛网充分过滤,沉淀池沉淀及曝气处理,水质完全符合国家水产养殖水质标准.

1.2 温度处理

共设置6个不同温度梯度(17、20、23、26、29、32 °C),分别命名为A-F,17 °C为自然水温.试验过程中,应该严格保证水温变化范围在 ± 0.5 °C,目标温度调控通过使用加热棒完成.

1.3 方法

1.3.1 胚胎发育过程的观察

经过人工干法受精得到的受精卵,立即放入预先设定的试验水体中,在水温 (26 ± 0.5) °C下培养,记录各时期发育特点.其中,卵裂时期每隔3 min取样1次,囊胚期每隔10 min取样1次,原肠期每隔30 min取样1次,从肌节出现期至出膜前期每隔50 min取样1次.随机抽样,在 6×10 倍的显微镜观察并拍照,每次取样10~20粒,观察不同批次受精卵的胚胎发育过程.

1.3.2 不同温度对胚胎发育卵裂间隔时间试验

将人工授精得到的受精卵放入A~F组中,放入同时开始计时,每隔3 min取样1次,每次取30~50粒受精卵放入1 mL离心管中,用质量浓度为2%的福尔马林溶液固定,在光镜下观察并记录处于2、4、8、16和32个细胞期阶段受精卵个数.

1.4 数据处理

根据拍照记录结果计算第1次至第5次卵裂($T_I, T_{II}, T_{III}, T_{IV}$ 和 T_V),分别为2、4、8、16和32个细胞期受精卵个数达到50%时的时间点,卵裂间隔时间(T_0)计算公式如下: $T_0 = (T_V - T_I) / 4^{[24]}$.试验数据均用Spss18.0软件进行分析处理,并通过Excel软件拟合第一次卵裂时间和温度、卵裂间隔时间和温度的回归关系,使用Adobe Photoshop3.0对相关图片进行编辑和处理.

2 结果

2.1 泥鳅胚胎发育观察

泥鳅胚胎发育可分为受精卵,卵裂,原肠胚形成,神经胚形成,器官形成和孵化出膜6个阶段.受精卵阶段可分为:受精、胚盘形成;卵裂阶段分为:2细胞、4细胞、8细胞、16细胞、32细胞、64细胞、128细胞、桑葚胚、高囊胚、低囊胚;原肠胚形成阶段分为:原肠初期、原肠中期、原肠晚期;神经胚形成阶段分为:神经胚期、胚孔封闭期;器官形成阶段分为:肌节出现期、视泡形成期、眼囊期、溴板期、尾芽期、听囊期、尾泡期、尾鳍出

现期、晶体形成期、肌肉效应期、耳石出现期,孵化出膜又称孵化前期。

2.1.1 受精卵阶段

卵子与精子相遇完成受精过程(见图 1-1),卵膜吸水而膨胀呈球形,透明,具有黏性,沉性卵,受精后 20 min 动物极部位集中原生质,形成帽状隆起胚盘,高度达卵黄的 1/3 左右,略带淡红色(见图 1-2)

2.1.2 卵裂阶段

受精后 35 min,胚盘进行第一次卵裂形成 2 细胞进入卵裂阶段(见图 1-3),45 min 后,半数达到第 1 次卵裂,以后每隔 10~20 min 分裂一次,细胞数目成倍递增(见图 1-4~9),纵裂为 4、8、16、32、64、128 个细胞,最后分裂若干次后,动物极形状像桑葚,而且细胞界限不能区分,进入桑葚期(见图 1-10),受精后 4.5 h,胚盘细胞分裂而形成高举的囊胚细胞(见图 1-11),此时胚盘细胞在显微镜下仍然可以看见,随着胚盘细胞继续分裂变小,胚层变薄且透明,向下延伸,囊胚由高降低形成低囊胚(见图 1-12)。

2.1.3 原肠胚形成阶段

受精后 6.08 h,胚层进一步向植物极延伸,胚层下包 1/2-1/3,下包边缘形成胚盘(见图 1-13),进入原肠初期。受精后 7.25 h,胚层进一步延伸,下包 2/3,逐渐向植物极扩张形成舌状的胚盾(见图 1-14),进入原肠中期。受精后 8.25 h 胚盘下包 2/3-5/6(见图 1-15),进入原肠晚期。胚层将大部分卵黄包围,胚盾延伸,为器官初步形成奠定基础。

2.1.4 神经胚形成阶段

受精后 8.58 h(见图 1-16),下包 5/6,胚层向下延伸包围绝大多数卵黄,仅有卵黄栓裸露在视野内,胚盾背面中线处形成神经沟,为后脑的形成做准备。受精后 9 h(见图 1-17)囊胚层将卵黄完全包围,胚孔封闭,胚体形成,头尾部隆起,胚体末端出现 2 个收缩部分,并且出现有前脑、中脑、后脑三部分组成的脑泡结构,但此时还未形成肌节。

2.1.5 器官形成阶段

受精后 12.83 h(见图 1-18),胚体中部出现 3 对肌节,进入肌节期,受精后 14.33 h(见图 1-19),胚体肌节增加至 10~12 对,胚体延长,出现膨大的视泡,受精后 15.58 h 至受精后 23 h(见图 1-20~27),依次出现眼囊、溴板、尾芽、听囊、尾泡、尾鳍、晶体。受精后约 23.5 h,胚胎出现肌肉收缩,约 30 s 跳动一次,进入肌肉效应期。受精后约 25 h,听囊出现二粒黑色耳石就,进入耳石出现期。

2.1.6 出膜阶段

受精后 26.25 h,胚胎孵化出膜将近半数,出膜前胚体扭动,并通过孵化酶的作用出膜。无论仔鱼出膜前后,胚胎发育经历阶段与上属相同。

2.2 温度对泥鳅胚胎发育卵裂间隔时间的影响

在不同温度梯度下,受精卵胚胎发育过程中第 1 次卵裂到第 5 次卵裂时间和间隔时间见表 1 所示。

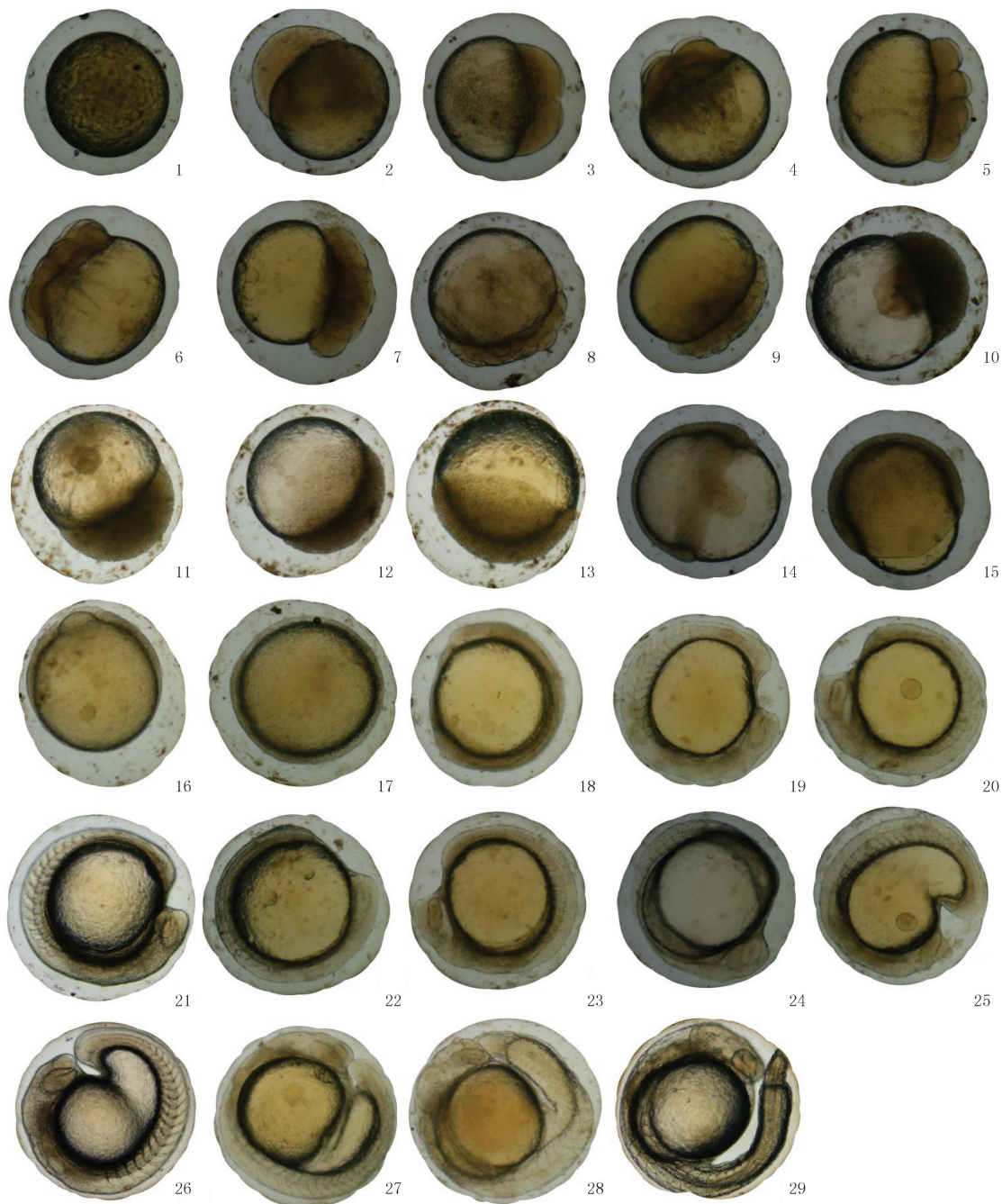
表 1 温度变化对泥鳅受精卵卵裂时间和间隔时间的影响

组别	$t/^\circ\text{C}$	T_I/min	T_{II}/min	T_{III}/min	T_{IV}/min	T_V/min	T_O/min
A	17±0.5	78.3±2.9a	87.3±2.5a	103.7±1.2a	121.7±1.5a	144.0±1.7a	151.17±1.51a
B	20±0.5	61.0±2.6b	71.7±2.1b	90.0±2.0b	105.7±1.2b	118.3±1.5b	143.33±0.52ab
C	23±0.5	52.0±1.0c	62.7±2.5c	75.3±3.1c	91.3±1.2c	106.7±2.7c	133.67±0.72ab
D	26±0.5	45.0±2.0d	55.3±2.5d	71.7±2.5d	85.3±2.1d	96.7±1.5d	122.92±0.52b
E	29±0.5	36.0±1.0e	49.0±1.0e	61.3±1.2e	74.3±2.5e	86.7±2.5e	122.67±0.88b
F	32±0.5	25.7±1.5f	40.0±2.0f	53.7±1.5f	63.0±2.6f	70.0±3.0f	111.08±0.72c

注:表中的值为平均值±标准差($n=3$);同一列中具不同字母标记的数值表示差异显著($P<0.05$)。

由表 1 可知,在温度为(17±0.5) $^\circ\text{C}$ 、(20±0.5) $^\circ\text{C}$ 、(23±0.5) $^\circ\text{C}$ 、(26±0.5) $^\circ\text{C}$ 、(29±0.5) $^\circ\text{C}$ 、(32±0.5) $^\circ\text{C}$ 条件下,泥鳅受精卵第 1 次卵裂时间随着温度的升高而提前,A-F 组之间均存在显著性差异($P<0.05$)。对泥鳅受精卵第一次卵裂时间与温度的关系进行回归分析,得到回归方程为 $y/\text{min}=301.16-79.22\ln(x/^\circ\text{C})$, 回归模型(见图 2)可以直观的显示出,在(17±0.5) $^\circ\text{C}$ 到(32±0.5) $^\circ\text{C}$ 之间,温度每升高 1 $^\circ\text{C}$,第一次卵裂时间约提前 3.5 min。不同温度下泥鳅受精卵卵裂间隔时间不同(见表 1),通过回归卵裂间隔时间(y)与温度(x)

的关系可归纳出方程为: $y/\text{min}=44.188-0.002(x/^\circ\text{C})^3+0.1428(x/^\circ\text{C})^2-3.5536x/^\circ\text{C}$ ($R^2=0.9871$)。图 3 显示出不同温度下泥鳅受精卵卵裂间隔时间关系,结果显示:在一定温度范围内,随着温度的升高,卵裂间隔时间逐渐减小,A 组的 T_0 显著大于 D,E 两组 ($P<0.05$),且这两组之间无显著性差异 ($P>0.05$),B 组和 C 组无显著性差异 ($P>0.05$),B、C 两组和 D,E 两组之间无显著性差异 ($P>0.05$),而 F 组的 T_0 显著小于其他各组 ($P<0.05$),在一定温度范围内,F 组卵裂间隔时间明显缩短。



1. 受精卵; 2. 胚盘形成期; 3. 2 细胞期; 4. 4 细胞期; 5. 8 细胞期; 6. 16 细胞期; 7. 32 细胞期; 8. 64 细胞期; 9. 128 细胞期; 10. 桑葚期; 11. 高囊胚期; 12. 低囊胚期; 13. 原肠早期; 14. 原肠中期; 15. 原肠晚期; 16. 神经胚期; 17. 胚孔封闭期; 18. 肌节出现期; 19. 视泡形成期; 20. 眼囊期; 21. 嗅板期; 22. 尾芽期; 23. 听囊期; 24. 尾泡期; 25. 尾鳍出现期; 26. 晶体形成期; 27. 肌肉效应期; 28. 耳石出现期; 29. 孵化前期。

图 1 泥鳅胚胎发育过程

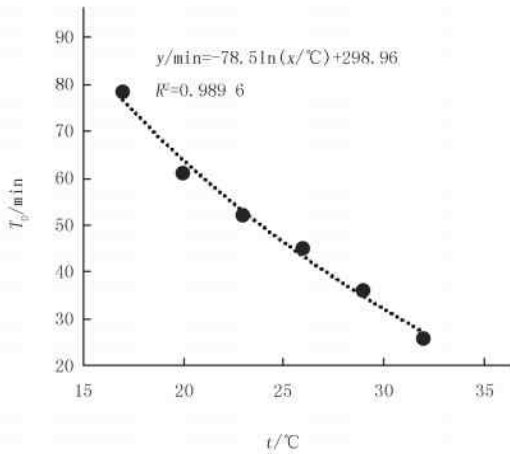


图2 温度对泥鳅受精卵第一次卵裂时间的影响

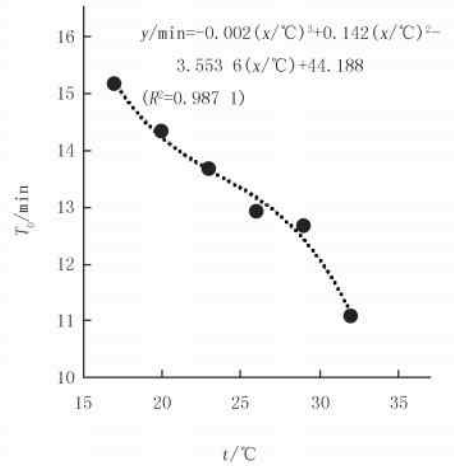


图3 温度对泥鳅受精卵卵裂间隔时间的影响

3 讨论与结论

3.1 泥鳅胚胎发育分期及特点

鱼类胚胎发育的观察及图片总结的展示对胚胎发育分期有着重要的作用.不同种类的鱼类发育阶段划分的具体分期、划分方法大体相同,都遵循细胞分裂和器官形成的先后顺序进行划分.路志鸣等^[25]对泥鳅胚胎发育进行研究过程中,将胚胎发育划分为26个时期,但仅对其中的10个时期进行了观察记录.张玉明^[19]对进一步对安康地区泥鳅胚胎发育进行观察记录,由于划分方法中将64细胞期以及128细胞期归结为多细胞期,未能对细胞分裂至64细胞期给出图片资料,邱楚雯等^[20]在对台湾泥鳅早期胚胎发育的研究中,将胚胎发育划分为7个阶段,但对其胚胎发育中器官形成阶段至出膜前期相关的图片资料不够详尽.该研究主要参照张明宇等^[18]的分期方法,能够将其详尽的手绘资料更新为清晰直观的图片资料同时也能够将其他学者按照不同分期所观察到的图片资料进一步完善.在显微镜下观察记录了不同阶段每个时期的胚胎发育变化情况,将泥鳅胚胎划分为6个阶段,29个时期,并对每个时期进行显微观察记录.

泥鳅的卵裂方式与大多数硬骨鱼类相似,胚胎发育受精卵第二个时期形成胚盘,而卵裂仅仅发生在胚盘上面,为盘状卵裂^[26].本研究泥鳅受精卵卵裂方式在显微镜下可明显观察出是盘状卵裂,泥鳅胚胎发育过程中,通过显微镜观察,最为显著变化是动物极卵裂形成胚盘,胚盘不断高举,然后细胞经过不同时期,胚盘逐渐下包1/3、1/2、2/3、5/6,至胚孔封闭,胚胎进入器官形成期.胚胎发育整个过程相对剧烈运动发生在心跳期,心脏原基开始有节律地跳动,心率30次/min,以及出膜前期卵膜在孵化酶和自身摆动的作用下破裂,这与部分研究早期胚胎发育报道所观察大致过程描述基本相似^[8,20],但心脏搏动从结果可以看出有显著差异.其原因可能与泥鳅孵化过程中水域环境和亲本地域不同有关,需要进一步探讨.本研究表明胚胎发育受温度的影响,在一定温度下,培育周期随温度升高而减小,造成培育周期差异的原因目前认为是孵化酶活性等方面的差异,其他原因有待进一步研究.

3.2 温度对泥鳅胚胎发育卵裂间隔时间的影响

研究表明,温度是影响水产生物胚胎发育速度的重要自然因子之一,而鱼类胚胎发育速度对外界环境温度变化比较敏感.该文研究结果表明,温度越高,泥鳅受精卵第一卵裂速度越快,卵裂间隔周期也越短,(17±0.5)℃~(32±0.5)℃之间,泥鳅第一次卵裂时间与温度关系分析,每升高1℃,第一次卵裂时间约提前3.5 min.张明宇等^[18]研究了20~23℃水温条件下,泥鳅的胚胎发育与生长,得出结论:2细胞期发生在受精卵后40~60 min,持续时间20~30 min,这与该实验结果基本一致,泥鳅T₀依赖于温度的模式与硬骨鱼相似^[27-29],泥鳅卵裂速度快于目前报道的硬骨鱼类.根据本研究可得出:22℃泥鳅卵裂间隔时间在(13.67±0.72)min与(14.33±0.52)min之间,而大黄鱼卵裂间隔时间为19.5 min^[30],鲤为23.7 min,鲟鱼类则为38.9 min以上^[31],泥鳅行不完全卵裂与大黄鱼、鲤一样.不同物种在同一温度下卵裂速度存在明显差异,原因

包括不同物种控制卵裂基因种类,含量以及表达产生孵化酶种类等方面,至今未给出详细报道,还有待于进一步研究.通过该研究用 T_0 为时间单位便于不同试验间及不同物种间进行比较研究,有利于提高染色体组操作的标准化,鱼类染色体组操作在遗传育种研究中有着广泛的用途,雌核发育作为遗传育种工作的研究领域之一,已经在多种鱼类展开研究并取得成果,包括:红鲤(*Common carp*)^[32]、鲤鱼(*Cyprinus carpio*)^[33]、稀有鮡鲫(*Gobiocypris rarus*)^[34]、草鱼^[35]等.抑制第二次减数分裂或第一次有丝分裂实现受精卵的染色体组加倍是鱼类染色体组操作的重要步骤.处理起始时间和作用持续时间的要求更为严谨, T_0 作为一个相对时间,用来确定染色体操作时间的指标较绝对时间更为严谨,在匙吻鲟(*Polyodon spathula*)^[36]、鲇鱼(*Silurus asotus*)^[37]等鱼类雌核发育研究结果均已得到证实,被用于确定最适染色体操作时间,已广泛得到认可.该研究旨在确定不同温度受精卵胚胎发育第1次卵裂时间和卵裂间隔时间,可以精确无误地把握染色体操作的处理起始时间和处理持续时间,从而提高染色体组加倍的人工诱导率,在不同繁殖季节,水温变化情况下,为泥鳅染色体组操作提供基础数据,以示参考.

参 考 文 献

- [1] 郑怀平.鱼类早期生活史的营养与摄食[J].盐城工学院学报,1999(03):63-66.
- [2] 崔立娇.环境因子对鱼类胚胎发育影响的研究进展[J].齐鲁渔业,2010(11):47-50.
- [3] Zacharia S,Kakati V S.Optimal salinity and temperature for early developmental stages of *Penaeus merguensis*, De man[J].Aquaculture, 2004,232(1/4):373-382.
- [4] Bhattacharya H,Zhang V,S.Wang Y.J Embryonic development of the rosy barb *Puntius conchoni* Hamilton 1822(Cyprinidae) [J].Trop Zool 2005,18(2): 25-37.
- [5] 郭永灿.水温对鲢鱼、草鱼胚胎发育的影响[J].淡水渔业,1982(03):35-40.
- [6] 钟全福.黑莓鲈胚胎发育观察及温度对胚胎发育的影响[J].福建水产,2014(05):333-343.
- [7] 木亮亮,徐慈浩,许爱娉,等.温度对云斑尖塘鳢胚胎发育的影响及其胚后发育的形态学观察[J].广东农业科学,2015(14):94-99,193.
- [8] 杨荣华,朱逸仁.泥鳅胚胎与鱼苗发育的研究[J].辽宁师范大学自然科学学报,1991(01):46-52.
- [9] SAAT T,VEERSALU A.The rate of early development in perch *Perca fluviatilis* L.and ruffe *Gymnocephalus cernuus* (L.) at different temperatures[J].Ann Zool Fennici,1996,33: 693-698.
- [10] DETTLAFF T A.The rate development in poikilothermic animals calculated in astronomical and relative time units [J].J Therm Biol, 1986,11: 1-7.
- [11] MIMS S D,SHELTON W L,LINHART O,et al.Application of a temperature-dependent index of mitotic interval(T_0) for chromosome manipulation in paddlefish and shovelnose sturgeon [J].Prog Fish-Cult,1991,59: 229-234.
- [12] SHELTON W L,MIMS,CLAEK J A,et al 234.A temperature-dependent index of mitotic interval (T_0)for chromosome manipulation in paddlefish [J].Prog Fish-cult,1991,59: 229-234.
- [13] SHELTON W L,ROTHBARD S.Determination of the developmental duration (T_0) for ploidy manipulation in carps [J].Isr J Aquacult-Bamidgeh,1993,45: 73-81.
- [14] IM J H,CHO H J,NAM YK,et al.Production of gynogenetic diploid in the far eastern catfish *Silurus asotus* [J].Korean J Genetics,2001, 23: 89-101.
- [15] 陈景星.中国沙鳅亚科鱼类系统分类的研究[J].动物学研究,1980(01):3-20.
- [16] Qin CG,Huang K X,Xu HB.Protective effect of polysaccharide from the loach on the in vitro and in vivo peroxidative damage of hepatocyte.[J].Nutri Biochem,2002,13: 592-597.
- [17] 郑文彪.泥鳅胚胎和幼鱼发育的研究[J].水产学报,1985(01):37-47.
- [18] 张明宇.泥鳅的胚胎发育与生长[J].生物学通报,1999(03):23-25.
- [19] 张玉明,田秀娥,王永军.安康地区泥鳅胚胎发育研究[J].安徽农业科学,2010,38(23):12434-12436.
- [20] 邱楚雯,王韩信,陈迪虎,等.台湾泥鳅人工繁殖及早期发育的研究[J].水产科技情报,2014,41(06):284-289.
- [21] 印杰,赵振山,陈小奇,等.二倍体和四倍体泥鳅染色体组型比较[J].水生生物学报,2005(04):469-472.
- [22] 刘同明,吴清江,叶玉珍.人工诱导泥鳅雌核发育及人工转性的研究[J].水生生物学报,2004(04):445-447.
- [23] 南平,杜启艳,燕师国,等.人工诱导四倍体泥鳅的研究[J].河南师范大学学报(自然科学版),2008(01):103-106.
- [24] 强俊,李瑞伟,王辉.温度对奥尼罗非鱼受精卵孵化和仔鱼活力的影响[J].淡水渔业,2008(04):25-29.
- [25] 刘同明,吴清江,叶玉珍.人工诱导泥鳅雌核发育及人工转性的研究[J].水生生物学报,2004(04):445-447.
- [26] 郑闽泉,刘伯仁.泥鳅早期发育的观察研究[J].海洋湖沼通报,1992(4):85-90.
- [27] SAATT,VEERSALU A.Duration of synchronous cleavage cycles and rate of development temperatures in the Baltic herring [J].J Fish Biol,1996,48(4): 658-663.

- [28] GISBERT E, WILLIOT P. Duration of synchronous egg cleavage cycles at different temperatures in siberian sturgeon (*Acipenserbaerii*) [J]. *J Appl Ichthyol*, 2002, 18(4/6): 271-274.
- [29] PARK I S, JOHNSON S C. Determination of the temperature-dependent index of mitotic interval (τ_0) for chromosome manipulation in winter flounder *Pesudopleuronectes americanus* [J]. *Aquaculture*, 2002, 213(1/4): 95-100.
- [30] 蔡明夷, 刘贤德, 陈庆凯, 等. 温度对大黄鱼受精卵卵裂间隔时间的影响[J]. 集美大学学报(自然科学版), 2010(03): 161-164.
- [31] RUBINSTEIN I, ROTHBARD S, SHELTON W L. Relationships between embryological age, cytokinesis-1 and the timing of ploidy manipulations in fish [J]. *Isr J Aquacult* Bamidgheh, 1997(49): 99-110.
- [32] 吴清江, 叶玉珍, 陈荣德, 等. 雌核发育系红鲤 8305 的产生及其生物学特性[J]. 海洋与湖沼, 1991(04): 295-299, 396.
- [33] 吴清江, 陈荣德, 叶玉珍, 等. 鲤鱼人工雌核发育及其作为建立近交系新途径的研究[J]. 遗传学报, 1981(01): 50-55, 98.
- [34] 贾方钧, 王剑伟, 吴清江. 异源精子诱导稀有鮠鲫的人工雌核发育[J]. 水生生物学报, 2002(03): 246-252.
- [35] 罗琛, 刘筠. 人工诱导草鱼和鲫鱼雌核发育的研究[J]. 湖南师范大学自然科学学报, 1991(02): 154-159.
- [36] MIMS S D, SHELTON W L, LINHART O, et al. Application of a temperature-dependent mitotic interval (τ_0) for induction of diploid meiotic gynogenetic paddlefish [J]. *N Am J Aquac*, 2005, 67(4): 340-343.
- [37] IM J H, CHO H J, NAM YK, et al. Production of gynogenetic diploid in the far eastern catfish *Silurus asotus* [J]. *Korean J Genetics*, 2001, 23: 89-101.

Effects of temperature on the cleavage of embryo form loach (*Misgurnus anguillicaudatus*)

Liu Ziran¹, Pan Gan^{1,2}

(1. School of Life Sciences, South China Normal University, Guangzhou 510631, China;

2. Guangzhou Jinyang Aquaculture Co. Ltd, Guangzhou 511477, China)

Abstract: Loach (*Misgurnus anguillicaudatus*) is a very important cultured species. However, there is lack of information about the effects of temperature on its cleavage of fertilized eggs. In this report, through the observation of embryonic development of *M. anguillicaudatus*, we recorded cleavage time of oosperm at different water temperatures [(17±0.5) °C, (20±0.5) °C, (23±0.5) °C, (26±0.5) °C, (29±0.5) °C, (32±0.5) °C] to know about the influence of water temperature on mitotic interval T_0 . Result indicated that *M. anguillicaudatus* embryonic development consists of oosperm phase, cleavage phase, gastrula phase, phase of formation of neurulation, organogenesis phase and hatch phase. In a range of water temperature, the higher the temperature was, the shorter the first cleavage. About 3.5 min faster with every 1 °C increased. Via regression analysis, the relationship between first cleavage time (y) and water temperature (x) concluded to $y/\text{min} = -78.5 \ln(x/^\circ\text{C}) + 298.96$ ($R^2 = 0.99$). Further more, the higher the temperature was, the shorter the mitotic interval T_0 was. The relationship between mitotic interval T_0 (y) and water temperature (x) concluded to $y/\text{min} = 44.188 - 0.002(x/^\circ\text{C})^3 + 0.1428(x/^\circ\text{C})^2 - 3.5536(x/^\circ\text{C})$ ($R^2 = 0.9871$).

Keywords: *Misgurnus anguillicaudatus*; embryonic development; water temperature; mitotic interval T_0

[责任编辑 王凤产]