

温度和机械刺激对牛蛙胚胎发育的影响

王雪虹

(集美大学水产学院, 厦门 361021)

摘要 以温度和机械刺激因子对牛蛙胚胎发育影响进行了综合探讨,得出:不同温度对发育速度及孵化率的影响;突然升、降温对孵化率的影响;在不同发育时期机械震动刺激对孵化率的影响。

关键词 牛蛙, 胚胎发育, 温度, 机械刺激

中图分类号 S 996.3

近年来,国内牛蛙养殖业发展迅速,闽南地区也进行了大规模养殖。牛蛙在每年的3~4月间进行早期繁殖,当年可以养成商品规格,经济效益高。在早期繁殖期间,由于本地区常受寒流袭击,并伴随不同程度的降雨,极易导致胚胎及蝌蚪的大量死亡。6~7月间,天气转热,特别是每天的中午,水温会突然升高,使胚胎所处的环境恶化,降低孵化率。许多牛蛙养殖资料^[1,2]均提到刚刚产出蛙卵不宜进行移动,怕由此引起机械震动刺激,使牛蛙的卵子动、植物极翻转,将造成100%的死亡。针对这些问题,我们做了下列试验研究,为生产单位提供参考。

1 材料和方法

1.1 取样与分期

本试验所用的蛙卵来自集美牛蛙养殖场,以自然繁殖方式产出。按照1940年,SHUMWAY^[3]拟定的胚胎发育分期方法,将蛙卵划分为26个发育时期。在解剖镜、显微镜下,分别进行观察,若有30%的蛙卵显示某时期特征,则以此刻作为该期的开始,70%的蛙卵显示该期特征时作为结束。

1.2 试验方法

1.2.1 不同温度对胚胎发育速度及孵化率影响的试验

取4个18 cm口径的玻璃器皿,盛装2/3体积的水后分别置于装满水的塑料桶内,用电热棒、控温仪依次将水温控制在 22 ± 0.5 °C、 26 ± 0.5 °C、 30 ± 0.5 °C、 34 ± 0.5 °C。各取100只蛙卵入器皿中,将发育过程死亡的卵子及时挑除。

1.2.2 突然升温及逐渐升温对胚胎发育影响的试验

各取100只处在细胞分裂期的蛙卵放入两个18 cm口径的玻璃器皿中,水温22 °C,其中一个直接放入34 °C的水桶中,使温差 ΔT 达到12 °C,另一玻璃器皿在26 °C、34 °C的水中,各静置1小时后再放入34 °C的水桶中,使温差 ΔT 为4 °C。

1.2.3 突然降温及逐渐降温对胚胎发育影响的试验

将刚产出的卵子全部放入 30 ℃ 的水中, 待温度恒定后, 再各取 50 只卵分别放入两个玻璃器皿, 其中一个直接放入以冰块控温的 18 ℃ 容器内, 使温差 ΔT 达到 12 ℃, 并保持 3 小时以上, 另一个于 26 ℃、22 ℃ 下各静置 1 小时后再放入 18 ℃ 的容器中, 使温差 ΔT 为 4 ℃。

1.2.4 机械震动刺激对胚胎发育影响的试验

取发育至 2 细胞期、4 细胞期、8 细胞期和神经板期的蛙卵各 50 只放入培养器中, 剧烈晃动, 使其远远超出生产实际操作中所受的机械震动刺激的程度, 以引起卵子的动、植物极发生多次翻转, 然后于水温 22 ℃ 下静置、观察。

以上各试验均平行, 重复二次, 取平均值, 对孵化率进行方差分析。

2 结果与讨论

2.1 不同温度对胚胎发育速度及孵化率的影响

表 1 不同温度下牛蛙胚胎的发育时程

发育时期	分期的时数				本时期的发育时间			
	A22 ℃	B26 ℃	C30 ℃	D34 ℃	A22 ℃	B26 ℃	C30 ℃	D34 ℃
未受精卵	-	-	-	-	2.50	2.00	1.20	1.20
受精卵	2.50	2.00	1.20	1.20	0.50	0.30	0.20	0.20
2 细胞期	3.40	2.30	1.40	1.40	1.00	0.20	0.20	0.20
4 细胞期	4.40	2.50	2.00	1.00	0.20	0.20	0.20	0.20
8 细胞期	5.40	3.10	2.20	2.20	1.10	0.40	0.30	0.30
16 细胞期	6.50	3.50	2.50	2.50	0.50	0.20	0.10	0.10
32 细胞期	7.40	4.10	3.00	3.00	2.40	2.00	1.30	0.50
64 细胞期	10.20	6.10	4.30	3.30	18.30	12.00	8.50	7.20
囊胚期	28.50	18.10	13.20	11.10	8.20	5.30	5.00	4.40
原肠早期	37.10	23.40	18.20	15.50	3.20	1.50	0.50	0.40
原肠中期	40.30	25.30	19.10	16.30	5.40	4.50	3.10	2.50
原肠晚期	46.10	30.20	22.20	19.20	8.50	6.50	5.40	3.50
神经板期	46.10	30.20	22.20	19.20	8.50	6.50	5.40	3.50
神经褶期	69.50	39.20	29.20	24.10	3.20	2.20	1.20	1.00
纤毛运动期	73.10	40.50	29.40	24.20	3.30	2.20	1.20	0.40
神经管期	76.40	43.10	31.00	25.00	7.30	4.30	3.30	1.50
吸盘出现期	84.10	47.40	34.30	26.50	3.10	2.30	2.10	1.30
尾芽期	87.20	50.10	36.40	28.20	11.50	9.10	7.20	5.10
肌肉效应期	99.10	59.20	44.00	33.30	11.50	9.10	7.20	5.10
孵化期	110.40	66.40	50.30	41.00	9.50	9.40	7.20	6.40
心跳期	120.30	76.20	57.50	47.40	8.50	6.20	5.40	5.10
鳃血循环期	129.20	82.40	63.30	52.50	5.30	4.30	3.30	1.20
开口期	134.50	87.10	67.0	54.10	33.50	29.20	27.20	25.30
尾血循环期	168.40	116.30	94.20	79.40	26.40	21.40	18.50	17.40
鳃盖褶期	195.20	138.10	113.10	97.20	11.10	7.50	7.00	5.10
右鳃盖闭合	206.30	146.00	120.10	102.30	27.20	15.30	9.40	8.40
鳃盖完成期	233.50	161.30	129.50	111.10	-	-	-	-
孵化率	63 %	55 %	54 %	29 %	-	-	-	-

不同温度下牛蛙的胚胎发育速度差异明显, (见表 1) 在以上 4 种温度条件下, 受精卵至鳃盖完成期所需时间分别是 233 小时 50 分、161 小时 30 分、129 小时 50 分和 111 小时 10 分。这种结果与刘楚并^[4](1987 年)在 20 ℃、25 ℃ 和 30 ℃ 的条件下, 牛蛙胚胎发育时

间分别为 278 小时 50 分、188 小时 45 分和 134 小时 28 分基本吻合。由表可见, 温度 22 ℃ 至 26 ℃, 胚胎发育速率随着温度升高迅速地加快, 当达到一定温度后, 从 26 ℃ 至 30 ℃ 和 34 ℃ 至 34 ℃, 发育速率随温度上升只是稍有加快。这种情况下沈期璋等^[5](1984 年) 比较研究了日本林蛙、豹蛙、黑斑蛙及池蛙等胚胎发育与温度的关系, 也得到相似的结果。

由表 1 可见不同温度下的孵化率分别为 63 %、55 %、54 % 和 29 %。因此 22 ℃、26 ℃、30 ℃ 组间孵率无显著差异, 然而 34 ℃ 与其它组的孵化率差异显著。在实际生产中, 牛蛙的最适孵化温度在 26 ~ 30 ℃ 左右, 孵时间短、孵化率高。最高温度不能超过 34 ℃, 遮荫工作很重要。

2.2 突然升温及逐渐升温对胚胎发育的影响

突然升温 and 逐渐升温在囊胚期之前两组蛙卵均能正常发育, 当胚体沿前后轴伸长后, 突然升温的一组发生大量死亡, 逐渐升温的一组死亡率则较低(见表 2), $p < 0.05$ 两组之间差异显著。造成死亡的原因有两方面, 对于蛙卵动物极来说, 由于温度的骤然升高, 使得内、中、外各胚层的发育速度不一, 造成神经系统功能紊乱而引起死亡。对植物极来说, 温度骤然升高后, 卵黄增加过快, 使得整个胚体对卵黄的吸收超过了肠管负荷, 导致胚体死亡。

2.3 突然降温及逐渐降温对胚胎发育的影响

突然降温和逐渐降温的两组蛙卵均能正常孵化, 在胚胎发育时期温度的突然降低及逐渐降低对孵化率的影响($p > 0.05$) 无显著差异(见表 3)。可见降温并不是造成胚胎死亡的主要原因。在实际生产过程中, 因为寒流的到来时常伴有一定程度的降雨, 雨水的酸碱度是否成为致死亡原因, 有待探讨。

2.4 机械震动刺激对牛蛙胚胎发育的影响

机械震动的刺激对牛蛙胚胎发育的影响, 除少量发生破膜死亡外, 大部分受到强烈震动刺激的蛙卵均正常孵化为蝌蚪, 其活动能力与其它未受刺激的蝌蚪相比并无明显差别(见表 4)。由此可见机械震动刺激对孵化率没有显著影响, 更不会导致 100 % 的死亡率。

蛙卵的动、植物极分布并不均匀, 即使人为地造成暂时的动植物极翻转, 但依靠其自身的调节功能完全可以恢复到正常情况, 而不致影响发育。

表 2 突然及逐渐升温对孵化率的影响

发育时期	存活数	
	温差 12 ℃	温差 4 ℃
细胞分裂期	100	100
囊胚期	97	100
原肠期	35	84
神经期	35	80
孵化率	(12 ± 4.5) %	(69 ± 5.6) %

表 3 突然及逐渐降温对胚胎发育影响

发育时期	存活数	
	温差 12 ℃	温差 4 ℃
细胞分裂期	50	50
囊胚期	50	46
原肠期	39	46
神经板期	39	46
孵化率	(74 ± 2.1) %	(81 ± 1.6) %

表 4 在不同发育时期进行机械震动刺激对蛙卵孵化率的影响

受到刺激时的发育时期	2 细胞期	8 细胞期	32 细胞期	囊胚期	神经板期	未受刺激卵子
孵化率	(62 ± 3.4) %	(72 ± 1.6) %	(66 ± 2.1) %	(64 ± 4.2) %	(63 ± 2.4) %	(68 ± 3.4) %

3 小结

(1) 牛蛙胚胎发育的速度随温度升高而加快, 最适温度 26 ℃ ~ 30 ℃, 孵化时间短、

孵化率高, 最高温小于 34 °C。在孵化过程中, 应重视遮荫。

(2) 突然升温会使牛蛙卵子在囊胚阶段大量死亡。

(3) 突然降温对蛙卵的胚胎发育影响不大。

(4) 对发育中前期的蛙卵进行机械震动刺激对孵化率无明显影响。

参考文献

- 1 汉寿县特种水产研究所. 牛蛙的人工繁殖和养殖技术. 中国水产, 1986, (11): 21
- 2 陈信初. 牛蛙的养殖技术. 湖南水产, 1988, (3): 43 ~ 45
- 3 Shumway. W. *Stages in the normal development of Rana pipens*. Anat. Rec, 1940, (78): 496 ~ 498
- 4 刘楚吾, 陈信初. 环境因素对牛蛙胚胎发育的影响. 湖南师大自然科学学报, 1987, 10(2): 61 ~ 64
- 5 沈期璋, 薛晓龙. 中国林蛙卵的发育速度及其对温度的耐力. 两栖爬行动物学报, 1984, 3(3): 61 ~ 64

Effect of Temperature and Mechanical Stimuli on *Rana Catesbeiana* Embryo

Wang Xuehong

(Fisheries Coll., Jimei Univ., Xiamen 361021)

Abstract discusses the effect of temperature and mechanical stimuli on *Rana catesbeiana* embryo. Conclusions are drawn from the tests in the following aspects: Effect of different temperature on *Rana catesbeiana* embryo and hatching rate. Effect of sharp changing temperature on hatching rate. Effect of mechanical stimuli on hatching rate.

Key words *Rana catesbeiana*, temperature of embryo, mechanical stimuli