

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2013.00001

中华鲟全人工繁殖技术研究

危起伟^{1,5,6}, 李罗新^{1,5}, 杜浩^{1,5,6}, 张晓雁², 熊伟¹, 张辉^{1,5}, 沈丽^{1,5}, 吴金明¹,
张书环¹, 王成友^{1,5}, 李创举^{1,5}, 柴毅³, 李奕慰⁴, 乔新美¹, 刘志刚¹,
高宇鹏¹, 甘芳¹

1. 农业部淡水生物多样性保护重点实验室, 中国水产科学研究院 长江水产研究所, 湖北 武汉 430223;
2. 北京海洋馆, 北京 100081;
3. 长江大学 动物科学学院, 湖北 荆州 434023;
4. 厦门松浩实业有限公司, 福建 厦门 361100;
5. 中国水产科学研究院 淡水渔业研究中心, 江苏 无锡 214081;
6. 华中农业大学 水产学院, 湖北 武汉 430070

摘要: 中华鲟(*Acipenser sinensis*) 在人工驯养条件下性腺发育并最终成熟是突破中华鲟全人工繁殖技术的关键环节, 有效的养殖模式对促进中华鲟性腺发育成熟、提前成熟以及实现雌雄同步成熟具有非常重要的作用。本研究在不同养殖模式(水温 and 营养调控)下对中华鲟性腺发育状况进行长期观测。结果显示, 中华鲟在仿自然变温或恒温的养殖环境中, 性腺均可发育至 III 期。采用配合饲料、饲料中添加鲜活鱼或冰鲜鱼以及仅用鲜活鱼或冰鲜鱼饲喂, 均能够使部分中华鲟性腺发育启动, 但添加鲜活鱼或冰鲜鱼组性腺发育启动的比例较高, 其中, 有 3 尾中华鲟性腺达 IV 期。成功对性腺发育至 IV 期的 1 尾雌鲟(12 龄, 体质量 57 kg)和 1 尾雄鲟(14 龄, 体质量 64 kg)实施了人工催产和授精, 采获卵 6.25 万粒, 精液 2 850 mL, 受精率为 60.1%(36.3%~80.4%)。在(19.3±0.2) °C 下经过约 125 h, 仔鱼大量孵出, 获初孵仔鱼 2.3 万余尾。此次中华鲟全人工繁殖技术研究的有效尝试可为今后养殖中华鲟的规模化繁育提供借鉴。

关键词: 中华鲟; 水温; 饵料; 生态调控; 人工繁殖; 性腺; 发育

中图分类号: S931

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2013)01-0001-11

中华鲟(*Acipenser sinensis*) 为大型溯河产卵洄游性鱼类, 属中国国家一级重点保护动物。由于涉水工程建设、捕捞、污染及航运等人类活动的干扰, 其赖以生存的栖息生境退化或功能丧失, 导致其自然种群的严重衰退^[1-2]。目前中华鲟自然产卵场仅发现有葛洲坝下一处, 且适宜其繁殖和栖息的有效面积非常有限^[3], 自然繁殖效果和物种自我维持的境况不佳, 自然种群有灭绝的危险。建立中华鲟人工养殖群体, 实现全人工繁殖是保存中华鲟物种、实施迁地保护和自然资源增

殖不可或缺的途径。

中国早在 1976 年就通过在江边栓养的方式实现了野生中华鲟人工繁殖的成功^[4], 葛洲坝截流后, 1983 年又实现了坝下中华鲟人工繁殖^[5]。之后国家采取捕捞野生亲鲟实施人工繁殖及增殖放流的方式, 开展了中华鲟的资源养护工作。20 世纪 90 年代初仅进行了人工种群的零星蓄养, 直到 1997 年中华鲟苗种规模化培育技术取得突破以后, 人工种群蓄养才形成一定的规模。由于中华鲟寿命长, 性成熟晚, 体型大, 且具有在海水中生长、

收稿日期: 2012-11-18; 修订日期: 2012-12-10.

基金项目: 农业部公益性行业科技专项(201203086); 国家自然科学基金项目(31172413); 中央院所基本科研业务费项目(2008jbf01); 农业财政项目(1251216200501).

作者简介: 危起伟, 研究员, 博士, 主要从事濒危水生动物保护研究工作. E-mail: weiqw@yfi.ac.cn

淡水中繁殖的生活习性,人工养殖中华鲟达到性成熟所需的时间、人力、物力投入巨大,导致中华鲟全人工繁殖进展缓慢。其中,养殖中华鲟性腺发育往往仅停留在 II 期,很难向 III 或 IV 期过渡。对于雌性而言,初级卵母细胞难以进入大生长期,养殖中华鲟的性成熟问题成为其全人工繁殖的主要障碍^[6]。这也是欧洲鲟(*A. sturio*)^[7]、高首鲟(*A. transmontanus*)^[8]和湖鲟(*A. fulvescens*)^[9]等养殖鲟类繁殖过程中遇到的普遍问题。养殖环境不利于刺激内分泌系统发挥功能,从而不能促进性腺启动发育或发育成熟^[10]。因此,探索适合的养殖模式以促进养殖中华鲟的性腺发育成熟或提前成熟,以及实现雌雄同步成熟是突破中华鲟全人工繁殖技术的关键。郭柏福等^[11]初步报道了中华鲟全人工繁殖的结果,但未涉及中华鲟性腺发育过程及养殖模式的详细报道,且所获仔鱼成活率较低,产后亲鲟死亡。因此,中华鲟全人工繁殖技术尚需要进一步研究。

本研究通过对不同养殖模式下中华鲟性腺发育状况的连续监测,观测到 2 尾雌鲟和 5 尾雄鲟性腺由 II 期发育至 III 期或 IV 期,并成功对 2 尾性腺发育至 IV 期的中华鲟实施产前生态调控,实现了雌雄成熟同步,取得全人工繁殖成功。本文对人工驯养中华鲟养殖模式、性腺发育进程及全人工繁殖技术进行系统总结,以期今后养殖中华鲟的规模化繁育提供借鉴。

1 材料与方法

1.1 实验养殖池及实验鱼

实验鱼饲养在 4 个养殖基地,即荆州中华鲟

保育和增殖放流中心(以下简称“荆州基地”,养殖池规格:直径 16 m、水深 2.5 m 的圆形流水水泥池 4 口),福建厦门中华鲟繁育保护基地(以下简称“厦门基地”,养殖池规格:底面积 600 m² 矩形、水深 1.5 m 流水水泥池 4 口),湖北宜昌秭归三峡库区网箱(以下简称“三峡网箱”,规格为 10 m×10 m×8 m 的网箱 4 口)和北京海洋馆(养殖池规格长 29.0 m、宽 11.0 m、水深 4.4 m,全循环水恒温系统)^[12]。

实验用鱼共 250 尾,来自中国水产科学研究院长江水产研究所通过野生中华鲟人工繁殖的后代(子一代),繁殖分别于 1997、1998、1999 和 2000 年秋季进行,至 2012 年,年龄为 12~15 龄。2012 年期间对这 250 尾实验鱼的测量数据见表 1,即平均体长 212 cm(范围 175~286 cm),平均体质量 58.8 kg(范围 34.6~125.3 kg)。其中,厦门基地和荆州基地养殖中华鲟子一代群体是自仔鱼阶段开始饲养,北京海洋馆和三峡网箱的中华鲟是在荆州基地养殖至 6~8 龄后转入。实验鱼采用 PIT 进行标记识别,部分采用锚标标志识别。

1.2 不同养殖模式下性腺发育监测

根据中华鲟饲养场所的设施条件,在不同养殖基地开展了不同养殖模式下中华鲟性腺发育对比观测试验,其中养殖模式主要设置水温节律调控及营养调控。水温节律控制试验主要是根据养殖场所的水源、控温设施及控温能力设置。共设置 4 种养殖水温节律:荆州基地采用地下水和湖水混合方式进行适度控温养殖,7 月份水温最高,月均温度(28±1.5)°C;1 月份最低,为(7±2.0)°C(图 1)。厦门基地采用水库水养殖,8 月份水温最高,

表 1 实验用养殖中华鲟的生物学特征

Tab. 1 Biological characteristics of cultured *Acipenser sinensis* in the study

养殖场所 farm	数量 number	平均全长(范围)/cm average total length (range)	平均体长(范围)/cm average body length (range)	平均体质量(范围)/kg average body weight (range)
荆州基地 Jingzhou Farm	44	212 (182-249)	174 (145-215)	55.1(34.6-93.2)
三峡网箱 Three Gorges Reservoir	16	196 (175-213)	163 (145-173)	43.9(34.8-60.5)
北京海洋馆 Beijing Aquarium	10	230 (199-286)	196 (171-240)	78.7(42.4-125.3)
厦门基地 Xiamen Farm	180	211 (182-230)	174 (145-195)	57.4 (40.8-73.6)

月均水温为(27±3.0)°C; 1 月份最低, 为(14±2.0)°C。三峡网箱水温同三峡库区水温, 月均最高水温在 8 月份, 为(24±0.5)°C; 月均最低在 2 月份, 为(10.5±0.5)°C。北京海洋馆采用循环水控温养殖, 水温恒定在(21.0±0.5)°C。另外, 三峡网箱水体交换与水库水位及水库内的流速有关。其他各养殖基地水体交换量约 24 h 交换 1 次。各养殖基地实验池中由进排水系统形成的微流水养殖, 流速介于 0~0.5 m/s。

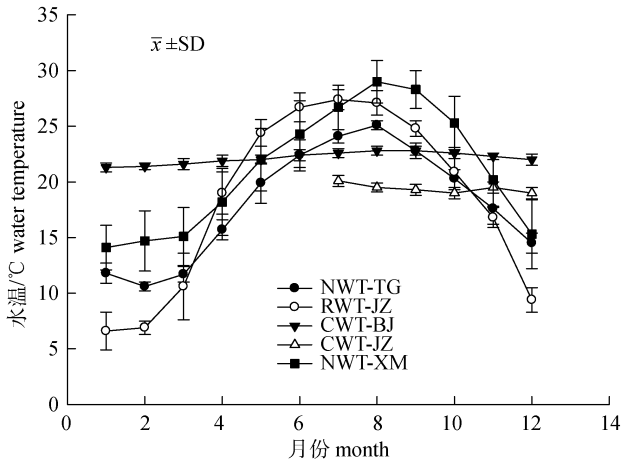


图 1 各养殖基地水温周年变化节律图

NWT-XM: 天然水温(厦门基地); NWT-TG: 天然水温(三峡网箱); CWT-BJ: 恒温(21±0.5)°C(北京海洋馆); RWT-JZ: 调控水温(荆州基地); CWT-JZ: 恒温(荆州基地).

Fig. 1 Water temperature profile at different sturgeon farms
NWT-XM: Natural water temperature (Xiamen Farm); NWT-TG: Natural water temperature (Three Gorges Reservoir); CWT-BJ: Constant water temperature (21±0.5)°C (Beijing Aquarium); RWT-JZ: Regulated water temperature (Jingzhou Farm); CWT-JZ: Constant water temperature (Jingzhou Farm).

各养殖基地饵料来源及投喂方式: (1)荆州基地中华鲟 10 龄前采用人工配合饲料投喂, 日投喂体质量的 0.5%~0.7%; 人工配合饲料各成分如下: 粗蛋白质 43%, 粗脂肪 3%, 粗纤维 2%, 粗灰分 18%, 钙 5%, 磷 3%, 赖氨酸 2%, NaCl 3%, H₂O 10%; 10 龄后采用冰鲜海鱼[蓝点马鲛(*Scomberomorus niphonius*)与多春鱼(*Mallotus villosus*)], 日投喂 0.5%~1.0%。(2)厦门基地采用两种饵料喂养方式, 一种仅采用人工配合饲料投喂, 配方同前, 90 尾; 另一种在 2009 年以前采用人工配合饲料投喂, 配方同前, 日投喂量 0.4%~0.7%, 2009 年以后采用冰鲜海鱼多春鱼, 日投喂量 0.5%~0.7%, 90

尾。(3)三峡网箱采用两种养殖模式, 一种仅投喂人工配合饲料, 配方同前, 日投喂量 0.8%~1%, 共 10 尾; 另一种除投喂人工配合饲料外, 还投喂鲜活饵料银鱼(*Hemisalanx brachyrostralis*)、鲫 (*Carrasius auratus*), 虾(*Macrobrachium nipponense*)及野杂鱼等, 人工饲料日投喂量 0.4%~0.8%; 鲜活饵料投喂量 0.1%~0.5%, 共 6 尾;(4)北京海洋馆采用鲜活鲫、乌贼(*Sepia officinalis*)、海蟹(*Portunus trituberculatus*)、大陇六线鱼(*Hexagrammos otakii*)及南美白对虾(*Penaeus vannamei*)和冰鲜蓝点马鲛与多春鱼, 日投喂量 0.4%~0.6%。

采用外科手术、腹腔穿刺获取中华鲟性腺^[13], 参考陈细华^[6]的方法对雌雄鱼性腺发育进行鉴别和分期。同时还采用 B 超、内窥镜、血液生化及激素指标测量等方法进行了辅助判别^[14]。

1.3 产前中华鲟雌雄同步发育监控实验

产前中华鲟雌雄同步发育调控实验在长江水产研究所荆州基地完成。该基地建有大型中华鲟养殖生态调控系统(32 m×12 m×3.8 m 循环水池 2 口), 采用 YSI6820 水质监测仪 24 h 连续监测水温、pH、溶氧和氨氮等水质指标。雌雄同步发育监控方法: 将性腺发育至 IV 期的雌鱼(♀2-IV)与雄鱼(♂3-IV)分别于 2012 年 7 月和 9 月转入生态调控池, 水温控制在 19.0~19.5°C, 溶氧 6.0~8.4 mg/L, 流速 0.2~0.5 m/s。对雌雄鱼的性腺发育程度进行连续监测, 主要采用外科手术、腹腔穿刺获取性腺, 计算核偏位值(Polarisation Index, PI)确定卵的成熟度^[15]。另外采用 B 超、内窥镜、血液生化及激素指标测量等方法进行了辅助判别。

1.4 中华鲟全人工繁殖及苗种培育

以 LHRH-A₂ 为催产剂, 雄鲟采用 1 针注射, 注射剂量 4 μg/kg(体质量); 雌鲟采用 2 针注射进行催产^[16], 注射剂量 10 μg/kg(体质量), 14 h 后注射第 2 针, 注射剂量为第 1 针剂量的 10%。效应期后, 精卵均采用腹部节律按摩法行活体采集。精液分批次采集后充氧并于 2~4°C 储存, 定期检测精液质量, 统计精子剧烈运动时间、快速运动时间和 30%死亡时间。卵子分批次采集后静置约 2 h 进行人工授精, 采用黄泥浆脱粘, 后置于孵化

框中孵化, 孵化水温控制在 19.0~19.6℃。原肠中期(约 24 h)后统计受精率, 对胚胎发育进行观察, 仔鱼孵出后转入玻璃钢桶(直径 1 m, 高 60 cm)中培育, 8~11 日龄逐渐投喂切碎的水蚯蚓进行开口驯化实验。

1.5 数据统计分析

依据 PIT 标记或锚标标记编号详细跟踪记录性腺发育启动(性腺发育由 II 期向 III 或 IV 过渡)的中华鲟养殖背景, 包括养殖场地、喂养饲料种类、性腺发育状况、监测指标等, 以进行分析对比。

参考刘鉴毅等^[17]对中华鲟精液和卵子质量进行测量。采用体积法估算产卵量。胚胎发育至原肠中期后分批次统计受精率, 每批次抽取 200 颗以上胚胎, 正常发育胚胎占抽样胚胎比例计为受精率。孵化期内在解剖镜下观察中华鲟子二代的胚胎发育全过程, 发育前期每 0.5 h 观察 1 次, 到达囊胚期后 1.5~3 h 观察 1 次。为了达到较好的观察和拍摄效果, 需要剥离卵膜, 现场在解剖镜下拍摄图片。Excel 和 SigmaPlot 12.0 软件统计分析和作图。

2 结果与分析

2.1 不同养殖模式下中华鲟性腺发育情况

自 2010 年至今, 在 250 尾 12~15 龄中华鲟中

共监测到性腺发育至 III 期及以上的雄鱼 5 尾, 雌鱼 2 尾, 其余性腺发育均处于 II 期。7 尾性腺发育启动中华鲟的体质量范围是 52~111.2 kg, 全长范围 185~247 cm, 体长范围 152~200 cm(表 2)。从这 7 尾性腺发育启动的中华鲟中进行饵料来源分析, 不同的饵料组性腺发育情况有明显不同(表 2~4)。仅采用全人工配合饲料饲喂的中华鲟, 只有 1 尾雄鱼(厦门基地)达到 III 成熟, 其他 2 尾性腺发育至 III 和 3 尾性腺发育至 IV 的鱼后期都投喂了鲜活鱼和冰鲜鱼(表 3)。而且, 后期全部投喂鲜活饵料(北京海洋馆)的中华鲟性腺发育启动的比例明显高于同时投喂人工饲料和鲜活鱼的组(荆州基地和三峡网箱)(表 3~4), 这表明后期采用鲜活鱼和冰鲜鱼投喂的方式确实促进了中华鲟性腺发育的启动。

性腺发育进入 III 期的鲟摄食状况未有明显改变, 而进入 IV 期后的 3 尾鱼中, 有 2 尾雄鱼摄食量明显减少, 1 尾雌鱼停止摄食(表 3)。

这 7 尾性腺从 III 期发育到 IV 期的中华鲟有 2 尾来自北京海洋馆, 饲养环境水温保持在(21±0.5)℃。5 尾处于季节性变动水温中, 其中有 1 尾雌鱼(♀2-IV)来自于三峡网箱, 养殖期间水温变幅在 10~24℃; 有 2 尾来自厦门基地, 水温变幅 14~28℃; 有 2 尾来自荆州基地, 水温变幅 6~26℃(图 1, 表 3)。

表 2 性腺发育至 III 和 IV 期的中华鲟生物学指标

Tab. 2 Biological characteristics of cultured *Acipenser sinensis* with gonad maturity at stage III or IV

编号 fish ID	全长/cm total length	体长/cm body length	体质量/kg body weight	性腺发育期 gonad maturity stage	监测年龄 age at monitoring /Year-old	监测月份 monitoring month	养殖地点 farm
♂1-III	195	165	55.8	III	12	2012.04	厦门基地 Xiamen Farm
♂2-III	187	152	52.0	III	12	2012.03	北京海洋馆 Beijing Aquarium
♂3-IV*	215	181	64.0	IV	14	2012.03	北京海洋馆 Beijing Aquarium
♂4-IV*	185	159	52.0	IV	11	2012.08	荆州基地 Jingzhou Farm
♂5-IV	192	168	50.7	IV	10	2010.08	厦门基地 Xiamen Farm
♀1-III	247	200	111.2	III	14	2012.08	荆州基地
♀2-IV*	215	180	57.0	IV	12	2012.08	三峡网箱 Three Gorges Reservoir

注: “*”表示该鱼参与了全人工繁殖。

Note: “*”the sturgeon being used to the controlled reproduction.

表 3 中华鲟不同性腺发育阶段的食物和养殖水温
Tab. 3 Diets and water temperature during the gonad development of cultured *Acipenser sinensis*

编号 fish ID	性腺发育期 gonad maturity stage				摄食状况 ingestion
	II	II-III	III	IV	
♂1-III	FF / NWT-XM	FF / NWT-XM	FF / NWT-XM	-/-	摄食正常 normally feed
♂2-III	FF / RWT-JZ	LF+IF / CWT-BJ	IF / CWT-BJ	-/-	摄食正常 normally feed
♂3-IV	FF / RWT-JZ	LF+IF / CWT-BJ	IF / CWT-BJ	IF / CWT-BJ	摄食明显减少 obviously reduce food intake
♂4-IV	FF / RWT-JZ	IF / RWT-JZ	IF / RWT-JZ	IF / CWT-JZ	摄食明显减少 obviously reduce food intake
♂5-IV	FF / NWT-XM	FF / NWT-XM	FF / NWT-XM	FF / NWT-XM	未观察 not observed
♀1-III	FF / RWT-JZ	IF / RWT-JZ	IF / RWT-JZ	-/-	摄食正常 normally feed
♀2-IV	FF / RWT-JZ	LF+FF / NWT-TG	IF / RWT-JZ	-/ CWT-JZ	不摄食 take no food

注: FF 表示配合饲料(含 60%鱼粉, 23%预糊化淀粉); LF 表示鲜活鱼; IF 表示冰鲜鱼; NWT-XM 表示天然水温(厦门基地); NWT-TG 表示天然水温(三峡网箱); CWT-BJ 表示恒温(21±0.5)°C(北京海洋馆); RWT-JZ 表示调控水温(荆州基地); CWT-JZ 表示恒温(荆州基地).
Note: FF represents formula feed with 60% fishmeal and 23% pregelatinized starch; LF represents live fish; IF represents iced fish; NWT-XM represents natural water temperature (Xiamen Farm); NWT-TG represents natural water temperature (Three Gorges Reservoir); CWT-BJ represents constant water temperature(21±0.5)°C (Beijing Aquarium); RWT-JZ represents regulated water temperature (Jingzhou Farm); CWT-JZ represents constant water temperature (Jingzhou Farm).

表 4 不同饵料喂养下的性腺发育至 III 或 IV 期的中华鲟比例
Tab. 4 Percentage of *Acipenser sinensis* with gonad developing to III or IV maturity stage fed with different types of diets

养殖基地 farm	实验个体数量/ ind number of treated sturgeons	饲料 diet	性腺发育至 III 或 IV 期中华 鲟尾数/ind. number of stur- geons with III or IV gonad	比例/% percentage
荆州基地 Jingzhou Farm	44	FF+IF	2	4.5
三峡网箱 Three Gorges Reservoir	6	FF+LF	1	16.6
	10	FF	0	0
厦门基地 Xiamen Farm	90	FF+LF	1	1.1
	90	FF	1	1.1
北京海洋馆 Beijing Aquarium	10	LF+IF	2	20

注: FF 表示配合饲料(含 60%鱼粉, 23%预糊化淀粉); LF 表示鲜活鱼; IF 表示冰鲜鱼.
Note: FF represents formula feed with 60% fishmeal and 23% pregelatinized starch; LF represents live fish; IF represents iced fish.

2.2 中华鲟雌雄同步发育监测结果

催产前 4 个月, 雌鲟(♀2-IV)被转入生态调控池中, 通过穿刺采卵后计算核偏位值, 在入池的 4 个月中核偏位值由 0.20 逐渐下降至 0.05, 达到可催产的极化程度 0.05(图 2)。雄鱼在北京海洋馆 7 月份检查时性腺乳白色, 质地较密, 判定精巢发育至 IV 初(IV-a)。于产前 1 个月(9 月 26 日)由北京海洋馆转运至荆州基地生态调控池中, 至 10 月产前检查时, 轻压腹部有大量精液溢出, 判断精巢发育至 IV 末期(IV-c)(图 2)。

2.3 中华鲟全人工繁殖效果

在性腺发育监测和室内生态调控基础上, 2012 年 10 月 28—30 日成功使 1 尾雌鲟(12 龄)和 1 尾雄鱼(14 龄)达到同步成熟, 并实施人工催产

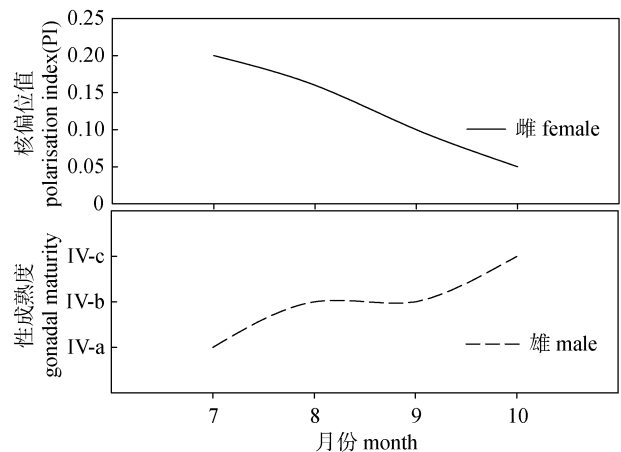


图 2 参与全人工繁殖的雌、雄中华鲟在产卵前的成熟度变化情况

Fig. 2 Gonad maturity staging of a male and female *Acipenser sinensis* used in the controlled reproduction

授精。雌鲟在 LHRH-A₂ 注射后的 15 h 开始排卵, 采用腹部节律按摩法一次性收集卵子。雌鲟产前期体质量 57 kg, 产卵 1 d 后体质量下降至 51 kg, 产空率约 95%。产卵量 62 500 粒, 平均卵径 3.71 mm(范围 3.30~4.44 mm), 平均单卵质量 0.033 g, 估算产卵总质量 2.06 kg, 约占体质量的 3.6%。雄鱼在 LHRH-A₂ 注射 12 h 后分 5 批次采集精液, 合计采精量 2 850 mL。雄鲟产前期体质量 64 kg, 产后期体质量 58 kg, 下降约 6 kg。所采集的精子剧烈运动时间平均达 36 s, 寿命超过 4 min(表 5)。雌雄

亲鱼健康存活, 产后第 10 天开始摄食。

2012 年 10 月 30 日选择精子活力最好批次的精液(保存时间 30~36 h)进行人工授精, 受精率统计结果显示, 不同批次采集的卵子受精率不同, 最先采集的卵子受精率达 80.4%, 部分批次采集卵子的受精率仅有 36.3%, 平均受精率为 60.1%。受精后 2.5 h 发育至 4 细胞期, 11 h 到达囊胚期, 18 h 到达原肠中期, 46 h 神经管闭合, 64 h 长管心脏期, 80 h 尾部达心脏, 125 h 左右大量出苗(表 6 和图 3)。获初孵仔鱼约 2.3 万尾, 初孵仔鱼全长 9.6~

表 5 中华鲟人工催产及繁殖效果

Tab. 4 Results of controlled reproduction of cultured *Acipenser sinensis*

项目 item	平均值 mean	范围 range
卵径/mm egg diameter	3.71	3.30~4.44
卵粒质量/g egg weight	0.033	0.039~0.0341
产卵量/ind egg quantity	62500	-
精子剧烈运动时间/s swirling movement time of sperm	36	20~55
精子快速运动时间/s fast movement time of sperm	78	50~89
精子寿命/min sperm life	183	165~260
采精量/mL milt volume	2850	-
催产水温/ inducing water temperature	19.3	19.0~19.5
效应时间(雌)/h effective time for female	15	-
效应时间(雄) /h effective time for male	12	-
受精率/% fertilized rate	60.1	36.3~80.4
孵化率/% hatching rate	36.8	-
出苗量/ $\times 10^4$ ind quantity of hatching-out larvae	2.3	-
开口摄食仔鱼量/ $\times 10^4$ ind quantity of initial-feeding larvae	1.8	-

表 6 中华鲟子代胚胎发育典型特征

Tab. 5 Typical characteristics of embryonic development in the offsprings of cultured *Acipenser sinensis*

胚胎发育时期 embryonic development stage	主要特征 typical characteristic	受精后时间/h hours after fertilization
未受精卵 unfertilized egg	球形、黑色、不透明, 卵膜紧贴于卵的表面	-
刚受精的卵 fertilized eggs	动物极中央出现由暗色素素环包围的明亮极性斑	0
4 细胞期 4-cell stage	第二次分裂, 为经裂, 与第一次分裂相垂直, 将动物极分为 4 个几乎相同的分裂球	2.5
多细胞期 morula stage	细胞变多、变小, 形成多细胞胚体, 植物极被完全分裂	8
囊胚中期 midblastula stage	动物极细胞变多变小, 且分裂不同步, 细胞间有明显间隙	11
原肠早期 early gastrula stage	赤道附近有一深色的色素带出现	18
大卵黄栓期 big yolk plug stage	大卵黄栓的形成	28
隙状胚孔期 lyriform blastopore formation	卵黄栓消失, 胚孔两侧唇靠近, 呈隙状	37
宽神经板期 wide neural plate formation	神经板明显增厚, 且分为内外两部分, 未来中脑处的神经板最厚	40
神经管闭合期 neural tube closing stage	神经褶闭合成神经管, 排泄系统原基显著加长	46
眼囊形成期 eye sac formation	眼原基形成, 在中脑两侧可见上突呈弧型的第一对咽弧的原基	48
长管心脏期 long tubular heart formation	心脏呈长管状, 视泡明显	64
尾达心脏期 the tail touches the heart	头抬起, 尾的末端到达心脏, 并可做大幅度左右摇摆	80
尾达头部期 the tail touches the head	尾的末端接触头部, 尾部鳍褶变宽	90
出膜期 hatching stage	尾的末端略过头部, 卵黄囊上血管明显, 仔鱼大量出膜	125

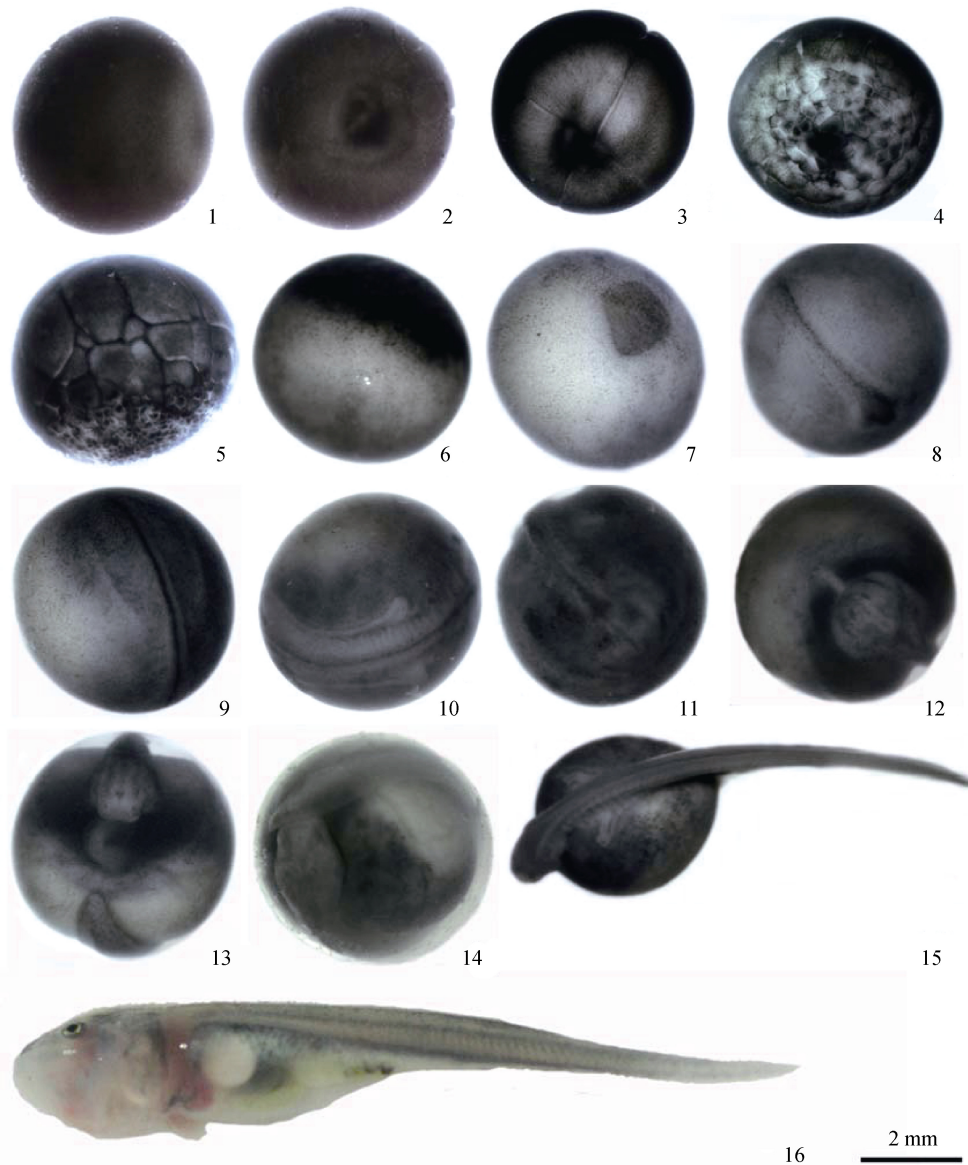


图 3 中华鲟子二代胚胎发育时期

1. 未受精卵; 2. 刚受精的卵; 3. 4 细胞期; 4. 多细胞期; 5. 囊胚中期; 6. 原肠早期; 7. 大卵黄栓期; 8. 隙状胚孔期; 9. 宽神经板期; 10. 神经管闭合期; 11. 眼囊形成期; 12. 长管心脏期; 13. 尾达心脏期; 14. 尾达头部期; 15. 出膜期; 16. 初次摄食仔鱼.

Fig. 3 Embryonic development stages of the F₂-generation of *Acipenser sinensis*

1. unfertilized egg; 2. fertilized eggs; 3. 4-cell stage; 4. morula stage; 5. midblastula stage; 6. early gastrula stage; 7. big yolk plug stage; 8. lyriform blastopore formation; 9. wide neural plate formation; 10. neural tube closing stage; 11. eye sac formation; 12. long tubular heart formation; 13. the tail touches the heart; 14. the tail touches the head; 15. hatching stage; 16. the initial feeding larva.

10.2 mm。11 月 8—14 日, 约有 1.8 万尾仔鱼顺利开口摄食。

3 讨论

3.1 中华鲟性腺发育成熟适宜养殖条件和营养需求
鱼类在长期进化过程中形成的对生态环境因子的选择和适应是种群延续的基础。在鱼类繁殖

阶段, 生态环境因子在诱导和启动鱼类内分泌系统, 进而通过下丘脑-垂体-性腺作用轴促进性腺发育、成熟、排卵过程中发挥着重要的功能^[10]。常规的养殖环境由于空间的局限性和环境条件的单一性往往不利于启动与性腺发育相关的生殖内分泌调节途径^[18], 因而, 对繁殖相关的生态环境需求研究不仅在自然资源保护中发挥着重要作用, 而

且也是实现养殖群体成功繁殖的有效途径。基于对自然繁殖生态需求的研究,短吻鲟(*A. brevirostrum*)^[19]、中吻鲟(*A. medirostris*)^[20]等已实现了人工模拟环境下的自然产卵,对于珍稀濒危物种的保护有重要意义。

现有研究表明,水温、光周期及食物等是鲟鱼类性腺发育及成熟的主要影响因素^[10],也是后备亲鲟养殖管理的重要内容。本研究发现养殖中华鲟在仿自然变温或恒温环境中性腺均可以启动发育或发育至成熟,表明在适合中华鲟生长的水温范围内,水温高低及其变化与否可能并不是中华鲟性腺发育启动的决定性因素。但在不同的水温节律下,中华鲟的生长状况不同,也可能最终导致性腺发育速度及成熟度存在差异。进入 III 期后,亲鲟需要特殊的水温变化以改善最终成熟度及性腺质量,这对于实施繁殖和鱼子酱生产都至关重要^[20]。

Doroshov 等^[21]研究表明,高首鲟性成熟为体质量依赖型,其他鲟类也有类似的情况。目前,发现人工养殖中华鲟子一代性成熟雌性个体比自然种群明显偏小,约为长江野生雌性最小成熟个体体质量的 40%~50%,这不利于中华鲟的保护及规模化繁育。其原因可能与养殖空间尺度有关:养殖空间不足,包括养殖池塘过浅,转弯半径过小,影响其正常行动,导致生长迟缓和鱼体多擦伤,鱼体长期处于空间胁迫状态,因“长不大”而影响其性成熟。中华鲟雌性平均或最小性成熟个体在 27 种鲟鱼类中为最大^[22-23],国内高龄中华鲟子一代养殖池水体普遍偏小,这可能是导致人工养殖中华鲟性成熟晚的原因之一,值得深入研究。

在食物供给方面,本实验采用投喂配合饲料和添加鲜活鱼或冰鲜鱼的方式均能够使部分中华鲟性腺发育达到最终成熟,而添加鲜活鱼或冰鲜鱼的养殖组性腺发育启动的比例明显要高于仅投喂配合饲料组。研究表明,鲜活或冰鲜鱼类或虾类体中的营养物质在体内具有更高的吸收转化效率,因此,它们更有利于卵黄的积累,从而有利于性腺发育,同时也会改善性产物的质量,最终对繁殖有利^[24]。一些小型海水鱼类的繁殖试验表

明,投喂鱼肉确实能够提高性腺发育成熟度、提高卵质及子代养殖成活率^[24]。结合本实验结果,中华鲟养殖群体在后备亲鲟培育过程中适时添加鲜活或冰鲜饵料是促进其性腺成熟或提前成熟的有效途径。

除水温和营养外,养殖环境中的水质、光照、流速以及养殖密度等都可能对鲟的生长和最终成熟产生影响,开展相关研究对于完善中华鲟亲鲟培育途径及最终实现规模化养殖中华鲟的繁育至关重要。

3.2 养殖中华鲟繁殖生物学特性

在多种鲟类养殖过程中发现,适宜的养殖环境条件,充足的营养供应等往往使得养殖鲟达到性成熟的时间较自然繁殖群体明显提前^[21, 25]。中华鲟性成熟时间长,自然种群雄性 8 年以上性成熟(平均初次性成熟 12.5 龄),雌性 14 年以上(平均初次性成熟 16.8 龄)^[17, 26]。与郭柏福等^[11]的研究结果不同,本研究参与全人工繁殖的中华鲟雌鲟为 2000 年出生世代,繁殖时仅有 12 龄,低于中华鲟自然繁殖群体的平均年龄和记录到的最小年龄(14 龄)。本次参与全人工繁殖的雄鲟达 14 龄,但早在 2010 年在厦门基地监测到 1 尾 10 龄雄鲟的性腺发育达到 IV 期,轻挤压腹部有精液溢出,已经成熟,也明显低于自然种群平均初次性成熟年龄。本研究结果表明,养殖中华鲟性腺可提前成熟,意味着中华鲟养殖成熟年限可以缩短,相应的人力、物力投出成本将大大减少,这对于中华鲟人工群体的建立及维持、以及迁地保护有重要意义。

与本次全人工繁殖中华鲟雌鲟性成熟年龄小相一致的是,雌鲟体质量较轻,仅有 57 kg,怀卵量也相对较小,仅有 6.2 万粒左右,明显低于野生鱼的产卵量^[17]。而且,本次全人工繁殖采获卵的平均卵径只有 3.7 mm,明显小于自然繁殖群体的平均卵径以及郭柏福等^[11]的研究结果,与施氏鲟初次全人工繁殖结果^[25]相一致。

参与全人工繁殖的雄鲟体质量 64 kg,精液未采集完全,其采精量达 2 850 mL,已和野生成熟个体接近,估计全产采精量可达 4 000 mL,表明

人工养殖雄鲟的繁殖能力要明显高于野生雄鲟个体^[17]。近年来, 已观测到由于污染的加重, 中华鲟野生繁殖亲鲟体内的环境污染物(如有机锡、麝香类环境雌激素等)含量明显升高^[27], 对中华鲟繁殖群体的性腺发育产生明显影响, 进而影响中华鲟自然繁殖效果。就这些环境污染物而言, 人工养殖雄鲟所处的环境可能优于野生亲鲟生存环境, 这可能是导致养殖雄鲟产精量和精液活力明显高于野生雄鱼的原因。

3.3 中华鲟全人工繁殖技术研究探讨

中华鲟寿命长, 性成熟年龄大, 开展其全人工繁殖研究所耗费的时间和周期漫长。在长达十多年的人工梯队饲养管理中, 饲料供应、水温、水质、养殖空间等某一环节的改变都可能导致不同的养殖效果, 同时由于养殖群体资源的有限性, 中华鲟全人工繁殖技术研究也很难实现像其他小型鱼类的多次重复对比, 这也是中华鲟全人工繁殖研究进展缓慢的原因。

采用低温刺激被认为是调控鲟鱼类性腺发育成熟的重要措施^[10, 25, 28], 本研究通过对产前中华鲟亲鲟的生态环境调控和对中华鲟性腺发育状况进行连续监控, 实现了中华鲟雌雄鱼的同步发育成熟, 使得雌雄鲟顺利产卵, 而且产后能顺利康复成活, 这一成功经验可为以后开展相关研究提供重要借鉴, 也为开展养殖中华鲟亲鲟资源的重复利用提供支撑。

本研究过程中所采用的 B 超、内窥镜、血液生化指标、外科手术及腹腔穿刺等中华鲟性腺发育监测技术手段为这次全人工繁殖的成功提供了重要的参考, 在今后的研究中仍需要进一步熟化和整合。

养殖中华鲟性成熟或提前成熟是中华鲟全人工繁殖的关键, 本研究所采用的多样化养殖模式尝试对未来实现中华鲟规模化全人工繁殖有重要借鉴意义。外源激素诱导等其他有效促进中华鲟性腺发育的方法值得尝试。随着中华鲟全人工繁殖技术的完善, 通过中华鲟人工养殖种群实现中华鲟的资源储备、增殖和资源养护将成为可能。

致谢: 农业部渔业局、财务司、水生野生动植物保护办公室、长江渔业资源管理委员会、湖北省水产局、中国水产科学研究院等部门和单位的领导和专家长期对本研究给予支持和帮助; 长江水产研究所的领导、同事, 特别是濒危鱼类保护研究组杨德国、陈细华、刘鉴毅(调入东海水产研究所)、朱永久、王凯、王科兵、谭从刚以及未署名的同事、已毕业和在读研究生, 荆州太湖试验场的全体工作人员参与了本研究工作; 合作单位北京海洋馆和厦门基地等许多未提名的人员在中华鲟全人工繁殖技术研究中做出了贡献, 在此一并致以诚挚的谢意! 特别感谢长期关心支持本工作的老师和同行。感谢两位匿名审稿人对论文提出的宝贵意见和建议!

参考文献:

- [1] Wang J H, Wei Q W, Zou Y C. Conservation strategies for the Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*: an overview on 30 years of practices and future needs[J]. J Appl Ichthyol, 2011, 27(2): 176-180.
- [2] Qiao Y, Tang X, Brosse S, et al. Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*) in the Yangtze River: a hydroacoustic assessment of fish location and abundance on the last spawning ground[J]. J Appl Ichthyol, 2006, 22: 140-144.
- [3] Wang C Kynard B, Wei Q, et al. Spatial distribution and habitat suitability indices for non-spawning and spawning-adult Chinese sturgeons below Gezhouba Dam, Yangtze River: Effects of river alterations[J]. J Appl Ichthyol, in press.
- [4] 长江水产资源调查组. 长江鲟鱼类生物学及人工繁殖技术研究[M]. 成都: 四川省科技出版社, 1988: 284.
- [5] 傅朝君, 刘宪亭, 鲁大椿, 等. 葛洲坝下中华鲟的人工繁殖[J]. 淡水渔业, 1985(1): 1-5.
- [6] 陈细华. 中华鲟胚胎发育和性腺早期发育的研究[D]. 广州: 中山大学, 2004: 100.
- [7] Williot P, Rouault T, Pelard M, et al. Artificial reproduction and larval rearing of captive endangered Atlantic sturgeon *Acipenser sturio*[J]. Endang Species Res, 2009, 6: 251-257.
- [8] Doroshov S I, Clark Jr W H, Lutes P B, et al. Artificial propagation of the white sturgeon, *Acipenser transmontanus* Richardson[J]. Aquaculture, 1983, 32(1-2): 93-104.
- [9] Anderson E R. Artificial propagation of lake sturgeon *Acipenser fulvescens* (Rafinesque) under hatchery conditions in Michigan[J]. Fish Res Rep, 1898, 1984: 43.
- [10] Webb M A, Doroshov S I. Importance of environmental

- endocrinology in fisheries management and aquaculture of sturgeons[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2011, 170(2): 313–321.
- [11] 郭柏福, 常剑波, 肖慧, 等. 中华鲟初次全人工繁殖的特性研究[J]. *水生生物学报*, 2011, 35(6): 940–945.
- [12] 杨德国, 朱永久, 危起伟, 等. 淡水人工培育中华鲟亚成体的海水驯化试验[J]. *海洋水产研究*, 2007, 28(3): 120–124.
- [13] 陈细华, 危起伟, 朱永久, 等. 低龄中华鲟外科手术性别鉴定技术[J]. *中国水产科学*, 2004, 11(4): 371–374.
- [14] Wei Q W, Zhang X Y, Zhang X F, et al. Acclimating and maintaining Chinese sturgeon *Acipenser sinensis* in a large public aquarium environment[J]. *J Appl Ichthyol*, 2011, 27(2): 533–540.
- [15] Williot P, Brun R, Rouault T, et al. Artificial spawning in cultured sterlet sturgeon, *Acipenser ruthenus* L., with special emphasis on hermaphrodites[J]. *Aquaculture*, 2005, 246(1-4): 263–273.
- [16] 刘鉴毅, 危起伟, 杜浩, 等. 中华鲟人工繁殖关键技术的改进效果研究[J]. *经济动物学报*, 2006, 10(2): 96–100.
- [17] 刘鉴毅, 危起伟, 陈细华, 等. 葛洲坝下中华鲟繁殖生物学特性及其人工繁殖效果[J]. *应用生态学报*, 2007, 18(6): 1397–1402.
- [18] Nazari R M, Modanloo M, Ghomi M R, et al. Application of synthetic hormone LHRH-A(2) on the artificial propagation of Persian sturgeon *Acipenser persicus*[J]. *Aquacult Int*, 2010, 18(5): 837–841.
- [19] Kynard B, Pugh D, Parker T, et al. Using a seminatural stream to produce young sturgeons for conservation stocking: maintaining natural selection during spawning and rearing[J]. *J Appl Ichthyol*, 2011, 27: 420–424.
- [20] Van Eenennaam J P, Linares-Casenave J, Doroshov S I. Tank spawning of first generation domestic green sturgeon[J]. *J Appl Ichthyol*, 2012, 28: 505–511.
- [21] Doroshov S I, Moberg G P, van Eenennaam J P. Observations on the reproductive cycle of cultured white sturgeon, *Acipenser transmontanus*[J]. *Environ Biol Fish*, 1997, 48: 265–278.
- [22] Wei Q, Ke F, Zhang J, et al. Biology, fisheries, and conservation of sturgeons and paddlefish in china[J]. *Environ Biol Fish*, 1997, 48: 241–255.
- [23] Holcik J. *Freshwater fishes of Europe (Vol I part II)*[M]. Wiesbaden: Aula Verlag, 1989: 1–469.
- [24] Moorhead J A, Zeng C. Development of captive breeding techniques for marine ornamental fish: A review[J]. *Rev Fish Sci*, 2010, 18(4): 315–343.
- [25] 曲秋芝, 孙大江, 马国军, 等. 施氏鲟全人工繁殖研究初报[J]. *中国水产科学*, 2002, 9(3): 277–279.
- [26] 危起伟, 陈细华, 杨德国, 等. 葛洲坝截流 24 年来中华鲟产卵群体结构的变化[J]. *中国水产科学*, 2005, 12(4): 452–457.
- [27] Hu J, Zhang Z, Wei Q, et al. Malformations of the endangered Chinese sturgeon, *Acipenser sinensis*, and its causal agent[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 9339–9344.

Research on technology for controlled propagation of cultured Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*)

WEI Qiwei^{1,5,6}, LI Luoxin^{1,5}, DU Hao^{1,5,6}, ZHANG Xiaoyan², XIONG Wei¹, ZHANG Hui^{1,5}, SHEN Li^{1,5}, WU Jinming¹, ZHANG Shuhuan¹, WANG Chengyou^{1,5}, LI Chuangju^{1,5}, CHAI Yi³, LI Yiwei⁴, QIAO Xinmei¹, LIU Zhigang¹, GAO Yupeng¹, GAN Fang¹

1. Key Laboratory of Freshwater Biodiversity Conservation, Ministry of Agriculture of China, Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223, China;
2. Beijing Aquarium, Beijing 100081, China;
3. School of Animal Science, Yangtze University, Jingzhou 434023, China;
4. Xiamen Songhao Industrial Co., LTD, Xiamen 361100, China;
5. Freshwater Fisheries Research Center, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuxi 214081, China;
6. Fisheries College, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China

Abstract: Sexual maturity is a critical step to breakthrough of controlled reproduction of cultured Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis*). The suitable breeding management strategy will be beneficial to promoting the maturation progress of cultured Chinese sturgeon and to synchronous spawning of female and male. In this study, we observed the gonadal development of 250 cultured Chinese sturgeon (ages: 12–15 years old, total length: 175–286 cm, body weight: 34.6–125.3 kg) under different water temperature profiles (natural water temperature or near-constant temperature) and different feeds (formula feed, live fish or iced fish+formula feed, live fish or iced fish). The result showed that gonadal development could reach stage III under natural water temperature or a near-constant temperature. The gonadal development could reach stage III or IV in Chinese sturgeons fed with different types of diets, however the feed added live or iced fish is better for development from stage II to IV than the feeds with only single source. Controlled propagation was then successfully conducted with one female (12 years old with 57 kg body weight) and one male (14 years old with 64 kg body weight). A total of 62 500 eggs and 2 850 mL milt were obtained and 23 000 hatching-out larvae were finally produced after 125 h under (19.3±0.2)°C. The average fertilized rate was 60.1% with the range from 36.3% to 80.4%. The elementary research on breeding regulations of brood stocks will contribute to further large-scale production of cultured Chinese sturgeon.

Key words: *Acipenser sinensis*; water temperature; feed; ecological regulation; controlled reproduction; gonad development

Corresponding author: WEI Qiwei. E-mail: weiqw@yfi.ac.cn