

紫外线照射对金鱼孵化率的影响

戴桂馥¹, 吴 健¹, 张凤秋², 石永辉³, 徐文举³

(1. 郑州大学生物工程系, 河南 郑州 450052; 2. 郑州大学 离子束生物工程省重点实验室, 河南 郑州 450052; 3. 郑州大学 物理工程学院, 河南 郑州 450052)

摘要:以黑龙睛金鱼(*Carassius auratus*)受精卵和处于4~8细胞期、多细胞期、原肠期、心脏搏动期的胚胎为对象, 研究不同剂量紫外线(UV)照射对金鱼胚胎发育的影响。发现用低剂量的UV照射可以提高金鱼受精卵或发育早期胚胎的孵化率。对发育到原肠期以后的胚胎UV照射无上述刺激作用, 而是随着照射剂量的升高, 孵化率急剧下降。另外, 实验结果显示, UV并未加速胚胎发育的进程。当UV照射时间小于180 s时, 受精卵或发育早期胚胎的畸形率没有明显增加。对出现上述结果的可能机理做了探讨并对UV用于育苗孵化和育种两方面的应用提出了建议。

关键词:紫外线; 金鱼; 受精卵; 胚胎发育

中图分类号: Q691 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-8737-(2005)05-0657-04

紫外线(UV)对生物进化、个体发育和生态系统有重要的影响。近年来随着臭氧层破坏的加剧, 使地球表面UV辐射强度明显增加。因而短波段紫外线(UV-B)对生物个体发育及生态系统的影响引起了人们极大的关注。在水生生物方面, Kieser 等^[1]、Tietge 等^[2]和 Blaustein 等^[3]的研究证明, 环境中的UV-B可以导致两栖类胚胎死亡率和畸形率增高。Hakkinen 等^[4]的研究认为, 不同种的北方无尾(两栖)类胚胎对UV辐射的敏感性不同。Amemiya 等^[5]研究结果表明, UV辐射可抑制海胆胚胎的原肠形成。Charon^[6]发现UV-B降低斑马鱼(*Brachydanio rerio*)的孵化率。而 Volz^[7]报道UV辐射显著增加 grass shrimp(*Palaemonetes pugio*)的产卵量。可见, 短波紫外线对水生生物的影响是复杂的。本研究利用杀菌紫外灯照射处于不同发育时期的金鱼胚胎, 发现用低剂量的UV照射发育到原肠期以前的胚胎可以提高金鱼的孵化率。而畸形率没有明显提高。这对于研究UV对鱼类胚胎发育和生态系统的影响, 以及渔业生产有重要的意义。

1 材料与方法

1.1 亲鱼

近2龄、性成熟的、体型良好的黑龙睛金鱼(*Carassius auratus*)选自郑州郊区某金鱼孵化场。

1.2 受精卵

在经高锰酸钾消毒的磁盘底铺上尼龙网, 通过湿法授精

将受精卵均匀散布于网上^[8]。

1.3 UV辐射处理

照射实验5组, 分别于受精后约40 min、1.5 h、3 h、12 h和28 h进行。接受照射时胚胎发育分别处于受精卵、4~8细胞期、多细胞期、原肠期和心脏搏动期。每组实验所用受精卵或胚胎来自于同一对亲鱼, 包括一个对照组(照射时间为0 s)和7~8个处理组。受精卵组的对照和每个处理的样本数量为200~300枚, 其余各组300~400枚。对照组和处理组的受精卵都连同尼龙网平铺于直径为18 cm的培养皿底部, 受精卵朝上, 每皿加水3 mL。每组实验的照射时间为: 0(CK)、15 s、30 s、60 s、90 s、180 s、300 s、600 s和1200 s, 紫外灯功率为20 W, 照射距离为30 cm。

1.4 孵化

照射后加水避光孵化5 h, 然后于(20±2)℃正常光照下孵化。

1.5 计算方法

实验中各参数按下式计算:

$$R_H = A/B \cdot 100\%$$

$$R_D = C/A \cdot 100\%$$

$$R_{75} = R_{125h}/R_H \cdot 100\%$$

式中, R_H 为孵化率, R_D 为畸形率, R_{75} 为75 h相对孵化率, R_{125h} 为75 h孵化率, A 为仔鱼数, B 为对照或处理受精卵或胚胎数, C 为畸形鱼数。

收稿日期: 2004-11-08; 修订日期: 2005-02-01。

基金项目: 河南省重大科技攻关项目(9810500240)。

作者简介: 戴桂馥(1963-), 女, 博士生, 研究方向为生物技术。

2 结果与分析

2.1 低剂量 UV 照射发育到多细胞期以前胚胎对金鱼孵化率的影响

图1显示UV照射金鱼受精卵、4~8细胞期和多细胞期的胚胎产生的剂量与孵化率的关系。从孵化率的变化趋势看,处于上述3个发育时期的胚胎经UV处理后,均在较低剂量处(15 s或30 s)出现孵化率高峰。孵化率分别比对照组提高26.9%、5.7%和14.7%。并且,对照组孵化率越低,低剂量UV照射对其孵化率提高的幅度越大。

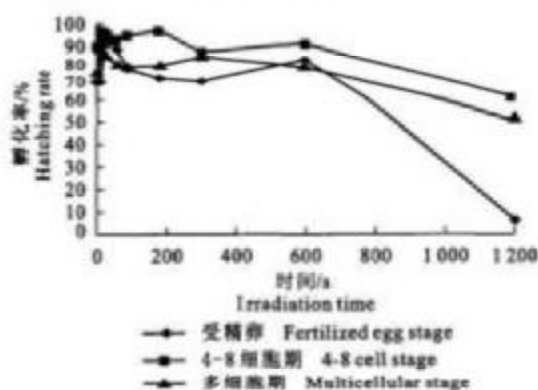


图1 UV照射金鱼受精卵、4~8细胞期和多细胞期胚胎对金鱼孵化率的影响

注:紫外灯功率20 W,照射距离30 cm

Fig.1 Effects of UV irradiation on hatching rate of *C. auratus* eggs and embryos at 4-8 cell stage and multicellular stage

Note: 20 W of UV light, 30 cm of irradiation distance

当照射剂量小于600 s或在600~900 s间的某个剂量点时,无论受精卵,还是上述两个时期的幼胚为被照射材料,孵化率基本上都比相应的对照组高。显然,低剂量的UV处理受精卵或发育早期的金鱼胚胎均可提高其孵化率。

此外,图1的3条曲线变化规律显示,在孵化率显著降低以前(受精卵组和4~8细胞期组:600 s;多细胞组:300 s)均出现一个孵化率回调的现象。

2.2 照射剂量对金鱼发育后期胚胎的影响

图2关于UV处理原肠期和心脏搏动期的胚胎对孵化率影响的结果显示,当胚胎发育进入原肠期和心脏搏动期后再接受UV照射,即使是很低的剂量,也会导致孵化率的降低,而不表现出孵化率提高的刺激效应。并且随着UV照射剂量的升高,孵化率急剧下降,说明处于原肠期和心脏搏动期的胚胎对UV照射的耐受性不如早期胚胎好。而且,胚胎发育较晚一些的心脏搏动期比早期一些的原肠期对UV更敏感。这与图1结果不同。

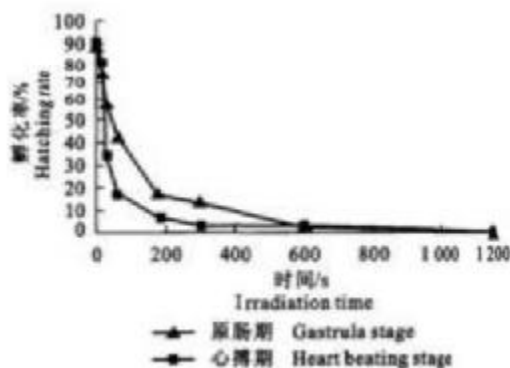


图2 UV照射金鱼原肠期和心脏搏动期胚胎对孵化率的影响

注:紫外灯功率20 W,照射距离30 cm

Fig.2 Effects of UV irradiation on hatching rate of *C. auratus* embryos at gastrula stage and heart beating stage

Note: 20 W of UV light, 30 cm of irradiation distance

2.3 UV处理对金鱼受精卵孵化时间的影响

表1显示照射时间为15~60 s能不同程度地增加受精卵的孵化率,但是,依据75 h统计结果,UV照射并没有提高金鱼胚胎的孵化速度。相反,除了照射时间60 s处理的结果比对照组略高外,其余在75 h的孵化率均低于对照组。这一孵化的延迟可能反映了UV引起作用的过程,这一过程可能是一种UV诱发的DNA修复过程。

表1 UV照射金鱼受精卵对孵化速度的影响

Tab.1 Effects of UV irradiation on hatching speed of fertilized eggs of *C. auratus*

项目 Item	照射时间/s Irradiation time								
	0(CK)	15	30	60	90	180	300	600	1200
孵化率/% Hatching rate	69.8	69.6	96.7	89.0	77.5	72.6	70.0	82.3	6.8
75 h 相对孵化率/% 75 h Relative hatching rate	23.2	12.9	6.0	25.7	8.0	18.9	8.5	0.5	20.1

2.4 UV 对金鱼早期胚胎的致畸作用

图3至图5分别表示UV处理受精卵和处于4~8细胞期及多细胞期胚胎产生的致畸率与孵化率的比较曲线。结果表明,低于180 s的照射剂量对处于上述3个发育时期的胚胎均不会引起畸形率的显著提高,当照射时间大于5 min所达的UV剂量时,畸形率开始上升,并且随着剂量的升高,特别当照射时间大于600 s时,畸形率显著提高。对于上述3个不同的发育时期,从致畸影响的角度看,对UV最敏感的是受精卵。

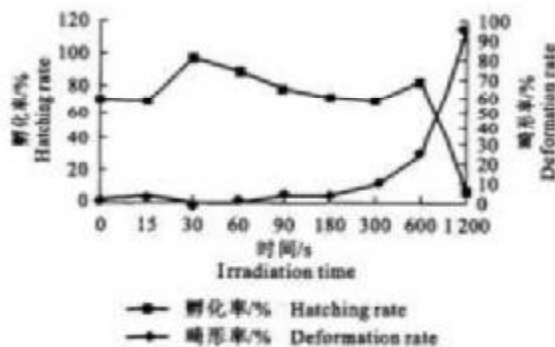


图3 UV照射金鱼受精卵产生的致畸效应

注:紫外灯功率20 W,照射距离30 cm

Fig.3 Deformation effect of fertilized eggs by UV irradiation

Note: 20 W of UV light, 30 cm of irradiation distance

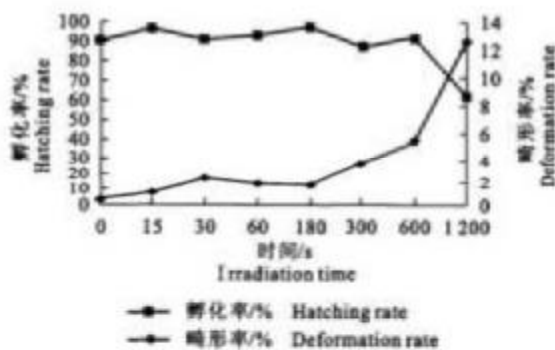


图4 UV照射金鱼4~8细胞期胚胎产生的致畸效应

注:紫外灯功率20 W,照射距离30 cm

Fig.4 Deformation effect of embryos at 4~8 cell stage by UV irradiation

Note: 20 W of UV light, 30 cm of irradiation distance

3 讨论

3.1 低剂量的UV显著提高发育早期胚胎的孵化率

从受精卵到多细胞期的金鱼胚胎以小于600 s UV的剂

量照射时,孵化率和对照组的结果相当或比对照组高。特别当以15 s或30 s所达剂量照射时,能显著提高孵化率。同时综合低剂量的UV不能加速孵化的结果,说明低剂量的UV能启动某种应激修复系统,使原本不能发育或停滞于某一发育时期的部分胚胎顺利完成胚胎发育。关于低剂量电离辐射在细胞水平或个体水平引起刺激作用已经有很多报道^[9-12]。非电离辐射的UV也可以刺激蓝藻细胞的生长^[13]。低剂量的UV-C还能减轻红薯和水果采收后的腐烂^[14-15]。

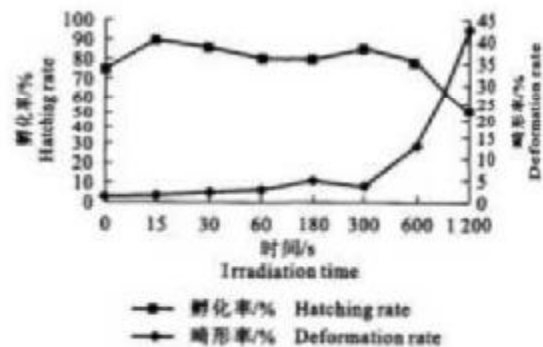


图5 UV照射金鱼多细胞期胚胎产生的致畸效应

注:紫外灯功率20 W,照射距离30 cm

Fig.5 Deformation effect of embryos at multi-cellular stage by UV irradiation

Note: 20 W of UV light, 30 cm of irradiation distance

3.2 UV仅对发育早期的胚胎存在刺激作用

当胚胎发育处于多细胞期以前,低剂量UV能提高孵化率,即存在刺激效应。当处于原肠期时,在本研究的实验剂量范围内,显示单方向致死损伤效应。说明处于原肠期和心脏搏动期的胚胎对UV辐射非常敏感。此结果与Amemiya等^[12]在海胆上所得的结果一致。

3.3 UV照射发育早期胚胎也存在致畸效应

当照射大于300 s所达UV时,即使是发育早期的胚胎畸形率也开始上升,特别当大于600 s所达UV剂量时,虽然孵化率出现第二个高峰,但是畸形率显著提高。说明此时修复系统的作用已经不能完全修复UV造成的损伤。

综上所述,低剂量UV照射对金鱼的胚胎发育产生刺激效应的原因可能是由于在其进化过程中鱼类形成了紫外线应激防护系统。

另外,如果将UV辐射用于渔业生产,则可以提高鱼苗的孵化率。为避免畸形鱼的产生,应选择小于180 s UV照射所达的剂量,最好小于30 s,而且接受UV照射的胚胎应处于多细胞期以前。如果UV用于选育新品种,应当适当提高辐射时间到300~600 s,并且用发育早期的胚胎为材料。这样既可以利用修复机制增大获得变异的可能性,同时又不会产生大量畸形胚胎。

参考文献:

- [1] Kiesecker J M, Blaustein A R, Belden L K. Complex causes of amphibian population declines[J]. *Nature*, 2001, 410(6829): 639-640.
- [2] Tietze J E, Diamond S A, Ankley G T, et al. Ambient solar UV radiation causes mortality in larvae of three species of *Rana* under controlled exposure conditions[J]. *Photochem Photobiol*, 2001, 74(2): 261-268.
- [3] Blaustein A R, Belden L K. Amphibian defenses against ultraviolet-B radiation[J]. *Evol Dev*, 2003, 5(1): 89-97.
- [4] Hakkinen J, Pasanen S, Kukkonen J V. The effects of solar UV-B radiation on embryonic mortality and development in three boreal anurans (*Rana temporaria*, *Rana arvalis* and *Bufo bufo*)[J]. *Chemosphere*, 2001, 44(3): 441-446.
- [5] Aramitsu S, Yonemura S, Kinoshita S. Biphasic stage sensitivity to UV suppression of gastrulation in sea urchin embryos[J]. *Cell Differ*, 1986, 18(1): 45-49.
- [6] Charron R A, Fenwick J C, Lean D R, et al. Ultraviolet-B radiation effects on antioxidant status and survival in the zebrafish, *Brachydanio rerio* [J]. *Photochem Photobiol*, 2000, 72(3): 327-333.
- [7] Vola D C, Wirth E F, Fulton M H et al. Endocrine-mediated effects of UV-A irradiation on grass shrimp (*Palaemonetes pugio*) reproduction[J]. *Com Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2002, 133(3): 419-434.
- [8] 王楚松. 金鱼的养殖技术—金鱼的繁殖方法[J]. *水产养殖*, 1995(2): 19-21.
- [9] Olivieri G, Bodyncote J, Wolf S. Adaptive response of human lymphocytes to low concentration of radioactive thymidine[J]. *Science*, 1984(23): 594-595.
- [10] Liu S Z, Cai L, Sun S Q. Induction of a cytogenetic adaptive response by exposure of rabbits to very low dose rate radiation [J]. *Int J Radiat Bio*, 1992(62): 187-190.
- [11] Calabrese E J, Baldwin L A. Radiation hormesis: its historical foundations as a biological hypothesis[J]. *Hum Exp Toxicol*, 2000, 19(1): 32-40.
- [12] Calabrese E J, Baldwin L A. The scientific foundations of hormesis[J]. *Crit Rev Toxicol*, 2001, 31(4,5): 351-694.
- [13] 徐达, 唐学玺, 张培玉. UV-B辐射对2种海洋微藻的生理效应[J]. *青岛海洋大学学报*, 2003, 33(2): 240-244.
- [14] Stevens C, Wilson C L, Lu J Y, et al. Plant hormesis induced by ultraviolet light-C for controlling postharvest diseases of tree fruits[J]. *Crop Protection*, 1996, 15(2): 129-134.
- [15] Stevens C, Khan V A, Lu J Y et al. Induced resistance of sweet potato to Fusarium root rot by UV-C hormesis[J]. *Crop Protect*, 1999, 18(7): 463-470.

Effects of UV on hatching rate of goldfish

DAI Gui-fu¹, WU Jian¹, ZHANG Feng-qiu², SHI Yong-hui³, XU Wen-ju³

(1. Department of Biotechnology, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; 2. Key Laboratory of Ion Beam Biotechnology, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China; 3. College of Physics, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China)

Abstract: Goldfish fertilized eggs and embryos at 4-8 cell stage, multicellular stage, gastrula stage and heart beating stage, respectively, were treated by a 30 W of UV light at 30 cm distance. Irradiation doses were changed according to treatment time from 15 s to 1 200 s. The result proved that the hatching rate of fertilized eggs or embryos at early stages irradiated by low dose of UV was increased. Whereas this stimulation effect was not found in the embryos at gastrula stage and heart beating stage in which the hatching rate sharply decreased along with the increasing of UV doses. It was also showed that UV radiation did not shorten the hatching period and the abnormal embryo rate did not increase when the radiation time was less than 3 min. The probable mechanism and suggestion about the potential applying of UV in fish production and breeding were also discussed.

Key words: UV; goldfish; fertilized egg; embryonic development