

国家水生生物种质资源库 (NABRC) 讲座三 斑马鱼的养殖与繁育

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

李玲璐

国家水生生物种质库/国家斑马鱼资源中心

lilinglu@ihb.ac.cn



斑马鱼的养殖与繁育

- 养殖环境

国家水生生物种质资源库 (NABRC)

- 自然繁育

- 幼苗及幼鱼的养殖

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

- 成鱼的养殖

- 体外受精技术

www.zfish.cn

- 活饵的培养



斑马鱼的养殖与繁育

- 养殖环境

国家水生生物种质资源库 (NABRC)

- 自然繁育

- 幼苗及幼鱼的养殖

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

- 成鱼的养殖

- 体外受精技术

www.zfish.cn

- 活饵的培养



• 温度(Temperature)

耐受范围：6—38 °C

水温适宜范围：24—30 °C

鱼房室温范围：25—27°C

观察胚胎发育经典温度：**28.5 °C**

• pH

耐受范围：6.0—9.5

养殖范围：7.0—8.0



• 盐度(Salinity)

一般范围：0.25—0.50‰

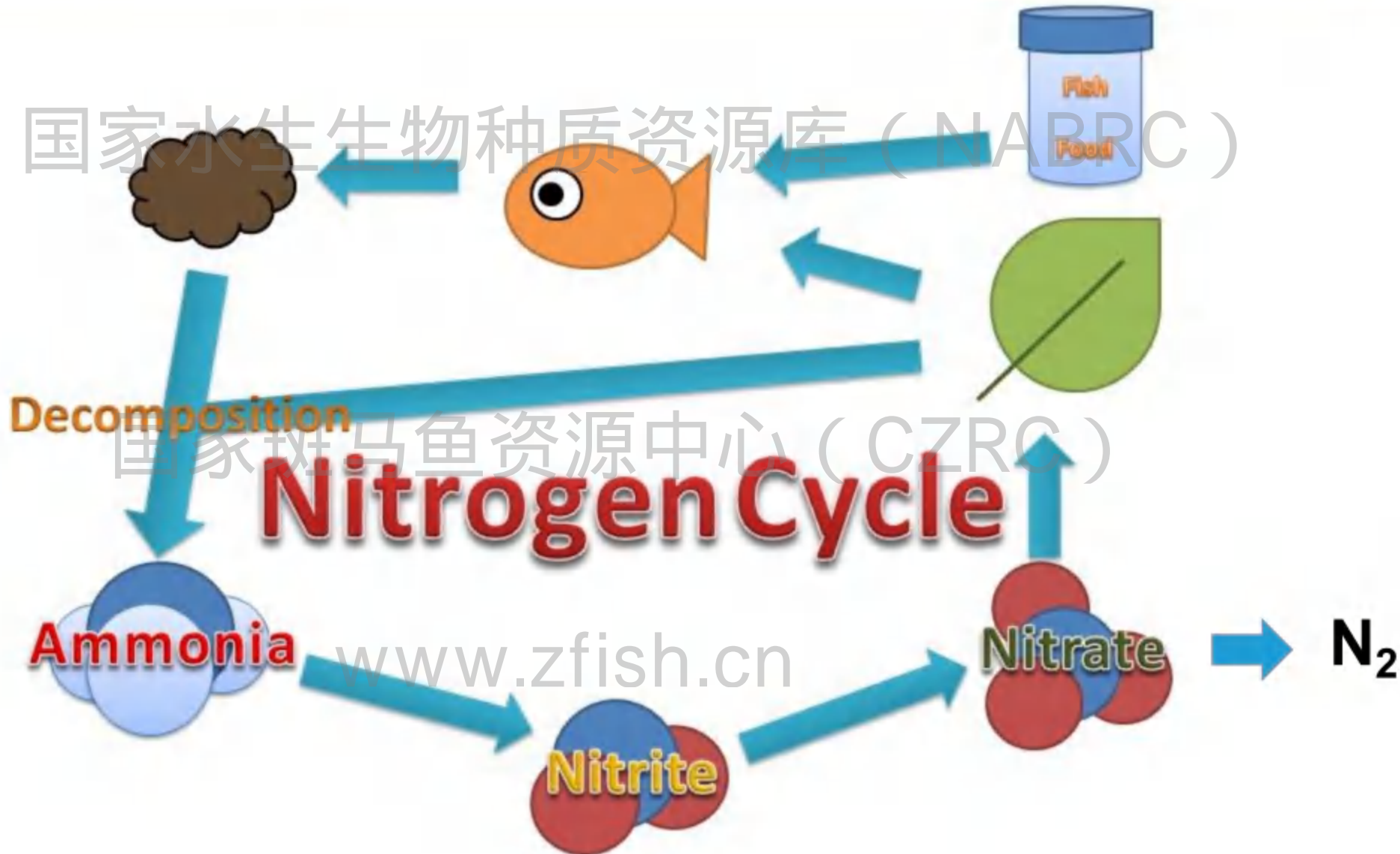
• 电导率(Conductivity)

养殖范围：200—1700 $\mu\text{S}/\text{cm}$

最适范围：500—800 $\mu\text{S}/\text{cm}$ 左右



水体中的氮循环



- **亚硝酸盐(Nitrite, NO_2^-): $< 0.2 \text{ mg/L}$ (NABRC)**
- **硝酸态盐(Nitrate, NO_3^-): $< 5 \text{ mg/L}$**
- **总氨氮 ($\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$)**
Un-ionized ammonia (NH_3) $< 0.02 \text{ mg/L}$

www.zfish.cn



养殖环境——其他指标

- 氯(Chlorine): **0 mg/L**

耐受范围较低 (0.5-1ppm), 不然会造成死亡

- 溶解氧(D.O₂): **5—8 mg/L**

- 二氧化碳(CO₂): **< 5 mg/L**

- 硬度(Hardness)

最适范围: **75—200 mg/L** 有利于斑马鱼生长

- 光周期和光照强度

光周期: **14 h光照** 和 **10 h 黑暗** (光周期混乱会影响产卵)

光照强度: **54—324 lux**



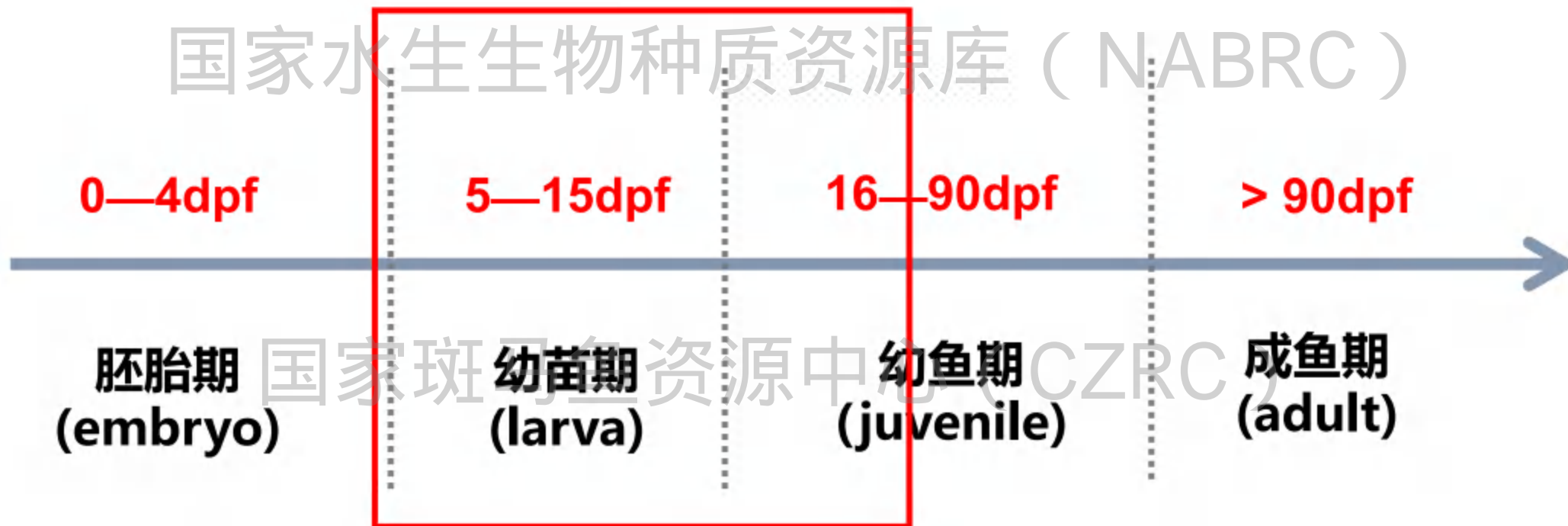
斑马鱼的养殖与繁育

- 养殖环境
国家水生生物种质资源库 (NABRC)
- 自然繁育
- 幼苗及幼鱼的养殖
国家斑马鱼资源中心 (CZRC)
- 成鱼的养殖
- 体外受精技术 www.zfish.cn
- 活饵的培养



斑马鱼的养殖

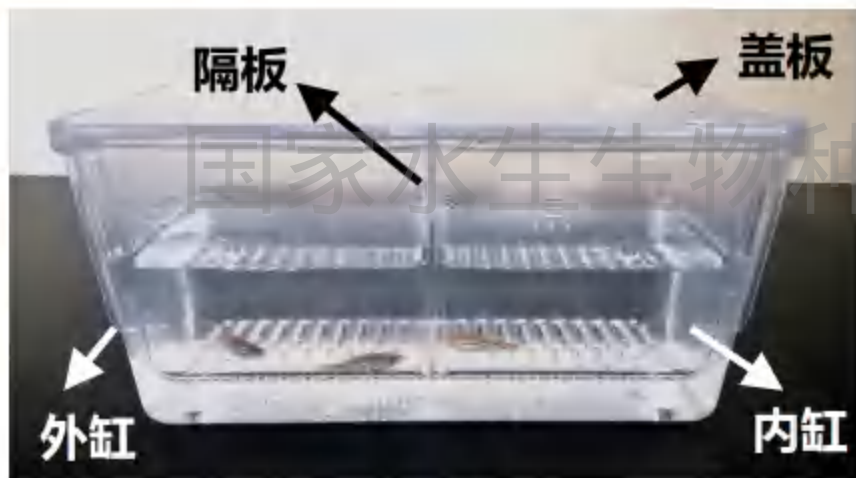
国家水生生物种质资源库 (NABRC)



www.zfish.cn

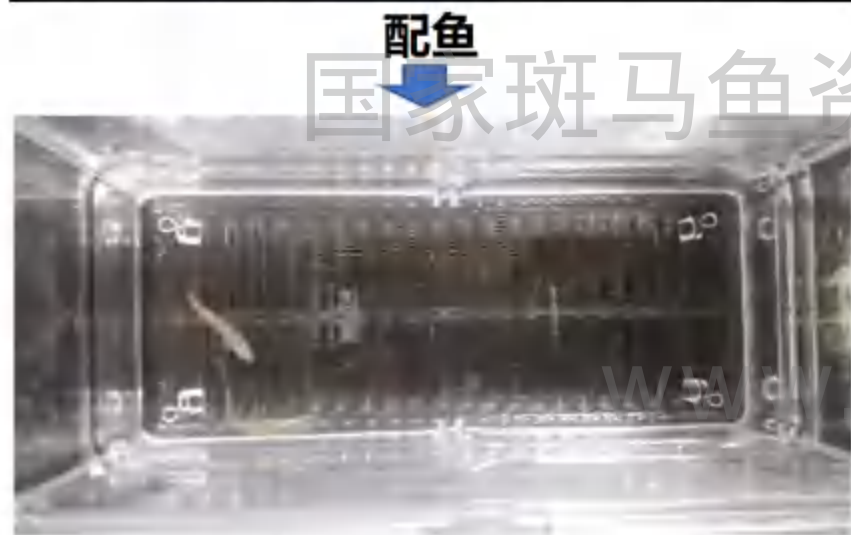


斑马鱼的繁殖



注意:

- 1) 胚胎用0.003%次氯酸钠溶液消毒后, 养殖在浓度为0.5mg/L的亚甲基蓝养殖水中
- 2) 每天吸出胎膜或死胚, 并换水一次
- 3) 0—4 dpf胚胎不需要喂食
- 4) 90mm培养皿养殖密度不宜超过50枚



交配, 完成受精



0—4 dpf



斑马鱼的繁殖

国家水生生物种质资源库 (NABRC)

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)



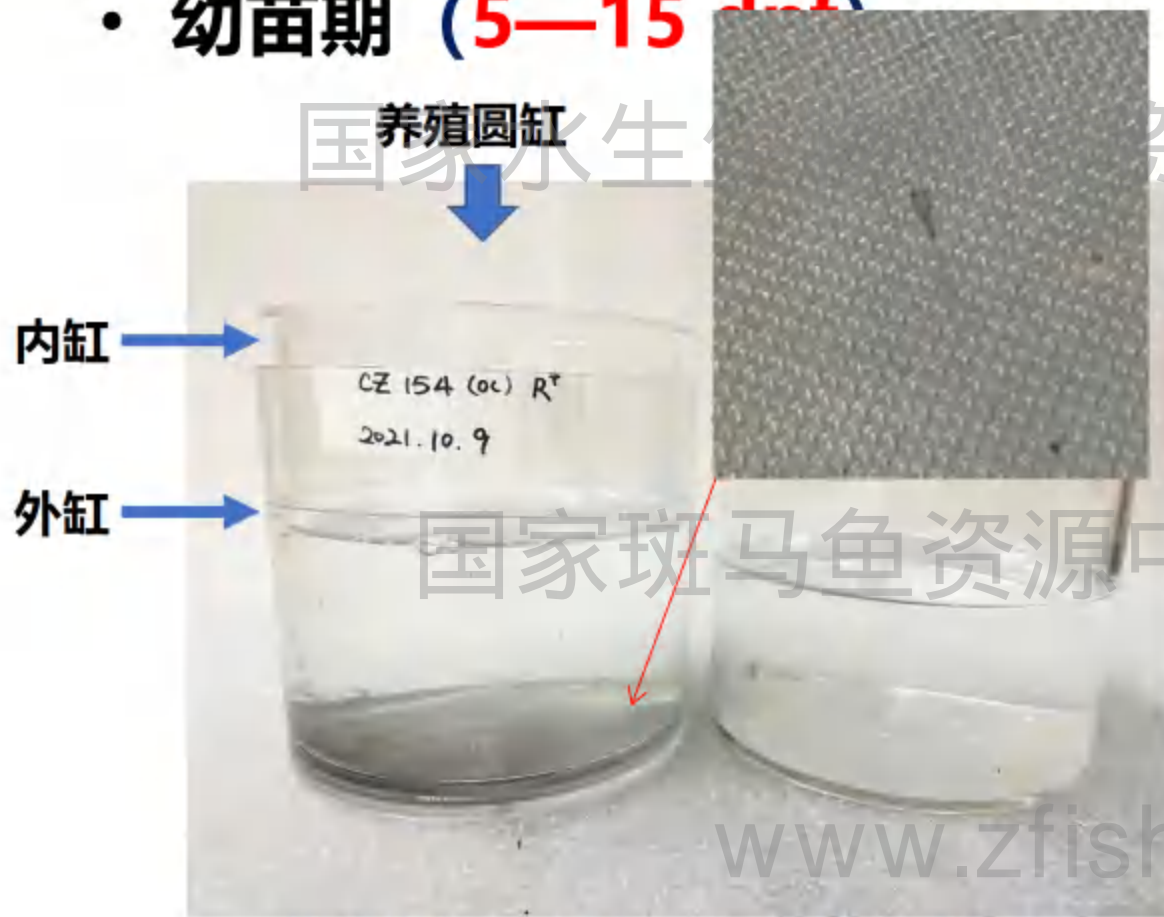
斑马鱼的养殖与繁育

- 养殖环境
国家水生生物种质资源库 (NABRC)
- 自然繁育
- 幼苗及幼鱼的养殖
国家斑马鱼资源中心 (CZRC)
- 成鱼的养殖
- 体外受精技术 www.zfish.cn
- 活饵的培养

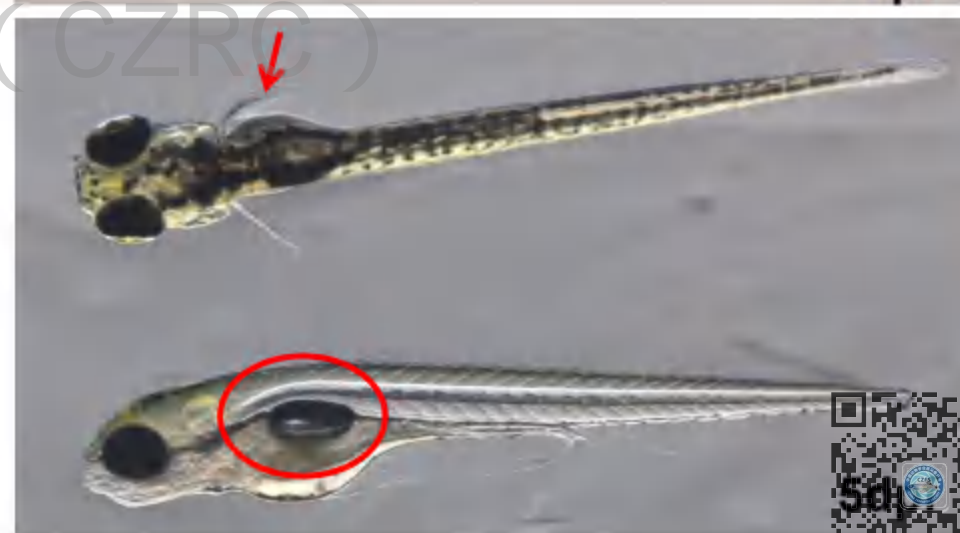
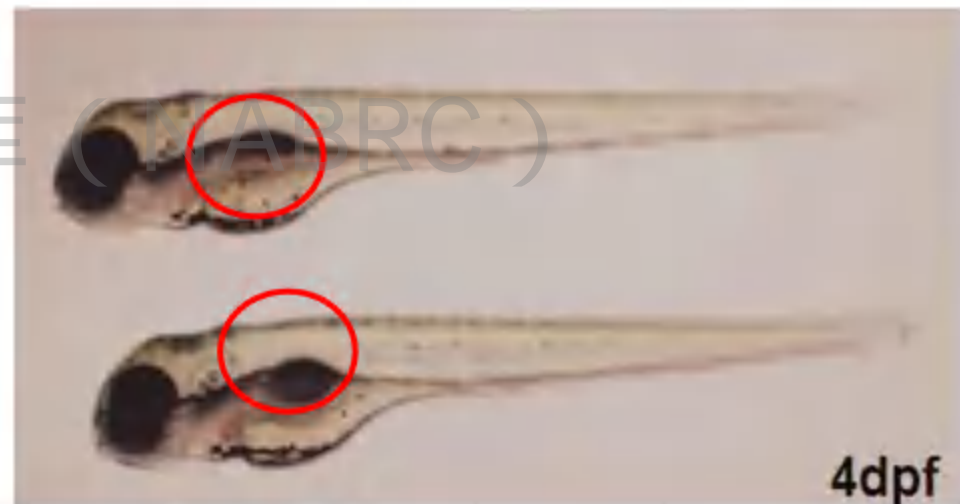


幼苗的养殖

• 幼苗期 (5—15 dpf)

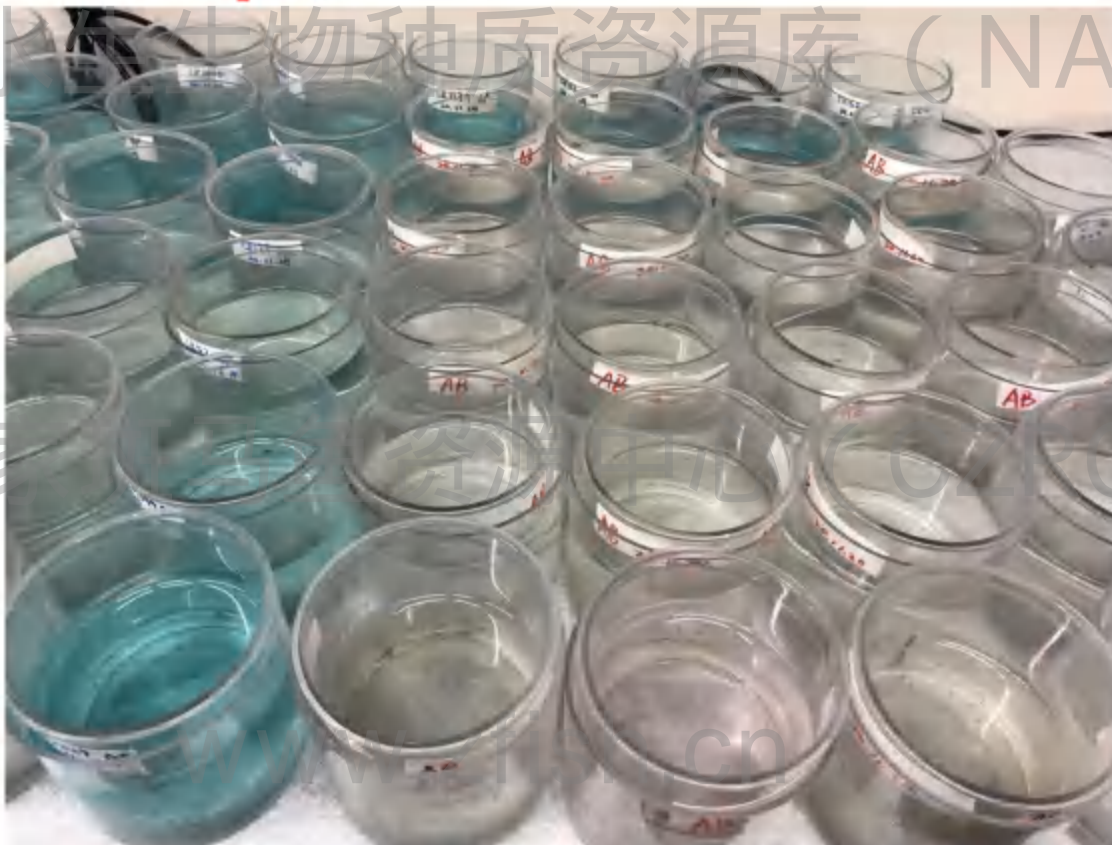


放入幼苗养殖缸，斑马鱼幼苗开始摄食



幼苗的养殖

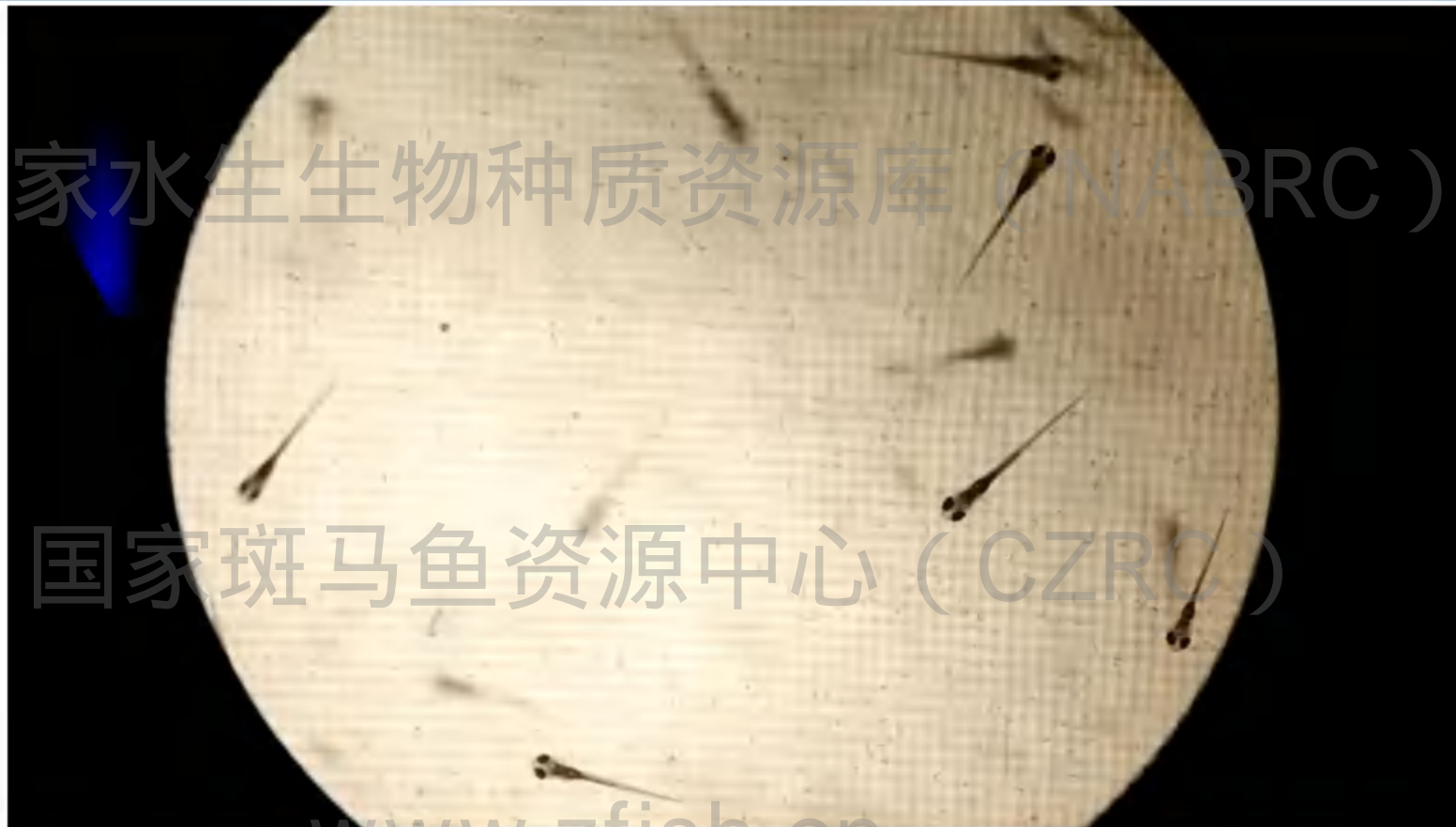
- 幼苗期 (5—15 dpf)



养殖密度一般为**50尾/L**，不超过**100尾/L**



幼苗的养殖

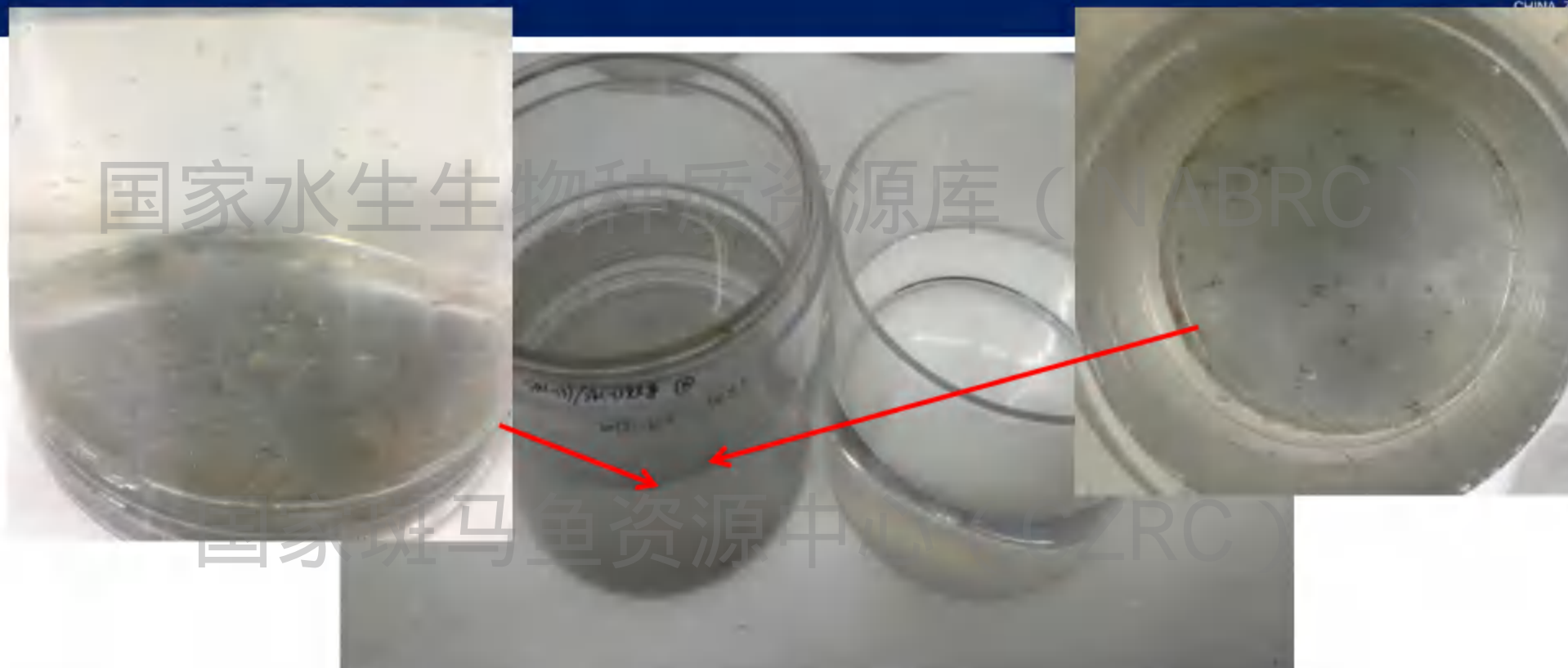


每日草履虫投喂**2—3次**，投喂后草履虫的密度**>100个/mL**

※在第**12 dpf** 后，每日可适当的加入活饵丰年虫，观察幼苗是否主动摄食丰年虫



幼苗的养殖



注意：

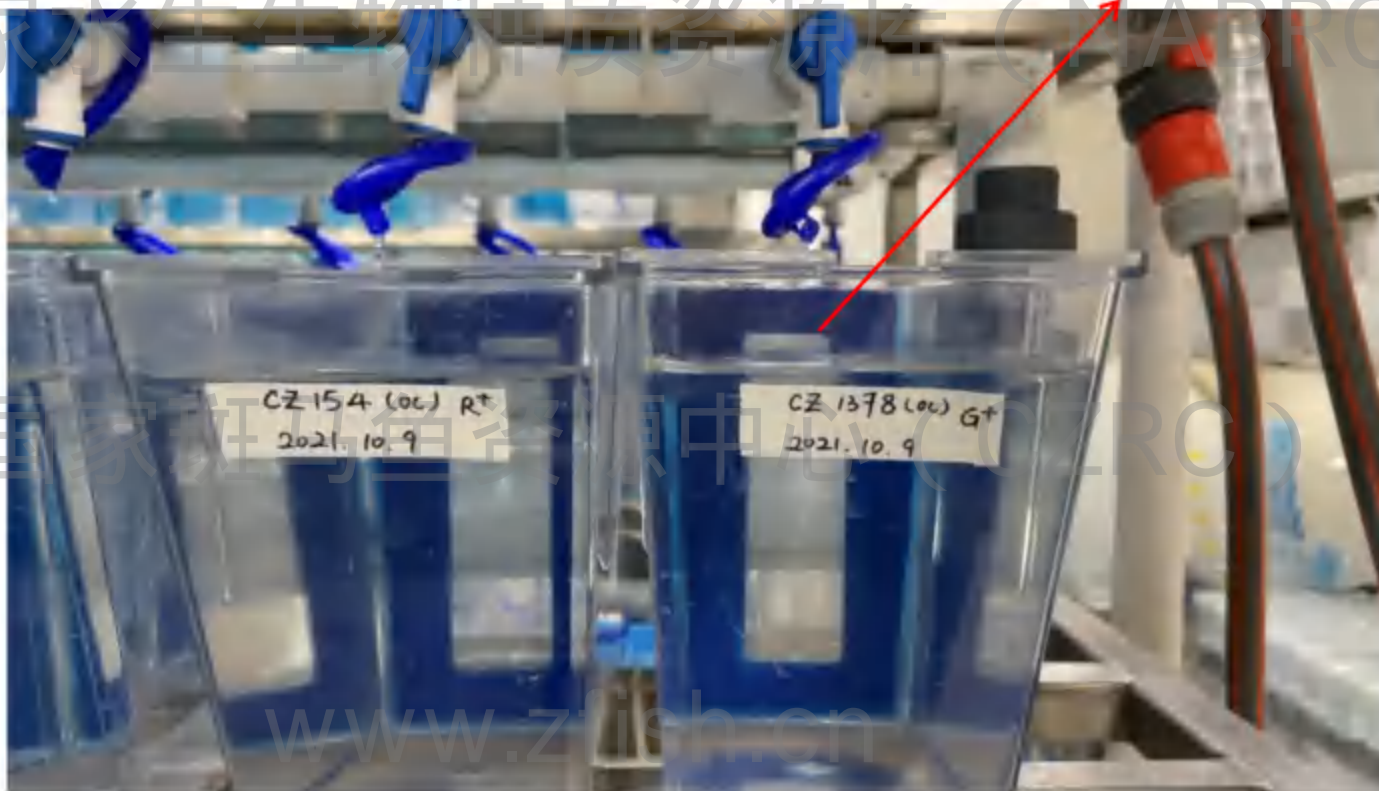
- 1) 防止换水温差过大，造成幼苗死亡
- 2) 换水前，用吸管吸出残渣及死苗
- 3) 内缸提起和放下时，动作缓慢轻柔
- 4) 冬季可在幼苗养殖缸底部铺上恒温加热垫



幼鱼的养殖

- 幼鱼初期 (**16—30 dpf**)

插板40目以上



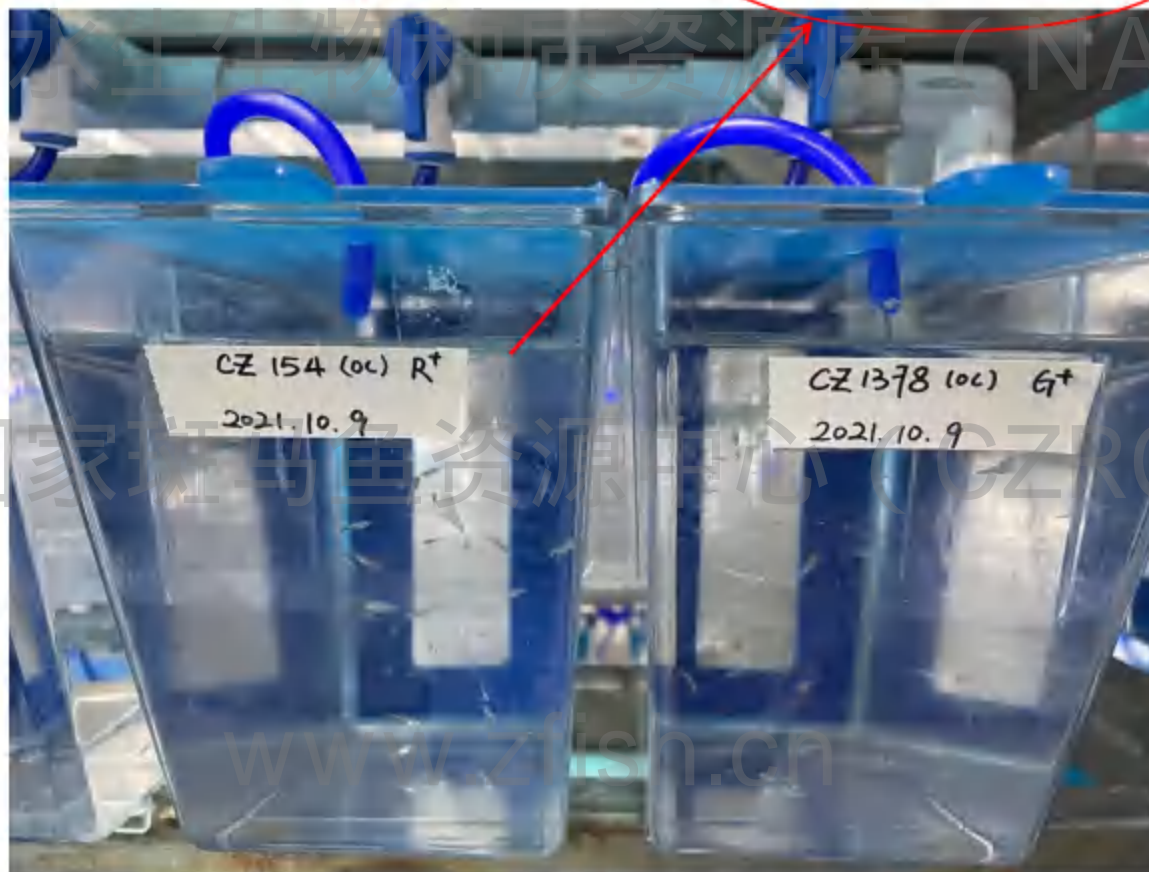
养殖密度一般不超过**30尾/L**，每日投喂**2—3次**丰年虫



幼鱼的养殖

- 幼鱼后期 (31—90 dpf)

插板20目



养殖密度一般不超过**10尾/L**，每日投喂**2—3**次丰年虫



成鱼的养殖

- 成鱼 (> 90 dpf)



养殖密度一般**5—8尾/L**，每日投喂**1—2次**丰年虫、**1次**颗粒饲料

※对于需要繁殖的种鱼、精子冻存的雄鱼等，每日可加喂**1—2次**丰年虫，增加产卵量和产精量



斑马鱼的养殖

养殖密度: ≤ 50 枚/90mm平皿

≤ 100 尾/L

≤ 30 尾/L

≤ 10 尾/L

5-8尾/L

国家水生生物种质资源库 (NABRC)

0—4dpf

5—15dpf

16—30dpf

30—90dpf

> 90dpf

胚胎期
(embryo)

幼苗期
(larva)

幼鱼期
(juvenile)

成鱼期
(adult)

食物: 无需喂食

草履虫

丰年虫

丰年虫

换水频率: 每日换水

每日换水

~100滴/分钟
滴水

10L/h流水

10L/h流水

www.zfish.cn



斑马鱼日常传代维护管理

1. 及时捞出死鱼，隔离病鱼；老鱼及时安乐死

2. 野生型品系传代要尽量保持基因多态性，建议引种数目不应少于25对且遗传背景清楚

传代维护 及管理

3. 品系鱼传代尽量使用侧交，避免频繁自交

4. 不同用途的野生型斑马鱼分开饲养



常见问题：我们的鱼为什么不产卵？

可能的原因：

- ◆ 鱼的健康出现问题
- ◆ 水质（pH、氨氮、硬度）
- ◆ 投喂不足或营养单一
- ◆ 光照周期混乱和光照强度不够
- ◆ 鱼使用频繁及鱼龄太小/太老
- ◆ 雌雄鱼体型相差过大



斑马鱼的养殖与繁育

- 养殖环境
国家水生生物种质资源库 (NABRC)
- 自然繁育
- 幼苗及幼鱼的养殖
国家斑马鱼资源中心 (CZRC)
- 成鱼的养殖
- 体外受精技术 www.zfish.cn
- 活饵的培养



雄鱼

- 年龄：6-18个月
- 有交配经历
- 与雌鱼隔离一月以上

雌鱼

- 年龄：6-18个月
- 有交配经历
- 近一周内没有配鱼产卵

- 一天**3-4**顿**活饵料**喂养
- 健康无病，不瘦弱
- 稳定光周期



试剂和材料的准备

- Hanks 储液 1/2/4/5: 过滤除菌, 4°C 保藏, <6 个月
- Hanks premix: 过滤除菌, 4°C 保藏, <6 个月
- Hanks buffer: 当天新鲜配置
- NaHCO₃: 试剂日常保存, 不结块, 不过期
- 宽头镊子
- 用来固定雄鱼鱼身的模具
- 长柄刮勺
- 35mm 培养皿
- 吸水纸、棉签等



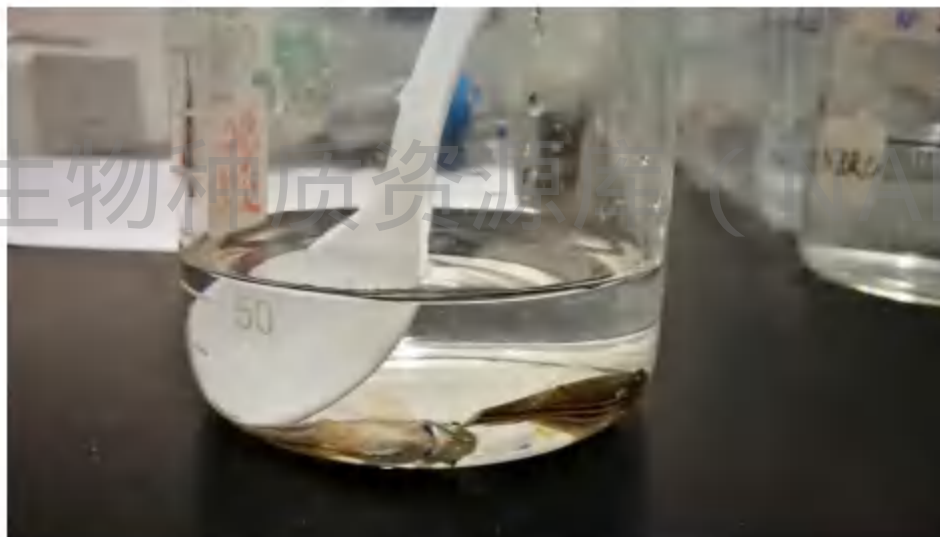
体外受精操作准备

- 前一天准备鱼：1M & 2-3F
 - 用隔板隔开，不要接触物种质资源库 (IAIR)
 - 尽量多的准备相应的雌鱼
 - 须在早上开灯后3小时内完成
 - 新鲜配置Hanks Buffer
 - 新鲜收集精子需要先操作，再收集雌鱼鱼卵 (CZRC)
-
- 挤压收集卵子的操作，频度不超过2周，最好大于一个月
 - 挤过的雌鱼可用于下周自然配鱼



精液收集操作要点

- 雄鱼麻醉
- 吸干水分
- 用模具固定鱼身



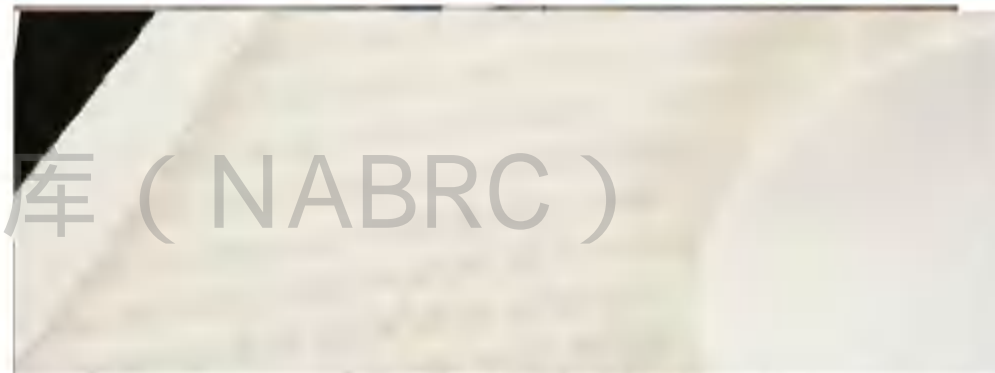
精液收集操作要点

- 分开腹鳍
- 用镊子挤压鱼腹
- 收集精液
- 放入装有hanks buffer溶液的EP管中



卵子收集操作要点

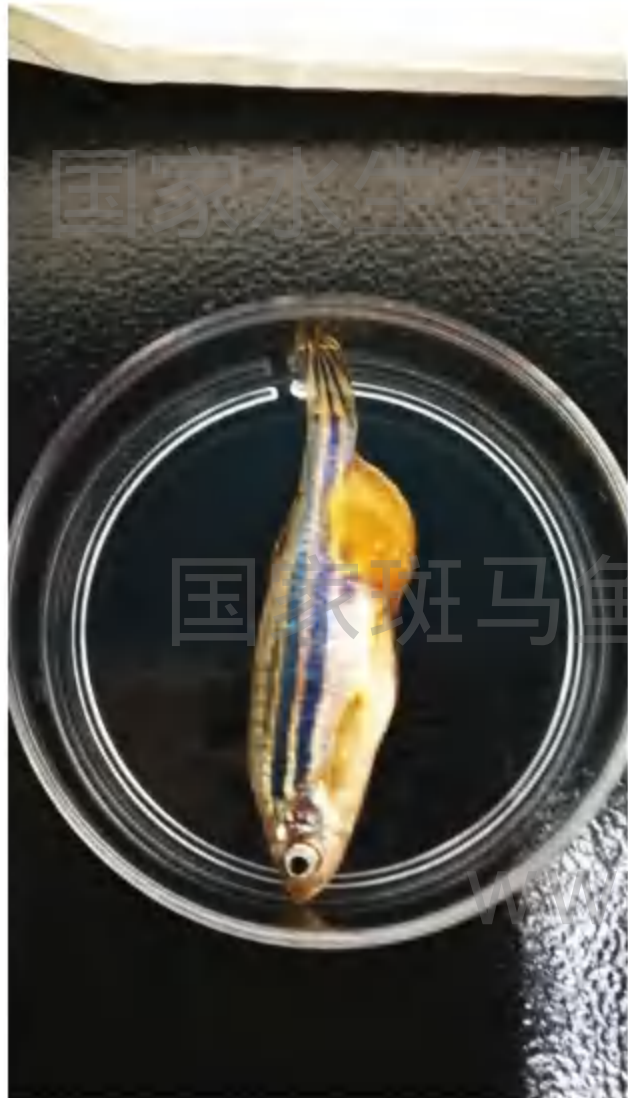
- 雌鱼麻醉
- 吸干水分
- 放入35mm平皿
- 一只手轻轻抵住鱼背，一手轻轻按压鱼腹
- 将卵与鱼身轻柔分开，鱼放回水中
- 鱼卵离开母体5分钟内必须完成操作



收集雌鱼卵子操作



鱼卵质量控制



体外受精操作

- 将混有精液样品的Hanks Beffer溶液混入未受精卵
- 加入~750 μ l养殖水，激活精子
- 5分钟后，加水至平皿的2/3
- 根据受精情况，将胚胎养殖在合适的培养皿中。



www.zfish.cn



斑马鱼的养殖与繁育

- 养殖环境
国家水生生物种质资源库 (NABRC)
- 自然繁育
- 幼苗及幼鱼的养殖
国家斑马鱼资源中心 (CZRC)
- 成鱼的养殖
- 体外受精技术 www.zfish.cn
- 活饵的培养



- **草履虫的培养方法** (国家水生生物种质资源库 (NABRC))
- **丰年虫的孵化方法** (国家斑马鱼资源中心 (CZRC))

www.zfish.cn



• 高密度培养方法

国家水生生物种质资源库 (NABRC)

1、培养液配制

容器中分别加入1.5 g NaHCO_3 、1.5 g 氯化钠和几粒熟麦粒，倒入2.5L无菌水后混匀，加入0.9g酵母粉摇匀备用。

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

www.zfish.cn



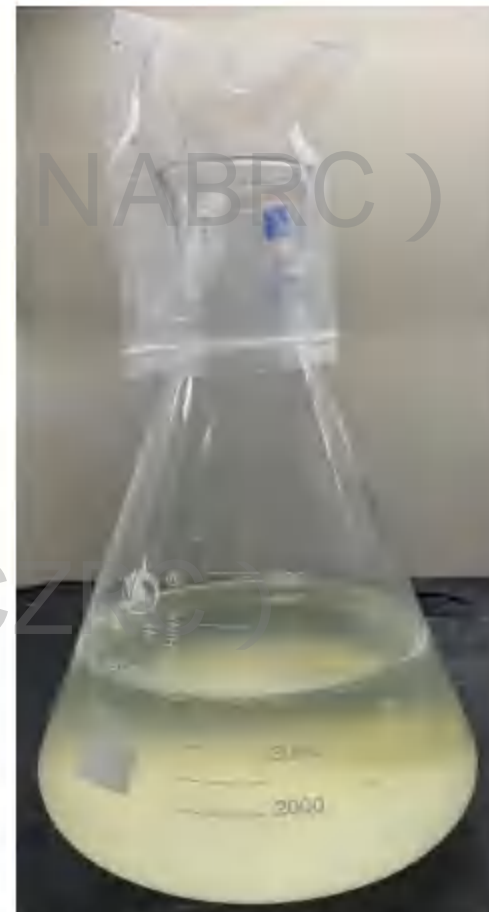
2、接种

国家水生生物种质资源库 (NABRC)

种源



1:5



- 每个实验室鱼房应该保存有各自草履虫种源
- 如果没有种源，欢迎在CZRC网站上购买

室温培养3—5天
密度：2000个/mL



3、草履虫的过滤

经过120目过滤网过滤后，收集



纯水清洗后投喂幼苗



- 不具备培养草履虫的实验室，可以用草履虫的替代物喂养幼苗：**固体粉末饲料**



丰年虫孵化法

孵化相关参数	实际操作方法
盐度: 15 — 25 ppt	200 mL烧杯量取海盐200 mL (≈ 230 g/12L), 盐度 ≈ 20 ppt
pH: > 8.0	药品勺取一大勺 NaHCO_3 (≈ 8.5 g/12L), pH 8.0 — 8.2
虫卵孵化密度: < 3 g/L	200 mL烧杯量取62.5 mL卵 (≈ 30 g/12L), 密度 ≈ 2.5 g/L
温度: 25 — 30°C	饵料间室温在28°C左右
孵化时间: 24 — 30 h	通气孵化24 h后收取已孵化出的丰年虫



丰年虫孵化法



孵化24 h

静止15 min
→



虫壳残渣

收集丰年虫
→

已孵化完全的丰年虫

未孵化出壳的丰年虫



www.zfish.cn



总结

- **水质：**定期监控养殖水的pH、水温、氨氮浓度等指标，不能完全依赖设备显示的指标数值。
- **养殖繁育：**5dpf幼鱼应确认鱼鳔是否发育完全后再进入大水体中喂食养殖；幼苗期每天观察鱼苗养殖情况；养殖密度根据鱼龄及发育情况进行调整；品系繁育尽量不要长期采用自交方式传代；对于有需要的斑马鱼采用体外受精技术进行繁育。
- **饲料准备：**草履虫扩大培养之后才能对斑马鱼进行喂食；固体粉末饲料喂养需要增加换水频率；丰年虫在充分孵化后，中间褐红色已孵化的丰年虫要充分洗净后才能给斑马鱼食用。



全国斑马鱼技术培训会议

国家水生生物种质资源库 (NABRC)

本讲内容完毕

欢迎交流

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)



中国斑马鱼信息中心

