

# 第21期全国斑马鱼技术培训（在线）会议



国家水生生物种质资源库（NABRC）

## 讲座二 斑马鱼的饲养与繁育

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](mailto:lilinglu@ihb.ac.cn)

# 斑马鱼的饲养与繁育

- 养殖环境
- 自然繁育
- 体外受精技术
- 幼苗及幼鱼的饲养
- 成鱼的饲养
- 活饵的培养

www.zfish.cn

# 斑马鱼的饲养与繁育

- **养殖环境**
- 自然繁育
- 体外受精技术
- 幼苗及幼鱼的饲养
- 成鱼的饲养
- 活饵的培养

[www.zfish.cn](http://www.zfish.cn)

## • 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



# 养殖环境——盐度和电导率

## • 盐度(Salinity)

一般范围：0.25—0.75‰

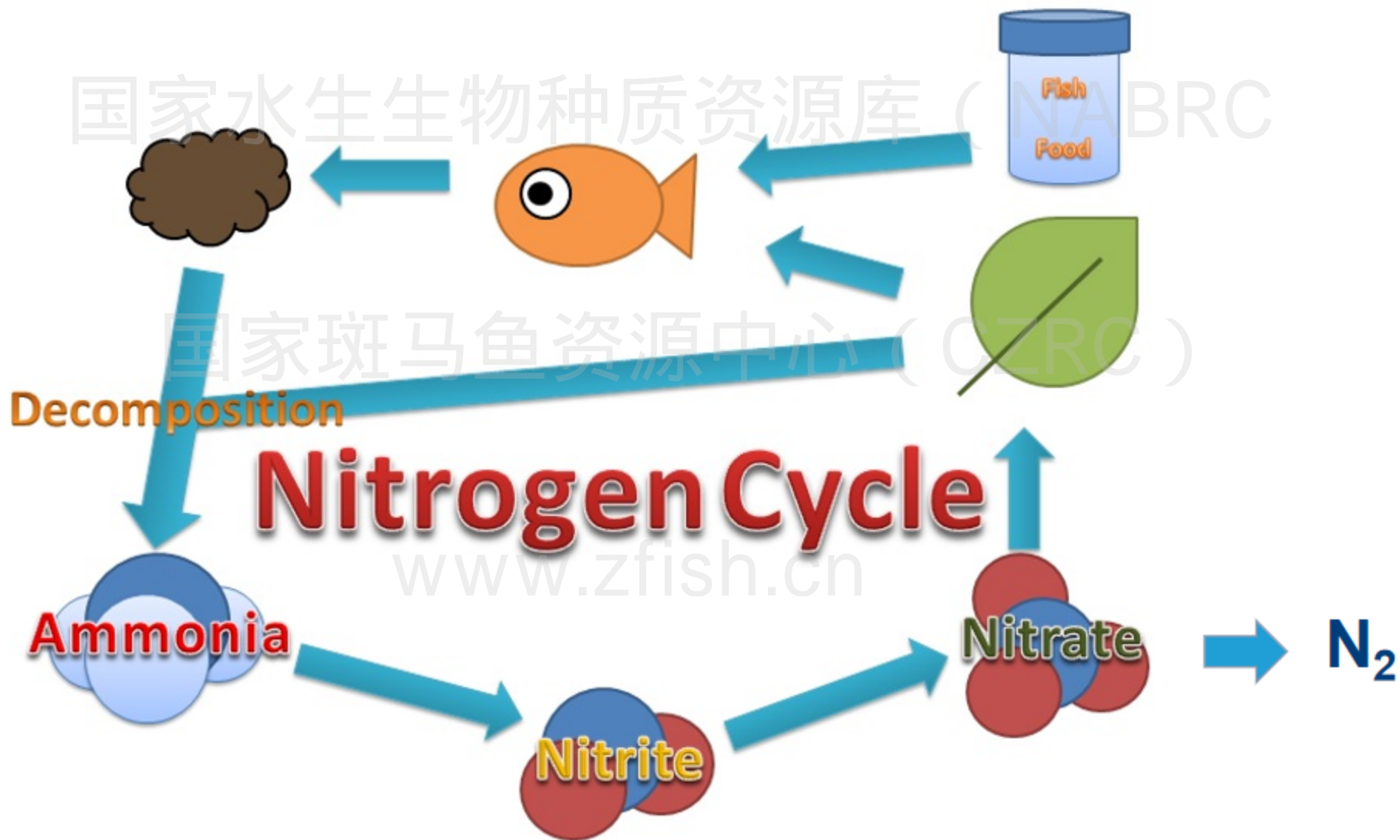
## ●电导率(Conductivity)

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,  $\text{NO}_2^-$ ):  $< 0.2 \text{ mg/L}$
- 硝酸态盐(Nitrate,  $\text{NO}_3^-$ ):  $< 5 \text{ mg/L}$
- 总氨氮 ( $\text{NH}_4^++\text{NH}_3$ )  
Un-ionized ammonia ( $\text{NH}_3$ )  $< 0.02 \text{ mg/L}$

# 养殖环境——其他指标

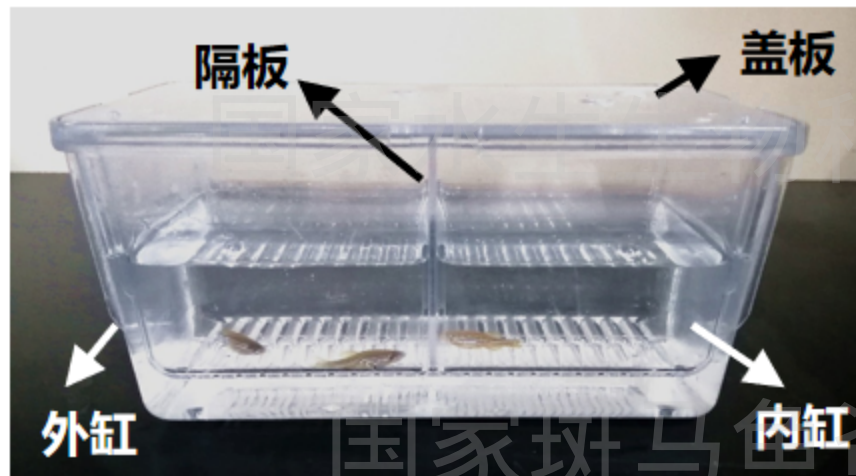
- **氯(Chlorine): 0 mg/L**  
耐受范围较低 (0.5-1ppm) , 不然会造成死亡
- **溶解氧(D.O<sub>2</sub>): 5—8 mg/L**
- **二氧化碳(CO<sub>2</sub>): < 5 mg/L**
- **硬度(Hardness)**  
最适范围: 75—200 mg/L 有利于斑马鱼生长
- **光周期和光照强度**  
光周期: 14 h 光照 和 10 h 黑暗 (光周期混乱会影响产卵)  
光照强度: 54—324 lux



# 斑马鱼的饲养与繁育

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

# 斑马鱼的繁殖



配鱼



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)

[www.zfish.cn](http://www.zfish.cn)



# 常见问题：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

# 斑马鱼的饲养与繁育

- 养殖环境
- 自然繁育
- **体外受精技术**
- 幼苗及幼鱼的饲养
- 成鱼的饲养
- 活饵的培养

[www.zfish.cn](http://www.zfish.cn)

# 鱼的准备

## 雄鱼

- 年龄：3-18个月
- 可取精巢研磨后受精

## 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

# 试剂的准备

- **Hanks储液1/2/4/5: 过滤除菌, 4°C保藏, <6个月**

Hanks储液1:

8.0 g NaCl

0.4 g KCl

in 100 ml ddH<sub>2</sub>O

Hanks储液2:

0.358 g Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> Anhydrous

0.6 g KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>

in 100 ml ddH<sub>2</sub>O

Hanks储液4:

0.72 g CaCl<sub>2</sub>

in 50 ml ddH<sub>2</sub>O

Hanks储液5:

0.601 g MgSO<sub>4</sub>

in 50 ml ddH<sub>2</sub>O

- **Hanks premix: 过滤除菌, 4°C保藏, <6个月**

Hanks premix储液:

10 ml Hanks储液1+1.0 ml Hanks储液2+1.0 ml Hanks储液4+86.0 ml ddH<sub>2</sub>O+1.0 ml Hanks储液5

- **NaHCO<sub>3</sub>: 试剂日常保存, 不结块, 不过期**

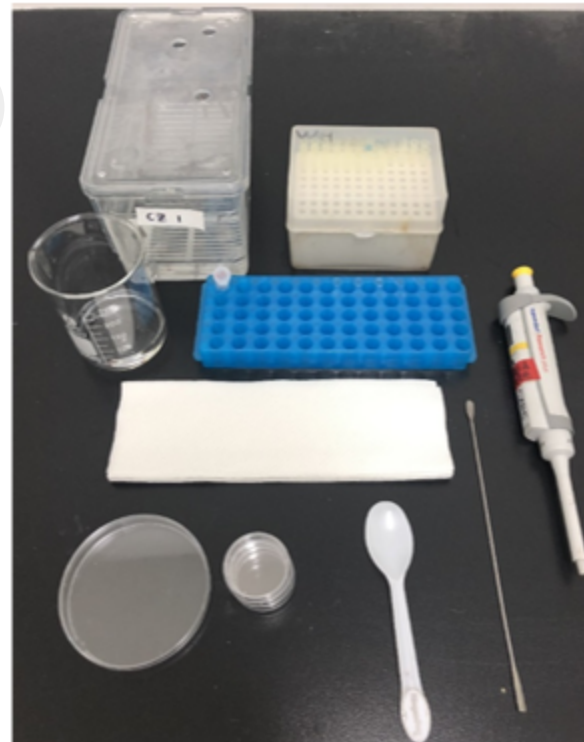
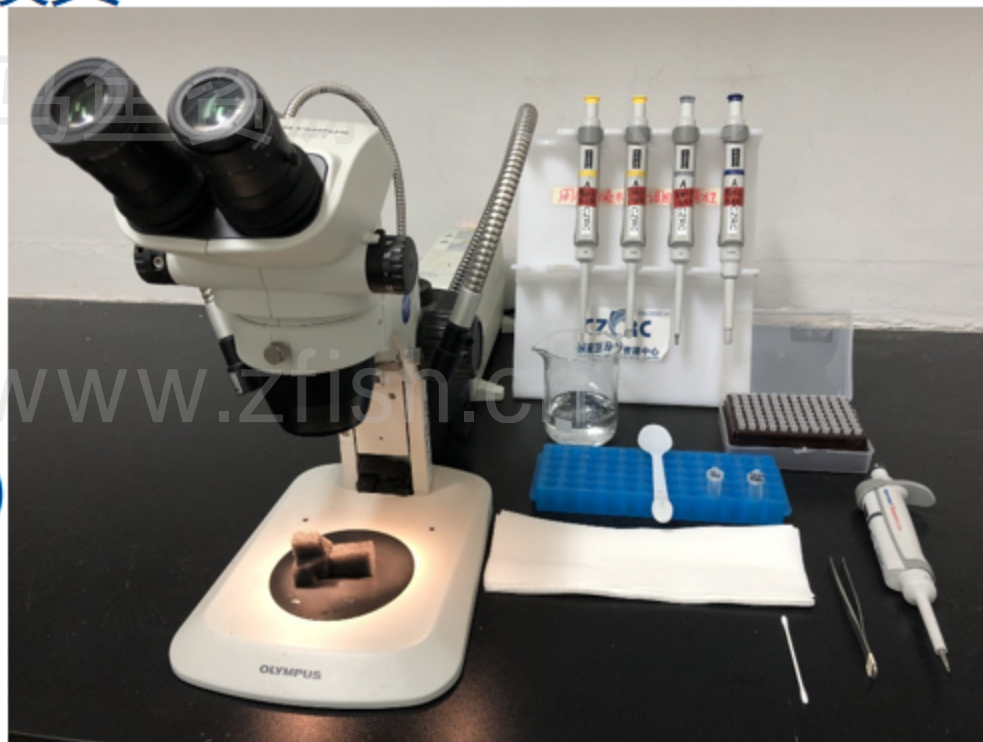
Hanks Stock6 (当天新鲜配置) : 0.35 g NaHCO<sub>3</sub> + 10.0 ml ddH<sub>2</sub>O

- **Hanks buffer: 当天新鲜配置**

9.9 ml Hanks premix+0.1 ml Hanks Stock6

# 材料的准备

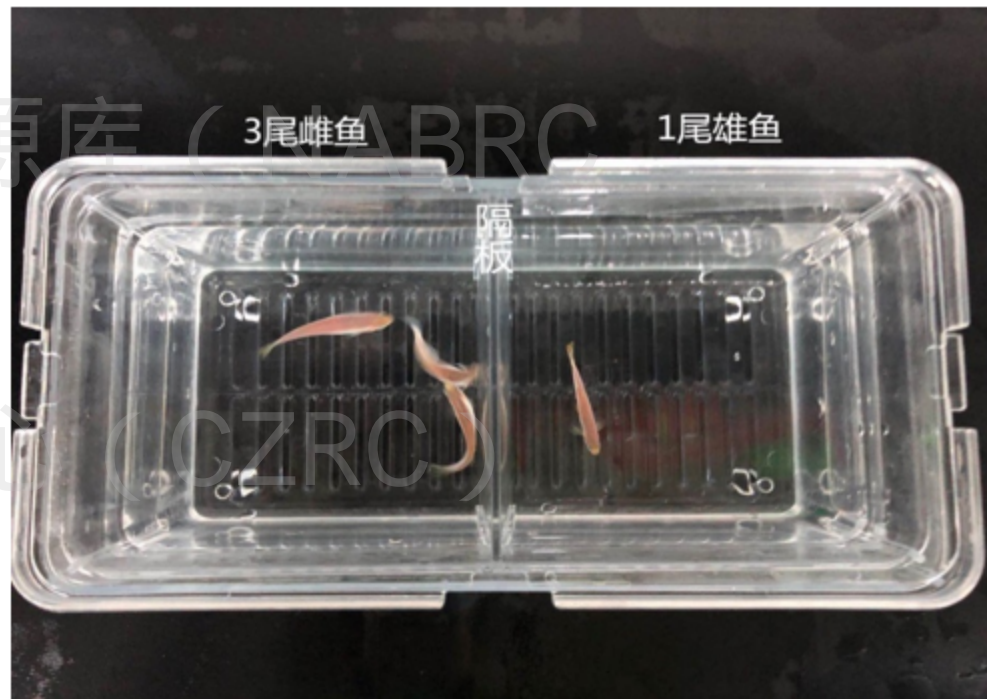
- 解剖显微镜
- 宽头镊子
- 用来固定雄鱼鱼身的模具
- 长柄刮勺
- 35mm培养皿
- 吸水纸、棉签等
- 尖头镊子 (如需解剖)
- 研磨棒 (如需解剖)





# 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
- 尽量多的准备相应的雌鱼
- 须在早上开灯后3小时内完成
- 新鲜收集精子需要先操作，再收集雌鱼鱼卵

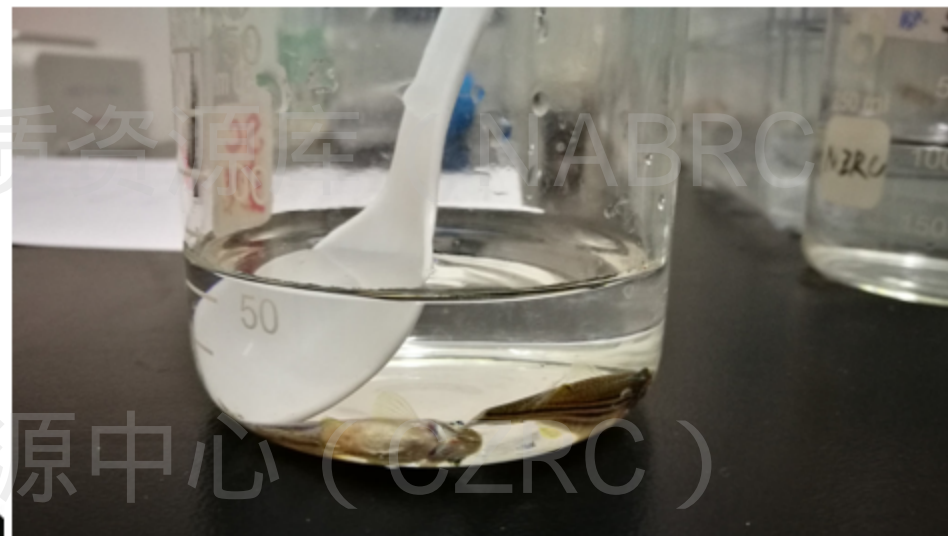


www.zfish.cn

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

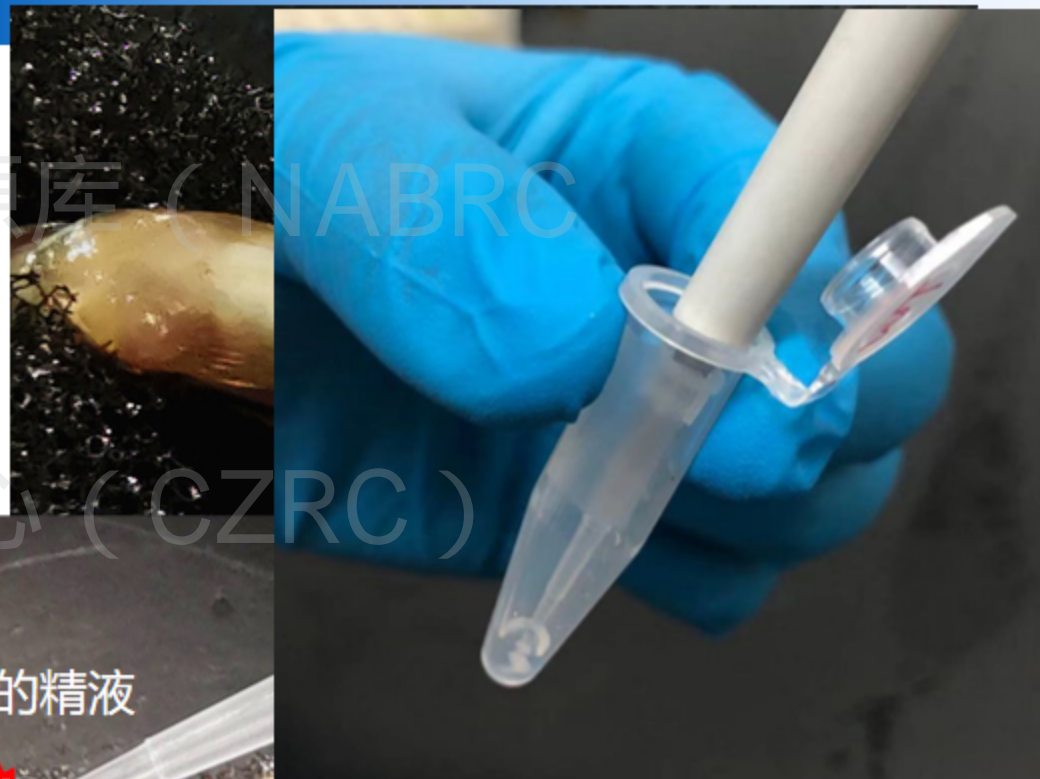
# 精液收集操作要点

- 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



# 精巢收集操作要点

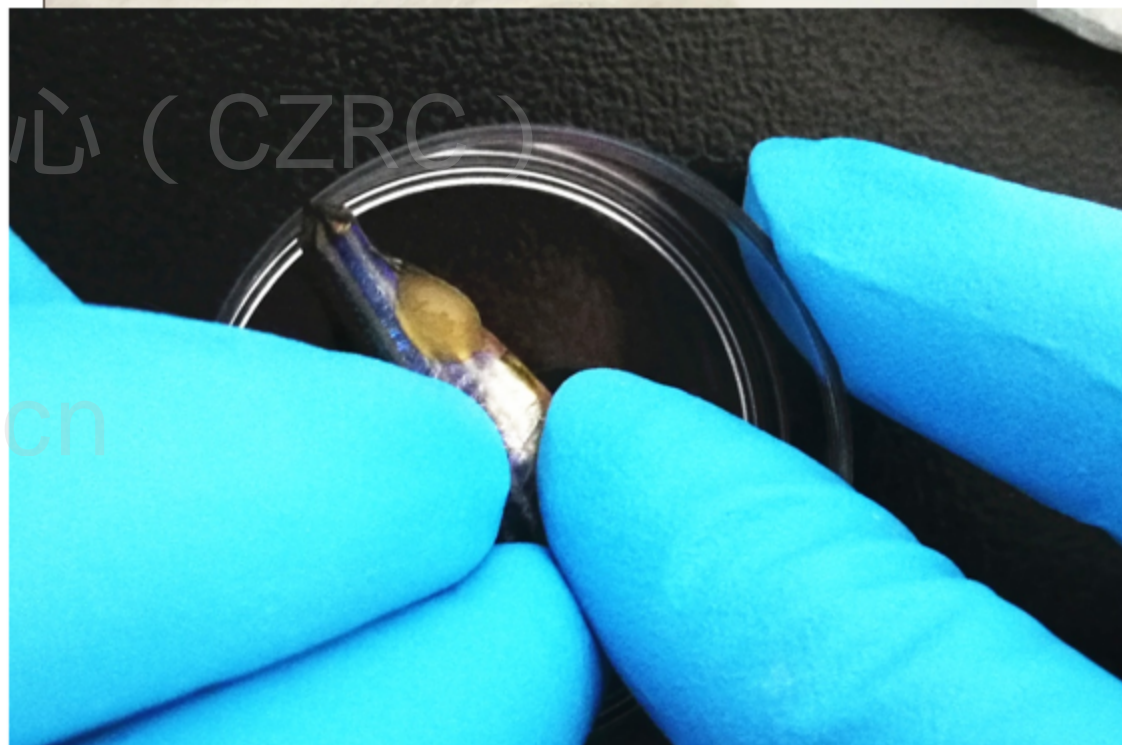
- 解剖取出精巢
- 放入装有hanks buffer溶液的EP管中研磨
- 离心取上清



# 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



国家水生生物种质资源库 (NABRC)

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

[www.zfish.cn](http://www.zfish.cn)



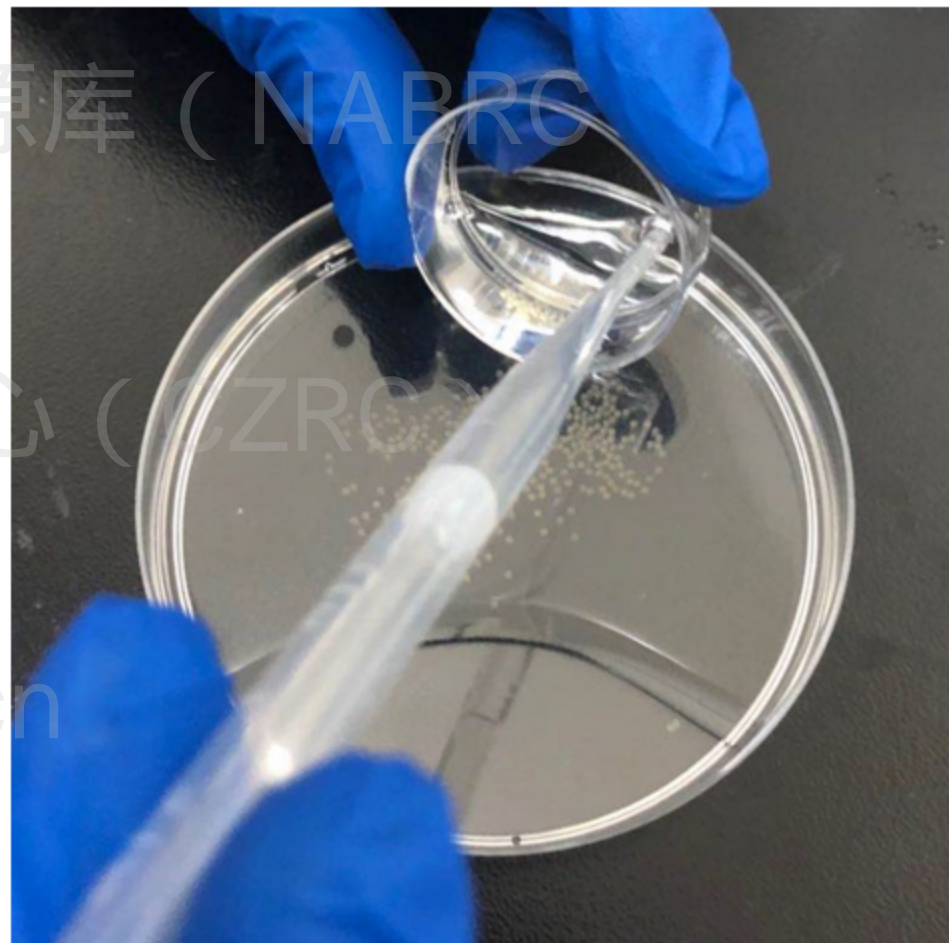
# 鱼卵质量控制



# 体外受精操作

- 将混有精液样品的Hanks Bffer溶液混入未受精卵
- 加入~750 $\mu$ 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





# 斑马鱼的饲养与繁育

- 养殖环境
- 自然繁育
- 体外受精技术
- **幼苗及幼鱼的饲养**
- 成鱼的饲养
- 活饵的培养

[www.zfish.cn](http://www.zfish.cn)

# 斑马鱼的饲养



# 胚胎的培养



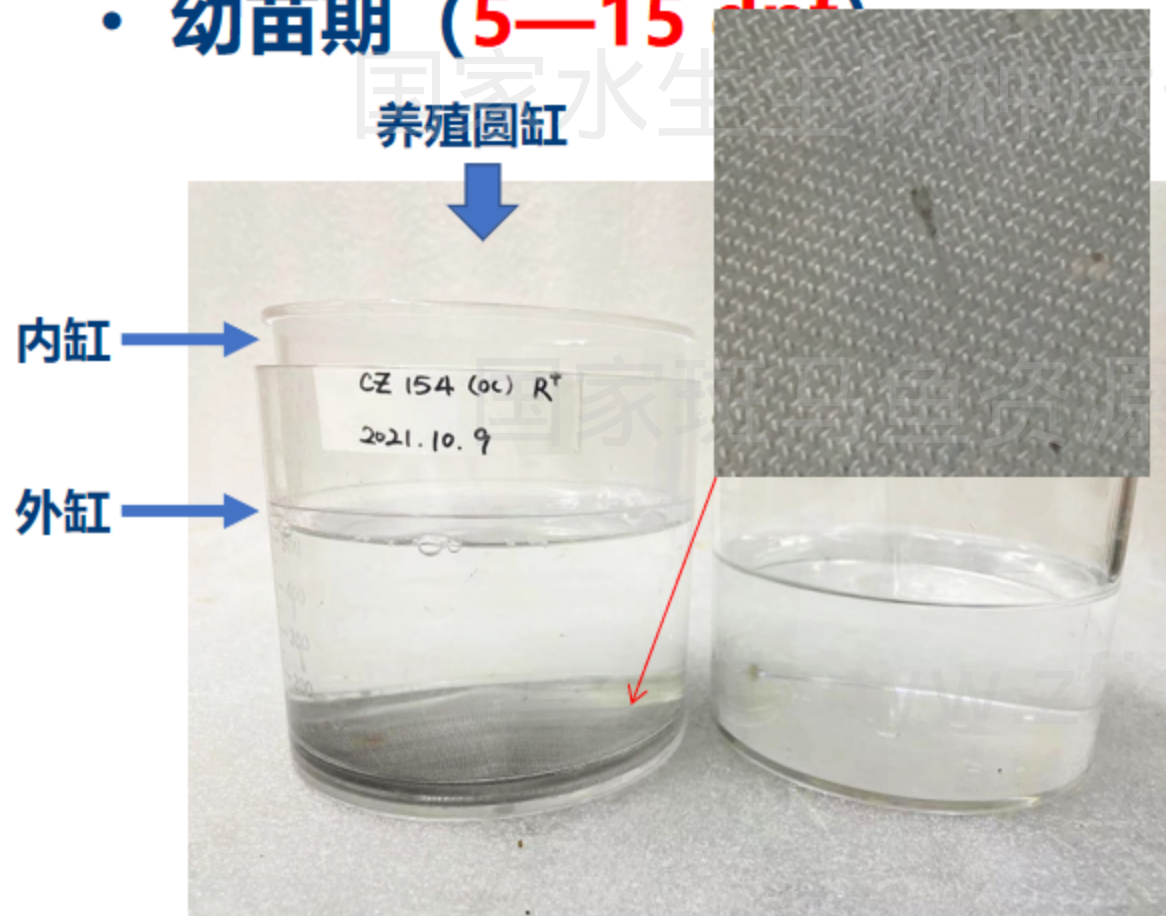
0—4 dpf

## 注意：

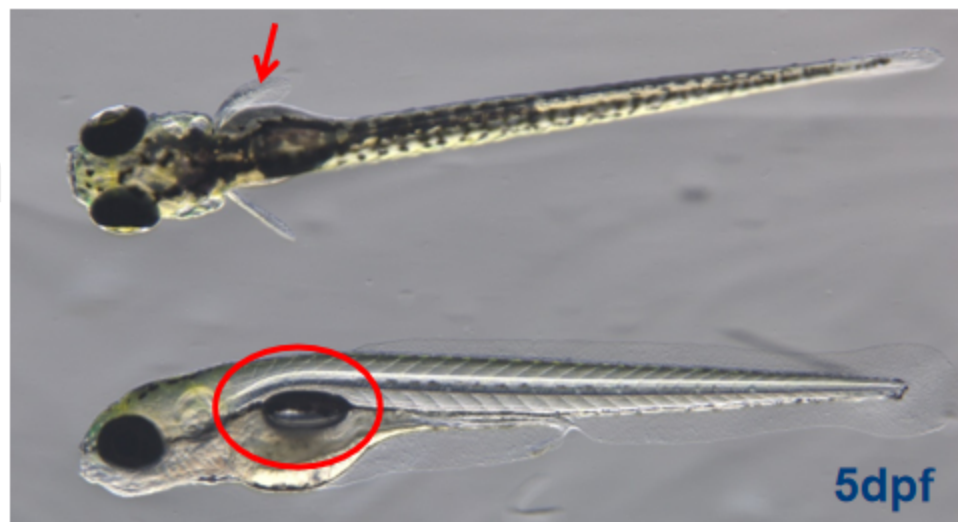
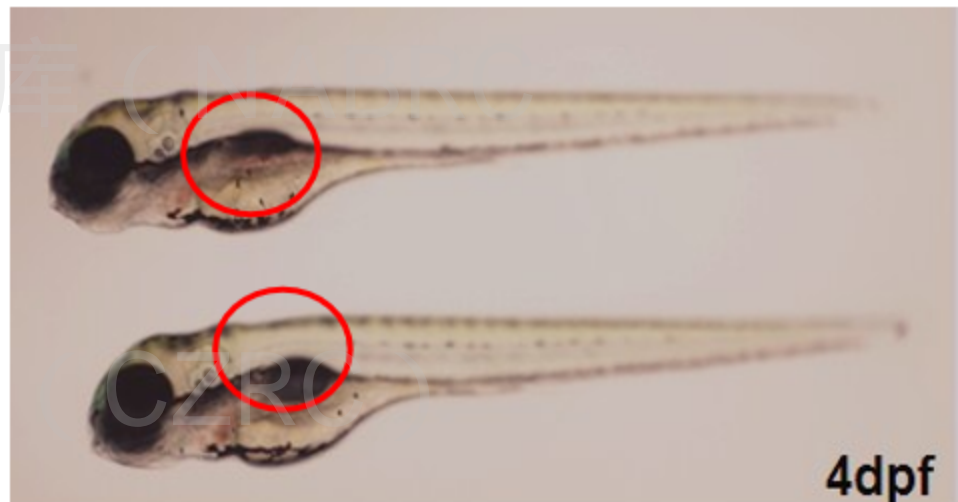
- 1) 胚胎用0.003%次氯酸钠溶液消毒后，养殖在浓度为0.5mg/L的亚甲基蓝养殖水中
- 2) 每天吸出胎膜或死胚，并换水一次
- 3) 0—4 dpf胚胎不需要喂食
- 4) 90 mm培养皿养殖密度不宜超过50枚

# 幼苗的饲养

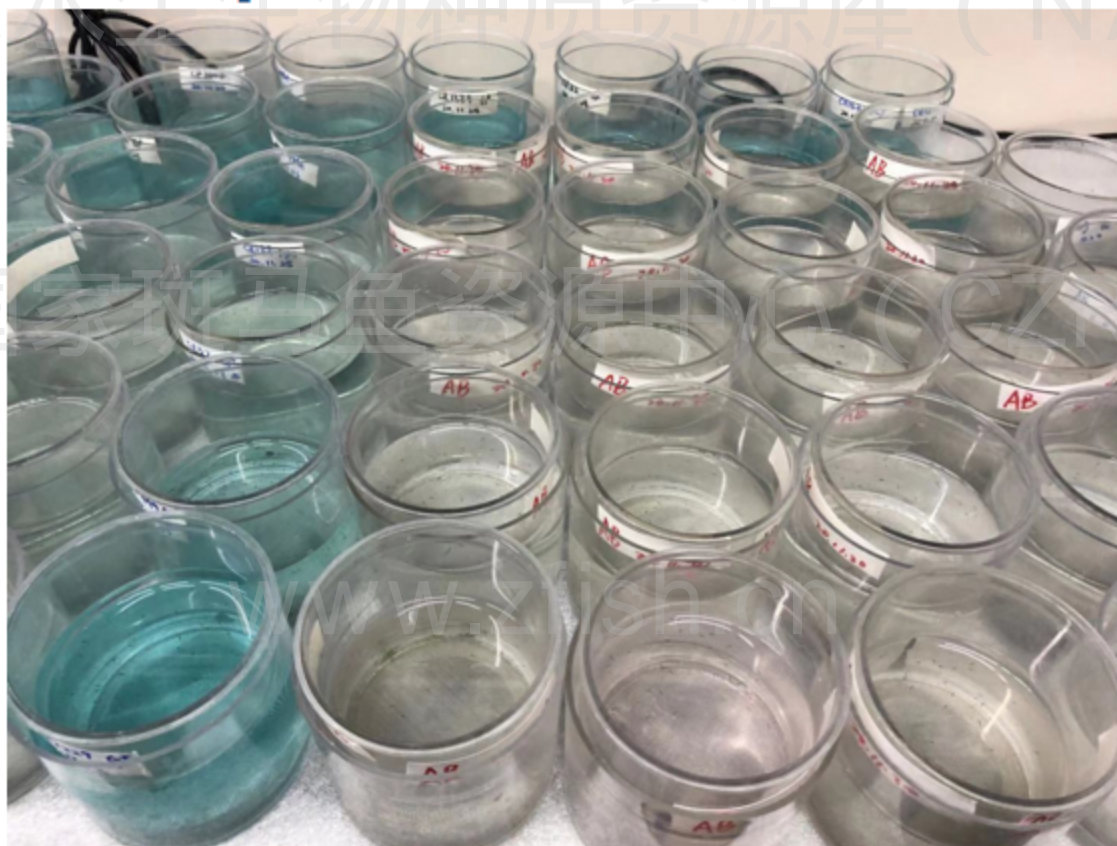
## • 幼苗期 (5—15 dpf)



放入幼苗养殖缸，斑马鱼幼苗开始摄食

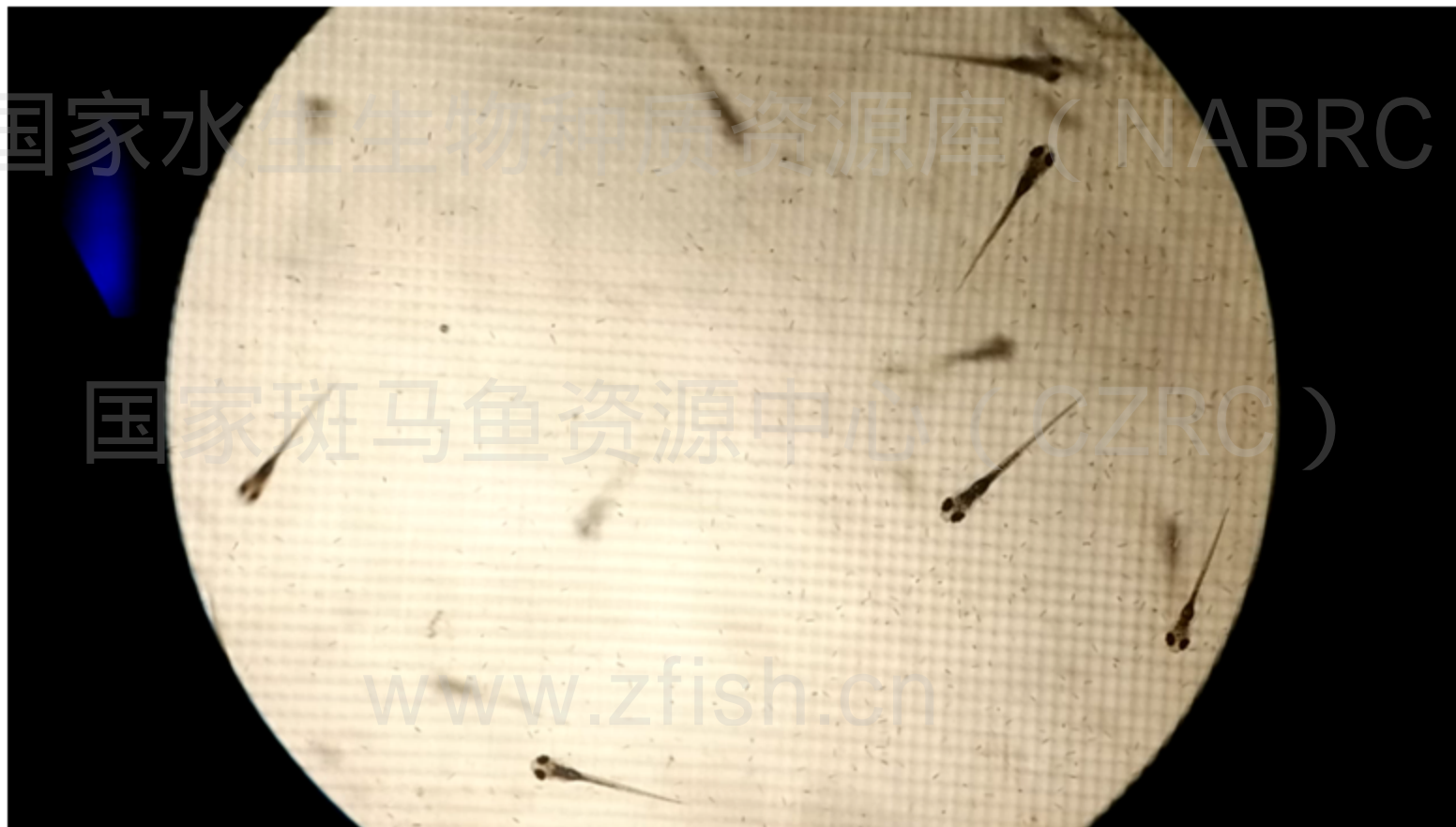


- 幼苗期 (5—15 dpf)



养殖密度一般为**50尾/L**，不超过**100尾/L**

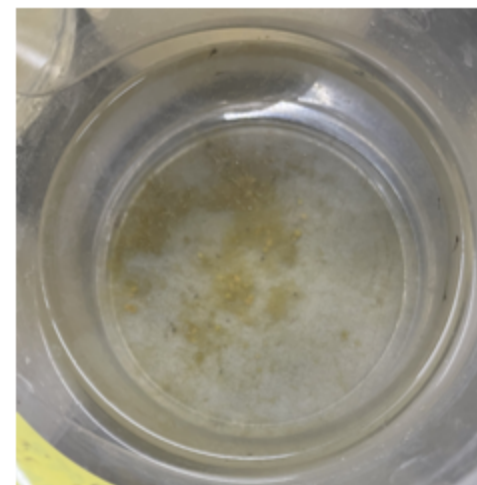
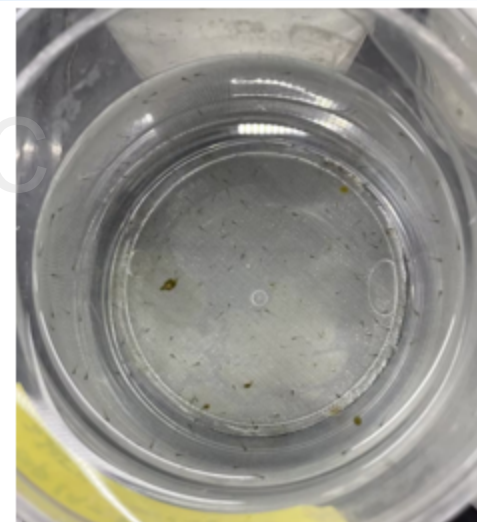
# 幼苗的饲养



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

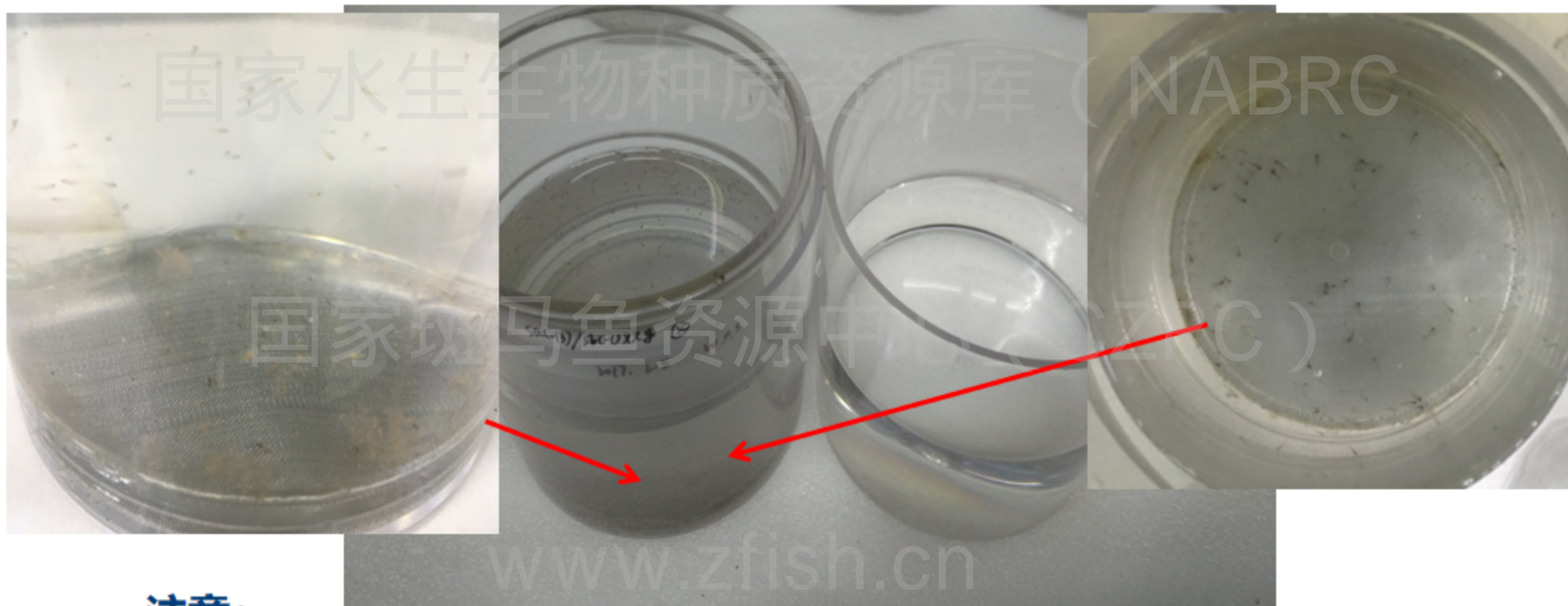
# 幼苗的饲养



每日粉末 ( $< 50\mu\text{m}$ ) 投喂2—3次, 少量多餐, 每日换水

※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

# 幼苗的饲养



## 注意:

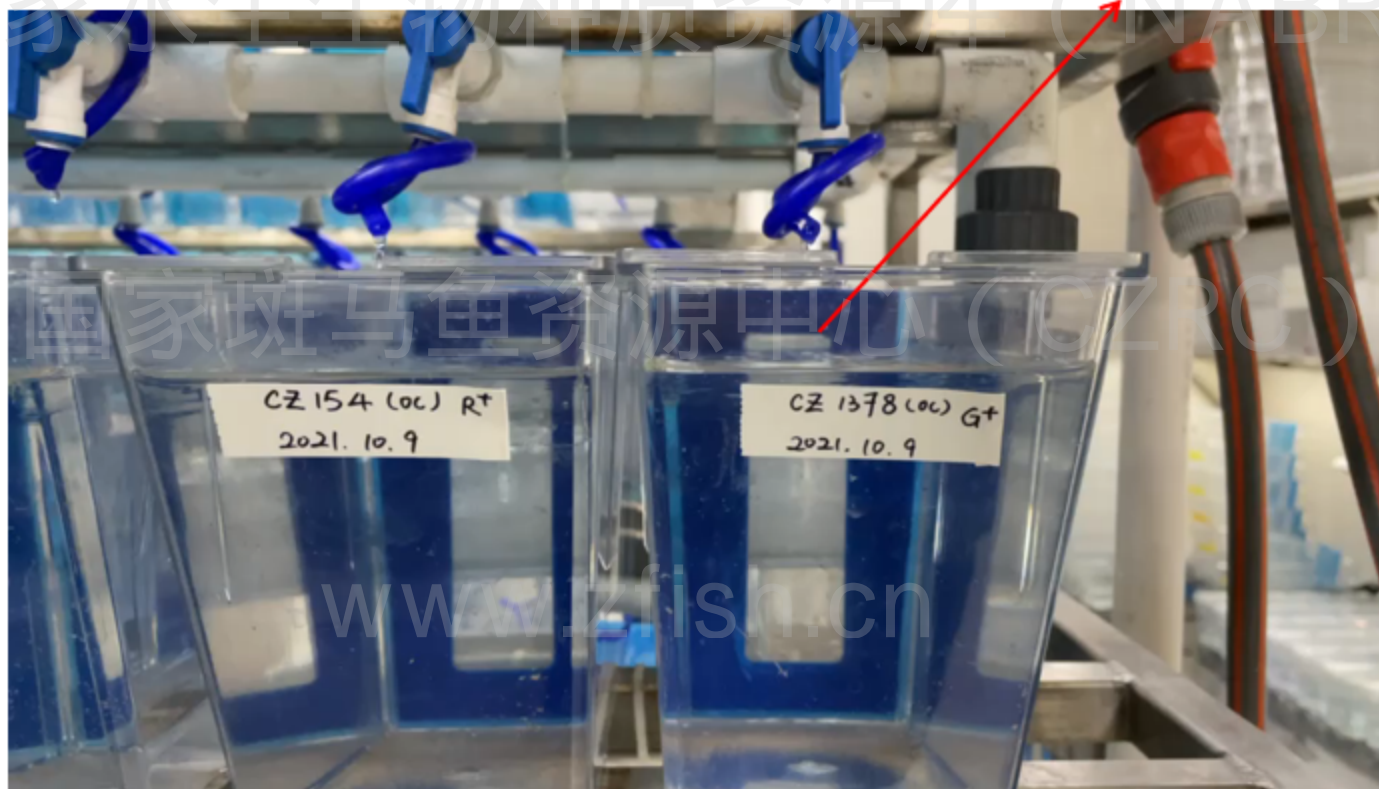
- 1) 防止换水温差过大, 造成幼苗死亡
- 2) 换水前, 用吸管吸出残渣及死苗
- 3) 内缸提起和放下时, 动作缓慢轻柔
- 4) 冬季可在幼苗养殖缸底部铺上恒温加热垫



# 幼鱼的饲养

- 幼鱼初期 (16—30 dpf)

插板40目以上

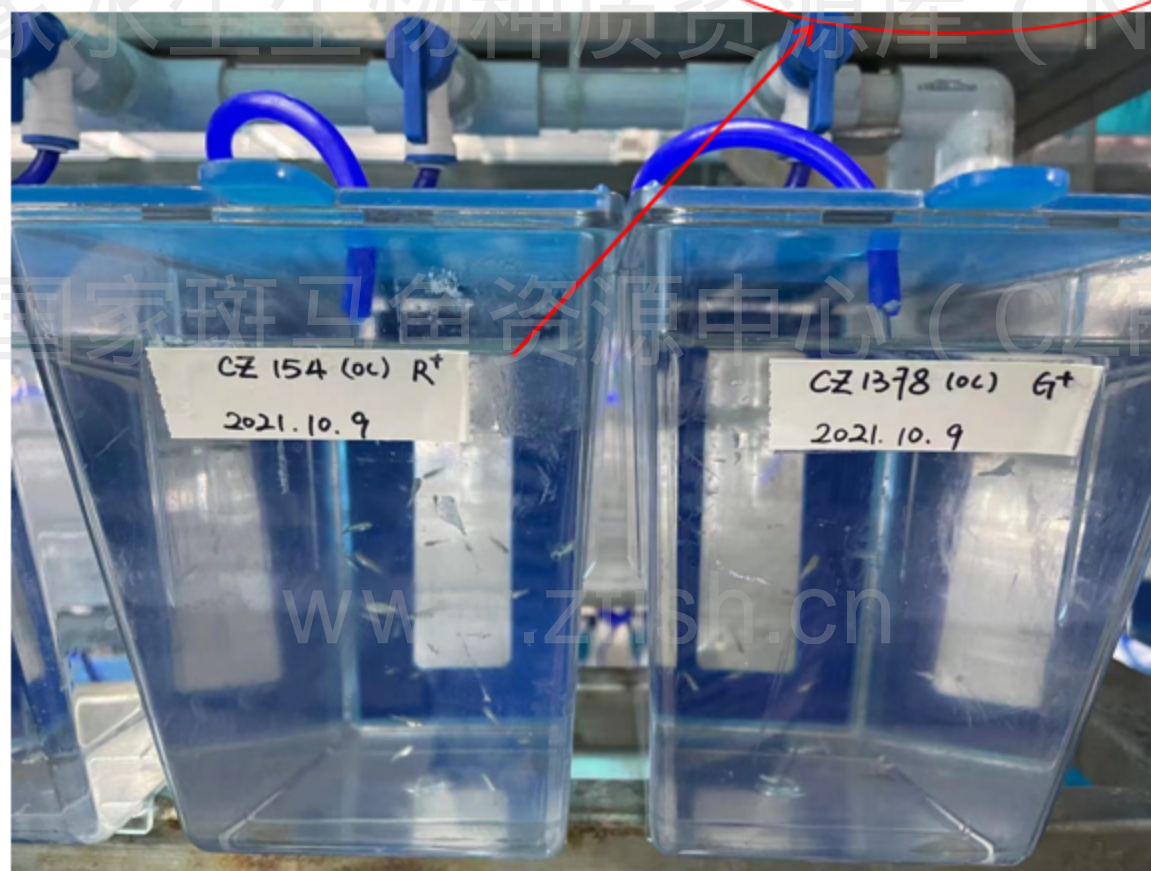


养殖密度一般不超过**30尾/L**，每日投喂**2—3次**丰年虫

# 幼鱼的饲养

- 幼鱼后期 (31—90 dpf)

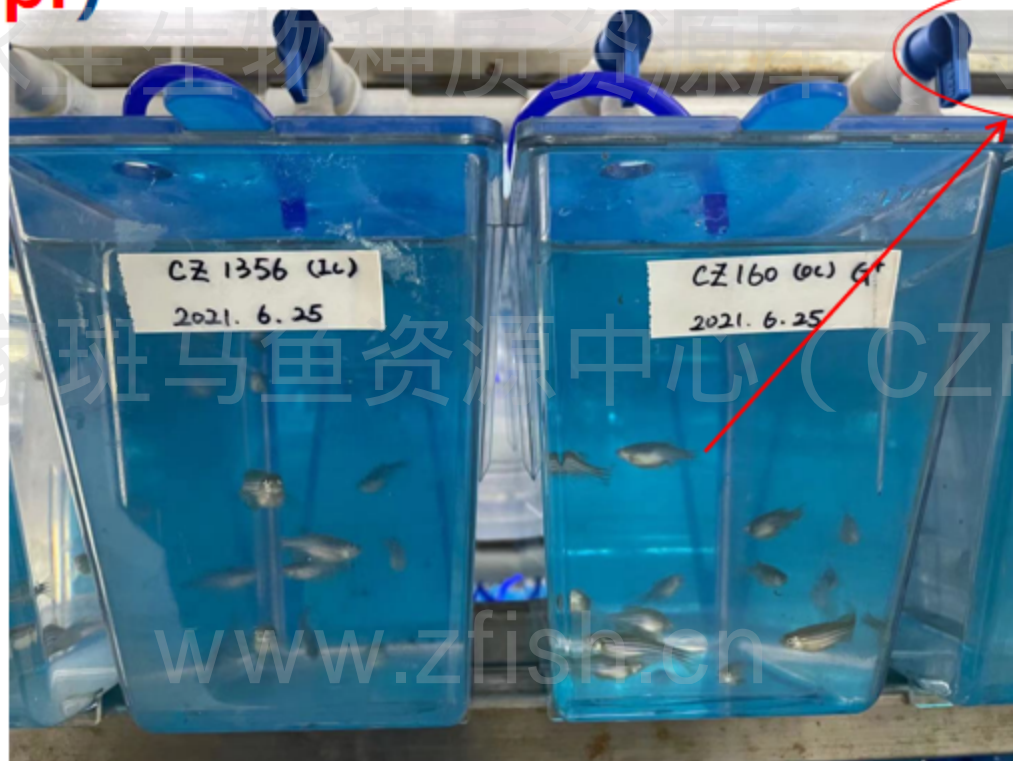
插板20目



养殖密度一般不超过**10尾/L**，每日投喂**2—3**次丰年虫

# 成鱼的饲养

- 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

# 斑马鱼的饲养

养殖密度:  $\leq 50$ 枚/90mm平皿

$\leq 100$ 尾/L

$\leq 30$ 尾/L

$\leq 10$ 尾/L

5-8尾/L

0—4dpf

5—15dpf

16—30dpf

30—90dpf

> 90dpf

胚胎期  
(embryo)

幼苗期  
(baby)

幼鱼初期  
(larva)

幼鱼后期  
(juvenile)

成鱼期  
(adult)

食物:

无需喂食

草履虫  
粉末饲料

丰年虫

丰年虫  
颗粒饲料

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

# 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

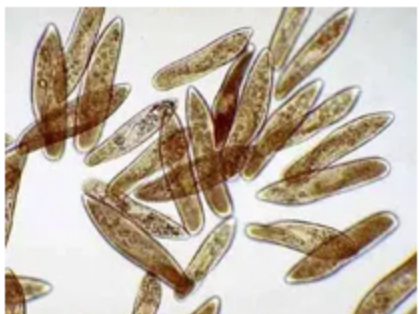
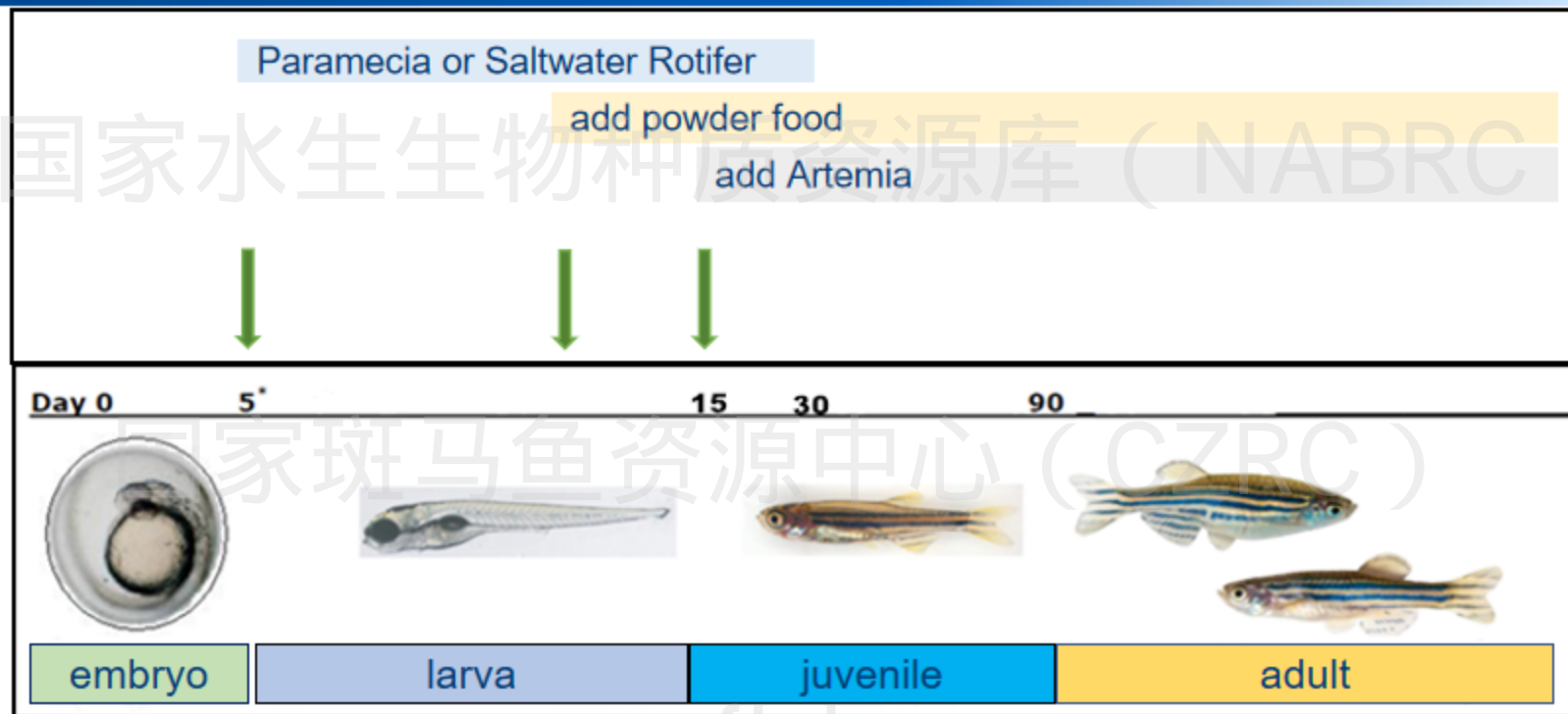
3. 品系鱼传代尽量使用侧交，避免频繁自交

4. 不同用途的野生型斑马鱼分开饲养

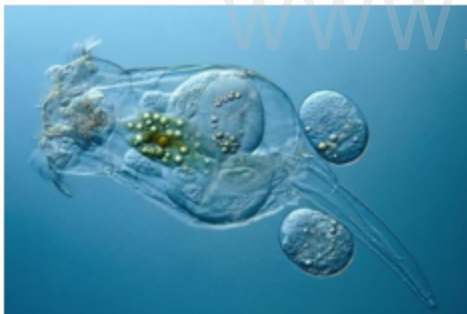
# 斑马鱼的饲养与繁育

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

# 斑马鱼的饲养饵料



250 x 50  $\mu\text{m}$



<



400 x 200  $\mu\text{m}$

<



100-450  $\mu\text{m}$

# 开口饲料的区别

	草履虫	轮虫( <i>Brachionus plicatilis</i> )	粉末饲料
直径	80—280 $\mu$ m	40-230 $\mu$ m	20-340 $\mu$ m
培养条件	酵母培养液	饵料藻类（微绿球藻等）培养	——
投喂密度	>100个/mL	~1000 个/mL	1-2ng/mL
优点	易被鱼苗捕食，容易消化、水质污染小	适口性好，营养价值（氨基酸含量）高	保存（常温，防潮）方便，直接投喂
缺点	培养条件要求高，稳定性差	培养条件要求高	营养成分不确定，易沉降，败坏水质



# 丰年虫孵化法

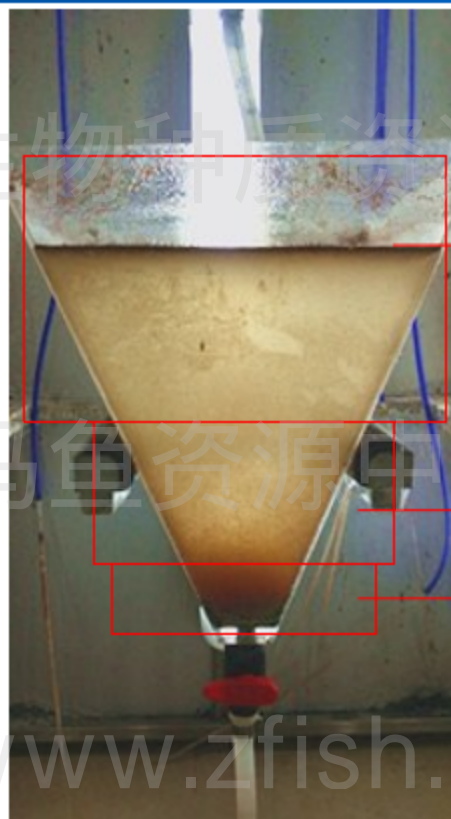
孵化相关参数	实际操作方法
盐度: 15 — 25 ppt	200 mL烧杯量取海盐200 mL ( $\approx 230$ g/12L), 盐度 $\approx 20$ ppt
pH: <b>&gt; 8.0</b>	药品勺取一大勺 $\text{NaHCO}_3$ ( $\approx 8.5$ g/12L), pH 8.0 — 8.2
虫卵孵化密度: <b>&lt; 3 g/L</b>	200 mL烧杯量取62.5 mL卵 ( $\approx 30$ g/12L), 密度 $\approx 2.5$ g/L
温度: 25 — 30°C	饵料间室温在28°C左右
孵化时间: 24 — 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



- **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。
- **繁育饲养：**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。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。
- **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。

# 第21期全国斑马鱼技术培训（在线）会议



## 本讲内容完毕

### 欢迎交流

☎: 027-68780570    📧: lilinglu@ihb.ac.cn



中国斑马鱼信息中心