

## 讲座五 斑马鱼的饲养与繁育

国家水生生物种质资源库 (NABRC)

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

[www.zfish.cn](http://www.zfish.cn)  
lilinglu@ihb.ac.cn

# 斑马鱼的饲养与繁育

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

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

# 斑马鱼的饲养与繁育

- 养殖环境

- 自然繁育 国家水生生物种质资源库 (NABRC)

- 体外受精技术

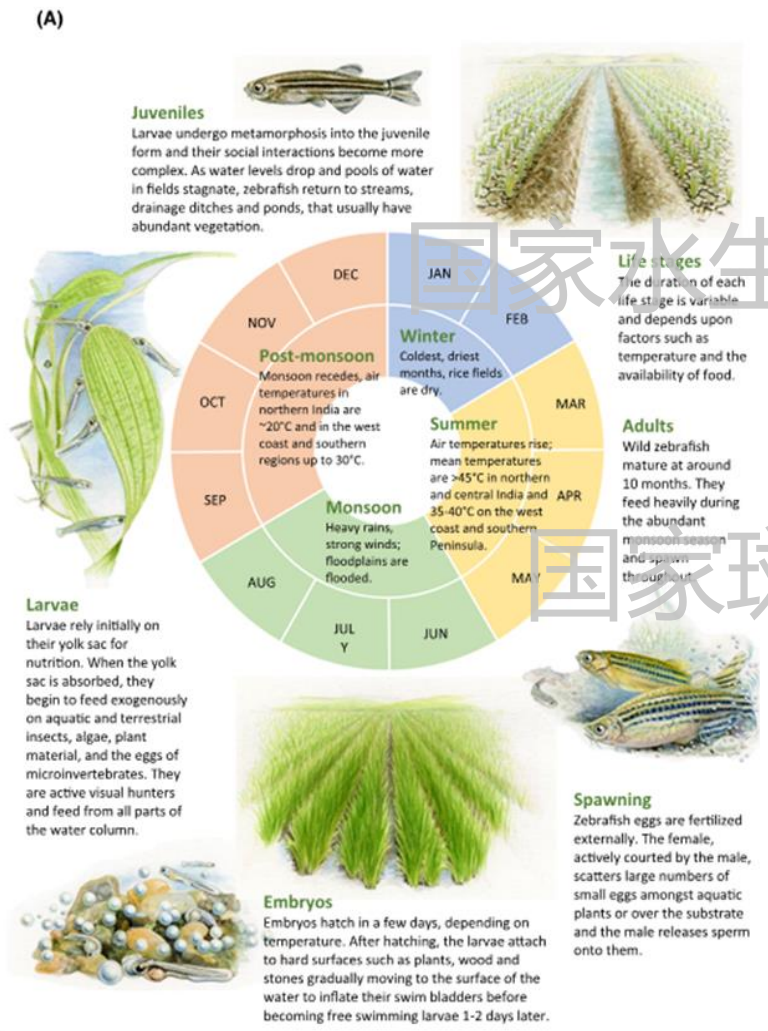
- 幼苗及幼鱼的饲养 国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

- 成鱼的饲养

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

- 活饵的培养

# 野生斑马鱼 VS 实验室斑马鱼

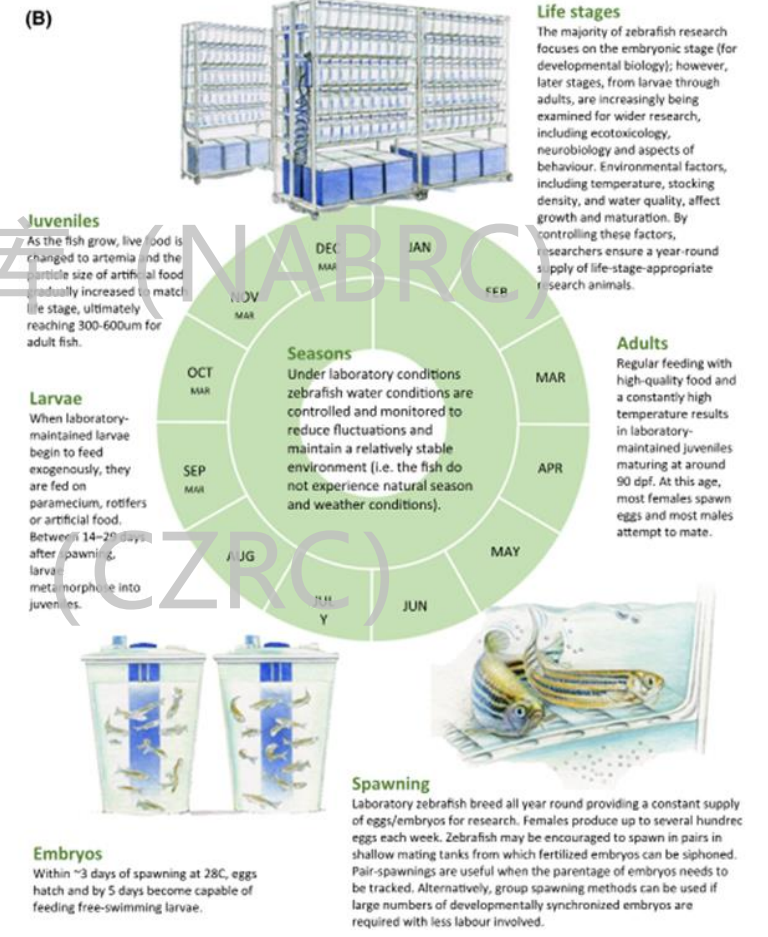


**Physical environment**

Water quality, Water flow,  
 Light, Temperature, Physical space  
 Environmental enrichment

**Social environment**

Sociodynamics,  
 Spawning, Kinship  
 Stocking density



www.zfish.cn

## • 温度(Temperature)

耐受范围: 15—39 °C

水温适宜范围: 24—29 °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



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)

# 养殖环境——盐度、电导率和硬度

## • 盐度(Salinity)

最适范围：0.25—0.75‰

## • 电导率(Conductivity)

养殖范围：200—1700  $\mu\text{S}/\text{cm}$

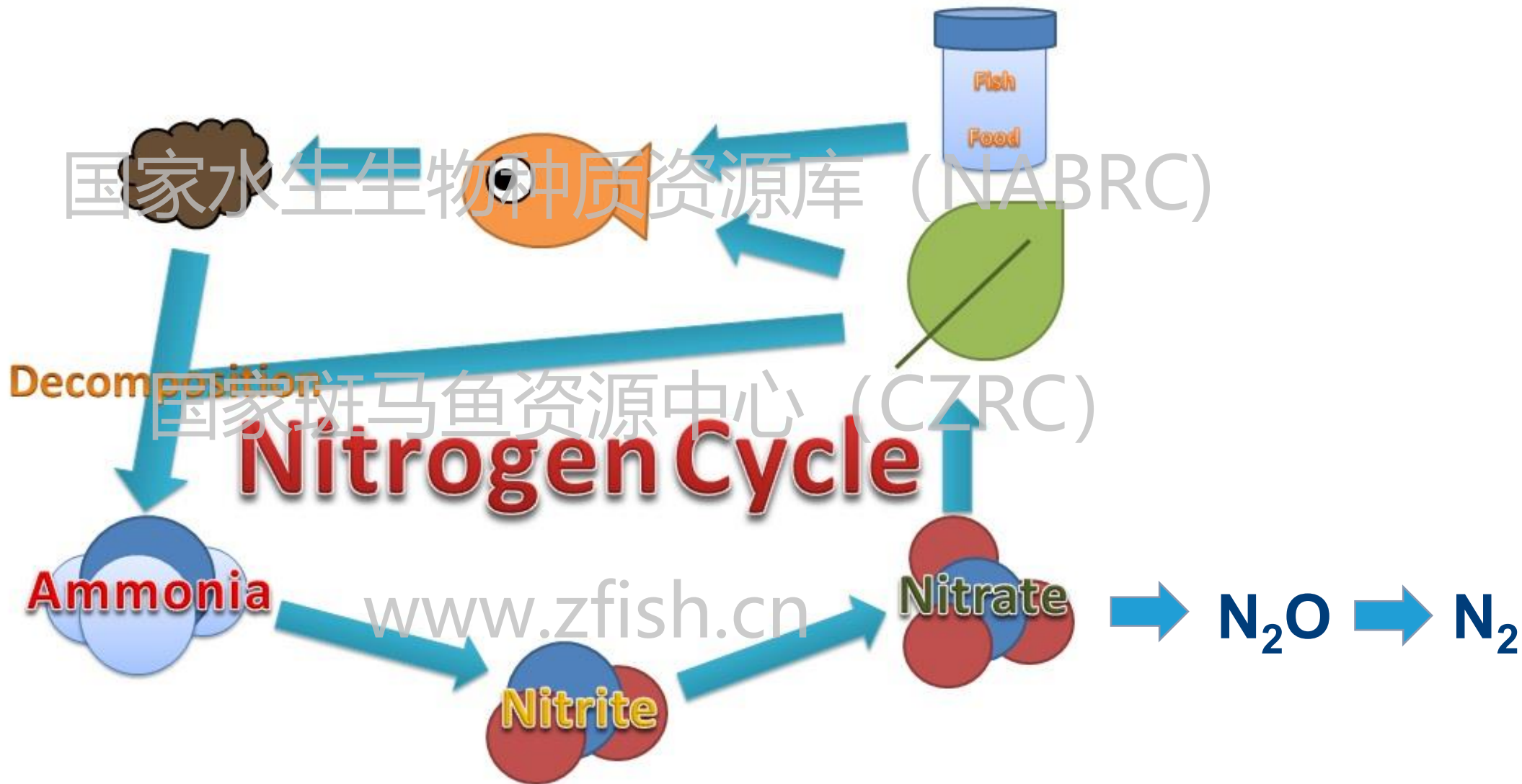
最适范围：500—800  $\mu\text{S}/\text{cm}$ 左右

## • 硬度(Hardness)

最适范围：100—200 mg/L



# 水体中的氮循环



- **总氨氮 (TAN,  $\text{NH}_4^+ + \text{NH}_3$ )**  
Un-ionized ammonia ( $\text{NH}_3$ ) **< 0.02 mg/L** (NABRC)
- **亚硝酸盐(Nitrite,  $\text{NO}_2^-$ ) < 0.5 mg/L**  
(CZRC)
- **硝酸态盐(Nitrate,  $\text{NO}_3^-$ ) < 10 mg/L**



- **溶解氧(D.O<sub>2</sub>): 6 — 7.8 mg/L**
- **氯(Chlorine): 0 mg/L**
- **二氧化碳(CO<sub>2</sub>): < 15 mg/L**
- **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

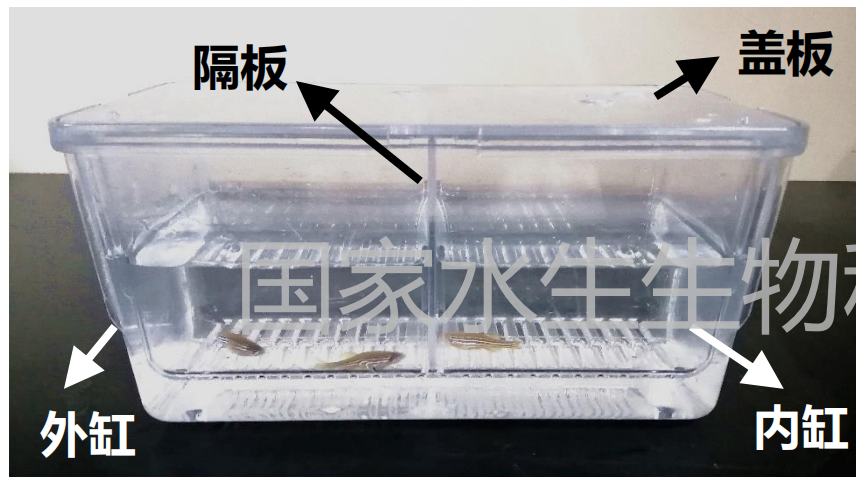
水质参数	检测频率	推荐范围	调整方案(低)	调整方案(高)
水温	每天	26-29°C	将加热恒温器调高	将加热恒温器调低
pH	每天	7-8	缓慢加入碳酸氢钠溶液	缓慢加入稀盐酸或醋酸溶液
电导率	每天	500-800 $\mu$ S	缓慢加入海盐溶液	缓慢加入RO/DI纯水
硬度	每周	100-200 ppm	缓慢加入海盐溶液	缓慢加入RO/DI纯水
溶解氧	每周	6-7.8 mg/L	增加曝气, 增加换水频率, 降低养殖密度	减少曝气, 检查排气管状况
CO <sub>2</sub>	每周	< 15 mg/L	——	增加曝气, 增加换水频率, 加大通风面积
总氨氮	每周	< 0.1 mg/L	——	增加换水频率, 检查pH和电导率
NO <sub>2</sub> <sup>-</sup>	每周	< 0.5 mg/L	——	增加换水频率, 检查pH和电导率, 缓慢加入海盐溶液
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	每周	< 10 mg/L	——	增加换水频率

# 斑马鱼的饲养与繁育

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

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

# 斑马鱼的繁殖



国家水生生物种质资源库 (NABRC)

配鱼



交配, 完成受精



0—4 dpf

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

# 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)

A photograph of two zebrafish swimming in a dark tank. The fish are positioned horizontally, one slightly above and to the left of the other. They have characteristic horizontal stripes. The background is black, making the fish stand out. The text 'www.zfish.cn' is overlaid on the bottom center of the image.

# Q: 鱼为什么不产卵?

可能的原因:

- 投喂不足或营养单一
- 种质退化
- 水质 (pH、水温、氨氮、硬度) 异常
- 光照周期混乱和光照强度不够
- 鱼的健康出现问题
- 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 **国家水生生物种质资源库 (NABRC)**
- **体外受精技术**
- 幼苗及幼鱼的饲养 **国家斑马鱼资源中心 (CZRC)**
- 成鱼的饲养
- 活饵的培养

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

## 雄鱼

- 年龄：3-18个月
- 与雌鱼隔离半月以上

## 雌鱼

- 年龄：6-18个月
- 有交配经历
- 近一周内没有配鱼产卵

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

- 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



# 体外受精操作准备

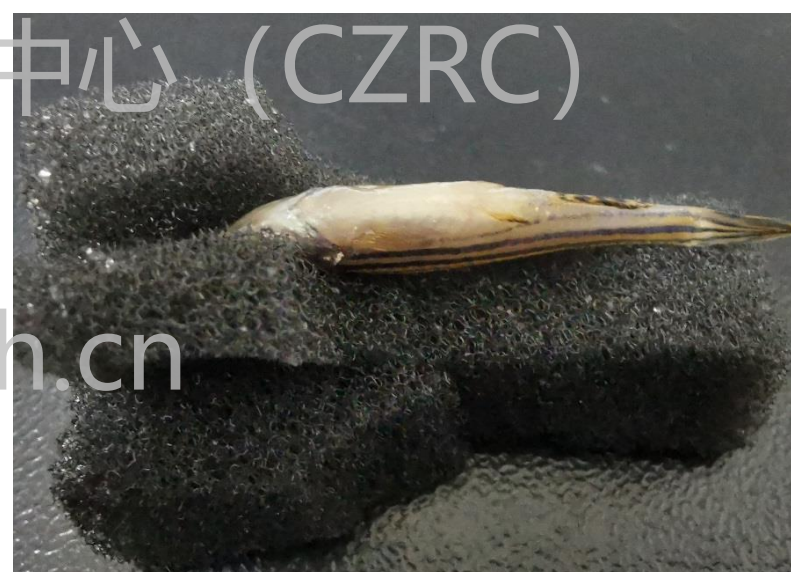
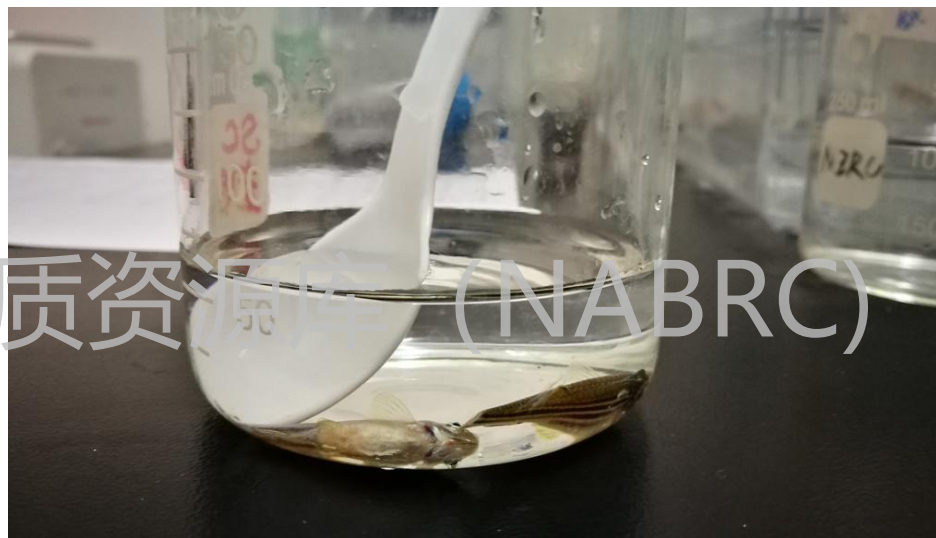
- 前一天准备鱼：1M & 2-3F
- 用隔板隔开，不要接触
- 尽量多的准备相应的雌鱼
- 须在早上开灯后3小时内完成
- 新鲜收集精子需要先操作，再收集雌鱼鱼卵



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



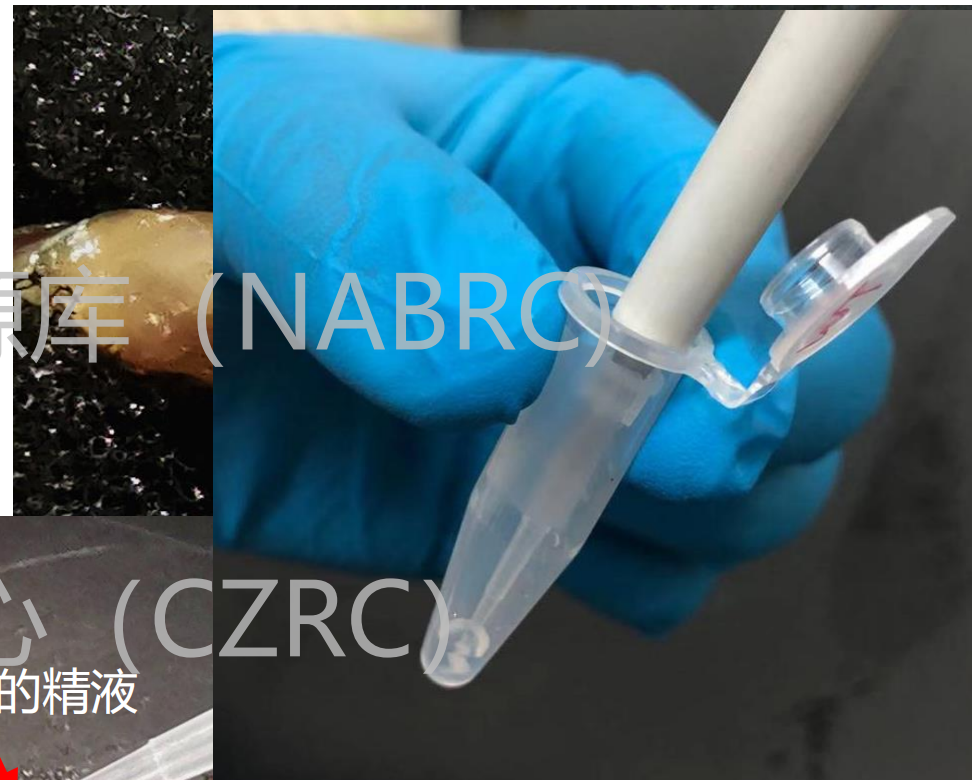
国家水生生物种质资源库 (NABRC)

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

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

# 精液收集操作要点

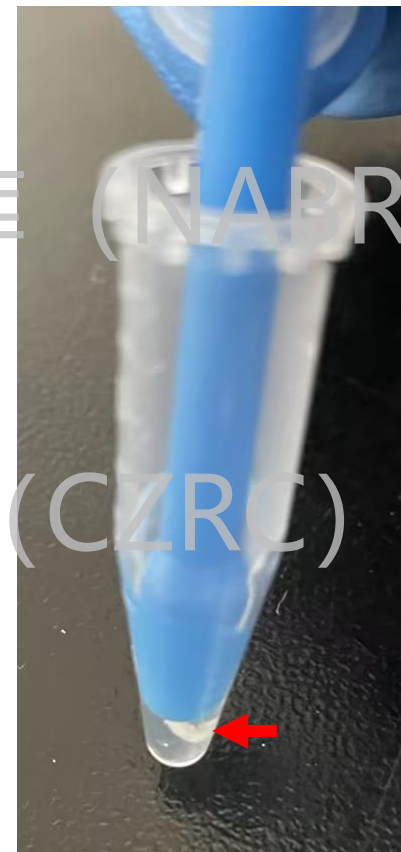
- 分开腹鳍
- 用镊子挤压鱼腹
- 收集精液
- 放入装有hanks buffer溶液的EP管中



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

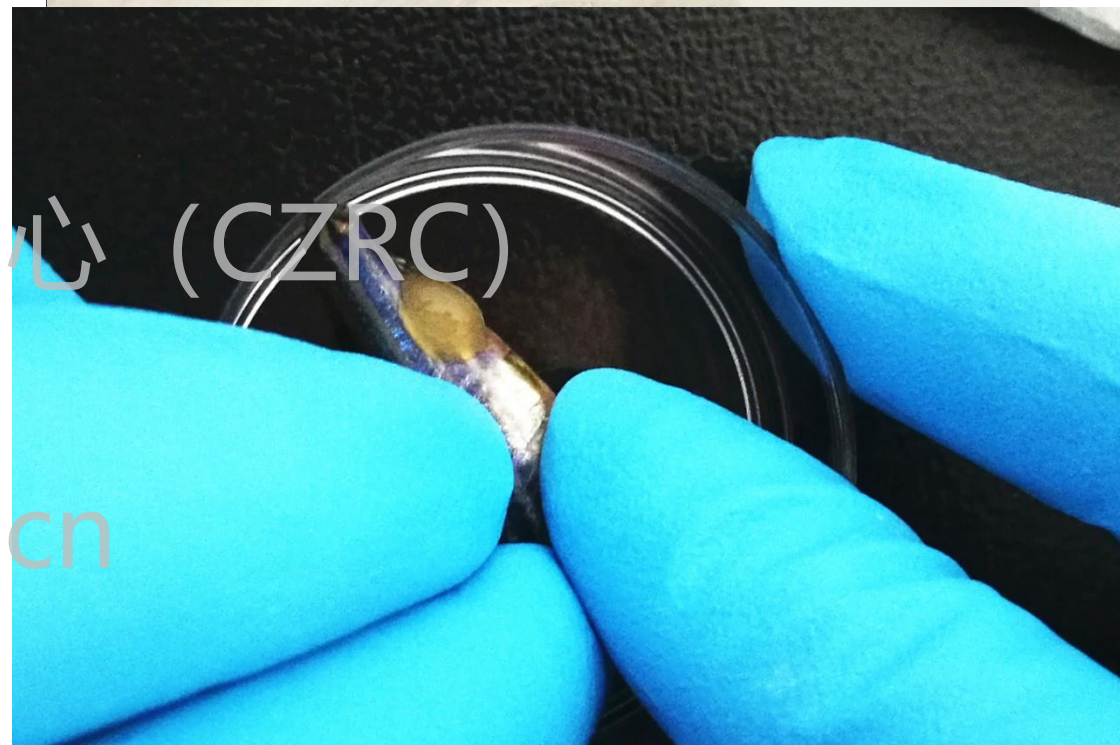
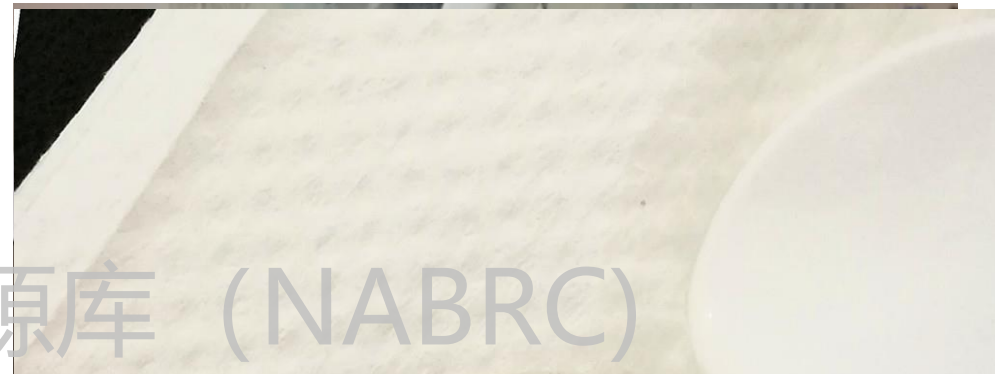
# 精巢收集操作要点

- 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

# 收集雌鱼卵子操作

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



国家水生生物种质资源库 (NABRC)

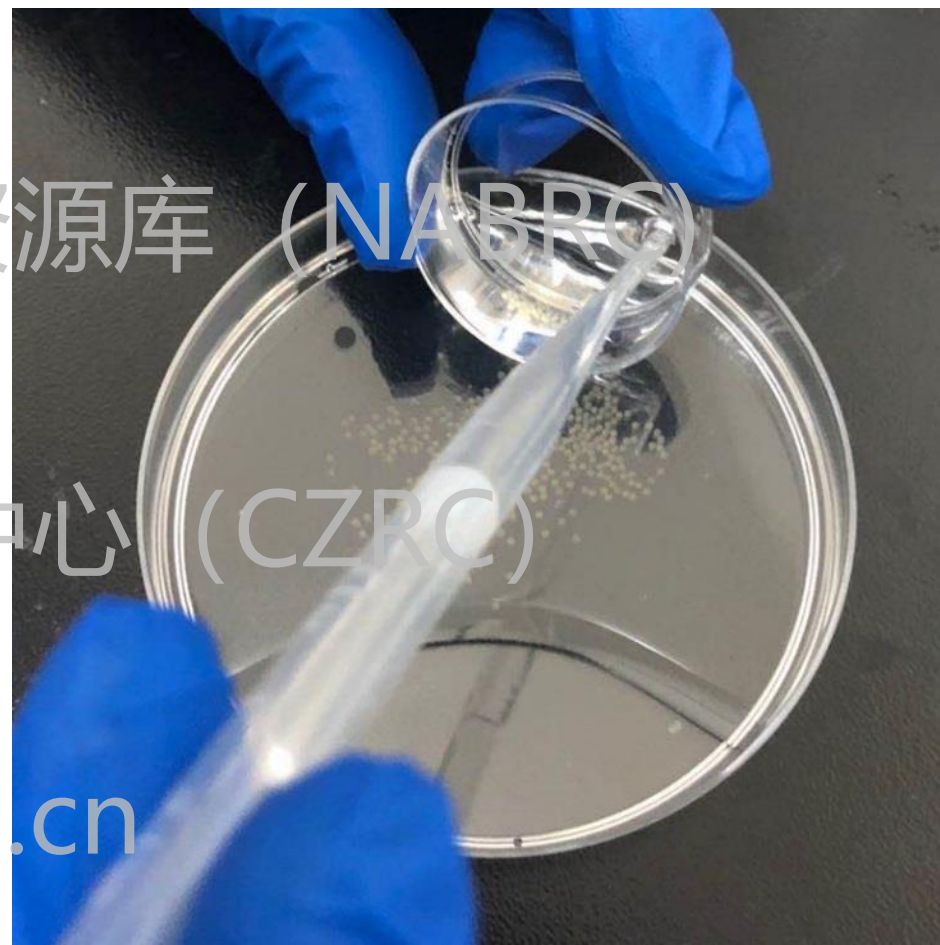
国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

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

# 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1-1.5 mL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

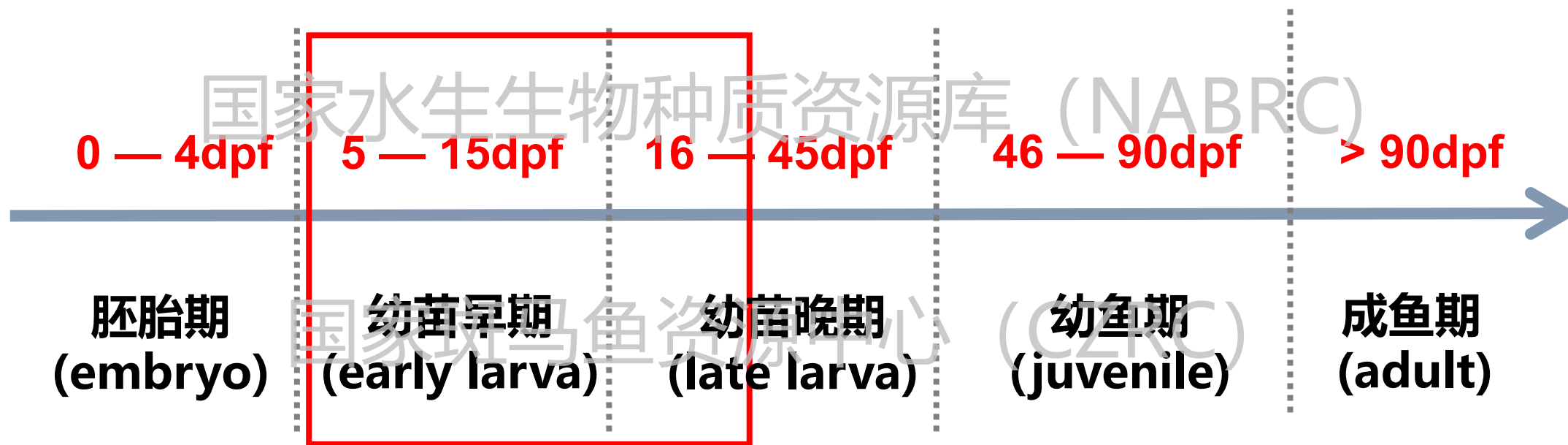


# 斑马鱼的饲养与繁育

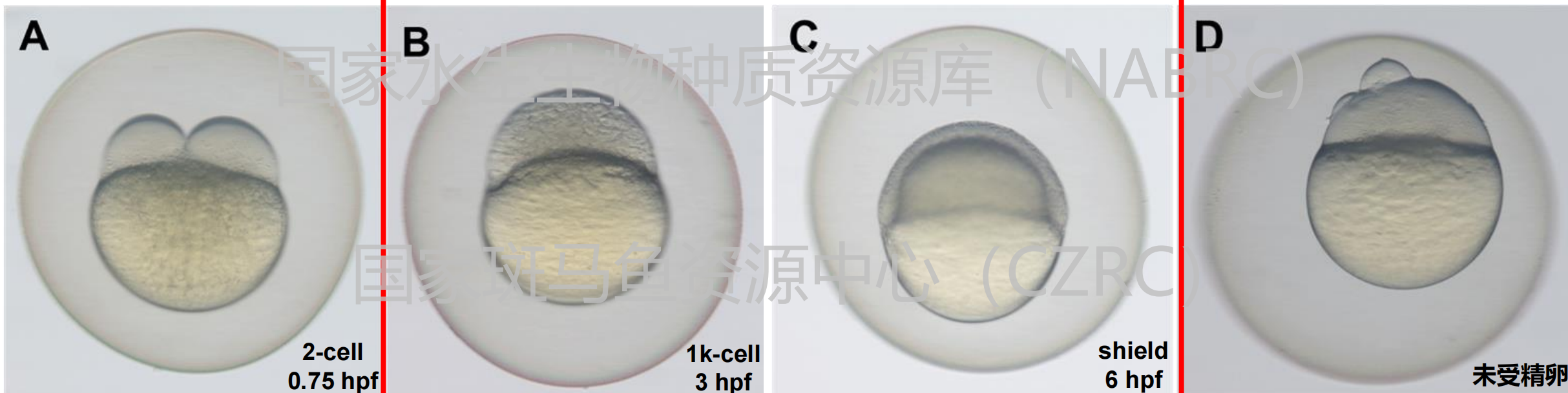
- 养殖环境
- 自然繁育
- 国家水生生物种质资源库 (NABRC)
- 体外受精技术
- **幼苗及幼鱼的饲养**
- 成鱼的饲养
- 活饵的培养

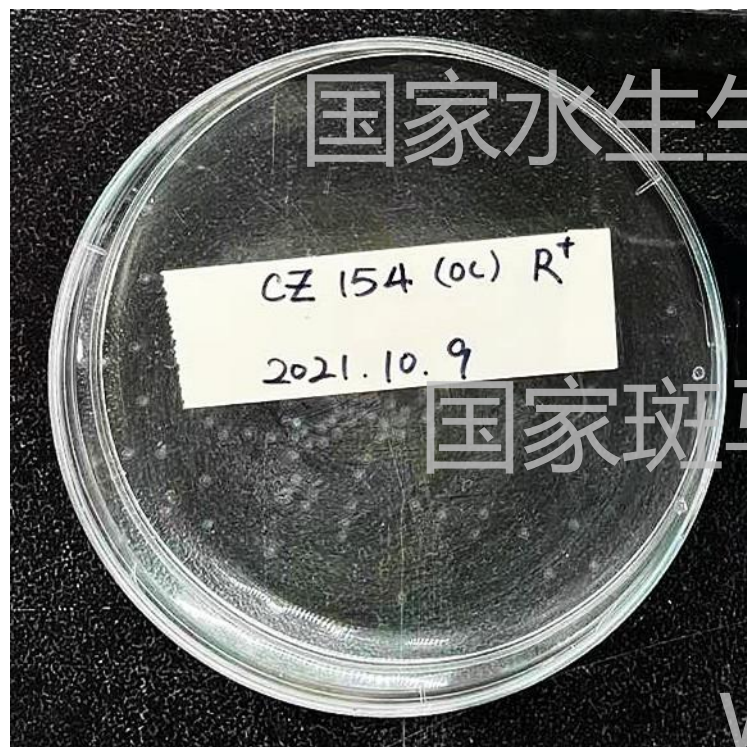
[www.zfish.cn](http://www.zfish.cn)

# 斑马鱼的饲养



# 胚胎的培养





0—4 dpf

国家水生生物种质资源库 (NABRC)

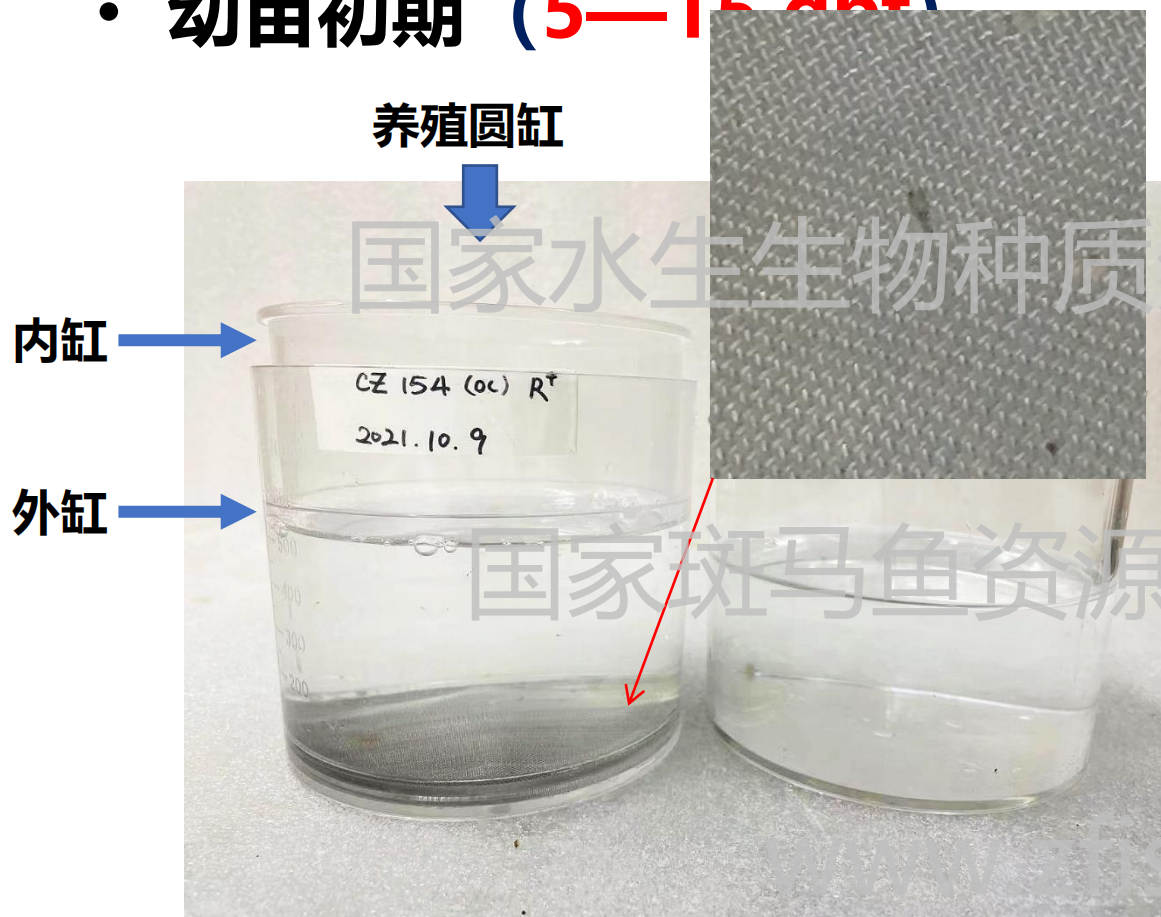
- 注意:
- 1) 胚胎用0.003%次氯酸钠溶液消毒后, 养殖在浓度为0.5 mg/L的亚甲基蓝养殖水中
  - 2) 每天吸出胎膜或死胚, 并换水一次
  - 3) 0—4 dpf胚胎不需要喂食
  - 4) 90 mm培养皿养殖密度不宜超过50枚

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

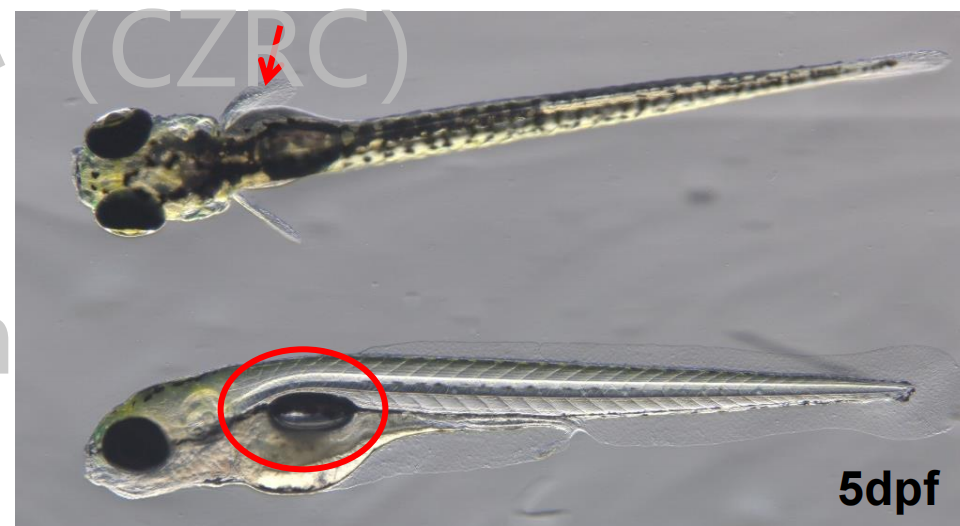
[www.zfish.cn](http://www.zfish.cn)

# 幼苗的饲养

## • 幼苗初期 (5—15 dpf)

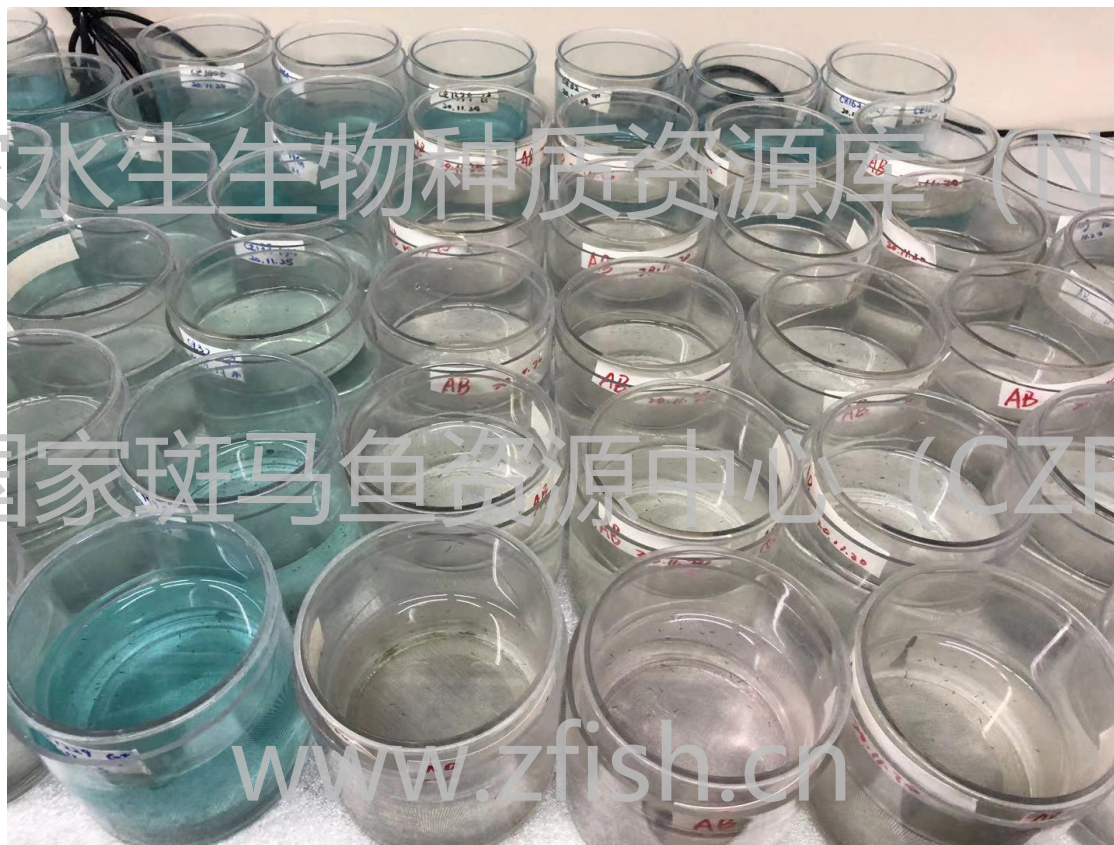


放入幼苗养殖缸，斑马鱼幼苗开始摄食



# 幼苗的饲养

- 幼苗初期 (**5—15 dpf**)



国家水生生物种质资源库 (NABRC)

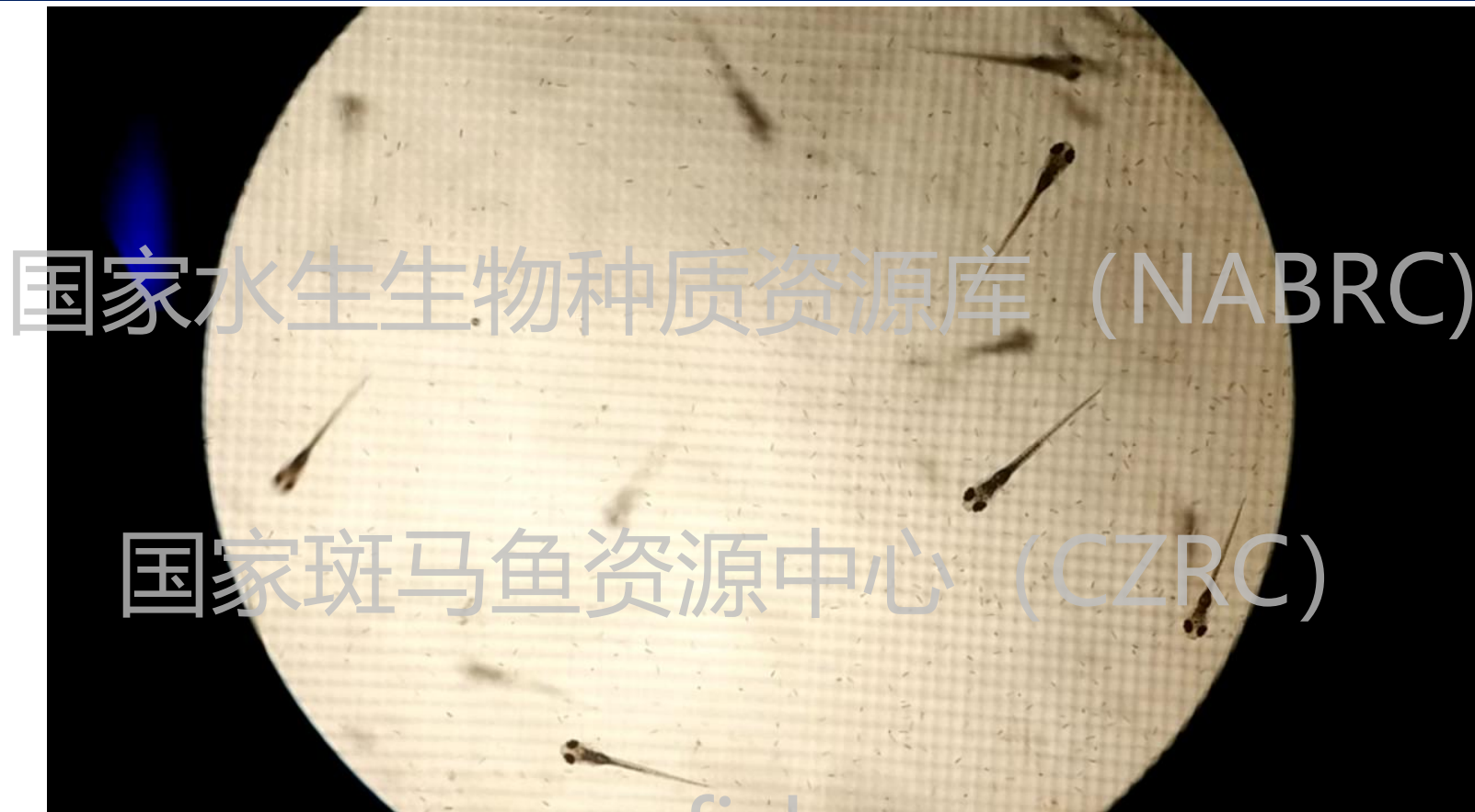
国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

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

养殖密度一般为**50尾/L**，不超过**100尾/L**



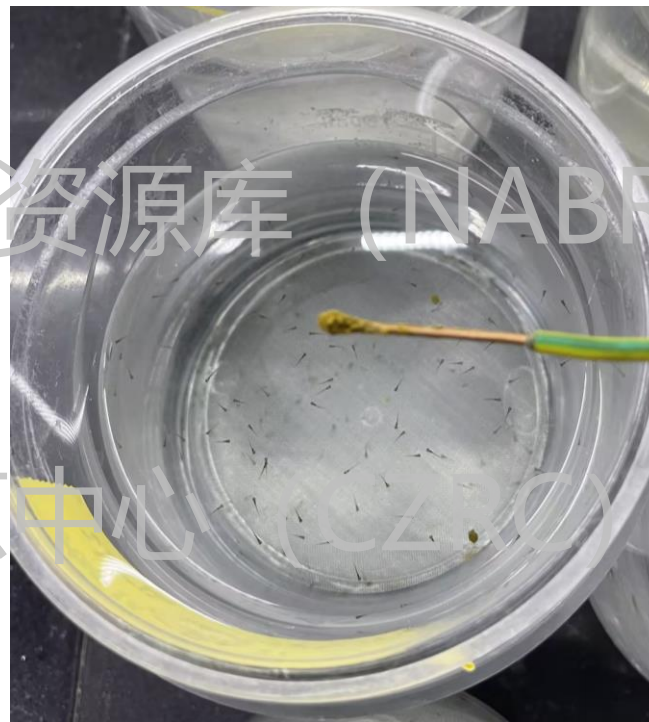
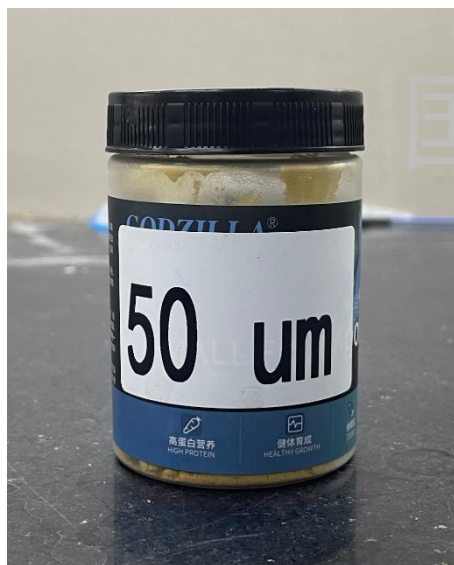
# 幼苗的饲养



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 $\mu$ 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



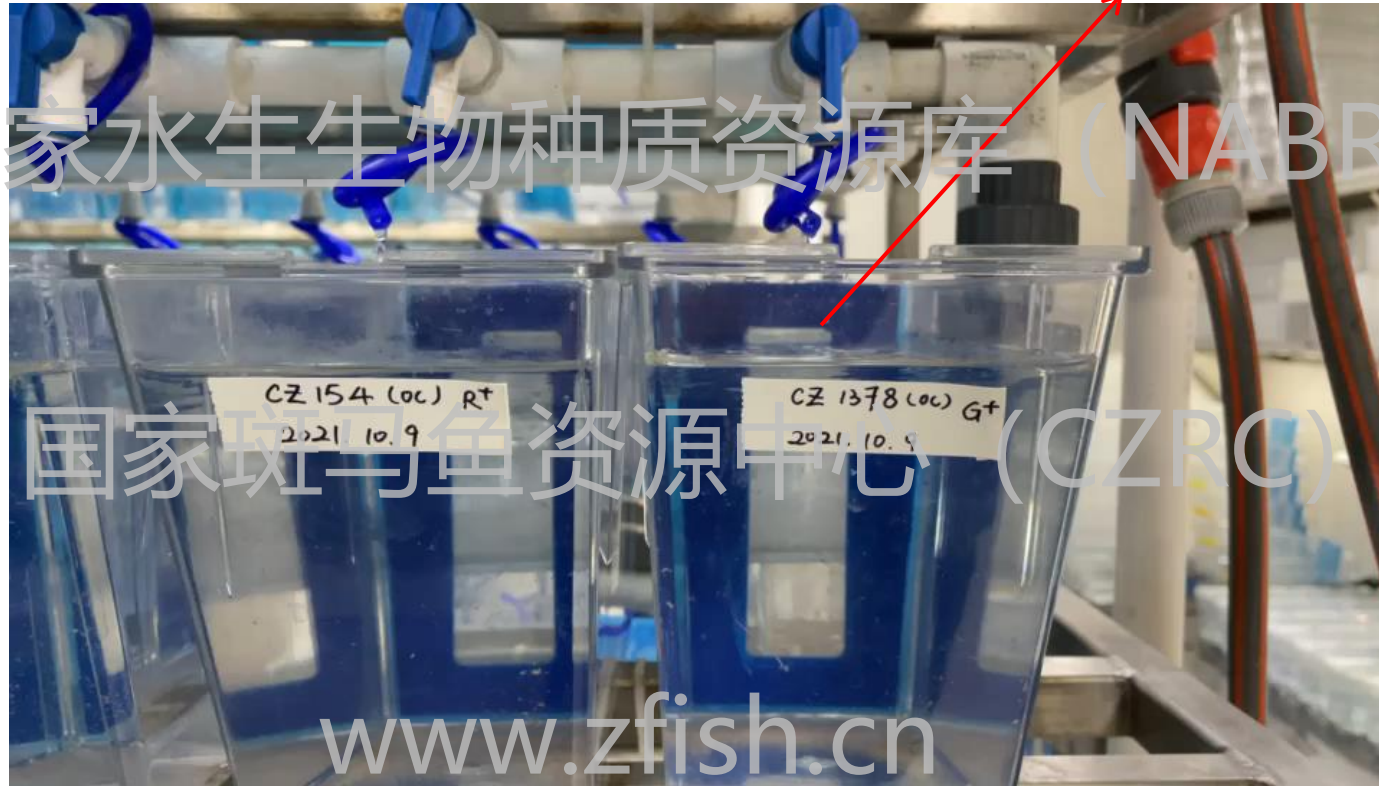
## 注意:

- 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

# 幼苗的饲养

- 幼苗晚期 (**16—45 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

- 幼鱼期 (46—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)



成鱼插板

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)

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: ≤50枚/90mm平皿

≤ 100尾/L

≤ 30尾/L

≤ 10尾/L

5-8尾/L

0—4dpf

5—15dpf

16—45dpf

46—90dpf

> 90dpf

胚胎期  
(embryo)

幼苗初期  
(early larva)

幼苗晚期  
(late larva)

幼鱼期  
(juvenile)

成鱼期  
(adult)

食物:

无需喂食

草履虫  
粉末饲料

丰年虫  
粉末饲料

丰年虫  
颗粒饲料

丰年虫  
颗粒饲料

换水频率:

每日换水

每日换水

~100滴/min  
滴水

10L/h流水

10L/h流水

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

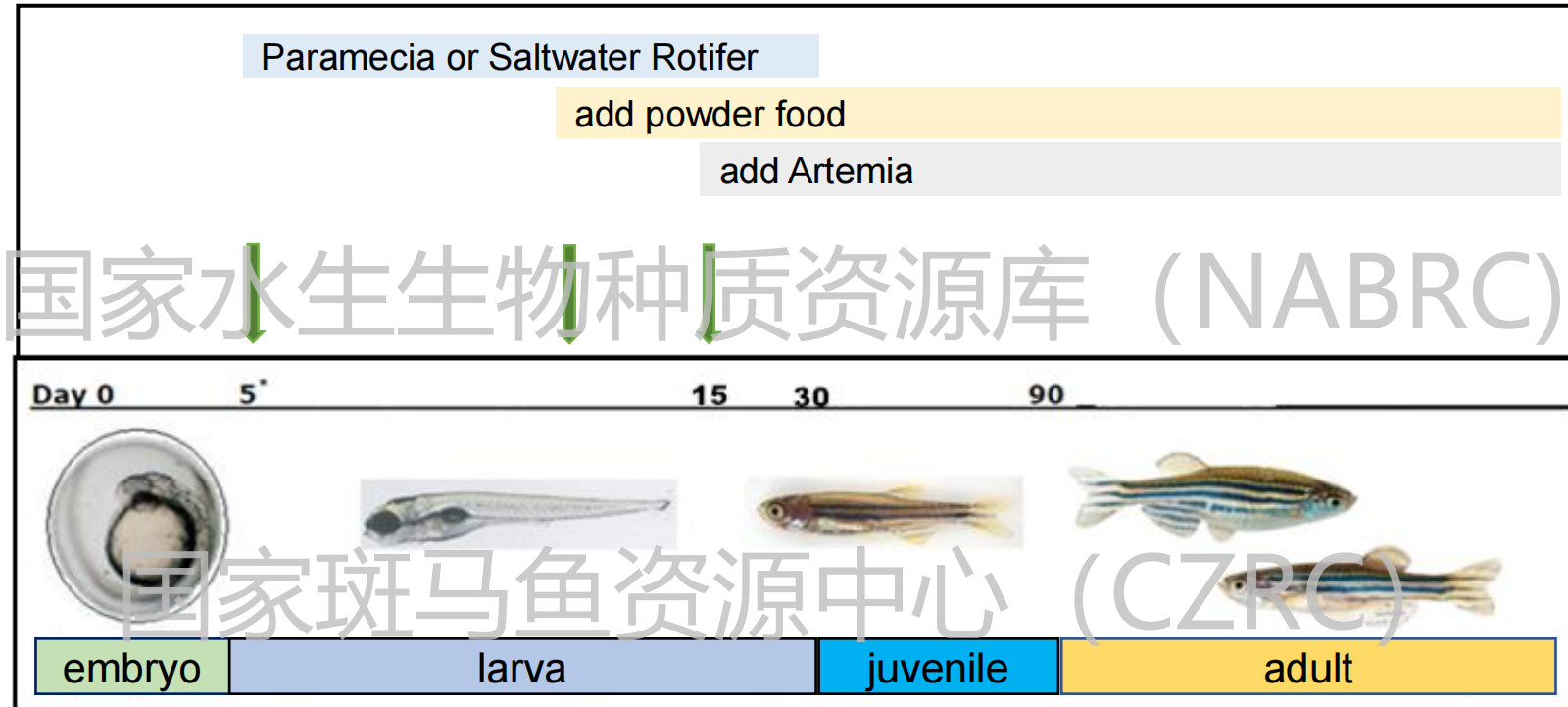


# 斑马鱼的饲养与繁育

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

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

# 斑马鱼的饲养饵料



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



<



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

<



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

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)

# 开口饲料的区别

	草履虫	轮虫( <i>Brachionus plicatilis</i> )	粉末饲料
直径	80—280 $\mu\text{m}$	40—230 $\mu\text{m}$	20—340 $\mu\text{m}$
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	1-2 ng/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

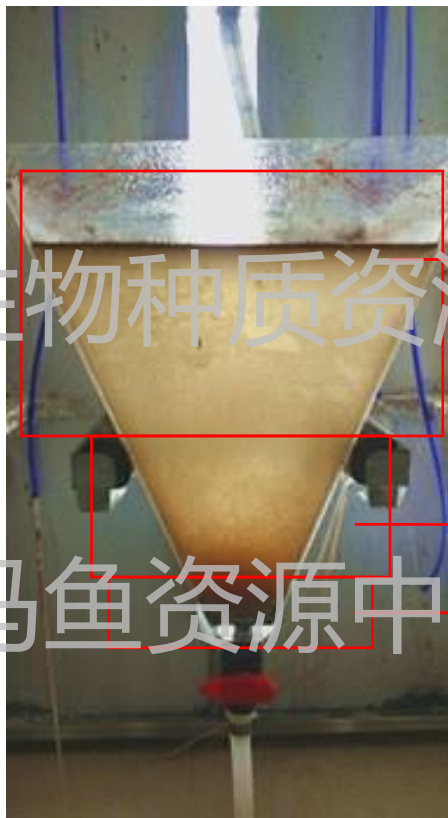
孵化相关参数	实际操作方法
盐度: 15 — 25 ppt	200 mL烧杯量取海盐200 mL ( $\approx 230$ g/12L), 盐度 $\approx 20$ ppt
pH: > 8.0	药品勺取一大勺 $\text{NaHCO}_3$ ( $\approx 8.5$ g/12L), pH 8.0 — 8.2
虫卵孵化密度: < 3 g/L	200 mL烧杯量取62.5 mL卵 ( $\approx 30$ g/12L), 密度 $\approx 2.5$ g/L
温度: 25 — 30 °C	饵料间室温在28°C左右
孵化时间: 24 — 30 h	通气孵化24 h后收取已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

# 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；幼苗初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**：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

## 本讲内容完毕

国家水生生物种质资源库 (NABRC)  
欢迎交流

国家斑马鱼资源中心 (CZRC)



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

中国斑马鱼信息中心