

ICS 65.150
CCS B50

DB46

海 南 省 地 方 标 准

DB 46/ T 508—2020

尖吻鲈人工催产技术规程

Guidelines for Lates calcarifer artificial spawning technique

2020 - 11 - 16 发布

2020 - 12 - 15 实施

海南省市场监督管理局 发布

前 言

本文件按照 GB/T 1.1-2020 给出的规则起草。

本文件由原海南省海洋与渔业厅提出，海南省农业农村厅归口。

本文件起草单位：中国水产科学研究院南海水产研究所热带水产研究开发中心、中国水产科学研究院南海水产研究所、三亚热带水产研究院。

本文件主要起草人：马振华、杨蕊、胡静、周胜杰、赵旺、于刚、陈旭、杨其彬。

尖吻鲈人工催产技术规程

1 范围

本文件规定了尖吻鲈 (*Lates calcarifer*) 人工催产的环境条件、亲鱼、催产操作、受精卵和产后亲鱼护理等技术要求。

本文件适用于尖吻鲈的人工催产。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件。不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB 11607 渔业水质标准

GB/T 22213-2008 水产养殖术语

GB/T 22919.3 水产配合饲料 第3部分:鲈鱼配合饲料

NY 5051 无公害食品 淡水养殖用水水质

NY 5052 无公害食品 海水养殖用水水质

NY 5071 无公害食品 渔用药物使用标准

NY 5072 无公害食品 渔用配合饲料安全限量

SC/T 9103 海水养殖水排放要求

3 术语和定义

下列术语和定义适用于本文件。

3.1

尖吻鲈 *Lates calcarifer*

俗称盲鳢、金目鲈,属鲈形目(Perciformes)、尖吻鲈科(Latidae)、尖吻鲈属(*Lates*),为一种肉食性、广盐性鱼类。

3.2

产卵池 spawning pond

适宜水产动物亲本产卵、受精的水池。

(GB/T 22213-2008, 定义 4.7)

3.3

集卵箱 egg-collecting container

安装在产卵池出水口处用于收集受精卵的网箱。

(GB/T 22213-2008, 定义 4.8)

3.4

孵化池 hatching pond

水产动物受精卵孵化的水池。

(GB/T 22213-2008, 定义 4.9)

3.5

性比 sex ratio

动物种群内的雌雄个体数量之比。

(GB/T 22213-2008, 定义 5.3)

3.6

催产剂 estrualizing agent

促使鱼类性腺成熟和产卵、排精的垂体和激素类。

(GB/T 22213-2008, 定义 5.16)

3.7

催产 induced spawning

利用注射催产剂或控制一定的生态条件促使亲本产卵或排精的措施。

(GB/T 22213-2008, 定义 5.17)

3.8

效应时间 effect time

亲本末次注射催产剂至开始发情产卵所需时间。

(GB/T 22213-2008, 定义 5.18)

4 环境条件

4.1 水环境

亲鱼产卵所用海水水质应符合GB 11607和NY 5052的要求。亲鱼产卵池水温26℃~30℃, 盐度28~32, pH 7.5~8.5, 溶解氧 ≥ 5 mg/L, 氨氮 ≤ 0.5 mg/L, 亚硝态氮 ≤ 0.3 mg/L。

4.2 光照条件

光照时长为可调节至12 h~13 h, 光照强度为2000 Lux~5000 Lux。

4.3 环境温度

环境温度26℃~35℃。

5 设施条件

5.1 养殖设施

5.1.1 亲鱼培育池

采用方圆形角的 $6\text{ m}^3\sim 10\text{ m}^3$ 的水泥池或玻璃钢桶，设中间排污，有流水设施，配备具升温与降温功能的海水循环系统。

5.1.2 产卵池

采用圆形 $10\text{ m}^3\sim 15\text{ m}^3$ 的水泥池，产卵池注排水方便，设中间排污，有流水设施，配备具升温与降温功能的海水循环系统。

5.1.3 集卵箱

产卵池的出水口处安装一个 $60\text{ cm}\times 60\text{ cm}\times 70\text{ cm}$ 筛绢集卵箱，用于收集受精卵。

5.2 供电设施

供电设备使用供电单位连接变压器供电，同时自备发电机组装置。

5.3 供氧设施

采用鼓风机、纯氧加纳米管统一供氧。

6 亲鱼

6.1 亲鱼来源

自然海区采捕、池塘养殖或者网箱养殖的尖吻鲈种鱼，避免近亲繁殖。

6.2 亲鱼选择

选择体格健壮、无病态、躯体完整、活动力强的成鱼，雄鱼3~4龄，雌鱼3.5~6龄。

6.3 亲鱼培育

6.3.1 培育条件

亲鱼培育池水温 $26\text{ }^\circ\text{C}\sim 28\text{ }^\circ\text{C}$ ，盐度 $28\sim 32$ ，pH $7.5\sim 8.5$ ，溶解氧 $\geq 5\text{ mg/L}$ ，光照时长12 h，光照强度 $2000\text{ Lux}\sim 5000\text{ Lux}$ ，氨氮 $\leq 0.5\text{ mg/L}$ ，亚硝态氮 $\leq 0.3\text{ mg/L}$ 。

6.3.2 培育密度

亲鱼培育密度 $(1\sim 3)\text{ kg/m}^3$ 。

6.3.3 亲鱼饲料投喂

以鲈鱼人工颗粒饲料为主，并添加鱿鱼、牡蛎和多维，饲料质量应符合NY 5072和GB/T 22919.3的要求。日投饵量为亲鱼体重的3%~5%，每天08:00~10:00投喂1次。

6.3.4 亲鱼管理

每天7:00~8:00换水一次，换水量约30%~50%，每天吸底，一个月换池一次。早、中、晚均要进行巡视，如发现停水、停气要及时补救恢复供水供气，如出现吐料现象则应增加供气，紧急换水。每天早

晚检测水质，并做好记录(记录模板见表A.1)；在养殖过程中，通常每隔一个月就将亲鱼进行淡水浸泡0.5 h。浸泡所用淡水水源应符合NY 5051的要求。

6.4 亲鱼生殖细胞成熟度的判别

6.4.1 亲鱼麻醉

亲鱼性腺发育情况检查前必须先进行麻醉；养殖池内水位降低至40 cm左右后进行浸泡麻醉，亲鱼培养池中放置一个1 m×1 m×1 m的水袋，内装40 cm深的海水，将麻醉调好剂量溶解至海水中，抓亲鱼至水袋中麻醉，麻醉剂采用丁香酚，安全浓度≤40 ug/L，雌雄两尾种鱼同时麻醉；麻醉后亲鱼出现失去游泳方向和腹部朝上的现象并保持该状态5 min~6 min为麻醉成功。

亲鱼用鱼架转移至固定实验台进行性腺发育检验，如果检验时间过长，需再次实施麻醉(5 ug/L~30 ug/L)；检查后，将亲鱼用鱼架移回亲鱼养殖池中，保持水池充气状态，亲鱼将在几分钟内恢复正常的游泳姿势，从麻醉状态恢复到正常状态。

6.4.2 雌鱼卵子成熟度判别

将注射器套管(5 mL一次性注射器)轻轻插入亲鱼生殖孔，深度为6 cm~8 cm，注射器柱塞略微收回；取出柱塞后，将注射器套管从生殖孔抽出；如未获得卵母细胞样本，则可以重复该过程，但不得超过3次；在显微镜下检查卵母细胞的大小和形状，成熟雌性亲鱼的卵母细胞直径大于400 μm，彼此分离并具有球形的卵黄囊。

6.4.3 雄鱼精子成熟度判别

利用毛细插管(长10 cm，直径2 mm)连接注射器插入亲鱼生殖器，抽出一小部分精子样本，当其与一滴生理盐水混合时，镜检条件下精子活跃地游泳，判定为适合进行催产。

7 催产操作

7.1 催产条件

催产前准备产卵池、集卵箱、升降温及增氧设备的安装及麻醉剂、催产剂、注射器、托盘等，并对所要用到工具及器皿等用75%的酒精喷洒消毒备用；选择表B.1(先雌后雄)所示性腺检查成熟度达到第4、5阶段的雌雄亲鱼进行催产，亲鱼性比为1:(2~3)；催产前应该注意水温变化，最适催产水温为30℃~33℃。

7.2 催产

采取药物注射的方法进行催熟，注射前需先将亲鱼麻醉，操作方法按5.5.3；采用促黄体激素释放激素类似物(LHRH-A2)和人绒毛膜促性腺激素(HCG)作为催产剂，应符合NY 5071的要求；将正确剂量的激素溶解在无菌生理盐水中并将其稀释至1 mL，该溶液装入连接有25号针头的注射器中；亲鱼均通过背部肌肉注射。注射点鱼鳞无需去除，针头挑起鱼鳞、穿过鳞片底部的柔软区域，在第一背鳍和第二背鳍连线的中点垂直向下3 cm处进行注射。雌鱼的适用浓度分别为15 μg/kg~25 μg/kg的LHRH-A2和4 IU~10 IU的HCG，雄鱼的适用浓度分别为15 μg/kg~20 μg/kg的LHRH-A2和4 IU~8 IU的HCG；注射完毕将亲鱼放到产卵池中。

7.3 催产日志

每次催产前后都要按表A.2的格式做好催产记录。

8 受精卵

8.1 受精

水温23℃~26℃时，效应时间达到35h~40h后，亲鱼在产卵池中自然交配后自行产卵并在产卵池中自行完成受精过程。

8.2 受精卵收集

将产卵池中的受精卵收集至集卵箱，搅拌至旋转后静置1min，采用虹吸法（重复2~3遍）去除受精卵中死卵和杂质。

8.3 受精卵的消毒

8.3.1 受精卵消毒方法

受精卵的臭氧处理方法是采用浓度约为0.5mg/L的臭氧在海水中浸泡2min，采用比色试剂盒对海水中的臭氧浓度进行测定后加入受精卵。

8.3.2 臭氧浓度（CT）测定方法

$$CT = (OzS + OzE) / 2 \times T$$

公式中：

CT —平均臭氧浓度（mg/L）

OzS —初始时的臭氧浓度

OzE —消毒完成时的臭氧浓度

T —时间，单位为分钟。

在消毒过程中，将受精卵所处CT范围为0.8~0.9。

8.4 质量判别

在海水中强力地漂浮的受精卵质量为佳，而微弱浮动或沉没的受精卵为劣质受精卵；采用显微镜对受精卵镜检，直径在800μm~850μm之间且具有单个油滴的为优质受精卵，优质受精卵用于孵化使用。

8.5 受精卵的孵化

孵化池配备流水设施，靠近产卵池，旁边配备控温的海水循环系统蓄水池，温度控制在24℃~26℃，为孵化池注水用；采用纳米增氧管充气，溶解氧保证在5mg/L以上；孵化时，受精卵密度为2000ind/L；测算孵化率需达到80%以上；孵化期间采用流水，流速为控制在0.5m³/h，并用纳米增氧管充气；防止断水、断气，定时搅动，防止受精卵沉底造成缺氧；及时清洗出水口过滤网罩，防止卵膜堵塞，引起排水不畅导致卵粒外溢。

8.6 尾水排放

尾水排放按SC/T 9103的规定执行。

9 产后亲鱼护理

亲鱼产后要及时捞出放归培养池中饲养，对于有擦伤的要采用 100 g/m^3 聚维酮碘进行消毒处理 2 min。增强营养，便于恢复。

附 录 A
(资料性附录)

尖吻鲈亲鱼水质检测记录表和亲鱼催产日志

表 A.1 给出了尖吻鲈亲鱼水质检测记录表，表 A.2 给出了尖吻鲈亲鱼催产日志模板。

表 A.1 尖吻鲈亲鱼水质检测记录表

日期	氨氮 (mg/L)	亚硝态氮 (mg/L)	水温 (°C)	室温 (°C)	盐度

表 A.2 尖吻鲈亲鱼催产日志模板

催产时间:

序号	雌雄	体重	催产剂	注射剂量	产卵状态	备注

附 录 B
(资料性附录)

雌、雄尖吻鲈性腺发育特征

表 B.1 给出了雌、雄尖吻鲈性腺发育特征。

表 B.1 雌、雄尖吻鲈性腺发育特征

发育阶段	性腺描述	雌性尖吻鲈		雄性尖吻鲈	
		形态变化	组织变化	形态变化	组织变化
阶段 1	未成熟或新形成阶段		仅在短期内与第 2 期卵巢区分开，卵母细胞直径小于 80 μm 。	睾丸呈半透明的、薄的带状，睾丸首先可以通过腹侧的沟槽的外观来区分。	主要包括具有大空泡和致密染色细胞和的未分化基质细胞。
阶段 2	发育恢复期	卵巢紧凑，厚壁，粉红色，血管化好。	含有核周核细胞期和高比例的染色质-核仁期卵母细胞，平均最大卵母细胞直径小于 110 μm 。	睾丸不透明呈带状，具有较深的纵向沟。	第一个成熟的裂片由未分化的空泡细胞组成，没有腔或者小壁，恢复睾丸主要由墙壁和间质区域的空泡细胞组成。
阶段 3	开始成熟期	成熟的卵巢大小增加，横截面积变成梨形，边缘狭窄，浅棕色至奶油色，卵母细胞肉眼不可见。	周期性和囊泡期卵母细胞大量存在，偶尔出现染色质和核细胞期卵母细胞簇，和周期和囊泡期卵母细胞的平均最大卵母细胞直径范围为 110 μm ~230 μm 。	成熟睾丸变厚，被少量的脂肪包围，小叶增大，朝向背部的小叶比例增大。	剩下少量小叶间组织大多数间质区域形成新的小叶。一些精原细胞仍然存在，大量的精母细胞和精子细胞延伸到小叶管腔，精子存在于大多数精液管和精子管中。
阶段 4	成熟期	成熟的卵巢是乳白色或黄色，肉眼可以看到更薄的壁和卵母细胞。	成熟的卵母细胞最初由卵黄母细胞组成，然后是平均最大直径为 230 μm ~500 μm 的次级卵黄卵母细胞，尽管有一些核周核细胞和囊泡期的卵母细胞仍然存在。	成熟睾丸厚而楔形，外侧边缘边缘，腹侧突起，精子从切睾丸自由流动。	小叶壁变的非常薄，他们的腔和精子管被精子包裹，精原细胞一般不存在，精子细胞和精子的巢仍然存在。

表 B.1 (续)

发育阶段	性腺描述	雌性尖吻鲈		雄性尖吻鲈	
		形态变化	组织变化	形态变化	组织变化
阶段 5	完全成熟期	卵巢扩张, 占据大部分体腔, 黄色的成熟卵母细胞通过薄的卵巢壁清晰可见。	成熟的卵母细胞直径大于 500 μm , 肉眼清晰可见。	成熟的睾丸大, 其侧边缘圆形, 腹侧肿胀, 对睾丸的直接压力导致精子通过主管挤出。	小叶壁细小, 精子膨大。精子细胞的临时巢仍然附着在小叶壁上, 特别是在较小的腹侧小叶中。
阶段 6	退化期	卵巢是细长而狭窄的, 将会发生闭锁并回到第二阶段。	排卵卵母细胞, 一些残留的成熟卵母细胞核其他卵母细胞阶段存在大量萎缩卵泡。	消耗睾丸变成带状, 其重量从峰值第 5 阶段重量的 50% 到比第 2 阶段睾丸稍微重, 一些精子可以从切段的睾丸挤出。	小叶壁收缩, 变厚和起皱, 早期 2 期睾丸特征的空泡细胞开始出现, 精子细胞的一些残留巢仍然存在, 精子存在小叶和管道中。