

# 不同LED光谱对斑马鱼胚胎发育的影响\*

陈启亮<sup>1</sup>, 程如丽<sup>1</sup>, 蹇杰<sup>1</sup>, 段雨池<sup>1</sup>, 练小龙<sup>1</sup>, 黄超<sup>2</sup>, 陈洁<sup>2</sup>, 李英文<sup>1</sup>

(1. 重庆师范大学 生命科学学院 重庆市高校动物生物学重点实验室, 重庆 401331;

2. 巨星农牧有限公司, 成都 611230)

**摘要:**【目的】考察不同LED光谱对斑马鱼胚胎发育的影响。【方法】将斑马鱼胚胎随机平均分为4组分别置于白光、蓝光、绿光和红光共4种LED光谱环境中,每日光照时间段为7:00—21:00,持续7d。在此期间每12h统计胚胎孵化率和胚胎或仔鱼死亡率,记录胚胎在第48h的心率、仔鱼在第168h的畸形率及体长,并拍摄胚胎在第4h、第12h、第24h和第48h的发育情况。【结果】1)与白光组相比,蓝光组和红光组在第60h以及红光组在第84h的胚胎累计孵化率有统计学意义上的下降( $p < 0.05$ ),而第96h后各组胚胎累计孵化率无统计学意义上的差异,但绿光组的该项指标最低。2)各组斑马鱼胚胎或仔鱼累计死亡率在各统计时间点均无统计学意义上的差异,但胚胎完全孵化后蓝光组的该项指标最低。3)各组斑马鱼胚胎心率在第48h无统计学意义上的差异;4)各组斑马鱼仔鱼的体长和畸形率无统计学意义上的差异,但红光组仔鱼畸形率最高。【结论】最适宜斑马鱼胚胎发育的LED光谱为白光,红光和蓝光会延缓该鱼种的胚胎发育;红光和绿光会导致斑马鱼胚胎或仔鱼死亡率有一定程度上升,对该鱼种的胚胎发育较为不利。

**关键词:**斑马鱼;胚胎发育;LED光谱;孵化

中图分类号:Q175

文献标志码:A

文章编号:1672-6693(2022)03-0008-06

光是影响鱼类生长发育的重要环境因子,它对鱼类的影响贯穿于从早期胚胎到成年生殖的各个阶段,鱼类在不同发育时期对光的敏感性也不同<sup>[1]</sup>。大多数动物都拥有发育良好的光感受器和神经网络,通过对光的感知来调控生理活动,以便对环境变化做出反应并产生适应性<sup>[2]</sup>。在水环境中,光的强度会随着水体深度的增加而减弱,浅水会吸收大部分长波光,而短波光往往会穿透到水体更深处<sup>[3]</sup>。因此,生活在不同水层的鱼类感受到的光谱有所不同,并能对相应的水下光环境产生适应性进化。当前,鱼类工厂化养殖主要在室内进行,需要人为提供光照,最常用的光源为发光二极管(LED)。目前LED灯在工厂化养殖业和观赏水族业中得以广泛应用。人们可以根据养殖鱼类的生理特性定制不同的LED光谱,使鱼类养殖效益或观赏价值得以提升。

鱼类胚胎的正常发育是鱼类种群繁衍壮大的关键,且与温度、光照等环境因素息息相关。斑马鱼(*Danio rerio*)是原产于印度河流的热带淡水鱼,具有体积小、产卵量大、早期胚胎透明、易观察等优点,是一种极为重要的模式生物。在野外环境中,斑马鱼胚胎在自然光的环境下进行孵化,而自然光为全光谱。为探索斑马鱼胚胎发育最适宜的光谱,本研究将斑马鱼胚胎暴露在不同LED光谱环境下,观察不同LED光谱对斑马鱼胚胎发育的影响,以便为鱼类的育苗和养殖管理研究和实践提供更多基础资料。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

成年斑马鱼(AB系)购自国家斑马鱼资源中心。LED光谱灯购自深圳市冠科水族用品有限公司,含白光(波长范围为400~780nm)、蓝光(波长为450nm)、绿光(波长为530nm)、红光(波长为630nm)等4种不同光谱。

### 1.2 实验方法

选取健康的成年斑马鱼10对放入玻璃缸中,并用带孔的透明隔板将雌鱼和雄鱼隔开。次日7:00给予光

\* 收稿日期:2021-06-16 修回日期:2021-09-02 网络出版时间:2022-05-17 09:16

资助项目:国家自然科学基金(No.31901183);重庆市教育委员会科学技术研究项目(No.KJQN201900512)

第一作者简介:陈启亮,男,副教授,博士,研究方向为鱼类生理学,Email:xncql@126.com

网络出版地址:https://kns.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20220516.1540.004.html

照,并立即移去隔板使雌鱼和雄鱼开始繁殖,30 min后收集胚胎。挑选已受精的胚胎放入12个500 mL的烧杯中,每个烧杯放80枚胚胎,其中盛水300 mL。然后将上述所有烧杯移入暗室内分成白光组、红光组、蓝光组和绿光组,每组3个烧杯即3个生物学重复,分别用白光、红光、蓝光和绿光LED光谱灯进行光照处理。LED灯光强控制在670 Lux左右,每日光照时间段为7:00—21:00,如此连续处理7 d。实验用水为经曝气除氯后的自来水,温度控制在28℃左右,pH为7.4,溶解氧质量浓度大于 $6\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 。

整个光照处理实验期间,每12 h统计1次斑马鱼的胚胎孵化率和胚胎或仔鱼死亡率,并清理死亡胚胎和仔鱼。从光照处理实验开始分别在第4 h、第12 h、第24 h和第48 h从每个烧杯中随机选取3枚胚胎观察它们的发育情况并进行拍照。在第48 h从每个烧杯中随机选取10枚胚胎,在体视显微镜下记录它们的心率(单位:次 $\cdot\text{min}^{-1}$ )。在第168 h统计仔鱼的畸形率并拍摄典型的畸形鱼照片,并从每个烧杯中随机选取10尾斑马鱼仔鱼,测量它们的体长。

### 1.3 数据分析

实验所得数据用“平均值 $\pm$ 标准误”表示。用SPSS 18.0软件对实验数据进行单因素方差分析和Tukey多重比较。当 $p<0.05$ 时,有关统计结果具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同LED光谱对胚胎累计孵化率的影响

与白光组相比,蓝光组和红光组在第60 h以及红光组在第84 h的胚胎累计孵化率有统计学意义上的下降( $p<0.05$ );然而在第96 h后,不同LED光谱处理的斑马鱼胚胎累计孵化率均无统计学意义上的差异,但绿光组的该项指标最低(表1)。

表1 LED光谱对斑马鱼胚胎累计孵化率的影响  
Tab.1 Effect of LED spectrum on cumulative hatching rate of zebrafish embryos

时间点	白光组	蓝光组	绿光组	红光组
第0 h	0.00	0.00	0.00	0.00
第12 h	0.00	0.00	0.00	0.00
第24 h	0.00	0.00	0.00	0.00
第36 h	0.00	0.00	0.00	0.00
第48 h	12.50 $\pm$ 3.15 <sup>a</sup>	2.31 $\pm$ 1.15 <sup>a</sup>	11.38 $\pm$ 5.11 <sup>a</sup>	3.26 $\pm$ 0.40 <sup>a</sup>
第60 h	59.58 $\pm$ 3.97 <sup>a</sup>	37.81 $\pm$ 3.89 <sup>b</sup>	59.05 $\pm$ 3.09 <sup>a</sup>	36.31 $\pm$ 2.74 <sup>b</sup>
第72 h	89.17 $\pm$ 1.50 <sup>a</sup>	73.79 $\pm$ 7.59 <sup>a</sup>	83.54 $\pm$ 3.80 <sup>a</sup>	73.83 $\pm$ 5.83 <sup>a</sup>
第84 h	98.75 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>	98.85 $\pm$ 1.15 <sup>a</sup>	97.46 $\pm$ 1.46 <sup>ab</sup>	93.05 $\pm$ 1.10 <sup>b</sup>
第96 h	99.17 $\pm$ 0.42 <sup>a</sup>	98.85 $\pm$ 1.15 <sup>a</sup>	97.88 $\pm$ 1.52 <sup>a</sup>	98.78 $\pm$ 0.70 <sup>a</sup>
第108 h	99.17 $\pm$ 0.42 <sup>a</sup>	98.85 $\pm$ 1.15 <sup>a</sup>	97.88 $\pm$ 1.52 <sup>a</sup>	100.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>
第120 h	99.17 $\pm$ 0.42 <sup>a</sup>	98.85 $\pm$ 1.15 <sup>a</sup>	97.88 $\pm$ 1.52 <sup>a</sup>	100.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>
第132 h	99.17 $\pm$ 0.42 <sup>a</sup>	98.85 $\pm$ 1.15 <sup>a</sup>	97.88 $\pm$ 1.52 <sup>a</sup>	100.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>
第144 h	99.17 $\pm$ 0.42 <sup>a</sup>	98.85 $\pm$ 1.15 <sup>a</sup>	97.88 $\pm$ 1.52 <sup>a</sup>	100.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>
第156 h	99.17 $\pm$ 0.42 <sup>a</sup>	98.85 $\pm$ 1.15 <sup>a</sup>	97.88 $\pm$ 1.52 <sup>a</sup>	100.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>
第168 h	99.17 $\pm$ 0.42 <sup>a</sup>	98.85 $\pm$ 1.15 <sup>a</sup>	97.88 $\pm$ 1.52 <sup>a</sup>	100.00 $\pm$ 0.00 <sup>a</sup>

注:不同小写字母表示某一时间点的斑马鱼胚胎累计孵化率的组间差异具有统计学意义( $p<0.05$ )

### 2.2 不同 LED 光谱对斑马鱼胚胎或仔鱼累计死亡率的影响

由图 1 可知,不同 LED 光谱处理的斑马鱼胚胎或仔鱼累计死亡率在各时间点均无统计学意义上的差异,但胚胎完全孵化(第 96 h)后蓝光组斑马鱼胚胎或仔鱼的累计死亡率最低,而绿光组斑马鱼该项指标最高。

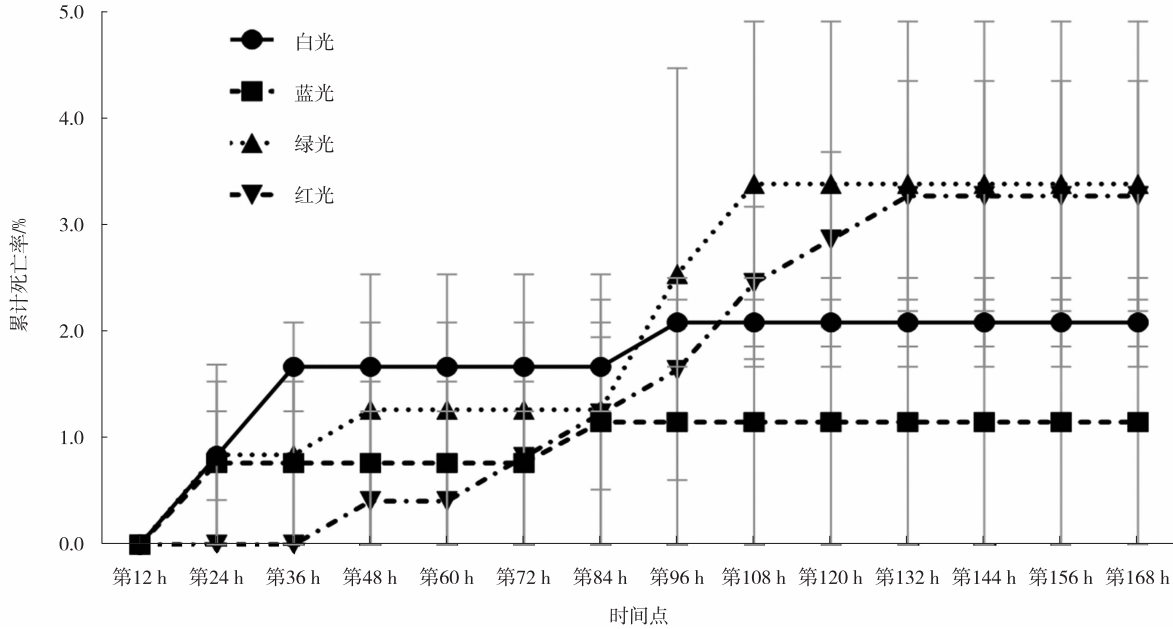


图 1 LED 光谱处理对斑马鱼胚胎或仔鱼累计死亡率的影响

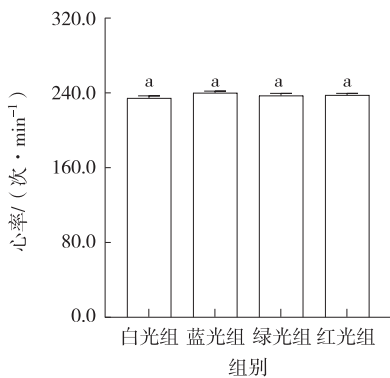
Fig. 1 Effect of LED spectrum processing on cumulative mortality of zebrafish embryos or larvae

### 2.3 不同 LED 光谱对斑马鱼胚胎心率的影响

图 2 显示,不同 LED 光谱处理下斑马鱼胚胎在第 48 h 的心率无统计学意义上的差异。

### 2.4 不同 LED 光谱对斑马鱼仔鱼畸形率和体长的影响

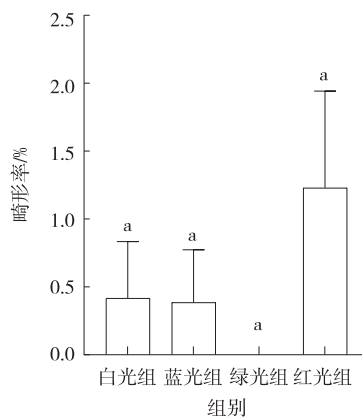
由图 3 可知,红光组斑马鱼仔鱼的畸形率最高,绿光组的该项指标最低,但不同 LED 光谱处理组斑马鱼仔鱼的畸形率(图 3a)和体长(图 3b)差异均不具有统计学意义。在第 168 h 观察到的正常鱼和典型畸形鱼见图 4。



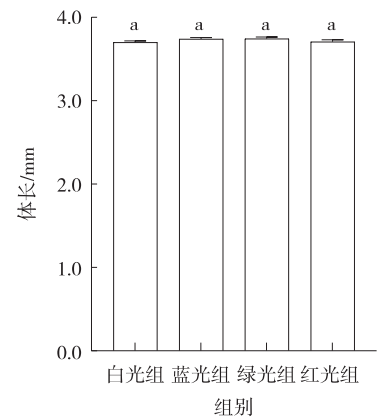
注:相同小写字母表示组间差异无统计学意义,下同

图 2 LED 光谱对斑马鱼胚胎心率的影响

Fig. 2 Effect of LED spectrum on heart rate of zebrafish embryos



a LED 光谱对畸形率的影响



b LED 光谱对体长的影响

图 3 LED 光谱对斑马鱼仔鱼畸形率和体长的影响

Fig. 3 Effect of LED spectrum on deformity rate and body length of zebrafish larvae

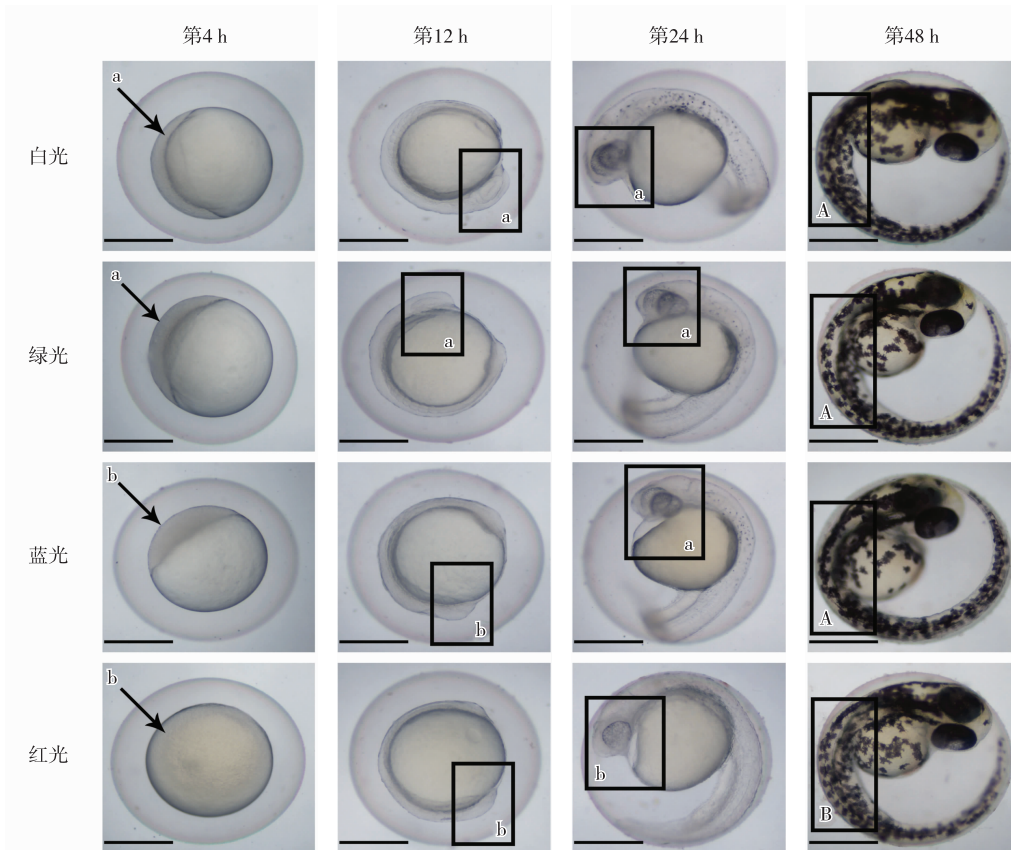
### 2.5 不同 LED 光谱处理下斑马鱼胚胎的发育情况

不同 LED 光谱处理下斑马鱼胚胎在第 4 h、第 12 h、第 24 h 及第 48 h 的发育情况见图 5。从图中可以看出,蓝光组和红光组斑马鱼的早期胚胎发育较白光组和绿光组而言更加迟缓。



图 4 正常鱼与典型畸形鱼

Fig. 4 Normal fish and typical malformed fish



注:a 表示胚胎发育正常的部位;b 表示胚胎发育迟缓的部位;A 表示胚胎色素沉积正常的部位;B 表示胚胎色素沉积较少部位;所有标尺均为 500 μm

图 5 不同 LED 光谱处理下斑马鱼胚胎的发育情况

Fig. 5 Development of zebrafish embryos under different LED spectrum

### 3 讨论及结论

胚胎发育作为个体生长发育的起始阶段,在动物的整个生命历程中占有极为重要的地位。斑马鱼胚胎的早期发育分为卵裂期、囊胚期、原肠胚期、分裂期、成形期、孵化期等 6 个时期<sup>[4]</sup>。在正常情况下,从第 54 h 到第 80 h,斑马鱼仔鱼开始陆续孵出。本研究结果显示,不同 LED 光谱处理组的斑马鱼胚胎累计孵化率在第 96 h 后无统计学意义上的差异,但红光组和蓝光组在第 60 h、红光组在第 84 h 的累计孵化率明显比白光组的该项指标更低,表明红光和蓝光在一定程度上会抑制斑马鱼胚胎的发育。同时,不同 LED 光谱处理下斑马鱼胚胎在第 4 h、第 12 h、第 24 h 及第 48 h 的发育情况显示,蓝光组和红光组斑马鱼早期胚胎发育相比于白光组和绿光组则更为迟缓,这也说明了蓝光和红光会抑制斑马鱼胚胎的早期发育。然而,也有研究发现,蓝光可减少红鳍东方鲀(*Takifugu rubripes*)受精卵的孵化时间,并促进仔鱼生长,缩短养殖周期<sup>[5]</sup>。其中原因可能是不同鱼类的胚胎对光谱的敏感性或适应性不同。胚胎孵化时温度、盐度、溶解氧等的变化会对胚胎的生长发育产生影响<sup>[6]</sup>,甚至导致胚胎死亡。在本研究中,尽管 LED 光谱对斑马鱼胚胎的孵化时间有明显影响,但对斑马鱼死亡率的影响并不明显。不过从具体统计数据来看,斑马鱼胚胎或仔鱼的累计死亡率最高的组为绿光组,然后依次为红光组、白光组、蓝光组。这一结果表明白光和蓝光相对于其他两种光谱而言更有助于斑马鱼仔鱼的成活。此外,本研究结果显示,不同 LED 光谱处理对斑马鱼胚胎在第 48 h 的心率、在第 168 h 的仔鱼畸形率和体长的影响也不具有统计学意义上的差异。这可能是由于在胚胎孵化前卵膜的包被起到一定的保护作用,增加了胚胎的环境适应性;而且斑马鱼卵受精后 7 d 内的胚胎发育主要依靠自身卵黄囊提供营养物质。因此总体上看,斑马鱼胚胎生长发育受环境光谱变化的影响相对较小。

光谱可能通过影响鱼类的视觉感知从而影响它们的胚胎发育。斑马鱼视觉较为发达,有多色敏感的视锥细胞和大量的视杆细胞来传递可见光信号<sup>[7]</sup>。在斑马鱼早期胚胎中,大多数是未分化和正在活跃分裂的细胞。此时,斑马鱼所有感觉器官中最早出现的是感受光刺激的重要器官——眼。虽然斑马鱼的感光细胞在受精后 48 h 才开始出现,且最早分化的是视锥细胞<sup>[8]</sup>,但斑马鱼的多数细胞在原肠胚期就能进行光检测<sup>[9]</sup>。在本研究中,不同 LED 光谱处理对斑马鱼早期胚胎发育的影响较小,可能是由于该鱼种早期胚胎感觉器官发育尚不完全,再加上卵膜的包被,导致它对不同光谱的敏感度较低。当胚胎发育到特定阶段后,为了得到更好的发育就必须摆脱卵膜的束缚而孵出。该过程需要借助于胚胎中孵化腺细胞所分泌的特异性酶即孵化酶来完成<sup>[10-11]</sup>。在本研究中,不同 LED 光谱处理下斑马鱼的孵化时间存在明显差异,这可能是不同 LED 光谱通过刺激斑马鱼胚胎的光感受器,进而影响神经系统调节孵化酶的合成和分泌,最终影响胚胎的孵化时间。此外,在斑马鱼胚胎期和出膜后的前几日卵黄囊是唯一的营养来源,因此胚胎和仔鱼对卵黄囊的吸收率也是影响斑马鱼胚胎发育的关键因素。在有关拟乌贼(*Sepia lycidas*)的研究中发现,光照时间的延长不利于该物种的胚胎对卵黄囊的吸收<sup>[12]</sup>。因而本研究推测,不同 LED 光谱成分也可能通过影响斑马鱼胚胎感光细胞的感知来进一步影响胚胎对卵黄囊的吸收,从而导致了孵化时间产生差异。然而其中的具体影响机制尚不明确,还有待进一步研究。

综上所述,本研究结果提示:最适宜斑马鱼胚胎发育的是白光,红光和蓝光会延缓该鱼种的胚胎发育;红光和绿光会导致斑马鱼胚胎或仔鱼死亡率有一定程度的上升,对该鱼种的胚胎发育较为不利。

#### 参考文献:

- [1] FANJUL-MOLES M L, MIRANDA-ANAYA M, FUENTES-PARDO B, et al. Effect of monochromatic light upon the erg circadian rhythm during ontogeny in crayfish (*Procambarus clarkii*) [J]. *Comparative Biochemistry & Physiology Part A: Physiology*, 1992, 102(1): 99-106.
- [2] MEISSL H, NAKAMURA T, THIELE G. Neural response mechanisms in the photoreceptive pineal organ of goldfish [J]. *Comparative Biochemistry & Physiology A: Comparative Physiology*, 1986, 84(3): 467-473.
- [3] VILLAMIZAR N, BLANCO-VIVES B, MIGAUD H, et al. Effects of light during early larval development of some aquacultured teleosts; a review [J]. *Aquaculture*, 2011, 315(1/2): 86-94.
- [4] 王蕊,殷浩文. 斑马鱼胚胎发育中适宜的毒理学指标分析 [J]. *环境与职业医学*, 2004, 21(2): 88-89.  
WANG R, YIN H W. Analysis on feasible toxicologic endpoints in embryonic development of *Brachydanio rerio* [J]. *Journal of*

Environmental and Occupational Medicine, 2004, 21(2): 88-89.

- [5] 魏平平, 李鑫, 张俊鹏, 等. LED 光谱对红鳍东方鲀仔稚鱼形态性状及生长相关基因表达的影响[J]. 渔业科学进展, 2020, 41(1): 162-168.
- WEI P P, LI X, ZHANG J P, et al. Effects of LED spectra on morphological characters and gene expression of growth in *Takifugu rubripes* larvae[J]. Progress in Fishery Sciences, 2020, 41(1): 162-168.
- [6] 王宏田, 张培军. 环境因子对海产鱼类受精卵及早期仔鱼发育的影响[J]. 海洋科学, 1998, 22(4): 3-5.
- WANG H T, ZHANG P J. Effects of environmental conditions on fertilized eggs and early larva of marine fishes[J]. Marine Sciences, 1998, 22(4): 3-5.
- [7] HUGHES A, SASZIK S, BILOTTA J, et al. Cone contributions to the photopic spectral sensitivity of the zebrafish ERG[J]. Visual Neuroscience, 1998, 15(6): 1029-1037.
- [8] HU M J, EASTER Jr S S. Retinal neurogenesis: the formation of the initial central patch of postmitotic cells[J]. Developmental Biology, 1999, 207(2): 309-321.
- [9] TAMAI T K, VARDHANABHUTI V, FOULKES N S, et al. Early embryonic light detection improves survival[J]. Current Biology, 2004, 14(3): 104-105.
- [10] YAMAGAMI K. 7 Mechanisms of hatching in fish[M]//HOAR W S, RANDALL D J. The Physiology of Developing: Fish Eggs and Larvae. USA: Academic Press, 1988: 447-499.
- [11] KATAGIRI C. Properties of the hatching enzyme from frog embryos[J]. Journal of Experimental Zoology, 1975, 193(1): 109-118.
- [12] 彭瑞冰, 蒋霞敏, 于曙光, 等. 几种生态因子对拟目乌贼胚胎发育的影响[J]. 生态学报, 2013, 33(20): 6560-6568.
- PENG R B, JIANG X M, YU S G, et al. Effect of several ecological factors on embryonic development of *Sepia lycidas* [J]. Acta Ecologica Sinica, 2013, 33(20): 6560-6568.

## Animal Sciences

### The Effect of Different LED Spectrum on Zebrafish Embryo Development

CHEN Qiliang<sup>1</sup>, CHENG Ruli<sup>1</sup>, JIAN Jie<sup>1</sup>, DUAN Yuchi<sup>1</sup>, LIAN Xiaolong<sup>1</sup>,  
HUANG Chao<sup>2</sup>, CHEN Jie<sup>2</sup>, LI Yingwen<sup>1</sup>

(1. Chongqing Key Laboratory of Animal Biology, College of life Sciences, Chongqing Normal University, Chongqing 401331;  
2. Giantstar Farming & Husbandry Co., Ltd., Chengdu 611230, China)

**Abstract:** [Purposes] Investigating the effects of different LED spectrum on zebrafish embryo development. [Methods] The zebrafish embryos were randomly and equally divided into 4 groups and placed in four LED spectrum environments of white light, blue light, green light and red light for 7 d, and the daily lighting period was from 7:00 to 21:00. During this period, embryonic hatching rate and embryo or larval mortality were calculated every 12 h, and the heart rate of embryos at 48 h and the deformity rate and body length of larvae at 168 h were recorded. The development of embryos at 4, 12, 24, and 48 h were photographed. [Findings] 1) Compared with the white light group, the cumulative hatching rate of the blue and red light group at 60 h and the red light group at 84 h decreased obviously ( $p < 0.05$ ), while the cumulative hatchability of embryos in all groups had no statistically significant difference after 96 h, but the green light group had the lowest. 2) There was no significant difference in the cumulative mortality of embryos or larvae among groups at each time point, but this index was the lowest in the blue light group after the embryos hatched completely. 3) There is no statistically significant difference in heart rate of zebrafish embryos among the groups at 48 h. 4) There was no statistically significant difference in body length and deformity rate of zebrafish larvae among each group, but the red light group had the highest deformity rate. [Conclusions] The most suitable LED spectrum for zebrafish embryonic development is white light, while red and blue light can delay the embryo development of this species, and red and green light can lead to a certain increase in the mortality of zebrafish embryos or larvae, which is not conducive to the development of this species.

**Keywords:** zebrafish; embryonic development; LED spectrum; incubation