

研究简报

## 抗出血病草鱼子代抗病力的分析\*

王铁辉 刘汉勤 陈宏溪 易泳兰 俞小牧 刘沛霖

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

### ANALYSIS OF THE DISEASE-RESISTANCE OF THE OFFSPRINGS OF THE HEMORRHAGE-RESISTANT GRASS CARP

Wang Tiehui, Liu Hanqin, Chen Hongxi, Yi Yonglan, Yu Xiaomu and Liu Peilin  
(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

关键词 抗出血病草鱼, 子代, 抗病力分析

Key words Hemorrhage-resistant grass carp, Offspring, Analysis of disease-resistance

草鱼出血病(Grass carp hemorrhagic virus, GCHV)是草鱼鱼种养殖阶段危害最为严重的病毒性疾病<sup>[1-3]</sup>, 抗出血病草鱼新品种的培育是解决该病危害的根本途径<sup>[4]</sup>。作者等从“七五”开始, 开展了基因转移进行草鱼抗出血病育种的研究, 建立了鱼类总DNA介导基因转移的实验模型<sup>[5]</sup>。将抗草鱼出血病的团头鲂的总DNA转移到草鱼的受精卵, 用GCHV人工攻毒方法, 筛选出一批抗出血病草鱼个体。这批抗病个体已经成熟并繁殖子代。

#### 1 材料与方法

**1.1 实验草鱼** 实验用亲代草鱼为1990年经转移团头鲂总DNA后, 经GCHV攻毒筛选存活的草鱼 [*Ctenopharyngodon idellus* (Curieret Vaknciennes)], 饲养于本所关桥实验场。1994—1995年人工催产繁殖。实验鱼随机组合, 人工受精, 分组饲养至5—10cm进行抗病力鉴定。对照草鱼水花购自浠水养殖场, 与实验组草鱼在相同条件下饲养管理。

**1.2 病毒** 取草鱼出血病病毒(GCHV-861)<sup>[6]</sup>株病毒感染草鱼种后显症死亡的病鱼组织, 用10倍量PBS(含1000单位/ml青霉素, 1000ug/ml链霉素, 500ug/ml卡那霉素)制成匀浆, 冻融二次后, -20℃保存备用。

**1.3 攻毒实验** 采用高渗浸泡法<sup>[4]</sup>。草鱼种用2%的NaCl盐水高渗处理5—6min后, 转移到用曝气自来水稀释1000倍的病毒液中浸泡1h, 再转移到曝气自来水中饲养、观察。

#### 2 结果和讨论

1990年经人工攻毒筛选的抗出血病草鱼个体, 在加强饲养的情况下, 于1994年达到性成熟, 并人工

本文曾获国家“七五”“八五”科技攻关和“863”高技术项目和淡水生态与生物技术国家重点实验室资助。

1997-04-03收到; 1998-01-06修回。

表1 抗病草鱼子代人工攻毒试验结果(1994年)

Tab.1 The results of artificial challenge on the offspring of the hemorrhage-resistant grass carp (1994)

亲代组合编号 <sup>1</sup>		1	2	3	4	5	对照 <sup>2</sup>
第一次 7月25至8月8日 29—32℃ <sup>7</sup>	攻毒鱼数(尾) <sup>3</sup>	106	120	116	122	114	72
	存活数(尾) <sup>4</sup>	3	17	2	15	5	5
	存活率(%) <sup>5</sup>	2.8	14.2	1.7	12.3	4.4	6.9
第二次 8月23至9月20日 22—29℃ <sup>8</sup>	相对存活率 <sup>6</sup>	0.49	2.06	0.25	1.78	0.64	1
	攻毒鱼数(尾) <sup>3</sup>	40	92	101	206	107	71
	存活数(尾) <sup>4</sup>	16	75	28	58	56	32
	存活率(%) <sup>5</sup>	40.0	81.5	27.7	28.2	52.3	45.1
	相对存活率 <sup>6</sup>	0.89	1.81	0.50	0.625	1.16	1

Note: 1. Group number of parents; 2. Control; 3. The number of challenged fingerling; 4. The number of survival fish; 5. Survival rate; 6. Relative survival rate; 7. The first challenge experiment, on July 25 to Aug. 8, at 29—32℃ of water temperature; 8. The second challenge experiment, on Aug. 23 to Sept. 20, at 22—29℃ of water temperature

表2 抗血病草鱼子代人工攻毒试验结果(1995年9月5日—9月28日,水温:20—25℃)

Tab.2 The results of artificial challenge on the offspring of the hemorrhage-resistant grass carp

亲代组合编号 <sup>1</sup>		1	2	3	4	5	6	7	8	9	对照 <sup>2</sup>
攻毒鱼数(尾) <sup>3</sup>		127	118	141	144	97	90	99	101	123	108
存活数(尾) <sup>4</sup>		44	17	6	10	5	4	66	8	3	6
存活率(%) <sup>5</sup>		34.6	14.4	4.3	6.9	5.2	4.4	66.7	7.9	2.4	5.6
相对存活率 <sup>6</sup>		6.18	2.57	0.77	1.23	0.93	0.79	11.91	1.41	0.43	1

繁殖了5对亲鱼,1995年获得了9对亲鱼的子代,在5—10cm后,用高渗浸泡方法进行攻毒检测,分析其抗病力(表1,2)。抗病草鱼的子代抗病力存在明显的差异,其中部分个体的抗病力较对照组和其它组合高。说明部分个体的抗病力可以遗传给子代。

病毒感染鱼体后,是否发病是鱼体本身的抵抗力及外部因素相互作用的结果。在攻毒检测实验中,同一批实验是在相同的养殖条件下进行,不同的实验鱼后代抗病力不同表现系鱼体抗病力的遗传差异。在外部因素中,水温是影响草鱼出血病发病率的关键因素(表1)。2号鱼在两次攻毒实验中的存活率均较对照和其它组合高,4号鱼在较高水温攻毒实验中存活率较对照高,而在较低水温时,存活率较对照低(表1)。可能是不同鱼存在不同的抗病机制,因而对水温的反应不同。同时也提示,对抗病力的分析,要考虑水温对出血病发病率的影响,同时还应建立诸如鱼体免疫力、病毒在鱼体中的动态等客观指标。

抗出血病草鱼的子一代,经GCHV人工攻毒筛选后,获得了一批抗出血病个体,饲养于本所关桥实验场,长势良好。作者等希望在1999年这批抗出血病草鱼的子一代能性成熟并繁殖后代,进行抗病力遗传分析,最终培育出抗出血病的草鱼新品种。

## 参 考 文 献

- [1] 中国科学院水生生物研究所第三室病毒组.草鱼出血病病原的研究.水生生物学集刊,1978,6(3):321—329
- [2] 陈燕新,江育林.草鱼出血病病毒形态结构及理化特性的研究.科学通报,1983,28:1138—1140
- [3] 柯丽华等.一株新的草鱼出血病病毒分离物的特性.水生生物学报,1990,14(2):153—159
- [4] 王铁辉等.当代微生物研究进展.彭珍荣主编,武汉,武汉大学出版社,1995,150—159,344—349
- [5] 刘汉勤等.总DNA介导鱼类基因转移的初步研究.水生生物学报,1991,15(3):286—288
- [6] 王铁辉等.稀有鲫对草鱼出血病病毒敏感性的初步研究.水生生物学报,1994,18(2):144—149