

鲮鱼遗传改良的研究

I. 杂交育种和遗传性状分析

王祖熊 张锦霞 黄文郁 赵明蜀

刘肖芳 朱蓝菲 冯祖强

(中国科学院水生生物研究所)

靳光琴

(广西水产研究所)

提 要

本文介绍用杂交选育方法改良鲮鱼 (*Cirrhinus molitorella*) 耐低温能力的试验经过和已取得的进展。同时,分析讨论了杂交后代(一代和二代)性状遗传的某些结果。对鱼类低温适应和抗冻、抗寒等方面的研究进展作了介绍和讨论,并认为只有把鱼类耐低温性状遗传的分子机理彻底阐明,人们才有可能直接利用基因工程技术定向地改良像鲮鱼等不耐寒物种的抗寒性能。此外,我们也对如何改进鱼类杂交选育的技术措施提出一些意见。

鲮鱼 (*Cirrhinus molitorella*) 是我国南方主要池养鱼类之一,其产量约占两广地区池塘总鱼产量的 40% 左右。因其肉质鲜美,深得国内外广大消费者的欢迎,并已由东南亚各国引种驯养成功。但鲮鱼对低温的适应能力甚差,一般都在水温 14℃ 时停食,10—7℃ 便出现冷休克,在此低温条件下持续 1—2 天即死亡,故难能在我国的广大地区驯养。七十年代以来,两广地区的冬季水温往往出现持续偏低的现象,使大量鲮鱼冻死,严重地威胁着这一物种的繁衍。因此,我们两个研究单位协作,从 1977 年开始进行以提高鲮鱼低温适应能力为主的遗传改良工作。

杂交选育是提高鱼类低温适应能力的有效育种途径。例如,通过鲤鱼品种间的多代杂交和回交选育工作取得了能适应高寒地区养殖的鲤鱼新品种;用不同地区的食蚊鱼种群进行多代的杂交和回交选育工作,使南方的食蚊鱼种群中能耐受下限低温的个体百分比数增加,同时也延长了它们耐受下限低温的时间^[1]。上述两项成果都是选择种内或种群间较耐寒品种的雄鱼作为进行杂交改良的遗传信息来源。然而西江水系的鲮鱼已是分布在较高纬度地区的种群,而其他则分布在海南岛或滇南亚热带地区的种群;因此,不宜采用这些种群的雄鱼作父本来改良西江鲮鱼的耐低温性能。鲮鱼属又只有这一个种,所以,我们不得不选用同一西江水系或邻近水域中同一亚科内不同属的耐寒种类作父本来开展这项杂交选育的研究。

实验的经过与方法

1977 和 1978 两年所用的鲮亲鱼均取自广西壮族自治区南宁市的南湖,并在广西水产研究所的鱼池强化培育数月后备用。湘华鲮 (*Sinilabeo decorus tungting*) 则取自湖南省沅江的泸溪江段。将 5 月份捕获的成熟雄亲鱼或低温 (0°C 左右) 保存的湘华鲮精液在运回南宁后尽速用来与人工催产所得的鲮鱼卵进行人工授精,受精卵在孵化桶中流水孵化,所获杂交鱼苗和同尾雌鲮所产的部分卵用鲮鱼精液授精所得的鲮鱼苗,均在广西水产研究所的池塘中分别培育成冬片大鱼种。其中一部分供杂交一代 (F_1) 与鲮鱼对低温适应能力的对比试验用,其他鱼种则继续培育成成体。1977 和 1978 两年所育成的一百余尾湘鲮杂交一代分别在 1980、1981 年发育成熟。并于 1981 年春将成熟的杂交一代催产进行人工繁殖,取得了大量的杂交二代 (F_2)。但杂交一代雌性与原父本湘华鲮回交的试验,由于父本精液供应不及时等原因,迄今尚未成功。

杂交一代和二代与鲮鱼的低温适应能力对比试验分别于 1977 和 1980 冬季在武昌中国科学院水生生物研究所和广西水产研究所二处进行。1977 年 12 月在水生所将广西运回的湘鲮杂交一代 8 尾和鲮鱼 26 尾分别在 0.4M^3 水族箱中进行驯养,并用高低温度计记录每天箱中水温的变动幅度,且定时 (每隔 2—3 小时) 观察和统计试验鱼冷休克与死亡 (以停止呼吸为准) 的时间与水温。湘鲮杂交一代自交所得的杂交二代与鲮鱼对低温适应能力的对比试验在水生所室外水泥池中进行,并同样利用自然降温的办法取得了结果。

由于湘鲮杂交一代的存活数较少,仅能供必不可少的各项测试取材以及留种繁殖之用。但从杂交一代的取材记录中已可看出其生长与发育成熟的情况同鲮鱼相当,而湘华鲮的生长比鲮鱼慢。

两亲本及其后代的体表数量性状都是在成体上测算的,但我们测量湘华鲮的鱼数不多,故本文表 3 中采用了鲤科鱼类志的资料^[2]。其中的鰓与脊椎骨数除进行解剖计量之外,还摄制了 X 光片¹⁾。除形态性状外,我们还对两亲本及杂交一代的肝、心、肾、脑、骨骼肌以及眼球组织中的乳酸脱氢酶 LDH 同工酶类的酶谱作了电泳分析。聚丙烯酰胺凝胶圆盘电泳采用改良的 Davis 氏法^[9],淀粉胶垂直平板电泳则采用了改良的 Shaw 氏法^[22]。

实验结果

我们用来与鲮鱼杂交选育的雄亲鱼除了湘华鲮之外,还有来自西江水系的桂华鲮 (*Sinilabeo decorus decorus*) 和倒刺鲃 (*Barbodes denticulatus denticulatus*)。以桂华鲮为父本的到 1981 年才获得数尾鱼苗,而以倒刺鲃为父本的杂交组合则迄今未能得苗。有关杂交不亲和性的问题我们将另文报道²⁾。本文主要介绍湘鲮杂交一代及其自交所得杂交二代低温适应能力的改良情况,以及杂交后代形态性状的遗传分析;并结合本研究的目的与结

1) X 光片由水生所一室和广西医学院协助拍摄,特此致谢。

2) 王祖熊等,1981。鲃亚科鱼类属间杂交不亲和性的研究。中国鱼类学会 1981 年学术年会论文摘要汇编, 38—41 页。

果对鱼类低温适应的机制问题加以讨论。

1. 湘鲢杂交一代耐低温能力的改善情况

从表 1 中可以看出，湘鲢杂交一代的耐低温能力比鲢鱼已有了明显的改善。鲢鱼在 7℃ 以上已死亡 46.1%，其余部分在下限低温 7℃ 出现后的第三天死完，即对下限低温的适应能力只有 2 天。湘鲢杂交一代虽也有个别鱼在 7℃ 死亡，但在 7℃ 以下的低温中能够忍受的时间却要长得多，它们在 7℃ 出现后的第三天才死亡 25%，一直坚持到第六天水温已降到 5.5℃ 时才全部死完。这说明杂交一代可以忍受 7℃ 以下的低温达 5 天之久，其耐下限低温的时间为鲢鱼的 2.5 倍。如果从选种的角度看，则我们也可以从杂交一代中选出 75% 的个体，这些个体可以在 6℃ 以下的水温中活 3 天之久，而在纯鲢鱼中是找不到的。我们从杂交一代和鲢鱼在自然降温对比试验期间逐日的温度变化和试验鱼存活的情况可以看到，在相同的低温条件下，杂交一代比鲢鱼的存活率要高得多(图 1)。

表 1 鲢鱼与(湘华鲢♂×鲢鱼♀)杂交一代 (F₁) 耐寒能力比较 (1977.12.17—12.31 日)
Tab. 1 A comparison of the survival capacity under low temperature between the mud carp (*Cirrhinus molitorella*) and the hybrid (*Sinilabeo decorus tungting* ♂×
Cirrhinus molitorella ♀, F₁)

日期 Date (月·日)	鲢鱼 (<i>Cirrhinus molitorella</i>)			F ₁ (<i>S. decorus tungting</i> ♂× <i>C. molitorella</i>)		
	水温 water temperature (°C)	死鱼数 number of dead fish	死亡率 mortality (%)	水温 water temperature (°C)	死鱼数 number of dead fish	死亡率 mortality (%)
12.17	10.5			10.5		
18	10.0					
19	10.0			10.0		
20	10.0			10.0		
21	10.0			10.0		
22	10.0			10.0		
23	9.0			9.0		
24	8.5	1	3.8	8.5		
25	7.8			7.8		
26	7.0	11	46.1	7.0	1	12.5
27	6.8	11	88.4	7.0		
28	6.0	3	100	6.0	1	25.0
29				5.8	3	62.5
30				5.8	1	75.0
31				5.5	2	100

2. 湘鲢杂交一代自交所得杂交二代的耐低温情况

耐低温对比试验的结果列入表 2。从表 2 可以看出，自交二代的耐低温能力虽也仍比鲢鱼强，但就整个试验群体来分析却已比其亲本杂交一代差。原杂交一代中没有发现有 7℃ 以上死亡的个体，而在二代中却分离出了 13.2% 像鲢鱼一样在 7—10℃ 之间死亡的(在对照的鲢鱼中则有 14.3% 是在 7℃ 以上死亡的)。然而，在杂交二代的整个群体中

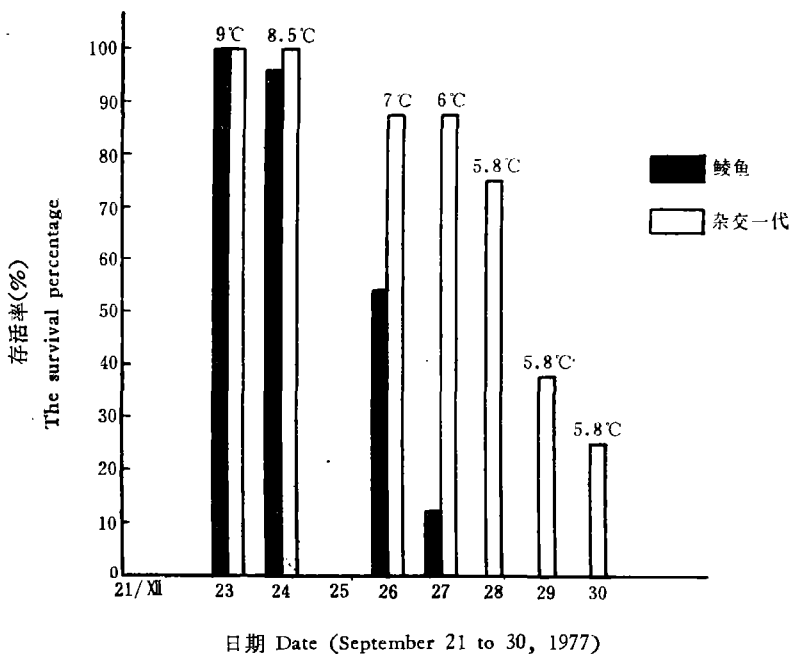


图 1 鲢鱼和湘鲢杂交一代在低温条件下存活率的比较
Fig. 1 The survival percentage of *Cirrhinus molitorella* and its hybrid progenies (F_1) under low temperature range, Ord.: percentage of living fish, Abss.: date

表 2 鲢鱼与(湘华鲢♂×鲢鱼♀)杂种自交后代 (F_2) 耐寒力比较
(1980.12.8—12.19 日)

Tab. 2 A comparison of the survival capacity under low temperature between the mud carp and its hybrid progeny F_2 ($F_1 \times F_1$)

日期 Date (月·日)	鲢鱼 <i>Cirrhinus molitorella</i>			自交二代 $F_2(F_1 \times F_1)$		
	水温 water temperature (°C)	死鱼数 number of dead fish	死亡率 mortality (%)	水温 water temperature (°C)	死鱼数 number of dead fish	死亡率 mortality (%)
12.8	10.5			10.0		
9	10.0			9.7		
10	9.2	1	3.6	8.8		
11	10.1	1	7.1	9.6	2	7.9
12	8.0			7.5	2	13.2
13	7.1	2	14.3	6.5	3	21.1
14	6.1	4	28.6	5.6	8	42.1
15	6.8	1	32.1	6.5	14	78.9
16	6.2	6	53.6	5.8	5	92.1
17	6.1	4	67.8	5.8	3	100
18	7.3	5	85.7	6.7		
19	6.5	4	100	6.0		

我们还是可以选出 21.1% 的个体是在 5.8℃ 时才开始死亡的, 如果把这部分耐低温能力比鲮鱼高得多的个体选出留种后再与原湘华鲮父本回交, 就可能会育出耐低温能力更高的后代。同时, 群体中还有 21% 的个体可以活到 6.5℃ 以下, 而对照的鲮鱼则在 6.5℃ 时已经全部死完。所以, 总的来看杂交二代的耐低温能力还是比鲮鱼强; 在相同的低温条件下, 杂交二代比鲮鱼的存活率仍要高得多。

3. 杂交一代及其自交后代 (F_2) 的性状遗传分析

从两个亲本和杂交一代、二代形态性状的数据及其变异幅度(表 3), 可以看出以下一些性状遗传变异的情况: (1) 杂交一代的尾柄长和眼径均超过了同样规格的双亲 (3、7 号), 而尾柄高、头长和吻长则均低于同样大小双亲的同一性状 (2、4、5 号)。一代的体高与眼间距则介于两亲本之间 (1、6 号)。(2) 在二代则 1—7 号性状出现分离, 除 4 号比例性状仍保持一代的特点以及 6 号性状趋向原父本湘华鲮之外, 其他均回复原母本鲮鱼的状态。(3) 一代的背鳍条数也出现了超亲变异, 软鳍条数超过了两亲本, 但在二代这一性状却介于两亲本之间 (9 号)。(4) 一代及二代的鳞式基本与母本相同; 至于臀鳍条数、腹鳍条数和齿式则在两亲本与后代中都相同 (8、10、11、12 号)。(5) 一代的脊椎骨数介于两亲本之间而又较接近母本; 在二代中这性状也有所分离, 其中 9.2% 同原母本数 (4+30), 有 8.2% 更趋向于父本 (4+32), 而其他 82.5% 的个体仍保持一代的性状 (4+31)。上述百分比数是解剖 97 尾重 3—4 两的二代个体所统计出的结果 (13 号)。(6) 鳔的形状与前后室长度之比有变异, 虽鳔都具 2 室 (14 号)。脊椎骨与鳔的变异情况可参阅 X 光图象(图版 I: 1, 2)。

上述性状遗传的情况是在整体水平上对两亲本及其杂交后代进行对比分析所取得的结果。另外, 我们也对亲本与杂交一代的体细胞染色体组型进行了比较研究, 阐明了杂交一代的染色体数与双亲相同而染色体组型却有别于双亲, 但又比较近似于母本。关于这方面的详细内容将另文报道^[3]。现将亲本与杂交一代各种组织中乳酸脱氢酶(LDH)同工酶谱的生化表型特征简要地介绍于后, 以便从细胞与分子水平上来比较控制这一酶系统的基因活动情况。从图版 I:3 可以看出, 两亲本与杂交一代肝组织的 LDH 同工酶谱都具有 7 条酶带。从整个酶谱的迁移率上看, 一代更接近母本。但从圆盘电泳酶谱(图版 I:3 左图)中则不难看出一代的酶谱中兼有两个亲本的酶带, 是一种甚为明显的杂合型酶谱。同时, 一代的 LDH 同工酶谱中的 3 条主要酶带 (3—5) 的相对活力 (以着色深浅为准) 比两个亲本的都高。这类杂合型酶分子相对活力优势的出现可以反映出两个亲本肝中调控 LDH 同工酶类亚基表达的一些相关基因是基本上相同的, 杂合后因调控基因量加大而构成了这些亚基结构基因表达的优势。从淀粉胶电泳的 LDH 同工酶谱(图版 I:3 右图)可以看出肝中的 7 条 LDH 同工酶带中有 2 条是走向阴极的, 它们在鲤科鱼类中被认为是由 C 基因编码的多肽链所组成的四聚体酶蛋白类, 并相当于圆盘电泳中迁移率最慢的那两条酶带。因此可以认为圆盘电泳谱中的第三、四、五 3 条主要酶带是由 A、B 二个结构基因编码的 2 条多肽链所构成的纯合或杂合四聚体酶, 它们应分别是 A_4 、 B_4 和 A_2B_2 。至于其他 2 条迁移率最快的弱带是否另有结构基因编码或 B 基因位上有 2 个位点存在等问题尚待研究。此外, 从淀粉胶电泳酶谱中, 我们还发现了杂交一代的心脏和骨骼肌的

表 3 杂交亲本及其后代形态性状比较
Tab. 3 A comparison of morphological characteristics between the parental fishes and their hybrid progenies (F₁ and F₂)

性状编号 No. of characteristics	性状名称 Name of characteristics	鲮 鱼 <i>C. molitorella</i>	湘 华 鲮 <i>S. decorus tungting</i>	F ₁	F ₂
1	标准长/体高	3.1—3.7 (3.4±0.2)	3.9—4.4 (4.1±0.05)	3.04—4.16 (3.62±0.26)	3.02—4.76 (3.36±0.27)
2	标准长/头长	4.4—5.4 (4.9±0.2)	4.4—4.7 (4.6±0.03)	4.62—6.11 (5.26±0.4)	4.38—5.59 (4.69±0.19)
3	标准长/尾柄长	6.4—7.3 (6.9±0.3)	6.0—6.8 (6.3±0.15)	3.01—5.76 (4.76±1.04)	5.31—9.00 (6.87±0.71)
4	标准长/尾柄高	7.1—8.3 (7.7±0.3)	6.5—7.1 (6.8±0.06)	7.31—8.50 (8.54±0.79)	6.9—12.4 (8.29±0.9)
5	头长/吻长	2.6—3.4 (2.9±0.2)	2.4—2.7 (2.5±0.02)	2.48—3.17 (3.12±0.44)	1.84—3.30 (2.75±0.24)
6	头长/眼间距	1.7—2.1 (1.8±0.14)	1.9—2.2 (2.1±0.02)	1.83—2.11 (1.95±0.09)	1.74—3.09 (2.09±0.22)
7	头长/眼径	3.3—4.8 (3.8±0.47)	3.2—5.2 (4.1±0.87)	3.14—4.50 (3.22±0.64)	2.73—4.50 (3.46±0.33)
8	鳞 式	38 $\frac{8}{5}$ 41	39 $\frac{6\sim7}{6\sim7\sim V}$ 40	38 $\frac{7\sim9}{5\sim7\sim V}$ 42	36 $\frac{7\sim8}{5\sim6\sim V}$ 40
9	背 鳍 条	III12—13	III10—11	III13—15	III11—13
10	臀 鳍 条	III5	III5	III5—6	III5—6
11	腹 鳍 条	18	18	18	18
12	咽 齿	2.4.5—5.4.2	2.4.5—5.3.2	2.4.5—5.4.2	2.4.5—5.4.2
13	脊 椎 骨	4+30	4+35	4+31	4+30~32
14	鳔 室	2 室	2 室	2 室	2 室

Name of the characteristics: 1. Stand. leng./body depth, 2. Stand. leng./head leng., 3. Stand. leng./Caudal peduncle leng., 4. Stand. leng./Caudal peduncle depth, 5. head leng./snout leng., 6. head leng./interorbital space, 7. head leng./eye diameter, 8. Scale pattern, 9. Dorsal fin rays, 10. Anal fin rays, 11. Ventral fin rays, 12. Pharyngeal teeth, 13. Vertebrae numbers. 14. Chambers of air bladder.

LDH 同工酶谱是与父本相同的，都具有 7 条酶带，而在母本的相同组织中却都只有 5 条酶带，并且在父本与杂交一代中所见到的这七条酶带都是走向阳极的。因此，按前人在鲤科鱼类中的有关报道^[18]，可以推断湘华鲮的 B 基因坐位中有 2 个不同的位点 B 和 B'。因

此, 这 7 条酶带以迁移率递增的次序排列可能是 A_4 、 A_3 、 B_1 、 A_2 、 B_2 、 A_1 、 B_3 、 B_4 、 $B_2B'_2$ 、 B'_4 。至于 B' 位点怎样能在一代中表达及其与一代的耐低温能力增加的关系, 以及在二代中是否有分离等问题均有待进一步研究。

在上述个体形态、细胞染色体组型以及生化表现型等的遗传分析中都可以看出湘鲮杂交一代既继承了大量的母本性状而又有某些两亲本的中间性状和少数完全与父本相同的生化表型特征。至于为什么在二代的性状分离中又未曾发现与父本完全相同的形态性状, 有可能是我们测量的二代个体数不够多, 也可能在一代的性产物发育成熟过程中已将父本的基因组大部丢失, 或者某些与父本耐寒相关的一些基因在杂合基因组中失去了被有序地表达的可能性。有关的这类问题将在下文中予以讨论。

有关问题的讨论

1. 关于鱼类低温适应的遗传机理问题

有关这一问题的已有研究成就就可以归纳为两个方面。一方面的研究结果认为: 抗冻蛋白基因系统所调控的抗冻蛋白信息的适时转录和翻译, 使高寒地区鱼类的血液冰点降至其所生活的水温以下, 这样防止了血液因结冰而死亡的危险。其中有一类高效的抗冻糖蛋白, 它们降低溶液冰点的效力比相同克分子浓度的氯化钠要高出 200—500 倍, 因此, 使生活在极区高寒水域的鱼类能顺利越冬而不被冻死。例如, 南极鱼科 (Notothenidae) 的鱼类和纽芬兰地区的大西洋鳕鱼 (*Gadus morhua*) 的血液中都有高浓度的抗冻糖蛋白存在^[12,14]。另外一些海鱼的血液中则含有抗冻多肽类物质, 例如, 美洲拟鲈 (*Pseudopleuronectes americanus*) 的冬季血液中抗冻多肽类物质的浓度可以高达 25 毫克/毫升, 而在夏季该鱼的血液中则只有 1 毫克/毫升。因此, 该鱼冬季血液的冰点可以降到零下 0.5—0.8℃ 以下, 故能在它的分布区内安全越冬。上述二类抗冻物质分子的结构及其抗冻的机制等均已研究清楚^[6,10,13]。1980 年 Lin 等从美洲拟鲈冬季肝脏中提取和纯化了抗冻肽的信息核糖核酸 (mRNA), 并将它在麦胚无细胞蛋白质合成系统中翻译出了有抗冻能力的多肽类。他们又用鸡胚成纤维细胞的逆转录酶转录出了它的互补脱氧核糖核酸 (cDNA), 并把这种 cDNA 和美洲拟鲈肝中提取的核酸进行杂交动力学分析。结果表明, 拟鲈冬季肝脏中约有 1% 的总核酸是抗冻肽的 mRNA^[16]。1981 年, 他们又将抗冻肽 mRNA 的 cDNA 插入质粒 PBR 322 后, 在大肠杆菌中进行克隆化扩增, 然后将分离出的足量 cDNA 进行核苷酸序列分析, 证明了它所编码的多肽类就是美洲拟鲈血液中的抗冻多肽类^[17]。此外, 他们还用实验证明了这类抗冻肽的生物合成是与温度和光周期相关的, 这项研究结果与前人发现在美洲拟鲈血液中的抗冻肽含量有季节性变化以及在同一季节中美洲拟鲈的北方与南方种群血液中抗冻肽的含量不同等结果完全符合^[11,20]。上述鱼类抗冻蛋白基因及其调控系统的研究是鱼类结构基因的表达与调控受环境条件制约的一个例证。至于这类基因系统是否也与某些淡水鱼类的抗寒性能有关, 我们尚在研究之中。另一方面的研究结果表明: 鱼类种群中蛋白质多态性的表达可以是鱼类低温适应的遗传基础。Moon (1975) 在其“同工酶功能和异质性的维持和温度适应关系”的综述^[19]中指出, 在面对温度条件变动的情况下, 在变温动物机体内维持酶的异质性, 例如在鲑鳟鱼类中那样, 是增加

可塑性和温度适应能力的保证。他并提出了同工酶对温度适应的二种基本方式；一是单一同工酶的一些不同类型的“开关”合成方式；二是在一个复杂同工酶系统中一些专一性同工酶成员之间的相对改变。Somero (1975) 又在“同工酶在适应温度改变中的作用”一文^[23]中指出，酶变异体在温度适应中可以起以下两种作用：1) 是为一种组织或一个生物体选择代谢的正确途径起引导作用；2) 扩大一个生物体对环境忍耐力的范围。他并通过实验证明四倍体的硬头鲮 (*Salmo gairdneri*) 在低温 (2—4℃) 和常温 (17—18℃) 时的同工酶有不同型式出现。以后又有些学者在其他广温性鱼类的不同生态种群中也发现有地区性专一同工酶型式的出现。例如，Place 等^[23]以及 Beneden 等^[7, 8]对大西洋北美洲沿岸的底鲮 (*Fundulus heteroclitus*) 种群的 8 种多态性酶类基因频率的空间变异性 (Spatial variation) 研究和对底鲮中纯化的乳酸脱氢酶 LDH-B 等位基因同工酶类的相对活力的比较研究结果，都说明了这 8 种酶基因频率的空间(指纬度)变异性是显著的，并支持这类遗传变异性是由温度选择所决定的学说。我们认为，在作为低等脊椎动物的鱼类中出现在植物界早已被证实的那种“温度变异是使同工酶系统复杂化的主要原因”的一般规律性^[5]也是合理的。同时我们也认为，二倍体鱼类(包括像鲤、鲫鱼等已基本二倍化了的古老四倍体鱼)在对不同栖息温度进行演化性适应过程中，以发展广泛性酶类的适应方式为主也是符合自然选择的客观要求的。这也就是说，在地区性温度适应过程中以应用酶动力学的广谱性来达到适应目的是最简捷的一种途径，它比另外合成一套同工酶要迅速可靠得多。例如，广温性鲮鱼中的乙酰胆碱酯酶 (AChE) 就是一种以不同 K_m 值来适应温度变化的例子。这类酶蛋白分子的构型，在不同温度条件下是可变的，因此，它是在广泛温度区域内都能适用的广泛性酶，它与底物结合的能力在这种鱼广泛分布的温度区内都是适应的。然而在定温性鱼类中，像上文提到过南极鱼科的一个种——*Trematomus borchgrevinkii* 的 AChE 与底物结合的能力也只限于低温区内 (0℃ 左右)，当温度高于零度以上时，该酶活力下降，约到达 7℃ 时即失活而导致死亡，成为决定这种鱼存活温度上限，被称为临界脑酶。我们在对另一类定温性鱼类鲟鱼的研究中发现这种酶的活力特性正好相反，当水温低到 7℃ 以下脑 AChE 活力降低到正常值的 55% 时出现死亡^[2]，成为这种鱼存活温度下限，这进一步说明了该酶在温度适应中的作用。总之，我们认为鱼类低温适应的遗传机理及其生理、生化基础尚须进一步深入系统地加以研究，它是鱼类生化遗传学研究的重要课题之一。

2. 鱼类属间杂交后代的性状遗传变异及其与选择育种的关系问题

通过鱼类属间杂交选育取得优良品种的例子较少，其中最著名的是鲟亚科鱼类在欧洲 2 个属的杂交后代，即欧洲鳇 (*Huso huso* L., ♀) 和小体鲟 (*Acipenser ruthenus* L. ♂) 之间的杂交取得了兼有两亲本优点的后代，并早已在生产上推广应用。然而，1980 年 Krylova 报道了放养在伏尔加河和里海中的鲟鳇杂交后代的性状遗传变异情况^[15]，他发现研究过的 37 个数量性状中只有 7 个是有检索重要性的。杂交一、二代的特征是多基因地和独立地遗传的，杂交二代中有广泛的性状变异范围和较多的体色变异性，据此，提出应进一步开展选择育种的工作。在我国通过属间杂交取得遗传改良效果的也有报道，如长春鳊 (*Parabramis brachycephala* ♀)、团头鲂 (*Megalobrama amblycephala* ♂) 的属间杂交种

克服了长春鳊不耐运输的缺点¹⁾; 又如细鳞斜颌鲴(*Plagiognathops microlepis* ♀) × 黄尾密鲴(*Xenocypris davidi* ♂) 的后代除有生长优势外, 也在一定程度上克服了母本鳞片细小而不耐运输的缺点²⁾; 本文所报道的湘鲮杂交后代也在一定程度上提高了母本的抗寒能力。但是这些属间杂交后代都还局限于杂交一代某种优势的生产性应用方面, 对培育成一个稳定遗传的新品种来说还有一段漫长的选育过程, 其中包括回交与定向选择等手续。由于细胞工程与基因工程等育种新技术运用于鱼类的育种实践, 目前尚在探索阶段, 因此, 经典的育种技术在理论上和实践上都还有它的现实性和优越性; 至于其育种周期过长和占用鱼池太多等缺点, 可以通过无性繁殖快速建立纯系和采用适当的标记方法与检验技术来加以改进。例如, 用生化表型特征来区别混养在同一池塘中的不同家系, 并检测它们生长优势的潜在可能性等技术已在东欧各国的养鲤业中实际应用^[24], 这是值得学习和推广的。

参 考 文 献

- [1] 伍献文等, 1977. 中国鲤科鱼类志(下册), 338—340页。上海人民出版社。
- [2] 冯祖强等, 1982. 鲮鱼冷休克及其死亡的某些生化因素。水生生物学集刊(待刊稿)。
- [3] 张锦霞等, 1982. 湘华鲮(♂) × 鲮鱼(♀) 杂交一代与其双亲染色体组型的比较研究。水生生物学集刊, (待刊稿)。
- [4] 章宝惠译(斯特罗加诺夫著), 1961. 鱼类对温度的生理适应。科学出版社。
- [5] Allard, R. W., Babbei, G. R., Clegg, M. T. and A. L. Kahler, 1972. Evidence for coadaptation in *Avena barbata*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 69: 3043—3048.
- [6] Ananthanarayanan, V. S. and C. L. Hew, 1977. Structure studies of the freezing point depression protein of the Winter Flounder *Pseudopleuronectes americanus*. *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, 74 (2): 685—689.
- [7] Beneden, R. J., Cashion, R. E. and D. A. Powers, 1981. Biochemical genetics of *Fundulus heteroclitus* (L). III. Inheritance of isocitrate dehydrogenase (Idh-A and Idh-B), 6 phosphogluconate dehydrogenase (6 Pgdh-A), and serum esterase (Est-S) polymorphisms. *Biochem. Genet.*, 19(7/8): 701—714.
- [8] Cashion, R. E., Beneden, R. J. and D. A. Power, 1981. Biochemical genetics of *Fundulus heteroclitus* (L). IV. Spatial variation in gene frequencies of Idh-A, Idh-B, 6 Pgdh-A and Est-S. *Biochem. Genet.*, 19 (7/8): 715—728.
- [9] Davis, B. J., 1962. "Disc Electrophoresis" *Distill. Prod. D. V. Eastman Kodak Co., Rochester, N. Y.*
- [10] DeVries, A. L. and Y. Lin, 1977. Structure of a peptide antifreeze and mechanism of adsorption to ice. *Biochimica et Biophysica Acta*, 495 (2): 388—392.
- [11] Duman, J. G. and A. L. DeVries, 1974. The effects of temperature and photoperiod on antifreeze production in cold water fishes. *J. Exp. Zool.*, 190(1): 89—98.
- [12] Duman, J. G. and A. L. DeVries, 1974. Freezing resistance in winter flounder *Pseudopleuronectes americanus*. *Nature*, 247(5438): 237—238.
- [13] Duman, J. G. and A. L. DeVries, 1975. The role of macromolecular antifreezes in cold water fishes. *Comp. Biochem. Physiol.*, 52(1A): 193—200.
- [14] Hew, C. L., Slaughter, D., Flecher, G. L. and S. B. Joshi, 1981. Antifreeze proteins in the plasma

1) 武汉市水产科学研究所, 1974. 鱼类育种及其基础理论研究论文集。

2) 戴庆年等, 1978. 淡水渔业专业会议论文资料汇编, 104页。

- of Newfoundland Atlantic cod (*Gadus morhua*). *Can. J. Zool.*, 59(11): 2186—2192.
- [15] Krylova, V. D., 1980. Variability and inheritance of characters by *Huso huso* (L.) \times *Acipenser ruthenus*, (L.) hybrid of the first and second generations in relation to selective breeding. *Vopr. Ikhtiol.*, 20(2): 232—247. (Cited from *ASFAL*, 11(8): 74).
- [16] Lin, Y. and D. J. Long, 1980. Purification and characterization of winter flounder antifreeze peptide messenger ribonucleic acid. *Biochem.*, 19(6): 1111—1116.
- [17] Lin, Y. and J. K. Gross, 1981. Molecular cloning and characterization of winter flounder antifreezing cDNA. (recombinant DNA/antifreeze peptides/DNA-DNA hybridization/DNA sequence). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 78(5): 2825—2829.
- [18] Markert, C., Shaklee, J. B. and G. S. Whitt, 1975. Evolution of a gene, Multiple genes for LDH isozymes provided a model of the evolution of gene structure, function, and regulation. *Science*, 189(4197): 102—114.
- [19] Moon, T. W., 1975. Temperature adaptation: Isozyme function and the maintenance of heterogeneity. In "Isozyme" II. pp. 207—220. (Edited by C. L. Markert) AP London.
- [20] Petzi, D. H., Reisman, H. M. and A. L. DeVries, 1980. Seasonal variation of antifreeze peptide in the winter flounder, *Pseudopleuronectes americanus*. *J. Exp. Zool.*, 211(1): 63—69.
- [21] Place, A. R. and D. A. Powers, 1979. Genetic variation and relative catalytic efficiencies: Lactate dehydrogenase B allozymes of *Fundulus heteroclitus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 76(5): 2354—2358.
- [22] Shew, C. R. et al., 1968. In "Chromatography and Electrophoretic Technique" Vol. II Chapter 9. Heinemann, London.
- [23] Somero, G. N., 1975. The role of isozymes in adaptation to varying temperatures. In "Isozyme" II. *Physiol. Funct.* pp. 221—234. (Edited by C. L. Markert) AP. London.
- [24] Valenta, M., 1978. Protein polymorphism in European fish species of the Cyprinidae family and utilization of polymorphic proteins for breeding in fish. Intern. Semin. on Incr. the Produc. by Selection and Hybridization. pp. 37—76 Fisheries Res. Inst. Szarvas, Hungary (Publisher: Dr. F. Muller).

STUDIES ON THE GENETIC IMPROVEMENT OF THE MUD CARP (*CIRRHINUS MOLITORELLA*)

1. SELECTIVE CROSS BREEDING AND ANALYSIS OF GENETIC TRAITS

Wang Zuxiong, Zhang Jinxia, Huang Wenyu, Zhao Mingji,

Liu Xiaofang, Zhu Lanfei, Feng Zuqiang
(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica)

Jin Guangqin

(The Fisheries Research Institute of Guangxi)

Abstract

This paper summarizes the methods and preliminary results of the selective cross breeding experiments on the mud carp in order to improve its low temperature endurance. The genetic traits analysis of the hybrid progenies (F_1 and F_2) with respect to their parental fishes is presented in this paper likewise.

The genetic mechanism of low temperature adaptation and the molecular genetic basis of antifreezing character in some fishes are discussed in this paper. Whether the molecular genetic basis of the low temperature endurance in the mud carp is similar to any one of the other fish's adaptative mechanism or not remains a question for further research. Nevertheless, this question should be an excellent research subject in physiological and biochemical genetics of fish.

When the problem of genetic mechanism and molecular basis of low temperature endurance in fish is thoroughly solved, the technique of genetic engineering for improving low temperature endurance in some warm water fishes would get its reliable theoretical basis and the effective scheme for this genetic improvement could be established. However, selective cross breeding is still an effective scheme for genetic improvement at present. The defects of long breeding period and a large number of fishponds required for this scheme would be improved by means of quick establishment of the pure lines through asexual reproduction and distinguishing different parental lines that are cultured in the same pond with phenotypic biochemical markers.

图 1 (1)–(3) 是湘鲢杂交一代自交所得二代 (F_2); (4)–(5) 是鲢鱼(杂交母本)。

图 2 湘鲢杂交一代 (F_1)

图 3 左图是湘鲢杂交一代 (F_1) 和亲本肝组织 LDH 同工酶谱(圆盘电泳):

(1) 是鲢鱼(母本); (2) 是杂交一代 (F_1); (3) 是湘华鲢(父本)。

右图是湘鲢杂交一代和亲本六种组织(从左到右: 肝、心、肾、脑、骨骼肌、眼) LDH 同工酶谱(淀粉胶平板电泳): (1) 是湘华鲢(父本); (2) 是杂交一代; (3) 是鲢鱼(母本)。

Fig. 1 (1)–(3) Progenies (F_2) of the hybrid fish (F_1 *Sinilabeo decorus tungting* ♂ × *Cirrhinus molitorella* ♀) (4)–(5) *Cirrhinus molitorella*, the maternal fish.

Fig. 2 Hybrid fish (F_1) of *S. decorus tungting* ♂ × *Cirrhinus molitorella* ♀.

Fig. 3 Left figure: LDH isozymic patterns of the liver in the hybrid and the parental fishes (Polyacrylamide disc gel electrophoresis). (1) *Cirrhinus molitorella*, (2) hybrid (F_1), (3) *S. decorus tungting*. Right figure: LDH isozymic patterns of six tissues (from left to right: liver, heart, kidney, brain, skeletal muscle and eye) by starch gel plate electrophoresis. (1) *S. decorus tungting*, (2) hybrid (F_1), (3) *C. molitorella*.

