

# 鲮鱼和二代混精鲮鱼低温耐受能力的差异

吴力钊 王祖熊

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

## 提 要

采用 LKB 循环冷却装置以程序降温方式比较鲮鱼及二代混精鲮鱼(草鱼混精鲮或多精混精鲮再用草鱼精液进行混精受精所得子代)的耐寒性能。无论是在 7.0℃ 条件下的耐受时间, 还是对低温耐受的极限, 二代混精鲮鱼均优于鲮鱼, 但这种改善是有限的。作者认为, 混精受精法不能从根本上解决鲮鱼的不耐寒性能。应该寻求其他更有效的育种途径。

**关键词** 鲮鱼, 二代混精鲮鱼, 程序降温, 低温耐受

鲮鱼(*Cirrhina molitorella*) Cuvier et Valenciennes 为我国南方特别是两广地区重要的池养鱼类之一。其产量约占两广地区池养鱼总量的 40%, 具有群体产量高、饲料来源广、抗病力强、肉质鲜美等优点, 鲮鱼罐头在广东的食品出口业中也占有一定的经济地位。然而, 鲮鱼具有耐低温能力差的缺点, 一般不能长期忍受 7.0℃ 以下的低温, 因而难以向我国高纬度的地区推广养殖。近二十年来, 两广地区的冬季水温常出现持续偏低的现象, 以致鲮鱼越冬受到严重威胁<sup>[1]</sup>。为此, 从七十年代起, 作者在鱼类首次采用混精受精法使鲮鱼的耐寒能力有所改善<sup>[2]</sup>, 但仍不能解决鲮鱼不耐寒问题。所以, 作者拟采用混精鲮鱼的再次混精受精, 以探讨逐代混精受精法从根本上改变鲮鱼不耐寒的可行性。

## 材料与方 法

采用混精受精法<sup>[2]</sup>获得的混精鲮一代(草鲮或多精鲮)在广东兴宁县鱼苗场经自然低温筛选并培育至性成熟后, 于 1988 年春用草鱼精液进行二代混精受精。二代混精鲮水花运至广东韶关市水产所饲养至 1989 年春运回水生所。与此同时, 将同龄鲮鱼<sup>①</sup>从珠江水产所运回水生所。两种鲮鱼均在水生所关桥试验场饲养用于取材。材料鱼全长 9.0—16.5cm。

作者以前曾采用室内或室外自然降温法及分池驯养比较鲮鱼的耐寒能力<sup>[1,2]</sup>, 但这种方法有很大的局限性: 水温无法人为控制; 自然水温在不同日期有升有降; 不同鱼池的水

1989 年 3 月 19 日收到。

① 由珠江水产所陈永乐同志提供, 特此致谢。

温也不尽相同。另外, 室外小水体一日内温差较大, 而记录的只是瞬时最低温度。为此, 本研究在方法上作了一些改进。具体方法如下: 采用 LKB 封闭循环冷却装置程序控制  $26 \times 28 \times 25 \text{ cm}$  的水族箱的水温。每次试验将鲢鱼和二代混精鲢各 8 尾剪腹鳍标记后放入同一水族箱(水容量为 9L)内驯养。水温在  $12.0^\circ\text{C}$  以前每天降温  $3.0^\circ\text{C}$  ( $8:00, 14:00, 20:00$  各降  $1.0^\circ\text{C}$ ),  $8.0^\circ\text{C}$  之前每天降温  $1.5^\circ\text{C}$  (每 4h 降  $0.5^\circ\text{C}$ ), 以后每天降温  $0.5^\circ\text{C}$  (每 4h 降  $0.25^\circ\text{C}$ ); 每天  $8:00-22:00$  每隔 2h 采用半导体点温度计测水温一次, 并检查试验鱼休克及死亡情况; 每天间断充氧累计不少于 16h; 每次试验从次日起每天换等温水 1000ml。每次试验周期 5—9d。试验分两组进行。一组为水温降至  $7.0^\circ\text{C}$  以后恒定, 共试验 5 次。另一组为按程序降温直至试验鱼全部死亡, 共试验 7 次。

鲢鱼休克以鱼体腹部朝上或不能自由游动为标志, 死亡的标志为鳃呼吸停止和对刺激无反应。

## 结 果

### (一) 鲢鱼及二代混精鲢 $7.0^\circ\text{C}$ 水温条件下耐受时间差异

表 1 鲢鱼及二代混精鲢  $7.0^\circ\text{C}$  条件下耐受时间差异

Tab. 1 Difference in enduring time at  $7.0^\circ\text{C}$  between mud carp and mixed sperm inseminated mud carp of the second successive generation

鱼 名 Fish strain 休克率及死亡率 Percentage of shock and mortality 持续时间 Enduring time (h)	鲢 鱼 Mud carp		二代混精鲢 Mixed sperm inseminated mud carp of the second successive generation	
	休克率 Percentage of shock (%)	死亡率 Mortality (%)	休克率 Percentage of shock (%)	死亡率 Mortality (%)
1	17.5	2.5		
3	20.0	5.0		
5	30.0	7.5	5.0	
7	37.5	12.5	7.5	
9	40.0	20.0	12.5	
18	57.5	35.0	20.0	5.0
21	65.0	47.5	30.0	15.0
23	70.0	55.0	40.0	22.5
25	82.5	67.5	50.0	27.5
27	92.5	85.0	57.5	35.0
29	97.5	90.0	60.0	37.5
31	100.0	95.0	67.5	47.5
33		95.0	72.5	62.5
42		100.0	87.5	72.5
45			87.5	77.5
47			95.0	85.0
51			100.0	90.0
57				100.0

从表 1 可以看出,在 7.0℃ 水温条件下,二代混精鲢的耐受时间明显高于鲢鱼。例如,在 7.0℃ 水温条件下持续 1h,鲢鱼休克 17.5%,死亡 2.5%,而此时二代混精鲢均存活;当二代混精鲢刚出现休克时(5h,休克 5.0%),鲢鱼已休克 30.0%;当二代混精鲢刚出现死亡时(18h,死亡 5.0%),鲢鱼已死亡 35.0%;当鲢鱼全部休克(包括死亡)时(31h),二代混精鲢的休克率为 67.5%;当鲢鱼全部死亡时(42h),二代混精鲢仅死亡 72.5%,休克率也只有 87.5%。二代混精鲢直到 51h 才全部休克,57h 才全部死亡。

表 1 的数据表明,尽管二代混精鲢在 7.0℃ 条件下的耐受时间明显长于鲢鱼,但这一差异仍非常有限:7.0℃ 条件下,鲢鱼耐受不过 2d,而二代混精鲢在 3d 内也全部死亡。

## (二) 鲢鱼及二代混精鲢的低温耐受极限差异

从表 2 可以看出,鲢鱼与二代混精鲢的低温休克及致死极限温度也有明显差异。例如,在 6.7℃ 水温条件下持续 1h,鲢鱼休克 71.4%,死亡 50.0%,而二代混精鲢只休克 28.6%,死亡 12.5%;在 6.5℃ 条件下持续 1h,鲢鱼休克 96.4%,死亡 82.1%,而同期的二代混精鲢的休克率和死亡率分别只有 46.4% 和 28.6%;在 6.5℃ 水温条件下持续 9h,鲢鱼全部休克,而同期的二代混精鲢仅休克 71.4%;在 6.5℃ 水温条件下持续 18h,鲢鱼全部死亡,而二代混精鲢的死亡率只有 66.1%,休克率也仅有 78.6%。二代混精鲢在

表 2 鲢鱼及二代混精鲢低温耐受极限差异

Tab. 2 Difference in lower temperature limits for cold shock and death between mud carp and mixed sperm inseminated mud carp of the second successive generation

水温 Water tempera- ture (°C)	持续 时间 Enduring time (h)	鱼名 Fish strain 休克率及死亡率 Percentage of shock and death %	鲢鱼 Mud carp		二代混精鲢 Mixed sperm inseminated mud carp of the second successive generation	
			休克率(%) Percentage of shock	死亡率(%) Mortality	休克率(%) Percentage of shock	死亡率(%) Mortality
6.7	1		71.4	50.0	28.6	12.5
	3		85.7	64.3	41.1	23.2
6.5	1		96.4	82.1	46.4	28.6
	3		96.4	91.1	51.8	33.9
	5		96.4	94.6	57.1	39.3
	7		96.4	94.6	60.7	41.1
	9		100.0	96.4	71.4	55.4
	18			100.0	78.6	66.1
6.3	1				82.1	67.9
	2				83.9	67.9
	4				83.9	73.2
6.0	1				87.5	80.4
	3				94.6	82.1
	5				100.0	83.9
	7					96.4
	9					100.0

6.0℃水温条件下持续 5h 才全部冰克,持续 9h 才全部死亡。上述结果表明,在程序降温条件下,鲢鱼不能耐受 6.5℃以下的低温,而二代混精鲢不能耐受 6.0℃以下的低温。由此可见,二者的低温极限差异也极小。值得注意的是,尽管鲢鱼可以短期耐受 6.5℃的低温,二代混精鲢可以短期耐受 6.0℃的低温,但它们都不能长期耐受 7.0℃的水温。这一结果表明,低温对鲢鱼及二代混精鲢的损伤作用并不是一个直接过程,具有明显的累积效应。

## 讨 论

迄今为止,不耐寒鱼类的遗传改良工作尚未见成功的报道。这可能主要受两个因素的限制:①鱼类的低温适应机制尚未彻底阐明;②鱼类的耐寒性能可能受多因素控制。有关鲢鱼耐寒性能的遗传改良工作,作者曾作过一些尝试。例如,通过杂交育种方式使雄湘华鲢与雌鲢鱼的杂交一代的耐寒能力有所改善,但耐寒性能在自交二代中出现分离<sup>[1]</sup>;采用混精受精法也可改善鲢鱼的耐寒性能,但这种改善也非常有限<sup>[2]</sup>。本研究结果表明,二代混精鲢的耐寒性能优于鲢鱼,但这一改善仍非常有限。而且,二代混精鲢的耐寒性能并不优于一代混精鲢<sup>[2]</sup>。曹永长<sup>①</sup>的研究结果表明,在不同温度驯养条件下,二代混精鲢和混精鲢自交二代的酶浓度变化与鲢鱼完全相同;尽管这三组鲢鱼的线粒体膜脂肪酸的不饱和度和有如下数量关系:二代混精鲢>混精鲢自交二代>鲢鱼,但彼此之间的差异仍非常小,故对膜的流动性影响也非常有限。而且,二代混精鲢及混精鲢自交二代在不同温度驯养条件下其脂肪酸组成变化甚微。综合上述结果,作者认为仅靠混精受精法并不能从根本上改变鲢鱼的不耐寒问题。因此,必须寻求其他的育种途径。

随着遗传工程技术的不断发展和完善,外源目的基因已成功导入鲤科鱼类<sup>[3]</sup>和鲢鳙鱼类<sup>[4]</sup>,但目前所采用的目的基因非常有限:仅人或牛生长激素基因和抗冻蛋白基因这两种。Fletcher 等(1988)<sup>[5]</sup>将美洲拟鲽的 AFP 基因显微注射至大西洋鲑(*Salmo salar*)的受精卵后,外源 AFP 基因可整合到大西洋鲑的基因组中。然而,整合的 AFP 基因能否正常表达以及表达的量能否足以提高大西洋鲑的抗冻能力等问题尚未见进一步的报道。AFP 仅存在于生活在极低温(0℃左右甚至 0℃以下)水域的冷水性鱼类体内,具有明显的抗“冻”作用。将 AFP 基因导入喜暖性鱼类(鲢鱼)后能否改良受体的抗“寒”性能尚未可知。况且,鱼类的抗寒性能很可能受多因素控制。由此看来,单独目的基因的导入即使成功,也不一定从根本上改变喜暖性鱼类的不耐寒问题。显然,寻找出更多的抗寒相关因子及其基因对于通过基因转移技术彻底改变鲢鱼不耐寒问题将会起重要作用。最近,Disney 等(1987)<sup>[6]</sup>将经低剂量放射线处理过的美洲红点鲑(*Salvelinus fontinalis*)精子通过人工雌核发育方式给硬头鲈(*Salmo gairdneri*)的白化品系成熟卵受精,后代染色体组中不规则地带有精子的染色体片段,而且精子的某些特异性同工酶等位基因在后代中能正常表达。进一步的研究结果表明,外源同工酶等位基因在硬头鲈的回交后代中仍能正常表达<sup>[7]</sup>。这一试验模式的成功不仅为鱼类遗传育种提供了新的途径,而且为外源遗传物质的整合及

① 曹永长,1989。鱼类低温适应机制的研究。中国科学院水生生物研究所硕士学位论文。

表达提供了新的检测手段。

### 参 考 文 献

- [1] 王祖熊等. 鲢鱼遗传改良的研究 I. 杂交育种和遗传性状分析. 水生生物学集刊, 1984, 8(2): 195—206.
- [2] 王祖熊, 黄文郁. 鲢鱼混精受精的育种试验. 水产学报, 1985, 9(2): 203—206.
- [3] Zhu Z, et al. Novel gene transfer into fertilized eggs of goldfish (*Carassius auratus* L. 1758). *J. Appl. Ichthyol.*, 1985, 1: 31—33.
- [4] Chourrout D, et al. High efficiency gene transfer in rainbow trout (*Salmo gairdneri* Rich.) by microinjection into egg cytoplasm. *Aquaculture*, 1986, 51(2): 143—150.
- [5] Fletcher G L, et al. Evidence for antifreeze protein gene transfer in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 1988, 45(2): 352—357.
- [6] Disney J E, et al. Intergeneric gene transfer of six isozyme loci in rainbow trout by sperm chromosome fragmentation and gynogenesis. *J. Exp. Zool.*, 1987, 244: 151—158.
- [7] Disney J E, et al. Maintenance of foreign gene expressions and independent chromosome fragments in adult transgenic rainbow trout and their offspring. *J. Exp. Zool.*, 1988, 248(3): 335—344.

## THE DIFFERENCE IN LOW TEMPERATURE ENDURANCE BETWEEN MUD CARP AND MIXED SPERM INSEMINATED MUD CARP OF THE SECOND SUCCESSIVE GENERATION

Wu Lizhao and Wang Zuxiong

(Institute of Hydrobiology, Academia Sinica, Wuhan 430072)

### Abstract

By lowering the water temperature progressively with an LKB thermostatic circulator, we studied comparatively the low temperature tolerance of mud carp (*Cirrhina molitorella*) and mixed sperm (from grass carp and mud carp or from grass carp silver carp, red common carp and mud carp) inseminated mud carp of the second successive generation. The mixed sperm inseminated mud carp of the successive generation were more tolerant of low temperature than mud carp both in terms of the enduring time at 7°C and of the low temperature limits for shock and death. However, the improvement is rather limited. We proposed, therefore, the mixed sperm insemination method is unable to improve the mud carp's low temperature endurance below 6°C and other breeding methods must be explored in order to improve the cold tolerance of this fish more effectively.

**Key words** Mud carp, Mixed sperm inseminated mud carp of the second successive generation, Lowering water temperature progressively, Low temperature endurance