

研究简报

抗病草鱼(83-2系鱼)选育的研究

THE STUDIES ON SELECTION OF ANTIDISEASE GRASS CARP (83-2 STRAIN)

吴维新 李传武 曾国清

(湖南省水产科学研究所, 沅江市 413100)

Wu Weixin Li Chuanwu Zeng Guoqing

(Hunan Fisheries Research Institute, Yuanjiang, 413100)

关键词 草鱼, 杂交种, 83-2系鱼, 抗病力, 选育

KEYWORDS Grass carp, Hybrid, 83-2 strain fish, Disease resistance, Selection

草鱼是我国传统的优良养殖鱼类, 但草鱼多病, 成活率低。因此, 关于草鱼抗病育种的研究, 已为国内外所重视。70年代以来, 不少学者进行了草鱼与其他养殖鱼类的杂交, 近年来开展了草鱼染色体工程及基因工程育种的研究, 但至今尚未取得显著成果^[6~8]。

用兴国红鲤与草鱼杂交, 获得了异源四倍体杂种一代^[1,2], 通过十余年选育, 在“七五”期间, 培育成第五代—83-2系鱼。83-2系鱼是一个人工培育成的优良品系, 它具备了草鱼的优良性状, 抗病力高于草鱼。“八五”期间, 我们继续进行了83-2系鱼的选育, 并对83-2系鱼及其子代的形态、生长、抗病, 核型及生化遗传标记进行了比较研究^[2~5]。

1 材料和方法

1.1 83-2系鱼的繁殖

分别在1992年、1993年、1995年, 选择体重6公斤以上, 侧线鳞47以上性腺成熟的雌、雄鱼人工催产, 催产方法同草鱼。催产前称重, 每组鱼单独放一个产卵池, 全产鱼计数产卵量, 算出相对怀卵量, 在原肠期计算受精率。

1.2 形态学测定

随机抽样83-2系鱼2龄鱼30尾, 测定体长、全长, 尾柄长、头长、体高、尾柄高、口位、侧线鳞数, 并计算其比例性状。另外随机抽样10尾83-2系鱼的子代的当龄鱼, 只测定其侧线鳞数和口位。这些子代是用侧线鳞47的83-2系鱼繁殖的。

1.3 抗草鱼出血病能力的测定

用浓度 10^{-3} ~ 10^{-4} 的草鱼出血病活毒组织浆注射和浸泡同规格的草鱼和83-2系鱼及其子代。经处理的鱼在相同条件下饲养, 计算其成活率。83-2系鱼与草鱼的抗病对照试验于1989年—1993年进行; 83-2系鱼子代与草鱼抗病对照试验在1995年进行。83-2系鱼抗病力的遗传力按以下公式计算:

收稿日期:1995-12-08。

$$h^2 = \frac{P_f}{P_m} \quad h^2: \text{遗传力}; P_f: \text{子代表现型}; P_m: \text{母代表现型}$$

1.4 核型研究

在 1992 年进行,取 83-2 系当龄鱼 3 尾,规格 15-20 厘米,尾动脉抽血,白细胞用 199 加小牛血清培养 72 小时,结束前 4 小时加秋水仙素最终浓度 $3\mu\text{g}/\text{ml}$, 0.075M KCl 低渗处理,卡诺氏液固定,空气干燥法制片,Giemsa 染色。

1.5 生化遗传标记测定

血清蛋白质电泳,1991 年 12 月至 1992 年 1 月进行,取兴国红鲤 10 尾、草鱼 26 尾、83-2 系鱼 28 尾,83-2 系鱼按侧线鳞数又分为三类:I 类(侧线鳞 47-48)10 尾;II 类(侧线鳞 45-46)10 尾;III 类(侧线鳞 41-44)8 尾。断尾收集血液,离心分离出血清,用巴比妥钠缓冲液调到 pH8.6,醋酸纤维薄膜电泳 40-50 分钟,氨基黑 10B 染色。每尾鱼血清重复电泳 3-5 次。共获电泳图谱 204 幅。选择效果较好的 117 幅,用岛津 CS-9000 型自动扫描仪 $\lambda=600\text{\AA}$ 反射光扫描,自动记录各种成份的相对含量,再按常规统计方法计算平均值和标准差,并用 t 值检验不同鱼相应成份间差异的显著性。

2 结果与讨论

2.1 形态特征

83-2 系鱼的形态特征与草鱼接近,与草鱼的区别性状是:(1)侧线鳞 37-50,其中 8% 的个体侧线鳞在 47-50 之间。(2)口中位偏下,略低于草鱼。选择侧线鳞 47-48 的 83-2 系鱼繁殖的子代,其侧线鳞数为 43-47,分布范围是 43(1 尾)、45(2 尾)、46(5 尾)、47(2 尾),众数值在 45 以上。因此,侧线鳞大于 45,可作为 83-2 系子代与草鱼的区别性状。选择的结果表明,侧线鳞 47-48,不能稳定遗传,但通过选择,可使侧线鳞数的变异范围缩小。83-2 系鱼子代口中位偏下,具有遗传稳定性。

2.2 83-2 系鱼的核型变化

兴国红鲤染色体数 $2n=100$ 。其中 M 组 6 对,SM 组 20 对,ST 组 10 对,T 组 14 对,总臂数 172 对。

草鱼染色体数 $2n=48$,其中 M 组 10 对,SM 组 6 对,ST 组 8 对,总臂数 96 对。

兴国红鲤与草鱼杂种一代染色体数为 142-156,众数值 148。是鲤鱼卵子($n=50$)和草鱼精子($n=24$)受精后,染色体自动加倍形成的异源四倍体。但体内嵌合有 $2N=74$ 的细胞,是染色体没有加倍的细胞。

草鱼(♀)与杂种一代(♂)回交一代杂种染色体数为 98-100,众数值 98,含有 2 组草鱼染色体和 1 组鲤鱼染色体。因此,回交一代为三倍体,但也发现含有染色体 74-78 的二倍体细胞。

83-2 系鱼的染色体数为 48。其中 M 组染色体 14 对,SM 组染色体 10 对。说明 83-2 系鱼已蜕变为二倍体。至于产生二倍体的原因,目前尚无足够的试验证据说明,可能由于三倍体细胞在产生配子的过程中,草鱼染色体和鲤鱼染色体的不亲和性,使鲤鱼染色体被排斥,形成只有草鱼染色体的单倍体配子。

2.3 83-2 系鱼的生化遗传标记

两个祖代亲体——兴国红鲤与草鱼和 83-2 系鱼血清蛋白电泳带,按向阳极迁移的速度,依次编为 1、3、4、5、6 号带。1、3、4、5 号带分别相应于人类血清中的清蛋白、 α 球蛋白、 β 球蛋白、 γ 球蛋白。把在成份 5 以外的近阴极区,相对迁移在 0.37 以下的弱带统称为成份 6,推测可能是 γ 巨球蛋白。将扫描的数据进行统计分析,兴国红鲤、草鱼、83-2 系鱼的清蛋白含量平均在 40.8-44.6%, α 球蛋白含量为 12.7-17.1%, β 球蛋白含量为 11.4-15.8%, γ 球蛋白含量为 21.9-26.4%, γ 巨球蛋白含量:兴国红鲤为 2%、草鱼为 3%,83-2 系鱼的类型 I 为 5.2%,类型 II 为 6.1%,类型 III 为 5.5%。

微型双相电泳结果表明,兴国红鲤有 60-70 个电泳斑点,草鱼和 83-2 系鱼有 90-100 个电泳斑点。83-2 系鱼电泳图型及斑点数都近似于草鱼,但局部有杂合特征。83-2 系鱼血清中类似 IgG 和 IgM 的免疫球蛋白明显多于草鱼,且具有两亲本的杂合特征,提示它可能从兴国红鲤的遗传成份中获得了较强的体液免疫功能。微型双相电泳图谱见图 1-4。

2.4 83-2 系鱼及其子代的抗病力

83-2 系鱼与草鱼的抗病对比试验在 1989 年、1992 年、1993 三年内,重复了 8 次试验(见表 1)。试验

表明:在用草鱼出血病活毒组织浆人工感染后83-2系鱼的平均成活率为43.48%,草鱼平均成活率为22.05%,83-2系鱼的抗草鱼出血病的能力比草鱼提高近一倍。

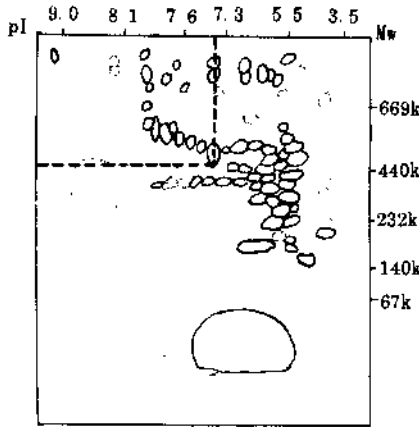


图1 兴国红鲤血清蛋白双相电泳图

Fig. 1 Double facies electrophoresis gram of haemoglobin from *Cyprinus capio* red

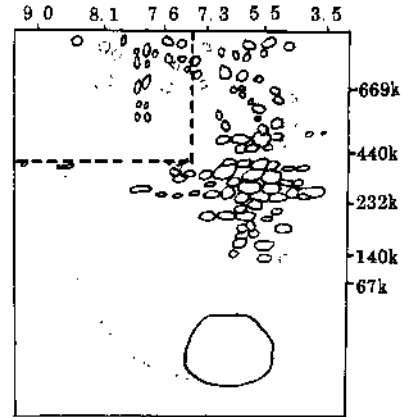


图2 草鱼血清蛋白双相电泳图

Fig. 2 Double facies electrophoresis gram of haemoglobin grass carp

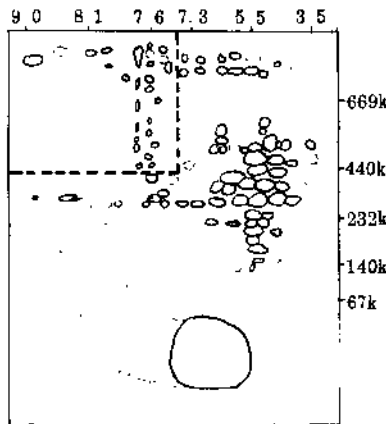


图3 83-2系草鱼血清蛋白双相电泳图

Fig. 3 Double facies electrophoresis gram of haemoglobin from 83-2 strain

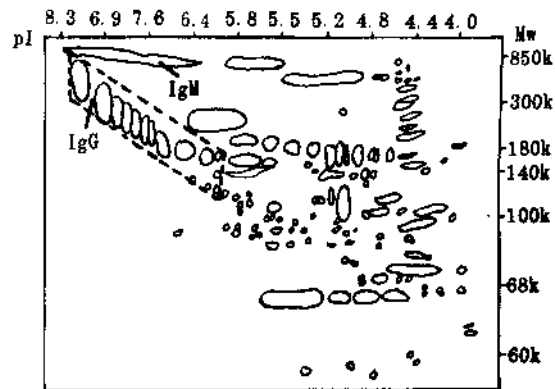


图4 正常人血清蛋白双相电泳图

Fig. 4 Double facies electrophoresis gram of haemoglobin from human

1995年进行了83-2系鱼子代与草鱼抗出血病对比实验,重复了3次(见表2)。结果表明:83-2系鱼子代平均成活率为65.53%,草鱼平均成活率为42.36%,83-2系鱼子代抗草鱼出血病能力比草鱼高54.69%。

$$\text{按公式: } h^2 = \frac{P_f}{P_m} = \frac{0.5469}{0.9718} = 0.56277$$

按上述计算,83-2系鱼抗病力的遗传力,初步确定为0.56277,具有较强的遗传力。但由于83-2系鱼子代抗病对比试验次数较少,所以数据不一定很精确,有待进一步测定。

2.5 83-2系鱼的养殖与繁殖

从1992年开始,还进行了83-2系鱼的养殖试验。先后在长沙、湘潭、岳阳、益阳、常德等地市20多个点进行了养殖。当年鱼种养殖成活率80-98.5%,比相近条件养殖的草鱼成活率提高18-32%。成鱼塘

放养 83-2 系鱼种每亩 100-150 尾,成活率 71-97%,个体重可达 0.5-3.0 公斤。

1995 年繁殖 83-2 系子代鱼苗 58 万尾,另培育夏花 5 万尾,分送到 6 个试验点养殖。

1989 年获得的 83-2 系鱼,1992 年达到性成熟并催产 1 组,雌鱼体重 6 公斤,获卵 26.4 万,相对怀卵量 4.6 万/kg,受精率 88%,获苗 12 万,孵化率 57%。1993 年催产 2 组,产卵 1 组,体重 8kg,相对怀卵量 5.3 万/kg,受精率 65.4%,出苗 14.7 万,孵化率 42%。

表 1 83-2 系鱼与草鱼抗出血病对比试验

Table 1 Control experiment on antihæmorrhages of 83-2 strain with grass carp.

编号 No.	时间 Time	水温℃ Water temp.	83-2 系鱼 83-2 strain fish			草 鱼 Grass carp		
			处理数 No. treatment	成活数 No. survival	成活率(%) Rate of survival	处理数 No. treatment	成活数 No. survival	成活率(%) Rate of survival
1	89.7.26-8.8	23-33	21	16	76.29	22	2	9.1
2	89.8.9-8.18	33-37	8	2	25	17	1	5.9
3	89.8.21-9.8	33-23	14	11	78.6	14	2	14.3
4	92.7.13-23	27-31	92	36	40	93	15	16.7
5	92.7.27-8.5	28-32	111	26	23.4	111	37	33.3
6	92.8.7-13	30-34	116	37	33.3	105	21	20
			51	20	39.2			
7	92.8.19-28	26-30	110	23	20.9	110	7	6.4
			55	14	25.5			
8	93.7.10-20	25-30	150	109	72.7	150	106	70.7
平均 Mean					43.48			22.05

表 2 83-2 系鱼子代与草鱼抗出血病对比试验

Table 2 Control experiment on antihæmorrhages of the first filial generation of 83-2 strain with grass carp

编号 No.	时间 Time	水温℃ Water temp.	83-2 系鱼子代 First filial generation of 83-2 strain			草 鱼 Grass carp		
			处理数 No. treatment	成活数 No. survival	成活率(%) Rate of survival	处理数 No. treatment	成活数 No. survival	成活率(%) Rate of survival
1	95.9.13-30	19-27	105	43	41	105	60	57.1
2	95.10.21-30	20-25	9	7	77.8	10	4	40
			9	7	77.8	10	3	30
平均 Mean					65.53			42.36

1991 年获得的 83-2 系鱼,1995 年达到性成熟,进行了 3 批催产,共催产 8 组,全产 5 组。平均体重 5kg,获卵 100.5 万,相对怀卵量为 4.02 万/kg,受精率 87.4%,获苗 58 万,孵化率 70%。

从三年 5 批繁殖效果看,83-2 系鱼的相对怀卵量为 4-5.3 万/kg 之间,受精率为 65-88%,孵化率 60-75% 之间,其繁殖的几个主要参数均接近草鱼。

3 小结

在 83-2 系鱼的传代和选育中,对几个主要性状研究的结果如下。

1. 侧线鳞数45以上,可作为83-2系鱼子代与草鱼的区别性状。侧线鳞47,是遗传不稳定性状,但通过选择可以缩小变异范围。

2. 83-2系鱼抗草鱼出血病能力高于草鱼97.18%;83-2系鱼子代抗草鱼出血病能力高于草鱼54.69%,初步计算83-2系鱼抗病力的遗传力为0.56277,有较强的遗传力。

3. 83-2系鱼的繁殖能力及生长速度接近或等于草鱼。因此,83-2系鱼及其子代有优于草鱼的经济性状,且能较稳定的遗传,具有良好的选育前景。

参 考 文 献

- [1] 吴维新等,1981。一个四倍体杂种—兴国红鲤♀ *Cyprinus carpio red* × 草鱼 *Ctenopharyngodon idella*。水生生物学集刊,7(3):433-436。
- [2] 吴维新等,1988。鲤草异源四倍体及其回交三倍体子代研究。水生生物学报,12(4):355-364。
- [3] 刘国安等,1987。兴国红鲤雌×草鱼雄受精生物学研究。水产学报,11(1):17-22。
- [4] 李传武等,1990。鲤和草鱼杂交中雄核发育子代的研究。水产学报,14(2):153-156。
- [5] 李传武,1991。兴国红鲤、草鱼及其杂种一代血清蛋白质的电泳分析。淡水渔业,(6):12-14。
- [6] Beck, M. L. and Bigger, C. G., 1981. Karyological studies on grass carp, big head and their first generation hybrid. Trans. Amer. Fish. Society, 109 (4):433-438.
- [7] Marian, T. and Krasznai, Z., 1979. Comparative karyotype studies on Chinese carp. Aquaculture, 18(4):325-336.
- [8] Stanley, J. G., Martin, J. M., and Jones, J. B., 1975. Gynogenesis as a possible method for producing monosex grass carp. prog. fish cultivist, 37(1):25-26.