

唐忠林, 茆健强, 周国勤, 等. 精子保存方法在黄颡鱼规模化繁殖中的应用[J]. 江苏农业科学, 2015, 43(8): 226-228.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.08.074

精子保存方法在黄颡鱼规模化繁殖中的应用

唐忠林, 茆健强, 周国勤, 孙浩波
(江苏省南京市水产科学研究所, 江苏南京 210036)

摘要:以受精率为标准,通过黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)繁苗试验,分析了3种保存液在黄颡鱼规模化生产中的应用效果。结果表明,应用黄颡鱼精子保存专用液的授精效果较佳,当雌雄配组比例分别为500:1、250:1、50:1时,3组之间的受精率均不存在显著差异。规模繁殖生产中,授精时间控制在1.5 h内,可将单尾雄鱼配组繁殖的雌鱼数量提高到300~500尾,有效提升黄颡鱼雄鱼使用及规模化繁苗效率。

关键词:黄颡鱼;规模化繁殖;受精率;精子保存;受精率

中图分类号: S961.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)08-0226-02

黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)属鲇形目鲿科黄颡鱼属,是小型底栖经济鱼类,在我国各大水系均有分布。黄颡鱼肉质细嫩、味道鲜美、无肌间刺,深受广大消费者欢迎。近年来,江苏省各地区已广泛开展了黄颡鱼池塘养殖,但其种苗规模生产问题未能得到很好解决,主要存在亲本量需求大、劳动强度大、雌雄鱼发情时间难以同步及需要大量杀雄鱼采精等问题^[1-2]。开发应用黄颡鱼精子保存技术有助于提高黄颡鱼精子利用率,减少雄亲鱼宰杀量及劳动量,提高繁苗效率,提升经济效益。有关黄颡鱼精子生理特性、保存液配方及保存条件研究已有报道^[3-7],但有关保存方法在黄颡鱼规模化生产中的应用效果研究报道较少。本研究筛选出授精效果较好的精子保存液,确定适宜的雌雄配组比例及繁殖时间,旨在为促进黄颡鱼规模化繁殖提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

黄颡鱼亲本均为江苏省南京市水产科学研究所黄桥淮苗种繁育场自行培育,黄颡鱼雄鱼平均规格达0.2 kg,雌鱼平均规格达0.1 kg,亲鱼体表无伤无病,发育情况良好。电子秤,1.5 mL 移液枪,着卵网片,玻璃瓶等。

1.2 精子保存液制备

选择A、B、C共3种精子保存液^[6-8]。精子保存液A为黄颡鱼精子保存专用液:NaCl 7.68 g, KCl 0.22 g, NaHCO₃ 0.25 g, NaCO₃ 0.21 g, 葡萄糖 2 g/L 蒸馏水。精子保存液B为渔用任式液:NaCl 7.8 g, KCl 0.20 g, CaCl₂ 0.21 g, NaHCO₃ 0.021 g/L 蒸馏水。精子保存液C为生理盐水:NaCl 7 g/L 蒸馏水。

1.3 精子采集与保存

试验鱼捕捞后暂养于水泥池,采精前12 h对雄鱼注射促

黄体素释放激素A₂(LHRH-A₂)、绒促性素(HCG)、马来酸地欧酮(DOM),以促进精子成熟。采集精子时剖开雄鱼腹腔,用镊子取出精巢(2 mg/尾),去除血丝,在干净的培养皿中剪碎,纱网过滤,将单尾雄鱼的精液收集到各精子保存液中,保存液均为25 mL。整个取精过程在人工授精前0.5 h内快速完成,避免精子与水接触,常温下避光保存。

1.4 黄颡鱼人工授精

黄颡鱼规模化生产过程中,根据不同雌雄配比条件,通过人工授精来验证3种保存液在2 h内常温保存的精子授精效果。在人工授精前24 h对雌鱼注射渔用HCG、LHRH-A₂、DOM混合药物,以促使其卵子成熟。待90%以上雌鱼卵子成熟后(可轻松挤出)进行人工授精,挤压雌鱼的腹部,使鱼卵排入无水的不锈钢盆中,避免鱼卵与水接触。用移液枪取保存的精液,加入0.3%盐水激活,迅速倒入卵盆中,人工搅拌均匀,使卵子和精子充分结合授精,再将受精卵均匀布置在着卵网片上,在充气及流水条件下孵化,10 h后观察并计数受精卵,统计其受精率。

1.5 试验设计

探讨不同保存液配方、不同雌雄配组比例、不同保存时间3个条件对黄颡鱼精子保存液的授精效果,对比A、B、C3种精子保存液授精效果,并确定黄颡鱼规模化生产中适宜的雌雄配组授精比例。经测量,单尾雌鱼挤出卵的平均质量为13.74 g,试验过程中采用的卵量均按这一标准执行,各试验组使用的鱼卵量及精液量见表1。

表1 不同雌雄配组的试验设计

雌雄配组	1尾雄鱼精液总量(mL)	试验用精液量(mL)	雌鱼数量(尾)	卵质量(g)
50:1	25	5	10	137.4
250:1	25	1	10	137.4
500:1	25	1	20	274.8

1.6 数据统计

随机抽取各试验组布卵网片9片,每片随机抽取3个约12 cm²的区域,统计其受精率,再计算各组平均值,应用SigmaPlot软件分析数据差异性。

收稿日期:2014-08-13
基金项目:江苏省水产三新工程(编号:D2013-2-1)。
作者简介:唐忠林(1982—),男,湖南郴州人,硕士,工程师,主要从事水产动物育种研究。Tel:(025) 86566708;E-mail:77439753@qq.com。

2 结果与分析

2.1 3 种保存液在不同雌雄比例配组中的授精效果

不同配方精子保存液对精子的活力、授精能力都会产生很大影响,并直接影响人工繁殖的受精率。由表 2 可知,在黄颡鱼亲本雌雄尾数比为 50 : 1 条件下,采用精子保存液 A、B、C 组的人工繁殖受精率差异不显著,其平均受精率分别为 82.7%、84.6%、80.4%。在黄颡鱼亲本雌雄尾数比为 250 : 1 条件下,采用精子保存液 A、B 进行人工繁殖的平均受精率分别为 85.3%、82.8%,显著高于保存液 C 组,A 组与 C 组及 B 组与 C 组之间存在极显著差异,A 组与 B 组之间不存在显著差异。由此可知,随着黄颡鱼亲本雌雄比例的提高,3 种精子保存液在黄颡鱼繁殖中的应用效果存在差别,保存液 A、B 的应用效果明显好于保存液 C,保存液 A 的应用效果最好。

表 2 3 种精子保存液在黄颡鱼不同雌雄比条件下的受精率

保存液	受精率(%)	
	50 : 1	250 : 1
A	82.7 ± 3.6a	85.3 ± 5.2aA
B	84.6 ± 6.4a	82.8 ± 7.2aA
C	80.4 ± 5.9a	73.8 ± 6.3bB

注:受精率 = 计数受精卵数/计数总卵数 × 100%。同列数据后,不同小写字母表示差异显著 ($P < 0.05$),不同大写字母表示差异极显著 ($P < 0.01$)。表 3 同

2.2 保存液 A 在黄颡鱼不同雌雄配组比例下的授精结果

应用保存液 A 进行全人工繁殖 1.5 h,在黄颡鱼亲鱼雌雄尾数比分别为 50 : 1、250 : 1、500 : 1 条件下,3 个比例组之间的受精率不存在显著差异,平均受精率分别为 81.1%、80.2%、78.4%。由此可见,提高雌雄配组授精的比例并未对受精率造成显著影响,在应用保存液 A 的情况下,单尾发育良好的黄颡鱼雄鱼(精巢质量 ≥ 2 mg)可与 500 尾雌鱼配组繁殖授精。

2.3 常温保存条件下受精率随时间的变化情况

图 1 显示,黄颡鱼规模化繁殖过程中,常温保存条件下,应用保存液 A、B 黄颡鱼受精率在 1.5 h 内变化趋势不明显,1.5 ~ 2.5 h 之间均出现明显的下降趋势。应用保存液 A 进行繁殖时,0.5、2.5 h 的受精率分别为 83.72%、76.63%;应用保存液 B 进行繁殖时,0.5、2.5 h 受精率分别为 81.05%、71.67%。

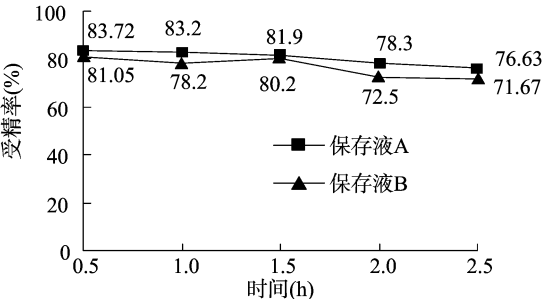


图 1 应用保存液 A、B 黄颡鱼受精率变化趋势

2.4 保存液 A 在规模化繁殖中的应用效果

黄颡鱼规模化繁殖过程中,由于雄鱼精巢大小不一,质量一般为 1.2 ~ 2.6 g,所以亲本鱼雌雄配组的比例须根据实际情况确定。由表 3 可知,应用精子保存液 A,人工催产黄颡鱼

表 3 黄颡鱼规模化繁殖结果

批次	雌鱼质量(kg)	雄鱼数量(尾)	繁殖量(万尾)
1	172.5	5	286.2
2	190.3	6	287.6
3	185.8	6	194.8
总计	548.6	17	768.6

雌鱼 548.6 kg,共使用雄鱼 17 尾,繁殖出水花苗 768.6 万尾。

3 结论与讨论

3.1 不同保存液对黄颡鱼精子授精效果的影响

研究表明,黄颡鱼繁殖过程中,受精率受精子质量、卵子质量、精子与卵子的比例及繁殖环境等因素影响。不同的保存液配方在黄颡鱼精子的保存时间、活力及授精效果等方面具有较大差异^[8]。本试验保存液 pH 值范围为 6 ~ 8,均为由 Na、K 等盐类组成的弱酸碱溶液,可保护精子^[8-9]。保存液 A 与 B 成分相似,授精效果相近,A 液略优于 B 液。保存液 C 成分过于简单,且 pH 值略偏小,保存后精子活力及数量下降,故在提高雌雄比的情况下,授精效果相对较差。由于不同雌鱼之间的卵子质量、数量及成熟程度等均不一致,对人工授精效果影响很大,需要将雌鱼所采的卵子充分均匀混合,再分组称量,保证各试验组所采用鱼卵质量一致。

3.2 不同雌雄配组比例对人工授精效果的影响

由于黄颡鱼在人工繁殖中需要杀雄取精,因此在保证受精率的情况下,提高雌雄配组比例可节省亲鱼资源,有效提高雄鱼使用效率及繁殖效率。保存液常温保存条件下 24 h 内可使 80% 以上的黄颡鱼精子保持较好的活性^[10]。本试验结果表明,应用保存液 A,将单尾黄颡鱼雄鱼配组繁殖的雌鱼数量从 50 尾提高到 250、500 尾,受精率均未出现大幅度下降,且差异性不显著。由此表明,单尾雄鱼的精子经保存液 A 有效保存后,精子的活力及数量未出现显著下降,可基本满足 500 尾雌鱼卵子的授精需要。黄颡鱼规模化繁殖过程中,单尾雄鱼精巢质量及所含精子数量具有明显差异,因此当所选雄鱼精巢所含精子数量超过本试验鱼精巢(2 mg)的精子数量时,雌雄配组繁殖比例可提高至更高的水平。

3.3 常温保存条件下时间对人工授精效果的影响

丁淑荃等研究表明,室温下,黄颡鱼精子在保存液中保存 4 h 后,精子活力仍很强,被激活后几乎 100% 精子在作快速运动,授精能力未受到影响^[10]。本试验应用保存液 A、B 常温保存精子,2.5 h 内受精率下降,表明保存时间对人工授精的效果造成了一定影响,因而建议单批次繁殖授精时间控制在 1.5 h 内。本试验单批次的亲本量均在 150 kg 以上,人工催产时间较长,操作人员较多,导致雌性成熟时间不完全一致,人工挤卵过程发现有部分卵过熟的情况,后期更为明显,这也是造成受精率下降的主要原因。

3.4 精子保存方法的应用

黄颡鱼采用常规方法繁殖时,单尾黄颡鱼雄鱼通常与 15 ~ 30 尾配组授精,繁殖成本较高,效率较低^[1-2]。本试验应用精子保存方法,单尾黄颡鱼雄鱼配组雌鱼质量达 32.2 kg,尾数达 320 余尾(约 0.1 kg/尾),雄鱼亲本的部分精巢较小,如果全部选用发育较好的雄鱼,雌鱼数量可提高至 500 尾以上。本方法大大提升了雄鱼的使用效率,节约了雄鱼亲本资源,同

张 驰,李宝海,周建设,等.高原寒冷地区斑点叉尾鲴苗种培育试验[J].江苏农业科学,2015,43(8):228-229.
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2015.08.075

高原寒冷地区斑点叉尾鲴苗种培育试验

张 驰,李宝海,周建设,龚君华,扎西拉姆,潘瑛子

(西藏自治区农牧科学院蔬菜研究所,西藏拉萨 850000)

摘要:在西藏羊八井水产养殖基地设置1个面积为800 m²、2个面积为1 000 m²的池塘进行高原斑点叉尾鲴苗种培育试验。结果表明:放苗3万尾,经270 d饲养共产斑点叉尾鲴鱼种19 830尾,平均体长21.2 cm,平均体质量216.5 g,成活率66.1%,收获苗种4 293.2 kg。结果说明高原寒冷地区利用电厂余热资源,采用流水培育斑点叉尾鲴苗种的试验是有效可行的。

关键词:羊八井;斑点叉尾鲴;苗种培育;高原寒冷地区

中图分类号: S965.128.12 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2015)08-0228-02

青藏高原平均海拔为4 500 m,西藏位于中国的西南边疆,青藏高原的西南部,地理位置在78°25′~99°06′E、26°44′~36°32′N之间,该地区水利资源丰富,天然水能蕴藏量约占全国的30%,亚洲著名的恒河、印度河、湄公河的上源都在西藏^[1]。位于藏北羊八井草原深处的羊八井热田,北侧为念青唐古拉山,南缘为唐山,年平均气温为3.8℃,是我国目前最大的地热试验基地^[2]。近十多年来,随着经济的飞速发展,消费者对内地水产品的需求日益扩大,目前拉萨市场的斑点叉尾鲴价格已经达到了40元/kg,且出现产品供不应求的现象。本试验依托羊八井电厂水产养殖基地,于内地引进并成功培育了斑点叉尾鲴这一优质水产养殖品种,结束了西藏地区长期以来斑点叉尾鲴种苗依靠内地供应的历史,为进一步在西藏地区开展大规模的斑点叉尾鲴养殖工作奠定了基础。

1 材料与方法

1.1 试验鱼池条件及准备

养殖地点选在拉萨市羊八井水产养殖基地,选取1口面

积为800 m²的苗种暂养池,2口面积为1 000 m²的流水养殖池,池塘水深1.5 m,配备自动增氧机、排污、投饲机等装置;水源为河水,清新无污染,经检测符合渔业养殖用水水质标准;进、排水方便,水、电、路“三通”,通讯便捷。苗种暂养池提前清塘暴晒,在下苗前2周用生石灰化浆全池泼洒消毒,暴晒3 d后,池塘施入经过发酵的猪粪100~150 kg作为基肥,注水1 m左右,待池塘水体中出现大量浮游动物且水体透明度达到45~50 cm左右后投入苗种。

1.2 鱼种来源

于2013年8月10日向四川省眉山渔业有限公司购买试验鱼苗3万尾,体长2~3 cm,由成都市用保温箱装袋空运至拉萨市,每袋装运2 000尾,成活率接近90%。

1.3 技术措施

1.3.1 鱼种投放 鱼种投放以前,先将温度调节平衡,待苗种袋内温度与鱼池水温相同时,将苗种放入消毒池内,用5%氯化钠水溶液浸洗鱼体10 min左右,在池塘上风处将鱼苗缓慢放入暂养池中饲养;30 d后捕捞苗种,分池到2个1 000 m²的池塘内进行流水养殖。

1.3.2 饲养管理 鱼苗下塘前3 d内摄食饲料以池塘中的浮游动物为主,在实际苗种培育过程中,考虑到鱼苗摄食力强,池中天然饵料慢慢减少,视饵料的多少适当补充投入动物性饵料,每天7:00组织专人捞“虫”,并做到现捞现喂。经过30 d左右的培育,鱼苗体长达到4~5 cm时进行分塘流水鱼种培育。流水培育阶段采用通威公司生产的鲴鱼专用颗粒饲料

收稿日期:2014-08-07

基金项目:国家公益性行业(农业)科研专项(编号:201403012)。

作者简介:张 驰(1980—),男,河北沧州人,硕士,助理研究员,研究方向为鱼类遗传育种与繁殖。E-mail:zc0891@163.com。

通信作者:李宝海,硕士,研究员,博士生导师,研究方向为农产品质量安全与检测技术、现代设施农业。E-mail:lbh0891@163.com。

时减少繁苗劳动量,降低生产成本。

参考文献:

- [1]王卫民,严安生,查金苗,等.黄颡鱼两种人工繁殖方法的比较研究[J].淡水渔业,2002,32(2):7-8.
- [2]边文冀,蔡永祥,陈校辉.黄颡鱼人工繁殖技术[J].水产养殖,2003,24(6):3-4.
- [3]邓岳松,林浩然.鱼类精子活力研究进展[J].生命科学研究,1999,3(4):271-278.
- [4]鲁大椿,傅朝君,刘宪亭,等.我国主要淡水养殖鱼类精液的生物学特性[J].淡水渔业,1989(2):34-37.

- [5]王德忠,吴一春,徐汉连,等.低渗溶液浓度对黄颡鱼精子活力和受精率的影响[J].淡水渔业,2013,43(1):85-88.
- [6]邓岳松.鱼类精液的低温保存[J].水利渔业,1999,19(4):9-10.
- [7]杨彩根,宋学宏,王永玲.pH值及不同浓度NaCl溶液对黄颡鱼精子活力的影响[J].水利渔业,2003,23(3):10-11.
- [8]赵 钦,陈校辉,潘建林.黄颡鱼精子低温保存方法的初步研究及应用[J].水产科学,2008,27(12):615-618.
- [9]沈建忠,江 庆.南方鲇精子保存方法的初步研究[J].水利渔业,2002,22(5):13-15.
- [10]丁淑荃,万 全,刘 磊,等.不同温度下精子保存液对黄颡鱼精子活力的影响[J].水利渔业,2007,27(1):10-12.