

程 顺,顾志敏,刘士力,等. 翘嘴鲌精子生理特性及超低温冷冻的研究[J]. 江苏农业科学,2019,47(7):175-179.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.07.042

# 翘嘴鲌精子生理特性及超低温冷冻的研究

程 顺,顾志敏,刘士力,蒋文枰,迟美丽,贾永义

(浙江省淡水水产研究所/农业部淡水渔业健康养殖重点实验室/浙江省淡水水产遗传育种重点实验室,浙江湖州 313001)

**摘要:**采用试验生态——显微观察方法对翘嘴鲌精子的生理特性进行了研究,并用两步降温法超低温冷冻保存翘嘴鲌精子,筛选出适宜的稀释液与抗冻剂配方。结果表明,翘嘴鲌适宜的盐度范围为 0~0.4%,pH 值为 5.5~8.0 时,精子激活率较高,其中 pH 值为 5.5 时,精子运动时间与寿命最长;翘嘴鲌精子在 4℃ 条件下保存 84 h 仍有 48.33% 的激活率,在 25℃ 条件下保存 84 h 时精子死亡。以 D-15 为稀释液、10% 乙二醇(EG)为抗冻剂,采用两步降温法超低温冷冻保存翘嘴鲌精子,解冻后精子活力最高。

**关键词:**翘嘴鲌;精子;生理特性;超低温冷冻;激活率

**中图分类号:**S961.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1002-1302(2019)07-0175-04

翘嘴鲌属鲤科鲌亚科,为我国重要淡水名优经济鱼类。由于近亲繁殖、环境污染等原因,养殖翘嘴鲌的性状已出现不同程度的衰退。鉴于此,相关学者已对翘嘴鲌的耗氧率和窒息点<sup>[1]</sup>、生长特征<sup>[2-3]</sup>、个体生殖力<sup>[4]</sup>及营养需求<sup>[5-6]</sup>等进行研究,但关于翘嘴鲌精子生理特性及精子的超低温冷冻保存方面的研究尚未见报道。随着翘嘴鲌养殖产业的发展,精子生物学特性的研究显得尤为重要,将有助于加速其育种进程和产业化发展。与此同时,翘嘴鲌的遗传育种与优良种质资源的保存日益引起人们的重视,开展翘嘴鲌的精子冷冻保存研究,探索并改进保存方法,是其种质资源保护的有效途径之一,也能为翘嘴鲌遗传育种的研究提供优良种质材料。在鲌亚科鱼类中,此方面的研究未能引起足够重视,仅有对黑尾近红鲌(*Ancherythroculter nigrocauda*)精子的相关研究,王贵英等以精子活力为指标,进行了黑尾近红鲌精子低温保存方法的研究,认为黑尾近红鲌精子最适的保存液配方为葡萄糖 2.90 g、KCl 0.05 g、CaCl<sub>2</sub> 0.02 g、NaHCO<sub>3</sub> 0.21 g、蒸馏水 100 mL、青霉素 2.0×10<sup>4</sup> IU/mL,此配方可以使精子在 4℃ 条件下保存 156 h 后活力仍达 80%;并对黑尾近红鲌精子在不同盐度、不同水体及不同离体时间情况下的活力进行研究,筛选出黑尾近红鲌精子的最适盐度为 0.5%,蒸馏水作为激活液好于自来水和池塘水,采用蒸馏水激活离体精子 1~15 h 发现,随着时间的延长,精子快速运动时间无显著差异,而精子成活率显著降低,但这些试验均未涉及超低温冷冻保存方面<sup>[7-8]</sup>。在鲤科鱼类中,此方面的研究工作较多,除了有精子的生理特性<sup>[9]</sup>、超微结构观察<sup>[10]</sup>等方面的研究,也有关于精子超低温冷冻保存方面的探索。陈松林等以 D-15 为稀释

液、8%~12% 的二甲基亚砜为抗冻剂,超低温冷冻保存草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)、鲢鱼(*Hypophthalmichthys molitrix*)、鲤鱼(*Cyprinus carpio*)和团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)的精子,获得的冷冻精子的活力分别为 75%、75%、65% 和 65%<sup>[11]</sup>。丁淑燕等则选用 Ringer 液为稀释液、8% 二甲基亚砜为抗冻剂,超低温冷冻兴国红鲤(*Cyprinus carpio* var. *singouensis*)的精子,解冻激活后精子的活力达到了接近鲜精的水平<sup>[12]</sup>。

本研究以浙江省淡水水产研究所综合试验基地养殖的翘嘴鲌精子为试验材料,探讨不同盐度范围、不同 pH 值范围、不同保存温度及保存时间对翘嘴鲌精子活力的影响,旨在为其科学研究和生产实践提供基础数据。并以 0.25 mL 麦细管为冻存管、两步降温法研究了稀释液种类、抗冻剂种类与浓度对翘嘴鲌精子超低温冷冻保存效果的影响,旨在为翘嘴鲌精子超低温冻存技术的改进提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

翘嘴鲌取自浙江省淡水水产研究所综合试验基地,于 2017 年 6 月在此基地进行试验,挑选健康状况良好、体表无伤、无病且性成熟的雄鱼作为试验材料。

### 1.2 激活液配制

(1)不同盐度溶液的配制。用纯水配制盐度分别为 0、0.1%、0.2%、0.3%、0.4%、0.5%、0.6%、0.7%、0.8%、0.9%、1.0%、1.1%、1.2%、1.3%、1.4%、1.5%、1.6% 的 NaCl 溶液;(2)不同 pH 值溶液的配制。用 NaOH 或 HCl 调节纯水的 pH 值,分别配制 pH 值为 4.0、4.5、5.0、5.5、6.0、6.5、7.0、7.5、8.0、8.5、9.0、9.5、10.0 的溶液。

### 1.3 稀释液配制

(1)CCSE2。用电子天平称取 NaCl 0.342 7 g、蔗糖 3.431 4 g 溶于 100 mL 纯水。(2)D-15。用电子天平称取 NaCl 0.80 g、KCl 0.05 g、葡萄糖 1.50 g 溶于 100 mL 纯水。(3)鱼用任氏液。用电子天平称取 NaCl 0.780 g、CaCl<sub>2</sub> 0.021 g、KCl 0.02 g、NaHCO<sub>3</sub> 0.20 g 溶于 100 mL 纯水。(4)

收稿日期:2017-11-23

基金项目:浙江省农业新品种选育重大科技专项(编号:2012C12907-7、2016C02055-1);浙江省湖州市自然科学基金(编号:2017Y202)。

作者简介:程 顺(1988—),男,浙江湖州人,硕士,助理研究员,主要从事水生动物遗传育种研究。E-mail:sschengshun@sina.com。

通信作者:贾永义,博士,副研究员,主要从事水产种质资源与遗传育种研究。E-mail:yongyi\_jia@163.com。

Hank's 液。用电子天平称取 NaCl 0.801 g、KCl 0.04 g、CaCl<sub>2</sub> 0.014 g、NaHCO<sub>3</sub> 0.035 g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.006 g、葡萄糖 0.034 g 溶于 100 mL 纯水。(5) HBSS。用电子天平称取 NaCl 0.789 6 g、KCl 0.039 6 g、MgSO<sub>4</sub> · 7H<sub>2</sub>O 0.0195 g、Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> · 12H<sub>2</sub>O 0.007 2 g、KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 0.005 4 g、NaHCO<sub>3</sub> 0.034 5 g、葡萄糖 0.099 0 g 溶于 100 mL 纯水。以上 5 种稀释液保存于 4 ℃ 冰箱中待用。

#### 1.4 抗冻液(稀释液+抗冻剂)配制

选取甲醇、乙二醇、二甲基亚砜和甘油 4 种抗冻剂,浓度梯度分别为 5%、10%、15%,与 5 种稀释液混合共形成 60 组抗冻液配方。以上 60 种抗冻液保存于 4 ℃ 冰箱中待用。

#### 1.5 方法

**1.5.1 精液采集** 采精前 10 h 对雄鱼注射绒毛膜促性腺激素(HCG)和促黄体释放激素(LRH-A<sub>2</sub>),以促进其精子成熟。采集精子时用干毛巾擦干鱼腹部体表,轻压鱼腹使精液流出于离心管中,精子与抗冻液的比例为 1:5,4 ℃ 低温保存。

**1.5.2 精子活力的检测** 精液与激活液混合后在显微镜下观察精子活力(激活率、运动时间和寿命)。激活率是指精子与激活溶液混合后立即于显微镜下观察同一视野中运动精子的数量占全部精子数量的比例;运动时间是指精子自被激活开始至 90% 原地颤动为止的时间;寿命是指精子自被激活开始至 90% 停止运动所经历的时间。试验重复 3 次。

**1.5.3 不同激活液对精子活力的影响** 用移液枪吸取微量精液于事先滴加激活液的离心管中,迅速将其搅匀后滴加于载玻片上,在光镜下观测精子的激活率;离心管保存于 4 ℃ 环境下,每隔一定时间滴加于载玻片上,在光镜下观测精子的运动时间及寿命。

**1.5.4 不同抗冻液对精子冷冻保存的影响** 将精液与抗冻液按 1:5 比例混匀,于 4 ℃ 下平衡 5~10 min 后分装入体积为 0.25 mL 的麦细管中(每支装约 0.2 mL),将盛精麦细管平放于自制简易降温装置的液氮面上方 3~4 cm 处 3~5 min 后迅速转入液氮中保存。解冻时将麦细管从液氮中快速取出,立即置于 40 ℃ 水浴中摇动溶化。用纯水激活后,在显微镜下检测冻精活力。试验重复 3 次。

#### 1.6 数据处理

试验数据分析采用 SPSS 完成,统计结果以“平均值±标准差”(x̄±s)表示。

## 2 结果与分析

### 2.1 盐度对翘嘴鲇精子活力的影响

盐度为 0~0.4% 时,精子活力较高。精子激活率均在 89% 以上,其中在盐度为 0.3% 时达到最高值(91.33%);精子激活后运动时间与寿命则区别明显,盐度为 0.3% 时明显比其他盐度的精子运动时间(198.00 s)与寿命(353.67 s)更长。盐度为 0.5% 时,精子活力开始受明显抑制;盐度为 0.7% 时,精子呈不活动状态,并失去运动能力,但是用吸管继续向溶液中加 1 滴淡水后精子可被激活(图 1、图 2)。因此适宜翘嘴鲇精子的盐度范围为 0~0.4%,其中最适盐度为 0.3%。

### 2.2 pH 值对翘嘴鲇精子活力的影响

pH 值为 4.5~10.0 时,翘嘴鲇精子可被激活,但在 pH 值为 4.5~5.5 及 9.0~10.0 时,精子激活后的活力较低。pH

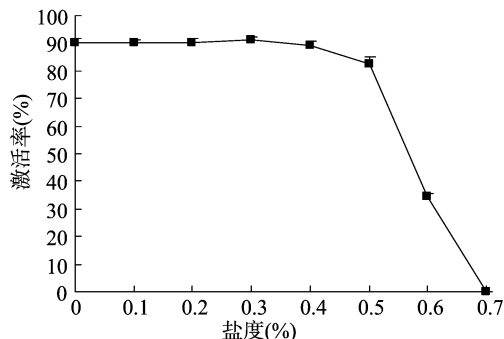


图1 盐度对翘嘴鲇精子激活率的影响

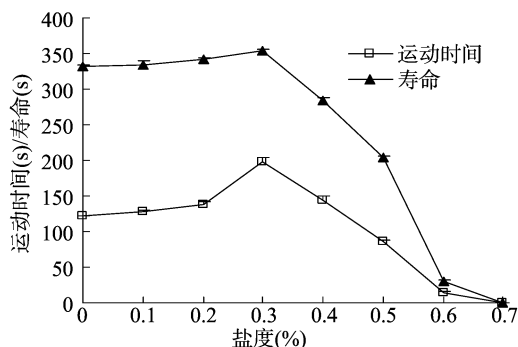


图2 盐度对翘嘴鲇精子运动时间、寿命的影响

值为 5.5~8.0 时,精子激活率较高,均超过 88%,最高峰出现在 pH 值为 7 时,达到 90.33%;pH 值为 5.5 时,精子激活后的运动时间和寿命最长,明显超过其他 pH 组,达到 259.67 s 和 400.33 s,之后随着 pH 值升高,精子激活后的运动时间和寿命逐渐下降(图 3、图 4)。

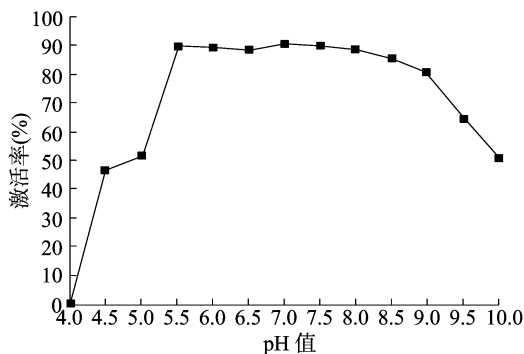


图3 pH 值对精子激活率的影响

### 2.3 精子在不同保存时间与保存温度下的活力变化

翘嘴鲇精子活力随保存时间的延长而下降。在 4 ℃ 条件下,精子在 0~8 h 中运动时间与寿命下降明显,从 0 h 的运动时间、寿命 120.67、331.67 s 急速下降至 8 h 的 54.33、119.33 s,之后降速减缓,至 84 h 运动时间与寿命为 8.33、14.67 s;激活率则始终缓慢下降,在 44 h 内激活率仍能保持 70% 以上,84 h 的激活率为 48.33%。在 25 ℃ 条件下,精子在 0~8 h 中运动时间与寿命下降明显,至 8 h 下降为 49.33、89.33 s,之后降速减缓,至 84 h 精子死亡;激活率则始终逐步下降,在 44 h 内激活率仍能保持 70% 以上,至 50 h 活力下降相对明显,84 h 死亡(图 5、图 6)。

### 2.4 翘嘴鲇精子超低温保存

将 5 种稀释液(CCSE2、D-15、鱼用任氏液、Hank's 液及

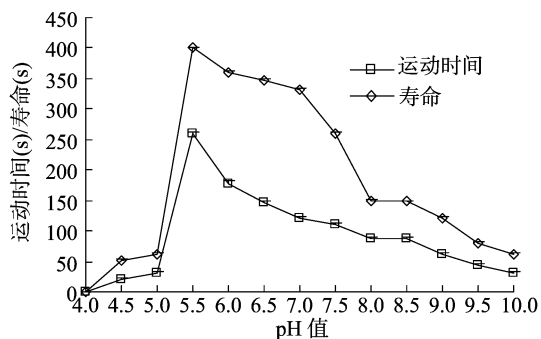


图4 pH 值对精子运动时间、寿命的影响

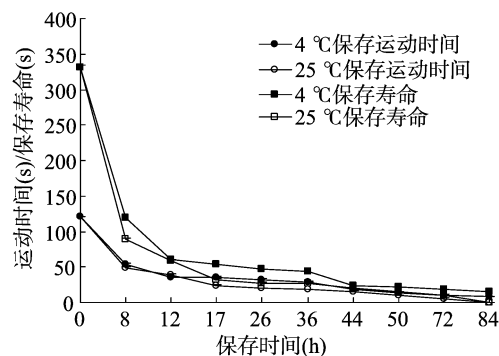


图6 精子随保存时间的运动时间、寿命变化

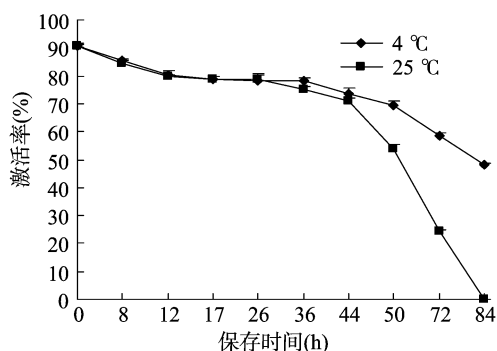


图5 精子激活率随保存时间延长的变化

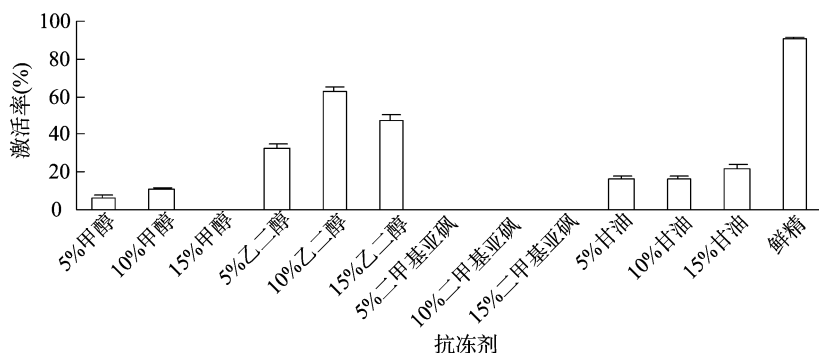


图7 不同抗冻剂对精子激活率的影响

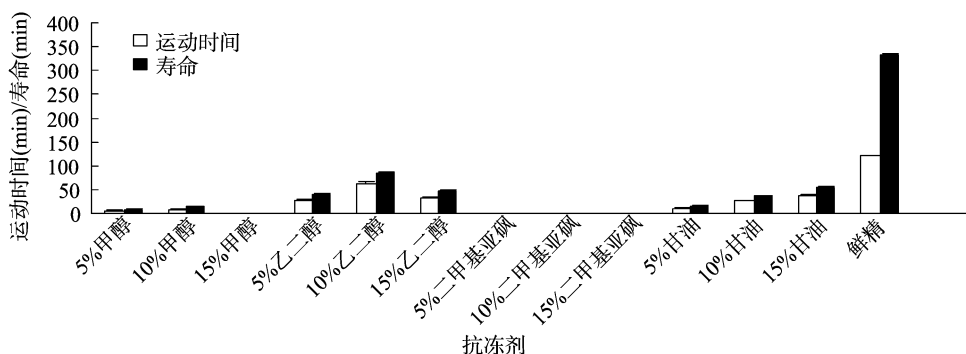


图8 不同抗冻剂对运动时间、寿命的影响

### 3 讨论与结论

黄辨非等观察了兴国红鲤精子在盐度为 0~5% 的溶液中的运动情况,结果表明在盐度 0.5% 的溶液中,精子的快速运动时间和寿命最长;随后受到抑制,至盐度为 1% 时,精子完全不动<sup>[9]</sup>。王贵英等进行的黑尾近红鲌精子活力研究的结果也显示,在盐度 0~0.5% 范围内,精子活力随盐度的增

加而延长,盐度 0.5% 时,活力最佳;而盐度 >0.5% 时,精子活力受到抑制;在盐度 0.9% 以上时则完全不动<sup>[8]</sup>。本研究中翘嘴鲌精子在不同盐度范围内的活力变化曲线与兴国红鲤、黑尾近红鲌基本一致,首先随着盐度的增加,活力逐渐加强,至最适盐度后,精子活力开始受到抑制。不同的地方是翘嘴鲌精子最适盐度为 0.3% 和盐度为 0.5% 时,活力开始受到抑制,盐度为 0.7% 时精子呈不活动状态。造成这些差异的

HBSS) 与 4 种抗冻剂(甲醇、乙二醇、二甲基亚砜及甘油)的 3 种浓度(5%、10%、15%)两两混合,配制成 60 种不同的抗冻液,研究其对翘嘴鲌精子超低温冷冻的影响。结果表明,当抗冻剂为 10% 乙二醇时,冻精活力比其他抗冻剂组分高(图 7、图 8);当稀释液为 D-15 时,冻精的活力比其他稀释液组分高。当抗冻剂为 10% 乙二醇时,以 D-15 为稀释液的冻精活力最高(图 9、图 10);当稀释液为 D-15 时,以 10% 乙二醇为抗冻剂冻精活力最高(图 7、图 8)。因此,适宜翘嘴鲌精子冷冻保存的抗冻剂为 10% 乙二醇、稀释液为 D-15,冻精激活率、运动时间和寿命分别为 62.67%、63.33 min 和 83.67 min。

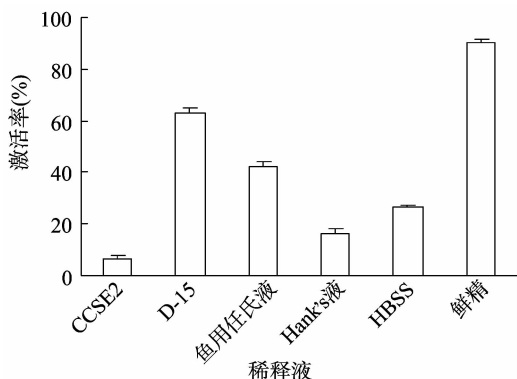


图9 不同稀释液对精子激活率的影响

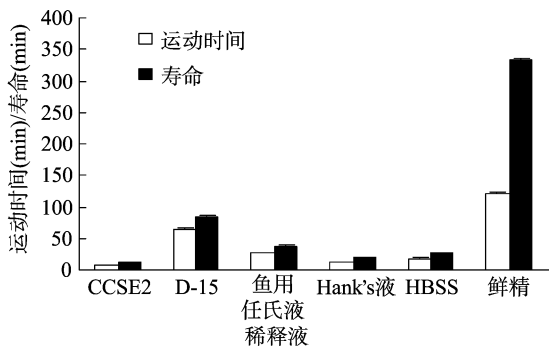


图10 不同稀释液对运动时间、寿命的影响

原因,主要与不同鱼类精液的生理特性不同有关,虽然翘嘴鲇与黑尾近红鮰同为鮰亚科,与兴国红鲤同为鲤科,但翘嘴鲇体内精子的渗透压环境可能与其他鲤科鱼类略有不同,造成适盐范围不同。pH 值是影响鲤科鱼类精子活力的重要参数<sup>[13]</sup>。翘嘴鲇精子在 pH 值为 4.5 ~ 10.0 范围内可被激活,激活率峰值出现在 pH 值为 7.0 时,运动时间和寿命峰值出现在 pH 值为 5.5 时。在鲤科鱼类中,精子激活率可能在一个较宽的 pH 值范围内影响不大,但运动能力最强的点一般出现于某个 pH 值<sup>[14]</sup>。在本研究中,pH 值为 5.5 ~ 8.0 时,翘嘴鲇精子激活率均较高,此范围内激活率差异不大,而运动时间和寿命最长的 pH 值为 5.5,明显高于其他 pH 值组。翘嘴鲇精子在 pH 值为 5.5 时表现出最长的运动时间和寿命,可能是由于当精子处于弱酸性环境中时,自身活动会被一定程度地抑制,从而减少运动消耗,有利于运动时间与寿命的延长,且 pH 值为 5.5 时对激活率的抑制效果不明显,精子仍能正常运动。温度对鱼类精子的活力具有重要影响,高温条件下精子运动能力较强,而低温条件下精子运动能力减弱、消耗的 ATP 减少。本研究结果表明,翘嘴鲇精子在 4 ℃ 下保存的效果明显比在 25 ℃ 好,因此在低温条件下,精子的保存时间可以延长。另外,精子在保存前期,运动时间和寿命快速下降,而激活率则缓慢下降,说明精子离体后,与活力相关的指标中,激活率起初能保持一段时间的相对稳定,而运动时间和寿命会快速降低,提示在人工授精时,精子被挤出后要尽快受精或在特定稀释液中低温保存,以免精子的运动时间和寿命下降至精卵不能及时相遇。本试验显示,繁殖过程中挤出的精液在未进行人工授精时,可以通过盐度为 0.7% 或以上的溶液稀释置于 4 ℃ 条件下低温保存;进行人工授精时,可采用盐度为 0.5% 或 pH 值为 5.5 的溶液稀释精液,在时间上为精

卵相遇提供更多的机会,以利于受精率的提高。

鱼类精子超低温冻存的抗冻液由稀释液及抗冻剂两部分组成。翘嘴鲇精子超低温冷冻的结果表明,当稀释液为 D-15、抗冻剂为 10% 乙二醇时,冻精活力最高。D-15 作为稀释液最初即应用到了鲤科鱼类精子冷冻的研究中,陈松林等对我国主要淡水鲤科养殖鱼类草鱼、鲢鱼、鲤鱼和团头鲂等精子的超低温冷冻保存试验中研制出了理想的稀释液配方 D-15,并以 8% ~ 12% 二甲基亚砜为抗冻剂,获得冷冻精子 65% ~ 75% 的激活率<sup>[11]</sup>。此后,D-15 作为稀释液普遍应用在了鲤科鱼类精子的超低温冷冻研究中<sup>[15-16]</sup>。不同鱼类精子超低温冷冻保存时所需的适宜抗冻剂的种类及浓度也有所差异。王晓爱等采用稀释液 D-15,筛选出了适合软鳍新光唇鱼(*Neolissochilus benasi*)精子超低温冷冻保存的 2 种抗冻剂为 10% 甲醇和 15% 乙二醇<sup>[15]</sup>。王晓爱等以 D-15 溶液为稀释液,检测二甲基亚砜、甘油、乙二醇和甲醇对暗色唇鱼(*Semilabeo obscurus*)精子超低温冷冻保存效果的影响,认为二甲基亚砜和甘油并不适合作为暗色唇鱼精子冷冻的抗冻剂,甲醇和乙二醇具有相似的保护作用,适宜暗色唇鱼精子冷冻保存,并推测甲醇和乙二醇在暗色唇鱼精子冷冻复苏过程中对细胞膜起到了良好的保护作用<sup>[16]</sup>。在非鲤科鱼类精子冷冻中,也有 EG 作为抗冻剂效果较好的案例,孟令家等以 HBSS 为稀释液,将二甲基亚砜、丙二醇、甘油、甲醇、乙二醇稀释成 10%、20%、30%,对大鲮六线鱼(*Hexagrammos otakii*)的精子进行超低温冷冻试验,结果表明,乙二醇各组的精子活力都较高,其中 20% 乙二醇组的抗冻保护效果最好<sup>[17]</sup>。但也有许多研究认为,二甲基亚砜与甲醇对鲤科鱼类精子抗冻保护效果较好<sup>[18]</sup>。Lahnsteiner 等在对 9 种鲤科鱼类精子冷冻保存的研究中发现,二甲基亚砜表现出更好的抗冻保护效果。Chew 等在对穗须原鲤(*Probarbus jullieni*)精子超低温冷冻的研究中发现,乙二醇不适宜穗须原鲤的精子保存,最适抗冻剂为甲醇<sup>[19]</sup>。Dietrich 等以 Volckaert's 液为稀释液、10% 二甲基亚砜或 10% 甲醇为抗冻剂,对湖鲫(*Eupallasea percunurus*)精子进行超低温冷冻试验,得到了 50% 的冻精复活率<sup>[20]</sup>。可见,由于种的特异性,精子超低温冻存中适宜的抗冻剂不同。不同抗冻剂对不同物种细胞的通透性存在差异,一般认为采用对精子细胞渗透性大的抗冻剂可以获得较高的精子冷冻复活率<sup>[21]</sup>。根据本研究的结果推测,造成 10% 乙二醇成为最优抗冻剂的原因可能是乙二醇分子量相对较小,其渗透能力比二甲基亚砜、甲醇及甘油更强,因此可以更快速高效地进入翘嘴鲇精子细胞内,与水结合以弱化结晶过程,减少冰晶的产生,提高精子的激活率;且乙二醇浓度为 10% 时,既能起到良好抗冻保护效果,又不会因其浓度过高对精子产生毒害。因此,翘嘴鲇精子冷冻保存宜选用 10% 乙二醇为抗冻剂。

#### 参考文献:

- [1] 朱华平,黄樟翰,谢刚,等. 翘嘴红鲇鱼苗耗氧率和窒息点的初步研究[J]. 水利渔业,2003,23(4):10-11.
- [2] 战培荣,赵吉伟,董崇智,等. 兴凯湖翘嘴鲇(*Culter alburnus*)的生长特性[J]. 海洋与湖沼,2005,36(2):146-151.
- [3] 朱其广,王健,杨少荣,等. 三峡库区木洞江段翘嘴鲇早期生长特征研究[J]. 水生生物学报,2015,39(5):983-988.

迟美丽,贾永义,王雨辰,等. 不同规格的河川沙塘鳢夏花生长及生理生化研究[J]. 江苏农业科学,2019,47(7):179-182.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2019.07.043

# 不同规格的河川沙塘鳢夏花生长及生理生化研究

迟美丽, 贾永义, 王雨辰, 程 顺, 刘士力, 蒋文桦, 顾志敏

(浙江省淡水水产研究所/农业部淡水渔业健康养殖重点实验室/浙江省淡水水产遗传育种重点实验室, 浙江湖州 313001)

**摘要:**为深入了解不同规格河川沙塘鳢幼鱼的生长状态、减少沙塘鳢夏花在鱼虾混养池塘内种间和种内残食,通过在车间内建立模拟池塘的生态系统,测定了不同规格沙塘鳢夏花在养殖 37 d 后生长及生理生化指标的变化情况。结果表明,试验中沙塘鳢鱼苗总存活率为 83%,中鱼组的体质量变异系数与其他 2 组相比增加明显。小鱼组的特定生长率最快,且小鱼组的超氧化物歧化酶(SOD)活性、谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)活性、雌二醇(E2)含量、睾酮(T)含量、生长激素(GH)含量和甲状腺激素(T4)含量都显著高于中鱼组和大鱼组。另外,小鱼组存在 50% 的小规格鱼不能很好地捕食青虾的现象。综合幼鱼存活率、生长状态和产量,建议初始放养时沙塘鳢体长在 32 mm 以上且沙塘鳢体质量/青虾体质量的平均值在 2.6 以上。

**关键词:**河川沙塘鳢;鱼虾混养;生长差异;氧化还原酶;激素

**中图分类号:** S965.199 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2019)07-0179-04

河川沙塘鳢(*Odontobutis potamophila*)隶属于鲈形目(Perciformes)沙塘鳢科(Odontobutidae)沙塘鳢属(*Odontobutis*),俗称土布鱼、虎头鲨、虎头呆子等,为淡水底栖

巢穴产卵型肉食性鱼类,该鱼肉质细嫩、营养丰富,是深受广大消费者喜欢的名贵鱼类。但随生态环境的恶化和过度捕捞,天然资源量不断下降。因此,急须通过开展种质保存及选育技术研究来改善其资源衰退的现状。近年来,浙江省淡水水产研究所沙塘鳢团队与很多学者都开展了河川沙塘鳢的繁殖方法研究<sup>[1-3]</sup>,通过不断优化,该团队已攻克沙塘鳢大批量繁育过程中诸如孵化时间长、受精卵易发霉等瓶颈,每年可以为养殖户提供大量优质的沙塘鳢苗种。但在大规格苗种的池塘培育过程中发现,幼鱼存在自残率高、生长差异显著以及回捕率低等情况,进而影响了大规格夏花的产量。室内短期精

收稿日期:2017-12-07

基金项目:浙江省省属科研院所扶持专项(编号:2017F30037);浙江省湖州市自然科学基金(编号:2017YZ05)。

作者简介:迟美丽(1986—),女,辽宁大连人,博士,助理研究员,从事水生动物遗传育种研究。E-mail:chimeili83404109@126.com。

通信作者:顾志敏,研究员,主要从事水产种质资源与遗传育种研究。E-mail:yongyi\_jia@163.com。

- [4]覃 亮,熊邦喜,吕光俊. 徐家河水库翘嘴鲈的个体生殖力[J]. 应用生态学报,2009,20(8):1952-1957.
- [5]崔中倩,宋洪建,尹海富. 翘嘴鲈营养需要研究进展[J]. 中国饲料,2012(23):12-15.
- [6]宋 林,樊启学,胡培培,等. 饲料蛋能比对翘嘴鲈幼鱼生长性能、肠道和肝胰脏消化酶活性的影响[J]. 动物营养学报,2013,25(7):1480-1487.
- [7]王贵英,张 涵,李 清,等. 黑尾近红鲌精子低温保存方法研究与应用[J]. 淡水渔业,2016,46(6):3-7,32.
- [8]王贵英,李 清,祝东梅,等. 黑尾近红鲌精子活力研究[J]. 湖北农业科学,2016,55(8):2062-2065.
- [9]黄辨非,罗静波. 氯化钠溶液对兴国红鲤精子活力的影响[J]. 湖北农学院学报,2000,20(1):62-64.
- [10]赵维信,姜仁良,刘修英,等. 几种鲤科鱼类精子和胚胎冷冻损伤的扫描电镜研究[J]. 淡水渔业,1992(5):3-5.
- [11]陈松林,刘宪亭,鲁大椿,等. 鲢、鲤、团头鲂和草鱼精液冷冻保存的研究存[J]. 动物学报,1992,38(4):413-424.
- [12]丁淑燕,严维辉,郝 忱,等. 兴国红鲤精液超低温冷冻保存及效果分析[J]. 江苏农业科学,2016,44(2):277-279.
- [13]Alavia S M H, cosson J. Sperm motility in fishes. I. Effects of temperature and pH; a review[J]. Cell Biology International,2005(29):101-110.

- [14]Chantzaropoulos A, Nathanailides C, Kokokiris L, et al. A brief exposure to low pH prior to refrigerated storage reduces the motility and viability of goldfish sperm (*Carassius auratus*, Linnaeus, 1758) [J]. Journal of Applied Ichthyology, 2015(31):89-93.
- [15]王晓爱,杨君兴,陈小勇,等. 软鳍新光唇鱼精子的超低温冷冻保存[J]. 动物学研究,2012,33(3):283-289.
- [16]王晓爱,杨君兴,陈小勇,等. 4 种渗透性抗冻剂对暗色唇鱼精子冷冻保存的影响[J]. 水生态学杂志,2012,33(5):88-93.
- [17]孟令家,温海深,韩龙江. 大泷六线鱼精液超低温冷冻保存效果分析[J]. 现代农业科技,2015(22):262-264.
- [18]Lahnsteiner F B B, Horvath A E A. Cryopreservation of spermatozoa in cyprinid fishes[J]. Theriogenology, 2000(54):1477-1498.
- [19]Chew P C, Hassan R, Rashid Z A, et al. The current status of sperm cryopreservation of the endangered *Probarbus jullieni* (Sauvage) in Malaysia[J]. Journal of Applied Ichthyology, 2010,26(5):797-805.
- [20]Dietrich G J, Wolnicki J, Slowinska M, et al. Short-term storage and cryopreservation of lake minnow [*Eupallasea percnurus* (Pallas, 1814)] sperm[J]. Journal of Applied Ichthyology, 2015,31(1,SI):75-78.
- [21]Gilmore J A, Liu J, Gao D Y, et al. Determination of optimal cryoprotectants and procedures for their addition and removal from human spermatozoa[J]. Human Reproduction, 1997,12(1):112-118.