

抚仙金线鲃人工繁殖与鱼苗培育技术

潘晓赋, 刘淑伟, 李再云, 杨君兴*

(中国科学院昆明动物研究所, 云南 昆明 650223)

摘要: 抚仙金线鲃(*Sinocyclocheilus tingi*)是抚仙湖的特有种。2009年3—4月,有4次繁殖试验取得了成功。先后试验了40尾雌鱼和20尾雄鱼,成功催产19尾雌鱼和15尾雄鱼,分别占雌雄鱼的47.5%和75.0%。获得鱼卵25547粒,并实施干法受精。有16810粒受精,平均受精率为65.8%。孵化出鱼苗约6040尾,平均孵化率为23.6%。经过20日的饲养,仔鱼存活3056尾,存活率为50.6%。抚仙金线鲃较低的催产率,可能是生殖功能紊乱所致;但也不排除是人工营造的条件离其自然环境需求尚有距离。要使抚仙金线鲃成为鳙鱼(白鱼(*Anabarrilius grahmi*))之后又一当地特色养殖鱼种,突破其人工繁殖瓶颈,培育高品质鱼苗是必由之路。突破其人工繁殖,还可为研究抚仙金线鲃的生活史和保护该物种免于灭绝奠定良好基础。

关键词: 抚仙金线鲃; 人工繁殖; 鱼苗培育; 抚仙湖

中图分类号: Q959.468; S962 文献标识码: A 文章编号: 0254-5853-(2009)04-0463-05

Artificial Propagation and Larvae Cultivation of *Sinocyclocheilus tingi*

PAN Xiao-fu, LIU Shu-wei, LI Zai-yun, YANG Jun-xing*

(Kunming Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China)

Abstract: The Fuxian golden line (*Sinocyclocheilus tingi*) is a famous fish endemic to Fuxian Lake. From March to April 2009, four breeding experiments were undertaken. 40 females and 20 males were injected with hormones. 19 females and 15 males bred successfully, accounting for 47.5% of females and 75.0% of males. A total of 25547 eggs were obtained and subjected to dry-fertilization, with 16810 eggs being fertilized with a 65.8% success rate. 6040 larvae were obtained with a 23.6% hatching rate. 3056 larvae survived 20 days of cultivation with a 50.6% survival rate. Reproductive dysfunctions are major constraining factors to low induced spawning of *S. tingi* in a captive environment. Artificial conditions that did not reflect the necessary natural environment of the fish may have also been a factor. This paper also addresses the issue of massive larvae mortality. Determining the constraints of artificial propagation is critical to the transfer of this species into cultivation fish. The presented success in propagation of *S. tingi* will contribute to understanding its biology and protection from extinction.

Key words: *Sinocyclocheilus tingi*; Artificial propagation; Larvae cultivation; Fuxian lake

抚仙金线鲃 (*Sinocyclocheilus tingi* Fang 1936) 隶属于鲤科 (Cyprinidae) 鲃亚科 (Barbinae) 金线鲃属 (*Sinocyclocheilus*)。抚仙金线鲃仅分布于云南抚仙湖,为云南特有的名贵鱼类。一般个体较小,产量不高,但肉质细嫩,味鲜美。由于外来种的引入和过度捕捞,使得抚仙金线鲃种群衰退严重。目前,湖体种群数量稀少,仅有少量个体存活于沿湖的龙潭中。

抚仙湖面积 211 km², 最大水深 155 m, 平均水深 87 m, 是我国第二深水湖泊,也是云南土著鱼类保存最多的一个湖泊。湖中生存的 25 种土著鱼类中,有 12 种为该湖特有。近 10 年来,由于外来种的引入和过度捕捞,在渔获物的种数和数量上,非土著鱼类已经占据了抚仙湖鱼类的主体 (Yang & Chen, 1995; Xiong et al, 2006)。因此,在抚仙湖沿岸发展以鳙鱼(白鱼(*Anabarrilius grahmi*))和抚仙

收稿日期: 2009-05-22; 接受日期: 2009-07-16

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(2007CB411600); 全球环境基金会/世界银行项目(GEF-MSP grant No. TF051795); 云南省发展和改革委员会项目; 中国科学院西部之光项目(292006312D11033); 云南省科技厅社会发展科技计划(2008CA001)

*通讯作者 (Corresponding author), E-mail: yangjx@mail.kiz.ac.cn

金线鲃等土著鱼类为主的渔业显得尤为重要, 这样既可以保存高原湖泊鱼类的多样性, 又可为将来进一步认识云南高原湖泊鱼类的演化模式提供研究素材 (Yang & Chen, 1995)。

大多数野生鱼类从野生环境中迁移到人工池塘饲养时, 往往存在生殖功能紊乱问题。出现生殖功能紊乱的, 大多数是雌鱼。这种生殖功能紊乱可能是由于捕获诱发的应激反应和缺乏合适繁殖环境等因素共同作用而引起的。繁殖环境通常包括光周期、水温、池塘深度和产卵基质等 (Zohar & Mylonas, 2001, Mylonas & Zohar, 2007)。雌鱼激素诱导产卵已经成功地应用到许多具有重要商业价值的鱼类, 例如: 虹红鲑鱼(*Oncorhynchus nerka*)、非洲鲇鱼(*Clarias gariepinus*)和欧洲鲇鱼(*Suluris glanis*)等 (Slater et al, 1995; Brzuska, 2003; Gullu et al, 2008)。使用激素既能加快性腺发育, 又能减少操作次数, 减轻对鱼体的刺激, 还能节约药品等 (Su et al, 2005)。金线鲃属鱼类的繁殖研究报道仅见于滇池金线鲃(*Sinocyclocheilus grahami*) (Yang et al, 2007)。要使抚仙金线鲃成为继鳊鱼白鱼之后当地渔业中的又一特色养殖种类, 突破其人工繁殖瓶颈, 提供高品质鱼苗是必由之路。所以, 本项研究的目的是通过对成熟的抚仙金线鲃注射马来酸地欧酮和促黄体素释放激素A₂, 人工诱使雌(雄)鱼排卵(精), 采取人工受精方法孵化出鱼苗, 并进行鱼苗培育研究。研究结果还可为研究抚仙金线鲃的生活史和实施遗传管理奠定基础, 并为今后建立一套切实可行的抚仙金线鲃繁育计划积累经验。

1 材料与方法

1.1 亲鱼培育

2008年6月, 从澄江县西龙潭引种抚仙金线鲃200尾[体长(91.8±21.3) mm; 体重(15.7±13.2) g, 图1], 移置于中国科学院昆明动物研究所珍稀土著鱼类保育研究基地饲养。选择亲鱼的标准为: 健壮无病, 无畸形缺陷; 鱼体光滑, 体色正常; 鳞片、鳍条无损; 生长良好。将雌、雄鱼分别饲养在2.0 m×1.0 m×1.2 m水族缸中, 水位保持在0.8 m, 水的过滤速度为300 cm³/s, 实时溶氧量>6 mg/L, 在整个试验过程中, 水温控制在16—21℃。

1.2 人工繁殖

参照滇池金线鲃人工繁殖方法 (Yang et al,

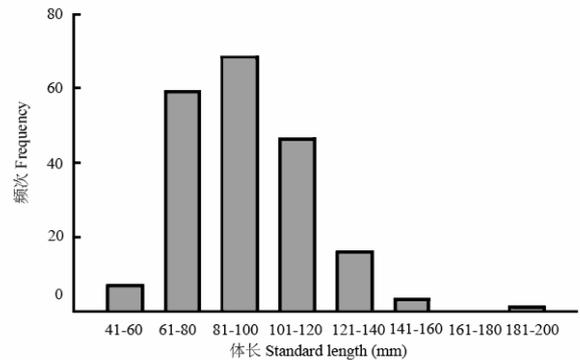


图1 抚仙金线鲃体长的频次分布
Fig. 1 Frequency distribution of standard length in *Sinocyclocheilus tingi*

2007), 催产素采用马来酸地欧酮 (DOM, 宁波第二激素厂) 和促黄体素释放激素A₂ (LHRH-A₂, 宁波第二激素厂)。剂量按每公斤体重 1 mg 马来酸地欧酮+1 μg 促黄体素释放激素A₂, 雄鱼注射量减半。用 0.9% 的生理盐水稀释混合后, 肌肉注射。注射后 24 h 左右施行人工助产、干法受精。在进行人工繁殖操作时, 测量每条雌鱼产卵前的体重、体长和挤出的未受精的卵重 (egg weight, EW); 随后, 取出 0.2 g 左右未受精的卵子进行计数, 并测量卵膜未膨大时的卵径 (egg diameter, ED)。

1.3 鱼卵孵化

将每条雌鱼的受精卵分别放置于塑料盆中孵化, 水温控制在 16—20℃。依据 Ma et al (2008) 胚胎发育时相, 统计每盆鱼卵发育到囊胚期 (blastula period)、原肠胚早期 (early of gastrula period)、原肠胚晚期 (late of gastrula period)、体节早期 (early of segmentation period), 孵化期 (hatching period) 死亡的胚胎数量。最后, 统计每盆孵化出的鱼苗数量。

1.4 仔鱼饲养

育苗池面积 20 m², 池深 1.2 m。使用前用高锰酸钾全池泼洒消毒, 然后注入新鲜水。用 90% 黑色遮光网遮盖, 避免阳光直射。池内每 5 m² 布置一个充气沙头充气, 增加池内溶氧, 保持实时溶氧 > 5 mg/L。水温保持在 16—22℃。

2 结果

2.1 亲鱼的池塘驯养

2008年9月, 从200尾抚仙金线鲃中挑选出60尾[40♀, 体长(122.8±14.0) mm, 体重(41.2

±20.2) g; 20 ♂, 体长(104.0±8.0) mm, 体重(24.4±6.0) g]III 龄以上(体长约>100.0 mm)的亲鱼。投喂抚仙金线鲃的商业饲料为 111 鲤鱼种鱼饲料(通威股份有限公司昆明分公司)。确定试验缸的日粮方法为: 以 20 天为一个周期, 从每个缸中随机抽取 5 尾抚仙金线鲃称量体重, 按商业饲料的饵料系数分别计算投喂量, 并根据水温和鱼的进食情况酌情加减。在饲养过程中, 除少量亲鱼在清洗水族缸时造成损伤感染肤霉菌外, 基本没有大的流行性疾病发生。2009 年 2 月 15 日开始投喂部分粗蛋白含量 40% 的粉状饲料, 并逐渐增大粉状饲料的投喂量。

2.2 催产与孵化

经过 8 个月饲养, 至 2009 年 2 月开始检查抚仙金线鲃的成熟情况。2009 年 3 月—4 月亲鱼的催产进行 4 次, 各批次的亲鱼体长和体重见表 1。

亲鱼催产进行 4 次, 每批 10 雌 5 雄。4 批共成功催产雌鱼 19 尾, 占全部雌鱼的 47.5%, 雄鱼 15 尾, 占全部雄鱼的 75.0%。4 次共得到鱼卵 25 547 粒, 平均受精率为 65.8%。在 16—20℃ 时, 仔鱼 100—120h 开始出膜, 以 168h 左右出膜的仔鱼最多, 240h 为最长的出膜时间。孵化出仔鱼 6 040 尾, 平均孵化率为 23.6%。各批次的催产及产卵、各时期胚胎存活率和孵化率见表 2。

表 1 人工繁殖用抚仙金线鲃的体长与体重

Tab. 1 Standard length and body weight of *Sinocyclocheilus tingi* for artificial propagation

批次 Batch	时间 Time	Mean±SD (range)			
		♀ 40		♂ 20	
		体长 Standard length	体重 Body weight	体长 Standard length	体重 Body weight
1	2009-03-20	129.7±7.3 (121.5–146.0)	47.3±12.0 (31.9–68.2)	109.9±10.2 (94.0–119.5)	28.5±8.3 (16.2–37.8)
2	2009-03-27	113.9±4.2 (108.0–119.0)	30.75±3.3 (26.0–35.5)	103.2±10.8 (87.5–113.5)	21.2±6.6 (14.2–30.4)
3	2009-04-18	135.2±17.9 (121.0–181.0)	57.8±31.0(34.9–139.3)	102.3±2.9 (99.5–106.5)	24.5±3.6 (21.3–30.4)
4	2009-04-23	112.3±4.3 (106.0–118.0)	29.2±4.4 (22.7–35.1)	100.7±3.8 (97.5–107.0)	23.3±2.9 (19.7–27.3)

表 2 抚仙金线鲃亲鱼催产及产卵、胚胎存活率和孵化结果

Tab. 2 Result of broodstock incubation, spawning, rate of live embryos and hatch in *Sinocyclocheilus tingi*

批次 Batch	1	2	3	4
繁殖数量 Number of artificial propagation	4♀3♂	2♀3♂	7♀5♂	6♀4♂
卵数(粒) Number of eggs	2738	1854	12045	8910
平均卵径 Mean of eggs diameter (mm)	1.79	1.81	2.05	1.91
胚胎存活率 Rate of live embryos (%)				
囊胚期 Blastula period	72.1	88.5	95.3	90.9
原肠胚早期 Early of gastrula period	45.3	66.7	90.7	78.4
原肠胚晚期 Late of gastrula period	15.2	17.4	76.4	53.7
体节早期 Early of segmentation period	13.9	15.1	41.2	27.6
孵化期 Hatching period	8.6	7.4	33.8	25.9
孵化率 Rate of hatching (%)	5.2	3.8	30.2	24.7

2.3 苗种培育

孵出后 5d, 仔鱼卵黄囊吸收完毕, 开始开口摄食, 能够自由游动。孵出后 5—15 d 开口饵料为蛋黄浆和豆浆等。每日投喂 4 次, 具体投喂量为每千尾用蛋黄半个, 干黄豆 30g 研磨成浆全池泼洒。保持池水的肥度, 每隔 3 d 注入一次新水, 每次增加池水 15—20cm。15 天以后仔鱼可以摄食浮游动物, 其后, 可根据仔鱼的大小投喂微粒饲料。结果 4 批次 20 日龄仔鱼的存活率分别为 27.8%、58.7%、53.2% 和 47.5%, 20 日龄的平均存活率为 50.6%。孵化后 35 d, 仔鱼的鳞片开始出现, 进入稚鱼发育。

2.4 苗种质量

抚仙金线鲃初孵仔鱼 5.0mm 左右, 100—120h 出膜的仔鱼, 卵黄囊大, 眼睛尚无色素, 血液呈淡黄色, 苗透明, 游泳能力弱, 静卧水底, 一般垂直游动。120—200 h 出膜的仔鱼眼睛变黑, 血液呈红色, 大多数时间静卧池底, 偶尔垂直游动至水面后做短距离平游。200h 以后出膜的仔鱼, 卵黄囊小, 眼睛变黑, 血液呈红色, 苗透明, 游泳能力较强, 除垂直游动还有短距离的平游。

实验过程中发现, 抚仙金线鲃仔鱼存在两个死亡的高峰时期, 一是鳔充气时期出现大量死亡; 二

是仔鱼不能顺利开口摄食导致饥饿而死；二者死亡率均高达20%左右。当卵黄囊完全消失，鱼苗完全摄食水中浮游动物时，称为外源营养阶段。开口时要及时投喂足量的适口饵料，如轮虫、蛋黄浆和黄豆浆等。抚仙金线鲃苗种常见疾病为气泡病和车轮虫病，应注意防治。

3 分析与讨论

3.1 亲鱼培育

在整个繁殖季节中没有观察到产卵前的相互发情追逐和自然产卵的现象，即抚仙金线鲃在池塘养殖环境下不能实现自然繁衍。类似的现象也常见于其他鱼类，并常被视为由于生殖功能紊乱所致 (Mylonas & Zohar, 2007; Cabrita et al, 2009)。抚仙金线鲃较低的催产率，可能与生殖功能紊乱有关，但也不排除是人工营造的条件离其自然环境需求尚有距离。在催产激素的作用下，近缘种滇池金线鲃亦只有30%左右的成熟率，主要是因为缺乏亲鱼性成熟所需要的生态条件，而且出现生殖功能紊乱大多数是雌鱼 (Yang et al, 2007)。适当的环境刺激，如流水、雌雄两性间的追逐可以使发育至IV期末的性腺发生最后一次成熟分离，最后一次成熟分离中期开始使卵子具有受精能力 (Liu, 1993)。池塘驯养的鱼类出现生殖功能紊乱主要由于捕获诱发的压力和缺乏合适的繁殖条件引起的 (Mylonas & Zohar, 2007; Cabrita et al, 2009)。因此，在亲鱼培育管理中要最大限度地降低捕获诱发的压力、尽量提供适合的养殖条件，如池塘的大

小、水质和光强度等。但是对于许多鱼类而言，要完全模仿鱼类繁殖季节的生态环境几乎是不可能的。确保抚仙金线鲃在繁殖季节成功繁殖，首要考虑的因素是池塘环境、水质、空间和温度等。在试验中，水质是最容易控制的因素，养殖密度通常要低 ($<3 \text{ kg/m}^3$)，最重要的因素是满足抚仙金线鲃繁殖所需要的最佳温度，而这一温度的获得必须来自野外的艰苦调查。

3.2 胚胎发育过程中的大量死胚问题

在抚仙金线鲃人工繁殖的生产实践中，挤出的卵绝大部分是成熟的。对每尾雌性亲鱼的鱼卵卵径测量时发现，部分亲鱼的鱼卵里掺杂着少数“白卵”。据测量结果，“白卵”卵径一般为1.2—1.5mm，属于不成熟卵子。这部分卵子主要是随着人工繁殖过程中，挤压鱼的腹部随成熟的卵子流出体外。对滇池金线鲃的催产试验中，达到80%的受精率，但是出膜率均较低 (Yang et al, 2007)。抚仙金线鲃的胚胎从囊胚期发育到原肠胚晚期，胚胎的死亡率均较高，4批鱼卵的死亡率分别为56.9%、71.1%、18.9%和37.2%。死胚引起的水霉滋生，往往会掩盖因为卵子质量不佳而造成的大量死胚。因为处于轻度过成熟的卵子，即使精子进入卵内，也能暂时出现卵裂，但到原肠胚以后就会陆续出现畸形或中途死亡 (Liu, 1993)，而卵子过熟的原因，主要是由于卵子保存有效繁殖时间较短造成，一般为1—2h (Liu, 1993)。因此，掌握催产激素对抚仙金线鲃卵子成熟的效应时间，得到大量高质量的鱼卵显得尤为重要。

参考文献:

- Brzuska E. 2003. Artificial propagation of African catfish (*Clarias gariepinus*): differences between reproduction effects after stimulation of ovulation with carp pituitary homogenate or GnRH-a and dopaminergic inhibitor [J]. *Czech J Anim Sci*, **48**(5): 181-190.
- Cabrita E, Robles V, Herraez P. 2009. Methods in Reproductive Aquaculture: Marine and Freshwater Species [M]. Boca Raton: CRC Press, 1-549.
- Liu Y. 1993. Propagation Physiology of Main Cultivated Fish in China [M]. Beijing: Agricultural Publishing House, 1-155. [刘 筠. 1993. 中国养殖鱼类繁殖生理学. 北京: 农业出版社, 1-155.]
- Gullu K, Guner Y, Koru E, Tenekecioglu E, Saygi H. 2008. Artificial spawning and feeding of European catfish, *Silurus glanis* L. in Turkey [J]. *J Anim Vet Adv*, **7**(10): 1285-1291.
- Ma L, Pan XF, Wei YH, Li ZY, Li CC, Yang JX, Mao BY. 2008. Embryonic stages and eye-specific gene expression of the local cyprinoid fish *Anabarilius grahami* in fuxian lake, China [J]. *J Fish Biol*, **73**: 1946-1959.
- Mylonas CC, Zohar Y. 2007. Promoting Oocyte Maturation, Ovulation and Spawning in Farmed Fish [M// Babin PJ. The Fish Oocyte: from Basic studies to Biotechnological Applications Dordrecht: Springer Publishing Company, Inc, 437-474.
- Slater CH, Schreck CB, Amend DF. 1995. GnRH-a injection accelerates final maturation and ovulation/spermiation of sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*) in both fresh and salt water [J]. *Aquaculture*, **130**(1): 279-285.
- Su H, Liu XC, Lin HR. 2005. Effects of sustained administration of LHRH-A on ovary development, sex steroid hormone secretion and ultrastructure of gonadotropic cell in *Epinephelus akaara* [J]. *Zool Res*, **26**(4): 422-428. [舒 虎, 刘晓春, 林浩然. 2005. LHRH-A 缓释剂对雌性赤点石斑鱼卵发育、性类固醇激素分泌及脑垂体 GTH 细胞超微结构的影响. 动物学研究, **26**(4): 422-428.]
- Xiong F, Li WC, Pan JZ, Li AQ, Xia TX. 2006. Status and changes of fish resources in lake Fuxian, Yunnan province [J]. *J Lake Sci*, **18**(3):

- 305-311.[熊文, 李文朝, 潘继征, 李爱权, 夏天翔. 2006. 云南抚仙湖鱼类资源现状与变化. 湖泊科学, **18**(3): 305-311.]
- Yang JX, Chen YR. 1995. The Biology and Resource Utilization of the Fishes of Fuxian Lake, Yunnan [M]. Kunming: Yunnan Science and Technology Press, 1-224. [杨君兴, 陈银瑞. 1995. 抚仙湖鱼类生物学和资源利用. 昆明: 云南科技出版社, 1-224.]
- Yang JX, Pan XF, Li ZY. 2007. Preliminary report on the successful breeding of the endangered fish *Sinocyclocheilus grahami* endemic to Dianchi lake [J]. *Zool Res*, **28**(3): 329-331. [杨君兴, 潘晓赋, 李再云. 2007. 云南滇池濒危特有种滇池金线鲃人工繁殖初报. 动物学研究, **28**(3): 329-331.]
- Zohar Y, Mylonas C. 2001. Endocrine manipulation of spawning in cultured fish: From hormones to genes [J]. *Aquaculture*, **197**(1): 99-136.