

文章编号: 1674 - 5566(2012)06 - 0971 - 05

大口黑鲈幼鱼低温耐受、耗氧率和窒息点研究

蔡磊^{1,2}, 白俊杰^{1,2}, 李胜杰¹, 姜鹏¹, 陈昆慈¹

(1. 中国水产科学研究院珠江水产研究所 农业部热带亚热带水产资源利用与养殖重点实验室, 广东 广州 510380;
2. 上海海洋大学 水产与生命学院, 上海 201306)

摘要: 对大口黑鲈北方亚种(N)、佛罗里达亚种(F)及其正交子代(N♀ × F♂)和反交子代(F♀ × N♂)幼鱼的耐低温限度、耗氧率和窒息点进行了测定。结果表明:在驯化温度为20℃,降温速率为2h/℃时,北方亚种的半致死低温最低为(3.10 ± 0.17)℃,佛罗里达亚种最高,为(5.05 ± 0.21)℃,正、反交子代介于两亲代群体之间,分别为(4.80 ± 0.06)℃和(4.20 ± 0.17)℃,对4种鱼的半致死低温进行单因素方差分析,显示4种大口黑鲈的半致死低温具有显著性差异($P < 0.05$)。采用封闭式流水装置测定大口黑鲈北方亚种、佛罗里达亚种及正反交子代的昼夜平均耗氧率分别为0.1368 mg/(g·h)、0.1811 mg/(g·h)、0.1681 mg/(g·h)和0.1388 mg/(g·h),4个群体的昼夜平均耗氧率差异不明显。窒息点测定显示佛罗里达亚种的窒息点最高为0.4 mg/L,北方亚种的最低为0.33 mg/L,4个群体在窒息点上差异不显著($P > 0.05$)。

水温和溶解氧是影响鱼类生长代谢及活动的重要环境因子^[1]。水温不仅影响水体中许多理化因子,而且直接影响鱼类本身的生理活动^[2],对鱼类的种群结构和地理分布产生重要影响。而氧气则直接参与鱼类大多数代谢活动,耗氧率可以直接或间接地反映鱼类新陈代谢规律、生理和生活状况^[3],尤其窒息点是研究鱼类对溶氧量的要求和低溶解氧耐受力的重要参数^[4]。因此测定鱼类对低温的耐受性及其呼吸生理对于其生理学的研究和生产实践中的养殖运输具有重要意义。

大口黑鲈(*Micropterus salmoides*)是原产于北美洲的广温、大型肉食性鱼类,分类上存在大口黑鲈北方亚种(*M. salmoides salmoides*)^[5]和佛罗里达亚种(*M. salmoides floridanus*)^[6]。中国大陆地区于1983年引进大口黑鲈北方亚种,目前

研究亮点: 大口黑鲈佛罗里达亚种是我们新引进的鱼类种质资源,大口黑鲈北方亚种和佛罗里达亚种的杂交以及杂交子代的耐低温限度、耗氧率和窒息点研究结果可为大口黑鲈的养殖推广和杂交育种提供理论依据,相关的内容国内还未见报道,具有较好的创新性。

关键词: 大口黑鲈北方亚种;大口黑鲈佛罗里达亚种;杂交;耐低温;耗氧率;窒息点

中图分类号: S 917

文献标志码: A

已成为国内一个重要的养殖品种^[7]。本研究利用国内养殖北方亚种与新引进的佛罗里达亚种进行杂交试验,探讨杂交子代在低温耐受特征、耗氧率和窒息点上与两亲本差异,以期为大口黑鲈的养殖推广和杂交育种提供基础资料。

1 材料与方 法

1.1 实验材料

试验用大口黑鲈北方亚种(以下用N表示)、佛罗里达亚种(以下用F表示)、北方亚种♀ × 佛罗里达亚种♂(正交子代,以下用NF表示)和佛罗里达亚种♀ × 北方亚种♂(反交子代,以下用FN表示)均取自广州珠江水产研究所良种基地。低温致死试验中试验鱼规格见表1,耗氧率及窒息点试验鱼规格为15~19g。其中北方亚种为本地养殖群体,佛罗里达亚种为珠江水产研究所于

收稿日期: 2012-01-12 修回日期: 2012-03-01

基金项目: 农业部“948”项目(2010-Z9);农业部公益性行业科研专项(200903045)

作者简介: 蔡磊(1986—),男,硕士研究生,研究方向为水生动物遗传育种。E-mail: cailei17@163.com

通讯作者: 白俊杰, E-mail: jjbai@163.net

2009 年从美国原产地引进。

1.2 低温致死试验

试验在 SPX - 430 智能型生化培养箱内完成。试验前先将 4 个群体的幼鱼放入经曝气的自来水中驯养 1 周,水温保持在 $(20 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$,此温度为试验的驯化温度,期间每天投喂鱼浆 1 次,投喂前清除粪便,投喂后 1 h 清除残饵,日换水量约为水总体积的 10%。将实验鱼禁食 24 h 后转入容器为 $30 \text{ cm} \times 20 \text{ cm} \times 17 \text{ cm}$ 玻璃水槽中,水槽中水为经曝气后温度控制在 $(20 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$ 的自来水,每个试验群体设 2 个平行组,每组 20 尾个体,试验鱼规格见表 1。试验设置降温速率为 $0.5 ^\circ\text{C}/\text{h}$ 。按照上述方式降温,直至鱼全部死亡,期间不换水,不投喂,保持充气状态,用精确度为 $0.1 ^\circ\text{C}$ 的水银温度计测量温度,每 30 min 观察 1 次试验鱼的状态,记录各温度下鱼死亡尾数,死亡标准参考 STAUFFER 等^[8]。

1.3 耗氧率测定

采用封闭流水式试验装置测定耗氧率,整体设计参考陈宁生和施泉芳^[9],呼吸室容积为 18 L。试验用水为曝气的自来水,平均溶解氧量为 7.586 mg/L 。每组试验用鱼均为 10 尾,体重为 $15 \sim 19 \text{ g}$ 。实验开始前,先让实验鱼在呼吸室中适应 2 ~ 3 h,待其呼吸平稳后开始试验,控制流速在 30 L/h 左右,每隔 2 h 测定一次进、出呼吸室水的溶解氧及流速,每次测定取样 2 次,取其平均值,连续测 24 h。测量完毕后试验鱼供下步窒息点测定。溶解氧测定采用 WINKER 碘量法^[10]。

1.4 窒息点测定

采用 10 L 的广口瓶作为呼吸室,置于 $25 ^\circ\text{C}$ 的生化培养箱中。放入试验鱼前先从呼吸室取一次水样,测定起始水中溶解氧,放入试验鱼后立即用液体石蜡封闭水面。随后分别测定死亡 1 尾、半数及全部试验鱼死亡时的溶解氧。以半数实验鱼死亡时的溶解氧为窒息点。每组鱼 10 尾,每次取平行样 2 次,结果以 2 次的平均值为准。

1.5 数据分析

采用直线内插法计算各组实验鱼的低温半致死温度,试验数据用 Excel 2007 进行处理,利用 SPSS 17.0 进行差异显著性分析。

溶解氧的计算(C_{O_2}):

$$C_{O_2} = C \times V \times 8 \times 1000 / 100 \quad (1)$$

式中: C_{O_2} 为水中溶解氧的浓度(mg/L); C 为硫代硫酸钠标准溶液浓度(mol/L); V 为硫代硫酸钠标准溶液用量(mL)。

$$O_c = (I - O) \times V / W \quad (2)$$

式中: O_c 为耗氧率 [$(\text{mg}/\text{g} \cdot \text{h})$]; I, O 为进、出水口的溶氧量(mg/L); V 为单位时间的流量(L/h); W 为鱼体重(g)。

2 结果

2.1 低温的耐受性

低温致死实验显示,当水温降至 $7 ^\circ\text{C}$ 之前时,各组鱼的活动正常,且随着温度的降低试验鱼开始出现游泳缓慢,反应迟钝。当水温降至 $6.7 ^\circ\text{C}$ 时,佛罗里达亚种首先出现试验鱼鱼体失去平衡,并平躺于水底,当水温降至 $5.3 ^\circ\text{C}$,反交子代试验鱼鱼体最后出现失衡状态,其余两组失衡温度介于佛罗里达亚种与反交子代之间。当水温降至 $5.2 ^\circ\text{C}$ 时,佛罗里达亚种最先出现死亡个体,北方亚种最后出现死亡,且出现死亡时的水温为 $3.8 ^\circ\text{C}$,两杂交子代死亡温度介于两亚种之间。佛罗里达亚种的半致死温度最高,为 $5.0 ^\circ\text{C}$,北方亚种最低,为 $3.1 ^\circ\text{C}$,两杂交子代的半致死温度介于两亚种之间,具体见图 1。

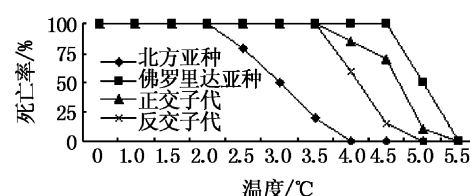


图 1 大口黑鲈北方亚种、佛罗里达亚种及其杂交子代低温试验死亡率曲线图

Fig. 1 The mortality of four largemouth bass species in lethal low temperature experiments

试验过程中,平行组之间在各温度死亡率上基本保持一致。对 4 种鱼的低温半致死温度进行单因素方差分析,结果 $P < 0.03$,各组之间均达到显著($P < 0.05$)或者极显著水平($P < 0.01$),显示出这 4 个大口黑鲈群体的半致死低温具有明显差异。将表 2 转换成死亡率后,做死亡率和温度曲线图见图 1。

表 1 低温致死试验试验鱼体重和体长范围

Tab. 1 The body weight and body length of four largemouth bass species

	北方亚种	佛罗里达亚种	正交子代	反交子代
平均体重/g	0.90 ± 0.02	0.43 ± 0.07	0.25 ± 0.02	0.45 ± 0.02
平均体长/mm	4.19 ± 0.13	3.64 ± 0.27	2.91 ± 0.21	3.47 ± 0.11

2.2 耗氧率测定

本试验为模拟自然状态下水温昼夜的变化,未设置恒温装置,试验过程中水温为 24 ~ 27 °C。大口黑鲈 4 个试验群体的体重相近。大口黑鲈 4 个群体的昼夜耗氧率见表 2。由表 2 可知,佛罗里达亚种和正交子代的平均耗氧率最高,北方亚种的最低,北方亚种与反交子代间平均耗氧率差异不明显。根据表 2 绘制大口黑鲈北方亚种、佛

罗里达亚种及其杂交子代耗氧率的昼夜变化曲线,见图 2。北方亚种与佛罗里达亚种的最高耗氧率峰值均出现在夜晚 19:30 ~ 21:30 之间,正反交子代的最高耗氧率峰值均出现在下午 13:30 ~ 15:30 之间。佛罗里达亚种的最高和最低耗氧率峰值在 4 个群体中最高,分别为 0.29 mg/(g · h) 和 0.05 mg/(g · h)。

计算各群体昼夜平均耗氧率,白天为 7 时至 19 时,夜间为 19 时至 7 时,北方亚种的昼夜平均耗氧率分别为 0.15 mg/(g · h) 和 0.14 mg/(g · h),佛罗里达亚种分别为 0.20 mg/(g · h) 和 0.18 mg/(g · h),正交子代分别为 0.17 mg/(g · h) 和 0.16 mg/(g · h),反交子代分别为 0.17 mg/(g · h) 和 0.11 mg/(g · h)。

表 2 大口黑鲈北方亚种、佛罗里达亚种及其杂交子代的耗氧率

Tab. 2 The oxygen consumption rate of four largemouth bass species

鱼种	平均体重/g	耗氧率/[mg/(g · h)]												平均耗氧率 /[mg/(g · h)]
		5:30	7:30	9:30	11:30	13:30	15:30	17:30	19:30	21:30	23:30	1:30	3:30	
北方亚种	16.46 ± 1.68	0.07	0.18	0.07	0.10	0.18	0.18	0.18	0.18	0.21	0.18	0.07	0.13	0.136 8
佛罗里达亚种	18.27 ± 1.67	0.18	0.18	0.21	0.23	0.18	0.17	0.22	0.29	0.18	0.17	0.14	0.05	0.181 1
正交子代	16.19 ± 1.75	0.20	0.16	0.16	0.10	0.23	0.21	0.18	0.18	0.14	0.14	0.16	0.17	0.168 1
反交子代	17.13 ± 2.45	0.11	0.14	0.17	0.17	0.15	0.24	0.14	0.14	0.11	0.10	0.10	0.12	0.138 8

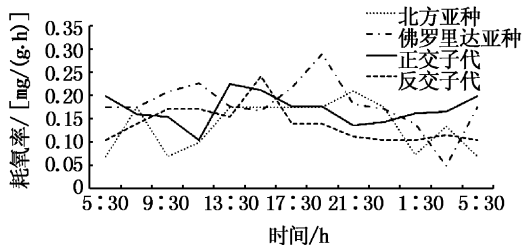


图 2 大口黑鲈北方亚种、佛罗里达亚种及其杂交子代耗氧率的昼夜变化

Fig. 2 The day and night fluctuation of the OCR of four largemouth bass species

2.3 窒息点

窒息点测定结果见表 3,在 4 组试验鱼中,佛

罗里达亚种的窒息点为 0.40 mg/L,为最高值;北方亚种的窒息点为 0.33 mg/L,为最低值;正反杂交子代群体的窒息点介于两亚种之间。经方差分析表明,4 个群体在窒息点上差异不显著 ($P > 0.05$)。

在进行窒息试验时,随着呼吸室水体中溶解氧的降低,试验鱼首先表现出焦躁不安,上下窜动,继而出现浮头现象,随着水中溶解氧的进一步降低,部分鱼出现身体失去平衡,平躺于水底,呼吸频率逐渐减慢。死亡前出现挣扎现象,死亡后身体僵直。4 种试验鱼在窒息试验中表现出的行为特征相似。

表 3 大口黑鲈北方亚种、佛罗里达亚种及其杂交子代的窒息点

Tab. 3 The comparison of asphyxiation points among four strains of largemouth bass

鱼种	平均体重/g	溶解氧/(mg/L)				
		初始值	浮头值	第一尾死亡	半数死亡	全部死亡
北方亚种	16.46 ± 1.68	7.45 ± 0.07	0.78 ± 0.07	0.39 ± 0.03	0.33 ± 0.03	0.22 ± 0.01
佛罗里达亚种	18.27 ± 1.67	6.53 ± 0.06	0.77 ± 0.03	0.48 ± 0.03	0.40 ± 0.01	0.38 ± 0.01
正交子代	16.19 ± 1.75	7.68 ± 0.07	0.58 ± 0.05	0.58 ± 0.02	0.38 ± 0.01	0.34 ± 0.04
反交子代	17.13 ± 2.45	7.06 ± 0.06	0.65 ± 0.06	0.39 ± 0.01	0.34 ± 0.02	0.27 ± 0.02

3 讨论

3.1 大口黑鲈幼鱼低温耐受特征

温度是影响鱼类生长、繁殖的重要环境因素之一,低致死温度的范围对于鱼类的低温耐受能力以及其适应环境能力起着决定性的作用^[11],研究其低温耐受性对引种以及养殖推广有着极为重要的意义。本研究对大口黑鲈北方亚种和佛罗里达亚种的低温耐受性进行测定时发现,北方亚种与佛罗里达亚种在半致死低温上差异显著($P < 0.05$),其数值分别为 $(3.10 \pm 0.17) ^\circ\text{C}$ 和 $(5.00 \pm 0.21) ^\circ\text{C}$ 。CARMICHAEL 等^[12]采用慢速降温的方式,降温速率为 $1 ^\circ\text{C}/\text{d}$,实验结果显示北方亚种的耐低温能力比佛罗里达亚种强,本实验得出的结果与之相似,这可能与两亚种在原产地的生活环境有差异相关,北方亚种主要分布于较寒冷的美国北部淡水河流湖泊,而佛罗里达亚种则分布于较温暖的美国最南部佛罗里达地区。与同属鲈形目的其他淡水养殖鱼类相比,大口黑鲈的低温致死温度比罗非鱼(*Oreochromis niloticus*)^[13]、尖塘鳢(*Oxyeleotris marmorat*)^[14]、斑鳢(*Channa maculata*)等要低,与鳊鱼(*Siniperca chuatsi*)和乌鳢(*Channa argus*)的低温致死温度差别很小^[15],属于较耐低温的鱼类。COSSINS 和 BOWLER^[16]认为动物适应温度的范围与其对温度变化的适应能力是成正比的,因此可以考虑在我国北方地区开展大口黑鲈北方亚种的养殖,进一步推广国内大口黑鲈的养殖。

3.2 耗氧率的昼夜变化

关于鱼类耗氧率呈现出昼夜有规律变化的现象已经在许多文献中得到证实^[17-19],耗氧率的变化可反映出鱼类在自然环境中的活动规律^[20],鱼类在进行摄食或其它活动时其耗氧率就高。图 2 显示 4 个群体大口黑鲈幼鱼昼夜的耗氧率波动明显,一般认为鱼类耗氧率的昼夜变化分为 3 种类型:昼大于夜^[21]、夜大于昼^[3]、昼夜差异不明显^[22]。本实验结果表明,4 个大口黑鲈群体的昼夜平均耗氧率相差均不明显,属于第三种类型,日间与夜间的耗氧率相当,这与大口黑鲈的夜出觅食习性是相符的^[23]。同时在对 4 种大口黑鲈的昼夜平均耗氧率进行对比时发现,两杂交子代群体的平均耗氧率均稍高于北方亚种群体,两杂交子代群体在幼鱼阶段可能不具有耐低氧

杂种优势。WILLIAMSON 和 CARMICHAEL^[24]及 CARMICHAEL 等^[12]对大口黑鲈北方亚种、佛罗里达亚种及其杂交子代的耗氧率进行测定,结果均显示北方亚种耐低氧能力最强,与本实验结果类似。鉴于目前国内大口黑鲈养殖业仅限于北方亚种,参照北方亚种耗氧率曲线图,建议在鱼耗氧率较高时段进行投喂,综合分析认为在 7:30、13:30 和 18:30 投喂较好,使投喂时间基本与呼吸生理节律相符,以提高饲料的利用率,而且在傍晚的投喂量要大于全天总量的 1/3。

参考文献:

- [1] ELLIOTT J A. A comparison of thermal polygons for British freshwater teleosts [J]. *Freshwater Forum*, 1995, 5: 178 - 184.
- [2] 吴宁,李文静,黎中宝,等. 5 种鳊鱼幼鳊极限温度的耐受性初步研究[J]. *南方水产*, 2010, 6(6): 14 - 19.
- [3] 范镇明,赵新红,钱龙. 河鲈鱼苗耗氧率和窒息点的测定[J]. *水生态学杂志*, 2009, 30(4): 129 - 132.
- [4] 孙宝柱,黄浩,曹文宣,等. 厚颌鲂和圆口铜鱼耗氧率与窒息点的测定[J]. *水生生物学报*, 2010, 34(1): 88 - 93.
- [5] BAILEY R M, HUBBS C L. The black basses (*Micropterus*) of Florida, with description of a new species [J]. *University of Michigan Museum of Zoology Occasional Papers*, 1949, 516: 1 - 40.
- [6] MACEINA M J, MURPHY B R. Stocking Florida largemouth bass outside its native range [J]. *Transactions of the American Fisheries Society*, 1992, 121: 686 - 691.
- [7] BAI J J, LUTZ-CARRILLO D J, QUAN Y C, et al. Taxonomic status and genetic diversity of cultured largemouth bass *Micropterus salmoides* in China [J]. *Aquaculture*, 2008, 278 (1/4): 27 - 30.
- [8] STAUFFER J J, BOLIZ S E, BOLIZ J M. Cold shock susceptibility of blue tilapia from the susquchanna river, pennsylvania [J]. *North American Journal of Fisheries Management*, 1988, 8: 329 - 332.
- [9] 陈宁生,施泉芳. 草鱼、白鲢和花鲢的耗氧率[J]. *动物学报*, 1955, 7(1): 34 - 57.
- [10] 陈佳荣,藏维玲,金送笛,等. 水化学实验指导书[M]. 北京:中国农业出版社, 2000.
- [11] 姜鹏,白俊杰,樊佳佳. 转基因鱼野生唐鱼耐温限度及窒息点的比较研究[J]. *水生态学杂志*, 2010, 3(6): 92 - 95.
- [12] CARMICHAEL G J, WILLIAMSON J H, WOODWARD C A C, et al. Communications: responses of northern, florida, and hybrid largemouth bass to low temperature and low dissolved oxygen [J]. *The Progressive Fish-Culturist*, 1988, 50(4): 225 - 231.
- [13] 王兵,李思发,蔡完其. “新吉富”罗非鱼、“吉丽”罗非鱼及萨罗罗非鱼耐寒力的测定[J]. *上海海洋大学学报*, 2011,

- 20(4):499-503.
- [14] 王语同. 暗纹东方鲀和云斑尖塘鳢的混养试验[J]. 科学养鱼,2011(9):33-34.
- [15] 王广军. 乌鳢的生物学特性及繁殖技术[J]. 淡水渔业,2000,30(6):10-11.
- [16] COSSINS A, BOWLER K. Temperature biology of animals [M]. London: Chapman & Hall, 1987: 337.
- [17] 王晓光,于伟君,李军,等. 雷氏七鳃鳗耗氧率和窒息点的研究[J]. 大连海洋大学学报,2011,26(2):119-125.
- [18] 顾若波,徐钢春,闻海波,等. 花鲢耗氧率和窒息点的初步研究[J]. 上海水产大学学报,2006,15(1):118-122.
- [19] 徐钢春,顾若波,魏宝莹. 似刺鲃耗氧率和窒息点的初步研究[J]. 水生态学杂志 2011,32(4):110-114.
- [20] CLAUSEN R G. Oxygen consumption in freshwater fishes[J]. Ecology,1936,17(2):216-226.
- [21] 王刚,李加儿,区又君,等. 卵形鲳鲹幼鱼耗氧率和排氮率的初步研究[J]. 动物学杂志,2010,45(3):116-121.
- [22] 谷伟,张永泉,张慧,等. 白点鲑的耗氧率及窒息点研究[J]. 中国农学通报,2010,26(21):427-431.
- [23] MANNES R E JR, HOPE J. Revelations in big bass behavior [J]. In-Fishman,1992,109:50-57.
- [24] WILLIAMSON J H, CARMICHAEL G J. An aquacultural evaluation of Florida, northern, and hybrid largemouth bass, *Micropterus salmoides* [J]. Aquaculture, 1990, 85 (1/4): 247-257.

Determination on the low lethal temperature tolerance , oxygen consumption rate and asphyxiation point of juvenile largemouth bass

CAI Lei^{1,2}, BAI Jun-jie^{1,2}, LI Sheng-jie¹, JIANG Peng¹, CHEN Kun-ci¹

(1. Key Laboratory of Tropical & Subtropical Fishery Resource Application & Cultivation, Ministry of Agriculture, Pearl River Fisheries Research Institute of Chinese Academy of Fishery Sciences, Guangzhou 510380, Guangdong, China; 2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract: The tolerance to low water temperature, oxygen consumption rate and asphyxiation point were compared among northern largemouth bass, florida largemouth bass and their reciprocal hybrids. The results were as follows: when the acclimation temperature was 20 °C and the rate of temperature decrease was 2 h/°C, the low semi-lethal temperatures of northern largemouth bass was the lowest (3.1 ± 0.17) °C, florida largemouth bass was the highest (5.05 ± 0.21) °C. One-way ANOVA analysis indicated that there were significant differences ($P < 0.05$) in the tolerance to low temperature of four largemouth bass species. The oxygen consumption rate and asphyxiation point of four largemouth bass species were studied. The result demonstrated that, under the natural water temperature (24 - 27°C), the oxygen consumption rate were 0.136 8 mg/(g · h), 0.181 1 mg/(g · h), 0.168 1 mg/(g · h) and 0.138 8 mg/(g · h), respectively. There were no significantly difference for the oxygen consumption rate at the four groups in day and night. Under constant temperature 15 °C, the asphyxiation point of them were 0.33 mg/L, 0.40 mg/L, 0.38 mg/L and 0.34 mg/L, respectively. There was no significantly difference between the oxygen consumption of the four largemouth bass species ($P > 0.05$).

Key words: northern largemouth bass; florida largemouth bass; hybrid; low lethal temperature tolerance; oxygen consumption rate; asphyxiation point