

DOI:10.7524/AJE.1673-5897.20161126001

王剑伟,曹文宣. 中国本土鱼类模式生物稀有鮡鲫研究应用的历史与现状[J]. 生态毒理学报, 2017, 12(2): 20-33

Wang J W, Cao W X. *Gobiocypris rarus* as a Chinese native model organism: History and current situation [J]. Asian Journal of Ecotoxicology, 2017, 12 (2): 20-33 (in Chinese)

## 中国本土鱼类模式生物稀有鮡鲫研究应用的历史与现状

王剑伟<sup>\*</sup>, 曹文宣<sup>#</sup>

中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072

收稿日期: 2016-11-26 录用日期: 2017-01-17

**摘要:** 稀有鮡鲫(*Gobiocypris rarus*)是一种中国特有的小型鲤科鱼类,从1990年开始,中国科学院水生生物研究所培育新的实验鱼为目的,对稀有鮡鲫开展了系列的实验动物化研究,并推动其在各研究领域中的应用。随着我国化学品环境管理制度的建立,稀有鮡鲫已逐渐成为我国化学品测试中最重要的受试鱼类。本文综述了稀有鮡鲫分类地位、分布、形态特征、早期发育、生长、繁殖、遗传、对环境的适应性等方面的生物学特点,分析了稀有鮡鲫作为模式生物的优点,介绍了稀有鮡鲫实验动物标准制定进展。随着实验动物标准化工作的深入以及基因组测序工作的开展,稀有鮡鲫将更广泛地应用于相关的研究和检定,成为一种我国具有代表性的本土模式生物。

**关键词:** 稀有鮡鲫;模式生物;生物学特点;实验动物标准化

文章编号: 1673-5897(2017)2-020-14 中图分类号: X171.5 文献标识码: A

## *Gobiocypris rarus* as a Chinese Native Model Organism: History and Current Situation

Wang Jianwei<sup>\*</sup>, Cao Wenxuan<sup>#</sup>

Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China

Received 26 November 2016 accepted 17 January 2017

**Abstract:** Rare minnow, *Gobiocypris rarus* is a small cyprinid fish endemic to China. From the beginning of 1990, researchers in the Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, did a series of studies on this fish for the purpose of establishment of a new laboratory animal and to promote its application in various research fields. With the establishment of rules and regulations on environmental management of chemicals in China, rare minnow has gradually become the most important test fish species. In this paper, biological characteristics of this fish were reviewed, including systematic position, geographical distribution, habitat, morphological characteristics, ontogenesis, growth, reproduction, genetic features, and adaptability to environment. The merits of rare minnow as model organism were summarized. In addition, a brief introduction on standardization of experimental rare minnow was given. Along with the advance of works on laboratory animal standardization and genome sequencing, rare minnow will be more widely used as a representative model organism with Chinese characteristics.

**Keywords:** *Gobiocypris rarus*; model organism; biological characteristic; laboratory animal standardization

基金项目: 国家科技支撑计划(2011BAI15B01-41); 湖北省科技支撑计划(2015BCE098)

作者简介: 王剑伟(1967-), 男, 研究员, 博士, 研究方向为鱼类生态学和实验动物, E-mail: wangjw@ihb.ac.cn

# 共同通讯作者(Co-corresponding author), E-mail: wxcao@ihb.ac.cn

模式生物一直是遗传学和现代生物学发展的基石之一。鱼类作为低等的脊椎动物,大多有体外受精、体外发育、胚体透明、胚胎可大量获得等优点,在生物学实验研究中起着重要的作用。同时,鱼类既是水生生物的代表性类群,又是水生生态系统中的消费者,其对水环境的物理、化学变化敏感,是环境监测、水生生态毒理学研究常用的试验材料。从 1990 年开始,中国科学院水生生物研究所培育新的实验鱼为目的,对稀有鮡鲫开展了系列的实验动物化研究,并推动其在各研究领域中的应用。现在稀有鮡鲫已较多地应用于遗传学<sup>[1]</sup>、鱼病学<sup>[2]</sup>、生理学<sup>[3]</sup>、生物监测<sup>[4-5]</sup>、毒性测试<sup>[6-8]</sup>等领域,是我国化学品管理中推荐使用的本土受试生物。随着实验动物标准化研究的深入以及基因组测序工作的开展,稀有鮡鲫将更多更广地应用于相关的研究和检定,成为我国重要的鱼类模式生物。

## 1 稀有鮡鲫简介 (Brief introduction to *Gobiocypris rarus*)

### 1.1 分类地位

稀有鮡鲫(*Gobiocypris rarus* Ye et Fu),俗名青鱼、金白娘,是 1983 年四川农业大学的叶妙荣和傅天佑在《动物分类学报》上发表的新属新种,其模式标本采于四川省汉源县九襄区流沙河<sup>[9]</sup>。由于形态特征与鲤科(Cyprinidae)细鲫属(*Aphyocypris*)较为相似,稀有鮡鲫被归到(鱼丹)(Danioninae)亚科,但以无腹棱和背鳍起点位置较靠前而不同于细鲫属,为此建立了新属——鮡鲫属(*Gobiocypris*)。《四川鱼类志》<sup>[10]</sup>和《中国动物志·硬骨鱼纲·鲤形目(中卷)》<sup>[11]</sup>均采用该分类观点。稀有鮡鲫的英文名为 rare minnow<sup>[12]</sup>,此外也有用 Chinese rare minnow, rare gudgeon 等<sup>[13-14]</sup>。

随着分子系统学的蓬勃发展,众多的分子标记被应用到鲤科鱼类的系统发育研究中。何舜平等<sup>[15]</sup>采用线粒体细胞色素 b 基因(*cytb*)研究鲤科鱼类系统发育关系时发现,稀有鮡鲫与鮡亚科(Gobioninae)的鱼类聚在一起。后来 Yang 等<sup>[16]</sup>和 Liu 等<sup>[17]</sup>对鮡亚科鱼类的分子系统发育研究时发现,稀有鮡鲫与鮡亚科中颌须鮡属(*Gnathopogon*)有较近的亲缘关系,应归属于鮡亚科,支持了何舜平等<sup>[15]</sup>的观点。

李小娟等<sup>[18]</sup>制作了稀有鮡鲫的透明骨骼标本,并选取 47 个外部及骨骼形态特征,与其他鲤科各亚科鱼类的典型特征进行比较,建立分支分析的特征矩阵。研究结果发现,稀有鮡鲫以“副蝶骨背部平

坦,无明显突起,有眶蝶骨伸出的眶间隔向下直接延伸至副蝶骨;伪鳃动脉和鳃上动脉不连接;上眶骨不发达,第五下眶骨与上眶骨不连接;三叉颜面神经孔前孔位于前耳骨和蝶耳骨交汇处;乌喙骨骨片小,不发达,乌喙骨和匙骨之间的孔大;第 2、3 椎体愈合”等特征与鮡亚科鱼类聚类在一起,进一步证明稀有鮡鲫应归属于鮡亚科。

### 1.2 分布区与生境特点

稀有鮡鲫野生种群分布于我国四川省的成都平原及其西部边缘地区。1983 年描述新属新种的模式标本仅发现于四川省汉源县流沙河,此后丁瑞华<sup>[10]</sup>在都江堰市柏条河采集到标本。在稀有鮡鲫实验动物化研究中,中国科学院水生生物研究所先后在四川西部采集野生个体,相继发现其在双流市、彭州市、石棉县等地的分布。2008 年,在开展稀有鮡鲫种群遗传结构的研究中,对成都平原近西北边缘地区进行了较大力度的调查,新发现了金马河(岷江都江堰以下干流)、邛崃水口镇(南河支流红岩河)、雅安市大兴镇、乐山市夹江县和水口镇等分布点。至此稀有鮡鲫的分布实际已涉及岷江中游、沱江上游、大渡河中下游和青衣江中下游,呈不连续的点状分布。推测稀有鮡鲫在成都平原西部曾广泛分布过,因农田水利等人类活动导致了其生境片段化<sup>[19]</sup>。

在所有已知的分布点中,模式产地即汉源县九襄镇流沙河河漫滩上其种群数量最多,其次是乐山市夹江县,而其他分布点的种群数量都较小。此外,稀有鮡鲫在一些岔流河漫滩上也有分布,河底质基本是卵石覆盖。野外采集地的常见理化参数见表 1。

综合模式种发现地及长期生境研究结果,稀有鮡鲫的典型生态环境是稻田、沟渠、河流及漫滩,且环境质量相对较高(溶解氧充沛、人为干扰较少)的自然及农耕环境。这在我国生态系统中有着一定程度的普遍性和共性。

## 2 稀有鮡鲫的生物学特点 (Biological features of rare minnow)

### 2.1 基本形态特征

小型鱼类,通常全长 38~45 mm 达到性成熟,已知最大个体全长 85 mm。体纺锤形,稍侧扁,胸、腹部圆,无腹棱,头中等大。侧线不完全,吻钝,口较小、端位,无鼻须。下咽齿 2 行,齿式为 2.4~4.2。背鳍无硬刺,鳍式为 iii-7~8;胸鳍不达腹鳍,腹鳍不达臀鳍;臀鳍鳍式为 iii-6~7,肛门紧靠臀鳍起点。尾鳍分叉,分枝鳍条 17,上下叶几乎等长。稀有鮡鲫

体侧具有淡黄色宽纵纹,腹部白色,尾鳍基中部有一较明显的黑斑,在繁殖季节成鱼体侧金黄色纵带鲜艳<sup>[9, 20]</sup>。在饲养条件下,稀有鮡鲫的体色会随着水族箱的颜色和光照的强弱而变化<sup>[21]</sup>。一般成年雌鱼腹部饱满,雄鱼轻压腹部可挤出乳白色精液。雄鱼胸鳍、腹鳍的相对长度较长,胸鳍末端距离腹鳍起点距离较近,鳃盖、胸鳍上有细小的棘状珠星;雌鱼胸鳍、腹鳍的相对长度较短,一般体表光滑,无珠星<sup>[12]</sup>。

## 2.2 胚胎发育与胚后发育

稀有鮡鲫的胚胎发育过程与多数淡水硬骨鱼类相似。卵受精后不久即在动物极形成胚盘并逐渐增高,卵裂局限在动物极所在半球,分裂球及囊胚的高度约占整个卵垂径的1/3以上,以内卷和下包的方式形成原肠胚。在(25±1)℃条件培育下,整个发育过程耗时约75 h,分为22个发育时期<sup>[22]</sup>。稀有鮡鲫孵化时器官分化程度较高,已发育至鳔雏形期。在(25±1)℃条件培育下,1日龄(dph)仔鱼鳔充气,2 dph仔鱼具备平游模式并开始摄食,进入混合营养期。随后,仔鱼先后历经卵黄囊吸尽、背鳍分化、臀鳍分化、鳔二室形成、腹鳍芽出现并形成、鳞片出现并形成等一系列发育事件逐步完成胚后发育,整个胚后发育阶段历时约25~30 d。温度对稀有鮡鲫的胚胎发育和胚后发育均具有重要的影响,发育速率随着温度的上升而上升<sup>[20, 22, 23]</sup>。

## 2.3 摄食与生长

稀有鮡鲫在自然界中主要以昆虫幼虫、浮游生

物、着生藻类、水蚯蚓等为食<sup>[20]</sup>。仔鱼在24.7℃~31.8℃下,孵出后2 d的仔鱼即可摄食,4 d卵黄吸尽<sup>[20]</sup>,持续饥饿或延迟初次投喂时间对仔鱼的生长、发育、存活有深刻的影响,持续饥饿8~10 d达不可逆点<sup>[25]</sup>。在初次性成熟以前,稀有鮡鲫的长度生长较快,随着日龄的增加与发育(90 d以后),其生长速度逐渐减小<sup>[20-23, 25]</sup>。除了饵料的营养条件<sup>[20]</sup>,养殖环境因子<sup>[23]</sup>、投喂频次<sup>[24]</sup>和养殖密度<sup>[20, 21, 24]</sup>对稀有鮡鲫的生长也具有重要的影响。稀有鮡鲫生长效率较低,代谢耗能较多,雄鱼生长速度及摄食率低于雌鱼,一般情况下,雌鱼食物能用于代谢的比例较雄鱼低,而用于生长的比例较雄鱼高<sup>[26]</sup>。

## 2.4 繁殖生物学特征

稀有鮡鲫的原始生殖细胞起源于内胚层,卵巢解剖学上的分化发生在孵化后的第21日龄左右,细胞学上的分化发生在35日龄(dph)左右;精巢的分化晚于卵巢,解剖学上的分化开始于50~60 dph之间,细胞学上的分化发生在60 dph左右<sup>[27]</sup>。稀有鮡鲫的卵为球形,产出后吸水膨胀,透明,具粘性,卵膜径1.25~1.70 mm,比重大于水<sup>[22]</sup>。随着胚胎发育,卵膜粘性减弱并逐渐消失<sup>[12]</sup>。稀有鮡鲫精子主要由头部、中片和鞭毛3部分组成,头部前端无顶体,被有质膜<sup>[28]</sup>。头部长(1.246±0.083) μm,宽(1.053±0.172) μm,尾长约(37.21±2.536) μm;精子密度为(4.623±0.170)×10<sup>9</sup> ind.·mL<sup>-1</sup>,精子生存的最适NaCl浓度和pH值分别为0.55%和8.0<sup>[28]</sup>。

表1 稀有鮡鲫野外生境常见理化参数值

Table 1 Physical and chemical characteristics of rare minnow habitat

	D1	D2	D3	M1	M3	M4	Q1	Q2	T1	T2
海拔/m Altitude/m	764	939	412	566	523	469	545	387	792	627
水面宽/m Width/m	8.0	0.8	1.6	2.2	5.2	10.2	1.9	39.5	1.5	3.3
水深/m Depth/m	0.50	0.44	0.37	0.49	0.31	0.17	0.42	0.30	0.32	0.35
流速/(m·s <sup>-1</sup> ) Flow velocity/(m·s <sup>-1</sup> )	0.143	0.283	0.191	0.170	0.192	0.163	0.170	0.347	-	0.285
水温/℃ Temperature/℃	16.0	16.3	17.8	16.5	27.6	20.4	25.8	21.8	14.7	19.5
溶解氧/(mg·L <sup>-1</sup> ) Dissolved oxygen/(mg·L <sup>-1</sup> )	7.28	8.02	5.25	7.02	13.04	8.91	10.04	11.64	6.83	10.92
pH	8.05	8.05	7.49	6.95	8.99	8.18	9.17	8.18	7.35	9.15
电导率/(μs·cm <sup>-1</sup> ) Conductivity/(μs·cm <sup>-1</sup> )	251	428	282	424	425	495	239	348	334	338

注: D表示大渡河流域, M表示岷江流域, Q表示青衣江流域, T表示沱江流域。

Note: D stand for Dadu River Basin; M stand for Min River Basin; Q stand for Qingyi River Basin; T stand for Tuo River Basin.

自然条件下,稀有鮡鲫的繁殖季节为3~11月<sup>[12]</sup>,在人工控制条件下可实现周年繁殖。一般为3~6 d产卵一次,产卵间隔众数为4 d,属于连续产卵型<sup>[12, 29]</sup>。120~150 d个体每次产卵平均可达100粒以上,1年龄以上的个体产卵量平均可达300粒以上<sup>[21]</sup>。稀有鮡鲫卵的受精率和孵化率均较高,均在75%以上<sup>[21]</sup>。对于已产多批的鱼,产卵间隔时间长短和批产卵量大小与雌鱼体长没有显著关系,而与水温和饵料和个体生理状况不同有关<sup>[21]</sup>。产卵间隔长,多发生在水温较低或饵料不足时;批产卵量小则多发生在饵料不足或连续多次大量产卵之后<sup>[12]</sup>。此外,研究表明,饵料种类及其营养成分对稀有鮡鲫亲鱼的繁殖性能也具有重要的影响<sup>[24, 30]</sup>。稀有鮡鲫的产卵量和受精率均与体重存在显著的正相关,但与性腺重无显著相关<sup>[12, 21]</sup>。稀有鮡鲫对产卵条件要求很低,可在14.0℃~29.6℃下产卵繁殖<sup>[12]</sup>。在24℃~27℃条件下产卵规律性较强,高温对繁殖有明显抑制,对卵苗发育也有一定影响。综合产卵和卵苗发育情况,稀有鮡鲫最适宜产卵温度为25℃~26℃<sup>[23, 31]</sup>。

产卵活动一般在傍晚至午夜之间进行,雌鱼在雄鱼的追逐、触碰和贴靠下发情产卵,产卵多发生在18:00—24:00,产卵可持续2~4 h。夏季产卵时间较晚,而初春、秋末(及冬季)产卵时间较早。在阴雨天气也偶见中午、下午产卵<sup>[12]</sup>。最近的研究表明,在光照黑暗颠倒的条件下,稀有鮡鲫产卵活动也随之改变,因此可通过控制光照周期进而控制产卵时间<sup>[31]</sup>。

### 2.5 遗传学特征

稀有鮡鲫具有25对染色体,属于典型的原始鲤科鱼类染色体核型<sup>[32]</sup>。核型中No.1~No.9为中着丝粒染色体;No.10~No.20为亚中着丝粒染色体;No.21~No.25为亚端部着丝粒染色体。核型组成为18 m + 22 sm + 10 st<sup>[32]</sup>。游翠红等<sup>[33]</sup>利用雌核发育和人工性反转技术对稀有鮡鲫性别决定可能的染色体类型进行初步探讨,结果发现稀有鮡鲫性别决定既不是典型的XY型也不是ZW型,而可能与斑马鱼(*Danio rerio*)相似,拥有复杂的染色体性别决定机制。

童金苟等<sup>[34]</sup>通过测定了稀有鮡鲫体细胞DNA含量平均为(2.660±0.007) pg,推测基因组大小约为1.3 Gb。最近,中国科学院水生生物研究所已完成了稀有鮡鲫全基因组测序工作,但尚未发表。从初步结果看,稀有鮡鲫的基因组大小约为1.08 Gb,基因

组杂合度为0.5472,属于杂合度较高的基因组。有理由相信,稀有鮡鲫全基因组发表后会极大地推动稀有鮡鲫在各领域的应用研究。

### 2.6 对环境因子的适应性和耐受性

稀有鮡鲫为温水性鱼类,对温度的适应范围很广,可在0℃~35℃下正常的生长存活,产卵下限温度为14℃,产卵上限温度为30℃左右,在平均水温13.0℃~31.6℃,极差8.2~33.0℃的范围内均能完成正常胚胎发育<sup>[12, 22, 35]</sup>。此外,稀有鮡鲫胚胎对于温度骤变的耐受性也比较强,可耐受23℃→35℃→23℃的温度变化<sup>[36]</sup>。在实验过程中,可以通过低温对胚胎发育的迟缓作用来延长稀有鮡鲫的发育时间,进而实现对实验进程的控制<sup>[22]</sup>。稀有鮡鲫具有较强的CO<sub>2</sub>耐受性,能在70.0~86.7 mg·L<sup>-1</sup>CO<sub>2</sub>的水体中维持正常的呼吸节律<sup>[37]</sup>。在25℃条件下,稀有鮡鲫的窒息点变动为0.398~0.646 mg·L<sup>-1</sup>,具有较强的耐低氧能力。稀有鮡鲫对水体总硬度的耐受范围较广,可在水体总硬度小于480 mg·L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>的水体中完成受精,胚胎则可以在水体总硬度为0~960 mg·L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>(水体电导率为100~2 000 μS·cm<sup>-1</sup>)的水体中正常的孵化和生长发育。值得注意的是,稀有鮡鲫对水体中的余氯十分的敏感,养殖用水曝气不足可造成大量的死亡。此外,稀有鮡鲫对氮污染物也较为敏感,氨氮、亚硝酸氮和硝酸氮对稀有鮡鲫生活史早期阶段的无观测效应浓度(NOEC)依次为2.5 mg·L<sup>-1</sup> NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-N(0.15 mg·L<sup>-1</sup> NH<sub>3</sub>-N), 13.3 mg·L<sup>-1</sup> NO<sub>2</sub>-N, 19.9 mg·L<sup>-1</sup> NO<sub>3</sub>-N<sup>[31]</sup>。

### 3 稀有鮡鲫作为模式生物的优点 (The advantage of rare minnow used as model organism)

#### (1) 生活史周期短

与OECD<sup>[38]</sup>推荐使用的斑马鱼、黑头软口鲮(*Pimephales promelas*)、青鳉(*Oryzias latipes*)等常用模式鱼类相似,稀有鮡鲫性成熟较快,部分个体孵化后3个月性成熟,4个月即可产卵繁殖<sup>[39]</sup>。人工饲养条件下,一年可培育3代。这一特点使得鱼类繁殖试验、两代毒性试验等与传代有关的实验研究变得快捷。

#### (2) 连续产卵,繁殖性能优越

在水温适宜以及饵料充沛的条件下,室内养殖稀有鮡鲫可周年繁殖,同一对鱼每隔3~4 d产卵一次,产卵规律性很强,且产卵量较大。多年养殖发现,4~5月龄的稀有鮡鲫的产卵量在几十粒到几百

粒之间,平均产卵量 110~130 粒<sup>[21]</sup>。1 龄多的稀有鮡鲫产卵量有所增加,平均产卵量可达 300 多粒<sup>[12, 21]</sup>。稀有鮡鲫的批产卵量(繁殖量)与斑马鱼、黑头软口鲮和唐鱼等相当,显著大于青鳉和剑尾鱼。

### (3) 卵具粘性,卵膜透明,卵膜径较大

稀有鮡鲫产粘性卵,卵粒遇水后略为膨胀,饱满且富有弹性<sup>[22]</sup>。随着孵化的进行,卵膜的粘性逐渐减弱。卵膜的粘性可使胚胎得以固定,进而方便观察。最新的研究表明,稀有鮡鲫卵的粘性也可以通过次氯酸钠浸泡进行消除,进而方便胚胎转移(苏良霞,未发表)。稀有鮡鲫的卵外观无极性,接近正圆形,卵膜径 1.25~1.70 mm 之间<sup>[22]</sup>,卵膜径的大小与水体的硬度(或离子浓度)有很大的关系<sup>[40]</sup>。稀有鮡鲫的卵膜径与黑头软口鲮相当,但显著大于斑马鱼、青鳉、唐鱼等模式鱼类(表 2),这在一定程度上有利于实验操作者观察。此外,稀有鮡鲫卵膜透明,相比于青鳉更容易看清胚体发育进展和活动状况,而稀有鮡鲫胚体体表的色素细胞显著少于斑马鱼,相比于斑马鱼更容易看清胚胎的形态异常特征。

### (4) 个体较小,饲养方便

稀有鮡鲫不仅性成熟早,而且成鱼个体大小也较小,适合在小型水族箱中进行饲养,便于在室内进行批量养殖与实验,节省空间和经费。稀有鮡鲫可饲养在普通玻璃水族箱或其他类似容器内,静水、流水、循环水均适宜。根据多年的养殖经验,20 L 的水族箱适合于稀有鮡鲫产卵繁殖,该大小的水族箱也适合于饲养仔鱼和幼鱼。稀有鮡鲫产卵繁殖并不必须流水刺激,也不需水草或其他产卵基质<sup>[12]</sup>。

稀有鮡鲫食性较广,可摄食昆虫幼虫、浮游生物、着生藻类、水蚯蚓<sup>[41]</sup>。由于稀有鮡鲫初孵仔鱼显著大于斑马鱼、唐鱼,初次摄食时并不需要投喂草履虫、蛋黄等,而可直接用丰年虫无节幼体作为开口饵料,其后可逐步投喂经过消毒处理的水蚯蚓、摇蚊幼虫等生物饵料,也可投喂人工配合饲料。最近的研究还表明,在不同温度、投喂频率、投喂量的情况下,稀有鮡鲫可通过调节肠道排空速率等生理变化适应不同的投喂策略<sup>[24]</sup>。

### (5) 温度耐受范围广

稀有鮡鲫是一种广温性鱼类,能适应 0 °C~36 °C 的养殖水温<sup>[5]</sup>,其温度耐受范围大于黑头软口鲮、剑尾鱼、唐鱼等模式鱼类,对低温的耐受能力也显著大于斑马鱼(表 2)。稀有鮡鲫胚胎可在平均水温 13.0 °C~31.6 °C 范围内完成正常的发育<sup>[22]</sup>,亲鱼则

可在 14 °C~30 °C 下完成产卵活动<sup>[12]</sup>。此外,稀有鮡鲫胚胎对于温度骤变的耐受性也比较强,可耐受 23 °C→35 °C→23 °C 的温度变化<sup>[36]</sup>。在实验过程中,可以通过低温对胚胎发育的迟缓作用来延长稀有鮡鲫的发育时间,进而实现对实验进程的控制<sup>[22]</sup>。

### (6) 耐低氧能力强

稀有鮡鲫具有较强耐低氧能力,对水体中 CO<sub>2</sub> 耐受性强<sup>[37]</sup>。根据陈宁生和施琼芳<sup>[42]</sup>的研究,家鱼在 CO<sub>2</sub> 浓度为 80 mg·L<sup>-1</sup> 时出现呼吸困难的现象,而稀有鮡鲫在 130~150 mg·L<sup>-1</sup> 时才出现类似的现象,显然稀有鮡鲫的耐受高 CO<sub>2</sub> 的能力较强<sup>[37]</sup>。通常认为热带鱼类属于需氧量较低的鱼类<sup>[43]</sup>,而稀有鮡鲫的窒息点为 0.398~0.646 mg·L<sup>-1</sup><sup>[37]</sup>,与热带模式鱼类剑尾鱼相当,这说明稀有鮡鲫具有较强的耐低氧能力。

### (7) 硬度耐受范围广

尽管稀有鮡鲫是我国长江上游特有的一个地方种,其分布区零星地散布于我国西南地区的岷江流域、沱江流域、青衣江流域和大渡河流域,但其对水体总硬度、钙镁比例以及电导率的适应范围很广。稀有鮡鲫可在水体总硬度小于 480 mg·L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub> 的水体中完成受精,胚胎则可以在水体总硬度为 0~960 mg·L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub> (水体电导率为 100~2 000 μS·cm<sup>-1</sup>) 的水体中正常地孵化和生长发育;胚胎可在钙镁比例为 1:20~8:1 的水体中正常地孵化和生长发育<sup>[31]</sup>。由于我国的城镇饮用水水体总硬度标准为小于 450 mg·L<sup>-1</sup> CaCO<sub>3</sub>,同时各大城市的饮用水钙镁比例为 3:2~7:1,因此我国大部分地区的自来水经曝气后均可作为饲养稀有鮡鲫的水源。

### (8) 分类学、生态学代表性

鲤科是现生鱼类中最大的一个科,约有 3 000 余种<sup>[44]</sup>,也是我国淡水鱼类中最大的一个科<sup>[45]</sup>。据统计,我国分布有鲤科鱼类 664 种,是我国各大水系鱼类区系的重要组成部分<sup>[45]</sup>。如黑龙江流域有淡水鱼类 99 种,其中鲤科鱼类 56 种,占 56.6%<sup>[46]</sup>;长江流域纯淡水鱼类 378 种,鲤科鱼类 190 种,占 50.26%<sup>[47]</sup>;珠江流域纯淡水鱼类 357 种,其中鲤科鱼类 205 种<sup>[46]</sup>。稀有鮡鲫隶属于鲤科,从形态学特征和系统发育位置看,属于鲤科雅罗鱼系鮡亚科<sup>[16-18]</sup>。鮡亚科是鲤科 12 个亚科中种类最多的亚科之一,分布于亚欧两洲,广布于东亚水域,是我国江河鱼类的重要组成部分。在长期的演化和发展中,鮡亚科鱼类在形态、生态上特化出一系列特征,

适应江河平原区水文、地理、气候、生境。作为鲤科鱼类的代表和喜流水生活鱼类的代表,对稀有鮡鲫的研究有助于揭示鲤科鱼类基本的生命过程和规律,同时稀有鮡鲫对污染等环境变化的响应也代表了我国多数淡水鱼类一般情况。

我国地域辽阔,南北跨越纬度  $50^{\circ}$  左右,跨不同的温度带。生活在各水域的淡水鱼类,在温度适应性上也有冷水性鱼类、温水性鱼类、暖水性鱼类等类型。稀有鮡鲫是一种温水性鱼类,同时也是温度适应范围很广的广温性鱼类,从温度适应性来看,其可以作为我国大部分内陆水域鱼类的代表。

鱼类是水生生态系统中的消费者,其中大部分鱼类为温和肉食性鱼类,主要以无脊椎动物为食。从营养等级来看,像稀有鮡鲫这样的温和肉食性鱼类是我国淡水鱼类的主体,其中有部分鱼类还兼食碎屑等,被称为杂食性鱼类,而植食性鱼类、凶猛肉食性鱼类的种类不多。因此,从水生生态系统的营养级来看,稀有鮡鲫代表了水体中的次级消费者,也代表了鱼类种类数最多的营养级。

#### (9) 具有较好的研究基础

作为一种模式生物,清楚的基础生物学背景与充足的研究工作基础是必备的条件。自 1990 年开始进行实验动物化研究以来,稀有鮡鲫已有较多的基础资料积累与应用。据不完全统计,截至 2015 年底,有关稀有鮡鲫的研究论文已有 258 篇,其中中文核心期刊 149 篇,SCI 107 篇,主要涉及稀有鮡鲫基础生物学、病理学、遗传学、毒理学等领域。

稀有鮡鲫应用最多的是毒理学领域,且呈逐年上升的趋势(图 1)。由于稀有鮡鲫对铬( $\text{Cr}^{6+}$ )、铜( $\text{Cu}^{2+}$ )、锌( $\text{Zn}^{2+}$ )和五氯酚(PCP)的毒性测试结果重复性较好,稀有鮡鲫对于这些参比毒物的敏感性不亚于黑头软口鲮、虹鳟、蓝鳃鱼、斑马鱼等常用实验鱼类<sup>[48]</sup>。卢玲等<sup>[49]</sup>发现稀有鮡鲫和剑尾鱼对化学品和环境水样的敏感性无显著性差异,二者均是理想的毒性试验材料。稀有鮡鲫对水中三丁基锡具有显著的生物富集作用,是一种灵敏的试验材料<sup>[50]</sup>。稀有鮡鲫对雌激素类物质具有较高的敏感性,具备成为污染监测的模型动物的潜质<sup>[51]</sup>。稀有鮡鲫的卵黄蛋白原对 17-乙炔基雌二醇暴露的敏感性要比斑马鱼更为敏感<sup>[52]</sup>。姜福全<sup>[53]</sup>研究发现稀有鮡鲫对铬的敏感性虽略低于斑马鱼和剑尾鱼,但稀有鮡鲫对五氯酚的敏感性明显较高。稀有鮡鲫对炔雌醇的敏感性要大于青鳉,而与斑马鱼相当,稀有鮡鲫短期繁殖试

验是一种可行的毒性测试方法<sup>[54]</sup>。事实上,稀有鮡鲫不仅是一个优良的急性毒性测试物种,还是一种较好的亚慢性试验材料<sup>[48, 55]</sup>。这在东湖底泥<sup>[56]</sup>和氮污染物<sup>[57]</sup>的毒性测试中都得到了验证。此外,钟雪萍<sup>[58]</sup>研究发现,稀有鮡鲫是一种评价类雌激素毒性效应的理想活体实验模型。

随着我国对化学品环境管理制度的建立,稀有鮡鲫逐渐批量地应用于化学品生态毒理学测试中。2003 年,《化学品测试方法》<sup>[59]</sup>将稀有鮡鲫作为推荐的受试鱼类之一。2003 年 9 月原国家环境保护总局发布《新化学物质环境管理办法》<sup>[60]</sup>后,我国相继制订了一系列化学品测试的国家标准,在与鱼类测试相关的标准中,稀有鮡鲫均被作为受试鱼类。2010 年,新化学物质环境管理办法修订后,稀有鮡鲫作为被推荐受试鱼种中唯一的本土类得到了更多的应用。2013 年,国家标准“化学品稀有鮡鲫急性毒性试验”颁布实施,标志着稀有鮡鲫已开始成为我国化学品测试中主要使用的本土鱼类。据不完全统计,2012 年以来仅中国科学院水生生物研究所就向各测试机构提供测试用鱼 6 万余尾,极大地推进了稀有鮡鲫作为化学品测试用鱼的应用。

#### 4 稀有鮡鲫实验动物标准化研究概况 (General introduction to standardization of rare minnow as laboratory animal)

实验动物是指经人工饲养,对其携带的微生物及寄生虫实行控制,遗传背景明确或者来源清楚的用于科学研究、教学、生产、检定以及其他科学实验的动物<sup>[61]</sup>。模式生物则是用于研究和展现普遍规律的实验动物。根据国家《实验动物管理条例》<sup>[62]</sup>以及相关的法规,我国实验动物的管理主要采取基于标准和质量检测的许可认证制度。实验动物要求在微生物学、寄生虫学、遗传学、营养学、饲养环境等方

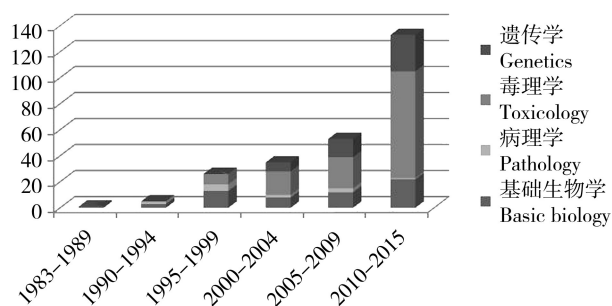


图 1 稀有鮡鲫相关论文发表情况统计

Fig. 1 Statistics of published papers in rare minnow

表2 几种常用模式鱼类的生物学特性比较  
Table 2 Comparison of biological characteristics among several common model fishes

	斑马鱼 Zebrafish	黑头软口鲈 Fathead minnow	青鳉 Medaka	稀有魮鲫 Rare minnow	剑尾鱼 Swordtail fish	唐鱼 White cloud mountain fish
拉丁学名 Scientific name	<i>Danio rerio</i>	<i>Pimephales promelas</i>	<i>Oryzias latipes</i>	<i>Gobiocypris rams</i>	<i>Xiphophorus helleri</i>	<i>Tanichthys albonubes</i>
目 Order	鲤形目 Cypriniformes	鲤形目 Cypriniformes	鲤形目 Cyprinodontiformes	鲤形目 Cypriniformes	鲤形目 Cyprinodontiformes	鲤形目 Cypriniformes
科 Family	鲤科 Cyprinidae	鲤科 Cyprinidae	青鳉科 Oryziatidae	鲤科 Cyprinidae	胎鳉科 Poeciliidae	鲤科 Cyprinidae
分布 Distribution	印度东部、巴基斯坦、缅甸、孟加拉国等南亚地区 India, Pakistan, Myanmar, Bangladesh, and other south Asian regions	北美洲 North America	日本、朝鲜、中国、东南亚等国家 Japan, Korea, China and Southeast Asian countries and regions	长江上游 The upper reaches of the Yangtze River	墨西哥及危地马拉 Mexico and Guatemala	中国珠江三角洲地区 Pearl River Delta of China
嗜温类型 Temperature preference	热带鱼类 Tropical fish	温水性鱼类 Warm-water fish	温水性鱼类 Warm-water fish	温水性鱼类 Warm-water fish	热带鱼类 Tropical fish	温水性鱼类 Warm-water fish
成体大小 Adult size	45 mm TL左右	43~102 mm TL	20~30 mm BL	40~83 mm TL	About 40 mm BL	22~24 mm TL
耐温范围 Temperature tolerance	6.7 °C~41.7 °C	4 °C~32 °C	0 °C~37 °C	0 °C~36 °C	18 °C~32 °C	5.0 °C~33.0 °C
繁殖类型 Reproductive type	卵生 Oviparity	卵生 Oviparity	卵生 Oviparity	卵生 Oviparity	卵胎生 Ovoviviparity	卵生 Oviparity
繁殖习性 Breeding habit	黎明时分产卵 Spawning at dawn	需产卵基质, 0:00—10:00 之间 Substrate is needed, spawning between 0:00 to 10:00	产卵后受精卵 粘附于泄殖孔 Eggs adhere to its cloacal aperture	18:00—24:00 Spawning between 18:00 to 24:00	临产前 1~2 d 独处 Female usually lives alone for 1 to 2 days before spawning	3~8 min 交尾一次, 每次产 5~12 粒 Mating every 3 to 8 minutes, and lays 5 to 12 eggs each time

续表2

	斑马鱼 Zebrafish	黑头软口鲮 Fathead minnow	青鳉 Medaka	稀有鮡鲫 Rare minnow	剑尾鱼 Swordtail fish	唐鱼 White cloud mountain fish
世代周期 Generation period	3个月左右 About 3 months	4个月左右 About 4 months	3~6个月 3 - 6 months	3~4个月 3 - 4 months	5个月 5 months	2~3个月 2 - 3 months
产卵类型 Spawning pattern	连续产卵 Continuous batch spawner	连续产卵 Continuous batch spawner	连续产卵 Continuous batch spawner	连续产卵 Continuous batch spawner	N/A	连续产卵 Continuous batch spawner
生产间隔 Breeding interval	5~10 d	3~4 d	每天 Everyday	3~4 d	30~40 d	不详 Unknown
产卵(仔)量 Batch size	150~400粒 150 to 400 eggs	9~1 136粒,平均414粒 9 to 1 136 eggs, mean 414 eggs	几粒到50粒左右 Several to 50 eggs	几十到1 000多粒, 平均300左右 Decades to thousand, mean about 300 eggs	20~200尾 20- 200 larvae	5~600粒 5- 600 eggs
卵 Egg	卵膜透明,无粘性 Transparent, non-sticky	卵膜透明,具粘性 Transparent, sticky	卵膜透明,其上有丝状物 Transparent with filaments, sticky	卵膜透明,具有粘性 Transparent, sticky	N/A	卵膜透明,具有微粘性 Transparent, weak sticky
卵膜径 Egg size	0.92~0.98 mm	1.15~1.30 mm	About 1.1 mm	1.25~1.70 mm	N/A	1.10 mm
受精率 Fertilization rate	> 80%	不详 Unknown	不详 Unknown	About 80%	N/A	60%~75%
窒息点 Asphyxiation limit	不详 Unknown	不详 Unknown	不详 Unknown	0.398~0.646 mg·L <sup>-1</sup> DO	0.48~0.68 mg·L <sup>-1</sup> DO	不详 Unknown
养殖水体硬度 Water hardness	> 100 mg·L <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub>	40~180 mg·L <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub>	不详 Unknown	0~480 mg·L <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub>	不详 Unknown	107~143 mg·L <sup>-1</sup> CaCO <sub>3</sub>
孵化周期 Incubation time	28.5℃下48 h 48 h at 25℃	25℃下5 d 5 days at 25℃	25℃下9~10 d 9 to 10 days at 25℃	25℃下75 h 75 h at 25℃	受精至仔鱼产出 需30 d左右 About 30 days from fertilization to birth	24℃~27℃下34~40 h 34 to 40 h under 24℃ to 27℃



面实现标准化。经过 20 多年的努力,稀有鮡鲫已基本实现了实验动物标准化,特别是在国家科技支撑项目的资助下,已完成了《实验稀有鮡鲫第 1 部分:微生物学等级与监测》、《实验稀有鮡鲫第 2 部分:寄生虫学等级标准》、《实验稀有鮡鲫第 3 部分:遗传质量控制标准》、《实验稀有鮡鲫第 4 部分:病理诊断标准》、《实验稀有鮡鲫第 5 部分:营养与饲料标准》、《实验稀有鮡鲫第 6 部分:饲养环境与设施标准》等标准研究稿以及相关的技术规范。《实验动物管理与使用指南》中汇集了这些标准和规范的主要内容<sup>[63]</sup>,以下对标准的关键控制内容作一简要介绍。

#### 4.1 寄生虫学和微生物学标准化

主要参照了 GB14922<sup>[64]</sup>关于实验动物微生物学分类的定义,将实验稀有鮡鲫分为普通级 Conventional (CV) rare minnow、清洁级 Clean (CL) rare minnow 和无特定病原体级 Specific pathogen free (SPF) rare minnow。普通级控制 4 种微生物、6 种寄生虫,清洁级需增加控制 5 种微生物和 4 种寄生虫。由于嗜水气单胞菌实际很难排除,而且并不是所有嗜水气单胞菌均具有致病性,标准研究稿特别指出只针对致病性气单胞菌进行控制。需要强调的是,上述病原体是针对稀有鮡鲫的病原体,而不是针对哺乳动物和人类,因此实际控制这些病原所需的环境等方面的支撑条件并不像传统实验动物那么高。同时由于目前尚没有无菌稀有鮡鲫,也没有其批量的需求,因此暂未设定无菌级。清洁级实际是我国根据需要设定的过渡级别,与 SPF 级差别并不大,因此在稀有鮡鲫标准颁布及动物培育时可直接按 SPF 级进行控制。

#### 4.2 遗传质量标准化

实验稀有鮡鲫遗传学分类包括近交系 (inbred strain)、封闭群 (closed colony) 和杂交群 (hybrids)。目前稀有鮡鲫已有的遗传资源包括 1 个近交系和 1 个封闭群。HAN 系是由 1990 年采自四川省汉源县的 1 对个体通过全兄妹交配方式培育的近交系,目前已传至第 33 代,具有较高的遗传纯合度<sup>[65-67]</sup>。由于近交系繁殖性能较低,作为稀有鮡鲫第一个野生型近交系,目前只是保种维持,以备将来遗传改造等用途,未批量应用于科研和检测中。IHB 系是由 2006 年采集于四川省汉源县的 50 对个体按照最佳避免近交法繁育的封闭群。由中国科学院水生生物研究所保持的 Ihb:IHB,目前已传至 10 代。遗传质量监

测结果表明,该品系具有较高的遗传多样性<sup>[68-69]</sup>,且对化学品敏感,可作为化学品生态毒理学测试的种源<sup>[70]</sup>。由于 IHB 系既保持了群体的遗传稳定性,又保持动物个体的杂合性,避免了近交衰退,其生活力、生育力都比近交系强,适合于大量生产,目前国内科研和检测中所用的稀有鮡鲫大部分是 IHB 系或引种后自行繁育的后代。

实验稀有鮡鲫遗传质量检测方法主要包括形态特征检测和以微卫星标记为主的分子遗传质量检测<sup>[18,67]</sup>。其中封闭群遗传质量监测的主要控制指标为杂合度 0.5~0.7,且群体达到哈温平衡,这就要求各用鱼单位注意封闭群的保种繁育方式,若发现杂合度下降、近交系数上升过快,应重新引种。由于鱼类体外受精、体外发育,这使得采用现代遗传学技术快速培育品系较为方便,因此可以通过单性发育、核移植(克隆)等技术手段快速建立稀有鮡鲫近交系。

#### 4.3 营养与饲料标准

与其他实验动物的营养学标准相比,实验稀有鮡鲫的标准有 2 个特点。一是规范了生物饲料的使用。虽然理论上以及小规模实验中,用人工饲料培育各个生活史阶段的稀有鮡鲫均可行,但实际应用中因无专用高质量的饲料生产,且人工饲料喂养后对水环境管理的压力较大,因此饲养和实验中很难避免采用生物饲料喂养稀有鮡鲫。生物饲料指经过人工筛选的、可进行人工培养且适合稀有鮡鲫采食的饲料生物。适用于实验稀有鮡鲫的生物饲料包括轮虫(Rotifer)、丰年虫(*Artemia* spp.)、枝角类(Cladocera)、桡足类(Copepoda)、水蚯蚓(*Limnodrilus* spp.)、摇蚊幼虫(Chironomidae larvae)等,可以投喂普通级的实验稀有鮡鲫。而对于清洁级、SPF 级稀有鮡鲫,由于基本要求是经过灭菌处理,因此实际能使用的生物饲料主要是洁净环境中孵化的丰年虫无节幼体。二是根据稀有鮡鲫不同的生活史阶段,分别在饵料类别、营养、颗粒大小等方面进行控制。如 2~7 日龄的仔鱼需投喂丰年虫无节幼体或者经 120 目过筛的颗粒饲料;8~30 日龄的稀有鮡鲫除投喂丰年虫无节幼体外,可投喂 100~120 目的颗粒饲料;30 日龄以上个体则主要投喂 30~75 目的颗粒饲料或者其他生物饲料。此外,实验用稀有鮡鲫营养学与饲料标准还对人工配合饲料的营养水平、技术要求、检验方法、检验规则、标签、包装、运输和贮存等进行了规范。

#### 4.4 饲养环境与设施标准

稀有鮡鲫是水生动物,其环境条件控制实际包

括室内环境和水环境。由于稀有鮡鲫被大量应用于毒理学研究和检测中,该领域的研究现状是主要使用普通级的稀有鮡鲫,而且今后相当长一段时间稀有鮡鲫的主要应用可能也是普通级的动物,因此在对普通级的室内环境和水环境进行规范时充分考虑了国内大部分实验室的现状;而对于清洁级或 SPF 级的动物,则根据实际需要提出了需要增加控制的基本要求。

在室内环境要求方面,除设施建筑的一般要求外,普通级稀有鮡鲫只在室温(14~30℃)、噪声、光照等方面进行了规范;而清洁级或 SPF 级则主要参照《GB 14925—2010 实验动物环境与设施》<sup>[71]</sup>和《GB 50447—2008 实验动物设施建筑技术规范》<sup>[72]</sup>有关的要求,按空气洁净度 7~8 级控制。

在水环境控制方面,首先对水源进行了规范,即需满足《GB 5749—2006 生活饮用水卫生标准》<sup>[73]</sup>中常规指标的要求,即排除了重金属、农药等污染的可能性。养殖用水既可以是脱氯自来水也可以是符合要求的再造水,但需要在水温、硬度、电导、pH、溶解氧、氨氮、非离子氨、亚硝酸盐、硝酸盐等方面进行控制,这些指标在饲养过程中是可能发生变化的,因此也对监测频率进行了规范。普通环境与洁净环境中的水质指标是相近的,只是洁净环境中对温度、电导和溶氧的控制要求稍高。实验用稀有鮡鲫饲养环境与设施标准还对养殖缸与用具、养殖密度、废弃物及动物尸体处理、实验鱼运输等进行了规范。

## 5 结语 (Conclusion)

稀有鮡鲫在我国已有 20 年多年的系统研究,数以百计的研究文献覆盖了遗传学、基础生物学、毒理学、病理学等关键标定模式生物的学科领域。在遗传标记、生物形态标记、饲养环境及微生物控制等关键领域的研究均达到了国际上生态毒性研究模式生物的基本要求。

稀有鮡鲫作为鲤科鱼类,是我国水生生态系统中具有代表性的鱼种,其自然分布的生境环境质量良好、少污染,代表我国溪流、沟渠等小水体的健康状况。在我国 20 年来的环境毒理学研究实践中,其繁殖周期短、卵透明、对多种化学品敏感且试验重复性好等普适性受试生物特征得到了充分体现。因此,在化学品测试领域,稀有鮡鲫作为我国代表性的本土模式生物,具有广泛的应用前景。

致谢:中国科学院水生生物研究所唐琼英、罗思、苏良霞、邱

宁等同志收集整理有关资料,上海市检测中心殷浩文、中国水产科学研究院长江水产研究所何勇凤同志提出宝贵意见,一并致谢。

通讯作者简介:王剑伟(1967—),男,研究员,主要从事鱼类生态学和实验动物学研究。

共同通讯作者简介:曹文宣(1934—),男,研究员,中国科学院院士,主要从事鱼类学研究。

## 参考文献 (References):

- [1] He Y, Wang J. Temporal variation in genetic structure of the Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*) in its type locality revealed by microsatellite markers [J]. *Biochemical Genetics*, 2010, 48(3-4): 312-325
- [2] 王铁辉,陈宏溪,刘沛霖,等. 草鱼出血病病毒人工感染稀有鮡鲫出血病鱼主要器官组织的超薄切片观察[J]. *水生生物学报*, 1993(4): 343-346  
Wang T H, Chen H X, Liu P L, et al. Observations on the ultra-thin sections of the main organs and tissues of hemorrhagic *Gobiocypris rarus* artificially infected by grass carp hemorrhagic virus (GCHV) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1993(4): 343-346 (in Chinese)
- [3] 邵燕,吴志强,王剑伟,等. 稀有鮡鲫血液学指标的研究[J]. *水生生物学报*, 2006, 30(2): 232-235  
Shao Y, Wu Z Q, Wang J W, et al. Studies on the haematological indices of *Gobiocypris rarus* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2006, 30(2): 232-235 (in Chinese)
- [4] Zhong X, Xu Y, Liang Y, et al. The Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*) as an *in vivo* model for endocrine disruption in freshwater teleosts: A full life-cycle test with diethylstilbestrol [J]. *Aquatic Toxicology*, 2005, 71(1): 85-95
- [5] Zhong X, Xu Y, Liang Y, et al. Vitellogenin in rare minnow (*Gobiocypris rarus*): Identification and induction by waterborne diethylstilbestrol [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 2004, 137(3): 291-298
- [6] Liao T, Guo Q L, Jin S W, et al. Comparative responses in rare minnow exposed to 17 $\beta$ -estradiol during different life stages [J]. *Fish Physiology and Biochemistry*, 2009, 35(3): 341-349
- [7] Zhang Y, Wu L, Zhang G, et al. Effect of low-dose malathion on the gonadal development of adult rare minnow *Gobiocypris rarus* [J]. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2016, 125: 135-140
- [8] Liang X, Zha J. Toxicogenomic applications of Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*) in aquatic toxicology [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part D: Ge-*

- nomics and Proteomics, 2016, 19: 174-180
- [9] 叶妙荣, 傅天佑. 亚科鱼类一新属新种记述(鲤形目: 鲤科)[J]. 动物分类学报, 1983, 8(4): 434-437
- Ye M R, Fu T Y. Description of a new genus and species of *Danioninae* from China (Cypriniformes: Cyprinidae) [J]. Acta Zootaxonomica Sinica, 1983, 8(4): 434-437 (in Chinese)
- [10] 丁瑞华. 四川鱼类志[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1994
- [11] 陈宜瑜等. 中国动物志, 硬骨鱼纲, 鲤形目(中)[M]. 北京: 科学出版社, 1998
- [12] 王剑伟. 稀有鮡鲫的繁殖生物学[J]. 水生生物学报, 1992(2): 165-174
- Wang J W. Reproductive biology of *Gobiocypris rarus* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1992(2): 165-174 (in Chinese)
- [13] Zhong X, Xu Y, Liang Y, et al. The Chinese rare minnow (*Gobiocypris rarus*) as an *in vivo* model for endocrine disruption in freshwater teleosts: A full life-cycle test with diethylstilbestrol [J]. Aquatic Toxicology, 2005, 71(1): 85-95
- [14] 乐佩琦, 陈宜瑜. 中国濒危动物红皮书[M]. 北京: 科学出版社, 1998
- Le P Q, Chen Y Y. China Red Data Book of Endangered Animals [M]. Beijing: Science Press, 1998 (in Chinese)
- [15] 何舜平, 刘焕章, 陈宜瑜, 等. 基于细胞色素 b 基因序列的鲤科鱼类系统发育研究(鱼纲: 鲤形目)[J]. 中国科学: C 辑, 2004, 34(1): 96-104
- He S P, Liu H Z, Chen Y Y, et al. Based on cytochrome b gene sequences of Cyprinidae fish phylogenetic studies (fishes: carp shape mesh) [J]. Chinese Science: C Series, 2004, 34(1): 96-104 (in Chinese)
- [16] Yang J, He S, Freyhof J, et al. The phylogenetic relationships of the Gobioninae (Teleostei: Cyprinidae) inferred from mitochondrial cytochrome b gene sequences [J]. Hydrobiologia, 2006, 553(1): 255-266
- [17] Liu H Z, Yang J Q, Tang Q Y. Estimated evolutionary tempo of East Asian gobionid fishes (Teleostei: Cyprinidae) from mitochondrial DNA sequence data [J]. Chinese Science Bulletin, 2010, 55(15): 1501-1510
- [18] 李小娟, 唐琼英, 刘焕章. 稀有鮡鲫(*Gobiocypris rarus*)的骨骼特征及系统发育地位[J]. 动物学研究, 2013, 34(4): 379-386
- Li X J, Tang Q Y, Liu H Z. Skeletal anatomy and phylogenetic position analysis of *Gobiocypris rarus* [J]. Zoological Research, 2013, 34(4): 379-386 (in Chinese)
- [19] He Y F, Wang J W, Blanche S, et al. Genetic structure of an endangered endemic fish (*Gobiocypris rarus*) in the upper Yangtze River [J]. Biochemical Systematics and Ecology, 2012, 43: 214-225
- [20] 王剑伟, 宋天祥, 曹文宣. 稀有鮡鲫胚后发育和幼鱼生长的初步研究[J]. 水生生物学报, 1998(2): 128-134
- Wang J W, Song T X, Cao W X. Postembryonic development and growth of cultured rare minnow, *Gobiocypris rarus* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1998(2): 128-134 (in Chinese)
- [21] 顾党恩, 于学颖, 王剑伟. 稀有鮡鲫封闭群 Ihb: IHB 生长和繁殖性能的监测[J]. 中国实验动物学报, 2014, 22(1): 71-75
- Gu D E, Yu X Y, Wang J W. Monitoring of the growth and reproduction performance of a rare closed colony of *Gobiocypris rarus* Ihb: IHB [J]. Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica, 2014, 22(1): 71-75 (in Chinese)
- [22] 常剑波, 王剑伟, 曹文宣. 稀有鮡鲫胚胎发育研究[J]. 水生生物学报, 1995(2): 97-103
- Chang J B, Wang J W, Cao W X. The embryonic development of *Gobiocypris rarus* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1995(2): 97-103 (in Chinese)
- [23] 甘小平. 温度对稀有鮡鲫(*Gobiocypris rarus*)繁殖、胚胎发育和仔鱼生长的影响[D]. 重庆: 西南大学, 2012
- Gan X P. Effects of temperature on reproduction, embryonic development and growth of *Gobiocypris rarus* [D]. Chongqing: Southwest University, 2012 (in Chinese)
- [24] 吴本丽. 稀有鮡鲫对饲料中主要营养素的需求及饲养策略的研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2015
- Wu B L. The dietary requirements of main nutrients and optimal rearing strategy for rare minnow (*Gobiocypris rarus*) [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2015 (in Chinese)
- [25] 王剑伟, 乔晔, 陶玉岭. 稀有鮡鲫仔鱼的摄食和耐饥饿能力[J]. 水生生物学报, 1999, 23(6): 648-654
- Wang J W, Qiao Y, Tao Y L. Feeding and starvation tolerance of the yolk-sac larvae of *Gobiocypris rarus* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1999, 23(6): 648-654 (in Chinese)
- [26] 朱晓鸣, 解绶启, 崔奕波, 等. 摄食水平和性别对稀有鮡鲫生长和能量收支的影响[J]. 海洋与湖沼, 2001, 32(3): 240-247
- Zhu X M, Xie S Q, Cui Y B, et al. Effect of ration level on growth and energy budget of male and female rare minnow *Gobiocypris rarus* [J]. Oceanologia et Limnologia Sinica, 2001, 32(3): 240-247 (in Chinese)
- [27] 代丽, 刘彬, 王志坚. 稀有鮡鲫性腺分化的组织学观察[J]. 西南师范大学学报: 自然科学版, 2013(1): 55-61
- Dai L, Liu B, Wang Z J. Histological observation of gonadal differentiation in *Gobiocypris rarus* [J]. Journal of Southwest China Normal University: Natural Science Edi-

- tion, 2013(1): 55-61 (in Chinese)
- [28] 王永明, 史晋绒, 蒲德永, 等. 稀有鮡鲫精子主要生物学特性及活力的观察[J]. 淡水渔业, 2011(1): 68-72  
Wang Y M, Shi J R, Pu D Y, et al. Observation on the main biological characteristics and the motility of *Gobiocypris rarus* (Ye et Fu) sperm [J]. Freshwater Fisheries, 2011(1): 68-72 (in Chinese)
- [29] 王剑伟. 稀有鮡鲫产卵频次和卵子发育的研究[J]. 水生生物学报, 1999(2): 161-166  
Wang J W. Spawning performance and development of oocytes in *Gobiocypris rarus* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1999(2): 161-166 (in Chinese)
- [30] 吴志强, 王剑伟, 常剑波, 等. 人工饲料对稀有鮡鲫繁殖影响的研究[J]. 四川动物, 2001(4): 174-176  
Wu Z Q, Wang J W, Chang J B, et al. Effect of artificial feed in breeding *Gobiocypris rarus* [J]. Sichuan Journal of Zoology, 2001(4): 174-176 (in Chinese)
- [31] 罗思. 主要饲养环境因子对稀有鮡鲫生长、发育和繁殖的影响[D]. 北京: 中国科学院大学, 2016  
Luo S. Effects of main environmental factors on growth, development, and reproduction of rare minnow (*Gobiocypris rarus*) [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2016 (in Chinese)
- [32] 贾方钧, 魏芸. 稀有鮡鲫的染色体核型初报[J]. 水生生物学报, 2001(4): 425-426  
Jia F J, Wei Y. A preliminary study of the karyotype of *Gobiocypris rarus* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2001(4): 425-426 (in Chinese)
- [33] 游翠红, 童金苟, 王剑伟, 等. 稀有鮡鲫性别决定类型初探[J]. 水生生物学报, 2010, 34(1): 225-228  
You C H, Tong J G, Wang J W, et al. Preliminary study on the sex determination in rare minnow (*Gobiocypris rarus*) [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2010, 34(1): 225-228 (in Chinese)
- [34] 童金苟, 俞小牧, 张菁, 等. 稀有鮡鲫与其他模式实验鱼类基因组大小的比较[J]. 水生生物学报, 2003(2): 208-210  
Tong J G, Yu X M, Zhang J, et al. Comparison of genome size of rare minnow (*Gobiocypris rarus*) with other model fishes [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2003(2): 208-210 (in Chinese)
- [35] 王剑伟. 稀有鮡鲫临界温度的研究[J]. 四川动物, 1996, 15(4): 153-155  
Wang J W. Studies on critical temperature of *Gobiocypris rarus* [J]. Sichuan Animal, 1996, 15(4): 153-155 (in Chinese)
- [36] 陈冬明, 焦平, 杨调燕, 等. 温度骤变对稀有鮡鲫胚胎及仔鱼畸死率的影响[J]. 淡水渔业, 2014(4): 96-100  
Chen D M, Jiao P, Yang T Y, et al. The effect of abrupt temperature change on deformity-mortality rate of embryo and larva of *Gobiocypris rarus* [J]. Freshwater Fisheries, 2014(4): 96-100 (in Chinese)
- [37] 王剑伟. 稀有鮡鲫对高浓度二氧化碳和低溶氧的急性反应[J]. 水生生物学报, 1995(1): 84-88  
Wang J W. Acute effects of high concentration of dissolved free carbon dioxide and low dissolved oxygen on rare minnow [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1995(1): 84-88 (in Chinese)
- [38] OECD. Guidelines for Testing of Chemicals, 215: Fish, Juvenile Growth Test [S]. Paris: OECD, 2000
- [39] 王剑伟, 曹文宣. 稀有鮡鲫与鱼类实验动物[C]// 鱼类学论文集(第六辑). 北京: 科学出版社, 1997: 144-152  
Wang J W, Cao W X. *Gobiocypris rarus* and fishes as laboratory animals [C]// Transaction of the Chinese Ichthyological Society (No.6). Beijing: Science Press, 1997: 144-152 (in Chinese)
- [40] Luo S, Wu B, Xiong X, et al. Effects of total hardness and calcium: magnesium ratio of water during early stages of rare minnows (*Gobiocypris rarus*) [J]. Comparative Medicine, 2016, 66(3): 181-187
- [41] 王剑伟. 稀有鮡鲫对库蚊幼虫摄食量的研究[J]. 水生生物学报, 1993(3): 290-292  
Wang J W. Predation of *Gobiocypris rarus* on culex larvae [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1993(3): 290-292 (in Chinese)
- [42] 陈宁生, 施琼芳. 饲养鱼窒息现象的研究[J]. 水生生物学集刊, 1955(1): 1-6  
Chen N S, Shi C F. Asphyxiation point determination of some farmfishes [J]. Hydrobiology of Colloquium, 1955(1): 1-6 (in Chinese)
- [43] 殷名称. 鱼类生态学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995  
Yin M C. Fish Ecology [M]. Beijing: China Agriculture Press, 1995 (in Chinese)
- [44] Nelson J S, Grande T C, Wilson M V H. Fishes of the World [M]. John Wiley & Sons, 2016
- [45] 张春光, 邢迎春, 赵亚辉, 等. 中国内陆鱼类物种与分布[M]. 北京: 科学出版社, 2016  
Zhang C G, Xing Y C, Zhao Y H, et al. Species Diversity and Distribution of Inland Fishes in China [M]. Beijing: Science Press, 2016 (in Chinese)
- [46] 隋晓云. 中国淡水鱼类分布格局研究[D]. 北京: 中国科学院大学, 2010  
Sui X Y. Study of freshwater fishes distribution in China [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2010 (in Chinese)
- [47] 于晓东, 罗天宏, 周红章. 长江流域鱼类物种多样性大

- 尺度格局研究[J]. 生物多样性, 2005, 13(6): 473-495
- Yu X D, Luo T H, Zhou H Z. Large-scale patterns in species diversity of fishes in the Yangtze River Basin [J]. Biodiversity Science, 2005, 13(6): 473-495 (in Chinese)
- [48] 周永欣, 成水平, 胡炜, 等. 稀有鮡鲫——一种新的鱼类毒性试验材料[J]. 动物学研究, 1995, 16(1): 59-63
- Zhou Y X, Cheng S P, Hu W, et al. A new toxicity test organism—*Gobiocypris rarus* [J]. Zoological Research, 1995, 16(1): 59-63 (in Chinese)
- [49] 卢玲, 沈英娃. 酚类、烷基苯类、硝基苯类化合物和环境水样对剑尾鱼和稀有鮡鲫的急性毒性[J]. 环境科学研究, 2002, 15(4): 57-59
- Lu L, Shen Y W. Acute toxicity of phenol, alkyl benzene, nitrobenzene and water sample to sword fish (*Xiphophorus helleri*) and rare minnow (*Gobiocypris rarus*) [J]. Research of Environmental Sciences, 2002, 15(4): 57-59 (in Chinese)
- [50] 周群芳, 江桂斌, 刘稷燕. 三丁基锡化合物对稀有的鮡鲫的急慢性毒理研究[J]. 中国科学: B 辑, 2003, 33(2): 150-156
- Zhou Q F, Jiang G B, Liu J Y. Acute and chronic toxicological studies on tributyltin compounds of rare minnow (*Gobiocypris rarus*) [J]. Science China: B Series, 2003, 33(2): 150-156 (in Chinese)
- [51] 马陶武, 王子健, 陈剑锋, 等. 乙炔基雌二醇对稀有鮡鲫肾脏的毒性效应[J]. 环境科学学报, 2004, 24(3): 487-491
- Ma T W, Wang Z J, Chen J F, et al. Toxic effects of 17 $\alpha$ -ethinylestradiol to the kidney of rare minnow (*Gobiocypris rarus*) [J]. Acta Scientiae Circumstantiae, 2004, 24(3): 487-491 (in Chinese)
- [52] 廖涛, 徐盈, 钟雪萍, 等. EE2 对稀有鮡鲫和斑马鱼幼鱼体内卵黄蛋白原诱导的比较[J]. 水生生物学报, 2005, 29(5): 513-517
- Liao T, Xu Y, Zhong X P, et al. Comparative vitellogenic responses in zebrafish (*Brachydanio rerio*) and rare minnow (*Gobiocypris rarus*) exposed to 17 $\alpha$ -ethinylestradiol [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2005, 29(5): 513-517 (in Chinese)
- [53] 姜福全. 稀有鮡鲫急性、亚慢性毒性试验方法及其在东湖底泥毒性研究中的应用[D]. 北京: 中国科学院研究生院, 2006
- Jiang F Q. Methods of acute and subchronic toxicity test using *Gobiocypris rarus* and their application in toxicity study of sediment in Donghu lake [D]. Beijing: Graduate School of Chinese Academy of Sciences, 2006 (in Chinese)
- [54] Zha J M, Sun L W, Spear P A, et al. Comparison of ethinylestradiol and nonylphenol effects on reproduction of Chinese rare minnows (*Gobiocypris rarus*) [J]. Ecotoxicology and Environmental Safety, 2008, 71(2): 390-399
- [55] Zhou Y, Hu W, Cheng S. *Gobiocypris rarus* and *Misgurnus mizolepis*: New organisms for 7-day subchronic toxicity test [J]. Research of Environmental Sciences, 1997, 10(3): 26-29
- [56] 姜福全, 王剑伟, 邵燕, 等. 东湖茶港排污口底泥对稀有鮡鲫的毒性[J]. 水生生物学报, 2007, 31(6): 829-835
- Jiang F Q, Wang J W, Shao Y, et al. Toxicity of sediment in Chagang sewage entrance of Donghu lake on *Gobiocypris rarus* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2007, 31(6): 829-835 (in Chinese)
- [57] Luo S, Wu B, Xiong X, et al. Short-term toxicity of ammonia, nitrite and nitrate to early life stages of the rare minnow, *Gobiocypris rarus* [J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2015, 35(6): 1422-1427
- [58] 钟雪萍, 徐盈, 梁勇, 等. 稀有鮡鲫生命早期的己烯雌酚暴露对生长发育与繁殖的影响[J]. 水生生物学报, 2005(6): 69-74
- Zhong X P, Xu Y, Liang Y, et al. Effects of diethylstilbestrol exposure in early life stage on development and reproduction in rare minnow, *Gobiocypris rarus* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2005(6): 69-74 (in Chinese)
- [59] 国家环境保护总局《化学品测试方法》编委会. 化学品测试方法[M]. 北京: 中国环境科学出版社, 2004: 188-193
- The Editorial Committee of State Environmental Protection Administration. The Guidelines for the Testing of Chemicals [M]. Beijing: China Environmental Sciences Press, 2004: 188-193 (in Chinese)
- [60] 环境保护部. 新化学物质环境管理办法[R]. 北京: 环境保护部, 2010
- [61] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB14923—2010 实验动物-哺乳类实验动物的遗传质量控制[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010
- The State Administration of Quality Supervision Inspection and Quarantine of People's Republic of China. GB14923-2010 Animal - Genetic quality control of mammalian laboratory animals [S]. Beijing: China Standard Press, 2010 (in Chinese)
- [62] 国家科学技术委员会. 国家科委2号令, 实验动物管理条例(国家)[S]. 北京: 国家科学技术委员会, 1988
- [63] 贺争鸣, 李根平, 朱德生, 等. 实验动物管理与使用指南[M]. 北京: 科学出版社, 2016
- He Z M, Li G P, Zhu D S, et al. Laboratory Animal Management and Use Guidelines [M]. Beijing: Science Press, 2016 (in Chinese)

- [64] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB 14922.2—2011 实验动物微生物学等级及监测[S]. 北京:中国标准出版社, 2011  
The State Administration of Quality Supervision Inspection and Quarantine of People's Republic of China. GB 14922.2-2011 Animal-Microbiological Standards and Monitoring [S]. Beijing: China Standard Press, 2011 (in Chinese)
- [65] 王剑伟, 王伟, 崔迎松. 野生和近交稀有鮡鲫的遗传多样性[J]. 生物多样性, 2000(3): 241-247  
Wang J W, Wang W, Cui Y S. Genetic diversity of three *Gobiocypris rarus* population and one inbreeding stock [J]. Chinese Biodiversity, 2000(3): 241-247 (in Chinese)
- [66] 邵燕. 稀有鮡鲫近交系的遗传质量检测[D]. 北京:中国科学院研究生院, 2007  
Shao Y. Genetic quality control of an inbred strain of *Gobiocypris rarus* [D]. Beijing: Graduate School of Chinese Academy of Sciences, 2007 (in Chinese)
- [67] 邵燕, 王剑伟, 何勇凤, 等. 稀有鮡鲫近交系微卫星多态性分析[J]. 水生生物学报, 2009(4): 649-655  
Shao Y, Wang J W, He Y F, et al. The application of microsatellite markers on genetic quality control of an inbred strain of *Gobiocypris rarus* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2009(4): 649-655 (in Chinese)
- [68] 顾党恩, 王剑伟. 应用微卫星标记对稀有鮡鲫封闭群建群过程的遗传监测[J]. 水生生物学报, 2012(2): 197-204  
Gu D E, Wang J W. Application of microsatellite marker in genetic monitoring on the foundation of a closed colony of *Gobiocypris rarus* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2012(2): 197-204 (in Chinese)
- [69] 李慧慧. IHB 系稀有鮡鲫遗传结构研究[D]. 北京:中国科学院大学, 2016  
Li H H. Genetic structure of IHB rare minnow [D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2016 (in Chinese)
- [70] 吴本丽, 曹岩, 罗思, 等. 封闭群稀有鮡鲫对几种常见化学品的敏感性[J]. 中国环境科学, 2014, 34(4): 1059-1066  
Wu B L, Cao Y, Luo S, et al. Sensitivity of rare minnow (*Gobiocypris rarus*, IHB) to several common chemicals [J]. China Environmental Science, 2014, 34(4): 1059-1066 (in Chinese)
- [71] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB 14925—2010 实验动物环境及设施[S]. 北京:中国标准出版社, 2010  
The State Administration of Quality Supervision Inspection and Quarantine of People's Republic of China. GB 14925-2010 Animal-Environment and Facilities [S]. Beijing: China Standard Press, 2010 (in Chinese)
- [72] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB 50447—2008 实验动物设施建筑技术规划[S]. 北京:中国标准出版社, 2008  
The State Administration of Quality Supervision Inspection and Quarantine of People's Republic of China. GB 50447-2008 Animal Facilities Construction Technology Plan [S]. Beijing: China Standard Press, 2008 (in Chinese)
- [73] 中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局. GB 5749—2006 生活饮用水卫生标准[S]. 北京:中国标准出版社, 2006  
The State Administration of Quality Supervision Inspection and Quarantine of People's Republic of China. GB 5749-2006 Standards for Drinking Water Standard [S]. Beijing: China Standard Press, 2006 (in Chinese) ◆