

驼背鲈(♀)×蓝身大斑石斑鱼(♂)杂交子代发育及生长比较

李振通^{1,2}, 田永胜^{1,3}, 成美玲^{1,4}, 吴玉萍^{1,4}, 张晶晶^{1,2}, 李子奇^{1,2},
王林娜^{1,3}, 马文辉⁵, 庞尊方⁵, 孙礼娟⁵, 翟介明⁵

(1. 中国水产科学研究院黄海水产研究所/农业农村部海洋渔业可持续发展重点实验室, 山东青岛266071; 2. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海201306; 3. 青岛海洋科学与技术试点国家实验室/海洋渔业科学与食物产出过程功能实验室, 山东青岛266200; 4. 大连海洋大学水产与生命学院, 辽宁大连116023; 5. 莱州明波水产有限公司, 山东莱州261400)

摘要: 为培育具有优良性状的石斑鱼新品种, 利用杂交育种技术开展以驼背鲈(*Chromileptes altivelis*)为母本、蓝身大斑石斑鱼(*Epinephelus tukula*)为父本的杂交育种试验。借助人工授精技术, 同时以驼背鲈作为对照, 利用显微镜(Nikon E200)以及解剖镜(Olympus)对杂交子代以及驼背鲈的胚胎发育和生长状况进行观察、测量与比较。结果显示, 在水温27℃、盐度30、pH 8.1, 微流水、微充气的条件下, 杂交子代受精卵经历24 h 50 min完成胚胎发育, 驼背鲈为25 h 8 min。胚后发育经历前期仔鱼(0~3日龄)、后期仔鱼(4~40日龄)、稚鱼期(41~60日龄)和幼鱼期(61日龄以后)4个时期完成变态发育。至330日龄时杂交子代与驼背鲈全长分别为(23.57±0.94) cm、(18.35±0.72) cm, 体质量分别为(220.5±25.3) g、(142.6±0.58) g, 杂交子代生长速度快, 全长与体质量分别是驼背鲈的1.28与1.55倍; 与驼背鲈在外部形态上相比, 杂交子代体型细长, 头部较大, 体表有有序分布的黑色圆斑纹, 各部分鳍小。通过对杂交子代胚胎发育及仔稚幼鱼发育的跟踪观察, 发现驼背鲈(♀)×蓝身大斑石斑鱼(♂)远缘杂交组合是可行的, 而且杂交子代具有生长速度快的杂交优势, 为石斑鱼远缘杂交和石斑鱼新品种的培育提供了科学依据。

关键词: 驼背鲈; 蓝身大斑石斑鱼; 杂交; 胚胎发育; 变态发育

中图分类号: S 965.3

文献标志码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Comparison of development and growth of hybrid *Chromileptes altivelis* (♀) × *Epinephelus tukula* (♂)

LI Zhentong^{1,2}, TIAN Yongsheng^{1,3}, CHENG Meiling^{1,4}, WU Yuping^{1,4}, ZHANG Jingjing^{1,2}, LI Ziqi^{1,2},
WANG Linna^{1,3}, MA Wenhui⁵, PANG Zunfang⁵, SUN Lijuan⁵, ZHAI Jieming⁵

(1. Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences/Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs, Qingdao 266071, China; 2. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China; 3. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes/Pilot National Laboratory for Marine Science and Technology (Qingdao), Qingdao 266200, China; 4. College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China; 5. Mingbo Aquatic Co. Ltd., Laizhou 261400, China)

收稿日期: 2019-08-29; 修回日期: 2019-10-08

资助项目: 山东省重点研发计划项目(2019GHY112063); 山东省良种工程项目(2019LZGC020); 烟台市重点研发计划项目(2016JH021); 黄海水产研究所基本科研业务费项目(20603022019002; 20603022018019)

作者简介: 李振通(1993—), 男, 博士研究生, 从事鱼类遗传育种与繁殖研究。E-mail: gienetom@163.com

通信作者: 田永胜(1964—), 男, 博士, 研究员, 从事鱼类种质保存及遗传育种研究。E-mail: tianys@ysfri.ac.cn

Abstract: We performed breeding experiments with *Chromileptes altivelis* as the female parent and *Epinephelus tukula* as the male parent by artificial fertilization to breed new species of groupers with excellent traits. Besides, we observed and compared the embryonic development and growth characteristics of *C. altivelis* (♀) × *E. tukula* (♂) and *C. altivelis* by microscope (Nikon E200) and anatomic microscope (Olympus). The results show that the fertilized eggs of the hybrid and *C. altivelis* took 24 h 50 min and 25 h 8 min to accomplish the embryo development under the conditions of water temperature 27 °C, salinity 30, pH 8.1 with the micro-flowing water and micro-inflated water, respectively. The post-embryonic development of the hybrid had experienced four stages of early larva (0–3 d), late larva (4–40 d), juvenile (41–60 d) and young fish stages (after 61 d). At 330 days of age, the total lengths of the hybrid and *C. altivelis* were (23.57±0.94) cm and (18.35±0.72) cm, respectively; and the body masses were (220.5±25.3) g and (142.6±0.58) g, respectively. The total length and body mass of the hybrid were 1.28 and 1.55 times that of the *C. altivelis*, respectively. Compared with *C. altivelis* in the external morphological traits, the hybrid was slender and the head was larger, the black spots on the body surface was distributed disorderly, and the fins of each part was relatively small. Based on our tracking observation on embryo and larval development of hybrid, it is confirmed that the distant hybridization combination of *C. altivelis* (♀) × *E. tukula* (♂) is feasible, and the hybrid shows the merit of heterosis, which provides scientific basis for distant hybridization and the cultivation of new varieties of groupers.

Key words: *Chromileptes altivelis*; *Epinephelus tukula*; Hybridization; Embryonic development; Metamorphosis development

驼背鲈 (*Chromileptes altivelis*) 属鲈形目、鲷科、石斑鱼亚科、驼背鲈属, 俗名老鼠斑, 主要分布于太平洋, 西至非洲, 东至菲律宾, 北至日本, 南至澳大利亚海域, 在中国南海也有分布, 但资源量稀少^[1]。驼背鲈为高级海产经济鱼类, 其氨基酸种类齐全, 不饱和脂肪酸较低, 肉味鲜美, 具有较高的食用和观赏价值, 深受消费者喜爱, 但其生长速度慢、资源量少^[2]。蓝身大斑石斑鱼 (*Epinephelus tukula*) 属鲈形目、鲷科、石斑鱼亚科、石斑鱼属, 俗名金钱斑, 是石斑鱼中大型品种之一, 广泛分布于印度—太平洋区域, 以及我国南部海域、台湾北部及澎湖湾海域。蓝身大斑石斑鱼生长速度快、肉味鲜美, 是重要的海水经济鱼类^[3]。

杂交育种利用具有不同遗传性状的亲本进行组合, 集合双亲优良基因, 进而选育出符合人类生产要求的表型性状^[4]。近年来, 杂交育种作为鱼类新品种培育方法被广泛应用于石斑鱼杂交育种。目前, 已开展的石斑鱼杂交试验有云纹石斑鱼 (*E. moara* ♀) × 赤点石斑鱼 (*E. akaara* ♂)^[5]、云纹石斑鱼 (♀) × 七带石斑鱼 (*E. septemfasciatus* ♂)^[6]、赤点石斑鱼 (♂) × 斜带石斑鱼 (*E. coioides* ♀)^[7]、棕线石斑鱼 (♀) × 东大西洋石斑鱼 (*E. marginatus* ♂)^[8]、东大西洋石斑鱼 (♀) × 青铜石斑鱼 (*E. aeneus* ♂)^[9]、棕点石斑鱼 (*E. fuscoguttatus* ♀) × 清水石斑鱼 (*E. polyphkadion* ♂)^[10]、棕点石斑鱼 (♀) × 鞍带石斑鱼 (*E. lanceolatus* ♂)^[11]、斜带石斑鱼 (♀) × 鞍带石斑鱼 (♂)^[12] 以及云纹石斑鱼 (♀) × 鞍带石斑鱼 (♂)^[13], 其

中棕点石斑鱼 (♀) × 鞍带石斑鱼 (*E. lanceolatus* ♂) 的杂交子代“珍珠龙胆石斑鱼”、云纹石斑鱼 (♀) × 鞍带石斑鱼 (♂) 的杂交子代“云龙石斑鱼”具有优良的经济性状, 已进行规模化生产。利用鞍带石斑鱼与蓝身大斑石斑鱼杂交, 杂交种生长速度明显比纯种鞍带石斑鱼快^[3]。驼背鲈具有极高的经济价值和营养价值, 但是其生长慢, 养殖周期长, 而且畸形率高, 病害较多; 蓝身大斑石斑鱼生长速度快, 但是纯种育苗难度大, 成活率低, 市场上苗种数量少。因此, 本文拟利用驼背鲈与蓝身大斑石斑鱼两者的优良性状进行杂交育种, 克服两种亲本在人工繁育中的缺点, 并培育出生长速度快、肉味鲜美和观赏价值高的新品种。

本研究首次以驼背鲈为母本、蓝身大斑石斑鱼为父本进行杂交试验, 对其杂交子代胚胎发育与仔、稚、幼鱼的生长进行研究, 阐述了人工育苗条件下杂交子代的胚胎发育和仔稚幼鱼形态发育的特征, 同时与驼背鲈纯种进行对比, 为石斑鱼杂交育种、新品种选育和规模化养殖提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 受精卵的获取与孵化

2018年4月在莱州明波水产有限公司进行驼背鲈与蓝身大斑石斑鱼杂交育种试验。所用亲鱼驼背鲈与蓝身大斑石斑鱼均为驯养的野生石斑鱼, 驯养时间为2~4年。使用人绒毛膜促性腺激素 (HCG) 对亲鱼进行催产, 剂量为240~370 IU·kg⁻¹,

注射位置为胸鳍基部。48 h后每隔1 h取成熟度好的亲鱼,以挤压腹部的方式收集驼背鲈卵。利用蓝身大斑石斑鱼的冷冻精液以半干法进行人工授精,得到的受精卵(驼背鲈♀×蓝身大斑石斑鱼♂)为试验组;同时采集驼背鲈的新鲜精液进行授精,所得受精卵(驼背鲈♀×驼背鲈♂)为对照组。收集上浮受精卵置于孵化桶中孵化,水温27℃,微流水、微充气孵化。

1.2 仔、稚、幼鱼的培育

当胚胎发育至尾芽期时,收集上浮卵,移入水泥池中进行培育,培育水温为27℃,盐度31,pH 7.8,溶解氧为 $8\text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ 左右,微流水培育。移入水泥池后第二天下午向池中投喂饵料,开口饵料为牡蛎卵与S型轮虫,同时添加小球藻,随着鱼体生长,投喂的饵料也适当调整。投料种类与时间为:3~4日龄投喂牡蛎卵,5~10日龄投喂S轮虫,8~30日龄投喂L轮虫,25~45日龄投喂卤虫幼体,39~57日龄投喂卤虫成体,50日龄后逐渐转化为配合饲料。根据鱼体生长发育状况、数量以及水体中饵料的存量,调整饵料的投喂量与次数。前10日龄微流水、微充气培育,根据水色补充小球藻。停喂轮虫后,不再补充藻液。10日龄后换水量与充气量适当增大,常流水培育。

1.3 取样与观察

从受精后开始,于孵化桶中连续多次取100粒左右受精卵,借助光学显微镜(Nikon E200)进行胚胎发育观察与拍照,并详细记录胚胎发育时间与发育特征,以2/3的胚胎发育到某一时期即认定为胚胎已发育到此时期。试验组与对照组采用相同的操作方法。统计受精率、孵化率与畸形率,重复3次。

从初孵仔鱼开始,定期从试验组培育池与对照组培育池随机取生长状态良好的鱼苗。借助显微镜(Nikon E200)以及解剖镜(Olympus)对样品进行观察以及利用OPTPro2012软件拍照,详细记录不同发育时期的形态特征。10日龄之前每天取样,10~30日龄每隔1 d取1次,30~70日龄每隔2 d取1次。每次随机取样30尾。测量的生长指标包括全长、体高、体长、第二背鳍棘长、第一腹鳍棘长。待发育至330日龄时取样1次,测量全长与体质量。

1.4 数据处理

胚胎与仔稚幼鱼的可量性状数据通过Excel

2010和SPSS 20.0软件分析,并采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)和最小显著差异法(LSD)比较不同数据组间的差异,用PhotoShop CS6软件对图片进行处理,数据以“平均值±标准差($\bar{X}\pm\text{SD}$)”表示。

2 结果

2.1 胚胎发育

杂交子代受精卵在水温27℃、盐度30的海水中经过24 h 50 min完成整个胚胎发育过程。胚胎发育可分为受精卵、卵裂期、囊胚期、原肠胚期、神经胚期、器官形成期和出膜期7个阶段(表1)。驼背鲈(♀)×蓝身大斑石斑鱼(♂)杂交子代受精卵卵裂方式属于盘状卵裂,同其他石斑鱼一样,胚胎发育过程见图1。

2.2 仔、稚、幼鱼的形态发育

依据石斑鱼卵黄囊、第二背鳍棘和第一腹鳍棘伸缩、鳞片、体色等变化,将胚后生长分为前期仔鱼期、后期仔鱼期、稚鱼期和幼鱼期^[14]。

2.2.1 前期仔鱼 前期仔鱼阶段为从孵化出膜至卵黄囊完全消失(0~3日龄)。初孵仔鱼可见一条细长、略弯曲的脊索,鱼体背部、腹部、尾部具有透明状鳍褶,消化道为直管状,肛门与口均未与外界相通。鱼体透明,体表有少量色斑,全长为(1.71±0.10) mm。卵黄囊位于鱼体中前部腹侧,长径为(0.97±0.13) mm,短径为(0.68±0.05) mm;具油球1个,位于卵黄囊中后部,直径为(0.22±0.01) mm。初孵仔鱼无游泳能力,悬浮于水中,尾部做间歇性摆动(图2-a)。

1~2日龄仔鱼鱼体透明,头部以及躯干部黑色素稍有增加;脊索变粗、伸直,十分明显;消化道开始膨大、变粗,鱼体背、腹、尾部鳍褶明显变宽,且连在一起,胸鳍膜出现并生长;卵黄囊逐渐吸收变小,油球转移至卵黄囊后端,稍微变小。仔鱼在培养池内均匀分布,悬浮于水面,偶尔会摆动尾部做垂直或水平旋转游动(图2-b、图2-c)。

3日龄仔鱼吻端突出,消化道增厚,前端出现轻微弯曲,仔鱼上下颌张闭有力,仔鱼开始摄食,见胃有内容物,轻微蠕动;卵黄囊完全消失,由内源性营养转为外源性营养,油球仍可见;眼部黑色素增加,眼部呈黑色,在肛门与尾部的中间位置出现黑色斑块;胸鳍长大,呈扇状,可扇动,仔鱼的

表1 胚胎发育过程时序

Table 1 Embryonic development schedule

发育阶段 Developmental stage	胚胎发育时期 Developmental stage of embryonic	主要发育特征 Main developmental characteristics	受精后时间 Time after fertilization	
			杂交子代 Hybrid offspring	驼背鲈 <i>C. altivelis</i>
受精卵 Fertilized egg	受精卵	圆球形, 具有1个油球	0	0
卵裂期 Cleavage period	胚盘形成	胚盘形成, 侧面观可见胚盘如帽状隆起	29 min	30 min
	2细胞期	第1次卵裂, 形成2个细胞	47 min	46 min
	4细胞期	第2次卵裂, 形成4个细胞	58 min	57 min
	8细胞期	第3次卵裂, 形成8个细胞	1 h 23 min	1 h 22 min
	16细胞期	第4次卵裂, 形成16个细胞	1 h 34 min	1 h 36 min
	32细胞期	第5次卵裂, 形成32个细胞	1 h 48 min	1 h 50 min
	64细胞期	第6次卵裂, 形成64个细胞, 分裂面较混乱	1 h 59 min	2 h 6 min
	多细胞期	持续分裂, 细胞变小, 数量增多	2 h 28 min	2 h 27 min
	桑葚期	细胞多层堆积, 外观形似桑葚	2 h 55 min	2 h 58 min
	囊胚期 Blastula period	高囊胚期	囊胚高而集中, 侧面观呈高帽状	3 h 30 min
低囊胚期		囊胚变低, 细胞准备向植物极下包	4 h 58 min	4 h 54 min
原肠期 Gastrula period	原肠初期	从植物极端可观胚环, 侧面可见胚盾	6 h 18 min	6 h 23 min
	原肠中期	胚层下包至卵黄1/2	7 h 39 min	7 h 35 min
	原肠末期	胚层下包至卵黄3/4, 胚盾变细长, 胚体正在形成	8 h 57 min	8 h 55 min
神经胚期 Neurula period	胚体形成期	胚体形成, 轮廓明显	9 h 46 min	9 h 51 min
	胚孔封闭期	胚层下包, 胚孔完全封闭	10 h 27 min	10 h 12 min
器官形成期 Organogenesis	视囊形成期	胚体头部出现1对视囊	11 h 23 min	11 h 28 min
	肌节形成期	胚体中部出现肌节	12 h 13 min	12 h 6 min
	听囊形成期	头部视囊靠后位置出现1对听囊	13 h 3 min	13 h 8 min
	脑泡形成期	两视囊中间位置出现脑泡	14 h 24 min	14 h 30 min
	心脏形成期	心脏形成, 轮廓清晰	15 h 57 min	16 h 9 min
	尾芽期	胚体尾部开始与卵黄囊分离	18 h 32 min	18 h 48 min
	晶体形成期	胚体眼部出现晶体	19 h 37 min	19 h 45 min
	心脏跳动期	心脏开始轻微跳动, 后来逐渐稳定	20 h 58 min	21 h 18 min
孵化期 Hatching period	孵化前期	胚体扭动剧烈	23 h 17 min	23 h 35 min
	孵化期	头部先出膜	24 h 11 min	24 h 30 min
	初孵仔鱼	仔鱼孵化出膜	24 h 50 min	25 h 8 min

游动能力增强。

2.2.2 后期仔鱼 后期仔鱼阶段为卵黄囊完全消失至第二背鳍棘以及腹鳍棘开始消融、收缩(4~40日龄)。

4日龄仔鱼鱼体透明, 鼻孔形成, 眼部颜色加

深; 消化道变粗, 稍有生理性弯曲; 油球变小, 消化道外侧皮肤以及肛门至尾部中段位置黑色素增加; 口裂增大, 摄食良好, 活力较强, 大多数集群于池边(图2-d)。

6~9日龄仔鱼黑色素覆盖内脏外侧皮肤, 脊索

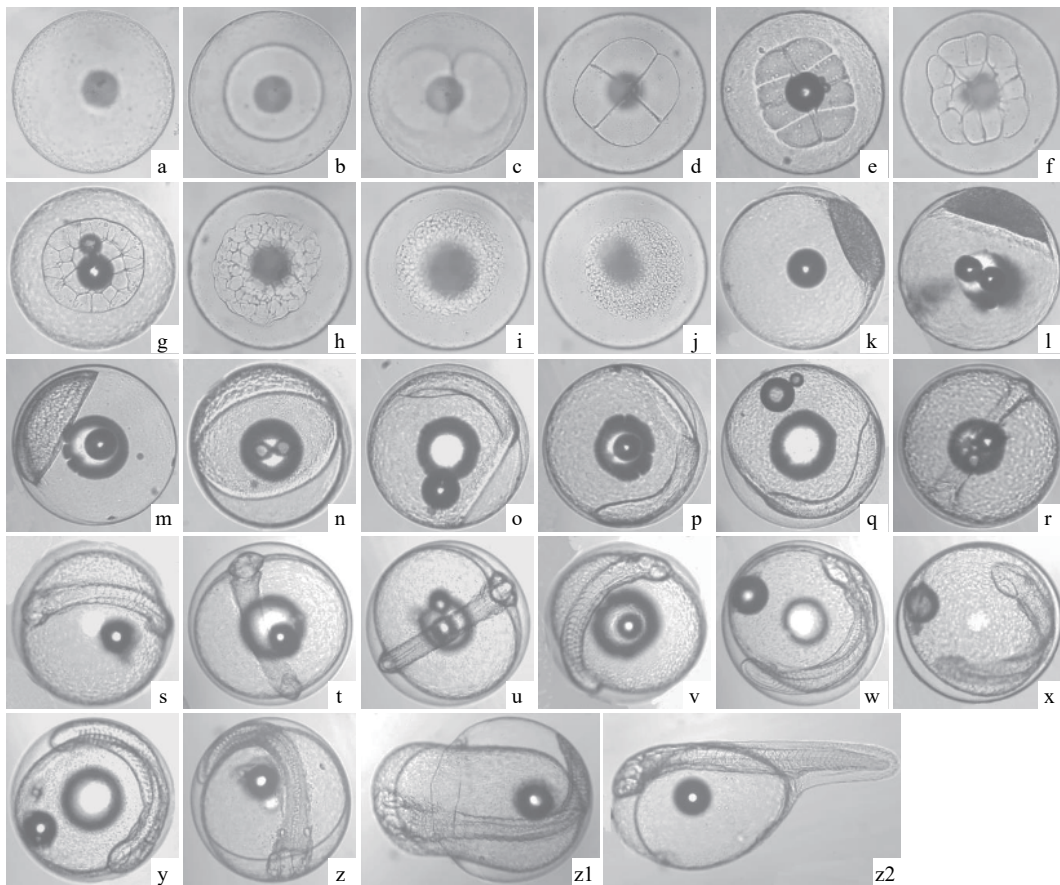


图1 杂交子代胚胎发育过程

a. 受精卵; b. 胎盘形成期; c. 2 细胞期; d. 4 细胞期; e. 8 细胞期; f. 16 细胞期; g. 32 细胞期; h. 64 细胞期; i. 多细胞期; j. 桑葚期; k. 高囊胚; l. 低囊胚; m. 原肠初期; n. 原肠中期; o. 原肠末期; p. 胚体形成期; q. 胚孔封闭期; r. 视囊形成期; s. 肌节形成期; t. 听囊形成期; u. 脑泡形成期; v. 心脏形成期; w. 尾芽期; x. 晶体形成期; y. 心脏跳动期; z. 孵化前期; z1. 孵化期; z2. 初孵仔鱼

Figure 1 Embryonic development of hybrid

a. Fertilized egg; b. Blastodisc formation; c. 2-cell stage; d. 4-cell stage; e. 8-cell stage; f. 16-cell stage; g. 32-cell stage; h. 64-cell stage; i. Multi-cell stage; j. Morula stage; k. High blastula stage; l. Low blastula stage; m. Early gastrula stage; n. Middle gastrula stage; o. Late gastrula stage; p. Embryo body stage; q. Closure of blastopore stage; r. Optic capsule stage; s. Muscle burl stage; t. Otocyst stage; u. Brain vesicle stage; v. Tail-bud stage; w. Crystal stage; x. Crystal stage; y. Heart-beating stage; z. Pre-hatching stage; z1. Hatching stage; z2. Newly hatched larvae

轮廓非常清晰; 上颌生长出尖细的牙齿, 颌骨发达; 消化系统继续完善, 消化道缩短变粗, 生理弯曲围成两圈, 消化道内充满食物, 摄食状态良好(图 2-e); 背部与腹部鳍膜消融、变窄, 背部与腹部体表下有异常增生物, 将发育成背鳍棘与腹鳍棘原基; 油球完全消失, 鳃盖骨形成; 尾鳍与胸鳍摆动有力, 活动能力增强; 仔鱼具有集群习性(图 2-f)。

10 日龄仔鱼第二背鳍棘与第一腹鳍棘已钻出体表, 鳍棘端部有黑色素沉积, 第二背鳍棘比第一腹鳍棘稍长, 此为三叉戟的雏形; 尾鳍出现鳍条原基, 和胸鳍原基一样呈扇形, 摆动有力; 仔鱼对外界刺激非常敏感, 轻微扰动, 体表分泌黏液并身体蜷曲, 最终死亡(图 2-g)。

12~20 日龄仔鱼第二背鳍棘增长速度较快, 且

第二背鳍棘长于第一腹鳍棘, 第一鳍棘上开始出现倒钩状锯齿状尖刺, 且小刺数目随着第一鳍棘的伸长显著增多, 第一背鳍原基已经形成, 第三背鳍棘长出; 鳃盖骨分化明显, 鱼体头部鳍膜消失, 其他部位鳍膜逐渐消失, 尾椎骨逐渐向背侧上翘, 尾鳍继续发育, 尾柄腹面残存少量黑色素; 仔鱼的胃呈侧放的梨状, 颜色比较深, 脊椎骨腹侧见透明的鱼鳔; 仔鱼聚群性降低(图 2-h)。

24~35 日龄仔鱼快速生长, 至 25 日龄时背鳍已长出 4~6 根鳍棘, 背鳍和臀鳍与尾鳍分离, 臀鳍开始长出鳍棘, 尾鳍与胸鳍进一步发育成熟, 鳍条更加明显, 第一腹鳍棘的绝对长度已达仔稚鱼阶段的最大值; 头部发育成型, 颅骨发育成熟, 透明度下降, 头部正上方有色素沉积, 眼眶上侧出现锯

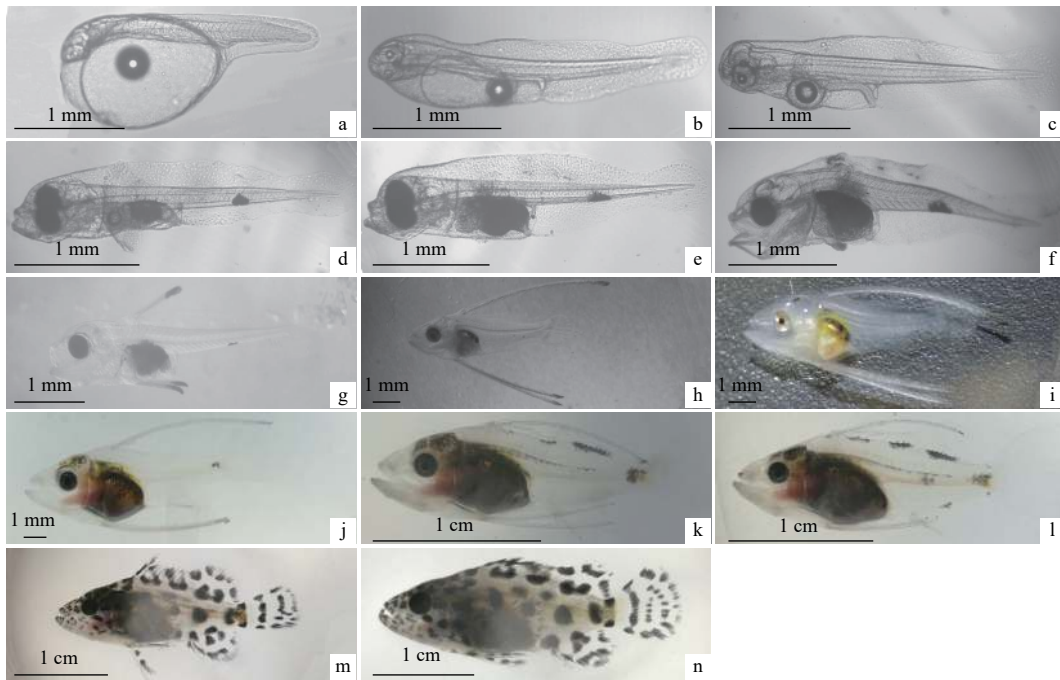


图2 杂交子代的仔、稚、幼鱼发育

a. 初孵仔鱼; b. 1 d 龄仔鱼; c. 2 d 龄仔鱼; d. 4 d 龄仔鱼; e. 7 d 龄仔鱼; f. 9 d 龄仔鱼; g. 10 d 龄仔鱼; h. 17 d 龄仔鱼; i. 24 d 龄仔鱼;
j. 33 d 龄仔鱼; k. 40 d 龄仔鱼; l. 47 d 龄稚鱼; m. 60 d 龄稚鱼; n. 65 d 龄幼鱼

Figure 2 Development of larval, juvenile and young fish of hybrid

a. 0 d larva; b. 1 d larva; c. 2 d larva; d. 4 d larva; e. 7 d larva; f. 9 d larva; g. 10 d larva; h. 17 d larva; i. 24 d larva; j. 33 d larva;
k. 40 d larva; l. 47 d juvenile; m. 60 d juvenile; n. 65 d young fish

齿状凸起, 鳃盖骨呈现弧形, 有色素沉积, 下颌长于上颌; 仔鱼游动能力进一步增强, 向水池中下层过渡, 在池中较为分散(图 2-i, 图 2-j)。

40 日龄仔鱼第二背鳍棘的绝对长度已达仔鱼阶段的最大值, 鳍棘末端黑色素已消退, 腹鳍棘已开始消融; 体表颜色变暗, 黑色素斑块增多; 各鳍发育已基本完成, 其余背鳍条分离, 胸鳍发达, 进入稚鱼期(图 2-k)。

2.2.3 稚鱼期 稚鱼的第二背鳍棘自尖端部开始消融、缩短至最小值, 鳍棘上的倒刺数目也逐步减少至最终消失, 鳞片开始出现至覆盖全身(41~60 日龄)。

41 日龄稚鱼第二背鳍开始收缩, 第二背鳍棘与腹鳍棘与其他鳍棘、鳍条相对长度变小。头部上方的黑色素增多, 鱼体背鳍、腹鳍、臀鳍以及尾鳍上开始出现圆斑状黑色素团; 稚鱼开始转入中下层水体活动, 游动迅速。

42~50 日龄稚鱼第二背鳍与腹鳍棘持续收缩, 第二背鳍棘收缩速度比腹鳍棘收缩速度快, 小刺数目急剧减少, 鱼体呈梭形; 黑色素细胞团增加, 颜色加深, 遍布体表, 体色逐渐形成; 内脏外侧覆盖

一层白膜状物质, 保护内脏器官。至 50 日龄, 第二背鳍棘长度依然长于腹鳍棘, 鱼体整体星状黑色素密集; 借助镊子在鱼体轻轻刮蹭, 有粗糙感, 镜检可见鳞片呈颗粒状并具有反光性, 鱼体背部以及背鳍、尾鳍基部的两侧开始出现鳞片(图 2-l)。

51~60 日龄稚鱼生长速度加快, 形态变化较大, 第二背鳍与腹鳍棘收缩明显, 55 日龄时腹鳍棘达到绝对长度的最小值, 然后恢复正常生长; 60 日龄时第二背鳍达到绝对长度最小值, 第二背鳍棘长度小于腹鳍棘, 鳍棘上小刺完全消失, 变得光滑; 颜色逐渐加深, 鳞片也几乎遍布全身, 此时稚鱼开始寻找遮蔽物, 体态特征已与幼鱼相似(图 2-m)。

2.2.4 幼鱼期 自 65 日龄, 杂交子代进入幼鱼阶段, 幼鱼期鱼体快速生长, 第二背鳍与腹鳍开始恢复生长, 头部盾圆, 眼球向两侧突出; 体表黏液分泌能力增强, 体表披细小栉鳞。

65~70 日龄幼鱼鱼体生长速度较快, 至 70 日龄时, 第二背鳍棘生长速度慢于腹鳍, 变得平滑并紧贴其他鳍条; 侧线明显, 体液分泌增多; 体型侧扁, 头背部稍下凹, 各器官发育完善, 体色为褐色, 全身分布圆形或椭圆形黑色斑块。幼鱼形态特

征与成鱼相似(图2-n)。发育至330日龄时,全长与体质量分别为(23.57±0.94)cm与(220.5±25.3)g,体型处于驼背鲈与蓝身大斑石斑鱼的中间类型。

2.3 杂交子代与驼背鲈胚胎发育与胚后发育比较

2.3.1 杂交子代与驼背鲈胚胎发育比较 受精卵在27~28℃,流水、充气培育,杂交子代与驼背鲈胚胎发育时期的形态特征基本一致,但发育时序稍有差异,杂交子代孵化出膜时间稍短于驼背鲈,分别为24 h 50 min、25 h 8 min(表1)。

驼背鲈(♀)×蓝身大斑石斑鱼(♂)杂交子代受精卵呈透明的球形(图1-a),浮性卵、油球明显;卵径为(0.92±0.03)mm,卵中有一油球,直径为(0.23±0.02)mm。杂交子代与驼背鲈的受精率与孵化率较高、畸形率较低,两者在受精率、孵化率与畸形率方面差异不显著(表2)。

表2 杂交子代与驼背鲈受精率、孵化率以及畸形率的比较
Table 2 Comparison of fertilization rate, hatching rate, deformity rate between hybrid and *C. altivelis* %

种类 Species	受精率 Fertilization rate	孵化率 Hatching rate	畸形率 Deformity rate
杂交子代 Hybrid	0.94±0.06 ^a	0.82±0.15 ^a	0.11±0.02 ^a
驼背鲈 <i>C. altivelis</i> (♀)	0.96±0.01 ^a	0.85±0.23 ^a	0.14±0.03 ^a

注:同列肩标相同小写字母表示差异不显著($P>0.05$),不同小写字母表示差异显著($P<0.05$)

Note: The values in the same column with the same and different lower-case letters superscripts had insignificant difference ($P>0.05$) and significant difference ($P<0.05$), respectively.

2.3.2 杂交子代与驼背鲈胚后发育比较 杂交子代与驼背鲈鱼苗全长与体高生长变化规律相对一致。自孵化出膜至卵黄囊完全消失,杂交子代与驼背鲈均历经3d,后转为外源性营养。6日龄前,两种鱼大小没有差异,均未生长出第二背鳍棘与腹鳍棘。6~20日龄鱼体各组织器官分化出现,但驼背鲈生长较快,全长与体高也大于杂交子代,至20日龄时,全长分别为(6.95±0.78)mm、(7.70±0.18)mm,体高分别为(1.82±0.17)mm、(2.25±0.18)mm。20日龄后消化系统、呼吸系统进一步成熟,形态及器官变化较大,直至完成发育,驼背鲈先于杂交子代进入幼鱼期,杂交子代于65日龄时进入幼鱼期。至70日龄时,杂交子代与驼背鲈全长分别为(29.50±0.63)mm、(32.80±0.74)mm,体高分别为(8.61±0.57)mm、(10.25±0.48)mm(图3)。

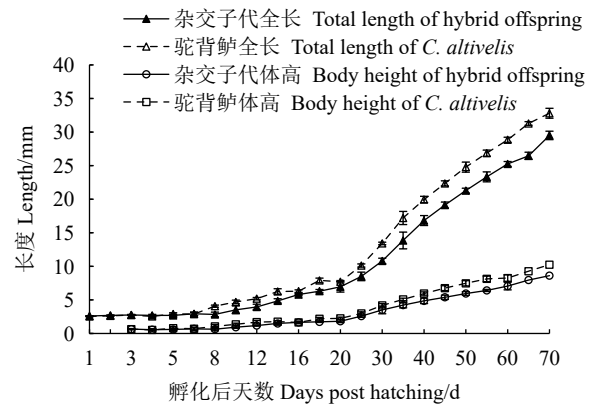


图3 1~70日龄杂交子代与驼背鲈的全长与体高对比
Figure 3 Comparison of total length between hybrid and *C. altivelis* of 1~70 days of age

330日龄时杂交子代与驼背鲈全长分别为(23.57±0.94)cm、(18.35±0.72)cm,体质量分别为(220.5±25.3)g、(142.6±0.58)g。杂交子代成活率为(85.5±1.9)%,驼背鲈为(82.4±1.8)%,两者差异不显著。在形态上,杂交子代体型相对细长,驼背鲈相对宽短;杂交子代头部较大,头长占全长的比重大(头长:全长=1:3.3),驼背鲈头部较小(1:4.9);杂交子代表黑色斑纹分布无序,驼背鲈体表黑色斑纹排列规则;杂交子代各部分鳍相对驼背鲈小(图4)。

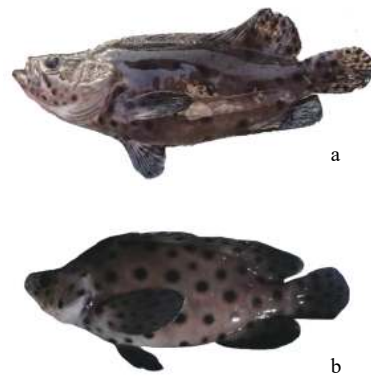


图4 330日龄杂交子代(a)与驼背鲈(b)对比
Figure 4 Comparison of hybrid of 330 days of age (a) and *C. altivelis* (b)

石斑鱼仔、稚、幼鱼发育过程中最显著的变化是第二背鳍与第一腹鳍棘的伸缩变化。杂交子代与驼背鲈的第二背鳍与第一腹鳍棘的变化趋势大致相同,驼背鲈先于杂交子代生长出第二背鳍与第一腹鳍棘,分别为8日龄与10日龄,随着鱼体生长,鳍棘也在伸长。40日龄时第二背鳍棘均达到最大值,然后开始从尖端消融、缩短,杂交子代与驼背

鲈分别在 60 日龄与 65 日龄时收缩至最小值, 然后恢复生长 (图 5-a)。35 日龄前, 驼背鲈的第一腹鳍棘长度大于杂交子代, 至 35 日龄时均达到最大值, 然后开始从尖端消融、缩短, 杂交子代缩短速

度较慢, 至 55 日龄时缩至最小值, 然后恢复生长 (图 5-b)。杂交子代与驼背鲈的第二背鳍与第一腹鳍棘恢复生长后, 第一腹鳍棘的长度均一直大于第二背鳍棘的长度。

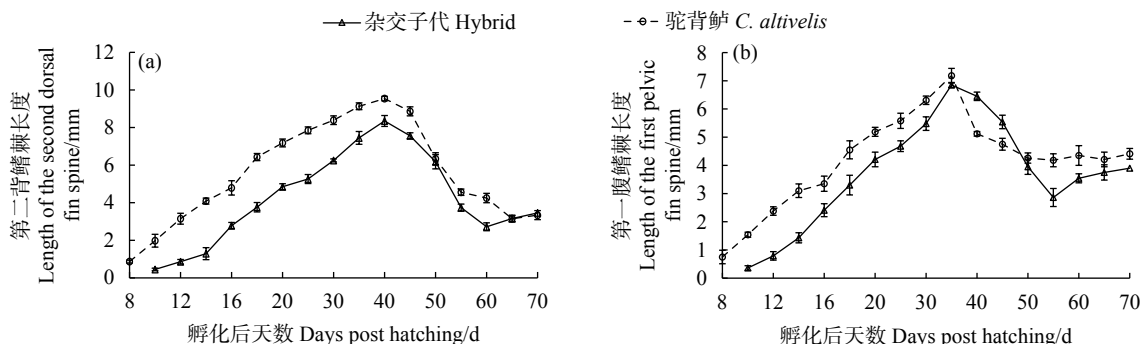


图5 杂交子代与驼背鲈的第二背鳍棘、第一腹鳍棘对比

Figure 5 Comparison of length of second dorsal fin spine and first pelvic fin spine between hybrid and *C. altivelis*

3 讨论

3.1 胚胎发育

参照国内外石斑鱼胚胎发育阶段的划分, 结合本试验的观察结果, 杂交子代的胚胎发育分为 7 个阶段, 28 个发育时期^[15]。杂交子代与驼背鲈受精卵置于相同的环境中培育, 观察发现胚胎发育时期相同, 但发育时间稍有差异, 杂交子代先于驼背鲈孵化出膜, 可能由物种本身的遗传特性决定。

不同种类鱼胚胎发育所需时间不同。云纹石斑鱼在水温 (22±0.2) °C、盐度 30、溶氧 7.8 mg·L⁻¹ 的条件下, 历时 38 h 17 min 孵化出膜^[16]。棕点石斑鱼受精卵在水温 26.5~28.0 °C、盐度 30~32 的海水中培育, 历时 22 h 完成整个胚胎发育^[17]。大菱鲆 (*Scophthalmus maximus*) 受精卵在水温 14 °C、盐度 30~32 的条件下, 历时 108 h 孵化出膜^[18]。胚胎发育时间差异还与温度、盐度、溶氧量以及 pH 有关^[19], 其中温度的影响最大。鞍带石斑鱼在水温 (27±0.5) °C 海水中, 历时 25 h 40 min 完成整个胚胎发育^[20], 在 (29±0.5) °C 海水中历时 18 h 30 min 完成胚胎发育^[21]。驼背鲈在水温 25~26 °C, 盐度 30 的海水中历时 27 h 25 min 完成整个胚胎发育^[1], 本研究中, 在水温 27 °C、盐度 30 海水中历时 25 h 8 min 孵化出膜, 在胚胎发育期各组织形成需要一定时间, 不可盲目调高或调低培育温度来改变胚胎发育所需的时间, 在合理的温度条件下, 胚胎发育更加完善, 孵化后具有更高的活力。

3.2 仔、稚、幼鱼的生长发育

在石斑鱼早期发育阶段的划分中, 大多将卵黄囊、第二背鳍与第一腹鳍棘、鳞片、体色作为各个阶段的划分依据^[3, 11]。结合本研究对石斑鱼形态的观察和各发育时期特征的描述, 根据杂交子代卵黄囊、鳞片、体色以及第二背鳍与第一腹鳍棘的伸缩变化, 将其胚后发育划分为前期仔鱼期、后期仔鱼期、稚鱼期和幼鱼期。不同种类石斑鱼卵黄囊吸收情况不同, 仔鱼开口摄食的时间不同。云纹石斑鱼仔鱼发育至 4 日龄时, 卵黄囊吸收完全, 斜带石斑鱼仔鱼发育至 5 日龄时卵黄囊吸收完全^[14, 16]。本研究中, 杂交子代与驼背鲈均是发育至 3 日龄时, 卵黄囊吸收完全, 进入仔鱼后期, 在此过程中, 鱼体生长不明显。之后由内源性营养转化为外源性营养, 消化系统逐渐完善, 3 日龄至 7 日龄为营养来源适应期, 生长不太明显。至 8 日龄与 20 日龄时生长明显, 且驼背鲈稍快于杂交子代, 可能与其食性转化有关, 随着鱼的生长, 摄食种类由轮虫转化为卤虫幼体、卤虫成体以及配合饲料, 鱼的生长速度逐渐加快。至 35 日龄时第一背鳍棘开始收缩, 45 日龄时第二背鳍棘开始收缩, 进入稚鱼期。待第二背鳍棘收缩至最小值、全身披鳞和出现成鱼应有的体色, 进入幼鱼期, 此时第一腹鳍棘已超过第二背鳍棘长度。

第二背鳍与第一背鳍棘的伸长、收缩变化是石斑鱼早期发育中最显著的特征, 也是石斑鱼类特有的生长现象, 一个背鳍棘与两个腹鳍棘呈三叉状

态,称为“三叉戟”。在有所记录的石斑鱼仔、稚、幼鱼发育中,均有鳍棘的变化,如云纹石斑鱼、鞍带石斑鱼、点带石斑鱼、赤点石斑鱼等^[16,19,22],鳍棘的变化与运动以及生活习性有关,对石斑鱼鱼苗早期生长发育有重要的生物学意义。本研究中,杂交子代第二背鳍与第一背鳍棘生长较驼背鲈晚 2 d,但总体变化趋势相同。后期仔鱼时期,由于第二背鳍与腹鳍棘的发育,可以提供更大的推力,也可在逆流中保持平衡,游泳能力进一步加强,摄食能力也明显增强,另外仔鱼由弱光区过渡到分散活动于水体中上层。在仔、稚鱼时期,鱼苗在野外环境中容易遭受被捕食的危险,三叉戟的存在可以使其他鱼类产生恐惧感,有助于驱赶捕食者^[23,24]。笔者认同上述观点,在 20~35 日龄,后期仔鱼全长以及第二背鳍与第一腹鳍棘生长最为迅速,鳍棘的发育对于捕食饵料与保持平衡具有重要的作用,因此在这一阶段,应保证其能够摄食足够的食物以供给生长。石斑鱼鳍棘的变化生物学意义还需要进一步研究。

3.3 亲本组合的可行性

驼背鲈与蓝身大斑石斑鱼为不同的属,但染色体核型公式均为 $2n=48t$ ^[25-26],具备了杂交的生物学基础。本研究为属间的远缘杂交,通过观察,该杂交组合可正常受精,并正常分裂、孵化以及胚后发育。通过对比杂交子代与驼背鲈胚胎发育历程,以及受精率、孵化率和畸形率,发现杂交子代相对于驼背鲈受精率与孵化率相对较低,畸形率相对较高,但差异不显著,说明杂交组合驼背鲈(♀)与蓝身大斑石斑鱼(♂)之间配子相容性较好,可以进行杂交。在云纹石斑鱼与赤点石斑鱼杂交以及云纹石斑鱼与鞍带石斑鱼杂交研究也发现双亲配子相容性较好,杂交种孵化率较低,畸形率较高^[5,13]。在棕线石斑鱼与东大西洋石斑鱼杂交中发现 20% 的 4—8 细胞期胚胎存在细胞分裂异常现象^[8],胚胎细胞分裂不均可能会导致后期胚体畸形。赤点石斑鱼与鞍带石斑鱼的杂交子代也表现出较高的畸形率^[27]。在石斑鱼的人工育苗过程中,普遍存在畸形现象,与转化生长因子(TGF-β)和成骨蛋白(BMP)通路相关基因的异常表达可能是鱼苗畸形的原因^[28]。另外,畸形率也与亲本培育及卵子质量有关。

一般情况下,杂交组合亲缘关系越远、生态类型以及生理特性差异越大,双亲间相对性状的互补

性越大,其杂交优势越强;双亲的纯合程度越高,杂交子代所表现的杂交优势越一致。属间的杂交组合如团头鲂(*Megalobrama amblycephala* ♀)×黄尾密鲷(*Xenocypris davidi* ♂)^[29]、草鱼(*Ctenopharyngodon idellus* ♀)×团头鲂(♂)^[30],杂交产生的子一代外形一致,具有含肉率高、成活率高、抗逆性强和生长速度比父母本快的优点。而在散鳞镜鲤(*Cyprinus carpio haematopterus* ♀)与团头鲂(♂)杂交试验中,杂交子代生长速度慢,但其抗病性强,成活率高,养殖产量高,而且肉质得到了改良^[31],具有一定的杂交优势。对鞍带石斑鱼与蓝身大斑石斑鱼杂交子代研究中,杂交子代发育至 86 日龄时,杂交子代比鞍带石斑鱼生长速度快,表现出明显的杂种优势^[3]。云纹石斑鱼与蓝身大斑石斑鱼的杂交子代相对于纯种云纹石斑鱼也表现出明显的杂交优势^[32]。在本研究中,利用驼背鲈与蓝身大斑石斑鱼培育出的杂交子代在 70 日龄前,生长速度尚未表现出优势,发育至 330 日龄时,杂交子代的杂种优势已明显表现出来。可能是控制生长发育的相关基因表达有一定的时序性,进而表现出前期生长相对纯种驼背率生长速度慢,后期生长速度快。

目前,对驼背鲈(♀)与蓝身大斑石斑鱼(♂)杂交育种的研究尚未见报道,本研究利用驼背鲈(♀)与蓝身大斑石斑鱼(♂)进行杂交试验,对杂交子代胚胎发育、变态发育以及发育至 330 日龄的杂交子代的生长性能与形态特点进行了较为全面的研究,发现驼背鲈(♀)×蓝身大斑石斑鱼(♂)杂交子代受精率、畸形率与孵化率与驼背率差异不显著,仔、稚、幼鱼发育正常。与驼背鲈相比,杂交子代生长速度快,具有明显的杂交优势,为石斑鱼杂交育种与人工养殖提供了科学参考,同时为研究杂种优势形成提供了一定的实验材料。

参考文献:

- [1] 张梦淇,陈超,李炎璐,等. 驼背鲈(*Chromileptes altivelis*)的胚胎发育及仔、稚、幼鱼形态观察[J]. 渔业科学进展, 2014, 35(5): 145-153.
- [2] 区又君,李加儿. 驼背鲈肌肉营养成分的分析与评价[J]. 台湾海峡, 2010, 29(4): 503-509.
- [3] 成美玲,田永胜,吴玉萍,等. 鞍带石斑鱼(♀)×蓝身大斑石斑鱼(♂)杂交 F₁ 代变态发育和生长特征分析[J]. 海洋学报, 2019, 41(8): 52-62.
- [4] 朱华平,卢迈新,黄樟翰,等. 鱼类遗传改良研究综述[J]. 中国水产科学, 2010, 17(1): 168-181.

- [5] 杨求华, 黄种持, 郑乐云, 等. 云纹石斑鱼(♀)×赤点石斑鱼(♂)杂交子代胚胎发育及生长[J]. 海洋渔业, 2014, 36(3): 224-231.
- [6] 李炎璐, 陈超, 王清印, 等. 云纹石斑鱼(*E. moara*)(♀)×七带石斑鱼(*E. septemfasciatus*)(♂)杂交F₁生长特征与其亲本子代的比较[J]. 渔业科学进展, 2015, 36(3): 42-49.
- [7] 吴水清, 郑乐云, 罗辉玉, 等. 杂交石斑鱼(斜带石斑鱼♀×赤点石斑鱼♂)与其亲本形态性状比较研究[J]. 南方水产科学, 2017, 13(5): 47-54.
- [8] GLAMUZINA B, GLAVIC N, SKARAMUCA B, et al. Early development of the hybrid *Epinephelus costae* ♀× *E. marginatus* ♂[J]. Aquaculture, 2001, 198: 55-61.
- [9] GLAMUZINA B, KOZUL V, TUTMAN P, et al. Hybridization of Mediterranean groupers: *Epinephelus marginatus* female × *E. aeneus* male and early development[J]. Aquacult Res, 1999, 30(8): 625-628.
- [10] JAMES C M, AL-THOBARTI S A, RASEM B M, et al. Potential of grouper hybrid (*Epinephelus fuscoguttatus* × *E. polyphakadion*) for aquaculture[J]. Naga, 1999, 22: 19-23.
- [11] 陈超, 孔祥迪, 李炎璐, 等. 棕点石斑鱼(♀)×鞍带石斑鱼(♂)杂交子代胚胎及仔稚幼鱼发育的跟踪观察[J]. 渔业科学进展, 2014, 35(5): 135-144.
- [12] KOH I C, SITTI R S, AKAZAWA N, et al. Egg and larval development of a new hybrid orange-spotted grouper *Epinephelus coioides* × giant grouper *E. lanceolatus*[J]. Aquacult Sci, 2010, 58: 1-10.
- [13] CHEN Z F, TIAN Y S, WANG P F, et al. Embryonic and larval development of a hybrid between kelp grouper *Epinephelus moara* female × giant grouper *E. lanceolatus* male using cryopreserved sperm[J]. Aquacult Res, 2018, 49(4): 1407-1413.
- [14] 刘冬娥, 张雅芝, 方琼珊, 等. 斜带石斑鱼仔、稚、幼鱼的形态发育研究[J]. 台湾海峡, 2008, 27(2): 180-189.
- [15] 楼允东. 组织胚胎学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998: 349-351.
- [16] 宋振鑫, 陈超, 翟介明, 等. 云纹石斑鱼胚胎发育及仔、稚、幼鱼形态观察[J]. 渔业科学进展, 2012, 33(3): 26-34.
- [17] 林彬, 黄宗文, 骆剑, 等. 棕点石斑鱼胚胎发育的观察[J]. 海南师范大学学报(自然科学版), 2010, 23(1): 87-92.
- [18] 佟雪红, 马道远, 徐世宏, 等. 大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)胚胎发育的形态学和组织学研究[J]. 海洋与湖沼, 2011, 42(6): 844-849.
- [19] 邹记兴, 常林, 向文洲, 等. 点带石斑鱼的亲鱼培育、产卵受精和胚胎发育[J]. 水生生物学报, 2003, 27(4): 378-384.
- [20] 张海发, 王云新, 刘付永忠, 等. 鞍带石斑鱼人工繁殖及胚胎发育研究[J]. 广东海洋大学学报, 2008, 28(4): 36-40.
- [21] 周玲, 翁文明, 李金亮, 等. 鞍带石斑鱼胚胎发育及仔鱼形态发育、饵料转变的观察研究[J]. 中国农学通报, 2010, 26(1): 293-302.
- [22] KUSAKA A, YAMAOKA K, YAMADA T, et al. Early development of dorsal and pelvic fins and their supports in hatchery-reared red-spotted grouper, *Epinephelus akaara* (Perciformes: Serranidae)[J]. Ichthyol Res, 2001, 48(4): 355-360.
- [23] 郭仁湘, 符书源, 杨薇, 等. 鞍带石斑鱼仔稚(幼)鱼的发育和生长研究[J]. 水产养殖, 2011, 32(4): 8-13.
- [24] HOUDE E D. Marine fish larvae: morphology, ecology and relation to fisheries[J]. Aquaculture, 1983, 34(3): 353-354.
- [25] 刘苏, 杨宇晴, 张海发, 等. 蓝身大斑石斑鱼染色体核型分析[J]. 海洋科学, 2017, 41(12): 46-50.
- [26] 区又君, 谢菁. 驼背鲈的染色体核型分析[J]. 南方水产科学, 2007, 3(5): 49-53.
- [27] LIU Q H, XIAO Z Z, WANG X Y, et al. Sperm cryopreservation in different grouper subspecies and application in interspecific hybridization[J]. Theriogenology, 2016, 85(8): 1399-1407.
- [28] CHEN G, DENG C, LI Y P. TGF-β and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation[J]. Int J Biol Sci, 2012, 8(2): 272-288.
- [29] HU J, LIU S, XIAO J, et al. Characteristics of diploid and triploid hybrids derived from female *Megalobrama amblycephala* Yih× male *Xenocypris davidi* Bleeker[J]. Aquaculture, 2012, 364/365: 157-164.
- [30] HE W G, XIE L H, LI T L, et al. The formation of diploid and triploid hybrids of female grass carp × male blunt snout bream and their 5S rDNA analysis[J]. BMC Genet, 2013, 14: 110.
- [31] 马波, 金万昆. 散鳞镜鲤、团头鲂及其杂交F₁肌肉营养成分的比较[J]. 水产学杂志, 2004, 17(2): 76-78.
- [32] 唐江, 田永胜, 李振通, 等. 云纹石斑鱼(♀)×蓝身大斑石斑鱼(♂)远缘杂交后代发育与生长[J]. 广东海洋大学学报, 2019, 39(4): 27-34.