

斑鳊♀ × 鳊♂ 杂交一代胚胎及仔稚鱼发育研究

许森洋¹, 钱叶周², 吴超², 钱德², Jeerawat THAMMARATSUNTORN¹, 苗田田¹, 赵金良^{1*}

(1. 上海海洋大学, 农业部淡水水产种质资源重点实验室, 上海 201306; 2. 池州市秋浦特种水产开发有限公司, 安徽池州 247104)

摘要 [目的] 为鳊鱼种间杂交利用提供基础资料。[方法] 对斑鳊♀ × 鳊♂ 杂交一代胚胎发育与仔稚鱼生长特征进行观察, 分析不同杂交方式对杂种一代早期生长发育的影响。[结果] 杂交 F₁ 受精卵卵径为 (2.20 ± 0.09) mm, 在水温 18 ~ 25 °C 下流水孵化, 杂交 F₁ 经历卵裂期 (7 h)、囊胚期 (8 h)、原肠期 (8 h)、神经胚期 (4 h)、器官形成期 (40 h), 受精后 67 h 达到半数出膜。杂交 F₁ 初孵仔鱼全长为 (4.12 ± 0.12) mm, 初孵至孵出后 43 d 全日均增长率为 1.03 mm。[结论] 斑鳊♀ × 鳊♂ 杂交 F₁ 胚胎发育介于双亲之间, 仔、稚鱼生长速度与父本接近。

关键词 斑鳊♀ × 鳊♂; 杂交一代; 胚胎发育; 仔稚鱼; 生长**中图分类号** S965.127 **文献标识码** A **文章编号** 0517-6611(2013)04-01544-03**Study on the Embryonic, Larval and Juvenile Development of Hybrid F₁ of *Siniperca scherzeri* (♀) × *Siniperca chuatsi* (♂)****XU Miao-yang et al** (Laboratory of Freshwater Fisheries Germplasm Resources, Ministry of Agriculture, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306)

Abstract [Objective] The research aimed to provide basic data for the interspecific hybridization utilization of *Siniperca* species. [Method] The embryonic development and larval, juvenile growth characters of hybrid F₁ of *Siniperca scherzeri* (♀) × *S. chuatsi* (♂) were observed. And the effects of different hybridization methods on the early development of hybrid F₁ were analyzed. [Result] The diameter of fertilized egg of hybrid F₁ was 2.20 ± 0.09 mm. Half of fertilized eggs in flowing water at temperature of 18 ~ 25 °C hatched out after fertilization 67 hours. The whole embryonic development of hybrid F₁ underwent the cleavage stage (7 hours), blastula stage (8 hours), gastrula stage (8 hours), neural stage (4 hours) and organogenesis stage (40 hours). The whole length of newly-hatched larvae of the hybrid F₁ was 4.12 ± 0.12 mm and the average daily growth rate was 1.03 mm from 0 to 43 hatching days. [Conclusion] The embryonic development of hybrid F₁ was intermediate to their parents and the growth rate of larva and juvenile was similar to that of its paternal fish.

Key words *Siniperca scherzeri* (♀) × *Siniperca chuatsi* (♂); Hybrid F₁; Embryonic development; Larva and juvenile; Growth

杂交是水育种重要手段之一。杂交不仅能丰富遗传结构, 使不同类型亲本的优良性状得到结合, 提高杂种的生长性能, 甚至能产生超亲代的优良性状, 获得超亲杂种优势。国内外利用杂交手段已获得了许多水产新品种, 并在实际生产中广泛应用^[1]。鳊 (*Siniperca chuatsi*) 和斑鳊 (*S. scherzeri*) 同属于鲈形目 (Perciforms)、鲈亚目 (Percoidei)、鳊属 (*Siniperca*), 广泛分布于我国内陆江湖水域。鳊是目前鳊鱼养殖的主要品种, 生长快、专以活饵为食, 但是抗病性差^[2-3]。斑鳊生长速度较慢, 但是经驯化可食死饵, 病害少, 目前尚处于养殖初期^[4]。为了解决鳊鱼单种养殖中的局限, 利用人工杂交技术, 分别获得了鳊和斑鳊正、反杂交一代, 并对杂交后代的形态^[5-6]、胚胎发育^[7-9]和遗传特征^[6]等进行了初步报道。然而, 对不同杂种方式中亲本对子代胚胎发育、生长性能的影响尚未有系统报道。前期开展的杂交试验表明, 斑鳊♀ × 鳊♂ 杂交一代体型较长, 偏向母本斑鳊, 生长性能较母本有明显优势 (另文发表)。为此, 笔者通过对斑鳊♀ × 鳊♂ 杂交一代胚胎发育与仔稚鱼生长特征进行观察, 分析杂交方式对杂种一代早期生长发育的影响, 以为鳊鱼种间杂交利用提供基础资料。

1 材料与与方法

试验在安徽省池州市秋浦特种水产开发有限公司养殖

基金项目 上海市科委基础研究重点项目 (09JC1406900); 上海市重点学科建设项目 (Y1101); 池州市秋浦特种水产开发有限公司专项 (2012A01)。**作者简介** 许森洋 (1988 -), 女, 河南南阳人, 硕士研究生, 研究方向: 水产动物遗传育种与繁殖。* 通讯作者, 教授, 博士, 从事水产动物遗传育种, E-mail: jzlhao@shou.edu.cn。**收稿日期** 2012-12-18

基地进行。挑选 2 ~ 3 龄性腺成熟的雌性斑鳊 (0.5 ~ 1 kg)、雄性鳊 (2 ~ 3 kg), 于 2010 年 4 月 24 日注射催产剂 (促排卵素 2 号 LRH-A2 和马来酸地欧酮 DOM), 人工受精。受精卵在四大家鱼孵化环道内流水孵化, 水温 18 ~ 25 °C, 直至孵化出膜。鱼苗出膜后 4 d, 投喂团头鲂、草鱼鱼苗开口, 后期逐步投喂适口的鲢鱼、鳙鱼鱼苗, 日饵量为杂交鳊鱼苗的 6 ~ 8 倍。孵化后 10 d, 移至水泥池中培育, 投放密度为 2 000 ~ 3 000 尾/m³; 鱼苗全长达 3 cm, 进行分稀, 放养密度 800 尾/m³, 日投喂饵料鱼苗的数量为杂交鳊鱼苗的 5 倍。

受精后连续取样, 每次取 30 粒受精卵, 用解剖镜、显微镜观察, 记录胚胎发育各阶段的特征与发育时间, 胚胎发育时间以 50% 以上受精卵明显进入该发育阶段为准。鱼苗孵化出膜至孵化后 43 d, 每日采样 1 次, 每次 10 尾, 使用游标卡尺测量鱼苗全长, 计算日均增长率。

2 结果与分析

2.1 胚胎发育 斑鳊 (♀) × 鳊 (♂) 杂交一代的胚胎发育过程如图 1 所示。受精卵直径约为 (2.20 ± 0.09) mm, 卵黄均匀透明, 中间有 1 个明显的大油球及数个小油球 (图 1a)。受精卵无粘性、沉性卵。

卵裂期: 卵裂方式为盘状卵裂。受精后 2 h 左右, 胚盘顶部中央出现 1 个纵向分裂沟, 使胚盘分裂成 2 个大小相等的分裂球, 此时为 2 细胞期。随后, 细胞不断分裂形成 4 细胞、8 细胞、16 细胞、32 细胞、64 细胞至桑椹胚期。

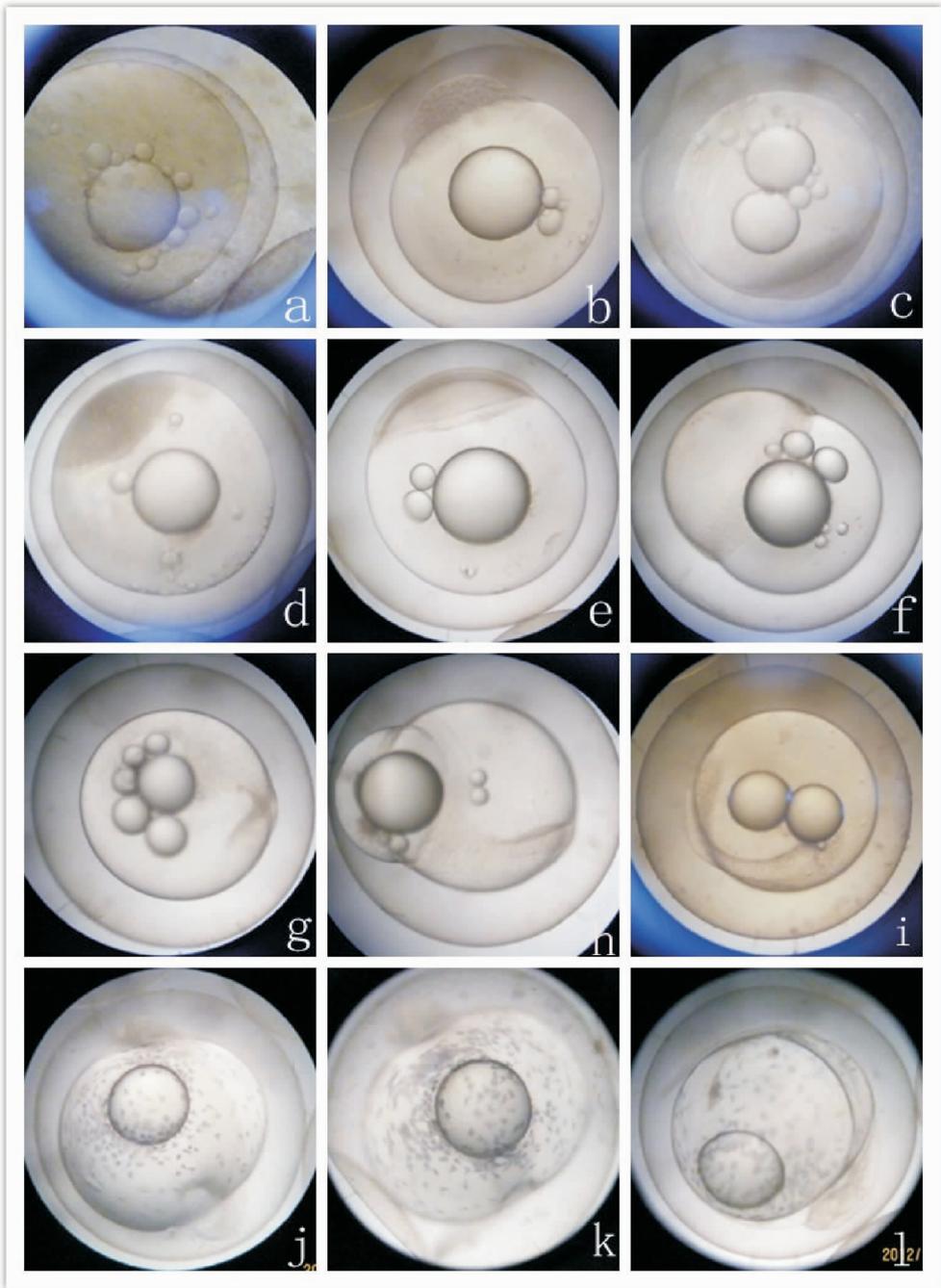
囊胚期: 受精后 7 h, 分裂细胞在胚盘处堆集成高帽状突起的囊胚, 高度约为卵径 1/4 (图 1b)。随着胚胎细胞的继续分裂, 细胞界线逐渐模糊, 在卵黄上的细胞团隆起高度逐渐

下降,胚胎发育进入囊胚中期(图 1c);囊胚表面细胞向卵黄部分下包,囊胚层逐渐变扁,呈柳叶状,此时为囊胚晚期(图 1d)。整个囊胚期持续大约 7 h。

原肠胚期:受精后 14 h,胚盘细胞向植物极下包、扩展,当下包达卵径 1/4 ~ 1/3 时,隐约可见胚环,为原肠早期(图 1e);胚层细胞继续下包、内卷,当下包达卵径的 1/2 ~ 3/5 时,胚环明显,胚盾出现,为原肠中期(图 1f);当胚层下包达 3/5 ~ 3/4 时,由于细胞内卷、集中、伸展的结果,使胚盾不断

延长而出现胚体的雏形,此时为原肠晚期。持续时间约 8 h。

神经胚期:受精后 22 h,胚层下包达卵径的 5/6 左右,植物极的卵黄大部分被包围,仅末端一小部分外露,形成卵黄栓,此时胚盾背部中央出现神经沟,胚盾的前端稍膨大,将形成脑泡(图 1g)。然后,卵黄被全部包围,胚孔闭全,下包结束,胚体凸起在卵黄球表面,胚体侧卧,此为胚孔封闭期(图 1h)。整个过程持续约 4 h。



注:a. 受精卵;b. 高囊胚期;c. 中囊胚期;d. 低囊胚期;e. 原肠前期;f. 原肠晚期;g. 神经胚期;h. 胚孔封闭期;i. 肌节出现期;j~l. 器官形成期。

图 1 斑鳅♀ × 鳊♂ 杂交一代的胚胎发育

器官形成至孵化阶段:受精后 26 h,肌节出现(图 1i),随后眼囊、尾芽、耳囊形成(图 1j ~ 图 1l)。受精后 42 h,胚体

中、后端出现肌肉收缩,即肌肉效应期。受精后 44 h,胚体表面黑色素由点状变为星芒状,尾部伸长,与卵黄囊游离;然

后,心脏开始微弱搏动。受精后 50 h,脑部分化,整个胚胎可作间歇性扭动。受精后 54 h,尾芽明显。受精后 58 h,胚体旋转更加有力。受精后 62 h,胚体开始出膜;受精后 67 h,整体出膜率约为 50%。该阶段持续 40 h 左右。

2.2 胚后发育与生长 刚孵出仔鱼全长为 (4.12 ± 0.12) mm, 头部黑色素清晰可见, 眼大, 躯干前部具有较大的椭圆形卵黄囊, 表面黑色素多, 前端有 1 个油球, 其他部位透明, 借尾部的急剧摆动可作间歇性旋转上升运动。1 日龄, 仔鱼眼部黑色素更加明显。2 日龄, 仔鱼口形成, 能微弱启闭。4 日龄, 仔鱼尾部出现黑色素, 油球消失, 开始主动摄食, 进入混合营养期。7 日龄, 卵黄全部消耗, 开始外源营养期, 进入后仔鱼阶段, 鱼体黑色素主要集中在前、中段, 后段透明, 骨骼清晰可见, 增长较明显。18 日龄, 鳍条已全部形成, 开始进入稚鱼期。

初孵至孵出后 43 日龄仔稚鱼的全长见表 1。仔稚鱼的平均日增长率为 1.03 mm。平均全长与日龄的回归方程为 $L = 1.102 2T - 0.345 1$ ($R^2 = 0.978 5$), 其中 L 为全长(mm), T 为日龄(d), R 为相关系数(图 2)。

表 1 斑鳊♀ × 鳊♂ 杂交一代仔稚鱼的全长

日龄	平均全长	日龄	平均全长	日龄	平均全长
d	mm	d	mm	d	mm
0	4.12 ± 0.12	10	10.53 ± 0.22	22	27.63 ± 0.32
1	4.50 ± 0.26	11	11.42 ± 0.16	24	28.80 ± 0.38
2	5.06 ± 0.21	12	12.14 ± 0.18	26	29.39 ± 0.27
3	5.30 ± 0.17	13	13.30 ± 0.29	29	30.97 ± 0.45
4	5.70 ± 0.51	14	14.47 ± 0.43	31	31.18 ± 0.36
5	6.60 ± 0.33	15	15.63 ± 0.32	32	35.64 ± 0.33
6	6.72 ± 0.28	16	17.57 ± 0.43	36	40.72 ± 0.50
7	8.63 ± 0.35	17	18.08 ± 0.29	39	49.35 ± 0.37
8	9.19 ± 0.34	18	19.36 ± 0.48	43	49.41 ± 0.32
9	9.89 ± 0.25	20	21.89 ± 0.34		

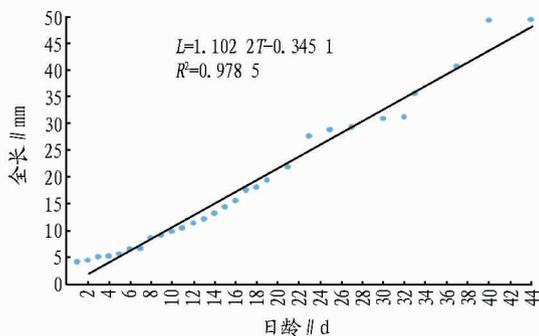


图 2 斑鳊♀ × 鳊♂ 杂交一代仔稚鱼平均全长与日龄的关系

3 讨论

3.1 杂交 F₁ 的胚胎发育特征 该研究中斑鳊♀ × 鳊♂ 杂交 F₁ 受精卵的卵径为 (2.20 ± 0.09) mm, 与斑鳊受精卵卵径接近, 大于鳊受精卵卵径。其他研究表明, 鳊♀ × 斑鳊♂ 正交 F₁ 受精卵卵径为 1.46 ~ 1.8 mm, 反交 F₁ 受精卵卵径为 2.2 ~ 2.28 mm^[7-9]。这表明鳊鱼杂交种受精卵卵径表现为偏母本。

鱼类不同种类的胚胎发育时间不同, 同种鱼类的胚胎发育还受到地理种群、孵化温度、孵化条件等因素的影响。吴

立新等^[10]报道辽宁省碧流水库斑鳊胚胎发育所需时间为 189 h 40 min (水温 19 ~ 23.6 °C, 室内培养皿中孵化); 王丹等^[11]报道鸭绿江斑鳊孵化所需时间约为 144 h (水温 22.2 ~ 25.2 °C, 室内培养皿中孵化); 曾可为^[12]等报道长江斑鳊孵化时间约为 135 h (水温 18 ~ 22 °C, 自然孵化)。蒋一珪^[13]研究表明梁子湖鳊受精卵自然孵化约需 74 h (水温 21 ~ 24 °C); 郑闽泉等^[14]研究表明鳊孵化所需时间为 39 h (温度范围 23 ~ 26 °C, 室内烧杯中孵化)。本研究中, 在水温 18 ~ 25 °C、流水孵化条件下, 斑鳊♀ × 鳊♂ 杂交 F₁ 卵裂期 7 h、囊胚期 8 h、原肠期 8 h、神经胚期 4 h、器官形成期 40 h, 受精后 67 h 半数出膜, 其胚胎发育时间介于双亲之间。与亲本胚胎发育各期相比, 杂交 F₁ 囊胚期与母本斑鳊^[11]接近(持续时间 9 h, 水温 22.2 ~ 25.2 °C, 室内培养皿中孵化), 明显长于鳊^[14](持续时间 3.5 h, 水温 23 ~ 26 °C, 室内烧杯中孵化); 神经胚期发育明显缓于双亲, 与鳊 × 斑鳊正、反交后代中的观察结果相一致^[7-9]。这很可能与杂种发育的某些特异性有关。

宓国强等^[8]报道以斑鳊为母本的杂交鳊的孵化时间为 117 h (水温 (24 ± 1) °C), 刘毅辉等^[9]报道其孵化时间为 91 h (水温 28 ~ 30 °C)。该研究中 F₁ 代孵化时间为 67 h (水温 18 ~ 25 °C), 其中原肠胚期持续时间较长, 可能与该发育期正处于夜间且温度较低有关; 器官形成期明显缩短, 这种差异的原因可能与不同研究中亲鱼的性腺发育、卵成熟度差异有关。此外, 不同孵化水温、孵化条件也会显著影响出膜时间。

3.2 杂交 F₁ 仔稚鱼的生长特征 研究表明, 初孵仔鱼全长为 (3.68 ± 0.12) mm, 孵化后 0 ~ 35 d 仔稚鱼全长绝对生长率为 0.99 mm/d^[15]; 斑鳊初孵仔鱼全长为 (4.87 ± 0.10) mm, 孵化后 0 ~ 15 d 仔稚鱼全长绝对生长率为 0.59 mm/d^[16]。斑鳊♀ × 鳊♂ 杂交 F₁ 初孵仔鱼全长介于双亲之间 (4.12 ± 0.12) mm, 杂交 F₁ 早期仔鱼生长变异较大, 初孵仔鱼至仔鱼开口前为内源性营养发育阶段(孵化后 3 日龄), 全长增长率为 0.4 mm/d。仔鱼开口后至卵黄和油球完全被吸收前的混合营养阶段(孵化后 4 ~ 6 日龄), 全长增长率为 0.87 mm/d。孵化后 7 ~ 43 日龄, 仔鱼摄食强度增大, 进入外源性营养阶段, 全长增长率达 1.32 mm/d。其中, 0 ~ 35 日龄间杂交 F₁ 全长增长率为 1.00 mm/d, 与鳊^[15]相近; 0 ~ 15 日龄间杂交 F₁ 全长日平均增长率为 0.77 mm/d, 明显快于斑鳊^[16], 杂交 F₁ 早期生长速度表现为偏父本。

参考文献

- [1] 楼允东. 鱼类育种学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1999.
- [2] 梁旭方. 国内外鳊类研究及养殖概况[J]. 水产科技情报, 1996, 23(1): 13-17.
- [3] 黄志坚, 何建国. 鳊鱼疾病的研究概况[J]. 水产科技情报, 1999, 26(6): 268-271.
- [4] 许建红, 劳顺健. 斑鳊人工养殖初探[J]. 科学养鱼, 2002(7): 26.
- [5] 赵建, 朱新平, 陈永乐, 等. 翘嘴鳊、斑鳊及其杂交种形态差异分析[J]. 华中农业大学学报, 2008, 27(4): 506-509.
- [6] 宓国强, 赵金良, 贾永义, 等. 鳊(♀) × 斑鳊(♂) 杂种 F₁ 的形态特征与卫星分析[J]. 上海海洋大学学报, 2010, 19(2): 145-150.
- [7] 宓国强, 练青平, 王雨辰, 等. 翘嘴鳊(♀) × 斑鳊(♂) 杂交子一代的胚胎发育[J]. 上海海洋大学学报, 2009, 18(4): 421-427.
- [8] 宓国强, 练青平, 王雨辰, 等. 杂交鳊胚胎发育观察[J]. 浙江海洋学院学报: 自然科学报, 2009, 28(3): 264-269.

蕾期、展叶期、开花期和落叶期相对比较集中,持续 30 d 左右。具体情况见表 1。

表 1 安庆地区省沽油物候期

日期	萌动期	展叶期	现蕾期	开花期	果生长期	果熟脱落期	变色落叶期	休眠期
始期	02-15	03-12	03-16	04-06	04-23	08-05	10-20	11-24
末期	03-12	04-15	04-20	05-08	08-05	09-28	11-23	翌年 2 月中旬
时长//d	25	34	34	32	105	54	33	80~90

2.2 形态特征观测结果与分析 试验地 4 年生省沽油树皮青棕色,复叶为三小叶,对生,3 片小叶卵状披针形,边缘有细小锯齿。每 3~12 根主干枝条形成一簇,丛生,多从基部生长。每根主干枝条有 4~13 根结果枝条,每株省沽油结果枝条总量可达 40~45 根,枝条开展。平均株高达 148 cm,主干枝条平均地径为 1.9 cm,茎光滑无毛。当年生枝条可长至 42~76 cm,平均每 2 cm 枝长着生 1 个潜伏芽,则当年生枝条有潜伏芽 30 个左右。7 个性状中,每株主干枝条数和每根主干枝条上的结果枝条数这 2 个性状变化幅度大,差值为 9,超出平均值,其他性状变化依次为地径、株高、当年生枝条长度、皮色和叶形相差不大(表 2)。由此可以看出要选育高产优良省沽油苗木,首先要考虑的因素是每株主干枝条数和每根主干枝条上的结果枝条数,再从地径、株高、年生长量等其他因素着手。

表 2 安庆地区 4 年生省沽油形态特征

项目	主干枝条	结果枝条	株高	地径	当年生枝条
	数//根	数//根	cm	cm	长度//cm
最小值	3	4	72	1.1	42
最大值	12	13	176	2.8	76
差值	9	9	104	1.7	34
平均值	6	7	148	1.9	58

3 结论与讨论

3.1 安庆地区省沽油的物候期 安庆地区省沽油 3 月中旬开始现蕾,4 月初进入开花期,4 月底~8 月上旬结果,果实生长期,8 月上旬~9 月下旬果实成熟脱落。10 月下旬叶片变浅黄色,并开始脱落,到 11 月下旬植株叶片全部枯黄落地。随后枝干进入休眠期。其中果生长期和休眠期最长,其次为果熟脱落期,而萌动期、现蕾期、展叶期、开花期和落叶期相

对比较集中。

3.2 4 年生省沽油形态特征 安庆地区 4 年生省沽油平均株高达 148 cm,主干枝条平均地径为 1.9 cm,每 3~12 根主干枝条形成一簇,丛生,多从基部生长。每根主干枝条有 4~13 根结果枝条,每株省沽油结果枝条总量可达 40~45 根。当年生枝条可长至 42~76 cm,平均每 2 cm 枝长着生 1 个潜伏芽则当年生枝条有潜伏芽 30 个左右。

3.3 沿江丘陵坡地可栽培省沽油 省沽油从栽种到开花结实一般为 4~5 年,树高 1.5 m 以上,圆锥花序顶生直立,花期 4~5 月,蒴果膀胱状,种子椭圆形而扁,果熟期 8~9 月,主根发达,喜生长在疏松、通透性良好的砂壤土或壤土,在通透性差、排水不良、易板结的粘土上生长较差。省沽油对气候等自然条件要求不严格,适应性强,易管理,沿江丘陵坡地可栽培。

3.4 优质苗木的选择 培育优质苗木时首先要考虑的因素是每株主干枝条数和每根主干枝条上的结果枝条数,再从地径、株高、年生长量等其他因素着手;栽培养护时应遵循省沽油年生长发育规律,合理施用基肥和初叶期叶面肥^[4-5],科学管理,确保高产稳产。

参考文献

- [1] 张兴军,蔡明历,洪小平. 大别山省沽油形态特征与生态特性初步调查[J]. 湖北农业科学,1996(6):58-61.
- [2] 刘正祥,张华新,刘涛. 省沽油生物学特性研究[J]. 林业科学研究,2007,20(5):705-709.
- [3] 毛多斌,贾春晓,金保全,等. 省沽油种子油中脂肪酸的 GC-MS 分析[J]. 中国油脂,2004,29(3):64-66.
- [4] 余祖文,肖满开,毕璋友,等. 不同基肥对省沽油生物学性状及产量的影响[J]. 安徽农业科学,2010,38(6):2846-2884.
- [5] 陈再高,毕璋友,胡忠东,等. 省沽油喷施不同叶面肥的产量和效益研究[J]. 安徽农业科学,2010,38(6):2847-2848.

(上接第 1546 页)

- [9] 刘毅辉,陈永乐,朱新平,等. 翘嘴鳊、斑鳊及其杂交后代的胚胎和胚后发育比较[J]. 大连海洋大学学报,2012,27(1):6-11.
- [10] 吴立新,邹波. 碧流河水库斑鳊胚胎发育的形态观察[J]. 水产科学,1993,12(9):5-8.
- [11] 王丹,李文宽,闫有利,等. 鸭绿江斑鳊胚胎及胚后发育观察[J]. 大连水产学院学报,2007,22(6):415-420.
- [12] 曾可为,王青云,高银爱,等. 斑鳊的生物学及繁殖生物学研究[J]. 内陆水产,2005(2):21-23.

- [13] 蒋一珪. 梁子湖鳊鱼的生物学[J]. 水生生物学集刊,1959(3):375-385.
- [14] 郑润泉,丁桂枝,黄涵生,等. 鳊鱼胚胎发育的观察[J]. 江西水产科技,1994(3):21-24.
- [15] 吴雪峰,赵金良,钱叶洲,等. 鳊鱼消化系统器官发生的组织学[J]. 动物学研究,2007,28(5):511-518.
- [16] 张磊,樊启学,方巍,等. 微水流培养条件下斑鳊仔鱼的摄食与生长[J]. 水生生物学报,2009,33(6):1152-1159.