

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*

陈超^{2①} 孔祥迪^{1,2} 李炎璐² 宋振鑫^{1,2} 贾瑞锦^{1,2}
于欢欢^{1,2} 翟介明³ 马文辉³ 庞尊方³ 刘江春³

(1. 上海海洋大学水产与生命学院 上海 201306; 2. 农业部海洋渔业可持续发展重点实验室
中国水产科学研究院黄海水产研究所 青岛 266071; 3. 莱州明波水产有限公司 烟台 261418)

摘要 本研究阐述了棕点石斑鱼(♀)×鞍带石斑鱼(♂)杂交子代(简称珍珠龙胆石斑鱼)的胚胎发育和仔稚幼鱼形态发育的特征及其养殖过程中的一些难点、要点, 以期为今后苗种的规模化培育生产提供参考依据。通过对珍珠龙胆石斑鱼各个发育期连续取样, 系统观察并记录各发育期的形态变化及生长特征。结果表明, 1) 在水温 27–28℃ 条件下, 历时 25 h 25 min 孵化出膜, 整个发育过程划分为卵裂期、囊胚期、原肠胚期、神经胚期和器官形成期。2) 在水温(27.0±0.5)℃、盐度 30、pH 8 的培育条件下, 根据卵黄囊、第二背鳍棘和腹鳍棘的生长与伸缩及鳞片、体色的变化将胚后发育分为仔鱼、稚鱼、幼鱼 3 个时期。仔鱼期根据卵黄囊的有无分为前期仔鱼和后期仔鱼。初孵至孵化后 4 d 为前期仔鱼; 孵化后 5 d, 仔鱼卵黄囊完全消失, 成为后期仔鱼; 孵化后 32 d, 50% 的仔鱼进入稚鱼期; 孵化后 46 d, 50% 的稚鱼完成变态, 成为幼鱼。初孵仔鱼的全长平均为(1.65±0.11) mm, 发育至 70 d 时, 幼鱼平均全长已达(75.47±0.19) mm。跟踪观察的结果发现, 珍珠龙胆石斑鱼作为杂交子代, 从受精到发育的各阶段均能健康正常地生长发育, 且生长快速、抗病力强, 具有“虎斑头、龙胆尾”的外型, 具有明显的杂交优势。

关键词 棕点石斑鱼(♀)×鞍带石斑鱼(♂); 胚胎发育; 仔、稚、幼鱼; 形态发育

中图分类号 S963 **文献标识码** A **文章编号** 1000-7075(2014)05-0135-10

棕点石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus*)和鞍带石斑鱼(*Epinephelus lanceolatus*)同属于鲈形目(Perciformes)、鲷科(Serranidae)、石斑鱼亚科(Epinephelinae)、石斑鱼属(王永波等, 2011; 董杨等, 2010)。棕点石斑鱼俗称老虎斑, 其生长速度较鞍带石斑鱼等大型石斑鱼慢, 饲养时间长, 但是抗病能力强, 是我国南部沿海石斑鱼养殖的优良品种(林彬等, 2010); 鞍带石斑鱼又称龙胆石斑鱼, 是体型最大的石斑鱼类之一, 其生长速度快、肉质鲜美, 具有较高的食用和观赏价

值(郭仁湘等, 2011)。2008年, 我国台湾晟名水产公司使用棕点石斑鱼作为母本(♀)、鞍带石斑鱼作为父本(♂)进行杂交, 成功培育出石斑鱼新品种, 取名为珍珠龙胆石斑鱼。目前, 马来西亚、我国大陆等地区在珍珠龙胆石斑鱼苗种培育方面均已取得成功。

珍珠龙胆石斑鱼肉质鲜嫩、生长快速、抗病力强, 具有明显的杂交优势; 此外, 其具有“虎斑头、龙胆尾”的外型, 体侧花纹是两种亲本的综合, 也可作为观赏鱼, 由于其较高的食用、观赏等价值, 养殖和消

* 科技部国际合作项目(2012DFA30360)和国家科技支撑项目(2011BAD13B01)共同资助。孔祥迪, E-mail: xiangdikong@163.com

通讯作者: 陈超, 研究员, E-mail: ysfriichenchao@126.com

收稿日期: 2014-05-06, 收修改稿日期: 2014-06-24

费市场前景非常广阔(李样红等, 2013; 符书源等, 2011)¹⁾。珍珠龙胆石斑鱼作为一种杂交新品种, 养殖史还很短, 各方面的研究几乎都处于空白期, 苗种培育难度大。目前, 亲本选育和鱼苗培育是制约其养殖发展的两大瓶颈。本研究阐述了在人工育苗条件下珍珠龙胆石斑鱼的胚胎发育和仔稚幼鱼形态发育的特征及其养殖过程中的一些难点、要点, 以期为今后苗种的规模化培育生产提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 受精卵的获取及孵化

实验于 2013 年 5-7 月在山东莱州明波水产有限公司进行。使用人绒毛膜促性腺激素(HCG)对亲鱼池中的亲鱼(棕点石斑鱼: 4 年龄, 平均体质量 15 kg、体长 50 cm; 鞍带石斑鱼: 7 年龄, 平均体质量 75 kg, 体长 150 cm)进行催产, 剂量为 1000-2000 IU/kg, 在背部肌肉一次性注射, 雄鱼注射剂量为雌鱼的 1/2。48 h 后取成熟度较好的亲鱼, 以雌 雄为 3-5 1 收集精、卵, 进行人工授精。受精卵放于消过毒的塑料桶中, 加入过滤海水, 5 min 后将上浮卵置于孵化桶中的圆柱形 80 目筛绢网中, 水温 27-28℃、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, 用手抄网收集后放入盐度为 35 的海水中, 静置 5-10 min 后取上浮卵, 经 50 mg/L 的聚维酮碘消毒 10 min, 移入 7 m×6 m×1.5 m 的长方形水泥培育池中。培育水温(27±0.5)℃, DO 5 mg/L。

放卵后的第 3 天, 开始向池中添加小球藻(*Chlorella pyrenoidosa*), 开口饵料选择牡蛎(*Ostrea gigas* Thunberg)卵和小轮虫(*Rotatoria*), 其后根据发育情况, 依次投喂 S 型轮虫、L 型轮虫、桡足类、卤虫(*Brine Shrimp*)无节幼体、鲜鱼虾肉糜及配合饲料。前 6 d 不换水, 每天添加少量新鲜海水, 并需根据水色适量补充小球藻(停止投喂轮虫时, 不再补充藻液)。6 d 后开始换水, 换水量和充气量逐渐增大, 采取流水培育。

1.3 取样和观察

在孵化桶中连续多次用烧杯取适量受精卵进行胚胎发育观察。利用 Nikon E200 显微镜对胚胎发育

过程进行连续观察并用 CCD 拍照, 详细记录各个发育时期的形态特征和发育时间。

从初孵仔鱼开始, 每天从固定的培育池中随机取生长状况良好的样品, 每次 15 尾, 详细记录仔稚幼鱼不同发育时期的形态特征和发育情况。1-20 d 的仔鱼在 Nikon E200 显微镜下观察和拍摄, 21-40 d 的仔稚鱼在 Olympus 解剖镜下观察和拍摄, 41 d 后的稚幼鱼直接用数码相机微距拍摄。测量的生长指标包括全长、体高、肛前距、卵黄囊长径、卵黄囊短径、油球直径、第二背鳍棘长、腹鳍棘长。数据以平均值±标准差表示。

卵黄囊容积计算公式: $V = 1/6\pi LH^2 - 1/6\pi d^3$ 或 $V = 1/6\pi LH^2 - 1/6\pi lh^2$

油球容积计算公式: $V = 1/6\pi d^3$ 或 $V = 1/6\pi lh^2$

式中, L 为卵黄囊长径(mm), H 为卵黄囊短径(mm), d 为油球直径(mm), l 为油球长径(mm), h 为油球短径(mm)(施兆鸿等, 2011)。

2 结果与分析

2.1 胚胎发育

珍珠龙胆石斑鱼受精卵无色、透明、圆球形。卵粒大小均匀, 卵径平均为(0.86±0.03) mm; 中央有 1 个油球, 油球直径平均为(0.23±0.04) mm。在水温 27-28℃、盐度 30 的海水中, 受精卵历时 25 h 25 min 完成整个胚胎发育过程, 进入胚后发育。胚胎发育过程及各阶段主要特征见表 1。

2.1.1 卵裂期 珍珠龙胆石斑鱼胚胎的卵裂方式和其他石斑鱼一样, 同属于盘状卵裂。受精后 35 min 胚盘于动物极开始隆起(图 1-2), 并渐渐向两边拉伸, 在胚盘顶部中央出现一条纵裂沟, 受精后 50 min, 发生第 1 次卵裂, 进入 2 细胞期(图 1-3); 受精后 1 h 时, 完成第 2 次卵裂, 进入 4 细胞期, 分裂面与第 1 次的垂直(图 1-4); 随后细胞不断发生等级分裂, 数目呈几何式增长, 依次经历 2×4 型 8 细胞期、4×4 型 16 细胞期、排列不规则 32 细胞、64 细胞、多细胞期, 胚体变为重叠的多层(图 1-5-图 1-9); 随着分裂次数的增加, 细胞数目不断增多, 细胞体积变得更小, 细胞之间的分界模糊, 难以分辨, 整个细胞团呈现圆形, 形似桑椹, 于受精后 3 h 3 min 进入桑椹胚时期(图 1-10)。整个卵裂期经历了从受精卵至桑椹期共 10 个发育时期。

1) 符书源, 王永波, 郑飞, 等. 珍珠龙胆石斑鱼室外水泥池大水体设施化人工育苗技术. 2011 年中国水产学会学术年会论文摘要集, 2011: 136

表 1 珍珠龙胆石斑鱼胚胎发育过程
Tab.1 Embryonic development of *Epinephelus fuscoguttatus*(♀) × *E. lanceolatus*(♂)

发育阶段 Developmental stage	受精后时间 Time after fertilization	胚胎发育时期 Stage of embryonic development	主要发育特征 Developmental characteristics
受精卵阶段 Fertilized egg	0	受精卵 Fertilized egg	圆球形, 具油球 1 个(图 1-1)
卵裂期 Cleavage period	0 h 35 min	胚盘形成 Blastodisc formation	胚盘形成, 侧面观可见胚盘如帽状(图 1-2)
	0 h 50 min	2 细胞期 2-cell stage	第 1 次分裂, 形成 2 个对等细胞(图 1-3)
	1 h 0 min	4 细胞期 4-cell stage	第 2 次分裂, 形成 4 个对等细胞(图 1-4)
	1 h 20 min	8 细胞期 8-cell stage	第 3 次分裂, 分裂形成 8 细胞(图 1-5)
	1 h 35 min	16 细胞期 16-cell stage	第 4 次分裂, 分裂形成 16 细胞(图 1-6)
	1 h 43 min	32 细胞期 32-cell stage	第 5 次分裂, 形成 32 细胞(图 1-7)
	1 h 50 min	64 细胞期 64-cell stage	分裂面紊乱, 受精卵分裂为 64 细胞(图 1-8)
	2 h 8 min	多细胞期 Multi-cell stage	持续分裂, 细胞变小, 数量增多(图 1-9)
	3 h 3 min	桑椹期 Morula	细胞团分层堆积, 外观形似桑椹(图 1-10)
囊胚期 Blastula period	3 h 33 min	高囊胚期 High blastula	囊胚高而集中, 侧面观呈高帽状(图 1-11)
	5 h 22 min	低囊胚期 Low blastula	囊胚变低, 细胞开始向植物极下包(图 1-12)
原肠期 Gastrula period	6 h 14 min	原肠早期 Early gastrula	背面可见胚环, 侧面可见胚盾形成(图 1-13)
	7 h 48 min	原肠中期 Middle gastrula	胚层下包卵黄 1/2(图 1-14)
	9 h 3 min	原肠末期 Late gastrula	胚层下包卵黄 3/4, 胚盾变细长(图 1-15)
神经胚期 Neurula period	9 h 53 min	胚体形成期 Embryo body stage	胚体形成, 轮廓清晰(图 1-16)
	10 h 43 min	胚孔封闭期 Closure of blastopore	胚层下包, 胚孔完全封闭(图 1-17)
器官形成 Organogenesis	11 h 28 min	视囊形成期 Optic capsule stage	胚体头部出现一对视囊(图 1-18)
	12 h 28 min	肌节出现期 Muscle burl stage	胚体中部出现肌节(图 1-19)
	13 h 26 min	听囊形成期 Otocyst stage	头部视囊靠后位置出现一对听囊(图 1-20)
	15 h 11 min	脑泡形成期 Brain vesicle stage	两视囊中间位置出现脑泡(图 1-21)
	16 h 41 min	心脏形成期 Heart formation	心脏形成, 轮廓清晰(图 1-22)
	19 h 32 min	尾芽期 Tail-bud stage	胚体尾部开始与卵黄囊分离(图 1-23)
	20 h 32 min	晶体形成期 Crystal stage	晶体轮廓清晰, 胚体开始无规则颤动(图 1-24)
	21 h 33 min	心脏跳动期 Heart-beating stage	心脏轻微跳动, 后逐渐稳定(图 1-25)
孵化期 Hatching period	24 h 9 min	将孵期 Pre-hatching stage	胚体剧烈抖动(图 1-26)
	24 h 59 min	孵化期 Hatching stage	胚体头部破膜而出(图 1-27)
	25 h 25 min	初孵仔鱼 Newly-hatched larvae	整个胚体孵化出膜(图 1-28)

2.1.2 囊胚期 随着细胞分裂的进行, 细胞数量和层数显著增多, 受精后 3 h 33 min 左右, 胚盘与卵黄之间形成囊胚腔, 囊胚中部向上隆起, 似高帽, 进入高囊胚期(图 1-11); 此后囊胚逐渐变低, 于受精后 5 h 22 min, 其突起部分降到最低, 胚盘扁平, 进入低囊胚期(图 1-12)。

2.1.3 原肠胚 细胞分裂持续进行, 囊胚边缘的细胞逐渐由动物极向植物极方向延伸、下包。受精后 6 h 14 min, 胚层下包卵黄至 1/4 处, 侧观胚层顶端可见新月形胚盾, 背观可见胚环, 此为原肠早期(图 1-13); 受精后 7 h 48 min, 胚层下包至卵黄的 1/2, 胚环居中, 进入原肠中期(图 1-14); 受精后 9 h 3 min, 胚层下包卵黄 3/4 处, 胚胎发育至原肠末期, 此时胚

盾细长, 前端较大(图 1-15)。

2.1.4 神经胚 受精后 9 h 53 min, 胚体的背面厚度增加, 形成神经板, 中央出现一条圆柱形脊索, 胚体轮廓逐渐清晰可见, 进入胚体形成期(图 1-16); 胚环继续下包, 于植物极的顶端处渐渐收缩成一个小的胚孔, 受精后 10 h 43 min, 胚层下包整个胚胎, 胚孔完全封闭(图 1-17)。

2.1.5 器官形成期 胚孔封闭后, 在胚体头部前端两侧形成两个突起, 为眼原基, 受精后 11 h 28 min, 视囊形成, 胚胎发育进入视囊形成期(图 1-18); 受精后 12 h 28 min, 胚体中部两侧出现多对体节, 为肌节原基, 视囊轮廓更加清晰, 进入肌节出现期(图 1-19); 受精后 13 h 26 min, 胚体头部视囊后方出现一对听

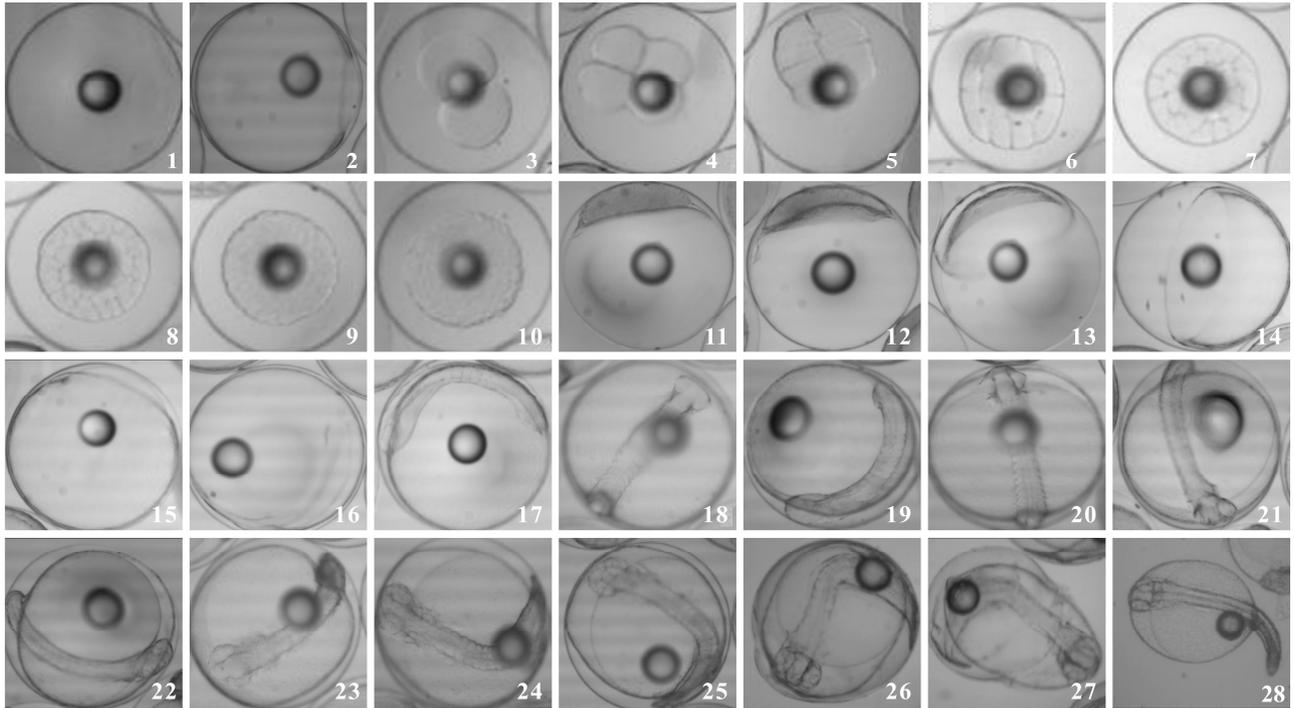


图1 珍珠龙胆石斑鱼胚胎发育过程

Fig.1 Embryonic development of *Epinephelus fuscoguttatus*(♀) × *E. lanceolatus*(♂)

1. 受精卵; 2. 胎盘形成期; 3. 2 细胞期; 4. 4 细胞期; 5. 8 细胞期; 6. 16 细胞期; 7. 32 细胞期; 8. 64 细胞期; 9. 多细胞期; 10. 桑椹期; 11. 高囊胚; 12. 低囊胚; 13. 原肠早期; 14. 原肠中期; 15. 原肠末期; 16. 胚体形成期; 17. 胚孔封闭期; 18. 视囊形成期; 19. 肌节出现期; 20. 听囊形成期; 21. 脑泡形成期; 22. 心脏形成期; 23. 尾芽期; 24. 晶体形成期; 25. 心脏跳动期; 26. 将孵期; 27. 孵化期; 28. 初孵仔鱼

1. Fertilized egg; 2. Blastodisc formation; 3. 2-cell stage; 4. 4-cell stage; 5. 8-cell stage; 6. 16-cell stage; 7. 32-cell stage; 8. 64-cell stage; 9. Multi-cell stage; 10. Morula stage; 11. High blastula stage; 12. Low blastula stage; 13. Early gastrula stage; 14. Middle gastrula stage; 15. Late gastrula stage; 16. Embryo body stage; 17. Closure of blastopore stage; 18. Optic capsule stage; 19. Muscle burl stage; 20. Otocyst stage; 21. Brain vesicle stage; 22. Tail-bud stage; 23. Crystal stage; 24. Crystal stage; 25. Heart-beating stage; 26. Hatching stage; 27. Pre-hatching stage; 28. Newly-hatched larvae

囊,肌节增多,分界明显,此时为听囊形成期(图 1-20);受精后 15 h 11 min,在胚体头部视囊之间形成椭圆形板状脑泡,脑泡尚未分室,肌节数量仍在增加,胚体进入脑泡形成期(图 1-21);受精后 16 h 41 min,心脏形成,脊索中可清晰地观察到神经管,胚胎发育进入心脏形成期(图 1-22);受精后 19 h 32 min,胚体尾部开始与卵黄囊分离,形成尾芽,胚体背腹面逐渐形成鳍褶,胚体发育至尾芽期(图 1-23);受精后 20 h 32 min,视囊内形成折光性强的透明状晶体,听囊内可见折光性强的透明状耳石,同时胚体开始无规则颤动,此时为晶体形成期(图 1-24);受精后 21 h 33 min,心脏开始间歇性跳动,后逐渐稳定,72-80 次/min,胚体进入心脏跳动期(图 1-25)。

2.1.6 孵化阶段 受精后 24 h 9 min,胚体抖动剧烈、频繁、有力,胚体发育至将孵期(图 1-26);受精后 24 h 59 min 进入孵化期,此时部分仔鱼开始出膜,

胚体头部先破膜而出,尾部仍在膜内不断摆动(图 1-27);受精后 25 h 25 min,已有超过半数仔鱼孵出,仔鱼腹部可见一个大的椭圆形卵黄囊,油球 1 个,位于卵黄囊后端,初孵仔鱼头部朝下(图 1-28)。

2.2 仔稚幼鱼的形态发育

参照国内外硬骨鱼类生活史及石斑鱼生长发育时期的划分方法(邹记兴等,2003a;刘冬娥等,2008),根据实验过程中珍珠龙胆石斑鱼卵黄囊、第二背鳍棘和腹鳍棘伸缩、鳞片、体色等形态生理变化,将其胚后生长分为前期仔鱼期、后期仔鱼期、稚鱼期和幼鱼期。各时期的生长指标见表 2。

2.2.1 前期仔鱼(初孵至卵黄囊完全消失) 初孵仔鱼的上端可见一条细长、略弯曲的脊索,背部、腹部、尾部出现透明状鳍褶;身体透明,体表布有少量黑色素,平均全长 1.65 mm,卵黄囊位于鱼体前端,具油

表 2 珍珠龙胆石斑鱼各发育阶段的生长指标
Tab.2 The pattern of developmental stage of *Epinephelus fuscoguttatus*(♀) × *E. lanceolatus*(♂)

发育阶段 Developmental stage	天数 Days	全长 Total length (mm)	体高 Withers height (mm)	第二背鳍 Second dorsal fin spine (mm)	腹鳍 Pelvic fin spine (mm)	口裂 Oral fissure (mm)
前期仔鱼 Prelarva	初孵 Newly-hatched	1.65±0.11	0.50±0.03			
	1	2.36±0.11	0.45±0.06			
	2	2.46±0.07	0.38±0.03			
	3	2.46±0.09	0.35±0.06			
	4	2.78±0.12	0.45±0.03			0.19±0.01
后期仔鱼 Postlarva	5	2.97±0.21	0.49±0.06			0.20±0.02
	7	3.75±0.36	0.70±0.12			0.27±0.03
	8	3.80±0.36	0.73±0.09	0.26±0.04	0.36±0.03	0.30±0.02
	9	4.71±0.53	0.97±0.17	1.12±0.62	1.23±0.64	0.35±0.02
	10	4.36±0.38	1.10±0.14	1.49±0.37	1.24±0.36	0.39±0.03
	12	5.05±0.44	1.21±0.20	1.77±0.47	1.53±0.52	0.40±0.07
	15	6.01±0.50	1.48±0.17	2.66±0.47	2.15±0.31	0.47±0.03
	18	9.43±1.58	2.46±0.43	4.43±0.65	3.84±0.46	1.03±0.18
	21	10.18±0.18	2.74±0.04	4.92±0.15	4.05±0.15	1.23±0.05
	25	11.12±0.49	2.80±0.14	4.82±0.20	4.20±0.15	1.44±0.01
	29	13.61±0.90	3.39±0.27	5.14±0.27	4.29±0.17	1.57±0.14
	31	14.75±0.35	3.56±0.12	5.21±0.16	4.43±0.20	1.67±0.06
稚鱼期 Juvenile fish	32	15.11±0.47	3.80±0.36	5.15±0.11	4.38±0.17	1.72±0.12
	35	16.71±0.91	4.49±0.22	5.00±0.33	4.21±0.22	1.78±0.06
	39	22.61±0.57	5.99±0.98	4.55±0.34	4.06±0.19	2.09±0.27
	43	32.30±3.42	11.16±0.71	4.00±0.43	3.92±0.63	3.30±0.80
	45	35.76±0.57	11.16±0.83	3.67±0.42	3.85±0.29	3.35±0.31
幼鱼期 Young fish	46	37.46±1.45	11.38±0.63	3.80±0.19	4.16±0.13	3.37±0.12
	50	40.33±0.36	11.83±1.33	4.02±0.09	4.36±0.17	3.85±0.73
	55	55.34±0.40	16.62±0.40	4.61±0.17	5.65±0.45	5.75±0.55
	60	60.27±0.13	18.20±0.63	5.34±0.16	6.27±0.32	6.12±0.08
	70	75.47±0.19	22.18±0.26	6.75±0.24	7.90±0.25	8.15±0.11

球一个,位于卵黄囊后端。此时仔鱼无游泳能力,腹部朝下悬浮于水面上,尾部做间歇性颤动。

1 日龄仔鱼:平均全长(2.36±0.11) mm,身体透明,尾部中部黑色素略有增加;头部增大向前抬伸,渐渐脱离卵黄囊,脊索伸直,消化道开始膨大、变粗,肛门位于身体中下部;背、腹、尾部鳍褶显著增高,胸鳍基开始出现(图 2-1);此时仔鱼在池内分布均匀,悬浮于水面,偶尔做垂直水面或旋转性游动。

2 日龄仔鱼:身体略有增长,卵黄囊和油球明显缩小;身体透明,眼区周围、消化道上部出现淡黑色素;脊索已十分明显,且伸至尾鳍褶;尾鳍、背鳍、臀鳍褶连成一体,雏形已形成,胸鳍芽基出现(图 2-2);仔鱼游动能力还不强,长时间状态为头下尾上,倒悬于培育海水中,偶尔身体扭动,窜上窜下。

3 日龄仔鱼:体长略有起伏,卵黄囊和油球被消耗绝大部分;有的仔鱼开口,但无摄食能力,胃略有蠕动,肛门仍未通;肛门与尾部的中段处形成自下而上环抱脊索的黑色块,与眼区、消化道上部一起组成三点一线黑色素区域;仔鱼游动能力增强,可 S 形水平方向扭动。

4 日龄仔鱼:卵黄囊基本被吸收,留有残迹,油球部分可见(图 2-3);仔鱼全都开口,口裂径达(0.19±0.01) mm,下颌长于上颌并可自由开合,具摄食能力,消化管弯曲、褶皱明显,区分出直肠,肛门开口通向体外;胸鳍长出,可扇动,仔鱼水平游动能力进一步增强,分布于水的上层,多集群于遮荫处。

2.2.2 后期仔鱼(卵囊完全消失至鳞片出现) 5 日龄仔鱼:全长已达(2.97±0.21) mm,卵黄囊和油球已

表3 珍珠龙胆石斑鱼卵黄囊和油球的吸收
Tab.3 Yolk sac and oil absorption of *Epinephelus fuscoguttatus*(♀) × *E. lanceolatus*(♂)

天数 Days	全长 Total length (mm)	卵黄囊长径 Long diameter of yolk sac (mm)	卵黄囊短径 Short diameter of yolk sac (mm)	油球直径 Diameter of oil globule (mm)	卵黄囊容积 Volume of yolk sac (mm ³)	油球容积 Volume of oil globule (mm ³)
0	1.65±0.11	0.93±0.04	0.65±0.03	0.20±0.12	0.201±0.223	0.0043±0.001
1	2.36±0.11	0.51±0.04	0.31±0.06	0.16±0.03	0.024±0.075	0.0021±0.021
2	2.46±0.07	0.26±0.05	0.18±0.03	0.10±0.02	0.004±0.003	0.0005±0.001
3	2.46±0.09	0.063±0.06	0.046±0.04	0.063±0.03	0.001±0.001	0.0001±0.004
4	2.78±0.12	—	—	0.035±0.02	—	—

完全消失,口径最大(0.21±0.02) mm,摄食小轮虫情况良好;鳃盖骨形成,背鳍褶变得窄平,尾鳍骨下方黑色素呈放射状,仔鱼开始逐渐向池角、池边海水的中上层集群。

6-9日龄仔鱼:6、7日龄仔鱼,背鳍棘和腹鳍棘原基、芽形成发育,背鳍棘原基芽发育较慢(图2-4);8日龄仔鱼,第二背鳍棘和第一腹鳍棘开始长出,此时腹鳍棘较第二背鳍棘长(图2-5),9日龄,第二背鳍棘和腹鳍棘长度分别为(1.12±0.62) mm和(1.23±0.64) mm;此期间,尾鳍出现鳍条原基,和胸鳍原基一样呈扇状,可以摆动,仔鱼的游动速度显著提高,在池角或流水管附近常见黑色鱼群团。

10-15日龄仔鱼:第10日龄仔鱼,全长(4.36±0.38) mm,第二背鳍棘增长至(1.49±0.37) mm,腹鳍棘增至(1.24±0.36) mm,此后,第二背鳍棘绝对长度和增长速度均已超过腹鳍棘;背鳍棘和腹鳍棘末端黑色素增多,鳍棘上开始出现倒钩状锯齿状尖刺(图2-6);鱼体头部和肛门后方的鳍膜逐渐消失,鳃盖骨分化明显,尾鳍进一步发育,尾椎骨逐渐向上弯曲。

18日仔鱼:生长速度加快,全长(9.43±1.58) mm;第二背鳍棘和腹鳍棘显著增长,背鳍棘长(4.43±0.65) mm,腹鳍棘长(3.84±0.46) mm。第三背鳍棘已长出,第一背鳍原基也已形成,第二背鳍棘和腹鳍棘上倒钩小刺数目显著增多;仔鱼的胃呈横置的梨状,颜色较深,鱼鳔颜色较淡。

19-25日龄仔鱼:全长、鳍棘平稳增长,口裂显著增大,25日龄时已达(1.44±0.01) mm;第三、第四背鳍棘长出,其他背鳍棘原基也逐渐出现,尾鳍和胸鳍进一步发育,鳍条更加明显,臀鳍开始长出第一条鳍条;体侧的黑色素斑增多,鳃盖骨呈弧形,反光不再透明(图2-8);仔鱼向池子中下层过渡,随水流分散游动。

31日龄仔鱼:31日龄仔鱼的第一背鳍和第二背鳍愈合,第二背鳍棘长(5.21±0.16) mm,腹鳍第一棘长(4.43±0.20) mm,其相对长度都达到了珍珠龙胆石斑鱼仔、稚、幼鱼阶段的最大值;仔鱼体表色素扩展,

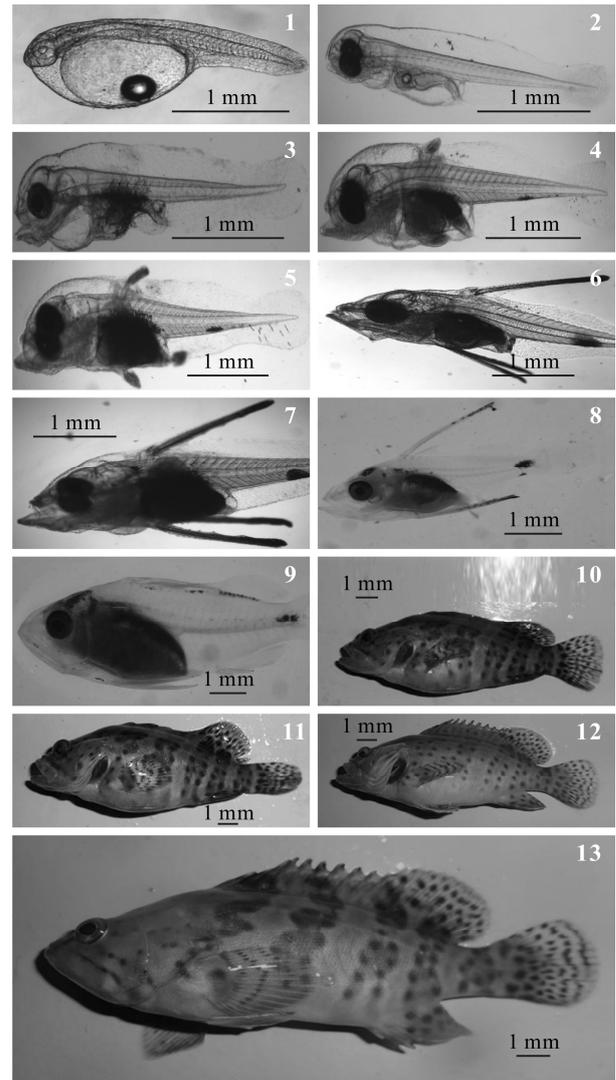


图2 珍珠龙胆石斑鱼仔、稚、幼鱼
Fig.2 larva, juvenile and young fish of
Epinephelus fuscoguttatus(♀) × *E. lanceolatus*(♂)

1. 1日龄仔鱼; 2. 2日龄仔鱼; 3. 4日龄仔鱼; 4. 7日龄仔鱼; 5. 8日龄仔鱼; 6. 12日龄仔鱼; 7. 16日龄仔鱼; 8. 24日龄仔鱼; 9. 28日龄仔鱼; 10. 35日龄稚鱼; 11. 40日龄稚鱼; 12. 55日龄幼鱼; 13. 70日龄幼鱼

1. 1 d larvae; 2. 2 d larvae; 3. 4 d larvae; 4. 7 d larvae; 5. 8 d larvae; 6. 12 d larvae; 7. 16 d larvae; 8. 24 d larvae; 9. 28 d larvae; 10. 35 d juvenile; 11. 40 d juvenile; 12. 55 d young fish; 13. 70 d young fish

逐步加深, 头部发育完善, 无透明度, 各鳍发育基本完成, 体型已似稚鱼。

2.2.3 稚鱼期 稚鱼的第二背鳍棘和腹鳍棘自其尖端部开始消融, 其长度逐渐减小, 鳍棘上的小刺数目也急剧减少至完全消失, 鳞片开始出现直至覆盖全身。

32 日龄稚鱼: 第二背鳍棘和腹鳍棘开始收缩, 长度分别为(5.15±0.16) mm 和(4.38±0.20) mm, 同时鳍棘上的小刺也逐渐收回, 其数量急剧变少; 用镊子轻轻刮背鳍的两侧, 放在显微镜下可观察到银白色的片状物, 即鳞片。

35-45 日龄稚鱼: 稚鱼生长加速, 形态发育变化程度较大, 全长和口裂迅速达到(35.76±0.91) mm 和(3.35±0.06) mm; 第二背鳍棘和腹鳍棘收缩十分明显, 且背鳍棘的收缩程度大于腹鳍棘, 45 日龄时达到绝对长度最小值, 第二背鳍棘长度小于腹鳍棘, 分别为(3.67±0.42) mm 和(3.85±0.29) mm; 背鳍基部的两侧斑点向身体两侧蔓延扩展, 连接形成条纹斑带, 颜色也逐步加深, 鳞片也逐步扩散至全身, 体态特征已与幼鱼相似(图 2-10、图 2-11); 这时期的鱼苗分布于池中下层, 常聚集于荫蔽区, 投喂卤虫或桡足类饵料后, 可分散游动摄食。

2.2.4 幼鱼期 第二背鳍棘和腹鳍棘绝对长度收缩到最小值后开始恢复生长, 鳍棘上的小刺消失, 变得平滑, 鳞片长齐, 即开始进入幼鱼阶段。

46 日龄幼鱼: 进入幼鱼阶段, 第二背鳍棘和腹鳍棘开始恢复生长, 长度分别为(3.80±0.19) mm 和(4.16±0.63) mm, 此后腹鳍棘的生长速度一直快于第二背鳍棘, 3 根鳍棘条上小刺消失, 变得平滑并紧贴其他鳍条; 鳞片已经长齐, 侧线明显, 体表黏液增多, 黑褐色及淡黄色斑带条纹相间环绕体侧。

50-70 日龄幼鱼: 生长平稳快速, 第二背鳍棘和

腹鳍棘也继续生长, 平均全长由(40.33±0.36) mm 增加到(75.47±0.19) mm, 口裂径也从(3.85±0.73) mm 增至(8.15±0.11) mm, 可以摄食鲜鱼、虾肉糜及配合饲料; 各器官完成发育, 其形态特征和生活习性均已与成鱼相似(图 2-12、图 2-13); 此时期的幼鱼多聚集于池子底部的遮蔽物中, 固定地点投喂时, 出现集体抢食现象。

2.3 仔稚幼鱼的生长特征

2.3.1 全长、体高及肛前距变化 全长、体高和肛前距的变化比对用图 3、图 4 表示。通过分析发现, 珍珠龙胆石斑鱼鱼苗全长和体高、肛前距的变化规律相对一致。前期仔鱼阶段, 体高、肛前距与全长的相对长度值出现下降且水平较低, 这可能由于卵黄囊的消耗、初孵仔鱼身体没有伸展开来引起测量误差而造成的, 此后随着生长, 其基本维持在 20%-30% 和 45%-55% 之间。

实验期间, 仔稚幼鱼的生长发生了 3 次重要变化: 1) 初孵至 1 日龄期间, 仔鱼全长明显增长, 此后至 8 日龄之间生长较为缓慢, 可能与内源营养与外源营养前期的不适应有关; 2) 8 日龄仔鱼, 出现第二背鳍棘和腹鳍棘, 此后至仔鱼后期阶段, 生长略有加快, 增速平稳, 各组织器官逐渐分化出现; 3) 自稚鱼期开始至幼鱼阶段, 生长迅速, 形态及各器官变化较大, 直至完成发育。

2.3.2 第二背鳍棘和腹鳍棘的变化 珍珠龙胆石斑鱼仔、稚、幼鱼发育过程中最显著的变化是第二背鳍棘和腹鳍棘的伸缩变化, 这一生长过程的动态数据如表 1 所示。在孵化后第 6、7 天, 第二背鳍棘和腹鳍棘形成原芽基, 第 8 天, 长出鳍棘, 起初是腹鳍棘较长一些, 但背鳍棘生长快; 第 10 天时, 第二背鳍棘

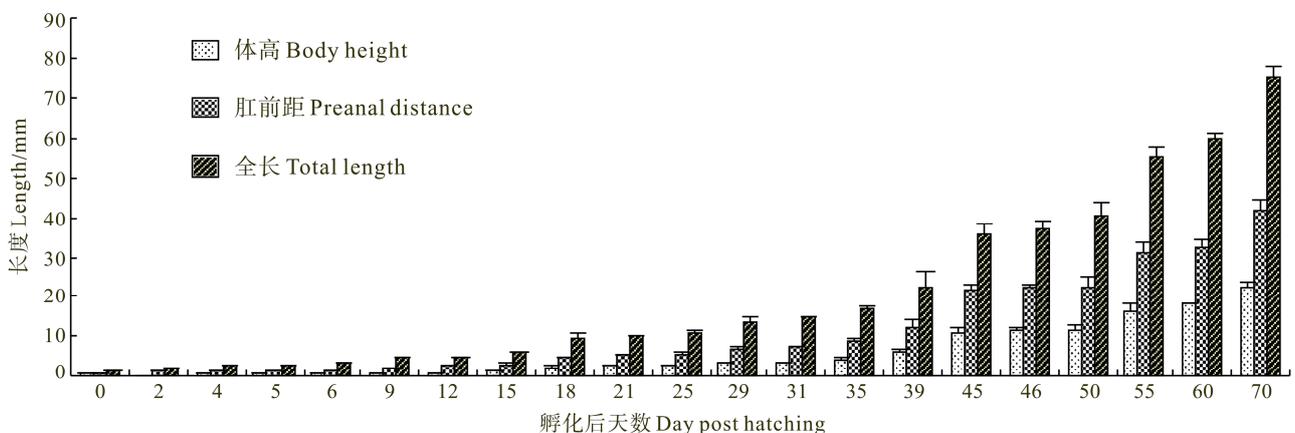


图 3 珍珠龙胆石斑鱼全长、体高及肛前距的长度变化

Fig.3 The total length, body height and preanal distance of *E. fuscoguttatus*(♀) × *E. lanceolatus*(♂)

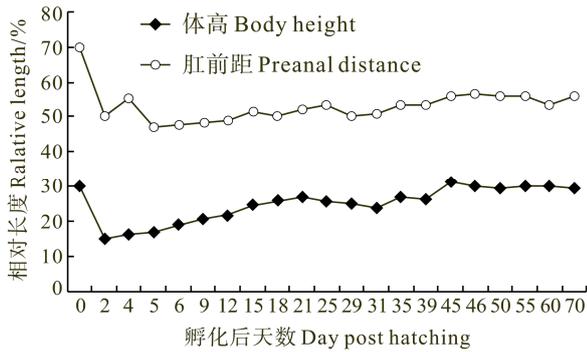


图4 珍珠龙胆石斑鱼体高、肛前距与全长的相对长度
Fig.4 The relative body height and preanal distance to the total length of *E. fuscoguttatus*(♀) × *E. lanceolatus*(♂)

长度开始超过腹鳍棘；此后，第二背鳍棘的绝对长度始终超过腹鳍第一棘；至第31天，达到其绝对长度的最大值，分别为 (5.21 ± 0.16) mm和 (4.43 ± 0.20) mm；此后，第二背鳍棘和腹鳍棘开始收缩，45日时达到最低点，分别为 (3.67 ± 0.42) mm和 (3.85 ± 0.29) mm；之后，两者又重新伸长，且腹鳍棘的长度一直超过第二

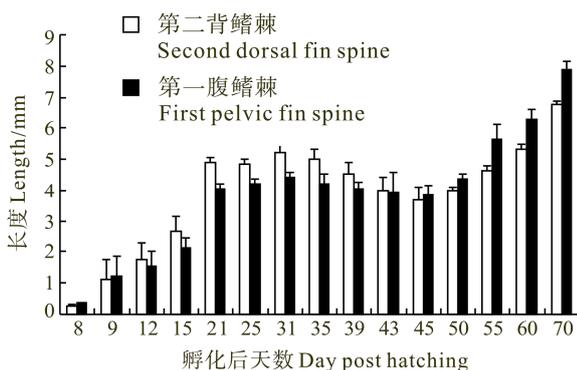


图5 珍珠龙胆石斑鱼第二背鳍棘和第一腹鳍棘长度
Fig.5 The length of the second dorsal fin spine and the first pelvic fin spine of *E. fuscoguttatus*(♀) × *E. lanceolatus*(♂)

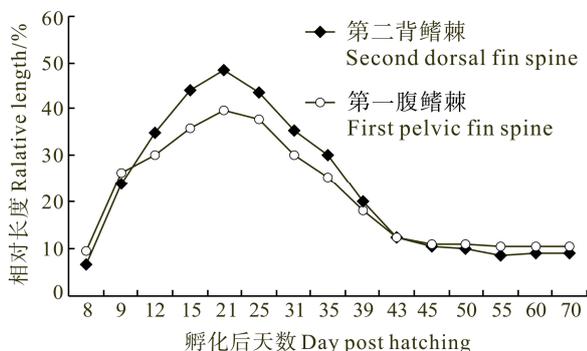


图6 珍珠龙胆石斑鱼第二背鳍棘和第一腹鳍棘与全长的相对长度

Fig.6 The relative length of the second dorsal fin spine and the first pelvic fin spine to the total length of *E. fuscoguttatus*(♀) × *E. lanceolatus*(♂)

背鳍棘，如图5所示。

第21天时，第二背鳍棘、第一腹鳍棘与全长的相对长度达到最大值，分别为48.33%、39.78%。此后，二者的相对长度均逐渐下降，发育至幼鱼时，第二背鳍棘、腹鳍棘与全长的相对长度基本保持在较为恒定的范围内，分别为8%–10%、10%–11%，如图6所示。

3 讨论

3.1 胚胎发育

珍珠龙胆石斑鱼属于杂交新品种。本研究观察、记录了胚胎发育过程中28个阶段的发育特征，发现其发育过程与亲本及其他种类石斑鱼大体相同。水温27–28℃条件下，从受精卵至孵化出膜共历时25 h 25 min。

不同实验中，石斑鱼的胚胎孵化时间差异很大，通过分析发现，这与温度有很大关系：鞍带石斑鱼在 (27.0 ± 0.5) ℃海水中，受精卵经过25 h 40 min完成整个胚胎发育(张海发等,2008)，在 (29.0 ± 0.5) ℃海水中，则需18 h 30 min(周玲等,2010)；陈超等(2011)在七带石斑鱼(*Epinephelus septemfasciatus*)研究中，水温 (20.5 ± 0.5) ℃，受精卵历时38 h 45 min孵化出膜。一定温度范围内，水温越高，胚胎发育所需时间越短，张海发等(2006)对斜带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)的研究发现，温度24℃时培育周期最长，为33.5 h，32℃时培育周期最短，为18.5 h。此外，盐度、光照和pH等对受精卵的孵化周期也有一定影响(邹记兴等,2003b)，但没有温度影响显著(宋振鑫等,2012)。

3.2 仔稚幼鱼的生长发育与生活习性

参照国内外对石斑鱼生长发育时期的普遍划分方式(邹记兴等,2003a；刘冬娥等,2008)，根据珍珠龙胆石斑鱼卵黄囊、鳞片、体色及第二背鳍棘和腹鳍棘的伸缩变化，将其胚后发育划分为前期仔鱼期、后期仔鱼期、稚鱼期以及幼鱼期。由仔、稚、幼鱼的生长数据(表2)及柱形图(图3、图5)可以看出，仔鱼的前期生长较为缓慢，可能是由于短期内还没有适应内源营养、混合营养及外源营养等几种营养方式的转化造成的(谢菁等,2009)；8日龄仔鱼，第二背鳍棘和腹鳍棘长出，此后至仔鱼后期阶段，开始第一次加速生长，此阶段鱼苗逐步适应摄食轮虫及大、小卤虫，且摄食状态良好；仔鱼的后期阶段，各鳍已基本发育成型，对富含不饱和脂肪酸的桡足类摄食能力大大提高，出现高速增长期，直至进入幼鱼阶段。

仔、稚、幼鱼期的划分，最重要的就是依据卵黄

囊的消退及第二背鳍棘、腹鳍棘的伸缩,这与其运动、生活习性有密切关系,对鱼苗的早期发育有着重要的生物学意义。初孵仔鱼,卵黄囊和油球较大,仔鱼浮于水面无游动能力,随着卵黄囊的消退及头部的发育,仔鱼头下尾上倒悬于水中;卵黄囊消失,仔鱼开口摄食,仔鱼运动能力加强,可做水平或旋转运动,开始趋集于弱光区;仔鱼后期,鳍条尤其是第二背鳍和腹鳍的发育,游泳能力进一步加强,仔鱼由池角、池边的弱光处聚集,逐渐过渡到分散活动于中上层荫蔽处,由于卤虫和桡足类常围绕在气池附近或顺着水流运动,此时第二背鳍棘和腹鳍棘自然张开呈三角锥形,可以在逆流中保持身躯稳定,大大增加摄食能力,此时也是鱼苗进入高速增长的时期;各鳍发育基本完成后,鱼苗逆水游动能力加强,渐渐转入中下水层,相对分散生活。稚鱼期至幼鱼期,背鳍棘和腹鳍棘的相对长度逐渐减小直至平稳,鱼苗生活于下层水,聚团于人工放置的遮蔽物中(图 7),投饵时迅速聚集抢食。



图 7 集群于遮蔽物的珍珠龙胆石斑鱼

Fig.7 Cluster of *E. fuscoguttatus*(♀) × *E. lanceolatus*(♂) in the shelter

3.3 仔稚幼鱼的饵料转换及管理策略

珍珠龙胆石斑鱼在 3-4 d 时开口,口径直径平均为 0.19 mm,开口饵料可以选择牡蛎受精卵和小轮虫混合,而其他类石斑鱼则口径较小,如褐点石斑鱼(白丽蓉 2008)和点带石斑鱼仔鱼的开口口径都不足 0.1 mm,开口饵料基本均选择牡蛎卵。此后,随着鱼苗的生长和口裂的增大,饵料逐渐过渡:小轮虫、大轮虫、桡足类幼体、小卤虫、大卤虫、桡足类成体直至鲜鱼、虾肉糜和配合饲料。

珍珠龙胆石斑鱼仔稚幼鱼阶段的生长发育及饵料转化过程会经历 3 个危险期,如果管理不慎,会给育苗带来很大损失:

第 1 危险期:主要发生在 3-8 日龄,是内源性营养向外源性营养的过渡阶段,这期间死亡率很高,主要原因包括先天性畸形不能开口摄食、摄食不足或饵料中缺乏相应的营养成分等。应对措施:选择优质的亲鱼,进行强化培育,减少畸形仔鱼的发生,使其能正常开口(王涵生等, 2001);刚开口的仔鱼游动能力很弱,基本是被动摄食,要在开口的前一天投放牡蛎卵、小轮虫和藻液,且密度一定要大;轮虫、卤虫等动物性饵料必须要经过 DHA、鱼油等物质强化。

第 2 危险期:发生在以轮虫、桡足类为主食的仔鱼后期和稚鱼期,主要由病害和营养问题所致。此时期鱼苗生长变态加速,如食物中缺乏 DHA、EPA 等成分,会致鱼苗状况不佳,易染病;同时轮虫、桡足类本身携带病原,加上此时期水质变坏,细菌、病毒等病原大量滋生,一旦染病就会引起大量死亡。所以这期间需继续强化饵料营养,根据鱼体发育和口裂大小及时转换饵料,防止 DHA、EPA 缺乏和营养单一;加强水质调控,将水温、pH、溶氧等指标控制在适宜范围内,并做好鱼池清污工作。

第 3 危险期:进入稚鱼期后,身体出现斑带花纹,鱼苗的大小差异明显,互相残食现象相当严重,经常发现一尾将另一尾吞入,两尾鱼一起死去(图 8)。避免死亡的方法:根据摄食状态,适量加大投喂量和投饵频率;鱼体大小差异超过 1/3 时,进行筛选,并在必要时进行分苗;继续注意水质调控和病害防治。



图 8 珍珠龙胆石斑鱼自相残食

Fig.8 *E. fuscoguttatus*(♀) × *E. lanceolatus*(♂) is killing each other

虽然珍珠龙胆石斑鱼的苗种培育技术取得成功,但其作为一种具有明显杂交优势的新品种,没有野生资源,养殖史也很短,加上目前苗种培育难度大、成苗率很低,苗种和商品鱼可谓是供不应求,价格极其昂贵。今后,通过对其苗种培育和养殖技术的进一步研究和大力普及,珍珠龙胆石斑鱼养殖业的发展一定会取得大的成功。

参 考 文 献

- 王永波, 符书源. 鞍带石斑鱼人工育苗与繁殖. 北京: 海洋出版社, 2011
- 王涵生, 方琼珊, 郑乐云. 赤点石斑鱼仔稚幼鱼的形态发育和生长. 上海水产大学学报, 2001, 10(4): 307-312
- 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. 台湾海峡, 2008, 27(2): 180-189
- 李样红, 韩巍, 彭树峰, 等. 珍珠龙胆高位池养殖技术研究. 海水养殖, 2013, (2): 41-42
- 邹记兴, 向文洲, 胡超群, 等. 点带石斑鱼仔、稚、幼鱼的生长与发育. 高技术通讯, 2003a, 13(4): 77-84
- 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. 水生生物学报, 2003b, 27(4): 378-384
- 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. 渔业科学进展, 2012, 33(3): 26-34
- 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. 广东海洋大学学报, 2008, 28(4): 36-40
- 张海发, 刘晓春, 刘付永忠, 等. 斜带石斑鱼胚胎及仔稚幼鱼形态发育. 中国水产科学, 2006, 13(5): 689-699
- 陈超, 赵明, 柳学周, 等. 七带石斑鱼胚胎及仔稚幼鱼形态观察. 渔业科学进展, 2011, 32(5): 24-31
- 林彬, 黄宗文, 骆剑, 等. 棕点石斑鱼胚胎发育的观察. 海南师范大学学报(自然科学版), 2010, 23(1): 87-92
- 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. 中国农学通报, 2010, 26(1): 293-302
- 施兆鸿, 彭士明, 王建钢, 等. 人工养殖银鲳子代胚胎发育及仔稚幼鱼形态观察. 中国水产科学, 2011, 18(2): 267-274
- 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. 水产养殖, 2011, 32(4): 8-12
- 董杨, 冯永勤, 梁盛, 等. 棕点石斑鱼池塘人工育苗试验. 齐鲁渔业, 2010, 27(7): 1-4
- 谢菁, 区又君, 李加儿, 等. 七带石斑鱼胚胎和卵黄囊期仔鱼的发育. 海洋通报, 2009, 28(2): 41-48

(编辑 冯小花)

Embryonic and Morphological Development in the Larva, Juvenile, and Young Stages of *Epinephelus fuscoguttatus* (♀) × *E. lanceolatus* (♂)

CHEN Chao², KONG Xiangdi^{1,2}, LI Yanlu², SONG Zhenxin^{1,2}, JIA Ruijin^{1,2}, YU Huanhuan^{1,2}, ZHAI Jieming³, MA Wenhui³, PANG Zunfang³, LIU Jiangchun³

(1. College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306; 2. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071; 3. Laizhou Mingbo Fisheries Limited Company, Yantai 261418)

Abstract The current study investigated the *Epinephelus fuscoguttatus*(♀) × *E. lanceolatus*(♂) hybrid embryo and larvae in the terms of the morphological characteristics to provide a basis for the future breeding. The results show that embryonic development required 25 h 25 min at 27–28 °C. The embryonic developmental process included five stages: cleavage stage, blastula stage, gastrula stage, nerve stage, and organogenesis stage. The post-embryonic development included larval, juvenile, and young fish stages at (27±0.5) °C, salinity 30, and pH 8 based on the features of the yolk sac, second dorsal fin spine, pelvic fin spine, scales, and body color. Larval was further divided into early and late larval larvae according to the presence or absence of yolk sac. Newly-hatched to 4-day was the early larvae, and larvae hatching yolk sac completely disappeared at 5 d. Fifty percent of larvae entered larval period at 32 d. Fifty percent larval completed the metamorphosis that developed into juvenile fish. The average total length of newly-hatched larvae was (1.65±0.11) mm, reaching (75.47±0.19) mm at 70 d. These results indicated that the hybrid offspring from conception to the later stages are healthy and normally-grown and developed; the disease-resistant heterosis had the appearance of “*Epinephelus fuscoguttatus* head and *E. lanceolatus* tail”.

Key words *Epinephelus fuscoguttatus*(♀)×*E. lanceolatus*(♂); Embryonic development; Larvae, juveniles, young fish; Morphological development