

盐度对云纹石斑鱼(*Epinehelus moara* ♀) × 鞍带石斑鱼(*Epinehelus lanceolatus* ♂)受精卵孵化的影响及杂交仔稚幼鱼形态发育观察*

张梦淇^{1,2} 陈超^{2①} 李炎璐² 孔祥迪^{1,2} 刘莉^{1,2} 翟介明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 青岛市海水鱼类种子工程与生物技术重点实验室 青岛 266071; 3. 莱州明波水产有限公司 烟台 261400)

摘要 以云纹石斑鱼(*Epinehelus moara*)为母本、鞍带石斑鱼(*Epinehelus lanceolatus*)为父本进行种间杂交, 观察比较了不同盐度(5、10、15、20、25、30、35、40、45)条件下受精卵的孵化率、初孵仔鱼畸形率, 以及仔、稚、幼鱼的生长发育及形态变化; 测定了盐度为 30 时, 正常初孵仔鱼的不投饵存活系数(SAI)。结果显示, 受精卵孵化的最适盐度范围是 35–37, 初孵仔鱼最适生存盐度为 20–30。盐度为 20–35 时, 仔鱼不投饵存活系数值较高(均在 30 以上); 盐度为 5、10、45 时, 仔鱼的 SAI 值较低。胚后发育根据卵黄囊的有无、第 2 背鳍棘和腹鳍棘的伸长与收缩、鳞片及体色的变化, 分为仔、稚、幼鱼 3 个时期。在本研究条件下, 初孵至 2 日龄为前期仔鱼, 初孵仔鱼全长为(1.959±0.152) mm, 主要特征为卵黄囊和油球未被吸收消化; 3–30 日龄为后期仔鱼, 3 日龄仔鱼全长为(2.765±0.108) mm, 主要特征是第 2 背鳍棘与腹鳍棘的绝对长度已达到仔、稚鱼阶段的最大值; 31–45 日龄为稚鱼期, 31 日龄稚鱼全长为(18.130±1.565) mm, 主要特征为内脏器官发育完善、鱼体呈透明状; 46 日龄后进入幼鱼期, 此时全长为(39.850±2.565) mm, 体色形成、开始被鳞、体表布满细小的棕色斑点。

关键词 云纹石斑鱼; 鞍带石斑鱼; 杂交; 形态观察; 盐度胁迫

中图分类号 S961.2 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2016)04-0081-09

杂交作为一种有效的选育手段在鱼类育种中已得到广泛应用(刘筠, 1993)。通过杂交以获得亲本(或超出亲本)的优良性状也是杂交育种的首要目的之一。Glamznina 等(2001)进行了地中海石斑鱼(*Epinehelus costae*) × 东大西洋石斑鱼(*Epinehelus marginatus*)的杂交研究; 刘付永忠等(2007)进行了斜带石斑鱼(*Epinehelus coioides* ♀) × 赤点石斑鱼(*Epinehelus akaara* ♂)的杂交。为探究云纹石斑鱼

(*Epinehelus moara*) 与 鞍 带 石 斑 鱼 (*Epinehelus lanceolatus*) 杂交的可行性, 以期使杂交种具有前者的耐低温性能和后者的快速生长特性。作者尝试进行了云纹石斑鱼♀ × 鞍带石斑鱼♂的杂交实验, 并获得成活子代。本研究对云纹石斑鱼♀ × 鞍带石斑鱼♂杂交 F₁ 仔稚幼鱼的发育和形态变化进行了系统的记录和观察, 旨在为石斑鱼的杂交育种增添参考资料。

盐度是制约鱼类在自然水体中分布的重要环境

* 科技部国际合作项目(2012DFA30360)、农业部东海海水健康养殖重点实验室 ESHML07 项目和青岛市市南区科技发展资金项目(2014-14-011-SW)共同资助。张梦淇, E-mail: 502883675@qq.com

① 通讯作者: 陈超, 研究员, E-mail: ysfriichenchao@126.com

收稿日期: 2015-03-12, 收修改稿日期: 2015-06-30

因子,直接影响着水产动物的生长和繁殖(叶金聪,1997)。石斑鱼在胚胎发育阶段及仔鱼期对盐度的变化极其敏感,若水体盐度超出其自身的耐受范围,将导致胚胎发育异常、孵化率下降、初孵仔鱼畸形率升高、鱼苗活力下降(曲焕韬等,2009;赵明等,2011;李炎璐等,2013)。研究石斑鱼受精卵的适宜孵化盐度,对于指导石斑鱼的生产 and 推广具有重要意义(蔡文超等,2010)。本研究通过观察云纹石斑鱼(♀)×鞍带石斑鱼(♂)杂交 F₁ 受精卵在不同盐度梯度海水中的沉浮情况,测定不同盐度海水中受精卵的孵化率、初孵仔鱼的畸形率以及仔鱼不投饵存活系数(Survival activity index, SAI),为在今后的苗种培育过程中,拓展环境条件、提高成功率,提供可借鉴的资料。

1 材料与方法

1.1 受精卵获得及孵化

实验于 2014 年 5 月在山东省莱州明波水产有限公司进行,所用的亲鱼均为驯养多年、发育成熟的种鱼。在繁殖季节,挑选性腺发育良好的亲鱼进行催产,催产剂采用人绒毛膜促性腺激素(HCG)和促黄体激素释放激素类似物(LHRH-A₂)混合注射。40–48 h 后挑选成熟度较好的亲鱼,用 MS-222 麻醉,轻压亲鱼腹部,收集成熟精卵进行人工授精。授精后,经冲洗、过滤、上浮后去除沉卵,挑选部分上浮的受精卵进行不同盐度下的孵化实验。其余上浮受精卵放入孵化桶中孵化,孵化水温为 24–25℃,盐度为 30,微充气、流水孵化。

1.2 不同盐度条件下受精卵的胚胎发育观察

在盐度为 5–45 范围内,共设置 9 个盐度梯度组,每个盐度梯度为 5,低盐度海水用过滤后的海水添加曝气后的淡水配制而成;高盐度海水用过滤后的海水添加海水晶配制而成,待充分溶解后,用手持数字式盐度计测定并进行盐度的微调,保证各实验组盐度数值准确。盐度 30 为经过滤后的自然海水组,设为对照组,每个盐度梯度设置 3 个平行。实验容器为 1 L 烧杯,每个烧杯放入挑选好的 100 粒受精卵,然后将烧杯置于恒温(24–25℃)室内静水孵化。记录受精卵在不同盐度海水中的分布状态。待仔鱼全部孵出后,记录不同盐度下每个烧杯中孵出的仔鱼数和畸形仔鱼数。畸形仔鱼标准:油球数多于 1 个或不位于卵黄囊中央、鳍膜破裂、脊柱弯曲、尾部呈 Z 或 W 形等。

1.3 不同盐度条件下仔鱼 SAI 值的测定

仔鱼活力以 SAI 值作为衡量指标(Kamler, 2002)。

盐度条件设计与 1.2 相同。待孵化桶中的仔鱼正常孵化出膜后,取肉眼观察无异常的仔鱼放入已配置好不同盐度海水的烧杯中,每个平行组烧杯中放入仔鱼的数量为 100 尾。培育中不投饵、无充气、阴凉通风,温度为 24–25℃。发现死鱼,及时用吸管吸除。每天记录死亡的仔鱼数,直至仔鱼全部死亡,比较各组的 SAI 值。仔鱼不投饵存活系数 SAI 值计算公式如下:

$$SAI = \sum_{i=1}^k (N - h_i) \times i / N$$

式中, N 为起始的仔鱼数; k 为仔鱼全部死亡所需的天数; h_i 为第 i 天时仔鱼的累积死亡数。

1.4 仔稚幼鱼培育条件

仔鱼全部孵化出膜后,将其转入长、宽均为 6.85 m,深 1 m 的方形水泥池中培育。水温控制在 25–27℃,盐度为 29–31,溶解氧 ≥ 5 mg/L。育苗期间,每天向池内定量泼洒浓度为 2.5×10^{10} /ml 的小球藻(*Chlorella vulgaris*)液 200 ml、乳酸菌酶素溶液(江苏沃纳生物科技有限公司) 200 ml。仔鱼孵出后 10 d 内不换水,每天适量添加经过处理的新鲜海水。10 d 后开始换水,根据仔鱼的生长状况逐渐增大充气量和换水量。出膜 3 d 后仔鱼开口,开口饵料为 SS 型褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*);出膜 5 d 后,过渡到投喂 S 型褶皱臂尾轮虫;出膜 16 d 后,混合投喂经小球藻强化过的 L 型褶皱臂尾轮虫;仔鱼培育至 19 d 后,交叉投喂卤虫(*Artemia* sp.)无节幼体。此后,逐渐过渡到投喂卤虫成体及微囊饲料。

1.5 取样和观察

在盐度实验中,一个平行组用于定期取样,观察不同盐度下受精卵的发育情况,并显微拍照。从仔鱼孵化出膜后开始,每天直接从育苗池中取生长发育较快的个体,进行测量和拍照观察,详细记录其生长发育状况和形态变化。1–17 d 的仔鱼在 Nikon E200 显微镜下观察并拍摄,18–38 d 的仔、稚鱼在 Olympus 解剖镜下观察并拍摄,38 d 以后的稚、幼鱼直接用数码相机近距离拍摄。每次取样 15 尾,测量全长、肛前距、卵黄囊长径、卵黄囊短径、油球直径、第 1 腹鳍棘长和第 2 背鳍棘长。本研究中,仔、稚、幼鱼的划分参照张海发等(2006b)的划分标准。

1.6 数据处理

仔鱼孵化率(Hatching rate, HR)=孵出总仔鱼数/总受精卵数

仔鱼畸形率(Deformity rate, DR)=畸形仔鱼数/总

仔鱼数

孵化率和畸形率数据均用 SPSS17.0 软件进行单因素方差分析(One-way ANOVA)及 Duncan 多重比较, 结果用平均值±标准差(Mean±SD)形式表示。

2 结果

2.1 不同盐度对受精卵孵化的影响

2.1.1 不同盐度水体中受精卵的分布状态 云纹石斑鱼(♀) × 鞍带石斑鱼(♂)杂交 F₁ 受精卵为透明、无色的浮性卵, 中央具油球 1 个。不同盐度条件下受精卵的发育状态见图 1。在相对静止的水体中, 盐度为 5-25 组的受精卵, 全部沉于烧杯底; 盐度为 30 的自然海水中, 3/4 漂浮在水表层, 1/4 悬浮于中上层; 盐度为 35-45 组的受精卵, 全部漂浮在水表层。

2.1.2 不同盐度胁迫下受精卵的孵化率和畸形率

从表 1 可以看出, 当盐度低于 20 时, 受精卵不能正常孵化出仔鱼; 在 20-35 盐度范围内, 随着盐度升高, 孵化率增加; 受精卵的适宜孵化盐度为 30-35, 盐度为 35 时的孵化率为 31.33%; 盐度为 40、45 时, 孵化率较低, 仅为 7.33%、4.33%。孵化率对盐度的回归曲线呈抛物线型分布(图 2), 其回归关系为:

$$y = -0.131x^2 + 7.368x - 84.810, R^2 = 0.700$$

式中, y 为孵化率, x 为盐度。

从表 1 可以看出, 盐度为 20-30、40-45 时, 仔鱼畸形率较高, 都在 50% 以上; 盐度为 35 时畸形率相对最低, 为 43%。盐度在 20-35 条件下, 随着盐度的升高, 仔鱼畸形率降低; 盐度为 35-45 时反之。对仔鱼畸形率进行多项式回归分析, 得到回归方程为:

$$y = 0.004x^3 - 0.300x^2 + 2.753x + 117, R^2 = 0.907$$

式中, y 为仔鱼畸形率, x 为盐度。

因此, 以受精卵孵化率和仔鱼畸形率为指标, 杂

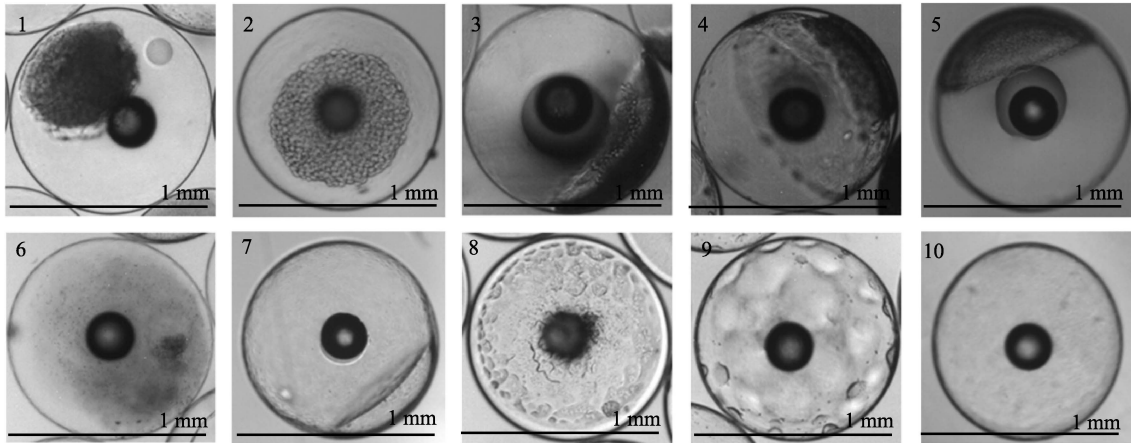


图 1 不同盐度条件下受精卵的发育

Fig.1 The development of fertilized eggs at different salinities

1. 盐度为 20 时, 发育至桑椹期的死亡胚胎, 动物极呈絮团状; 2. 盐度为 30 时, 发育至桑椹期的正常胚胎;
 - 3-4. 盐度为 15 时, 发育至原肠早期的死亡胚胎, 卵的颜色为乳白色; 5. 盐度为 30 时, 发育至原肠早期的正常胚胎;
 6. 盐度为 45 时, 未分裂的死亡胚胎, 原生质集中变得模糊; 7. 盐度为 30 时, 即将开始分裂的正常胚胎;
 - 8-9. 盐度为 45 时, 未分裂的死亡胚胎, 失水皱缩; 10. 盐度为 30 时, 刚受精结束后的正常胚胎
1. Dead embryo of morula at salinity 20, the animal pole was like a floc; 2. Normal embryo of morula at salinity 30;
 3-4. Dead embryo of early gastrula at salinity 15, the color of the eggs was milky white; 5. Normal embryo of early gastrula at salinity 30; 6. Undivided dead embryo at salinity 45, the protoplasm focus became blurred; 7. Normal embryo of upcoming split at salinity 30; 8-9. Undivided dead embryo at salinity 45, which was dehydrated and wrinkled;
 10. Normal embryo right after the ending of fertilization at salinity 30

表 1 不同盐度条件下杂交 F₁ 受精卵的孵化

Tab.1 Hatching of fertilized eggs of the hybrid F₁ at different salinities (Mean±SD)

| 项目 Items | 盐度 Salinity | | | | | | | | |
|------------------------|----------------------|----------------------|----------------------|-----------------------|------------------------|------------------------|-----------------------|-----------------------|------------------------|
| | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 | 30 | 35 | 40 | 45 |
| 孵化率 Hatching rate (%) | 0.0±0.0 ^a | 0.0±0.0 ^a | 0.0±0.0 ^a | 13.0±2.6 ^c | 18.7±1.5 ^d | 21.7±2.1 ^d | 31.3±3.0 ^e | 7.3±2.5 ^b | 4.3±1.1 ^b |
| 畸形率 Deformity rate (%) | — | — | — | 88.7±7.6 ^d | 72.7±10.8 ^c | 60.3±6.2 ^{bc} | 40.0±7.4 ^a | 55.7±5.1 ^b | 62.2±3.8 ^{bc} |

注: 同行数值右上角标有不同字母表示有显著差异, $P < 0.05$

Note: Data in the same row with different superscript were significantly different, $P < 0.05$

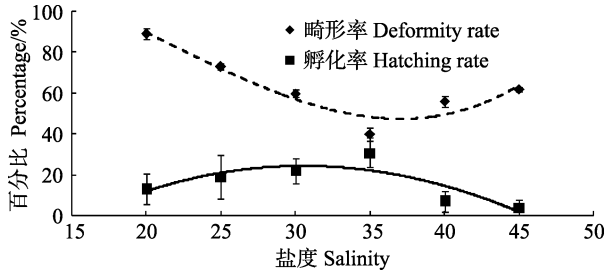


图2 不同盐度条件下杂交 F₁ 胚胎孵化率和畸形率
Fig.2 The hatching rate and deformity rate of the hybrid F₁ embryo at different salinities

交 F₁ 受精卵孵化的适宜盐度为 30–35, 此时的孵化率相对较高, 畸形率相对较低。

2.2 仔稚幼鱼形态观察

2.2.1 前期仔鱼

初孵仔鱼平均全长为(1.959±0.152) mm, 刚孵出的仔鱼身体透明, 中间有 1 条细长的脊索横贯全身。鱼体前端有 1 个卵黄囊, 卵黄囊长径为(1.210±0.039) mm, 短径为(0.655±0.045) mm。卵黄囊后端有油球 1 个, 油球直径为(0.182±0.020) mm。鱼体头部可见少量黑色素聚集, 消化道细长, 肛门尚未与外界相通。此时的仔鱼无游泳能力, 仅靠尾部的摆动在水中旋转。

1 d 仔鱼(图 3-1)全长为(2.652±0.160) mm, 鱼体变得更加细长, 脊索逐渐伸直, 肌节变清晰。头部增大, 黑色素变多。消化道稍变粗, 末端呈 90° 弯曲。随着卵黄囊等营养物质的消耗, 体积变小, 卵黄囊长径为(0.900±0.025) mm, 短径为(0.442±0.035) mm, 油球变化不大, 直径为(0.180±0.019) mm。仔鱼在池中均匀分布, 多悬浮于水中。

2 d 仔鱼(图 3-2)全长为(2.922±0.085) mm, 眼部黑色素增多, 胸鳍膜出现, 背鳍、腹鳍和尾鳍褶基本相连。卵黄囊体积明显变小, 长径缩短为(0.427±0.020) mm, 短径变为(0.332±0.017) mm, 油球直径为(0.177±0.015) mm。仔鱼运动能力加强, 可做垂直于水面的上下运动。

2.2.2 后期仔鱼

3 d 仔鱼(图 3-3)全长为(2.765±0.108) mm, 仔鱼口裂形成, 吻端突出, 腹部黑色素变多。消化道明显膨胀变粗, 有时可见胃蠕动, 肛门与外界相通。卵黄囊消耗完全, 油球仍可见, 油球直径为(0.127±0.016) mm, 仔鱼开始由内源性营养向外源性营养过渡, 进入后期仔鱼。由于食性的转变, 仔鱼出现了负增长。仔鱼活动能力增强, 开始集群游动。

4 d 仔鱼(图 3-4)全长为(2.840±0.127) mm, 口裂逐渐增大, 上下颌可做开闭动作。眼囊内黑色素明显

加深, 消化道上端以及尾部前端脊索上出现大量深黑色分枝状色素团。油球消失, 胸鳍变大, 仔鱼可借助胸鳍的扇动做水平游动, 消化道进一步缩短变粗。此时开始向池中投放充足的开口饵料, 仔鱼摄食良好, 镜检可见肠道呈饱满状态。

6 d 仔鱼(图 3-5)全长为(2.940±0.165) mm, 头部鳃盖骨分化明显, 背鳍原基出现, 尾部前端脊索上的黑色素细胞团逐渐扩展为半圆形。背鳍膜和腹鳍膜变窄, 胸鳍进一步发育呈扇形, 仔鱼游泳能力增强, 在池中可清晰的看到黑点状的集群仔鱼。

8 d 仔鱼(图 3-6)全长为(3.085±0.207) mm, 口裂明显增大, 心脏跳动快速、有力。腹鳍原基出现, 腹部树枝状黑色素区域扩大, 消化道呈圆筒状, 尾鳍上出现透明状鳍条原基。仔鱼游泳速度加快, 反应灵敏, 摄食能力增强。

10 d 仔鱼(图 3-7)全长为(3.527±0.305) mm, 鱼体颜色变深, 黑色素已覆盖至整个消化道及其上端, 消化道结构逐渐完善。下颌骨明显发达, 主动捕食能力增强。仔鱼生长差异显著, 生长速度快慢不一。第 2 背鳍棘和腹鳍棘长出, 背鳍棘长为(0.200±0.105) mm, 腹鳍棘长为(0.387±0.120) mm, 鳍棘末端布有点状色斑并长有许多倒钩状尖刺。仔鱼集群明显, 多在池角和池壁活动。

14–16 d 仔鱼(图 3-8)全长为(6.512±0.520) mm, 背鳍棘、腹鳍棘明显伸长, 背鳍棘增长至(3.644±0.360) mm, 腹鳍棘增长至(2.724±0.385) mm。第 2 背鳍棘的增长速度加快, 绝对长度已超过腹鳍棘。仔鱼的口裂进一步增大, 开始摄食 L 型褶皱臂尾轮虫。头部明显发达, 骨骼轮廓清晰。镜检腹部呈褐色, 消化道已容易观察。尾下骨开始形成, 脊索末端尾椎上弯。头背部以及肛门前的鳍膜消退。

20–25 d 仔鱼(图 3-9)生长迅速, 至 25 d 仔鱼全长已达到(12.497±1.170) mm, 第 2 背鳍棘长为(6.597±0.0455) mm, 腹鳍棘长为(3.852±0.265) mm。仔鱼开鳃, 消化道部位的黑色素已基本消退, 镜检观察到腹部更加透亮。眼眶上缘出现锯齿状突起, 头部上端及鳃盖处开始出现黑色素细胞。第 1 背鳍及第 3 背鳍棘已长出, 长棘上长有许多倒钩状小刺, 末端长有 1 根细长尖刺。仔鱼在池中游动迅速, 不易捕捞。

30 d 仔鱼(图 3-10)全长为(18.130±1.565) mm, 第 2 背鳍棘长为(6.603±1.120) mm, 腹鳍棘长为(4.427±0.850) mm, 鳍棘末端的黑色斑点消退, 第 2 背鳍棘与腹鳍棘的绝对长度已达到仔、稚鱼阶段的最大值。

头部发育完善, 鼻孔清晰可见, 眼球圆滑、外突。鱼体大部分器官已发育成型, 头腹部、体背部以及尾柄部色斑增多, 胸鳍与尾鳍的鳍条清晰可见。仔鱼体型已与稚鱼相似, 进入稚鱼期。

2.2.3 稚鱼期 36 d 稚鱼(图 3-11)全长为(23.642±1.783) mm, 第 2 背鳍棘和腹鳍棘的绝对长度变小, 开始收缩, 长度分别为(5.055±0.862) mm 和(4.170±

0.960) mm, 鳍棘上的钩状小刺数目也逐渐减少。鱼体体型为梭型, 尾部摆动强劲有力, 能在水中做快速游动。

40–45 d 稚鱼(图 3-12)生长明显加快, 体表形态特征变化明显, 至 45 d 时全长已达到(39.850±2.565) mm。第 2 背鳍棘和腹鳍棘再次伸长, 长度分别为(4.095±0.185) mm 和(5.755±1.020) mm, 腹鳍棘长度再次超过

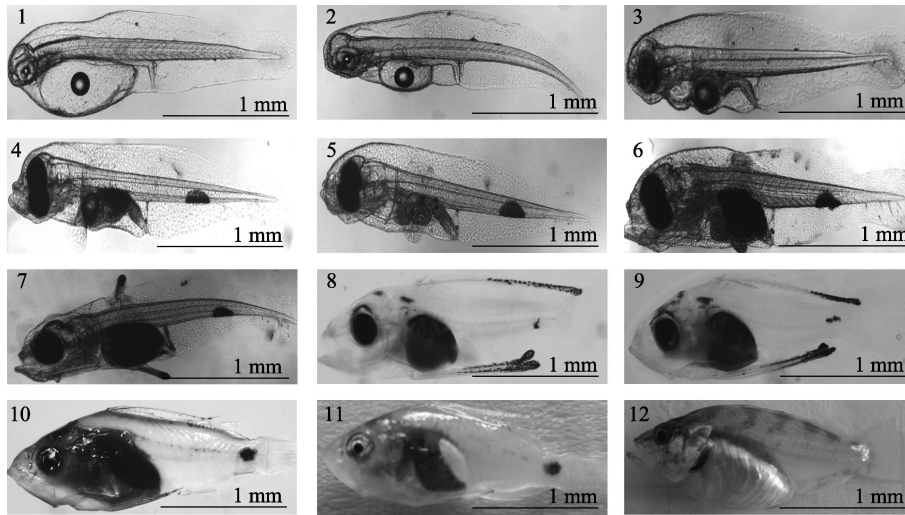


图 3 云纹石斑鱼(♀) × 鞍带石斑鱼(♂)杂交 F₁ 仔、稚、幼鱼发育形态

Fig.3 Morphological development of the larvae, juvenile, and young fish of the hybrid F₁ from *E.moara* ♀ × *E.lanceolatus* ♂

1. 1 d; 2. 2 d; 3. 3 d; 4. 4 d; 5. 6 d; 6. 8 d; 7. 10 d; 8. 16 d; 9. 25 d; 10. 30 d; 11. 36 d; 12. 45 d

第 2 背鳍棘, 鳍棘上的小刺已完全消退。内脏器官发育完善, 肉眼观察腹部表层反光性变强。尾柄处的黑色斑块消失, 体表色素加深, 体色形成, 为淡褐色。鱼体背部可清楚地看到 6 条黑色斑带, 镜检可见鱼体表面有鳞片形成。此时, 稚鱼的活动水层转入中下层, 开始寻找躲避物, 已基本具备幼鱼的特征, 进入幼鱼期。

2.2.4 幼鱼期 50 d 幼鱼全长为(43.080±3.255) mm, 第 2 背鳍棘和腹鳍棘继续伸长。眼球突出, 鳞片长齐, 体表布满细小、棕色斑点。取样时, 因胁迫鱼体体色

稍有加深。幼鱼各器官发育相对完善, 形态已接近于成鱼, 投饵时集群抢食。

2.3 仔、稚、幼鱼的生长

育苗期间 F₁ 的仔、稚、幼鱼全长及肛前距与孵化后天数的关系见图 4。从图 4 可以看出, 1–13 d 的仔鱼全长变化较小, 14–45 d 是仔鱼发育成稚鱼的变态期, 此期间生长迅速, 46 d 起进入幼鱼期, 全长稳定增长。

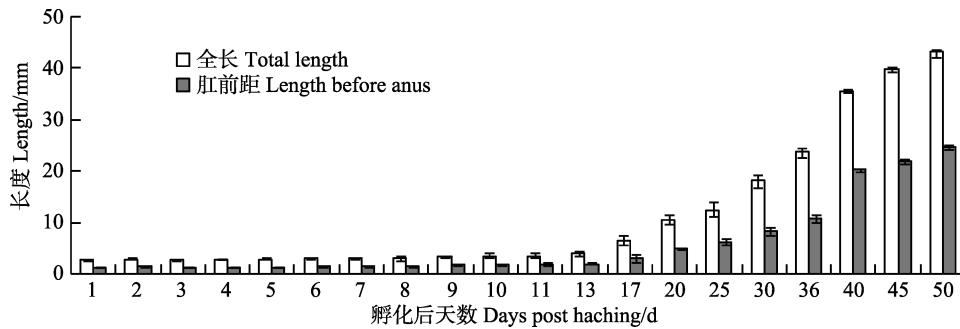


图 4 云纹石斑鱼(♀) × 鞍带石斑鱼(♂)杂交 F₁ 仔、稚、幼鱼的生长

Fig.4 Growth of the larvae, juvenile, and young fish of the hybrid F₁ *E.moara* ♀ × *E.lanceolatus* ♂

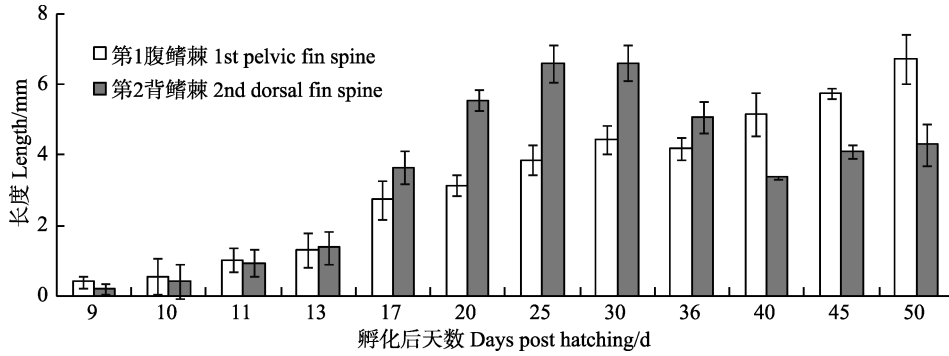


图 5 第 1 腹鳍棘和第 2 背鳍棘长度的变化

Fig.5 Changes in the length of the first pelvic fin spine and the second dorsal fin spine

表 2 不同盐度条件下杂交 F₁ 初孵仔鱼的存活率及 SAI 值Tab.2 The survival rate and SAI of newly-hatched the hybrid F₁ larvae at different salinities (Mean±SD)

| 盐度 Salinity | 饥饿条件下仔鱼孵化后的成活率 Survival rate of larval cobia after hatching in a state of starvation (%) | | | | | | | | | | | SAI | |
|----------------|--|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|---------|---------|-----------------------|
| | 1 d | 2 d | 3 d | 4 d | 5 d | 6 d | 7 d | 8 d | 9 d | 10 d | 11 d | | |
| 5 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 ^a |
| 10 | 87±2.6 | 75.7±1.1 | 71.3±0.6 | 63.3±3.8 | 60.0±3.0 | 49.0±2.6 | 14.3±2.9 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 14.0±0.4 ^c |
| 15 | 83.7±3.2 | 81.7±3.5 | 79.3±3.0 | 78.7±2.5 | 77.7±2.3 | 72.3±3.5 | 67.3±2.0 | 24.7±3.7 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 22.9±0.9 ^d |
| 20 | 96.7±2.3 | 95.7±1.5 | 95.0±2.0 | 92.7±2.5 | 92.3±3.0 | 92.0±2.6 | 91.3±3.0 | 87.0±3.5 | 43.7±1.5 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 36.8±0.9 ^e |
| 25 | 98.0±1.7 | 94.0±1.0 | 93.3±0.6 | 93.0±1.0 | 92.3±1.5 | 91.0±1.0 | 88.7±2.3 | 75.7±5.5 | 53.3±4.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 36.5±1.1 ^e |
| 30 | 96.0±2.6 | 95.0±1.7 | 90.7±0.6 | 89.7±0.6 | 89.3±0.6 | 86.7±1.1 | 77.7±2.3 | 69.3±3.5 | 62.0±2.6 | 29.3±1.5 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 38.3±0.7 ^b |
| 35 | 95.7±1.1 | 94.0±1.0 | 91.3±2.3 | 86.3±3.0 | 83.0±3.6 | 82.0±2.6 | 80.0±3.0 | 76.0±1.7 | 20.3±6.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 31.6±0.8 ^f |
| 40 | 93.7±3.5 | 89.7±3.8 | 87.0±1.7 | 84.3±2.1 | 81.7±1.1 | 77.3±3.2 | 71.3±1.1 | 39.0±2.6 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 25.5±0.3 ^e |
| 45 | 89.7±3.5 | 85.7±1.5 | 78.3±1.5 | 72.3±2.5 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 0.0±0.0 | 7.8±0.1 ^b |

第 2 背鳍棘和腹鳍棘的变化过程见图 5。从图 5 可以看出, 孵化后 9 d 鳍棘长出, 此时腹鳍棘长度长于背鳍棘。随后, 背鳍棘发育迅速, 至 13 d 时长度超过腹鳍棘。第 2 背鳍棘和腹鳍棘的绝对长度在第 30 天时达到最大, 随后逐渐收缩, 分别在 40 d 和 36 d 时缩到最短。此后腹鳍棘长度再次超过背鳍棘, 进入幼鱼期后增长较为缓慢。

2.4 盐度对饥饿条件下仔鱼存活的影响

不同盐度条件下初孵仔鱼存活率和 SAI 值测定见表 2。从表 2 可以看出, 初孵仔鱼在不投饵条件下存活的时间越长, 其 SAI 值就越高。结果显示, 在盐度为 5–45 范围内, 随着盐度的升高, 仔鱼的 SAI 值呈先上升后下降的变化趋势。盐度为 5 时仔鱼的 SAI 值为 0, 活力最弱; 盐度为 10、45 时, 仔鱼的 SAI 值偏低, 分别为 14.0、7.8; 仔鱼的 SAI 值最高的盐度组为 30, 达到了 38.3, 活力最强, 生存时间最长。

3 讨论

3.1 盐度对杂交 F₁ 胚胎发育的影响

海水鱼类的胚胎发育需要适宜的盐度条件, 盐度

不适则会造成胚胎发育过程的异常。在实际生产中, 由于盐度过高或过低, 造成发育过程中胚胎不能正常分裂或者存活, 引起胚胎死亡或者仔鱼畸形的现象时有发生, 给生产造成严重损失。有文献报道, 海水鱼类受精卵的原生质层是调节渗透压平衡和保持胚胎正常发育的重要物质(麦贤杰等, 2005), 在胚胎的耐受范围之内会随着外界盐度的变化做出相应的功能性调整抵御对自身的迫害, 超出调节能力之外都会使渗透压调节失衡造成卵细胞损伤或破损(王宏田等, 1998)。本研究中出现低盐度时胚体模糊现象、高盐度时胚胎发育停止等异常, 都是由于盐度的胁迫超出了胚胎自身调节范围所致。

产浮性卵的海水鱼类, 其卵的沉浮性对于这类鱼的产卵和孵化有着重要的意义(Nissling *et al.*, 1994)。杂交 F₁ 受精卵是典型的硬骨鱼类浮性卵, 从受精卵的沉浮性判断适宜孵化盐度为 30。此时, 仔鱼主要分布在水体中上层, 在生产中对于吸除池底残饵粪便是有利的。要注意仔鱼集中分布容易造成局部缺氧, 在苗种培育过程中要调整好用水的盐度、给予足够氧气, 使受精卵悬浮于水体中上层, 有助于提高孵化率。同时, 受精卵的孵化率和仔鱼畸形率是反映受精卵孵

化好坏最直接的两个衡量指标。为求杂交 F_1 的最适孵化盐度, 在盐度为 25–40 范围内对孵化率和畸形率再做多项式回归分析(图 6), 求得孵化率回归方程为:

$$y = -0.052x^3 + 4.800x^2 - 145.100x + 1459, R^2 = 1.000$$

式中, y 为孵化率, x 为盐度;

畸形率回归方程为:

$$y = 0.057x^3 - 5.300x^2 + 158.400x - 1472, R^2 = 1.000$$

式中, y 为孵化率, x 为盐度。根据这两个方程求得当孵化率最高时的盐度为 35; 畸形率最低时的盐度为 37。对两个盐度数值取平均数再取 ± 1 (施兆鸿等, 2009), 得出 35–37 是杂交 F_1 受精卵孵化的最适盐度。

不同石斑鱼种在最适盐度下的孵化率和仔鱼畸形率也大不相同, 如点带石斑鱼(*Epinephelus coioides*)受精卵在最适盐度 30–33 时的孵化率为 55.65%, 仔鱼畸形率为 19.88%(施兆鸿等, 2008); 斜带石斑鱼在最适盐度 25–30 时的孵化率为 76.40%, 仔鱼畸形率为 0(张海发等, 2006a); 赤点石斑鱼在最适盐度 30–32 时的孵化率为 85.20%, 仔鱼畸形率为 21.60%(王涵生等, 2002)。杂交 F_1 与上述几种石斑鱼相比, 最适孵化盐度与点带石斑鱼相近, 较斜带石斑鱼对高盐度的适应性强, 在最适孵化盐度下的孵化率较低, 仔鱼畸形率较高, 这可能与孵化的条件、亲鱼的培育条件以及杂交的亲本性有关, 具体原因有待进一步研究。

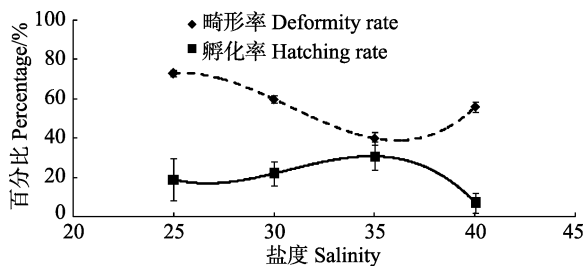


图 6 25–40 盐度条件下杂交 F_1 胚胎孵化率和畸形率
Fig.6 The hatching rate and deformity rate of the hybrid F_1 embryo at salinities of 25–40

3.2 盐度对杂交 F_1 仔鱼生存活力的影响

SAI 值反映的是仔鱼的活力, 可以用来判断受精卵的卵质, 仔鱼存活时间越长, SAI 值就越高。仔鱼孵出后, 在不投饵的情况下, 依靠卵黄囊和油球的营养可以存活一段时间。仔鱼开口前处于内源性营养期, 生长发育所需的营养全部由卵黄囊和油球供给; 仔鱼从开口至卵黄囊和油球未完全消失之前, 处于混合营养期, 依靠自主觅食和残留卵黄生活; 待卵黄囊和油球完全消失后, 仔鱼进入外源性营养期, 所需的营养物质完全从外界环境摄取。若仔鱼在卵黄囊和油

球消失前, 还未得到充足的营养, 仔鱼就会因营养缺失死亡。仔鱼营养期的过渡也是苗种培育过程中的危险期, 生产上要求及时供给适口、营养全面的饵料。研究中观察到, 盐度为 20–35 时, SAI 值较高, 均在 30 以上。与其亲本云纹石斑鱼在最适盐度 25–30 条件下的 SAI 值 24.52(宋振鑫等, 2013)相比, 杂交 F_1 初孵仔鱼的活力要好。

综上所述, 在实际育苗生产中, 结合不同盐度下受精卵的沉浮性、孵化率、仔鱼畸形率以及不投饵存活系数, 建议杂交 F_1 受精卵孵化和仔鱼培育的盐度最好控制在 35, 并且加强水质调控, 以保证较高的育苗成功率。

3.3 杂交 F_1 与亲本生长发育的比较

同其他石斑鱼一样(张海发等, 2006b; 郭仁湘等, 2011; 陈超等, 2014; 张梦淇等, 2014), 杂交 F_1 在苗种培育过程中也出现了第 2 背鳍棘和腹鳍棘的伸长与收缩, 这无疑是石斑鱼仔稚幼鱼培育过程中最显著的特征。目前, 关于鳍棘的生长特性对于鱼体本身的意义尚无明确定论。陈国华等(2001)认为鳍棘有增加浮力和惊吓敌害生物的作用; 郭仁湘等(2011)认为鳍棘能够保持自身的平衡, 从而有利于对食物的捕获, 鳍棘的出现对鱼体本身的摄食和生长具有积极作用。通过 2.3 中仔稚幼鱼的生长可以看出, 1–13 d 的仔鱼全长变化不大, 生长较为缓慢, 从第 13 天开始, 仔鱼生长明显加快, 而此时也正是第 2 背鳍棘和腹鳍棘迅速伸长的时期。在此期间, 由于饵料的转变增加了仔、稚鱼对桡足类个体的捕食难度, 而鳍棘的伸长有助于鱼体在水体中保持稳定, 增加了对桡足类的捕食成功率, 也使得仔鱼能够在这一时期快速生长。进入幼鱼期后, 由于习性的改变, 鱼苗开始聚集于池底的遮蔽物中, 过长的鳍棘反而不利于其躲藏, 遂逐渐收缩。

生长速度、成活率以及对环境的适应能力等指标, 常被用来比较杂交后代与亲本的差别(王新成等, 2003)。通过与亲本云纹石斑鱼(宋振鑫等, 2012)和鞍带石斑鱼(郭仁湘等, 2011)的早期发育比较(表 3–表 4), 可以得出杂交 F_1 的生长特点。鞍带石斑鱼早期发育过程中进入各个阶段的时间点最早, 杂交 F_1 仅在进入幼鱼期的时间比云纹石斑鱼提前。尽管培育的水温有差异, 但提前进入幼鱼期对于提高育苗成功率、降低成本从而提高经济效益有很大的帮助。从生长速度比较, 鞍带石斑鱼最快, 杂交 F_1 从进入后期仔鱼生长速度超过云纹石斑鱼, 表现出明显的生长优势;

云纹石斑鱼的生长速度最慢。不同苗种对生长环境的需求不同,其生长会出现差异。对于杂交种是否能在今后的养殖中体现亲本的优势还有待于进一步实验。

杂交 F_1 还未发育为成鱼,所以体型无法与其亲

本进行准确比较,就幼鱼的体型来说,介于云纹石斑鱼和鞍带石斑鱼之间,头部和尾部与鞍带石斑鱼类似,躯干部接近于云纹石斑鱼。杂交 F_1 幼鱼的体色更偏向于鞍带石斑鱼,为棕褐色,受胁迫后体色变深。

表3 杂交 F_1 与云纹石斑鱼、鞍带石斑鱼早期发育各阶段经历的时间比较

Tab.3 The comparison of early development of the hybrid F_1 with its parents, *E. moara* and *E. lanceolatus*

| 种类 Species | 培育水温 Cultivation temperature (°C) | 卵黄囊仔鱼期, 开口时间 Yolk sac larvae (d) and the time of starting eating(d) | 后期仔鱼期 Post larvae (d) | 稚鱼期 Juvenile (d) | 幼鱼期 Young fish (d) | 参考文献 Reference |
|-------------------------------|---|---|--------------------------|---------------------|-----------------------|-------------------|
| 云纹石斑鱼 <i>E.moara</i> | 22-24 | 1-4, 5 | 5-30 | 31-65 | 66 | 宋振鑫等, 2012 |
| 鞍带石斑鱼 <i>E.lanceolatus</i> | 27-30 | 1-2, 4 | 3-21 | 22-30 | 31 | 郭仁湘等, 2011 |
| 杂交 F_1 The hybrid F_1 | 25-27 | 1-2, 4 | 3-30 | 31-45 | 46 | 本研究 This study |

表4 杂交 F_1 与云纹石斑鱼、鞍带石斑鱼早期进入各发育阶段的时间点及此时全长的比较

Tab.4 The comparison of early development and overall length of the hybrid F_1 with its parents, *E. moara*, and *E. lanceolatus*

| 种类 Species | 初孵仔鱼全长 Average length of newly hatched larvae (mm) | 进入后期仔鱼的时间, 全长 Time (d) and average length (mm) of post larvae began | 进入稚鱼期的时间, 全长 Time (d) and average length (mm) of juvenile began | 进入幼鱼期的时间, 全长 Time (d) and average length (mm) of young fish began | 参考文献 Reference |
|-------------------------------|---|--|--|--|-------------------|
| 云纹石斑鱼 <i>E.moara</i> | 1.739 | 5, 2.640 | 31, 9.992 | 66, 25.000 | 宋振鑫等, 2012 |
| 鞍带石斑鱼 <i>E.lanceolatus</i> | 2.075 | 3, 3.050 | 22, 18.185 | 31, 32.500 | 郭仁湘等, 2011 |
| 杂交 F_1 The hybrid F_1 | 2.059 | 3, 2.765 | 31, 18.130 | 46, 39.850 | 本研究 This study |

参 考 文 献

- 王涵生, 方琼珊, 郑乐云. 盐度对赤点石斑鱼受精卵发育的影响及仔鱼活力的判断. 水产学报, 2002, 26(4): 344-350
- 王宏田, 张培军. 环境因子对海产鱼类受精卵及早期仔鱼发育的影响. 海洋科学, 1998, 22(4): 50-52
- 王新成, 尤锋, 倪高田, 等. 石鲈与牙鲆人工杂交的研究. 海洋科学, 2003, 27(1): 33-38
- 叶金聪. 温、盐度对鲈鱼早期仔鱼生长及存活率的影响. 福建水产, 1997(1): 14-18
- 刘筠. 中国养殖鱼类繁殖生理学. 北京: 农业出版社, 1993, 109-124
- 刘付永忠, 赵会宏, 刘晓春, 等. 赤点石斑鱼♂与斜带石斑鱼♀杂交初步研究. 中山大学学报(自然科学版), 2007, 46(3): 72-75
- 曲焕韬, 李鑫渲, 何庆, 等. 温度和盐度对鞍带石斑鱼受精卵发育及仔鱼成活率的影响. 河北渔业, 2009(8): 6-9
- 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. 渔业科学进

- 展, 2014, 35(5): 135-144
- 陈国华, 张本. 点带石斑鱼仔、稚、幼鱼的形态观察. 海南大学学报(自然科学版), 2001, 19(2): 151-156
- 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. 渔业科学进展, 2014, 35(5): 145-153
- 张海发, 刘晓春, 王云新, 等. 温度、盐度及 pH 对斜带石斑鱼受精卵孵化和仔鱼活力的影响. 热带海洋学报, 2006a, 25(2): 31-36
- 张海发, 刘晓春, 刘付永忠, 等. 斜带石斑鱼胚胎发育及仔稚幼鱼形态发育. 中国水产科学, 2006b, 13(5): 689-696
- 麦贤杰, 黄伟健, 叶富良, 等. 海水鱼类繁殖生物学和人工繁育. 北京: 海洋出版社, 2005
- 李炎璐, 王清印, 陈超, 等. 盐度对云纹石斑鱼(♀)×七带石斑鱼(♂)杂交子一代胚胎发育和仔鱼活力的影响. 渔业科学进展, 2013, 34(5): 17-22
- 宋振鑫, 陈超, 吴雷明, 等. 盐度与 pH 对云纹石斑鱼胚胎发育和仔鱼活力的影响. 渔业科学进展, 2013, 34(6): 52-58
- 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

- 施兆鸿, 陈波, 彭士明, 等. 盐度胁迫下点带石斑鱼(*Epinephelus malabaricus*)胚胎及卵黄囊仔鱼的形态变化. 海洋与湖沼, 2008, 39(3): 222–227
- 施兆鸿, 彭士明, 尹彦强, 等. 不同盐度下条石鲷胚胎及卵黄囊仔鱼的形态变化. 生态学杂志, 2009, 28(3): 471–476
- 赵明, 陈超, 柳学周, 等. 盐度对七带石斑鱼胚胎发育和卵黄囊仔鱼生长的影响. 渔业科学进展, 2011, 32(2): 16–21
- 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): 8–13
- 蔡文超, 区又君, 李加儿. 盐度对条石鲷胚胎发育的影响. 生态学杂志, 2010, 29(5): 951–956
- Glamznina B, Glavić N, Skaramaca B, et al. Early development of the hybrid *Epinephelus costae*×*E. marginatus*. Aquaculture, 2001, 198(1–2): 55–61
- Kamler E. Ontogeny of yolk-feeding fish: an ecological perspective. Reviews in Fish Biology and Fisheries, 2002, 12(1): 79–103
- Nissling A, Kryvi H, Vallin L. Variation in egg buoyancy of Baltic cod *Gadus morhua* and its implications for egg survival in prevailing conditions in the Baltic Sea. Mar Eco Prog Ser, 1994, 110: 67–74

(编辑 马瑾艳)

Effects of Salinity on the Hatching of the Fertilized Eggs of *Epinephelus moara* (♀) × *Epinephelus lanceolatus* (♂) and the Observation of the Morphological Development of Larvae, Juvenile and Young Fish

ZHANG Mengqi^{1,2}, CHEN Chao^{2①}, LI Yanlu², KONG Xiangdi^{1,2}, LIU Li^{1,2}, ZHAI Jieming³

(1. College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306; 2. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture, Qingdao Key Laboratory for Marine Fish Breeding and Biotechnology, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071; 3. Laizhou Mingbo Aquatic Co. Ltd., Yantai 261400)

Abstract In this study the hybridization between *Epinephelus moara* (♀) and *Epinephelus lanceolatus* (♂) were manipulated in the laboratory. The hybrid F₁ larvae were hatched at salinity 30. The hatching and deformity rates of fertilized eggs and the survival activity index of newly hatched larvae was observed at salinities 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, and 45. The growth and morphological characteristics of larvae, juveniles, and young fish was recorded. The results suggested that salinity 35–37 was optimum for the hatching of the hybrid F₁, and salinity 20 to 30 was optimum for larval survival. SAI values of larvae became higher when the salinity was between 20 and 35, and they were lower when the salinity was 5, 10, and 45. The post embryonic development could be divided into the larval stage, the juvenile stage and the young fish stage, based on the features of the yolk-sac, the second dorsal fin spine, the pelvic fin spine, the scale and the body color. The embryo developed into pre-larvae in 2 days, and the average length of newly-hatched larvae was (1.959±0.152) mm. This stage was featured by yolk-sac and unabsorbed oil ball. The post-larvae stage lasted from Day 3 to Day 30, and the average length of 3-day larvae was (2.765±0.108) mm. At this stage the absolute length of the second dorsal fin spine and pelvic fin spine reached the maximum for larvae and juvenile fish. It entered into the juvenile stage starting from Day 31 after hatching and the average length was (18.130±1.565) mm. At this stage the visceral organs had been fully developed and the fish color became transparent. Starting from Day 46 after hatching it entered into the young fish stage when the average length was (39.850±2.565) mm and the body color turned light brown. At this stage brown spots appeared on the body surface and scales could be observed under microscope.

Key words *Epinephelus moara*; *Epinephelus lanceolatus*; Hybridization; Morphological observation; Salinity stress

① Corresponding author: CHEN Chao, E-mail: ysfrichenchao@126.com