

doi: 10.12131/20180075

短须裂腹鱼与鲈鲤杂交 F₁ 代胚胎及仔稚鱼发育观察

杨洋¹, 陈瑶¹, 万玉芳¹, 邓思红², 何学福¹, 王志坚¹, 金丽¹

(1. 西南大学生命科学学院淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室, 水产科学重庆市重点实验室, 重庆 400700;
2. 凉山科华水生态工程有限公司, 四川 西昌 616750)

摘要: 该研究利用干法授精对短须裂腹鱼 (*Schizothorax wangchiachii*) 与鲈鲤 (*Percocypris pingipingi*) 进行远缘杂交, 对杂交子一代 (F₁) 胚胎及仔稚鱼发育进行观察, 旨在为以后的杂交育种和品种选育提供基础资料。结果显示, 水温 (14.5±1.0) °C、pH 8.10~8.81, 短须裂腹鱼 (♀) × 鲈鲤 (♂) 杂交 F₁ 代胚胎发育良好, 受精率为 95.33%, 孵化率为 71.12%, 完成胚胎发育所需时间为 144.33 h, 有效积温为 2 092.79 h·°C。在相似条件下, 胚胎发育速度快于两亲本, 各器官的形成顺序与亲本存在差异, 仔稚鱼生长良好, 发育速度与生长速度均慢于父本鲈鲤。在同等实验条件下, 鲈鲤 (♀) × 短须裂腹鱼 (♂) F₁ 代胚胎不能正常发育, 发育至原肠期所需时间为 51.25 h, 所需积温为 743.13 h·°C, 原肠期末的死亡率高达 85.83%, 最后仅 12 尾出膜, 且出膜后均畸形, 出膜 3 d 后全部死亡。研究表明短须裂腹鱼 (♀) × 鲈鲤 (♂) 杂交是可行的。

关键词: 短须裂腹鱼; 鲈鲤; 杂交种; 胚胎发育; 仔稚鱼

中图分类号: S 961.5

文献标志码: A

文章编号: 2095 - 0780 - (2018) 06 - 0066 - 08

Embryonic, larval and juvenile development of hybrid between *Schizothorax wangchiachii* and *Percocypris pingipingi*

YANG Yang¹, CHEN Yao¹, WAN Yufang¹, DENG Sihong², HE Xuefu¹, WANG Zhijian¹, JIN Li¹

(1. Key Laboratory of Freshwater Fish Reproduction and Development, Ministry of Education; Key Laboratory of Aquatic Science of Chongqing, School of Life Sciences, Southwest University, Chongqing 400700, China; 2. Liangshan Kehua Water Ecological Engineering Co. Ltd., Xichang 616750, China)

Abstract: We observed the embryonic, larval and juvenile development of hybrid of *Schizothorax wangchiachii* and *Percocypris pingipingi* via dry artificial reproduction, so as to provide basic data for cross breeding and variety selection. The results show that the F₁ hybrid by *S. wangchiachii* (♀) and *P. pingipingi* (♂) embryos developed well at water temperature of (14.5±1.0) °C and pH of 8.10–8.81. The fertilization rate was 95.33%, and the hatching rate was 71.12%. The fertilized eggs were hatched within 144.33 h, and the sum effective accumulative temperature was 2 092.79 h·°C. Under similar conditions, the embryos grew faster than the parents, and the formation order of each organ was different from that of the parents. The larvae grew well, but the developmental speed and growth rate were slower than those of the father. Under the same experimental conditions, the F₁ embryos of *P. pingipingi* (♀) × *S. wangchiachi* (♂) were unable to develop normally, and the time required for development to the gastrula period was 51.25 h, and the required accumulated temperature was 743.13 h·°C. The mortality rate of the end of the gastrointestinal was 85.83%, and only 12 embryos hatched in the end with all larvae deformed. All larvae died after 3 d. The results show that it is feasible to cross between

收稿日期: 2018-04-23; 修回日期: 2018-06-22

资助项目: 重庆市教委项目 (CY160219)

作者简介: 杨洋 (1994—), 女, 硕士研究生, 从事淡水鱼类研究。E-mail: yangy994@163.com

通信作者: 金丽 (1977—), 女, 博士, 副教授, 从事淡水鱼类研究。E-mail: jinll@swu.edu.cn

S. wangchiachii (♀) and *P. pingipingi* (♂).

Key words: *Schizothorax wangchiachii*; *Percocypris pingipingi*; hybrid; embryonic development; larvae and juveniles

由于鱼类染色体相较于其他脊椎动物具有较强的“可塑性”,所以鱼类最易进行杂交^[1]。远缘杂交是一种应用广泛且效果较显著的育种方法,在杂交种的优质利用、诱导雌核发育以及抗逆性能的选育^[2-4]等方面发挥着重要作用。虽然现在各种新育种手段不断应用于鱼类遗传育种,但是杂交育种仍是应用广泛且效果较为明显的一种育种方法。通过杂交育种可以使不同品种之间优良性状结合,研究显示很多杂交种均表现出了明显的杂种优势^[5-12]。一般来说,分布地区距离越远、外部形态差异越大、基因型纯化程度越高的种间杂交,出现杂交优势的可能性越高。

短须裂腹鱼 (*Schizothorax wangchiachii*) 属鲤形目、鲤科、裂腹鱼亚科、裂腹鱼属,为长江上游特有鱼类,是金沙江及其支流、雅砻江和乌江的主要经济鱼类之一^[13],其肉质细嫩、味道鲜美、营养丰富、深受青睐。近十多年来,野生短须裂腹鱼因过度捕捞、环境污染、水电站开发等,资源量越来越少。刘跃天等^[14]于2006年首次报道短须裂腹鱼人工繁殖成功,获鱼苗7508尾。随后由于其经济效益尚且产卵率和孵化成功率较高^[15-17],人工繁殖数量越来越多,但在养殖过程中发现其易受小瓜虫、水霉病等侵袭,从而带来严重的经济损失。鲈鲤 (*Percocypris pingipingi*) 属鲤形目、鲤科、鲃亚科、鲈鲤属,主要分布于黔、川、滇长江上游及其支流,以及广西右江、珠江水系上游^[18],是我国特有的珍稀野生鱼类,也是四川省和重庆市的重点保护动物^[13]。鲈鲤的抗病能力较强,但在人工繁殖过程中产卵率和孵化成功率较低。

关于短须裂腹鱼与鲈鲤的胚胎及胚后发育均有报道^[19-24],但目前尚未见有关短须裂腹鱼和鲈鲤杂交后代胚胎及仔稚鱼发育的研究报道。本研究利用隶属不同亚科的鲈鲤与短须裂腹鱼杂交,系统地观察了杂交 F₁ 代的胚胎及仔稚鱼发育,记录其发育特征及生长指数,旨在为短须裂腹鱼和鲈鲤的杂交育种以及今后优良性状养殖品种的选育提供基础资料。

1 材料与方 法

1.1 材料与培育条件

实验于2017年3月在凉山科华水生态工程有

限公司进行,实验用短须裂腹鱼、鲈鲤亲鱼均为3~4龄,体质量为1500~2000g,短须裂腹鱼(♀)×鲈鲤(♂)(DL)母本短须裂腹鱼的怀卵量约19000粒,鲈鲤(♀)×短须裂腹鱼(♂)(LD)母本鲈鲤的怀卵量约12000粒。

实验鱼养殖于约25m²的鱼塘中,水温(14.5±1.0)℃,pH8.10~8.52,分别对性成熟的短须裂腹鱼和鲈鲤雌雄个体注射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)人工催产,48~72h后取成熟亲鱼轻压腹部,顺产获得成熟卵和精子,采用干法授精进行杂交。

分别将短须裂腹鱼卵和鲈鲤的精液,以及短须裂腹鱼的精液和鲈鲤的卵进行干法授精,待受精卵充分吸水膨胀后,在直径74cm、高28cm的孵化盒中流水孵化培育,密度为2000~3000粒·m⁻²,流量为60~70mL·s⁻¹,温度(14.5±1.0)℃,pH8.10~8.81,出膜后的仔鱼饲养于淡水鱼类资源与生殖发育教育部重点实验室室内循环系统,定期换水并排污。早期仔鱼以丰年虫为开口饵料,后混合投喂鱼苗专用微粒配合饲料S1,饵料和饲料分别购自山东爱家宠物水族用品有限公司和山东升索渔用饲料研究中心。

1.2 实验方法

利用体式显微镜(Nikon 6000)对DL和LD的胚胎及仔稚鱼发育过程进行观察拍照。参考国内外学者的研究^[19-28],胚胎发育过程中每次随机取30~60粒胚胎,前12h内每10min取样1次,后每0.5~1h取样1次,取样至出膜为止,胚胎发育的时间以60%以上的胚胎明显进入该发育阶段为准,观察期间水温为(14.5±1.0)℃;仔稚鱼阶段每次随机取10尾,前20d取样每天1次,之后间隔5d取样1次,取样至鳞被覆盖完毕,用稀释的乙醇麻醉,同样采用体式显微镜进行观察、拍照并记录,然后测定其生长指数。

1.3 发育积温算法

以有效积温描述整个发育过程^[29],各阶段积温的计算方法为:胚胎发育各阶段的积温(h·℃)=该阶段胚胎发育时间(h)×水温(℃)。

1.4 数据处理

使用Excel 2017对实验数据进行处理,利用Photoshop CS5对图像进行编辑。

2 结果

2.1 短须裂腹鱼(♀)×鲈鲤(♂)胚胎及仔稚鱼发育

2.1.1 胚胎发育 短须裂腹鱼的成熟卵为浅黄色、沉性、微黏性。在平均水温(14.5±1.0)℃条件下,胚胎发育历时144.33 h,受精率为95.33%,孵化率为71.12%,参考短须裂腹鱼与鲈鲤的研究结果^[19-24],将其胚胎发育过程分为6个阶段,共28个时期(表1)。

1) 受精卵阶段。刚受精时,受精卵呈黄色球形,卵径约3.24 mm(图1-1);然后开始吸水膨胀,卵周隙增大,受精后45 min,受精卵吸水膨胀到最大,直径约为4.05 mm,卵膜呈透明状(图1-2)。受精后3 h 35 min,原生质不断向动物极集中并隆起形成类似盘状结构,即为胚盘,此时进入胚盘期(图1-3)。

2) 卵裂阶段。受精后4 h 50 min,胚盘向两边拉伸,其表面凹陷形成分裂沟,随着发育不断加深,分裂沟将胚盘一分为二,形成大小相似的2个细胞,即为2细胞期(图1-4);受精后5 h 44 min分裂球再次分裂,分裂沟与第一次分裂沟垂直,形成大小相似的4个细胞,进入4细胞期(图1-5);分裂球继续呈几何级数增加,受精后6 h 30 min形成大小相似的8个细胞,即为8细胞期(图1-6);受精后7 h 53 min分裂形成16个细胞,即为16细胞期(图1-7);随后分裂速度加快,依次形成32个细胞、64个细胞,随着细胞数目增多,细胞界限开始模糊,受精后16 h 50 min形成多细胞胚体,呈桑葚状,即为桑葚胚期(图1-8)。

3) 囊胚阶段。细胞继续分裂,细胞层数和数量不断增加,受精后19 h 47 min细胞团高高隆起,形似帽状,细胞界限模糊不清,即为囊胚早期(图1-9);隆起的细胞层向下扩散,逐渐变低,并开始下包,囊胚高度下降,受精后21 h 1 min呈小丘状,胚层边缘逐渐平滑,即为囊胚中期(图1-10);囊胚继续下包,受精后26 h 23 min囊胚细胞紧贴卵黄,与卵黄一起近似球形,进入囊胚晚期(图1-11)。

4) 原肠胚阶段。随着细胞的进一步分裂,动物极细胞数目越来越多并逐渐向植物极方向延伸,受精后42 h 45 min胚层下包卵黄囊约1/2,即为原肠胚早期(图1-12);受精后49 h 53 min胚盾出现,胚层下包卵黄囊约2/3,为原肠胚中期(图1-

13);受精后53 h 3 min胚层下包卵黄囊3/4,进入原肠胚晚期(图1-14)。

5) 器官形成阶段。受精后55 h 19 min胚层即将包完卵黄,胚体可见,神经板雏形出现,此时为神经胚期(图1-15);受精后58 h 50 min进入肌节形成期,胚体前段微微隆起,中部出现约8节肌节(图1-16),此时胚孔仍可见;受精后61 h 15 min头部两侧分化出2个眼囊,呈长梭形,即为眼囊期(图1-17);受精后68 h 37 min肌节进一步增多,约20节,胚体眼囊后两侧出现一对卵圆形耳囊,比眼囊小,进入耳囊期(图1-18);受精后72 h 15 min胚层将卵黄栓完全包裹,胚孔封闭,胚体长超过卵黄囊一半,此时为胚孔封闭期(图1-19),在胚孔封闭期观察到轻微的卵黄运动(图2)。受精后75 h 23 min胚体开始扭动,频率和幅度都较小,约15次·min⁻¹,作缓慢的颤动式收缩,进入肌肉效应期(图1-20);受精后79 h 8 min尾端略突出,游离于卵黄,尾芽出现,即为尾芽期(图1-21),此时胚体运动加剧,约40次·min⁻¹;受精后96 h 4 min眼囊中出现圆形、透明晶体,进入晶体形成期(图1-22);受精后101 h 16 min耳囊增大,其内可见2个小点,为耳石,胚体发育至耳石期(图1-23);受精后109 h 22 min头部与卵黄连接处出现空的围心腔,即为围心腔期(图1-24);受精后116 h 16 min围心腔增大,其内可见呈短管状的心脏原基,即为心脏原基期(图1-25);受精后121 h 22 min心脏进入心跳期,开始有节律地搏动,频率为52~58次·min⁻¹(图1-26)。

6) 出膜阶段。受精后139 h 59 min胚体运动剧烈,运动幅度大,胚体即将出膜,此时为出膜前期(图1-27);受精后144 h 20 min胚体尾部将卵膜击破,尾部随即伸出卵膜外,伴随着不停摆动,胚体逐渐脱离卵膜,即为出膜期,初孵仔鱼长度约为(10.85±0.21) mm(图1-28)。

2.1.2 短须裂腹鱼(♀)×鲈鲤(♂)仔稚鱼发育

1) 仔稚鱼发育特征。短须裂腹鱼(♀)×鲈鲤(♂)杂交的F₁代仔稚鱼发育良好(图3),参照国内外的划分方法将其发育时期划分为3个阶段:卵黄囊期仔鱼(刚出膜仔鱼至卵黄囊消失时),历时17 d;晚期仔鱼(从卵黄囊消失至鳍条发育完整),历时45 d;稚鱼期(从鳍条发育完成至鳞片覆盖完毕),历时105 d(表2)。

表1 短须裂腹鱼与鲈鲤杂交 F₁ 代胚胎发育时序表Tab.1 Embryonic development schedule of hybrid of *S. wangchiachii* and *P. pingipingi*

胚胎发育时期 embryonic developmental stage		主要特征 developmental characteristics	短须裂腹鱼(♀)×鲈鲤(♂) <i>S. wangchiachii</i> (♀)× <i>P. pingipingi</i> (♂)(DL)		鲈鲤(♀)×短须裂腹鱼(♂) <i>P. pingipingi</i> (♀)× <i>S. wangchiachii</i> (♂)(LD)	
			时间 time	积温/h·℃ accumulated temperature	时间 time	积温/h·℃ accumulated temperature
受精卵阶段 fertilized egg period	受精卵期	受精卵呈球形, 卵间隙小	0	0	0	0
	吸水膨胀期	受精卵吸水膨胀, 卵间隙增大, 卵膜呈透明状	45 min	10.88	1 h 1 min	14.79
	胚盘隆起期	原生质向动物极集中并隆起形成胚盘	3 h 35 min	51.77	3 h 7 min	54.81
卵裂阶段 cleavage period	2细胞期	胚盘表面凹陷形成分裂沟, 将胚盘分裂为大小相似的2个分裂球	4 h 50 min	69.89	4 h 11 min	60.76
	4细胞期	分裂球再次分裂, 形成大小相似的4个细胞	5 h 44 min	83.09	4 h 47 min	69.31
	8细胞期	分裂球呈几何级数增加, 形成大小相似的8个细胞	6 h 30 min	94.25	5 h 44 min	83.09
	16细胞期	继续分裂, 形成16个细胞	7 h 53 min	114.41	6 h 39 min	96.43
	桑葚胚期	卵裂速度加快, 分裂球越来越小, 细胞界限开始模糊, 形成多细胞胚体, 呈桑葚状	16 h 50 min	244.18	9 h 51 min	142.83
	囊胚阶段 blastula period	囊胚早期	细胞团高高隆起, 形似帽状, 细胞界限模糊不清	19 h 47 min	286.81	16 h 43 min
囊胚中期		细胞层向下扩散, 囊胚高度下降, 呈小丘状, 胚层边缘逐渐平滑	21 h 1 min	304.79	18 h 40 min	270.72
囊胚晚期		囊胚继续下降, 与卵黄囊形成一个近球形	26 h 23 min	382.51	20 h 9 min	292.18
原肠胚阶段 gastrula period	原肠早期	胚层下包卵黄囊约1/2	42 h 45 min	620.02	38 h 34 min	559.27
	原肠中期	胚盾出现, 胚层下包卵黄囊约2/3	49 h 53 min	723.41	42 h 28 min	615.67
	原肠晚期	胚层下包卵黄囊约3/4	53 h 3 min	769.23	51 h 15 min	743.13
器官形成阶段 organogenesis period	神经胚期	胚体可见, 神经板锥形出现	55 h 19 min	802.14	—	—
	肌节出现期	胚体前段微隆起, 中部出现肌节, 胚孔仍可见	58 h 50 min	853.04	—	—
	眼囊期	眼囊出现, 呈长梭形	61 h 15 min	888.13	—	—
	耳囊期	胚体眼囊后两侧出现一对卵圆形耳囊	68 h 37 min	997.99	—	—
	胚孔封闭期	胚层将卵黄栓完全包裹, 胚孔封闭, 胚体明显且超过卵黄囊一半	72 h 15 min	1 047.63	—	—
	肌肉效应期	胚体开始扭动, 作缓慢的颤动式收缩	75 h 23 min	1 093.16	—	—
	尾芽期	尾端略突出, 游离于卵黄, 尾芽出现	79 h 8 min	1 147.39	—	—
	晶体形成期	眼囊中出现圆形、透明晶体	96 h 4 min	1 393.02	—	—
	耳石期	耳囊增大, 其内可见2个小点, 为耳石	101 h 16 min	1 468.27	—	—
	围心腔期	头部与卵黄连接处出现围心腔	109 h 22 min	1 586.01	—	—
	心脏原基期	围心腔内可见呈短管状的心脏原基	116 h 16 min	1 685.05	—	—
心跳期	心脏开始有节律地搏动, 频率52~58次·min ⁻¹	121 h 22 min	1 614.72	—	—	
出膜阶段 incubation period	出膜前期	胚体运动加剧, 运动幅度加大	139 h 59 min	2 029.71	—	—
	出膜期	胚体尾部击破卵膜, 尾部伸出膜外, 胚体脱离卵膜	144 h 20 min	2 092.79	—	—

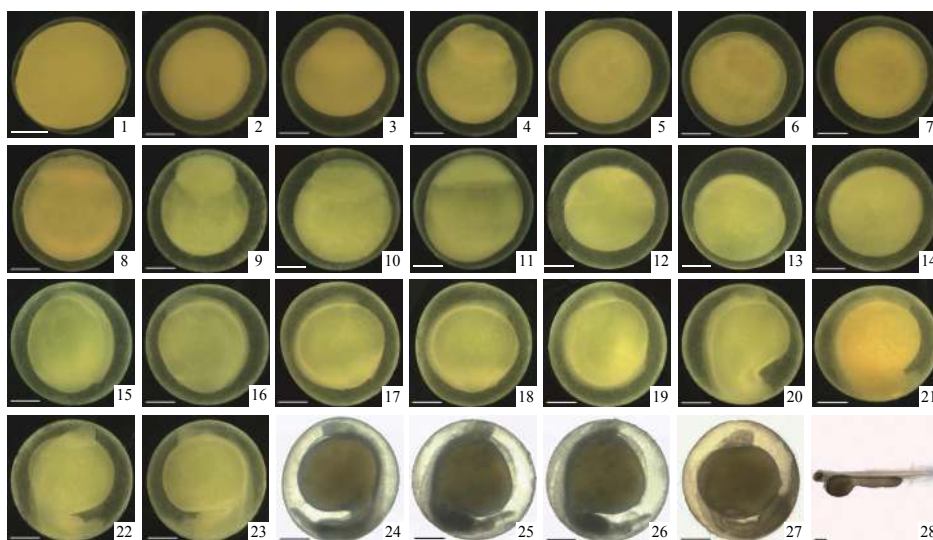


图1 短须裂腹鱼(♀)×鲈鲤(♂)的F₁ 胚胎发育

1. 受精卵期; 2. 吸水膨胀; 3. 胚盘隆起期; 4. 2 细胞期; 5. 4 细胞期; 6. 8 细胞期; 7. 16 细胞期; 8. 桑葚胚期; 9. 囊胚早期; 10. 囊胚中期; 11. 囊胚晚期; 12. 原肠早期; 13. 原肠中期; 14. 原肠晚期; 15. 神经胚期; 16. 肌节出现期; 17. 眼囊期; 18. 耳囊期; 19. 胚孔封闭期; 20. 肌肉效应期; 21. 尾芽期; 22. 晶体形成期; 23. 耳石期; 24. 围心腔期; 25. 心脏原基期; 26. 心跳期; 27. 出膜前期; 28. 出膜期; 标尺=1 mm

Fig.1 Embryonic development of hybrid *S. wangchiachii* (♀)×*P. pingiping* (♂)

1. fertilized egg; 2. swelling stage; 3. blastoderm stage; 4. 2-cell stage; 5. 4-cell stage; 6. 8-cell stage; 7. 16-cell stage; 8. multi-cell stage; 9. early-blastula stage; 10. mid-blastula stage; 11. late-blastula stage; 12. early-gastrula stage; 13. mid-gastrula stage; 14. late-gastrula stage; 15. neurula stage; 16. muscle burl stage; 17. eye vesicle stage; 18. otocyst stage; 19. blastopore closing stage; 20. muscular contraction stage; 21. tailbud formed stage; 22. eye lens formed stage; 23. otoliths stage; 24. pericardiac coelom stage; 25. rudiment of heart stage; 26. heart-beating stage; 27. pre-hatching stage; 28. hatching stage; bar=1 mm

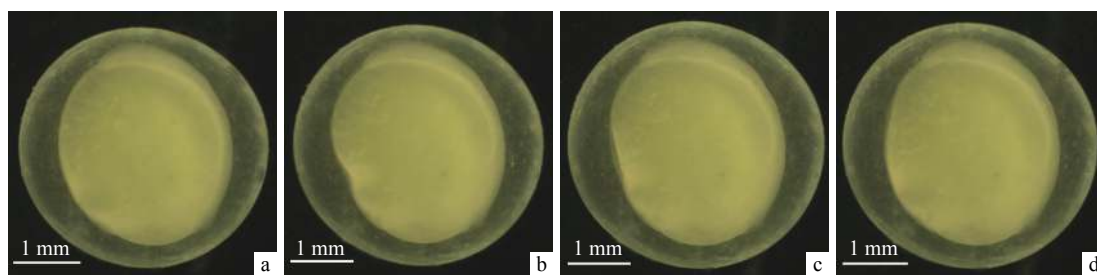


图2 短须裂腹鱼(♀)×鲈鲤(♂)的F₁ 代卵黄运动过程

Fig.2 Yolk movement process of hybrid of *S. wangchiachii* (♀) and *P. pingipingi* (♂)

2) 仔稚鱼生长情况。初孵仔鱼全长为(10.85±0.21) mm, 体长为(8.23±0.18) mm, 出膜第 17 天仔鱼全长为(16.11±0.43) mm, 体长为(11.19±0.36) mm, 出膜第 105 天幼鱼全长为(56.74±0.53 mm), 体长为(45.87±0.67) mm, 总体呈明显增长趋势(图 4)。

2.2 鲈鲤(♀)×短须裂腹鱼(♂) 胚胎发育

鲈鲤的成熟卵为金黄色、沉性、微黏性。在平均水温(14.5±1.0) °C 条件下, 前期发育较正常, 发育至原肠期所需时间为 51 h 15 min, 所需积温为 743.13 h·°C (表 1)。

2.2.1 囊胚期之前 刚受精时, 受精卵呈球形,

卵径约为 2.32 mm, 然后开始吸水膨胀, 受精后 1 h 1 min, 受精卵吸水膨胀到最大, 直径约为 3.26 mm, 此后发育过程除时间长短外均与正交一致。

2.2.2 囊胚期之后 囊胚期开始死亡个体增多, 原肠期末有 85.83% 的胚胎死亡, 原因多为下包过程中卵黄膜破裂, 卵黄物质溢出导致胚胎死亡, 另外在囊胚期和原肠期卵黄内出现异常团块(图 5)。经过原肠期的胚胎, 个体之间发育时间相差较大, 最后仅 12 尾出膜, 且出膜后的仔鱼均畸形, 多为围心腔肿大、体轴弯曲和棒状卵黄囊细短或无(图 5), 出膜 3 d 后畸形个体全部死亡。

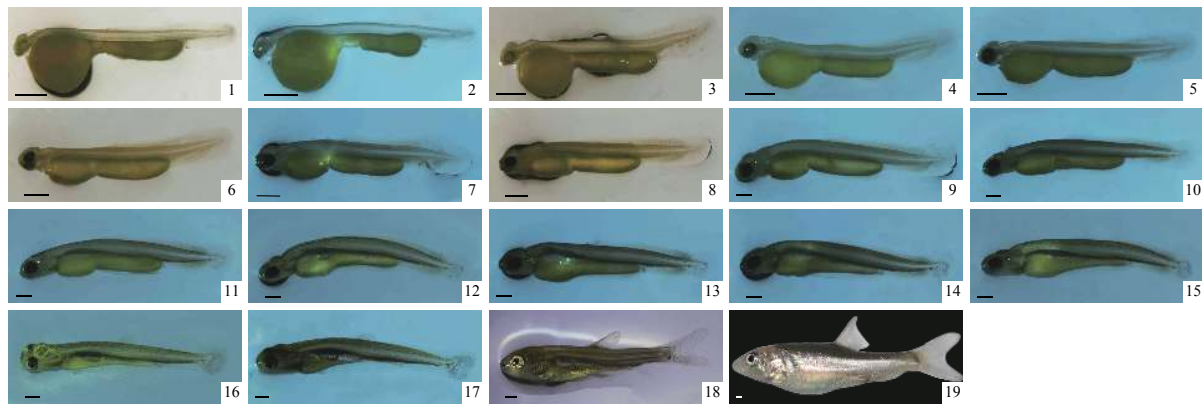


图3 短须裂腹鱼(♀)×鲈鲤(♂)的F₁代仔稚鱼发育

1. 1 d 仔鱼; 2. 2 d 仔鱼; 3. 3 d 仔鱼; 4. 4 d 仔鱼; 5. 5 d 仔鱼; 6. 6 d 仔鱼; 7. 7 d 仔鱼; 8. 8 d 仔鱼; 9. 9 d 仔鱼; 10. 10 d 仔鱼; 11. 11 d 仔鱼; 12. 12 d 仔鱼; 13. 13 d 仔鱼; 14. 14 d 仔鱼; 15. 15 d 仔鱼; 16. 16 d 仔鱼; 17. 17 d 仔鱼; 18. 45 d 仔鱼; 19. 105 d 稚鱼; 标尺=1 mm

Fig.3 Larvae and juveniles development of hybrid *S. wangchiachii* (♀)×*P. pingipingi* (♂)

1. 1 d larvae; 2. 2 d larvae; 3. 3 d larvae; 4. 4 d larvae; 5. 5 d larvae; 6. 6 d larvae; 7. 7 d larvae; 8. 8 d larvae; 9. 9 d larvae; 10. 10 d larvae; 11. 11 d larvae; 12. 12 d larvae; 13. 13 d larvae; 14. 14 d larvae; 15. 15 d larvae; 16. 16 d larvae; 17. 17 d larvae; 18. 45 d larvae; 19. 105 d juveniles; bar=1 mm

表2 短须裂腹鱼(♀)×鲈鲤(♂)仔稚鱼发育特征表

Tab.2 Larval and juvenile development schedule of hybrid of *S. wangchiachii* (♀) and *P. pingipingi* (♂)

时间 time	特征 characteristic	全长/mm total length	体长/mm body length	图序 No. of picture
第1天 1 st day	内源性营养, 卵黄囊占鱼体比值较大, 前段膨大呈球状, 大小约1.96 mm×1.76 mm, 头部与球状卵黄囊夹角约为30°, 后端呈棒状, 仔鱼活动较少, 多卧于水底	11.36±0.26	8.47±0.31	图3-1
第2天 2 nd day	前卵黄囊与头部夹角约45°, 心脏搏动微弱, 心率约55次·min ⁻¹ , 心脏附近可见红色血液流动, 耳石明显	11.49±0.27	8.53±0.24	图3-2
第3天 3 rd day	前卵黄囊与头部夹角约为90°, 眼球出现黑色素	12.71±0.13	9.02±0.12	图3-3
第4天 4 th day	眼球黑色素明显增多, 卵黄囊体积进一步缩小	12.98±0.29	9.68±0.23	图3-4
第5天 5 th day	卵黄囊上出现一条明显的血管, 胸鳍原基出现, 上下颌开始张合, 约8次·min ⁻¹	13.37±0.57	9.78±0.48	图3-5
第6天 6 th day	鳃可见明显红色血液流动	14.12±0.42	10.11±0.37	图3-6
第7天 7 th day	背部出现少量呈芒状的黑色素, 全身血液颜色加深, 心脏搏动有力, 心率约75次·min ⁻¹	14.41±0.36	10.28±0.44	图3-7
第8天 8 th day	胸鳍形成, 背鳍原基出现, 上下颌张合明显, 约35次·min ⁻¹	14.79±0.59	10.49±0.61	图3-8
第9天 9 th day	上下颌张合剧烈, 约97次·min ⁻¹ , 心率85次·min ⁻¹	15.04±0.64	10.52±0.41	图3-9
第10天 10 th day	胸鳍充分伸展, 可摆动, 头顶和背部黑色素增多, 卵黄囊上也出现黑斑, 心跳更剧烈, 约105次·min ⁻¹	15.09±0.68	10.54±0.52	图3-10
第11天 11 th day	尾部出现少量黑色素, 尾鳍下叶出现4~8个鳍条	15.18±0.32	10.58±0.31	图3-11
第12天 12 th day	尾部黑色素增多, 游泳迅速, 鳔充气	15.33±0.48	10.61±0.36	图3-12
第13天 13 th day	背鳍原基隆起呈三角形, 卵黄囊吸收约1/2	15.45±0.66	10.66±0.57	图3-13
第14天 14 th day	尾鳍鳍条分支增多, 约8~14个	15.85±0.61	10.82±0.48	图3-14
第15天 15 th day	卵黄囊吸收约2/3	15.95±0.72	11.07±0.57	图3-15
第16天 16 th day	背鳍出现2~4个鳍条	16.02±0.57	11.13±0.46	图3-16
第17天 17 th day	卵黄消耗完, 尾鳍鳍膜边缘开始内凹, 肠道有明显排遗, 进入后期仔鱼	16.11±0.43	11.19±0.36	图3-17
第45天 45 th day	胸鳍、尾鳍、背鳍、臀鳍、腹鳍鳍条基本发育完整, 躯干呈半透明状, 进入稚鱼期	25.84±0.82	19.46±0.62	图3-18
第105天 105 th day	鳞被已覆盖完毕, 背部呈青黑色, 腹部灰白色, 已基本具备成鱼的身体特征, 进入幼鱼期	56.74±0.53	45.87±0.67	图3-19

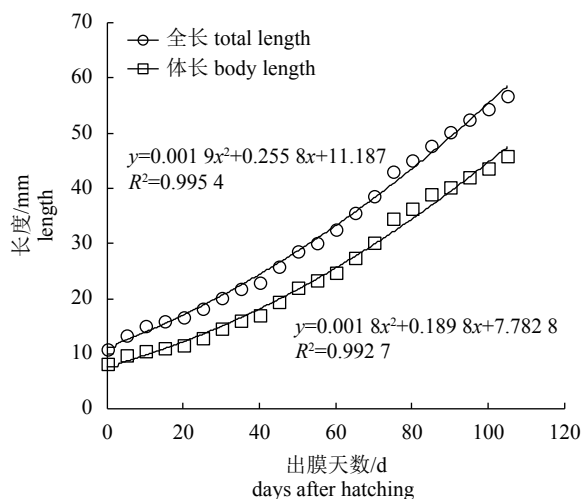


图4 短须裂腹鱼(♀)×鲈鲤(♂)仔稚鱼生长指数图

Fig.4 Growth index of larvae and juveniles of hybrid of *S. wangchiachii* (♀) and *P. pingipingi* (♂)

3 讨论

3.1 短须裂腹鱼(♀)×鲈鲤(♂)的F₁胚胎发育特征

温度是鱼类胚胎发育过程中的重要因素。左鹏翔等^[22]在(19±1)℃条件下观察的鲈鲤胚胎发育时间为101 h 40 min, 赖见生等^[23]在(18.0±0.5)℃时观察的鲈鲤胚胎发育时间为126 h 28 min, 王永明等^[24]在(15.0±0.7)℃时观察鲈鲤胚胎发育时间为164 h; 左鹏翔等^[20]在(14±1)℃条件下观察的短须裂腹鱼的胚胎发育时间为254 h 40 min, 刘阳等^[19]在12.7~14.0℃时观察到短须裂腹鱼胚胎发育时间为192 h。由此可见, 适当的温度范围内, 两亲本胚胎发育时间受发育温度的影响, 且温度越高, 发育时间越短。本研究在水温(14.5±1.0)℃条件下, 短须裂腹鱼(♀)×鲈鲤(♂)的F₁代胚胎发育时间为144.33 h。发育温度相近时, 杂交F₁代的胚胎发育速度快于短须裂腹鱼与鲈鲤。推测是由于杂种

优势导致其胚胎发育速度增快, 或不同地区水质不同以及孵化条件的差异等导致胚胎发育时间的不同。

在黄河裸裂尻鱼(*Schizopygopsis pylzovi*)^[30]、胡子鲇(*Clarias fuscus*)^[31]的胚胎发育过程中均有强烈的卵黄运动, 短须裂腹鱼(♀)×鲈鲤(♂)的F₁代在胚孔封闭期观察到轻微的卵黄运动。在短须裂腹鱼^[19-21]和鲈鲤^[22-24]的胚胎发育及裂腹鱼亚科其他鱼类, 如尖裸鲤(*Oxygymnocypris stewartii*)^[32]、小裂腹鱼(*S. parvus*)^[33]、细鳞裂腹鱼(*S. chongi*)^[34]等中均未见有卵黄运动的报道。刘文生等^[31]认为卵黄运动有助于细胞在卵黄囊上排列以及对以后细胞分化的调整, 推测杂交F₁代胚胎发育速度快于亲本可能与卵黄运动有关, 但卵黄运动具体形成原因及其对胚胎发育的影响机制有待进一步研究。

短须裂腹鱼(♀)×鲈鲤(♂)的F₁代胚胎发育过程与亲本基本一致, 但也有其自身特点, 尤其是器官发育阶段, 鲈鲤和短须裂腹鱼均是在胚孔封闭后开始出现肌节、眼囊和耳囊, 而其杂交F₁代是出现肌节和眼囊、耳囊后胚孔才封闭, 可能由于不同鱼类的胚胎发育具有其独特性^[35], 所以具体发育过程不尽相同。

3.2 短须裂腹鱼(♀)×鲈鲤(♂)的F₁仔稚鱼发育特征

短须裂腹鱼(♀)×鲈鲤(♂)的F₁代卵黄期仔鱼前期主要由卵黄囊提供营养物质, 后期以丰年虫投喂, 生长加快, 其外形与双亲基本一致。仔鱼从孵化到卵黄囊吸收完毕历时17 d, 其发育情况与生长指数均接近短须裂腹鱼^[19-21]。目前未见短须裂腹鱼稚鱼发育的相关报道, 杂交F₁代仔稚鱼历时105 d发育完成, 生长优势不明显, 发育速度与生长速度均慢于鲈鲤^[23]。推测杂交F₁代后期仔鱼和稚鱼的生长速度更接近短须裂腹鱼, 相较于亲本, 短须裂

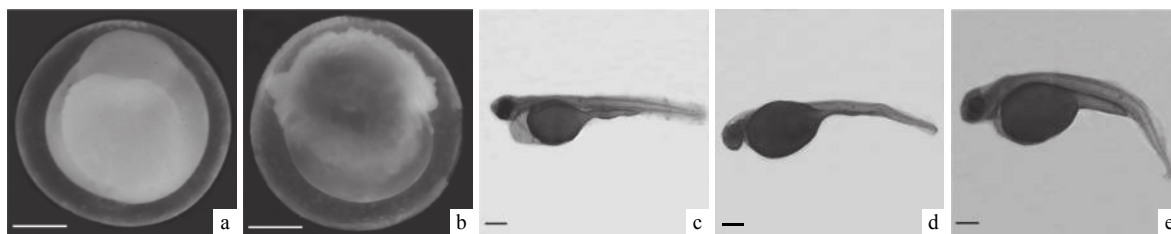


图5 鲈鲤(♀)×短须裂腹鱼(♂)F₁代死亡胚胎和仔鱼

a. 卵黄外出现不明团块; b. 卵黄膜破裂, 卵黄物质溢出; c. 围心腔肿大仔鱼; d. 棒状卵黄囊短仔鱼; e. 体轴弯曲仔鱼; 标尺=1 mm

Fig.5 Dead embryos and larvae of hybrid of *P. pingipingi* (♀) and *S. wangchiachii* (♂)

a. an unidentified mass appears outside the yolk; b. membrane of yolk rupture; yolk is leaking; c. pericardial swelling in the larvae; d. the clavicular yolk is short; e. the body axis of fish bends; bar=1 mm

腹鱼(♀)×鲈鲤(♂)的 F₁ 代仔稚鱼生长发育的差异还有待进一步的实验验证。

短须裂腹鱼和鲈鲤属于不同亚科之间的远缘杂交,具有一定的遗传多样性。目前,对短须裂腹鱼和鲈鲤杂交育种的研究有限,杂交 F₁ 代在对环境因子的耐受性、抗病力等方面是否优于亲本,还有待实验验证。本实验的研究结果将为以后的进一步研究提供理论基础。

参考文献:

- [1] 楼允东, 李小勤. 中国鱼类远缘杂交研究及其在水产养殖上的应用[J]. 中国水产科学, 2006, 13(1): 151-158.
- [2] 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.
- [3] 王新成, 尤锋, 倪高田, 等. 石鲈与牙鲆人工杂交的研究[J]. 海洋科学, 2003, 27(1): 1-4.
- [4] KANG S J, SOHN S H, KANG K S, et al. Molecular and biological aspects of early germ cell development in interspecies hybrids between chickens and pheasants[J]. Theriogenology, 2011, 75(4): 696-706.
- [5] 张福崇, 赵海涛, 万玉美, 等. 菊黄东方鲀(♀)×红鳍东方鲀(♂)杂交子代胚胎及仔稚幼鱼发育研究[J]. 水产科学, 2014, 33(6): 337-343.
- [6] ZHANG S B, FAN C. Effect of DNMT inhibitor on bovine parthenogenetic embryo development[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 466(3): 505-511.
- [7] 徐革锋, 杜佳, 张永泉, 等. 哲罗鱼(♀)与细鳞鱼(♂)杂交种胚胎及仔稚鱼发育[J]. 中国水产科学, 2010, 17(4): 630-638.
- [8] 徐伟, 曹顶臣, 李池陶, 等. 水晶彩鲫、红鲫、锦鲤、荷包红鲤杂交子代的生长和体色研究[J]. 水产学报, 2005, 29(3): 339-343.
- [9] GLAMNZINA B, GLAVIĆ N, SKARAMACA B, et al. Early development of the hybrid *Epinephelus costae*×*E. marginatus*[J]. Aquaculture, 2001, 198(2): 55-61.
- [10] 张纯, 刘少军, 李涛, 等. 红鲫(♀)×鲤(♂)杂交鱼的胚胎染色体组倍性研究[J]. 水产学报, 2014, 35(9): 1369-1373.
- [11] RANJAN R, SINGH R K, YASOTHA T, et al. Effect of actin polymerization inhibitor during oocyte maturation on parthenogenetic embryo development and ploidy in *Capra hircus*[J]. Biochem Genet, 2013, 51(11/12): 944-953.
- [12] 卢薛, 孙际佳, 王海芳, 等. 大眼鳊与翘嘴鳊正反交及其正交子代自交的胚胎发育观察[J]. 中国水产科学, 2013, 20(5): 975-981.
- [13] 丁瑞华. 四川鱼类志[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1994: 365-367.
- [14] 刘跃天, 冷云, 徐伟毅, 等. 短须裂腹鱼人工繁殖初探[J]. 水利渔业, 2007, 27(5): 31-32.
- [15] 楼允东. 鱼类育种学[M]. 北京: 中国农业出版社, 2001: 131-151.
- [16] 孙效文, 鲁翠云, 匡友谊, 等. 鱼类分子育种学[M]. 北京: 海洋出版社, 2010: 84-98.
- [17] 李光华, 冷云, 吴敬东, 等. 短须裂腹鱼规模化人工繁育技术研究[J]. 现代农业科技, 2014, 42(10): 259-261, 270.
- [18] 伍献文. 中国鱼类志[M]. 北京: 科学出版社, 1977: 47-51.
- [19] 刘阳, 朱挺兵, 吴兴兵, 等. 短须裂腹鱼胚胎及早期仔鱼发育观察[J]. 水产科学, 2015, 34(11): 683-689.
- [20] 左鹏翔, 李光华, 冷云, 等. 短须裂腹鱼胚胎与仔鱼早期发育特性研究[J]. 水生态学杂志, 2015, 36(3): 77-82.
- [21] 甘维熊, 王红梅, 邓龙君, 等. 雅砻江短须裂腹鱼胚胎和卵黄囊仔鱼的形态发育[J]. 动物学杂志, 2016, 51(2): 253-260.
- [22] 左鹏翔, 李光华, 冷云, 等. 鲈鲤胚胎发育研究[J]. 现代农业科技, 2014, 42(6): 272-282.
- [23] 赖见生, 杜军, 赵刚, 等. 鲈鲤的胚胎及胚后发育[J]. 西南农业学报, 2014, 27(3): 1326-1331.
- [24] 王永明, 岳兴建. 鲈鲤的胚胎发育[J]. 四川动物, 2013, 32(4): 530-534.
- [25] GISBERT E, WILLIOT P. Influence of storage duration of ovulated eggs prior to fertilisation on the early ontogenesis of sterlet (*Acipenser ruthenus*) and Siberian sturgeon (*Acipenser baeri*)[J]. Int Rev Hydrobiol, 2002, 87(6): 605-612.
- [26] BA Q, DUAN J, TIAN J Q, et al. Dihydroartemisinin promotes angiogenesis during the early embryonic development of zebrafish[J]. Acta Pharmacol Sin, 2013, 34(8): 1101-1107.
- [27] 黄小林, 李涛, 林黑着, 等. 网箱养殖黄斑篮子鱼胚胎发育观察[J]. 南方水产科学, 2018, 14(2): 96-101.
- [28] GIUSTI J, PINHAL D, MOXON S, et al. MicroRNA-10 modulates Hox genes expression during Nile tilapia embryonic development[J]. Mech Dev, 2016, 140(3): 12-18.
- [29] LIN Q, LU J Y, GAO Y L, et al. The effect of temperature on gonad, embryonic development and survival rate of juvenile seahorses, *Hippocampus kuda* Bleeker[J]. Aquaculture, 2006, 254(2): 701-713.
- [30] 邓思红, 陈修松, 谭中林, 等. 黄河裸裂尻鱼胚胎发育和双头鱼形态初步观察[J]. 水生态学杂志, 2014, 35(4): 97-100.
- [31] 刘文生, 李勇, 肖建光. 胡子鲇胚胎发育的观察[J]. 华南农业大学学报, 2004, 25(4): 89-92.
- [32] 许静, 谢从新, 邵俭, 等. 雅鲁藏布江尖裸鲤胚胎和仔稚鱼发育研究[J]. 水生态学杂志, 2011, 32(2): 86-92.
- [33] 冷云, 徐伟毅, 刘跃天, 等. 小裂腹鱼胚胎发育的观察[J]. 水利渔业, 2006, 26(1): 32-34.
- [34] 陈礼强, 吴青, 郑曙明, 等. 细鳞裂腹鱼胚胎和卵黄囊仔鱼的发育[J]. 中国水产科学, 2008, 15(6): 927-934.
- [35] GONG X L, CUI Z K, ZHANG X Y, et al. Complete mitochondrial DNA sequence of the endangered Tarim schizothoracin (*Schizothorax biddulphi* Günther)[J]. Mitochondr DNA, 2012, 23(5): 385-387.