



## 鞍带石斑鱼(♀)×云纹石斑鱼(♂)杂交后代早期发育及正反交后代生长特性

李子奇<sup>1,2,3</sup>, 成美玲<sup>1,4</sup>, 吴玉萍<sup>1,4</sup>, 张晶晶<sup>1,3</sup>, 李振通<sup>1,3</sup>,  
马文辉<sup>5</sup>, 庞尊方<sup>5</sup>, 翟介明<sup>5</sup>, 田永胜<sup>1,2\*</sup>

- (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. 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 266000;  
3. 上海海洋大学, 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海 201306;  
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 烟台 261418)

**摘要:** 以鞍带石斑鱼为母本, 云纹石斑鱼为父本, 采用人工授精技术进行了种间反交实验, 并对反交子代的胚胎发育和仔稚幼鱼的生长情况进行了观察, 进而与亲本及正交F<sub>1</sub>云纹石斑鱼(♀)×鞍带石斑鱼(♂)的表型性状进行对比分析。结果显示, 反交子代受精卵为圆形、透明、浮性卵, 卵径为(0.787±0.013) mm, 有1个油球, 居卵中央, 在水温为24℃、盐度30、pH为7.8的孵化条件下, 胚胎可以正常发育, 经历受精卵、卵裂、囊胚、原肠胚、器官形成和出膜6个阶段25个时期完成胚胎发育, 初孵仔鱼全长为(1.595±0.015) mm, 说明反交的可行性。孵化后3 d, 卵黄囊消失, 由前期仔鱼发育为后期仔鱼, 全长(2.530±0.023) mm。孵化后52 d进入稚鱼期, 全长(17.500±1.915) mm, 第二背鳍棘长(5.795±0.049) mm, 第一腹鳍棘长(2.992±0.911) mm; 58 d稚鱼背鳍棘收缩至最小值(4.460±0.600) mm时, 鳞片和体色开始出现。孵化后67 d进入幼鱼期, 全长(34.500±1.291) mm, 第二背鳍棘和第一腹鳍棘完全退化, 体型与成鱼相似, 全身覆盖鳞片, 反交F<sub>1</sub>体色不一致, 具4种表现型。生长对比结果显示, 正反交F<sub>1</sub>的发育速率均介于亲本之间, 均快于云纹石斑鱼, 慢于鞍带石斑鱼, 反交F<sub>1</sub>生长速率慢于正交F<sub>1</sub>。研究结果为石斑鱼杂交优势性状形成及遗传解析提供了一定数据基础。

**关键词:** 鞍带石斑鱼; 云纹石斑鱼; 云纹石斑鱼; 正交; 反交; 胚胎发育; 变态发育  
**中图分类号:** Q 321; S 965 **文献标志码:** A

杂交是国内外近年来鱼类育种中使用最广泛的技术, 也是防止品种退化及创制优良品种的有效办法, 在鱼类育种中得到了普遍的认可, 同时也广泛运用于石斑鱼新品种的培育<sup>[1]</sup>。国外的研究团队已经在56科约1 080种鱼类中做过远缘杂交实验, 主要集中在太阳鱼科(Centrarchidae)、

鲤科(Cyprinidae)、胎鳉科(Poeciliidae)和鲑科(Salmonidae), 其培养出的F<sub>1</sub>具有生长速率快、抗逆性强、抗病能力强、产量高等优点, 体现了一定的杂种优势<sup>[2]</sup>。我国科研人员也进行了大量的鱼类杂交实验。在淡水或海水鱼类杂交研究方面均有报道, 据不完全统计, 迄今已有112个

收稿日期: 2019-03-06 修回日期: 2019-06-03

资助项目: 山东省重点研发计划(2019GHY112063); 山东省良种工程(2019LZGC020); 中国水产科学研究院黄海水产研究所基  
本科研业务费专项(20603022019002, 20603022017013); 烟台市“双百计划”人才项目

通信作者: 田永胜, E-mail: tianys@ysfri.ac.cn

杂交组合,主要涉及3个目:鲤形目(Cypriniformes)、鲈形目(Perciformes)和鲇形目(Siluriformes),7个科:鲤科、鲈科(Serranidae)、丽鱼科(Cichlidae)、鲷科(Sparidae)、鲇科(Siluridae)、胡子鲇科(Clariidae)和鳢科(Bagridae),共40多种鱼类。截至2017年,我国通过遗传育种技术研制的国家级鱼类新品种共83个,其中淡水鱼73个,海水鱼10个。杂交成功的例子有很多,如淡水鱼中的丰鲤(*Cyprinus carpio*)<sup>[3]</sup>、荷元鲤<sup>[4]</sup>、湘云鲤<sup>[5]</sup>、湘云鲫(*Carassius auratus*)<sup>[5]</sup>、团头鲂(*Megalobrama amblycephala*)浦江1号<sup>[6]</sup>等。在海水鱼中牙鲆(*Paralichthys olivaceus*)“鲆优1号”<sup>[7]</sup>、石斑鱼中的珍珠龙胆石斑鱼[棕点石斑鱼(*Epinephelus fuscoguttatus*)(♀)×鞍带石斑鱼(*E. lanceolatus*)(♂)]<sup>[8]</sup>、云龙石斑鱼<sup>[9]</sup>等一系列杂交品种,杂交后代体现出了抗逆性强、抗病能力强、成活率高、养殖产量高、品质优等经济优势。

杂交育种可以使双亲的基因重新组合,产生丰富的杂交多样性,为鱼类育种提供丰富的材料。近年来,国内外已开展的石斑鱼杂交研究有很多,例如云纹石斑鱼(*E. moara*)(♀)×赤点石斑鱼(*E. akaara*)(♂)<sup>[10]</sup>、云纹石斑鱼(♀)×七带石斑鱼(*E. septemfasciatus*)(♂)<sup>[11]</sup>、赤点石斑鱼♂×斜带石斑鱼(*E. coioides*)(♀)<sup>[12]</sup>、棕点石斑鱼(♀)×鞍带石斑鱼(♂)<sup>[13]</sup>及云纹石斑鱼(♀)×鞍带石斑鱼(♂)<sup>[9]</sup>,为后续石斑鱼杂交育种奠定了重要基础。科研人员近年来虽然进行了多种石斑鱼杂交工作,但是大多数杂交组合仍旧存在受精率低、成活率低、畸形率高等缺点,只有极少数杂交后代如珍珠龙胆(龙虎杂交斑)、云龙石斑鱼可以进行规模化生产<sup>[9,13]</sup>。

云龙石斑鱼是近年来培育的一个具有生长杂交优势的新品种,其母本云纹石斑鱼和父本鞍带石斑鱼均隶属于鲈形目、鲈科、石斑鱼亚科(Epinephelinae)、石斑鱼属。云纹石斑鱼俗称草斑、油斑,是温水性(适应温度5℃~32℃)礁栖鱼类,主要分布于北太平洋西部,我国产于东海和南海,其具有生长速率快、抗病性强、适温范围广等特点,适应于池塘、网箱和室内水泥池等工厂化养殖<sup>[14]</sup>。鞍带石斑鱼俗称龙趸、龙胆石斑,为热带海域中下层鱼类(适应温度13℃~30℃),主要产于印度洋和太平洋的热带、亚热带珊瑚礁海域,我国南海海域有分布。鞍带石斑鱼是石斑鱼类中体型最大的种类,具有

生长快速、肉质鲜美、适盐范围广等特点,已成为东南沿海地区重要的养殖种类之一<sup>[15]</sup>。以云纹石斑鱼为母本,鞍带石斑鱼为父本,杂交培育出的“云龙石斑鱼”具有生长速率快和适温性广的优良性状,245日龄鱼体长为母本的1.3倍,体质量为母本的2.6倍<sup>[16]</sup>。本研究对其反交后代的胚胎发育、胚后变态发育及生长性状进行分析,并对正反交后代和亲本在发育、表型数量性状差异方面进行了比较,为我国石斑鱼正反交后代遗传性状解析及品种改良提供依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验对象

实验于2018年7月份在山东莱州明波水产有限公司进行,所选用的亲鱼均经过多年驯养且发育成熟,在繁殖季节挑选性腺发育较好的亲鱼进行催产,催产剂使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-A<sub>2</sub>)混合注射,HCG剂量约240~370 IU/kg,LHRH-A<sub>2</sub>剂量约7~13 IU/kg。40~48 h后挑选成熟度较好的亲鱼,用MS-222麻醉剂麻醉,选用编号为2005和2784的2条云纹石斑鱼的新鲜精子与鞍带石斑鱼卵进行人工授精。受精后,经过2~3次冲洗及过滤后,除去下层浑浊且下沉卵,挑选上浮受精卵放入孵化桶孵化,孵化水温为24℃,盐度为30,孵化桶内加入充气输氧设备,保持微充气、微流水进行孵化,并进行跟踪观察。

### 1.2 仔、稚、幼鱼培育条件

待仔鱼发育至出膜前期,将其装入透明塑料袋内,充气后转入新的水泥池中孵化和培育。培育水温控制在25℃~27℃,盐度为29~31,溶解氧≥5 mg/L。仔鱼采用静水微充气式培育,定时定量泼洒小球藻液及乳酸菌酶素溶液以保证仔鱼的健康生长。从仔鱼出膜开始计算,10 d内不换水,每天增添一定量经处理后的新鲜海水。10 d后开始换水,根据仔鱼的生长状况适度调整含氧量及换水量且保证鱼苗车间光线充足。出膜3 d后仔鱼开口,可给仔鱼投喂超小型轮虫(ss型轮虫),根据仔鱼生长情况,可在2~3 d后过渡到投喂褶皱臂尾轮虫(*Brachionus plicatilis*)(s型轮虫),13 d后进入稚鱼期,可混合投喂经小球藻强化的L型褶皱臂尾轮虫,17 d后交叉投喂卤虫(*Artemia* sp.)无节幼体,此后可逐

渐过渡至投喂卤虫成体和配合饲料。

### 1.3 胚胎发育和仔、稚、幼鱼的形态观察

布卵至出膜阶段,每20 min用烧杯在孵化桶中取样,使用生物显微镜观察并详细记录每一个生长时期的发育状况和形态变化;出膜至5 d仔鱼,每天取样观察及拍照,5~13 d仔鱼,每2天取1次样,至后期仔鱼期全长较大时改用解剖镜进行观察并做详细记录,17~58 d每6天取1次样,幼鱼每9天取1次样,从前期仔鱼开始对鱼体全长、肛前距、头长、体高、第一背鳍长、第二背鳍长及腹鳍长进行测量、拍照、记录及观察。

### 1.4 数据处理

利用A.J-VERT图像测量分析软件根据像素与实际尺寸之间的比例,对所获取鱼苗照片进行各数据的测量及分析,数据以平均值±标准差(mean±SD)表示,利用ImageJ图像处理软件加入比例尺,利用Microsoft Office PowerPoint进行图片后期的排版及标序。利用SPSS 17软件采用单因子方差分析(One-Way ANOVA),并对仔、稚、幼鱼的全长、肛前距、背鳍棘的长度进行了多重比较。

## 2 结果

### 2.1 胚胎发育

鞍带石斑鱼(♀)×云纹石斑鱼(♂)杂交受精卵呈圆球形(图版 I-1),无色透明,其卵径为(0.787±0.013) mm,共经历了受精卵、卵裂、原肠胚、神经胚、器官形成和出膜6个时期,完成胚胎发育并出膜共18 h 52 min,具体胚胎发育过程时序见表1,胚胎发育各个阶段的形态见图版 I。

### 2.2 仔、稚、幼鱼形态发育特征

**前期仔鱼** 从出膜至2 d,仔鱼口裂形成,为前期仔鱼期,全长由(1.587±0.015) mm增长到(2.425±0.021) mm,卵黄囊在出膜后1 d体积显著缩小,在出膜后2 d几乎消耗殆尽,油球体积也显著缩小,至2 d时油球几乎消失,仅剩残迹,体表仍有卵黄膜,口裂形成,下颌略长出上颌,眼窝加深,听囊增大,头部及心脏后方色素加深变暗,胸鳍原基长出,呈张开状,肛门开口于体外。

**后期仔鱼** 3日龄仔鱼口裂形成至47日龄

仔鱼时,第二背鳍达到仔、稚鱼期最大值,为后期仔鱼期,全长由(2.530±0.023) mm增长到(18.755±2.104) mm,口裂持续增大,吻端逐渐向外突出,长出鼻孔,眼窝加深,眼球瞳孔清晰可见,卵黄膜逐渐消失,胸鳍逐渐完整,发育至7日龄仔鱼时第二背鳍棘长出,尾部有大量斑点状黑色素堆积,发育至17 d时尾部6条尾鳍清晰可见,发育至23 d时鱼体透明度降低,眼框加深,眼睑出现皱褶,发育至47 d时第二背鳍棘增长至仔、稚鱼期的最大值(6.922±0.130) mm,鱼体背部、鳃部及眼球外部两侧开始出现鳞片,且具有反光性,鳍棘上的小刺已不明显,进入稚鱼期。

**稚鱼期** 48~58日龄,全长由(18.755±2.104) mm增长至(21.500±2.646) mm,第二背鳍与腹鳍的相对长度开始变小,第二背鳍缩短,达到稚、幼鱼期最短阶段[(4.460±0.600) mm],腹鳍逐渐收缩至尾部,头部变尖,眼部外突,鳞片基本覆盖鱼体腹部,侧线明显,完成变态,具有幼鱼特征。

**幼鱼期** 67~86日龄幼鱼:全长由(34.500±1.291) mm增长至(52.000±2.944) mm,第二背鳍和腹鳍逐渐进入稳步增长期,鳞片已完全长齐,鱼体暗黄色并覆盖有3~6道褐色带状纹路,形似云纹石斑鱼,背鳍数17,腹鳍数5,臀鳍数8,尾鳍数25(图版 II-19)。

选取56尾幼鱼,根据体色及发育情况大致可分为4类,体现出杂交后代的不一致性,主要表现在体色方面:通体褐色,附有5~7条不规则白色块状纹路(图版 II-20);通体黑色,体表附有少数不规则白色斑块,不能连接成带状纹路,各鳍条发育正常(图版 II-21);通体银白色,附有5~7条不规则褐色带状纹路(图版 II-22);通体黑色,体表附有5~8条不规则白色带状纹路(图版 II-23)。

### 2.3 仔、稚、幼鱼的全长生长

反交F<sub>1</sub>的仔、稚、幼鱼全长及肛前距与孵化后天数的关系如图1所示。孵化后1~13 d全长和肛前距变化较小,此时正处于仔鱼期,生长较缓慢;14~52 d处于变态增长期,此时全长和肛前距变化较快;在67 d以后鱼体处于幼鱼期,全长和肛前距稳定增长。

出膜后2 d时,肛门出现并与外界联通,进入后期仔鱼期。全长与肛前距比例如图2所示,出膜后23 d时,全长与肛前距的比值达到最大值

表 1 鞍带石斑鱼(♀)×云纹石斑鱼(♂)杂交F<sub>1</sub>受精卵胚胎发育过程时序Tab. 1 Developmental sequence of fertilized egg of hybrid F<sub>1</sub> by *E. lanceolatus* (♀)×*E. moara* (♂)

受精后时间 time after fertilization	胚胎发育时期 stage of embryo	主要特征 developmental characteristics
0 h 0 min	受精卵	圆球形, 无色透明, 中央有一油球(图版 I -1)
0 h 22 min	胚盘形成	胚盘形成, 从侧面可见胚盘有帽状隆起(图版 I -2)
0 h 47 min	2细胞期	第一次卵裂, 形成2个对等细胞(图版 I -3)
0 h 59 min	4细胞期	第二次卵裂, 形成4个对等细胞(图版 I -4)
1 h 04 min	8细胞期	第三次卵裂, 形成8个对等细胞(图版 I -5)
1 h 16 min	16细胞期	第四次卵裂, 形成16个对等细胞(图版 I -6)
1 h 19 min	32细胞期	第五次卵裂, 形成32个对等细胞(图版 I -7)
1 h 35 min	64细胞期	第六次卵裂, 形成64个对等细胞(图版 I -8)
2 h 2 min	多细胞期	细胞逐渐变小而密集, 出现重叠(图版 I -9)
2 h 4 min	桑葚期	细胞变得更小, 细胞团类似桑葚球(图版 I -10)
2 h 36 min	高囊胚期	囊胚高而集中, 呈高帽状(图版 I -11)
4 h 56 min	低囊胚期	囊胚边缘变薄, 细胞下包, 进入低囊胚期(图版 I -12)
5 h 21 min	原肠初期	背面观可见胚环逐渐形成, 侧面可见胚盾已形成(图版 I -13)
6 h 18 min	原肠中期	胚层下包卵黄1/2(图版 I -14)
6 h 32 min	原肠末期	胚层继续下包卵黄3/4, 胚盾变得细长(图版 I -15)
7 h 11 min	胚体形成期	胚体轮廓清晰可见(图版 I -16)
7 h 59 min	胚孔封闭期	胚层下包, 胚孔即将封闭(图版 I -17)
10 h 0 min	视囊形成期	胚体头部两侧鼓起, 出现1对视囊(图版 I -18)
10 h 30 min	肌节出现期	胚体中部出现肌节(图版 I -19)
10 h 41 min	听囊形成期	视囊靠后位置出现1对听囊(图版 I -20)
11 h 41 min	脑泡形成期	头部两视囊中间出现脑泡(图版 I -21)
12 h 48 min	尾芽期	尾芽开始与卵黄膜分离(图版 I -22)
14 h 48 min	晶体形成期	晶体轮廓清晰, 胚体开始不规则颤动(图版 I -23)
15 h 38 min	心脏跳动期	心室开始跳动, 心跳加快(图版 I -24)
18 h 1 min	孵化期	胚体扭动剧烈, 头部率先破膜(图版 I -25)
18 h 52 min	初孵仔鱼	胚体全部孵出(图版 I -26)

1.87; 在孵化后29 d时, 全长与肛前距的比值下降到最小值1.18, 说明在孵化后23~29 d, 杂交子代变态发育明显, 体高增长变快, 导致全长与肛前距的比值下降; 在孵化后58~67 d时, 杂交子代由稚鱼期过渡到幼鱼期, 全长与肛前距的比值也明显上升, 达到1.61, 之后进入幼鱼期, 全长与肛前距的比值逐渐稳定。

## 2.4 鳍棘生长变化

第二背鳍棘和腹鳍棘的伸长与收回是石斑鱼仔、稚、幼鱼培育过程中特有的现象。在出

膜后2 d, 第一腹鳍开始长出, 此时的腹鳍棘发育较快, 至35 d, 腹鳍棘发育变慢, 并在47 d时绝对长度达到最大值后开始收缩, 进入稚鱼期, 鳍条进入正常生长期; 相对第一腹鳍棘, 第二背鳍棘在出膜7 d后长出, 且增长速率大于第一腹鳍棘的增长速率, 在47 d时背鳍绝对长度达到最大时开始收缩, 进入稚鱼期, 鳍条进入正常生长期。67 d后进入幼鱼期, 第一腹鳍棘与第二背鳍棘相对长度逐渐缩小, 且生长速率较为缓慢, 进入正常生长期(图3)。

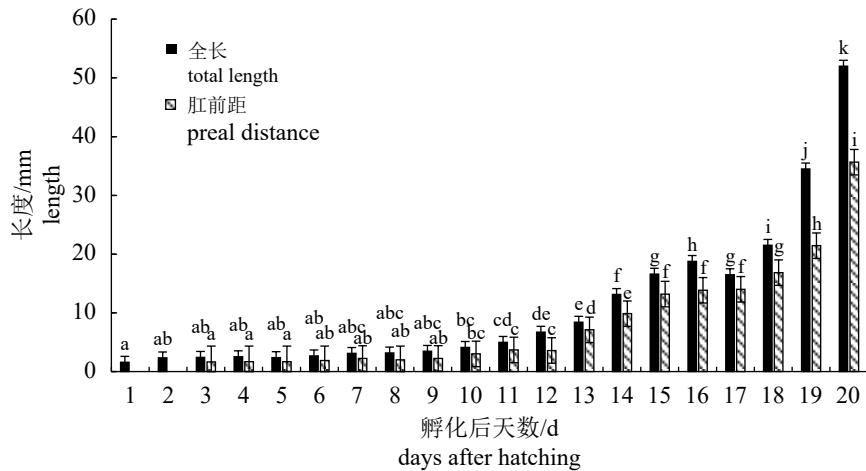


图 1 鞍带石斑鱼(♀)×云纹石斑鱼(♂)杂交F<sub>1</sub>仔、稚、幼鱼的生长

1. 初孵仔鱼, 2. 1 d仔鱼, 3. 2 d仔鱼, 4. 3 d仔鱼, 5. 4 d仔鱼, 6. 5 d仔鱼, 7. 7 d仔鱼, 8. 9 d仔鱼, 9. 11 d仔鱼, 10. 13 d仔鱼, 11. 17 d仔鱼, 12. 23 d仔鱼, 13. 29 d仔鱼, 14. 35 d仔鱼, 15. 41 d仔鱼, 16. 47 d仔鱼, 17. 52 d稚鱼, 18. 58 d稚鱼, 19. 67 d幼鱼, 20. 86 d幼鱼; 柱上方不同字母表示差异显著( $P < 0.05$ ); 下同

Fig. 1 Growth of larvae, juvenile and young fish of crossbreed F<sub>1</sub> by *E. lanceolatus*(♀)×*E. moara*(♂)(n=4)

1. newly hatched larvae, 2. 1 d larvae, 3. 2 d larvae, 4. 3 d larvae, 5. 4 d larvae, 6. 5 d larvae, 7. 7 d larvae, 8. 9 d larvae, 9. 11 d larvae, 10. 13 d larvae, 11. 17 d larvae, 12. 23 d larvae, 13. 29 d larvae, 14. 35 d larvae, 15. 41 d larvae, 16. 47 d larvae, 17. 52 d juvenile, 18. 58 d juvenile, 19. 67 d young fish, 20. 86 d young fish; above the bars, different letter superscripts mean significant difference( $P < 0.05$ ); the same below

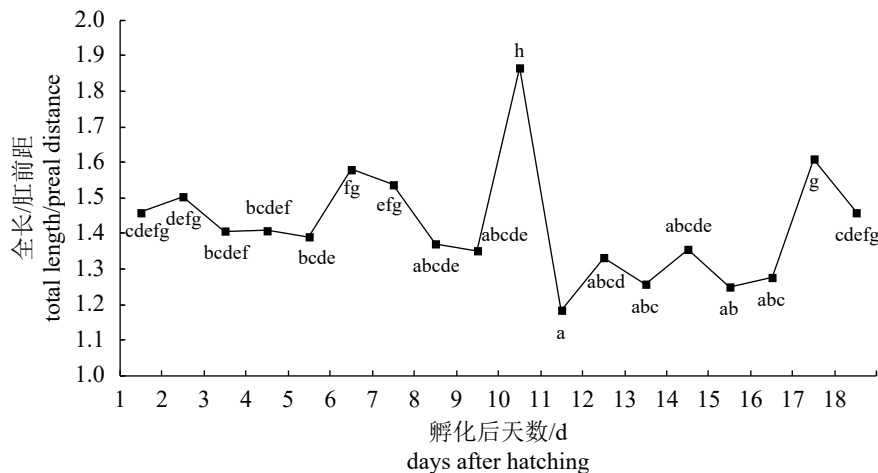


图 2 鞍带石斑鱼(♀)×云纹石斑鱼(♂)杂交F<sub>1</sub>仔、稚、幼鱼全长/肛前距的变化

1. 2 d仔鱼, 2. 3 d仔鱼, 3. 4 d仔鱼; 4. 5 d仔鱼, 5. 7 d仔鱼, 6. 9 d仔鱼, 7. 11 d仔鱼, 8. 13 d仔鱼, 9. 17 d仔鱼, 10. 23 d仔鱼, 11. 29 d仔鱼, 12. 35 d仔鱼, 13. 41 d仔鱼, 14. 47 d仔鱼, 15. 52 d稚鱼, 16. 58 d稚鱼, 17. 67 d幼鱼, 18. 86 d幼鱼; 下同

Fig. 2 Changes of total length/preanal distance of larvae, juvenile and young fish of crossbreed F<sub>1</sub> by *E. lanceolatus*(♀)×*E. moara*(♂)(n=4)

1. 2 d larvae, 2. 3 d larvae, 3. 4 d larvae, 4. 5 d larvae, 5. 7 d larvae, 6. 9 d larvae, 7. 11 d larvae, 8. 13 d larvae, 9. 17 d larvae, 10. 23 d larvae, 11. 29 d larvae, 12. 35 d larvae, 13. 41 d larvae, 14. 47 d larvae, 15. 52 d juvenile, 16. 58 d juvenile, 17. 67 d young fish, 18. 86 d young fish; the same below

### 3 讨论

#### 3.1 正反交子代与亲本发育时间及所需温度

将反交F<sub>1</sub>与父本云纹石斑鱼<sup>[17]</sup>、母本鞍带石斑鱼<sup>[18]</sup>和正交子代云龙石斑鱼<sup>[9]</sup>的早期发育进行

比较(表2), 可见, 反交F<sub>1</sub>和鞍带石斑鱼的胚胎发育速率相当, 快于云龙石斑鱼和云纹石斑鱼。正反交F<sub>1</sub>和鞍带石斑鱼的开口时间都为4 d, 云纹石斑鱼为5 d。反交F<sub>1</sub>后期仔鱼的发育历时明显短于其他3种石斑鱼; 云纹石斑鱼、鞍带石斑

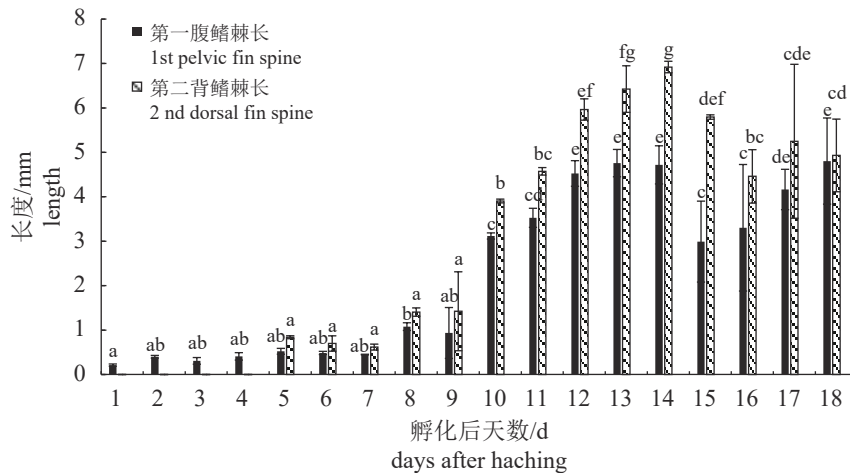


图3 鞍带石斑鱼(♀)×云纹石斑鱼(♂)杂交F<sub>1</sub>仔、稚、幼鱼第一腹鳍棘和第二背鳍棘长度的变化

Fig. 3 Changes of the length of the 1<sup>st</sup> pelvic fin and the 2<sup>nd</sup> dorsal fin spine of larvae, juvenile and young fish of crossbreed F<sub>1</sub> by *E. lanceolatus*(♀)×*E. moara*(♂)(n=4, P<0.05)

表2 正反交F<sub>1</sub>与纯合亲本早期培育水温、进入各发育阶段时间及全长的比较

Tab. 2 Comparison of early development cultivation temperature and overall length of direct and reciprocal crosses F<sub>1</sub> with homozygous parents

种类 species	培育 水温/°C cultivation temperature	胚胎发育 时间/min development of embryos	初孵仔鱼 全长/mm average length of newly hatched larvae	前期仔 鱼期/d pre-larvae	后期仔鱼 的全长/mm average length of post larvae began	后期仔 鱼期/d post larvae	稚鱼期 全长/mm average length of juvenile began	稚鱼期/d juvenile	幼鱼期 全长/mm average length of young fish began	参考文献 references
云纹石斑鱼 <i>E. moara</i>	22~24	40 h 37 min	1.74	1~4	2.64	5~30	9.99	31~65	25.00	[17]
鞍带石斑鱼 <i>E. lanceolatus</i>	27~30	18 h 30 min	2.08	1~2	3.05	3~21	18.19	22~30	32.50	[18]
正交F <sub>1</sub> <i>E. moara</i> (♀) × <i>E. lanceolatus</i> (♂)	25~27	32 h 6 min	2.06	1~2	2.77	3~30	18.13	31~45	39.85	[19]
反交F <sub>1</sub> <i>E. lanceolatus</i> (♀) × <i>E. moara</i> (♂)	25~27	18 h 52 min	1.59	1~2	2.53	3~51	17.50	52~66	34.50	本研究

鱼和正反交后代进入稚鱼期的发育时间分别为34、8、14和14 d。在稚鱼期,正反交F<sub>1</sub>均历时14 d进入幼鱼期,明显快于云纹石斑鱼,但慢于鞍带石斑鱼。发育至幼鱼的先后顺序为鞍带石斑鱼(31 d)、正交F<sub>1</sub>(46 d)、云纹石斑鱼(66 d)、反交F<sub>1</sub>(67 d),反交F<sub>1</sub>与父本云纹石斑鱼相当。正反交后代与父母本的发育和生长速率与培育温度有关,但结果明显体现出与父本发育速率的密切相关性。同时也显示,在相同的培育温度下,正交后代云纹石斑鱼发育速率快于反交后代。

### 3.2 正反交子代及亲本发育的比较

对4种石斑鱼早期发育的时间及全长进行统计与对比,在初孵仔鱼阶段,反交子代的全长

小于其他3种石斑鱼,与云纹石斑鱼和鞍带石斑鱼进入后期仔鱼所历经的时间相同,比云纹石斑鱼提前2 d,日均增长率快于云纹石斑鱼,慢于鞍带石斑鱼。进入后期仔鱼期,可能是由于食性的转变或水温等环境因素的改变,反交子代的发育速率显著变慢,全长的增长速率及各鳍条的发育速率均显著变缓,体色与体型等外部特征与其他3种石斑鱼相似,未表现出显著差异。本实验将第二背鳍棘与腹鳍棘相对长度的收缩作为进入稚鱼期的标志,反交F<sub>1</sub>与其他3种石斑鱼发育情况有差异,其他3种石斑鱼在鳞片出现之前便已经完成了背、腹鳍的收缩过程,而反交F<sub>1</sub>背部、鳃部及眼球外部

两侧开始出现鳞片时,第二背鳍棘与腹鳍棘的相对长度并未变小,反而达到了仔、稚鱼期的最大值。与其他3种石斑鱼具有相似的体色及带状纹路相比,反交后代体色具有多种表现型(表2)。

### 3.3 杂交后代的遗传基础分析

田永胜等<sup>[20]</sup>利用多元统计分析方法对云龙石斑鱼与其亲本的表型数量性状进行判别分析,证明了云龙石斑鱼表型数量性状偏向于父本。还有研究者利用微卫星标记分析了云龙石斑鱼与亲本群体之间的遗传多样性及群体内和群体间的遗传变异,结果显示云龙石斑鱼与云纹石斑鱼遗传相似度较高,遗传距离较近<sup>[21]</sup>。李振通等<sup>[16]</sup>对云龙石斑鱼、云纹石斑鱼和珍珠龙胆石斑鱼的生长性状等做了相关对比和分析。在染色体核型分析方面,云龙石斑鱼的染色体核型公式为 $2n=484\ sm+6\ st+38\ t$ <sup>[22]</sup>,与其父本鞍带石斑鱼染色体核型公式 $2n=2\ sm+6\ st+40\ t$ <sup>[23]</sup>、母本云纹石斑鱼染色体核型公式 $2n=4\ sm+44\ t$ <sup>[14]</sup>做了相关对比,发现杂交后代在遗传过程中发生了复杂的染色体重组与变异。

以上研究对杂交石斑鱼的种质鉴定、亲缘关系分析及杂交育种等提供了重要的科学依据,而杂交后代与亲本表型性状差异,杂交优势性状形成的遗传机制等方面还需进一步研究。

### 参考文献:

- [1] Xu K, Duan W, Xiao J, *et al.* Development and application of biological technologies in fish genetic breeding[J]. *Science China Life Sciences*, 2015, 58(2): 187-201.
- [2] 王石, 汤陈宸, 陶敏, 等. 鱼类远缘杂交育种技术的建立及应用[J]. *中国科学: 生命科学*, 2019, 62(1): 22-45. Wang S, Tang C C, Tao M, *et al.* Establishment and application of distant hybridization technology in fish[J]. *Science China Life Sciences*, 2019, 62(1): 22-45(in Chinese).
- [3] 蒙艳飞, 韦慕兰. 兴国红鲤与散鳞镜鲤纯种的选育[J]. *北京农业*, 2011(9): 115. Meng Y F, Wei M L. Xingguo red carp and scattered mirror carp pure breeding[J]. *Beijing Agriculture*, 2011(9): 115(in Chinese).
- [4] 潘光碧, 邹桂伟, 胡德高. 荷元鲤雌核发育后代体色和性比的初步研究[J]. *水产学报*, 1995(4): 366-368. Pan G, Zou G, Hu D. Preliminary studies on body colour segregation and sex ratio of gynogenetic posterity in heyuan hybrid carp[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1995(4): 366-368(in Chinese).
- [5] 刘飞, 张轩杰. 湘云鲫和湘云鲤的形态特征[J]. *湖南师范大学自然科学学报*, 2003, 26(1): 77-80. Fei L, Xuan-Jie Z. Studies on the morphological characteristics of triploid crucian carp and triploid common carp[J]. *Journal of Natural Science of Hunan Normal University*, 2003, 26(1): 77-80(in Chinese).
- [6] 李思发. 团头鲂新品种浦江1号[J]. *农村百事通*, 2016(10): 34. Li S F. A new species *Megalobrama amblycephala* Pujiang No. 1[J]. *Nongcun Baishitong*, 2016(10): 34(in Chinese).
- [7] 田永胜, 齐文山, 姜静, 等. “鲆优1号”牙鲆和亲本群体的表型及遗传性状变异分析[J]. *海洋学报(中文版)*, 2014(6): 75-86. Tian Y S, Qi W S, Jiang J, *et al.* Analysis of phenotype and genetic variation of on “Flounder No. 1” *Paralichthys olivaceus* and their parental populations[J]. *Acta Oceanologica Sinica*(in Chinese), 2014(6): 75-86(in Chinese).
- [8] 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. Chen C, Kong X D, Li Y L, *et al.* Embryonic and morphological development in the larva, juvenile, and young stages of *Epinephelus fuscoguttatus* (♀) × *E. lanceolatus* (♂)[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2014, 35(5):135-144(in Chinese).
- [9] 田永胜, 陈张帆, 段会敏, 等. 鞍带石斑鱼冷冻精子与云纹石斑鱼杂交家系建立及遗传效应[J]. *水产学报*, 2017, 41(12): 1817-1828. Tian Y S, Chen Z F, Duan H M, *et al.* The family line establishment of the hybrid *Epinephelus moara* (♀) × *E. lanceolatus* (♂) by using cryopreserved sperm and the related genetic effect analysis[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2017, 41(12): 1817-1828(in Chinese).
- [10] 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. Yang Q H, Hung Z C, Zheng L Y, *et al.* Embryonic development and growth of hybrid from the hybridization of *Eqinephelus moara* (♀) × *E. akaara* (♂)[J]. *Marine Fisheries*, 2014, 36(3): 224-231(in Chinese).
- [11] 李炎璐, 王清印, 陈超, 等. 云纹石斑鱼(♀)×七带石斑鱼(♂)杂交子一代胚胎发育及仔稚幼鱼形态学观察[J]. *中国水产学会主办 sponsored by China Society of Fisheries*

- 中国水产科学, 2012, 19(5): 821-832.
- Li Y L, Wang Q Y, Chen C, *et al.* Embryonic and morphological development in larva, juvenile, and young stages of F<sub>1</sub> by *Epinephelus moara* (♀)×*E. septemfasciatus* (♂)[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2012, 19(5): 821-832(in Chinese).
- [12] 刘付永忠, 赵会宏, 刘晓春, 等. 赤点石斑鱼♂与斜带石斑鱼♀杂交的初步研究[J]. *中山大学学报(自然科学版)*, 2007, 46(3): 72-75.
- Liu fu Y Z, Zhao H H, Liu X C, *et al.* Preliminary study on the hybrid red-spotted grouper and orange-spotted grouper[J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni(Natural Science Edition)*, 2007, 46(3): 72-75(in Chinese).
- [13] 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.
- Chen C, Kong X D, Li Y L, *et al.* Embryonic and morphological development in the larva, juvenile, and young stages of *Epinephelus fuscoguttatus* (♀)×*E. lanceolatus* (♂)[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2014, 35(5): 135-144(in Chinese).
- [14] 郭明兰. 云纹石斑鱼与褐石斑鱼的比较研究[D]. 厦门: 厦门大学, 2009: 10-12.
- Guo M L. Comparative studies of *Epinephelus moara* and *Epinephelus bruneus*[D]. Xiamen: Xiamen University, 2009: 10-12(in Chinese).
- [15] 杨洪志, 梁荣峰. 鞍带石斑鱼*Epinephelus lanceolatus* (Bloch)繁殖生物学的初步研究[J]. *现代渔业信息*, 2002, 17(7): 20-21.
- Yang H Z, Liang R F. Primary study on reproduction biology of *Epinephelus lanceolatus* (Bloch)[J]. *Modern Fisheries Information*, 2002, 17(7): 20-21(in Chinese).
- [16] 李振通, 田永胜, 唐江, 等. 云龙石斑鱼与云纹石斑鱼、珍珠龙胆石斑鱼的生长性状及对比分析[J]. *水产学报*, 2019, 43(4): 1005-1017.
- Li Z T, Tian Y S, Tang J, *et al.* Growth characteristics and comparative analysis of Yunlong grouper with *Epinephelus moara* and Zhenzhulongdan grouper[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2019, 43(4): 1005-1017(in Chinese).
- [17] 宋振鑫. 云纹石斑鱼早期生物学观察、苗种繁育及养殖技术研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2013: 25-34.
- Song Z X. Studies on biology in the early life stages and artificial breeding technique of Kelp Bass (*Epinephelus moara*)[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2013: 25-34(in Chinese).
- [18] 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.
- Guo R X, Fu S Y, Yang W, *et al.* Study on the growth and development of larva, juvenile and young fish of *Epinephelus lanceolatus*[J]. *Journal of Aquaculture*, 2011, 32(4): 8-13(in Chinese).
- [19] 张梦淇, 陈超, 李炎璐, 等. 盐度对云纹石斑鱼(*Epinephelus moara* ♀)×鞍带石斑鱼(*Epinephelus lanceolatus* ♂)受精卵孵化的影响及杂交仔稚幼鱼形态发育观察[J]. *渔业科学进展*, 2016, 37(4): 81-89.
- Zhang M Q, Chen C, Li Y L, *et al.* 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[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2016, 37(4): 81-89(in Chinese).
- [20] 田永胜, 段会敏, 唐江, 等. 石斑鱼杂交种“云龙斑”与亲本的表型数量性状判别分析[J]. *上海海洋大学学报*, 2017, 26(6): 808-817.
- Tian Y S, Duan H M, Tang J, *et al.* Analysis of phenotypic quantitative traits of kelp grouper, giant grouper and hybrid progeny[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2017, 26(6): 808-817(in Chinese).
- [21] 唐江, 田永胜, 李振通, 等. 云纹石斑鱼和鞍带石斑鱼及其杂交后代遗传性状分析[J]. *农业生物技术学报*, 2018, 26(5): 819-829.
- Tang J, Tian Y S, Li Z T, *et al.* Analysis of genetic characters in *Epinephelus moara*, *E. lanceolatus* and their hybrids[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2018, 26(5): 819-829(in Chinese).
- [22] 成美玲, 田永胜, 吴玉萍, 等. 云纹石斑鱼(♀)×鞍带石斑鱼(♂)杂交后代染色体核型分析[J]. *渔业科学进展*, 2018, 39(2): 67-75.
- Cheng M L, Tian Y S, Wu Y P, *et al.* Chromosome karyotype analysis of hybrids of *Epinephelus moara* ♀×*Epinephelus lanceolatus* ♂[J]. *Progress in Fishery Sciences*, 2018, 39(2): 67-75(in Chinese).
- [23] 舒琥, 魏秋兰, 罗丽娟, 等. 广东沿海4种石斑鱼的染色体组型分析[J]. *广东农业科学*, 2012, 39(8): 124-127.
- Shu H, Wei Q L, Luo L J, *et al.* Karyotypes analysis of four grouper fishes from coastal waters of Guangdong[J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2012, 39(8): 124-127(in Chinese).



## Early development of hybrids of *Epinephelus lanceolatus*(♀) × *Epinephelus moara*(♂) and growth characteristics of reciprocal crosses

LI Ziqi<sup>1,2,3</sup>, CHENG Meiling<sup>1,4</sup>, WU Yuping<sup>1,4</sup>, ZHANG Jingjing<sup>1,3</sup>, LI Zhentong<sup>1,3</sup>,  
MA Wenhui<sup>5</sup>, PANG Zunfang<sup>5</sup>, ZHAI Jieming<sup>5</sup>, TIAN Yongsheng<sup>1,2\*</sup>

(1. Key Laboratory of Sustainable Development of Marine Fisheries, Ministry of Agriculture and Rural Affairs,  
Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Qingdao 266071, China;

2. Laboratory for Marine Fisheries Science and Food Production Processes,  
Qingdao National Laboratory for Marine Science and Technology, Qingdao 266000, China;

3. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education,  
Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

4. College of Fisheries and Life Science, Dalian Ocean University, Dalian 116023, China;

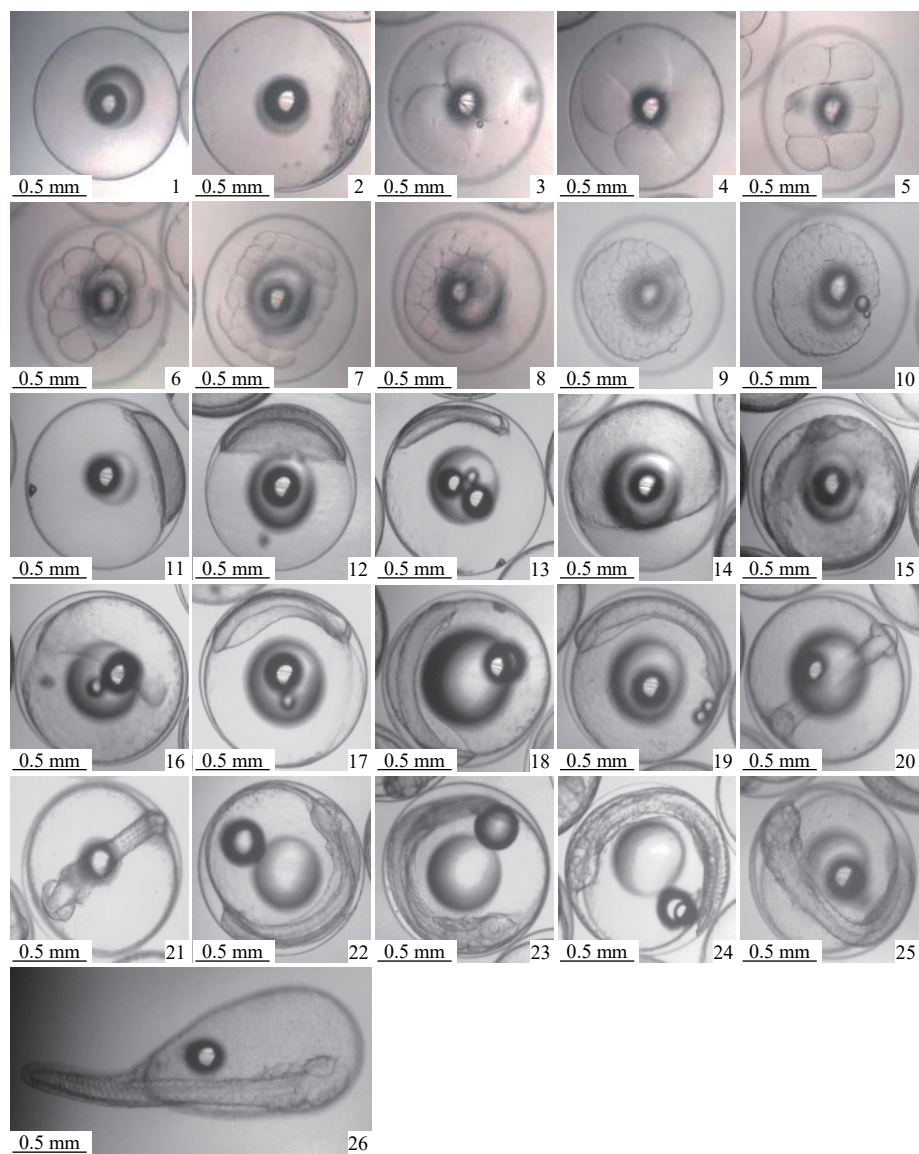
5. Laizhou Mingbo Aquatic Co. Ltd., Yantai 261418, China)

**Abstract:** Hybridization is the most widely used and an effective way of artificial breeding in aquaculture. This study using *Epinephelus lanceolatus* as female parent, *E. moara* as male parent by artificial insemination technology has conducted the interspecific cross experiment, and developmental sequence of fertilized egg, and growth of larvae, juveniles and young fish were observed and studied, and then with the phenotypic of traits, the parent and the hybrid F<sub>1</sub> generation “Yunlong grouper” (*E. moara* ♀ × *E. lanceolatus* ♂) were compared. Results showed that the embryo was oval, transparent, floating, the fertilized eggs size (0.787±0.013) mm, each egg has one oil globule in the center. At sea-water temperature of 24 °C, salinity 30, pH 7.8, embryos can develop normally, according to the data, six periods including 25 stages of embryos were recorded, which were fertilized egg, cleavage, blastula, gastrula, organogenesis and hatching period. The length of newly hatched larvae (1.595±0.015) mm shows the feasibility of the cross; 3 days after hatching, the yolk membranes disappeared and became the late larva, with a total length of (2.530±0.023) mm. 52 days after hatching, entering the juvenile stage, the total length (17.500±1.915) mm, the length of the second dorsal fin spine (5.795±0.049) mm, and the length of the first pelvic fin (2.992±0.911) mm. When the dorsal fin spine contracted to the minimum value (4.460±0.600) mm, scales began to appear and body color began to darken. The second dorsal fin spine and the first pelvic fin spine completely degenerated. The body shape was similar to that of the adult fish. The whole body was covered with scales. The growth comparison results showed that the growth rate of the direct and reciprocal cross F<sub>1</sub> generation was between those of the parents, which was faster than that of *E. moara*, and slower than that of *E. lanceolatus*, and the growth rate of the reciprocal cross F<sub>1</sub> generation was slower than that of the direct F<sub>1</sub> generation. The results provide a basis for the formation of hybrid heterosis traits and genetic analysis of grouper.

**Key words:** *Epinephelus lanceolatus*; *Epinephelus moara*; Yunlong grouper; direct cross; reciprocal cross; embryos development; abnormal development

**Corresponding author:** TIAN Yongsheng. E-mail: tianys@ysfri.ac.cn

**Funding projects:** Shandong Province Key Research and Development Plan(2019GHY112063); Breeding Project of Shandong Province(2019LZGC020); Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences Research Fund(20603022019002, 20603022017013); Yantai “Double Hundred Plan” Talent Project

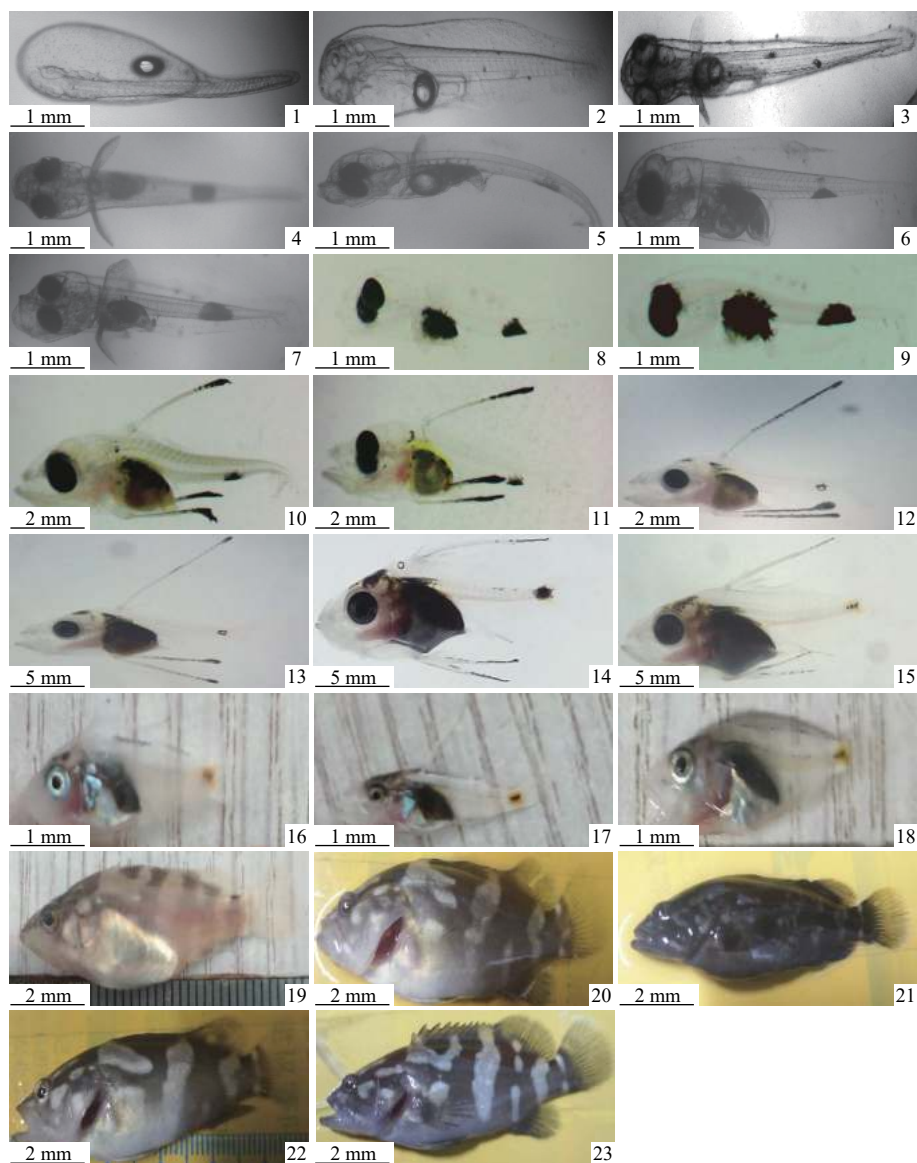


图版 I 鞍带石斑鱼(♀)×云纹石斑鱼(♂)杂交F<sub>1</sub>胚胎发育

1. 受精卵, 2. 胎盘隆起, 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. 桑葚期, 11. 高囊胚期, 12. 低囊胚期, 13. 原肠初期, 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. 尾芽期, 23. 晶体形成期, 24. 心脏跳动期, 25. 孵化期, 26. 初孵仔鱼

**Plate I Embryonic development of hybrid F<sub>1</sub> by *E. lanceolatus* (♀) × *E. moara* (♂)**

1. fertilized egg, 2. blastodisc hunch, 3. 2-cell stage, 4. 4-cell stage, 5. 8-cell stage, 6. 16-cell st-age, 7. 32-cell stage, 8. 64-cell stage, 9. multi-cell stage, 10. morula, 11. high blastula stage, 12. low blastula stage, 13. early gastrula, 14. middle gastrula, 15. late gastrula, 16. embryo body stage, 17. closure of blastopore, 18. optic capsule stage, 19. muscle burl stage, 20. otocyst stage, 21. brain vesivle stage, 22. tail-bud stage, 23. crystal stage, 24. heart-beating stage, 25. hatching stage, 26. newly hatched larvae



图版 II 鞍带石斑鱼(♀)×云纹石斑鱼(♂)杂交F<sub>1</sub>仔、稚、幼鱼形态发育

1. 初孵仔鱼, 2. 1 d仔鱼, 3. 2 d仔鱼, 4. 3 d仔鱼, 5. 4 d仔鱼, 6. 5 d仔鱼, 7. 7 d仔鱼, 8. 9 d仔鱼, 9. 11 d仔鱼, 10. 13 d仔鱼, 11. 17 d仔鱼, 12. 23 d仔鱼, 13. 29 d仔鱼, 14. 35 d仔鱼, 15. 41 d仔鱼, 16. 47 d稚鱼, 17. 52 d稚鱼, 18. 58 d稚鱼, 19. 67 d幼鱼, 20~23. 4种体色差异的幼鱼

**Plate II Morphological development of larva, juvenile and young fish of hybrid F<sub>1</sub> by *E. lanceolatus* (♀) × *E. moara* (♂)**

1. newly hatched larvae, 2. 1 d larvae, 3. 2 d larvae, 4. 3 d larvae, 5. 4 d larvae, 6. 5 d larvae, 7. 7 d larvae, 8. 9 d larvae, 9. 11 d larvae, 10. 13 d larvae, 11. 17 d larvae, 12. 23 d larvae, 13. 29 d larvae, 14. 35 d larvae, 15. 41 d larvae, 16. 47 d larvae, 17. 52 d juvenile, 18. 58 d juvenile, 19. 67 d young fish, 20-23. young fish of four different body colors