

文章编号:1000-0615(2010)07-1062-10

DOI:10.3724/SP.J.1231.2010.06849

## 倒刺鲃属3种鱼类种间杂交的初步研究

黄洪贵

(福建省淡水水产研究所,福建福州 350002)

**摘要:**采用人工催产和干法授精技术,进行了以中华倒刺鲃、倒刺鲃为母本与其父本及黑脊倒刺鲃雄鱼的种间杂交实验,获得4个杂交组合和2个自交组合,在( $27 \pm 0.5$ )℃温度条件下,对其 $F_1$ 卵膜径、受精率、孵化率、孵化时间、畸形率、子代早期形态特征与成活率进行了比较,同时,观察了胚胎发育及其异常现象,结果表明:以中华倒刺鲃为母本的 $F_1$ 卵膜径差异不显著;以倒刺鲃为母本的 $F_1$ 卵膜径,在多细胞期时差异不显著,在耳石期时,倒刺鲃♀×中华倒刺鲃♂ $F_1$ 卵膜径显著大于母本( $P < 0.05$ )。杂种 $F_1$ 的受精率、孵化时间与母本差异不显著,畸形率显著高于母本( $P < 0.05$ )。中华倒刺鲃杂种 $F_1$ 的孵化率较高,与母本差异不显著( $P < 0.05$ )。倒刺鲃♀×中华倒刺鲃♂ $F_1$ 的孵化率与母本之间差异不显著,倒刺鲃♀×黑脊倒刺鲃♂ $F_1$ 的孵化率显著低于母本( $P < 0.05$ )。中华倒刺鲃杂种 $F_1$ 仔鱼早期发育阶段存在死亡高峰期,成活率显著低于母本( $P < 0.05$ )。中华倒刺鲃种间杂交和倒刺鲃♀×黑脊倒刺鲃♂杂种 $F_1$ 既具有父本特征,同时又具有母本特征,初步证明倒刺鲃属种间杂交是可行的。

**关键词:**倒刺鲃属;中华倒刺鲃;倒刺鲃;黑脊倒刺鲃;种间杂交

**中图分类号:**Q 953; S 917

**文献标识码:**A

鱼类属间和种间杂交多数情况下能够受精和得到鱼苗,具有明显的杂种优势,可从中选择合适的杂交组合应用于生产和育种实践<sup>[1]</sup>,而同属种间杂交成功率更高,杂交一代是全育的<sup>[2]</sup>。中华倒刺鲃(*Spinibarbus sinensis*)、倒刺鲃(*S. denticulatus*)和黑脊倒刺鲃[*S. caldwelli*,又名光倒刺鲃或刺鲃(*S. hollandi*)]同属倒刺鲃属,现已成为广东、广西、福建、江西等省市的重要养殖鱼类。3个种类各有优缺点<sup>[3]</sup>,中华倒刺鲃生长速度中等,绝对怀卵量大,雌鱼性成熟年龄4~5龄;倒刺鲃体色艳丽,生长速度快,绝对怀卵量大,雌鱼性成熟年龄长(5~6龄);黑脊倒刺鲃是福建省本地的优良品种,雌鱼性成熟年龄3~4龄,但生长速度较慢,绝对怀卵量小。目前,有关倒刺鲃属内种间杂交的报道仅见于张盛等<sup>[4]</sup>报道的黑脊倒刺鲃与倒刺鲃的种间杂交实验。为探索提高黑脊倒刺鲃生长速度等养殖经济性状的有效途径,我们分别于2002年和2003年从四川和广西引进

中华倒刺鲃和倒刺鲃,自2004年起多次开展了以黑脊倒刺鲃为母本的种间杂交实验,但均未获得正常发育的杂种子一代。2009年笔者进行了以中华倒刺鲃和倒刺鲃为母本的种间杂交实验,2次实验均获得少量杂种 $F_1$ 鱼苗,可为倒刺鲃属3个种类的种质改良工作提供参考。

### 1 材料与方法

#### 1.1 实验材料与杂交组合

实验在福建省淡水水产研究所中试基地进行。受精卵孵化和仔鱼培育容器为盛水4 L的塑料圆桶,水源为经24 h充分曝气的自来水。交配亲鱼分别为6<sup>+</sup>中华倒刺鲃(简称S)、6<sup>+</sup>倒刺鲃(简称D)和5<sup>+</sup>黑脊倒刺鲃(简称C),挑选性腺成熟度较好、体表完好无伤的个体作为实验亲鱼。在2009年7月16日预实验的基础上,9月7日再次进行种间杂交实验,并以9月7日所得的受精卵为实验材料。第2次实验以3尾中华倒刺鲃雌

收稿日期:2010-03-02 修回日期:2010-04-08

资助项目:福建省海洋与渔业厅科研项目(闽海渔科06212);福建省发改委2008年“五新”项目(闽发改农业[2008]815号)

通讯作者:黄洪贵,E-mail:fjdssagui@163.com

鱼、3尾倒刺鲃雌鱼为母本,分别与其它两个种的雄鱼杂交和自交,每个种均只使用2尾雄鱼参与6个组合的人工授精。

## 1.2 人工催产

9月6日21:30完成雌鱼催产激素的注射后,雌雄鱼放入同一口面积 $10\text{ m}^2$ 的圆形池内,雄鱼均不注射,流水刺激,催产水温 $27.4\sim29.0\text{ }^\circ\text{C}$ 。一旦雌鱼可顺利挤出卵子时,雌雄亲鱼用30~40 mg/L的丁香酚麻醉后,人工采集所有同种雌鱼的卵子,分成3份,分别挤入3种雄鱼精液后,同步实施干法人工授精,分别于9月7日15:35和16:20完成中华倒刺鲃卵和倒刺鲃卵的人工授精。

## 1.3 受精率、孵化率、孵化时间和畸形率计算

每种组合设3个重复,每个重复各100粒受精卵。实验期间控温在 $(27\pm0.5)\text{ }^\circ\text{C}$ ,24 h微充气。每天换水2次,清污1次。每天早中晚清除死卵并计数。胚胎发育通过解剖镜(Olympus SM61)进行连续观察,对发育畸形的杂种胚胎和与母本胚胎不同的特征,进行拍摄(Moticam 1300)。从第一尾仔鱼出膜开始,每隔0.5 h左右移走已出膜仔鱼,并计数正常仔鱼和畸形仔鱼数。

受精率计算按胚胎发育进入原肠中期时,活胚胎数(包括未死亡的畸形胚)占总卵数的百分比;孵化率计算按全部出膜仔鱼(包括活的畸形仔鱼)占总受精卵数的百分比;孵化时间为完成人工授精开始到半数以上仔鱼出膜所经历的时间;畸形率为畸形仔鱼占出膜仔鱼总数的百分比。

## 1.4 中华倒刺鲃不同杂交组合 $F_1$ 仔鱼成活率的比较

以中华倒刺鲃为母本的实验组合 $F_1$ 仔鱼为材料,每个组合设置3个重复,每个重复各50尾同批孵化出膜、体形较正常的仔鱼。实验持续20 d,实验期间控温在 $(27\pm0.5)\text{ }^\circ\text{C}$ ,24 h微充气。

每天早中晚清除死苗并计数。每天换水2次,清污1次。开口摄食后,每天投喂4次轮虫和小型枝角类,投喂量为每次投喂前略有剩余为准。

## 1.5 数据计算与统计分析

利用Moticam Images Advanced 3.0软件测定卵膜径,及体形正常仔鱼的全长(total length,  $L$ )、肛前长(ante-anal length,  $AL$ )、体高(body depth,  $BD$ )、卵黄囊大小(前部椭圆形的长径和短径,不包括后部长囊状部分),精确到0.01 mm。卵膜径测定时每个组合随机取10粒,仔鱼各项指标测定时每种组合随机抽测10尾。

卵黄囊体积计算公式为 $V=\pi lh^2/6$ ,其中, $V$ 为卵黄囊体积( $\text{mm}^3$ ), $l$ 、 $h$ 分别为卵黄囊长径与短径( $\text{mm}$ );全长特殊生长率(specific growth rate,  $SGR$ )计算公式为 $SGR_L=[(\ln L_{t_2}-\ln L_{t_1})/(t_2-t_1)]\times100\%$ <sup>[5]</sup>,其中 $L_{t_2}$ 和 $L_{t_1}$ 分别为发育到时间 $t_2$ 和 $t_1$ 时的全长。通过Excel软件进行统计分析,实验数据用平均数±标准差表示,组间差异显著性采用新复极差检验<sup>[6]</sup>。

## 2 结果

### 2.1 卵膜径比较

胚胎发育不同阶段卵膜径比较结果见表1和表2。以中华倒刺鲃为母本的 $F_1$ 卵膜径差异不显著;以倒刺鲃为母本的 $F_1$ 卵膜径,在多细胞期时差异不显著,在耳石期时,倒刺鲃♀×中华倒刺鲃♂ $F_1$ 卵膜径显著大于母本( $P<0.05$ )。

### 2.2 中华倒刺鲃种间杂交受精卵的孵化

中华倒刺鲃种间杂交受精卵的孵化结果见表1。结果表明,中华倒刺鲃种间杂交可获得较高的受精率与孵化率,杂种 $F_1$ 的受精率、孵化率和孵化时间与自交之间的差异不显著,但杂种 $F_1$ 仔鱼的畸形率显著高于母本自交( $P<0.05$ )。

表1 中华倒刺鲃种间杂交受精卵的孵化结果  
Tab.1 Hatching results of fertilized eggs of interspecific hybridization of *S. sinensis*

组别 group	卵膜径(mm) egg membrane diameter		受精率(%) fertilization rate	孵化率(%) hatching rate	畸形率(%) abnormality rate	孵化时间(h) hatching time
	多细胞期 multicellular stage	心脏搏动期 heart pulsation stage				
$S\varphi\times S\delta$	$2.67\pm0.07$	$2.77\pm0.04$	$91.3\pm12.3$	$61.7\pm23.1$	$10.9\pm0.5^{\text{c}}$	$49.30\pm0.48$
$S\varphi\times D\delta$	$2.68\pm0.08$	$2.80\pm0.08$	$99.3\pm0.6$	$65.7\pm8.5$	$57.2\pm1.6^{\text{b}}$	$51.42\pm1.73$
$S\varphi\times C\delta$	$2.73\pm0.06$	$2.77\pm0.05$	100	$74.3\pm6.0$	$83.4\pm1.4^{\text{a}}$	$52.03\pm2.53$

注:同栏内数据右上标字母不同表示差异显著( $P<0.05$ )。

Notes: Values with different superscript letters within same column indicate significant difference( $P<0.05$ ).

### 2.3 倒刺鲃种间杂交受精卵的孵化

倒刺鲃种间杂交受精卵的孵化结果见表2。结果表明,倒刺鲃种间杂交可获得较高的受精率,倒刺鲃♀×中华倒刺鲃♂F<sub>1</sub>的孵化率与母本自交

之间差异不显著,倒刺鲃♀×黑脊倒刺鲃♂F<sub>1</sub>的孵化率显著低于母本,杂种之间F<sub>1</sub>仔鱼的畸形率差异不显著,但均显著大于母本( $P < 0.05$ )。杂种受精卵孵化时间与母本之间差异不显著( $P < 0.05$ )。

表2 倒刺鲃种间杂交受精卵的孵化结果

Tab. 2 Hatching results of fertilized eggs of interspecific hybridization of *S. denticulatus*

组别 group	卵膜径(mm) egg membrane diameter		受精率(%) fertilization rate	孵化率(%) hatching rate	畸形率(%) abnormality rate	孵化时间(h) hatching time
	多细胞期 multicellular stage	耳石期 otolithes stage				
D ♀ × D ♂	2.71 ± 0.12	2.92 ± 0.07 <sup>b</sup>	99.7 ± 0.6	25.7 ± 5.9 <sup>a</sup>	26.1 ± 17.4 <sup>b</sup>	55.67 ± 1.50
D ♀ × S ♂	2.71 ± 0.17	3.06 ± 0.08 <sup>a</sup>	100	26.7 ± 4.7 <sup>a</sup>	84.9 ± 8.0 <sup>a</sup>	56.50 ± 2.08
D ♀ × C ♂	2.73 ± 0.22	2.95 ± 0.06 <sup>b</sup>	99.0 ± 1.0	9.0 ± 1.0 <sup>b</sup>	91.7 ± 14.4 <sup>a</sup>	56.17 ± 0.87

注:同栏内数据右上标字母不同表示差异显著( $P < 0.05$ )。

Notes: Values with different superscript letters within same column indicate significant difference ( $P < 0.05$ ).

### 2.4 杂种F<sub>1</sub>正常仔鱼形态比较

中华倒刺鲃♀×倒刺鲃♂与母本自交相比,杂种F<sub>1</sub>初孵仔鱼全长、肛前长较短,体高较低,而全长/体高的比例较大,且差异显著,但卵黄囊体积差异不显著;5日龄仔鱼全长、肛前长和体高显著低于母本,而全长/体高比例的差异不显著( $P < 0.05$ )。中华倒刺鲃♀×黑脊倒刺鲃♂与母

本自交相比,杂种F<sub>1</sub>初孵仔鱼体高较低,全长、肛前长及全长/体高的比例较大,且差异显著,但卵黄囊体积差异不显著;5日龄时,全长、肛前长、体高及全长/体高比例结果和初孵仔鱼相同( $P < 0.05$ )。由全长/体高比例的比较结果可知,中华倒刺鲃♀×黑脊倒刺鲃♂杂种F<sub>1</sub>仔鱼的体形最细长。

表3 中华倒刺鲃种间杂交F<sub>1</sub>代仔鱼的形态学指标

Tab. 3 The morphological characters of larvae of *S. sinensis* and other species of *Spinibarbus* hybrid F<sub>1</sub>

组别 group	初孵仔鱼 newly hatched larvae					5日龄仔鱼 5 days old larvae				
	全长 (mm) <i>L</i>	肛前长 (mm) <i>AL</i>	体高 (mm) <i>BD</i>	全长/ 体高 <i>L/BD</i>	卵黄囊体积 (mm <sup>3</sup> ) <i>V</i>	全长 (mm) <i>L</i>	肛前长 (mm) <i>AL</i>	体高 (mm) <i>BD</i>	全长/ 体高 <i>L/BD</i>	全长特殊生 长率(%) <i>SGR<sub>L</sub></i>
S ♀ × S ♂	6.44 ± 0.22 <sup>b</sup>	4.91 ± 0.21 <sup>b</sup>	0.74 ± 0.07 <sup>a</sup>	8.76 ± 0.52 <sup>c</sup>	2.07 ± 0.32	9.42 ± 0.27 <sup>b</sup>	6.41 ± 0.09 <sup>b</sup>	1.38 ± 0.10 <sup>a</sup>	6.84 ± 0.46 <sup>b</sup>	7.60 ± 0.57
	0.10 <sup>c</sup>	0.18 <sup>c</sup>	0.03 <sup>b</sup>	0.58 <sup>b</sup>	0.24	0.35 <sup>c</sup>	0.14 <sup>c</sup>	0.09 <sup>b</sup>	0.57 <sup>b</sup>	0.82
S ♀ × C ♂	6.75 ± 0.14 <sup>a</sup>	5.12 ± 0.35 <sup>a</sup>	0.53 ± 0.05 <sup>b</sup>	12.79 ± 1.15 <sup>a</sup>	2.05 ± 0.62	9.75 ± 0.42 <sup>a</sup>	6.61 ± 0.17 <sup>a</sup>	1.04 ± 0.13 <sup>c</sup>	9.51 ± 1.44 <sup>a</sup>	7.34 ± 0.87
	0.14 <sup>a</sup>	0.35 <sup>a</sup>	0.05 <sup>b</sup>	1.15 <sup>a</sup>	0.62	0.42 <sup>a</sup>	0.17 <sup>a</sup>	0.13 <sup>c</sup>	1.44 <sup>a</sup>	0.87

注:同栏内数据右上标字母不同表示差异显著( $P < 0.05$ )。

Notes: Values with different superscript letters within same column indicate significant difference ( $P < 0.05$ ).

表4 倒刺鲃种间杂交F<sub>1</sub>代仔鱼的形态学指标

Tab. 4 The morphological characters of larvae of *S. denticulatus* and other species of *Spinibarbus* hybrid F<sub>1</sub>

组别 group	1日龄仔鱼 1 day old larvae				
	全长(mm) <i>L</i>	肛前长(mm) <i>AL</i>	体高(mm) <i>BD</i>	卵黄囊体积(mm <sup>3</sup> ) <i>V</i>	全长/体高 <i>L/BD</i>
D ♀ × D ♂	7.45 ± 0.24 <sup>b</sup>	5.36 ± 0.18 <sup>b</sup>	0.96 ± 0.05 <sup>a</sup>	2.43 ± 0.78 <sup>b</sup>	7.78 ± 0.51 <sup>c</sup>
D ♀ × S ♂	6.63 ± 0.16 <sup>c</sup>	4.90 ± 0.17 <sup>c</sup>	0.70 ± 0.05 <sup>b</sup>	3.37 ± 0.87 <sup>ab</sup>	9.55 ± 0.94 <sup>b</sup>
D ♀ × C ♂	7.75 ± 0.18 <sup>a</sup>	5.67 ± 0.10 <sup>a</sup>	0.71 ± 0.06 <sup>b</sup>	3.66 ± 0.26 <sup>a</sup>	11.03 ± 0.79 <sup>a</sup>

注:同栏内数据右上标字母不同表示差异显著( $P < 0.05$ )。

Notes: Values with different superscript letters within same column indicate significant difference ( $P < 0.05$ ).

倒刺鲃♀×中华倒刺鲃♂与母本自交相比,杂种F<sub>1</sub>日龄仔鱼全长/体高的比例显著大于后者,全长、肛前长、体高显著低于母本自交,但卵黄囊体积差异不显著( $P < 0.05$ )。倒刺鲃♀×黑脊倒刺鲃♂与母本自交相比,杂种F<sub>1</sub>日龄仔鱼体高显著低于后者,其它形态指标显著高于后者( $P < 0.05$ )。根据全长与体高比例比较的结果,说明倒刺鲃♀×黑脊倒刺鲃♂杂种F<sub>1</sub>日龄仔鱼体形最细长。

中华倒刺鲃种间杂交和倒刺鲃♀×黑脊倒刺鲃♂杂种F<sub>1</sub>稚鱼和幼鱼体型偏母本特征,如体侧扁,背鳍和尾鳍基部出现明显的黑斑,前者背鳍起点位于腹鳍之前,后者背鳍起点位于腹鳍之后(图版V)。

## 2.5 中华倒刺鲃种间杂交杂种F<sub>1</sub>仔鱼生长与成活率

实验表明,0~5日龄之间,中华倒刺鲃种间杂交杂种F<sub>1</sub>仔鱼全长的特殊生长率与母本自交之间差异不显著(表3),但杂种仔鱼的成活率显著低于母本,杂种之间的差异不显著( $P < 0.05$ )。同批卵自交仔鱼在4~6日龄和8日龄时的死亡率相对较高,但没有明显的死亡高峰期;中华倒刺鲃♀×倒刺鲃♂F<sub>1</sub>仔鱼死亡高峰期发生在5~6日龄,累计死亡率达70.6%;中华倒刺鲃♀×黑脊倒刺鲃♂F<sub>1</sub>仔鱼死亡高峰期发生在4~5日龄,累计死亡率达67.4%。

表5 中华倒刺鲃种间杂交杂种仔鱼成活率

Tab. 5 The larvae survival rate of hybridization between *S. sinensis* × other species of *Spinibarbus* ( $27.0 \pm 0.5$ ) °C

组别 group	成活率(%) survival rate	各日龄平均死亡率(%) the average daily mortality rate																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
S♀×S♂	70.0±5.3 <sup>a</sup>	0.7	1.3	0.0	9.3	4.7	3.3	0.0	4.7	1.3	2.0	0.0	0.7	1.3	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.0	0.7
S♀×D♂	7.3±4.2 <sup>b</sup>	1.3	1.3	2.0	4.7	21.3	49.3	4.0	2.0	0.0	0.0	0.7	0.0	1.3	0.7	2.0	0.7	0.7	0.7	0.0	0.0
S♀×C♂	4.0±6.9 <sup>b</sup>	0.0	0.7	7.3	40.7	26.7	8.0	5.3	1.3	0.7	0.0	0.7	1.3	0.7	0.7	0.0	0.0	0.0	0.7	0.0	0.0

注:同栏内数据右上标字母不同表示差异显著( $P < 0.05$ )。

Notes: Values with different superscript letters within same column indicate significant difference ( $P < 0.05$ ).

## 2.6 杂种F<sub>1</sub>畸形胚胎与仔鱼的形态

杂种胚胎正常发育时序和发育特征与母本(中华倒刺鲃<sup>[7]</sup>、倒刺鲃<sup>[8-9]</sup>)自交组合基本相似,但杂种胚胎发育在细胞分裂、器官形成等方面出现异常,出现各种形状的畸形胚胎和仔鱼(图版I~IV):如细胞分裂不正常,分裂细胞大小不一、细胞排列不规则,胚盘下包困难,胚孔不封闭等;仔鱼脑部(图版I-6)、体腔水肿,围心腔扩大,尾部残缺、扭转、三叉状(图版IV-10)等,多数出现卵黄囊缩短等异状,脊索上下弯曲等。

## 3 讨论

### 3.1 胚胎发育与仔鱼早期发育特征

通常认为,杂交鱼卵的分裂速度介于双亲之间<sup>[10]</sup>,即杂种胚胎孵化时间介于双亲之间<sup>[11]</sup>,或杂种胚胎发育速度由于受细胞质因子的调控而出现偏于母本即“偏母遗传”现象<sup>[12]</sup>。倒刺鲃属3种鱼类种间杂交杂种胚胎发育特征与母本基本相似,本实验4种杂交组合的杂种胚胎发育时间与母本自交之间差异不显著( $P < 0.05$ ),说明倒刺鲃属种间杂交杂种胚胎发育时间属“偏母遗传”现象。实验出现倒刺鲃胚胎发育时间(表2)与已报道的结果(49.48 h)<sup>[9]</sup>差异较大,可能由于卵的

成熟度较差,畸形率较正常情况高<sup>[9,13-14]</sup>,畸形仔鱼出膜时间延长,造成整体出膜时间延长。

已有研究表明,形态特征受遗传因子与环境因子的共同影响<sup>[15]</sup>,鲷科鱼类杂交后代仔鱼从孵化后几天就开始表现出与亲本相似或不同的特征<sup>[16]</sup>。实验也证实了这一点,与亲本形态特征<sup>[17-20]</sup>相比,中华倒刺鲃♀与黑脊倒刺鲃♂和倒刺鲃♀杂交,杂种F<sub>1</sub>仔鱼早期的全长/体高比例显著大于中华倒刺鲃与倒刺鲃正反交及其自交( $P < 0.05$ ),体型最细长,具有典型的黑脊倒刺鲃体型特征;中华倒刺鲃与倒刺鲃体型相近,但两者正反交杂种F<sub>1</sub>仔鱼与母本相比,全长、肛前长、体高和全长/体高比例差异显著( $P < 0.05$ );杂种F<sub>1</sub>稚鱼和幼鱼的体型侧扁、背鳍和尾鳍基部具黑斑(黑脊倒刺鲃体长筒形,无黑斑)<sup>[5,7]</sup>及背鳍起点为母本特征,即杂种具明显的母本体型特征。由此可见,正常发育胚胎中的父母本染色体能正常配组,并参与调控杂种F<sub>1</sub>形态特征的表达。

### 3.2 杂种与亲本受精率、孵化率和畸形率的比较

笔者在开展以黑脊倒刺鲃为母本的尝试性种间杂交实验中,即黑脊倒刺鲃♀×中华倒刺鲃♂、黑脊倒刺鲃♀×倒刺鲃♂,杂交组合的受精率与母本自交无明显差异,但杂种胚胎多为畸形,发育

到尾鳍期以后出现死亡高峰,只有少部分胚胎能够正常发育进入肌肉效应期直至出膜,由于当时的实验规模偏小,没有获得正常发育的子一代。实验表明,正常情况下,倒刺鲃属3种鱼类种间杂交可获得甚至高于亲本自交的受精率,这和张盛等<sup>[4]</sup>的实验结果相符。同时,实验还表明,中华倒刺鲃与同属两个种的种间杂交可获得较高的孵化率;笔者在2008年进行的倒刺鲃♀×中华倒刺鲃♂杂交实验中,孵化率曾达到60.6%,本次实验倒刺鲃实验组合的孵化率偏低,可能与卵子的成熟度差有关,造成自交孵化率、畸形率与正常受精卵的结果相差较大<sup>[9,13-14]</sup>,但同批卵相比,倒刺鲃♀×中华倒刺鲃♂F<sub>1</sub>的孵化率与母本之间差异不显著,两者均显著高于倒刺鲃♀×黑脊倒刺鲃♂(P<0.05)。不同鱼类杂交受精率、孵化率和畸形率高低主要由亲本的卵子、精子质量决定<sup>[21]</sup>。因此,倒刺鲃属3种鱼类种间杂交取得成功的先决条件,是挑选性腺成熟度好的亲鱼。

许多实验已证明,基因组成对器官乃至个体大小的调控起决定性的作用<sup>[22]</sup>。胚胎发育背后的分子机制是基因选择性表达,这种差异表达受到精确调控<sup>[23-24]</sup>。造成远缘杂交精卵不相容的主要原因有4个方面:双亲染色体数目不同,染色体数目相同但组型不同,酶的基因座位或表达时空顺序的差异,核质不相容<sup>[1-2]</sup>。酶的不相容性会导致杂种胚胎组织的诱导和器官形成时空失调,于是产生畸形或中途死亡<sup>[1]</sup>。母体卵细胞质控制杂种胚胎基因表达的迟滞或加速,如果卵子的细胞质不能与精子的核DNA正常协调(不相容),就会阻滞或加速基因的表达,从而致使胚胎不能正常发育,直至死亡<sup>[1]</sup>。已有研究表明,中华倒刺鲃、倒刺鲃、黑脊倒刺鲃的染色体数都是100,核型公式为2n=100,18m+32sm+26st+24t,总臂数NF均为150<sup>[25]</sup>。说明,倒刺鲃属种间杂交种胚胎畸形率高,可能与种的遗传特性关系并非密切,而与酶的基因座位或表达时空顺序差异及核质不相容等原因有关。另有研究表明,中华倒刺鲃与倒刺鲃亲缘关系较近,遗传差异较小;黑脊倒刺鲃与倒刺鲃的亲缘关系较远,存在较大的遗传差异<sup>[26]</sup>,这应该是造成倒刺鲃♀与黑脊倒刺鲃♂杂交孵化率低及其与两种母本杂交畸形率更高的原因。

### 3.3 杂种仔鱼的生长与成活率

实验初步证明,中华倒刺鲃种间杂交F<sub>1</sub>仔鱼

早期生长差异不显著(P<0.05)。Kendall等<sup>[27]</sup>提出鱼类早期生活史阶段存在2个过渡期,即卵黄囊期和变形期,混合营养期被认为是鱼类早期发育的“敏感时期”,中华倒刺鲃仔鱼没有明显的死亡高峰期,但其死亡主要发生在混合营养期<sup>[28]</sup>的4~8日龄之间,而杂种仔鱼在该时期存在明显的死亡高峰期,最终成活率显著低于母本(P<0.05)。由于本次实验中,除中华倒刺鲃♀×倒刺鲃♂存活鱼苗较多外(目前存活140尾左右),其它杂交组合F<sub>1</sub>存活的数量极少,因此,杂种后代是否具生长、存活等杂种优势,有待于扩大育苗规模后进一步比较。

### 3.4 倒刺鲃属种间杂交的可行性

实验初步证明,倒刺鲃属种间杂交,杂种可获得较高的受精率和孵化率,杂种既有与不利环境条件下出现的无特殊差异的畸形现象,如胚孔不封闭、体腔水肿等,又有杂种胚胎特有的畸形现象<sup>[11]</sup>,如卵黄囊缩短、勺状形等畸形,并且从仔稚幼鱼形态特征看,杂种既具有母本性状,又具有部分父本性状,虽然存在畸形率较高和早期仔鱼成活率低现象,但杂交是可行的。

### 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] 刘焕亮,黄樟翰.中国水产养殖学[M].北京:科学出版社,2008:113~123.
- [3] 黄柳婷.3种倒刺鲃鱼种阶段主要经济性状的比较[J].福建水产,2009(2):44~47.
- [4] 张盛,袁宗伟,吕业坚.光倒刺鲃与倒刺鲃种间杂交实验[J].科学养鱼,2009(9):44~45.
- [5] 黄洪贵.倒刺鲃仔稚鱼发育观察[J].上海海洋大学学报,2009,18(5):565~570.
- [6] 李春喜,姜丽娜,邵云,等.生物统计学[M].3版.北京:科学出版社,2005.
- [7] 黄洪贵.中华倒刺鲃胚胎与仔鱼发育的观察[J].江西农业大学学报,2009,31(6):1087~1092.
- [8] 易祖盛,陈湘舜,王春,等.倒刺鲃胚胎发育的研究[J].中国水产科学,2004,11(1):65~69.
- [9] 黄洪贵.倒刺鲃胚胎发育及水温与胚胎发育的关系[J].河北渔业,2009(4):32~36.
- [10] 金万昆,俞丽,杨建新,等.框鱲镜鲤♀×青鱼♂杂种F<sub>1</sub>胚胎发育和仔鱼早期发育初步研究[J].水产学报,2006,30(1):21~28.

- [11] 楼允东.鱼类育种学[M].北京:中国农业出版社,1999.
- [12] 夏仕玲,余来宁,吴作文.鱼类卵细胞质对胚胎发育速度的调控[J].淡水渔业,1990(3):17-18.
- [13] 谢刚,陈昆慈,胡隐昌,等.倒刺鲃胚胎发育与水温和盐度的关系[J].大连水产学院学报,2003,18(2):95-98.
- [14] 江林源,梁万文,黄光华,等.倒刺鲃的人工繁殖技术研究[J].西南农业学报,2006,19(6):1172-1175.
- [15] Ihssen P E,Booke H E,Casselman J M,*et al*. Stock identification: materials and methods[J]. Can J Fish Aquat Sci,1981,38:1838-1855.
- [16] 区又君,李加儿,周宏团.鲷科鱼类属间远缘杂交的发育与生长[J].中国水产科学,2000,7(2):110-112.
- [17] 蔡焰值,何长仁,蔡烨强,等.中华倒刺鲃生物学初步研究[J].淡水渔业,2003,33(3):16-18.
- [18] 邝旭文.中华倒刺鲃生物学特性的研究[J].经济动物学报,2004,8(4):221-223,226.
- [19] 广西壮族自治区水产研究所,中国科学院动物研究所.广西淡水鱼类志[M].南宁:广西人民出版社,1981:69-72.
- [20] 黄永春,蔡葆青,陈祈辉,等.黑脊倒刺鲃的生物学特性及人工养殖技术[J].水利渔业,2004,24(2):25-27.
- [21] 刘筠.中国养殖鱼类繁殖生理学[M].北京:农业出版社,1993:109-124.
- [22] Inoki K, Zhu T Q, Guan K L. TSC2 mediates cellular energy response to control cell growth and survival [J]. Cell, 2003, 115:577-590.
- [23] Thisse C, Zon L I. Organogenesis-heart and blood formation from the zebrafish point of view [J]. Science, 2002, 295:457-462.
- [24] 桂建芳.鱼类品种改良的遗传和发育基础研究的现状和将来[J].生命科学,2005,17(2):112-118.
- [25] 桂建芳,李渝成,李康,等.中国鲤科鱼类染色体组型的研究VI,鲃亚科3种四倍鱼和鲤亚科1种四倍鱼的核型[J].遗传学报,1985,12(4):302-308.
- [26] 朱必凤,邹佩贞,钟良明,等.三种倒刺鲃的RAPD种质鉴定[J].南昌大学学报,2006,30(6):597-560.
- [27] Kendall A W Jr, Ahlstrom E H, Moser H G. Early life history stages of fishes and their characters [M] // Ontogeny and Systematics of Fishes. The American Society of Ichthyologists Herpetologists, Spec Publ, 1984:11-22.
- [28] 黄洪贵,胡振禧,黄种持,等.温度对中华倒刺鲃胚胎与仔鱼发育的影响[J].淡水渔业,2009,39(5):28-31.

## Preliminary study on interspecific hybridization of three species of *Spinibarbus*

HUANG Hong-gui

(Freshwater Fisheries Research Institute of Fujian Province, Fuzhou 350002, China)

**Abstract:** Using artificial spawning and dry insemination, experiments on interspecific hybridization within females of *Spinibarbus sinensis* and *Spinibarbus denticulatus* and males of *S. sinensis* and *S. denticulatus* and *Spinibarbus caldwelli* of *Spinibarbus* were conducted. Comparisons of egg membrane diameter, fertilization rate, hatching rate, hatching time, abnormality rate, early larvae morphological characters and survival rate were made at temperature of  $(27 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ . Meanwhile the embryonic development and abnormal phenomena of hybrid were observed. The results showed that there was no distinct difference on egg membrane diameter between the crossbreeding and the oosperm of the female parent of *S. sinensis* ( $P < 0.05$ ). There was no distinct difference on egg membrane diameter between the crossbreeding and the oosperm of the female parent of *S. denticulatus* at multicellular stage, but there was distinct difference on egg membrane diameter between the hybrid of *S. denticulatus* ♀ × *S. sinensis* ♂ and the oosperm of the female parent of *S. denticulatus* at otolithes appearance stage ( $P < 0.05$ ). The fertilization rate and hatching time of hybrid were not significantly different, but the abnormal rates were significantly higher compared to their mother's ( $P < 0.05$ ). The hatching rates of crossbreeding of *S. sinensis* were high and not significantly different compared to their mother's ( $P < 0.05$ ). The hatching rate of *S. denticulatus* ♀ × *S. sinensis* ♂ was not distinctly different, but the hatching rate of *S. denticulatus* ♀ × *S. caldwelli* ♂ was significantly lower compared to their mother's ( $P < 0.05$ ). There was high death rate stage in the early larvae development of crossbreeding of *S. sinensis*, and the survival rates were significantly lower than their mother's ( $P < 0.05$ ). There were characteristics partly similar to the female parent or male parent for hybrids of crossbreeding of *S. sinensis* and *S. denticulatus* ♀ × *S. caldwelli* ♂. It showed preliminarily that it was feasible for the interspecific hybridization of three species of *Spinibarbus*.

**Key words:** *Spinibarbus*; *Spinibarbus sinensis*; *Spinibarbus denticulatus*; *Spinibarbus caldwelli*; interspecific hybridization

**Corresponding author:** HUANG Hong-gui. E-mail: fjdssagui@163.com

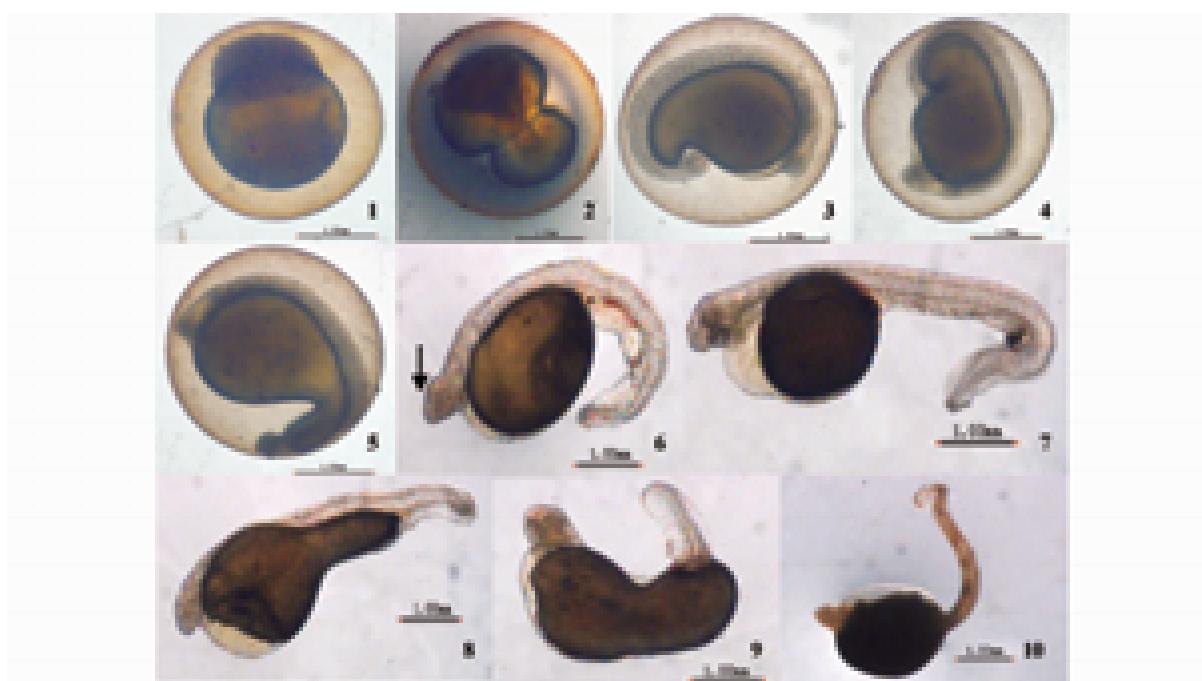


图版 I 中华倒刺鲃♀ × 倒刺鲃♂ 杂种 F<sub>1</sub> 的畸形胚胎与仔鱼

1 ~ 2. 多细胞期; 3. 眼基期(箭头示胚孔未封闭); 4 ~ 8. 畸形仔鱼; 9. 5 日龄畸形仔鱼。

**Plate I Abnormal embryos and larvae of *S. sinensis* ♀ and *S. denticulatus* ♂ hybrid F<sub>1</sub>**

1 ~ 2. multicellular stage; 3. optic rudiment stage (the arrowhead pointing to no blastopore closure); 4 ~ 8. abnormal larvae; 9. 5 days after hatching abnormal larvae.



图版 II 中华倒刺鲃♀ × 黑脊倒刺鲃♂ 杂种 F<sub>1</sub> 的畸形胚胎与仔鱼

1. 多细胞期; 2. 原肠期; 3. 肌肉效应期; 4 ~ 5. 心脏搏动期; 6 ~ 10. 畸形仔鱼。

**Plate II Abnormal embryos and larvae of *S. sinensis* ♀ and *S. caldewelli* ♂ hybrid F<sub>1</sub>**

1. multicellular stage; 2. gastrula stage; 3. muscular contraction stage; 4 ~ 5. heart pulsation stage; 6 ~ 10. abnormal larvae.

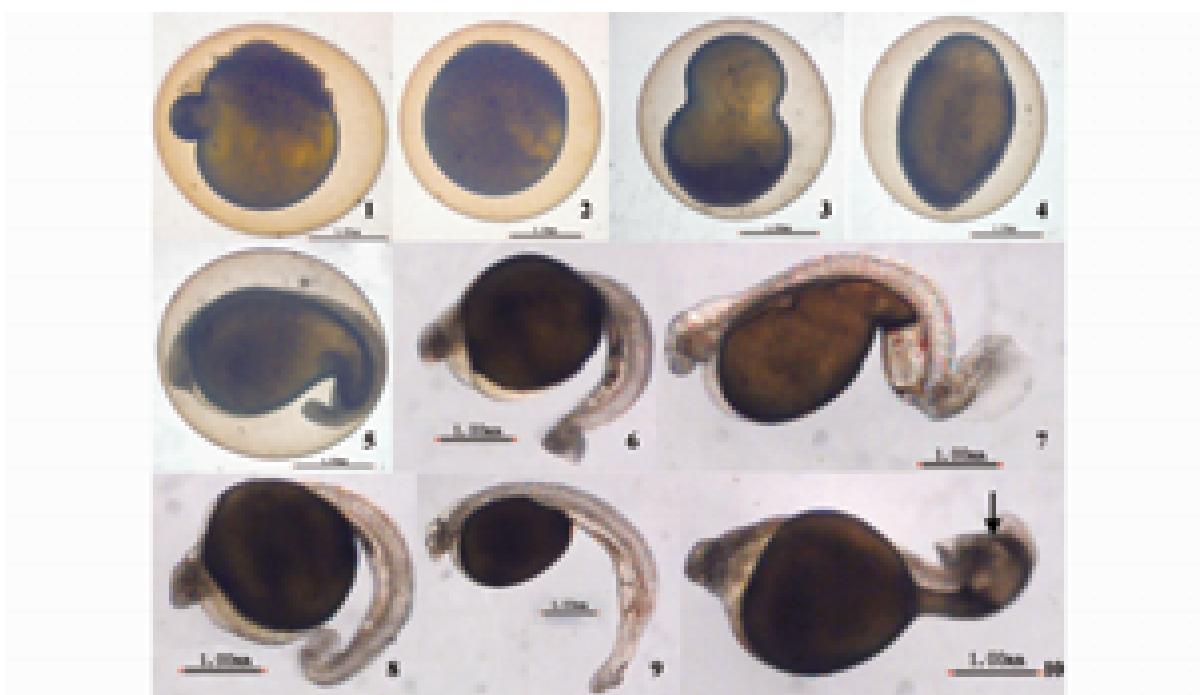


图版III 倒刺鲃♀×中华倒刺鲃♂杂种F<sub>1</sub>的畸形胚胎与仔鱼

1. 多细胞期; 2. 耳石期; 3~9. 畸形仔鱼。

**Plate III Abnormal embryos and larvae of *S. denticulatus* ♀ and *S. sinensis* ♂ hybrid F<sub>1</sub>**

1. multicellular stage; 2. otolithes appearance stage; 3~9. abnormal larvae.

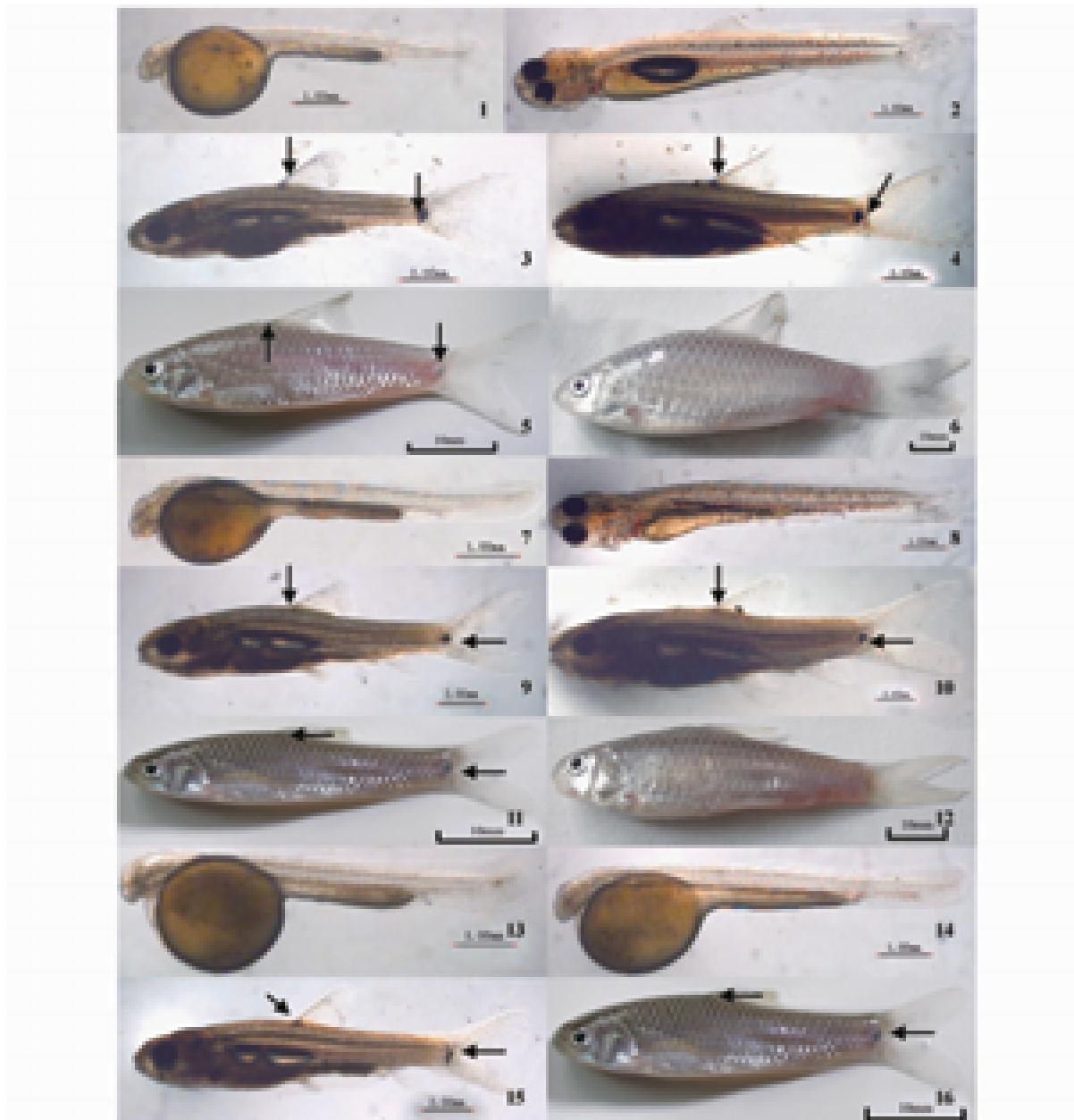


图版IV 倒刺鲃♀×黑脊倒刺鲃♂杂种F<sub>1</sub>的畸形胚胎与仔鱼

1~2. 多细胞期; 3. 原肠晚期; 4. 神经胚期; 5. 心脏搏动期; 6~9. 畸形仔鱼; 10. 畸形仔鱼(箭头示三叉状尾)。

**Plate IV Abnormal embryos and larvae of *S. denticulatus* ♀ and *S. caldewelli* ♂ hybrid F<sub>1</sub>**

1~2. multicellular stage; 3. gastrula late stage; 4. neurula stage; 5. heart pulsation stage; 6~9. abnormal larvae; 10. abnormal larvae (the arrowhead pointing to the larvae has three branches anal end).



图版V 倒刺鲃属种间杂交杂种  $F_1$  的仔、稚、幼鱼

1~6. 中华倒刺鲃♀ × 倒刺鲃♂,  $F_1$ : 分别为初孵仔鱼、5日龄、17日龄仔鱼、31日龄稚鱼、全长5 cm 和 10 cm 幼鱼; 7~12. 中华倒刺鲃♀ × 黑脊倒刺鲃♂,  $F_1$ : 分别为初孵仔鱼、5日龄、17日龄仔鱼、31日龄稚鱼、全长4 cm 和 7 cm 幼鱼; 13. 倒刺鲃♀ × 中华倒刺鲃♂ 1日龄仔鱼; 14~16. 倒刺鲃♀ × 黑脊倒刺鲃♂,  $F_1$ : 分别为初孵仔鱼、17日龄仔鱼和全长4.3 cm 幼鱼。

#### Plate V Larvae, juvenile and young of interspecific hybridization $F_1$ of *Spinibarbus*

1~6. *S. sinensis* ♀ × *S. denticulatus* ♂,  $F_1$ : larvae of the newly hatching, 5 days after hatching (AH), 17 days AH, juvenile of 31 days AH, young of total length of 5 cm and 10 cm respectively; 7~12. *S. sinensis* ♀ × *S. caldwelli* ♂,  $F_1$ : larvae of the newly hatching, 5 days AH, 17 days AH, juvenile of 31 days AH, young of total length of 4 cm and 7 cm respectively; 13. larvae 1 day AH of *S. denticulatus* ♀ × *S. sinensis* ♂; 14~16. *S. denticulatus* ♀ × *S. caldwelli* ♂,  $F_1$ : larvae of the newly hatching, 17 days AH and young of total length 4.3 cm respectively.