

褐牙鲈(♀)×犬齿牙鲈(♂)杂交子一代胚胎发育及仔稚鱼形态学观察

关健^{1,2}, 柳学周¹, 蔡文超^{1,2}, 徐永江¹, 马雄²

(1. 农业部海洋渔业资源可持续利用重点开放实验室 中国水产科学研究院 黄海水产研究所, 山东 青岛 266071; 2. 中国海洋大学 水产学院, 山东 青岛 266003)

摘要:杂交是目前水产育种中应用最为广泛、最有成效的育种途径,为了选育一个能够促进中国海水鱼类养殖业发展,改善目前养殖褐牙鲈发病严重的现状的牙鲈类养殖新品种,对褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)(♀)×犬齿牙鲈(*P. dentatus*)(♂)的杂交进行了研究。在Nikon MS800解剖镜下对褐牙鲈(♀)×犬齿牙鲈(♂)人工杂交子一代的胚胎及胚后发育进行观察,并使用Nikon数码相机拍摄其发育特征,描述了各发育时期的发育时序和形态特征。杂交子一代胚胎发育可分为卵裂前期、卵裂期、囊胚期、原肠期、神经胚期、器官发生期、尾芽期、肌肉效应期、脱膜孵化期共9个时期,除克氏泡出现时期以及胚体开始扭动时期具有相对特异性外,胚胎发育过程与褐牙鲈相比无显著差异。在水温(16.5±0.5)℃,盐度32~33的条件下,受精卵历时67 h完成孵化。(19±0.5)℃水温下,仔鱼3 d以前营内源性营养(卵黄囊仔鱼),3 d开口摄食营外源性营养(前弯曲期仔鱼),20 d左右进入变态期(弯曲期仔鱼),40 d后基本完成变态进入稚鱼阶段,生活方式由浮游转为底栖生活,50 d左右全身被鳞。同时观察了自胚胎发育时期至幼鱼期体表色素的分布及形态变化过程,描述了仔鱼变态期冠状鳍条、眼位置和尾部的发育、变化过程。早期生活史无鳔器官发生。[中国水产科学, 2007, 14(4): 644-653]

关键词:褐牙鲈; 犬齿牙鲈; 杂交; 胚胎发育; 仔稚鱼形态

中图分类号: S96

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2007)04-0644-10

犬齿牙鲈(*Paralichthys dentatus*), 又称大西洋牙鲈, 与褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*) 同属鲈形目(Peuronetiformes)、鲈亚目(Plenrionectoides)、鲈科(Bothidae)、牙鲈亚科(Paralichthyinae)、牙鲈属(*Paralichthys*), 分布于北美洲大西洋东海岸北纬45°~29°, 从加拿大的新斯科舍至美国大西洋沿岸南佛罗里达; 以及中部大西洋湾, 从美国的科德角(Cape Cod)经马塞诸萨至哈特伦斯角(Cape Hatteras)及北卡罗莱纳(42~35°N)。犬齿牙鲈属温水性鱼类, 适宜温度5~31℃, 最适生长温度17~27℃, 适宜盐度4~35, 最适盐度24~32, 近年来由美国引进中国^[1-2], 具有较强抗逆能力, 极具养殖潜力。褐牙鲈是太平洋西岸东北亚的特有种, 在中国、韩国、日本沿海均有大规模养殖, 是优良的海水养殖种之一, 近年来养殖褐牙鲈病害发生比较频繁, 影响了褐牙鲈养殖的发展, 在经济上也造成很大的损失。

在鱼类人工杂交研究方面, 相比淡水鱼类而言, 海洋鱼类的杂交进行的较少, 目前国内仅报道了褐

牙鲈(♀)×石鲈(♂)杂交^[3-4]、大菱鲈(♀)×褐牙鲈(♂)杂交^[3]、以及褐牙鲈(♀)×犬齿牙鲈(♂)杂交等^[5]研究。在海洋比目鱼类的早期发育研究方面, 迄今已进行了比较全面的研究, 如褐牙鲈(*Paralichthys olivaceus*)^[6-7]、大菱鲈(*Scophthalmus maximus*)^[8]、半滑舌鲷(*Cynoglossus semilaevis*)^[9-10]、圆斑星鲷(*Verasper variegatus*)^[11]、赫氏黄盖鲷(*Limanda herzensteini*)^[12]等, 但褐牙鲈(♀)×犬齿牙鲈(♂)杂交子一代胚胎及胚后发育进程研究, 在国内外尚未见报道。本实验拟通过观察褐牙鲈(♀)×犬齿牙鲈(♂)杂交子一代胚胎及胚后发育过程的形态特征, 为鲈鲷类的遗传育种、品种选育提供前期基础研究和参数。

1 材料与方法

1.1 受精卵及培育条件

受精卵来自2006年3~8月在山东省胶南市青岛忠海水产有限公司进行的褐牙鲈(♀)与犬齿牙鲈

收稿日期: 2006-11-15; 修订日期: 2007-03-14.

基金项目: 农业部“948”项目(2001-479-4).

作者简介: 关健(1982-), 男, 硕士研究生, 研究方向为海水鱼类繁育发育生物学. E-mail: guanjian35@sina.com

通讯作者: 柳学周(1959-), 男, 研究员. Tel: 0532-85811982; E-mail: liuxz@ysfri.ac.cn

(♂)杂交实验。褐牙鲈与犬齿牙鲈亲鱼经人工诱导性成熟后人工采集精液和卵子,干法授精获得受精卵。受精卵孵化条件为水温 $(16.5 \pm 0.5)^\circ\text{C}$,盐度 $32 \sim 33$,pH $7.8 \sim 8.2$,微充气;初孵仔鱼的培育水温为 $(19 \pm 0.5)^\circ\text{C}$,随仔鱼发育缓慢升高至 $(20 \pm 0.5)^\circ\text{C}$,保持此温度进行培育。

1.2 观测方法

孵化、培育期间定期取样,在 Nikon MS800 型解剖镜下观察杂交子一代(以下称杂交 F_1)胚胎发育和仔稚鱼发育各时期的形态特征并记录,同时使用 Nikon Coolpix 4500 型相机拍照。在解剖镜下测定卵子直径、仔鱼全长和总高等形态学特征,各时期测定样品数为 40~50 尾,绘制早期生长发育曲线

(图 1、图 2),同时用 Bonus 固定液固定各时期标本。

1.3 数据计算与统计分析

使用 Excel 2003 对实验数据进行统计分析,结果以算术平均值 $\pm$ 标准差 $(\bar{X} \pm \text{SD})$ 表示,使用 Photoshop 7.0 制作图版。

2 结果与分析

2.1 胚胎发育

褐牙鲈(♀)×犬齿牙鲈(♂)杂交 F_1 受精卵为端黄卵,浮性,圆球形,卵径 $0.98 \sim 1.04 \text{ mm}$,卵黄均匀透明,油球 1 个,直径 $0.18 \sim 0.21 \text{ mm}$ 。受精卵在 $16 \sim 17^\circ\text{C}$ 水温下历时 67 h 脱膜孵出,其发育进程见表 1。

表 1 褐牙鲈(♀)×犬齿牙鲈(♂)杂交 F_1 的胚胎发育

Tab.1 Embryonic development of crossbreed F_1 of *P. olivaceus* (♀) × *P. dentatus* (♂)

发育时间 Development time	发育时期 Development stage	图例 Figure ordinal
0 h	卵裂前 Before cell division	1-1
40 min	卵膜举起 Membrane lift	
1 h	胚盘形成 Blastodisc formation	1-2
1 h 30 min	2 细胞期 2-cell	1-3
2 h	4 细胞期 4-cell	1-4
2 h 40 min	8 细胞期 8-cell	1-5
3 h 20 min	16 细胞期 16-cell	1-6
4 h	32 细胞期 32-cell	1-7
4 h 30 min	64 细胞期 64-cell	1-8
5 h 20 min	128 细胞期 128-cell	1-9
7 h 30 min	桑椹期 Morula stage	1-10
9 h	高囊胚 High blastula	1-11
12 h 20 min	低囊胚 Low blastula	1-12
13 h 30 min	囊胚末期 Late blastula	
14 h	原肠早期 Early gastrula	1-13
19 h	原肠中期 Mid gastrula	1-14
23 h	原肠晚期 Late gastrula	1-15
24 h	胚孔封闭期 Closure stage of blastopore	
26 h	神经胚 Neurula stage	1-16
27 h	眼泡形成 Formation of optic vesicle	1-17
30 h	5-6 对肌节期 5-6 somites stage	1-18
37 h	嗅板形成 Formation of olfactory plate	
39 h	20 对肌节期 20 somites stage	
40 h	晶体形成 Formation of eye lens	1-19
43 h 30 min	尾芽开始形成 Tail-bud appearing	1-20
44 h 30 min	尾芽期 Tail-bud stage	
45 h	听囊形成 Formation of optic capsule	
48 h	肌肉效应 Muscular contraction	1-21
49 h	心跳出现 Heart pulsation	
51 h 30 min	耳石形成 Formation of otoliths	
58 h	背鳍、臀鳍鳍膜形成 Formation of dorsal fin, anal fin membrane	
61 h 30 min	胸鳍原基形成 Formation of pectoral fin anlage	
67 h	脱膜孵化 Hatching	1-22

2.1.1 卵裂前期 受精 40 min 后受精膜举起, 卵周隙狭小; 1 h 后原生质向动物极集中形成胚盘 (图版 I - 1~2)。

2.1.2 卵裂期 受精后 1 h 20 min 胚盘中部出现凹陷, 不久发生等分裂, 细胞数目呈几何级数增长, 经过 2 细胞、4 细胞、8 细胞……多细胞, 至受精 7 h 30 min 胚胎细胞在动物极形成多层, 发育成为桑葚胚 (图版 I - 3~10)。

2.1.3 囊胚期 桑葚胚期以后, 随着细胞分裂的继续, 细胞数目增加、体积变小, 胚胎发育至囊胚期。囊胚初期细胞在动物极呈帽状 (高囊胚), 胚体围成一空腔即囊胚腔; 囊胚细胞继续向植物极发育延伸, 进入低囊胚 (图版 I - 11~12)。

2.1.4 原肠期 受精后 14 h, 胚胎细胞包围卵黄囊, 形成胚环、胚盾, 进入原肠早期; 之后胚体收缩伸长, 进入原肠中、晚期, 同时形成胚孔 (图版 I - 13~15)。

2.1.5 神经胚 受精后 24 h 胚孔封闭, 不久胚体中央明显加厚, 形成神经板, 随后神经褶、神经管逐渐形成 (图版 I - 16)。

2.1.6 器官发生期 胚体头部两侧向外隆起, 眼泡形成, 随后形成克氏泡; 受精 30 h 后, 身体中部形成 5~6 对肌节; 受精 37 h 后在眼泡前部形成嗅板, 色素细胞开始出现, 在胚体上可见零星散布的黑点, 晶体不明显, 视泡已经变成视杯; 随后晶体形成, 和视杯一起构成眼睛; 在眼泡后方可见一对泡状结构的听囊, 胚体尾部开始扭转, 胚体呈“V”形附于卵黄囊上 (图版 I - 17~19)。

2.1.7 尾芽期 受精 43 h 30 min, 尾部出现尖端, 胚体绕卵黄约 60%, 胚胎发育至尾芽期, 此时胚体约 26~28 对肌节 (图版 I - 20)。

2.1.8 肌肉效应 受精 45 h, 胚体绕卵黄约 70%, 胚体尾部开始出现肌肉效应, 出现间断性收缩; 不久心跳出现, 频率 1.2 s/次 (图版 I - 21)。

2.1.9 脱膜孵化 胚体已经绕卵黄将近 1 周, 胚体肌肉收缩增强, 频率加快, 尾部将卵膜顶起并首先出膜, 胚体继续扭动, 最终完全出膜 (图版 I - 22)。

2.2 仔稚鱼形态特征

仔稚鱼发育分期标准参照 Kendall 等^[13]。应用 Excel 2003 制作前期仔鱼生长曲线, 并使用乘幂函数对生长数据进行回归分析, 发现前期仔鱼生长 (全长) 符合函数: $Y_L = -0.0023x^2 + 0.3767x +$

2.514 ($R^2=0.9962$, 适用于 36 d 前, 其中 x 表示发育时间 (d), Y_L 表示仔鱼全长, mm); 总高变化符合函数: $Y_H = 0.004x^2 + 0.1372x + 0.3943$ ($R^2=0.9751$, 适用于 36 d 前, 其中 x 表示发育时间 (d), Y_H 表示总高, mm)。

2.2.1 卵黄囊仔鱼 (Yolk-sac larvae) (初孵仔鱼~2 日龄)

(1) 初孵仔鱼 (图版 I - 23) 全长 (3.05 ± 0.12) mm, 总高 (0.99 ± 0.11) mm, 卵黄囊扁椭圆形, 长径 (1.15 ± 0.17) mm, 短径 (0.60 ± 0.09) mm, 长度占体长 1/2 左右; 油球 1 个, 位于卵黄囊后下方, 直径 (0.19 ± 0.03) mm。头部分化, 视囊和晶体无色透明, 耳石清晰。未开口, 肠道亦未成形。臀鳍膜自卵黄囊后缘处开始出现, 背鳍膜始于身体头后 1/3 处, 背鳍、臀鳍、尾鳍鳍膜相连。除尾鳍膜上无色素分布外, 躯干两侧以及背鳍、臀鳍鳍膜、卵黄囊、油球上均有星状黑色素、黄褐色色素分布。刚出膜的仔鱼身体仍保持弯曲, 后逐渐展直, 仔鱼倒悬于水体中, 间歇性运动。

(2) 1 日龄 (图版 II - 1) 全长 (3.45 ± 0.35) mm, 总高 (1.02 ± 0.11) mm, 卵黄囊体积缩小, 长径 (0.92 ± 0.13) mm, 短径 (0.48 ± 0.07) mm, 长度占体长 1/4 左右; 油球径 (0.16 ± 0.02) mm。视囊和晶体颜色加深, 呈淡灰色。中脑突凸起明显; 心脏长带状。肠道由卵黄囊上方沿脊柱向后延伸, 在卵黄囊后缘向下弯曲, 呈倒“L”状, 可见肠道细胞形成的窄的肠腔, 肛门未通。背鳍、臀鳍后部鳍膜上色素细胞密集, 星状黑色素的分支延长, 面积扩大, 间杂星状黄色素。

2.2.2 前弯曲期仔鱼 (Pre-flexion larvae) (3~19 日龄)

(1) 3 日龄 (图版 II - 2) 全长 (4.05 ± 0.29) mm, 总高 (1.07 ± 0.12) mm, 卵黄消耗完毕, 油球径 (0.15 ± 0.03) mm。视囊和晶体呈黑色。已开口, 4 日龄开始摄食, 肠前端直线形, 肠内褶清晰可见, 肛门开通; 此时开始投喂轮虫作为开口饵料。体表色素颜色加深, 消化道腹面出现点状黑色素, 鳍膜上分布有枝状黑色素和点状的黄色素。

(2) 6 日龄 (图版 II - 3) 全长 (4.88 ± 0.23) mm, 总高 (1.23 ± 0.13) mm, 油球径 (0.08 ± 0.02) mm。心房、心室体积均明显扩大, 房、室间有明显的分隔, 可见血液流动。消化系统发育完成, 胃部明显, 肠道

加粗,胃、肠内充满轮虫,不停蠕动。鳍膜边缘分布点状或星状黄色素,躯干上下两缘分布菊花状黑色素,尾端1/5无色素。仔鱼转入外源性营养,生长速度加快。

(3) 10 日龄 全长 (6.29 ± 0.63) mm, 总高 (1.61 ± 0.19) mm, 多数仔鱼油球消失, 冠状鳍条原基形成(图版Ⅲ-2)。肠道前段盘绕成第一个弯曲, 透明无色, 肠道后段为直管状。在躯干上下缘和肠胃团腹面的树枝状黑色素面积增大。

(4) 14 日龄(图版Ⅱ-4) 全长 (7.63 ± 0.87) mm, 总高 (2.38 ± 0.36) mm。出现2~5根不等冠状鳍条, 其上分布有点状黄色素(图版Ⅲ-3、4); 口腔出现细小的齿; 尾部脊椎下侧出现刀状尾鳍褶, 其边缘处有5~7个面积较大的星状黑色素。肠道加粗, 褶皱增多, 仔鱼开始摄食卤虫无节幼体。躯干部色素细胞开始由身体向外扩散: 躯干上下两侧规律分布有数量较多的星状黑色素, 左右分布有点状黄色素; 背、腹鳍膜分布点状、星状的黄色和褐色素, 间杂树枝状黑色素, 边缘分布树枝状黑色素。

2.2.3 弯曲期仔鱼 (Flexion larva) (20~25 日龄)

20 日龄(图版Ⅱ-5) 全长 (9.56 ± 0.87) mm, 总高 (3.51 ± 0.51) mm。冠状鳍条5~7根, 长1.7~2.2 mm, 鳍条的边缘分布有黄色素, 内部为数个面积较大的枝状黑色素(图版Ⅲ-5、6)。背、臀鳍支鳍骨形成, 腹鳍形成; 尾下骨形成, 尾部椎骨分节且上翘, 尾扇形成, 尾鳍鳍条17根, 分成2支且各自分节, 基部各有1~2个星状黑色素。头顶、脑腔后部、眼后、下颌、咽部、消化道腹面、躯干主体两侧和消化道背面等处的菊花状黑色素更加密集, 并逐渐扩伸。

2.2.4 后弯曲期仔鱼 (Post-flexion larvae) (26~39 日龄)

(1) 26 日龄(图版Ⅱ-6) 全长 (11.15 ± 1.24) mm, 总高 (4.72 ± 1.26) mm。冠状鳍条长 $(1.9 \sim 2.7)$ mm, 冠状鳍条6~7根(图版Ⅲ-7、8)。仔鱼进入变态期, 自22日龄右眼开始上升(图版Ⅳ-2、3), 树枝状黑色素逐渐收缩, 出现均匀分布的叶片状黑色素。仔鱼开始摄食微颗粒配合饵料, 与卤虫无节幼体混合投喂。

(2) 34 日龄(图版Ⅱ-7) 全长 (14.81 ± 1.84) mm, 总高 (5.41 ± 1.45) mm。冠状鳍条退化开始成为背鳍一部分(图版Ⅲ-8、9)。大部分个体右眼已经转到左侧(图版Ⅳ-4、5), 开始营底栖生活, 完全摄食微颗粒配合饵料。全身开始布满颜色

深浅不一的点状、星状和叶片状黑色素; 背、臀鳍上分布大量团状黑色素; 沿背鳍、臀鳍支鳍骨内缘各有一条由星团状灰黑色素组成的色素带。

2.2.5 稚鱼期 (Juvenile stage) (40 日龄后)

(1) 40 日龄(图版Ⅱ-8) 全长 (16.27 ± 1.54) mm, 总高 (6.77 ± 1.33) mm。变态完全结束, 进入稚鱼阶段。冠状鳍条完全成为背鳍一部分(图版Ⅲ-10), 右眼完全转至左侧(图版Ⅳ-5); 身体变狭长, 脊椎附近和腹部的皮肤出现少量鳞片; 鼻孔形成。头部、躯干和背鳍、臀鳍分布大量点状灰白色素, 间有团状黑色素群, 形成黑色花纹, 但仍有小部分区域透明。

(2) 50 日龄 全长 (22.06 ± 2.64) mm, 总高 (9.28 ± 1.68) mm。全身被鳞, 除尾鳍外通体呈灰白色, 间有散布的黑点; 沿侧线上下两侧形成3对对称的灰黑色较大斑点, 类似褐牙鲈幼体; 躯干、背鳍、臀鳍上大量分布直径1 mm左右的圆形白色斑点, 类似犬齿牙鲈成体。

(3) 70 日龄 全长 (35.25 ± 5.26) mm, 总高 (15.25 ± 2.36) mm。通体呈灰白色, 间有大量白色圆斑和若干黑色斑块; 形态、生活习性等与成鱼基本相同。

2.3 仔鱼变态期形态特征

2.3.1 总高/全长比的变化 在杂交 F_1 仔稚鱼的发育过程中, 其总高/全长比经历了一个先快速下降, 后徐徐上升, 再趋向平稳的过程(图1)。其第一个拐点出现于8 d(总高/全长之比0.254), 表明8 d以前仔鱼生长以全长增加为主, 总高生长速率低于全长; 8 d后情况发生逆转, 总高生长速率高于全长, 仔鱼形态向成鱼体态发展, 不久即开始变态。32 d前后为总高/全长变化的第二个拐点(比值0.446), 此后总高/全长相对稳定, 仔鱼变态基本结束, 进入稚鱼阶段, 体形非常类似成体鱼(图2、图版Ⅱ)。

2.3.2 冠状鳍条的发育 杂交 F_1 仔鱼10 d形成冠状鳍条原基, 14 d出现冠状鳍条, 24 d前后冠状鳍条平均数目和长度均达最大值(6.5根, 2.41 mm), 后逐渐退化萎缩, 最终成为背鳍前端部分(图3、图版Ⅲ)。

2.3.3 眼位置的变化 眼位置的变化是仔鱼变态期的重要特征之一, 20 d以前仔鱼双眼对称, 22 d前后右眼开始上升, 继而仔鱼头顶微微凹陷, 28 d右眼已转至头部中线, 34 d右眼转过头顶, 至40 d右眼完全转至体左侧, 变态完成(图版Ⅳ)。

2.3.4 尾部发育的形态观察 10 d时脊索末端呈

箭头状,14 d 脊索后段下缘出现月牙状尾鳍原基,其上有较密集的星状黄色素和黑色素分布;16 d 尾鳍原基后下方生成少量尾鳍褶;18 d 脊索末端上翘,形似人的足部,尾鳍褶的数目、长度都大幅增加;20 d

脊索末端上挑似钩状,尾鳍初步成形,形似半圆;30 d 尾鳍形状接近圆形,鳍条分节明显;40 d 鳞片覆盖尾柄,尾鳍条拉长;50 d 全身被鳞,同时尾部发育大致完成(图版 V)。

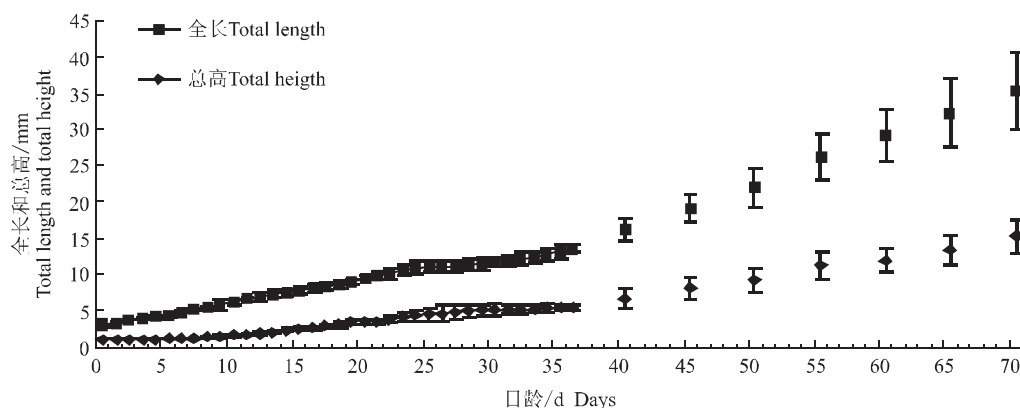


图1 褐牙鲈(♀)×犬齿牙鲈(♂)杂交 F₁早期生长 (n=40~50)

Fig.1 Growth of crossbreed F₁ by *P. olivaceus* (♀) × *P. dentatus* (♂) during early stage

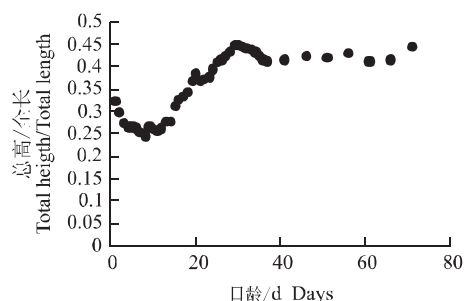


图2 褐牙鲈(♀)×犬齿牙鲈(♂)杂交 F₁早期总高/全长比的变化 (n=40~50)

Fig.2 Height/Length rate of crossbreed F₁ by *P. olivaceus* (♀) × *P. dentatus* (♂) during early stage

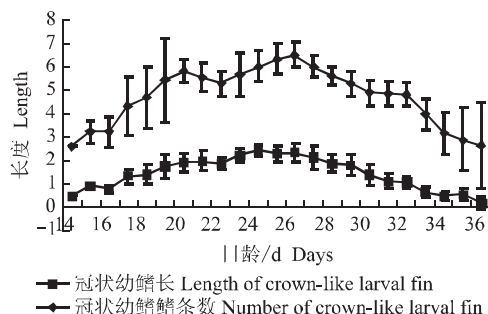


图3 褐牙鲈(♀)×犬齿牙鲈(♂)杂交 F₁冠状鳍条长度与数量的平均值变化 (n=40~50)

Fig.3 Crown-like larvae fin length and number of crossbreed F₁ by *P. olivaceus* (♀) × *P. dentatus* (♂)

3 讨论

3.1 褐牙鲈(♀)×犬齿牙鲈(♂)杂交 F₁的发育

褐牙鲈(♀)×犬齿牙鲈(♂)杂交 F₁胚胎发育所经历的发育过程与其他牙鲈属的种基本相同,经历卵裂前期、卵裂期、囊胚期、原肠期、神经胚期、器官发生期和孵化出膜期7个主要发育时期,在发育过程中未出现明显的特异性。关于克氏泡的出现时期,褐牙鲈^[7]于肌节15对左右,漠班牙鲈(另文发表)和大菱鲈^[8]均于肌节10对左右,而本研究中杂交 F₁的克氏泡出现于眼泡形成后、肌节形成前,与

上述3种鱼类不同,可能是发育过程的种属特异性造成的。褐牙鲈^[7]、漠班牙鲈、大菱鲈^[8]的胚胎扭动均处于心跳发生前后,杂交 F₁胚胎在心跳发生以前开始出现胚胎扭动,这与其他鲈类相似。杂交 F₁胚胎在15℃水温下历时76 h 脱膜孵出,孵化用时较褐牙鲈^[7]短、与犬齿牙鲈^[2]相近,但与其他几种鲈类存在差异(表2),证明雄核基因在杂交胚胎的发育过程中可能起到了相当重要的作用。

杂交 F₁与褐牙鲈、犬齿牙鲈早期仔鱼全长生长的比较见表3,3个种的初孵仔鱼全长差别不明显,之后杂交 F₁生长较其父、母本更迅速,至3 d 平均全

长达(4.05±0.29)mm,表明杂交F₁在生长上具有一定的优势。在仔稚鱼的发育过程上,杂交F₁与褐牙鲆、犬齿牙鲆基本相同,未观察到明显的异常特征。

表 2 几种鲆鲽鱼类胚胎发育最适温度及在该温度下胚胎发育所用时间的比较

种类 Species	胚胎发育最适温度 /℃	孵化时间 /h	参考文献
	Optimum temperature for hatching	Hatching hours	
褐牙鲆 <i>P. olivaceus</i>	14~16	93	[7]
犬齿牙鲆 <i>P. dentatus</i>	16	77	[2]
漠斑牙鲆 <i>Paralichthys lethostigma</i>	18	52.5	①
大菱鲆 <i>Scophthalmus maximus</i>	13	116	[8]
圆斑星鲽 <i>Verasper variegatus</i>	11±0.5	153	[11]
赫氏黄盖鲽 <i>Limanda herzensteini</i>	11.8~12.8	73.5	[12]
褐牙鲆(♀)×石鲽(♂) <i>P. olivaceus</i> (♀)× <i>P. bicoloratus</i> (♂)	15	70~75	[3]
褐牙鲆(♀)×犬齿牙鲆(♂) <i>P. olivaceus</i> (♀)× <i>P. dentatus</i> (♂)	15	76	[15]

表 3 杂交F₁与褐牙鲆、犬齿牙鲆早期仔鱼全长生长的比较

种类 Species	仔鱼全长 /mm Total length of parents and crossbreed F ₁ larva			
	0 d	1 d	2 d	3 d
褐牙鲆 <i>Paralichthys olivaceus</i>	2.95~3.15	3.15~3.50	3.65~3.90	3.65~4.20
犬齿牙鲆 <i>Paralichthys dentatus</i> [2]	3.01~3.28	3.38~3.55	3.41~3.65	3.55~3.75
褐牙鲆(♀)×犬齿牙鲆(♂) <i>P. olivaceus</i> (♀)× <i>P. dentatus</i> (♂)	3.05±0.12	3.45±0.35	3.85±0.40	4.05±0.29

3.2 褐牙鲆(♀)×犬齿牙鲆(♂)杂交的可行性

在脊椎动物中,鱼类是最容易发生杂交的,前人的研究中已产生了不少具有生产或育种价值的杂交种,杂交已成为鱼类育种的重要手段。海水鱼类的繁殖中较少使用杂交手段,海水鲆鲽鱼类中目前已进行了海鲽(♀)×河鲽(♂)(*Pleuronectes flesus*)、欧洲黄盖鲽(♀)(*Limanda limanda*)×川鲽(*Platichthys flesus*)(♂)、海鲽(♀)×大菱鲆(♂)(*Scophthalmus maximus*)、河鲽(♀)(*Pleuronectes flesus*)×大菱鲆(♂)(*Scophthalmus maximus*)、圆斑星鲽(*Verasper variegatus*)×石鲽(*Pleuronectes bicoloratus*)、漠斑牙鲆(♀)(*Paralichthys lethostigma*)×白点牙鲆(♂)(*Paralichthys albiguta*)之间的杂交等[14]。犬齿牙鲆和褐牙鲆同属于牙鲆属,染色体核型同为2n=48 t,这具备了杂交的细胞学基础。从分类学的角度,二者间的杂交属于近缘杂交,从地理位置看二者杂交属于地理远缘杂交。分类地位越相近的物种杂交,理论上成功的可能性就越大;而地理上的远缘杂交,不仅后代变异幅度大、类型

多,而且常常出现一些珍贵的超亲性状和超亲类型,而且其后代性状也较远缘杂交后代容易稳定[15],以上构成了选择褐牙鲆、犬齿牙鲆作为亲本的理论依据。根据本研究,褐牙鲆(♀)×犬齿牙鲆(♂)的杂交是可行的,杂交F₁仔鱼的早期生长较其亲本褐牙鲆、犬齿牙鲆具有一定优势(表3),但有关杂交F₁对环境因子的耐受性、人工养殖条件下的生长速度、抗病力等方面是否优于亲本,还有待于日后观察。

参考文献:

[1] Bengtson D A. Aquaculture of summer flounder (*Paralichthys dentatus*): status of knowledge, current research and future research priorities[J]. Aquaculture, 1999, 17: 39-49.

[2] 王波,张朝晖,张杰东,等.大西洋牙鲆繁殖生物学及繁育技术研究进展[J].海洋水产研究,2004,25(1):90-96.

[3] 季相山,陈松林,赵艳,等.石鲽、牙鲆精子冷冻保存研究及其在人工杂交中的应用[J].海洋水产研究,2005,26(2):13-16.

[4] 王新成,尤锋,倪高田,等.石鲽与牙鲆人工杂交的研究[J].海洋科学,2003,27(1):1-4.

[5] 尤锋,徐世宏,许建和,等.夏牙鲆(♂)与牙鲆(♀)人工杂交的细胞遗传学初步研究[J].海洋科学,2006,30(3):51-55.

① 数据来源于《漠斑牙鲆胚胎及仔稚鱼发育的形态学观察》(未发表)。

- [6] 张孝威, 何贵芬, 沙学绅. 牙鲆条鳎卵子及仔、稚鱼的形态观察[J]. 海洋与湖沼, 1965, 7 (2): 158-73.
- [7] 田永胜, 陈松林, 严安生, 等. 牙鲆的胚胎发育[J]. 水产学报, 2004, 28 (6): 609-615.
- [8] 雷霖霖, 马爱军, 刘新富, 等. 大菱鲆 (*Scophthalmus maximus* L.) 胚胎及仔稚鱼发育研究[J]. 海洋与湖沼, 2003, 34 (1): 9-18.
- [9] 姜言伟, 万瑞景. 渤海半滑舌鳎早期形态及发育特征研究[J]. 海洋水产研究, 1988, 9: 193-198.
- [10] 万瑞景, 姜言伟, 庄志猛. 半滑舌鳎早期形态及发育特征[J]. 动物学报, 2004, 50 (1): 90-101.
- [11] 王开顺, 张志峰, 康庆浩, 等. 圆斑星鲽胚胎及仔稚鱼发育的观察[J]. 中国水产科学, 2003, 10 (6): 451-454.
- [12] 毕庶万, 郑振虎, 冯敦国, 等. 赫氏黄盖鲽受精卵孵化与仔幼鱼培养初步研究[J]. 海洋湖沼通报, 1993 (4): 75-80.
- [13] 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. Am Soc Ichthyol Herpeto, Spec Publ. 1, 1984: 11-22.
- [14] 雷霖霖. 海水鱼类养殖理论与技术[M]. 北京: 中国农业出版社, 2004.
- [15] 关键, 柳学周, 蔡文超, 等. 温度、盐度对褐牙鲆 (♀) × 犬齿牙鲆 (♂) 杂交子一代胚胎发育和仔鱼存活的影响[J]. 海洋水产研究, 2007, 28 (3): 31-37.

Observation of embryonic and larval development of crossbreed F_1 by *Paralichthys olivaceus* (♀) × *Paralichthys dentatus* (♂)

GUAN Jian^{1,2}, LIU Xue-Zhou², CAI Wen-chao^{1,2}, XU Yong-jiang², MA Shen¹

(1. Key Laboratory for Sustainable Utilization of Marine Fisheries Resource, Ministry of Agriculture, Yellow Sea Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fisheries Sciences, Qingdao 266071, China; 2. College of Fisheries, Ocean University of China, Qingdao 266003, China)

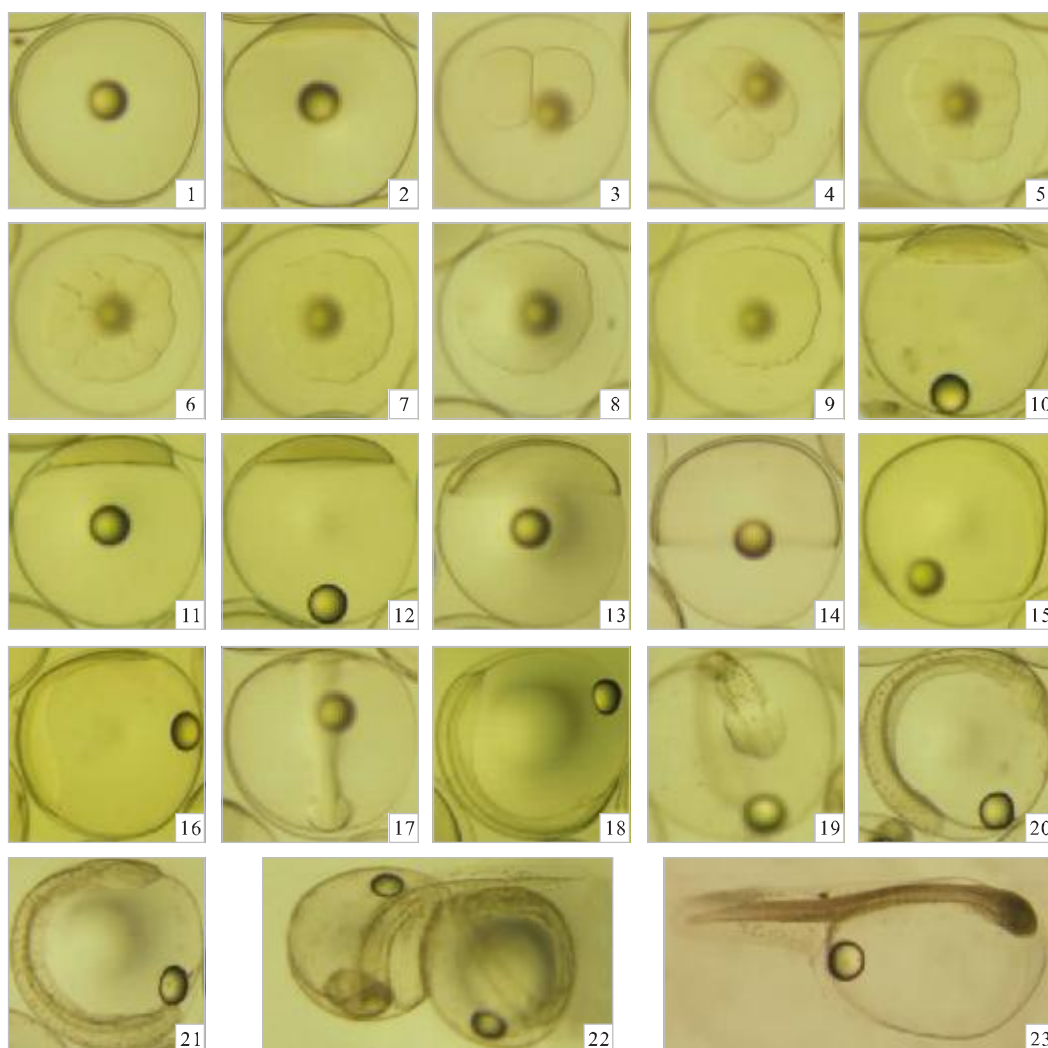
Abstract: Hybridization was the most widely used and effective method in aquaculture breeding. In order to select several flatfish species which were suitable for seawater fish farming in China, hybridization between *Paralichthys olivaceus* (♀) and *Paralichthys dentatus* (♂) by artificial method was studied. Zygote was obtained by artificial insemination with collected mature eggs and sperms. By observing the embryonic and larval development of crossbreed F_1 with Nikon MS-800 microscope, the total development time of every development stage was noted and calculated and the characteristic images were taken using Nikon camera. Embryos were incubated in sea water (salinity 32-33) at $(16.5 \pm 0.5)^\circ\text{C}$. The time-table of major embryonic development stages of crossbreed F_1 was as follows: blastodisc forming stage at 1 h post fertilization (pf); 4-cell stage at 2 h pf; morula at 7 h 30 m pf; low blastula stage at 12 h 20 m pf; early gastrula stage at 14 h pf; late gastrula at 23 h pf; blastopore closing stage at 24 h pf; nurula stage at 26 h pf; 5-6 somite stage at 30 h pf; tail bud stage at 43 h 30 m pf; embryo movement at 48 h pf; hatching stage at 67 h pf. There was no noticeable different in embryonic development between crossbreed F_1 and *Paralichthys olivaceus* except the time of embryo movement. The larvae rely on their yolk for nourishment before 3rd day post hatching at $(19.5 \pm 0.5)^\circ\text{C}$; after this the larval mouth opened on 3rd day (pre-flexion larvae). Metamorphosis began on 20th day (flexion larvae) and completed on about 40th day post hatching and the fish turned into juvenile, while accompanied by a change from planktonic habits to demersal habits. The morphological development and changes of pigment pattern from embryonic to juvenile stage were observed. The crown-like fin development, eye migration and tail transformation in metamorphosis stage were described with 24 photographs. There was no swim bladder development in early live history. The optimum water temperatures for embryonic development of several flatfish species were discussed, and the developmental speeds in these temperatures were studied. [Journal of Fishery Sciences of China, 2007, 14 (4): 644-653]

Key words: *Paralichthys olivaceus*; *Paralichthys dentatus*; crossbreed F_1 ; embryonic development; larval morphometrics

Corresponding author: LIU Xue-zhou. E-mail: liuxz@ysfri. ac. cn

关键等: 褐牙鲈(♀) × 犬齿牙鲈(♂) 杂交子一代胚胎发育及仔稚鱼形态学观察

GUAN Jian et al: Observation of embryonic and larval development of crossbreed F₁ by *Paralichthys olivaceus* (♀) × *Paralichthys dentatus* (♂)



图版 I 褐牙鲈(♀) × 犬齿牙鲈(♂) 杂交 F₁ 的胚胎发育

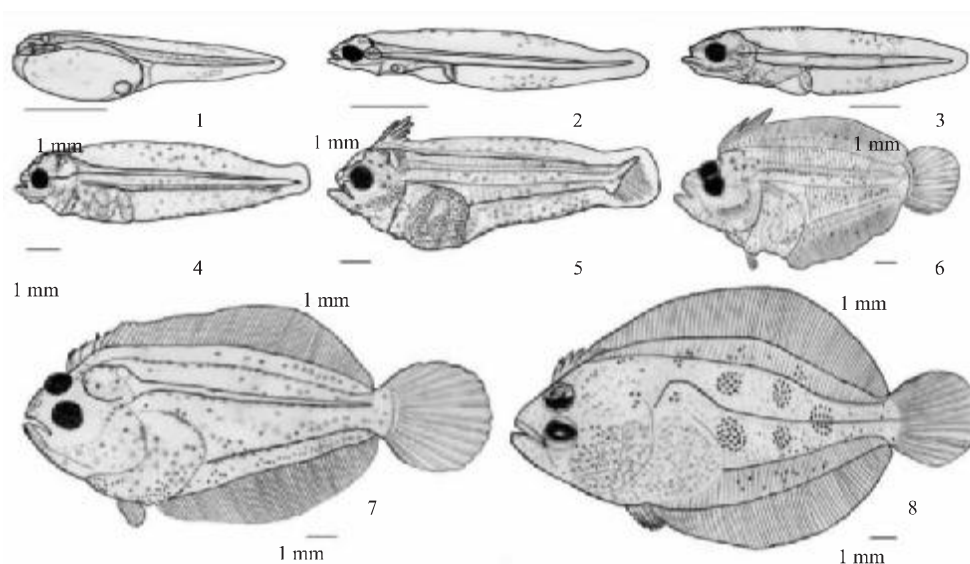
1: 未受精, ×32; 2: 胚盘举起, ×32; 3: 2 细胞, ×32; 4: 4 细胞, ×32; 5: 8 细胞, ×32; 6: 16 细胞, ×32; 7: 32 细胞, ×32; 8: 64 细胞, ×32; 9: 多细胞期, ×32; 10: 桑椹期, ×32; 11: 高囊胚, ×32; 12: 低囊胚, ×32; 13: 原肠早期, ×32; 14: 原肠中期, ×32; 15: 原肠末期, ×32; 16: 神经胚, ×32; 17: 眼泡形成, ×32; 18: 肌节形成, ×32; 19: 晶体形成, ×32; 20: 尾芽形成, ×32; 21: 肌肉效应, ×32; 22: 脱膜孵化, ×25; 23: 初孵仔鱼, ×35.

Plate I Embryonic development of crossbreed F₁ by *P. olivaceus* (♀) × *P. dentatus* (♂)

1: Unfertilized, ×32; 2: Blastodisc formation, ×32; 3: 2-cell stage, ×32; 4: 4-cell stage, ×32; 5: 8-cell stage, ×32; 6: 16-cell stage, ×32; 7: 32-cell stage, ×32; 8: 64-cell stage, ×32; 9: Multi-cell stage, ×32; 10: Morula stage, ×32; 11: High blastula stage, ×32; 12: Low blastula stage, ×32; 13: Early gastrula stage, ×32; 14: Mid-gastrula stage, ×32; 15: Late gastrula stage, ×32; 16: Neurula stage, ×32; 17: Formation of optic vesicle, ×32; 18: Formation of somite, ×32; 19: Formation of eye lens, ×32; 20: Tail-bud forming, ×32; 21: Muscular contraction, ×32; 22: Hatching, ×25; 23: Newly-hatched larva, ×35.

关键等: 褐牙鲈(♀) × 犬齿牙鲈(♂) 杂交子一代胚胎发育及仔稚鱼形态学观察

GUAN Jian et al: Observation of embryonic and larval development of crossbreed F₁ by *Paralichthys olivaceus* (♀) × *Paralichthys dentatus* (♂)

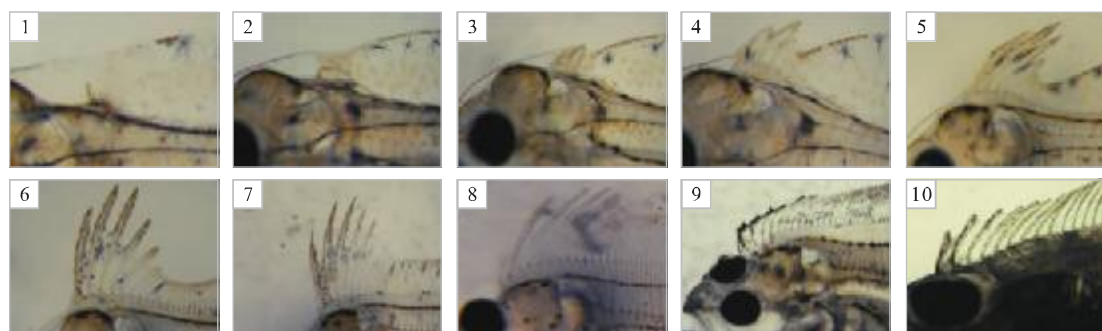


图版 II 褐牙鲈(♀) × 犬齿牙鲈(♂) 杂交 F₁ 的仔稚鱼形态

1:1 日龄仔鱼;2:3 日龄仔鱼;3:6 日龄仔鱼;4:14 日龄仔鱼;5:20 日龄仔鱼;6:26 日龄仔鱼;7:34 日龄仔鱼;8:40 日龄仔鱼。

Plate II Larval morphometrics of crossbreed F₁ by *P. olivaceus* (♀) × *P. dentatus* (♂)

1:1-day old larva;2:3-day old larva;3:6-day old larva;4:14-day old larva;5:20-day old larva;6:26-day old larva;7:34-day old larva;8:40-day old larva



图版 III 褐牙鲈(♀) × 犬齿牙鲈(♂) 杂交 F₁ 的冠状鳍条发育

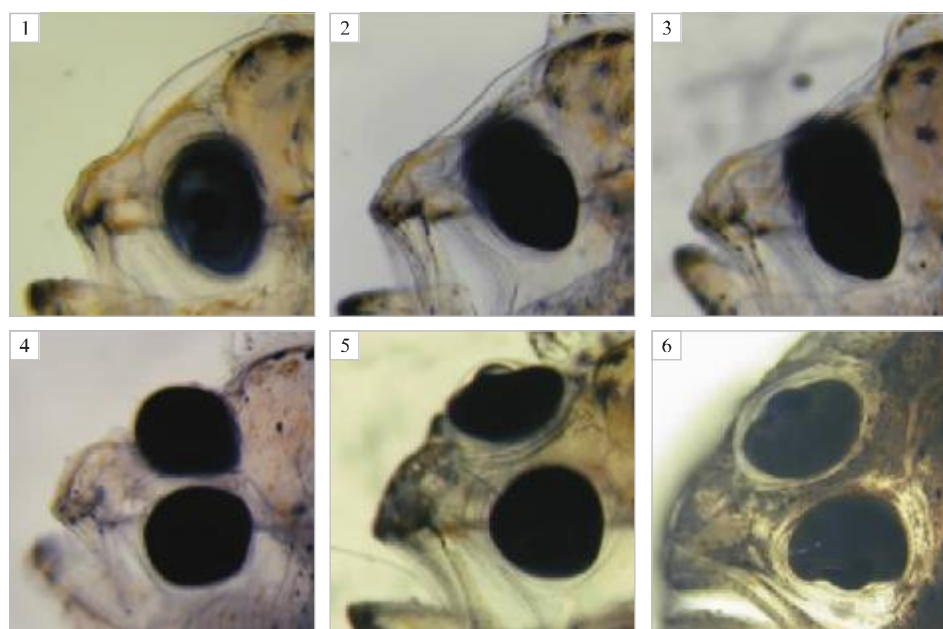
1:8 日龄, 未形成, ×60;2:10 日龄, 冠状鳍条原基, ×60;3:12 日龄, 出现冠状鳍条, ×50;4:14 日龄, ×50;5:16 日龄, ×40;6:20 日龄, ×40;7:24 日龄, 鳍条长度最大, ×40;8:28 日龄, 开始萎缩, ×30;9:34 日龄, 萎缩消失, ×20;10:40 日龄, 成为背鳍前端部分, ×20.

Plate III Crown-like fin development of crossbreed F₁ larval by *P. olivaceus* (♀) × *P. dentatus* (♂)

1:8 d, unformed, ×60;2:10 d, anlage of crown-like larvae fin, ×60;3:12 d, crown-like larvae fin formed, ×50;4:14 d, ×50;5:16 d, ×40;6:20 d, ×40;7:24 d, fin-length was the most, ×40;8:28 d, atrophy began, ×30;9:34 d, disappearing, ×20;10:40 d, the front of dorsal fin, ×20.

关键等: 褐牙鲈(♀) × 犬齿牙鲈(♂) 杂交子一代胚胎发育及仔稚鱼形态学观察

GUAN Jian et al: Observation of embryonic and larval development of crossbreed F₁ by *Paralichthys olivaceus* (♀) × *Paralichthys dentatus* (♂)

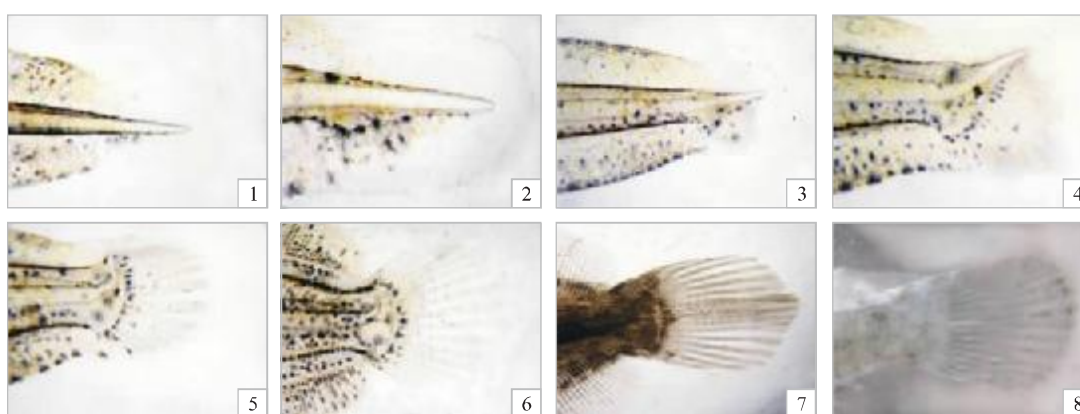


图版Ⅳ 褐牙鲈(♀) × 犬齿牙鲈(♂) 杂交 F₁ 变态期眼的移位过程

1:16 日龄, 两眼对称, ×48; 2:22 日龄, 右眼开始上升, ×40; 3:24 日龄, 头顶出现凹陷, ×40; 4:28 日龄, 右眼位于头顶, ×32; 5:34 日龄, 转眼基本完成, ×25; 6:40 日龄, 变态完成, ×16.

Plate IV Eyes transformation in metamorphosis of crossbreed F₁ by *P. olivaceus* (♀) × *P. dentatus* (♂)

1:16 d, eyes were symmetry, ×48; 2:22 d, the right eye ascend, ×40; 3:24 d, calvaria depressed, ×40; 4:28 d, the right eye was at the calvaria, ×32; 5:34 d, eye transformation finished basically, ×25; 6:40 d, finished metamorphosis, ×16.



图版Ⅴ 褐牙鲈(♀) × 犬齿牙鲈(♂) 杂交 F₁ 尾部形态变化过程

1:10 日龄, ×20; 2:14 日龄, ×20; 3:16 日龄, ×12; 4:18 日龄, ×15; 5:20 日龄, ×12; 6:30 日龄, ×7; 7:40 日龄, ×6; 8:50 日龄, ×4.8.

Plate V Tail transformation in metamorphosis of crossbreed F₁ by *P. olivaceus* (♀) × *P. dentatus* (♂)

1:10 d, ×20; 2:14 d, ×20; 3:16 d, ×12; 4:18 d, ×15; 5:20 d, ×12; 6:30 d, ×7; 7:40 d, ×6; 8:50 d, ×4.8.