

哲罗鱼(♀)与细鳞鱼(♂)杂交种胚胎及仔稚鱼发育

徐革锋¹, 杜佳², 张永泉¹, 刘洋¹, 尹家胜¹, 牟振波¹

(1. 中国水产科学研究院 黑龙江水产研究所, 黑龙江 哈尔滨 150070; 2. 东北农业大学 水产养殖系, 黑龙江 哈尔滨 150030)

摘要: 通过性激素药物诱导和人工繁育技术对哲罗鱼(♀)(*Hucho taimen*)与细鳞鱼(♂)(*Brachymystax lenok*)进行属间远缘杂交, 并对杂交种胚胎及仔稚鱼的发育进行初步研究。结果表明: 在水温6.2 ~ 8.9℃条件下, 哲罗鱼(♀) × 细鳞鱼(♂)的杂交受精卵完成胚胎期发育所需的有效积温为5 806.70℃·h, 整个胚胎发育过程可分为6个阶段, 24个发育分期。刚破膜的仔鱼不具有游泳能力, 全身透明, 体循环清晰可见; 7 d后卵黄囊期仔鱼口裂明显, 头顶部和腹部开始变得浅黄, 尾鳍分化不断完成; 17 d后, 仔鱼开始上浮, 卵黄囊基本吸收完全, 仔鱼具有游泳能力, 鳍条和腹部鳞片开始不断分化。上浮40 d后仔鱼发育成稚鱼, 脂鳍分化和身体两侧鳞片覆盖基本完毕, 幼鲑斑开始出现。根据研究结果可以初步断定, 该杂交种的胚胎发育速度介于双亲之间, 稚鱼期基本具备成鱼形态特征, 早期杂交种外部形态略偏向于哲罗鱼, 但仔稚鱼期生长较双亲快, 推断这种杂交优势的贡献力可能来源于母本。[中国水产科学, 2010, 17(4): 630-638]

关键词: 哲罗鱼; 细鳞鱼; 属间杂交种; 胚胎发育; 仔稚鱼

中图分类号: Q959; S96

文献标识码: A

文章编号: 1005-8737-(2010)04-0630-09

哲罗鱼(*Hucho taimen*)和细鳞鱼(*Brachymystax lenok*)同属鲑形目(Salmoniformes)、鲑科(Salmonidae), 分为哲罗鱼属和细鳞鱼属, 濒危等级为易危, 国家二级保护动物^[1-2]。这2种鲑科鱼类主要分布于亚洲的中国、韩国和蒙古以及欧洲的远东地区^[1,3-6], 是中国珍稀名贵的冷水性鱼类。近年来, 由于环境污染和过度捕捞, 哲罗鱼与细鳞鱼的生境受到严重威胁, 栖息地与产卵场不断减少, 它们的群体资源量在中国正面临着枯竭的境地。哲罗鱼和细鳞鱼的栖息地与产卵场曾在中国的黑龙江水系有着广泛的分布, 这2种鱼在生活习性、繁殖习性和遗传演化等方面有着极大的共性^[1,7], 但由于繁殖时间或产卵场不同, 导致这2种鱼的绝大部分群体之间处于生殖隔离状态。但在20世纪50年代薛镇宇等^[8]报道, 在黑龙

江上游呼玛河段捕获了哲罗鱼与细鳞鱼的天然杂交种, 这充分说明了这2个属之间存在杂交的可行性。目前哲罗鱼和细鳞鱼的人工繁殖都已经获得成功, 且均处于人工扩繁阶段, 国内许多学者对于这2种鱼的人工繁育^[9-11]、驯化养殖^[10-12]和生物学^[3,13-17]等方面都作了大量工作。2007年作者对这2种鱼进行了杂交实验, 但只有正交组合[太门哲罗鲑(♀) × 细鳞鱼(♂)]可以获得成活子代, 且正交组合子代的生长速度和抗病力较亲本有一定的优势, 而反交组合[细鳞鱼(♀) × 哲罗鱼(♂)]破膜即死亡^[18]。因此, 本研究对哲罗鱼(♀)与细鳞鱼(♂)及其杂交种的胚胎和杂交仔稚鱼发育进行了系统观察, 旨在揭示杂交种的胚胎发育规律, 并为新养殖品种的开发提供基础资料。

收稿日期: 2009-10-09; 修订日期: 2010-02-23.

基金项目: 中央级公益性科研院所基本科研业务费资助项目(201002); 黑龙江省冷水性鱼类种质资源与增养殖重点开放实验室项目(201002); 中国水产科学研究院冷水性鱼类增养殖生物学与鱼类生理学重点开放实验室项目(201002)。

作者简介: 徐革锋(1979-), 男, 助理研究员, 主要从事鱼类育种方面的研究. E-mail: xgffish@yahoo.com.cn

通讯作者: *牟振波(1961-), 男, 研究员, 主要从事冷水性鱼类养殖、增殖研究. E-mail: hfishmzb@hotmail.com;

**尹家胜(1963-), 男, 研究员, 主要从事鱼类生态学研究. E-mail: xwsc20@tom.com

1 材料与方法

1.1 受精卵和培育条件

哲罗鱼(♀)与细鳞鱼(♂)的杂交实验在中国水产科学研究院黑龙江水产研究所渤海冷水性鱼类试验站进行。野生哲罗鱼与细鳞鱼均采捕于乌苏里江流域的虎头段,亲鱼经人工注射性激素诱导性成熟^[11],人工采集雌雄配子,湿法授精获得哲罗鱼(♀)×细鳞鱼(♂)受精卵6 000粒,分3组孵化作为杂交实验组;父母本同期自繁受精卵作为对照组。受精卵孵化和仔稚鱼培育的水温为6.2~10.8℃,平均水温为7.7℃,溶氧为5.0~9.0 mg/L;破膜仔鱼的培育水温为(10±0.5)℃,随着仔鱼不断向稚鱼、幼鱼期过渡,水温将升至最高16℃。

1.2 采样设计与观察方法

受精卵在受精后0~60 min,每15 min采样1次;受精后1~48 h,每1 h采样1次;48~144 h,每2 h采样1次;144~192 h,每4 h采样1次;192~240 h,每8 h采样1次;240~288 h,每12 h采样1次;受精后13~41 d,每天采样1次;每次采样数量为15~30粒,并将受精卵的活体胚胎进行Bouin's液固定,固定7 d后,将样品移入75%的酒精中,置于4℃暂存,胚胎通过剥去卵膜进行观察;仔稚鱼阶段直接采用显微照像的方法进行观察。在Motic K-700 L型体视显微镜下观察杂交种及其双亲对照组胚胎发育和杂交仔稚鱼期的形态特征,并记录;同时使用Motic Imales Plus 3.0 ML成像系统进行拍照和测定受精卵直径及仔稚鱼形态学数据,整理发育时序图。

1.3 有效积温计算

生物体完成某一发育阶段所需的总热量接近一个常数或者是近似一个单位时间(天数或时数)与温度(℃)的乘积,这便是有效积温^[19]。与温水性鱼类不同,鲑科鱼类的胚胎发育时间较为漫长,一般根据环境水温不同,鲑科鱼的胚胎发育时间可能最长要50 d,最短也要10 d。本研究借鉴王妍妍等^[20]的方法,将鲑科鱼的有效积温表示为: $K=T \cdot N$ 。式中, T 为发育期间的平均水温(℃); N 为完成某阶段的

发育所需要的时间(h); K 即为生物完成某阶段的发育所需要的有效积温(℃·h)。

1.4 数据处理与统计分析

使用SPSS11.0对实验数据进行统计分析,结果以算术平均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示,使用Motic Imales Plus 3.0成像系统和Photoshop 7.0制作图版。

2 结果与分析

2.1 胚胎发育

通过研究发现,哲罗鱼(♀)与细鳞鱼(♂)的杂交受精卵与双亲的受精卵特征和发育规律基本一致,均为沉性端黄卵,圆球形,呈桔黄色,刚受精或未受精时卵径为4.2~5.0 mm,受精40~50 min后,由于受精卵吸水导致卵膜变厚、变硬,吸水膨胀使卵黄与卵膜之间的卵黄周隙增大,卵径膨胀到最大,其膨胀率(约为10%)与双亲对照组相近。在6.2~8.9℃水温条件下,杂交实验组及双亲对照组的受精卵完成胚胎期发育所需有效积温分别为5 806.70℃·h、6 274.70℃·h(哲罗鱼)和5 244.90℃·h(细鳞鱼),其各个时期胚胎的发育时序见表1。本研究将杂交种胚胎的发育过程(受精卵至仔鱼破膜)划分为6个阶段:卵裂前期、卵裂期、囊胚期、原肠胚期、神经胚期和器官形成期;24个发育分期为受精卵,胚胎隆起期;2细胞期,4细胞期,8细胞期,16细胞期,多细胞期;囊胚早期,囊胚中期,囊胚晚期;原肠早期,原肠中期,原肠晚期;神经胚期;眼基出现期,胚孔封闭期,脑部分化期,胸基出现期,眼囊形成期,尾芽出现期,眼晶体出现期,尾鳍出现期,眼色素出现期;出膜期。

2.1.1 卵裂前期 杂交受精卵未吸水时直径(5.0±0.2) mm,吸水后45 min卵径达到最大(5.5±0.13) mm(图版I-1)。杂交和双亲对照的受精卵在受精后2.5~3 h(10.50~25.63℃·h)卵周隙变小,原生质开始向动物极迁移,逐渐隆起出现盘状胚盘(图版I-2),为此后的卵裂奠定了基础。

2.1.2 卵裂期 哲罗鱼、细鳞鱼及其杂交后的受精卵有效发育积温分别达到53.40℃·h、56.57℃·h和57.30℃·h时,胚盘开始隆起,并向两边拉长,胚

表1 哲罗鱼(♀)×细鳞鱼(♂)杂交种及其亲本胚胎发育时序表
Tab.1 Embryonic development of hybrid *H. taimen* (♀) × *B. lenok* (♂) and their parents

图版编号 Plate no.	发育时期 Development stage	受精后积温/(℃·h) Accumulated temperature after fertilization		
		杂交种 <i>H. taimen</i> (♀) × <i>B. lenok</i> (♂)	哲罗鱼 <i>H. taimen</i>	细鳞鱼 <i>B. lenok</i>
I-1	受精卵 Fertilized egg	0	0	0
I-2	胚盘隆起 Blastodisc	15.50	10.50	25.63
I-3	第一次卵裂(2细胞期) 2-cell stage	57.30	53.40	56.57
I-4	第二次卵裂(4细胞期) 4-cell stage	78.30	69.30	79.70
I-5	第三次分裂(8细胞期) 8-cell stage	103.90	93.60	91.70
I-6	第四次卵裂(16细胞期) 16-cell stage	119.10	114.10	103.70
I-7	多细胞期 Multi-cells stage	160.90	160.90	199.90
I-8	囊胚早期 Early-blastula stage	278.30	278.30	321.50
I-9	囊胚中期 Mid-blastula stage	440.30	585.10	428.71
I-10	囊胚晚期 Late-blastula stage	671.50	671.50	551.50
I-11	囊胚晚期 Late-blastula stage	897.50	839.90	629.51
I-12	原肠早期 Early-gastrula stage	1024.70	967.10	897.90
I-13	原肠中期 Mid-gastrula stage	1138.70	1088.30	1086.30
I-14	原肠晚期 Late-gastrula stage	1247.90	1138.70	1204.50
I-15	神经胚期 Neurula stage	1316.30	1202.30	1274.40
I-16	眼基出现期 Eye anlage stage	1625.90	1247.90	1388.30
I-17	胚孔封闭期 Blastopore closing stage	1789.10	1625.90	1474.70
I-18	脑部分化期 Brain differentiation stage	1947.50	1947.50	1592.30
I-19	胸鳍原 胸基出现期 Pectoral fin analge stage	2103.50	2103.50	1667.50
I-20	眼囊形成期 Eye vesicle stage	2273.90	2273.90	1765.10
I-21	尾芽出现期 Tail bud formed stage	2432.30	2432.30	1858.70
I-22	眼晶体出现期 Stage of eye lens formed stage	2680.70	2756.30	2327.90
I-23	尾鳍出现期 Caudal fin appearance	2871.50	2919.50	2707.40
I-24	眼色素出现期 Eye pigment stage	3535.90	3735.50	3365.00
I-25	出膜期 Hatching	5806.70	6274.70	5244.90

盘顶部中央产生一条裂痕,随着发育不断加深形成分裂沟将胚盘一分为二,此时即为2细胞期(图版I-2),发育积温的不断累积,使细胞分裂数目也呈几何级数增加,历经4细胞、8细胞、16细胞、多细胞(图版I-3-5)时期,胚体变成多层,随着分裂细胞数目不断增加、分裂细胞的单位体积变小,转为囊胚早期发育。

2.1.3 囊胚期 杂交胚胎的囊胚期发育与哲罗鱼的发育积温基本一致,较细鳞鱼的发育积温持续的要长(表1)。多细胞期之后,胚盘隆起达最高,形成高囊胚,此时进入囊胚早期,囊胚层如帽状,与卵黄物质交界明显,但交界边缘不规则(图版I-8);随着

囊胚边缘外展,囊胚层面积不断变大,边缘开始向植物极下包和内卷,随之变得稍扁平,胚胎进入囊胚中期(图版I-9);囊胚层逐渐变得更为低平和顺滑,外形呈饼状(图版I-10),随着胚层继续下包,胚环渐渐形成,胚环边缘呈现薄厚两部分,囊胚进入晚期阶段(图版I-11)。

2.1.4 原肠胚期 积温达到1 024.70℃·h,杂交胚胎进入原肠胚早期,较双亲对照组胚胎持续的时间要长。胚环开始下包收缩变形,内卷逐渐明显,当下包到卵体约1/3处,即进入原肠早期(图版I-12)。当积温达到1138.70℃·h便进入原肠中期,胚体继续下包到卵体约1/2处,在胚层一侧形成外观增厚的

盾状隆起,即为胚盾,头突出现,胚体开始延长并逐步完整(图版I-13);再继续发育,胚环下包到约3/4处,胚盾逐渐延伸,超过动物极顶部,此时便进入原肠晚期(图版I-14)。

2.1.5 神经胚期 杂交胚胎的有效发育积温达到1 316.30℃·h时,胚体下包至卵体的4/5,植物极被胚层包裹构成胚孔。随着不断发育,神经板开始形成,胚体包裹植物极形成一个圆形圈末端,未参与包裹的胚体部分呈柱状,像一个栓子在圈顶上,通常被称为“卵黄栓”(图版I-15)。柱状胚体中后部明显隆起增大,头部轮廓已具有雏形。

2.1.6 器官发生期 杂交胚胎的有效发育积温达到1 625.90℃·h时,在胚体的头部轮廓区两侧向外有隆起,构成眼的原基,此时胚孔尚未关闭(图版I-16),杂交种眼原基期出现的要较双亲晚;达到1 789.10℃·h后,杂交的胚孔开始关闭(图版I-17),这个时期的到来明显晚于细鳞鱼的,但与哲罗鱼的胚孔关闭期相差不大,从此时期开始,哲罗鱼的发育速度开始相对减慢;达到1 947.50℃·h,杂交种与哲罗鱼的脑部均进入分化期,而细鳞鱼的早已分化,脑部一般可分为明显的前、中、后脑(图版I-18);达到2 103.50℃·h后,在杂交种和哲罗鱼的头部后方两侧开始分化胸鳍原基(图版I-19),细鳞鱼的该器官出现要更早些;2 273.90℃·h后,在杂交种和哲罗鱼的眼原基前方腹面有一团暗色斑块,细鳞鱼的出现要更早些,称为嗅囊,随着眼原基不断发育,形成长椭圆形的眼囊,即眼囊形成期(图版I-20);2 432.30℃·h,杂交种和哲罗鱼的胚体尾端向后发育延长,尾芽形成(图版I-21),这较细鳞鱼的尾芽出现晚;2 680.70℃·h,杂交仔鱼已具备尾部特征,并开始脱离卵黄囊形成透明的鳍皱,眼囊不断发育,视泡已经变成视杯,随后晶体形成(图版I-22);2 871.50℃·h,杂种的尾鳍发育完成(图版I-23),细鳞鱼最早进入该时期,而哲罗鱼进入该时期要晚些时候;3 535.90℃·h,通过剥离开卵膜已清晰可见眼部晶体,晶体与视杯一起构成眼球,随着眼球部不断沉积黑色素,眼囊逐渐变黑,胚胎已进入眼色素出

现期,生产上将该时期晚些时候称做发眼期(图版I-24),哲罗鱼进入该时期最晚,而细鳞鱼进入该时期较杂交种略早;5 806.70℃·h,杂交种胚体已完全具备仔鱼特征,其尾部继续增长,鳍褶变宽,卵黄囊上血管增多,胚体扭动剧烈,卵膜逐渐变薄,加上胚体运动的牵拉,使卵膜破裂,开始破膜而出,即出膜期或破膜期(图版I-25),哲罗鱼进入出膜期相对更加迟缓,而细鳞鱼最早进入此时期(表1)。

2.2 仔稚鱼形态

由于鲑科鱼类对于仔稚鱼的分期尚无明确确定,因此本研究将破膜鱼苗至鱼苗开始出现鳞片划定为仔鱼期,仔鱼期分为破膜期仔鱼,卵黄囊期仔鱼,上浮期仔鱼;将仔鱼鳞片出现至鳞被覆盖完毕定义为稚鱼期。

2.2.1 破膜期仔鱼形态 刚破膜的杂交仔鱼体质量为8.1~8.9 mg,全长为17.45~18.75 mm,眼径为1.51~1.65 mm,卵黄囊近圆形,其体积为69~71 mm³,全身透明,体循化与心跳清晰可见,尾干上翘,肛突明显(图版II-1);刚破膜的杂交仔鱼较细鳞鱼(体质量为6.2~7.5 mg,体长为14.88~15.50 mm)仔鱼大,但与哲罗鱼(体质量为8.5~9.0 mg,体长为17.40~18.51 mm)仔鱼大小相当。48 h后,心率一般为70~75次/min,仔鱼背鳍原基开始出现,第一对鳃弓开始形成,且鳃动脉循环明显,尾干静脉充盈,大部分体节较为清晰(图版II-2);该时期特征与双亲对照仔鱼基本一致。杂交种的破膜畸形率(<0.1%)低于哲罗鱼和细鳞鱼对照组(0.2%~0.5%)。通过研究发现,卵子大小与破膜期仔鱼大小呈正相关关系。

2.2.2 卵黄囊期仔鱼形态 7 d的杂交仔鱼体质量为9.8~11.7 mg,全长为20.95~22.00 mm,眼径为1.90~2.10 mm,卵黄囊体积为49~58 mm³,口裂明显,但吻部与躯干均呈透明特征,在头顶部和腹部开始沉积浅黄色素(图版II-3),尾鳍发育基本完毕,与双亲对照仔鱼形态特征基本一致,只是发育快慢不同,较细鳞鱼的慢,但较哲罗鱼的略快。

2.2.3 上浮期仔鱼形态 破膜15~18 d后,杂交仔

鱼卵黄囊吸收基本完毕(80%~90%),并开始集中上浮游动,鱼体大部分仍呈透明状。上浮17 d后的仔鱼体质量为 (143.0 ± 15) mg,全长为 (2.55 ± 0.75) cm,仔鱼躯干呈半透明特征,黑色素在吻部和背部开始少量沉积,腹部开始出现闪光的鳞片,头部与腹部主要沉积淡黄色色素,胸鳍、背鳍与臀鳍基本分化完全(图版II-4)。上浮期杂交仔鱼形态变化规律与双亲对照基本一致,只是细鳞鱼的上浮期较杂交种的早,而哲罗鱼的与杂交基本一致。

2.2.4 稚鱼期形态变化 上浮40 d后,杂交稚鱼吻部、头部、背部以及尾部均呈黑色;身体两侧鳞片已非常明显,由于色素沉积深浅不一,体表呈现出不规则图案(图版II-5)。上浮45 d后,稚鱼头部、背部和侧线鳞以上均呈黑色,且身体两侧开始出现模糊的垂直于侧线鳞的黑色条形“幼鲑斑”,预示着稚鱼已基本具备成鱼轮廓特征;腹部以浅黄色向银色过渡为特征;所有鳍条也已沉积色素,开始变得半透明,脂鳍已发育完全,呈透明状;鱼体腹部鳞片覆盖基本完成(图版II-6)。稚鱼期杂交种的体型与哲罗的相近,但体背更高;杂交种体色偏向于哲罗,但其背部黑色素沉积密度较双亲的都大,杂交种的生长速度也较同期的双亲快。

3 讨论

3.1 杂交种及其亲本胚胎发育比较

哲罗鱼和细鳞鱼的成熟卵子均为沉性的端黄卵,动物极比重远小于植物极,卵膜较厚,呈橙黄色,受精卵发育时间长,其胚胎发育特点基本相同。鲑科鱼类的卵无法用显微镜直接观察,因此需要进行固定后剥膜观察,这与张永泉等^[17]的研究结果相一致。大多数鱼类的胚胎发育都比较复杂,其细胞增殖和分化同时出现,但会以不同的速度进行^[19]。由于哲罗鱼和细鳞鱼的染色体数目和基因组大小均不相同^[1],且细鳞鱼的胚胎发育速度较哲罗鱼快,导致哲罗鱼(♀)×细鳞鱼(♂)的杂种胚胎发育速度受双亲遗传因素的影响较大,使杂种胚胎不同时期的发育速度或快于双亲,或慢于双亲,或介于双亲之

间,但从整个发育过程来看,杂交种的发育速度是介于双亲之间的。本研究将杂交种的胚胎发育过程(受精卵至仔鱼破膜)描述为6个阶段,24个发育期,这与哲罗鱼的胚胎发育特点基本一致^[17],但与细鳞裂腹鱼(*Schizothorax chongi*)^[21]、太湖翘嘴红鲌(*Erythroculter ilshaeformis* Bleeker)^[22]、框鳞镜鲤(♀)×青鱼(♂)杂种 F_1 ^[23]、褐牙鲈(♀)×犬齿牙鲈(♂)杂种 F_1 ^[24]的发育特点相比,在每个阶段内的详细发育分期上有所不同,因为鱼类胚胎发育具有种的特异性^[21],导致不同鱼类的胚胎发育各不相同。

3.2 胚后发育时期的划分

关于鲑科鱼类早期生活史阶段的划分仍存在争议。而一般仔鱼阶段的划分应从破膜期开始一直延续到鱼苗形态变异完成^[22],因为刚破膜的哲罗鱼(♀)×细鳞鱼(♂)的杂种仔鱼没有摄食能力,而是主要依赖卵黄囊所提供的内源性营养维持生命活动,卵黄物质对仔鱼早期的发育和生存起到了非常重要的意义,并以其具有卵黄囊为典型特征,故将破膜期之后的仔鱼定义为卵黄囊仔鱼(Yolk sac larva)。当卵黄囊吸收到80%~90%,仔鱼开始具有游泳能力,且开始上浮活动,即将此时期定义为上浮仔鱼,该时期仔鱼开始具有摄食能力,外部形态发育基本完成,鳞片开始分化,色素也开始不断沉积。仔鱼期之后,进入稚鱼(Juvenile)阶段,该时期的主要特征为体侧出现幼鲑斑,且鱼体背部色素沉积完毕,鳞片覆盖完全。作者认为根据鲑科鱼类种的特异性,这种划分较为科学,有助于对鲑科鱼类的胚后发育的研究。

3.3 仔鱼和稚鱼的形态特征

破膜期仔鱼头部比例较大,尾干伸展、上翘,卵黄囊基本保持近圆形,破膜仔鱼平躺,活动能力弱,由于仔鱼个体较大,因此体循环清晰可见,这与双亲的破膜期仔鱼形态特征基本一致。破膜期仔鱼的体质量和体长大小与哲罗鱼对照组的相当,但要远大于细鳞鱼对照组的,这主要与受精卵大小有关,因为卵子大小与破膜期仔鱼呈正相关关系。由于鲑科鱼类的卵子均较大,因此哲罗鱼(♀)×细鳞鱼(♂)的破膜期仔鱼也较其他鱼类同时期仔鱼大,如细鳞裂腹

鱼^[21]、太湖翘嘴红鲌^[22]、框鳞镜鲤(♀)×青鱼(♂)杂种F₁^[23]、黄鲮^[25]。随着仔鱼不断发育,背鳍原基出现,体循环特征明显,鳃弓逐渐形成,因此鳃动脉也逐渐清晰可见,张永泉等^[17]在对哲罗鱼破膜期仔鱼的研究中也观察到了这些特征。本研究发现,由于卵黄期杂交仔鱼主要以内源性营养为主,因此卵黄囊不断被消耗掉,鱼体也相对变大,色素开始沉积,但该时期杂交种的外形与双亲基本一致。当仔鱼开始上浮具有泳动能力,其身体大部分均已沉积色素,所有鳍条均分化完毕,鳞片也开始分化,杂交种的外形变化较大,黑色素沉积较双亲的要明显早、快。随着鳞片的出现,仔鱼逐渐成为稚鱼,其头部、背部以及尾部均为黑色,幼鲑斑逐渐明显,脂鳍发育完毕,腹部浅黄色逐渐过渡为银色的鳞片颜色,预示着稚鱼阶段的结束,该时期的杂交种形态与哲罗鱼相似,但体色偏暗黑,与细鳞鱼浅色体色差异明显。在对杂交种稚鱼期生长研究发现,杂交种早期的杂种优势明显,遗传学研究也有证据表明,这种杂种优势的贡献力可能来自于母本(另文待发表)。研究发现,仔稚鱼的这些外部形态变化,均是在卵黄囊吸收完毕上浮后才开始出现,这说明仔鱼在内源性营养时期的主要以蛋白为主要营养物质,较为单一,但当具有主动摄食能力,在全面而丰富的外源性营养物质的作用下,鱼体才开始了各种色素沉积,骨骼钙化,鳍条发生等外部形态转变,顾志敏等^[22]在对太湖翘嘴红鲌仔稚鱼的研究中也发现了类似变化。

参考文献:

- [1] 张觉民. 黑龙江省鱼类志[M]. 哈尔滨: 黑龙江科技出版社, 1995: 50-54.
- [2] 汪松. 中国濒危动物红皮书: 第1版[M]. 北京: 科学出版社, 1998: 29-37.
- [3] 尼科里斯基. 黑龙江流域鱼类[M]. 高岫译. 北京: 科学出版社, 1960: 42-47.
- [4] Holeik J, Hensel K, Nieslanik J, et al. The eurasian huchen *Hucho hucho*: largest salmon of the world [M]. Hingham, USA: Kluwer Academic Publishers, 1988: 42-131.
- [5] 夏颖哲, 盛岩, 陈宜瑜. 利用线粒体DNA控制区序列分析细鳞鲑种群的遗传结构[J]. 生物多样性, 2006, 14(1): 48-54.
- [6] Sang-Min L. Protein requirement of juvenile Manchurian trout *Brachymystax lenok* [J]. Fisheries Science, 2001, 67: 46-51.
- [7] Hartley S E. The chromosomes of salmonid fishes [J]. Biol Rev, 1987, 62: 197-214.
- [8] 薛镇宇, 黄尚务, 阎荣元. 黑龙江流域的细鳞鱼和哲罗鱼及其杂交种[J]. 水生生物学集刊, 1959, 2: 215-220.
- [9] 徐伟, 尹家胜, 匡友谊, 等. 哲罗鱼人工育苗技术研究[J]. 上海水产大学学报, 2008, 17(4): 252-256.
- [10] 徐革锋, 夏大明, 姚德鑫, 等. 不同饵料对细鳞鱼仔鱼开口驯化的比较[J]. 水产学杂志, 2007, 20(2): 7-11.
- [11] 徐伟, 尹家胜, 姜作发, 等. 哲罗鱼人工繁育技术的初步研究[J]. 中国水产科学, 2003, 10(1): 26-30.
- [12] 姜作发, 尹家胜, 徐伟, 等. 人工养殖条件下哲罗鱼生长的初步研究[J]. 水产学报, 2003, 27(6): 590-594.
- [13] 董崇智, 李怀明, 赵春刚. 濒危名贵哲罗鱼保护生物学的研究I, 哲罗鱼分布区域及其变化[J]. 水产学杂志, 1998, 11(1): 65-69.
- [14] 尹家胜, 徐伟, 曹顶臣, 等. 乌苏里江哲罗鲑的年龄结构、性比和生长[J]. 动物学报, 2003, 49(5): 687-692.
- [15] 马波, 尹家胜, 李景鹏. 黑龙江流域两种细鳞鲑的形态学比较及其分类地位初探[J]. 动物分类学报, 2005, 30(2): 257-260.
- [16] 牟振波, 刘伟, 徐革锋. 乌苏里江二种细鳞鱼生物学比较研究[J]. 水产学杂志, 2006, 19(2): 1-8.
- [17] 张永泉, 尹家胜, 贾钟贺, 等. 哲罗鱼胚胎和仔鱼发育的研究[J]. 大连水产学院学报, 2008, 23(6): 425-430.
- [18] 徐革锋, 尹家胜, 刘洋, 等. 哲罗鲑与细鳞鲑属间远缘杂交的初步研究[J]. 中国水产科学, 2009, 16(6): 959-966.
- [19] 殷名称. 鱼类生态学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.
- [20] 王妍妍, 柳学周, 刘新富, 等. 温度、盐度对条斑星鲽胚胎发育的影响[J]. 海洋水产研究, 2008, 29(6): 28-32.
- [21] 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.
- [22] 顾志敏, 朱俊杰, 贾永义, 等. 太湖翘嘴红鲌胚胎发育及胚后发育观察[J]. 中国水产科学, 2008, 15(2): 204-214.
- [23] 金万昆, 俞丽, 杨建新, 等. 框鳞镜鲤(♀)×青鱼(♂)杂种F₁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.
- [24] 关键, 柳学周, 蔡文超, 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[J]. 中国水产科学, 2007, 14(4): 644-653.
- [25] 夏连军, 施兆鸿, 王建钢, 等. 黄鲮胚胎及卵黄囊仔鱼的形态发育[J]. 中国水产科学, 2005, 12(5): 533-538.

Embryonic, larval and juvenile development of hybrid between *Hucho taimen* (♀) × *Brachymystax lenok* (♂)

XU Gefeng¹, DU Jia², ZHANG Yongquan¹, LIU Yang¹, YIN Jiasheng¹, MOU Zhenbo¹

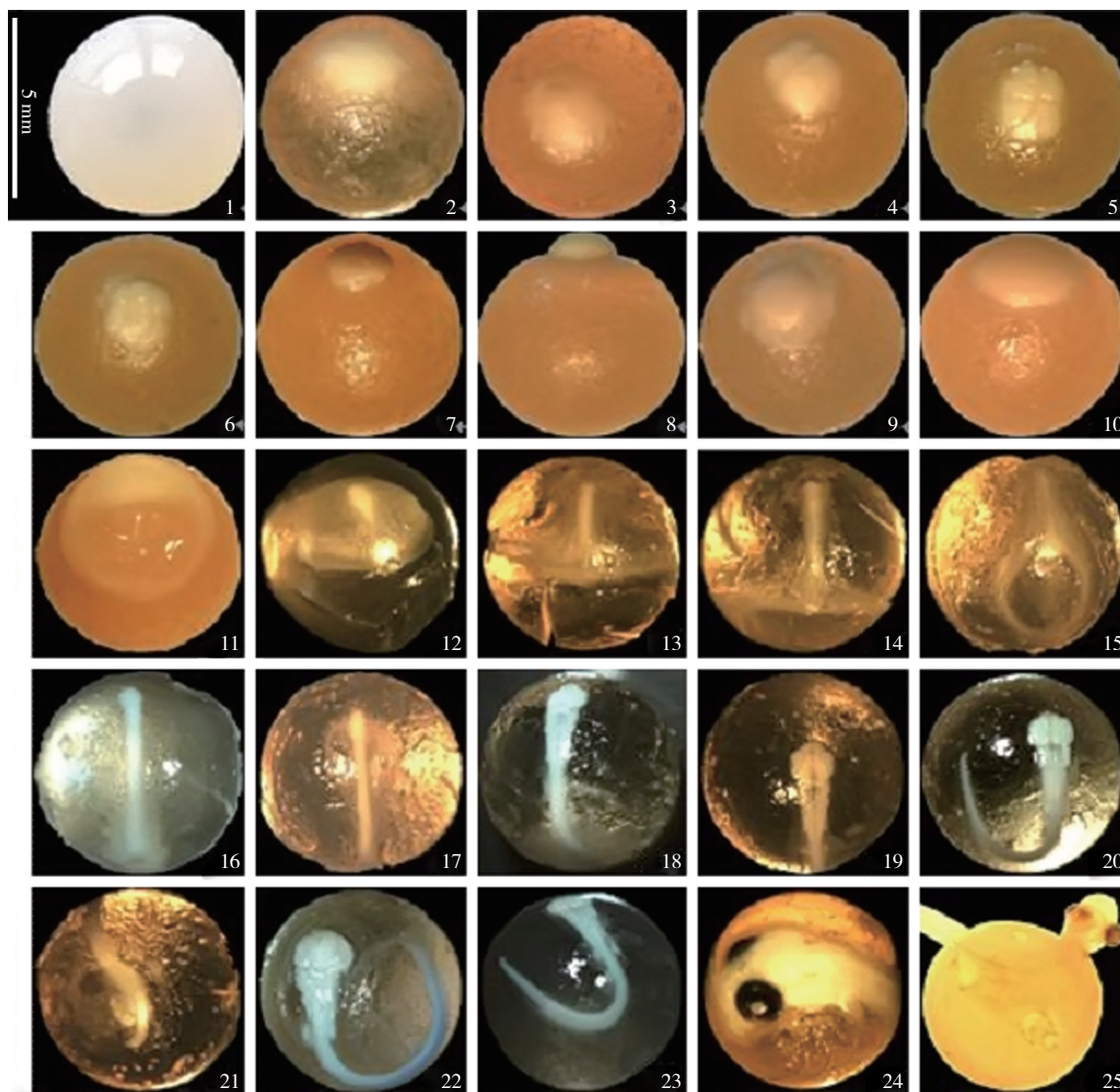
(1. Heilongjiang River Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Harbin 150070, China; 2. Department of Aquaculture, Northeast Agricultural University, Harbin 150030, China)

Abstract: In the present study, intergeneric hybridization between *Hucho taimen* (♀) and *Brachymystax lenok* (♂) were carried out by hormone induction and artificial propagation. The embryonic, larval and juvenile development of the hybrid were also studied preliminarily. The results showed that the total effective accumulated temperature of the embryonic development of the hybrid between *Hucho taimen* (♀) and *Brachymystax lenok* (♂) was 5 806.70 °C · h at 6.2–8.9 °C. The embryonic development were divided into 6 stages (prophase of cell division, cell division stage, blastula stage, gastrula stage, neurula stage and organ formation stage), 24 periods. The hatching larvae could not swim, of which the bodies were diaphanous, and systemic circulation was clear. Seven days later, mouth cleft of yolk sac larva was clear, of which the top of head and belly began to be buff, and caudal fin differentiated unceasingly. After 17 days, larva could swim, of which the yolk sac was absorbed completely, fin and scale began to differentiate uninterruptedly. After floating 40 days, the larvae developed in to juveniles with adipose fin differentiated and scales in both sides covered, of which parr marks began to appear. It may be considered that embryonic development speed of the hybrids was between their parents. Juvenile characters were similar to their parents, too. Morphological characteristics in the early stage of the hybrids was more similar to *Hucho taimen*, which grew much faster than their parents. It can be concluded that the contribution to hybridization advantage may come from maternal parent. [Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(4): 630–638]

Key words: *Hucho taimen*; *Brachymystax lenok*; intergeneric hybrid; embryonic development; larva and juveniles

徐革锋等：哲罗鱼(♀)与细鳞鱼(♂)杂交种胚胎及仔稚鱼发育

XU Gefeng et al: Embryonic, larval and juvenile development of hybrid between *Hucho taimen* (♀) × *Brachymystax lenok* (♂)



图版I 哲罗鱼(♀)×细鳞鱼(♂)的杂种胚胎发育时序图

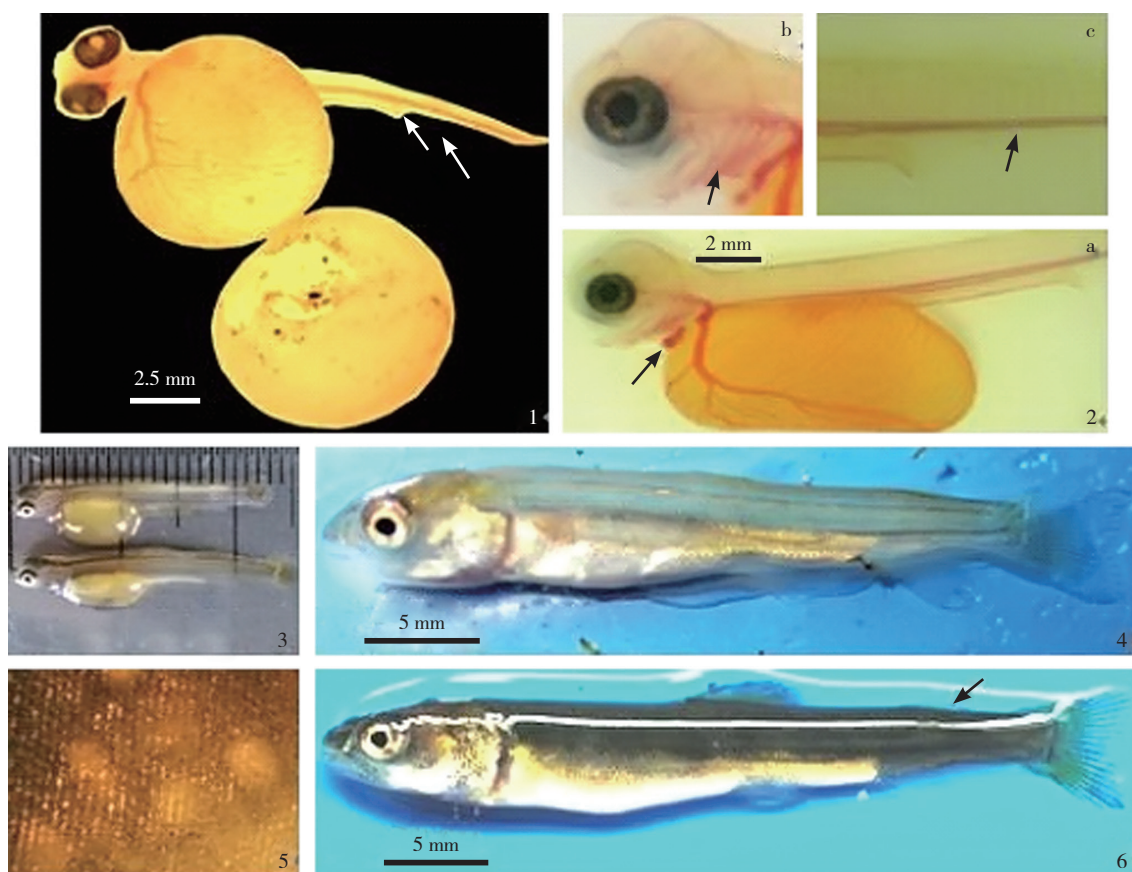
1: 吸水后 45 min 后的杂交受精卵; 2: 胚胎隆起; 3: 2 细胞期; 4: 4 细胞期; 5: 8 细胞期; 6: 16 细胞期; 7: 多细胞期; 8: 囊胚早期; 9: 囊胚中期; 10: 囊胚晚期; 11: 囊胚晚期; 12: 原肠早期; 13: 原肠中期; 14: 原肠晚期; 15: 神经胚期; 16: 眼基出现期; 17: 胚孔封闭期; 18: 脑部分化期; 19: 胸基出现期; 20: 眼囊形成期; 21: 尾芽出现期; 22: 眼晶体出现期; 23: 尾鳍出现期; 24: 眼色素出现期; 25: 出膜期(破膜期)。

Plate I Development of embryo of hybrid between *H. taimen* (♀) and *B. lenok* (♂)

1. Fertilized egg of hrbid after absorbing water for 45 min ; 2. Blastodisc stage; 3. 2-cell stage; 4. 4-cell stage; 5. 8-cell stage; 6. 16-cell stage; 7. Multicellular stage; 8. Early-blastula stage; 9. Mid-blastula stage; 10. Late-blastula stage; 11. Late-blastula stage; 12. Early-gastrula stage; 13. Mid-gastrula stage; 14. Late-gastrula stage; 15. Neural plate stage; 16. Blastopore closing stage; 17. Eye anlage stage; 18. Brain differentiation stage; 19. Pectoral fin analge stage; 20. Eye vesicle stage; 21. Tail bud formed; 22. Stage of eye lens formed; 23. Caudal fin appearance; 24. Eyeball pigment stage; 25. Hatching.

徐革锋等：哲罗鱼(♀)与细鳞鱼(♂)杂交种胚胎及仔稚鱼发育

XU Gefeng et al: Embryonic, larval and juvenile development of hybrid between *Hucho taimen* (♀) × *Brachymystax lenok* (♂)



图版II 哲罗鱼(♀)×细鳞鱼(♂)杂种的仔稚鱼形态发育变化

1: 刚刚破膜而出的仔鱼(箭头: 肛突); 2a: 破膜48 h后仔鱼的体循环明显(箭头: 心脏), 2b: 头部血液循环(箭头: 鳃动脉), 2c: 躯干体节(箭头: 体静脉); 3: 卵黄囊期仔鱼; 4: 上浮17d的仔鱼, 躯体透明, 鳞片开始分化; 5: 上浮40 d的稚鱼身体沉积黑色素, 所有鳍条基本发育完毕, 鳞被覆盖基本完毕; 6: 上浮45 d的稚鱼脂鳍发育完成(箭头: 脂鳍), 体表开始出现幼鲑斑。

Plate II Morphological development of larval and juvenil hybrid between *H. taimen* (♀) and *B. lenok* (♂)

1: Hatching larval (arrowhead: anal tubercle); 2a: Clear systemic circulation of larva after hatching for 48h (arrowhead: heart), 2b: Blood circulation in head (arrowhead: gill artery), 2c: Somite in trunk (arrowhead: vena systemica); 3: Yolk-sac larva; 4: Larva after floating for 17d, diaphanous body, scale started to differentiate; 5: Juvenile after floating for 40 d, melanin deposited in the body, all fin ray developed mainly to finish, scales covered completely on the whole; 6: Juvenile after floating for 45 d with adipose fin completed (arrowhead: adipose fin), parr mark started to appear in body surface.