

唐忠林,周国勤,茆健强,等. 黄颡鱼与瓦氏黄颡鱼的规模化杂交繁殖[J]. 江苏农业科学,2016,44(10):303-305.  
doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.10.087

# 黄颡鱼与瓦氏黄颡鱼的规模化杂交繁殖

唐忠林<sup>1</sup>,周国勤<sup>1</sup>,茆健强<sup>1</sup>,郭丽芸<sup>1</sup>,刘 炜<sup>1</sup>,尹绍武<sup>2</sup>,张国松<sup>2</sup>

(1.南京市水产科学研究所,江苏南京 210036; 2.南京师范大学生命科学学院,江苏南京 210023)

**摘要:**在应用精子保存方法的基础上,采用湿法人工授精技术开展黄颡鱼(♀)×瓦氏黄颡鱼(♂)杂交及黄颡鱼自交的繁苗生产试验。结果显示:当雌雄配组比例分别为300:1、600:1时,杂交组与自交组的受精率不存在显著差异( $P>0.05$ ),表明黄颡鱼(♀)与瓦氏黄颡鱼(♂)亲本配合力较好、授精效率高;杂交繁殖的受精率随着雌雄配组比例的升高而降低,在本试验条件下,适于规模化杂交繁苗生产的雌雄配组比例为(300~600):1。总结繁殖技术经验,开展规模杂交繁苗,采用161.6 kg黄颡鱼雌鱼及4尾瓦氏黄颡鱼雄鱼可成功杂交繁苗207.9万尾,平均受精率为79.8%,平均出苗率为82.5%;单尾瓦氏黄颡鱼雄鱼配组黄颡鱼雌鱼量达40.4 kg,繁苗量达51.9万尾,实现了黄颡鱼(♀)与瓦氏黄颡鱼(♂)的规模化杂交繁殖生产。

**关键词:**黄颡鱼;瓦氏黄颡鱼;杂交繁殖;规模化;受精率;出苗率

**中图分类号:** S961.5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)10-0303-02

黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)和瓦氏黄颡鱼(*Pelteobagrus vachelli*)均属鲶形目鲶科黄颡鱼属,为底栖经济鱼类,广泛分布于我国各大水系。目前,黄颡鱼杂交繁殖模式已取得一定技术突破,包括黄颡鱼与瓦氏黄颡鱼、黄颡鱼与乌苏里拟鲶、黄颡鱼与粗唇鲇等杂交繁殖技术,但均以试验性研究为主,其规模性生产技术尚不成熟<sup>[1-5]</sup>。黄颡鱼(♀)与瓦氏黄颡鱼(♂)的杂交属于不同品种之间的近缘杂交,其规模化繁殖技术研究较少,生产效率有待提高。

通过开展黄颡鱼(♀)与瓦氏黄颡鱼(♂)的杂交生产试验,确定催产、授精、孵化等技术参数,以提高黄颡鱼规模化杂交繁苗生产效率,实施黄颡鱼(♀)与瓦氏黄颡鱼(♂)的规模化杂交繁苗。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

黄颡鱼由南京市水产科学研究所黄桥滩苗种繁育场自行培育,雌鱼、雄鱼的规格分别达0.1、0.2 kg。瓦氏黄颡鱼雄鱼购自江苏省溧阳市前马塘陈强特种水产养殖有限公司,规格达0.45 kg,亲鱼体表无伤无病,发育情况良好。试验采用电子秤、移液枪、催产剂以及着卵网片、微孔增氧等孵化设施。

### 1.2 催产

于人工授精前24 h对黄颡鱼注射渔用催产剂,包括促黄体素释放激素 $A_2$ (LHRH- $A_2$ )、人绒毛膜促性腺激素(HCG)、马来酸酐欧酮(DOM)3种药物,以促使其卵子成熟。药物浓度分别为LHRH- $A_2$  50  $\mu\text{g}/\text{kg}$ 、HCG 2 000 U/kg、DOM

5 mg/kg。采用1针及2针注射方式,比较催产24 h前后时间段的雌鱼成熟情况。1针注射:将全部药物配制后一次性注射完毕。2针注射:第1针注射30  $\mu\text{g}/\text{kg}$  LHRH- $A_2$ ,第2针注射剩余药物剂量;背部肌肉两侧各注射1针,时间间隔为12 h。于采精前12 h对黄颡鱼雄鱼及瓦氏黄颡鱼雄鱼背部肌肉各注射1针,剂量为雌鱼的50%。

### 1.3 精子采集与低温保存<sup>[6]</sup>

于人工授精前2 h人工采集黄颡鱼及瓦氏黄颡鱼的精子。剖开雄鱼腹腔,用镊子取出精巢(2~5 mg/尾),去除血丝,在培养皿中剪碎,纱网过滤,将雄鱼的精液收集到精子保存液中,每尾鱼使用30 mL保存液。黄颡鱼精子保存液配方为NaCl 7.68 g、KCl 0.22 g、 $\text{NaHCO}_3$  0.25 g、 $\text{Na}_2\text{CO}_3$  0.21 g、葡萄糖2 g、蒸馏水1 L。整个取精过程要快速完成,并避免精子与水接触,于低温下避光保存待用。

### 1.4 挤卵与湿法授精

待95%以上的雌鱼卵子成熟后进行湿法人工授精,杂交组将黄颡鱼雌鱼卵与瓦氏黄颡鱼雄鱼精子混合授精,自交组将黄颡鱼雄鱼、雌鱼的精卵混合授精。具体操作方法为:挤压雌鱼腹部,使鱼卵排入无水的不锈钢盆中,避免鱼卵与水接触;采用移液枪吸取保存的精液,加入到0.3%的盐水激活后,迅速倒入卵盆中,人工搅拌均匀,使卵子和精子充分结合授精,准备孵化。

取1 mL保存液精子,分别与10、20、30尾雌鱼卵混合授精,比较杂交组与自交组在不同雌雄配组比例(300:1、600:1、900:1)条件下的授精效果。

### 1.5 孵化

将进行人工授精后的鱼卵均匀布置在着卵网片上,在充气及流水条件下孵化,于10 h后观察并计数受精卵,统计其受精率。检查不同布卵密度下的受精卵发霉情况,统计出苗率。

### 1.6 数据统计

随机抽取杂交组与自交组布卵网片各9片,每个雌雄比

收稿日期:2016-04-12

基金项目:江苏省水产三新工程项目(编号:D2013-2-1、Y2015-24)。

作者简介:唐忠林(1982—),男,湖南郴州人,硕士研究生,工程师,主要从事水产动物育种研究。Tel:(025)86566708;E-mail:77439753@qq.com。

例组 3 片,每片随机抽取 3 个面积约为 12 cm<sup>2</sup> 的区域,统计其受精率并计算各组平均值,采用 SigmaPlot 软件分析各组数据的差异性。在黄颡鱼(♀)与瓦氏黄颡鱼(♂)规模化杂交繁育过程中,统计平均受精率、总卵数、平游鱼苗数,计算平均出苗率。

$$\text{受精率} = (\text{受精卵总数} \div \text{总卵数}) \times 100\% ;$$
$$\text{出苗率} = (\text{平游鱼苗数} \div \text{受精卵总数}) \times 100\% 。$$

2 结果与分析

2.1 不同雌雄配组比例的授精效果比较

雌雄配组比例、精子保存及人工授精的方式均会直接影响人工繁殖的受精率。在杂交繁殖过程中,雌鱼与雄鱼亲缘关系的远近程度将直接影响人工繁殖受精率的高低,是决定杂交繁殖能否成功的关键因素<sup>[7]</sup>。由表 1 可知,当黄颡鱼亲本雌雄配组比例为 300∶1 及 600∶1 时,杂交组与自交组之间的受精率差异均不显著( $P>0.05$ ),表明黄颡鱼(♀)与瓦氏黄颡鱼(♂)亲本之间配合力较好。可见,在控制雌雄比例条件下,江黄颡鱼雄鱼与黄颡鱼雌鱼可进行正常且高效的授精过程,进而开展规模化杂交繁育生产。当亲本雌雄配组比例为 900∶1 时,杂交组的人工繁殖受精率显著低于自交组( $P<0.01$ ),可能的原因为本试验采用的精子保存液对瓦氏黄颡鱼雄鱼精子的保存能力相对较弱。

应用精子保存方法,杂交组的受精率随着雌雄配组比例的升高而降低,当雌雄比为 900∶1 时,杂交繁殖的受精率仅

为 50.2%,下降极为明显。在本试验条件下,杂交繁苗生产的雌雄配组比例宜控制在(300~600)∶1 之间。

表 1 杂交组与自交组在不同雌雄比条件下的受精率

组别	雌雄比	受精率(%)
杂交组	300∶1	79.3±3.9aA
	600∶1	71.9±4.7bB
	900∶1	50.2±8.8dD
自交组	300∶1	76.6±4.1aA
	600∶1	74.5±5.5abAB
	900∶1	63.4±3.9cC

注:同列数据后不同小写字母表示差异显著( $P<0.05$ ),不同大写字母表示差异极显著( $P<0.01$ )。

2.2 黄颡鱼(♀)与瓦氏黄颡鱼(♂)规模化杂交繁殖结果  
生产性试验结果表明,通过应用精子保存方法进行人工授精,可实现黄颡鱼(♀)与瓦氏黄颡鱼(♂)大规模化杂交繁殖生产。统计生产试验中的繁育数据,结果(表 2)显示,人工催产 161.6 kg 黄颡鱼雌鱼,共使用 4 条瓦氏黄颡鱼雄鱼,共繁殖出 207.9 万尾杂交水花苗,平均受精率为 79.8%,平均出苗率为 82.5%;单尾瓦氏黄颡鱼雄鱼配组黄颡鱼雌鱼量达 40.4 kg,单组繁育量达 51.9 万尾。在黄颡鱼(♀)与瓦氏黄颡鱼(♂)规模化杂交繁育过程中,瓦氏黄颡鱼雄鱼规格差别较大,精巢大小不一,质量为 2.4~6.0 g,单尾瓦氏黄颡鱼雄鱼可利用的精子数量差异较大,因此杂交繁育的雄鱼使用数量应根据实际情况确定。

表 2 黄颡鱼杂交繁育结果

批次	雌鱼量(kg)	雄鱼数量(条)	繁育量(万尾)	总卵数量(万粒)	平均受精率(%)	受精卵数量(万粒)	出苗率(%)
1	37.6	1	51.1	72.4	81.5	59.0	86.6
2	124.0	3	156.8	243.2	79.3	192.9	81.3
合计	161.6	4	207.9	315.6	79.8	251.9	82.5

3 结论与讨论

3.1 瓦氏黄颡鱼(♂)对黄颡鱼(♀)的亲本配合力

近缘杂交即种内杂交,指同一物种的生物相互交配,包括同一品种内不同个体之间的品种内杂交以及同一物种内不同品种之间的品种间杂交。由于亲缘相近,近缘杂交一般不会出现不可交配性及杂种不育性<sup>[8]</sup>,本试验结果与之相符。王卫民等研究表明,黄颡鱼(♀)与瓦氏黄颡鱼(♂)杂交组的受精率高于黄颡鱼自交组,黄颡鱼(♀)与瓦氏黄颡鱼(♂)进行杂交不存在繁殖障碍或繁殖障碍较小<sup>[5]</sup>。本试验结果显示,当雌雄配组比例为 300∶1 时,杂交组的受精率高于自交组,而当雌雄配组比例为 600∶1 及 900∶1 时,杂交组的受精率低于自交组;当黄颡鱼亲本雌雄配组比例为 300∶1 及 600∶1 时,杂交组与自交组之间的受精率差异均不显著。与黄颡鱼自交组相比,瓦氏黄颡鱼(♂)对黄颡鱼(♀)的亲本配合力相对较好,两者无显著授精障碍。

3.2 精子保存技术在杂交繁殖中的应用

瓦氏黄颡鱼雄鱼精巢呈树枝状结构,催产后仍很难挤出精液,须杀雄鱼采精液以进行人工授精。大规模生产过程中,雌鱼、雄鱼的发情时间很难控制同步,如果直接研碎精巢后进行干法授精,则造成受精率较低、雄鱼使用量大、劳动量大等

问题<sup>[8]</sup>。已有研究表明,在 4℃ 条件下应用精子保存技术,120 h 内黄颡鱼精子可保持 80% 以上活力,寿命持续 168 h<sup>[9]</sup>。开发应用精子保存技术有助于提高瓦氏黄颡鱼精子利用率、减少雄亲鱼宰杀量、稳定苗种繁育量,从而提高经济效益<sup>[10]</sup>。本研究应用了精子保存技术及湿法人工授精技术,结果表明,在瓦氏黄颡鱼(♂)对黄颡鱼(♀)杂交繁殖时,通过应用精子保存技术,单尾瓦氏黄颡鱼与配组黄颡鱼雌鱼的适宜数量为 300~600 尾,与常规授精方法[雌雄比为(20~50)∶1]相比,大幅提高了杂交繁殖中瓦氏黄颡鱼的使用效率,极大降低了雄鱼的使用数量,在规模杂交繁育中可广泛应用本项精子保存技术。杂交繁殖的受精率随着雌雄配组比例的升高而降低,当雌雄比为 900∶1 时,杂交繁殖的受精率仅为 50.2%。分析认为,通过优化保存液配方、提高保存能力,可进一步提升雄鱼的使用效率,这有待后续深入研究。

3.3 提高规模化杂交繁殖效率的措施

在分析本试验数据的基础上,总结催产、授精、布卵、增氧孵化等技术经验,得出以下可提高黄颡鱼规模化杂交繁殖效率的措施。(1)应用精子保存技术,并进一步优化瓦氏黄颡鱼精子保存液配方,可提升精子保存效率,提高雌雄配组比例,减少雄鱼使用数量,提高受精率。(2)布卵均匀,将布卵密度控制在低于 10 粒/cm<sup>2</sup>,提高孵化率及出苗率。(3)将 2

陶志英,邓勇辉,李彩刚,等.青岚湖外湖河蚬的胚胎发育及胚后发育[J].江苏农业科学,2016,44(10):305-307.

doi:10.15889/j.issn.1002-1302.2016.10.088

# 青岚湖外湖河蚬的胚胎发育及胚后发育

陶志英<sup>1</sup>,邓勇辉<sup>1</sup>,李彩刚<sup>1</sup>,张桂芳<sup>1</sup>,丁立云<sup>1</sup>,王庆志<sup>2</sup>

(1.江西省水产科学研究所,江西南昌 330039; 2.辽宁省海洋水产科学研究院/辽宁省应用海洋生物技术开放实验室,辽宁大连 116023)

**摘要:**显微观察并拍摄河蚬从受精卵到蚬苗发育过程的形态特征,河蚬的受精卵为黑色球形,卵内径约为 100  $\mu\text{m}$ ; 3~7 h 后担轮幼虫出膜,再经面盘幼虫到 D 形幼虫,此时壳长约 200  $\mu\text{m}$ ;随着内部器官组织的生长发育及外部形态的变化,30 d 后成稚贝,50 d 后可见蚬苗。

**关键词:**受精卵;蚬苗;发育过程;形态特征

**中图分类号:** S961.2 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2016)10-0305-03

河蚬(*Corbicula fluminea*)为瓣鳃纲真瓣鳃目异齿亚目蚬科蚬属双壳类软体动物,其摄食底栖藻类、浮游生物、有机碎屑等。河蚬具有很强的耐饥和耐旱力,能很好地富集城市污泥、水体重金属、水体富营养化、农药等水体有机污染物,被作为生态修复生物而受到环境保护者的重视和开发运用。河蚬是理想的环境指示生物,对稳定生态平衡起着重要作用,是生态系统中重要的一员。然而,近年来我国河蚬大量出口、水生物资源利用和渔业结构不合理、过度捕捞、湖泊污染严重、盲目围垦等问题导致天然资源日趋枯竭,制约了河蚬产业的发展,开展河蚬的人工繁殖和苗种培育工作势在必行。已有学者对河蚬人工繁殖中胚胎发育的特征进行了报道,顾敏强等综合了龚惠卿等的研究结果<sup>[1]</sup>,对河蚬胚胎发育分期报道了不同发育阶段的特点<sup>[2]</sup>。王庆志等系统论述了大洋河蚬性腺发育、生殖周期、胚胎发育的详细内容<sup>[3]</sup>。Kraemer 等从性别机制与繁殖方式相关性的角度报道了河蚬的胚胎发育<sup>[4]</sup>。本试验在人

工繁殖成功的基础上,连续观察河蚬胚胎发育及胚后发育的全过程,并以显微拍照进行记录,详细描述了各阶段的特征,旨在为河蚬受精卵孵化和蚬苗培育提供依据。

## 1 材料与方法

于 2015 年 5—7 月分批次对河蚬进行人工繁殖。亲本取自青岚湖外湖,采用阴干、化学浸洗联合流水冲洗刺激的方法诱导催产获得受精卵,在 pH 值为 6.22~8.03、室内水温为 23.5~28.0  $^{\circ}\text{C}$  的条件下连续充氧孵化;每天换水 1 次,每次换水量为 1/3,投喂小球藻和过滤池塘水收集藻类,不定时取样进行显微镜观察拍照并记录。

## 2 结果与分析

### 2.1 胚胎发育膜内阶段

**受精卵:**于 2015 年 6 月 1 日傍晚刺激诱导,于 6 月 2 日 11:00 左右见到白色涕状物(图 1-A),显微镜下呈球形、黑色,外表包被 1 层胶质卵膜即为受精卵,卵内径(不含卵膜)约为 100  $\mu\text{m}$ (图 1-B)。

**桑椹期:**受精后 5~7 h,受精卵经细胞裂殖呈桑椹形状(图 1-C)。

**担轮幼虫期:**受精后 8~14 h,早、中期见倒锥形,顶端有

收稿日期:2016-12-13

项目基金:江西省科技支撑计划(编号:20132BBF60055)。

作者简介:陶志英(1983—),女,安徽桐城人,助理研究员,主要从事水产生态和繁殖研究。

通信作者:邓勇辉。E-mail:161628535538@qq.com。

针催产方式改为 1 针催产,减少劳动量、提高效率,并根据条件将催产前、中、后期的亲鱼分池,按先后顺序进行挤卵受精。(4)选用优质亲本,瓦氏黄颡鱼规格达 0.6 kg/尾,精巢达 4 g;黄颡鱼规格达 0.1 kg/尾,单尾怀卵量达 2 000 粒。(5)及时去除死卵,采用亚甲基蓝预防水霉病的发生。(6)孵化过程中气量要充足,保证溶氧量,出苗后及时减小气量。

## 参考文献:

- [1]王峰.江黄颡鱼、黄颡鱼、粗唇鲃及其杂交  $F_1$  代形态差异分析[J].中国农学通报,2013,29(2):36-43.
- [2]王峰,王武.江黄颡鱼、黄颡鱼、粗唇鲃杂交繁育初报[J].水产科技情报,2004,31(1):10-11.
- [3]王明华,蔡永祥,陈校辉,等.乌苏里拟鲿、瓦氏黄颡鱼杂交与自交子代生长性能比较[J].水产科学,2013,32(1):50-54.

- [4]王明宝,陈强,陈耀炳,等.黄颡鱼与瓦氏黄颡鱼杂交技术研究[J].现代农业科技,2012(24):273-273,278.
- [5]王卫民,严安生,张志国,等.黄颡鱼♀与瓦氏黄颡鱼♂的杂交研究[J].淡水渔业,2002,32(3):3-5.
- [6]赵钦,陈校辉,潘建林.黄颡鱼精子低温保存方法的初步研究及应用[J].水产科学,2008,27(12):615-618.
- [7]楼允东.我国鱼类近缘杂交研究及其在水产养殖上的应用[J].水产学报,2007,31(4):532-538.
- [8]秦钦,梁丹妮,王明华,等.杂交鲢(乌苏里拟鲿♀×瓦氏黄颡鱼♂)胚胎发育的研究[J].南京师大学报:自然科学版,2012,35(3):81-86.
- [9]丁淑荃,万全,刘磊,等.不同温度下精子保存液对黄颡鱼精子活力的影响[J].水利渔业,2007,27(1):10-12.
- [10]汪亚媛,张国松,李丽,等.瓦氏黄颡鱼精子的生理特性及其超低温冷冻保存的初步研究[J].海洋渔业,2014,36(1):29-34.