

点带石斑鱼的亲鱼培育、产卵受精和胚胎发育

邹记兴^{1,2} 常林³ 向文洲² 胡超群² 林坚士²

(1. 农业部水产增养殖生态、生理重点开放实验室, 上海水产大学, 上海 200090;

2. 中国科学院南海海洋研究所, 广州 510301; 3. 夏铁水产基地, 东山 363400)

摘要: 在水泥池人工养殖条件下, 对人工诱导性逆转的“功能性雄性”、天然雄性及天然雌性点带石斑鱼 (*Epinephelus malabaricus*) 亲鱼进行强化培育, 自然产卵受精。2002年繁殖季节, 共获3cm以上的点带石斑鱼苗145万尾。亲鱼培育、产卵受精和胚胎发育的程序:(1) 经过强化培育的亲鱼, 自然产卵受精, 受精率平均81%, 最高97%; (2) 成熟的“人工变性雄鱼”的精子头部呈球型, 精子头径约3.7—6.1μm, 尾长12.4—44.5μm; 在水温26℃、盐度3%、pH7.9条件下, 精子游动时间最长超过58min, 精液中90%精子在31min停止游动, 与天然雄亲鱼的精子无异, 可作为生产雄亲鱼的来源; (3) 在东山岛, 产卵期由4月初持续到11月中旬, 产卵高潮集中在4月底至5月底、9月底至10月初。在24h内, 自然产卵通常从16:30持续到次日1:30; (4) 产卵适宜水温为23.5—28.6℃, 最适产卵水温为25.5—26.5℃; (5) 水温26℃时, 受精卵在盐度2.82%—2.96%的海水中呈悬浮状态, 盐度2.82%以下时下沉, 盐度2.96%以上时上浮; (6) 在水温24.9—27.6℃、盐度3%—3.3%、pH7.6—8.2的情况下, 胚胎发育时间为21h。

关键词: 点带石斑鱼; 亲鱼培育; 产卵受精; 胚胎发育

中图分类号:S961 **文献标识码:**A **文章编号:**1000-3207(2003)04-0378-07

点带石斑鱼 (*Epinephelus malabaricus* Bloch & Schneider, 1801) 属鲈形目 (Perciformes)、石斑鱼科 (Serranidae)、石斑鱼亚科 (Epinephelinae)、石斑鱼属 (*Epinephelus*), 为具有先雌后雄性逆转 (Sex reversal)、雌雄同体 (Protogynous hermaphroditism) 现象的暖水性礁栖鱼类。目前我国已记录的石斑鱼属种类有45种^[1], 其中点带石斑鱼是分布最广的种之一, 从浙江到海南岛、北部湾直至南沙群岛的海域均有分布。

作者从1998年开始先后对点带石斑鱼进行转性及人工繁殖的研究, 从亲鱼培育、催熟排卵、产卵行为、孵化、仔鱼培育与形态发育等方面进行了一系列的试验和观察。在2002年3月8日至6月30日, 共繁育出3cm以上的点带石斑鱼苗145万尾, 现将点带石斑鱼亲鱼培育、产卵受精和胚胎发育的研究报道如下。

1 材料与方法

1.1 试验时间和地点

于2002年3月8日至2002年

6月30日在福建省东山岛铁道部厦门铁路实业公司水产基地和佳绿水产种苗场进行。

1.2 试验亲鱼 2001年3月, 夏铁水产基地先后从台湾购进3龄以上的点带石斑鱼900多尾。现存690多尾, 体重最小4.5kg, 最大31kg。选择其中63尾亲鱼, 3—5龄, 体重4.5—10.5kg, 经一个月强化培育后, 将其中21尾雌鱼在背部肌肉植入外源混合激素, 予以人工诱导比较, 方法见文献[2]。

1.3 亲鱼培育 在2个30m×30m×5m的水泥池中进行, 池边设4个遮阴区, 池底装设直径为50cm的涵管5个, 并在遮阴区四周进行定时、定点、定量投喂, 每天投喂新鲜鱼、虾、蟹或冰冻鱼块、鱿鱼等, 并适当搭配一些配合饲料及添加剂, 投喂的饵料量为鱼体重的5%—9%。在饲养过程中, 保持水质清新。夏天每天中午巡池, 发现池面污物及时处理, 每天早上6时和下午5时利用底排水的方法, 各换水1/2; 当水温低于15℃时, 每2d投喂1次, 1周换1次水; 水温在15—21℃之间时, 每天投喂1次, 2d换1

收稿日期: 2002-09-23; 修订日期: 2002-11-17

基金项目: 广东省科技计划项目(2002B21502、C20817); 中国科学院知识创新工程重要方向项目(KSCX2-SW-303)子课题; 863计划青年基金(863-819-Q-04)资助

作者简介: 邹记兴(1966—), 男, 湖北省武汉市人; 在职博士生, 副研究员; 研究方向: 水产动物种质资源与种苗工程, 上海水产大学李思发先生对此工作进行了指导; 东山岛夏铁水产基地和佳绿水产种苗场提供了帮助, 并致谢。
(C)1994-2023 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

次水;水温高于21℃时按夏季操作规程处理,每天投喂1次,所有投喂均要求在早上7时以前完成。海水盐度保持在3.0%—3.34%,冬天将人工诱导性转雄鱼中的7尾与21尾雌鱼移入室内圆形水泥池(32.5m²×1.6m)中喂养,春节后加温,使水温每天维持在26℃。其他600多条亲鱼在露天水泥池中过冬及进行亲鱼培育。

1.4 产卵与收卵 根据亲鱼腹部膨胀程度决定催熟和催产措施及激素用量,激素注射时间为上午9—10时和下午3—5时,肌肉注射。PG或HCG单独或交替使用剂量相同,PG用量为4—16mg/kg体重,HCG用量为500—1000IU/kg体重。

注射激素后,以♀3♂1的比例分别将16尾室内越冬亲鱼放入1号室内加温水泥池(35m²×1.6m)、12尾放入2号室内加温水泥池(32.5m²×1.6m)进行自然产卵受精,以研究加温对提前产卵的影响,并观察其产卵行为和取胚胎发育研究材料。2个室外水泥培育池中的亲鱼能自然产卵受精,通过叶轮式增氧机打动水流将卵集中到收集网中,每天16:30至次日3:30,将受精卵收集到500L圆形孵化桶中,通过沉淀清除残渣及未受精卵、死卵和过熟卵,并称取这些卵的重量,以便计算受精率。

受精率、产卵量按室外、室内两个试验群体计算,主要报道室外规模化生产的结果。

1.5 受精卵浮性界定的方法 用10个1000mL烧杯,加入1000mL盐度3.35%的海水,每个烧杯各加入100mg受精卵,平均150粒/烧杯,通过在烧杯中加淡水的方式调节盐度。每次确定盐度、静置30min后,计算10个烧杯中浮露于水面的受精卵数量。受精卵与海水盐度的关系界定为:50%以上受精卵浮露于水面,呈“浮”性状态;没有受精卵浮露于水面,呈“沉”性状态;介于两者之间为“悬浮”(或“半浮”)状态。

1.6 胚胎发育材料 试验观察到亲鱼追尾时,缓慢将“双亲”取出,迅速用液体CO₂麻醉,挤出精、卵后,“双亲”放回苏醒,精卵采用干法人工授精,即获得胚胎发育观察用材料;观察时,每次取30个以上的受精卵或胚胎,在解剖镜下观察测量,并作显微照相。

2 结果与讨论

2.1 亲鱼培育

人工养殖条件下,点带石斑鱼室内自然产卵已有成功报道^[3],而室外具商业化大规模自然产卵国内外未见报道。4月初用手轻压雄鱼腹部已有乳白

色精液流出,雌鱼腹部开始膨胀,此种情况下,再经一星期培育,便达到性成熟产卵。2002年的产卵时间是:室内加温水泥池4月8日产卵,室外露天水泥池4月13日开始产卵。室内加温水泥池比室外水泥池提前5d产卵,这说明加温可诱导点带石斑鱼产卵期提前,为将来开展反季节育苗提供了依据。2002年6月30日止,实验基地成功地收获了自然产出的受精卵302kg。

亲鱼培育的好坏是石斑鱼人工繁殖能否成功的重要物质基础。若越冬前投喂饵料不能定时、定量,亲鱼将无法积累足够的营养物质提供以后的性腺发育,会导致繁殖季节亲鱼成熟不足;如果越冬后大量投喂富含脂肪类物质,会导致繁殖季节石斑鱼脂肪积累过厚,生殖道因脂质阻塞,不能正常产卵,而且会“胀”死亲鱼。为解决这一生产上的难题,采取冬季育肥强化培育,产卵季节在确保饵料中高度不饱和脂肪酸含量的前提下,尽量减少富含脂肪类物质的投喂,增加蛋白质、维生素等营养物质的投喂,增强免疫力。避免人走动投饵、观察、收卵、排水清污等人为环境的刺激,导致亲鱼“难产”或“流产”。例如:将投喂的冰鲜鱼、鱿鱼内脏取山,以海水螺旋藻、磷酯、Vc等添加剂作为填充物塞入后投喂,经过这样培育的亲鱼90%以上能自然产卵。

2.2 亲鱼产卵行为的观察

2002年4月23日,选择1尾成熟较好的雌亲鱼,下午3—4时催产,放入产卵池(35m²×1.6m),同时放入经检查有精液的3尾性转雄亲鱼于同一池中。次日下午6—8时,亲鱼产卵,雌鱼在前,雄鱼在后,或雌、雄鱼头尾相交,追逐游动。交配时,池中虽有3尾雄鱼,但雌鱼只选择其中一尾,开始是雌、雄鱼双双地紧挨在一起,静静地卧于池底隐蔽处,偶尔作短距离游动,几十分钟后,便开始了剧烈追逐,雌鱼在前,雄鱼在后,沿池边快速游动,其余雄鱼也在游动,当雄鱼即将赶上雌鱼时,雌鱼则猛烈地游到水面,发出拍打水的响声,这样持续一段时间后,追逐速度放慢,不一会,就发现水中有排出的受精卵,检查雄鱼,不管池中预先放入多少尾,只发现其中1尾排精。

在室外2个大亲鱼培育池中,各有300多尾亲鱼,雌、雄性比1.8:3(有许多雌雄间性鱼,影响性比的确定),产卵现象更为壮观,池边有大量亲鱼在追逐,有时见到雌、雄鱼齐头并进向前游动,追逐高潮时,雌、雄亲鱼突然身体垂直冲出水面,可使胸鳍部分露出水面或整个鱼体露出水面,同时水面出现大

量白色泡沫,手感黏稠,用白色小烧杯打起一杯泡沫附近的水,对光观察可见大量白色透明的圆球状卵悬浮于海水中。已受精卵卵膜清晰,卵质透明,在盐度3%—3.3%的海水中悬浮于中上层,解剖镜下,可见胚盘和大量分裂球,证明此时雌、雄鱼已产卵受精;未受精卵卵膜皱折,卵质模糊、浑浊,逐渐变成乳白色,不透明,在盐度3%—3.3%的海水中,全部沉底的时间为8h。

亲鱼追尾、选择交配对象具有2点现实意义:(1)体力差的雄亲鱼得不到交配,体力强的雄亲鱼可与多尾雌亲鱼交配,从而保证受精卵的质量;(2)追尾搅动水流利于受精卵均匀分散,避免缺氧和积聚。

2.3 产卵受精

2002年3月29日,解剖了1尾体重8kg的雌鱼,其卵细胞发育多数处于Ⅱ—Ⅲ期,卵巢重612g,经10次称卵计数,处于这一发育时期的卵,平均7941粒/g卵鲜重,由此推算该雌鱼的总怀卵量为486万粒。结合国内外研究结果,点带石斑鱼总怀卵量应在200万粒以上,并且同其他石斑鱼一样属分批产卵类型^[3]。

在水泥池人工强化培育的情况下,雌、雄亲鱼一般不经催产会自然产卵受精,风和日丽的夏天产卵较多,阴雨天较少。在福建省东山岛,室外2个大亲鱼培育池海水盐度3%—3.3%,pH7.6—8.2,点带石斑鱼从4月13日开始产卵,产卵期可由4月初延续到11月中旬;自然产卵在16:30至次日1:30间进行。从图1可以看出,室外亲鱼池自然产卵适宜水温为23.5—28.6°C,当水温高于30°C或低于21°C时,产卵趋于停止,其产卵最适水温为25.5—26.5°C早期,水温低于23°C时,产卵不足5kg,受精率在60%以下,此后逐步升高,5月8日平均水温26°C,日产卵量最大,共收卵27.35kg,受精率达到97%,

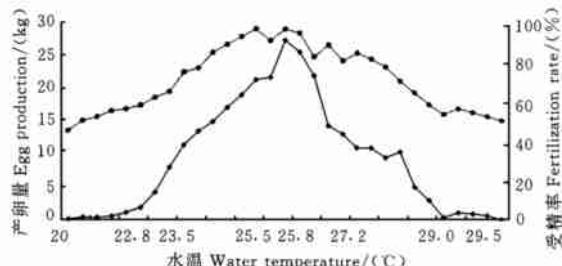


图1 不同水温条件下,点带石斑鱼的产卵量(■)与受精率(●)的变化

Fig.1 The variation of the egg production (■) and fertilization rate (●) *E. malabaricus* under different water temperature

后来随着水温进一步升高,产卵量和受精率均下降,当水温升至28.8°C时,产卵量不足4kg,受精率不足65%。2002年4月13日至6月30日,室外水泥池培育亲鱼自然产卵的受精率平均为81%,最高为97%;最低为45%。

室内2个水泥池恒温26°C,4月8日开始产卵,4月30日自然海水温度已达到26°C,室内亲鱼转入室外产卵池共同培育。在室内期间,28尾点带石斑鱼共产卵17.5kg,受精率最低为63%,最高为94%,平均为88%。

保证优质亲鱼来源的前提下,以下因素可影响点带石斑鱼的自然产卵受精:

水温 水温是石斑鱼自然产卵受精的主要影响因子之一。点带石斑鱼的研究结果与此基本一致:在福建东山岛,产卵期可由4月初持续到11月中旬,最适产卵水温在25.5—26.5°C之间,高于或低于这个范围,产卵量均很低。海南水温较高,1月份可实现点带石斑鱼的自然产卵^[3]。

通过对图1变化趋势的分析发现:产卵水温对产卵量和受精率产生影响的变化规律一致,但水温对受精率产生影响的变化幅度相对较小。2个室外培育池,在4月底至5月底,25.5—26.5°C时,受精率最高,产卵量也最大,可获得最大产量的受精卵。造成2个室外培育池4月上旬受精率低与产卵量低的原因不尽相同:4月上旬亲鱼刚开始产卵,水温较低是产卵量低的最主要原因;但这一阶段受精率低,除水温低导致雌雄不同步配对、出现未受精卵和过熟卵的原因外,去年产过卵、今年发育处于间性偏雌期亲鱼产的呈黑色退化的间性期死卵较多,也是受精率低的重要原因;6月份基本未发现黑色死卵,除水温高于4、5月份外,其他环境条件相同,所以水温过高导致雌、雄亲鱼不同步配对是此阶段产卵量和受精率低的主要原因。

2个室内池水温恒定26°C,排除了温度对产卵和受精的不利影响,但其早期受精率也只有63%,除了过熟卵、间性期死卵的原因外,池小、水浅($35\text{m}^2 \times 1.6\text{m}$ 和 $32.5\text{m}^2 \times 1.6\text{m}$),追尾困难,也可能造成雌、雄亲鱼不同步配对,而影响受精。后者也可能是室内池最高受精率(94%)不及室外池最高受精率(97%)的主要原因。研究认为:点带石斑鱼产卵的最佳水深 $>3\text{m}$ 。但从室内池平均受精率88%、最低受精率63%,室外池平均受精率81%、最低受精率45%的情况来看,水温对受精率的影响大于水深对受精率的影响。

盐度 盐度是胚胎发育过程重要的环境条件之一。福建东山岛海域天然海水盐度2.8%—3.6%的范围内,对点带石斑鱼自然产卵的影响不大。考虑到对受精卵悬浮和胚胎发育等方面可能影响,人工繁育的全过程始终将盐度保持在3%—3.34%。

月相 在天然海域的养殖水体中,月相通过潮水的涨落和月光的刺激对石斑鱼的自然产卵和受精产生影响,Sadovy和Eklund甚至认为月相和水温一样是影响*E. striatus*正常产卵的主要因子。而本试验所用的水泥池没有潮水涨落的刺激,水温25.5—26.5°C、无月光的夜晚可收到大量受精卵,而满月的高温时期(29°C以上)收到的受精卵很少。所以,在水泥池人工养殖的条件下,月相的作用很小,水温才是影响正常产卵的最主要因子。

性比 研究中发现:1尾雌鱼产卵,通常有2—4尾雄鱼追尾,但雌鱼只选择其中1尾配对受精。雌鱼具有分批产卵的特性,产卵周期通常4—10d。不同周期,同1尾雄鱼可与多尾雌鱼配对,满足雌鱼追尾的需求,研究认为:雌雄之比为2—3:1最合适。性比过高,雄鱼少,难以激起雌鱼发情高潮或高潮推迟,会导致卵过熟;性比过低,追尾混乱,影响自然产卵。

2.4 水温与胚胎发育

水温越高,胚胎发育越快。高水温(29°C以上)孵化可缩短孵化时间,加速水泥池周转,但后期死亡率高,畸形胚多;低水温(21°C以下)胚胎发育缓慢;所以,点带石斑鱼的生产中最好保持26°C左右的最适水温。

2.5 人工变性雄鱼精子质量检测

成熟的人工变性雄鱼精液呈乳白色,在显微镜下,可见大量活力很强的精子。精子头部呈球型,头

径约3.7—6.1μm,尾长12.4—44.5μm。人工变性雄鱼的精液被海水激活后,在水温26°C、盐度3%、pH7.9的条件下,精子的最长游动时间超过58min,从精子开始游动到90%精子停止游动的时间为31min。试验证明用外源混合激素诱导的“人工变性雄鱼”精子质量良好,与正常雄鱼的精子无异,可以作为点带石斑鱼生产性人工繁殖的雄亲鱼来源^[4]。

2.6 受精与受精卵

卵细胞受精后10min吸水,卵周隙稍有增大,25min后卵细胞内原生质向动物极流动、集中,逐渐形成胚盘。

受精卵为圆球状,卵径0.75—0.77mm,卵膜光滑,卵周隙较小,富弹性。受精卵清澈透明,内有一个圆形的油球,油球径0.175mm。

已与卵巢滤膜分离、但未成熟的卵细胞,卵周隙较大,卵径0.14—0.37mm,白色不透明,呈近圆形或椭圆形;过熟卵细胞,卵周隙较小,卵质呈淡黄色或乳白色雾状,油球单个或多个,卵膜皱折,无弹性,易破裂,常沉于水底层。

在水温26°C、pH7.9的条件下,计算10个烧杯的统计结果(表1):盐度2.96%以上时,50%以上的受精卵浮露于水面,呈“浮”性状态;盐度2.82%以下时,没有受精卵浮露于水面,呈“沉”性状态;盐度2.82%—2.96%的海水中,受精卵呈“悬浮”(或“半浮”)状态。随着盐度的提高,受精卵露出水面的部分也随之增大。盐度低于3%,受精卵呈“半浮”或“沉”性状态,因供氧不足而影响孵化率;盐度高于3.3%,受精卵呈“浮”性状态,但过高的渗透压导致部分胚胎畸形而影响孵化率。研究认为:受精卵孵化的最佳盐度是3%—3.3%。

表1 受精卵浮性与海水盐度的关系

Tab.1 The relationship between the floating of fertilized eggs of *E. malabaricus* and the salinities

盐度	Salinities(%)	2.42	2.8	2.82	2.89	2.91	2.94	2.96	3.09	3.22	3.35
状态	States	S	S	HF	HF	HF	HF	F	F	F	F

注:“S”示“沉”性状态;“HF”示“悬浮”状态;“F”示“浮”状态

Notice: Substitutes of sinking, half floating or floating for “S”, “HF” or “F”, respectively

2.7 卵裂与胚胎发育(表2)

卵裂期 点带石斑鱼的卵裂方式属于盘状分裂型,与其他硬骨鱼类相同。受精后53min开始第1

次卵裂,先是在胚盘中央出现裂痕,不断加深,裂痕两边逐渐分开,最后卵裂纵沟把胚盘均等地分裂成圆滑的2个细胞(图版I,1)。

表 2 点带石斑鱼胚胎发育时序(水温 26℃)

Tab. 2 The phases of embryonic development of *E. malabaricus*

发育时期	Developmental processes	受精后时间 Time after Fertilization	持续时间 Lasting time
受精卵阶段	受 精 Fertilization	0:00	0:25
Fertilized egg stage	胚盘形成 Blastodisc formation	0:25	0:28
卵裂阶段	2 细胞 2-cell Stage	0:53	0:20
Cleavage stage	4 细胞 4-cell Stage	1:13	0:20
	8 细胞 8-cell Stage	1:33	0:17
	16 细胞 16-cell Stage	1:50	0:14
	32 细胞 32-cell Stage	2:04	0:23
	64 细胞 64-cell Stage	2:27	0:21
	多细胞 Stage of various cells	2:48	2:35
	囊胚层形成 Blastoderm formation	5:23	2:00
	高囊胚期 High blastula stage	7:23	0:32
	低囊胚期 Low blastula stage	7:55	1:03
原肠胚形成阶段	原肠初期 Early gastrula stage	8:58	0:57
Gastrulation	原肠中期 Middle gastrula stage	9:55	0:47
stage	原肠晚期 Late gastrula stage	10:42	0:11
器官形成阶段	神经胚期 Neurula stage	10:53	1:07
Organogenesis	脑泡形成期 Brain vesicle stage	12:00	0:08
stage	视囊形成期 Optic capsule stage	12:08	0:10
	嗅板形成期 Olfactory sac stage	12:18	0:42
	尾芽期 Caudal bud stage	13:00	1:00
	听囊形成期 Otocyst stage	14:00	1:01
	心肝形成期 Heart and liver stage	15:01	2:39
	鳍褶形成期 Fin fold stage	17:40	1:17
	肌肉效应期 Muscle differentiation stage	18:57	1:03
孵化阶段 Hatching stage	心脏搏动 Heart beat stage	20:00	1:00
	孵化出膜 Hatching complete stage	21:00	

受精后 1h13min, 在与第一次卵裂面的垂直线上出现纵沟, 使每个卵裂球均等地一分为二, 完成第 2 次卵裂, 进入 4 细胞期(图版 I : 2);

受精后 1h33min 开始第 3 次卵裂, 在平行于第 1 次卵裂面、垂直于第 2 次卵裂面的两侧各出现一条分裂沟, 最后分别将两侧各分为 4 个细胞。完成第 3 次卵裂后的卵裂球外观呈圆角状的长方形, 规则且对称地排列成 2 行, 共 8 个细胞(图版 I : 3);

受精后 1h50min, 发生第 4 次卵裂, 在平行于第 2 次卵裂面、垂直于第 1、3 次卵裂面的两侧产生分裂沟, 把原 8 个细胞分割成 16 个细胞。其中央 4 个稍大, 其余大致均等, 规则地排成 4 列(图版 I : 4);

受精后 2h4min, 发生第 5 次卵裂。这次卵裂完

成后, 细胞排列不甚规则, 中央细胞稍大, 最外层细胞大小均等, 并围成一圈, 显微镜下 32 个细胞可数(图版 I : 5);

受精后 2h27min, 发生第 6 次卵裂, 共产生 64 个细胞, 细胞排列不规则, 且大小不均等, 显微镜下观察到明显重叠现象(图版 I : 6);

受精后 2h48min, 发生第 7 卵裂, 细胞数目难以数清, 胚盘外围细胞较中央细胞稍大, 细胞排列极不规则。开始时外围细胞界限清楚, 慢慢变得模糊不清(图版 I : 7)。

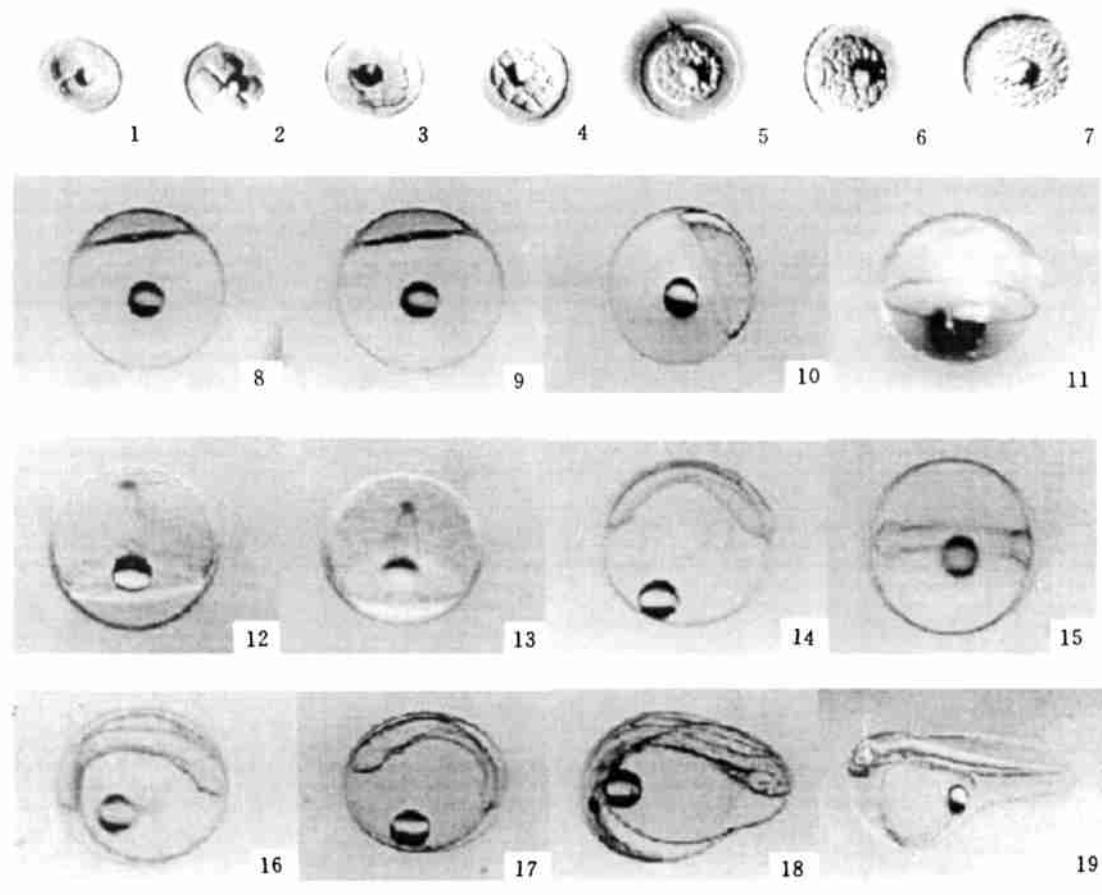
囊胚期 卵裂继续进行, 细胞数目不断增加, 细胞也愈分愈小, 层次也逐渐增多, 形成胚层。受精后 7h23min, 胚盘慢慢升高, 进入高囊胚期。此时, 整个

胚盘突起呈高帽状,表面粗糙(图版I:8)。此后,胚盘逐渐下降,受精后7h55min,胚盘覆盖在卵黄上,并形成囊胚腔,为低囊胚期(图版I:9)。这时胚盘边缘一带形的颗粒状卵黄多核体可见,胚盘的表面光滑。

原肠期 胚层逐渐向植物极下包、扩展,在此过程中,使一部分囊胚细胞向胚盘内部卷入,受精后8h58min,卵黄被胚层下包了1/2,囊胚细胞内卷而形成不太明显的胚环,为原肠早期(图版I:10)。囊胚继续下包。受精后9h13min,囊胚层下包卵黄2/3,胚环已相当明显。受精后9h55min,胚环加宽、增厚,并在胚环上形成一个新月形的胚盾,进入原肠中期(图版I:11)。受精后10h42min,囊胚层下包卵黄3/4,露出卵黄极少,形成卵黄栓。胚盾逐渐延伸,扩大成舌状,发育至原肠晚期(图版I:12)。

器官形成 受精后10h43min,胚盘背面增厚,形

成神经板。在显微镜下,神经板折光性较强,中央线内有一条圆柱状脊索(图版I:13);受精后12h,神经板较宽厚的前部膨大形成脑泡,而神经板尾部既窄又薄,可见胚体已有头、尾之分了(图版I:14)。紧接着,在脑泡前端两侧出现1对视囊,胚体中部出现4对肌节(图版I:15),10min后,视囊下方出现一对较视囊小而圆的嗅板。受精后13h,脑泡分化出前脑泡、中脑泡和后脑泡,尾芽也出现,胚体中部肌节增加到8对。受精后14h,脑泡的背后方与体节前方之间的左右两侧,各有一小泡,形成听囊。这时,视囊中央凹陷成视杯,肌节增加到18对。受精后15h,心脏已形成,视杯内可见折光性强的晶体,脊索内神经管清晰可见。受精后17h40min,胚体背腹两处逐渐形成鳍褶,胚体尾部少部分与卵黄囊分离,这时尾鳍褶可见。受精后18h57min,胚体开始间



图版 I

1. 2 细胞期;2. 4 细胞期;3. 8 细胞期;4. 16 细胞期;5. 32 细胞期;6. 64 细胞期;7. 多细胞期;8. 高囊胚期;9. 低囊胚期;10. 原肠初期;11. 原肠中期;12. 原肠晚期;13. 神经胚期;14. 脑泡形成期;15. 视囊形成期;16. 肌肉分化期;17. 心脏搏动;18. 孵化出膜;19. 刚出膜仔鱼

1. 2-cell Stage;2. 4-cell Stage;3. 8-cell Stage;4. 16-cell Stage;5. 32-cell Stage;6. 64-cell Stage;7. Stage of various cells;8. High blastula stage;9. Low blastula stage;10. Early gastrula stage;11. Middle gastrula stage;12. Late gastrula stage;13. Neurula stage;14. Brain Vesicle stage;15. Optic capsule stage;16. Muscle differentiation stage;17. Heart beat stage;18. Hatching complete stage;19. Larva only hatching

歇抽动,初始时抽动频率为10~13次/min,听囊内已形成折光性强的透明状晶体耳石(图版I:16)。

心脏跳动至仔鱼孵化 心脏位于胚体头下后方,受精后20h开始搏动(图版I:7)。起初搏动很微弱,逐渐变得快而有力。搏动频率46次/min,胚体抽动较前一阶段频繁、剧烈,尾部有时左右抽动、卷曲。嗅板前端凹陷而成一对嗅窝。

随着时间的推移,卵膜内胚体的抽动更频繁、有力,有时出现剧烈的连续抽动,这样的抽动可导致卵膜破裂。出膜时,胚体头部先破膜伸出(图版I:18),然后尾部不断摆动,脱去卵膜。受精后平均21h,胚体完全脱膜孵化成为仔鱼。孵化时,也可见少数卵膜破裂后,胚体尾部先伸出膜外的现象。初孵仔鱼全长1.33mm,腹下带有一个长0.625mm的椭圆形卵黄囊,卵黄囊后端有一个0.20mm油球,此时仔鱼腹部朝上,无游泳能力(图版I:19)。

参考文献:

- [1] Zhu Q·A List of Marine Fishes in the China Seas [M]. Beijing: Xueyuan Press, 1998, 86—89. [祝茜·中国海海洋鱼类种类名录[M].北京:学苑出版社,1998,86—89]
- [2] Zou J X, Hu C Q, Xiao Y X, et al. Exogenous mixed hormonal induction of precocious sex reversal in the grouper, *Epinephelus tauvina* (Forsskal) [J]. *High Technology Letters*, 2000, **10**(1): 5—9. [邹记兴,胡超群,肖耀兴,等.外源混合激素诱导巨石斑鱼性逆转的研究[J].高技术通讯,2000,10(1):5—9]
- [3] Chen G H, Zhang B. Study of fish rearing, spawning and hatching of *Epinephelus malabaricus* (Bloch & Schneider) [J]. *Oceanologia et Limnologia Sinica*, 2001, **32**(4): 428—435. [陈国华,张本·点带石斑鱼亲鱼培育、产卵和孵化的试验研究[J].海洋与湖沼,2001,32(4):428—435]
- [4] Zou J X, Hu C Q, Xiao Y X, et al. Studies on the techniques of sex control and rearing in *Epinephelus* [J]. *Reservoir Fisheries*, 2000, **20**(2): 1—3. [邹记兴,胡超群,肖耀兴,等.石斑鱼性控技术与育苗现状及产业化概述.水利渔业,2000,20(2):1—3]

PARENT GROUPER REARING, SPAWNING, FERTILIZATION AND EMBRYONIC DEVELOPMENT OF *EPINEPHELUS MALABARICUS* (BLOCH & SCHNEIDER)

ZOU Ji-Xing^{1,2}, CHANG Lin³, XIANG Wen-Zhou², HU Chao-Qun² and LIN Jian-Shi²

(1. Key Laboratory of Ecology & Physiology in Aquaculture of Ministry of Agriculture, SFU Shanghai 200090; 2. South China Sea Institute of Oceanology, The Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510301; 3. Xia-Tie Base of Aquaculture, Dongshan 363400)

Abstract: 1.45 million fries of *Epinephelus malabaricus* (Bloch & Schneider) over 3cm of total length were produced in concrete tanks before June 30, 2002. Parent groupers composed of artificial sex-reversed functional male, natural male and female. The paper reported part of results from above protocol as follows: 1) Parent grouper cultured strenuously spawned in a natural way, the average fertilization rate was 81%, the highest was 97%; 2) The head of spermatozoon from functional male is in the shape of ball, spermatozoon head diameters range about from 3.7—6.1μm, caudal length 12.4—44.5μm, and the longest swimming time of spermatozoon is over 35min., the time of stopping swimming of 90% of all spermatozoa 31min. under conditions of water temperature 26°C, salinity 3‰, pH 7.9. These indicated that artificial sex-reversed functional male is not different from natural male, as a resource of male parent grouper in artificial propagation; 3) The spawning period is from early April to middle November, the most spawning appears mainly from late April to late May or from late September to early October. Natural spawning continues to the second day 1:30 from 16:40 in a day; 4) The spawning usually occurs under condition of water temperature was 23.5—28.6°C, but is restrained when water temperature above 28.6°C or below 23.5°C, and even almost stops above 30°C or below 21°C. The most optimum water temperature is 25.5°C—26.5°C.; 5) When water temperature was 26°C, fertilized eggs are partially buoyant under condition 2.82%—2.96% in salinity, as sinking below 2.82% in salinity and floating above 2.96% in salinity; 6) The embryonic development is 21h. under the water temperature of 24.9—27.6°C, 3‰—3.3‰, in salinity pH 7.6—8.2, and the present study has given complete phases of embryonic development.

Key words: *Epinephelus malabaricus* (Bloch & Schneider); Parent grouper rearing; Spawning and fertilization; Embryonic development