



(12) 发明专利

(10) 授权公告号 CN 103891662 B

(45) 授权公告日 2015.08.12

(21) 申请号 201410175266.X

(22) 申请日 2014.04.28

(73) 专利权人 中国水产科学研究院黄海水产研究所

地址 266071 山东省青岛市市南区南京路106号

(72) 发明人 陈超 李炎璐 翟介明 李波

(74) 专利代理机构 北京科亿知识产权代理事务所(普通合伙) 11350

代理人 李素红

(51) Int. Cl.

A01K 61/00(2006.01)

(56) 对比文件

CN 102144596 A, 2011.08.10, 全文.

CN 103283962 A, 2013.09.11, 全文.

US 2010/0313819 A1, 2010.12.16, 全文.

JP 特开 2011-67187 A, 2011.04.07, 全文.

CN 103026994 A, 2013.04.10, 全文.

李炎璐等. 盐度对云纹石斑鱼(♀)×七带

石斑鱼(♂)杂交子一代胚胎发育和仔鱼活力的影响.《渔业科学进展》.2013,第34卷(第5期),第17-22页.

李炎璐等. 鱼类杂交育种技术及其在石斑鱼类中的应用.《海洋渔业》.2012,第34卷(第1期),102-109.

李炎璐等. 云纹石斑鱼(♀)×七带石斑鱼(♂)受精过程的观察.《海洋科学》.2014,第38卷(第4期),39-43.

李炎璐等. 云纹石斑鱼(♀)×七带石斑鱼(♂)杂交子一代胚胎发育及仔稚幼鱼形态学观察.《中国水产科学》.2012,第19卷(第5期),821-832.

审查员 熊晶

权利要求书1页 说明书4页

(54) 发明名称

云纹石斑雌鱼与七带石斑雄鱼杂交育种方法

(57) 摘要

一种云纹石斑雌鱼与七带石斑雄鱼杂交育种方法,属于海水鱼类育种技术领域,所述的方法包括亲本选择、亲本培育、人工授精和孵化;所述的亲本选择:选择4~5龄健康成熟云纹石斑雌鱼作为雌性亲本;选择5~6龄健康成熟七带石斑雄鱼作为雄性亲本;所述的亲本培育:雌雄亲本分别培育云纹石斑鱼亲本培育水温为12~26℃,七带石斑鱼亲本培育水温为8~26℃,盐度28~32‰,pH7.8~8.2,溶解氧≥5mg/L;本发明杂交培育方法通过温度调控、营养调控等技术手段,使两个品种的雌雄亲本性腺同步发育成熟,采用人工授精手段获得杂交后代,该杂交后代具有生长速度快、耐低温的优良特性。

1. 一种云纹石斑雌鱼与七带石斑雄鱼杂交育种方法,其特征在於所述的方法包括亲本选择、亲本培育、人工授精和孵化;

所述的亲本选择:选择4~5龄健康成熟的云纹石斑雌鱼作为雌性亲本;选择5~6龄健康成熟的七带石斑雄鱼作为雄性亲本;

所述的亲本培育:雌雄亲本分开培育,云纹石斑雌鱼亲本培育水温为12~26℃,七带石斑雄鱼亲本培育水温为8~26℃,盐度28~32‰,pH 7.8~8.2,溶解氧 \geq 5mg/L;

(1) 亲本温度调控:

a. 从12月份开始,云纹石斑雌鱼亲本养殖水温从19℃逐渐降温至12℃再逐渐升温至16℃进行培育,培育至云纹石斑雌鱼亲本性腺成熟;七带石斑雄鱼亲本从水温19℃逐渐降温至8℃再逐渐升温至16℃培育,培育至七带石斑雄鱼亲本性腺成熟,升温和降温频率均每5天升高或降低1℃;

b. 至亲本选择后的次年4月份准备繁殖,云纹石斑雌鱼亲本从16℃升温至22℃进行培育,维持此温度不变;七带石斑雄鱼亲本从16℃升温至19℃进行培育,保持此温度不变,升温频率每5天升高1℃;

(2) 亲本营养强化:

于亲本选择后的次年1月份开始进行营养强化,将强化剂黏附在配合饲料中,增加投饵量至鱼体质量的2~3%;

所述的人工授精:

轻压催产后的云纹石斑雌鱼亲本腹部,将挤出的成熟卵子放入塑料容器中,再轻压七带石斑雄鱼亲本腹部,将挤出的成熟精液挤入盛有云纹石斑雌鱼亲本卵子的容器中,精卵数量比按照5~10ml:1000g比例,搅拌均匀后迅速加入过滤海水,静置15min后加入新鲜海水冲洗受精卵2~3次,静置分离20min后,取上浮受精卵放入孵化池中孵化;

所述的孵化:受精卵孵化条件为水温21~22.5℃,盐度28~30, pH 8~8.1,孵化密度为2万粒受精卵/m³,微充气,流水孵化30小时,仔鱼孵化即将出膜,此时收集上浮卵移至仔稚幼鱼的培育池中培育。

2. 根据权利要求1所述的一种云纹石斑雌鱼与七带石斑雄鱼杂交育种方法,其特征在於在所述人工授精之前,对云纹石斑雌鱼亲本和七带石斑雄鱼亲本进行催产,具体方法为:

a. 于亲本选择后的次年5月份开始挑选腹部明显膨胀的云纹石斑雌鱼亲本进行催熟、催产,水温维持在22℃,所用催产激素剂量为:500IU/kg鱼体质量的HCG+20ug/kg鱼体质量的LRH-A3,用0.9%的生理盐水溶解,一次性进行催产,催产部位为背部肌肉,效应时间约为48小时;

b. 挑选挤压腹部后可排出成熟精液的七带石斑雄鱼亲本进行催产,水温维持19℃;所用催产激素剂量为:200~300IU/kg鱼体质量的HCG+3~5ug/kg鱼体质量的LRH-A3,其余操作方法与步骤a相同。

云纹石斑雌鱼与七带石斑雄鱼杂交育种方法

技术领域

[0001] 本发明属于海水鱼类育种技术领域,具体地涉及一种云纹石斑雌鱼与七带石斑雄鱼杂交育种技术。

背景技术

[0002] 云纹石斑鱼 (*Epinephelus moara*) 和七带石斑鱼 (*E. septemfasciatus*) 同属于鲈形目 (Perciformes)、鲷科 (Serranidae)、石斑鱼亚科 (Epinephelinae)、石斑鱼属。云纹石斑鱼为暖温性中下层鱼类,主要分布于东海和南海,在石斑鱼类中属于生长速度较快的大型鱼种;七带石斑鱼为冷温性礁栖鱼类,主要分布在黄海和东海沿岸,是北方唯一一种冷温性名贵鱼类,具有个体大、耐低温、营养价值高等特点,是海水养殖的优良品种之一。将云纹石斑鱼雌性亲本与七带石斑鱼雄性亲本进行杂交,以期得到生长速度快、耐低温、抗逆性强的具有杂种优势的优良后代,为石斑鱼类遗传育种、品种选育提供基础。

[0003] 目前国内外还没有云纹石斑鱼(♀)与七带石斑鱼(♂)杂交育种的报道,其他石斑鱼类中的远缘杂交,虽有成功案例,但都属于热带或亚热带品种,如棕点石斑鱼与鞍带石斑鱼的杂交(莱州明波水产有限公司2013年公开专利《棕点石斑鱼与鞍带石斑鱼的一种工厂化杂交育种方法》,可借鉴之处不多。

发明内容

[0004] 本发明要解决的技术问题是提供一种云纹石斑雌鱼与七带石斑雄鱼杂交育种方法,解决南、北方两个不同品种间的地理隔离和生殖隔离问题,获得一种生长速度快于亲本、耐低温的优良杂交后代。

[0005] 本发明是通过如下技术方案实现的

[0006] 一种云纹石斑雌鱼与七带石斑雄鱼杂交育种方法,包括亲本选择、亲本培育、人工授精和孵化;

[0007] 所述的亲本选择:选择4~5龄健康成熟的云纹石斑雌鱼作为雌性亲本;选择5~6龄健康成熟的七带石斑雄鱼作为雄性亲本;

[0008] 所述的亲本培育:雌雄亲本分开培育,云纹石斑鱼亲本培育水温为12~26℃,七带石斑鱼亲本培育水温为8~26℃,盐度28~32‰,pH7.8~8.2,溶解氧 $\geq 5\text{mg/L}$;

[0009] (1) 亲本温度调控:

[0010] a. 从12月份开始,云纹石斑雌鱼亲本养殖水温从19℃逐渐降温至12℃再逐渐升温至16℃进行培育,培育至云纹石斑雌鱼性腺成熟;七带石斑雄鱼亲本从水温19℃逐渐降温至8℃再逐渐升温至16℃培育,培育至七带石斑雄鱼性腺成熟,升温和降温频率均每5天升高或降低1℃;

[0011] b. 至亲本选择后的次年4月份准备繁殖,云纹石斑鱼亲鱼从16℃升温至22℃进行培育,维持此温度不变;七带石斑鱼从16℃升温至19℃进行培育,保持此温度不变,升温频率每5天升高1℃;

[0012] (2) 亲本营养强化：

[0013] 于亲本选择后的次年 1 月份开始进行营养强化，将强化剂黏附在配合饲料中，增加投饵量至鱼体质量的 2 ~ 3%；

[0014] 所述的人工授精：

[0015] 轻压催产后的云纹石斑鱼雌鱼腹部，将挤出的成熟卵子放入塑料容器中，再轻压七带石斑雄鱼腹部，将挤出的成熟精液挤入盛有云纹石斑鱼卵子的容器中，精卵数量比按照 5 ~ 10ml : 1000g 比例，搅拌均匀后迅速加入过滤海水，静置 15min 后加入新鲜海水冲洗受精卵 2 ~ 3 次，静置分离 20min 后，取上浮受精卵放入孵化池中孵化；

[0016] 所述的孵化：受精卵孵化条件为水温 21 ~ 22.5℃，盐度 28 ~ 30，pH8 ~ 8.1，孵化密度为 2 万粒受精卵 / m³，微充气，流水孵化 30 小时，仔鱼孵化即将出膜，此时收集上浮卵移至仔稚幼鱼的培育池中培育。

[0017] 进一步，在人工授精之前为了获得较多的精子和卵子，对云纹石斑鱼雌鱼和七带石斑雄鱼进行催产，具体方法为：

[0018] a. 于亲本选择后的次年 5 月份开始挑选腹部明显膨胀的云纹石斑鱼雌鱼亲本进行催熟、催产，水温维持在 22℃，所用催产激素剂量为：500IU/kg 鱼体质量的 HCG+20ug/kg 鱼体质量的 LRH-A3，用 0.9% 的生理盐水溶解，一次性进行催产，催产部位为背部肌肉，效应时间约为 48 小时左右；

[0019] b. 挑选挤压腹部后可排出成熟精液的七带石斑鱼雄鱼亲本进行催产，水温维持 19℃；所用催产激素剂量为：200 ~ 300IU/kg 鱼体质量的 HCG+3 ~ 5ug/kg 鱼体质量的 LRH-A3，其余操作方法与步骤 a 相同。

[0020] 本发明与其他海水鱼类育种方法的不同之处和有益效果如下：

[0021] 1、云纹石斑鱼为南方暖温性中下层鱼类，个体大、生长速度快，七带石斑鱼为北方冷温性礁栖鱼类，耐低温、营养价值高，两个品种存在着地理隔离和生殖隔离，本发明杂交培育方法通过温度调控、营养调控等技术手段，使两个品种的雌雄亲本性腺同步发育成熟，采用人工授精手段获得杂交后代，该杂交后代该杂交后代具有生长速度快、耐低温的优良特性。

[0022] 2、对亲本培育的水温进行调控，温度先降低后升高，亲鱼冬季经历低温期，可提高卵子和精子质量，提高受精率，并将亲本繁殖时间控制在每年 5 ~ 6 月间。

[0023] 3、进行营养强化时，将强化剂黏附在配合饲料或添加在其他饵料中，可保证强化剂随饵料被亲鱼吞食，并且增加投喂鱿鱼、虾、海水螺旋藻、维生素 C 和维生素 E，加大投饵量至鱼体质量的 3%。

具体实施方式

[0024] 本发明的原理是：将具备不同生物学特性、生活在不同海域的石斑鱼鱼种亲本，进行远缘杂交，染色体核型同为 $2n = 48t$ ，具备了杂交的细胞学基础。云纹石斑鱼（♀）与七带石斑鱼（♂）杂交后可正常受精，且仔、稚、幼鱼能够正常生长，说明云纹石斑鱼（♀）与七带石斑鱼（♂）两亲本相容性较好，从而获得具有优良特性和性状的组合，采用亲鱼培育的温度调控，并对亲鱼进行营养强化，是保证其双亲和产生的后代（受精卵、仔稚幼鱼）具备健康体质、正确表达其优良特性，甚至出现超亲代优良性状的杂交后代。

[0025] 下面通过实施例详述本发明的技术内容,但本发明的保护范围不受实施例任何形式上的限制。

[0026] 一种云纹石斑雌鱼与七带石斑雄鱼杂交育种方法,包括亲本选择、亲本培育、人工授精和孵化;

[0027] 1) 亲本选择:本实验于 2010 年 12 月进行,选择 4~5 龄体型正常、无病害、活力强的健康成熟云纹石斑雌鱼作为雌性亲本,平均体长 46cm,平均体重 4.1kg;选择 5~6 龄体型正常、无病害、活力强的健康成熟七带石斑鱼作为雄性亲本,平均体长 48cm,平均体重 4.2kg;

[0028] 2) 亲本培育:

[0029] a. 雌雄亲本分别置于不同亲鱼培育池内培育,培育池为面积 35m²的长方形水泥池,鱼池四角取圆,池底池壁光滑,池深 1.5m,水深 1.1~1.2m,每池放养 50~100 尾;

[0030] b. 云纹石斑雌鱼亲本培育水温为 12~26℃,七带石斑雄鱼亲本培育水温为 8~26℃,盐度 28~32‰,pH7.8~8.2,溶解氧≥5mg/L;

[0031] c. 以新鲜或冰冻鲱鱼、鲮鱼及小杂鱼为饵料,每周投喂 3 次,每次投饵量为鱼体质量的 1%;

[0032] (1) 亲本温度调控:

[0033] a. 对亲本培育的水温进行调控,将亲本繁殖时间控制在次年 5~6 月间。方法为:从 2010 年 12 月份开始,云纹石斑雌鱼亲本养殖水温从 19℃逐渐降温至 12℃再逐渐升温至 16℃进行培育,培育至云纹石斑雌鱼性腺成熟;七带石斑雄鱼亲本养殖水温从 19℃逐渐降温至 8℃再逐渐升温至 16℃培育,培育至七带石斑雄鱼性腺成熟,时长 100 天。升温 and 降温频率每 5 天升高或降低 1℃;

[0034] b. 至 2011 年 4 月份准备繁殖,云纹石斑鱼亲鱼从 16℃升温至 22℃进行培育,维持此温度不变;七带石斑鱼从 16℃升温至 19℃进行培育,保持此温度不变,升温频率每 5 天升高 1℃;

[0035] (2) 亲本营养强化:

[0036] 于 2011 年 1 月份开始进行营养强化,将强化剂黏附在配合饲料中,增加投喂鱿鱼、虾、海水螺旋藻、维生素 C 和维生素 E,投饵量从鱼体质量的 1%逐渐增至 2~3%;

[0037] (3) 亲本催产:

[0038] a. 于 2011 年 5~6 月份开始挑选腹部明显膨胀的云纹石斑鱼雌鱼亲本进行催熟、催产,水温维持在 22℃,所用催产激素剂量为:500IU/kg 鱼体质量的 HCG+20ug/kg 鱼体质量的 LRH-A3,用 0.9%的生理盐水溶解,一次性进行催产,催产部位为背部肌肉,效应时间约为 48 小时左右;

[0039] b. 挑选挤压腹部后可排出成熟精液的七带石斑鱼雄鱼亲本进行催产,水温维持 19℃;所用催产激素剂量为:200~300IU/kg 鱼体质量的 HCG+3~5ug/kg 鱼体质量的 LRH-A3,用 0.9%的生理盐水溶解,一次性进行催产,催产部位为背部肌肉,效应时间约为 48 小时左右;

[0040] 3) 人工授精:

[0041] 轻压催产后的云纹石斑鱼雌鱼腹部,将挤出的成熟卵子放入塑料容器中,再轻压七带石斑雄鱼腹部,将挤出的成熟精液挤入盛有云纹石斑鱼卵子的容器中,精卵数量比按

照 (5 ~ 10)ml :1000g 比例,搅拌均匀后迅速加入过滤海水,静置 15min 后加入新鲜海水冲洗受精卵 2 ~ 3 次,静置分离 20min 后,取上浮受精卵放入孵化池中孵化;

[0042] 4) 孵化:

[0043] 受精卵孵化条件为水温 21 ~ 22.5℃,盐度 28 ~ 30, pH8 ~ 8.1,孵化密度为 2 万粒受精卵 /m³,微充气,流水孵化 30 小时,仔鱼孵化即将出膜,此时收集上浮卵移至仔稚幼鱼的培育池中培育。本实施例中 2 对亲本共获得受精卵 500g,孵化率为 78%。