

唐鱼仔鱼耳石的形态发育及日轮

史方^① 孙军^① 林小涛^{①*} 刘汉生^{①②}

(^① 暨南大学水生生物研究所 广州 510632; ^② 广州市海洋与渔业自然保护区管理站 广州 510405)

摘要: 观察了实验室人工繁殖饲养的唐鱼 (*Tanichthys albonubes*) 仔鱼耳石形态发育, 研究了其生长轮的沉积规律。唐鱼仔鱼耳石长径与鱼体全长 (TL) 均呈线性相关, 其关系式为: 微耳石 $Dl = 0.0196TL - 0.031$ ($r = 0.9616, P < 0.001, n = 218$), 矢耳石 $Ds = 0.0276TL - 0.0437$ ($r = 0.9240, P < 0.001, n = 219$), 星耳石 $Da = 0.0166TL - 0.0041$ ($r = 0.3696, P < 0.001, n = 44$)。仔鱼耳石上第一个轮纹在孵出后第 2 d 形成, 生长轮数目与仔鱼日龄 (D) 呈线性相关, 其斜率与 1 无显著差异, 因此生长轮为日轮, 其关系式为: 微耳石 $LI = 1.006D - 1.7001$ ($r = 0.9942, P < 0.001, n = 205$), 矢耳石 $SI = 0.9538D - 0.9116$ ($r = 0.9935, P < 0.001, n = 161$)。生长过程中矢耳石形状变化较大, 星耳石出现时间较晚, 而微耳石形状稳定, 日轮可读性较好, 故更适合作为日轮研究的材料。

关键词: 唐鱼; 仔鱼; 耳石; 形态发育; 日轮

中图分类号: Q954 文献标识码: A 文章编号: 0250-3263(2006)04-10-07

Otolith Ontogeny and Increment Formation in Larval *Tanichthys albonubes*

SHI Fang^① SUN Jun^① LIN Xiao-Tao^① LIU Han-Sheng^{①②}

(^① Institute of Hydrobiology, Jinan University, Guangzhou 510632;

^② Guangzhou Management Station of Ocean and Fisheries Natural Reserves, Guangzhou 510405, China)

Abstract: The morphology, formation and deposition of the first increment, and the rate of increment deposition were studied for sagittae, lapilli, and asterisci from *Tanichthys albonubes*. Sagittae and lapilli are apparently formed before hatching, and asterisci were observed 23–36 days after hatching. The diameters of lapilli, sagittae and asterisci were linearly related to fish length, the equations were $Dl = 0.0196TL - 0.0310$ ($r = 0.9616, P < 0.001, n = 218$), $Ds = 0.0276TL - 0.0437$ ($r = 0.9240, P < 0.001, n = 219$), $Da = 0.0166TL - 0.0041$ ($r = 0.3696, P < 0.001, n = 44$). The first growth increment in otoliths was observed one day after hatching. The number of increments on lapilli (LI) and sagittae (SI) were linearly related to daily age (D) of larvae, the equations were $LI = 1.006D - 1.7001$ ($r = 0.9942, P < 0.001, n = 205$), $SI = 0.9538D - 0.9116$ ($r = 0.9935, P < 0.001, n = 161$). Because of their readability and conservative growth, lapilli are considered the preferred otolith structure for age determination of *T. albonubes*.

Key words: *Tanichthys albonubes*; Larvae; Otoliths; Morphology development; Daily growth increments

唐鱼 (*Tanichthys albonubes*) 又称白云山鱼 (White cloud mountain minnow), 是我国特有的一种小型成鱼, 全长为 30~40 mm, 鲤科鱼类, 仅分布在广州白云山和东、北江小溪流^[1]。我国于 1988 年将唐鱼列为国家 II 级重点保护动物, 并在 1998 年版的《中国濒危动物红皮书》中标

明其濒危等级为绝迹。但 2001 年, 在越南自然

基金项目: 广州市资农资金项目 (No. 200502);

* 通讯作者;

第一作者介绍: 史方, 女, 硕士研究生, 研究方向: 水生动物生理生态; E-mail: sfang1983@eyou.com

收稿日期: 2006-02-08, 修回日期: 2006-05-19

水体中又发现了唐鱼^[2];2003年,在广州地区的自然水体中也发现了唐鱼的存在^[3]。

唐鱼具有易于饲养、性成熟周期短、繁殖期长等特点,在实验室饲养一年可繁殖多代,具备水生实验动物的基本特征^[4]。目前对唐鱼的研究主要集中在胚胎发育^[4]、人工繁殖^[5]、种群生态^[3]等方面,关于这种鱼的耳石发育及日龄鉴定还没有报道,而确定唐鱼的准确日龄是研究其生活史和作为实验室模型鱼的关键因素。本文作者对实验室人工繁殖唐鱼的耳石作了连续的观察研究,寻找其形态发育特征和生长轮生长规律,以期为唐鱼的实验动物化及其自然种群年龄结构的调查提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 材料采集和处理 唐鱼亲本为广州市水生野生动物救护中心人工繁殖养成的个体。取回后在实验室驯养2周以上。取性成熟雌、雄鱼各1尾饲养在同一玻璃缸中,自然产卵受精。各取受精卵100个置于4个直径8 cm的培养皿中,控制孵化温度在 $(26 \pm 0.5)^\circ\text{C}$,微充气孵化约40 h孵化出膜。随后将其转入3个直径25 cm的玻璃缸中微充气饲养,每缸120尾。3 d后,以蛋黄作为开口饵料,一周后喂养卤虫,25 d后喂养水蚤。仔鱼培育期间温度为24~27℃,室内自然光照。孵出后第一周每日8:00和16:00时取样两次,以后每日16:00时取样,每次取样5尾仔鱼。样品采集后,先置于解剖镜下测量全长,然后保存在无水酒精中。

1.2 耳石摘取 在解剖镜下用解剖针挑出左右矢耳石、微耳石和星耳石,双蒸水洗涤,95%酒精脱水、干燥,二甲苯透明,中性树脂封固于载玻片上。

1.3 耳石测量 在光学显微镜下测量每个耳石的长径。

1.4 生长轮统计 主要计微耳石和矢耳石上的生长轮数目。进行生长轮计数时,将耳石样品置于光学显微镜下,并结合放大数码照片,统计耳石上的所有环纹的数目。由3人每人对每一样品统计一次,当3次计数间的差异在10%

以内时,取其平均值作为耳石的最终生长轮数,差异大于10%的样品则摒弃。

1.5 数据处理 用SPSS 12.0软件对测定的数据进行统计和回归分析。

2 结果

2.1 耳石形态发育 水温 $(26 \pm 0.5)^\circ\text{C}$ 时,唐鱼的受精卵经过20 h左右的胚胎发育,在其听囊内开始出现两对形状不规则的耳石,均由几小块结晶体堆积而成。经过24 h左右的胚胎发育,小块结晶体逐渐融合成两对圆形的结晶体,前一对为微耳石,后一对为矢耳石,矢耳石略大于微耳石。

2.1.1 微耳石(Lapillus) 孵出前唐鱼的微耳石形状不规则,含有一些结晶状物。孵出后,仔鱼的微耳石通常为圆盘状,孵出16 d后转变为近似椭圆形,孵出30 d后转变为梨形(图版 I)。

2.1.2 矢耳石(Sagitta) 孵出前后唐鱼的矢耳石形状与微耳石类似,通常为圆盘状。孵出16 d后转变为椭圆形,孵出23 d后变成中部圆凸两端较尖的菱形。1月龄之后的仔鱼矢耳石逐渐变成前端较尖、后端圆钝、中间呈卡腰状的稳定的梨形(图版 I)。

2.1.3 星耳石(Asteriscus) 在唐鱼孵出后23日龄观察到40%的样品出现星耳石,36日龄时在全部样品中观察到星耳石。多数星耳石中含有1个不定形的中心核,核内耳石原基不是很清晰。大多数星耳石最初为一端略尖的梨形,几天后转变为椭圆形(图版 I),但也有少数形状很不规则(图版 II :e)。

2.1.4 中心核(Nucleus)和原基(Primordium) 唐鱼大部分耳石具1个中心核和1个原基,但也有少数耳石具有1个以上的中心核或原基,包括1个中心核2个原基、2个中心核2个原基、3个中心核3个原基等多种形式(图版 II :a~e)。这些耳石仅占耳石总数的约4.3%,其中以2个中心核2个原基最为常见(表1)。具有复数中心核或原基的耳石中,以矢耳石最多,占54%;微耳石次之,占41%;星耳石最少,

仅占 5%。

表 1 具有复数中心核或原基的耳石在各类耳石中的比例

Table 1 The proportions of otoliths with plural nuclei or primordial among sagittae, lapilli, and asterisci

耳石种类 Otoliths	微耳石 Lapilli			矢耳石 Sagittae		星耳石 Asterisci	
	1N2P	2N2P	3N3P	1N2P	2N2P	3N3P	4N4P
个数 Numbers	6	8	2	4	17	1	1
%	1.456	1.942	0.485	0.941	4.000	1.299	1.299
总数 Total numbers		16			21		2
%		3.883			4.941		2.597

N :中心核 (Nucleus) ; P :原基 (Primordium)

2.2 耳石长径增长 唐鱼微耳石长径(D_L)、矢耳石长径(D_S)、星耳石长径(D_A)与其全长(TL)关系的回归方程分别为:

$$D_L = 0.0196 TL - 0.0310 \quad (r = 0.9616, P < 0.001, n = 218)$$

$$D_S = 0.0276 TL - 0.0437 \quad (r = 0.9240, P < 0.001, n = 219)$$

$$D_A = 0.0166 TL - 0.0041 \quad (r = 0.3696, P < 0.001, n = 44)$$

微耳石、矢耳石和星耳石的长径与唐鱼全长呈显著的正相关关系(图 1)。在唐鱼生长过程中,矢耳石的生长率最快,微耳石其次,星耳石最慢。

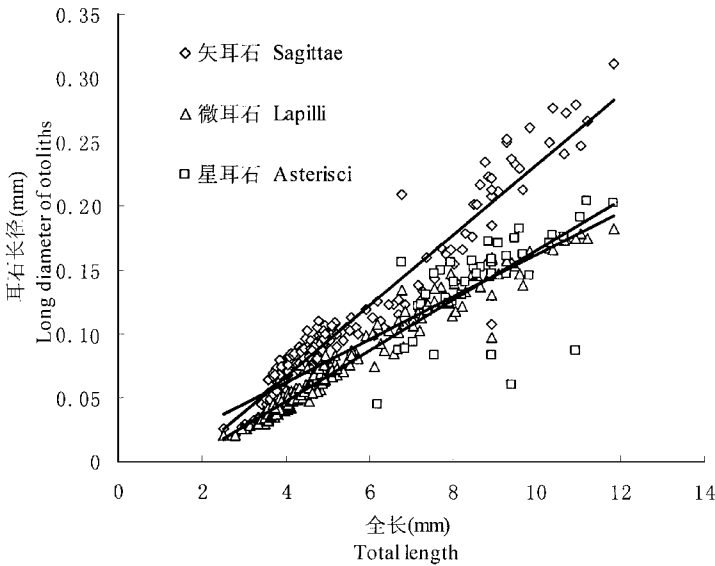


图 1 唐鱼仔鱼全长与微耳石、矢耳石和星耳石长径的关系

Fig. 1 Relationship between the total length and the long diameter of otoliths of larval *Tanichthys albonubes*

2.3 耳石生长轮沉积率 对唐鱼耳石进行生长轮计数分析,显示微耳石、矢耳石生长轮数目与日龄密切相关($r > 0.99$)。微耳石生长轮数目(LI)和矢耳石生长轮数目(SI)与日龄(D)的回归方程分别为:

$$LI = 1.006D - 1.7001 \quad (r = 0.9942, P < 0.001, n = 205)$$

$$SI = 0.9538D - 0.9116 \quad (r = 0.9935, P < 0.001, n = 161)$$

经检验,两者的斜率都与 1 无显著差异($P > 0.05$)表明唐鱼的生长轮为每天形成一轮,即为日轮(图 2)。

2.4 耳石标记轮 孵化当天仔鱼耳石样本中没有标记轮出现,一天后开始出现第一个轮纹,

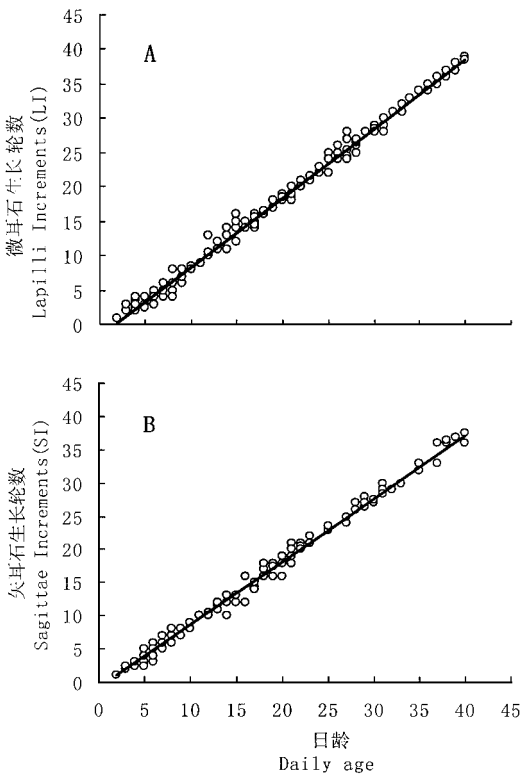


图2 微耳石(A)与矢耳石(B)生长轮数与唐鱼仔鱼日龄的关系

Fig. 2 Relationship between lapilli (A) and sagittae (B) increments and daily age of larval *Tanichthys albonubes*

且此轮纹的有机物填充带颜色明显深于一般的生长轮,故可认为是孵化标记轮(图版 II f, h, i)。孵出后第4 d,耳石上已有3个轮纹(图版 II f)。这表明耳石上的轮纹是在孵出后形成的。58.37%的唐鱼在由内源性营养向外源性营养转变时还形成营养转换标记轮(图版 II h, i)。营养转换标记轮一般在仔鱼卵黄囊消失后一天,即孵出后3~4 d后出现。同孵化标记轮相似,此轮纹的有机物填充带颜色也较深,其内具有2~3条生长轮。

3 讨论

3.1 耳石形态发育 耳石是存在于硬骨鱼类内耳的膜迷路内,主要由碳酸钙构成,起平衡和听觉作用的硬组织^[6]。耳石上具有一规则的圆形或椭圆形的生长中心,称为耳石中心核,核内

深黑色的圆形、卵圆形或椭圆形结构为耳石原基。大多数鱼类的耳石通常具有1个中心核和1个原基,少数耳石具有1个中心核、2个原基,或2个中心核、2个原基,如草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)^[7]、黄颡鱼(*Peltobagrus fulvidraco*)^[8]等。本研究发现唐鱼大部分耳石同样具有1个中心核和1个原基,少数具一个以上的中心核或原基,其中以具2个中心核2个原基的居多。但本研究发现个别微耳石出现3个中心核、3个原基,在个别星耳石中还观察到4个中心核4个原基。这些多核多原基的产生机理尚不清楚。

鲮科(Bagridae)的黄颡鱼的星耳石在出膜后的第3 d就已形成*,与唐鱼同是鲤科(Cyprinidae)的稀有鮡鲫(*Gobiocypris rarus*)的星耳石也在出膜后第13~16 d就形成**,而唐鱼在出膜后23 d才观察到星耳石出现,且多为个体较大的唐鱼星耳石出现时间相对较早。这可能是由于个体较大者摄食量较大,营养充足,而个体较小者可能遭遇短期饥饿,导致耳石沉积率下降^[8]。大部分星耳石呈较规则的椭圆形,但也有个别星耳石形状比较特别,是由几个小的圆形和一个大的圆形联结在一起形成的,而且每个圆形都具有独立的中心核和原基(图版 II e)。这种形状的星耳石可能是在形成过程中各小块结晶体没有完全融合而分别沉积所造成的。

3.2 耳石生长轮沉积 唐鱼孵出前其耳石不形成生长轮,孵出后以体内卵黄为营养开始形成第一条生长轮,以后每日形成一轮,即为日轮。这与在遮目鱼(*Chanos chanos*)、草鱼、鳊鱼(*Aristichthys nobilis*)的观察结果相一致^[9-11]。从不同采样时间的样本发现,唐鱼形成日轮的时间多为16:00时到次日8:00时的这段时间内,但有少数个体较大的仔鱼在16:00时前就已形成新的不完整日轮,少数个体较小的仔

* 张治国. 黄颡鱼耳石生长的研究[硕士学位论文]. 武汉, 华中农业大学, 2002.

** 孙军. 倪氏复口吸虫感染行为及寄主鳃的免疫因子研究[博士学位论文]. 武汉, 中科院水生生物研究所, 2004.

鱼次日形成的日轮仍不完整。这也说明唐鱼个体的生长率对耳石的日轮沉积率有一定的影响。

唐鱼仔鱼的部分耳石日轮比较微弱,对计数有一定的影响。这可能是由于实验室养殖中昼夜温度变化不大引起的。在温度恒定或昼夜温差不大的情况下,沉积的日轮通常不清晰,分界线不明显,而昼夜温度波动可促进分界线的形成,增强日轮的清晰度和对比度^[12~14]。同样,本研究在室内进行,没有人为地控制光周期,也可能会影响日轮的清晰度。因为光周期通过影响鱼类内分泌的周期性节律,从而影响了日轮的沉积^[15]。本研究中一部分唐鱼耳石上有亚日轮形成,这可能是实验中投喂次数较多,摄食频率增加引起的^[16]。

日轮记录着鱼类一生的生长发育过程和重要的环境变迁,因此其研究在鱼类的繁衍、生长、存活及种群生态学上有着重要的意义。国外学者在利用耳石日轮鉴定鱼类年龄时大多采用矢耳石,少数采用微耳石和星耳石^[17]。但 Victor 等在研究中发现鲤科鱼类的矢耳石不适于鉴定年龄,因其在生长发育过程中形态结构变化较大^[18]。在对唐鱼微耳石和矢耳石的日轮计数中也发现,随着日龄的增长,矢耳石形态变化很大,逐渐形成较为脆弱的结构,给计数带来了困难,星耳石出现则较晚,而微耳石在孵出前就已形成,且在发育过程中形状变化较小,基本保持圆形,具有较好的日轮可读性,因此更适于作为日轮研究的材料。

3.3 耳石标记轮的形成 因生理的变化或生态的压力而使鱼类生长节奏被打乱,就可能在耳石上形成记载鱼类生长和发育过程中一些重要经历的“标记”,如孵化、初次摄食、变态、定居、栖息地的改变以及生存环境的突然变化等^[13,16]。在部分唐鱼耳石上发现有孵化标记轮和营养转换标记轮,这两种标记轮均分别在孵化和开始摄食一天后出现,其形成机制还不是很清楚。孵化标记轮可能是因为仔鱼出膜时环境因素的变化造成钙离子沉积暂时停止而形成的^[19]。而营养转换标记的出现,可能是由于较

差的内源性营养无法满足仔鱼的生理需求的变化而使其遭遇一种压力,导致在耳石上以标记轮的形式得到记录^[7]。

参 考 文 献

- [1] 中国水产科学研究院珠江水产研究所. 广东淡水鱼类志. 广州: 广东科技出版社, 1991, 77~78.
- [2] Jörg Freyhof, Fabian Herder. *Tanichthys micagemmae*, a new miniature cyprinid fish from Central Vietnam (Cypriniformes: Cyprinidae). *Ichthyol Explor Freshwaters*, 2001, 12(3): 215~220.
- [3] 易祖盛, 陈湘麟, 巫锦雄等. 野生唐鱼在广东的再发现. *动物学研究*, 2004, 25(6): 551~555.
- [4] 陈国柱, 方展强, 马广智. 唐鱼胚胎发育观察. *中国水产科学*, 2004, 11(6): 489~496.
- [5] 梁建宏, 连常平, 刘汉生. 唐鱼全人工繁育实验. *水利渔业*, 2003, 23(6): 30~31.
- [6] 张治国, 王卫民. 鱼类耳石研究综述. *湛江海洋大学学报*, 2001, 21(4): 77~83.
- [7] 宋昭彬, 常剑波, 曹文宣. 草鱼仔鱼耳石的自然标记和生长轮的清晰度. *动物学报*, 2003, 49(4): 508~513.
- [8] Tzeng W N, Yu S Y. Effects of starvation on the formation of daily growth increments in the otoliths of milkfish *Chanos chanos* (F.) larvae. *J Fish Biol*, 1992, 40(1): 39~48.
- [9] Tzeng W N, Yu S Y. Daily growth increments in otoliths of milkfish *Chanos chanos* (F.) larvae. *J Fish Biol*, 1988, 32(4): 495~504.
- [10] 常剑波, 邓中彝, 孙建贻等. 草鱼仔鱼耳石日轮及日龄研究. 见: 中国动物学会编. 中国动物学会成立60周年纪念陈桢教授诞辰100周年论文集. 北京: 科学出版社, 1994, 323~329.
- [11] 解玉浩, 李勃, 富丽静等. 鱮仔-幼鱼耳石日轮与生长的研究. *中国水产科学*, 1995, 2(2): 34~42.
- [12] Alhossaini M, Pitecher T J. The relation between daily ring, body length and environmental factors in plaice, *Pleuronectes platessa*, juvenile otoliths. *J Fish Biol*, 1988, 33(3): 409~418.
- [13] Campana S E. Interactive effects of age and environmental modifiers on the production of daily growth increments in otoliths of plainfin midshipman *Porichthys notatus*. *Fish Bull U S*, 1984, 82: 165~177.
- [14] Neilson J D, Geen G H, Chan B. Variability in dimensions of Salmonid otolith nuclei: implications for stock identification and microstructure interpretation. *Fish Bull U S*, 1985, 83: 81~89.
- [15] 李城华, 尤峰, 黄瑞东等. 黄海黑鲷仔鱼耳石的日轮以

及光照对其形成的影响. 海洋与湖沼, 1993, 24(5): 511 ~ 514.

[16] Campana S E, Neilson J D. Microstructure of fish otoliths. *Can J Fish Aquat Sci*, 1985 **42**: 1 014 ~ 1 032.

[17] Secor, D H, Dean, J M, Laban, E H. Otolith removal and preparation for microstructure examination. In: Stevenson D K, Campana S E eds. *Otolith Microstructure Examination and*

Analysis. Ottawa: Department of Fisheries and Oceans, 1992, 20 ~ 26.

[18] Victor B C, Brothers E B. Age and growth of the fallfish *Semotilus corporalis* with daily otolith increments as a method of annulus verification. *Can J Zool*, 1982 **60**: 2 543 ~ 2 550.

[19] 李勃. 鳊鱼幼鱼耳石日轮的研究. 动物学研究, 1992, 24 (4) 345 ~ 349.

图版 II 说明

中心核或原基数不同的耳石及耳石的标记轮 × 400

a. 具一中心核和一原基的矢耳石; b. 具一中心核和双原基的微耳石; c. 具双中心核和双原基的矢耳石; d. 具三中心核和三原基的微耳石; e. 具四中心核和四原基的星耳石; f. 4 日龄仔鱼微耳石; g. 35 日龄仔鱼微耳石; h. 23 日龄仔鱼微耳石; i. 23 日龄仔鱼矢耳石。

N: 中心核; P: 原基; HC: 孵化标记轮; NC: 营养转换标记轮; 标尺 = 0.02 mm。

Explanation of Plate II

Otoliths with different numbers of nuclei or primordia and the checks on otoliths × 400

a. Sagitta with one nucleus and one primordium; b. Lapillus with one nucleus and two primordia; c. Sagitta with two nuclei and two primordia; d. Lapillus with three nuclei and three primordia; e. Asteriscus with four nuclei and four primordia; f. Lapillus of 4 days old larva; g. Lapillus of 35 days old larva; h. Lapillus of 23 days old larva; i. Sagitta of 23 days old larva

N: Nucleus; P: Primordium; HC: Hatching check; NC: Nutrition altering check; Scale bar = 0.02 mm.

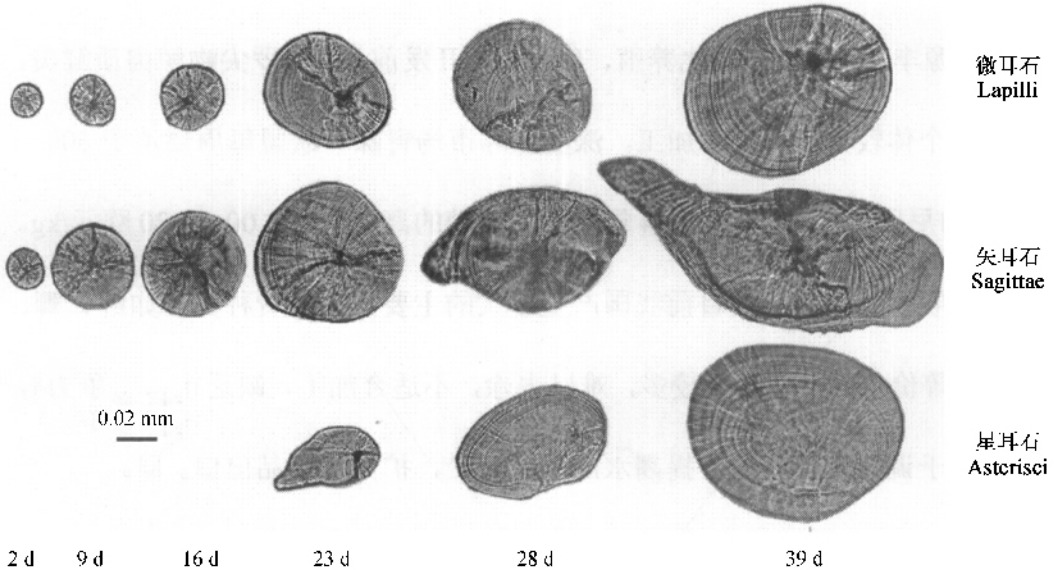
史 方等 唐鱼仔鱼耳石的形态发育及日轮

SHI Fang *et al.*: Otolith Ontogeny and Increment Formation in Larval

Tanichthys albonubes

图版 I

Plate I



唐鱼仔鱼耳石的形态发育 × 400

Otoliths ontogeny in larval *Tanichthys albonubes*

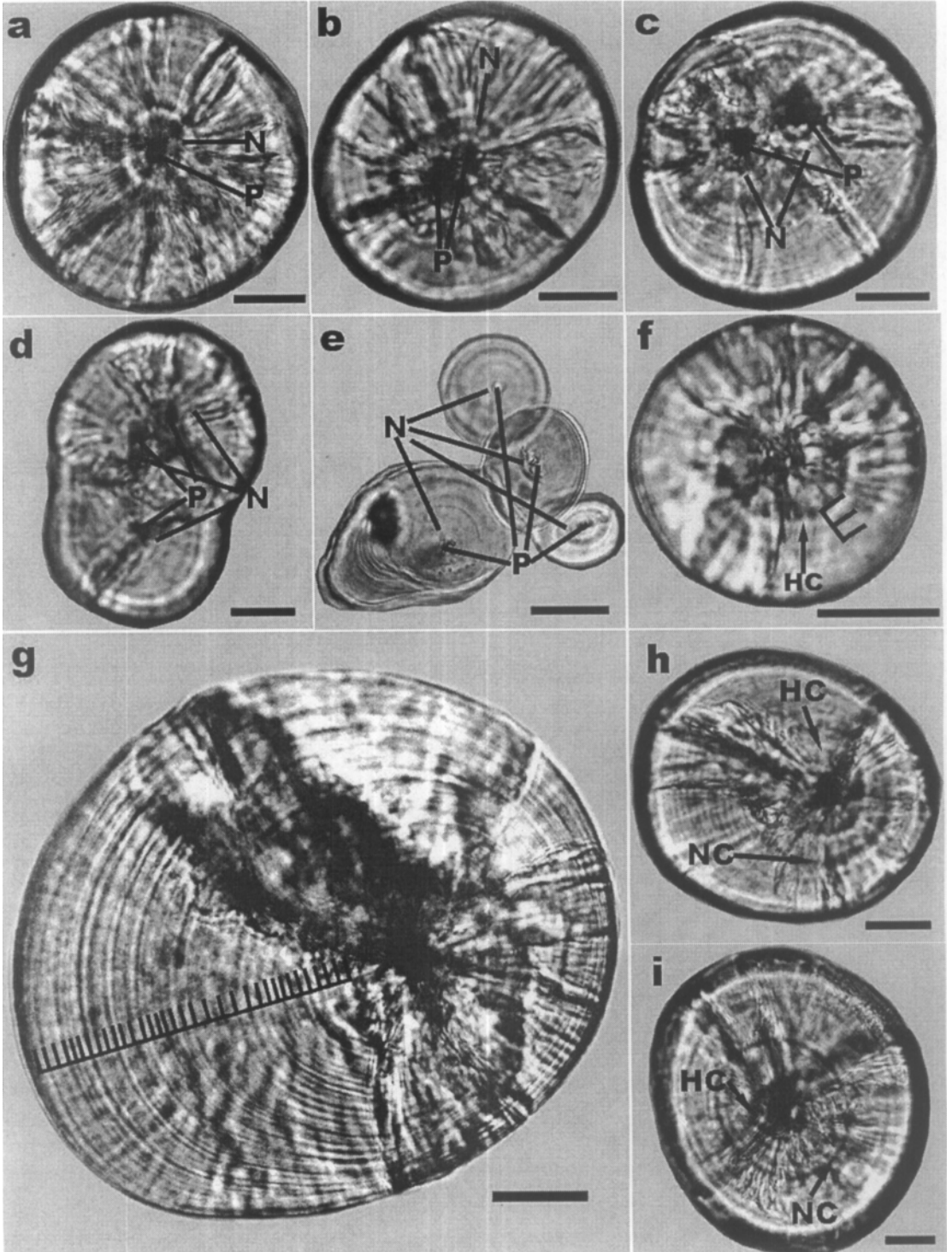
史 方等 : 唐鱼仔鱼耳石的形态发育及日轮

图版 II

SHI Fang *et al.* : Otolith Ontogeny and Increment Formation in Larval

Tanichthys albonubes

Plate II



图版说明见文后