

叉尾斗鱼仔鱼耳石形态发育与日轮形成特征

赵天, 陈国柱, 林小涛

(暨南大学 水生生物研究所, 热带亚热带水生态, 工程教育部工程研究中心, 广东 广州 510632)

摘要: 对实验室人工繁殖的叉尾斗鱼(*Macropodus opercularis*)仔鱼耳石形态发育与日轮进行了观察研究。结果显示, 叉尾斗鱼微耳石和矢耳石在胚胎时已出现。微耳石在仔鱼刚孵化时为圆盘状, 随仔鱼发育转变为近椭圆形, 孵出后 19 d 转变为中部圆凸两端较尖的菱形; 矢耳石在仔鱼刚孵出时为圆盘状, 随仔鱼发育转变为椭圆形, 孵出后 19 d 转变为一端略尖的桃形; 星耳石在仔鱼孵出后第 19 天才出现, 呈中部略凹的椭圆形。叉尾斗鱼仔鱼耳石长径(包括微耳石和矢耳石)与鱼体全长(TL, mm)呈线性相关。仔鱼耳石上第一个轮纹在孵出后第 2 天形成, 其后每日形成 1 个新轮纹, 生长轮数目与仔鱼日龄(*D*)呈线性相关, 且线性方程斜率接近于 1。结论认为, 叉尾斗鱼仔鱼星耳石出现时间晚, 矢耳石形态在后期出现较大变化, 而微耳石在胚胎时即形成, 形态稳定; 日轮可读性较好, 故更适合做日轮研究的材料。本研究旨在为叉尾斗鱼自然种群年龄结构调查及其资源保护提供基础数据。[中国水产科学, 2010, 17(6): 1364–1370]

关键词: 叉尾斗鱼; 仔鱼; 耳石; 形态发育; 日轮

中图分类号: Q959

文献标识码: A

文章编号: 1005–8737–(2010)06–1364–07

叉尾斗鱼(*Macropodus opercularis*)隶属于鲈形目(Perciformes)攀鲈亚目(Anabantoidei)斗鱼科(Belontiidae)斗鱼属, 是一种广泛分布于中国南方及东南亚各国的内陆淡水小型鱼类^[1–3]。根据谢增兰等^[3]的调查结果, 现阶段该物种资源量有下降的趋势, 甚至在某些地方处于濒临灭绝的状态。以往对于叉尾斗鱼的相关研究大多集中在其形态分类, 生态习性, 胚胎发育, 繁殖和某些病理学方面^[4–8], 对其耳石发育和日龄鉴定方面的研究很少。而确定叉尾斗鱼仔鱼的准确日龄是研究其早期生活史和种群结构的关键, 也是进一步探讨造成其种群数量下降原因的基础。鉴于此, 作者对实验室人工繁殖叉尾斗鱼仔鱼的耳石进行连续观察研究, 寻找其形态发育特征和生长轮生长规律, 以期能为叉尾斗鱼自然种群年龄结构的调查和叉尾斗鱼的资源保护提供基础数据。

1 材料与方法

1.1 实验材料

叉尾斗鱼亲鱼采自广东省从化市岐田村野外溪流和沼泽, 并在实验室驯养半年以上。取性成熟的雌、雄鱼各 1 尾放入同一鱼缸中自然产卵受精, 在水温(26±0.5) 的条件下约 38 h 后孵化出膜。随后将仔鱼转入 4 个 1 000 mL 的烧杯中饲养, 每个烧杯放入仔鱼 100 尾。3 d 后以 64 μm 网目的浮游生物网从暨南大学明湖中捞取浮游动物作为开口饵料, 1 周后以 112 μm 网目的浮游生物网捞取浮游动物喂养至实验结束时的 23 日龄, 并在 15 日龄后投喂少量剪碎的摇蚊幼虫以保证其营养。仔鱼培育期间水温控制在(26±0.5) , 室内自然光照, 每日 21:00 定时换水。至实验结束时死亡率小于 5%。仔鱼孵出后第 1 周每日 8:00 和

收稿日期: 2009–12–17; 修订日期: 2010–02–27.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30970555); 国家重大专项基金资助项目(2009ZX07211-009).

作者简介: 赵天(1986–), 男, 硕士研究生, 主要研究方向为鱼类生态学. E-mail: owfaowfa@163.com

通讯作者: 林小涛, 教授. E-mail: tlinxt@jnu.edu.cn

16:00 取样2次,以后每日16:00 取样1次,每次各从4个烧杯中随机取3尾仔鱼,共计12尾。样品采集后,先置于解剖镜下测量其全长,然后用无水乙醇保存,用于耳石的摘取。

1.2 耳石摘取

在 OLYMPUS 解剖镜下用解剖针挑取仔鱼左右矢耳石、微耳石和星耳石,蒸馏水洗涤,95%乙醇脱水、干燥,二甲苯透明,中性树胶封存于载玻片上^[9-10]。

1.3 耳石测量

在 OLYMPUS 光学显微镜下(10×40, 超过量程的耳石采用 10×20)测量每个耳石的长径。

1.4 生长轮计数

统计微耳石和矢耳石上的生长轮数目时,将耳石置于光学显微镜下,用 DeltaPix Camera2005 摄像装置多次拍照, iSolution Lite 软件对照片进行处理,再统计耳石上所有轮环的数目。对同一样品进行多次重复计数,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轮纹数,对于差异大于10%的样品则不采纳该数据^[9,11]。

1.5 数据处理

所得数据利用 EXCEL2003 软件进行统计和回归分析。

2 结果与分析

2.1 耳石形态发育

在水温(26 ± 0.5) 的条件下,叉尾斗鱼的受精卵经过约34 h的胚胎发育,听囊分化,其后在听囊中央出现两对黑色的形状不规则的耳石。胚胎发育约37 h后,耳石逐渐沉积成圆形的结晶体,前1对为微耳石,后1对为矢耳石,矢耳石略大于微耳石。在叉尾斗鱼仔鱼的发育过程中,矢耳石生长率最快,微耳石次之,而星耳石出现得最慢。

2.1.1 微耳石(Lapillus) 叉尾斗鱼的微耳石刚出现时为不规则的小型结晶体,然后逐渐沉积为圆盘状,孵出后7 d转变为近椭圆形,孵出后19 d转变为中部圆凸两端较尖的菱形(图版)。

2.1.2 矢耳石(Sagitta) 刚孵出时叉尾斗鱼矢耳石的形态特征与微耳石类似,都为圆盘状,孵出

后7 d转变为椭圆形,孵出后19 d转变为一端略尖的桃形(图版)。

2.1.3 星耳石(Asteriscus) 在叉尾斗鱼孵出后第19天首次发现星耳石,占当日标本总数的10%。孵出后第23天,30%的标本出现星耳石,其形状为中部略凹的椭圆形。超过90%的星耳石含一个不定形的中心核,但核内耳石原基不清晰(图版)。

2.1.4 中心核(Nucleus)和原基(Primordium) 叉尾斗鱼99.9%的耳石仅含有1个中心核和1个原基,0.01%的微耳石出现1个中心核和双原基。

2.2 生长特性

2.2.1 耳石长径增长 叉尾斗鱼仔鱼的矢耳石长径(DS, μm)和微耳石长径(DL, μm)与鱼体全长(TL, mm)呈显著的正相关关系(图1),其关系式为:

$$\begin{aligned} \text{矢耳石: } DS &= 39.4TL - 61.478 \\ (R^2 &= 0.9501, P < 0.001, n = 356) \\ \text{微耳石: } DL &= 23.565TL - 27.926 \\ (R^2 &= 0.9496, P < 0.001, n = 306) \end{aligned}$$

2.2.2 耳石轮纹沉积与日龄的关系 依据实际测量的耳石标本的轮纹数与日龄的数据,对日龄(D)与轮纹数(SI 和 LI)之间的关系进行了拟合。得到如下关系式(图2):

$$\begin{aligned} \text{矢耳石: } SI &= 1.0034D + 0.0545 \\ (R^2 &= 0.9928, P < 0.001, n = 165) \\ \text{微耳石: } LI &= 1.0162D - 0.2312 \\ (R^2 &= 0.9942, P < 0.001, n = 179) \end{aligned}$$

可以看出,矢耳石、微耳石生长轮数目与日龄密切正相关($R^2 > 0.99$),所得线性方程式中两者的斜率均与1无显著差异($P < 0.001$),因此可以认为叉尾斗鱼耳石上的生长轮是每日形成一轮,即为日轮。

2.2.3 耳石直径与日龄的关系 叉尾斗鱼仔鱼矢耳石(DS)和微耳石(DL)的直径与日龄(D)呈线性正相关,其关系式为(图3):

$$\begin{aligned} \text{矢耳石: } DS &= 10.507D + 33.019 \\ (R^2 &= 0.9492, P < 0.001, n = 356) \\ \text{微耳石: } DL &= 6.2725D + 28.735 \\ (R^2 &= 0.9450, P < 0.001, n = 306) \end{aligned}$$

2.3 耳石轮纹特征

孵化当天的仔鱼耳石上无标记轮出现,1 d后

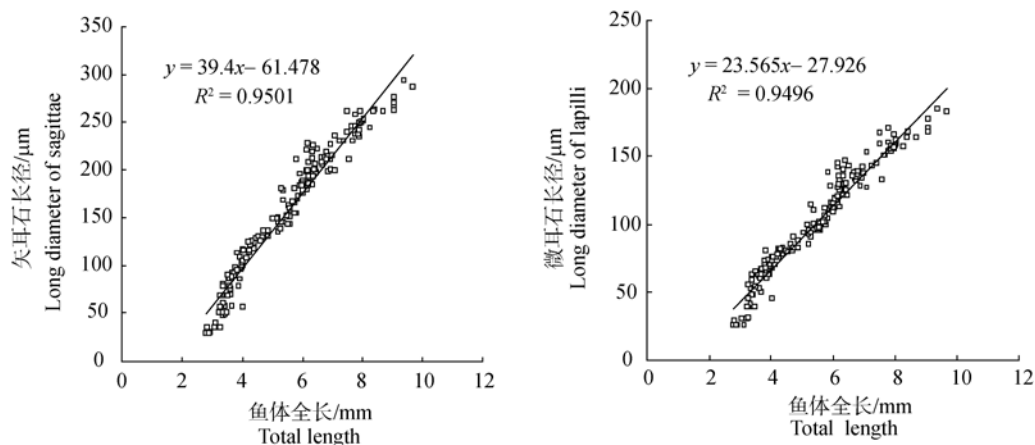


图 1 叉尾斗鱼仔鱼全长与矢耳石、微耳石长径的关系

Fig. 1 Relationship between total length and long diameter of sagitta and lapilli in larval *Macropodus opercularis*

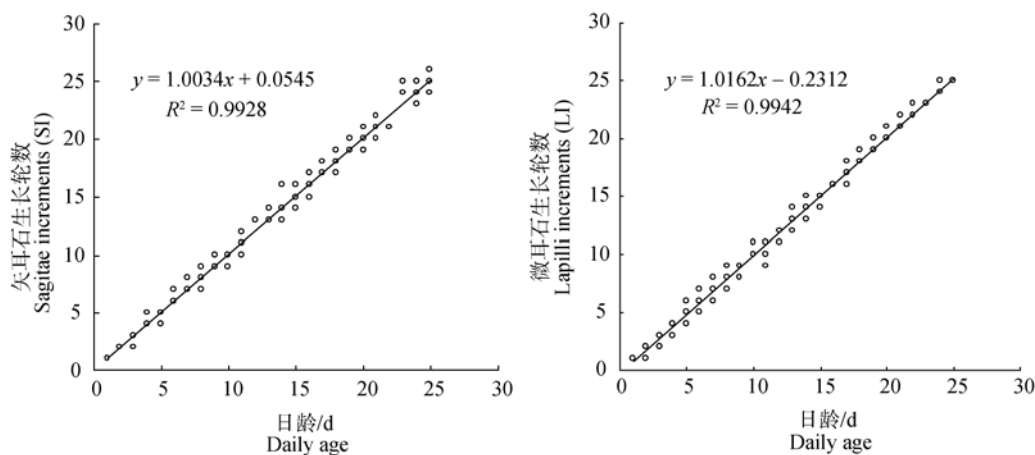


图 2 叉尾斗鱼仔鱼日龄与矢耳石和微耳石生长轮数的关系

Fig. 2 Relationship between lapilli and sagittae increments and daily age in larval *Macropodus opercularis*

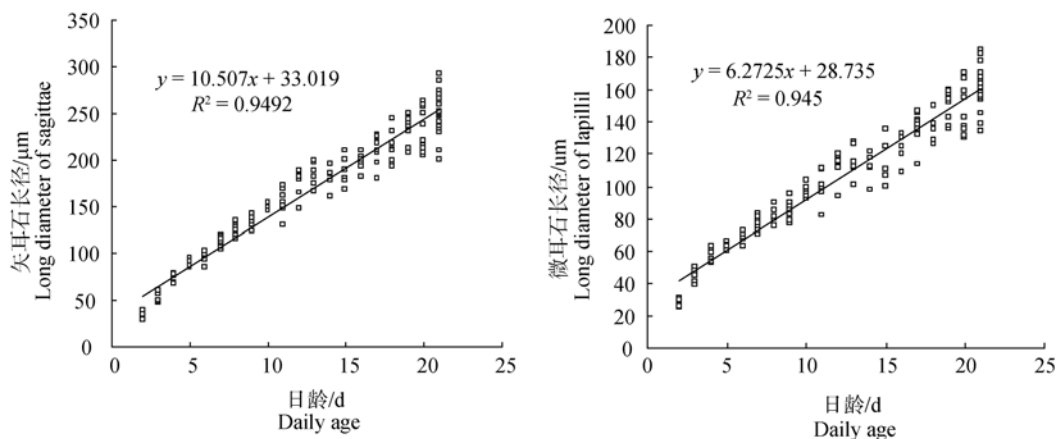


图 3 叉尾斗鱼仔鱼日龄与矢耳石和微耳石长径的关系

Fig. 3 Relationship between daily age and long diameter of sagitta and lapilli in larval *Macropodus opercularis*

在耳石上形成第 1 个轮纹(图版 -a), 该轮纹相比于以后出现的其他轮纹颜色较深, 故可认为是孵化标记轮(图版 -b)。21.06%的叉尾斗鱼仔鱼样本在由内源性营养期向外源性营养期过度时, 会在耳石上形成营养转换轮(图版 -e), 该轮纹一般在孵出 4~5 d 后出现, 同样颜色较深。

观察表明, 耳石长半径上轮纹稀疏且多有轮纹紊乱不清区段, 短半径上轮纹密集且清晰, 因此耳石日轮计数以短半径为准^[12]。

3 讨论

在硬骨鱼类的内耳中总共有 3 对耳石, 即椭圆囊(Utriculus)、球囊(Sacculus)和听壶(Lagena)中分别具有微耳石(Lapillus)、矢耳石(Sagittae)和星耳石(Asteriscus)各 1 对^[9-10,13], 主要由碳酸钙构成, 起平衡和听觉的作用^[9]。大多数鱼类在胚胎时期已形成两对耳石, 即矢耳石和微耳石, 而星耳石在孵出数天后才形成。如唐鱼(*Tanichthys albonubes*)仔鱼在水温(26±0.5) 时, 孵出后 23 d 才观察到星耳石出现^[9], 同为溪流鱼类的稀有鮡鲫(*Diplostomum niedashui*)在水温 25 时, 孵出后 13~16 d 出现星耳石^[14]。叉尾斗鱼仔鱼在水温(26±0.5) 时, 孵出后 19 d 开始观察到星耳石, 一般多为个体较大的仔鱼星耳石出现较早, 这可能是个体较大者捕食能力强, 生长快, 食量大, 营养充足, 耳石沉积率快的原因^[15-16]。

叉尾斗鱼仔鱼在孵出后第 2 天形成第 1 条生长轮, 以后每日形成 1 轮, 即为日轮。这与唐鱼的生长轮沉积状况相似^[9]。观察不同采样时间的样本发现, 叉尾斗鱼仔鱼形成完整日轮的时间多为 16:00 到次日 8:00 之间, 但大多数在 16:00 之前就已经形成新的不完整的日轮。表明叉尾斗鱼仔鱼日轮的形成是全天候的过程。有学者认为日轮的生长和鱼类的生长率相关, 只有在非常高的生长速度时一天才可生长形成近一条日轮^[18-19]。同时, 解玉浩等^[20]在和股名称^[21]对鲮(*Aristichthys mobilis*)仔鱼耳石日轮的研究中发现, 饥饿可使其耳石日轮形成受阻, 因此不适宜用饥饿仔鱼的耳石日轮来判定其日龄。叉尾斗鱼和唐鱼等溪流小

型鱼类是否存在同样的现象, 这是下一步需要研究的内容。

由于生理和生态的变化或环境胁迫, 如鱼类生长节奏被打乱, 可能在耳石上形成标记轮^[19]。99%以上的叉尾斗鱼仔鱼耳石上都出现了孵化标记轮, 但只有 21.06%的仔鱼耳石上出现营养转换轮, 大大低于同为溪流小型鱼类的唐鱼仔鱼耳石出现营养转换轮的百分比(58.37%)^[9]。营养转换轮的出现, 可能是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, 也可能是鱼类在由内源性营养期向外源性营养期过度时遭遇饵料不足的瓶颈标志^[12,19]。本实验中叉尾斗鱼仔鱼出现营养转换标记轮的时间与卵黄囊完全被吸收和初次摄食时间吻合, 但出现的百分比远远低于唐鱼, 说明其在由内源性营养期向外源性营养期过度时将更为顺利, 这一现象对开口仔鱼的环境适应、种间竞争以及在其早期生活史上的意义有待于进一步的研究。

参考文献:

- [1] 潘炯华, 钟麟, 郑慈英, 等. 广东淡水鱼类志[M]. 广州: 广东科技出版社, 1991: 508-511.
- [2] 丁瑞华. 四川鱼类志[M]. 成都: 四川科学技术出版社, 1994: 532-536.
- [3] 谢增兰, 卢锦鑫, 郭延蜀, 等. 叉尾斗鱼繁殖行为的观察[J]. 动物学杂志, 2006, 41(5): 7-12.
- [4] Tomita G. Melanophore Reactions to light During the Early Stages of the Paradise fish, *Macropodus opercularis* [J]. Shanghai Sci Inst, 1936, 4(2): 237-264.
- [5] Myers G S. The two Chinese labyrinth fishes of Genus *Macropodus*[J]. Linnan Sic J, 1938, 11(3): 385-404.
- [6] Sterba G. Freshwater Fishes of the World[M]. London: Vista Books Longacress Ltd., 1963: 792-793.
- [7] 郑文彪. 叉尾斗鱼的胚胎和幼鱼发育的研究[J]. 动物学研究, 1984, 5(3): 261-269.
- [8] 李海燕, 香咏瑜. 叉尾斗鱼关睾虫(单殖亚纲)病的鳃组织病理学研究[J]. 中国水产科学, 2006, 13(5): 829-833.
- [9] 史方, 孙军, 林小涛, 等. 唐鱼仔鱼耳石的形态发育及日轮[J]. 动物学杂志, 2006, 41(4): 10-16.
- [10] 赵天, 刘建虎. 长江江津江段中华沙鳅耳石及年龄生长的

- 初步研究[J]. 淡水渔业, 2008, 38(5): 46–50.
- [11] 杨青瑞, 刘建虎, 吴强, 等. 三峡水库太湖新银鱼耳石日轮与生长的研究[J]. 淡水渔业, 2007, 37(3): 59–62.
- [12] 解玉浩. 鱼类耳石日轮[J]. 生物学通报, 1995, 30(11): 22–23.
- [13] 扬帆, 彭文辉. 南方鲇仔幼鱼耳石日轮的研究[J]. 西南农业大学学报, 2001, 23(40): 340–342.
- [14] 孙军, 姚卫建, 聂品. 倪氏复口吸虫在稀有鮡体内的移行及其耳石微结构的影响[J]. 水生生物学报, 2003, 27(4): 333–338.
- [15] Tzeng WN, Yu S Y. Daily growth increments in otoliths of milkfish *Chanos chanas*(F.)larvae[J]. J Fish Biol, 1988, 32(4): 495–504.
- [16] Radtke L R, Kinzie III A, Folsom D S. Age at recruitment of Hawaiian freshwater gobies[J]. Environm Biol Fish, 1988, 23(3): 205–213.
- [17] Bestgen K R, Bundy J M. Environmental factors affect daily increment deposition and otolith growth in young Colorado squawfish [J]. Trans Am Fish Soc, 1998, 127: 105–117.
- [18] Geffen A J. Otolith ring deposition in relation to growth rate in the herring(*Clupea harengus*)and tuibot(*Scophthalmus maximus*)larvae [J]. Mar Biol, 1982, 71: 317–326.
- [19] 董双林, 王志余. 国外对鱼类耳石日轮生长的研究[J]. 大连水产学院院报, 1988, 11(3-4): 53–61.
- [20] 解玉浩, 李勃. 饥饿和光照对鱖鱼仔鱼耳石沉积和日轮形成的影响[J]. 大连水产学院院报, 1999, 14(3): 1–6.
- [21] 殷名称. 鱼类生态学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995: 11–170.

Otolith ontogeny and increment formation of larval *Macropodus opercularis*

ZHAO Tian, CHEN Guozhu, LIN Xiaotao

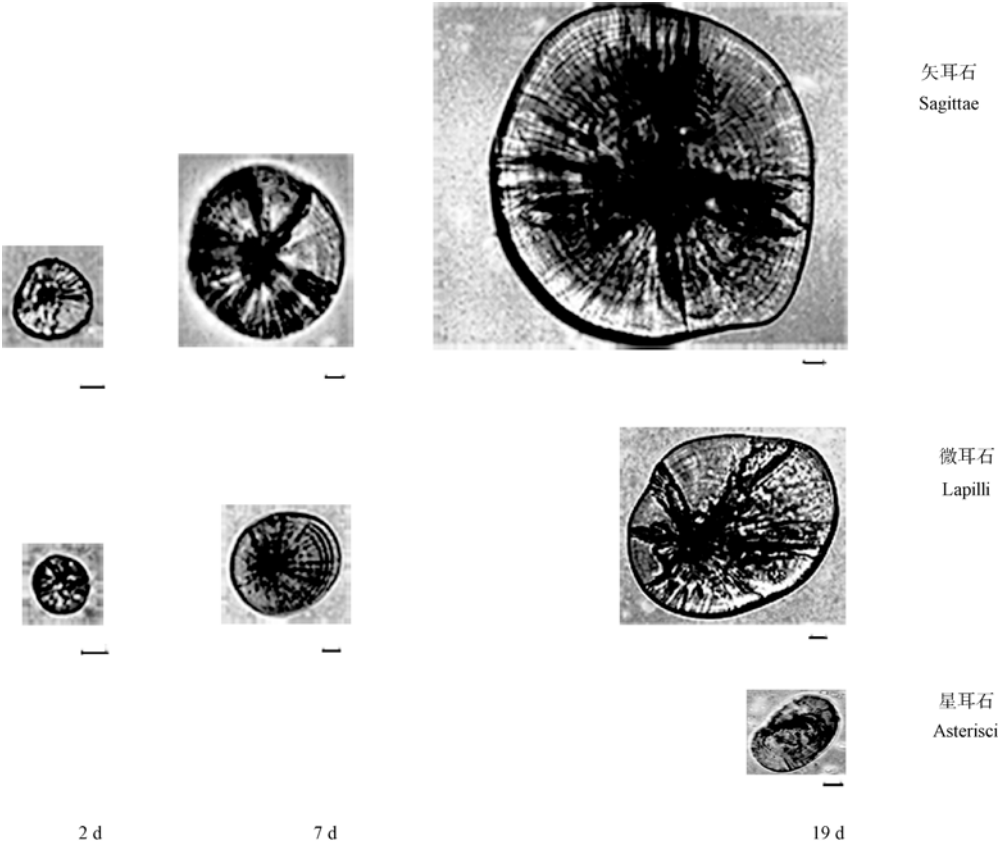
(Institute of Hydrobiology, Jinan University, Engineering Research Center of Tropical and Subtropical Aquatic Ecological Engineering, Ministry of Education, Guangzhou 510632, China)

Abstract: Morphological development and daily growth increments of the otolith of *Macropodus opercularis* larvae were observed day by day in rearing condition. Results show that lapillus and sagitta emerge in late embryo stage. Lapillus first looked like a disk when the larvae began to hatch and then developed into a similar ellipse shape with the upgrowth of larvae. Nineteen days after hatching, lapillus showed a shape of rhombus with two pointed ends and a convex middle part. Sagitta was first showing a disk shape and then an elliptic one and after 19 days growth, which looked like a peach. Asteriscus did not appear until 19 days after the hatching of larvae and it was like an elliptic shape with a concave middle part. The equations of long radius of lapillus ($D_L, \mu\text{m}$) and sagittae ($D_S, \mu\text{m}$) between L_T (mm) of larvae are as followings: $D_L=23.565 L_T-27.926 (R^2=0.9496, P<0.001, n=306)$; $D_S=39.4 L_T-61.478 (R^2=0.9501, P<0.001, n=356)$. The first ring on the otolith of larvae formed on the second day after hatching and its number increased by one every day. The figure of rings on lapillus (L_I) and sagitta (S_I) had a linear relationship with the age of larvae (d). The equations are: $L_I=1.016 2 d-0.231 2 (R^2=0.994 2, P<0.001, n=179)$ and $S_I=1.003 4 d+0.054 5 (R^2=0.992 8, P<0.001, n=165)$. Asteriscus developed very late and the shape of sagittae changed largely in the late period of ontogeny. On the other hand, the lapillus of *Macropodus opercularis* larvae had a more stable shape and its rings had a good readability rings. So it is concluded that lapillus is more suitable for the identification of age of *Macropodus opercularis* larvae.[Journal of Fishery Sciences of China, 2010, 17(6): 1364–1370]

Key words: *Macropodus opercularis*; larvae; otoliths; morphology development; daily growth increments

Corresponding author: LIN Xiaotao. E-mail: tlinxt@jnu.edu.cn

赵天等: 叉尾斗鱼仔鱼耳石形态发育与日轮形成特征
ZHAO Tian, et al.: Otolith ontogeny and increment formation of larval *Macropodus opercularis*

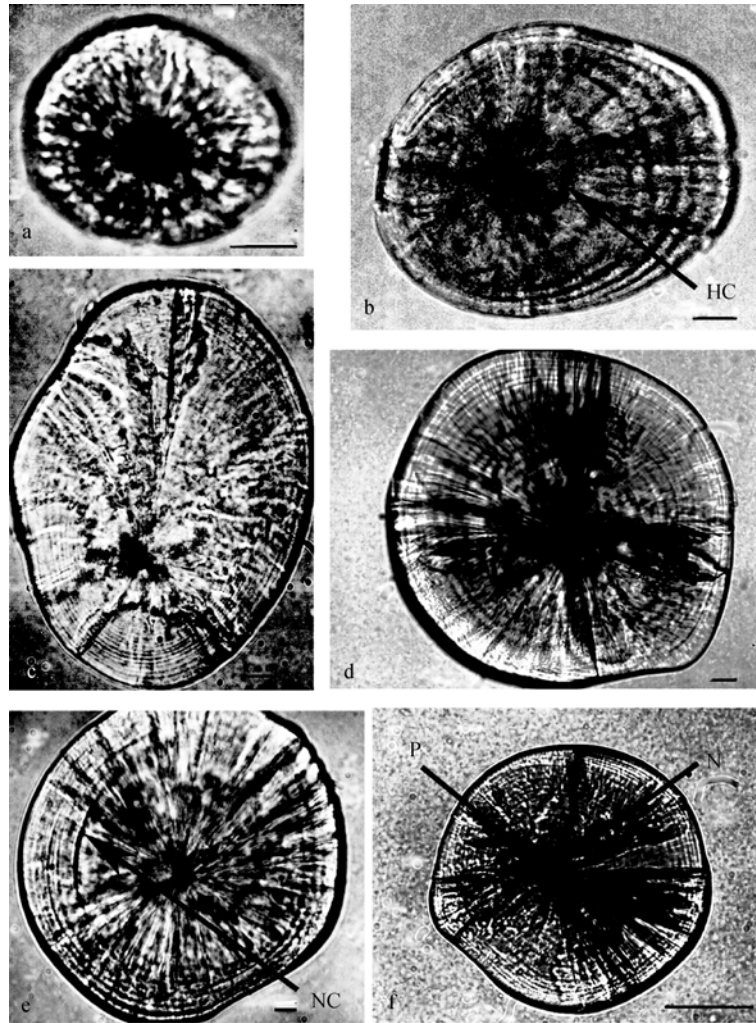


图版 I 叉尾斗鱼仔鱼耳石的形态发育
标尺=10 µm

Plate I Otoliths ontogeny in larval *Macropodus opercularis*
Scale bar =10 µm

赵天等: 叉尾斗鱼仔鱼耳石形态发育与日轮形成特征

ZHAO Tian, et al.: Otolith ontogeny and increment formation of larval *Macropodus opercularis*



图版 II 叉尾斗鱼仔鱼的耳石微结构

a. 3 日龄 16 : 00 取样的微耳石; b . 8 日龄仔鱼微耳石; c . 19 日龄仔鱼微耳石;
d-e . 13 日龄仔鱼矢耳石; f. 19 日龄仔鱼矢耳石.

HC: 孵化标记轮; N: 中心核; NC: 营养转换标记轮; P: 原基. 标尺=10 μm

Plate Otoliths microstructural in larval *Macropodus opercularis*

a . Lapillus of 3 days catched at 16 : 00; b . Lapillus of 8 days old larva; c . Lapillus of 19 days old larva;
d-e . Sagittae of 13 days old larva; f . Sagittae of 19 days old larva.

HC: Hatching check; N: Nucleus; NC: Nutrition altering check; P: Primordium. Scale bar = 10 μm