

DOI: 10.12264/JFSC2023-0114

滇池食蚊鱼胚胎发育特点及与母体的营养联系

任司琪^{1, 2, 3}, 陈国柱^{1, 2, 3}

1. 西南林业大学云南省高原湿地保护修复与生态服务重点实验室, 云南 昆明 650224;
2. 西南林业大学云南省滇池湿地生态系统国家定位观测研究站, 云南 昆明 650224;
3. 西南林业大学国家高原湿地研究中心/湿地学院, 云南 昆明 650224

摘要: 卵胎生是鱼类为适应特定环境进化出的一种生殖策略。食蚊鱼(*Gambusia affinis*)是典型的卵胎生鱼类, 厘清其卵胎生特征是否在入侵云贵高原过程中发生适应性演化的问题, 有助于深入了解其种群快速扩散机制。本研究用常规解剖观察法、称重法, 针对滇池种群胚胎发育特点、干湿重变化及与母体营养联系问题开展研究。结果显示, 滇池食蚊鱼胚胎发育过程依赖于卵黄营养供给, 在产出前, 卵黄仅微量残余, 身体发育完善, 基本保持了物种固有的卵胎生特点。胚胎湿重在胚胎发育过程中显著增加, 但同时干重损失也十分明显(30.4%), 营养指数(MI)为 0.70, 提示母体对胚胎没有受精后的特定营养供给, 支持食蚊鱼是严格意义上的卵磷脂营养型(卵胎生)鱼类观点。其胚胎(仔鱼)出现小型化趋势, 胚胎湿重、干重及初生体长等关键生态适应性性状明显低于已研究的其他低地种群, 表现出对高原环境的适应性响应。这种响应是否有助于其向更高海拔的高原环境扩散值得进一步深入研究。

关键词: 食蚊鱼; 卵胎生; 胚胎; 发育; 营养联系

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2023)07-0831-10

卵胎生是鱼类为适应特定的环境进化出的一种生殖策略, 在产自云南罗平的光泽肋鱗鱼(*Peltopleurus nitidus*)化石中观察到, 在距今 2.44 亿年前其就已具有适应于卵胎生的生殖结构^[1]。受益于卵胎生生殖方式, 食蚊鱼(*Gambusia affinis*)已成为现今世界上分布最为广泛的人侵性小型淡水鱼类^[2-3], 是鱼类人侵生态学的代表性物种。

卵胎生生殖方式一般以体内受精、受精卵在体内(卵巢)发育以及产出仔鱼为主要特征^[4]。因其特定的生态适应性与进化意义一直受到研究者的高度关注。在对花鱗科(Poeciliidae) 132 种鱼类的卵胎生现象分析中, 绝大多数物种出现胚胎干重随发育阶段进展而下降现象, 表明卵胎生胚胎具有相对于母体独立的营养(卵黄)供应^[5]。进一步分

析显示, 花鱗科物种的母体营养供应于胚胎的模式存在连续性^[6], 演化出胚胎独立营养、兼性营养, 乃至类似于胎盘营养等多种卵胎生胚胎供养方式。这被认为是母性投资策略^[7]演化的典型例子, 显示其科内物种适应辐射过程中的广泛适应性。作为典型人侵种, 食蚊鱼进入了许多大尺度的不同生境。其科内物种、属内物种间已出现卵胎生营养方式的多样性演化, 其种内不同人侵种群间是否在快速适应过程中也产生了卵胎生营养方式多样化的演变, 以支持其广泛人侵性? 这个问题值得探讨。选取典型物种开展探索以回答该科学问题, 在进化生态学及人侵生态学方面均具有重要意义。

食蚊鱼属鱗形目(Cyprinodontiformes)、花鱗科(Poeciliidae)、食蚊鱼属物种。1920s 经上海引

收稿日期: 2023-05-09; 修订日期: 2023-06-12.

基金项目: 国家自然科学基金地区基金项目(32060315); 云南省高原湿地保护修复与生态服务重点实验室开放基金项目(202105AG070002).

作者简介: 任司琪(1998-), 女, 硕士研究生, 研究方向为鱼类人侵生态学研究. E-mail: 18777622272@163.com

通信作者: 陈国柱, 副研究员, 研究方向为鱼类人侵生态学研究. E-mail: chenguoizu79@163.com

入中国^[8], 1960s 广泛进入云贵高原, 当前最高分布海拔已达 2690 m 的泸沽湖^[9]。它在滇池取代了中华青鳉(*Oryzias sinensis*)成为湖滨带常见表层鱼类。滇池特殊生境孕育了 10 种特有鱼类, 食蚊鱼在滇池的适应演化是值得关注的重要问题。研究者很早就发现, 母体所经历的环境确实影响到胚胎, 进而对仔鱼的生态适应性产生明显影响。例如, 越冬后食蚊鱼产下的初春第一批仔鱼具有最高的生存适合度(营养条件最好)^[10-11]。笔者在野外采集的仔鱼样品中发现, 春季仔鱼体高/体长值显著高于秋季仔鱼(未发表资料)。另有研究发现食蚊鱼初产仔鱼受母体效应非线性影响^[12]。在尚未厘清的母体与胚胎营养物质联系问题上, 滇池种群在适应性演化中是有特殊表现, 亦或是仍维持固有的特征? 这个问题尚未得到解答。

本研究通过对滇池食蚊鱼胚胎形态发育的观察, 对胚胎干重、湿重、含水量和母体肝指数等指标在发育进程中的一系列变化进行测定, 探讨其在滇池流域的胚胎发育、增重及与母体营养联系的特点, 以揭示滇池种群卵胎生特征及其演化表现。阐明该问题, 对深入分析食蚊鱼在云贵高原水域的快速扩散机制与适应性进化有重要意义。

1 材料与方法

1.1 研究区域

研究地点位于滇池。滇池位于云南省昆明市西南部, 水面面积约 300 km², 属于亚热带高原季风气候。食蚊鱼采样点分别位于滇池南岸东大河湿地(24°40'54.52"N, 102°37'58.65"E, 海拔 1889 m)、东岸牛恋乡湿地(24°41'42.57"N, 102°41'27.47"E, 海拔 1892 m)、东岸白鱼河湿地(24°43'51.51"N, 102°41'30.19"E, 海拔 1892 m)以及北岸新河湿地(24°56'4.21"N, 102°42'49.18"E, 海拔 1888 m)等。

1.2 样品采集

2021 年 8 月 7 日、21—22 日, 利用手抄网(网口直径 40 cm, 网孔 0.15 mm)在上述湿地区域采集食蚊鱼。样品现场以 10% 的福尔马林溶液保存待检。

1.3 样品分析

胚胎发育特征: 观察样品为多地采集的综合样本, 共计有效雌鱼 49 尾。每个胚胎发育时期取

4~5 尾雌鱼进行观察。每时期观察胚胎数量不少于 20 个。在体视解剖镜下解剖观察, 并用凤凰(Phenix) MC-D500U 摄像头进行拍照。后使用 Phmias 2015 软件在拍摄的照片中标定并测量胚胎的粒径、全长、体长、眼径、眼间距、眼面积、眼周长、口裂、口宽、背鳍、胸鳍和臀鳍等参数。使用 Photoshop 2020 图像处理软件制作图版。

胚胎湿重和干重的测定。分别选取孕有不同发育阶段胚胎的雌鱼各 10 尾。解剖取出胚胎, 使用十万分之一电子天平对每个样本的单个卵子的湿重进行测量。其后胚胎在室内自然风干至恒重, 测量其干重。样品使用: 滇池南岸东大河湿地 43 尾; 东岸牛恋乡湿地 12 尾; 东岸白鱼河湿地 44 尾; 北岸新河湿地 21 尾, 共 120 尾。

1.4 数据统计

所有数据的统计分析用 SPSS 统计软件包完成。描述性统计值用平均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示。当 $P < 0.05$ 时认为差异显著。用线性回归、单因素方差分析(one-way ANOVA)、相关分析(correlation analysis)等方法分析对应数据。线性回归中 R^2 代表相关系数。图表制作在 Excel 2019 中完成。

1.4.1 营养指数(matrotrophy index, MI) 营养指数(MI)被定义为出生时仔鱼干重与受精时卵子的干重比值^[5]。本研究计算方法:

营养指数(MI)=产出前期胚胎平均干重/受精初期胚胎平均干重。当 $MI > 1$ 时, 表示该物种为母体营养型, 母体提供大量营养; 当 $0.6 < MI < 1$ 时, 表示该物种为严格的卵磷脂营养型, 母体没有贡献^[5]。

1.4.2 肝重指数(hepatosomatic index, HSI)

$$HSI (\%) = \text{肝重(g)} \times 100\% / \text{体重(g)}$$

1.4.3 含水量

$$\text{含水量(mg)} = \text{平均湿重(mg)} - \text{平均干重(mg)}$$

1.4.4 变异系数(coefficient of variation, CV)

$$\text{变异系数(\%)} = \text{标准差} \times 100\% / \text{均值}$$

2 结果与分析

2.1 食蚊鱼胚胎发育特点

根据标志性形态特征, 将滇池食蚊鱼胚胎发育划定 14 个发育时期。分别为未成熟期、大卵期、

胚盘期、脊索期、眼囊期、眼晶体期、眼灰期、眼黑初期、眼黑期、眼黑中期、眼黑后期、卵黄囊期、产前期以及在产期等。划分标准及特征描述详如表 1 及图 1 所示。未成熟期与在产期是判断胚胎发育起止的标志, 无固定、可划分形态特征, 本研究仅定性描述而未作测定。

食蚊鱼胚胎发育以头部(眼、口裂)形态发育演变为主线, 躯干、鳍的发育随之逐步形成、完成。卵黄在此过程中被逐步充分吸收(图 2), 至产前期仅剩起始湿重的 0.8%, 干重已无法在本实验条件

下测出。在产出前, 除腹鳍仍为鳍膜状态外, 已形成完善的仔鱼形态(图 1)。

在发育过程中, 可量形态逐步出现(表 2)。与运动、摄食相关的器官发育随体长增长而多呈线性增长。例如, 口宽: 口宽(mm)=0.0844 体长-0.0325 ($R^2=0.9869$); 口裂: 口裂(mm)=0.1111 体长-0.239 ($R^2=0.962$) 等; 而与感觉相关的器官, 如眼等则呈二次函数形式增长, 如眼径: 眼径=-0.0231 体长²+0.3155 体长-0.2832 ($R^2=0.9966$); 眼面积: 眼面积(mm²)=-0.0114 体长²+0.1955 体长-0.358 ($R^2=0.993$)。

表 1 食蚊鱼胚胎发育分期及其形态特征

Tab. 1 Staging of embryonic development and morphological characteristics of *Gambusia affinis*

发育时期 developing stage	发育特征 developmental characteristic	图序 number of plate
未成熟期 immature stage	小型圆状且呈不透明白色, 分布在卵巢内	-
大卵期 large egg stage	金黄色油滴状, 表面被大小和分布不均匀的油球覆盖, 粒径均值为 1.82 mm	图 2a
胚盘期 blastoderm stage	卵黄表面有盘状胚层形成, 粒径均值为 1.84 mm	图 2b
脊索期 notochord stage	线状结构的胚体延长, 全长均值为 1.68 mm, 动物极下油滴聚集, 胚体快速分化外包卵黄, 大部分或完全覆盖一半的卵黄	图 2c
眼囊期 optic vesicle stage	视网膜没有或有少量黑色素沉淀, 视杯和耳泡存在, 里面有透镜, 心包囊形成, 眼径均值为 0.34 mm, 眼间距均值为 0.16 mm, 眼面积均值为 0.06 mm ² , 眼周长均值为 0.89 mm	图 2d
眼晶体期 eye lens stage	视网膜黑色素沉淀明显, 晶状体明显, 眼睛大部分埋在卵黄里, 头部较大且黑色素逐渐积累, 躯体有少量黑色素沉淀, 眼径均值为 0.46 mm, 眼间距 0.27 mm, 眼面积均值为 0.11 mm ² , 眼周长均值为 1.22 mm	图 2e
眼灰期 gray eye stage	瞳孔呈灰色且逐渐加深, 尾鳍芽出现, 眼部部分埋在卵黄里, 头部黑色素沉淀明显, 背中线和背侧线出现且背侧有少量沉淀, 眼面积快速扩大, 眼径 0.59 mm, 眼面积均值 0.22 mm ² , 眼周长 1.66 mm	图 2f
眼黑初期 start of the dark eye stage	瞳孔颜色逐渐加深呈黑色, 背中线和侧线明显且中线两侧有黑色素沉淀, 少部分眼部及嘴埋在卵黄里, 头部黑色素密集, 头部较大, 胸鳍原基、背鳍原基和臀鳍原基出现, 尾鳍出现黑色素点, 卵黄较身体大, 口宽均值为 0.34 mm, 口裂均值为 0.24 mm, 背鳍长均值为 0.51 mm, 胸鳍长均值为 0.60 mm, 臀鳍长均值为 0.59 mm	图 2g
眼黑期 dark eye stage	吻部快速发育且开始前凸, 口宽均值为 0.43 mm, 口裂均值为 0.38 mm, 胸鳍和臀鳍开始形成鳍条, 尾鳍鳍条明显, 瞳孔完全转变为黑色, 头部与躯体比例协调, 卵黄较身体稍大。背侧黑色素沿背中线沉淀	图 2h
眼黑中期 dark eye middle stage	尾鳍碰到头部, 侧卧, 卵黄囊逐渐被吸收, 卵黄明显变小, 眼部和吻部发育基本完全, 吻前凸明显, 背鳍开始形成鳍条, 背侧黑色素点增多, 胸鳍和臀鳍鳍条明显且出现黑色素点, 眼径基本达到稳定, 眼径均值为 0.78 mm, 眼面积均值为 0.42 mm ² , 口宽均值为 0.47 mm, 口裂均值为 0.48 mm	图 2i
眼黑后期 dark eye late stage	尾鳍包裹吻端, 腹部卵黄未被吸收, 卵黄进一步变小, 背鳍鳍条明显且出现黑色素点, 头部和躯体黑色素密集, 粒径均值为 2.80 mm, 全长均值为 6.61 mm, 体长均值为 5.27 mm	图 2j
卵黄囊期 yolk sac stage	腹部卵黄被吸收完全, 卵黄明显变小且不规则, 鳃盖明显, 颈带断裂, 背鳍、胸鳍和臀鳍明显增长, 胚体转为侧卧, 粒径、眼间距、胸鳍和尾鳍达到最大, 粒径均值为 3.10 mm, 眼间距均值为 0.45 mm, 背鳍均值为 0.70 mm, 胸鳍均值为 0.78 mm, 臀鳍均值为 0.73 mm	图 2k

(待续 to be continued)

(续表1 Tab. 1 continued)

发育时期 developing stage	发育特征 developmental characteristic	图序 number of plate
产前期 prenatal stage	卵黄被吸收至无色(肉眼观察)甚至消失, 颈带消失, 鳞片完整, 尾鳍包裹吻端, 全长、体长、眼径、眼面积、眼周长、口宽、口裂、背鳍和臀鳍达到最大, 全长均值为7.07 mm, 体长均值为5.65 mm, 眼径均值为0.81 mm, 眼面积均值为0.47 mm ² , 眼周长均值为2.43 mm, 口宽均值为0.57 mm, 口裂均值为0.52 mm, 背鳍均值为0.70 mm, 臀鳍均值为0.76 mm。残余卵黄湿重仅占起始湿重的0.8%	图21
在产期 during childbirth stage	除腹鳍仅为圆芽膜状鳍褶外, 胚胎形态发育已基本完成, 残余卵黄基本内收至腹腔, 腹线初步弥合	-

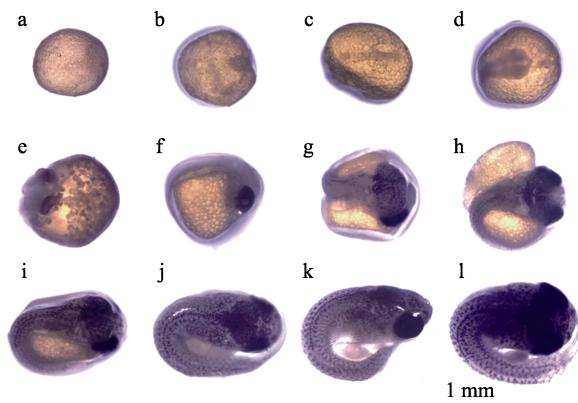


图1 食蚊鱼胚胎发育阶段过程图

a: 大卵期; b: 胚盘期; c: 脊索期; d: 眼囊期;
e: 眼晶体期; f: 眼灰期; g: 眼黑初期; h: 眼黑期;
i: 眼黑中期; j: 眼黑后期; k: 卵黄囊期; l: 产前期.
Fig. 1 Diagram of embryonic development of *Gambusia affinis*
a: large egg stage; b: blastoderm stage; c: notochord stage;
d: optic vesicle stage; e: eye lens stage;
f: gray eyes stage; g: start of the dark eye stage; h: dark eye stage;
i: dark eye middle stage; g: dark eye late stage;
k: yolk sac stage; l: prenatal stage.

2.2 食蚊鱼胚胎增重过程

在12个胚胎发育时期中, 食蚊鱼胚胎增重分析共测定了1824个有效胚胎。

胚胎湿重: 随胚胎发育进程持续增加, 由2.5 mg增加至5.2 mg。在前5个时期中, 胚胎湿重保持稳定; 进入眼灰期湿重开始出现显著上升; 其后各阶段湿重增加明显; 进入眼黑期后, 胚胎湿重增加不再明显, 已趋于稳定。产出前阶段, 湿重超过5 mg(图3)。

胚胎干重: 随胚胎的不断发育而逐渐减少。在胚盘期达到最大值为1.38 mg, 持续减重到产前期后达到最小值为0.96 mg, 干重损失率达30.4% (图3)。

相关分析显示, 发育阶段进程与湿重增长显

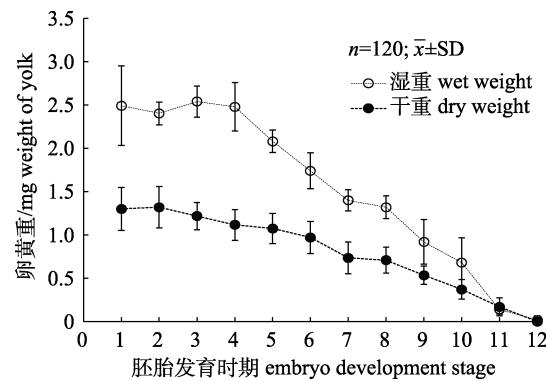


图2 食蚊鱼胚胎发育中卵黄干重和湿重变化

1: 大卵期; 2: 胚盘期; 3: 脊索期; 4: 眼囊期; 5: 眼晶体期;
6: 眼灰期; 7: 眼黑初期; 8: 眼黑期; 9: 眼黑中期;
10: 眼黑后期; 11: 卵黄囊期; 12: 产前期.

Fig. 2 Changes in yolk dry weight and wet weight during embryonic development of *Gambusia affinis*
1: large egg stage; 2: blastoderm stage; 3: notochord stage;
4: optic vesicle stage; 5: eye lens stage; 6: gray eye stage;
7: start of the dark eye stage; 8: dark eye stage; 9: dark eye middle stage; 10: dark eye late stage; 11: yolk sac stage; 12:
prenatal stage.

著正相关($R=0.803, P<0.05$); 而与干重增长显著负相关($R=-0.369, P<0.05$)。

雌鱼肝指数(hepatosomatic index, HSI)值在胚胎的大卵期达到峰值为2.1%, 持续下降到眼囊期为1.5%; 然后在眼晶体期至产出前期维持在1.1%~1.3% (图4), 肝指数不再出现显著性变化。

2.3 食蚊鱼胚胎发育变异系数

食蚊鱼胚胎湿重变异系数在胚胎发育胚盘期达到最大值为25.03%, 在卵黄囊期达到最小值为10.73% (图5)。干重变异系数在产前期达到最小值为13.38%, 在卵黄囊期达到最大值为67.59%。在眼晶体期和卵黄囊期干重的相对变异程度明显比湿重大。

表 2 食蚊鱼胚胎可量形态性状测量
Tab. 2 Measurement of morphological traits of *Gambusia affinis* embryos

指标 item	1 (n=20)	2 (n=25)	3 (n=27)	4 (n=24)	5 (n=20)	6 (n=22)	7 (n=21)	8 (n=22)	9 (n=26)	10 (n=27)	11 (n=24)	12 (n=24)	$\bar{x} \pm SD$
粒径/mm particle size	1.82±0.12 (1.68~2.08)	1.84±0.13 (1.60~2.20)	1.82±0.14 (1.58~2.13)	2.05±0.13 (1.81~2.29)	2.14±0.10 (1.93~2.34)	2.21±0.15 (1.95~2.42)	2.33±0.20 (1.88~2.64)	2.45±0.15 (2.08~2.71)	2.69±0.21 (2.23~3.03)	2.80±0.25 (2.38~3.26)	3.10±0.23 (2.38~3.54)	3.00±0.28 (2.64~3.73)	
全长/mm full length	-	-	1.68±0.43 (0.93~2.51)	2.42±0.50 (1.35~3.29)	2.99±0.57 (1.55~3.99)	3.88±0.42 (3.38~4.72)	4.43±0.74 (2.83~5.86)	5.23±0.56 (4.02~6.01)	6.18±0.64 (5.01~7.56)	6.61±0.52 (5.50~7.72)	6.96±0.43 (5.94~7.60)	7.07±0.53 (6.35~8.44)	
体长/mm body length	-	-	-	-	-	3.68±0.42 (3.17~4.45)	4.22±0.43 (3.55~5.13)	4.50±0.43 (3.46~5.13)	5.07±0.37 (4.16~5.78)	5.27±0.29 (4.57~5.70)	5.42±0.35 (4.60~5.98)	5.65±0.51 (5.07~6.97)	
眼径/mm eye diameter	-	-	-	0.34±0.08 (0.17~0.47)	0.46±0.05 (0.39~0.56)	0.59±0.05 (0.48~0.71)	0.66±0.11 (0.35~0.81)	0.74±0.04 (0.66~0.81)	0.78±0.04 (0.67~0.87)	0.78±0.04 (0.70~0.86)	0.78±0.03 (0.70~0.85)	0.81±0.08 (0.67~1.00)	
眼间距/mm interorbital width	-	-	-	0.16±0.36 (0.09~0.22)	0.27±0.08 (0.13~0.45)	0.29±0.07 (0.22~0.47)	0.25±0.07 (0.17~0.46)	0.24±0.04 (0.19~0.36)	0.33±0.06 (0.23~0.45)	0.42±0.06 (0.32~0.52)	0.45±0.05 (0.36~0.56)	0.43±0.06 (0.29~0.50)	
眼面积/mm ² eye area	-	-	-	0.06±0.03 (0.03~0.13)	0.11±0.02 (0.07~0.15)	0.22±0.05 (0.12~0.32)	0.29±0.08 (0.09~0.38)	0.36±0.05 (0.30~0.45)	0.42±0.04 (0.36~0.51)	0.43±0.04 (0.33~0.50)	0.43±0.04 (0.36~0.50)	0.47±0.10 (0.36~0.71)	
眼周长/mm eye circumference	-	-	-	0.89±0.20 (0.59~1.31)	1.22±0.11 (1.03~1.38)	1.66±0.18 (1.26~2.01)	1.88±0.30 (1.09~2.20)	2.14±0.14 (1.94~2.40)	2.31±0.11 (2.15~2.55)	2.33±0.12 (2.05~2.54)	2.33±0.10 (2.13~2.53)	2.43±0.25 (2.13~3.01)	
口宽/mm mouth width	-	-	-	-	0.29±0.04 (0.24~0.38)	0.34±0.06 (0.26~0.54)	0.43±0.06 (0.27~0.55)	0.47±0.04 (0.36~0.53)	0.52±0.04 (0.42~0.59)	0.56±0.04 (0.50~0.69)	0.57±0.04 (0.50~0.64)		
口裂/mm cleft	-	-	-	-	0.17±0.04 (0.08~0.30)	0.24±0.06 (0.18~0.38)	0.38±0.06 (0.23~0.49)	0.48±0.04 (0.42~0.59)	0.51±0.04 (0.41~0.57)	0.51±0.04 (0.36~0.68)	0.52±0.04 (0.47~0.57)		
背鳍/mm dorsal fin length	-	-	-	-	-	0.51±0.04 (0.49~0.61)	0.54±0.05 (0.44~0.62)	0.60±0.09 (0.47~0.81)	0.64±0.07 (0.51~0.81)	0.70±0.12 (0.51~0.97)	0.70±0.08 (0.58~0.94)		
胸鳍/mm pectoral fins length	-	-	-	-	-	0.60±0.08 (0.49~0.69)	0.67±0.09 (0.45~0.75)	0.66±0.09 (0.50~0.81)	0.67±0.11 (0.53~0.98)	0.78±0.09 (0.64~0.94)	0.74±0.07 (0.66~0.92)		
臀鳍/mm anal fin length	-	-	-	-	-	0.59±0.06 (0.52~0.70)	0.65±0.06 (0.52~0.74)	0.63±0.08 (0.49~0.80)	0.65±0.09 (0.50~0.78)	0.73±0.11 (0.48~0.89)	0.76±0.10 (0.57~0.98)		

注: 表中 n 代表样本个数; 1: 大卵期; 2: 卵盘期; 3: 脊索期; 4: 眼囊期; 5: 眼晶体期; 6: 眼灰期; 7: 眼初黑期; 8: 眼黑中期; 9: 眼黑后期; 10: 眼黑晚期; 11: 卵黄囊期; 12: 产前期。
Note: n in the table represents the number of samples. 1: large egg stage; 2: blastoderm stage; 3: notochord stage; 4: optic vesicle stage; 5: eye lens stage; 6: gray eye stage; 7: start of the dark stage eye; 8: dark eye stage; 9: dark eye middle stage; 10: dark eye late stage; 11: yolk sac stage; 12: prenatal stage.

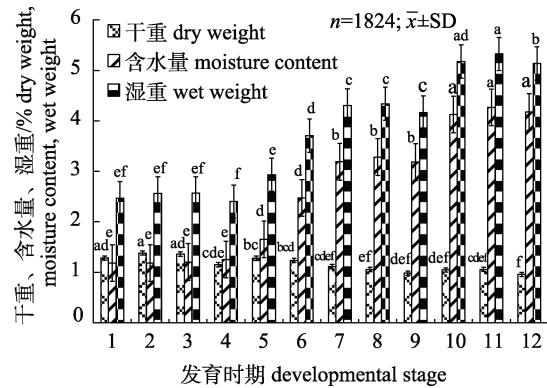


图3 食蚊鱼胚胎不同发育阶段的干重、含水量、湿重
n代表样本个数；1：大卵期；2：胚盘期；3：脊索期；
4：眼囊期；5：眼晶体期；6：眼灰期；7：眼黑初期；
8：眼黑期；9：眼黑中期；10：眼黑后期；11：卵黄囊期；
12：产前期。图中同系列数值标注字母不相同表示
两者间差异显著($P<0.05$)。

Fig. 3 Wet weight, dry weight and water content of *Gambusia affinis* embryos at different developmental stages
n represents the number of samples.
1: large egg stage; 2: blastoderm stage; 3: notochord stage;
4: optic vesicle stage; 5: eye lens stage; 6: gray eyes stage;
7: start of the dark stage eye; 8: dark eye stage; 9: dark eye
middle stage; 10: dark eye late stage; 11: yolk sac stage;
12: prenatal stage. The difference in numerical notation letters
for the same series in the figure indicates a significant difference
between the two value ($P<0.05$).

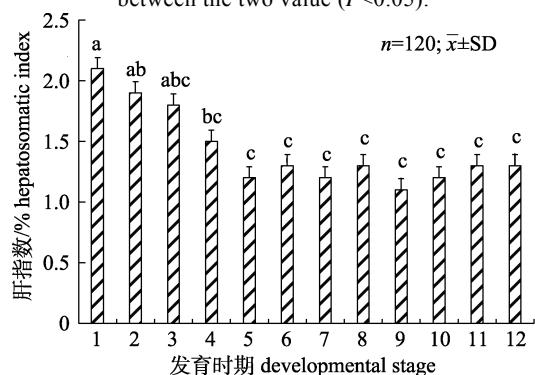


图4 食蚊鱼雌鱼胚胎不同发育阶段的肝指数(HSI)值
n代表样本个数；1：大卵期；2：胚盘期；3：脊索期；
4：眼囊期；5：眼晶体期；6：眼灰期；7：眼黑初期；8：眼黑期；
9：眼黑中期；10：眼黑后期；11：卵黄囊期；12：产前期。图中同
系列数值标注字母不相同表示两者间差异显著($P<0.05$)。

Fig. 4 The hepatosomatic index (HSI) of female *Gambusia affinis* at different embryo developmental stages
n represents the number of samples. 1: large egg stage; 2:
blastoderm stage; 3: notochord stage; 4: optic vesicle stage; 5:
eye lens stage; 6: gray eyes stage; 7: start of the dark eye stage;
8: dark eye stage; 9: dark eye middle stage; 10: dark eye late
stage; 11: yolk sac stage; 12: prenatal stage. The difference in
numerical notation letters for the same series in the figure
indicates a significant difference between the two
value ($P<0.05$)。

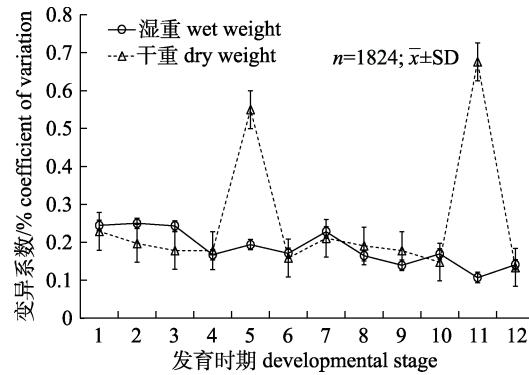


图5 食蚊鱼胚胎发育变异系数
Fig. 5 Coefficient of variation in embryonic development of *Gambusia affinis*

n代表样本个数；1：大卵期；2：胚盘期；3：脊索期；4：眼囊期；5：眼晶体期；6：眼灰期；7：眼黑初期；8：眼黑期；9：眼黑中期；10：眼黑后期；11：卵黄囊期；12：产前期。
n represents the number of samples. 1: large egg stage;
2: blastoderm stage; 3: notochord stage; 4: optic vesicle stage;
5: eye lens stage; 6: gray eyes stage; 7: start of the dark eye
stage; 8: dark eye stage; 9: dark eye middle stage; 10: dark
eye late stage; 11: yolk sac stage; 12: prenatal stage.

2.4 食蚊鱼胚胎发育营养指数

受精初期胚胎干重为1.38 mg，产前期为0.96 mg，胚胎发育营养指数为0.70，指示滇池食蚊鱼为严格的卵磷脂营养型卵胎生物种。

3 讨论

3.1 滇池食蚊鱼胚胎发育特征

滇池食蚊鱼胚胎发育时序与特征与已有的研究报道基本一致^[13-17]。但在部分鱼鳍发育序列的观察上存在较大差异。本研究观察显示，食蚊鱼胚胎尾鳍、背鳍和臀鳍出现的时间与Reznick^[16]的观察相比早一个时期。而胸鳍原基出现在Haynes^[13]研究对应的眼灰期和Reznick^[16]研究对应的眼黑期之间。这种差异产生的原因可能是由于食蚊鱼胚胎发育快慢受温度影响明显，不同气候环境种群间其胚胎发育持续时间跨度可达20~50 d^[18]，胚胎发育快慢可能导致对某些标志性结构出现时序观察出现差异。

食蚊鱼初产时期体长是一个重要的生态适应性指标^[10-11]。本研究观察显示，食蚊鱼仔鱼产前体长为(5.65±0.51) mm，与滇池内另一个封闭盆地种群野外初产仔鱼体长数据(5.44±0.22) mm基本一致^[19]，明显低于广州种群(6.74±0.27) mm^[22]

及桂林种群(7.14 ± 0.44) mm^[20], 湿重情况类似。滇池种群这一关键性性状的变化, 可能是对高原气候环境的一种适应。在高原环境常导致生物产生矮化及小型化的适应性演化^[21]。

滇池种群食蚊鱼胚胎发育过程中几乎耗尽卵黄, 这与广州种群对比有较大差异。广州种群初产仔鱼常能观察到肉眼可见的残存卵黄^[2]。这可能是在滇池较低的水温条件下, 更长的发育期导致胚胎对卵黄囊利用更为彻底。尽管如此, 在显微镜下仍可在滇池野外初产个体中发现极微量的卵黄残体^[19], 即它们仍存在混合营养期。滇池种群初产仔鱼身体发育相当完善, 除腹鳍外, 其余各鳍已基本完成发育; 相关摄食器官已发育完善, 具有摄食能力, 这一点与过去的观察基本一致^[2]。食蚊鱼这种发育特点与其早期摄食及其生存适应性密切相关。近期研究显示, 食蚊鱼仔鱼在极端低浮游动物丰度(2.95 ind/L)环境中仍能成功生存, 这可能是基于其优异的早期摄食与运动能力^[22]。

3.2 滇池食蚊鱼母体与胚胎营养联系特点

基于胚胎发育营养指数(0.70), 本研究结果支持滇池食蚊鱼为严格的卵磷脂营养型卵胎生物种, 即认为胚胎发育与母体没有营养联系。胚胎发育营养指数最先由 Pollux 等^[5]基于 132 种花鳉科鱼类卵胎生-胎生特点综合统计分析而提出, 具有较扎实研究基础支持。

尽管可能没有除卵黄外的营养物质供给, 卵磷脂营养物种的母体仍需为胚胎提供气体交换、渗透压调节、排泄和其他生理需求的支持^[23]。胚胎发育所需要的氧气通过扩散方式得到^[24], 卵胎生物种胚胎所需氧来自母体卵巢液中的溶氧, 并通过母体呼吸-卵巢液血氧循环过程得到维持^[23], 二氧化碳(CO₂)的排放则是一个逆向过程。一般而言, 胚胎氧气需求在胚胎发育至仔鱼时达到最大值^[25]。另一方面, 胚胎在逐步分解卵黄营养物质的同时合成新组织, 大量水分子参与该生理过程, 并固定在组织中, 引起胚胎含水量逐步增加, 从而引起胚胎显著的增重。胚胎发育中的水分很可能也源自母体, 但目前相应研究资料并不多。胚

胎心包囊和暂时出现的颈带具有营养、呼吸和排泄功能^[26], 由排泄造成的营养物损失都是以含氮废物的形式排出(氨、尿素或尿酸)^[27]。

本研究食蚊鱼胚胎干物质的损失, 可推测是胚胎发育过程中, 由呼吸作用、新陈代谢废物排出过程所引起。统计显示, 卵磷脂营养供养胚胎在发育过程中大约有 35% (25%~55%) 的干重损失^[23], 滇池食蚊鱼胚胎干重损失在此范围内。胚胎发育生理学研究显示, 鱼类胚胎卵黄干重的损失所损耗能量与物质主要用于新组织生成及维持已经形成的组织新陈代谢上, 其中卵黄代谢所损耗的能量大约占 5.0%, 而另 15.0% 损耗用于维持胚胎在发育期间的其他生理活动^[27]; 通过排泄造成的卵黄损失则在 2.5%~16.0% 之间^[28]。其余营养物质与能量用于支持组织生成。

除以传统的胚胎干物质变化测定方法分析卵胎生物种胚胎与母体营养联系外, 许多研究也尝试物质标记方法、离体培养方法进行探讨。例如, 以纳米荧光微球标记方法, 观察到物质在母体与胚胎之间出现传递, 认为在食蚊鱼(*G. affinis*)应该存在母体与胚胎营养联系^[4]。在以氟化亮氨酸标记的观察中, 也显示盖氏食蚊鱼(*G. geiseri*)与食蚊鱼母子间存在营养物质联系^[29]。在对近缘种的观察中, 发现剑尾鱼(*Xiphophorus helleri*)胚胎在体外培养时, 只有在培养基中加入葡萄糖和酪蛋白才培养成功, 由此推测其发育过程中可能需要母体提供营养支持^[23]; 在对孔雀鱼(*Poecilia reticulata*)的观察中有类似结论^[30]。在重金属污染研究中, 研究者观察到重金属在母体与胚胎之间出现传递^[31]。上述研究大多支持卵胎生鱼类(花鳉科)母体与胚胎间的确存在不易觉察的生理上(营养)的物质联系。对更多物种分析显示, 花鳉科物种的母体营养供应与胚胎的模式存在连续性^[6]。具体对于食蚊鱼属物种而言, 属内多个已观察物种也存在明显差异(表 3)。相比本研究的食蚊鱼物种(*G. affinis*), 胚胎是否受母体营养供应, 不同的研究结论存在差异(表 3)。由于方法与观点的差异, 目前该物种母体与胚胎营养联系问题尚存争议。

表3 食蚊鱼属鱼类母胚之间营养联系
Tab. 3 Nutritional connections between mother and embryos of mosquitofish

物种 species	生殖方式 reproductive method	研究结果 research result	文献 reference
盖氏食蚊鱼 <i>Gambusia geiseri</i>	卵胎生 ovoviparity	兼性营养	[29,32]
珍食蚊鱼 <i>Gambusia nobilis</i>	卵胎生 ovoviparity	兼性营养	[33]
饰带食蚊鱼 <i>Gambusia vittata</i>	卵胎生 ovoviparity	兼性营养	[34]
东部食蚊鱼 <i>Gambusia holbrooki</i>	卵胎生 ovoviparity	兼性营养	[33,35-36]
珍珠食蚊鱼 <i>Gambusia puncticulata</i>	卵胎生 ovoviparity	兼性营养	[37]
大弯食蚊鱼 <i>Gambusia gaigei</i>	卵胎生 ovoviparity	兼性营养	[38]
克拉克氏食蚊鱼 <i>Gambusia clarkhubbsi</i>	卵胎生 ovoviparity	兼性营养	[38]
食蚊鱼 <i>Gambusia affinis</i>	卵胎生 ovoviparity	卵磷脂营养	[16]
食蚊鱼 <i>Gambusia affinis</i>	卵胎生 ovoviparity	兼性营养	[4,31,38]

尽管如此，在该问题上滇池种群既显示与已有研究存在某些明显差异，也显示出其固有生物学特点的稳定性。本研究胚胎干重在大卵期为 1.28 mg，此后不断减少，至眼黑中期时为 0.99 mg，在产前期达到最小值为 0.96 mg，此时胚胎干重对比初期损失达 30.4%。Reznick^[16]的研究中，胚胎干重也随发育而减少，大卵期为最大值 2.3 mg，在眼灰期减少至最小值 1.5 mg，胚胎干重对比初期损失已超过 34%。该研究中的干重均值比本研究相应时期高，这可能是两种群生存环境差异所致，但两者胚胎干重变化规律一致。本研究在食蚊鱼肝指数动态分析中发现，其数值在胚胎胚体初步形成后就一直维持在低水平。由于肝脏是合成鱼类卵黄蛋白原的场所，其肝指数在胚胎发育期间维持在较低水平，也提示母体并没有为胚胎发育供养的生理性适应表现。Reznick^[16]的研究认为食蚊鱼(*G. affinis*)母体在受精后与胚胎没有营养联系，本研究支持其观点。

对比分析表明，食蚊鱼滇池种群胚胎湿重、干重和初生体长等关键生态适应性性状明显低于

已研究的其他低地种群，其卵胎生特点已出现适应性演化表现。这种演化是否有助于其对更高海拔高原环境扩散值得进一步深入研究。

参考文献：

- Xu G H, Ma X Y. A Middle Triassic stem-neopterygian fish from China sheds new light on the peltopleuriform phylogeny and internal fertilization[J]. Science Bulletin, 2016, 61(22): 1766-1774.
- Chen G Z, Lin X T, Xu, Z N, et al. The effect of starvation on feeding, growth and morphological development of the larvae of mosquitofish[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2008, 32(3): 314-321. [陈国柱, 林小涛, 许忠能, 等. 饥饿对食蚊鱼仔鱼摄食、生长和形态的影响[J]. 水生生物学报, 2008, 32(3): 314-321.]
- Krumholz L A. Reproduction in the western mosquitofish, *Gambusia affinis* (Baird & Girard), and its use in mosquito control[J]. Ecological Monographs, 1948, 18(1): 1-43.
- Demarais A, Oldis D. Matrotrophic transfer of fluorescent microspheres in poeciliid fishes[J]. Copeia, 2005, (3): 632-636.
- Pollux B J A, Pires M N, Banet A I, et al. Evolution of placentas in the fish family Poeciliidae: an empirical study of macroevolution[J]. Annual Review of Ecology Evolution and Systematics, 2009, 40(1): 271-289.
- Zandonà E, Kajin M, Buckup P A, et al. Mode of maternal provisioning in the fish genus *Phalloceros*: a variation on the theme of matrotrophy[J]. Biological Journal of the Linnean Society, 2021, 134(4): 867-878.
- Marsh-matthews E, Skierkowski P, Demarais A. Direct evidence for mother-to-embryo transfer of nutrients in the livebearing fish *Gambusia geiseri*[J]. Copeia, 2001, (1): 1-6.
- Pan C H, Su B Z, Zheng W B. Biological characteristics of *Gambusia affinis* and the prospects for its use for mosquito control[J]. Journal of South China Normal University: Natural Science Edition, 1980, (1): 117-138. [潘炯华, 苏炳之, 郑文彪. 食蚊鱼(*Gambusia affinis*)的生物学特性及其灭蚊利用的展望[J]. 华南师院学报: 自然科学版, 1980, (1): 117-138.]
- Peng X, Xu D Y, Dong Y Z, et al. The situation and protection measures of fish resources in the Lugu Lake[J]. Journal of Xichang College: Natural Science Edition, 2015, 29(2): 1-4. [彭徐, 徐大勇, 董艳珍, 等. 泸沽湖鱼类资源现状及保护对策[J]. 西昌学院学报: 自然科学版, 2015, 29(2): 1-4.]
- Meffe G K. Embryo size variation in mosquitofish: optimality vs plasticity in propagule size[J]. Copeia, 1987, (3): 762-768.
- Meffe G K. Offspring size variation in eastern mosquitofish

- (*Gambusia holbrooki*: Poeciliidae) from contrasting thermal environments[J]. Copeia, 1990, (1): 10-18.
- [12] O'Dea R E, Vega-Trejo R, Head M L, et al. Maternal effects on offspring size and number in mosquitofish, *Gambusia holbrooki*[J]. Ecology and evolution, 2015, 5(14): 2945-2955.
- [13] Haynes J L. Standardized classification of poeciliid development for life-history studies[J]. Copeia, 1995, (1): 147-154.
- [14] Koya Y, Itazu T, Inoue M. Annual reproductive cycle based on histological changes in the ovary of the female mosquitofish, *Gambusia affinis*, in central Japan[J]. Ichthyological Research, 1998, 45(3): 241-248.
- [15] Koya Y, Inoue M, Naruse T, et al. Dynamics of oocyte and embryonic development during ovarian cycle of the viviparous mosquitofish *Gambusia affinis*[J]. Fisheries Science, 2000, 66(1): 63-70.
- [16] Reznick D. "Grandfather Effects": The genetics of interpopulation differences in offspring size in the mosquito fish[J]. Evolution, 1981, 35(5): 941-953.
- [17] Riesch R, Schlupp I, Langerhans R B, et al. Shared and unique patterns of embryo development in extremophile poeciliids[J]. PLoS ONE, 2011, 6(11): e27377.
- [18] Pyke G H. A review of the biology of *Gambusia affinis* and *G. holbrooki*[J]. Review in Fish Biology and Fisheries, 2005, 15(4): 339-365.
- [19] Jin J J, Chen G Z, Xiao Q Z, et al. Food composition, feeding strategy and nutrition conditions of mosquitofish larvae and young fish during early stage of their population foundation[J]. Sichuan Journal of Zoology, 2020, 39(1): 23-33. [金锦锦, 陈国柱, 肖乔芝, 等. 入侵早期食蚊鱼仔幼鱼食物组成, 摄食策略及营养状况分析[J]. 四川动物, 2020, 39(1): 23-33.]
- [20] Yang T, Li X, Ma Y, et al. Toxic effects of single and combined exposures of OFL and SMX on the mosquitofish (*Gambusia affinis*) larvae[J]. Environmental Science & Technology, 2023, 46(4): 27-36. [杨涛, 黎昕, 马云, 等. OFL 和 SMX 单一及复合胁迫对食蚊鱼仔鱼的毒性影响[J]. 环境科学与技术, 2023, 46(4): 27-36.]
- [21] Clausen J, Keck D D, Hiese W M. Experimental studies on the nature of species. III. Environresponses of climatic races of Achillea[J]. Carnegie Institution Washington Publications, 1948, 581: 1-125.
- [22] Chen G Z. Food composition and feeding strategy of larval-juvenile mosquitofish in habitats with extremely low zooplankton abundance[J]. Sichuan Journal of Zoology, 2023, 42(3): 251-258. [陈国柱. 极低浮游动物丰度生境食蚊鱼仔稚鱼食物组成与摄食策略[J]. 四川动物, 2023, 42(3): 251-258.]
- [23] Kunz Y W. Developmental Biology of Teleost Fishes[M]. Dordrecht: Springer Netherlands, 2004: 456-493.
- [24] Yin M C. Fish Ecology[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1995, 136-139. [殷名称. 鱼类生态学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995, 136-139.]
- [25] Cui L J. Research progress on the effect of environmental factors on fish embryo development[J]. Shandong Fisheries, 2010, 27(11): 47-50. [崔立娇. 环境因子对鱼类胚胎发育影响的研究进展[J]. 齐鲁渔业, 2010, 27(11): 47-50.]
- [26] Tavolga W N. Development of the platyfish, *Platypoecilus maculatus*[J]. Zoologica, Scientific Contributions of the New York Zoological Society, 1947, 32(1-8): 1-15.
- [27] Rombough P. The Energetics of Embryonic Growth[J]. Respiratory Physiology & Neurobiology, 2011, 178(1): 22-29.
- [28] Warburton S J. Comparative Developmental Physiology: Contributions, Tools and trends[M]. Oxford University Press, 2006: 1-216.
- [29] Marsh-matthews E, Brooks M, Deaton R, et al. Effects of maternal and embryo characteristics on post-fertilization provisioning in fishes of the genus *Gambusia*[J]. Oecologia, 2005, 144(1): 12-24.
- [30] Liu L, Lee K Y. Studies of in vitro embryo culture of guppy (*Poecilia reticulata*)[J]. Development & Reproduction, 2014, 18(3): 139-143.
- [31] Cazan A M, Klerks P L. Evidence of maternal copper and cadmium transfer in two live-bearing fish species[J]. Ecotoxicology, 2014, 23(9): 1774-1783.
- [32] Lopez-rodriguez N C, Barros C M, Petry A C. A macroscopic classification of the embryonic development of the one-sided livebearer *Jenynsia multidentata* (Teleostei: Anablepidae)[J]. Neotropical Ichthyology, 2017, 15(4), e160170.
- [33] Scrimshaw N S. Embryonic development in poeciliid fishes[J]. The Biological Bulletin, 1945, 88(3): 233-246.
- [34] Weldele M L, Zuniga-vega J J, Johnson J B. Life history of *Gambusia vittata* (Pisces: Poeciliidae)[J]. The Southwestern Naturalist, 2014, 59(4): 449-460.
- [35] Edwards T M, Miller H D, Guillette L J. Water quality influences reproduction in female mosquitofish (*Gambusia holbrooki*) from eight florida Springs[J]. Environmental Health Perspectives, 2006, 114 (Suppl 1): 69-75.
- [36] Razmi K, Patil J G. Primordial germ cell development in the poeciliid, *Gambusia holbrooki*, reveals shared features between lecithotrophs and matrotrophs[J]. Frontiers in Cell and Developmental Biology, 2022, 10: e79498.
- [37] Abney M A, Rakocinski C F. Life-history variation in Caribbean gambusia, *Gambusia puncticulata puncticulata* (Poeciliidae) from the Cayman Islands, British West Indies

- [J]. Environmental Biology of Fishes, 2004, 70(1): 67-79.
- [38] Marsh-matthews E, Deaton R, Brooks M. Survey of matrotrophy in lecithotrophic poeciliids[C]. Viviparous Fishes II, the Proceedings of the III International Symposium on Viviparous Fishes. Homestead, FL: New Life Publications, 2010: 255-258.

The embryonic weight gain process and its connection with maternal nutrition of the ovoviviparous mosquitofish *Gambusia affinis*

REN Siqu^{1, 2, 3}, CHEN Guozhu^{1, 2, 3}

1. Yunnan Key Laboratory of Plateau Wetland Conservation, Restoration and Ecological Services, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China;
2. National Wetland Ecosystem Fixed Research Station of Dianchi, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China;
3. National Plateau Wetland Research Center, College of Wetlands, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China

Abstract: Ovoviparity is a reproductive strategy evolved by fish to adapt to specific environment. *Gambusia affinis* is a typical ovoviparity fish. Clarifying whether its ovoviparity characteristics have adaptive evolution in the process of invasion into the Yunnan-Guizhou Plateau will help us to understand the mechanism of its rapid population spread. Therefore, we conducted the research on the characteristics of embryonic development, changes in dry and wet weight, and the relationship with maternal nutrition in *G. affinis* Dianchi Lake population using conventional anatomical observation and weighing methods. The results showed that the embryonic development process of Dianchi Lake population depended on the supply of yolk nutrition. Before production, the yolk was basically consumed, and the body developed well, basically maintaining the inherent ovoviparity characteristics of the species. The wet weight of embryos increased significantly during embryonic development, but at the same time, the dry weight loss was also very obvious (30.4%), and the nutrition index (matrotrophy index, MI) was 0.70, which suggested that the mother had no specific nutrition supply for embryos after fertilization, supporting the view that the *G. affinis* was a strictly lecithin trophic (ovoviparity) fish. The embryo (fry) shows a trend of miniaturization, and key ecological adaptive traits such as wet weight, dry weight, and initial body length of the embryo are significantly lower than other lowland populations that have been studied, demonstrating an adaptive response to plateau environments. Whether this response contributes to its diffusion in higher altitude plateau environments deserves further in-depth research.

Key words: *Gambusia affinis*; oviparous; embryo; development; nutritional links

Corresponding author: CHEN Guozhu. E-mail: chenguozhu79@163.com