

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2019.18370

中国 3 种青鳉鱼类初孵仔鱼发育与形态比较

陈国柱^{1,2}, 金锦锦^{1,2}, 肖乔芝^{1,2}, 仇玉萍^{1,2}

1. 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;

2. 西南林业大学, 湿地学院/国家高原湿地研究中心, 云南 昆明 650224

摘要: 对中国珠江流域及邻近区域主要的青鳉鱼类中华青鳉(*Oryzias sinensis*)、鳍斑青鳉(*Oryzias pectoralis*)和弓背青鳉(*Oryzias curvinotus*)初孵仔鱼形态特征进行了观察。研究结果显示, 在水温(27.0±1.0)℃水浴孵化条件下, 3 种青鳉鱼类初孵仔鱼形态存在差别。鳍斑青鳉初孵仔鱼体长为(4.64±0.18) mm, 显著大于中华青鳉[体长(4.04±0.19) mm]及弓背青鳉[体长(3.88±0.17) mm]的初孵仔鱼。单因素方差分析显示, 三者 22 个形态测量及可数性状指标中 20 个指标(占 90.9%)存在显著差异($P < 0.05$)。主成分分析显示, 体全长、头长、头长/体高、体长/体高、肛后长、口宽及卵长径等指标是影响三者形态差异的主要因素。判别分析进一步表明三者形态差异明显, 且易于区分。单因素相似性分析(ANOSIM)更进一步证实三种青鳉初孵仔鱼形态差异具有统计学意义。聚类分析显示, 鳍斑青鳉与弓背青鳉初孵仔鱼形态更为接近, 中华青鳉初孵仔鱼独立成一类, 该结果与 3 个物种间地理分布格局远近情况相同。更为浓密的背部及腹部色素特征可以将中华青鳉初孵仔鱼与其余两个物种初孵仔鱼区别, 胸鳍上点状色素花特征则可进一步将鳍斑青鳉与弓背青鳉初孵仔鱼区分。另外, 众多形态测量指标也可以将鳍斑青鳉及弓背青鳉初孵仔鱼区分。

关键词: 中华青鳉; 鳍斑青鳉; 弓背青鳉; 仔鱼; 形态; 发育

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2019)04-0713-09

青鳉是一群属于鳉形目(Cyprinodontiformes)、大颌鳉科(Adrianichthyidae)、青鳉属(*Oryzias*), 广泛分布于西太平洋地区大陆及岛屿淡水及海滨区域的小型鱼类, 迄今已记述的物种达 33 种^[1]。在中国已记述过的物种共有 5 种。早期记述的分别为中华青鳉(*Oryzias sinensis*)、小青鳉(*Oryzias minutillus*)、弓背青鳉(*Oryzias curvinotus*)。过去认为日本青鳉(*Oryzias latipes*)在中国广泛分布, 但后来确认为中华青鳉误记^[2], 日本青鳉在中国是否有分布尚存疑问。因此, 《中国动物志·硬骨鱼纲·鳉形目》仅收录了前 3 种。鳍斑青鳉(*Oryzias pectoralis*)虽然早在 20 世纪 60 年代在广东北江流域就为国内学者所接触, 但当时将其记述为日本青鳉^[3], 直到近年才被确切记述^[4], 且在广西靖西区域也发现其种群^[5]。因此,

目前中国能够确认的青鳉物种应为 4 种。

鳍斑青鳉在中国主要分布在广东、广西等区域, 国外主要分布在老挝等区域^[6]。除小青鳉局限分布在云南南部几个边境县市外, 中华青鳉等物种在中国均有较为广泛的分布。在珠江流域, 中华青鳉、鳍斑青鳉及弓背青鳉均有分布。中华青鳉主要分布在珠江流域上游, 如异龙湖、弥勒^[2]、沾益西河等, 曾与珠江流域关联, 但现代已归属于金沙江流域的滇池区域也有分布, 且为其模式标本产地^[2]; 鳍斑青鳉主要分布在北江上游及其支流, 桂林、靖西也具有种群分布; 而弓背青鳉主要分布在珠江三角洲水网, 直至沿海区域^[4]。中华青鳉在长江流域及以北地区、甘肃河西走廊及新疆广大区域有分布, 但西北地区种群多被认为是引入种群。随着外来入侵种食蚊鱼(*Gambusia*

收稿日期: 2018-11-04; 修订日期: 2019-02-16.

基金项目: 国家自然科学基金青年科学基金项目(31400477); 云南省科技计划农业联合面上项目(2017FG001-066).

作者简介: 陈国柱(1979-), 男, 博士, 讲师, 硕士生导师, 从事鱼类入侵生态学研究. E-mail: chenguozhu79@163.com

affinis)的广泛入侵,许多学者经验性认为中国青鳉鱼类种群较历史已显著下降,叠加栖息生境的破坏,局部种群出现灭绝^[2, 4, 7-8],食蚊鱼对青鳉仔鱼的捕食可能是食蚊鱼危害青鳉鱼类种群主要机制,但目前尚缺少足够的实证性证据。在面临食蚊鱼入侵捕食压力情况下,青鳉仔鱼行为与生态学响应是否有效是影响其生存机会高低的重要因素。因此,对青鳉仔鱼,特别是处在敏感期的初孵仔鱼发育、形态及行为等诸方面了解将能够为阐明食蚊鱼捕食青鳉仔鱼机制及青鳉仔鱼的响应策略提供重要基础,也能为制定青鳉鱼类保育策略提供重要帮助。

另一方面,仔鱼发育与形态是鱼类早期生活史重要研究内容^[9-12]。在青鳉鱼类中,仔鱼形态特征是物种鉴别的重要依据之一^[13-14]。同时,由于青鳉鱼类在水生态毒理学及发育生物学研究上的广泛应用,其胚胎及仔鱼的发育也是重要研究内容之一^[15-16]。目前,人们对中国境内的青鳉鱼类生物学及生态学的了解仍十分有限。本文针对珠江流域及其邻近区域 3 种青鳉鱼类初孵仔鱼发育及形态特征进行了研究,为中国境内青鳉鱼类分类整理及保育研究进一步积累资料,同时也为深入开展食蚊鱼入侵对青鳉鱼类生态学危害及作用机制研究奠定基础。

1 材料与方法

1.1 亲鱼采集

弓背青鳉亲本 2017 年 2 月采集于广东省广州市南沙区南沙街道南沙岛黄山鲁森林公园东侧溪流,生境描述详见参考文献所述^[4]。中华青鳉亲本 2017 年 3 月采集于云南省昆明市西山区团结乡花红园,该地为该物种模式标本产地,生境描述详见参考文献所述^[8]。鳍斑青鳉亲本 2006 年采集于广东省韶关市曲江区南华漕溪(24°38'21.83"E, 113°38'3.54"N)及其下游北江白沙镇段(24°37'36.62"E, 113°30'28.60"N),在实验室形成养殖种群。实验期间,亲鱼均养于西南林业大学国家高原湿地研究中心湿地生态学研究实验室控温自净循环玻璃水族箱内(长 100 cm×宽 40 cm×高 60 cm),每天投喂足量的摇蚊幼虫干粉。

1.2 胚胎培养

实验期间密切观察水族箱内亲鱼产卵情况,雌鱼出现挂卵后将其捞出,取出鱼卵。随后将鱼卵转移入恒温水浴箱内培育。水浴温度为(27.0±1.0)℃。培养期间每天换水一次,保持胚胎发育环境清洁。

1.3 形态观察

各种仔鱼孵化后即对其进行发育特征及形态观察、测量(仔鱼孵化后 2 h 内用于观察,且同一批次仔鱼只对最先孵化第 1 天内的仔鱼进行观察,其后孵化仔鱼不再观察)。形态测量以体视显微镜进行,利用目镜测微尺对可量性状测量。观察时,带水活体对仔鱼背侧色素进行计数(从胸鳍起点至尾索),对发育程度及形态进行记述。随后将仔鱼转移至 1.5 mL 离心管,带清水 0.5 mL,后加入 1 mL 5%福尔马林作初步固定,10~15 min 后取出置入清水稍作洗涤,进行外部形态指标的测量(图 1)及肌节数目计数。固定时间不足及过长均会影响对肌节的计数观察。观察结束后将仔鱼转移回离心管保存以备复检。

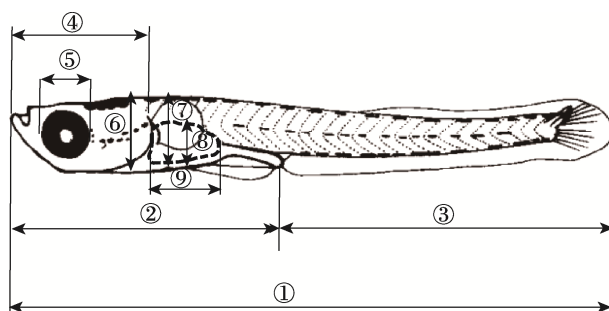


图 1 青鳉鱼类仔鱼形态测量示意^[13]

①体全长;②肛前长;③肛后长;④头长;⑤眼径;⑥头高;⑦体高;⑧卵黄短径;⑨卵黄长径。

Fig. 1 Morphological measurements of *Oryzias* larvae^[13]

① total body length; ② pre anal length; ③ anal length; ④ head length; ⑤ eye diameter; ⑥ head depth; ⑦ body depth; ⑧ yolk depth; ⑨ yolk length.

1.4 数据处理

所得数据均利用 SPSS 19.0 进行分析。采用单因素方差分析(ANOVA)及最小显著差异法(least significant difference, LSD)多重比较方法对仔鱼间各形态参数的差异显著性进行分析。分析时,部分可量性状在分析前与体长或头长作比,以比

例值进行数据分析,以消除各可量性状参数因体长依赖所引起的系统误差。

利用多元统计方法主成分分析、判别分析及系统聚类等对仔鱼间的形态性状差异进行深入分析(共 20 组可量性状及比例参数),以确认仔鱼间的形态性状差异及形态相似性。更进一步利用 Primer 7.0 对初孵仔鱼间的形态相似性进行统计检验,以 $P<0.05$ 为显著水平,根据 R 值大小判别分离程度: $R>0.75$, 完全分离; $0.5<R\leq 0.75$, 少量重叠但仍明显分离; $0.25<R\leq 0.5$, 存在明显重叠但仍部分分离; $R\leq 0.25$, 重叠明显几乎不可分^[17]。

2 结果与分析

2.1 初孵仔鱼发育特征

中华青鲮、鳍斑青鲮、弓背青鲮初孵仔鱼发育特征十分相似(表 1, 图 2~图 4)。具有指示性的 17 个观察特征中,三者区别并不十分显著(表 1)。初孵时,所有仔鱼鳔均未见充气,耳石 2 对,胸鳍可活动,内无鳍条,均为宽圆扇形的鳍膜。体表亮黄色到淡黄色,多色素,口裂形成,可动;眼可动;消化道初步贯通。初孵或孵化后数小时内可平游,已初步具备初次摄食生理条件基础。具鉴别意义的体表形态发育特征主要是色素的分

表 1 3 种青鲮仔鱼发育特征比较
Tab. 1 Developmental characteristics of three *Oryzias* species hatching larvae

发育特征 developmental characteristics	中华青鲮 <i>Oryzias sinensis</i>	鳍斑青鲮 <i>Oryzias pectorali</i>	弓背青鲮 <i>Oryzias curvinotus</i>
体色 body color	从背至腹,体淡黄色至透明。头部浅黄,色素多,点状与星斑状色素花交错分布。	从背至腹,体呈亮黄色至透明。头背部亮黄色显著,色素多,浓黑,点状与星斑状色素花交错分布,鳔部尤其浓密。	从背至腹,体淡黄色至透明。头部浅黄,色素呈淡灰黑色,疏落。
头 head	平直,灵活。	平直,灵活。	多未平直,头部尚弯向卵黄囊。
眼 eye	可动。	可动。	可动。
口裂 oral fissure	形成;开合自如。	形成;开合自如。	形成;开合自如。
鳔 air bladder	未充气。孵出后 1 h 内充气。	未充气。	未充气。
耳石 otolith	2 对。	2 对。	2 对。
胸鳍 pectoral fin	可摆动;扇形鳍膜。胸鳍膜上点状色素花疏落,5~10 朵。胸鳍基部左右各可见 1 色素点。	可摆动;扇形鳍膜。胸鳍膜上色素花多,细密,8~20 朵。胸鳍基部未见点状色素花。	可摆动,长至头后腹部 4/5 处(第 6 肌节);扇形鳍膜。胸鳍膜上点状色素花极少,细密,0~3 朵。胸鳍基部未见点状色素点。
鳍褶 fin fold	背鳍褶起于第 15 肌节处;腹鳍褶起于腹部后部、肛门下凹处,其后至尾及绕背与背鳍褶连贯。	背鳍褶起于第 15 肌节处;腹鳍褶起于腹部后部、肛门下凹处,其后至尾及绕背与背鳍褶连贯。	背鳍褶起于第 15 肌节处;腹鳍褶起于腹部后部、肛门下凹处,其后至尾及绕背与背鳍褶连贯。
尾部 tails	尾索直;未见尾鳍条,尾索斜下侧原基可见,血流贯通。可见 4~6 点淡色素花。	尾索直;尾索斜下侧已见 2~3 条鳍条,血流贯通。可见斜后下两丛扇形色素花。	尾索直;未见尾鳍条,尾索斜下侧原基可见,血流初步贯通。无,或仅少数(2~3 点)淡色素花。
肛门 vent	可见,第 9~10 肌节处。	可见;第 9~10 肌节处。	可见;第 9 肌节处。
肠道 guts	初步贯通。	初步贯通。	初步贯通。
胆囊 gallbladder	可见,极浅黄绿色。	可见,极浅黄绿色。	可见,淡黄绿色。
脾 spleen	粉红色,点块状,鳔充气后位于鳔的左侧。	粉红色,点块状,鳔充气后位于鳔的左侧。	鲜红色,点块状,鳔充气后位于鳔的左侧。
卵黄囊 yolk sac	大;占腹部大部;体积(0.11±0.05) mm ³	大;体积占腹部大部;体积(0.12±0.03) mm ³ 。	大;体积占腹部大部;体积(0.19±0.09) mm ³ 。
腹部油球 oil globule	1 个;陷入卵黄囊,腹部底部中央。	1 个,陷入卵黄囊,腹部底部中央。	1 个,陷入卵黄囊,腹部底部中央。
背部色素 chromatophore pigments in back	细密,数量多,点与星斑状色素花交错。	呈圆点,较为疏落,点状色素花多。	呈圆点,较为疏落,星斑状色素花为主。
腹血管色素 chromatophore pigments cobove abdomen vessel	沿大血管分布,黑、密。	未见明显沿大血管分布,较为散乱,色淡。	未见明显沿大血管分布,较为散乱,色淡。

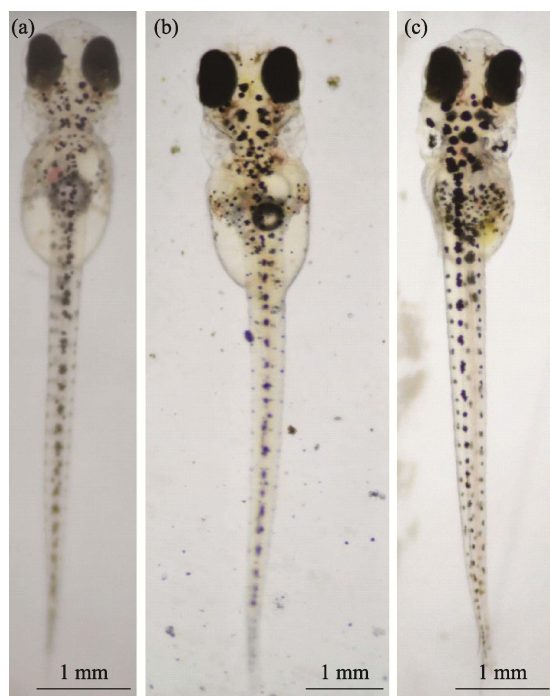


图 2 青鳉鱼类活体初孵仔鱼形态
(a)中华青鳉; (b)鳍斑青鳉; (c)弓背青鳉.
Fig. 2 Morphology of three *Oryzias* species
alive hatching larvae
(a) *Oryzias sinensis*; (b) *Oryzias pectoralis*;
(c) *Oryzias curvinotus*.

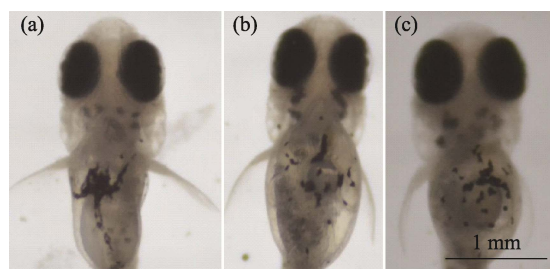


图 3 青鳉鱼类初孵仔鱼腹部形态(5%福尔马林固定)
(a)中华青鳉; (b)鳍斑青鳉; (c)弓背青鳉.
Fig. 3 Morphology in abdomen of three *Oryzias* species
hatching larvae (fixed by 5% formalin solution)
(a) *Oryzias sinensis*; (b) *Oryzias pectoralis*;
(c) *Oryzias curvinotus*.

布形式:以腹部大血管上色素分布形式可区别中华青鳉与鳍斑青鳉、弓背青鳉初孵仔鱼。中华青鳉初孵仔鱼腹部色素明显沿血管分布,紧密、色黑,其标本固定后分布形态仍清晰可辨,而后两者分布散乱、疏落(表 1, 图 3)。以胸鳍膜上点状色素花多寡可区分鳍斑青鳉、弓背青鳉。鳍斑青鳉胸鳍膜上点状色素花多,为 8~20 朵;而弓背青

鳉胸鳍膜点状色素花极少,甚至无,为 0~3 朵。二者区分明显。更为深入的形态分析可以在三者间找到更多的区分指标(表 2)。

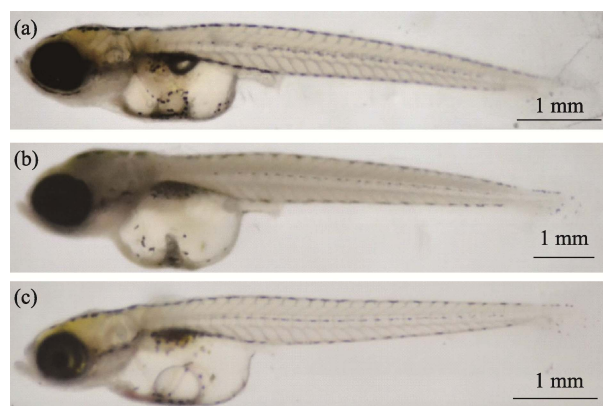


图 4 青鳉鱼类初孵仔鱼侧面形态(5%福尔马林固定)
(a)中华青鳉; (b)鳍斑青鳉; (c)弓背青鳉.
Fig. 4 Lateral morphology of three *Oryzias* species hatching
larvae (fixed by 5% formalin solution)
(a) *Oryzias sinensis*; (b) *Oryzias pectoralis*;
(c) *Oryzias curvinotus*.

2.2 初孵仔鱼形态特征

单因素方差分析。对 3 种青鳉鱼类仔鱼 22 组性状分析中发现它们在多数性状间存在显著性差异(占 90.9%)(表 2),但在两两比较中不同性状表现有所不同。在体全长、肛前长、肛后长及头长等性状上,鳍斑青鳉仔鱼显著大于其余 2 种青鳉仔鱼。而弓背青鳉中与体高有关的性状则与其余 2 种青鳉仔鱼存在显著差异性,如体长/体高、头长/体高等。中华青鳉仔鱼背色素花数目显著高于其余 2 种青鳉仔鱼。

主成分分析。在 20 组分析性状中共提取得到 6 个主成分,共解释 91.174%的变异,其中前 2 个主成分共解释 56.070%的变异:PC1=39.000%、PC2=17.070%,其余主成分各测量参数的荷载较低。而为进一步观察仔鱼形态分离程度及主要的影响因素,以主成分 PC1 对主成分 PC2 绘制散点图(图 5)。3 种青鳉仔鱼分值点呈明显分离:在 PC1 轴上,弓背青鳉仔鱼与鳍斑青鳉仔鱼明显区分,体全长(0.915)、头长(0.929)、头长/体高(0.901)、体长/体高(0.878)、肛后长(0.836)、口宽(0.700)等是影响两种青鳉仔鱼形态差异的主要性状(在主

表 2 3 种青鳉鱼类仔鱼形态性状差异比较
Tab. 2 Morphological measurements among three *Oryzias* species hatching larvae

测量参数 measurement	中华青鳉 <i>Oryzias sinensis</i> (n=36)	鳍斑青鳉 <i>Oryzias pectorali</i> (n=28)	弓背青鳉 <i>Oryzias curvinotus</i> (n=33)	差异显著性 significance ($P<0.05$)
体全长/mm total body length (TL)	4.04±0.19 ^b	4.64±0.18 ^a	3.88±0.17 ^c	$F_{2,94}=147.810, P=0.000$
肛前长/mm pre anal length (PAL)	1.81±0.07 ^b	2.11±0.09 ^a	1.71±0.09 ^b	$F_{2,94}=182.820, P=0.000$
肛后长/mm anal length (AL)	2.22±0.14 ^b	2.53±0.11 ^a	2.17±0.12 ^c	$F_{2,94}=71.965, P=0.000$
头长/mm head length (HL)	0.82±0.05 ^b	0.93±0.06 ^a	0.79±0.02 ^c	$F_{2,94}=73.408, P=0.000$
头高/mm head depth (HD)	0.55±0.03	0.57±0.04	0.55±0.04	$F_{2,94}=1.633, P=0.201$
体高/mm body depth (BD)	0.69±0.07 ^b	0.70±0.06 ^b	0.78±0.08 ^a	$F_{2,94}=14.828, P=0.000$
眼径/mm eye diameter (ED1)	0.37±0.02 ^b	0.42±0.02 ^a	0.37±0.02 ^b	$F_{2,94}=49.244, P=0.000$
眼间距/mm eye distance (ED2)	0.65±0.05 ^a	0.69±0.05 ^a	0.64±0.02 ^b	$F_{2,94}=12.648, P=0.000$
口宽/mm mouth width (MW)	0.29±0.02 ^a	0.30±0.02 ^a	0.25±0.01 ^a	$F_{2,94}=71.338, P=0.000$
卵黄长径/mm yolk length (YL)	0.85±0.09 ^b	0.98±0.09 ^a	0.97±0.09 ^a	$F_{2,94}=22.477, P=0.000$
卵黄短径/mm Yolk depth (YD)	0.49±0.08 ^b	0.48±0.05 ^b	0.60±0.12 ^a	$F_{2,94}=20.178, P=0.000$
体全长/肛前长 TL/PAL	2.23±0.06 ^b	2.20±0.05 ^b	2.27±0.08 ^a	$F_{2,94}=8.524, P=0.000$
体全长/肛后长 TL/AL	1.82±0.04 ^a	1.83±0.04 ^a	1.79±0.05 ^b	$F_{2,94}=7.963, P=0.001$
体全长/头长 TL/HL	4.92±0.24	4.97±0.26	4.92±0.26	$F_{2,94}=0.477, P=0.622$
体全长/体高 TL/HD	5.90±0.68 ^b	6.66±0.52 ^a	5.05±0.58 ^c	$F_{2,94}=53.810, P=0.000$
头长/体高 HL/BD	1.20±0.14 ^b	1.34±0.13 ^a	1.03±0.12 ^c	$F_{2,94}=44.224, P=0.000$
头长/眼径 HL/ED1	2.23±0.12 ^a	2.24±0.11 ^a	2.11±0.13 ^b	$F_{2,94}=10.388, P=0.000$
头长/眼间距 HL/ED2	1.27±0.12 ^b	1.37±0.12 ^a	1.24±0.06 ^b	$F_{2,94}=14.767, P=0.000$
头长/口宽 HL/MW	2.84±0.17 ^b	3.18±0.24 ^a	3.18±0.18 ^a	$F_{2,94}=31.671, P=0.000$
眼间距/眼径 ED2/ED1	1.76±0.11 ^a	1.65±0.10 ^b	1.71±0.10 ^a	$F_{2,94}=9.420, P=0.000$
肌节数 sarcomere number	26.72±1.43 ^{ab}	27.29±1.33 ^a	26.21±1.19 ^b	$F_{2,94}=4.992, P=0.009$
黑色素花数 pigments in back	44.36±9.92 ^a	32.18±7.94 ^b	22.36±3.32 ^c	$F_{2,94}=71.716, P=0.000$

注: 同一栏数值右上角所标字母不同者表示两者间差异具有统计学意义($P<0.05$)。
Note: Different letters in the same row indicate statistical significance ($P<0.05$).

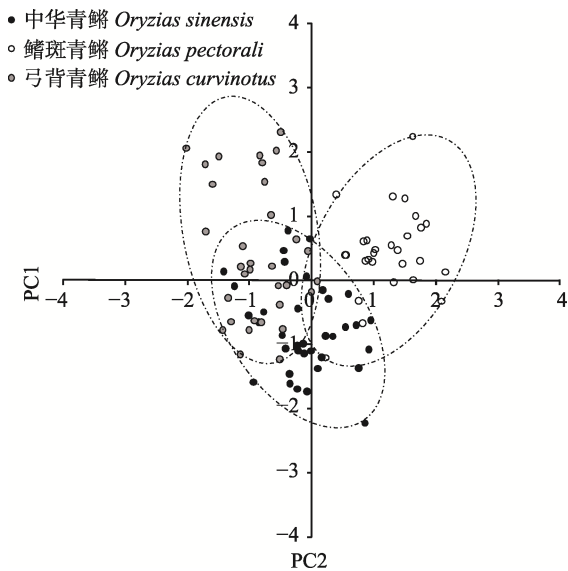


图 5 主成分分析 PC1 对 PC2 散点图
Fig. 5 Scatter plots for the PC1 vs PC2

成分 PC1 中荷载 ≥ 0.7)。进一步分析显示, PC2 轴上中华青鳉与上述两种鳍斑青鳉仔鱼明显区分, 卵长径(0.759)是影响两类群青鳉仔鱼形态差异的主要性状(在主成分 PC2 中荷载 >0.7)。

判别分析。在判别分析(Fisher 判别)联合分布图上 3 种青鳉仔鱼得分组质心空间分布距离明显(图 6), 显示三者可以通过形态测量分析明显区分。函数标准化系数如表 3 所示, 判别函数表达式可据此列出, 本文省略。判别函数对原始案例正确判别率为 99.0%, 交叉验证正确判别率为 92.8%。其中对中华青鳉仔鱼、鳍斑青鳉仔鱼及弓背青鳉仔鱼的正确判别率分别为 100%、96.4%及 100%。

单因素相似性分析(ANOSIM)。分析结果显示中华青鳉与鳍斑青鳉检验值 $R=0.47, P<0.001$;

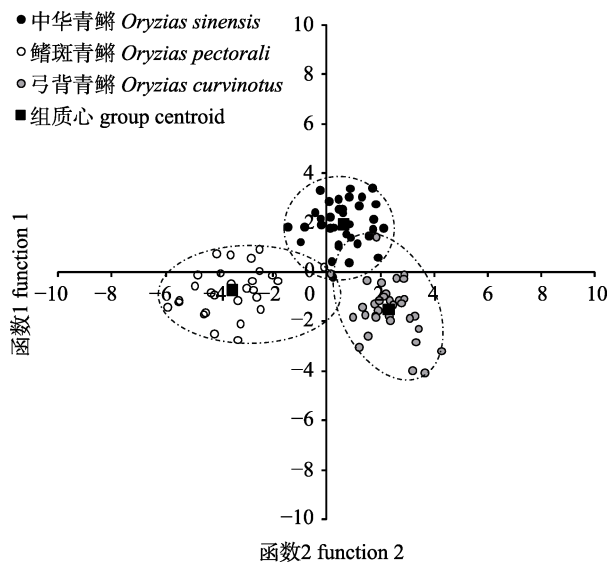


图 6 判别分析联合分布图
Fig. 6 Combine plots for discriminant analysis

测量参数 measurement	函数 function	
	1	2
肛前长/mm pre anal length (PAL)	-3.847	-5.981
肛后长/mm anal length (AL)	3.754	0.648
头长/mm head length (HL)	-1.093	4.96
头高/mm head depth (HD)	0.516	0.212
体高/mm body depth (BD)	-0.177	0.517
眼径/mm eye diameter (ED1)	-0.178	2.082
眼间距/mm eye distance (ED2)	-0.628	0.813
口宽/mm mouth width (MW)	1.333	-1.25
卵长径/mm yolk length (YL)	0.121	-0.467
卵短径/mm yolk depth (YD)	0.029	-0.085
体长 vs 肛前长 TL/PAL	0.89	-4.211
体长 vs 肛后长 TL/AL	4.462	0.199
体长 vs 头长 TL/HL	0.845	2.563
体长 vs 体高 HL/BD	-2.557	6.283
头长 vs 体高 HL/BD	2.439	-6.251
头长 vs 眼径 HL/ED1	1.031	0.998
头长 vs 眼间距 HL/ED2	-1.792	3.25
头长 vs 口宽 HL/MW	1.6	-2.314
眼间距 vs 眼径 ED2/ED1	-0.943	1.845

与弓背青鳉检验值 $R=0.841$, $P<0.001$; 鳊斑青鳉与弓背青鳉检验值 $R=0.536$, $P<0.001$, 表明三者形态上均显著不相似, 且不同两者间比较有所差别。中华青鳉与弓背青鳉形态完全分离($R>0.75$),

鳊斑青鳉与弓背青鳉形态具有一定相似性但仍显著分离($0.5<R\leq0.75$)。而中华青鳉与鳊斑青鳉形态具有较多相似但仍有部分分离($0.25<R\leq0.5$)。

聚类分析。分析显示, 鳊斑青鳉初孵仔鱼与弓背青鳉仔鱼形态更为接近, 聚成一类, 而中华青鳉独成一类(图 7)。

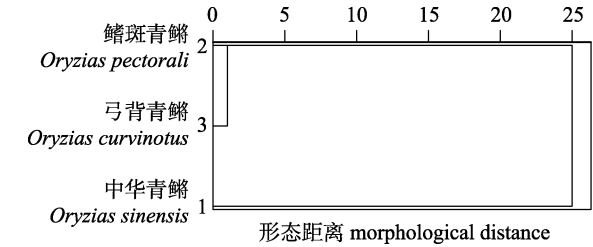


图 7 青鳉鱼类初孵仔鱼形态聚类分析
Fig. 7 Cluster analysis among three *Oryzias* species hatching larvae

3 讨论

3.1 青鳉初孵仔鱼的发育特征

青鳉初孵仔鱼均已基本具备开口摄食的生理结构及发育基础。其初孵仔鱼口裂形成并具有摄食功能, 消化道贯通, 且在鳔尚未充气的条件下已可以平游。这种特征提示与其他小型鱼类的比较中它们可能更具有生存竞争优势。在广州流溪河流域, 与弓背青鳉共同分布的唐鱼(*Tanichthys albonubes*)^[18-19]、叉尾斗鱼(*Macropodus opercularis*)^[20]、泥鳅(*Misgurnus anguillicaudatus*)^[21]等仔鱼初孵时与摄食相关的器官及组织尚未发育, 至孵化后数天才在鳔充气的情況下具有平游能力并开始初步摄食。迅速摄食对仔鱼快速发育, 并形成较强逃避敌害能力有重要意义^[10, 22]。过去青鳉鱼类在沼泽、小型池塘等湿地生境中形成优势种群可能与这种发育特征关系密切, 越早进行摄食, 获得越高的生存机会^[23-24]。然而, 在与入侵种食蚊鱼的比较中, 青鳉鱼类初孵仔鱼并不具有优势。卵胎生鱼类食蚊鱼的初产仔鱼平均体长可达 6.74 mm, 除腹鳍外, 其他外部形态已充分发育, 产出 2 h 即可开口摄食^[25], 且即可对其他小型鱼类如唐鱼初次摄食仔鱼进行捕食^[26]。初步的观察显示食蚊鱼初产仔鱼也能够对青鳉鱼类初孵仔鱼

进行捕食, 则其整个生活史周期里均可对青鳉鱼类仔鱼进行捕食。因此, 食蚊鱼入侵对青鳉仔鱼的捕食压力十分明显, 初孵个体越大的青鳉仔鱼是否越具有生存优势尚需进一步观察分析。

3.2 青鳉初孵仔鱼形态特征差异

仔鱼形态特征在仔鱼资源调查及资源发生量研究中常被用于物种鉴别^[27-29]。在青鳉鱼类已知分布区域中, 中国鱼类早期资源调查报道中迄今未见青鳉仔鱼的报道^[28], 这可能与青鳉鱼类主要生活于静水、较为狭窄生境, 过去研究采样区域未覆盖有关。

中华青鳉等3种青鳉鱼类初孵仔鱼形态极为相似, 但在细致的形态测量分析中发现三者在许多指标上存在显著差异, 且鳍斑青鳉仔鱼比其他2种青鳉鱼类仔鱼具有更大的个体。这一结果再次表明青鳉鱼类种间形态差异在初孵仔鱼期即具明显表现。与之类似, 如爪哇青鳉(*O. javanicus*)、湄公河青鳉(*O. mekongensis*)、小青鳉及恒河青鳉(*O. dancena*)^[13]等, 在初孵仔鱼期及稍后的仔鱼期已经显示出各自物种所具有的特征。在比较中, 中华青鳉初孵仔鱼背点状及星斑状色素花显著多于其余2个物种仔鱼, 其腹部覆盖于各主血管上的色花也明显比其余2个物种仔鱼多, 这可作为主要鉴别特征将其与其余两个物种仔鱼区分。这一特征, 鳍斑青鳉与弓背青鳉初孵仔鱼间并无显著区别, 它们的色素散落分布, 并无聚集于血管表面的现象。过去研究^[14]观察认为初孵仔鱼尾部色素花分布情况可作为鉴别鳍斑青鳉及弓背青鳉初孵仔鱼的主要鉴别特征, 鳍斑青鳉初孵仔鱼尾鳍中部及中上部具有数列色素花带, 但弓背青鳉初孵仔鱼没有。然而, 本文观察显示, 尽管鳍斑青鳉尾鳍色素花更多, 但其初孵仔鱼并没有出现上述特征, 这是否是种群间差异尚需进一步研究。弓背青鳉与鳍斑青鳉初孵仔鱼的鉴别可以通过胸鳍点状色素花的多寡进行, 鳍斑青鳉初孵仔鱼胸鳍点状色素花更多。点状及星斑状色素花出现部位及是否出现等性状也被应用于其他青鳉鱼类初孵仔鱼或仔鱼的物种鉴别中, 如上述的爪哇青鳉、湄公河青鳉、小青鳉及恒河青鳉等^[13]。

在初孵仔鱼形态聚类分析中, 弓背青鳉与鳍

斑青鳉初孵仔鱼聚成一支, 中华青鳉初孵仔鱼独成一支。形态相似程度与种群地理空间分布距离远近一致, 可能弓背青鳉与鳍斑青鳉具有更近亲缘关系, 也可能是栖息生境相似产生进化趋同。

中国青鳉鱼类地理分布区域尚少发现同域分布, 仅在广东怀集燕都国家湿地公园区域内发现了弓背青鳉及鳍斑青鳉具有同域分布现象^[4]。在分布上, 本研究中的3种青鳉在珠江流域均有分布, 但空间格局存在差异, 鳍斑青鳉分布在北江韶关曲江、北江支流绥江怀集县、右江支流靖西等地^[5]。而弓背青鳉分布在珠江口、流溪河、增江等区域, 也在北江支流绥江怀集县区域有分布^[4]。这2个物种主要分布在热带亚热带地区。中华青鳉则分布在珠江源头云南沾益西河, 异龙湖及弥勒等地, 且在云贵高原区域广泛分布。初孵仔鱼形态已初步揭示三者的亲疏, 但三者间亲缘关系尚待进一步研究。

3.3 需进一步研究的方面

对日本青鳉胚胎发育的研究显示, 在相同条件下同一批的胚胎孵出时间可以相差数天乃至3倍时间之久^[30]。本研究中也发现同样现象, 孵化越久的胚胎, 其卵黄含量越低, 相应的身体发育程度更为完善。这种发育程度差异会对外部形态特征的固定及判断带来误差。本文研究中以孵化后2h内的形态特征为研究对象, 3个青鳉物种孵化、标本固定及其他观察条件均保持一致, 以减少系统误差; 另一方面则在可量性状分析前将其与体长或头长作比, 以比例值进行数据分析, 可进一步以消除各可量性状参数因体长依赖所引起的系统误差。但是, 由于各物种所处的气候及栖息地条件差异, 特别是对最适宜水温的需求可能存在差异, 胚胎发育温度条件的变化也可能会对初孵仔鱼形态特征产生影响, 本文标准化研究条件下及比值化数据处理方法所得的研究结果应用于野外条件及其他区域种群时可能需要作验证性修正。在进一步的研究中可针对不同水温对各个物种胚胎发育及初孵仔鱼形态特征影响进行研究。尽管如此, 本文研究结果已经初步证实了3个青鳉物种初孵仔鱼存在可鉴别的形态特征差异, 进一步的研究中结合个体发育过程中形态差异的

动态变化将有助深入了解中华青鲮等 3 个物种间形态分化特征差异。

参考文献:

- [1] Mandagi I F, Mokodongan D F, Tanaka R, et al. A new riverine ricefish of the genus *Oryzias* (Belontiiformes, Adrianichthyidae) from Malili, central Sulawesi, Indonesia[J]. *Copeia*, 2018, 106(2): 297-304.
- [2] Chen Y R, Hiroshi U, Chu X L. Taxonomy and distribution of the genus *Oryzias* in Yunnan, China [J]. *Acta Zootaxonomica Sinica*, 1989, 14(2): 239-246. [陈银瑞, 宇和纮, 褚新洛. 云南青鲮鱼类的分类和分布(鲮形目: 青鲮科)[J]. *动物分类学报*, 1989, 14(2): 239-246.]
- [3] Pan J H, Liu C H, Zheng W B. Studies on the fish fauna of the Beijiang River, Guangdong Province[J]. *Journal of South China Normal University (Natural Science Edition)*, 1984(1): 27-40. [潘炯华, 刘成汉, 郑文彪. 广东北江鱼类区系研究[J]. *华南师范大学学报(自然科学版)*, 1984(1): 27-40.]
- [4] Zhang F F, Jiang H C, Jin J J, et al. Characteristic redescription of ricefish *Oryzias curvinotus* from Guangdong, China[J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2017, 36(5): 564-571. [张方方, 姜昊辰, 金锦锦, 等. 广东淡水鱼类弓背青鲮分类形态性状再描述[J]. *四川动物*, 2017, 36(5): 564-571.]
- [5] Wu W M, Li J Z. A new record species of ricefishes in China: *Oryzias pectoralis*[J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2017, 52(5): 891-896. [吴伟名, 李建中. 中国青鲮属鱼类新纪录: 鳍斑青鲮[J]. *动物学杂志*, 2017, 52(5): 891-896.]
- [6] Roberts T R. Systematic observations on tropical Asian medakas or ricefishes of the genus *Oryzias*, with descriptions of four new species[J]. *Ichthyological Research*, 1998, 45(3): 213-224.
- [7] Dudgeon D. Anthropogenic influences on Hong Kong streams[J]. *GeoJournal*, 1996, 40(1-2): 53-61.
- [8] Chen G Z. Food analysis of *Hebius octolineatum* and its predation on *Oryzias sinensis*[J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2016, 35(4): 588-592. [陈国柱. 八线腹链蛇食物分析及其对中华青鲮的捕食[J]. *四川动物*, 2016, 35(4): 588-592.]
- [9] Meng Q W. On the morphological characteristics of the larvae of seven species of freshwater fishes[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1982, 6(1): 65-76. [孟庆闻. 7 种鱼类仔鱼的形态观察[J]. *水产学报*, 1982, 6(1): 65-76.]
- [10] Yin M C. Advances and studies on early life history of fish[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1991, 15(4): 348-358. [殷名称. 鱼类早期生活史研究与其进展[J]. *水产学报*, 1991, 15(4): 348-358.]
- [11] Qiao Y. Early morphogenesis and species identification of fishes in Yangtze River[D]. Wuhan: Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, 2005. [乔晔. 长江鱼类早期形态发育与种类鉴别[D]. 武汉: 中国科学院水生生物研究所, 2005.]
- [12] Wan R J, Bian X D. Categories identification and morphological characteristics on larvae and juveniles in genus *Dio-genichthys* Bolin, 1939 and their classification retrieval[J]. *Journal of Fisheries of China*, 2013, 37(8): 1129-1139. [万瑞景, 卞晓东. 明灯鱼属鱼类仔稚鱼的种类鉴别、发育形态及其分类检索[J]. *水产学报*, 2013, 37(8): 1129-1139.]
- [13] Termvidchakorn A, Magtoon W. Development and identification of the ricefish *Oryzias* in Thailand[J]. *ScienceAsia*, 2008, 34: 416-423.
- [14] Termvidchakorn A, Magtoon W. Development and identification of three species of Thai ricefish, *Oryzias*, in the Mekong Basin[J]. *Tropical Natural History*, 2012, 12(1): 75-88.
- [15] Shi M, Faustman E M. Development and characterization of a morphological scoring system for medaka (*Oryzias latipes*) embryo culture[J]. *Aquatic Toxicology*, 1989, 15(2): 127-140.
- [16] Iwamatsu T. Stages of normal development in the medaka *Oryzias latipes*[J]. *Mechanisms of Development*, 2004, 121(7-8): 605-618.
- [17] Liu X F, Wang H, Yu Y J, et al. The primary research of the feeding habits of *Acrossocheilus fasciatus* in the Yinxi Stream of the Huangshan mountain[J]. *Freshwater Fisheries*, 2016, 46(5): 25-29. [刘雪飞, 汪晗, 余银皎, 等. 黄山殷溪河光唇鱼食性特征的初步研究[J]. *淡水渔业*, 2016, 46(5): 25-29.]
- [18] Chen G Z, Fang Z Q, Ma G Z. Embryonic development of *Tanichthys albonubes*[J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2004, 11(6): 489-496. [陈国柱, 方展强, 马广智. 唐鱼胚胎发育观察[J]. *中国水产科学*, 2004, 11(6): 489-496.]
- [19] Chen G Z, Fang Z Q. Effects of starvation on feeding and growth of the larvae of *Tanichthys albonubes*[J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2007, 42(5): 49-61. [陈国柱, 方展强. 饥饿对唐鱼仔鱼摄食和生长的影响[J]. *动物学杂志*, 2007, 42(5): 49-61.]
- [20] Zheng W B. Observation on the embryonic and larval development of *Macropodus opercularis* (Linnaeus)[J]. *Zoological Research*, 1984, 5(3): 261-268. [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): 261-268.]
- [21] Zheng W B. Observations on the embryonic and larval development of *Misgurnus anguillicaudatus* (Cantor)[J]. *Journal of Fisheries of China*, 1985, 9(1): 37-47. [郑文彪. 泥鳅胚胎和幼鱼发育的研究[J]. *水产学报*, 1985, 9(1): 37-47.]
- [22] Paradis A R, Pepin P, Brown J A. Vulnerability of fish eggs and larvae to predation: review of the influence of the relative size of prey and predator[J]. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 1996, 53(6): 1226-1235.
- [23] Govoni J J, Boehlert G W, Watanabe Y. The physiology of digestion in fish larvae[J]. *Environmental Biology of Fishes*, 1986, 16(1-3): 59-77.
- [24] Voesenek C J, Muijres F T, van Leeuwen J L. Biomechanics of swimming in developing larval fish[J]. *Journal of Experimental Biology*, 2018, 221: jeb149583.
- [25] 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 mosquito fish[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.]

- [26] Chen G Z. Interspecific relationship between the invasive species *Gambusia affinis* and the antive endangered species *Tanichthys albonubes*[D]. Guangzhou: Jinan University, 2010. [陈国柱. 入侵种食蚊鱼与土著濒危物种唐鱼的种间关系研究[D]. 广州: 暨南大学, 2010.]
- [27] Wang J H, Sun Y W, Liu C C, et al. The ichthyoplankton resource investigation in Changjiang Estuary[J]. Journal of Marine Sciences, 2007, 25(4): 40-50. [王金辉, 孙亚伟, 刘材材, 等. 长江口鱼卵仔鱼资源现状的调查与分析[J]. 海洋学研究, 2007, 25(4): 40-50.]
- [28] Tang X C, Li X H, Tao J P, et al. Spatial and temporal distribution of larval resources of fishes in Xijiang River[J]. Freshwater Fisheries, 2007, 37(4): 37-40. [谭细畅, 李新辉, 陶江平, 等. 西江肇庆江段鱼类早期资源时空分布特征研究[J]. 淡水渔业, 2007, 37(4): 37-40.]
- [29] Liu M D, Gao L, Tian H W. Status of fishes at the early life history stage in the Yichang section in the middle reaches of the Yangtze River[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2018, 25(1): 147-158. [刘明典, 高雷, 田辉伍, 等. 长江中游宜昌江段鱼类早期资源现状[J]. 中国水产科学, 2018, 25(1): 147-158.]
- [30] Teather K L, Boswell J, Gray M A. Early life history parameters of Japanese medaka (*Oryzias latipes*)[J]. Copeia, 2000, 2000(3): 813-818.

Developmental and morphological differences in hatching larvae of three Chinese *Oryzias* species

CHEN Guozhu^{1,2}, JIN Jinjin^{1,2}, XIAO Qiaozhi^{1,2}, QIU Yuping^{1,2}

1. National Positioning Research Station for Dianchi Wetland Ecosystem, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China;
2. College of Wetlands/National Plateau Wetland Research Center, Southwest Forestry University, Kunming 650224, China

Abstract: An investigation into the developmental and morphological differences among the hatching larvae of three Chinese *Oryzias* species, *Oryzias sinensis*, *Oryzias pectoralis*, and *Oryzias curvinotus*, was conducted. All embryos and larvae were cultured in a water bath with a temperature of $(27.0 \pm 1.0)^\circ\text{C}$. The results showed that there are significant differences in morphology among the hatching larvae; specifically, the body length of *O. pectoralis* larvae $[(4.64 \pm 0.18) \text{ mm}]$, is much larger than that of *O. sinensis* $[(4.04 \pm 0.19) \text{ mm}]$, and *O. curvinotus* $[(3.88 \pm 0.17) \text{ mm}]$. One-way analysis of variance (ANOVA) revealed that 90.9% of measurements were significantly different among the three species' hatching larvae (20 of the 22 measurements). Further, Principal Component Analysis (PCA) showed that total body length (TL), head length (HL), HL vs. body depth (BD), TL/BD, anal length (AL), mouth width (MW), and yolk length (YL) were the main variables contributing to the morphological differences among the hatching larvae. Additionally, discriminant analysis confirmed the differences among the larvae, and the larvae were separated from one another in the combined plot for the discriminant analysis. The above results were also confirmed by analysis of similarity (ANOSIM). ANOSIM showed that the differences among the larvae had statistical significance ($P < 0.05$). On the other hand, cluster analysis revealed that *O. pectoralis* and *O. curvinotus* larvae are more similar to each other than to *O. sinensis* larvae, and *O. sinensis* larvae were isolated in the dendrogram constructed from the cluster analysis. This result correlates to their geographical distributions, because *O. pectoralis* and *O. curvinotus* populations are found closer to one another than to *O. sinensis* populations in the wild. Finally, the chromatophore pigment pattern on the body could be used to discriminate the *Oryzias* larvae; the chromatophore pigment on the abdomen is denser on *O. sinensis* larvae than on the larvae of the other species, and the chromatophore pigment on the petiol fins of *O. pectoralis* larvae is more abundant than on *O. curvinotus* larvae pectoral fins. Also, many morphological measurements could be used to discriminate between *O. pectoralis* and *O. curvinotus* larvae.

Key words: *Oryzias sinensis*; *Oryzias pectoralis*; *Oryzias curvinotus*; larvae; morphology; development

Corresponding author: CHEN Guozhu. E-mail: chengguozhu79@163.com