

稀有𬶋鲫产卵频次和卵子发育的研究*

王 剑 伟

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

摘要 对室养条件下 20 尾雌性稀有𬶋鲫的产卵频次、成熟卵巢卵径分布及卵子补充过程进行了研究。产卵间隔中卵径分布呈现不同的峰值, 卵母细胞成熟是分批的, V 期卵巢中 MA、RE 卵母细胞的数量代表了即将进行的一次产卵的产卵量; 卵子补充速度快, 成熟卵巢每隔数天可发育成熟一批卵, 一级贮备库在 12—33d 即更新一次, 不同发育时期卵母细胞的补充是连续的。对 273 批𬶋产卵进行了统计, 每尾雌鱼平均 4.5d 产卵一次, 平均批产卵量 265.6 粒。稀有𬶋鲫的产卵类型为连续产卵类型。

关键词 稀有𬶋鲫, 产卵, 连续产卵类型, 卵径分布

产卵类型是鱼类最重要的繁殖特性之一, 确定鱼类的产卵类型对估算鱼类繁殖力, 探讨种群补充及鱼类生活史对策等至关重要。研究鱼类产卵类型的方法主要有: 卵子形态观察与卵径分布法^[1-3]、繁殖活动观察法^[4-7]、卵巢发育与组织切片观察法^[8-15]等。已确定的产卵类型有一次产卵类型 (Single spawner)^[8,10,17]、多次产卵类型 (Multiple spawner)^[2-8,10-17]等, 其中“分批产卵” (Fractional spawner) 与“多次产卵”是同义语^[7,18]。

稀有𬶋鲫 (*Gobiocypris rarus* Ye et Fu) 是我国推出的一种新的实验鱼。作者在对其繁殖生物学进行研究时, 发现稀有𬶋鲫的产卵类型与通常所说的“多次产卵”或“分批产卵”是迥然不同的, 因此提出用“连续产卵类型” (Continuous batch spawner) 这一新概念来描述其产卵类型^[18]。本文即在此基础上通过产卵频次统计、成熟卵巢卵径分布与卵子补充等方面的研究, 对连续产卵类型作进一步探讨, 并为稀有𬶋鲫作为鱼类实验动物的应用提供繁殖方面的背景资料。

1 材料和方法

1.1 材料来源 研究用稀有𬶋鲫共 20 对, 系中国科学院水生生物研究所在室内繁殖的 F_1 和 F_2 (各 10 对), 其原始亲鱼于 1990 年采自四川省汉源县。

1.2 方法 试验用鱼分别配对饲养在 20 个 $40 \times 20 \times 29$ cm (实际盛水 20L) 的玻璃水族箱中。每日吸去水族箱中污物, 换水 1/2, 并投喂略过量的水蚯蚓。试验期间水温为 $21.6 \pm 3.0^\circ\text{C}$ 。以试验开始时与试验结束时鱼体的平均全长、体重表示试验鱼的个体大小。

由于稀有𬶋鲫产卵在前半夜进行, 因此每晚对试验鱼的繁殖情况进行观察。将产出

* 国家自然科学基金项目 39570096 及中国科学院重点科研项目 KZ952-S1-121 资助

1997-10-09 收到; 1998-02-16 修回

的卵取出计数得批产卵量, 将本次产卵距上次产卵的天数视为产卵间隔(第一次产卵没有产卵间隔)。对每对鱼的批产卵量、产卵间隔均统计了9次以上, 然后对处于产卵周期中不同时段的鱼分别取样进行解剖, 取样时段划分为: 产卵前、产卵过程中、刚产卵后、产卵后12h、产卵后1d、2d……其中, “产卵前”以鱼已有追逐行为, 但未见产出的卵, 且解剖时性腺已达V期为标准。

取卵巢的一叶在40倍解剖镜下对直径 $\geq 0.25\text{mm}$ 的卵子进行了测量。由于直径 0.25mm 的卵恰好开始沉积卵黄, 因此实际上测量了(一叶卵巢)所有已沉积卵黄的卵, 即怀卵量库的一半。卵巢的另一叶用Bouin's液固定, 石蜡包埋, 切片厚度 $8\mu\text{m}$, Delafield's苏木精-伊红染色。

2 结果与分析

2.1 产卵频次

统计了20尾雌鱼共273批的产卵量。雌鱼的平均个体大小为全长47.6—56.0mm, 体重1.05—2.02g。产卵间隔变化于2—9d, 众数4d, 平均4.5d(图1)。试验期间每尾雌鱼产卵9—18批, 批产卵量变幅为96—655粒, 平均265.6。产卵间隔和批产卵量的统计结果与过去的研究是相似的^[18], 这表明稀有𬶋鲫成熟雌鱼具有“连续分批产卵”的能力, 与通常所说的分批产卵类型是不同的。

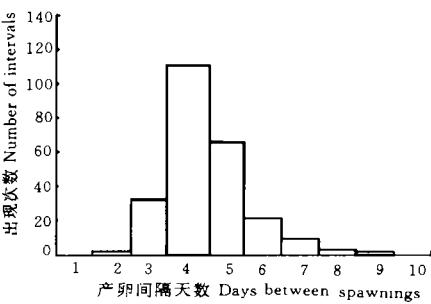


图1 室养稀有𬶋鲫产卵间隔的频次分布

Fig.1 Frequency distribution of inter-spawning intervals for pairs of *Gobiocypris rarus* in laboratory aquaria. A total of 253 intervals were observed

见于刚产完卵及产卵后半天的雌鱼, 有时在产卵后1d的卵巢中也可见残存的滤泡。

稀有𬶋鲫成熟卵巢(IV, V, VI—IV)中存在不同发育时期的卵母细胞。例如, V期卵巢中除存在已游离的卵母细胞外, 还存在形态、大小、卵黄沉积多少等各不相同的卵母细胞。我国学者一般根据组织学特征将卵母细胞的发育期分5个时相, 稀有𬶋鲫的卵母细胞也可相应分为5个时相。但为了其后的分析方便, 参照国外的分期方法^[4,7], 根据解剖镜下卵母细胞的大小、颜色等特征, 结合组织切片的观察, 将稀有𬶋鲫的卵母细胞分为6类并将它们归入3个库(表1)。

2.3 卵径分布与卵子补充

对每尾鱼的卵径分布进行分析, 发现相同繁殖状态的平行样本(如3尾产卵过程中解剖的鱼)所反映的卵巢发育状况相当一致, 因此, 将平行样本的数据叠加, 以百分频率为纵轴, 得到了稀有𬶋鲫成熟卵巢的卵径分布图(图2, A—

无论产卵间隔为3d、4d还是5d, 产卵前的卵巢中明显存在两个卵母细胞群(图2, A—

2.2 卵巢和卵母细胞分期

对处于产卵周期中不同时段的鱼取样解剖, 得到了不同发育时期的卵巢。根据我国学者常用的分期方法^[9—15], 这些卵巢分别是产卵前和正产卵时的V期卵巢、产后的VI—IV卵巢、以及产后恢复阶段的IV期卵巢。其中, VI—IV期卵巢的特点是卵巢松弛, 组织切片上可观察到大量的空滤泡, 主要见于刚产完卵及产卵后半天的雌鱼, 有时在产卵后1d的卵巢中也可见残存的滤泡。

稀有𬶋鲫成熟卵巢(IV, V, VI—IV)中存在不同发育时期的卵母细胞。例如, V期卵巢中除存在已游离的卵母细胞外, 还存在形态、大小、卵黄沉积多少等各不相同的卵母细胞。我国学者一般根据组织学特征将卵母细胞的发育期分5个时相, 稀有𬶋鲫的卵母细胞也可相应分为5个时相。但为了其后的分析方便, 参照国外的分期方法^[4,7], 根据解剖镜下卵母细胞的大小、颜色等特征, 结合组织切片的观察, 将稀有𬶋鲫的卵母细胞分为6类并将它们归入3个库(表1)。

2.3 卵径分布与卵子补充

对每尾鱼的卵径分布进行分析, 发现相同繁殖状态的平行样本(如3尾产卵过程中解剖的鱼)所反映的卵巢发育状况相当一致, 因此, 将平行样本的数据叠加, 以百分频率为纵轴, 得到了稀有𬶋鲫成熟卵巢的卵径分布图(图2, A—

无论产卵间隔为3d、4d还是5d, 产卵前的卵巢中明显存在两个卵母细胞群(图2, A—

表1 稀有鮈卵母细胞的分期

Tab.1 Classification on oocytes of female *G. rarus*

库 Pool	分 期 Stage	特征描述 Description of oocytes
二级贮备库 Secondary recruitment pool	Latent (LA)	卵透明、核可见, 直径0.25mm以下, 细胞常不规则, 包括1时相和2时相的卵母细胞
一级贮备库 Primary recruitment pool	Early Maturing (EM)	卵半透明, 细胞核依稀可见, 直径在0.25—0.35mm之间, 切片观察可见细胞中有大量液泡, 胞外已有滤泡存在, 为3时相卵母细胞
	Medium Maturing (MM)	卵浅白色, 直径一般在0.35—0.45mm之间, 已开始沉积卵黄, 胞质中尚有液泡存在, 为4时相早期卵母细胞
	Late Maturing (LM)	卵白色或浅黄色, 直径0.45—0.60mm, 卵细胞已大量沉积卵黄, 为4时相中期卵母细胞
当前繁殖库 Present spawning pool	Mature (MA)	卵黄色, 直径0.60mm以上, 卵黄呈板块状且已充满整个卵母细胞, 为4时相晚期卵母细胞
	Ripe (RE)	卵大、半透明, 游离在卵巢中, 切片观察可见卵母细胞已与滤泡膜分离, 为5时相卵母细胞

C)。一是出现频率随卵径增大而呈递减趋势的 EM、MM、LM 卵母细胞群; 另一是卵径较大, 且随着卵径增大出现频率呈显一个峰的 MA 及 RE 卵母细胞群。组成分布图中“峰”的卵径大小基本相同, 主要是 0.600—0.750mm 的卵母细胞, 这表明稀有鮈卵母细胞发育是不同步的, 卵的成熟是分批的。由于产卵间隔不同, 图中峰的纵坐标和显著性略有差异, 这表现了卵子发育的“不同步性”或“分批性”不同; 产卵间隔越短, 卵子成熟的“分批性”越强, 卵径分布的峰越为显著。

随着产卵活动的开始, 卵径 0.625mm 以上的卵在卵巢中的数量逐渐减少, 在刚产完及产卵后半天的卵巢中仅少量残存, 产卵前由 MA、RE 卵形成的峰完全消失(图 2, D—F)。对 7 尾产卵前雌鱼当前繁殖库的卵母细胞进行统计, 结果其数量为 212—420, 均在其批产卵量变幅内, 这证明产卵前卵径分布的“峰”的确代表了当前产卵的批产卵量。稀有鮈的卵母细胞不但是分批成熟的, 而且是分批产出的; 因产卵后卵巢中有少数残存的 RE 卵, 分批成熟的卵数量(当前繁殖库的卵子数量)略大于实际的批产卵量。

值得注意的是, 在产卵后半天的卵径分布图上, 以 0.500mm 为典型大小的卵母细胞隐约形成一个峰。随着产卵后时间的延续, 这群卵母细胞继续发育和成熟, 它们预示几天后的下一次产卵。在产卵后 1—3d 的卵径分布图(图 2, G—I)中可以看到, 这个峰的典型卵径大小逐渐增加, 且分布峰也逐渐显著。其中, 产卵后 1d 内卵径增幅最大, 约增大了 0.20—0.25mm; 产卵后 1d 至 2d, 分布峰的卵径增幅较小, 但分布峰则更为显著; 到产卵后 3d, 分布峰卵群的卵径进一步增大, 该卵群与其他卵群分离明显, 卵径分布图与产卵前的已十分相似, 该大卵径群的卵母细胞可能在较短时间后(如 1d 或 2d)成熟并产出。

两次产卵间不同时间卵径分布的变化表明, 稀有鮈成熟卵巢可以在几天内形成一

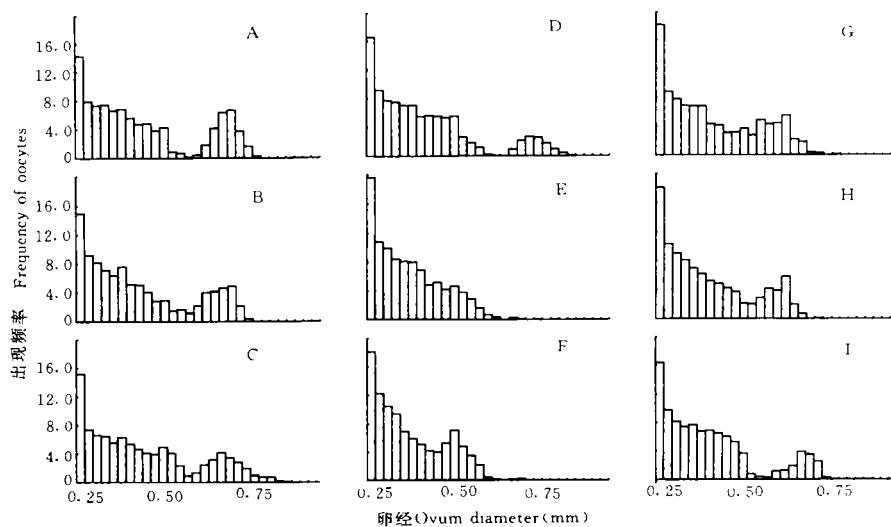


图 2 稀有𬶋鲫产卵周期中不同时段的卵径分布

Fig.2 Ovum diameter histograms for *Gobiocypris rarus* females killed during different time in inter-spawning interval

A—C. 产卵前分别距上次产卵 3, 4, 5d Just before spawning 3, 4 and 5 days after last spawning respectively; D. 正产卵 Spawning; E. 刚产完 Shortly after spawning; F. 产卵后 12h after spawning; G—I. 分别为产卵后 1, 2, 3d 1, 2, and 3 days after spawning respectively

批 MA、RE 卵母细胞, 即由一级贮备库补充到当前繁殖库的过程既有分批性, 又有一定连续性。

对 20 尾雌鱼的一级贮备库统计表明, 库中卵的数量为 850—1576 粒。根据记录的产卵频次资料计算, 一级贮备库仅可供 3—7 次产卵。如果一级贮备库没有输入, 这 20 对鱼在 12—33d 后即不再产卵。但事实上, 在室养条件下稀有𬶋鲫是可周年产卵的; 而且本实验进行过程中与结束后室养的其他稀有𬶋鲫同样每隔几天产一次卵。据此可推测如果本实验不将鱼处死, 其后的产卵批次绝不止 3—7 批。因此, 一级贮备库的数量可能是相对稳定的, 在连续产卵消耗一级贮备库的同时, 一级贮备库也得到了补充, 即二级贮备库中的 LA 卵母细胞可在繁殖期内沉积卵黄并补充到一级贮备库。

3 讨论

上述结果清楚地表明, 稀有𬶋鲫的产卵类型与一次产卵、分批产卵是不同的, 稀有𬶋鲫属连续产卵类型。这表现在: (1)一级贮备库既有输出也有输入; (2)卵母细胞的成熟既是分批的, 在一定程度上又是连续的; (3)当前繁殖库代表了即将进行的一次产卵的产卵量, 卵子是连续分批产出的; (4)产卵频次统计证明了稀有𬶋鲫具有连续产卵的能力。

连续产卵类型在产卵频次、卵子补充、年产卵量与卵母细胞库的关系等方面都与其他产卵类型不同。从产卵次数来看, 一次产卵类型的鱼类在一个繁殖季节仅产卵一次, 分批产卵类型的鱼类一年产卵很少超过 3 次, 连续产卵类型的鱼类则在一年内可反复产卵数十次。从卵子补充来看, 一次产卵类型卵母细胞发育是同步的, 卵巢中所有沉积卵黄的卵母细胞一次

性发育成熟并产出,因而V期卵巢中“一级贮备库”近于零(即使有少数卵母细胞也不能在当年成熟、产出)。分批产卵类型的鱼类,虽然其卵母细胞发育是不同步的,但从一级贮备库补充到当前繁殖库的时间较长,如香鱼(*Plecoglossus altivelis*)15—20d^[2,11],大银鱼(*Protosalanx hyalocranius*)半个多月^[11],小黄鱼(*Pseudosciaena polysticta*)1—2周^[12];而且,分批产卵的鱼类,一级贮备库只有输出没有输入,因而不能形成连续的补充卵群。如前所述,象稀有𬶋鲫这样连续产卵类型的鱼类,其卵子补充是连续的。作者曾根据产卵量大于卵巢含卵量(所有卵母细胞库的总数量)推测,不仅一级贮备库有输入,由LA卵母细胞组成的二级贮备库在繁殖季节中都可能得到了补充。Henis *et al*在对闪鮈属(*Notropis*)的研究中也得到了类似的结论。从年产卵量来看,一次产卵类型的年产卵量大约等于V期卵巢中当前繁殖库的数量,分批产卵鱼类的年产卵量小于或等于当前繁殖库与一级贮备库之和,而连续产卵类型鱼类的年产卵量可能大于所有卵母细胞库的总数量,因而不能用卵巢中卵子的数量来估计年产卵量。

一般认为,分批产卵的生物学意义是适应骤然降临的环境变化,保持种群增殖和保证幼鱼充足饵料,是提高小型鱼类繁殖力较经济的途径^[6,19]。在这几方面,连续产卵类型比分批产卵类型具有更突出的优越性。此外,连续产卵类型常与个体小、繁殖季节长、性成熟快(通常当年即可性成熟)等结合在一起,构成了这些鱼类特殊的生活史特点。关于连续产卵类型鱼类繁殖周期的调控及影响因子等值得进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Mackey I, Mann K H. Fecundity of cyprinid fishes in the River Thames, Reading, England. *J Fish Res Bd Can*, 1969, **26**: 2795—2805
- [2] 曹克驹、李明云. 鬼溪香鱼繁殖生物学的研究. 水产学报, 1982, **6**(2): 107—118
- [3] Deniel C, Blanc C L, Rodriguez A. Comparative study of sexual cycle, oogenesis and spawning of two Doleidae, *Solea lascaris* (Risso, 1810) and *Solea impar* (Bennet, 1831), on western coast of Brittany. *J Fish Biol*, 1989, **35**: 49—58
- [4] Conner D C. Field and laboratory assessment of patterns in fecundity of a multiple spawning fish: the Atlantic silverside *Menidia menidia*. *Fish Bull* 1985, **83**(3): 331—341
- [5] Gale W F. Fecundity and spawning frequency of caged bluntnose minnow—fractional spawners. *Trans. Am. Fish Soc*, 1983, **112**: 398—402
- [6] Gale W F, Buynak L. Fecundity and spawning frequency of the fathead minnow—a fractional spawner. *Trans Am Fish Soc*, 1983, **111**: 35—40
- [7] Heins D C, Rabito F G. Spawning performance in north America minnow: direct evidence of the occurrence of multiple clutches in the genus *Notropis*. *J. Fish. Biol*, 1986, **28**(3): 343—357
- [8] 中山大学生物系动物教研室, 广东省南海县水产养殖场. 草鱼人工繁殖中一年多产卵的生物学基础. 水生生物学集刊, 1978, **6**(3): 261—272
- [9] 刘筠. 草鱼产卵类型的研究. 水生生物学集刊, 1978, **6**(3): 247—260
- [10] 刘筠. 尼罗罗非鱼性腺发育的研究. 水生生物学集刊, 1983, **8**(1): 17—23
- [11] 孙帼英. 大银鱼卵巢的成熟期和产卵类型. 水产学报, 1985, **9**(4): 363—368
- [12] 吴佩秋. 小黄鱼不同产卵类型卵巢成熟期的组织学观察. 水产学报, 1981, **5**(2): 161—169
- [13] 龚启祥 曹克驹 曾增. 香鱼卵巢发育的组织学研究. 水产学报, 1982, **6**(3): 221—234
- [14] 龚启祥 倪海儿 李伦平等. 东海银鲳卵巢周年变化的组织学观察. 水产学报, 1989, **13**(4): 316—325
- [15] 湖南师范学院生物系. 青鱼性腺发育的研究. 水生生物学集刊, 1975, **5**(4): 471—483

- [16] Nikolsky C V. The Ecology of Fishes. London: Academic Press, 1963
- [17] Bagenal T B. Braum E. Egg and early history. In: Methods for Assessment for Fish Production in Fresh Waters. 3rd ed. Oxford: Blackwell Sci Publ, 1978, 165—201
- [18] 王剑伟. 稀有𬶋𬶋的繁殖生物学. 水生生物学报, 1992, 16(2): 165—174
- [19] Г B尼科尔斯基著. 高岫译. 黑龙江流域的鱼类. 北京: 科学出版社, 1960

SPAWNING PERFORMANCE AND DEVELOPMENT OF OOCYTES IN *GOBIOCYPRIS RARUS*

Wang Jianwei

(Institute of Hydrobiology, The Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072)

Abstract Twenty pairs of laboratory-reared F_1 and F_3 of *Gobiocypris rarus* were used to study spawning performance and development of oocytes. Analyses of spawning performance and ovum diameter histograms demonstrated that females produced clutches of eggs. In Stage V ovaries, the number of eggs in final clutch that contains mature and ripe eggs represents the present batch fecundity. Every a few days, such a final clutch could be produced and spawned by mature females. Recruitment of oocytes is so fast that primary recruitment pool can be renewed in 13 to 33 days. Based on spawning frequency and ovum development, it was confirmed that the process of eggs' recruitment is continuous. A total of 273 spawnings were observed in 20 pairs kept at $21.6 \pm 3.0^\circ\text{C}$ in the laboratory. The interspawning intervals ranged from 2 to 9 days, with a mean of 4.5 days and a mode of 4 days. The batch size ranged from 96 to 655 eggs with a mean of 265.6 eggs for females of 47.6 to 56.0 mm total length. This paper proved that *Gobiocypris rarus* is a continuous batch spawner.

Key words *Gobiocypris rarus*, Spawning, Continuous batch spawner, Ovum diameter histograms