

# 人工饲养和野生草鱼幼鱼耳石微结构的比较研究

宋昭彬 常剑波 曹文宣 夏立启

(中国科学院水生生物研究所, 武汉 430072)

**摘要:** 分别检测了人工饲养和野生草鱼幼鱼的耳石微结构特征。根据耳石透明性的差异, 可将微耳石划分出中央暗区和外部亮区两部分。饲养种群的耳石暗区大小和生长轮数目均大于野生种群, 暗区和亮区的特征比较稳定, 生长轮清晰, 对比度好, 宽度比较均匀; 野生种群的耳石暗区和亮区表现形式多变, 暗区的生长轮清晰或不清晰, 亮区的生长轮清晰, 但宽度波动较大。依据耳石微结构特征, 可以对饲养和野生草鱼种群进行识别。

**关键词:** 草鱼; 幼鱼; 耳石; 微结构

中图分类号: S965.112 文献标识码: A 文章编号: 1000-3207(2003)01-0007-06

通过耳石微结构特征分析, 能对鱼类在过去某段时间内的摄食或生存环境条件的状况作出推测, 还可能鉴别不同的种群<sup>[1]</sup>。人工饲养的和长江中生长的草鱼(*Ctenopharyngodon idellus*)生存的环境条件截然不同, 长江中的食物条件很不稳定, 而人工饲养条件下, 投饵量通常比较稳定且充足。这种差别势必影响两者的耳石微结构的式型。对人工饲养和野生草鱼幼鱼的耳石微结构进行检测与分析, 旨在找出二者的差异, 从而有效地对饲养种群和野生种群加以识别。同时, 利用耳石微结构特征, 还可能揭示幼鱼的生长状况以及生存的环境条件的动态变化。

## 1 材料与方法

**1.1 材料来源** 野生幼鱼分别为1999年7月6—7日从长江石码头江段, 7月14日、8月5日从长江新滩口江段和五湖(与长江相通的季节性湖泊)采集, 捕捞网具为网簖。其中, 石码头样本的体长为29.0—79.0mm, 体重为0.4—10.8g; 新滩口样本的体长为23.3—183.0mm, 体重为0.4—131.4g; 五湖样本的体长为54.0—190.0mm, 体重为2.6—122.7g。人工饲养幼鱼为1999年10月28日从华中农业大学育苗场采集, 体长为49.5—216.0mm, 体重为2.5—196.0g。

**1.2 耳石摘取和制备** 用眼科剪刀从腹面剪开幼鱼的脑颅骨, 取出微耳石, 将其在无水酒精中清洗干

净并晾干后置于2.0mL的离心管中保存。用热熔胶将耳石粘在载玻片上, 依次用1200—1500#水磨砂纸沿耳石的矢切面打磨, 打磨过程中不断在解剖镜和显微镜下检查, 直到打磨到耳石的生长中心。然后将耳石翻面, 用相同的方法打磨另一面。耳石打磨好后, 加上二甲苯, 待热熔胶软化后, 在解剖镜下用解剖针清除耳石上的杂质和残余的热熔胶。最后, 用中性树胶将打磨好的耳石封在载玻片上保存, 以备观察耳石微结构之用。

**1.3 检测和拍照** 在Olympus BH2光学显微镜下检测耳石上生长轮的特征及耳石透明度的变化情况。用与计算机相连接的Leica DC100数码相机分别在Leica解剖镜和Olympus BH2光学显微镜下对耳石微结构进行照相。用自编的图像分析系统<sup>[2]</sup>测量耳石大小和生长轮宽度, 并分析耳石生长轮的对比度及耳石透明度的变化特征。

## 2 结果

### 2.1 人工饲养幼鱼的耳石微结构特征

根据微耳石的矢切面上透明度或光密度的差异, 可以将耳石大致划分为暗区(Optically dense zone, ODZ)和亮区(Low optically dense zone, LODZ)两个部分。暗区位于耳石中央, 持续约45.4±6.83个生长轮, 半径为0.25±0.04mm(沿耳石的前后轴测量耳石中心到暗区前端外缘的长度, 以下同)(表

1)。在透射光下观察时,该区域的颜色较深;在反射光下观察时,该区域不透明(图版 I : 1, 2)。通常情况下,该区又包括两部分:暗区 I ,指里面的生长轮较窄的暗区部分,该部分耳石上的生长轮比较复杂,清晰度和对比度稍差,数目变化大,变动范围为 8—25 个生长轮;暗区 II ,指暗区的外面部分,通常为  $29.2 \pm 1.72$  个生长轮(范围: 27—32, n= 6),该部分耳石的透明性比暗区 I 稍好,生长轮相当清晰,对比

度好,且宽度比较均匀,通常大于暗区 I 的生长轮宽度(图版 I : 3)。亮区位于暗区外面,在透射光下观察时,该区域的颜色很浅,在反射光下观察时,该区域比较透明(图版 I : 1, 2)。该区的生长轮相当清晰,对比度好,轮纹宽度均匀(图版 I : 3)。微耳石上生长轮宽度的变动范围为  $2.54\text{--}9.84\mu\text{m}$ (图 1),其中,暗区 II 的生长轮宽度为  $4.98 \pm 1.23\mu\text{m}$ ,亮区的生长轮宽度为  $4.18 \pm 0.62\mu\text{m}$ (n= 7)。

表 1 野生和人工饲养的草鱼幼鱼微耳石上暗区的大小和生长轮数目

Tab. 1 Size and increment number of optically dense zone in lapilli of juvenile grass carp from the Yangtze River and hatchery

采集地 Sampling sites	大小 Size(mm)			生长轮数 Increment number		
	Mean	SD	N	Mean	SD	N
新滩口 Xintankou	0.17 <sup>a</sup>	0.04	27			
五湖 Wuhu Lake	0.17 <sup>a</sup>	0.04	26	28.1 <sup>d</sup>	5.89	28
石码头 Shimatou	0.14 <sup>b</sup>	0.02	23	26.5 <sup>d</sup>	4.03	73
育苗场 Hatchery	0.25 <sup>c</sup>	0.04	7	45.4 <sup>e</sup>	6.83	7

注:右上标具有相同字母的平均值间无显著差异,以下同。

## 2.2 野生幼鱼的耳石微结构特征

与人工饲养个体类似,野生幼鱼的耳石内外部分的透明度也存在差异,同样可划分出暗区和亮区。但其微结构特征比较复杂,形式变化多样,可归纳为以下几种类型:(1)耳石由明显的中央暗区和外部亮区组成,大多数个体的耳石具有这种特征。暗区的生长轮清晰或不清晰,亮区的生长轮一般很清晰,对比度高,但宽度往往有很大的波动,通常表现为:亮区开始部分为几个到 10 多个很宽的生长轮,之后,生长轮的宽度急剧变窄,持续约几个到 10 多个轮,再后,生长轮的宽度有所增加,并且呈现出宽生长轮—窄生长轮—宽生长轮的波动变化(图版 I : 4, 5)。一些个体的耳石上,亮区内由刚开始的宽生长轮向窄生长轮转变的位置还出现了一条深黑色的标记轮(图版 I : 4)。(2)耳石由中央亮区、中间暗区和外部亮区三部分组成(图版 I : 6),在石码头江段采集的样本中,相当一部分幼鱼的耳石上具有这种特征。中央亮区一般很小,不同个体间的大小差异较大,其上的生长轮稍清晰,约 4—10 个左右。中间暗区和外部亮区的生长轮特征和第一种类型相似。(3)耳石的暗区和亮区间存在过渡带,通常由 10 多个极细密、且对比度极差的生长轮构成。暗区和亮区的生

长轮特征和第一种类型相似。(4)耳石上有明显的暗区和亮区,但暗区内通常还具有一稍亮的环带,而在亮区内也存在稍暗的环带。暗区和亮区的生长轮特征和第一种类型相似。(5)耳石上无特别明显的明暗区的分别,但有明显的暗带和明带的交替变化,从耳石中心到边缘,生长轮的宽度存在由宽到窄,再由窄到宽的波动变化。野生个体中,以第一种类型的耳石微结构特征为主。

采自石码头江段和五湖的样本的耳石暗区生长轮数目分别为  $26.5 \pm 4.03$  个和  $28.1 \pm 5.89$  个,采自新滩口江段、五湖和石码头江段的样本的耳石暗区大小分别为  $0.17 \pm 0.04\text{mm}$ ,  $0.17 \pm 0.04\text{mm}$  和  $0.14 \pm 0.02\text{mm}$ (表 1)。

采自新滩口江段、五湖和石码头江段的样本的耳石生长轮宽度变动范围分别为  $1.90\text{--}14.58\mu\text{m}$ ,  $1.85\text{--}12.57\mu\text{m}$  和  $1.42\text{--}14.68\mu\text{m}$ (图 1)。新滩口样本的耳石暗区生长轮宽度为  $7.33 \pm 6.48\mu\text{m}$ ,亮区生长轮宽度为  $4.68 \pm 2.74\mu\text{m}$ (n= 11);五湖样本的暗区生长轮宽度为  $6.24 \pm 2.14\mu\text{m}$ ,亮区生长轮宽度为  $4.77 \pm 2.31\mu\text{m}$ (n= 23);石码头样本的暗区生长轮宽度为  $5.73 \pm 3.45\mu\text{m}$ ,亮区生长轮宽度为  $5.09 \pm 3.82\mu\text{m}$ (n= 39)。

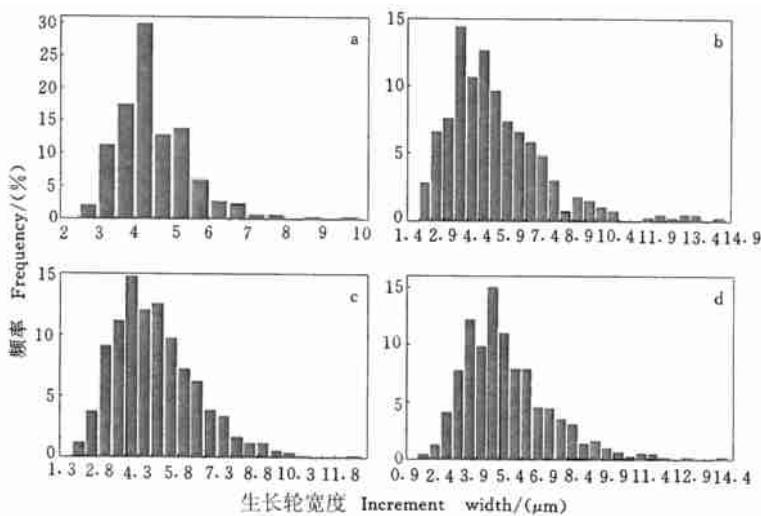


图 1 草鱼幼鱼微耳石生长轮宽度的频率分布

Fig. 1 Frequency distribution of increment width of lapilli in juvenile grass carp

a 育苗场样本 Sample from hatchery; b 新滩口样本 Sample from Xintankou;

c 五湖样本 Sample from Wuhu Lake; d 石码头样本 Sample from Shimatou

### 2.3 人工饲养和野生幼鱼耳石微结构特征的比较

野生和人工饲养幼鱼的耳石上均具有明显的暗区和亮区, 两区交界处, 耳石的光密度值发生急剧的改变( 图 2)。但是, 两者间耳石微结构特征还存在较大的差异。

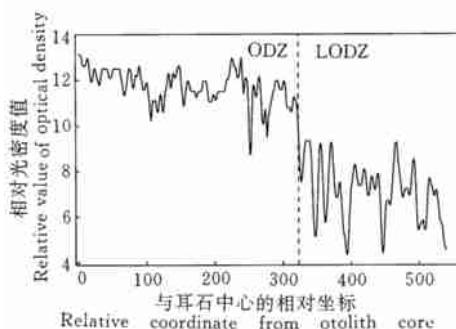


图 2 草鱼幼鱼微耳石光密度的变化

Fig. 2 Changes of optical density of lapilli in juvenile grass carp

饲养种群的耳石微结构特征比较稳定, 基本上表现为单一的类型, 暗区和亮区的交界处通常比较明显而容易分辨。野生种群的表现形式则多变, 暗区和亮区的界限有时比较模糊。一些耳石上出现的中央亮区, 在人工饲养样本中未发现。饲养种群的耳石上除个别样本暗区 I 的生长轮不太清晰外, 其余部分的耳石生长轮均相当清晰, 宽度比较均匀, 变异系数较小; 野生种群中, 有的样本暗区的生长轮清晰, 有的则不清晰, 亮区的生长轮一般比较清晰, 对比度好, 暗区和亮区的生长轮宽度都不整齐, 变异系

数较大(表 2)。野生种群的耳石生长轮宽度的波动幅度一般要大于饲养种群, 其生长轮宽度的标准差一般在  $1.0\mu\text{m}$  以上, 而饲养种群在  $1.0\mu\text{m}$  以下(图 3)。

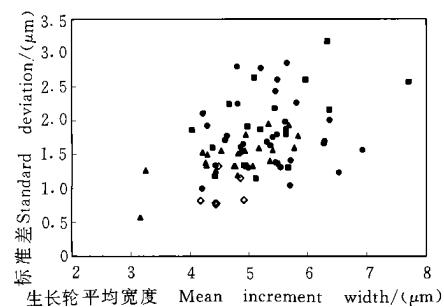


图 3 草鱼幼鱼耳石生长轮平均宽度与标准差的关系

Fig. 3 Standard deviation versus mean increment width of individual lapillus in juvenile grass carp sampled from different sites

◇ 育苗场样本 Sample from hatchery; ■ 新滩口样本 Sample from Xintankou; ▲ 五湖样本 Sample from Wuhu Lake; ● 石码头样本 Sample from Shimatou

Kolmogorov-Smirnov 检验表明, 野生个体的耳石暗区大小和生长轮数目均显著小于饲养个体的耳石暗区大小和生长轮数目(表 1), 饲养种群的耳石生长轮宽度显著小于野生种群(表 2)。

### 3 讨论

#### 3.1 耳石暗区和亮区的成因

鱼类耳石的不透明性主要受平均水温和摄食水

平两方面因素的影响。一些种类在低水温下饲养后,耳石的透明性比高水温饲养后差;饥饿时沉积的耳石也可能比饱足摄食时更加透明。Volk 等报道,饲养温度能改变大麻哈鱼(*Oncorhynchus keta*)耳石的透明性,突然降低水温,可以使胚胎的耳石上形成暗带;饥饿则使大鳞大麻哈鱼(*Oncorhynchus tshawytscha*)稚鱼耳石上形成透明性相对较高的环带<sup>[3]</sup>。一些热带珊瑚礁鱼类在定居后沉积的耳石部分比之前的沉积部分更加透明<sup>[4]</sup>。作者的研究认为,人工饲养和野生的草鱼幼鱼微耳石上出现透明性差异,即暗区和亮区的存在,可能是由于平均水温的差异引起的。由耳石日轮推算的三个野生种群的孵化期在5月初,而耳石上暗区的生长轮数约为30轮,说明形成耳石暗区的时间大致在5月份,从6月

份开始沉积耳石的亮区部分,这刚好和长江中5、6月份的水温变化相一致<sup>[2]</sup>。同时,孵化后约1个月的草鱼主动游泳能力增强,一旦进入浅水区或通江湖泊中定居,经历的平均水温和昼夜水温波动幅度会有所提高,耳石的透明性及生长轮的清晰度随之受到影响。饲养种群为5月初人工催产繁殖的个体,由于受不同月份的平均水温的影响,幼鱼的耳石上同样表现出显著的透明性差异。值得注意的是,饲养幼鱼的池塘的深度一般为1—2m,水体温度受早晚气温的影响较长江中大,这势必使其维持较低的平均水温的时间比长江水体要长些,进而使幼鱼耳石上沉积的暗区要宽于天然种群。此外,部分天然幼鱼的耳石上存在中央亮区,这可能是由于早期的营养缺乏引起的。

表2 不同样本的微耳石生长轮宽度及其变异系数

Tab 2 Lapillus increment width and its coefficient of variation of different samples

采集地 Sampling sites	平均值 Mean(μm)	标准差 Standard deviation (μm)	变异系数 Coefficient of variation(%)	样本数 Number
育苗场 Hatchery	4.50 <sup>a</sup>	1.00	22.33	7
新滩口 Xintankou	5.18 <sup>bc</sup>	2.11	40.79	11
五湖 Wuhu Lake	4.83 <sup>b</sup>	1.60	33.22	23
石码头 Shimatou	5.29 <sup>cd</sup>	1.95	36.82	29

### 3.2 耳石生长轮清晰度差异和宽度波动的原因

一些研究表明,耳石生长轮的清晰度受水温昼夜变化幅度的影响<sup>[5]</sup>。由于池塘的水体较小且浅,昼夜温差一般较大,故饲养幼鱼耳石暗区和亮区的生长轮均相当清晰。相反,野生幼鱼在进入浅水区或湖泊定居以前的漂流生活阶段(大致为耳石暗区对应的生活史阶段),长江中水温的昼夜变化很小,这可能是导致幼鱼暗区生长轮清晰度和对比度差的原因。一旦幼鱼在浅水草滩或通江湖泊中定居下来,其生活环境的水温昼夜变化幅度增加,耳石上生长轮的清晰度和对比度也随之提高。

耳石上生长轮的宽度往往受摄食条件、水温和光照周期的影响<sup>[6]</sup>。饥饿组遮目鱼(*Chanos chanos*)仔鱼耳石上形成的生长轮宽度显著窄于摄食组的生长轮<sup>[7]</sup>,维氏双边鱼(*Ambassis vachelli*)的耳石生长轮宽度随饥饿逐渐下降<sup>[8]</sup>。Zhang 等则认为,孵化场饲养的大鳞大麻哈鱼的生长轮比野生个体的生长轮宽可能是饲养水温较高和食物条件较充足的结果。人工饲养和野生草鱼在生长期间,平均水温和光照周期的变化一般较小,食物条件通常成为影响耳石生长轮宽度的主要因素。饲养种群的生存条件相对比

较稳定,尤其是食物条件比较稳定,因此,耳石上沉积的生长轮比较均匀,宽度波动幅度较小。天然条件下,幼鱼的食物条件比较复杂,可能会遭遇不定期的摄食不足或饥饿,这必然使其耳石生长发生变化,沉积的生长轮的宽度通常出现较大的波动,不具备人工饲养条件下轮纹宽度的整齐性。幼鱼刚好定居在某一索饵场所生活时,由于食物比较充足,故形成了很宽的轮纹。一旦食物被大量消耗,耳石生长轮宽度也会随之急剧下降,这一点刚好能从幼鱼耳石上生长轮宽度的波动变化上反映出来,同时,还充分体现了天然条件下,鱼体生长和饵料丰度间的消长关系。

### 3.3 饲养种群和野生种群的识别

Zhang 等研究发现,由于孵化场饲养的大鳞大麻哈鱼的摄食条件很好,且饲养环境条件稳定,而野生个体要忍受食物量的变化,以及生存环境条件的波动,两者间在耳石微结构上表现出一些特有的差异,据此能对人工饲养和野生种群加以鉴别。利用饲养和野生草鱼种群的耳石微结构特征的差异,同样可以进行种群鉴别。依据耳石微结构鉴别人工饲养和野生草鱼时,可参考以下特征:(1)暗区生长轮的清晰度和对比度;(2)生长轮宽度的整齐性及波动幅

度; (3) 暗区的大小及生长轮数目; (4) 有无中央亮区的存在。在检测和分析这些特征, 并将其用于种群识别时, 最好采用多个特征进行综合判定。

## 参考文献:

- [ 1 ] Zhang Z, Beamish R J, Riddell B E. Differences in otolith microstructure between hatchery reared and wild chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) [J]. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 1995, **52**: 344—352
- [ 2 ] Song Z B. Studies on characteristics of otolith microstructure in larval and juvenile grass carp, silver carp, black carp and bighead from the Yangtze River [D]. Wuhan: Institute of Hydrobiology, the Chinese Academy of Sciences 2000. [宋昭彬. 四大家鱼仔幼鱼耳石微结构的特征及其应用研究. 武汉: 中国科学院水生生物研究所, 2000]
- [ 3 ] Volk E C, Schroder S L, Fresh K L. Induction of unique otolith banding patterns as a practical means to mass mark juvenile Pacific salmon [J]. *Am. Fish. Soc. Symp.*, 1990, **7**: 203—215
- [ 4 ] Wilson D T, McCormick M I. Microstructure of settlement marks in the otoliths of tropical reef fishes [J]. *Mar. Biol.*, 1999, **134**: 29—41
- [ 5 ] Campana S E. Microstructural growth patterns in the otoliths of larval and juvenile starry flounder, *Platichthys stellatus* [J]. *Can. J. Zool.*, 1984, **62**: 1507—1512
- [ 6 ] Neilson J D, Geen G H. Otoliths of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*): daily growth increments and factors influencing their production [J]. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.*, 1982, **39**: 1340—1347
- [ 7 ] Tzeng W N, Yu S Y. Effects of starvation on the formation of daily growth increments in the otoliths of milkfish, *Chanos chanos* (Forskål), larvae [J]. *J. Fish Biol.*, 1992, **40**: 39—48
- [ 8 ] Molony B W, Choat J H. Otolith increment widths and somatic growth rate: the presence of a time lag [J]. *J. Fish Biol.*, 1990, **37**: 541—551

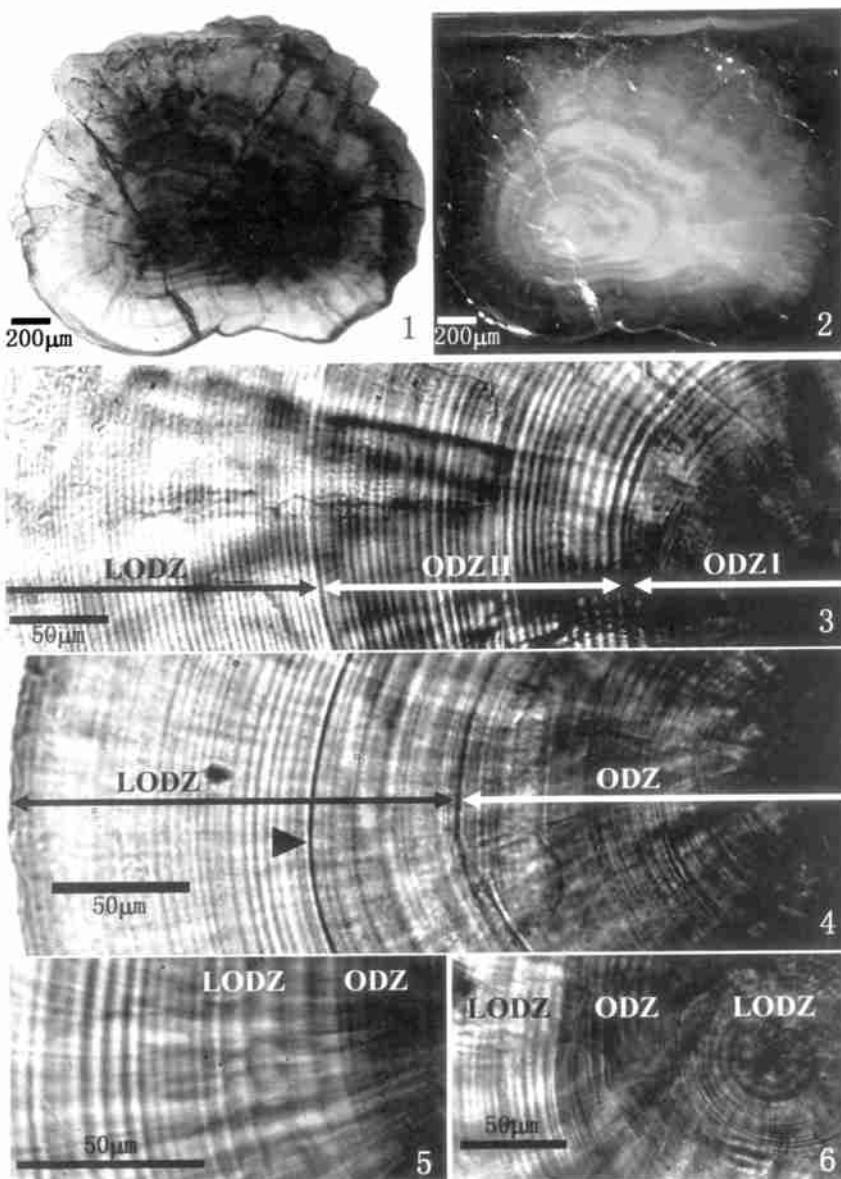
## OTOLITH MICROSTRUCTURE OF HATCHERY- REARED AND WILD JUVENILES OF GRASS CARP, *CTENOPHARYNGODON IDELLUS*

SONG Zhao bin, CHANG Jian bo, CAO Wei xuan and XIA Li qi

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

**Abstract:** The otolith microstructure of juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*) sampled from hatchery and wild were examined and analyzed. The lapilli of juveniles could be divided into inner optically dense and outer low optically dense zones based on the difference of transparency. The size and increment numbers of optically dense zone in hatchery-reared individuals were bigger than that in wild individuals. Increments in optically dense and relatively low optically dense zones were both clear and regular in reared individuals. Increments were clear or unclear in optically dense zone, while clear, but with irregular width in low optically dense zone in wild individuals. The otolith opacity and transparency were probably controlled by average water temperature the juveniles experienced. The irregular width of increments in wild individuals was potentially induced by the fluctuations of food supply in nature. The difference of otolith microstructure could be used to discriminate between the reared and wild populations in the fish.

**Key words:** Grass carp; Juvenile; Otolith; Microstructure



图版 I

1—3: 饲养幼鱼微耳石矢面, 4—6: 野生幼鱼微耳石矢面 (1 透射光观察, 2 反射光观察, 1—2 解剖镜观察, 3—6 显微镜观察) ODZ: 暗区, LODZ: 亮区, ▲: 标记轮

1—3: Sagittal section of lapilli of reared juveniles, 4—6: Sagittal section of lapilli of wild juveniles (1 Viewed under transmitted light, 2 Viewed under reflected light 1—2 Viewed under dissecting microscope, 3—6 Viewed under compound microscope) ODZ: Optically dense zone, LODZ: Low optically dense zone, ▲: Check