

极边扁咽齿鱼人工繁殖技术

张艳萍^{1,2}, 娄忠玉², 苏军虎², 焦文龙², 王太²,
龚雪芬³, 祁世会³, 吴建平¹, 魏彦明^{4*}

(1. 甘肃农业大学动物科技学院, 甘肃 兰州 730070;

2. 甘肃省水产科学研究所, 甘肃省冷水性鱼类种质资源与遗传育种重点实验室, 甘肃 兰州 730000;

3. 甘肃农业大学生命科学技术学院, 甘肃 兰州 730070;

4. 甘肃农业大学动物医学院, 甘肃 兰州 730070)

摘要: 捕获黄河上游玛曲段极边扁咽齿鱼, 在甘肃省临夏国家级鲢鳙鱼良种场驯养后, 进行人工繁殖研究。结果发现, 极边扁咽齿鱼繁殖期为5-6月, 雌鱼和雄鱼都在6龄达到性成熟, 雌鱼成熟系数为18.19%~23.02%, 雄鱼成熟系数为7.13%~8.34%。成熟卵径为(2.1±0.1) mm, 每克卵子数为134.9粒, 绝对繁殖力为12 630~40 470粒, 相对繁殖力为每克体重12.6~28.78粒。通过干法授精, 两年累计孵化极边扁咽齿鱼受精卵14万粒, 平均受精率87.5%, 平均发眼率77.5%, 平均上浮率72%, 发育平均积温为6 321.5 °C·h。

关键词: 极边扁咽齿鱼; 亲鱼培育; 人工繁殖

中图分类号: S 965

文献标识码: A

极边扁咽齿鱼 (*Platypharodon extremus* Herzenstein), 隶属鲤科 (Cyprinidae), 裂腹鱼亚科 (Schizothoracinae), 扁咽齿鱼属 (*Platypharodon*), 是我国特有种, 仅分布于青藏高原的高原河流中, 多栖息于河汊、洄水湾等水流缓慢的水体中, 是一种冷水性鱼类^[1]。从20世纪50年代起, 由于过度捕捞等原因其资源量急剧减少, 分布区已经逐渐缩小到人烟稀少的高原草甸深处^[2], 被《中国濒危动物红皮书-鱼类》列为易危(V)鱼类^[3]。

极边扁咽齿鱼作为青藏高原特有的物种, 对高原淡水生态系统的平衡和水生生物多样性的保护都具有重要的意义。关于极边扁咽齿鱼的研究, 已有肌肉营养成分、外形特征、遗传多样性、若干生物学特性等方面的报道^[1,4-6], 但有关繁殖生物学资料几近空白。为了保护与利用极边扁咽齿鱼资源, 在甘肃省土著经济鱼类资源现状调查项目的资助下, 我们对黄河上游极边扁咽齿鱼资源现状进行了调查, 并收集了部分野生个体进行驯养繁殖试验。

本文报道了人工繁殖方面的试验结果, 旨在积累极边扁咽齿鱼的繁殖生物学方面的基础资料, 为完善人工繁育技术、实施增殖放流奠定基础。

1 材料与方法

1.1 亲鱼培育

从2007年4月到2009年6月间, 在黄河上游玛曲段共收集野生个体60尾(其中雌性40尾, 雄性20尾), 驯养后^[7], 挑选体质健壮且达到性成熟的个体作为试验亲鱼, 雌雄比例为1:1。培育地点位于临夏国家级鲢鳙鱼良种场, 海拔约2 000 m。孵化所用流水池塘50 m², 孵化室20 m², 孵化用水为泉水, 水温周年变化5~18 °C, 水质为碳酸钙型, 水体溶解氧12 mg/L以上, 清澈无污染。

1.2 人工授精

采取干导法进行人工授精^[8], 其操作步骤是: 先将雌鱼用干毛巾擦干鱼体表水后, 挤压腹部, 将卵挤进塑料盆内, 加入雄鱼的精液, 搅拌数

收稿日期: 2010-06-28 修回日期: 2010-09-18

资助项目: 甘肃省技术研究与开发专项计划项目(1004TCYA020, 0805TCYA021); 甘肃省重点实验室建设计划项目(1009RTSA006); 甘肃农业大学生命科学技术学院(SRTP)项目(201008005)

通讯作者: 魏彦明, E-mail: weiyim@gsau.edu.cn

秒钟使精液和卵子均匀混合;加入适量稀释液继续搅拌,然后加入少量清水搅拌,1 min 后再加入适量清水继续搅拌,使精卵充分混合完成受精过程;最后将多余的精液和其它杂物漂洗干净,置于盆内吸水膨胀。

1.3 人工孵化

孵化方法 孵化设施为 40 目尼龙筛绢制作的正方形小槽,边长 40 cm,深 20 cm。小槽放置于孵化虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)的专用平列槽内。每个小槽放 3 层卵,总量为 8 万粒左右。

水流控制 采用流水孵化,孵化过程中水流控制到不使卵子移动为宜,一般为 1.5 L/min。

日常管理 孵化期间,避免光照和震动,每隔 4 天用聚维酮碘消毒一次,预防水霉。鱼卵发眼后,挑出死卵直到卵黄囊吸收完毕,仔鱼上浮后,捞出进行池塘和网箱分步培育。

1.4 亲鱼的生物学指标测定

分别于其产卵前(4 月份)、产卵后(6 月份)及培育期(9 月份)进行生物学指标测定,长度精确到 1.0 mm,重量精确到 0.10 g。包括全长、体重、卵巢重,并算出成熟系数 GSI(性腺重/空壳重 $\times 100$)。怀卵量采用重量取样法,即从Ⅳ期卵巢中称取 0.2~0.5 g 卵,计数充满卵黄颗粒的全部

卵子数作为绝对怀卵量,并据此推算相对怀卵量(绝对怀卵量/体重)。卵径采用随机取样法,用目镜测微尺在解剖镜下测定,每次测量 20 粒。试验水温为 14 ℃左右,在整个孵化过程中,利用实际观测温度和经历的时间,记录各阶段积温。

2 结果

2.1 亲鱼的培育与性腺发育

根据对亲鱼检查情况,极边扁咽齿鱼繁殖期为 5~6 月份。初次成熟年龄在 6 龄以上。首次实现人工产卵时为 2007 年 4 月 23 日,最晚一次人工产卵为 6 月 10 日,雌鱼因个体差异,性腺发育成熟不同步。但产卵个体体长均在 30 cm 以上,体重 750 g 以上。处于成熟期的雌鱼,腹部膨大,柔软,臀鳍增厚,呈椭圆形,边缘光滑,无缺刻,顶部略尖,沿鳍条骨方向有珠星分布;雄鱼成熟个体体长也均在 30 cm 以上,体重 700 g 以上。雄鱼臀鳍边缘有较深的缺刻,成熟的雄鱼臀鳍鳍条骨上有珠星分布,比雌鱼的更加粗糙,臀鳍靠近肛门的 2 根鳍条特化,末端带有倒钩。产卵活动结束后,珠星逐渐消失。

解剖后肉眼观察,发现产卵后第Ⅵ期卵巢回到第Ⅱ期(图1-1,2)或第Ⅲ期(图1-3,4)。6月

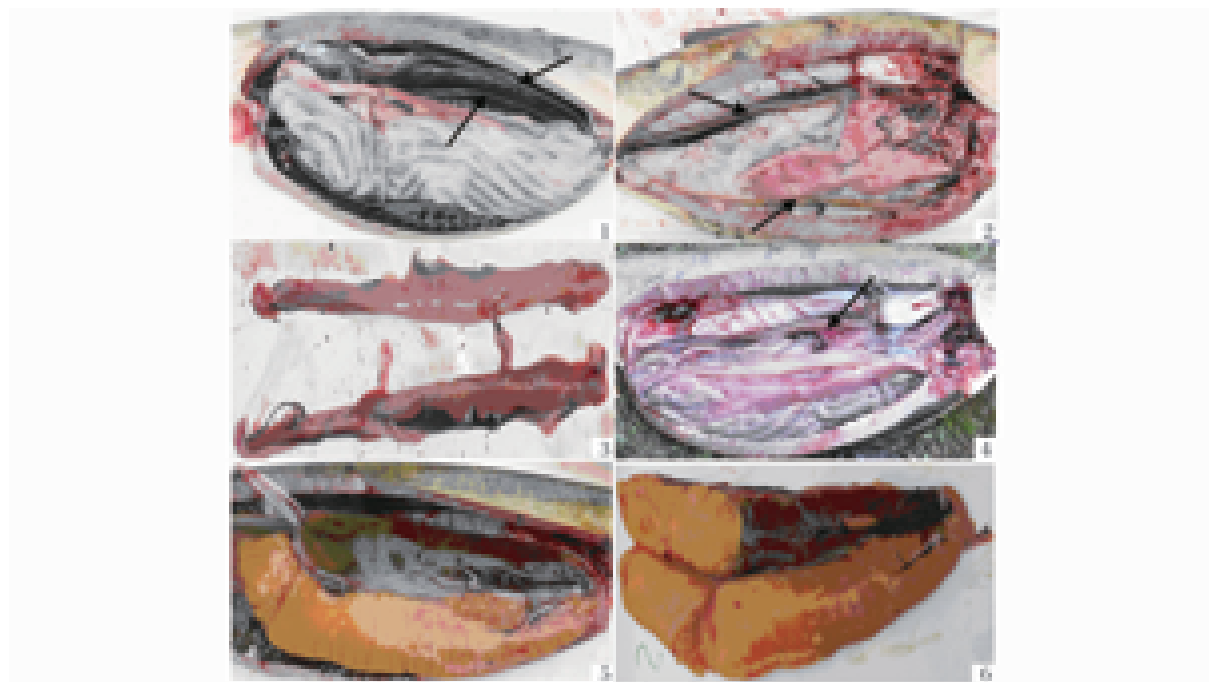


图1 极边扁咽齿鱼卵巢发育观察

1,2 为Ⅱ期卵巢;3,4 为Ⅲ期卵巢;5,6 为Ⅴ期卵巢。

Fig.1 The ovary stages of *P. extremus*

1,2. the ovary in the stage II; 3,4. the ovary in the stage III; 5,6. the ovary in the stage V.

和9月极边扁咽齿鱼卵巢处于第Ⅲ期(图1-3, 4)),只不过9月时卵径稍大,而越冬后卵巢进入一个快速发育期,到4月下旬达到第Ⅴ期(图1-5, 6),可以在人工挤压下排出卵子。

2.2 繁殖力及性腺成熟度系数

通过对部分亲鱼Ⅳ期卵巢解剖及对成熟亲鱼人工挤压采卵观察,极边扁咽齿鱼卵刚产出时,与粘性的卵液混合在一起,对卵子人工授精并吸水膨胀后,粘性消失,为沉性卵,吸水后的卵子直径

(2.4 ± 0.2)mm左右。其绝对繁殖力为12 630 ~ 40 470粒,相对繁殖力为每克体重12.6 ~ 28.78粒,每克卵子数134.9粒(每粒卵子重量约为 7.413×10^{-3} g),平均卵径(2.1 ± 0.1)mm。雌鱼成熟系数18.19% ~ 23.02%,产卵后成熟系数下降到0.61% ~ 2.30%。雄鱼成熟系数为7.13% ~ 8.34%,繁殖后成熟系数下降到1.31% ~ 1.36%(表1)。

表1 极边扁咽齿鱼的繁殖力及性腺成熟系数
Tab.1 The fertility and gonado-somatic index of *P. extremus*

发育时期 development period	观测日期 observed date	性别 sex	标本 数 no.	体重(g) (幅度) body weight (range)		空壳重 (g) shell weight		性腺重 (g) gonad weight		绝对繁 殖力 absolute fertility		相对繁殖力 (粒/克·体重) relative fertility (grains/gram· weight)		成熟 系数 gonado- somatic index
				平均值 mean	幅度 range	平均值 mean	幅度 range	平均值 mean	幅度 range	平均值 mean	幅度 range			
产卵前	2009-04-10	♀	3	809.62 ~ 1 609.24	926.28	704.11 ~ 1 253.27	177.12	93.58 ~ 286.13	23 905	12 630 ~ 38 619	19.79	15.6 ~ 24.00	18.19	
	2009-04-20		2	1 447.78 ~ 1 482.42	1 097.63	1 095.71 ~ 1 099.54	284.19	268.54 ~ 299.84	38 358	36 245 ~ 40 470	26.17	25.03 ~ 27.30	25.89	
	2009-04-28		8	942.50 ~ 1 524.73	931.63	739.24 ~ 1 159.08	213.65	165.08 ~ 286.65	28 836	15 563 ~ 38 689	23.32	16.51 ~ 28.78	23.02	
产卵后	2009-06-15		2	1 366.20 ~ 1 618.13	1 224.39	1 185.31 ~ 1 263.46	28.07	28.00 ~ 28.13					2.30	
	2009-06-25		3	1 282.41 ~ 1 980.35	1 245.33	1 125.27 ~ 1 296.23	7.53	5.22 ~ 9.84					0.61	
繁殖前	2009-04-20	♂	4	1 129.22 ~ 1 257.61	962.52	931.72 ~ 985.46	74.35	75.89 ~ 82.12					7.74	
繁殖后	2009-06-15		3	1 301.75 ~ 1 436.16	964.71	871.52 ~ 1 054.22	12.63	9.12 ~ 15.03					1.31	
	2009-06-25		4	1 358.76 ~ 1 496.37	972.62	989.39 ~ 1 067.18	13.22	9.71 ~ 16.30					1.36	

2.3 受精率及孵化结果

采取干导法进行人工授精,2007年进行预试验,2008年和2009年人工孵化有关数据统计结果见表2,在统计的14万粒卵中,平均受精率87.5%,平均发眼率77.5%,上浮率70%以上。

2.4 极边扁咽齿鱼早期发育积温

从受精到发眼共历时143 h 45 min,积温为2 012.5 °C·h,再到破膜历时41 h 40 min,积温为575 °C·h,孵化过程的总积温为6 321.5 °C·h(表3)。

表2 极边扁咽齿鱼人工授精孵化结果
Tab.2 The results of artificial insemination incubation of *P. extremus*

年份 year	卵粒数($\times 10^4$) eggs	受精率(%) fertilized rate	发眼率(%) eyed rate	上浮率(%) floatation rate
2008	8	86	73	70
2009	6	89	76	74
合计 total	14	87.5	77.5	72

表 3 极边扁咽齿鱼早期发育积温情况
Tab. 3 The accumulated temperature during early development of *P. extremus*

发育阶段 development stage	受精起止时间 fertilized period		平均积温(°C·h) average accumulated temperature
	2009-06-04	2009-06-10	
发眼阶段 eyed stage	2009-06-11	2009-06-17	2 012.5
破膜阶段 fetal membranes stage	2009-06-13	2009-06-19	575
上浮阶段 floatation stage	2009-06-26	2009-07-02	3 734
发育积温合计(°C·h) the total accumulated temperature			6 321.5

3 讨论

3.1 极边扁咽齿鱼的性腺发育及排卵

鱼类性腺发育受到多重因素的影响,其中温度、光照、营养、外源激素等对鱼类的性腺发育起着重要的作用^[9-10]。在人工条件下,由于缺乏某些生活史阶段所需的环境条件,某些种类难以成熟^[11]。天然水域中的极边扁咽齿鱼活动范围大、游泳快速、以下颌刮食藻类为食,本试验模拟野外环境条件中的水温、水流、底质、营养等因素,在后备亲鱼的培育中也尽量满足这些原有的生活习性,前期用面积 50 m² 的大池塘培育,让其有较大的活动范围,后期放入圆形的流水池塘中,不停地用流水刺激,促使性腺成熟。极边扁咽齿鱼池塘培育有其特殊的要求,与裂腹鱼类相比,用微流水池暂养亲鱼,会使其性腺严重退化,以致不能成功催产^[12]。因此,亲鱼暂养池必须为流量大的流水池,而且最好有模仿野生环境中“冲水”的地方,以刺激性腺发育,避免退化。从对极边扁咽齿鱼解剖结果来看,第Ⅵ期卵巢回到第Ⅱ期或第Ⅲ期,6月和9月极边扁咽齿鱼卵巢处于第Ⅲ期,但9月时卵径稍大,夏秋季可能是极边扁咽齿鱼躯体生长旺季,为越冬积累营养物质,而卵巢发育速度并不快。越冬后卵巢进入一个快速发育期,到4月下旬达到第Ⅴ期,这与野外调查结果一致^[13],说明人工养殖条件下的环境能基本满足极边扁咽齿鱼的性腺发育条件。然而,人工繁殖最关键的因素是促使卵子达到成熟和排卵。本试验中,人工驯养的极边扁咽齿鱼不需注射催产素达到成熟,可以人工挤出,但是未见自行排卵个体,说明人工驯养条件的生态因子还不能完全与野生环境相同,并有待于今后加强产卵条件或产卵场的模拟的试验研究。此外,在每次亲鱼检查中也发现有许多雌鱼腹部膨胀柔软,从外观上可以判

断其卵子已经达到Ⅳ期并接近Ⅴ期,但是一直到繁殖期结束后均不能采卵。可见即使在相同的生活环境中,同一群体的不同亲鱼发育也不同步,不同个体的性腺发育存有差异。同类研究中,有大量应用催产素的报道,关于催产素对极边扁咽齿鱼亲鱼产卵的作用和具体剂量及效应时间等,也有待于进一步试验研究。

大部分裂腹鱼的卵为沉性卵,自然条件下,裂腹鱼产卵场一般在水流平缓、水体较深、底质砂石或砾石的深潭及洄水湾处。卵子落入砂石缝隙里,可以在相对平稳安静的环境中发育。本试验采用筛绢网箱,透水性好,流速控制不使卵子飘动或摇动为宜。同时干法人工授精,在精子和卵子没有激活前,使其充分混合接触,一旦激活后可以立即受精,缩短了受精时间,提高了受精率。

3.2 极边扁咽齿鱼的繁殖力

鱼类的繁殖力体现了物种或种群对环境变动的适应性。个体相对繁殖力可以用来比较大小各异的不同种或不同种群鱼的繁殖力,体现了鱼类的繁殖策略^[14]。裂腹鱼类通常在3~6龄达到性成熟,繁殖季节通常在水温10°C以上的3~4月份开始持续到8月份,多数种类在4~5月大批产卵^[1]。一般而言,在有效产龄内,鱼类的怀卵量随着年龄的增大、体长和体重的增加而相应增多。如四川裂腹鱼繁殖力与其体长呈抛物线关系,与体重呈直线关系,且繁殖力随年龄的增加而增大。因各自生活环境的差异,不同种类的鱼怀卵量极不相同^[15]。个体繁殖力作为种群繁殖力的重要指标,主要是由种的遗传性决定的,同时也受到环境因子的影响^[16],而环境因子中,营养条件是首要的^[17]。极边扁咽齿鱼在长期的演化过程中形成对高寒环境极强的适应性,与裂腹鱼亚科的其它鱼类一样,具有生长期短、生长速度缓慢、性成熟年龄晚等特性。但相对于环境的自然变迁,人

类的干预更加剧烈,对种群的影响也相对显著。在过度捕捞的情况下,种群难以通过迁徙等渠道补充,物种必然通过繁殖策略的调整来应对环境压力,包括幼鱼提前性成熟以及成熟个体增加繁殖投入,通过这些调节来增加种群的个体补充量,弥补个体损失。这种调节必然缩短个体性成熟前营养生长周期,降低性成熟后营养生长的速度,导致个体小型化。鱼类的小型化是环境压力造成的适应性改变,这种改变短期内并不稳定,但如果持续给予压力,就会加剧小型化趋势,甚至造成物种灭绝^[18]。虽然极边扁咽齿鱼从20世纪50年代起,由于过度捕捞,加之生长期短,生长速度缓慢、性成熟年龄晚等因素,其种群小,分布区域狭窄,渔业资源量急剧减少,甚至达到易危,但是野外调查发现,极边扁咽齿鱼繁殖群体无论是雌鱼还是雄鱼,个体都在500g以上,最大的雌鱼体重达到2011g,体长55cm,表明极边扁咽齿鱼尚未出现种群小型化的退化现象^[13]。结合相关报道,极边扁咽齿鱼的绝对繁殖力在已有报道的裂腹鱼类中是比较强大的。绝对繁殖力大表明一是产卵亲鱼的个体大,二是卵子一般都较小;极边扁咽齿鱼恰好符合上述条件。由于缺乏历史资料和横向比较,极边扁咽齿鱼不同于其他裂腹鱼类的繁殖生态特征是环境压力下的繁殖策略还是稳定的遗传性状,需要进一步研究和探讨。

参考文献:

- [1] 武云飞,吴翠珍. 青藏高原鱼类[M]. 成都:四川科学技术出版社,1991.
- [2] 武云飞. 中国裂腹鱼亚科鱼类的系统分类研究[J]. 高原生物学集刊,1984(3):119-140.
- [3] 乐佩琦,陈宜瑜. 中国濒危动物红皮书—鱼类[M]. 北京:科学出版社,1998:32-37.
- [4] 祁洪芳. 花斑裸鲤和极边扁咽齿鱼肌肉营养成分分析[J]. 水产科学,2009,28(3):159-161.
- [5] 陈毅峰,曹文宣. 中国动物志——硬骨鱼纲,鲤形目(下卷)[M]. 北京:科学出版社,2000.
- [6] 晁燕,杨成. 极边扁咽齿鱼线粒体DNA细胞色素b序列特征及其遗传多样性[J]. 青海大学学报(自然科学版),2008,26(5):62-65.
- [7] 张艳萍,焦文龙,秦懿,等. 极边扁咽齿鱼人工驯化及亲鱼培育研究[J]. 水产科技情报,2010,37(1):17-20.
- [8] 刘雄,王昭明,金国善,等. 虹鳟养殖技术[M]. 北京:农业出版社,1990.
- [9] de Vlaming V L. Environmental control of teleost reproductive cycle: a brief review[J]. J Fish Biol, 1972,4(1):131-140.
- [10] Sundararaj B, Vasal S. Photoperiod and temperature control in the regulation of reproduction in the female catfish[J]. Fish Res Board Can, 1976,33:959-973.
- [11] Doroshov S I, van Eenennaam J P, Mobery G P. Reproductive management of cultured white sturgeon (*Acipenser transmontanus*) [C] // High Performance Fish, Proceedings of an International Fish Physiology Symposium, Vancouver; Fish Physiology Association, 1994:156-161.
- [12] 陈礼强,吴青,郑曙明. 细鳞裂腹鱼人工繁殖研究[J]. 淡水渔业,2007,37(5):60-63.
- [13] 张艳萍,娄忠玉,秦懿,等. 黄河上游玛曲段极边扁咽齿鱼的资源现状与保护措施[J]. 西北师范大学学报(自然科学版),2010,46(1):84-89.
- [14] Bye V. The role of environmental factors in the timing of reproductive cycles [C]. Potts G W, Wootton R J. Fish reproduction: Strategies and Tactics. London: Academic Press, 1984:187-205.
- [15] 陈永祥,罗泉笙. 乌江上游四川裂腹鱼繁殖力的研究[J]. 动物学研究,1995,16(4):324,342,348.
- [16] Koslow J A. Fecundity and its variability in orange roughy: effects of population density, condition, egg size, and senescence [J]. J Fish Biol, 1995, 47: 1063-1080.
- [17] Wootton R J. Energy cost of egg production and environmental determination of fecundity in teleost fishes [C] // London: Symposium of the Zoological Society of London, Academic Press, 1979, 44: 133-159.
- [18] 李文静,王剑伟,谢从新,等. 厚颌鲂 (*Megalobrama pellegrini*) 的繁殖生物学特征[J]. 生态学报,2007, 27(5):1917-1915.

Artificial propagation of *Platypharodon extremus*

ZHANG Yan-ping^{1,2}, LOU Zhong-yu², SU Jun-hu², JIAO Wen-long²,
WANG Tai², GONG Xue-fen³, QI Shi-hui³, WU Jian-ping¹, WEI Yan-ming^{4*}

(1. College of Animal Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China;

2. Gansu Key Laboratory of Cold Water Fishes Germplasm Resources and Genetics Breeding,
Gansu Fisheries and Science Research Institute, Lanzhou 730000, China;

3. College of Life Science and Technology, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China;

4. College of Veterinary Medicine, Gansu Agricultural University, Lanzhou 730070, China)

Abstract: *Platypharodon extremus*, an endemic fish belongs to *Platypharodon* of Schizothoracinae, Cyprinidae, and lives only in the upstream area of the Yellow River, the hinterland of the Qinghai-Tibet Plateau, which was a small population size, narrow distribution, threatened species in China. It was included in the “China’s Red Book of Endangered Species of Animals-Fish”, Vulnerable (V). As the Qinghai-Tibet Plateau’s unique geographical location, *P. extremus* has adapted in the long-term evolution of the high altitude, strong radiation, low water temperature and other special environments, which also show the remarkably adaptable characteristics. With the intensification of human activities in recent years, the habitat changes and fragmentation, habitat barriers, water pollution, overfishing, the short growing seasons, slow growth rate, late age of sexual maturity and other factors, the populations of the species development were greatly limited. At present, the main distribution area has been gradually reduced to the upstream area of the Yellow River. At present, the population structure changed, the resource declined, the age structure turns into an extent status, the population of three investigation points where abundance in the last time had disappeared today. However, the artificial propagation of this fish did not succeed. To explore the complete artificial propagation and in order to lay the groundwork for its resources enhancement. In this paper, *P. extremus* were captured from the Maqu at upper reaches of Yellow River and studies on techniques of artificial propagation and breeding were carried out in Linxia National Salmons Fishery Farm in Gansu province from 2007 to 2009. When reared for one year in pond in Linxia, some of the fish become mature. And, behaviours of propagation of the fish in nature could be controlled by adjusting the ecologic condition of environment they lived in. With the experimentation of artificial propagation for several years, some data of propagation and characteristics of *P. extremus* have been obtained. Under the artificial breeding conditions, their breeding season is from May to June. Individual females lay their eggs in the 30cm or more in length and weighing more than 750 g, and male body length of mature individuals is more than 30 cm and weighing more than 700 g. Both male and female reached the sexual mature at six years olds, the female mature coefficient ranged from 18.19% to 23.02%, male fish mature coefficient was 7.13% – 8.34%; Mature eggs diameter was (2.1 ± 0.1) mm, and the number of eggs per gram was 134.9. And absolute fecundity of grain for 12 630 – 40 470, and relative fecundity to 12.6 – 28.78 grains/gram · weight. Two-year cumulative hatching of 140 000 eggs were fertilized using the dry method and average fertilization rate was 87.5%, 77.5% eyed rate, floating rate of 72% under the incubation temperature 10 – 14 °C conditions. And all the development of the average accumulated temperature of 6 321.5 °C · h. Then use the *Artemia salina* as a weaning food, using formaldehyde solution disinfection. The artificial propagation of *P. extremus* was fulfilled first in China, which will contribute to its protection and resource proliferation releasing.

Key words: *Platypharodon extremus*; brood fish breeding; artificial propagation

Corresponding author: WEI Yan-ming. E-mail: weiyam@gsau.edu.cn