

长江口凤鲚幼鱼的耳石微结构、日龄与生长

何文平^{1,2}, 黎雨轩³, 李钟杰¹, 谢松光^{1*}

(1. 中国科学院水生生物研究所, 中国科学院水生生物多样性与保护重点实验室, 湖北 武汉 430072;

2. 西南大学荣昌校区水产系, 重庆 402460;

3. 中国水产科学研究院东海水产研究所, 上海 200090)

摘要: 2007 年 7 月、8 月和 9 月在长江口区域从小型拖网和张网渔获物中获取凤鲚幼鱼, 摘取矢耳石进行耳石微结构分析, 确定凤鲚幼鱼的日龄和孵化日期, 分析个体早期生长过程。凤鲚幼鱼的体长范围为 25.6 ~ 63.2 mm, 矢耳石形状与成鱼耳石相似, 为不规则扁椭球形, 只有一个翼状突起。耳石横截面磨片上具有一个核和一个原基。耳石原基的直径为 12.5 ~ 22.8 μm , 平均为 $(14.3 \pm 4.8) \mu\text{m}$ ($n = 111$)。耳石核中心到第一个生长轮的距离为 $(24.9 \pm 6.4) \mu\text{m}$ ($n = 44$)。生长轮在耳石长轴上排列较疏且不清晰, 短轴上较密但清晰。凤鲚幼鱼的日龄为 54 ~ 128 d, 对应的孵化日期为 2007 年 4 月 10 日至 7 月 23 日, 高峰期为 2007 年 5 月 11 日至 6 月 26 日。耳石半径 (R) 与标准体长 (L_S) 间呈显著的线性相关关系, 回归方程为 $L_S = 6.68 + 0.065R$ 。凤鲚幼鱼前 20 个生长轮宽度较窄, 并有逐渐变窄的趋势, 第 20 日轮之后, 生长轮宽度逐渐变宽, 至第 50 日轮后生长轮宽度趋于稳定。

关键词: 凤鲚; 矢耳石; 微结构; 日龄; 生长; 长江口

中图分类号: Q 958.8; S 917.4

文献标志码: A

自 Pannella^[1] 报道鱼类的耳石日轮后, 鱼类耳石微结构特征研究及其在鱼类生态学中的应用日益增加, 成为鱼类早期生活史、年龄、生长、补充量、洄游、死亡及种群结构等诸多研究的基础^[2]。鱼类耳石日轮越来越多的应用于仔、稚鱼及幼鱼的日龄鉴定, 孵化期、产卵期和产卵场推算, 以及早期生长研究^[3-6]。通过统计耳石上生长轮的数目, 结合第一日轮形成的时间, 可以鉴定仔幼鱼的日龄, 同时可以推算出孵化日期和亲鱼的繁殖时间。利用耳石分析确定孵化日期, 结合仔鱼转运过程中的流速和流场, 还可以推算产漂流性卵的鱼类的产卵场^[2,4]。另外, 日轮宽度 (increment width) 反应鱼体生长速度, 因此通过测量日轮宽度可以了解鱼类生长状况。凤鲚 (*Coilia mystus*) 属于鲱形目 (Clupeiformes), 鳀科 (Engraulidae), 是长江口重要的经济鱼类。但到目前为止, 关于凤鲚耳石微结构方面的研究尚属空白。因此, 本

研究对凤鲚鱼耳石微结构进行分析, 推测个体日龄和孵化日期, 并分析个体早期生长过程, 以期对凤鲚的资源管理和保护提供参考。

1 材料与方 法

1.1 样本采集

凤鲚幼鱼于 2007 年 7 月 26 日、8 月 31 日和 9 月 28 日在长江口的崇明岛 (31°63'N 121°51'E) 和舟山群岛 (30°62'N 122°12'E) 水域采集 (图 1), 取样工具为小型拖网和张网 (网兜网目为 0.5 cm), 样品冰冻保存。分析时将样品解冻, 测量标准体长 (L_S), 取出左右矢耳石, 一般选用右侧矢耳石分析日轮和生长。

1.2 耳石磨片制备

用热熔胶将耳石沿垂直于长轴的方向固定于载玻片上, 冷却后用 600# 或 800# 水磨砂纸将耳石粗磨至接近耳石核, 再用 2000# 的水砂纸细磨直

收稿日期: 2012-10-04 修回日期: 2013-01-07

资助项目: 国家重点基础研究发展计划 (2010CB429000); 国家自然科学基金项目 (30770354); 淡水生态与生物技术国家重点实验室开放课题 (2009FB15); 中国科学院“百人计划”择优支持项目

通信作者: 谢松光, E-mail: xiesg@ihb.ac.cn

至耳石核出现,最后用抛光纸抛光。酒精灯加热使热熔胶熔化,迅速取出耳石用二甲苯清洗。将抛光的横截面朝下,用无色指甲油将耳石固定在

载玻片上,完全硬化后再依次使用 600#至 2000#水砂纸研磨至接近耳石核,再用抛光纸抛光直至核清晰可见。

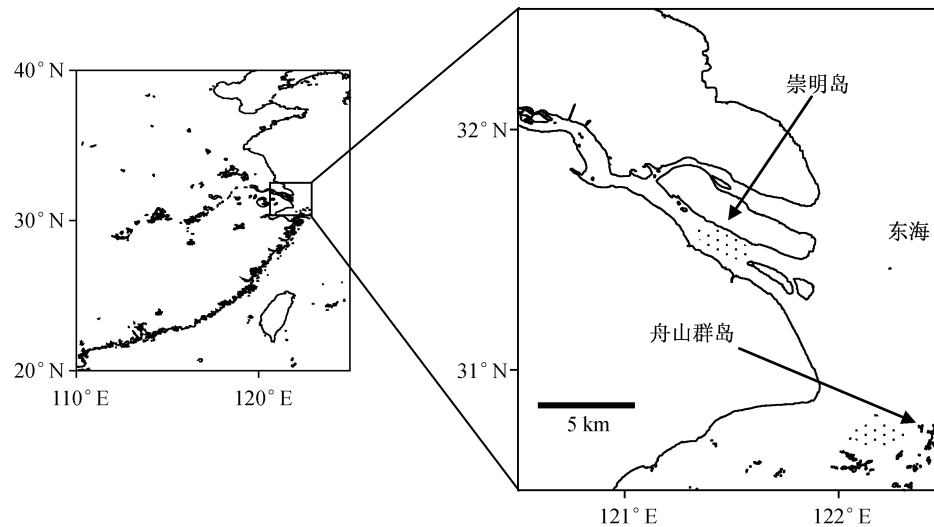


图 1 长江口凤鲚幼鱼的采样地点

阴影部分代表采样区域。

Fig. 1 Sampling locations for *C. mystus* juveniles in the Yangtze Estuary area in China

Shaded ellipses are the sampling zones.

1.3 日龄

凤鲚耳石轮纹的日周期和第一日轮形成时间还没有研究确认。与凤鲚分类地位最接近,已确定耳石轮纹日周期和第一日轮形成时间有同属鳀科的日本鳀 (*Engraulis japonicus*)^[7],其第一日轮在孵化后 72 ~ 96 h 形成^[7],实验假定凤鲚耳石轮纹具有日周期,第一日轮在孵化后第三天形成。因此,凤鲚幼鱼日龄以耳石日轮数量加 3 计算;孵化日期由捕捞日期减去日龄确定。

1.4 生长

在 Olympus BX51 显微镜下观察耳石磨片,使用耳石微结构图像分析系统 (Ratoc System Engineering, Tokyo) 沿着耳石横截面磨片的腹轴线进行轮纹计数,测量日轮宽度和耳石半径,如果腹轴半径轮纹不清晰而其它区域轮纹清晰,则使用图像分析系统自带的桥接功能,将轮纹清晰区域的轮纹宽度换算到腹轴半径上,结果自动导入计算机。

1.5 统计分析

幼鱼体长与耳石半径关系及体长与日龄的关系采用线性回归方程拟合,显著水平为 $P < 0.05$ 。结果中各变量采用平均数 \pm 标准差表述。统计分析软件为 Statistica 6.0。

2 结果

2.1 耳石形态及日轮

由于幼鱼耳石较小,横截面磨片困难,本实验共对 111 尾幼鱼的耳石进行磨片,仅获得 44 个轮纹清晰的横截面磨片。这 44 尾凤鲚幼鱼体长范围为 25.6 ~ 63.2 mm (表 1)。这个阶段幼鱼耳石形状与成鱼耳石相似,为不规则扁椭球形,通常前端较尖细,后端略膨大,只有一个叶状突起。在显微镜下,耳石横截面磨片上具有一个圆形或椭圆形的生长中心,为耳石核 (nucleus) (图 2-a)。中心核内具有一个暗黑色的圆形或卵圆形结构,为耳石原基 (primordium) (图 2-a),其直径为 12.5 ~ 22.8 μm ,平均为 $(14.3 \pm 4.8) \mu\text{m}$ ($n = 111$),所有耳石均只有一个核和一个原基。环绕核的周围有多条明暗相间的窄纹,明带和暗带构成的环纹即为生长轮 (growth ring),暗带的形成定义为日轮沉积。离核最近的暗带称为第一日轮,耳石核中心到第一个生长轮的距离为 $(24.9 \pm 6.4) \mu\text{m}$ ($n = 44$)。通常前十几条轮纹间距较窄,环纹较圆,之后轮纹间距变宽,环纹亦呈长圆形,环纹在耳石长轴 (背腹轴) 上排列较疏且不清晰,短轴上较密但清晰 (图 2-b)。

表 1 长江口凤鲚幼鱼体长和推定日龄与孵化日期
Tab.1 Standard length (L_s) and estimated daily age and hatch date of *C. mystus* juveniles collected in the Yangtze Estuary

采集日期 sampling date	标准体长/mm standard length	样本数 <i>n</i>	日龄范围 range of daily age	推定孵化日期 hatch date speculated
2007-07-26	42.1 ± 7.5	21	75.1 ± 16.9	2007-04-10—
	33.8 ~ 61.1 *		54 ~ 107	2007-06-02
2007-08-31	41.6 ± 11.3	11	92.7 ± 20.9	2007-04-25—
	25.6 ~ 63.2 *		57 ~ 128	2007-07-05
2007-09-28	39.0 ± 5.5	12	96.1 ± 17.3	2007-05-26—
	30.6 ~ 46.9 *		71 ~ 125	2007-07-23

注: * 表示为标准体长范围。

Notes: * means the range of standard length.

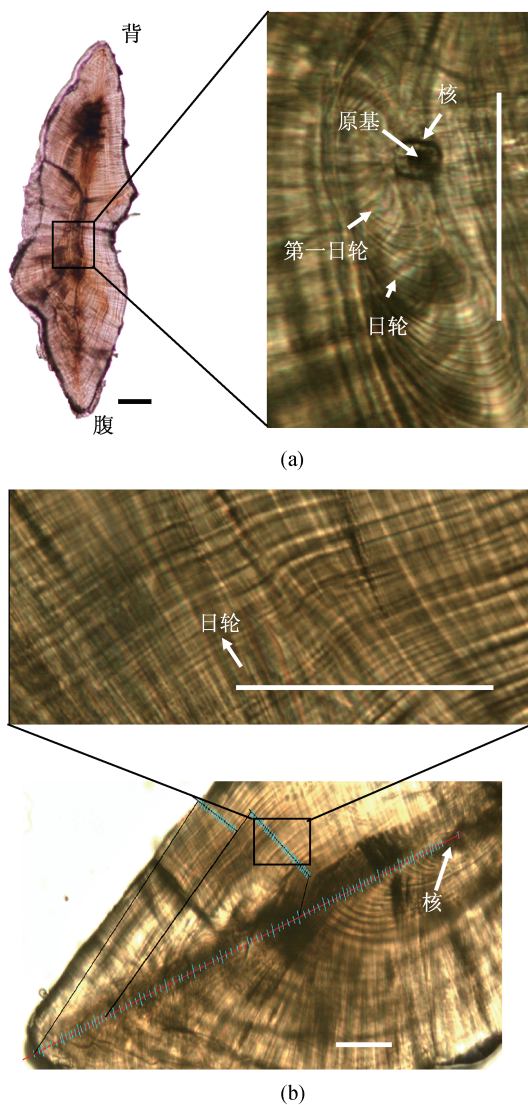


图 2 长江口凤鲚幼鱼矢耳石横截面磨片

(a) 横截面全貌和耳石核心区微结构; (b) 腹轴上轮纹计数和轮纹宽度测量。标尺 = 100 μm。

Fig.2 Microstructure of transverse section of sagittal otolith of *C. mystus* juvenile collected in the Yangtze Estuary

(a) is the whole section plane and microstructure of the otolith center area, (b) shows the incremental counting and measurement along the ventral growth axis of the otolith. Scale bar = 100 μm.

44 尾幼鱼の日龄范围为 54 ~ 128 d, 推定孵化日期为 4 月 10 日—7 月 23 日, 高峰期为 5 月 11 日—6 月 26 日。其中 7 月 26 日采集的 21 尾幼鱼日龄为 54 ~ 107 d, 推定孵化期为 4 月 10—6 月 2 日; 8 月 31 日采集的 11 尾幼鱼日龄为 57 ~ 128 d, 推定孵化期为 4 月 25 日—7 月 5 日; 9 月 28 日采集的 12 尾幼鱼日龄为 71 ~ 125 d, 推定孵化期为 5 月 26 日—7 月 22 日(表 1)。

2.2 生长

耳石半径 (R) 为 240.8 ~ 881.5 μm, 平均 (539.1 ± 118.7) μm ($n = 111$)。耳石半径 (R) 与标准体长 (L_s) 间呈显著的线性关系 ($P < 0.05$) (图 3), 回归方程:

$$L_s = 6.68 + 0.065R (r^2 = 0.81, n = 111, P < 0.05)。$$

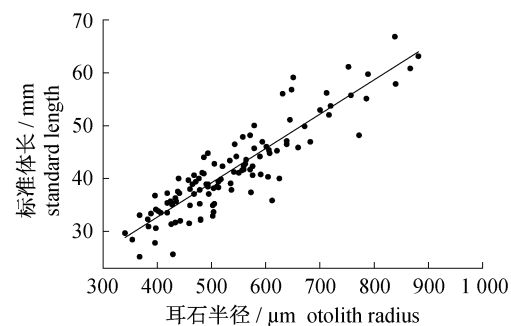


图 3 2007 年长江口凤鲚幼鱼耳石半径 (R) 与体长 (L_s) 的关系

Fig.3 Regression relationship of standard length (L_s) to otolith radius (R) for *C. mystus* juveniles collected in the Yangtze Estuary in 2007

日龄 (A) 与标准体长 (L_s) 亦呈显著的线性关系 ($P < 0.05$) (图 4), 回归方程:

$$L_s = 19.45 + 0.26A (r^2 = 0.40, n = 44, P < 0.05)。$$

耳石前 20 个日轮平均宽度的变化范围为

3.6~4.5 μm ,并随日龄增加而变窄;第21~50日轮间轮纹宽度逐步变宽,范围为3.8~6.8 μm ;之后日轮宽度趋于平稳(图5)。

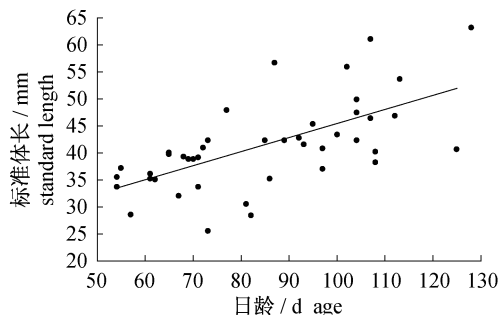


图4 2007年长江口凤鲚幼鱼日龄(A)与标准体长(L_s)的关系

Fig. 4 Regression relationship of standard length (L_s) to daily age (A) for *C. mystus* juveniles collected in the Yangtze Estuary in 2007

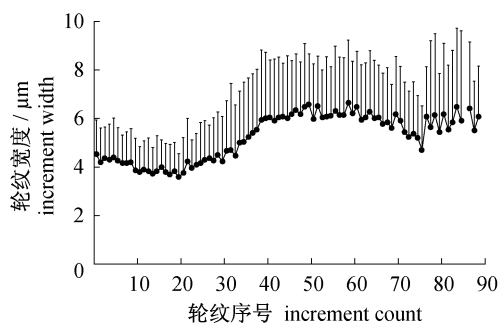


图5 2007年长江口凤鲚幼鱼耳石上前90个生长轮纹宽度变化

Fig. 5 Trajectory of the width of the first 90 daily increments in sagittal otoliths of *C. mystus* juveniles collected in the Yangtze Estuary in 2007

3 讨论

长江口凤鲚矢耳石前端只有一个翼状突起且比较尖细,而鲚属其他种类耳石前端一般都有两个翼状突起且比较膨大^[8],这是长江口凤鲚在耳石上区别于其他鲚属鱼类的显著特征。另外,鲚科的欧洲鲚也是两个翼状突起^[9]。同鲚属其他鱼类^[8]以及鲚^[10-11]一样,凤鲚耳石只有一个中心核和一个原基,耳石原基直径为12.5~22.8 μm ,平均为(14.3±4.8) μm ,与郭弘艺等^[8]报道的刀鲚耳石原基为9.0~20.0 μm ,平均为(12.3±3.9) μm 。凤鲚耳石上生长轮在耳石长轴上排列较疏而在短轴上排列较密,这与刀鲚^[8]相似。经

过在3个截面的多次尝试,凤鲚的耳石仅能在横截面(transverse plane)上获得较为清晰的微结构特征,而与凤鲚同科日本鲚^[10-11]和欧洲鲚^[9]分别可以通过正截面(frontal plane)和纵截面(sagittal plane)获得清晰的微结构特征。

通过耳石日轮分析,本研究推定所采集凤鲚幼鱼的孵化日期为4月10日—7月23日,高峰期为5月11日—6月26日。这与通过繁殖生物学分析确定的凤鲚的繁殖季节(3—8月,高峰期5—6月)结果相吻合^[12]。本研究发现凤鲚幼鱼耳石半径与体长呈显著的直线相关关系,因此,耳石的生长可以反应鱼体的生长。耳石日轮宽度反应个体的日生长率,轮纹越宽表明日生长越快^[13-15]。长江口凤鲚幼鱼耳石上,前20条轮纹间距较窄,并有逐渐变窄的趋势,20轮过后,轮纹宽度显著升高直到第50个轮纹,之后生长较为平稳。这种耳石日轮宽度随日轮变化特点一方面是早期个体的生长发育过程决定的,同时也是环境因子如水温、饵料可获得性等对个体早期生长影响的结果。通过分析早期生活史阶段耳石日轮宽度与环境因子的关系,可以确定影响凤鲚早期生长、发育和存活等的关键因素。本研究发现凤鲚幼鱼日龄与标准体长亦呈显著的线性关系,回归方程斜率表明长江口凤鲚幼鱼阶段的日平均生长率为0.26 mm/d。

目前,凤鲚耳石日轮的日周期和第一日轮的形成时间还没有研究确认。由于凤鲚的应激性反应较强,出水即死亡,难以通过幼鱼饲养实验或标记方法来验证其日轮及第一轮出现的时间。在以后的研究中,需要尝试通过采集凤鲚受精卵,在实验室孵化和培育仔稚鱼,确定耳石轮纹日周期和第一日轮形成时间。

参考文献:

- [1] Pannela G. Fish otoliths: daily growth layers and periodical patterns [J]. Science, 1971, 173 (4002): 1124 - 1127.
- [2] Campana S E, Neilson J D. Microstructure of fish otoliths [J]. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 1985, 42 (5): 1014 - 1032.
- [3] Tsukamoto K, Umezawa A, Tabeta O, et al. Age and birth date of leptocephali *Anguilla japonica* collected in western North Pacific in Pacific in September 1986 [J]. Bulletin of the Japanese Society of Scientific

- Fisheries, 1989, 55(6): 1023 - 1028.
- [4] 宋昭彬. 四大家鱼仔幼鱼耳石微结构的特征及其应用研究 [D]. 武汉: 中国科学院水生生物研究所, 2000.
- [5] Xie S, Watanabe Y. Hatch date-dependent differences in early growth and development recorded in the otolith microstructure of *Trachurus japonicus* [J]. *Journal of Fish Biology*, 2005, 66(6): 1720 - 1734.
- [6] Xie S, Watanabe Y, Saruwatari T, *et al.* Growth and morphological development of sagittal otoliths of larval and early juvenile *Trachurus japonicus* (Temminck et Schlegel) [J]. *Journal of Fish Biology*, 2005, 66(6): 1704 - 1719.
- [7] Tsuji S, Aoyama T. Daily growth increments in otoliths of Japanese anchovy larvae, *Engraulis japonicus* [J]. *Bulletin Japanese Society of Fisheries Science*, 1984, 50: 1105 - 1108.
- [8] 郭弘艺, 唐文乔, 魏凯, 等. 中国鲚属鱼类的矢耳石形态特征 [J]. *动物学杂志*, 2007, 42(1): 39 - 47.
- [9] Cermeno P, Uriarte A, Murguía A M, *et al.* Validation of daily increment formation in otoliths of juvenile and adult *European anchovy* [J]. *Journal of Fish Biology*, 2003, 62(3): 679 - 691.
- [10] Yukami R, Aoki I, Mitani I. Daily age of adult Japanese anchovy *Engraulis japonicus* off eastern Honshu, Japan by otolith daily increment [J]. *Fisheries Science*, 2008, 74(6): 1348 - 1350.
- [11] Namiki S, Tanaka H, Katayama S, *et al.* Validation of daily increment formation in otoliths of immature and adult Japanese anchovy *Engraulis japonicus* [J]. *Fisheries Science*, 2010, 76(6): 951 - 959.
- [12] He W, Radhakrishnan K V, Li Z, *et al.* Reproductive biology of *Coilia mystus* (Linnaeus) from the Yangtze Estuary, China [J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2011, 27(5): 1197 - 1202.
- [13] 常剑波, 邓中舜, 孙建贻. 草鱼仔幼鱼耳石日轮及日龄研究 [C]. 中国动物学会成立 60 周年: 纪念陈桢教授诞辰 100 周年论文集, 1994: 323 - 329.
- [14] Tzeng W N, Yu S Y. Effects of starvation on the formation of daily growth increments in the otoliths of milkfish, *Chanos chanos* (Forsk.) larvae [J]. *Journal of Fish Biology*, 1992, 40(1): 39 - 48.
- [15] Radtke R, Fey D P. Environmental effects on primary increment formation in the otoliths of newly-hatched Arctic charr [J]. *Journal of Fish Biology*, 1996, 48(6): 1238 - 1255.

Sagittal otolith microstructure, daily age and early growth of *Coilia mystus* juveniles in the Yangtze Estuary

HE Wenping^{1,2}, LI Yuxuan³, LI Zhongjie¹, XIE Songguang^{1*}

(1. Key Laboratory of Biodiversity and Conservation of Aquatic Organisms, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China;

2. Department of Fisheries, Rongchang Campus of Southwest University, Chongqing 402460, China;

3. East China Sea Fishery Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Shanghai 200090, China)

Abstract: *Coilia mystus* is a commercially important fish in the Yangtze Estuary. Annual capture averaged 2 000 tonnes in the 1980s, accounting for almost half of the total catch in this estuarine area. However, this species has declined dramatically since the late 1990s. *C. mystus* juveniles were sampled from the Yangtze Estuary using trawls and set nets in July, August and September 2007. Sagittal otoliths were analyzed to estimate the daily age and early growth of the juveniles. Standard length (L_s) of *C. mystus* juveniles was between 25.6 and 63.2 mm. Otolith shape of *C. mystus* juveniles was similar to that of adults; anomalistic and elliptic, with a single rostral protrusion. There was one nucleus and one primordium on the transverse plane of the otolith. Primordium diameters were between 12.5 and 22.8 μm , averaging $(14.3 \pm 4.8) \mu\text{m}$ ($n = 111$). The distance from the central nucleus to the first increment was $(24.85 \pm 6.38) \mu\text{m}$ ($n = 44$). The increments in the long axis were thin and unclear, but those in the short axis were thick and clear. Estimated ages of collected specimens ranged from 54 to 128 days. Hatch dates fell between 10 April and 23 July 2007, with the peak between 11 May and 26 June. The relationship of otolith radius (R) to standard length (L_s) was fitted to a linear function: $L_s = 6.68 + 0.065R$ ($r^2 = 0.81$, $n = 111$, $P < 0.05$). The incremental width was narrow and decreasing in the first 20 increments; after that, the incremental width increased to the 50th increment, and then remained constant.

Key words: *Coilia mystus* juvenile; sagittal otolith; daily age; growth; the Yangtze Estuary

Corresponding author: XIE Songguang. E-mail: xiesg@ihb.ac.cn