

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2016.15415

川陕哲罗鲑个体的早期发育观察

杨焕超^{1,2}, 杨晓鸽^{2,3}, 吴金明², 王成友², 危起伟^{1,2,3}

1. 华中农业大学 水产学院, 湖北 武汉 430070;

2. 农业部淡水生物多样性保护重点实验室, 中国水产科学研究院 长江水产研究所, 湖北 武汉 430223;

3. 中国科学院 水生生物研究所, 湖北 武汉 430072

摘要: 对川陕哲罗鲑(*Hucho bleekeri* Kimura)早期发育进行了全过程观察。根据胚胎发育的外部形态及典型特征, 将川陕哲罗鲑的胚胎发育过程分为 25 个时期。在平均水温 10.17℃条件下, 受精卵历时 549 h 出膜, 所需积温为 228.31℃·d。初孵仔鱼全长(11.62±0.50) mm, 体重(0.0254±0.0016) g, 卵黄囊体积(53.82±1.03) mm³。背鳍原基、臀鳍原基、腹鳍原基、脂鳍原基分别于 2 d、4 d、9 d、11 d 时出现。17 d 仔鱼腹腔出现鳔。18 d 仔鱼进入混合营养期。20 d 仔鱼腹部首次出现鳞片, 进入稚鱼期。26 d 稚鱼卵黄被完全吸收, 完全营外源性营养。52 d 时各鳍条完全。64 d 时体侧横斑纹发育完全。73 d 时鳞片遍及全身, 进入幼鱼期。仔稚鱼期间的生长模型方程为: $TL=0.3766D+13.318$, ($R^2=0.9772$, TL 为全长, D 为日龄), 特定生长率为 0.030。本研究旨在为川陕哲罗鲑的人工繁殖和鱼种培育提供科学指导。

关键词: 川陕哲罗鲑; 胚胎发育; 积温; 仔、稚鱼发育

中图分类号: S92

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2016)04-0759-12

川陕哲罗鲑(*Hucho bleekeri* Kimura)隶属于鲑形目(Salmoniformes), 鲑科(Salmonidae), 哲罗鲑属(*Hucho*), 又称四川哲罗鲑、贝氏哲罗鲑、虎嘉鱼和猫鱼^[1-4], 是一种冷水鱼类, 最大个体可达 60 kg, 为长江流域的特有鱼类; 是世界上 5 种哲罗鲑属鱼类中分布最南(29°~33°N)的种类^[5], 在第四纪冰川时期气候变冷时从北方扩散而来, 冰期结束后留在海拔较高、水温较低的河流中。

历史上, 川陕哲罗鲑较广泛分布在岷江和青衣江上游、大渡河中上游、汉江上游的涪水河和太白河、秦岭山脉的南部^[1-2]。20 世纪 60 年代以来, 由于人类活动的影响, 其分布区域急剧缩小, 种群数量直线下降^[3], 仅仅在很小的范围能发现该物种的活动, 包括大渡河和青衣江上游支流的天全河^[4]。性成熟个体的数量在 2000~2500 尾, 该种群

数量被估计在接下来的两代中, 其数量会以 20% 的比例减少^[6]。因此, 川陕哲罗鲑被列为国家二级保护动物^[7], 同时被收录于《中国濒危动物红皮书·鱼类》^[2]。在 2012 年, 该物种被收录于 IUCN 红色名录中, 保护级别为极度濒危(CR)。

2012 年秋季有 19 尾川陕哲罗鲑成鱼和大量幼鱼在陕西太白河中被意外捕获^[8], 这是近 15 年来该区域再发现, 也是近 30 多年来全国发现的规模最大的群体^[9]。中国水产科学院长江水产研究所获悉后, 在太白河建立了保护驯养基地, 对误捕的川陕哲罗鲑进行了救治和驯养, 并于 2013 年 6 月和 2014 年 6 月 2 次成功进行了人工繁殖。

鲑科其他鱼类早期发育已有较多报道, 包括太门哲罗鲑(*H. taimen*)^[10]、多瑙哲罗鲑(*H. hucho*)^[11-13]、尖吻细鳞鲑(*Brachymystax lenok*)^[14]、秦岭细鳞鲑

收稿日期: 2015-11-05; 修订日期: 2016-01-09.

基金项目: 中国水产科学研究院基本科研业务费(2014A07XK05); 农业部公益性行业(农业)科研专项(201203086).

作者简介: 杨焕超(1990-), 男, 硕士研究生, 专业方向为濒危鱼类保护. E-mail: vcd123yang@163.com

通信作者: 危起伟, 研究员. E-mail: weiqw@yfi.ac.cn

(*B. lenok tsinlingensis*)^[15]等。川陕哲罗鲑胚胎、仔鱼和稚鱼的发育还没有系统的报道, 仅限成鱼生物学^[1-8, 16]和线粒体基因组^[9, 17]的研究。对其早期发育开展研究可以为川陕哲罗鲑的人工繁殖和培育技术提供指导, 有利于鱼类生物学研究。

1 材料与方法

1.1 材料

川陕哲罗鲑亲鱼为 2012 年 9 月村民于太白河洪水期后 1 周内捕获, 暂养于陕西省太白河川陕哲罗鲑保护驯养基地。2014 年 6 月在繁殖期选取性成熟个体进行催产, 干法授精获得受精卵。

受精卵静置 20 min 后, 缓慢转入孵化池中长宽高为 0.45 m×0.35 m×0.15 m 的孵化框中孵化, 采用山涧水流孵化, 孵化水温 9.5~11.3℃, 平均水温 10.2℃, 溶氧保持在 10.28 mg/L 以上, 受精卵始终处于黑暗条件下孵化。每天检查受精卵, 用胶头滴管将长水霉及死亡卵吸出, 防止粘连好卵导致其死亡。受精卵经 594 h 后出膜, 仔鱼出膜后置于直径 2 m, 高 0.45 m 的圆柱体玻璃钢水桶中培养, 采用山涧水和河水流水培养, 水温 10.2~19.9℃, 平均 13.0℃, 溶氧 7.71~11.55 mg/L, 平均 9.95 mg/L。

仔鱼 18 d 时, 用人工孵化的卤虫无节幼体投喂; 稚鱼 40 d 时, 用卤虫无节幼体混合鲑鱼饲料 S2 型混合投喂; 56 d 时, 用水蚯蚓投喂和鲑鱼饲料混合投喂, 水蚯蚓先用 30 W 的紫外灯照射 0.5 h, 再用 2~3 g 的恩诺沙星浸泡 0.5 h。消毒后用刀剁碎成 1.0~2.0 mm 的小节。随着鱼的生长, 水蚯蚓的剁碎长度逐渐增加, 而饲料也相应的提高粒径。每天分 9:00、13:00、18:00 和 22:00 4 次投喂。每次投喂前 1 h 清除残饵, 每天清理养殖桶内的污物 2~3 次, 清理死亡苗种。每 2 d 用聚维酮碘浸泡消毒一次。防止细菌感染或者寄生虫滋生。

试验期间每天用便携式水质分析仪(YSI professional plus)记录水温和水体溶氧 3 次。

1.2 方法

1.2.1 胚胎发育观察 每次取样 10 粒, 自受精后 0~12 h 内每隔 0.5 h 取样、观察一次; 12~48 h 内每隔 1 h; 48~96 h 内每隔 2 h; 96~240 h 内每隔 4 h;

此后每 12 h 观察一次。本研究直接取活体在解剖镜(Olympus SZ61)下进行观察, 并用匹配的图像采集软件(cellSense Entry 1.8.1)成像后再送回孵化框继续孵化。胚胎发育特征的确定以该次取样 50%以上个体发育出现特征为准。

1.2.2 仔、稚鱼发育观察 每次取样 20 尾, 仔鱼 0~20 d, 观察频率为 1 次/d; 20~40 d, 观察频率为 1 次/2 d; 40~52 d, 观察频率为 1 次/3 d; 52~64 d, 观察频率为 1 次/4 d; 64 d 后, 平均观察频率为 1 次/5 d。用解剖镜观察形态学特征, 并采集图像测量仔、稚鱼全长, 精确到 0.01 mm。用电子天平(FA2004)测量体重, 精确到 0.0001 g。称量时先将棉球轻轻吸去鱼体表的水份, 然后放入盛有水中的培养皿中测量。仔、稚鱼发育特征的确定以该次取样 50%以上个体发育出现特征为准。

1.3 数据处理

实验所采集的数据均用 Microsoft Excel 进行统计处理, 结果以平均值±标准差($\bar{x} \pm SD$)表示, 根据结果拟合出仔、稚鱼的生长曲线, 形态照片使用 Photoshop 6.0 制作图版。

$$\text{总积温 } K/(\text{℃} \cdot \text{d}) = N \times T^{[15]}$$

式中, N 为各阶段所需时间(d), T 为该阶段的平均温度。

卵黄囊体积计算公式为: $V = D \times H^2 \times \pi / 6$

式中, D 为卵黄囊长径(mm), H 为卵黄囊短径(mm)。

2 结果与分析

2.1 胚胎发育

川陕哲罗鲑受精卵在水温为 9.5~11.3℃(平均 10.2℃±0.4℃)条件下, 历经 549 h 破膜, 分为 25 个时期(表 1): 受精卵形成期(13 h), 卵裂期(32 h), 囊胚期(77 h), 原肠期(48.5 h), 神经胚形成期(46 h), 器官形成期至破膜(328 h)。

2.1.1 受精卵形成期 川陕哲罗鲑成熟卵呈圆球形, 黄色(图版 I-1), 含大量卵黄, 比重大于水, 无黏性, 吸水后膨胀, 卵膜与卵黄之间形成明显的围卵黄周隙, 卵径最大达(4.36±0.20) mm, 整个胚胎发育过程中卵径变化不明显。受精后 3.5 h, 原生质向动物极聚集, 逐渐隆起形成盘状胚盘。

表 1 川陕哲罗鲑胚胎发育时序表
Tab. 1 Duration of embryogenesis in *Hucho bleekeri* Kimura

序号 No.	发育时期 development stage	起始时间/h start time	水温/℃ water temperature	积温/(℃·d) accumulated temperature	图片编号 picture No.
1	受精卵形成 fertilized egg	—	9.61		
2	胚盘隆起 blastodisc stage	3.5	9.70	1.41	
3	2 细胞期 2-cell stage	13	9.62	5.22	Fig. I-2
4	4 细胞期 4-cell stage	15	9.58	6.02	Fig. I-3
5	8 细胞期 8-cell stage	17.5	9.60	7.02	Fig. I-4
6	16 细胞期 16-cell stage	23.5	9.76	9.44	Fig. I-5
7	多细胞期 multi-cellular stage	31	9.81	12.45	Fig. I-6
8	囊胚早期 early-blastula stage	45	10.2	18.25	Fig. I-7
9	囊胚中期 mid-blastula stage	80	9.47	32.35	Fig. I-8
10	囊胚晚期 late-blastula stage	101	9.80	40.88	Fig. I-9
11	原肠早期 early-gastrula stage	122	9.83	49.44	Fig. I-10
12	原肠中期 mid-gastrula stage	139.5	9.98	56.45	Fig. I-11
13	原肠晚期 late-gastrula stage	160	10.13	65.17	Fig. I-12
14	神经胚期 neural plate stage	170.5	10.50	69.82	Fig. I-13
15	眼原基形成期 eye anlage stage	183.5	10.00	75.23	Fig. I-14
16	胚孔关闭期 blastopore closed stage	190	10.40	78.17	Fig. I-15
17	脑分化期 brain differentiation stage	216.5	10.26	89.28	Fig. I-16
18	胸鳍原基形成期 pectoral fin anlage stage	226	9.80	93.15	Fig. I-17
19	眼囊形成期 eye vesicle stage	242.5	9.88	99.94	Fig. I-18
20	尾芽形成期 tail bud formed stage	252	10.50	104.18	Fig. I-19
21	胸鳍雏形形成期 rudiment of pectoral fin stage	271.5	10.33	112.46	Fig. I-20
22	眼晶体形成期 eye lens formed stage	292	10.12	121.05	Fig. I-21
23	尾鳍形成期 caudal fin appearance stage	300	10.10	124.45	Fig. I-22
24	眼色素形成期 eye pigment stage	344.5	10.14	143.02	Fig. I-23
25	孵化期 hatchling	549	10.40	228.31	Fig. I-24

2.1.2 卵裂期 卵裂在胚盘上进行, 受精后 13 h, 在胚盘中央产生 1 条明显的分裂沟并逐渐加深, 将胚盘一分为二, 形成 2 个大小相等的分裂球, 进入 2 细胞期(图版 I-2); 受精后 15 h, 出现第 2 次卵裂, 与第 1 次卵裂相垂直, 形成 4 个相等的细胞, 即为 4 细胞期(图版 I-3); 受精后 17.5 h, 开始第 3 次卵裂, 分裂沟与第 1 次平行, 垂直于第 2 次, 将胚盘分为 8 个细胞, 大小相似, 分为两排, 每排 4 个, 进入 8 细胞期(图版 I-4); 再经 6 h, 进行第 4 次卵裂, 进入 16 细胞期(图版 I-5), 形成 4 排 16 个分裂球, 此时的分裂球还处于同一平面上; 随着分裂, 细胞个数变多、变小, 且大小不一, 但界线尚清晰, 最终形成一个细胞团, 使胚盘向上隆起, 进入多细胞期(图版 I-6)。

2.1.3 囊胚期 细胞继续分裂, 变得更小, 细胞间的界线变得不清晰, 隆起于卵黄之上; 受精后 45 h, 胚盘隆起达最高, 细胞堆积如帽状, 与卵黄囊交界清晰, 此时为囊胚早期(图版 I-7); 之后囊胚层逐渐变低, 囊胚边缘细胞增多, 与卵黄囊交界平滑, 分不出细胞界线, 为囊胚中期(图版 I-8); 受精后 101 h, 囊胚层细胞向卵黄下包, 进入囊胚晚期(图版 I-9), 下包时受卵黄阻碍, 囊胚层细胞向内卷形成不太明显的胚环(germ ring), 胚胎发育进入原肠期。

2.1.4 原肠期 受精后 122 h, 由于囊胚层细胞的集中, 在胚环形成一外观呈三角形的加厚隆起结构, 即为胚盾(embryonic shield), 为原肠早期(图版 I-10); 再经过 17.5 h 进入原肠中期(图版

I-11); 胚环继续下包, 胚盾延伸明显; 受精后 160 h, 胚环下包到 3/4, 未被包裹的卵黄形成未来的“卵黄栓”, 胚盾继续延伸, 且前端稍微膨大, 此时为原肠晚期(图版 I-12)。

2.1.5 神经胚期 受精后 170.5 h, 下包达 4/5, 胚环和卵黄栓明显变小, 在末端形成一孔, 即胚孔形成, 胚体形成, 中部加厚, 逐渐形成神经板, 此期为神经胚期(图版 I-13); 再经过 19.5 h, 卵黄被完全包裹, 胚孔关闭, 称为胚孔封闭期(图版 I-15)。

2.1.6 器官形成期至破膜阶段 受精后 183.5 h, 在胚体最前端左右两侧出现一对肾形突起, 即为眼原基(图版 I-14), 再经过 33 h, 胚体前端脑部可清晰地划分为前、中、后三部分, 即脑分化期(图版 I-16)。

受精后 226 h, 在头部后方两侧出现盾状突起即为胸鳍原基(图版 I-17); 再经过 45.5 h, 胸鳍原基发育形成清晰可见的胸鳍雏形(图版 I-20);

受精后 242.5 h, 眼原基进一步发育形成椭圆形的眼囊(图版 I-18), 眼囊再经过 49.5 h 的发育, 变得膨大透明, 并在眼囊中形成晶体(图版 I-21);

受精后 252 h, 胚体尾部向后弯曲并延长, 进入尾芽出期(图版 I-19), 再经过 48 h 的, 尾芽脱离卵黄, 形成透明的鳍褶, 并可自由摆动, 此期称尾芽出现期(图版 I-22), 已能观察到心脏搏动(69 ± 5.13)次/min;

受精后 344.5 h, 眼囊周围出现黑色素, 并逐渐加深, 分布在卵黄囊上的血管也清晰可见(图版 I-23), 卵膜变得透明, 胚体也开始扭动, 为破膜而出做准备; 受精后 549 h, 胚体较之前扭动剧烈, 并开始破膜而出(图版 I-24)。

2.2 川陕哲罗鲑胚胎发育积温时间

川陕哲罗鲑受精卵在水温 $9.47 \sim 11.30^{\circ}\text{C}$ 历经 549 h 孵出, 总孵化积温为 $228.31^{\circ}\text{C} \cdot \text{d}$, 其中器官形成至出膜历时 $140.89^{\circ}\text{C} \cdot \text{d}$, 占总时间的 61.71%; 其次为囊胚期 $31.5^{\circ}\text{C} \cdot \text{d}$, 占 13.8%; 原肠期 $20.17^{\circ}\text{C} \cdot \text{d}$, 占 8.83%; 神经胚期 $19.74^{\circ}\text{C} \cdot \text{d}$, 占 8.65%; 卵裂期 $12.89^{\circ}\text{C} \cdot \text{d}$, 占 5.65%; 有效积温最少的为受精卵形成期 $5.23^{\circ}\text{C} \cdot \text{d}$, 仅占 2.29%。

2.3 仔、稚鱼期

初孵仔鱼全长(11.62 ± 0.50) mm, 体重(0.0254 ± 0.0016) g, 卵黄囊长径(5.96 ± 0.37) mm, 卵黄囊短径(4.15 ± 0.27) mm。卵黄囊体积(53.82 ± 1.03) mm^3 。仔鱼静卧于孵化框底部。身体透亮, 呈淡黄色。仔鱼身体弯曲, 头部紧贴卵黄囊相接触的地方可见心脏腔, 红色的心脏分为两个腔室, 心率 98 次/min。卵黄囊大, 呈椭圆形, 表面可见许多圆形的凹面, 血管网覆盖卵黄囊表面。鳃弓 4 对。眼睛有黑色素, 晶状体透明。具有尾鳍原基和胸鳍。从头部至尾部有一条纵向沿脊索的红色血管。卵黄囊后紧贴身体下方为消化道, 为直管形状, 前端与卵黄囊相连, 末端与肛门相连, 肛突明显。(图版 II-1)。

仔、稚鱼的生长和发育特征详见表 2。

2.4 仔、稚鱼生长

川陕哲罗鲑全长和体重的生长如图 1 所示, 全长和日龄之间为线性关系 $TL = 0.3766D + 13.318$, $R^2 = 0.9772$, 特定生长率为 0.030。体重和日龄之间为指数关系 $BW = 0.0253e^{0.0415D}$, $R^2 = 0.9677$, 特定生长率为 0.039。

3 讨论

3.1 川陕哲罗鲑胚胎发育

川陕哲罗鲑属于冷水性鱼类, 繁殖季节为每年的 3-5 月^[1, 16], 和其他鲑科鱼类如太门哲罗鲑^[10, 19]、多瑙哲罗鲑^[11-13]、尖吻细鳞鲑^[14]、秦岭细鳞鲑^[15]和远东哲罗鲑(*H. perryi*)^[18]相似。其早期发育数据和其他鲑鱼的比较详见表 3, 包括受精卵吸水膨胀后的卵径、孵化水温、孵化所需的时间、积温和初孵仔鱼的全长。

川陕哲罗鲑的卵裂方式和胚胎发育时序与大多数硬骨鱼类相似, 大致都遵循“卵裂—胚体形成—器官分化—孵出”的顺序, 根据胚胎发育的外部形态及典型特征, 本研究参考太门哲罗鲑^[10, 19]、尖吻细鳞鲑^[14]、秦岭细鳞鲑^[15]和西藏亚东鲑(*Salmo truttafario* L.)^[20]的胚胎发育将川陕哲罗鲑的胚胎发育划分为 25 个时期。除此之外, 由于遗传因素的影响, 川陕哲罗鲑的胚胎发育具有种

表 2 川陕哲罗鲑仔、稚鱼的生长和发育特征

Tab. 2 The development characteristics and growth of larvae and juveniles in *Hucho bleekeri*

日龄 day	全长/mm total length	体重/g body weight	卵黄囊体积/mm ³ yolk sac volume	主要特征 main characteristics	照片编号 picture No.
1	12.15±0.85	0.0257±0.0023	44.71	头部向上抬起, 身体平直、细长; 背部出现少量点状黑色素; 口前部微微张开; 鳍褶明显, 背鳍褶从头部延伸到尾部, 腹鳍褶从卵黄囊向后延伸至尾部, 肛门处间断, 向内凹.	Fig. II-2
2	12.50±1.08	0.0247±0.0035	38.79	体表黑色素增加; 背鳍褶细胞密集形成背鳍原基, 背鳍原基处黑色素增加; 最后一节尾椎骨向上翘起.	
3	12.77±0.94	0.0282±0.0010	36.33	消化道和卵黄囊接触处呈椭圆形深色状; 可见鳃丝, 鳃丝裸露在鳃盖之外; 背鳍原基明显.	
4	13.60±1.07	0.0316±0.0012	35.18	头部和背部黑色素增加, 呈星状或者雪花状, 腹部色素少; 仔鱼腹部肛门后鳍褶细胞密集, 形成臀鳍原基.	Fig. II-3
5	14.41±0.81	0.0297±0.0047	32.86	口裂增加; 尾鳍明显, 呈圆形; 仔鱼消化管在肛门处向外凸起, 卵黄囊稍扁平; 眼睛外突.	Fig. II-4
6	13.81±1.06	0.0349±0.0011	28.47	出现鳍条, 背鳍 D.3~4, 臀鳍 A.3~4, 尾鳍 C.5~6, 向上弯曲的尾椎骨将尾鳍分为上下两部分, 尾鳍条最先从尾椎骨下方出现, 鳍条短; 肌节数 55~60, 呈“W”型; 眼睛晶状体透明度减小, 颜色加深; 仔鱼口张开的程度增加; 消化道在肛门处向外弯曲; 卵黄囊变得稍扁平.	
7	15.41±1.14	0.0350±0.0033	27.22	背鳍 D.6~8, 尾鳍 C.7~11; 鳃丝更加明显; 背部的黑色素连成一条细线; 消化道下血管明显.	
8	15.56±1.06	0.0373±0.0050	24.2	黑色素增加, 体色加深; 仔鱼口基本张开, 身体粗壮.	Fig. II-5
9	15.98±1.37	0.0462±0.0101	22.57	卵黄囊后有一芽状凸起, 为腹鳍原基, 位置与背鳍相对; 背鳍 D.6~8, 臀鳍 A.5~6.	
10	17.07±1.90	0.0376±0.0025	22.75	腹部色素增加; 背鳍 D.7~9, 臀鳍 A.5~7, 尾鳍 C.13~14; 鳍条变长; 口完全张开.	
11	17.77±0.73	0.0358±0.0050	21.18	背部与臀鳍相对的位置细胞密集, 形成脂鳍原基; 其体色素增加, 体色灰黑色; 头背部隆起, 且黑色素特别密集; 各鳍上面的色素也增加.	Fig. II-6
12	17.45±1.30	0.0351±0.0061	20.50	背鳍 D.7~10, 臀鳍 A.7~8, 尾鳍 C.15~18; 后面贴身体处卵黄囊呈三角形, 明显被吸收; 卵黄囊表面的血管增加.	Fig. II-7
13	17.79±1.29	0.0396±0.0021	19.22	尾鳍、臀鳍、背鳍鳍褶明显; 尾鳍基部有一纵向的透明带, 条带周围分布很多色素; 背鳍 D.8~10, 臀鳍 A.8~10, 尾鳍 C.16~19, 尾鳍条分成 2 节; 肠道贯通.	
14	18.69±1.23	0.0402±0.0039	16.01	仔鱼可在水面做短暂平游, 然后又沉入水底; 腹部消化道位置和卵黄囊和鱼体接触的位置黑色素积累增加; 背鳍后基部为脂鳍前基部.	
15	19.85±1.33	0.0388±0.0019	13.56	卵黄囊形状变得细长, 平扁.	Fig. II-8
16	19.94±1.69	0.0410±0.0023	11.07	口内可见牙齿, 背鳍变的宽大, 背鳍 D.10~11, 臀鳍 A.9~10, 尾鳍 C.17~20; 背部和两侧的色素增加连成片.	
17	21.08±0.97	0.0451±0.0043	8.207	可见鱼鳔一室, 透明、长椭圆形; 体表黄色素增加, 卵黄囊明显减少.	
18	21.59±0.54	0.0476±0.0039	6.679	仍有部分卵黄囊; 卵黄囊长条形; 仔鱼基本都上浮, 开始投喂卤虫无节幼体; 仔鱼进入混合营养型阶段.	
19	20.33±2.39	0.0514±0.0043	4.115	其背部鳍褶基本消失; 肛门处有未吸收完全的卵黄排出; 晶状体变为黑色, 透明度减小; 肠道内充满的食物.	

(待续 to be continued)

(续表 2 Tab. 2 continued)

日龄 day	全长/mm total length	体重/g body weight	卵黄囊体积/mm ³ yolk sac volume	主要特征 main characteristics	照片编号 picture No.
20	23.03±1.23	0.0519±0.0083	1.543	腹部鳞片形成, 进入稚鱼期; 臀鳍 A.9~11, 背鳍 D.10~11, 尾鳍 C.22~24, 尾鳍条分为 3 节.	Fig. II-9
21	21.58±0.58	0.0525±0.0051	0.724	其背部有零星的鳞片, 腹部仍有鳍褶.	
26	23.62±0.94	0.0657±0.0076	0	卵黄完全吸收; 腹部鳞片增加, 连成片状, 背部零星分布鳞片; 尾椎平直; 臀鳍 A.I-9~10, 背鳍 D.II-9~10, 尾鳍 C.21~23, 尾鳍条分为 3 节.	
28	24.25±1.03	0.0823±0.0144		体色素沉淀明显, 可见鳃部骨骼化; 腹部可见肌节; 身体背部色素比较暗; 腹腔前部呈椭圆形, 后半部分尾棒形; 鳃一室长度增加, 体积增大; 各鳍上的色素增加; 鳃盖基本盖住鳃丝; 芽状的腹鳍后沿没有超过鳍褶; 臀鳍分为 2 节.	Fig. II-10
30	25.87±1.12	0.0993±0.0109		脂鳍形状基本成型; 鳃一室进一步变长变大. 鳍上的色素积累增加; 尾鳍条分 3 节; 腹鳍 A.4~5.	Fig. II-11
32	26.66±1.69	0.1078±0.0163		尾鳍条分 4 节; 两侧鳃盖可见鳞片, 并出现鳃盖条; 腹鳍变大.	
34	28.09±1.52	0.1151±0.0091		背鳍 D.II-9~10, 臀鳍 A. II-9~10, 尾鳍 C.25~27, 腹鳍 V.6~7, 臀鳍条分枝; 尾鳍叉形; 鳞片进一步增加; 腹鳍末端基本接近鳍褶边缘.	
36	29.30±1.45	0.1350±0.0220		胸鳍 P.7~8. 臀鳍鳍条分枝; 解剖肠道可见螺旋瓣分布.	
38	29.05±1.48	0.1627±0.0126		体重(0.1627±0.0126)g; 腹部的肌节非常明显, 尾鳍分为 4 节, 臀鳍鳍条分为 2 节; 鳍褶减少, 腹鳍后沿超过鳍褶.	
40	29.89±3.53	0.1730±0.0129		胸鳍 P.7~8, 背鳍分为 3 节, 尾鳍鳍条分为 5 节; 腹腔两侧的鳞片基本覆盖完成, 背鳍鳞片很少.	
43	30.48±1.32	0.1667±0.0189		鳍褶较少, 背鳍和臀鳍、胸鳍基本成型.	
45	30.85±1.84	0.1902±0.0396		稚鱼体表两侧黑色素分布密集, 形成 3~11 个黑点.	Fig. II-14
48	30.93±1.47	0.2192±0.0473		体表的黑点纵向发展, 逐渐形成条纹; 仍有部分鳍褶.	Fig. II-15
52	33.50±2.10	0.2814±0.0298		各鳍鳍条基本成型, 臀鳍 A. II-9~10, 背鳍 D.II-10~11, 胸鳍 P. I-15~16, 腹鳍 V. I-9~10, 尾鳍 C.37~39; 鳃丝仍有部分游离在鳃盖之外, 鳍褶完全消失.	Fig. II-16
56	35.00±2.20	0.3227±0.0333		背鳍鳍条分为 4 节.	
60	36.50±2.00	0.3145±0.0283		大部分稚鱼具有 7~12 条斑纹; 鳞片分散遍及全身.	
64	36.90±1.80	0.3143±0.0367		体色较黑, 尾叉内凹程度增加.	Fig. II-16
69	39.40±3.10	0.4901±0.0462		体侧斑点再次变长变黑, 横斑纹数量为 7~11, 背部鳞片增加, 散状分布.	Fig. II-17
73	39.60±4.40	0.5464±0.0589		鳞片遍及全身, 体型与成鱼相似, 进入幼鱼期.	Fig. II-18

的特异性: (1) 川陕哲罗鲑成熟卵呈黄色, 含有大量卵黄, 胚盘较小, 卵膜比较厚, 卵的特点与秦岭细鳞鲑^[15]、太门哲罗鲑^[10, 19]、尖吻细鳞鲑^[14]等鲑科鱼类相似; (2) 川陕哲罗鲑的卵黄囊上有大量的油球(脂肪滴, 即中性脂肪)分布, 一般只存在于海水鱼类如大西洋鲑^[21]等, 而在极少数的

淡水鱼类中才有分布, 油球的存在也给活体剥膜观察法带来了一定困难(本实验初曾尝试活体剥膜观察发现不可行), 且 5%甲醛溶液固定后对胚体形态维持有一定程度的干扰^[14]; (3) 川陕哲罗鲑眼原基发育较早, 在胚孔关闭之前已形成, 与胭脂鱼(*Myxocyprinus asiaticus*)^[22]、裂腹鱼(*Sehizothorax*)^[23]

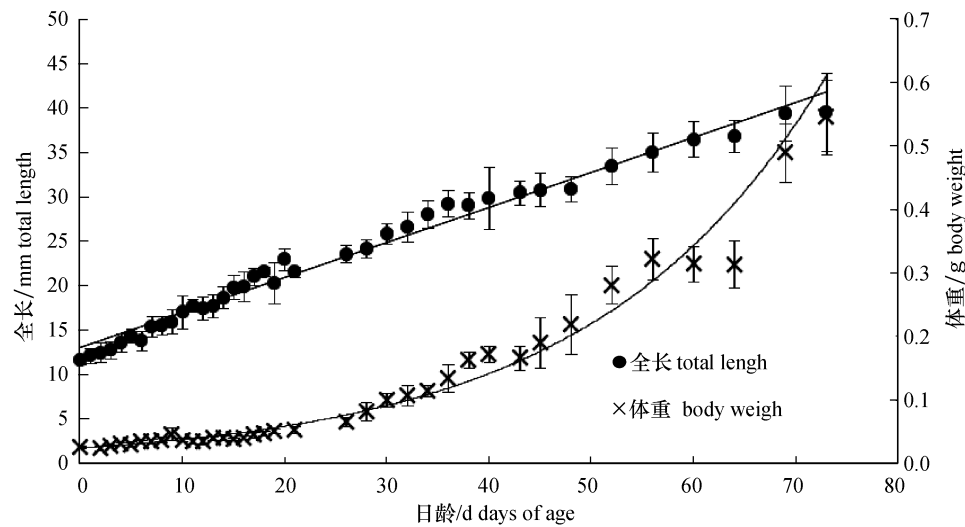


图 1 川陕哲罗鲑全长和体重的生长
Fig. 1 Total length and Body weight growth of *Hucho bleekeri*

表 3 川陕哲罗鲑与其他鲑科鱼类孵化情况比较
Tab. 3 Comparison of *Hucho bleekeri* with other salmonids

种类 species	吸水后卵径/mm egg diameter after swelling water	孵化温度/℃ hatching tem- perature	平均水温/℃ mean tem- perature	孵化时间/h incubation time	积温/(℃·d) accumulated temperature	初孵仔鱼全 /mm total length
川陕哲罗鲑 <i>H. bleekeri</i>	4.36±0.20	9.47~11.3	10.17	549	228.31	11.62±0.50
太门哲罗鲑 <i>H. taimen</i> ^[10]	5.55 ±0.15	4.8~9	7.5	839	262.19	18.45±0.32
多瑙哲罗鲑 <i>H. hucho</i> ^[11]	≈5	—	10	—	232	10.1
多瑙哲罗鲑 <i>H. hucho</i> ^[12]	4.55	4.8~15.5	15.0	840	—	14.11
秦岭细鳞鲑 <i>B. lenok tsinlingensis</i> ^[15]	4.25±0.05	9.31~12.80	11.03	408	193.35	9.64±1.03
尖吻细鳞鲑 <i>B. lenok</i> ^[14]	4.32 ±0.21	6.0 ~10.7	7.7	597	191.53	10.67±0.02

等眼原基的形成是在胚孔关闭后有所不同, 与同属鲑科鱼类的太门哲罗鲑^[10, 19]和西藏亚东鲑^[20]类似; (4) 川陕哲罗鲑的很多数器官在胚胎发育中已经形成, 其中胸鳍原基出现最早, 这也印证了楼允东^[24]的观点, 他认为器官发生的迟早(或程度)与胚胎期的长短有关。川陕哲罗鲑属于冷水性鱼类, 胚胎发育时间较长, 出膜时器官发育较完善; (5) 与尖吻细鳞鲑^[14]、太门哲罗鲑^[10, 19]不同, 川陕哲罗鲑眼色素开始出现时, 已能看见清晰的血管及心脏搏动带动鱼体周身血液流动, 故本研究没有另外划分出所谓的循环期, 这与秦岭细鳞鲑^[15]类似; (6) 川陕哲罗鲑繁殖期水温低, 孵化期较长, 胚胎发育不同步, 导致仔鱼出膜时间不一致, 同一批次受精卵出膜时间跨度为一周左右, 川陕哲罗鲑为凶猛肉食性鱼类, 故在养殖生产中应将先后出膜的苗种

分池培育, 避免种内相残。

3.2 川陕哲罗鲑胚后发育的划分

关于鱼类早期生活史阶段的划分, 不同的学者持有不同的观点^[25]。一般将鱼类早期生活史分为胚胎、仔鱼和稚鱼 3 个阶段。仔鱼阶段的划分从孵出期开始一直延续到鳞片开始出现。仔鱼阶段又分为早期仔鱼和晚期仔鱼。早期仔鱼指孵化出膜至卵黄囊即将被完全吸收, 晚期仔鱼指卵黄吸收完全至鳞片开始出现。稚鱼阶段从鳞片首次出现至鳞片覆盖完全, 该阶段主要进行生长和性腺发育, 没有急剧的形态变化。川陕哲罗鲑鳞片首次出现时, 卵黄还未被完全吸收, 因此, 在该研究中如按照传统的仔稚鱼划分标准, 仔鱼和稚鱼在发育时序上有重叠的部分, 为了区别两者之间的不同, 仍然将鳞片的首次出现, 定位两者的

划分点,而忽略卵黄完全吸收时间。

3.3 川陕哲罗鲑的生长

初孵仔鱼全长(12.15 ± 0.85) mm, 体重(0.0257 ± 0.0023) g, 与其他几种鱼类的比较详见表 3。川陕哲罗鲑鳞片首次出现在孵化后 20 d, 全长(23.03 ± 1.23) mm, 鳞片完全覆盖在 73 d, 全长(39.60 ± 4.40) mm。多瑙哲罗鲑^[26]仔鱼首次出现鳞片在全长 42.9 mm, 完全覆盖在 65.0~68.0 mm。川陕哲罗鲑仔稚鱼的发育过程出现了负生长的现象(孵化后 6 d 和 12 d)。可能的原因是: 因为每尾初孵仔鱼的体质和游泳能力有差异, 体质和游泳能力影响仔稚鱼的摄食能力, 导致仔/稚鱼间的全长和体重有差异。在取样过程中, 取到的样本整体偏小, 另外仔鱼个体较小, 在测量时容易产生误差。但是总的生长趋势是保持一致的, 全长和日龄之间为线性关系 $TL=0.3766D+13.318$, $R^2=0.9772$, 特定生长率为 0.030。

刘成汉^[16]通过对四川岷江和大渡河川陕哲罗鲑鳞片的研究, 推导出 1 龄鱼长 150 mm、2 龄 280 mm、3 龄 463 mm; 吴万荣^[27]通过对四川芦山川陕哲罗鲑鳞片的研究, 推导出 1 龄鱼长 216 mm, 2 龄 406 mm, 3 龄 596 mm, 4 龄 786 mm。两文报道的生长速度虽有差异, 但均反映出生长快的特点, 且比本研究的生长速度快。可能的原因是由于河流中川陕哲罗鲑摄食天然饵料, 生活环境不同, 而且因为孵化条件不同, 初孵仔鱼的体质比在室内孵化的仔鱼强。此外两文研究的是大渡河水系的川陕哲罗鲑, 而本研究的川陕哲罗鲑属于汉江水系。汉江和大渡河两个群体存在生长差异, 而这个生长差异来自遗传属性^[10, 17]。具体的原因, 需要进一步的实验证明。川陕哲罗鲑的人工繁殖和幼鱼体系的培育需要进一步的建立和改善。

致谢: 本研究得到了陕西省太白县川陕哲罗鲑保护驯养基地全体人员的大力支持。中国水产科学研究院长江水产研究所杜浩、张书环、李罗新老师以及中国科学院水生生物研究所博士研究生成为和西南大学硕士研究生辛苗苗在川陕哲罗鲑繁殖和培育上起了关键作用。长江水产研究所太湖试验场王义辉先生在繁殖和养殖中提供了大力

帮助。邱军同学在数据录入给予帮助。在此谨表谢意!

参考文献:

- [1] Ding R H. Sichuan Ichthyography[M]. Chengdu: Sichuan Science and Technology Publishing House, 1994: 37–40. [丁瑞华. 四川鱼类志[M]. 四川: 四川科学技术出版社, 1994: 37–40.]
- [2] Yue P Q, Chen Y Y. China Red Data Book of Endangered Animals: Fishes[M]. Beijing: Science Press, 1998. [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.]
- [3] Ding R H, Fang J. Studies on conservation biology of *Hucho bleekeri* II. Data for characters and ecology[J]. Sichuan Journal of Zoology, 1995, 14(1): 16–19. [丁瑞华, 方静. 虎嘉鱼保护生物学研究 II [J]. 性状及生态学资料[J]. 四川动物, 1995, 14(1): 16–19.]
- [4] Ding R H, Qing Z P. Studies on conservation biology of *Hucho bleekeri* I: distribution area and its changes[J]. Sichuan Journal of Zoology, 1994, 13(4): 152–154. [丁瑞华, 卿足平. 虎嘉鱼保护生物学研究 I: 分布区域及其变迁[J]. 四川动物, 1994, 13(4): 152–154.]
- [5] Li S Z. Studies on the distribution of the salmonid fishes in China[J]. China Journal of Zoology, 1984(1): 34–37. [李思忠. 中国鲑科鱼类地理分布的探讨[J]. 动物学杂志, 1984(1): 34–37.]
- [6] Rand P S. Current global status of taimen and the need to implement aggressive conservation measures to avoid population and species-level extinction[J]. Arch Pol Fish, 2013, 21(3): 119–128.
- [7] State Forestry Administration of the People's Republic of China. Ministry of Agriculture of The People's Republic of China. List of endangered and protected species of China[S]. 1989. [林业局, 农业部. 国家重点保护野生动物名录[S]. 1989.]
- [8] Du H, Li L X, Wei Q W, et al. The rediscovery of *Hucho bleekeri* in the Taibai River, the upper tributary of the Hanjiang River, China[J]. Chinese Journal of Zoology, 2004, 49(3): 414. [杜浩, 李罗新, 危起伟, 等. 濒危物种川陕哲罗鲑在汉江上游太白河再发现[J]. 动物学杂志, 2014, 49(3): 414.]
- [9] Zhang S, Wei Q, Du H, et al. The complete mitochondrial genome of the endangered *Hucho bleekeri* (Salmonidae: hu-chen)[J]. Mitochondrial DNA Part A, 2016, 27(1): 124–125.
- [10] Zhang Y Q, Yin J S, Jia Z H, et al. The embryonic and larvae development in taimen *Hucho taimen*[J]. Journal of Dalian Fisheries University, 2008, 23(6): 425–430. [张永泉, 尹家胜, 贾钟贺, 等. 哲罗鱼胚胎和仔鱼发育的研究[J]. 大连水产学院学报, 2008, 23(6): 425–430.]

- [11] Witkowski A, Kokurewicz B. The embryonal and postembryonal development of the Danube salmon *Hucho hucho* (L.) (Pisces: Salmonidae)[J]. Acta Hydrobiologica, 1981, 23(1): 85–94.
- [12] Peňáz M, Prihoda J. Reproduction and early development of the Danube salmon, *Hucho hucho* (Linnaeus, 1758)[J]. Acta Sci Natur Acad Sci Bohemosl, Brno, 1981(15): 3–33.
- [13] Holcik J, Hensel K, Nieslanik J, et al. The Eurasian huchen, *Hucho hucho*. Largest salmon in the World[M]. Dr. W. Junk Publishers. Dordrecht. Boston. Lancaster, 1988: 239.
- [14] Du J, Xu G F, Han Y, et al. Development of embryos, larvae, fry and juveniles in lenok *Brachymystax lenok*[J]. Journal of Dalian Ocean University, 2010, 25(5): 379–385. [杜佳, 徐革锋, 韩英, 等. 尖吻细鳞鲑胚胎及仔、稚、幼鱼发育的研究[J]. 大连海洋大学学报, 2010, 25(5): 379–385.]
- [15] Shi D L, Wei Q W, Sun Q L, et al. Early ontogenesis of *Brachymystax lenok tsinlingensis*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2012, 19(4): 557–567. [施德亮, 危起伟, 孙庆亮, 等. 秦岭细鳞鲑早期发育观察[J]. 中国水产科学, 2012, 19(4): 557–567.]
- [16] Liu C H. *Hucho bleekeri* Kimura[J]. Fisheries Science & Technology Information, 1978(4): 21, 32. [刘成汉. 四川虎加鱼[J]. 水产科技情报, 1978(4): 21, 32.]
- [17] Wang Y, Guo R, Li H, et al. The complete mitochondrial genome of the Sichuan taimen (*Hucho bleekeri*): Repetitive sequences in the control region and phylogenetic implications for Salmonidae[J]. Mar Genom, 2011(4): 221–228.
- [18] Fukushima M. Spawning migration and construction of Sakhalin taimen, *Hucho perryi* (Salmonidae) on northern Hokkaido Island, Japan[J]. J Fish Biol, 1994, 44(5): 877–888.
- [19] Matveyev A N, Pronin N M, Samusenok V P, et al. Ecology of Siberian taimen *Hucho taimen* in the Lake Baikal basin[J]. J Great Lakes Res, 1998, 24(4): 905–916.
- [20] Hao F H, Chen Y F, Cai B. Embryonic development of *Salmo trutta fario* from Yadong River, Tibet[J]. Journal of Fisheries of China, 2006, 30(3): 289–296. 豪富华, 陈毅峰, 蔡斌. 西藏亚东鲑的胚胎发育[J]. 水产学报, 2006, 30(3): 289–296.
- [21] Battle H I. The embryology of the Atlantic salmon (*Salmo salar* Linnaeus) [J]. Can J Res, 1944, 22(5): 105–125.
- [22] Zhang C G, Zhao Y H. Early development of Chinese sucker (*Myxocyprinus asiaticus*)[J]. Acta Zoologica Sinica, 2000, 46(4): 438–447. [张春光, 赵亚辉. 胭脂鱼的早期发育[J]. 动物学报, 2000, 46(4): 438–447.]
- [23] Chen Y X, Luo Q S. Embryonic development of *Schizothorax kozlovi* in upper reaches of Wujiang River, Sichuan[J]. Sichuan Journal of Zoology, 1999, 16(4): 163–167. [陈永详, 罗泉笙. 乌江上游四川裂腹鱼的胚胎发育[J]. 四川动物, 1999, 16(4): 163–167.]
- [24] Lou Y D. Histoembryology[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1996: 314–319. [楼允东. 组织胚胎学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1996: 314–319.]
- [25] Yin M C. Advances and studies on early life history of fish[J]. Journal of Fisheries of Chian, 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.]
- [26] Witkowski A, Kokurewicz B, Kowalewski M. Early scale developmend in the Danube salmon *Hucho hucho* (L.) (Pisces: Salmonidae)[J]. Acta Hydrobiologica, 1984, 25/26: 215–223.
- [27] Wu W R. On the age and growth of *Hucho bleekeri* Kimura[J]. Journal of Fisheries of China, 1987, 11(1): 37–44. [吴万荣. 布氏哲罗鲑年龄与生长的初步研究[J]. 水产学报, 1987, 11(1): 37–44.]

Early development of *Hucho bleekeri* Kimura

YANG Huanchao^{1,2}, YANG Xiaoge^{2,3}, WU Jinming², WANG Chengyou², WEI Qiwei^{1,2,3}

1. Collge of Fisheries, Huazhong Agricultural University, Wuhan 430070, China;

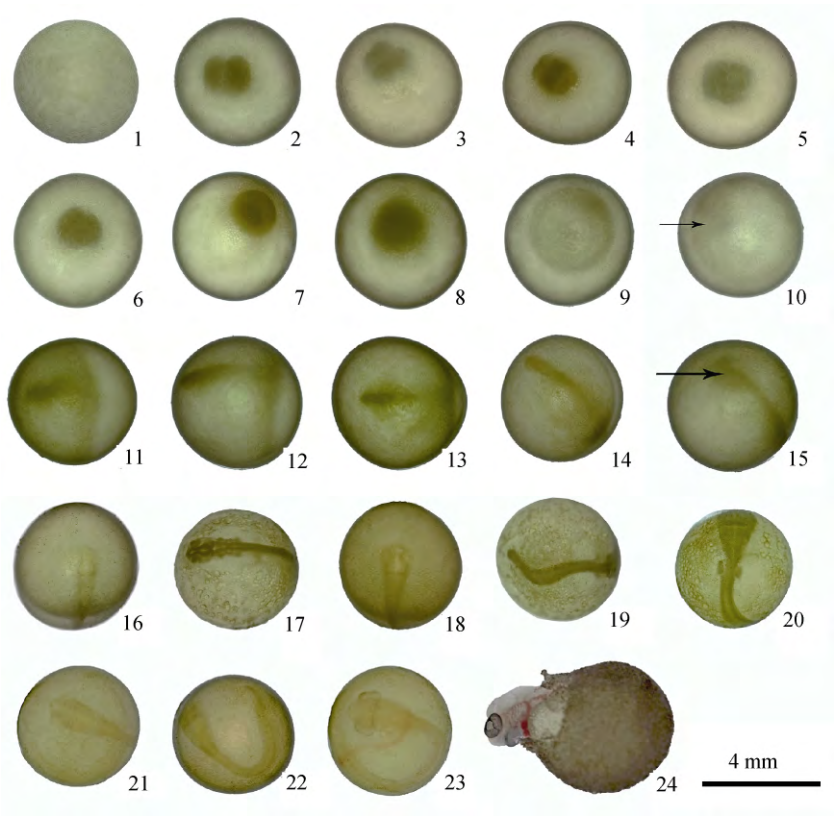
2. Key Laboratory of Freshwater Biodiversity Conservation, Ministry of Agriculture; Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Sciences, Wuhan 430223, China;

3. Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430072, China

Abstract: *Hucho bleekeri* Kimura early development of the whole process was investigated. According to the exterior appearance and typical characteristics of the embryo, the process of *H. bleekeri* embryonic development was defined into 25 minor periods and described in detail. The result showed that the total accumulated temperature was $228.31^{\circ}\text{C}\cdot\text{d}$ at an average water temperature 10.2°C from fertilization to hatching, the fertilized eggs hatching lasted 549 h. The mean total length of newly hatched larvae was (11.62 ± 1.00) mm, the mean body weight of larvae was (0.0254 ± 0.0016) g, the yolk sac volume of larvae was (53.82 ± 1.03) mm³. Primordia dorsal, anal primordia, pelvic primordia, adipose fin primordia appeared respectively on days 2, 4, 9, and 11. The first chamber air bladder was formed on 17 d. Larvae began into the mixing vegetative stage on 18 d. First scales appeared in the larva of abdomen, entered into juvenile stage on 20 d. The yolk sac was completely absorbed, juvenile completely exogenous nutrition on 26 d. All fins completed development on 52 d. Stripes appeared completed development on the body surface on 64 d. The scales fully distributed the body on 73 d, entered the young period. Growth model equations fish larvae period is: $\text{TL}=0.3766D+13.318$, ($R^2=0.9772$, TL: total length, D: days of age), the specific growth rate was 0.030. This study aims to provide scientific guidance for the Sichuan taimen artificial breeding and fry cultivation.

Key words: *Hucho bleekeri* Kimura; embryonic development; accumulated temperature; larval development; juvenile development

Corresponding author: WEI Qiwei. E-mail: weiqw@yfi.ac.cn



图版 I 川陕哲罗鲑胚胎发育时序图

1. 受精卵; 2. 2 细胞期; 3. 4 细胞期; 4. 8 细胞期; 5. 16 细胞期; 6. 多细胞期; 7. 囊胚早期; 8. 囊胚中期; 9. 囊胚晚期; 10. 原肠早期(箭头: 胚盾); 11. 原肠中期; 12. 原肠晚期; 13. 神经胚期; 14. 眼原基出现期; 15. 胚孔关闭期(箭头: 胚孔); 16. 脑部分化期; 17. 胸鳍原基出现期; 18. 眼囊形成期; 19. 尾芽出现期; 20. 胸鳍雏形出现期; 21. 眼晶体出现期; 22. 尾鳍出现期; 23. 眼色素出现期; 24. 孵化期.

Plate I Development stage of *Hucho bleekeri* Kimura embryo

1. 受精卵; 2. 2-cell stage; 3. 4-cell stage; 4. 8-cell stage; 5. 16-cell stage; 6. multi-cellular stage; 7. early-blastula stage; 8. mid-blastula stage; 9. late-blastula stage; 10. early-gastrula stage (arrowhead: embryonic shield); 11. mid-gastrula stage; 12. late-gastrula stage; 13. neural plate stage; 14. eye anlage stage; 15. blastopore closed stage (arrowhead: blastopore); 16. brain differentiation stage; 17. pectoral fin anlage stage; 18. eye vesicle stage; 19. tail bud formed stage; 20. rudiment of pectoral fin stage; 21. eye lens formed stage; 22. caudal fin appearance stage; 23. eye pigment stage; 24. hatching.



图版 II 川陕哲罗鲑仔、稚鱼发育时序图

1: 初孵仔鱼; 2: 2 d 仔鱼; 3: 4 d 仔鱼; 4: 6 d 仔鱼; 5: 9 d 仔鱼; 6: 11 d 仔鱼; 7: 14 d 仔鱼; 8: 17 d 仔鱼; 9: 20 d 稚鱼; 10: 26 d 稚鱼; 11: 30 d 稚鱼; 12: 36 d 稚鱼; 13: 40 d 稚鱼; 14: 45 d 稚鱼; 15: 48 d 稚鱼; 16: 52 d 稚鱼; 17: 64 d 稚鱼; 18: 69 d 稚鱼; 19: 73 d 稚鱼.

Plate II Development stage of *Hucho bleekeri* Kimura larva and juvenile

1: Newly hatched larva; 2: 2 d old larvae after hatching; 3: 4 d old larvae after hatching; 4: 6 d old larvae after hatching; 5: 9 d old larvae after hatching; 6: 11 d larvae after hatching; 7: 14 d old larvae after hatching; 8: 17 d old larvae after hatching; 9: 20 d old juvenile after hatching; 10: 26 d old juvenile after hatching; 11: 30 d old juvenile after hatching; 12: 36 d old juvenile after hatching; 13: 40 d old juvenile after hatching; 14: 45 d old juvenile after hatching; 15: 48 d old juvenile after hatching; 16: 52 d old juvenile after hatching; 17: 64 d old juvenile after hatching; 18: 69 d old juvenile after hatching; 19: 73 d old juvenile after hatching.