

doi: 10.7541/2019.123

西藏双须叶须鱼早期发育特征

刘海平^{1*} 刘孟君^{2*} 牟振波¹ 刘艳超^{1,3} 次仁罗杰⁴ 刘书蕴⁵ 刘乐乐⁶ 饶昌伟⁷

(1. 西藏自治区农牧科学院, 水产科学研究所, 拉萨 850002; 2. 西藏自治区农牧科学院, 畜牧兽医研究所, 拉萨 850000; 3. 西藏农牧学院, 林芝 860000; 4. 西藏自治区山南市扎囊县阿扎乡, 山南 856000; 5. 西藏自治区拉萨市林周县唐古乡, 拉萨 850000; 6. 西藏自治区农牧厅畜牧总站, 拉萨 850000; 7. 西藏自治区拉萨市林周县旁多乡, 拉萨 850000)

摘要: 通过双须叶须鱼(*Ptychobarbus dipogon* Regan)早期发育特征研究, 旨在为该鱼的科学保护和合理开发提供技术支撑。结果显示: 双须叶须鱼卵径3.7—3.9 mm, 吸水后的卵径可达5.1—5.3 mm。在水温10℃左右的条件下, 经历336.02h孵化出膜。根据胚胎的外部形态特征可将胚胎发育分为准备卵裂阶段、卵裂阶段、囊胚阶段、原肠阶段、神经胚阶段、器官分化阶段、孵化阶段共7个阶段34个时期。初孵仔鱼全长12.4 mm, 第1天体色素出现, 胸鳍上翘, 鳃盖骨出现, 下颌原基出现; 第2天鳃弓原基出现; 第3天消化道出现, 肝胰脏原基出现; 第4天鳃耙出现, 体表色素细胞带出现; 第5天口凹形成, 鳃丝形成; 第6天胸鳍褶, 背鳍褶, 腹鳍褶出现; 第7天鼻凹出现, 星芒状色素团出现; 第9天鳃前原基出现; 第11天尾鳍鳍条开始出现, 胸鳍开始颤动; 第13天鳃1室出现, 半规管形成; 第17天背鳍分化出来; 第21天腹部鳍褶变大, 舌颌骨清晰可见; 第28天脾脏出现; 第33天出现腹鳍鳍条; 第34天鳞片出现; 第85天稚鱼的形态与成鱼无异。双须叶须鱼是已报道裂腹鱼类卵径最大, 较四大家鱼卵周隙小, 是对高原隆起所导致的高寒自然环境的一种适应。

关键词: 西藏; 裂腹鱼; 双须叶须鱼; 胚胎; 仔稚鱼; 早期发育

中图分类号: Q959.4

文献标识码: A

文章编号: 1000-3207(2019)05-1041-15

近几十年来, 随着西藏经济社会的快速发展, 西藏鱼类资源也面临着国内其他水域渔业发展所出现的一些共性问题, 如部分流域过度捕捞^[1, 2-5]、水利设施建设导致的大坝阻隔、栖息地丧失、生境片段化等^[6]。而且由于西藏特殊的地理位置和社会经济特点, 它还面临着更为严峻的生态环境问题和挑战, 如外来物种入侵^[7-9]、全球气候变化^[10]等, 加之高原生态环境脆弱、生态系统结构简单、生产力低下^[11]以及鱼类生长缓慢、早期资源发育周期较长^[12]、对生境高度适应和依赖等特点^[2-5], 西藏水生生态更容易受到外界的影响。双须叶须鱼处于这种生存环境中, 本身的种群结构是不容乐观的, 对于这种生态系统的扰动, 都将造成鱼类资源的不同程度上的破坏, 恢复过程都将是十分缓慢的, 甚至无法恢复^[11]。双须叶须鱼(*Ptychobarbus dipogon* Regan), 隶属裂腹鱼亚科, 叶须鱼属, 为雅鲁藏布江中游的特有鱼类^[1]。2016年双须叶须鱼列入中国脊椎动物红色名录^[13]。因此, 必须加快推动双须叶须鱼的养护工作^[14]。目前, 有关双须叶须鱼的研究报道, 见于渔业资源调查^[15]、营养价值评定^[16]、摄食器官与食性^[17]、繁殖策略^[18]、染色体多样性^[19]、性腺发育^[20]、年龄和生长及死亡率的关系^[21]、年龄鉴定^[22]、染色体数目^[23]、体长体重关系^[24, 25]、线粒体序列^[26]等。

鱼类的早期发育研究, 一方面为鱼类的繁殖生物学, 鱼类资源保护与利用提供科学依据和理论基础。另一方面, 鱼类早期发育研究为鱼类的规模化生产提供技术支持。鱼类的受精卵在不同的发育时期对外界环境的反应也不一样, 在生产实践过程中, 应该密切关注外界环境, 规避风险, 减少损失。

鱼类的早期发育研究, 一方面为鱼类的繁殖生物学, 鱼类资源保护与利用提供科学依据和理论基础。另一方面, 鱼类早期发育研究为鱼类的规模化生产提供技术支持。鱼类的受精卵在不同的发育时期对外界环境的反应也不一样, 在生产实践过程中, 应该密切关注外界环境, 规避风险, 减少损失。

收稿日期: 2018-04-10; **修订日期:** 2019-04-11

基金项目: 西藏财政专项(XZNKY-2018-C-040和2017CZZX004); 国家自然科学基金(31560144)资助 [Supported by the Special Finance of Tibet Autonomous Region (XZNKY-2018-C-040, 2017CZZX004); the National Natural Science Foundation of China (31560144)]

作者简介: 刘海平(1981—), 男, 内蒙古乌兰察布人; 博士研究生, 研究员; 研究方向为西藏渔业资源养护。E-mail: luyhappy@163.com; 刘孟君(1990—), 男, 四川内江人; 本科, 实习研究员; 研究方向为动物遗传育种。E-mail: 1023597794@qq.com *共同第一作者

通信作者: 牟振波, E-mail: mouzhenbo@163.com

陈礼强等^[27]指出细鳞裂腹鱼的早期发育过程,原肠期对外界环境变化最为敏感。在原肠期,由于细胞的分裂迅速和流动量大,代谢旺盛,耗氧多,对环境要求高,处在这个时期的胚胎如果遇到水温突变等异常情况都可能导致细胞重排时间和空间程序的混乱,容易造成胚胎的死亡或器官出现畸形^[28]。关于裂腹鱼类的早期发育研究,主要有:四川裂腹鱼(*Schizothorax kozlovi*)^[29]、青海湖裸鲤(*Gymnocypris przewalskii*)^[30]、松潘裸鲤(*Gymnocypris potanini*)^[31]、齐口裂腹鱼(*Schizothorax prenanti*)^[32]、小裂腹鱼(*Schizothorax parvus*)^[33]、新疆扁吻鱼(*Aspiorhynchus laticeps*)^[34,35]、塔里木裂腹鱼(*Schizothorax (Racoma) biddulphi*)^[36]、宝兴裸裂尻鱼(*Schizopygopsis malacanthus baopingensis*)^[37]、昆明裂腹鱼(*Schizothorax grahami*)^[38]、细鳞裂腹鱼(*Schizothorax chongi*)^[27]、黄河裸裂尻鱼(*Schizopygopsis pylzovi*)^[39,40]、伊犁裂腹鱼(*Schizothorax pseudak-saiensis*)^[41]、异齿裂腹鱼(*Schizothorax o'connori*)^[42]、尖裸鲤(*Oxygymnocypris stewartii*)^[43]、光唇裂腹鱼(*Schizothorax lissolabius*)^[44]、厚唇裸重唇鱼(*Gymnodiptychus pachycheilus*)^[45]、祁连山裸鲤(*Gymnocypris chilianensis*)^[46]、短须裂腹鱼(*Schizothorax wangchiachii*)^[47-49]等。未见双须叶须鱼早期发育的研究报道。因此,开展双须叶须鱼胚胎和仔鱼发育的时序与特点研究就显得尤为重要,进而为双须叶须鱼的人工繁育技术、资源保护和增殖提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 双须叶须鱼亲鱼获取及孵化

2014年2月,将采自位于拉萨市墨竹工卡县扎雪乡拉萨河段的双须叶须鱼亲鱼运至西藏农牧学院藏鱼繁育基地。其中,雌性1尾(体重599.5 g,体长374 mm),雄性1尾(体重327 g,体长310 mm)。通过干法人工授精,自然产卵,得到3314粒受精卵。平均分为3组,将受精卵移入孵化框(55 cm×33 cm×9 cm),孵化框置于塑料缸(85 cm×65 cm×75 cm)中,采用上海海圣控温养殖系统控制水温在10℃左右,溶解氧8 mg/L以上。用吸管及时剔除死卵,死鱼苗。

1.2 双须叶须鱼的早期发育观察

使用Nikon SMZ1500体式显微镜(生产商:日本尼康株式会社)进行观察,ScopePhoto 3.0图像测量软件进行测量、Adobe Photoshop CS6软件处理图片。考虑到各发育期的时间存在个体差异,将半数以上个体出现新的特征作为发育时期的划分标准,依据相关文献对双须叶须鱼的胚胎发育过程进行

判别^[29,43]。

1.3 数据处理

采用Matlab 2011软件的神经网络聚类算法(Self Organizing Maps, SOM)对已有的裂腹鱼亚科和鲃亚科鱼类的相关文献数据进行收集^[29-55],如卵径、初孵仔鱼长度、吸水卵径、卵周隙、总积温等,进行聚类分析。

2 结果

2.1 双须叶须鱼的胚胎发育过程

双须叶须鱼各阶段胚胎发育特征见表1和图版I。

2.2 双须叶须鱼仔稚鱼发育过程

双须叶须鱼仔稚鱼各发育时期的发育特征见表2和图版II。

3 讨论

Hora^[56]指出,裂腹鱼亚科起源于鲃亚科,喜马拉雅山北面的鱼类区系,可能是在一个较早的时期,由具有共同的性状的祖先分化而来的。据曹文宣等^[57]对骨骼的比较研究,裂腹鱼类与鲃亚科中一些原始的属,如四须鲃属、突吻鱼属和鲃属等的颅骨结构非常相似。这进一步证实了,裂腹鱼类的祖先,是近似于鲃亚科中原始属的种类。裂腹鱼亚科和鲃亚科鱼类在生态上的区别,正如它们目前的分布区域的自然条件所显示,前者是适应寒冷的气候,后者是适应于温暖的气候(表3)。但是,在气候比较寒冷的青藏高原地区在晚第三纪分布有鲃亚科鱼类,这说明,裂腹鱼类的出现和发展,是与青藏高原的急剧隆起,及随之发生的自然条件的显著改变息息相关的^[57]。

因此,通过对24种裂腹鱼类和3种鲃亚科鱼类的5种早期发育特征参数的神经网络聚类分析(图1),发现鲃亚科鱼类(3种鱼类)与之演化较为接近的裂腹鱼亚科鱼类(裂腹鱼属,扁吻鱼属)聚为F1、F2两类(不包括裸鲤属鱼类),此类群较其他裂腹鱼亚科鱼类早期发育具有如下特点:卵径较小(2 mm左右)、初孵仔鱼长度较短(8 mm左右),吸水后卵径小(3 mm左右),卵周隙较大(>1 mm),总积温较少(2000h·℃左右)。卵径大小对鱼的早期发育和存活具有重要的生物学意义^[54],同一个物种,小卵死亡率更高,而大卵具备更高的生存潜力^[55]。裂腹鱼类卵径的变化和演化,是对分布区域自然环境的不断适应。卵径比较小的裂腹鱼类,其分布海拔较低,以部分裂腹鱼属鱼类为例,主要分布在海拔1250—2500 m之内^[57],海拔低,气候较为温和,适合

表 1 双须叶须鱼胚胎发育特征描述

Tab. 1 The embryonic development features of *Ptychobarbus dipogon*

阶段Stage	发育时期 Developmental stages	时间记录Time records	发育累计时间 Cumulative time (h)	特征Character
前期Earlier stage	受精卵	3.24 (23:29)		圆形、淡黄色或橙色具有半透明光泽, 沉性卵, 鱼卵具有微黏性, 受精遇水后失黏, 富含卵黄且分布均匀, 卵径3.7—3.9 mm, 卵黄极性明显, 卵在受精75 min后, 膨胀至最大, 卵膜直径5.1—5.3 mm, 卵黄直径3.7—4.3 mm, 胶膜弹性非常强(图版 I -1)。
	胚盘隆起	3.25 (04:57)	4.47	原生质丝向动物极靠拢, 并随着时间推移逐渐变大, 变高, 形成的边缘轮廓并不完整呈放射状, 此刻胚盘的最大高度占卵径1/5, 宽度占卵径2/3 (图版 I -3)。
卵裂期 Cleavage stage	2细胞期	3.25 (07:24)	6.92	胚盘顶部出现一条纵沟, 将动物极分成两个大小相等的分裂球, 卵径4.94 mm, 卵黄直径3.72 mm, 卵膜平均0.5 mm, 分裂球高度平均0.8 mm (图版 I -4)。
	4细胞期	3.25 (10:57)	10.47	出现第二次分裂, 分裂沟与第一次分裂沟垂直, 形成四个大小相等的分裂球(图版 I -5)。
	8细胞期	3.25 (13:15)	13.77	出现第三次分裂, 形成2排8个分裂球, 胚盘逐渐向植物极延伸(图版 I -6)。
	16细胞期	3.25 (17:05)	17.60	出现第四次分裂, 形成16个分裂球, 4排4列整齐排列(图版 I -7)。
	32细胞期	3.25 (20:24)	20.92	完成第五次分裂, 有四个经裂面, 且与第三次分裂面平行, 4排8列整齐的排在同一个平面上(图版 I -8)。
	64细胞期	3.25 (21:54)	22.42	完成第六次分裂, 因细胞分裂速度不一致, 故分裂球的大小, 形态差异明显, 64个细胞排列在一个分裂球面上(图版 I -9)。
	多细胞期	3.25 (23:41)	24.20	出现水平分裂和切线分裂, 分裂球越来越小, 卵裂的速度加快, 形态、体积差异明显, 细胞排列无规律, 细胞界限模糊无法计数细胞的个数(图版 I -10)。
	桑葚期	3.26 (04:26)	28.95	细胞分裂不同步, 细胞数目不断增加, 细胞体积逐渐变小, 多层细胞叠加如同桑葚, 高度占卵黄直径的1/3 (图版 I -11)。
囊胚期Blastula stage	囊胚早期	3.26 (08:50)	33.52	细胞界限模糊, 分裂球组成的囊胚层隆起, 位于卵黄之上, 高度达卵黄的1/5 (图版 I -12)。
	囊胚中期	3.26 (14:51)	39.52	囊胚层细胞向动物极移动, 变低, 变薄, 胚体高度下降约为卵黄1/4 (图版 I -13)。
	囊胚晚期	3.27 (06:42)	56.52	囊胚细胞向卵黄部位下包, 约占整个细胞的1/3, 动物极较植物色彩暗, 去掉卵膜卵黄破裂, 该期未受精卵开始裂解(图版 I -14)。
原肠期 Gastrula stage	原肠早期	3.28 (19:01)	92.84	胚层细胞约占卵黄的1/3, 背唇呈新月状, 出现光亮明黄的胚环, 胚胎外形呈蘑菇朵状(图版 I -15)。
	原肠中期	3.29 (08:49)	106.64	胚层细胞占卵黄的1/2, 帽状胚层细胞覆盖在卵黄囊上, 在胚胎的背唇处出现箭头似的隆起即是胚盾(16-1, 图版 I -16)。
	原肠晚期	3.29 (16:27)	114.27	胚层下包3/4, 胚盾加厚加长, 胚盾向动物极发展, 胚体的雏形逐渐形成(图版 I -17)。
神经胚期 Neural embryo formation	神经胚期	3.29 (20:06)	117.92	胚体下包4/5, 能清晰看到胚体的轮廓, 胚盾前端出现神经板, 胚胎外露很小部分卵黄, 细胞内卷内陷形成神经沟, 侧面观察, 胚体背面增厚隆起, 胚体靠近卵黄部形成一条可见的模糊透明圆柱形脊索(18-1, 图版 I -18)。
	体节出现期	3.30 (02:30)	124.32	胚体中部出现2—3对体节(19-1), 胚体占卵黄囊周长1/2—2/3, 神经板头端隆起加大, 尾部也逐渐变大, 头部, 尾部厚于胚体背部, 卵膜可剥, 从顶看胚体不平整(图版 I -19)。
	胚孔封闭期	3.30 (12:18)	134.12	背唇, 腹唇, 侧唇在胚孔处汇合, 将胚孔封闭, 背部颜色较深的条纹为神经沟, 中间凸起明显, 脊索逐渐清晰向尾部延长, 以胚孔方向为正, 左面少于右面, 头部开始膨大隆起的为脑泡原基(20-1, 图版 I -20)。
器官分化期 Organ differentiation stage	眼原基出现期	3.30 (20:09)	143.97	脑泡两侧出现椭圆形的隆起即眼原基(21-1), 体节从背部开始向头尾两边增加至6对, 此时胚体绕卵黄4/5 (图版 I -21)。
	眼囊期	3.31 (07:28)	155.29	眼基中央出现像“T”的横凹, 并逐渐扩大变深, 脑泡已经开始分化为前, 中, 后三脑模型, 体节9—10对, 头部出现的铭文皱褶开始加深, 卵黄囊的韧性开始变强, 体节14—15对(图版 I -22)。
	听囊期	3.31 (11:30)	159.29	胚体后脑出现椭圆透明的囊腔, 即为听囊(23-1), 体节17—18对, 此时尾牙模型基本已形成, 呈箭头状脑部铭文状的纹路开始延伸到眼囊后部, 胚体环绕卵黄约5/8, 脊索已成细线条状(图版 I -23)。
	耳石出现期	3.31 (23:36)	171.39	体节19—24对, 听囊增大且清晰, 耳囊内出现两颗透明的小斑即是耳石(24-1, 图版 I -24)。
	尾芽期	4.2 (04:12)	199.99	体节28对, 胚体后端膨大隆起, 卵黄囊椭圆形, 胚体首尾逐步靠近, 尾牙游离于胚体, 靠近尾部的卵黄出现凹陷(图版 I -25)。

续表 1

阶段Stage	发育时期 Developmental stages	时间记录Time records	发育累计时间 Cumulative time (h)	特征Character
器官分化期 Organ differentiation stage	眼晶体形成期	4.2 (09:08)	204.92	体节30对, 极少数个体已经开始轻微的抽动, 眼囊中出现透明、圆形的晶体即为眼晶体(26-1, 图版 I -26)。
	肌肉效应期	4.2 (11:05)	204.87	胚体中部出现轻微的收缩, 抽动的频率、幅度很小, 3—4次/min随着时间, 频率幅度稳定, 尾牙呈短棒状, 体节31—32对(图版 I -27)。
	心脏原基出现期	4.3 (00:24:)	220.19	在耳囊腹面偏前方, 眼的后下方, 卵与卵黄之间形成半透明的围心腔(28-1), 在围心腔内可见到短直管状的心脏原基(28-2), 可清晰看到头骨模型。胚体扭动的频率为11—12次/min胚体腹面向上, 体节40—41对(图版 I -28)。
	嗅囊期	4.3 (07:52:)	227.66	体节42—43对, 眼囊上前方出现椭圆形的囊状突起为嗅囊(29-1), 围心腔变大, 心脏逐渐向头部移(图版 I -29)。
	心搏期	4.3 (20:39)	240.66	体节47—48对, 心率为40—50次/min, 心脏进一步发育, 心脏已经分化为心房、心室两部分, 位于眼囊的下方, 并发生轻微的搏动, 剖开卵膜的胚体, 呈小蝌蚪式游动的摆动, 尾部摆动剧烈的时候, 能打圈(图版 I -30)。
	胸鳍原基出现期	4.4 (07:33)	251.56	体节48—49对, 耳囊后下方出现月牙状的轮廓, 即是胸鳍原基(31-1), 胚体与卵黄接触的腹部形成模糊的管状结构, 即消化道(31-2), 卵膜逐渐变薄, 胚体呈淡黄色的透明状(图版 I -31)。
	肛板期	4.4 (14:30)	258.51	体节51—52对, 心率53次/min, 体节宽度从头至尾部逐渐变小, 卵黄囊末端有细胞加厚形成管状条棒即肛板(32-1, 图版 I -32)。
	血液循环	4.4 (17:47)	262.05	体节53—54对, 心率55次/min血液循环开始, 心脏、躯干和尾部出现血液循环, 沿后主静脉, 经卵黄囊后端前行, 血液半透明, 无血细胞, 头部未观察到血液循环, 心室、心房进一步分化, 尾部出现规律性摆动、旋转运动, 8—12次/min (图版 I -33)。
	尾部鳍褶期	4.5 (07:25)	275.68	体节55—56对, 尾部出现褶状结构, 血液循环明显, 心脏出现红色, 血细胞形成, 血管中颜色不明显(图版 I -34)。
	出膜期 Hatching stage	4.7 (17:00)	333.49	体节55—60对, 在孵化酶和胚体的运动作用下, 胚体尾部先击破卵膜而出。卵黄静脉可以观察到红色, 心脏已移至头部的正下方, 出膜后的鱼苗侧卧、静息在水底, 能靠尾部摆动正卧或者原地转圈, 胚体前端出现大量的黑色颗粒, 并集中在眼晶体的周围(图版 I -35)。

卵径较小的裂腹鱼类的发育, 能够保证物种的延续。而卵径比较大的裂腹鱼类, 其分布海拔较高, 以裸裂尻属鱼类和裸鲤属鱼类为例, 主要分布海拔在3750—4750 m内^[57], 海拔高, 气候较为恶劣, 大的卵径, 可以提供较多卵黄等营养物质, 从而保证物种的延续。另外一个佐证就是, 卵径最大的一个类别的鱼类(F3), 与其他3个类别存在显著差异($P<0.05$), 其初孵仔鱼长度不是最大, 却小于卵径次之的F4的裂腹鱼类(表 4), 可以推断, 为了适应高海拔的恶劣环境, 卵黄一部分作为内源性营养物质进行消化, 另外一部分则用于适应环境的能量消耗。同时, 卵径究竟与早期发育哪些关键参数存在关系? 发现与总积温对数值存在线性相关, 也就是说卵径越大, 总积温越大(图 2), 可以推断, 卵径大的裂腹鱼类, 其自然分布水域的温度较低, 相关数据有待进一步搜集。

在一定温度范围内, 水温升高可以加快胚胎的发育速度; 相反, 水温降低会减缓胚胎发育速度, 超过温度范围可能引起胚胎发育停滞、畸形或死亡^[35, 58, 59]。通常在一定的温度范围内, 温度越高, 发育越快, 但并非总是呈线性增加^[43]。因此, 在不

影响胚胎正常发育的前提下, 提高孵化的温度, 这对于提高生产效率、降低管理成本和风险、减少疾病感染的机会有着积极的意义^[32]。新疆扁吻鱼在适宜温度范围下, 高温(18—21℃)较常温(13—19℃)不仅胚胎发育快(发育速度4倍有余), 而且孵化率高^[35]。祁连山裸鲤孵化率随水温升高呈现出先升高后降低的趋势, 畸形率随水温的升高呈现出先降低后升高的趋势^[46]。松潘裸鲤的孵化和幼鱼饲养水温不宜超过23℃^[31], 而齐口裂腹鱼的孵化水温可高达24℃而不出现异常和畸形^[32]。细鳞裂腹鱼在水10.4—22.8℃的条件下能够正常发育^[27]。伊犁裂腹鱼自然产卵孵化水温在 18—22℃ 左右, 平均为20℃^[41]。

双须叶须鱼卵径在已报道裂腹鱼类卵径最大, 其分布水域海拔从2900 m (林芝县)到4700 m (萨嘎县)均有分布, 我们的调查数据显示, 在水温高于15℃的水域, 就没有该鱼类的分布, 这也是我们控制繁殖水温在10℃的原因所在。

Lake^[60]和Matsuura^[61]认为在一些鱼类受精卵吸水膨胀后有较大的卵周隙, 可以更好地抗击外界环境的冲击, 提高受精卵的成活率。而卵周隙大小,

表 2 双须叶须仔稚鱼发育特征描述

Tab. 2 The larvae and juveniles development features of *Ptychobarbus dipogon*

器官出现时期 Organ appearance stage	时间记录 Time record (d)	特征Characters
体色素出现Body pigment 胸鳍上翘Pectoral upward 鳃盖骨出现Operculum 下颌原基出现Underjaw primordial	1	全长(12.44±0.15) mm, 肛前长9.39 mm, 肛后长2.78 mm, 心率55—60次/min, 体节60对, 初孵仔鱼颜色透明, 胸鳍上翘, 头部游离卵黄囊, 身体呈S型, 卵黄囊前部呈椭圆形, 后部呈短状棒形。心脏由心房(图版 II-1d-2)、心室(图版 II-1d-3)和静脉窦(图版 II-1d-5)组成, 位于头部之下、卵黄囊前方, 血液从心脏发出沿着背大动脉向前颈动脉流向脑眼等部位, 向后流向尾动脉, 在尾的中部折向, 下入尾静脉在脊索下方入主静脉, 在脑部方向与来自头部的前主静脉汇合, 通过居维氏管进入静脉窦返回心脏, 卵黄囊前端腹部存有血窦(图版 II-1d-4)。头部靠后1/3处可见食道(图版 II-1d-7)雏形, 泄殖孔(图版 II-1d-8)和鳃盖骨(图版 II-1d-6)均清晰可见, 耳石上方出现环状耳蜗(图版 II-1d-9), 下颌原基(图版 II-1d-1)出现。鱼侧卧静息在水底, 扭动频繁, 此时仔鱼为内源营养需要。
鳃弓原基出现Branchial arch primordial	2	全长14.81 mm, 肛前长11.14 mm, 眼睛的直径0.40 mm, 心率62次/min, 鳃部鳃弓原基(图版 II-2d-1)出现且有血液流过, 脊柱内血液循环明显, 尾部稍显平直。
消化道出现Alimentary canal 肝胰脏原基出现 Hepatopancreas primordial	3	心率60—65次/min, 消化道(图版 II-3d-3)明显, 下方出现肝胰脏原基(图版 II-3d-2), 泄殖孔处凹陷, 下颌(图版 II-3d-1)形成, 卵黄囊上的色素斑点变深, 能清晰看到卵黄囊上的血管(图版 II-3d-4), 仔鱼趋于平直, 胸鳍牙增大呈圆扇形, 活动能力进一步加强。
鳃耙出现Gill raker 体表色素细胞带出现Body pigment cell mass	4	全长15.48 mm, 肛前长11.39 mm, 肛后长3.91 mm, 心率60—65次/min, 眼晶体向外凸出, 鳃弓有4对, 鳃弓内出现凸起为鳃耙(图版 II-4d-1), 口凹加深, 头向前伸, 鳃盖伸长, 心脏靠近胸腔, 仔鱼躯体已有明显的细胞色素团(图版 II-4d-2), 尾鳍的辐射状条纹下叶多于上叶。
口凹、鳃丝形成 Stomatodeum, Gill filament	5	口凹(图版 II-5d-1)形成但未形成口裂, 口不能张合, 下颌开始微微抽动, 鳃丝(图版 II-5d-2)形成, 围心腔收缩, 仔鱼集群静息于池角或尺底边。
胸鳍褶、背鳍褶、腹鳍褶 出现弹性丝Elastic thread of pectoral fin fold, dorsal fin fold, pelvic fin fold	6	下颌上下抽动回缩频率加大, 口裂(图版 II-6d-1)清晰, 眼前缘的嗅窝加深, 鱼体腹部出现鳍褶且逐渐增大, 尾椎微微上翘, 尾鳍鳍褶加大, 卵黄囊继续收缩形成哑铃或者棒状的结构, 头部、背部零星地出现黑色素, 星芒状, 鳃盖伸长, 下部可盖住鳃丝, 胸鳍褶、背鳍褶、腹鳍褶出现弹性丝。
鼻凹出现Nose concave 星芒状色素团出现Astral form pigment group	7	鼻凹(图版 II-7d-1)出现, 位于眼前方, 鳃丝血流量加大加快, 鳃盖透明可略微张合, 腹部出现星芒状的黑色素(图版 II-7d-2), 头骨进一步隆起, 胸鳍进一步变大, 脊索与卵黄囊接触处出现星状黑色素细胞(图版 II-7d-2), 脊椎模型成形, 仔鱼可以上下游动, 鱼苗进入混合营养期。
鳔前原基出现Swim bladder primordial	9	头部色素斑点增多增大, 眼睛可转动, 胸鳍后部卵黄囊中间有一突起, 为鳔前原基(图版 II-9d-1), 消化道前端变粗且有皱褶, 血液循环延伸至最末脊椎骨, 下颌开闭自如。胸鳍摆动以便平衡, 鳃丝数量增多。
尾鳍鳍条开始出现Tail fin	11	尾鳍中间间质细胞形成了鳍条, 下颌运动伴随着围心腔的斜上方向的收张, 毛细血管呈网状分布在卵黄囊上。
鳔一室出现Swim bladder one room 半规管形成Semicircular canal	13	鳔一室(图版 II-13d-1)出现, 色素细胞呈片状相连布满体表, 伴随着下颌的张合鳃盖开闭, 卵黄囊呈棒状, 胸鳍末端呈圆弧形, 位于胸位, 消化道有褶皱且增粗, 充塞有饵料, 背鳍原基出现, 清晰可见上颌、下颌、上唇、下唇, 耳囊内半规管形成。
背鳍原基出现Dorsal fin primordial	17	背鳍原基(图版 II-17d-1)出现, 透明无鳍条。胸鳍的鳍条明显, 可见胸鳍支鳍骨。尾鳍圆弧形, 尾鳍鳍条数目增多且有黑色素。肌节清晰, 腹鳍变宽, 腹部有点状色素, 眼膜络网、晶状体、视网膜清晰可见, 肝胰脏增大, 有排泄物排出。
胸鳍鳍条出现Pectoral fins鳔二室出现Swim bladder two room	19	鳔二室出现(图版 II-19d-1), 鳃盖骨可见清晰横状纹路。
腹部鳍褶变大Pelvic fin fold became bigger	21	卵黄消失, 背鳍透明无鳍条, 仔鱼体色呈褐色, 舌颌骨(图版 II-21d-1)出现, 围心腔不透明。
臀鳍原基出现Anal fin primordial	28	吻部较尖, 鳔室增大明显, 鳔前室变大, 仍未充气胸鳍透明, 鳔前端腹部有一黑褐色圆饼状组织为脾脏(图版 II-28d-1), 尾鳍鳍条20条左右, 背鳍较小, 外缘呈锯齿状, 背鳍原基出现3根辐射状纹, 泄殖孔前方出现腹鳍原基(图版 II-28d-2), 泄殖孔后方出现臀鳍原基(图版 II-28d-3)。鳃盖上具有一条纹路。
脾脏出现Spleen 腹鳍原基出现Pelvic fin primordial		
侧线出现Lateral line	29	鳔二室充气明显, 体侧中央可见一条黑色细线, 为侧线(图版 II-29d-1)。
腹鳍出现Pelvic fin ray	33	腹部中央可见呈辐射状腹鳍(图版 II-33d-1), 尾部鳍条清晰, 尾鳍边缘呈锯齿状, 背部的肌肉增厚。
鳞片出现Scale	34	两鳔室下方可见闪光质的鳞片(图版 II-34d-1), 消化道前端膨大, 后端渐小, 鳞片逐渐由腹部下方向上方覆盖, 由鳔向泄殖孔方向覆盖。
	38	泄殖孔附近出现两条白色的管道, 并在泄殖孔口汇合, 臀鳍有模糊不清的条纹。
	76	尾鳍后缘呈叉型, 鱼体体色近成鱼, 呈黄褐色, 鳞片覆盖体表。

直接决定卵的性质, 沉性卵或者漂浮性卵。我们统计发现, 虽然第二类别和第三类别的卵周隙较第一类别和第四类别大, 存在显著差异($P<0.05$), 但是裂

腹鱼亚科鱼类和鲃亚科鱼类的卵周隙未超过2.0 mm, 而四大家鱼卵周隙均超过了2.0 mm。这也从另外一个角度说明, 裂腹鱼类属沉性卵, 而四大家鱼则

表 3 裂腹鱼亚科与鲃亚科鱼类胚胎发育比较

Tab. 3 Comparison of embryonic development between Schizothoracinae fish and Barbinae fishes

鱼类Fish	代码Code	卵径ED	初孵仔鱼长度LNH	吸水卵径EDI	卵周隙PA	总积温AT	数据来源Data source
●裂腹鱼亚科Schizothoracinae							
●●裂腹鱼属Schizothorax							
光唇裂腹鱼 <i>Schizothorax lissolabiatu</i> s	Fish1	2.20	8.50	3.20	1.00	2189.76	文献[44]
齐口裂腹鱼 <i>Schizothorax prenanti</i>	Fish2	2.95	11.00	4.20	1.25	2211.00	文献[32]
四川裂腹鱼 <i>Schizothorax kozlovi</i>	Fish3	2.65	8.30	3.70	1.05	2125.50	文献[29]
塔里木裂腹鱼 <i>Schizothorax (Racoma) biddulphi</i>	Fish4	1.75	7.50	2.75	1.00	1656.20	文献[36]
细鳞裂腹鱼 <i>Schizothorax chongi</i>	Fish5	2.80	10.00	3.75	1.45	2108.00	文献[27]
伊犁裂腹鱼 <i>Schizothorax pseudaksaiensis</i>	Fish6	1.75	7.90	3.03	1.28	2510.00	文献[41]
异齿裂腹鱼 <i>Schizothorax o'connori</i>	Fish9	2.92	8.97	3.72	0.80	2656.80	文献[42]
异齿裂腹鱼 <i>Schizothorax o'connori</i>	Fish10	2.40	9.84	3.67	1.27	2451.00	文献[50]
拉萨裂腹鱼 <i>Schizothorax waltoni</i>	Fish13	2.95	10.67	4.03	1.08	2904.00	文献[50]
昆明裂腹鱼 <i>Schizothorax grahami</i>	Fish14	2.70	11.10	4.01	1.31	2556.00	文献[38]
小裂腹鱼 <i>Schizothorax parvus</i>	Fish19	1.90	7.50	3.00	1.10	2495.37	文献[33]
短须裂腹鱼 <i>Schizothorax wangchiachii</i>	Fish20	2.70	11.36	3.68	0.92	2539.98	文献[49]
短须裂腹鱼 <i>Schizothorax wangchiachii</i>	Fish21	2.36	8.70	3.68	1.32	3565.30	文献[47]
短须裂腹鱼 <i>Schizothorax wangchiachii</i>	Fish22	3.18	10.88	3.96	0.78	2633.68	文献[48]
●●裸重唇鱼属Gymnodiptychus							
厚唇裸重唇鱼 <i>Gymnodiptychus pachycheilus</i>		2.50	—	4.41	1.91	1962.00	文献[45]
●●裸裂尻鱼属Schizopygopsis							
黄河裸裂尻鱼 <i>Schizopygopsis pylzovi</i>	Fish7	2.30	10.10	3.20	0.90	2727.50	文献[40]
黄河裸裂尻鱼 <i>Schizopygopsis pylzovi</i>	Fish8	2.20	11.20	3.20	1.00	3880.80	文献[39]
宝兴裸裂尻鱼 <i>Schizopygopsis malacanthus baoxingensis</i>		3.41	8.99	—	—	4006.15	文献[37]
拉萨裸裂尻鱼 <i>Schizopygopsis younghusbandi</i>	Fish12	2.50	10.86	3.54	1.04	3038.50	文献[50]
●●尖裸鲤属Oxygymnocypris							
尖裸鲤 <i>Oxygymnocypris stewartii</i>	Fish11	2.57	10.27	3.22	0.65	2726.40	文献[43]
●●裸鲤属Gymnocypris							
祁连山裸鲤 <i>Gymnocypris chilianensis</i>	Fish15	1.94	8.20	3.24	1.30	2429.15	文献[46]
松潘裸鲤 <i>Gymnocypris potanini</i>	Fish16	2.80	8.00	4.00	1.15	2520.00	文献[31]
青海湖裸鲤 <i>Gymnocypris przewalskii</i>	Fish17	2.10	9.05	4.00	1.90	2574.00	文献[30]
●●叶须鱼属Ptychobarbus							
双须叶须鱼 <i>Ptychobarbus dipogon</i>	Fish18	3.80	12.50	5.17	1.37	3360.20	本研究
●●扁吻鱼属Aspiorhynchus							
新疆扁吻鱼 <i>Aspiorhynchus laticeps</i>	Fish23	1.87	7.50	3.37	1.50	2511.04	文献[34]
新疆扁吻鱼 <i>Aspiorhynchus laticeps</i>	Fish24	1.60	7.50	2.70	1.10	2000.00	文献[35]
●鲃亚科Barbinae							
●●光唇鱼属Acrossocheilus							
云南光唇鱼 <i>Acrossocheilus yunnanensis</i>	Fish25	1.93	7.50	4.05	2.12	2019.00	文献[51]
●●结鱼属Tor							
瓣结鱼 <i>Tor brevifilis brebifilis</i>	Fish26	1.80	6.60	2.60	0.80	1514.80	文献[52]
●●倒刺鲃属Spinibarbus							
黑脊倒刺鲃 <i>Spinibarbus caldwelli</i>	Fish27	2.00	7.40	3.00	1.00	1199.10	文献[53]

注: (1) ED: Egg diameter (mm); LNH: Length of hatched larvae (mm); EDI: Egg diameter after inflation (mm); PA: perivitelline space (mm); AT: accumulated temperature (h·°C); (2)表格中数据是平均值The data in the form are average values

属于漂浮性卵。裂腹鱼亚科鱼类区别于鲃亚科的主要形态差异在于肛门和臀鳍基部的两侧各具有一列变形的大鳞片,称为臀鳞,其产生与裂腹鱼类适应流水环境繁殖习性有关^[57]。裂腹鱼类产卵前,雄鱼通过尾部的摆动,以臀鳍和尾鳍在河底掘出小坑,产出的沉性卵粒便聚集在小坑内进行胚胎发育,从而避免了被水流冲到河流下游的不适宜环境中去^[57]。除裸鲤属鱼类外,大部分裂腹鱼类产卵集中

在3—5月份,如实验对象双须叶须鱼产卵集中在3月中下旬,其水域在这个时期恰逢枯水期,水体较为温和,相对于底质平坦的浅水滩而言,沉积在小坑或者鹅卵石缝隙里的裂腹鱼类受精卵在较为稳定水体中发育,减少了鱼卵被水冲刷和减弱了光线的照射强度。而四大家鱼繁殖期正值涨水季节,受水流的冲击,卵周隙大对于卵的保护起着至关重要的作用。

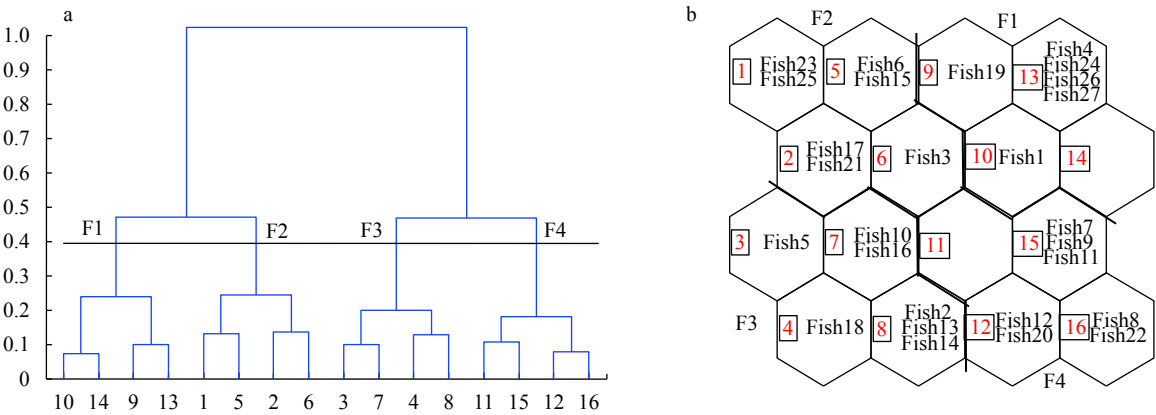


图1 裂腹鱼亚科与鲃亚科鱼类胚胎发育重要参数SOM聚类

Fig. 1 SOM cluster of key parameters of embryonic development about Schizothoracinae fish and Barbinae fishes

a. 根据ward联系方法,采用欧氏距离进行聚类分析,分为四类;b. 根据卵径、初孵仔鱼长度、吸水卵径、卵周隙总积温对裂腹鱼亚科与鲃亚科鱼类胚胎发育进行SOM聚类; Fish1—Fish27参见表3

a. Dendrogram of the hierarchical cluster analysis according to the ward linkage method using Euclidean distance, defining four cluster; b. Classification of embryonic development about Schizothoracinae fish and Barbinae fishes. Based on egg diameter, length of newly hatched larve, egg diameter after inflation, perivitelline space and accumulated temperature; Fish1—Fish27 referred to Tab. 3

表4 基于SOM聚类出四个类别鱼类胚胎发育特征分析

Tab. 4 Characteristics of SOM clusters for four groups fish embryonic development

指标Index	F1	F2	F3	F4
卵径Egg diameter (mm)	1.88±0.21 ^b	2.09±0.32 ^b	2.91±0.43 ^a	2.62±0.34 ^a
初孵仔鱼长度Length of hatching after larvae (mm)	7.5±0.6 ^b	8.16±0.58 ^b	10.44±1.39 ^a	10.52±0.82 ^a
吸水卵径Egg diameter after inflation (mm)	2.88±0.23 ^c	3.58±0.38 ^b	4.12±0.5 ^a	3.5±0.3 ^b
卵周隙Perivitelline space (mm)	1±0.11 ^b	1.5±0.38 ^a	1.27±0.13 ^a	0.87±0.14 ^b
总积温Accumulated temperature (h·°C)	1842.54±474.91 ^b	2533.43±501.56 ^a	2587.17±426.83 ^a	2886.24±465.37 ^a
SOM聚类	涉及的鱼类	涉及的属	胚胎发育特征	n°
F1	Fish1, Fish4, Fish19, Fish24, Fish26, Fish27	裂腹鱼属, 扁吻鱼属, 结鱼属, 倒刺鲃属	卵径小, 初孵仔鱼长度小, 吸水卵径小, 卵周隙适中, 总积温少。	6
F2	Fish3, Fish6, Fish15, Fish17, Fish21, Fish23, Fish25	裂腹鱼属, 裸鲤属, 扁吻鱼属, 光唇鱼属	卵径适中, 初孵仔鱼长度适中, 吸水卵径适中, 卵周隙大, 总积温适中。	7
F3	Fish2, Fish5, Fish10, Fish13, Fish14, Fish16, Fish18	裂腹鱼属, 叶须鱼属, 尖裸鲤属, 裸裂尻鱼属	卵径大, 初孵仔鱼长度适中, 吸水卵径大, 卵周隙适中, 总积温适中。	7
F4	Fish7, Fish8, Fish9, Fish11, Fish12, Fish20, Fish22	裂腹鱼属, 裸裂尻鱼属	卵径适中, 初孵仔鱼长度大, 吸水卵径适中, 卵周隙小, 总积温多。	7

注: 同一行中不同上标字母表示差异显著($P<0.05$); n°表示样本数
Note: Means with different superscripts in the same line are significantly different ($P<0.05$); n°. Number of samples

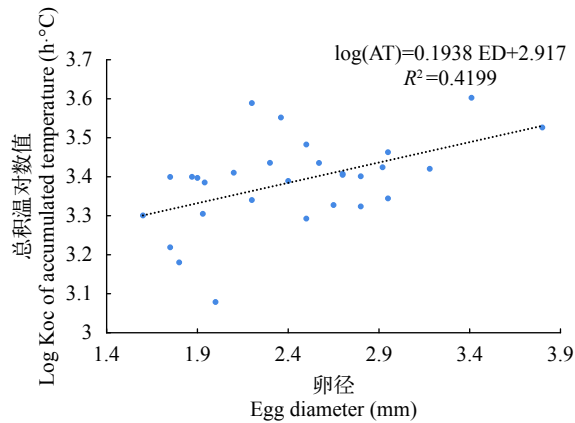


图2 裂腹鱼亚科鱼类与鲃亚科鱼类卵径和总积温时间关系
Fig. 2 The relationship between egg diameter and accumulated temperature about Schizothoracinae fish and Barbinae fishes

参考文献:

- [1] Yang H Y, Huang D M. A preliminary investigation on fish fauna and resources of the upper and middle Yalu Tsangpo River [J]. *Journal of Central China Normal University (Natural Sciences)*, 2011, **45**(4): 629—633 [杨汉运, 黄道明. 雅鲁藏布江中上游鱼类区系和资源状况初步调查. 华中师范大学学报(自然科学版), 2011, **45**(4): 629—633]
- [2] Ma B S, Xie C X, Huo B. Life history pattern and exploitation status of a population of *Schizothorax o'connori* in the Yarlung Zangbo River [J]. *Resources and Environment in The Yangtze Basin*, 2014, **23**(11): 1558—1565 [马宝珊, 谢从新, 霍斌. 雅鲁藏布江异齿裂腹鱼生活史对策和种群资源利用现状. 长江流域资源与环境, 2014, **23**(11): 1558—1565]
- [3] Zhou X J, Xie C X, Huo B, et al. Age and growth of *Schizothorax waltoni* (Cyprinidae: Schizothoracinae) in the Yarlung Tsangpo River, China [J]. *Journal of Applied Animal Research*, 2017, **45**(1): 346—354
- [4] Huo B, Ma B S, Xie C X, et al. Stock assessment and management implications of an endemic fish, *Oxygymnocypris stewartii*, in the Yarlung Zangbo River in Tibet, China [J]. *Zoological Studies*, 2015, **54**(1): 53
- [5] Yang X. Study on age, growth, feeding habits and population dynamics of *Ptychobarbus dipogon* in the Yarlung Tsangpo River [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University. 2014 [杨鑫. 雅鲁藏布江双须叶须鱼年龄生长、食性和种群动态研究. 武汉: 华中农业大学. 2015]
- [6] Wang S, Xie Y. China Species Red List, Vol. II. Vertebrate [M]. Beijing: Higher Education Press. 2009, 1—819 [汪松, 解焱. 中国红色名录(第二卷: 脊椎动物, 上册). 北京: 高等教育出版社. 2009, 1—819]
- [7] Shen H B, Guo L. Analysis and investigation of the fish from Niyang River, Tibet [J]. *Hebei Fisheries*, 2008, **173**(5): 51—54, 60 [沈红保, 郭丽. 西藏尼洋河鱼类组成调查与分析. 河北渔业, 2008, **173**(5): 51—54, 60]
- [8] Fan L Q, Tu Y L, Li J C, et al. Fish assemblage at the lhaluwetland: does the native fish still exist [J]. *Resources Science*, 2011, **33**(9): 1742—1749 [范丽卿, 土艳丽, 李建川, 等. 拉萨市拉鲁湿地鱼类现状与保护. 资源科学, 2011, **33**(9): 1742—1749]
- [9] Ding H P. Studies on the biology of exotic fishes in chabalang wetland and their stresses on native fishes [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University. 2014 [丁慧萍. 茶巴朗湿地外来鱼类的生物学及其对土著鱼类的胁迫. 武汉: 华中农业大学. 2014]
- [10] Qin D H, Chen Y Y, Li X Y, et al. Climate and Environment Changes in China: Climate and Environment Changes in China and their Projections [M]. Beijing: Science Press. 2005, 98—109 [秦大河, 陈宜瑜, 李学勇, 等. 中国气候与环境演变(下卷): 气候与环境变化的影响与适应、减缓对策. 北京: 科学出版社. 2005, 98—109]
- [11] An B S, Cheng G D. Dynamic analysis of the ecological footprint and carrying capacity of Tibet [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2014, **34**(4): 1002—1009 [安宝晟, 程国栋. 西藏生态足迹与承载力动态分析. 生态学报, 2014, **34**(4): 1002—1009]
- [12] Liu H P, Liu M J, Liu Y C. Characteristics of early development of *Schizothorax macropogon* in Xizang Autonomous Region, China [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2019, **43**(2): 367—378 [刘海平, 刘孟君, 刘艳超. 西藏巨须裂腹鱼早期发育特征. 水生生物学报, 2019, **43**(2): 367—378]
- [13] Jiang Z G, Jiang J P, Wang Y Z, et al. Red list of Chinese vertebrate [J]. *Biodiversity Science*, 2016, **24**(5): 501—551, 615 [蒋志刚, 江建平, 王跃招, 等. 中国脊椎动物红色名录. 生物多样性, 2016, **24**(5): 501—551, 615]
- [14] Liu H P, Mou Z B, Cai B, et al. Coupling supply-side structural reform and technological innovation boosting the fishery resource conservation process in Tibet [J]. *Journal of Lake Sciences*, 2018, **30**(1): 266—278 [刘海平, 牟振波, 蔡斌, 等. 供给侧改革与科技创新耦合助推西藏渔业资源养护. 湖泊科学, 2018, **30**(1): 266—278]
- [15] Chen F, Chen Y F. Investigation and protection strategies of fishes of Lhasa River [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2010, **34**(2): 278—285 [陈锋, 陈毅峰. 拉萨河鱼类调查及保护. 水生生物学报, 2010, **34**(2): 278—285]
- [16] Chen M J, Tan M, Liu H P. Texture analyses of two Schizothoracinae fishes in Tibet Autonomous Region, China [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2018, **42**(6): 1224—1231 [陈美群, 谭猛, 刘海平. 西藏两种裂腹鱼鱼肉肉质构特征比较分析. 水生生物学报, 2018, **42**(6): 1224—1231]
- [17] Ji Q. The study on the morphology of feeding organs and the feeding habits of six Schizothoracine fishes [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University. 2008 [季强. 六种裂腹鱼类摄食消化器官形态学与食性的研究. 武汉: 华中农业大学. 2008]

- [18] Liu H P, Liu Y C, Liu S Y, *et al.* Fecundity and reproductive strategy of *Ptychobarbus dipogon* populations from the middle reaches of the Yarlung Zangbo River [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2018, **42**(6): 1169—1179 [刘海平, 刘艳超, 刘书蕴, 等. 雅鲁藏布江中游双须叶须鱼群体繁殖力与繁殖策略研究. *水生生物学报*, 2018, **42**(6): 1169—1179]
- [19] Wu Y F, Kang B, Men Q, *et al.* Chromosome diversity of Tibetan fishes [J]. *Zoological Research*, 1999, **20**(4): 258—264 [武云飞, 康斌, 门强, 等. 西藏鱼类染色体多样性的研究. *动物学研究*, 1999, **20**(4): 258—264]
- [20] Zeng B H, Rao C W, Liu H P. Histological studies on gonadal development in the endemic Tibetan fish *Ptychobarbus dipogon* [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2018, **42**(6): 1194—1202 [曾本和, 饶昌伟, 刘海平. 西藏双须叶须鱼性腺发育的组织学观察. *水生生物学报*, 2018, **42**(6): 1194—1202]
- [21] Li X Q, Chen Y F. Age structure, growth and mortality estimates of an endemic *Ptychobarbus dipogon* (Regan, 1905) (Cyprinidae: Schizothoracinae) in the Lhasa River, Tibet [J]. *Environmental Biology of Fishes*, 2009, **86**(1): 97—105
- [22] Li X Q, Chen Y F, He D K, *et al.* Otolith characteristics and age determination of an endemic *Ptychobarbus dipogon* (Regan, 1905) (Cyprinidae: Schizothoracinae) in the Yarlung Tsangpo River, Tibet [J]. *Environmental Biology of Fishes*, 2009, **86**(1): 53—61
- [23] Havelka M, Bytyutskyy D, Symonova R, *et al.* The second highest chromosome count among vertebrates is observed in cultured sturgeon and is associated with genome plasticity [J]. *Genetics Selection Evolution*, 2016, **48**(1): 12
- [24] Huo T B, Li L, Wang J L, *et al.* Length-weight relationships for six fish species from the middle of the Yalu Tsangpo River, China [J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2015, **31**(5): 956—957
- [25] Liu H P, Ye S W, Li Z J. Length-weight relationships of three schizothoracinae fish species from the Niyang River, a branch of the Yarlung Zangbo River, Tibet, China [J]. *Journal of Applied Ichthyology*, 2016, **32**(5): 982—985
- [26] Zhang G R, Ji W, Shi Z G, *et al.* The complete mitogenome sequence of *Ptychobarbus dipogon* (Cypriniformes: Cyprinidae) [J]. *Mitochondr DNA*, 2015, **26**(5): 710—711
- [27] Chen L Q, Wu Q, Zheng S M, *et al.* Development of embryo and yolk-sac larva of *Schizothorax chongi* [J]. *Journal of Fishery Sciences of China*, 2008, **15**(6): 927—931 [陈礼强, 吴青, 郑曙明, 等. 细鳞裂腹鱼胚胎和卵黄囊仔鱼的发育. *中国水产科学*, 2008, **15**(6): 927—931]
- [28] Liu Y. Cultured Fishes Reproductive Physiology in China [M]. Beijing: Agriculture Press. 1993, 1—155 [刘筠. 中国养殖鱼类繁殖生理学. 北京: 农业出版社. 1993, 1—155]
- [29] Chen Y X, Luo Q S. Embryonic development of *Schizothorax Kozlovi* in upper reaches of Wujiang River, Sichuan [J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 1997, **16**(4): 163—167 [陈永祥, 罗泉笙. 乌江上游四川裂腹鱼的胚胎发育. *四川动物*, 1997, **16**(4): 163—167]
- [30] Shi J Q, Qi H F, Yang J X, *et al.* Fry breeding technology and artificial reproduction of *Gymnocypris przewalskii* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2000, **30**(2): 3—6 [史建全, 祁洪芳, 杨建新, 等. 青海湖裸鲤人工繁殖及鱼苗培育技术的研究. *淡水渔业*, 2000, **30**(2): 3—6]
- [31] Wu Q, Wang Q, Cai L M, *et al.* Development of embryos and post-embryonic larvae in *Gymnocypris potanini herzenstin* [J]. *Journal of Southwest Agricultural University*, 2001, **23**(3): 276—279 [吴青, 王强, 蔡礼明, 等. 松潘裸鲤的胚胎发育和胚后仔鱼发育. *西南农业大学学报*, 2001, **23**(3): 276—279]
- [32] Wu Q, Wang Q, Cai M L, *et al.* The embryonic and larval development of *Schizothorax prenanti* [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2004, **19**(3): 218—221 [吴青, 王强, 蔡礼明, 等. 齐口裂腹鱼的胚胎发育和仔鱼的早期发育. *大连水产学院学报*, 2004, **19**(3): 218—221]
- [33] Leng Y, Xu W Y, Liu Y T, *et al.* Observation on embryonic development of *Schizothorax parvus* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2006, **26**(1): 32—33 [冷云, 徐伟毅, 刘跃天, 等. 小裂腹鱼胚胎发育的观察. *水利渔业*, 2006, **26**(1): 32—33]
- [34] Ren B, Ren M L, Guo Y, *et al.* Morphological observation of the development of *Aspiorhynchus laticeps* embryo and larva [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2007, **22**(6): 397—402 [任波, 任慕莲, 郭焱, 等. 扁吻鱼胚胎及仔鱼发育的形态学观察. *大连水产学院学报*, 2007, **22**(6): 397—402]
- [35] Zhang R M, Ma Y W, Tu Er X, *et al.* Preliminary observation on embryonic and fry up-growth of *Aspiorhynchus laticeps* (Day) [J]. *Arid Zone Research*, 2008, **25**(2): 190—195 [张人铭, 马燕武, 吐尔逊, 等. 新疆扁吻鱼的胚胎发育和仔鱼发育的初步观察. *干旱区研究*, 2008, **25**(2): 190—195]
- [36] Zhang R M, Ma Y W, Tu Er X, *et al.* Primary observation of the embryonic and larval development of *Schizothorax biddulphi* [J]. *Journal of Hydroecology*, 2007, **27**(2): 27—28 [张人铭, 马燕武, 吐尔逊, 等. 塔里木裂腹鱼胚胎和仔鱼发育的初步观察. *水利渔业*, 2007, **27**(2): 27—28]
- [37] Zhou C P. Reproductive biology of *Schizopygopsis malacanthus baoxingensis* [D]. Chengdu: Sichuan Agricultural University. 2007 [周翠萍. 宝兴裸裂尻鱼的繁殖生物学研究. 成都: 四川农业大学. 2007]
- [38] Zhao H T, Chen Y X, Hu S Y, *et al.* Embryonic development and artificial reproduction of pond culture *Schizothorax grahami* [A]. Abstract assembly of seminar thesis from Chinese Ichthyological Society in 2008 [C]. Chinese

- Ichthyological Society. 2008 [赵海涛, 陈永祥, 胡思玉, 等. 池塘养殖昆明裂腹鱼人工繁殖初报及胚胎发育观察. 中国鱼类学会2008学术研讨会论文摘要汇编. 中国鱼类学会. 2008]
- [39] Shen Z X, Wang G J, Tang W J, *et al.* Observation on embryonic development and artificial incubation of *Schizopygopsis pylzovi* [J]. *Farming and Animal Husbandry in Qinghai*, 2009, **99**(3): 37—38 [申志新, 王国杰, 唐文家, 等. 黄河裸裂尻鱼人工孵化及胚胎发育观察. 青海农牧业, 2009, **99**(3): 37—38]
- [40] Deng S H, Chen X S, Tan Z L, *et al.* Embryonic development of *Schizopygopsis pylzovi* and observation in morphological abnormalities with two heads [J]. *Journal of Hydroecology*, 2014, **35**(4): 97—100 [邓思红, 陈修松, 谭中林, 等. 黄河裸裂尻鱼胚胎发育和双头鱼形态初步观察. 水生生态学杂志, 2014, **35**(4): 97—100]
- [41] Cai L G, Niu J G, Zhang B P, *et al.* Observation on embryonic and larval development of *Schizothorax pseudaksaiensis* Herzenstein [J]. *Freshwater Fisheries*, 2011, **41**(5): 74—78 [蔡林钢, 牛建功, 张北平, 等. 伊犁裂腹鱼胚胎及早期仔鱼发育的观察. 淡水渔业, 2011, **41**(5): 74—78]
- [42] Zhang L S. The embryonic and early larval development of *Schizothorax o'connori* [J]. *Journal of Dalian Fisheries University*, 2011, **26**(3): 238—242 [张良松. 异齿裂腹鱼胚胎发育与仔鱼早期发育的研究. 大连海洋大学学报, 2011, **26**(3): 238—242]
- [43] Xu J, Xie C X, Shao J, *et al.* Embryonic and larval development of *Oxygymnocypris stewartii* in the Yarlung Zangbo River [J]. *Journal of Hydroecology*, 2011, **32**(2): 86—95 [许静, 谢从新, 邵俭, 等. 雅鲁藏布江尖裸鲤胚胎和仔稚鱼发育研究. 水生生态学杂志, 2011, **32**(2): 86—95]
- [44] Shen An H, Li G H, Zhao S H, *et al.* Study on embryonic and early larval development of *Schizothorax lissolabiatatus* [J]. *Journal of Hydroecology*, 2013, **34**(6): 76—79 [申安华, 李光华, 赵树海, 等. 光唇裂腹鱼胚胎发育与仔鱼早期发育的研究. 水生生态学杂志, 2013, **34**(6): 76—79]
- [45] Zhang Y P, Wang T, Jiao W L, *et al.* Morphology observation of the embryonic development of *Gymnodiptychus pachycheilus* [J]. *Sichuan Journal of Zoology*, 2013, **32**(3): 389—392 [张艳萍, 王太, 焦文龙, 等. 厚唇裸重唇鱼胚胎发育的形态学观察. 四川动物, 2013, **32**(3): 389—392]
- [46] Wang W L. Study of *Gymnocypris chilianensis* artificial reproduction technology, embryonic development and the rule of oxygen [D]. Lanzhou: Gansu Agricultural University. 2014 [王万良. 祁连山裸鲤人工繁殖技术、胚胎发育及其耗氧规律的研究. 兰州: 甘肃农业大学. 2014]
- [47] Zuo P X, Li G H, Leng Y, *et al.* Embryonic and early larval development of *Schizothorax wangchiachii* [J]. *Journal of Hydroecology*, 2015, **36**(3): 77—82 [左鹏翔, 李光华, 冷云, 等. 短须裂腹鱼胚胎与仔鱼早期发育特性研究. 水生生态学杂志, 2015, **36**(3): 77—82]
- [48] Liu Y, Zhu T B, Wu X B, *et al.* Observation of embryonic and early larval development of *Schizothorax wangchiachii* [J]. *Fisheries Science*, 2015, **34**(11): 683—689 [刘阳, 朱挺兵, 吴兴兵, 等. 短须裂腹鱼胚胎及早期仔鱼发育观察. 水产科学, 2015, **34**(11): 683—689]
- [49] Gan W X, Wang H M, Deng L J, *et al.* The morphological development of embryos and yolk-sac larvae of *Schizothorax wangchiachii* [J]. *Chinese Journal of Zoology*, 2016, **51**(2): 253—260 [甘维熊, 王红梅, 邓龙君, 等. 雅砻江短须裂腹鱼胚胎和卵黄囊仔鱼的形态发育. 动物学杂志, 2016, **51**(2): 253—260]
- [50] Xu J. Early development of four Schizothoracinae fishes in the Yarlung Zangbo River, Tibet [D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University. 2011 [许静. 雅鲁藏布江四种特有裂腹鱼类早期发育的研究. 武汉: 华中农业大学. 2011]
- [51] Tang An H, He X F. Observation on development of embryos and post-embryonic larvae in *Acrossocheilus yunnanensis* [J]. *Journal of Southwest Normal University (Natural Sciences)*, 1982, **1**: 91—99 [唐安华, 何学福. 云南光唇鱼 *Acrossocheilus yunnanensis* (Regan) 的胚胎和胚后发育的初步观察. 西南师范学院学报(自然科学版), 1982, **1**: 91—99]
- [52] Xie En Y, Yang Q F, He X F. The embryonic and larval development of *Torbrevifilis brevifilis* [J]. *Journal of Fisheries of China*, 2002, **26**(2): 115—121 [谢恩义, 阳清发, 何学福. 瓣结鱼的胚胎及幼鱼发育. 水产学报, 2002, **26**(2): 115—121]
- [53] Su M, Lin D J, You Y L. Observations on the embryonic development of *Spinibarbus caldwelli* [J]. *Journal of Fujian Normal University (Natural Sciences)*, 2002, **18**(2): 80—84 [苏敏, 林丹军, 尤永隆. 黑脊倒刺鲃胚胎发育的观察. 福建师范大学学报(自然科学版), 2002, **18**(2): 80—84]
- [54] Yan M C. Fish Ecology [M]. Beijing: China Agriculture Press. 1995, 1—293 [殷名称. 鱼类生态学. 北京: 中国农业出版社. 1995, 1—293]
- [55] Pan X F, Yang J X, Chen X Y, *et al.* Broodstocks management, fecundity and the relationship between egg size and embryo survival ability of *Sinocyclocheilus grahami* [J]. *Zoological Research*, 2011, **32**(2): 196—203 [潘晓赋, 杨君兴, 陈小勇, 等. 滇池金线鲃亲鱼培育、繁殖力以及卵径大小与胚胎存活率的关系. 动物学研究, 2011, **32**(2): 196—203]
- [56] Hora S L. Comparison of the fish-faunas of the northern and the southern faces of the great Himalayan range [J]. *SIL Proceedings*, 1938, **89**(3): 95—107
- [57] Cao W X, Chen Y Y, Wu Y F, *et al.* Origin and Evolution of *Schizothorax* and their Relationship with the Uplift of the Qinghai-Xizang Plateau. In: The Qinghai-Tibet plateau comprehensive scientific expedition from Chinese

- Academy of Sciences. Ages, Amplitudes and Form Problems during the Uplift of the Qinghai-Xizang Plateau [M]. Beijing: Science Press. 1981, 118—130 [曹文宣, 陈宜瑜, 武云飞, 等. 裂腹鱼类的起源和演化及其与青藏高原的隆起关系. 见: 中国科学院青藏高原综合科学考察队. 青藏高原隆起的时代、幅度和形式问题. 北京: 科学出版社. 1981, 118—130]
- [58] Qi Z L, Zhang X W, Han X, *et al.* The effect of temperature on embryonic development of *Esox lucius* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2010, **29**(4): 76—79 [齐遵利, 张秀文, 韩叙, 等. 温度对白斑狗鱼胚胎发育的影响. *淡水渔业*, 2010, **29**(4): 76—79]
- [59] Chen F M, Hu J H, Wang Y W, *et al.* The effect of temperature on embryonic development of *Puntius conchoni* [J]. *Freshwater Fisheries*, 2013, **32**(1): 24—27 [陈凤梅, 胡家会, 王曰文, 等. 温度对玫瑰无须鲃胚胎发育的影响. *淡水渔业*, 2013, **32**(1): 24—27]
- [60] Lake J S. Rearing experiments with five species of Australian freshwater fishes II. Morphogenesis and ontogeny [J]. *Marine & Freshwater Research*, 1967, **18**(2): 155—176
- [61] Matsuura Y. Egg development of scaled sardine *Harengula pensacolata* Goode & Bean (Pisces Clupeidae) [J]. *Boletim do Instituto Oceanografico*, 1972, **21**: 129—135

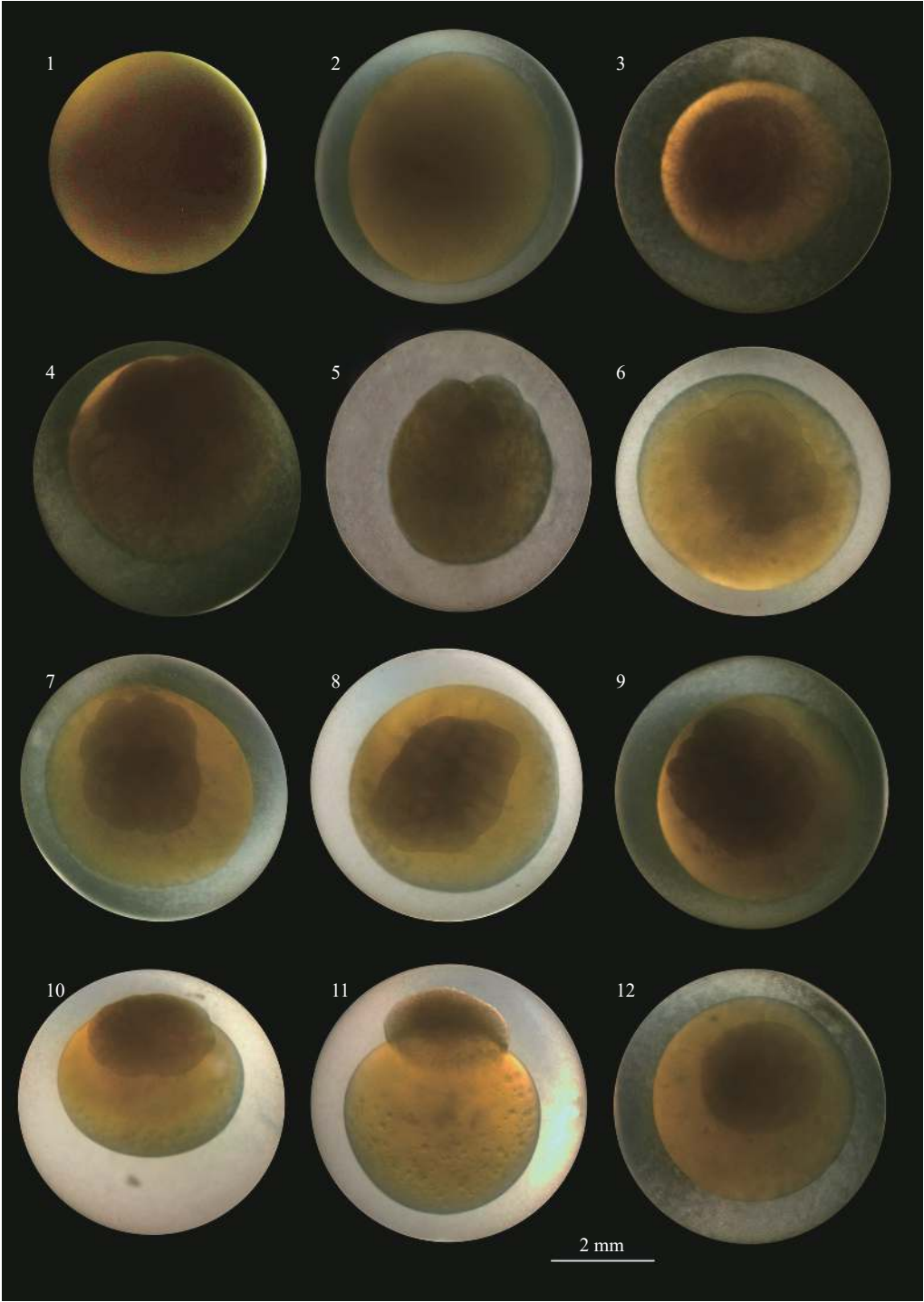
CHARACTERISTICS OF EARLY DEVELOPMENT OF *PTYCHOBARBUS DIPOGON* IN XIZANG AUTONOMOUS REGION

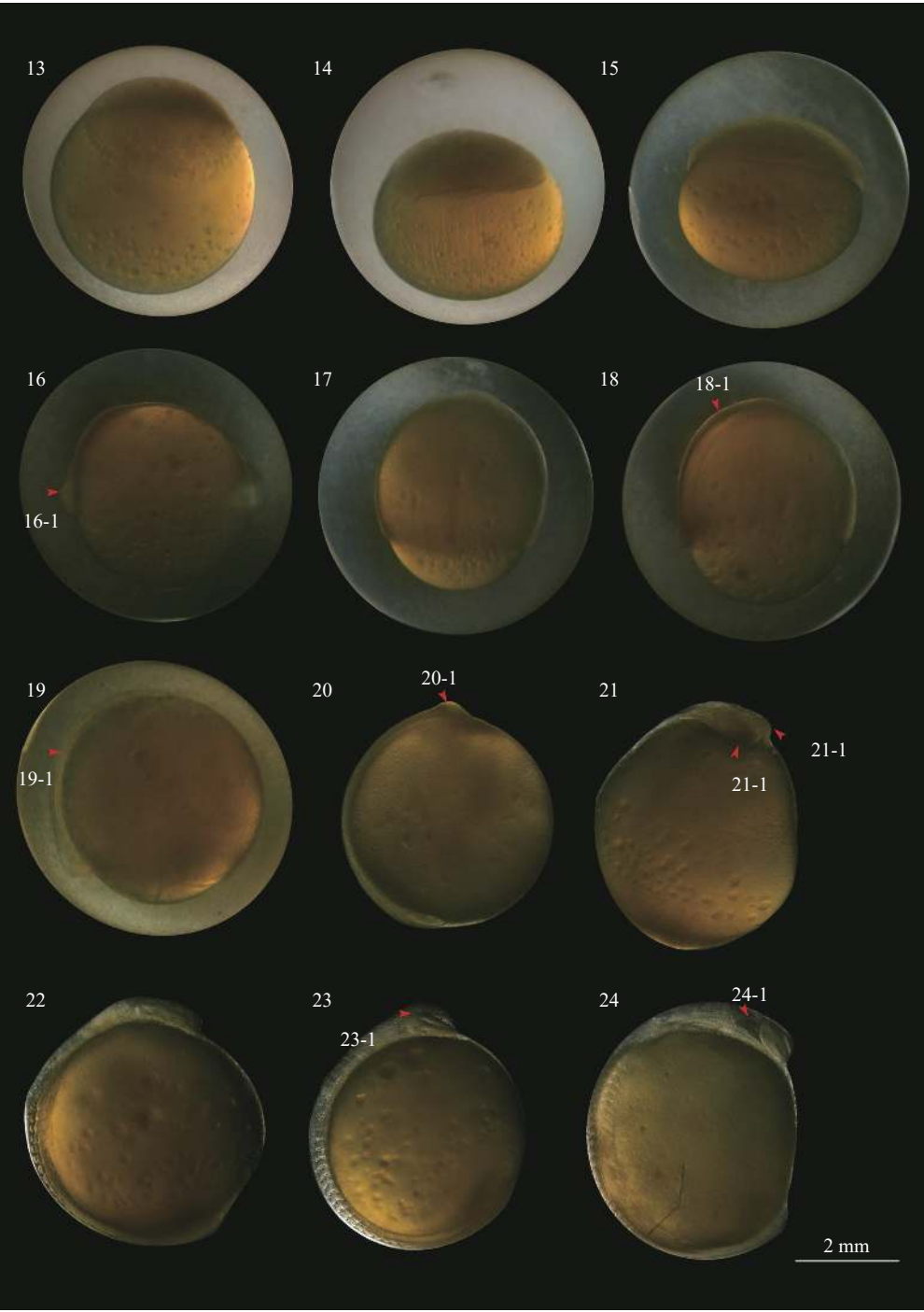
LIU Hai-Ping¹, LIU Meng-Jun², MOU Zhen-Bo¹, LIU Yan-Chao^{1,3}, CIREN Luo-Jie⁴, LIU Shu-Yun⁵,
LIU Le-Le⁶ and RAO Chang-Wei⁷

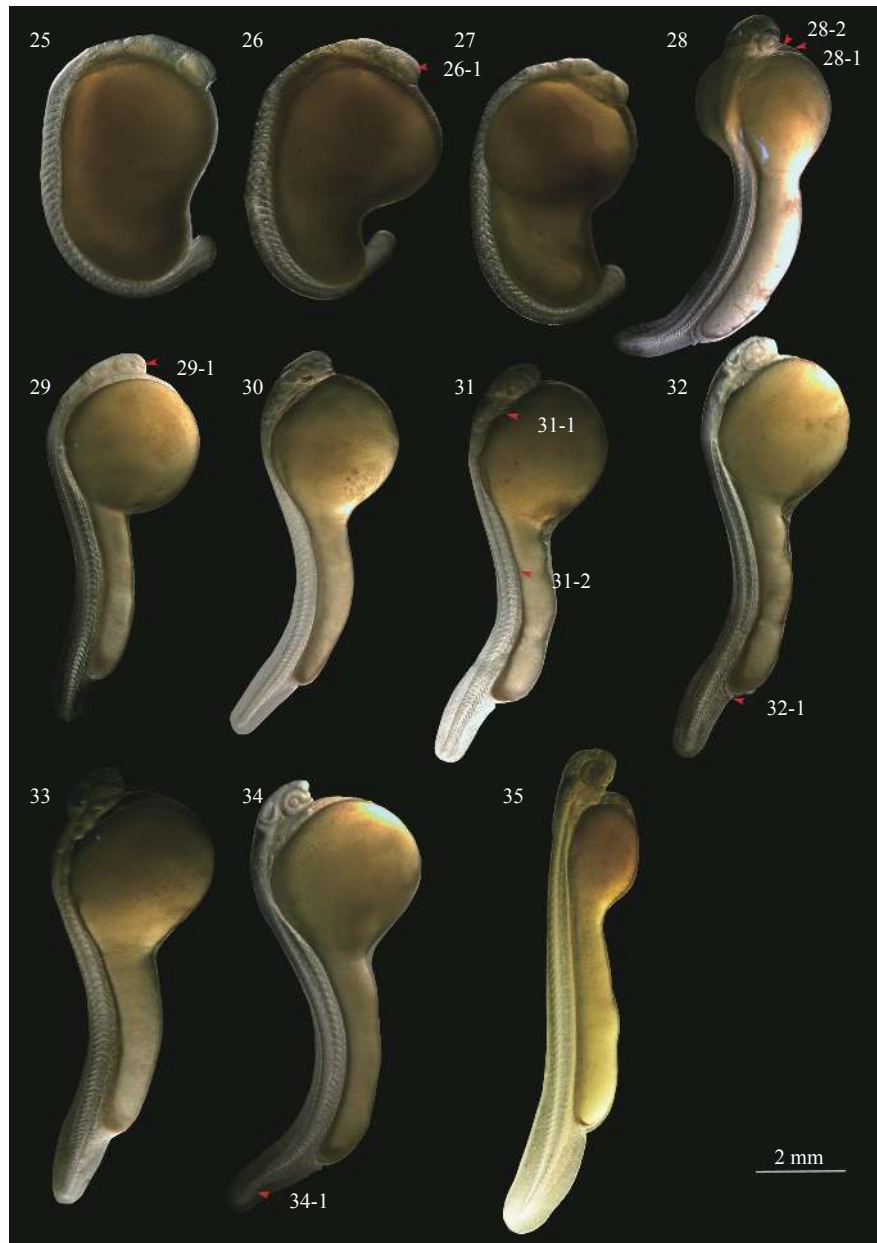
(1. Institute of Fisheries Science, Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Lhasa 850002, China; 2. Institute of Livestock Research, Tibet Academy of Agricultural and Animal Husbandry Sciences, Lhasa 850000, China; 3. Tibet Agriculture and Animal Husbandry University, Nyingchi 860000, China; 4. Azha Township, Zhanang County, Shannan 856000, China; 5. Tanggu Township, Linzhou County, Lhasa 850000, China; 6. Tibet Animal Epidemic Disease Prevention and Control Center, Lhasa 850000, China; 7. Pangduo Township, Linzhou County, Lhasa 850000, China)

Abstract: This study provided technical support for its scientific protection and rational development through exploring the embryonic and larval development characteristics of *Ptychobarbus dipogon*. The result indicated that the egg diameter reached 3.7—3.9 mm, and egg diameter after water absorbed could reach to 5.1—5.3 mm. The hatching of egg taken 336.02 hours at temperature of 10°C. Based on external morphological characteristics, embryonic development were separated into 7 stages and 34 periods, including cleavage preparing stage, cleavage stage, blastula stage, gastrula stage, neural embryo stage, organ differentiation stage and hatching stage. Characteristics included newly hatching fry with body length of 12.4 mm, 1 day fry after hatching with pectoral fin upwarp, operculum, pigment and underjaw primordial appearance, 3 day fry after hatching with hepatopancreas primordial and alimentary canal appearance, 4 day fry after hatching with gill raker and body pigment cell mass appearance, 5 day fry after hatching with stomatodeum and gill filament appearance, 6 day fry after hatching with pectoral fin fold, dorsal fin fold and pelvic fin fold appearance, 7 day fry after hatching with nose concave and astral form pigment group appearance, 9 day fry after hatching with swim bladder primordial appearance, 11 day fry after hatching with tail fin appearance with pectoral fin trembled, 13 day fry after hatching with swim bladder one room appearance, semicircular canal formed, 17 day fry after hatching with dorsal fin primordial and pectoral fins formed, 21 day fry after hatching with larger hyomandibular of pelvic fin fold, 28 day fry after hatching with spleen appearance, 33 day fry after hatching with pelvic fin appearance, 34 day fry after hatching with scale appearance, and no difference for the fish 85 day after hatching. Egg diameter of *Ptychobarbus dipogon* is the largest one among Schizothorax fishes, and its perivitelline space is smaller than four major Chinese carps, which may explain by cold environment at the plateau uplift.

Key words: Xizang Autonomous Region; Schizothorax; *Ptychobarbus dipogon*; Embryo; Larval and juvenile; Early development





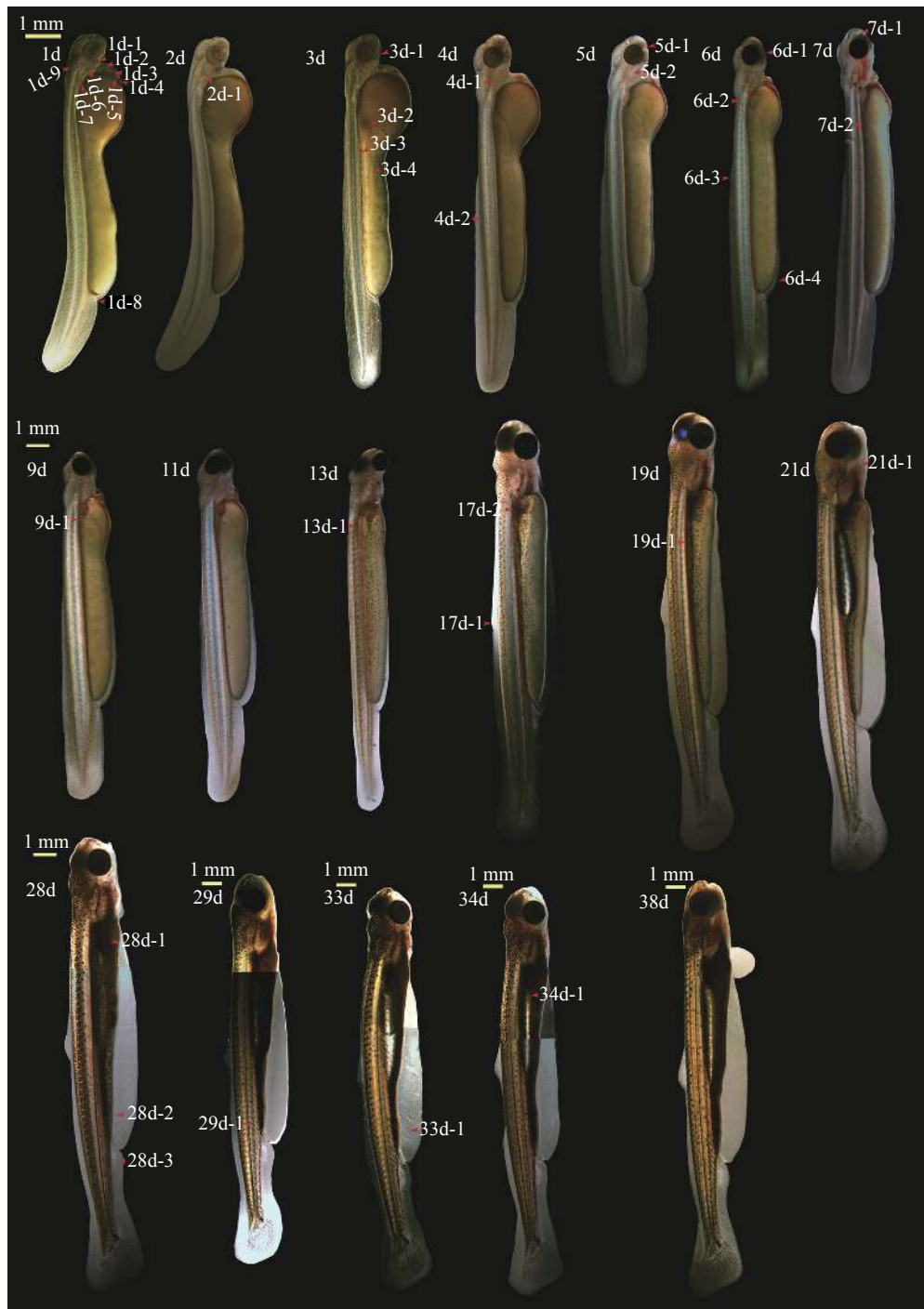


图版 I 双须叶须鱼胚胎发育图

Plate I The embryonic development of *Ptychobarbus dipogon*

1. 受精卵; 2. 卵黄周隙最大; 3. 胚盘隆起; 4. 2细胞期; 5. 4细胞期; 6. 8细胞期; 7. 16细胞期; 8. 32细胞期; 9. 64细胞期; 10. 多细胞期; 11. 桑葚期; 12. 囊胚早期; 13. 囊胚中期; 14. 囊胚晚期; 15. 原肠早期; 16. 原肠中期; 17. 原肠晚期; 18. 神经胚期; 19. 体节出现期; 20. 胚孔封闭期; 21. 眼原基出现期; 22. 眼囊出现期; 23. 听囊期; 24. 耳石出现期; 25. 尾芽出现期; 26. 眼晶体出现期; 27. 肌肉效应期; 28. 心脏原基出现期; 29. 嗅囊期; 30. 心搏期; 31. 胸鳍原基出现期; 32. 肛板期; 33. 血液循环; 34. 尾部鳍褶期; 35. 出膜, 胚盾(16-1); 脊索(18-1); 体节(19-1); 脑泡原基(20-1); 眼原基(21-1); 听囊(23-1); 耳石(24-1); 眼晶体(26-1); 围心腔(28-1); 心脏原基(28-2); 嗅囊(29-1); 胸鳍原基(31-1); 消化道(31-2); 肛板(32-1)

1. Fertilized egg; 2. Perivitelline space maximum; 3. Blastodisc stage; 4. 2 cell stage; 5. 4 cell stage; 6. 8 cell stage; 7. 16 cell stage; 8. 32 cell stage; 9. 64 cell stage; 10. Morula stage; 11. Morula stage; 12. Early blastula stage; 13. Mid-blastula stage; 14. Late gastrula stage; 15. Early gastrula stage; 16. Mid-gastrula stage; 17. Late gastrula stage; 18. Neural embryo formation; 19. Metameris appearance; 20. Blastopore formation; 21. Optic anlage; 22. Eye bud formation; 23. Otic vesicle phase; 24. Otoliths stage; 25. Tail bud stage; 26. Eye lens formation stage; 27. Muscular contraction stage; 28. Heart rudiment stage; 29. Olfactory capsule stage; 30. Heart pulsation stage; 31. Pectoral fin stage; 32. Anal membrane stage; 33. Blood circulation stage; 34. Caudal fin fold stage; 35. Newly hatching stage; Embryonic shield (16-1); Notochord (18-1); Somite (19-1); Brain vesicle primordium (20-1); Eye primordial (21-1); Otic vesicle (23-1); Otoliths (24-1); Eye lens (26-1); Cardiocoelom (28-1); Cardiac primordia (28-2); Olfactory capsule (29-1); Pectoral fin primordia (31-1); Alimentary canal (31-2); Anal membranae (32-1)



图版 II 双须叶须鱼仔稚鱼发育图

Plate II The larvae and juveniles development features of *Ptychobarbus dipogon*

1d-1. 下颌原基; 1d-2. 心房; 1d-3. 心室; 1d-4. 血窦; 1d-5. 静脉窦; 1d-6. 鳃盖骨; 1d-7. 食道; 1d-8. 泄殖孔; 1d-9. 耳蜗; 2d-1. 鳃弓原基; 3d-1. 下颌; 3d-2. 肝胰脏原基; 3d-3. 消化道; 3d-4. 血管; 4d-1. 鳃耙; 4d-2. 体色素细胞团; 5d-1. 口凹; 5d-2. 鳃丝; 6d-2. 胸鳍褶; 6d-3. 背鳍褶; 6d-4. 腹鳍褶; 7d-1. 鼻凹; 7d-2. 星芒状色素团; 9d-1. 鳔前原基; 13d-1. 鳔一室; 17d-1. 背鳍原基; 17-2. 胸鳍鳍条; 19d-1. 鳔二室; 21d-1. 舌颌骨; 28d-1. 脾脏; 28d-2. 腹鳍原基; 28d-3. 臀鳍原基; 29d-1. 侧线; 33d-1. 腹鳍鳍条; 34d-1. 鳞片

1d-1. Underjaw primordial; 1d-2. Atrium; 1d-3. Ventricle; 1d-4. Blood sinus; 1d-5. Venous sinus; 1d-6. Operculum; 1d-7. Esophagus; 1d-8. Cloacal orifice; 1d-9. Cochlea; 2d-1. Branchial arch primordial; 3d-1. Underjaw; 3d-2. Hepatopancreas primordial; 3d-3. Alimentary canal; 3d-4. Blood vessel; 4d-1. Gill raker; 4d-2. Body pigment cell mass; 5d-1. Stomatodeum; 5d-2. Gill filament; 6d-2. Pectoral fin fold; 6d-3. Dorsal fin fold; 6d-4. Pelvic fin fold; 7d-1. Nose concave; 7d-2. Astral form pigment group; 9d-1. Swim bladder primordial; 13d-1. Swim bladder one room; 17d-1. Dorsal fin primordial; 17-2. Pectoral fins; 19d-1. Swim bladder two room; 21d-1. Hyomandibular; 28d-1. Spleen; 28d-2. Pelvic fin primordial; 28d-3. Anal fin primordial; 29d-1. Lateral line; 33d-1. Pelvic fin ray; 34d-1. Scale