DOI:10.15928/j.1674 - 3075.2015.03.014

# 中华倒刺鲃仔、稚鱼的耳石微结构与日轮形成特征

李忠利1,黄 辉2,冉 辉1,梁正其1,何 勇2

(1. 铜仁学院生物与农林工程学院,贵州 铜仁 554300; 2. 西南大学荣昌校区水产系,重庆 荣昌 402460)

**摘要:**以中华倒刺鲃(*Spinibarbus sinensis*)亲鱼为材料,在实验室养殖条件下以人工孵化的丰年虫(*Eubranchipus vernalis*)为仔、稚鱼饵料,通过已知日龄法观察其耳石的微结构,分析其日轮形成特征。结果表明,仔、稚鱼的微耳石和矢耳石一般由1个中心核和1个耳石原基组成,少数存在多个中心核或原基现象,星耳石中心核和原基区分不明显。微耳石和矢耳石中心核直径分别为(37.73 ± 5.34) µm 和(39.78 ± 7.11) µm,耳石原基直径分别为(16.29 ± 3.46) µm 和(17.09 ± 3.88) µm。矢耳石和星耳石轮纹清晰度、规律性、周期性和完整性不及微耳石; 微耳石第1条日轮在仔鱼出膜后第2天形成,以后每天沉积1轮。30日龄稚鱼微耳石轮纹数(*N*)与日龄(*T*)的关系符合直线模型,相关关系式为:*N* = 1.0016*T* – 0.8753 ( $R^2$  = 0.9961,*P* < 0.01,*n* = 197),线性方程斜率与1无显著性差异(*P* > 0.05)。在微耳石和矢耳石样本中共观察到孵化标记轮和转移标记轮2种,其中孵化标记轮的出现率分别为78.68%和83.33%,转移标记轮的出现率分别为29.95%和48.98%。60 尾 33 日龄稚鱼微耳石的生长轮宽度变化范围0.522 ~ 2.244 µm,平均为(1.087 ± 0.231) µm。

关键词:中华倒刺鲃;耳石;微结构;日轮特征

中图分类号:Q174 文献标志码:A 文章编号:1674-3075(2015)03-0083-06

耳石微结构分析已作为仔稚鱼日龄鉴定的有效 方法得到广泛应用,例如利用耳石日轮推断野生个 体的孵化期、产卵场等(Ohshimo et al,1997;Song et al,2009);但在实际检测中,耳石轮纹的日沉积规律 和第1条轮纹的出现时间是首先需要确证的2个基 本因子(Campana,2001);在鲤科鱼类中一般选择微 耳石,相关的研究均证实了以上2点,即耳石上每天 沉积1条日轮,第1条日轮出现在仔鱼出膜后第2 天(史方等,2006;严太明等,2014)。

中华倒刺鲃(Spinibarbus sinensis)属鲤形目 (Cypriniformes)、鲤科(Cyprinidae)、鲃亚科(Barbinae)、倒刺鲃属(Spinibarbus),俗称"青波",主要分 布在长江上游及其支流,其肉质细嫩、营养丰富、味 道鲜美,是我国重要的经济鱼类;近年来,由于受酷 渔滥捕和水体污染等因素的影响,其野生种群资源 量已日渐减少。目前,对中华倒刺鲃的研究主要集

收稿日期:2014-12-04

中在生物学、养殖、繁殖、营养和分子生物学上(蔡 焰值等,2003;2005;林小植等,2009;Dan et al,2014; Ma et al,2014);而其早期生活特征尚未见报道。本 研究以乌江人工驯化的中华倒刺鲃野生亲本为研究 对象,对其子一代的耳石微结构特征和日轮沉积规 律进行了分析,旨在补充其生物学特征基础资料,为 人工增殖放流和野生资源调查提供前期数据。

## 1 材料与方法

#### 1.1 材料采集

试验于2014年7月在乌江彭水银盘水电站鱼 类人工增殖放流站进行,亲本为放流站人工驯化成 熟的野生个体(雌雄各1尾,体重分别为2.8 kg和 2.2 kg)。通过人工催产(催产剂为HCG和AHRH-A2 混合剂)、人工受精获得受精卵,经78h全部出 膜,出膜第2天转入实验室水簇箱(100 cm×60 cm ×60 cm),第4天(卵黄吸收完前1d)开始投喂人 工孵化的丰年虫(粗蛋白约60%、粗脂肪约20%、粗 灰分约10%)。孵出后即开始取样,每天19:00 定 时取样1次,至12日龄仔鱼脊索末端上翘后,隔天 19:00取样1次,每次取样10尾。样本取出后立 即置于XTL-165体视显微镜下观察其发育时期,测 量全长,挑出左侧微耳石、矢耳石和星耳石,清除表 面黏附组织,用95%酒精脱脂,二甲苯透明,随后用 中性树胶封片,固定于载玻片上以备检测。

基金项目:贵州省科技厅联合基金项目(黔科合 LH 字[2014] 7482);贵州省教育厅创新人才团队项目(黔教合人才团队字[2012] 08 号);贵州省普通高等学校工程中心建设项目(黔教合 KY[2012] 028 号)。

作者简介:李忠利,1982年生,男,硕士,主要从事鱼类生态学研究。E-mail: lzl1982505@163.com

通信作者:冉辉,1970年生,男,教授。E-mail: trranhui3572@ 163.com

## 1.2 指标测定

试验期间,每天7:00和15:00用温度计测量 气温和水温各1次,用TES-1332A照度计各测量光 照强度1次,每5d用pHS-3C酸度计测定pH值, DDS:11A测定电导率。

实验室气温 21.5~29.0℃,平均值(26.1 ± 2.0)℃;水温 21.0~27.5℃,平均值(26.1 ± 2.0) ℃;光照强度 124~791 lx,平均值(441.3 ± 195.6) lx;pH 值为 7.12~7.36,平均值(7.25 ± 0.12);电导 率 0.245~0.312 S/m,平均值(0.281 ± 0.34) S/m。

1.3 耳石生长轮计数与测量

耳石生长轮计数在光学显微镜下进行,参照史 方等(2006)的方法,对同一样本计数3次,将3次 计数差异在10%以内的样本数据取平均值作为耳 石生长轮数,差异大于10%的样本数据舍弃。耳石 测量先在 OPTEC DV320显微照相系统照相,用系统 自带的测微尺测量耳石轮纹宽度。

#### 1.4 统计分析

在不改变耳石特征的前提下,其图片用 Adobe Photoshop CS3 整理。原始数据通过 Excel 2007 初步处理后,用统计软件 SPSS 17.0 分析。

#### 2 结果

中华倒刺鲃受精卵浅黄色、微粘性,在水温 20 ~21℃下发育至全部出膜历时 78 h,出膜高峰期集 中在 68 ~75 h。初孵仔鱼全长(7.5±0.3) mm,全 身透明,眼黑色,胸鳍原基出现,微耳石和矢耳石各 1 对;至9 日龄,仔鱼星耳石出现;33 日龄的稚鱼全 身覆鳞,尾柄出现黑斑,全长(15.7±0.9) mm,3 对 耳石基本成形。试验共采集中华倒刺鲃仔、稚鱼耳 石标本 540 枚,其中微耳石 197 枚,矢耳石 198 枚, 星耳石 145 枚。

#### 2.1 耳石微结构

矢耳石和微耳石均有 1 个圆形或椭圆形的生长 中心即中心核(nucleus)(图1-L1,S1),矢耳石中心 核 直 径 25.54 ~ 55.34 μm,平均值(39.78 ± 7.11)μm,微耳石直径 24.68 ~ 49.50 μm,平均值 (37.73 ± 5.34)μm;中心核内部有一个暗黑色的圆 形或卵圆形结构,称为耳石原基(primordium)(图1 -L1,S1),矢耳石原基直径 9.28 ~ 25.74 μm,平均值 (17.09 ± 3.88)μm,微耳石直径 8.98 ~ 26.40 μm, 平均值(16.29 ± 3.46)μm。一般 1 枚耳石只有 1 个中心核和 1 个耳石原基,也有少数存在多个中心 核或原基的现象,相关统计数据见表 1。

表1 矢耳石和微耳石中心核和原基不同组合数统计 Tab.1 Statistics of sagitta and lapillus with different numbers of nuclei and primordia

|           |      | -    |
|-----------|------|------|
| 中心核(N)和   | 微耳石/ | 矢耳石/ |
| 原基(P)组合类型 | 枚    | 枚    |
| 1 N1 P    | 170  | 161  |
| 1 N2 P    | 12   | 19   |
| 1 N3 P    | 6    | 1    |
| 2N2P      | 9    | 16   |
| 3N3P      | 0    | 1    |



N:耳石中心核,P:耳石原基。L:微耳石,L1:1 中心核1原基(3 日龄),L2:1 中心核2原基(4日龄),L3:1 中心核3原基(4日龄), L4:2 中心核2原基(10日龄)。S:矢耳石,S1:1 中心核1原基(5日龄),S2:1 中心核2原基(3日龄),S3:1 中心核3原基(4日龄),S4: 2 中心核2原基(14日龄),S5:3 中心核3原基(4日龄)。标尺 = 100 μm。

#### 图1 中心核或原基数不同的中华倒刺鲃耳石

 $N_{\rm 1}$  nucleus, P\_{\rm 1} primordium. L\_1 apillus, L1\_1N1P(3 dph) (otolith with one nucleus and one primordium, three days post hatching. the same as follows), L2\_1N2P(4 dph), L3\_1N3P(4 dph), L4\_2N2P(10 dph). S\_1sagitta, S1\_1N1P(5 dph), S2\_1N2P(3 dph), S3\_1N3P(4 dph), S4\_2N2P(14 dph), S5\_3N3P(4 dph). Scale bar = 100  $\mu m$ .

# Fig. 1 Otoliths with different numbers of nuclei or primordia in *S. sinensis*

微耳石在围绕中心核周围存在无数明暗相间的 同心环纹结构,其中明带宽而透明,暗带窄且暗淡, 1个明带和1个暗带的组合即构成一个生长轮 (growth ring);暗带的形成称为日轮沉积,离核最近 的暗带为第1个日轮……依此类推(图2-L)。矢耳 石早期轮纹也具有相类似的特征,但在11日龄后前 后区生长明显加快,尤其是后区变尖变薄,轮纹特征 不明显,缺乏完整性(图2-S)。

星耳石也有一个明显的暗黑色生长中心,多呈 分散的斑块状,原基和中心核区分不明显。耳石上 也沉积轮纹,但轮纹清晰度、规律性、周期性和完整 性不及微耳石(图 2-A)。对比选择微耳石作为日轮 研究材料。



L:微耳石,A:星耳石,S:矢耳石。标尺=100 μm

图 2 24 日龄中华倒刺鲃仔鱼耳石

L:lapillus, A:asteriscus, S:sagitta. Scale bar = 100  $\mu m$ 

Fig. 2 Otolith from a Spinibarbus sinensis juvenile of 24 d

#### 2.2 耳石日轮确证

从初孵仔鱼至 30 日龄稚鱼的微耳石,共采集到 197 枚耳石样本。轮纹数统计结果显示,耳石轮纹 数(N)与日龄(T)的关系符合直线模型( $\mathbb{B}$ 3),相关 关系式为:N = 1.0016T - 0.8753 ( $R^2 = 0.9961, P < 0.01, n = 197$ );t检验的结果显示,线性方程斜率与 1 无显著性差异(P > 0.05)。令 T = 1, N = 0.1263, 说明初孵仔鱼微耳石上轮纹尚未形成。日轮数与日 龄的直线斜率近似为1,即从第2 日龄开始,每天沉 积1 条日轮。





Fig. 3 Relationship between the number of lapillus increments and age (d) of *S. sinensis* larvae and juveniles

#### 2.3 耳石标记轮

在197 枚微耳石和198 枚矢耳石样本中共观察 到孵化标记轮和转移标记轮2种(图4)。其中,孵 化标记轮为仔鱼出膜当天沉积,于出膜后第2天观 察到,转移标记轮为仔鱼出膜后第2天将实验材料 转移到室内培养箱的操作中形成的。标记轮的轮纹 暗带明显加宽,2 种轮在耳石上有独立存在和同时 存在2种方式,各自的数量及至直径见表2。在矢 耳石和微耳石各自的标记轮中,孵化标记轮的数量 最多、占比最大,转移标记轮次之。矢耳石上2种标 记轮的比例及标记轮直径均高于微耳石。



微耳石(左)和矢耳石(右)标记轮。
 HC:孵化标记轮,TC:转移标记轮。标尺 = 100 μm
 图 4 12 日龄中华倒刺鲃仔鱼的耳石标记轮

Marks on lapillus (left) and sagitta (right).

HC:hatching mark; TC: transition ring; Scale bar = 100  $\mu\text{m}$ 

- Fig. 4 Hatching marks and transition rings on lapillus and sagitta for S. sinensis larvae on 12 d 表 2 微耳石和矢耳石标记轮统计
- Tab. 2
   Statistics of hatching marks and transition rings on lapillus and sagitta in S. sinensis

| 标记轮    | 微耳石   |                    | 矢耳石   |                   |
|--------|-------|--------------------|-------|-------------------|
|        | 占比/%  | 直径/µm              | 占比/%  | 直径/μm             |
| 孵化标记轮  | 78.68 | $88.67 \pm 9.06$   | 83.33 | 90.97 ±8.44       |
| 转移标记轮  | 29.95 | $106.85 \pm 10.09$ | 48.98 | $109.72 \pm 9.55$ |
| 2 种轮同存 | 24.47 | -                  | 42.93 | -                 |

# 2.4 微耳石生长轮宽度的变化

对 60 尾 33 日龄稚鱼的微耳石生长轮宽度进行 了测量(图 5)。结果显示,第1个生长轮宽度明显 区别于其余的生长轮,大小为(1.192±0.296) µm, 第2~16个生长轮宽度的变化不大,为(1.085± 0.021) µm,第17个生长轮之后出现了1个较明显 的波形图,其中第25个生长轮上形成最高峰,峰值 为1.160 µm,第31个生长轮上出现最低值,为 1.016 µm。60 尾稚鱼微耳石的生长轮宽度变化为 0.522~2.244 µm,平均为(1.087±0.231) µm。



图 5 中华倒刺鲃微耳石生长轮宽度变化 Fig. 5 Width variation in lapillus increments of S. sinensis

# 3 讨论

#### 3.1 耳石微结构的种间差异及产生原因

耳石中心核大小和形状的变异可用于鉴别相同 种类的不同种群。宋昭彬和曹文宣(2003)研究发 现,草鱼(Ctenopharyngodon idellus)和鲢(Hypophthalmichthys molitrix)仔鱼人工繁殖种群的耳石中心 核直径显著小于野生种群,这对于区分天然水体中 的野生个体和人工养殖个体提供了更科学的鉴定方 法;李城华和沙学坤(1995)在观察日本鳗鲡(Anguilla japonica)人工和野生仔鳗耳石时也观察到类 似现象,认为这可能是水温的差异所致。不同的种 类其耳石中心核特征可能也存在差异,将本研究的 微耳石和矢耳石中心核直径同"四大家鱼"相比较, 其值均偏大,在一定程度上也体现了种间差异性 (宋昭彬,2000)。

耳石日轮的形成受内分泌和环境因素的共同影 响,体现了耳石的日沉积规律,这一点在淡水鱼类中 也得到了证实(解玉浩等,1999)。随着耳石微结构 研究方式的日益成熟,耳石日轮在研究野生仔鱼、稚 鱼和幼鱼早期生活史上起着重要的作用。通过耳石 日轮数并结合孵化时间,可推算鱼类的繁殖期、孵化 场和产卵场等,但相关研究的前提是要确定耳石日 轮的沉积规律,即日轮与日龄的关系和第一日轮的 沉积时间。本研究中,中华倒刺鲃第1条日轮在仔 鱼出膜后第2天形成,此后日轮沉积规律为每天沉 积1轮,这与已报道的鲤(Cyprinus carpio)、鲫(Carassias auratus)、鳙(Aristichthys nobilis)和骨唇黄河鱼 (Chuanchia labiosa)等淡水鲤科鱼类的研究结果相 同(董双林等,1986;向德超等,1997;解玉浩和李勃, 1999;严太明等,2014)。

#### 3.2 耳石标记轮的形成机理

由于环境压力和特殊生活史的影响,在鱼体上 会产生突然的生理变化,从而形成特定的标记轮纹, 如孵化标记轮、初次摄食轮和卵黄吸收轮等;其形成 原因受内在生理因素和外在环境因子共同约束,如 孵化标记轮是无明显纤细轮纹的致密绕核带,该轮 纹可能是仔鱼在出膜时受到环境因素变化的影响, 从而引起钙离子沉积暂时停止造成的(李勃等, 1992)。通过耳石上特殊的标记轮,可推断鱼类的 早期生活史,如卵黄吸尽、初次摄食、变形生长和环 境迁移等(Radtke & Dean,1982;Cieri & McCleave, 2001)。例如鳗鲡(Anguilla rostrata)在变形后耳石 上会出现明显的变形生长标记轮(post-metamorphic growth zone),而在海水向淡水迁移的过程中也会形成典型的迁移标记轮,这对研究鱼类早期生活史提供了直接而有力的证据。

结合耳石标记轮的特征,当前相关研究已将其 应用在鱼类人工增殖放流中,采用化学药物、环境压 力等方法对淡水鲤科鱼类进行处理,在耳石上能形 成特殊的人工标记轮,从而对其标记回捕的个体进 行检测。欧阳斌和常剑波(1999)及付自东等 (2005)用茜素络合物和盐酸四环素分别标记了稀 有鮈鲫(Gobiocypris rarus)、彭泽鲫(Carassius auratus pengze)和胭脂鱼(Myxocyprinus asiaticus)的仔、稚鱼 耳石,在耳石上能形成明显的荧光标记环纹;Song 等(2009)通过水温、饥饿和光照周期等不同环境压 力的处理,在胭脂鱼仔鱼耳石上形成特定的标记轮。

本研究中也形成了类似的转移标记轮,原因可 能是在实验仔鱼从孵化池向实验室培养箱转移的过 程中环境压力发生了改变,作用于鱼体后从而在耳 石上形成的特殊轮纹。

#### 3.3 耳石生长轮宽度与鱼类生活史的关系

生长轮宽度的变化也会反应出鱼类的早期生活 史。在对鳗鲡、沙丁鱼(Sardinops melanostictus)、凤 尾鱼(Engraulis japonicus)和黑斑猪齿鱼(Choerodon schoenleinii)的研究中发现,在变形生长的末期,耳 石的生长轮宽度达到最大值,出现一个明显的波峰 期(Arai et al,1997;Ohshimo et al,1997;Takahashi & Watanabe,2004;Hideaki et al,2009);Rice 等(1985) 通过对霍氏白鲑(Coregonus hoyi)的研究认为,耳石 轮纹宽度的变化与生长有关;解玉浩等(1995)认为 池沼公鱼(Hypomesus olidus)矢耳石轮纹宽度的变 化与其发育期及栖息环境条件紧密相关。

本研究中,微耳石上第1条生长轮的宽度明显 偏大;第17条生长轮的宽度出现1次最小值,对应 的生长发育事件为腹鳍出现;第25条生长轮的宽度 达到1次最大值,此时尾柄黑斑出现。宋昭彬 (2000)报道了天然"四大家鱼"仔鱼微耳石的生长 轮宽度,其中青鱼为1.35~7.24 µm、草鱼为1.19~ 6.52 µm、鲢为0.99~6.10 µm、鳙为0.94~ 3.12 µm;相比较而言,中华倒刺鲃微耳石生长轮宽 度明显偏小,这可能是种间差异所致。

#### 参考文献

蔡焰值,何长仁,蔡烨强,等. 2003. 中华倒刺鲃生物学初步研究[J]. 淡水渔业,33(3):16-18.

蔡焰值,蔡烨强,何长仁. 2005. 中华倒刺鲃人工繁殖技术

研究[J]. 淡水渔业, 35(1): 35-38.

- 董双林, 王志余, 于信勇, 等. 1986. 鲤鱼仔、稚和幼鱼早期 耳石上日轮的初步观察[J]. 大连水产学院学报, 4 (1):58-61.
- 付自东,李静,岳碧松,等. 2005. 用荧光物质浸泡标记胭 脂鱼仔、稚鱼耳石[J]. 动物学杂志,40(4):60-65.
- 解玉浩,李勃,王国恩. 1995. 池沼公鱼耳石日轮的观察研 究[J]. 海洋与湖沼, 26(4): 402-408.
- 解玉浩,李勃. 1999. 饥饿和光照对鳙仔鱼耳石沉积和日轮 形成的影响[J]. 大连水产学院学报,14(3):1-6.
- 李勃, 解玉浩, 刘义新. 1992. 鳗鲡幼鱼耳石日轮的研究 [J]. 动物学研究, 24(4): 335-349.
- 李城华, 沙学坤. 1995. 日本鳗鲡早期阶段耳石日生长轮形成的周期[J]. 海洋与湖沼, 26(4): 408-413.
- 林小植,谢小军,罗毅平.2009. 中华倒刺鲃幼鱼饲料蛋白 质需求量的研究[J]. 水生生物学报,33(4):674-681.
- 欧阳斌,常剑波. 1999. 荧光物质浸泡标记稀有鮈鲫和彭泽 鲫仔、稚鱼[J]. 水生生物学报, 23(4): 324-329.
- 史方, 孙军, 林小涛, 等. 2006. 唐鱼仔鱼耳石的形态发育 及日轮[J]. 动物学杂志, 41(4): 10-16.
- 宋昭彬. 2000. 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.
- 宋昭彬,曹文宣. 2003. 草鱼和鲢仔鱼耳石原基和中心核特 征的研究[J].四川大学学报:自然科学版,40(4):774 -777.
- 向德超,何竹,朱杰,等. 1997. 鲫鱼耳石日轮研究[J]. 西 南农业大学学报, 19(5):451-454.
- 严太明,胡佳祥,杨婷,等. 2014. 骨唇黄河鱼耳石早期形态发育和轮纹特征研究[J]. 水生生物学报,38(4): 764-771.
- Arai T, Otake T, Tsukamoto K. 1997. Drastic changes in otolith microstructure and microchemistry accompanying the onset of metamorphosis in the Japanese eel Anguilla japonica[J]. Mar Ecol Prog Ser, 161: 17 – 22.
- Campana S E. 2001. Accuracy, precision and quality control in age determination, including a review of the use and abuse of age validation methods[J]. J Fish Biol, 59: 197 – 242.

- Cieri M D, McCleave J D. 2001. Validation of daily otolith increments in glass-phase American eels Anguilla rostrata (Lesueur) during estuarine residency[J]. J Exp Mar Biol Ecol, 257: 219 – 227.
- Dan X M, Yan G J, Zhang A J, et al. 2014. Effects of stable and diel-cycling hypoxia on hypoxia tolerance, postprandial metabolic response, and growth performance in juvenile qingbo (*Spinibarbus sinensis*) [J]. Aquaculture, 428 – 429: 21-28.
- Hideaki Y, Masayuki C, Kimio A, et al. 2009. Otolith development and daily increment formation in laboratory-reared larval and juvenile black-spot tuskfish *Choerodon schoenlei*nii[J]. Fish Sci, 75: 1141 – 1146.
- Ma X, Huang F, Wang Z. 2014. The complete mitochondrial genome sequence of *Spinibarbus sinensis* (Teleostei, Cypriniformes, Cyprinidae) [J]. Mitochondrial DNA, 25(1): 54-55.
- Ohshimo S, Nagatani H, Ichimaru T. 1997. Growth of 0-age Japanese sardine Sardinops melanostictus in the waters off the western coast of Kyushu[J]. Fish Sci, 63: 659-663.
- Radtke R L, Dean J M. 1982. Increment formation in the otoliths of embryos, larvae and juveniles of the munichog (*Fundulus heteroclitus*) [J]. Fish Bull U S, 80: 201 – 215.
- Rice J A, Crowder L B, Binkowski F P. 1985. Evaluating otolith analysis for bloater *Coregonus hoyi*: do otoliths ring true? [J]. Trans Am Fish Soc, 114(4): 532 – 539.
- Song Z B, Fu Z D, He C L, et al. 2009. Effects of temperature, starvation and photoperiod on otolith increments in larval Chinese sucker, *Myxocyprinus asiaticus*[J]. Environ Biol Fish, 84: 159 – 171.
- Takahashi M, Watanabe Y. 2004. Growth rate-dependent recruitment of Japanese anchovy *Engraulis japonicus* in the Kuroshio-Oyashio transitional waters [J]. Mar Ecol Prog Ser, 266: 227 – 238.

(责任编辑 万月华)

# Otolith Microstructure and Daily Increment Formation in Larval and Juvenile Qingbo (Spinibarbus sinensis)

LI Zhong-li<sup>1</sup>, HUANG Hui<sup>2</sup>, RAN Hui<sup>1</sup>, LIANG Zheng-qi<sup>1</sup>, HE Yong<sup>2</sup>

(1. Department of Biology and Agro-forestry Engineering, Tongren University, Tongren 554300, P. R. China;
2. Department of Fisheries, Southwest University, Rongchang 402460, P. R. China)

Abstract: The analysis of otolith increment deposition has been broadly applied and developed in age validation of larvae and juvenile fishes. The rate of otolith increment deposition, especially the time of the first increment deposited, is indispensable for determining age. In this study, we examined the otolith microstructure and daily increment deposition of laboratory-hatched larvae and juvenile Spinibarbus sinensis of known age, the first generation of wild Spinibarbus sinensis in Wujiang River. The study will supplement the biological information on Spinibarbus sinensis and provide data for artificial breeding as well as for resource surveys of wild populations. In July 2014, the experiment was conducted at the artificial breeding and releasing station at Pengshui Hydropower Station on Wujiang River. The artificially fertilized eggs of wild Spinibarbus sinensis were incubated for 78 h until all the larvae had released from the membrane. The larvae were then placed in an aquarium (100 cm  $\times$  60 cm  $\times$  60 cm) and fed Eubranchipus vernalis from day 4. Ten larvae of Spinibarbus sinensis were sampled at 19:00 each day until day 12 and then at 19:00 every other day. The development stage and full length of the all specimen were assessed under a stereomicroscope. The left sagitta, asteriscus and lapillus were extracted for increment counting and width measurement. The results show that there was usually one nucleus and one primordium in each lapillus and sagitta, and a few samples presented multiple nuclei or multiple primordia. However, the nuclei and the primordia in asteriscus were difficult to differentiate. The diameters of the nucleus for each lapillus and sagitta were  $(37.73 \pm 5.34)$  µm and  $(39.78 \pm 7.11) \mu m$ , and the diameters of primordia were  $(16.29 \pm 3.46) \mu m$  and  $(17.09 \pm 3.88) \mu m$ , respectively. The lapillus deposits displayed high clarity, regularity, periodicity and completeness compared with deposits on the sagitta and asteriscus. Increments deposited on the lapillus daily after hatching and the first increment was observed on the second day. The number of increments on the lapillus (N) for Spinibarbus sinensis of 30 d showed a linear relationship with age in days (T):  $N = 1.0016T - 0.8753 (R^2 = 0.9961, P < 0.01, n = 197)$  and the slope was not significantly different from 1 (P > 0.05). Hatching marks and transition rings were also observed on the lapillus and sagitta, with occurrence frequencies of 78.68% and 83.33% for the hatching mark and 29.95% and 48.98% for the transition ring. The width of lapillus increments for 66 juveniles of 33 d ranged from 0.522  $\mu$ m to 2.244  $\mu$ m, with the average value of (1.087 ± 0.231)  $\mu$ m.

Key words: Spinibarbus sinensis; otolith; microstructure; daily increment