

## 斑马鱼对有无繁殖经历配偶的视觉偏好<sup>\*</sup>

张 雯, 邓诗琳, 李英文, 刘智皓

(重庆师范大学 生命科学学院 水生态健康与环境安全研究中心, 重庆 401331)

**摘要:**为探究斑马鱼(*Danio rerio*)对有无繁殖经历的成年异性同类是否具有视觉偏好,在斑马鱼繁殖期,将有、无繁殖经历的成年异性斑马鱼作为刺激鱼分别置于装有雄性(或雌性)受试鱼鱼缸的两侧鱼缸内,拍摄受试鱼偏好行为视频 10 min 后,对它们的有关偏好行为测试参数进行分析。结果显示:1) 与雌性受试鱼相比,雄性受试鱼撞击有繁殖经历偏好区缸壁的时间和频次、撞击两侧偏好区缸壁的总时间和总频次、靠近各偏好区的频次及靠近两侧偏好区的总频次均有明显的增加;2) 雄性斑马鱼撞击有繁殖经历偏好区缸壁的时间、频次明显多于撞击无繁殖经历偏好区缸壁的时间、频次,它们靠近有繁殖经历偏好区的时间也明显多于靠近无繁殖经历偏好区的时间。上述结果提示雄性斑马鱼在繁殖过程中占据主导地位,且对有繁殖经历的雌性斑马鱼有更强的视觉偏好;雌性斑马鱼在繁殖过程中处于从属地位,对配偶的选择与对方是否有繁殖经历无明显的偏好性。

**关键词:**斑马鱼;繁殖经历;视觉偏好

**中图分类号:**Q492.5

**文献标志码:**A

**文章编号:**1672-6693(2024)06-0016-05

繁殖是动物的本能,也是两性个体延续后代的基础。在动物的生活史中,繁殖期具有重要的生物学意义。动物个体对异性的正确识别、选择和偏好是进行有效生殖的前提条件。性选择是一种性别对另一种性别的选择<sup>[1]</sup>,是指雌、雄个体间根据第二性征如雄鹿夸张的角、雄鸟鲜艳的羽毛等进行选择性交配的一种婚配现象<sup>[2]</sup>。在动物的繁殖过程中,多数个体在性选择中常偏好具有某种特征的异性作为配偶,这种行为被称为性偏好。性偏好广泛存在于动物界,与动物的认知和记忆密切相关,而动物在行为决策中常偏向于记忆中的选项<sup>[3]</sup>。有关波纹唇鱼(*Cheilinus undulatus*)的研究也进一步证实视觉记忆有助于繁殖时配偶之间的有效识别<sup>[4]</sup>。在自然界中,动物能识别特定的配偶,这种识别度由多方面的因素决定,例如:一雄多雌婚配制度下的安乐蜥(*Anolis carolinensis*)为提高繁殖成功率而常常偏好陌生雌性个体<sup>[5]</sup>;在爬行动物中,个体间还能通过化学信息对异性的生殖状况及繁殖熟悉度进行识别<sup>[6]</sup>。上述研究表明,动物对异性的认知会影响自身性选择的偏好性。然而对于鱼类而言,繁殖经历在它们对配偶的选择过程中是否会成为选择配偶的重要因素是一个值得研究的问题。

斑马鱼(*Danio rerio*)是一种常见的鲤科(Cyprinidae)热带观赏鱼类,原产于南亚地区<sup>[7]</sup>。由于斑马鱼具有繁殖周期短、产卵量大、体外受精、体外发育、胚体透明、与人类(*Homo sapien*)基因有着高达 87% 的相似性等特点,因此该鱼种被当作模式动物并广泛应用于生命科学研究中<sup>[8]</sup>。斑马鱼是一种典型的昼行性动物,具有较好的视觉功能<sup>[9]</sup>。Engeszer 等人<sup>[10]</sup>的研究表明斑马鱼的群聚行为由视觉信号介导,即正常情况下它们会选择与自己体型、条纹相似的个体作为自己的同伴。另有研究显示,斑马鱼的繁殖活动受光照刺激,繁殖行为多集中在光照刺激后的清晨<sup>[11]</sup>。因此,斑马鱼是良好的性偏好研究动物模型。还有研究表明,在斑马鱼繁殖期,雄性斑马鱼的第二性征会影响雌性同类的性选择,即雌性斑马鱼通常更青睐体型大、鳍长、条纹清晰的雄性斑马鱼作为配偶<sup>[12-13]</sup>。同时,体型大的雄性斑马鱼更可能成为斑马鱼种群中的领导者,它的子代也更可能遗传它的个体优势从而更受雌性斑马鱼青睐<sup>[14]</sup>。然而,有无繁殖经历是否会影响斑马鱼的繁殖决策尚未见报道,值得进一步研究。为了解答上述问题并为有关鱼类行为学研究积累基础资料,本研究将对斑马鱼对繁殖期配偶的视觉偏好进行测试,并试图分析处于繁殖期的斑马鱼对异性同类的选择与后者有无繁殖经历是否存在关联。

\* 收稿日期:2023-11-21 修回日期:2024-03-12 网络出版时间:2024-12-25T14:58

资助项目:国家自然科学基金青年科学基金项目(No. 31901183);重庆市自然科学基金面上项目(No. cstc2020jcyj-msxmX0805);重庆市基础科学与前沿技术研究专项基金项目(No. cstc2016jcyjA1032);重庆市教育委员会科学技术研究计划项目(No. KJ1600308)

第一作者简介:张雯,女,研究方向为鱼类生理学,E-mail:ww343319271@163.com;通信作者:刘智皓,男,副教授,博士,E-mail:minenut@163.com

网络出版地址:https://link.cnki.net/urlid/50.1165.N.20241225.1007.006

## 1 材料与方法

### 1.1 实验动物及前期处理

实验用 120 d 龄斑马鱼共计 228 尾,雌雄各半,均为国家斑马鱼资源中心的 AB 系亲鱼繁殖而来的同一批次子一代。养殖开始时,实验鱼首先在恒温循环水系统中以  $(28 \pm 0.5) ^\circ\text{C}$  从幼鱼阶段开始培养 90 d,直至能区分实验鱼性别且保证它们均无繁殖经历。在测试雄性实验鱼对有无繁殖经历异性同类的视觉偏好前,需做以下前期处理:设置 3 个长、宽、高均分别为 50、30、30 cm 且缸壁厚度均为 4 mm 的玻璃鱼缸 A、B 和 C;每缸间隔 2 cm 放置,相邻鱼缸之间用不透明纸板隔开。分出形态、大小相似且体质量为  $(0.42 \pm 0.05) \text{ g}$  的 48 尾雌性实验鱼单性饲养至性成熟,作为无繁殖经历的刺激鱼置于鱼缸 A 中。另分出形态、大小相似且体质量为  $(0.42 \pm 0.05) \text{ g}$  的 48 尾雌性实验鱼与形态、大小相似且体质量为  $(0.32 \pm 0.08) \text{ g}$  的 18 尾雄性实验鱼混合后,分别作为有繁殖经历的刺激鱼和受试鱼一同放置在 B 鱼缸中。保持鱼缸 A 与鱼缸 B 中的实验鱼在同一环境参数条件下生活,每日 9:00、15:00 和 21:00 各喂食 1 次,每日食物总投喂量为实验鱼体质量的 2%。每间隔 2 d 用溶解氧质量浓度为  $6.0 \sim 7.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 、pH 为  $7.1 \sim 7.8^{[15]}$  的除氯自来水换水 1 次。观察到鱼缸 B 中的实验鱼连续 7 d 发生繁殖行为后,将鱼缸 B 中的刺激鱼全部选出,放置于鱼缸 C 中。为避免实验鱼进入新鱼缸后产生的焦虑恐惧情绪对繁殖行为产生影响,各缸受试鱼、刺激鱼在相同环境下继续饲养 3 d 再进行后续实验。对雌性实验鱼的前期处理方法同上,但将有关鱼缸中放置的刺激鱼和受试鱼分别换成雄性实验鱼和雌性实验鱼。

## 1.2 实验装置

偏好行为测试实验装置的具体情况如图 1 所示。在测试实验开始前相邻鱼缸之间保持透明,即图 1 中所示的不透明白色塑料板并不放于受试鱼缸和刺激鱼缸之间;3 个鱼缸均装入 15 cm 深度的除氯自来水。此外,将用于拍摄受试鱼对有无繁殖经历异性同类刺激鱼的视觉偏好行为的 SONY DSC-RX100 M4 型摄像机固定于放置架上,并让摄像机镜头位于整个实验装置的正上方 50 cm 处。

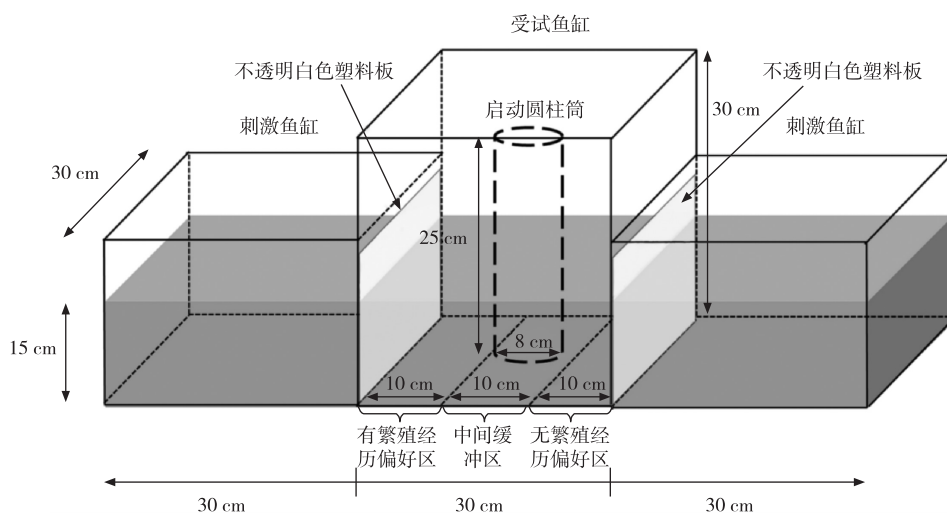


图 1 斑马鱼繁殖偏好行为测试实验示意图

**Fig. 1** Diagram of breeding preference test in zebrafish

### 1.3 偏好行为测试实验

在偏好行为测试实验开始当日早晨,斑马鱼在受到光照刺激后进入繁殖期<sup>[16]</sup>,持续时间约为 2 h(8:00—10:00)。偏好行为测试实验分雌性实验鱼和雄性实验鱼 2 个组进行,各组样本量均为 18 尾,实验的具体步骤为:首先,在受试鱼缸与 2 个刺激鱼缸的接触面放置可移动的不透明白色塑料板作为屏障(图 1),在视觉上将受试鱼与刺激鱼隔离开。然后,从鱼缸 A、C 中随机挑选有(或无)繁殖经历刺激鱼各 8 尾,分别放入 2 个刺激鱼缸内;从鱼缸 B 中随机挑选 1 尾受试鱼,放入中部受试鱼缸。在受试鱼适应环境 15 min 后,将它置于启动圆柱筒中,撤去白色塑料板;最后,待受试鱼适应环境 2 min 后撤去启动圆柱筒,开始拍摄受试鱼靠近或撞击有(或无)繁殖经历偏好区缸壁的行为,拍摄持续时间为 10 min。需要注意的是,在整个实验中,为避免受试鱼的有关行为学数据存在随机性,两侧刺激鱼的位置会随机交换 3 次,同时重复拍摄视频 3 次。每拍摄结束,均对鱼缸彻底进行

清洗和消毒。视频拍摄完成后,受试鱼不再使用而刺激鱼则分别放入鱼缸 A、C 中暂养备用。

#### 1.4 数据分析

分析上述视频,统计以下偏好行为测试参数:1) 受试鱼撞击各偏好区缸壁时间(后简称撞击时间,单位:s);2) 受试鱼在单位时间内(本研究中为 10 min)撞击各偏好区缸壁次数(后简称撞击频次,单位:次·min<sup>-1</sup>);3) 受试鱼靠近各偏好区的时间(后简称靠近时间,单位:s);4) 受试鱼在单位时间内(本研究中为 10 min)靠近各偏好区频次(后简称靠近频次,单位:次·min<sup>-1</sup>)。所有行为学数据均用“平均值±标准误”的形式进行表示,用 SPSS 26.0 软件运用独立样本 *t* 检验对组间数据的差异进行分析<sup>[17]</sup>。当  $p < 0.05$  时,*t* 检验结果具有统计学意义。使用 Prism 8 软件绘制受试鱼行为学数据的柱形图。

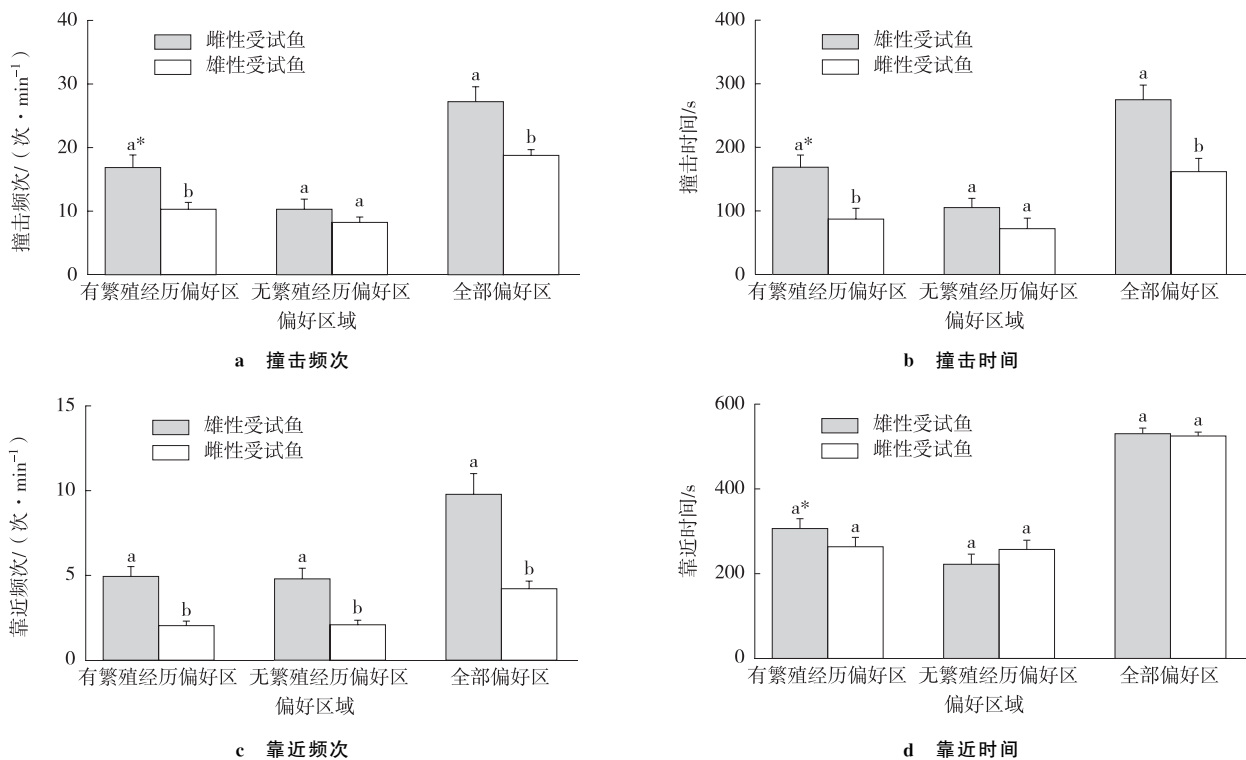
## 2 实验结果

### 2.1 斑马鱼在繁殖期的活跃程度

图 2a、b 显示:与雌性受试鱼相比,雄性受试鱼在有繁殖经历偏好区的撞击时间和撞击频次以及在全部偏好区的总撞击时间和总撞击频次均有统计学意义上的增加( $p < 0.05$ );但雌、雄性受试鱼在无繁殖经历偏好区的撞击时间和撞击频次无统计学意义上的差异。图 2c 显示,雄性受试鱼在有、无繁殖经历区的靠近频次以及在全部偏好区的总靠近频次与雌性受试鱼相比均具有统计学意义上的增加( $p < 0.05$ )。此外由图 2d 可知,雌、雄性受试鱼在有、无繁殖经历偏好区的靠近时间以及在全部偏好区的总靠近时间均无统计学意义上的差异。

### 2.2 斑马鱼对有无繁殖经历的成年异性同类的视觉偏好

由图 2a~d 可知:雌性受试鱼在有、无繁殖经历区的撞击时间、撞击频次、靠近时间和靠近频次无统计学意义上的差异;而雄性受试鱼在有繁殖经历偏好区的撞击时间和靠近时间均长于在无繁殖经历偏好区的撞击时间和靠近时间,且数据差异均具有统计学意义( $p < 0.05$ )。此外,图 2a 还显示雄性受试鱼在有繁殖经历偏好区的撞击频次相对于在无繁殖经历偏好区而言有统计学意义上的增加( $p < 0.05$ );但它们在有、无繁殖经历区的靠近频次无统计学意义上的差异(图 2c)。



注:不同小写字母表示雌、雄性受试鱼的偏好行为测试参数的数据差异具有统计学意义( $p < 0.05$ ),“\*”表示雄性受试鱼在有、无繁殖经历偏好区域的偏好行为测试参数有统计学意义上的差异( $p < 0.05$ ),雌、雄性受试鱼的样本量均为 18 尾。

图 2 雌、雄性斑马鱼撞击、靠近各偏好区的频次及时间

Fig. 2 Frequency and duration of hitting and approaching to each area of preference by zebrafish males and females

### 3 讨论与结论

本研究结果表明,在繁殖期内雄性斑马鱼在繁殖意愿方面强于雌性斑马鱼,表现为雄性斑马鱼在大部分偏好行为测试参数数值上均高于雌性斑马鱼。在自然界中,雄性动物在繁殖过程中往往占主导地位,它们通常表现出更多的求偶行为<sup>[18]</sup>。这可能与雌、雄性脊椎动物在繁殖过程中扮演的角色存在差异有关,例如:与大部分雌性动物的怀卵量相对有限不同,雄性动物的精子产出量远远多于怀卵量,以保证尽可能多的卵子受精<sup>[19]</sup>。为此,雄性动物必须通过种内竞争获得与雌性动物的交配权,因而前者在繁殖期时通常表现出相较于后者更高的繁殖意愿。与雄性动物不同,雌性动物在繁殖过程中更偏向于选择更强大的交配对象以产下更为优质的后代<sup>[20]</sup>。因此,本研究结果显示的雄性斑马鱼在繁殖期表现出更高活跃度与它们在繁殖过程中所处的主导地位相一致。

在繁殖过程中,雌性斑马鱼通常处于从属地位,因此在对配偶的选择中雌性斑马鱼相对较为被动。本研究发现,雌性斑马鱼在各偏好区的4个偏好行为测试参数均无统计学意义上的差异,表明它们对配偶的选择可能与对方是否有繁殖经历没有明显的关联。一般来说,雄性动物在经历了繁殖过程后,它的内环境(如激素水平等)和外观(如颜色、泳姿等)可能有更多利于提升繁殖成功率的变化,从而能更好地吸引雌性动物;但由于雌性动物在繁殖过程中往往处于被动地位,因而本研究中雌性斑马鱼并没有明显表现出对有繁殖经历的异性有更强的视觉偏好。

与雌性斑马鱼的上述表现完全不同,本研究中雄性斑马鱼在选择配偶时明显更偏好有繁殖经历的雌性同类。这可能与有繁殖经历的雌性斑马鱼在体色和繁殖行为特征上远比无繁殖经历的雌鱼更具吸引力有关;作为高度依赖于光照(视觉)进行繁殖的鱼类,斑马鱼(尤其是雄性斑马鱼)仅凭视觉就能分辨异性在外观(体色、泳姿等)上的差异,进而更加倾向选择有繁殖经历的异性以提高求偶成功率。这种对配偶的选择方式能大大降低雄性斑马鱼的繁殖成本,具有极高的生态学价值。

然而值得注意的是,雄性斑马鱼对有繁殖经历配偶的选择可能导致无繁殖经历雌性斑马鱼难以甚至无法参与繁殖,这可能导致斑马鱼的种质资源单一化、遗传多样性降低,进而导致斑马鱼的种群结构退化,不利于种族的延续。为解决这一问题,可采取混交形式对斑马鱼进行群体繁殖,让无繁殖经历的个体也能有一定的机会产生后代。另外在与有繁殖经历的个体进行群体繁殖时,无繁殖经历的个体还能通过学习来提高求偶技巧和增加繁殖经验。

综上所述,本研究发现雄性斑马鱼在繁殖过程中占据主导地位,且对有繁殖经历的雌性斑马鱼有更强的视觉偏好;雌性斑马鱼在繁殖过程中处于从属地位,对配偶的选择与对方是否有繁殖经历无明显的偏好性。

#### 参考文献:

- [1] 尚玉昌. 动物行为研究的新进展(六):性选择和配偶选择[J]. 自然杂志,2013,35(3):207-210.  
SHANG Y C. New advances in study of animal behavior (VI):sexual selection[J]. Chinese Journal of Nature,2013,35(3):207-210.
- [2] 周波. 性选择中的奔离过程与障碍原理[J]. 遗传,1995,17(4):43-48.  
ZHOU B. Runaway process and handicap principle on sexual selection[J]. Hereditas (Beijing),1995,17(4):43-48.
- [3] GLUTH S, SOMMER T, RIESKAMP J, et al. Effective connectivity between hippocampus and ventromedial prefrontal cortex controls preferential choices from memory[J]. Neuron,2015,86(4):1078-1090.
- [4] LIU D, WANG X Y, GUO H Y, et al. Chromosome-level genome assembly of the endangered humphead wrasse *Cheilinus undulatus*:Insight into the expansion of opsin genes in fishes[J]. Molecular Ecology Resources,2021,21(7):2388-2406.
- [5] ORRELL K S, JENSSEN T A. Male mate choice by the lizard *Anolis carolinensis*: a preference for novel females[J]. Animal Behaviour,2002,63(6):1091-1102.
- [6] BAECKENS S, WHITING M J. Investment in chemical signalling glands facilitates the evolution of sociality in lizards[J]. Proceedings of the Royal Society B:Biological Sciences,2021,288(1945):20202438.
- [7] 孙智慧,贾顺姬,孟安明. 斑马鱼:在生命科学中畅游[J]. 生命科学,2006(5):431-436.  
SUN Z H, JIA S J, MENG A M. Zebrafish:swimming in the life sciences[J]. Chinese Bulletin of Life Sciences,2006(5):431-436.
- [8] 全珊珊,吴新荣. 斑马鱼,人类疾病研究的理想模式动物[J]. 生命的化学,2008,28(3):260-263.  
QUAN S S, WU X R. Zebrafish, the ideal model animal for human disease studies[J]. Chemistry of Life,2008,28(3):260-263.
- [9] 邹苏琪,殷梧,杨昱鹏,等. 斑马鱼行为学实验在神经科学中的应用[J]. 生物化学与生物物理进展,2009,36(1):5-12.

- ZOU S Q, YIN W, YANG Y P, et al. The ethology application of zebrafish in neuroscience[J]. Progress in Biochemistry and Biophysics, 2009, 36(1): 5-12.
- [10] ENGESZER R E, RYAN M J, PARICHY D M. Learned social preference in zebrafish[J]. Current Biology, 2004, 14(10): 881-884.
- [11] VILLAMIZAR N, VERA L M, FOULKES N M, et al. Effect of lighting conditions on zebrafish growth and development[J]. Zebrafish, 2014, 11(2): 173-181.
- [12] SBRAGAGLIA V, GLIESE C, BIERBACH D, et al. Size-selective harvesting fosters adaptations in mating behaviour and reproductive allocation, affecting sexual selection in fish[J]. Journal of animal ecology, 2019, 88(9): 1343-1354.
- [13] GUMM J M, SNEKSER J L, IOVINE M K. Fin-mutant female zebrafish (*Danio rerio*) exhibit differences in association preferences for male fin length[J]. Behavioural Processes, 2009, 80(1): 35-38.
- [14] 廖彩萍, 曾燊, 唐琼英, 等. 高体鳊的性选择问题研究[J]. 水生生物学报, 2013(11), 37(6): 1112-1117.
- LIAO C P, ZENG Y, TANG Q Y, et al. The sexual selection of the rose bitterlings *Rhodeus ocellatus*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2013(11), 37(6): 1112-1117.
- [15] 陈宝增, 李凤超, 康现江. 实验室斑马鱼的繁育与养殖技术[J]. 河北渔业, 2008(4): 51-53.
- CHEN B Z, LI F C, KANG X J. Breeding and breeding techniques of laboratory zebrafish[J]. Hebei Fisheries, 2008(4): 51-53.
- [16] HARRINGTON R W. *Modes of reproduction in fishes*. Charles M. Breder, Jr., Donn Eric Rosen[J]. Quarterly Review of Biology, 1967, 42(2): 314.
- [17] 练小龙, 程如丽, 蹇杰, 等. LED 光谱对斑马鱼繁殖行为、产卵量和受精率的影响[J]. 重庆师范大学学报(自然科学版), 2021, 38(2): 20-25.
- LIAN X L, CHENG R L, JIAN J, et al. Effect of LED spectrum on reproductive behavior, spawning and fertilization rate in zebrafish [J]. Journal of Chongqing Normal University (Natural Science), 2021, 38(2): 20-25.
- [18] DARROW K O, HARRIS W A. Characterization and development of courtship in zebrafish, *Danio rerio*[J]. Zebrafish, 2004, 1(1): 40-45.
- [19] TRIVERS R L. Parental investment and sexual selection[M]. CAMPBELL B. Sexual selection and the descent of man 1871-1971, Chicago: Aldine Publishing Company, 1972.
- [20] KIRKPATRICK M, RYAN M J. The evolution of mating preferences and the paradox of the lek[J]. Nature, 1991, 350(6313): 33-38.

## Physiological Ecology and Ethology of Fishes

### Visual Preference of Zebrafish for Spouse with or without Breeding Experiences

ZHANG Wen, DENG Shilin, LI Yingwen, LIU Zhihao

(Laboratory of Water Ecological Health and Environmental Safety, School of Life Sciences,  
Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

**Abstract:** To investigate whether zebrafish (*Danio rerio*) have a visual preference for adult heterosexual conspecifics with or without breeding experience, adult heterosexual zebrafish with and without breeding experience were placed as stimulus fish on both sides of the tank containing male (or female) subject fish during the zebrafish breeding season, and after taking videos of the subjects' preference behaviors for 10 min, their parameters related to the preference behavior test were analyzed. The results showed that: 1) The duration and frequency of hitting the wall of the preference zone with breeding experience, the total duration and frequency of hitting the wall of both preference zones, the frequency of closing to each preference zone, and the total frequency of closing to each preference zone, were all significantly higher in male zebrafish than in female test fish. 2) The duration and frequency of hitting the wall of the preference zone with breeding experience was significantly more than that of hitting the wall of the preference zone with no breeding experience, the duration of male zebrafish closing the breeding experience preference area was significantly more than that of closing the non-breeding experience preference area. These results suggest that male zebrafish dominate the breeding process and have a stronger visual preference for female zebrafish with breeding experience, while female zebrafish are in a subordinate position during the breeding process and do not have a clear preference for mates with or without breeding experience.

**Keywords:** zebrafish; breeding experience; visual preference

(责任编辑 方 兴)