研究论文

## 鳜仔稚鱼骨骼系统骨化发育

曹晓颖<sup>1,2,3</sup>,赵金良<sup>1,2,3</sup>,陈晓武<sup>1,2,3</sup>,周昊天<sup>1,2,3</sup>,郝月月<sup>1,2,3</sup>,赵岩<sup>1,2,3</sup>

1. 农业农村部淡水水产种质资源重点实验室, 上海海洋大学, 上海 201306;

2. 水产动物遗传育种中心上海市协同创新中心,上海海洋大学,上海 201306;

3. 水产科学国家级实验教学示范中心, 上海海洋大学, 上海 201306

**摘要:**采用软骨—硬骨双染色技术,描述了鳜(*Siniperca chuatsi*)仔稚鱼(1~35 日龄)头骨、脊柱、附肢骨骼的骨化发育特征。结果显示:(1) 头骨前鳃盖骨于 14 日龄最先骨化,15 日龄上下颌骨骨化,且上下颌骨相对长度呈现连续变化过程。17 日龄后,颌齿、关节骨、舌颌骨骨化;19 日龄,隅骨、间鳃盖骨、鳃盖骨、鳃条骨、额骨骨化。20 日龄后,方骨、下鳃盖骨、辅上颌骨等骨化;35 日龄,头骨骨化基本完成。(2) 脊柱于 15 日龄由前向后骨化,20 日龄背肋与腹肋由基部向末端骨化,29 日龄骨化完成。脉弓与脉棘、髓弓与髓棘均由前向后、由基部向末端骨化,脉棘与髓棘骨化时间晚于相应的椎体。(3) 附肢骨骼骨化顺序依次为胸鳍、背鳍、臀鳍、腹鳍、尾鳍。胸鳍匙骨于 16 日龄骨化,乌喙骨与肩胛骨于 25 日龄骨化;背鳍、臀鳍分别于 18 日龄、20 日龄骨化,骨化方式相似;腹鳍于 23 日龄骨化,骨化方式与胸鳍相反;尾杆骨、尾下骨于 25 日龄骨化,附肢骨骼于 35 日龄基本骨化完成。结果表明,鳜骨骼骨化发育与其早期运动、摄食与御敌等行为密切相关。

关键词: 鳜; 仔稚鱼; 头骨; 脊柱; 附肢骨骼; 骨化发育 中图分类号: S917; Q959 文献标志码: A

硬骨鱼类骨骼系统由内骨骼和外骨骼组成, 内骨骼包括头骨、脊柱、肋骨和附肢骨骼,主要 参与支持身体、保护内脏器官与协调运动作用。 内骨骼均来源于间充质<sup>[1]</sup>,但不同部位骨骼的间 充质来源不同,头骨是由头部神经嵴细胞发育而 来<sup>[2-3]</sup>,脊柱与肋骨来源于体节中胚层生骨节细 胞,附肢骨骼则来源于部分侧板中胚层细胞<sup>[4-5]</sup>。 在骨骼发育过程中,骨骼硬化有两种不同方式: 一种是软骨化骨,由间充质细胞先发育为软骨细 胞,进而形成软骨组织,最终钙化为硬骨<sup>[1]</sup>;另 一种则是膜化成骨,间充质细胞不经软骨阶段直 接分化成骨细胞<sup>[6]</sup>。骨骼硬化可能与其在胚胎幼 体中的细胞分化方式有关。

有些鱼类骨骼发育在出膜前就已经开始,如 鲑科(Salmonids)鱼类<sup>[7]</sup>,青鳉(*Oryzias latipes*)<sup>[8]</sup>; 文章编号:1005-8737-(2019)02-0304-10

另一些鱼类则在孵化后才开始,如大黄鱼(Lariichthys crocea)<sup>[9]</sup>,骨骼硬化都是在出膜后开始。 随着幼体发育,不同部位的骨骼开始先后硬化。 因此,仔稚鱼骨骼发育研究,对揭示鱼类早期形 态、结构、摄食、运动具有重要的参考价值。王 秋荣等<sup>[9]</sup>研究了大黄鱼仔稚鱼的骨骼发育过程, 认为中轴骨骼和附肢骨骼骨化发育,能够增强呼 吸、摄食和游泳机能。田文斐<sup>[10]</sup>观察到由于摄食 需要坚硬的上下颌及颌齿来固定食物防止逃脱, 鳜(Siniperca chuatsi)前颌骨、上颌骨与下颌骨在 全长 11.22 mm 时就已经骨化完全。崔国强等<sup>[11]</sup> 对日本鬼鲉(Inimicus japonicus)早期附肢骨骼研 究发现,腹鳍骨化时间与其从水中自由泳转变为 底栖爬行的时间一致。

鳜是东亚特有的淡水名贵经济鱼类<sup>[12]</sup>。在自

收稿日期: 2018-04-03; 修订日期: 2018-05-11.

基金项目:现代农业产业技术体系专项基金项目(CARS-46).

作者简介: 曹晓颖(1993-), 女, 硕士研究生, 从事水产遗传育种与繁殖研究. E-mail: 1322918309@qq.com

通信作者:赵金良,博士,教授,从事水产遗传育种与繁殖研究. E-mail: jlzhao@shou.edu.cn

然状态下, 鳜产卵期一般为 5—7 月, 卵浮性, 在 水温 20℃以上时, 胚胎发育时间约为 51 h<sup>[13]</sup>。研 究表明, 鳜仔稚鱼期会经历运动方式(间歇式垂直 运动—定向平游)、摄食行为(前期咬住饵料鱼尾 部, 后期可咬住饵料鱼头部)和营养方式(内源性 营养、混合营养、外源性营养)等一系列生理生态 的变化<sup>[12-14]</sup>。田文斐<sup>[10]</sup>对鳜骨化前的骨骼发育过 程以及早期摄食器官的发育做了较细致观察。本 研究通过对鳜仔稚鱼期全鱼骨骼的骨化发育过程 观察, 描述各主要骨骼的骨化时间、骨化发育特 征, 为其仔稚鱼器官结构发育与其功能适应研究 提供科学资料。

#### 1 材料与方法

#### 1.1 材料

> 續仔稚鱼样本于 2017 年 5 月 1 日至 6 月 4 日 采集于上海市浦东孙农水产养殖场。人工授精后, 受精卵在孵化桶中自然孵化,孵化水温为 21~ 23℃。以团头鲂鱼苗为开口饵料,随着鳜个体的 长大,投喂适口的草鱼苗。连续采集孵化后 1~35 日龄的鱼苗,每天随机选取 10~15 尾鱼苗用于样 品固定,样品保存于 4%的福尔马林中。为减少误 差,本实验样品为同一批受精卵同一孵化桶的仔 稚鱼。

#### 1.2 方法

采用 Dingerkus 等<sup>[15]</sup>的软骨—硬骨双染色技 术,对仔稚鱼骨骼进行染色,具体步骤如下:(1) 清洗:将4%福尔马林固定的仔稚鱼放入ddH<sub>2</sub>O中 浸泡1~2 d。(2)软骨染色:将清洗过的标本置于 阿尔新兰染液中,直至观察到鳍基部有明显蓝 色。(3)梯度脱水:将标本依次放入95%、75%、 40%、15%酒精中进行梯度脱水。(4)消化透明: 将标本放入0.5%胰蛋白酶液中进行消化,直至标 本完全透明。(5)硬骨染色:将标本放入茜素红 染液中,直至硬骨染上红色。(6)脱色:将标本放 入脱色液(3%H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>与2%KOH 等量混合组成,现 配现用)中曝光褪色。(7)保存:将标本依次移入 体积比为3:1、1:1、1:3的0.5%KOH-甘油合剂 中,最终移入甘油中,并加入3~4粒麝香草酚保存。 通过 Nikon 解剖镜对鳜早期骨骼进行连续观察 拍照,记录骨骼骨化的形态特征,并测量全长(TL), 计算平均值,用(*x*±SD)表示。使用 Photoshop 6.0 软件对拍摄图片进行编辑处理。骨骼命名标准参 照孟庆闻<sup>[16]</sup>和 Harder<sup>[17]</sup>。

#### 2 结果与分析

1~35 日龄, 鳜仔稚鱼全长范围为(4.45±0.21)~ (38.58±3.27) mm, 全长随日龄增长呈现规律性持 续变大的趋势。染色结果显示: 2 日龄, TL=(4.53± 0.26) mm, 上下颌软骨出现; 4 日龄, TL=(4.88± 0.23) mm, 颌齿出现; 10 日龄, TL=(6.24±0.20) mm, 胸鳍软骨鳍条出现; 11 日龄, TL=(6.69±0.48) mm, 背鳍与臀鳍软骨鳍条、尾下骨出现。13日龄前,未 观察到骨骼硬化。14 日龄, TL=(7.20±0.54) mm, 前鳃盖骨最先骨化, 15 日龄, TL=(9.08±0.80) mm, 上下颌骨与脊柱开始骨化(图 1A)。随后,颌齿、 关节骨、舌颌骨、隅骨、间鳃盖骨、鳃条骨、方 骨等依次骨化;脊柱由前向后依次骨化;背鳍与 臀鳍鳍棘、胸鳍开始骨化(图 1B)。25 日龄, TL= (15.68±1.77) mm, 椎体(尾杆骨除外)骨化完成, 腹 鳍与尾鳍骨化(图 1C)。30 日龄, TL=(23.03±2.11) mm, 头部辅上颌骨、上枕骨与附肢骨骼进一步骨化(图 1D)。35 日龄, TL=(38.58±3.27) mm, 骨骼骨化基 本完成(图 1E)。

#### 2.1 头骨骨化发育

14 日龄, TL=(7.20±0.54) mm, 前鳃盖骨最先 由中间棘向边缘骨化(图 2A)。15 日龄, TL=(9.08± 0.80) mm, 前颌骨(附有颌齿)、上颌骨和下颌齿骨 先形成细长的硬骨化骨片, 再向边缘骨化(图 2B), 前颌骨和齿骨于 29 日龄完成骨化。17 日龄, TL= (9.99±0.75) mm, 颌齿开始骨化, 细齿数量与密度 随日龄增长迅速增加; 位于齿骨后面的关节骨, 从隅骨连接处向齿骨方向骨化, 于25 日龄骨化完 成; 舌颌骨由顶部向腹部骨化(图 2C)。19 日龄, TL=(11.39±0.83) mm, 与关节骨相连的隅骨由连 接处向后缘骨化; 位于前鳃盖骨下方的间鳃盖骨 从骨骼中部向边缘骨化, 于 29 日龄骨化完成; 位 于间鳃盖骨上面的鳃盖骨开始骨化, 鳃盖骨上缘 的短钝棘与近前鳃盖骨的边缘最先骨化, 随后上 缘短钝棘先骨化完成, 其他部分于 28 日龄骨化完



#### 图 1 鳜仔稚鱼骨骼的骨化发育过程

A: 15 日龄, TL=(9.08±0.80) mm; B: 20 日龄, TL=(12.07±0.84) mm; C: 25 日龄, TL=(15.68±1.77) mm; D: 30 日龄, TL=(23.03±2.11) mm; E: 35 日龄, TL=(38.58±3.27) mm; Af: 臀鳍; Cf: 尾鳍; Df: 背鳍; Pcf: 胸鳍; Pif: 腹鳍; TL: 全长; V: 脊柱.

Fig. 1 Skeletal development process in *Siniperca chuatsi* larvae and juvenile

A: 15 dah, TL=(9.08±0.80) mm; B: 20 dah, TL=(12.07±0.84) mm; C: 25 dah, TL=(15.68±1.77) mm; D: 30 dah, TL=(23.03±2.11) mm; E: 35 dah, TL=(38.58±3.27) mm; Af: anal fin; Cf: caudal fin; Df: dorsal fin; Pcf: pectoral fin; Pif: pelvic fin; TL: total length; V: vertebra.



图 2 鳜仔稚鱼头骨骨化发育过程

A: 14 日龄, TL=(7.20±0.54) mm; B: 15 日龄, TL=(9.08±0.80) mm; C: 17 日龄, TL=(9.99±0.75) mm; D: 19 日龄, TL=(11.39± 0.83) mm; E: 20 日龄, TL=(12.07±0.84) mm; F: 23 日龄, TL=(14.62±0.68) mm; G: 29 日龄, TL=(19.92±2.46) mm; H: 35 日龄, TL=(38.58±3.27) mm; A: 关节骨; An: 隅骨; Br: 鳃条骨; D: 齿骨; F: 额骨; Hm: 舌颌骨; Iop: 间鳃盖骨; Jt: 颌齿; M: 上颌骨; Op: 主鳃盖骨; Pm: 前颌骨; Pop: 前鳃盖骨; Pro: 眶前骨; Qu: 方骨; Sm: 辅上颌骨; Soc: 上枕骨; Sop: 下鳃盖骨; TL: 全长. Fig. 2 Skull bone ossification process in *Siniperca chuatsi* larvae and juvenile

A: 14 dah, TL=(7.20±0.54) mm; B: 15 dah, TL=(9.08±0.80) mm; C: 17 dah, TL=(9.99±0.75) mm; D: 19 dah, TL=(11.39±0.83) mm;
E: 20 dah, TL=(12.07±0.84) mm; F: 23 dah, TL=(14.62±0.68) mm; G: 29 dah, TL=(19.92±2.46) mm; H: 35 dah, TL=(38.58±3.27) mm; A: articular; An: angular; Br: branchiostegal ray; D: dentary; F: frontal; Hm: hyomandibular; Iop: interopercle; Jt: jaw teeth; M: maxilla; Op: opercle; Pm: premaxilla; Pop: preopercle; Pro: preorbital; Qu: quadrate;

Sm: supplementary maxilla; Soc: supraoccipital; Sop: subopercle; TL: total length.

成;此外,7对鳃条骨于由顶部向腹部、基部向末 端骨化,额骨由中部向两端骨化(图 2D),两者于 29日龄骨化完成。20日龄,TL=(12.07±0.84)mm, 方骨由连接关节骨一端的钝圆部开始骨化(图 2E), 于29日龄完成骨化。23日龄,TL=(14.62±0.68)mm, 下鳃盖骨由前端向背上方伸出的短棘方向骨化 (图 2F)。29日龄,TL=(19.92±2.46)mm,辅上颌骨在 近上颌骨的一端形成细长的硬骨化骨片,再向另 一边缘骨化; 上枕骨由前向后骨化; 同时, 眶前骨 也开始骨化(图 2G)。35 日龄, TL=(38.58±3.27) mm, 上颌骨、辅上颌骨与眶前骨骨化完成(图 2H)。头 部骨骼十分复杂, 且存在愈合连接现象, 部分头 部骨骼未做描述。

#### 2.2 脊柱与肋骨的骨化发育

体形成背肋, 第3椎体开始形成腹肋, 总共10枚, 从第8枚椎体开始出现向腹部生长的椎体横突。1 日龄, TL=(4.45±0.21) mm, 脊索为一直管状, 无 分节; 13日龄, TL=(7.15±0.39) mm, 尾索微微弯 曲上翘; 14 日龄, TL=(7.20±0.54) mm, 尾索上翘 明显,含有1枚侧尾下骨和5枚尾下骨, 侧尾下骨 由脊索最后一枚脉弓特化而成, 尾索下部鳍皱演 变成鳍条, 尾索上部仍为鳍皱(图 3D)。



图 3 鳜仔稚鱼脊柱骨化发育过程

A: 15 日龄, TL=(9.08±0.80) mm; B: 20 日龄, TL=(12.07±0.84) mm; C: 27 日龄, TL=(16.96±1.96) mm; D: 14 日龄, TL=(7.20±0.54) mm; E: 21 日龄, TL=(12.17±1.03) mm; F: 25 日龄, TL=(15.68±1.77) mm; Af: 臀鳍; Cf: 尾鳍; Df: 背鳍;
Dr: 背肋; Ha: 脉弓; Hs: 脉棘; Hy: 尾下骨; Na: 髓弓; Ns: 髓棘; Pp: 椎体横突; TL: 全长; Ur: 尾杆骨; V: 脊柱; Vr: 腹肋. Fig. 3 Ossification development of vertebral column in *Siniperca chuatsi* larvae and juvenile

A: 15 dah, TL=(9.08±0.80) mm; B: 20 dah, TL=(12.07±0.84) mm; C: 27 dah, TL=(16.96±1.96) mm; D: 14 dah, TL=(7.20±0.54) mm; E: 21 dah, TL=(12.17±1.03) mm; F: 25 dah, TL=(15.68±1.77) mm; Af: anal fin; Cf: caudal fin; Df: dorsal fin; Dr: dorsal rib; Ha: haemal arch; Hs: haemal spine; Hy: hypural; Na: neural arch; Ns: neural spine; Pp: parapophysis;

TL: total length; Ur: urostyle; V: vertebra; Vr: ventral rib.

15日龄, TL=(9.08±0.80) mm, 脊柱开始骨化 (图 3A), 先在椎体与髓弓愈合处出现骨化点; 20 日龄, TL=(12.07±0.84) mm, 椎体由前向后骨化, 髓弓、背肋与腹肋从基部向末端骨化(图 3B); 21 日龄, TL=(12.17±1.03) mm, 硬骨化的椎体越来越 多, 椎体横突、脉弓、髓棘开始骨化, 方向与髓弓 一致(图 3E); 25 日龄, TL=(15.68±1.77) mm, 除尾 杆骨外其他椎体均骨化完成, 脉棘开始骨化(图 3F); 27 日龄, TL=(16.96±1.96) mm, 背肋与腹肋 骨化完成(图 3C); 29 日龄, TL=(19.92±2.46) mm, 尾杆骨、髓棘与脉棘骨化完成。髓棘、脉棘分别 由髓弓和脉弓末端延长形成, 它们均由前向后、 基部向末梢骨化, 且骨化时间晚于相应的椎体。

#### 2.3 附肢骨骼的骨化发育

附肢支鳍骨骨化顺序依次为: 胸鳍[16 日龄, TL=

(9.27±0.83) mm], 背鳍[18 日龄, TL=(10.62±0.66) mm], 臀鳍[20 日龄, TL=(12.07±1.03) mm], 腹鳍[23 日龄, TL=(14.62±0.68) mm], 尾鳍[25 日龄, TL=(15.68± 1.77) mm]。

2.3.1 胸鳍 2 日龄, TL=(4.53±0.26) mm, 胸鳍 原基出现, 是鳜最早发育的附肢骨骼。10 日龄, TL= (6.24±0.20) mm, 软骨鳍条出现。16 日龄, TL=(9.27± 0.83) mm, 匙骨先形成细长的硬骨化骨片, 再向 骨骼边缘骨化, 是最早骨化的附肢骨骼(图 4A); 20 日龄, TL=(12.07±0.84) mm, 上匙骨开始骨化, 通 过后颞骨与头部骨骼相连, 同时, 后匙骨从基部 向末端骨化(图 4B)。25 日龄, TL=(15.68±1.77) mm, 鳍条由内侧向外侧、基部向末端骨化, 乌喙骨与 肩胛骨从中部向两端骨化(图 4C)。26 日龄, TL= (15.86±1.76) mm, 匙骨、上匙骨与后匙骨骨化完



图 4 鳜仔稚鱼胸鳍骨化发育过程

A: 16 日龄, TL=(9.27±0.83) mm; B: 20 日龄, TL=(12.07±0.84) mm; C: 25 日龄, TL=(15.68±1.77) mm; D: 26 日龄, TL=(15.86±1.76) mm; E: 29 日龄, TL=(19.92±2.46) mm; F: 35 日龄, TL=(38.58±3.27) mm; Cl: 匙骨; Cor: 乌喙骨; Fp: 支鳍骨; Fr: 鳍条; Pcl: 后匙骨; Pt: 后颞骨; Sc: 肩胛骨; Scl: 上匙骨; TL: 全长.

Fig. 4 Ossification development of pectoral fin in *Siniperca chuatsi* larvae and juvenile

A: 16 dah, TL=(9.27±0.83) mm; B: 20 dah, TL=(12.07±0.84) mm; C: 25 dah, TL=(15.68±1.77) mm; D: 26 dah, TL=(15.86±1.76) mm; E: 29 dah, TL=(19.92±2.46) mm; F: 35 dah, TL=(38.58±3.27) mm; Cl: cleithrum; Cor: coracoid; Fp: fin plate; Fr: fin ray; Pcl: postcleithrum; Pt: posttemporal; Sc: scapula; Scl: supracleithrum; TL: total length.

成(图 4D)。29 日龄, TL=(19.92±2.46) mm, 支鳍骨 由背部向腹部骨化, 骨化鳍条数增多(图 4E)。35 日龄, TL=(38.58±3.27) mm, 胸鳍基本骨化完成 (图 4F)。

**2.3.2 背鳍和臀鳍** 背鳍具有 12 枚鳍棘, 16 枚鳍 条,除第1枚鳍棘外,其他均为由前向后骨化。11 日龄, TL=(6.69±0.48) mm, 背鳍皱演变为软骨鳍 棘。18日龄, TL=(10.62±0.66) mm, 背鳍棘从基部 向末梢骨化, 且第 1 枚鳍棘骨化时间晚于其后 4 枚鳍棘(图 5A)。22 日龄, TL=(13.34±0.78) mm, 第 2、3、4、5 枚鳍棘支鳍骨开始骨化, 方向与鳍棘 相同(图 5B)。25 日龄, TL=(15.68±1.77) mm, 鳍棘 骨化完成,骨化支鳍骨数增至10枚,前2枚支鳍 骨愈合为一枚,支撑 2 根鳍条,且支鳍骨与髓棘 成嵌插式排列; 担鳍骨由前向后、中心向边缘骨 化至第8枚(图5C)。27日龄, TL=(16.96±1.96) mm, 骨化鳍条数增至 5 枚, 支鳍骨 12 枚, 担鳍骨 11 枚(图 5D)。29 日龄, TL=(19.92±2.46) mm, 骨化鳍 条数增至10枚, 支鳍骨14枚(图5E)。背鳍骨化顺 序依次是鳍棘和鳍条、支鳍骨、担鳍骨。35日龄, TL=(38.58±3.27) mm, 背鳍基本骨化完成(图 5F)。

臀鳍具有 3 枚鳍棘, 10 枚鳍条。11 日龄, TL= (6.69±0.48) mm, 臀鳍皱发育为软骨鳍条。20 日龄, TL=(12.07±0.84) mm, 第 2 枚鳍棘最先开始骨化 (图 6A); 21 日龄, TL=(12.17±1.03) mm, 第 2 枚鳍 棘骨化完成, 第 1、3 枚鳍棘从基部向末梢骨化, 第 1、2 枚支鳍骨开始骨化, 方向与鳍棘一致(图 6B)。25 日龄, TL=(15.68±1.77) mm, 3 枚鳍棘骨化 完成, 前 2 枚支鳍骨愈合, 向内伸至第 1 尾椎, 支 持 2 根鳍条, 鳍条开始由前向后、基部向末梢骨 化, 支鳍骨和担鳍骨骨化时间晚于其支持的鳍条 (图 6C); 29 日龄, TL=(19.92±2.46) mm, 各部位骨 骼骨化数目增多, 鳍条增至 8 枚, 支鳍骨 6 枚, 担 鳍骨 3 枚(图 6D)。35 日龄, TL=(38.58±3.27) mm, 臀鳍骨化完成(图 6E)。

2.3.3 腹鳍 腹鳍具1枚鳍棘,5枚鳍条,鳍条末端分叉。23 日龄,TL=(14.62±0.68) mm,腹鳍骨骼中部出现骨化点(图 7A);25 日龄,TL=(15.68±1.77) mm,腹鳍支鳍骨从骨化点向靠近头部方向骨化,鳍棘与鳍条从基部向末梢,外侧向内侧骨



图 5 鳜仔稚鱼背鳍骨化发育过程

A: 18 日龄, TL=(10.62±0.66) mm; B: 22 日龄, TL=(13.34±0.78) mm; C: 25 日龄, TL=(15.68±1.77) mm; D: 27 日龄, TL= (16.96±1.96) mm; E: 29 日龄, TL=(19.92±2.46) mm; F: 35 日龄, TL=(38.58±3.27) mm; Fp: 支鳍骨;

Fr: 鳍条; Na: 髓弓; Ns: 髓棘; Pte: 担鳍骨; Sp: 鳍棘; TL: 全长.

Fig. 5 Ossification development of dorsal fin in *Siniperca chuatsi* larvae and juvenile
A: 18 dah, TL=(10.62±0.66) mm; B: 22 dah, TL=(13.34±0.78) mm; C: 25 dah, TL=(15.68±1.77) mm; D: 27 dah, TL=(16.96±1.96) mm; E: 29 dah, TL=(19.92±2.46) mm; F: 35 dah, TL=(38.58±3.27) mm; Fp: fin plate; Fr: fin ray; Na: neural arch; Ns: neural spine; Pte: pterygiophore; Sp: spinous process; TL: total length.





A: 20 日龄, TL=(12.07±0.84) mm; B: 21 日龄, TL=(12.17±1.03) mm; C: 25 日龄, TL=(15.68±1.77) mm; D: 29 日龄, TL=(19.92±2.46) mm; E: 35 日龄, TL=(38.58±3.27) mm; Fr: 鳍条; Fp: 支鳍骨; Pte: 担鳍骨; Sp: 鳍棘; TL: 全长.

Fig. 6 Ossification development of anal fin in Siniperca chuatsi larvae and juvenile

A: 20 dah, TL=(12.07±0.84) mm; B: 21 dah, TL=(12.17±1.03) mm; C: 25 dah, TL=(15.68±1.77) mm; D: 29 dah, TL=(19.92± 2.46) mm; E: 35 dah, TL=(38.58±3.27) mm; Fp: fin plate; Fr: fin ray; Pte: pterygiophore; Sp: spinous process; TL: total length.

化。外侧翼、内侧背开始骨化,1枚鳍棘骨化完成, 骨化鳍条数随日龄的增长而增多(图7B);28日龄, TL=(17.36±1.79)mm,骨化鳍条数增至5根,外侧 翼、内侧背骨化完成(图7C);29日龄,TL=(19.92± 2.46)mm,前突和后突骨化。35日龄,TL=(38.58± 3.27)mm,腹鳍骨化完成,支鳍骨向匙骨延伸

#### (图 7D)。

2.3.4 尾鳍 尾鳍具有 32 枚鳍条,末端分叉。11 日龄,TL=(6.69±0.48) mm,尾下骨出现,14 日龄, TL=(7.20±0.54) mm,软骨鳍条出现;23 日龄,TL= (14.62±0.68) mm,软骨发育完成,但未硬骨化(图 8A);25 日龄,TL=(15.68±1.77) mm,尾杆骨由前



#### 图 7 鳜仔稚鱼腹鳍骨化发育过程

A: 23 日龄, TL=(14.62±0.68) mm; B: 25 日龄, TL=(15.68±1.77) mm; C: 28 日龄, TL=(17.36±1.79) mm; D: 35 日龄, TL=(38.58±3.27) mm; Dw: 背侧翼; Fp: 支鳍骨; Fr: 鳍条; Iw: 内侧背; Sp: 鳍棘; TL: 全长.

Fig. 7 Ossification development of pelvic fin in *Siniperca chuatsi* larvae and juvenile A: 23 dah, TL=(14.62±0.68) mm; B: 25 dah, TL=(15.68±1.77) mm; C: 28 dah, TL=(17.36±1.79) mm; D: 35 dah, TL= (38.58±3.27) mm; Dw: dorsal wing; Fp: fin plate; Fr: fin ray; Iw: internal wing; Sp: spinous process; TL: total length.



图 8 鱖仔稚鱼尾鳍骨化发育过程 A: 23 日龄, TL=(14.62±0.68) mm; B: 25 日龄, TL=(15.68±1.77) mm; C: 29 日龄, TL=(19.92±2.46) mm; D: 35 日龄, TL=(38.58± 3.27) mm; Ep: 尾上骨; Fr: 鳍条; Ha: 脉弓; Hs: 脉棘; Hy: 尾下骨; Mhs: 愈合型脉棘; Mns: 愈合型髓棘; Na: 髓弓; Ns: 髓棘; Ph: 侧尾下骨; Pu: 前尾椎骨; TL: 全长; Ur: 尾杆骨; Urn: 尾神经棘; V: 脊柱. Fig. 8 Ossification development of caudal fin in *Siniperca chuatsi* larvae and juvenile A: 23 dah, TL=(14.62±0.68) mm; B: 25 dah, TL=(15.68±1.77) mm; C: 29 dah, TL=(19.92±2.46) mm; D: 35 dah, TL=(38.58±3.27) mm; Ep: epural; Fr: fin ray; Ha: haemal arch; Hs: haemal spine; Hy: hypural; Mhs: modified haemal spine; Mns: modified neural spine; Na: neural arch; Ns: neural spine; Ph: parhypural; Pu: preural vertebrae;

TL: total length; Ur: urostyle; Urn: uroneural; V: vertebra.

向后骨化,4枚尾下骨、1枚侧尾下骨和愈合型脉 棘由基部向末端骨化,且第1枚尾下骨快于其他 4枚尾骨,同时,鳍条由基部向末梢、中间向两边 骨化,尾神经骨骨化(图8B);26日龄,TL=(15.86± 1.76)mm,骨化鳍条数增至18枚,最后一枚尾下 骨开始骨化。29日龄,TL=(19.92±2.46)mm,骨化 鳍条数增至22枚,愈合型髓棘从基部向末梢骨化, 尾杆骨与尾神经骨骨化完成(图8C)。前尾椎骨 (PU2、PU3)的脉弓和脉棘、髓弓和髓棘特化参与 尾鳍支鳍骨形成。35日龄,TL=(38.58±3.27)mm, 尾鳍(包括3枚尾上骨)骨化完成(图8D)。

### 3 讨论

#### 3.1 鳜骨骼系统发育的功能适应性

鱼类骨骼发育过程与其形态结构、生态适应 和功能需求密切相关<sup>[18-20]</sup>。本研究表明, 鳜出膜 后骨骼开始发育,2日龄,口未张开,依靠内源性 营养,具有胸鳍原基,可前后摆动,能做间歇式 的向上垂直游动<sup>[13]</sup>。4 日龄, 口张开, 颌齿出现, 具备摄食能力, 但运动能力较弱, 一般咬住饵料 鱼尾部<sup>[14]</sup>,卵黄囊尚未完全消失,处于混合营养 阶段; 颌齿数量与密度随着日龄增长迅速增加, 且向口腔内倾斜, 增加了摄食的有效性<sup>[21-23]</sup>, 同 时,胸鳍鳍皱与躯干协调,使鳜仔鱼能够水平运 动,并能够完成简单的转向和前冲动作<sup>[14]</sup>。13日 龄,尾索上翘,尾下骨与侧尾下骨出现,仔鱼游 泳能力增强, 主要靠尾部波动提供动力, 各附肢 骨骼进一步发育,协调运动,仔鱼在捕食时,吻 端对准饵料鱼头部,加速前冲咬住饵料鱼头部<sup>[14]</sup>。 随着附肢骨骼、捕食相关骨骼发育完善, 仔鱼由 前期间歇式的向上垂直游动转变为水平游动,摄 食方式也由前期咬住饵料鱼尾部到后期能够从饵

料鱼头部将其吞入。

14 日龄, 鳜头骨前鳃盖骨最先骨化, 紧接着 上下颌骨、脊柱和胸鳍匙骨开始骨化, 这些骨化 发育特征与其摄食、运动及御敌密切相关。前鳃 盖骨中间棘最早骨化, 背鳍棘于 18 日龄骨化, 两 者骨化时间较早是由于其开口摄食时就以其他活 仔鱼为食<sup>[24]</sup>, 鳃盖棘与背鳍棘的硬化在早期发育 中具重要的防御作用<sup>[20]</sup>, 以浮游动物开口为食的 鱼类则无此特征<sup>[25]</sup>。17 日龄, 关节骨与舌颌骨开 始骨化, 关节骨骨化发育和下颌齿骨长度增加使 得口裂增大, 能选择的饵料大小增加和种类增多<sup>[26]</sup>; 舌颌骨是连接咽颅与脑颅的骨骼, 能够协调上下 颌张合、吞咽食物。

附肢是鱼体游泳运动重要的协调器官。背鳍 于18日龄开始骨化,臀鳍于20日龄开始骨化,同 时胸鳍也进一步骨化,这使得仔鱼能够跟踪识别 饵料鱼,且能在固定位置悬吊或平停<sup>[14]</sup>。25日龄, 腹鳍骨化,同时尾鳍快速骨化;29日龄,除3枚尾 上骨与部分鳍条外,其他部分已基本骨化完成。 此时,仔鱼游泳能力增强,能在水上层倒立悬 游<sup>[14]</sup>。35日龄全部骨化完成。此时,稚鱼活动更 加灵活多变,能够伏击或跟踪饵料鱼,遇到敌害 后逃避藏匿<sup>[14]</sup>。

熊玉宇<sup>[14]</sup>以腹鳍形成作为仔稚鱼的划分标准, 认为鳜腹鳍于孵化后15天形成,开始进入稚鱼期; 吴雪峰等<sup>[27]</sup>以胃腺出现作为仔稚鱼划分的标志, 认为鳜胃腺孵化后13天基本发育完全。本研究发 现,鳜内骨骼在孵化后15日龄刚开始骨化,腹鳍 尚未骨化,且为上位口,与成鱼的形态特征仍有 较大区别,从骨骼发育的角度看,认为30日龄进 入稚鱼期。

#### 3.2 鳜仔稚鱼骨骼系统的骨化发育特征

> 鱖上颌由上颌骨与前颌骨组成,下颌由齿骨 组成,上下颌相对长度在骨化过程中存在一个转 变过程,即上颌长于下颌、上下颌等长、下颌长 于上颌,并且前颌骨、下颌齿骨在形态发育上存 在细微变化。在齐氏田中鳑鲏(*Tanakia chii*)和革 条田中鳑鲏(*Tanakia himantegus*)早期发育过程中 也观察到类似的变化,即前期上颌略大于下颌, 后期上下颌大小相近<sup>[28]</sup>。鱼类摄食器官的发育与 摄食行为之间有直接联系<sup>[10]</sup>,鳜下颌延长不仅扩 大了口裂大小,下颌骨快速骨化也为其成功捕食 提供了有利条件;同时,由早期主要采用追赶的 捕食方式,转变成伏击捕食方式,口位上移,有 利于从水下层伏击水上层的饵料鱼<sup>[14]</sup>。

在头骨、脊柱和附肢骨骼骨化过程中,不同 部位骨骼的骨化顺序也不相同。鳜脊柱从头部开始 向尾部方向依次进行骨化,这与日本鬼鲉(Inimicus japonicus)<sup>[11]</sup>、大黄鱼(Larimichthys crocea)<sup>[9]</sup>等脊 柱骨化方向一致, 而刀鲚(Coilia nasus)<sup>[29]</sup>脊柱骨 化以体前中部位置为起点向前、后两端发育,美 洲鲥(Alosa sapidissima)<sup>[30]</sup>脊柱骨化则由头尾两端 向中间靠拢。鳜背肋、腹肋、髓弓与髓棘、脉弓 与脉棘都是由基部向末端骨化, 而刀鲚髓弓与髓 棘、脉弓与脉棘是从中间向基部与末梢骨化<sup>[29,31]</sup>。 头骨骨化最为复杂,上下颌骨由中央部分向边缘 骨化; 主鳃盖骨上缘短钝棘最先骨化, 随后其他 部分骨化;关节骨则是从与隅骨连接处开始向前 骨化。背鳍与臀鳍骨化方式一致,均是由前向后, 基部向末梢骨化, 第2 鳍棘骨化时间早于第1 鳍 棘,这与田文斐<sup>[10]</sup>研究结果不同;腹鳍由外侧向 内侧骨化, 而胸鳍的骨化方式与之相反。

#### 参考文献:

- [1] Li Xia. Histology and Embryology of Aquatic Animals[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2005: 40-50. [李霞. 水产动物组织胚胎学[M]. 北京:中国农业出版社, 2005: 40-50.]
- [2] Kulesa P M, Gammill L S. Neural crest migration: patterns, phases and signals[J]. Developmental Biology, 2010, 344(2): 566-568.
- [3] Minoux M, Rijli F M. Molecular mechanisms of cranial neural crest cell migration and patterning in craniofacial development[J]. Development, 2010, 137(16): 2605-2621.
- [4] Risau W. Mechanisms of angiogenesis[J]. Nature, 1997, 386(6626): 671-674.
- [5] Evans D J, Noden D M. Spatial relations between avian craniofacial neural crest and paraxial mesoderm cells[J]. Developmental Dynamics, 2006, 235(5): 1310-1325.
- [6] Karsenty G, Wagner E F. Reaching a genetic and molecular understanding of skeletal development[J]. Developmental Cell, 2002, 2(4): 389-406.
- [7] Kendall A W, Ahlstrom E H, Moser H G. Early Life History Stages of Fishes and Their Characters[M]. Lawrence: Allen

Press, 1984.

- [8] Boglione C, Marino G, Bertolini B, et al. Larval and postlarval monitoring in sea bass: morphological approach to evaluate finfish seed quality[J]. EAS Special Publication, 1993, 18: 189-204.
- [9] Wang Q R, Ni Y Y, Lin L M, et al. Development of the vertebral column and the pectoral and caudal fins in larvae of the large yellow croaker *Larimichthys crocea* (Richardson)
  [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2010, 34(3): 467-472. [王秋 荣, 倪玥莹, 林利民, 等. 大黄鱼仔稚鱼脊柱、胸鳍及尾鳍 骨骼系统的发育观察[J]. 水生生物学报, 2010, 34(3): 467-472.]
- [10] Tian W F. Study on the development of skeleton and feeding apparatus and their adaption to feeding in *Siniperca chuatsi* (Perciformes: Sinipercinae)[D]. Shanghai : Shanghai Ocean University, 2012: 1-22. [田文斐. 鳜鱼骨骼早期发育以及 主要摄食器官发育与摄食行为的适应性研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2012: 1-22.]
- [11] Cui G Q, Chen A Q, Lv W Q. Early development of the vertebral column and the appendicular skeleton in the *Inimicus japonicus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(2): 230-238. [崔国强,陈阿琴, 吕为群. 日本鬼鲉脊柱 和附肢骨骼的早期发育[J]. 水产学报, 2013, 37(2): 230-238.]
- [12] Luo X C, Xu T X, Wu Z X, et al. Observation on the development of embryo and juvenile of *Siniperca chuatsi*[J]. Fisheries Science & Technology Information, 1992, 19(6): 165-168. [罗仙池, 徐田祥, 吴振兴, 等. 鳜鱼的胚胎、仔 稚鱼发育观察[J]. 水产科技情报, 1992, 19(6): 165-168.]
- [13] Cao W X. Early Resources of Fishes in the Yangtze River[M]. Beijing: China Water & Power Press, 2007: 226-229. [曹文宣. 长江鱼类早期资源[M]. 北京: 中国水 利水电出版社, 2007: 226-229.]
- [14] Xiong Y Y. The development of foraging behavior in Chinese perch, *Siniperca chuatsi*[D]. Beijing: University of Chinese Academy of Sciences, 2012: 19-71. [熊玉宇. 鳜摄 食行为发育[D]. 北京: 中国科学院大学, 2012: 19-71.]
- [15] Dingerkus G, Uhler L D. Enzyme clearing of alcian blue stained whole small vertebrates for demonstration of cartilage[J]. Stain Technology, 1977, 52: 229-232.
- [16] Meng Q W. Comparative Anatomy of Fishes[M]. Beijing:
   Science Press, 1987: 57-118. [孟庆闻. 鱼类比较解剖[M].
   北京:科学出版社, 1987: 57-118.]
- [17] Harder W. Anatomy of Fishes, Unit 1[M]. Schweizerbart: University of Michigan Press, 1975: 31-91.
- [18] Zhao J, Chen X L. Development of the skull of *Megalo-brama skolkovii* and its adaptive significant[J]. Zoological

Research, 1995, 16(4): 307-314. [赵俊, 陈湘粦. 鲂鱼的头 骨发育及其适应意义[J]. 动物学研究, 1995, 16(4): 307-314.]

- [19] Kohno H, Taki Y, Ogasawara Y, et al. Development of swimming and feeding functions in larval *Pagrus major*[J]. Japanese Journal of Ichthyology, 1983, 30(1): 47-60.
- [20] Mabee P M, Crotwell P L, Bird N C, et al. Evolution of median fin modules in the axial skeleton of fishes[J]. Journal of Experimental Zoology, 2010, 294(2): 77-90.
- [21] Tang Y P, Fan E Y. A study on the development of digestive organs and feeding habit of *Siniperca chuatsi* (Basilewsky)[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1993, 17(4): 329-336. [唐宇平, 樊恩源. 鱖鱼消化器官的发育和食性 的研究[J]. 水生生物学报, 1993, 17(4): 329-336.]
- [22] Zhang F Y, Hu W. Histological observation of digestive organ tissue of *Siniperca chuatsi*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1998, 22(4): 380-382. [张甫英, 胡炜. 鳜消化器官 的组织学观察[J]. 水生生物学报, 1998, 22(4): 380-382.]
- [23] Zhou C J, Pu D Y, Zhao H P, et al. Observation of early life habits of *Siniperca kneri* Garman[J]. Freshwater Fisheries, 2006, 36(3): 44-46. [周传江, 蒲德永, 赵海鹏, 等. 大眼鳜 早期生活习性的观察[J]. 淡水渔业, 2006, 36(3): 44-46.]
- [24] Jiang Y G. Biology of Siniperca chuatsi in Liangzi Lake[J].
  Acta Hydrobiologica Sinica, 1959, 5(3): 375-384. [蒋一珪.
  梁子湖鳜鱼的生物学[J]. 水生生物学报, 1959, 5(3): 375-384.]
- [25] Doi T, Aoyama S, Kinoshita I. Ontogeny of the mandarinfish Siniperca chuatsi (Perciformes: Sinipercidae) reared in aquarium[J]. Ichthyological Research, 2004, 51(4): 337-342.
- [26] Yang D Q, Chen F, Fang C Y, et al. Feeding habits and growth characteristics of *Siniperca chuatsi* in Yangqi Lake[J]. Reservoir Fisheries, 1999, 19(3): 11-12, 24. [杨代 勤,陈芳,方长琰,等. 洋圻湖鳜鱼的食性及生长特性[J]. 水利渔业, 1999, 19(3): 11-12, 24.]
- [27] Wu X F, Zhao J L, Qian Y Z, et al. Histological study of the digestive system organogenesis for the mandarin fish, *Siniperca chuatsi*[J]. Zoological Research, 2007, 28(5): 511-518. [吴雪峰,赵金良,钱叶洲,等. 鳜消化系统器官发生的组织学[J]. 动物学研究, 2007, 28(5): 511-518.]
- [28] Wang M X. A comparative study on the development of early life stage and appendicular skeleton about *Tanakia chii* and *Tanakia himantegus*[D]. Shanghai: Shanghai Ocean University, 2014: 7-16. [王明星. 齐氏田中鳑鲏与革条田 中鳑鲏早期发育和附肢骨骼发育的比较研究[D]. 上海: 上海海洋大学, 2014: 7-16.]
- [29] Chen Y G, Xia D, Zhong J S, et al. Development of the vertebral column and the appendicular skeleton in the larvae

andjuveniles of *Coilia nasus*[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2011, 20(2): 217-223. [陈渊戈, 夏冬, 钟俊生, 等. 刀鲚仔稚鱼脊柱和附肢骨骼发育[J]. 上海海洋大学学 报, 2011, 20(2): 217-223.]

[30] Deng P P, Shi Y H, Xu J B, et al. Early development of the vertebral column and appendicular skeleton of *Alosa sapi-dissima*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2017, 24(1): 73-81. [邓平平, 施永海, 徐嘉波, 等. 美洲鲥仔稚鱼脊柱

及附肢骨骼系统的早期发育[J]. 中国水产科学, 2017, 24(1): 73-81.]

[31] Zhang Z F, Shi Y H, Zhang G Y, et al. Early development of the vertebral column and the appendicular skeleton in the *Coilia nasus*[J]. Fisheries Science & Technology Information, 2015, 42(4): 175-178. [张宗锋, 施永海, 张根玉, 等. 刀鲚脊柱及附肢骨骼早期发育研究[J]. 水产科技情报, 2015, 42(4): 175-178.]

# Early ossification of the skeletal system in larval and juvenile Siniperca chuatsi

CAO Xiaoying<sup>1, 2, 3</sup>, ZHAO Jinliang<sup>1, 2, 3</sup>, CHEN Xiaowu<sup>1, 2, 3</sup>, ZHOU Haotian<sup>1, 2, 3</sup>, HAO Yueyue<sup>1, 2, 3</sup>, ZHAO Yan<sup>1, 2, 3</sup>

- 1. Key Laboratory of Freshwater Aquatic Genetic Resources, Ministry of Agriculture and Rural Affairs; Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
- Shanghai Collaborative Innovation for Aquatic Animal Genetics and Breeding, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;
- 3. National Demonstration Center for Experimental Fisheries Science Education, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China

Abstract: Siniperca chuatsi is a freshwater fish with high economic value and is endemic to East Asia. Some studies have shown that mandarin fish exhibit different movement modes, feeding behavior, and nutritional demands during the larvae and juvenile stages. In this study, the morphological ossification characteristics of the skulls, vertebrae, and appendages of S. chuatsi larvae [1-35 days post hatching (dph)] were described using a cartilage bone clearing and staining technique to provide information on the larval and juvenile organ structure development and functional adaption. The results showed that the preopercle of the skull began ossification at 14 dph. The upper and mandibular structure, which showed a relative length change, was ossified at 15 dph. At 17 dph, the jaw teeth, articular, and hyomandibular began to ossify, while the interopercle, angular, opercle, branchiostegal ray, and frontal structures were ossified at 19 dph. At 20 dph, the quadrate, subopercle, and supplementary maxilla were ossified; most of the skull was completely ossified by 35 dph. Ossification of the vertebrae began at 15 dph from the anterior to the posterior and was completely ossified by 29 dph. The dorsal rib and ventral rib began to ossify from the base to the outside at 20 dph. The haemal arch, haemal spine, neural arch, and neural spine from the front to back and the base to the distal end were ossified. Ossification of the haemal spine and neural spine occurred later than that of the corresponding vertebrae. The ossification order of the appendages was from the pectoral fin to the dorsal fin, anal fin, pelvic fin, and caudal fin. The cleithrum of the pectoral fin was ossified at 16 dph, while the coracoid and scapula were ossified at 25 dph. The dorsal fin and anal fin were ossified at 18 and 20 dph, respectively. The pelvic fins were ossified from the middle to both ends at 23 dph and the ossification pattern was opposite to that of the pectoral fin. The urostyle and hypural of the caudal fin began to ossify at 25 dph. The appendicular skeleton was fully ossified at 35 dph. The results showed that the early skull ossification of S. chuatsi larvae and juveniles is closely related to their feeding and defense behavior, while ossification of the vertebrae and appendages are closely related to their movement and avoidance of the enemy.

Key words: *Siniperca chuatsi*; larvae and juvenile; skull; vertebrae; appendicular skeleton; ossification Corresponding author: ZHAO Jinliang. E-mail: jlzhao@shou.edu.cn