

DOI: 10.12264/JFSC2024-0244

秦岭细鳞鲑视觉器官早期发育组织学观察

张林¹, 郭星辰¹, 宋荣群¹, 王桢璐¹, 叶欢², 熊冬梅³, 李志刚⁴, 邵俭¹

1. 贵州大学, 动物科学学院渔业资源与环境保护实验室, 高原山地动物遗传育种与繁殖教育部重点实验室; 特种水产研究所, 贵州 贵阳 550025;
2. 中国水产科学研究院长江水产研究所, 湖北 武汉 430023;
3. 西北农林科技大学动物科技学院, 陕西 杨凌 712100;
4. 宝鸡市水产工作站, 陕西 宝鸡 721000;

摘要: 在长期秦岭细鳞鲑(*Brachymystax tsinlingensis* Li, 1966)人工繁育过程发现其对光敏感且强光易致死, 特别是在早期发育阶段。为解析该现象的生理原因, 提高规模化人工繁育效率, 本研究通过组织学方法对秦岭细鳞鲑视觉器官的发生及视网膜发育特性进行系统观察。结果表明, 秦岭细鳞鲑受精后 177 h (hours post fertilization, HPF), 胚胎进入器官分化期, 视杯已经形成; 213 HPF, 原始视网膜和晶体囊形成, 立方上皮构成角膜; 357 HPF, 晶体囊已经发育为晶状体, 色素细胞层染色加深; 452 HPF, 巩膜出现, 视网膜分化为 4 层(色素上皮层、外核层、内核层和视神经节细胞层); 受精卵经 508 h 破膜为初孵仔鱼, 晶状体分化完全具有与成体相同的构造, 视网膜也已经分化为 8 层, 且可见色素层明显的色素颗粒, 巩膜由弹力纤维和软骨组织构成, 虹膜呈单层环状, 脉络膜出现。5 日龄(days after hatching, DAH)仔鱼出现少量的视锥细胞, 视觉细胞层为纯视锥细胞结构。10 DAH, 视网膜分化为完整 10 层结构, ON/SC 为 1.27>1, 视觉细胞层开始出现少数的视杆细胞, 内核层分化为清晰的 3 层, 具备初始视觉成像系统; 12 DAH 时 ON/G 为 1.07>1, 视网膜网络汇聚程度偏低, 神经节细胞能接受视细胞传递信号; 16 DAH 时视网膜膜适应的色素指数(PI)均值为 0.75, 而暗适应的色素指数(PI)均值显著减少为 0.55 ($P<0.05$); 21 DAH (仔鱼期), 视杆细胞增多, 角膜分化为完整的 5 层结构; 41 DAH (稚鱼期), 虹膜分化完成, 脉络膜完善, 视觉器官各个部位已经发育完全。秦岭细鳞鲑视网膜结构和视觉特性显示其具有较强的光敏感性, 因此, 在秦岭细鳞鲑早期培育过程中适当降低环境光照可减少应激反应, 进而提高驯养成活率。本研究结果可为秦岭细鳞鲑资源增殖与养护利用提供重要参考。

关键词: 秦岭细鳞鲑; 视觉器官; 视网膜; 组织学; 早期发育

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005–8737–(2024)12–1464–10

鱼类在摄食、集群、繁殖和适应新环境等生命活动中, 视觉器官作为主要的感知器官, 具有不可替代的作用^[1-4]。近年来, 国内外研究者对诸多鱼类视觉器官的形态进行了深入探讨, 尤其对鱼类破膜后视觉器官的视网膜结构和视觉特性的研究报道颇为丰富, 斑马鱼(*Danio rerio*)、四指马

鲃(*Eleutheronema tetradactylum*)和达氏鲟(*Acipenser dabryanus*)的视网膜结构均为 10 层典型结构, 明暗适应下半滑舌鲷(*Cynoglossus semilaevis*)、大菱鲈(*Scophthalmus maximus*)和鳊(*Siniperca chuatsi*)的视觉器官发育和视网膜运动均有差异, 珊瑚礁鱼类视觉特性也与环境相适应^[5-11],

收稿日期: 2024-08-12; **修订日期:** 2024-09-18.

基金项目: 国家自然科学基金项目(32002392); 贵州省教育厅青年科技人才成长项目(黔教技[2024]37); 陕西省重点研发计划项目(2018ZDXM-NY-037); 农业农村部淡水生物多样性保护重点实验室开放课题项目(LFBC1109).

作者简介: 张林(1999–), 男, 硕士研究生, 专业方向为渔业资源. E-mail: zhanglin012656@163.com

通信作者: 邵俭, 副教授, 研究方向为渔业资源与环境保护研究. E-mail: shaojian5098@163.com

而关于视觉器官胚胎期发生、分化及视觉特性等资料仍相对匮乏^[12-13]。川陕哲罗鲑(*Hucho bleekeri* kimura)繁殖时提供适宜光环境可减少视觉应激而提高孵化率,大麻哈鱼(*Oncorhynchus keta*)胚胎孵化期觉器官还未发育完善持续光照会延缓发育甚至死亡^[14],因此,对鱼类早期发育阶段的深入研究(视觉器官、视觉特性和相关机能),有助于了解鱼类生态习性和生境偏好,并根据视觉器官不同时期对的发育特点,可优化孵化环境,明确鱼类最佳开口时期,研制苗种培育方案,从而提高受精卵孵化率和仔鱼、稚鱼成活率等^[9,15]。

秦岭细鳞鲑(*Brachymystax tsinlingensis*)隶属于鲑形目(Salmoniformes)、鲑科(Salmonidae)、细鳞鲑属(*Brachymystax*),为我国特有冷水性鱼类。由于秦岭细鳞鲑应激性强、生境条件苛刻、生长缓慢,加之人为过度捕捞等影响,导致秦岭细鳞鲑野生种群数量急剧锐减,种质资源破坏严重,已被列入国家二级保护动物^[16-19]。近年来,有学者先后对秦岭细鳞鲑的早期发育^[20-21]、年龄与生长^[22-23]、遗传与繁殖^[24-25]、行为学^[26]等方面进行了研究。秦岭细鳞鲑人工繁殖技术已经取得初步突破,但人工孵化及苗种培育效率相对其他鲑科鱼类较低,特别是发现早期发育过程见强光易致死以及开口转食受视觉器官发育的影响^[27-28]。因此,本研究利用组织学方法对秦岭细鳞鲑视觉器官的发生发育以及视网膜运动进行研究,旨在揭示秦岭细鳞鲑视觉器官发生结构特征及早期视网膜发育特点,探讨视觉特性生境选择关系,丰富秦岭细鳞鲑早期发育生物学资料,为秦岭细鳞鲑资源增殖和养护利用提供参考。

1 材料与方法

1.1 实验材料

实验材料来自陕西省太白县白云峡秦岭细鳞鲑人工繁育试验基地(陕西省秦岭细鳞鲑原种场),2023年4月28日对亲鱼进行人工催产授精,取同批次优质受精卵置于方形流水孵化框中孵化,开口平游后转至直径为2 m的圆形鱼盆进行培育。实验期间水温范围为9.2~14.2℃,溶解氧为6.8~7.8 mg/L, pH为7.08~7.54,每日定时清理残留饵

料和粪便。5月18日为破膜高峰期(出膜率为90%),当日记为1日龄(days after hatching, DAH);胚胎期取样:参考施德亮^[29]秦岭细鳞鲑早期发育时序和实际观察来确定各个发育时期,并在各发育分别随机取样,每次取样10粒,分为明暗2组(每组5粒)。胚胎后期取样:受精卵孵出后至20 DAH,1 d取样1次,21~41日龄,2 d取样1次,41~56日龄,4~5 d取样1次,60、75、90 DAH再各取样一次,每次随机取样10尾。将同批次样本分为两组(每组5尾)分别进行暗适应和明适应,暗适应在无光条件下直接采样,明适应在光照(3000 lx)下5 h后进行采样,再将明暗适应后的样本分别置于Bouin's液中固定24 h,后于70%乙醇溶液中保存备用,然后带回实验室进行组织切片实验。

1.2 数据测量与方法

1.2.1 视网膜上3种细胞的数量和比值 数量:分别对计数的SC、ON与G3种细胞求取均值^[7,28]。

比值:分别以ON/SC及ON/G表示^[30]。

式中,SC代表视锥细胞;ON代表外核层细胞核;G代表神经节细胞。

1.2.2 视网膜运动反应指数 色素指数(pigment index, PI)^[30]:

$$PI = P/V$$

式中,PI为色素指数;P为色素层厚度,单位为 μm ;V视觉细胞层厚度,单位为 μm 。

1.3 图片拍摄与数据处理

采用光学显微镜(Nikon 80i)进行拍摄图片,使用Photoshop CS6进行图片处理。本实验通过Excel 2016进行数据统计,利用SPSS软件进行多重比较分析,值均采用平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm \text{SD}$)表示,显著差异性用 $P < 0.05$ 表示。

2 结果与分析

2.1 秦岭细鳞鲑胚胎期视觉器官发育观察

受精后时间(hours post fertilization, HPF)177 h时,胚胎进入器官分化期,此时眼囊中线下凹明显形成双层视杯,外层发育成神经细胞层为视杯内层,内层发育成色素细胞层为视杯外层,细胞核排列有序,见图1a。

213 HPF,视杯内外层细胞紧贴,内层细胞排

列紧密有序,核呈椭圆形,视杯外层逐渐变薄,视杯双层弯曲幅度增大,近似圆弧形形成原始视网膜。同时,晶体泡增大形成晶体囊,晶体囊细胞数量逐渐增多,核排列呈放射状,最终落入视杯中。视杯发育成双层,内层为扁平上皮细胞,外层为立方上皮细胞,其中外层细胞待晶体囊完全脱落后,发育为角膜原基,见图 1b。

357 HPF,晶体囊发育为晶状体,晶状体由

大量晶体纤维细胞充斥着和单层立方上皮细胞包裹着。神经节细胞增多,色素细胞染色加深,见图 1c。

452 HPF,细胞色素层出现少量的黑色素颗粒,细胞较大厚度较宽的内核层、染色较深排列紧密的外核层以及着色较浅致密的内网层出现在神经节细胞层和色素层之间,但各层之间界限尚不明显,见图 1d。

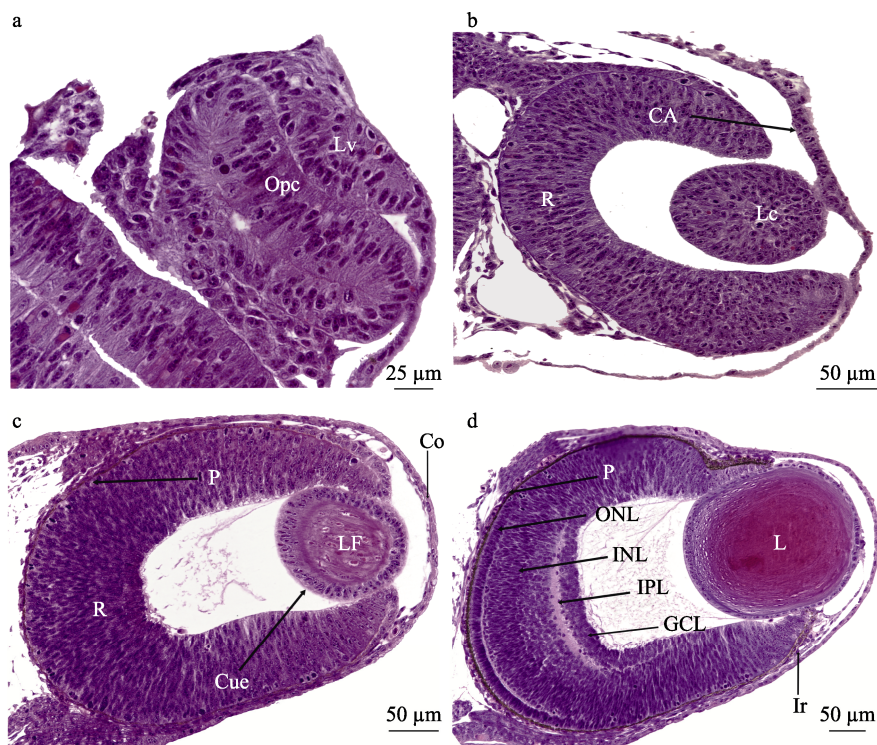


图 1 秦岭细鳞鲑胚胎期视觉器官组织发育

a. 受精后 177 h; b. 受精后 213 h; c. 受精后 357 h; d. 受精后 452 h. CA, 角膜原基; Co, 角膜; Cue, 立方上皮; GCL, 神经节细胞层; L, 晶状体; Lc, 晶体囊; LF, 晶状体纤维; INL, 内核层; IPL, 内网层; Ir, 虹膜; Lv, 晶状泡; Opc, 视杯; ONL, 外核层; P, 色素细胞层; R, 视网膜。

Fig. 1 The histological development of visual organ of *Brachymystax tsinlingensis* at the embryonic stage
a. 177 hours post fertilization; b. 213 hours post fertilization; c. 357 hours post fertilization, d. 452 hours post fertilization.
CA, cornea anlage; Co, cornea; Cue, cubical epithelium; GCL, ganglion cell layer; Lc, lens capsule; LF, lens fiber; INL, inner nuclear layer; IPL, inner plexiform layer; Ir, iris; L, lens; Lv, lens vesicle; Opc, optic cup; ONL, outer nuclear layer; P, pigment; R, retina.

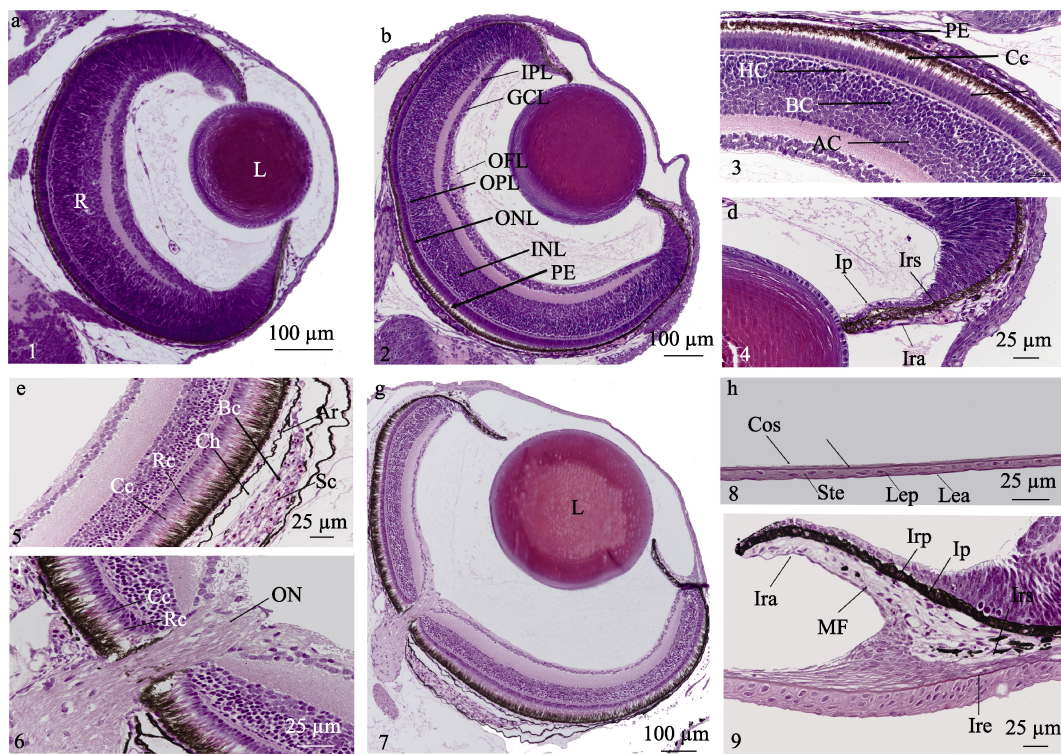
2.2 秦岭细鳞鲑胚胎后期视觉器官发育观察

秦岭细鳞鲑受精卵在 9.1~11.0 °C 条件下,经 508 h 后破膜为初孵仔鱼,记为 1 日龄仔鱼。

1 DAH 仔鱼视网膜分化出 8 层,分别是:色素上皮层、外界膜、外核层、外网层、内网层、内核层、神经节细胞层、神经纤维层,脉络膜由

一层疏松的间充质组织构成出现在视网膜色素层与巩膜之间,紧贴着巩膜内侧,为视网膜提供营养,见图 2a。

2 DAH 虹膜由脉络膜向晶状体和角膜之间延伸形成 1 层环形薄膜,膜内含有少量色素细胞,虹膜与晶状体和角膜之间的腔隙分别称为后房和



2.3.1 视网膜上 3 种细胞的数量和比值 随着秦岭细鳞鲑生长发育, 视锥细胞的分布数量总体呈下降趋势(图 3), 当 8 DAH 时为 23 ind/100 μm , 90

DAH 时为 10 ind/100 μm , 8 DAH 到 16 DAH 阶段下降幅度较大, 而 25 DAH 到 90 DAH 时, 下降幅度趋于平缓且细胞分布数量维持在较低范围(13.6~10.2 ind/100 μm); 外核层细胞核数量变化呈上升趋势, 8 DAH 到 13 DAH 分布数量由 23.6 ind/100 μm 迅速上升到 41.8 ind/100 μm , 发

育到 51 DAH 后, 外核层细胞核数量维持在较高水平(57.4~60.6 个/100 μm); 神经节细胞的数量变化呈下降趋势, 由 8 DAH 的 41.8 ind/100 μm 降至 90 DAH 的 11.8 ind/100 μm , 在 51 DAH 后分布数量接近于视锥细胞的分布数量且维持在较低的水平(12.2~11.6 ind/100 μm)。

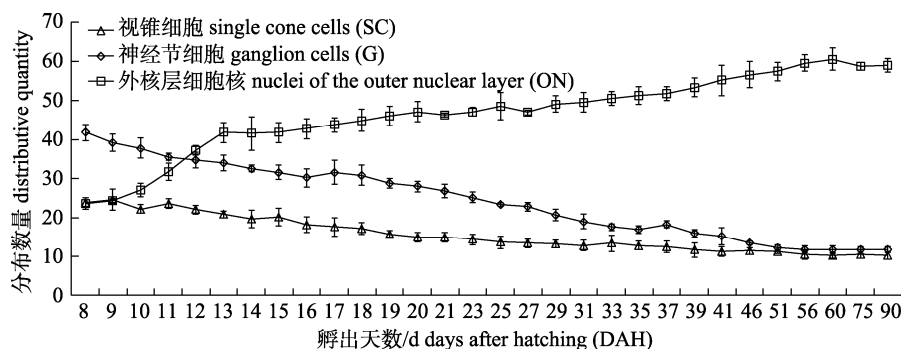


图 3 秦岭细鳞鲑视网膜上 100 μm 长度中视锥细胞(SC)、神经节细胞(G)和外核层细胞核(ON)的分布数量

Fig. 3 The distributive quantity of single cone cells (SC), ganglion cells (G) and nuclei of the outer nuclear layer (ON) per 100 μm unit length in the retina of *Brachymystax tsinlingensis*

2.3.2 秦岭细鳞鲑视网膜外核层细胞核(ON)与视锥(SC)和神经节(G)的数量比 外核层细胞核与神经节细胞数量比(ON/G)、外核层细胞核与视锥细胞数量比(ON/SC)均随秦岭细鳞鲑的生长发育呈现相似的递增趋势。见图 4 10 DAH 时 ON/SC 为 1.27>1, 此时视觉细胞层已经出现少量的视杆细胞, 但仍以视锥细胞为主; 从 33 d 时 ON/SC 为 3.83, 视觉细胞层出现大量视杆细胞。12 DAH 时 ON/G 为 1.07>1, 此时外核层细胞核数量与神经节细胞相当, 神经节细胞恰好能够接受视觉细胞传来的信号, 12 DAH 后随着秦岭细鳞鲑不断的发

育, 视网膜网络结构的信息传递通道汇聚程度也逐渐增强(图 4)。

2.3.3 视网膜运动反应指数 随着生长发育, 秦岭细鳞鲑在明暗适应后视网膜的色素指数变化差异较大(图 5)。9 DAH 时, 仔鱼明适应和暗适应后色素指数接近, 此时视网膜运动不明显, 11 DAH 后仔鱼开始出现视网膜运动反应明显; 16 DAH 时, 视网膜上的色素颗粒产生了明显的位移, 明适应的色素指数(PI)均值为 0.75, 而暗适应显著减少为 0.55; 51 DAH 时, 色素指数(PI)均值由明适应的 0.88 降为暗适应的 0.45, 视网膜运动反应愈加显著(图 5)。

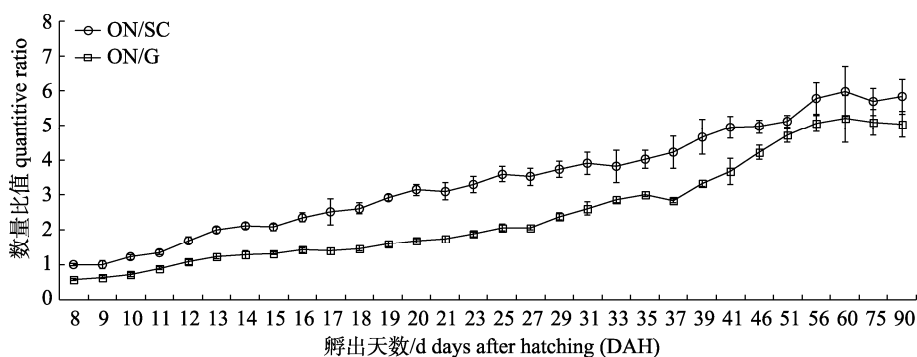


图 4 秦岭细鳞鲑视网膜外核层细胞核(ON)与视锥细胞(SC)和神经节细胞(G)的数量比

Fig. 4 The quantitative ratio of nuclei of the outer nuclear layer (ON) to single cone cells (SC) and to ganglion cells (G) in the retina of *Brachymystax tsinlingensis*

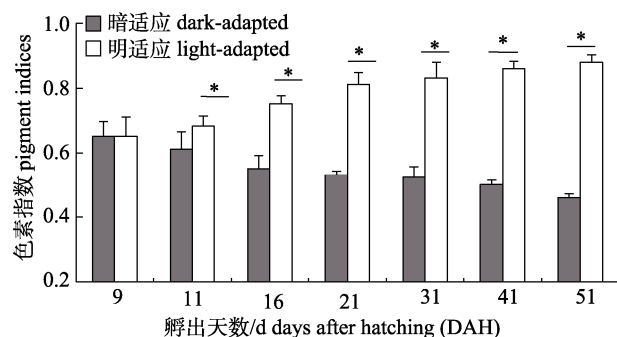


图 5 秦岭细鳞鲑视网膜明、暗适应条件下色素指数的变化

*代表明、暗适应组间色素指数差异显著($P < 0.05$)

Fig 5 Changes in pigment indices of the retina under light and dark-adapted conditions in *Brachymystax tsinlingensis*

* indicates significant difference between pigment indices of retina under light and dark-adapted conditions are significantly different ($P < 0.05$)

3 讨论

3.1 秦岭细鳞鲑视觉器官的发育

秦岭细鳞鲑感官中视觉器官是最早发生的,主要经历了眼原基外突与内陷、角膜和晶状体的形成、视网膜的分化发育等过程,早在原肠晚期既已出现视杯,为对称的囊状突起,这与大多数鱼类的视觉器官发育特点一致^[29-37]。213 HPF,视杯内外层细胞紧贴形成圆弧形原始视网膜,晶体囊落入视杯内;452 HPF,视网膜已经分化出外核层、内核层、神经节细胞层以及色素层4层细胞层,色素层含有少量的黑色素颗粒,但各细胞层界限不明显。秦岭细鳞鲑卵黄囊较大且胚胎发育速度较慢,历经508 h孵化破膜,初孵仔鱼晶状体分化完全具有与成体相似的构造,视网膜也已经分化为8层,且可见色素层明显的色素颗粒,视觉器官发育相对比较完善。5 DAH,出现少量的视锥细胞,视觉细胞层为纯视锥细胞结构,而发现虹鳟(*Oncorhynchus mykiss*)、大麻哈鱼初孵化时就已经出现少量视杆细胞^[5,29-32],内核层分化出水平细胞、双极细胞和无长突细胞。10 DAH,视网膜分化基本完成,具有典型的10层结构,色素层含有较多的黑色素颗粒,视觉细胞层开始出现少数的视杆细胞,已具备初始视觉成像系统,为其开口摄食提供视觉基础。21 DAH,视杆细胞增多,角膜分化为完整的5层结构,视觉器官屈

光能力增强,仔鱼对外界刺激敏感。41 DAH,虹膜和脉络膜分化发育完善,对外界物象具有适应调节能力能识别的更加清晰。

3.2 秦岭细鳞鲑视网膜发育的结构及特征

视网膜是视觉器官中不可或缺的结构,在视觉成像中具有决定性的作用,主要负责控制神经冲动的传递。视网膜的色素运动反应是视觉器官对光环境的视觉适应,强光下色素细胞覆盖着视杆细胞,避免视杆细胞接触到强光时受到损伤,弱光下色素细胞暴露出视杆细胞,可增强视杆细胞在弱光下的感光能力^[10,37-38]。视网膜色素运动反应常伴随着视杆细胞的发育同步进行,秦岭细鳞鲑仔鱼(9 DAH)视网膜经明暗适应后,色素指数无显著性,表示此时视网膜未发生运动,视杆细胞尚未发育完全,视网膜光感受细胞主要是视锥细胞^[10,39];而11 DAH视网膜经明暗适应后,视网膜出现了明显视网膜运动反应,表明此时视杆细胞开始发育。鱼类视杆细胞因种类各异出现的时间不一,视觉细胞开始分化成视杆细胞来适应低照度的环境,纯视锥型视网膜是适应仔鱼的首次摄食表现^[9]。在秦岭细鳞鲑苗种培育过程中发现10 DAH仔鱼进行首次摄食,而秦岭细鳞鲑视网膜上3种细胞数量比在10 DAH时ON/SC为 $1.27 > 1$,此时视觉细胞层已经出现少量的视杆细胞,但仍以视锥细胞为主。12 DAH时ON/G值较低,为 $1.07 > 1$,表明此时视网膜网络汇聚程度偏低,外核层细胞核与神经节细胞数量相当,神经节细胞恰好可接收视觉细胞传来的信号,高视敏度有利于识别并捕获运动中的浮游动物;12 DAH后,视网膜网络结构的汇聚程度上升,增强了视网膜的光敏性,有利于适应于弱光^[40-41],这也与秦岭细鳞鲑常在光线不强的黄昏和日出时段进行摄食活动相吻合^[42-44]。本研究结果可见视觉器官是秦岭细鳞鲑最重要的感觉器官,结合其视觉发育特点,科学制定开口时间,并在开口前后适当给予遮蔽环境,有利于仔鱼生长发育,提高存活率。

4 结论

秦岭细鳞鲑属冷水性鱼类,生长缓慢,应激

性强,生存条件苛刻,而视觉器官及特性与之息息相关。本研究发现秦岭细鳞鲑初孵仔鱼视觉器官视网膜已分化为 8 层,5 DAH 时视觉细胞层为纯视锥细胞结构,10 DAH 时开始出现少数的视杆细胞,已具备较强的光敏性和畏光行为特征。结合秦岭细鳞鲑早期生物学特性,建议在苗种繁育中进行遮光处理,降低应激,从而提高孵化率和苗种成活率。值得说明的是,视觉器官发育特性可能与其内源性分子调控相关,而本研究仅针对秦岭细鳞鲑视觉器官早期发育进行了组织学观察,关于整个生活史特性及光生理反应与调控机制有待于后续研究。

参考文献:

- [1] Yin M C. Fish Ecology[M]. Beijing: China Agriculture Press, 1995. [殷名称. 鱼类生态学[M]. 北京: 中国农业出版社, 1995.]
- [2] Rodríguez A, Gisbert E. Morphogenesis of the eye of Siberian sturgeon[J]. Journal of Fish Biology, 2001, 59(5): 1427-1429.
- [3] Chai Y, Xie C X, Wei Q W, et al. Development of retina and behavior during Chinese sturgeon (*Acipenser sinensis* gray) early ontogeny[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2007, 31(6): 920-922. [柴毅, 谢从新, 危起伟, 等. 中华鲟视网膜早期发育及趋光行为观察[J]. 水生生物学报, 2007, 31(6): 920-922.]
- [4] Gao X Q, Hong L, Liu Z F, et al. Histological observation of the eye of American shad (*Alosa sapidissima*) at the early developmental stage[J]. Progress in Fishery Sciences, 2016, 37(2): 76-83. [高小强, 洪磊, 刘志峰, 等. 美洲鲟(*Alosa sapidissima*)眼睛早期发育的组织学观察[J]. 渔业科学进展, 2016, 37(2): 76-83.]
- [5] Cortesi F, Mitchell L J, Tettamanti V, et al. Visual system diversity in coral reef fishes[J]. Seminars in Cell & Developmental Biology, 2020, 106: 31-42.
- [6] Nicola G N. The development of vision in the zebrafish (*Danio rerio*)[J]. Developmental Biology, 1996, 180(2): 646-663.
- [7] Shi L L, Wei Q W, Chai Y, et al. Retina development and correlated function during Dabry's sturgeon (*Acipenser dabryanus*) ontogeny[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(5): 958-967. [史玲玲, 危起伟, 柴毅, 等. 达氏鲟视网膜早期发育及其相关机能[J]. 中国水产科学, 2013, 20(5): 958-967.]
- [8] Zhou H, Li J E, Qu Y J, et al. Histological observation on the development of retina in fourfinger threadfin (*Eleutheronema tetradactylum*) larvae[J]. Chinese Journal of Zoology, 2017, 52(3): 458-467. [周慧, 李加儿, 区又君, 等. 四指马鲛视网膜早期发育的组织学研究[J]. 动物学杂志, 2017, 52(3): 458-467.]
- [9] Ma A. J, Wang X. A, Zhong Z. M, et al. Structure of retina and visual characteristics of the half-smooth tongue-sole *Cynoglossus semilaevis* Günther[J]. Acta Zoologica Sinica, 2007, 53(2): 354-363. [马爱军, 王新安, 庄志猛, 等. 半滑舌鲷仔、稚鱼视网膜结构与视觉特性[J]. 动物学报, 2007, 53(2): 354-363.]
- [10] Cha J Q, Chen J H, Hu M F. Histological structure of retina and visual characteristics of turbot *Scophthalmus maximus* fry [J]. Progress In Fishery Sciences, 2016, 37(2): 25-32. [车景青, 陈京华, 胡苗峰. 大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)鱼苗视网膜组织结构与视觉特性[J]. 渔业科学进展, 2016, 37(2): 25-32.]
- [11] Zhang R Q, Zhang Y, Zhao J L. Cone mosaic formation in the mandarin fish (*Siniperca chuatsi*) retina during the visual transition period[J]. Genomics and Applied Biology, 2021, 40(S3): 2965-2975. [张瑞祺, 张炎, 赵金良. 鳊视觉转变期视锥细胞排布的组织学构建[J]. 基因组学与应用生物学, 2021, 40(S3): 2965-2975.]
- [12] Chen J M, Liu X C, Xu Y J. Visual structure and functional development of marine medaka, *Oryzias latipes* [J]. Acta Laboratorium Animalis Scientia Sinica, 2018, 26(2): 150-157. [陈剑明, 刘肖岑, 徐永健. 模式生物海洋青鳞鱼的视觉结构与功能发育[J]. 中国实验动物学报, 2018, 26(2): 150-157.]
- [13] Li F, Guo Z D, Liu B X, et al. Early eye morphogenesis in the Chinese sucker (*Myxocyprinus asiaticus*)[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2016, 40(3): 507-513. [李芳, 郭忠娣, 刘本祥, 等. 胭脂鱼眼早期形态发生研究[J]. 水生生物学报, 2016, 40(3): 507-513.]
- [14] Wang C Y, Du H, Wu J M, et al. Effect of illumination on the hatching of Sichuan Taimen (*Hucho bleekeri* Kimura) eggs[J]. Freshwater Fisheries, 2019, 49(1): 62-65. [王成友, 杜浩, 吴金明, 等. 光照对川陕哲罗鲑受精卵孵化的影响[J]. 淡水渔业, 2019, 49(1): 62-65.]
- [15] Hu X C, Zhao Y L. Visual organ development and its relationship with feeding of *Odontobutis potamophila* [J]. Chinese Journal of Zoology, 2007, 42(5): 41-48. [胡先成, 赵云龙. 河川沙塘鳢视觉器官的发育及其与摄食的关系[J]. 动物学杂志, 2007, 42(5): 41-48.]
- [16] Li S Z. On a new subspecies of fresh-water trout, *Brachymystax lenok* tsinlingensis, from Taipaishan, Shensi, China[J]. Acta Zootaxonomica Sinica, 1966(1): 92-94. [李思忠. 陕西太白山细鳞鲑的一新亚种[J]. 动物分类学报, 1966(1):

- 92-94.]
- [17] Wang S, Yue P Q, Chen Y Y, et al. China Red Data book of Endangered Animals[M]. Beijing: Science Press, 1998. [汪松, 乐佩琦, 陈宜瑜, 等. 中国濒危动物红皮书-鱼类[M]. 北京: 科学出版社, 1998.]
- [18] Shao J, Chu Z P, Lu B, et al. Effects of different baits on the growth and survival of seedling *Brachymystax lenok tsinlingensis*[J]. Scientific Fish Farming, 2018(8): 26-28. [邵俭, 褚志鹏, 陆斌, 等. 不同饵料对秦岭细鳞鲑苗种生长及存活的影响[J]. 科学养鱼, 2018(8): 26-28.]
- [19] Meng Y X, Wang G H, Xiong D M, et al. The validity of subspecies of *Brachymystax lenok tsinlingensis* li based on morphological difference analysis[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2018, 42(3): 550-560. [蒙彦晓, 王桂华, 熊冬梅, 等. 基于形态学差异探讨秦岭细鳞鲑亚种有效性问题[J]. 水生生物学报, 2018, 42(3): 550-560.]
- [20] Shi D L, Wei Q W, Sun Q L, et al. Early ontogenesis of *Brachymystax lenok tsinlingensis*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2012, 19(4): 557-567. [施德亮, 危起伟, 孙庆亮, 等. 秦岭细鳞鲑早期发育观察[J]. 中国水产科学, 2012, 19(4): 557-567.]
- [21] Gao X Y, Liu Z, Li Q S, et al. Embryonic and larval development of *Brachymystax lenok tsinlingensis* in Weihe River[J]. Journal of Gansu Agricultural University, 2014, 49(5): 43-50, 57. [高祥云, 刘哲, 李勤慎, 等. 秦岭细鳞鲑胚胎和仔稚鱼发育研究[J]. 甘肃农业大学学报, 2014, 49(5): 43-50, 57.]
- [22] A method of artificial propagation for *Brachymystax lenok tsinlingensis* CN104041457B[P]. 2016-04-06. 邵俭, 危起伟, 吴金明, 等. 一种秦岭细鳞鲑人工繁殖方法: CN104041457B[P]. 2016-04-06.
- [23] Xue C, Wei Q W, Sun Q L, et al. Age and growth of *Brachymystax lenok tsinlingensis*[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2013, 20(4): 743-749. [薛超, 危起伟, 孙庆亮, 等. 秦岭细鳞鲑的年龄与生长[J]. 中国水产科学, 2013, 20(4): 743-749.]
- [24] Yuan J L, Xie L H, Zhu J J, et al. Analysis of the genetic diversity RAPD in Shaanxi Group of *Brachymystax lenok*[J]. Freshwater Fisheries, 2009, 39(1): 72-75. [原居林, 解林红, 朱俊杰, 等. 陕西秦岭细鳞鲑群体遗传多样性的 RAPD 分析[J]. 淡水渔业, 2009, 39(1): 72-75.]
- [25] Shao J, Luo W, Wei Q, et al. Assignment of parentage by microsatellite analysis in the endangered *Brachymystax lenok tsinlingensis* (Salmonidae)[J]. Aquatic Biology, 2017, 26: 69-73.
- [26] Zhang L, Lan K Y, Song R Q, et al. Selective behavior of juvenile *Brachymystax tsinlingensis* depends on substrate color, light intensity, and light color[J]. Progress in Fishery Sciences, 2023, 44(4): 179-187. [张林, 兰开勇, 宋荣群, 等. 秦岭细鳞鲑稚鱼对底质颜色、光照强度及光色的选择行为[J]. 渔业科学进展, 2023, 44(4): 179-187.]
- [27] Shao J. Study on the cultivation biology of four endemic fishes in the plateau[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2016: 12-15. [邵俭. 四种高原土著鱼类养殖生物学研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2016: 12-15.]
- [28] Shao J, Wei Q W, Wang F, et al. A method of *Brachymystax lenok tsinlingensis* cultivation CN105557595B[P]. 2018-06-15. 邵俭, 危起伟, 王丰, 等. 一种秦岭细鳞鲑苗种的培育方法: CN105557595B[P]. 2018-06-15.
- [29] Shi D L. Study on the early ontogenesis of *Brachymystax lenok tsinlingensis*[D]. Wuhan: Huazhong Agricultural University, 2012: 19-26. [施德亮. 秦岭细鳞鲑早期发育研究[D]. 武汉: 华中农业大学, 2012: 19-26.]
- [30] Blaxter J H S, Jones M P. The development of the retina and retinomotor responses in the herring[J]. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 1967, 47(3): 677-697.
- [31] Schmitt E A, Dowling J E. Early retinal development in the zebrafish, *Danio rerio*: Light and electron microscopic analyses[J]. Journal of Comparative Neurology, 1999, 404(4): 515-536.
- [32] He T, Xiao Z Z, Liu Q H, et al. Histological observation of eye ontogeny in rock bream larvae (*Oplegnathus fasciatus*)[J]. Marine Sciences, 2012, 36(3): 49-53. [何滔, 肖志忠, 刘清华, 等. 条石鲷视觉器官早期发育的组织学观察[J]. 海洋科学, 2012, 36(3): 49-53.]
- [33] Hawryshyn C. Retinal development and visual sensitivity of young Pacific sockeye salmon (*Oncorhynchus nerka*)[J]. Journal of Experimental Biology, 1996, 199(Pt 4): 869-882.
- [34] Chang J B, Wang J W, Cao W X. The embryonic development of gobiocpris rarus[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 1995, 19(2): 97-10. [常剑波, 王剑伟, 曹文宣. 稀有鮡鲫胚胎发育研究[J]. 水生生物学报, 1995, 19(2): 97-10.]
- [35] Mu P, Gao L, Wang Z R. Eye morphogenesis in the *Gobiocypris rarus*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2005, 29(6): 607-614. [牟萍, 高岚, 王子仁. 稀有鮡鲫眼的形态发生研究[J]. 水生生物学报, 2005, 29(6): 607-614.]
- [36] Zhao H L. Embryo development of *Myxocyprinus asiaticus*[J]. Reservoir Fisheries, 2006, 27(1): 34-35. [赵鹤凌. 胭脂鱼胚胎发育的观察[J]. 水利渔业, 2006, 27(1): 34-35.]
- [37] Hong X Y, Zhu X P, Chen K C, et al. Study on the development of the embryo and larva of American shad, *Alosa sapidissima*[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2011, 35(1): 153-162. [洪孝友, 朱新平, 陈昆慈, 等. 美洲鲱胚胎及仔

- 稚鱼的发育[J]. 水生生物学报, 2011, 35(1): 153-162.]
- [38] Yan T M, Yang S Y, Yang S, et al. Early eye morphogenesis of *Schizothorax davidi*[J]. Sichuan Journal of Zoology, 2014, 33(2): 239-243. [严太明, 杨世勇, 杨淞, 等. 重口裂腹鱼眼早期形态发生研究[J]. 四川动物, 2014, 33(2): 239-243.]
- [39] Liu X. Study on the physiological structure and developmental characteristics of auditory and visual organs of *Seriola aureovittata*[D]. Dalian: Dalian Ocean University, 2023: 31-44. [刘欣. 黄条鲷听觉和视觉器官生理结构与发育特征研究[D]. 大连: 大连海洋大学, 2023: 31-44.]
- [40] Neave D A. The development of the retinomotor reactions in larval plaice (*Pleuronectes platessa*, L.) and turbot (*Scophthalmus maximus*, L.)(J]. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology, 1984, 76(2): 167-175.
- [41] Kawamura G, Tsuda R, Kumai H, et al. The visual cell morphology of *Pagrus major* and its adaptive changes with shift from pelagic to benthic habitats[J]. Nippon Suisan Gakkaishi, 1984, 50(12): 1975-1980.
- [42] Guo X C, Wang Y Z, Zhang L, et al. Retinal structure and opsin expression characteristics of the second filial generation and wild population of *Brachymystax tsinlingensis* Li, 1966[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2023, 30(12): 1445-1456. [郭星辰, 王艺舟, 张林, 等. 秦岭细鳞鲑子二代与野生群体视网膜结构及视蛋白基因表达特征[J]. 中国水产科学, 2023, 30(12): 1445-1456.]
- [43] Wang Y Z. Species characteristics and protective counter measures of Qinling lenok[J]. Acta Ecologiae Animalis Domastici, 2008, 29(1): 103-105. [王亚洲. 秦岭细鳞鲑种质特性及保护对策[J]. 家畜生态学报, 2008, 29(1): 103-105.]
- [44] Wu J M, Yang H C, Shao J, et al. Habitat environmental characteristics of *Brachymystax lenok* tsinlingensis[J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2017, 41(1): 214-219. [吴金明, 杨焕超, 邵俭, 等. 秦岭细鳞鲑栖息地环境特征研究[J]. 水生生物学报, 2017, 41(1): 214-219.]

Histological observation of the visual organ of *Brachymystax tsinlingensis* Li 1966 at the early developmental stage

ZHANG Lin¹, GUO Xingchen¹, SONG Rongqun¹, WANG Zhenlu¹, YE Huan², XIONG Dongmei³,
LI Zhigang⁴, SHAO Jian¹

1. Laboratory of Fishery Resources and Environmental Protection, college of Animal Science, Key Laboratory of Animal Genetics, Breeding and Reproduction in the Plateau Mountainous Region of the Ministry of Education of the People's Republic of China, Special Fishes Research Institute, Guizhou University, Guiyang 550025, China;
2. Yangtze River Fisheries Research Institute, Chinese Academy of Fishery Science, Wuhan 430023, China;
3. College of Animal Science and Technology, Northwest A&F University, Yangling 712100, China;
4. Fishery Workstation of Baoji County, Baoji 721000, China;

Abstract: *Brachymystax tsinlingensis* Li (1966) is sensitive to light and susceptible to death by strong light during long-term artificial breeding, especially during early developmental stages. The development of visual organs and the characteristics of retinal development were systematically observed using histological methods to analyze the physiological causes of this phenomenon and improve the efficiency of large-scale artificial breeding. The results showed that the embryo entered the organ differentiation stage, and the optic cup was formed 177 hours post-fertilization (HPF). At 213 HPF, a primitive retina and crystal sac were formed, and the cuboidal epithelium constituted the cornea. The crystal sac had developed into the lens, the cells of the neural layer of the retina had increased notably, and the staining of the pigment cell layer deepened at 357 HPF. At 452 HPF, the sclera appeared, and the retina differentiated into four layers (pigment epithelium, outer nuclear layer, inner nuclear layer, and optic ganglion cell layer). After 508 h, the fertilized egg broke the membrane and hatched larvae. The visual organs of hatchlings were relatively well-developed, and the lens is fully differentiated and has the same structure as that of the adult; the retina has been differentiated into 8 layers, and the pigment granules in the pigment layer are clearly visible; the sclera consists of elastic fibers and cartilage; the iris is in the form of a single-layer ring; and the choroid is present. At 5 days after hatching (DAH), a small number of cone cells appeared, and the visual cell layer was pure cone cell structure. At 10 DAH, the retina differentiated into a complete 10-layer structure, ON/SC was $1.27 > 1$, a few optic rods began to appear in the visual cell layer, and the inner nuclear layer was differentiated into three clear layers with the initial visual imaging system. At 12 DAH, ON/G was $1.07 > 1$, the retinal network was less convergent, and the number of nuclei in the outer nuclear layer was comparable to the number of ganglion cells, which was sufficient to receive signals from the visual cells. At 16 DAH, the mean value of the retinal bright-adapted pigmentation index (PI) was 0.75, whereas the mean value of the dark-adapted PI was significantly reduced to 0.55 ($P < 0.05$). At 21 DAH, the number of optic rod cells increased, and the cornea differentiated into a complete 5-layer structure; at 41 DAH, the iris differentiated, the choroid was perfected, and all parts of the visual organs were fully developed. Therefore, the retinal structure and visual characteristics of *B. tsinlingensis* show strong light sensitivity, and vision plays a major role in its behavior and feeding activities. Reducing environmental light appropriately during early breeding of *B. tsinlingensis* could reduce the stress response and improve the survival rate of seedlings. The results of this study provide a reference for the proliferation, conservation, and utilization of *B. tsinlingensis* resources.

Key words: *Brachymystax tsinlingensis*; visual organ; retina; histology; early development

Corresponding author: SHAO Jian. E-mail: shaojian5098@163.com