

DOI: 10.3724/SP.J.1118.2017.16080

美洲鲥仔稚鱼脊柱及附肢骨骼系统的早期发育

邓平平, 施永海, 徐嘉波, 严银龙, 谢永德, 刘永士, 张宗锋

上海市水产研究所, 上海 200433

摘要: 使用软骨-硬骨双染色技术, 描述了美洲鲥(*Alosa sapidissima*)仔稚鱼(1~51 日龄)脊柱、胸鳍、尾鳍、背鳍等附肢骨骼的形态发育特征。结果显示, 脊柱的发育开始于 10 日龄仔鱼尾部的髓弓、脉弓和尾下骨的出现, 16 日龄髓弓和脉弓延伸形成髓棘和脉棘, 19 日龄脊柱出现分节的硬骨环, 23 日龄所有椎体形成。各附鳍支鳍骨发育顺序先后依次为胸鳍、尾鳍、背鳍、臀鳍和腹鳍。胸鳍在 2 日龄时出现乌喙骨, 13 日龄形成软骨质的胸鳍支鳍骨, 19 日龄仔鱼肩带和上匙骨开始骨化; 尾鳍的尾下骨最早出现在 5 日龄, 12 日龄尾鳍形成 2 枚尾上骨、1 枚尾杆骨和 6 枚尾下骨, 19 日龄仔鱼尾椎和尾鳍率先开始骨化, 直至 23 日龄尾鳍骨骼系统钙化完全。最终背鳍和臀鳍分别形成 18 和 22 根鳍条。美洲鲥骨骼发育研究对其早期发育功能趋向、环境优化及分类鉴定有重要作用。

关键词: 美洲鲥; 仔稚鱼; 脊柱; 附肢骨骼; 胸鳍; 尾鳍; 骨骼染色

中图分类号: S917

文献标志码: A

文章编号: 1005-8737-(2017)01-0073-09

美洲鲥(*Alosa sapidissima*)隶属鲱形目(Clupeiformes), 鲱科(Clupeidae), 西鲱属(*Alosa*), 与长江鲥属同一亚科, 自然分布于北美大西洋两岸从加拿大魁北克到美国佛罗里达州河流及海洋中。美洲鲥属于生殖洄游性鱼类, 生长快, 肉味鲜美, 经济价值高, 是“长江三鲜”之一长江鲥(*Tenualosa reevesii*)的良好替代食材^[1]。目前美洲鲥的研究主要集中在渔业资源^[2~3]、营养^[4]、分子^[5~8]、形态生长^[6]和生理^[9~10]等方面, 而美洲鲥骨骼系统的早期发育还未见报道。国外学者已经对鲱形目的太平洋鲱(*Clupea pallasi*)^[11]、大西洋后线鲱(*Opisthonema oglinum*)^[12]、鳀鱼(*Engraulis japonicus*)^[13~14]、远东拟沙丁鱼(*Sardinops melanostictus*)^[15]、刀鲚(*Coilia nasus*)^[16~17]等的骨骼系统发育作了详细的报道。本研究通过软骨-硬骨双染色技术, 对美洲鲥仔稚鱼发育过程中脊柱以及胸鳍、尾鳍、背鳍等附肢骨骼形成及发展变化进行了连续观察和描述, 获得了在特定的繁育环境条件下美洲鲥骨骼发育的时序基础资料, 本研究对美洲

鲥早期发育阶段的功能趋向及环境适应有重要作用, 同时为美洲鲥分类鉴定提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 材料

美洲鲥受精卵、仔稚鱼等早期各发育阶段的样本皆由上海市水产研究所苗种技术中心通过人工繁殖培育所得。当春季水温达到 18~23℃时, 美洲鲥进入繁殖季节, 选取活力强、鳞片完整、性腺成熟的雌雄亲本, 于胸鳍基部进行促黄体素释放激素 A₂(LHRH-A₂)注射。将产卵池中收集的卵置于 1 m² 的孵化池中集中培育, 破膜后再转入 20 m² 的育苗池中进一步培育。在鱼苗的生长发育过程中依次投喂鲜活的轮虫、桡足类、裸腹蚤等适口的浮游动物。育苗过程中定时吸污、控制投饵, 及时换水保证苗种培育工作顺利地开展。

1.2 标本制作

试验样品为 0~51 日龄的鱼苗, 每天投饵前从育苗池中随机抽取 30 尾仔稚鱼, 用于生长测定和

收稿日期: 2016-03-11; 修订日期: 2016-05-26.

基金项目: 上海市科技兴农重点攻关项目[沪农科攻字(2014)第 7-1-9 号]; 上海市科学技术委员会重点公关项目(16391900400).

作者简介: 邓平平(1986-), 工程师, 研究方向为水产养殖和育种. E-mail: kokou365@sohu.com

通信作者: 施永海(1975-), 教授级高工, 研究方向为水产养殖、水环境监测及繁殖生物学. E-mail: yonghais@163.com

样本固定。全长小于 1.5 cm 时用标尺目镜测量，大于 1.5 cm 时用游标卡尺测量。抽取的样本皆用 10% 甲醛浸泡避光保存。美洲鲥的样本测量以全长(MTL)表示。

美洲鲥标本骨骼系统的染色方法依据软骨-硬骨双染色的方法。主要操作步骤为：(1) 清洗 首先对 10% 甲醛固定液固定的仔稚鱼样品用 ddH₂O 浸泡 2~3 d；(2) 软骨染色 将浸洗过的标本浸于软骨染色液中 24~36 h，直至标本鳍条基部有明显的蓝色；(3) 梯度漂洗 使用不同浓度酒精(95%、75%、40%、15%)依次进行梯度脱水；(4) 消化透明 将标本浸于 0.5% 胰蛋白酶液中消化，直至标本完全软化透明；(5) 硬骨染色 将消化透明的标本置于硬骨染色液中(12~24 h)，直至硬骨呈现紫红色；(6) 脱色 将染色好的标本浸入 0.5% KOH 溶液中并加入 1 滴 10% H₂O₂ 溶液曝光

褪色；(7) 保存 将标本依次移至体积比为 3:1、1:1、1:3 的 0.5% KOH-甘油混合试剂系列中，最终移至纯甘油中，并在甘油中加入 3~4 粒百里酚密封保存。

1.3 标本观察

通过 Olympus CX41 显微镜，对美洲鲥早期发育的脊柱以及胸鳍、尾鳍、背鳍等附肢骨骼系统的发育形态特征进行连续观测，测量全长(MTL)和拍照，详细记录不同发育阶段骨骼的形态特征、着色变化等，并使用 Photoshop 软件对拍摄图片进行编辑处理。

2 结果与分析

2.1 脊柱和腹鳍的发育

美洲鲥椎骨为 56~58 枚，躯椎 26~27 枚，尾椎 29~31 枚。早期仔鱼的脊索呈管状(图 1A, 图 2A)，

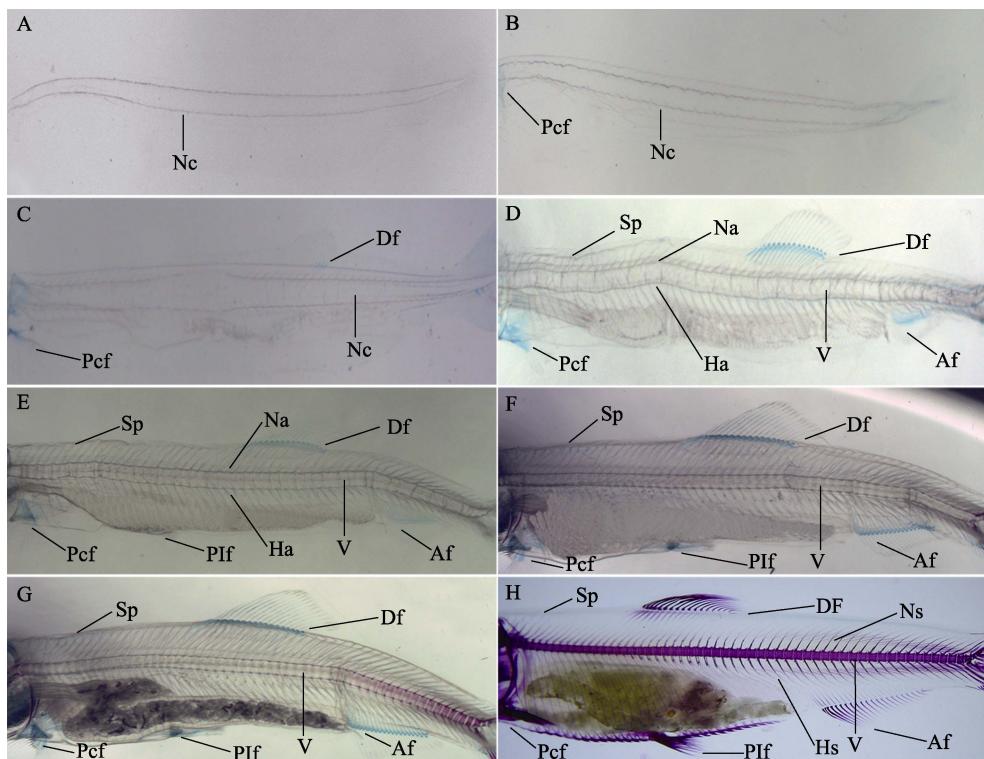


图 1 美洲鲥脊柱和附鳍支鳍骨的发育过程

A: 1 日龄仔鱼(MTL 6.8 mm); B: 2 日龄仔鱼(MTL 8.4 mm); C: 6 日龄仔鱼(MTL 12.1 mm); D: 10 日龄仔鱼(MTL 14.4 mm); E: 16 日龄仔鱼(MTL 19.4 mm); F: 19 日龄仔鱼(MTL 21.1 mm); G: 21 日龄仔鱼(MTL 23.3 mm); H: 30 日龄仔鱼(MTL 36.3 mm)。MTL: 全长。Af: 臀鳍; Df: 背鳍; Ha: 脉弓; Hs: 脉棘; Na: 髓弓; Nc: 脊索; Ns: 髓棘; Pcf: 胸鳍; Pif: 腹鳍; Sp: 鳍棘; V: 脊柱。

Fig. 1 Development of vertebral column, dorsal and pelvic fin in *Alosa sapidissima*

A: 1 dah larvae (MTL 6.8 mm); B: 2 dah larvae (MTL 8.4 mm); C: 6 dah larvae (MTL 12.1 mm); D: 10 dah larvae (MTL 14.4 mm); E: 16 dah larvae (MTL 19.4 mm); F: 19 dah larvae (MTL 21.1 mm); G: 21 dah larvae (MTL 23.3 mm); H: 30 dah larvae (MTL 36.3 mm)。MTL: total length. Af: anal fin; Df: dorsal fin; Ha: haemal arch; Hs: haemal spine; Na: neural arch; Nc: notochord; Ns: neural spine; Pcf: pectoral fin; Pif: pelvic fin; Sp: spinous process; V: vertebra.

2日龄(MTL 8.4 mm)时脊索四周出现不规则凹凸(图1B, 图2B); 19日龄(MTL 21.1 mm)部分脊柱出现分节的硬骨环(图1F), 23日龄(MTL 24.5 mm)所有椎体形成。脊柱的发育开始于髓弓、脉弓和尾下骨的出现, 尾下骨最早出现在5日龄(MTL 11.7 mm)。随着尾下骨增多, 10日龄仔鱼(MTL 14.4 mm)尾杆形成(图1D, 图2C), 同时着生在尾部脊索上的髓弓、脉弓首先以软骨组织形式出现, 并整体向头部发生, 整个发生过程中髓弓比脉弓更早出现。16日龄仔鱼(MTL 19.4 mm)在髓弓和脉弓的基础上延伸, 开始形成以软骨形式出现的背肋、腹肋、髓棘和脉棘(图1E, 图2D), 17日龄仔鱼(MTL 20.2 mm)背部前段首次出现软骨形式的鳍棘。19日龄(MTL 21.0 mm)脊柱前端和后端都出现分节的硬骨环(图1F), 21日龄仔鱼(MTL 23.3 mm)硬骨化的脊柱越来越多(图1G, 图2E); 23日龄仔鱼(MTL 24.5 mm)所有椎体形成(图2F)。脊柱的硬骨化由头尾向中间靠拢, 而每一对髓弓、脉弓、背肋、腹肋、髓棘和脉棘都是由基部向末梢方向进行硬骨化。23日龄(MTL 24.5 mm)后, 脊椎无明显变化。

美洲鲥各附鳍骨骼进行软骨化的顺序由早到晚依次为胸鳍(2日龄 MTL 8.4 mm)、尾鳍(5日龄 MTL 11.7 mm)、背鳍(6日龄 MTL 12.1 mm, 图1C)、臀鳍(10日龄 MTL 14.4 mm)和腹鳍(16日龄 MTL 19.4 mm)。硬骨化最先完成的是尾鳍(23日龄 MTL 24.5 mm), 胸鳍、腹鳍和背鳍在24日龄(MTL 25.1 mm)时同时硬骨化, 最晚完成骨化的是臀鳍(30日龄 MTL 36.3 mm, 图1G)。

2.2 胸鳍的发育

胸鳍是美洲鲥胚后发育最早的鳍条。2日龄仔鱼(MTL 8.4 mm)便发现乌喙骨的存在(图3A), 而在6日龄(MTL 12.1 mm)可见匙骨和支鳍骨原基, 其中匙骨呈长条状(图3B)。13日龄仔鱼(MTL 16.3 mm)胸鳍就有鳍条出现, 数目存在差异, 支鳍骨原基裂缝从1个增至3个(图3C)。随着缝隙的增大增多, 支鳍骨原基最早在16日龄(MTL 19.4 mm)分成4个分支, 肩带部分出现骨化和上匙骨(图3D), 鳍条逐渐发育完整并且清晰可见; 23日龄以后仔鱼(MTL 24.5 mm)鳍条出现骨化并出现分节, 胸鳍仅存在钙化程度的差异(图3F)。

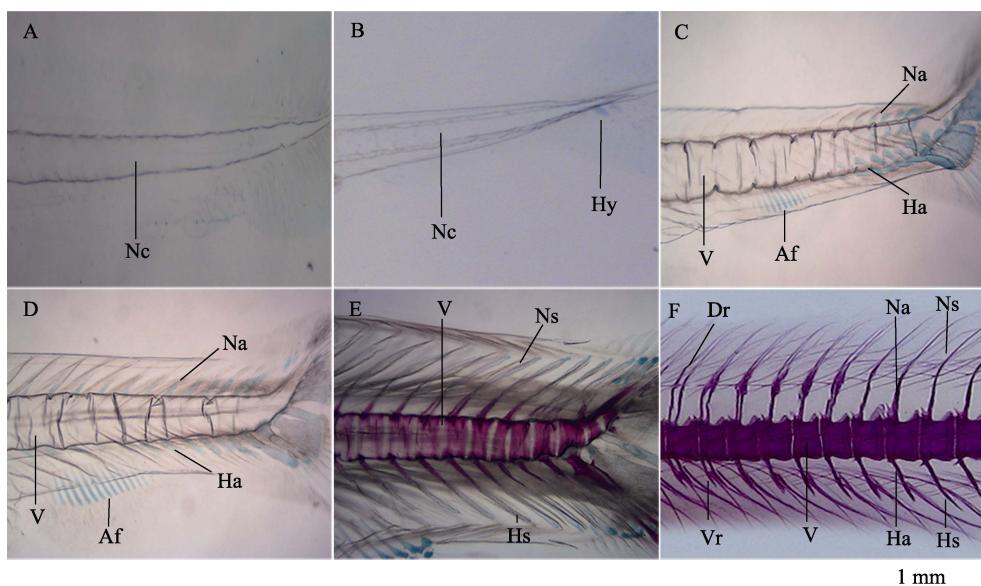


图2 美洲鲥部分脊柱发育的过程(放大图)

A: 1日龄仔鱼(MTL 6.8 mm); B: 2日龄仔鱼(MTL 8.4 mm); C: 10日龄仔鱼(MTL 14.4 mm); D: 16日龄仔鱼(MTL 19.4 mm); E: 21日龄仔鱼(MTL 23.3 mm); F: 23日龄仔鱼(MTL 24.5 mm)。MTL: 全长; Af: 臀鳍; Dr: 背肋; Ha: 脉弓; Hs: 脉棘; Na: 髓弓; Nc: 脊索; Ns: 髓棘; V: 脊柱; Vr: 腹肋。

Fig. 2 Development of partial vertebral column in *Alosa sapidissima* (enlarged drawing)

A: 1 dah larvae (MTL 6.8 mm); B: 2 dah larvae (MTL 8.4 mm); C: 10 dah larvae (MTL 14.4 mm); D: 16 dah larvae (MTL 19.4 mm); E: 21 dah larvae (MTL 23.3 mm); F: 23 dah larvae (MTL 24.5 mm)。MTL: total length; Af: anal fin; Dr: dorsal rib; Ha: haemal arch; Hs: haemal spine; Na: neural arch; Nc: notochord; Ns: neural spine; V: vertebra; Vr: ventral rib.

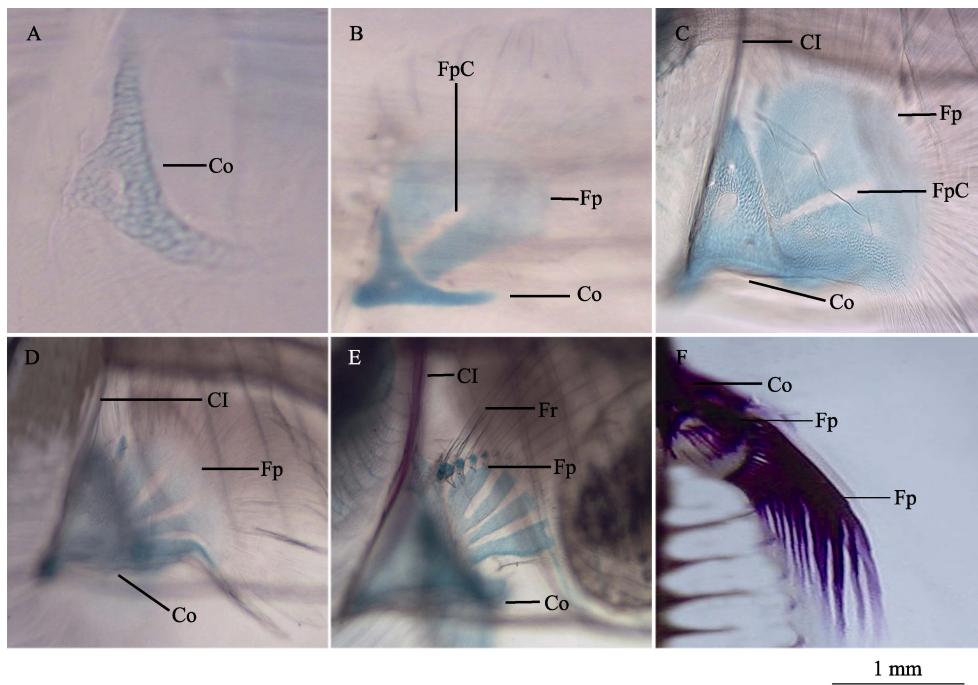


图 3 美洲鮰胸鳍支鳍骨的发育过程

A: 2 日龄仔鱼(MTL 8.4 mm); B: 6 日龄仔鱼(MTL 12.1 mm); C: 13 日龄仔鱼(MTL 16.3 mm); D: 17 日龄仔鱼(MTL 20.2 mm); E: 19 日龄仔鱼(MTL 21.1 mm); F: 23 日龄仔鱼(MTL 24.5 mm). MTL: 全长; CI: 鞍骨; Co: 乌喙骨; Fp: 支鳍骨原基; Fr: 鳍条。

Fig. 3 Development of pectoral fin in *Alosa sapidissima*

A: 2 dah larvae (MTL 8.4 mm); B: 6 dah larvae (MTL 12.1 mm); C: 13 dah larvae (MTL 16.3 mm); D: 17 dah larvae (MTL 20.2 mm); E: 19 dah larvae (MTL 21.1 mm); F: 23 dah larvae (MTL 24.5 mm). MTL: total length; CI: cleithrum; Co: coracoid; Fp: fin plate; Fr: fin ray.

2.3 尾鳍的发育

美洲鮰尾鳍在 1~4 日龄都以鳍皱形式出现, 尾鳍未见染色的软骨组织。2 枚尾下骨最早出现在 5 日龄(MTL 11.7 mm)(图 4A), 6 日龄(MTL 12.1 mm)有 3 枚尾下骨, 7 日龄(MTL 12.6 mm)有 4 枚尾下骨。8 日龄(MTL 13.4 mm)有 6 枚尾下骨, 同时尾索下部鳍皱演变成 10 根鳍条, 着生在尾下骨上, 尾索上部仍然是鳍皱, 此时尾索仍然伸直。9 日龄(MTL 13.9 mm)尾索微微弯曲上翘, 10 日龄(MTL 14.4 mm)尾索上翘更加明显, 尾鳍鳍条呈现分节现象。直至 11 日龄(MTL 15.2 mm)出现软骨质的尾下骨增大(图 4B, 图 4C), 上翘的尾索上方出现 1 枚尾上骨(图 4D)。12 日龄(MTL 15.7 mm)脊索末端继续上翘, 尾鳍骨骼基本成型, 第 1 尾下骨与第 2 尾下骨中部呈现愈合趋势, 尾鳍骨骼由上翘的尾索分为上下两部分, 从而形成 2 枚尾上骨、1 枚上翘的尾杆骨和 6 枚尾下骨(图 4E), 尾索上部的鳍皱演变成鳍条软骨, 鳍条增至 23 枚。19 日龄仔鱼(MTL 21.1 mm)尾鳍脊索和部分尾鳍鳍条率

先开始骨化(图 4F), 鳍条增至为 34 枚, 由于尾鳍中轴线附近鳍条分布稀疏, 而尾鳍的背面腹面鳍条分布密集, 从而形成原始的尾叉。21 日龄仔鱼(MTL 23.3 mm)尾椎、脉弓和髓弓骨化完全, 但脉棘和髓棘尚以软骨形式出现, 且尾下骨和尾上骨开始骨化(图 4G), 直至 23 日龄(MTL 24.5 mm)尾鳍骨骼系统钙化完全(图 4I), 尾鳍鳍条增至 36 枚。

2.4 背鳍和臀鳍的发育

美洲鮰 6 日龄仔鱼(MTL 12.1 mm)脊索中部出现 7 枚软骨质的支鳍骨(图 5A), 随着时间的推移支鳍骨向后发育数量增多加粗, 10 日龄(MTL 14.4 mm)时担鳍软骨出现(图 5C), 此时背鳍仍然以鳍皱出现, 直至 13 日龄(MTL 16.3 mm)时开始形成软骨质鳍条(图 5D)。23 日龄仔鱼(MTL 24.5 mm)时背鳍支鳍骨、担鳍支鳍骨和鳍条开始硬骨骨化(图 5E), 且背鳍鳍条数稳定在 18 根背鳍末端鳍条分叉, 24 日龄仔鱼(MTL 25.1 mm)背鳍硬骨化完成(图 5F)。

美洲鮰 10 日龄仔鱼(MTL 14.4 mm)排泄孔后端出现 13 枚软骨质的支鳍骨和鳍皱(图 6A), 13 日

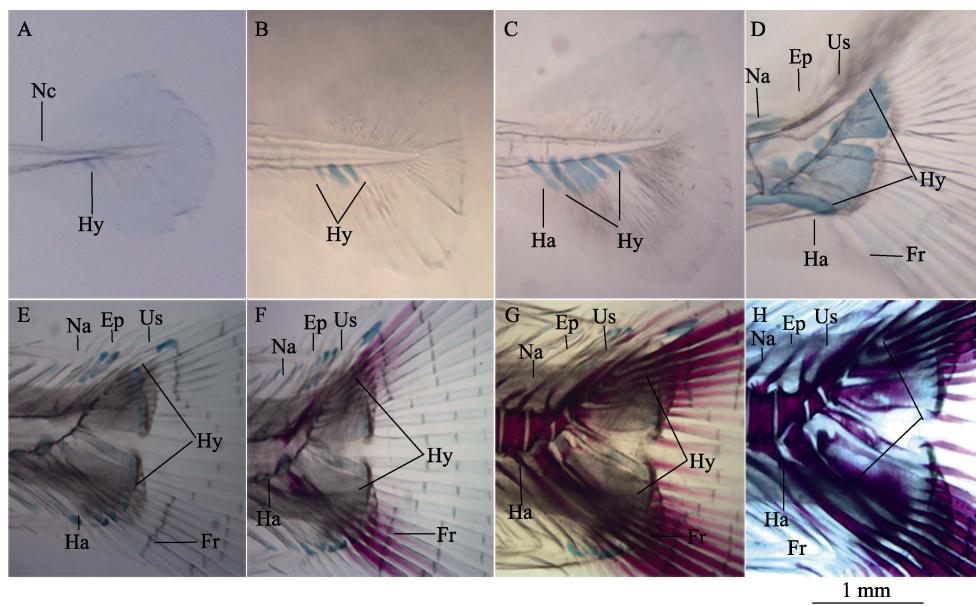


图4 美洲鮰尾鳍支鳍骨的发育过程

A: 5日龄仔鱼(MTL 11.7 mm); B: 6日龄仔鱼(MTL 12.1 mm); C: 8日龄仔鱼(MTL 13.4 mm); D: 11日龄仔鱼(MTL 15.2 mm);
E: 12日龄仔鱼(MTL 15.7 mm); F: 19日龄仔鱼(MTL 21.1 mm); G: 21日龄仔鱼(MTL 23.3 mm); H: 23日龄仔鱼(MTL 24.5 mm).
MTL: 全长; Ep: 尾上骨; Fr: 鳍条; Ha: 脉弓; Hs: 脉棘; Hy: 尾下骨; Na: 髓弓; Nc: 脊索; Ns: 髓棘; Us: 尾杆骨.

Fig. 4 Development of caudal fin in *Alosa sapidissima*

A: 5 dah larvae (MTL 11.7 mm); B: 6 dah larvae (MTL 12.1 mm); C: 8 dah larvae (MTL 13.4 mm); D: 11 dah larvae (MTL 15.2 mm);
E: 12 dah larvae (MTL 15.7 mm); F: 19 dah larvae (MTL 21.1 mm); G: 21 dah larvae (MTL 23.3 mm); H: 23 dah larvae (MTL 24.5 mm).
MTL: total length; Ep: epural; Fr: fin ray; Ha: haemal arch; Hs: haemal spine; Hy: hypural; Na: neural arch; Nc: notochord; Ns: neural spine; Us: urostyle.

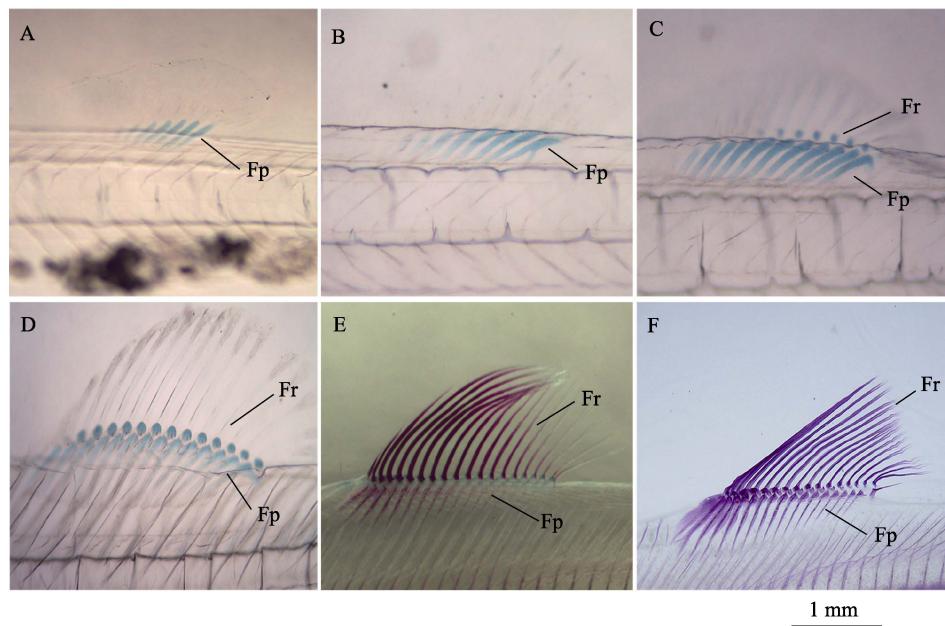


图5 美洲鮰背鳍支鳍骨发育的过程

A: 6日龄仔鱼(MTL 12.1 mm); B: 8日龄仔鱼(MTL 13.4 mm); C: 10日龄仔鱼(MTL 14.4 mm); D: 13日龄仔鱼(MTL 16.3 mm);
E: 23日龄仔鱼(MTL 24.5 mm); F: 24日龄仔鱼(MTL 25.1 mm). MTL: 全长. Fp: 支鳍骨原基; Fr: 鳍条.

Fig. 5 Development of dorsal fin in *Alosa sapidissima*

A: 6 dah larvae (MTL 12.1 mm); B: 8 dah larvae (MTL 13.4 mm); C: 10 dah larvae (MTL 14.4 mm); D: 13 dah larvae (MTL 16.3 mm); E: 23 dah larvae (MTL 24.5 mm); F: 24 dah larvae (MTL 25.1 mm). MTL: total length; Fp: fin plate; Fr: fin ray.

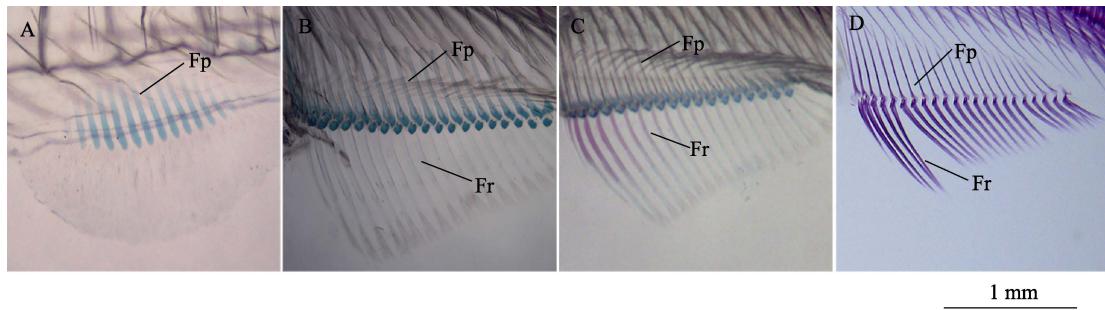


图 6 美洲鮰臀鳍支鳍骨发育的过程

A: 10 日龄仔鱼(MTL 14.4 mm); B: 13 日龄仔鱼(MTL 16.3 mm); C: 28 日龄仔鱼(MTL 33.8 mm);
D: 30 日龄仔鱼(MTL 36.3 mm). MTL: 全长; Fp: 支鳍骨原基; Fr: 鳍条.

Fig. 6 Development of anal fin in *Alosa sapidissima*

A: 10 dah larvae (MTL 14.4 mm); B: 13 dah larvae (MTL 16.3 mm); C: 28 dah larvae (MTL 33.8 mm);
D: 30 dah larvae (MTL 36.3 mm). MTL: total length; Fp: fin plate; Fr: fin ray.

龄(MTL 16.3 mm)时担鳍软骨出现，并开始形成软骨质鳍条(图 6B)。28 日龄仔鱼(MTL 33.8 mm)时臀鳍支鳍骨、担鳍支鳍骨和鳍条开始硬骨骨化(图 6C)，且臀鳍鳍条数稳定在 22 根，臀末端鳍条分叉，30 日龄仔鱼(MTL 36.3 mm)臀鳍硬骨化完成(图 6D)。

3 讨论

3.1 美洲鮰仔稚鱼骨骼系统发育的适应性意义

鱼类的发育进程和形态结构与其功能需求相互影响^[18]，一方面内源性营养物质促进鱼类的变态发育，另一方面有限的内源性营养物质不足以长期支撑鱼类发育，从而迫使其优先发育能够摄取外源性营养物质的相关功能结构，如与摄食和平衡游泳有关的骨骼。美洲鮰作为卵生鱼类，为了生存和生长的需要，骨骼系统的持续发育为仔鱼从内源性营养转化为外源性营养提供了基础条件^[19]。本研究通过软骨-硬骨双染色的方法，对美洲鮰在仔稚鱼期发育期间的脊柱以及胸鳍、尾鳍、背鳍等附肢骨骼系统进行染色研究，直观而清晰地观察到其软骨和硬骨组织的发育变化过程。

胸鳍是美洲鮰最早发育的鱼鳍，2 日龄(MTL 8.4 mm)时便发现胸鳍乌喙骨，而其他鱼鳍皆以鳍褶的形式存在，此时在静水中已经具备一定的左右平衡能力，但头重脚轻易沉底。在 4 日龄仔鱼(MTL 10.2 mm)卵黄囊完全消失之前，3 日龄(MTL 9.5 mm)时仔鱼便开始主动开口摄食，胃肠

中可见轮虫。5 日龄(MTL 11.7 mm)时出现 2 枚尾下骨，在 6 日龄时(MTL 12.1 mm)可见匙骨和支鳍骨原基，有一定的横向游动能力。10 日龄(MTL 14.4 mm)尾索上翘尾鳍基本成型，同时形成髓弓、脉弓和臀鳍，具备较强的穿梭能力。10 日龄左右美洲鮰的死亡率达到 15%，此时美洲鮰已经开口摄食，能源的摄取有所保障，可能与尾索上翘和其他骨骼变态发育有关。美洲鮰在 12 日龄(MTL 15.7 mm)时尾鳍支鳍骨软骨发育基本成型，尾鳍鳍条也都以软骨形式存在，此时游泳能力迅速增强，对主动摄食和避敌都有重要作用。30 日龄稚鱼(MTL 36.3 mm)所有椎骨和附肢骨骼骨化完成，此后骨骼系统发育无明显变化。

3.2 美洲鮰仔稚鱼骨骼系统发育的特殊性

美洲鮰各鳍支鳍骨早期发育的先后次序与其他鱼类相同，且各鳍支鳍骨与髓弓、脉弓、背肋、腹肋、髓棘和脉棘皆由软骨固化成硬骨，而脊柱和上匙骨为骨膜直接硬骨化形成，软骨染色对脊柱和匙骨无显色作用。鱼类脊柱的发育起始于髓弓、脉弓和尾下骨，但不同种类的鱼类脊柱发育方向不同。从本研究结果可以看出，美洲鮰的脊柱软骨发育开始于尾下骨以及尾部的髓弓和脉弓，发育的方向从尾椎到躯椎；而脊柱的硬骨化则由头尾两端向中间靠拢，每一对髓弓、脉弓、背肋、腹肋、髓棘和脉棘都是由基部向末梢硬骨化。美洲鮰隶属鲱科，在同科物种中，大西洋后线鲱^[12]的髓弓、脉弓和脊柱发育方向与美洲鮰完全一致；

而太平洋鲱^[11, 15]、鳀鱼^[14]的髓弓和脉弓也是从脊索末端区域向前发育, 但脊柱的发育方向与之相反。大黄鱼(*Larimichthys crocea*)^[19]、日本鬼鲉(*Inimicus japonicus*)^[20]等脊柱骨化方向都是从头至尾。每一对髓弓、脉弓、背肋、腹肋、髓棘和脉棘都是从基部向末梢进行软骨和硬骨化, 这与大部分鱼类相同, 如大菱鲆(*Scophthalmus maximus*)^[21]、大黄鱼^[19]等, 但与刀鲚^[16~17]骨骼发育明显不同, 其是每一髓弓、脉弓、髓棘和脉棘从中部向基部和末端硬骨化。

尾鳍的骨骼发育研究已有很多报道, 大部分鱼类尾部包含 5 枚不同大小的尾下骨, 但尾上骨等存在差异^[22~26]。美洲鲥尾鳍骨骼发育完善后形成 6 枚尾下骨(包括 1 枚侧尾下骨), 其第一尾下骨与第二尾下骨的愈合也不十分明显, 只在这两枚尾下骨的中段加以桥接, 这与鳀鱼^[14]、刀鲚^[16]等鲱形目鱼类相似。

在试验染色拍摄过程中发现个别美洲鲥躯椎发育畸形的现象, 但比长江刀鲚畸形率少。鱼类脊柱发育畸形的部位并不是随机的^[27], 与美洲鲥相比, 长江刀鲚更容易在尾椎部分出现畸形, 这可能与尾椎数目有关。长江刀鲚的尾椎数为 62~65 枚^[17, 28], 美洲鲥为 29~31 枚, 鲤形目为 16~26 枚^[29], 其原因一方面早期运动可能对尚未发育完全的较长尾椎有机械损伤, 另一方面尾椎缺乏叉开的脉弓和腹肋的缓冲保护作用。另外畸形发育也可能受到来自环境、营养等其他重要因素的胁迫作用^[30]。

参考文献:

- [1] Zhang G Y, Zhu Y Z, Zhang H M, et al. The research of artificial propagation of American shad (*Alosa sapidissima*)[J]. *Fisheries Science & Technology Information*, 2008, 35(5): 221~223. [张根玉, 朱雅珠, 张海明, 等. 美国鲥鱼人工繁殖技术研究[J]. 水产科技情报, 2008, 35(5): 221~223.]
- [2] Grote A B, Bailey M M, Zytlewski J D, et al. Multibeam sonar (DIDSON) assessment of American shad (*Alosa sapidissima*) approaching a hydroelectric dam[J]. *Can J Fish Aquat Sci*, 2014, 71(4): 545~558.
- [3] Jia Y J, Chen Y F, Goudie C A, et al. Potential invasion risk of the introduced American shad *Alosa sapidissima* to aquatic ecosystem in China[J]. *Acta Zoologica Sinica*, 2007, 53(4): 625~629. [贾艳菊, 陈毅峰, Goudie C A, 等. 美国鲥鱼对我国淡水生态系统的潜在入侵风险[J]. 动物学报, 2007, 53(4): 625~629.]
- [4] Johnson J H, Dropkin D S. Food and prey selection of recently released American shad (*Alosa sapidissima*) larvae[J]. *J Freshw Ecol*, 1997, 12(3): 355~358.
- [5] Julian S E, Bartron M L. Microsatellite DNA markers for American shad (*Alosa sapidissima*) and cross-species amplification within the family Clupeidae[J]. *Mol Ecol Note*, 2007, 7(5): 805~807.
- [6] Johnson J R, Loesch J G. Morphology and development of hatchery-cultured American shad, *Alosa sapidissima* (Wilson)[J]. *Fish Bull*, 1983, 81(2): 323~339.
- [7] Limburg K E, Ross R M. Growth and mortality rates of larval American shad, *Alosa sapidissima*, at different salinities[J]. *Estuar Coasts*, 1995, 18 (2): 335~340.
- [8] Zytlewski J, McCormick S D. The ontogeny of salinity tolerance in the American shad, *Alosa sapidissima*[J]. *Can J Fish Aquat Sci*, 1997, 54 (1): 182~189.
- [9] Laiz-Carrio R, del Mar Segura-Noguera M, Pilar Martn R M, et al. Ontogeny of adenohypophyseal cells in the pituitary of the American shad (*Alosa sapidissima*)[J]. *Gen Comp Endocrinol*, 2003, 132(3): 454~464.
- [10] Zhang X C, Zhu X P, Liu Y H, et al. Acute toxicity of mebendazole, deltamethrin and copper sulphate to *Alosa sapidissima*[J]. *South China Fisheries Science*, 2015, 11(2): 66~71. [张新铖, 朱新平, 刘毅辉, 等. 甲苯咪唑、溴菊酯和硫酸铜对美洲鲥的急性毒性研究[J]. 南方水产科学, 2015, 11(2): 66~71.]
- [11] Gwyn A M. The development of the vertebral column of the Pacific herring (*Clupea pallasi*)[J]. *J Fish Res Board Can*, 1940, 5(1): 11~22.
- [12] Richards W J, Miller R V, Houde E D, et al. Egg and larval development of the Atlantic thread herring, *Opisthonema oglinum*[J]. *Fish Bull*, 1974, 72 (4): 1123~1136.
- [13] Balart E F. Osteological development of the hyobranchial apparatus in *Engraulis japonicas*[J]. *Nippon Suisan Gakk*, 1985, 51(4): 515~519.
- [14] Alart E F. Development of the vertebral column, fins and fin supports in the Japanese anchovy, *Engraulis japonicus* (Clupeiformes: Engraulidae)[J]. *Bull Mar Sci*, 1995, 56(2): 495~522.
- [15] Matsuoka M. Osteological development in the Japanese sardine, *Sardinops melanostictus*[J]. *Ichthyol Res*, 1997, 44(3): 275~295.
- [16] Chen Y G, Xia D, Zhong J S, et al. Development of the ver-

- tebral column and the appendicular skeleton in the larvae and juveniles 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.]
- [17] 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.]
- [18] Mabee P M, Crotwell P L, Bird N C, et al. Evolution of median fin modules in the axial skeleton of fishes[J]. J Exp Zool, 2002, 294(2): 77–90.
- [19] 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.]
- [20] 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.]
- [21] Tong X H, Liu Q H, Xu S H, et al. Skeletal development and abnormalities of the vertebral column and of the fins in hatchery-reared turbot *Scophthalmus maximus*[J]. J Fish Biol, 2012, 80(3): 486–502.
- [22] Kohno H, Ordonio-Aguilar R, Ohno A, et al. Morphological aspects of feeding and improvement in feeding ability in early stage larvae of the milkfish, *Chanos chanos*[J]. Ichthyol Res, 1996, 43(2): 133–140.
- [23] Koumoundouros G, Gagliardi F, Divanach P, et al. Normal and abnormal osteological development of caudal fin in *Sparus aurata* L. fry[J]. Aquaculture, 1997, 149(3–4): 215–226.
- [24] Koumoundouros G, Sfakianakis D G, Maingot E, et al. Osteological development of the vertebral column and of the fins in *Diplodus sargus* (Teleostei: Perciformes: Sparidae)[J]. Mar Biol, 2001, 139(5): 853–862.
- [25] Gavaia P J, Dinis M T, Cancela M L. Osteological development and abnormalities of the vertebral column and caudal skeleton in larval and juvenile stages of hatchery-reared Senegal sole (*Solea senegalensis*)[J]. Aquaculture, 2002, 211(1–4): 305–323.
- [26] Zheng P L, Ma Z H, Guo H Y, et al. Ontogenetic development of caudal skeletons in *Trachinotus ovatus* larvae[J]. South China Fisheries Science, 2014, 10(5): 45–50. [郑攀龙, 马振华, 郭华阳, 等. 卵形鲳鲹尾部骨骼胚后发育研究[J]. 南方水产科学, 2014, 10(5): 45–50.]
- [27] Ma H, Zhuang Z M, Liu S F. Skeletal deformities in the larvae and juveniles of cultured tongue sole (*Cynoglossus semilaevis*)[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2011, 18(6): 1399–1405. [马慧, 庄志猛, 柳淑芳, 等. 养殖半滑舌鳎仔稚鱼骨骼畸形的发生过程[J]. 中国水产科学, 2011, 18(6): 1399–1405.]
- [28] Cheng W X, Tang W Q. Some phenotypic varieties between different ecotypes of *Coilia nasus* in Yangtze River[J]. Chinese Journal of Zoology, 2011, 46(5): 33–40. [程万秀, 唐文乔. 长江刀鲚不同生态型间的某些形态差异[J]. 动物学杂志, 2011, 46(5): 33–40.]
- [29] Wang Y M, Tang W Q. The number of vertebrae from Chinese species of the Cypriniformes and its ecological adaptation[J]. Chinese Journal of Zoology, 2014, 49(1): 1–12. [王永梅, 唐文乔. 中国鲤形目鱼类的脊椎骨数及生态适应性[J]. 动物学杂志, 2014, 49(1): 1–12.]
- [30] Zheng K, Yue H, Zheng P L, et al. Skeletal ontogeny and deformities in commercially cultured marinefish larvae[J]. Journal of Fishery Sciences of China, 2016, 23(1): 250–261. [郑珂, 岳昊, 郑攀龙, 等. 海水养殖鱼类仔、稚鱼骨骼发育与畸形发生[J]. 中国水产科学, 2016, 23(1): 250–261.]

Early development of the vertebral column and appendicular skeleton of *Alosa sapidissima*

DENG Pingping, SHI Yonghai, XU Jiabo, YAN Yinlong, XIE Yongde, LIU Yongshi, ZHANG Zongfeng

Shanghai Fisheries Research Institute, Shanghai 200433, China

Abstract: *Alosa sapidissima* is a fish that migrates to spawn, displays rapid growth and high economic value, and is a good substitute food for *Tenualoosa reevesii*. Some studies have reported skeletal development of *Clupea pallasii*, *Opisthonema oglinum*, *Engraulis japonicus*, *Sardinops melanostictus*, and *Coilia nasus* in detail, but not that of *A. sapidissima*. In this study, development of the vertebral column and pectoral and caudal fins of *A. sapidissima* larvae (1–51 days post hatching [dph]) is described using a cartilage and bone clearing and staining technique. The results show that the vertebral column started to develop from hemal arches, neural arches, and hypurals at 10 dph. The neural and hemal arches extended to the neural and hemal spines at 16 dph, respectively. Segmental bone rings formed at 19 dph, and the vertebral column was completely ossified by 23 dph. The appendicular skeleton developed in sequence from the pectoral, caudal, dorsal, and anal to ventral fins. Development of the pectoral fins started when the coracoid appeared at 2 dph. Cartilage of the appendicular pectoral fins formed at 13 dph, and the pectoral girdle and cleithrum ossified by 19 dph. The caudal fin began to develop when the hypurals appeared at 5 dph, and two sections of the epural, one section of the urostyle, and six sections of the hypurals formed at 12 dph. The caudal vertebra and caudal fin began to ossify 19 dph and were completed by 23 dph. The dorsal and anal fins ultimately developed 18 and 22 fins, respectively. The order of development of the *A. sapidissima* appendicular skeleton was the same as that of other fish. The appendicular skeleton, hemal arches, hemal spines, neural arches, neural spines, dorsal ribs, and ventral ribs had cartilage ossification stages. The vertebra and supracleithrum were formed directly from the periosteum, as cartilage staining had no effect on vertebra or the cleithrum. Developmental deformities were detected in trunk vertebra, but the rate was lower than that observed in *C. nasus*. Some caudal vertebrae grew abnormally during the trial. Early exercise had an effect on deformity of longer caudal vertebrae. However, caudal vertebrae lacked protection from forks in the neural arch and ventral ribs. Abnormal growth may have occurred due to nutrition, water quality, or other factors. Studying the early development of the vertebral column and pectoral and caudal fins of *A. sapidissima* is important to understand functional adaptation during early development, environmental optimization, and to classify and identify fish.

Key words: *Alosa sapidissima*; larvae; vertebral column; appendicular skeleton; pectoral fin; caudal fin; skeletal staining

Corresponding author: SHI Yonghai. E-mail: yonghais@163.com