

文章编号: 1674 - 5566(2016)06 - 0853 - 13

DOI:10.12024/jsou.20050501461

菊黄东方鲀脊柱、附肢骨骼及皮刺的早期发育

张宗锋, 施永海, 谢永德, 张海明, 徐嘉波, 陆根海

(上海市水产研究所, 上海 200433)

摘要: 采用软骨-硬骨双染色法对初孵仔鱼到 56 日龄菊黄东方鲀的脊柱、附肢骨骼及皮刺的早期发育进行系统研究。结果表明, 第 5 天髓弓出现, 第 9 天脊柱开始软骨化, 第 13 天脉弓出现, 第 17 天出现硬骨环, 并从前往后开始硬骨化, 第 29 天脊柱硬骨化完成。附肢骨骼开始发育的顺序依次为胸鳍、臀鳍和背鳍、尾鳍。胸鳍的发育以 2 日龄胸鳍的支鳍骨原基的出现为起点, 28 日龄软骨质的胸鳍支鳍骨形成, 42 日龄胸鳍硬骨化基本完成。背鳍和臀鳍出现在 9 日龄, 29 日龄同时开始硬骨化, 至 38 日龄时, 硬骨化完成并且出现分支鳍条。尾鳍发育以 11 日龄长出鳍条为起始特点, 至 38 日龄硬骨化完成。期间伴随着鳍条转移、尾下骨及侧尾下骨生长发育、长出镰刀状横骨等特点。皮刺发育始于 4 日龄鱼少量肚皮刺的出现, 16 日龄开始长出头皮刺。所有肚皮刺硬骨化几乎是同时进行, 而头皮刺则是从前往后进行。研究结果可为菊黄东方鲀早期发育过程中的功能性、适应性研究及该鱼的系统演化和分类提供依据。

关键词: 菊黄东方鲀; 脊柱; 附肢骨骼; 皮刺; 早期发育

中图分类号: S 917; S 965.2 **文献标志码:** A

菊黄东方鲀 (*Takifugu flavidus*) 隶属于鲀形目 (Tetraodontiformes), 鲀科 (Tetraodontidae), 东方鲀属 (*Takifugu*), 主要分布于我国东海、黄海及渤海, 属于温带近海底层鱼类^[1]。对菊黄东方鲀的骨骼发育之前未有报道, 但鱼类的骨骼系统是研究鱼类系统演化和分类的重要依据, 也是其功能适应性的重要依据^[2], 在各类鱼群中都相对稳定。软骨-硬骨双染色法推动了鱼类骨骼系统方面的研究, 从而进一步推动了鱼类系统演化及系统分类的研究^[3-7]。对仔、稚、幼鱼骨骼系统的研究还有利于探讨各类群间的发育关系^[8]。

本实验对 0 ~ 56 日龄的菊黄东方鲀仔、稚、幼鱼发育过程进行连续取样, 采用软骨-硬骨双染色法对菊黄东方鲀脊柱、附肢骨骼及皮刺的早期骨骼发育特征进行了系统性研究, 观察和描述了脊柱、附肢骨骼及皮刺各骨骼发育过程中的形态变化, 获得了一些基础资料, 可以在一定程度上为鱼类骨骼发育的研究提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 仔、稚、幼鱼的培育与取样

本研究用的菊黄东方鲀仔、稚、幼鱼标本由上海市水产研究所苗种技术中心提供。该中心培育的亲鱼通过人工催产获得菊黄东方鲀受精卵, 亲鱼的培育和人工繁殖技术同施永海等^[2]的方法。受精卵的孵化在 2 m³ 的锥形底水泥池中, 密度为 (10 ~ 18) × 10⁴ 个/m³, 每天换水 2 次, 24 h 连续充气。水温为 20.0 ~ 22.5 °C, 盐度为 13.0 ~ 13.5, pH 为 8.2 ~ 8.5, 溶解氧 (DO) 为 5.0 ~ 6.5 mg/L。育苗期间投喂饵料的顺序依次为卵黄 → 褶皱臂尾轮虫 → 卤虫无节幼体 → 桡足类、枝角类。在育苗期间及时做好日常吸污及清除残饵等工作。0 ~ 6 日龄, 在水泥孵化池中取样。7 ~ 22 日龄, 在水泥育苗池中取样, 育苗池与水泥池条件相同。23 日龄鱼苗已下塘, 在外面池塘自然条件下进行养殖和取样。32 日龄时开始

收稿日期: 2016-05-19 修回日期: 2016-08-17

基金项目: 国家公益性行业 (农业) 科研专项 (201203065); 上海长江口主要经济水生动物人工繁育工程技术研究中心项目 (13DZ2251800); 上海市农委青年人才成长计划项目 (沪农青字[2015]第 3-1 号)

作者简介: 张宗锋 (1987—), 男, 工程师, 研究方向为水产养殖与发育生物学。E-mail: windyhappyboy@163.com

通信作者: 施永海, E-mail: yonghais@163.com

投喂人工饲料。取样频率如下:0~30日龄,每天取样1次,32~44日龄,每两天取样1次,44~56日龄每6天取样1次。每次均随机采集30尾。用显微镜或解剖镜测定体长全长后立即用10%的甲醛进行固定,以便之后进行标本制作。

1.2 标本制作

骨骼透明标本的制作和染色参照 DINGERKUS 和 UHLER 的硬骨-软骨双染色法对样品进行处理^[9-12]。主要操作步骤如下:①清洗→②软骨染色→③中和作用→④消化透明→⑤硬骨染色→⑥脱色→⑦保存。

1.3 标本观察

使用配有拍照系统的 OLYMPUS BX53 体视显微镜和 OLYMPUS SZ61 解剖镜对各日龄菊黄东方鲀骨骼系统的发育形态特征进行观察和拍照,记录其不同发育阶段骨骼的形态特征。根据施永海等^[13]的方法划分菊黄东方鲀的发育阶段。骨骼的命名标准参照苏锦祥等^[8]。以下结果所描述各日龄骨骼发育形态特征是以50%以上个体出现该特征为标准。样本测量以体长(SL)表示,表示方式为(mean±SD),数据用 SPSS 17.0 处理,图中标尺表示500 μm。

2 结果

2.1 脊柱的发育

菊黄东方鲀脊椎骨数量为22枚。其中躯椎9枚,尾椎13枚。0日龄(SL 2.60±0.07 mm)仔鱼的脊索未见分节现象(图版 I-1)。第9天时(SL 3.95±0.28 mm),脊柱末端开始软骨化,并从后往前进行(图版 I-3)。第17天时(SL 8.75±0.43 mm),出现硬骨环并开始硬骨化,从前往后进行(图版 I-5),椎体前、后关节突也同时出现,椎体后突则与硬骨环同步发育。第22天时(SL 9.89±0.40 mm),硬骨环全部形成(图版 I-8)。第29天时(SL 13.81±1.20 mm),脊椎硬骨化完成(图版 I-9),前端硬骨化程度最高,往后依次降低。第5天时(SL 3.19±0.08 mm),髓弓出现(图版 I-2);脊椎最前端的髓弓首先出现,从前往后发育;刚出现时均为倒八字形,随着发育的进行,有的髓弓合拢形成髓棘;至硬骨化完成时为止,共有20对髓弓,一般前6对髓弓一直为倒八字形,后面髓弓合拢形成髓棘(图版 I-7)。第13天时(SL 6.83±0.23 mm),

第16对髓弓刚出现,同时第6对髓弓对应的脉弓才开始发育,呈叉形(图版 I-4)。发育顺序是从中间到两边,后面脉弓全部出现后第4对髓弓对应的脉弓才最后出现。刚开始后面的脉弓也都为叉形,与臀鳍基部交汇处及后面的脉弓逐渐变为合拢型(图版 I-6),第8-18对合拢形成脉棘。从侧面看,第8-13对为反“L”形;每一髓弓、脉弓、髓棘和脉棘都是从基部向末端硬骨化。所有椎体和髓弓、髓棘、脉弓、脉棘相对应的硬骨化都是由前向后进行的。

2.2 胸鳍

菊黄东方鲀胸鳍鳍条数为17枚。胸鳍骨骼发育较早,在第2日龄(SL 2.84±0.09 mm),可见支鳍骨原基,此时为软骨(图版 II-1)。第3日龄(SL 2.88±0.07 mm),匙骨和乌喙骨出现,乌喙骨前端连接细长的匙骨,后端连接支鳍骨原基,此时匙骨还未软骨化。第7日龄(SL 3.45±0.11 mm),匙骨和乌喙骨软骨化(图版 II-2)。第9日龄(SL 3.95±0.28 mm)从前往后已经出现9个鳍条,此时还未软骨化(图版 II-3)。到第12天(SL 6.01±0.33 mm)时,支鳍骨原基逐渐发育成为支鳍软骨,肩胛骨出现,与乌喙骨上方相连接(图版 II-4)。第15天(SL 7.97±0.56 mm)时,5个支鳍软骨进一步软骨化,鳍条基部的支鳍骨也在不断出现,肩胛骨退化消失(图版 II-5)。第20天(SL 8.91±0.67 mm)时,5个支鳍骨清晰可见,支鳍骨软骨化完成(图版 II-6)。第29天时,匙骨硬骨化完成,支鳍骨硬骨化,顺序从前至后(图版 II-7)。第42天(SL 22.30±2.67 mm)时,胸鳍硬骨化基本完成,鳍条中后部出现明显分叉,支鳍骨边缘保留部分软骨。鳍条的前1/3均硬骨化(图版 II-8),与第56天(SL 34.87±4.24 mm)的幼鱼差异不大(图版 II-9)。

2.3 背鳍和臀鳍

作为附肢骨骼中的奇鳍,背鳍和臀鳍的发育几乎同步。第9天时,背鳍支鳍软骨出现。同时在臀鳍处5枚臀鳍支鳍软骨出现并以从中间到两边的顺序发育,它们以臀鳍着生处为生长点向体内生长(图版 III-1)。第18天时(SL 8.76±0.76 mm),可以清晰看到臀鳍支鳍骨和鳍条基部紧密连接以及背鳍支鳍软骨、臀鳍支鳍软骨在体内的分布,鳍条与支鳍骨结合之处软骨化(图版

Ⅲ-2)。第 20 天时(SL 8.91 ± 0.67 mm),背鳍支鳍软骨和臀鳍支鳍软骨软骨化完成。背鳍的第 2 支鳍软骨与其他支鳍软骨生长方向不一致,从基部绕过第 1 支鳍软骨按着与脊柱平行的方向生长,其软骨化尚未完成(图版Ⅲ-3)。第 24 天时(SL 10.79 ± 1.05 mm),鳍条软骨化完成(图版Ⅲ-4)。第 29 天时,背鳍、臀鳍鳍条软骨化完成,同时支鳍软骨开始硬骨化。从支鳍软骨中部开始,逐渐向两端扩展(图版Ⅰ-9)。第 36 天时(SL 18.46 ± 1.64 mm),背鳍支鳍软骨和臀鳍支鳍软骨硬骨化完成。鳍条上分节点增加,从中间到两边分节点数依次减少(图版Ⅲ-5)。第 38 天时(SL 18.46 ± 1.64 mm),背鳍和臀鳍从中间到两边鳍条硬骨化程度加深。鳍条上分节点增多,节点清晰可见。中间的鳍条末端出现分叉,从中间往后鳍条分叉程度依次减轻(图版Ⅲ-6、图版Ⅲ-7)。背鳍、臀鳍鳍条发育的最终状态(图版Ⅲ-8、图版Ⅲ-9),为第 56 日龄幼鱼的照片。鳍条硬骨化的程度更深,范围更大,硬骨化已经蔓延到鳍条的第二排分节点往后,但之后到鳍条末端仍为软骨,背鳍、臀鳍鳍条最终还是硬骨和软骨并存。随着中间鳍条的生长,鳍条末端的分叉起点往前推移至鳍条中部。从中间的鳍条往后,分叉点往鳍条末端推移。背鳍、臀鳍的前几根鳍条没有分叉。

2.4 尾鳍

早期仔鱼的脊索为直线状(图版Ⅰ-1)。直到第 9 天时,脊柱末端开始软骨化(图版Ⅰ-3)。第 11 天时,在靠近脊柱末端腹侧出现了 1 枚单独的鳍条和 1 枚长在 1 个尾下骨上的鳍条,两枚鳍条几近透明。在未成形的脊柱中央,可见一条直线形的脊索(图版Ⅳ-1)。第 12 天时,出现 6 枚鳍条,其中 3 枚鳍条长在软骨质的尾下骨上,同时侧尾下骨出现。只有尾下骨和尾尖呈现软骨化状态(图版Ⅳ-2)。第 13 天时,脊柱末端开始上翘。出现 1 枚侧尾上骨和腹面与之相对的 1 枚侧尾下骨即第一侧尾下骨,同时第二尾下骨出现。由中间到两边鳍条末端开始出现分节点。此时共出现 10 枚鳍条。第一尾下骨上 4 枚,第二尾下骨上 4 枚,第二侧尾下骨上 1 枚,第一侧尾下骨上 1 枚。第二侧尾下骨与第一尾下骨基部形成联合,围成一个倾斜的勺子形。侧尾上骨、尾下骨、侧尾下骨都开始软骨化,之前出现的鳍条

也已软骨化,尾尖和新出现的鳍条逐渐软骨化(图版Ⅳ-3)。第 15 天时,脊柱后端上翘幅度增大,第一尾下骨与第二尾下骨间的距离变小。两者的形状也略有变化(图版Ⅳ-4)。第 19 天时,在第一、第二尾下骨基部与尾杆骨连接处分别出现 1 个横状的软骨,紧贴尾下骨并分布在二者之间的空隙中(图版Ⅳ-5)。第 20 天时,脊索消失。第 36 天时(SL 17.28 ± 1.60 mm),镰刀状横骨完成硬骨化。硬骨化完成后属于尾椎的第 21 块脊椎骨也在发生变化,髓弓、髓棘、脉弓、脉棘在此节前端出现,而且其偏折方向和躯椎的偏折方向相反,椎骨上方下方都和软骨相连接(图版Ⅳ-6)。第 38 天时,第一尾下骨和第二尾下骨之间从基部到末端连接逐渐紧密,鳍条硬骨化完成。第 40 天时(SL 19.34 ± 1.63 mm),第一、第二尾下骨之间仅剩一小缺口,镰刀状横骨分布在二者连接处。(图版Ⅳ-7)。第 42 天时,最后一节尾椎骨逐渐变得尖锐,尾部最上面的鳍条基部深入第二尾下骨中(图版Ⅳ-8)。第 56 天时,在鳍条末端,由中间鳍条向两边鳍条开始出现第二级分叉,之后的尾鳍仅存在鳍条硬骨化程度的差异,鳍条末端始终为软骨(图版Ⅳ-9)。

2.5 皮刺

菊黄东方鲀的皮刺按着生部位可以分为两种:肚皮刺和头皮刺。肚皮刺发育比较早,在第 4 天时(SL 3.00 ± 0.08 mm),腹部中央出现少量肚皮刺,同时向四周扩散,四周可见皮刺原基(图版Ⅴ-1)。第 9 天时,皮刺变长,覆盖面积扩大,从后颌骨往下至前门部腹面及侧面的一部分均有皮刺覆盖(图版Ⅴ-2)。第 12 天时,皮刺开始软骨化(图版Ⅴ-3)。第 16 天时,鱼头上开始出现少量皮刺,由颅骨正上方向周围扩展(图版Ⅵ-1)。第 17 天时,头皮刺在生长的同时进行软骨化,可见头皮刺和肚皮刺的原基(图版Ⅴ-4、图版Ⅵ-2)。第 27 天时,头皮刺生长更加粗壮(图版Ⅵ-3)。第 28 天时(SL 12.56 ± 1.70 mm),肚皮刺(图版Ⅴ-5)和头皮刺(图版Ⅵ-4)软骨化明显。第 36 天时,肚皮刺开始硬骨化,单个肚皮刺的硬骨化顺序是从皮刺中间开始,往末端和基部延伸。所有皮刺几乎是同步进行的(图版Ⅴ-6)。同时,头皮刺也开始硬骨化,单个头皮刺的硬骨化顺序也是从中间向皮刺末端和基部进行延伸。所有的头皮刺从前往后进行硬骨

化,(图版VI-5)。到第40天时,肚皮刺硬骨化程度加深,鱼通体透明,软骨硬骨分界明显(图版V-7)。头皮刺开始硬骨化,单个头皮刺硬骨化顺序为从中间到两端,即从皮刺中间向末端和基部进行,总体的顺序是从前往后(图版VI-6)。第42天时,肚皮刺硬骨化完成。从正面看,可以看到肚皮刺基部肥大,每个肚皮刺基部与表皮间均有4~5个分支的鸭蹼状连接。该连接以皮刺基部为中心点,向四周发散。几条发散的分支与皮肤表皮相连,以便能够与皮肤牢固地连在一

起,同时又不失皮刺活动时的灵活性。连接点在一起呈星形或五角星形。平时肚皮刺紧贴着表皮与皮肤平行,当遇到紧急情况或危险时,则竖立起来,起警示作用(图版V-8、图版V-9)。头皮刺硬骨化未完全,整齐排列(图版VI-7)。到了第50天时(SL 29.51 ± 3.44 mm),头皮刺正在硬骨化,位于中间的皮刺仍然呈现软骨化状态(图版VI-8)。直到第56天时,头皮刺硬骨化才完全完成(图版VI-9)。

表1 菊黄东方鲀脊柱、附肢骨骼及皮刺的发育和骨化进程
Tab.1 The development and ossification schedule of vertebral column, appendicular skeleton and aculeus of tawny puffer

	开始发育日龄 the beginning days old of development	开始软骨化日龄 the beginning days old of chondrification	开始硬骨化日龄 the beginning days old of ossification	硬骨化完成日龄 the days old of ossification acomplish	硬骨化持续 天数 ossification lasting days	开始发育到硬骨化完成所用天数 the days between the beginning of development and ossification acomplish
脊柱 vertebral column	9	9	17	29	12	20
胸鳍 pectoral fin	2	12	29	42	13	40
背、臀鳍 dorsal fin and anal fin	9	12	29	56	27	47
尾鳍 tail fin	9	12	29	38	9	29
皮刺 aculeus	4	12	36	56	20	52

3 讨论

3.1 关于骨骼发育的顺序

因鱼的种类不同,骨骼发育的时间也有差异。有的鱼的头骨和鳍在孵化以前已经有所发育,如鲑科鱼类(Salmonidae)^[13],而有的鱼则是在孵化后才开始发育^[14-16],如金头鲷(*Sparus aurata*)、舌齿鲈(*Dicentrarchus labrax*)、真鲷(*Pagrosomus major*)等。菊黄东方鲀属于后一类型,仔鱼在开口前除了头部部分骨骼发育外,胸鳍的匙骨、乌喙骨、支鳍骨原基也具备,骨骼系统的初步发育为仔鱼从内源性营养转化为外源性营养即摄食活动的开始创造了条件。

不同鱼类脊柱发育方式并不完全相同,通常以髓弓和脉弓的发育为起点,但是不同鱼类髓弓和脉弓出现的位置存在差异^[17-18]。菊黄东方鲀

与日本鬼鲀^[19](*Inimicus japonicus*)、大黄鱼^[7](*Larimichthys crocea*)在脊柱发育方面有一定的相似性,都是髓弓、脉弓出现较早,并且脊椎椎体的硬骨化顺序都是从头部开始由前向后发育。而有些鱼类如鲱形目,则是尾椎先硬骨化,接着是中间的椎体,然后再向尾部和头部方向同时进行硬骨化^[20]。

3.2 菊黄东方鲀骨骼系统发育的特殊性

菊黄东方鲀无肋骨,在其发育过程中,脊柱中部的脉弓末端生长到一定长度后向后垂直弯折,形成了反“L”形脉弓(图版I-9),这种结构展现出诸多优点:一是能够更好地辅助脊柱支持身体、保护尾动脉和尾静脉。二是为鳔的充气腾出了空间,为配合“胀气”提供了有利条件。三是为臀鳍支鳍骨基节延伸提供了附着平台,稳定了臀鳍支鳍骨的结构。

皮刺是菊黄东方鲀不同于其他鱼类的特殊结构。菊黄东方鲀皮刺很早就长出,肚皮刺最早见于4日龄时,头上也长有头皮刺。同时无腹鳍,这就有利于皮刺最大程度地覆盖鱼体,趋利避害。每个肚皮刺基部与表皮间都具有4~5个分支的鸭蹼状连接,使皮刺能够与皮肤牢固地连在一起,同时又不失皮刺活动时的灵活性。平时肚皮刺紧贴着表皮与皮肤平行,当遇到敌害或危险情况时,则竖立起来,整个鱼体变为一个“刺球”(图版V-9)。增强了自身的警戒功能,同时保护自己,以便更好地适应外界环境。

菊黄东方鲀第1、2尾下骨在发育过程中会逐渐联合,这也是鱼类尾鳍发育中通常出现的一个现象,联合的形式各异,也是系统分类的重要特征^[21]。大麻哈鱼(*Oncorhynchus keta*)、糙头小银汉鱼(*Atherion elymus*)、阿部鲯虾虎鱼(*Mugilogobius abei*)均有此特点,但有所差异^[22]。糙头小银汉鱼第1、2尾下骨基部和末端均具联合,中间没有。而菊黄东方鲀则是从第1、2尾下骨基部到末端逐渐联合。阿部鲯虾虎鱼第1、2尾下骨完全联合,但不与侧尾下骨联合,菊黄东方鲀不但第1、2尾下骨完全联合,而且第2侧尾下骨与第1尾下骨基部也形成联合。而在较低等的鲱形目鱼类如刀鲚(*Coilia nasus*),其尾下骨联合程度却很低^[21]。

菊黄东方鲀尾鳍比较特殊,没有尾上骨,仅有两个联合的侧尾上骨。而一些鱼类如鳀^[23]、百慕大小公鱼(*Anchoviella choerostoma*)^[24]、刀鲚等在发育过程中不仅有3个尾上骨,而且尾上骨还会形成联合。较高等鱼类中,西大西洋笛鲷(*Lutjanus campechanus*)^[25]、金色小叶齿鲷(*Microspathodon chrysurus*)^[4]、鲱小鲷(*Pagellus erythrinus*)^[26]、真鲷(*Pagrosomus major*)^[3]的3个尾上骨则未形成联合。

菊黄东方鲀最后一节尾椎末端形成的尾杆骨逐渐退化。构成尾鳍的髓弓髓脊也比较少,只有第21、22节脊椎骨参与构成。第21节脊椎骨最为特殊,虽然是尾椎骨,但是它具有躯椎和尾椎的双重特点,在脊椎骨发育过程中其变化最大,刚开始它与第22节脊椎骨的髓脊、脉脊的朝向相反,但是后来随着尾鳍发育的成熟,其朝向逐渐一致,其他脊椎骨的髓弓脉弓均长在脊椎骨中间,而它的却是长在最前端,髓弓脉弓之后椎

骨上面的空间还长有宽大扁平的侧尾上骨,椎骨下面的空间则长有斜分叉状的侧尾下骨,此外椎骨上下还长有许多硬骨化的叉状分支,用以稳固尾鳍的结构(图版IV-6)。

由于菊黄东方鲀尾鳍的结构相对简单,所以为适应环境,在发育过程中长出两个镰刀状横骨。随着发育的进行,镰刀状横骨基部盘绕最后一节尾椎生长,同时与第一、第二尾下骨基部紧密相连,并从基部沿着第一、第二尾下骨的间隙向尾下骨末端生长,在填补第一、第二尾下骨之间的间隙的同时,使尾鳍结构更加稳定。

关于菊黄东方鲀的骨骼发育还有很多值得探讨的地方,尾鳍结构简单,参与其构成的髓弓髓脊很少,没有尾上骨,而且尾杆骨退化,加上镰刀状横骨的出现,说明该鱼在进化上占据一定的优势还是退化值得进行更进一步地研究。

参考文献:

- [1] 杨竹舫,张汉秋,匡云华. 渤海湾菊黄东方鲀(*Fugu flavidus*)生物学的初步研究[J]. 海洋通报, 1991, 10(6): 44-47.
YANG Z F, ZHANG H Q, KUANG Y H. Studies on biology of *Fugu flavidus* in Bohai Bay[J]. Marine Science Bulletin, 1991, 10(6): 44-47.
- [2] 孟庆闻,苏锦祥,李婉端. 鱼类比较解剖学[M]. 北京: 科学出版社, 1987: 115.
MENG Q W, SU J X, LI W D. The fish comparative anatomy[M]. Beijing: Science Press, 1987: 115.
- [3] KOHNO H, TAKI Y, OGASAWARAY, et al. Development of swimming and feeding functions in larval *Pagrus major* [J]. Japanese Journal of Ichthyology, 1983, 30(1): 47-60.
- [4] POTTHOFF T, KELLEY S, SAKSENA V, et al. Description of larval and juvenile yellowtail damselfish, *Microspathodon chrysurus*, pomacentridae, and their osteological development[J]. Bulletin of Marine Science, 1987, 40(2): 330-375.
- [5] DASILAO J C JR, AMAOKA K Y. Development of the vertebral column and caudal complex in a flyingfish, *Parexocoetus mento mento* (Teleostei: Exocoetidae) [J]. Ichthyological Research, 1998, 45(3): 303-308.
- [6] CLAUDIA J DC, OSCAR A T, MARTHA P R. The morphology and post-hatching development of the skull of *Bolitoglossa nicefori* (Caudata: Plethodontidae): developmental implications of recapitulation and repatterning [J]. Zoology, 2009, 112(3): 227-239.
- [7] 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,

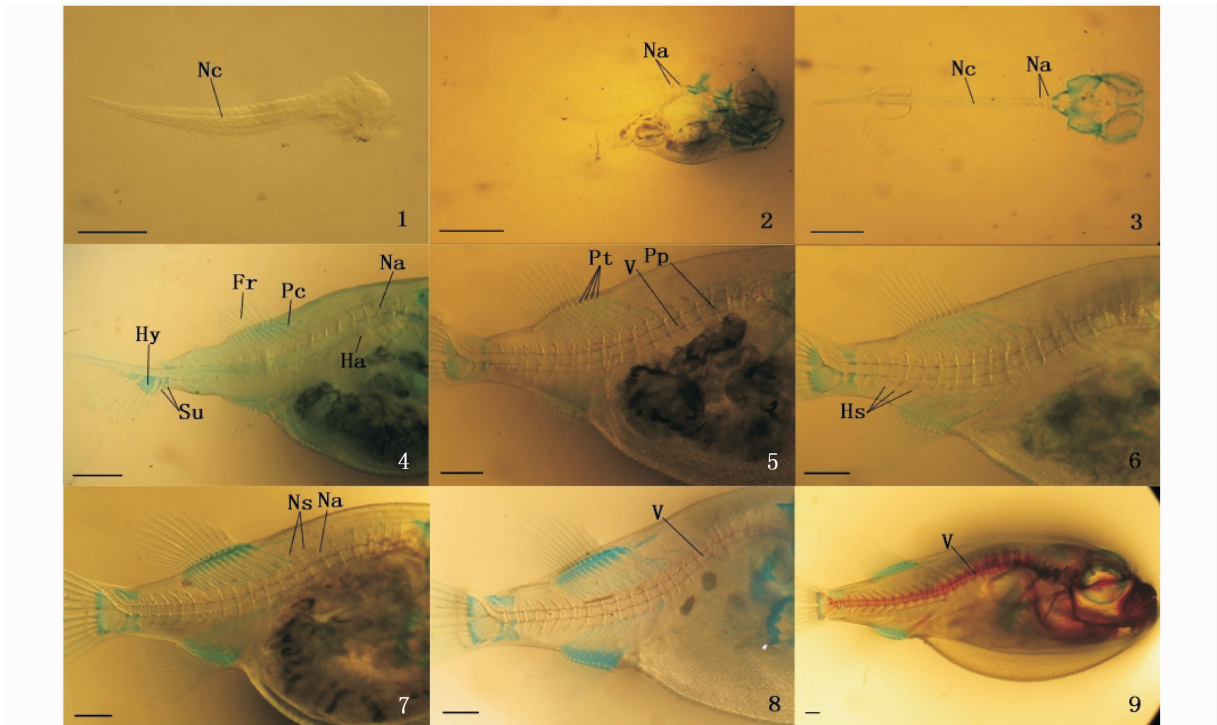
- 34(3): 467–472.
- WANG Q R, NI Y Y, LIN L M. et al. Development of the vertebral column and the pectoral and caudal fins in larvae of the large yellow croaker *Larimichthys Crocea* (Richardson) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 2010, 34(3): 467–472.
- [8] 苏锦祥, 孟庆闻, 唐宇平. 团头鲂骨骼系统的发育[J]. *水生生物学报*, 1989, 13(1): 1–14.
- SU J X, MENG Q W, TANG Y P. Development of skeletal system of *Megalobrama amblycephala* (Pisces: Cyprinidae) [J]. *Acta Hydrobiologica Sinica*, 1989, 13(1): 1–14.
- [9] DINGERKUS G, UHLER L D. Enzyme clearing of alcian blue stained whole small vertebrates for demonstration of cartilage[J]. *Stain Technology*, 1977, 52(4): 229–232.
- [10] GAVAIA P J, SARASQUETE C, CANCELA M L. Detection of mineralized structures in early stages of development of marine teleostei using a modified Alcian Blue–Alizarin Red double staining technique for bone and cartilage [J]. *Biotechnic & Histochemistry*, 2000, 75(2): 79–84.
- [11] SONG J K, PARENTI L R. Clearing and staining whole fish specimens for simultaneous demonstration of bone, cartilage, and nerves[J]. *Copeia*, 1995, 1: 114–118.
- [12] LEWIS L M, LALL S P, WITTEN E P. Morphological descriptions of the early stages of spine and vertebral development in hatchery-reared larval and juvenile Atlantic halibut (*Hippoglossus hippoglossus*) [J]. *Aquaculture*, 2004, 241(1/4): 47–59.
- [13] KENDALL A W JR, AHLSTROM E H, MOSER H G. Early life history stages of fishes and their characters [M]// MOSER H G, RICHARDS W J, COHEN D M, et al. *Ontogeny and Systematics of Fishes*. American Society of Ichthyologists Herpetologists. Laurence: Allen Press, 1984: 11–22.
- [14] 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.
- [15] MARINO G, BOGLIONE C, BERTOLINI B, et al. Observations on development and anomalies in the appendicular skeleton of sea bass, *Dicentrarchus labrax* L. 1758, larvae and juveniles [J]. *Aquaculture Research*, 1993, 24(3): 445–456.
- [16] MATSUOKA M. Development of the skeletal tissues and skeletal muscles in the red sea bream[J]. *Bulletin of Seikai National Fisheries Research Institute*, 1987, 65: 1–114.
- [17] HOSOYA K, KAWAMURA K. Skeletal formation and abnormalities in the caudal complex of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* (Temminck and Schlegel) [J]. *Bulletin of the National Research Institute of Fisheries Science*, 1998, 12: 97–110.
- [18] LIU C H. Early osteological development of the yellow tail *Seriola dumerli* (Pisces: Carangidae) [J]. *Zoological Studies*, 2001, 40(4): 289–298.
- [19] 崔国强, 陈阿琴, 吕为群. 日本鬼鲉脊柱和四肢骨骼的早期发育[J]. *水产学报*, 2013, 37(2): 230–238.
- 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.
- [20] RICHARDS W J, MILLER R V, HOUDE E. Egg and larval development of the Atlantic thread herring, *Opisthonema oglinum*[J]. *Fishery Bulletin*, 1974, 72: 1123–1136.
- [21] 陈渊戈, 夏冬, 钟俊生, 等. 刀鲚仔稚鱼脊柱和四肢骨骼发育[J]. *上海海洋大学学报*, 2011, 20(2): 217–223.
- CHEN Y G, XIA D, ZHONG J S, et al. Development of the vertebral column and the appendicular skeleton in the larvae and juveniles of *Coilia nasus*[J]. *Journal of Shanghai Ocean University*, 2011, 20(2): 217–223.
- [22] KOHNO H, TAKI Y. Comments on the Development of Fin-Supports in Fishes [J]. *Japanese Journal of Ichthyology*, 1983, 30(3): 284–290.
- [23] BALART E F. Development of the Vertebral Column, Fins and Fin Supports in the Japanese Anchovy, *Engraulis japonicus* (Clupeiformes: Engraulidae) [J]. *Bulletin of Marine Science*, 1995, 56(2): 495–522.
- [24] HOLLISTER G. Caudal skeleton of bermuda shallow water fishes I. Order isospondyli: elopidae, megalopidae, albulidae, clupeidae, dussumieridae, engraulidae [J]. *Zoologica*, 1936, 21(23): 257–290.
- [25] POTTHOFF T, KELLEY S, COLLINS L A. Osteological development of the red snapper, *Lutjanus campechanus* (Lutjanidae) [J]. *Bulletin of Marine Science*, 1988, 43(1): 1–40.
- [26] SFAKIANAKIS D G, KOUMOUNDOUROS G, DIVANACH P, et al. Osteological development of the vertebral column and of the fins in *Pagellus erythrinus* (L. 1758). Temperature effect on the developmental plasticity and morpho-anatomical abnormalities [J]. *Aquaculture*, 2004, 232(1/4): 407–424.

Early development of the vertebral column, appendicular skeleton and aculeus in the Tawny puffer (*Takifugu flavidus*)

ZHANG Zongfeng, SHI Yonghai, XIE Yongde, ZHANG Haiming, XU Jiabo, LU Genhai
(Shanghai Fisheries Research Institute, Shanghai 200433, China)

Abstract: The appendicular skeleton and the aculeus were examined in larvae of tawny puffer (*Takifugu flavidus*) from hatching through 56 days after hatching (d. a. h) by the the clearing and staining technique of cartilage and bone. According to the observation, the vertebral column started to develop from neural arches at 5 d. a. h. cartilage dyeing started at 9 d. a. h, haemal arch appeared at 13 d. a. h, bony ring appeared at 17 d. a. h, and then was ossified from front to back. The vertebral column was ossified at 29 d. a. h. In developing sequence, pectoral fin was the earliest, the anal fin followed it, and then the tail fin. The pectoral fin started to develop from the appearance of pterygiophore primordium of the pectoral fin at 2 d. a. h. The cartilaginous pterygiophore of pectoral fin formed at 28 d. a. h., and the pectoral fin was basically ossified at 42 d. a. h.. Dorsal fin and anal fin appeared in the age of 9 d. a. h, and began to ossify in the same age of 29 d. a. h. Up to 38 days of age, they were completely ossified, and branch pterygiophores appeared. The caudal fin started to develop from the appearance of pterygiophore at the end of the notochord at 11 d. a. h, and was ossified at 38 d. a. h. During this period, there are some characters followed, like pterygiophore shifted, hypural and lateral hypural developed, sickle shaped trabecular bone emerged and so on. The aculeus began to develop at 4 d. a. h with the emergence of a small amount of belly aculeus, however the scalp aculeus appeared at 16 d. a. h. All of the belly aculeus ossified almost simultaneously, but the scalp aculeus were from front to back. This study can provide the basis for the function and adaptation research, system evolution and classification of tawny puffer during its early development.

Key words: tawny puffer; vertebral column; appendicular skeleton; aculeus; early development

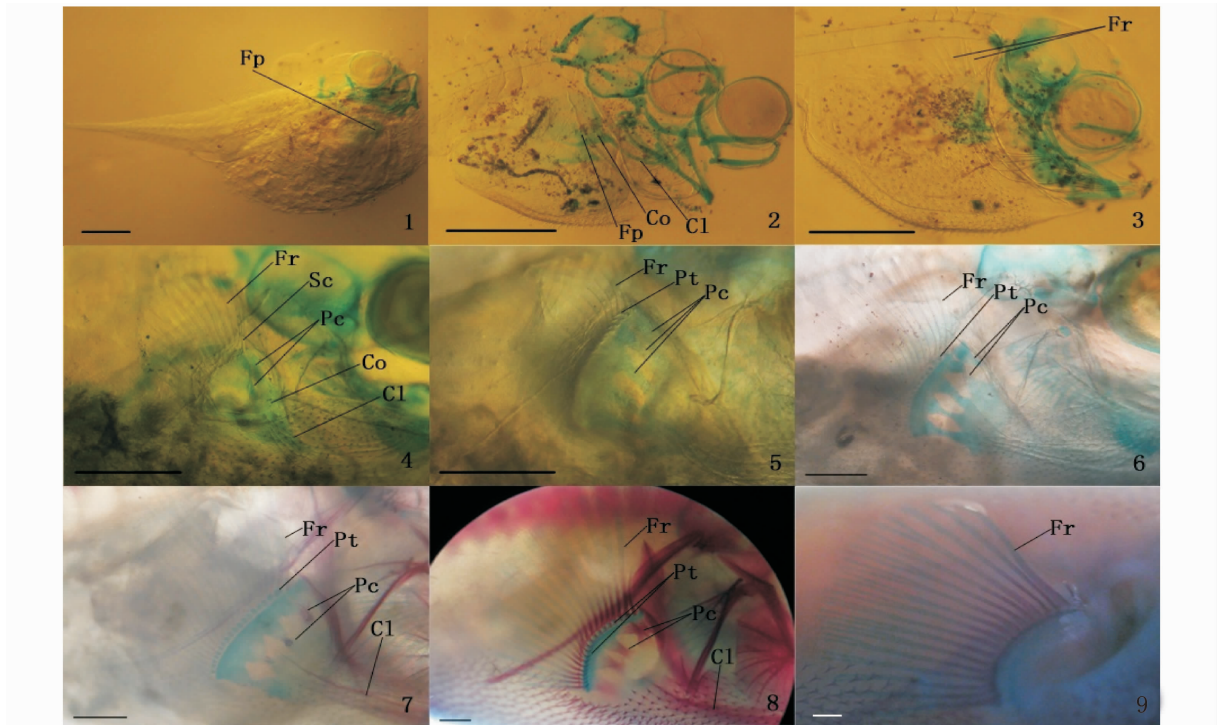


图版 I 菊黄东方鲀脊柱的发育过程

Plate I Development of the vertebral column in the *Taikifugu flavidus*

1. 0 日龄仔鱼; 2. 5 日龄仔鱼; 3. 9 日龄稚鱼; 4. 13 日龄稚鱼; 5. 17 日龄稚鱼; 6. 18 日龄稚鱼; 7. 21 日龄稚鱼; 8. 22 日龄稚鱼; 9. 29 日龄稚鱼; Fr. 鳍条; Ha. 脉弓; Hs. 脉棘; Hy. 尾下骨; Na. 髓弓; Nc. 脊索; Ns. 髓棘; Pc. 支鳍软骨; Pp. 椎体横突; Pt. 支鳍骨; Su. 侧尾下骨; V. 椎骨

1. 0 d. a. h larvae (SL2.60 ± 0.07 mm); 2. 5 d. a. h larvae (SL3.19 ± 0.08 mm); 3. 9 d. a. h postlarva (SL3.95 ± 0.28 mm); 4. 13 d. a. h postlarva (SL6.83 ± 0.23 mm); 5. 17 d. a. h postlarva (SL8.75 ± 0.43 mm); 6. 18 d. a. h postlarva (SL8.76 ± 0.76 mm); 7. 21 d. a. h postlarva (SL9.34 ± 0.60 mm); 8. 22 d. a. h postlarva (SL9.89 ± 0.40 mm); 9. 29 d. a. h postlarva (SL13.81 ± 1.20 mm); Fr. fin ray; Ha. haemal arch; Hs. haemal spine; Hy. hypural plate; Na. neural arch; Nc. notochord; Ns. neural spine; Pc. Pterygiophore cartilage; Pp. Parapophysis; Pt. pterygiophore; Side under the hypural plate V. vertebra

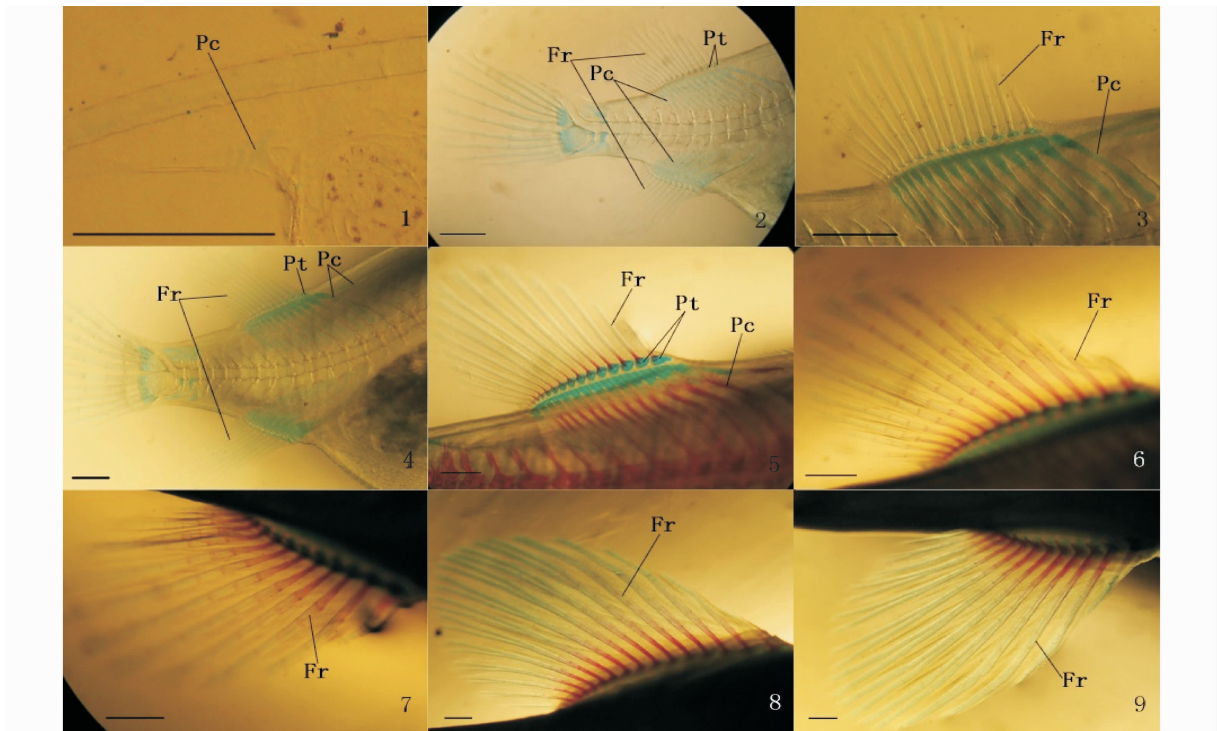


图版 II 菊黄东方鲀胸鳍的发育过程

Plate II Development of the pectoral fin in the *Taikifugu flavidus*

1. 2 日龄仔鱼; 2. 7 日龄仔鱼; 3. 9 日龄稚鱼; 4. 12 日龄稚鱼; 5. 15 日龄稚鱼; 6. 20 日龄稚鱼; 7. 29 日龄稚鱼; 8. 42 日龄幼鱼; 9. 56 日龄幼鱼; Cl. 匙骨; Co. 乌喙骨; Fp. 支鳍骨原基; Fr. 鳍条; Pc. 支鳍软骨; Pt. 支鳍骨; Sc. 肩胛骨

1. 2 d. a. h larvae (SL2.84 ± 0.09 mm); 2. 7 d. a. h larvae (SL3.45 ± 0.11 mm); 3. 9 d. a. h postlarva (SL3.95 ± 0.28 mm); 4. 12 d. a. h postlarva (SL6.01 ± 0.33 mm); 5. 15 d. a. h postlarva (SL7.97 ± 0.56 mm); 6. 20 d. a. h postlarva (SL8.91 ± 0.67 mm); 7. 29 d. a. h postlarva (SL13.81 ± 1.20 mm); 8. 42 d. a. h juvenile fish (SL22.30 ± 2.67 mm); 9. 56 d. a. h juvenile fish (SL34.87 ± 4.24 mm); Cl. cleithrum; Co. coracoid; Fp. fin plate; Fr. fin ray; Pc. Pterygiophore cartilage; Pt. pterygiophore; Sc. Scapula

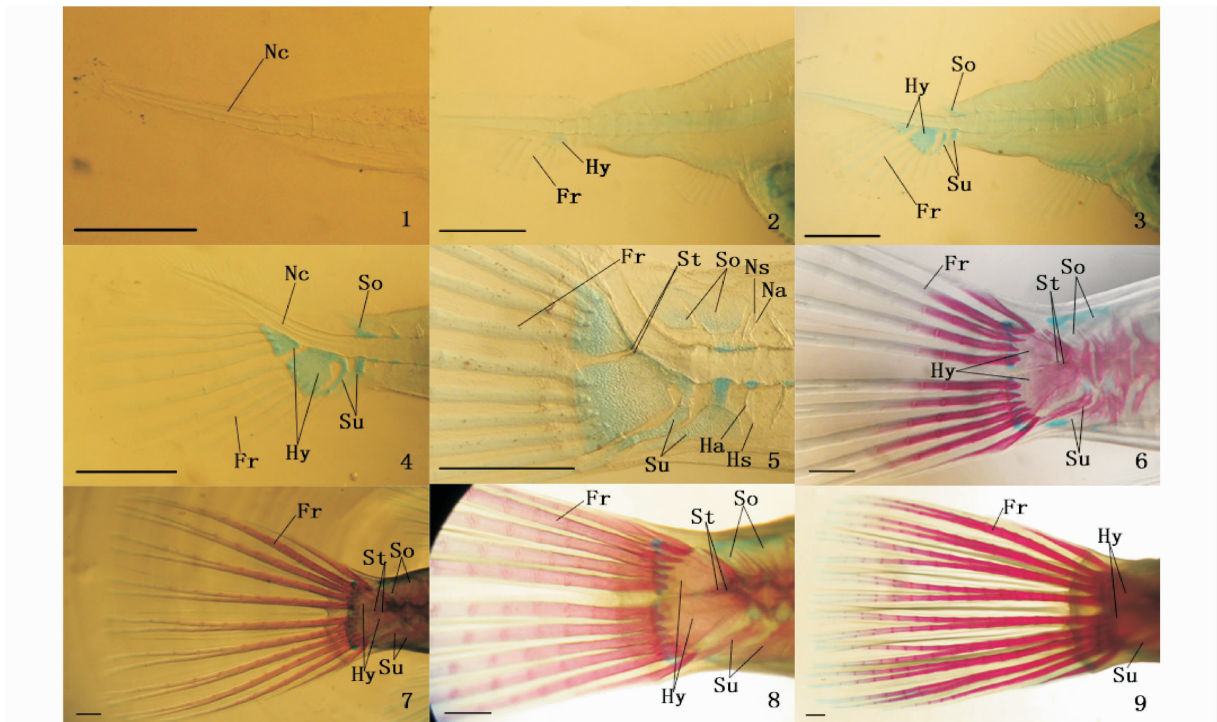


图版III 菊黄东方鲀背鳍、臀鳍的发育过程

Plate III Development of the Dorsal fin and anal fin in the *Taikifugu flavidus*

1. 9 日龄稚鱼; 2. 18 日龄稚鱼; 3. 20 日龄稚鱼; 4. 24 日龄稚鱼; 5. 36 日龄幼鱼; 6. 38 日龄幼鱼; 7. 38 日龄幼鱼; 8. 56 日龄幼鱼; 9. 56 日龄幼鱼; Pc. 支鳍软骨; Pt. 支鳍骨; Fr. 鳍条

1. 9 d. a. h postlarva (SL3.95 ± 0.28 mm); 2. 18 d. a. h postlarva (SL8.76 ± 0.76 mm); 3. 20 d. a. h postlarva (SL8.91 ± 0.67 mm); 4. 24 d. a. h postlarva (SL10.79 ± 1.05 mm); 5. 36 d. a. h postlarva (SL17.28 ± 1.60 mm); 6. 38 d. a. h postlarva (SL18.46 ± 1.64 mm); 7. 38 d. a. h postlarva (SL18.46 ± 1.64 mm); 8. 56 d. a. h postlarva (SL34.87 ± 4.24 mm); 9. 56 d. a. h postlarva (SL34.87 ± 4.24 mm); Pc. pterygiophore cartilage; Pt. pterygiophore; Fr. fin ray

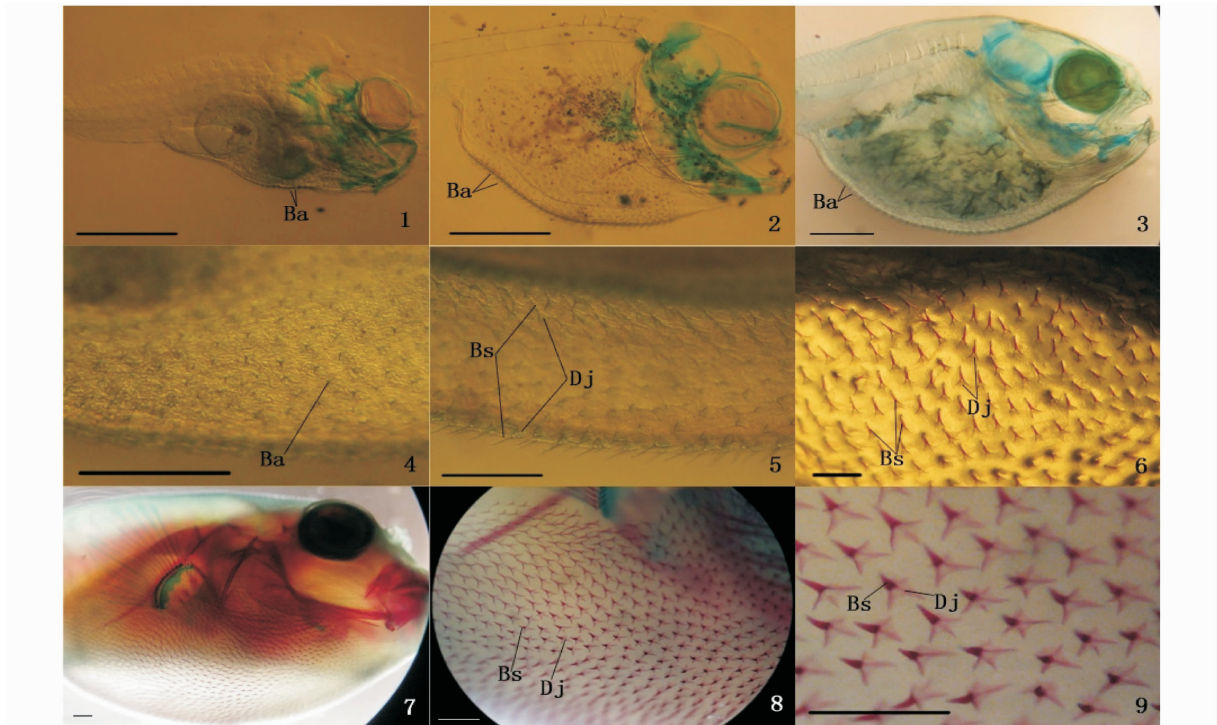


图版IV 菊黄东方鲀尾鳍的发育过程

Plate IV Development of the tail fin in the *Taikifugu flavidus*

1. 11 日龄稚鱼; 2. 12 日龄稚鱼; 3. 13 日龄稚鱼; 4. 15 日龄稚鱼; 5. 19 日龄稚鱼; 6. 36 日龄幼鱼; 7. 40 日龄幼鱼; 8. 42 日龄幼鱼; 9. 56 日龄幼鱼; 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; So. 侧尾上骨; Su. 侧尾下骨; St. 镰刀状横骨

1. 11 d. a. h postlarva (SL5.05 ± 0.29 mm); 2. 12 d. a. h postlarva (SL6.01 ± 0.33 mm); 3. 13 d. a. h postlarva (SL6.83 ± 0.23 mm); 4. 15 d. a. h postlarva (SL7.97 ± 0.56 mm); 5. 19 d. a. h postlarva (SL8.81 ± 0.40 mm); 6. 36 d. a. h juvenile fish (SL17.28 ± 1.60 mm); 7. 40 d. a. h juvenile fish (SL19.34 ± 1.63 mm); 8. 42 d. a. h juvenile fish (SL22.30 ± 2.67 mm); 9. 56 d. a. h juvenile fish (SL34.87 ± 4.24 mm); Ep. epural; Fr. fin ray; Ha. haemal arch; Hs. haemal spine; Hy. hypural plate; Na. neural arch; Nc. notochord; Ns. neural spine; So. side over the hypural plate; St. sickle shaped transversum; Su. side under the hypural plate

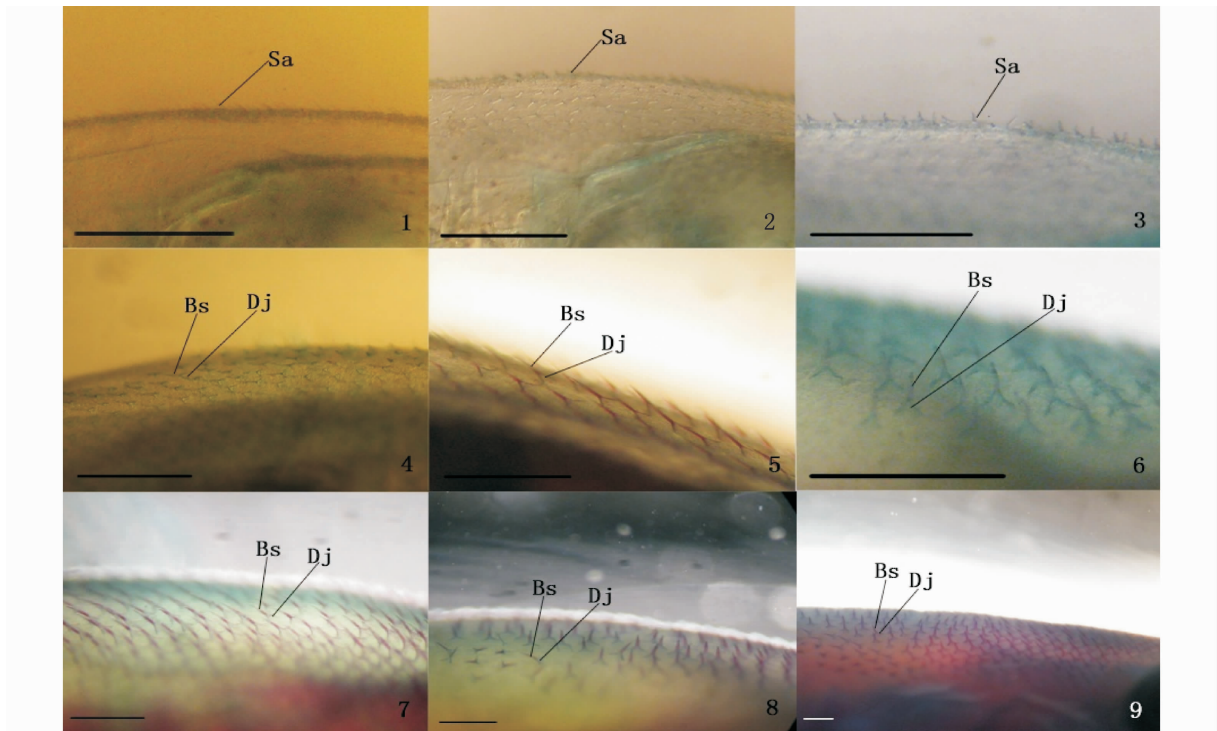


图版 V 菊黄东方鲀肚皮刺的发育过程

Plate V Development of the belly aculeus in the *Taikifugu flavidus*

1. 4 日龄仔鱼; 2. 9 日龄稚鱼; 3. 12 日龄稚鱼; 4. 17 日龄稚鱼; 5. 28 日龄稚鱼; 6. 36 日龄幼鱼; 7. 36 日龄幼鱼; 8. 42 日龄幼鱼; 9. 56 日龄幼鱼; Ba. 肚皮刺; Bs. 骨刺; Dj. 鸭蹼状连接

1. 4 d. a. h larvae (SL3.00 ± 0.08 mm); 2. 9 d. a. h postlarva (SL3.95 ± 0.28 mm); 3. 12 d. a. h postlarva (SL6.01 ± 0.33 mm); 4. 17 d. a. h postlarva (SL8.75 ± 0.43 mm); 5. 28 d. a. h postlarva (SL12.56 ± 1.70 mm); 6. 36 d. a. h juvenile fish (SL17.28 ± 1.60 mm); 7. 36 d. a. h juvenile fish (SL17.28 ± 1.60 mm); 8. 42 d. a. h juvenile fish (SL22.30 ± 2.67 mm); 9. 56 d. a. h juvenile fish (SL34.87 ± 4.24 mm); Ba. belly aculeus; Bs. bone spur; Dj. duck webbed joint



图版 VI 菊黄东方鲀头皮刺的发育过程

Plate VI Development of the scalp aculeus in the *Taikifugu flavidus*

1. 16 日龄稚鱼; 2. 17 日龄稚鱼; 3. 27 日龄稚鱼; 4. 28 日龄稚鱼; 5. 36 日龄幼鱼; 6. 40 日龄幼鱼; 7. 42 日龄幼鱼; 8. 50 日龄幼鱼; 9. 56 日龄幼鱼; Bs. 骨刺; Dj. 鸭蹼状连接; Sa. 头皮刺

1. 16 d. a. h postlarva (SL8.48 ± 0.62 mm); 2. 17 d. a. h postlarva (SL8.75 ± 0.43 mm); 3. 27 d. a. h postlarva (SL12.04 ± 1.07 mm); 4. 28 d. a. h postlarva (SL12.56 ± 1.70 mm); 5. 36 d. a. h juvenile fish (SL17.28 ± 1.60 mm); 6. 40 d. a. h juvenile fish (SL19.34 ± 1.63 mm); 7. 42 d. a. h juvenile fish (SL22.30 ± 2.67 mm); 8. 50 d. a. h juvenile fish (SL29.51 ± 3.44 mm); 9. 56 d. a. h juvenile fish (SL34.87 ± 4.24 mm); Bs. bone spur; Dj. duck webbed joint; Sa. scalp aculeus