

文章编号: 1674-5566(2017)04-0481-09

DOI:10.12024/jsou.20170101936

## 黄河鲤肌间骨发育的形态学观察

陈琳, 田雪, 米佳丽, 黄新强, 王磊, 董传举, 李学军

(河南师范大学水产学院, 河南新乡 453007)

**摘要:** 采用整体骨骼染色、形态学解剖的方法, 对黄河鲤 (*Cyprinus carpio haematopterus*) 仔稚鱼肌间骨的形态发生及成鱼肌间骨数目、形态、分布进行研究。结果显示, 黄河鲤 14 dpf (day post fertilization, 体长 11.29 mm) 肌间骨首先在尾部出现, 此时其他骨骼包括主轴骨及附肢骨均已骨化完全。伴随鱼体生长, 肌间骨由尾向头依次骨化, 26 dpf (体长 15.60 mm) 肌间骨骨化全部完成。黄河鲤肌间骨数在 93 ~ 104 之间, 平均为 98 根; 鱼体一侧髓弓小骨平均为 34 枚, 脉弓小骨平均为 15 枚。黄河鲤肌间骨存在 7 种形态: “I”形、“卜”形、“Y”形、一端多叉形、两端两分叉形、两端多叉形和树枝形, 越靠近鱼体前端肌间骨形态越复杂。研究结果为今后揭示黄河鲤肌间骨骨化的分子机制, 培育少肌间骨甚至无肌间骨的黄河鲤提供了形态学基础。

**关键词:** 黄河鲤; 肌间骨; 发育过程; 形态特征

**中图分类号:** S 917.4      **文献标志码:** A

肌间骨 (Intermuscular bone, IB) 即脊椎骨两侧肌隔中的硬骨小刺, 又称肌间刺或肌间小骨, 是肌隔结缔组织不经过软骨阶段直接骨化而成的膜性硬骨<sup>[1-2]</sup>。依据附着位置可分为 3 类: 髓弓小骨 (epineurals)、椎体小骨 (epicentrals) 和脉弓小骨 (epipleurals)<sup>[1]</sup>。低真骨鱼类普遍存在肌间骨, 同时伴随鱼类的演化历程, 肌间骨形态也发生着细微变化, 尤其是鲤科鱼类, 肌间骨形态已相当复杂<sup>[3]</sup>。关于鱼类肌间骨的研究, 早期主要在鱼类系统解剖学专著中有所涉及<sup>[2, 4-6]</sup>。PATTERN 和 JOHNSON<sup>[1, 7]</sup> 对真骨鱼类 100 多科的 125 属的 3 种类型的肌间骨进行了较系统的观察分析, 并且囊括我国淡水鲤科鱼类的鳊属。近年来, 相关研究日渐增多, BIRD 和 MABEE<sup>[8]</sup> 在对斑马鱼 (*Danio rerio*) 主轴骨的研究中提及肌间骨形态发生, 董在杰等<sup>[9]</sup> 对 4 种常见鲤科鱼类肌间骨数目及形态分布做了初步研究, 吕耀平等<sup>[10]</sup> 对低等真骨鱼类肌间骨进行了较为系统的比较分析, 柯中和<sup>[11]</sup>、吕耀平<sup>[12-13]</sup>、万世明等<sup>[14]</sup> 分别对 鲢 (*Hypophthalmichthys molitrix*)、唇 鲮

(*Hemibarbus labeo*) 和 瓯江彩鲤 (*Cyprinus carpio* var. color)、团头鲂 (*Megalobrama amblycephala*) 肌间骨发育进行了形态学研究。

黄河鲤 (*C. c. haematopterus*) 属鲤形目 (Cypriniformes), 鲤科 (Cyprinidae), 鲤属 (*Cyprinus*), 主产于黄河流域, 为我国重要的淡水经济鱼类, 与松江鲈鱼 (*Trachidermus fasciatus*)、兴凯湖鲌鱼 (*Culter alburnus*)、松花江鲑鱼 (*Erythroculter ilishaeformis*) 并称为中国四大淡水名鱼, 但由于肌间骨的存在, 对黄河鲤鱼肉的食用带来极大不便, 从而影响了其养殖产业的扩大及产品深加工和出口。目前, 关于黄河鲤骨骼的研究, 仅秉志<sup>[2]</sup> 对幼鲤大侧肌隔骨针作简单描述。本研究对黄河鲤仔稚鱼肌间骨骨化时期的形态进行了观察, 对不同年龄成鱼肌间骨数目、形态分布进行了比较分析, 初步阐明了黄河鲤肌间骨发育的基本规律, 确定了肌间骨发育的时间节点。研究结果将为黄河鲤肌间骨发生的分子机制研究提供必要的基础资料, 为黄河鲤少肌间骨新品系的培育提供形态学依据。

收稿日期: 2017-01-05      修回日期: 2017-04-01

基金项目: 国家自然科学基金(31402294); 河南省重点科技攻关项目(132102110135, 142107000036); 河南省自然科学基金项目(162300410164); 河南省高等学校重点科研项目(14B240005, 16B210001)

作者简介: 陈琳(1991—), 女, 硕士研究生, 研究方向为鱼类遗传育种。E-mail: chenlin\_920@126.com

通信作者: 李学军, E-mail: xjli@htu.cn

## 1 材料与方 法

### 1.1 实验材料

黄河鲤仔稚鱼、成鱼均取自河南师范大学水产养殖基地。5月下旬选用体格健壮、成熟度较好的黄河鲤亲鱼进行人工繁殖。12 dpf 开始每天取样,直到 26 dpf 肌间骨全部出现为止,样品用 4% 多聚甲醛溶液固定。取 6 月龄、18 月龄和 30 月龄黄河鲤各 3 尾进行解剖(规格见表 1,数据结果以 Mean  $\pm$  SD 表示),观察肌间骨形态。

### 1.2 仔、稚鱼骨骼染色方法

骨骼染色主要参照柯中和等<sup>[11]</sup>的方法,局部稍作调整。首先用去离子水漂洗黄河鲤样本,以去除固定液;用 TBST 温和震荡漂洗,除去样本组织脂肪;去离子水洗去残留 TBST 溶液;漂洗后样本转移至 1% KOH 溶液,加入 1% 体积 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,光照褪去色素;倒掉溶液,加 1% KOH 溶液漂洗;漂洗后转移至胰蛋白酶消化液,消化直至头部组织透明;将样本移至 0.5% 的茜素红染色液中,37  $^{\circ}$ C 染色过夜;倒掉染液,用 1% KOH 溶液漂洗,去除组织中残存染液;甘油梯度漂洗,长期保存可置于含少许麝香草酚的甘油中。骨骼染色标本用 Olympus SZ61 体视解剖显微镜观察,并用显微数码成像系统测量拍照,Adobe Photoshop CS5 软件进行图片处理。

表 1 不同年龄黄河鲤的规格

Tab. 1 Size of *C. c. haematopterus* at different ages

年龄 Age	体质量/g Body weight		体长/cm Body length	
	范围 Range	平均值 Average	范围 Range	平均值 Average
6 月龄	67.0 ~ 79.0	73.7 $\pm$ 6.1	13.4 ~ 14.8	14.3 $\pm$ 0.8
18 月龄	560.0 ~ 658.5	611.6 $\pm$ 49.4	28.2 ~ 29.5	28.7 $\pm$ 0.7
30 月龄	950.0 ~ 1080.0	1026.7 $\pm$ 68.1	34.8 ~ 35.5	35.9 $\pm$ 1.4

表 2 黄河鲤不同日龄体长及肌间骨数目

Tab. 2 The average standard length and amount of IB at different ages in *C. c. haematopterus*

日龄/dpf Age	样本量 Body size	体长/mm Body length	髓弓小骨数 Amount of epineural	脉弓小骨数 Amount of epipleural	肌间骨数 Amount of intermuscular bone
12	9	10.06 (9.36 ~ 10.99)	0	0	0
14	8	11.29 (10.68 ~ 11.75)	2.0(0 ~ 4)	1.6(1 ~ 4)	3.8(2 ~ 6)
16	7	11.72 (11.13 ~ 12.33)	4.5(2 ~ 7)	2.5(1 ~ 5)	7.0(3 ~ 12)
18	4	12.40 (11.76 ~ 12.89)	14.5(13 ~ 17)	6.8(4 ~ 10)	21.3(19 ~ 23)
20	6	12.95 (12.66 ~ 13.30)	13.0(11 ~ 15)	9.0(8 ~ 10)	22.0(19 ~ 25)
22	6	13.04 (12.74 ~ 13.80)	25.7(17 ~ 31)	10.7(10 ~ 11)	36.3(28 ~ 41)
24	6	14.28 (14.08 ~ 14.85)	32.0(30 ~ 34)	13.7(13 ~ 14)	46.0(43 ~ 48)
26	6	15.60 (14.82 ~ 16.17)	34.3(33 ~ 37)	15.0(14 ~ 16)	49.3(47 ~ 53)

注:仅统计鱼体左侧,括号内数据表示范围

Note: Only the left of the body was included and the range was showed in the brackets

### 1.3 成体黄河鲤肌间骨观察方法

将活鱼麻醉后,擦干鱼体测量体质量、体长。用纱布包裹鱼体,于灭菌锅 0.05 ~ 0.10 MPa 压力范围内蒸 5 min 左右。待鱼体降温后剥去纱布,于解剖盘去除皮肤组织,小心剔除肌肉,从尾至头依次取出髓弓小骨和脉弓小骨,按其在鱼体中的位置整齐排列,用 Canon EOS 70D 相机拍照,记录成鱼肌间骨的形态和分布。肌间骨的形态分类参照吕耀平等<sup>[10]</sup>的标准。

## 2 结果

### 2.1 黄河鲤肌间骨的发生和骨化时间节点

对所采黄河鲤仔稚鱼样本进行整体骨骼染色发现,12 dpf (体长 10.06 mm) 的黄河鲤没有肌间骨存在,但此时其他骨骼包括主轴骨和附肢骨已骨化完全(图版-1);14 dpf (体长 11.29 mm) 肌间骨开始在尾部出现,髓弓小骨首先出现在 36 ~ 37 肌节之间,脉弓小骨首先出现在 35 ~ 36 肌节之间(图版-2);随着鱼体生长,肌间骨逐步向头部方向骨化(图版-3)并且伴随染色加深(图版-4);22 dpf (体长 13.04 mm) 髓弓小骨在背鳍下方肌隔出现(图版-5);26 dpf (体长 15.60 mm) 肌间骨出现在鱼体头后方(图版-6),并且躯干部髓弓小骨、脉弓小骨已可见明显分叉(图版-7),头后方分叉亦明显(图版-8)。至此,肌间骨基本全部骨化完成(表 2),在鱼体中从尾至头均有分布。

### 2.2 黄河鲤肌间骨的数目

比较 9 尾不同年龄段黄河鲤肌间骨数目发现,不同规格黄河鲤肌间骨数目无显著差异( $P > 0.05$ ),范围在 93 ~ 104 之间,平均值为 98。不同大小黄河鲤鱼体单侧肌间骨数在 45 ~ 53 之间,左

表 3 不同规格黄河鲤肌间骨数目  
Tab. 3 The numbers of IB in *C. c. haematopterus* at different ages

年龄 Age	样本数 Sample size	左侧肌间骨数目 Number of left side IB	右侧肌间骨数目 Number of right side IB	髓弓小骨数目 Number of EN	每肌节平均髓弓小骨数 EN number of each sarcomere	脉弓小骨数目 Number of EP	每肌节平均脉弓小骨数 EP number of each sarcomere	肌间骨总数 Total	每肌节平均肌间骨数 IB number of each sarcomere
6 月龄	3	48(47~48)	49(46~51)	68(68~69)	0.89	29(28~29)	0.38	97(96~98)	0.64
18 月龄	3	49(47~52)	48(48~51)	67(65~72)	0.88	30(30~31)	0.39	97(95~103)	0.64
30 月龄	3	49(48~51)	49(45~53)	67(65~68)	0.88	31(28~36)	0.41	98(93~104)	0.64

右两侧肌间骨数不尽相等,但总体上比较接近(表 3)。

### 2.3 黄河鲤肌间骨的形态及分布

肌间骨是细长的线状骨,即为日常吃鱼时所说的“乱刺”,其在鱼体中由前向后有序地埋藏于大侧肌的各个肌节中,并且分叉一端斜向鱼体前端。鲤科鱼类不存在位于水平隔膜中的椎体小骨<sup>[4]</sup>,在黄河鲤中同样未发现椎体小骨,仅存在轴上肌肌节中的髓弓小骨和轴下肌肌节中的脉弓小骨。黄河鲤肌间骨也存在 7 种形态:“I”形(没有分叉)、“卜”形(一端不等长的两分叉)、“Y”形(一端等长的两分叉)、一端多叉形(一端 3 个或以上分叉)、两端两分叉形(两端均为两分叉)、两端多叉形(两端均有 2 个或以上分叉)和树枝形(两端均为 4 个或以上分叉,并且分叉的基础上再出现分叉)。髓弓小骨兼具 7 种形态且以“I”形、“Y”形为主,而脉弓小骨形态较髓弓小骨简单,未发现两端两分叉及两端多叉形存在,且一端多叉形及树枝形仅在少数个体中存在。黄河鲤仔稚鱼染色观察中发现,“卜”形为一种过渡形态,其具有向“Y”形等其他形态发育分化的趋势。不同年龄黄河鲤成体左右两侧肌间骨的形态分布略有不同,但差异不大,如图 1 所示。鱼体从尾至头肌间骨的形态变化大致为由简单到复杂。

## 3 讨论

### 3.1 黄河鲤肌间骨的骨化和发育

鱼类骨骼是支持鱼体和保护内脏器官的重要组织,也是鱼类运动系统的主要组成部分<sup>[15]</sup>,它的骨化是一个非常复杂的过程,涉及间充质细胞、骨原细胞、成骨细胞以及破骨细胞等<sup>[16]</sup>,包含 *Wnt*<sup>[17]</sup>、*TGF- $\beta$* <sup>[18]</sup>、*BMP*<sup>[19]</sup> 等一系列信号通路。对骨骼的研究报道中多涉及椎骨,如椎骨发生及其在鱼类进化中的地位等<sup>[15, 20-21]</sup>,对肌间骨的研

究仅限于对其形态、分布的描述,以及不同鱼类肌间骨类型的比较分析<sup>[2, 9-14, 22]</sup>,对其形成原因、演化规律、骨化的分子机制等研究尚未深入。柯中和等<sup>[11]</sup>发现鲢第一枚肌间骨在 43 dpf(体长为 10.50 mm)时出现,肌间骨骨化发生在主轴骨骼及附肢骨骼出现之后。吕耀平等<sup>[12]</sup>研究发现 35 dpf(体长为 23.67 mm)时,唇鳍肌间骨开始在尾部区域骨化。瓯江彩鲤<sup>[13]</sup>肌间骨则是在 32 dpf(体长为 13.79mm)时开始在尾部骨化。本研究发现 14 dpf(体长 11.29 mm)时肌间骨在黄河鲤尾部首先出现,此时黄河鲤的主轴骨骼及附肢骨骼均已骨化完全,与斑马鱼肌间骨在其他骨骼骨化之后出现亦相似<sup>[8]</sup>。不同鱼类肌间骨骨化时间有差异,但均出现在主轴骨骼骨化之后,这种与其他类型骨骼在发育时间上的显著差异提示鱼类肌间骨发生可能与主轴骨骼和附肢骨具有不同的发育调控机制,预示在其他骨骼形成之后通过抑制肌间骨发生来培育少肌间骨甚至无肌间骨鱼类具有一定可行性,生长发育正常的无肌间骨鱼类具有一定可行性,生长发育正常的无肌间骨鱼类( *Ctenopharyngodon idellus* ) 突变体的产生<sup>[23]</sup>也佐证了这一点。

在黄河鲤仔稚鱼中,最先出现的髓弓小骨和脉弓小骨形态较为简单,均为“I”形,其他类型的肌间骨遵循“I”形→“卜”→“Y”形→多叉形的方向发育分化。幼鱼 14 dpf(体长 11.29 mm)尾部首先出现肌间骨;随着鱼体的生长,肌间骨按照从尾至头的方向不断骨化,与日本鳗鲡( *Anguilla japonica* )<sup>[24]</sup>肌间小骨从头向尾骨化的骨化模式不同,提示肌间骨的骨化可能受不同游泳方式的影响。姚文杰等<sup>[25]</sup>深入比较研究了斑马鱼( 鲱行式, 亚鲱行式)和鳗鲡( 鳗行式)两种不同游泳方式鱼类肌间骨的骨化,发现肌间骨的骨化顺序确实与游泳方式有一定关系。形态越复杂的肌间骨出现越晚,26 dpf(体长 15.60 mm)黄河鲤肌间骨基本全部出现,并呈现分叉的形态。同一日龄

的仔稚鱼肌间骨的分化程度也不完全一致,20 dpf、体长 13.16 mm 的黄河鲤肌间骨已在头后肌节中出现,而 12.66 mm 的黄河鲤肌间骨仅发育至背鳍后方;24 dpf、体长 14.85 mm 的黄河鲤背

鳍下方已呈现可分辨的分叉形态,而同一日龄体长 13.60 mm 的样本肌间骨刚骨化至背鳍前方。此类结果表明,黄河鲤肌间骨的骨化受体长的影响更甚于日龄的影响,这与万世明等<sup>[14]</sup>对团头鲂

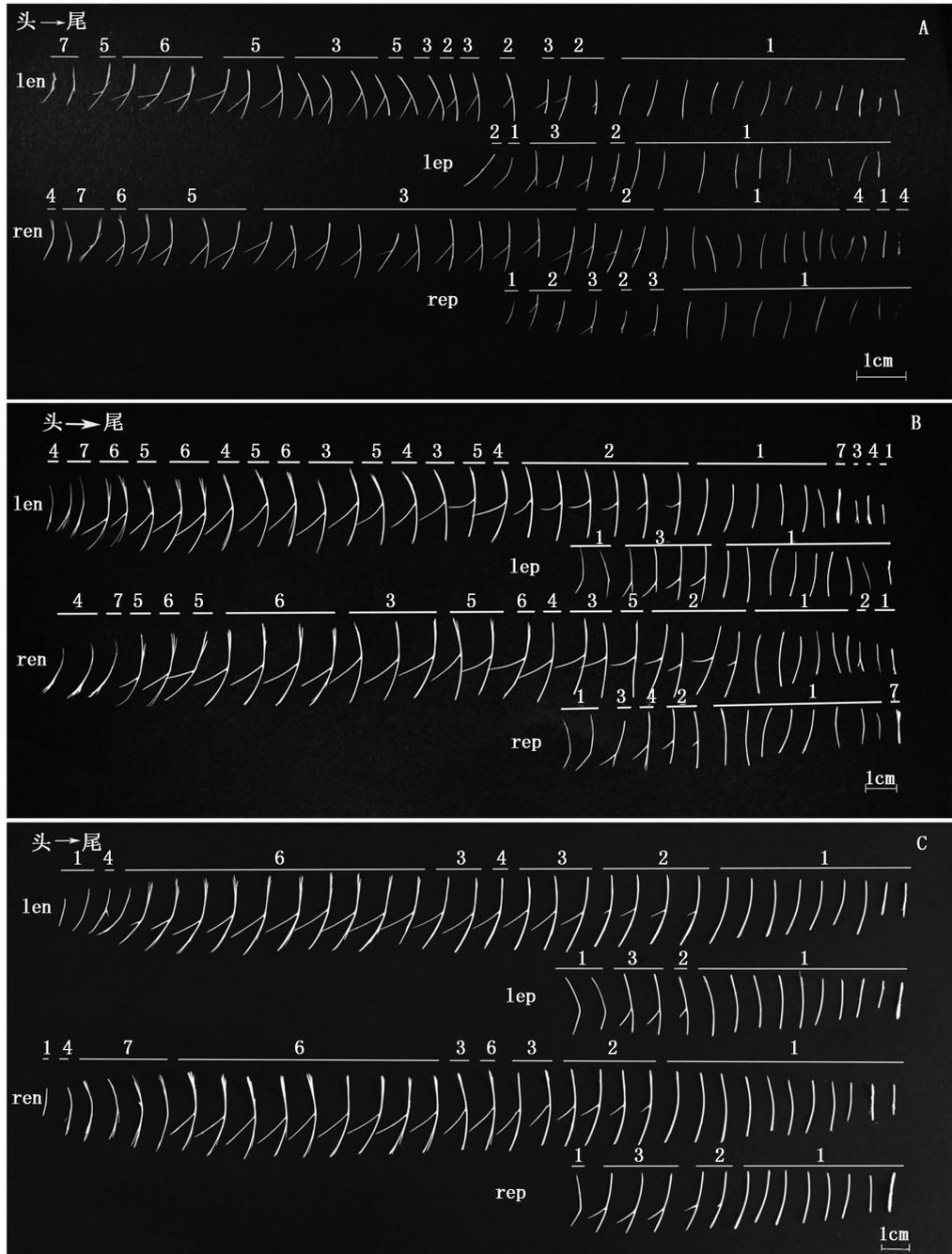


图 1 不同月龄黄河鲤肌间骨形态

Fig. 1 Various types of IB in *C. c. haematopterus* at different ages

A. 6 月龄,67.0 g; B. 18 月龄,658.5 g; C. 30 月龄,1 050.0 g; len. 左髓弓小骨; ren. 右髓弓小骨; lep. 左脉弓小骨; rep. 右脉弓小骨。1~7 分别代表“1”形、“卜”形、“Y”形、一端多叉形、两端两分叉形、两端多叉形、树枝形肌间骨

A. 6 months,67.0 g; B. 18 months,658.5 g; C. 30 months,1 050.0 g; len. epineurals in the left side; ren. epineurals in the right side; lep. epipleurals in the left side; rep. epipleurals in the right side. 1~7 represent non-forked, one-end-unequal-bi-fork, one-end-equal-bi-fork, one-end-multi-fork, two-end-bi-fork, two-end-multi-fork, and tree branch types, separately

的研究一致。

### 3.2 黄河鲤肌间骨的数目

本研究发现不同规格的黄河鲤(13.4 ~ 35.5 cm, 67.0 ~ 1 080.0 g)肌间骨数目无显著差异( $P > 0.05$ ),在93 ~ 104之间,平均为98根,与吕耀平等<sup>[10]</sup>对鲤的研究结果相近。同时,黄河鲤肌间骨并不呈左右对称分布,两侧肌间骨数目不完全相同,但差异不大,这种现象在其他鱼类中同样存在<sup>[5,9-10]</sup>,与国内早期学者的研究不一致<sup>[4]</sup>。考虑到不同鱼类体型差异对肌间骨数的影响,本研究中黄河鲤每肌节平均肌间骨数为0.64,比同是鲤科的其他鱼类如鲢(0.75)、鳙(*Aristichthys nobilis*, 0.72)、草鱼(0.66)<sup>[10]</sup>、鲫(*Carassius auratus*, 0.72)<sup>[22]</sup>均低,显示了鱼类的肌间骨具有种间差异性,可能与鱼类的生态习性、体型等有一定相关性,不同鱼类在生态位、体型、游泳速度等方面存在诸多差异<sup>[15, 26]</sup>,进而表现在肌间骨数量上的差异。

低等真骨鱼类从骨舌鱼类的双须骨舌鱼(*Osteoglossum bicirrhosum*)、海鲢总目到鲱形总目,肌间骨的数目表现出先升高后下降的变化趋势,到骨鳔总目鲈形目的黄颡鱼(*Pelteobagrus fulvidraco*)肌间骨数目降到最低,对平均肌节肌间骨数的统计也表现出大致相同的规律<sup>[10, 22]</sup>。肌间骨的这种在真骨鱼类进化过程中先增多后减少的特性,提示其可能作为一种痕迹器官存在<sup>[6]</sup>,而不是鱼类正常生存所必须的组成成分。

### 3.3 黄河鲤肌间骨的形态及分布

关于鱼类肌间骨的形态类型,早期在鲢<sup>[6]</sup>中曾被分为4种类型(“I”形、“卜”形、“Y”形、树枝形)。根据低等真骨鱼类肌间骨形态的复杂程度,吕耀平等<sup>[10]</sup>为便于分析各种形态肌间骨演化规律则将其归纳为7种类型(“I”形、“卜”形、“Y”形、一端多叉形、两端两分叉形、两端多叉形、树枝形)。万世明等<sup>[14]</sup>将团头鲂肌间骨形态分为包括“(”形在内的6种形态(“I”形、“卜”形、“y”形、一端多叉形、两端多叉形、“(”形)。本文黄河鲤采用吕耀平等<sup>[10]</sup>的分类方法,即把黄河鲤肌间骨分为从最简单的“I”形到最复杂的树枝形在内的7种形态。

吕耀平等<sup>[10]</sup>认为鲤科鱼类肌间骨有两种演化途径:(1)“I”形-“卜”形-“Y”形-一端多叉形。由于鲃(*Macrura reevesii*)中存在一端多叉形而没

有出现两端两分叉形的肌间骨,推断出这种演化方式是存在的;(2)“I”形-“卜”形-“Y”形-两端两分叉形-两端多叉形-树枝形。本实验中对黄河鲤的解剖发现,不同个体黄河鲤同侧髓弓小骨中有一端多叉形单独存在,也有两端两分叉形单独存在,并且有一端多叉形和两端两分叉形同时存在;脉弓小骨甚至也发现一端多叉形存在,因此,黄河鲤肌间骨的演化途径尚有待深入探讨,其更倾向于第一种还是第二种途径尚无定论。

鱼类肌节大小与其所具有的肌肉力量成正比<sup>[27]</sup>,肌间骨位于大侧肌的肌隔中,沿肌节前圆锥的前表面由前向后斜向肌节后圆锥顶端,但不穿越肌节,内侧联系髓弓<sup>[28]</sup>。鱼类的肌节数与脊椎骨数相对应,黄河鲤脊椎骨数为38,其中尾椎为17,而鱼体一侧髓弓小骨平均为34枚,脉弓小骨平均为15枚。鱼体头后肌节较小,肋骨不发达,不足以支持相邻肌肉运动所需,但因鲤形目鱼类1~3椎骨与韦伯氏器相连,具有较稳定的结构功能,因此与之相连的肌节中无肌间骨存在,从第4椎骨开始相应肌节出现髓弓小骨,随后每一肌节几乎都有髓弓小骨存在,且越靠近鱼体游泳剧烈摆动的尾部,肌间骨越粗壮,甚至出现分叉;脉弓小骨出现在腹腔后缘第一尾椎相邻肌节中,到尾椎末端几乎每一肌节均有脉弓小骨存在。鱼类肌间骨曾被认为可以在鱼类肌肉中传递力量并且辅助大侧肌的运动<sup>[1-2]</sup>,针对肌间骨的发育和生物力学的联系已有较多讨论<sup>[29-30]</sup>,近期在斑马鱼和日本鳗鲡肌间骨骨化的比较分析中给两者的联系提供了较好的例证,断尾的斑马鱼和日本鳗鲡游泳速度明显低于正常鱼,而肌间骨的长度也显著短于正常鱼;同时断尾的长度越长,肌间骨的长度越短;断尾对日本鳗鲡鱼体靠近头部区域肌间骨骨化的影响小于斑马鱼,种种迹象显示了肌间骨骨化可能受到由游泳产生的机械力量传递的影响<sup>[25]</sup>,因此肌间骨可能在肌肉力量传导中具有一定作用,但其是否参与更多的生物学过程、扮演更多的角色仍需要今后更深入的研究。

近年来,关于肌间骨发育分子层面的研究逐渐增多,吕耀平等<sup>[31]</sup>结合形态学观察及基因表达定位的研究,提示*MsxC* (muscle segment homeobox C)基因可能对唇鲮肌间骨的形成有一定影响,万世明等<sup>[32]</sup>对团头鲂的研究提示

miRNA 可能对低等真骨鱼类肌间骨形成具有调控作用。全基因组测序等高通量测序手段的广泛应用更是为相关研究提供了便捷,特别是鲤<sup>[33]</sup>等重要水产动物全基因组测序的完成,将大大加快鱼类肌间骨形成分子机制研究及鱼类肌间骨遗传改良的进程。

### 参考文献:

- [1] PATTERSON C, JOHNSON G D. The intermuscular bones and ligaments of teleostean fishes [J]. Smithsonian Contributions to Zoology, 1995, 559: 1-83.
- [2] 秉志. 幼鲤大侧肌隔骨针的观察[J]. 动物学报, 1962, 14(2): 175-179.  
BING Z. On the myoseptal spines of the carp (*Cyprinus Carpio* L.) [J]. Acta Zoologica Sinica, 1962, 14(2): 175-179.
- [3] 邓之真. 鲫鱼骨骼的研究[J]. 动物学报, 1959, 11(2): 236-252.  
DENG Z Z. On the study of the skeleton of *Carassius auratus* L. [J]. Acta Zoologica Sinica, 1959, 11(2): 236-252.
- [4] 孟庆闻, 苏锦祥, 李婉端. 鱼类比较解剖[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.
- [5] 李思忠, 王惠民. 中国鲮形目鱼类骨骼的研究: II. 脊椎骨、肋骨、上肋骨及肌膈骨刺[J]. 动物学报, 1987, 33(3): 267-276.  
LI S Z, WANG H M. Osteological studies of some Chinese flatfishes II: The Vertebrae, Ribs, epipleurals and myoseptal bones[J]. Acta Zoologica Sinica, 1987, 33(3): 267-276.
- [6] 孟庆闻, 苏锦祥. 白鲢的系统解剖[M]. 北京: 科学出版社, 1960: 44-46.  
MENG Q W, SU J X. Systematical Anatomy of Silver Carp [M]. Beijing: Science Press, 1960: 44-46.
- [7] JOHNSON G D, PATTERSON C. The intermuscular system of acanthomorph fishes: a commentary [J]. American Museum Novitates, 2001, 3312: 1-24.
- [8] BIRD N C, MABEE P M. Developmental morphology of the axial skeleton of the zebrafish, *Danio rerio* (Ostariophysi: Cyprinidae)[J]. Developmental Dynamics, 2003, 228(3): 337-357.
- [9] 董在杰, 黄代中, 李丽娟, 等. 几种常见鲤科养殖鱼类肌间刺的初步研究[J]. 上海水产大学学报, 2006, 15(4): 425-429.  
DONG Z J, HUANG D Z, LI L J, et al. Preliminary study on intermuscular bones of several cultured cyprinids [J]. Journal of Shanghai Fisheries University, 2006, 15(4): 425-429.
- [10] 吕耀平, 鲍宝龙, 蒋燕, 等. 低等真骨鱼类肌间骨的比较分析[J]. 水产学报, 2007, 31(5): 661-668.  
LÜ Y P, BAO B L, JIANG Y, et al. Comparative analysis of intermuscular bones in lower teleosts [J]. Journal of Fisheries of China, 2007, 31(5): 661-668.
- [11] 柯中和, 张炜, 蒋燕, 等. 鲢肌间小骨发育的形态学观察[J]. 动物学杂志, 2008, 43(6): 88-96.  
KE Z H, ZHANG W, JIANG Y, et al. Developmental morphology of the intermuscular bone in *Hypophthalmichthys molitrix* [J]. Chinese Journal of Zoology, 2008, 43(6): 88-96.
- [12] 吕耀平, 陈洁, 鲍宝龙, 等. 唇鲮肌间小骨的骨化过程[J]. 上海海洋大学学报, 2012, 21(4): 549-553.  
LÜ Y P, CHEN J, BAO B L, et al. The ossification process of the intermuscular bones in *Hemibarbus laevis* [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2012, 21(4): 549-553.
- [13] 吕耀平, 周晨晨, 杨丽美, 等. 瓯江彩鲤肌间小骨的骨化模式[J]. 上海海洋大学学报, 2014, 23(1): 58-63.  
LÜ Y P, ZHOU C C, YANG L M, et al. Ossification pattern of the intermuscular bone in *Cyprinus carpio* var. color [J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2014, 23(1): 58-63.
- [14] 万世明, 易少奎, 仲嘉, 等. 团头鲂肌间骨发育的形态学观察[J]. 水生生物学报, 2014, 38(6): 1143-1151.  
WAN S M, YI S K, ZHONG J, et al. Developmental and morphological observation of intermuscular bones in *Megalobrama amblycephala* [J]. Acta Hydrobiologica Sinica, 2014, 38(6): 1143-1151.
- [15] 王永梅, 唐文乔. 中国鲤形目鱼类的脊椎骨数及其生态适应性[J]. 动物学杂志, 2014, 49(1): 1-12.  
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.
- [16] 房连聪, 李学军. 低等真骨鱼类肌间骨发生的研究[J]. 水产科学, 2013, 32(12): 749-752.  
FANG L C, LI X J. A review of research on intermuscular bone formation in lower teleosts [J]. Fisheries Science, 2013, 32(12): 749-752.
- [17] HIKASA H, SOKOL S Y. Wnt signaling in vertebrate axis specification [J]. Cold Spring Harbor Perspectives in Biology, 2013, 5(1): a007955.
- [18] MUNDY G R. The effects of TGF- $\beta$  on bone [M]//BOCK G R, MARSH J. Ciba Foundation Symposium 157-Clinical Applications of TGF- $\beta$ . London: John Wiley & Sons, Ltd., 2007: 137-151.
- [19] RAHMAN M S, AKHTAR N, JAMIL H M, et al. TGF- $\beta$ /BMP signaling and other molecular events: regulation of osteoblastogenesis and bone formation [J]. Bone Research, 2015, 3: 15005.
- [20] 陈咏霞, 刘静, 刘龙. 中国鲷科鱼类骨骼系统比较及属种间分类地位探讨[J]. 水产学报, 2014, 38(9): 1360-1374.

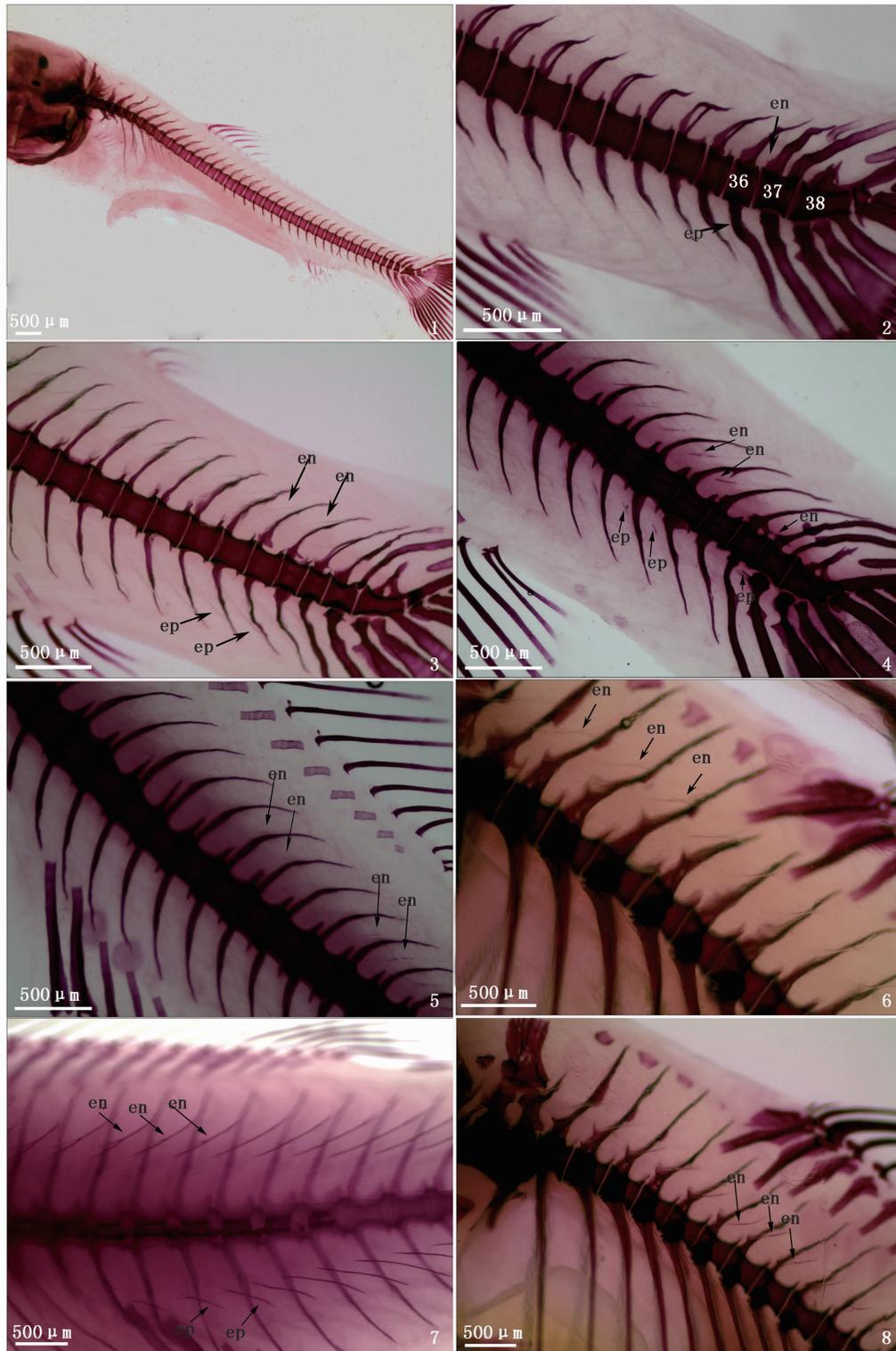
- CHEN Y X, LIU J, LIU L. Comparative osteology in eight sparid fishes (Osteichthyes: Perciformes) with remarks on their classification[J]. Journal of Fisheries of China, 2014, 38(9): 1360-1374.
- [21] 崔国强, 陈阿琴, 吕为群. 日本鬼鲇脊柱和附肢骨骼的早期发育[J]. 水产学报, 2013, 37(2): 230-238.
- CUI G Q, CHEN A Q, LV W Q. Early development of the vertebral column and the appendicular skeleton in the *Inimicus japonicus*[J]. Journal of Fisheries of China, 2013, 37(2): 230-238.
- [22] 黎玲, 钟泽州, 曾鸣, 等. 不同倍性鱼肌间骨的比较分析[J]. 中国科学: 生命科学, 2013, 43(3): 189-200.
- LI L, ZHONG Z Z, ZENG M, et al. Comparative analysis of intermuscular bones in fish of different ploidies[J]. Science China Life Sciences, 2013, 56(4): 341-350.
- [23] 徐晓锋, 郑建波, 钱叶青, 等. 生长发育正常的无肌间刺草鱼突变体[J]. 科学通报, 2015, 60(1): 52-57.
- XU X F, ZHENG J B, QIAN Y Q, et al. Normally grown and developed intermuscular bone-deficient mutant in grass carp, *Ctenopharyngodon idellus* [J]. Chinese Science Bulletin, 2015, 60(1): 52-57.
- [24] KOOB T J, LONG J H JR. The vertebrate body axis: evolution and mechanical function[J]. American Zoologist, 2000, 40(1): 1-18.
- [25] 姚文杰, 龚小玲, 吕耀平, 等. 日本鳗鲡肌间小骨的骨化过程[J]. 上海海洋大学学报, 2014, 23(6): 810-813.
- YAO W J, GONG X L, LÜ Y P, et al. The ossificational process of the intermuscular bones in *Anguilla japonica*[J]. Journal of Shanghai Ocean University, 2014, 23(6): 810-813.
- [26] YAO W J, LV Y P, GONG X L, et al. Different ossification patterns of intermuscular bones in fish with different swimming modes[J]. Biology Open, 2015, 4(12): 1727-1732.
- [27] 秉志. 鲤鱼骨骼肌在生理上的类别[J]. 科学, 1958, 34(4): 243-246.
- BING Z. On a physiological classification of the skeletal muscles of the carp (*Cyprinus carpio*) [J]. Science, 1958, 34(4): 243-246.
- [28] 李双安, 高明, 侯建华, 等. 六种鱼大侧肌的比较解剖[J]. 动物学报, 2005, 51(S1): 85-89.
- LI S A, GAO M, HOU J H, et al. Comparative anatomy of lateral muscle in six species of fishes [J]. Acta Zoologica Sinica, 2005, 51(S1): 85-89.
- [29] DANOS N, STAAB K L. Can mechanical forces be responsible for novel bone development and evolution in fishes? [J]. Journal of Applied Ichthyology, 2010, 26(2): 156-161.
- [30] DANOS N, WARD A B. The homology and origins of intermuscular bones in fishes: phylogenetic or biomechanical determinants? [J]. Biological Journal of the Linnean Society, 2012, 106(3): 607-622.
- [31] LÜ Y P, YAO W J, CHEN J, et al. Newly identified gene *muscle segment homeobox C* may play a role in intermuscular bone development of *Hemibarbus labeo* [J]. Genetics and Molecular Research, 2015, 14(3): 11324-11334.
- [32] WAN S M, YI S K, ZHONG J, et al. Identification of MicroRNA for Intermuscular Bone Development in Blunt Snout Bream (*Megalobrama amblycephala*) [J]. International journal of molecular sciences, 2015, 16(5): 10686-10703.
- [33] XU P, ZHANG X F, WANG X M, et al. Genome sequence and genetic diversity of the common carp, *Cyprinus carpio* [J]. Nature Genetics, 2014, 46(11): 1212-1219.

## Developmental and morphological study of intermuscular bones in *Cyprinus carpio haematopterus*

CHEN Lin, TIAN Xue, MI Jiali, HUANG Xinqiang, WANG Lei, DONG Chuanju, LI Xuejun  
(College of Fisheries, Henan Normal University, Xinxiang 453007, Henan, China)

**Abstract:** To investigate the ossificational process of intermuscular bones in *Cyprinus carpio haematopterus*, the modified bone clearing and staining experiment were conducted to study the number, morphology, distribution of intermuscular bones in *C. c. haematopterus*. It was revealed that the initial intermuscular bones were ossified at 14 dpf (day post fertilization) with the standard length of 11.29 mm, in which period the other types of bones had already showed up completely. The first appeared intermuscular bones were located in the tail region and then turned toward the head. When the larvae were 40 dpf with the standard length of 15.60 mm, all the intermuscular bones basically appeared and were equally distributed from the tail to the head. The number of intermuscular bones in *C. c. haematopterus* ranged from 93 to 104 with an average of 98. The average number of epineurals in each side of the body was 34, and the epipleurals was 15. Seven types were included: non-forked, one-end-unequal-bi-fork, one-end-equal-bi-fork, one-end-multi-fork, two-end-bi-fork, two-end-multi-fork, and tree-branch types. Generally, the morphological complexity of most intermuscular bones in anterior body was greater than that in posterior body. These results will be helpful for us to further understand the molecular mechanism underlying intermuscular bone development as well as the breeding of *C. c. haematopterus* with fewer or even no intermuscular bone.

**Key words:** *C. c. haematopterus*; intermuscular bones; developmental process; morphological characteristics



图版 黄河鲤肌间骨发育过程中的形态及分布

Plate Distribution and morphological specification of IBs during the development of *C. c. haematopterus*

1. 12 dpf, 主轴骨骼及附肢骨骼已经骨化; 2. 14 dpf, 肌间骨在尾部骨化; 3. 18 dpf, 肌间骨向头部方向骨化; 4. 22 dpf, 肌间骨颜色明显加深; 5. 22 dpf, 肌间骨出现在背鳍下方; 6. 26 dpf, 肌间骨在头后方出现; 7. 26 dpf, 躯干部肌间骨可见明显分叉; 8. 26 dpf, 头后方肌间骨可见明显分叉。en. 髓弓小骨; ep. 脉弓小骨

1. 12 dpf, the spindle bones and appendicular skeleton appeared; 2. 14 dpf, IBs appeared in the tail; 3. 18 dpf, IBs appeared gradually from the tail to the head; 4. 22 dpf, the color of IBs deepened; 5. 22 dpf, IBs appeared under the dorsal fin; 6. 26 dpf, IBs were shown at the back part of the head; 7. 26 dpf, intermuscular bones with forklike have appeared at the front dorsal part; 8. 26 dpf, IBs at the back part of the head showed clearly with forks. en. epineurals; ep. epiplerals