

# 大海马(*Hippocampus kuda* Bleeker)幼体口吻部骨骼形态观察及其对摄食的影响\*

王子晖 徐永健<sup>①</sup> 李响

(宁波大学海洋学院 宁波 315211)

**摘要** 通过对10尾2-3日龄的幼体海马的固定、染色、消化的研究,用显微镜对其摄食器官的构成进行详细观察,明确了幼体海马管状鼻内骨骼的结构。结果显示,幼体海马在摄食时,其舌骨角、后翼骨、方骨、上颌骨、续骨起到支撑等重要的作用;海马幼鱼期续骨与后翼骨之间的夹缝结构,可使略大的饵料通过。因此,可以在养殖过程中通过适当地增加饵料的粒径,有效地提高幼体摄食效率,从而提高存活率。

**关键词** 大海马幼鱼;口吻部;骨骼形态;摄食

**中图分类号** S965 **文献标识码** A **文章编号** 2095-9869(2015)05-0126-05

海马(*Hippocampus kuda* Bleeker)为浅海小型鱼类,是一类名贵的海洋药源生物,素有“南方人参”之称。由于海马医疗保健功效显著,用途广,国内外需求量很大,仅依靠海洋捕捞获得远不能满足国内外日益增长的需求。仅中国内地、香港地区、台湾地区及新加坡,每年消耗的海马就达1600万只左右(高山,1996;马泽芳,1999;吴善,2005)。海马除直接用于治病外,还用于制造各种药品和保健品。我国出口的海马类药品,原料大部分靠进口(高山,1996;马泽芳,1999;严家彬等,2002;吴善,2005)。需求量远远大于供给量,因此,只有人工养殖才是解决供需矛盾的根本办法。

人工养殖研究发现,海马在幼体状态时,死亡率极高(谢莹等,1990;吴善,2005)。究其原因,很大一部分与摄食相关,幼苗的摄食能力极差,如果没有适宜和足够的食物,必然造成营养缺乏而死(Payne *et al.*, 2000)。近些年,关于对幼体海马的摄食研究也有很多报道,从饵料选择(魏祥东等,2003;白雪峰,2014<sup>1)</sup>)、营养保证(Payne *et al.*, 2000)等,但是对幼体海马口吻部骨骼的形态结构、发育变化以及对其摄食

的影响等却鲜有报道。

结合已有相关研究对海马摄食器官结构的了解(Azzarelo, 1989),尤其是幼体海马,可以更熟悉海马幼体的摄食特性,根据其摄食特性构建出适合于海马幼体生长的环境条件与饵料特性,从而提高海马幼体人工养殖的成活率和生长率。解决当前产业存在的瓶颈问题,促进养殖产业的发展。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

大海马幼体于2014年8月7日取自宁波大学药源生物增养殖与利用实验室人工培育的未发育成熟的幼体。选取2-3日龄,体表洁净,健康活力强的幼体,固定备用。

### 1.2 方 法

取5对不同亲体生产的海马幼体各2尾,共10尾幼体,全长为(1.13±0.05) cm。参照幼体鱼类的染色固定方法(Mook *et al.*, 1994; Song *et al.*, 1995),并略

\* 国家自然科学基金(31276123)资助。王子晖, E-mail: zihuiwang@yeah.net

<sup>①</sup> 通讯作者: 徐永健, 教授, E-mail: xuyongjian@nbu.edu.cn

收稿日期: 2015-03-07, 收修改稿日期: 2015-05-01

1) 白雪峰. 海马开口饵料选择与培养. 鲁东大学硕士研究生学位论文, 2014, 19-27

作调整。制备成用于显微镜观察的海马幼体样品, 样品固定及消化的步骤如下:

将海马幼体固定 4% 的多聚甲醛溶液中, 4℃ 保存 48 h。然后, 用 PBS(0.1 mol/L, pH 为 7.0) 冲洗两次, 各 5 min; 移到 50% 的乙醇溶液中脱水 24 h; 再用 75% 和 100% 乙醇溶液各脱水 24 h。

取出脱水后的幼体, 放入已配制好的阿尔新蓝溶液(70 ml 100% 酒精+30 ml 100% 乙酸+20 mg 阿尔新蓝)中, 放入摇床, 室温下并伴随轻微摇动染色 24 h。目的是使软骨着色(对于无软骨的生物可以省略该步骤)。取出样品, 在饱和硼酸钠溶液(5 g 四硼酸钠+100 ml 温水)中浸洗 9 h; 并在 100 ml 漂白溶液(15 ml 3%  $H_2O_2$ +85 ml 1% KOH)中漂白 20 min。

样品再在 100 ml 消化溶液(35 ml 饱和硼酸钠溶液+65 ml 蒸馏水+1 g 胰蛋白酶)中消化至样品 60% 澄清, 约 15 h。该过程可放入摇床, 室温下轻微摇动。

用配制好的茜素红溶液(0.1 g 茜素红+100 ml 1% KOH 溶液)染色 24 h, 并放入摇床, 室温伴随轻微摇动, 着色硬骨。

在胰蛋白酶溶液(35 ml 饱和硼酸钠溶液+65 ml 蒸馏水+1 g 胰蛋白酶)中再消化 24 h 进行脱色, 该过程可放入摇床轻微摇动。

取出样品, 保存在 pH=7.0, 2 mol/L 的 PBS 溶液中, 备用观察。

采用 OLYMPUS 照相显微镜(日本 OLYMPUS 公司), 从不同角度(整体观、侧面观、剖开观)对海马幼体的口吻部的骨骼构造进行观察并拍摄。并对某些重要的与摄食有关的骨骼进行了详细的观察分析。

## 2 结果

### 2.1 口吻部整体观

海马幼体的头部骨骼结构, 包括脑颅、鳃盖骨、管状鼻及舌骨角等(图 1)。与摄食有关的结构主要集中在管状鼻部位及附近。包括:

鳃盖: 椭圆状, 在呼吸和摄食时, 通过舒张做抽吸动作。

管状鼻: 呈圆筒形, 直径约为(0.35 ± 0.05) mm, 前宽后窄。该部位组成海马的口吻部, 细长的管状鼻使水进入口腔时流速更快, 使饵料进入时更加顺畅。因此, 管状鼻在摄食时起到重要的作用。

舌骨角: 舌骨角位于幼体海马管状鼻的后下方, 呈斜三角形, 处于弓形舌颌的后部, 与舌颌骨通过关节相连, 与短的尾舌骨通过韧带相连。在摄食时, 幼体海马头部顶端与舌骨角的动作是相关的, 当触碰头

顶部突起时, 舌骨角会有一定程度的收缩, 同时, 还会使下颚下压, 头部与胸部的角度增加, 并且使嘴部张开。因此, 其舌骨角和舌颌的结构对打开幼体海马嘴部的过程中起很大的作用。

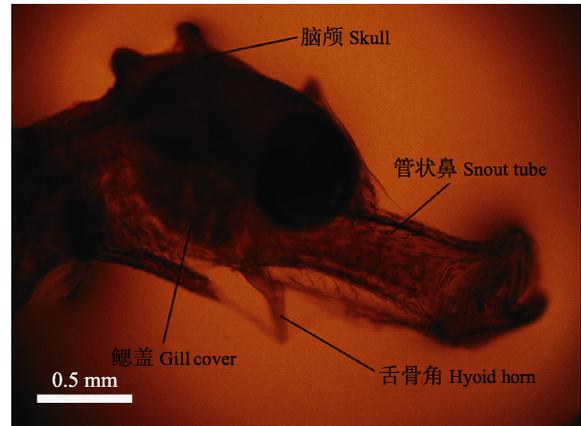


图 1 幼体海马头部整体观  
(OLYMPUS 照相显微镜放大 5 倍)

Fig.1 The whole view of larval *H.kuda* head (OLYMPUS microscope photograph magnification 5×)

### 2.2 口吻部的支撑骨骼观察

支撑骨骼以硬骨为主, 图 2 中显示略微有点蓝色的骨骼, 包括:

后翼骨: 后翼骨、眶下骨与方骨围绕在续骨周围

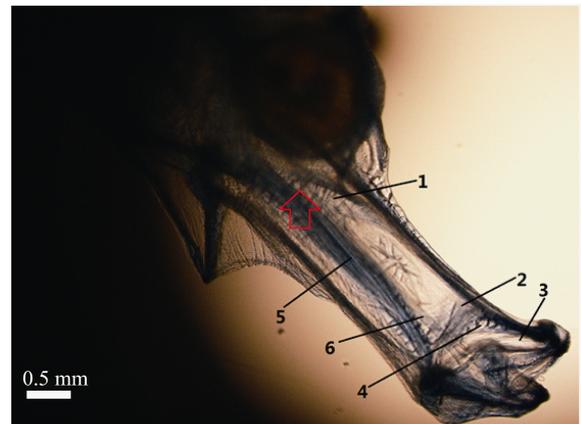


图 2 幼体海马管状鼻支撑骨骼  
(OLYMPUS 照相显微镜, 放大 10 倍)

Fig.2 The skeletal view of the snout tube support of larval *H.kuda* (OLYMPUS microscope photograph magnification 10×)

1: 后翼骨; 2: 方骨; 3: 上颌骨; 4: 外翼骨; 5: 续骨;  
6: 副蝶骨, 红色箭头为管状鼻最窄处  
1: Metapterygoid; 2: Quadrate; 3: Maxilla; 4: Endopterygoid;  
5: Symplectic; 6: Parasphenoid, the red arrow is the narrowest point of the snout tube

形成一个环状的通道即“管状鼻”。后翼骨宽而扁平，位于管状鼻末端，与续骨相连。沿斜向上的方向生长。呈鳞状，长约 0.3 mm，表面发生骨化。在幼体海马摄食时，后翼骨延伸构成运动杠杆，为“盖子”打开提供动力。后翼骨与续骨的末端构成的夹缝形成管状鼻的“最窄处”，经测量该处直径仅为 $(0.3\pm 0.05)$  mm，在摄食过程中对饵料大小有一定限制。

方骨：呈船形，下方与 Meckel 软骨(米克氏软骨，图 3)相连，中间与外翼骨和内翼骨相连(内翼骨在以后发育中与后翼骨和眶下骨融合，另文发表)，在宽度上横跨整个管状鼻，起到架起海马管状鼻结构前段的作用。

### 2.3 口吻部展开面观察

将幼体海马“管状鼻”的立体结构沿舌骨角展开成一平面(图 3)，便于观察幼鱼管状鼻上下重叠的骨骼结构，以及一些颜色较浅的皮肤骨头(未充分骨化，呈软骨状)等。更清楚的了解幼体海马骨骼的构造、不同骨头存在的位置和在摄食过程中的作用。

上颌骨：呈梯形状，扁平，长约 0.4 mm，是组成海马管状鼻前端的“盖子”的一部分，是饵料进入管状鼻的第 1 关。也是管状鼻最前端的骨头，在“管状鼻”吮吸时，饵料会随水流一同被吸入口中，上颌

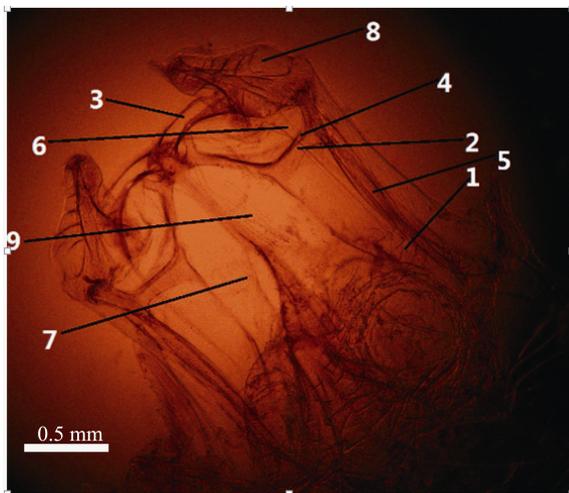


图 3 管状鼻结构展开(OLYMPUS 照相显微镜(放大 10 倍))  
Fig.3 Developed view of Snout tube (OLYMPUS microscope photograph magnification 10×)

- 1: 后翼骨; 2: 方骨; 3: 上颌骨; 4: 外翼骨; 5: 续骨;  
6: 副蝶骨; 7: 犁骨; 8: Meckel 软骨(米克氏软骨);  
9: 泪腺  
1: Metapterygoid; 2: Quadrate; 3: Maxilla; 4: Endopterygoid;  
5: Symplectic; 6: Parasphenoid; 7: Vomer;  
8: Meckel's cartilage; 9: Lacrimal

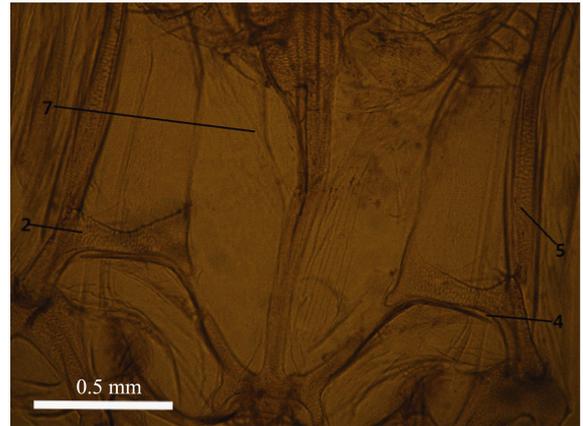


图 4 方骨及外翼骨细节  
(OLYMPUS 照相显微镜, 放大 15 倍),  
Fig.4 Detail view of quadrate and endopterygoid  
(OLYMPUS microscope photograph; magnification 15×);

- 1: 后翼骨; 2: 方骨; 3: 上颌骨; 4: 外翼骨;  
5: 续骨; 6: 副蝶骨; 7: 犁骨;  
8: Meckel 软骨(米克氏软骨); 9: 泪腺  
1: Metapterygoid; 2: Quadrate; 3: Maxilla; 4: Endopterygoid;  
5: Symplectic; 6: Parasphenoid; 7: Vomer;  
8: Meckel's cartilage; 9: Lacrimal

骨对摄入进来的饵料有一定的防漏作用。同时，“盖子”在保持管状鼻紧闭的过程中起很大的作用，会使管状鼻内构成一个水泵，方便饵料的吸入。

续骨：呈线状，细长的。长约 1 mm，由后翼骨和眶下骨环绕组成管状通道。贯穿海马的整个管状鼻，末端连接后翼骨。

外翼骨：外翼骨在方骨内侧，斜着沿颞骨贴向方骨内侧，颜色较浅。与方骨一同承担“管状鼻”前端的支撑作用(图 4)。

### 2.4 与摄食有关特殊骨骼观察

管状鼻是海马摄食时极其重要的器官，而海马管状鼻又是前宽后窄的结构。因此，在幼体海马摄食时，最窄处对饵料大小有很大的限制。研究发现，当幼体海马摄食时，下颞会偶尔鼓出来，后将幼体海马解剖后，手动时在下颞处施力，发现续骨末端上侧与后翼骨向上翘的末端下侧存在 1 条细长的梭形缝，宽约 0.06 mm。在幼体海马摄食时，它是一个备用之选，并不是每次摄食时都需要张开。只有在遇到较大饵料的时候，并在其可承受范围内，缝会撑开，使饵料通过，通过后又复原。因为这个缝的存在，幼体海马在一定程度上可以摄取比管状直径略大的饵料。这对于喂养幼体海马的饵料具有一定参考价值，可以适当的用较大粒径的饵料，使其摄食更加“经济”，从而提高幼体的存活率。

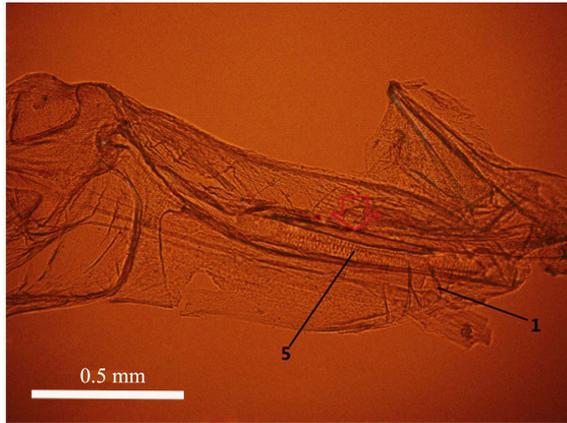


图 5 管状鼻的夹缝(红色箭头处)

(OLYMPUS 照相显微镜, 放大 20 倍)

Fig.5 The snout tube's crevice (red arrows)

(OLYMPUS microscope photograph, magnification 20×)

### 3 讨论

#### 3.1 从骨骼结构看海马的摄食方法

一直以来, 海马如何摄食都存在着一些争议。Bergert(1997)的研究表明, 其摄食是通过眼睛的舒张或鳃盖张合形成力, 眼泡紧缩的时候使头部顶端受力, 从而使进食的“盖子”打开。根据对海马运动学的研究, 海马在摄食时会弯曲头部前端, 嘴张开饵料被吸入, 在头侧面膨胀的过程中, 嘴一直保持紧闭从而确保吸力(水泵结构, 保持封闭)。海马管状鼻中已经被证明存在一种机械联动装置即四连杆结构(四连杆结构是由尾舌骨、舌骨下颌弓、胸的围绕物、舌骨角 4 个点两两连接成线构成的 4 条线, 即 4 条杆构成的机械传动装置)(Muller, 1987; Bergert, 1997)。4 连杆结构可以解释海马管状鼻中肌肉活动, 包括连接舌骨角动作与头颅顶端动作的关系。在捕食过程中, 通过 4 连杆结构的传动将海马的管状鼻部分撑开, 使其头抬高捕食(Muller, 1987; Bergert, 1997)。但海马管状鼻前端的“盖子”究竟如何打开并没有得到很好的解释。因此, 作者认为, 后翼骨的存在(它是一种在方骨肌后面向上延伸的骨头)对其“盖子”的张开、关闭有一定影响。在其摄食的过程中, 除了 4 连杆结构, 管状鼻内部可能还存在一种类似于杠杆的结构, 通过杠杆作用使嘴部被“撬开”, 从而摄食。而后翼骨可能就是杠杆作用的支点。通过眼球的收缩产生的力作用于后翼骨上, 从而翘起管状鼻前端的上颌骨。另外, 也有研究发现, 海马与其他鱼类一样, 靠鳃呼吸, 产生力吸入水和饵料, 然后将水从鳃部滤掉, 留下饵料, 进行觅食。但是, 通过观察发现, 海马鳃的舒张与盖子打

开的频率并不一致, 却与舌骨角的活动有一定一致性。

#### 3.2 续骨与后翼骨间的缝

海马管状鼻的前宽后窄结构(图 2), 最窄处的宽度对其饵料大小有很大的限制。但研究发现, 在幼体海马续骨末端上侧与后翼骨末端下侧存在着 1 条细长的梭形缝(图 5)。当幼体摄食较大粒径饵料时, 缝会撑开, 使其通过。这样便可以摄取较大的饵料。研究发现, 如果饵料的粒径过大, 就会造成幼体管状鼻部骨骼的损伤发炎, 幼体不能进食, 出现死亡的现象。该结构在较大日龄的海马骨骼(约 30 d 后就会消失)中并未发现, 无人报道。在其生长的过程中, 续骨与后翼骨间的那条梭形缝可能会与续骨或后翼骨融合。成年海马管状鼻已经成型, 不会被饵料的大小限制。所以, 这个缝只存在于日龄较小的幼体海马中, 对自身是一种保护机制, 这种机制是进化过程中形成的。

#### 3.3 展望

幼体海马的死亡大部分原因是不能进食, 即对饵料的不适, 如饵料的大小、构成以及投饵密度等问题对脆弱的幼体海马都有很大的威胁。通过对其管状鼻骨骼结构的观察, 摄食方式的分析以及对管状鼻最窄处的缝的研究, 根据摄食的方式推断出合理的饵料密度、管状鼻的结构及最窄处的缝推断出适合的饵料大小, 不会影响摄食效率(解涵等, 2003)。这些参数应用到幼体海马的养殖上能够在一定程度上提高幼体的存活率。在此基础上, 再对饵料究竟如何伤害吻部骨骼、怎样影响骨骼发育进行深入研究, 从而解决幼体海马的高死亡率问题。

### 参 考 文 献

- 马泽芳. 海马的用途及国际贸易现状. 中国乳业, 1999(12): 7-8
- 严家彬, 马润娣, 于立坚. 海马的药用价值. 中国海洋药物, 2002(6): 48-52
- 吴善. 海马人工养殖与发展前景. 中国科协 2005 年学术年会—农业分会场, 2005
- 高山. 东南亚海域海马日减受关注. 东南亚南亚信息, 1996(19): 18-19.
- 谢莹, 邹贵发. 海马幼苗成活率的研究 III. 大海马幼苗死亡类型. 中药材, 1990, 13(5): 12-13
- 解涵, 解玉浩. 鱼类摄食的经济学. 河北渔业, 2003 (6): 11-14
- 魏祥东, 叶长明, 陈东红. 饵料对幼海马生长的影响. 中山大学学报, 2003, 42(3): 60-63
- Azzarelo YM. The pterygoid series in *Hippocampus zosterae* and *Syngnathus scovelli*. Copeia, 1989(3): 621-628

- Bergert BA, Wainwright PC. Morphology and kinematics of prey capture in the syngnathid fishes *Hippocampus erectus* and *Syngnathus floridae*. *Mar Biol*, 1997, 127(4): 563–570
- Mook D, Wilcox JR. Clearing and staining for larval fish. *Biol Sci*, 1999, 37(2): 71–72
- Muller M. Optimization principles applied to the mechanism of neurocranium elevation and mouth bottom depression in bony fishes. *J Theor Biol*, 1987, 126(3): 343–368
- Payne MF, Rippingale RJ. Rearing west Australia seahorse; *Hippocampus subelongatus*, juveniles on copepod nauplii and enriched Artemia. *Aquaculture*, 2000, 188(3–4): 353–361
- Song JK, Parenti LR. Clearing and staining whole fish specimens for simultaneous demonstration of bone, cartilage and nerves. *Copeia*, 1995, 1995(1): 114–118

(编辑 陈严)

## The Skeletal Morphology of Snout Tube and Its Effect on Feeding of Juvenile Yellow Seahorse, *Hippocampus kuda* Bleeker

WANG Zihui, XU Yongjian<sup>①</sup>, LI Xiang

(School of Marine Sciences, Ningbo University, Ningbo 315211)

**Abstract** The most effective way to protect wild life resources and to meet the market's demand is artificial aquaculture. The low survival rate of sea horse juvenile due to low food intake slowed down the development of the culture industry; however, the reasons that impact feeding behavior and its metabolism of the juvenile are unclear. To address this, ten 2- or 3-day-old juveniles of *Hippocampus kuda* were fixed in paraformaldehyde with PBS, and its skeletal morphology of the snout tube was observed and analyzed. The tube snout's profile and structure included metapterygoid, quadrate and symplectic, were important to juvenile's feeding. A hole composed of metapterygoid and the end of symplectic is the smallest diameter in the snout tube, which decided the size of the feeding food. In addition, there is a crevice between metapterygoid and symplectic, which could slightly compensate the limitation in the snout tube and can pass bigger food than the smallest diameter. These observations suggest that properly increasing the size of food might enhance feeding efficiency and promote survival rate.

**Key words** Seahorse juvenile; Snout tube; Skeletal morphology; Feeding

<sup>①</sup> Corresponding author: XU Yongjian, E-mail: xuyongjian@nbu.edu.cn